



ПО CFX Maestro Dx SE

Руководство пользователя Версия 2.3

| REF | |
|-----|----------|
| | 12014330 |
| | 12014334 |
| | 12014335 |
| | 12014348 |
| | 12014349 |
| | 12016659 |
| | 12016687 |

Версия руководства: Май 2022 г.

Версия ПО: 2.3



ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

Руководство пользователя

Версия 2.3



Техническая поддержка Bio-Rad™

Отдел технической поддержки Bio-Rad в США открыт с понедельника по пятницу с 5:00 до 17:00 по тихоокеанскому времени.

Тел.: 1-800-424-6723, доп. 2

Электронная почта: Support@bio-rad.com (только США/Канада)

Для получения технической поддержки за пределами США и Канады обратитесь в местную техническую поддержку или щелкните ссылку Contact us (Связаться с нами) на сайте [bio-rad.com](https://www.bio-rad.com).

Уведомление

Воспроизведение или передача всех частей данной публикации в любой форме и любыми средствами, электронными или механическими, включая фотокопирование, запись, хранение информации или информационно-поисковые системы в любом виде, без письменного разрешения Bio-Rad Laboratories, Inc. запрещены.

Компания Bio-Rad оставляет за собой право в любое время вносить изменения в свои продукты и услуги. Данное руководство может быть изменено без предварительного уведомления. Несмотря на тщательную подготовку, компания Bio-Rad не несет никакой ответственности за ошибки или упущения, или за любой ущерб в результате применения или использования данной информации.

BIO-RAD является товарным знаком Bio-Rad Laboratories, Inc.

SYBR является товарным знаком Thermo Fisher Scientific Inc.

EvaGreen является торговой маркой компании Biotium, Inc.

Все используемые здесь товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

© 2022 Bio-Rad Laboratories, Inc. Все права защищены.

Предусмотренное применение

Сист. ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx™ с ПО CFX Maestro Dx, Security Edition™ предназначена для проведения ПЦР с флуоресцентной детекцией с целью обнаружения и количественной оценки последовательности нуклеиновых кислот. Система и программное обеспечение предназначены для использования подготовленным лабораторным персоналом в целях проведения диагностики *in vitro*. Системы предназначены для использования вместе с основанными на нуклеиновых кислотах диагностическими тестами сторонних производителей, которые были изготовлены и маркированы для диагностических целей.

Словарь символов

| | |
|--|--|
|  <p>Изготовитель</p> |  <p>Номер партии</p> |
|  <p>Срок годности</p> |  <p>Для диагностического применения <i>in vitro</i></p> |
|  <p>Ограничение температуры</p> |  <p>Номер по каталогу</p> |
|  <p>Обратитесь к инструкции по эксплуатации</p> |  <p>Количество тестов</p> |
|  <p>Для использования с</p> |  <p>Серийный номер</p> |

| | |
|--|--|
| Rx Only Только по назначению врача |  Содержит латекс |
| CE Маркировка CE — Регламент (EC) 2017/746 IVDR | |

Переводы

Документация по продукту может быть предоставлена на дополнительных языках на электронных носителях.

История версий

| Документ | Дата | Описание изменения |
|--|-----------------|--|
| Руководство пользователя ПО CFX Maestro Dx, Security Edition 2.0 (Идентификационный номер документа: 10000152871) | Декабрь 2020 г. | Версия А, первичное издание |
| Руководство пользователя ПО CFX Maestro Dx, Security Edition 2.3 (Идентификационный номер документа: 10000152871) | Май 2022 г. | <ul style="list-style-type: none">■ Обновлено для поддержки систем CFX Opus Deerwell Dx■ Обновлена таблица словаря символов■ Во Введение добавлено примечание о кибербезопасности. |

Содержание

| | |
|---|-----------|
| Предусмотренное применение | iii |
| Словарь символов | iii |
| Переводы | iv |
| История версий | v |
| Соответствие требованиям безопасности и нормативным документам | 17 |
| Предупреждающие ярлыки о технике безопасности | 17 |
| Соответствие требованиям безопасности и нормативным документам | 20 |
| Соответствие требованиям в отношении безопасности | 20 |
| Электромагнитная совместимость (ЭМС) | 21 |
| Предупреждения и меры предосторожности по ЭМС | 22 |
| Требования к окружающей среде | 23 |
| Опасные факторы | 24 |
| Факторы биологической опасности | 24 |
| Химическая опасность | 26 |
| Опасность взрыва или воспламенения | 26 |
| Опасность поражения электрическим током | 27 |
| Транспортировка | 27 |
| Аккумулятор | 27 |
| Утилизация | 27 |
| Гарантия | 28 |
| Глава 1 Введение | 29 |
| Основные особенности ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 31 |
| Дополнительные сведения | 31 |
| Глава 2 Установка ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 33 |
| Системные требования | 34 |
| Установка программного обеспечения CFX Maestro Dx SE | 36 |
| Обнаружение подключенных приборов | 38 |
| Файлы программы | 39 |

| | |
|---|----|
| Глава 3 Управление учетными записями пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 41 |
| Запуск ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 42 |
| Добавление пользователей Microsoft Windows на компьютер ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 44 |
| Добавление и удаление пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 46 |
| Управление ролями пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 48 |
| Просмотр собственной роли и прав | 49 |
| Глава 4 Использование ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 51 |
| Защищенные файлы | 51 |
| Глава 5 Рабочая область | 63 |
| Начальное окно | 64 |
| Мастер запуска | 65 |
| Окно Редактор протокола | 66 |
| Окно Редактор плашки | 67 |
| Окно Анализ данных | 68 |
| Глава 6 Начальное окно | 69 |
| Начальное окно | 70 |
| Опции меню Файл | 71 |
| Опции меню Вид | 71 |
| Опции меню Пользователь | 72 |
| Опции меню Прогон | 73 |
| Команды меню Tools (Инструменты) | 73 |
| Опции меню Справка | 74 |
| Опции панели управления | 75 |
| Мастер запуска | 76 |
| Строка состояния | 76 |
| Панель Обнаруженные приборы | 77 |
| Просмотр свойств прибора | 81 |
| Перед началом работы | 82 |
| Создание основной реакционной смеси | 82 |
| Калибровка для новых красителей | 84 |
| Установка настроек пользователя | 88 |

| | |
|---|-----|
| Глава 7 Создание протоколов | 109 |
| Параметры и диапазоны шагов протокола | 110 |
| Окно Редактор протокола | 112 |
| Опции меню Файл | 112 |
| Опции меню Настройки | 113 |
| Команды меню Tools (Инструменты) | 113 |
| Опции панели управления | 113 |
| Элементы управления для редактирования протокола | 114 |
| Создание протокола с помощью Редактора протокола | 118 |
| Открытие нового файла протокола в Редакторе протокола | 118 |
| Открытие существующего протокола в Редакторе протокола | 120 |
| Настройка нового протокола | 121 |
| Добавление шагов в протокол | 123 |
| Вставка шага градиента | 124 |
| Вставка шага перехода | 125 |
| Вставка шага кривой плавления | 125 |
| Добавление или удаление шага чтения плашки | 127 |
| Изменение параметров шага | 127 |
| Удаление шага | 128 |
| Копирование, экспорт и печать протокола | 128 |
| Создание протокола с помощью Мастера создания протокола | 129 |
| Использование калькулятора температуры отжига | 131 |
| Сведения о калькуляторе температуры отжига | 131 |
| Глава 8 Подготовка плашек | 137 |
| Окно Редактор плашки | 138 |
| Опции меню Файл | 139 |
| Опции меню Правка | 139 |
| Опции меню Настройки | 139 |
| Опции меню Инструмент редактирования | 140 |
| Опции панели управления | 140 |
| Создание файла плашки с использованием Редактора плашки | 142 |
| Открытие нового файла плашки в Редакторе плашки | 142 |
| Открытие существующего файла плашки в Редакторе плашки | 144 |
| Настройка нового файла плашки | 145 |

| | |
|--|------------|
| Назначение необязательных параметров файлу плашки | 152 |
| Назначение мишени лункам | 152 |
| Назначение имени пробы лункам | 155 |
| Присвоение лункам биологических групп | 156 |
| Назначение номеров технических повторностей лункам | 158 |
| Назначение серии разведений стандартным типам проб | 160 |
| Копирование содержимого лунки в другую лунку | 161 |
| Добавление примечания к лунке | 162 |
| Очистка лунок от всего содержимого | 162 |
| Изменение условий эксперимента | 164 |
| Создание групп лунок | 167 |
| Изменение стилей линий | 169 |
| Просмотр, экспорт и импорт плашки в формате электронной таблицы | 171 |
| Создание схемы плашки с помощью Мастера установки плашки | 173 |
| Использование Мастера установки плашки | 173 |
| Глава 9 Проведение экспериментов | 177 |
| Окно Создать прогон | 178 |
| Доступ к окну Создать прогон | 179 |
| Вкладка Протокол | 180 |
| Вкладка Плашка | 183 |
| Вкладка Начать прогон | 186 |
| Проведение эксперимента | 187 |
| Диалоговое окно Детали прогона | 189 |
| Вкладка Run Status (Статус прогона) | 189 |
| Вкладка Состояние в реальном времени | 192 |
| Вкладка Время | 195 |
| Проведение экспериментов PrimePCR | 196 |
| Передача данных автономного прогона для анализа | 198 |
| Передача данных по электронной почте | 198 |
| Передача данных из Сист. ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx | 198 |
| Передача данных через ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 200 |
| Перенос данных с помощью USB-накопителя | 200 |
| Передача данных через общий сетевой диск с использованием Сист. ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx | 201 |

| | |
|---|------------|
| Создание файла данных | 201 |
| Глава 10 Обзор анализа данных | 203 |
| Окно Анализ данных | 203 |
| Панель инструментов окна Анализ данных | 204 |
| Строка меню окна Анализ данных | 206 |
| Подробное описание вкладок | 211 |
| Селектор Step Number (Номер этапа) | 212 |
| Просмотр групп лунок в окне Data Analysis (Анализ данных) | 212 |
| Изменение содержимого лунки после прогона | 212 |
| Настройки анализа данных | 214 |
| Коррекция порога | 214 |
| Настройки базовой линии | 214 |
| Режим анализа | 215 |
| Циклы для анализа | 216 |
| Селектор лунок | 217 |
| Пункты контекстного меню селектора лунок | 218 |
| Временное исключение лунок из анализа | 219 |
| Диаграммы | 220 |
| Инструменты диаграммы амплификации | 220 |
| Увеличение области на диаграмме | 228 |
| Копирование диаграмм в файл Microsoft | 228 |
| Общие пункты контекстного меню для диаграмм | 228 |
| Таблицы | 230 |
| Общие для электронных таблиц пункты контекстного меню | 230 |
| Экспорт | 232 |
| Экспорт всех листов данных | 232 |
| Экспорт файлов RDML | 233 |
| Создание пользовательского файла экспорта | 234 |
| Экспорт в папку LIMS | 235 |
| Экспорт данных в формате Seegene | 235 |
| Глава 11 Сведения об анализе данных | 237 |
| Вкладка Quantification (Количественный анализ) | 238 |
| Выбор флуорофора | 239 |
| Диалоговое окно Стили кривой графика | 239 |

| | |
|--|-----|
| Опция Log Scale (Логарифмическая шкала) | 240 |
| Standard Curve Chart (Диаграмма стандартной кривой) | 241 |
| Пункты меню диаграммы Амплификация | 242 |
| Таблица вкладки Quantification (Количественный анализ) | 242 |
| Вкладка Quantification Data (Данные количественного анализа) | 244 |
| Таблица Results (Результаты) | 244 |
| Таблица Standard Curve Results (Результаты стандартной кривой) | 246 |
| Таблица Plate (Плешка) | 247 |
| Таблица RFU (ОЕФ) | 248 |
| Вкладка Melt Curve (Кривая плавления) | 249 |
| Коррекция данных кривой плавления | 251 |
| Вкладка Melt Curve Data (Данные кривой плавления) | 252 |
| Таблица Melt Peaks (Пики плавления) | 252 |
| Таблица Plate (Плешка) | 253 |
| Таблица RFU (ОЕФ) | 254 |
| Таблица -d(RFU)/dT | 255 |
| Вкладка End Point (Конечная точка) | 256 |
| Данные результатов | 257 |
| Коррекция анализа данных конечной точки | 258 |
| Таблица ОЕФ для анализа в конечной точке | 258 |
| Вкладка Allelic Discrimination (Аллельная дискриминация) | 259 |
| Корректировка данных аллельной дискриминации | 260 |
| Пункты меню графика | 261 |
| Таблица Allelic Discrimination (Аллельная дискриминация) | 261 |
| Вкладка Custom Data View (Пользовательский обзор данных) | 263 |
| Создание пользовательского обзора данных | 264 |
| Вкладка QC (Контроль качества) | 265 |
| Изменение критериев контроля качества | 266 |
| Исключение лунок, которые не соответствуют контролю качества | 266 |
| Вкладка Run Information (Информация о прогоне) | 267 |
| Отчеты по анализу данных | 268 |
| Категории отчетов по анализу данных | 269 |
| Создание отчета по анализу данных | 273 |
| Создание отчетов по группе лунок | 275 |

| | |
|---|-----|
| Глава 12 Анализ экспрессии генов | 277 |
| Настройка плашки для анализа экспрессии генов | 277 |
| Настройка плашки с подсказками | 278 |
| Графики Экспрессия гена | 279 |
| Графики | 281 |
| Изменение и аннотирование представления диаграммы | 283 |
| Коррекция данных экспрессии генов | 290 |
| Условия эксперимента | 292 |
| Пункты контекстного меню | 294 |
| Таблица данных | 295 |
| Пункт Show Details (Показать детали) | 297 |
| Кластерграмма | 300 |
| Настройки | 300 |
| Пункты контекстного меню | 300 |
| Таблица данных | 301 |
| График рассеяния | 302 |
| Настройки | 302 |
| Пункты контекстного меню | 302 |
| Таблица данных | 303 |
| Таблица Results (Результаты) | 304 |
| Исследование генов | 305 |
| Калибровка между прогонами | 305 |
| Диалоговое окно Исследование гена | 306 |
| Вкладка Study Setup (Настройка исследования) | 306 |
| Подготовка исследования генов | 307 |
| Вкладка Study Analysis (Анализ эксперимента) | 308 |
| Категории отчетов по исследованию генов | 309 |
| Создание отчета об исследовании генов | 312 |
| Приложение А Вычисления анализа данных | 313 |
| Эффективность реакции | 313 |
| Относительное количество | 313 |
| Относительное количество в случае выбора контроля | 314 |
| Стандартное отклонение относительного количества | 314 |
| Cq скорректированной эффективности (CqE) | 315 |

| | |
|--|------------|
| Среднее Cq скорректированной эффективности (MCqE) | 315 |
| Нормализованная экспрессия | 316 |
| Экспрессия и относительное количество для биологических групп | 317 |
| Нормализованная экспрессия в случае выбора контроля | 317 |
| Стандартное отклонение для нормализованной экспрессии | 318 |
| Нормализованная экспрессия, отмасштабированная до самого высокого уровня экспрессии | 319 |
| Нормализованная экспрессия, отмасштабированная до самого низкого уровня экспрессии | 319 |
| Нормализованная экспрессия, масштабированная по среднему уровню экспрессии | 319 |
| Стандартное отклонение для масштабированной нормализованной экспрессии | 321 |
| Планки погрешности для стандартного отклонения(Ig) и Стандартная ошибка среднего (I _g) | 322 |
| Кратность изменения | 323 |
| Формулы скорректированных значений | 324 |
| Расчет доверительного интервала для анализа биологических групп | 325 |
| Расчеты для диаграммы «ящик с усами» | 326 |
| Приложение В Контрольные журналы | 329 |
| Просмотр контрольных журналов | 329 |
| Подлежащие аудиту события | 331 |
| Приложение С Интеграция с LIMS | 335 |
| Создание совместимых с LIMS файлов данных | 335 |
| Настройка папки LIMS и параметров экспорта данных | 335 |
| Создание протокола LIMS | 337 |
| Создание файла LIMS | 337 |
| Запуск прогона LIMS | 342 |
| Экспорт данных в LIMS | 343 |
| Приложение D Поиск и устранение неполадок ПО CFX Maestro Dx, Security Edition | 345 |
| Внесение файлов и папок ПО CFX Maestro Dx, Security Edition в белый список | 345 |
| Журнал приложений | 346 |
| Извлечение файлов журнала приложений и микропрограмм | 347 |
| Решение проблем | 347 |
| Сбой питания | 347 |
| Передача файлов на компьютер CFX Maestro Dx SE | 348 |
| Установка ПО CFX Maestro Dx, Security Edition вручную | 348 |
| Переустановка драйверов | 349 |

| | |
|---|-----|
| Приложение E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products | 351 |
| Software Notices | 352 |
| ZedGraph | 352 |
| Standard Open License Text | 352 |
| LGPL-2.1 | 352 |
| Приложение F Литература | 365 |

Содержание

Соответствие требованиям безопасности и нормативным документам

Системы ПЦР в реальном времени CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx и CFX Opus Deepwell Dx (называемые в данном руководстве Сист. CFX Opus Dx) очень быстро нагреваются и охлаждаются во время эксплуатации. Для безопасной эксплуатации системы ПЦР в реальном времени Bio-Rad настоятельно рекомендует соблюдать требования безопасности, приведенные в этом и других разделах руководства.

Предупреждающие ярлыки о технике безопасности

Предупреждающие наклейки, размещенные на Сист. CFX Opus Dx , а также в данном руководстве, сообщают об источниках травм или повреждения. В [Табл. 1](#) приведены определения для каждого предупреждающего ярлыка о технике безопасности.

Табл. 1. Общие предупреждения о безопасности




| Значок | Значение |
|---|---|
|  | Использование Сист. CFX Orus Dx до ознакомления с данным руководством может представлять опасность для персонала. Использование данного прибора таким образом, который не описан данным руководством или компанией Bio-Rad, может привести к нарушению или отключению защитных функций прибора. |
|    | С самой Сист. CFX Orus Dx не связано никаких биологических или радиоактивных опасностей. Эти опасности возникают только в случае введения в систему исследуемых проб. При работе с биологически опасными или радиоактивными материалами следуйте рекомендуемым мерам предосторожности и правилам, специфическим для вашей лаборатории и страны. Эти правила должны включать в себя методы очистки, мониторинга и устранения опасных материалов, которые используются. Кроме того, как обозначено выше, имеется небольшой риск взрыва или выплескивания жидкостей или выхода паров из пробирок с пробами. При работе с опасными материалами риск повреждений от выброса материала соединяется с риском, что сами по себе опасные материалы могут диспергироваться в приборе и вокруг него. Пользователям следует предпринимать соответствующие меры предосторожности с учетом такой ситуации. |
|  | Сист. CFX Orus Dx работает при температурах, достаточно высоких, чтобы вызвать серьезные ожоги. Перед выполнением действий с крышкой и извлечением проб необходимо дождаться, когда блок проб остынет до комнатной температуры. Даже после охлаждения блока проб окружающие области, а также пластина нагревателя могут оставаться горячими некоторое время. В ситуациях, когда недостаточно времени, чтобы дать прибору остыть, рекомендуется использовать защитные средства, например термоперчатки или прихватки. |
|  | Ответственность за безопасность и производительность любой системы, включающей Сист. CFX Orus Dx, полностью лежит на сборщике системы. |

Табл. 1. Общие предупреждения о безопасности, продолжение

| Значок | Значение |
|---|--|
|  | <p>Сист. CFX Orus Dx может нагреваться в процессе нормальной работы, вызывая кипение или испарение жидкостей в пробах, создавая давление в контейнерах для проб. Существует возможность повреждения контейнера с пробами, приводящего к протечкам, распылению жидкости или взрывному разрушению и выбросу паров или жидкости в прибор и вокруг него.</p> <p>Пользователям следует всегда работать с прибором с закрытой крышкой или использовать защитные очки, термоперчатки и другие средства индивидуальной защиты во время работы, чтобы избежать травм. Открытие прибора в то время, когда пробы еще остаются горячими, например после прерывания прогона, может привести к протечкам, распылению или выбросу жидкости из контейнеров под давлением. Всегда давайте пробам время остыть, прежде чем открывать крышку.</p> <p>Пользователям никогда не следует проводить реакцию при открытых, ослабленных, проколотых или иным образом поврежденных крышке или пленке на плашках, так как это увеличит вероятность опасного разрыва или взрыва.</p> <p>Пользователям никогда не следует проводить реакцию с летучими реагентами, которые могут увеличить вероятность опасного разрыва или взрыва.</p> |

Соответствие требованиям безопасности и нормативным документам

Соответствие требованиям в отношении безопасности

Сист. CFX Opus Dx протестирована на соответствие всем применимым требованиям следующих стандартов безопасности и электромагнитной совместимости:

- IEC 61010-1:2010 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 1. Общие требования
- IEC 61010-2-010:2019 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-010. Частные требования к лабораторному оборудованию по нагреву материалов
- IEC 61010-2-081:2019 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-081. Частные требования к автоматическим и полуавтоматическим лабораторным приборам для анализа и других целей
- IEC 61010-2-101:2018 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-101. Частные требования к медицинским изделиям для диагностики in vitro (IVD).

- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-1-12:2018 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 1. Общие требования
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-010:19 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-010. Частные требования к лабораторному оборудованию по нагреву материалов
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-081:19 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-081. Частные требования к автоматическим и полуавтоматическим лабораторным приборам для анализа и других целей
- CSA-C22.2 NO. 61010-2-101:19 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-101. Частные требования к медицинским изделиям для диагностики in vitro (IVD).

- EN 61010-1:2010 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 1. Общие требования

- EN 61010-2-010:2014 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-010. Частные требования к лабораторному оборудованию по нагреву материалов
- EN 61010-2-081:2015 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-081. Частные требования к автоматическим и полуавтоматическим лабораторным приборам для анализа и других целей
- EN 61010-2-101:2017 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-101. Частные требования к медицинским изделиям для диагностики in vitro (IVD).

- UL 61010-1:2012 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 1. Общие требования
- UL 61010-2-010:2019 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-010. Частные требования к лабораторному оборудованию по нагреву материалов
- UL 61010-2-081:2019 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-081. Частные требования к автоматическим и полуавтоматическим лабораторным приборам для анализа и других целей
- UL 61010-2-101:19 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-101. Частные требования к медицинским изделиям для диагностики in vitro (IVD).

Электромагнитная совместимость (ЭМС)

Сист. CFX Opus Dx протестирована на соответствие всем применимым требованиям следующих стандартов электромагнитной совместимости:

- EN 61326-1:2012 Электрооборудование для измерения, управления и лабораторного использования — Требования ЭМС — Часть 1. Общие требования. Тестировалось как устройство класса А
- EN 61326-2-6:2012 Электрооборудование для измерения, управления и лабораторного использования — Требования ЭМС — Часть 2–6. Частные требования к медицинским изделиям для диагностики in vitro (IVD)

- EN 61326-1:2013 Электрооборудование для измерения, управления и лабораторного использования — Требования ЭМС — Часть 1. Общие требования. Тестировалось как устройство класса А
- EN 61326-2-6:2013 Электрооборудование для измерения, управления и лабораторного использования — Требования ЭМС — Часть 2–6. Частные требования к медицинским изделиям для диагностики in vitro (IVD)
- FCC Часть 15, подчасть В, разделы 15.107 и 15.109. Тестировалось как цифровое устройство класса А
- CAN ICES-003v6:2019 Стандарт для оборудования, вызывающего помехи, оборудованию информационных технологий (включая цифровые аппараты) — Пределы и методы измерений. Тестировалось в соответствии с пределами класса А

Предупреждения и меры предосторожности по ЭМС

- **Предупреждение.** Изменения или модификации этой установки, не утвержденные в явном виде Bio-Rad, могут аннулировать право пользователя на использование данного оборудования.
- **Примечание.** Это оборудование прошло испытания и признано соответствующим пределам для цифрового устройства класса А согласно части 15 Правил FCC. Эти пределы разработаны для обеспечения разумной защиты от вредных помех, когда оборудование работает в коммерческой обстановке. Если данное оборудование установлено и эксплуатируется с нарушением инструкций, оно генерирует, использует и может излучать энергию в радиочастотном диапазоне, способную вызвать помехи радиосвязи. Эксплуатация данного оборудования в жилых зонах может стать причиной недопустимых помех, которые должны быть устранены пользователем за свой счет.
- **Примечание относительно соответствия FCC.** Хотя оборудование прошло испытания и признано соответствующим пределам для цифрового устройства класса А согласно части 15, подчасти В правил FCC для цифрового устройства класса А, обратите внимание, что подтверждение этого соответствия является добровольным, прибор квалифицируется как «освобожденное устройство» по 47 CFR 15.103(с), в отношении процитированных положений FCC, действующих на момент производства.
- **Примечание относительно кабелей.** Этот прибор проходил испытания на соответствие требованиям ЭМС с использованием специально разработанных кабелей USB, поставляемых вместе с прибором. Эти кабели или одобренные Bio-Rad кабели для замены должны использоваться с данным прибором для обеспечения дальнейшего соответствия пределам излучения по ЭМС.

Требования к окружающей среде

Сист. CFX Opus Dx разработаны для безопасной эксплуатации в условиях окружающей среды, перечисленных в следующей таблице.

Табл. 2. Требования к окружающей среде Сист. ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx

| Параметр | Технические характеристики |
|---|--|
| Рабочая среда | Только внутри помещений |
| Рабочая высота | До 2000 метров над уровнем моря |
| Окружающая температура в помещении | 15–31 °C* |
| Температура транспортировки и хранения | От –20 до 60 °C ** –4 до 140 °F |
| Относительная влажность | От 20% до 80% (без конденсации)*** |
| Рабочая мощность | 100–240 В перем. тока ±10%, 50/60 Гц, не более 850 Вт |
| Колебания напряжения в сети | ±10% |
| Максимальное потребление электроэнергии | < 850 Вт |
| Предохранители | 10 А, 250 В, 5 x 20 мм, быстроперегорающие (кол-во: 2) |
| Класс перенапряжения | II |
| Степень загрязнения | 2 |

* Работа прибора за пределами этого диапазона температур может не соответствовать техническим характеристикам. Безопасной считается комнатная температура от 5 до 40 °C.

** Храните и транспортируйте прибор в транспортной таре для соблюдения этих температурных условий.

*** Эксплуатация прибора при 4 °C должна быть ограничена 18 часами. Хранение прибора при 4 °C может продолжаться до 72 часов, если влажность менее 60% (без конденсации).

Опасные факторы

Сист. CFX Orus Dx обеспечивает безопасную работу при использовании в соответствии с предписаниями производителя. Если система или любой из связанных с ней компонентов используется способом, не указанным производителем, внутренняя защита, обеспечиваемая прибором, может быть нарушена. Bio-Rad не несет ответственности за какие-либо травмы или ущерб, вызванные использованием этого оборудования каким-либо неуказанным образом или модификациями прибора, выполненными кем-то, кроме уполномоченных Bio-Rad специалистов или агентов. Обслуживание Сист. CFX Orus Dx должно выполняться только персоналом, обученным компанией Bio-Rad.

Факторы биологической опасности

Сист. CFX Orus Dx является лабораторным продуктом. Однако при обращении с биологически опасными пробами придерживайтесь излагаемых ниже мер предосторожности и указаний и соблюдайте местные правила, касающиеся вашей лаборатории и региона.

Примечание При нормальной работе прибора не выделяются никакие биологически опасные вещества.

Общие меры предосторожности

- Обязательно используйте лабораторный халат, лабораторные перчатки и защитные очки с боковыми щитками или закрытые защитные очки.
- Не касайтесь руками рта, носа и глаз.
- Полностью закройте любой порез или ссадину перед работой с потенциально инфекционным материалом.
- Тщательно мойте руки водой с мылом после работы с любым потенциально инфекционным материалом перед выходом из лаборатории.
- Снимайте часы и украшения перед работой на рабочем месте.
- Храните весь инфекционный или потенциально инфекционный материал в небьющихся защищенных от утечек сосудах.
- Перед выходом из лаборатории снимайте защитную одежду.
- Не пользуйтесь рукой в перчатке для совершения записей, ответа на телефонный звонок, включения света, не касайтесь ничего, чего могут касаться другие люди без перчаток.
- Часто меняйте перчатки. Сразу снимайте перчатки, если визуальный осмотр покажет, что они загрязнены.

- Не допускайте соприкосновения материалов, надлежащее обеззараживание которых невозможно, с потенциально инфекционным материалом.
- По завершении работы с биологическим опасным материалом обеззараживайте рабочую область соответствующим дезинфицирующим средством (например, раствор хозяйственного отбеливателя 1:10).

Деконтаминация поверхностей



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Для предотвращения поражения электрическим током перед выполнением процедур деконтаминации всегда выключайте прибор и отсоединяйте его кабель питания от источника питания.

Следующие области можно очищать любым бактерицидным, вирулицидным или фунгицидным дезинфицирующим средством, пригодным для применения в лечебных учреждениях:

- наружную крышку и корпус;
- внутреннюю поверхность блока проб и лунки блока проб;
- панель управления и дисплей.

Для получения сведений о подготовке и нанесении дезинфицирующего средства см. инструкции производителя этого средства. После применения дезинфицирующего средства несколько раз протрите реакционный блок и лунки и тщательно их высушите.

Важно! Не используйте абразивные моющие средства, вызывающие коррозию моющие средства или крепкие щелочные растворы. Эти средства могут стать причиной царапин на поверхностях и повреждения блока проб, что приведет к нарушению точности управления температурой.

Утилизация биологически опасных материалов

Утилизируйте в соответствии с местными, региональными и государственными лабораторными нормативами следующие возможно загрязненные материалы:

- клинические пробы;
- реактивы;
- использованные реакционные сосуды и другие расходные материалы, которые могут подвергнуться загрязнению.

Химическая опасность

Сист. CFX Opus Dx не содержит потенциально опасных химических материалов.

Опасность взрыва или воспламенения

Сист. CFX Opus Dx не представляет особой опасности, связанной с воспламеняемостью или взрывом, при правильном использовании в соответствии с указаниями Bio-Rad Laboratories.

Опасность поражения электрическим током

Сист. CFX Orus Dx не представляет особой опасности, связанной с поражением электрическим током, при условии установки и эксплуатации надлежащим образом, без физических модификаций и в случае подключения к источнику питания соответствующей спецификации.

Транспортировка

Перед перемещением или транспортировкой Сист. CFX Orus Dx необходимо выполнить процедуры деконтаминации. Всегда перемещайте или отправляйте систему в отдельном контейнере в прилагаемом Bio-Rad упаковочном материале, который защищает систему от повреждений.

Для получения информации о транспортировке системы и для запроса соответствующего упаковочного материала обращайтесь в местное представительство Bio-Rad.

Аккумулятор

В Сист. CFX Orus Dx используется одна литиево-металлическая батарейка для сохранения настроек времени в случае отключения питания от сети переменного тока. Если настройки времени сбиваются после выключения прибора, это может означать, что батарейки выходят из строя.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Не пытайтесь заменить элементы питания самостоятельно. Они не предназначены для замены пользователем. Обратитесь в техническую поддержку Bio-Rad за помощью.

Только для штата Калифорния, США

- Перхлоратный материал — литиевые батареи содержат перхлоратный материал; может потребоваться особое обращение. См. www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate.

Утилизация

Сист. CFX Orus Dx содержит электрические компоненты; их утилизацию следует производить как утилизацию несортированных отходов и отдельно, согласно Директиве Европейского Союза 2012/19/EU об отходах электрического и электронного оборудования — Директиве WEEE. Перед утилизацией обратитесь к местному представителю компании Bio-Rad за инструкциями для конкретной страны.

Соответствие требованиям безопасности и нормативным документам

Гарантия

На Сист. CFX Opus Dx и ее связанные принадлежности распространяется стандартная гарантия Bio-Rad. Обратитесь в местное представительство Bio-Rad для получения подробной информации о гарантии.

Глава 1 Введение

В высокоэффективных системах амплификации Bio-Rad используются последние технологические достижения, обеспечивающие большую точность и воспроизводимость амплификации нуклеиновых кислот для геномных экспериментов. Линейка продуктов

ПО CFX Maestro Dx, Security Edition Bio-Rad совместимо с этими приборами и представляет оптимизированные файлы прогона для тестов с праймерами и зондами PrimePCR Bio-Rad.

- Система ПЦР в реальном времени CFX Opus 96 Dx (в этом руководстве обозначаемая как CFX Opus 96 Dx)
- Система ПЦР в реальном времени CFX Opus 384 Dx (в этом руководстве обозначаемая как CFX Opus 384 Dx)
- Система ПЦР в реальном времени CFX Opus Deerwell Dx (в этом руководстве обозначаемая как CFX Opus Deerwell Dx)

Используя ПО CFX Maestro Dx, Security Edition (в этом руководстве — CFX Maestro Dx SE), вы можете интерпретировать сложные данные и обрабатывать данные генетического анализа. Всего несколькими щелчками мыши вы можете выполнить настройки под конкретный эксперимент и получить информацию по своему исследованию экспрессии гена с помощью таких инструментов, как *t*-критерии, однофакторный дисперсионный анализ, анализ контрольных проб PrimePCR и выбор референсного гена. Затем вы можете подготовить полученные результаты для публикаций или широкоформатной печати с помощью настраиваемой визуализации данных и средств аннотации CFX Maestro Dx SE.

Примечание Отображение некоторых экранов в CFX Maestro может отличаться от представленных в данном руководстве пользователя. Отображение в программном обеспечении при этом не меняется, функциональность остается такой же.

Важно! Кибербезопасность заключается в защите ресурсов в киберпространстве от кибератак. Кибербезопасность — это способность Bio-Rad обеспечить защиту своих сотрудников, информации, систем и репутации в киберпространстве. Киберпространство — это постоянно подключенный к Интернету мир, отдельные части которого связаны друг с другом с помощью технологий; он состоит из людей, организаций, информации и технологий.

При угрозах кибербезопасности очень важна быстрая реакция! Если вы полагаете, что угроза кибербезопасности затронула ваш прибор или что на вашем месте эксплуатации произошло нарушение кибербезопасности, незамедлительно обратитесь к представителю Bio-Rad для получения технической поддержки.

Основные особенности ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

С помощью CFX Maestro Dx SE можно выполнять следующие действия.

- Анализировать данные с использованием гистограмм, кластерграмм или диаграмм рассеяния для быстрой интерпретации и изучения результатов.
- Настраивать представление данных и экспортировать графики в высоком разрешении для публикации и создания отчета.
- Определять качество РНК и осуществлять поиск и устранение неисправностей в экспериментах с контролем анализа PrimePCR.
- Выбирать подходящий референсный ген и анализировать его стабильность с помощью инструмента выбора референсного гена.
- Выполнять статистический анализ, включая однофакторный дисперсионный анализ в исследовании экспрессии гена.

В данном руководстве пользователя приведено разъяснение всех этих возможностей и методов их использования.

Дополнительные сведения

После установки CFX Maestro Dx SE и настройки связанного с ПО термоциклера Bio-Rad вы можете получить доступ к этому руководству, а также к подробным разделам справки CFX Maestro Dx SE из меню «Справка» в любом виде.

Пояснение. Щелкните логотип Bio-Rad в верхнем правом углу любого окна CFX Maestro Dx SE, чтобы открыть веб-сайт Bio-Rad. На этом веб-сайте содержатся ссылки на технические заметки, руководства, видео, информация о продукте и осуществляется техническая поддержка. Этот веб-сайт также содержит многие технические ресурсы по широкому многообразию методов и приложений, связанных с ПЦР, ПЦР в реальном времени и экспрессии генов.

Глава 2 Установка ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

В этой главе объясняется, как устанавливать ПО CFX Maestro Dx, Security Edition. Информацию о настройке приборов для ПЦР в режиме реального времени, поддерживаемых Bio-Rad, см. в соответствующем руководстве.

CFX Maestro Dx SE требуется для анализа данных ПЦР в реальном времени с использованием систем ПЦР в реальном времени CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx и CFX Opus Deepwell Dx. CFX Maestro используется для управления этими системами в программно-управляемом режиме.

Системы CFX Opus Dx поставляются с USB-кабелем в сумке для принадлежностей. С помощью USB-кабеля подключите компьютер CFX Maestro Dx SE к Сист. CFX Opus Dx.

Снимите все упаковочные материалы и сохраните их для дальнейшего использования. Если какой-либо элемент отсутствует или поврежден, обратитесь в местное представительство Bio-Rad.

Системные требования

В Табл. 3 перечислены минимальные и рекомендуемые системные требования для компьютера, на котором запущено программное обеспечение CFX Maestro Dx SE.

Табл. 3. Системные требования для CFX Maestro Dx SE

| Система | Минимальные | Рекомендуемые |
|--|---|--|
| Операционная система | Microsoft Windows 10 (только 64-разрядная версия), сборка 1511 или новее, с последними обновлениями безопасности. | Microsoft Windows 10 (только 64-разрядная версия), сборка 1511 или новее, с последними обновлениями безопасности. |
| Примечание Windows 11 также поддерживает ПО CFX Maestro Dx, Security Edition. | | |
| Важно! На компьютерах с CFX Maestro Dx SE необходимо отключить безопасную загрузку. Компьютеры с CFX Maestro Dx SE должны быть настроены таким образом, чтобы они не перезагружались автоматически после обновления системы или безопасности, если это обновление устанавливается во время выполнения прогона. Обратитесь к системному администратору за помощью. | | |
| Порты | 2 высокоскоростных порта USB 2.0 | 2 высокоскоростных порта USB 2.0 |
| Пространство на жестком диске | 128 ГБ | 128 ГБ |
| Скорость процессора | 2,4 ГГц, двухъядерный | 2,4 ГГц, четырехъядерный |
| ОЗУ | 4 ГБ ОЗУ | 8 ГБ ОЗУ |
| Разрешение экрана | 1024 × 768 с режимом True Color | 1280 × 1024 с режимом True Color |
| Программа чтения PDF-файлов | | Adobe PDF Reader или Windows PDF Reader из любого из поддерживаемых пакетов Microsoft Office: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2016 ■ 2019 |
| Локализация | Поддерживаемая 64-разрядная ОС Microsoft Windows на английском, китайском или русском языке | Поддерживаемая 64-разрядная ОС Microsoft Windows на английском, китайском или русском языке |

Примечание Если планируется использовать программу CFX Automation Control на том же компьютере, что и CFX Maestro Dx SE, установите разрешение экрана 1280 x 1024 с режимом True Color.

Установка программного обеспечения CFX Maestro Dx SE

Важно! Необходимо отключить все подключенные приборы от компьютера CFX Maestro Dx SE перед установкой или обновлением программного обеспечения. Нет необходимости выключать прибор во время установки программного обеспечения. Убедитесь, что все прогоны сохранены и никакие эксперименты не проводятся.

Примечание Перед началом процедуры установки убедитесь, что безопасная загрузка отключена. Убедитесь, что компьютер настроен таким образом, что он не перезагружается автоматически после обновления системы или протоколов безопасности, если это обновление устанавливается во время выполнения прогона. Обратитесь к системному администратору за помощью.

Для установки программного обеспечения CFX Maestro Dx SE

1. Если требуется, отсоедините все подключенные приборы от компьютера.
Найдите и отсоедините кабель USB прибора на компьютере CFX Maestro Dx SE. Конец кабеля, вставленный в Сист. CFX Opus Dx, отсоединять необязательно.
2. Выполните вход в компьютер CFX Maestro Dx SE с правами администратора.
3. Вставьте диск USB с программным обеспечением CFX Maestro Dx SE в порт USB компьютера.
4. В Проводнике Windows найдите и откройте USB-накопитель с ПО CFX Maestro Dx SE.
USB-накопитель содержит Примечания к выпуску и следующие папки:
 - CFX
 - Drivers (Драйверы)
 - Firmware (Микропрограммное обеспечение)
 - Quick Start (Краткое руководство)Помимо других файлов в папке CFX находится программа установки ПО CFX Maestro Dx SE (CFXMaestroDxSetup.exe).
5. Откройте папку CFX и дважды щелкните по файлу CFXMaestroDxSetup.exe, чтобы запустить установщик.
6. Следуйте инструкциям по установке на экране.
По завершении на рабочем столе компьютера добавится значок Bio-Rad ПО CFX Maestro Dx, Security Edition.

Пояснение. Программа установки CFX Maestro автоматически загрузит руководство пользователя ПО CFX Maestro Dx, Security Edition. Чтобы найти эти руководства, перейдите в меню «Справка» и выберите «Открыть руководства пользователя».

7. После завершения установки можно безопасно извлечь диск USB с программным обеспечением.

Обнаружение подключенных приборов

Во время установки программа установки CFX Maestro Dx SE автоматически устанавливает драйверы прибора на компьютер CFX Maestro Dx SE. CFX Maestro Dx SE обнаруживает подключенные инструменты при запуске программного обеспечения.

Чтобы обнаружить подключенные приборы, выполните следующие действия

1. Если это еще не выполнено, вставьте квадратный (штекерный разъем) конец прилагаемого USB-кабеля типа B в USB-порт типа B на задней стороне основания прибора.
2. Вставьте другой конец (гнездовой) в порт USB на компьютере CFX Maestro Dx SE.
3. Если прибор еще не работает, нажмите выключатель на приборе для его запуска.
4. Запустите CFX Maestro Dx SE.

Программа автоматически обнаруживает подключенный прибор и отображает его имя на панели Обнаруженные приборы в начальном окне.

Примечание Если прибор не появляется в панели Обнаруженные приборы, убедитесь, что кабель USB подключен правильно. Чтобы повторно установить драйверы, в начальном окне в CFX Maestro Dx SE выберите Сервис > Переустановка драйверов прибора.

Файлы программы

В Табл. 4 перечислены типы файлов CFX Maestro Dx SE.

Табл. 4. Типы файлов CFX Maestro Dx SE

| Тип файла | Расширение | Подробные сведения |
|--|------------|--|
| Протокол | .prcl | Содержит сведения о настройке протокола для выполнения прогона ПЦР. |
| Плашка | .pltd | Содержит сведения о схеме плашки для выполнения прогона ПЦР. |
| Данные | .pcrd | Содержит результаты прогона эксперимента и анализа ПЦР. |
| Прогон PrimePCR | .csv | Содержит протокол и схему плашки для плашек PrimePCR. |
| Исследование генов | .mgxd | Содержит результаты нескольких прогонов ПЦР и анализ экспрессии гена. |
| Автономный файл предварительных данных | .zpcr | Содержит показания флуоресценции в автономном режиме работы, преобразованные в файл данных. |
| LIMS | .plrn | Содержит схему плашки и информацию протокола, требующиеся для выполнения прогона, совместимого с LIMS. |
| .JSON | .json | Предназначенный только для чтения файл, создаваемый только системами CFX Opus Dx , который содержит данные файла прогона, отображающиеся на панели сведений в проводнике, когда выбран файл прогона. Этот файл генерируется по завершении прогона. Он экспортируется с файлом .zpcr и сохраняется с файлами данных, когда местоположением для сохранения является либо USB-накопитель, либо общая сетевая папка. |

Глава 3 Управление учетными записями пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

В ПО CFX Maestro Dx, Security Edition пользователи выполняют вход, используя свои имя пользователя и пароль Windows. Пользователю, который выполнил установку CFX Maestro Dx SE, автоматически назначается роль администратора, и он может создавать и изменять учетные записи и роли пользователей. Всем другим пользователям должна быть назначена учетная запись пользователя, чтобы они могли выполнить вход в программное обеспечение и использовать его.

Важно! У каждого пользователя должна иметься учетная запись и пароль Windows на компьютере CFX Maestro Dx SE, прежде чем ему можно будет назначить учетную запись и роль пользователя. Пользователи могут быть членами либо группы Пользователи Windows, либо группы Администраторы Windows. Члены группы Пользователи Windows получают доступ только к собственным файлам и папкам CFX Maestro Dx SE. Члены группы Администраторы Windows получают доступ к файлам и папкам всех пользователей на компьютере.

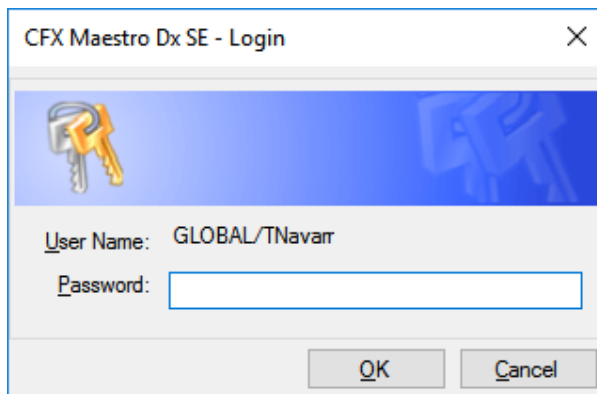
В данной главе разъясняется порядок создания пользователей Microsoft Windows для их добавления в CFX Maestro Dx SE. В этом разделе также разъясняется, как добавлять пользователей CFX Maestro Dx SE и управлять ролями и разрешениями пользователей.

Запуск ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

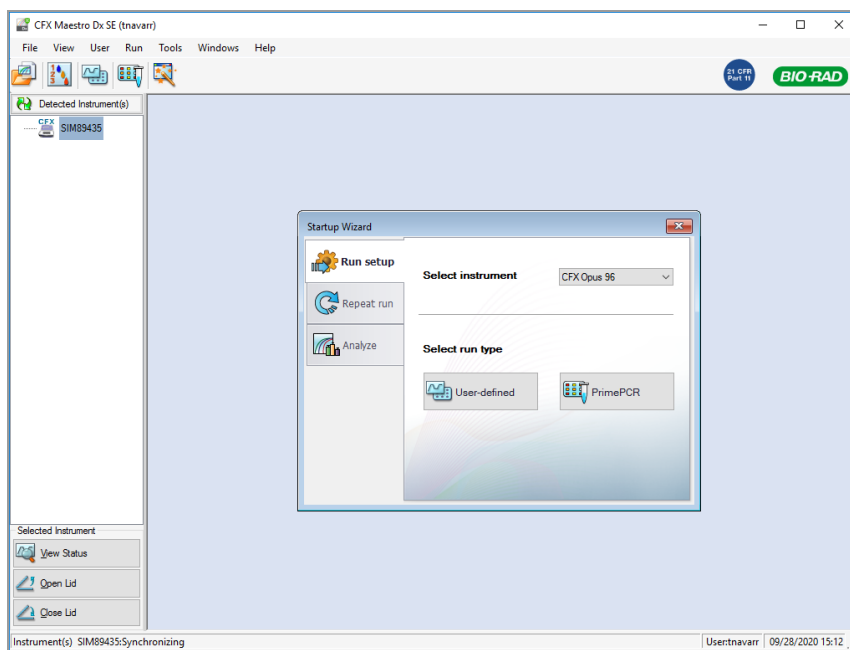
Примечание Каждый пользователь должен выполнить вход в систему, введя имя пользователя и пароль Windows.

Чтобы запустить CFX Maestro Dx SE, выполните следующие действия

1. Щелкните ярлык CFX Maestro Dx SE для запуска приложения на рабочем столе компьютера CFX Maestro Dx SE.
2. В диалоговом окне Вход введите пароль Windows и щелкните ОК.



CFX Maestro Dx SE открывает начальное окно. В строке заголовка отображается имя пользователя Windows, выполнившего вход в систему, а в строке меню отображается синяя наклейка, указывающая, что программа соответствует требованиям 21 CFR часть 11, например:



Добавление пользователей Microsoft Windows на компьютер ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

Каждый пользователь должен выполнить вход в систему компьютера CFX Maestro Dx SE, введя имя пользователя и пароль Windows. Для корректного ведения контрольного журнала нельзя добавлять учетные записи пользователей Windows через меню Пуск > Параметры > Учетные записи. Учетные записи пользователей Windows **необходимо** добавлять через консоль управления компьютером.

Важно! Изменения свойств пользователя Windows (включая «Имя пользователя» и «Полное имя») после создания связанного пользователя CFX Maestro Dx SE делают недействительным пользователя CFX Maestro Dx SE. Проверьте правильность информации, прежде чем сохранить пользователя Windows и приступить к созданию связанного пользователя CFX Maestro Dx SE.

Пояснение. Ознакомьтесь с документацией по администрированию Microsoft Windows и обратитесь к своему системному администратору Windows, чтобы получить более подробную информацию, прежде чем создавать учетные записи Windows.

Добавление учетных записей пользователей Windows на компьютер CFX Maestro Dx SE

1. Выполните вход в компьютер CFX Maestro Dx SE в качестве члена группы Администратор Windows.
2. Щелкните правой кнопкой мыши значок «Мой компьютер» на рабочем столе и выберите «Управление», чтобы открыть консоль управления компьютером.
3. В консоли управления компьютером разверните вкладку «Локальные пользователи и группы».
4. Щелкните правой кнопкой мыши папку «Пользователи» и выберите «Новый пользователь», чтобы открыть диалоговое окно «Новый пользователь».

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

- User name: [text input]
- Full name: [text input]
- Description: [text input]
- Password: [password input]
- Confirm password: [password input]
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons at the bottom: Help, Create, Close.

5. В диалоговом окне «Новый пользователь» необходимо заполнить следующие поля:

- Имя пользователя
- Полное имя
- Пароль
- Подтверждение пароля

6. Щелкните «Создать».

Добавление и удаление пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

Пояснение. Только пользователи с ролью Администратора CFX Maestro Dx SE могут создавать и удалять учетные записи пользователей CFX Maestro Dx SE. Пользователю, который выполнил установку CFX Maestro Dx SE, автоматически назначается роль администратора. Этот пользователь может назначать роль Администратора другим пользователям.

Примечание В CFX Maestro Dx SE по меньшей мере у одного пользователя должна быть роль Администратор.

Чтобы добавить учетные записи пользователей CFX Maestro Dx SE, выполните следующие действия

1. Убедитесь, что каждый планируемый пользователь является членом либо группы Пользователи Windows, либо группы Администраторы Windows и имеет пароль Windows на компьютере CFX Maestro Dx SE.
2. Запустите CFX Maestro Dx SE и войдите в систему как администратор.
3. В начальном окне выберите Пользователь > Администрирование пользователей.

Открывается диалоговое окно «Администрирование пользователей».

The screenshot shows the 'User Administration' dialog box. It is divided into two main sections:

Manage Users

| | User Name | Full Name | Role | Domain | Remove |
|---|-----------|----------------|---------------|--------------|--------------------------|
| 1 | tnavarr | Theresa Navaro | Administrator | GLOBAL | <input type="checkbox"/> |
| 2 | vbala | Vivek Balaguru | Principal | USHERJ28KYF2 | <input type="checkbox"/> |
| 3 | msnyder | Matther Snyder | Principal | USHERJ28KYF2 | <input type="checkbox"/> |
| 4 | bbrizel | Bradley Brizel | Operator | GLOBAL | <input type="checkbox"/> |
| 5 | Guest | Guest User | Guest | USHERJ28KYF2 | <input type="checkbox"/> |
| 6 | | | | | <input type="checkbox"/> |

Manage Rights (Managed by Administrator only)

| | Rights | Principal | Operator | Guest |
|----|--|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| 1 | Start, pause and abort runs | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2 | Add repeats to a run | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3 | Perform skip steps | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4 | Perform instrument calibration | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5 | Apply different calibrations to a data | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6 | Edit or replace plate during run | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7 | Edit or replace the plate after a run | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8 | Rename instruments | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9 | Save any file | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10 | Change threshold and baselines | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11 | Print reports | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 12 | Setup Email | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Buttons at the bottom: Restore Default Rights, OK, Cancel.

4. В разделе «Управление пользователями» предоставьте следующую информацию для каждого пользователя.

- **Имя пользователя** — в CFX Maestro Dx SE оно **должно** соответствовать имени пользователя для входа в Windows.

- **Полное имя** — полное имя пользователя.

Это имя отображается в поле «Полное имя» пользователя в контрольном журнале. Это имя должно быть идентично имени, введенному в поле «Полное имя» при создании пользователя Windows.

- **Роль** — роль, которую требуется назначить пользователю.

Примечание Можно выбрать только одну роль из раскрывающегося списка. Для получения дополнительной информации см. раздел [Управление ролями пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition](#).

- **Домен** — домен Windows, из которого пользователь осуществляет доступ к программному обеспечению.

Обратитесь к своему системному администратору Windows, чтобы получить более подробную информацию.

- Щелкните «ОК» и затем щелкните «Да», чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно «Администрирование пользователей».

Чтобы удалить учетную запись пользователя CFX Maestro Dx SE, выполните следующие действия

- Запустите CFX Maestro Dx SE и войдите в систему как администратор.
- В начальном окне выберите Пользователь > Администрирование пользователей, чтобы открыть диалоговое окно «Администрирование пользователей».
- В панели Управление пользователями выберите «Удалить» для каждого пользователя, которого требуется удалить.
- Щелкните «ОК» и затем щелкните «Да», чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно «Администрирование пользователей».

Управление ролями пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

Важно! В CFX Maestro Dx SE требуется, чтобы по меньшей мере одному пользователю была присвоена роль Администратор. Вы можете назначить эту роль нескольким пользователям.

CFX Maestro Dx SE предлагает четыре роли пользователей. Каждому пользователю должна быть назначена роль, чтобы он мог выполнить вход в программное обеспечение. Хотя пользователям может быть назначена только одна роль, вы можете изменить роль пользователя в любое время.

Можно менять права, назначенные каждой роли, кроме роли Администратор. Все пользователи, которым назначена роль, получают только права этой роли.

По умолчанию каждая роль обладает следующими правами.

- Администратор — эта роль имеет все права; вы не можете изменить эти разрешения.
- Принципал — эта роль имеет все разрешения, кроме настройки электронной почты.
- Оператор — эта роль имеет все права, кроме пропуска циклов и настройки электронной почты.
- Гость — у этой роли есть право только на чтение файлов.

При назначении ролей в CFX Maestro Dx SE тщательно определите требования для каждого пользователя. Например, пользователи без права на сохранение, которым назначена роль Гость,

не смогут подписать файл. Без разрешения на создание учетной записи электронной почты ни одна из ролей не получит электронную почту после завершения запуска.

Чтобы изменить разрешения для роли

1. Запустите CFX Maestro Dx SE и войдите в систему как администратор.
2. В начальном окне выберите Пользователь > Администрирование пользователей, чтобы открыть диалоговое окно «Администрирование пользователей».
3. В разделе «Управление правами» для каждой роли снимите или установите флажок возле нужных разрешений.
4. Щелкните ОК и затем щелкните Да, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно Администрирование пользователей.

Просмотр собственной роли и прав

Пояснение. Пользователи, которым назначены роли Принципал, Оператор или Гость, могут просматривать только свои настройки пользователя, права и роли. Пользователи, которым назначена роль администратора, могут просматривать права и роли всех пользователей.

Порядок просмотра собственной роли и прав пользователя

- ▶ В начальном окне выберите Пользователь > Администрирование пользователей.

Свяжитесь с администратором CFX Maestro Dx SE, чтобы изменить настройки, права и роли пользователей, перечисленные в окне «Администрирование пользователей».

Глава 4 Использование ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

Важно! ПО CFX Maestro Dx, Security Edition использует проверку подлинности пользователей Microsoft Windows для подтверждения доступа к защищенным файлам данных CFX. Обратитесь к своему администратору Windows для создания среды, которая соответствует требованиям 21 CFR, часть 11.

С помощью CFX Maestro Dx SE пользователи могут

- Подписывать данные и файлы исследования гена.
- Защищать паролем файлы данных.
- Просматривать и распечатывать контрольные журналы.

Данный раздел приводит подробные инструкции по использованию этих возможностей.

Защищенные файлы

По умолчанию CFX Maestro Dx SE сохраняет защищенные файлы в личную папку выполнившего вход пользователя, которая расположена по пути

```
C:\Users\\Documents\Bio-Rad\CFX_MDX\My qPCR
```

В этой папке можно сохранять и редактировать файлы .pcrd. Эта папка содержит ссылки на другие папки (например, папку образцов файлов), содержащие файлы только для чтения. Однако администратор может удалить содержимое этой папки.

Пояснение. Как вариант, ваш системный администратор Windows может создать общую папку, и ваш администратор CFX Maestro Dx SE может запрограммировать программное обеспечение сохранять все файлы в эту папку.

В CFX Maestro Dx SE файлы плашки, протокола, данных и исследования гена помечаются как защищенные в момент сохранения. Можно создавать эти файлы в ПО CFX Maestro или в CFX Maestro Dx SE. После того как они будут сохранены в CFX Maestro Dx SE, эти файлы можно открыть только в CFX Maestro Dx SE

CFX Maestro Dx SE создает контрольный журнал для всех защищенных файлов данных и файлов исследования гена (файлы .pcrd и .mgxd соответственно). Программное обеспечение записывает

всю подлежащую аудиту активность в контрольный журнал файла. Для получения дополнительной информации см. раздел [Контрольные журналы на стр. 329](#).

Подписывание защищенных файлов

После сохранения файла в CFX Maestro Dx SE пользователи могут добавить электронную подпись. Для подписывания файла требуется, чтобы роли пользователя было предоставлено разрешение на сохранение файла. Например, по умолчанию роль «Гость» не имеет разрешения на сохранение файла, соответственно, пользователи, которым назначена эта роль, подписать файл не могут.

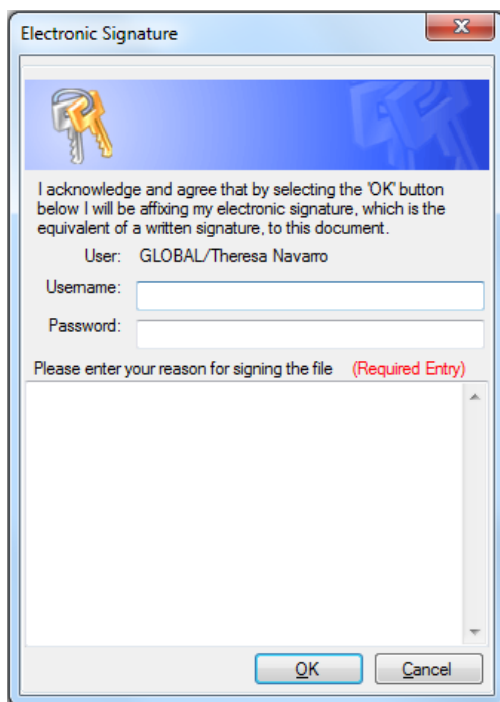
В CFX Maestro Dx SE подписанные файлы не становятся предназначенными только для чтения. Их можно извлечь, изменить и подписать несколько раз. Все изменения и подписи записываются в контрольном журнале файла. Можно подписывать следующие типы файлов:

- файлы данных (.pcrd);
- файлы исследования гена (.mgxd).

Примечание Файлы должны быть сохранены, прежде чем их можно будет подписать. Если вы недавно выполнили прогон в CFX Maestro Dx SE, сначала сохраните итоговый файл данных.

Чтобы подписать файл, выполните следующие действия.

1. Войдите в CFX Maestro Dx SE с данными учетной записи Windows.
2. Откройте защищенный файл данных или файл исследования гена для подписания.
3. Выберите Файл > Подписать. Откроется диалоговое окно «Электронная подпись».



4. Введите свои имя пользователя и пароль Windows и причину подписания файла.

Имя пользователя и причина для подписания сохраняются в контрольном журнале (для получения подробной информации см. раздел [Контрольные журналы на стр. 329](#)).

5. Нажмите ОК, чтобы отправить подпись и закрыть диалоговое окно.

Изменение защищенных файлов

В CFX Maestro Dx SE пользователи могут изменять защищенные файлы, включая подписанные и не подписанные файлы данных и исследования гена. Программное обеспечение предлагает пользователю указать причину изменения, когда пользователь сохраняет измененный защищенный файл или файл исследования гена. Изменения записываются в контрольном журнале файла.

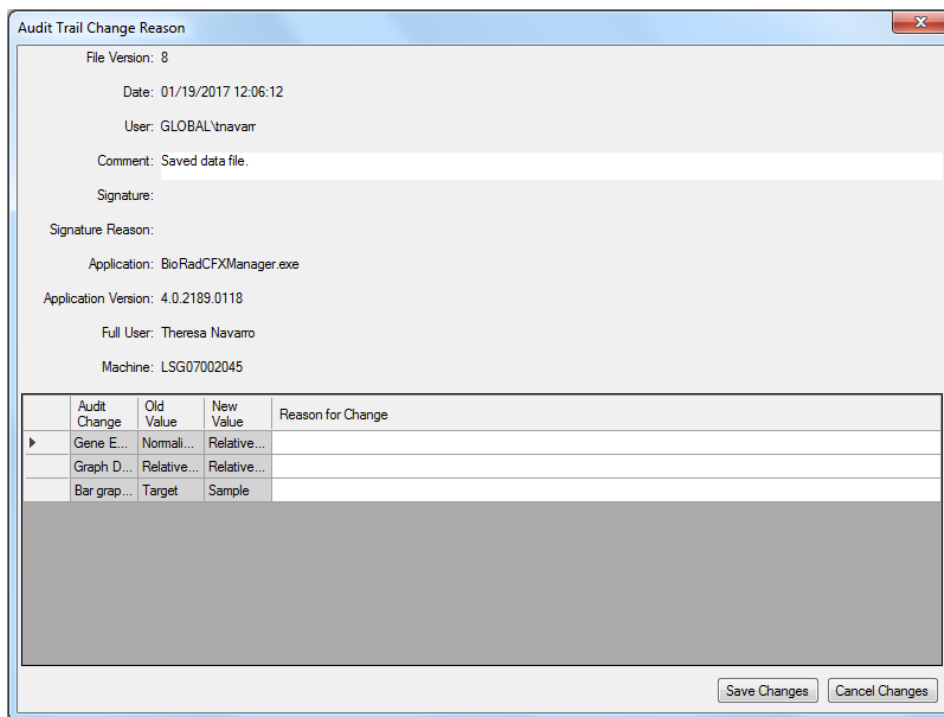
Пояснение. Так как программное обеспечение не создает контрольные журналы для файлов плашки или протокола, пользователю не предлагается предоставить причину при сохранении изменений, внесенных в эти файлы.

Чтобы сохранить измененный файл данных или файл исследования гена, выполните следующие действия

1. Войдите в CFX Maestro Dx SE с данными учетной записи Windows.
2. Откройте и измените защищенный файл данных или файл исследования гена.

Пояснение. Список действий, подлежащих аудиту, см. в разделе [Подлежащие аудиту события на стр. 331](#).

3. Выберите Файл > Сохранить. Откроется диалоговое окно «Причина изменения для контрольного журнала».



Это диалоговое окно отображает следующую информацию, которая собирается в заголовке контрольного журнала для каждого события изменения.

- **Дата** — дата, в которую выполнено изменение.
- **Пользователь** — домен Windows и имя вошедшего в систему пользователя.
- **Комментарий** — последний сохраненный комментарий.
- **Подпись** — электронная подпись последнего человека, который подписал файл.
- **Причина для подписи** — причина подписания.

- **Приложение** — CFX Maestro Dx SE (отображается как BioRadCFXManager.exe, что является правильным).
- **Версия приложения** — текущая версия приложения CFX Maestro Dx SE.
- **Полное имя пользователя** — полное имя пользователя, выполнившего вход.
Примечание Это имя отображается в контрольном журнале.
- **Компьютер** — компьютер, на котором установлено ПО.

Таблица изменений отображает подлежащие аудиту изменения, которые произошли в результате изменения файла. Также может отображаться краткое описание причины изменения.

Пояснение. Можно добавлять или редактировать описания в столбце Причина изменения.

4. Просмотрите список изменений. Приведите подробные причины, если требуется.
5. Выполните одно из следующих действий.
 - Щелкните «Сохранить изменения», чтобы сохранить изменения файла, а также все изменения, внесенные в таблицу, и закройте диалоговое окно.

Изменения, внесенные в файл, и причины изменений появятся в контрольном журнале файла.
 - Щелкните «Отменить изменения», чтобы вернуть предыдущее состояние файла и закрыть диалоговое окно.

Изменения не сохраняются в файл, и контрольный журнал не обновляется.

Защита паролем

В качестве дополнительного уровня безопасности, CFX Maestro Dx SE позволяет пользователям установить пароли на все конфиденциальные файлы. При установке паролей на конфиденциальный файл, рассмотрите следующие условия:

| Условие | Действие |
|--|---|
| Пароль не требуется | Все пользователи могут открывать, менять и сохранять конфиденциальный файл, при наличии соответствующих разрешений. |
| Файл требует пароль для сохранения. | Все пользователи могут открывать конфиденциальный файл, и те пользователи, которые знают пароль для сохранения, могут менять и сохранять конфиденциальный файл. |
| Файл требует пароль для открытия. | Только пользователи, которые знают пароль для открытия, могут открывать, менять и сохранять конфиденциальный файл. |
| Файл требует пароли для открытия и для сохранения. | Некоторые пользователи могут открывать конфиденциальный файл, и подгруппа этих пользователей может менять и сохранять его. |

В зависимости от роли пользователя, любой пользователь может использовать функцию Сохранить как, чтобы создавать новый конфиденциальный файл под другим именем или сохранять файл с этим же именем в другом местоположении, пока выполняется какое-либо из следующих условий:

- Конфиденциальный файл не защищен паролем.
- У пользователя есть пароль на открытие файла.

Пояснение. Новый файл сохраняется без защиты паролем. Исходный файл сохраняет свои пароли.

В зависимости от роли, пользователь может менять и сохранять исходный файл, пока выполняется какое-либо из следующих условий:

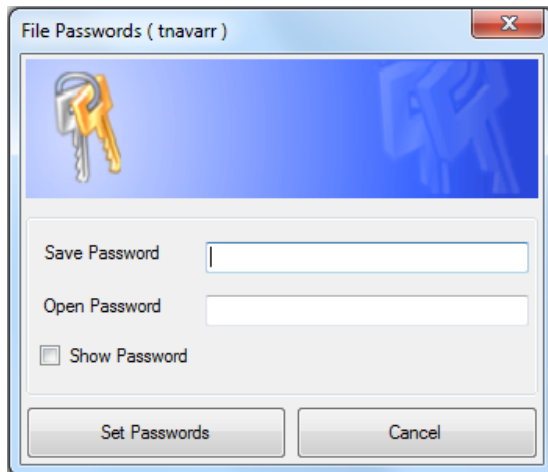
- Файл не защищен паролем.
- У пользователя есть пароль на открытие и пароль на сохранение файла.

Примечание Роль пользователя должна включать в себя право на сохранение файлов, чтобы устанавливать пароли. Например, пользователи с ролью Гость не могут сохранять файлы, и соответственно, не могут устанавливать пароли на файл.

Важно! Только администраторы CFX Maestro Dx SE могут сбрасывать или удалять пароли.

Чтобы защитить файл паролем

1. Войдите в CFX Maestro Dx SE с учетными данными Windows.
2. Откройте конфиденциальный файл.
3. Выберите Файл > Пароли файлов. Откроется диалоговое окно Пароли файлов.



4. Введите пароли в поля Пароль на сохранение и Пароль на открытие.

Пояснение. По умолчанию пароли при вводе отображаются звездочками. Выберите Показывать пароль, чтобы пароль отображался при наборе.

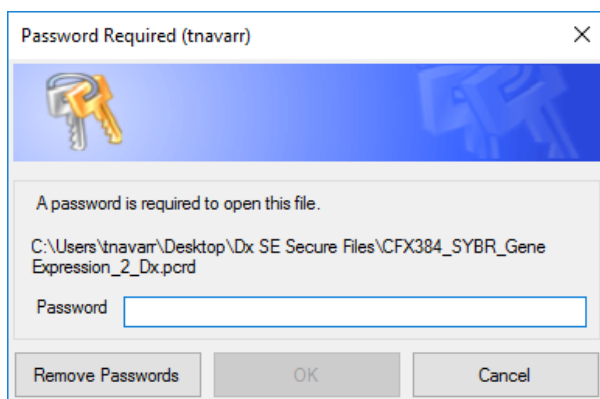
Важно! Пароли чувствительны к регистру. CFX Maestro Dx SE не устанавливает ограничений на пароли. Наилучшим способом будет обратиться к системному администратору, чтобы узнать требования к паролям в вашем учреждении.

5. Щелкните Установить пароли, чтобы установить пароли и закрыть диалоговое окно.
6. Выберите Файл > Сохранить, чтобы сохранить изменения, внесенные в файл.

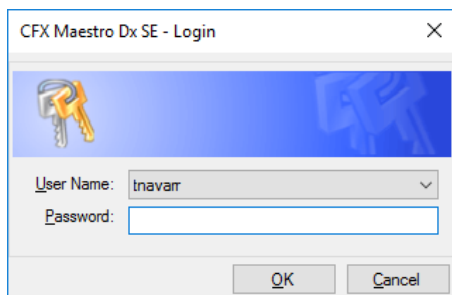
Чтобы удалить пароли

Важно! Необходимо быть администратором CFX Maestro Dx SE, чтобы удалить пароли.

1. В диалоговом окне Требуется пароль щелкните Удалить пароли.



Откроется диалоговое окно входа в CFX Maestro Dx SE.



2. Укажите имя пользователя Windows и пароль для администратора CFX Maestro Dx SE и щелкните ОК.

Появится исходный файл данных.

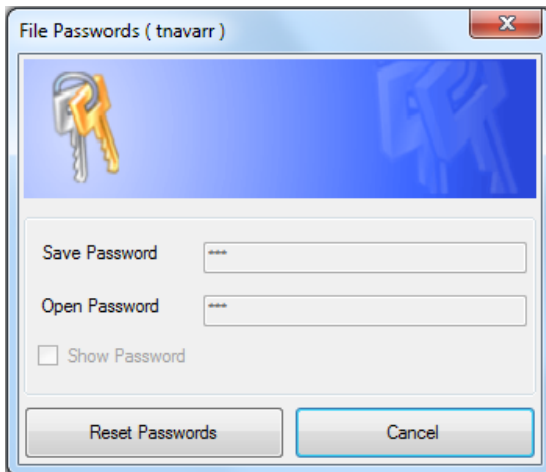
Важно! Необходимо сохранить файл, чтобы удалить пароли.

3. Выберите Файл > Сохранить, чтобы сохранить изменения, внесенные в файл.

Чтобы изменить пароли

Важно! Только администраторы CFX Maestro Dx SE могут изменять пароли.

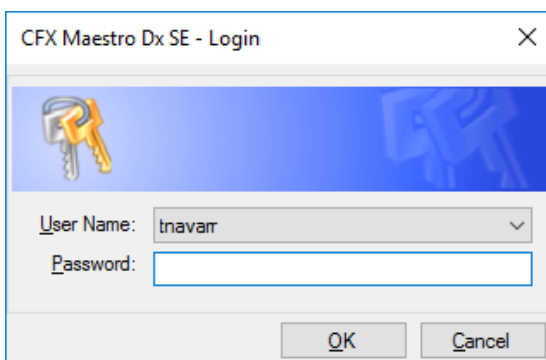
1. Откройте конфиденциальный файл.
2. Выберите Файл > Пароли файлов. Откроется диалоговое окно Пароли файлов.



Пояснение. Пароль на сохранение, Пароль на открытие и Показать пароль отключены.

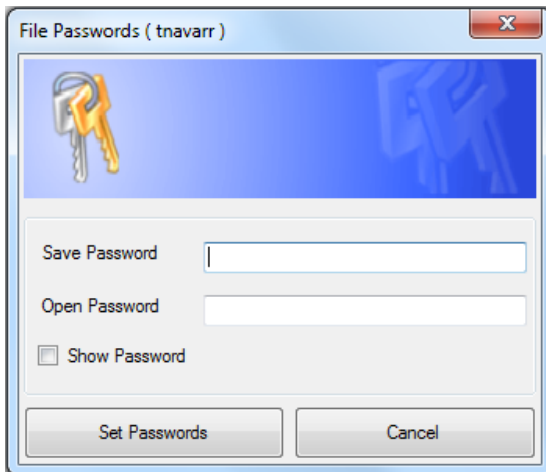
3. Щелкните Сбросить пароли.

Откроется диалоговое окно входа в CFX Maestro Dx SE.



4. Укажите имя пользователя Windows и пароль для администратора CFX Maestro Dx SE и щелкните ОК.

Откроется диалоговое окно Пароли файлов.



5. Выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы заново установить защиту паролем, введите новый пароль в соответствующем поле для пароля.
 - Чтобы убрать защиту паролем, очистите поля для пароля.
6. Щелкните Установить пароли, чтобы сохранить изменение пароля и закрыть диалоговое окно.

Глава 5 Рабочая область

ПО CFX Maestro Dx, Security Edition предоставляет интерфейс для настройки плашек, разработки протоколов ПЦР, выполнения их на приборах CFX Opus Dx Deepwell Dx, а также для анализа данных прогонов ПЦР.

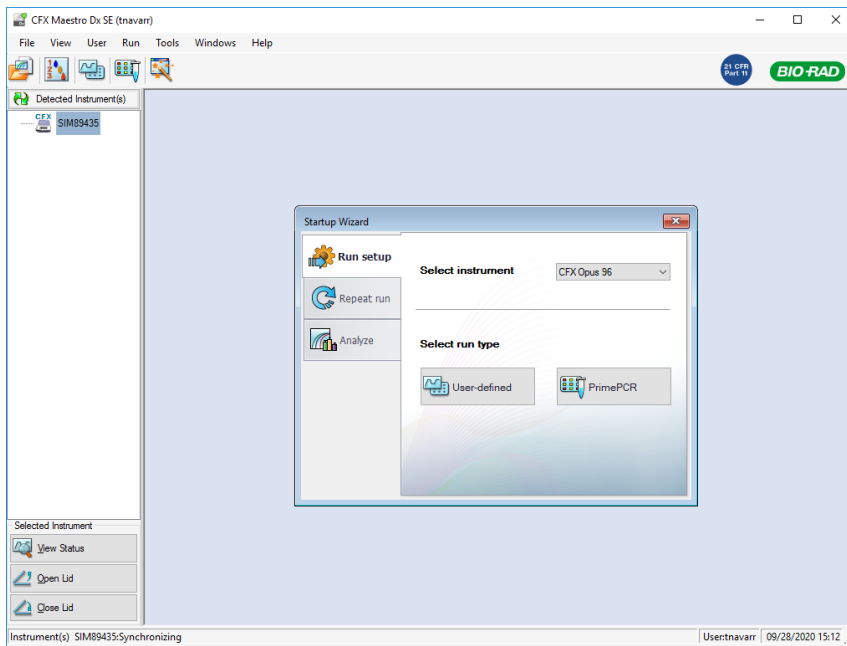
CFX Maestro Dx SE представляет пять основных рабочих областей.

- Начальное окно
- Мастер запуска
- Окно Редактор протокола
- Окно Редактор плашки
- Окно Анализ данных

В настоящей главе приводится краткое описание каждой из этих рабочих областей.

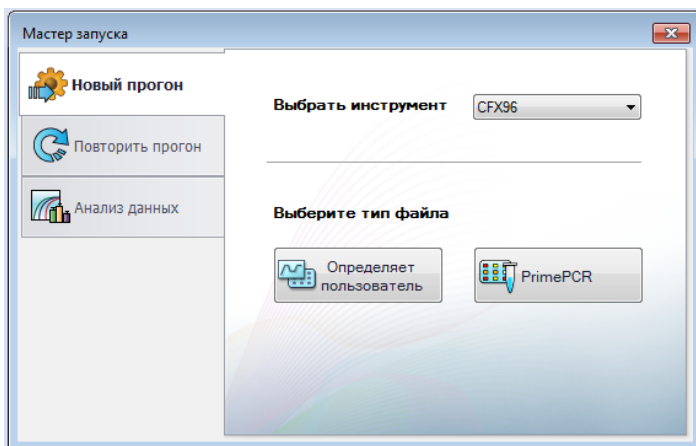
Начальное окно

CFX Maestro Dx SE открывает начальное окно и отображает Мастер запуска, из которого можно настроить эксперимент, выполнить или повторить прогон или проанализировать существующий прогон. Из начального окна также можно просматривать журналы приложения и приборов, создавать пользователей и управлять их настройками, открывать разные полезные инструменты. Для получения дополнительных сведений см. [Глава 6, Начальное окно](#).



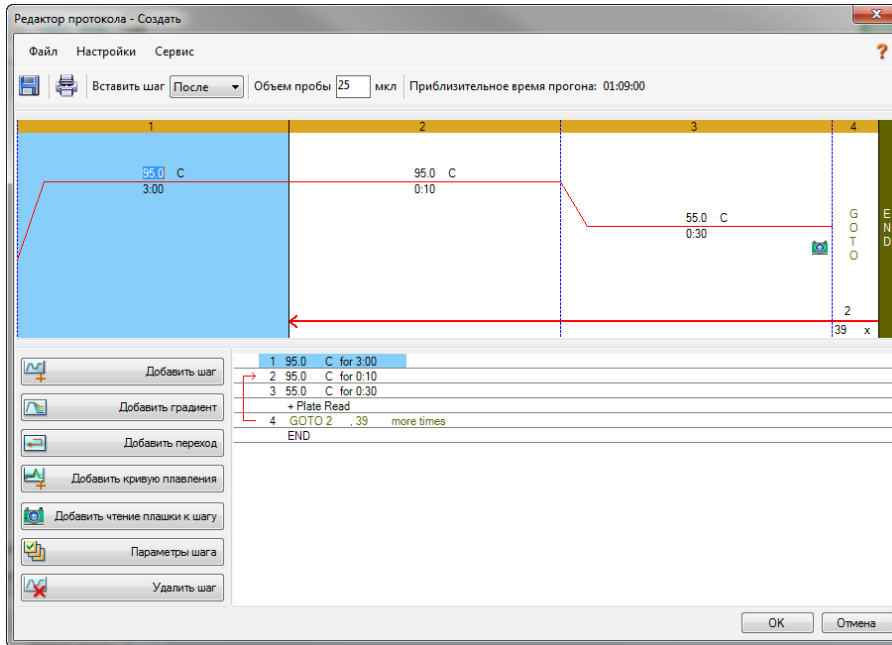
Мастер запуска

Используйте Мастер запуска для быстрого создания и проведения определяемых пользователем экспериментов или для выбора и проведения эксперимента PrimePCR. Кроме того, этот мастер можно использовать для повторения прогона или анализа данных прогона.



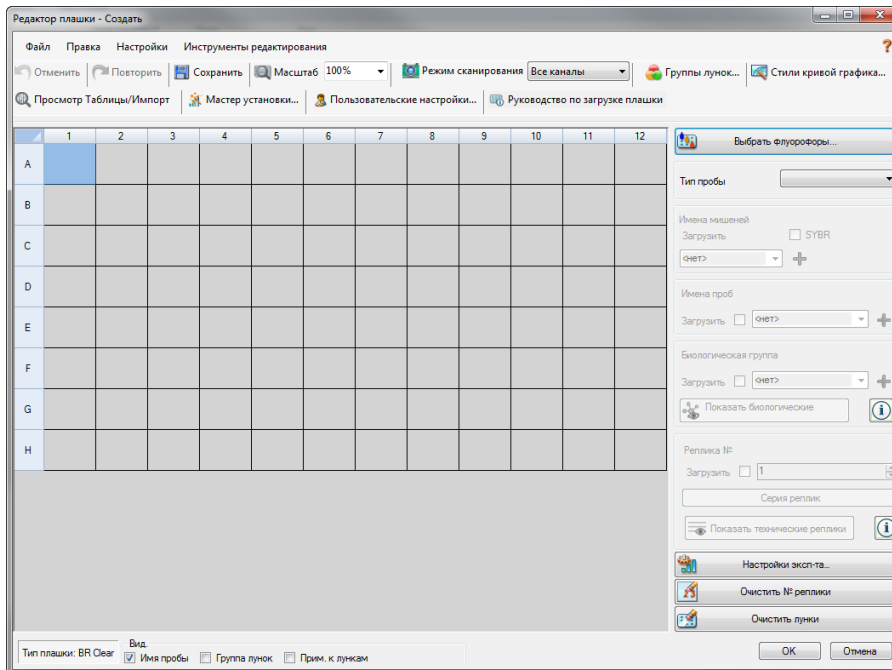
Окно Редактор протокола

В Редакторе протокола можно создать, открыть, просмотреть и отредактировать протокол. Также можно изменить температуру крышки для открытого протокола. Функциональные возможности окна «Редактор протокола» подробно описаны в [Глава 7, Создание протоколов](#).



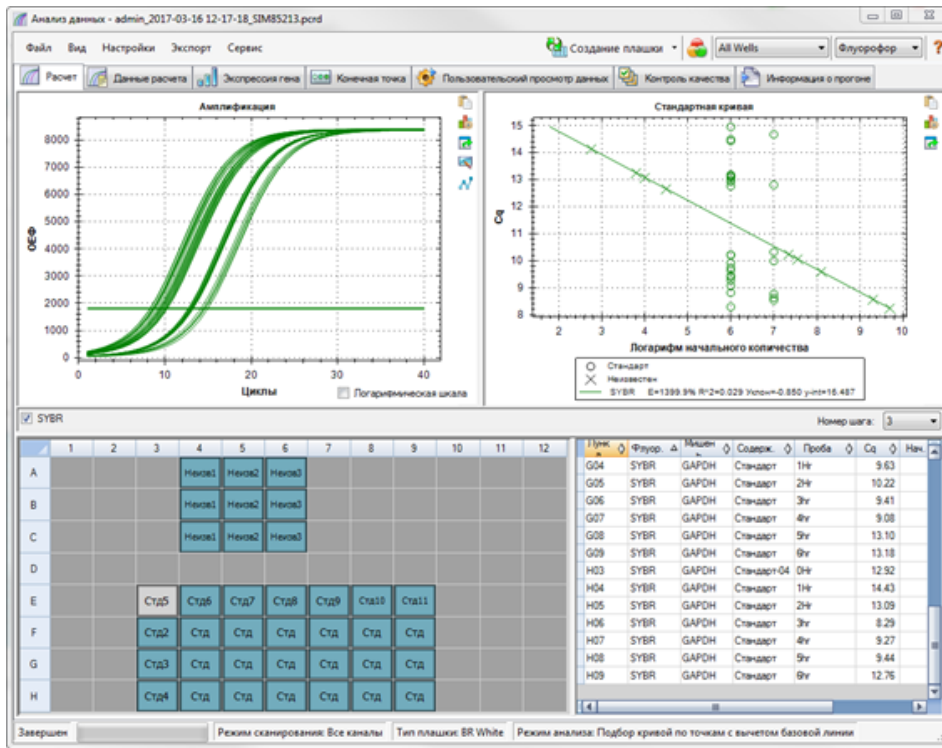
Окно Редактор плашки

В Редакторе плашки можно создать, открыть, просмотреть и отредактировать плашку. Функциональные возможности окна «Редактор плашки» подробно описаны в [Глава 8, Подготовка плашек](#).



Окно Анализ данных

В окне Анализ данных можно просматривать и сравнивать данные прогонов, выполнять статистический анализ, экспортировать данные и создавать готовые к публикации отчеты. Функциональные возможности анализа данных подробно описаны в [Глава 10, Обзор анализа данных](#), и [Глава 11, Сведения об анализе данных](#).



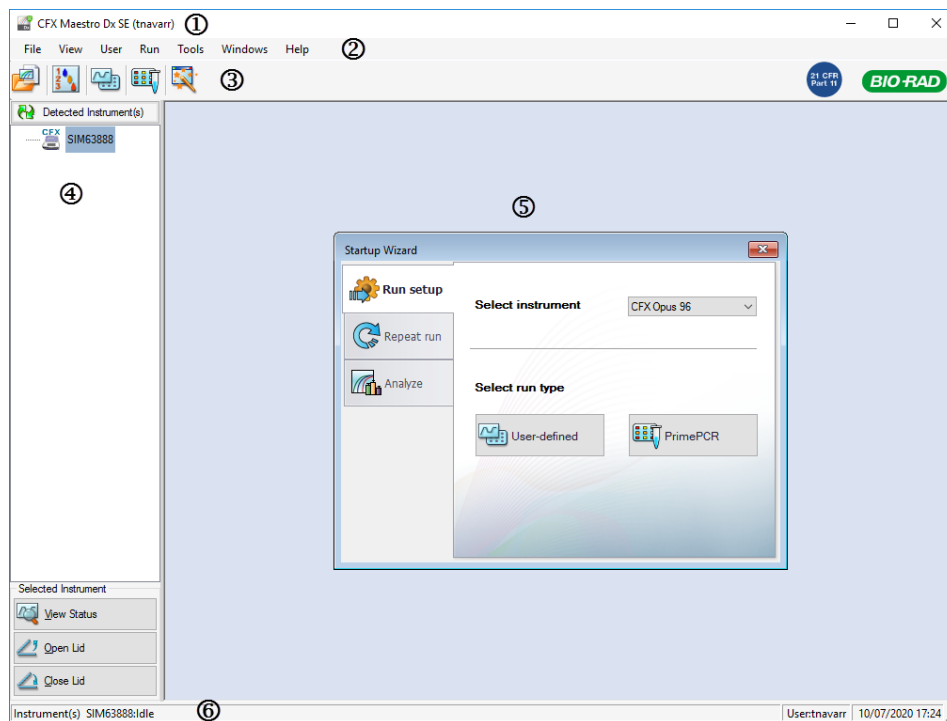
Глава 6 Начальное окно

ПО CFX Maestro Dx, Security Edition предоставляет интерфейс для разработки протоколов ПЦР, их запуска на приборах, поддерживающих систему CFX Dx, и анализа данных прогона ПЦР.

В этой главе описывается CFX Maestro Dx SE и функции, доступные из начального окна.

Начальное окно

CFX Maestro Dx SE открывает начальное окно и отображает Мастер запуска, из которого можно запустить прогон, выполнить или повторить прогон или проанализировать существующий прогон. Из начального окна также можно просматривать журналы приложения и приборов, создавать пользователей и управлять их настройками, открывать разные полезные инструменты.



УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

1. Строка заголовка ПО отображает название программы и пользователя, выполнившего вход.
2. Строка меню обеспечивает быстрый доступ к опциям меню Файл, Вид, Пользователь, Прогон, Сервис, Windows и Справка.
3. Опции панели инструментов предоставляют быстрый доступ к параметрам меню.
4. На левой панели отображаются приборы, подключенные к компьютеру CFX Maestro Dx SE, и находятся кнопки, с помощью которых можно управлять крышкой и просматривать состояние приборов.

5. В главной панели располагается рабочее окно. Рабочим окном по умолчанию на начальном экране является Мастер запуска.

6. В строке состояния отображаются названия подключенных приборов и вошедший в систему пользователь.

Опции меню Файл

Создать — открывает диалоговое окно, в котором можно выбрать создание протокола, плашки или исследование генов.

Открыть — открывает диалоговое окно, в котором можно найти и открыть существующий протокол, плашку, файл данных, исследование генов, файл LIMS, прогон с автономного прибора (автономный прогон) или файл прогона PrimePCR.

Последние файлы данных — отображает список недавно открывавшихся файлов ПЦР.

Повторить прогон — открывает Проводник Windows на расположении сохраненных файлов ПЦР, в котором можно найти прогон для повторения.

Выход — закрывает CFX Maestro Dx SE.

Опции меню Вид

Журнал приложения — отображает журнал использования ПО от первой установки до текущего момента.

Отчеты о прогонах — отображает перечень отчетов о прогонах.

Мастер запуска — отображает Мастер запуска в главной панели.

Новый прогон — отображает окно Создать прогон в главной панели.

Приборы — отображает окно Приборы в главной панели.

Обнаруженные приборы — отображает/отменяет отображение подключенных приборов в левой панели. По умолчанию программное обеспечение отображает подключенные приборы в левой панели.

Toolbar (Панель инструментов) — включает и выключает режим отображения панели инструментов в верхней части экрана. По умолчанию программное обеспечение отображает панель инструментов.

Status Bar (Строка состояния) — включает и выключает режим отображения строки состояния в нижней части экрана. По умолчанию программное обеспечение отображает строку состояния.

Отобразить — открывает диалоговое окно, из которого можно выполнять следующие действия.

- Просматривать или блокировать журнал состояний.
- Открывать и просматривать папку данных CFX Maestro Dx SE.
- Открывать и просматривать папку данных пользователя.
- Открывать и просматривать папку файлов LIMS.
- Открывать и просматривать папку PrimePCR.
- Просматривать статистику анализов.
- Просматривать свойства всех подключенных приборов.

Опции меню Пользователь

Выбрать пользователя — открывает экран входа в систему, с которого можно выбрать пользователя из раскрывающегося списка Имя пользователя и войти в приложение.

Изменить пароль — открывает диалоговое окно Изменить пароль, в котором пользователь может сменить пароль доступа к программному обеспечению .

Примечание Этот параметр отключен в CFX Maestro Dx SE. Пользователи должны изменить свой пароль Windows, чтобы изменить свой пароль в CFX Maestro Dx SE.

Пользовательские настройки — открывает диалоговое окно Пользовательские настройки, в котором пользователи могут изменять настройки по умолчанию для следующих действий.

- Отправка и получение уведомлений по электронной почте по завершении прогона
- Сохранение файлов данных
- Создание протоколов с помощью программ Редактор протокола или Мастер создания протокола
- Создание плашек
- Анализ данных
- Выполнение анализа экспрессии гена
- Определение качества данных
- Экспорт данных прибора CFX

Администрирование пользователей — открывает диалоговое окно «Администрирование пользователей», в котором администраторы могут создавать пользователей, изменять права доступа для ролей и назначать роли пользователям.

Обслуживание Bio-Rad — только для персонала по техническому обслуживанию компании Bio-Rad. Не выбирайте эту команду.

Опции меню Прогон

Прогон, определяемый пользователем — открывает окно «Создать прогон», в котором можно задать параметры определяемого пользователем прогона или плашки и затем провести эксперимент ПЦР на выбранных приборах.

Прогон PrimePCR — открывает вкладку Начать прогон в окне Создать прогон с протоколом PrimePCR по умолчанию и схемой плашки, соответствующей выбранному прибору.

Прогон только в конечной точке — открывает вкладку Начать прогон в окне Создать прогон с прогоном только в конечной точке по умолчанию и схемой плашки, соответствующей выбранному прибору.

Квалификационный прогон — открывает вкладку Начать прогон в окне Создать прогон с протоколом квалификации Bio-Rad по умолчанию и схемой плашки для выбранного прибора.

Команды меню Tools (Инструменты)

Калькулятор основной смеси — открывает калькулятор основной смеси, с помощью которого можно создавать реакцию смесь и распечатывать расчеты.

Мастер создания протокола — открывает диалоговое окно Мастер создания протокола, в котором можно легко создать новый протокол.

Калькулятор T_a — открывает калькулятор T_a для расчета температуры отжига праймеров.

Мастер калибровки красителей — открывает мастер калибровки красителей для калибровки прибора для нового флуорофора.

Переустановка драйверов прибора — переустанавливает драйверы, которые управляют передачей данных систем ПЦР в реальном времени компании Bio-Rad.

Архивы данных и файлы журналов — открывает диалоговое окно, в котором можно выбрать и добавить файлы в архив для хранения или отправки по электронной почте.

Пакетный анализ — открывает диалоговое окно Пакетный анализ, в котором можно установить параметры для анализа нескольких файлов данных сразу.

Параметры — открывает диалоговое окно, из которого можно выполнить следующие действия.

- Определить настройки сервера электронной почты.
- Определить настройки экспорта для файлов LIMS, Seegene и других файлов данных.

Пояснение. Вы также можете выбрать параметр автоматического запуска Seegene Viewer при экспорте, если решите экспортировать свои данные в формате Seegene.

- Изменить язык интерфейса пользователя (английский, китайский, русский)

Важно! Для отображения выбранного языка необходимо перезапустить CFX Maestro Dx SE.

Важно! Язык операционной системы должен соответствовать языку, который вы хотите установить для интерфейса CFX Maestro Dx SE.

Опции меню Справка

Пояснение. Меню Справка доступно в строке меню всех окон CFX Maestro Dx SE.

Содержание — отображает вкладку Содержание в системе справки CFX Maestro Dx SE.

Указатель — отображает вкладку Указатель в системе справки CFX Maestro Dx SE.

Поиск — отображает вкладку «Поиск» в системе справки CFX Maestro Dx SE.

Открыть руководство пользователя — открывает PDF-файл этого руководства.

Дополнительная документация — обеспечивает доступ к Руководству по эксплуатации систем ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx.

Примечания к выпуску — открывает документ «Примечания к выпуску» для установленной версии CFX Maestro Dx SE.

Видеоресурсы — открывает веб-сайт с размещенными Bio-Rad видео, включая обучающие видео.

Веб-сайт приложений и технологий кПЦР — открывает веб-сайт приложений и технологий кПЦР Bio-Rad, на котором можно получить дополнительную информацию о ПЦР в реальном времени (кПЦР).

Веб-сайт реагентов к ПЦР — открывает веб-сайт реагентов ПЦР и кПЦР Bio-Rad, на котором можно заказать реагенты, смеси, красители и комплекты.

Веб-сайт расходных материалов и пластиковых принадлежностей к ПЦР — открывает веб-сайт расходных материалов и пластиковых принадлежностей ПЦР Bio-Rad, на котором можно заказать плашки, пленки для плашек, пробирки и крышки и другие пластиковые принадлежности.

Веб-сайт программного обеспечения — открывает веб-сайт программного обеспечения для анализа ПЦР Bio-Rad, на котором можно заказать обновленные версии Bio-Rad CFX Maestro Dx SE

О программе — отображает информацию об авторском праве и версии CFX Maestro Dx SE

Опции панели управления



— открывает Проводник Windows, в котором можно находить и открывать файл данных или файл исследования гена.



— открывает Калькулятор основной смеси.



— открывает окно «Создать прогон».



— открывает окно «Создать прогон» с протоколом PrimePCR по умолчанию и схемой плашки, соответствующей выбранному прибору.

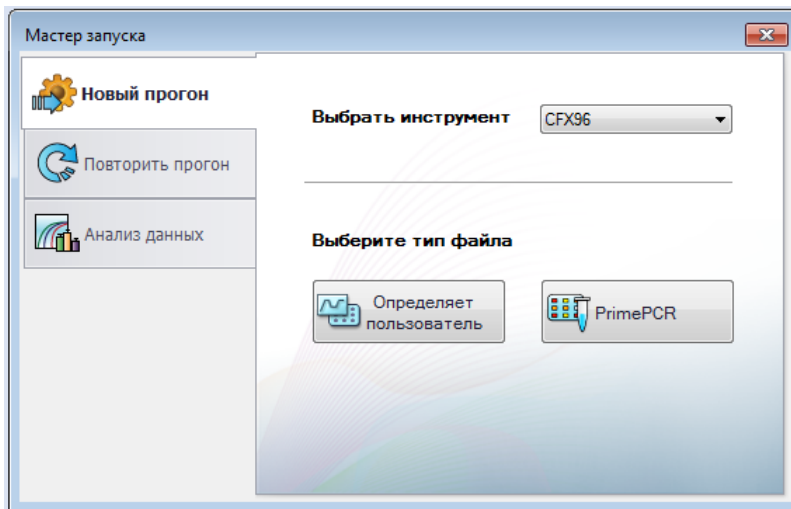


— открывает Мастер запуска.

Мастер запуска

При запуске CFX Maestro Dx SE на рабочей панели открывается Мастер запуска. Из Мастера запуска можно выполнить следующие действия.

- Выбрать прибор из списка обнаруженных приборов и ввести прогон пользовательской настройки или прогон PrimePCR.
- Открыть и повторить прогон.
- Открыть файл данных для анализа результатов одного прогона или файл исследования гена для анализа результатов нескольких прогонов для определения экспрессии гена.



Эти задачи подробно объясняются в последующих главах.

Строка состояния

В левой стороне строки состояния, расположенной у нижнего края главного окна программы, отображается текущее состояние обнаруженных приборов. В правой стороне строки состояния отображается имя текущего пользователя, дата и время.

Панель Обнаруженные приборы

На панели Detected Instruments (Найденные приборы) отображаются все приборы, подключенные к компьютеру CFX Maestro Dx SE. По умолчанию каждый прибор отображается значком, в качестве имени отображается серийный номер прибора.

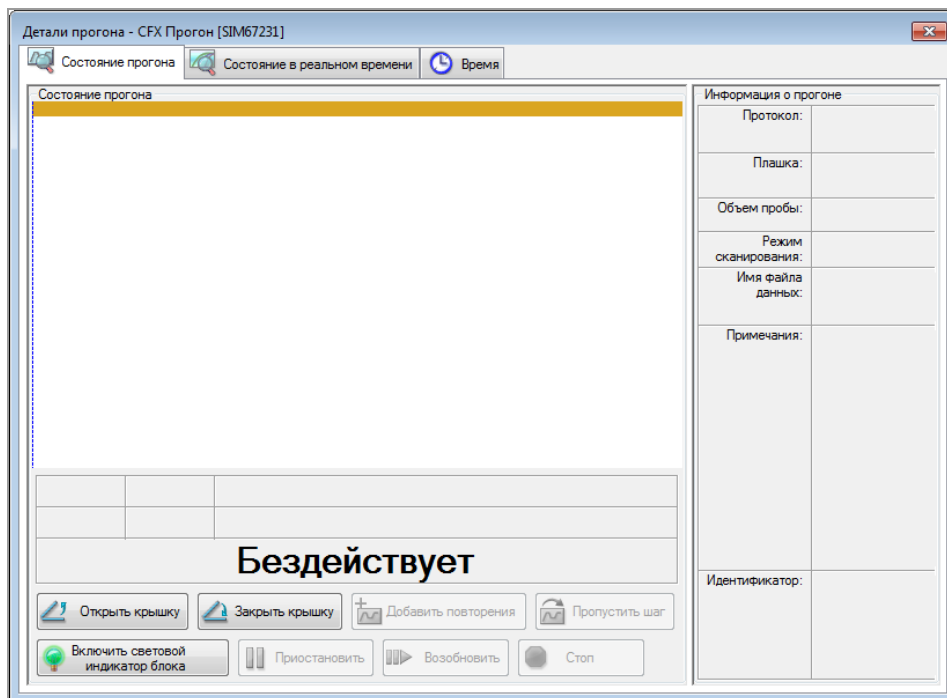
На этой панели вы можете

- Просматривать свойства и калиброванные красители для выбранного прибора.
О свойствах приборов см. в разд. [Просмотр свойств прибора на стр. 81](#).
- Просматривать состояние подключенного прибора.
- Открывать механизированную крышку на выбранном приборе.
- Закрывать механизированную крышку на выбранном приборе.
- Просматривать состояние всех подключенных приборов.

Для просмотра состояния подключенного прибора

- ▶ В панели Обнаруженные приборы выберите целевой прибор и выполните одно из следующих действий:
 - Щелкните Просмотреть состояние в разделе Выбранный прибор.
 - Щелкните правой клавишей мыши и выберите Просмотреть состояние в открывшемся меню.

Отобразится диалоговое окно Детали прогона с открытой вкладкой Состояние прогона. Под панелью состояния прогона отобразится состояние выбранного прибора, например:



Для открытия или закрытия крышки прибора

- ▶ В панели Обнаруженные приборы выберите целевой прибор и выполните одно из следующих действий.
 - Щелкните Открыть крышку или Заккрыть крышку в разделе Выбранный прибор.
 - Щелкните правой клавишей мыши и выберите соответствующее действие в открывшемся меню.
 - Откройте диалоговое окно Детали прогона, выберите вкладку Состояние прогона и щелкните Открыть крышку или Заккрыть крышку.

Для просмотра состояния всех обнаруженных приборов

- ▶ Выполните одно из следующих действий.
 - В разделе Все приборы в панели Обнаруженные приборы щелкните Просмотреть сводку.
 - В строке меню выберите Вид > Приборы.
- Открывается диалоговое окно «Приборы».

Пояснение. Если система обнаруживает только один подключенный прибор, раздел Все приборы не появляется в панели Обнаруженные приборы. Чтобы просмотреть сводку для только одного прибора, выберите Вид > Приборы.

Элементы панели управления окна Приборы

В Табл. 5 перечисляются элементы управления панели инструментов Instrument Summary (Сводка по прибору) и их функции.

Табл. 5. Элементы панели управления окна «Приборы»

| Кнопка | Название кнопки | Функция |
|---|-----------------------------|--|
|  | Создать новый прогон | Создает прогон на выбранном блоке, открывая окно Создать прогон. |
|  | Стоп | Остановка текущего прогона на выбранных блоках. |
|  | Пауза | Приостановка текущего прогона на выбранных блоках. |
|  | Возобновить | Возобновление выполнения прогона на выбранных блоках. |
|  | Мигающий индикатор на блоке | Мигание светодиодного индикатора на крышках выбранных блоков. |
|  | Открыть крышку | Открывание механизированной крышки выбранного блока. |
|  | Закрыть крышку | Закрывание механизированной крышки выбранного блока. |
|  | Скрыть выбранные блоки | Скрытие выбранных блоков в списке Instrument Summary (Сводка по прибору) |
|  | Показать все блоки | Отображение выбранных блоков в списке Instrument Summary (Сводка по прибору) |
|  | Показать | Выбор блоков, отображаемых в списке. Выберите один из вариантов, чтобы вывести на экран все обнаруженные блоки; все бездействующие блоки; все блоки, работающие у текущего пользователя, или все работающие блоки. |

Просмотр свойств прибора

В разделе Обнаруженные приборы можно просмотреть подробные сведения о выбранном приборе, включая его свойства, состояние его транспортировочного винта (только для приборов CFX Connect и CFX Touch) и список его калиброванных красителей (флуорофоров).

Для просмотра свойств прибора

- ▶ В панели Обнаруженные приборы щелкните правой клавишей мыши целевой прибор и выберите Свойства в появившемся меню.

Вкладка Свойства

На вкладке Свойства перечислены технические данные выбранного прибора, включая модель, серийные номера его компонентов и версии микропрограммного обеспечения. Имя прибора по умолчанию (его серийный номер) появляется во многих местах, включая панель Обнаруженные приборы, и в строке заголовка диалогового окна Свойства прибора. Можно переименовать прибор для более простой его идентификации.

Примечание Невозможно изменить название прибора CFX Opus с помощью CFX Maestro.

Вкладка Калиброванные красители

Во вкладке «Калиброванные красители» показаны калиброванные флуорофоры и плашки для выбранного прибора .

Чтобы просмотреть подробную информацию о калибровке, щелкните кнопку Информация в столбце Детали.

Перед началом работы

В этом разделе разъясняются задачи, которые необходимо выполнить перед использованием CFX Maestro Dx SE. Сюда входит следующее:

- Создание основной реакционной смеси
- Калибровка новых красителей

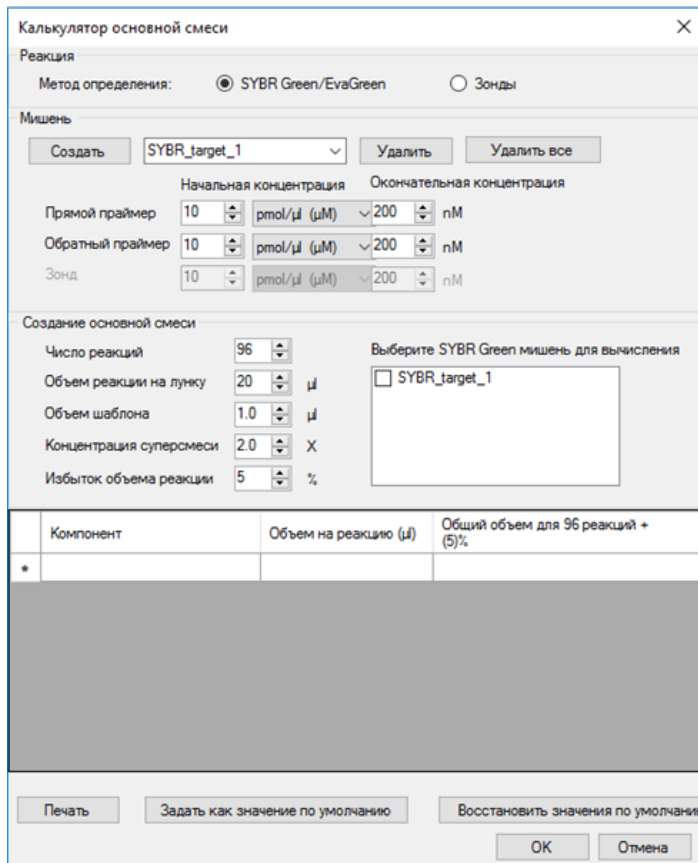
Создание основной реакционной смеси

С помощью Калькулятора основной смеси CFX Maestro Dx SE вы можете легко рассчитать требуемый объем каждого компонента основной смеси. Вы можете распечатать расчетную таблицу основной смеси на принтере по умолчанию и сохранить расчеты для каждой мишени для дальнейшего использования.

Для создания основной реакционной смеси с помощью Калькулятора основной смеси

1. Чтобы открыть Калькулятор основной смеси, выполните одно из следующих действий.
 - Выберите Сервис > Калькулятор основной смеси.
 - Нажмите Калькулятор основной смеси на панели инструментов.

Откроется Калькулятор основной смеси.



2. В разделе «Реакция» выберите метод определения:
 - SYBR® Green/EvaGreen®
 - Зонды
3. Чтобы создать новую мишень, в разделе Мишень нажмите Создать. В выпадающем списке мишеней появится новое название мишени.
4. (Необязательно) Чтобы изменить имя мишени по умолчанию:
 - a. Выделите имя мишени в раскрывающемся списке мишеней.
 - b. Введите новое имя мишени в поле Мишень.
 - c. Нажмите клавишу Ввод.
5. Скорректируйте начальную и конечную концентрации для прямого и обратного праймеров и зондов.

6. В разд. «Создание основной смеси» скорректируйте значения следующих параметров

- Число реакций на прогон
- Объем реакции на лунку
- Объем матрицы на лунку
- Концентрация супермикса на лунку
- Избыток объема реакции на лунку

7. (Необязательно.) Выполните этапы 2–6 для необходимого количества мишеней.

8. В разделе Выберите мишень для вычисления выберите мишень для вычисления.

Пояснение. Можно выполнять вычисления по одной, по нескольким или по всем мишеням одновременно.

Вычисленные объемы требуемых компонентов для каждой выбранной мишени появятся в таблице реакционной смеси.

9. Нажмите кнопку Задать как значение по умолчанию для установки количеств ввода в разделах Мишень и Создание основной смеси как новых значений по умолчанию.

10. Нажмите ОК, чтобы сохранить содержимое диалогового окна Калькулятор основной смеси.

Для печати таблицы расчетов основной смеси

► Для печати таблицы расчетов основной смеси щелкните Печать.

Таблица вычислений будет распечатана на используемом по умолчанию принтере.

Для сохранения таблицы расчетов основной смеси в формате PDF

► Измените принтер по умолчанию на драйвер PDF и щелкните Печать в Калькуляторе основной смеси.

Для удаления мишеней

► Выберите мишень с помощью раскрывающегося списка мишеней и щелкните Удалить.

Важно! При удалении мишени из списка мишеней она автоматически удаляется из всех расчетов основных смесей, в которых используется. Будьте осторожны при удалении мишени.

Калибровка для новых красителей

Системы CFX Opus 96 Dx и CFX Opus Deerwell Dx откалиброваны на заводе для обычно используемых флуорофоров в плашках с белыми и прозрачными лунками. Системы CFX Opus 384

Dx откалиброваны на заводе-изготовителе для тех же флуорофоров только в плашках с белыми лунками. В Табл. 6 представлен перечень флуорофоров, по которым откалиброван каждый прибор, с указанием канала.

Примечание CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx и CFX Opus Deepwell Dx также содержат канал исключительно для FRET. Для этого канала не требуется калибровка определенных красителей.

Важно! Если вы проводите определяемую пользователем калибровку красителя, который был откалиброван на заводе, прибор использует определяемую пользователем калибровку вместо заводской.

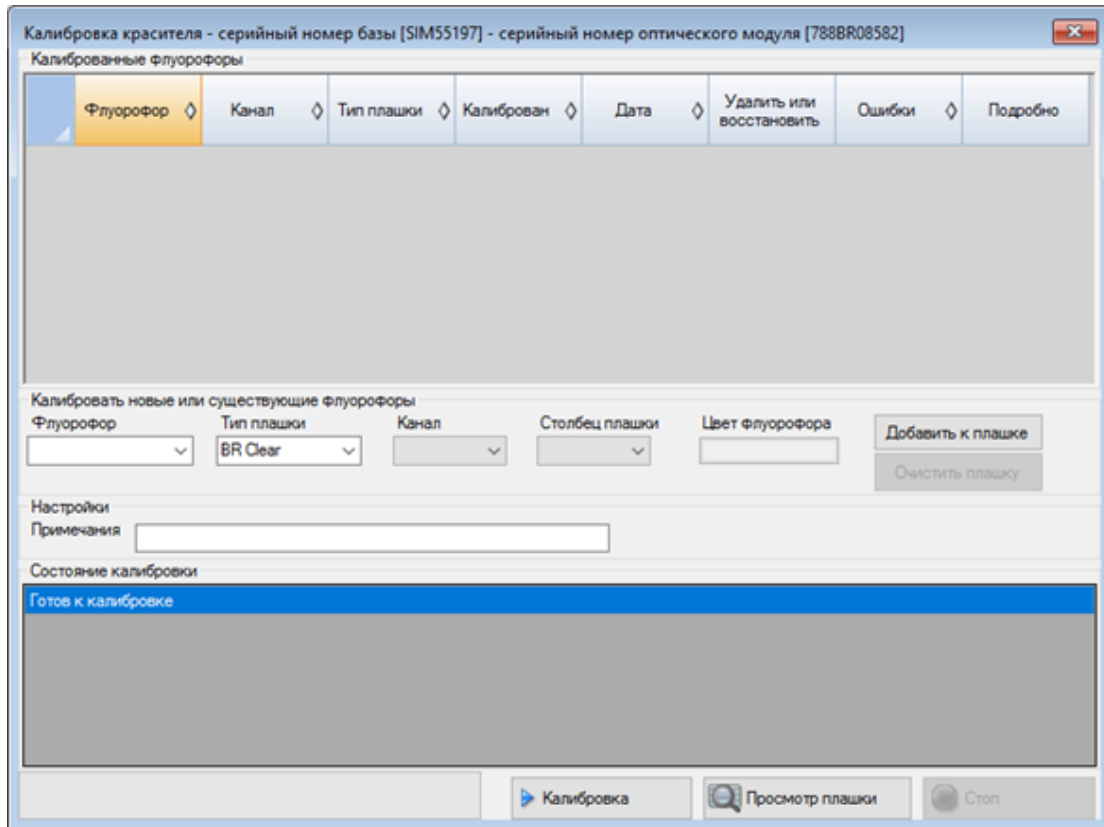
Табл. 6. Флуорофоры, для которых имеются заводская калибровка, каналы и приборы

| Флуорофоры | Канал | Возбуждение, нм | Детекция, нм | Прибор |
|--|-------|-----------------|--------------|--|
| FAM, SYBR® Green I | 1 | 450–490 | 515–530 | Системы CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx и CFX Opus Deepwell Dx |
| VIC, HEX, CAL Fluor Gold 540, Cal Fluor Orange 560 | 2 | 515–535 | 560–580 | Системы CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx и CFX Opus Deepwell Dx |
| ROX, Texas Red, CAL Fluor Red 610, TEX 615 | 3 | 560–590 | 610–650 | Системы CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx и CFX Opus Deepwell Dx |
| Cy5, Quasar 670 | 4 | 620–650 | 675–690 | Системы CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx и CFX Opus Deepwell Dx |

| Флуорофоры | Канал | Возбуждение, нм | Детекция, нм | Прибор |
|---|--------------|------------------------|---------------------|--|
| Quasar 705, Cy5.5 | 5 | 672–684 | 705–730 | Только системы CFX Opus 96 Dx |
| FRET Chemistry (не откалиброван на заводе) | | | | |
| Цвет, не откалиброванный на заводе | FRET (РПЭФ): | 450–490 | 560–580 | Системы CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx и CFX Opus Deepwell Dx |

Для калибровки новых красителей для систем CFX

1. В начальном окне выберите целевой прибор в панели Обнаруженные приборы.
2. Выберите Сервис > Мастер калибровки, чтобы открыть окно Калибровка красителей.



Флуорофоры, уже откалиброванные для целевого прибора, появятся в таблице Калиброванные флуорофоры.

3. В разд. «Калибровать новые или существующие флуорофоры» выберите из раскрывающегося списка флуорофор, который требуется откалибровать.

Если в списке нет имени флуорофора, введите его имя в поле для добавления в список.

Важно! Соблюдайте осторожность при именовании пользовательских калиброванных флуорофоров. Если вы создаете пользовательскую калибровку красителя для флуорофора с таким же именем, как у откалиброванного на заводе-изготовителе флуорофора, именно пользовательский флуорофор (а не откалиброванный на заводе-изготовителе) будет использоваться прибором во время прогонов.

4. Выберите тип плашки для флуорофора.

Если нужный тип плашки отсутствует в списке, введите его название в текстовое поле для добавления в список.

5. Выберите канал для флуорофора.
6. Выберите столбец плашки для флуорофора.
7. (Необязательно) Введите цвет для ассоциации с флуорофором.
8. Для добавления флуорофора нажмите «Добавить к плашке».
9. (Необязательно.) Повторите этапы 3–8 для добавления каждого флуорофора, применительно к которому требуется выполнить калибровку для плашки.
10. После добавления флуорофоров нажмите Просмотр плашки, чтобы открыть окно Отображение плашки с чистым красителем.
Руководствуйтесь содержимым этого окна при загрузке красителей в плашку.
11. Подготовьте 96- или 384- или глубоколоночную плашку для калибровки красителей:
 - a. Внесите пипеткой раствор красителя в каждую лунку в соответствии со схемой Отображение плашки с чистым красителем.
 - b. Для каждого флуорофора заполните 4 лунки по 50 мкл (для 96-луночной плашки) или 30 мкл (для 384-луночной плашки) раствора 300 наномоль/л красителя. Обратите внимание, что не менее половины лунок плашки остается пустой.
 - c. Герметично закройте плашку, используя способ герметизации, который будет применяться при выполнении эксперимента.
12. Поместите калибровочную плашку в блок и закройте крышку.
13. В Мастере калибровки красителей нажмите Калибровать и затем ОК, чтобы подтвердить нахождение плашки в блоке.
14. Когда ПО CFX Maestro Dx, Security Edition завершит калибровочный прогон, появится диалоговое окно. Нажмите Да, чтобы завершить калибровку и открыть окно Просмотр калибровки красителя.
15. Для закрытия окна нажмите ОК.

Установка настроек пользователя

Пояснение. Эти задачи не являются обязательными для использования CFX Maestro Dx SE. Можно без опасений пропустить этот раздел или выполнить эти задачи в любое время.

В CFX Maestro Dx SE каждый пользователь может настроить свою рабочую среду. Например, в меню Пользователи > Пользовательские настройки можно выполнять следующие действия.

- Настраивать уведомления по электронной почте о завершении прогона.

Примечание Эта функция доступна только пользователям, чья роль предоставляет это право. Для получения дополнительной информации см. раздел [Управление ролями пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition на стр. 48](#).

- Изменять настройки по умолчанию в отношении
 - местоположения сохраненных файлов
 - файлов настройки параметров протоколов анализов
 - префиксов файлов
- Задавать параметры по умолчанию для использования их при создании нового протокола и плашки.
- Задавать параметры анализа данных и экспрессии гена по умолчанию;
- Настраивать параметры контроля качества по умолчанию;
- Настраивать параметры экспорта данных

В меню Сервис можно выполнять следующие действия.

- Создавать основную смесь.
- Калибровать красители для конкретного прибора.

Примечание Доступ к созданию основной реакционной смеси и калибровке красителей предоставляется для любого пользователя, выполнившего вход в систему.

Данный раздел содержит подробные инструкции по выполнению этих задач.

Настройка уведомления по электронной почте

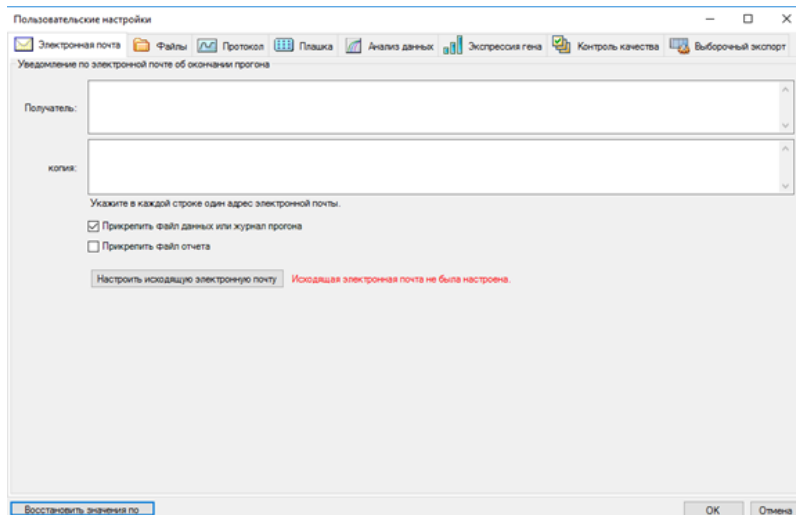
CFX Maestro Dx SE можно подключить к серверу исходящих сообщений для отправки уведомления о завершении прогона пользователям из списка. Вы также можете прикрепить файл данных и отчет об анализе к списку пользователей. Сведения о настройке соединения между CFX Maestro Dx SE и сервером SMTP см. в разделе [Подключение Security Edition к SMTP-серверу на стр. 91](#).

Примечание Доступ пользователя к функциям настройки электронной почты определяется ролью пользователя и правами, присвоенными ей администратором. Сведения об управлении пользователями и их ролями см. в разделе [Управление ролями пользователей ПО CFX Maestro Dx, Security Edition на стр. 48](#).

Для настройки уведомлений по электронной почте

1. Выберите Пользователи > Пользовательские настройки, чтобы открыть диалоговое окно «Пользовательские настройки».

Отобразится диалоговое окно Пользовательские настройки со вкладкой Электронная почта.



Примечание Вы будете проинформированы, если система обнаружит отсутствие действительных настроек сервера SMTP для CFX Maestro Dx SE. Щелкните Настроить исходящую электронную почту, чтобы открыть диалоговое окно Параметры и настроить сервер SMTP для электронной почты. Для получения дополнительной информации см. раздел [Подключение Security Edition к SMTP-серверу на стр. 91](#).

2. В тестовом поле Получатель: введите адрес электронной почты каждого сотрудника, которого планируете информировать о завершении прогона. Все получатели будут получать сообщения электронной почты по завершении прогона.

Примечание Электронные адреса следует вводить по одному на строку. После ввода каждого адреса нажимайте клавишу Enter или Return.

3. (Необязательно.) В текстовом поле «сс» (Копия) введите адрес электронной почты всех получателей, которым необходимо отправлять копию каждого уведомления по электронной почте.
4. (Необязательно) По умолчанию все получатели получают копию файла данных как вложение. Снимите этот флажок, если не хотите прикреплять копию файла данных.
5. (Необязательно) Выберите Прикрепить файл отчета об анализе, чтобы прикрепить файл PDF отчета об анализе к электронному сообщению.

6. Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно Пользовательские настройки.

Примечание Вы можете настроить систему для отправки уведомления по электронной почте на свой мобильный телефон, в зависимости от вашего поставщика услуг. Свяжитесь с вашим оператором сотовой связи для получения конкретной информации об адресе электронной почты вашего мобильного телефона. Введите адрес электронной почты своего телефона (например, 5552221234@your_service_provider_EmailDomain.net) в текстовое поле «Кому» на экране пользовательских настроек.

Для редактирования адреса электронной почты получателя

- ▶ Измените адрес электронной почты и щелкните ОК.

Чтобы удалить получателя электронной почты

1. Выберите получателя электронной почты и нажмите клавишу Delete.
2. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

Важно! Нажатие Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки производит сброс всех установок во всех вкладках к настройкам по умолчанию. Будьте внимательны при нажатии этой кнопки.

Подключение Security Edition к SMTP-серверу

Важно! Некоторые коммерческие поставщики услуг электронной почты используют повышенную безопасность электронной почты. При использовании этих провайдеров необходимо в настройках учетной записи включить опцию **Allow less secure apps (Разрешить использование менее защищенных приложений)**, чтобы программа CFX Maestro Dx SE имела возможность отправлять электронную почту на такие адреса. См. информацию по безопасности для вашего поставщика услуг электронной почты для получения дополнительной информации.

Если вы используете SMTP-сервер Google Gmail или Microsoft Office 365 для отправки электронной почты, необходимо включить двухфакторную проверку подлинности и генерировать «Пароль приложения» в настройках учетной записи Gmail или Office365. Для проверки подлинности в диалоговом окне «Настройка электронной почты Maestro» скопируйте и вставьте «Пароль приложения» в поле «Пароль» вместо обычного пароля электронной почты.

Для того чтобы программа CFX Maestro Dx SE могла отправлять уведомления по электронной почте, необходимо установить соединение с используемым почтовым сервером.

Порядок подключения CFX Maestro Dx SE к почтовому серверу

1. Выполните одно из следующих действий.

- Выберите Пользователь > Пользовательские настройки и нажмите Настроить исходящую электронную почту на вкладке Электронная почта.
- Выберите Сервис > Параметры.

Отобразится диалоговое окно Параметры со вкладкой Электронная почта.

Параметры

Электронная почта | LIMS/Экспорт настроек

Имя сервера SMTP:
например, smtp.moyakompaniya.ru. Свяжитесь с вашим администратором ИТ, чтобы узнать имя сервера SMTP.

Порт:

Использовать SSL:

Использовать адрес "Отправитель", заданный по умолчанию:

Адрес "Отправитель":
например, neovchate@moyakompaniya.ru или polzovatel@moyakompaniya.ru.

Требуется проверка подлинности:

Имя пользователя:

Пароль:

Проверить адрес электронной почты:

Проверить вложения: Размер вложения в Мб:

2. Предоставьте следующую информацию для своей компании.

- **Имя сервера SMTP** — имя сервера исходящей электронной почты в вашей компании.
- **Порт** — номер порта сервера SMTP. Обычно это номер 25.
- **Использовать SSL** — выбор использования протокола SSL (Secure Sockets Layer). Для некоторых серверов SMTP требуется данная настройка. Если ваша компания этого не требует, снимите этот флажок.
- **Использовать адрес отправителя, заданный по умолчанию** — имя сервера электронной почты в вашей компании. Некоторые серверы SMTP требуют, чтобы вся отправляемая почта имела адрес отправителя, принадлежащий к определенному домену, например, name@YourCompany.com. В таком случае снимите этот флажок и введите действительный адрес электронной почты.
- **Требуется проверка подлинности** — если ваш сайт требует проверки подлинности учетной записи, убедитесь, что этот флажок установлен.

- **Имя пользователя** — имя учетной записи, проходящей проверку подлинности. Требуется только в том случае, если выбран вариант Требуется проверка подлинности.

- **Пароль** — пароль для учетной записи, проходящей проверку подлинности. Требуется только в том случае, если выбран вариант «Требуется проверка подлинности».

Важно! Если вы используете SMTP-сервер Google Gmail или Microsoft Office 365 для отправки электронной почты, необходимо включить двухфакторную проверку подлинности и генерировать «Пароль приложения» в настройках учетной записи Gmail или Office365. Для проверки подлинности в диалоговом окне «Настройка электронной почты Maestro» скопируйте и вставьте «Пароль приложения» в поле «Пароль» CFX Maestro Dx SE вместо обычного пароля электронной почты.

Для проверки правильности настроек сервера SMTP введите действительный адрес электронной почты в поле «Проверить адрес электронной почты» и нажмите «Проверить электронную почту».

Примечание Ряд серверов SMTP не поддерживает вложения, другие вводят ограничения на размер файлов. Если вы планируете отправлять по электронной почте файлы данных и (или) отчеты CFX Maestro Dx SE, выберите параметр Test Attachment (Тестовое вложение) и задайте для параметра Attachment Size in MB (Размер вложений в Мбайт) значение 5 мегабайт (Мбайт) или более.

3. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

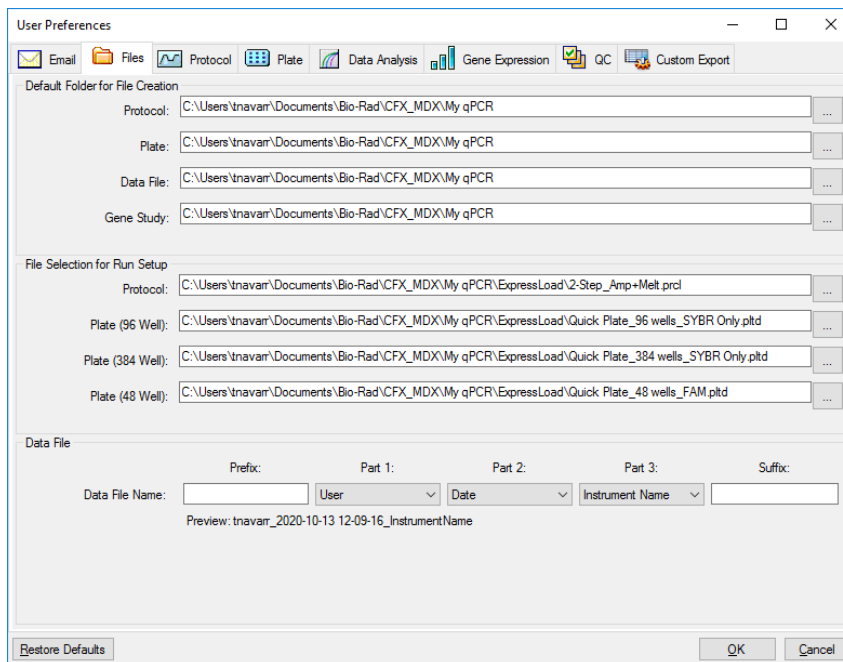
Изменение настроек файла по умолчанию

На вкладке «Файлы» диалогового окна «Пользовательские настройки» можно изменить следующие параметры.

- Место сохранения файлов CFX Maestro Dx SE по умолчанию
- Файлы по умолчанию для настройки прогона
- Параметры именования файлов по умолчанию

Для изменения настроек файла по умолчанию

1. Выберите Пользователи > Пользовательские настройки, чтобы открыть диалоговое окно «Пользовательские настройки».
2. В диалоговом окне Пользовательские настройки выберите вкладку Файлы.



3. В разделе Папка по умолчанию для создания файлов найдите и выберите папку по умолчанию, в которую хотите сохранять новые файлы. Можно выбрать другое местоположение для каждого из нижеперечисленных типов файлов.
 - Протокол
 - Плашка
 - Файл данных
 - Исследование генов
4. В разделе Выбор файла для создания прогона найдите и выберите целевые файлы протокола и плашки, которые будут появляться, когда вы открываете окно Создать эксперимент.
5. В разделе Файл данных определите префикс и/или суффикс для файлов данных. Выберите в выпадающем списке новое значение для любой части. Вы также можете задать пользовательские значения префикса и суффикса в текстовых полях Префикс и Суффикс.

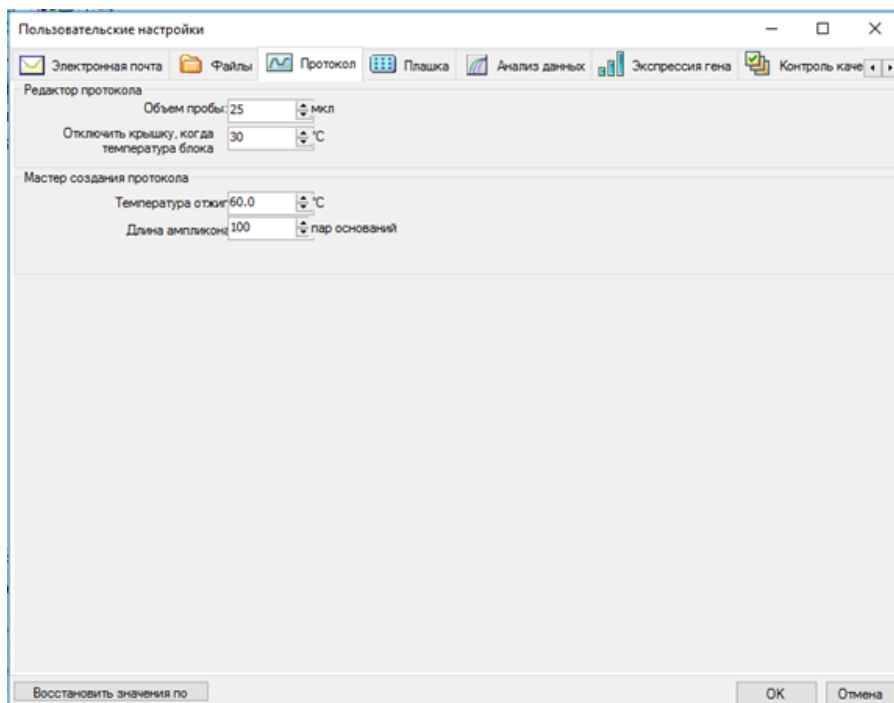
В CFX Maestro Dx SE под полями выбора отображается имя файла предварительного просмотра.
6. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

Важно! Нажатие Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки производит сброс всех установок во всех вкладках к настройкам по умолчанию. Будьте внимательны при нажатии этой кнопки.

Установка параметров по умолчанию для протоколов

Настроить параметры протокола по умолчанию для Редактора протокола и Мастера создания протокола можно следующим образом

1. Выберите Пользователи > Пользовательские настройки, чтобы открыть диалоговое окно «Пользовательские настройки».
2. В диалоговом окне Пользовательские настройки выберите вкладку Протокол.



3. В разделе Редактор протокола укажите значения для следующих настроек, которые появятся в Редакторе протокола.
 - **Объем пробы** — объем каждой пробы в лунках (в мкл).
 - **Температура выключения крышки** — температура в °C, при которой нагреватель крышки выключается во время прогона.

4. В разделе Мастер создания протокола укажите значения для следующих настроек, которые появятся в Мастере создания протокола.
 - **Температура отжига** — температура в °C для экспериментов, использующих ДНК-полимеразу iProof, ДНК-полимеразу iTaq или другие полимеразы.
 - **Длина ампликона** — длина ампликона в парах оснований.
5. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

Важно! Нажатие Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки производит сброс всех установок во всех вкладках к настройкам по умолчанию. Будьте внимательны при нажатии этой кнопки.

Установка параметров плашки по умолчанию

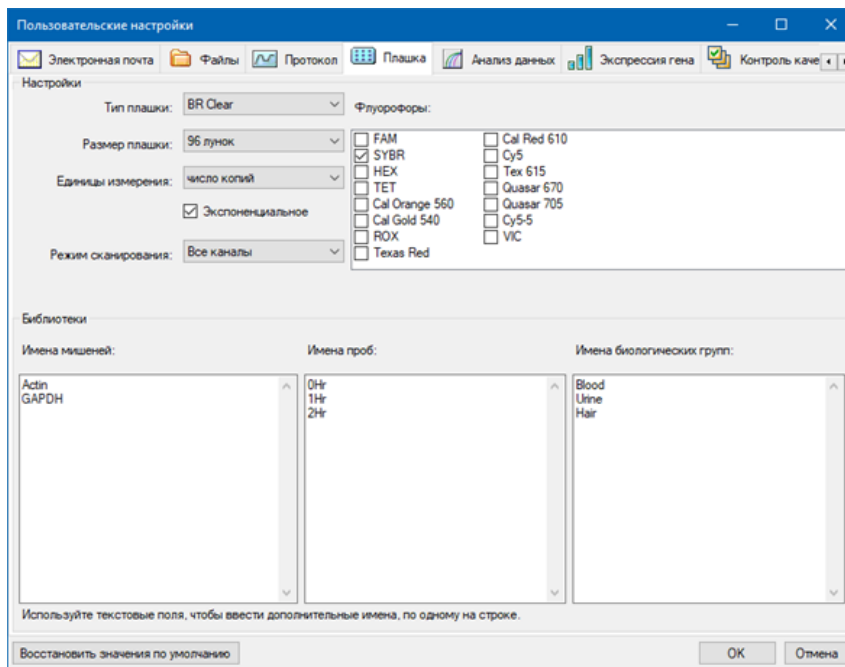
Изменения, внесенные на вкладке Плашка, доступны для всех пользователей программного обеспечения. Изменения, вносимые при настройке плашки, становятся доступными пользователям после сохранения и закрытия файла плашки.

В диалоговом окне Пользовательские настройки можно выполнять следующие действия.

- Задавать параметры плашки по умолчанию.
- Добавлять имена новых мишеней, проб и биологических групп в соответствующие библиотеки.
- Удалять имена новых мишеней, проб и биологических групп из соответствующих библиотек.

Для задания параметров плашки по умолчанию.

1. Выберите Пользователи > Пользовательские настройки, чтобы открыть диалоговое окно «Пользовательские настройки».
2. В диалоговом окне Пользовательские настройки выберите вкладку Плашка.



3. Укажите значения следующих параметров для нового файла пластики. Эти значения появятся в окне Редактор пластики.

- **Тип пластики**
- **Размер пластики**
- **Единицы измерения** — концентрация начальной матрицы для лунок, содержащих стандарты.
CFX Maestro Dx SE использует эти единицы для создания стандартной кривой на вкладке Data Analysis Quantification (Количественный анализ данных).
- **Scientific notation (Экспоненциальная запись)**: если выбран этот параметр, CFX Maestro Dx SE использует экспоненциальную запись при выводе значений в единицах концентрации.
- **Режим сканирования** — количество или тип каналов, сканируемых во время анализа.
- **Флуорофоры** — флуорофоры по умолчанию, которые будут отображены в Редакторе пластики в разделе загрузки контролей в лунки.

- **Библиотеки** — имена мишеней, проб и биологических групп мишеней и проб, которые вы обычно используете в экспериментах:
 - **Имена мишеней** — имена последовательностей и генов мишеней.
 - **Имена проб** — имена проб эксперимента или отличительная характеристика проб (например, Мышь1, Мышь2, Мышь3).
 - **Имена биологических групп** — имена для групп или схожих проб, к которым применяются одинаковые условия или способы обработки (например, 0ч, 1ч, 2ч).

4. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

Чтобы добавить новое имя мишени, пробы или биологической группы

- ▶ В соответствующем поле библиотеки введите имя для мишени, пробы или биологической группы и щелкните «ОК».

Чтобы удалить имя мишени, пробы или биологической группы

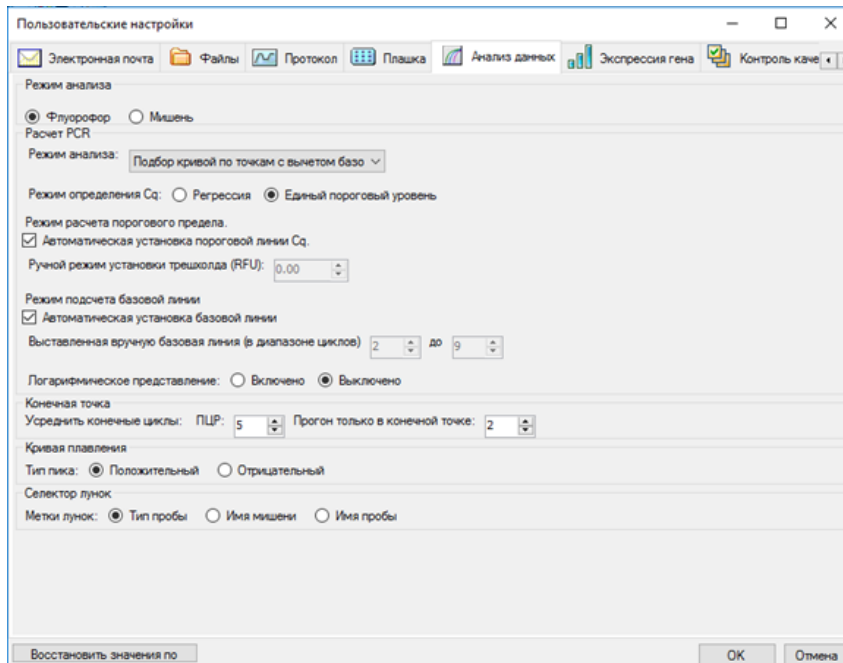
- ▶ В соответствующем поле библиотеки выберите имя, нажмите клавишу Delete, затем щелкните ОК.

Важно! Имена, удаленные из библиотеки, удаляются из ПО и больше не доступны пользователям. Чтобы восстановить имена CFX Maestro Dx SE по умолчанию, щелкните Восстановить значения по умолчанию. Нажатие Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки производит сброс всех установок во всех вкладках к настройкам по умолчанию. Будьте внимательны при удалении названий CFX Maestro Dx SE по умолчанию и при нажатии этой кнопки.

Установка параметров по умолчанию для анализа данных

Для задания параметров анализа данных по умолчанию

1. Выберите Пользователи > Пользовательские настройки, чтобы открыть диалоговое окно «Пользовательские настройки».
2. В диалоговом окне Пользовательские настройки выберите вкладку Анализ данных.



3. В разделе Режим анализа выберите режим, в котором следует анализировать данные (Флуорофор или Мишень).
4. В разделе Расчет ПЦР установите настройки по умолчанию для следующих параметров.
 - **Настройка базовой линии** — способ определения базовой линии для режима анализа.
 - **Режим определения C_q** — режим, в котором рассчитываются значения C_q для каждой кривой флуоресценции (Регрессия или Единый пороговый уровень).
 - **Threshold Calc. Mode (Режим расчета порога)** — количество мишеней в конечной точке.

По умолчанию — Автоматическая установка. Это означает, что программа рассчитывает мишень в конечной точке автоматически. Чтобы задать определенный пороговый предел, снимите флажок Автоматическая установка и введите ваше значение конечной точки, в относительных единицах флуоресценции (RFU). Максимальное значение —

- 65 000,00 ОЕФ. Настройки порогового значения будут использоваться файлами данных для последующих прогонов
- **Режим расчета базовой линии** — значение базовой линии для всех кривых.
По умолчанию — Автоматическая установка. Это означает, что программа автоматически рассчитывает базовую линию для всех кривых. Чтобы задать определенную базовую линию, снимите флажок Автоматическая установка и введите минимальное и максимальное значения для диапазона циклов (от 1 до 9999). Настройки диапазона цикла будут использоваться файлами данных для последующих прогонов.
 - **Логарифмическое представление** — определяет, как программа отображает данные амплификации:
 - Включено** — данные амплификации отображаются на полулогарифмическом графике.
 - Выключено** — (по умолчанию) данные амплификации отображаются на линейном графике.
5. В разделе Конечная точка укажите количество конечных циклов для усреднения при расчете данных в конечной точке:
 - **Прогон ПЦР** — количество конечных циклов для усреднения для данных количественного анализа (по умолчанию – 5).
 - **Прогон только в конечной точке** — количество конечных циклов для усреднения данных в конечной точке (по умолчанию – 2).
 6. В разделе Кривая плавления выберите тип выявляемого пика (Положительный или Отрицательный).
 7. В разделе Селектор лунок выберите, как показывать метки лунок (типом пробы, именем мишени или именем пробы).
 8. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

Важно! Нажатие Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки производит сброс всех установок во всех вкладках к настройкам по умолчанию. Будьте внимательны при нажатии этой кнопки.

Настройка параметров по умолчанию для файла данных экспрессии генов

Настроить параметры по умолчанию для нового файла данных экспрессии генов можно следующим образом

1. Выберите Пользователи > Пользовательские настройки, чтобы открыть диалоговое окно «Пользовательские настройки».
2. В диалоговом окне Пользовательские настройки выберите вкладку Экспрессия гена.
3. Задайте значения для следующих настроек.
 - **Относительно** — графически представляет данные экспрессии генов в отношении или контроля (начиная с 1), или нуля:
 - Нуля** — программное обеспечение игнорирует контроль. Данная опция устанавливается по умолчанию, если в окне Настройки эксперимента не назначена контрольная проба.
 - Контроля** — программное обеспечение рассчитывает данные относительно контрольной пробы, назначенной в окне Создать эксперимент.
 - **Ось X** — графическое представление пробы или мишени на оси X.
 - **Ось Y** — графическое представление по линейной, log2 или log10 шкале на оси Y.
 - **Масштабирование** — опция масштабирования для графика (опция по умолчанию – без масштабирования):
 - Наибольшее** — программное обеспечение масштабирует график по наибольшей точке данных.
 - Наименьшее** — программное обеспечение масштабирует график по наименьшей точке данных.
 - Без масштабирования** — программное обеспечение представляет на графике немасштабированные данные.
 - **Режим** — режим анализа, либо относительное количество (ΔC_q), либо нормализованная экспрессия ($\Delta\Delta C_q$).
 - **Полоса ошибки** — изменчивость данных, представленная как стандартное отклонение (Std. Dev.) или стандартная ошибка среднего (Std. Error Mean).
 - **Error Bar Multiplier (Множитель планки погрешности)** — множитель стандартного отклонения, используемый для графического изображения планок погрешностей (по умолчанию — 1).

Можно увеличить множитель до 2 или 3.

- **Типы проб, которые следует исключить** — типы проб, исключаемые из анализа.

Можно выбрать одну или несколько проб, которые будут исключены из анализа. Чтобы исключить все типы проб, снимите все установленные флажки типов проб.

4. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

Важно! Нажатие Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки производит сброс всех установок во всех вкладках к настройкам по умолчанию. Будьте внимательны при нажатии этой кнопки.

Настройка правил контроля качества

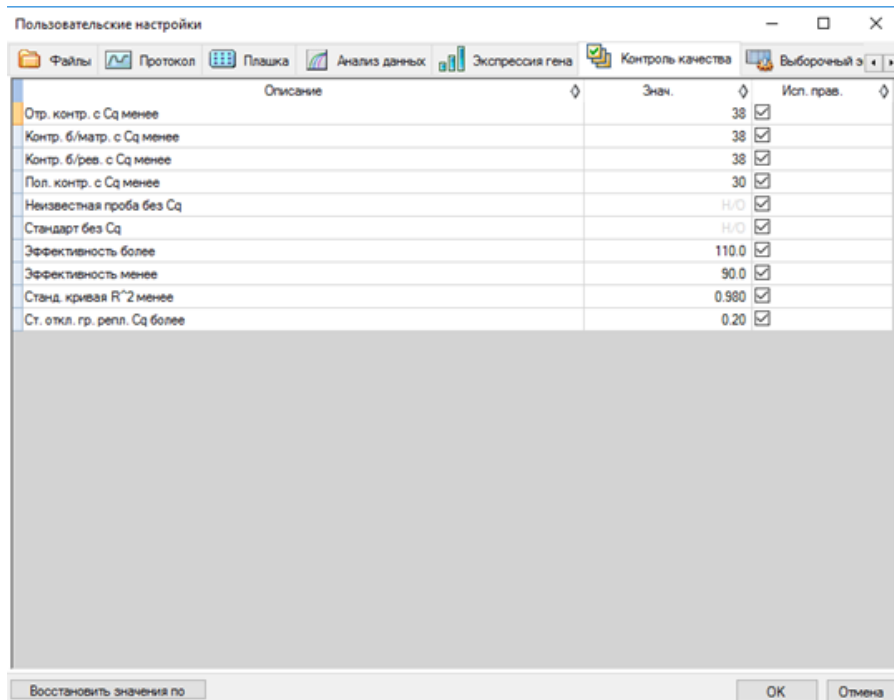
В CFX Maestro Dx SE можно создавать правила контроля качества, применяемые к данным в окне Data Analysis (Анализ данных). Программное обеспечение подтверждает правильность данных на основании заданных правил.

Примечание По умолчанию все правила контроля качества активированы.

Пояснение. Вы можете исключить из анализа лунки, не соответствующие параметру контроля качества, в модуле контроля качества окна Анализ данных.

Для настройки правил контроля качества

1. Выберите Пользователи > Пользовательские настройки, чтобы открыть диалоговое окно «Пользовательские настройки».
2. В диалоговом окне Пользовательские настройки выберите вкладку Контроль качества.



Где:

- **NTC** — контроль без матрицы
- **NRT** — контроль без ревертазы (обратной транскриптазы)
- **Эффективность** — эффективность реакции
- **Стандартная кривая R²** — значение R квадрат для стандартной кривой
- **Стандартное отклонение группы реплик Cq** — стандартное отклонение, рассчитанное для каждой группы реплик

3. Для каждого правила контроля качества выполните одно из следующих действий.

- Чтобы использовать значение по умолчанию, не делайте ничего.
- Чтобы изменить его значение, щелкните текстовое поле Значение, введите новое значение и нажмите клавишу Ввод.
- Чтобы отключить правило, снимите для него флажок Использовать.

4. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

Важно! Нажатие Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки производит сброс всех установок во всех вкладках к настройкам по умолчанию. Будьте внимательны при нажатии этой кнопки.

Настройка параметров экспорта данных

Возможен экспорт данных CFX Maestro Dx SE в следующих форматах.

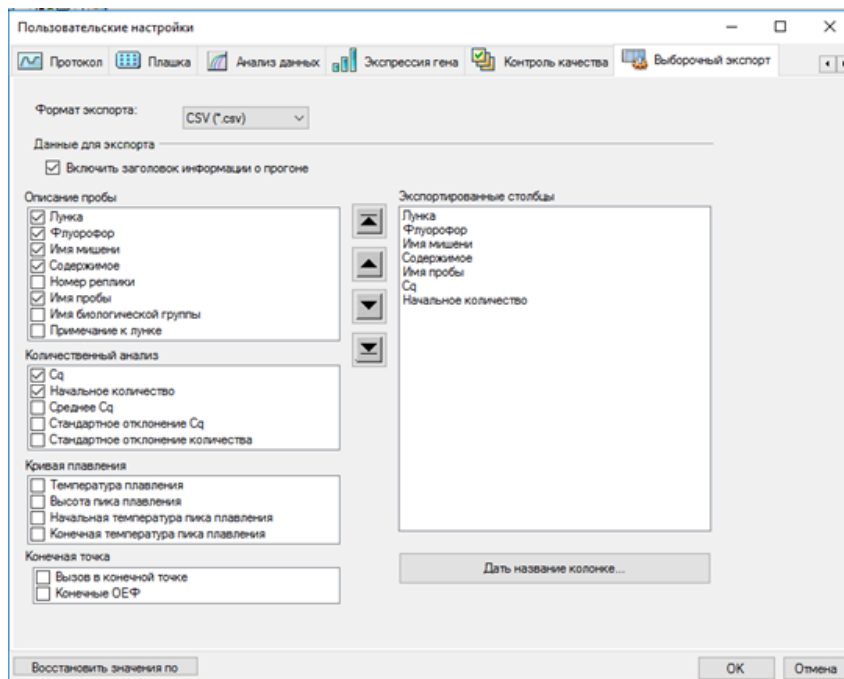
- Текст (.txt)
- CSV (.csv)
- Excel (.xls, .xlsx)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

Важно! Чтобы экспортировать данные в таблицу Microsoft Excel, на вашем компьютере должно быть установлено приложение Microsoft Excel.

Можно указать тип данных для экспорта и настроить вывод экспортируемых данных.

Для настройки параметров экспорта данных

1. Выберите Пользователи > Пользовательские настройки, чтобы открыть диалоговое окно «Пользовательские настройки».
2. В диалоговом окне Пользовательские настройки выберите вкладку Выборочный экспорт.



3. В раскрывающемся списке Формат экспорта выберите формат, в котором экспортировать данные.
4. В разделе Данные для экспорта установите или снимите флажки для типа данных для экспорта. Выбранные элементы появляются в поле со списком Экспортируемые столбцы.

Примечание По умолчанию информация о прогоне добавляется в заголовок. Если включение сведений о прогоне не требуется, уберите флажок из соответствующего поля.

5. Порядок отображения выбранных элементов на выходе можно поменять.

В поле со списком Экспортируемые столбцы выделите элемент и передвигайте его вверх или вниз с помощью кнопок со стрелками слева от списка.

6. При желании можно изменить имена столбцов для вывода выбранных элементов.
 - a. Щелкните Дать название колонке.
Открывается диалоговое окно Настройка названий столбцов.
 - b. Для каждого имени столбца по умолчанию введите новое имя в поле Пользовательское имя.

с. Выполните одно из следующих действий.

- Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и вернуться на вкладку Выборочный экспорт. Новое имя отображается в скобках рядом с именем столбца по умолчанию в поле со списком Экспортированные столбцы.
- Нажмите ОК, чтобы удалить изменения и вернуться на вкладку Выборочный экспорт.

7. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно.

Важно! Нажатие Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки производит сброс всех установок во всех вкладках к настройкам по умолчанию.

Будьте внимательны при нажатии этой кнопки.

Глава 7 Создание протоколов

Протокол представляет собой набор шагов, которые выполняются в определенной последовательности. В ПО CFX Maestro Dx, Security Edition все шаги связаны с параметрами прибора. Например, шаги указывают прибору, как именно контролировать температуру блока и крышки, применять разницу температур по блоку, выполнять чтение плашки или анализ кривой плавления. Каждый параметр указывается для разных типов плашки и прогона.

CFX Maestro Dx SE предлагает два варианта создания протоколов: Редактор протокола и Мастер создания протокола.

Редактор протокола предлагает следующие возможности:

- Стандартные элементы управления протоколом для быстрого создания протоколов
- Возможность быстро рассчитать градиент для выбранного количества строк
- Возможность быстро рассчитать время прогона для выбранного типа плашки
- Возможность редактирования шагов протокола
- Возможность сохранения протоколов для использования в будущем
- Возможность печатать протокол на принтере по умолчанию

Мастер создания протокола автоматически генерирует пользовательский протокол ПЦР с горячим запуском, первоначальной денатурацией, отжигом и шагами удлинения с использованием параметров, предоставленных пользователем. После этого можно просмотреть графическое представление предлагаемого протокола и отредактировать, выполнить или сохранить протокол.

Параметры и диапазоны шагов протокола

Используйте информацию в [Табл. 7](#), чтобы изменить настройки по умолчанию для шагов в вашем протоколе.

Шаги температуры

Целевая температура — это значение от 4,0 до 100,0 °C, установленное в десятых долях градуса. Система наращивает температуру до этого значения и удерживает его в течение заданного времени (время выдержки).

Шаги градиента

Диапазон градиента — это разница между нижней и верхней температурами в шаге градиента. Максимально допустимый диапазон - 24 °C. Нижняя температура — это значение от 30,0 до 99,0 °C, установленное в десятых долях градуса. Максимальная верхняя температура 100 °C. Термоциклер наращивает температуру до заданного градиента температуры по блоку и поддерживает ее в течение заданного времени выдержки.

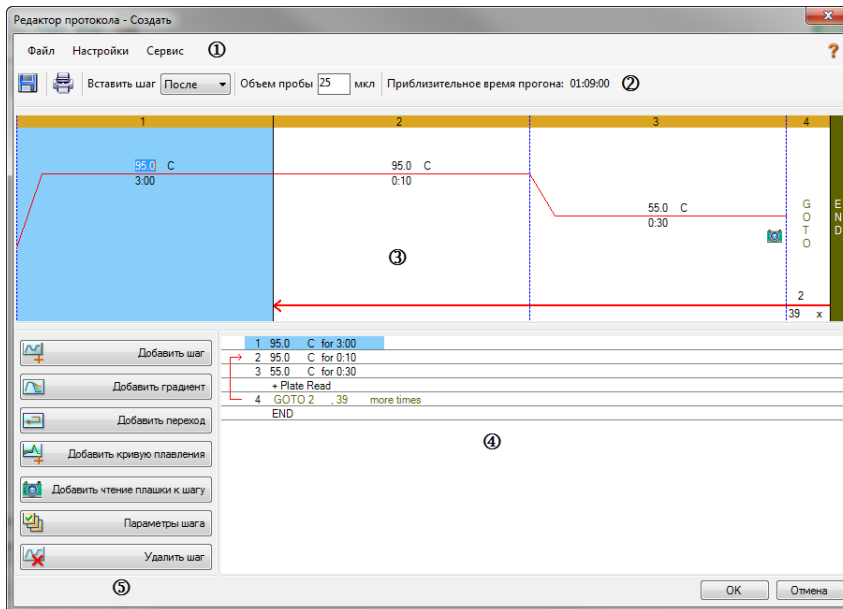
Важно! Прибор рассчитывает значение градиента. Если ввести значения в верхнее и нижнее поля калькулятора градиента, программное обеспечение автоматически рассчитает и назначит температуры для остальных полей. Если ввести температуру в любое поле между верхним и нижним полями, прибор автоматически рассчитает оставшиеся поля. Пользователю не требуется вручную вводить значение температуры в каждое поле.

Табл. 7. Параметры и диапазоны шагов протокола

| Параметр | Диапазон | Описание |
|------------------------------|--|---|
| Скорость нагрева/охлаждения. | <ul style="list-style-type: none"> ■ Для систем CFX Opus 96 Dx: 0,1–5 °C в секунду ■ Для сист. CFX Opus 384 Dx : 0,1–2,5 °C в секунду ■ Для систем CFX Opus Deerwell Dx: 0,1–2,5 °C в секунду | <p>Система дает указание термоциклеру на данном этапе постепенно увеличивать заданную температуру с указанной скоростью.</p> <p>Доступно только для шагов температуры.</p> |
| Инкремент | Значение от –10,0 до 10,0 °C за цикл в десятых долях градуса. | <p>Указывает термоциклеру изменять целевую температуру шага с каждым циклом, где положительное число увеличивает температуру, а отрицательное число ее снижает.</p> <p>Доступно только для шагов температуры.</p> |
| Удлинение | Время от –60 до 60 секунд за цикл. | <p>Дает указание термоциклеру увеличивать время выдержки с каждым циклом. Положительное число увеличивает время удержания, отрицательное уменьшает.</p> <p>Доступно для шагов температуры и градиента.</p> |
| Звуковой сигнал | (Без параметров) | <p>Дает указание термоциклеру подавать звуковой сигнал, сигнализирующий о том, что термоциклер достиг температуры, заданной для этого шага.</p> <p>Доступно только для шагов температуры.</p> |
| Чтение плашки | (Без параметров) | <p>Дает указание термоциклеру добавить данные плашки к выбранному шагу.</p> <p>Доступно для шагов температуры и градиента.</p> |

Окно Редактор протокола

Используйте Редактор протокола, чтобы создавать, открывать, просматривать или редактировать протокол. По умолчанию Редактор протокола отображает общий 2-шаговый протокол в реальном времени для 96-луночной плашки.



УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

1. Строка меню обеспечивает быстрый доступ к опциям меню Файл, Настройки и Сервис.
2. Панель инструментов предоставляет быстрый доступ к сохранению и печати протокола, определению места для вставки этапа, установке объема пробы и просмотру оценочного времени выполнения протокола.
3. На главной панели отображается графическое представление протокола.
4. На нижней панели отображается схема протокола.
5. На левой панели отображаются элементы управления протоколами, которые можно добавлять для пользовательской настройки протокола.

Опции меню Файл

Сохранить — сохраняет текущий протокол.

Сохранить как — сохраняет текущий протокол с другим именем или в другое местоположение.

Файловые пароли — позволяет пользователям устанавливать пароли для сохранения и открытия файлов.

Пояснение. Для получения дополнительной информации см. раздел [Защита паролем на стр. 56](#).

Закорыть — закрывает Редактор протокола.

Опции меню Настройки

Настройки крышки — открывает диалоговое окно Настройки крышки, в котором можно изменить или задать температуру крышки.

Команды меню Tools (Инструменты)

Gradient Calculator (Калькулятор градиента) — открывает диалоговое окно, в котором можно выбирать тип блока для этапа градиента. По умолчанию — 96 лунок.

Калькулятор времени прогона — открывает диалоговое окно, в котором можно выбрать тип плашки и режим сканирования для вычисления расчетного времени прогона в окне Создать прогон. По умолчанию — 96 лунок, все каналы.

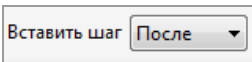
Опции панели управления



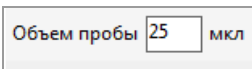
— сохраняет текущий файл протокола.



— распечатывает выбранное окно.



— эта команда используется для выбора места вставки шагов относительно шага, выбранного в данный момент.



— эта команда используется для ввода объема пробы в мкл. Объем пробы зависит от типа блока:

- Для 96-луночного блока диапазон составляет 0–50 мкл.
- Для 384-луночного блока диапазон составляет 0–30 мкл.
- Для блока на 96 глубоких лунок диапазон составляет 0–125 мкл.

Приблизительное время прогона: 01:09:00

— отображает расчетную продолжительность цикла, вычисленную с учетом выбранных шагов протокола, скорости изменения и типа блока.

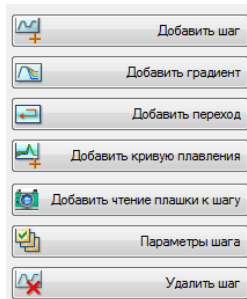


— отображает справочную информацию о протоколах.

Элементы управления для редактирования протокола

Левая панель окна Редактор протокола содержит элементы управления, которые можно использовать для создания протоколов.

Каждый элемент управления состоит из набора параметров, которые представляют этап в протоколе. Можно изменить каждый параметр либо добавить или удалить их, чтобы настроить свой протокол. В этом разделе описываются опции каждого элемента управления.



- **Вставить шаг** — вставляет шаг до или после выбранного шага. Можно редактировать значения температуры и времени задержки на графическом отображении протокола или в плане протокола.
- **Вставить градиент** — вставляет шаг градиента на основании типа выбранного блока лунок в калькуляторе градиента. Можно редактировать диапазон градиента в панели Градиент, которая появляется при добавлении шага градиента.
- **Вставить переход** — вставляет циклический шаг (петлю), который инструктирует программное обеспечение повторять определенные шаги последовательно в течение указанного количества циклов. Повторы начинаются после завершения первого цикла. Например, можно сообщить программе, чтобы она выполнила 39 повторов для этапов 2–4. После заключительного повтора программа 40 раз выполнит этапы со 2 по 4. Можно отредактировать шаг перехода (GOTO) и количество циклов как на графическом отображении протокола, так и в плане протокола.
- **Вставить кривую плавления** — вставляет шаг чтения кривой плавления.
- **Добавить чтение плашки к шагу** — добавляет команду чтения плашки к выбранному шагу. Чтение плашки измеряет величину флуоресценции в конце цикла. Шаг чтения плашки обычно является последним шагом петли перехода.

Пояснение. После добавления команды на чтение плашки к шагу кнопка меняется на Удалить чтение плашки, когда пользователь выбирает этот шаг.
- **Удалить чтение плашки** — удаляет команду чтения плашки из выбранного шага.

Пояснение. После удаления команды на чтение плашки из шага кнопка меняется на Добавить чтение плашки к шагу, когда пользователь выбирает этот шаг.

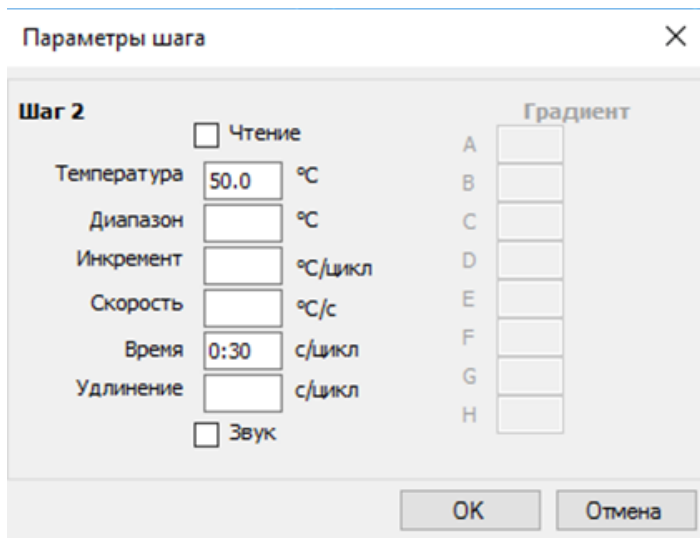
- **Параметры шага** — открывает диалоговое окно Параметры шага и отображает параметры, доступные для выбранного шага. Подробная информация о параметрах шага представлена в разделе [Параметры шага на стр. 116](#).

Пояснение. Также можно открыть Параметры шага, щелкнув шаг правой клавишей мыши в графическом отображении.

- **Удалить шаг** — удаляет выбранный шаг из протокола.

Параметры шага

Откройте диалоговое окно Параметры шага, чтобы просмотреть опции, которые можете добавить, изменить или удалить из шага.



- **Чтение плашки** — при выборе добавляет чтение плашки к шагу.
- **Температура** — устанавливает целевую температуру для выбранного шага.
- **Градиент** — устанавливает диапазон градиента для шага; диапазон составляет 1–24 °C.

Примечание Градиент выполняется с наименьшей температурой в передней части блока (на этом рисунке — строка H) и наибольшей температурой в задней части блока (на этом рисунке — строка A).

- **Инкремент** — величина повышения (или понижения) температуры на выбранном шаге; это значение добавляется к целевой температуре с каждым циклом. Диапазон: ±0,1–10 °C.

Примечание Для снижения температуры введите знак минуса (–) перед численным значением (например, –5 °C).

- **Скорость нагрева/охлаждения** — скорость для выбранного шага; диапазон зависит от размера блока.
- **Время** — время задержки для выбранного шага.

- **Удлинение** — время (в секундах), на которое следует удлинить или укоротить выбранный шаг; эта опция добавляется к времени задержки в каждом цикле; диапазон составляет ± 1 –60 секунд.
- **Звуковой сигнал** — если этот пункт выбран, по окончании каждого шага раздается звуковой сигнал.

Пояснение. При введении числа, выходящего за пределы диапазона параметра, программное обеспечение меняет это число на ближайшее значение в пределах диапазона.

Создание протокола с помощью Редактора протокола

С помощью Редактора протокола можно создавать пользовательские файлы протокола. Также можно редактировать и сохранять ранее сохраненные файлы протокола и примеры файлов протокола, входящие в комплект поставки CFX Maestro Dx SE.

Чтобы создать новый файл протокола, выполните следующие действия.

- Откройте файл протокола в Редакторе протокола.

Пояснение. Можно открыть новый или существующий протокол в Редакторе протокола.

- Настройте новый протокол.
- Добавьте шаги в протокол с панели элементов управления протоколом.
- Отредактируйте свойства шагов.
- Сохраните протокол.

Пояснение. Порядок создания нового протокола из ранее сохраненного файла или примера файла протокола см. в разделе [Открытие существующего протокола в Редакторе протокола на стр. 120](#).

Открытие нового файла протокола в Редакторе протокола

CFX Maestro Dx SE предлагает несколько вариантов открытия нового файла протокола:

- Из меню «Файл» в главном окне.
- Из диалогового окна «Запуск установки» в главном окне.
- Из диалогового окна Мастера запуска в главном окне

Чтобы открыть новый файл протокола из меню «Файл»

- ▶ В главном окне выберите Файл > Открыть > Протокол.

Открывается окно Редактор протокола с файлом протокола по умолчанию.

Пояснение. Сведения о настройке протокола по умолчанию см. в разд. [Изменение настроек файла по умолчанию на стр. 94](#).

Чтобы открыть новый протокол из диалогового окна Создать прогон, выполните следующие действия

1. В начальном окне выполните одно из следующих действий, чтобы открыть диалоговое окно Создать прогон.
 - Выберите Прогон > Прогон, определяемый пользователем.

- Щелкните Настройка прогона, определяемого пользователем, в панели управления.

Отобразится диалоговое окно Создать прогон с открытой вкладкой Протокол с файлом протокола по умолчанию.

2. Щелкните Создать новый.

Открывается окно Редактор протокола с файлом протокола в реальном времени по умолчанию.

Чтобы открыть новый файл протокола из Мастера запуска, выполните следующие действия

1. В начальном окне выполните одно из следующих действий, чтобы открыть Мастер запуска, если он не виден:

- Выберите Вид > Мастер запуска.
- Щелкните Мастер запуска на панели управления.

2. При необходимости выберите тип прибора в выпадающем списке.

3. Щелкните Определяет пользователь как тип прогона.

Отобразится диалоговое окно Создать прогон с открытой вкладкой Протокол с файлом протокола по умолчанию.

4. Щелкните Создать новый.

Открывается окно Редактор протокола с файлом протокола в реальном времени по умолчанию.

Чтобы открыть новый протокол из меню «Прогон»

1. В начальном окне выполните одно из следующих действий, чтобы открыть диалоговое окно Создать прогон.

- Выберите Прогон > Прогон, определяемый пользователем.
- Щелкните Настройка прогона, определяемого пользователем, в панели управления.

Отобразится диалоговое окно Создать прогон с открытой вкладкой Протокол с файлом протокола по умолчанию.

2. Щелкните Создать новый.

Открывается окно Редактор протокола с файлом протокола в реальном времени по умолчанию.

Открытие существующего протокола в Редакторе протокола

CFX Maestro Dx SE предоставляет образцы файлов протокола, которые можно редактировать и сохранять как новые пользовательские протоколы. Также можно создать новый протокол из существующего пользовательского протокола.

Чтобы открыть пример файла протокола, выполните следующие действия

1. В начальном окне выберите Файл > Открыть > Протокол.
По умолчанию Проводник Windows открывает расположение папки с примерами файлов CFX Maestro Dx SE.
2. Откройте папку примеров файлов. Вы увидите следующие папки:
 - **ConventionalProtocols** — содержит примеры файлов протоколов для традиционного анализа ПЦР.
 - **DataFiles** — содержит примеры файлов данных, которые можно использовать для изучения функциональных возможностей CFX Maestro Dx SE.
 - **MeltCalibration** — содержит примеры файлов протокола для использования с программным обеспечением прецизионного анализа плавления Bio-Rad.
 - **Plates** — содержит примеры файлов плашки.
 - **RealTimeProtocols** — содержит примеры файлов протоколов для анализа ПЦР в реальном времени.
3. Откройте папку протокола для того типа прогона, который планируете выполнить, либо ConventionalProtocols, либо RealTimeProtocols.
4. Выберите желаемый протокол и щелкните Открыть.
Пример протокола открывается в окне Редактор протокола.
5. Выберите Файл > Сохранить как и сохраните протокол с новым именем или в новую папку.

Чтобы открыть существующий протокол, выполните следующие действия

1. В начальном окне выполните одно из следующих действий.
 - Выберите Файл > Открыть > Протокол, откройте и выберите целевой протокол и щелкните Открыть.
 - Откройте Мастер запуска и выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы редактировать отображаемый протокол, щелкните Редактировать выбранный.

- Чтобы редактировать другой существующий протокол, щелкните **Выбрать существующий** и найдите целевой файл.

Протокол открывается в окне Редактор протокола.

2. Выберите **Файл > Сохранить как** и сохраните протокол с новым именем или в новую папку.

Настройка нового протокола

Пояснение. Если ваш файл протокола включает необходимые параметры (например, если вы редактируете существующий файл плашки), то можно пропустить этот раздел. Переходите к разделу [Добавление шагов в протокол на стр. 123](#).

Для новых файлов протокола требуются следующие параметры.

- Тип блока
- Режим сканирования для выбранного типа блока
- Температура крышки
- Объем пробы

Настройка типа блока

CFX Maestro Dx SE автоматически рассчитывает шаги прироста температуры для этапов градиента в соответствии с типом блока.

Примечание Тип плашки, заданный в Редакторе протокола, должен соответствовать плашке в реакционном модуле.

Чтобы задать тип блока, выполните следующие действия

- ▶ В окне Редактор протокола выберите Сервис > Калькулятор градиента и выберите соответствующий тип плашки в открывшемся раскрывающемся списке.

Выбор режима сканирования для выбранного типа блока

Чтобы определить время прогона протокола, выберите тип целевого блока и режим сканирования.

Чтобы выбрать тип блока и режим сканирования, выполните следующие действия

- ▶ В окне Редактор протокола выберите Сервис > Калькулятор времени прогона и выберите соответствующий тип плашки и режим сканирования в открывшемся раскрывающемся списке.

Корректировка температуры крышки

CFX Maestro Dx SE устанавливает используемую по умолчанию температуру крышки следующим образом:

- 96-луночные и глубоколуночные приборы - 105,0 °C
- 384-луночные приборы — 95,0 °C

Можно изменить настройки по умолчанию или выключить нагреватель крышки как необходимо для протокола.

Чтобы скорректировать температуру крышки, выполните следующие действия

1. В окне Редактор плашки выберите Настройки > Настройки крышки.
Откроется диалоговое окно Настройки крышки.
2. Выполните одно из следующих действий.
 - Выберите Определяет пользователь и введите значение температуры в текстовое поле.
 - Выберите Выключить нагреватель крышки.
3. Нажмите ОК, чтобы принять изменения и закрыть диалоговое окно.

Настройка объема пробы

По умолчанию CFX Maestro Dx SE устанавливает объем пробы для каждой лунки на 25 мкл. Объем пробы зависит от типа блока, например:

- 0–50 мкл для блока с 96 лунками
- 0–30 мкл для 384-луночного блока.

Прибор использует один из двух режимов управления температурой для определения момента, когда проба достигает целевой температуры, заданной протоколом.

- **Рассчитанный режим** — режим, когда объем пробы задается как ненулевой объем, соответствующий блоку, а прибор рассчитывает температуру пробы на основании ее объема. Это стандартный режим.
- **Режим блока** — когда объем пробы установлен равным нулю (0) мкл, прибор записывает температуру пробы равной измеренной температуре блока.

Чтобы задать объем пробы для конкретного блока

- ▶ В окне Редактор плашки введите правильное значение в текстовом поле Объем пробы на панели управления.

Пояснение. Можно изменить объем пробы по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки. См. раздел [Изменение настроек файла по умолчанию на стр. 94](#).

Добавление шагов в протокол

Порядок добавления шага в протокол

1. Откройте протокол в окне Редактор протокола.
2. Определите, куда нужно вставить новый шаг. На панели управления выберите До или После в раскрывающемся списке Шаг.
3. На графике выберите шаг, до или после которого требуется вставить новый шаг.
4. В левой панели щелкните Вставить шаг.
5. Для изменения температуры или времени инкубации нажмите на значение по умолчанию на графике или схеме протокола и установите новое значение.
6. (Необязательно) В левой панели щелкните Параметры шага, чтобы открыть диалоговое окно Параметры шага и изменить доступные параметры для выбранного шага.

Пояснение. Диалоговое окно Параметры шага доступно из меню, открывающегося по нажатию правой клавиши мыши, как на панели графика, так и на панели плана протокола.

- Щелкните ОК и затем щелкните Да, чтобы сохранить изменения протокола.

Откроется диалоговое окно Сохранить как.

- В диалоговом окне Сохранить как введите имя для нового файла протокола и щелкните Сохранить.

Вставка шага градиента

Чтобы вставить шаг градиента, выполните следующие действия

- Убедитесь, что размер плашки для градиента соответствует типу блока прибора (96-луночный, 384-луночный или глубоколуночный).

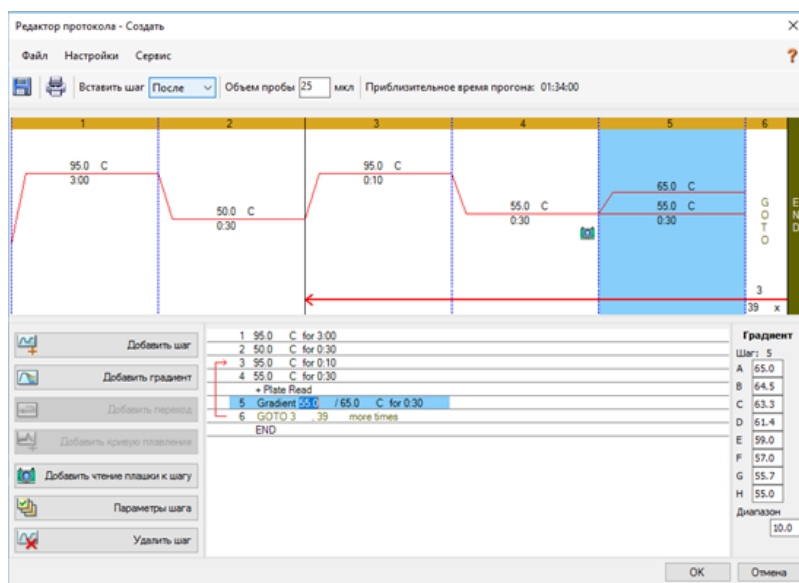
- Если это еще не сделано, выберите размер плашки для градиента:

Выберите Сервис > Калькулятор градиента и выберите соответствующий тип лунки из раскрывающегося списка.

- На панели управления выберите До или После в раскрывающемся списке Вставить шаг.

- На панели графика или схемы выберите шаг, до или после которого нужно вставить шаг градиента.

- В левой панели щелкните Вставить градиент. Новый шаг градиента выделится на панели графика и схемы.



Температура каждой строки в градиенте отображается в таблице Градиент в правой панели.

6. Чтобы изменить диапазон температуры градиента, выполните одно из следующих действий.
 - Щелкните температуру по умолчанию на графике или панели плана и введите новую температуру.
 - Щелкните Параметры шага, чтобы ввести диапазон градиента в окне Параметры шага.
 - Измените значение Диапазон в таблице Градиент.
7. Чтобы отредактировать время задержки, нажмите на температуру по умолчанию на графическом или текстовом представлении и введите новое время.
8. Щелкните ОК и затем Да, чтобы сохранить изменения.

Вставка шага перехода

Примечание Нельзя вставить шаг перехода в шаг перехода; нельзя создавать вложенные шаги перехода.

Чтобы вставить шаг перехода, выполните следующие действия

1. На панели управления выберите До или После в раскрывающемся списке Вставить шаг.
2. На графике выберите шаг, до или после которого требуется вставить шаг перехода.
3. В левой панели щелкните Вставить переход.
4. Чтобы изменить номер шага перехода или количество повторений перехода, выберите число по умолчанию на графике или в плане и введите новое значение.
5. Щелкните ОК и затем Да, чтобы сохранить изменения.

Вставка шага кривой плавления

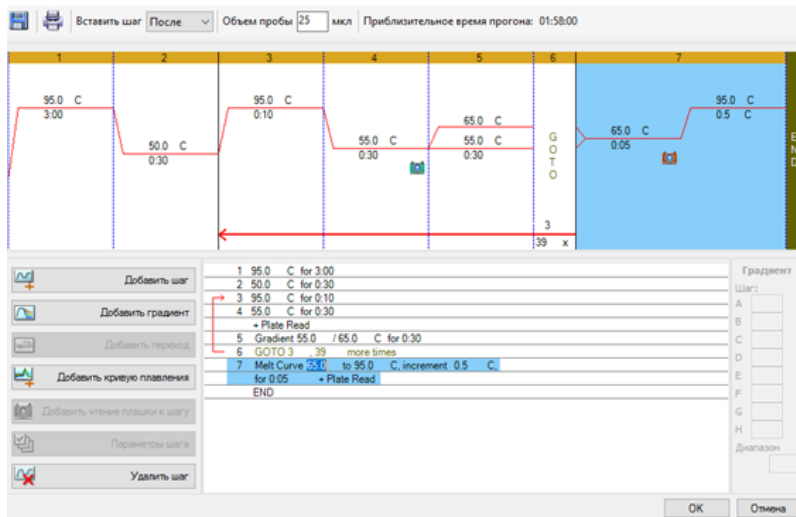
Пояснение. Невозможно вставить шаг кривой плавления в петлю перехода.

Примечание Шаг кривой плавления включает задержку на 30 секунд в начале шага, не показанную в протоколе.

Порядок вставки шага кривой плавления

1. На панели управления выберите До или После в раскрывающемся списке Вставить шаг.
2. На графике выберите шаг, до или после которого нужно вставить шаг кривой плавления.

3. В левой панели щелкните Вставить кривую плавления. Новый шаг кривой плавления выделится на панели графика и схемы.



4. Для редактирования диапазона температуры плавления или времени приращения выберите номер по умолчанию на графике или выберите панель и введите новое значение.
5. Щелкните ОК и затем Да, чтобы сохранить изменения.

Добавление или удаление шага чтения плашки

Пояснение. После добавления команды на чтение плашки к шагу кнопка меняется на Удалить чтение плашки, когда пользователь выбирает этот шаг.

Порядок добавления чтения плашки к шагу

1. На панели управления выберите До или После в раскрывающемся списке Вставить шаг.
2. На графике выберите шаг, до или после которого требуется вставить шаг чтения плашки.
3. В левой панели щелкните Добавить чтение плашки к шагу, чтобы добавить чтение плашки к выбранному шагу.
4. Щелкните ОК и затем Да, чтобы сохранить изменения.

Чтобы удалить чтение плашки из шага, выполните следующие действия

- ▶ На графике выберите шаг, который содержит чтение плашки, и щелкните Удалить чтение плашки в левой панели.

Изменение параметров шага

Порядок изменения параметров выбранного шага

1. Выберите нужный шаг на панели графика или схемы.
2. В левой панели щелкните Параметры шага, чтобы открыть диалоговое окно Параметры шага.
Как вариант, щелкните правой клавишей мыши целевой шаг в любой панели и выберите Параметры шага в открывшемся меню.
3. Чтобы добавить, изменить или удалить параметры, выполните следующие действия.
 - Введите значение в соответствующее текстовое поле.
 - Отредактируйте значение в специальном текстовом поле.
 - Установите или снимите флажок.
4. Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно Параметры шага.
5. Щелкните ОК и затем Да, чтобы сохранить протокол

Удаление шага

Важно! Отмена этой функции невозможна. Будьте внимательны при удалении шагов.

Порядок удаления шага из протокола

1. Выберите шаг на панели графика или схемы.
2. В левой панели щелкните Удалить шаг, чтобы удалить выбранный шаг.
3. Щелкните ОК и затем Да, чтобы сохранить протокол

Копирование, экспорт и печать протокола

Чтобы копировать протокол, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните правой клавишей мыши план протокола и выберите Копировать протокол.
Содержимое буфера можно вставить в файл формата .txt, .xls, .doc или .ppt.

Порядок экспорта протокола

1. Щелкните правой клавишей мыши план протокола и выберите Экспортировать протокол.
Откроется диалоговое окно Сохранить как.
2. (Необязательно) В Проводнике Windows найдите папку, в которую требуется сохранить файл графика.
3. В Имя файла введите имя для экспортируемого файла протокола.
4. Нажмите Save (Сохранить).

Чтобы распечатать протокол, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните правой клавишей мыши план протокола и выберите Печать.
Содержимое панели протокола можно распечатать на принтере, заданном по умолчанию.

Создание протокола с помощью Мастера создания протокола

Важно! Компания Bio-Rad не гарантирует, что выполнение протокола, созданного с использованием Мастера создания протокола, всегда будет приводить к образованию продукта ПЦР.

Мастер создания протокола CFX Maestro Dx SE автоматически генерирует протоколы термоциклирования на основании следующих вводных параметров.

■ **Длина ампликона** — ожидаемая длина продукта ПЦР

■ **Температура отжига** — реакция T_a для используемых праймеров

Если значение T_a неизвестно, можно использовать калькулятор T_a для автоматического вычисления его на основании последовательностей ваших праймеров.

Примечание T_a корректируется по информации о температуре плавления праймера (T_m), которая основана на выбранном ферменте и скорости протокола.

■ **Тип фермента** — фермент ДНК-полимераза (ДНК-полимераза iTaq, iProof или Другой)

Если вы используете другой фермент, не ДНК-полимеразу iTaq или iProof, то можете ввести дополнительную информацию, включая диапазон градиента, время активации горячего запуска (в секундах) и время окончательного удлинения (в секундах).

■ **Скорость прогона** — скорость реакции (стандартно, быстро или очень быстро)

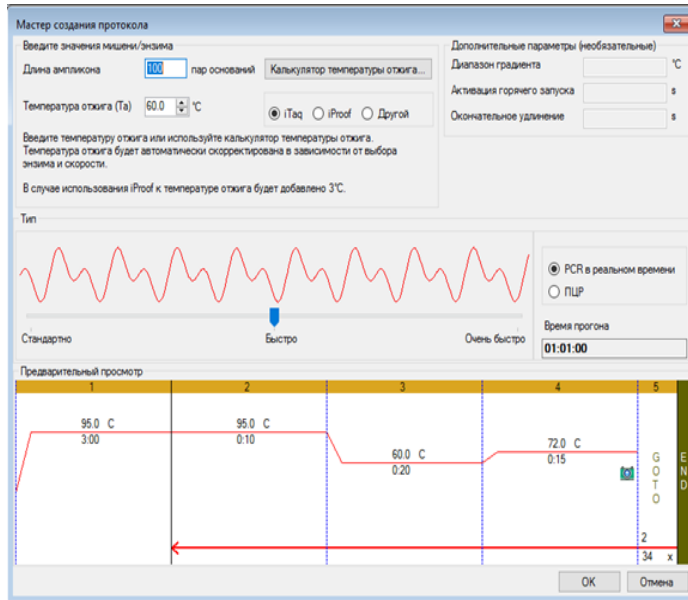
Мастер создания протокола оптимизирует протокол в зависимости от выбранной настройки скорости. Общее время прогона определяется количеством шагов и циклов, временем инкубации на каждом шаге и временем, затрачиваемым на достижение однородности при целевой температуре.

С использованием параметров, предоставленных пользователем, Мастер создания протокола автоматически генерирует пользовательский протокол ПЦР с горячим запуском, первоначальной денатурацией, отжигом и шагами удлинения. Затем можно просмотреть графическое представление предложенного протокола и изменить, выполнить или сохранить протокол.

Чтобы создать новый протокол с использованием Мастера создания протокола CFX Maestro Dx SE, выполните следующие действия

1. В начальном окне выберите Сервис > Мастер создания протокола.

Откроется диалоговое окно Мастер создания протокола.



2. В разделе Введите значения мишени/фермента выполните следующие действия.

- Укажите температуру отжига (T_a) для праймеров, если она известна.

Пояснение. Для получения дополнительной информации см. разд. [Использование калькулятора температуры отжига на стр. 131](#).

Примечание Сведения о расчетах, используемых калькулятором температуры отжига, см. в работе Breslauer et al. 1986.

- Укажите длину ампликона в парах оснований.
- Выберите тип фермента из списка возможных вариантов (ДНК-полимераза iTaq, ДНК-полимераза iProof или Другой).

Пояснение. Если выбран тип фермента Другой (Other), становятся активными параметры в разделе Дополнительные параметры (Additional Parameters) (необязательные).

3. Если вы выбрали тип фермента Другой (Other), вы можете добавить в протокол любое число следующих параметров:
 - Диапазон градиента
 - Температура активации горячего запуска
 - Время окончательного удлинения
4. В разделе «Тип» переведите ползунок, чтобы выбрать скорость протокола (Стандартно, Быстро или Очень быстро). CFX Maestro Dx SE регулирует общее время выполнения прогона.
5. Выберите тип ПЦР для выполнения (по умолчанию: ПЦР в реальном времени).
В случае ПЦР в режиме реального времени CFX Maestro Dx SE добавляет шаг чтения плашки для сбора данных флуоресценции.
6. В разделе Предварительный просмотр выполните предварительный просмотр протокола. При необходимости можно внести изменения.
7. Выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы сохранить новый протокол, нажмите ОК. После сохранения протокол открывается в Мастере запуска. Щелкните Редактировать выбранный, чтобы внести изменения в протокол. Например, вам может потребоваться изменить температуру крышки и объем пробы.
 - Щелкните Отмена, чтобы закрыть окно без сохранения протокола.

Использование калькулятора температуры отжига

Когда температура отжига для праймера неизвестна, можно использовать Калькулятор T_a для вычисления этого значения. Можно использовать значение в Мастере создания протокола или в Редакторе протокола для создания собственного протокола.

Сведения о калькуляторе температуры отжига

Калькулятор T_a рассчитывает значение T_m для каждого праймера, а также значение T_a для протокола на стандартной скорости.

T_a для протокола основана на средних значениях праймера T_m с применением следующих правил:

- Если разница между значениями T_m праймеров >4 °C, $T_a = (\text{меньшее из значений } T_m \text{ двух праймеров} + 2) - 4$ °C
- Если разница между значениями T_m составляет ≤ 4 °C, $T_a = (\text{усредненное значение } T_m \text{ праймеров}) - 4$ °C

Метод подсчета пар оснований

Для каждого праймера калькулятор T_a использует метод подсчета для последовательностей, равных 14 парам оснований или менее.

$$T_m = ((w*A + x*T) * 2) + ((y*G + z*C) * 4),$$

где w , x , y и z представляют собой количество оснований А, Т, G и С в последовательности соответственно.

Метод ближайшего соседа

Для последовательностей длиннее 14 п. о. используется метод ближайшего соседа. В методе ближайшего соседа вычисления температуры плавления основываются на термодинамической взаимосвязи между энтропией (порядок или мера случайности олигонуклеотида), энтальпией (тепло, высвобождаемое или поглощаемое олигонуклеотидом), свободной энергией и температурой.

$$\Delta H = \Delta G + T * \Delta S$$

Где

- ΔH = значение энтальпии, кал/моль*К
- T = температура, по Кельвину
- ΔS = значение энтропии, кал/моль*К
- ΔG = свободная энергия Гиббса в кал/моль*К

Изменение энтропии и энтальпии непосредственно рассчитывают, складывая значения для пар нуклеотидов, показанных в Табл. 8 (Breslauer et al. 1986).

Взаимосвязь между свободной энергией и концентрацией реагирующих веществ и продуктов в равновесии представлена формулой:

$$\Delta G = R * T * \ln ((\text{ДНК} * \text{праймер}) / (\text{ДНК} + \text{праймер}))$$

где R — газовая константа (1,986 кал/моль*К).

Вычитание G в двух уравнениях и решение для T дает

$$T = \Delta H / (\Delta S + R * \ln ((\text{ДНК} * \text{праймер}) / (\text{ДНК} + \text{праймер}))),$$

с допущением, что концентрация ДНК и комплекса ДНК-праймер равны.

Эмпирически установлено, что при переходе ДНК из одноцепочечной формы в В-форму свободная энергия меняется на 5 ккал (3,4 ккал) (Sugimoto et al. 1996). Предположительно, это

энергия инициирования спирали. Наконец, добавление корректировки на соль дает уравнение, которое используется калькулятором T_a :

$$T = (\Delta H - 5(\text{ккал/К*моль})) / (\Delta S + (R * \ln(1/(\text{праймер})))) + 16,6 \log_{10}(\text{молярность соли})$$

Не требуется константы корректировки для концентрации соли, так как различные параметры были определены при 1 М NaCl, и \log_{10} для 1 равен нулю.

Термодинамические расчеты предполагают, что отжиг происходит при pH 7,0. Вычисления T_m предполагают, что последовательности не являются симметричными и содержат по меньшей мере один G или C.

Последовательность олигонуклеотида должна быть длиной не менее 14 пар оснований для предоставления целесообразных значений T_m . При длине менее 14 оснований используется метод подсчета пар оснований (см. след. [Табл. 8](#)).

Табл. 8. Константы взаимодействий Бреслауэра

| Взаимодействие | | ΔH | ΔS | ΔG |
|----------------|----|------------|------------|------------|
| AA | TT | 9,1 | 24 | 1,5 |
| AT | TA | 8,6 | 23,9 | 1,5 |
| AC | TG | 6,5 | 17,3 | 1,3 |
| AG | TC | 7,8 | 20,8 | 1,6 |
| TA | AT | 6 | 16,9 | 0,9 |
| TT | AA | 9,1 | 24 | 1,9 |
| TC | AG | 5,6 | 13,5 | 1,6 |
| TG | AC | 5,8 | 12,9 | 1,9 |
| CA | GT | 5,8 | 12,9 | 1,9 |
| CT | GA | 7,8 | 20,8 | 1,6 |
| CC | GG | 11 | 26,6 | 3,1 |
| CG | GC | 11,9 | 27,8 | 3,6 |
| GA | CT | 5,6 | 13,5 | 1,6 |
| GT | CA | 6,5 | 17,3 | 1,3 |

Табл. 8. Константы взаимодействий Бреслауэра, продолжение

| Взаимодействие | | ΔH | ΔS | ΔG |
|-----------------------|----|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| GC | CG | 11,1 | 26,7 | 3,1 |
| GG | CC | 11 | 26,6 | 3,1 |

Использование калькулятора температуры отжига

Чтобы использовать калькулятор температуры отжига, выполните следующие действия

1. Чтобы открыть калькулятор температуры отжига, выполните одно из следующих действий.

- Если открыт Мастер создания протокола, щелкните Калькулятор T_a .
- В начальном окне выберите Сервис > Калькулятор T_a .

Откроется диалоговое окно Калькулятор температуры отжига.

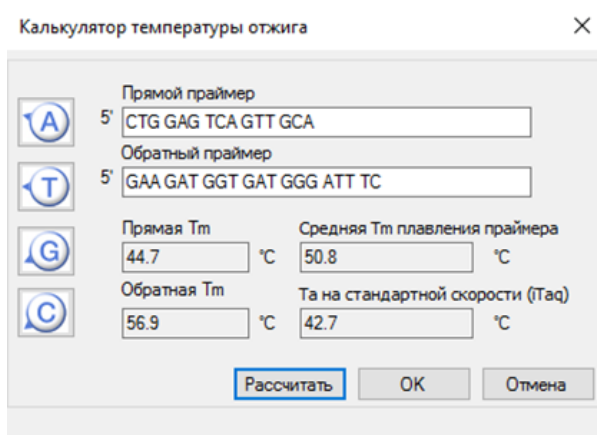
2. В текстовом поле Прямой праймер введите или вставьте последовательность прямого праймера.

Пояснение. Также можно использовать кнопки A, T, G, C с левой стороны диалогового окна, чтобы ввести последовательность.

3. Введите или вставьте последовательность обратного праймера в текстовом поле Обратный праймер.

4. Щелкните Рассчитать.

Калькулятор T_a рассчитывает и отображает T_m каждого праймера и усредненные значения T_m и T_a , например:



Калькулятор температуры отжига

| | | |
|---|------|----------------------------|
| Прямой праймер | 5' | CTG GAG TCA GTT GCA |
| Обратный праймер | 5' | GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC |
| Прямая T_m | 44.7 | °C |
| Средняя T_m плавления праймера | 50.8 | °C |
| Обратная T_m | 56.9 | °C |
| T_a на стандартной скорости (iTa _q) | 42.7 | °C |

Кнопки: Рассчитать, ОК, Отмена

Если значения T_m праймеров разделены более чем 4 °C, Мастер создания протокола использует более низкое значение T_m праймеров + 2 °C как основу для расчета значения T_a , которую можно далее изменить путем изменения энзима и скорости реакции.

Калькулятор T_a генерирует температуру отжига для стандартной скорости с полимеразой ДНК iTaq. При использовании другого энзима настройки скорости автоматически корректируют T_a .

5. Выполните одно из следующих действий.

- Если Калькулятор T_a открыт из Мастера создания протокола, щелкните ОК. Снова откроется Мастер создания протокола. Температура отжига будет изменена автоматически.
- Если Калькулятор T_a открыт из меню Сервис, запишите расчеты и щелкните Отмена, чтобы закрыть калькулятор.

Глава 8 Подготовка плашек

Файл плашки содержит информацию о параметрах прогона, такую как режим сканирования, флуорофора и содержимое лунок. После прогона ПО CFX Maestro Dx, Security Edition связывает содержимое лунок с данными флуоресценции, собранными во время прогона, и применяет соответствующий анализ в окне «Анализ данных». Например, лунки, загруженные пробой стандартного типа, используются для формирования стандартной кривой.

CFX Maestro Dx SE предлагает два варианта создания плашек: Редактор плашки для прогонов ПЦР в реальном времени и Мастер настройки для анализа нормализованной экспрессии гена.

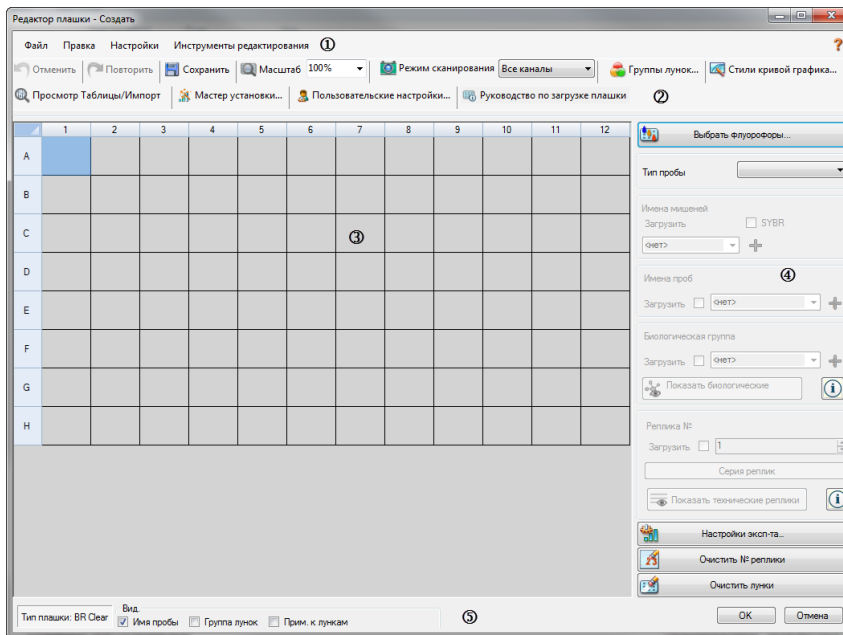
В Редакторе плашки содержатся следующие элементы:

- Стандартные флуорофоры и типы проб для назначения лункам плашки
- Возможность задать референсную мишень и контрольную пробу для анализа экспрессии гена
- Возможность редактировать схему плашки до прогона, во время прогона или после него
- Возможность сохранения файлов плашки для использования в будущем
- Возможность печатать файл плашки на принтере по умолчанию

Мастер настройки проводит пользователя через этапы создания схемы плашки для анализа нормализованной экспрессии гена. Мастер установки можно использовать до, во время или после прогона.

Окно Редактор плашки

Редактор плашки используется для создания пользовательских плашек или изменения существующих плашек.



УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

1. Строка меню предоставляет быстрый доступ к опциям меню Файл и Настройки, а также к инструментам редактирования плашки.
2. Панель инструментов предоставляет быстрый доступ к важным функциям загрузки плашки.
3. На основной панели отображаются применяемые схема и параметры плашки.
4. На правой панели отображаются параметры, используемые для пользовательской настройки плашки.
5. На нижней панели отображается тип плашки и предоставляется быстрый доступ к параметрам просмотра.

Опции меню Файл

Сохранить — сохраняет файл данных плашки в расположение, указанное на вкладке Файл в диалоговом окне Пользовательские настройки. Для получения дополнительной информации см. разд. [Изменение настроек файла по умолчанию на стр. 94](#). Этот пункт меню доступен только при создании нового файла плашки.

Save As (Сохранить как) — сохранение открытого файла данных плашки под указанным новым именем. Этот пункт меню доступен только при создании нового файла плашки.

Пароли файлов - позволяет пользователям устанавливать пароли для сохранения и открытия файлов.

Извлечь плашку — открывает диалоговое окно, в котором можно извлечь/сохранить файл плашки (.pltd). Этот пункт меню доступен только при просмотре или редактировании существующего файла плашки.

Печать — печатает файл данных открытой плашки.

Заккрыть — закрывает Редактор плашки.

Опции меню Правка

Отменить — отменяет изменение файла плашки, пока файл плашки не будет сохранен.

Повторить — отменяет последнее действие Отмена, пока файл плашки не будет сохранен.

Опции меню Настройки

Размер плашки — открывает диалоговое окно, из которого можно выбрать размер плашки для прогона.

Примечание Размер плашки должен соответствовать размеру блока прибора, на котором проводится прогон.

Выберите 96-луночную плашку для:

- CFX Opus 96 Dx
- CFX Opus Deerwell Dx

Выберите 384-луночную плашку для:

- CFX Opus 384Dx

Тип плашки — позволяет выбрать тип лунок на плашке с пробамми, включая BR White (с белыми лунками) и BR Clear (с прозрачными лунками). Для точного анализа данных необходимо, чтобы выбранный тип плашки соответствовал типу плашки, используемой в прогоне.

Примечание Необходимо производить калибровку новых типов плашки. Для получения дополнительной информации см. разд. [Калибровка для новых красителей на стр. 84](#).

Числовое представление — позволяет сделать выбор или отмену выбора отображения единиц в экспоненциальном представлении. По умолчанию единицы отображаются в экспоненциальном представлении.

Units (Единицы измерения) — выбор единиц измерения для отображения в таблицах при выполнении количественного анализа неизвестных проб в сравнении со стандартной кривой.

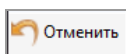
Опции меню Инструмент редактирования

Мастер установки — открывает Мастер установки, в котором можно определить структуру и параметры анализа для текущей плашки. Мастер установки можно использовать до, во время или после завершения прогона.

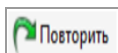
Просмотр табл. плашки/Средство импорта — открывает диалоговое окно Просмотр, в котором отображается схема плашки как шаблон в формате табл. Можно использовать это диалоговое окно для экспорта или импорта данных шаблона плашки в формате .csv.

Flip Plate (Перевернуть плашку) — переворачивает содержимое плашки на 180°.

Опции панели управления



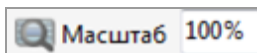
Отменяет изменение применительно к плашке. CFX Maestro Dx SE поддерживает до десяти действий отмены



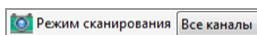
Отменяет последнее действие отмены. CFX Maestro Dx SE поддерживает до десяти действий повтора.



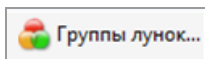
Сохраняет текущий файл плашки.



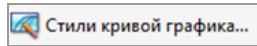
Отображает выпадающий список, в котором можно увеличить или уменьшить увеличение представления плашки.



Отображает выпадающий список, в котором можно выбрать режим сканирования, указывающий прибору, из каких каналов собирать данные флуоресценции во время прогона.

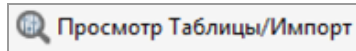


Открывает Диспетчер групп лунок, который можно использовать, чтобы создавать группы лунок для текущей плашки.



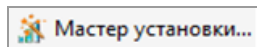
Стили кривой графика...

Отображает диалоговое окно, в котором можно выбирать цвета и символы для кривых амплификации.



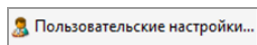
Просмотр Таблицы/Импорт

Открывает диалоговое окно Просмотр, в котором отображается схема плашки как шаблон в формате таблицы. С помощью этого диалогового окна можно экспортировать или импортировать данные шаблона плашки в формате .csv.



Мастер установки...

Открывает Мастер установки, в котором можно определить структуру и параметры анализа для текущей плашки. Мастер установки можно использовать до, во время или после прогона.



Пользовательские настройки...

Открывает вкладку Плашка в диалоговом окне Пользовательские настройки, на которой можно определить параметры структуры плашки и создать или удалить имена мишени, пробы и биологической группы. Изменения, выполненные на вкладке Плашка, доступны в следующий раз при открывании Редактора плашки.



Руководство по загрузке плашки

Отображает необходимые действия по настройке плашки и загрузке лунок.

Создание файла плашки с использованием Редактора плашки

С помощью Редактора плашки можно создавать пользовательские файлы плашки. Также можно редактировать и сохранять ранее сохраненные файлы плашки или примеры файлов плашки, предоставляемые с Сист. CFX Opus Dx.

Чтобы создать новый файл плашки, выполните следующие действия.

- Откройте файл плашки в Редакторе плашки.

- Выберите тип плашки.

Примечание Тип плашки для файла плашки должен соответствовать плашке в реакционном модуле.

- Выберите режим сканирования, который будет использоваться в протоколе.

- Выберите флуорофоры, которые будут использоваться на плашке.

- Выберите тип пробы, мишени и пробы.

- Выберите технические повторности, если они выполнялись.

- Сохраните схему плашки.

Пояснение. Порядок создания новой плашки из ранее сохраненного файла или примера файла плашки см. в разд. [Открытие существующего файла плашки в Редакторе плашки на стр. 144.](#)

Открытие нового файла плашки в Редакторе плашки

CFX Maestro Dx SE предлагает несколько вариантов открытия нового файла плашки:

- Из начального окна
- Из диалогового окна Мастер запуска
- Из диалогового окна Создать прогон

Чтобы открыть новый файл плашки из начального окна, выполните следующие действия

- ▶ Выберите Файл > Создать > Плашку.

Открывается окно Редактор плашки с отображением файла плашки по умолчанию для выбранного прибора.

Пояснение. Сведения о настройке плашки по умолчанию см. в разд. [Изменение настроек файла по умолчанию на стр. 94](#).

Чтобы открыть новый файл плашки из Мастера запуска, выполните следующие действия

1. В начальном окне выполните одно из следующих действий, чтобы открыть Мастер запуска, если он не виден:
 - Выберите Вид > Мастер запуска.
 - Щелкните Мастер запуска на панели управления.
2. Если необходимо, выберите тип прибора из раскрывающегося списка.
3. Чтобы создать новую плашку, щелкните Определяет пользователь как тип прогона. Отобразится диалоговое окно Создать прогон с открытой вкладкой Протокол.
4. Щелкните вкладку Плашка и щелкните Создать.
Открывается окно Редактор плашки с отображением схемы плашки по умолчанию для выбранного прибора.

Чтобы открыть новый файл плашки из диалогового окна Создать прогон, выполните следующие действия

1. В начальном окне выполните одно из следующих действий, чтобы открыть диалоговое окно Создать прогон.
 - Выберите Прогон > Прогон, определяемый пользователем.
 - Щелкните Настройка прогона, определяемого пользователем, в панели управления.Отобразится диалоговое окно Создать прогон с открытой вкладкой Протокол.
2. Чтобы создать новую плашку, щелкните вкладку Плашка и щелкните Создать.
Открывается окно Редактор плашки с отображением схемы плашки по умолчанию для выбранного прибора.

Открытие существующего файла плашки в Редакторе плашки

CFX Maestro Dx SE предоставляет образцы файлов плашки, которые можно редактировать и сохранять как новую плашку. Можно также создать новый файл плашки из ранее сохраненного файла плашки.

Чтобы открыть пример файла плашки, выполните следующие действия

1. В начальном окне выберите Файл > Открыть > Плашку.
Проводник Windows открывает расположение папки с примерами файлов Сист. CFX Opus Dx.
2. Откройте папку с примерами файлов, затем откройте папку Plates (Плашки).
3. Выберите файл плашки и нажмите «Открыть».
Пример файла плашки открывается в окне Редактор плашки.
4. Выберите Файл > Сохранить как и сохраните файл плашки с новым именем или в новую папку.

Чтобы открыть ранее сохраненный файл плашки, выполните следующие действия

1. В начальном окне выполните одно из следующих действий.
 - Выберите Файл > Открыть > Плашку, откройте и выберите целевую плашку и щелкните Открыть.
 - Откройте Мастер запуска и выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы редактировать существующий файл плашки, щелкните Выбрать существующий и найдите целевой файл.
 - Чтобы редактировать отображаемый файл плашки, щелкните Редактировать выбранный.Целевая плашка открывается в окне Редактор плашки.
2. Выберите Файл > Сохранить как и сохраните файл плашки с новым именем или в новую папку.

Настройка нового файла плашки

Пояснение. Если ваш файл плашки включает необходимые параметры (например, если вы редактируете пример или существующий файл плашки), то можно пропустить этот раздел. Перейдите к разделу [Назначение необязательных параметров файлу плашки на стр. 152](#).

Для новых файлов плашки требуются следующие параметры.

- Размер плашки
- Тип плашки
- Режим сканирования
- Один флуорофор (краситель)
- Один тип пробы

Выбор размера и типа плашки

Важно! Размер плашки необходимо выбрать во время создания плашки. В процессе прогона или после него изменить размер плашки невозможно.

Программное обеспечение применяет размер и тип плашки ко всем лункам в ходе прогона. Убедитесь, что размер плашки соответствует плашке, используемой в прогоне.

Системы Bio-Rad CFX Opus Dx откалиброваны на заводе для многих комбинаций флуоресцентных красителей и плашек. Калибровка проводится индивидуально для каждого прибора, для каждого из красителей и типов плашек. Убедитесь, что флуорофор, который вы собираетесь использовать, откалиброван для выбранного типа плашки.

Пояснение. Для калибровки нового сочетания красителя и типа плашки на приборе выберите Сервис > Мастер калибровки красителей. Для получения информации о калибровке красителей и типов плашек см. разд. [Калибровка для новых красителей на стр. 84](#).

Выбор режима сканирования

Системы CFX Opus 96 Dx и CFX Opus Deerwell Dx возбуждают и детектируют флуорофоры по пяти каналам (и FRET). Система CFX Opus 384 Dx возбуждает и детектирует флуорофоры по четырем каналам (и FRET). Все системы используют несколько режимов сбора данных для сбора данных флуоресценции во время прогона.

CFX Maestro Dx SE предлагает три режима сканирования.

- All Channels (Все каналы):
 - Сканирует каналы с 1 по 5 в системах CFX Opus 96 Dx и CFX Opus Deerwell Dx
 - Сканирует каналы с 1 по 4 в системах CFX Opus 384 Dx

- SYBR®/FAM
 - Сканирует только канал 1
 - Обеспечивает быстрое сканирование
- FRET (РПЭФ):
 - Сканирует только канал FRET
 - Обеспечивает быстрое сканирование

Выбор флуорофоров

Важно! До начала прогона система CFX проверяет, были ли флуорофоры, указанные для плашки, калиброваны на данном приборе. Если плашка содержит флуорофоры, не откалиброванные для данного прибора, выполнить прогон плашки будет невозможно.

Необходимо загрузить по меньшей мере один флуорофор в схему плашки перед прогоном. На данный момент можно добавить столько флуорофоров, сколько требуется, но плашка должна содержать как минимум один флуорофор. Выбранные флуорофоры отображаются в качестве параметров для мишеней в разделе Имена мишеней.

Диалоговое окно Выбрать флуорофоры используется для загрузки флуорофоров (или красителей плашки) в элементы управления загрузкой в окне Редактор плашки. Флуорофоры, которые отображаются в диалоговом окне Выбрать флуорофоры, зависят от выбранного режима сканирования:

- All Channels (Все каналы):

Отображаются все доступные флуорофоры.

Пояснение. Можно добавить столько флуорофоров, сколько требуется, но можно загружать только по одному флуорофору на канал в каждую лунку.

- SYBR®/FAM

Отображаются только флуорофоры канала 1.

- FRET (РПЭФ):

Отображается только флуорофор канала 6.

Пояснение. Флуорофор канала 6 FRET появляется только тогда, когда выбран режим сканирования FRET. Он недоступен для режима сканирования Все каналы.

Примечание Можно добавлять или удалять флуорофоры непосредственно из диалогового окна Выбрать флуорофоры. Необходимо выполнить калибровку новых флуорофоров на приборе, используя Мастер калибровки красителей. После калибровки новый флуорофор

автоматически добавляется в этот список. Для получения дополнительной информации см. разд. [Калибровка для новых красителей на стр. 84](#).

Выбор типов пробы

Важно! Необходимо выбрать по меньшей мере один тип пробы для назначения лункам плашки перед прогоном.

CFX Maestro Dx SE предлагает пять типов пробы:

- Unknown (Неизвестный)
- Standard (Стандартный)
- NTC (контроль без матрицы)
- Positive Control (Положительный контроль)
- Отрицательный контроль
- NRT (без ревертазы (обратной транскриптазы))

Пользователь назначает типы проб лункам плашки.

Настройка новой плашки

Порядок настройки новой плашки

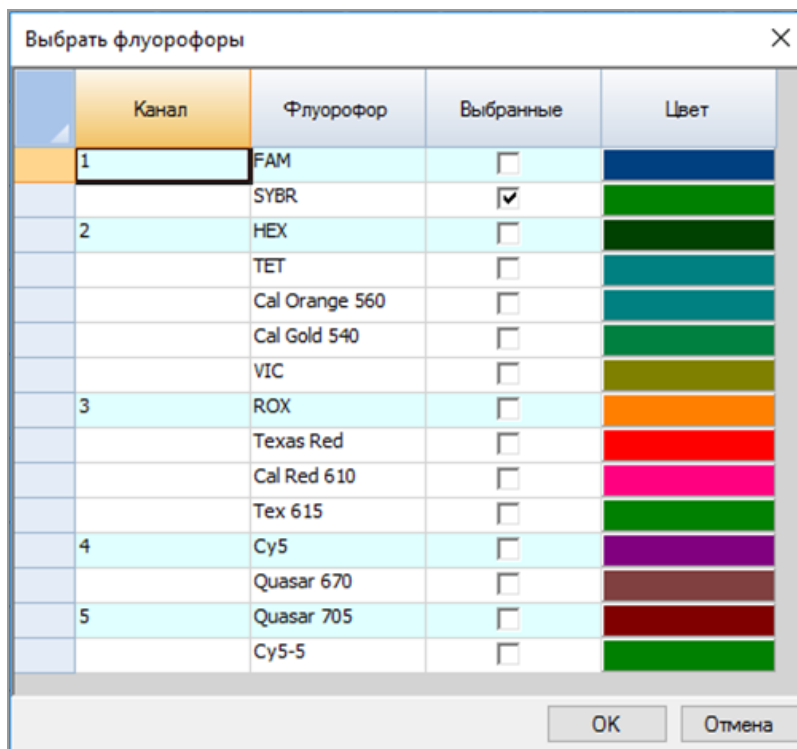
1. Откройте новую плашку в окне Редактор плашки.
2. Чтобы настроить размер плашки, выберите Настройки > Размер плашки и выберите соответствующий размер плашки из раскрывающегося меню.
3. Чтобы настроить тип плашки, выберите Настройки > Тип плашки и выберите BR White (с белыми лунками) или BR Clear (с прозрачными лунками) из раскрывающегося меню.
4. При желании в меню Настройки можно изменить числовое представление и отображаемые единицы.
 - Чтобы изменить числовое представление, выберите Настройки > Числовое представление и выберите Экспоненциальное представление.

Пояснение. Экспоненциальное представление выбрано по умолчанию. В данном случае выбор Экспоненциального представления очищает значение по умолчанию и переводит числовое представление в стандартную форму.

 - Чтобы изменить отображаемые единицы, выберите Настройки > Единицы и выберите новое значение для единиц.

5. Чтобы настроить режим сканирования, выберите соответствующий режим сканирования из раскрывающегося списка «Режим сканирования» в панели управления окна «Редактор плашки».
6. Выберите необходимые флуорофоры для плашки:
 - a. В правой панели щелкните Выбрать флуорофоры.

Откроется диалоговое окно Выбрать флуорофоры. Отобразятся флуорофоры, доступные для режима сканирования, выбранного на [Шаг 5](#).



- b. Чтобы выбрать флуорофор, щелкните его флажок Выбранные.

Пояснение. Чтобы удалить флуорофор из списка, снимите его флажок Выбранные.
- c. Чтобы изменить цвет отображения флуорофора, щелкните его поле Цвет.

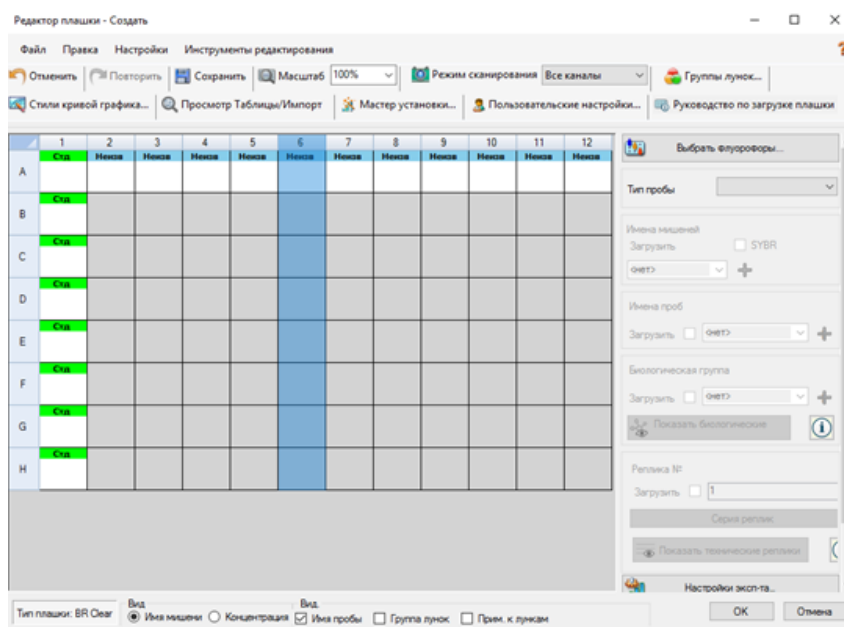
Примечание Выбранный цвет представляет флуорофор как в окне Редактор плашки, так и на диаграммах Анализ данных.
- d. В диалоговом окне Цвет выберите желаемый цвет или щелкните Определить пользовательские цвета и создайте новый цвет для представления флуорофора.
- e. Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно Флуорофоры.

7. Нужно выбрать как минимум одну лунку для загрузки типа проб. По умолчанию выбрана лунка А1.

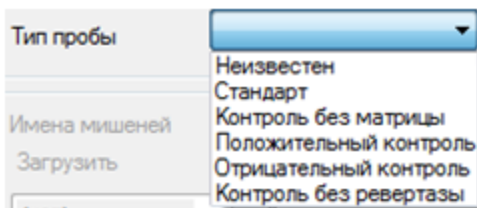
На панели плашки выполните одно из следующих действий.

- Чтобы загрузить несколько соседних лунок, щелкните лунку и проведите мышью, не отпуская клавишу мыши, до целевой лунки.
- Чтобы загрузить несколько не соседних лунок, нажмите клавишу Ctrl и щелкайте каждую лунку по отдельности.
- Чтобы загрузить весь столбец одним типом пробы, щелкните номер столбца.
- Чтобы загрузить всю строку, щелкните номер строки.
- Чтобы загрузить всю плашку, щелкните верхний левый угол плашки.

Например:



8. Назначьте тип пробы выбранной лунке или лункам из раскрывающегося меню Тип пробы.

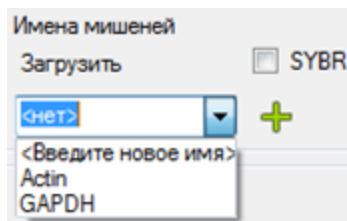


9. Назначьте не менее одного флуорофора для всех лунок, содержащих пробы определенного типа. Можно назначить более одного флуорофора в лунку или группу лунок.

Примечание Можно назначить всего один флуорофор на канал. Нельзя назначить более одного флуорофора из одного канала в одну и ту же лунку.

Пояснение. Можно связать мишень с флуорофором либо же назначить только флуорофор в лунку на этот момент и ассоциировать мишень с флуорофором после проведения эксперимента.

- Чтобы назначить только флуорофор в выбранные лунки, в разделе Имена мишеней в правой панели выберите флажок Загрузить для определенного флуорофора.
- Чтобы связать мишень с флуорофором, в разделе Имена мишеней выберите имя мишени из раскрывающегося списка для конкретного флуорофора. Программное обеспечение автоматически устанавливает флажок Загрузить для него.



10. Для лунок, содержащих тип пробы Стандарт, необходимо загрузить концентрацию. Каждая лунка может иметь свое значение концентрации. По умолчанию, CFX Maestro Dx SE загружает концентрацию 1,00E+06 во все лунки с типом пробы Стандарт. Если требуется, это значение можно изменить.

- a. В панели плашки выберите лунку или группу лунок Стандарт.
- b. В разделе «Концентрация» щелкните «Загрузить», чтобы загрузить значение выбранной лунки или нескольких лунок.
- c. (Необязательно) Чтобы загрузить другую концентрацию, введите новое значение в текстовое поле Концентрация и нажмите Ввод.
- d. Выполните этот шаг для всех лунок с типом пробы Стандарт.

Пояснение. Чтобы загрузить эту же концентрацию во все лунки Стандарт, убедитесь, что в раскрывающемся списке под значением Концентрация отображается <Все>.

Чтобы загрузить это же значение концентрации во все лунки с определенным флуорофором, щелкните раскрывающийся список и выберите флуорофор.

11. Чтобы сохранить новую плашку, нажмите ОК.

Пункты меню, вызываемые правой кнопкой мыши, для инструмента редактора плашки

В Табл. 9 перечислены пункты меню, доступные в инструменте «Редактор плашки» при щелчке правой кнопкой мыши любой лунки. Это меню также появляется в окне просмотра/импорта электронных таблиц.

Табл. 9. Пункты меню, открывающегося при щелчке правой кнопкой мыши, в окне «Просмотр/импорт табл. плашки»

| Пункт | Функция |
|--|---|
| Copy (Копировать) | Копирует всю таблицу. |
| Copy as Image (Копировать как изображение) | Копирует таблицу в виде файла изображения. |
| Print (Печать) | Печать таблицы. |
| Print Selection (Печать выделенного фрагмента) | Печать только выделенных ячеек. |
| Export to Excel (Экспорт в Excel) | Экспортирует файл в электронную таблицу Excel. |
| Export to CSV (Экспорт в CSV) | Экспортирует файл как файл .csv. |
| Export to Xml (Экспорт в XML) | Экспортирует файл как файл .xml. |
| Export to Html (Экспорт в HTML) | Экспортирует файл как файл .html. |
| Find (Найти) | Поиск конкретного текста. |
| Sort (Сортировать) | Сортирует таблицу путем выбора до трех столбцов данных в окне Сортировка. |

Назначение необязательных параметров файлу плашки

Файл плашки содержит информацию о содержимом каждой лунки, загруженной пробой для прогона. После прогона CFX Maestro Dx SE связывает содержимое лунок с данными флуоресценции, собранными во время протокола, и применяет соответствующий анализ в окне Анализ данных.

В CFX Maestro Dx SE можно назначить параметры каждой лунке на плашке до, во время и после проведения экспериментов. Можно назначить параметры существующему файлу плашки или новому файлу плашки. Эти параметры включают:

- **Имена мишеней** — интересующая мишень или мишени (гены или последовательности) в каждой загруженной лунке.
- **Имена проб** — идентификатор состояния, которое соответствует пробе в каждой загруженной лунке, (например, мышь 1, мышь 2 или мышь 3).
- **Биологические группы** — идентификатор состояния, которое соответствует группе лунок, например 0 ч, 1 ч или 2 ч.

Пояснение. Для возможности сравнения данных на вкладке «Экспрессия гена» окна «Анализ данных» имена мишеней, имена проб и биологических групп должны быть одинаковыми по всем лункам. Имена должны иметь одинаковую пунктуацию и количество пробелов. Они также чувствительны к регистру. Например «Actin» отличается от «actin», «2ч» отличается от «2 ч», а «Мышь 1» не то же самое, что «мышь1». Для обеспечения последовательности в именовании вводите имена в разделе Библиотеки в Пользователь > Пользовательские настройки > Плашка, доступном в начальном окне.

- **Техническая повторность** — каждая лунка, которая используется для анализа одной комбинации пробы и мишени(-ей); то есть повторности реакций кПЦР.
- **Серия разведений** — насколько менять концентрацию типа пробы Стандарт в группе реплик для создания данных стандартной кривой для анализа.

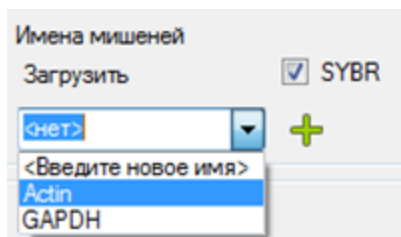
Назначение мишени лункам

Пояснение. Можно назначить одно и то же имя мишени одной или нескольким лункам. Также можно назначить несколько мишеней одной лунке.

Важно! При нажатии ОК после назначения мишени происходит сохранение изменений и становится невозможной отмена в панели управления Редактора плашки. Будьте осторожны при нажатии ОК.

Порядок назначения мишени лунке или группе лунок

1. В Редакторе плашки убедитесь, что лунке или группе лунок назначен тип пробы.
Сведения о назначении типов проб лункам см. в разделе [Выбор типов пробы на стр. 147](#).
2. В панели плашки выберите лунку или группу лунок.
 - Чтобы выбрать одну лунку, щелкните ее.
 - Чтобы выбрать несколько соседних лунок, щелкните лунку и проведите мышью, не отпуская клавишу мыши, до целевой лунки.
 - Чтобы выбрать несколько не соседних лунок, нажмите клавишу Ctrl и щелкайте каждую лунку по отдельности.
 - Чтобы выбрать весь столбец с одним типом пробы, щелкните номер столбца.
 - Чтобы выбрать всю строку, щелкните номер строки.
3. В правой панели выберите имя из раскрывающегося списка «Имя мишени» для каждого выбранного флуорофора.



4. Повторите [Шаг 3](#) для каждой лунки или группы лунок, которым нужно назначить мишень.
Пояснение. Можно назначить такое же или разные имена мишеней для каждого выбранного флуорофора.
5. Нажмите ОК, чтобы принять изменения и сохранить плашку.

Примечание Если плашка изменена ошибочно, щелкните Отмена в панели управления Редактора плашки прежде, чем щелкните ОК, чтобы принять изменения.

Чтобы удалить имя мишени, выполните следующие действия

- ▶ Чтобы удалить имя мишени из выбранной лунки или группы лунок, снимите ее флажок Загрузить.

Важно! Удаление имени мишени из лунки также приводит к удалению связанного флуорофора. Будьте внимательны при удалении названия мишени из лунки.

Чтобы добавить имя мишени в список, выполните следующие действия

- ▶ Чтобы добавить имя мишени в раскрывающийся список, выполните одно из следующих действий:
 - Введите имя в раскрывающийся список Имя мишени и нажмите клавишу ввода.

Пояснение. Названия мишеней, добавляемых в один список, появляются во всех остальных списках мишеней.
 - Нажмите зеленый символ «+» справа от выпадающего списка, введите название для мишени и нажмите клавишу Enter.
 - Щелкните Пользовательские настройки на панели управления и добавьте имя в библиотеку имен мишеней на вкладке Плашка.

Важно! Названия мишеней, добавляемые в выпадающий список, доступны только для текущей плашки и только в том случае, если название назначено лунке и схема плашки сохранена. Если не назначить название лунке и сохранить схему плашки, название не сохраняется и будет недоступно для дальнейшего использования. Чтобы навсегда добавить имя мишени, также добавьте его в библиотеку Имена мишеней через диалоговое окно Пользовательские настройки. Имена, добавленные в библиотеку, доступны после повторного открытия Редактора плашки. Для получения дополнительной информации см. раздел [Установка параметров плашки по умолчанию на стр. 97](#).

Порядок удаления названия мишени из списка

1. Щелкните Пользовательские настройки на панели управления.

Отобразится диалоговое окно Пользовательские настройки со вкладкой Плашка.
2. В библиотеке Имена мишеней на вкладке Плашка выберите имя для удаления и нажмите кнопку Удалить.
3. Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и выйти из диалогового окна Пользовательские настройки.

Важно! Названия мишеней, сохраненные в файле плашки, невозможно удалить. Пользовательские имена, добавленные в раскрывающийся список Имена мишеней, которые не использовались и не были сохранены с плашкой, автоматически удаляются из списка. Имена, удаленные из библиотеки имен мишеней, безвозвратно удаляются из ПО и больше не доступны пользователям. Будьте внимательны при удалении названий мишеней.

Назначение имени пробы лункам

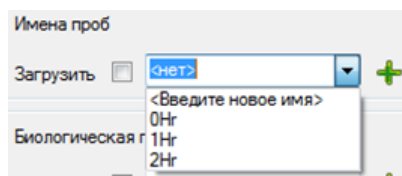
Примечание Чтобы назначить имя пробы, необходимо назначить выбранным лункам по меньшей мере один флуорофор. Если выбранным лункам не назначен флуорофор, раскрывающийся список Имена проб будет отключен. Для получения дополнительной информации о назначении флуорофоров см. разд. [Назначение мишени лункам на стр. 152](#).

Пояснение. Можно назначить только одно имя пробы каждой лунке или группе лунок.

Порядок назначения названия пробы лунке или группе лунок

1. В Редакторе плашки убедитесь, что лунке или группе лунок назначен флуорофор.
2. В панели плашки выберите лунку или группу лунок.
3. В правой панели выберите имя из раскрывающегося списка «Имена мишеней».

Программное обеспечение автоматически устанавливает флажок Загрузить для него.



4. Повторите [Шаг 3](#) для каждой лунки или группы лунок, которым нужно назначить название пробы.
5. Нажмите ОК, чтобы принять изменения и сохранить плашку.

Примечание Если плашка изменена ошибочно, щелкните Отмена в панели управления Редактора плашки прежде, чем щелкните ОК, чтобы принять изменения.

Чтобы удалить имя пробы, выполните следующие действия

- ▶ Чтобы удалить имя пробы из выбранной лунки или группы лунок, снимите ее флажок Загрузить.

Чтобы добавить имя пробы в список, выполните следующие действия

- ▶ Чтобы добавить имя пробы в раскрывающийся список, выполните одно из следующих действий:
 - Введите имя в раскрывающийся список Имена проб и нажмите клавишу ввода.
 - Щелкните зеленый символ + справа от раскрывающегося списка и введите имя для пробы.

- Щелкните Пользовательские настройки на панели управления и добавьте имя в библиотеку имен проб на вкладке Плашка.

Важно! Названия проб, добавляемые в выпадающий список, доступны только для текущей плашки и только в том случае, если название назначено лунке и схема плашки сохранена. Если не назначить название лунке и сохранить схему плашки, название не сохраняется и будет недоступно для дальнейшего использования. Чтобы навсегда добавить имя пробы, также добавьте его в библиотеку Имена проб через диалоговое окно Пользовательские настройки. Имена, добавленные в библиотеку, доступны после повторного открытия Редактора плашки. Для получения дополнительной информации см. раздел [Установка параметров плашки по умолчанию на стр. 97](#).

Порядок удаления названия пробы из списка

1. Щелкните Пользовательские настройки на панели управления.
Отобразится диалоговое окно Пользовательские настройки со вкладкой Плашка.
2. В библиотеке Имена проб на вкладке Плашка выберите имя для удаления и нажмите кнопку Удалить.
3. Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и выйти из диалогового окна Пользовательские настройки.

Важно! Имена проб, сохраненные с файлом плашки, не подлежат удалению. Пользовательские имена, добавленные в список Имена проб, которые не использовались и не были сохранены с плашкой, автоматически удаляются из раскрывающегося списка. Имена, удаленные из библиотеки имен проб, удаляются из ПО и больше не доступны пользователям. Будьте внимательны при удалении названий проб.

Присвоение лункам биологических групп

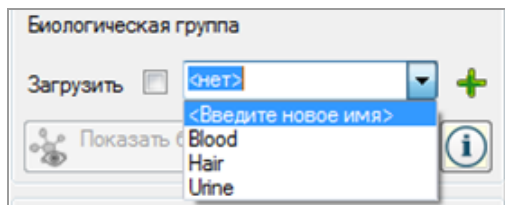
Примечание Чтобы присвоить выбранным лункам биологическую группу, необходимо назначить им по меньшей мере один флуорофор. Назначение флуорофора включает в себя раскрывающийся список «Биологические группы». Для получения дополнительной информации о назначении флуорофоров см. разд. [Назначение мишени лункам на стр. 152](#).

Пояснение. Можно присвоить только одну биологическую группу каждой лунке или группе лунок.

Присвоение биологической группы лунке или группе лунок

1. В Редакторе плашки убедитесь, что лунке или группе лунок назначен флуорофор.
2. В панели плашки выберите лунку или группу лунок.
3. В правой панели сделайте выбор из раскрывающегося списка «Биологическая группа».

CFX Maestro Dx SE автоматически устанавливает для нее флажок Загрузить.



4. Повторите [Шаг 3](#) для каждой лунки или группы лунок, которым нужно присвоить биологическую группу.
5. Нажмите ОК, чтобы принять изменения и сохранить плашку.

Примечание Если плашка изменена ошибочно, щелкните Отмена в панели управления Редактора плашки прежде, чем щелкните ОК, чтобы принять изменения.

Чтобы удалить биологическую группу

- ▶ Чтобы удалить биологическую группу с выбранной лунки или группы лунок, снимите флажок «Загрузить».

Чтобы добавить биологическую группу в список

- ▶ Чтобы добавить биологическую группу в раскрывающийся список, выполните одно из следующих действий:
 - Введите имя в раскрывающееся поле Биологическая группа и нажмите клавишу ввода.
 - Щелкните зеленый символ + справа от раскрывающегося списка и введите имя для биологической группы.
 - Щелкните «Пользовательские настройки» на панели управления и добавьте имя в библиотеку имен биологических групп на вкладке «Плашка».

Важно! Имена биологических групп, добавляемые в раскрывающийся список, доступны только для текущей плашки и только если вы назначите имя лунке и сохраните схему плашки. Если не назначить название лунке и сохранить схему плашки, название не сохраняется и будет недоступно для дальнейшего использования. Чтобы навсегда добавить имя биологической группы в список, также добавьте его в библиотеку «Имена биологических групп» через диалоговое окно «Пользовательские настройки». Имена, добавленные в библиотеку, доступны после повторного открытия Редактора плашки. Для получения дополнительной информации см. разд. [Установка параметров плашки по умолчанию на стр. 97](#).

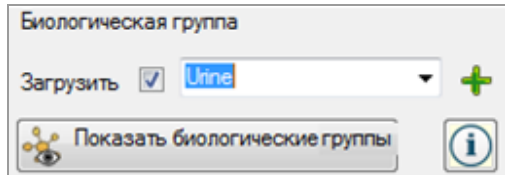
Порядок удаления названия биологической группы из списка

1. Щелкните Пользовательские настройки на панели управления.
Отобразится диалоговое окно Пользовательские настройки со вкладкой Плашка.
2. В библиотеке «Имена биологических групп» на вкладке «Плашка» выберите имя для удаления и нажмите кнопку «Удалить».
3. Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и выйти из диалогового окна Пользовательские настройки.

Важно! Имена биологических групп, сохраненные с файлом плашки, не подлежат удалению. Пользовательские имена, добавленные в раскрывающийся список Имена биологических групп, которые не использовались и не были сохранены с плашкой, автоматически удаляются из списка. Имена, удаленные из библиотеки имен биологических групп, безвозвратно удаляются из ПО и больше не доступны пользователям. Будьте внимательны, удаляя имена биологических групп.

Просмотреть все биологические группы на плашке

- ▶ Щелкните Показать биологические группы для просмотра всех биологических групп на плашке.



Каждая группа обозначается отдельным цветом, и кнопка Показать биологические группы меняется на кнопку Скрыть биологические группы.

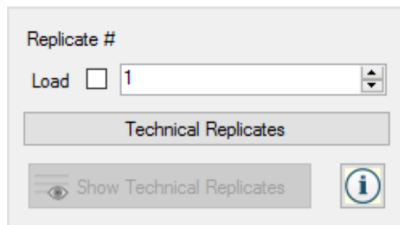
Щелкните Скрыть биологические группы, чтобы убрать цвет лунок. Кроме того, чтобы скрыть биологические группы, можно нажать на любую лунку на плашке.

Назначение номеров технических повторностей лункам

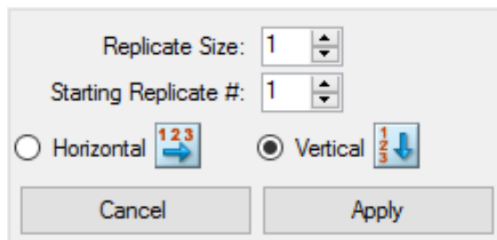
Важно! Для назначения номеров технических повторностей выбранные лунки должны иметь одинаковое содержимое. Это значит, что выбранные лунки должны иметь одинаковые тип пробы и флуорофор. Им также должны быть назначены одинаковые имена мишеней и проб и они должны относиться к одной биологической группе. Если эти параметры не одинаковы, CFX Maestro Dx SE не включит этот параметр.

Чтобы назначить номера технических повторностей группе лунок, выполните следующие действия

1. В Редакторе плашки убедитесь, что содержимое группы лунок одинаковое.
2. На панели плашки выберите нужную группу лунок.
3. Чтобы назначить один и тот же номер повторности всем выбранным лункам, в разделе Повторность № в правой панели введите номер повторности в поле и выберите Загрузить.



4. (Необязательно) Чтобы применить серию повторностей к набору выбранных лунок:
 - a. Щелкните «Технические повторности». Раздел Повторность № меняется, отображая следующие опции:



- **Размер повторности** — число, представляющее число лунок в каждой группе повторностей.
- **Номер начальной повторности** — первый номер в серии повторностей для выбранной группы повторностей

Примечание По умолчанию CFX Maestro Dx SE отображает номер начальной повторности больше последнего номера технической повторности, назначенного плашке. Например, если номер последней технической повторности на плашке — 5, следующий номер начальной повторности — 6. Начальный номер можно заменить любым еще не назначенным номером.

- Направление загрузки (По горизонтали или По вертикали)

- b. Щелкните Применить, чтобы применить параметры к серии и вернуться к отображению Повторность №.

5. Нажмите ОК, чтобы принять изменения и сохранить плашку.

Примечание Если плашка изменена ошибочно, щелкните Отмена в панели управления Редактора плашки прежде, чем щелкните ОК, чтобы принять изменения.

Чтобы удалить лунку из серии повторностей, выполните следующие действия

- ▶ Выберите лунку или группу лунок для удаления и снимите флажок Загрузить повторность №...
Либо щелкните Очистить повторность №..., чтобы удалить номер повторности из выбранной лунки или группы лунок.

Чтобы просмотреть все технические повторности на плашке, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните Показать технические повторности для просмотра всех технических повторностей на плашке.
Каждая группа обозначается отдельным цветом, и кнопка Показать технические повторности меняется на кнопку Скрыть технические повторности.
Щелкните Скрыть технические повторности, чтобы убрать цветовую маркировку лунок. Или же, чтобы скрыть технические повторности, можно нажать на любую ячейку на плашке.

Назначение серии разведений стандартным типам проб

Как было упомянуто ранее, всем лункам с типом пробы Standard (Стандартный) должно назначаться значение концентрации. Можно назначить серию разведений нескольким лункам с типом пробы Стандарт.

Примечание Чтобы назначить серию разведений группе лунок, лунки должны быть включены в серию технических повторностей. Для получения дополнительной информации о добавлении лунок в серию повторностей см. разд. [Назначение номеров технических повторностей лункам на стр. 158](#).

Для назначения серии разведений группе лунок с пробой Стандарт выполните следующие действия

1. В Редакторе плашки убедитесь в выполнении следующих требований.
 - Тип пробы для группы лунок — Стандарт.
 - Всем лункам в группе назначен по меньшей мере один флуорофор, и все они содержат одинаковые флуорофоры.
 - Все лунки в группе входят в одну и ту же серию технических повторностей.

Примечание CFX Maestro Dx SE включает опцию Серия разведений только тогда, когда все выбранные лунки соответствуют этим критериям.

2. В панели плашки выберите целевую группу лунок.
3. В разделе Концентрация в правой панели щелкните Серия разведений. Раздел Концентрация меняется, отображая следующие параметры:

- **Начальная концентрация** — значение концентрации, с которого начинается серия
- **Реплики от и до** — реплики в серии, к которым будет применен фактор разведения
- **Фактор разведения** — величина изменения концентрации в каждой группе реплик

4. Задайте значения для параметров или примите значения по умолчанию.
5. По умолчанию концентрация в серии разведений уменьшается с применением коэффициента разведения. Нажмите Increasing (Увеличение), чтобы серия разведений следовала с увеличением.
6. (Необязательно.) По умолчанию коэффициент разведения применяется ко всем флуорофорам в серии повторностей. Если серия содержит более одного флуорофора, а разведение нужно применить к одному флуорофору, выберите его в выпадающем списке.
7. Щелкните Применить, чтобы применить серию разведений группе лунок и вернуться в представление Концентрация.
8. Нажмите ОК, чтобы принять изменения и сохранить плашку.

Копирование содержимого лунки в другую лунку

Содержимое лунки можно скопировать и вставить в одну лунку или несколько лунок. Учтите, что можно скопировать содержимое только одной лунки. Невозможно выбрать несколько лунок и скопировать их содержимое.

Порядок копирования содержимого лунки в другую лунку

1. На панели плашки выберите лунку, которую нужно скопировать.
2. Щелкните лунку правой клавишей мыши и выберите Копировать лунку.

3. Выберите одну или несколько лунок для вставки содержимого:
 - Чтобы выбрать одну лунку, щелкните ее.
 - Чтобы выбрать несколько соседних лунок, щелкните лунку и проведите мышью, не отпуская клавишу мыши, до целевой лунки.
 - Чтобы выбрать несколько не соседних лунок, нажмите клавишу Ctrl и щелкайте каждую лунку по отдельности.
4. Когда целевые лунки будут выбраны, щелкните правой клавишей мыши и выберите Вставить лунку.

CFX Maestro Dx SE вставит содержимое первой лунки в выбранные лунки.

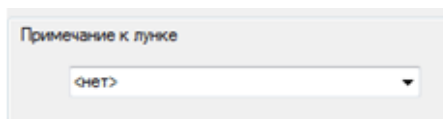
Добавление примечания к лунке

К лунке можно добавить примечание с дополнительными сведениями. Можно просмотреть примечания к лункам на вкладке Данные расчета окна Анализ данных.

Порядок добавления примечания к лунке

1. На панели плашки выберите одну или несколько лунок, к которым нужно добавить примечание.
2. В разделе Вид в нижней панели выберите Примечания к лункам.

В правой панели открывается область Примечание к лунке.



3. Наберите текст примечания в текстовом поле и нажмите клавишу Enter.

Текст появляется в нижней части выбранных лунок.

Пояснение. Если ранее было создано примечание к лунке, можно выбрать его из раскрывающегося списка и применить к выбранным лункам.

Очистка лунок от всего содержимого

Очистить от всего содержимого можно отдельную лунку, группу лунок или всю плашку. При очистке лунок не удаляются данные флуоресценции, собранные во время чтения плашки.

Важно! При очистке лунки полностью удаляется все содержимое из лунки. Если вы нажмете ОК и сохраните плашку после очистки лунки, то не сможете отменить действие очистки. Будьте осторожны при очистке лунок.

Порядок очистки лунок от всех настроек

1. В Редакторе плашки выберите лунку или группу лунок в панели плашки:
 - Чтобы выбрать одну лунку, щелкните ее.
 - Чтобы выбрать несколько соседних лунок, щелкните лунку и проведите мышью, не отпуская клавишу мыши, до целевой лунки.
 - Чтобы выбрать несколько не соседних лунок, нажмите клавишу Ctrl и щелкайте каждую лунку по отдельности.
 - Чтобы выбрать весь столбец с одним типом пробы, щелкните номер столбца.
 - Чтобы выбрать всю строку, щелкните номер строки.
2. В правой панели щелкните Очистить лунки.
CFX Maestro Dx SE убирает все настройки для выбранных лунок.
3. Выполните одно из следующих действий.
 - Если лунки очищены ошибочно, щелкните Отмена в панели управления Редактора плашки прежде, чем щелкните ОК, чтобы принять изменения.
Важно! При нажатии ОК до нажатия Отмена происходит сохранение изменений и становится невозможной отмена в панели управления Редактора плашки.
 - Нажмите ОК, чтобы принять изменения и сохранить плашку.

Изменение условий эксперимента

Используйте диалоговое окно Настройки эксперимента для просмотра или изменения списка мишеней, проб или биологических групп или для настройки группы проб для анализа экспрессии гена, если лункам плашки были назначены биологические группы.

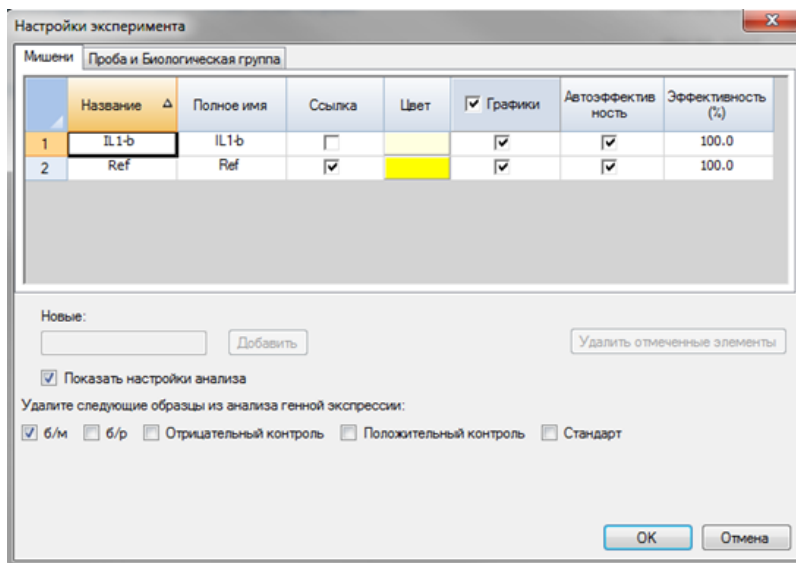
В окне Настройки эксперимента вкладка Мишени отображает список имен мишеней для каждой реакции ПЦР, например ген-мишень или интересующая последовательность генов.

Вкладка «Пробы и биологические группы» отображает список имен проб и биологических групп, которые указывают источник мишени, например, проба, взятая через 1 час (1 ч) или у конкретного организма (мышь 1).

Порядок изменения настроек плашки с помощью диалогового окна Experiment Settings (Условия эксперимента)

1. Чтобы открыть диалоговое окно Настройки эксперимента, выполните одно из следующих действий.
 - В правой панели в Редакторе плашки щелкните Настройки эксперимента.
 - На вкладке Экспрессия гена в окне Анализ данных щелкните Настройки эксперимента.

Отобразится диалоговое окно Настройки эксперимента с отображением содержимого вкладки Мишени.



2. Для добавления нового имени мишени, пробы или биологической группы на соответствующей вкладке введите имя в текстовом поле Новые и щелкните Добавить.
3. Чтобы удалить одно или несколько имен мишени, пробы или биологической группы из списка на соответствующей вкладке выберите флажок элемента в столбце Выберите, чтобы удалить и щелкните Удалить отмеченные элементы.
4. CFX Maestro Dx SE исключает тип пробы NTC (контроль без матрицы, б/м) из анализа экспрессии гена.

Чтобы добавить типы пробы NTC (контроль без матрицы, б/м), снимите флажок для них в разделе Удалите следующие типы проб. Можно выбрать исключение следующих типов проб, установив соответствующий флажок:

- NRT (без ревертазы (обратной транскриптазы))
- Отрицательный контроль
- Positive Control (Положительный контроль);
- Standard (Стандартный).

5. На вкладке Мишени:
 - a. Чтобы выбрать мишень в качестве референсной для анализа экспрессии гена, выберите ее в столбце Ссылка.
 - b. Чтобы скрыть настройки анализа, которые будут применяться на вкладке Экспрессия гена в окне Настройки анализа, снимите флажок Показать настройки анализа.

Программа скрывает следующие столбцы:

- Color (Цвет);
 - Показать график
 - Auto Efficiency (Автоэффективность);
 - Эффективность (%)
- c. Чтобы изменить цвет мишени, которым она отображается на графике Экспрессия гена, щелкните ее ячейку в столбце Цвет, выберите новый цвет в отобразившемся диалоговом окне Цвет и щелкните ОК.
 - d. Чтобы отобразить мишень выбранным цветом на графике Экспрессия гена, выберите ее флажок в столбце Показать график.
 - e. По умолчанию CFX Maestro Dx SE автоматически рассчитывает относительную эффективность для мишени, если ее данные включают стандартную кривую.

Чтобы использовать ранее определенной значение эффективности, введите значение в ячейку в столбце Эффективность (%) и нажмите клавишу Ввод. CFX Maestro Dx SE уберет флажок Автоэффективность.

6. На вкладке Мишени и Биологические группы:
 - a. Чтобы выбрать пробу или биологическую группу как контрольную пробу для анализа экспрессии гена, выберите ее имя в столбце Контроль.
 - b. Чтобы назначить контроль пробе или биологической группе для прогона, установите его флажок в столбце Контроль.
 - c. Если оно еще не выбрано, щелкните Показать настройки анализа для просмотра или изменения параметров анализа, которые будут применяться на вкладке Экспрессия гена. Программное обеспечение скрывает столбцы Цвет и Показать график.
7. Щелкните ОК, чтобы сохранить параметры в диалоговом окне Настройки эксперимента и вернуться в окно Редактор плашки.

Создание групп лунок

Группы лунок разделяют одну плашку на подмножества лунок, анализ которых может проводиться независимо в окне Анализ данных. Если заданы группы лунок, выберите одну из них в окне Анализ данных, чтобы провести анализ данных отдельно по этой группе. Например задайте группы лунок для проведения анализа нескольких экспериментов, выполнявшихся на одной плашке, или для анализа каждой группы лунок с разными стандартными кривыми.

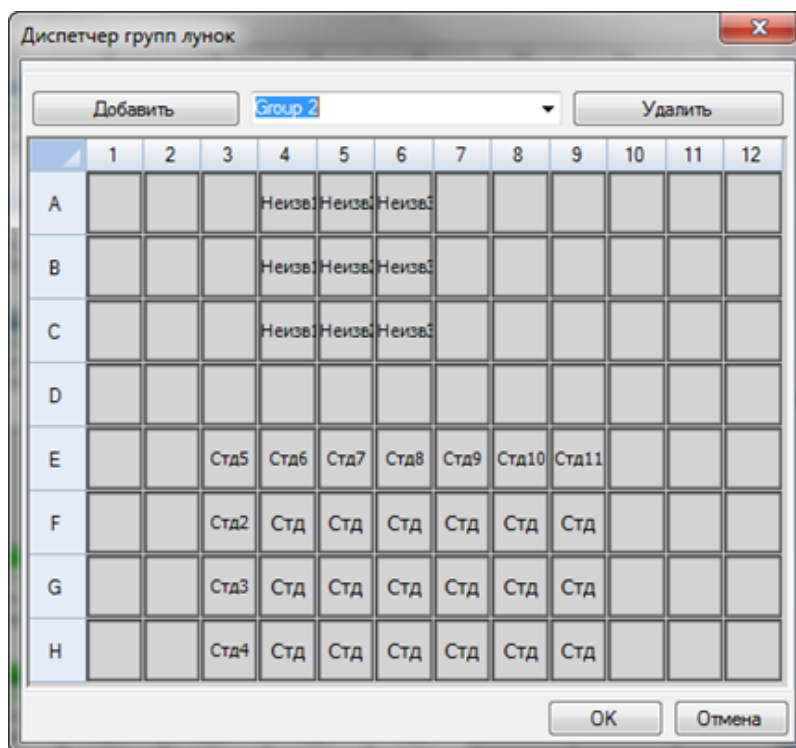
Примечание Группой лунок по умолчанию является Все лунки.

Порядок создания групп лунок

1. Чтобы открыть Диспетчер групп лунок, выполните одно из следующих действий.

- В панели управления Редактора плашки щелкните Группы лунок.
- В окне Анализ данных щелкните Управление группами лунок.

Открывается диалоговое окно Диспетчер групп лунок.



2. Нажмите Добавить, чтобы создать группу. В раскрывающемся меню отобразится имя группы Группа 1 для первой группы.

3. Задайте лунки для группы лунок в области просмотра плашки, выбрав группу лунок щелчком мыши и перетаскиванием курсора. Выбранные лунки будут отображаться синим цветом в Диспетчере.
4. (Необязательно.) Чтобы переименовать группу, выберите ее название в выпадающем меню и введите новое название.
5. (Необязательно.) Чтобы удалить группу лунок, выберите ее имя в раскрывающемся списке и щелкните Удалить.
6. Нажмите ОК, чтобы завершить действия и закрыть окно, или нажмите Отмена, чтобы закрыть окно без сохранения изменений.

Диалоговое окно Пункты меню, открывающееся при нажатии правой клавиши мыши, для Диспетчера групп лунок

В Табл. 10 перечислены пункты контекстного меню, доступные в диалоговом окне «Диспетчер групп лунок» при щелчке правой кнопкой мыши любой лунки.

Табл. 10. Щелкните правой кнопкой мыши пункты меню в диалоговом окне «Диспетчер групп лунок редактора плашки».

| Пункт | Функция |
|--|---|
| Сору (Копировать) | Копирование содержимого лунок, которое затем можно вставить в другую лунку или лунки. |
| Сору as Image (Копировать как изображение) | Копирование селектора лунок в виде изображения. |
| Print (Печать) | Печать представления селектора лунок. |
| Print Selection (Печать выделенного фрагмента) | Печать только выделенных ячеек. |
| Export to Excel (Экспорт в Excel) | Экспортирует данные в электронную таблицу Excel. |
| Export to CSV (Экспорт в CSV) | Экспортирует данные в виде документа с разделителями-запятыми. |
| Export to Xml (Экспорт в XML) | Экспортирует данные в виде документа XML. |
| Export to Html (Экспорт в HTML) | Экспортирует данные в виде документа HTML. |

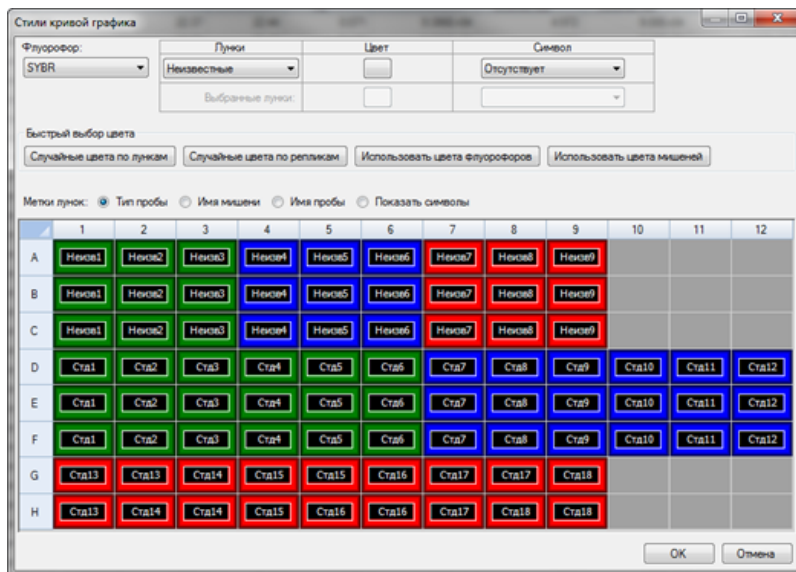
Изменение стилей линий

При настройке плашки, а также во время выполнения прогона можно поменять цвет и стиль отображения кривых амплификации. Это может упростить просмотр кривых в окне состояния в режиме реального времени по мере сбора данных.

Порядок изменения стилей линий

1. Щелкните Стили кривой графика в панели управления Редактора плашки.

Откроется диалоговое окно Стили кривой графика для открытой плашки, например:



2. Для отображения стилей кривой графика по определенному флуорофору, выберите его из раскрывающегося списка Флуорофоры.
3. Чтобы изменить отображение кривой графика, выполните следующие действия
 - a. Выберите тип кривой графика из раскрывающегося списка Лунки.
 - b. Щелкните его цвет в столбце Цвет.
 - c. Выберите новый цвет для кривой графика в отобразившемся диалоговом окне Цвет и щелкните ОК.
CFX Maestro Dx SE отображает изменение цвета для типа лунки в сетке.
 - d. (Необязательно) Выберите символ для кривой графика из раскрывающегося списка Символ.

4. Чтобы быстро изменить набор цветов, сделайте соответствующий выбор в разделе Быстрый набор цветов.
5. Чтобы просмотреть метки лунок в сетке, выберите тип метки в разделе Метки лунок.
6. Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения, или Отмена, чтобы отменить их.

Просмотр, экспорт и импорт плашки в формате электронной таблицы

Просмотр таблицы плашки/Инструмент импорта отображает содержимое плашки в формате таблицы. Инструмент просмотра позволяет просматривать, импортировать и экспортировать данные о лунках, как описано ниже.

Использование программы просмотра электронных таблиц для экспорта и импорта данных о плашке

Из программы просмотра таблиц имя мишени, имя пробы, имя биологической группы и примечания к лункам можно экспортировать в виде шаблона в формате с разделителями табуляцией в стороннее приложение (например, Microsoft Excel). Эти данные также можно импортировать из приложения с табуляцией в данные выбранной плашки из файла данных эксперимента.

Чтобы использовать Просмотр/Импорт таблицы, выполните следующие действия:

1. Создайте и сохраните файл плашки (см. [Создание файла плашки с использованием Редактора плашки](#)).
2. В панели управления Редактора плашки щелкните «Просмотр/Импорт таблицы», чтобы открыть диалоговое окно «Просмотр таблицы плашки».

Просмотр таблицы плашки

Список флуорофоров: SYBR

Экспорт Импорт

| Строчка | Столбец | Тип пробы | Номер реплики | *Имя мишени | *Имя пробы | *Biological Group | Количество | Единицы измерения |
|---------|---------|------------|---------------|-------------|------------|-------------------|------------|-------------------|
| A | 4 | Неизвестно | 1 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| A | 5 | Неизвестно | 2 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| A | 6 | Неизвестно | 3 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| B | 4 | Неизвестно | 1 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| B | 5 | Неизвестно | 2 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| B | 6 | Неизвестно | 3 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| C | 4 | Неизвестно | 1 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| C | 5 | Неизвестно | 2 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| C | 6 | Неизвестно | 3 | Actin | 2hr | Urine | Н/О | число копий |
| E | 3 | Стандарт | 5 | GAPDH | 0hr | Blood | 1.000E+007 | число копий |
| E | 4 | Стандарт | 6 | GAPDH | 1hr | Blood | 1.000E+007 | число копий |
| E | 5 | Стандарт | 7 | GAPDH | 2hr | Blood | 1.000E+007 | число копий |
| E | 6 | Стандарт | 8 | GAPDH | 3hr | Blood | 1.000E+007 | число копий |
| E | 7 | Стандарт | 9 | GAPDH | 4hr | Blood | 1.000E+007 | число копий |
| E | 8 | Стандарт | 10 | GAPDH | 5hr | Blood | 1.000E+007 | число копий |
| E | 9 | Стандарт | 11 | GAPDH | 6hr | Blood | 1.000E+007 | число копий |
| F | 3 | Стандарт | 2 | GAPDH | 0hr | Hair | 1.000E+006 | число копий |
| F | 4 | Стандарт | | GAPDH | 1hr | Hair | 1.000E+006 | число копий |
| F | 5 | Стандарт | | GAPDH | 2hr | Hair | 1.000E+006 | число копий |
| F | 6 | Стандарт | | GAPDH | 3hr | Hair | 1.000E+006 | число копий |
| F | 7 | Стандарт | | GAPDH | 4hr | Hair | 1.000E+006 | число копий |
| F | 8 | Стандарт | | GAPDH | 5hr | Hair | 1.000E+006 | число копий |
| F | 9 | Стандарт | | GAPDH | 6hr | Hair | 1.000E+006 | число копий |
| G | 3 | Стандарт | 3 | GAPDH | 0hr | Urine | 1.000E+006 | число копий |
| G | 4 | Стандарт | | GAPDH | 1hr | Urine | 1.000E+006 | число копий |

Показать название биологического набора Показать заметки к лунке

OK Отмена

3. (Необязательно) Щелкните поля «Показать название биологического набора» и «Показать примечание к лунке», чтобы отобразить эти столбцы в виде электронной таблицы и в экспортированном файле.
4. Нажмите кнопку «Экспорт шаблона», чтобы создать пустой шаблон в файле Excel (в формате .csv). Экспортированный файл будет иметь такую же структуру, что и файл вашей плашки.

Пояснение. Используйте имя файла плашки при сохранении файлов плашки, чтобы легко найти нужный файл.

5. Заполните ячейки файла Excel данными о содержимом лунки.

Примечание Содержимое редактируется только в ячейках, расположенных в столбцах, обозначенных звездочкой (*) около имени (*Имя мишени, *Имя пробы, *Имя биологической группы, *Примечание к лунке).

Примечание Добавлять значения в столбцы стандартной кривой и количества в экспортированном файле Excel невозможно. Чтобы изменить эти данные, вернитесь в редактор плашки и выберите Настройки > Единицы измерения в строке меню. После завершения прогона плашки данные по этим стандартам отображаются на графике стандартной кривой вкладки Расчет в окне Анализ данных с выбранными единицами измерения.

6. Импортируйте заполненный файл Excel обратно в редактор плашки, нажав кнопку Импорт. Импортированные данные о плашке появятся в окне просмотра электронной таблицы плашки.

Важно! Если у вас несколько флуорофоров, вам нужно будет повторить шаги 3-5 для каждого флуорофора, используя раскрывающееся меню Список флуорофоров в окне просмотра электронной таблицы плашки.

7. Щелкните кнопку «ОК». Новые данные о плашке теперь отображаются в окне редактора плашки.

Пояснение. Чтобы просмотреть элементы меню, доступные в инструменте «Просмотр/Импорт таблицы», щелкните правой кнопкой мыши по любой лунке прибора или любому из заголовков таблицы в окне просмотра электронной таблицы плашки.

Создание схемы плашки с помощью Мастера установки плашки

Можно использовать Мастер установки, чтобы ввести информацию о структуре плашки, необходимую для анализа нормализованной экспрессии гена, в том числе следующую информацию.

- Имена мишеней
- Имена проб
- Расположение мишеней и пробы на плашке
- Референсные гены
- Контрольная проба

Мастер установки можно использовать до, во время или после прогона.

Использование Мастера установки плашки

В этом разделе объясняется, как создать схему плашки, используя Мастер установки. Для удобства просмотра содержимого каждой лунки на плашке щелкните Увеличить плашку в верхней части Мастера установки.

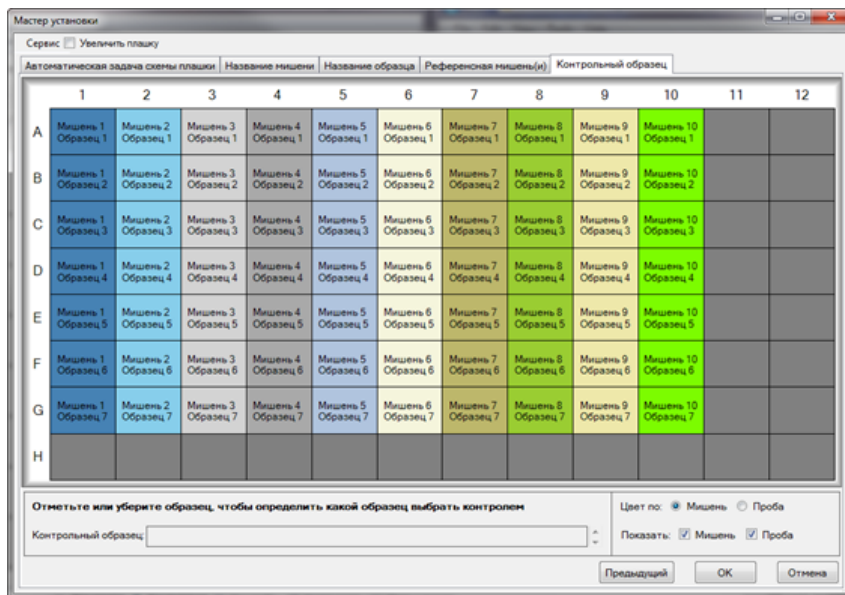
Важно! Возвращение на вкладку Автосхема при нахождении на любой другой вкладке в Мастере установки сбрасывает схему плашки. Будьте осторожны при выборе данной вкладки.

Пояснение. Можно сбросить схему, выбрав Сервис > Очистить плашку в Мастере установки.

Чтобы использовать Мастер установки, выполните следующие действия

1. Откройте Редактор плашки.
2. Чтобы открыть мастер установки, выполните одно из следующих действий:
 - Выберите Редактирование > Мастер установки.
 - Щелкните Мастер установки в панели управления Редактора плашки.

Откроется Мастер установки с отображением вкладки Автосхема.



3. На вкладке Автосхема выполните следующие действия.
 - a. Щелкните лунку на сетке и проведите по горизонтали и вертикали, чтобы указать область на плашке, в которую планируете загрузить пробу.
 - b. Введите количество загружаемых мишеней и проб.

Пояснение. Количество мишеней и проб должно соответствовать количеству выбранных ячеек. Если введенное количество не вписывается в выбранную область, измените это количество или выделенную область плашки. Можно указать ориентацию элементов на плашке и их группировку.
 - c. (Необязательно) Измените ориентацию плашки. Например, можно задать мишени в столбцах и пробы в рядах или группировать по пробам.
 - d. Щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Имена мишеней.

Примечание Если для плашки нет постоянного шаблона, используйте вкладку Имена мишеней, чтобы вручную разместить мишени, или вкладку Имена проб, чтобы вручную разместить пробы на плашке. Щелкните и перетащите курсор для выбора нескольких лунок.

4. На вкладке Имена мишеней определите имена мишеней для групп мишеней.
 - a. Выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы переименовать мишени по группам, установите для параметра Выбрать по значению Мишень.

- Чтобы переименовать мишени по лункам, установите для параметра Выбрать по значению Лунка.
 - b. Выберите целевую группу или лунку на сетке и введите имя в раскрывающемся списке Имя мишени.
Пояснение. Нажмите Tab, чтобы выбрать следующую группу или лунку справа или Ввод, чтобы выбрать следующую группу или лунку снизу. Как вариант, на вкладках Имя мишени и Имя пробы удерживайте клавишу Ctrl и щелкайте лунки, чтобы выбрать несколько не находящихся рядом лунок.
 - c. Щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Имена проб.
5. На вкладке Имена проб определите имена проб для групп проб.
 6. Щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Референсной мишени
 7. Во вкладке Референсные мишени выберите одну или несколько мишеней, чтобы использовать их в качестве референсных для нормализованной экспрессии гена, и щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Контрольная проба.
 8. Во вкладке Контрольная проба выберите одну пробу, которую следует использовать в качестве контроля для расчетов относительной экспрессии гена.
 9. Щелкните ОК, чтобы сохранить структуру плашки и вернуться в Редактор плашки, в котором можно далее определить параметры плашки. Дополнительную информацию см. в разделе [Назначение необязательных параметров файлу плашки на стр. 152](#).

Как вариант, щелкните Предыдущая, чтобы вернуться на предыдущую вкладку для внесения изменений.

Примечание Возврат ко вкладке Автосхема автоматически сбрасывает плашку. Будьте осторожны при нажатии Предыдущая.

Глава 9 Проведение экспериментов

В этой главе объясняется, как проводить пользовательские (определяемые пользователем) эксперименты или эксперименты с тестами PrimePCR с использованием ПО CFX Maestro Dx, Security Edition.

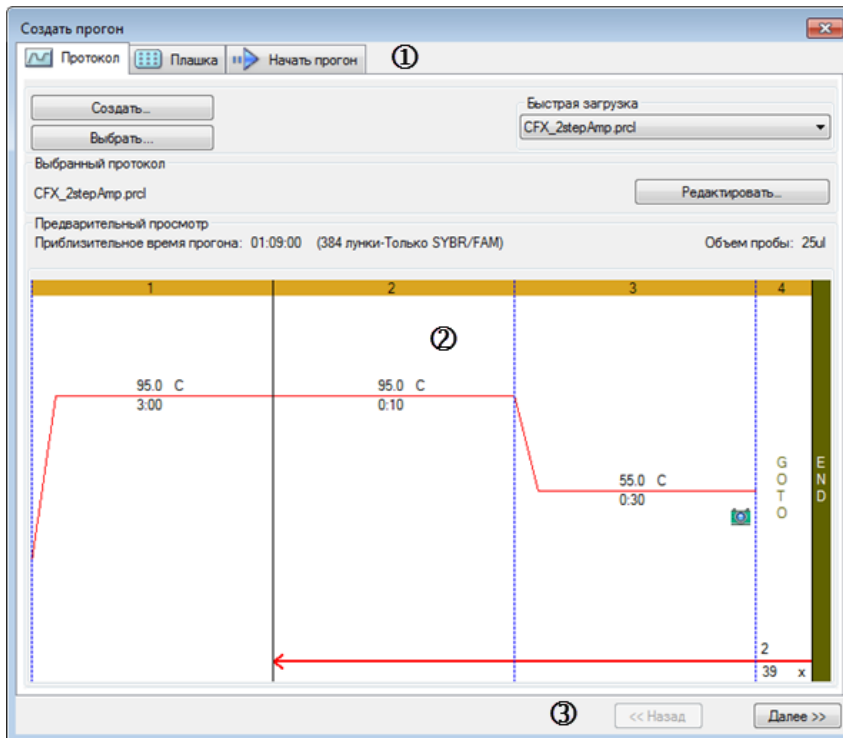
Файл данных прогона содержит протокол и информацию о плашке для прогона. Файл также содержит данные из анализов, которые CFX Maestro Dx SE выполняет после завершения прогона.

CFX Maestro Dx SE позволяет легко настроить и выполнить определяемые пользователем эксперименты или эксперименты PrimePCR. Окно Создать прогон направляет по основным этапам настройки эксперимента, приводя к диалоговому окну Начать прогон, из которого запускается прогон.

Окно Создать прогон

Окно Создать прогон обеспечивает быстрый доступ к файлам и настройкам, необходимым для создания и запуска эксперимента. Когда пользователь выбирает проведение эксперимента, определяемого пользователем, открывается окно Создать прогон с отображением вкладки Протокол. Когда пользователь выбирает проведение эксперимента PrimePCR, открывается окно Создать прогон с отображением вкладки Начать прогон.

Пояснение. Сведения о PrimePCR см. в разд. [Проведение экспериментов PrimePCR на стр. 196](#); сведения о вкладке Start Run (Начать прогон) см. в разд. [Вкладка Начать прогон на стр. 186](#).



УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

1. Вкладки направляют пользователя в процессе настройки и проведения эксперимента.
 - Вкладка Протокол — выберите, чтобы выбрать существующий протокол для запуска или редактирования, или чтобы создать новый протокол в окне Редактор протокола.
 - Вкладка Плашка — выберите, чтобы выбрать существующую плашку для запуска или редактирования, или чтобы создать новую плашку в Редакторе плашки.
 - Вкладка Начать прогон — просмотр настроек эксперимента, выбор одного или нескольких блоков приборов и запуск прогона.

2. В главном окне отображаются варианты для каждой выбираемой вкладки.

3. Кнопки навигации приводят на вкладку Начать прогон.

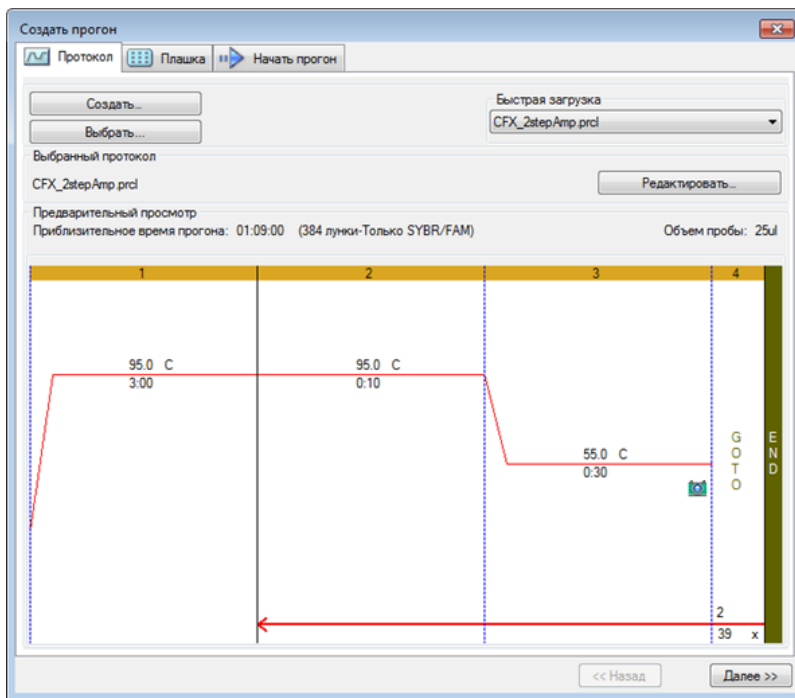
Доступ к окну Создать прогон

Для доступа к окну Создать прогон

- ▶ Выполните одно из следующих действий.
 - На вкладке Создать прогон в Мастере запуска щелкните либо Определяет пользователь, либо PrimePCR.
 - В начальном окне щелкните либо Настройка прогона, определяемого пользователем, либо Настройка прогона PrimePCR.
 - В начальном окне выберите либо Прогон > Прогон, определяемый пользователем или Прогон > прогон PrimePCR.

Вкладка Протокол

На вкладке Протокол отображается предварительный просмотр файла протокола, который планируется выполнить. Файл протокола содержит инструкции по температурным шагам прибора, а также параметры, управляющие температурой крышки прибора, объемом пробы и скоростью нагрева/охлаждения.



По умолчанию, программное обеспечение отображает протокол, определенный в разделе Выбор файла для создания прогона на вкладке Файлы в диалоговом окне Пользователь > Пользовательские настройки. Можно изменить протокол по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки. Для получения дополнительной информации см. разд. [Изменение настроек файла по умолчанию на стр. 94](#).

На вкладке «Протокол» можно выполнить следующие действия:

- Создание нового протокола для прогона
- Выбор существующего протокола для выполнения или редактирования

Дополнительную информацию о создании и изменении протоколов см. в [Глава 7, Создание протоколов](#).

Чтобы создать новый протокол, выполните следующие действия

1. На вкладке Протокол щелкните Создать.
Открывается Редактор протокола.
2. Используйте Редактор протокола для создания нового протокола.
3. Щелкните ОК, чтобы сохранить протокол и вернуться на вкладку Протокол в окне Создать прогон.
4. Просмотрите сведения о протоколе и выполните одно из следующих действий:
 - Если сведения корректные, щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Плашка.
 - Если сведения некорректные, щелкните Редактировать выбранные, чтобы вернуться в окно Редактор протокола. Пересмотрите протокол, сохраните изменения и затем щелкните Далее на вкладке Протокол, чтобы перейти на вкладку Плашка.

Порядок выбора существующего протокола

1. На вкладке Протокол выполните одно из следующих действий.
 - Щелкните Выбрать существующий и найдите существующий протокол.
 - Щелкните Быстрая загрузка и выберите протокол из раскрывающегося списка протоколов.
Пояснение. Можно добавлять протоколы или удалять их из раскрывающегося списка Быстрая загрузка. Дополнительную информацию см. в следующем разделе [Добавление и удаление протоколов экспресс-загрузки](#).
2. Просмотрите сведения о протоколе и выполните одно из следующих действий:
 - Если сведения корректные, щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Плашка.
 - Если сведения некорректные, щелкните Редактировать выбранные, чтобы открыть Редактор протокола. Пересмотрите протокол, сохраните изменения и затем щелкните Далее на вкладке Протокол, чтобы перейти на вкладку Плашка.

Добавление и удаление протоколов экспресс-загрузки

Можно изменить содержимое раскрывающегося списка Быстрая загрузка, который отображается в Редакторе протокола. Протоколы в этом списке сохраняются в следующую папку:

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX_MDX\Users\\ExpressLoad\

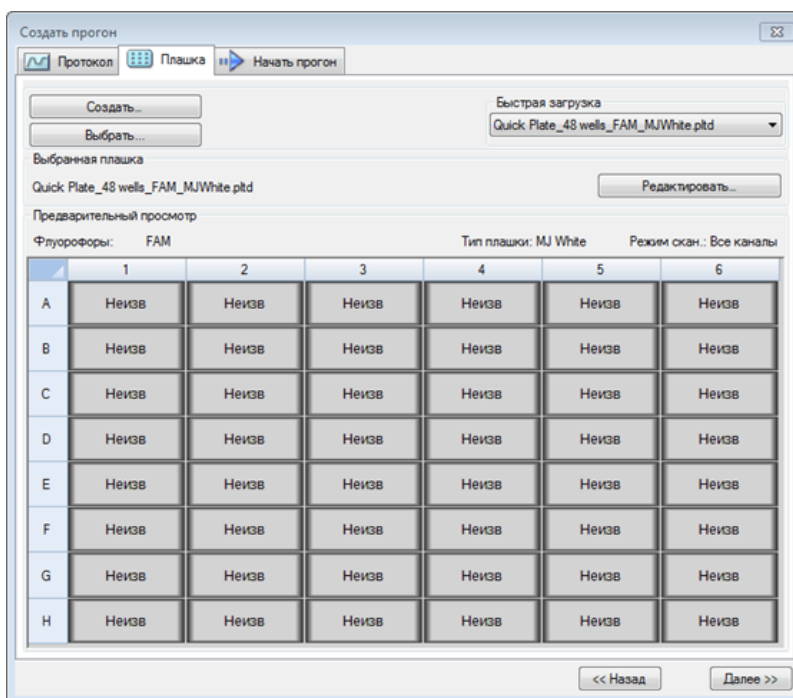
Чтобы изменить список протоколов экспресс-загрузки, выполните следующие действия

1. Найдите и откройте папку ExpressLoad.
2. Просмотрите файлы протокола (.pcrl) в этой папке.
3. Выполните одно из следующих действий:
 - Удалите протоколы из папки, чтобы удалить их из раскрывающегося списка.
 - Скопируйте протоколы в папку, чтобы добавить их в раскрывающийся список.

Вкладка Плашка

Примечание Если протокол, выбранный на вкладке Протокол, не содержит шаг чтения плашки для анализа ПЦР в реальном времени, тогда вкладка Плашка скрыта. Чтобы просмотреть вкладку Плашка, добавьте по меньшей мере одно чтение плашки в протокол.

На вкладке Плашка отображается предварительный просмотр файла плашки, которую планируется загрузить. При выполнении ПЦР в реальном времени файл плашки содержит описание содержимого каждой лунки, включая ее флуорофоры, режим сканирования и тип плашки. CFX Maestro Dx SE использует эти описания для сбора и анализа данных.



По умолчанию, программное обеспечение отображает плашку, определенную в разделе Выбор файла для создания прогона на вкладке Файлы в диалоговом окне Пользователь > Пользовательские настройки. Можно изменить плашку по умолчанию в диалоговом окне Пользовательские настройки. Для получения дополнительной информации см. разд. [Изменение настроек файла по умолчанию на стр. 94](#).

На вкладке «Плашка» можно выполнить следующие действия:

- Создание новой плашки для загрузки
- Выбор существующей плашки для загрузки или редактирования

Дополнительную информацию о создании и редактировании плашек см. в [Глава 8, Подготовка плашек](#).

Чтобы создать новую плашку, выполните следующие действия

1. На вкладке Плашка щелкните Создать.
Открывается Редактор плашки.
2. Используйте Редактор плашки для создания новой плашки.
3. Щелкните ОК, чтобы сохранить плашку и вернуться на вкладку Плашка в окне Создать прогон.
4. Просмотрите сведения о плашке и выполните одно из следующих действий:
 - Если сведения корректные, щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Начать прогон.
 - Если сведения некорректные, щелкните Редактировать выбранные, чтобы вернуться в Редактор плашки. Пересмотрите файл плашки, сохраните изменения и затем щелкните Далее на вкладке Плашка, чтобы перейти на вкладку Начать прогон.

Порядок выбора существующего файла плашки

1. На вкладке Плашка выполните одно из следующих действий.
 - Щелкните Выбрать существующий и найдите существующий файл плашки.
 - Щелкните Быстрая загрузка и выберите файл плашки из раскрывающегося списка.
Пояснение. Можно добавлять плашки или удалять их из раскрывающегося списка Быстрая загрузка. Для получения дополнительной информации см. раздел [Добавление и удаление файлов плашки экспресс-загрузки](#).
2. Просмотрите сведения о плашке и выполните одно из следующих действий:
 - Если сведения корректные, щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Начать прогон.
 - Если сведения некорректные, щелкните Редактировать выбранные, чтобы открыть окно Редактор плашки. Пересмотрите файл плашки, сохраните изменения и затем щелкните Далее, чтобы перейти на вкладку Начать прогон.

Добавление и удаление файлов плашки экспресс-загрузки

Можно изменить содержимое раскрывающегося списка Быстрая загрузка, который отображается в Редакторе плашки. Плашки, которые отображаются в этом списке, сохраняются в следующую папку:

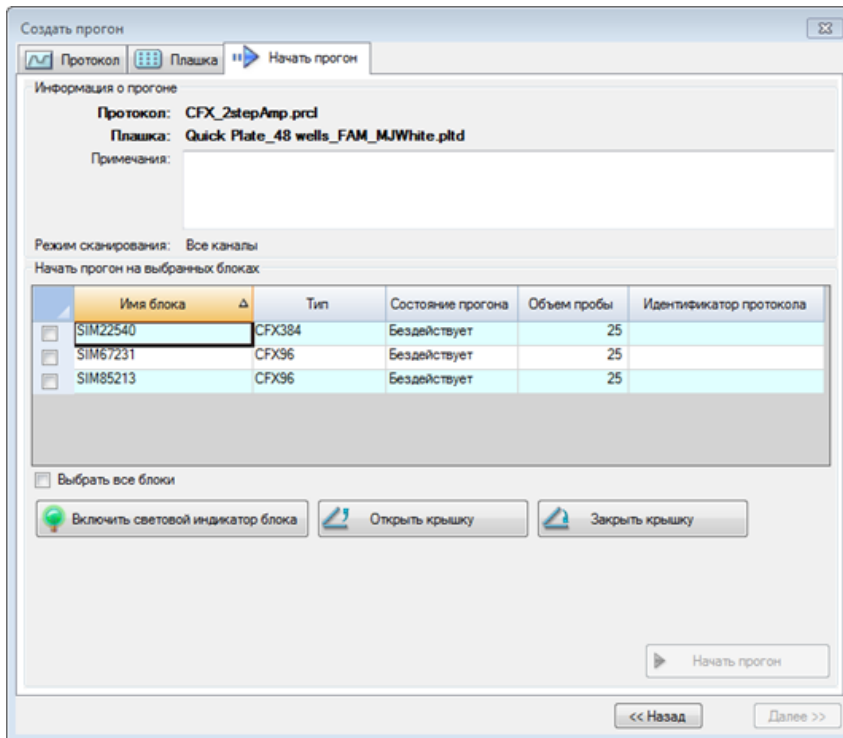
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx\Users\\ExpressLoad\

Чтобы изменить список файлов плашки экспресс-загрузки, выполните следующие действия

1. Найдите и откройте папку ExpressLoad.
2. Просмотрите файлы плашки (.pltd) в этой папке.
3. Выполните одно из следующих действий.
 - Удалите файлы плашки из папки, чтобы удалить их из раскрывающегося списка.
 - Скопируйте файлы плашки в папку, чтобы добавить их в раскрывающийся список.

Вкладка Начать прогон

Вкладка Начать прогон отображает информацию об эксперименте, который будет проведен. На ней также отображаются подключенный блок или блоки прибора, на которых можно выполнить эксперимент.



На вкладке Начать прогон можно выполнять следующие действия.

- Просматривать подробную информацию о прогоне, включая выбранный файл протокола, файл плашки и режим сканирования.
- Добавлять примечания относительно прогона.
- Просматривать сведения обо всех подключенных приборах, включая их состояние прогона (работает или бездействует), объем пробы в мкл, температуру крышки, режим эмуляции и идентификатор или штрихкод, если он доступен.

Примечание Можно изменить столбцы, которые отображаются в таблице Начать прогон на выбранных блоках. Дополнительные сведения см. в разд. [Изменение сведений в таблице Выбранные блоки на стр. 187](#).

- Выбирать блок или блоки, на которых выполнять прогон.

- Удаленным образом открывать или закрывать крышку каждого выбранного прибора.
- Начинать прогон.

Изменение сведений в таблице **Выбранные блоки**

Можно изменить столбцы, которые отображаются в таблице Начать прогон на выбранном(-ых) блоке(-ах). Кроме того, в таблице можно изменять используемые по умолчанию значения объема пробы и температуры крышки. Изменения настроек применяются к подготавливаемому прогону.

Чтобы добавить столбцы в таблицу Начать прогон на выбранных блоках, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните таблицу правой клавишей мыши и выберите параметр в открывшемся меню.

Чтобы удалить столбцы из таблицы Начать прогон на выбранных блоках, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните таблицу правой клавишей мыши и удалите параметр в открывшемся меню.

Чтобы редактировать значения объема пробы или температуры крышки для блока, выполните следующие действия

- ▶ Выберите ячейку объема пробы или температуры крышки для целевого блока и введите в ячейку новое значение.

Чтобы добавить идентификатор прогона или штрихкод к блоку

- ▶ Выберите ячейку Идентификатор/Штрихкод для целевого блока и введите идентификатор или отсканируйте блок считывателем штрихкода.

Проведение эксперимента

Важно! Прежде чем проводить эксперимент, убедитесь, что антивирусное программное обеспечение вашего компьютера не начнет сканирование во время прогона. См. разд. [Установка программного обеспечения CFX Maestro Dx SE на стр. 36](#), за дополнительной информацией обратитесь к системному администратору. .

Чтобы провести эксперимент, выполните следующие действия

1. На вкладке Начать прогон проверьте сведения о плашке и протоколе в разделе Информация о прогоне.
2. (Необязательно.) Добавьте примечания о прогоне или эксперименте в текстовом поле Notes (Примечания).
3. Установите флажок для одного или нескольких блоков, на которых выполнять прогон.

Пояснение. Чтобы провести эксперимент на всех блоках, установите флажок **Выбрать все блоки**, расположенный под таблицей **Выбранные блоки**.

4. (Необязательно) Щелкните **Зажечь индикатор блока**, чтобы зажечь светодиодный индикатор на выбранных блоках приборов.
5. Вставьте плашки для эксперимента в блок:
 - a. Щелкните **Открыть крышку**. Механизированные крышки всех выбранных блоков откроются.
 - b. Вставьте экспериментальную плашку в каждый из выбранных блоков.
 - c. Нажмите **Закрыть крышку**.

Пояснение. В Сист. CFX Opus Dx нажмите «**Открыть крышку**» или «**Закрыть крышку**» на главном экране.

6. Нажмите **Открыть крышку** или **Закрыть крышку**, чтобы открыть и закрыть механизированную крышку выбранных блоков приборов.
7. Просмотрите сведения о прогоне и выполните одно из следующих действий.
 - Если сведения корректные, щелкните **Начать прогон**.
 - Если сведения некорректные:
 - исправьте сведения в таблице **Выбранные блоки** и щелкните **Начать прогон**;
 - Вернитесь на вкладку **корректировки** и внесите соответствующие изменения, затем щелкните **Далее**, чтобы вернуться на вкладку **Начать прогон** и начать прогон.

Чтобы начать новый прогон из предыдущего прогона, выполните следующие действия

- ▶ Выполните одно из следующих действий.
 - Выберите **Файл > Повторить прогон** в основной строке меню программы; найдите и дважды щелкните файл данных прогона, который требуется повторить.
 - Выберите вкладку **Повторить прогон** в Мастере запуска и дважды щелкните файл данных прогона, который требуется повторить.
- Как вариант, на вкладке **Повторить прогон** можно щелкнуть **Обзор**; найдите и дважды щелкните файл данных прогона, который требуется повторить.

Диалоговое окно Детали прогона

Когда пользователь щелкает «Начать прогон», CFX Maestro Dx SE предлагает сохранить файл данных (.pcrd), начинает прогон и открывает диалоговое окно «Детали прогона». Диалоговое окно «Детали прогона» содержит три вкладки состояния:

- **Состояние прогона** — используйте эту вкладку, чтобы просмотреть текущее состояние протокола, открыть или закрыть крышку, приостановить прогон, добавить повторения, пропустить шаги или остановить прогон.
- **Состояние в реальном времени** — используйте эту вкладку, чтобы просматривать данные флуоресценции ПЦР в реальном времени по мере их сбора.
- **Время** — используйте эту вкладку, чтобы увидеть полноэкранный таймер с обратным отсчетом времени выполнения протокола.

Эти вкладки подробно объясняются в последующих разделах.

Вкладка Run Status (Статус прогона)

Вкладка Состояние прогона отображает текущее состояние выполняемого прогона. В этом представлении также можно управлять крышкой и изменять выполняемый прогон.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

1. Панель Состояние прогона — отображает текущий этап выполнения протокола.
2. Элементы управления Состояние прогона— позволяют пользователю управлять прибором или прерывать текущий протокол.
3. Панель Информация о прогоне — отображает сведения о прогоне.

Опции Состояние прогона

Используйте опции на вкладке Состояние прогона для управления прибором из программного обеспечения или для изменения выполняемого прогона.

Примечание Внесение изменений в протокол по время прогона, например, добавление повторений, не меняет файл протокола, связанный с прогоном. Эти действия записываются в Журнал прогона.



— открытие механизированной крышки на выбранных приборах.

Важно! Открытие крышки во время прогона приостанавливает прогон на текущем этапе и может изменить данные. [Опции Состояние прогона на стр. 190.](#)



— закрывает механизированную крышку на выбранных приборах.



— добавляет повторения к текущему шагу перехода протокола. Эта опция активна только во время выполнения шага перехода.

Примечание Во время выполнения протокола можно добавить дополнительные повторы в цикле перехода. Однако CFX Maestro Dx SE распознает последнее изменение количества повторов. Например, если вы добавите 10 дополнительных повторов в цикле перехода, программа изменит общее количество на $n + 10$. Если вы затем добавите еще пять (5) повторов в том же цикле, CFX Maestro изменит общее количество повторов на $n + 5$. Первое изменение (10 повторов) будет проигнорировано. Чтобы убедиться, что программа выполняет заданное количество повторов, введите общее количество (в данном случае 15 повторов).



— пропускает текущий шаг в протоколе.

Примечание Если вы инициируете пропуск во время шага перехода, система переходит к следующему циклу в петле перехода. Если на момент пропуска выполнялся последний цикл шага перехода, система переходит к следующему шагу.



— включает светодиод на выбранном приборе для определения выбранных блоков.



— приостанавливает протокол.

Примечание Это действие записывается в Журнал прогона.



— возобновляет приостановленный протокол.

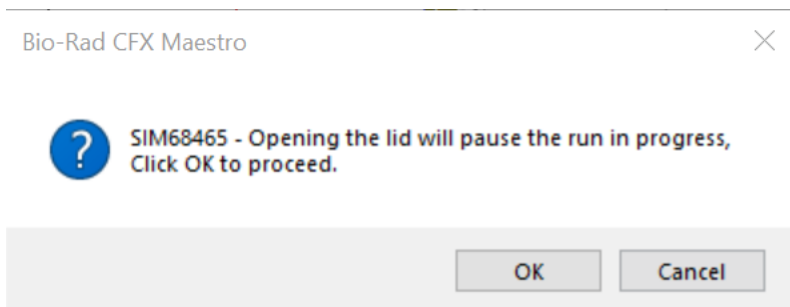


— останавливает прогон до завершения протокола.

Примечание Остановка прогона до завершения протокола может оказать влияние на данные.

Открытие крышки прибора во время прогона ПЦР

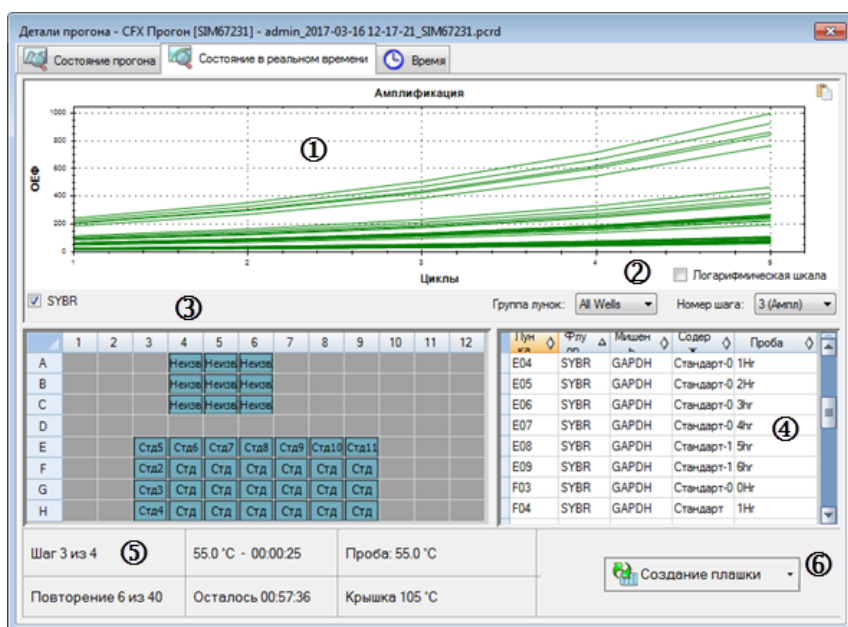
Если крышка любого прибора открыта во время выполнения ПЦР, в CFX Maestro Dx SE отобразится следующее диалоговое окно:



Пока появляется диалоговое окно, приборы продолжают выполнять протокол. Кнопка «ОК» приостанавливает выполнение, крышка прибора разблокируется и открывается. Кнопка «Отмена» закрывает диалоговое окно и возобновляет выполнение прогона.

Вкладка Состояние в реальном времени

На вкладке Состояние в реальном времени отображаются данные ПЦР в реальном времени, собранные на каждом цикле во время прогона после двух первых чтений плашки.



УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

1. Панель кривой графика амплификации — отображает данные амплификации в реальном времени во время прогона.

2. Идентификатор группы лунок — если при настройке плашки заданы группы лунок, пользователи могут выбрать конкретную группу лунок для просмотра их линий, лунок и табличной информации.
Идентификатор номера этапа — если в протоколе собраны данные более чем с одного этапа (например, во время амплификации и кривой плавления), пользователи могут выбрать конкретный этап и просмотреть линии, полученные на этом этапе.

3. Панель селектора лунок — отображаются активные, неактивные и пустые лунки в плашке.

4. Панель таблицы настройки плашки — отображается настройка плашки в табличном формате.

5. Панель сведений о прогоне — отображает состояние прогона в реальном времени, включая:
- текущий шаг;
 - текущий повтор;
 - текущую температуру;
 - оставшееся время;
 - температуру пробы;
 - Температура крышки
-
6. Схема плашки — открывает диалоговое окно Схема плашки, в котором пользователи могут изменить текущую схему плашки во время прогона.

На вкладке «Состояние в реальном времени» можно выполнить следующие действия:

- Показать или скрыть кривые графиков в реальном времени, выбрав их на панели селектора лунок или в таблице схемы плашки
- Просмотреть отдельные кривые или группы кривых графика, выбрав их в раскрывающемся списке групп лунок
- Редактировать плашку или заменить файл плашки
- Применить файл PrimePCR к прогону.

Показ или скрывание линий в режиме реального времени

По умолчанию все заполненные лунки активны и отображаются в таблице настройки плашки. Активные лунки обозначаются на панели селектора лунок синим цветом. Скрытые лунки отображаются светло-серым цветом, неиспользуемые лунки отображаются темно-серым цветом в панели селектора лунок.

Вы можете скрыть линии активных лунок во время прогона. CFX Maestro Dx SE продолжит сбор данных по всем лункам; если скрыть лунки, их данные не будут отображаться в таблице настройки плашки.

Чтобы скрыть кривые графиков в реальном времени, выполните следующие действия

- ▶ В панели селектора лунок щелкните активные (синие) лунки, которые требуется скрыть.

Чтобы отобразить кривые графиков в реальном времени, выполните следующие действия

- ▶ В панели селектора лунок щелкните скрытые (светло-серые) лунки, которые требуется отобразить.

Подробнее о селекторе лунок см. в разделе [Селектор лунок на стр. 217](#).

Редактирование настройки плашки

Чтобы редактировать схему плашки, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните Схема плашки, затем выберите Просмотр/редактирование плашки.

Откроется окно Редактор плашки, в котором можно редактировать файл, пока выполняется прогон. Подробнее о редактировании настроек плашек см. в [Глава 8, Подготовка плашек](#).

Примечание Также можно редактировать стили кривой графика из окна Редактор плашки. Изменения отображаются на кривой графика амплификации на вкладке Состояние в реальном времени.

Замена файла плашки

Пояснение. Замена файла плашки особенно полезна, если прогон начат с использованием файла заготовки плашки (Quick Plate) из папки ExpressLoad.

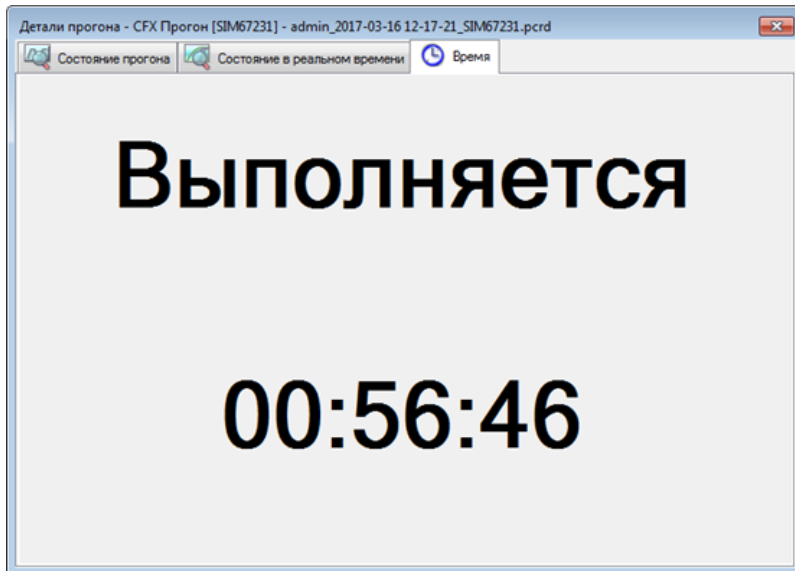
Чтобы заменить файл плашки, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните Схема плашки, затем выберите один из следующих вариантов.
 - Заменить файл плашки — выберите новый файл плашки из списка в окне проводника.
 - Применить файл PrimePCR — найдите файл прогона, из которого нужно получить схему плашки, с помощью «умного поиска» или нажав кнопку Обзор и указав загруженный с веб-сайта Bio-Rad файл, который не находится в папке PrimePCR.

Примечание CFX Maestro Dx SE проверяет режим сканирования и размер плашки для файла плашки. Они должны соответствовать настройкам прогона, с которыми запущен прогон.

Вкладка Время

На вкладке Время отображается время, оставшееся до завершения текущего прогона.



Проведение экспериментов PrimePCR

Эксперименты PrimePCR используют проверенные компанией Bio-Rad на практике тесты для конкретной реакции или заболевания с оптимально подобранными параметрами. Тесты предоставляются в следующих видах:

- Панели с готовой плашкой — плашки, которые содержат тесты для выявления конкретной биологической реакции или заболевания; они включают в себя контрольные пробы и референсные гены PrimePCR.
- Плашки пользовательской конфигурации — плашки, которые могут быть подобраны по указанной пользователем схеме с возможностью выбора анализов на интересующие мишени, контроля и ссылок.
- Отдельные анализы — пробирки со специальным набором праймеров для реакций в реальном времени.

Чтобы уменьшить общее время прогона, можно удалить шаг плавления из протокола. Bio-Rad настоятельно рекомендует не вносить других модификаций в протокол прогона PrimePCR. Протокол по умолчанию — это протокол, который использовался для валидации анализа. Любые отклонения от него могут влиять на результаты. Изменения в протоколе отмечаются на вкладке Информация о прогоне полученного файла данных и во всех создаваемых отчетах.

Для запуска прогона PrimePCR выполните следующие действия.

- ▶ Чтобы запустить прогон PrimePCR, выполните одно из следующих действий.
 - В Мастере запуска выберите PrimePCR на вкладке «Создать прогон», затем выберите соответствующее вещество (SYBR[®] или Probe).
 - Выберите прогон PrimePCR из списка Последние прогоны на вкладке Повторить прогон Мастера запуска.
 - В начальном окне выберите Файл > Открыть > Файл прогона PrimePCR.
 - Перетащите файл прогона PrimePCR в начальное окно.

После выбора прогона PrimePCR открывается окно Создать прогон с открытой вкладкой Начать прогон со схемой плашки PrimePCR по умолчанию, загруженной на основании выбранного прибора.

Чтобы удалить шаг плавления из протокола, выполните следующие действия

- ▶ На вкладке Протокол снимите флажок рядом с Добавить шаг плавления.

Чтобы импортировать информацию о мишени для плашек PrimePCR в схему плашки, выполните следующие действия

1. Выполните одно из следующих действий.
 - На вкладке Состояние в реальном времени в диалоговом окне Детали прогона выберите Схема плашки > Применить файл PrimePCR.
 - В окне Анализ данных выберите Схема плашки > Применить файл PrimePCR.
2. В диалоговом окне файла прогона PrimePCR щелкните Обзор, чтобы найти соответствующий файл PrimePCR (.csv).
3. Выберите целевой файл PrimePCR и щелкните Открыть.

Сист. CFX Opus Dx импортирует информацию о мишени в структуру плашки.

Передача данных автономного прогона для анализа

Важно! Когда вы переносите файлы данных из Сист. CFX Opus Dx в CFX Maestro Dx SE, переносятся все файлы, сохраненные в системе. Убедитесь в наличии достаточного дискового пространства для безопасного переноса.

По завершении прогона CFX Maestro Dx SE анализирует данные флуоресценции. Если прогон выполнен в автономном режиме и сохранен на саму Сист. CFX Opus Dx, данные требуется передать на компьютер CFX Maestro Dx SE для анализа.

Сист. CFX Opus Dx может хранить до 100 прогонов ПЦР в реальном времени. После завершения прогона можно передать автономные файлы данных на компьютер CFX Maestro Dx SE по электронной почте, через USB-накопитель или через саму программу.

В этом разделе объясняется, как передавать автономные файлы данных на компьютер CFX Maestro Dx SE.

Передача данных по электронной почте

Порядок пересылки файла данных по электронной почте после прогона

1. Настройте уведомления по электронной почте для прибора.

См. разд. [Настройка уведомлений по электронной почте на стр. 89](#) или руководство по эксплуатации Сист. ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx .

2. При настройке уведомлений по электронной почте убедитесь, что установлен флажок Прикрепить файл данных.

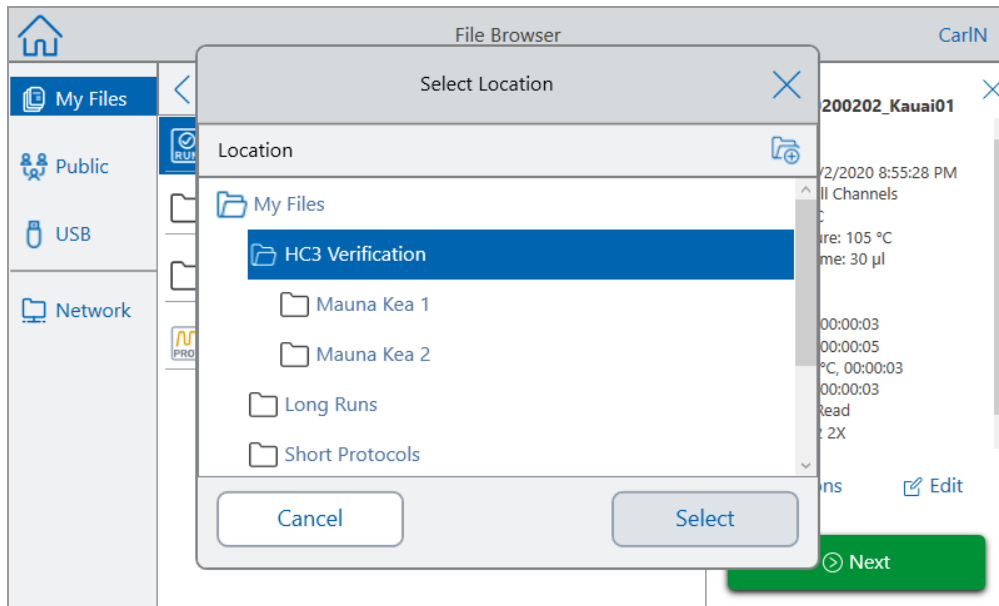
Данные прогона отправляются по электронной почте в виде файла в формате .pcrd.

Передача данных из Сист. ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx

Используя функцию «Проводник» в Сист. CFX Opus Dx, можно переместить файлы данных на подсоединенный USB-накопитель или в общую сетевую папку. Вы также можете перенести CFX Maestro Dx SE файл. протокола с USB-накопителя или общего сетевого диска в свою папку или в общую папку Сист. CFX Opus Dx и запускать их на Сист. CFX Opus Dx.

Пояснение. В этом разделе объясняется, как передавать данные. Информацию о настройке соединения Ethernet см. в руководстве по эксплуатации Сист. ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx, доступном в меню «Справка» CFX Maestro Dx SE.

1. На главном экране Сист. CFX Opus Dx нажмите «Файлы», чтобы открыть окно «Проводник».
2. На экране Проводник перейдите к файлу, который требуется скопировать, затем коснитесь файла для просмотра панели сведений о файле.
3. В панели сведений о файле коснитесь Параметры, затем коснитесь Копировать.



Откроется диалоговое окно Выбрать местоположение.

4. В диалоговом окне Выбрать местоположение выполните одно из следующих действий.
 - Перейдите в существующую папку.
 - Перейдите к месту, где нужно создать папку, в которой нужно сохранить файл, затем нажмите «Создать папку» (📁), чтобы создать новую папку в этом месте.
5. Коснитесь Выбрать для копирования файла в выбранное местоположение или Отмена, чтобы вернуться на экран Проводника.

Примечание Если в выбранном местоположении существует файл с тем же именем, появится диалоговое окно. Нажмите Да, чтобы перезаписать существующий файл, или Нет, чтобы вернуться на экран Проводника.

Сист. CFX Opus Dx покажет подтверждающее сообщение после успешного копирования файла.

Передача данных через ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

Чтобы передать данные через CFX Maestro Dx SE, выполните следующие действия

1. В панели Обнаруженные приборы в начальном окне щелкните правой клавишей мыши целевой прибор и выберите Получить файлы данных.

CFX Maestro Dx SE отобразит диалоговое окно Browse For Folder (Перейти к папке).

2. В диалоговом окне Поиск папки перейдите в местоположение, в которое планируете сохранять файлы данных и щелкните ОК.

В процессе переноса в выбранном месте будет создана папка с названием Real-Time Data. Данные прогона сохраняются в папке Real-Time Data как отдельные файлы в формате .zprc.

Перенос данных с помощью USB-накопителя

Если вставить USB-накопитель в USB-порт на приборе, то по завершении прогона файл данных будет автоматически сохраняться в корневом каталоге USB-накопителя. Можно также найти ранее сохраненные файлы данных и сохранить их на подключенном USB-накопителе.

Для переноса файлов данных на USB-накопитель Сист. CFX Orus Dx выполните следующие действия:

- ▶ В диалоговом окне Выбрать местоположение коснитесь USB и перейдите в целевую папку, в которую следует копировать файл, или нажмите Отмена, чтобы вернуться на экран Проводника.

Примечание Если в выбранном местоположении существует файл с тем же именем, отображается диалоговое окно. Коснитесь Да, чтобы перезаписать существующий файл, или Нет, чтобы вернуться на экран Проводника.

Сист. CFX Orus Dx выводит подтверждающее сообщение после успешного копирования файла.

Передача данных через общий сетевой диск с использованием Сист. ПЦР в реальном времени CFX Opus Dx

Пояснение. Передавать данные на общий сетевой диск и с него можно только через Сист. CFX Opus Dx.

Сист. CFX Opus Dx позволяет подключать общий сетевой диск с использованием Ethernet. При успешном соединении можно передавать файлы данных в папку и из папки общего сетевого диска.

Чтобы передавать данные в папку и из папки общего сетевого диска, выполните следующие действия

- ▶ В диалоговом окне Выбрать местоположение коснитесь Сеть и перейдите в целевую папку, в которую следует копировать файл, или нажмите Отмена, чтобы вернуться на экран Проводника.

Примечание Если в выбранном местоположении существует файл с тем же именем, отображается диалоговое окно. Коснитесь Да, чтобы перезаписать существующий файл, или Нет, чтобы вернуться на экран Проводника.

Сист. CFX Opus Dx покажет подтверждающее сообщение после успешного копирования файла.

Создание файла данных

Для анализа данных, передаваемых с прибора на компьютер CFX Maestro Dx SE, файл сжатых данных (файл .zprg) должен быть преобразован в файл данных (файл .pcrd). CFX Maestro Dx SE преобразует файл .zprg в файл .pcrd, а затем выбирает файл плашки с таким же режимом сканирования и размером плашки и применяет его к файлу .pcrd.

Чтобы создать файл данных из автономного файла данных

1. Выполните одно из следующих действий в CFX Maestro Dx SE:
 - Найдите целевой файл .zprg и перетащите его в начальное окно CFX Maestro Dx SE.
 - Выберите Файл > Открыть > Автономный прогон, найдите и выберите целевой файл.CFX Maestro Dx SE отображает диалоговое окно Сохранить как.
2. Перейдите к папке, в которую планируете сохранить файл .pcrd, и щелкните Сохранить. После сохранения файла .pcrd в CFX Maestro Dx SE откроется окно Data Analysis (Анализ данных) с результатами.

Глава 10 Обзор анализа данных

ПО CFX Maestro Dx, Security Edition обрабатывает данные ПЦР в реальном времени автоматически по завершении каждого прогона и открывает окно «Анализ данных» для отображения этих данных (файл .pcrd).

- Перетащить файл данных (с расширением .pcrd) в начальное окно и отпустить его.
- Выбрать Файл > Открыть > Файл данных в начальном окне и найти целевой файл .pcrd.
- Выберите Файл > Недавно открытые файлы данных в начальном окне, чтобы выбрать из списка десяти недавно открывавшихся файлов данных.
- Выбрать вкладку «Анализировать» в окне «Мастер запуска» и выбрать файл из недавно открытых либо нажать кнопку «Обзор», чтобы найти файл данных.

Окно Анализ данных

В окне Анализ данных отображается несколько вкладок, каждая вкладка содержит проанализированные данные для определенного метода анализа или информацию по прогону. Вкладки появляются только в том случае, если данные, полученные во время прогона, доступны для этого типа анализа.



Пояснение. Чтобы выбрать, какие вкладки будут отображаться, выберите их в раскрывающемся меню Вид окна Анализ данных. Чтобы вернуть исходное расположение вкладок, выберите Настройки > Восстановить структуру окна по умолчанию.

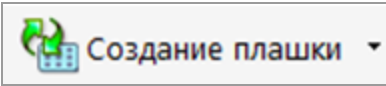



Панель инструментов окна Анализ данных


Панель инструментов окна Анализ данных обеспечивает быстрый доступ к важным функциям анализа данных.



В Табл. 11 представлен перечень функций кнопок панели инструментов.

Табл. 11. Панель инструментов окна «Анализ данных»

| Кнопка | Название | Функция |
|---|---|--|
|  | Plate Setup (Настройка плашки) | Функция View/Edit (Просмотр/редактирование) для плашки: открытие окна Plate Editor (Редактор плашки) для просмотра и редактирования данных о содержимом лунок. Замена плашки: выбор файла плашки для замены структуры плашки. Применение файла PrimePCR: выбор файла прогона для замены структуры плашки для прогона PrimePCR. |
|  | Manage Well Groups (Управление группами лунок) | Открывает окно Диспетчер групп лунок для создания, изменения и удаления групп лунок. |
|  | Well Group (Группа лунок) | Выбор существующего названия группы лунок в выпадающем меню. По умолчанию выбран вариант Все лунки. Эта кнопка отображается, только если созданы группы лунок. |
|  | Analysis Mode (Режим анализа) | Анализирует данные в режиме Флуорофор или в режиме Мишень. |

| Кнопка | Название | Функция |
|---|----------------|---|
|  | Help (Справка) | Открывает справку по программному обеспечению, в которой вы можете найти онлайн-справку и цифровую копию этого руководства в формате Acrobat PDF. |

Строка меню окна Анализ данных

В Табл. 12 перечислены элементы строки меню в окне Анализ данных.

Табл. 12. Элементы строки меню окна Анализ данных

| Пункт меню | Команда | Функция |
|-----------------|---|---|
| File (Файл) | Save (Сохранить) | Сохраняет файл. |
| | Save As (Сохранить как) | Сохраняет файл с новым именем. |
| | Файловые пароли | Позволяет пользователям устанавливать пароли для сохранения и открытия файлов. |
| | Подписать | Позволяет пользователям подписывать файл данных. |
| | Повторить прогон | Извлекает протокол и файл плашки из текущего прогона для повторного выполнения прогона |
| | Close (Закреть) | Закрывает окно Анализ данных. |
| View (Просмотр) | Run Log (Журнал прогона) | Открывает окно Журнал прогона для просмотра журнала прогона текущего файла данных. |
| | Контрольный журнал | Открывает контрольный журнал для файла. |
| | Quantification (Количественный анализ), Melt Curve (Кривая плавления), Gene Expression (Экспрессия генов), End Point (Конечная точка), Custom Data View (Пользовательский обзор данных), QC (Контроль качества), Run Information (Информация о прогоне) | Отображает проанализированные данные на выбранных вкладках в окне Анализ данных. Необходимо выбрать не менее одной вкладки. |

Табл. 12. Элементы строки меню окна Анализ данных, продолжение

| Пункт меню | Команда | Функция |
|------------|-------------------------|---|
| Настройки | Режим определения C_q | Позволяет выбрать режим «Регрессия» или «Единый пороговый уровень» для определения, как будут вычисляться значения C_q для каждой кривой. |

Табл. 12. Элементы строки меню окна Анализ данных, продолжение

| Пункт меню | Команда | Функция |
|------------|---|--|
| | Baseline Setting (Настройка базовой линии) | Позволяет выбрать метод вычитания базовой линии для выбранных групп лунок. |
| | Режим анализа | Выбор анализа данных по критерию Fluorophore (Флуорофор) или Target (Мишень). |
| | Циклы для анализа | Позволяет выбрать циклы для анализа. |
| | Пороговый уровень базовой линии | Открывает окно «Пороговые уровни базовой линии» для корректировки базовой линии или пороговых уровней. |
| | Trace Styles (Стили линий) | Открывает окно Стили кривой графика. |
| | Plate Setup (Настройка плашки) | Открывает окно Редактор плашки для просмотра и редактирования плашки, замены плашки на плашку из указанного пользователем файла или из файла прогона PrimePCR. |
| | Include All Excluded Wells (Включить все исключенные лунки) | Включает в анализ все исключенные лунки. |
| | Mouse Highlighting (Выделение мышью) | Включает или выключает одновременное выделение данных при движении курсора мыши Пояснение. Если выделение мышью отключено, нажатие клавиши Ctrl временно включает выделение. |
| | Restore Default Window Layout (Восстановить вид исходного окна) | Восстанавливает конфигурацию окон, установленную по умолчанию. |

Табл. 12. Элементы строки меню окна Анализ данных, продолжение

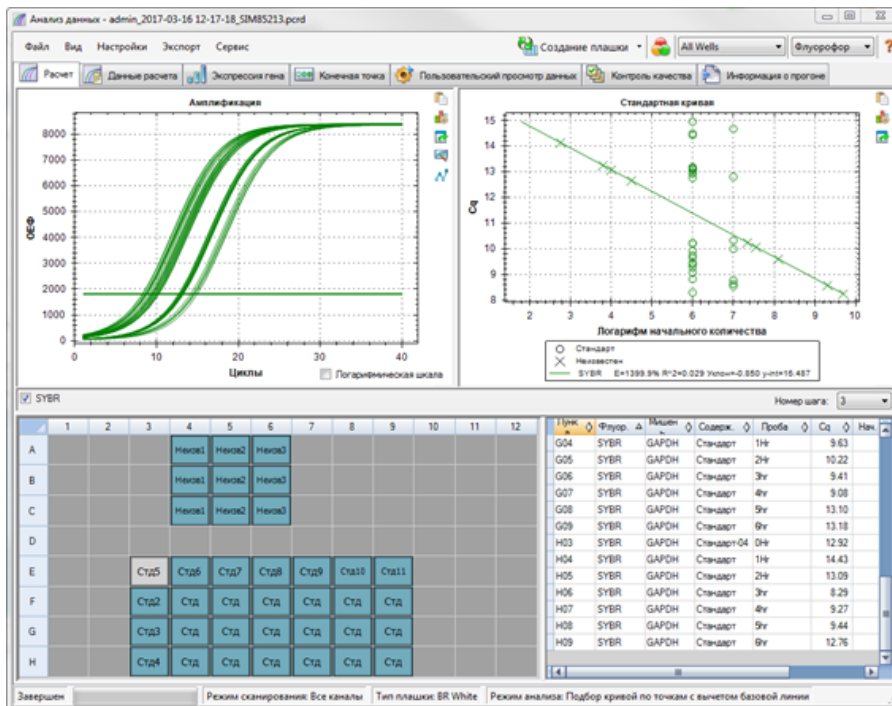
| Пункт меню | Команда | Функция |
|------------|--|---|
| Экспорт | Экспорт всех листов данных | Позволяет выбрать экспорт всего отображаемого содержимого таблицы со всех вкладок в формат .csv или .txt. Excel или файл .xml. |
| | Export RDML File (Экспорт файла RDML) | Позволяет выбрать версию 1.1 или 1.0 RDML для экспорта файла. |
| | Custom Export (Пользовательский экспорт) | Открывает окно Выборочный экспорт, в котором можно задать поля для экспорта и формат файла. |
| | Export to LIMS Folder (Экспорт в папку LIMS) | Открывает окно для сохранения данных в заранее определенном формате в папку LIMS |
| | Экспорт вручную | Открывает окно для определения местоположения для сохранения данных из всех представлений таблиц в файлы Excel, структурированные специально для использования Seegene, Inc. и Bio-Rad Laboratories. Пояснение. После экспорта также можно автоматически запустить Seegene Viewer. Дополнительную информацию см. в разд. Команды меню Tools (Инструменты) на стр. 73 на стр. 1. |

Табл. 12. Элементы строки меню окна Анализ данных, продолжение

| Пункт меню | Команда | Функция |
|------------------------|--|---|
| Tools (Инструменты) | Reports (Отчеты) | Открывает отчет для текущего файла данных. |
| | Well Group Reports (Отчеты для групп лунок) | Открывает окно Отчет по группам лунок для создания отчетов по указанным группам лунок. |
| | Import Fluorophore Calibration (Импорт калибровки по флуорофору) | Выбор файла калибровки, который будет применен к текущему файлу данных. |
| | qbase+ | Запускает программу qbase+ версии 2.5 (если она установлена) с использованием текущего файла .pcrd. |
| | Создать файл LIMS PLRN | Сохраняет файл данных как файл .plrn в формате LIMS. |

Подробное описание вкладок

Каждая вкладка в окне Анализ данных отображает данные в графиках и таблицах для определенного метода анализа и содержит селектор лунок для выбора данных, которые требуется показать. Окно Анализ данных по умолчанию открывается на вкладке Расчет. Можно использовать данные графика Амплификация на вкладке Расчет, чтобы определить подходящие настройки анализа для прогона.

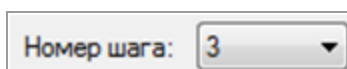


Примечание Программа связывает данные на панелях каждой вкладки окна Анализ данных. Например, при выделении лунки путем наведения на нее курсора в селекторе лунок выделяются также данные на всех остальных панелях.

Селектор Step Number (Номер этапа)

Системы CFX Opus Dx могут получать данные флуоресценции на нескольких этапах протокола; программное обеспечение независимо обрабатывает данные, полученные на каждом этапе. CFX Maestro Dx SE отображает селектор номера шага под диаграммой стандартной кривой на вкладке Количественный анализ. Когда протокол содержит как минимум один шаг сбора данных, CFX Maestro Dx SE отображает данные из первого шага сбора данных.

Если протокол содержит более одного шага сбора данных, можно выбрать другой шаг из раскрывающегося списка. Например:



При выборе этапа программное обеспечение применяет этот выбор ко всем данным, которые показаны в окне Data Analysis (Анализ данных).

Просмотр групп лунок в окне Data Analysis (Анализ данных)

Лунки на плашке могут быть сгруппированы в подмножества для независимого анализа с использованием групп лунок. При создании групп лунок имена групп появляются в окне Анализ данных в раскрывающемся списке Группы лунок на панели управления.

Если вы создали группы лунок, программное обеспечение отображает группу лунок по умолчанию. Все лунки при открытии окна Анализ данных, отображая данные во всех не пустых лунках на графиках и в таблицах. Только лунки в группе лунок с загруженным содержимым отображаются в селекторе лунок, и данные только по этим лункам включаются в вычисления при анализе данных.

Пояснение. Для создания, изменения или удаления групп лунок щелкните Управление группами лунок на панели управления.

Примечание Если вы не создали группы лунок, раскрывающийся список Группы лунок не появляется на панели управления.

Изменение содержимого лунки после прогона

Во время анализа данных изменение способа отображения данных путем изменения содержания лунок в Редакторе плашки никогда не меняет данные флуоресценции, собранные по каждой лунке во время прогона. После того как модуль соберет данные флуоресценции, эти данные невозможно удалить, но можно удалить данные из представления и анализа.

Порядок изменения содержимого лунок после прогона

- ▶ В окне Анализ данных щелкните Схема плашки и выберите один из следующих вариантов:

- **Просмотр/редактирование плашки** — открывает Редактор плашки для внесения изменений в структуру вручную.
- **Заменить файл плашки** — открывает проводник «Выбрать плашку», в котором можно перейти к ранее сохраненному файлу плашки, и заменить этим файлом текущую схему плашки.
- **Применить файл PrimePCR** — открывает диалоговое окно Выбрать файл PrimePCR, в котором можно перейти к ранее сохраненному файлу прогона PrimePCR и применить его к схеме плашки.

Пояснение. Можно добавить или отредактировать информацию о содержимом лунки до, во время или после прогона ПЦР. Перед прогоном необходимо назначить режим сканирования и размер плашки. Эти параметры невозможно изменить после прогона.

Настройки анализа данных

Данные диаграммы «Амплификация» на вкладке «Расчет» отображают относительную флуоресценцию (ОЕФ) для каждой лунки на каждом цикле. Каждая линия на графике представляет данные по одному флуорофору в одной лунке. Эти данные используются для определения значений C_q для каждой лунки по каждому флуорофору. Программа использует один из следующих двух режимов определения значений C_q :

- **Регрессия** — применяет модель нелинейной регрессии с несколькими переменными к отдельным кривым лунок, а затем использует эту модель для вычисления оптимального значения C_q .
- **Единый пороговый уровень** — использует значение единого порогового уровня для вычисления значения C_q на основании точки пересечения порогового уровня отдельными кривыми флуоресценции.

Выберите Настройки > Режим определения C_q для выбора режима определения C_q .

Коррекция порога

В режиме Единый пороговый уровень можно скорректировать пороговый уровень для флуорофора, щелкнув на линии порогового уровня на графике Амплификация и передвигая курсор мыши в вертикальном направлении. В качестве альтернативного способа можно указать точный порог пересечения для выбранного флуорофора.

Настройки базовой линии

Программное обеспечение автоматически устанавливает базовую линию отдельно для каждой лунки. Настройка базовой линии определяет способ вычитания базовой линии для всех линий флуоресценции. Программное обеспечение предлагает три варианта вычета базовой линии.

- **Без вычета базовой линии** — отображает данные как кривые относительной флуоресценции. Некоторые способы анализа невозможны в этом режиме анализа, поэтому программа не отображает вкладки Экспрессия гена, Конечная точка и Аллельная дискриминация.
- **С вычетом базовой линии** — отображает данные как кривые с вычетом базовой линии для каждого флуорофора в лунке. Программное обеспечение должно вычитать базовую линию из данных, чтобы определять циклы количественного анализа, строить стандартные кривые и определять концентрацию неизвестных проб. Чтобы создать кривую с вычетом базовой линии, программа прокладывает насколько возможно прямую линию через записанную флуоресценцию каждой лунки во время циклов базовой линии, а затем вычитает наиболее подошедшие данные из данных с вычетом фона на каждом цикле.

- **Подбор кривой по точкам с вычетом базовой линии** — отображает данные как кривые с вычетом базовой линии и сглаживает кривую с вычетом базовой линии с использованием фильтра центрированного среднего. Процесс происходит таким образом, что каждое значение C_q остается без изменений.

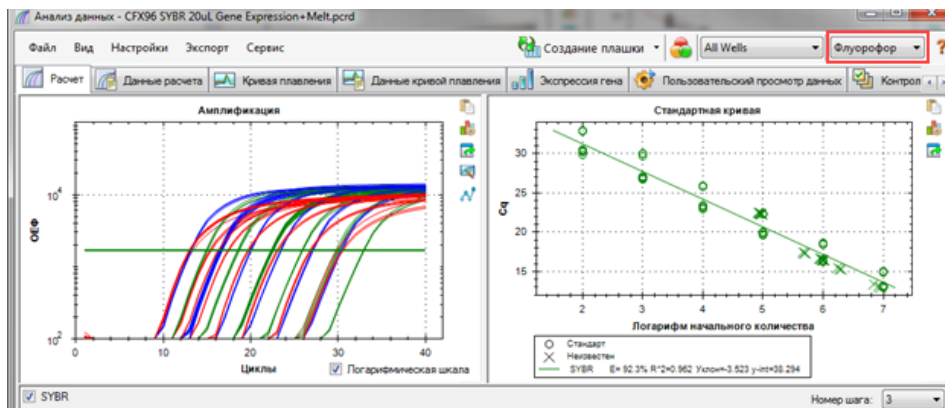
В дополнение к этим опциям также можно выбрать Применить коррекцию смещения флуоресценции. Для лунок, значения ОЕФ которых аномально смещаются в течение первых нескольких циклов прогона, программное обеспечение извлекает ориентировочную базовую линию из смежных лунок, для которых была успешно создана горизонтальная базовая линия.

Чтобы изменить настройку вычета базовой линии, выполните следующие действия

- ▶ Выберите Настройки > Настройка базовой линии.

Режим анализа

Данные можно группировать и анализировать по флуорофору или по названию мишени. При группировке по флуорофору кривые данных отображаются по флуорофорам, как указано в области настройки плашки для соответствующего цикла. Данные об отдельных флуорофорах отображаются на диаграмме амплификации и графике со стандартной кривой (если он доступен), если установлены флажки в соответствующих полях выбора флуорофоров, расположенных под графиком амплификации.



При группировке по мишени кривые данных отображаются по названию мишени согласно данным, введенным в области настройки плашки для соответствующего прогона.

Чтобы выбрать режим анализа данных, выполните следующие действия

- ▶ Выполните одно из следующих действий.
 - Выберите Настройки > Режим анализа.
 - Выберите режим из раскрывающегося меню Режим анализа на панели управления.

Циклы для анализа

Количество циклов для анализа можно ограничивать. Можно также анализировать данные из конкретного набора циклов. Максимальное количество циклов, которые можно проанализировать, составляет 50.

Примечание Удаление циклов из начала прогона может значительно повлиять на построение базовой линии.

Чтобы ограничить анализ данных определенным диапазоном циклов, выполните следующие действия

1. Выберите Настройки > Циклы для анализа.
Открывается диалоговое окно Циклы для анализа.
2. Введите значения начального и конечного циклов и щелкните ОК.

Щелкните Восстановить значения по умолчанию в диалоговом окне Циклы для анализа, чтобы вернуться к циклам, исходно используемым для анализа.

Селектор лунок

Используйте Селектор лунок, чтобы отобразить или скрыть данные на графиках или в электронных таблицах во всем окне Анализ данных. В селекторе лунок можно выбирать только лунки с загруженной пробой. Программное обеспечение раскрашивает лунки в Селекторе лунок:

- **Синий** — указывает выбранные лунки. Данные из выбранных лунок появятся в окне Анализ данных.
- **Светло-серый** — указывает невыбранные лунки. Данные из этих невыбранных лунок не появятся в окне Анализ данных.
- **Темно-серый** — указывает пустые лунки.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----|----|----|
| A | | | | Невоз-1 Actin 2Hr Urine | Невоз-2 Actin 2Hr Urine | Невоз-3 Actin 2Hr Urine | | | | | | |
| B | | | | Невоз-1 Actin 2Hr Urine | Невоз-2 Actin 2Hr Urine | Невоз-3 Actin 2Hr Urine | | | | | | |
| C | | | | Невоз-1 Actin 2Hr Urine | Невоз-2 Actin 2Hr Urine | Невоз-3 Actin 2Hr Urine | | | | | | |
| D | | | | | | | | | | | | |
| E | | | Сва-5 GAPDH 0Hr Blood | Сва-6 GAPDH 1Hr Blood | Сва-7 GAPDH 2Hr Blood | Сва-8 GAPDH 3hr Blood | Сва-9 GAPDH 4hr Blood | Сва-10 GAPDH 5hr Blood | Сва-11 GAPDH 6hr Blood | | | |
| F | | | Сва-2 GAPDH 0Hr Hair | Сва GAPDH 1Hr Hair | Сва GAPDH 2Hr Hair | Сва GAPDH 3hr Hair | Сва GAPDH 4hr Hair | Сва GAPDH 5hr Hair | Сва GAPDH 6hr Hair | | | |
| G | | | Сва-3 GAPDH 0Hr Urine | Сва GAPDH 1Hr Urine | Сва GAPDH 2Hr Urine | Сва GAPDH 3hr Urine | Сва GAPDH 4hr Urine | Сва GAPDH 5hr Urine | Сва GAPDH 6hr Urine | | | |
| H | | | Сва-4 GAPDH 0Hr | Сва GAPDH 1Hr | Сва GAPDH 2Hr | Сва GAPDH 3hr | Сва GAPDH 4hr | Сва GAPDH 5hr | Сва GAPDH 6hr | | | |

Чтобы отобразить или скрыть данные лунок, выполните следующие действия

- ▶ В селекторе лунок выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы скрыть одну лунку, щелкните отдельную лунку. Чтобы отобразить эту лунку, щелкните ее снова.
 - Чтобы скрыть несколько лунок, нажмите клавишу мыши, выделите лунки, которые следует выбрать, и отпустите клавишу. Чтобы отобразить эти лунки, снова нажмите клавишу мыши, выделите лунки и отпустите клавишу.
 - Чтобы скрыть все лунки, щелкните по верхнему левому углу плашки. Щелкните верхний левый угол плашки снова, чтобы отобразить все лунки.

- Чтобы скрыть все лунки столбца или строки, щелкните по их номеру или букве. Чтобы отобразить все лунки столбца или строки, щелкните по их номеру или букве еще раз.

Пункты контекстного меню селектора лунок

В Табл. 13 перечислены пункты контекстного меню, доступные для селектора лунок.

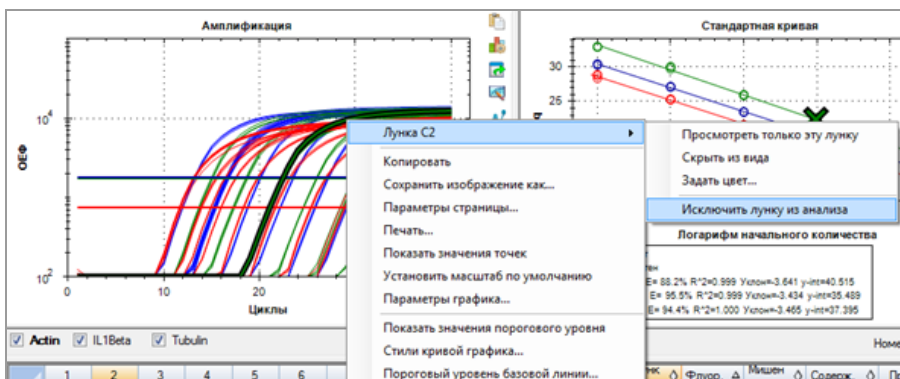
Табл. 13. Пункты меню, открывающегося при щелчке правой кнопкой мыши селекторов лунок

| Пункт | Функция |
|--|---|
| Well XX (Лунка XX) | Отображение только этой лунки, удаление этой лунки из представления, установка цвета для этой лунки или исключение этой лунки из анализа. |
| Выбранные лунки (нажать правую клавишу мыши и выделить перетаскиванием мыши) | Отображение только этих лунок, удаление этих лунок из представления, установка цвета для этих лунок или исключение этих лунок из анализа. |
| Copy (Копировать) | Копирование содержимого лунки в буфер обмена, включая данные Sample Type (Тип пробы) и необязательную информацию Replicate # (№ повторности). |
| Copy as Image (Копировать как изображение) | Копирование селектора лунок в виде изображения. |
| Print (Печать) | Печать представления селектора лунок. |
| Print Selection (Печать выделенного фрагмента) | Печать текущего выделенного фрагмента. |
| Export to Excel (Экспорт в Excel) | Экспортирует данные в электронную таблицу Excel. |
| Export to CSV (Экспорт в CSV) | Экспорт данных в виде документа CSV. |
| Export to Xml (Экспорт в XML) | Экспорт данных в виде документа XML. |
| Well Labels (Метки лунки) | Позволяет изменить метки лунок на Тип пробы, Имя мишени или Имя пробы. |

Временное исключение лунок из анализа

Порядок временного исключения лунок из анализа данных

- Щелкните правой клавишей мыши на селекторе лунок, кривой флуоресценции или точке на стандартной кривой. Чтобы исключить несколько лунок, нажмите правую кнопку мыши и перетащите курсор, выделяя несколько лунок, линий или точек.
- В контекстном меню выберите подходящий параметр.
 - Лунка > Исключить лунку
 - Выбранные лунки > Исключить из анализа
 - Выбранные кривые > Исключить эти лунки из анализа



Для того чтобы окончательно удалить лунки из анализа, очистите содержимое лунок в окне Редактор плашки, нажав кнопку Очистить лунки.

Важно! Если содержимое лунки было очищено, для включения в анализ его придется вводить повторно.

Чтобы включить все исключенные лунки, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните правой клавишей мыши соответствующую лунку в селекторе лунок и выберите Лунка > Включить лунку в анализ.

Диаграммы

Каждая диаграмма в окне Анализ данных отображает данные на различных графиках и содержит параметры для корректировки и экспорта данных или графиков диаграмм.

Инструменты диаграммы амплификации

В Табл. 14 перечислены пункты контекстного меню, доступные на большинстве диаграмм.

Табл. 14. Пункты контекстного меню, общие для большинства диаграмм

| Пункт | Функция |
|--|--|
| Copy (Копировать) | Копирование диаграммы в буфер обмена. |
| Save Image As... (Сохранить изображение как...) | Сохранение изображения в виде файла изображения. Установите разрешение и размеры изображения и затем выберите тип файла (PNG, GIF, JPG, TIF или BMP). |
| Page Setup... (Настройка страницы...) | Выбор настроек страницы для печати. |
| Print... (Печать...) | Печать диаграммы. |
| Set Scale to Default (Установить масштаб по умолчанию) | Отображение всех данных на гистограмме. Отображаются полосы прокрутки, если точек данных/слишком много, и они не помещаются в области графика. |
| Настройки графика | Открывает диалоговое окно «Настройки графика», в котором можно изменить параметры отображения графика, в том числе следующие: <ul style="list-style-type: none"> ■ Названия графика и осей ■ Шрифт и размер шрифта для графика и осей ■ Масштаб осей ■ Положение легенды |

Инструменты графика появляются на каждом графике в окне «Анализ данных». На всех графиках отображаются следующие инструменты:

Копировать в буфер — копирует содержимое представления графика в буфер обмена.

Настройки графика — открывает диалоговое окно «Настройки графика», в котором можно изменить параметры отображения графика.

Экспорт — открывает диалоговое окно Параметры экспорта, из которого можно изменить разрешение и размер графика и сохранить график в указанное местоположение как один из следующих типов файлов:

- .bmp;
- .jpg;
- .png.

Инструменты гистограммы

В дополнение к инструментам графика, для гистограмм можно использовать следующие инструменты.

Сортировка — сортирует мишени и пробы по алфавиту или в обратном порядке.

Настройки цвета — открывает диалоговое окно Настройки цвета, в котором можно изменить цвет мишеней и проб.

Подробнее об этих инструментах см. в разделе [Изменение и аннотирование представления диаграммы на стр. 283](#).

Инструменты диаграммы амплификации

В дополнение к перечисленным выше, графики амплификации отображают следующие инструменты.

Стили кривой — открывает диалоговое окно Стили кривой, в котором можно изменить внешний вид кривых на графике амплификации.

Пороговый уровень базовой линии — открывает окно Пороговый уровень базовой линии, в котором можно изменить базовую линию по умолчанию для выбранных лунок или изменить пороговый уровень для каждой кривой флуоресценции на графике амплификации.

Копирование данных графика в буфер обмена

Содержимое представления диаграммы можно копировать и вставлять в любое приложение, которое принимает файлы точечного рисунка.

Чтобы копировать данные графика в буфер обмена, выполните следующие действия

1. В инструментах графика выберите значок «Копировать в буфер обмена».
2. Откройте приложение, которое может использовать растровые изображения (например, Microsoft Word).

- Щелкните правой клавишей и выберите Вставить, чтобы вставить растровое изображение из буфера обмена в приложение.

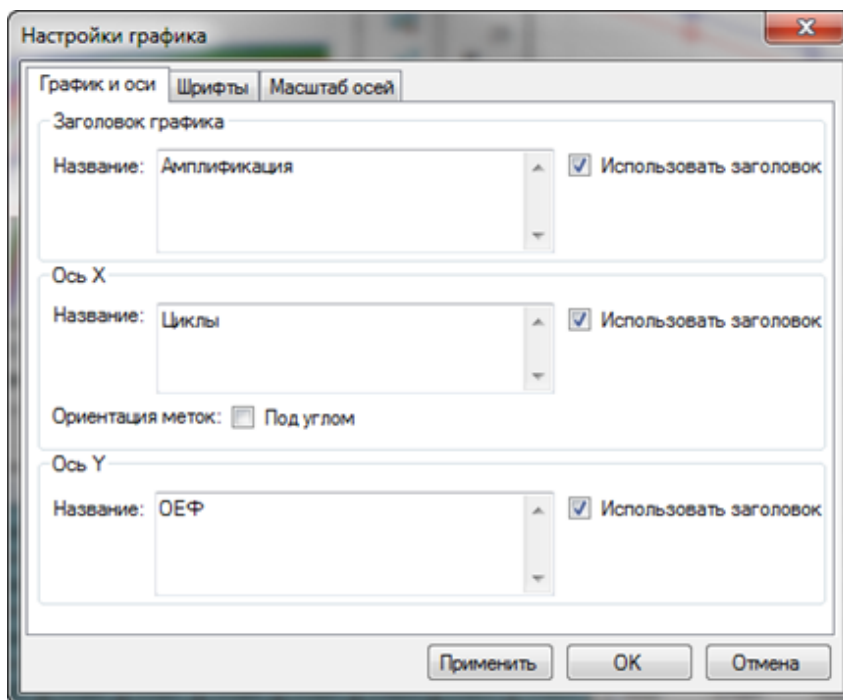
Изменение настроек отображения диаграмм

С помощью диалогового окна Настройки графика можно менять названия, шрифт и размер, масштаб осей и расположение условных обозначений отображаемого графика. Внесенные изменения относятся только к отображаемой диаграмме и сохраняются вместе с ней.

Порядок изменения настроек отображения диаграммы

- В инструментах диаграммы нажмите Chart Settings (Настройки диаграммы).

Появится диалоговое окно Chart Settings (Настройки диаграммы).



- Выберите вкладку Chart And Axes (Диаграмма и оси) для:
 - Ввода названия диаграммы.
 - Ввода нового названия оси X и угла наклона надписей.
 - Ввода нового названия оси Y.
- На вкладке Шрифты можно настроить шрифт и размер шрифта графика.

Пояснение. По умолчанию размер шрифта масштабируется при изменении размера графика. Нажмите Change Font Size (Изменить размер шрифта) для задания постоянного размера шрифта для каждого типа надписей.

4. Выберите вкладку Axes Scale (Масштаб осей) для:
 - очистить автоматическое масштабирование осей X и Y и указать минимальное и максимальное значения масштабирования;
 - Выберите для отображения линий сетки или меток шкалы на осях графика.
5. Выберите вкладку Legend (Условные обозначения) для:
 - Скрытия условных обозначений диаграммы.
 - Изменения положения условных обозначений диаграммы по умолчанию.

Примечание Когда легенда располагается слева или справа от графика, она отображает только первые десять флуорофоров на графике.

6. Щелкните Apply (Применить) в любое время для просмотра изменений в настройках диаграммы без сохранения изменений.
7. Нажмите OK, чтобы сохранить изменения и вернуться на диаграмму.

Экспорт диаграммы

С помощью этого диалогового окна можно менять ширину, высоту и разрешение графика для его экспорта в одном из следующих форматов файла:

- .bmp;
- .jpg;
- .png.

Затем экспортированный график можно использовать для отображения результатов в стендовых докладах, презентациях Microsoft PowerPoint и в профессиональных журналах.

Примечание При изменении настроек учитывайте следующие моменты.

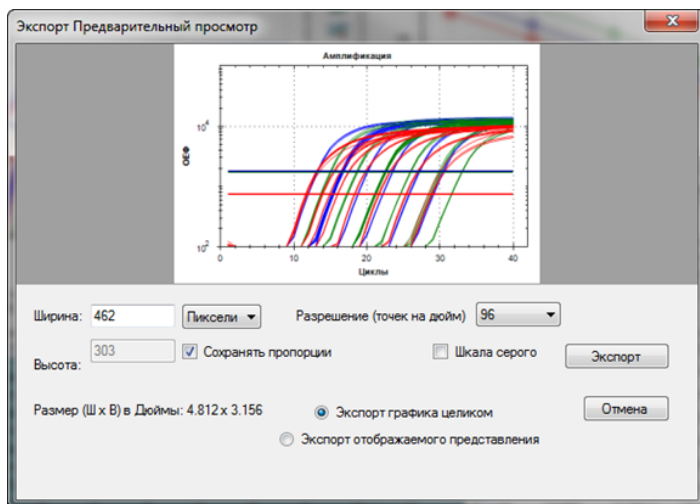
- Максимальная и минимальная ширина и высота
 - При 72 dpi: 0,1–83 дюйма
 - При 96 dpi: 0,1–62 дюйма
 - При 150 dpi: 0,1–40 дюймов
 - При 300 dpi: 0,1–20 дюймов
 - При 600 dpi: 0,1–10 дюймов

- При любом разрешении: 2–6000 пикселей
- Соотношение сторон основывается на ширине.

Порядок экспорта диаграммы

1. В инструментах диаграммы щелкните Export (Экспорт).

Появится диалоговое окно Export Preview (Предварительный просмотр перед экспортом).



2. Измените настройки отображения требуемым образом.
3. Нажмите Export (Экспорт).
4. В диалоговом окне Экспорт выполните следующие действия.
 - a. (Необязательно) Найдите папку, в которую требуется сохранить файл графика.
 - b. Введите имя для файла и выберите тип файла из раскрывающегося списка.
5. Щелкните Save (Сохранить) для сохранения файла диаграммы.

Изменение настроек порогового уровня базовой линии

В режиме Единый пороговый уровень можно скорректировать пороговый уровень для флуорофора, щелкнув на линии порогового уровня на графике Амплификация и передвигая курсор мыши в вертикальном направлении. Как вариант, можно указать точный пороговый уровень пересечения для выбранного флуорофора.

Пояснение. Можно указать диапазон циклов для определения базовой линии для всех файлов данных на вкладке Анализ данных в Пользователь > Пользовательские настройки.

Чтобы скорректировать начало и конец цикла базовой линии для каждой лунки, выполните следующие действия

1. На вкладке Расчет выберите один флуорофор под графиком Амплификация.
2. В инструментах диаграммы выберите «Пороговый уровень базовой линии».

Откроется диалоговое окно Пороговый уровень базовой линии.
3. В разделе Циклы базовой линии выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы выбрать одну лунку, щелкните ее номер строки.
 - Чтобы выбрать несколько соседних лунок, щелкните номер строки первой лунки и проведите вниз по столбцу до последней лунки.
 - Чтобы выбрать несколько не соседних лунок, нажмите клавишу Ctrl и щелкайте номера строк каждой лунки мишени.
 - Чтобы выбрать все лунки, щелкните верхний левый угол таблицы.
4. Скорректируйте цикл Начало базовой линии и цикл Конец базовой линии для всех выбранных лунок или измените номер цикла Начала и Конца в нижней части электронной таблицы.

Пояснение. Чтобы вернуть настройки к последним сохраненным значениям, щелкните Сбросить все значения, установленные пользователем.
5. Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и вернуться к графику.

Чтобы указать диапазон циклов для всех файлов данных, выполните следующие действия

- ▶ В начальном окне или в окне Редактор плашки выберите Пользователь > Пользовательские настройки и выберите вкладку Анализ данных.

Сортировка данных мишени, пробы и биологической группы

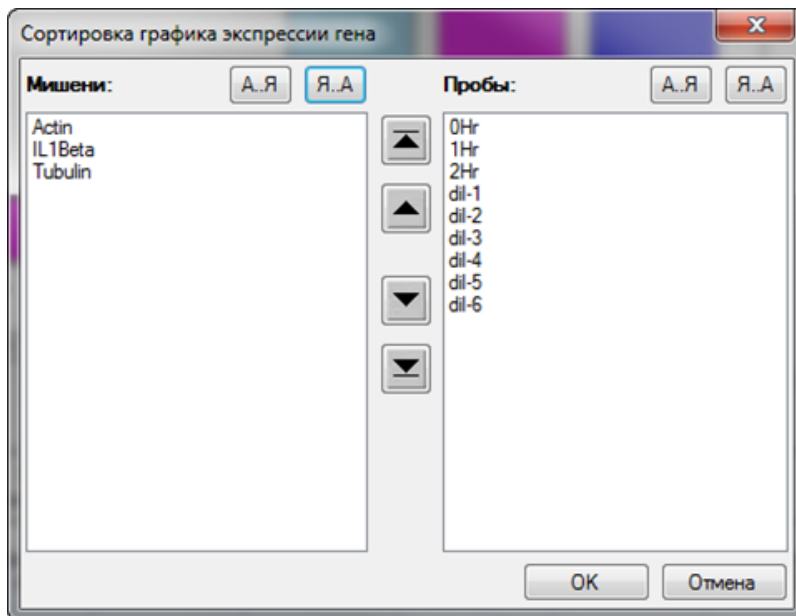
Примечание Эта функция доступна только на диаграммах экспрессии генов.

По умолчанию списки «Мишени», «Пробы» и «Биологические группы» отображаются в алфавитном порядке. С помощью диалогового окна Сортировка можно выбрать отображение в обратном порядке или вручную переместить элемент в другую позицию в списке.

Для сортировки данных мишеней, проб и биологических групп выполните следующие действия

1. В разделе «Инструменты графика» щелкните «Сортировка».

Откроется диалоговое окно Сортировка графика вкладки Экспрессия гена.



2. В диалоговом окне щелкните Z-A для сортировки списка в обратном порядке.
3. Чтобы вручную переместить элемент, выберите его и нажмите соответствующую кнопку между диаграммами.
 - Нажмите стрелку ВВЕРХ или стрелку ВНИЗ, чтобы переместить выбранный элемент на одну позицию.
 - Нажмите стрелку ВВЕРХ С ЧЕРТОЧКОЙ или стрелку ВНИЗ С ЧЕРТОЧКОЙ, чтобы переместить выбранный элемент в верх или в низ списка.
4. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и вернуться на вкладку Gene Expression (Экспрессия генов).

Изменение настроек цвета мишени и пробы

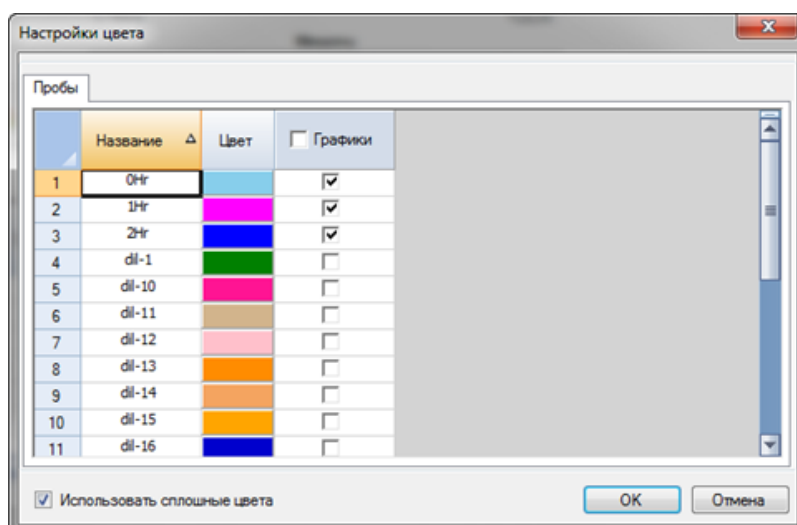
Примечание Эта функция доступна только на диаграммах экспрессии генов.

Для изменения цвета мишени или пробы либо для удаления их с графика используйте диалоговое окно Color Settings (Настройки цвета).

Порядок изменения настроек цвета

1. В инструментах диаграммы выберите Color Settings (Настройки цвета).

Появится диалоговое окно Color Settings (Настройки цвета).



2. Чтобы изменить цвет отображения мишени или пробы, щелкните ее цвет в столбце Color (Цвет).
3. В появившемся диалоговом окне Color (Цвет) выберите новый цвет и нажмите кнопку ОК.
4. Чтобы удалить элемент из графика экспрессии гена, снимите соответствующий флажок в столбце Графики.

Пояснение. Чтобы убрать все элементы с графика экспрессии гена, снимите флажок Графики в заголовке столбца.

5. (Необязательно.) По умолчанию цвет гистограммы отображается в градиентном виде. Для отображения цвета в сплошном виде выберите Use Solid Colors (Использовать сплошные цвета).
6. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и вернуться на вкладку Gene Expression (Экспрессия генов).

Увеличение области на диаграмме

Чтобы увеличить область графика, выполните следующие действия

- ▶ Нажмите клавишу мыши, выделите часть графика, затем щелкните «Масштаб». Программное обеспечение изменит размер графика и отцентрирует его на выбранной области.

Примечание Для гистограммы не требуется нажатие всплывающей команды «Масштаб».

Чтобы вернуть график к полному представлению, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните на графике правой клавишей мыши и выберите Установить масштаб по умолчанию.

Копирование диаграмм в файл Microsoft

Можно копировать графики данных в документы Microsoft Word, Excel или PowerPoint. Разрешение изображения соответствует разрешению экрана, с которого было получено изображение.

Чтобы копировать графики в файл Microsoft, выполните следующие действия

1. В окне анализа данных нажмите «Копировать в буфер обмена» в верхнем правом углу панели графика.
2. Откройте пустой файл Microsoft и вставьте содержимое из буфера обмена.

Общие пункты контекстного меню для диаграмм

В Табл. 15 перечислены пункты контекстного меню, которые доступны на диаграммах. Некоторые из элементов, включая элементы для изменения способа отображения данных или для простого экспорта данных из графика, присутствуют во всех графиках.

Табл. 15. Пункты контекстного меню для диаграмм

| Пункт | Функция |
|------------------------------|---|
| Сору (Копировать) | Копирование диаграммы в буфер обмена. |
| Сохранить изображение как | Сохраняет изображение с указанным размером, разрешением и типом файла, включая PNG (по умолчанию), JPG и BMP. |
| Параметры страницы | Отображает параметры настройки печати. |
| Print (Печать) | Печать диаграммы. |

| Пункт | Функция |
|---|--|
| Set Scale to Default (Установить масштаб по умолчанию) | Возврат диаграммы к ее представлению по умолчанию после увеличения диаграммы. |
| Chart Options (Параметры диаграммы) | Открывает окно «Параметры диаграммы» для изменения диаграммы, включая изменение названия, выбор ограничений для осей X и Y, отображение линий сетки и отображение вспомогательных меток на осях. |

Примечание Пункты меню, которые применяются к конкретным диаграммам, описаны в [Глава 11, Сведения об анализе данных](#).

Таблицы

Электронные таблицы, показываемые в окне Анализ данных, содержат параметры для сортировки и передачи данных. Сортируйте столбцы одним из следующих способов.

- Щелкните и перетащите столбец на новое место в выбранной таблице.
- Щелкните название столбца, чтобы сортировать данные по возрастанию или по убыванию.

Чтобы сортировать данные по трем столбцам в окне Сортировка, выполните следующие действия.

1. Щелкните правой клавишей мыши на таблице и выберите Сортировка.
2. В диалоговом окне Сортировка выберите название первого столбца для сортировки. Отсортируйте данные в порядке возрастания или в порядке убывания.
3. Выберите второй или третий столбец, чтобы выполнить сортировку и выбрать По возрастанию или По убыванию.
4. Нажмите ОК для сортировки данных или Отмена для прекращения сортировки.

Пояснение. Выделите данные на соответствующих диаграммах и в селекторе лунок, удерживая указатель мыши на ячейке. Нажмите на ячейку, чтобы скопировать и вставить ее содержимое в другую программу.

Общие для электронных таблиц пункты контекстного меню

В [Табл. 16](#) перечислены пункты контекстного меню, доступные на любом представлении таблицы.

Табл. 16. Пункты контекстного меню для табл.

| Пункт | Функция |
|--|---|
| Сору (Копировать) | Копирование содержимого выбранных лунок в буфер обмена, а затем вставка содержимого в электронную таблицу (например, Excel). |
| Сору as Image (Копировать как изображение) | Копирование представления таблицы в виде файла изображения и вставка его в файл, который принимает файл изображения, такой как текстовый файл, файлы изображения или таблицы. |
| Print (Печать) | Печать текущего представления. |

Табл. 16. Пункты контекстного меню для табл., продолжение

| Пункт | Функция |
|--|---|
| Print Selection (Печать выделенного фрагмента) | Печать текущего выделенного фрагмента. |
| Export to Excel (Экспорт в Excel) | Экспорт данных в электронную таблицу Excel. |
| Export to Text (Экспорт в текстовый файл) | Экспорт данных в текстовый редактор. |
| Export to CSV (Экспорт в CSV) | Экспорт данных в файл .csv. |
| Export to Xml (Экспорт в XML) | Экспорт данных в файл XML. |
| Export to Html (Экспорт в HTML) | Экспорт данных в файл HTML. |
| Find (Найти) | Поиск текста. |
| Sort (Сортировать) | Сортировка данных в до трех столбцах. |
| Select Columns (Выбрать столбцы) | Выбор столбцов, которые будут отображаться в таблице. |

Экспорт

CFX Maestro Dx SE предлагает несколько вариантов экспорта в раскрывающемся меню «Экспорт»:

- Экспорт всех листов данных
- Export RDML Files (Экспорт файлов RDML)
- Custom Export (Пользовательский экспорт)
- Export to LIMS Folder (Экспорт в папку LIMS)
- Экспорт вручную

Экспорт всех листов данных

Все табличные представления из каждой вкладки CFX Maestro Dx SE можно экспортировать в отдельные файлы.

Чтобы экспортировать все листы данных, выполните следующие действия

► Выберите Экспорт > Экспорт всех листов данных, затем выберите нужный тип файла:

- CSV (*.csv)
- Текст (*.txt)
- Книга Excel (*.xlsx)

Экспортированные анализы сохраняются в нескольких файлах книги Excel с одной вкладкой таблицы данных анализа для каждого файла. Если анализ включает в себя несколько флуорофоров, данные каждого флуорофора экспортируются на отдельную вкладку рабочего листа.

- Книга Excel - комбинированная (*.xlsx)

Экспортированные анализы сохраняются в одном файле книги Excel, который включает в себя несколько вкладок рабочего листа, по одной для каждого набора данных анализа.

- Excel 97 – 2003 (*.xls)

Важно! Чтобы экспортировать данные в таблицу Microsoft Excel, на вашем компьютере должно быть установлено приложение Microsoft Excel.

- Xml (*.xml)

Экспорт файлов RDML

RDML — это структурированный и универсальный стандарт данных для обмена данными количественной ПЦР (кПЦР). Этот стандарт данных представляет собой текстовый файл в формате расширяемого языка разметки (.xml). Дополнительную информацию о формате обмена данными RDML см. на веб-сайте Международного консорциума по RDML (www.rdml.org).

Важно! Экспортированные файлы RDML включают в себя данные анализа с базовыми параметрами, которые вы применяете в окне анализа данных. Для получения дополнительной информации о базовых настройках см. [Настройки базовой линии на стр. 214](#).

Примечание Если используется ПО qbase+ версии не менее 2.3, следует использовать файлы RDML версии 1.1.

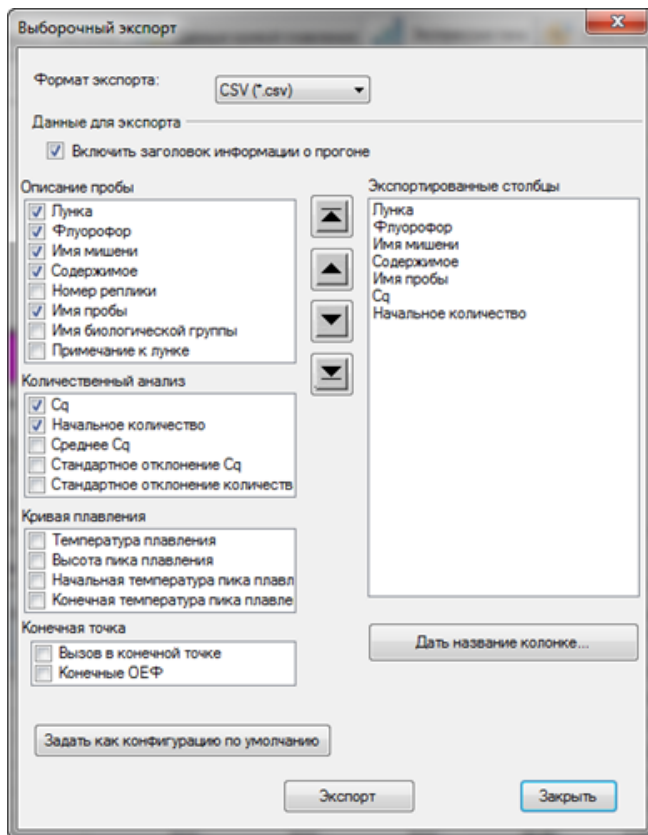
Чтобы экспортировать файл RDML, выполните следующие действия

1. Выберите Export (Экспорт) > Export RDML Files (Экспорт файлов RDML) и в открывшемся списке выберите RDML v1.1 или RDML v1.0.
Откроется диалоговое окно Сохранить как.
2. В диалоговом окне Save As (Сохранить как) укажите имя файла и местоположение для сохранения файла RDML.
3. Нажмите OK, чтобы сохранить экспортированный файл.

Создание пользовательского файла экспорта

Для создания файла выборочного экспорта

1. Выберите Экспорт > Выборочный экспорт. Откроется диалоговое окно Выборочный экспорт.



2. Выберите формат экспорта в появившемся выпадающем списке.
3. Установите флажки для элементов, которые нужно экспортировать.
4. (Необязательно) Чтобы изменить названия столбцов, щелкните Дать название колонке.
5. Щелкните Экспорт. Откроется диалоговое окно Сохранить как.
6. В диалоговом окне Сохранить как укажите имя файла и местоположение, в которое требуется сохранить экспортированный файл.
7. Чтобы сохранить файл экспорта, нажмите ОК.

Экспорт в папку LIMS

Можно экспортировать данные в файл совместимого с LIMS формата. Для получения дополнительной информации о создании файлов LIMS, об управлении этими файлами и о том, как их использовать, см. [Приложение С, Интеграция с LIMS](#).

Чтобы экспортировать данные в формат LIMS, выполните следующие действия

1. Выберите Экспорт > Экспорт в папку LIMS.
Откроется диалоговое окно Сохранить как.
2. В диалоговом окне Сохранить как укажите имя файла и местоположение, в которое требуется сохранить экспортированный файл.
3. Чтобы сохранить файл экспорта, нажмите ОК.

Экспорт данных в формате Seegene

Можно экспортировать данные из всех таблиц в файлы Excel со структурой, предназначенной специально для использования Seegene, Inc.

Пояснение. По завершении экспорта можно также автоматически запустить Seegene Viewer. Дополнительную информацию см. в разделе [Команды меню Tools \(Инструменты\)](#) на стр. 73 на стр. 1.

Порядок экспорта данных в специальный формат Seegene

1. Выберите Экспорт > Экспорт вручную.
Откроется диалоговое окно Поиск папки.
2. В диалоговом окне Поиск папки укажите путь к папке, где нужно сохранить экспортированные файлы Excel (.xlsx) в формате Seegene.

Анализы экспортируются в несколько файлов книги Excel с одной вкладкой таблицы данных анализа для каждого файла.
3. Нажмите ОК, чтобы сохранить экспортированные файлы.

Глава 11 Сведения об анализе данных

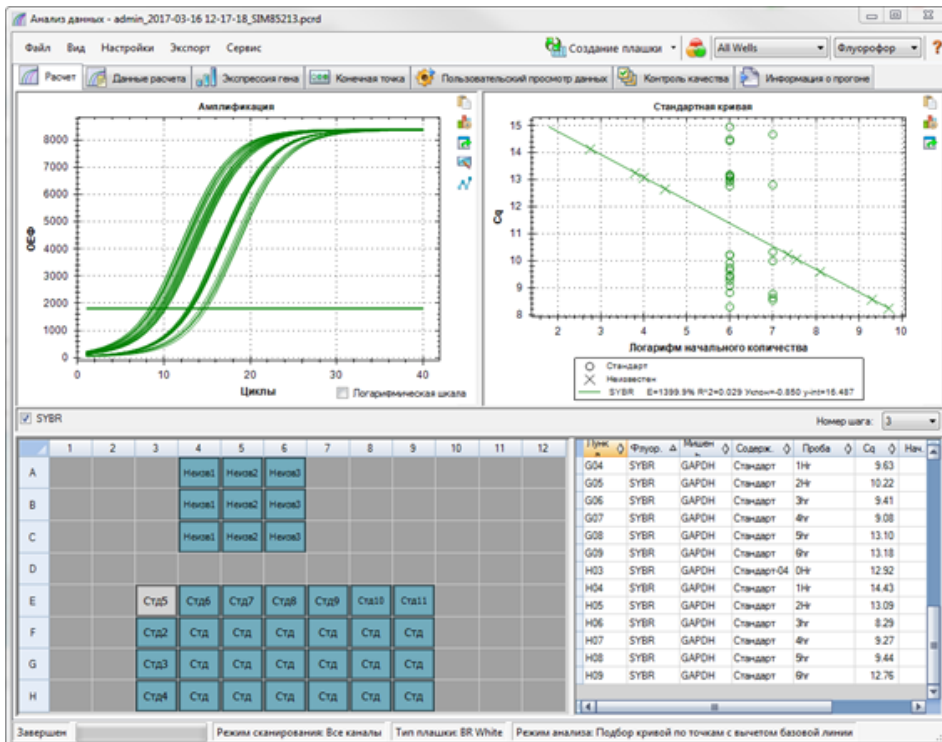
Окно анализа данных ПО CFX Maestro Dx, Security Edition состоит из нескольких вкладок для просмотра данных. В этой главе подробно описываются эти вкладки.

Пояснение. В меню Вид можно выбрать, какие вкладки отображать в окне Анализ данных. Заданная пользователем структура сохраняется с файлом данных.

Вкладка Quantification (Количественный анализ)

Используйте данные на вкладке Расчет для задания условий анализа, включая настройки базовой линии для отдельных лунок и настройки пороговых уровней. Вкладка Расчет отображает данные в следующих четырех представлениях:

- График амплификации — отображает относительные единицы флуоресценции (ОЕФ) для каждой лунки на каждом цикле. Каждая линия на графике представляет данные по одному флуорофору в одной лунке.
- Стандартная кривая — отображается только в том случае, если прогон содержит лунки, для которых определен тип пробы Стандарт (Стд). На стандартной кривой отображается пороговый цикл на графике в зависимости от логарифма начального количества. Легенда отображает Эффективность реакции (E) для каждого флуорофора в лунках с типом пробы Стандарт.
- Селектор лунок — позволяет выбрать лунки с данными флуоресценции, которые требуется показать.
- Таблица — отображает таблицу с данными, собранными на выбранных лунках



Выбор флуорофора

Чтобы отобразить данные по флуорофору на диаграммах и в таблицах вкладки «Расчет», выберите целевой(-ые) флуорофор(-ы) под диаграммой «Амплификация». Чтобы скрыть данные по флуорофору в окне анализа данных, снимите флажок для него.

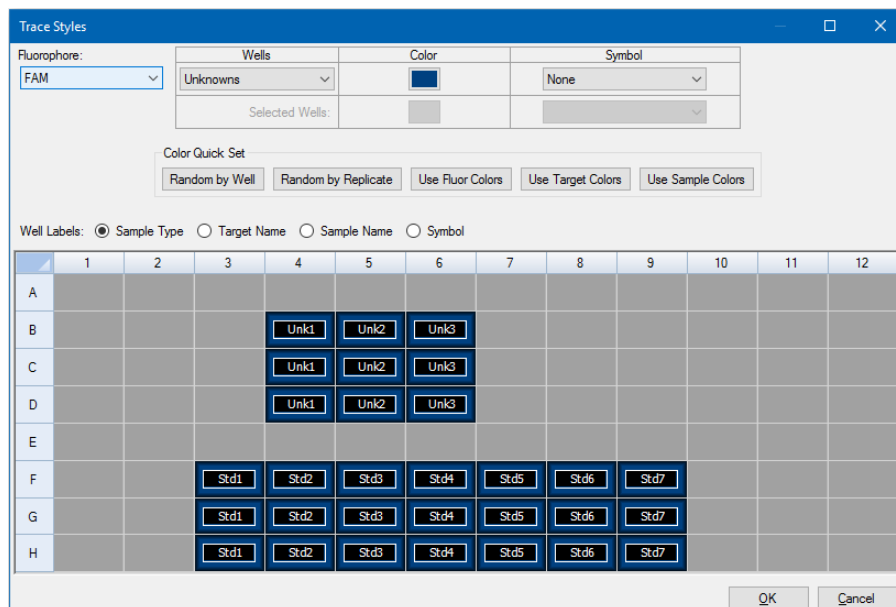
Диалоговое окно Стили кривой графика

С помощью диалогового окна Стили кривой графика можно корректировать внешний вид кривых на графиках амплификации и кривой плавления на вкладках Количественный анализ и Кривая плавления. Доступен предварительный просмотр изменений в селекторе лунок, отображаемом в диалоговом окне Стили кривой графика.

Порядок корректировки стиля линий

1. Выберите только один флуорофор под графиком Амплификация.
2. Чтобы открыть диалоговое окно Стили кривой графика, выполните одно из следующих действий.
 - Щелкните Стили кривой графика на диаграмме Амплификация.
 - Выберите Настройки > Стили кривой графика в строке меню Анализ данных.
 - Щелкните правой клавишей мыши на кривой и выберите Стили кривой графика.

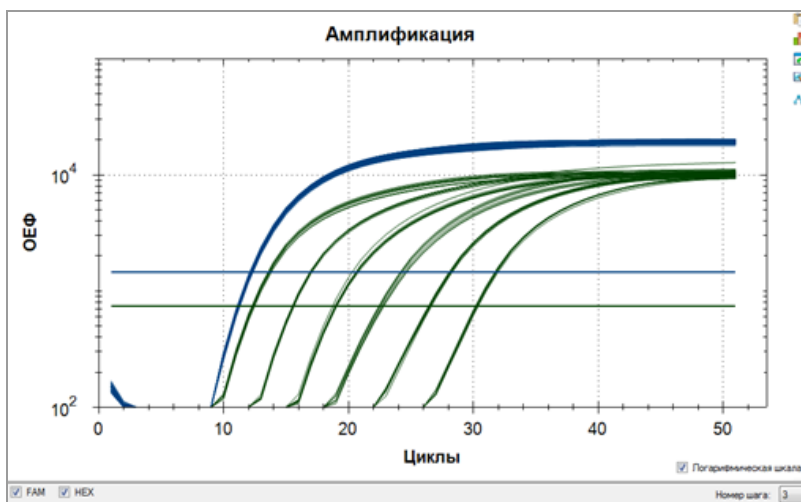
Открывается диалоговое окно Стили кривой графика.



3. В диалоговом окне Стили кривой графика выберите определенный набор лунок в селекторе лунок в нижней панели. Как вариант, можно выбрать лунки, которые содержат один тип пробы, в раскрывающемся меню в столбце Лунки
4. Выполните любое из следующих действий.
 - Чтобы выбрать цвет для выбранных лунок щелкните прямоугольник в столбце Цвет.
 - Чтобы назначить символ выбранным лункам, выберите символ из раскрывающегося списка Символ.
 - Чтобы быстро раскрасить лунки по метке кнопки, щелкните подходящий быстрый набор:
 - Случайные по лункам
 - Случайные по репликам
 - Использовать цвета флуорофоров
 - Использовать цвета мишеней
 - Использовать цвета проб
 - Чтобы назначить метки лунок, выберите Тип пробы, Имя мишени, Имя пробы или Символ.

Опция Log Scale (Логарифмическая шкала)

Выберите Логарифмическая шкала под графиком Амплификация, чтобы просмотреть кривые флуоресценции на полулогарифмической шкале.



Пояснение. Чтобы увеличить любую область диаграммы, выделите ее мышью. Чтобы вернуться к полному отображению, щелкните правой клавишей мыши и выберите «Установить масштаб по умолчанию».

Standard Curve Chart (Диаграмма стандартной кривой)

Программа создает график Стандартная кривая на вкладке Расчет, если данные содержат типы проб, определенные как стандарт, как минимум для одного флуорофора в прогоне.

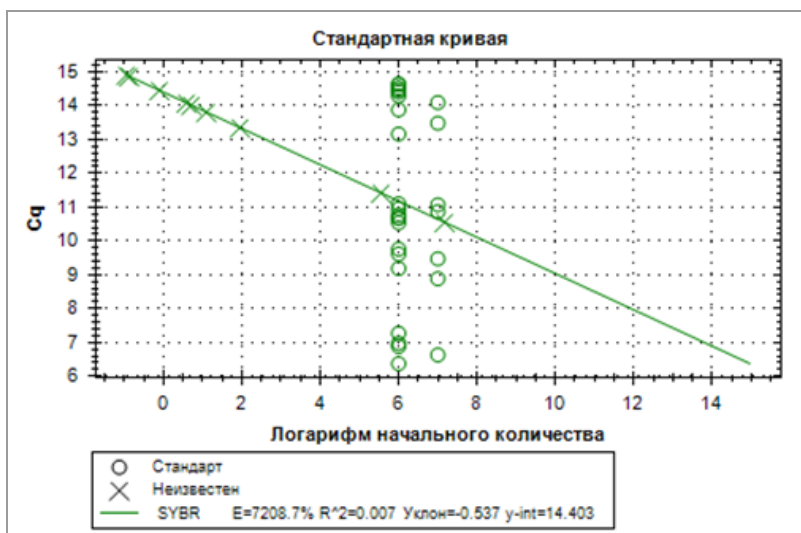


График Стандартная кривая отображает следующую информацию:

- Имя каждой кривой (флуорофор или мишень).
- Цвет каждого флуорофора или мишени.
- Эффективность реакции (E). Используйте эту статистику для оптимизации мультиплексной реакции и выравнивания данных для стандартной кривой.

Примечание Эффективность реакции описывает количество мишени, производимое с каждым циклом протокола. Эффективность 100% указывает, что с каждым циклом мишень удваивается.

- Коэффициент определения, R² (записывается как R²). Используйте эту статистику для определения, насколько точно линия описывает данные (критерий согласия).
- Коэффициент угла наклона
- свободный член уравнения регрессии

Пункты меню диаграммы Амплификация

В дополнение к общим пунктам контекстного меню для диаграмм (см. [Общие пункты контекстного меню для диаграмм на стр. 228](#)) в [Табл. 17](#) перечислены пункты меню, доступные только на диаграмме Amplification (Амплификация).

Табл. 17. Пункты контекстного и обычного меню диаграммы Amplification (Амплификация)

| Пункт меню | Функция |
|--|--|
| Well XX, Fluor Target (Лунка XX, флуоресцентная мишень) | Отображение только этой лунки, удаление этой лунки из представления, установка цвета для этой линии или исключение этой лунки из анализа. |
| Selected Traces (Выбранные линии) | Отображение только этих лунок, удаление этих лунок из представления, установка цвета для этих линий или исключение этих лунок из анализа. |
| Show Threshold Values (Показывать пороговые значения) | Отображение порогового значения для каждой кривой амплификации на диаграмме. |
| Trace Styles (Стили линий) | Открывает окно Стили кривой графика для изменения стилей кривой графика, отображаемой на вкладках Количественный анализ и Кривая плавления. |
| Baseline Thresholds (Пороги базовой линии) | Открывает окно Пороговый уровень базовой линии, чтобы изменить базовую линию или пороговый уровень каждого флуорофора (изменения появляются на графике Амплификация на вкладке Количественный анализ). |

Таблица вкладки Quantification (Количественный анализ)

В [Табл. 18](#) приводится перечень данных, отображаемых в табл. на вклад. Quantification (Количественный анализ).

Табл. 18. Содержимое табл. на вклад. Quantification (Количественный анализ)

| Информация | Описание |
|----------------------|---|
| Well (Лунка) | Положение лунки на плашке. |
| Fluor (Флуорофор) | Обнаруженный флуорофор. |
| Мишень | Название мишени, загруженное в лунки в Plate Editor (Редактор плашки). |
| Content (Содержимое) | Комбинация типа пробы (обязательный параметр) и номера повторности (необязательный параметр), загруженная в Plate Editor (Редактор плашки). |
| Sample (Проба) | Название пробы, загруженной в лунки в Plate Editor (Редактор плашки). |
| C _q | Пороговый цикл |

Изменение данных мишени, содержимого или пробы

Данные в столбцах Target (Мишень), Content (Содержимое) и Sample (Проба) можно изменять путем редактирования файла плашки с помощью окна Plate Editor (Редактор плашки) даже после выполнения эксперимента.

Для изменения данных в столбцах Содержимое, Мишень и Проба

- ▶ Нажмите Создание плашки и выберите Просмотр/редактирование плашки, чтобы открыть Редактор плашки.

Вкладка Quantification Data (Данные количественного анализа)

На вкладке «Количественные данные» отображаются количественные данные, собранные в каждой лунке. CFX Maestro Dx SE отображает данные в четырех различных табличных представлениях:

- Результаты — таблица данных. Это представление по умолчанию.
- Результаты стандартной кривой — таблица данных стандартной кривой.
- Плашка — данные в каждой лунке как схема плашки.
- ОЕФ — количество ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) в каждой лунке для каждого цикла.

Нужную таблицу можно выбрать из раскрывающегося списка, который отображается под вкладкой Данные расчета.

Таблица Results (Результаты)

Таблица Результаты отображает данные по всем лункам на плашке.

| Лунка | Флуор. | Мишень | Содерж. | Проба | Cq | Среднее Cq | Стандартное отклонение Cq | Нач. копео | Логарифм начального количества | Среднее начального количества |
|-------|--------|---------|------------------|-------|-------|------------|---------------------------|------------|--------------------------------|-------------------------------|
| A01 | SYBR | Actin | Неизвестно-1 0hr | | 22.37 | 22.44 | 0.071 | 9.386E+04 | 4.972 | 9.00E+04 |
| A02 | SYBR | Actin | Неизвестно-1 1hr | | 22.55 | 22.43 | 0.115 | 8.371E+04 | 4.923 | 9.08E+04 |
| A03 | SYBR | Actin | Неизвестно-1 2hr | | 22.52 | 22.45 | 0.057 | 8.553E+04 | 4.932 | 8.91E+04 |
| A04 | SYBR | Tubulin | Неизвестно-1 0hr | | 16.67 | 16.58 | 0.081 | 9.048E+05 | 5.957 | 9.64E+05 |
| A05 | SYBR | Tubulin | Неизвестно-1 1hr | | 16.61 | 16.53 | 0.072 | 9.411E+05 | 5.974 | 9.95E+05 |
| A06 | SYBR | Tubulin | Неизвестно-1 2hr | | 16.72 | 16.58 | 0.126 | 8.793E+05 | 5.944 | 9.67E+05 |

Примечание Все вычисления стандартного отклонения (SD) применяются к группам реплик, назначенным лункам в окне Редактор плашки. Вычисления усредняют значение C_q для каждой лунки в группе реплик.

В Табл. 19 приводится перечень данных, отображаемых в табл. Results (Результаты).

Табл. 19. Содержимое табл. Results (Результаты)

| Информация | Описание |
|---|---|
| Well (Лунка) | Положение лунки на плашке. |
| Fluor (Флуорофор) | Детектированный флуорофор. |
| Target (Мишень) | Название мишени амплификации (гена) |
| Content (Содержимое) | Тип пробы и № повторности |
| Sample (Проба) | Описание пробы |
| Biological Set Name (Название биологического сета) | Название биологического сета |
| C_q | Пороговый цикл |
| Среднее C_q | Среднее значение порогового цикла для группы повторностей |
| Станд. откл. C_q $C(t)$ | Стандартное отклонение порогового цикла для группы повторностей |
| Starting Quantity (SQ) (Начальное количество) | Расчетное значение начального количества мишени |
| Log Starting Quantity (Логарифм начального количества) | Десятичный логарифм начального количества |
| SQ Mean (Среднее SQ) | Среднее значение начального количества |
| Стандартное отклонение начального количества (SQ) | Стандартное отклонение начального количества по всем повторностям |

Таблица Standard Curve Results (Результаты стандартной кривой)

Таблица Результаты стандартной кривой отображает вычисленные параметры стандартной кривой.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Содерж. | Неизвестно-1 | Неизвестно-2 | Неизвестно-3 | Неизвестно-4 | Неизвестно-5 | Неизвестно-6 | Неизвестно-7 |
| Проба | 0hr | 1hr | 2hr | 0hr | 1hr | 2hr | 0hr |
| Cq | 22.37 | 22.55 | 22.52 | 16.67 | 16.61 | 16.72 | 13.40 |
| copy number | 9.39e+04 | 8.37e+04 | 8.55e+04 | 9.05e+05 | 9.41e+05 | 8.79e+05 | 6.99e+06 |
| Содерж. | Неизвестно-1 | Неизвестно-2 | Неизвестно-3 | Неизвестно-4 | Неизвестно-5 | Неизвестно-6 | Неизвестно-7 |
| Проба | 0hr | 1hr | 2hr | 0hr | 1hr | 2hr | 0hr |
| Cq | 22.51 | 22.40 | 22.44 | 16.53 | 16.49 | 16.47 | 13.00 |
| copy number | 8.58e+04 | 9.22e+04 | 8.99e+04 | 9.94e+05 | 1.02e+06 | 1.03e+06 | 9.12e+06 |
| Содерж. | Неизвестно-1 | Неизвестно-2 | Неизвестно-3 | Неизвестно-4 | Неизвестно-5 | Неизвестно-6 | Неизвестно-7 |
| Проба | 0hr | 1hr | 2hr | 0hr | 1hr | 2hr | 0hr |
| Cq | 22.43 | 22.33 | 22.41 | 16.53 | 16.49 | 16.54 | 13.12 |
| copy number | 9.04e+04 | 9.65e+04 | 9.18e+04 | 9.93e+05 | 1.02e+06 | 9.89e+05 | 8.39e+06 |
| Содерж. | Стандарт-1 | Стандарт-2 | Стандарт-3 | Стандарт-4 | Стандарт-5 | Стандарт-6 | Стандарт-7 |
| Проба | dil-1 | dil-2 | dil-3 | dil-4 | dil-5 | dil-6 | dil-7 |

В Табл. 20 приводится перечень данных, отображаемых в табл. Standard Curve Results (Результаты стандартной кривой).

Табл. 20. Содержимое табл. Standard Curve Results (Результаты стандартной кривой)

| Информация | Описание |
|--|---|
| Fluor (or Target) (Флуорофор (или мишень)) | Детектированный флуорофор (или мишень) |
| Efficiency % (Эффективность, %) | Эффективность реакции |
| Slope (Коэффициент угла наклона) | Коэффициент угла наклона стандартной кривой |
| Y-intercept (Свободный член уравнения регрессии) | Точка, в которой кривая пересекает ось Y |
| R ² | Коэффициент детерминации |

Таблица Plate (Плашка)

Таблица Плашка отображает карту плашки по данным для одного флуорофора за раз.

| Цикл | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | B1 | B2 | B3 | B4 | B5 | B6 |
|------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-----|
| 1 | -16.5 | 20.8 | 32.2 | 55.5 | 43.0 | 65.9 | 76.3 | 59.1 | 62.6 | 1.34 | 31.9 | 28.9 | 49.8 | 45.8 | ... |
| 2 | 21.4 | 16.9 | 27.2 | 37.0 | 34.7 | 54.2 | 56.0 | 51.4 | 41.9 | 8.58 | 35.2 | 35.2 | 38.9 | 39.7 | ... |
| 3 | 17.0 | 19.8 | 22.8 | 19.9 | 22.1 | 39.4 | 29.3 | 25.8 | 29.8 | 14.9 | 19.2 | 24.9 | 24.1 | 19.2 | ... |
| 4 | 20.0 | 18.6 | 16.2 | 13.9 | 12.1 | 25.2 | 14.3 | 11.4 | 19.3 | 23.8 | 19.0 | 21.2 | 12.9 | 11.8 | ... |
| 5 | 12.9 | 10.2 | 10.3 | -0.325 | 2.41 | 10.5 | -16.8 | -4.57 | -3.48 | 7.85 | 13.1 | 10.9 | 0.700 | 4.23 | ... |
| 6 | 7.04 | 5.95 | 5.24 | -2.23 | -1.96 | -1.97 | -18.5 | -10.7 | -5.08 | 6.43 | 7.31 | 4.35 | -3.14 | 2.58 | ... |
| 7 | 3.03 | 1.64 | 2.31 | -12.9 | -13.2 | -13.1 | -24.1 | -15.8 | -20.2 | 2.28 | -4.06 | -2.81 | -5.77 | -12.6 | ... |
| 8 | -4.23 | -8.20 | -8.66 | -14.6 | -18.7 | -24.3 | -4.09 | -25.4 | -24.6 | 1.30 | -0.268 | -8.43 | -20.7 | -14.3 | ... |
| 9 | -4.80 | -4.44 | -4.05 | -16.8 | -18.5 | -36.3 | 43.9 | -17.7 | -31.3 | -9.67 | -1.89 | -6.44 | -17.5 | -22.4 | ... |
| 10 | -7.65 | -11.8 | -11.0 | -9.05 | -13.9 | -32.3 | 158 | 0.604 | -25.3 | -6.85 | -14.4 | -10.2 | -13.8 | -6.15 | ... |
| 11 | -15.4 | -10.7 | -17.1 | 4.02 | 5.20 | -23.5 | 388 | 44.1 | -19.0 | -15.5 | -17.3 | -18.2 | 3.04 | -1.08 | ... |
| 12 | -15.8 | -19.7 | -17.4 | 37.5 | 42.6 | 11.2 | 802 | 155 | 4.33 | -18.0 | -16.1 | -21.4 | 46.3 | 43.5 | ... |
| 13 | -19.5 | -11.6 | -18.7 | 121 | 123 | 87.8 | 1421 | 358 | 61.4 | -16.6 | -17.6 | -18.3 | 124 | 131 | ... |
| 14 | -14.7 | -16.9 | -17.2 | 274 | 278 | 238 | 2124 | 756 | 164 | -15.2 | -16.3 | -12.3 | 285 | 296 | ... |
| 15 | -14.2 | -20.1 | -17.7 | 559 | 570 | 512 | 2784 | 1342 | 365 | -15.1 | -16.0 | -19.6 | 593 | 609 | ... |
| 16 | -4.66 | -5.50 | -5.93 | 1101 | 1133 | 1055 | 3165 | 2088 | 746 | -3.45 | -4.98 | -5.31 | 1184 | 1213 | ... |

Для просмотра данных для определенного флуорофора

- Щелкните его вкладку в нижней части таблицы.

Таблица RFU (ОЕФ)

Таблица ОЕФ отображает считывания относительных единиц флуоресценции ОЕФ для каждой лунки, собранных на каждом цикле прогона. Номер лунки отображается над каждым столбцом, а номер цикла — слева от каждого ряда.

| Cycle | B4 | B5 | B6 | C4 | C5 | C6 | D4 | D5 | D6 | F3 | F4 | F5 |
|-------|-------|--------|-------|--------|--------|------|--------|--------|------|------|-------|-------|
| 1 | 45.6 | 11.6 | 15.0 | 5.48 | 7.14 | 23.6 | 1.35 | -17.5 | 192 | 39.9 | 30.6 | 35.5 |
| 2 | 29.9 | 5.01 | 5.65 | 0.0416 | -0.989 | 12.4 | -0.689 | -17.2 | 157 | 39.4 | 20.4 | 15.2 |
| 3 | 15.0 | 0.773 | 6.65 | -2.41 | -0.154 | 9.63 | -3.27 | -6.84 | 133 | 44.9 | 13.8 | 8.62 |
| 4 | 6.29 | 3.24 | 5.62 | -0.119 | -1.37 | 7.70 | 2.58 | -3.87 | 112 | 47.9 | 6.28 | 4.95 |
| 5 | 5.02 | 2.66 | 3.65 | 1.75 | 3.86 | 4.31 | -3.29 | 0.0588 | 92.1 | 63.4 | 1.48 | 3.60 |
| 6 | -2.71 | 2.83 | 0.862 | 3.84 | 3.17 | 7.76 | 2.50 | 8.79 | 65.9 | 84.3 | -4.18 | 1.53 |
| 7 | -9.01 | -0.350 | 1.51 | -0.970 | 4.06 | 3.31 | -0.340 | 5.18 | 45.7 | 121 | -8.35 | -4.28 |

Вкладка Melt Curve (Кривая плавления)

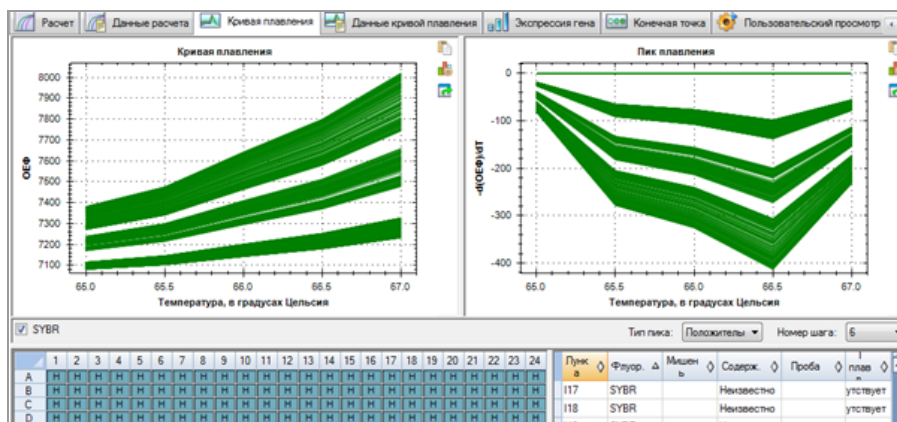
Для ДНК-связывающих красителей и нерасщепляемых зондов гибридизации флуоресценция более яркая при отжиге двух цепочек ДНК. Поэтому по мере приближения температуры к точке плавления (T_m) интенсивность флуоресценции понижается с постоянной скоростью (постоянный наклон). При достижении температуры плавления T_m наблюдается резкое понижение флуоресценции с заметным изменением наклона. Скорость данного изменения определяется построением графика зависимости отрицательной регрессии флуоресценции от температуры ($-dOEF/dT$). Наивысшая скорость изменения интенсивности флуоресценции демонстрируется видимыми пиками и представляет температуру плавления комплексов T_m с двухцепочечной ДНК.

CFX Maestro Dx SE размещает на графике данные ОЕФ, собранные в момент построения кривой плавления, в зависимости от температуры. Для анализа данных пика плавления программное обеспечение назначает каждому пику начальную и конечную температуру, перемещая пороговую линию. Нижняя планка площади пика задается положением пороговой линии. Допустимый пик должен иметь минимальную высоту относительно расстояния между пороговой линией и высотой самого большого пика.

Вкладка Кривая плавления отображает T_m (температура плавления) амплифицированных продуктов ПЦР в четырех представлениях:

- Melt Curve (Кривая плавления). Отображение данных реального времени для каждого флуорофора как относительные единицы флуоресценции (ОЕФ) на температуру каждой лунки.
- Melt Peak (Пик плавления). Отображение отрицательной регрессии данных ОЕФ относительно температуры для каждой лунки.
- Well Selector (Селектор лунок). Выбор лунок для отображения или скрытия данных.
- Peak spreadsheet (Электронная таблица пиков). Отображение электронной таблицы данных, собранных в выбранных лунках.

Примечание Эта таблица отображает до двух пиков для каждой кривой. Чтобы просмотреть больше пиков, щелкните вкладку Данные кривой плавления.



В Табл. 21 приводится перечень данных, которые отображаются в табл. «Кривая плавления».

Табл. 21. Содержимое табл. Melt Curve (Кривая плавления)

| Информация | Описание |
|-----------------------------------|---|
| Well (Лунка) | Положение лунки на плашке. |
| Fluor (Флуорофор) | Детектированный флуорофор |
| Content (Содержимое) | Комбинация типа пробы и № повторности |
| Sample (Проба) | Название пробы, загруженной в Plate Editor (Редактор плашки) |
| Melt Temp (Температура плавления) | Температура пика плавления для каждой лунки Примечание В этой таблице отображаются только два самых высоких пика. |

Коррекция данных кривой плавления

Для корректировки данных кривой плавления

- ▶ Выполните любое из следующих действий.
 - Отрегулируйте пороговый уровень на графике пиков плавления для включения или исключения пиков в анализ/из анализа данных щелчком и «перетаскиванием».
 - Выберите Positive (Положительный) в ниспадающем меню Peak Type (Тип пика) для отображения данных для пиков выше пороговой линии температуры плавления или выберите Negative (Отрицательный) для отображения данных для пиков ниже пороговой линии температуры плавления.
 - Откройте окно Trace Styles для изменения цвета данных на графиках кривой плавления и пика плавления.
 - Выберите номер в селекторе количества этапов для отображения данных кривой плавления на другом этапе протокола. Перечень отображает более одного этапа, если протокол включает прочтение планшета (значок «камера») на двух или более этапах плавления.
 - Выберите лунки в селекторе лунок, чтобы сосредоточить внимание на подмножестве данных.
 - Выберите группу лунок для просмотра и анализа подмножества лунок на плашке. Выберите группу лунок по имени в раскрывающемся меню Группы лунок на панели управления.

Вкладка Melt Curve Data (Данные кривой плавления)

Вкладка «Данные кривой плавления» отображает данные из вкладки «Кривая плавления» в нескольких электронных таблицах, которые включают в себя все пики плавления для каждой кривой. CFX Maestro Dx SE предлагает четыре варианта электронных таблиц для просмотра данных кривой плавления:

- Пики плавления — отображает все данные, включая все пики плавления, для каждой кривой. Это представление по умолчанию.
- Плашка — отображает все данные и содержание каждой лунки на плашке.
- ОЕФ — перечисляет количество ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) при каждой температуре для каждой лунки.
- $-d(\text{ОЕФ})/dT$ — отображает отрицательную скорость изменения ОЕФ при изменении температуры (Т). Это первый график регрессии для каждой лунки в плашке.

Нужную таблицу можно выбрать из раскрывающегося списка, который отображается под вкладкой Данные кривой плавления.

Таблица Melt Peaks (Пики плавления)

Таблица Пики плавления отображает все данные кривой плавления.

| Лунка | Флуор. | Мишень | Содерж. | Проба | Т плав. | Высота пика | Начальная температура | Конечная температура |
|-------|--------|---------|------------------|-------|---------|-------------|-----------------------|----------------------|
| A01 | SYBR | Actin | Неизвестно-1 0Hr | | 84.00 | 1497.19 | 78.00 | 88.50 |
| A02 | SYBR | Actin | Неизвестно-1 1Hr | | 84.00 | 1426.57 | 78.50 | 94.00 |
| A03 | SYBR | Actin | Неизвестно-1 2Hr | | 84.00 | 1492.53 | 78.50 | 91.00 |
| A04 | SYBR | Tubulin | Неизвестно-1 0Hr | | 84.50 | 1750.14 | 78.50 | 94.00 |
| A05 | SYBR | Tubulin | Неизвестно-1 1Hr | | 84.50 | 1797.53 | 80.50 | 91.00 |
| A06 | SYBR | Tubulin | Неизвестно-1 2Hr | | 84.50 | 1724.08 | 80.00 | 92.00 |

В Табл. 22 на стр. 253 приводится перечень данных, отображаемых в табл. «Пики плавления».

Табл. 22. Содержание табл. «Пики плавления»

| Информация | Описание |
|---|---|
| Well (Лунка) | Положение лунки на плашке. |
| Fluor (Флуорофор) | Детектированный флуорофор |
| Content (Содержимое) | Тип пробы, указанный в окне Редактор плашки |
| Target (Мишень) | Имя амплифицируемой мишени (гена) |
| Sample (Проба) | Имя пробы, указанное в окне Редактор плашки |
| Melt Temperature (Температура плавления) | Температура плавления каждого продукта, указанная в виде одного пика (наивысшего) для каждой строки в таблице |
| Peak Height (Высота пика) | Высота пика |
| Begin Temperature (Начальная температура) | Температура в начале пика |
| End Temperature (Конечная температура) | Температура в конце пика |

Таблица Plate (Плашка)

Таблица Плашка отображает данные кривой плавления в формате плашки.

| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| A | Содерж. | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 |
| | Проба | | | | | |
| | Пик 1 | 84.00 | 84.00 | 84.00 | 84.00 | 84.00 |
| | Пик 2 | Отсутствует | Отсутствует | Отсутствует | Отсутствует | Отсутствует |
| B | Содерж. | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 |
| | Проба | | | | | |
| | Пик 1 | 84.00 | 84.00 | 84.00 | 84.00 | 84.00 |
| | Пик 2 | Отсутствует | Отсутствует | Отсутствует | Отсутствует | Отсутствует |
| | Содерж. | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 | Неизвестно-1 |
| | Проба | | | | | |

Примечание Чтобы скорректировать пик, вызываемый программой, скорректируйте пороговую линию на графике Пик плавления на вкладке Кривая плавления.

В [Табл. 23 на стр. 254](#) приводится перечень данных, отображаемых в табл. «Плашка».

Табл. 23. Содержание табл. «Плашка»

| Информация | Описание |
|----------------|--|
| Содержимое | Комбинация типа пробы (обязательный параметр) и номера повторности (необязательный параметр) |
| Проба | Описание пробы |
| Peak 1 (Пик 1) | Первый (самый высокий) пик плавления |
| Peak 2 (Пик 2) | Второй пик плавления (низкий) |

Таблица RFU (ОЕФ)

Таблица ОЕФ отображает данные флуоресценции для каждой лунки на каждом цикле, собранные на кривой плавления.

| ОЕФ | Номер шага: 6 | | Тип пика: Положительный | | | | | | |
|-------------|---------------|------|-------------------------|------|------|------|------|------|-----|
| Температура | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 |
| 55.00 | 6094 | 6146 | 6267 | 5869 | 6271 | 5927 | 6149 | 6025 | 627 |
| 55.50 | 6071 | 6123 | 6242 | 5848 | 6249 | 5906 | 6129 | 6001 | 625 |
| 56.00 | 6048 | 6101 | 6218 | 5826 | 6226 | 5884 | 6108 | 5978 | 623 |
| 56.50 | 6026 | 6078 | 6194 | 5804 | 6204 | 5863 | 6087 | 5954 | 620 |
| 57.00 | 6003 | 6056 | 6169 | 5783 | 6182 | 5841 | 6066 | 5930 | 618 |
| 57.50 | 5980 | 6033 | 6145 | 5761 | 6160 | 5820 | 6046 | 5906 | 616 |
| 58.00 | 5957 | 6011 | 6121 | 5740 | 6137 | 5798 | 6025 | 5882 | 614 |
| 58.50 | 5930 | 5983 | 6091 | 5714 | 6111 | 5774 | 6000 | 5855 | 611 |

В [Табл. 24](#) приводится перечень данных, отображаемых в табл. RFU (ОЕФ).

Табл. 24. Содержание табл. ОЕФ

| Информация | Описание |
|--|---|
| Well number (Номер лунки) (A1, A2, A3, A4, A5) | Положение загруженных лунок в плашке |
| Temperature (Температура) | Температура плавления амплифицируемой мишени, нанесенная на график как одна лунка на строку и несколько лунок для нескольких продуктов в одной и той же лунке |

Таблица $-d(\text{RFU})/dT$

Таблица $-d(\text{OEФ})/dT$ отображает отрицательную скорость изменения OEФ при изменении температуры (Т).

| Температура | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|----|
| 55.00 | 22.7 | 22.5 | 24.4 | 21.6 | 22.3 | 21.5 | 20.8 | 23.9 | 21 |
| 55.50 | 49.2 | 48.8 | 52.8 | 46.7 | 48.3 | 46.5 | 45.0 | 51.7 | 46 |
| 56.00 | 45.4 | 45.0 | 48.7 | 43.1 | 44.6 | 43.0 | 41.5 | 47.8 | 42 |
| 56.50 | 45.4 | 45.0 | 48.7 | 43.1 | 44.6 | 43.0 | 41.5 | 47.8 | 42 |
| 57.00 | 45.4 | 45.0 | 48.7 | 43.1 | 44.6 | 43.0 | 41.5 | 47.8 | 42 |
| 57.50 | 44.6 | 44.2 | 48.0 | 42.5 | 43.9 | 42.4 | 40.9 | 47.3 | 42 |
| 58.00 | 49.8 | 49.6 | 53.0 | 46.7 | 48.5 | 46.0 | 44.7 | 50.5 | 45 |
| 58.50 | 58.0 | 58.8 | 61.6 | 54.7 | 56.6 | 51.8 | 51.9 | 56.3 | 51 |

В [Табл. 25](#) приводится перечень данных, отображаемых в таблице $-d(\text{RFU})/dT$.

Табл. 25. Содержание табл. $-d(\text{OEФ})/dT$

| Информация | Описание |
|--|--|
| Well number (Номер лунки) (A1, A2, A3, A4, A5) | Положение загруженных лунок в плашке |
| Temperature (Температура) $-d(\text{RFU})/dT$ | Отрицательная скорость изменения OEФ при изменении температуры (Т) |

Вкладка End Point (Конечная точка)

Откройте вкладку Конечная точка для анализа окончательных относительных единиц флуоресценции (ОЕФ) для лунок проб. Программа сравнивает уровни ОЕФ для лунок с неизвестными пробами с уровнями ОЕФ для лунок с отрицательными контролями и «называет» неизвестные пробы положительными или отрицательными. Положительные пробы имеют значение ОЕФ больше среднего значения ОЕФ отрицательного контроля плюс значение критической оптической плотности («уровня среза» (cutoff)).

| Пунка | Флуор | Содерж | Проба | Конечные ОЕФ |
|-------|-------|-------------|-------|--------------|
| A04 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8402 |
| A05 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8378 |
| A06 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8374 |
| B04 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8366 |
| B05 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8368 |
| B06 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8386 |
| C04 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8375 |
| C05 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8381 |
| C06 | SYBR | Неизвестн | 2hr | 8408 |
| E03 | SYBR | Стандарт-0% | 0hr | 8377 |
| E04 | SYBR | Стандарт-0% | 1hr | 8367 |
| E05 | SYBR | Стандарт-0% | 2hr | 8382 |
| E06 | SYBR | Стандарт-0% | 3hr | 8401 |
| E07 | SYBR | Стандарт-0% | 4hr | 8399 |
| E08 | SYBR | Стандарт-1% | 5hr | 8403 |
| F09 | SYBR | Стандарт-1% | 6hr | 8372 |

Для анализа данных конечной точки плашка должна содержать отрицательный контроль, в противном случае программное обеспечение не сможет произвести идентификацию.

- Выполните протокол расчета — задайте стандартный протокол. После выполнения прогона откройте окно Анализ данных, скорректируйте настройки анализа на вкладке Количественный анализ, затем щелкните вкладку Конечная точка для определения конечного цикла.
- Выполните протокол с прогоном только в конечной точке — загрузите протокол с прогоном только в конечной точке на вкладку Плашка окна Создать прогон, выберите или создайте плашку и выполните прогон

На вкладке Конечная точка отображаются средние значения ОЕФ для определения того, была ли произведена амплификация мишени последним (конечным) циклом. Используйте эти данные, чтобы определить, присутствует ли (положительная) определенная целевая последовательность в пробе. Положительные мишени имеют большие значения ОЕФ, чем заданный уровень отсека.

Пояснение. Чтобы создать протокол конечной точки, откройте вкладку «Протокол» (окно «Создать прогон») и выберите Прогон > Прогон только в конечной точке.

По завершении прогона файл данных открывает вкладку Конечная точка, которая включает в себя следующие разделы:

- Настройки — корректировка настроек анализа данных.
- Результаты — отображает результаты непосредственно после корректировки настроек.
- Селектор лунок — позволяет выбрать лунки с данными конечной точки, которые требуется показать.
- Таблица ОЕФ — отображает таблицу с конечными ОЕФ, собранными на выбранных лунках.

Данные результатов

Раздел Результаты отображает следующие данные:

- Наименьшее значение ОЕФ — наименьшее значение ОЕФ в данных
- Наибольшее значение ОЕФ — наибольшее значение ОЕФ в данных
- Среднее отрицательного контроля — среднее значение ОЕФ для лунок, содержащий отрицательный контроль
- Значение отсечения — рассчитывается посредством добавления допуска (ОЕФ или процента диапазона, приведенных в разделе Настройки) и среднего значения ОЕФ отрицательных контролей. Пробы с ОЕФ более значения отсечения будут называться «Положительными». Для корректировки значения отсечения измените ОЕФ или процент диапазона.

Значение отсечения вычисляется по формуле:

$$\text{Пороговое значение} = \text{Среднее для отрицательных контролей} + \text{Допуск}$$

Допуск задается одним из следующих способов.

- ОЕФ (по умолчанию) — выберите этот способ для использования абсолютного значения ОЕФ для допуска. Минимальное значение устойчивости ОЕФ – 2. Максимальным значением является модуль самого высокого уровня ОЕФ минус модуль самого низкого уровня ОЕФ. Значение допуска для ОЕФ составляет 10% от общего диапазона ОЕФ.
- Процент диапазона — выберите данный метод для использования диапазона ОЕФ в процентах для допуска. Минимальный процент от диапазона: 1 %. Максимальный процент от диапазона: 99 % Процент от диапазона по умолчанию: 10 %.

Коррекция анализа данных конечной точки

Для корректировки данных на вкладке Конечная точка

- ▶ Выполните любое из следующих действий.
 - Выберите флуорофор из раскрывающегося списка.
 - Выберите значение Усреднить конечные циклы, чтобы задать количество циклов для вычисления среднего значения ОЕФ конечной точки
 - Выберите ОЕФ для просмотра данных в относительных единицах флуоресценции.
 - Выберите Процент диапазона для просмотра данных в процентах от диапазона ОЕФ.
 - Выберите лунки в селекторе лунок для фокусирования на подмножестве данных.
 - Выберите группу лунок для просмотра и анализа подгрупп лунок на плашке. Выберите группу лунок по имени в раскрывающемся меню Группы лунок на панели управления.

Таблица ОЕФ для анализа в конечной точке

В Табл. 26 приводится перечень данных, отображаемых в табл. RFU (ОЕФ) на вкладке «Конечная точка».

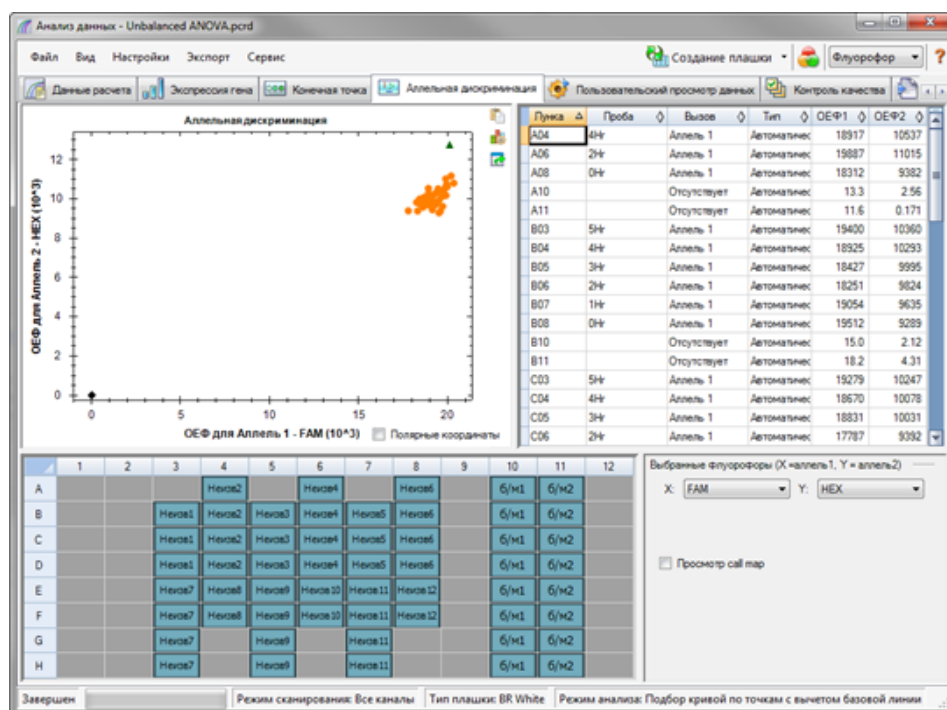
Табл. 26. Содержание табл. «Конечная точка»

| Информация | Описание |
|------------------------|---|
| Well (Лунка) | Положение лунки на плашке. |
| Fluor (Флуорофор) | Детектированный флуорофор |
| Content (Содержимое) | Комбинация типа пробы и количества технических повторов пробы |
| End RFU (Конечные ОЕФ) | ОЕФ в конечном цикле |
| Call (Определение) | Положительная или отрицательная, где положительные пробы имеют значение ОЕФ больше среднего значения ОЕФ отрицательного контроля плюс значение отсечения. |
| Sample (Проба) | Имя пробы, загруженное в Редактор плашки |

Вкладка Allelic Discrimination (Аллельная дискриминация)

Вкладка Аллельная дискриминация назначает генотипы лункам с неизвестными пробами. Используйте эти данные для идентификации проб с различными генотипами, включая Аллель 1, Аллель 2, Гетерозиготу, Нет амплификации или Не определено.

Примечание Данные для дискриминации аллелей должны быть получены из многократных экспериментов с использованием не менее двух флуорофоров. Каждый флуорофор идентифицирует один аллель во всех пробах.



Анализ аллельной дискриминации требует следующего минимального содержимого лунки:

- два флуорофора в каждой лунке;
- пробы без ДНК-мишени (NTC) для оптимизации анализа данных.

CFX Maestro Dx SE предлагает четыре варианта просмотра данных аллельной дискриминации:

- График аллельной дискриминации — отображает данные на графике ОЕФ для Аллеля 1/Аллеля 2. Каждая точка на графике представляет данные по обоим флуорофорам в одной лунке. Переключать режим отображения координат с полярных на декартовы можно с помощью флажка Полярные координаты. Декартовы координаты представляют ОЕФ для аллеля 1 на оси x и ОЕФ для аллеля 2 на оси y. В полярных координатах откладывается угол

по оси x и расстояние между началом координат и ОЕФ по оси y (медиана всех контролей без матрицы).

- Таблица лунок — отображает таблицу с данными аллельной дискриминации, полученными на каждой лунке на плашке.
- Селектор лунок — позволяет выбрать лунки с данными аллелей, которые требуется показать.
- Панель Выбранные флуорофоры — позволяет изменять подписи осей x и y на графике аллельной дискриминации, циклы для анализа и выбирать отображение карты сигналов.

Корректировка данных аллельной дискриминации

Программа автоматически назначает генотип лункам с неизвестными пробами на основании положения контролей без матрицы, а также значений угла и расстояния до точек неизвестных данных от контролей без матрицы.

Для корректировки данных аллельной дискриминации

- ▶ Выполните любое из следующих действий.
 - Для отображения полярных координат установите флажок на графике Аллельная дискриминация.
 - Чтобы просмотреть другой флуорофор, выберите его из раскрывающегося списка на панели Выбранные флуорофоры.
 - Чтобы изменить идентификацию пробы, нажмите клавишу мыши, выделите точку(-и) данных на графике Аллельная дискриминация и выберите вариант в списке Выбранные лунки:
 - Аллель 1
 - Аллель 2
 - Гетерозигота
 - Неопределенный
 - Отсутствует
 - Автоматическая идентификация

Пояснение. Выберите Автоматическая идентификация для определения программным обеспечением (по умолчанию).

Пункты меню графика

В дополнение к общим пунктам контекстного меню для графиков (см. [Общие пункты контекстного меню для диаграмм на стр. 228](#)) в Табл. 27 перечислены пункты меню, доступные на графике Allelic Discrimination (Аллельная дискриминация).

Табл. 27. Пункты меню графика аллельной дискриминации, открывающиеся при нажатии правой и левой клавиши мыши.

| Пункт меню | Функция |
|----------------------------------|--|
| Zoom (Увеличить) | Увеличивает выбранную область на графике (при нажатии клавиши мыши и перетаскивания курсора на графике). Пояснение. Для восстановления масштаба с целью отображения всех точек данных щелкните правой клавишей и выберите Установить масштаб по умолчанию. |
| Well (Лунка) | Для выбранной лунки варианты следующие: отображение только этой лунки, удаление этой лунки из представления, установка цвета для этой линии или исключение этой лунки из анализа. |
| Selected Wells (Выбранные лунки) | Для выбранных лунок (выбранных щелчком и перетаскиванием мышью курсора на диаграмме) варианты следующие: отображение только этих лунок, удаление этих лунок из представления, установка цвета для этих линий или исключение этих лунок из анализа. |

Таблица Allelic Discrimination (Аллельная дискриминация)

В Табл. 28 приводится перечень данных, отображаемых в таблице Allelic Discrimination (Аллельная дискриминация).

Табл. 28. Содержание электронной табл. «Аллельная дискриминация»

| Информация | Описание |
|----------------|---------------------------|
| Well (Лунка) | Положение лунки на плашке |
| Sample (Проба) | Описание названия пробы |

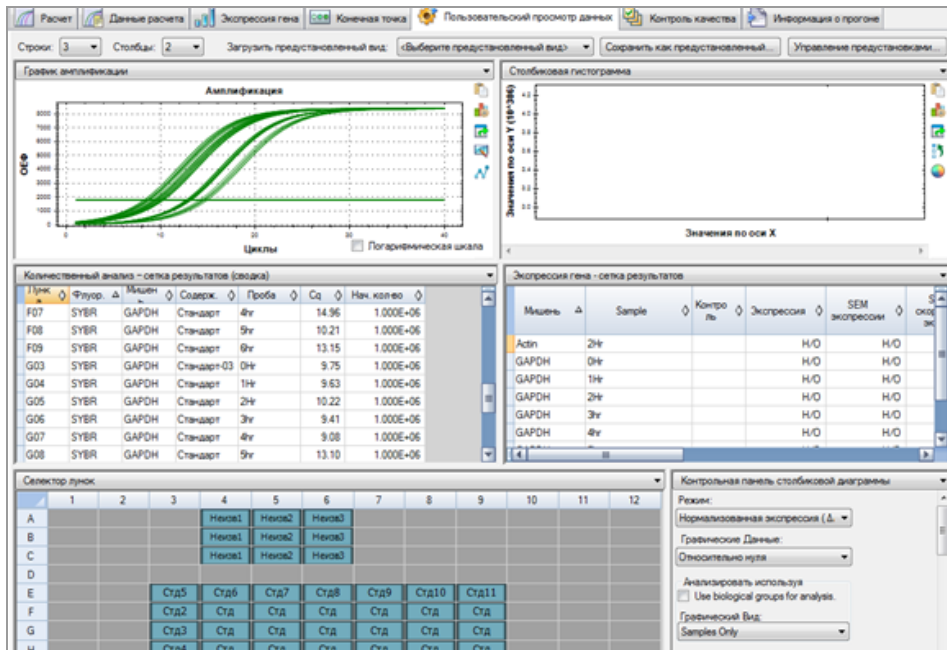
Табл. 28. Содержание электронной табл. «Аллельная дискриминация», продолжение

| Информация | Описание |
|--------------------|---|
| Call (Определение) | Идентификация аллели, включая автоматически установленные значения Allele 1 (Аллель 1), Allele 2 (Аллель 2), Heterozygote (Гетерозигота), Undetermined (Не определено) или No Call (Нет сигнала). |
| Тип (Тип) | Авто (автоматический) или ручной: описывает способ определения. Автоматический означает, что определение выбрано программой. Ручной означает, что определение выбрано пользователем. |
| RFU1 (ОЕФ 1) | ОЕФ для Аллеля1 |
| RFU2 (ОЕФ 2) | ОЕФ для Аллеля2 |

Вкладка Custom Data View (Пользовательский обзор данных)

Вкладка Пользовательский просмотр данных одновременно отображает несколько панелей в настраиваемом формате.

Раскрывающийся список Загрузить предустановленный вид предлагает выбор шаблонов формата отображения. Вариант обзора данных по умолчанию зависит от анализируемого файла. Например, если присутствуют данные кривой плавления, отображается представление по умолчанию Ампл. +Плавление.



Создание пользовательского обзора данных

Для создания пользовательского просмотра данных

- ▶ Выполните любое из следующих действий.
 - выберите альтернативное заданное представление из ниспадающего списка;
 - выберите другой вид графика из раскрывающегося списка, расположенного в верхней части каждой отдельной панели;
 - измените количество строк и столбцов в таблице;
 - измените размеры отдельных панелей; передвиньте границы каждой панели.

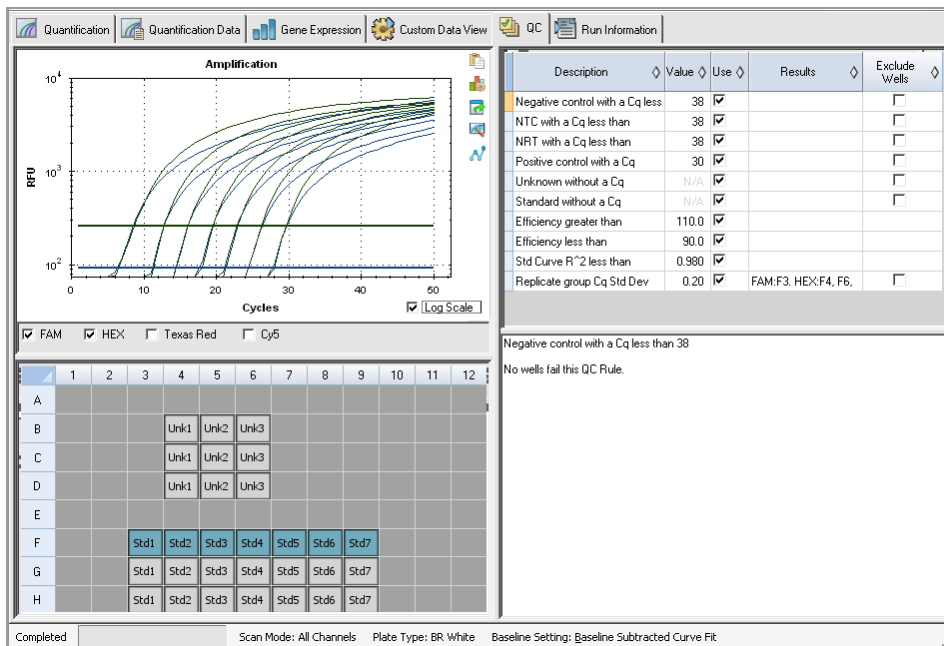
Щелкните Сохранить как предустановленный, чтобы сохранить настроенный шаблон как предустановленный. Существующие заданные представления могут быть удалены, переименованы или возвращены к шаблонам по умолчанию с помощью опции Управление заданными представлениями.

Вкладка QC (Контроль качества)

Используйте вкладку Контроль качества, чтобы быстро оценить качество данных прогона на основании правил, определенных на вклад. Контроль качества окна Пользовательские настройки.

CFX Maestro Dx SE предлагает четыре варианта просмотра данных контроля качества:

- **График амплификации** — отображает относительную флуоресценцию (ОЕФ) для каждой лунки на каждом цикле. Каждая линия на графике представляет данные по одному флуорофору в одной лунке.
- **Таблица правил контроля качества** — показывает доступные правила контроля качества и настройки, определяющие каждое правило. Применяемые правила контроля качества обозначены галочкой.
- **Селектор лунок** — позволяет выбрать лунки с данными флуоресценции, которые требуется показать.
- **Сводная панель правил контроля качества** — показывает выбранное правило контроля качества и выделяет лунки, которые не соответствуют правилу.



Изменение критериев контроля качества

Для изменения критериев контроля качества

- ▶ Установите или снимите флажок Использовать рядом с определенным правилом, чтобы добавить или исключить его из контроля качества.

Исключение лунок, которые не соответствуют контролю качества

CFX Maestro Dx SE отображает лунки, не соответствующие критериям контроля качества, в столбце Результаты таблицы правил контроля качества и в сводной панели.

Для исключения лунок, которые не соответствуют контролю качества

- ▶ Выберите Исключить из анализа для каждой лунки, которую требуется исключить.

Вкладка Run Information (Информация о прогоне)

Вкладка Информация о прогоне отображает протокол и другую информацию о каждом прогоне. Используйте эту вкладку для выполнения следующих функций.

- Просмотр протокола.
- Ввод или редактирование примечаний по прогону.
- Ввод или редактирование идентификатора или штрихкода для прогона.
- Просмотр событий, которые могли возникнуть во время прогона. Используйте эти сообщения при поиске и устранении неисправностей в ходе прогона.

Пояснение. Щелкните протокол правой кнопкой мыши для его копирования, экспорта или печати. Щелчок правой кнопкой мыши на панелях «Примечания», «Идентификатор/Штрихкод» и «Другое» позволяет отменить действие, вырезать, копировать, вставить, удалить или выбрать текст.

Protocol: CFX_2stepAmp50.1 min.pcl

| Step | Temp | Time |
|------|--------|---------------|
| 1 | 95.0 C | for 3:00 |
| 2 | 95.0 C | for 0:10 |
| 3 | 55.0 C | for 1:00 |
| 4 | GOTO 2 | 49 more times |

Notes:
Multiplex Gene Expression Example
Artificial Time course in which
Hex (Actin) is constant at $\sim 1e5$ cps/hxn
Cy5 (Gapdh) is constant at $\sim 1e5$ cps/hxn
Fam (Tubulin) increases 4 fold with time
Texas Red (H1b) decreases 4 fold with time

ID/Bar Code:

Other:
Run Started : 12/13/2007 12:31:47 PM
User : admin
Run Type : User-defined
Plate File : Multi GE.pltd
Sample Vol : 25
Lid Temp : 105
Optical Head Serial Number :
Base Serial Number : CC001095
CFX Manager Version : 1.0.956.1212

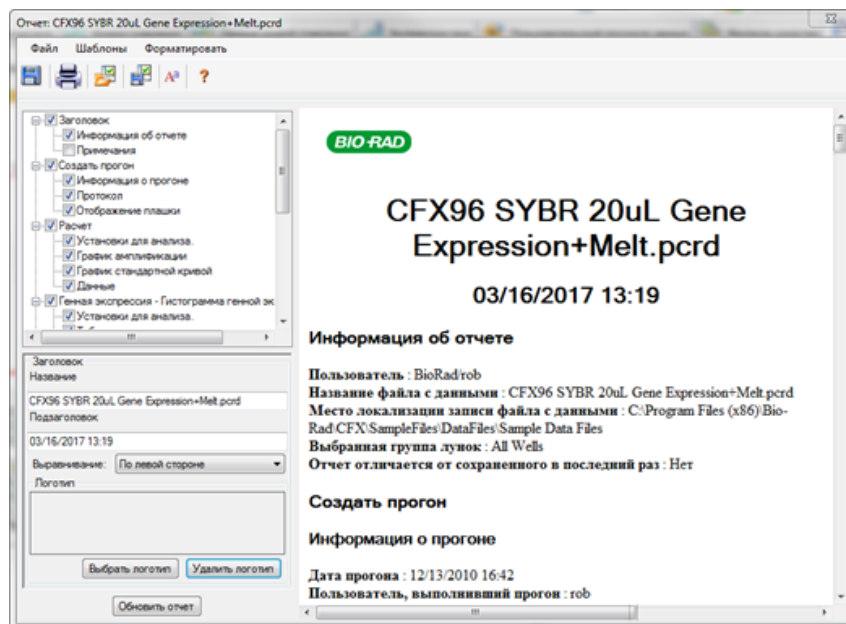
Completed | Scan Mode: All Channels | Plate Type: BR White | Baseline Setting: Baseline Subtracted Curve Fit

Отчеты по анализу данных

Диалоговое окно «Отчет» показывает информацию о текущем файле данных в окне «Анализ данных». Чтобы открыть отчет, выберите Сервис > Отчеты или нажмите «Отчеты» на панели управления.

Диалоговое окно «Отчет» состоит из следующих разделов:

- Меню и панель управления — предлагают параметры для форматирования, сохранения и печати отчета или шаблона
- Список параметров (верхняя левая часть диалогового окна) — предлагает параметры для отображения в отчете.
- Панель параметров (нижняя левая часть диалогового окна) — отображает текстовые поля, в которые можно ввести информацию о выбранном параметре.
- Панель предварительного просмотра (правая часть диалогового окна) — предварительный просмотр текущего отчета.



Категории отчетов по анализу данных

В Табл. 29 перечислены все пункты, доступные для отчета по анализу данных в зависимости от типа данных в окне Data Analysis (Анализ данных).

Табл. 29. Категории отчетов по анализу данных в списке пунктов

| Категория | Пункт | Описание |
|---|--|--|
| Header (Верхний колонтитул) | | |
| | | Заголовок, подзаголовок и логотип для отчета |
| | Report Information (Информация об отчете) | Дата прогона, имя пользователя, имя файла данных, путь к файлу данных и выбранная группа лунок |
| | Audit Information (Информация для аудита) | Вспомогательная информация, требуемая для проведения аудита, в том числе подписи |
| | Notes (Примечания) | Примечания по отчету о данных |
| Run Setup (Настройка прогона) | | |
| | Run Information (Информация о прогоне) | Дата прогона, имя пользователя, имя файла данных, путь к файлу данных и выбранная группа лунок |
| | Protocol (Протокол) | Текстовое представление этапов и параметров протокола |
| | Plate Display (Отображение плашки) | Представление плашки для информации в каждой лунке плашки |
| Quantification (Количественный анализ) | | |
| | Analysis Settings (Настройки анализа) | Номер этапа сбора данных, режим анализа и метод вычитания базовой линии |
| | Amplification Chart (Диаграмма амплификации) | Диаграмма амплификации для прогонов, которые содержат данные количественного анализа |

Табл. 29. Категории отчетов по анализу данных в списке пунктов, продолжение

| Категория | Пункт | Описание |
|---|--|---|
| | Standard Curve Chart (Диаграмма стандартной кривой) | Диаграмма стандартной кривой |
| | Data (Данные) | Таблица, в которой перечислены данные всех лунок |
| Gene Expression — Bar Chart (Экспрессия генов — гистограмма) | | |
| | Analysis Settings (Настройки анализа) | Режим анализа, данные диаграммы, вариант масштабирования и ошибка диаграммы |
| | Chart (Диаграмма) | Копия гистограммы |
| | Target Names (Названия мишеней) | Нанесение на график названий мишеней |
| | Sample Names (Названия проб) | Нанесение на график названий проб |
| | Data (Данные) | Таблица, в которой перечислены данные всех лунок |
| | Target Stability (Стабильность мишени) | График значений стабильности мишеней |
| | Box-and-Whisker Chart (Диаграмма ящик с усами) | Диаграмма ящик с усами |
| | Dot Plot Chart (Точечный график) | Точечный график |
| Экспрессия гена — кластерграмма и диаграмма рассеяния | | |
| | Analysis Settings (Настройки анализа) | Настройки для каждого типа диаграммы |
| | Chart (Диаграмма) | Копия диаграммы |
| | Data (Данные) | Таблица, в которой перечислены данные для каждой мишени |

Табл. 29. Категории отчетов по анализу данных в списке пунктов, продолжение

| Категория | Пункт | Описание |
|--|--|---|
| Gene Expression — ANOVA Data (Экспрессия генов — данные дисперсионного анализа) | | |
| | ANOVA Settings (Настройки дисперсионного анализа) | Порог P-значения, используемый в анализе |
| | ANOVA Results (Результаты дисперсионного анализа) | Таблица результатов дисперсионного анализа и апостериорного анализа со средневзвешенным Тьюки |
| Melt Curve (Кривая плавления) | | |
| | Analysis Settings (Настройки анализа) | Номер этапа плавления и настройка планки порога |
| | Melt Curve Chart (Диаграмма кривой плавления) | Диаграмма кривой плавления |
| | График пиков плавления | Диаграмма пика плавления |
| | Data (Данные) | Таблица, в которой перечислены данные всех лунок |
| Allelic Discrimination (Аллельная дискриминация) | | |
| | Analysis Settings (Настройки анализа) | Отображает флуорофоры, циклы и просмотр карты сигналов |
| | Allelic Discrimination Chart (Диаграмма аллельной дискриминации) | Копия диаграммы аллельной дискриминации |
| | Data (Данные) | Таблица, в которой перечислены данные всех лунок |
| End Point (Конечная точка) | | |
| | Analysis Settings (Настройки анализа) | Флуорофор, усреднение конечных циклов, режим, наименьшее значение ОЕФ, наибольшее значение ОЕФ и значение отсечения |

Табл. 29. Категории отчетов по анализу данных в списке пунктов, продолжение

| Категория | Пункт | Описание |
|--|---------------|--|
| | Data (Данные) | Таблица, в которой перечислены данные всех лунок |
| QC Parameters (Параметры контроля качества) | | |
| | Data (Данные) | Таблица с перечислением параметров для каждого правила контроля качества |

Создание отчета по анализу данных

Структуру отчета можно сохранить как шаблон, который затем можно будет использовать для похожих отчетов.

Для создания отчета по анализу данных

1. Выполните окончательные корректировки содержимого лунок, выбранных лунок, графиков и таблиц в окне Анализ данных до создания отчета.
2. Выберите Сервис > Отчеты в строке меню окна Анализ данных, чтобы открыть диалоговое окно Отчет.
3. Выберите параметры, которые требуется включить в отчет. Отчет откроется с параметрами, выбранными по умолчанию. Установите или снимите флажки для изменения целых категорий или отдельных параметров в категории.

В [Табл. 29 на стр. 269](#) представлен перечень доступных параметров, которые могут отображаться в отчете.

Примечание Данные, отображаемые в отчете, зависят от текущего выбора на вкладках окна «Анализ данных». Например, расчетный прогон не может содержать стандартную кривую, поэтому эти данные не отображаются в окне Анализ данных или в отчете по данным.

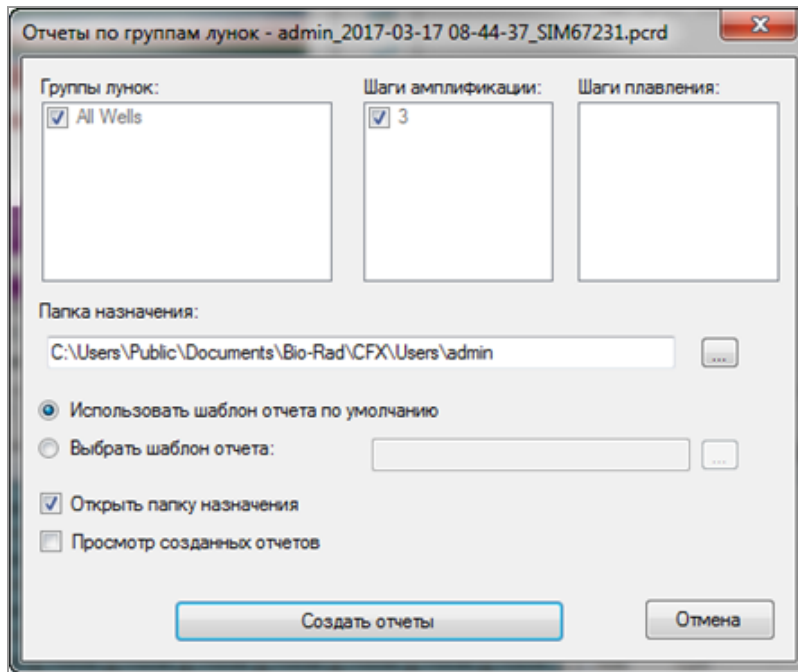
4. Расположите категории и другие элементы отчета в нужном порядке. Перетащите параметры в нужные места. Порядок элементов можно менять только внутри категорий, к которым они принадлежат.
5. (Необязательно) В панели Параметры отчета введите информацию, соответствующую выбранному параметру.
 - Выберите подмножество информации для отображения в отчете.
 - Выберите специфические настройки для выбранного параметра.
 - Измените текст для отображения для выбранного параметра.
6. Нажмите Обновить отчет, чтобы обновить панель предварительного просмотра отчета со всеми изменениями.
7. Напечатайте или сохраните отчет:
 - a. Нажмите кнопку Печать отчета на панели управления, чтобы вывести на печать текущий отчет.
 - b. Выберите Файл > Сохранить, чтобы сохранить отчет в файле формате PDF (файл Acrobat Reader), MHT (документ Microsoft) или MHTML (документ Microsoft) и выбрать

- местоположение для хранения файла.
- c. Выберите место для сохранения файла.
 - d. Выберите Файл > Сохранить как, чтобы сохранить отчет с новым именем или в новое местоположение.
8. (Необязательно.) Создайте шаблон отчета с нужной информацией. Чтобы сохранить текущие настройки отчета в шаблоне, выберите Шаблон > Сохранить или Сохранить как. Загрузите шаблон отчета в следующий раз, когда потребуется создать новый отчет.

Создание отчетов по группе лунок

Для создания отчетов по группам лунок

1. Выберите Инструменты > Отчеты по группам лунок в окне Анализ данных.



2. В диалоговом окне Отчеты по группам лунок выберите группы лунок, шаги амплификации и шаги плавления для включения в отчет.
3. Введите путь или перейдите в папку назначения, в которой нужно сохранить отчет.
4. (Необязательно) Выберите Выбрать шаблон отчета и перейдите к папке файла шаблона.
5. (Необязательно) Выберите Открыть папку назначения, чтобы открыть папку и просмотреть отчеты после их создания.
6. Щелкните Создать отчеты.

Глава 12 Анализ экспрессии генов

Посредством использования в реакциях контролей, прошедших жесткий отбор, вы можете проводить анализ экспрессии генов с помощью ПО CFX Maestro Dx, Security Edition для нормализации относительных различий в концентрации мишени между пробами. Обычно уровни экспрессии для одного или нескольких референсных генов используются для нормализации уровней экспрессии интересующего гена. Референсные гены позволяют учесть различия в процедуре загрузки и другие отличия проб друг от друга, их уровни экспрессии не должны меняться в рамках исследуемой биологической системы.

Выберите вкладку Экспрессия гена в окне Анализ данных для оценки относительных различий между реакциями ПЦР в двух или более лунках на плашке. Например, можно оценить относительное число вирусных геномов или относительные числа трансфицированных последовательностей в реакции ПЦР. Наиболее частым применением исследования экспрессии гена является сравнение концентраций кДНК в более чем одной реакции для оценки уровня стабильности мРНК.

Программа рассчитывает относительный уровень экспрессии мишени по одному из следующих сценариев.

- Относительный уровень экспрессии последовательности-мишени (Мишень 1) относительно другой мишени (Мишень 2); например, количество одного гена относительно другого гена в одних условиях обработки пробы.
- Относительный уровень экспрессии одной последовательности-мишени в одной пробе при сравнении с той же мишенью при другой обработке; например, относительное количество одного гена относительно себя же при разных временных, географических условиях или условиях развития.

Настройка плашки для анализа экспрессии генов

Для выполнения анализа экспрессии генов лунки должны содержать

- Две или более мишеней — эти две мишени представляют собой разные амплифицированные гены или последовательности в ваших пробах
- Одна или несколько референсных мишеней — по крайней мере одна мишень должна являться референсной мишенью для нормализованной экспрессии. Назначьте все референсные мишени в окне Настройки эксперимента для анализа данных в режиме

Нормализованная экспрессия ($\Delta\Delta C_q$). Прогон, который не содержит референса, необходимо анализировать в режиме относительной экспрессии (ΔC_q).

- Общие пробы — для просмотра графических данных во вкладке Экспрессия гена реакции должны содержать общие пробы (не менее двух). Эти пробы должны представлять различные обработки или условия для каждой из исследуемых последовательностей мишеней. Задайте контрольную пробу (необязательно) в окне Настройки эксперимента. Если контроль не выбран, программа использует наименьшее значение C_q как контроль.

Требования к заданию параметров плашки для исследования экспрессии генов в редакторе плашки зависят от того, какая ПЦР будет проводиться – синглплексная ПЦР с одним флуорофором или мультиплексная ПЦР с несколькими флуорофорами.

Настройка плашки с подсказками

Если схема плашки из файла данных не содержит необходимой для анализа информации, на вкладке Экспрессия гена (если она выбрана) будет отображаться гистограмма с инструкциями по вводу этой информации. Для нормализованной экспрессии генов выполните следующие шаги.

1. Определите имена Мишени и Пробы с помощью одного из следующих вариантов:
 - Создание плашки — откроется окно Редактор плашки.
 - Заменить файл плашки — открывает обозреватель Выбрать плашку, в котором можно перейти к ранее сохраненному файлу плашки, и заменить этим файлом текущую схему плашки.
 - Заменить файл PrimePCR — открывает диалоговое окно Выбрать файл PrimePCR, в котором можно перейти к ранее сохраненному файлу прогона PrimePCR и применить его к схеме плашки.
2. Выберите одну или несколько референсных мишеней и контрольных проб, используя диалоговое окно Настройки эксперимента.

Если схема плашки уже содержит информацию о мишени и пробе, требуется только второй шаг, и он выделен оранжевым цветом. Анализ нормализованной экспрессии генов невозможен без выполнения этого шага.

Примечание Данные диаграммы рассеяния и кластерграммы отображаются только в том случае, если выполнены все требования анализа нормализованной экспрессии гена, перечисленные в разделе «Схема плашки» для анализа экспрессии гена.


Графики Экспрессия гена

CFX Maestro Dx SE отображает данные экспрессии гена в нескольких представлениях. В [Табл. 30](#) перечислены варианты диаграмм, имеющиеся в программе.

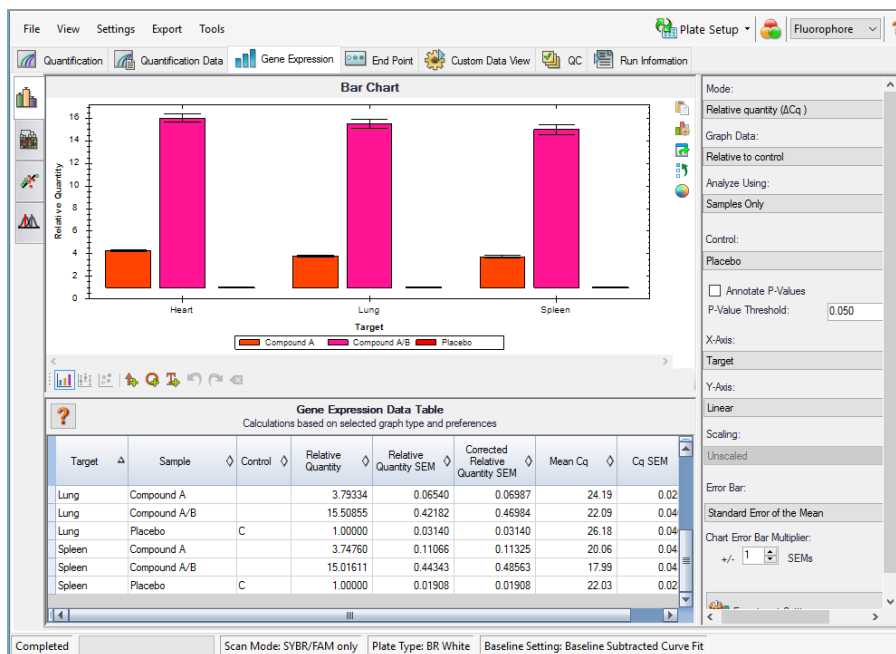
Табл. 30. Варианты диаграмм экспрессии генов

| Кнопка | Название | Функция |
|---|-------------------------------------|--|
|  | Построение графиков | <p>Отображает данные нормализованной экспрессии гена в одном из следующих представлений.</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Гистограмма (по умолчанию) ■ Диаграмма типа «ящик с усами» ■ Точечный график |
|  | Кластерграмма | <p>Отображение данных нормализованной экспрессии в иерархическом порядке на основе степени сходства экспрессии для различных мишеней и проб.</p> |
|  | График рассеяния | <p>Отображение нормализованной экспрессии мишеней для контроля в сравнении с экспериментальной пробой.</p> |
|  | ANOVA (ДИСПЕРСИОННЫЙ АНАЛИЗ) | <p>Отображает результаты однофакторного дисперсионного анализа по данным экспрессии гена с использованием следующих пакетов R для выполнения дисперсионного анализа и определения результатов Тьюки:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Сопровождение прикладного регрессионного анализа (Companion to Applied Regression, car) ■ Среднеквадратичное среднее (lsmeans) |
|  | Инструмент выбора референсного гена | <p>(Доступен на вкладке Анализ исследования в окне Исследование гена) Идентифицирует исследуемые референсные гены и относит их к категориям Идеальный, Приемлемый или Нестабильный на основании их стабильности.</p> |

Табл. 30. Варианты диаграмм экспрессии генов, продолжение

| Кнопка | Название | Функция |
|---|-------------------------------------|---|
|  | Анализ контрольных проб PrimePCR | (Доступно на вкладке Study Analysis (Анализ эксперимента) в окне Gene Study (Исследование генов)) Отображение результатов исследованных проб. |

Графики



Относительная экспрессия мишеней отображается в двух представлениях.

- Диаграмма экспрессии генов — отображает данные ПЦР в режиме реального времени одним из следующих способов.
 - $\Delta\Delta C_q$ — относительная нормализованная экспрессия, рассчитанная с помощью контрольных проб и референсных мишеней.
 - ΔC_q — относительное количество целевого гена в пробе по отношению к контрольной пробе.

Для получения дополнительной информации о просмотре данных см. [Изменение и аннотирование представления диаграммы на стр. 283](#).

- Таблица — электронная таблица данных экспрессии гена.

Пояснение. Нажмите правой кнопкой мыши на любую диаграмму или таблицу для открытия параметров. Чтобы открыть Редактор плашки для изменения содержимого лунок плашки, в раскрывающемся меню Схема плашки выберите пункт Просмотр/редактирование плашки.

Пояснение. Выберите Сортировка из раскрывающегося меню для изменения порядка имен мишени и пробы на графике.

Нормализованная экспрессия генов

Для нормализации данных используйте измеренный уровень экспрессии одного или нескольких референсных генов как коэффициент нормализации. Референсные гены являются мишенями, не регулируемые в изучаемой биологической системе, например, *актин*, *GAPDH* или *тубулин*.

Для настройки анализа нормализованной экспрессии генов ($\Delta\Delta C_q$) выполните следующие действия.

1. Откройте файл данных (с расширением .pcrd).
2. Просмотрите данные на вкладке Количественный анализ окна Анализ данных. Отрегулируйте данные, например: измените порог или режим анализа.
3. Выберите вкладку Экспрессия гена.
4. На вкладке Экспрессия гена щелкните Настройки эксперимента.
5. В диалоговом окне Настройки эксперимента выполните следующие действия.
 - a. Выберите вкладку Пробы и выберите контрольную пробу. Когда назначена контрольная проба, CFX Maestro Dx SE нормализует относительные количества для всех генов по контрольному количеству, для которого задан уровень 1.
 - b. Выберите вкладку Мишень и выберите референсные гены. Для анализа экспрессии генов необходимо выбрать один референсный ген среди мишеней в анализируемых пробах.
6. Выберите режим Нормализованная экспрессия ($\Delta\Delta C_q$), если он еще не выбран, и просмотрите уровни экспрессии на вкладке Экспрессия гена.

Примечание Для настройки схемы плашки для анализа нормализованной экспрессии гена также можно использовать Мастер запуска.

Относительное количество

По определению данные относительного количества (ΔC_q) не нормализованы. Этот способ используют для количественной оценки проб, которые не содержат никаких референсных генов (мишеней). Как правило, при настройке прогона исследователи исходят из одного из следующих соображений.

- Каждая проба содержит одинаковое количество РНК или кДНК в каждой лунке.
- После прогона любая вариация в количестве загруженной биологической пробы будет нормализована некоторым способом при анализе данных вне программного обеспечения. Например, исследователь может предпочесть разделить значение относительного количества на фактор нормализации, такой как масса нуклеиновых кислот, загруженных для каждой пробы, или количество клеток, из которых была выделена нуклеиновая кислота.

Чтобы выполнить анализ относительного количества (ΔC_q)

- ▶ На вкладке Экспрессия гена выберите Относительное количество (ΔC_q) из раскрывающегося списка Режим в правой панели.

Пояснение. Для сравнения результатов с данными из других прогонов экспрессии гена, откройте новое исследование гена или добавьте файл данных к существующему исследованию гена.

Изменение и аннотирование представления диаграммы

Используя параметры меню панели управления гистограммы и инструменты графика анализа данных, можно изменить представление графика, снабдить каждый график аннотацией и изменить отображение графика. Панель управления графиками отображается между графиком и таблицей анализа данных в нижней части экрана.

Инструменты панели управления диаграммой

Пояснение. Информацию об инструментах для диаграммы, которые отображаются в правой части диаграмм анализа данных см. в разд. [Диаграммы на стр. 220](#).

Панель управления под диаграммами предлагает быстрый доступ к инструментам аннотирования.



В [Табл. 31](#) представлен перечень функций кнопок панели инструментов для диаграмм.

Табл. 31. Панель инструментов для диаграмм










| Кнопка | Название | Функция |
|---|-------------------------------|---|
|  | Bar chart (Гистограмма) | Отображение относительной экспрессии мишеней. |
|  | Диаграмма типа «ящик с усами» | <p>Отображение данных в виде диапазона квартилей (см. подробную информацию о расчетах в разделе Расчеты для диаграммы «ящик с усами» на стр. 326).</p> <p>Примечание. Доступно только в том случае, если для параметра Analyze Using (Анализ с использованием...) выбрано значение Biological Groups Only (Только биологические группы).</p> |
|  | Точечная диаграмма | <p>Отображает отдельные точки данных пробы для каждой мишени.</p> <p>Примечание. Доступно только в том случае, если для параметра Analyze Using (Анализ с использованием...) выбрано значение Biological Groups Only (Только биологические группы).</p> |
|  | Добавить стрелку | Добавление стрелки к активной диаграмме. |
|  | Add Circle (Добавить круг) | Выделение области на активной диаграмме. |
|  | Add Text (Добавить текст) | Вставка в активную диаграмму текстового поля, в которое можно ввести текстовый комментарий к элементам диаграммы, представляющим интерес. |

Табл. 31. Панель инструментов для диаграмм, продолжение

| Кнопка | Название | Функция |
|---|--------------------------|---|
|  | Undo (Отменить) | Удаление или восстановление последней аннотации к активной диаграмме. |
|  | Redo (Вернуть) | Восстановление последнего отмененного действия с активной диаграммой. |
|  | Clear All (Очистить все) | Удаление всех аннотаций к активной диаграмме. |

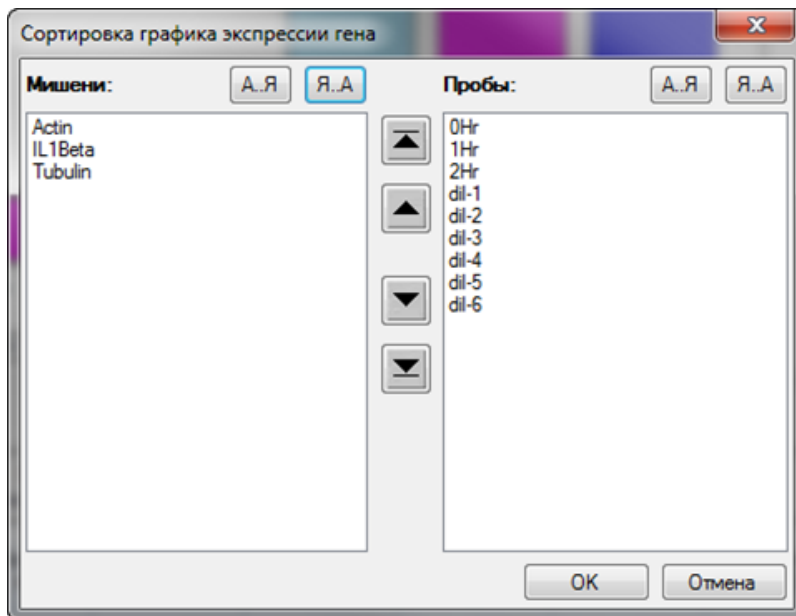
Сортировка данных мишени, пробы и биологической группы

Примечание Эта функция доступна только на диаграммах экспрессии генов.

По умолчанию списки «Мишени», «Пробы» и «Биологические группы» отображаются в алфавитном порядке. С помощью диалогового окна Сортировка можно выбрать отображение в обратном порядке или вручную переместить элемент в другую позицию в списке.

Для сортировки данных мишеней, проб и биологических групп выполните следующие действия

1. В разделе «Инструменты графика» щелкните «Сортировка».
 - Откроется диалоговое окно Сортировка графика вкладки Экспрессия гена.



2. В диалоговом окне щелкните Z-A для сортировки списка в обратном порядке.
3. Чтобы вручную переместить элемент, выберите его и нажмите соответствующую кнопку между диаграммами.
 - Нажмите стрелку ВВЕРХ или стрелку ВНИЗ, чтобы переместить выбранный элемент на одну позицию.
 - Нажмите стрелку ВВЕРХ С ЧЕРТОЧКОЙ или стрелку ВНИЗ С ЧЕРТОЧКОЙ, чтобы переместить выбранный элемент в верх или в низ списка.
4. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и вернуться на вкладку Gene Expression (Экспрессия генов).

Изменение настроек цвета мишени, пробы и биологической группы

Используйте диалоговое окно Настройки цвета, чтобы изменить цвет мишени, пробы или биологической группы или удалить элемент с графика.

Порядок изменения настроек цвета мишени

1. Проверьте, что на правой панели в диалоговом окне Gene Expression (Экспрессия генов) появилась проба в выпадающем списке X-Axis (Ось X).
2. В инструментах диаграммы выберите Color Settings (Настройки цвета).
Появится диалоговое окно Color Settings (Настройки цвета).
3. Чтобы изменить цвет отображения мишени, щелкните ее цвет в столбце Color (Цвет).
4. В появившемся диалоговом окне Color (Цвет) выберите новый цвет и нажмите кнопку ОК.
5. Чтобы удалить мишень с графика экспрессии гена, снимите ее флажок в столбце Show Chart (Показать диаграмму).

Пояснение. Чтобы удалить все мишени, снимите флажок Show Chart (Показать диаграмму) в заголовке столбца.

6. (Необязательно.) По умолчанию столбики отображаются сплошными цветами. Чтобы цвет столбиков отображался в градиентном виде, снимите флажок в поле Use Solid Colors (Использовать сплошные цвета).
7. Нажмите ОК, чтобы сохранить изменения и вернуться на вкладку Gene Expression (Экспрессия генов).

Порядок изменения настроек цвета пробы или биологической группы

1. Проверьте, что на правой панели в диалоговом окне Gene Expression (Экспрессия генов) появилась мишень в выпадающем списке X-Axis (Ось X).
2. Выполните шаги из раздела [Порядок изменения настроек цвета мишени на стр. 287](#).

Изменение представления диаграммы

Порядок изменения текущего представления диаграммы:

- Выберите команду меню панели инструментов для нужного представления.

Примечание Вкладка Gene Expression (Экспрессия генов) по умолчанию всегда открывается с отображением данных в виде Bar Chart (Гистограмма).

Исключение выбросов

На диаграмме Dot Plot (Точечный график) можно просматривать выбросы (резко отклоняющиеся значения) и исключать их из анализа.

Порядок исключения выбросов

- ▶ На диаграмме Dot Plot (Точечный график) правой кнопкой мыши нажмите на нужный выброс и выберите Exclude Well from Analysis (Исключить лунку из анализа).

Эта точка данных будет удалена из диаграммы Dot Plot (Точечный график), а лунка в окне Well Selector (Селектор лунок) на вкладке Quantification (Количественный анализ) изменит свой цвет на серый.

Порядок добавления исключенного выброса

- ▶ На вкладке Quantification (Количественный анализ) правой кнопкой мыши нажмите на лунку в окне Well Selector (Селектор лунок) и выберите Well (Лунка) > Include in Analysis (Включить в анализ).

Просмотр подробной информации об элементе данных

Для просмотра подробной информации об элементе данных выполните следующие действия.

- ▶ На диаграмме типа «ящик с усами» или на точечной диаграмме остановите курсор на отдельной точке данных.

Отобразится всплывающая подсказка с названием пробы и ее значением экспрессии (относительное количество либо нормализованная экспрессия в зависимости от выбранного режима).



Аннотирование диаграмм

Пользователь может добавлять стрелки, выделять область и добавлять текст в любом виде отображения гистограммы для более наглядного представления данных. Аннотации сохраняются вместе с гистограммой и отображаются в экспортированном и напечатанном файле. Однако

аннотации к одному виду представления диаграммы не добавляются к другим видам представления диаграммы.

Порядок добавления стрелки или выделения области на диаграмме

1. На панели инструментов гистограммы нажмите на соответствующий инструмент.
2. Нажмите на гистограмму и перемещайте по ней курсор в нужное положение.

Порядок добавления текста к диаграмме

1. На панели инструментов гистограммы нажмите Add Text (Добавить текст).
2. Нажмите на гистограмму. В этом месте появится текстовое окно.
3. Введите текст в текстовом окне.
4. Нажмите на любое место на диаграмме, чтобы выйти из текстового окна.

Пояснение. Нажмите Ввод, чтобы добавить несколько строк в текстовое поле.

Порядок перемещения аннотации

1. Наведите курсор на аннотацию. Значок курсора поменяется на изображение пальца, а также выделится граница аннотации.
2. Нажмите на аннотацию и перетащите ее в другое место.
3. Отпустите аннотацию, чтобы закрепить ее на месте.

Порядок отмены ввода аннотации

- ▶ Нажмите Undo (Отменить).

Будет удалена аннотация, добавленная последней.

Пояснение. Можно удалять аннотации по одной, до десяти последних аннотаций.

Чтобы отменить удаление аннотации, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните Повторить.

Последняя удаленная аннотация будет возвращена.

Пояснение. Можно отменять удаление аннотаций по одной, до десяти последних аннотаций.

Порядок удаления аннотации

- ▶ Нажмите правой кнопкой мыши на аннотацию и выберите Delete (Удалить).

Коррекция данных экспрессии генов

Выбрав режим анализа (нормализованная экспрессия ($\Delta\Delta Cq$) или относительное количество (ΔCq)), скорректируйте данные, доступные для просмотра на вкладке Экспрессия гена, путем изменения настроек параметров справа от графика.

Пояснение. Используемые по умолчанию параметры данных Gene Expression (Экспрессия генов) можно задать в диалоговом окне User Preferences (Настройки пользователя) (см. разд. [Настройка параметров по умолчанию для файла данных экспрессии генов на стр. 102](#)).

Данные графика

Чтобы включить параметры данных графика, установите значение оси Y на шкалу Linear (Линейная). Параметры данных графика позволяют представлять данные на графике, используя один из следующих вариантов:

- Относительно контроля — построение графика с масштабом осей от 0 до 1. Если в вашем прогоне назначена контрольная проба, выберите этот вариант для быстрой визуализации повышающей и понижающей регуляции мишени.
- Относительно нуля — построение графика по данным с началом в нулевой точке.

Анализ с использованием...

Для выбора порядка анализа данных и построения их графиков используйте раскрывающееся меню. Возможные варианты:

- Samples Only (Только пробы) — анализ данных и построение их графиков для каждой пробы.
- Biological Groups Only (Только биологические группы) — анализ данных и построение их графиков для каждой биологической группы. Экспрессия, отображаемая для биологической группы, представляет собой среднее геометрическое для проб в этой группе.
- Sample Biological Group (Биологическая группа пробы) — анализ данных и построение их графиков для каждой пробы с присоединением биологической группы после названия пробы. Отображаемые P-Value (P-значения) вычисляются на основе биологической группы.
- Biological Group Sample (Проба биологической группы) — анализ данных и построение их графиков для каждой пробы с присоединением биологической группы перед названием пробы. Отображаемые P-Value (P-значения) вычисляются на основе биологической группы.

Используйте раскрывающееся меню , чтобы выбрать пробу, которая будет использоваться для нормализации относительного количества:

Аннотирование P-Value и порога P-Value

При выборе аннотирования P-Value программное обеспечение отображает звездочку (*) на гистограмме над мишенью, если P-Value ниже выбранного порога. Программное обеспечение автоматически вычисляет значение P-Value путем сравнения уровня экспрессии пробы с уровнем экспрессии выбранной контрольной пробы, используя стандартный критерий Стьюдента. Порог P-Value может находиться в диапазоне от 0,000 до 1,000.

Параметры оси X

Параметры оси X позволяют выбрать данные оси X графика Экспрессия гена:

- Мишень — отображает имена мишеней на оси x.
- Проба — отображает имена проб на оси x.

Параметры оси Y

Параметры оси Y позволяют использовать одну из трех шкал для графика экспрессии гена:

- Linear (Линейная) — выберите этот вариант для отображения линейной шкалы.
Пояснение. Если выбрать значение Линейная для оси y, становится доступен раскрывающийся список Данные графика, из которого можно выбрать построение графика данных относительно контроля или относительно нуля.
- Log 2 — выберите этот вариант для оценки проб по большему динамическому диапазону.
- Log 10 — выберите этот вариант для оценки проб по очень большому динамическому диапазону.

Варианты масштабирования

Выберите Нормализованная экспрессия гена ($\Delta\Delta C_q$) и задайте для значение Нет, чтобы разрешить параметры масштабирования на графике экспрессии гена. Выберите один из следующих вариантов масштабирования для вычисления и отображения данных в удобном формате.

- Без масштабирования — этот параметр представляет немасштабированную нормализованную экспрессию гена.
- Наибольшее — нормализованная экспрессия гена для каждой мишени пересчитывается следующим образом: уровень экспрессии каждой пробы делится на наибольшее значение экспрессии во всех пробах.

В этом варианте масштабирования используется формула масштабирования по наивысшим значениям.

- **Наименьшее** — нормализованная экспрессия гена для каждой мишени пересчитывается следующим образом: уровень экспрессии каждой пробы делится на наименьшее значение экспрессии во всех пробах.

В этом варианте масштабирования используется формула масштабирования по наименьшим значениям.

- **Среднее** — масштабирование нормализованной экспрессии гена каждой мишени: уровень экспрессии каждой пробы делится на среднее геометрическое уровня экспрессии во всех пробах.

В этом варианте масштабирования используется формула масштабирования по средним значениям.

Выберите параметр для типа вычислений ошибки (полос ошибки) на графике Экспрессия гена:

Множитель планки погрешности диаграммы

Выберите коэффициент для полос ошибки на графике Экспрессия гена. Выберите одно из следующих целых чисел:

- +/- 1 (по умолчанию)
- 2
- 3

Тип коэффициента меняется при выборе пункта «Полоса ошибки»:

- Станд. ошибк. среднего — для стандартной ошибки среднего
- Станд. откл. — для стандартного отклонения

Условия эксперимента

Пояснение. Это диалоговое окно также доступно в Редакторе плашки. Для получения дополнительной информации см. разд. [Изменение условий эксперимента на стр. 164](#).

В диалоговом окне «Настройки эксперимента» можно просмотреть или изменить список мишеней, проб или биологических групп, выбрать референсные гены или установить группу «Анализ экспрессии гена» для анализа, если к лункам добавлены биологические группы.

Чтобы открыть диалоговое окно Настройки эксперимента, выполните следующие действия

- ▶ На вкладке «Графики» щелкните «Настройки эксперимента» в нижней части правой панели.
Отобразится диалоговое окно Настройки эксперимента со вкладкой Мишени.

Чтобы корректировать настройки мишеней, выполните следующие действия

- ▶ На вкладке Мишени выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы выбрать мишень или ссылку для анализа экспрессии гена, выберите ее имя в столбце Ссылка.
 - Чтобы изменить цвет мишени, щелкните ее ячейку в столбце Цвет и измените цвет в открывшемся диалоговом окне Цвет.

Изменение цвета отображается на графиках Экспрессия гена.
 - Чтобы использовать ранее определенное значение эффективности, снимите флажок мишени в столбце Автоэффективность и введите номер для процента эффективности мишени.

Программа вычисляет относительную эффективность для мишени с помощью Автоэффективности, если данные для мишени содержат стандартную кривую.

Чтобы скорректировать настройки пробы, выполните следующие действия

- ▶ Во вкладке Мишени выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы выбрать пробу как контрольную пробу для анализа экспрессии гена, выберите ее имя в столбце Контроль.
 - Чтобы изменить цвет пробы, щелкните ее ячейку в столбце Цвет и измените цвет в открывшемся диалоговом окне Цвет.

Изменение цвета отображается на графиках Экспрессия гена.
 - Чтобы отобразить пробу на графиках Экспрессия гена, выберите ее в столбце Показать график.
 - Чтобы удалить пробу с графиков Экспрессия гена, снимите ее флажок в столбце Показать график.

Пояснение. Данные пробы останутся в таблице Результаты.

Чтобы исключить тип пробы из расчетов анализа, выполните следующие действия

- ▶ Выберите флажок для него в нижней части диалогового окна Настройки эксперимента.

Примечание Это исключает контрольные пробы и/или стандарты из анализа экспрессии гена.

Пункты контекстного меню

Правой кнопкой мыши нажмите на диаграмму экспрессии генов, чтобы выбрать пункты, указанные в Табл. 32.

Табл. 32. Пункты контекстного меню экспрессии генов

| Пункт | Функция |
|---|--|
| Copy (Копировать) | Копирование диаграммы в буфер обмена. |
| Save Image As (Сохранить изображение как) | Сохраняет график в графический файл. Установите разрешение и размеры изображения и выберите тип файла (PNG, JPG, или BMP). |
| Параметры страницы | Выбор настроек страницы для печати. |
| Print (Печать) | Печать диаграммы. |
| Set Scale to Default (Установить масштаб по умолчанию) | Показывает все данные на гистограмме. Полоса прокрутки отображает полосу прокрутки при большом количестве проб, сохраняя минимальную ширину столбцов на диаграмме. |
| Настройки диаграммы | Открывает окно Настройки графика для корректировки графика. |
| Sort (Сортировать) | Сортировка порядка появления проб или мишеней на оси X диаграммы. |
| Use Corrected Std Devs (Использовать исправленные стандартные отклонения) | Вычисление планок погрешности с помощью формулы исправленных стандартных отклонений. |
| Use Solid Bar Colors (Использовать сплошные цвета столбиков) | Отображение сплошных цветов на диаграмме. |
| X-Axis Labels (Метки оси X) | Отображение меток оси X в горизонтальном или наклонном виде. |

Таблица данных

В [Табл. 33](#) приводится перечень данных, отображаемых в табл. данных Gene Expression (Экспрессия генов).

Примечание Значения в таблице рассчитываются на основании типа графика и предпочтений, выбранных в правой панели.

Табл. 33. Описание информации в таблице на вкладке

| Информация | Описание |
|---|---|
| Target (Мишень) | Имя мишени (амплифицированного гена), выбранное в окне Настройки эксперимента. |
| Biological Group (Биологическая группа) Sample Biological Group (Биологическая группа пробы) Biological Group Sample (Проба биологической группы) | Имя пробы и/или биологической группы, выбранное в окне Настройки эксперимента. |
| Контроль | Имя контроля, выбранное в окне Настройки эксперимента. Если в списке Анализировать с помощью выбран параметр Только пробы, контрольным значением будет проба, выбранная в окне Настройки эксперимента. Если выбрано Biological Groups Only (Только биологические группы), Sample Biological Group (Биологическая группа пробы) или Biological Group Sample (Проба биологической группы), контроль представляет собой биологическую группу, выбранную в окне Experiment Settings (Условия эксперимента). |
| Относительное количество или экспрессия | Относительное количество (ΔC_q) или Нормализованная экспрессия гена ($\Delta\Delta C_q$), в зависимости от выбранного режима. |

| Информация | Описание |
|--|--|
| Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (SEM (или SD) относительного количества или экспрессии) | Стандартная ошибка среднего (SEM) или стандартное отклонение (SD) относительного количества или нормализованной экспрессии, в зависимости от выбранного варианта. Доступно только в том случае, если для параметра Analyze Using (Анализ с использованием...) выбрано значение Samples Only (Только пробы), Sample Biological Group (Биологическая группа пробы) или Biological Group Sample (Проба биологической группы). |
| Corrected Quantity or Expression SEM (or SD) (Скорректированная SEM (или SD) относительного количества или экспрессии) | Расчет скорректированного значения для SEM или SD относительного количества или нормализованной экспрессии, в зависимости от выбранного варианта. Доступно только в том случае, если для параметра Analyze Using (Анализ с использованием...) выбрано значение Samples Only (Только пробы), Sample Biological Group (Биологическая группа пробы) или Biological Group Sample (Проба биологической группы). |
| Mean C _q (Среднее C _q) | Среднее цикла расчета (не отображается, если в списке Анализировать с помощью выбран параметр Только биологические группы). |
| C _q SEM (or SD) (SEM (или SD) C _q) | SEM или SD цикла расчета (не отображается, если в списке Анализировать с помощью выбран параметр Только биологические группы). |

Пункт Show Details (Показать детали)

В Табл. 34 приводится перечень данных, отображаемых при выборе пункта Show Details (Показать детали) в контекстном меню табл., сопровождающей гистограмму.

Табл. 34. Информация в электронной табл. гистограммы при выбранном флажке «Подробнее»

| Информация | Описание |
|---|--|
| Data Set (Набор данных) | Данные о флуоресценции от одного флуорофора в файле данных |
| Relative Quantity (Относительное количество) | Рассчитанное относительное количество проб |
| Relative Quantity SD (SD относительного количества) | Стандартное отклонение расчета относительного количества |
| Corrected Relative Quantity SD (SD скорректированного относительного количества) | Рассчитанное стандартное отклонение скорректированного относительного количества |
| Relative Quantity SEM (SEM относительного количества) | Стандартная ошибка среднего расчета относительного количества |
| Corrected Relative Quantity SEM (SEM скорректированного относительного количества) | Рассчитанная стандартная ошибка среднего скорректированного относительного количества |
| Относительное количество(lg) | Log ₂ относительного количества, используемый для статистического анализа |
| SD RQ(lg) | Стандартное отклонение относительного количества (log ₂) |
| SEM экспрессии(lg) | Стандартная ошибка среднего экспрессии (log ₂) |
| Unscaled Expression (Немасштабированная экспрессия) | Рассчитанная немасштабированная экспрессия |
| Unscaled Expression SD (SD немасштабированной экспрессии) | Рассчитанное стандартное отклонение немасштабированной экспрессии |

Табл. 34. Информация в электронной табл. гистограммы при выбранном флажке «Подробнее», продолжение

| Информация | Описание |
|---|--|
| Corrected Unscaled Expression SD (SD скорректированной немасштабированной экспрессии) | Рассчитанное стандартное отклонение скорректированной немасштабированной экспрессии |
| Unscaled Expression SEM (SEM немасштабированной экспрессии) | Рассчитанная стандартная ошибка среднего немасштабированной экспрессии |
| Corrected Unscaled Expression SEM (SEM скорректированной немасштабированной экспрессии) | Рассчитанная стандартная ошибка среднего скорректированной немасштабированной экспрессии |
| Немасштабированная экспрессия(lg) | \log_2 немасштабированной экспрессии |
| SD Unscaled Expression(lg) (SD немасштабированной экспрессии (lg)) | Стандартное отклонение немасштабированной экспрессии (\log_2) |
| SEM немасштабированной экспрессии(lg) | Стандартная ошибка среднего немасштабированной экспрессии (\log_2) |
| Экспрессия | Нормализованная экспрессия гена |
| Corrected Expression SD (SD скорректированной экспрессии) | Вычисленное стандартное отклонение скорректированной экспрессии |
| Expression SEM (SEM экспрессии) | Стандартная ошибка среднего экспрессии |
| Corrected Expression SEM (SEM скорректированной экспрессии) | Вычисленная стандартная ошибка скорректированной экспрессии |
| Экспрессия(lg) | \log_2 экспрессии (нормализованной экспрессии), используемый для статистического анализа |

Табл. 34. Информация в электронной табл. гистограммы при выбранном флажке «Подробнее», продолжение

| Информация | Описание |
|---|---|
| SD Expression(Ig) (SD экспрессии (lg)) | Стандартное отклонение экспрессии (\log_2) |
| SEM экспрессии(Ig) | Стандартная ошибка среднего экспрессии (\log_2) |
| Mean C _q (Среднее C _q) | Среднее цикла расчета |
| C _q SD | Стандартное отклонение цикла расчета |
| C _q SEM | Стандартная ошибка среднего цикла расчета |

Кластерграмма

График по кластерам отображает данные в иерархическом порядке на основании степени схожести экспрессии различных мишеней и проб.

Примечание Для отображения любых графиков (кроме относительной экспрессии для гистограмм) необходимо выбрать референсную мишень.

Изображение кластерграммы показывает относительную экспрессию пробы или мишени следующим образом:

- положительная регуляция (красный цвет) — повышенная экспрессия;
- отрицательная регуляция (синий цвет) — пониженная экспрессия;
- отсутствие регуляции (черный цвет);
- значение не вычислено (черный цвет с белым значком X).

Чем светлее оттенок цвета, тем больше разница в относительной экспрессии. Если значение нормализованной C_q не рассчитывается, прямоугольник будет черным с белой осью X.

Снаружи по краям графика данных находится дендрограмма, которая указывает иерархию разбиения на кластеры. Мишени или пробы, которые обладают сходными профилями экспрессии, будут иметь соседние ветви, тогда как мишени или пробы с несходными профилями будут более отдаленными.

Настройки

Можно устанавливать следующие параметры:

- Группировка — выберите Мишени, Пробы, Оба варианта или Нет
- Размер — регулирует размер изображения и меняет степень увеличения диаграммы.
- Разделять реплики — отображает значения отдельных реплик.

Пояснение. Цветовую гамму можно переключить с красно-зеленой (по умолчанию) на красно-синюю, выбрав соответствующий пункт раскрывающегося меню из этих графиков.

Пункты контекстного меню

Опции меню, открывающегося по нажатию правой клавиши мыши, для графиков по кластерам такие же, как для гистограммы. Доступные параметры см. в [Табл. 32 на стр. 294](#). Кроме того, выберите Цветовая гамма, чтобы изменить понижающую регуляцию-экспрессию с Красной/Зеленой по умолчанию на Красную/Синюю на графике.

Таблица данных

В электронной таблице отображаются значения для мишени, пробы и нормализованной экспрессии.

График рассеяния

Диаграмма рассеяния отображает нормализованную экспрессию мишеней для контроля относительно исследуемой пробы. Линии на графике отображают порог кратного изменения. Точки данных между линиями указывают, что разница в экспрессии этого (гена) мишени между пробами пренебрежимо мала. Точки данных вне линий превосходят порог кратного изменения и могут представлять интерес для изучения.

График отображает следующие изменения в экспрессии мишеней на основании кратности изменения порога:

- положительная регуляция (красный круг) — сравнительно повышенная экспрессия;
- отрицательная регуляция (зеленый или синий круг) — сравнительно пониженная экспрессия;
- отсутствие изменения (черный круг).

Щелкните кнопкой мыши на любой пороговой линии и перетащите ее для корректировки значения порогового уровня кратного изменения.

Настройки

Можно устанавливать следующие параметры:

- Control Sample (Контрольная проба)
- Experimental Sample (Экспериментальная проба);
- Порог кратности изменения. При увеличении или уменьшении значения порога кратности изменения пороговые линии на графике перемещаются соответственно.

Пункты контекстного меню

Опции меню, открывающегося по нажатию правой клавиши мыши, для диаграммы рассеяния, такие же, как для гистограммы. Доступные параметры см. в [Табл. 32 на стр. 294](#). Кроме того, выберите Символ для изменения символа, используемого на графике, вместо кружка по умолчанию на один из следующих:

- Треугольник
- Крестик
- Квадрат
- Ромб

Таблица данных

В этой таблице отображаются значения для мишени и нормализованная экспрессия для контрольных и экспериментальных проб. Она также указывает, выполнялась ли повышающая или понижающая регуляция мишеней по сравнению с целевой регуляцией.

Таблица Results (Результаты)

Таблица результатов обобщает данные по всем графикам. В Табл. 35 приводится перечень данных, отображаемых в табл. Results (Результаты).

Табл. 35. Информация на вклад. Results (Результаты)

| Информация | Описание |
|---|---|
| Target (Мишень) | Название мишени (амплифицированного гена) |
| Sample (Проба) | Название пробы |
| Mean C _q (Среднее C _q) | Среднее цикла количественного анализа |
| Среднее C _q скорректированной эффективности | Среднее цикла количественного анализа после коррекции с учетом эффективности реакции |
| Нормализованная экспрессия | Экспрессия мишени, нормализованная относительно референсной мишени ($\Delta\Delta C_q$) |
| Relative Normalized Expression (Относительная нормализованная экспрессия) | Экспрессия, нормализованная относительно контрольной пробы; называется также «кратным изменением» |
| Regulation (Регуляция) | Изменение экспрессии относительно контрольной пробы |
| Compared to Regulation Threshold (В сравнении с порогом регуляции) | Положительная или отрицательная регуляция экспериментальной пробы на основе настройки порога |

Примечание Данные реплик отображаются только в таблицах вкладок анализа данных, в которых выбран параметр Разделять реплики (например, График по кластерам). Если в качестве контрольной пробы на гистограмме выбрано «нет», возможны расхождения между данными экспрессии в таблицах анализа экспрессии гена.

Исследование генов

Создайте исследование гена для сравнения данных экспрессии гена одного или нескольких экспериментов ПЦР в реальном времени с помощью калибратора между прогонами для нормализации данных между экспериментами. Создавайте исследование генов путем добавления данных из одного или более файлов данных (с расширением .pcrd) в исследование генов. Программное обеспечение объединяет их в один файл (с расширением .mgxd).

Примечание Максимальное количество проб, которое можно проанализировать в исследовании гена, ограничено объемом ОЗУ и виртуальной памяти компьютера.

Калибровка между прогонами

Попытка калибровки между прогонами автоматически проводится в каждом исследовании гена для каждой мишени для нормализации колебаний между прогонами между мишенями, анализ которых проводится в отдельных прогонах ПЦР (то есть, в других файлах .pcrd, созданных на основании других плашек).

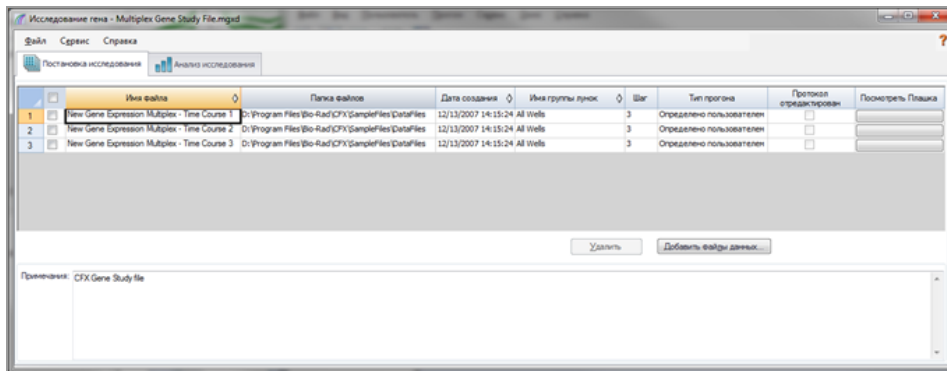
Чтобы программное обеспечение распознавало пробу как калибратор между прогонами, у нее должно быть такое же имя мишени, такое же имя пробы и, если используется, такое же имя биологического набора для всех сравниваемых плашек.

Примечание По крайней мере одна проба-калибратор между прогонами должна присутствовать в исследовании гена, чтобы была произведена калибровка между прогонами. В исследовании генов мишени без соответствующих проб-калибраторов между прогонами будут обрабатываться без коррекции (не рекомендуется).

Калибраторы между прогонами можно применять двумя способами.

- Для мишени — у разных праймеров ПЦР может быть разная эффективность. По умолчанию калибратор между прогонами применяется ко всем лункам одной плашки, у которых такое же имя мишени, например, к значению C_q , полученному в том же анализе.
- Все исследование — один калибратор между прогонами выбирается пользователем и применяется ко всему исследованию гена.

Диалоговое окно Исследование гена



Диалоговое окно Исследование гена содержит две вкладки:

- Вкладка Создать исследование — управляет прогонами в исследовании гена.
 - Важно!** Добавление файлов данных в исследование гена или удаление их из него не приводит к изменению данных в исходном файле.
- Вкладка Анализ исследования — отображает данные экспрессии гена в сочетании прогонов.

Вкладка Study Setup (Настройка исследования)

В Табл. 36 приводится перечень данных, отображаемых в табл. Study Setup (Настройка исследования).

Табл. 36. Вклад. «Настройка исследования» в диалоговом окне «Исследование гена».

| Заголовок столбца | Описание |
|------------------------------|--|
| File Name (Имя файла) | Имя файла данных прогона (с расширением .pcrd) |
| File Folder (Папка файла) | Директория, в которой находится файл данных для каждого прогона в исследовании генов |
| Date Created (Дата создания) | Дата получения данных прогона |

Табл. 36. Вклад. «Настройка исследования» в диалоговом окне «Исследование гена», продолжение

| Заголовок столбца | Описание |
|--|---|
| Well Group Name (Название группы лунок) | Имя группы лунок, выбранное при добавлении файла в исследование гена Пояснение. Чтобы в исследовании гена были проанализированы данные одной группы лунок, эта группа лунок должна быть выбрана в окне Анализ данных перед импортом файла данных в исследование гена. |
| Step (Шаг) | Шаг протокола, который включает считывание данных с плашки для сбора данных ПЦР в реальном времени |
| Run Type (Тип прогона) | Показывает тип прогона: определенный пользователем или PrimePCR |
| Protocol Edited (Протокол редактировался) | Если флажок установлен, это указывает на изменение протокола, используемого для прогона PrimePCR |
| View Plate (Просмотр плашки) | Открытие карты плашки с данными каждого прогона, включенного в исследование генов |

Подготовка исследования генов

Порядок подготовки исследования генов

1. Перед тем, как импортировать данные в исследование гена, выполните следующие действия в окне Анализ данных:
 - Убедитесь, что пробы с одинаковым содержанием имеют одинаковые имена. В исследовании гена программа предполагает, что лунки с одним именем мишени или пробы содержат одинаковые пробы.
 - Скорректируйте базовую линию и пороговый уровень (C_q) на вкладке Расчет для оптимизации данных каждого прогона.
 - Выберите группу лунок, которую требуется включить в исследование гена.

Для того чтобы в исследовании генов отображались данные одной группы лунок, эта группа должна быть выбрана до импорта файла данных.

Вкладка Создать исследование отображает список прогонов в исследовании гена.
2. В диалоговом окне Исследование гена выберите вкладку Создать исследование.
3. Щелкните Добавить файлы данных, чтобы выбрать файл в окне проводника.

Пояснение. Чтобы быстро добавить прогоны в исследование гена, перетащите файлы данных (с расширением .pcrd) в диалоговое окно Создать исследование.

4. CFX Maestro Dx SE автоматически выполняет анализ, предусмотренный исследованием генов, по мере добавления файлов данных. Выберите вкладку Анализ исследования, чтобы просмотреть результаты.

Чтобы убрать прогоны из исследования гена, выполните следующие действия

- ▶ Выберите один или несколько файлов в списке и нажмите Удалить.

Чтобы добавить примечания к исследованию гена, выполните следующие действия

- ▶ Введите примечания о файлах и анализе в текстовое поле Примечания.

Вкладка Study Analysis (Анализ эксперимента)

На вкладке Анализ исследования отображены данные всех прогонов в исследовании гена. Для анализа экспрессии гена доступны те же параметры, что и для одного файла данных, за следующим исключением:

- При использовании гистограмм значения калибровки между прогонами (если они рассчитываются) отображаются по нажатию Калибровка между прогонами.

Примечание В качестве калибратора между прогонами можно использовать только следующие типы проб:

- Unknown (Неизвестный);
- Standard (Стандартный).
- Positive Control (Положительный контроль);

Пробы типов отрицательный контроль, контроль без матрицы (NTC) и контроль без обратной транскриптазы (NRT) не могут использоваться в качестве калибратора между прогонами.

- Инструмент выбора референсных генов идентифицирует исследуемые референсные гены и относит их к категориям Идеальный, Приемлемый или Нестабильный на основании их стабильности.
 - Идеальные референсные гены являются стабильными и дают минимальную вариацию между исследуемыми пробами.
 - Приемлемые референсные гены не являются идеально стабильными и дают среднюю допустимую вариацию между исследуемыми пробами. Используйте эти гены в анализе, если отсутствуют идеальные референсные гены.

- Нестабильные референсные гены дают чрезмерную вариацию между исследуемыми пробами. Рекомендуется исключать эти гены из анализа.
- Инструмент контроля анализа PrimePCR отображает результаты исследуемых проб в таблице:
 - Вкладка Сводка отображает сводку всех исследуемых проб. Пробы, которые прошли все контрольные анализы, отображаются зеленым цветом. Пробы, не прошедшие один или несколько контрольных анализов, отображаются желтым цветом.
 - Вкладка ПЦР отображает результаты анализа положительного контроля ПЦР. Этот анализ обнаруживает подавление или проблемы эксперимента, которые влияют на экспрессию гена.
 - Вкладка ОТ отображает результаты контрольного анализа обратной транскрипции. Этот анализ количественным образом оценивает характеристики обратной транскрипции (ОТ) и идентифицирует пробы, где характеристики ОТ могли негативно влиять на экспрессию гена.
 - Вкладка гДНК отображает результаты контрольного анализа контаминации ДНК. Этот анализ определяет, имеется ли в пробе геномная ДНК (гДНК) на уровне, который может оказать влияние на результаты кПЦР.
 - Вкладка КРНК отображает результаты анализов качества РНК (КРНК1 и КРНК2). Данные анализы количественно оценивают, могла ли целостность РНК отрицательно сказаться на экспрессии генов.

Категории отчетов по исследованию генов

Используйте диалоговое окно Отчет исследования гена, чтобы собрать в отчет данные исследования гена. В [Табл. 37](#) перечислены все пункты, доступные для отчета по исследованию генов.

Табл. 37. Категории для отчета по исследованию генов

| Категория | Пункт | Описание |
|------------------------------------|--|--|
| Header (Верхний колонтитул) | | |
| | | Заголовок, подзаголовок и логотип для отчета |
| | Report Information (Информация об отчете) | Дата, имя пользователя, имя файла данных, путь к файлу данных и выбранная группа лунок |

Табл. 37. Категории для отчета по исследованию генов, продолжение

| Категория | Пункт | Описание |
|---|--|---|
| | Gene Study File List (Список файлов исследования генов) | Список всех файлов данных в исследовании генов |
| | Notes (Примечания) | Примечания по отчету о данных |
| Анализ исследования: Гистограмма | | |
| | Analysis Settings (Настройки анализа) | Список выбранных параметров анализа |
| | Chart (Диаграмма) | Гистограмма экспрессии генов, отображающая данные |
| | Target Names (Названия мишеней) | Список всех мишеней в исследовании генов |
| | Sample Names (Названия проб) | Список всех проб в исследовании генов |
| | Data (Данные) | Таблица с данными |
| | Target Stability (Стабильность мишени) | Данные по стабильности мишени |
| | Inter-run Calibration (Калибровка между прогонами) | Данные по калибровке между прогонами |
| | Box-and-Whisker Chart (Диаграмма размаха) | Диаграмма размаха экспрессии генов |
| | Dot-Plot Chart (Точечная диаграмма) | Точечная диаграмма экспрессия генов |
| Анализ исследования: график по кластерам и диаграмма рассеяния | | |
| | Analysis Settings (Настройки анализа) | Настройки для каждого типа диаграммы |
| | Chart (Диаграмма) | Диаграмма экспрессии генов, отображающая данные |

Табл. 37. Категории для отчета по исследованию генов, продолжение

| Категория | Пункт | Описание |
|---|--|---|
| | Data (Данные) | Таблица, в которой перечислены данные для каждой мишени |
| Анализ исследования: Данные дисперсионного анализа | | |
| | ANOVA Settings (Настройки дисперсионного анализа) | Порог P-значения, используемый в анализе |
| | ANOVA Results (Результаты дисперсионного анализа) | Таблица результатов дисперсионного анализа и апостериорного анализа со средневзвешенным Тьюки |
| | Shapiro-Wilk Normality Test (Критерий нормальности Шапиро — Уилка) | Биологическая группа, количество, P-value и все ошибки, которые имеют место для каждой мишени в анализе |
| | ANOVA Errors (Ошибки дисперсионного анализа) | Ошибки, выявленные при вычислениях дисперсионного анализа |

Создание отчета об исследовании генов

Порядок создания отчета об исследовании генов

1. При необходимости скорректируйте данные и графики исследования гена до создания отчета.
2. Выберите Сервис > Отчеты в меню Исследование гена, чтобы открыть диалоговое окно Отчет.
3. Выберите параметры, которые требуется включить в отчет. Отчет откроется с параметрами, выбранными по умолчанию. Установите или снимите флажки для изменения целых категорий или отдельных параметров в категории.

В разделе [Категории отчетов по исследованию генов на стр. 309](#) представлен перечень возможных параметров, которые могут отображаться в отчете.

4. Измените порядок категорий и элементов в отчете. Перетащите параметры в нужные места. Порядок элементов можно менять только внутри категорий, к которым они принадлежат.
5. Нажмите Обновить отчет, чтобы обновить панель предварительного просмотра отчета со всеми изменениями.
6. Напечатайте или сохраните отчет. Нажмите кнопку Печать отчета на панели управления, чтобы вывести на печать текущий отчет. Выберите Файл > Сохранить, чтобы сохранить отчет в файле формате PDF (файл Acrobat Reader) и выбрать местоположение для сохранения файла. Выберите Файл > Сохранить как, чтобы сохранить отчет с новым именем или в новое местоположение.
7. (Необязательно.) Создайте шаблон отчета с нужной информацией. Чтобы сохранить текущие настройки отчета в шаблоне, выберите Шаблон > Сохранить или Сохранить как. Загрузите шаблон отчета в следующий раз, когда потребуется создать новый отчет.

Приложение А Вычисления анализа данных

ПО CFX Maestro Dx, Security Edition автоматически вычисляет формулы и отображает результаты на вкладках окна «Анализ данных». В этом приложении подробно объясняется, как CFX Maestro Dx SE рассчитывает формулы.

Эффективность реакции

Факты свидетельствуют о том, что использование точного критерия эффективности для каждого комплекта праймера и зонда позволяет получать более точные результаты при анализе данных для экспрессии генов. Значение эффективности по умолчанию, используемое при расчетах экспрессии генов, составляет 100 %. Для оценки эффективности реакции постройте стандартную кривую по серии разведений репрезентативной пробы в пределах соответствующего динамического диапазона и затем зарегистрируйте эффективность для последующего анализа экспрессии генов. Если прогон содержит стандартную кривую, программное обеспечение автоматически производит расчет эффективности и отображает ее под стандартной кривой на вкладке Количественный анализ, если установлен флажок Автоэффективность на вкладке Мишени окна Настройки эксперимента.

Эффективность (E) в формулах эффективности соответствует понятию «показатели эффективности», описанному в работах Pfaffl (2001) и Vandesompele et al. (2002). В этих публикациях значение эффективности 2 (идеальное удвоение с каждым циклом) соответствует показателю эффективности 100 % в данной программе. Пользователь может преобразовать свои расчеты эффективности к виду, используемому в программе, по следующим формулам.

- $E = (\% \text{ эффективности} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ эффективности} = (E - 1) * 100$

Относительное количество

Относительное количество (ΔC_q) для любой пробы (GOI) рассчитывается следующим образом:

$$\text{Относительное количество}_{\text{проба (исследуемый ген)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{мин})} - C_{q(\text{проба})})}$$

Примечание Данная формула используется для вычисления относительного количества, если контрольная проба не определена.

Где:

- E = эффективность набора из праймера и зонда. Эта эффективность вычисляется по формуле
(% эффективности * 0,01) + 1, где 100% эффективности = 2
- $C_{q(\text{мин})}$ = Среднее значение C_q для пробы с наименьшим средним C_q для интересующего гена
- $C_{q(\text{проба})}$ = Среднее значение C_q для пробы
- GOI = исследуемый ген (одна мишень)

Относительное количество в случае выбора контроля

Когда назначена контрольная проба или биологическая группа, относительное количество (RQ) для любой пробы с интересующим геном (GOI) вычисляется по формуле:

$$\text{Относительное количество}_{\text{проба (исследуемый ген)}} = E_{\text{GOI}} \left(C_{q(\text{контроля})} - C_{q(\text{проба})} \right)$$

Где:

- E = эффективность набора из праймера и зонда. Эта эффективность вычисляется по формуле
(% эффективности * 0,01) + 1, где 100% эффективности = 2
- $C_{q(\text{control})}$ = среднее значение C_q для контрольной пробы
- $C_{q(\text{sample})}$ = среднее C_q для любых проб с GOI;
- GOI = исследуемый ген (одна мишень)

Стандартное отклонение относительного количества

Важно! Данное вычисление применимо только в том случае, если для параметра Analyze Using (Анализ с использованием...) выбрано значение Samples Only (Только пробы), Sample Biological Group (Биологическая группа пробы) или Biological Group Sample (Проба биологической группы).

Стандартное отклонение относительного количества рассчитывается по следующей формуле:

$$SD \text{ Относительное количество} = SD C_{q \text{ GOI}} \times \text{Относительное количество}_{\text{проба (Интересующий ген)}} \times \ln(E_{\text{GOI}})$$

Где:

- SD Relative Quantity = стандартное отклонение относительного количества;
- SD C_{qGOI} пробы = стандартное отклонение C_q для пробы (интересующего гена)
- Relative Quantity = относительное количество пробы;
- E = эффективность набора из праймера и зонда. Эта эффективность вычисляется по формуле (% эффективности * 0,01) + 1, где 100% эффективности = 2
- GOI = исследуемый ген (одна мишень)

C_q скорректированной эффективности (C_{qE})

Формула для C_q скорректированной эффективности:

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Где:

- E = Эффективность

Среднее C_q скорректированной эффективности (MC_{qE})

Формула для среднего C_q скорректированной эффективности:

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE(повт. 1)} + C_{qE(повт. 2)} + \dots + C_{qE(повт. n)}}{n}$$

Где:

- C_{qE} = C_q скорректированной эффективности
- n = количество повторностей.

Нормализованная экспрессия

Нормализованная экспрессия ($\Delta\Delta C_q$) — это относительное количество мишени (гена), нормированное по количественным значениям для референсных мишеней (генов или последовательностей) в исследуемой биологической системе. Чтобы задать референсные мишени, откройте окно Experiment Settings (Условия эксперимента) и проставьте галочку для каждой мишени, которая будет служить референсным геном.

Расчет нормализованной экспрессии описывается следующей формулой, использующей рассчитанное относительное количество (RQ):

$$\text{Нормализованная экспрессия}_{\text{проба (исследуемый ген)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{пробы (Интересующий ген)}}}{\left(\text{RQ}_{\text{пробы (Ссылка 1)}} \times \text{RQ}_{\text{пробы (Ссылка 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{пробы (Ссылка n)}}\right)^{\frac{1}{n}}}$$

Где:

- RQ = относительное количество пробы;
- Ref = референс-мишень в эксперименте, включающем одну или несколько референс-мишеней в каждой пробе;
- GOI = исследуемый ген (одна мишень)

Если уровень экспрессии референсных мишеней в исследуемой биологической системе не меняется, то при расчете нормализованной экспрессии будут учтены различия между пробами, обусловленные особенностями их загрузки, а также количеством клеток в пробе.

Экспрессия и относительное количество для биологических групп

Если для параметра Analyze Using (Анализ с использованием...) выбрано значение Biological Groups Only (Только биологические группы), программа отображает среднюю экспрессию (нормализованную экспрессию или относительное количество в зависимости от выбора режима) проб в биологической группе. Поскольку экспрессия обычно распределена по логарифмически нормальному закону, экспрессию усредняют с помощью геометрического среднего:

$$\text{Expression biological group} = \sqrt[n]{\text{Exp}_1 \cdot \text{Exp}_2 \cdot \dots \cdot \text{Exp}_n}$$

Где:

- $\text{Exp}_1, \text{Exp}_2, \text{Exp}_n$ = относительное количество или нормализованная экспрессия проб в биологической группе;
- n = количество проб в биологической группе.

Нормализованная экспрессия в случае выбора контроля

Если в окне Настройки эксперимента выбрать контрольную пробу, программа присваивает уровню экспрессии контрольной пробы значение, равное 1. В этом случае программа нормирует относительные количественные значения экспрессии всех мишеней (генов) по уровню контроля (значение 1). Такая нормализованная экспрессия соответствует анализу немасштабированной нормализованной экспрессии с выбранным контролем.

Примечание Данная нормализованная экспрессия известна также как «относительная нормализованная экспрессия» RNE и «кратность изменения».

Стандартное отклонение для нормализованной экспрессии

Повторное масштабирование значения нормализованной экспрессии сопровождается делением среднеквадратического отклонения нормализованной экспрессии на значение нормализованной экспрессии для отдельного самого высокого или самого низкого уровня экспрессии, в зависимости от выбранной вами опции масштабирования. Стандартное отклонение (SD) коэффициента нормализации рассчитывается по следующей формуле:

$$SD NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD RQ_{\text{пробы (ссылка 1)}}}{n \times RQ_{\text{пробы (ссылка 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{пробы (ссылка 2)}}}{n \times RQ_{\text{пробы (ссылка 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD RQ_{\text{пробы (ссылка n)}}}{n \times RQ_{\text{пробы (ссылка n)}}}\right)^2}$$

Где:

- RQ = относительное количество пробы;
- SD = стандартное отклонение;
- NF = коэффициент нормализации;
- Ref = референсная мишень;
- n = количество референсных мишеней;

Если назначена контрольная проба, нет необходимости производить перемасштабирование по стандартному отклонению, как показано следующей формулой:

$$SD NE_{\text{пробы (исследуемый ген)}} = NE_{\text{пробы (интересующий ген)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD NF_{\text{пробы}}}{NF_{\text{пробы}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{пробы (исследуемый ген)}}}{RQ_{\text{пробы (исследуемый ген)}}}\right)^2}$$

Где:

- NE = нормализованная экспрессия;
- RQ = относительное количество пробы;
- SD = стандартное отклонение;
- GOI = исследуемый ген (одна мишень)

Нормализованная экспрессия, отмасштабированная до самого высокого уровня экспрессии

Когда прогон не включает в себя контроли, масштабируйте нормализованную экспрессию (NE) для каждой мишени (гена) путем деления уровня экспрессии каждой пробы на самый высокий уровень экспрессии во всех пробах. Программное обеспечение установит самый высокий уровень экспрессии на значение «1» и произведет повторное масштабирование всех уровней экспрессии проб. Самая высокая степень масштабирования рассчитывается по следующей формуле:

$$\text{Масштабированная Нормализованная экспрессия}_{\text{проба (исследуемый ген)}} = \frac{\text{Нормализованная экспрессия}_{\text{проба (интересующий ген)}}}{\text{Нормализованная экспрессия}_{\text{Наибольшая проба (интересующий ген)}}}$$

Где:

- GOI = исследуемый ген (мишень);

Нормализованная экспрессия, отмасштабированная до самого низкого уровня экспрессии

Если прогон не включает контроли, масштабируйте нормализованную экспрессию (NE) для каждой мишени (гена), разделив уровень экспрессии каждой пробы на самый низкий уровень экспрессии во всех пробах. Программное обеспечение установит самый низкий уровень экспрессии на значение «1» и произведет повторное масштабирование всех уровней экспрессии пробы. Самая низкая степень масштабирования рассчитывается по следующей формуле:

$$\text{Масштабированная Нормализованная экспрессия}_{\text{проба (исследуемый ген)}} = \frac{\text{Нормализованная экспрессия}_{\text{проба (интересующий ген)}}}{\text{Нормализованная экспрессия}_{\text{Наименьшая проба (интересующий ген)}}}$$

Где:

- GOI = исследуемый ген (мишень);

Нормализованная экспрессия, масштабированная по среднему уровню экспрессии

Если прогон не включает контроли, масштабируйте нормализованную экспрессию (NE) для каждой мишени (гена) путем деления уровня экспрессии каждой пробы на среднее геометрическое уровня экспрессии для всех проб. Программа устанавливает для среднего уровня экспрессии значение 1 и перемасштабирует все уровни экспрессии для проб. Формула расчета усредненного масштабирования:

Приложение А Вычисления анализа данных

$$\text{Масштабированная Нормализованная экспрессия}_{\text{проба (исследуемый ген)}} = \frac{\text{Нормализованная экспрессия}_{\text{проба (Интересующий ген)}}}{\text{Нормализованная экспрессия}_{\text{GM (Интересующий ген)}}}$$

Где:

- GOI = исследуемый ген (мишень);
- GM = среднее геометрическое нормализованной экспрессии для всех проб

Стандартное отклонение для масштабированной нормализованной экспрессии

Повторное масштабирование значения масштабированной нормализованной экспрессии (NE) осуществляют путем деления стандартного отклонения (SD) нормализованной экспрессии на значение нормализованной экспрессии для самого высокого (MAX) или самого низкого (MIN) уровня экспрессии в зависимости от выбора варианта масштабирования.

Примечание Когда выбрана контрольная проба, нет необходимости использовать функцию повторного масштабирования при расчете среднеквадратического отклонения.

Формула для вычисления:

$$SD \text{ Масштабированная } NE_{\text{пробы (исследуемый ген)}} = \frac{SD \ NE_{\text{пробы (исследуемый ген)}}}{NE_{\text{МАКС или МИН (исследуемый ген)}}}$$

Где:

- NE = нормализованная экспрессия;
- SD = стандартное отклонение;
- GOI = исследуемый ген (мишень);
- MAX = самый высокий уровень экспрессии;
- MIN = самый низкий уровень экспрессии.

Планки погрешности для стандартного отклонения(Ig) и Стандартная ошибка среднего (Ig)

В дополнение к использованию доверительных интервалов для биологических групп возможно отображение планок погрешности на основе стандартного отклонения или стандартной ошибки среднего \log_2 экспрессии. Планки погрешности рассчитываются следующим образом:

$$\text{Нижняя граница RQ} = 2^{\text{RQ(Ig)} - \text{SD RQ(Ig)}} \text{ или } 2^{\text{RQ(Ig)} - \text{SEM RQ(Ig)}}$$

$$\text{Верхняя граница RQ} = 2^{\text{RQ(Ig)} + \text{SD RQ(Ig)}} \text{ или } 2^{\text{RQ(Ig)} + \text{SEM RQ(Ig)}}$$

Где:

- $\text{RQ(Ig)} = \log_2$ относительного количества для биологической группы
- SD RQ(Ig) = стандартное отклонение относительного количества (\log_2)
- SEM RQ(Ig) = стандартная ошибка среднего вычисления относительного количества (\log_2)

$$\text{Нижняя планка погрешности экспрессии} = 2^{\text{Exp.(Ig)} - \text{SD Exp.(Ig)}} \text{ или } 2^{\text{Exp.(Ig)} - \text{SEM Exp.(Ig)}}$$

$$\text{. планка погрешности экспрессии} = 2^{\text{Exp.(Ig)} + \text{SD Exp.(Ig)}} \text{ или } 2^{\text{Exp.(Ig)} + \text{SEM Exp.(Ig)}}$$

Где:

- $\text{Exp.(Ig)} = \log_2$ экспрессии (нормализованной экспрессии) для биологической группы
- SD RQ(Ig) = стандартное отклонение экспрессии (\log_2)
- SEM RQ(Ig) = стандартная ошибка среднего экспрессии (\log_2)

Кратность изменения

Кратность изменения — это мера увеличения или уменьшения экспрессии мишени исследуемой пробы по сравнению с контрольной пробой или биологической группой. Определяется следующим образом:

Если Экспрессия (опытный) > Экспрессия (контрольный)

$$\text{Кратность изменения} = \frac{\text{экспрессия (исследуемой пробы)}}{\text{экспрессия (контроля)}}$$

Если Экспрессия (опытный) < Экспрессия (контрольный)

$$\text{Кратность изменения} = -1 / \left(\frac{\text{экспрессия (исследуемой пробы)}}{\text{экспрессия (контроля)}} \right)$$

Примечание Для вкладки построения графика *экспрессия* определяется либо по относительному количеству, либо по нормализованной экспрессии в зависимости от выбранного режима (см. разд. [Графики на стр. 281](#)). Однако для диаграммы рассеяния и кластерграммы кратность изменения всегда рассчитывается на основании нормализованной экспрессии.

Формулы скорректированных значений

Важно! Данные вычисления применимы только в том случае, если для параметра Analyze Using (Анализ с использованием...) выбрано Samples Only (Только пробы), Sample Biological Group (Биологическая группа пробы) или Biological Group Sample (Проба биологической группы).

Разница между скорректированными значениями и нескорректированными значениями видна только при создании стандартной кривой в рамках прогона ПЦР в режиме реального времени. Для определения вероятности распространения ошибки программное обеспечение использует три формулы:

- стандартная ошибка;
- стандартная ошибка для нормализованной экспрессии;
- стандартная ошибка для нормализованного исследуемого гена (мишени).

Формула расчета стандартной ошибки:

$$\text{Стандартная ошибка} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Где:

- n = количество референсных мишеней (генов);
- SD = стандартное отклонение;

Формула стандартной ошибки для коэффициента нормализации в нормализованной экспрессии:

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{\text{пробы (Ссылка 1)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{пробы (Ссылка 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{пробы (Ссылка 2)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{пробы (Ссылка 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{пробы (Ссылка n)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{пробы (Ссылка n)}}}\right)^2}$$

Где:

- n = количество референсных мишеней;
- SE = стандартная ошибка;
- NF = коэффициент нормализации;
- RQ = относительное количество;

Формула стандартной ошибки для нормализованного интересующего гена:

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

Где:

- SE = стандартная ошибка;
- GOI = исследуемый ген (одна мишень)
- NF = коэффициент нормализации;
- n = количество референсных мишеней;

Расчет доверительного интервала для анализа биологических групп

При проведении анализа биологических групп, т.е. если для параметра Analyze Using (Анализ с использованием...) выбрано значение Biological Groups Only (Только биологические группы), доверительные интервалы рассчитываются для относительного количества и относительной нормализованной экспрессии.

Доверительные интервалы рассчитываются в логарифмическом масштабе на основе t-распределения по следующей формуле:

$$CI = \bar{X} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Где:

- \bar{X} = средняя экспрессия для уровней экспрессии в логарифмическом масштабе в пробах биологической группы
- SD = стандартное отклонение для уровней экспрессии в логарифмическом масштабе в пробах биологической группы
- n = количество проб в биологической группе
- t = определяется исходя из t-распределения с учетом количества степеней свободы и уровня значимости (альфа)

Примечание Уровень значимости (альфа) можно задать с помощью поля порога P-значения на вкладке Graphing (Построение графиков).

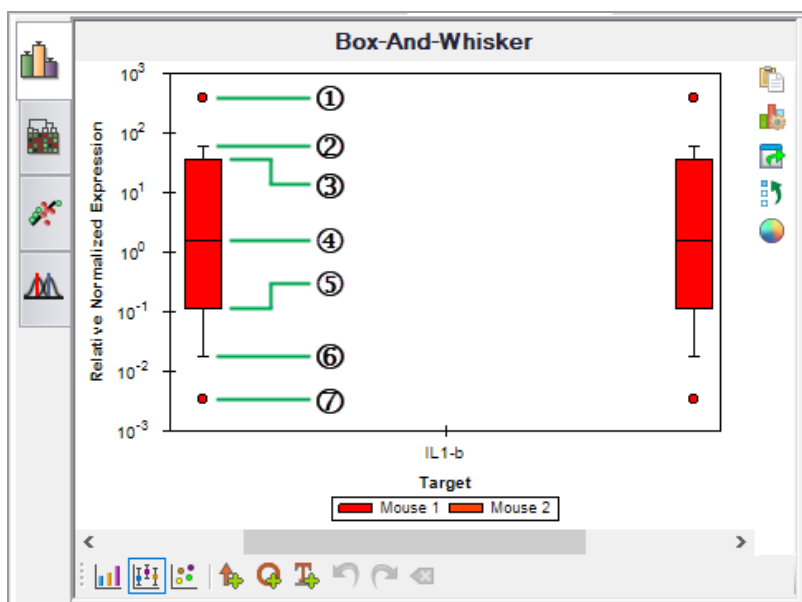
После расчета доверительных интервалов они преобразуются в линейный масштаб и включаются в таблицу данных экспрессии генов и гистограмму на вкладке Graphing (Построение графиков).

Расчеты для диаграммы «ящик с усами»

На диаграмме «ящик с усами» отображается распределение значений экспрессии в рамках биологической группы. Данные представляются по квартилям. 1^й и 3^й квартили — это нижняя и верхняя границы «ящика», соответственно. Медиана обозначается сплошной линией, проходящей через «ящик». «Усы» показывают наименьшее и наибольшее значения набора данных, не являющиеся выбросами. Выбросы — это значения, превышающие 1^й и 3^й квартили на 1,5 межквартильной широты.

Примечание Если биологическая группа содержит только одну пробу, она обозначается точкой, что говорит о наличии только одного элемента данных.

Диаграмма «ящик с усами», представленная ниже, показывает, как выглядят эти данные.



Условные обозначения

1. Выброс. Значение этого выброса $> Q3 + (1,5 \times [Q3 - Q1])$.

Примечание При наведении курсора на точку данных отображается всплывающая подсказка с именем пробы и значением относительного количества либо нормализованной экспрессии, в зависимости от выбранного режима.

2. Верхняя граница области без выбросов
3. Верхний/3-й квартиль (Q3). 75 % значений экспрессии меньше Q3.

4. Медианное, или центральное, значение среди значений экспрессии, расположенных в ранговом порядке.

5. Нижний/1-й квартиль (Q1). 25 % значений экспрессии меньше Q1.

6. Нижняя граница области без выбросов

7. Выброс. Значение этого выброса $< Q1 - (1,5 \times [Q3 - Q1])$.

Приложение В Контрольные журналы

ПО CFX Maestro Dx, Security Edition создает контрольные журналы для файлов данных и файлов исследования гена (файлы .rgcd и .mgxd соответственно). Любые изменения, внесенные в защищенные файлы данных и файлы исследования гена, и все действия, выполняемые с ними, сохраняются в контрольном журнале файла при сохранении файла. CFX Maestro Dx SE создает отдельный контрольный журнал для каждого файла.

Вы можете выбрать Файл > Сохранить как и сохранить защищенные подписанные или не подписанные файлы данных и файлы исследования гена в другую папку или с другим именем. Новый файл унаследует контрольный журнал от исходного файла. Контрольный журнал нового файла также будет содержать действие «Сохранить как». Изменения, внесенные в новый файл, или действия с ним, сохраняются в собственном контрольном журнале. Исходный файл сохраняет контрольный журнал, в котором записываются дальнейшие действия.

В разделе [Подлежащие аудиту события на стр. 331](#) перечисляются подлежащие аудиту события, записываемые данным программным обеспечением.

Просмотр контрольных журналов

Каждый контрольный журнал отображает следующую информацию.

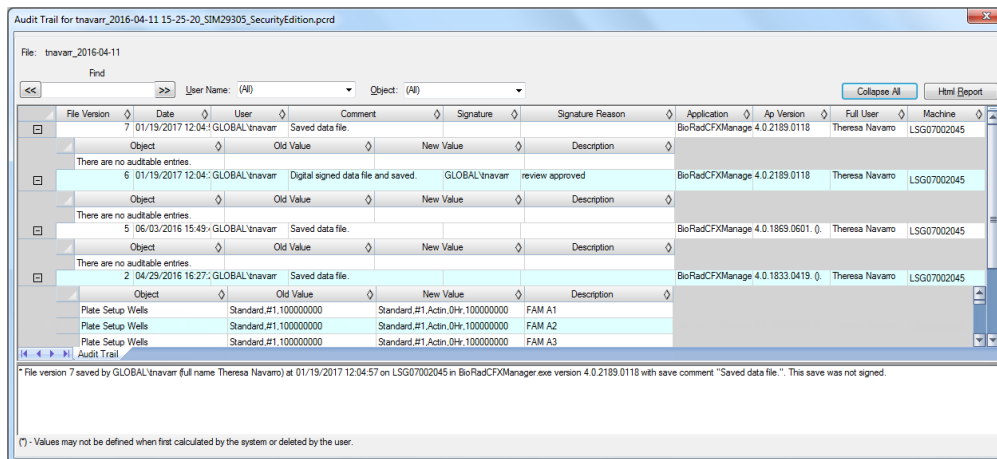
- Сведения заголовка контрольного журнала
 - Версия файла — сохраненная версия файла
 - Дата — дата текущего подлежащего аудиту события
 - Пользователь — домен Windows и имя вошедшего в систему пользователя
 - Комментарий — последний сохраненный комментарий
 - Подпись — электронная подпись последнего человека, который подписал файл
 - Причина для подписи — причина подписания
 - Приложение — CFX Maestro Dx SE
 - Версия приложения — текущая версия приложения CFX Maestro Dx SE
 - Полное имя пользователя — полное имя пользователя, выполнившего вход
 - Компьютер — компьютер, на котором установлено CFX Maestro Dx SE

■ Контрольные сведения об изменениях

- Объект — элемент, который был изменен (элемент аудита)
- Прежнее значение — предыдущее значение
- Новое значение — новое значение
- Описание — описание изменения

Чтобы просмотреть контрольный журнал, выполните следующие действия

- ▶ В открытом файле данных или файле исследования гена выберите Просмотреть > Контрольный журнал. Откроется контрольный журнал файла.



По умолчанию данные отсортированы по дате и времени, все события открываются в развернутом виде. Можно фильтровать представление по имени пользователя и объекту, а также сворачивать развернутое представление, чтобы легко сортировать по любому полю заголовка. Также можно просматривать контрольный журнал как отчет html.

Чтобы сортировать по имени пользователя, выполните следующие действия

- ▶ Выберите целевого пользователя из раскрывающегося списка Имя пользователя.

Чтобы сортировать по объекту, выполните следующие действия

- ▶ Выберите цель из раскрывающегося списка Объект.

Чтобы скрыть полное описание событий

- ▶ Щелкните Свернуть все.

Чтобы сортировать данные в таблице сведений об изменениях, выполните следующие действия

- ▶ Щелкните ромб в заголовке столбца данных, чтобы выполнить сортировку (от А до Z, от наименьшего числа к наибольшему или от наиболее раннего до наиболее позднего).

Чтобы распечатать контрольный журнал, выполните следующие действия

1. Щелкните Отчет HTML, чтобы открыть контрольный журнал в веб-браузере.
2. В окне браузера выполните одно из следующих действий.
 - Выберите Файл > Печать.
 - Щелкните отчет правой клавишей мыши и выберите Печать.

Подлежащие аудиту события

CFX Maestro Dx SE захватывает следующие подлежащие аудиту события в файлах данных и файлах исследования гена.

Подлежащие аудиту события во время прогона

- Время начала прогона
- Редактирование плашки во время прогона
- Редактирование протокола во время прогона
- Время окончания прогона

Подлежащие аудиту события при создании файла данных

- Создан файл данных
- Интерполированные считывания плашки добавлены системой

Подлежащие аудиту события при сохранении файла данных

- Общее
 - Название
 - Подписывание
 - Plate Setup (Настройка плашки)
 - Отображение лунок
 - Проанализированные флуорофоры

- Редактирование плашки
- Режим анализа
- Активная группа лунок ПЦР
- Вкладка Количественный анализ
 - Активный шаг
 - Настройки — Режим определения C_q
 - Настройки — Настройка базовой линии
 - Применена коррекция смещения
 - Настройки — Циклы для анализа
 - Настройки — Режим анализа
 - Настройки — Пороговый уровень базовой линии
- Вкладка Кривая плавления
 - Активный шаг
 - Отображение типа пика
 - Пороговый уровень анализа пика
- Вкладка «Конечная точка»
 - Активный флуорофор/мишень
 - Конечные циклы для усреднения
 - Метод расчета устойчивости
 - Процент диапазона
- Вкладка «Аллельная дискриминация»
 - Флуорофор на оси X и Y
 - Выбор номера цикла
 - Просмотр карты вызовов
- Вкладка «Экспрессия гена» — Все диаграммы
 - Настройки эксперимента — Мишень-ссылка
 - Настройки эксперимента — Контрольная проба

- Настройки эксперимента — Автоэффективность
 - Настройки эксперимента — Эффективность
- Настройки эксперимента — Графики
 - Режим анализа
 - Данные графика
 - Ось X
 - Ось Y
 - Параметр масштабирования
 - Планка погрешности
 - Коэффициент планки погрешности
 - Порог P-значения
- Вкладка «Экспрессия гена» — График по кластерам
 - Объединить по
 - Разделять реплики
- Вкладка «Экспрессия гена» — Диаграмма рассеяния
 - Контрольная биологическая группа
 - Экспериментальная биологическая группа
 - Порог кратности изменения
- Вкладка «Экспрессия гена» — ANOVA
 - Порог P-значения
- Схема плашки — Просмотр/редактирование плашки
 - Настройки — Тип плашки
 - Настройки — Единицы
 - Средства редактирования — Повернуть плашку
 - Группы лунок
 - Флуорофоры плашки
- Схема плашки — Заменить плашку и Применить файл PrimePCR
 - Импорт схемы плашки

Аудит изменений файлов исследования гена

Общее

- Название
- Вкладка «Создать исследование»
 - Добавить/удалить файлы данных
- Вкладка «Анализ исследования»

Приложение С Интеграция с LIMS

ПО CFX Maestro Dx, Security Edition можно настроить на использование с Лабораторной системой управления информацией (LIMS). Для интеграции LIMS программному обеспечению CFX Maestro Dx SE требуется информация о схеме плашки, созданная платформой LIMS (файл LIMS, *.plrn), файл протокола, созданный с использованием CFX Maestro Dx SE (*.prcl), установленное местоположение экспорта данных и установленный формат экспорта.

После завершения запуска CFX Maestro Dx SE создает файл данных (.pcrd) и сохраняет его в указанном месте папки экспорта данных. CFX Maestro Dx SE может также создать совместимый с LIMS файл данных в формате .csv и сохранить его в том же месте.

Создание совместимых с LIMS файлов данных

В этом приложении объясняется, как настроить CFX Maestro Dx SE для создания, сохранения и экспорта совместимых с LIMS файлов данных.

Настройка папки LIMS и параметров экспорта данных

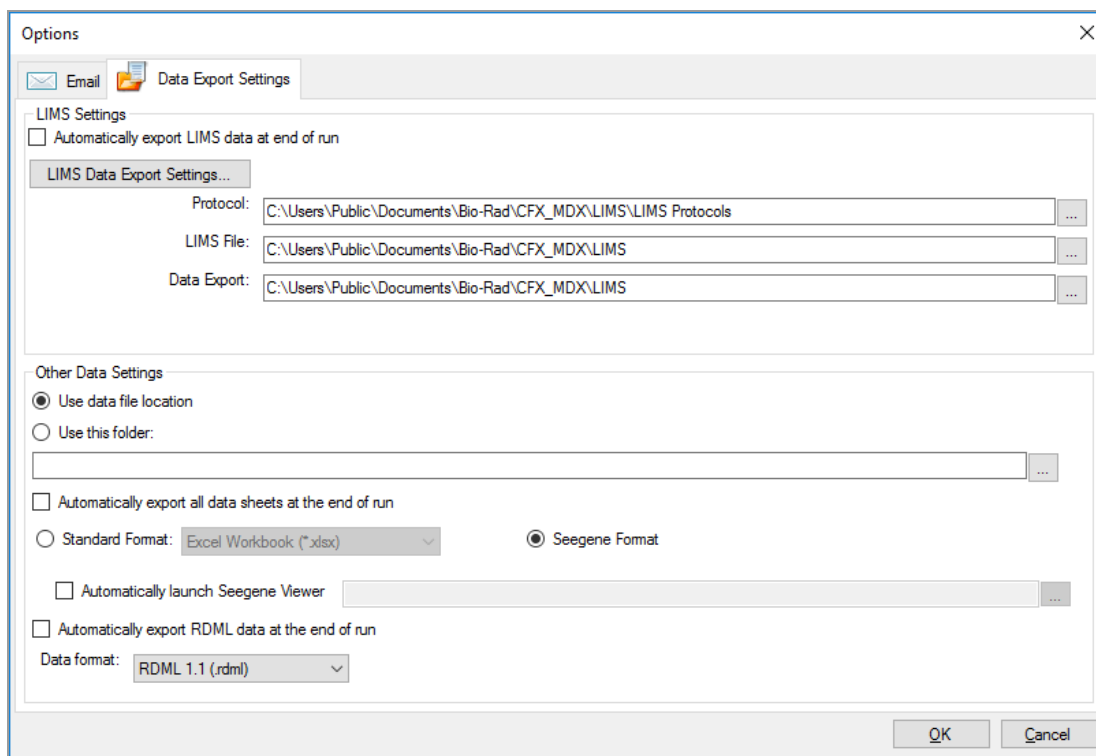
По умолчанию CFX Maestro Dx SE сохраняет протоколы LIMS, файлы и файлы экспорта данных в папку

C: \ Users \ Public \ Documents \ Bio-Rad \ CFX_Dx \ LIMS

Можно настроить сохранение файлов из CFX Maestro Dx SE в другую папку и изменить параметры экспорта для данных LIMS.

Чтобы настроить папку LIMS и параметры экспорта данных

1. В начальном окне выберите Сервис > Параметры.
2. В диалоговом окне Параметры выберите Настройки экспорта данных.



3. (Необязательно) Выберите Автоматически экспортировать данные LIMS в конце прогона.
Программа будет автоматически экспортировать данные LIMS после каждого прогона и сохранять их в указанное местоположение.
4. Чтобы изменить параметры экспорта по умолчанию для данных LIMS, щелкните Настройки экспорта данных LIMS.
Важно! Только данные LIMS, экспортированные как файл .csv, можно импортировать обратно в CFX Maestro Dx SE.
5. В диалоговом окне Настройки формата экспорта данных LIMS выберите требуемые параметры экспорта и щелкните ОК.
6. В диалоговом окне Параметры откройте и выберите папку по умолчанию, в которую требуется сохранять файлы данных LIMS. Можно выбрать другое местоположение для каждого из нижеперечисленных типов файлов.
 - Protocol (Протокол);
 - Файл LIMS
 - Экспорт данных

- Щелкните ОК, чтобы сохранить изменения и закрыть диалоговое окно Параметры.

Создание протокола LIMS

Чтобы запустить прогон LIMS, создайте файл протокола CFX Maestro Dx SE (*.prcl) и сохраните его в специальное местоположение папки протоколов LIMS.

Для получения дополнительной информации см. [Глава 7, Создание протоколов](#).

Создание файла LIMS

Файл LIMS (*.plrn) содержит сведения о схеме плашки и имя файла протокола. Этот файл создается вашей внутренней LIMS. CFX Maestro Dx SE использует файл LIMS для создания файла плашки для использования с файлом протокола.

CFX Maestro Dx SE предоставляет файлы шаблона импорта плашки, которые можно редактировать для создания пользовательских файлов плашки LIMS.

Пояснение. Эта задача должна выполняться специалистом LIMS.

Чтобы создать файл LIMS, выполните следующие действия

- В начальном окне выберите Вид > Показать > Папка файлов LIMS.
- Откройте папку LIMS Templates и выберите файл .csv для импорта во внутреннюю LIMS.
- Используя LIMS, отредактируйте шаблонный файл, заполнив обязательные поля, перечисленные в [Табл. 38](#).
- Выполните одно из следующих действий.
 - Чтобы сохранить изменения для использования в будущем, сохраните файл как файл .csv.
 - Чтобы сохранить изменения и сразу же использовать файл, сохраните файл с расширением .plrn.
 - Сохраните шаблон с расширением имени файла .plrn в папку файлов LIMS.

Важно! CFX Maestro Dx SE может открывать только файл .plrn. Необходимо сохранить файл .csv как .plrn, чтобы запустить прогон LIMS.

Табл. 38. Содержание файла .csv LIMS

| Столбец | Строка | Описание | Содержимое | Назначение |
|---------|--------|------------------------|---|------------------|
| A | 1 | Заголовок плашки | Не редактировать | Предопределенный |
| A, B, C | 2 | Поле/данные/инструкция | Не редактировать | Предопределенный |
| B | 3 | Версия | Не редактировать | Предопределенный |
| B | 4 | Размер плашки | Не редактировать | Предопределенный |
| B | 5 | Тип плашки | Введите «BR White», «BR Clear» или другой калиброванный тип плашки. | Обязательный |
| B | 6 | Режим сканирования | Введите «Только SYBR/FAM», «Все каналы» или «FRET» | Обязательный |
| B | 7 | Единицы | Введите один из следующих вариантов: «число копий», «крат разведения», «микромоли», «наномоли», «пикомоли», «фемтомоли», «аттомоли», «миллиграммы», «микрограммы», «нанограммы», «пикограммы», «фемтограммы», «аттограммы» или «проценты» | Обязательный |

Табл. 38. Содержание файла .csv LIMS, продолжение

| Столбец | Строка | Описание | Содержимое | Назначение |
|---------|--------|---|---|------------------|
| B | 8 | Идентификатор прогона | Введите краткое описание или штрихкод, идентифицирующие данный прогон (максимум 30 символов, запятыя запрещены) | Необязательный |
| B | 9 | Примечание к прогону | Введите описание прогона | Необязательный |
| B | 10 | Протокол прогона | Введите имя файла протокола в точности так, как оно указано | Обязательный |
| A | 11 | Файл данных | Введите имя файла данных | Необязательный |
| A | 12–15 | Подлежит уточнению/пустой | Не редактировать | Предопределенный |
| A | 16 | Данные плашки | Не редактировать | Предопределенный |
| A | 17–113 | Позиция лунки | Не редактировать | Предопределенный |
| B–G | | Краситель Ch1, краситель Ch2, краситель Ch3, краситель Ch4, краситель Ch5, FRET | Введите одно название откалиброванного красителя (например, FAM) для каждого используемого канала | Обязательный |

Табл. 38. Содержание файла .csv LIMS, продолжение

| Столбец | Строка | Описание | Содержимое | Назначение |
|---------|--------|---|--|----------------------------------|
| H | | Тип пробы | Введите один из следующих типов: Unknown (Неизвестный), Standard (Стандартный), Positive Control (Положительный контроль), Negative Control (Отрицательный контроль), NTC или NRT | Обязательный |
| I | | Название пробы | Введите название пробы | Необязательный |
| J-O | | Мишень CH1, мишень CH2, мишень CH3, мишень CH4, мишень CH5, мишень FRET | Введите название мишени для каждого используемого канала | Необязательный |
| P | | Имя набора | Введите название биологического сета | Необязательный |
| Q | | Повторность | Введите положительное целое число для каждого набора повторностей. Значение не должно быть нулевым | Необязательный |
| R-W | | Количество CH1, количество CH2, количество CH3, количество CH4, количество CH5, количество FRET | Введите значения количества для любых стандартов. Введите концентрацию в десятичной форме | Обязательный для всех стандартов |

Табл. 38. Содержание файла .csv LIMS, продолжение

| Столбец | Строка | Описание | Содержимое | Назначение |
|---------|--------|--------------------|--|----------------|
| X | | Примечание к лунке | <p>Введите примечание к лунке (не более 20 символов)</p> <p>Примечание Хотя при вводе примечаний к лунке с помощью программного обеспечения CFX Maestro Dx SE действует ограничение в 20 символов - если поле примечания к лунке включено в импортированный файл .plm, оно может быть до 500 символов длиной. Однако отображаться в CFX Maestro Dx SE будут только первые 20 символов. Экспортированный файл .pcrd будет содержать все символы в поле Well Note (Примечание к лунке), данные не будут потеряны.</p> | Необязательный |

Табл. 38. Содержание файла .csv LIMS, продолжение

| Столбец | Строка | Описание | Содержимое | Назначение |
|---------|--------|---|---|----------------|
| Y-AD | | Цвет лунки Ch1, цвет лунки Ch2, цвет лунки Ch3, цвет лунки Ch4, цвет лунки Ch5, цвет лунки FRET | Введите любой определяемый пользователем цвет стилия линии в 32-разрядном целочисленном (argb) десятичном формате | Необязательный |

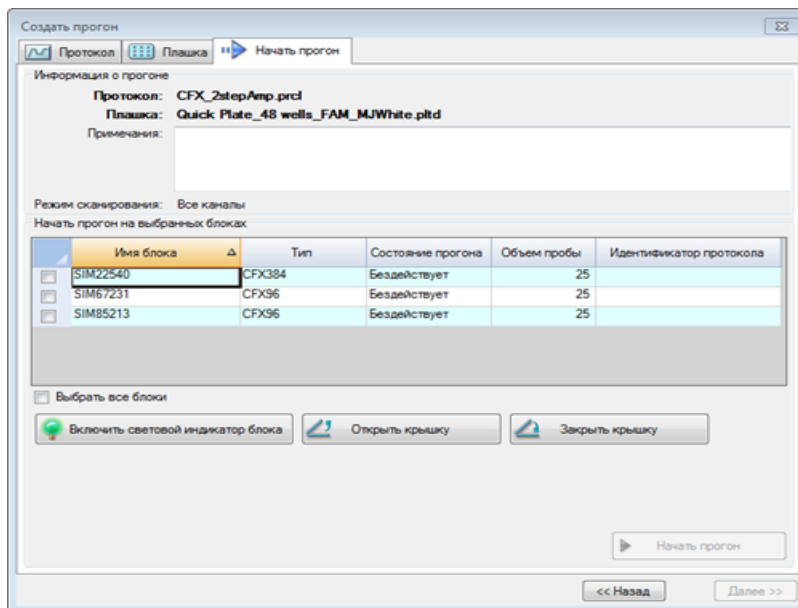
Запуск прогона LIMS

Чтобы запустить прогон LIMS, выполните следующие действия

1. Выполните одно из следующих действий, чтобы открыть файл LIMS .plrn:
 - В начальном окне выберите Вид > Показать > Папка файлов LIMS и выберите целевой файл .plrn.
 - В начальном окне выберите Файл > Открыть > Файл LIMS и откройте целевой файл .plrn.

Файл открывает на вкладке Создать прогон в мастере Настройки прогона. Вкладка Начать прогон отображает информацию об эксперименте, который будет проведен. На ней также отображаются подключенный блок или блоки прибора, на которых можно выполнить эксперимент.

2. На вкладке Начать прогон выберите прибор и щелкните Начать прогон.



Экспорт данных в LIMS

По завершении прогона CFX Maestro Dx SE генерирует файл данных (.prcd) и сохраняет его в определенное местоположение папки для экспортируемых данных.

Чтобы экспортировать файл данных в LIMS, выполните следующие действия

- ▶ Откройте файл .prcd и выберите Экспорт > Экспорт в папку LIMS.

Пояснение. При выборе «Автоматически экспортировать данные после прогона» в параметрах LIMS, CFX Maestro Dx SE создает LIMS-совместимый файл данных в формате .csv и сохраняет его в той же папке.

Приложение D Поиск и устранение неполадок ПО CFX Maestro Dx, Security Edition

В этом приложении представлены рекомендации по устранению неполадок, которые могут возникнуть при обновлении или запуске ПО CFX Maestro Dx, Security Edition.

Внесение файлов и папок ПО CFX Maestro Dx, Security Edition в белый список

Для защиты от вирусов и вредоносных программ ваш ИТ-отдел мог принять очень жесткие меры безопасности программного обеспечения. Эти меры могут повлиять на время обновления или запуска CFX Maestro Dx SE.

Чтобы повысить производительность CFX Maestro Dx SE, Bio-Rad рекомендует внести в белый список следующие файлы и папки в настройках брандмауэра антивирусного программного обеспечения, установленного на компьютере CFX Maestro Dx SE:

Папки

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\ProgramData\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx

Файлы

- Все файлы .exe, расположенные в папке C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- Файлы R.exe и Rscript.exe (находятся в папке C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx\R\R-3.3.1\bin)

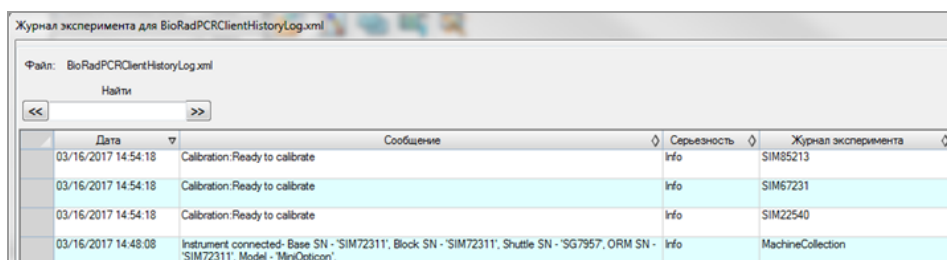
Журнал приложений

Перед запуском нового цикла система CFX Opus Dx инициирует тест самодиагностики, чтобы убедиться, что все системы работают в соответствии со спецификациями. Программа записывает результаты этой проверки в Run Log (Журнал прогонов) и файл Application Log (Журнал приложений). В случае обнаружения проблемы в одном или более экспериментах откройте журналы прогонов и приложений, чтобы выяснить, когда началась проблема.

CFX Maestro Dx SE Dx отслеживает состояние прибора во время прогона и записывает данные в Журнал приложения. Используйте эти журналы для отслеживания событий, которые происходят в приборе и программном обеспечении, и для решения проблем.

Чтобы открыть Журнал приложения, выполните следующие действия

- ▶ В начальном окне выберите Вид > Журнал приложения.



The screenshot shows a window titled 'Журнал эксперимента для BioRadPCRCClientHistoryLog.xml'. It contains a search bar with the text 'Найти' and navigation arrows. Below is a table with the following data:

| Дата | Сообщение | Серьезность | Журнал эксперимента |
|---------------------|--|-------------|---------------------|
| 03/16/2017 14:54:18 | Calibration Ready to calibrate | Info | SIM85213 |
| 03/16/2017 14:54:18 | Calibration Ready to calibrate | Info | SIM67231 |
| 03/16/2017 14:54:18 | Calibration Ready to calibrate | Info | SIM22540 |
| 03/16/2017 14:48:08 | Instrument connected- Base SN - 'SIM72311', Block SN - 'SIM72311', Shuttle SN - 'SG7957', ORM SN - 'SIM72311', Model - 'MiniOption'. | Info | MachineCollection |

Чтобы просмотреть журнал приложения в виде файла HTML, нажмите кнопку «Отчет в формате HTML».

Извлечение файлов журнала приложений и микропрограмм

Журналы приложений и микропрограмм содержат подробную информацию о действиях, выполненных во время использования программного обеспечения, и производительности прогонов. В этих журналах также регистрируются все ошибки программного обеспечения или микропрограмм, возникающие во время работы программного обеспечения или прибора.

Чтобы получить доступ к файлам журнала приложений и прошивки:

1. На панели «Обнаруженные приборы» щелкните инструмент правой кнопкой мыши.
2. Выберите «Извлечь файлы журнала».
3. В диалоговом окне «Обзор папки» выберите сетевую папку или папку на локальном диске для сохранения файлов журнала.

Примечание Папка называется «Журналы».

4. Щелкните «ОК», чтобы сохранить файлы.

Важно! Сохранение файла журнала с тем же именем, что и у существующего файла журнала, перезапишет существующий файл журнала.

Решение проблем

Как правило, проблемы обмена данными между программным обеспечением и прибором могут быть решены путем перезапуска компьютера и системы. Перед перезапуском обязательно сохраните любую текущую работу.

Примечание Убедитесь, что на компьютере достаточно оперативной памяти и свободного дискового пространства. Минимальный объем ОЗУ — 4 ГБ, минимальное пространство на диске — 128 ГБ.

Сбой питания

В случае сбоя питания прибор и компьютер выключаются. При кратковременном сбое питания прибор возобновит выполнение протокола, но в журнале событий будет отмечен сбой питания. В зависимости от настроек компьютера и длительности отключения питания прибор и программа попытаются продолжить прогон в зависимости от этапа протокола.

- Если выполняется шаг протокола, на котором не происходит чтение плашки, прибор возобновляет выполнение протокола сразу же после подачи электропитания.
- Если выполняется шаг протокола, на котором происходит чтение плашки, прибор подождет перезапуска программы и восстановления связи для сбора данных. В такой ситуации протокол

продолжится только в том случае, если программное обеспечение не будет отключено компьютером. После запуска компьютера и программного обеспечения продолжится выполнение протокола.

Передача файлов на компьютер CFX Maestro Dx SE

Можно передавать файлы данных и файлы журналов, расположенные на приборе, на жесткий диск подключенного компьютера CFX Maestro Dx SE.

Пояснение. На компьютер из базы прибора передаются все файлы папки данных реального времени.

Примечание С приборов CFX Orus Dx можно передать только файлы журналов. Все файлы журналов на приборе передаются на компьютер.

Чтобы получить файлы от прибора, выполните следующие действия

1. На панели «Обнаруженные приборы» в начальном окне щелкните правой клавишей мыши целевой прибор и выберите Извлечь файлы данных.
2. Выберите местоположение папки для сохранения извлекаемых файлов.
3. Щелкните «ОК».

Установка ПО CFX Maestro Dx, Security Edition вручную

Чтобы установить CFX Maestro Dx SE вручную, выполните следующие действия

1. Если требуется, отсоедините все подключенные приборы от компьютера.
Найдите на компьютере CFX Maestro Dx SE USB-кабель прибора и отсоедините его. Конец, подключенный к прибору, может остаться на месте.
2. Выполните вход в компьютер CFX Maestro Dx SE с правами администратора.
3. Вставьте USB-накопитель с CFX Maestro Dx SE в порт USB компьютера.
4. В Проводнике Windows найдите и откройте диск USB CFX Maestro Dx SE.
5. Откройте папку CFX и дважды щелкните CFXMaestroDxSetup.exe для установки CFX Maestro Dx SE.
6. Выполните указания на экране для установки программного обеспечения.

По завершении на экране компьютера появится экран-заставка Bio-Rad ПО CFX Maestro Dx, Security Edition, и на рабочем столе появится значок Bio-Rad ПО CFX Maestro Dx, Security Edition.

7. безопасно извлеките USB-накопитель с программным обеспечением и запустите CFX Maestro Dx SE.

Переустановка драйверов

Чтобы переустановить драйвера приборов, выполните следующие действия

- ▶ В начальном окне выберите Сервис > Переустановка драйверов приборов.

Примечание Если возникают проблемы связи программного обеспечения с системой реального времени после переустановки драйвером и проверки USB-подключения, обратитесь в техническую поддержку Bio-Rad.

Приложение E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products

This document includes licensing information relating to free, open-source, and public-source software and data (together, the “MATERIALS”) included with or used to develop Bio-Rad products and services. The terms of the applicable free, open-source, and public-source licenses (each an “OPEN LICENSE”) govern Bio-Rad’s distribution and your use of the MATERIALS. Bio-Rad and the third-party authors, licensors, and distributors of the MATERIALS disclaim all warranties and liability arising from all use and distribution of the MATERIALS. To the extent the OSS is provided under an agreement with Bio-Rad that differs from the applicable OSS LICENSE, those terms are offered by Bio-Rad alone.

Bio-Rad has reproduced below copyright and other licensing notices appearing within the MATERIALS. While Bio-Rad seeks to provide complete and accurate copyright and licensing information for all MATERIALS, Bio-Rad does not represent or warrant that the following information is complete, correct, or error-free. MATERIALS recipients are encouraged to (a) investigate the identified MATERIALS to confirm the accuracy of the licensing information provided and (b) notify Bio-Rad of any inaccuracies or errors found in this document so that Bio-Rad may update this document accordingly.

Certain OPEN LICENSES (such as the Affero General Public Licenses, Common Development and Distribution Licenses, Common Public License, Creative Commons Share-Alike License, Eclipse Public License, Mozilla Public Licenses, GNU General Public Licenses, GNU Library/Lesser General Public Licenses, and Open Data Commons Open Database License) require that the source materials be made available to recipients or other requestors under the terms of the same OPEN LICENSE.

The corresponding open source software is available for download from the links in the section that follows.

Software Notices

ZedGraph

Project homepage/download site:

<https://sourceforge.net/projects/zedgraph/>

Bio-Rad source code site:

<https://github.com/bio-rad-lsg-open-source/ZedGraph-5.0.1>

External source code site:

<https://github.com/ZedGraph/ZedGraph>

Project licensing notices:

/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

/sources/ZedGraph/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

Standard Open License Text

LGPL-2.1

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

Version 2.1, February 1999

Copyright (C) 1991, 1999 Free Software Foundation, Inc. 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

[This is the first released version of the Lesser GPL. It also counts as the successor of the GNU Library Public License, version 2, hence the version number 2.1.]

Preamble

The licenses for most software are designed to take away your freedom to share and change it. By contrast, the GNU General Public Licenses are intended to guarantee your freedom to share and change free software--to make sure the software is free for all its users.

This license, the Lesser General Public License, applies to some specially designated software packages--typically libraries--of the Free Software Foundation and other authors who decide to use it. You can use it too, but we suggest you first think carefully about whether this license or the ordinary General Public License is the better strategy to use in any particular case, based on the explanations below.

When we speak of free software, we are referring to freedom of use, not price. Our General Public Licenses are designed to make sure that you have the freedom to distribute copies of free software (and charge for this service if you wish); that you receive source code or can get it if you want it; that you can change the software and use pieces of it in new free programs; and that you are informed that you can do these things.

To protect your rights, we need to make restrictions that forbid distributors to deny you these rights or to ask you to surrender these rights. These restrictions translate to certain responsibilities for you if you distribute copies of the library or if you modify it.

For example, if you distribute copies of the library, whether gratis or for a fee, you must give the recipients all the rights that we gave you. You must make sure that they, too, receive or can get the source code. If you link other code with the library, you must provide complete object files to the recipients, so that they can relink them with the library after making changes to the library and recompiling it. And you must show them these terms so they know their rights.

We protect your rights with a two-step method: (1) we copyright the library, and (2) we offer you this license, which gives you legal permission to copy, distribute and/or modify the library.

To protect each distributor, we want to make it very clear that there is no warranty for the free library. Also, if the library is modified by someone else and passed on, the recipients should know that what they have is not the original version, so that the original author's

reputation will not be affected by problems that might be introduced by others.

Finally, software patents pose a constant threat to the existence of any free program. We wish to make sure that a company cannot effectively restrict the users of a free program by obtaining a restrictive license from a patent holder. Therefore, we insist that any patent license obtained for a version of the library must be consistent with the full freedom of use specified in this license.

Most GNU software, including some libraries, is covered by the ordinary GNU General Public License. This license, the GNU Lesser General Public License, applies to certain designated libraries, and is quite different from the ordinary General Public License. We use this license for certain libraries in order to permit linking those libraries into non-free programs.

When a program is linked with a library, whether statically or using a shared library, the combination of the two is legally speaking a combined work, a derivative of the original library. The ordinary General Public License therefore permits such linking only if the entire combination fits its criteria of freedom. The Lesser General Public License permits more lax criteria for linking other code with the library.

We call this license the "Lesser" General Public License because it does Less to protect the user's freedom than the ordinary General Public License. It also provides other free software developers Less of an advantage over competing non-free programs. These disadvantages are the reason we use the ordinary General Public License for many libraries. However, the Lesser license provides advantages in certain special circumstances.

For example, on rare occasions, there may be a special need to encourage the widest possible use of a certain library, so that it becomes a de-facto standard. To achieve this, non-free programs must be allowed to use the library. A more frequent case is that a free library does the same job as widely used non-free libraries. In this case, there is little to gain by limiting the free library to free software only, so we use the Lesser General Public License.

In other cases, permission to use a particular library in non-free programs enables a greater number of people to use a large body of free software. For example, permission to use the GNU C Library in non-free programs enables many more people to use the whole GNU

operating system, as well as its variant, the GNU/Linux operating system.

Although the Lesser General Public License is Less protective of the users' freedom, it does ensure that the user of a program that is linked with the Library has the freedom and the wherewithal to run that program using a modified version of the Library.

The precise terms and conditions for copying, distribution and modification follow. Pay close attention to the difference between a "work based on the library" and a "work that uses the library". The former contains code derived from the library, whereas the latter must be combined with the library in order to run.

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

TERMS AND CONDITIONS FOR COPYING, DISTRIBUTION AND MODIFICATION

0. This License Agreement applies to any software library or other program which contains a notice placed by the copyright holder or other authorized party saying it may be distributed under the terms of this Lesser General Public License (also called "this License"). Each licensee is addressed as "you".

A "library" means a collection of software functions and/or data prepared so as to be conveniently linked with application programs (which use some of those functions and data) to form executables.

The "Library", below, refers to any such software library or work which has been distributed under these terms. A "work based on the Library" means either the Library or any derivative work under copyright law: that is to say, a work containing the Library or a portion of it, either verbatim or with modifications and/or translated straightforwardly into another language. (Hereinafter, translation is included without limitation in the term "modification".)

"Source code" for a work means the preferred form of the work for making modifications to it. For a library, complete source code means all the source code for all modules it contains, plus any associated interface definition files, plus the scripts used to control compilation and installation of the library.

Activities other than copying, distribution and modification are not covered by this License; they are outside its scope. The act of running a program using the Library is not restricted, and output

from such a program is covered only if its contents constitute a work based on the Library (independent of the use of the Library in a tool for writing it). Whether that is true depends on what the Library does and what the program that uses the Library does.

1. You may copy and distribute verbatim copies of the Library's complete source code as you receive it, in any medium, provided that you conspicuously and appropriately publish on each copy an appropriate copyright notice and disclaimer of warranty; keep intact all the notices that refer to this License and to the absence of any warranty; and distribute a copy of this License along with the Library. You may charge a fee for the physical act of transferring a copy, and you may at your option offer warranty protection in exchange for a fee.

2. You may modify your copy or copies of the Library or any portion of it, thus forming a work based on the Library, and copy and distribute such modifications or work under the terms of Section 1 above, provided that you also meet all of these conditions:

a) The modified work must itself be a software library.

b) You must cause the files modified to carry prominent notices stating that you changed the files and the date of any change.

c) You must cause the whole of the work to be licensed at no charge to all third parties under the terms of this License.

d) If a facility in the modified Library refers to a function or a table of data to be supplied by an application program that uses the facility, other than as an argument passed when the facility is invoked, then you must make a good faith effort to ensure that, in the event an application does not supply such function or table, the facility still operates, and performs whatever part of its purpose remains meaningful. (For example, a function in a library to compute square roots has a purpose that is entirely well-defined independent of the application. Therefore, Subsection 2d requires that any application-supplied function or table used by this function must be optional: if the application does not supply it, the squareroot function must still compute square roots.)

These requirements apply to the modified work as a whole. If identifiable sections of that work are not derived from the Library, and can be reasonably considered independent and separate works in themselves, then this License, and its terms, do not apply to those sections when you distribute them as separate works. But when you

distribute the same sections as part of a whole which is a work based on the Library, the distribution of the whole must be on the terms of this License, whose permissions for other licensees extend to the entire whole, and thus to each and every part regardless of who wrote it.

Thus, it is not the intent of this section to claim rights or contest your rights to work written entirely by you; rather, the intent is to exercise the right to control the distribution of derivative or collective works based on the Library.

In addition, mere aggregation of another work not based on the Library with the Library (or with a work based on the Library) on a volume of a storage or distribution medium does not bring the other work under the scope of this License.

3. You may opt to apply the terms of the ordinary GNU General Public License instead of this License to a given copy of the Library. To do this, you must alter all the notices that refer to this License, so that they refer to the ordinary GNU General Public License, version 2, instead of to this License. (If a newer version than version 2 of the ordinary GNU General Public License has appeared, then you can specify that version instead if you wish.) Do not make any other change in these notices. Once this change is made in a given copy, it is irreversible for that copy, so the ordinary GNU General Public License applies to all subsequent copies and derivative works made from that copy. This option is useful when you wish to copy part of the code of the Library into a program that is not a library.

4. You may copy and distribute the Library (or a portion or derivative of it, under Section 2) in object code or executable form under the terms of Sections 1 and 2 above provided that you accompany it with the complete corresponding machine-readable source code, which must be distributed under the terms of Sections 1 and 2 above on a medium customarily used for software interchange. If distribution of object code is made by offering access to copy from a designated place, then offering equivalent access to copy the source code from the same place satisfies the requirement to distribute the source code, even though third parties are not compelled to copy the source along with the object code.

5. A program that contains no derivative of any portion of the Library, but is designed to work with the Library by being compiled or linked with it, is called a "work that uses the Library". Such a work, in isolation, is not a derivative work of the Library, and

therefore falls outside the scope of this License. However, linking a "work that uses the Library" with the Library creates an executable that is a derivative of the Library (because it contains portions of the Library), rather than a "work that uses the library". The executable is therefore covered by this License. Section 6 states terms for distribution of such executables. When a "work that uses the Library" uses material from a header file that is part of the Library, the object code for the work may be a derivative work of the Library even though the source code is not. Whether this is true is especially significant if the work can be linked without the Library, or if the work is itself a library. The threshold for this to be true is not precisely defined by law. If such an object file uses only numerical parameters, data structure layouts and accessors, and small macros and small inline functions (ten lines or less in length), then the use of the object file is unrestricted, regardless of whether it is legally a derivative work. (Executables containing this object code plus portions of the Library will still fall under Section 6.) Otherwise, if the work is a derivative of the Library, you may distribute the object code for the work under the terms of Section 6. Any executables containing that work also fall under Section 6, whether or not they are linked directly with the Library itself.

6. As an exception to the Sections above, you may also combine or link a "work that uses the Library" with the Library to produce a work containing portions of the Library, and distribute that work under terms of your choice, provided that the terms permit modification of the work for the customer's own use and reverse engineering for debugging such modifications. You must give prominent notice with each copy of the work that the Library is used in it and that the Library and its use are covered by this License. You must supply a copy of this License. If the work during execution displays copyright notices, you must include the copyright notice for the Library among them, as well as a reference directing the user to the copy of this License. Also, you must do one of these things:

a) Accompany the work with the complete corresponding machine-readable source code for the Library including whatever changes were used in the work (which must be distributed under Sections 1 and 2 above); and, if the work is an executable linked with the Library, with the complete machine-readable "work that uses the Library", as object code and/or source code, so that the user can modify the Library and then relink to produce a modified executable containing the modified Library. (It is understood that the user who changes the

contents of definitions files in the Library will not necessarily be able to recompile the application to use the modified definitions.)

b) Use a suitable shared library mechanism for linking with the Library. A suitable mechanism is one that (1) uses at run time a copy of the library already present on the user's computer system, rather than copying library functions into the executable, and (2) will operate properly with a modified version of the library, if the user installs one, as long as the modified version is interface-compatible with the version that the work was made with.

c) Accompany the work with a written offer, valid for at least three years, to give the same user the materials specified in Subsection 6a, above, for a charge no more than the cost of performing this distribution.

d) If distribution of the work is made by offering access to copy from a designated place, offer equivalent access to copy the above specified materials from the same place.

e) Verify that the user has already received a copy of these materials or that you have already sent this user a copy.

For an executable, the required form of the "work that uses the Library" must include any data and utility programs needed for reproducing the executable from it. However, as a special exception, the materials to be distributed need not include anything that is normally distributed (in either source or binary form) with the major components (compiler, kernel, and so on) of the operating system on which the executable runs, unless that component itself accompanies the executable.

It may happen that this requirement contradicts the license restrictions of other proprietary libraries that do not normally accompany the operating system. Such a contradiction means you cannot use both them and the Library together in an executable that you distribute.

7. You may place library facilities that are a work based on the Library side-by-side in a single library together with other library facilities not covered by this License, and distribute such a combined library, provided that the separate distribution of the work based on the Library and of the other library facilities is otherwise permitted, and provided that you do these two things:

a) Accompany the combined library with a copy of the same work based on the Library, uncombined with any other library facilities. This must be distributed under the terms of the Sections above.

b) Give prominent notice with the combined library of the fact that part of it is a work based on the Library, and explaining where to find the accompanying uncombined form of the same work.

8. You may not copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library except as expressly provided under this License. Any attempt otherwise to copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

9. You are not required to accept this License, since you have not signed it. However, nothing else grants you permission to modify or distribute the Library or its derivative works. These actions are

prohibited by law if you do not accept this License. Therefore, by modifying or distributing the Library (or any work based on the Library), you indicate your acceptance of this License to do so, and all its terms and conditions for copying, distributing or modifying the Library or works based on it.

10. Each time you redistribute the Library (or any work based on the Library), the recipient automatically receives a license from the original licensor to copy, distribute, link with or modify the Library subject to these terms and conditions. You may not impose any further restrictions on the recipients' exercise of the rights granted herein. You are not responsible for enforcing compliance by third parties with this License.

11. If, as a consequence of a court judgment or allegation of patent infringement or for any other reason (not limited to patent issues), conditions are imposed on you (whether by court order, agreement or otherwise) that contradict the conditions of this License, they do not excuse you from the conditions of this License. If you cannot distribute so as to satisfy simultaneously your obligations under this License and any other pertinent obligations, then as a consequence you may not distribute the Library at all. For example, if a patent license would not permit royalty-free redistribution of the Library by all those who receive copies directly or indirectly through you, then the only way you could satisfy both it and this

License would be to refrain entirely from distribution of the Library.

If any portion of this section is held invalid or unenforceable under any particular circumstance, the balance of the section is intended to apply, and the section as a whole is intended to apply in other circumstances.

It is not the purpose of this section to induce you to infringe any patents or other property right claims or to contest validity of any such claims; this section has the sole purpose of protecting the integrity of the free software distribution system which is implemented by public license practices. Many people have made generous contributions to the wide range of software distributed through that system in reliance on consistent application of that system; it is up to the author/donor to decide if he or she is willing to distribute software through any other system and a licensee cannot impose that choice. This section is intended to make thoroughly clear what is believed to be a consequence of the rest of this License.

12. If the distribution and/or use of the Library is restricted in certain countries either by patents or by copyrighted interfaces, the original copyright holder who places the Library under this License may add an explicit geographical distribution limitation excluding those countries, so that distribution is permitted only in or among countries not thus excluded. In such case, this License incorporates the limitation as if written in the body of this License.

13. The Free Software Foundation may publish revised and/or new versions of the Lesser General Public License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns.

Each version is given a distinguishing version number. If the Library specifies a version number of this License which applies to it and "any later version", you have the option of following the terms and conditions either of that version or of any later version published by the Free Software Foundation. If the Library does not specify a license version number, you may choose any version ever published by the Free Software Foundation.

14. If you wish to incorporate parts of the Library into other free programs whose distribution conditions are incompatible with these, write to the author to ask for permission. For software which is

copyrighted by the Free Software Foundation, write to the Free Software Foundation; we sometimes make exceptions for this. Our decision will be guided by the two goals of preserving the free status of all derivatives of our free software and of promoting the sharing and reuse of software generally.

NO WARRANTY

15. BECAUSE THE LIBRARY IS LICENSED FREE OF CHARGE, THERE IS NO WARRANTY FOR THE LIBRARY, TO THE EXTENT PERMITTED BY APPLICABLE LAW. EXCEPT WHEN OTHERWISE STATED IN WRITING THE COPYRIGHT HOLDERS AND/OR OTHER PARTIES PROVIDE THE LIBRARY "AS IS" WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. THE ENTIRE RISK AS TO THE QUALITY AND PERFORMANCE OF THE LIBRARY IS WITH YOU. SHOULD THE LIBRARY PROVE DEFECTIVE, YOU ASSUME THE COST OF ALL NECESSARY SERVICING, REPAIR OR CORRECTION.

16. IN NO EVENT UNLESS REQUIRED BY APPLICABLE LAW OR AGREED TO IN WRITING WILL ANY COPYRIGHT HOLDER, OR ANY OTHER PARTY WHO MAY MODIFY AND/OR REDISTRIBUTE THE LIBRARY AS PERMITTED ABOVE, BE LIABLE TO YOU FOR DAMAGES, INCLUDING ANY GENERAL, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE THE LIBRARY (INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOSS OF DATA OR DATA BEING RENDERED INACCURATE OR LOSSES SUSTAINED BY YOU OR THIRD PARTIES OR A FAILURE OF THE LIBRARY TO OPERATE WITH ANY OTHER MATERIALS), EVEN IF SUCH HOLDER OR OTHER PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES.

END OF TERMS AND CONDITIONS

How to Apply These Terms to Your New Libraries

If you develop a new library, and you want it to be of the greatest possible use to the public, we recommend making it free software that everyone can redistribute and change. You can do so by permitting redistribution under these terms (or, alternatively, under the terms of the ordinary General Public License).

To apply these terms, attach the following notices to the library. It is safest to attach them to the start of each source file to most effectively convey the exclusion of warranty; and each file should have at least the "copyright" line and a pointer to where the full notice is found.

<one line to give the library's name and a brief idea of what it does.>

Copyright (C) <year> <name of author>

This library is free software; you can redistribute it and/or modify it under the terms of the GNU Lesser General Public License as published by the Free Software Foundation; either version 2.1 of the License, or (at your option) any later version. This library is distributed in the hope that it will be useful, but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the GNU Lesser General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU Lesser General Public License along with this library; if not, write to the Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Also add information on how to contact you by electronic and paper mail. You should also get your employer (if you work as a programmer) or your school, if any, to sign a "copyright disclaimer" for the library, if necessary. Here is a sample; alter the names:

Yoyodyne, Inc., hereby disclaims all copyright interest in the library `Frob' (a library for tweaking knobs) written by James Random Hacker.

<signature of Ty Coon>, 1 April 1990

Ty Coon, President of Vice

That's all there is to it!

Приложение F Литература

1. Sugimoto et al. (1996). Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes. *Nucleic Acids Research* 24, 4,501–4,505.
2. Breslauer KJ et al. 1986). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3,746–3,750.
3. Hellemans J et al. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biol* 8, R19.
4. Livak JL et al. (1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. *Nature Genetics* 9, 341–342.
5. Pfaffl MW (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29, 2,002–2,007.
6. Vandesompele J et al. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 3, 1–12.
7. Fox J (2008). *Applied Regression Analysis and Generalized Linear Models*. 2nd ed (New York: SAGE Publications, Inc.).

Уведомление об авторском праве Minpack (1999) University of Chicago. Все права сохранены

Повторное распространение и использование в исходной и двоичной формах, с изменениями или без них, разрешается при соблюдении следующих условий.

1. При повторном распространении исходного кода должны сохраняться указанное выше уведомление об авторских правах, этот список условий и следующий отказ от ответственности.
2. При повторном распространении в двоичном виде в документации и/или других материалах, поставляемых при распространении, должны воспроизводиться указанное выше уведомление об авторских правах, этот список условий и следующий отказ от ответственности.
3. Документация конечного пользователя, включенная при повторном распространении (при наличии таковой), должна включать следующее подтверждение:

Приложение F Литература

«Этот продукт включает программное обеспечение, разработанное Чикагским университетом в качестве оператора Аргоннской национальной лаборатории».



Bio-Rad Laboratories, Inc.
4000 Alfred Nobel Drive
Hercules, CA 94547



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette, Франция
Тел.: +33 (0)1 47 95 60 00
Факс: +33 (0)1 47 41 91 33
bio-rad.com



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399
Canada 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23
France 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050
Italy 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670
The Netherlands 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23
Switzerland 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

