

2022 m. vasario mėn.

„Rotor-Gene[®] Q MDx CE“ naudotojo vadovas



IVD

CE

REF

9002022, 9002032, 9002042



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, VOKIETIJA

R1

Turinys

1	Išvadas	8
1.1	Apie šį naudotojo vadovą	8
1.2	Bendroji informacija	9
1.2.1	Techninė pagalba	9
1.2.2	Politikos pareiškimas	9
1.2.3	Versijų valdymas	10
1.3	„Rotor-Gene Q MDx“ paskirtis	10
1.3.1	„Rotor-Gene Q MDx“ taikomi reikalavimai	10
1.4	Reikalingos medžiagos	11
1.5	Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos	11
2	Saugos informacija	12
2.1	Tinkamas naudojimas	13
2.2	Elektros sauga	15
2.3	Biologinė sauga	16
2.4	Cheminė sauga	17
2.5	Atliekų šalinimas	18
2.6	Mechaniniai pavojai	18
2.7	Techninės priežiūros sauga	20
2.8	„Rotor-Gene Q MDx“ simboliai	21
3	Bendrasis aprašas	22
3.1	„Rotor-Gene Q MDx“ principas	22
3.1.1	Šiluminis efektyvumas	22
3.1.2	Optinė sistema	23
3.1.3	Galimi kanalai	24
3.2	Išorinės „Rotor-Gene Q MDx“ savybės	25
3.2.1	Oro ventilacijos angos dangtyje	25
3.2.2	Dangčio rankena	25
3.2.3	Rotoriaus kamera	25
3.2.4	Prietaiso būsenos lemputės	25

3.3	Vidinės „Rotor-Gene Q MDx“ savybės	26
3.3.1	Rotoriaus stebulė.....	26
3.3.2	Optinis lęšis	26
	Optinis lęšis, kur sužadavimo diodo šviesa sufokusuojama ant mėgintuvėlio.	26
4	Montavimo procedūros	27
4.1	Sistemos pristatymas ir montavimas	27
4.1.1	„Rotor-Gene Q MDx“ išpakavimas.....	27
4.1.2	Aparatinės įrangos montavimas	28
4.1.3	Programinės įrangos diegimas	29
4.1.4	Programinės įrangos versija	32
4.1.5	Papildoma programinė įranga kompiuteriuose, prijungtuose prie „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisų	32
4.2	Vietos reikalavimai	39
4.3	Kintamosios srovės jungtis	40
4.3.1	Maitinimo reikalavimai	40
4.3.2	Įžeminimo reikalavimai	40
4.3.3	Kintamosios srovės maitinimo laido montavimas	40
4.4	„Windows“ saugos konfigūracija.....	40
4.5	Darbo stočiai taikomi reikalavimai	42
4.6	„Rotor-Gene Q MDx“ išpakavimas ir montavimas	43
4.6.1	Programinės įrangos naujinimas	44
4.7	Priedai	44
4.8	„Rotor-Gene Q MDx“ supakavimas iš naujo ir gabenimas	44
4.9	Nuo ko pradėti	44
4.9.1	„Rotor-Gene Q MDx“ ir darbo stoties įjungimas.....	44
5	Darbo procedūros	45
5.1	„Rotor-Gene Q MDx“ programinės įrangos naudojimas	45
5.1.1	Greito pasirengimo vedlys	45
5.1.2	Išplėstinis vedlys.....	49
5.2	„Rotor-Gene Q MDx“ aparatinės įrangos naudojimas	67
5.2.1	Rotorių tipai	67

5.2.2	Reakcijos paruošimas.....	70
5.2.3	Rotoriaus disko konfigūracija.....	73
6	Analizės naudotojo sąsaja.....	77
6.1	Darbo sritis.....	77
6.2	Įrankių juosta.....	77
6.3	Neapdorotų kanalų duomenų peržiūra.....	77
6.4	Mėginių perjungimas.....	78
6.5	Failų meniu.....	80
6.5.1	Naujas.....	80
6.5.2	Atvėrimas ir įrašymas.....	81
6.5.3	Ataskaitos.....	82
6.5.4	Konfigūracija.....	83
6.6	Analizės meniu.....	83
6.6.1	Analizė.....	83
6.6.2	Kiekybinė analizė.....	85
6.6.3	Dvi standartinės kreivės.....	97
6.6.4	Delta delta C_T santykinė kiekybinė analizė.....	101
6.6.5	Lydimosi kreivės analizė.....	104
6.6.6	Palyginamoji kiekybinė analizė.....	107
6.6.7	Alelių atskyrimas.....	109
6.6.8	Sklandos grafiko analizė.....	110
6.6.9	Vertinamosios baigties analizė.....	112
6.6.10	Koncentracijos analizė.....	119
6.6.11	Didelės skiriamosios gebos lydimosi analizė.....	122
6.7	Tyrimo serijos meniu.....	123
6.7.1	Tyrimo serijos paleidimas.....	123
6.7.2	Tyrimo serijos pristabdymas.....	124
6.7.3	Tyrimo serijos sustabdymas.....	124
6.8	Meniu peržiūra.....	124
6.8.1	Tyrimo serijos nustatymai.....	124
6.8.2	Temperatūros grafikas.....	128

6.8.3	Eigos profilis	128
6.8.4	Mėginių redagavimas.....	129
6.8.5	Rodymo ekrane parinktys	135
6.9	Prieigos prie „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos apsauga	136
6.9.1	„Windows“ 7 konfigūracija.....	137
6.9.2	„Windows“ 10 konfigūracija.....	142
6.9.3	Kelių naudotojų naudojimas tuo pačiu kompiuteriu	145
6.9.4	Audito sekos	146
6.9.5	Tyrimo serijos parašas.....	148
6.9.6	Mėginio užrakinimas	149
6.9.7	Užrakinti šablonai	151
6.10	Gavimo meniu	151
6.11	Lango meniu	152
6.12	Žinynas	152
6.12.1	Siųsti el. laišką techninės pagalbos tarnybai	153
7	Papildomos funkcijos	157
7.1	Analizės šablonai	157
7.2	Antros tyrimo serijos atvėrimas	157
7.3	Skalės reguliavimo parinktys	157
7.4	Grafiko eksportavimas.....	158
7.5	Veržliarakčio piktograma	161
7.6	Pasirinktos srities parinktys	162
8	Priežiūra.....	163
8.1	„Rotor-Gene Q MDx“ paviršiaus valymas.....	163
8.2	„Rotor-Gene Q MDx“ paviršiaus dezinfekavimas	164
8.3	„Rotor-Gene Q“ remontas	164
9	Optinis temperatūros patikrinimas.....	165
9.1	OTV metodas	165
9.2	„Rotor-Disc OTV Kit“ komponentai:	165
9.3	OTV atlikimas	166
10	Didelės skiriamosios gebos lydimosi analizė	169

10.1	Priemonės	170
10.2	Cheminės medžiagos	171
10.3	SNP genotipo nustatymo pavyzdys	171
10.4	Metilinimo analizės pavyzdys	173
10.5	Rekomendacijos, kaip sėkmingai atlikti HRM analizę	174
10.6	Mėginio paruošimas	176
10.7	Programinės įrangos konfigūravimas	176
10.8	„Real-time PCR“ duomenų analizė	182
10.9	HRM duomenų analizė	183
11	Trikčių šalinimas	188
11.1	Žurnalų archyvai	189
11.2	Aparatinės ir programinės įrangos klaidos	189
11.2.1	HRM trikčių šalinimas	189
11.3	Klaidos ir įspėjamieji pranešimai	190
11.3.1	Bendrosios prietaiso klaidos	190
11.3.2	„Rotor-Gene Q“ programinės įrangos pranešimai	193
12	Žodynėlis	197
13	Techninės specifikacijos	198
13.1	Aplinkos sąlygos – eksploatavimo sąlygos	198
13.2	Transportavimo sąlygos	198
13.3	Laikymo sąlygos	198
13.4	Mechaniniai duomenys ir aparatinės įrangos savybės	198
13.5	Techninės specifikacijos (aparatinė įranga ir programinė įranga)	199
13.5.1	Šiluminės specifikacijos	199
13.5.2	Optinės specifikacijos	199
14	A priedas – Teisinė informacija	200
14.1	FCC deklaracija	200
14.2	Atitiktis IEC EN 61326	201
14.3	Atitikties deklaracija	202
14.4	Elektros ir elektroninės įrangos atliekos (EEJA)	203
14.5	Sąlyga dėl atsakomybės	204

14.6	Programinės įrangos licencinė sutartis	205
15	B priedas – Matematiniai metodai	208
15.1	Kiekybinė analizė	208
15.1.1	Apskaičiuotų koncentracijos reikšmių pasikliautiniai intervalai	208
15.1.2	CT reikšmių pasikliautiniai intervalai	209
16	Užsakymo informacija	210
16.1	„Rotor-Gene Q MDx“ produktai, priedai ir eksploatavimo reikmenys	210
17	Dokumento peržiūrų istorija	214

1 Įvadas

Dėkojame, kad pasirinkote „Rotor-Gene Q MDx“. Esame tikri, kad jis taps neatskiriama jūsų laboratorijos dalis.

Prieš naudojantis „Rotor-Gene Q MDx“, būtina atidžiai perskaityti šį naudotojo vadovą ir ypatingą dėmesį skirti saugos informacijai. Siekiant užtikrinti saugų prietaiso veikimą ir palaikyti saugią jo būklę, būtina laikytis naudotojo vadove pateiktų instrukcijų ir saugos informacijos.

Atkreipkite dėmesį, kad „Rotor-Gene Q MDx“ gali būti kelių konfigūracijų. Daugiau informacijos, įskaitant užsakymo informaciją, ieškokite 16 skyriuje.

1.1 Apie šį naudotojo vadovą

Šiame naudotojo vadove informacija apie „Rotor-Gene Q MDx“ pateikiama toliau nurodytuose skyriuose:

- Įvadas
- Saugos informacija
- Bendrasis aprašas
- Montavimo procedūros
- Darbo procedūros
- Priežiūra
- Trikčių šalinimas
- Techninės specifikacijos
- Priedai

Prieduose pateikiama toliau nurodyta informacija:

- A priedas – Teisinė informacija
- B priedas – Matematiniai metodai

1.2 Bendroji informacija

1.2.1 Techninė pagalba

Įmonė QIAGEN® didžiuojasi savo techninės pagalbos kokybe ir prieinamumu. Mūsų techninės pagalbos skyriuose dirba patyrę mokslininkai, turintys daug praktinės ir teorinės molekulinės biologijos bei QIAGEN produktų naudojimo patirties. Jeigu kiltų klausimų ar sunkumų naudojant „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisus arba QIAGEN produktus apskritai, nedvejodami kreipkitės į mus.

QIAGEN klientai yra pagrindinis informacijos apie naujoviškus ar specialius mūsų produktų naudojimo būdus šaltinis. Ši informacija naudinga kitiems mokslininkams ir QIAGEN tyrėjams. Todėl kviečiame susisiekti su mumis, jei turite bet kokių pasiūlymų dėl produktų efektyvumo, naujų naudojimo būdų ir metodų.

Prireikus techninės pagalbos, susisiekite su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Naujausia informacija apie „Rotor-Gene Q MDx“ pateikiama adresu <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>.

Svetainė: **support.qiagen.com**

Susisiekdami su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba dėl klaidų, turėkite šią informaciją:

- „Rotor-Gene Q MDx“ serijos numerį, tipą ir versiją;
- klaidos kodą (jei taikoma);
- laiką, kada klaida įvyko pirmą kartą;
- klaidos dažnumą (t. y., protarpiais įvykstanti ar nuolatinė klaida);
- žurnalo failų kopiją.

1.2.2 Politikos pareiškimas

QIAGEN politika yra tobulinti produktus, kol bus prieinami nauji metodai ir komponentai. QIAGEN pasilieka teisę keisti specifikacijas bet kuriuo metu. Siekdami sukurti naudingą ir tinkamą dokumentaciją, vertiname jūsų komentarus apie šį naudotojo vadovą. Susisiekite su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

1.2.3 Versijų valdymas

Šis dokumentas yra „Rotor-Gene Q MDx“ naudotojo vadovas, R1 peržiūra, skirtas „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisams, naudojančiams „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos versiją 2.3.x (kur x yra ≥ 0).

1.3 „Rotor-Gene Q MDx“ paskirtis

„Rotor-Gene Q MDx“ prietaisas skirtas klinikinių tyrimų metu atlikti tikrą laikius šiluminius ciklus, aptikimą ir (arba) kiekybinį įvertinimą, taikant polimerazės grandininę reakciją (PGR).

„Rotor-Gene Q MDx“ skirtas naudoti tik su QIAGEN rinkiniais, pritaikytais naudoti su „Rotor-Gene Q“ prietaisais atitinkamuose QIAGEN rinkinio vadovuose nurodytoms procedūroms atlikti.

Jeigu „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisas naudojamas ne su QIAGEN rinkiniais, naudotojas privalo patvirtinti tokio produktų derinio konkretaus pritaikymo eksploatacines savybes.

„Rotor-Gene Q MDx“ prietaisas skirtas in vitro diagnostikai.

„Rotor-Gene Q MDx“ prietaisai yra skirti naudoti profesionalams, tokiems kaip laborantai ir gydytojai, išmokyti taikyti molekulinės biologijos metodus ir naudoti „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisus.

1.3.1 „Rotor-Gene Q MDx“ taikomi reikalavimai

Toliau pavaizduotoje lentelėje pateikiami bendriniai būtinų kompetencijų ir žinių lygiai, reikalingi gabenant, montuojant, naudojant, atliekant techninę priežiūrą ir prižiūrint „Rotor-Gene Q MDx“.

Darbas	Personalas	Žinios ir patirtis
Pristatymas	Specialių reikalavimų nėra	Specialių reikalavimų nėra
Montavimas	Laborantai arba lygiavertės pareigas einantys asmenys	Tinkamai parengti ir patyrę darbuotojai, kurie moka dirbti kompiuteriu ir turi automatikos žinių
Įprastas naudojimas (protokolų vykdymas)	Laborantai arba lygiavertės pareigas einantys asmenys	Profesionalūs naudotojai, tokie kaip laborantai arba gydytojai, išmokyti taikyti molekulinės biologijos metodus
Reguliari techninė priežiūra	Laborantai arba lygiavertės pareigas einantys asmenys	Profesionalūs naudotojai, tokie kaip laborantai arba gydytojai, išmokyti taikyti molekulinės biologijos metodus
Nuolatinė ir kasmetinė techninė priežiūra	Tik QIAGEN techninės priežiūros specialistai	Reguliariai mokomi, sertifikuoti ir įgalioti QIAGEN

1.4 Reikalingos medžiagos

Pastaba. Naudokite tik QIAGEN tiekiamus priedus.

- „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)
- Nešiojamasis kompiuteris (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 Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos


- Apsauginiai akiniai
- Pirštinės
- Laboratorijos chalatas


Norint naudoti „Rotor-Gene Q MDx“, reikiamą PGR rinkinį būtina įsigyti atskirai. Galimų rinkinių asortimentą peržiūrėkite **QIAGEN.com**.

2 Saugos informacija

Prieš naudojantis „Rotor-Gene Q MDx“, būtina atidžiai perskaityti šį naudotojo vadovą ir ypatingą dėmesį skirti saugos informacijai. Siekiant užtikrinti saugų prietaiso veikimą ir palaikyti saugią jo būklę, būtina laikytis naudotojo vadove pateiktų instrukcijų ir saugos informacijos.

Toliau nurodytų tipų saugos informacija pateikiama visame „Rotor-Gene Q MDx“ naudotojo vadove.


ĮSPĖJIMAS 	Terminas ĮSPĖJIMAS naudojamas pranešti apie situacijas, kurios gali sukelti asmens sužalojimą jums arba kitiems asmenims. Išsami informacija apie šias aplinkybes yra pateikta tokia langelyje kaip šis.
---	--

DĖMESIO 	Terminas DĖMESIO naudojamas pranešti apie situacijas, kurios gali sugadinti prietaisą ar kitą įrangą. Išsami informacija apie šias aplinkybes yra pateikta tokia langelyje kaip šis.
---	--


Šiame vadove pateiktos gairės turėtų papildyti, o ne pakeisti naudotojo šalyje galiojančius įprastus saugos reikalavimus.


Atminkite, kad gali prireikti pasižiūrėti vietos teisės aktus, kuriais nustatyta, kaip apie rimtus su šiuo prietaisu susijusius incidentus pranešti gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir šalies, kurioje yra naudotojas ir (arba) pacientas, reguliuojančiajai institucijai.


2.1 Tinkamas naudojimas

ĮSPĖJIMAS 	Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas Netinkamai naudojant „Rotor-Gene Q MDx“ galima susižeisti arba sugadinti prietaisą. „Rotor-Gene Q MDx“ gali naudoti tik kvalifikuoti ir tinkamai išmokyti darbuotojai. „Rotor-Gene Q MDx“ techninę priežiūrą gali atlikti tik QIAGEN techninės priežiūros tarnybos specialistas.
---	--


Atlikite priežiūros darbus, kaip nurodyta 8 skyriuje. QIAGEN apmokestina remonto darbus, jei jų prireikia dėl netinkamos priežiūros.


ĮSPĖJIMAS 	Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas „Rotor-Gene Q MDx“ yra per sunkus, kad jį galėtų pakelti vienas asmuo. Kad išvengtumėte susižalojimo ar prietaiso sugadinimo, nekelkite prietaiso vieni. Susisiekiite su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba, kad perkeltų prietaisą.
---	--


ĮSPĖJIMAS 	Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas Nebandykite perkelti „Rotor-Gene Q MDx“, kai prietaisas yra naudojamas.
---	---


DĖMESIO 	Pavojus sugadinti prietaisą Saugokitės, kad neaplietumėte „Rotor-Gene Q MDx“ vandeniu arba cheminėmis medžiagomis. Pažeidimams, sukeltiems išpilto vandens arba cheminės medžiagos, garantija netaikoma.
---	--


Pastaba. Įvykus nelaimingam atsitikimui, išjunkite „Rotor-Gene Q MDx“ naudodami prietaiso gale esantį maitinimo jungiklį ir ištraukite maitinimo laidą iš maitinimo lizdo.


<p>DĖMESIO</p> 	<p>Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas</p> <p>Neatidarykite dangčio, kai vyksta tyrimas arba „Rotor-Gene Q MDx“ sukasi. Jeigu nepaisysite dangčio užrakinimo mechanizmo ir paliesite vidines dalis, kyla sužalojimo pavojus prisilietus prie įkaitusių dalių, taip pat dalių, kuriomis teka elektros srovė, arba dideliu greičiu judančių dalių, todėl galite susižeisti ir sugadinti prietaisą.</p>
---	---

<p>DĖMESIO</p> 	<p>Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas</p> <p>Jeigu reikia nedelsiant sustabdyti tyrimą, išjunkite prietaiso maitinimą, tada atidarykite dangtį. Prieš liesdami vidines dalis palaukite, kol kamera atvės. Kitu atveju kyla sužalojimo pavojus palietus įkaitusias dalis.</p>
---	--

<p>DĖMESIO</p> 	<p>Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas</p> <p>Jei įranga naudojama ne pagal gamintojo nurodymus, įrangos apsaugos priemonės gali veikti netinkamai.</p>
---	--

<p>DĖMESIO</p> 	<p>Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas</p> <p>Jeigu po „Rotor-Gene Q MDx“ yra popieriaus, tai trukdo prietaisui atvėsti. Rekomenduojama po prietaisu nelaikyti jokių pašalinių objektų.</p>
---	--


<p>DĖMESIO</p> 	<p>Pavojus sugadinti prietaisą</p> <p>Visuomet naudokite rotoriaus fiksuojamąjį žiedą. Jis neleidžia atsідaryti mėgintuvėlių dangteliams tyrimo metu. Jeigu dangteliai atsідaro tyrimo metu, jie gali sugadinti kamerą.</p>
---	--

DĖMESIO 	Medžiagų sugadinimo pavojus Prieš kiekvieną procedūrą apžiūrėkite ir įsitikinkite, kad rotorius nesugadintas ir nedeformuotas.
---	--

Jeigu paliesite „Rotor-Gene Q MDx“ vykstant tyrimui, kai esate įkrauti statiniu elektros krūviu, sunkiais atvejais „Rotor-Gene Q MDx“ gali būti nustatomas iš naujo. Tačiau programinė įranga iš naujo paleis „Rotor-Gene Q MDx“ ir tęs tyrimą.

2.2 Elektros sauga

Prieš atlikdami techninę priežiūrą, atjunkite maitinimo laidą nuo maitinimo lizdo.

ĮSPĖJIMAS 	Elektros pavojus Tikėtina, kad dėl bet kokio apsauginio laidininko (įžeminimo laido) nutraukimo prietaise arba jo išorėje ir apsauginio laidininko gnybto atjungimo, prietaisas gali tapti pavojingu naudoti. Tyčinis nutraukimas yra draudžiamas. Mirtina įtampa prietaiso viduje Kai prietaisas prijungtas prie maitinimo tinklo, į gnybtus gali būti tiekiamas įtampa. Atidarę dangčius ar nuėmę kitas dalis galite atidengti dalis, į kurias teka elektros srovė.
--	---


Norėdami užtikrinti tinkamą ir saugų „Rotor-Gene Q MDx“ veikimą, vadovaukitės toliau pateiktais patarimais:

- Maitinimo laidas turi būti prijungtas prie maitinimo lizdo, kuris yra apsaugotas apsauginiu laidininku (įžemintas).
- Nereguliokite ir nekeiskite vidinių prietaiso dalių.
- Nenaudokite prietaiso, jei nuimti dangčiai arba kitos dalys.
- Jei prietaiso viduje išsiliejo skysčių, išjunkite prietaisą, atjunkite jį nuo maitinimo lizdo ir susisiekite su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Jei prietaisas yra nesaugus naudoti dėl elektros problemų, pasirūpinkite, kad juo nesinaudotų kiti darbuotojai ir susisiekite su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Prietaisas yra nesaugus naudoti dėl elektros problemų, kai:

- prietaisas arba maitinimo laidas yra pažeistas;
- prietaisas buvo laikomas nepalankiomis sąlygomis ilgą laiką;
- prietaisą veikė didžiulė apkrova gabenimo metu.


ĮSPĖJIMAS 	Elektros pavojus Ant prietaiso yra elektrinės atitikties etiketė, kurioje nurodoma maitinimo šaltinio įtampa ir dažnis bei saugiklio kategorija. Įranga gali būti eksploatuojama tik esant šioms sąlygoms.
---	--

2.3 Biologinė sauga

Mėginiai ir reagentai, kuriuose yra biologinės kilmės medžiagų, turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamais. Taikykite laboratorijos procedūras, kaip aprašyta leidiniuose, pavyzdžiui, „*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS*“ (<https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>).

Mėginiai

Mėginiuose gali būti infekcinių medžiagų. Turite žinoti apie infekcinių medžiagų pavojų sveikatai ir naudoti, laikyti ir šalinti tokius mėginius pagal reikiamus saugos reglamentus.


<p>ĮSPĖJIMAS</p> 	<p>Mėginiai, turintys infekcijos sukėlėjų</p> <p>Kai kuriuose šiame prietaise naudotuose mėginiuose gali būti infekcijos sukėlėjų. Su tokiais mėginiais elkitės itin atsargiai ir remdamiesi reikiamais saugos teisės aktais.</p> <p>Visada mūvėkite 2 poras apsauginių pirštinių, dėvėkite apsauginius akinius ir laboratorinį chalata.</p> <p>Atsakingas asmuo (pvz., laboratorijos vadovas) turi imtis būtinų atsargumo priemonių, kad užtikrintų darbo vietos saugą, ir pasirūpinti, kad prietaiso operatoriai būtų tinkamai parengti ir mokėtų apsisaugoti nuo pavojingų infekcijos sukėlėjų lygių poveikio, kaip aprašyta taikomuose saugos duomenų lapuose (SDL) arba OSHA,* ACGIH,† ar COSHH‡ dokumentuose.</p> <p>Garų vėdinimas ir atliekų išmetimas turi būti atliekami atsižvelgiant į vietinius ir šalies sveikatos ir saugos reikalavimus ir teisės aktus.</p>
---	---

* OSHA: Profesinės saugos ir sveikatos administracija (Jungtinės Amerikos Valstijos) (angl. Occupational Safety and Health Administration).

† ACGIH: Amerikos vyriausybinių pramonės higienistų konferencija (Jungtinės Amerikos Valstijos) (angl. American Conference of Government Industrial Hygienists).

‡ COSHH: Pavojingų sveikatai medžiagų kontrolė (Jungtinė Karalystė) (angl. Control of Substances Hazardous to Health).

2.4 Cheminė sauga

<p>ĮSPĖJIMAS</p> 	<p>Pavojingos cheminės medžiagos</p> <p>Kai kurios cheminės medžiagos, kurios naudojamos su šiuo prietaisu, gali būti pavojingos arba gali tokiomis tapti baigus vykdyti protokolą. Visada mūvėkite apsaugines pirštines, dėvėkite apsauginius akinius ir laboratorinį chalata. Atsakingas asmuo (pvz., laboratorijos vadovas) turi imtis būtinų atsargumo priemonių, kad užtikrintų darbo vietos saugą ir apsaugotų instrumento operatorius nuo toksinių medžiagų (cheminių arba biologinių) pavojingų lygių poveikio, kaip nurodyta taikomuose saugos duomenų lapuose (SDL) arba OSHA*, ACGIH† ar COSHH‡ dokumentuose.</p> <p>Garų vėdinimas ir atliekų išmetimas turi būti atliekami atsižvelgiant į vietinius ir šalies sveikatos ir saugos reikalavimus ir teisės aktus.</p>
---	--

* OSHA: Profesinės saugos ir sveikatos administracija (Jungtinės Amerikos Valstijos) (angl. Occupational Safety and Health Administration).

† ACGIH: Amerikos vyriausybinių pramonės higienistų konferencija (Jungtinės Amerikos Valstijos) (angl. American Conference of Government Industrial Hygienists).

‡ COSHH: Pavojingų sveikatai medžiagų kontrolė (Jungtinė Karalystė) (angl. Control of Substances Hazardous to Health).

Nuodingi garai

Jei dirbate su lakiaisiais tirpikliais, nuodingomis medžiagomis ir pan., privalote turėti efektyvią laboratorijos ventilacijos sistemą, kad galėtumėte pašalinti išskirtus garus.


2.5 Atliekų šalinimas


Panauduose laboratoriniuose induose gali būti pavojingų cheminių medžiagų. Tokias atliekas būtina surinkti ir pašalinti pagal vietinius saugos teisės aktus.


Daugiau informacijos apie „Rotor-Gene Q MDx“ išmetimą ieškokite skyriuje „Elektros ir elektroninės įrangos atliekos (EEIA)“, 203 p.


2.6 Mechaniniai pavojai


„Rotor-Gene Q MDx“ dangtis veikiant prietaisui turi būti uždarytas.


ĮSPĖJIMAS 	Judančios dalys Prietaisą būtina naudoti su uždarytu dangčiu, kad išvengtumėte kontakto su judančiomis dalimis naudodami „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisą.
---	--

ĮSPĖJIMAS 	Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas „Rotor-Gene Q MDx“ dangtį atidarykite ir uždarykite atsargiai, kad neprispaustų pirštų ar drabužių.
---	---


ĮSPĖJIMAS 	Pavojus sugadinti prietaisą Įsitikinkite, kad rotorius ir fiksuojamasis žiedas tinkamai sumontuoti. Jeigu ant rotoriaus ar fiksuojamojo žiedo pastebite mechaninio pažeidimo ar korozijos požymių, nenaudokite „Rotor-Gene Q MDx“ ir susisieki su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.
---	--


<p>ĮSPĖJIMAS</p> 	<p>Pavojus sugadinti prietaisą</p> <p>Jeigu „Rotor-Gene Q MDx“ paleidžiamas iš karto po to, kai jis pristatomas esant žemai aplinkos temperatūrai, mechaninės dalys gali užsiblokuoti.</p> <p>Prieš įjungdami prietaisą, leiskite prietaisui prisitaikyti prie patalpos temperatūros mažiausiai 1 val.</p>
---	---

<p>ĮSPĖJIMAS</p> 	<p>Pavojus sugadinti prietaisą</p> <p>Jeigu dėl elektros energijos tiekimo sutrikimo įvyko gedimas, prieš atidarydami dangtį, ištraukite maitinimo laidą ir palaukite 10 minučių.</p>
---	--

<p>ĮSPĖJIMAS</p> 	<p>Perkaitinimo pavojus</p> <p>Kad užtikrintumėte tinkamą ventiliavimą, iš abiejų „Rotor-Gene Q MDx“ pusių ir gale palikite mažiausiai 10 cm atstumą iki sienos.</p> <p>Negalima uždengti plyšių ir angų, per kurias vėdinamas „Rotor-Gene Q MDx“.</p>
---	---


Karščio pavojus


<p>ĮSPĖJIMAS</p> 	<p>Karštas paviršius</p> <p>„Rotor-Gene Q MDx“ kameroje temperatūra gali siekti virš 120 °C. Venkite liesti, kol jis karštas.</p>
---	--


<p>ĮSPĖJIMAS</p> 	<p>Karštas paviršius</p> <p>Pristabdžius tyrimo seriją, „Rotor-Gene Q MDx“ neatvės iki kambario temperatūros. Elkitės atsargiai prieš liesdami rotorių ar kokius nors prietaise esančius mėgintuvėlius.</p>
---	--


2.7 Techninės priežiūros sauga

Atlikite priežiūros darbus, kaip nurodyta 8 skyriuje. QIAGEN apmokestina remonto darbus, jei jų prireikia dėl netinkamos priežiūros.

ĮSPĖJIMAS / DĖMESIO 	Pavojus susižeisti ir sugadinti medžiagas Atlikite tik tuos priežiūros darbus, kurie konkrečiai aprašyti šiame naudotojo vadove.
---	--











ĮSPĖJIMAS 	Gaisro pavojus Jei „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisus valote alkoholio pagrindu pagaminta dezinfekavimo priemone, palikite „Rotor-Gene Q MDx“ dureles atidarytas, kad degūs garai išsisklaidytų.
---	---

ĮSPĖJIMAS / DĖMESIO 	Elektros šoko pavojus Neišardykite „Rotor-Gene Q MDx“ prietaiso.
---	--

DĖMESIO 	Pavojus sugadinti prietaiso korpusą Niekada nevalykite prietaiso korpuso naudodami alkoholį arba alkoholinius tirpalus. Alkoholis sugadins korpusą. Korpusą valykite tik distiliuotu vandeniu.
---	--

2.8 „Rotor-Gene Q MDx“ simboliai

Naudojimo instrukcijose arba ant pakuočių ir etiketėse gali būti pateikiami šie simboliai:

Simbolis	Vieta	Aprašas
	Šalia mėginių kameros, matoma atidarius dangtį	Karščio pavojus – temperatūra kameroje gali viršyti 120 °C
	Galinė prietaiso dalis	Žr. naudojimo instrukcijas
	Techninių duomenų plokštelė, esanti prietaiso galinėje dalyje	Europos atitikties CE ženklas
	Techninių duomenų plokštelė, esanti prietaiso galinėje dalyje	In vitro diagnostikos medicinos prietaisas
	Techninių duomenų plokštelė, esanti prietaiso galinėje dalyje	CSA ženklas, skirtas Kanados ir JAV rinkoms
	Techninių duomenų plokštelė ant dešiniojo šoninio skydo	Teisėtas gamintojas.
	Techninių duomenų plokštelė ant dešiniojo šoninio skydo	EEJA apie elektros ir elektroninės įrangos atliekų išmetimą Europoje ir kitose šalyse.
	Techninių duomenų plokštelė ant dešiniojo šoninio skydo	FCC ženklas, žymintis Jungtinių Valstijų federalinę ryšių komisiją (angl. United States Federal Communications Commission)
	Techninių duomenų plokštelė ant dešiniojo šoninio skydo	RCM ženklas (ankščiau vadintas „C-Tick“), skirtas Australijos rinkai (tiekėjo identifikatorius N17965)
	Techninių duomenų plokštelė ant dešiniojo šoninio skydo	Direktyvos dėl pavojingų medžiagų naudojimo apribojimo (angl. Restriction of Hazardous Substances Directive, RoHS) ženklas, skirtas Kinijos rinkai

3 Bendrasis aprašas

„Rotor-Gene Q MDx“ yra novatoriškas prietaisas, kurį naudojant galima atlikti didelio tikslumo „real-time PCR“, kuri itin naudinga atliekant in vitro diagnostikos tyrimus, kartu naudojant QIAGEN IVD paženklintus rinkinius.

Galinga ir patogi programinė įranga, kurią paprasta naudoti pradedantiesiems, o pažengusiems naudotojams – tai atvira tyrimų platforma.

3.1 „Rotor-Gene Q MDx“ principas

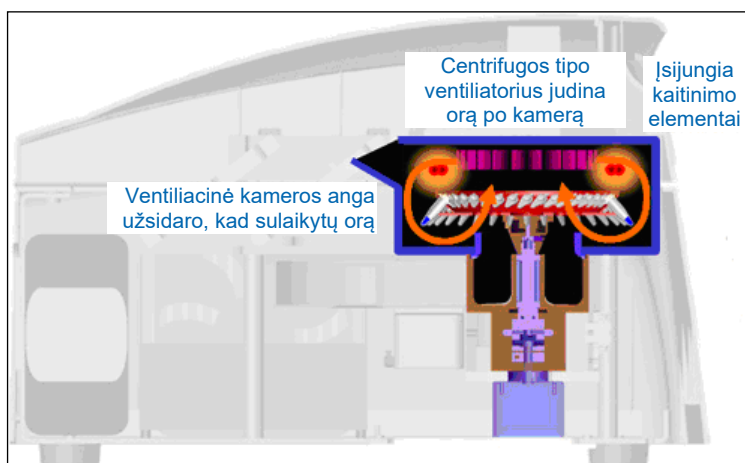
3.1.1 Šiluminis efektyvumas

„Rotor-Gene Q MDx“ naudojama moderni kaitinimo ir vėsinimo technologija, todėl užtikrinamos optimalios reakcijos sąlygos. Išskirtinė rotorius forma užtikrina optimalų šiluminį ir optinį tolygumą tarp mėginių, o tai itin svarbu norint atlikti tikslų ir patikimą tyrimą.

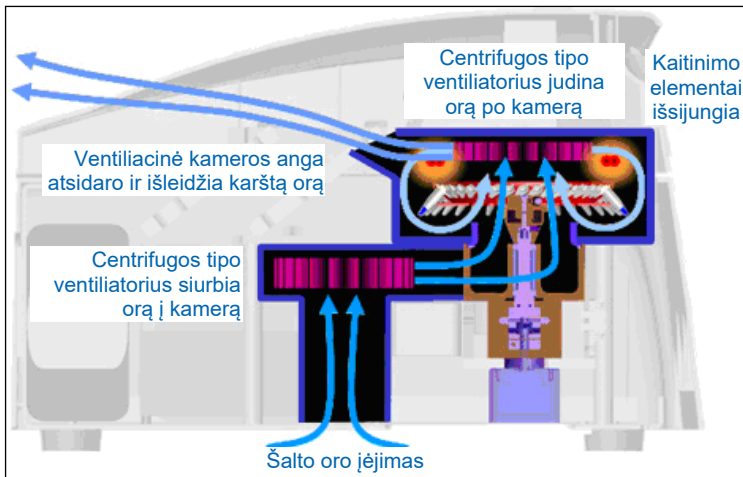
Tyrimo vykdymo metu mėginiai nepertraukiamai sukami 400 rpm greičiu. Centrifugavimas apsaugo nuo kondensacijos ir pašalina oro burbuliukus, tačiau nesusidaro DNR nuosėdų. Be to, prieš tyrimo vykdymą mėginių nereikia sukti.

Mėginiai kaitinami ir vėsinami mažo svorio oro krosnelėje. Kaitinama naudojant dangtyje esantį nikelio-chromo elementą. Kamera atvėsinama išleidžiant orą pro kameros viršų, o aplinkos orą pučiant pro apačią.

Kaitinimas



Vėsinimas

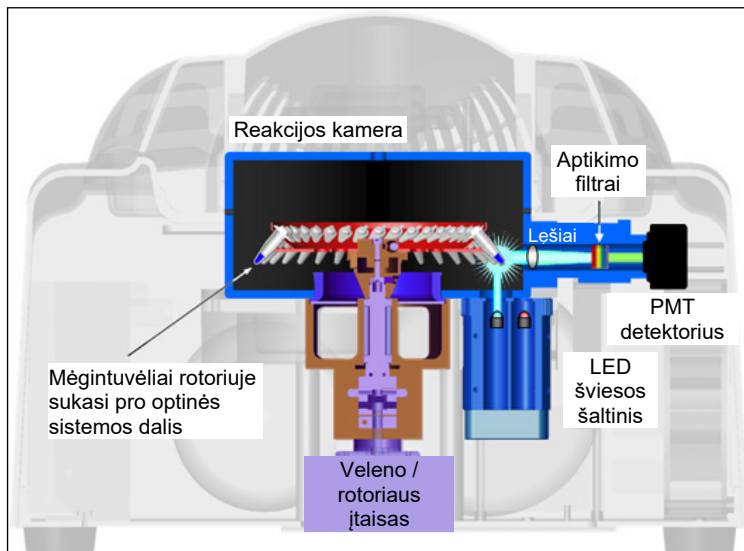


Kaitinimo ir vėsinimo sistemos schema

3.1.2 Optinė sistema

„Rotor-Gene Q MDx“, kuriame galima pasirinkti iki 6 sužadavimo šaltinių ir 6 aptikimo filtrų bei kuris pasižymi trumpu, fiksuotu optiniu keliu, galima naudoti sudėtinėms reakcijoms, užtikrinant mažiausius fluorescencijos svyravimus tarp skirtingų mėginių ir pašalinant poreikį kalibruoti arba kompensuoti.

Mėginius kameros apačioje sužadina šviesos diodų lempa. Energija perduodama per plonas sieneles mėgintuvėlio apačioje. Sklindanti fluorescencija pereina per spinduliuotės filtrus, esančius kameros šonuose, ir patenka į fotodaugintuvą. Fiksuotas optinis kelias užtikrina vienodą visų mėginių sužadimą, tai reiškia, kad nereikia naudoti pasyvaus vidinio etalono dažų, pavyzdžiui, „ROX™“.



Optinės sistemos schema.

3.1.3 Galimi kanalai

Kanalas	Sužadınimas (nm)	Aptikimas (nm)	Aptinkamų fluoroforų pavyzdžiai
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 didelis pralaidumas	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
Didelės skiriamosios gebos lydimasis (HRM)	460 ± 20	510 ± 5	SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen

Pastaba. QIAGEN rinkiniai, skirti naudoti su „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisais, yra pritaikyti naudoti su tam tikrais dažų deriniais. Daugiau informacijos ieškokite atitinkamo rinkinio vadove.

3.2 Išorinės „Rotor-Gene Q MDx“ savybės



- | | |
|-----------------------------------|------------------------------|
| 1 Oro ventilacijos angos dangtyje | 3 Rotoriaus kamera |
| 2 Dangčio rankena | 4 Prietaiso būsenos lemputės |

3.2.1 Oro ventilacijos angos dangtyje

„Rotor-Gene Q“ prietaiso galinėje dangčio dalyje yra ventilacijos angos. Pro šias ventilacijos angas prietaisui veikiant iš kameros pašalinama šiluma. Jeigu šios ventilacijos angos užblokuojamos arba šalių jų paliekama nepakankamai laisvos vietos, tai gali pakenkti prietaiso veiksmingumui.

3.2.2 Dangčio rankena

Dangčio rankena skirta prietaiso dangčiui pastumti. Ši rankena nėra skirta atlaikyti prietaiso svorį, todėl jos negalima naudoti norint pakelti prietaisą.

3.2.3 Rotoriaus kamera

Į rotoriaus kamerą dedami rotorai ir vykdomi užprogramuoti kaitinimo etapai ir ciklai.

3.2.4 Prietaiso būsenos lemputės

Ant „Rotor-Gene Q“ yra dvi būsenos lemputės. Budėjimo režimo lemputė reiškia, kad prietaisas nenaudojamas. Tyrimo serijos vykdymo lemputė mirksi, kai „Rotor-Gene Q“ naudojamas.

3.3 Vidinės „Rotor-Gene Q MDx“ savybės



„Rotor-Gene Q“ kameros vidinės dalies vaizdas

- 1 Rotoriaus stebulė 2 Optinis lęšis

3.3.1 Rotoriaus stebulė

Rotoriaus stebulė prilaiko rotorių prietaiso viduje.

3.3.2 Optinis lęšis

Optinis lęšis, kur sužadavimo diodo šviesa sufokusuojama ant mėgintuvėlio.

4 Montavimo procedūros

4.1 Sistemos pristatymas ir montavimas

Montuojant įrangą, kartu turėtų būti asmuo, pažįstantis jūsų laboratoriją ir mokantis naudotis kompiuterine įranga.

Pristatomi šie elementai:

- „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisas
- „Rotor-Gene Q MDx“ naudotojo vadovas
- Darbo stotis
- „Rotor-Gene Q MDx“ programinė įranga (įdiegs QIAGEN techninės priežiūros tarnyba pradinio konfigūravimo metu).

4.1.1 „Rotor-Gene Q MDx“ išpakavimas

„Rotor-Gene Q MDx“ pristatomas kartu su visais komponentais, būtinais prietaisui sukonfigūruoti ir naudoti. Pakuotėje taip pat yra pateikiamų komponentų sąrašas.

Pastaba. Patikrinkite, ar pristatyti visi sąrašė nurodyti komponentai.

Pastaba. Prieš montavimą patikrinkite, ar prietaisas ir pristatyti priedai nepažeisti gabenant.

Papildomų priedų dėžutė yra ant putplasčio pakuotės. Papildomų priedų dėžutės turinys:

- Montavimo vadovas (anglų k., vadovai kitomis kalbomis pateikiami naudotojo vadovų keičiamoje laikmenoje)
- Keičiamoji laikmena (programinė įranga)
- Keičiamoji laikmena (naudotojo vadovai)
- „Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes“
- „Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes“
- „Rotor Holder“ (išrinktas, kad būtų užtikrinamas saugus gabenimas)
- „36-Well Rotor“ (raudonas)
- „36-Well Rotor Locking Ring“

Toliau nurodyti elementai supakuoti putplasčio pakuotės šonuose:

- USB ir RS-232 nuoseklusis kabelis
- Tarptautinių maitinimo kabelių rinkinys
- „PCR Tubes, 0.2 ml“ (1000)
- „Strip Tubes and Caps, 0.1 ml“ (1000)

Išėmę visus šiuos komponentus iš dėžės, nuimkite putplasčio pakavimo medžiagas nuo „Rotor-Gene Q MDx“ viršaus. Atsargiai išimkite „Rotor-Gene Q MDx“ iš dėžės ir išpakuokite iš plastikinės pakuotės. Atidarykite dangtį jį stumdami atgal, kad pasiektumėte reakcijos kamerą.


„Rotor-Gene Q MDx“ viduje jau įdiegtos šios dalys:

- „72-Well Rotor“ (mėlynas)
- „72-Well Rotor Locking Ring“

Pakuotėje taip pat gali būti nešiojamasis kompiuteris, atsižvelgiant į jūsų užsakytas prekes.

4.1.2 Aparatinės įrangos montavimas

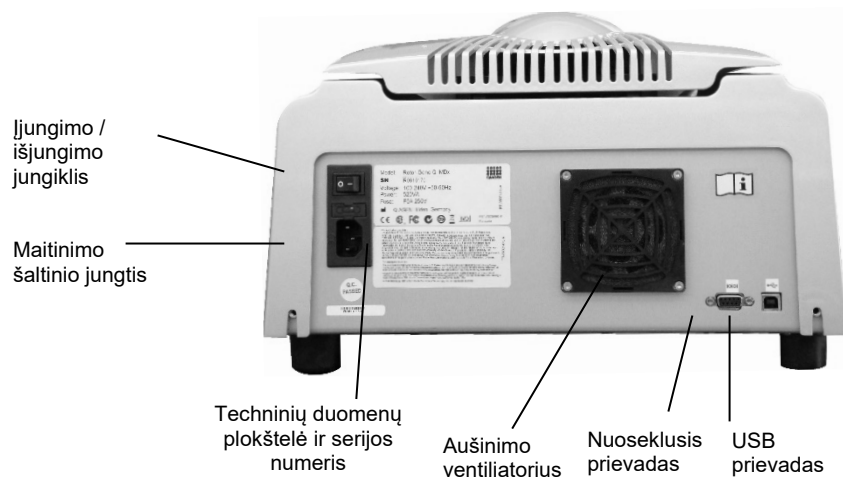
Išpakavę „Rotor-Gene Q MDx“, tęskite montavimą, kaip aprašyta toliau.

<p>DĖMESIO</p> 	<p>Pavojus sugadinti prietaisą</p> <p>Jeigu „Rotor-Gene Q MDx“ paleidžiamas iš karto po pristatymo esant žemai aplinkos temperatūrai, mechaninės dalys gali užsiblokuoti. Prieš įjungdami prietaisą, leiskite prietaisui prisitaikyti prie patalpos temperatūros mažiausiai 1 val.</p>
---	---

Atlikite toliau išvardytus veiksmus:

1. „Rotor-Gene Q MDx“ padėkite ant lygaus paviršiaus.
2. Įsitinkinkite, ar už prietaiso yra pakankamai laisvos vietos, kad būtų galima visiškai atidaryti dangtį.
3. Įsitinkinkite, ar galima lengvai pasiekti prietaiso gale esantį maitinimo jungiklį.
4. Neužblokuokite galinės prietaiso dalies. Įsitinkinkite, ar prireikus galima lengvai atjungti maitinimo laidą, norint nutraukti elektros energijos tiekimą į prietaisą.
5. Prijunkite pridėdamą USB kabelį arba RS-232 nuoseklųjį kabelį prie galinėje kompiuterio dalyje esančio USB arba ryšio prievado.
6. Prijunkite USB arba RS-232 nuoseklųjį kabelį prie galinės „Rotor-Gene Q MDx“ dalies.

7. Tuomet „Rotor-Gene Q MDx“ prijunkite prie maitinimo šaltinio. Viena kintamosios srovės laido pusė jungiama prie „Rotor-Gene Q MDx“ galinėje dalyje esančio lizdo, o kita pusė – prie kintamosios srovės lizdo.



Pastaba. „Rotor-Gene Q MDx“ jungkite prie kompiuterio naudodami tik su prietaisu pristatytus USB ir nuoseklius kabelius. Nenaudokite kitokių kabelių.

4.1.3 Programinės įrangos diegimas

1. Norėdami įdiegti „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą, atsisiųskite programinę įrangą iš **QIAGEN.com** ir perkelkite į kompiuterį, naudodami nuo virusų apsaugotą keičiamąją laikmeną, arba į kompiuterį įjunkite su prietaisu pristatytą programinės įrangos keičiamąją laikmeną.
2. Jeigu programinės įrangos diegimas prasideda automatiškai, rodomame lange pasirinkite parinktį **Install Operating Software** (programinės įrangos diegimas) arba eikite į keičiamosios laikmenos RGQ programinės įrangos aplanką.

Pastaba. Žr. prie prietaiso pridėtame „Rotor-Gene Q“ *montavimo vadove*, kaip lengvai sumontuoti prietaisą ir įdiegti programinę įrangą.

Rotor-Gene Q — Pure Detection

■ Install Operating Software

■ Exit

Sample & Assay Technologies

3. Kai programinė įranga įdiegiama, automatiškai sukuriama darbalaukio piktograma.
4. „Rotor-Gene Q MDx“ įjunkite galinėje kairėje dalyje esantį jungiklį nustatydami j padėtį „I“. Mėlyna budėjimo lemputė „Rotor-Gene Q MDx“ priekyje reiškia, kad prietaisas paruoštas naudoti.

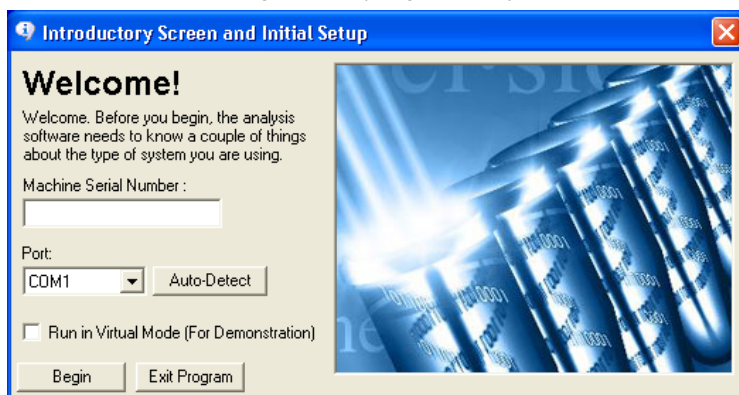
Pastaba. Jeigu prie kompiuterio prijungtas prietaisas paleidžiamas pirmą kartą, „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisą atpažįsta operacinė sistema ir rodoma daug įvairių pranešimų. Papildomos informacijos ieškokite kartu su prietaisu pateiktame „Rotor-Gene Q“ montavimo vadove (keičiamoji laikmena ir spausdintinė versija).



5. Du kartus spustelėkite darbalaukio piktogramą **Rotor-Gene Q Series Software** („Rotor-Gene Q“ serijos programinė įranga), kad paleistumėte programinę įrangą.



6. Pirmą kartą paleidus programinę įrangą, rodomas pasveikinimo langas **Welcome** (sveiki), kuris nerodomas vėlesniuose programinės įrangos atnaujinimuose.



„Machine Serial Number“ (prietaiso serijos numeris): įveskite serijos numerį (7 skaitmenys), nurodytą ant galinės „Rotor-Gene Q MDx“ dalies.

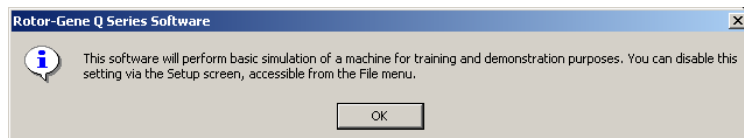
„Port“ (prievedas): pasirinkite USB arba nuoseklųjį kabelį. Pasirinkite atitinkamą ryšio prievadą arba spustelėkite mygtuką **Auto-Detect** (automatinis aptikimas).

„Auto-Detect“ (automatinis aptikimas) Pasirinkus šią parinktį, atitinkamas USB arba nuoseklusis prievadas aptinkamas automatiškai ir rodomas išskleidžiamajame sąraše **Port** (prievedas).

„Run in Virtual Mode (for demonstration)“ (paleisti virtualiuoju režimu) (demonstraciniais tikslais): pažymėjus šį žymimajį langelį, galima įdiegti „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą kompiuteryje, neprijungtame prie „Rotor-Gene Q MDx“. Programinė įranga yra visiškai funkcionuojanti ir gali simuliuoti tyrimo serijos vykdymą.

Pastaba. Jeigu šis žymimasis langelis pažymėtas, o „Rotor-Gene Q MDx“ prijungtas prie kompiuterio, prieš prasidedant tyrimo serijai rodomas šis pranešimas: **You are about to run in Virtual mode.** (Netrukus paleisite tyrimo seriją virtualiuoju režimu). To perform a real run, the setup must be changed in the **Setup** window (see Section 6.5.4). (Norėdami atlikti realią tyrimo seriją, lange **Setup** (nustatymai) pakeiskite nustatymą (žr. 6.5.4 skyrių).

Begin (pradėti): įvedę visą informaciją, spustelėkite **Begin** (pradėti). Palaukite, kol užbaigiamas kelias sekundes trunkantis inicijavimas. Jeigu pasirinkote virtualųjį režimą, rodomas šis pranešimas:

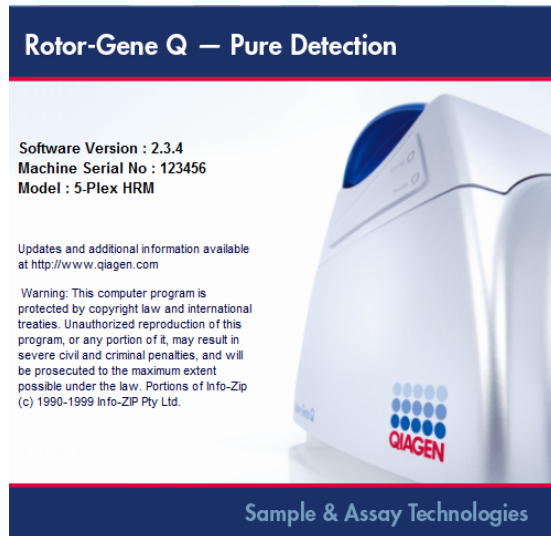


Jeigu žymimasis langelis **Run in Virtual Mode** (paleisti virtualiuoju režimu) nepažymėtas, programinė įranga inicijuojama ir atveriamas automatiškai.

Exit Program (baigti darbą su programa): spustelėjus šį mygtuką, užbaigiamas darbas su programa.

4.1.4 Programinės įrangos versija

Norėdami sužinoti savo versijos numerį, spustelėkite mygtuką **Help** (žinynas), o tada spustelėkite mygtuką **About This Software...** (apie šią programinę įrangą).



Šiame lange pateikiama bendroji informacija apie programinę įrangą, įskaitant programinės įrangos versiją ir prietaiso serijos numerį bei modelį.

Programinę įrangą galima laisvai kopijuoti ir naudoti organizacijoje, kuriai priklauso „Rotor-Gene Q MDx“. Programinės įrangos negalima kopijuoti ir platinti už tokios organizacijos ribų.

4.1.5 Papildoma programinė įranga kompiuteriuose, prijungtuose prie „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisų

„Rotor-Gene Q“ programinė įranga PGR vykdymo ir duomenų rinkimo metu valdo nuo laiko itin priklausančius procesus. Dėl šios priežasties svarbu užtikrinti, kad jokiems kitiems procesams nėra naudojami reikšmingi sistemos ištekliai ir jie nelėtina „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos veikimo. Ypač svarbu atkreipti dėmesį į toliau nurodytus aspektus.

Prieš atliekant sistemos modifikacijas, sistemos administratoriams rekomenduojama atsižvelgti į bet kokį poveikį, kurį jos gali daryti ištekliais.

Antivirusinė programinė įranga

QIAGEN žino, kokią grėsmę kelia kompiuterių virusai bet kokiam kompiuteriui, kuris keičiasi duomenimis su kitais kompiuteriais. Tikimasi, kad „Rotor-Gene AssayManager“ programinės įrangos 1.0 arba 2.1 versija bus įdiegiama aplinkoje, kurioje galioja vietos politika, kuria siekiama sumažinti tokią riziką. Tačiau QIAGEN rekomenduoja bet kuriuo atveju naudoti antivirusinę programinę įrangą.

Klientas yra atsakingas už tinkamos antivirusinės programos parinkimą ir įdiegimą. Tačiau QIAGEN patvirtino, kad „Rotor-Gene Q“ programinė įranga ir QIAGEN nešiojamasis kompiuteris yra tinkami naudoti su šia antivirusine programine įranga:

- „Microsoft Defender client version 4.18.2005.5“

Žr. produkto puslapį adresu QIAGEN.com, kuriame pateikiamos naujausios antivirusinės programinės įrangos versijos, patvirtintos kaip tinkamos naudoti su „Rotor-Gene Q“ programine įranga ir „Rotor-Gene AssayManager“ 1.0 arba 2.1 versija.

Jeigu pasirinkote antivirusinę programinę įrangą, įsitikinkite, ar ją galima konfigūruoti taip, kad duomenų bazės aplanko adreso būtų galima neįtraukti nuskaitant failus. Kitu atveju kyla jungimosi prie duomenų bazės klaidų pavojus. „Rotor-Gene AssayManager“ 1.0 ir 2.1 versijos naujus duomenų bazės archyvus kuria dinamiškai, todėl į failus būtina neįtraukti aplanko adreso, o ne atskirų failų. Nerekomenduojame naudoti antivirusinės programinės įrangos, kurioje galima neįtraukti tik vieno failo, pavyzdžiui, „McAfee Antivirus Plus V16.0.5“. Jeigu kompiuterį naudojate aplinkoje, kurioje nėra tinklo prieigos, užtikrinkite, kad antivirusinė programinė įranga palaika naujinimus neprisijungus prie tinklo.

Siekdami gauti nuoseklius rezultatus įdiegę antivirusinę programinę įrangą, sistemos administratoriai turi užtikrinti:

- Kaip paaiškinta pirmiau, „Rotor-Gene AssayManager“ 1.0 ir 2.1 versijos duomenų bazės aplanko adreso (**C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA**) reikia neįtraukti nuskaitant failus.
- Nevykdyti virusų duomenų bazės naujinimo, kai „Rotor-Gene AssayManager“ 1.0 arba 2.1 yra naudojamas.
- Įsitikinkite, ar vykstant „real-time PCR“ duomenų rinkimui, išjungtas viso standžiojo disko arba jo dalies skaitymas. Kitu atveju kyla neigiamo poveikio prietaiso veikimui pavojus.

Perskaitykite pasirinktos antivirusinės programinės įrangos naudotojo vadove pateikiamą informaciją apie konfigūraciją.

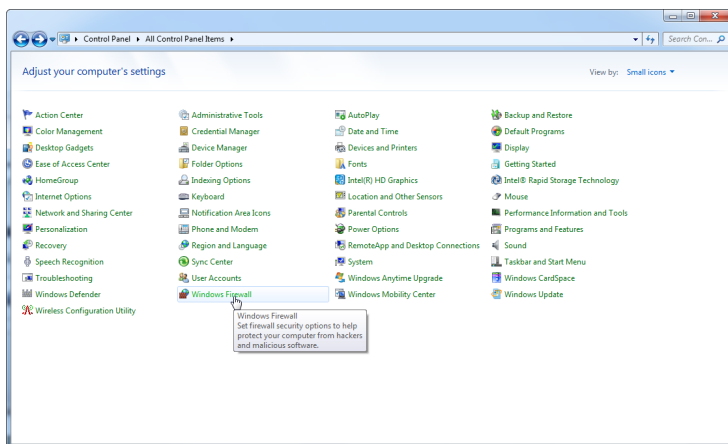
Užkarda ir tinklai

„Rotor-Genė Q“ programinė įranga gali veikti kompiuteriuose, kuriuose nėra tinklo prieigos, arba tinklo aplinkoje, jeigu naudojamas nuotolinės duomenų bazės serveris. Veikiant tinkle, QIAGEN pateiktame nešiojamajame kompiuteryje užkarda sukonfigūruota taip, kad įeinantis srautas būtų blokuojamas visuose prievaduose, išskyrus tuos, kurių reikia tinklo ryšiui sukurti.

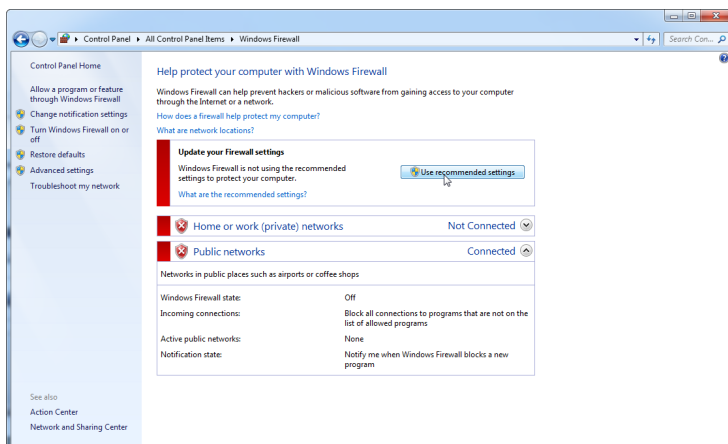
Atminkite, kad įeinančių ryšių blokavimas neturi įtakos atsakymams į naudotojo užklausas. Išeinantys ryšiai leidžiami, nes jų gali prireikti norint gauti naujinius.

Jeigu jūsų konfigūracija skiriasi, QIAGEN rekomenduoja sukonfigūruoti užkardą taip, kaip nurodyta pirmiau. Tam sistemos administratorius turi prisijungti ir atlikti toliau nurodytus veiksmus:

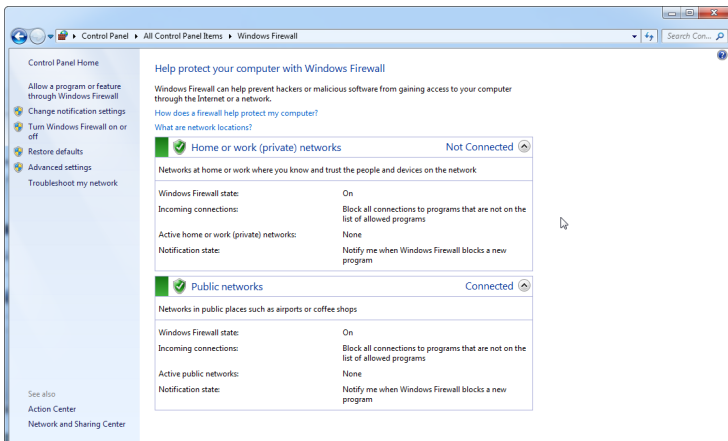
1. Atverkite **Control Panel** (valdymo skydelį) ir pasirinkite parinktį **Windows Firewall** („Windows“ užkarda).



2. Pasirinkite **Use recommended settings** (taikyti rekomenduojamus nustatymus).

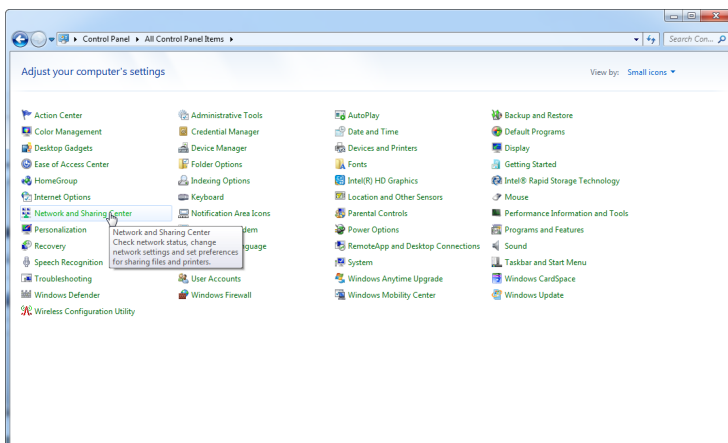


3. Patikrinkite, ar aktyvinti šie nustatymai:

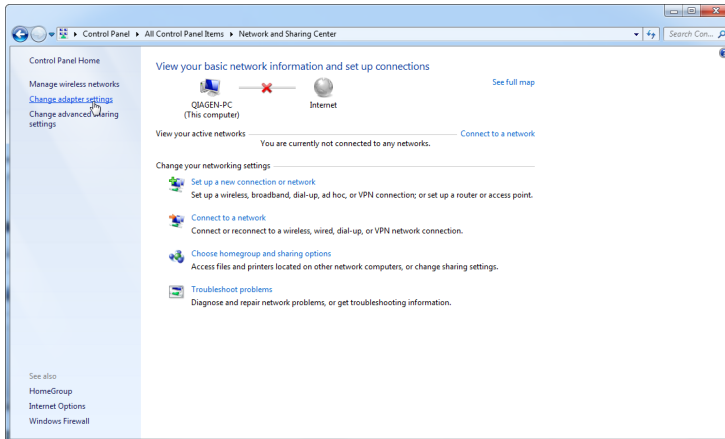


Saugumo ir patikimumo sumetimais vietoje Wi-Fi ryšio naudokite kabelinį internetą. QIAGEN pristatomuose kompiuteriuose Wi-Fi adapteris išjungtas. Jeigu jūsų konfigūracija kitokia, sistemos administratorius turi išjungti Wi-Fi adapterį rankiniu būdu, atlikdamas šiuos veiksmus:

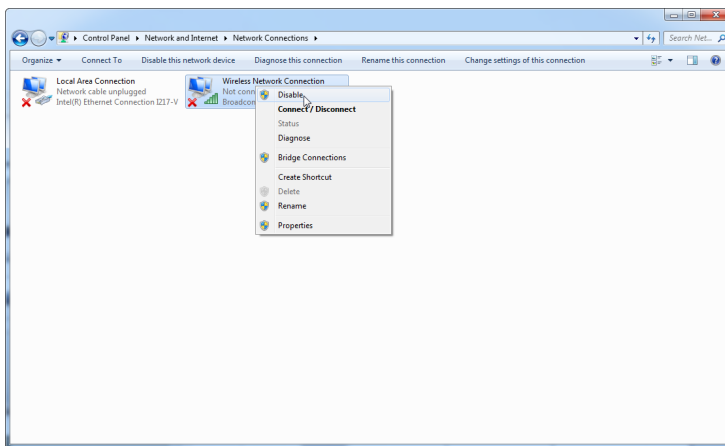
1. Atverkite **Control Panel** (valdymo skydelį) ir pasirinkite parinktį **Network and Sharing Center** (tinklas ir bendrinimo centras).



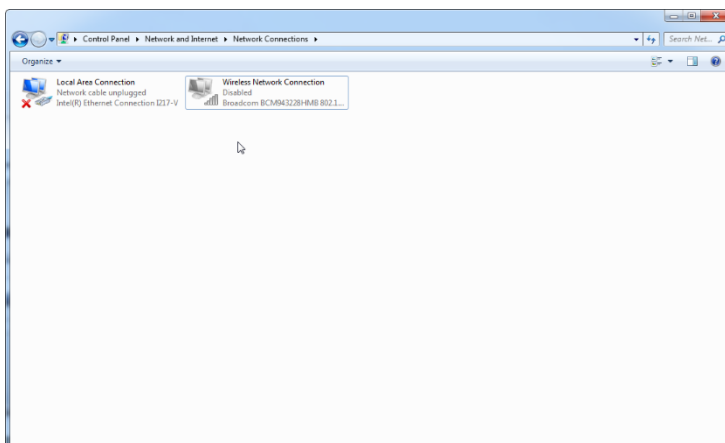
2. Pasirinkite **Change adapter settings** (keisti adapterio nustatymus).



3. Užveskite žymeklį virš parinkties **Wireless Network Connection** (belaidis tinklo ryšys), paspauskite dešinįjį pelės klavišą ir kontekstiniame meniu pasirinkite **Disable** (išjungti).



4. Patikrinkite, ar belaidis tinklo ryšys išjungtas.



Sistemos įrankiai

Daugelis sistemos įrankių gali naudoti reikšmingus sistemos išteklius naudotojui neatliekant jokių veiksmų. Tipiniai tokių įrankių pavyzdžiai:

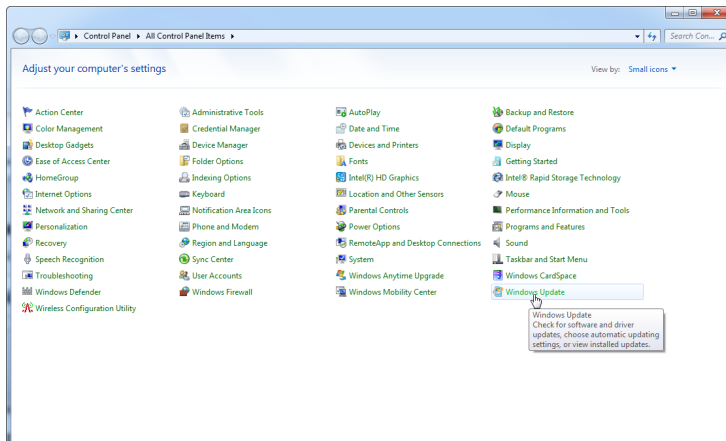
- Failų indeksavimas, atliekamas kaip fono užduotis daugelio šiuolaikinių „Office“ programų
- Disko defragmentavimas, kuris dažnai taip pat naudoja fono užduotį
- Visa programinė įranga, kuri ieško naujinių internete
- Nuotolinio stebėjimo ir valdymo įrankiai

Atminkite, kad dėl dinamiškos IT pasaulio prigimties šis sąrašas gali būti neišsamus ir gali būti išleidiama įrankių, apie kuriuos nežinoma rašant šį dokumentą. Svarbu, kad sistemos administratoriai užtikrintų, jog tokie įrankiai neveikia vykstant PGR tyrimo serijai.

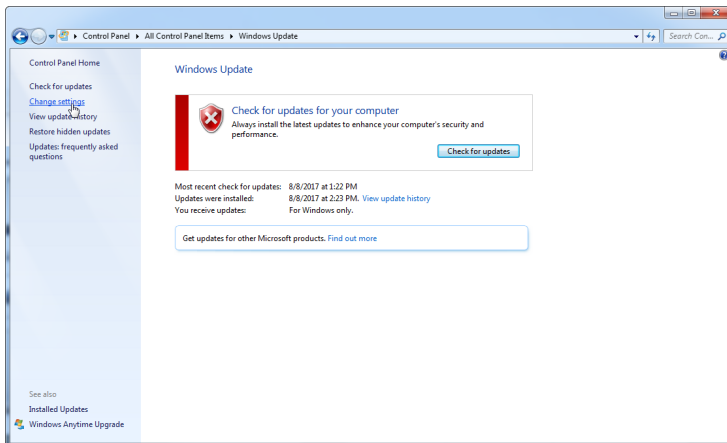
Operacinės sistemos naujiniai

QIAGEN pateikiami nešiojamieji kompiuteriai yra sukonfigūruoti taip, kad automatiniai operacinės sistemos naujiniai yra išjungti. Jeigu jūsų konfigūracija kitokia, sistemos administratorius turi išjungti visus operacinės sistemos automatinį naujinimų procesus, atlikdamas šiuos veiksmus:

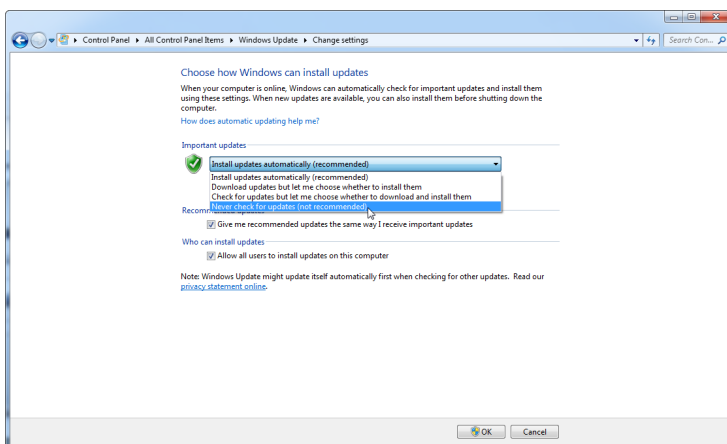
1. Atverkite **Control Panel** (valdymo skydelį) ir pasirinkite parinktį **Windows Update** („Windows“ naujinimas).



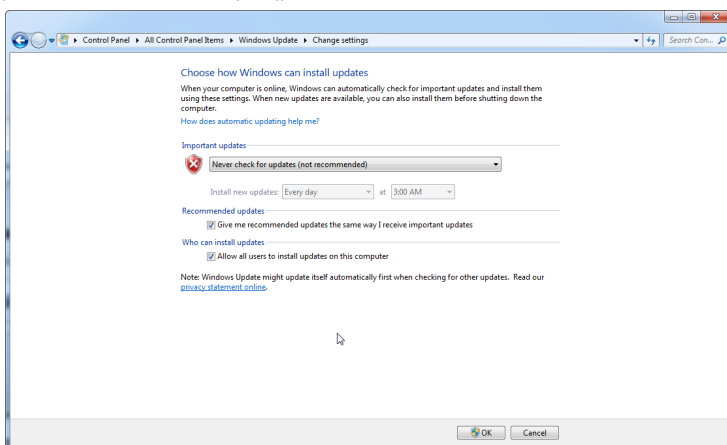
2. Pasirinkite **Change settings** (keisti nustatymus).



3. Pasirinkite **Never check for updates** (niekada nieiškoti naujinių).



4. Patikrinkite, ar aktyvi **Important updates** (svarbių naujinių) parinktis **Never check for updates** (niekada nieiškoti naujinių).



Jei naujinimai reikalingi dėl nepašalintų saugos problemų, QIAGEN pateikia priemones, leidžiančias įdiegti nustatytą „Windows“ patvirtintų saugos pataisų rinkinį prisijungus prie interneto (jei QIAGEN nešiojamajame kompiuteryje yra interneto ryšys) arba neprisijungus prie interneto pasiekiamą paketą, paruoštą atskirame kompiuteryje, kuriame veikia interneto ryšys.

Daugiau informacijos ieškokite produkto puslapyje **QIAGEN.com**.


4.2 Vietos reikalavimai


„Rotor-Gene Q MDx“ turi stovėti ten, kur nėra tiesioginių saulės spindulių, karščio šaltinių bei vibracijų ir elektros trukdžių šaltinių. Eksploatavimo sąlygos (temperatūra ir drėgmė) nurodytos A priede. Įrengimo vietoje neturėtų būti smarkaus skersvėjo, didelės drėgmės, dulkių ir didelių temperatūros svyravimų.

Žr. A priede pateikiamus „Rotor-Gene Q MDx“ prietaiso svorį ir matmenis. Pasirūpinkite, kad darbo stalas būtų sausas, švarus ir turėtų papildomos vietos priedams. Prireikus daugiau informacijos apie darbo stalo specifikacijas, susisiekite su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Pastaba. Itin svarbu, kad „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisas būtų padėtas ant stabilaus, lygaus ir nevibruojančio paviršiaus. Žr. A priede pateikiamas eksploatavimo sąlygas.

„Rotor-Gene Q MDx“ prietaisas turi būti padėtas maždaug 1,5 m atstumu nuo tinkamai įžeminto kintamosios srovės lizdo.

ĮSPĖJIMAS 	Sprogi aplinka „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisas nepritaikytas naudoti sprogioje aplinkoje.
---	---

ĮSPĖJIMAS 	Perkaitinimo pavojus Kad užtikrintumėte tinkamą ventiliavimą, „Rotor-Gene Q MDx“ prietaiso gale palikite mažiausiai 10 cm atstumą iki sienos. Negalima uždengti plyšių ir angų, per kurias vėdinamas „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisas.
---	--

4.3 Kintamosios srovės jungtis

4.3.1 Maitinimo reikalavimai

„Rotor-Gene Q MDx“ veikia esant šioms sąlygoms:

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

Įsitinkite, kad „Rotor-Gene Q MDx“ įtampa atitinka prietaiso montavimo vietoje esančią kintamosios srovės įtampą. Tinklo įtampos svyravimai negali viršyti 10 % nominalios maitinimo įtampos.

4.3.2 Įžeminimo reikalavimai

Siekiant apsaugoti eksploatuojančius darbuotojus, QIAGEN rekomenduoja „Rotor-Gene Q MDx“ tinkamai įžeminti. Instrumente yra 3 laidininkų kintamosios srovės laidas, kuris, prijungus prie atitinkamos kintamosios srovės lizdo, įžemina prietaisą. Norėdami užtikrinti apsaugą, nenaudokite prie neįžeminto kintamosios srovės lizdo prijungto prietaiso.

4.3.3 Kintamosios srovės maitinimo laido montavimas

Viena kintamosios srovės laido pusė jungiama prie „Rotor-Gene Q MDx“ gale esančio lizdo, o kita pusė – prie kintamosios srovės lizdo.

4.4 „Windows“ saugos konfigūracija

QIAGEN pateiktuose nešiojamuosiuose kompiuteriuose, skirtuose naudoti su „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisu, gali būti iš anksto įdiegta programa „Microsoft Windows 7“ arba „Windows 10“ ir sukonfigūruota standartinė (ne administratoriaus) „Windows“ naudotojo paskyra ir administratoriaus paskyra. Įprastai naudojant sistemą turi būti naudojama standartinė paskyra, nes „Rotor-Gene Q“ programinė įranga ir „Rotor-Gene AssayManager“ 1.0 arba 2.1 versija yra sukurti veikti be administratoriaus teisių. Administratoriaus paskyra (paskyra, kurios darbalaukio fonas yra raudonas) naudojama tik „Rotor-Gene Q“ arba „Rotor-Gene AssayManager“ 1.0 arba 2.1 versijos programinei įrangai ir Papildoma programinė įranga kompiuteriuose, prijungtuose prie „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisų diegti (žr. skyrių „Antivirusinė programinė įranga“). Jeigu naudojama administratoriaus paskyra, tai nurodo raudonas darbalaukio fonas. Naudodami įprastai, visuomet prisijunkite kaip standartinis naudotojas.

Q1a#g3n!A6 yra numatytasis administratoriaus paskyros slaptažodis. Prisijungę pirmą kartą, pakeiskite administratoriaus slaptažodį. Užtikrinkite, kad slaptažodis yra saugus ir nepraraskite jo. Operatoriaus paskyra veikia be slaptažodžio.

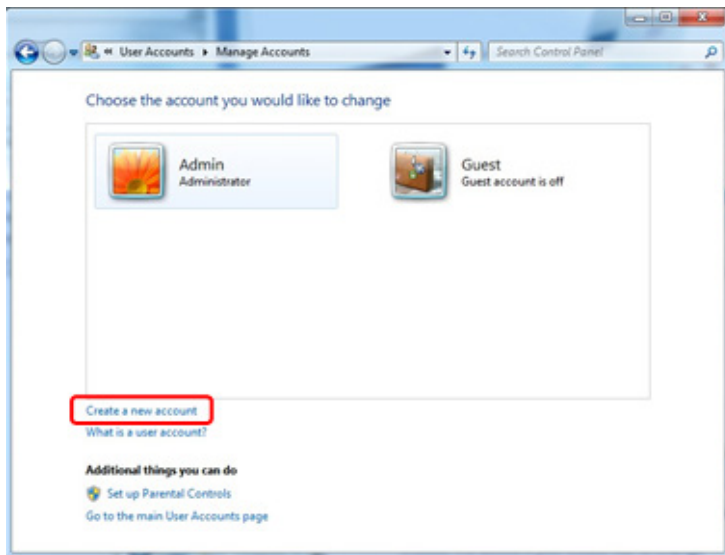
Jeigu prarandamas nešiojamojo kompiuterio administratoriaus slaptažodis, rekomenduojame kreiptis į „Microsoft“ pagalbos tarnybą.

Jei jūsų konfigūracija skiriasi ir nėra neadministracinės paskyros, sistemos administratoriai turi sukurti papildomą standartinę „Windows“ naudotojo paskyrą, kad būtų išvengta prieigos prie svarbių sistemos sričių, pavyzdžiui, programos failų, „Windows“ katalogo (pvz., prieigos prie diegimo ar pašalinimo funkcijų, įskaitant programas, operacinės sistemos komponentus, datos / laiko nustatymus, „Windows“ naujinimus, užkardą, naudotojo teises ir vaidmenis, antivirusinės programos aktyvinimą) arba su našumu susijusių nustatymų, pvz., energijos taupymo.

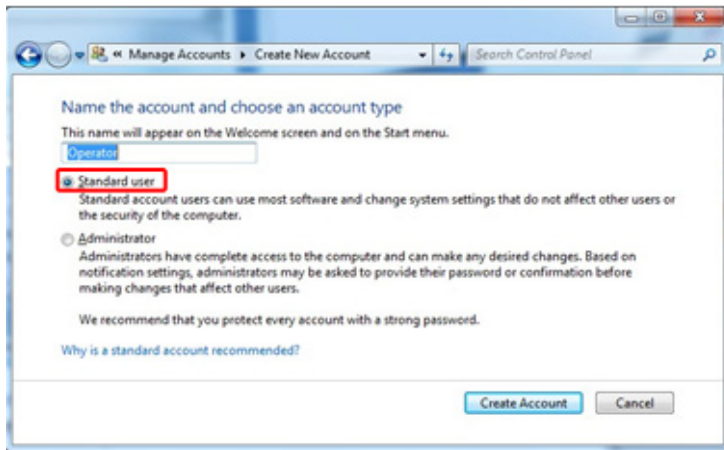
Norėdami „Windows 7“ sukurti standartinio naudotojo paskyrą, atlikite skyriuje „Naujos naudotojo paskyros kūrimas“ nurodytus veiksmus.

Naudodami **Start** (pradžios) meniu, atverkite „Windows“ valdymo skydelį ir pasirinkite **User Accounts** (naudotojų paskyros) > **Manage Accounts** (paskyrų tvarkymas).

1. Pasirinkite **Create a new account** (kurti naują paskyrą).



2. Sukurkite paskyros pavadinimą ir pasirinkite paskyros tipą **Standard User** (standartinis naudotojas).



3. Spustelėkite **Create Account** (kurti paskyrą).

4.5 Darbo stočiai taikomi reikalavimai

Pasirinktina su „Rotor-Gene Q MDx“ pateiktas nešiojamasis kompiuteris atitinka „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos reikalavimus, nurodytus lentelėje toliau.

Darbo stoties sistemai taikomi reikalavimai

Aprašas	Minimalus reikalavimas
Operacinė sistema	„Microsoft® Windows® 10 Professional Edition“ (64 bitų); „Microsoft Windows 7 Professional Edition“ (32 bitų arba 64 bitų)* (1 pataisų paketas)
Procesorius	„Intel® Core™ 2 Duo“ 1,66 GHz arba geresnis
Pagrindinė atmintis	Mažiausiai 1 GB RAM
Standžiojo disko talpa	Mažiausiai 10 GB HDD
Grafika	Adapteris ir mažiausiai 1 200 x 800 pikselių ekranas
Prievadai	RS-232 nuoseklusis prievadas arba USB prievadas
Manipulatorius	Būtinai jutiklinis kilimėlis, pelė arba jų atitinkmuo
„Bluetooth“	Turi būti išjungtas
PDF arba panaši žiūryklė	Turi būti įdiegta (nėra programinės įrangos diegimo pakete)
Maitinimo parinktys	Niekada neišjunkite standžiųjų diskų ir neįjunkite kompiuterio miego arba budėjimo režimo.

* Būtina „Microsoft Windows 10 Professional Edition“ arba „Windows 7 Professional Edition“, kad veiktų „Rotor-Gene Q“ programinė įranga su saugos funkcijomis (žr. 6.9 skyrių). Saugos funkcijos neveikia, jeigu naudojama „Windows 10 Home Edition“ arba „Windows 7 Home edition“.

† Jeigu naudojama „Rotor-Gene AssayManager®“ 1.0 arba 2.1 programinės įrangos versija, skiriasi šie minimalūs kompiuteriui taikomi reikalavimai: „Intel Core i3-380M“ procesorius, 4 GB RAM pagrindinė atmintis, 250 GB kietojo disko talpa, būtinas USB prievadas.

4.6 „Rotor-Gene Q MDx“ išpakavimas ir montavimas

„Rotor-Gene Q MDx“ pristatomas kartu su visais komponentais, būtiniais prietaisui sukongfigūruoti ir naudoti. Pakuotėje taip pat yra pateikiamų komponentų sąrašas.

Pastaba. Patikrinkite, ar pristatyti visi sąrašė nurodyti komponentai.

Pastaba. Prieš montavimą patikrinkite, ar prietaisas ir pristatyti priedai nepažeisti gabenant.

Papildomų priedų dėžutė yra ant putplasčio pakuotės. Papildomų priedų dėžutės turinys:

- Montavimo vadovas (anglų k., vadovai kitomis kalbomis pateikiami naudotojo vadovų keičiamoje laikmenoje)
- Keičiamoji laikmena (programinė įranga)
- Keičiamoji laikmena (naudotojo vadovai)
- „Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes“
- „Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes“
- „Rotor Holder“ (išrinktas, kad būtų užtikrinamas saugus gabenimas)
- „36-Well Rotor“ (raudonas)
- „36-Well Rotor Locking Ring“

Toliau nurodyti elementai supakuoti putplasčio pakuotės šonuose:

- USB ir RS-232 nuoseklusis kabelis
- Tarptautinių maitinimo kabelių rinkinys
- „PCR Tubes, 0.2 ml“ (1000)
- „Strip Tubes and Caps, 0.1 ml“ (1000)

Išėmę visus šiuos komponentus iš dėžės, nuimkite putplasčio pakavimo medžiagas nuo „Rotor-Gene Q MDx“ viršaus. Atsargiai išimkite „Rotor-Gene Q MDx“ iš dėžės ir išpakuokite iš plastikinės pakuotės. Atidarykite dangtį jį stumdami atgal, kad pasiektumėte reakcijos kamerą.

„Rotor-Gene Q MDx“ viduje jau įdiegtos šios dalys:

- „72-Well Rotor“ (mėlynas)
- „72-Well Rotor Locking Ring“

Pakuotėje taip pat gali būti nešiojamasis kompiuteris, atsižvelgiant į jūsų užsakytas prekes.

4.6.1 Programinės įrangos naujinimas

Programinės įrangos naujiniai pateikiami QIAGEN svetainėje adresu <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>, kuriuos taip pat galima pasiekti naudojant programinės įrangos **Help** (žinyno) meniu. Norint atsisiųsti programinę įrangą, reikia užsiregistruoti internetu.

4.7 Priedai

Rotoriaus diskus ir priedus, skirtus naudoti su „Rotor-Gene Q MDx“, galima užsisakyti atskirai. Išsamesnės informacijos ieškokite 16 skyriuje.

4.8 „Rotor-Gene Q MDx“ supakavimas iš naujo ir gabenimas

Norint pakartotinai supakuoti ir gabenti „Rotor-Gene Q MDx“, būtina naudoti originalias pakavimo medžiagas. Jei originalių pakavimo medžiagų naudoti negalima, kreipkitės į QIAGEN techninės pagalbos tarnybą. Įsitinkite, kad prietaisas tinkamai paruoštas (žr. Priežiūra) prieš pakavimą ir kad nekelia jokio biologinio arba cheminio pavojaus.


4.9 Nuo ko pradėti


4.9.1 „Rotor-Gene Q MDx“ ir darbo stoties įjungimas

Įsitinkite, ar „Rotor-Gene Q“ prijungtas prie nešiojamojo kompiuterio USB arba RS-232 laidu ir ar nešiojamasis kompiuteris ir „Rotor-Gene Q“ prijungti prie maitinimo šaltinio ir įjungti.

5 Darbo procedūros

Prieš pradėdant darbą rekomenduojame susipažinti su prietaiso savybėmis, nurodytomis 3 skyriuje.

<p>DĖMESIO</p> 	<p>Pavojus sugadinti prietaisą</p> <p>Su „Rotor-Gene Q MDx“ naudokite tik QIAGEN srauto kameras ir eksploatacinius reikmenis. Pažeidimams, sukeltiems naudojant kitas srauto kameras ar eksploatacinius reikmenis, garantija netaikoma.</p>
---	--

<p>DĖMESIO</p> 	<p>Medžiagų sugadinimo pavojus</p> <p>Nejudinkite darbastalio, kad nesukeltumėte „Rotor-Gene Q MDx“ vibracijų jam veikiant, kad nesutriktų jautrūs optiniai matavimai.</p>
---	---

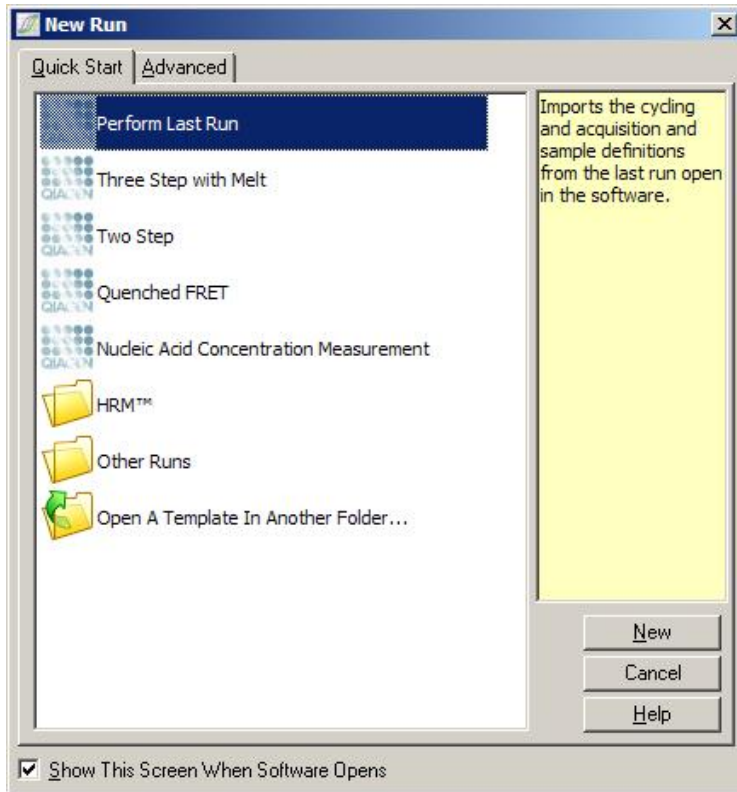
5.1 „Rotor-Gene Q MDx“ programinės įrangos naudojimas

Naujas tyrimo serijas galima nustatyti naudojant „Quick Start“ (greito pasirengimo) vedlį arba „Advanced“ (išplėstinį) vedlį, kurie rodomi paleidus programinę įrangą. „Quick Start“ (greito pasirengimo) vedlys skirtas kuo greičiau paleisti tyrimo seriją. „Advanced“ (išplėstiniam) vedlyje yra daugiau parinkčių, pavyzdžiui, gavimo optimizavimo konfigūravimas ir garsumo nustatymai. Kad būtų patogiau, kiekviename vedlyje yra keli šablonai su numatytais ciklo sąlygomis ir duomenų rinkimo kanalais. Norėdami pakeisti vedlio tipą, **New Run** (naujos tyrimo serijos) lango viršuje pasirinkite atitinkamą skirtuką.

5.1.1 Greito pasirengimo vedlys

Naudodamas „Quick Start“ (greito pasirengimo) vedlį, naudotojas gali kiek įmanoma greičiau paleisti tyrimo seriją. Naudotojas gali pasirinkti vieną iš paprastai naudojamų šablonų ir įvesti mažiausią reikiamą parametru kiekį, kad pradėtų tyrimą. „Quick Start“ (greito pasirengimo) vedlyje nustatyta, kad reakcijos tūris yra 25 µl. Jeigu norite nustatyti kitokį reakcijos tūrį, naudokite „Advanced“ (išplėstinį) vedlį (žr. 5.1.2 skyrių).

Pirma pasirinkite norimą tyrimo serijos šabloną, lange **New Run** (nauja tyrimo serija) du kartus spragtelėdami ant sąrašė pateikiamo šablono.



Perform Last Run (atlikti paskutinę tyrimo seriją):	pasirinkus Perform Last Run (atlikti paskutinę tyrimo seriją), naudojamos ciklų, duomenų rinkimo ir mėginių apibrėžtys, naudotos programinėje įrangoje per paskutinę tyrimo seriją.
Three Step with Melt (trys etapai ir lydymas):	tai trijų etapų ciklo profilis ir lydymosi kreivė bei duomenų rinkimas žaliame kanale.
Two Step (du etapai):	tai dviejų etapų ciklo profilis su duomenų rinkimu žaliame, geltoname, oranžiniame ir raudoname kanaluose.
Slopinamas FRET:	tai trijų etapų ciklo profilis ir lydymosi kreivė. Kitaip nei trijų etapų su lydymosi šablone, duomenų rinkimas vyksta prisijungimo etapo pabaigoje.
Nucleic Acid Concentration Measurement (nukleorūgšties koncentracijos matavimas):	tai numatytasis nukleorūgšties koncentracijos matavimo naudojant įsiterpiančius dažus šablonas.
HRM:	šiam aplanke yra didelės skiriamosios gebos lydymosi profiliai.
Other Runs (kitos tyrimo serijos):	šiam aplanke yra papildomų profilių.

Visų šablonų ciklų ir duomenų rinkimo profilius galima keisti naudojant vedlį.

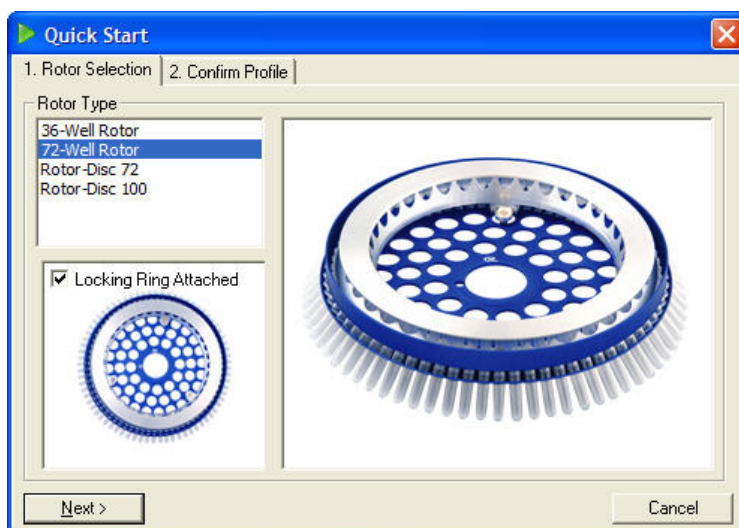
Pastaba. Naudotojo nustatytus šablonus galima pridėti prie greitojo pasirengimo vedlio šablonų sąrašo, nukopijavus arba įrašius *.ret failus į **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates**. Nukopijavus failą į šią vietą, šablonas bus rodomas sąrašo kaip piktograma. Norėdami sukurti pritaikytas savo šablonų piktogramas, sukurkite *.ico paveikslėlių, kurio failo pavadinimas sutaptų su šablono pavadinimu.

Galima sukurti susijusių šablonų grupių poaplankius. Tuomet šablonus galima tvarkyti, o tai patogu, jeigu, pavyzdžiui, tą patį prietaisą naudoja keli naudotojai.

Rotoriaus pasirinkimas

Kitame lange iš sąrašo pasirinkite rotoriaus tipą.

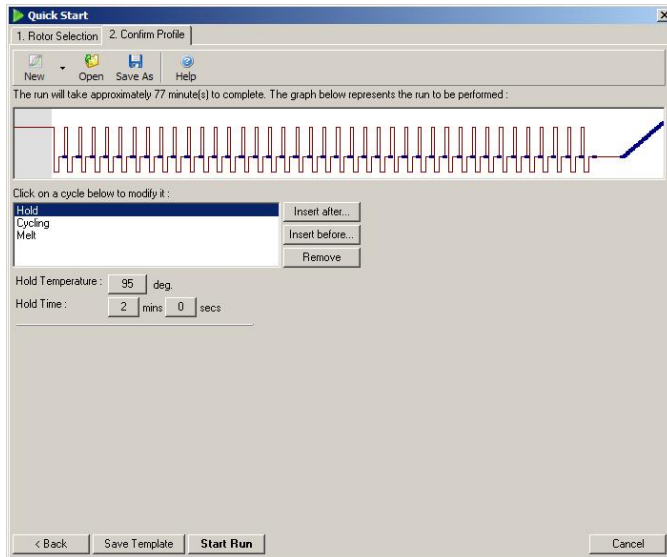
Pažymėkite žymimajį langelį **Locking Ring Attached** (fiksuojamasis žiedas uždėtas) ir spustelėkite **Next** (toliau).



Profilio patvirtinimas

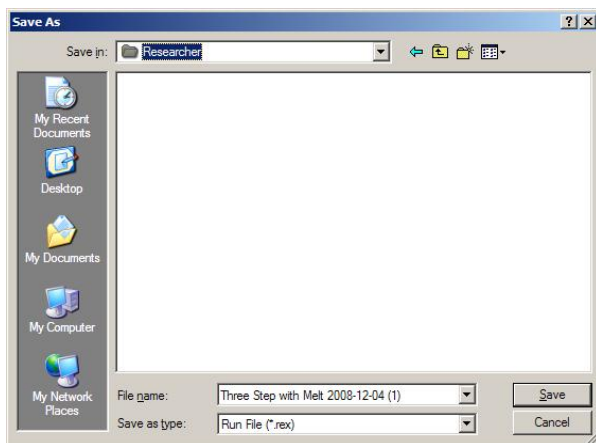
Importuojamos pasirinkto šablono ciklų sąlygos ir duomenų rinkimo kanalai. Juos galima keisti lange **Edit Profile** (redaguoti profilį) (žr. skyrių „Profilio redagavimas“).

Norėdami pradėti tyrimo seriją, spustelėkite mygtuką **Start Run** (paleisti yrimo seriją). Be to, prieš pradėdant tyrimo seriją, šabloną galima įrašyti spustelėjus mygtuką **Save Template** (įrašyti šabloną).



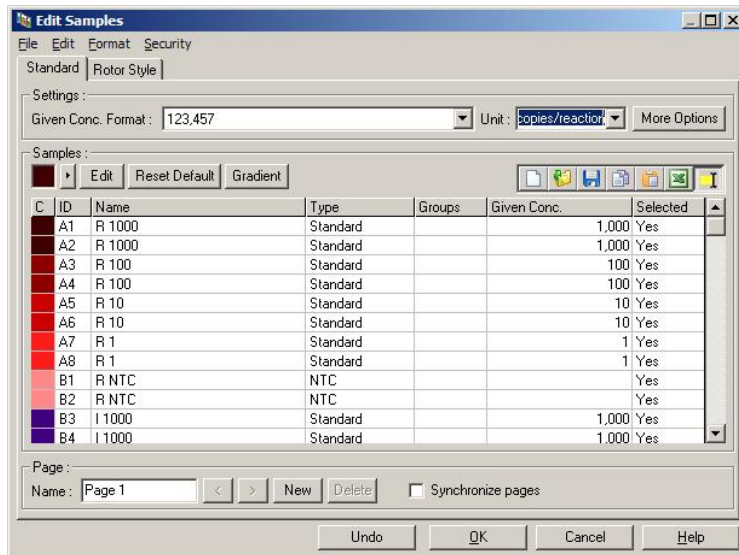
Tyrimo serijos įrašymas

Spustelėjus mygtuką **Start Run** (paleisti tyrimo seriją), rodomas langas **Save As** (įrašyti kaip). Tyrimo seriją galima įrašyti naudotojo pasirinktoje vietoje. Tyrimo serijos failo pavadinimas sudaromas iš naudojamo šablono pavadinimo ir tyrimo serijos datos. Prie failo pavadinimo taip pat pridodamas serijos numeris (1, 2, t. t.), kad būtų automatiškai suteikiami pavadinimai kelioms tą patį šabloną naudojančioms ir tą pačią dieną atliekamoms tyrimų serijoms.



Mėginio nustatymas

Kai prasideda tyrimo serija, lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius) galima apibrėžti ir aprašyti mėginius.

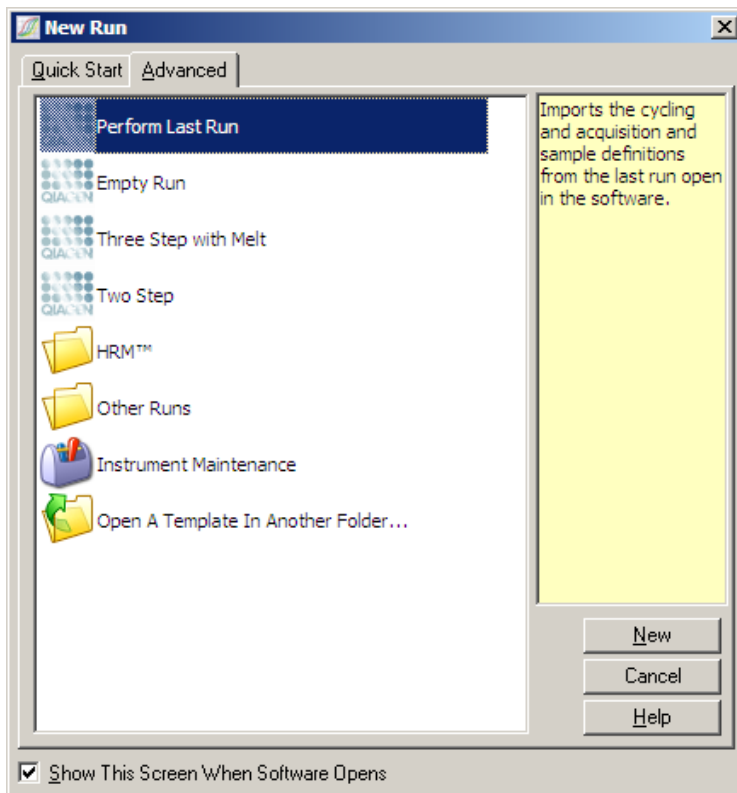


Langas **Edit Samples** (redaguoti mėginius) rodomas po to, kai prasideda tyrimo serija, kad naudotojas galėtų išnaudoti šį laiką mėginių pavadinimams įvesti. Jeigu vykstant tyrimo serijai mėginių pavadinimai įvedami labai greitai (pvz., naudojant brūkšnių kodų skaitytuvą), mėginių pavadinimų raidės gali būti sukeistos. Todėl rekomenduojama nenaudoti brūkšnių kodų skaitytuvo, o mėginių pavadinimus įvesti pasibaigus tyrimo serijai (jei taikoma). Daugiau informacijos apie mėginių apibrėžčių nustatymą lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius) ieškokite 6.8.4 skyriuje.

5.1.2 Išplėstinis vedlys

Išplėstiniame vedlyje veikia parinktys, kurių nėra greitojo parengimo vedlyje, pavyzdžiui, gavimo optimizavimo konfigūravimas.

Norėdami naudoti išplėstinį vedlį, pasirinkite šabloną lango **New Run** (nauja tyrimo serija) skirtuko **Advanced** (išplėstinis) sąrašė du kartus spragtelėdami šablono pavadinimą.



Šiame lange pateikiamos šablono parinktys panašios į greitojo pasirengimo vedlio parinktį (5.1.1 skyrius).

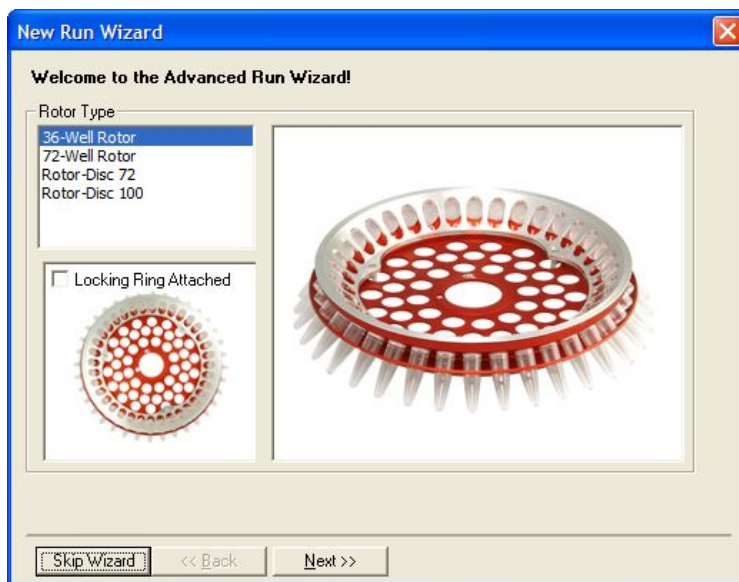
Perform Last Run (atlikti paskutinę tyrimo seriją):	pasirinkus Perform Last Run (atlikti paskutinę tyrimo seriją), importuojamos ciklų, duomenų rinkimo ir mėginių apibrėžtys, naudotos programinėje įrangoje per paskutinę tyrimo seriją.
Empty Run (tuščio tyrimo serija):	tai tuščio tyrimo serija, kad naudotojas galėtų nustatyti visus profilio parametrus.
Three Step with Melt (trys etapai ir lydymas):	tai dviejų etapų ciklo profilis ir duomenų rinkimas tik žaliame kanale, kad tyrimo serija vyktų greičiau.
HRM:	šiam aplanke yra 2 didelės skiriamosios gebos lydymosi profiliai.
Other Runs (kitos tyrimo serijos):	šiam aplanke yra papildomų profilių.
Instrument Maintenance (prietaiso priežiūra):	pateikiamas šablonas, naudojamas atliekant optinį temperatūros patikrinimą (OTV). Išsamesnės informacijos ieškokite 9 skyriuje. Šis šablonas užrakintas, kad profilis visada veiktų tinkamai.

Pastaba. Naudotojo nustatytus šablonus galima pridėti prie šablonų sąrašo, nukopijavus arba įrašius *.ret failus į **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates**. Nukopijavus failą į šią vietą, šablonas bus rodomas sąrašė kaip piktograma.

Naujos tyrimo serijos vedlio 1 langas

Kitame lange iš sąrašo pasirinkite rotoriaus tipą.

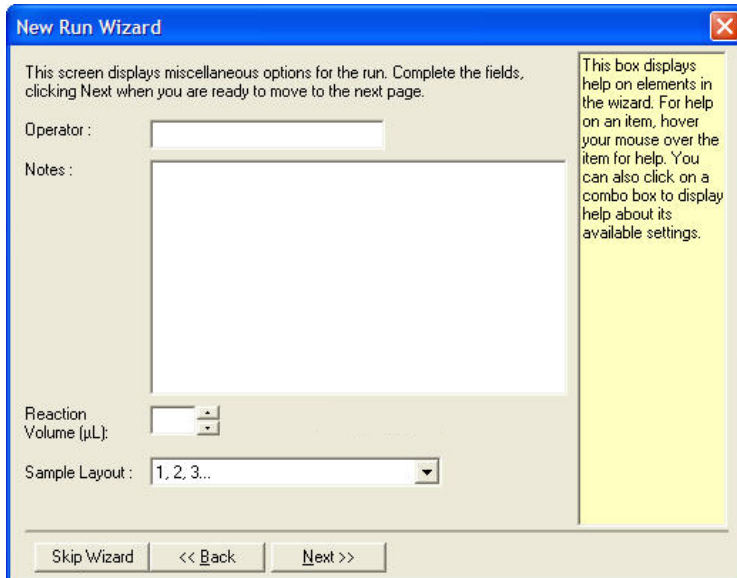
Pažymėkite žymimąjį langelį **Locking Ring Attached** (fiksuojamasis žiedas uždėtas) ir spustelėkite **Next** (toliau).



Naujos tyrimo serijos vedlio 2 langas

Kitame lange galima įvesti naudotojo vardą ir tyrimo serijos pastabas. Taip pat reikia įvesti reakcijos tūrį.

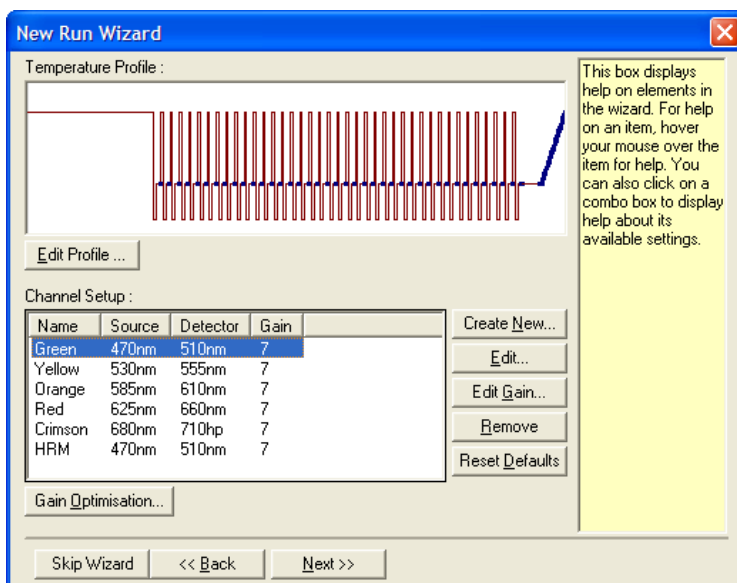
Jeigu 1 lange pasirinkote „72-Well Rotor“ (72 šulinėlių rotorių), išskleidžiamajame meniu rodomos trys **Sample Layout** (mėginių išdėstymo) parinktys. Numatytoji parinktis yra „**1, 2, 3...**“. Dauguma naudotojų renkasi šią parinktį. Rinkitės parinktį „**1A, 1B, 1C...**“, kai mėginiai dedami į gretimas 0,1 ml mėgintuvėlių juosteles, naudojant 8 kanalų pipetę. Jei tinkama, galima rinktis „**A1, A2, A3...**“ išdėstymą.



Naujos tyrimo serijos vedlio 3 langas

Šiame lange galima keisti **Temperature Profile** (temperatūros profilį) ir **Channel Setup** (kanalų konfigūraciją). Spustelėjus mygtuką **Edit Profile...** (redaguoti profilį), įsijungia langas **Edit Profile** (redaguoti profilį), kuriame galima keisti ciklo sąlygas ir rinktis duomenų rinkimo kanalus (skyrius „Profilio redagavimas“).

Nustatę profilį, spustelėkite mygtuką **Gain Optimisation...** (gavimo optimizavimas), kad įsijungtų langas **Gain Optimisation** (gavimo optimizavimas) (žr. 61 psl).



Profilio redagavimas

Lange **Edit Profile** (redaguoti profilį) galima nustatyti ciklo sąlygas ir duomenų rinkimo kanalus. Rodomas pradinis profilis paremtas šablonu, pasirinktu nustatant tyrimo seriją (žr. 45 psl.). Profilis pateikiamas grafiniu būdu. Profilio segmentų sąrašas pateikiamas po grafiku. Šiame sąraše galimos parinktys yra „Hold“ (sulaikymas) (53 psl.), „Cycling“ (ciklas) (54 psl.), „Melt“ (lydymas) (54 psl.) arba HRM, jeigu prietaise yra HRM kanalas (57 psl.).

Kiekvieną profilio etapą galima redaguoti, spragtelėjus atitinkamą grafiko sritį arba sąrašė pateikiamą pavadinimą, o tada pakeitus rodomus nustatymus.

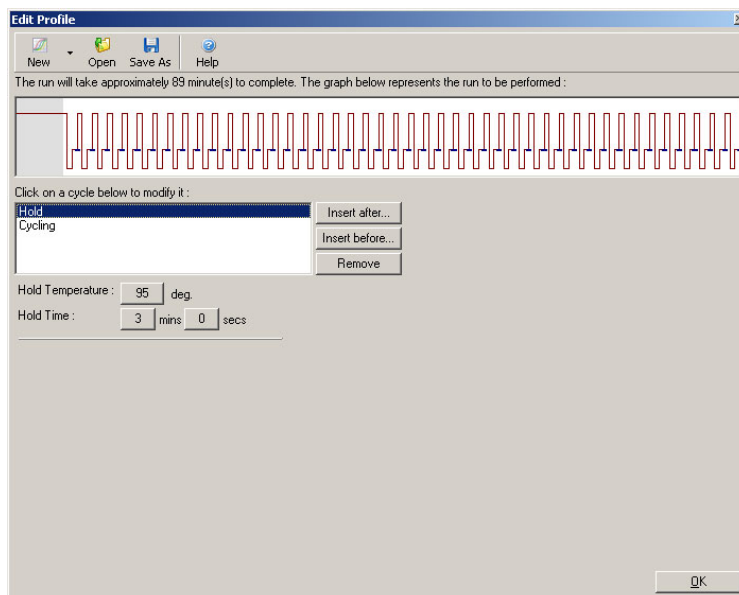
„Insert after...“ (įterpti po): galima naują ciklą įterpti po pasirinkto ciklo.

„Insert before...“ (įterpti prieš): galima naują ciklą įterpti prieš pasirinktą ciklą.

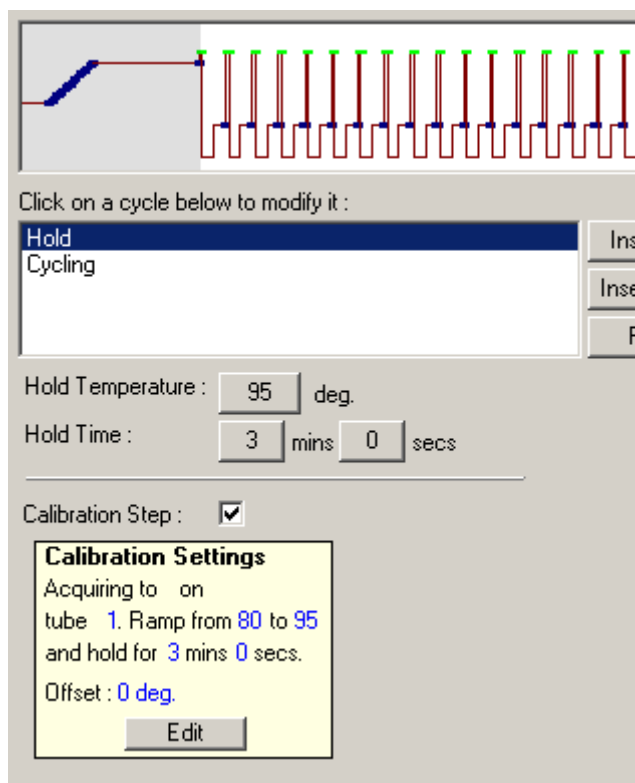
„Remove“ (pašalinti): pasirinktas ciklas pašalinamas iš profilio.

Sulaikymas

Pasirinkus sulaikymo funkciją, „Rotor-Gene Q MDx“ palaiko nustatytą temperatūrą nurodytą laiką. Norėdami pakeisti temperatūrą, spustelėkite mygtuką **Hold Temperature** (sulaikymo temperatūra) ir įveskite arba slankiaja juosta pasirinkite norimą temperatūrą. Norėdami pakeisti sulaikymo trukmę, spauskite **Hold Time** (sulaikymo trukmės) mygtukus **mins** (minutės) ir **secs** (sekundės).



Jeigu atliekamas optinės denatūracijos ciklas, sulaikymas gali būti naudojamas kaip kalibravimo etapas. Tokiu atveju kalibravimo lydimas atliekamas prieš sulaikymą. Pagal numatytuosius nustatymus ši parinktis sukonfigūruota ir taikoma pirmajam tyrimo serijos sulaikymui, tačiau prireikus šį nustatymą galima pakeisti.



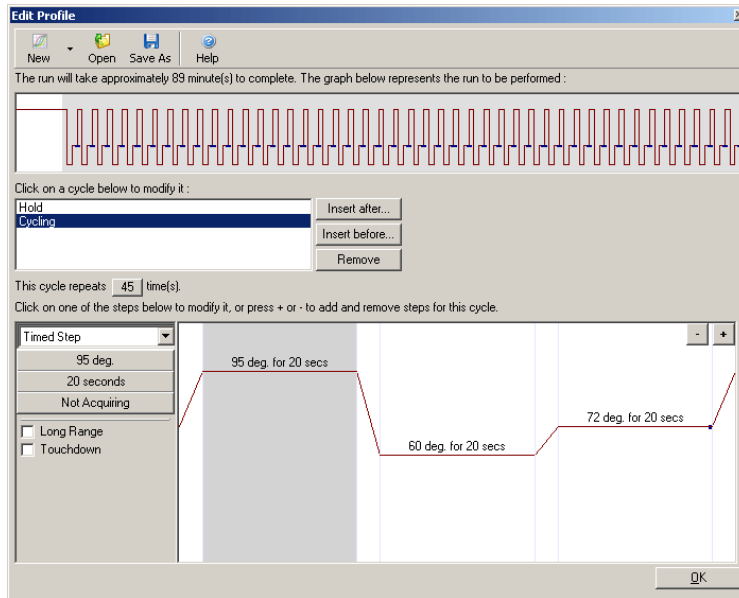
Daugiau informacijos apie optinės denatūracijos ciklą pateikiama 57 psl.

Ciklai

Ciklo metu nustatytą kartų skaičių taikoma naudotojo nustatyta temperatūra ir laiko intervalai. Pakartojimų skaičius nustatomas spustelėjus mygtuką **This cycle repeats X time(s)**. (šis ciklas kartojamas X kartą (-us)).

Vienas ciklas atvaizduojamas grafiškai (kaip parodyta ekrano kopijoje toliau). Galima keisti visus ciklo etapus. Temperatūrą galima keisti tempiant temperatūros liniją grafike aukštyn arba žemyn. Etapo trukmę galima keisti tempiant temperatūros ribą grafike kairėn arba dešinėn. Arba spustelėkite etapą ir spauskite temperatūros ir trukmės mygtukus grafiko kairėje.

Etapus galima pridėti prie ciklo arba pašalinti, spaudžiant „-“ ir „+“ mygtukus viršutinėje dešinėje grafiko dalyje.



Long Range (ilgas intervalas): pažymėjus šį žymimąjį langelį, pasirinkto etapo sulaikymo trukmė per kiekvieną naują ciklą pailgėja 1 s.

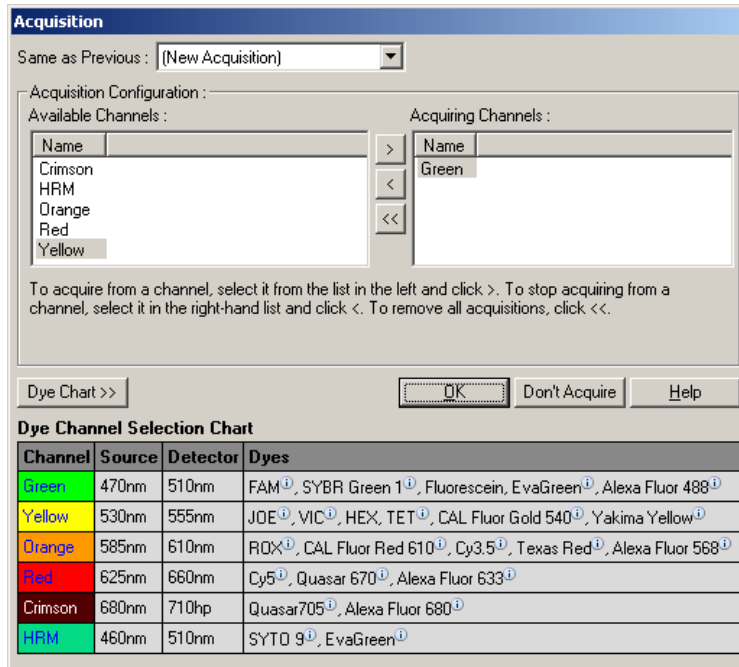
Touchdown (nuleidimas): pažymėjus šį žymimąjį langelį, temperatūra mažinama nurodytu laipsnių skaičiumi per nurodytą pradinį ciklų skaičių. Tuomet tai parodoma ekrane.




Duomenų rinkimas

Duomenis galima rinkti bet kuriame kanale per bet kurį ciklo etapą. Norėdami nustatyti, kad kanale būtų renkami duomenys, spustelėkite mygtuką **Not Acquiring** (nerenkama) (jeigu jau nustatyta, kad kanalas šiame etape rinktų duomenis, tuomet čia pateikiamas duomenių renkančių kanalų sąrašas).



Spustelėjus mygtuką **Not Acquiring** (nerenkama), rodomas langas **Acquisition** (duomenų rinkimas).



Norėdami nustatyti, kad kanale būtų renkami duomenys, pasirinkite kanalą ir mygtuką  perkelkite jį iš sąrašo „Available Channels“ (galimi kanalai) į sąrašą „Acquiring Channels“ (renkantys kanalai). Norėdami pašalinti pasirinktą kanalą iš sąrašo „Acquiring Channels“ (renkantys kanalai), spustelėkite mygtuką . Spustelėjus mygtuką , iš sąrašo „Acquiring Channels“ (renkantys kanalai) pašalinami visi kanalai. Spustelėjus mygtuką **Don't Acquire** (nerinkti) taip pat iš etapo pašalinami visi duomenų rinkimai.

Jeigu į profilį įtraukiama daugiau nei viena ciklo seka, surinkti duomenys gali būti pridėdami prie duomenų, gautų per ankstesnį ciklą. Išskleidžiamajame meniu **Same as Previous** (toks pat, kaip ankstesnis) pasirinkite ciklo etapą, prie kurio norite pridėti duomenis.

Naudojant dažų kanalo pasirinkimo diagramą, naudotojui lengviau pasirinkti, kuris kanalas tinkamesnis dažams, kuriuos norima naudoti. Lentelėje pateikiami įprastai naudojami dažai, bet nenurodomos prietaiso ribinės reikšmės.

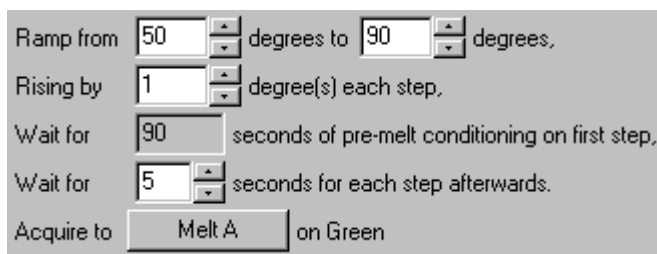
Pirmiau aprašytos duomenų rinkimo parinktys taip pat taikomos „Melt“ (lydymo) etapams, išskyrus tai, kad negalima pridėti duomenų rinkimo duomenų, naudojant meniu **Same as Previous** (toks pat, kaip ankstesnis).

Lydimas ir hibridizacija

Lydimas yra perėjimas tarp 2 temperatūros reikšmių – nuo mažesnės prie didesnės temperatūros. Leistinas temperatūros intervalas yra 35–99 °C.

Norėdami nustatyti „Melt“ (lydymą), nustatykite pradinę temperatūrą, galutinę temperatūrą, temperatūros padidėjimą, pirmojo duomenų rinkimo temperatūros sulaikymo trukmę prieš prasidedant didėjimui, kiekvieno padidėjimo sulaikymo trukmę ir duomenų rinkimo kanalus.

Padidėjimas vyksta tarp 2 temperatūros reikšmių. Jeigu pradinė temperatūra didesnė už galutinę temperatūrą, etapo pavadinimas pakeičiamas į **Hybridisation** (hibridizacija). Parinktį **Acquiring To** (renkama į), kurios nustatymas yra „Melt A“ (A lydymas), kaip parodyta ekrano kopijoje toliau, galima pakeisti spustelėjus mygtuką. Rodomas langas **Acquisition** (duomenų rinkimas), kuriame galima pasirinkti kanalus.



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

Kai atliekamas standartinis lydymas, temperatūra didinama po 1 °C, palaukiant po 5 s prieš kiekvieną duomenų rinkimą. „Rotor-Gene Q MDx“ galima sukonfigūruoti, kad lydymas vyktų po padidėjimo 0,02 °C. Minimali sulaikymo trukmė tarp temperatūros etapų skiriasi, atsižvelgiant į laipsnių skaičių tarp etapų.

Didelės skiriamosios gebos lydimasis

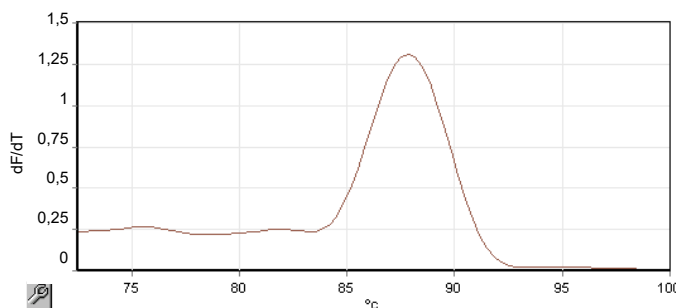
Didelės skiriamosios gebos lydimasis (High Resolution Melt, HRM) analizė apibūdina dvigubos grandinės DNR mėginius pagal jų disociaciją (lydymąsi). Tai panašu į klasikinės lydimosios kreivės analizę, tačiau suteikia gerokai daugiau informacijos, kurią galima daug plačiau pritaikyti. Mėginius galima skirstyti pagal seką, ilgį, GC kiekį arba grandinės komplementarumą iki vienos bazių poros skirtumų.

HRM analizę galima atlikti tik prietaisais, kuriuose įdiegta HRM aparatinė įranga ir programinė įranga. Duomenys renkami naudojant specialius HRM šaltinius ir detektorius. HRM analizė taip pat apima galimybę atlikti gavimo optimizavimą prieš pat prasidedant lydymuisi. Atlikus HRM, duomenis galima analizuoti naudojant HRM analizės programinę įrangą (10 skyrius).

Optinės denatūracijos ciklas

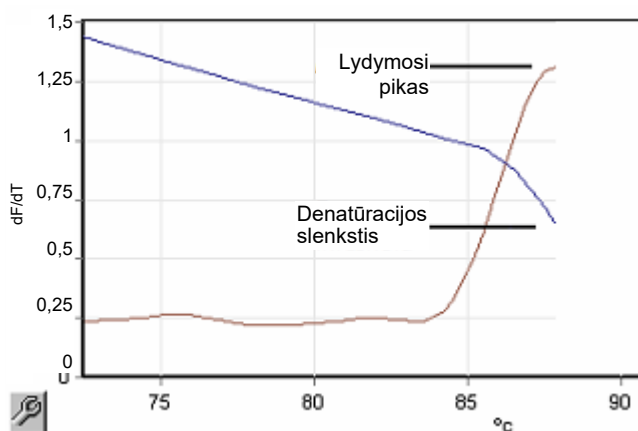
Optinės denatūracijos ciklas yra sužadinimo metodas, veikiantis „Rotor-Gene Q MDx“ prietaise, kurio metu atliekama tikralaikė lydimosios analizė, norint nustatyti etaloninio mėginio lydimosios piką. Tai parodo PGR produkto denatūraciją tiksliau, nei nustačius konkrečią sulaikymo trukmės denatūracijos temperatūrą. Norėdami taikyti šį metodą, tiesiog įdėkite PGR produkto etaloninį mėgintuvėlį į 1 rotoriaus mėgintuvėlio vietą. Etaloniniame mėgintuvėlyje taip pat turi būti aptinkamos cheminės medžiagos, kuri leidžia aptikti grandinių atsiskyrimą.

Pagal numatytuosius nustatymus, pakaitinus iki pradinės denatūracijos temperatūros, lydymasis vyksta žaliajame kanale esant nuo 80 °C iki 95 °C temperatūrai. Šio pradinio lydymosi parametrus gali reguliuoti naudotojas. Remiantis šiais duomenimis sudaroma ir automatiškai analizuojama lydymosi kreivė.



Lydymosi pikas susiejamas su neapdorotais duomenimis, siekiant nustatyti denatūracijos slenkstį. Tuomet per kiekvieną optinės denatūracijos ciklo etapą prietaisas kaitinamas kuo greičiau, o duomenys renkami nenutrūkstamai. Kai etaloninis mėgintuvėlis pasiekia denatūracijos slenksčio fluorescencijos lygį, prietaisas staiga atvėsinamas ir pereinama prie kito užprogramuoto ciklo etapo. Pikas neskaičiuojamas, kol vyksta ciklas. Vietoje to fluorescencijos lygis susiejamas su lydymosi piku ir pagal tai nustatomas denatūracijos slenkstis.

Toliau pateikiamame grafike neapdoroti fluorescencijos rodmenys ir pirmoji išvestinė persidengia. Tai reiškia, kad kalibruojant gautas denatūracijos slenkstis atitinka lydymosi piką.



Norėdami atlikti optinės denatūracijos ciklą, turėsite:

- Iš anksto amplifikuotą PGR produktą įdėti į 1 rotoriaus vietą. Šiame mėginyje turi būti to paties PGR produkto, kaip ir tiriamuose mėginiuose, bei aptinkamos cheminės medžiagos, kad būtų galima stebėti PGR produkto disociaciją.
- Turėti optinės denatūracijos profilį. Galima sukurti naują profilį arba galima redaguoti esamą profilį (žr. toliau pateikiamą informaciją).

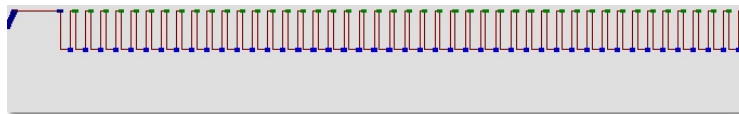
Optinės denatūracijos ciklas beveik identiškas kitiems ciklams. Pagrindiniai skirtumai yra lydymosi etapas, automatiškai įterpiamas profilio pradžioje, ir ryškus ciklo denatūracijos etapo profilis. Nereikia nustatyti optinės denatūracijos ciklo sulaikymo trukmės, nes produkto disociacija stebima per kiekvieną ciklą.

Norėdami taikyti šį metodą, nurodykite šią tyrimo serijos informaciją:


- Pradinę denatūracijos temperatūrą. Ji sutampa su standartinio ciklo profilio denatūracijos etapo temperatūra.
- PGR mėginio mėgintuvėlio vietą, kurio lydymosi kreivė bus gaunama žaliame kanale.
- Būtina nustatyti optinės denatūracijos ciklo profilį.

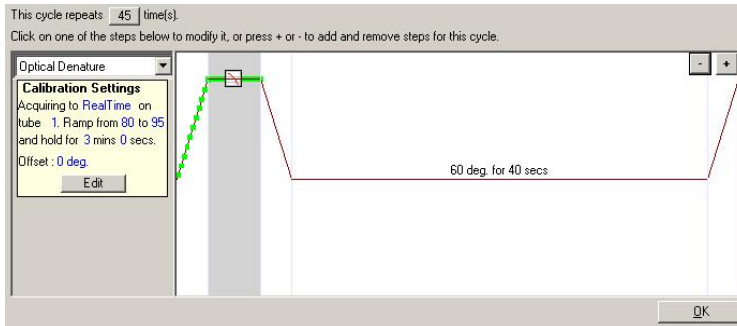
Sukurkite naują optinės denatūracijos ciklą, kaip nurodyta toliau.

1. Atverkite langą **Edit Profile** (redaguoti profilį). Spustelėkite parinktį **New** (naujas). Atvertame lange spustelėkite mygtuką **Insert after** (įterpti po) ir meniu pasirinkite parinktį **New Cycling** (naujas ciklas). Spragtelėkite ant grafiko, kad pasirinktumėte vieną iš temperatūros etapų. Išskleidžiamajame meniu pakeiskite iš **Timed Step** (nustatytos trukmės etapas) į **Optical Denature** (optinė denatūracija). Rodomas numatytasis profilis, kuriame yra denatūracijos etapas ir optinės denatūracijos ciklo etapas.

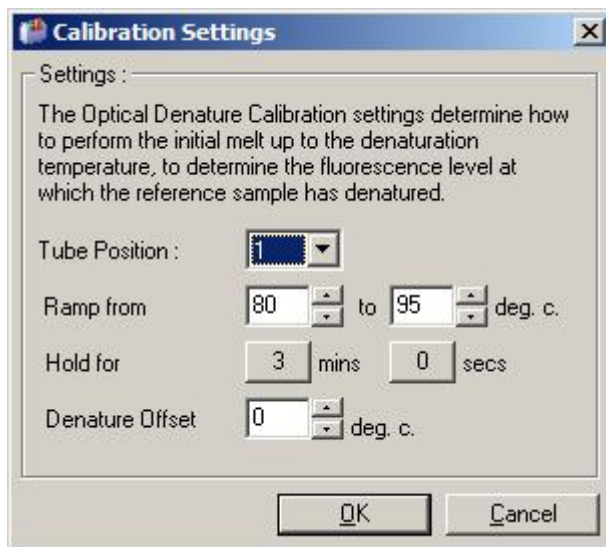


Temperatūros didėjimo sritis tyrimo serijos pradžioje žymi kalibravimo procesą. Žali taškai žymi duomenų rinkimą per kiekvieną ciklą vykstant kaitinimui. Mėlyni taškai žymi duomenų rinkimą prisijungimo etapo pabaigoje, esant 60 °C temperatūrai. Atminkite, kad nors profilyje matyti, kad kiekvieno etapo denatūracijos temperatūra yra vienoda, gali būti, kad taip nėra. Jeigu tyrimo serijos pabaigoje prireikia daugiau laiko, kad mėginys išsilydytų, optinės denatūracijos procesas vyksta tol, kol mėginys išsilydo remiantis fluorescencijos duomenimis, o ne nustatytu laiku. Dėl šios priežasties gali skirtis kiekvieno ciklo temperatūros pėdsakas.

2. Spustelėkite ant pirmos grafiko dalies, pažymėtos optinės denatūracijos simboliu . Ekranu kairėje rodoma **Calibration Settings** (kalibravimo nustatymų) informacija.

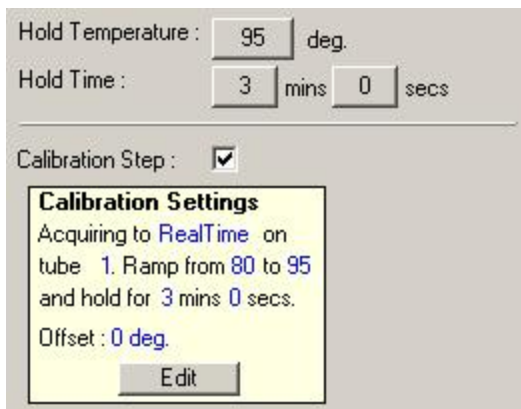


3. Paprastai kalibravimo nustatymų informacija yra taisyklinga. Norėdami keisti, jeigu reikia, spustelėkite **Edit** (redaguoti). Rodomas langas **Calibration Settings** (kalibravimo nustatymai).



4. Įsitinkite, ar:
- **Tube Position** (mėgintuvėlio vietoje) esančiame mėgintuvėlyje yra PGR produkto, kurio lydymosi pikas bus rodomas žaliame kanale.
 - Galutinė padidėjusi temperatūra nesudegins mėginio, tačiau bus pakankama, kad jis išsilydytų.
 - Sulaukymo trukmė yra pakankama, kad įvyktų mėginio denatūracija.
 - Tinkamai nustatytas denatūracijos poslinkis. Daugeliu lydymo atvejų numatytoji 0 °C reikšmė yra tinkama. Jeigu lydymosi metu vyksta itin ryškūs perėjimas, naudotojui savo nuožiūra gali reikėti nustatyti denatūracijos poslinkį nuo -0,5 °C iki -2 °C, kad būtų aptinkamas lydymosi perėjimas.

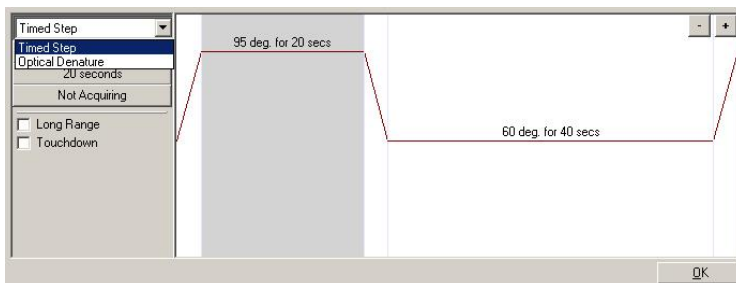
Taip pat denatūracijos etapą galima nustatyti įvedant naują sulaikymo etapą. Spustelėkite **Insert before** (įterpti prieš) ir meniu pasirinkite **New Hold at Temperature** (naujas sulaikymas esant temperatūrai). Rodomi kalibravimo nustatymai.




Kalibravimo nustatymai suvienodinami su denatūracijos nustatymais, todėl pasikeitus denatūracijos etapo sulaikymo trukmei, automatiškai atnaujinama kalibravimo sulaikymo trukmė. Taip yra dėl to, kad optinės denatūracijos ciklo kalibravimo procesas ir denatūracija yra ekvivalentiški.

Esamo etapo keitimas, norint naudoti optinės denatūracijos ciklą

Norėdami pakeisti esamą ciklą sekos denatūracijos etapą, pasirinkite ciklą iš sąrašo lange **Edit Profile** (redaguoti profilį). Tuomet pasirinkite denatūracijos etapą, spragtelėdami ant jo ekrane.



Spustelėkite išskleidžiamąjį meniu ir pasirinkite **Optical Denature** (optinė denatūracija). Temperatūra ir sulaikymo trukmė pašalinamos, o ekrane rodoma **optinės denatūracijos** piktograma .

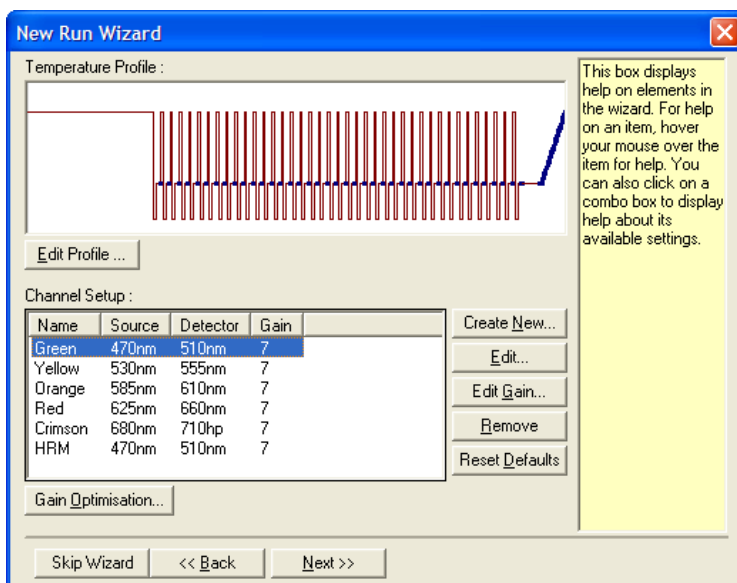
Gavimo optimizavimas

Nustatant naują tyrimo seriją, naudinga taikyti funkciją **Gain Optimisation** (gavimo optimizavimas). Ji optimizuoja gavimą iki nustatymo, kuris užtikrina reikiamą pradinės fluorescencijos intervalą esant nustatytai temperatūrai (paprastai tai temperatūra, kurioje vyksta duomenų rinkimas) kiekviename kanale, kuriame renkami duomenys. Gavimo optimizavimo tikslas yra užtikrinti, kad visi duomenys bus surenkami dinamiame detektoriaus intervale. Jeigu gavimas per mažas, signalas pradings fono triukšme. Jeigu gavimas per didelis, signalas nepateks į skalę (įvyks prisotinimas).

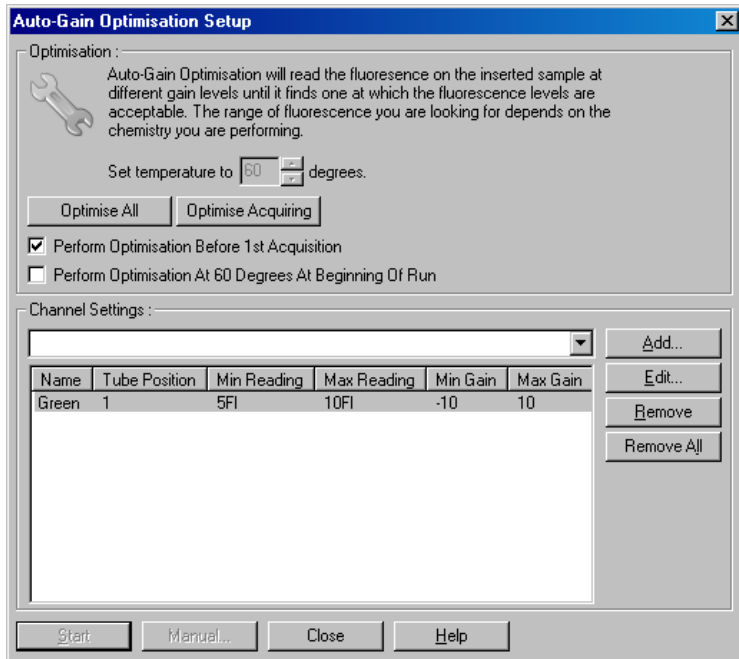
Kiekvieno kanalo gavimo intervalas yra nuo –10 iki 10, kur –10 reiškia mažiausią jautrumą, o 10 reiškia didžiausią jautrumą.

Jeigu reakciją atliekate pirmą kartą, rekomenduojame paruošti bandomąjį mėginį, kuriame yra visi reakcijos komponentai. Įdėkite bandomąjį mėginį į „Rotor-Gene Q MDx“ ir taikykite gavimo optimizavimą, kad nustatytumėte geriausią gavimo nustatymą. Jeigu pasirinkto gavimo optimizavimo gavimo signalas silpnas, padidinkite **Target Sample Range** (tikslinį mėginio intervalą). Jeigu gaunamas prisotintas signalas, sumažinkite **Target Sample Range** (tikslinį mėginio intervalą).

Norėdami taikyti gavimo optimizavimą, spustelėkite mygtuką **Gain Optimisation...** (gavimo optimizavimas) naujos tyrimo serijos vedlio 3 lange (žr. Naujos tyrimo serijos vedlio 3 langas).



Atveriamas langas **Auto-Gain Optimisation Setup** (automatinio gavimo optimizavimo nustatymas). Šiame lange galima optimizuoti automatiškai reguliuojant gavimo nustatymus, kol visų pasirinktų kanalų rodmenys patenka į nustatytą intervalą arba neviršija nustatyto slenksčio.



Set temperature to (nustatyti temperatūrą):

prieš nuskaitant rodmenis „Rotor-Gene Q MDx“ pakaitinamas arba atvėsinaamas, kad atitiktų nustatytą temperatūrą. Pagal numatytuosius nustatymus nustatyta duomenų rinkimo temperatūra.

Optimise All/Optimise Acquiring (optimizuoti viską / optimizuoti renkančius):

pasirinkus **Optimise All** (optimizuoti viską), mėginama optimizuoti visus programinės įrangos žinomos kanalus. Pasirinkus **Optimise Acquiring** (optimizuoti renkančius), optimizuojami tik kanalai, naudojami tyrimo serijoje nustatytame šiluminiame profilyje (ciklai ir lydimas).

Perform Optimisation Before First Acquisition (atlikti optimizavimą prieš pirmąjį duomenų rinkimą):

pažymėkite šį žymimąjį langelį, kad gavimo optimizavimas būtų atliekamas per pirmąjį ciklą, per kurį renkami duomenys. Tai rekomenduojama taikant automatinį gavimo optimizavimą.

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run (atlikti optimizavimą pasiekus [x] laipsnių tyrimo serijos pradžioje):

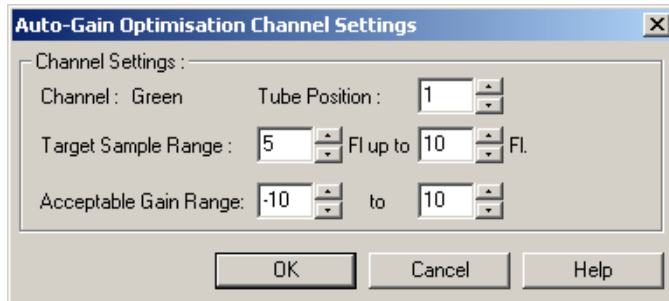
pažymėkite šį žymimąjį langelį, kad gavimo optimizavimas būtų atliekamas prieš pat prasidedant tyrimo serijai. „Rotor-Gene Q MDx“ pakaitinamas iki nurodytos temperatūros, atliekamas gavimo optimizavimas, tuomet pradedamas ciklas nuo pirmojo etapo, įprastai nuo denatūracijos etapo. Šią parinktį galima rinktis, jeigu atliekant gavimo optimizavimą per tyrimo seriją, pradinis etapas trunka per ilgai. Paprastai rekomenduojama rinktis parinktį **Perform Optimisation Before 1st Acquisition** (atlikti optimizavimą prieš 1 duomenų rinkimą), nes gavimo optimizavimas atliekamas sąlygomis, kiek įmanoma artimesnėmis tyrimo serijos sąlygoms.

Channel Settings (kanalų nustatymai):

šiose išskleidžiamajame meniu galima pridėti kanalų. Pasirinkite norimą kanalą ir spustelėkite **Add** (pridėti).

Edit (redaguoti):

atveriamas langas, kuriame galima nustatyti **Target Sample Range** (tikslinį mėginio intervalą). **Target Sample Range** (tikslinis mėginio intervalas) yra pradinės fluorescencijos intervalas, kurį reikia nustatyti nurodytame mėgintuvėlyje esančiam mėginiui. Automatinio gavimo optimizavimo funkcija, taikydama gavimo nustatymus, nuskaitytą kiekvieną kanalą intervalu, nurodytame lauke **Acceptable Gain Range** (tinkamas gavimo intervalas). Pasirenkamas pirmasis gavimo nustatymas, kuriam veikiant gaunamas į **Target Sample Range** (tikslinį mėginio intervalą) patenkantis fluorescencijos rodmuo. Parodytame pavyzdyje automatinio gavimo optimizavimo funkcija ieško gavimo nustatymo nuo -10 iki 10, kuriam esant 1 mėgintuvėlyje gaunamas rodmuo nuo 5 iki 10 FI. Paprastai, jei naudojami įsiterpiantys dažai, tinkamas **Target Sample Range** (tikslinis mėginio intervalas) yra 1–3 FI, o zondo cheminėms medžiagoms tinkamesnis intervalas yra 5–10 FI.



Remove/Remove All (šalinti / šalinti visus) pasirinkus **Remove** (šalinti), pašalinamas pažymėtas kanalas. Pasirinkus **Remove All** (šalinti visus), pašalinami visi kanalai.

Start (paleisti): pasirinkus **Start** (paleisti), pradedamas gavimo optimizavimas. Pasirenkamas gavimas, sukeliantis į nurodytą intervalą patenkančią fluorescencijos signalą. Jeigu fluorescencija nepatenka į nustatytą intervalą, nustatomas gavimas, užtikrinantis artimiausią galimą rezultatą.

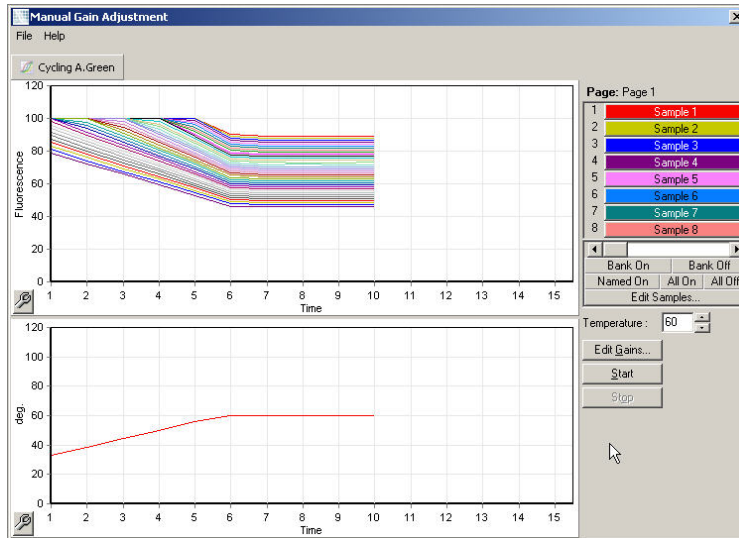
Manual (rankiniu būdu): atveriamas langas **Manual Gain Adjustment** (gavimo reguliavimas rankiniu būdu).

Changing Gain During a Run (gavimo keitimas vykstant tyrimo serijai): jeigu tyrimo serijos pradžioje gavimas buvo per didelis arba per mažas, jį galima pakeisti per 10 pirmųjų ciklų. Kai gavimas pakeičiamas, pažymima vertikali linija. Ciklai iki pakeitimo pašalinami iš analizės.

Pastaba. Gavimo optimizavimo funkcija gali pasirinkti nustatymą, nepatenkantį į nustatytą intervalą. Taip gali įvykti dėl fluorescencijos pokyčių po pirmojo sulaikymo etapo. Tačiau gavimo optimizavimo rezultatas gerai parodo fluorescencijos lygį, nuo kurio prasidės tyrimo serija.

Gavimo reguliavimas rankiniu būdu

Norėdami gavimą reguliuoti rankiniu būdu, spustelėkite parinktį **Manual...** (rankiniu būdu) lange **Auto-Gain Optimisation Setup** (automatinio gavimo optimizavimo nustatymas). Atveriamas langas **Manual Gain Adjustment** (gavimo reguliavimas rankiniu būdu). Šiame lange realiuoju laiku rodomi fluorescencijos rodmenys esant bet kuriai nurodytai temperatūrai. Ši funkcija naudojama, kai mėginio fonas nežinomas, todėl reikia nustatyti gavimą, kad būtų užtikrinama, jog signalas yra pakankamas aptikimui atlikti.



Pagal numatytuosius nustatymus ekrane rodomi visi mėginiai. Mėginius galima pašalinti iš ekrano arba pridėti, naudojant dešinėje esantį perjungiklį. Perjungiklį sudaro spalvoti langeliai, kurių kiekvienas atitinka ekrane rodomą mėginį. Rodomi mėginiai, kurių langelis yra ryškios spalvos, o mėginiai, kurių atitinkamas langelis yra neryškus, ekrane nerodomi. Mėginius galima įjungti ir išjungti spustelėjus langelį arba tempiant pelės žymeklį virš kelių langelių vienu metu.

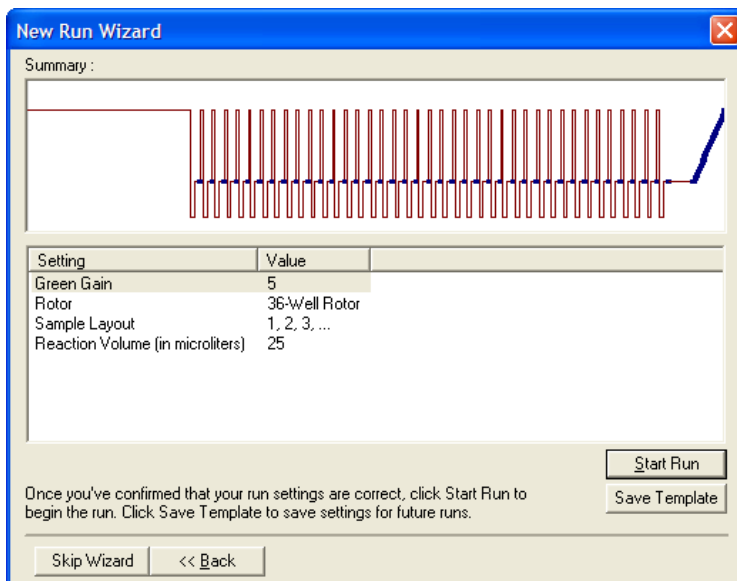
Gavimo reguliavimą rankiniu būdu rekomenduojame atlikti, kaip nurodyta toliau.

1. Lange **Manual Gain Adjustment** (gavimo reguliavimas rankiniu būdu) sureguliuokite temperatūrą taip, kad ji atitiktų tyrimo serijai reikalingą duomenų rinkimo temperatūrą.
Pastaba. Temperatūra nereguliuojama, kai „Rotor-Gene Q MDx“ veikia. Iš naujo paleiskite „Rotor-Gene Q MDx“, kad būtų pritaikyti atlikti temperatūros pakeitimai.
2. Spustelėkite **Start** (paleisti). Prasideda tyrimo serija. „Rotor-Gene Q MDx“ temperatūra sureguliuojama pagal lange nustatytą temperatūrą. Lange rodomuose grafikuose pradkami rodyti duomenys.
3. Palaukite, kol temperatūra nusistovės.
4. Užsirašykite rodomą vertinamosios baigties fluorescencijos (FI) reikšmę.
5. Jeigu FI reikšmė nėra reikiamo lygio, spustelėkite **Edit Gains...** (redaguoti gavimą) ir atitinkamai pakeiskite. Šis procesas gali užtrukti, nes „Rotor-Gene Q MDx“ užtrunka apytiksliai 4 sekundes, kad gautų kiekvieno taško duomenis kiekviename kanale, tuo metu naudotojo paskyra yra išjungiamą.
6. Kartokite procedūrą, kol FI bus reikiamo lygio.

7. Spustelėkite **Stop** (stabdyti). Jeigu spustelėjus mygtuką **Stop** (stabdyti), per tyrimo seriją vis dar renkami duomenys, „Rotor-Gene Q MDx“ pirma užbaigia duomenų rinkimą, o tada sustoja. Šis procesas gali trukti iki 5 s kiekviename duomenų rinkimo kanale.

Naujos tyrimo serijos vedlio 4 langas

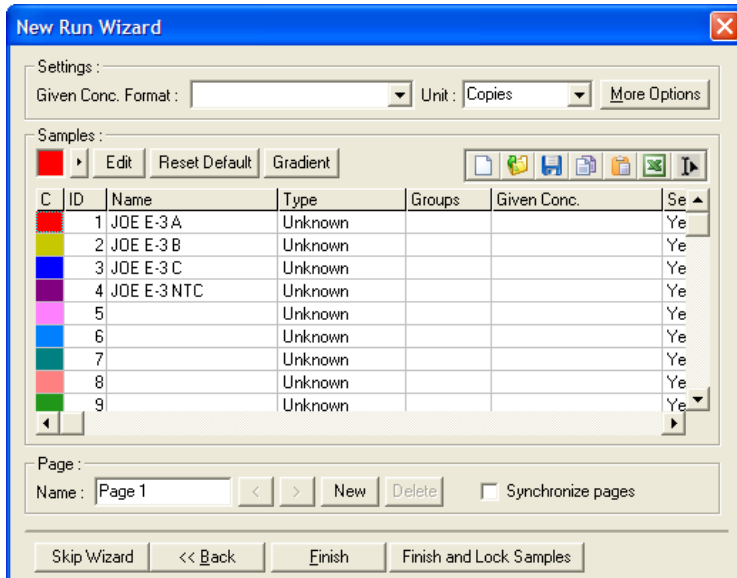
Šiame lange pateikiama tyrimo serijos suvestinė. Patikrinkite, ar parametrai teisingi, ir spustelėkite **Start Run** (paleisti tyrimo seriją). Rodomas raginimas nurodyti failo pavadinimą. Taip pat galite tyrimo serijos nustatymus įrašyti kaip šabloną, kurį būtų galima naudoti tyrimo serijoms ateityje, spustelėję mygtuką **Save Template** (įrašyti šabloną).



Naujos tyrimo serijos vedlio 5 langas

Šiame lange įveskite mėginių tipus ir aprašus, kol vyksta tyrimo serija. Šio lango funkcijos tokios pačios, kaip lango **Edit Samples** (redaguoti mėginius) (129 psl). Mėginio informaciją taip pat galima įvesti pasibaigus tyrimo serijai.

Spustelėjus mygtuką **Finish and Lock Samples** (baigti ir užrakinti mėginius), langas užveriamas ir nebegalima keisti mėginių pavadinimų. Daugiau informacijos apie šią ir kitas apsaugines funkcijas ieškokite skyriuje „Prieigos prie „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos apsauga“ (136 psl).



5.2 „Rotor-Gene Q MDx“ aparatinės įrangos naudojimas

5.2.1 Rotorių tipai

Pirma pasirinkite naudojamų mėgintuvėlių tipą ir rotorių. Yra 4 tipų rotoriai, tinkami įvairių tipų mėgintuvėliams.

Pastaba. „36-Well Rotor“ ir „72-Well Rotor“ pristatomi su prietaisu. Rotorius „Rotor-Disc®“ yra papildomas priedas.

Svarbu. Per vieną tyrimo seriją naudokite identiškus mėgintuvėlius. Nenaudokite skirtingo tipo mėgintuvėlių arba skirtingų gamintojų mėgintuvėlių, nes tai kenkia optiniam vientisumui. Rekomenduojame naudoti QIAGEN mėgintuvėlius, kurie yra specialiai skirti naudoti su „Rotor-Gene Q MDx“ (žr. „Užsakymo informacija“). Kitų gamintojų mėgintuvėliai gali pasižymėti automatine fluorescencija, kuri gali pakenkti rezultatų patikimumui. Be to, gali skirtis kitų gamintojų mėgintuvėlių ilgis ir storis, todėl optinis kelias „Rotor-Gene Q MDx“ gali būti netinkamai sulygiuotas, o reakcija mėgintuvėlyje gali vykti netolygiai. QIAGEN pasilieka teisę neteikti techninės pagalbos, jeigu problemų kilo dėl QIAGEN nesertifikuotų plastiko medžiagų naudojimo su „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisu.

Svarbu. Bet kokių QIAGEN nesertifikuotų plastiko medžiagų naudojimas su „Rotor-Gene Q MDx“ gali panaikinti prietaisui taikomą garantiją.

DĖMESIO**Pavojus sugadinti prietaisą**

Prieš kiekvieną procedūrą apžiūrėkite ir įsitikinkite, kad rotorius nesugadintas ir nedeformuotas.

„36-Well Rotor“

„36-Well Rotor“ yra raudonas. Su „36-Well Rotor“ ir „36-Well Rotor Locking Ring“ galima naudoti 0,2 ml mėgintuvėlius. Mėgintuvėlių dangteliai nėra skaidrūs, nes „Rotor-Gene Q MDx“ fluorescenciją matuoja mėgintuvėlio apačioje, o ne viršuje. Taip pat galima naudoti mėgintuvėlius su išgaubtais dangteliais.

**„72-Well Rotor“**

„72-Well Rotor“ yra mėlynas. „72-Well Rotor“ ir „72-Well Rotor Locking Ring“ skirti naudoti su „Strip Tubes and Caps, 0.1 ml“, kuriuose galima naudoti ne mažesnę nei 20 µl tūrį. Dangteliai saugiai ir patikimai užsandarina mėgintuvėlį.



„Rotor-Disc 72 Rotor“

Rotorius „Rotor-Disc 72 Rotor“ yra tamsiai pilkas. Su „Rotor-Disc 72 Rotor“ ir „Rotor-Disc 72 Locking Ring“ galima naudoti „Rotor-Disc 72“. „Rotor-Disc 72“ – tai diskas su 72 šulinėliais, užtikrinantis didelį našumą. „Rotor-Disc 72“ užsandarinamas skaidria polimerine plėvele, dedama ant viršaus ir sandarinama karščiu. Plėvelė greitai uždedama ir apsaugo nuo užteršimo, užtikrina tvirtą, patvarų ir liečiant nepažeidžiamą sandarų barjerą. Daugiau informacijos apie „Rotor-Disc 72“ ieškokite 5.2.3 skyriuje.



„Rotor-Disc 100 Rotor“

„Rotor-Disc 100 Rotor“ yra aukso spalvos. Su „Rotor-Disc 100 Rotor“ ir „Rotor-Disc 100 Locking Ring“ galima naudoti „Rotor-Disc 100“. „Rotor-Disc 100“ – tai diskas su 100 šulinėlių, užtikrinančių didelį našumą. „Rotor-Disc 100“ atitinka 96 šulinėlių rotacinę plokštelę, tačiau yra su 4 papildomais etaloniniais šulinėliais. Tai leidžia „Rotor-Gene Q MDx“ naudoti laboratorijos procedūroms su 96 šulinėliais. Papildomus šulinėlius galima patogiai naudoti norint tirti daugiau mėginių, atlikti papildomų kontrolės reakcijų arba orientacinių reakcijų, neužimant standartinių 96 šulinėlių padėčių. Kad būtų užtikrinama sklandi darbo eiga su 96 šulinėliais, „Rotor-Disc 100“ naudojamas taikant 96 šulinėlių plokštelės ženklimą, t. y. nuo A1–A12 iki H1–H12. 4 papildomi etaloniniai šulinėliai pažymėti nuo R1 iki R4. Daugiau informacijos apie „Rotor-Disc 100“ ieškokite 5.2.3 skyriuje.



Rotoriaus techniniai duomenys

Rotoriaus tipas	Šulinėlio talpa (µl)	Mėginio Nr.	Mėgintuvėlio tipas	Rekomenduojamas reakcijos tūris (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

Pastaba. „Rotor-Gene Q MDx“ skirtų „36-Well Rotor“ ir „72-Well Rotor“ negalima naudoti su „Rotor-Gene 3000“ prietaisais dėl optinių nesuderinamumų. Su „Rotor-Gene 3000“ prietaisais naudokite senesnius 36 vietų ir 72 vietų rotorius.

5.2.2 Reakcijos paruošimas

Svarbu. Per kiekvieną tyrimo seriją reikia naudoti tinkamas kontrolės medžiagas, siekiant užtikrinti patikimus rezultatus.

Reakcijas galima paruošti naudojant „Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes“ (skirtus „PCR Tubes, 0.2 ml“), „Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes“ (skirtus „Strip Tubes and Caps, 0.1 ml“, naudojamiems su vieno kanalo pipete), „Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel“ (skirta „Strip Tubes and Caps, 0.1 ml“, naudojamiems su daugiakanale pipete), „Rotor-Disc 72 Loading Block“ (skirtas „Rotor-Disc 72“) arba „Rotor-Disc 100 Loading Block“ (skirtas „Rotor-Disc 100“). Visi blokai pagaminti iš aliuminio ir juos galima iš anksto atvėsinti.

Į „Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes“ (parodyta pav.) telpa 18 mėgintuvėlių juostelių ir iki aštuonių 0,5 ml talpos mėgintuvėlių, kuriuose galima ruošti pagrindinį mišinį, arba iki šešiolikos 0,2 ml talpos mėgintuvėlių, kurie gali būti naudojami standartinėms kreivėms gauti. Toliau pateikiamas reakcijos paruošimo procedūros aprašymas, naudojant „72-Well Rotor“. Tokia pati procedūra gali būti taikoma reakcijos paruošimui, kai naudojamas „36-Well Rotor“ ir atitinkami papildomi priedai.

1. Į kėlimo bloką įdėkite mėgintuvėlių juostelę ir alikvotines reakcijos komponentų dalis.

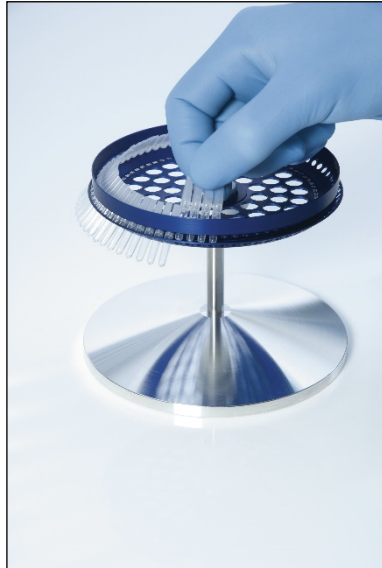


2. Tinkamai uždėkite dangtelius ant mėgintuvėlių juostelės ir apžiūrėkite, ar jie sandariai uždaryti.



3. Įdėkite mėgintuvėlių juostelę į „72-Well Rotor“ ir įsitikinkite, kad kiekvienas mėgintuvėlis tinkamai įdėtas į vietą ir tinkamai nukreiptas.

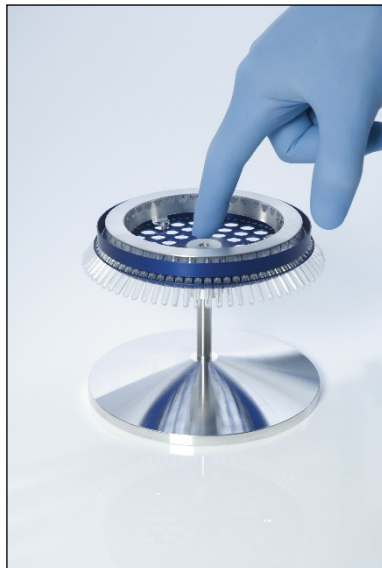
Jeigu mėgintuvėliai netinkamai sudedami į rotorių, mėginiai nebus optimaliai sulygiuoti aptikimo sistemoje. Dėl šios priežasties gali sumažėti gaunamas fluorescencijos signalas ir aptikimo jautrumas. Su prietaisu pristatomas „Rotor Holder“, kuris užtikrina paprastą mėgintuvėlių sudėjimo procedūrą.



Svarbu. Kad užtikrintumėte kuo tolygesnę temperatūrą, kiekvienoje rotoriaus vietoje turi būti mėgintuvėlis. Visų rotoriaus vietų užpildymas užtikrina vienodą oro srautą į kiekvieną mėgintuvėlį. Turėkite tuščių mėgintuvėlių su dangteliais, kuriuos galėtumėte įdėti į laisvas vietas.

4. Uždėkite „72-Well Rotor Locking Ring“ ant „72-Well Rotor“, įspausdami 3 padėties nustatymo kaiščius pro išorines rotoriaus angas.

Fiksuojamasis žiedas užtikrina, kad tyrimo serijos metu mėgintuvėlių dangteliai neatsidarys.



- Įdėkite įtaisą į „Rotor-Gene Q MDx“ kamerą, kad užsifikuotų, naudodami rotoriaus stebulės padėties nustatymo kištuką. Norėdami išimti, tiesiog paspauskite rotoriaus stebulę, kad atsilaisvintų, ir išimkite.



- Uždarykite dangtį ir nustatykite tyrimo serijos profilį, naudodami „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą.

5.2.3 Rotoriaus disko konfigūracija

„Rotor-Disc 72“ ir „Rotor-Disc 100“ sudaro atitinkamai 72 arba 100 šulinėlių, esančių viename diske, skirtų užtikrinti didesniam našumui. „Rotor-Disc 72“ ir „Rotor-Disc 100“ nenaudojami dangteliai. Vietoje dangtelių naudojama „Rotor-Disc Heat Sealing Film“, dedama ant viršaus ir karščiu priklijuojama naudojant „Rotor-Disc Heat Sealer“. Plėvelė apsaugo nuo užteršimo ir užtikrina tvirtą, patvarų ir liečiant nepažeidžiamą sandarų barjerą. „Rotor-Disc“ sandarinamas karščiu, kaip aprašyta toliau.

Svarbu. Prieš pradėdami šią procedūrą, perskaitykite su „Rotor-Disc Heat Sealer“ pateikiamą produkto duomenų lapą.

- Įjunkite „Rotor-Disc Heat Sealer“, paspausdami galinėje kairėje pusėje esantį jungiklį. Įsijungia raudona „Power“ (maitinimo) lemputė. „Rotor-Disc Heat Sealer“ pasiekia darbinę temperatūrą per apytiksliai 10 minučių, tuomet įsijungia žalia „Ready“ (pasiruošimo darbui) lemputė.
- Uždėkite ilgalaikį arba nuimamą sandariklį.
Pastaba. Kai „Rotor-Disc Heat Sealer“ paruoštas darbui, jį saugu palikti veikti nuolat.
- Įstatykite „Rotor-Disc“ į „Rotor-Disc Loading Block“, naudodami „Rotor-Disc“ pirmos padėties auselę ir „Rotor-Disc Loading Block“ mėgintuvėlių kreipiamąsias angas.

4. Paruoškite reakcijas „Rotor-Disc“, lašindami pipete arba naudodami automatinę skysčių valdymo sistemą.



5. Iš vieno „Rotor-Disc Heat Sealing Film“ plėvelės lapo išimkite centrinę jo dalį, švelniai sulenkdami plėvelę pusiau, suspausdami centrinę dalį ir atsargiai ją išplėšdami.
6. Plėvelę uždėkite ant „Rotor-Disc“ tinkama kryptimi, kaip parodyta etiketėje „SIDE UP“ (šia puse aukštyn). Įsitinkite, ar etiketė „SIDE UP“ (šia puse aukštyn) yra „Rotor-Disc Loading Block“ apatinėje dalyje.

Plėvelės viduryje esanti anga turėtų lengvai užsimauti ant „Rotor-Disc Loading Block“ cilindro ir ant „Rotor-Disc“ viršutinės dalies.



7. Šį paruoštą įtaisą įstatykite į „Rotor-Disc Heat Sealer“, naudodami kreipiamuosius bėgelius, esančius „Rotor-Disc Loading Block“ šone. Įsitinkinkite, ar „Rotor-Disc Loading Block“ įstatytas iki galo.



8. Sandarinimo mechanizmą aktyvinkite pirma paspausdami žemyn mėlyną anoduotą plokštelę „Heat Sealer“ viršuje, tada pastumkite atgal juodą fiksiatorių.



9. Kai sandarinimo mechanizmas nuleidžiamas, įsijungia oranžinė lemputė „Sealing“ (vyksta sandarinimas). Jeigu „Rotor-Disc Loading Block“ yra netinkamoje padėtyje, pasigirsta įspėjamasis pyptelėjimas.
10. Pasibaigus sandarinimui, girdimas nepertraukiamas signalas ir mirksi oranžinė „Sealing“ (vyksta sandarinimas) lemputė. Paspauskite žemyn mėlyną anoduotą plokštelę, kad atlaisvintumėte ir pakeltumėte sandarinimo mechanizmą į pradinę padėtį

Svarbu. Nesandarinkite ilgiau, nei nurodo garsinis signalas, nes „Rotor-Disc“ gali deformuotis.

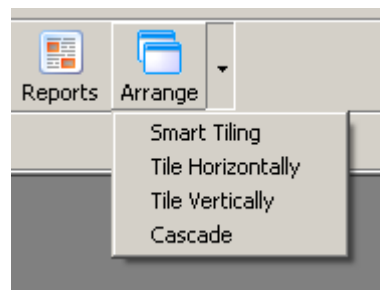
Pastaba. Jeigu netyčia neatlaisvinate fiksuojamojo mechanizmo, mirksinti oranžinė „Sealing“ (vyksta sandarinimas) lemputė pradeda šviesti nuolat, o nuolatinis garsinis signalas pasikeičia į nutrūkstamą garsinį signalą.

11. Išimkite „Rotor-Disc Loading Block“ iš „Rotor-Disc Heat Sealer“. Palaukite 10 s, kol plėvelė atvės. Sandarinimo plėvelės perteklių pašalinkite jį tempdami žemyn, kad atsiskirtų. Plėvelės pertekliaus netempkite aukštyn.
12. Išimkite „Rotor-Disc“ iš „Rotor-Disc Loading Block“.
13. „Rotor-Disc“ įdėkite į rotorių, naudodami pirmos padėties auselę, nurodančią tinkamą kryptį.

6 Analizės naudotojo sąsaja

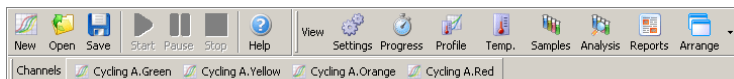
6.1 Darbo sritis

Darbo sritis yra pagrindinio lango fonas. Šioje srityje galima atverti neapdorotas duomenų diagramas ir analizės rezultatus. Jeigu vienu metu atveriami keli langai, juos galima tvarkyti įrankių juostoje spustelėjus mygtuką **Arrange** (tvarkyti). Galimos kelios lango tvarkymo parinktys, kurias galima pasirinkti spustelėjus šalia mygtuko **Arrange** (tvarkyti) esančią rodyklę žemyn.



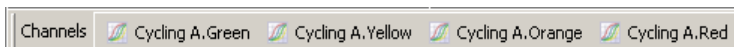
6.2 Įrankių juosta

Šie mygtukai yra dažnai naudojamų funkcijų spartieji mygtukai. Šias funkcijas taip pat galima įjungti naudojant išskleidžiamuosius meniu.



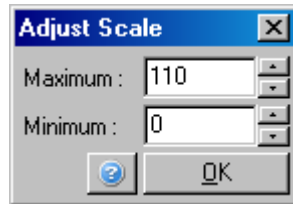
6.3 Neapdorotų kanalų duomenų peržiūra

Spustelėkite šiuos mygtukus, kad peržiūrėtumėte tyrimo serijos neapdorotus (neišanalizuotus) konkrečių kanalų duomenis.



Žiūrint šiuos duomenis galima keliais būdais keisti duomenų pateikimą. Neapdorotus duomenis taip pat galima transformuoti, kad palengvintų įvairių tipų analizę.

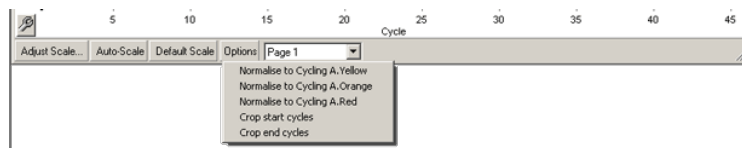
Adjust Scale (reguluoti skalę): Norėdami pasirinkti **Adjust Scale** (reguluoti skalę), spustelėkite dešiniąją pelės klavišą virš atitinkamo lango. Spustelėjus **Adjust Scale** (reguluoti skalę), atveriamas langas, kuriame galima nustatyti skalę.



Autoscale (automatinė skalė): **Autoscale** (automatinės skalės) funkcija pritaiko skalę pagal didžiausias ir mažiausias duomenų reikšmes.

Default Scale (numatytoji skalė): **Default Scale** (numatytoji skalė) nustato tokią skalę, kad būtų rodomi nuo 0 iki 100 fluorescencijos vienetų.

Veržliarakčio piktograma: Daugiau informacijos ieškokite 7.5 skyriuje.



Options (parinkty): atveriamas pirmiau parodytas išskleidžiamasis meniu, kuriame galima pasirinkti neapdorotų duomenų transformacijos parinktis.

Normalise to... (normalizuoti j): galima normalizuoti amplifikacijos duomenis į pasyvaus etalono dažų, pavyzdžiui, ROX, duomenis, gautus kitame kanale.

Crop start cycles (panaikinti pradinis ciklus): sukuriama naujas kanalo duomenų rinkinys, iš kurio pašalinami kai kurie pradiniai ciklai. Ši funkcija naudinga, jeigu pradinuose cikluose pastebimi dideli šuoliai, kurie gali pasireikšti naudojant tam tikras chemines medžiagas.

Crop end cycles (panaikinti galutinius ciklus): sukuriama naujas kanalo duomenų rinkinys, iš kurio pašalinami kai kurie galutiniai ciklai.

Page 1 (1 puslapis): rodomas šiuo metu pasirinktas puslapis, kuriame rodomos neapdorotų duomenų diagramos. Lange **Edit Sample** (redaguoti mėginį) galima kurti kelias mėginių apibrėžtis. Pavyzdžiui, duomenis galima peržiūrėti pasirinkus skirtingą linijų storį, mėginio apibrėžtį ir kitas rodymo ekrane parinktis. Tai ypač naudinga, jeigu santykinė kiekybinė analizė atliekama viename kanale, nes naudotojas gali lengvai perjungti dominančio geno ir „namų ūkio“ mėginių rodinius, nurodydamas 2 mėginių puslapius.

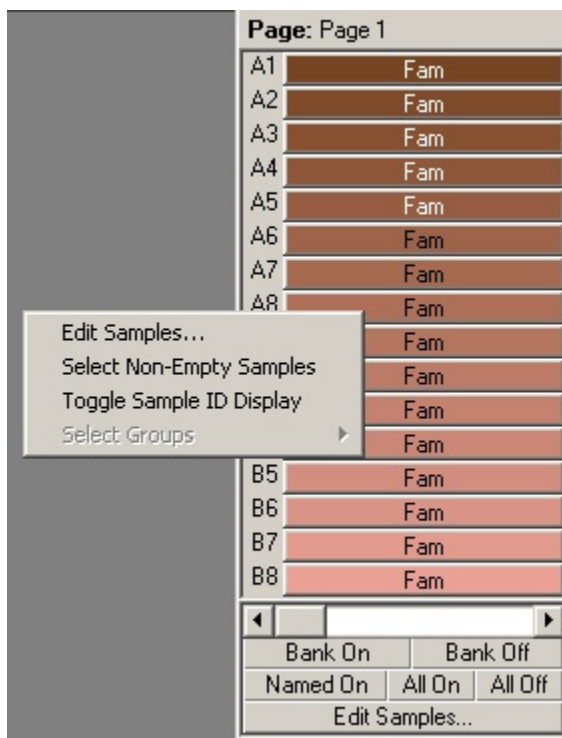
6.4 Mėginių perjungimas

Pagrindinio lango dešinėje pusėje yra perjungiklis su nurodyta mėginio legenda. Jį sudaro spalvoti langeliai, kurių kiekvienas atitinka ekrane rodomą mėginį. Šiuo perjungikliu galima valdyti, kurie mėginiai bus rodomi ekrane. Rodomi mėginiai, kurių langelis yra ryškios spalvos, o mėginiai, kurių atitinkamas langelis yra neryškus, ekrane nerodomi. Mėginius galima įjungti ir išjungti spustelėjus langelį arba tempiant pelės žymeklį virš kelių langelių vienu metu. Spustelėjus mygtuką **Bank On** (įjungti visus) ir **Bank Off** (išjungti visus), atitinkamai paslepiami arba rodomi visi šiuo metu sąrašė matomi mėginiai. Slankioji juosta gali būti naudojama norint rodyti ekrane kitą mėginių grupę.

Pastaba. Rodomų mėginių skaičius yra dinaminis ir priklauso nuo lange esančios laisvos vietos.

Spustelėjus parinktį **Named On** (įjungti pavadintus), rodomi tik tie mėginiai, kuriems suteiktas pavadinimas. Tai greitas būdas rodyti tik tam tikrus mėginius. Spustelėjus **All On** (rodyti visus) arba **All Off** (nerodyti visų), rodomi atitinkamai visi rotoriuje esantys mėginiai arba nerodomas nei vienas mėginys. Spustelėjus mygtuką **Edit Samples...** (redaguoti mėginius), atveriamas langas **Edit Samples** (redaguoti mėginius), kuriame galima keisti mėginių pavadinimus, tipus ir standartinę koncentraciją (žr. 6.8.4 skyrių).

Perjungiklis parodytas toliau. Papildomos parinktys rodomos spustelėjus dešiniuoju pelės klavišu virš perjungiklio.



Page (puslapis):

ši etiketė perjungiklio viršuje nurodo rodomo mėginio puslapį. Puslapiuose galima atlikti įvairią nepriklausomą vieno kanalo duomenų rinkinio analizę. Pavyzdžiui, žaliajame kanale galite atlikti dviejų standartinių kreivių gavimą ir sukurti atskiras ataskaitas. Daugiau informacijos apie mėginių puslapių nustatymą pateikiama 6.8.4 skyriuje.

Toggle Sample ID Display (perjungti mėginio ID rodymą):

Jeigu naudojamas „72-Well Rotor“, mėginiai rodomi formatu nuo A1 iki A8, nuo B1 iki B8, t. t. Pasirinkus parinktį **Toggle Sample ID Display** (perjungti mėginio ID rodymą), galima įjungti skaitinę mėginių seką (nuo 1 iki 72).

Select Non-Empty Samples (pasirinkti ne tuščius mėginius):

pasirinkus šią parinktį, panaikinamas visų mėginių, kurių **Type** (tipo) nustatyta reikšmė yra **None** (nėra) lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius), žymėjimas. Taip užtikrinama, kad bus rodomi tik su analize susiję mėginiai.

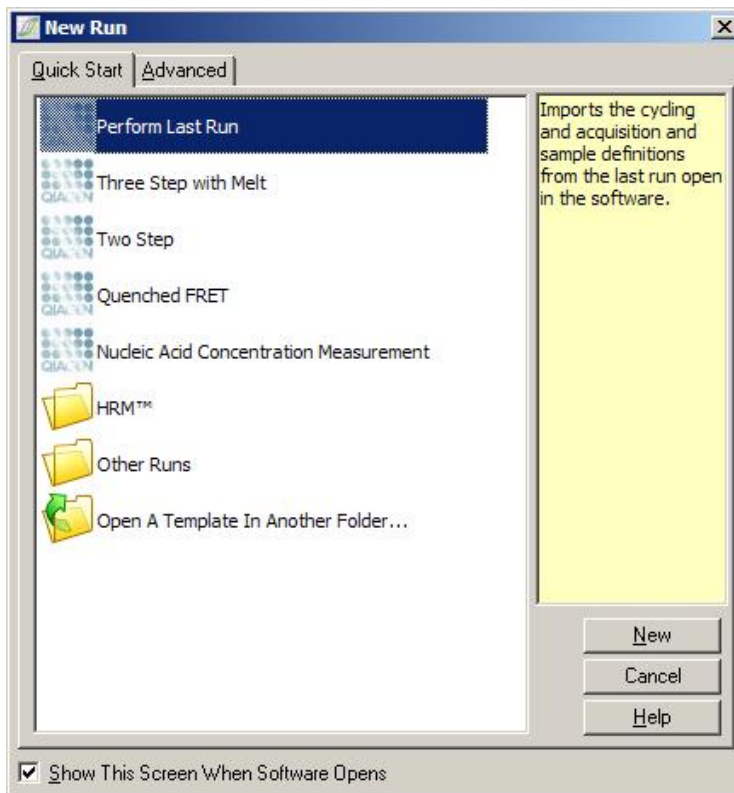
Select Groups (pasirinkti grupes):

jeigu nurodėte grupes, pasirinkus šią funkciją perjungiamas (įjungiamas / išjungiamas) mėginių rodymas grupėse. Grupės yra pasirinkti mėginių rinkiniai, kurie suteikia galimybę teikti išsamesnes statistinių rezultatų ataskaitas. Pavyzdžiui, galima nustatyti apdorotų ir neapdorotų pacientų mėginių grupes. Grupės galima nustatyti lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius).

6.5 Failų meniu

6.5.1 Naujas

Pasirinkus parinktį **File** (failas), o tada – **New** (naujas), atveriamas langas **New Run** (nauja tyrimo serija). Šiame lange pateikiami dažnai naudojami šablonai, sudaryti skirtukuose **Quick Start** (greitasis parengimas) ir **Advanced** (išplėstinis). Pasirinkus šabloną, vedlys padeda nustatyti tyrimo seriją ir jame galima keisti nustatymus ir profilius.



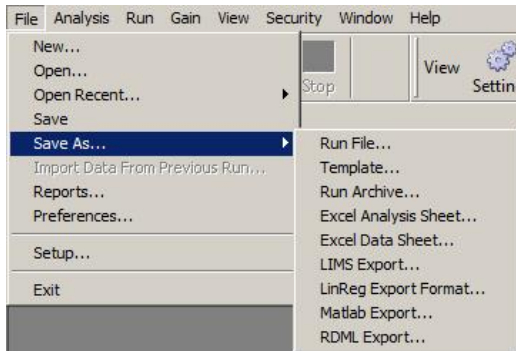
Daugiau informacijos apie pateikiamus šablonus ieškokite 5.1.1 ir 5.1.2 skyriuose.

Nauja tyrimo serija

New (nauja):	pradedamas tyrimo serijos nustatymas naudojant pasirinktą šabloną.
Cancel (atšaukti):	užveriamas langas.
Help (žinynas):	atveriamas internetinis žinynas.
Show This Screen When Software Opens (rodyti šį langą, kai įjungžiama programinė įranga):	jeigu šis žymimasis langelis pažymėtas, langas New Run (nauja tyrimo serija) rodomas paleidus programinę įrangą.

6.5.2 Atvėrimas ir įrašymas

- Open...** (atverti): atveriamas anksčiau įrašytas „Rotor-Gene Q“ tyrimo serijos failas (*.rex) arba „Rotor-Gene Q“ tyrimo serijos archyvas (*.rea failas).
- Open Recent...** (atverti ankstesnius): rodomi 4 paskutiniai neseniai atverti arba įrašyti failai.
- Save** (įrašyti): įrašomi visi atlikti tyrimo serijos failo pakeitimai.



- Save as...** (įrašyti kaip): naudokite šią funkciją, jeigu norite tyrimo failą ar duomenis įrašyti įvairiais formatais. Parinktys pateikiamos toliau.
- Run File...** (tyrimo serijos failas): įrašoma failo kopija. Naudotojas gali keisti pavadinimą ir įrašymo vietą. Šis formatas yra numatytasis.
- Template...** (šablonas): įrašoma profilio konfigūracija ir susiję nustatymai, bet ne tyrimo serijos duomenys. Šabloną galima naudoti norint inicijuoti tyrimo serijas ateityje.
- Run Archive...** (archyvuoti tyrimo seriją): įrašoma į mažesnio formato failą. Failus įrašykite šiuo formatu prieš juos siūsdami el. paštu. Tai sutrumpina failo siuntimo trukmę ir užtikrina, kad el. pašto klientai nesugadins failo.
- LIMS Export** (LIMS eksportavimas): analizė įrašoma formatu, suderinamu su LIMS, atsižvelgiant į naudotojo reikalavimus. Prireikus daugiau informacijos, susisiekite su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.
- Excel Data Sheet...** („Excel“ duomenų skaičiuoklės lapas): visi neapdoroti kanalų duomenys eksportuojami į „Excel“ duomenų skaičiuoklės lapą. Eksportuojami tik pasirinktų mėginių duomenys.
- Excel Analysis Sheet...** („Excel“ analizės skaičiuoklės lapas): visa dabartinės tyrimo serijos analizė eksportuojama į vieną „Excel“ skaičiuoklės lapą.
- LinReg Export Format...** („LinReg“ eksportavimo formatas): visi neapdoroti kanalo duomenys eksportuojami formatu, kurį gali perskaityti „LinReg“ (efektyvumo analizavimo įrankis). Daugiau informacijos žr. skyriuje „Eksportavimas į „LinReg““ toliau.
- Matlab Export...** („Matlab“ eksportavimas): duomenys eksportuojami formatu, kurį galima perskaityti naudojant mokslinį paketą „Matlab“ (arba jo atvirąjį atitikmenį „Octave“). Tai naudinga atliekant metodų tyrimus.
- RDML Export** (RDML eksportavimas): atliekamas su RDML v1.1 suderinamas failo eksportavimas. Sukurtas RDML eksportavimo failas yra ZIP suglaudintas XML formato failas, kurio failo plėtinys yra *.rdml ir kuris yra suderinamas su RDML schemas dokumentu (https://rdml.org/rdml_v_1_1.html), pateikiamu svetainėje: https://rdml.org/rdml_v_1_1.html.

Eksportavimas į „LinReg“

„LinReg“ įrankį sukūrė C. Ramakers ir bendraautoriai. * „LinReg“ įrankis prieinamas šiuo adresu: <https://medischebiologie.nl/files/>.

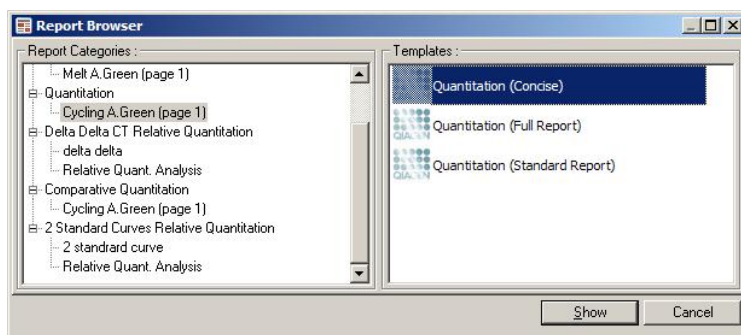
Naudodami „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą, naudotojai gali eksportuoti neapdorotus duomenis formatu, kuriuo juos būtų galima importuoti į „LinReg“ įrankį ir atlikti analizę.

1. Atverkite „Rotor-Gene Q“ tyrimo serijos failą, kuriame yra neapdoroti duomenys.
2. Eksportuokite duomenis į „LinReg“ eksportavimo formatą, pasirinkdami **Save As** (įrašyti kaip), tuomet pasirinkite **„LinReg“ Export Format...** („LinReg“ eksportavimo formatas).
3. „Microsoft Excel“ automatiškai rodomi eksportuoti neapdoroti duomenys.
4. Paleiskite „LinReg“ įrankį.

Jūsų bus prašoma pasirinkti langelius, kuriuose yra neapdoroti duomenys. Įrankis vienu metu gali analizuoti tik vieno kanalo neapdorotus duomenis, todėl pasirinkite tinkamą sritį „Excel“ skaičiuoklės lape.

6.5.3 Ataskaitos

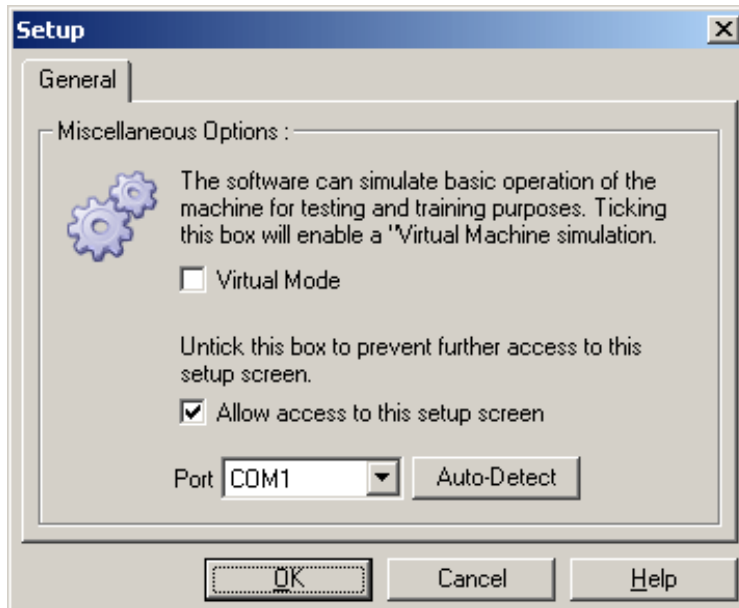
Pasirinkus parinktį **Reports** (ataskaitos), rodomas langas **Report Browser** (ataskaitos naršyklė). Jeigu duomenys jau išanalizuoti, analizės ataskaitą galima peržiūrėti lange **Report Browser** (ataskaitos naršyklė). Siūlomos kelių tipų ataskaitos, kuriuose pateikiama skirtingo išsamumo lygio informacija.



* 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 Konfigūracija

Pradinė „Rotor-Gene Q MDx“ konfigūracija nustatoma įrengiant prietaisą. Tačiau ši parinktis leidžia pakeisti „Rotor-Gene Q MDx“ ryšio konfigūraciją, jeigu norite tai padaryti po įrengimo.



Virtual Mode (virtualusis režimas):

pasirinkite šią parinktį, jeigu programinė įranga bus naudojama neprijungus „Rotor-Gene Q MDx“. Veiks visos programinės įrangos funkcijos. Šis režimas naudingas demonstraciniams tikslais, atliekant duomenų analizę ir konfigūruojant šablonus.

Allow access to this setup screen (suteikti prieigą prie šio konfigūravimo lango):

jeigu konfigūravimo metu ši parinktis nepasirenkama, šio lango nebebus galima pasiekti. Ši saugos priemonė neleidžia naudotojams pakeisti nustatymų. Norėdami atkurti prieigą, kreipkitės į savo platintoją.

Port (prievas):

pasirinkite tinkamą ryšio prievadą, kad veiktų ryšys tarp kompiuterio ir „Rotor-Gene Q MDx“.

Auto-Detect (automatinis aptikimas):

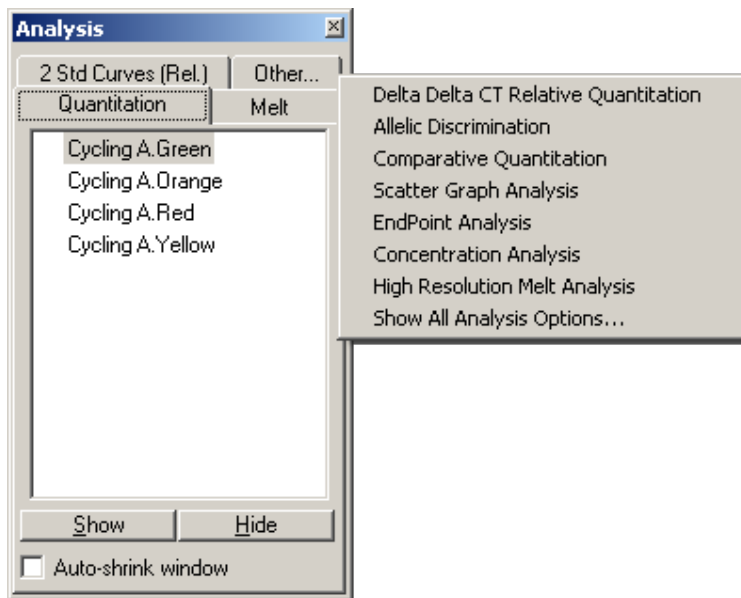
jeigu nesate tikri, kurį prievadą rinktis, spustelėkite **Auto-Detect** (automatinis aptikimas), kad būtų ieškoma visų galimų prievadų.

6.6 Analizės meniu

6.6.1 Analizė

Spustelėjus **Analysis** (analizė), atveriamas langas **Analysis** (analizė). Šiame lange galima kurti naujas analizes ir peržiūrėti esamas analizes. Analizės metodas pasirenkamas naudojant skirtukus. Rodomas kanalų, kuriuos galima analizuoti pasirinktu metodu, sąrašas. Kelis tyrimus, vykdomus tame pačiame kanale, galima analizuoti atskirai, jeigu jie lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius) buvo nustatyti kaip atskiri puslapiai. Jau išanalizuoti puslapiai pažymimi žalia varnele. Tai reiškia, kad šios analizės slenksčio ir normalizavimo nustatymai buvo įrašyti.

Norėdami peržiūrėti arba analizuoti kanalą, jį spragtelėkite du kartus. Atveriamas konkrečios analizės langas.

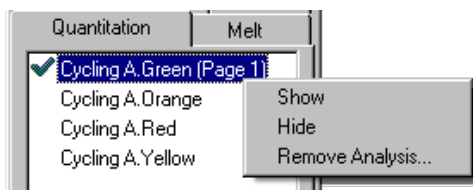


Auto-shrink window
(automatinis lango
sumažinimas):

pasirinkus parinktį **Auto-shrink window** (automatinis lango sumažinimas), langas sumažinamas, kai jis nenaudojamas. Užvedus žymeklį virš lango, jis vėl padidinamas.

Darbo srities išdėstymas

Kiekvieną kartą prasidėjus naujai analizei, jos langai išdėstomi taip, kad tilptų ekrane kartu su jame jau rodomais langais. Jeigu atverta daug langų, tai gali būti nepatogu. Užverkite nereikalingus langus, tuomet įrankių juostoje spustelėkite parinktį **Arrange** (tvarkyti). Langai automatiškai išdėstomi taikant **Smart Tiling** (išmaniosios išklotinės) metodą. Arba pasirinkite kitą išdėstymo metodą, spustelėdami rodyklę šalia mygtuko **Arrange** (tvarkyti). Spustelėjus dešiniąją pelės klavišą ant analizės pavadinimo taip pat pateikiamos papildomos parinktys.



Show (rodyti):

rodoma pasirinkta analizė.

Hide (slėpti):

pasirinkta analizė slepiama.

Remove Analysis... (šalinti analizę):

visiškai pašalinama pasirinkta analizė. Tai reiškia, kad bus panaikinami visi analizėje nustatyti normalizavimo nustatymai arba lydymosi telkiniai.

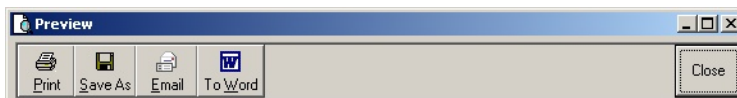
6.6.2 Kiekybinė analizė

Pasirinkite skirtuką **Quantitation** (kiekybinė analizė) lange **Analysis** (analizė), tada du kartus spragtelėkite ant kanalo pavadinimo, arba pasirinkite kanalą ir spustelėkite mygtuką **Show** (rodyti), kad atvertumėte norimą kanalą. Rodomi trys langai: pagrindinis ekranas, standartinė kreivė ir rezultatai.

Ataskaitos

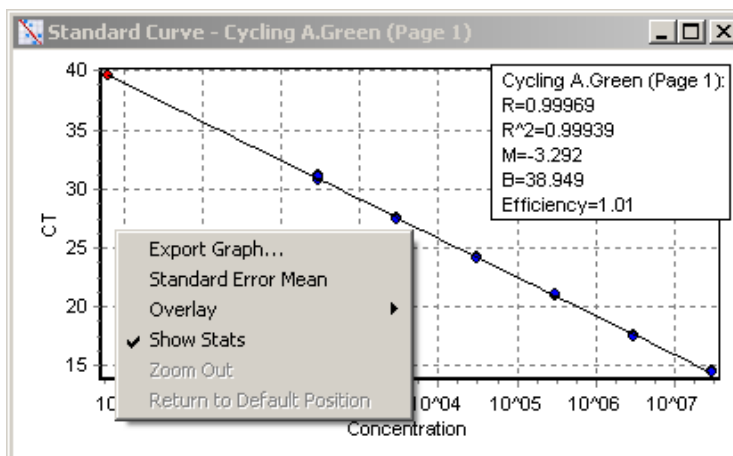
Reports (ataskaitos): spustelėjus **Reports** (ataskaitos), atveriamas langas **Report Browser** (ataskaitų naršyklė), kuriame galima sukurti dabartinės analizės ataskaitą. Galimos 3 tipų ataskaitos: standartinė ataskaita, išsami ataskaita ir glausta ataskaita. Du kartus spragtelėkite norimą parinkti, kad atvertumėte ataskaitą lange **Preview** (peržiūra).

Kai ataskaita sudaroma, spaudžiant lango **Preview** (peržiūra) viršuje esančius mygtukus, ataskaitą galima spausdinti, įrašyti, siųsti el. paštu arba eksportuoti „Word“ formatu



Standartinė kreivė

Std. Curve (standartinė kreivė): Spustelėjus šį mygtuką, atveriamas langas **Standard Curve** (standartinė kreivė). Pagal numatytuosius nustatymus šis langas atveriamas, kai atveriamas analizė. Jeigu užveriate langą, jį galite vėl atverti pasirinkę šią parinktį.

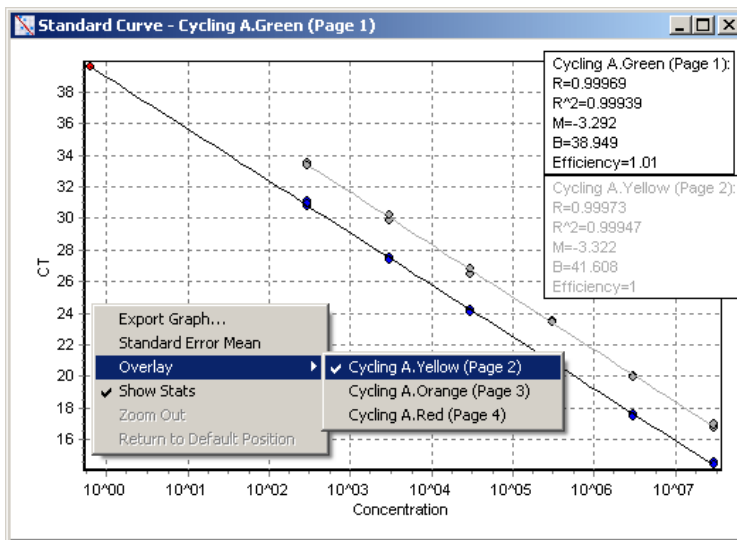


Standartinės kreivės reikšmės iš naujo apskaičiuojamos dinamiškai, kai slenksčio reikšmė keičiama spustelėjus ir tempiant slenksčio liniją pagrindiniame lange.

Mėlyni taškai ant kreivės atitinka mėginius, kurie buvo nustatyti kaip standartiniai, o raudoni taškai žymi nežinomo mėginio duomenų taškus.

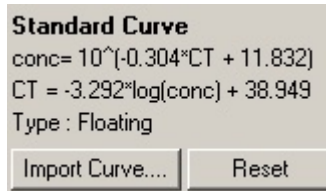
Pastaba. Jeigu iš naujo nustatote standartinius mėginius, kad iš naujo apskaičiuotumėte standartinę kreivę, ekrano dešinėje pusėje esančių perjungikliu išjungus standartinio mėginio matomumą, jis bus pašalinamas iš standartinės kreivės skaičiavimo. Standartinių mėginių pašalinimas iš grafiko, kad padidėtų R² vertė, mokslškai nepagrįstas. Nesėkmingas standartinis mėginys gali reikšti, kad mėginiai taip pat gali būti nesėkmingi, todėl turi būti įtraukiami į rezultatus.

- Efficiency (efektyvumas): tai tyrimo serijos reakcijos efektyvumas. Ši reikšmė išsamiau aptariama 94 psl.
- R² reikšmė (koreliacijos koeficientas): Reikšmė R² arba R2 – tai procentinė duomenų dalis, atitinkanti hipotezę, kad standartiniai mėginiai sudaro standartinę kreivę. Jeigu R2 reikšmė maža, standartiniai mėginiai ne itin gerai sutampa su geriausiai atitinkančia linija. Tai reiškia, kad rezultatai (t. y., apskaičiuotos koncentracijos reikšmės) gali būti nepatikimi. Tinkama R2 reikšmė yra apytiksliai 0,999.
- Pastaba.** Galima gauti didelę R² reikšmę, nors standartinė kreivė netinkama, jeigu atlikta nepakankamai standartinių mėginių tyrimo serijų. R² reikšmė gerėja mažėjant standartinių mėginių skaičiui. Siekdami tikslesnio rezultatų patikimumo charakterizavimo, kaip gaires naudokite apskaičiuotos koncentracijos pasikliautuosius intervalus.
- R vertė (koreliacijos koeficiento kvadratinė šaknis): R reikšmė yra R² reikšmės kvadratinė šaknis. Apskritai, R² reikšmė naudingesnė nustatant koreliaciją.
- M ir B: Standartinės kreivės nuolydis (M) ir atkarpa (B) automatiškai apskaičiuojami pagal formulę $y = Mx + B$, kaip parodyta standartinės kreivės lange.
- Export Graph... (eksportuoti grafiką): spustelėjus dešiniąjį pelės klavišą virš standartinės kreivės, rodoma grafiko eksportavimo parinktys (žr. 7.4 skyrių).
- Overlay (persidengimas): kai per tą pačią tyrimo seriją atliekami keli kiekybiniai tyrimai, standartinės kreivės galima uždėti viena ant kitos tame pačiame lange. Tai naudinga norint grafiškai peržiūrėti skirtingų slenksčių skirtumus. Ši funkcija parodyta toliau pateiktoje ekrano kopijoje.



Standartinės kreivės skaičiavimas

„conc = ...*CT + ...“ ir „CT = ...“ yra dvi CT reikšmių ir koncentracijos reikšmių sąsajos lygties versijos. Publikacijose dažniausiai naudojama formulė „CT = ...“. Standartinė kreivė gali būti „Floating“ (nepastovi) arba „Fixed“ (fiksota). Jeigu kreivė yra „Floating“ (nepastovi), optimali standartinės kreivės lygtis apskaičiuojama kiekvieną kartą, kai pagrindiniame lange perkeliamas slenkstis. Jeigu kreivė yra „Fixed“ (fiksota), lygtis nesikeičia, nes ji importuojama iš kitos tyrimo serijos.



Kreivės importavimas

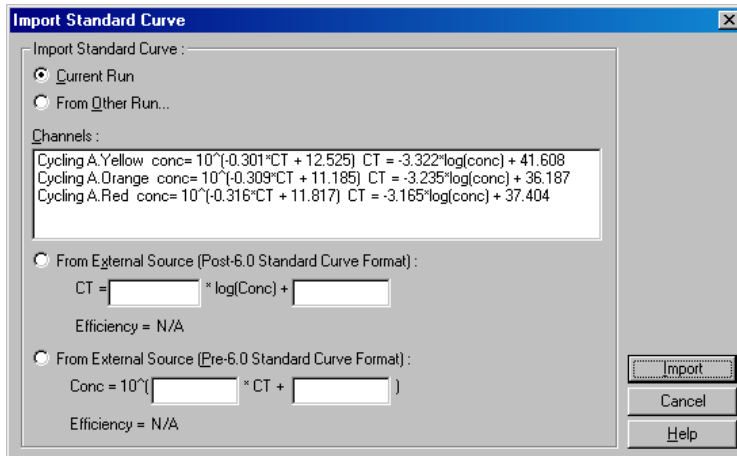
Importuojant standartinę kreivę galima apskaičiuoti koncentraciją, kai standartinės kreivės konkrečioje tyrimo serijoje nėra, o reakcijos efektyvumas tarp dviejų tyrimo serijų nesiskiria. Kreivės galima importuoti iš kito kanalo arba kitos tyrimo serijos, spustelėjus parinktį **Import Curve** (kreivės importavimas).

Jeigu reikia, standartinę kreivę galima sureguliuoti. Standartinės kreivės reguliavimas reiškia, kad į dabartinę tyrimo seriją importuojamas tik pradinės standartinės kreivės efektyvumas. Nuo taikomų cheminių reakcijų priklauso, ar reikia reguliuoti standartinę kreivę.

Norėdami reguliuoti standartinę kreivę, naujoje tyrimo serijoje naudokite žinomos koncentracijos etaloną. Lango **Edit Samples** (redaguoti mėginį) apibrėžkite etaloną, nustatydami „Standard“ (standartinį) mėginio tipą ir įvesdami koncentracijos reikšmę. Norint padidinti tikslumą, galima įvesti daug to paties etalono kopijų. Atminkite, kad negalima apibrėžti daugiau nei vienos etaloniškos koncentracijos arba standartinio mėginio. Pavyzdžiui, galima turėti tris 1 000 kopijų kartotinius etalonus, bet negalima turėti vieno 1 000 kopijų etalono ir kito 100 kopijų etalono toje pačioje tyrimo serijoje.

Kai standartinė kreivė importuojama, standartinės kreivės tipas pasikeičia į „Fixed“ (fiksuoja). Spustelėkite parinktį **Reset** (nustatyti iš naujo), jeigu norite standartinės kreivės tipą pakeisti atgal į „Floating“ (nepastovi).

Toliau pateikiama lango **Import Standard Curve** (standartinės kreivės importavimas) ekrano kopija.



Šiame lange standartinę kreivę galima importuoti iš kito kanalo, analizuoto per dabartinę tyrimo seriją, arba iš kitos tyrimo serijos.

Current Run (dabartinė tyrimo serija): pasirinkus šią parinktį, pateikiamas kitų šios tyrimo serijos kanalų kiekybinių analizių sąrašas su atitinkamomis standartinėmis kreivėmis.

From Other Run... (iš kitos tyrimo serijos): pasirinkus šią parinktį, atveriamas dialogo langas, kuriame galima pasirinkti norimą atverti tyrimo serijos failą. Jeigu buvo atlikta kokia nors tyrimo serijos kiekybinė analizė, pateikiamas kiekvieno išanalizuoto kanalo standartinių kreivių sąrašas.

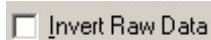
Pastaba. Kiekybinės analizės nustatymus reikia įrašyti į tyrimo serijos failą.

Channels (kanalai): pateikiamas išanalizuotų kanalų sąrašas ir jų standartinių kreivių formulės.

From External Source (iš išorinio šaltinio): šioje srityje M ir B reikšmės galima įvesti tiesiogiai. Tai naudinga tais atvejais, kai reikšmės gaunamos iš išorinio šaltinio, pavyzdžiui, iš „Excel“ skaičiuoklės lapo.

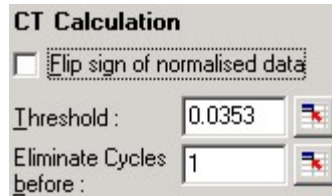
C_T skaičiavimas

Invert Raw Data (invertuoti neapdorotus duomenis): naudojant kai kurias chemines medžiagas, gaunamas fluorescencijos signalas, kuris eksponentiškai mažėja, o ne didėja. Šiuos duomenis galima analizuoti naudojant funkciją „Quantitation“ (kiekybinė analizė), tačiau turi būti pažymėtas žymimasis langelis **Invert Raw Data** (invertuoti neapdorotus duomenis). Atliekant bet kokią kitą kiekybinę analizę, ši parinktis turi būti nepažymėta.



C_T Calculations (C_T skaičiavimai): C_T reikšmė yra ciklo numeris, per kurį amplifikacijos kreivė susikerta su aptikimo slenksčiu. Kiekvieno mėginio C_T reikšmė nustatoma nustatant slenksčio liniją ir apskaičiuojant sankirtą su kiekviena kreive.

Threshold (slenkstis): norėdami nustatyti slenkstį, spustelėkite piktogramą (lentelė su raudona rodykle), tada spustelėkite ir laikykite paspaudę ant grafiko ir tempkite liniją iki norimo lygio. Arba įveskite logaritmo reikšmę. Arba galima naudoti funkciją **Auto-Find Threshold** (automatinis slenksčio nustatymas), kad slenkstis būtų nustatomas automatiškai. Nustatant slenkstį rankiniu būdu, jis turėtų būti nustatomas eksponentinėje tyrimo serijos fazėje, gerokai virš foninio lygio, kad būtų išvengta triukšmo, o vėlesniuose cikluose – žemiau signalo plokštumos pradžios.



Eliminate Cycles before
(pašalinti ciklus prieš):

norėdami nustatyti šią parinktį, spustelėkite piktogramą (lentelė su raudona rodykle), tada spustelėkite ir laikykite paspaudę ant grafiko ir tempkite liniją dešinėn. Taip pašalinamas mažo ciklų numerio slenkstis.

Pastaba. Tai naudinga, kai triukšmas pasireiškia per pradinius ciklus, pavyzdžiui, dėl mėginio maišymo efekto.

Auto-Find Threshold
(automatinis slenkščio nustatymas):

ši funkcija skenuoja pasirinktą grafiko sritį, kad aptiktų slenkščio nustatymą, kuris užtikrina optimalų nurodytų koncentracijos reikšmių apskaičiavimą. Pasirinktą sritį galima keisti, rodomuose teksto langeliuose įvedant naujas viršutines ir apatines ribas.

Daugelio analizių atveju tinka naudoti numatytąsias viršutines ir apatines ribas. Slenkščio lygių intervalas nuskaitymas siekiant gauti geriausią standartinės kreivės atitikimą, atsižvelgiant į mėginius, kurie buvo apibrėžti kaip standartiniai (t. y. kurių R vertė yra artimiausia 1,0).



Rezultatai

Atveriamas langas **Quantitation Results** (kiekybinės analizės rezultatai). Pagal numatytuosius nustatymus šis langas atveriamas, kai atveriamą analizę. Jeigu užveriate langą, jį galite vėl atverti pasirinkę šią parinktį.

Analizė	No.	Color	Name	Type	Cl	Cl Comment	Given Conc	Calc Conc [c]	% Var	Rep. Cl	Rep. Cl Std	Rep. Cl (95% CI)	Rep. Calc. Conc	Rep. Calc. Conc (95% CI)
Cycling A.Green (Page 1)	1	Red	10e8	Standard	3.73		1.00E+08	7.16E+07	28.1%	3.73	0.00	(3.73, 3.74)	7.17E+07	(1.17E+07, 4.39E+08)
Cycling A.Green (Page 1)	2	Red	10e8	Standard	3.74		1.00E+08	7.17E+07	28.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	3	Red	10e8	Standard	3.74		1.00E+08	7.16E+07	28.4%					
Cycling A.Green (Page 1)	4	Orange	10e7	Standard	6.11		1.00E+07	1.44E+07	44.0%	6.06	0.08	(5.91, 6.21)	1.49E+07	(3.29E+06, 6.73E+07)
Cycling A.Green (Page 1)	5	Orange	10e7	Standard	6.08		1.00E+07	1.47E+07	46.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	Orange	10e7	Standard	5.99		1.00E+07	1.56E+07	55.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	Green	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	7.72E+05	22.8%	10.38	0.09	(10.15, 10.60)	8.00E+05	(2.62E+05, 2.44E+06)
Cycling A.Green (Page 1)	8	Green	10e6	Standard	10.27		1.00E+06	8.96E+05	14.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	9	Green	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	7.71E+05	22.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	10	Green	10e5	Standard	13.49		1.00E+05	9.68E+04	3.2%	13.65	0.13	(13.31, 13.98)	8.74E+04	(2.96E+04, 2.59E+05)
Cycling A.Green (Page 1)	11	Green	10e5	Standard	13.75		1.00E+05	8.13E+04	18.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	Green	10e5	Standard	13.69		1.00E+05	8.46E+04	15.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	13	Blue	10e4	Standard	15.66		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.46	0.25	(14.94, 16.08)	2.56E+04	(7.82E+03, 8.36E+04)
Cycling A.Green (Page 1)	14	Blue	10e4	Standard	15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	15	Blue	10e4	Standard	15.18		1.00E+04	3.09E+04	208.8%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	Blue	10e3	Standard	21.36		1.00E+03	4.71E+02	62.9%	21.09	0.24	(20.49, 21.69)	5.69E+02	(3.13E+01, 3.50E+03)
Cycling A.Green (Page 1)	17	Blue	10e3	Standard	20.89		1.00E+03	6.47E+02	36.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	Blue	10e3	Standard	21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	Black	10e2	Standard		NEG (Multi Cl)								
Cycling A.Green (Page 1)	20	Black	10e2	Standard	23.98		1.00E+02	7.99E+01	20.1%					
Cycling A.Green (Page 1)	21	Black	10e2	Standard		NEG (Multi Cl)								
Cycling A.Green (Page 1)	22	Black	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	23	Black	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	24	Black	NTC	NTC		NEG (NTC)								

Lange **Quantitation Results** (kiekybinės analizės rezultatai) pateikiama tyrimo serijos rezultatų suvestinė lentelėje. Spustelėjus dešinįjį pelės klavišą ir pasirinkus parinktį **Export to Excel** (eksportuoti į „Excel“), lentelė eksportuojama į „Excel“ failą. „Excel“ failas atveriamas automatiškai. Norėdami kopijuoti duomenis į esamą skaičiuoklės lapą, pasirinkite parinktį **Copy** (kopijuoti), atverkite skaičiuoklės lapą ir spustelėkite **Paste** (įdėti).

Lange **Quantitation Results** (kiekybinės analizės rezultatai) yra šie stulpeliai.

Analysis (analizė):	dabartinis duomenų rinkinys (duomenų rinkimo kanalas ir mėginio puslapis).
No. (Nr.):	mėginio numeris.
Color (spalva):	nustatyta atskiro mėginio grafiko spalva.
Type (tipas):	nustatytas mėginio tipas.
C _T :	nustatyta C _T reikšmė.
C _T Comment (C _T pastaba):	automatinė C _T nustatymo pastaba, jeigu C _T vertės neįtraukiamos. Galimos šios žymės: NEG (Multi Ct): slenkstis kertasi su fluorescencijos kreive bent du kartus (dviguba sankirta). Negalima vienareikšmiškai nustatyti C _T reikšmės. NEG (NTC): bendras fluorescencijos padidėjimas neatitinka sąlygų, apibrėžtų meniu Outlier Removal (išsiskiriančiųjų šalinimas) funkcijoje „NTC threshold“ (NTC slenkstis). Pavyzdžiui, fluorescencijos kreivė kertasi su nurodytu slenksčiu, tačiau nedidelis bendrojo nuolydžio padidėjimas reiškia, kad kontrolinė medžiaga neatitinka šablono, todėl C _T reikšmė nepateikiama. NEG (R.Eff): bendras fluorescencijos padidėjimas neatitinka sąlygų, apibrėžtų meniu Outlier Removal (išsiskiriančiųjų šalinimas) funkcijoje „Reaction Efficiency threshold“ (reakcijos efektyvumo slenkstis). Mėginiai, nepasižymintys tam tikru reakcijos efektyvumu, pašalinami, o C _T reikšmė nepateikiama. Ši žymė rodoma tik tuo atveju, jeigu įjungta atitinkama funkcija.
%Var (variacija procentais)	Apskaičiuotos ir žinomos koncentracijos variacija procentais. $\%Var = Abs(apskaičiuotoji/nurodyta - 1)$
Rep. Ct (pakartojimų Ct reikšmė):	visų mėginių, kurių pavadinimas sutampa su šio mėginio pavadinimu, vidutinė C _T reikšmė.
Rep. Ct Std. Dev. (pakartojimų Ct reikšmės standartinis nuokrypis):	visų mėginių, kurių pavadinimas sutampa su šio mėginio pavadinimu, standartinis C _T reikšmės nuokrypis.
Rep. Ct. 95% C.I. (pakartojimų Ct reikšmės 95 % pasikliautinis intervalas):	C _T intervalas, statistškai atitinkantis 95 % C _T reikšmės variacijos. Tai konservatyvus statistinis matas, kurį galima naudoti kaip kokybės matą. Šį intervalą galima susiaurinti, atliekant daugiau kartotinių tyrimų serijų arba sumažinant variaciją tarp pakartojimų.
Rep. Calc. Conc. (apskaičiuotoji pakartojimų koncentracija):	visų mėginių, kurių pavadinimas vienodas, apskaičiuotoji koncentracija. Pastaba. Tai nėra paprastas apskaičiuotų koncentracijos reikšmių vidurkis. Tai geometrinis vidurkis, kuris matematiškai yra daug tinkamesnis vidurkis dėl eksponentinio tikralaikės amplifikacijos pobūdžio.
Rep. Calc. Conc. 95% C.I. (pakartojimų Ct reikšmės 95 % pasikliautinis intervalas):	Koncentracijos reikšmių intervalas, sudarantis 95 % atskiro mėginio variacijos, bei tiesinės regresijos modelis, kuriuo jis pagrįstas. Šis matas – tai koncentracijos reikšmių intervalas, kurio būtų galima tikėtis 95 % atvejų, jei ši tyrimo serija būtų pakartotinai atlikta esant tokiai pačiai variacijai. Tai konservatyvus įvertis, o intervalas gali būti gana didelis dėl bet kokios tikralaikės analizės variacijos. Šis intervalas gali būti didelis, jei tiriami standartiniai mėginiai, kurių koncentracija skiriasi nuo nežinomų mėginių, jei naudojamas nedidelis pakartojimų skaičius arba jei variacija yra didelė. Svarbu. Šio mato nurodoma variacija būdinga eksponentiniam tikralaikės amplifikacijos procesui ir nesusijusi su „Rotor-Gene Q MDx“. Atliekant panašius tyrimus su blokinais ciklų valdikliais, būtų gaunama didesnė variacija, nes blokinės sistemos pasižymi mažesniu temperatūros tolygumu. Jeigu norite palyginti ciklų valdiklius, rekomenduojame lyginti standartinį C _T reikšmės nuokrypį.

Pastaba. Daugiau informacijos apie pasikliautinius intervalus pateikiama B priede.

Pastaba. Visi stulpeliai, išskyrus spalvos, pavadinimo, Ct ir Ct pastabos, gali būti rodomi arba paslepiami, dešiniuoju pelės klavišu spragtelėjus ant lango ir pasirinkus stulpelio pavadinimą arba panaikinus pasirinkimą.

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

Kad būtų patogiau, funkcija **AutoStat** (automatiniai statistiniai duomenys) automatiškai skaičiuoja dominančių mėginių vidurkį, standartinį nuokrypį ir mažiausią bei didžiausią reikšmes. Dominančius rezultatus pasirinkite tempdami kairiuoju pelės klavišu. Reikšmės bus rodomos ekrano dešinėje pusėje esančioje lentelėje.

Šioje ekrano kopijoje pateikiama kelių mėginių koncentracijos analizė.

Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var	f
14.42	30000000	2825064	5.8%	
14.59	30000000	25142920	16.2%	
14.40	30000000	28730050	4.2%	
17.44	3000000	3422624	14.1%	
17.58	3000000	3103391	3.4%	
17.42	3000000	3467111	15.6%	
20.99	300000	285353	4.9%	
20.92	300000	298898	0.4%	
21.04	300000	275802	8.1%	
24.20	30000	30786	1.0%	

Statistics

Maximum : 28730050

Minimum : 25142920

Count : 3

Mean : 27328521

Std. Dev : 1.07537
(Orders of Mag.)

Copy

Svarbu. Funkcija **AutoStat** (automatiniai statistiniai duomenys) yra susijusi su kontekstu. Tai reiškia, kad, kai įmanoma, ji kuria tik naudingą informaciją.

Pavyzdžiui:

- negalima pasiekti 95 % pasikliautinumo intervalo iš pasirinktų apskaičiuotų koncentracijos reikšmių rinkinio, nes būtina atsižvelgti ir į regresijos modelį.
- Pateikiamas apskaičiuotų koncentracijos reikšmių dydžio eilės standartinis nuokrypis, o ne absoliučioji reikšmė. Tai yra procentinė variacija. Pavyzdžiui, reikšmė 1,07537 atitinka 7,54 % variaciją $(278\,974 - 322\,611) = (300\,000/1,07537 - 00,000 * 1,07537)$ Absoliučiosios reikšmės pateikimas neturi prasmės standartinės kreivės atveju. Reikšmė gali būti nurodoma esant mažiausiai koncentracijai, kad būtų sukuriama suvokiama maža paklaida (± 3 kopijos) arba esant didelei koncentracijai ($\pm 3\,000\,000$ kopijų). Dėl šios priežasties pateikiamas dydžio eilės standartinis nuokrypis.
- Naudojamas apskaičiuotų koncentracijos reikšmių geometrinis vidurkis, o ne aritmetinis vidurkis. Taip atsižvelgiama į eksponentinį „real-time PCR“ pobūdį. Pavyzdžiui, atskiedus du kartus 1, 2, 8 ir 16 kopijų, vidurkis turėtų būti 4 kopijos, nes tai yra skiedimo serijos vidurys. Tačiau aritmetinis vidurkis yra 6,75. Geometrinis vidurkis yra $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ kopijos.

Dinaminio mėgintuvėlio normalizavimas

Parinktis **Dynamic Tube** (dinaminis mėgintuvėlis) yra numatytoji parinktis, naudojama norint nustatyti vidutinį kiekvieno mėginio foninį lygį prieš pat prasidedant amplifikacijai.

Standartinio normalizavimo funkcija 5 pirmuosius ciklus naudoja kaip kiekvieno mėginio foninio lygio indikatorius. Tuomet visi mėginio duomenų taškai padalijami iš šios reikšmės, siekiant normalizuoti duomenis. Tačiau toks būdas gali būti netikslus, nes kai kurių mėginių foninis lygis per pirmuosius 5 ciklus gali neatitikti foninio lygio prieš pat amplifikaciją. Priešingai, dinaminio mėgintuvėlio normalizavimo funkcija naudoja kiekvieno mėginio antrąją išvestinę, kad nustatytų kiekvieno mėginio pakilimo tašką. Tuomet apskaičiuojamas foninio lygio vidurkis nuo kiekvieno mėginio 1 ciklo iki šio pakilimo ciklo. Taip gaunami tiksliausi kiekybinės analizės rezultatai.

Atminkite, kad kai kurių duomenų rinkinių foninė fluorescencija nėra tolygi per skirtingus ciklus iki amplifikacijos pradžios. Tokiais atvejais gali reikėti išjungti dinaminio mėgintuvėlio normalizavimo funkciją, pašalinant žymą langelyje **Dynamic Tube** (dinaminis mėgintuvėlis), kad nebūtų gaunami ne tokie tikslūs kiekybinės analizės rezultatai.

Triukšmo nuolydžio koregavimas

Idealiu atveju mėginio foninė fluorescencija (FI) iki amplifikacijos turi būti pastovi. Tačiau kartais FI laipsniškai per kelis ciklus padidėja arba sumažėja dėl naudojamų cheminių medžiagų. Dėl to pasireiškia asimetrinis triukšmas. Triukšmo nuolydžio koregavimo funkcija taiko geriausiai atitinkančią liniją, o ne vidurkį, kad nustatytų triukšmo lygį, ir normalizuoja pagal šią liniją. Pasirinkus šią parinktį spustelint mygtuką **Slope Correct** (nuolydžio koregavimas), galima pagerinti pakartojimų duomenų kokybę, jeigu mėginių bazinės tiesės yra pastebimai nuožulnios. Triukšmo nuolydžio koregavimas pagerina duomenų kokybę, kai prieš pakilimo tašką (C_T) pastebimas neapdorotų duomenų fono nuolydis arba pakilimas.

Jeigu nuolydis nepastovus arba pradiniuose bazinės tiesės cikluose pastebimas reikšmingas signalo padidėjimas arba sumažėjimas palyginus su likusia kreivės dalimi, triukšmo nuolydžio koregavimas gali sukelti tam tikrų nepageidaujamų padarinių, pavyzdžiui, neigiamos kontrolinės medžiagos kreivės gali kirsti slenkstį dėl bazinės tiesės kaip geriausiai atitinkančios linijos aproksimacijos ir atitinkamo neapdorotų duomenų normalizavimo. Todėl ši funkcija ne visuomet pagerina duomenų kokybę ir turi būti naudojama tik tuo atveju, jeigu duomenų kreivių nuolydis yra pastovus.

Pakilimo taško reguliavimas

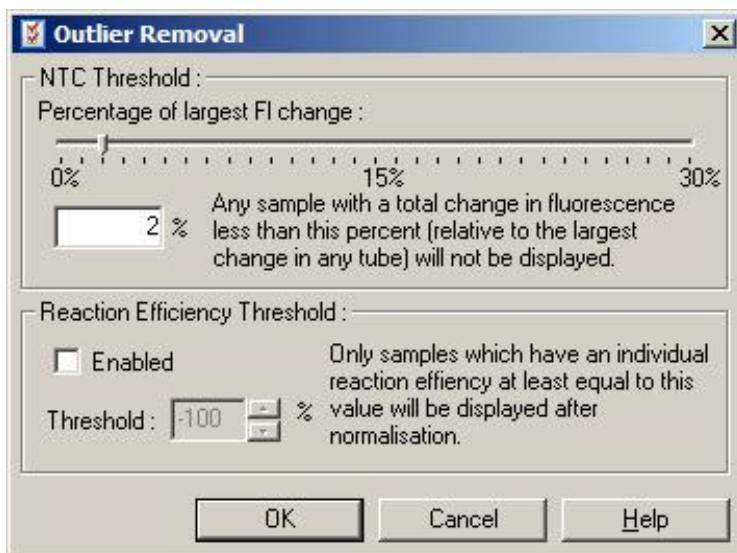
Pakilimo taško reguliavimo algoritmą galima taikyti, norint nustatyti mažiausią bazinės tiesės ilgį, naudotą atliekant normalizavimą. Norint atlikti pakilimo taško reguliavimą, reikia nustatyti du parametrus. Jeigu pakilimo taškas apskaičiuojamas pagal **Dynamic Tube** (dinaminį mėgintuvėlį), kuris yra mažesnis nei pirmasis parametras, tuomet antrasis parametras naudojamas kaip pakilimo taškas. Pakilimo taško reguliavimas gali būti atliekamas tik kartu su **Dynamic Tube** (dinaminio mėgintuvėlio) normalizavimu.

Ignoruoti pirmuosius

Kelių pirmųjų tyrimo serijos ciklų fluorescencijos signalas gali neatitikti likusios tyrimo serijos. Dėl šios priežasties geresnės kokybės rezultatai gaunami neįtraukiant kelių pirmųjų ciklų. Galima neįtraukti iki 10 ciklų. Tačiau jeigu pirmieji ciklai atrodo panašūs į tolesnius ciklus, geresnės kokybės rezultatai gaunami išjungus funkciją „**Ignore First**“ (ignoruoti pirmuosius), nes normalizavimo algoritmas galės tirti daugiau duomenų.

Išsiskiriančiųjų šalinimas

Norint atskirti nedidelius fluorescencijos pokyčius nuo tikrųjų reakcijų kontrolinėse medžiagose be matricos (No Template Controls, NTC), taikomi du parametrai: **NTC Threshold** (NTC slenkstis) ir **Reaction Efficiency Threshold** (reakcijos efektyvumo slenkstis). Daugeliu atvejų rekomenduojama naudoti parametą **NTC Threshold** (NTC slenkstis). Visuomet būtina patvirtinti taikomą metodą.



NTC Threshold (NTC slenkstis):

iš analizės galima pašalinti mėginius arba NTC, kuriems būdingas nedidelis pakilimas. Visi mėginiai, kurių pokytis mažesnis nei „NTC Threshold“ (NTC slenkstis), nebus įtraukiami, o stulpelyje „CT Comment“ (CT pastaba) bus rodoma žymė „NEG (NTC)“.

Procentinis dydis atitinka didžiausią maksimalų pokytį bet kuriame mėgintuvėlyje. Pavyzdžiui, jeigu vieno mėginio pradinė foninė fluorescencija buvo lygi 2 FI ir padidėjo iki 47 FI, tuomet 45 FI atitinka 100 %. Jeigu „NTC Threshold“ (NTC slenkstis) yra lygus 10 %, visi mėginiai, kurių fluorescencijos lygis mažesnis nei 4,5 FI, bus laikomi triukšmu.

Reaction Efficiency Threshold (reakcijos efektyvumo slenkstis):

„Reaction Efficiency Threshold“ (reakcijos efektyvumo slenkstis) yra kitas būdas, kuriuo galima pašalinti triukšmą iš analizės. Šis normalizavimo algoritmas taiko reakcijos efektyvumo apskaičiavimo metodus, kurie taikomi atliekant palyginamąją kiekybinę analizę (žr. 6.6.6 skyrių). Visi mėginiai, kurių reakcijos efektyvumas nesiekia šio lygio, neįtraukiami į analizę ir stulpelyje „CT Comment“ (CT pastaba) pažymimi žyme „NEG (R.Eff)“.

0 % lygis reiškia, kad per eksponentinę fazę nevyko jokia reakcija. 100 % lygis reiškia, kad per eksponentinę fazę vyko visiškai efektyvi reakcija. Neigiamas procentinis dydis reiškia, kad per eksponentinę fazę fluorescencijos signalas mažėjo.

Šie tyrimai nėra išsamūs tikslaus efektyvumo lygio, reikalingo atskirti tikrąsias reakcijas nuo užteršimo ir kitokio poveikio, atžvilgiu. Dėl šios priežasties rekomenduojame šią funkciją taikyti konservatyviai, darant prielaidą, kad bet kuriame mėginyje, kuriame vyksta tikroji reakcija, gali būti matoma tam tikra eksponentinė fazė su nedideliu fluorescencijos padidėjimu. Jeigu ši reikšmė nustatoma didesnė nei 0 %, kai kurie mėginiai, kurių fluorescencija padidėjo neefektyviai, bet pastebimai, bus neįtraukiami, o nustačius žemesnę nei 0 % reikšmę, bus rodomi mėginiai, kurių fluorescencija eksponentinės fazės metu sumažėjo ir kurie negali būti įtraukiami.

Pastaba. Jeigu vertė neįtraukiama dėl kurio nors iš šių metodų taikymo, atitinkama CT vertė nebus rodoma lange **Quantitation Results** (kiekybinės analizės rezultatai). Be to, stulpelyje „Ct Comment“ (Ct pastaba) bus rodoma žymė, kad mėginys neįtrauktas. Todėl svarbu, kad „Ct Comment“ (Ct pastaba) stulpelis būtų visuomet rodomas ekrane.

Toliau pateiktame paveikslėlyje matoma, kad 7, 8 ir 9 mėginiai nebuvo įtraukti dėl „Reaction Efficiency Threshold“ (reakcijos efektyvumo slenksčio).

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

Nuolydis, amplifikacija, reakcijos efektyvumas

Reakcijos nuolydis M (rodomas lange **Standard Curve** (standartinė kreivė) gali būti naudojamas eksponentinei amplifikacijai ir reakcijos efektyvumui nustatyti, naudojant šiuos skaičiavimus:

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

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

Optimalios M, eksponentinės amplifikacijos ir reakcijos efektyvumo reikšmės atitinkamai yra – 3,322, 2 ir 1. Reakcijos efektyvumas pateikiamas ataskaitoje (išsamioje ir standartinėje ataskaitose, žr. 82) ir lange **Standard Curve** (standartinė kreivė).

Nuolydis apskaičiuojamas kaip C_T pokytis, padalytas iš logaritminės įvesties (pvz., kopijų skaičiaus) pokyčio. 100 % efektyvi amplifikacija reiškia, kad amplifikacijos produktas padvigubėjo per kiekvieną ciklą, dėl to gauta M reikšmė lygi –3,322, amplifikacijos faktorius lygus 2, o reakcijos efektyvumas lygus 1.

Jeigu M reikšmė yra lygi –3,322, atliekami tokie skaičiavimai:

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

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

Kitas pavyzdys: jei M reikšmė yra lygi 3,8, tai reiškia, kad reakcijos eksponentinė amplifikacija yra lygi apytiksliai 1,83, todėl reakcijos efektyvumas lygus 0,83 (arba 83 %).

Poslinkis

Formulėje, išreiškiančioje ryšį tarp 2 kintamųjų, poslinkis žymimas B ($y = Mx + B$). Poslinkis taip pat kartais vadinamas atkarpa. B atitinka C_T , kai koncentracija lygi 1 vienetui. Pakeitus 1 koncentracijos formulėje, kaip parodyta toliau:

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

$$C_T = 0 * M + B,$$

gaunamas rezultatas $C_T = B$

Atkarpa gali keistis kiekvienoje tyrimo serijoje ir tai yra mažiau stabilus matas nei gradientas. Todėl gradientas analizuojamas dažniau nei atkarpa.

Pagrindinis langas

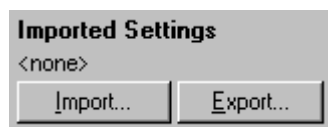
Pagrindiniame lange rodomos amplifikacijos diagramos logaritminėje skalėje.

Lango apačioje spustelėjus parinktį **Linear Scale** (tiesinė skalė), skalė perjungiama iš logaritminės į tiesinę ir atvirkščiai. Perjungiant šias skales, keičiasi tik grafiko pateikimas, o ne skaičiavimai. Tai galima patikrinti naudojant smeigtuko įrankį, dešiniuoju pelės klavišu spragtelėjus ant grafiko ir pasirinkus parinktį **Show pinpointer** (rodyti smeigtuką). Naudojant logaritminę skalę, mažesnės reikšmės labiau matomos grafike, o naudojant tiesinę skalę, geriau matoma visa reakcija.

Pastaba. Amplifikacijos diagramos atnaujinamos realiuoju laiku, kai „Rotor-Gene Q MDx“ aktyviai renka duomenis vykstant tyrimo serijai. Šis duomenų stebėjimas realiuoju laiku leidžia naudotojui pamatyti rezultatus iš karto, kai tik pasireiškia eksponentinis kreivės augimas. Galima teikti preliminarias išvadas ir priimti sprendimus dėl kitos tyrimo serijos.

Kiekybinės analizės šablonai

Naudodamas kiekybinės analizės šablonus, naudotojas gali eksportuoti normalizavimo ir slenksčio nustatymus į vieną *.qut failą. Šį failą galima importuoti ir pakartotinai taikyti kitiems tyrimams. Daugiau informacijos ieškokite 7.1 skyriuje.



6.6.3 Dvi standartinės kreivės

Taikant 2 standartinių kreivių metodą ir naudojant normalizavimo geną, galima atlikti santykinę geno ekspresijos analizę.

Taikant šį metodą, būtina gauti kiekvieno geno standartinę kreivę. Kiekvieno geno koncentracija kiekybiškai analizuojama pagal jo standartinę kreivę. Tuomet dominančio geno ekspresija normalizuojama naudojant normalizavimo geną (dažnai „namų ūkio“ geną).

Svarbu, kad standartiniai ir kartotiniai mėginiai būtų tinkamai apibrėžti konfigūruojant mėginį (žr. skyriuje „Mėginio nustatymas“). Ypač svarbu, kad atitinkamų mėginių pavadinimai kiekvienoje analizėje būtų vienodi. Vykdam sudėtinę reakciją, kai dominančio geno ir normalizavimo geno mėgintuvėlio vieta yra ta pati, pakanka vieno mėginių apibrėžčių rinkinio. Jeigu santykinė analizė su normalizavimo genu atliekama naudojant vieną kanalą (t. y. reakcijos vykdomos atskiruose mėgintuvėliuose, naudojant tą patį fluoroforą), tuomet reikia sukurti 2 mėginio puslapius. Pirmajame reikia pažymėti mėgintuvėlių vietas dominančio geno mėginių pavadinimais, o kitos vietos turi likti be pavadinimo. Antrajame reikia pažymėti normalizavimo genui naudojamą vietas. Tuomet programinė įranga susies mėginius tarp dviejų analizių pagal jų pavadinimus.

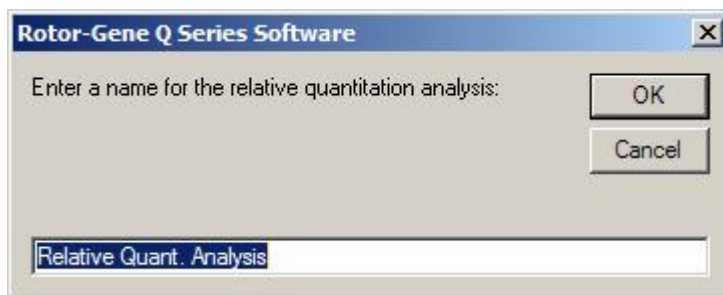
Ekspresijos analizė, taikant dviejų standartinių kreivių metodą

Pirma galima atlikti kiekvieno geno kiekybinę duomenų analizę. Kitu atveju kiekvieno geno rezultatai bus automatiškai nustatomi naudojant įrankį **Autofind Threshold** (automatinis slenksčio aptikimas).

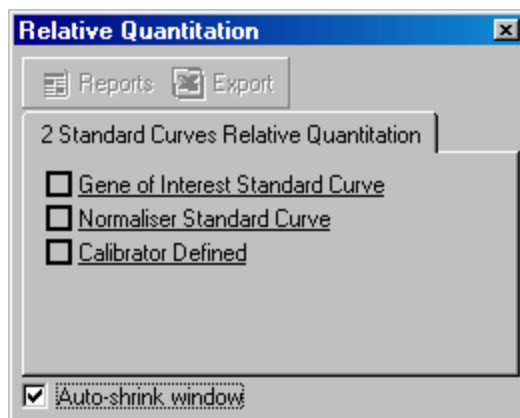
1. Langoje **Analysis** (analizė) pasirinkite skirtuką **2 Std Curve (Rel.)** (2 stand. kreivė (sant.)). Spustelėkite **New Analysis...** (nauja analizė)

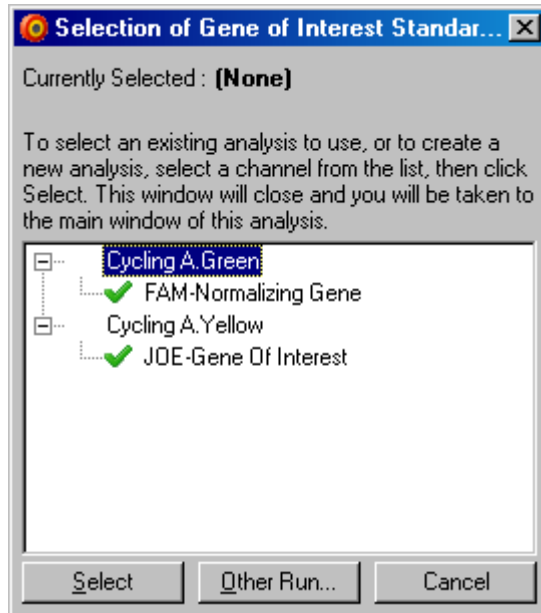


2. Įveskite analizės pavadinimą.

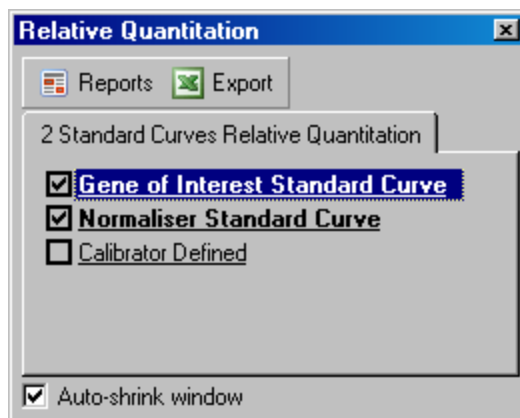


3. Nurodykite puslapius, kurie bus naudojami normalizavimo geno analizei ir dominančio geno analizei. Pavyzdžiui, spustelėjus **Gene of Interest Standard Curve** (dominančio geno standartinė kreivė), atveriamas langas **Selection of Gene of Interest Standard...** (dominančio geno standarto pasirinkimas). Pasirinkite puslapį, kuriame atlikta dominančio geno kiekybinė analizė. Pakartokite procedūrą su normalizavimo genu. Pasirinktinai galima nurodyti kalibruoklį. Jeigu pasirenkama ši parinktis, kalibruokliui priskiriama reikšmė, lygi 1, o visų kitų mėginių koncentracijos reikšmės skaičiuojamos atsižvelgiant į šį mėginį.

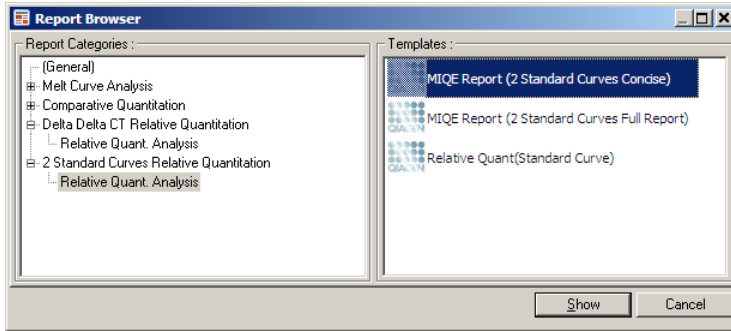




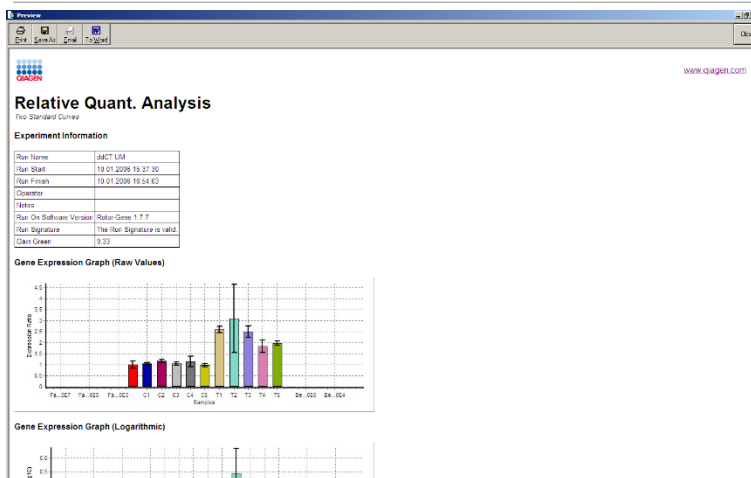
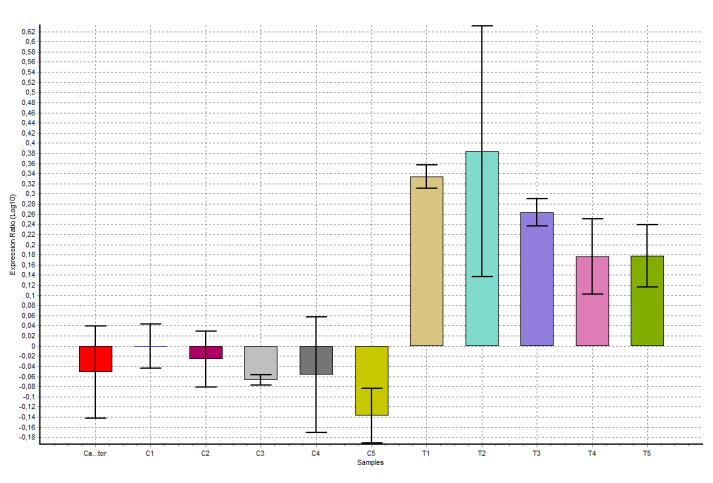
Pasirinkus parinktį, jos pažymimos varnele, kaip parodyta toliau.



- Spustelėkite mygtuką **Reports** (ataskaitos), kad būtų rodoma **Report Browser** (ataskaitų naršyklė). Sąraše pasirinkite analizę su reikiamu pavadinimu. Spustelėkite mygtuką **Show** (rodyti), kad būtų rodoma atitinkama kiekybinės analizės ataskaita. Pasirinkus parinktį **Export** (eksportuoti), rezultatai eksportuojami į naują „Excel“ skaičiuoklės lapą. Jeigu įtraukiamas kalibruoklis, rezultatai skaičiuojami atsižvelgiant į kalibruoklio mėginį, kuriam priskirta reikšmė, lygi 1.



5. Rodomos koncentracijos, gautos iš dominančio geno standartinės kreivės (GOI Conc.), normalizavimo geno koncentracija (Norm. Conc.) ir santykinė koncentracija (Relative Conc.) Rezultatus galima įrašyti į „Word“ failą.



6. „Rel Min“ (santykinė minimali) ir „Rel Max“ (santykinė maksimali) reikšmės gaunamos apskaičiavus GOI ir normalizatoriaus standartinių nuokrypių santykio standartinį nuokrypį, taikant šią formulę:

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

čia:

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

6.6.4 Delta delta C_T santykinė kiekybinė analizė

Taikant delta delta CT metodą, galima atlikti santykinę genų ekspresijos analizę. Šį metodą aprašė Livak ir Schmittgen (2001).*

Taikant šį metodą, standartinės kreivės nereikia įtraukti į kiekvieną tyrimo seriją. Kiekvienas mėginys pirma normalizuojamas pagal pridėtą matricos kiekį, lyginant su normalizavimo genu. Šios normalizuotos reikšmės toliau normalizuojamos, atsižvelgiant į kalibruoklio tipą. Kalibruoklis gali būti, pavyzdžiui, laukinio tipo, nepadorota kontrolinė medžiaga arba nulinio laiko taško mėginiai.

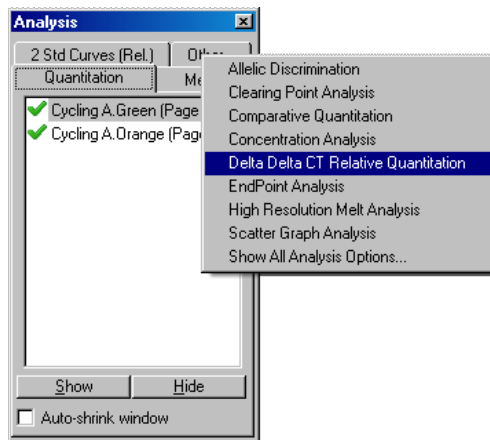
Svarbu, kad dominančio geno ir normalizavimo geno amplifikacijos efektyvumas būtų identiškas ir tai būtų patvirtinta remiantis Livak ir Schmittgen rekomendacijomis.

Svarbu, kad lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius) būtų tinkamai nustatomi mėginių pavadinimai, o tie patys mėginiai kiekvienoje sudėtinėje kiekybinėje analizėje būtų pažymimi vienodai.

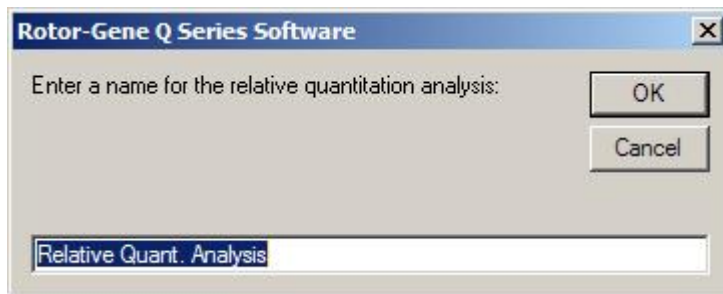
1. Analizuokite duomenis, taikydami „Quantitation“ (kiekybinės analizės) funkciją. Kai patvirtinimas atliktas, nebereikia sudaryti standartinės kreivės.

Lango **Analysis** (analizė) skirtuke **Other** (kita) pasirinkite parinktį **Delta Delta CT Relative Quantitation** (delta delta CT santykinė kiekybinė analizė). Spustelėkite **New Analysis** (nauja analizė).

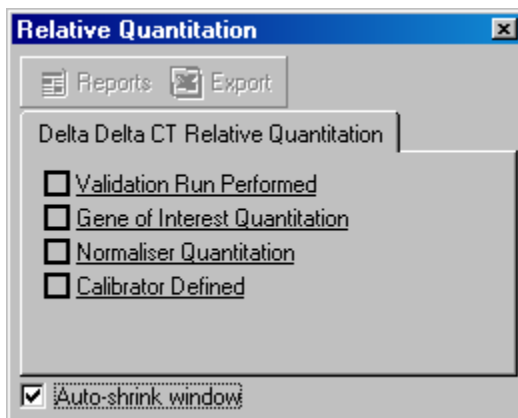
* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} method. *Methods* **25**, 402.

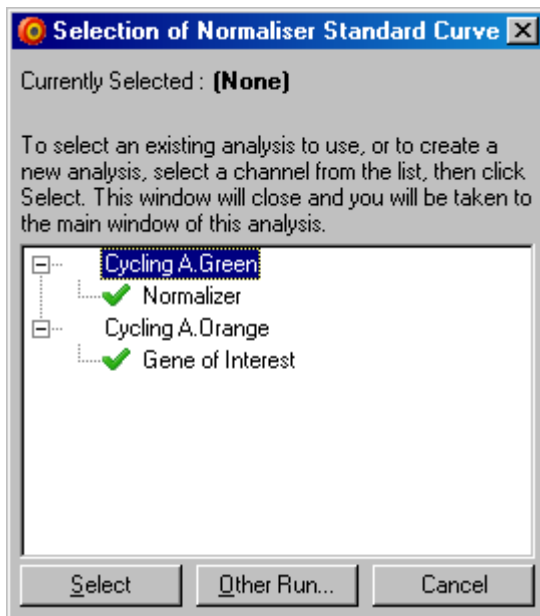


2. Įveskite analizės pavadinimą.

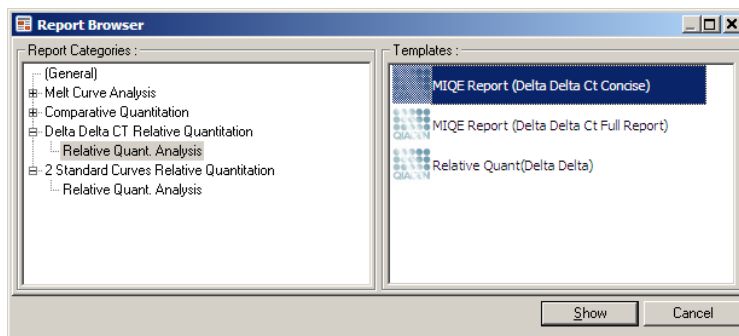


3. Norėdami tęsti analizę, pažymėkite **Validation Run Performed** (patvirtinimo tyrimo serija atlikta). Nurodykite puslapius, kuriuose išanalizuotas dominantis genas ir normalizavimo genas.





4. Spustelėkite mygtuką **Reports** (ataskaitos), kad būtų rodoma **Report Browser** (ataskaitų naršyklė). Sąraše pasirinkite analizę su reikiamu pavadinimu. Spustelėkite mygtuką **Show** (rodyti), kad būtų rodoma atitinkama kiekybinės analizės ataskaita. Pasirinkus parinktį **Export** (eksportuoti), rezultatai eksportuojami į naują „Excel“ skaičiuoklės lapą. Jeigu įtraukiamas kalibruoklis, rezultatai bus susiję su kalibruoklio mėginiu, kuriam priskirta reikšmė, lygi 1.



Šios analizės rezultatų pavyzdys pateikiamas toliau. Rodomos dominančio geno C_T reikšmės ($GOI C_T$), normalizavimo geno C_T reikšmės (Norm. C_T), ΔC_T , $\Delta\Delta C_T$ ir santykinė koncentracija (Relative Conc.). Ekspresija yra susijusi su kalibruoklio mėginiu, kuriam priskirta santykinės ekspresijos reikšmė, lygi 1.

Daugiau informacijos apie „Rel Min“ (santykinė minimali) ir „Rel Max“ (santykinė maksimali) reikšmių skaičiavimų išvestines žr. Litvak ir Schmittgen (2001).*

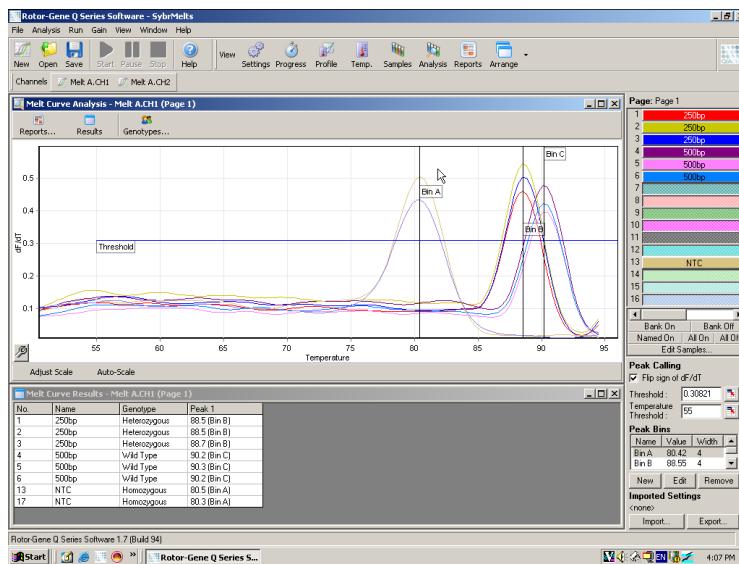
* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ method. *Methods* **25**, 402.

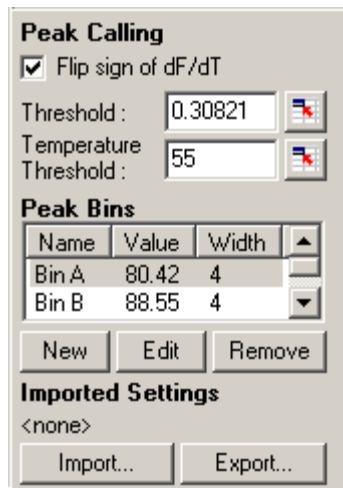
C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	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 Lydimosi kreivės analizė

Atliekant lydimosi kreivės analizę, analizuojama neapdorotų duomenų išvestinė po suvienodinimo. Ši analizė dažnai naudojama genotipo nustatymui ir alelių atskyrimui. Kreivės pikai grupuojami į telkinius, o visi slenksčio nesiekiantys pikai atmetami. Tuomet telkinius galima susieti su genotipais, naudojant funkciją „Genotypes“ (genotipai).

Pasibaigus tyrimo serijai, prie kai kurių cheminių reakcijų galima pridėti lydimosi etapą, norint vizualizuoti amplifikuotų produktų disociacijos kinetiką. Temperatūra didėja linijiniu greičiu ir registruojama kiekvieno mėginio fluorescencija. Toliau pateikiama tipinės lydimosi kreivės analizė.





Flip sign of dF/dT (apversti dF/dT ženklą):

prieš nustatydami pikus įsitikinkite, ar nustatytas tinkamas duomenų rinkinio dF/dT ženklas, kad gautumėte teigiamus pikus.

Defining peaks (pikų nustatymas):

atliekant lydymosi kreivės analizę, pikus galima nustatyti ir teikti jų ataskaitas taikant įvairius metodus. Vienas iš jų yra automatinis visų kiekvieno mėginio pikų gavimas. Kitas metodas yra pikų skirstymas į telkinius, o tai naudinga nustatant genotipą.

Telkinys – tai sritis, kurioje, tikėtina, pasireišk pikų. Atliekant lydymosi kreivės analizę, programinė įranga grupuoja pikus į telkinių grupes pagal faktines pikų reikšmes kreivėje. Jeigu reikia, telkinius galima redaguoti.


Visi pikai, patenkantys į nustatytą telkinio intervalą, bus priskiriami tam telkiniui. Jeigu yra 2 artimi telkiniai, pikas bus priskiriamas artimesniam telkiniui.

Pastaba. Nereikia vizualiai nustatyti telkinių padėties, norint įvertinti pikų padėtis. Telkinius nustatykite apytikslėse dominančiose srityse, tuomet naudokite faktines reikšmes, pateiktas rezultatų ataskaitos lentelėje, kad gautumėte tikslesnius rezultatus.


Peak Bins (pikų telkiniai):

norėdami nustatyti telkinį, spustelėkite mygtuką **New Bin** (naujas telkinys), tada spustelėkite ir laikykite paspaudę ant grafiko, kad nustatytumėte telkinio centrą. Norėdami pridėti kitą telkinį, pakartokite procedūrą. Norėdami pašalinti telkinį, spauskite mygtuką **Remove** (šalinti).

Threshold (slenkstis):

norėdami nustatyti slenkstį (y ašis), spustelėkite  piktogramą, tada spustelėkite ir laikykite paspaudę ant grafiko ir tempkite slenkščio liniją iki norimo lygio.

Temperature Threshold (temperatūros slenkstis):

norėdami nustatyti temperatūros slenkstį (x ašis), spustelėkite  piktogramą, tada spustelėkite ir laikykite paspaudę ant grafiko ir tempkite slenkščio liniją į dešinę. Tai pašalina žemesnės temperatūros slenkščio liniją.

Pastaba. Naudinga, jeigu gaunant signalą esant žemai temperatūrai pasireiškia triukšmas.

Ataskaitos

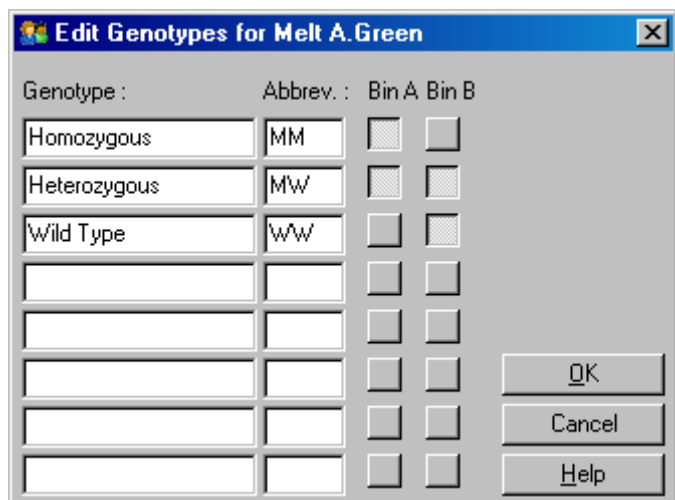
Atveriamas **Report Browser** (ataskaitų naršyklė), kurioje galima pasirinkti norimą peržiūrėti ataskaitą. Ataskaita gali būti sudaroma atsižvelgiant į šiuo metu pasirinktą kanalą arba galima sudaryti kelių kanalų genotipo nustatymo ataskaitą.

Rezultatai

Atveriamas langas **Melt Curve Results** (lydimosi kreivės rezultatai), kuriame pateikiami mėginio pikai.

Genotipai

Spustelėkite **Genotypes...** (genotipai) ir pasirinkite genotipus, kaip parodyta toliau.

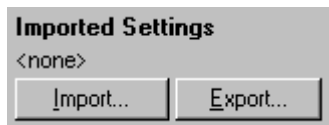


Šiame lange genotipus galima priskirti pagal pikų dažnį telkiniuose. Numatytoji genotipo konfigūracija rodoma ekrano kopijoje, kur heterozigotiniai mėginiai turi 2 pikus, homozigotiniai mėginiai turi vieną piką pirmajame telkinyje, o laukinio tipo mėginiai turi piką antrajame telkinyje. Lauke šalia kiekvieno genotipo pavadinimo galima įrašyti santrumpą. Tai naudojama spausdinant kelių kanalų genotipo nustatymo ataskaitas, kad būtų galima lengvai perskaityti visus kelių kanalų rezultatus.

Atliekant sudėtinę analizę, būtina nustatyti kiekvieno kanalo genotipus. Jei, pavyzdžiui, atliekama dvigubo kanalo slopinama FRET analizė, kai kiekviename kanale tikimasi laukinio tipo ir heterozigotinio genotipo, turi būti nustatyti kiekvieno kanalo telkinio parametrai. Rezultatai pateikiami sudėtinėje ataskaitoje.

Lydimosi analizės šablonai

Naudodamas lydimosi analizės šablonus, naudotojas gali eksportuoti normalizavimo, slenksčio, genotipo nustatymo ir telkinių nustatymus į vieną *.met failą. Šį failą galima importuoti ir pakartotinai taikyti kitiems tyrimams. Daugiau informacijos ieškokite 7.1 skyriuje.



6.6.6 Palyginamoji kiekybinė analizė

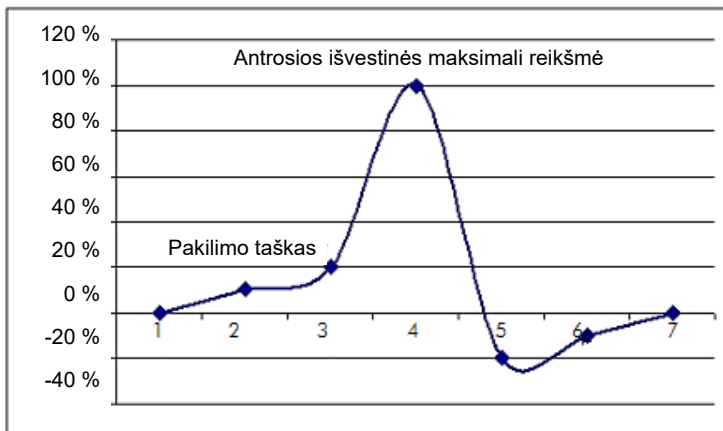
Atliekant palyginamąją kiekybinę analizę, lyginama santykinė mėginių ekspresija su kontroliniu mėginiu per tyrimo seriją, kai nėra standartinės kreivės. Tai dažnai taikoma atliekant mikrogardelės analizę. Šio metodo pavyzdį pateikia Warton ir bendraautoriai (2004)*.

1. Norėdami atlikti analizę, lange **Analysis** (analizė) pasirinkite **Other** (kita), o tada pasirinkite **Comparative quantitation** (palyginamoji kiekybinė analizė). Du kartus spragtelėkite kanalą, kurio analizę norite atlikti.
2. Ekranu dešinėje pusėje po perjungikliu esančiame išskleidžiamajame meniu pasirinkite kontrolinį mėginį.
3. Rezultatai automatiškai apskaičiuojami ir rodomi grafiko apačioje, lange **Comparative Quantitation Results** (palyginamosios kiekybinės analizės rezultatai).

Pirmuosiuose lango **Comparative Quantitation Results** (palyginamosios kiekybinės analizės rezultatai) stulpeliuose rodomas mėginio numeris ir pavadinimas. Stulpelyje **Takeoff** (pakilimas) nurodomas mėginio pakilimo taškas. Antroji amplifikacijos diagramos išvestinė sukuria pikus, atitinkančius maksimalų reakcijos fluorescencijos didėjimo greitį. Pakilimo taškas apibrėžiamas kaip ciklas, per kurį antroji išvestinė siekia 20 % maksimalaus lygio, ir nurodo triukšmo pabaigą bei perėjimą į eksponentinę fazę.

Šiame grafike pateikiama antroji amplifikacijos diagramos išvestinė, nurodanti santykinės antrosios išvestinės piko ir pakilimo taško vietas.

* 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.



Stulpelyje „Amplification“ (amplifikacija) nurodomas mėginio efektyvumas. Jeigu reakcijos efektyvumas yra lygus 100 %, kiekvieno mėginio amplifikacijos vertė yra lygi 2, t. y. per kiekvieną ciklą amplikonas padvigubėja. Neapdorotuose duomenyse signalas turėtų dvigubėti eksponentinėje fazėje. Pavyzdžiui, jeigu signalas siekė 50 fluorescencijos vienetų per 12 ciklą, 51 fluorescencijos vienetą per 13 ciklą, per 14 ciklą jis turėtų siekti 53 fluorescencijos vienetus. Apskaičiuojamas visų kiekvieno mėginio amplifikacijos reikšmių vidurkis, siekiant gauti amplifikacijos reikšmę, rodomą dešinėje ekrano pusėje po perjungikliu. Kuo didesnė kiekvieno mėginio apskaičiuotųjų amplifikacijos verčių variacija, tuo didesnis pasikliautinis intervalas (reikšmė po \pm ženklų). Didelio imties skaičiaus (N) pasikliautinis intervalas reiškia 68,3 % tikimybę, kad tikroji mėginių amplifikacija patenka į šį intervalą (1 standartinis nuokrypis). Padvigubinus \pm intervalą, gaunamas 95,4 % didelės imties N pasikliautinis intervalas.

Kalibruoklio pakartojimai

Kaip ir taikant delta delta C_T metodą, būtina naudoti kalibruoklio mėginį, o matavimai bus susiję su šiuo kalibruoklio mėginiu. Kalibruoklio pakartojimus galima analizuoti, nes jeigu kelių mėginių vietų pavadinimai yra vienodi, bus naudojamas šių mėginių pakilimo taškų vidurkis. Norėdami tinkamai taikyti šią funkciją, įsitikinkite, ar pakartojimų pavadinimai yra vienodi.



Skaiciuojant ekspresiją naudojama vidutinė amplifikacija. Pavyzdžiui, mėginys, kurio amplifikacijos reikšmė maža, užtruks ilgiau, kol pasieks konkretų absoliutųjį kopijų skaičių, nei mėginys, kurio amplifikacijos reikšmė didesnė. Lango **Comparative Quantitation Results** (palyginamosios kiekybinės analizės rezultatai) stulpelyje „Rep. Conc.“ (pakartojimų koncentracija) pateikiama santykinė koncentracija. Kiekvieno mėginio santykinė koncentracija, palyginus su kalibruoklio mėginiu, apskaičiuojama atsižvelgiant į pakilimo tašką ir reakcijos efektyvumą. Ji išreiškiama standartinė skaičiaus išraiška.

Pastaba. Šalia **Average Amplification** (vidutinės amplifikacijos) reikšmės, ženklo \pm dešinėje pusėje, rodoma reikšmė atitinka standartinį vidutinės amplifikacijos nuokrypį, gautą pašalinus išsiskiriančias amplifikacijos reikšmes. Jeigu ši reikšmė didelė, tai gali būti dėl didelės paklaidos skaičiuojant bendrąsias koncentracijos reikšmes.

Santykines koncentracijos reikšmes skaičiuoja programinė įranga, kaip nurodyta toliau:

1. Kiekvieno mėginio pakilimo taškas apskaičiuojamas atsižvelgiant į antrosios išvestinės pikus.
2. Apskaičiuojamas vidutinis neapdorotų duomenų padidėjimas per 4 ciklus po pakilimo. Tai mėginio amplifikacijos reikšmė.
3. Išsiskiriančios amplifikacijos reikšmės pašalinamos, taip atsižvelgiant į foninės fluorescencijos triukšmą.
4. Apskaičiuojamas likusių amplifikacijos reikšmių vidurkis. Tai vidutinė amplifikacija.
5. Apskaičiuojamas kiekvieno kalibruoklio pakartojimo vidutinis pakilimo taškas.
6. Santykinė mėginio koncentracija apskaičiuojama pagal formulę $\text{amplifikacija}^{\text{kalibruoklio pakilimas}} - \text{mėginio pakilimas}$.
7. Rezultatai pateikiami kaip standartinė skaičiaus išraiška lango **Comparative Quantitation Results** (palyginamosios kiekybinės analizės rezultatai) stulpelyje „Rep. Conc.“ (pakartojimų koncentracija).

6.6.7 Alelių atskyrimas

Mėginių genotipui nustatyti alelių atskyrimas atliekamas naudojant 2 ar daugiau kanalų tikralaikius kinetinius duomenis. Norėdami atlikti šią analizę, lange **Analysis** (analizė) pasirinkite **Other** (kita), o tada pasirinkite **Allelic Discrimination** (alelių atskyrimas). Atliekant alelių atskyrimą, nepakanka du kartus spragtelėti ant vieno kanalo, kad būtų atliekama analizė, nes ši analizė atliekama naudojant kelis kanalus vienu metu. Norėdami atlikti šią analizę, laikykite paspaudę mygtuką CTRL ir spragtelėkite, kad pažymėtumėte kiekvieną kanalą, kurį norite analizuoti, arba užtempkite pelės žymeklį virš šių kanalų. Pažymėję norimus kanalus, spustelėkite **Show** (rodyti). Sąrašas atnaujinamas, kad visi kanalai būtų rodomi vienoje linijoje, o šalia jų pažymima varnelė. Tai reiškia, kad jie visi bus naudojami atliekant vieną analizę. Jeigu norite pašalinti vieną ar daugiau kanalų, dešiniuoju pelės klavišu spragtelėkite ant analizės ir pasirinkite parinktį **Remove Analysis...** (šalinti analizę). Tuomet šiuos kanalus galima įtraukti į kitą alelių atskyrimo analizę. Vienu metu kanalas gali būti naudojamas tik vienai analizei atlikti.

Reports (ataskaitos): atveriamas ataskaita „Allelic Discrimination Analysis“ (alelių atskyrimo analizė), kad ją galėtumėte peržiūrėti.

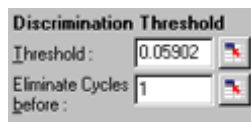
Results (rezultatai): atveriamas langas **Allelic Discrimination Results** (alelių atskyrimo rezultatai). Numatyta, kad šis langas atveriamas, kai analizė rodoma pirmą kartą.

Normalizavimo parinktys: galima rinktis įvairias optimalaus neapdorotų duomenų normalizavimo parinktis.

- **Dynamic Tube** (dinaminis mėgintuvėlis) (dinaminio mėgintuvėlio normalizavimas)
- **Slope Correct** (nuolydžio koregavimas) (triukšmo nuolydžio koregavimas)
- **Ignore First x cycles** (ignoruoti x pirmuosius ciklus) (pradinių ciklų triukšmo koregavimas)
- **Takeoff point adjustment (pakilimo taško reguliavimas)**

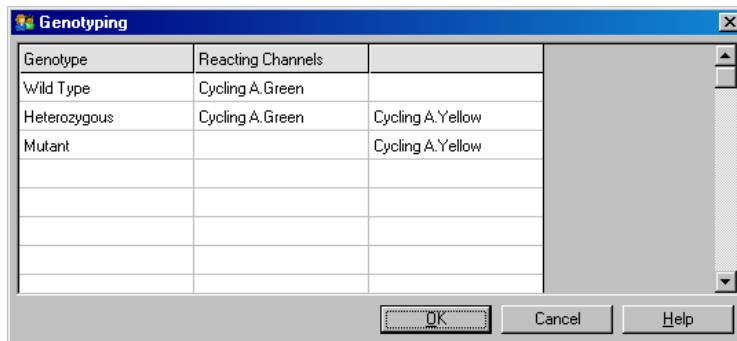
Išsamią informaciją rasite 92 psl.

Discrimination Threshold (atskyrimo slenkstis): šiuose teksto langeliuose įveskite reikšmes, kad nustatytumėte atskyrimo slenksť. Visos šį slenksť viršijančios kreivės laikomos genotipo nustatymo mėginiais. Spustelėkite kiekvieno teksto langelio dešinėje pusėje esančią piktogramą, tada tempkite slenksčio liniją grafike, kad vizualiai nustatytumėte šias reikšmes.



Genotypes (genotipai): pasirinkus šią parinktį atveriamas langas **Genotyping** (genotipo nustatymas), kuriame apibrėžiama, koks genotipas aptinkamas kiekviename kanale. Šiame lange genotipus galima priskirti kanalams, kad būtų atliekama alelių atskyrimo analizė.

Toliau pateiktame pavyzdyje mėginys yra heterozigotinis, jeigu kanalų „Cycling A.Green“ ir „Cycling A.Yellow“ rodmenys kerta slenksčio liniją.



Alelių analizės šablonai: naudojant alelių analizės šablonus, galima eksportuoti normalizavimo, slenksčio ir genotipo nustatymus į vieną *.alt failą. Šį failą galima importuoti ir pakartotinai taikyti kitiems tyrimams. Daugiau informacijos ieškokite 7.1 skyriuje.



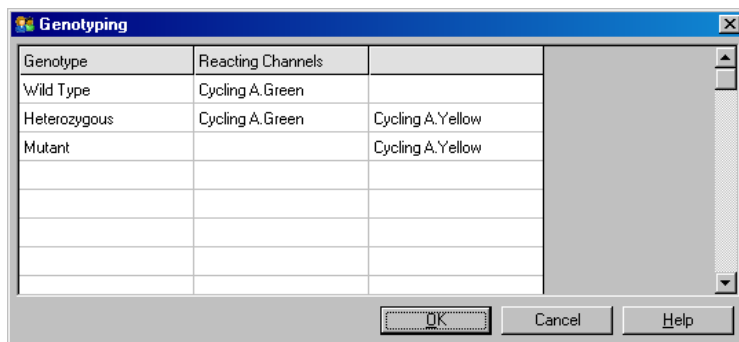
6.6.8 Sklaidos grafiko analizė

Taikant sklaidos grafiko analizę, genotipą galima nustatyti atsižvelgiant į amplifikacijos diagramų 2 kanaluose santykinę ekspresiją. Kitaip nei taikant alelių atskyrimą, genotipas nustatomas atsižvelgiant į regionus, nustatytus pagal sklaidos grafiką, o ne pagal vieną slenkstį. Norėdami atlikti šią analizę, lange **Analysis** (analizė) pasirinkite **Other** (kita), o tada pasirinkite **Scatter Graph Analysis** (sklaidos grafiko analizė).

Atliekant sklaidos grafiko analizę, nepakanka du kartus spragtelėti ant vieno kanalo, kad būtų atliekama analizė, nes ši analizė atliekama naudojant 2 kanalus vienu metu. Norėdami atlikti šią analizę, laikykite paspaudę mygtuką SHIFT ir spragtelėkite, kad pažymėtumėte kanalus, kuriuos norite analizuoti, arba užtempkite pelės žymeklį virš šių kanalų. Pažymėję norimus kanalus, spustelėkite **Show** (rodyti).

Sąrašas atnaujinamas, kad visi kanalai būtų rodomi vienoje linijoje, o šalia jų pažymima varnelė. Tai reiškia, kad jie visi bus naudojami atliekant vieną analizę. Jeigu norite pašalinti vieną ar daugiau kanalų, dešiniuoju pelės klavišu spragtelėkite ant analizės ir pasirinkite parinktį **Remove Analysis...** (šalinti analizę). Tuomet šiuos kanalus galima įtraukti į kitą sklaidos grafiko analizę. Vienu metu kanalas gali būti naudojamas tik vienai analizei atlikti.

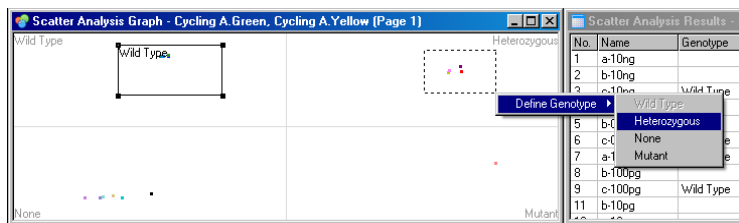
Reports (ataskaitos):	atveriamas ataskaita Scatter Analysis (sklaidos analizė), kad ją galėtumėte peržiūrėti.
Results (rezultatai):	atveriamas langas „Scatter Analysis Results“ (sklaidos analizės rezultatai). Numatyta, kad šis langas atveriamas, kai analizė rodoma pirmą kartą.
Normalizavimo parinktys:	galima rinktis įvairias optimalaus neapdorotų duomenų normalizavimo parinktis. <ul style="list-style-type: none">• Dynamic Tube (dinaminis mėgintuvėlis) (dinaminio mėgintuvėlio normalizavimas)• Slope Correct (nuolydžio koregavimas) (triukšmo nuolydžio koregavimas)• Ignore First x cycles (ignoruoti x pirmuosius ciklus) (pradinių ciklų triukšmo koregavimas)• Pakilimo taško reguliavimas Išsamią informaciją rasite 92 psl.
Genotypes (genotipai):	pasirinkus šią parinktį atveriamas langas Genotyping (genotipo nustatymas), kuriame apibrėžiama, koks genotipas aptinkamas kiekviename kanale. Šiame lange genotipus galima priskirti pagal kanalus, kuriuose reaguoja mėginys. Pasirinkti kanalai bus naudojami sklaidos grafiko kampams pažymėti ir nurodys naudotojui bendrąją sklaidos grafiko sritį, kurioje reikia nustatyti regionus.



Scatter Graph (sklaidos grafikas):

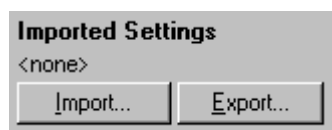
sklaidos grafike pateikiama santykinė ekspresija 2 pasirinktuose kanaluose. Ekrane rodomi duomenys normalizuojami taip, kad būtų atsižvelgiama į kiekviename kanale vykstantį skirtingą padidėjimą kartais, o logaritmas transformuojamas, kad būtų paryškinti mėginių ekspresijos skirtumai.

Norėdami nustatyti genotipus, nustatykite regionus spragtelėdami ir tempdami pasirinkimą ant grafiko. Tuomet pasirinkimą galima pažymėti etikete pagal genotipus, sukonfigūruotus lange **Genotyping** (genotipo nustatymas).



Scatter graph analysis templates (sklaidos grafiko analizės šablonai):

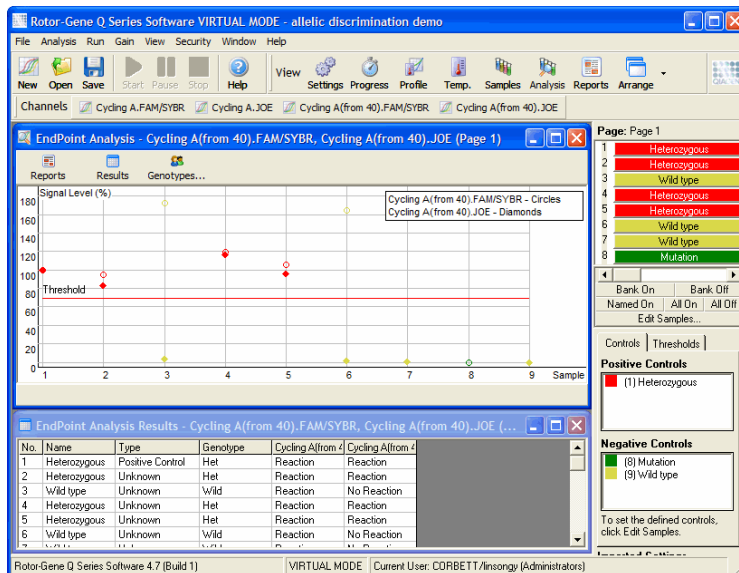
naudojant sklaidos grafiko analizės šablonus, genotipo ir regiono nustatymus galima eksportuoti į vieną *.sct failą. Šį failą galima importuoti ir pakartotinai taikyti kitiems tyrimams. Daugiau informacijos ieškokite 7.1 skyriuje.



6.6.9 Vertinamosios baigties analizė

Vertinamosios baigties analizė leidžia tyrimo serijos pabaigoje atskirti mėginius, kuriuose amplifikacija įvyko ir kuriuose neįvyko. Rezultatai yra kokybiniai (teigiamas / neigiamas), o ne kiekybiniai.

Vertinamosios baigties analizė parodyta toliau pateiktoje ekrano kopijoje.



Vertinamosios baigties analizė panaši į alelių atskyrimą, nes rezultatai yra kokybiniai ir galima priskirti pavadinimus konkrečioms reakcijų permutacijoms skirtinguose kanaluose. Tačiau atliekant vertinamosios baigties analizę, galima naudoti tik vieną rodmenį, o atliekant alelių atskyrimą, naudojami kiekvieno mėginio vienas po kito vykstančių ciklų rodmenys. Tai reiškia, kad naudotojas turi nustatyti teigiamą ir neigiamą kontrolines medžiagas, kad pagerintų analizę. Neapdorotų duomenų signalo lygiai normalizuojami pagal kiekvieno kanalo žinomas teigiamas ir neigiamas kontrolines medžiagas. Tuomet naudotojas pasirenka signalo lygį procentais kaip slenkstį.

Vertinamosios baigties analizėje naudojami terminai

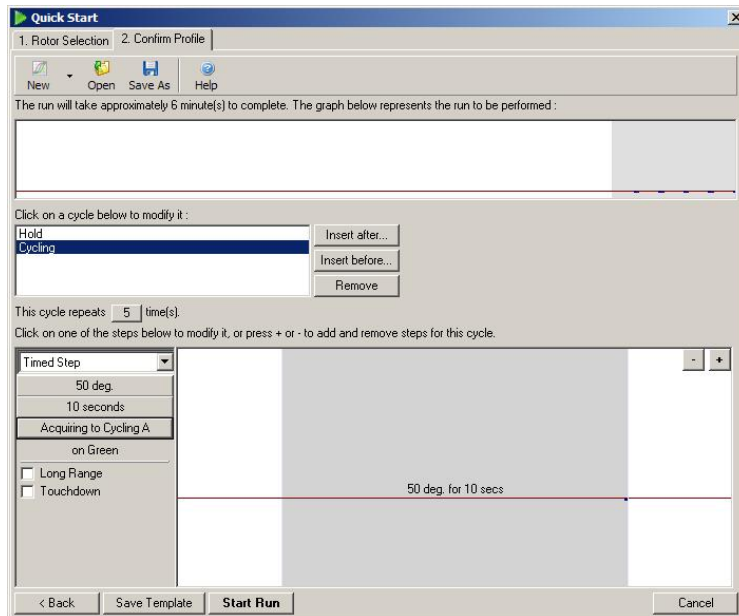
Kai kurie vertinamosios baigties analizėje naudojami terminai paaiškinti toliau:

- Teigiama kontrolinė medžiaga: tai mėginys, kuriame vyksta amplifikacija.
- Neigiama kontrolinė medžiaga: tai mėginys, kuriame nevyksta amplifikacija. Ji atitinka tipinį fono signalą.
- Slenkstis: tai signalo lygis, kurį viršijantis mėginys laikomas teigiamu (įvyko amplifikacija). Šį nustatymą turi sureguliuoti naudotojas prieš kiekvieną tyrimo seriją.
- Signalų lygis: procentinė fluorescencijos signalo dalis, normalizuota taip, kad didžiausias teigiamos kontrolinės medžiagos signalas yra lygus 100 %, o mažiausias neigiamos kontrolinės medžiagos signalas yra lygus 0 %.

Genotipas:

skirtingų kanalų reakcijų įvairių permutacijų paaiškinimas. Pavyzdžiui, genotipas „heterozigotinis“ gali būti priskiriamas mėginiams, kurių reakcija vyko abiejuose – žaliame ir geltoname – kanaluose. Genotipas taip pat gali būti naudojamas teikiant reakcijų su vidine kontroline medžiaga rezultatų ataskaitas. Pavyzdžiui, rezultatai gali būti „slopinama“, „teigiama“ arba „neigiama“, atsižvelgiant į tai, ar tam tikrame kanale reakcija įvyko, ar ne.

Profilio konfigūravimas



Norėdami atlikti vertinamosios baigties analizę, naudokite profilį, kuriame nustatytas kelių minučių trukmės sulaikymas esant 50 °C temperatūrai ir iš 1 etapo (50 °C, 10 s) sudarytas ciklas, duomenų rinkimą vykdydami reikiamame kanale. Nustatykite pakartojimų skaičių, lygų 5, kaip parodyta pirmiau. Šis pakartojimų skaičius yra tik rekomendacinis ir gali skirtis atsižvelgiant į konkretų tyrimą. Kuo daugiau pakartojimų nustatoma profilyje, tuo daugiau informacijos gaunama analizei atlikti. Analizės metu automatiškai apskaičiuojamas visų rodmenų vidurkis, siekiant gauti vieną kiekvieno mėginio reikšmę. Nėra nustatyto konkretaus būtinų pakartojimų skaičiaus. Paprastai pakanka 5 pakartojimų, nebent reikia itin aukšto lygio tikslumo.

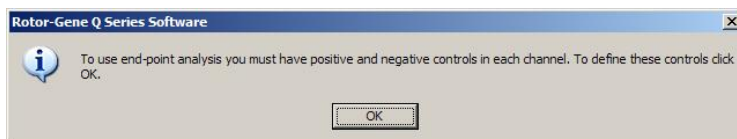
Analizė

Vertinamosios baigties analizę galima atlikti keliuose kanaluose vienu metu. Norėdami sukurti naują analizę, spustelėkite skirtuką **EndPoint** (vertinamoji baigtis), pasirinkite kanalus virš jų užtempdami pelės žymeklį, ir spustelėkite **Show** (rodyti).



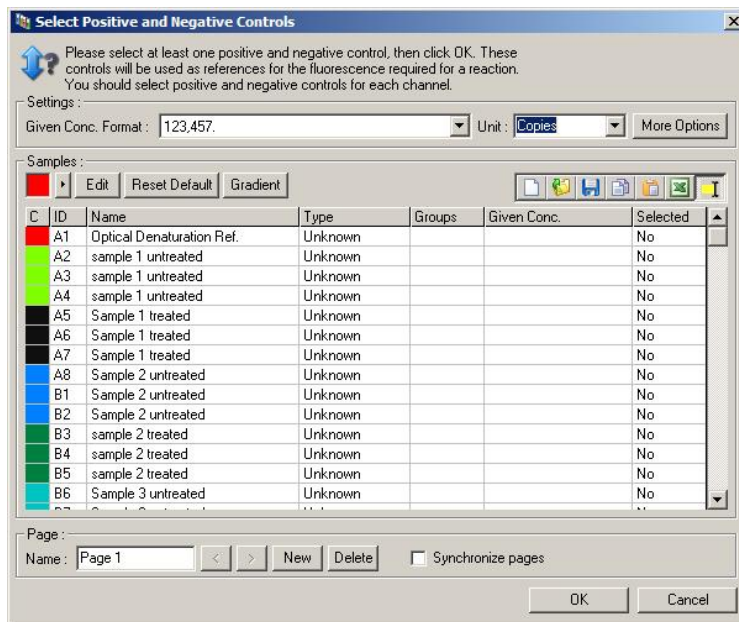
Kontrolinių medžiagų nustatymas

Kai vertinamosios baigties analizė atveria pirmą kartą, rodomas šis pranešimas, jeigu teigiama kontrolinė medžiaga ir neigiama kontrolinė medžiaga nenustatytos.



Spustelėkite **OK** (gerai). Atveriamas langas **Edit Samples** (redaguoti mėginius), kuriame galima nustatyti teigiamą kontrolinę medžiagą ir neigiamą kontrolinę medžiagą. Norėdami mėginį nustatyti kaip teigiamą kontrolinę medžiagą arba kaip neigiamą kontrolinę medžiagą, spragtelėkite ant mėginio tipo langelio ir išskleidžiamajame meniu pasirinkite atitinkamą kontrolinės medžiagos tipą.

Pastaba. Norint atlikti analizę, kontrolines medžiagas reikia įjungti („On“) perjungikliu, esančiu pagrindinio lango dešinėje.



Šiame lange veikia tokios pačios funkcijos, kaip lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius) (žr. skyrių „Mėginio nustatymas“).

Normalizavimas

Vertinamosios baigties analizės duomenų normalizavimas visus signalo lygius paskirsto 0–100 % intervale. Turi būti pasirinkta bent viena teigiama ir viena neigiama kontrolinė medžiaga arba daugiau, jei analizuojami keli kanalai, o standartiniai mėginiai nėra sutankinami. Jei yra rizika, kad teigiamos kontrolinės medžiagos amplifikacija gali neįvykti, reikėtų naudoti daugiau nei vieną teigiamą ir vieną neigiamą kontrolinę medžiagą.

1. Kiekviename kanale analizuojamos visos teigiamos kontrolinės medžiagos, o mėginys, kurio fluorescencija didžiausia, nustatomas lygus 100 %. Tai reiškia, kad jei tiriamos kartotinės kontrolinės medžiagos, teigiamos kontrolinės medžiagos amplifikacija gali neįvykti nepakenkdama tyrimo serijai.
2. Analizuojamos visos neigiamos kontrolinės medžiagos, o ta, kurios fluorescencijos lygis žemiausias, nustatoma lygi 0 %.
3. Likusių mėginių neapdorotos fluorescencijos reikšmės yra suskirstomos pagal didžiausią teigiamos kontrolinės medžiagos ir mažiausią neigiamos kontrolinės medžiagos reikšmę.

Pavyzdžiui:

Mėginys	Tipas	Fluorescencija
1	Teigiama kontrolinė medžiaga	53,6
2	Teigiama kontrolinė medžiaga	53,0
3	Neigiama kontrolinė medžiaga	4,5
4	Neigiama kontrolinė medžiaga	4,3
5	Mėginys	48,1
6	Mėginys	6,4

Ši tyrimo serija sėkminga, nes 2 teigiamų kontrolinių medžiagų ir 2 neigiamų kontrolinių medžiagų rezultatai yra artimi vienas kitam, bet nepatenka į mėginio fluorescencijos reikšmes.

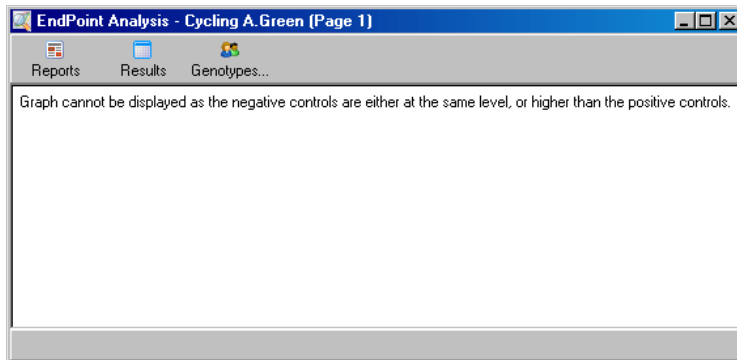
Normalizuotos vertės:

Mėginys	Tipas	Ekspresija (%)
1	Teigiama kontrolinė medžiaga	100,0
2	Teigiama kontrolinė medžiaga	97,3
3	Neigiama kontrolinė medžiaga	0,4
4	Neigiama kontrolinė medžiaga	0,0
5	Mėginys	84,2
6	Mėginys	4,0

1 mėginys yra teigiama kontrolinė medžiaga, pasižyminti didžiausia fluorescencija, todėl jo reikšmė buvo nustatyta lygi 100 %. Kitos teigiamos kontrolinės medžiagos rezultatas šiek tiek mažesnis. 4 mėginio (neigiamos kontrolinės medžiagos, kurios rezultatas mažiausias) reikšmė buvo nustatyta lygi 0 %. Tampa aišku, kad 5 mėginio amplifikacija tikriausiai įvyko, o 6 mėginio amplifikacija tikriausiai neįvyko.

Pastaba. Atsižvelgiant į pasirinktas teigiamas ir neigiamas kontrolines medžiagas, galima pasiekti didesnį nei 100 % arba mažesnį nei 0 % ekspresijos lygį. Jeigu rezultatas didesnis nei 100 %, tai gali reikšti, kad mėginio ekspresija vyksta stipriau nei teigiamos kontrolinės medžiagos. Jeigu rezultatas mažesnis nei 0 %, tai gali reikšti, kad tikimybė, kad įvyko mėginio amplifikacija, yra mažesnė nei tikimybė, kad įvyko neigiamos kontrolinės medžiagos amplifikacija. Kadangi ši analizė yra kokybinė, tokie rezultatai nėra svarbūs.

Jeigu neigiamos kontrolinės medžiagos fluorescencija didesnė nei teigiamos kontrolinės medžiagos, tai reiškia, kad mėginiai buvo netinkamai sukonfigūruoti ir rodomas šis pranešimas.



Normalizavimas keliuose kanaluose

Signalu duomenis galima analizuoti keliuose kanaluose, tačiau mėginio konfigūravimas sudėtingesnis. Atliekant vertinamosios baigties analizę daroma prielaida, kad buvo atliktas sutankinimas, todėl kiekvienas mėgintuvėlis gali turėti tik vieną mėgintuvėlio vietą. Šiuo metu negalima atlikti tokios konfigūracijos analizės, kai viename kanale mėginio vieta yra apibrėžta kaip teigiama kontrolinė medžiaga, o kitame kanale – kaip neigiama kontrolinė medžiaga.

Nors lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius) pateikiama tik viena mėginio apibrėžtis vienai mėgintuvėlio vietai, normalizavimas vyksta nepriklausomai kiekviename kanale.

Jeigu mėgintuvėlio vieta yra apibrėžta kaip teigiama kontrolinė medžiaga bent viename kanale, lango **Edit Samples** (redaguoti mėginius) stulpelyje „Type“ (tipas) ją reikia pažymėti kaip teigiamą kontrolinę medžiagą. Kitu atveju jos tipas turi būti **Sample** (mėginys). Tai taip pat taikoma neigiamoms kontrolinėms medžiagoms.

Pavyzdžiui, jeigu mėginys yra teigiama kontrolinė medžiaga žaliajame kanale, bet ne geltonajame kanale, mėginį vis tiek reikia apibrėžti kaip teigiamą kontrolinę medžiagą. Kadangi naudojama didžiausia teigiama kontrolinė medžiaga kiekviename kanale, jeigu geltonajame kanale yra bent viena teigiama kontrolinė medžiaga, kurios amplifikacija vyksta, žaliajame kanale mėginio apibrėžtis kaip kontrolinės medžiagos ignoruojama.

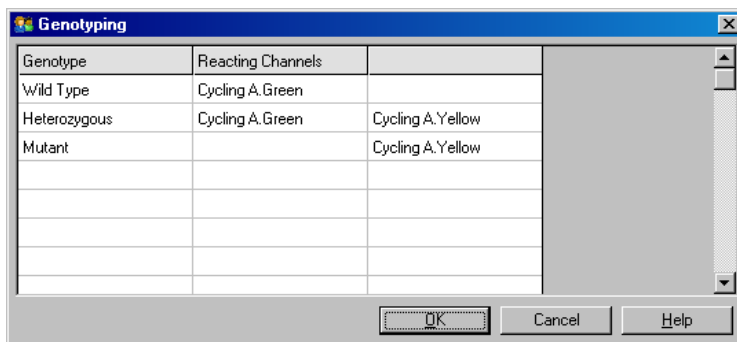
Slenkstis

Slenkstis taikomas norint nustatyti ekspresijos, kuri būtina, kad kanale įvyktų reakcija, procentinį dydį. Kai nustatomos teigiamos ir neigiamos kontrolinės medžiagos, visi kanalai normalizuojami pagal tą pačią 0–100 % skalę. Dėl šios priežasties reikalinga tik viena slenkstinė reikšmė, net jeigu analizuojami keli kanalai.

Spragtelėkite ant slenksčio linijos ir tempkite ją į norimą vietą srityje nuo 0 iki 100. Slenkstis negali būti pernelyg arti mėginių abiejose linijos pusėse, nes tai reiškia, kad pagal tyrimo seriją negalima daryti išvadų. Jei skirtumas tarp to, ar mėginys apibrėžiamas kaip amplifikuotas, ar kaip neamplifikuotas, yra tik keli procentai, tai reiškia, kad reakciją pakartojus, mėginys galėtų būti rodomas kitoje slenksčio pusėje.

Genotipai

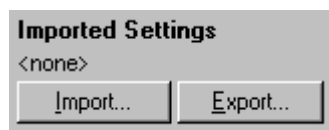
Pasirinkus šią parinktį atveriamas langas **Genotyping** (genotipo nustatymas), kuriame apibrėžiama, koks genotipas aptinkamas kiekviename kanale.



Šiame lange genotipus galima priskirti kanalams. Pirmiau pateiktame pavyzdyje mėginys yra heterozigotinis, jeigu kanalų „Cycling A.Green“ ir „Cycling A.Yellow“ rodmenys kerta slenksčio liniją.

Vertinamosios baigties analizės šablonai

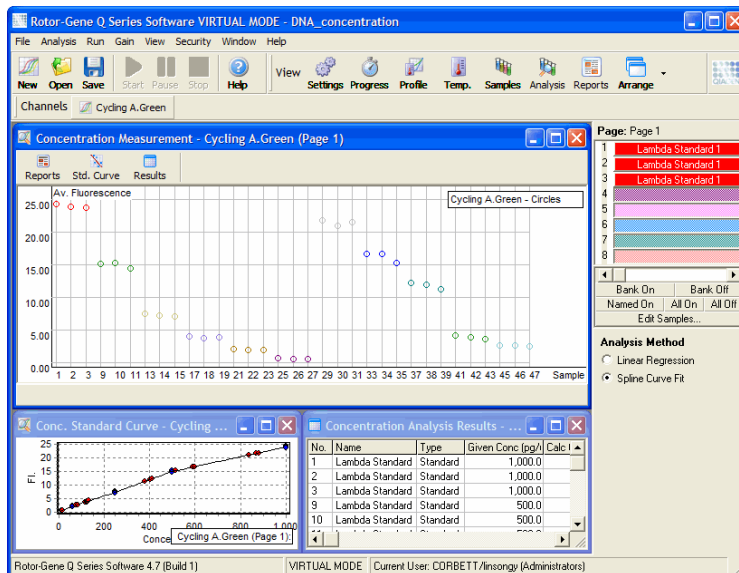
Naudodamas vertinamosios baigties analizės šablonus, naudotojas gali eksportuoti genotipo ir slenksčio nustatymus į vieną *.ent failą. Šį failą galima importuoti ir pakartotinai taikyti kitiems tyrimams. Daugiau informacijos ieškokite 8.1 skyriuje.



6.6.10 Koncentracijos analizė

Koncentracijos analizės funkcija leidžia naudoti „Rotor-Gene Q MDx“ norint išmatuoti DNR koncentraciją arba gauti fluorometro rodmenis.

Toliau pateikiamoje ekrano kopijoje parodyta ši analizė.



Tyrimo serijos paruošimas

Norėdami atlikti koncentracijos analizę, pirma paruoškite fluorescencijos standartinius mėginius ir tiriamuosius mėginius, idealiu atveju po tris egzempliorius.

Standartinių mėginių ruošimas

Standartinė kreivė naudojama norint nustatyti kiekvieno matuojamo mėginio DNR koncentraciją.

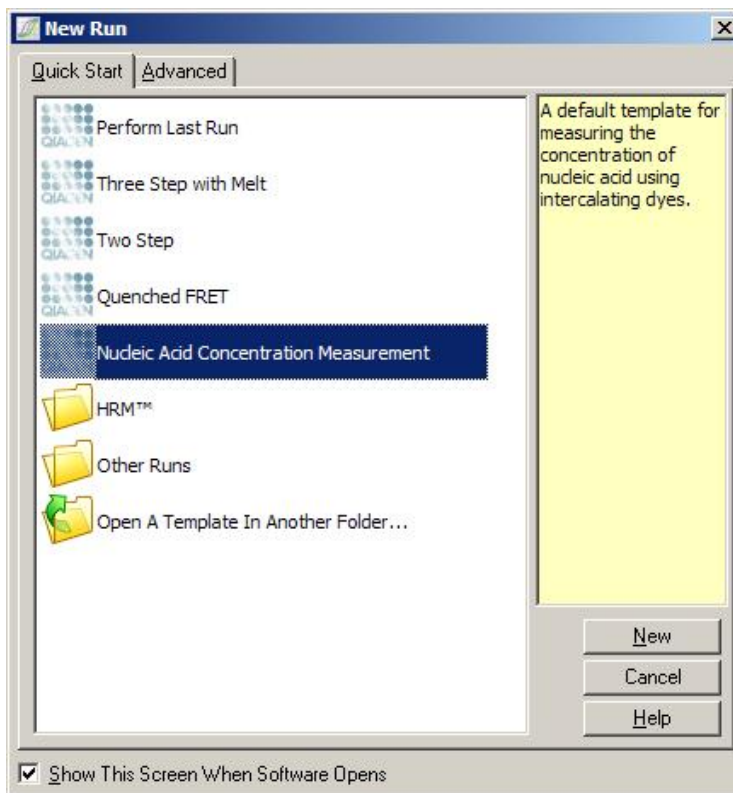
Standartinei kreivei gauti naudota DNR turi būti panašaus tipo, kaip matuojamuose mėginiuose esanti DNR. Bent vieno DNR mėginio koncentraciją būtina nustatyti taikant ultravioletinių spindulių spektrofotometrijos metodą ir šį mėginį naudoti kaip standartinį. Reikia naudoti ne mažiau nei 3 standartinius mėginius (su kartotiniaisiais mėginiais). Svarbu tai, kad standartiniai DNR mėginiai, naudojami fluorescencijos nustatymo tyrimuose, yra tik tiesiniai 1–100 ng/μl intervale. Šiame intervale DNR koncentracijai sumažėjus pusiau, fluorescencijos rodmuo taip pat sumažėja pusiau. Bet kurios į šį intervalą nepatenkančios koncentracijos reikšmės pasikliautinieji intervalai yra itin platūs dėl cheminės reakcijos netiesiškumo.

Tiriamosios DNR tipas

Tiriant įvairias DNR formas (pavyzdžiui, genomo DNR palyginus su plazmidės DNR), pastebėta skirtumų. Todėl kartu reikėtų tirti tik panašaus tipo DNR, o tirdami genomo DNR, venkite naudoti plazmidės DNR kaip standartinį mėginį.

Tyrimo serijos konfigūravimas

Norėdami sukonfigūruoti tyrimo seriją, „Quick Start“ (greitojo pasirengimo) vedlyje pasirinkite **Nucleic Acid Concentration Measurement** (nukleorūgšties koncentracijos matavimas).



Pastaba. Įsitikinkite, ar teigiama kontrolinė medžiaga, pavyzdžiui, didelės koncentracijos standartinis mėginys, per tyrimo seriją yra įdedamas į 1 mėgintuvėlio vietą. Jeigu teigiamos kontrolinės medžiagos nenaudojate, programinė įranga negalės optimizuoti gavimo nustatymų, užtikrinančių didžiausią jautrumą. Raginimas tai atlikti bus rodomas prieš kiekvieną tyrimo seriją.

Analizė

Koncentracijos analizė vyksta susiejant fluorescencijos lygį su koncentracijos reikšme. Galimi du analizės modeliai. Optimali analizė pasirenkama atsižvelgiant į chemines medžiagas ir taikymą.

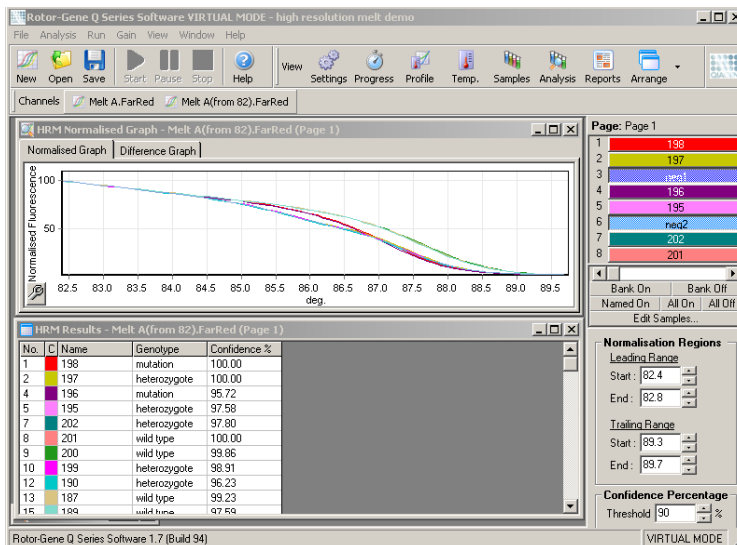
„Linear Regression“ (tiesinės regresijos) metodu duomenys analizuojami darant prielaidą, kad priklausomybė yra tiesinė, ir nežinomas reikšmes apskaičiuojant pagal sudarytą tiesinį modelį. Matavimo paklaida aptinkama tiriant rodmenų nuokrypį nuo tiesinio modelio. Jeigu koncentracijos rezultatai yra tiesiniai, ši analizė tinkamiausia, nes ji naudotojui pateikia statistinę variacijos analizę (ANOVA).

Taikant „Spline Curve Fit“ (posūkio kreivės atitikimo) metodą, daroma tik tokia prielaida, kad koncentracijos reikšmės didėja didėjant fluorescencijai. Nors taikant šį metodą tiksliau įvertinami netiesiniai duomenys, jis neužtikrina ANOVA, nes netaikomas tiesinis modelis.

6.6.11 Didelės skiriamosios gebos lydymosi analizė

Didelės skiriamosios gebos lydymosi (High Resolution Melt, HRM) analizė apibūdina mėginius pagal jų sekos ilgį, GC kiekį ir komplementarumą. HRM analizė naudojama nustatant genotipą, pavyzdžiui, atliekant genų mutacijų ar vieno nukleotido polimorfizmų (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) analizę, bei epigenetikos srityje, atliekant DNR metilinimo būsenos analizę. HRM analizė, palyginus su kitais metodais, pateikia tikslius rezultatus ir padeda sumažinti su zondais ir ženklinimu susijusias išlaidas.

Norėdami atlikti analizę, lange **Analysis** (analizė) pasirinkite **Other** (kita), o tada pasirinkite **High Resolution Melt Analysis** (didelės skiriamosios gebos lydymosi analizė). Du kartus spragtelėkite kanalą, kurio analizę norite atlikti. Neapdorotų duomenų kanalo lydymosi kreivės normalizuojamos, apskaičiuojant visų pradinių ir galutinių fluorescencijos reikšmių vidurkį, o tada priverčiant, kad kiekvieno mėginio vertinamoji baigtis būtų tokia pati, kaip vidurkis.



Mėginiai automatiškai išskviečiami spustelėjus parinktį **Genotypes** (genotipai). Įveskite genotipo pavadinimą, mėginio numerį, kuris naudojamas kaip teigiama kontrolinė medžiaga, kad nežinomi mėginiai būtų išskviečiami automatiškai.

The screenshot shows the 'HRM Genotypes' dialog box. It contains a table with 'Genotype' and 'Control' columns. The 'Control' column has values 198, 201, and 197 corresponding to 'mutation', 'wild type', and 'heterozygote' respectively. There are 'Clear', 'OK', 'Cancel', and 'Help' buttons at the bottom.

Genotype	Control
mutation	198
wild type	201
heterozygote	197

Išsamesnės informacijos apie HRM analizę ieškokite 10 skyriuje.

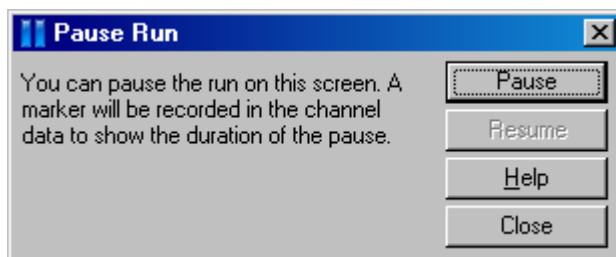
6.7 Tyrimo serijos meniu

6.7.1 Tyrimo serijos paleidimas

Pasirinkus šią parinktį, paleidžiamas nustatytas temperatūros profilis, galiojant dabartiniams gavimo nustatymams. Prieš prasidedant tyrimo serijai, įsijungia langas **Profile Run Confirmation** (profilio tyrimo serijos patvirtinimas). Grafinis temperatūros profilio vaizdas rodomas kartu su kiekvieno kanalo gavimo nustatymais.

6.7.2 Tyrimo serijos pristabdymas

Pasirinkus šią parinktį, tyrimo seriją galima pristabdyti ir vėl paleisti. Tyrimo serijos pristabdymas ir atnaujinimas gali turėti svarbios įtakos tyrimo serijos rezultatams. Todėl duomenyse bus pažymima žyma, nurodanti, kad tyrimo serija buvo pristabdyta bei bus nurodoma pauzės trukmė. Be to, lango **Run Settings** (tyrimo serijos nustatymai) pranešimų skirtuke bus rodomas pranešimas (žr. 6.8.1 skyrių).



ĮSPĖJIMAS



Karštas paviršius

Pristabdžius tyrimo seriją, „Rotor-Gene Q MDx“ neatvės iki kambario temperatūros. Elkitės atsargiai prieš liesdami rotorių ar kokius nors prietaise esančius mėgintuvėlius.

6.7.3 Tyrimo serijos sustabdymas

Pasirinkus šią parinktį, rodomas raginimas, kuriame prašoma patvirtinti, kad norite sustabdyti tyrimo seriją.

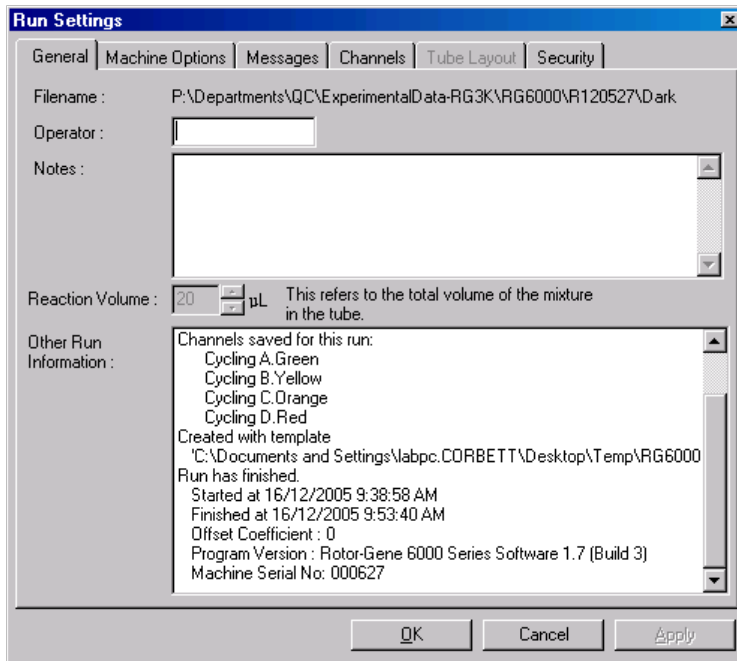
6.8 Meniu peržiūra

6.8.1 Tyrimo serijos nustatymai

Bendroji informacija

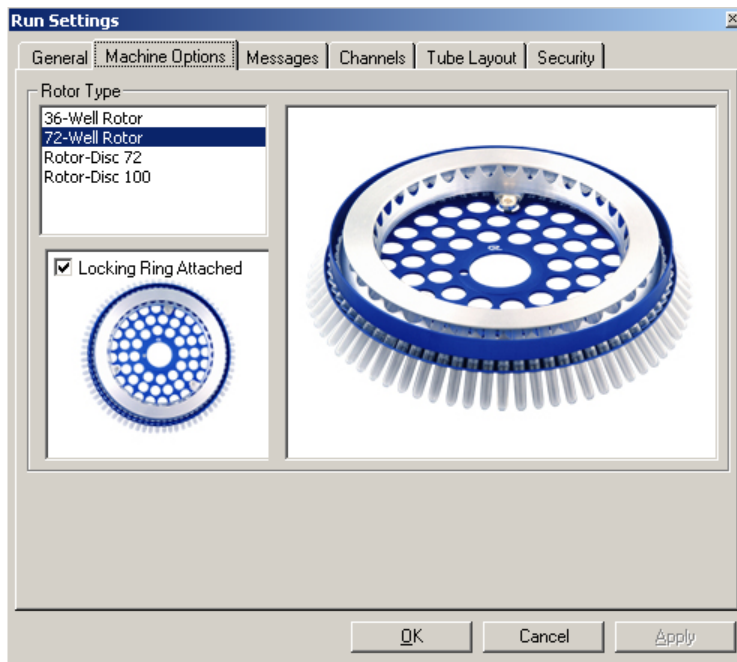
Šiame lange galima nustatyti tyrimo serijos informaciją, tyrimo serijos failo pavadinimą, analizės datą, operatorių ir kitas susijusias pastabas.

Lange pateikiama visa informacija, išskyrus profilį, kurio reikia norint sukonfigūruoti tyrimo seriją. Pasibaigus tyrimo serijai, šiame lange rodoma tokia informacija: naudotas ciklų valdiklis, gavimo nustatymai, kanalų skaičius ir pradžios bei pabaigos laikas.



Prietaiso parinkty

Šiame skirtuke rodomi „Rotor-Gene Q MDx“ konfigūracijos nustatymai.



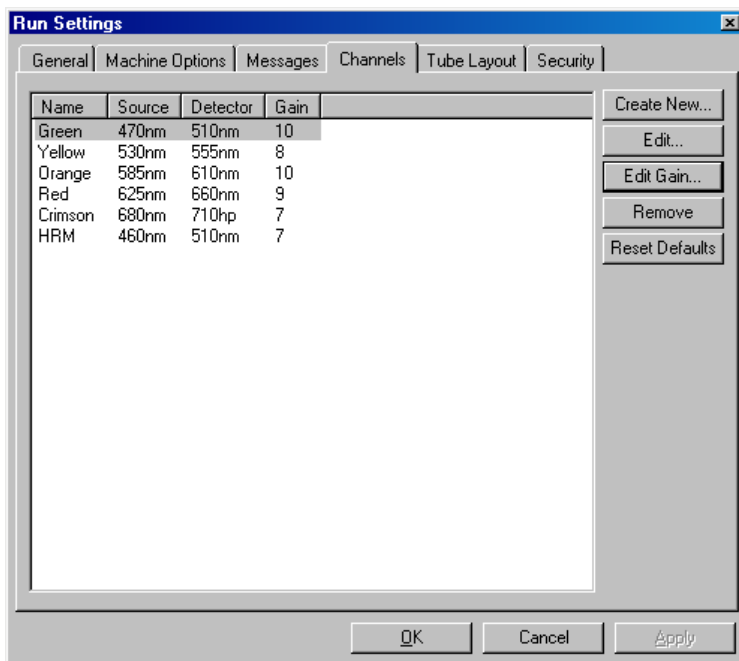
Reikia pasirinkti šiuo metu į „Rotor-Gene Q MDx“ įdėtą rotorių. Jeigu atveriamas esama tyrimo serija, šis nustatymas rodo, koks rotorius tuo metu įdėtas į ciklą valdiklį.

Pranešimai

Šiame skirtuke rodomi pranešimai, jeigu naudotojas atliko tokius pakeitimus kaip ciklą valdiklio pristabdymas arba tyrimo serijos ciklo praleidimas. Taip pat rodomi per tyrimo seriją gauti įspėjimai. Jeigu rezultatai ne tokie, kokių tikėtasi, būtina peržiūrėti šį skirtuką.

Kanalai

Jeigu konfigūruojama nauja tyrimo serija, kanalų skirtuke rodoma dabartinė galimų kanalų konfigūracija. Jeigu peržiūrima esama tyrimo serija, rodoma informacija atitinka kanalų konfigūraciją tyrimo serijos metu. Jeigu per tyrimo seriją iškraipomi kanalų nustatymai, numatytuosius kanalų nustatymus galima atkurti spustelėjus parinktį **Reset Defaults** (atkurti numatytuosius nustatymus).



- Name** (pavadinimas): kanalo pavadinimas.
- Source** (šaltinis): nurodomas šaltinio LED sužadinimo bangos ilgis.
- Detector** (detektorius): nurodomas aptikimo bangos ilgis ir filtro tipas (nm=juostos pralaidumas, hp=didelis pralaidumas).
- Gain** (gavimas): nurodomas konkretaus kanalo gavimas.

- Create New...** (kurti naują): pasirinkus šią funkciją, galima kurti naujus kanalus. Spustelėjus **Create New...** (kurti naują), atveriamas langas, kuriame reikia nurodyti naują pavadinimą, šaltinį ir detektoriaus filtrą. Filtrus galima pasirinkti naudojant šalia kiekvieno lango esantį išskleidžiamąjį meniu.
- Channels** (kanalai): žalias, geltonas, oranžinis ir raudonas kanalai yra standartinė 4 kanalų sudėtinio aptikimo konfigūracija.

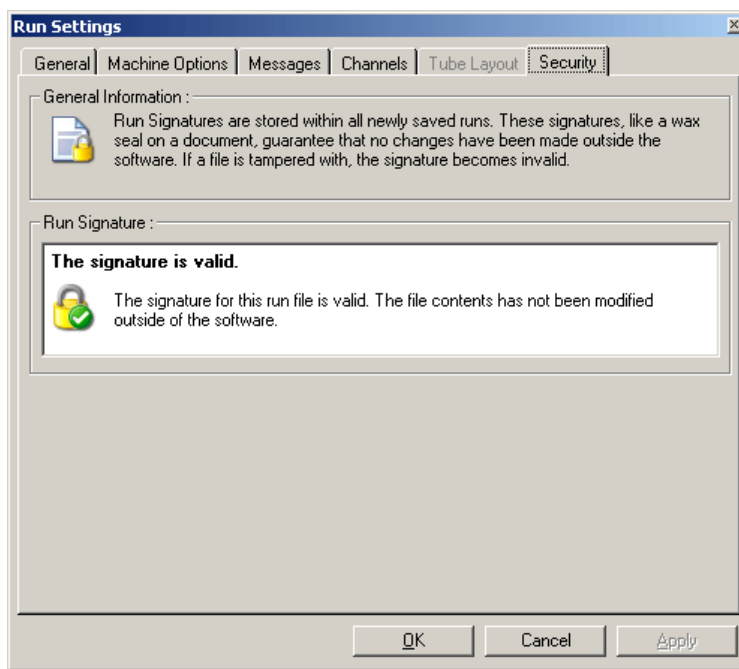
Mėgintuvėlių išdėstymas

Jeigu naudojamas „72-Well Rotor“, mėginius galima išdėstyti taip, kad jie kuo labiau sutaptų su 9 x 8 bloko ženkliniu. Pagal numatytuosius nustatymus, mėgintuvėlių išdėstymo skirtuke mėginius galima numeruoti iš eilės (t. y. 1, 2, 3...). Tai reiškia, kad mėginiai numeruojami iš eilės tokia tvarka, kokia jie sudedami į „Rotor-Gene Q MDx“. Arba mėginius galima ženklinti žymomis 1A, 1B, 1C, t. t. Ši parinktis gali būti naudinga, jeigu mėginiai buvo sudėti naudojant daugiakanalę pipetę.

Sauga

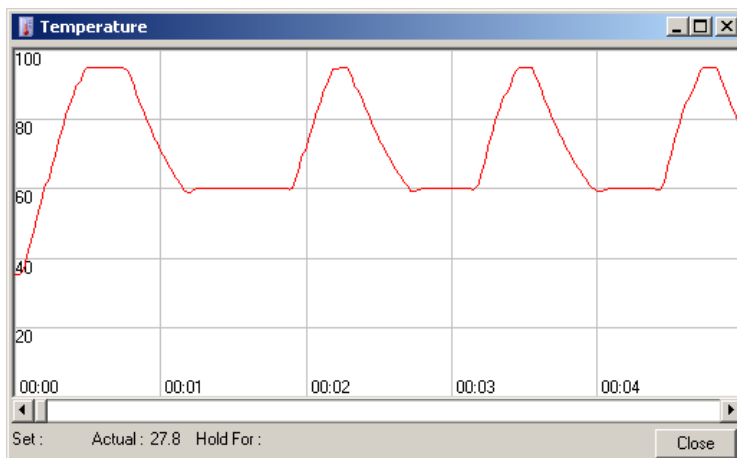
Saugos skirtuke rodoma informacija apie tyrimo serijos parašą. Tyrimo serijos parašas yra neatšaukiamas raktas, sugeneruojamas kiekvieną kartą pakeitus failą. Jeigu kuri nors failo *.rex dalis pakeičiama ne programinėje įrangoje, parašas ir failas nebesutampa. Patikrinus parašą galima patvirtinti, kad neapdoroti duomenys nebuvo pakeisti už programos ribų, profilis nebuvo sugadintas ir temperatūros grafikas galioja. Parašas taip pat apsaugo nuo tokio sugadinimo kaip failų sistemos klaidos.

Pastaba. Jeigu *.rex failas siunčiamas el. paštu, šifravimo procesas gali panaikinti parašo galiojimą. Prieš siųsdami failą el. paštu, jį suglaudinkite, kad išvengtumėte šios problemos.



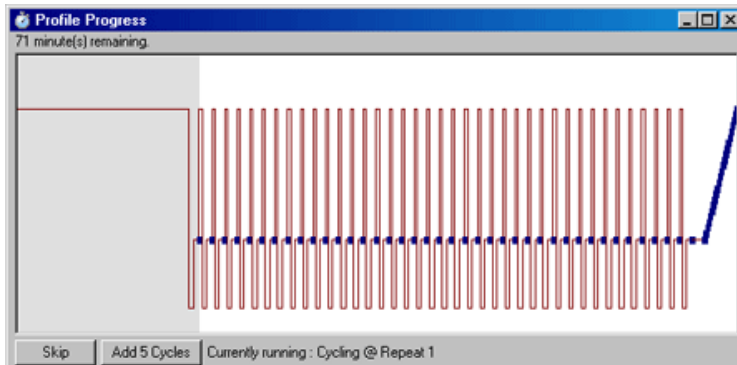
6.8.2 Temperatūros grafikas

Meniu **View** (žiūrėti) pasirinkite parinktį (**Temperature Graph**) (temperatūros grafikas) arba spustelėkite mygtuką **Temp.**, kad atvertumėte langą **Temperature** (temperatūra). Grafike rodomas nustatytos temperatūros kitimas ciklo metu. Jame nerodoma realiuoju laiku matuojama temperatūra. Vykstant tyrimo serijai, rodoma kiekvieno programos etapo **Set** (nustatytoji), **Actual** (faktinė) ir **Hold** (sulaikymo) trukmė. Lange **Temperature** (temperatūra) rodoma esamo tyrimo serijos failo temperatūros istorija tyrimo serijos metu. Vertikalią skalę rodoma temperatūra, o horizontalioje skalėje rodomas laikas. Slankiąja juosta slinkite atgal ir pirmyn **Temperature** (temperatūros) lange.



6.8.3 Eigos profilis

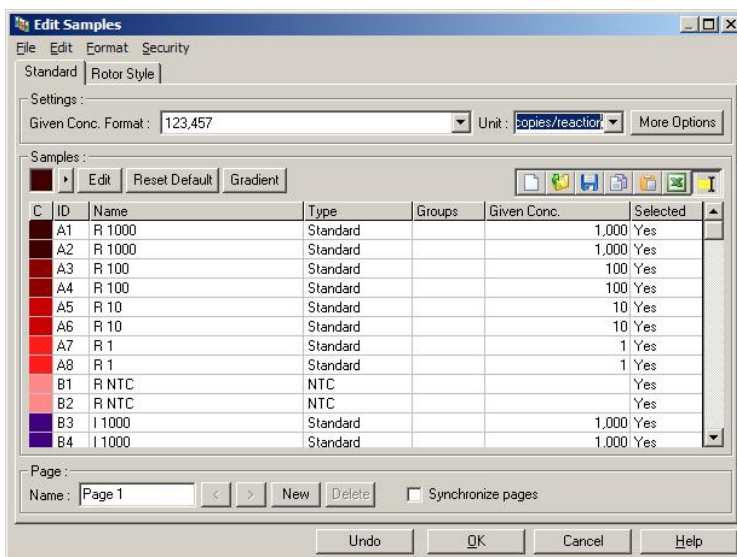
Meniu **View** (žiūrėti) pasirinkite parinktį **Profile Progress** (profilio eiga) arba spustelėkite mygtuką **Progress** (eiga), kad atvertumėte langą **Profile Progress** (profilio eiga). Šiame lange rodomas su tyrimo serija susijusio šiluminio profilio grafinis vaizdas. Vykstant tyrimo serijai, užtemdytoje lango dalyje rodomas atliktų ciklų skaičius. Taip pat rodoma, kiek apytiksliai minučių liko iki tyrimo serijos pabaigos.



Skip (praleisti): funkcija **Skip** (praleisti) leidžia praleisti bet kuriuos profilio etapus.

Add 5 Cycles (pridėti 5 ciklus): pasirinkus **Add 5 Cycles** (pridėti 5 ciklus), pridedami 5 pakartojimai prie dabartinio ciklo etapo.

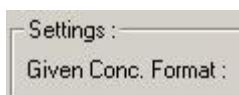
6.8.4 Mėginių redagavimas



Spustelėkite mygtuką **Samples** (mėginiai), kad atvertumėte langą **Edit Samples** (redaguoti mėginius). Langą **Edit Samples** (redaguoti mėginius) taip pat galima atverti dešiniuju pelės klavišu spragtelėjus ant ekrano dešinėje pusėje esančio mėginių sąrašo. Lango funkcijos tokios pačios, kaip vedlių lango **Edit Samples** (redaguoti mėginius), išskyrus tai, kad įrankių juostos funkcijos veikia „File“ (failo) ir „Edit“ (redagavimo) meniu.

Lango viršuje yra keturi meniu: **File** (failas), **Edit** (redaguoti), **Format** (formatas) ir **Security** (sauga). Meniu „File“ (failas) naudojamas norint kurti naują (tuščią) langą **Edit Samples** (redaguoti mėginius), atverti esamą mėginio šabloną arba įrašyti mėginių pavadinimus kaip šablonus naudojimui ateityje. Šių šablonų failų plėtinys yra *.smp. Meniu **Edit** (redaguoti) galima kopijuoti ir įdėti eilutes. Meniu „Security“ (sauga) galima užrakinti mėginių apibrėžtis.

Pastaba. Jeigu vykstant tyrimo serijai mėginių pavadinimai įvedami labai greitai (pvz., naudojant brūkšnių kodų skaitytuvą), mėginių pavadinimų raidės gali būti sukeistos. Todėl rekomenduojama nenaudoti brūkšnių kodų skaitytuvo, o mėginių pavadinimus įvesti pasibaigus tyrimo serijai (jei taikoma).



Šiame išskleidžiamajame meniu galima pasirinkti tinkamą koncentracijos rodymo formatą. Koncentracijos reikšmės automatiškai formatuojamos pagal tuo metu pasirinktą vietą.



Šiame išskleidžiamajame meniu nustatomi tyrimo matavimo vienetai.

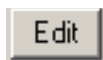


Mygtukas

Reikšmė

Linijos stilius:

linijos stilių galima pakeisti, norint pagerinti grafiko įskaitomumą nespalvotu spausdintuvu atspausdintuose dokumentuose. Tam tikras linijas galima paryškinti, pakeitus jų stilių. Norėdami įjungti šią funkciją, spustelėkite šalia mygtuko **Edit** (redaguoti) esančią rodyklės dešinę mygtuką.



Spustelėjus „**Edit**“ (redaguoti), atveriamas spalvų pasirinkimo langas. Priskiriant spalvas mėgintuvėliams, galima pasirinkti kelias eilutes.



Spustelėkite „**Reset Default**“ (atkurti numatytuosius nustatymus), kad atkurtumėte visų pasirinktų spalvotų langelių numatytasias spalvas.



Pasirinkus parinktį „**Gradient**“ (gradientas), galima pasirinkti gradientą nuo pirmos iki paskutinės pasirinktos spalvos. Kelis gradientus galima nustatyti konfigūruojant mėginį.



Spustelėjus piktogramą „**New**“ (nauja), išvalomas langas **Edit Samples** (redaguoti mėginius) ir paruošiamas duomenims įvesti.



Spustelėjus piktogramą **Open** (atverti), atveriamas dialogo langas, kuriame galima pasirinkti norimą importuoti „Rotor-Gene Q MDx“ failą.

Pastaba. Mėginių skaičius atvertame lange ir importuojamame faile turi sutapti.



Spustelėjus piktogramą **Save** (įrašyti), atveriamas dialogo langas, kuriame galima įvesti pavadinimą ir aplanką, kuriame bus įrašoma dabartinių mėginio apibrėžčių kopija.



Spustelėjus piktogramą **Copy** (kopijuoti), nukopijuojami pažymėti langeliai.



Spustelėjus piktogramą **Paste** (idėti), į pasirinktą tinklelio vietą įdedami taikant kopijavimo funkciją pasirinkti langeliai.



Spustelėjus piktogramą **Excel**, įjungiamas dialogo langas, kuriame prašoma nurodyti failo pavadinimą ir aplanką, kuriame norite įrašyti mėginio informaciją. Spustelėjus **Save** (įrašyti), „Excel“ failas atveriamas automatiškai.



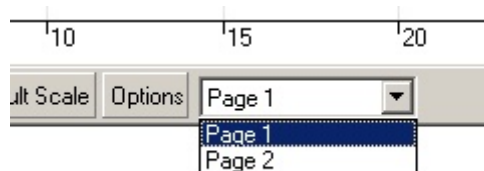
Spustelėjus piktogramą **Append/Overwrite** (pridėti / perrašyti), pasikeičia langelių redagavimas lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius). Jeigu pasirinkote perrašymą, redaguojant esami duomenys perrašomi. Jeigu pasirinkote pridėjimą, nauji duomenys redaguojant pridedami esamų duomenų pabaigoje.

Mėginių tipai: mėginius galima apibrėžti, pasirenkant vieną iš kelių tipų, nurodytų lentelėje toliau.

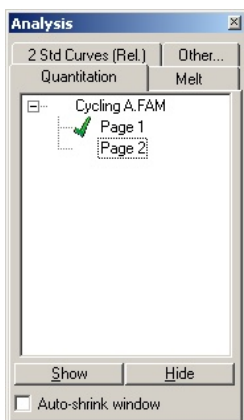
Mėginio tipas	Aprašas
None (nėra)	Šioje vietoje nėra jokio mėginio
NTC	Kontrolinė medžiaga be matricos
Negative Control (neigiama kontrolinė medžiaga)	Neigiama kontrolinė medžiaga
Positive Control (teigiama kontrolinė medžiaga)	Teigiama kontrolinė medžiaga
Unknown (nežinomas)	Analizuojamas nežinomas mėginys
Standard (standartas)	Naudojamos standartinės vertės, norint sudaryti standartinę kreivę ir apskaičiuoti nežinomo mėginio koncentraciją
Calibrator (RQ) (Kalibruoklis (RQ))	Kalibruokliui priskiriama reikšmė, lygi 1, o visų kitų mėginių koncentracijos reikšmės skaičiuojamos atsižvelgiant į šį mėginį

Page (puslapis): pasirinkus šią funkciją, galima toje pačioje tyrimo serijoje nustatyti įvairias mėginio apibrėžtis ir atskirus tyrimus. Tai naudinga atliekant skirtingų produktų analizę skirtinguose kanaluose. Norėdami eiti į kitus mėginių puslapius, naudokite rodyklių mygtukus. Norėdami kurti ir šalinti puslapius, spauskite mygtukus **New** (naujas) ir **Delete** (šalinti). Tame pačiame kanale galima nustatyti kelias mėginių apibrėžtis, kad būtų galima atlikti kelių standartinių kreivių tyrimo serijas netaikant sutankinimo. Tiesiog nustatykite dominančius mėginius ir jų susijusias standartines kreives atskiruose puslapiuose. Tuomet kiekvieną kanalą galima analizuoti taikant kiekvieną apibrėžčių rinkinį atskirai. Mėginių puslapius galima pažymėti **Page 1** (1 puslapis), **Page 2** (2 puslapis), t. t. arba jiems galima suteikti bet kokią pavadinimą (pvz., „namų ūkio“). Šis pavadinimas bus rodomas ataskaitose.

Peržiūrint neapdorotus duomenis, duomenims rodyti naudojamas mėginio apibrėžtis galima pasirinkti naudojant išskleidžiamąjį meniu, esantį šalia mygtuko **Options** (parinktys):



mėginio puslapi, kuris bus naudojamas atliekant analizę, galima pasirinkti lange **Analysis** (analizė) (žr. 6.6.1 skyrių).



Given Conc. (nustatytoji koncentracija):

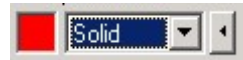
rodoma kiekvieno standartinio mėginio koncentracija. Vienetai gali būti dešimtainis arba logaritminis skaičius. Jeigu standartiniai mėginiai yra skiedimo serija, užtenka įvesti 2 pirmuosius standartinius mėginius. Spustelėjus ENTER (įvesti), programa automatiškai įveda likusius loginius serijos atskiedimus.

Line style (linijos stilius):

linijos stilių galima pakeisti, norint pagerinti grafiko įskaitomumą nespalvotu spausdintuvu atspausdintuose dokumentuose. Tam tikras linijas galima paryškinti, pakeitus jų stilių. Norėdami įjungti šią funkciją, spustelėkite šalia mygtuko **Edit** (redaguoti) esantį rodyklės dešinės mygtuką.



Įrankių juostoje rodomas numatytasis stilius **Solid** (ištisinė). Galima nustatyti **Dashed** (brūkšninė), **Dotted** (punktyrinė), **Hairline** (ploniausiąją), **Thin** (ploną) arba **Thick** (pastorintą). Baigę spustelėkite rodyklės kairės mygtuką, kad grįžtumėte į rodinį „Edit“ (redagavimas), „Reset Default“ (atkurti numatytuosius nustatymus) ir „Gradient“ (gradientas).



Multiple row entry (įvestis keliose eilutėse):

jeigu tą pačią informaciją reikia įvesti keliose eilutėse vienu metu, pažymėkite visas eilutes ir pradėkite vesti duomenis. Informacijas bus įvedama visose eilutėse. Ši funkcija taip pat veikia pasirenkant mėginių tipus, renkantis spalvas arba įvedant koncentracijos reikšmes.

Sample type hotkey (mėginio tipo spartusis klavišas):

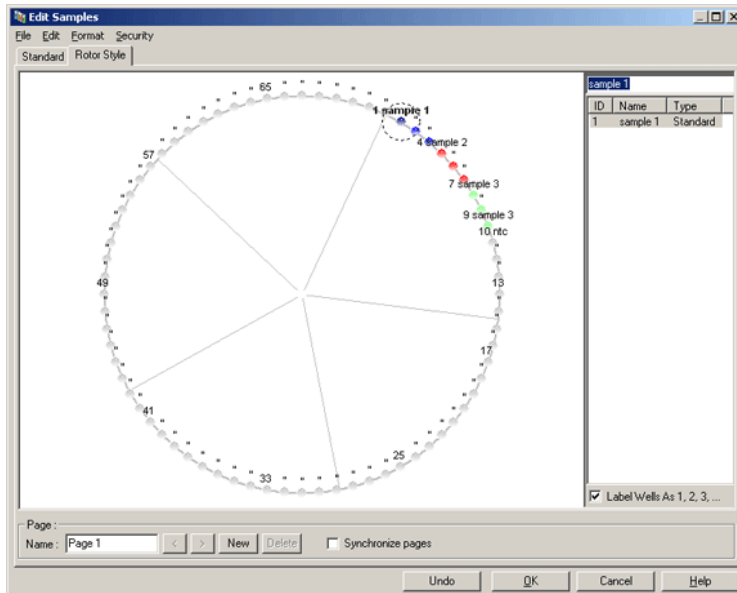
norėdami greitai pasirinkti mėginio tipą, įveskite pirmąją jo pavadinimo raidę. Pavyzdžiui, jeigu norite nustatyti, kad 5 mėginiai būtų kontrolinė medžiaga be matricos, pažymėkite juos mėginio tipo stulpelyje ir spustelėkite N, reiškiančią NTC. Visi mėginiai pakeičiami į NTC.

Save it, reuse it (įrašyti ir naudoti pakartotinai):

visą mėginio aprašą galima įrašyti kaip mėginio failą (*.smp) ir įkelti į būsimas tyrimo serijas, taikant tą pačią mėginio konfigūraciją.

Rotoriaus stilius

Šiame lango **Edit Samples** (redaguoti mėginius) skirtuke galima kitokiu būdu įvesti mėginių pavadinimus. Pasirinkite kartotinius mėginius spragtelėdami ir tempdami pelės žymeklį ant rotoriaus paveikslėlio. Lango dešinėje rodomas sąrašas atnaujinamas. Galima įvesti mėginio pavadinimą, tas pats pavadinimas suteikiamas tuo metu pasirinktam elementui. Programinė įranga šiuos šulinėlius atpažįsta kaip kartotinius.

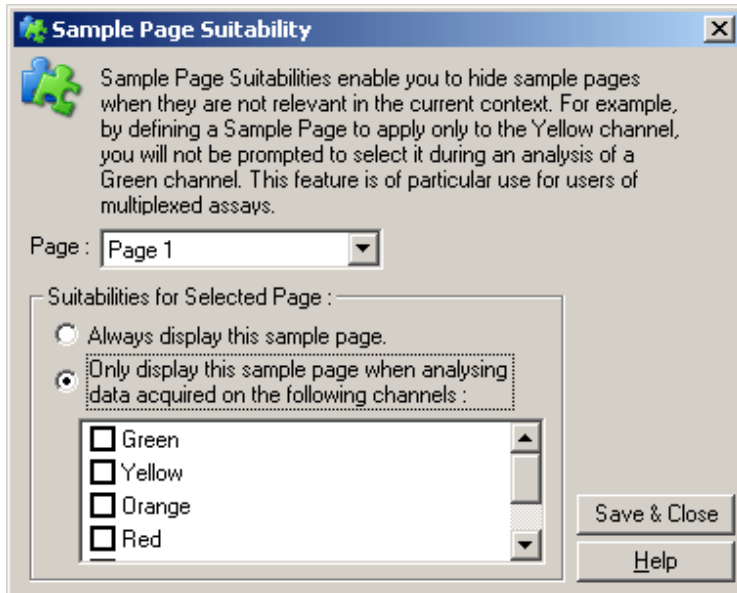


Skirtukas **Rotor Style** (rotoriaus stilius) yra sumažinta skirtuko **Standard** (standartinis) versija, skirta naudotojams, norintiems greitai nustatyti mėginio pavadinimus ir spalvas. Šiame skirtuke negalima nustatyti kai kurių nustatymų, pavyzdžiui, ar mėginys atitinka standartą arba kiekvieno standartinio mėginio žinomą koncentraciją. Jeigu reikia nustatyti šiuos nustatymus, naudokite standartinį skirtuką.

Mėginio puslapio tinkamumas

Norėdami atverti langą **Sample Page Suitability** (mėginio puslapio tinkamumas), spustelėkite parinktį **More Options** (daugiau parinkčių) lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius), tuomet spustelėkite parinktį **Define Suitabilities** (nustatyti tinkamumą). Lange **Sample Page Suitability** (mėginio puslapio tinkamumas) naudotojas gali susieti mėginio puslapius su kanalais. Pavyzdžiui, dominančio geno mėginio puslapis gali būti taikomas žaliajam kanalui, o „namų ūkio“ geno mėginio puslapis gali būti taikomas geltonam kanalui. Šiame pavyzdyje nustačius mėginio puslapio tinkamumą sumažinamas galimų analizės parinkčių skaičius, įtraukiant tik tas, kurios yra svarbios konkrečiam tyrimui.

Langas **Sample Page Suitability** (mėginio puslapio tinkamumas) rodomas toliau.

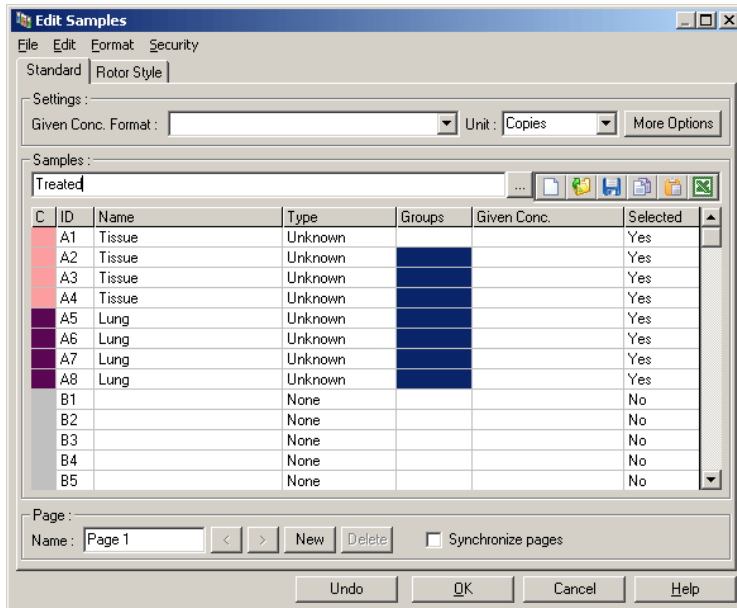


Pastaba. Nustatydami tyrimą sukurkite visus mėginių puslapius ir mėginių puslapių tinkamumą, tada įrašykite juos kaip šabloną. Taigi sugaišite mažiau laiko konfigūruodami kiekvieną tyrimo seriją.

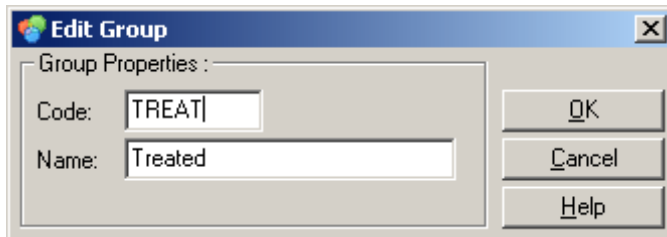
Grupės

Mėginių grupių funkcija leidžia apskaičiuoti pasirinktų mėginių rinkinių statistinius duomenis. Skirtingai nuo pakartojimų, kurių pavadinimai turi būti identiški, mėginiams gali būti suteikiamas bet koks pavadinimas, jie gali būti išdėstyti bet kurioje rotoriaus vietoje ir priklausyti kelioms grupėms.

1. Norėdami apibrėžti grupę, šalia mėginio įveskite visą grupės pavadinimą ir paspauskite ENTER (įvesti).



2. Atveriamas langas **Edit Group** (redaguoti grupę).

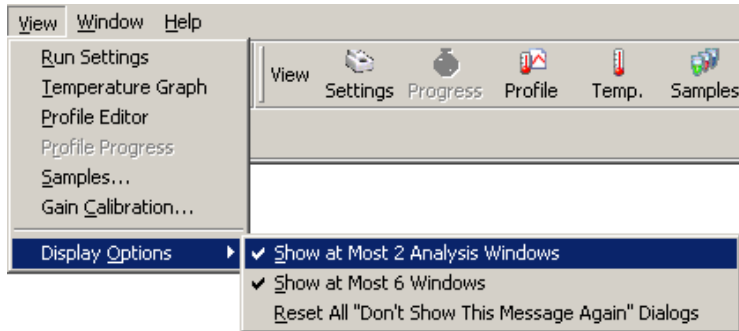


3. Nustatykite tinkamą santrumpą ir spustelėkite **OK** (gerai). Santrumpą galima naudoti grupėms apibrėžti. Bet kurios analizės grupių jungtiniai rezultatai, pavyzdžiui, vidutinė reikšmė ir 95 % pasikliautinis intervalas, apskaičiuojami automatiškai.

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 Rodymo ekrane parinktys

Rodymo ekrane parinkčių meniu parodytas toliau.



Show at Most 2 Analysis Windows (rodyti daugiausia 2 analizės langus):

jeigu pasirinkama ši parinktis, vienu metu rodomi ne daugiau nei 2 analizės langai. Jei atveriamas daug langų, gali sutrikti skaitomumas. Pažymėjus šią parinktį, pirmasis analizės langas užveriamas ir pakeičiamas paskutiniu atvertu langų. Jei parinktis nepažymėta, gali būti rodomi daugiau nei 2 analizės langai.

Show at Most 6 Windows (rodyti daugiausia 6 langus):

norint pagerinti skaitomumą, programinė įranga išjungia nenaudojamus langus, kai atveriamas naujas langas. Ši parinktis yra numatytoji, kad „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos ekranas būtų tuščias. Jeigu būtina vienu metu matyti daugiau nei 6 langus, pašalinkite žymą žymimajame langelyje šalia šios parinkties.

Reset All “Don’t Show This Message Again” Dialogs (atstatyti visus dialogo langus „Daugiau nerodyti šio pranešimo“):

jeigu ši parinktis pažymėta, programinė įranga iš naujo rodydys visus dialogo langus, šalia kurių buvo pažymėtas žymimasis langelis **Do not display this message again** (daugiau nerodyti šio pranešimo). Tai apima pranešimus apie įtartinus nustatymus, kurie anksčiau galėjo būti nustatyti taip, kad jie nebūtų rodomi. Tai gali būti naudinga naujam naudotojui, kuris nėra susipažinęs su „Rotor-Gene Q MDx“ arba „Rotor-Gene Q“ programine įranga.

6.9 Prieigos prie „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos apsauga

Pastaba. Šiame skyriuje aprašoma prieigos prie „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos apsauga. Daugiau informacijos apie susijusią „Rotor-Gene AssayManager“ programinę įrangą ieškokite „Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application“ naudotojo vadove arba „Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application“ naudotojo vadove.

„Rotor-Gene Q“ programinė įranga pasižymi funkcijomis, užtikrinančiomis jos saugų veikimą. Tinkamai sukonfigūruota „Rotor-Gene Q“ programinė įranga užtikrina, kad:

- prieiga prie „Rotor-Gene Q MDx“ arba analizės programinės įrangos ribojama naudotojų grupėms,
- registruojami tyrimo serijos failų pakeitimai,
- aptinkami neleistini pakeitimai (parašai),
- registruojami šablonai, naudoti atliekant tyrimo serijas,
- apsaugomi mėginių pavadinimai.

Integracija su „Windows“ sauga

Siekiant užtikrinti aukštą atskaitomybės lygį, „Rotor-Gene Q“ programinė įranga netvarko saugumo viduje. Visos paskyros, grupės ir slaptažodžiai tvarkomi naudojant įdiegtą „Windows“ saugos modelį („Windows Security“). Integracija leidžia naudoti tą patį slaptažodį, suteikiantį prieigą prie tinklo failų ir programų, prieigai prie „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos valdyti, todėl administravimui sugaištama mažiau laiko. Pavyzdžiui, didesnėse organizacijose tinklo administratoriai gali lengvai pašalinti prieigą prie buvusių naudotojų, nes taikomas centralizuotas saugumo modelis.

Dėl šios priežasties, norint saugiai nustatyti „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą, pirmiausia reikia konfigūruoti „Windows“ saugos vaidmenis, laikantis geriausios praktikos.

Būtiniosios sąlygos

Norėdami naudoti saugos funkciją, turite naudoti „Windows 10“ arba „Windows 7 Professional Edition“. Saugos funkcijos neveikia su „Windows 10“ arba „Windows 7 Home Edition“, nes „Home Edition“ versijoje nėra išsamaus prieigos modelio, kurį naudoja programinė įranga. Turi būti įdiegiama programinė įranga, turinti parinktį **„Force authentication through Windows domain“** (priverstinis tapatybės nustatymas naudojant „Windows“ domeną).

Pastaba. Saugos meniu nerodomas, jeigu prisijungėte naudodami „Linux Samba“ domeną. Turite turėti vietinio prisijungimo galimybę arba „Windows“ serverį, kad galėtumėte naudoti saugos funkcijas.

6.9.1 „Windows“ 7 konfigūracija

Šiame skyriuje aprašoma, kaip sukongūruoti sistemą, kad „Rotor-Gene Q“ programinė įranga galėtų saugiai veikti.

Norėdami naudoti saugos funkcijas, turite įdiegti programinę įrangą, turinčią parinktį **Force authentication through Windows domain** (priverstinis tapatybės nustatymas naudojant „Windows“ domeną). Ši funkcija teikia užklausą „Windows“ domenui apie jūsų prieigos lygį ir kredencialus ir yra būtina, kad veiktų atskaitomybės ir saugos funkcijos.

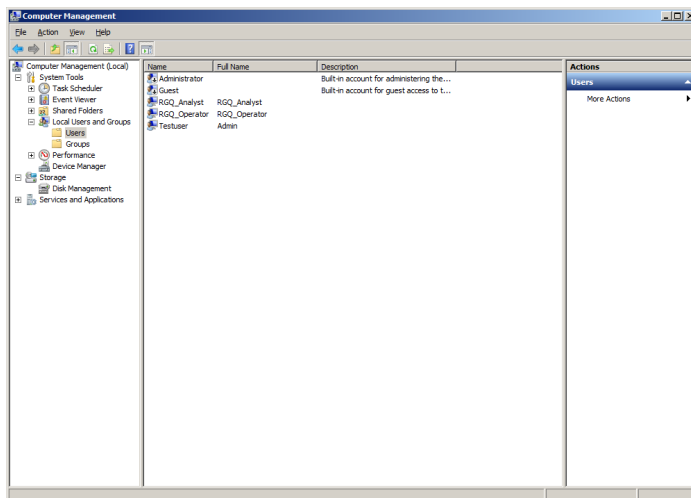
Administratoriaus paskyra

Daugelis naudotojų naudoja savo kompiuterius taikydami administratoriaus paskyrą, nenaudodami slaptažodžio. Tai patogiu, tačiau neįmanoma nustatyti, kas naudoja kompiuterį. Todėl neveikia atskaitomybės funkcija ir negalima įjungti daugelio „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos saugos priemonių. Prisijungus prie administratoriaus paskyros, veikia visos programinės įrangos funkcijos. Todėl naudojant prietaisą prisijungus prie administratoriaus paskyros užtikrinama, kad naudotojai, kuriems nereikia saugos funkcijų, galės naudotis visomis programinės įrangos funkcijomis.

Naujos naudotojo paskyros kūrimas

Kiekvienam programinės įrangos naudotojui sukurkite naudotojo paskyrą. Kurdami kiekvieno naudotojo paskyrą, pakartokite toliau aprašytus veiksmus, kol sukursite visas paskyras.

1. Norėdami sukurti naujo naudotojo paskyrą, pasirinkite parinktį **Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management** (pradžia / valdymo skydelis / administravimo įrankiai / kompiuterio valdymas) ir eikite į **Local Users and Groups** (vietos naudotojai ir grupės) kairėje pusėje.
2. Atsiveria langas, kuriame pasirinkite aplanką **Users** (naudotojai). Dešiniuoju pelės klavišu spragtelėkite ant dešinėje pusėje esančio lango ir pasirinkite **New User** (naujas naudotojas).



3. Įveskite naudotojo vardą ir slaptažodį. Pagal numatytuosius nustatymus, sukuriama naudotojo paskyra su įprastomis prieigos teisėmis. Tai reiškia, kad naudotojas gali naudoti programinę įrangą, tačiau negali įdiegti naujų programų arba keisti sistemos nustatymų.

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

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

Buttons: Help, Create, Close

4. Spustelėkite **Create** (kurti). Dabar galite prisijungti kaip šis naudotojas.

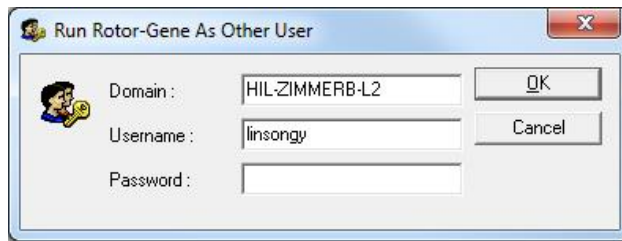
Vaidmenų priskyrimas kiekvienam naudotojui

Dabar kiekvienam naudotojui turite priskirti vaidmenį. Prieiga skirstoma į šias sritis:

- „Rotor-Gene Q“ operatorius – gali atlikti tyrimo serijas, tačiau negali sudaryti ataskaitų ar atlikti analizių.
- „Rotor-Gene Q“ analitikas – gali analizuoti tyrimo serijų duomenis ir sudaryti ataskaitas, tačiau negali atlikti naujų tyrimo serijų.
- „Rotor-Gene Q“ operatorius ir analitikas – turi teisę atlikti abiejų vaidmenų funkcijas
- Administratorius – gali atrakinti mėginių pavadinimus ir atlikti visas operatoriaus ir analitiko funkcijas
- Nėra – prieiga prie programinės įrangos nesuteikiama

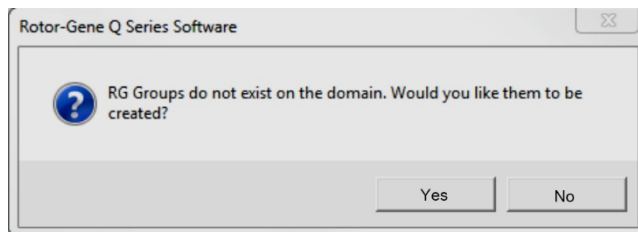
Norėdami priskirti vaidmenis:

1. prisijunkite prie „Windows“ naudodami administratoriaus paskyrą arba spustelėkite piktogramą „**Rotor-Gene Q Software Login**“ (prisijungimas prie „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos), kad atvertumėte programinę įrangą ir prisijungtumėte.

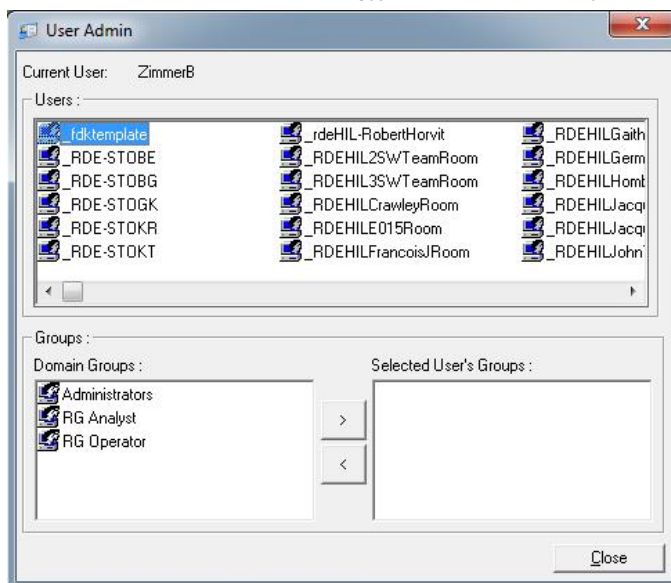


Pastaba. Norint sukurti RG grupes naudojant „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą, svarbu paleisti programinę įrangą naudojantis administratoriaus teisėmis. Norėdami tai padaryti, dešiniuoju pelės klavišu spragtelėkite ant darbalaukio piktogramos ir kontekstiniame meniu pasirinkite parinktį **Run as administrator** (naudoti administratoriaus teisėmis).

2. Kai programinė įranga atveriamas, spustelėkite meniu **Security** (sauga). Pirmą kartą prisijungus prie **Security** (saugos) meniu, „Rotor-Gene Q“ programinė įranga sukonfigūruoja sistemos grupių, kurios kontroliuos prieigą prie programinės įrangos, skaičių.

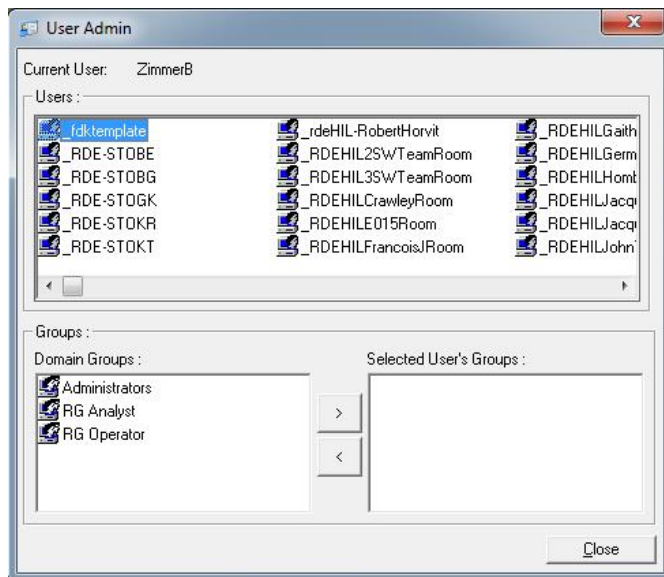


3. Spustelėkite **Yes** (taip). Atveriamas langas **User Admin** (naudotojų administravimas). Viršutiniame skydelyje rodomi kompiuterio naudotojai. Kai kurias paskyras naudoja sistema, todėl jos nebus nežinomos. Apatiniame polangyje rodomos naudotojui priskirtos grupės.

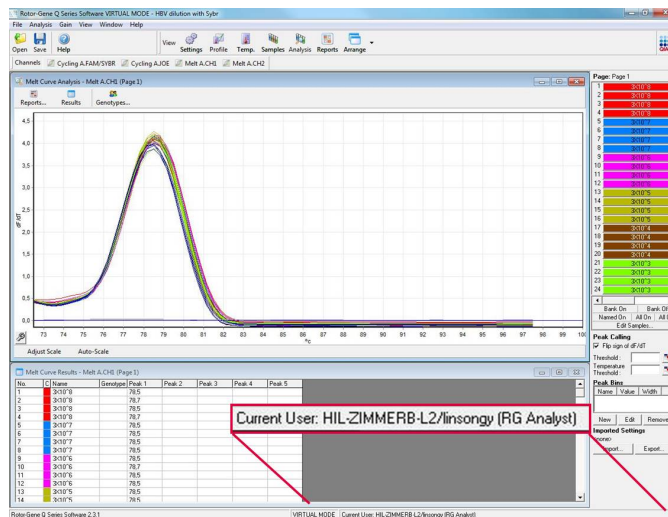


4. Norėdami naudotojui priskirti grupę, sąrašė pasirinkite naudotojo vardą. Apatinis polangis atnaujinamas. Jeigu naudotojui nepriskirta jokia grupė, jis negali paleisti programinės įrangos.

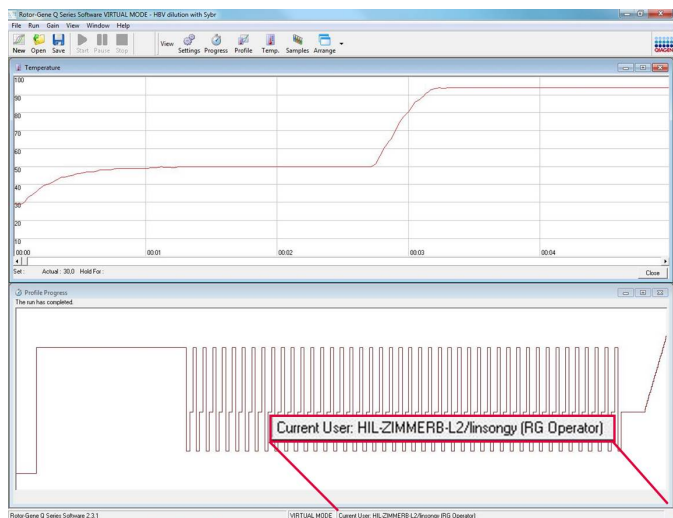
5. Toliau pateiktame pavyzdyje naudotojas **linsongy** priskiriamas grupei „RG Analyst“ (RG analitikas), kairėje pusėje pasirinkus grupę ir spustelėjus mygtuką >. Grupės galima pašalinti jas pasirinkus ir spustelėjus mygtuką <.



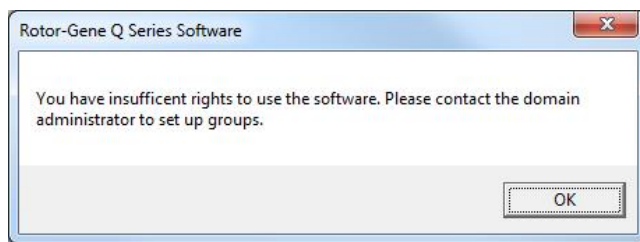
6. Dabar prisijunkite kaip šis naudotojas. Prisijungus naudojant RG analitiko teises, meniu **Run** (vykdyti) ir mygtukas **Profile** (profilis) neveikia. Tačiau esamus failus galima atverti ir analizuoti, kaip parodyta ekrano kopijoje toliau. Būsenos juostoje rodoma, kad naudotojas **linsongy** yra „RG Analyst“ (RG analitikas).



7. Vėl prisijungus naudojantis administratoriaus teisėmis, RG operatoriaus teises galima priskirti naudotojui **linsongy**, o RG analitiko teises galima vėl pašalinti. Tuomet reikia iš naujo paleisti programinę įrangą. Dabar neveikia meniu **Analysis** (analizė) ir mygtukas **Reports** (ataskaitos), tačiau veikia meniu „Run“ (vykdyti). Būsenos juostoje rodoma, kad naudotojas **linsongy** yra „RG Operator“ (RG operatorius).



8. Jeigu prisijungėte kaip administratorius ir pašalinate visas naudotojui **linsongy** priskirtas grupes, kai naudotojas **linsongy** atveria programinę įrangą, rodomas šis pranešimas.



6.9.2 „Windows“ 10 konfigūracija

Šiame skyriuje aprašoma, kaip sukongūruoti sistemą, kad „Rotor-Gene Q“ programinė įranga galėtų saugiai veikti.

Norėdami naudoti saugos funkcijas, turite įdiegti programinę įrangą, turinčią parinktį **Force authentication through Windows domain** (priverstinis tapatybės nustatymas naudojant „Windows“ domeną). Ši funkcija teikia užklausą „Windows“ domeniui apie jūsų prieigos lygį ir kredencialus ir yra būtina, kad veiktų atskaitomybės ir saugos funkcijos.

Administratoriaus paskyra

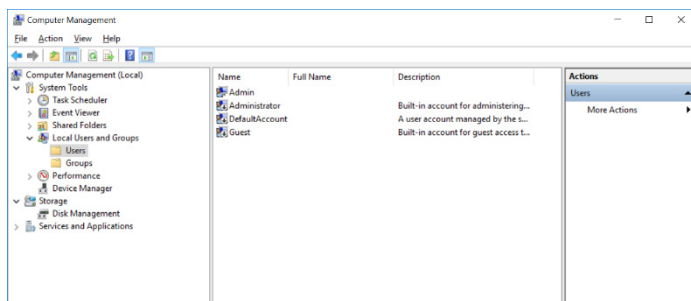
Daugelis naudotojų naudoja savo kompiuterius taikydami administratoriaus paskyrą, nenaudodami slaptažodžio. Tai patogiu, tačiau neįmanoma nustatyti, kas naudoja kompiuterį. Todėl neveikia atskaitomybės funkcija ir negalima įjungti daugelio „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos saugos priemonių.

Prisijungus prie administratoriaus paskyros, veikia visos programinės įrangos funkcijos. Todėl naudojant prietaisą prisijungus prie administratoriaus paskyros užtikrinama, kad naudotojai, kuriems nereikia saugos funkcijų, galės naudotis visomis programinės įrangos funkcijomis.

Naujos naudotojo paskyros kūrimas

Kiekvienam programinės įrangos naudotojui sukurkite naudotojo paskyrą. Kurdami kiekvieno naudotojo paskyrą, pakartokite toliau aprašytus veiksmus, kol sukursite visas paskyras.

1. Norėdami sukurti naujo naudotojo paskyrą, pasirinkite **Start** (pradžią), eikite į **Computer Management** (kompiuterio valdymas), spustelėkite **Enter** (įvesti) ir eikite į kairėje pusėje esantį **Local Users and Groups** (vietos naudotojai ir grupės).
2. Atsiveria langas, kuriame pasirinkite aplanką **Users** (naudotojai). Dešiniuoju pelės klavišu spragtelėkite ant dešinėje pusėje esančio lango ir pasirinkite **New User...** (naujas naudotojas).



3. Įveskite naudotojo vardą ir slaptažodį. Pagal numatytuosius nustatymus, sukuriama naudotojo paskyra su įprastomis prieigos teisėmis. Tai reiškia, kad naudotojas gali naudoti programinę įrangą, tačiau negali įdiegti naujų programų arba keisti sistemos nustatymų.

4. Spustelėkite **Create** (kurti). Dabar galite prisijungti kaip šis naudotojas.

Vaidmenų priskyrimas kiekvienam naudotojui

Dabar kiekvienam naudotojui turite priskirti vaidmenį. Prieiga skirstoma į šias sritis:

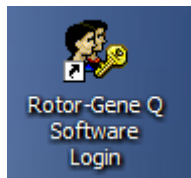
- „Rotor-Gene Q“ operatorius – gali atlikti tyrimo serijas, tačiau negali sudaryti ataskaitų ar atlikti analizių.
- „Rotor-Gene Q“ analitikas – gali analizuoti tyrimo serijų duomenis ir sudaryti ataskaitas, tačiau negali atlikti naujų tyrimo serijų.
- „Rotor-Gene Q“ operatorius ir analitikas – turi teisę atlikti abiejų vaidmenų funkcijas
- Administratorius – gali atrakinti mėginių pavadinimus ir atlikti visas operatoriaus ir analitiko funkcijas
- Nėra – prieiga prie programinės įrangos nesuteikiama

Pastaba. Naudojant „Microsoft Windows 10“, negalima kurti naudotojų grupių naudojant „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą. Grupės domene turi sukurti domeno administratorius, jis taip pat turi priskirti naudotojus konkrečiai grupei. Meniu „Run“ (vykdymas) aktyvintas. Būsenos juostoje rodoma, kad naudotojas **linsongy** yra „RG Operator“ (RG operatorius).

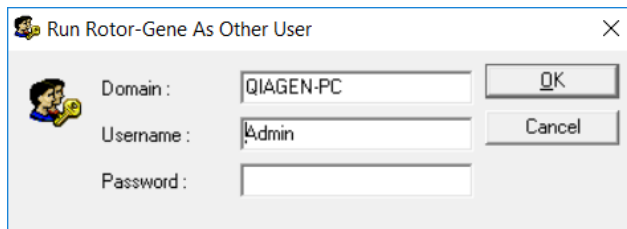
6.9.3 Kelių naudotojų naudojimas tuo pačiu kompiuteriu

Jeigu „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą nori naudoti keli naudotojai, sukurkite naudotojo paskyrą, neturinčią prieigos prie „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos. Prisijunkite prie „Windows“ naudodami šią paskyrą, kad naudotojai negalėtų anonimiškai prisijungti prie „Rotor-Gene Q MDx“.

1. Spustelėję piktogramą **Rotor-Gene Q Software Login** (prisijungimas prie „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos), naudotojai gali atverti savo paskyrą „Rotor-Gene Q“ programinėje įrangoje.



2. Atsidariusiame langelyje įveskite naudotojo vardą ir slaptažodį (privaloma).



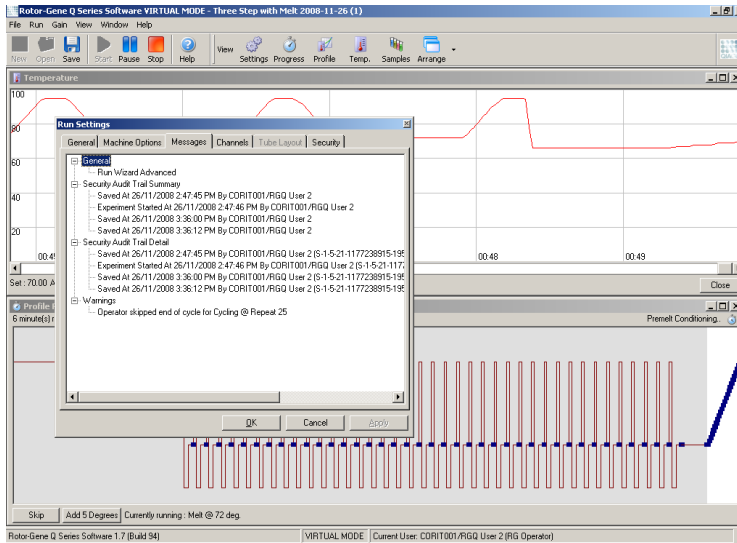
3. Domenas yra kompiuteris, prie kurio jungiatės, arba jūsų vietos tinklo pavadinimas, kartu su pagrindinio kompiuterio pavadinimu. Jeigu nežinote, kokį domeną nurodyti šiame lauke, kreipkitės į savo tinklo administratorių.

Pastaba. Prisijungus visi konkretaus naudotojo failai tampa pasiekiami tam naudotojui. Kiekvienas naudotojas gali įrašyti failus savo srityje. Tai užtikrina aukštą saugumo lygį.

Pastaba. Naudotojas turi atsijungti pasibaigus tyrimo serijai, kad kiti naudotojai negalėtų atlikti tyrimo serijos jo vardu.

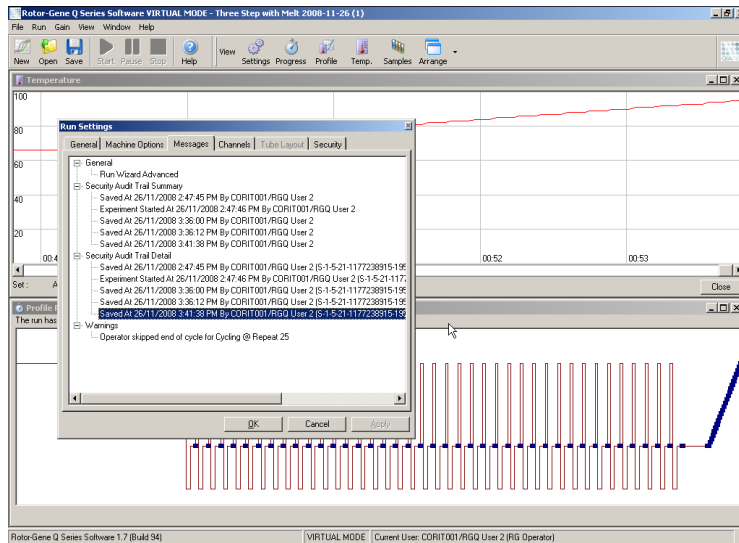
6.9.4 Audito sekos

Kiekvieną kartą naudotojui įrašius failą, naudotojo duomenys įrašomi skirtuko **Messages** (pranešimai) skiltyje **Run Settings** (tyrimo serijos nustatymai) kaip saugos audito sekos suvestinė ir saugos audito sekos išsami informacija.



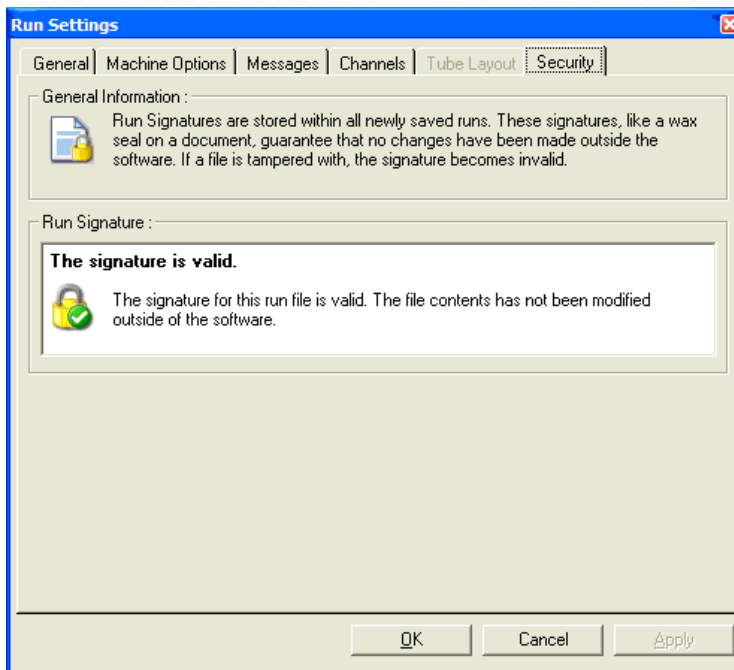
Ši funkcija gali būti naudojama norint stebėti, kas keitė failo turinį. Saugos audito sekos išsamios informacijos skiltyje pateikiami išsamesni duomenys, pavyzdžiui, unikalus naudotojo atpažinimo kodas. Šis atpažinimo kodas svarbus tam, kad naudotojas nesukurtų paskyros su tokiu pačiu pavadinimu kitame kompiuteryje ir neapsimestų kitu naudotoju. Tokiu atveju naudotojo vardas bus tas pats, tačiau paskyros ID bus skirtingi.

Išsamios informacijos skiltyje rodomas paskyros „CORIT001/RGQ User 2“ identifikavimo kodas S-1-5-21-1177238915-195.

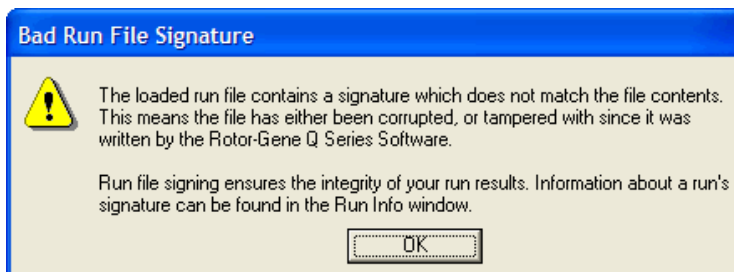


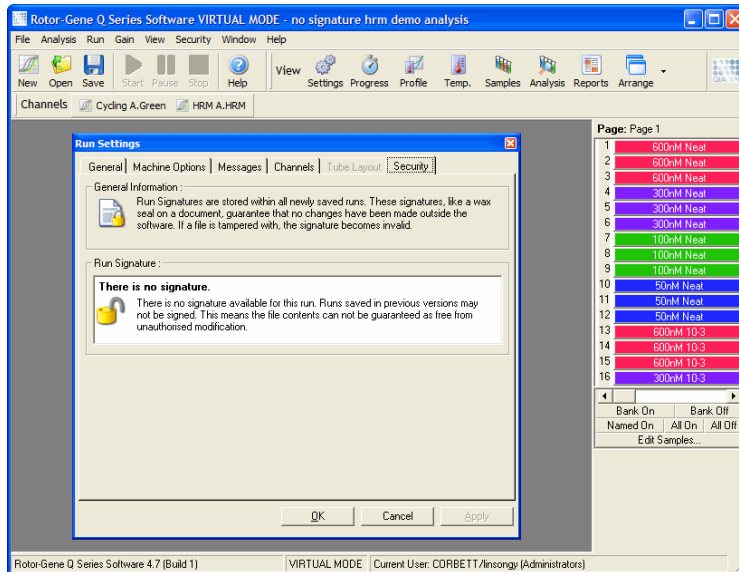
6.9.5 Tyrimo serijos parašas

Audito seka saugoma „Rotor-Gene Q“ tyrimo serijos faile. Siekiant išvengti nepageidaujamų šių failų pakeitimų, jie turi būti saugomi saugioje vietoje, pasiekiamoje tik naudojant nurodytas „Windows“ paskyras. Tačiau jeigu failai saugomi bendrinamoje vietoje, tyrimo serijos parašas suteikia papildomos apsaugos. Ekranu kopijoje matomas failo su tyrimo serijos parašu tyrimo serijos nustatymų skilties skirtukas **Security** (sauga).



Tyrimo serijos parašas yra ilgas žodis, sukuriamas kiekvieną kartą, kai failas įrašomas, ir susiejamas su failo turiniu. Pavyzdžiui, šio failo parašas yra **517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081**. Jeigu failas atveriamas naudojant „Notepad“ ir redaguojamas (pvz., tyrimo serijos data pakeičiama į 3 dienomis ankstesnę datą), kitą kartą atvėrus failą, rodomas šis pranešimas.





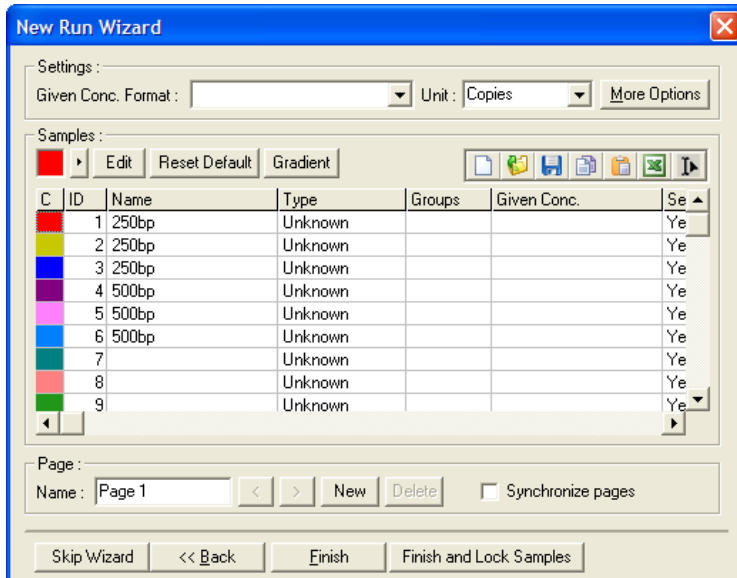
Pastaba. Jeigu failas siunčiamas el. paštu, šifravimo procesas gali panaikinti parašo galiojimą. Prieš siųsdami failą el. paštu, jį suglaudinkite, kad išvengtumėte šios problemos.

6.9.6 Mėginio užrakinimas

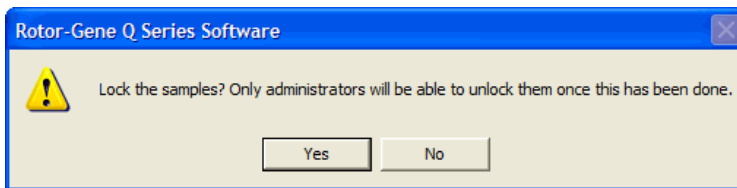
Svarbu užtikrinti, kad mėginio pavadinimas nebūtų tyčia arba netyčia pakeistas prasidėjus tyrimo serijai. Dėl šios priežasties „Rotor-Gene Q“ programinė įranga siūlo mėginio užrakinimo funkciją. Mėginių pavadinimus gali užrakinti naudotojas, tačiau juos atrakinti gali tik administratorius. Naudotojams, kurie kompiuterį naudoja veikiant administratoriaus paskyrai, šios funkcijos nauda ribota. Norint naudoti šią funkciją, kompiuteris turi būti saugiai sukonfigūruotas, kaip aprašyta ankstesniuose skyriuose.

Pastaba. Jeigu norite užrakinti mėginius, nenaudokite programinės įrangos prisijungę prie administratoriaus paskyros. Sukurkite paskyrą su RG operatoriaus ir RG analitiko grupėmis ir neatskleiskite administratoriaus slaptažodžio. Tuomet naudotojas turės gauti administratoriaus leidimą atrakinti failus.

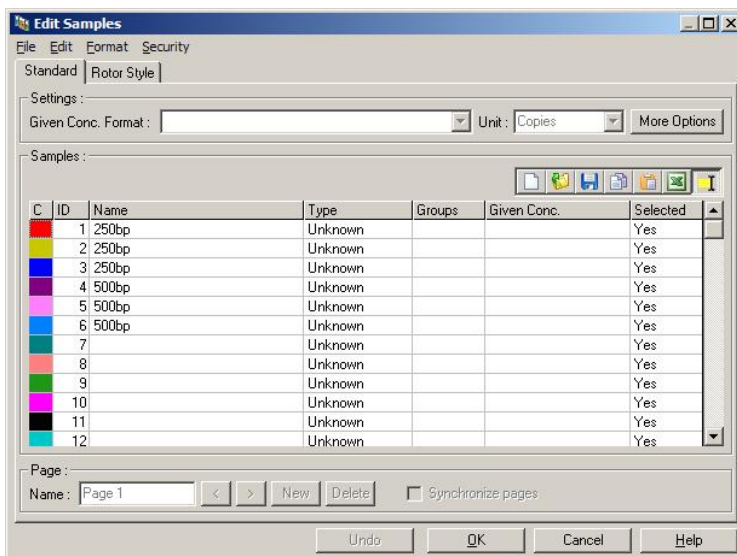
Mėginius galima užrakinti prieš pradėdant tyrimo seriją, „Advanced“ (išplėstiniame) vedlyje spustelėjus parinktį **Finish and Lock Samples** (baigti ir užrakinti mėginius).



Rodomas šis iespējams. Norēdami patvirtinti, paspauskite **Yes** (taip).



Kai mėginiai užrakinti, jū negalima redaguoti lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius).



Mėginius taip pat galima užrakinti ir atrakinti lange **Edit Samples** (redaguoti mėginius). Tačiau tik administratorius gali atrakinti mėginius, jeigu jie užrakinti.



Atlikus bet kokius neleistinus failo pakeitimus panaikinamas tyrimo serijos parašo galiojimas.

6.9.7 Užrakinti šablonai

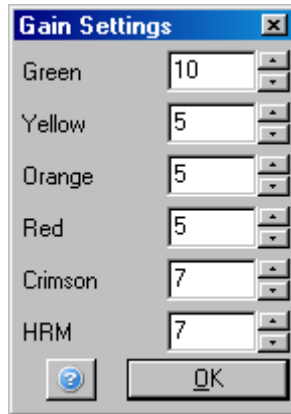
Šiuo metu naudotojas negali kurti tik skaitomų šablonų failų, naudodamas „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą. Tačiau jeigu reikia, galima nustatyti reikalavimą, kad visos tyrimo serijos būtų atliekamos naudojant konkretų šablono failą. Siekiant užtikrinti, kad šis šablonas yra tik skaitomas, jis turi būti saugomas tinklo diske, kuriame naudotojai negali keisti duomenų. Naudotojai galės vykdyti tyrimo serijas ir keisti savo profilius, o šablonas tinklo diske bus apsaugomas. Norint stebėti, koks šablonas buvo naudotas, „Rotor-Gene Q“ programinė įranga išsaugo tyrimo serijai naudoto šablono failo pavadinimą. Šią informaciją galima peržiūrėti spustelėjus mygtuką **Settings** (nustatymai), kad būtų galima atverti langą **Run Settings** (tyrimo serijos nustatymai). Šablono informacija saugoma skiltyje **Other Run Information** (kita tyrimo serijos informacija).



6.10 Gavimo meniu

Spustelėkite meniu **Gain** (gavimas), kad peržiūrėtumėte dabartinės tyrimo serijos **Gain Settings** (gavimo nustatymus). Prieš tyrimo seriją nustatomas nurodyto kanalo gavimas. Išsaugomi paskutinės tyrimo serijos gavimo nustatymai. Juos galima keisti, kai tyrimo serija dar neprasidėjusi arba per pradinius ciklus. Norėdami keisti teksto laukus, spauskite greta lauko esančias rodykles aukštyn / žemyn. Tuomet spustelėkite OK (gerai).

Gavimą galima keisti per pradinius ciklus. Atitinkamame kanale bus pažymima raudona linija, žyminti gavimo pakeitimą. Iki gavimo pakeitimo įvykę ciklai į analizę neįtraukiami.



6.11 Lango meniu

Šiame meniu galima nustatyti, kad langai būtų išdėstomi vertikaliai, horizontaliai arba pakopomis. Kitos parinktys įjungiamos spustelėjus rodyklę mygtuko **Arrange** (tvarkyti) dešinėje.

6.12 Žinynas

Spustelėjus mygtuką **Help** (žinynas) arba naudojant „Help“ (žinyno) meniu, atveriamas šis išskleidžiamasis meniu.

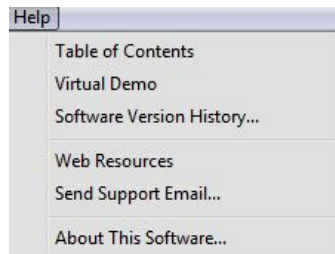


Table of Contents (turinys):	įjungiamą žinyno funkcija.
Virtual Demo (virtuali demonstracinė versija):	įjungiamas QIAGEN interneto svetainės puslapis, kuriame pateikiama interaktyvi programinės įrangos demonstracija.
Software Version History... (programinės įrangos versijos istorija):	pateikiama trumpa naujų prie anksčiau įdiegto programinės įrangos leidimo pridėtų funkcijų apžvalga.
Web Resources (tinklo ištekliai):	naujame naršyklės lange atveriamas QIAGEN svetainės puslapis su naudinga naujausia informacija apie „Rotor-Gene Q MDx“ prietaisus ir atitinkamus reagentus.
About This Software... (apie šią programinę įrangą):	pateikiama informacija apie prijungtą prietaisą, „Rotor-Gene Q MDx“ serijos numeris ir programinės įrangos versija.

6.12.1 Siųsti el. laišką techninės pagalbos tarnybai

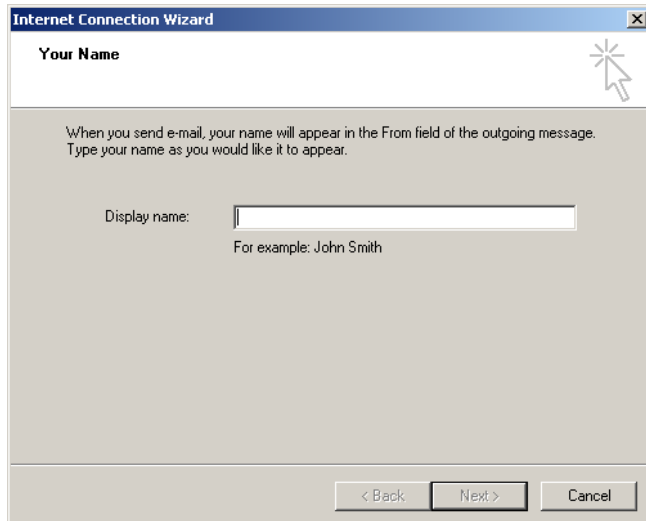
Meniu **Help** (žinynas) pasirinkę parinktį **Send Support Email** (siųsti el. laišką techninės pagalbos tarnybai), galite siųsti el. laišką QIAGEN, įskaitant visą susijusią tyrimo serijos informaciją. Pasirinkus parinktį **Save As** (įrašyti kaip), visa informacija įrašoma į failą, kurį galite nukopijuoti į diską arba tinkle, jeigu kompiuteryje, kuriame veikia „Rotor-Gene Q MDx“, nėra prieigos prie el. pašto.

Jeigu el. laiško siuntimo techninės pagalbos tarnybai funkciją naudojate nešiojamame kompiuteryje, pasirinktinai pateiktame su „Rotor-Gene Q MDx“ (priklauso nuo šalies), naudodami pirmą kartą turite sukongigūruoti el. pašto nustatymus.

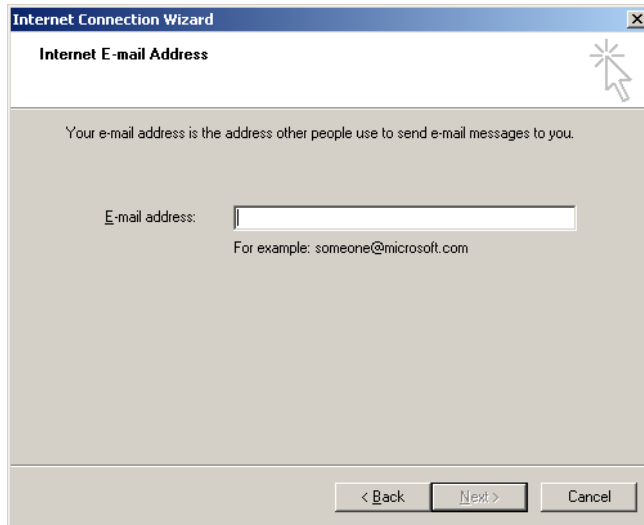
Pastaba. Galite įvesti savo įmonės IT administratoriaus duomenis.

El. pašto nustatymų konfigūravimas

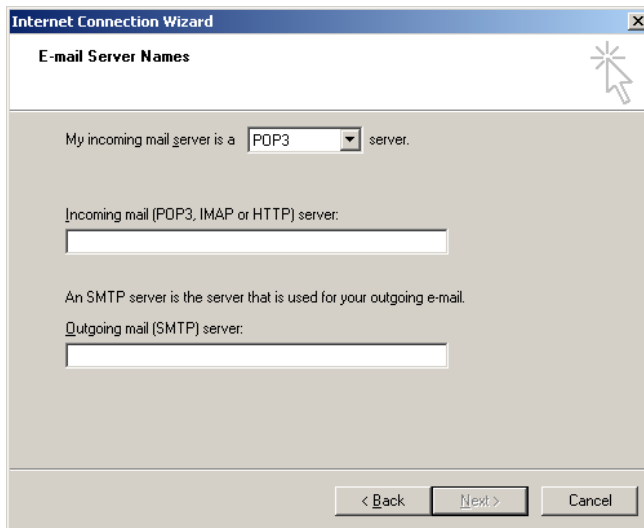
Spustelėkite parinktį **Send Support Email...** (siųsti el. laišką techninės pagalbos tarnybai). Atveriamas šis langas.



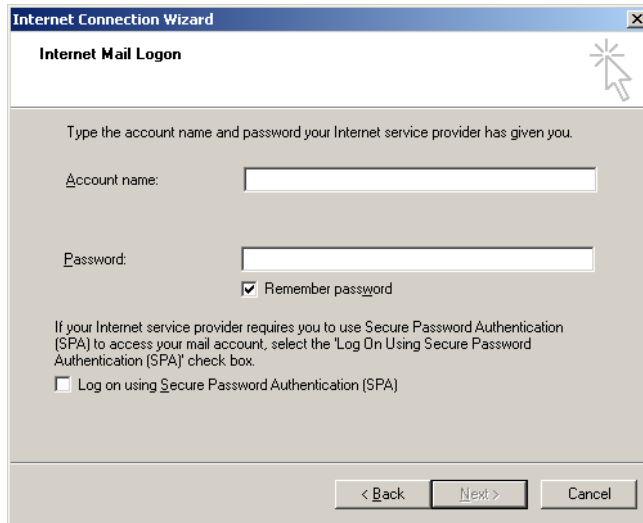
1. Įveskite savo vardą ir spustelėkite **Next** (kitas). Atveriamas langas **Internet E-mail Address** (interneto el. pašto adresas).



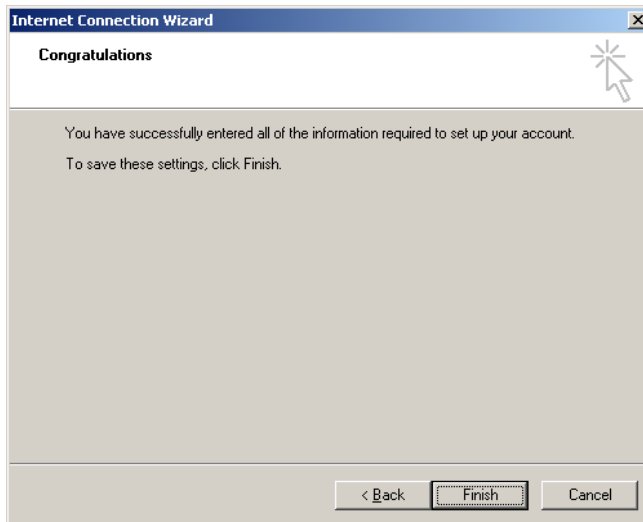
- Įveskite savo el. pašto adresą ir spustelėkite **Next** (kitas). Atveriamas langas **E-mail Server Names** (el. pašto serverio pavadinimai).



- Pasirinkite gaunamų laiškų pašto serverio tipą ir nurodykite gaunamų ir siunčiamų el. laiškų serverių pavadinimus. Spustelėkite **Next** (kitas). Atveriamas langas **Internet Mail Logon** (prisijungimas prie interneto el. pašto).



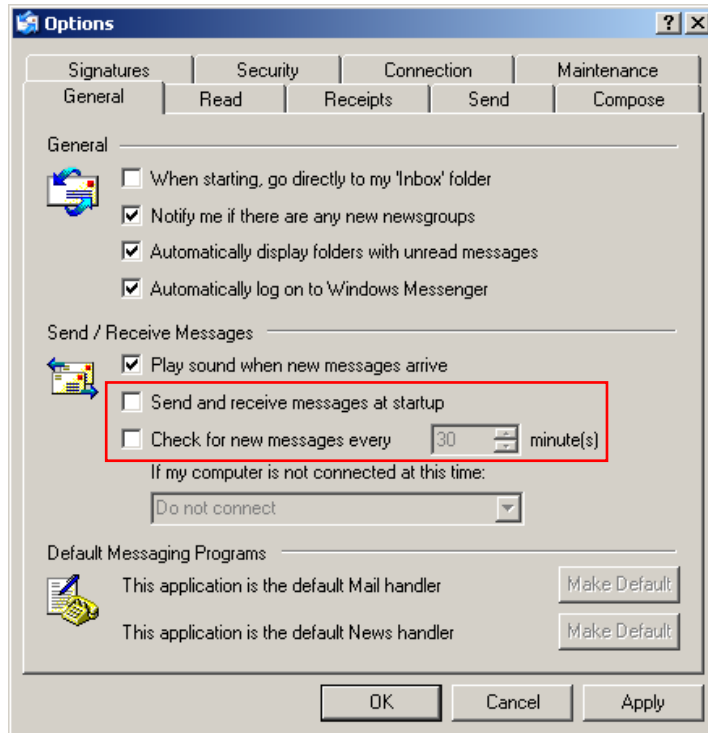
- Įveskite savo el. pašto paskyros pavadinimą ir slaptažodį, jeigu jūsų serveris naudoja saugų slaptažodžio nustatymą. Spustelėkite **Next** (kitas). Atveriamas langas **Congratulations** (sveikinime).



- Norėdami užbaigti el. pašto paskyros nustatymą, spustelėkite **Finish** (baigti).

„Outlook“ nustatymas

- Meniu **Start** (pradžia) pasirinkite **Outlook Express** (**Start** (pradžia) > **All programs** (visos programos) > **Outlook Express**).
- Pasirinkite **Tools** (įrankiai), tada pasirinkite **Options** (parinktys). Atveriamas toliau parodytas langas.



Svarbu. Norėdami negauti jokių e. laiškų vykstant PGR tyrimo serijai, lange **Send/Receive Messages** (siųsti / gauti pranešimus) išjunkite šias numatytąsias parinktis.

3. Išjunkite parinktį **Send and receive messages at startup** (siųsti ir gauti pranešimus paleidimo metu).
4. Išjunkite parinktį **Check for new messages every 30 minutes** (kas 30 minučių tikrinti, ar yra naujų pranešimų).
5. Pakeitimus patvirtinkite spustelėdami **OK** (gerai).

7 Papildomos funkcijos

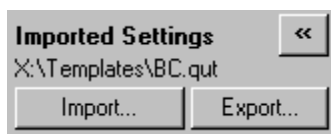
7.1 Analizės šablonai

Atliekant kai kurias analizes, naudotojas turi nustatyti slenksčius, normalizavimo nustatymus ir genotipo nustatymus. Paprastai šie nustatymai dažnai naudojami dar kartą per daugelį kitų tyrimų.

Naudodamas analizės šablonus, naudotojas gali įrašyti šiuos nustatymus ir juos naudoti dar kartą. Sutaupoma laiko, nes nereikia nustatymų įvesti iš naujo, o taip pat tai padeda išvengti klaidų.

Atliekant kiekybinę analizę, lydymą, alelių atskyrimą, sklaidos grafiko analizę ir vertinamosios baigties analizę, galima naudoti analizės šablonus. Atliekant šias analizes, naudotojas gali eksportuoti unikalų šios analizės šabloną (pvz., atliekant kiekybinę analizę, galima eksportuoti ir importuoti *.qut failus, kuriuose įrašyti kiekybinės analizės nustatymai).

Kai analizės šablonas importuojamas arba eksportuojamas, šablono failo pavadinimas rodomas tam, kad jį būtų galima peržiūrėti ateityje.

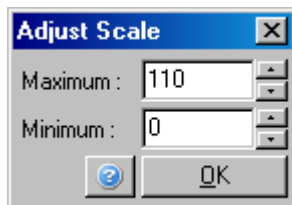


7.2 Antros tyrimo serijos atvėrimas

Vykdam tyrimo seriją, galima atverti ir analizuoti anksčiau atliktas tyrimo serijas. Kai kurios funkcijos, pavyzdžiui, **New** (nauja) ir **Start Run** (paleisti tyrimo seriją), nėra aktyvios antrajame lange. Naują tyrimo seriją galima paleisti pirmajame lange, kai užbaigiama vykstanti tyrimo serija.

7.3 Skalės reguliavimo parinktys

Norėdami įjungti funkciją **Adjust Scale** (reguliuoti skalę), pagrindinio lango apačioje spustelėkite **Adjust Scale...** (reguliuoti skalę) arba spustelėkite dešinįjį pelės klavišą ant grafiko ir pasirodžiusiame meniu pasirinkite **Adjust Scale...** (reguliuoti skalę). Skalę taip pat galima įvesti pasirodžiusiame lange rankiniu būdu.



Norėdami įjungti funkciją **Auto-Scale** (automatinė skalė), pagrindinio lango apačioje spustelėkite **Auto-Scale...** (automatinė skalė) arba spustelėkite dešinįjį pelės klavišą ant grafiko ir pasirodžiusiame meniu pasirinkite **Auto-Scale...** (automatinė skalė). **Auto-Scale** (automatinės skalės) funkcija pritaiko skalę pagal didžiausias ir mažiausias duomenų reikšmes.

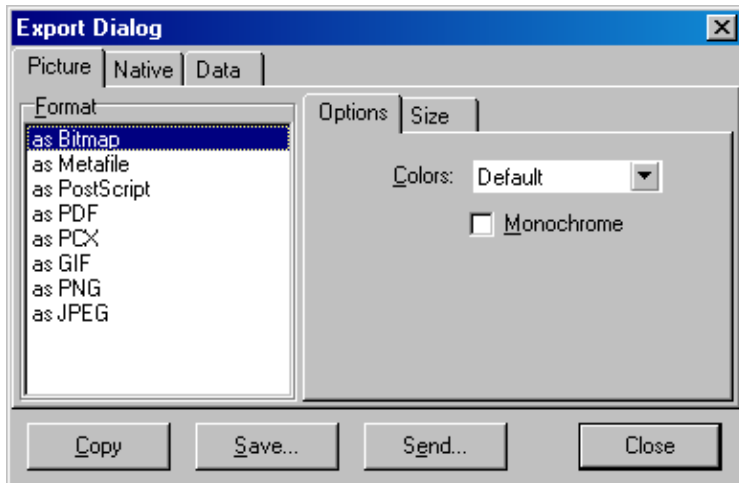
Norėdami įjungti funkciją **Default Scale** (numatytoji skalė), pagrindinio lango apačioje spustelėkite **Default Scale...** (numatytoji skalė) arba spustelėkite dešinįjį pelės klavišą ant grafiko ir pasirodžiusiame meniu pasirinkite **Default Scale...** (numatytoji skalė). **Default Scale** (numatytoji skalė) nustato tokią skalę, kad būtų rodomi nuo 0 iki 100 fluorescencijos vienetų.

7.4 Grafiko eksportavimas

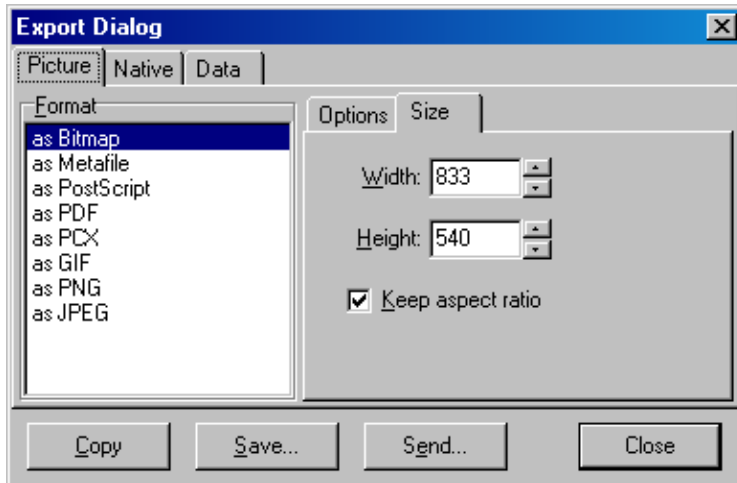
Paveikslėlio eksportavimas

Toliau aprašoma, kaip įrašyti vaizdą.

1. Dešiniuoju pelės klavišu spustelėkite ant vaizdo ir pasirodžiusiame meniu pasirinkite **Export** (eksportuoti).
2. Rodomas langas **Export Dialog** (eksportuoti dialogą). Pasirinkite norimą formatą iš sąrašo **Format** (formatas).



3. Pasirinkite skirtuką **Size** (dydis) ir nurodykite norimą dydį.



4. Pažymėkite žymimąjį langelį **Keep aspect ratio** (išlaikyti proporcijas), kad keičiant vaizdo dydį būtų išlaikomos tinkamos jo proporcijos.
5. Spustelėkite **Save** (rašyti) ir pasirodžiusiame dialogo lange pasirinkite failo pavadinimą bei vietą.

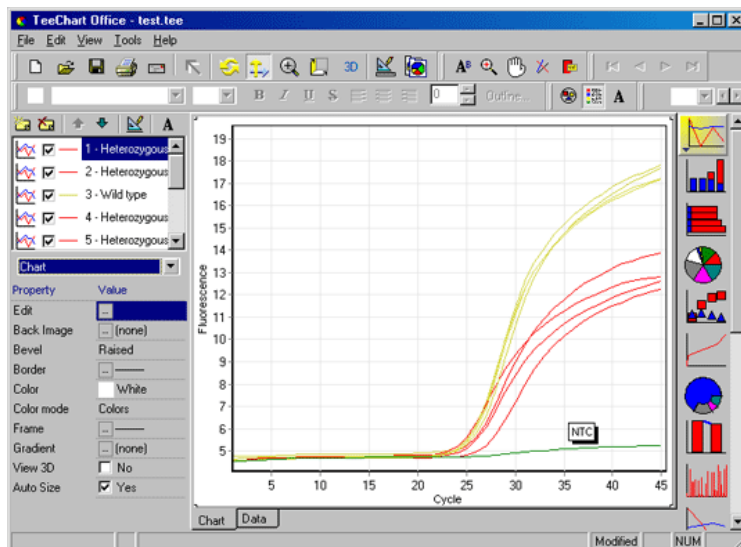
Jeigu reikia didesnės skiriamosios gebos vaizdo, rekomenduojame padidinti vaizdo dydį, kol jis atitiks jūsų reikalavimus, arba grafiką įrašyti kaip metafailą (*.emf, *.wmf). Tai vektorinio formato failas, kurį galima atverti naudojant tokią programinę įrangą kaip „Adobe® Illustrator®“, kurioje naudotojas gali sukurti bet kokios skiriamosios gebos vaizdą.

Savojo formato eksportavimas

Grafikai „Rotor-Gene Q“ programinėje įrangoje naudoja trečiosios šalies „TeeChart®“ komponentą, sukurtą programinės įrangos Steema. Norėdami įrašyti grafiką savoju formatu, lange **Export Dialog** (eksportuoti dialogą) pasirinkite skirtuką **Native** (savasis) (žr. ankstesnę ekrano kopiją) ir spustelėkite **Save** (rašyti). Savasis formatas yra standartinis „TeeChart“ failo formatas. Tai leidžia naudotojui naudoti „Steema“ programinės įrangos programą „TeeChart Office“. „TeeChart Office“ yra nemokama programinė įranga, įdiegiama kaip „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos paketo dalis. Norėdami įjungti šią programinę įrangą, spustelėkite darbalaukio piktogramą **TeeChart**.

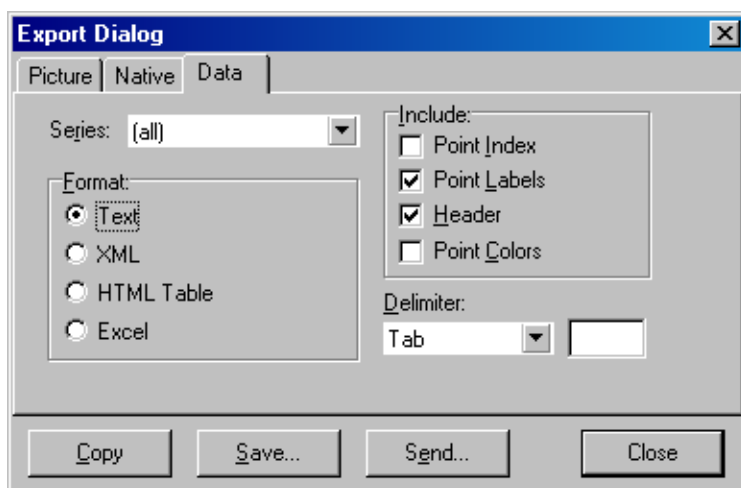


Naudodami „TeeChart Office“, galėsite tvarkyti eksportuotus grafikus, įskaitant kreivių spalvų keitimą, pastabų pridėjimą, šrifto keitimą ir duomenų taškų reguliavimą.



Duomenų eksportavimas


Norėdami eksportuoti duomenis įvairiais formatais, lange **Export Dialog** (eksportuoti dialogą) pasirinkite skirtuką **Data** (duomenys). Eksportuotame faile yra grafike naudoti neapdoroti duomenų taškai.

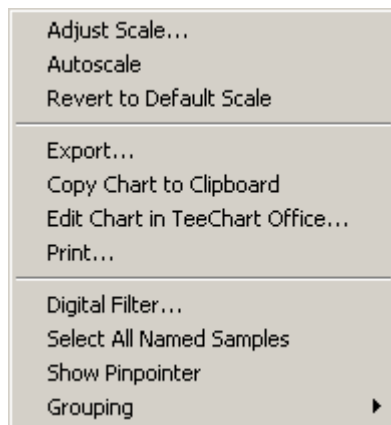


Eksportuoti neapdorotus duomenis ir analizės duomenis taip pat galima meniu **File** (failas) pasirinkus parinktį **Save As** (įrašyti kaip) (žr. 6.5 skyrių).

7.5 Veržliarakčio piktograma



Veržliarakčio piktograma  rodoma pagrindinio lango apatinėje kairėje dalyje. Spustelėjus veržliarakčio piktogramą, įjungiamos kelios parinktys. Šias parinktis taip pat galima įjungti dešiniuoju pelės klavišu spustelėjus ant grafiko.



Adjust Scale, Autoscale, Revert to Default Scale (redaguoti skalę, automatinė skalė, nustatyti numatytąją skalę):

žr. 7.3 skyrių.

Export... (eksportuoti):

grafikas įrašomas įvairiais formatais (žr. 6.4 skyrių).

Copy Chart to Clipboard (kopijuoti diagramą į iškarpinę):

grafiko vaizdas nukopijuojamas į iškarpinę.

Edit Chart in TeeChart Office... (redaguoti grafiką „TeeChart Office“ programoje):

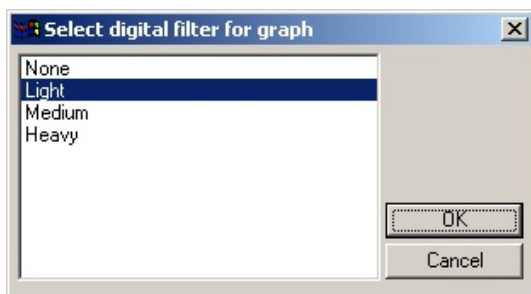
grafikas atveriamas tiesiai „TeeChart Office“ programoje, kad jį būtų galima redaguoti (žr. 6.4 skyrių).

Print (spausdinti):

atspausdinamas grafikas.

Digital Filter... (skaitmeninis filtras):

pakeičiamas šiuo metu pasirinktas grafiko skaitmeninis filtras. Skaitmeninis filtras suvienodina duomenis, naudodamas slenkantį taškų langą.



Show Pinpointer (rodyti smeigtuką):

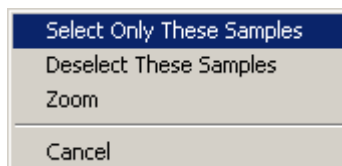
atveriamas langas, kuriame rodomos tikslios pelės žymeklio vietos koordinatės.

Grouping (grupavimas):

vizualiai grupuojami mėginiai, kurių pavadinimai vienodi. Tai gali būti naudinga, jeigu atliekama pilno rotoriaus tyrimo serija. Pasirinkus šią parinktį, apskaičiuotoms reikšmėms nedaroma jokia įtaka.

7.6 Pasirinktos srities parinktys

Grafiko sritį galima pasirinkti paspaudus ir laikant paspaustą kairįjį pelės klavišą ir tempiant pelės žymeklį. Rodomos šios parinktys.



Select Only These Samples
(pasirinkti tik šiuos mėginius):

į pasirinktą sritį nepatenkantys mėginiai nepasirenkami.

Select Only These Samples
(pasirinkti tik šiuos mėginius):

į pasirinktą sritį nepatenkantys mėginiai nepasirenkami.

Zoom (keisti mastelį):

didinamas pasirinktos grafiko srities vaizdas. Spustelėkite mygtuką **Default Scale** (numatytoji skalė), kad sumažintumėte vaizdą.

8 Priežiūra

„Rotor-Gene Q MDx“ priežiūra yra paprasta. Optinės sistemos našumas užtikrinamas prižiūrint, kad ties spinduliavimo ir aptikimo šaltiniu esantys lęšiai būtų švarūs. Lęšius atsargiai valykite etanoliu arba izopropanoliu* sudrėkintu vatos pagaliuku.

Pastaba. Lęšius valykite ne rečiau nei kartą per mėnesį, atsižvelgdami į naudojimo dažnį. Tuo pačiu metu išvalykite rotoriaus kamerą.

Darbastalis turi būti švarus, ant jo negali būti dulkių ir popieriaus. „Rotor-Gene Q MDx“ oro įleidimo angos yra prietaiso apačioje, todėl tokios medžiagos kaip popierius ar dulkės gali pakenkti prietaiso veikimui.



Kai prietaisas nenaudojamas, „Rotor-Gene Q MDx“ dangtį laikykite uždarytą, kad nesikaupytų dulkės.

Pastaba. Naudokite tik QIAGEN tiekiamas dalis.

8.1 „Rotor-Gene Q MDx“ paviršiaus valymas

„Rotor-Gene Q“ išorinius paviršius galima valyti dažniausiai prieinamomis laboratorinėmis cheminėmis medžiagomis.

* Dirbdami su cheminėmis medžiagomis visada dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

8.2 „Rotor-Gene Q MDx“ paviršiaus dezinfekavimas

Jeigu rotoriaus kamera užteršiama, ją galima išvalyti paviršius valant nesipūkuojančiu audeklu, sudrėkintu (kad nevarvėtų) 0,1 % (v/v) baliklio tirpalu.* Kamerą išvalykite nesipūkuojančiu audeklu, sudrėkintu PGR klasės vandeniu, kad pašalintumėte baliklio likučius.

8.3 „Rotor-Gene Q“ remontas

Dėl „Rotor-Gene Q“ remonto arba techninės priežiūros kreipkitės į QIAGEN techninės pagalbos tarnybą adresu <https://www.qiagen.com/service-and-support/technical-support/technical-support-form/>.

* Dirbdami su cheminėmis medžiagomis visada dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

9 Optinis temperatūros patikrinimas

Optinis temperatūros patikrinimas (Optical Temperature Verification, OTV) – tai metodas, kuriuo patvirtinama „Rotor-Gene Q MDx“ prietaise esančio mėgintuvėlio vidinė temperatūra. Vidinės mėgintuvėlio temperatūros patvirtinimas gali būti svarbi procedūra sertifikuotose laboratorijose. OTV atliekamas naudojant „Rotor-Disc OTV Kit“ (žr. 16 skyrių). Toliau pateikiamas tik trumpas OTV metodo aprašas. OTV procedūros atlikimas paaiškinamas „Rotor-Gene Q MDx“ programinėje įrangoje. Išsamesnis OTV procedūros aprašas, įskaitant trikčių šalinimo vadovą, pateikiamas „Rotor-Disc OTV“ vadove.

9.1 OTV metodas

OTV metodo veikimas paremtas optinėmis 3 termochrominių skystųjų kristalų (Thermochromatic Liquid Crystals, TLC)*, kaip absoliučiosios temperatūros etalonų, savybėmis. Kaitinami TLC keičiasi nuo neskaidrių iki skaidrių itin tikslioje temperatūroje (50 °C, 75 °C ir 90 °C). TLC savaime neskleidžia fluorescencijos. Todėl sužadinimo šaltinį svarbu uždengti fluorescenciniu įdėklu, kad TLC perėjimo taškus aptiktų „Rotor-Gene Q MDx“ optinė sistema. TLC yra neskaidrūs ir atspindi šviesą, kai temperatūra yra žemesnė nei jų perėjimo temperatūra. Dalis atspindėtos šviesos išsklaidoma detektoriaus link, todėl fluorescencija padidėja. Kai vidinė mėgintuvėlio temperatūra pasiekia TLC perėjimo tašką, TLC tampa skaidrus, o šviesa ne atspindima detektoriaus link, bet pereina per mėginį, todėl fluorescencija sumažėja. Fluorescencijos pokytis naudojamas tiksliai kiekvieno TLC perėjimo temperatūrai nustatyti. Perėjimo temperatūra palyginama su OTV „Rotor-Disc“ gamyklinio kalibravimo faile nurodyta temperatūra, siekiant patvirtinti, ar „Rotor-Gene Q MDx“ temperatūra atitinka specifikacijas.

9.2 „Rotor-Disc OTV Kit“ komponentai:

Norint atlikti OTV, būtini šie komponentai:

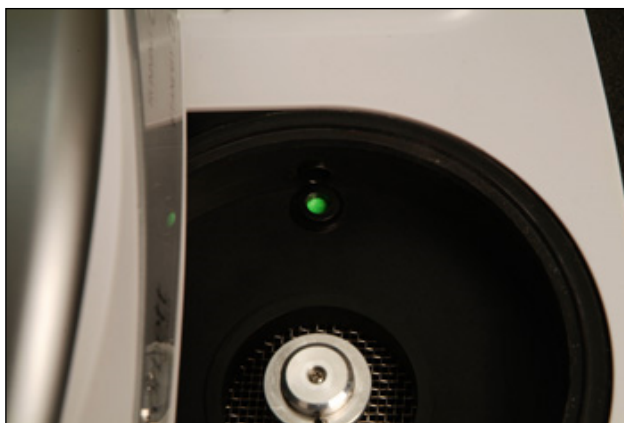
- „Rotor-Disc OTV Kit“, kurį sudaro:
 - užsandarintas „Rotor-Disc 72“ OTV rotorius (su TLC)
 - Fluorescencijos sklaidos plokštelės įdėklas („Rotor-Gene 3000“ prietaisas arba „Rotor-Gene Q/6000“ prietaisai)

* Dirbdami su cheminėmis medžiagomis visada dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mėvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

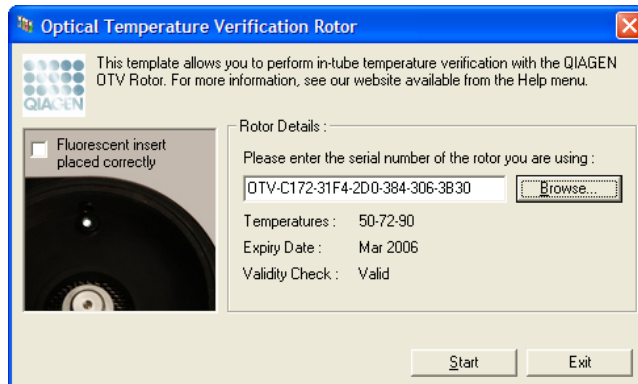
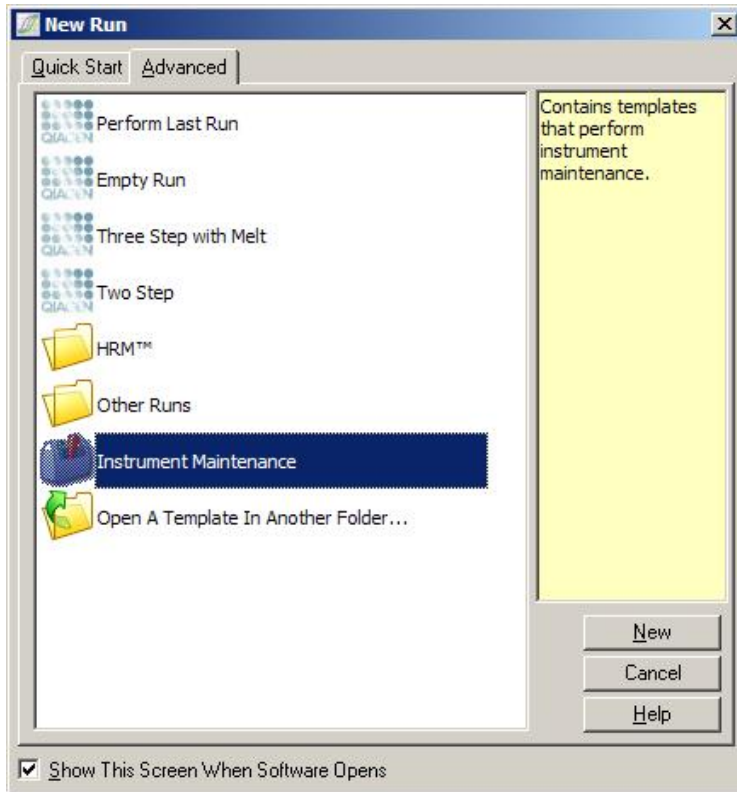
- Keičiamoji laikmena, kurioje yra šie failai: OTV rotoriaus serijos numerio ir galiojimo datos failas (*.txt); OTV tyrimo šablono failas (*.ret); produkto duomenų lapas (*.pdf); gamyklinio kalibravimo lapas (*.rex)
- Produkto duomenų lapas
- „Rotor-Gene“ serijos programinės įrangos 1.7 arba naujesnė versija, kurioje yra paprastas naudoti OTV rotoriaus vedlys
- „Rotor-Disc 72 Rotor“
- „Rotor-Disc 72 Locking Ring“

9.3 OTV atlikimas

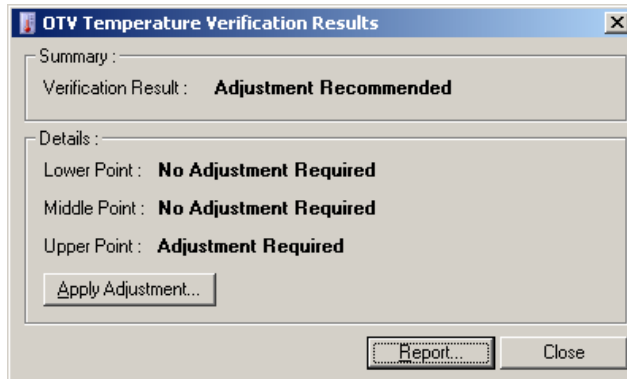
1. Fluorescencinį įdėklą įdėkite virš spinduliavimo lęšio „Rotor-Gene Q MDx“ kameros apačioje.
2. Įdėkite OTV „Rotor-Disc“ į „Rotor-Disc 72 Rotor“. Tvirtai uždėkite „Rotor-Disc 72 Locking Ring“. Visą įtaisą įdėkite į „Rotor-Gene Q MDx“, kad užsifiksuotų. Uždarykite „Rotor-Gene Q MDx“ dangtį.



3. Įjunkite „Advanced“ (išplėstinį) vedlį, lange **New Run** (nauja tyrimo serija) pasirinkdami skirtuką **Advanced** (išplėstinis). „Advanced“ (išplėstiniame) vedlyje spustelėkite **Instrument maintenance** (prietaiso priežiūra), o tada spustelėkite **OTV**. Vedlyje rodomas raginimas įvesti OTV serijos numerį, kuris nurodytas ant OTV žiedo. Tuomet spustelėkite **Start** (paleisti).



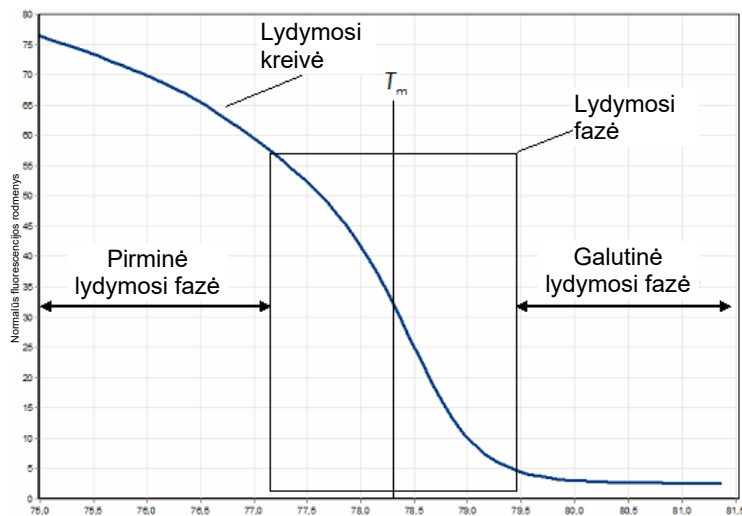
4. Programinėje įrangoje rodomas raginimas nurodyti tyrimo serijos failo pavadinimą. Prasideda tyrimo serija.
5. Per tyrimo seriją atliekamos kelios lydymo serijos, nurodančios šilumines „Rotor-Gene Q MDx“ savybes.



6. Kai tyrimo serija užbaigiama, programinėje įrangoje nurodoma, ar „Rotor-Gene Q MDx“ atitinka specifikacijas.
7. Jeigu reikia atlikti reguliavimus, naudotojas turi spustelėti **Apply Adjustment** (taikyti reguliavimus). Po to rodomas raginimas naudotojui atlikti patvirtinamą tyrimo seriją. Pasibaigus patvirtinamajai tyrimo serijai, turėtų nebereikėti atlikti jokių reguliavimų. Jeigu vis tiek reikia atlikti reguliavimus, kreipkitės į savo platintoją.
8. Jeigu „Rotor-Gene Q MDx“ atitinka specifikacijas, galima peržiūrėti ir atspausdinti tyrimo serijos ataskaitą.

10 Didelės skiriamosios gebos lydymosi analizė

Didelės skiriamosios gebos lydymosi (High Resolution Melt, HRM) analizė yra novatoriškas metodas, paremtas DNR lydymosi analize. HRM charakterizuoja DNR mėginius pagal jų disociacijos pobūdį, kai didėjant temperatūrai dviejų grandinių DNR (dsDNR) atsiskiria iki vienos grandinės DNR (ssDNR) (žr. pav. toliau). HRM įtaisas priima fluorescencijos signalus su itin dideliu optiniu ir šiluminiu tikslumu, todėl sukuriama daug įvairių pritaikymo galimybių.



Tipinė HRM diagrama. Lydymosi kreivė parodo perėjimą nuo didelės pradinės lydymosi fazės fluorescencijos iki fluorescencijos sumažėjimo lydymosi fazės metu ir iki bazinio fluorescencijos lygio galutinėje lydymosi fazėje. Fluorescencija mažėja, nes DNR įsiterpiančys dažai išsilaisvina iš dsDNR jai lydantis į atskiras grandines. Lydymosi fazės vidurio taškas, kuriame fluorescencijos pokyčio greitis yra didžiausias, atitinka DNR lydymosi temperatūrą (T_m) analizės metu.

Prieš atliekant HRM analizę, tikslią seką reikia amplifikuoti, siekiant gauti daug kopijų. Tai paprastai atliekama PGR būdu, kartu naudojant į dsDNR įsiterpiančius fluorescencinius dažus. Dažai nesąveikauja su ssDNR, bet aktyviai įsiterpia į dsDNR ir tada skleidžia stiprią fluorescenciją. Fluorescencijos pokytis gali būti naudojamas DNR koncentracijos padidėjimui PGR metu matuoti, o tada HRM būdu tiesiogiai išmatuoti šiluminiu būdu sukeltą DNR lydymąsi. HRM metu fluorescencija iš pradžių būna didelė, nes iš pradžių mėginys yra dsDNR. Fluorescencija mažėja temperatūrai didėjant ir DNR atsiskiriant į viengubas grandines. Stebimas lydymosi pobūdis yra būdingas konkrečiam DNR mėginiui.

Taikant HRM, „Rotor-Gene Q MDx“ gali charakterizuoti mėginius pagal jų sekos ilgį, GC kiekį ir DNR sekos komplementarumą. HRM galima taikyti nustatant genotipą, pavyzdžiui, analizuojant insercijas ir delecijas arba vieno nukleotido polimorfizmus (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP), arba ieškoti nežinomų genetinių mutacijų. Šį metodą taip pat galima taikyti epigenetikoje, norint aptikti ir analizuoti DNR metilinimo būseną. Jį taip pat galima taikyti norint kiekybiškai nustatyti mažą variantinės DNR dalį laukinio tipo sekoje, kai jautrumas artimas 5 %.

Tai gali būti taikoma, pavyzdžiui, tiriant somatiniu būdu įgytas mutacijas ar CpG salelių metilinimo būsenos pokyčius.

„Rotor-Gene Q MDx“ prietaiso HRM funkcija palengvina daugybę procedūrų, įskaitant šias:

- Kandidatinių predispozicinių genų nustatymas
- Asociaciniai tyrimai (lyginami atvejai ir kontrolinės medžiagos, genotipas su fenotipu)
- Alelių paplitimo populiacijoje arba pogrupyje nustatymas
- SNP atranka ir patvirtinimas
- Heterozigotiškumo praradimo nustatymas
- DNR „pirštų atspaudų“ metodas
- Haplotipo blokų charakterizavimas
- DNR metilinimo analizė
- DNR žemėlapių sudarymas
- Rūšies nustatymas
- Mutacijų aptikimas
- Somatiniu būdu įgytų mutacijų santykio nustatymas
- HLA tipo nustatymas

HRM metodas yra paprastesnis ir ekonomiškesnis nei zondų naudojimu paremti genotipo nustatymo tyrimai ir, kitaip nei įprasti metodai, apsaugo nuo užteršimo PGR produktais, nes naudojama uždarytų mėgintuvėlių sistema. Rezultatai gali būti palyginami su įprastais metodais, pavyzdžiui, SSCP, DHPLC, RFLP ir DNR sekos nustatymu.

10.1 Priemonės

„Rotor-Gene Q MDx“ suteikia šias sudėtingas tikralaikės ir šiluminės-optinės priemonės, būtinas norint atlikti HRM.

- Didelio intensyvumo apšvietimas
- Itin jautrus optinis aptikimas
- Greitas duomenų rinkimas
- Tiksliai kontroliuojama mėginio temperatūra
- Minimalūs šiluminiai ir optiniai skirtumai tarp mėginių

10.2 Cheminės medžiagos

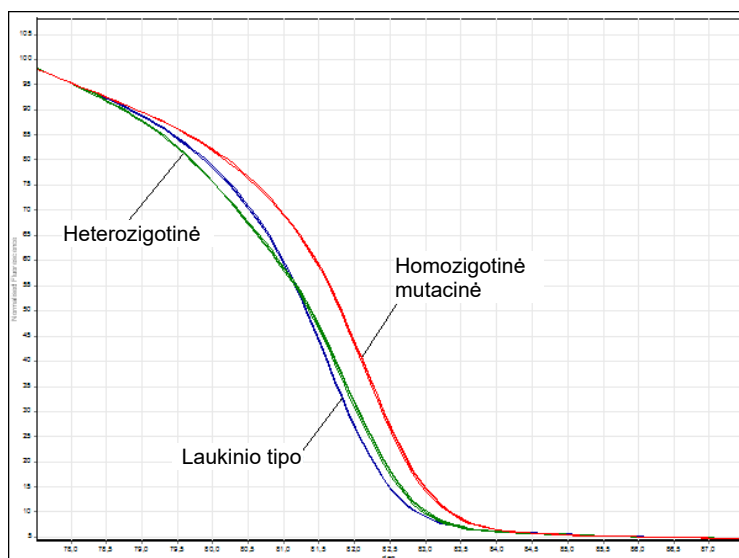
QIAGEN siūlo „Type-it® HRM PCR Kit“, skirtą SNP ir mutacijų analizei atlikti taikant HRM, bei „EpiTect® HRM PCR Kit“, skirtą metilinimo analizei atlikti. Abiejuose rinkiniuose yra trečiosios kartos įsiterpiančių fluorescencinių dažų „EvaGreen“. Rinkiniuose yra optimizuoto HRM buferinio tirpalo ir „HotStarTaq®“ ir „DNA Polymerase“, siekiant išvengti nespecifinių amplifikacijos produktų bei užtikrinti patikimus rezultatus.

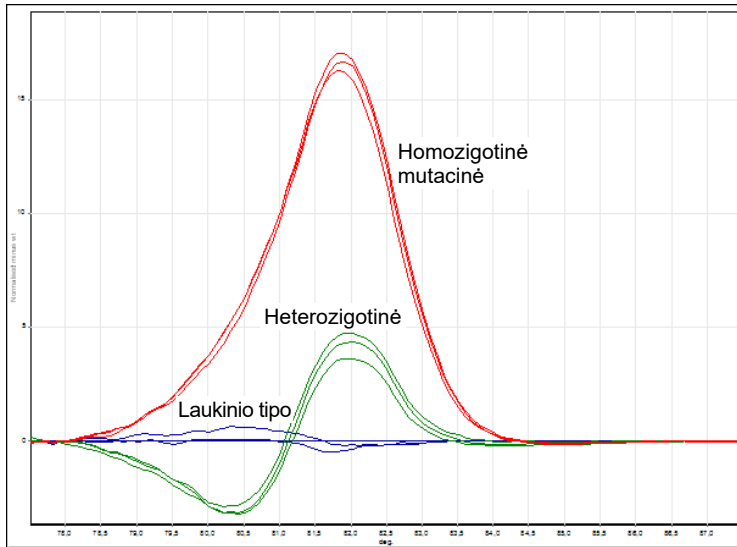
Pastaba. Visi QIAGEN HRM rinkiniai ir reagentai yra skirti naudoti su „Rotor-Gene Q“ prietaisais tik atitinkamuose QIAGEN rinkinių vadovuose aprašytoms procedūroms atlikti.

10.3 SNP genotipo nustatymo pavyzdys

Pateiktame pavyzdyje atliekant HRM analizę naudotas „Type-it HRM PCR Kit“, siekiant atskirti žmogaus SNP rs60031276 homozigotinę laukinio tipo formą, homozigotinę mutacinę formą ir heterozigotinę formą. Išsami techninė informacija pateikiama „Type-it HRM PCR“ vadove.

A



B**C**

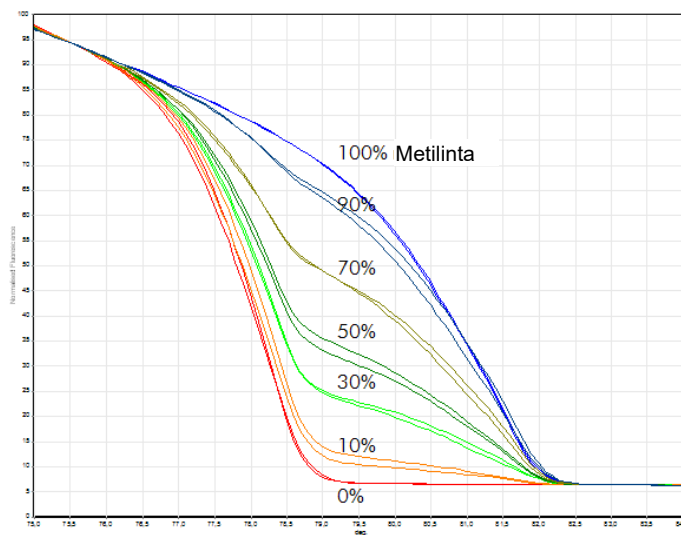
HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22	■	AA Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23	■	unknown	homo AA	99,49
24	■	unknown	homo AA	99,76
28	■	AG Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29	■	unknown	hetero AG	99,49
30	■	unknown	hetero AG	98,47
34	■	GG Human SNP rs60031276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

SNP genotipo nustatymas, taikant HRM. Geno PPP1R14B (baltymų fosfatazė 1, reguliacinis (slopinantis) subvienetas 14B) žmogaus SNP rs60031276 (A pakitusi į G) buvo tiriamas su „Rotor-Gene Q“, naudojant 10 ng skirtingų genotipų genomines DNR ir „Type-it HRM Kit“. Heterozigotinis laukinio tipo (AA), heterozigotinis mutacinis (GG) ir heterozigotinis (AG) mėginiai parodyti **A** standartinėje normalizuotoje lydymosi kreivėje ir **B** diferencinėje diagramoje, normalizuotoje pagal laukinio tipo mėginius. **C** Nežinomų mėginių genotipus priskyrė „Rotor-Gene Q“ programinė įranga.

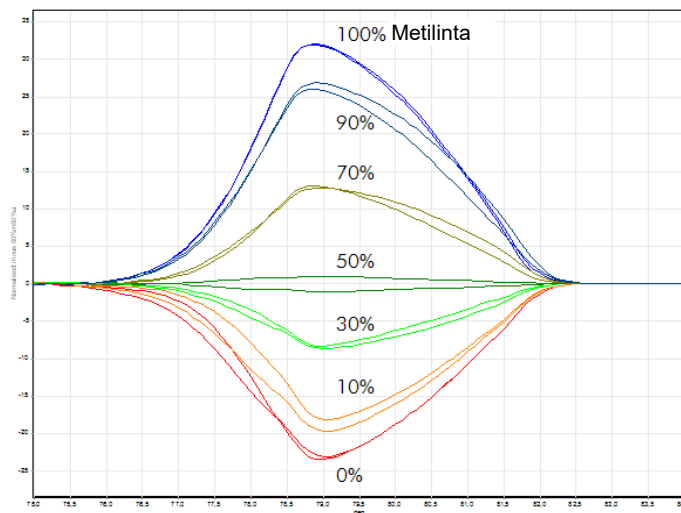
10.4 Metilinimo analizės pavyzdys

Pateiktame pavyzdyje atliekant HRM analizę buvo naudojamas „EpiTect HRM PCR Kit“, siekiant atskirti įvairius metilintos ir nemetilintos DNR santykius. Išsami techninė informacija pateikiama „EpiTect HRM PCR“ vadove.

A



B



Kiekybinė metilinimo analizė, taikant HRM. Metilinta ir nemetilinta DNR-APC (adenomatosus polyposis coli) įvairiais santykiais buvo analizuojama ir atskiriama, atliekant HRM metilinimo analizę su „Rotor-Gene Q“, naudojant „EpiTect HRM Kit“. Parodyta **A** standartinė normalizuota lydymosi kreivė ir **B** diferencinė diagrama, normalizuota pagal 50 % metilintų mėginių.

10.5 Rekomendacijos, kaip sėkmingai atlikti HRM analizę

HRM analizės sėkmė labai priklauso nuo konkrečios tiriamosios sekos. Tam tikri sekos motyvai, pavyzdžiui, „plaukų segtuko kilpos“ (angl. hairpin loops) ar kitos antrinės struktūros, lokalizuoti regionai, kuriuose itin didelis arba itin mažas GC kiekis, arba pasikartojančios sekos taip pat gali turėti įtakos rezultatams. Be to, naudojant QIAGEN standartizuotus rinkinius ir optimizuotus protokolus galima išvengti daugelio minėtų galimų problemų. Toliau pateikiamos kelios paprastos rekomendacijos, padėsiančios užtikrinti sėkmingą procesą.

Analizuokite mažus DNR fragmentus

Analizuokite ne didesnius nei 250 bp fragmentus. Didesnius fragmentus taip pat galima sėkmingai analizuoti, tačiau paprastai skiriamoji geba būna mažesnė. Taip yra dėl to, kad vienos bazės skirtumas turi didesnę poveikį 100 bp amplikono lydimosi pobūdžiui nei 500 bp amplikono.

Įsitikinkite, kad PGR naudojamas tik specifinis produktas

Mėginiai, užteršti po PGR atsirandančiais artefaktais, pavyzdžiui, pradmens dimerais arba nespecifiniais produktais, gali lemti HRM rezultatus, kuriuos bus sunku vertinti. HRM analizei skirti QIAGEN rinkiniai užtikrina maksimalų specifiškumą, todėl jų nereikia optimizuoti.

Naudokite pakankamą pradinės amplifikacijos matricos kiekį

„Real-time PCR“ duomenų analizė gali būti labai naudinga šalinant HRM analizės triktis. Amplifikacijos diagramų C_T (slenkstinis ciklas) turi būti mažesnis arba lygus 30 ciklų. Produktai, kurių amplifikacija įvyksta vėliau (dėl mažo pradinės matricos kiekio arba matricos degradavimo), paprastai lemia nepastovius HRM rezultatus dėl PGR artefaktų.

Normalizuokite matricos koncentraciją

Į reakciją dedamas matricos kiekis turi būti pastovus. Normalizuokite pradines koncentracijas, kad visos amplifikacijos diagramos neviršytų viena kitos 3 C_T reikšmių. Tai užtikrina, kad pradinės koncentracijos reikšmės patenka į 10 kartų didesnę intervalą.

Patikrinkite, ar nėra iškreiptų amplifikacijos diagramų

Prieš atlikdami HRM, atidžiai ištirkite amplifikacijos diagramos duomenis, ar amplifikacijos diagramos forma nėra nenormali. Diagramos, kurių logaritminė tiesinė fazė nėra statmena, yra dantyta arba pasiekia žemo signalo plokštumą, palyginus su kitomis reakcijomis, gali reikšti, kad amplifikacija yra per silpna arba per mažas fluorescencijos signalas (pvz., tai gali įvykti, jei pradmenų koncentracija buvo per maža). Netinkamos reakcijos gali vykti dėl reakcijos inhibitorių arba netinkamai paruoštos reakcijos. Tokių mėginių HRM duomenys gali būti nepakankami išvadoms daryti arba pasižymėti maža skiriamąja geba. Siekiant išvengti nepatikimų rezultatų, rekomenduojame naudoti QIAGEN rinkinius ruošiant mėginius ir atliekant HRM analizę.

Užtikrinkite, kad mėginių koncentracijos reikšmės po amplifikacijos yra panašios

DNR fragmento koncentracija lemia jos lydymosi temperatūrą (T_m). Dėl šios priežasties mėginių DNR koncentracijos reikšmės turi būti kuo panašesnės. Analizuojant PGR produktus, būtina įsitikinti, kad kiekvienoje reakcijoje įvyko amplifikacija iki plokštumos fazės. Plokštumos fazėje visose reakcijose įvyksta panašaus masto amplifikacija, neatsižvelgiant į jų pradinį kiekį. Tačiau blogai vykusiose reakcijose plokštuma gali būti nepasiekiamą net esant tokiam pačiam amplifikacijos kiekiui, nes, pavyzdžiui, tyrimas buvo paruoštas netinkamai (pvz., pradmens koncentracija buvo per maža).

Užtikrinkite mėginių vienodumą

Visų mėginių tūris turi būti vienodas ir juose turi būti ta pati dažų koncentracija. DNR lydymąsi lemia reakcijos mišinys esančios druskos, todėl svarbu, kad buferinio tirpalo, Mg ir kitų druskų koncentracija būtų kuo vienodesnė visuose mėginiuose. Naudokite tik vienodus to paties gamintojo reakcijų mėgintuvėlius, kad nesiskirtų plastiko storis ir autofluorescencijos savybės.

Surinkite pakankamai duomenų pradinėje lydymosi fazėje ir galutinėje lydymosi fazėje

HRM duomenis rinkite apytiksliai 10 °C intervale, kurio centre būtų nustatyta T_m (žr. pav. 10 psl.). Tai užtikrina pakankamą pradinių duomenų kiekį, kad kreivės normalizavimas būtų efektyvus, todėl bus gaunama daugiau atkuriamų pakartojimų ir bus lengviau įvertinti duomenis.

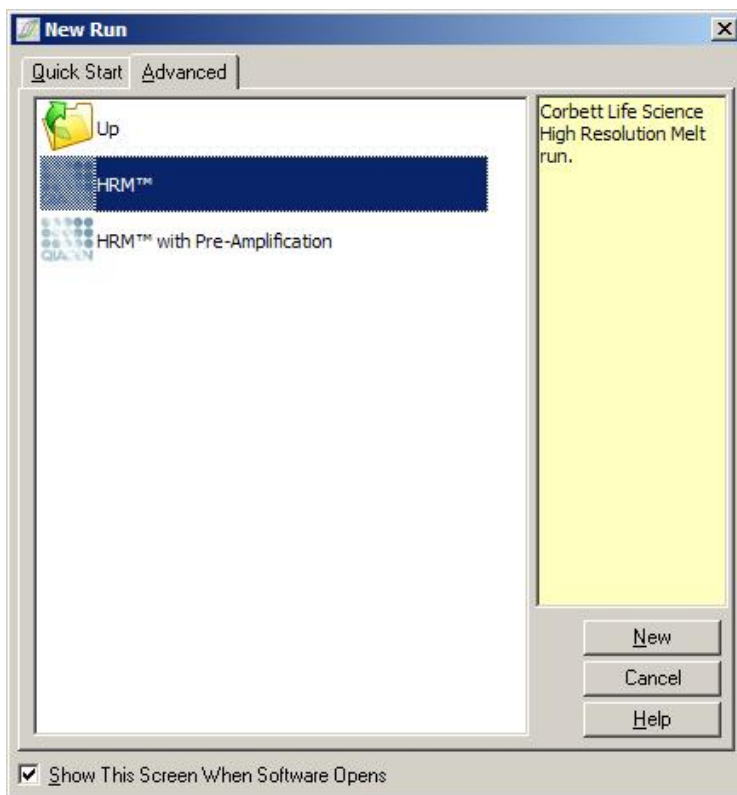
10.6 Mėginio paruošimas

Gryninimo ir laikymo metu reikia vengti mėginio degradavimo. Nenaudokite per didelio inhibitorių kiekio, pavyzdžiui, atsirandančio dėl etanolio pernešimo. Siekiant geresnių HRM rezultatų, rekomenduojame visuose mėginiuose naudoti vienodą matricos kiekį. Rekomenduojama atlikti spektrofotometrinę DNR koncentracijos ir grynumo nustatymo tyrimą. Mėginių paruošimui rekomenduojame naudoti QIAGEN rinkinius.

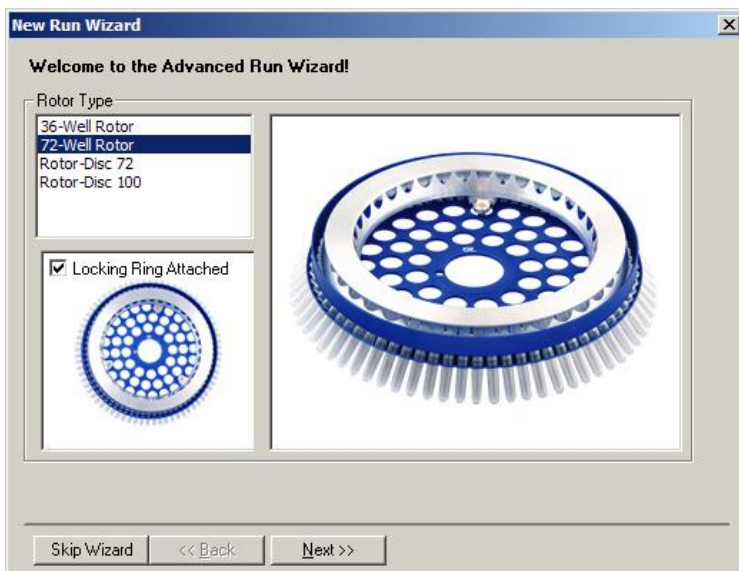
Pastaba. Esant 260 nm bangos ilgiui, vienas absorbcijos vienetas lygus 50 µg/ml DNR. Jeigu DNR gryna, esant nuo 260 nm iki 280 nm, gaunamas santykis lygus 1,8.

10.7 Programinės įrangos konfigūravimas

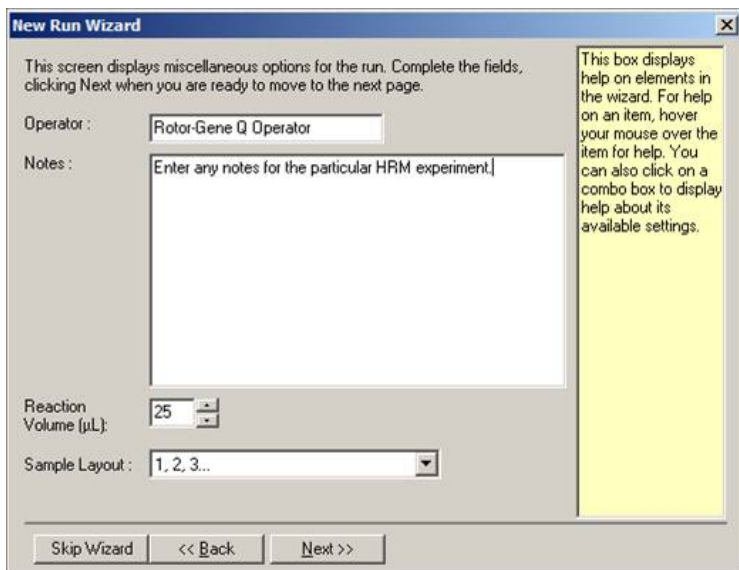
1. Atverkite naujos tyrimo serijos failą, meniu **File** (failas) pasirinkdami parinktį **New...** (naujas). „Advanced“ (išplėstiniam) vedlyje pasirinkite **HRM**.



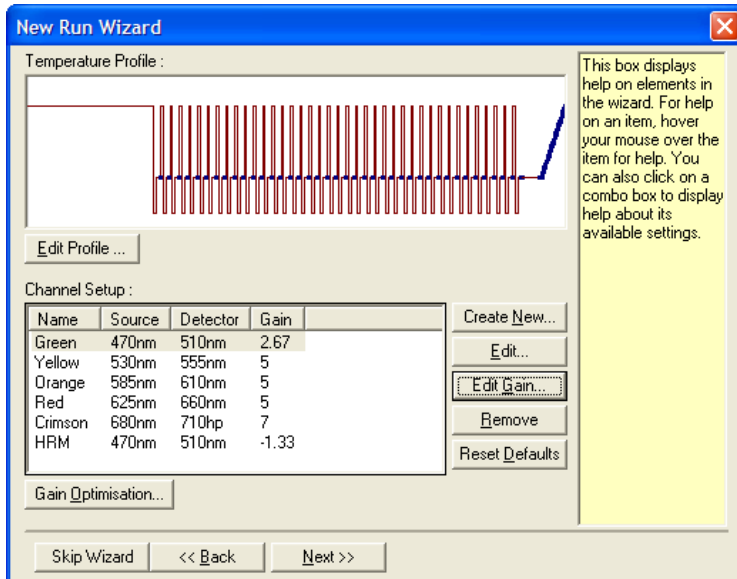
- Nustatykite rotoriaus tipą (šiam pavyzdyje naudojamas „72-Well Rotor“). Prieš pereidami prie kito žingsnio įsitikinkite, ar uždėtas fiksuojamasis žiedas ir pažymėtas žymimasis langelis **Locking Ring Attached** (fiksuojamasis žiedas uždėtas).



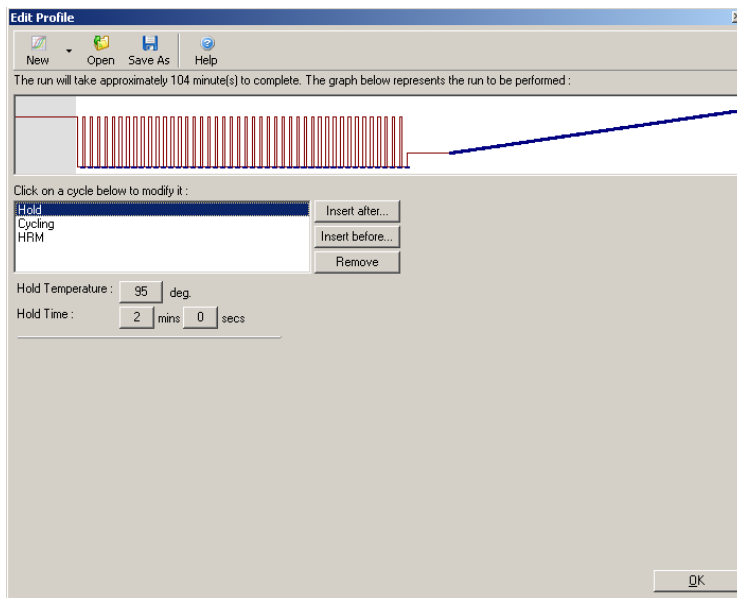
- Nustatykite tyrimo serijos duomenis. Įveskite operatoriaus vardą (pasirinktinai) ir pridėkite kitas tyrimo pastabas (pasirinktinai). Pasirinkite reakcijos tūrį (būtina) ir norimą mėginių išdėstymą.



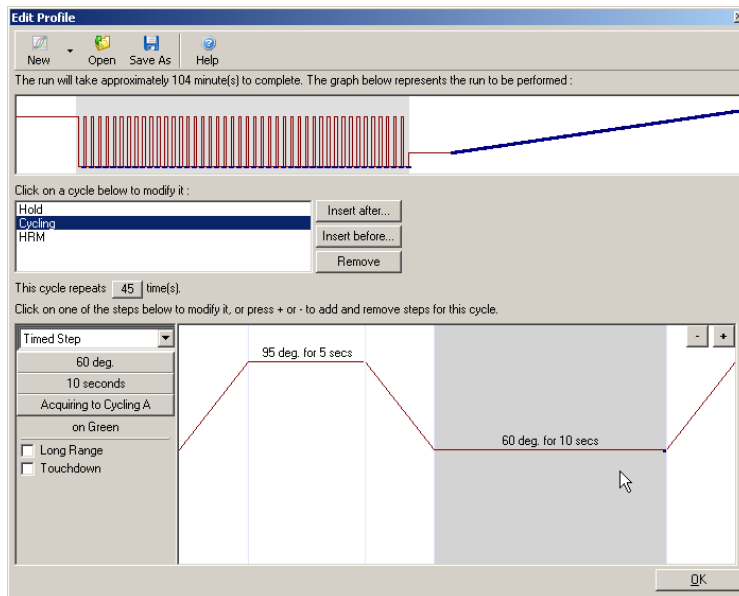
4. Spustelėkite mygtuką **Edit Profile...** (redaguoti profilį), kad pakeistumėte reakcijos trukmę ir temperatūrą.



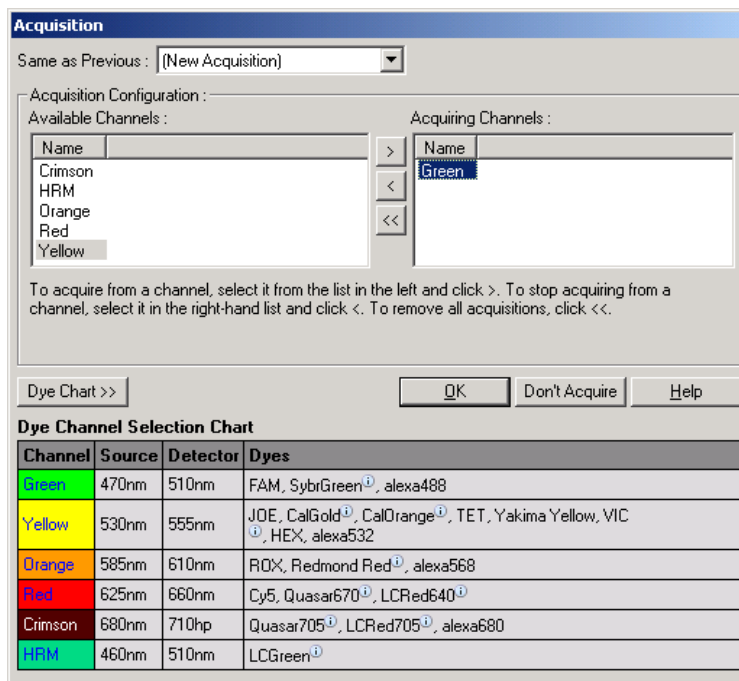
5. Nustatykite tinkamą pradinę sulaukymo trukmę. Šis laikas priklauso nuo naudojamo DNR polimerazės tipo. Jeigu naudojamas „Type-it HRM PCR Kit“ ir „EpiTect HRM PCR Kit“, būtinas 5 min. trukmės aktyvinimas. Numatytoji aktyvinimo trukmė yra 10 min.



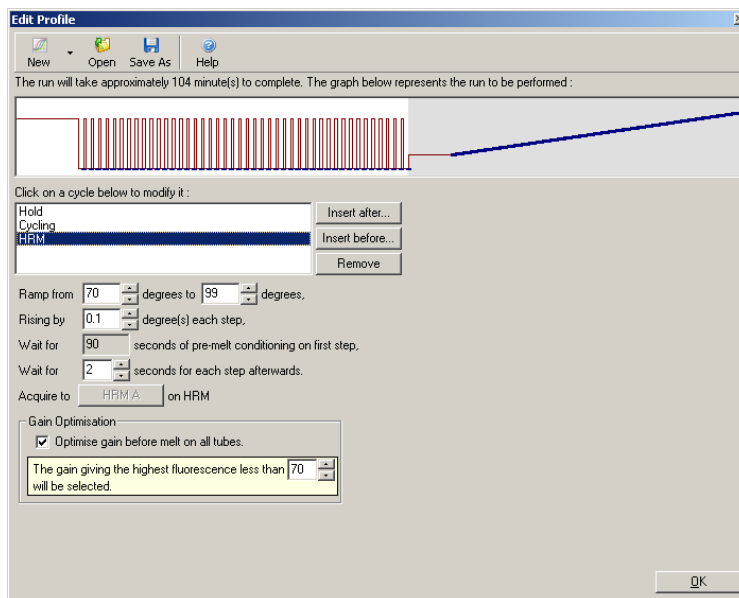
6. Pakeiskite ciklus, kad atitiktų amplitkoną.



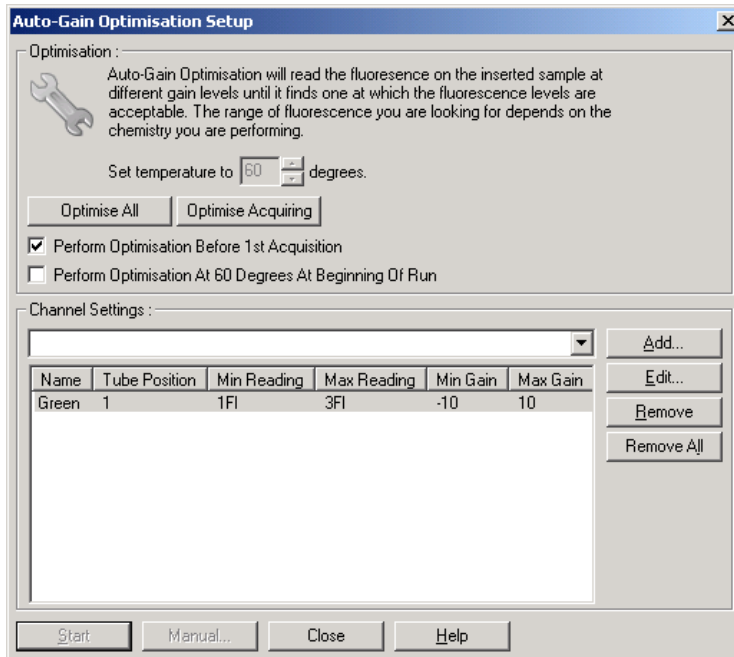
7. Įsitinkinkite, kad bus renkami fluorescencijos duomenys. Duomenis rinkite žaliame kanale prisijungimo etapo pabaigoje.



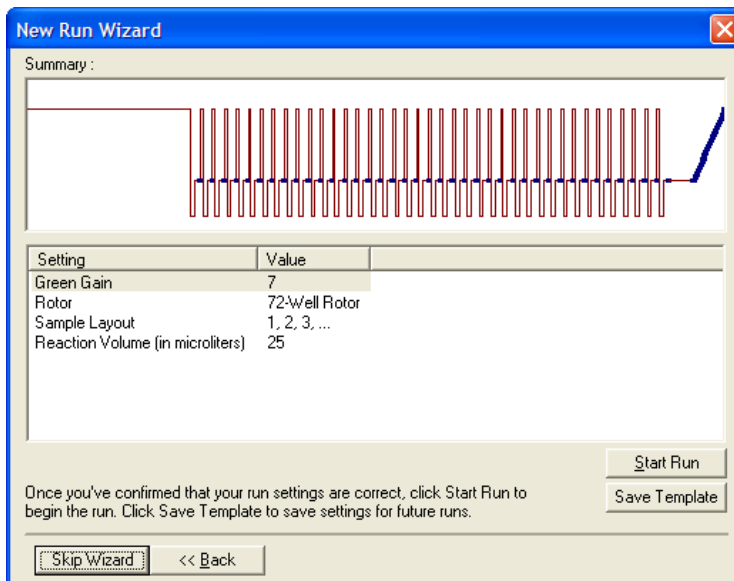
8. Nustatykite HRM tyrimo sąlygas. Pakeiskite sąlygas, kad atitiktų amplikoną. Per pirmuosius tyrimus nustatykite platų lydymosi intervalą. Tinkamą intervalą nustatykite atsižvelgdami į teorinę T_m . Nustatę produkto lydymosi tašką, sumažinkite lydymosi intervalą iki ne didesnio nei 10 °C. Užtikrinkite, kad lydymasis prasideda 5 °C anksčiau nei pirmasis lydymosi perėjimas. Nustatyta numatytoji didėjimo reikšmė yra 0,1 °C, kiekvieno žingsnio sulaikymo trukmė yra 2 s. Mažiausia galima didėjimo reikšmė yra 0,05 °C, kiekvieno žingsnio sulaikymo trukmė yra 1 s. Duomenys automatiškai renkami HRM kanale. Pagal numatytuosius nustatymus atliekamas automatinis gavimo optimizavimas. Programinė įranga ieško optimalaus gavimo nustatymo, kad didžiausia fluorescencijos reikšmė būtų ne didesnė nei 70 vienetų 100 vienetų skalėje. Atminkite, kad šią reikšmę galima padidinti daugiausia iki 100.



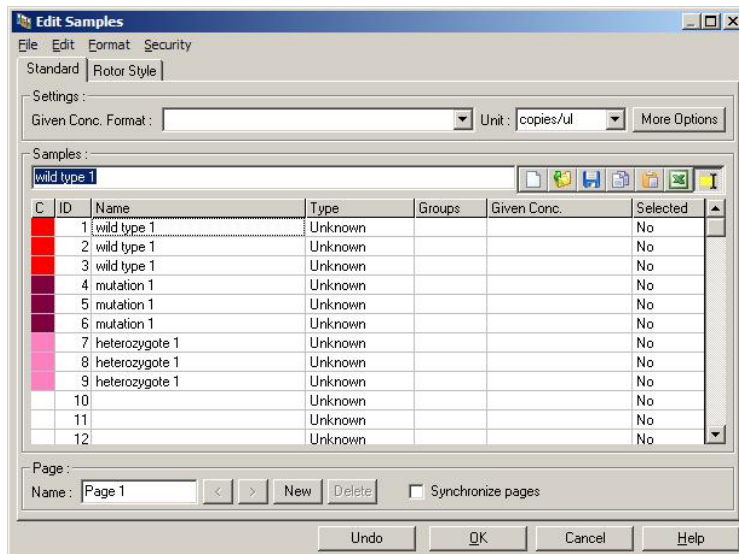
9. Pasirinktina: Nustatykite automatinį gavimo optimizavimą. Ši funkcija taikoma tik tikralaikės amplifikacijos etapui ir nustatoma žaliame kanale. Spustelėkite mygtuką **Optimize Acquiring** (optimizuoti duomenų rinkimą) (kad optimizuotumėte tik per tyrimo seriją naudojamus kanalus). Optimizavimas geriausias atliekamas prieš pat pirmąjį duomenų rinkimo etapą, todėl pažymėkite žymimąjį langelį **Perform Optimization Before First Acquisition** (atlikti optimizavimą prieš pirmąjį duomenų rinkimą). Rekomenduojamas įsiterpiančių dažų foninės fluorescencijos intervalas yra nuo 1 iki 3 fluorescencijos vienetų. Norėdami pakeisti šį nustatymą, spragtelėkite ant kanalo pavadinimo, kad pasirinktumėte jį iš sąrašo, tada spustelėkite mygtuką **Edit** (redaguoti).



10. Tyrimo seriją paleiskite spustelėdami mygtuką **Start Run** (paleisti tyrimo seriją) ir įrašykite tyrimo serijos failą į savo kompiuterį.



11. Redaguokite mėginių pavadinimus (pasirinktinai). Mėginių pavadinimus galima redaguoti vykstant tyrimo serijai arba jai pasibaigus.

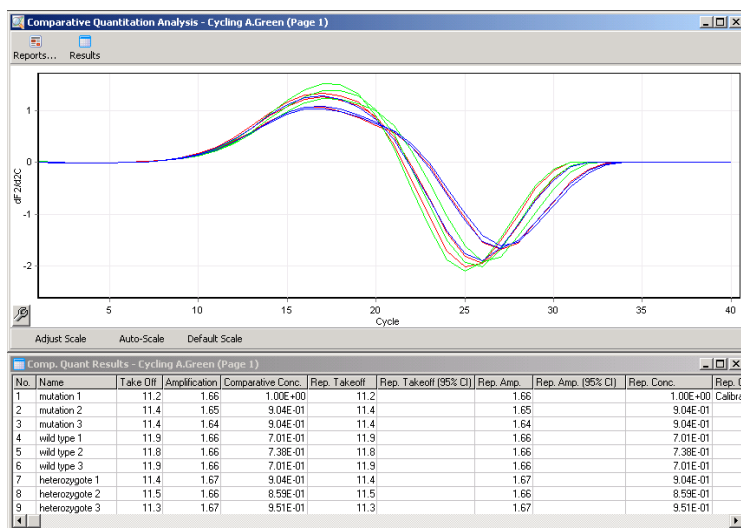


10.8 „Real-time PCR“ duomenų analizė

„Real-time PCR“ duomenų analizę rekomenduojama atlikti prieš HRM duomenų analizę. „Real-time PCR“ duomenys gali parodyti, jeigu tyrimas vyko blogai. Šių išsiskiriančiųjų duomenų nustatymas ir pašalinimas iš tolesnių HRM analizių smarkiai pagerina bendrąjį HRM analizės efektyvumą, nes tiriant prastos kokybės PGR produktą, gaunami blogos kokybės HRM rezultatai. Kiekybinius „real-time PCR“ duomenis rekomenduojame analizuoti toliau aprašomu būdu.

1. Tikrą laikius duomenis analizuokite lange **Analysis** (analizė) pasirinkę parinktį **Quantitation** (kiekybinė analizė). Jeigu kuri nors C_T reikšmė yra lygi 30 arba didesnė, tai reiškia, kad atitinkamose reakcijose amplifikacija įvyko per vėlai. Tokius mėginius reikia analizuoti atsargiai arba pašalinti iš analizės kaip išsiskiriančiuosius. Amplifikacija įvyksta vėlai dažniausiai dėl per mažo pradinio matricos kiekio ir (arba) aukšto mėginio degradavimo laipsnio.
2. Įvertinkite vertinamosios baigties fluorescencijos lygį. Jeigu bet kurios amplifikacijos diagramos vertinamosios baigties fluorescencija yra maža, palyginus su daugeliu duomenų rinkinio diagramų, pašalinkite šiuos mėginius iš analizės, net jeigu jų C_T reikšmės mažesnės nei 30. Maža vertinamosios baigties fluorescencija gali reikšti netinkamą dažų kiekį, netinkamą reakcijos komponentų (pavyzdžiui, pradmenų) kiekį arba inhibitorių veikimą.

3. Norėdami sužinoti kiekvieno mėginio reakcijos efektyvumą, lange **Analysis** (analizė) pasirinkite parinktį **Comparative Quantitation** (palyginamoji kiekybinė analizė). Jeigu efektyvumas nepanašus į kitų tyrimo reakcijų efektyvumą arba mažesnis nei apytiksliai 1,4, tokios reakcijos neįtraukite kaip išsiskiriančiosios.



Palyginamosios kiekybinės analizės rezultatai. Reakcijos efektyvumas rodomas stulpelyje „Amplification“ (amplifikacija), kaip balas iš 2 galimų balų (2 balai reiškia 100 % efektyvumą).

Pastaba. Jeigu manote, kad yra pradmenų dimerų arba nespecifinių produktų, įvertinkite reakcijas nubrėždami išvestinę diagramą, lange **Analysis** (analizė) pasirinkę parinktį **Melt** (lydymas). Įsitinkinkite, kad yra tik vienas pikas, reiškiantis, kad yra tik vienas produktas. Jeigu įmanoma, atlikite tyrimą gelyje, kad įsitikintumėte, jog yra tik vienas amplifikacijos produktas. Jeigu yra daugiau nei vienas produktas, reakciją reikia pakartoti arba iš naujo optimizuoti.

10.9 HRM duomenų analizė

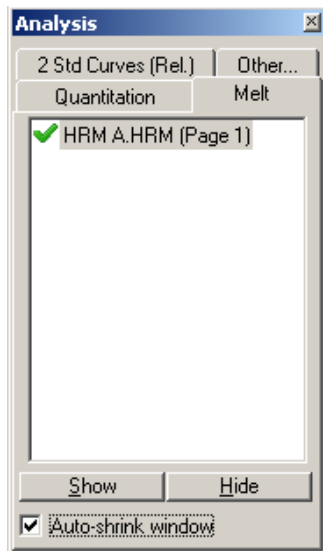
Atliekant HRM analizę, galima vizualiai ir automatiškai nustatyti genotipus. Rezultatus galima peržiūrėti kaip normalizuotą lydymosi diagramą arba diferencinę diagramą. Normalizuotos kreivės suteikia bazinį skirtingų genotipų vaizdą, paremtą kreivės poslinkiu (homozigotai) arba kreivės formos pokyčiu (heterozigotai).

Diferencinės diagramos padeda atlikti vizualinį vertinimą. Jos parodo mėginio fluorescencijos skirtumus, lyginant su pasirinkta kontroline medžiaga, per kiekvieną temperatūros perėjimą. Diferencinės diagramos pateikia alternatyvų lydymosi kreivės perėjimų skirtumų vaizdą.

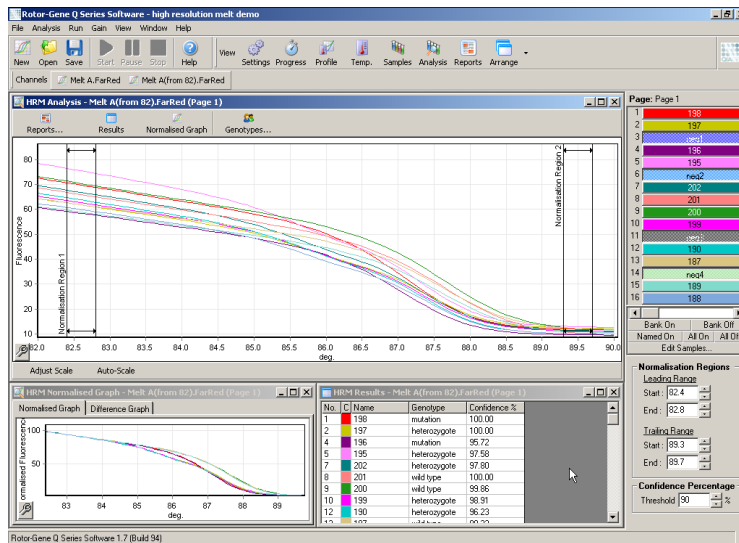
Pastaba. Pirmoji išvestinė lydymosi kreivės analizė (naudojama pasirinkus standartinę **Melt** (lydymosi) parinktį lange **Analysis** (analizė) laikoma netinkama HRM analizei, nes bet kokie išvestiniai duomenys prideda dirbtinio triukšmo, todėl duomenis vertinti tampa sunkiau.

Toliau aprašoma HRM rezultatų analizė, naudojant „Rotor-Gene Q“ programinę įrangą.

1. Lange **Analysis** (analizė) pasirinkite parinktį **HRM**.

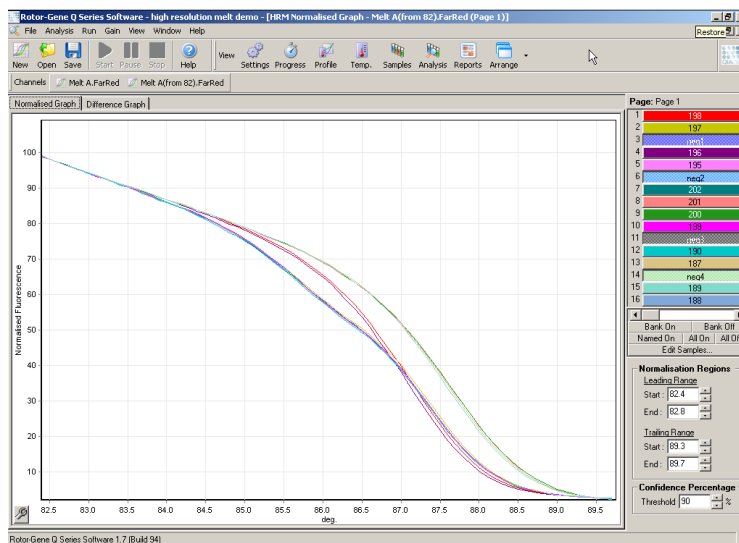


2. Atveriami langai, kuriuose pateikiami neapdoroti duomenys, normalizuotas grafikas ir rezultatai. Neapdorotų duomenų lange galima reguliuoti normalizavimo sritis. Atliekant normalizavimą, visas kreives galima palyginti su tuo pačiu pradiniu ir galutiniu fluorescencijos signalo lygiu, kad būtų lengviau vertinti ir analizuoti. Vienoje srityje yra du žymekliai, pagal numatytuosius nustatymus nustatyti kreivės galuose. Srityse esantys duomenų taškai naudojami lydymosi diagramos fluorescencijai normalizuoti (tik y ašis) pradžioje (1 sritis) ir pabaigoje (2 sritis). Į nustatytas sritis nepatenkantys duomenys nevertinami. Sureguliuokite sritis, kad apimtų reprezentatyvius pradinius pradinės lydymosi fazės ir galutinės lydymosi fazės duomenis. Didinant sritis (spustelėjus ir tempiant), programinė įranga gali reguliuoti bazinės tiesės nuolydį. Siekiant užtikrinti efektyvų kreivių normalizavimą, neišplėskite normalizavimo sričių į lydymosi fazę.

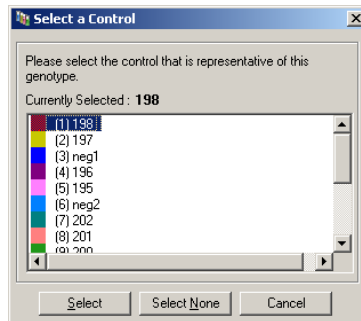
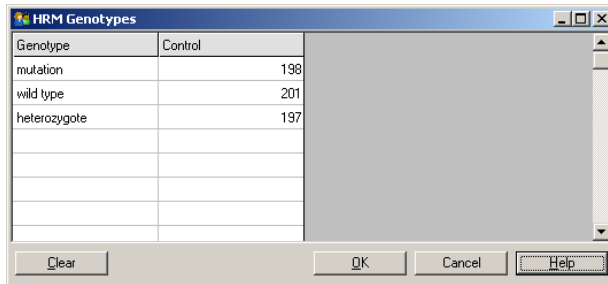


Pastaba. Rekomenduojame judinti žymeklius tik tuo atveju, jeigu norite išvengti lydymosi kreivės sričių. Žymeklio perkėlimas lydymosi fazės perėjimų link gali pakenkti atimties diagramoms ir pasikliautinumo intervalui.

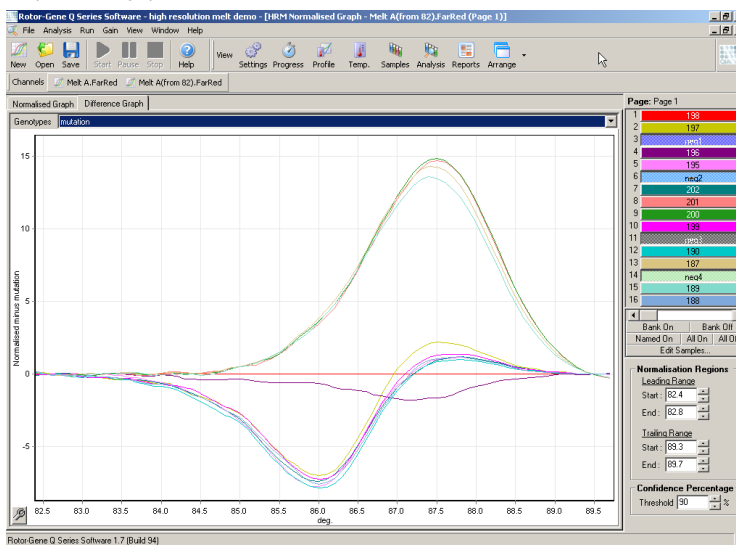
3. Lange **Normalised Graph** (normalizuotas grafikas) rodomos normalizuotos lydymosi kreivės. Mėginius taip pat galima peržiūrėti kaip diferencinę diagramą, lyginant su viena iš kontrolinių medžiagų.



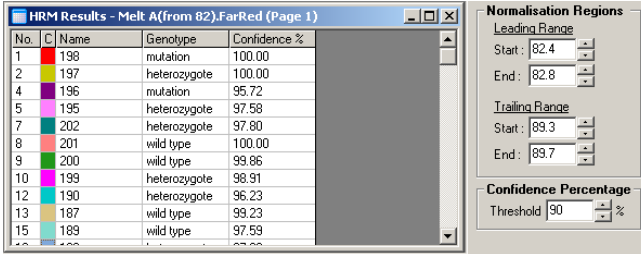
4. Norėdami nustatyti genotipus, spustelėkite mygtuką **Genotypes...** (genotipai). Įveskite kiekvienos genotipo kategorijos pavadinimą ir iš mėginių sąrašo pasirinkite kiekvieną iš jų atitinkantį mėginį.



5. Norėdami peržiūrėti diferencinę diagramą, spustelėkite skirtuką **Difference Graph** (diferencinis grafikas). Tuomet lango viršuje esančiame išskleidžiamajame meniu pasirinkite genotipą, kurį norite palyginti su visais kitais mėginiais. Pateiktame pavyzdyje visi mėginiai pateikiami diagramoje, ją atėmus iš vidutinės visų mėginių diagramos, pažymėtos žyma **Mutation 1** (1 mutacija).



6. Programinė įranga genotipus automatiškai rodo lange **Results** (rezultatai). Rodoma pasikliautinumo reikšmė, nurodanti automatiškai rodomų rezultatų vientisumą. Slenkstinę reikšmę, kurią viršijantys rezultatai rodomi automatiškai, galima redaguoti. Mėginiai, kurių reikšmės yra mažesnės nei nustatytoji slenkstinė reikšmė, pažymimi kaip variacijos ir juos galima ištirti atidžiau arba pakartotinai.



The screenshot shows the 'HRM Results - Melt A (from 82).FarRed (Page 1)' window. It contains a table with columns: No., C, Name, Genotype, and Confidence %. To the right of the table is a 'Normalisation Regions' panel with 'Leading Range' (Start: 82.4, End: 82.8), 'Trailing Range' (Start: 83.3, End: 83.7), and 'Confidence Percentage' (Threshold: 90 %).

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	93.23
15		189	wild type	97.59

11 Trikčių šalinimas

Šiame skyriuje pateikiama informacija apie tai, ką daryti, jei naudojant „Rotor-Gene Q MDx“ sistemą įvyksta klaida.

Jei reikia daugiau pagalbos, kreipkitės į QIAGEN techninės pagalbos tarnybą, pasinaudoję toliau pateikta informacija.

Svetainė: **support.qiagen.com**

Prieš kreipdamiesi į QIAGEN techninės pagalbos tarnybą dėl „Rotor-Gene Q MDx“ klaidos, pasižymėkite veiksmus, kurie sukelia klaidą, ir visą informaciją, rodomą dialogų languose. Ši informacija padės QIAGEN techninės pagalbos tarnybai išspręsti problemą.

Susisiekdami su QIAGEN techninės pagalbos tarnyba dėl klaidų, turėkite šią informaciją:

- „Rotor-Gene Q MDx“ serijos numerį, tipą ir versiją;
- programinės įrangos versija (jei taikoma);
- laiką, kada klaida įvyko pirmą kartą;
- klaidos dažnumą (t. y., protarpiais įvykstanti ar nuolatinė klaida);
- išsamų klaidos situacijos aprašymą;
- jei įmanoma, klaidos nuotrauką;
- žurnalo failų kopiją.

Ši informacija padės jums ir jūsų QIAGEN techninės priežiūros specialistui kuo efektyviau išspręsti problemą.

Pastaba. Informacijos apie naujausias programinės įrangos ir protokolo versijas galite rasti svetainėje **www.qiagen.com**. Kai kuriais atvejais gali būti pateikti atnaujinimai, skirti konkrečioms problemoms spręsti.

11.1 Žurnalų archyvai

Programinės įrangos žurnalų archyvų saugykloje saugomi nepakeisti kiekvienos tyrimo serijos įrašai bei diagnostinė informacija. Pasirinkę parinktis **Help** (žinynas) ir **Send Support Email** (siųsti el. laišką techninės pagalbos tarnybai), galite nusiųsti el. laišką kartu su visa reikiama diagnostine informacija QIAGEN techninės pagalbos tarnybai (žr. 6.12.1 skyrių).

Siekiant taupyti vietą diske, saugomi tik 60 paskutiniųjų tyrimo serijų žurnalų archyvai. Senesnių tyrimo serijų žurnalų archyvai perrašomi, kai sukuriama nauji tyrimo serijų žurnalų archyvai.

11.2 Aparatinės ir programinės įrangos klaidos

11.2.1 HRM trikčių šalinimas

Pastabos ir pasiūlymai

Negalima paleisti HRM

„Rotor-Gene Q MDx“ modelyje nėra HRM Kreipkitės į savo vietos QIAGEN atstovą.

Negauta jokių HRM duomenų

Netinkama konfigūracija

Patikrinkite filtro nustatymus.
Patikrinkite, ar rotoriaus tipas yra tinkamas.
Patikrinkite, ar naudoti tinkami reagentai.
Patikrinkite, ar reakcija nustatyta teisingai.
Atlikite tyrimą su teigiama kontroline medžiaga (t. y. tyrimą, kuris tikrai bus rezultatyvus).

Diagramos atrodo dantytos

Silpna amplifikacija arba ji nevyksta

Patikrinkite, ar naudoti tinkami protokolai ir reagentai. HRM analizei atlikti rekomenduojame naudoti QIAGEN rinkinius.
Patikrinkite, ar reakcija nustatyta teisingai.
Patikrinkite ciklų sąlygas.
Patikrinkite pradinę matricos kokybę ir kiekį. Mėginių paruošimui rekomenduojame naudoti QIAGEN rinkinius.

Prisotintos amplifikacijos arba lydymosi diagramos

Nustatyta per didelė gavimo reikšmė

Naudokite funkciją **Auto-Gain Optimisation** (automatinis gavimo optimizavimas) (žr. 61 psl.).

Pasikeitė pasikliautinumo intervalo procentinis dydis

Normalizavimo sritis perkelta spragtelėjus ir tempiant.

Normalizavimo sritį perkeltite tik jeigu būtina, norint išvengti lydymosi kreivės dalių.

Duomenyse pateikiami išsiskiriantieji

Netolygiai paruoštos reakcijos

Patikrinkite, ar naudoti tinkami reagentai.
Patikrinkite, ar naudojami vienodi mėgintuvėliai.

Mėginyje yra inhibitorių

Patikrinkite, ar visuose mėginiuose naudojamas tas pats pagrindinis mišinys.

Per mažai matricos arba ji suirusi

Patikrinkite pradinę matricos kokybę ir kiekį.

11.3 Klaidos ir įspėjamieji pranešimai

11.3.1 Bendrosios prietaiso klaidos

Klaidos pranešimas	Pastabos ir pasiūlymai
Can't open the serial port <COMPORT> (Nepavyksta atverti nuoseklojo prievado <PRIEVADAS>)	<p>Ši klaida įvyksta paleidus programinę įrangą, jeigu programinei įrangai nepavyksta sukurti ryšio su prietaisu, naudojant sukonfigūruotą COM prievadą. Tai dažnai sukelia netinkami kabeliai, atsilaisvinę kabeliai, netinkami nuosekleji prievadai, netinkami USB prievadai, USB disko problema arba keitiklio iš USB į nuoseklųjį prievadą tvarkyklės problema.</p> <p>Iš naujo prijunkite arba pakeiskite kabelį. Iš naujo įdėkite tinkamas tvarkykles. Paleiskite programinę įrangą veikti Virtual Mode (virtualiuoju režimu) ir meniu File (failas) spustelėkite mygtuką Setup/Auto-Detect (konfigūravimas / automatinis aptikimas), kad iš naujo nustatytumėte sukonfigūruotą COM prievadą.</p>
Chamber lid open (atidarytas kameros dangtis) Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software. (Negalima tęsti tyrimo serijos. Kameros dangtis atidarytas vykstant tyrimo serijai. Iš naujo nustatykite prietaisą ir iš naujo paleiskite programinę įrangą).	<p>Ši klaida įvyksta, kai programinė įranga aptinka, kad dangtis atidaromas vykstant tyrimo serijai.</p> <p>Iš naujo nustatykite prietaisą ir iš naujo paleiskite programinę įrangą.</p>
Chamber lid open (atidarytas kameros dangtis) The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue. (Prietaiso kameros dangtis atidarytas. Uždarykite dangtį ir paspauskite „Continue“ (tęsti).	<p>Ši klaida įvyksta, kai naudotojas nori paleisti tyrimo seriją, kai prietaiso dangtis atidarytas.</p> <p>Uždarykite prietaiso kameros dangtį ir spustelėkite Continue (tęsti).</p>
Communication corrupted (pažeistas ryšys)	<p>Ši klaida atsiranda, kai iš prietaiso gauti duomenys neatitinka numatyto modelio.</p> <p>QIAGEN techninės priežiūros tarnybos specialistas turi atlikti tolesnes patikras, kad nustatytų prietaiso problemą.</p> <p>Susisiekite su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.</p>
Communication out of sequence (ryšys neatitinka sekos) Prietaisas gauna duomenis iš prietaiso, kuris neatitinka nustatytos sekos.	<p>Ši klaida atsiranda, kai iš prietaiso gauti duomenys neatitinka numatytos sekos.</p> <p>QIAGEN techninės priežiūros tarnybos specialistas turi atlikti tolesnes patikras, kad nustatytų prietaiso problemą.</p> <p>Susisiekite su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.</p>
Communication protocol error (ryšio protokolo klaida) A communication protocol error occurred with this run. (Šioje tyrimo serijoje įvyko ryšio protokolo klaida).	<p>Ši klaida įvyksta, kai programinėje aparatinėje įrangoje sukonfigūruotas ryšio protokolas skiriasi nuo laukiamo protokolo.</p> <p>QIAGEN techninės priežiūros tarnybos specialistas turi atlikti tolesnes patikras, kad nustatytų ryšio protokolo arba prietaiso problemą.</p>
Detector motor jam, stopped machine (detektoriaus variklio strigtis, sustojęs prietaisas)	<p>Ši klaida gali įvykti, kai „Rotor-Gene Q MDx“ paleidžiamas iš karto po gabenimo esant žemai aplinkos temperatūrai.</p> <p>Tokiu atveju prieš įjungdami prietaisą palaukite bent 1 val., kol prietaisas pasieks kambario temperatūrą.</p> <p>Jei klaida išlieka, susisiekite su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.</p>

Klaidos pranešimas

Pastabos ir pasiūlymai

Fatal hardware malfunction (lemtingas aparatinės įrangos gedimas)

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. (Prietaisas aptiko, kad įvyko lemtingas aparatinės įrangos gedimas. Nenaudokite prietaiso, kol platintojas neatliktų prietaiso techninės priežiūros).

Machine error (prietaiso klaida)

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. (Ši tyrimo serija sustabdyta, nes įvyko prietaiso klaidų, kurių nepavyko pašalinti. Jeigu problema kartojasi, susisieki su savo platintoju ir pridėkite techninės pagalbos archyvo failą).

Machine unplugged (prietaisas išjungtas iš tinklo)

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. (Prietaisas neatsako ir neveikia, rodomas pranešimas <KLAIDOS PRANEŠIMAS>. Šio gedimo pašalinti neįmanoma, iš naujo paleiskite prietaisą ir programinę įrangą).

Machine unplugged (prietaisas išjungtas iš tinklo)

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. (Prietaisas neprijungtas prie jūsų kompiuterio prievado <PRIEVADO PAVADINIMAS>. Iš naujo prijunkite nuoseklųjį kabelį prie kompiuterio gale esančios jungties ir spustelėkite „Continue“ (tęsti).

Object variable or with block variable not set (objekto kintamasis arba su bloko kintamuoju nenustatytas)

Rotor speed failure (rotoriaus greičio klaida)

Time out while setting the rotor speed. (Nustatant rotoriaus greitį, baigėsi numatytasis laikas).

Ši klaida įvyksta, kai programinė įranga aptinka lemtingą aparatinės įrangos gedimą ir aktyvina saugią prietaiso išjungimo apsaugos procedūrą.

Nedelsdami išjunkite prietaisą ir susisieki su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Ši klaida įvyksta, kai programinė įranga aptinka prietaiso klaidų, kurių neįmanoma pašalinti. Programinė įranga sustabdė tyrimo seriją.

Mėginkite atlikti kitą tyrimo seriją. Jeigu problema išlieka, susisieki su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba ir pridėkite techninės pagalbos archyvo failą.

Ši klaida įvyksta, jeigu tarp prietaiso ir programinės įrangos nesukuriamas ryšys per nustatytą laikotarpį. Tai dažnai įvyksta dėl prietaiso klaidos arba dėl per didelio kompiuterio aktyvumo, dėl kurio prarandamas paketas.

Dažnos su programine įranga susijusios priežastys yra intensyvio procesoriaus užduotys, pavyzdžiui, antivirusinė rezidentinė apsauga, suplanuota antivirusinė patikra, belaidės plokštės arba infraraudonųjų spindulių plokštės.

Išjunkite arba išdiekite susijusią intensyvią procesoriaus programinę įrangą arba užduotį.

Iš naujo paleiskite prietaisą ir programinę įrangą.

Jeigu problema išlieka, susisieki su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Ši klaida įvyksta, kai nutrūksta nuoseklusis arba USB ryšys su prietaisu.

Iš naujo prijunkite nuoseklųjį arba USB kabelį prie kompiuterio gale esančios jungties ir spustelėkite mygtuką **Continue** (tęsti).

Ši klaida įvyksta paleidus programinę įrangą, jeigu sugadinamas numatytasis tyrimo šablono failas. Tai gali įvykti, jeigu programinė įranga ir (arba) kompiuteris netinkamai išjungiami, pavyzdžiui, nutrūkus elektros energijos tiekimui.

Pašalinkite failą **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret** ir iš naujo paleiskite programinę įrangą.

Ši klaida įvyksta, kai programinė įranga mėgino nustatyti rotoriaus greitį, tačiau nepavyko nustatyti tikslinio greičio per numatytą laiką.

QIAGEN techninės priežiūros tarnybos specialistas turi atlikti tolesnes patikras, kad nustatytų prietaiso problemą.

Susisieki su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Klaidos pranešimas

Pastabos ir pasiūlymai

Serial port in use (nuoseklusis prievadas naudojamas)

The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry. (Nuoseklųjį prievadą šiuo metu naudoja kita programa. Užverkite visas programas, pavyzdžiui, ryšių arba sinchronizavimo programinę įrangą, ir mėginkite dar kartą).

Ši klaida įvyksta, kai programinė įranga mėgina sukurti ryšį su prietaisu, naudodama sukonfigūruotą COM prievadą, kai jį naudoja kita programinė įranga.

Užverkite visas programas, pavyzdžiui, ryšių arba sinchronizavimo programinę įrangą, ir mėginkite dar kartą.

Shutdown timeout (baigėsi išjungimui skirtasis laikas)

The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software. (Baigėsi prietaiso išjungimui skirtasis laikas. Iš naujo paleiskite prietaisą ir programinę įrangą).

Ši klaida įvyksta, kai programinė įranga pateikia komandą išjungti prietaisą, o prietaisas siuncia duomenis atgal pasibaigus numatytam laikotarpiui.

Iš naujo nustatykite prietaisą ir iš naujo paleiskite programinę įrangą.

Temperature protection activated (aktyvinta temperatūros apsauga)

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. (Prietaisas aptiko, kad kameros temperatūra viršija saugų lygį, todėl įsijungė prietaiso savaiminės apsaugos režimas. Jeigu problema kartojasi, išjunkite prietaisą ir kreipkitės į savo platintoją).

Ši klaida įvyksta, kai programinė įranga aptinka, kad temperatūra viršija saugų lygį, todėl įsijungė prietaiso savaiminės apsaugos režimas.

Nedelsdami išjunkite prietaisą ir susisiekite su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Thermistor is open (termistorius atidarytas)

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. (Prietaisas aptiko, kad termistorius atidarytas, todėl jį išjungė, kad apsaugotų prietaisą nuo pažeidimo. Jeigu problema kartojasi, kreipkitės į savo platintoją).

Ši klaida įvyksta, kai programinė įranga aptinka, kad termistorius atidarytas, todėl negali nuskaityti temperatūros. Programinė įranga aktyvino savaiminės apsaugos procedūrą ir išjungė prietaisą.

Nedelsdami išjunkite prietaisą ir susisiekite su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

Unrecoverable errors occurred (įvyko nepataisomų klaidų)

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. (Ši tyrimo serija sustabdyta, nes įvyko prietaiso klaidų, kurių nepavyko pašalinti. Jeigu problema kartojasi, susisiekite su savo platintoju ir pridėkite techninės pagalbos archyvo failą).

Ši klaida įvyksta tyrimo serijos viduryje, kai programinė įranga atliko visus įmanomus bandymus pašalinti problemą, tačiau nepavyko.

QIAGEN techninės priežiūros tarnybos specialistas turi atlikti tolesnes patikras, kad nustatytų prietaiso problemą.

Susisiekite su platintoju arba QIAGEN techninės pagalbos tarnyba.

11.3.2 „Rotor-Gene Q“ programinės įrangos pranešimai

Toliau pateikiamas naudojimo, įspėjimų ir kitų pranešimų, kurie gali būti rodomi „Rotor-Gene“ programinėje įrangoje aparatinės ir programinės įrangos veikimo metu, sąrašas. Bet kuri kintamoji pranešimo dalis, pavyzdžiui, būdingų klaidų aprašymai, pateikiama skliausteliuose (pvz., < ERROR DESCRIPTION > (< EKLAIDOS APRAŠAS >)).

Pranešimo tekstas

Bendrieji pranešimai

- 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. (Šiam puslapiui jau sukurtas neapdorotas kanalas. Jei norite iš naujo sukurti šį puslapį, pirmiausia pašalinkite neapdorotą kanalą, naudodami mygtuką „Options“ (parinkty), ir bandykite dar kartą).
- 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. (Kilo rimta problema, dėl kurios reikia išjungti programinę įrangą. Spustelėjus „OK“ (gerai), dabartinis darbas bus įrašomas ir, jei įmanoma, prietaisas bus išjungiamas. Jei ši problema išlieka, susisiekite su savo platintoju).
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. (Negalima pašalinti šio puslapio. Visada turi būti bent vienas mėginio puslapis).
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry (Nepavyksta prisijungti prie prietaiso nuosekliojo prievado <PRIEVADAS>). Patikrinkite, ar prietaisas tinkamai prijungtas prie kompiuterio gale esančios jungties, ir mėginkite dar kartą).
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. (Nepavyksta atverti nuosekliojo prievado <PRIEVADAS>, kad būtų galima prisijungti prie prietaiso. Patikrinkite, ar neatverta jokia ryšių programinė įranga, ir mėginkite dar kartą).
- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. (Nepavyko įrašyti į tyrimo seriją, nes kai kurie formos duomenys negaliojantys. Patikrinkite įvestus duomenis ir mėginkite dar kartą).
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. (Nepavyko įrašyti failo. Patikrinkite, ar diske yra pakankamai laisvos vietos ir ar jame nėra klaidų).
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. (Nepavyko paleisti el. pašto programos. Patikrinkite, ar ji tinkamai įdiegta jūsų kompiuteryje).
- 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. (Vykstant tyrimo serijai įvyko klaida : <EKLAIDOS APRAŠAS>. Tyrimo serija bus tęsiama, o pranešimas bus užregistruojamas tyrimo serijos informacijos pranešimų skirtuke).
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. (Prietaisas neaptiktas. Patikrinkite, ar tinkamai prijungėte prietaisą ir ar jis įjungtas).
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. (Prisijungti šiuo metu negalima dėl anksčiau įvykusios klaidos. Suarchyvuotų žurnalų negalima peržiūrėti, kol programinė įranga nepaleista iš naujo).
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. (Nepavyko normalizuoti visų mėginių, nes fluorescencijos lygis buvo per mažas).
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. (Galima importuoti tik tyrimo serijas, atliktas naudojant tą patį rotorių, kaip atliekant dabartinę tyrimo seriją).
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. (Atminkite, kad šios tyrimo serijos žurnalo failai nebus prieinami, kol tyrimo serija nepasibaigs).
- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. (Įveskite tinkamą kartojimų skaičių. Jis turi būti didesnis nei 0).
- 16 Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. (Naujinant prisijungimo duomenis įvyko klaida. Prisijungimas nutrauktas, tačiau bus vėl galimas atliekant kitą tyrimo seriją).
- 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. (Tyrimo serijos failo pasirašymas užtikrina jūsų tyrimo serijos rezultatų vientisumą. Informacija apie tyrimo serijos parašą pateikiama tyrimo serijos informacijos lange).

Pranešimo tekstas

- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. (Mėginio ID užblokuotas. Negalima įdėti vietoje užblokuotų mėginių).
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. („TeeChart Office“ šiame kompiuteryje neįdiegta. Iš naujo įdiekite „Rotor-Gene“ programinę įrangą).
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. (Nepasirinktas sukonfigūruotas prietaiso COM prievadas. Pasirinkite COM prievadą).
- 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. (Įkeltame tyrimo serijos faile yra failo turinio neatitinkantis parašas. Tai reiškia, kad failas sugadintas arba suklastotas po to, kai jis buvo sukurtas „Rotor-Gene“ programinėje įrangoje).
- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. (Įkeltame tyrimo serijos faile nėra parašo. Negalima užtikrinti šio failo turinio).
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. (Prietaiso serijos numeris negaliojantis. Serijos numeris turi būti ne trumpesnis nei 6 skaitmenys).
- 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. (Dabar prietaisas bus atvėšinamas iki <TEMPERATŪRA> laipsnių. Atidarius prietaisą, kamera ir paviršiai vis tiek bus labai karšti. Būkite atsargūs ir mūvėkite apsaugines pirštines, jei liečiate bet kurį paviršių ar mėgintuvėlius).
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. (Jūsų kompiuterio regioniniai nustatymai nederą. Įsitinkinkite, ar sutampa jūsų valiuta ir dešimtainių skaičių vietaženkliai).
- 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. (Pasisveikinimo lange įvestas serijos numeris <SERIJOS NUMERIS1> nesutampa su serijos numeriu, įrašytu pridedamame prietaise <SERIJOS NUMERIS2>. Kompiuterio serijos numeris buvo atnaujintas, kad atitiktų prijungtą prietaisą).
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. (Ivyko ryšio su komunikacine plokšte klaida. Iš naujo paleiskite kompiuterį ir mėginkite dar kartą).
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. (Mėginant sukurti ryšį su prietaisu, baigėsi skirtasis laikas. Patikrinkite, ar jis tinkamai įjungtas).
- 29 This feature cannot be used in virtual mode. (Ši funkcija neveikia virtualiuoju režimu).
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Šis profilio failas sukurtas naudojant naujesnę „Rotor-Gene“ programinės įrangos versiją. Kai kurie duomenys gali būti įkelti netinkamai).
- 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. (Šis tyrimo serijos failas sukurtas naudojant naujesnę „Rotor-Gene“ programinės įrangos versiją. Kai kurie tyrimo serijos duomenys gali būti įkelti netinkamai).
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Šis mėginio failas sukurtas naudojant naujesnę „Rotor-Gene“ programinės įrangos versiją. Kai kurie duomenys gali būti įkelti netinkamai).
- 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. (Ši programinė įranga atliks pagrindinį prietaiso modeliavimą mokymo ir demonstravimo tikslais. Šį nustatymą galite išjungti lange „Setup“ (konfigūravimas), kuris pasiekiamas meniu „File“ (failas).
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. (Šis šablonas sukurtas naudojant naujesnę „Rotor-Gene“ programinės įrangos versiją. Kai kurie šablono duomenys gali būti įkelti netinkamai).
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. (Nepavyko įkelti šio mėginio failo, nes nesutampa mėgintuvėlių išdėstymas. Prieš pradėdami tyrimo seriją, įdėkite šiuos mėginius).
- 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. (Nepavyko sukurti ryšio su prietaisu, nes kita programa jau naudoja <PRIEVADAS>. Patikrinkite, ar neveikia jokių kitų programų, naudojančių tą patį nuoseklųjį prievadą, tada bandykite dar kartą).
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. (Mėginant įkelti failą aptikta nepataisomų klaidų. Failas neįkeltas).
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress. (Negalite sustabdyti programos vykstant tyrimo serijai).
- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. (Neturite tinkamų teisių naudoti programinę įrangą. Kreipkitės į domeno administratorių, kad nustatytų grupę).

Pranešimo tekstas

- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples. (Norint eksportuoti mėginius, reikia atlikti kiekybinę analizę).
- 41 You must select a COM port before continuing. (Prieš tęsdami turite pasirinkti COM prievadą).
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. (Tyrimo serijos negalima įrašyti numatytoje vietoje. Kitame lange pasirinkite kitą vietą, kurioje galėtumėte įrašyti tyrimo seriją).
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software. (Nustatymai įrašyti. Spustelėkite „OK“ (gerai), kad užvertumėte programinę įrangą).
- 44 You must select a rotor before continuing. (Prieš tęsdami turite pasirinkti rotorių).
- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached. (Negalite paleisti tyrimo serijos, kol nepažymėjote žymimojo langelio patvirtindami, kad fiksuojamasis žiedas uždėtas).
- Automatinio gavimo reguliavimo pranešimai**
- 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. (Gavimo reguliavimui rankiniu būdu naudojami kanalai, kuriuos nustatėte savo profilyje. Kadangi savo profilyje neapibrėžėte jokių duomenų rinkimo taškų, negalite atlikti gavimo reguliavimo rankiniu būdu).
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. (Įvesta temperatūra neįrašyta, nes ji nepatenka į nustatytą prietaiso temperatūros intervalą. Įveskite galiojančią temperatūros reikšmę).
- Redagavimo pranešimai**
- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. (Įveskite galiojantį grupės kodą. Grupės kodai turi būti ne ilgesni nei 5 ženklai be tarpų ar kablelių).
- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. (Įveskite galiojantį grupės pavadinimą. Grupės pavadinime negali būti kablelių ir jie negali būti tušti).
- Optinės denatūracijos kalibravimo pranešimai**
- 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. (Negalima nustatyti kaip optinės denatūracijos taško dėl nepavykusio kalibravimo. Įveskite galiojančią sulaukymo trukmę sekundėmis).
- 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. (Atliekant optinės denatūracijos kalibravimą nepavyko aptikti lydymosi piko. Tai galėjo įvykti dėl to, kad kalibruoti buvo pasirinktas netinkamas mėgintuvėlis arba šiam mėginiui panaudotos netinkamos cheminės medžiagos. Vietoje to buvo paleistas tam tikros trukmės etapo profilis).
- OTV pranešimai**
- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run. (Norėdami atlikti tyrimo seriją, turite įvesti galiojantį OVT serijos numerį).
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error. (Šis temperatūros patikrinimo failas sugadintas. Išdiekite ir iš naujo įdiekite „Rotor-Gene“ programinę įrangą, kad pašalintumėte šią klaidą).
- 54 This run file is not correctly signed. (Šis tyrimo serijos failas pasirašytas netinkamai). Results cannot be displayed. (Negalima parodyti rezultatų).
- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly. (Negalite paleisti tyrimo serijos, kol nepažymėjote žymimojo langelio patvirtindami, kad fluorescencijos įdėklas tinkamai įdėtas).
- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement. (Baigėsi rotoriaus tinkamumo laikas. Kreipkitės į savo platintoją, kad jį pakeistų nauju).
- Saugos meniu pranešimai**
- 57 Could not open the Windows user/group manager. (Nepavyko atverti „Windows“ naudotojo / grupės tvarkyklės).
- 58 Could not create groups. (Nepavyko sukurti grupių).
- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts. (Negalima keisti prieigos prie integruotų paskyrų).
- Analizės meniu**
- 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. (Pasirinkote analizuoti tik vieną kanalą. Norėdami pasirinkti kelis kanalus, tempkite stačiakampį aplink kanalus, kuriuos norite rodyti analizės pasirinkimo lange).
- 61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. (Pasirinkote analizuoti kelis kanalus. Šiuo analizės metodu galima analizuoti tik vieną kanalą).

Pranešimo tekstas

Koncentracijos matavimo pranešimai

- 62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. (Koncentracijos matavimas atlieka automatinio gavimo optimizavimą pirmoje rotorius vietoje. Įsitikinkite, ar pirmoje rotorius vietoje yra didžiausios koncentracijos standartinis mėginys).

Vertinamosios baigties analizės pranešimai

- 63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. (Norėdami atlikti vertinamosios baigties analizę, kiekviename kanale turite naudoti teigiamą kontrolinę medžiagą ir neigiamą kontrolinę medžiagą. Norėdami nustatyti šias kontrolines medžiagas, spustelėkite OK (gerai).
- 64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. (Nenustatėte jokios teigiamos kontrolinės medžiagos. Turite nustatyti kiekvieno analizuojamo kanalo teigiamas kontrolines medžiagas).
- 65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. (Nenustatėte jokios neigiamos kontrolinės medžiagos. Turite nustatyti kiekvieno analizuojamo kanalo neigiamas kontrolines medžiagas).
- 66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. (Nenustatėte jokios NTC kontrolinės medžiagos. Turite nustatyti kiekvienos grupės NTC kontrolines medžiagas).

HRM analizės pranešimai

- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. (Nenustatyta genotipo <GENOTIPO PAVADINIMO> kontrolinė medžiaga).
- 68 Duplicate genotype combinations are not allowed. (Kartotiniai genotipo deriniai neleidžiami).
- 69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. (Didelės skiriamosios gebos lydimas nepalaikomas šiame prietaise. Dėl papildomos informacijos kreipkitės į savo platintoją).

Lydimosi analizės pranešimai

- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. (Genotipų negalima apibrėžti, kol nenustatyti telkiniai. Nustatykite visus telkinius ir mėginkite dar kartą).
- 71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. (Įveskite genotipo <GENOTIPO PAVADINIMO> santrumpą).

Skaidos diagramos analizės pranešimai

- 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. (Skaidos diagramos analizei reikia pasirinkti tiksliai 2 kanalus. Norėdami pasirinkti kelis kanalus, vilkite stačiakampį aplink kanalus, kuriuos norite rodyti analizės pasirinkimo lange, arba laikykite paspaudę SHIFT klavišą ir spragtelėkite ant kiekvieno kanalo).

Kiekybinės analizės pranešimai

- 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...“ (Jeigu norite naudoti automatinio slenksčio nustatymo funkciją, turite apibrėžti bent 2 pasirinktus standartinius mėginius. Dešiniu juo pelės klavišu spragtelėkite ant mėginių sąrašo ir pasirinkite „Edit Samples...“ (redaguoti mėginius).

12 Žodynėlis

Terminas	Aprašas
Duomenų rinkimas	Duomenų rinkimas yra fluorescencijos duomenų rinkimas. Kiekvienas kanalo duomenų (fluorescencijos duomenų rinkinio) rinkimas rodomas programinėje įrangoje kaip neišanalizuoti duomenys lange „Raw channel“ (neapdorotas kanalas). Šiuos duomenis galima išanalizuoti naudojant meniu „Analysis“ (analizė) parinktį.
Telkiniai	Atliekant lydimosios analizę, telkiniai nustatomi norint nustatyti sritį, kurioje tikimasi, kad įvyks lydimosios pikas. Genotipai gali būti apibrėžiami atsižvelgiant į pikų buvimą tam tikruose telkiniuose arba telkinių grupėse.
CE-IVD	Atitiktis Europos direktyvai 98/79/EB dėl in vitro diagnostikos medicinos prietaisų.
Kanalas	Kanalą sudaro šviesos diodų lemputė (LED) su sužadimo filtru, susietu su spinduliuotės filtru. LED ir sužadimo filtru sužadina mėginius esant tam tikram bangos ilgiui. Mėginių sklaidžiama fluorescencija praeina per spinduliuotės filtrą, o po to ją aptinka fotodaugintuvas.
Gavimas	„Rotor-Gene Q MDx“ naudoja fotodaugintuvą, kad rinkytų fluorescencijos fotonus ir paverstų juos elektroniniais signalais. Gavimas – tai nustatymas, lemiantis fotodaugintuvo jautrumą. Jeigu gavimas per didelis, signalas prisotinamas. Jeigu gavimas per mažas, neįmanoma signalo atskirti nuo foninio triukšmo.
Gavimo optimizavimas	Gavimo optimizavimas – tai procesas, kai dinamiškai reguliuojamas gavimo nustatymas, leidžiantis pasirinkti tinkamą nustatymą, užtikrinantį optimalų signalo aptikimą.
Įkėlimo blokas	Tai skirtingų formatų aliuminio blokai, naudojami mėgintuvėliams arba „Rotor-Disc“ laikyti ruošiant reakcijas. „Rotor-Disc Loading Blocks“ taip pat naudojami su „Rotor-Disc Heat Sealer“, norint užsandarinti „Rotor-Disc“.
Fiksuojamasis žiedas	Tai metalinis žiedas, dedamas ant rotoriaus, kad „Rotor-Gene Q MDx“ veikimo metu neatsilaisvintų mėgintuvėliai ir dangteliai. Jeigu dangtelis ir mėgintuvėliai atsilaisvintų, kyla pavojus sugadinti prietaisą.
Rotorius	Metalinis rotorius „Rotor-Gene Q MDx“ prietaise laiko mėgintuvėlius arba „Rotor-Disc“. Mėginiai gali sukelti prietaiso kameroje ir užtikrinama, kad mėginiai tinkamai sulgyuoti su optine sistema. Rotorius pritvirtinamas fiksuojamuoju žiedu.
„Rotor-Disc“	„Rotor-Disc“ – tai apvali plokštelė su vertikaliai nukreiptais reakcijos šulinėliais. Rotoriaus diske „Rotor-Disc“ galima paruošti 72 arba 100 reakcijų. „Rotor-Disc“ užsandarinamas naudojant „Rotor-Disc Heat Sealing Film“ ir „Rotor-Disc Heat Sealer“.

13 Techninės specifikacijos

QIAGEN pasilieka teisę keisti specifikacijas bet kuriuo metu.

13.1 Aplinkos sąlygos – eksploatavimo sąlygos

Maitinimas	100–240 V AC, 50–60 Hz, 520 VA (pikas) Energijos sąnaudos 60 VA (budėjimo režimu) Tinklo įtampos svyravimai negali viršyti 10 % nominalios maitinimo įtampos.
Saugiklis	F5A 250 V saugiklis
Šilumos išsklaidymas / šiluminė apkrova	Vidutinis: 0,183 kW (632 BTU/val.) Pikas: 0,458 kW (1 578 BTU/val.)
Viršįtampių kategorija	II
Oro temperatūra	18–30 °C
Santykinis drėgnis	10–75 % (nesikondensuojančios drėgmės)
Aukštis virš jūros lygio	Iki 2 000 m
Eksploatavimo vieta	Skirtas naudoti tik viduje
Taršos lygis	2
Aplinkos apsaugos klasė	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

13.2 Transportavimo sąlygos

Oro temperatūra	nuo –25 °C iki 60 °C gamintojo pakuotėje
Santykinis drėgnis	Maks. 75 % (nesikondensuojančios drėgmės)
Aplinkos apsaugos klasė	2K2 (IEC 60721-3-2)

13.3 Laikymo sąlygos

Oro temperatūra	nuo 15 °C iki 30 °C gamintojo pakuotėje
Santykinis drėgnis	Maks. 75 % (nesikondensuojančios drėgmės)
Aplinkos apsaugos klasė	1K2 (IEC 60721-3-1)

13.4 Mechaniniai duomenys ir aparatinės įrangos savybės

Matmenys	Plotis: 370 mm Aukštis: 286 mm Gylis (be kabelių): 420 mm Gylis (su atidarytomis durelėmis): 538 mm
Svoris	12,5 kg (standartinė konfigūracija)
Talpa	Iki 100 mėginių per vieną tyrimo seriją, naudojant „Rotor-Disc 100“
Programinė įranga	„Rotor-Gene Q“ programinės įrangos 2.3.x versija (kur x yra ≥ 0)

13.5 Techninės specifikacijos (aparatinė įranga ir programinė įranga)

13.5.1 Šiluminės specifikacijos

Aprašas	Specifikacija
Temperatūros intervalas	nuo 35 °C iki 99 °C (nuo 50 °C iki 99 °C ciklo metu)
Temperatūros tikslumas	±0,5 °C (sukalibruota taikant „Rotor-Disc OTV“ procedūrą)
Temperatūros skiriamoji geba	±0,02 °C (mažiausia programuojama padala)
Temperatūros tolygumas	±0,02 °C

13.5.2 Optinės specifikacijos

Aprašas	Specifikacija
Sužadinimo šaltiniai	Didelės energijos šviesos diodų lempos
Detektorius	Fotodaugintuvas
Duomenų rinkimo trukmė	4 s

14 A priedas – Teisinė informacija

14.1 FCC deklaracija

Jungtinių Valstijų federalinė ryšių komisija (angl. United States Federal Communications Commission, USFCC) (Jungtinių Valstijų Federalinių teisės aktų kodekso (CFR) 47 antraštinės dalies 15. 105 dalyje) pareiškė, kad šio gaminio naudotojai privalo būti informuoti apie toliau išvardytus faktus ir aplinkybes.

„Šis prietaisas atitinka FCC 15 dalies nuostatas: Prietaiso naudojimui taikomos dvi sąlygos: (1) šis prietaisas negali kelti kenksmingų trukdžių ir (2) šis prietaisas turi priimti bet kokius gaunamus trukdžius, įskaitant trukdžius, kurie gali sukelti nepageidaujamą veikimą.“

„Šis B klasės skaitmeninis prietaisas atitinka Kanadoje galiojantį standartą ICES-0003.“

Toliau pateiktas pareiškimas taikomas gaminiams, kurie aprašyti šiame vadove, jei kitaip nenurodyta šiame leidinyje. Pareiškimas apie kitus gaminius yra pateiktas pridedamuose dokumentuose.

Pastaba. Šį įrangą buvo išbandyta ir nustatyta, kad ji atitinka B klasės skaitmeninio prietaiso apribojimus pagal FCC taisyklių 15 dalį ir atitinka visus Kanados trukdžius sukeliančios įrangos standarto ICES-003 reikalavimus, taikomus skaitmeniniam prietaisui. Šie apribojimai yra skirti tam, kad apsaugotų nuo kenksmingų trukdžių, kai įranga yra naudojama gyvenamojoje aplinkoje. Ši įranga generuoja, naudoja ir gali skleisti radijo bangų energiją ir, jei įrengta ir naudojama nesivadovaujant instrukcijomis, gali sukelti radijo ryšio priemonėms kenksmingų trukdžių. Tačiau negalima užtikrinti, kad tam tikroje aplinkoje trukdžių nekils. Jei ši įranga sukelia kenksmingų radijo ar televizijos imtuvų trukdžių, kuriuos galima nustatyti išjungiant ir įjungiant įrangą, naudotojui rekomenduojama pašalinti trukdžius vienu ar keliais iš šių būdų:

- pakeisti signalą gaunančios antenos kryptį arba vietą;
- padidinti atstumą tarp įrangos ir imtuvo;
- prijungti įrangą prie kitoje grandinėje esančio lizdo nei ta, prie kurios prijungtas imtuvas.

Pagalbos kreipkitės į platintoją arba patyrusį radijo ar televizijos technikos inžinierių.

14.2 Atitiktis IEC EN 61326

„Rotor Gene-Q MDx“ atitinka reikalavimus, taikomus trukdžių spinduliuotei ir atsparumui trukdžiams, kaip nurodyta standartuose IEC 61326-1 ir IEC 61326-2-6.

„QIAGEN GmbH Germany“ neatsako už jokių radijo ir televizijos trukdžius, kurie atsirado dėl neleistinų šios įrangos modifikacijų arba pakeitus ar prijungus „QIAGEN GmbH, Germany“ nenurodytus jungiamuosius kabelius ir kitą įrangą. Už visų trukdžių, kurie atsirado dėl tokių neleistinų modifikacijų, keitimų arba priedų, šalinimą yra atsakingas naudotojas.

14.3 Atitikties deklaracija

Teisėto gamintojo pavadinimas ir adresas

„QIAGEN GmbH“
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
Vokietija

Norint gauti naujausią atitikties deklaraciją, galima kreiptis į QIAGEN techninės pagalbos tarnybą.

14.4 Elektros ir elektroninės įrangos atliekos (EEIJA)

Šiame skyriuje naudotojams pateikiama informacija apie elektros ir elektroninės įrangos atliekų šalinimą.

Perbrauktos ratukinės šiukšlių dėžės simbolis (žr. toliau) nurodo, kad šio gaminio negalima šalinti su kitomis atliekomis; jį būtina nugabenti į patvirtintą apdorojimo įstaigą arba tam skirtą surinkimo punktą, kad jis būtų perdirbtas pagal vietos įstatymus ir kitus teisės aktus.

Elektros ir elektroninės įrangos atliekų rūšiavimas ir perdirbimas padeda tausoti gamtinius išteklius ir užtikrina, kad gaminys bus perdirbtas žmonių sveikatai ir gamtai nekenkiančiu būdu.



Jei pageidaujama, perdirbimo paslaugas už papildomą mokestį gali suteikti QIAGEN. Europos Sąjungoje, remiantis konkrečiais EEIJA perdirbimo reikalavimais, ir ten, kur QIAGEN tiekia pakaitinius gaminius, taikomas nemokamas EEIJA pažymėtos elektroninės įrangos perdirbimas.

Norėdami perdirbti elektroninę įrangą, susisiekite su vietiniu QIAGEN pardavimų skyriumi, kad gautumėte reikiamą grąžinimo formą. Pateikus formą, su jumis susisieks QIAGEN, kad gautų papildomos informacijos ir galėtų suderinti elektroninių atliekų paėmimą arba pateiktų jums asmeninį pasiūlymą.

14.5 Sąlyga dėl atsakomybės

Įmonė QIAGEN bus atleista nuo garantinio įsipareigojimo, jei remonto darbus ar pakeitimus atliks kiti asmenys, kurie nėra įmonės darbuotojai, išskyrus atvejus, kai įmonė davė raštišką sutikimą atlikti šiuos remonto darbus ar pakeitimus.

Visoms dalims, pakeistoms pagal šia garantiją, garantija bus taikoma iki originalaus garantinio laikotarpio pabaigos ir ji jokiais būdais negali viršyti originalios garantijos galiojimo pabaigos datos, išskyrus atvejus, kai suteikiamas raštiškas įmonės pareigūno leidimas. Automatiniam atskaitos įtaisams, sąsajų prietaisams ir susijusiai programinei įrangai garantijos bus taikomos tik originalaus šių gaminių gamintojo pasiūlytu laikotarpiu. Bet kurių asmenų, įskaitant QIAGEN atstovus, įmonės atstovavimas ir išduotos garantijos, kurios nesutampa arba prieštarauja šioje garantijoje nurodytoms sąlygoms, nebus laikomos įmonę įpareigojančiomis, išskyrus atvejus, kai jos yra rašytinės ir patvirtintos QIAGEN pareigūno.

14.6 Programinės įrangos licencinė sutartis

1. Toliau šiame dokumente „Qiagen“ reiškia „Qiagen GmbH“ ir jos filialus, o programine įranga vadinamos programos ir duomenys, pateikiami šioje fizinėje laikmenoje (pvz., kompaktiniame diske) arba internete, galiojant šioms sąlygoms. (Jeigu jums neaiški kuri nors šios sutarties dalis arba jei jums kilo kokių nors klausimų, kreipkitės el. paštu adresu support@qiagen.com.) Programinė įranga ir visi pridedami dokumentai sukurti naudojant tik privačias lėšas. Jie tiekiami ir licencijuojami kaip „komercinė kompiuterinė programinė įranga“.

2. Licencija

Ši licencija nesuteikia jokių teisių ar nuosavybės teisių, susijusių su programine įranga, ir nereiškia jokių su programine įranga susijusių teisių pardavimo. „Qiagen“ suteikia jums neperduodamą ir neišimtinę licenciją:

2.1 Galite naudoti bet kokį programinės įrangos kopijų skaičių savo įstaigoje, su sąlyga, kad programinė įranga bus prieinama tik įstaigos darbuotojams ir jūsų įstaiga šiuo metu yra „Rotor-Gene Q“ prietaiso savininkė. Leidimas naudoti šią programinę įrangą už jūsų įstaigos ribų yra šios sutarties pažeidimas.

2.2 Programinės įrangos kopijas galite daryti tik jeigu reikia sukurti atsarginę kopiją arba jei kopijavimas yra svarbus etapas naudojant programinę įrangą taip, kaip nurodyta. Visose kopijose būtina nurodyti visus originalioje programinėje įrangoje pateikiamus pareiškimus dėl autorių teisių. Jokiu būdu negalima nukopijuoti programinės įrangos į jokią elektroninę skelbimų lentą, interneto svetainę arba panašią viešą ar privačią platinimo sistemą.

2.3 Programinės įrangos negalite dovanoti, paskolinti ar išnuomoti jokiai trečiajai šaliai.

2.4 Programinės įrangos ir jokių jos dalių negalite įtraukti į jūsų sukurtas ar naudojamas programas ar kompiuterines sistemas.

2.5 Negalite naudoti ar kitaip konstruoti duomenų failų ar kitų failų, apdorotų naudojant programinę įrangą (išskyrus tuos atvejus, kai tai įvyksta dėl įprasto programinės įrangos veikimo).

2.6 Negalite išrinkti, taikyti apgąžos inžinerijos ar kompiliacijos, atrakinti arba išversti bet kurios programinės įrangos dalies, mėginti atkurti programinės įrangos pirminį tekstą arba algoritmus. Negalite keisti duomenų failų ar kitų failų, sudarančių programinę įrangą (išskyrus tuos atvejus, kai tai įvyksta dėl įprasto programinės įrangos veikimo).

2.7 Jeigu ši programinės įrangos versija yra demonstracinė arba bandomoji versija, galite ją naudoti tik vertinimo tikslais ir laikydamiesi nustatytų apribojimų (pavyzdžiui, laiko, tyrimo serijų ar kitų apribojimų). Programinė įranga gali taikyti arba netaikyti minėtųjų apribojimų, todėl jeigu programinė įranga netaiko minėtųjų apribojimų, tai nesuteikia jums teisės naudoti programinę įrangą nesilaikant šių apribojimų.

2.8 Sutinkate įsigyti visus būtinus registracijos / licencijos kodus tik iš „Qiagen“ arba įgaliotojo platintojo ir griežtai saugoti minėtojo kodo konfidencialumą nuo visų trečiųjų šalių.

3. Nutraukimas

3.1 Jeigu nesilaikote šios licencijos nuostatų ir sąlygų, „Qiagen“ gali nutraukti šią licencijos sutartį, nepažeisdama jokių kitų teisių.

3.2 Per 7 dienas po šios licencijos sutarties nutraukimo pateiksite „Qiagen“ rašytinį patvirtinimą, kad sunaikinote originalią programinę įrangą ir visas jos kopijas bei visų registracijos / licencijos kodų visas kopijas. Galite bet kada nutraukti šią sutartį, pateikdami tokį patvirtinimą.

4. Ribotoji garantija / atsakomybė

4.1 „Qiagen“ suteikia tik šias garantijas:

a) Jei programinė įranga pateikiama kompaktiniame diske, devyniasdešimt dienų nuo įsigijimo datos kompaktinis diskas yra be medžiagų ir pagaminimo defektų, naudojant įprastai. (Defektų turinčius kompaktinius diskus pakeisime nemokamai).

b) Tinkamai naudojama programinė įranga devyniasdešimt dienų nuo įsigijimo dienos iš esmės atitiks su programine įranga pateiktą dokumentaciją arba kitas „Qiagen“ nurodytas specifikacijas.

4.2 Visa „Qiagen“ atsakomybė ir išimtinė jūsų teisių gynimo priemonė yra kompensacija iki dviejų šimtų penkiasdešimties JAV dolerių (250 JAV dolerių) arba ribotos garantijos neatitinkančios programinės įrangos pakeitimas, atsižvelgiant į „Qiagen“ pasirinkimą.

4.3 IŠSKYRUS 4.1 SKIRSNYJE NURODYTAS GARANTIJAS IR KIEK LEIDŽIAMA PAGAL ĮSTATYMUS, QIAGEN NESUTEIKIA JOKIŲ KITŲ GARANTIJŲ, SUSIJUSIŲ SU PROGRAMINE ĮRANGA.

4.4 KIEK LEIDŽIAMA PAGAL ĮSTATYMUS, JOKIOMIS APLINKYBĖMIS IR PAGAL JOKIĄ TEISINĘ TEORIJĄ, TEISĖS PAŽEIDIMĄ, SUTARTĮ AR KT. QIAGEN NEBUS ATSAKINGA JUMS AR BET KURIAM KITAM ASMENIUI UŽ BET KOKIĄ NETIESIOGINĘ, SPECIALIĄ, ATSITIKTINĘ AR NETIESIOGINĘ BET KOKIO POBŪDŽIO ŽALĄ, ĮSKAITANT, BET NEAPSIRIBOJANT, ŽALĄ DĖL REPUTACIJOS PRARADIMO, DARBO SUSTABDYMO, KOMPIUTERIO GEDIMO AR NETINKAMO VEIKIMO, ARBA BET KOKIĄ KITĄ KOMERCINĘ ŽALĄ AR NUOSTOLIUS, NET JEI QIAGEN BUVO INFORMUOTA APIE TOKIOS ŽALOS GALIMYBĘ. BET KURIUO ATVEJU VISA QIAGEN ATSAKOMYBĖ PAGAL ŠIĄ SUTARTĮ NEGALI VIRŠYTI LICENCIJOS MOKESČIO, KURĮ SUMOKĖJOTE UŽ PROGRAMINĘ ĮRANGĄ. ŠIS ATSAKOMYBĖS APRIBOJIMAS NETAIKOMAS ATSAKOMYBEI UŽ MIRTĮ AR ASMENS SUŽALOJIMĄ TOKIA APIMTIMI, KOKIA TAIKOMI ĮSTATYMAI DRAUDŽIA TOKĮ APRIBOJIMĄ.

15 B priedas – Matematiniai metodai

Šiame priede išsamiau aprašomi taikomi matematiniai metodai.

15.1 Kiekybinė analizė

Apskaičiuotos koncentracijos reikšmės gaunamos taikant paprastą tiesinės regresijos modelį, taikant žinomas logaritmines koncentracijos (x) reikšmes ir tiriamąsias CT reikšmes (y).

Standartinių mėginių logaritminės koncentracijos reikšmės ir CT reikšmės naudojamos sudarant tokį modelį:

$$y = Mx + B$$

15.1.1 Apskaičiuotų koncentracijos reikšmių pasikliautiniai intervalai

Apskaičiuodami naują stebinį x_0 pagal standartinę kreivę, taikome šį pasikliautinumo intervalą $100(1-\alpha)\%$.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Tai vieno nežinomojo koncentracijos pasikliautinis intervalas.

Tarkime, kad turime k papildomų stebinių, kai $x = x_0$, o jų vidurkį išreiškiame \bar{Y}_0 . Tada išeina, kad

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

ir remiantis ankstesniais argumentais išeina, kad

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Ši formulė nurodo, kaip nustatomi kartotinių nežinomųjų koncentracijos reikšmių pasikliautiniai intervalai.

Vertinant standartinius mėginius, galima gauti dar siauresnį pasikliautinumo intervalą:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Ši formulė reikšminga tuo, kad pridėjus pakartojimus prie standartinio mėginio individualios koncentracijos reikšmės, sumažėja visų įverčių intervalo plotis, nes n padidėja. Pridėjus didelį pakartojimų skaičių prie nežinomojo, jo neapibrėžtumas sumažėja iki vieno standartinio mėginio neapibrėžtumo. Papildomi pakartojimai sumažina neapibrėžtumą, nes nežinomasis nesudaro tiesinio modelio.

15.1.2 CT reikšmių pasikliautinieji intervalai

Darome prielaidą, kad kartotinių CT reikšmių paklaida yra tiesinė ir jai būdingas normalusis skirstinys.

Todėl naudojame vieno mėginio t pasikliautinumo intervalą. Tarkime, kad μ yra kartotinių CT reikšmių vidutinė reikšmė $(x_0 \dots x_{n-1})$. Tuomet CT reikšmės μ pasikliautinis intervalas $100(1-\alpha)\%$ yra:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Dėkojame Peter Cook (Sidnėjaus NSW universiteto Matematikos fakultetas, Australija), kurio pagalba buvo neįkainojama tvirtinant taikomus matematinius metodus.

16 Užsakymo informacija

16.1 „Rotor-Gene Q MDx“ produktai, priedai ir eksploataavimo reikmenys

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex	„Real-time PCR“ ciklą valdiklis su 5 kanalais (žaliu, geltonu, oranžiniu, raudonu, tamsiai raudonu), nešiojamasis kompiuteris, programinė įranga, priedai (1 metų garantija dalims ir darbui)	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	„Real-time PCR“ ciklą valdiklis ir didelės skiriamosios gebos lydimosi analizatorius su 5 kanalais (žaliu, geltonu, oranžiniu, raudonu, tamsiai raudonu), taip pat HRM kanalas, nešiojamasis kompiuteris, programinė įranga, priedai, 1 metų garantija dalims ir darbui	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	„Real-time PCR“ ciklą valdiklis su 6 kanalais (mėlynu, žaliu, geltonu, oranžiniu, raudonu, tamsiai raudonu), nešiojamasis kompiuteris, programinė įranga, priedai (1 metų garantija dalims ir darbui)	9002042
Priedai		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Rinkinį sudaro: 2 „Rotor-Disc 100“ pakuotės, „Rotor-Disc Heat Sealer“, „Rotor-Disc Heat Sealing Film“, „Rotor-Disc 100 Rotor“ ir „Locking Ring“, „Rotor-Disc 100 Loading Block“, „Rotor-Disc Pipetting Aid“	Teirautis
Rotor-Disc 100 (30)	30 atskirai supakuotų diskų, skirtų 3 000 reakcijų	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 atskirai supakuotų diskų, skirtų 30 000 reakcijų	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	Diskams „Rotor-Disc 100“ prilaikyti „Rotor-Gene Q MDx“ prietaiso viduje	9018895

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
	reikia naudoti „Rotor-Disc 100 Locking Ring“	
Rotor-Disc 100 Locking Ring	„Rotor-Disc 100“ užfiksuoti „Rotor-Disc 100 Rotor“ viduje	9018896
Rotor-Disc 100 Loading Block	Aliuminio blokas reakcijoms paruošti rankiniu būdu arba automatiškai diskuose „Rotor-Disc 100“	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Padedą pažymėti šulinėlius ruošiant reakcijas rankiniu būdu įkėlimo bloke „Rotor-Disc Loading Block“	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Sandarinimo prietaisas, skirtas naudoti su „Rotor-Disc“; būtina naudoti „Rotor-Disc 72 Loading Block“ arba „Rotor-Disc 100 Loading Block“	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 plėvelių, skirtų diskams „Rotor-Disc 100“ arba „Rotor-Disc 72“ sandarinti	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 x 60 plėvelių, skirtų diskams „Rotor-Disc 100“ arba „Rotor-Disc 72“ sandarinti	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Rinkinį sudaro: 3 „Rotor-Disc 72“ pakuotės, „Rotor-Disc Heat Sealer“, „Rotor-Disc Heat Sealing Film“, „Rotor-Disc 72 Rotor“ ir „Locking Ring“, „Rotor-Disc 72 Loading Block“, „Rotor-Disc Pipetting Aid“	Teirautis
Rotor-Disc 72 (24)	24 atskirai supakuoti diskai, skirti 1 728 reakcijoms	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 atskirai supakuotų diskų, skirtų 17 280 reakcijų	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	Diskams „Rotor-Disc 72“ prilaikyti „Rotor-Gene Q MDx“ prietaiso viduje reikia naudoti „Rotor-Disc 72 Locking Ring“	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	Skirtas „Rotor-Disc 72“ užfiksuoti „Rotor-Disc 72 Rotor“ viduje	9018900

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
Rotor-Disc 72 Loading Block	Aliuminio blokas reakcijoms paruošti rankiniu būdu arba automatiškai diskuose „Rotor-Disc 72“	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 juostelių po 4 mėgintuvėlius ir dangtelius, skirtų 1 000 reakcijų	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 juostelių po 4 mėgintuvėlius ir dangteliai 10 000 reakcijų	981106
72-Well Rotor	„Strip Tubes and Caps, 0.1 ml“ laikyti; būtina naudoti „Locking Ring 72-Well Rotor“	9018903
Locking Ring 72-Well Rotor	„Strip Tubes and Caps, 0.1 ml“ užfiksuoti „72-Well Rotor“ viduje	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aliuminio blokas rankiniam reakcijos nustatymui su vieno kanalo pipete 72 x 0,1 ml mėgintuvėliuose	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Aliuminio blokas reakcijos nustatymui daugiakanale pipete 72 x 0,1 ml mėgintuvėliuose	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1 000 plonasienių mėgintuvėlių, skirtų 1 000 reakcijų	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1 000 plonasienių mėgintuvėlių, skirtų 10 000 reakcijų	981008
36-Well Rotor	„PCR Tubes, 0.2 ml“ laikyti; būtina naudoti „36-Well Rotor Locking Ring“	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	„PCR Tubes, 0.2 ml“ užfiksuoti „36-Well Rotor“ viduje	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aliuminio blokas rankiniam reakcijos nustatymui standartiniame 8 x 12 rinkinyje, naudojant 96 x 0,2 ml mėgintuvėlius	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Optinio temperatūros patikrinimo rinkinį, skirtą „Rotor-Gene“ sistemoms, sudaro „Rotor-Disc“ su iš anksto įdėtais termochrominiais skystaisiais kristalais, fluorescenciniais įdėklais, būtina naudoti „Rotor-Disc 72 Rotor“ ir	981400

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
Rotor Holder	„Locking Ring“ arba „Rotor-Disc 72 Starter Kit“ Metalinis laisvai pastatomas laikiklis, skirtas mėgintuvėliams ir „Rotor-Disc“ įstatyti į rotorį	9018908

Naujausia informacija apie licencijavimą ir tam tikrų gaminių garantinių įsipareigojimų ribojimą pateikta atitinkamame QIAGEN rinkinio vadove arba naudotojo vadove. QIAGEN rinkinių vadovai ir naudotojo vadovai pateikiami svetainėje www.qiagen.com arba galite jų paprašyti QIAGEN techninės pagalbos tarnybos ar vietinio platintojo.

17 Dokumento peržiūrų istorija

Data	Keitimai
R1, 2022 m. vasario mėn.	Pradinis leidimas

„Rotor-Gene Q MDx“ ribotoji licencinė sutartis

Naudodamas šį gaminių pirkėjas arba naudotojas sutinka su toliau išvardytomis sąlygomis.

1. Produktą galima naudoti tik vadovaujantis protokolais, pateiktais su šiuo produktu, šiomis naudojimo instrukcijomis ir tik su rinkinyje esančiais komponentais. QIAGEN nesuteikia jokios intelektinės nuosavybės licencijos naudoti ar įtraukti pridėtus šio rinkinio komponentus su šia rinkinyje nepateiktais komponentais, išskyrus aprašytus protokoluose, pateiktuose su šiuo gaminiu, šiose naudojimo instrukcijose ir papildomuose protokoluose, kurie pateikti www.qiagen.com. QIAGEN naudotojams pateikiami keli papildomi protokolai. Šiuos protokolus QIAGEN kruopščiai patikrino ir optimizavo. QIAGEN neteikia garantijų, kad šie protokolai nepažeidžia trečiųjų šalių teisių.
2. QIAGEN nesuteikia garantijos, kad šis rinkinys ir (arba) jo naudojimas nepažeis trečiųjų šalių teisių, išskyrus licencijose nurodytus atvejus.
3. Rinkiniui ir jo komponentams suteikta licencija naudoti vieną kartą; pakartotinai naudoti, atnaujinti ar perparduoti negalima.
4. QIAGEN aiškiai atsisako bet kokių kitų išreikštų ar numanomų licencijų, išskyrus aiškiai nurodytas licencijas.
5. Rinkinio pirkėjas ir naudotojas sutinka nesimti ir neleisti niekam kitam imtis veiksmų, kurie galėtų paskatinti arba palengvinti viršuje nurodytus draudžiamus veiksmus. QIAGEN gali įgyvendinti šioje ribotoje licencinėje sutartyje nurodytų neteisėtų veiksmų draudimus bet kuriame teisme ir atgauti visas tyrimo ir teismo išlaidas, įskaitant išlaidas advokatams, pateikusi išiešnij dėl šios Ribotosios licencinės sutarties vykdymo arba su šiuo rinkiniu ir (arba) jo komponentais susijusių teisių į savo intelektinę nuosavybę.

Atnaujintas licencijos sąlygas žr. www.qiagen.com.

Prekių ženklai: „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“ arba jos dukterinės įmonės); „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.“). Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jeigu jie nėra specialiai pažymėti, vis tiek saugomi įstatymų. Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jeigu jie nėra specialiai pažymėti, vis tiek saugomi įstatymų.

„TeeChartOffice“: Autoriaus teisė 2001-2013, David Berneda. Visos teisės ginamos.

Šalims, kuriose taikoma:

Šis tikralaikis šiluminis ciklų valdiklis licencijuotas pagal nagrinėjamo JAV patento teises aparatams ar sistemoms, apimančioms automatinius šiluminius ciklų valdiklius su fluorescencijos detektoriais, ir siekiama pirmumo teisės į JAV serijos Nr. 07/695,201 ir atitinkamas apibrėžtis bet kuriame analogiška užsienio šalies patente, priklausančiame „Applied Biosystems LLC“, visose srityse, įskaitant mokslinius tyrimus ir plėtrą, visas taikomas sritis ir žmogaus bei gyvūnų in vitro diagnostinius tyrimus. Aiškiai, netiesiogiai ar remiantis estoppel principu nesuteikiamos jokios teisės į jokių tikralaikų metodų, įskaitant, bet neapsiribojant, 5' nukleazės tyrimus, patentus ar jokių reagentų ar rinkinių patentus. Dėl papildomos informacijos apie papildomų teisių įsigijimą kreipkitės į Director of Licensing, „Applied Biosystems“, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, JAV.

Šalims, kuriose taikoma:

Šio produkto įsigijimas apima ribotą, neperduodamą licenciją į vieną ar daugiau JAV patentų Nr. 6,787,338; 7,238,321; 7,081,226; 6,174,670; 6,245,514; 6,569,627; 6,303,305; 6,503,720; 5,871,908; 6,691,041; 7,387,887; 7,273,749; 7,160,998; JAV patentų paraiškų Nr. 2003-0224434 ir 2006-0019253, bei PCT patento paraišką Nr. WO 2007/035806, ir visas tęstines ir dalines bei atitinkamas apibrėžtis patentuose ir patentų paraiškose už JAV ribų, priklausančias „University of Utah Research Foundation“, „Idaho Technology, Inc.“, „Evotec Biosystems GmbH“ ir (arba) „Roche Diagnostics GmbH“, skirtas tik žmonių ir gyvūnų in vitro diagnostikai. Aiškiai, netiesiogiai arba remiantis estoppel principu nesuteikiamos jokios teisės į jokių reagentus ar rinkinius, arba pagal bet kokį kitą patentą ar patento apibrėžtį priklausančius „University of Utah Research Foundation“, „Idaho Technology, Inc.“, „Roche Diagnostics GmbH“ ar bet kuriai kitai šaliai. Šį produktą galima naudoti tik su leistiniais reagentais, pavyzdžiui, visiškai licencijuotais QIAGEN rinkiniais ir tyrimais. Dėl papildomos informacijos apie in vitro diagnostinių priemonių ar reagentų licencijos įsigijimą kreipkitės į „Roche Molecular Systems“, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, JAV.

HB-3090-001 02/2022 © 2022 QIAGEN, visos teisės saugomos.

Užsakymas www.qiagen.com/contact | Techninė pagalba support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com