

# Sistemas „CFX96 Dx“ ir „CFX96 Deep Well Dx“

## Naudojimo vadovas

REF

1845097-IVD  
1844095-IVD  
1841000-IVD  
12007917

Vadovo laida: 2022 m. gegužės mėn.  
Programinės įrangos laida: 3.1



IŠBANDYTA ETL

**ATITINKA**

UL Std. 61010-1

UL Std. 61010-2-010

UL Std. 61010-2-101

UL Std. 61010-2-081

**SERTIFIKUOTA**

CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-1-12

CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-010

CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-101

CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-081:2015



**BIO-RAD**



# **Sistemas „CFX96 Dx“ ir „CFX96 Deep Well Dx“**

## **Naudojimo vadovas**

**3.1 versija**

**BIO-RAD**

## Bio-Rad techninė pagalba

Bio-Rad techninės pagalbos skyrius JAV dirba nuo pirmadienio iki penktadienio, 5:00–17:00, Ramiojo vandenyno laiku.

**Telefonas:** 1-800-424-6723, 2 variantas

**El. paštas:** Support@bio-rad.com (tik JAV / Kanada)

Techninės pagalbos už JAV ir Kanados ribų kreipkitės į savo vietinį techninės pagalbos biurą arba spustelėkite nuorodą svetainėje [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com).

## Pranešimas

Jokios šio leidinio dalies negalima atkurti ar perduoti bet kokia forma ar bet kokiomis priemonėmis, elektroniniu, mechaniniu, fotokopijavimo, įrašymo ar kitu būdu, arba laikyti informacijos saugojimo ar paieškos sistemoje be rašytinio Bio-Rad leidimo.

Bio-Rad pasilieka teisę bet kuriuo metu keisti savo produktus ir paslaugas. Ši instrukcija gali būti keičiama be išankstinio įspėjimo. Nors Bio-Rad pasirengusi užtikrinti tikslumą, ji neprisiima jokios atsakomybės už klaidas ar netikslumus arba dėl bet kokios žalos, atsiradusios dėl šios informacijos taikymo ar naudojimo.

BIO-RAD yra Bio-Rad Laboratories, Inc. prekių ženklas

BIO-RAD, HARD-SHELL ir MICROSEAL yra Bio-Rad Laboratories, Inc. prekių ženklai tam tikrose jurisdikcijose.

SYBR yra „Thermo Fisher Scientific Inc.“ prekės ženklas. Bio-Rad Laboratories, Inc. turi licenciją parduoti reagentus, kurių sudėtyje yra „SYBR Green I“, skirtus naudoti realiojo laiko PGR, tik tyrimų tikslais.

„EvaGreen“ yra „Biotium, Inc.“ prekių ženklas. Bio-Rad Laboratories, Inc. turi „Biotium, Inc.“ licenciją parduoti reagentus, kurių sudėtyje yra dažų „EvaGreen“, skirtus naudoti realiojo laiko PGR, tik tyrimų tikslais.

Visi čia naudojami prekių ženklai yra atitinkamų jų savininkų nuosavybė.

© „Bio-Rad Laboratories, Inc.“, 2022. Visos teisės saugomos.














## Paskirtis

Sistema „CFX96 Dx“ ir sistema „CFX96 Deep Well Dx“ su „CFX Manager Dx“ programine įranga skirta fluorescencinei PGR atlikti siekiant aptikti ir kiekybiškai įvertinti nukleino rūgšties sekas. Sistemos ir programinė įranga skirtos „in vitro“ diagnostikai naudoti kvalifikuotų laborantų. Sistema skirta naudoti su trečiųjų šalių diagnostikos nukleino rūgščių testais, kurie buvo pagaminti ir paženklinėti diagnostikos tikslais.

## Simbolių žodynas

**Svarbu.** Svarbūs pokyčiai paryškinti!

|   |  |
|---|--|
| <br>Gamintojas                   | <br>Partijos numeris          |
| <br>Sunaudoti iki               | <br>„In vitro“ diagnostikai |
| <br>Temperatūros riba          | <br>Katalogo numeris        |
| <br>Žr. naudojimo instrukcijas | <br>Tyrimų skaičius         |
| <br>Skirta naudoti su          | <br>Serijos numeris         |
| <b>Rx Only</b><br>Naudoti tik pagal receptą   | <br>Sudėtyje yra latekso    |



CE ženklas – Reglamentas (ES)  
2017/746 IVDR

## Vertimai

Produkto dokumentai elektroninėse laikmenose gali būti pateikiami papildomomis kalbomis.

# Turinys

|   |           |
|---|-----------|
| Paskirtis .....   | iii       |
| Simbolių žodynas .....                                      | iii       |
| Vertimai .....  | iv        |
| <b>Atitiktis saugos ir teisės aktų reikalavimams .....</b>  | <b>13</b> |
| Saugos įspėjamieji ženklai .....                            | 13        |
| Saugaus naudojimo techniniai duomenys ir atitiktis .....    | 14        |
| Atitiktis teisės aktų reikalavimams .....                   | 15        |
| Pavojai .....   | 15        |
| Biologiniai pavojai .....                                   | 16        |
| Cheminiai pavojai .....                                     | 17        |
| Sprogimo arba užsiliepsnojimo pavojai .....                 | 17        |
| Elektros pavojai .....                                      | 18        |
| Transportavimas .....                                       | 18        |
| Baterija .....  | 18        |
| Šalinimas .....   | 18        |
| Garantija .....   | 18        |
| <b>1 skyrius. Įvadas .....</b>                              | <b>19</b> |
| CFX Dx PGR aptikimo sistemos .....                          | 20        |
| Sužinokite daugiau .....                                    | 20        |
| <b>2 skyrius. „C1000 Dx“ termociklerio nustatymas .....</b> | <b>21</b> |
| Vietos reikalavimai .....                                   | 21        |
| Techniniai ir erdvės reikalavimai .....                     | 21        |
| Aplinkos reikalavimai .....                                 | 22        |
| Galios reikalavimai .....                                   | 22        |
| Sistemos apžvalga .....                                     | 23        |
| Vaizdas iš priekio .....                                    | 23        |
| Vaizdas iš galo .....                                       | 24        |
| Optinės reakcijos moduliai .....                            | 25        |

|   |           |
|---|-----------|
| Rekomenduojami mėginio tūriai .....                                 | 25        |
| „C1000 Dx“ termociklerio įrengimas .....                            | 26        |
| „C1000 Dx“ termociklerio išpakavimas ir įrengimas .....             | 26        |
| Optinės reakcijos modulio prijungimas .....                         | 27        |
| Transportavimo varžto ištraukimas .....                             | 29        |
| Mėginių plokštelių įdėjimas .....                                   | 30        |
| Prijungtų instrumentų aptikimas .....                               | 32        |
| Reakcijos modulio .....   | 33        |
| „C1000 Dx“ termociklerio išjungimas .....                           | 33        |
| <b>3 skyrius. CFX Manager Dx programinės įrangos diegimas .....</b> | <b>35</b> |
| Sistemos reikalavimai .....   | 36        |
| CFX Manager Dx programinės įrangos diegimas .....                   | 37        |
| Prijungtų instrumentų aptikimas .....                               | 37        |
| Programinės įrangos failai .....                                    | 38        |
| Rekomenduojamos kibernetinio saugumo priemonės .....                | 39        |
| <b>4 skyrius. Darbo erdvė .....</b>                                 | <b>41</b> |
| Langas „Home“ (pagrindinis) .....                                   | 42        |
| Langas „Startup Wizard“ (paleisties vedlys) .....                   | 43        |
| Langas „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) .....              | 44        |
| Langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) .....                | 45        |
| Langas „Data Analysis“ (duomenų analizė) .....                      | 46        |
| <b>5 skyrius. Langas „Home“ (pagrindinis) .....</b>                 | <b>47</b> |
| Langas „Home“ (pagrindinis) .....                                   | 48        |
| Meniu „File“ (failas) komandos .....                                | 49        |
| Meniu „View“ (rodymas) komandos .....                               | 49        |
| Meniu „User“ (vartotojas) komandos .....                            | 50        |
| Meniu „Run“ (paleidimas) komandos .....                             | 51        |
| Meniu „Tools“ (įrankiai) komandos .....                             | 51        |
| Meniu „Help“ (žinynas) komandos .....                               | 52        |
| Įrankių komandos .....  | 52        |
| „Startup Wizard“ (paleisties vedlys) .....                          | 53        |
| Būsenos juosta .....  | 53        |
| Sritis „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) .....          | 54        |

|  |            |
|--|------------|
| Instrumento savybių peržiūra .....   | 58         |
| Prieš pradėdant .....  | 61         |
| Vartotojo nuostatų nustatymas .....  | 61         |
| Reakcijos pagrindinio mišinio sukūrimas .....  | 79         |
| Naujų dažų kalibravimas .....  | 82         |
| <b>6 skyrius. Protokolų kūrimas .....</b>  | <b>85</b>  |
| Langas „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) .....                                   | 86         |
| Meniu „File“ (failas) komandos .....   | 87         |
| Meniu „Settings“ (nuostatos) komanda .....   | 87         |
| Meniu „Tools“ (įrankiai) komandos .....  | 87         |
| Įrankių juostos komandos .....   | 87         |
| Protokolų redagavimo valdikliai .....  | 88         |
| Protokolo kūrimas lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) .....                  | 91         |
| Naujo protokolo failo atvėrimas lange „Protocol Editor“ (protokolo redaktorius) .....    | 91         |
| Esamo protokolo atvėrimas lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) .....          | 93         |
| Naujo protokolo nustatymas .....   | 94         |
| Protokolo veiksmų pridėjimas .....   | 96         |
| Gradiento veiksmo įterpimas .....  | 97         |
| Veiksmo GOTO įterpimas .....   | 98         |
| Lydimosi kreivės veiksmo įterpimas .....   | 98         |
| Plokštelės nuskaitymo veiksmo pridėjimas arba pašalinimas .....                          | 100        |
| Veiksmų parinkčių keitimas .....   | 100        |
| Veiksmo šalinimas .....  | 101        |
| Protokolo kopijavimas, eksportavimas arba spausdinimas .....                             | 101        |
| Protokolų kūrimas su „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) ..... | 102        |
| „Ta Calculator“ (Ta skaičiuotuvas) naudojimas .....                                      | 105        |
| Apie „Ta Calculator“ (Ta skaičiuotuvas) .....  | 105        |
| <b>7 skyrius. Plokštelių paruošimas .....</b>  | <b>111</b> |
| Langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) .....                                     | 112        |
| Meniu „File“ (failas) komandos .....   | 113        |
| Meniu „Settings“ (nuostatos) komandos .....  | 113        |
| Meniu „Editing Tools“ (redagavimo įrankiai) komandos .....                               | 114        |
| Įrankių juostos komandos .....   | 114        |
| Plokštelės failo sukūrimas naudojant „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) .....       | 115        |

|  |            |
|--|------------|
| Naujos plokštelės failo atvėrimas lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) .....                  | 115        |
| Esamo plokštelės failo atvėrimas lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) .....                   | 118        |
| Naujo plokštelės failo nustatymas .....  | 119        |
| Pasirenkamųjų parametrų priskyrimas plokštelės failui .....  | 126        |
| Tikslo priskyrimas šulinėliams .....   | 126        |
| Mėginio pavadinimo priskyrimas šulinėliams .....   | 128        |
| Biologinių rinkinių priskyrimas šulinėliams .....  | 130        |
| Kopijų skaičiaus priskyrimas šulinėliams .....   | 132        |
| Skiedimo serijų priskyrimas standartinių tipų mėginiams .....  | 133        |
| Šulinėlio turinio kopijavimas į kitą šulinėlį .....  | 135        |
| Pastabos pridėjimas prie šulinėlio .....   | 135        |
| Viso šulinėlių turinio išvalymas .....   | 136        |
| Eksperimento nuostatų keitimas .....   | 137        |
| Šulinėlių grupių kūrimas .....   | 140        |
| Pėdsakų stiliaus keitimas .....  | 143        |
| Plokštelės peržiūrėjimas skaičiuoklės formatu .....  | 145        |
| Plokštelės schemos kūrimas, naudojant parinktį „Plate Setup Wizard“ (plokštelės sąrankos vedlys) ..... | 148        |
| Plokštelės „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) naudojimas .....   | 148        |
| <b>8 skyrius. Eksperimentų paleidimas .....</b>  | <b>151</b> |
| Lango „Run Setup“ (paleidimo sąranka) įjungimas .....  | 151        |
| Langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka) .....   | 152        |
| Kortelė „Protocol“ (protokolas) .....  | 154        |
| Kortelė „Plate“ (plokštelė) .....  | 157        |
| Kortelė „Start Run“ (paleidimo pradžia) .....  | 160        |
| Eksperimento paleidimas .....  | 161        |
| Dialogo langas „Run Details“ (paleidimo išsami informacija) .....                                      | 163        |
| Kortelė „Run Status“ (paleidimo būseną) .....  | 164        |
| Kortelė „Real-time Status“ (tikrą laiką būseną) .....  | 166        |
| Kortelė „Time Status“ (laiko būseną) .....   | 169        |
| „PrimePCR“ (PGR pradmenys) eksperimentų atlikimas .....  | 170        |
| <b>9 skyrius. Duomenų analizės apžvalga .....</b>  | <b>173</b> |
| Langas „Data Analysis“ (duomenų analizė) .....   | 173        |
| Duomenų analizės įrankių juosta .....  | 174        |

|  |            |
|--|------------|
| Duomenų analizės meniu juosta .....  | 175        |
| Kortelės išsami informacija .....  | 178        |
| Parinkiklis „Step Number“ (veiksmo numeris) .....                            | 178        |
| Šulinėlių grupių lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) peržiūrėjimas ..... | 179        |
| Šulinėlių turinio keitimas po paleidimo .....                                | 179        |
| Duomenų analizės nuostatos .....   | 181        |
| Ribinės reikšmės koregavimas .....   | 181        |
| Pradinės nuostatos .....   | 181        |
| Analizės režimas .....   | 182        |
| Analizuotini ciklai .....  | 183        |
| Šulinėlių parinkiklis .....  | 184        |
| Šulinėlių parinkiklio pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai .....          | 185        |
| Iš analizės laikinai pašalinami šulinėliai .....                             | 186        |
| Diagramos .....  | 188        |
| Bendrieji pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, skirti diagramoms .....   | 188        |
| Diagramos duomenų kopijavimas į iškarpinę .....                              | 189        |
| Pradinės ribinės reikšmės nuostatų modifikavimas .....                       | 189        |
| Tikslo ir mėginių duomenų rūšiavimas .....                                   | 191        |
| Diagramos srities didinimas .....  | 192        |
| Diagramų kopijavimas į „Microsoft“ failą .....                               | 192        |
| Skaičiuoklės .....   | 193        |
| Skaičiuoklių bendrieji pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai .....         | 194        |
| Eksportas .....  | 195        |
| Visų duomenų lapų eksportavimas .....  | 195        |
| Pasirinktinio eksporto failo sukūrimas .....                                 | 196        |
| Eksportavimas į LIMS aplanką .....   | 197        |
| Duomenų „Seegene“ formatu eksportavimas .....                                | 197        |
| <b>10 skyrius. Išsami duomenų analizės informacija .....</b>                 | <b>199</b> |
| Kortelė „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) .....                      | 200        |
| Fluoroforų parinktys .....   | 200        |
| Dialogo langas „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai) .....                        | 201        |
| Parinktis „Log Scale“ (logaritminė skalė) .....                              | 202        |
| Diagrama „Standard Curve“ (standartinė kreivė) .....                         | 203        |
| Diagramos „Amplification“ (amplifikavimas) meniu parinktys .....             | 204        |

|  |            |
|--|------------|
| Kiekybinio įvertinimo kortelės skaičiuoklė .....                             | 204        |
| Kortelė „Quantification Data“ (kiekybinio įvertinimo duomenys) .....         | 206        |
| Skaičiuoklė „Results“ (rezultatai) .....                                     | 206        |
| Skaičiuoklė „Standard Curve Results“ (standartinės kreivės rezultatai) ..... | 208        |
| Skaičiuoklė „Plate“ (plokštelė) .....  | 209        |
| Skaičiuoklė RFU .....  | 209        |
| Kortelė „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) .....                                 | 210        |
| „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) duomenų koregavimas .....                     | 212        |
| Kortelė „Melt Curve Data“ (lydymosi kreivės duomenys) .....                  | 213        |
| Skaičiuoklė „Melt Peaks“ (didžiausia lydymosi temperatūra) .....             | 213        |
| Skaičiuoklė „Plate“ (plokštelė) .....  | 214        |
| RFU skaičiuoklė .....  | 215        |
| -d(RFU)/dT skaičiuoklė .....   | 216        |
| Kortelė „End Point“ (pabaigos taškas) .....                                  | 217        |
| Rezultatų duomenys .....   | 218        |
| Pabaigos taško duomenų analizės keitimas .....                               | 219        |
| RFU skaičiuoklė, skirta pabaigos taško analizei .....                        | 219        |
| Kortelė „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) .....               | 220        |
| Alelių diskriminacijos duomenų koregavimas .....                             | 221        |
| Diagramos meniu parinktys .....  | 223        |
| „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) skaičiuoklė .....           | 223        |
| Kortelė „Custom Data View“ (pasirinktinių duomenų rodymas) .....             | 225        |
| Pasirinktinių duomenų rodinio sukūrimas .....                                | 226        |
| Kortelė QC (KK) .....  | 227        |
| QC (KK) kriterijų keitimas .....   | 227        |
| Šulinėlių, kurie neatitinka QC (KK), pašalinimas .....                       | 228        |
| Kortelė „Run Information“ (paleidimo išsami informacija) .....               | 229        |
| Duomenų analizės ataskaitos .....  | 230        |
| Duomenų analizės ataskaitų kategorijos .....                                 | 231        |
| Duomenų analizės ataskaitos kūrimas .....                                    | 234        |
| Šulinėlių grupės ataskaitų kūrimas .....                                     | 235        |
| <b>11 skyrius. Geno ekspresijos analizė .....</b>                            | <b>237</b> |
| Plokštelės sąranka geno ekspresijos analizei .....                           | 237        |
| Interaktyvioji plokštelės sąranka .....                                      | 238        |



|  |            |
|--|------------|
| Geno ekspresijos diagramos .....                             | 239        |
| Stulpelinė diagrama .....                                    | 240        |
| Tikslo ir mėginių duomenų rūšiavimas .....                   | 242        |
| Geno ekspresijos duomenų koregavimas .....                   | 243        |
| Eksperimento nuostatos .....                                 | 246        |
| Tikslo stabilumo reikšmė .....                               | 248        |
| Dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu parinktys ..... | 249        |
| Duomenų skaičiuoklė .....                                    | 250        |
| Parinktis „Show Details“ (rodyti išsamią informaciją) .....  | 251        |
| Grupinė diagrama .....                                       | 253        |
| Nuostatos .....  | 253        |
| Dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu parinktys ..... | 253        |
| Duomenų skaičiuoklė .....                                    | 254        |
| Taškinis grafikas .....                                      | 255        |
| Nuostatos .....  | 255        |
| Dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu parinktys ..... | 255        |
| Duomenų skaičiuoklė .....                                    | 256        |
| Rezultatų .....  | 257        |
| Geno tyrimas .....   | 258        |
| Kalibravimas tarp paleidimų .....                            | 258        |
| Dialogo langas „Gene Study“ (geno tyrimas) .....             | 258        |
| Kortelė „Study Setup“ (tyrimo sąranka) .....                 | 259        |
| Geno tyrimo paruošimas .....                                 | 260        |
| Kortelė „Study Analysis“ (tyrimo analizė) .....              | 261        |
| Geno tyrimo ataskaitos kūrimas .....                         | 262        |
| Geno tyrimo ataskaitų kategorijos .....                      | 262        |
| <b>A priedas. Duomenų analizės skaičiavimai .....</b>        | <b>265</b> |
| Reakcijos veiksmingumas .....                                | 265        |
| Santykinis kiekis .....                                      | 266        |
| Santykinis kiekis pasirinkus kontrolę .....                  | 266        |
| Santykinio kiekio standartinis nuokrypis .....               | 267        |
| Koreguotas veiksmingumas Cq (CqE) .....                      | 267        |
| Vidutinis koreguotas veiksmingumas Cq (MCqE) .....           | 267        |
| Normalizavimo koeficientas .....                             | 268        |

|   |            |
|---|------------|
| Normalizuota ekspresija .....   | 269        |
| Normalizuota ekspresija pasirinkus kontrolę .....   | 269        |
| Normalizuotos ekspresijos standartinis nuokrypis .....  | 270        |
| Normalizuota ekspresija, padidinta iki didžiausio ekspresijos lygio .....                                 | 271        |
| Normalizuota ekspresija, pakeista į mažiausią ekspresijos lygį .....                                      | 271        |
| Normalizuota ekspresija, pakeista iki vidutinio ekspresijos lygio .....                                   | 272        |
| Patikslintos normalizuotos ekspresijos standartinis nuokrypis .....                                       | 273        |
| Taisyklė .....  | 273        |
| Koreguotų verčių formulės .....   | 274        |
| <b>B priedas. CFX Manager Dx vartotojų ir vaidmenų valdymas .....</b>                                     | <b>275</b> |
| Vartotojų valdymas .....  | 275        |
| Vartotojų pridėjimas ir šalinimas .....   | 275        |
| Vaidmenų teisių valdymas .....  | 277        |
| Prisijungimas prie CFX Manager Dx programinės įrangos .....   | 278        |
| Vartotojų keitimas .....  | 278        |
| Vartotojų slaptažodžių keitimas .....   | 279        |
| Jūsų vaidmens ir teisių peržiūrėjimas .....   | 279        |
| <b>C priedas. LIMS integravimas .....</b>   | <b>281</b> |
| Su LIMS suderinamų duomenų failų kūrimas .....  | 281        |
| LIMS aplanko ir duomenų eksporto parinkčių nustatymas .....   | 281        |
| LIMS protokolo kūrimas .....  | 282        |
| LIMS failo kūrimas .....  | 283        |
| LIMS paleidimo pradžia .....  | 288        |
| Duomenų eksportavimas į LIMS .....  | 289        |
| <b>D priedas. Trikčių šalinimas. Prisijungimo prie CFX Manager Dx programinės įrangos problemos .....</b> | <b>291</b> |
| Programos žurnalas .....  | 291        |
| Trikčių šalinimas .....   | 293        |
| Nutrūkęs maitinimas .....   | 293        |
| Failų parsisiuntimas į CFX Manager Dx kompiuterį .....  | 295        |
| CFX Manager Dx programinės įrangos įdiegimas rankiniu būdu .....  | 295        |
| Tvarkyklių įdiegimas iš naujo .....   | 296        |
| <b>E priedas. Literatūra .....</b>  | <b>297</b> |

## Atitiktis saugos ir teisės aktų reikalavimams




Jei norite, kad sistema „CFX96 Dx“ arba sistema „CFX96 Deep Well Dx“ su „CFX Manager Dx“ programine įranga, šiame dokumente vadinama Sistema CFX Dx, veiktų tinkamai, „Bio-Rad“ primygtinai rekomenduoja laikytis šioje dalyje ir visoje instrukcijoje pateiktų saugos specifikacijų.

**Svarbu.** Sistemos „CFX96 Dx“ ir „CFX96 Deep Well Dx“ patvirtintos naudoti kaip „in vitro“ diagnostikos (IVD) medicinos prietaisai.


## Saugos įspėjamieji ženklai

Ant prietaiso pritvirtinti įspėjamieji ženklai perspėja apie potencialius sužeidimo arba pakenkimo šaltinius. [1 lentelė](#) paaiškinti visi saugos įspėjamieji ženklai.

**1 lentelė. Saugos įspėjamųjų ženklų reikšmė**

| Piktograma  | Reikšmė   |
|---|---|
|  | <b>Įspėjimas apie žalos sveikatai ar įrangai pavojų</b><br>Jei CFX Dx sistema pradeda eksploatuoti neperskaičius šios instrukcijos, gali kilti kūno sužalojimo pavojus. Tam, kad būtų užtikrintas saugus naudojimas, nenaudokite šio prietaiso būdu, nenurodytu šioje instrukcijoje. Šį prietaisą turi naudoti tik kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai, išmokyti saugiai dirbti su elektros įranga. Visada su visais sistemos komponentais elkitės atsargiai ir lieskite švariomis, sausomis rankomis. |
|  | <b>Įspėjimas apie darbą su biologinį pavojų keliančiomis medžiagomis</b><br>Jeigu dirbama su biologinį pavojų keliančiais mėginiais, laikykitės rekomenduojamų atsargumo priemonių ir gairių bei visų laboratorijoje ir vietovėje taikomų vietinių nurodymų.  |
|  | <b>Įspėjimas apie nudegimų pavojų</b><br>Termocikleris išskiria tiek šilumos, kad gali sukelti sunkių nudegimų. Jo eksploatavimo metu visada dėvėkite apsauginius akinius arba kitą akių apsaugos priemonę. Prieš atidarydami dangtį ir išimdami mėginius, visada palaukite, kol mėginių blokas atvės iki priimtinos temperatūros. Tam, kad išvengtumėte atsitiktinių odos nudegimų, visada laikykitės didžiausio saugaus atstumo.  |

**1 lentelė. Saugos įspėjamųjų ženklų reikšmė (tęsinys)**

| Piktograma  | Reikšmė  |
|---|--|
|  | <b>Įspėjimas apie sprogimo pavojų</b><br>Mėginių blokai įprastos eksploatacijos metu gali įkaisti tiek, kad skysčiai užvirtų ir sprogtų. |

## Saugaus naudojimo techniniai duomenys ir atitiktis

**2 lentelė** išvardytos „Bio-Rad“ CFX Dx tikralaikių PGR aptikimo sistemų saugaus naudojimo techninės sąlygos. Su šiais instrumentais turi būti naudojami ekranuoti kabeliai, kad būtų užtikrintas A klasės prietaisams FCC nustatytų ribinių verčių laikymasis.

**2 lentelė. Saugaus naudojimo sąlygos**

| Naudojimo aspektas         | Saugaus naudojimo sąlygos                        |
|----------------------------|--|
| Nominalioji įvesties galia | 100–240 V kintamoji srovė, 50–60 Hz, maks. 850 W |
| Viršįtampio kategorija     | II   |
| Saugikliai                 | 10 A, 250 V, 5 x 20 mm, greitas smūgis (2 vnt.)  |
| Aplinka                    | Naudoti tik patalpoje                            |
| Eksplotavimo temperatūra   | 15–31 °C   |
| Laikymo temperatūra        | –20–60 °C  |
| Santykinė drėgmė           | Iki 80 % (nesikondensuoja)                       |
| Aukštis virš jūros lygio   | Iki 2 000 metrų virš jūros lygio                 |
| Taršos laipsnis            | 2  |

## Atitikties teisės aktų reikalavimams

„CFX Dx“ tikralaikė PGR aptikimo sistema buvo išbandyta ir nustatyta, kad ji atitinka visus taikytinus šių saugos ir elektromagnetinio suderinamumo standartų reikalavimus:

- IEC 61010-1:2010 (3 leidimas), EN 61010-1:2010 (3 leidimas). Elektrinė matavimo, valdymo ir laboratorinė įranga. 1 dalis. Bendrieji reikalavimai
- IEC 61010-2-010:2014, EN 61010-2-010:2014. Saugos reikalavimai, keliami elektrinei matavimo, valdymo ir laboratorinei įrangai. 2-010 dalis. Ypatingieji reikalavimai, keliami laboratorinei medžiagų kaitinimo įrangai
- IEC 61010-2-081:2015, EN 61010-2-081:2015. Saugos reikalavimai, keliami elektrinei matavimo, valdymo ir laboratorinei įrangai. 2-081 dalis. Ypatingieji reikalavimai, keliami automatinei ir pusiau automatinei laboratorijų įrangai, naudojami analizės ir kitokiems tikslams (įskaitant 1 pakeitimą)
- IEC 61010-2-101:2015 (2 leidimas). Saugos reikalavimai, keliami elektrinei matavimo, valdymo ir laboratorinei įrangai. Ypatingieji reikalavimai, keliami „in vitro“ diagnostikos medicinos įrangai
- IEC 61326-1:2012 (A klasė), EN 61326-1:2013 (A klasė). Elektrinė matavimo, valdymo ir laboratorinė įranga. EMS reikalavimai. 1 dalis. Bendrieji reikalavimai
- IEC 61326-2-6:2012, EN 61326-2-6:2013 (A klasė). Elektrinė matavimo, valdymo ir laboratorinė įranga. EMS reikalavimai. Ypatingieji reikalavimai, keliami „in vitro“ diagnostikos medicinos įrangai

**Svarbu.** Ši įranga generuoja, naudoja ir gali spinduliuoti radijo dažnio energiją, be to, jeigu ji nėra įrengta ir naudojama pagal instrukcijų dokumentus, gali trikdyti radijo ryšius. Eksploatuojant sistemas gyvenamuosiuose rajonuose veikiausiai atsiras žalingųjų trukdžių; tokiu atveju naudotojai turės pašalinti trukdžius savo sąskaita.

## Pavojai

CFX Dx tikralaikė PGR aptikimo sistema skirta saugiai veikti, kai naudojama gamintojo numatytu būdu. Jeigu CFX Dx tikralaikė PGR aptikimo sistema arba bet kuri jos susijusi sudedamoji dalis naudojamos ne pagal gamintojo nurodytą paskirtį, gali prasčiau veikti arba visai neveikti instrumento vidinės apsaugos sistemos. „Bio-Rad Laboratories, Inc.“ neatsako už bet kokį sužalojimą ar žalą, sukeltą naudojant šią įrangą ne tam skirtu būdu, arba dėl instrumento pakeitimų, kurie buvo atlikti ne „Bio-Rad“ ar įgaliotojo atstovo. „CFX Dx“ realiojo laiko PGR sistemos priežiūrą turėtų atlikti tik kvalifikuoti „Bio-Rad“ darbuotojai.

## Biologiniai pavojai

CFX Dx tikralaikė PGR aptikimo sistema yra laboratorinis gaminys. Jeigu yra biologiškai pavojingų mėginių, laikykitės toliau pateiktų rekomendacijų ir visų laboratorijoje ir vietovėje taikomų vietos rekomendacijų.

**Pastaba.** Jokios biologiškai pavojingos medžiagos nėra išleidžiamos įprasto šio instrumento naudojimo metu.

### Bendrosios atsargumo priemonės

- Būtinai vilkėkite laboratorinį chalata, mėvėkite laboratorines pirštines, naudokite apsauginius akinius (uždarus arba su šoniniais skydeliais).
- Rankomis nelieskite burnos, nosies ir akių.
- Prieš dirbdami su galimai užkrečiamosiomis medžiagomis visiškai apsaugokite kūno vietas, kur įsipjovėte arba nusibrozdinote.
- Baigę darbą su bet kokiomis galimai užkrečiamosiomis medžiagomis, prieš išeidami iš laboratorijos kruopščiai nusiplaukite rankas vandeniu ir muilu.
- Prieš dirbdami prie laboratorinio stalo nusisekite laikrodį ir nusiimkite papuošalus.
- Visas galimai užkrečiamąsias medžiagas laikykite nedūžtančiose ir sandariose talpyklėse.
- Prieš išeidami iš laboratorijos, nusivilkite apsauginius drabužius.
- Pirštinėtomis rankomis nerašykite, neatsiliepkite į telefono skambučius, nejunginėkite šviesų ir nelieskite jokių kitų daiktų, kuriuos galėtų paliesti kiti, pirštinių nemūvintys asmenys.
- Dažnai keiskite pirštines. Regimai užterštas pirštines tuojau pat nusimaukite.
- Medžiagas, kurių neįmanoma tinkamai nukenksminti, saugokite nuo galimai užkrečiamųjų medžiagų poveikio.
- Baigę dirbti su biologiškai pavojingomis medžiagomis, tinkamu dezinfekantu (pavyzdžiui, 1:10 buitinių chlorkalkių tirpalu) nukenksminkite darbo vietą.

### Konkrečios IVD apsaugos priemonės

- Visi pacientų mėginiai gali būti biologiškai pavojingi ir turi būti atitinkamai tvarkomi laikantis bendrųjų atsargumo priemonių.
- Jokios biologiškai pavojingos medžiagos nėra išleidžiamos įprasto šio prietaiso naudojimo metu.

## Paviršiaus nukenksminimas



**ĮSPĖJIMAS!** Norėdami išvengti elektros smūgio, prieš atlikdami nukenksminimo procedūras instrumentą visuomet išjunkite ir ištraukite kištuką iš elektros lizdo.

Šias sritis galima valyti bet kuriuo ligoninės laipsnio baktericidiniu, virucidiniu ar fungicidiniu dezinfekantu:

- Išorinis dangtelis ir ašis
- Vidinis reakcijos bloko paviršius ir reakcijos bloko šulinėliai
- Valdymo skydas ir ekranas

Kaip paruošti ir naudoti dezinfekantą, žr. gaminio gamintojo pateiktose instrukcijose. Panaudoję dezinfekantą reakcijos bloką ir reakcijos bloko šulinėlius visuomet skalaukite kelis kartus vandeniu. Po skalavimo vandeniu reakcijos bloką ir reakcijos bloko šulinėlius visuomet kruopščiai išdžiovinkite.

**Svarbu.** Nenaudokite šveičiamųjų valiklių, korozinių ploviklių ar stiprių šarminių tirpalų. Šios priemonės gali subraižyti paviršius ar pažeisti reakcijos bloką, todėl gali sumažėti temperatūros kontrolės tikslumas.

## Biologiškai pavojingų medžiagų šalinimas

Visas toliau išvardytas galimai užterštas medžiagas šalinkite laikydamiesi taikomų vietinių laboratorijos, regioninių ir nacionalinių taisyklių:

- klinikinius mėginius,
- reagentus,
- panaudotus reakcijos indus ar kitas sąnaudines priemones, kurios gali būti užterštos

## Cheminiai pavojai

„CFX Dx“ realiojo laiko PGR aptikimo sistemoje nėra potencialiai pavojingų cheminių medžiagų.

## Sprogimo arba užsiliepsnojimo pavojai

„CFX Dx“ realiojo laiko PGR aptikimo sistema nekelia jokio neįprasto su užsiliepsnojimu ar sprogimu susijusio pavojaus, jei naudojama laboratorijose tinkamu būdu pagal „Bio-Rad“ nurodymus.

## Elektros pavojai

„CFX Dx“ realiojo laiko PGR aptikimo sistema nekelia operatoriams jokio neįprasto su elektros srove susijusio pavojaus, jei yra tinkamai įrengta bei eksploatuojama be fizinių modifikacijų ir yra prijungta prie reikiamos specifikacijos maitinimo šaltinio.

## Transportavimas

Prieš perkeliant ar transportuojant CFX Dx tikralaikę PGR aptikimo sistemą, jos optinės reakcijos modulį arba termociklerio pagrindinį bloką, būtina atlikti nukenksminimo procedūras. Visada perkeltite ar transportuokite CFX Dx tikralaikę PGR aptikimo sistemą ir optinės reakcijos modulius atskirose pakuotėse, naudodami pakavimo medžiagas, su kuriomis jie buvo pristatyti ir kurios apsaugos prietaisus nuo pažeidimų. Jei negalite rasti tinkamų pakuočių, kreipkitės į savo vietinį „Bio-Rad“ padalinį.

## Baterija

Sistema CFX Dx termocikleris naudoja 3 V ličio metalo diskinę bateriją ir 4,8 V nikelio metalo hidrido įkraunamąjį akumuliatoriaus bloką, kad palaikytų laiko nuostatas ir paleistų duomenis patyrus kintamosios srovės galios nuostolių. Jei laikas ir (arba) duomenų paleistis nelieka nustatyti išjungus įrenginį, gali būti, kad senka baterijos. Jei taip atsitinka, kreipkitės į „Bio-Rad“ techninės pagalbos.

Nebandykite keisti baterijų. Susisiekite su „Bio-Rad“ technine pagalba.

## Šalinimas

CFX Dx tikralaikėje PGR aptikimo sistemoje yra elektrinių medžiagų; jos negali būti šalinamos kaip nerūšiuotos atliekos ir turi būti surenkamos atskirai pagal Europos Sąjungos direktyvą 2012/19/ES dėl elektros ir elektroninės įrangos atliekų (EEJA direktyva). Prieš šalinimą, susisiekite su vietos „Bio-Rad“ atstovu, kuris pateiks jūsų šaliai skirtus nurodymus.

## Garantija

CFX Dx tikralaikiui PGR aptikimo sistemai ir su ja susijusiems priedams taikoma standartinė „Bio-Rad“ garantija. Dėl išsamesnės informacijos apie garantiją susisiekite su vietos „Bio-Rad“ atstovybe.



# 1 skyrius. Įvadas

„Bio-Rad“ CFX Dx tikralaikės PCR (PGR) amplifikavimo sistemos, skirtos „in vitro“ diagnostikai (IVD), turi naujausias technologijas, kurios leidžia atlikti PCR (PGR) kiekybinį įvertinimą, naudojant standartinę kreivę, geno ekspresijos analizę, alelinę diskriminaciją ir galutinio taško analizę.

„CFX Dx“ sistemos sudarytos iš dviejų aparatūros modulių ir programinės įrangos:

- „CFX96 Dx“ arba „CFX96 Deep Well Dx“ optinės reakcijos modulio (ORM)
- „C1000 Dx“ termociklerio
- „CFX Manager Dx“ programinės įrangos

Naudodami su CFX Manager Dx programine įranga, galite atlikti šiuos veiksmus:

- Iš karto gauti rezultatus lange „Startup Wizard“ (paleisties vedlys)
- Įvesti ar redaguoti šulinėlių informaciją prieš paleidimą, jo metu arba po jo
- Aiškinti kompleksinius duomenis ir vykdyti genų ekspresijos tyrimą, naudodamiesi tokiais įrankiais kaip „PrimePCR“ (PGR pradmenys) kontrolinių medžiagų analizė ir etaloninio geno parinkiklio įrankis
- Paruošti išsamias PCR (PGR) realiuoju laiku duomenų ataskaitas

## CFX Dx PGR aptikimo sistemos

3 lentelė išvardyti „Bio-Rad“ IVD PCR (IVD PGR) produktai, kurie siunčiami su Sistema CFX Dx.

**Pastaba.** Sistema CFX Dx siunčiama su CFX Manager Dx programine įranga, „C1000 Dx“ termocikleriu ir (arba) „CFX96 Dx“ arba „CFX96 Deep Well Dx“ optinės reakcijos moduliui.

**3 lentelė. CFX IVD PGR aptikimo sistemos**

| Katalogo Nr. | Aprašymas                              |
|--------------|--|
| 1845097-IVD  | „CFX96 Dx ORM“*                        |
| 1844095-IVD  | „CFX96 Deep Well Dx ORM“               |
| 1841000-IVD  | „C1000 Dx“ termocikleris               |
| 12007917     | CFX Manager Dx programinė įranga, v3.1 |

\* Optinės reakcijos modulis

## Sužinokite daugiau

Šiame dokumente paaiškinama, kaip saugiai įdiegti ir naudoti „CFX96 Dx“ ir „CFX96 Deep Well Dx“ tikralaikės PGR aptikimo sistemas, turinčias „CE-IVD“ ženklą. Šiame dokumente šios sistemos vadinamos Sistema CFX Dx. Šiame dokumente taip pat aiškinama, kaip naudoti CFX Manager Dx programinę įrangą su Sistema CFX Dx.

**Patarimas.** Spustelėkite „Bio-Rad“ logotipą, esantį bet kurio CFX Manager Dx programinė įranga lango viršutiniame dešiniajame kampe, kad atidarytumėte „Bio-Rad“ interneto svetainę. Šioje interneto svetainėje pateikiamos nuorodos į technines pastabas, instrukcijas, produkto informaciją ir techninę pagalbą. Šioje interneto svetainėje taip pat pateikiama daug techninių išteklių apie įvairius metodus ir programas, susijusias su PCR (PGR), realiojo laiko PCR (PGR) ir geno ekspresija.

## 2 skyrius. „C1000 Dx“ termociklerio nustatymas

Šiame skyriuje aiškinama, kaip nustatyti Sistema CFX Dx „C1000 Dx“ termociklerį jūsų vietoje.

**Patarimas.** Prieš nustatydami termociklerį, susipažinkite su termocikleriu ir jo optinės reakcijos modulių, prievadais ir priedais.

### Vietos reikalavimai

Šioje dalyje pateikiami patalpos, aplinkos ir galios reikalavimai, kurių reikia laikytis norint sėkmingai sumontuoti ir naudoti Sistema CFX Dx termociklerį.

**Pastaba.** Sistema CFX Dx termociklerį montuokite ant lygaus, sauso paviršiaus su pakankamu šalto oro srautu, kad jis tinkamai veiktų.

### Techniniai ir erdvės reikalavimai

4 lentelė. Sistema CFX Dx termociklerio techniniai ir erdvės reikalavimai

| Elementas      | Specifikacija  |
|----------------|--|
| Įvesties galia | Daugiausia iki 850 W   |
| Dažnis         | 50–60 Hz, vienfazis  |
| USB lizdai     | 5 A, 1 B   |
| Matmenys       | Plotis: 13 in; 33 cm<br>Ilgis: 18 in; 46 cm<br>Aukštis: 14 in; 36 cm |
| Svoris         | 47 lb; 21 kg   |

## Aplinkos reikalavimai

5 lentelė. Sistema CFX Dx termociklerio aplinkos reikalavimai

| Parametras       | Intervalas             | Drėgnio intervalas                        |
|------------------|------------------------|---|
| Darbinės sąlygos | 15–31 °C<br>59–87,8 °F | 0–80 % santykinė drėgmė, be kondensacijos |
| Laikymo sąlygos  | 15–31 °C<br>59–87,8 °F | 0–80 % santykinė drėgmė, be kondensacijos |

## Galios reikalavimai

Į Sistema CFX Dx termociklerį tiekama galia turi būti stabili ir atitikti specifikacijas, kad būtų užtikrintas tinkamas veikimas. Maitinimo kabelis, prijungtas prie maitinimo įvado, turi būti įvertintas 7 ar daugiau amperų.

6 lentelė. Sistema CFX Dx galios reikalavimai

| Elementas                         | Specifikacija   |
|-----------------------------------|---|
| Maitinimo įvesties įtampa         | 100–240 V kintamoji srovė, 50–60 Hz, vienfazis  |
| Maksimalus energijos suvartojimas | < 850 vatų  |
| Maitinimo lizdų skaičius          | Mažiausiai 2 maitinimo lizdai: <ul style="list-style-type: none"><li>■ 1 lizdas termocikleriu</li><li>■ 1 lizdas kompiuterio „CFX Manager Dx“ programinei įrangai</li></ul> |

## Sistemos apžvalga

Šios dalies paveikslėliuose parodytos pagrindinės „C1000 Dx“ termociklerio pagrindo dalys.

### Vaizdas iš priekio



#### LEGENDA

1. **Optinės reakcijos modulis** – apima optinę sistemą fluorescenciniams duomenims rinkti ir termociklerio bloką. „CFX Dx“ tikralaikės PGR aptikimo sistemos suderinamos su „CFX96 Dx“ arba „CFX96 Deep Well Dx“ moduliu.

---

2. **Būsenos LED** – nurodo, kada naudojamas blokas.

---

3. **Dangtelio mygtukas** – atveria arba uždaro optinės reakcijos modulio dangtelį ir užsandarina reakcijos kamerą.

---

4. **„C1000 Dx“ termociklerio pagrindas** – teikia sistemai maitinimą ir ryšį; į jį statomi „CFX96 Dx“ ir CFX96 giliųjų šulinėlių optinės reakcijos moduliai.

---

5. **Priekinio skydelio ekranas ir mygtukai** – leidžia valdyti sistemą autonominiu režimu.  
**Svarbu.** Siekiant užtikrinti IVD genų tyrimo duomenų vientisumą, „CFX Manager Dx“ programinė įranga nesuderinama su termociklerio, veikiančio autonominiu režimu, sukurtais duomenimis.

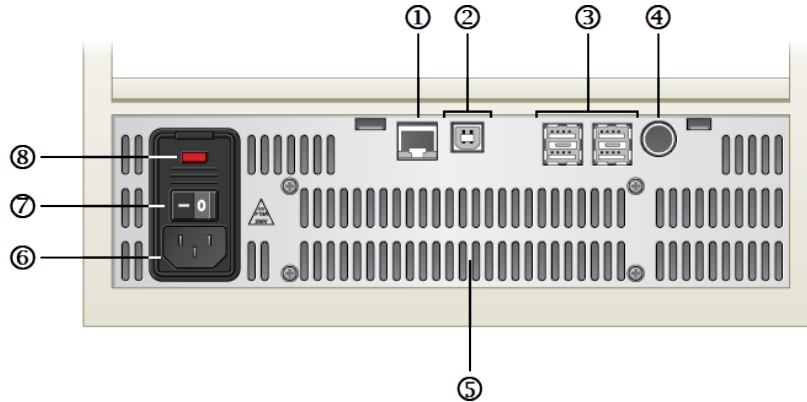
---

6. **Šildomas vidinis dangtelis** – palaiko dangtelio temperatūrą, kad būtų išvengta kondensacijos ir garavimo.

---

7. **Mėginio (reakcijos) blokas** – į jį statomas reakcijos indas, įskaitant vamzdžius ir mikroplokšteles.

## Vaizdas iš galo



### LEGENDA

1. **Eterneto prievadas** – „C1000 Dx“ termociklerį prijungia prie jūsų tinklo.
2. **USB B tipo prievadas** – „C1000 Dx“ termociklerį prijungia prie kompiuterio, kuriame veikia CFX Manager Dx programinė įranga.
3. **USB A tipo prievadai** – perduoda duomenis iš USB atmintinės ar į ją.  
**Svarbu.** Siekiant užtikrinti IVD genų tyrimo duomenų vientisumą, CFX Manager Dx programinė įranga nesuderinama su termociklerio, veikiančio autonominiu režimu, sukurtais duomenimis.
4. **Nuoseklusis bandymo prievadas** – tik bandyti techninės priežiūros metu.
5. **Aušinimo angos** – aušina termociklerį.  
**Svarbu.** Neuždenkite aušinimo angų. Kad veiktų optimaliai, užtikrinkite, kad oras galėtų cirkuliuoti už termociklerio pagrindo.
6. **Maitinimo įvestis** – kintamosios srovės maitinimas; naudojamas pridėdamas maitinimo kabelis.
7. **Maitinimo jungiklis** – jungiklis termocikleriui įjungti ir išjungti.
8. **Saugikliai** – saugiklių techninius duomenis žr. [Saugaus naudojimo techniniai duomenys ir atitiktis, p. 14.](#)

## Optinės reakcijos moduliai

„C1000 Dx“ termocikleris suderinamas su šiais „Bio-Rad“ tikralaikės PGR optinės reakcijos moduliais.

- „CFX96 Dx“ optinės reakcijos modulis
- „CFX96 Deep Well Dx“ optinės reakcijos modulis

Pasirinktas „CFX Dx“ optinės reakcijos modulis ir termocikleris tiekiami atskirose dėžėse. CFX Manager Dx programinė įranga siunčiama su optinės reakcijos moduliu.

**Svarbu.** Optinės reakcijos modulis kalibruojamas su pakuotėje pridėtu termociklerio pagrindu. Todėl nenaudokite optinės reakcijos modulio su jokių kitų termociklerio pagrindu ar termociklerio pagrindu su jokių kitų optinės reakcijos modulių.

Abiejuose optinės reakcijos moduluose yra visiškai reguliuojamas šildomas dangtelis, kuris patikimai veikia su daugybe reakcijos indų. Kiekviename optiniame reakcijos modulyje yra aušinimo ventiliatoriai, skirti greitai pašildyti ir atvėsinti.

Kiekvieną „CFX Dx“ optinės reakcijos modulį sudaro šie komponentai:

- **Šildomas vidinis dangtelis** – palaiko dangtelio temperatūrą, kad būtų išvengta kondensacijos ir garavimo.
- **Mėginio (reakcijos) blokas** – į jį statomi reakcijos indai, įskaitant mėgintuvėlius ir mikroplokšteles.
- **Dangtelio mygtukas** – naudojamas dangteliui atidaryti, uždaryti ir reakcijos vietai užsandarinti.
- **Būsenos LED** – kai įjungtas, rodo, kad blokas naudojamas.

## Rekomenduojami mėginio tūriai

Naudojant „C1000 Dx“ termociklerį, didžiausias mėginio tūris nustatomas pagal naudojamo reakcijos modulio tipą. [7 lentelė](#) išvardyti rekomenduojami tūriai, kurie naudotini su kiekvienu reakcijos moduliu.

**7 lentelė. Reakcijos modulių dydžio ir tūrio apribojimai**

| Šulinėlių skaičius  | Blokų skaičius | Rekomenduojami mėginio tūriai, $\mu$ l<br>(Viršutinė riba) |
|---------------------|----------------|--|
| 96 šulinėliai       | 1              | 10–50  |
| 96 gilūs šulinėliai | 1              | 10–125   |

## „C1000 Dx“ termociklerio įrengimas

„C1000 Dx“ termociklerio pagrindinis blokas siunčiamas atskiroje dėžėje nuo optinės reakcijos modulio. Pakuotėje yra:

- „C1000 Dx“ termociklerio pagrindinis blokas
- Maitinimo laidas
- 1 USB kabelis

Kaip įrengti „C1000 Dx“ termociklerį:

1. Išpakuokite ir paruoškite „C1000 Dx“ termociklerio pagrindą.
2. Prie pagrindinio bloko prijunkite reakcijos modulį.
3. Išsukite transportavimo varžtą.

Šiame skyriuje išsamiai paaiškintos šios užduotys.

## „C1000 Dx“ termociklerio išpakavimas ir įrengimas

**Svarbu.** Prieš pradėdami naudoti termociklerį, perskaitykite informaciją, pateiktą skirsniuose [Atitiktis saugos ir teisės aktų reikalavimams, p. 13](#) ir [Saugos įspėjamieji ženklai, p. 13](#).

**Patarimas.** Įrengdami pasirūpinkite, kad šalia termociklerio būtų pakankamai vietos kompiuteriui, kuriame veiks CFX Manager Dx programinė įranga.

### Kaip išpakuoti ir pastatyti termociklerio pagrindą

1. Suraskite paketą, kuriame yra termociklerio pagrindas.
2. Nuimkite nuo pagrindo pakavimo medžiagas.

**Patarimas.** Pakuotę išsaugokite, kad galėtumėte panaudoti ateityje. Jeigu trūksta kokios nors dalies arba gavote sugadintą dalį, kreipkitės į savo vietinį „Bio-Rad“ padalinį.

3. Termociklerio pagrindą padėkite ant lygaus, sauso paviršiaus, kad būtų užtikrintas pakankamas aušinimas oro srautu, kad prietaisas galėtų tinkamai veikti.
4. Suraskite pristatytoje pakuotėje maitinimo laidą ir prijunkite vieną jo galą prie maitinimo prievado, esančio galinėje termociklerio pusėje.

**Svarbu.** Šiuo momentu prietaiso dar neįjunkite.

5. Prie pagrindo prijunkite IVD reakcijos modulį. Tęskite, kaip nurodyta skirsnyje [Optinės reakcijos modulio prijungimas, p. 27](#).



## Optinės reakcijos modulio prijungimas

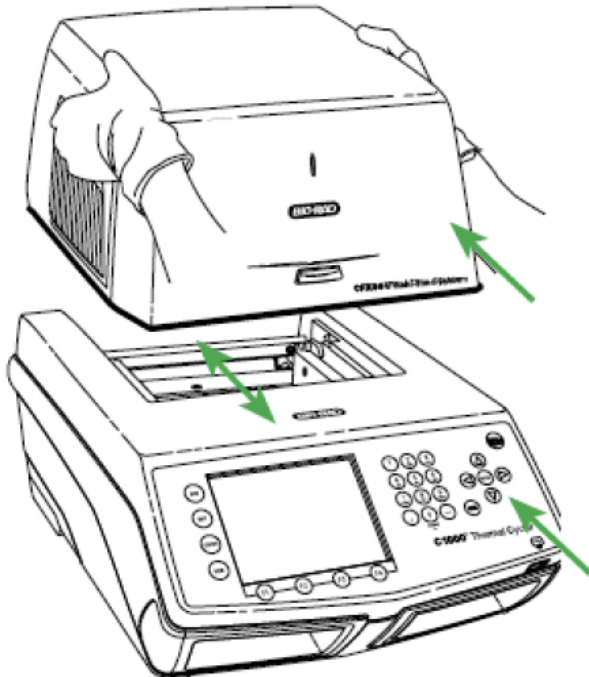
„Bio-Rad“ siunčia „CFX96 Dx“ arba „CFX96 Deep Well“ optinės reakcijos modulį su „C1000 Dx“ termociklerio pagrindu (bet atskiroje dėžėje). Atsargiai išpakuokite optinės reakcijos modulį ir patikrinkite, ar maitinimo ir USB kabeliai yra pristatytoje pakuotėje.

**Svarbu.** Kiekvienas optinės reakcijos modulius kalibruojamas su pakuotėje pridėtu termociklerio pagrindu. Todėl nenaudokite optinės reakcijos modulio su jokių kitu termociklerio pagrindu.

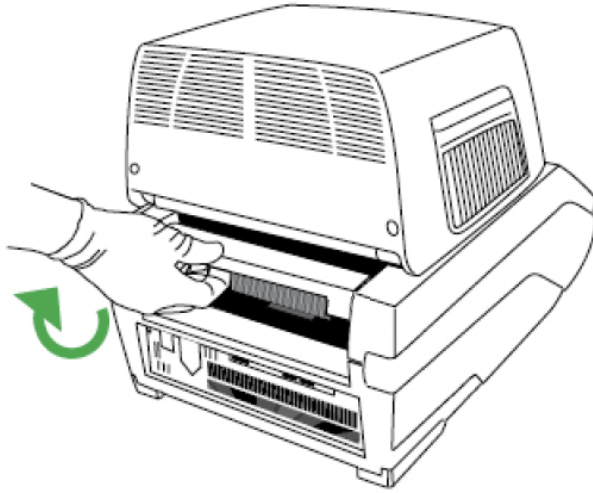
Norėdami, kad „C1000 Dx“ termociklerio pagrindas veiktų tinkamai, pastatykite jį ant plokščio, sauso paviršiaus, kur pakanka vėsaus oro.

### Kaip prijungti reakcijos modulį prie termociklerio pagrindo

1. Pastatykite „C1000 Dx“ termociklerį tinkamoje vietoje taip, kad užrakto skląstis būtų nukreiptas į apačią.
2. Pakelę optinės reakcijos modulį už įdubimų, esančių virš šoninių oro angų, įstatykite modulį į „C1000 Dx“ reakcijos modulio skyrių, palikdami apie 2 cm erdvės priekyje. Įstatytas į skyrių, optinis modulis turi uždengti „Bio-Rad“ logotipą, esantį skyriaus priekyje.



3. Traukite užrakto skląstį į viršų, kol jis susilygins su modulio skyriaus šonais. Po šio veiksmo modulis pasistumia į priekį ir užsifiksuoja.



4. Patikrinkite, ar modulis iki galo ir lygiai įstatytas į „C1000 Dx“ termociklerio pagrindą. Tarp modulario ir pagrindo neturi būti papildomo tarpo.
5. Įkiškite vieną maitinimo laido galą į „C1000 Dx“ termociklerio pagrindo nugarinę dalį, o kitą – į atitinkamą elektros lizdą, tada paspauskite maitinimo jungiklį, esantį „C1000 Dx“ termociklerio galiniame skydelyje, kad paleistumėte sistemą.

## Transportavimo varžto ištraukimas

**Svarbu.** „Bio-Rad“ optinės reakcijos moduliai gabenami su raudonu į vidaus dangtelį įsuktu transportavimo varžtu, kuris stabiliai laiko optinės reakcijos modulį gabenant. Prieš naudodami optinės reakcijos modulį, turite išsukti transportavimo varžtą.

### Kaip išsukti transportavimo varžtą

1. „C1000 Dx“ termocikleris atpažįsta į optinės reakcijos modulį įsuktą transportavimo varžtą ir rodo pranešimą, kuriame nurodoma išsukti varžtą.

**Shipping Screw Status**

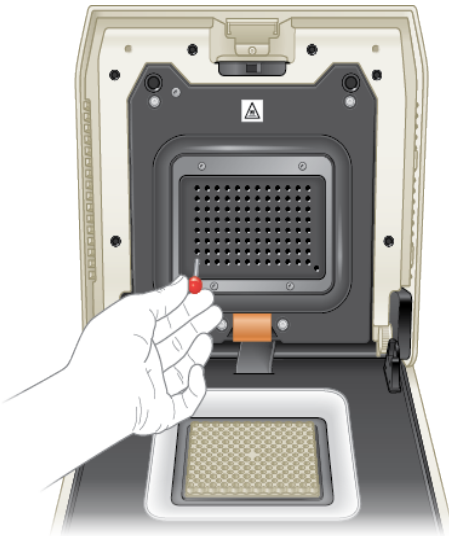
Shipping Screw is inserted.

1. Open Optical Module lid -- press manual button below the Bio-Rad logo.
2. Remove RED Shipping Screw from hole adjacent to left side of well B1
3. Close Optical Module lid -- press manual button positioned in front of block.
4. Press F1 (Screw Removed) to confirm Shipping Screw has been removed.

To check/remove the shipping screw status follow the instructions above.

**Remove Screw** **Main Menu**

2. Vadovaudamiesi nurodymais, išsukite transportavimo varžtą. Toliau pateiktoje schemoje parodyta transportavimo varžto vieta.



**Pastaba.** Jei dėl kokios nors priežasties turite grąžinti reakcijos modulį, turite vėl įsukti transportavimo varžtą. Laikykite varžtą saugioje ir prieinamoje vietoje.

## Mėginių plokštelių įdėjimas

Kad mėginiai būtų vienodai kaitinami ir aušinami, plokštelės turi būti visiškai susilietusios su reakcijos bloku. Jei norite užtikrinti tinkamą sąlytį, atlikite šiuos veiksmus:

- Prieš imdami mėginius, patikrinkite, ar blokas švarus.
- Tvirtai įspauskite atskirus mėgintuvėlius, mėgintuvėlių juosteles ar mikroplokšteles į bloko šulinėlius.
- Kai naudojate vieną ar kelis mėgintuvėlius, naudokite mėgintuvėlio rėmą (katalogo Nr. 1849000 arba 1849001) arba įstatykite bent po vieną tuščią mėgintuvėlį kiekviename bloko kampe, kad dangtelis tolygiai prispaustų atskirus mėgintuvėlius.

## Plokštelių įdėjimas į optinės reakcijos modulį

**Svarbu.** Kai paleista Sistema CFX Dx, visuomet subalansuokite mėgintuvėlių juosteles arba uždėkite mėgintuvėlių dangtelius ant kampinių šulinėlių, kad būtų užtikrinta, jog šildomas dangtis spaudžiasi per visą bloką.

### Kaip plokšteles įdėti į optinės reakcijos modulį

1. Norėdami atverti motorizuotą dangtelį, atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - CFX Manager Dx programinės įrangos aptikto instrumento skyriuje spustelėkite „Open Lid“ (atidaryti dangtelį).
  - Programinės įrangos kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia) spustelėkite „Open Lid“ (atidaryti dangtelį).
  - Instrumento priekyje paspauskite dangtelio mygtuką.
2. Į bloką įdėkite mikroplokštelę, atskirus mėgintuvėlius ar mėgintuvėlių juostas su užsandarintais dangteliais.

**Svarbu.** Patikrinkite, ar mėgintuvėliai yra visiškai užsandarinti, kad iš jų niekas nepratekėtų.

**Patarimas.** Kad gautumėte optimalius rezultatus, įdėjimo mėginio tūriai yra 10–25 µl Sistema CFX Dx.

3. Kad duomenų analizė būtų tiksli, patikrinkite, ar reakcijos orientavimas bloke yra tiksliai toks pat, kaip šulinėlių turinio orientavimas plokštelės kortelėje CFX Manager Dx programinėje įrangoje.

**Patarimas.** Šulinėlių turinį galite koreguoti CFX Manager Dx programine įranga prieš paleidimą, jo metu ar po to.

4. Norėdami uždaryti motorizuotą dangtelį, atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Paspauskite instrumento dangtelio mygtuką.
  - Programinės įrangos aptiktų instrumentų srityje spustelėkite „Close Lid“ (uždaryti dangtelį).
  - Programinės įrangos kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia) spustelėkite „Close Lid“ (uždaryti dangtelį).

**Svarbu.** Užtikrinkite, kad niekas nekliudytų uždaromam dangteliui. Nors yra apsauginis mechanizmas, skirtas neleisti dangteliui užsidaryti, jeigu aptinkamas pasipriešinimas, nieko nedėkite po dangtelio prieš jį uždarydami.

## PGR plastikiniai ir reagentų reikmenys

Norėdami rasti ir užsakyti rekomenduojamų plastiko reikmenų CFX Dx sistemai, eikite į „Bio-Rad“ [svetainę](#). Šią tinklavietę galite pasiekti per „Help > PCR Plastic Consumables Web Site“ (žinynas > PGR plastikinių reikmenų tinklapis) meniu elementą, esantį CFX Manager Dx programinėje įrangoje. Be to, žr. [plastiko rinkiklių](#) ir [reagentų rinkiklių](#) išteklius, kurie padės lengviau rasti ir užsakyti plastikinių reikmenų ir reagentų jūsų konkrečiai aparatinei įrangai ir PGR reikmėms.

## Prijungtų instrumentų aptikimas

Diegimo metu CFX Manager Dx programinė įranga diegimo programa į kompiuterį, kuriame veikia CFX Manager Dx programinė įranga, automatiškai įdiegia instrumentų tvarkykles. Jums paleidus programinę įrangą, CFX Manager Dx aptinka prijungtus instrumentus.

**Svarbu.** Prieš įdiegdami ar atnaujindami programinę įrangą, nuo CFX Manager Dx kompiuterio turite atjungti „C1000 Dx“ termociklerį. Programinės įrangos diegimo metu termociklerio išjungti nereikia.

### Kaip aptinkami prijungti instrumentai

1. Jei to dar nepadarėte, prijunkite USB tipo B tipo kabelio kvadratinį (įstatomąjį) galą prie USB tipo B prievado, esančio pagrindo galinėje pusėje.
2. Kitą (jungties) galą prijunkite prie CFX Manager Dx kompiuterio USB prievado.
3. Jei termocikleris dar neveikia, paspauskite maitinimo jungiklį prietaiso galinėje pusėje, kad jį įjungtumėte.
4. Paleiskite CFX Manager Dx programinę įrangą.

Programinė įranga automatiškai aptinka prijungtą instrumentą ir parodo jo pavadinimą lango „Home“ (pagrindinis) srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai).

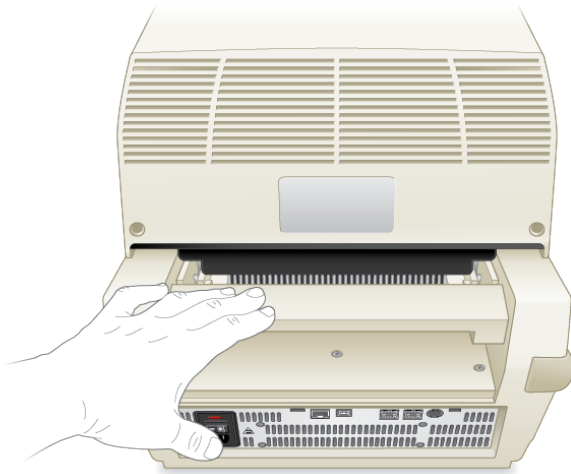
**Pastaba.** Jei instrumentas srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) neparodomas, patikrinkite, ar tinkamai prijungtas USB kabelis. Jei norite iš naujo įdiegti tvarkykles, „CFX Manager Dx programinė įranga“ lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „Tools > Reinstall Instrument Drivers“ (įrankiai > iš naujo įdiegti instrumentų tvarkykles).

## Reakcijos modulio

**Svarbu.** Prieš atjungdami reakcijos modulį, išjunkite „C1000 Dx“ termociklerio maitinimą (žr. skirsnį „C1000 Dx“ termociklerio išjungimas, p. 33). Reakcijos modulio viduje esančios aušinimo plokštės iškart po protokolo vykdymo arba inkubavimo gali būti įkaitusios. Prieš atjungdami reakcijos modulį patikrinkite, ar plokštės yra atvėsusios.

### Optinės reakcijos modulio atjungimas nuo termociklerio pagrindo

1. Termociklerio pagrindo galinėje pusėje esantį skląstį pastumkite žemyn, kad atfiksotumėte ir galėtumėte nuimti optinės reakcijos modulį.



2. Paėmę už rankenų abiejose pusėse, atsargiai iškelkite optinės reakcijos modulį iš jo skyriaus.
3. Padėkite optinės reakcijos modulį ant švaraus, lygaus paviršiaus vietoje, kurioje jis būtų apsaugotas nuo sutrenkimų, pažeidimų ir nenukristų.

## „C1000 Dx“ termociklerio išjungimas

### Kaip išjungti termociklerį

1. Po paleidimo paspauskite dangtelio atidarymo mygtuką CFX optinės reakcijos modulio priekyje ir pereikite prie į bloką įdėtų mėginių.
2. Iš bloko išimkite mėginius, paspauskite dangtelio uždarymo mygtuką ir uždarykite dangtelį.
3. Paspauskite maitinimo jungiklį, esantį „C1000 Dx“ termociklerio galiniame skydelyje ir išjunkite sistemą.

## 2 skyrius. „C1000 Dx“ termociklerio nustatymas



## 3 skyrius. CFX Manager Dx programinės įrangos diegimas

Šiame skyriuje paaiškinama, kaip įdiegti „CFX Manager Dx“ programinę įrangą.

CFX Manager Dx programinė įranga reikia PGR duomenims iš sistemų „CFX96 Dx“ ir „CFX96 Deep Well“ analizuoti tikroju laiku. Šią programinę įrangą galite naudoti šioms sistemoms kontroliuoti programinės įrangos valdomu režimu.

Daugiau informacijos apie „Sistema CFX Dx“ termociklerio ir optinio reakcijos modulio įdiegimą žr. [„C1000 Dx“ termociklerio nustatymas, p. 21](#).

## Sistemos reikalavimai

8 lentelė išvardyti minimalūs ir rekomenduojami sistemos reikalavimai, keliami kompiuteriui, kuriame veikia CFX Manager Dx programinė įranga (vadinamas CFX Manager Dx kompiuteriu).

**8 lentelė. Reikalavimai CFX Manager Dx programinė įranga kompiuteriui**

| Sistema  | Mažiausiai                          | Rekomenduojama  |
|--|-------------------------------------|---|
| Operacinė sistema  | „Microsoft Windows 7 SP1 Pro“       | Bet kuri iš šių: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ „Microsoft Windows 7 SP2 Pro“ (32 ir 64 bitų)</li> <li>■ „Microsoft Windows 10 Pro“ (tik 64 bitų)</li> <li>■ „Microsoft Windows 10 Enterprise“ (tik 64 bitų)</li> </ul> |
| <b>Svarbu.</b> „Microsoft Windows 10 Pro“ ir „Enterprise“ turi būti išjungtas saugusis paleidimas. |                                     |   |
| Prievadai  | 2 USB 2.0 didelės spartos prievadai | 2 USB 2.0 didelės spartos prievadai   |
| Standžiojo disko talpa   | 128 GB                              | 128 GB  |
| Procesoriaus greitis   | 2,4 GHz, dviejų branduolių          | 2,4 GHz, keturių branduolių   |
| RAM  | 4 GB RAM                            | 8 GB RAM  |
| Ekrano skiriamoji geba   | 1024 x 768 tikrų spalvų režimu      | 1280 x 1024 tikrų spalvų režimu   |
| PDF skaitytuvas  |                                     | „Adobe PDF Reader“ arba „Windows PDF Reader“ iš vienos iš atpažįstamų „Microsoft Office Suite“ programų: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 2007</li> <li>■ 2010</li> <li>■ 2013</li> </ul>                                 |

## CFX Manager Dx programinės įrangos diegimas

**Svarbu.** Prieš įdiegdami ar atnaujindami programinę įrangą, nuo CFX Manager Dx kompiuterio turite atjungti visus prijungtus prietaisus. Programinės įrangos diegimo metu termociklerio išjungti nereikia. Įsitinkite, kad įrašėte visas analizes ir kad nevyksta jokie eksperimentai.

**Pastaba.** Jei diegiate CFX Manager Dx programinę įrangą „Windows 10“ versijoje, prieš pradėdami diegimo procedūrą patikrinkite, ar išjungta saugioji paleistis.

### CFX Manager Dx programinė įranga įdiegimas

1. Jei reikia, atjunkite nuo kompiuterio visus prijungtus prietaisus.  
Raskite ir atjunkite nuo CFX Manager Dx kompiuterio prietaiso USB kabelį. Prie prietaiso prijungtas kabelio galas gali likti neatjungtas.
2. Prisijunkite prie CFX Manager Dx kompiuterio administratoriaus teisėmis.
3. CFX Manager Dx programinės įrangos CD įdėkite į kompiuterio CD įrenginį.
4. Programinės įrangos paleidimo puslapis turėtų pasirodyti automatiškai. Programinės įrangos paleidimo puslapyje du kartus spustelėkite „Install Software“ (įdiegti programinę įrangą).  
**Pastaba.** Jeigu paleidimo puslapis neparodomas automatiškai, eikite į CD įrenginį ir atverkite aplanką „CFX\_Manager“, tada dukart spustelėkite setup.exe, kad paleistumėte programinės įrangos diegimo vedlį.  
**Patarimas.** Diegimo vedlyje spustelėkite mygtuką „Documentation“ (dokumentai) ir raskite ieškomų laidos pastabų, instrumento vadovų ir kitų dokumentų kopijų.
5. Vadovaukitės instrukcijomis ekrane ir atlikite diegimą. Baigus kompiuterio darbalaukyje parodoma „CFX Manager“ programinės įrangos piktograma.
6. Diegimui pasibaigus, galite saugiai išimti CD.

### Prijungtų instrumentų aptikimas

Diegimo metu CFX Manager Dx programinės įrangos diegimo programa į kompiuterį, kuriame veikia CFX Manager Dx, automatiškai įdiegia instrumentų tvarkykles. Jums paleidus programinę įrangą, CFX Manager Dx aptinka prijungtus instrumentus.

#### Kaip aptinkami prijungti instrumentai

1. Jei to dar nepadarėte, prijunkite USB tipo B tipo kabelio kvadratinį (įstatomąjį) galą prie USB tipo B prievado, esančio prietaiso pagrindo galinėje pusėje.
2. Kitą (jungties) galą prijunkite prie CFX Manager Dx kompiuterio USB prievado.

3. Jei instrumentas dar neveikia, paspauskite maitinimo jungiklį instrumento galinėje pusėje, kad jį įjungtumėte.
4. Paleiskite CFX Manager Dx.

Programinė įranga automatiškai aptinka prijungtą instrumentą ir parodo jo pavadinimą srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) lange „Home“ (pagrindinis).

**Pastaba.** Jei instrumentas srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) neparodomas, patikrinkite, ar tinkamai prijungtas USB kabelis. Jei norite iš naujo įdiegti tvarkykles, „CFX Manager Dx“ pagrindiniame lange pasirinkite „Tools > Reinstall Instrument Drivers“ (Įrankiai > iš naujo įdiegti instrumentų tvarkykles).

## Programinės įrangos failai

9 lentelė išvardyti CFX Manager Dx programinė įranga failų tipai.

9 lentelė. CFX Manager Dx programinė įranga failų tipai

| Failo tipas                           | Plėtinys | Išsami informacija  |
|---------------------------------------|----------|---|
| Protokolas                            | .prcl    | Yra protokolo sąrankos išsami informacija, skirta paleisti PCR (PGR).                                 |
| Plokštelė                             | .pltd    | Yra plokštelės sąrankos išsami informacija, skirta paleisti PCR (PGR).                                |
| Duomenys                              | .pcrd    | Yra eksperimento paleidimo ir PCR (PGR) analizės rezultatai.  |
| „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimas | .csv     | Yra protokolai ir plokštelės schema „PrimePCR“ (PGR pradmenys) plokštelei.                            |
| Geno tyrimas                          | .mgxd    | Yra kelių PCR (PGR) paleidimų ir geno ekspresijos analizių rezultatai.                                |
| LIMS                                  | .plrn    | Yra plokštelės sąrankos ir protokolo informacija, kurios reikia atlikti su LIMS suderinamą paleidimą. |

## Rekomenduojamos kibernetinio saugumo priemonės

„Bio-Rad“ rekomenduoja jums bendradarbiauti su jūsų IT skyriumi, kad būtų įdiegtos kibernetinio saugumo priemonės, skirtos apsaugoti kompiuteriui, naudojamam su CFX96 Dx sistema. Pavyzdžiui:

- Įdiekite ir sukonfigūruokite tinkamas apsaugos nuo virusų ir užkardos programas.  
**Svarbu.** Konfigūruokite virusų paieškos sistemą, kad būtų skenuojama ne darbo metu arba kai prietaisas neveikia aktyviai. Jei virusų paieška pradedama „CFX Manager Dx“ vykdant eksperimentą, gali būti atšauktas paleidimas ir prarasti duomenys.
- CFX Manager Dx programinė įranga neturi neaktyvumo skirtojo laiko funkcijos vartotojo sesijoms. Įdiekite „Windows“ naudojimo ar tretiesiems vartotojams taikomas prieigos saugos priemones (pvz., įdiekite reikiamą ekrano užsklandą su prisijungimo funkcija).
- Keičiamųjų laikmenų sauga:
  - Savo USB įrenginyje naudokite slaptažodžius ir šifravimą, kad apsaugotumėte duomenis.
  - Išjunkite visų keičiamųjų laikmenų įrenginių automatinio paleidimo ir automatinio atkūrimo funkcijas.
  - Įjunkite USB nuskaitymo funkciją kiekvieną kartą, kai prijungiama USB atmintinė.
- Naudokite atsarginių kopijų kūrimo paslaugų programą, kad būtų paprasčiau atkurti duomenis.

### 3 skyrius. CFX Manager Dx programinės įrangos diegimas

## 4 skyrius. Darbo erdvė

„CFX Manager Dx“ programinė įranga suteikia sąsają plokštelėms nuskaityti, PGR protokolams rengti, jiems vykdyti „CFX Dx“ prietaisais ir PGR analizių duomenims vertinti.

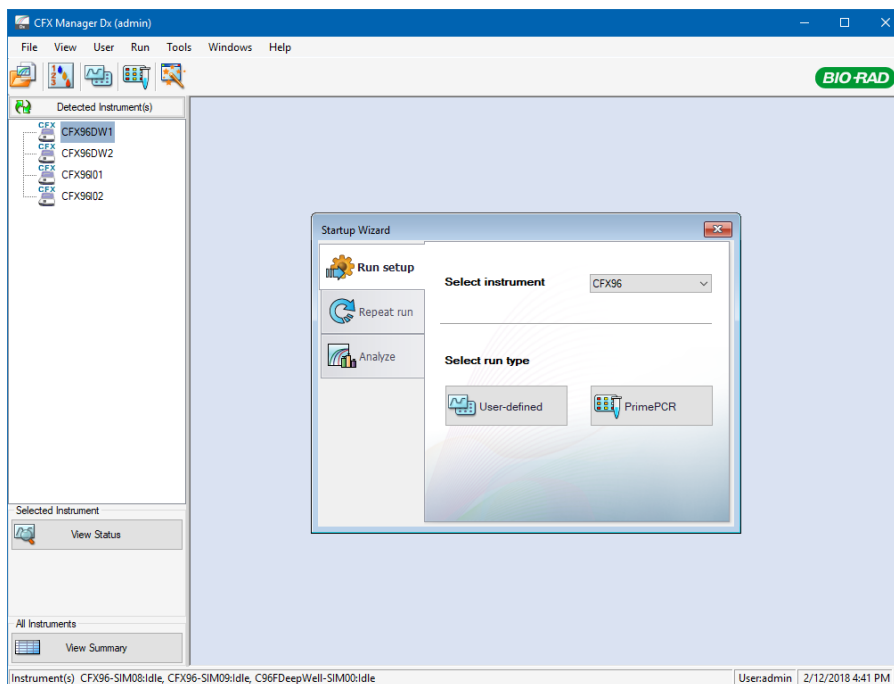
CFX Manager Dx programinėje įrangoje yra penkios pagrindinės darbo erdvės:

- Langas „Home“ (pagrindinis)
- Langas „Startup Wizard“ (paleisties vedlys)
- Langas „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius)
- Langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)
- Langas „Data Analysis“ (duomenų analizė)

Šiame skyriuje parodyta ir trumpai aprašyta kiekviena darbo erdvė.

## Langas „Home“ (pagrindinis)

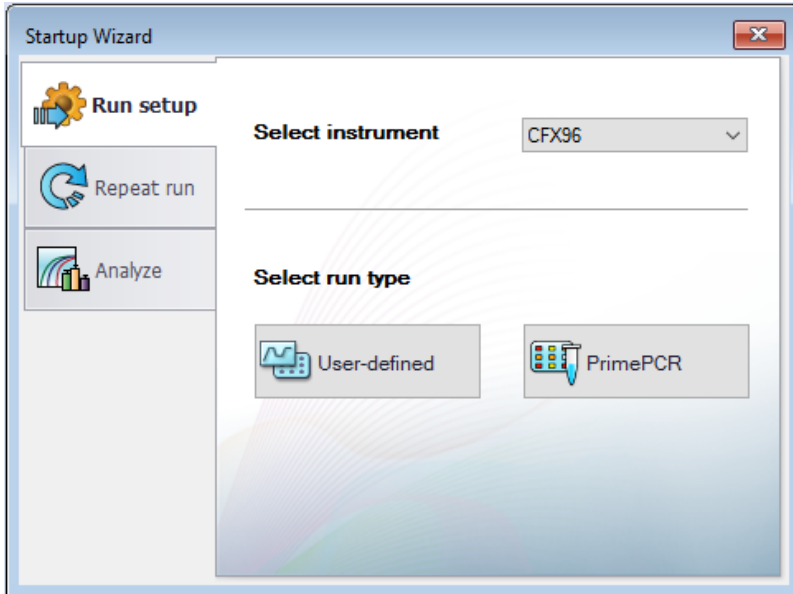
CFX Manager Dx programinė įranga atveria langą „Home“ (pagrindinis) ir parodo „Startup Wizard“ (paleisties vedlys), kuriame galite nustatyti eksperimentą, atlikti arba pakartoti paleidimą ar išanalizuoti esamą paleidimą. Lange „Home“ (pagrindinis) taip pat galite peržiūrėti programos ir instrumentų žurnalą, sukurti ir valdyti vartotojus bei pasiekti daug naudingų įrankių. Daugiau informacijos žr. [5 skyrius, Langas „Home“ \(pagrindinis\)](#).





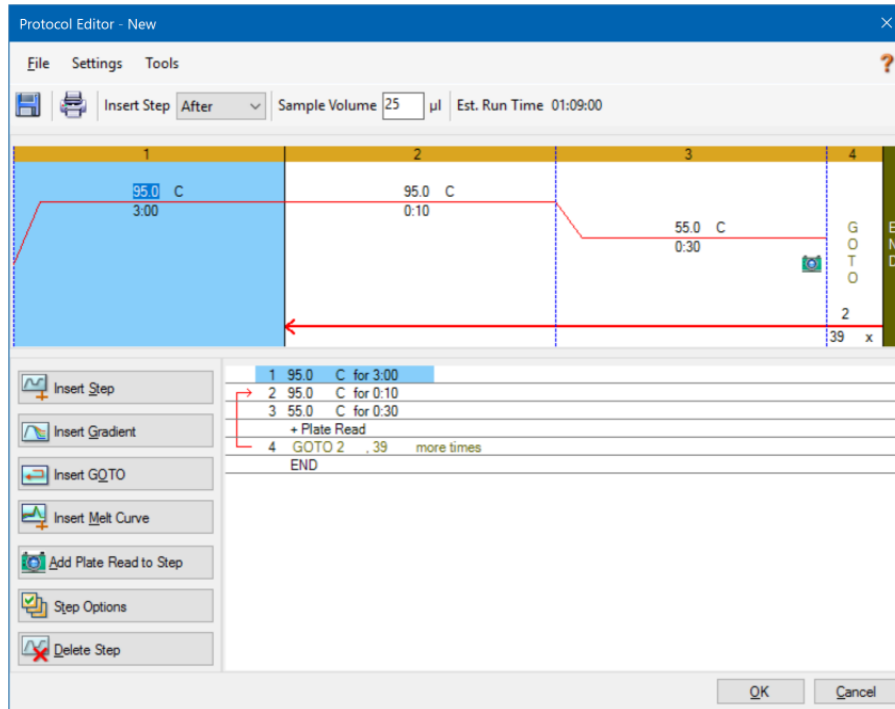
## Langas „Startup Wizard“ (paleisties vedlys)

Lange „Startup Wizard“ (sąrankos vedlys) galite greitai parengti ir paleisti vartotojo nustatytus eksperimentus arba pasirinkti ir paleisti „PrimePCR“ (PGR pradmenys) eksperimentą. Šiame vedlyje taip pat galite pakartoti paleidimą arba analizuoti paleidimo duomenis.



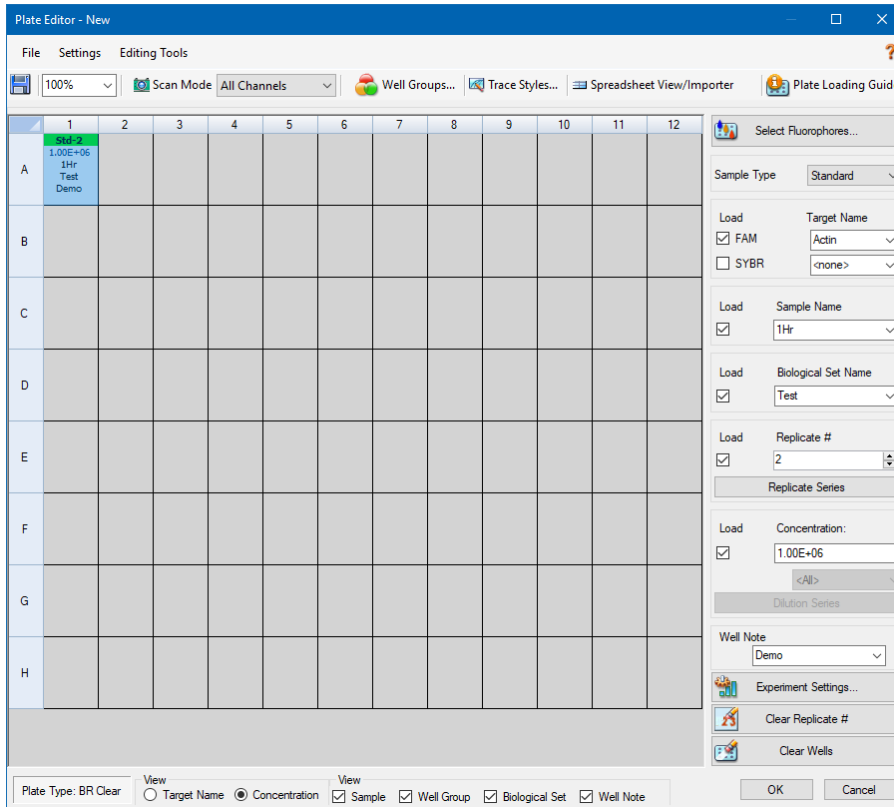
## Langas „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius)

Lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) galite kurti, atidaryti, peržiūrėti ir redaguoti protokolą. Taip pat galite keisti atvirojo protokolo dangtelio temperatūrą. Lango „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) funkcijos išsamiai aprašytos 6 skyrius, [Protokolų kūrimas](#).



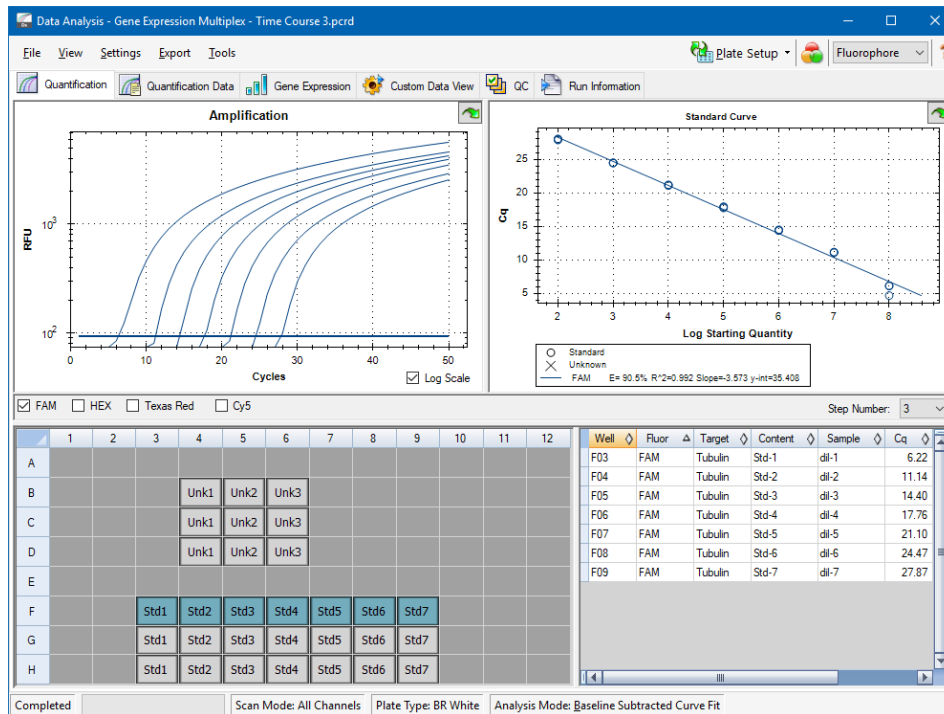
## Langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)

Langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) galite kurti, atidaryti, peržiūrėti ir redaguoti plokštelę. Lango „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) funkcijos išsamiai aprašytos [7 skyrius, Plokštelių paruošimas](#).



## Langas „Data Analysis“ (duomenų analizė)

Lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) galite peržiūrėti ir palyginti paleidimų duomenis, atlikti statistinę analizę, eksportuoti duomenis ir kurti publikuoti parengtas ataskaitas. Lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) funkcijos išsamiai aprašytos čia: [9 skyrius, Duomenų analizės apžvalga](#). Taip pat žr. [10 skyrius, Išsami duomenų analizės informacija](#).



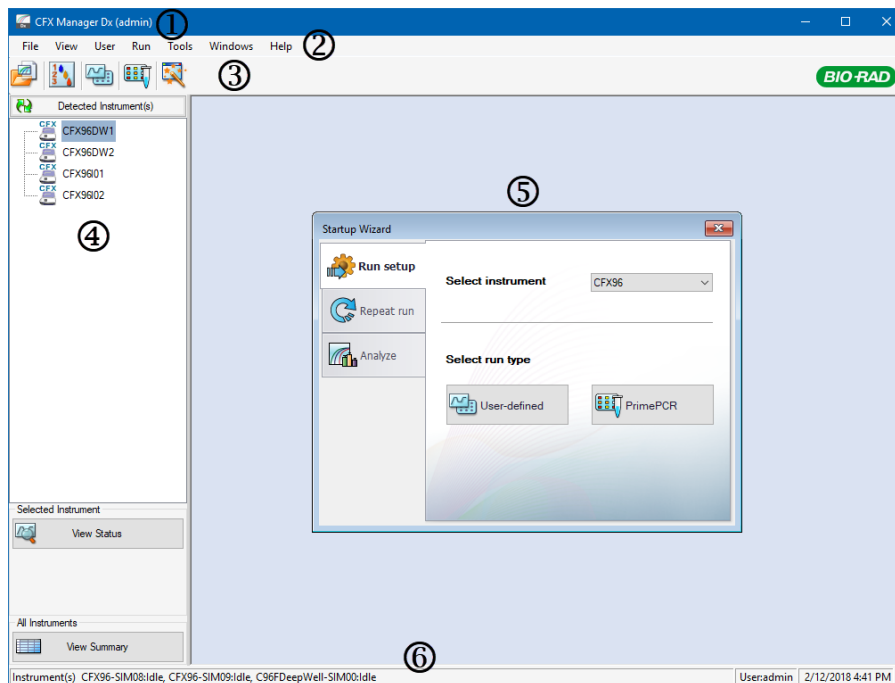
## 5 skyrius. Lango „Home“ (pagrindinis)

„CFX Manager Dx“ programinė įranga suteikia sąsają PCR (PGR) protokolams rengti, jiems vykdyti „CFX Dx“ sistemose ir PCR (PGR) analizių duomenims vertinti.

Šiame skyriuje supažindinama su „CFX Manager Dx programinė įranga“ ir aprašomos funkcijos, kurias galima pasiekti iš lango „Home“ (pagrindinis).

## Langas „Home“ (pagrindinis)

CFX Manager Dx atveria langą „Home“ (pagrindinis) ir parodo „Startup Wizard“ (paleisties vedlys), kuriame galite nustatyti paleidimą, atlikti arba pakartoti paleidimą ar išanalizuoti esamą paleidimą. Lange „Home“ (pagrindinis) taip pat galite peržiūrėti programos ir instrumentų žurnalą, sukurti ir valdyti vartotojus bei pasiekti daug naudingų įrankių.



### LEGENDA

1. Programinės įrangos antraštės juostoje rodomas programinės įrangos pavadinimas ir prisijungęs vartotojas.
2. Meniu juosta suteikia greitą prieigą prie „File“ (failas), „View“ (rodinys), „Users“ (vartotojai), „Run“ (paleidimas), „Tools“ (įrankiai), „Window“ (langas) ir „Help“ (žinynas) meniu komandų.
3. Įrankių juostos komandos suteikia sparčią prieigą prie meniu parinkčių.
4. Kairėje srityje rodomi instrumentai, prijungti prie CFX Manager Dx kompiuterio ir pateikti mygtukai, kuriais galite valdyti dangtelį ir peržiūrėti instrumentų būsenas.
5. Pagrindinėje srityje rodomas darbinis langas. Numatytasis darbinis langas ekrane „Home“ (pagrindinis) yra „Startup Wizard“ (paleisties vedlys).
6. Būsenos juostoje rodomi prijungtų instrumentų pavadinimai ir prisijungęs vartotojas.

## Meniu „File“ (failas) komandos

„**New**“ (naujas) – atveriamas dialogo langas, kuriame galite: pasirinkti sukurti naują protokolą, plokštelę ar geno tyrimą.

„**Open**“ (atverti) – atveriamas dialogo langas, kuriame galite pasirinkti naršyti ir atverti esamą protokolą, plokštelę, duomenų failą, geno tyrimą, LIMS failą, arba „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimo failą.

„**Recent Data Files**“ (naujausi duomenų failai) – rodomas šuo metu atvertų PCR (PGR) failų sąrašas.

„**Repeat a Run**“ (pakartoti paleidimą) – įrašytų PCR (PGR) failų vietoje atveriamas „Windows Explorer“, kur galite rasti kartojamą paleidimą.

„**Exit**“ (išeiti) – užveriamas „CFX Manager Dx“.

## Meniu „View“ (rodymas) komandos

„**Application Log**“ (programos žurnalas) – rodomi programinės įrangos naudojimo duomenys nuo įdiegimo iki einamosios dienos.

„**Run Reports**“ (paleidimo ataskaitos) – rodomas paleidimo ataskaitų sąrašas.

„**Startup Wizard**“ (paleisties vedlys) – pagrindinėje srityje rodomas „Startup Wizard“ (paleisties vedlys).

„**Run Setup**“ (paleidimo sąranka) – pagrindinėje srityje rodomas langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka).

„**Instrument Summary**“ (instrumento santrauka) – pagrindinėje srityje rodomas langas „Instrument Summary“ (instrumento santrauka).

„**Detected Instruments**“ (aptikti instrumentai) – perjungiamas prijungtų prietaisų rodymas ir nerodymas kairėje srityje. Pagal numatytąsias nuostatas programinė įranga rodo prijungtus prietaisus kairėje srityje.

„**Toolbar**“ (įrankių juosta) – perjungiamas įrankių juostos rodymas ir nerodymas ekrano viršuje. Pagal numatytąsias nuostatas programinė įranga rodo įrankių juostą.

„**Status Bar**“ (būsenos juosta) – perjungiamas būsenos juostos rodymas ir nerodymas ekrano viršuje. Pagal numatytąsias nuostatas programinė įranga rodo būsenos juostą.

„**Show**“ (rodyti) – atveriamas dialogo langas, iš kurio galite:

- peržiūrėti arba blokuoti žurnalą „Status“ (būsena);
- atverti ir peržiūrėti CFX Manager Dx duomenų aplanką;

- atverti ir peržiūrėti vartotojo duomenų aplanką;
- atverti ir peržiūrėti LIMS failų aplanką;
- atverti ir peržiūrėti „PrimePCR“ (PGR pradmenys) aplanką;
- peržiūrėti paleidimų istoriją;
- Peržiūrėti visų prijungtų instrumentų ypatybes.

## Meniu „User“ (vartotojas) komandos

„**Select User**“ (pasirinkti vartotoją) – atveriamas ekranas „Login“ (prisijungimas), kuriame iš išplečiamojo sąrašo „User Name“ (vartotojo vardas) galite pasirinkti vartotoją ir prisijungti prie programos.

„**Change Password**“ (keisti slaptažodį) – atveriamas dialogo langas „Change Password“ (keisti slaptažodį), kuriame vartotojai gali keisti savo CFX Manager Dx programinė įranga slaptažodį.

„**Change Password**“ (keisti slaptažodį) – atveriamas dialogo langas „User Preferences“ (vartotojo nuostatos), kuriame vartotojai gali keisti tokias numatytąsias nuostatas:

- Pranešimo el. paštu siuntimas ir gavimas pasibaigus analizės ciklui
- Duomenų failo įrašymas
- Protokolų kūrimas lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) arba naudojantis „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė)
- Plokštelių kūrimas
- Duomenų analizavimas
- Geno ekspresijos analizės vykdymas
- Duomenų kokybės nustatymas
- CFX Dx instrumentų duomenų eksportavimas

„**User Administration**“ (vartotojų administravimas) – atveriamas dialogo langas „User Administration“ (vartotojų administravimas), kuriame administratoriai gali kurti vartotojus, keisti vaidmens teises ir priskirti vartotojams vaidmenis.

„**Bio-Rad Service Login**“ („Bio-Rad“ techninės priežiūros personalo prisijungimas) – skirta tik „Bio-Rad“ techninės priežiūros personalui. Nesirinkite šios komandos.



## Meniu „Run“ (paleidimas) komandos

„**User-defined Run**“ (vartotojo nustatytas paleidimas) – atveriamas langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka), kuriame galite nustatyti vartotojo nustatytą protokolą ir plokštelę ir tada pasirinktame instrumente paleisti PGR eksperimentą.

„**PrimePCR Run**“ (PGR pradmenų paleidimas) – atveriamas kortelė „Start Run“ (paleidimo pradžia), esančią lange „Run Setup“ (paleidimo sąranka), su numatytais įkeltais „PrimePCR“ (PGR pradmenys) protokolu ir plokštelės schema, remiantis pasirinktu instrumentu.

„**End-Point Only Run**“ (tik galinio taško paleidimas) – atveriamas kortelė „Start Run“ (paleidimo pradžia), esančią lange „Run Setup“ (paleidimo sąranka), su numatytoju pabaigos taško protokolu ir plokštelės schema, remiantis pasirinktu instrumentu.

„**Qualification Run**“ (kvalifikacinis paleidimas) – atveriamas kortelė „Start Run“ (paleidimo pradžia), esančią lange „Run Setup“ (paleidimo sąranka), su numatytoju „Bio-Rad“ kvalifikaciniu protokolu ir plokštelės schema, įkelta pasirinktam instrumentui.

## Meniu „Tools“ (įrankiai) komandos

„**Master Mix Calculator**“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvai) – atveria „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvai), kuriame galite sukurti reakcijos mišinį ir atspausdinti skaičiavimus.

„**Protocol AutoWriter**“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) – atveria dialogo langą „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė), kur galite lengvai sukurti naują protokolą.

„**T<sub>a</sub> Calculator**“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvai) – atveria „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvai), kur galite lengvai apskaičiuoti pradmenų atkaitinimo temperatūrą.

„**Dye Calibration Wizard**“ (dažų kalibravimo vedlys) – atveria „Dye Calibration“ (dažų kalibravimas) vedlį, kuriuo galite sukalibruoti instrumentą naujam fluoroforui.

„**Reinstall Instrument Drivers**“ (iš naujo įdiegti instrumento tvarkykles) – iš naujo įdiegia tvarkykles, kurios valdo ryšį su „Bio-Rad“ tikralaikėmis PGR sistemomis.

„**Zip Data and Log Files**“ (suarchyvuoti duomenys ir žurnalo failai) – atveria dialogo langą, kuriame galite pasirinkti failus, suglaudinti ir įrašyti suglaudintą failą saugoti ar išsiųsti el. paštu.

„**Batch Analysis**“ (paketo analizė) – atveria dialogo langą „Batch Analysis“ (paketo analizė), kuriame galite nustatyti parametrus kelių duomenų failų analizei vienu metu.

„**Options**“ (parinktys) – atveriamas dialogo langas, kuriame galite

- konfigūruoti savo el. pašto serverio nuostatas;
- Konfigūruoti eksporto LIMS ir kitų duomenų failų nuostatas.

## Meniu „Help“ (žinynas) komandos

**Patarimas.** Meniu „Help“ (žinynas) yra visų CFX Manager Dx programinė įrangalangių meniu juostose.

„**Open Operation Manual**“ (atverti naudojimo vadovą) – atveriamas vadovas PDF formatu.

„**Gene Expression Gateway Web Site**“ (geno ekspresijos sietuvo svetainė) – atveriamas „Bio-Rad“ Sistema CFX Dx pagrindinis puslapis.

„**PCR Reagents Web Site**“ (PGR reagentų svetainė) – atveriamas „Bio-Rad“ PCR (PGR) reagentų svetainė, kurioje galite užsisakyti PCR (PGR) reagentų, supermišinių, dažų ir rinkinių.

„**PCR Plastic Consumables Web Site**“ (PGR plastikinių reikmenų svetainė) – atveriamas „Bio-Rad“ PCR (PGR) plastikinių medžiagų ir reikmenų svetainė, kurioje galite užsisakyti PCR (PGR) plokštelių, plokštelių tarpiklių, mėgintuvėlių ir dangtelių bei kitų plastikinių priedų.

„**Software Web Site**“ (programinės įrangos svetainė) – atveriamas „Bio-Rad“ PCR (PGR) analizės programinės įrangos svetainė, kurioje galite užsisakyti atnaujintas „Bio-Rad“ CFX Manager Dx programinė įranga versijas.

„**About**“ (apie) – rodoma informacija apie „CFX Manager Dx“ autoriaus teises ir versiją.

## Įrankių komandos



– atveriamas „Windows Explorer“, kuriame galite naršyti ir atverti duomenų failą arba geno tyrimo failą.



– atveria „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvą).



– atveria langą „Run Setup“ (paleidimo sąranka).



– atveria langą „Run Setup“ (paleidimo sąranka) su numatytoju „PrimePCR“ (PGR pradžmenys) protokolu ir plokštelės schema, įkelta pagal pasirinktą instrumentą.

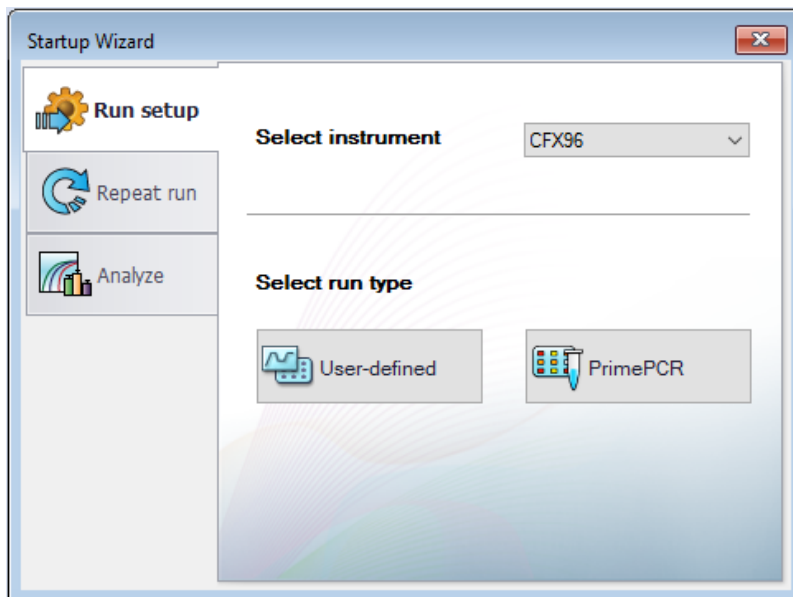


– atveria „Startup Wizard“ (paleisties vedlys).

## „Startup Wizard“ (paleisties vedlys)

Kai paleidžiama CFX Manager Dx, darbinėje srityje rodomas „Startup Wizard“ (paleisties vedlys). Per „Startup Wizard“ (paleisties vedlys) galima atlikti šiuos veiksmus:

- Iš aptiktų instrumentų pasirinkti instrumentą ir nustatyti vartotojo apibrėžtą arba „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimą
- Atverti ir pakartoti paleidimą
- Atverti paleidimo ar geno tyrimo failo rezultatams iš kelių geno ekspresijos paleidimų



Šios užduotys yra išsamiai paaiškintos tolesniuose skyriuose.

## Būsenos juosta

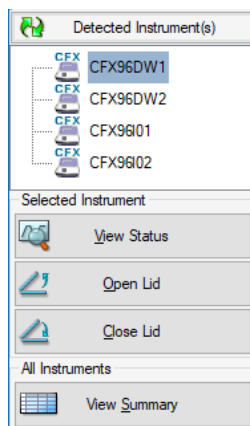
Pagrindinio programinės įrangos lango apačioje esančios būsenos juostos kairėje pusėje rodoma esama aptiktų instrumentų būseną. Kairėje būsenos juostos pusėje rodomas esamo vartotojo vardas ir data bei laikas.

## Sritis „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai)

Srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) rodomas kiekvienas prie CFX Manager Dx kompiuterio prijungtas instrumentas. Pagal numatytąsias nuostatas, kiekvienas instrumentas rodomas kaip piktograma, kurios pavadinimas – instrumento serijos numeris.

Pavyzdžiui, toliau pateiktame paveikslėlyje rodomi keturi aptikti instrumentai:

- Du C1000 termocikleriai su „CFX96 Deep Well“ reakcijos moduliais (CFX96DW1 ir CFX96DW2)
- Du C1000 termocikleriai su CFX96 reakcijos moduliais (CFX96I01 ir CFX96I02)



Šioje srityje galima atlikti šiuos veiksmus:

- Peržiūrėti pasirinkto instrumento savybes ir sukalibruotus dažus

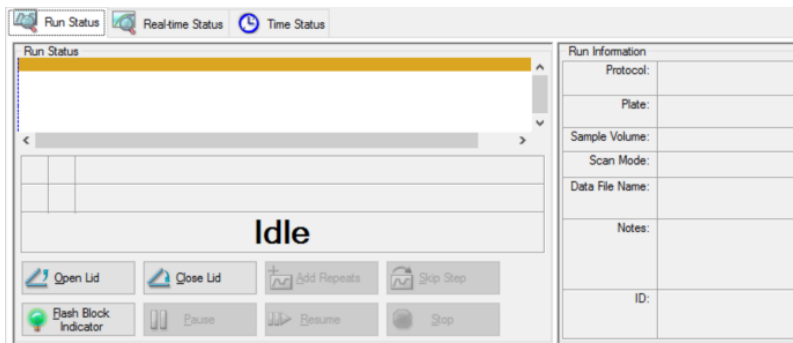
Daugiau informacijos apie instrumento savybes žr. [Instrumento savybių peržiūra, p. 58](#)

- Peržiūrėti prijungto instrumento būseną
- Atidaryti pasirinkto instrumento motorizuotą dangtelį
- Uždaryti pasirinkto instrumento motorizuotą dangtelį
- Peržiūrėti visų prijungtų instrumentų būseną

### Kaip peržiūrėti prijungto instrumento būseną

- ▶ Srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) pasirinkite norimą instrumentą ir atlikite šiuos veiksmus:
  - Spustelėkite „View Status“ (rodyti būseną) dalyje „Selected Instrument“ (pasirinktas instrumentas).
  - Paspauskite dešinįjį pelės mygtuką ir atsidariusiame meniu pasirinkite „View Status“ (rodyti būseną).

Pasirodo dialogo langas „Run Details“ (paleidimo išsami informacija), kuriame yra kortelė „Run Status“ (paleidimo būseną). Pasirinkto instrumento būseną rodoma po paleisties būsenos sritimi, pavyzdžiui:



### Kaip atidaryti arba uždaryti instrumento dangtelį

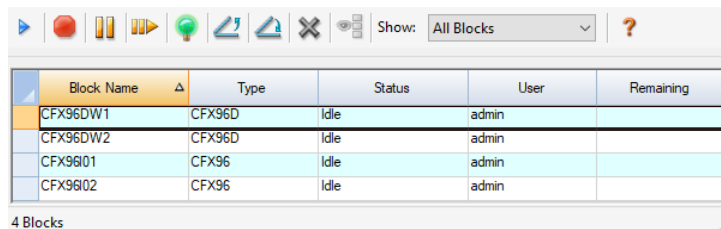
- ▶ Srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) pasirinkite norimą instrumentą ir atlikite šiuos veiksmus:
  - Spustelėkite „Open Lid“ (atidaryti dangtelį) arba „Close Lid“ (uždaryti dangtelį) dalyje „Selected Instrument“ (pasirinktas instrumentas).
  - Paspauskite dešinįjį pelės mygtuką ir atsidariusiame meniu pasirinkite atitinkamą veiksmą.
  - Atidarykite dialogo langą „Run Details“ (paleidimo išsami informacija), pasirinkite kortelę „Run Status“ (paleidimo būseną) ir spustelėkite „Open Lid“ (atidaryti dangtelį) arba „Close Lid“ (uždaryti dangtelį).

### Kaip peržiūrėti visų aptiktų instrumentų būseną

► Atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:

- Srities „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) dalyje „All Instruments“ (visi instrumentai) spustelėkite „View Summary“ (rodyti santrauką).
- Meniu juostoje pasirinkite „View > Instrument Summary“ (rodinys > instrumento santrauka).

Pasirodo dialogo langas „Instrument Summary“ (instrumento santrauka):



The screenshot shows a software interface window titled "Instrument Summary". At the top, there is a toolbar with various icons and a "Show:" dropdown menu set to "All Blocks". Below the toolbar is a table with the following data:

| Block Name | Type   | Status | User  | Remaining |
|------------|--------|--------|-------|-----------|
| CFX96DW1   | CFX96D | Idle   | admin |           |
| CFX96DW2   | CFX96D | Idle   | admin |           |
| CFX9601    | CFX96  | Idle   | admin |           |
| CFX9602    | CFX96  | Idle   | admin |           |










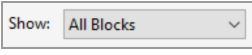
At the bottom left of the window, it says "4 Blocks".

**Patarimas.** Jei sistema aptinka tik vieną prijungtą instrumentą, dalis „All Instruments“ (visi instrumentai) srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) nėra rodoma. Norėdami peržiūrėti atskiro dokumento prietaiso santrauką, pasirinkite „View > Instrument Summary“ (rodinys > instrumento santrauka).

## Įrankių juostos „Instrument Summary“ (instrumento santrauka) valdikliai

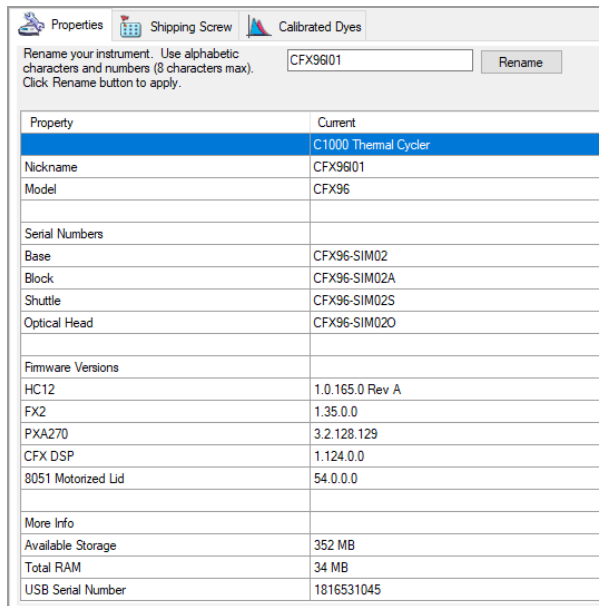
10 lentelė pateikiami įrankių juostoje „Instrument Summary“ (instrumento santrauka) esantys valdikliai ir funkcijos.

10 lentelė. Įrankių juostos „Instrument Summary“ (instrumento santrauka) valdikliai

| Mygtukas  | Mygtuko pavadinimas          | Funkcija  |
|---|------------------------------|---|
|    | Sukurti naują paleidimą      | Sukuria naują paleidimą pasirinktame bloke atidarius langą „Run Setup“ (paleidimo sąranka).   |
|    | Stabdyti                     | Sustabdo esamą paleidimą pasirinktuose blokuose.  |
|    | Pristabdyti                  | Laikinau pristabdo esamą paleidimą pasirinktuose blokuose.  |
|   | Tęsti                        | Tęsia paleidimą pasirinktuose blokuose.   |
|  | Mirksėti bloko indikatoriumi | Blyksteli indikatoriaus šviesos diodu, esančiu ant pasirinktų blokų dangtelio.  |
|  | Atidaryti dangtelį           | Atidaro pasirinkto bloko motorizuotą dangtelį.  |
|  | Uždaryti dangtelį            | Uždaro pasirinkto bloko motorizuotą dangtelį.   |
|  | Paslėpti pasirinktus blokus  | Paslepia pasirinktus blokus sąrašė „Instrument Summary“ (instrumento santrauka)   |
|  | Rodyti visus blokus          | Rodo pasirinktus blokus sąrašė „Instrument Summary“ (instrumento santrauka)   |
|  | Rodyti                       | Leidžia pasirinkti, kuriuos blokus rodyti sąrašė. Pasirinkite vieną iš parinkčių, kad būtų rodomi visi aptikti blokai, visi neveikiantys blokai, visi blokai, veikiantys su dabartiniu vartotoju, arba visi veikiantys blokai |

## Instrumento savybių peržiūra

Srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) galite peržiūrėti išsamią informaciją apie pasirinktą instrumentą, įskaitant jo savybes, transportavimo varžto būseną ir jo kalibruotų dažų (fluoroforų) sąrašą.



| Property           | Current         |
|--------------------|-----------------|
| Nickname           | CFX9601         |
| Model              | CFX96           |
| Serial Numbers     |                 |
| Base               | CFX96-SIM02     |
| Block              | CFX96-SIM02A    |
| Shuttle            | CFX96-SIM02S    |
| Optical Head       | CFX96-SIM02O    |
| Firmware Versions  |                 |
| HC12               | 1.0.165.0 Rev A |
| FX2                | 1.35.0.0        |
| PXA270             | 3.2.128.129     |
| CFX DSP            | 1.124.0.0       |
| 8051 Motorized Lid | 54.0.0.0        |
| More Info          |                 |
| Available Storage  | 352 MB          |
| Total RAM          | 34 MB           |
| USB Serial Number  | 1816531045      |

### Kaip peržiūrėti instrumento savybes

- Srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) galite dešiniuoju pelės mygtuku spustelėti tikslinį instrumentą ir rodomame meniu pasirinkti kortelę „Properties“ (savybės).



## Kortelė „Properties“ (savybės)

Kortelėje „Properties“ (savybės) pateikiama techninė informacija apie pasirinktą instrumentą, įskaitant modelį, jo komponentų serijos numerius ir programinės įrangos versiją. Numatytasis instrumento pavadinimas (serijos numeris) rodomas daugelyje vietų, įskaitant sritį „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) ir dialogo lango „Instrument Properties“ (instrumento savybės) antraštės juostą. Jūs galite pervadinti prietaisą, kad būtų lengviau jį identifikuoti.

### Kaip pervadinti instrumentą

- ▶ Kortelėje „Instrument Properties“ (instrumento savybės) įveskite pavadinimą lauke „Rename“ (pervadinti), esančiame kortelės „Properties“ (savybės) viršuje, ir spustelėkite „Rename“ (pervadinti).

Naujas pavadinimas rodomas eilutėje „Nickname“ (slapyvardis), esančioje kortelėje „Properties“ (savybės), taip pat antraštės juostoje „Instrument Properties“ (instrumento savybės) ir srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai).

## Kortelė „Shipping Screw“ (transportavimo varžtas)

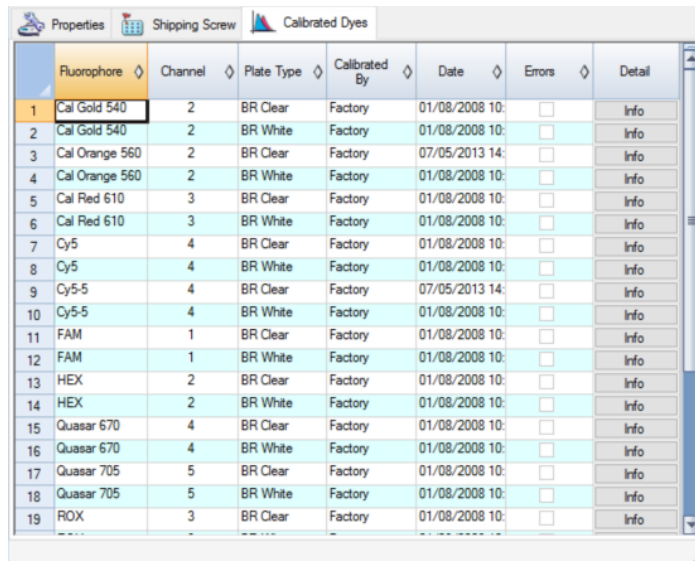
Kortelėje „Shipping Screw“ (transportavimo varžtas) rodoma esama pasirinkto prietaiso transportavimo varžto būseną (pašalintas arba sumontuotas). Kortelėje taip pat pateikti nurodymai, kaip sumontuoti arba pašalinti raudoną transportavimo varžtą.

**Patarimas.** Jei programinė įranga aptinka transportavimo varžtą, dialogo lange „Instrument Properties“ (instrumento savybės) automatiškai rodoma kortelė „Shipping Screw“ (transportavimo varžtas). Vadovaudamiesi nurodymais, išsukite varžtą.

**Pastaba.** Prieš naudodami prietaisą, turite išsukti transportavimo varžtą. Daugiau informacijos žr. skirsnyje [Transportavimo varžto ištraukimas, p. 29](#).

## Kortelė „Calibrated Dyes“ (kalibruoti dažai)

Kortelėje „Calibrated Dyes“ (kalibruoti dažai) rodomi kalibruoti pasirinkto prietaiso fluoroforai ir plokštelės.



The screenshot shows a software window titled 'Calibrated Dyes' with a table of calibration data. The table has columns for Fluorophore, Channel, Plate Type, Calibrated By, Date, Errors, and Detail. The data is as follows:

|    | Fluorophore    | Channel | Plate Type | Calibrated By | Date           | Errors                   | Detail |
|----|----------------|---------|------------|---------------|----------------|--------------------------|--------|
| 1  | Cal Gold 540   | 2       | BR Clear   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 2  | Cal Gold 540   | 2       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 3  | Cal Orange 560 | 2       | BR Clear   | Factory       | 07/05/2013 14: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 4  | Cal Orange 560 | 2       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 5  | Cal Red 610    | 3       | BR Clear   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 6  | Cal Red 610    | 3       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 7  | Cy5            | 4       | BR Clear   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 8  | Cy5            | 4       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 9  | Cy5-5          | 4       | BR Clear   | Factory       | 07/05/2013 14: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 10 | Cy5-5          | 4       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 11 | FAM            | 1       | BR Clear   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 12 | FAM            | 1       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 13 | HEX            | 2       | BR Clear   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 14 | HEX            | 2       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 15 | Quasar 670     | 4       | BR Clear   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 16 | Quasar 670     | 4       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 17 | Quasar 705     | 5       | BR Clear   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 18 | Quasar 705     | 5       | BR White   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |
| 19 | ROX            | 3       | BR Clear   | Factory       | 01/08/2008 10: | <input type="checkbox"/> | Info   |

Norėdami peržiūrėti išsamią informaciją apie kalibravimą, stulpelyje „Detail“ (išsami informacija) spustelėkite mygtuką „Info“ (informacija).

## Prieš pradedant

### Vartotojo nuostatų nustatymas

**Patarimas.** Šių užduočių neprivaloma atlikti, norint naudoti CFX Manager Dx programinę įrangą. Galite saugiai praleisti šią dalį arba atlikti šias užduotis bet kurį kitą kartą.

CFX Manager Dx galite pritaikyti darbo aplinką sau. Jei jūsų administratorius sukūrė programinės įrangos vartotojus, kiekvienas iš jų gali pritaikyti darbo aplinką sau. Jei jūsų administratorius nesukūrė vartotojų, nuostatų pakeitimai taikomi visiems vartotojams, prisijungusiems prie CFX Manager Dx. (Informacijos apie tai, kaip kurti CFX Manager Dx vartotojus, žr. [B priedas, CFX Manager Dx vartotojų ir vaidmenų valdymas.](#))

Pavyzdžiui, meniu „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) galima atlikti šiuos veiksmus:

- Nustatyti, kad būtų siunčiamas pranešimas el. paštu apie baigtą paleidimą
- Keisti šias numatytąsias nuostatas:
  - Vietą, kurioje įrašomi failai
  - Paleidimo sąrankos failus
  - Failo pavadinimo prefiksą
- Nustatyti numatytuosius parametrus, kurie bus naudojami kuriant naują protokolą ir plokštelę
- Nustatyti numatytuosius duomenų analizės ir geno ekspresijos parametrus
- Tinkinti numatytuosius kokybės kontrolės parametrus
- Tinkinti duomenų eksporto duomenų parametrus

Meniu „Tools“ (įrankiai) galima atlikti šiuos veiksmus:

- Sukurti pagrindinį mišinį
- Sukalibruoti dažus konkrečiam prietaisui

**Pastaba.** Pagrindinis mišinys ir dažų kalibravimas prieinami visiems, kurie prisijungia prie CFX Manager Dx.

Šioje dalyje išsamiai paaiškinta, kaip atlikti šias užduotis.

## El. pašto pranešimų nustatymas

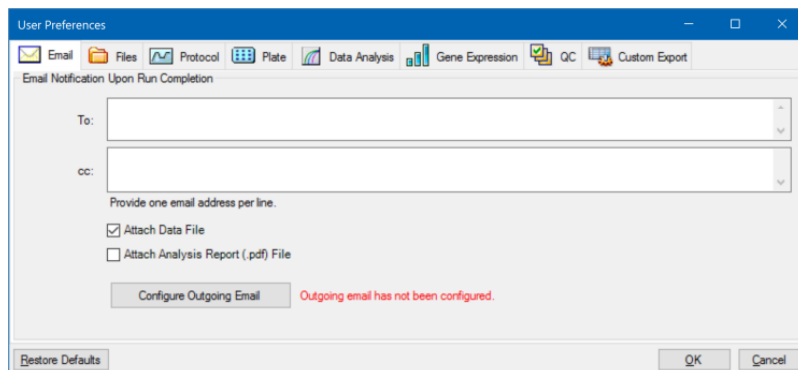
CFX Manager Dx galite prijungti prie siunčiamo el. pašto serverio ir, baigus paleidimą, sąraše esantiems vartotojams išsiųsti pranešimus el. paštu. Taip pat galite pasirinkti prisegti duomenų failą ir analizės ataskaitą sąraše esantiems vartotojams. Norėdami užmegzti ryšį tarp CFX Manager Dx ir jūsų SMTP serverio, žr. [CFX Manager Dx prijungimas prie SMTP serverio, p. 63](#).

**Pastaba.** Vartotojo galimybė pereiti prie el. pašto nuostatų funkcijų priklauso nuo vartotojų grupės ir administratoriaus suteiktų leidimų. Išsamios informacijos apie vartotojų ir jų vaidmenų valdymą žr. [Vartotojų valdymas, p. 275](#).

### Kaip nustatyti el. pašto pranešimus

1. Pasirinkite „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) ir atverkite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).

Parodomas dialogo langas „User Preferences“ (vartotojo nuostatos), kuriame rodoma kortelė „Email“ (el. paštas).



**Pastaba.** Jus informuos, jeigu sistema nustatys, kad nenustatėte galiojančio SMTP serverio, skirto CFX Manager Dx. Spustelėkite „Configure Outgoing Email“ (konfigūruoti siunčiamą el. paštą), atverkite dialogo langą „Options“ (parinktys) ir sukonfigūruokite el. pašto SMTP serverį. Daugiau informacijos žr. [CFX Manager Dx prijungimas prie SMTP serverio, p. 63](#).

2. Tekstiniame langelyje „To“ (i) įrašykite kiekvieno asmens, kurį planuojate informuoti apie paleidimo baigimą, el. pašto adresą. Visi gavėjai gaus el. laišką, kai bus baigtas paleidimas.

**Pastaba.** Turite kiekvieną el. pašto adresą įvesti atskiroje eilutėje. Paspauskite „Enter“ (įvesti) arba „Return“ (grįžti) po kiekvieno adreso.

3. (Neprivaloma) Tekstiniame langelyje „cc“ įrašykite kiekvieno gavėjo, kuriam planuojate išsiųsti kiekvieno pranešimo kopiją, el. pašto adresą.

4. (Neprivaloma) Pagal numatytuosius parametrus visi gavėjai gauna duomenų failo kopiją kaip priedą. Panaikinkite žymės langelio žymėjimą, jeigu nenorite prisegti duomenų failo kopijos.
5. (Neprivaloma) Pasirinkite „Attach Analysis Report“ (prisegti analizės ataskaitą) ir prie el. laiško prisekite analizės ataskaitos PDF failą.
6. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).

#### Kaip redaguoti gavėjo el. pašto adresą

- ▶ Jeigu reikia, pakeiskite el. pašto adresą ir spustelėkite OK (gerai).

#### Kaip pašalinti gavėjo el. pašto adresą

1. Pasirinkite gavėjo el. pašto adresą ir paspauskite klavišą „Delete“ (šalinti).
2. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą.

**Svarbu.** Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) spustelėjus „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) visose kortelėse iš naujo nustatomos visos nuostatos į pradinės gamyklines nuostatas. Būkite atsargūs, kai spaudžiate šį mygtuką.

### CFX Manager Dx prijungimas prie SMTP serverio

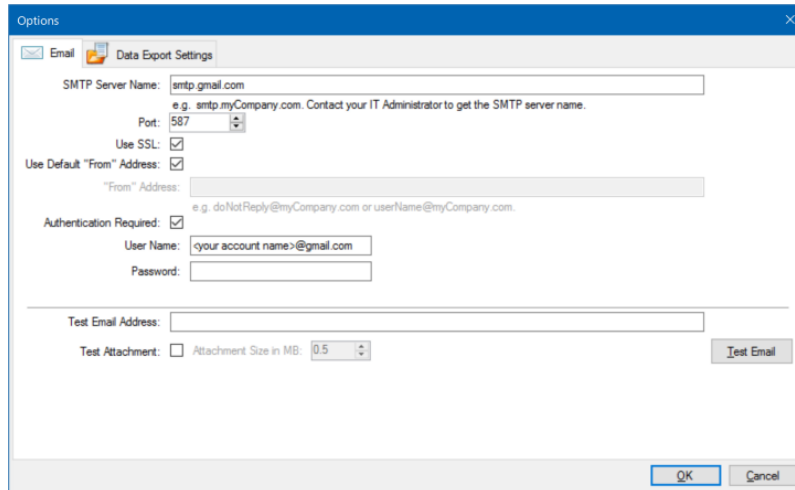
**Svarbu.** Kai kurie komercinio tinklo paslaugų teikėjai (pvz., „Yahoo!“ ir „Gmail“) padidino el. pašto saugą. Jeigu naudojate šias paskyras, jų paskyros nuostatose turite įjungti nuostatą „**Allow less secure apps**“ (leisti mažiau saugias programas) ir įjunkite CFX Manager Dx, kad siųstų el. laiškus. Daugiau žr. savo interneto paslaugų teikėjo saugos informacijoje.

Turite nustatyti ryšį su CFX Manager Dx ir savo el. pašto serveriu prieš programinei įrangai išsiunčiant pranešimą el. paštu.

#### CFX Manager Dx prijungimas prie el. pašto serverio

1. Atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Pasirinkite „User > User Preferences“ (vartotojas > vartotojo nuostatos) ir spustelėkite „Configure Outgoing Email“ (konfigūruoti siunčiamus el. laiškus) kortelėje „Email“ (el. paštas).
  - Pasirinkite „Tools > Options“ (įrankiai > parinktys).

Atveriamas dialogo langas „Options“ (parinktys), kuriame rodoma kortelė „Email“ (el. paštas).



The screenshot shows the 'Options' dialog box with the 'Email' tab selected. The fields are as follows:

- SMTP Server Name: smtp.gmail.com
- Port: 587
- Use SSL:
- Use Default "From" Address:
- "From" Address: [empty]
- Authentication Required:
- User Name: your account name@gmail.com
- Password: [empty]
- Test Email Address: [empty]
- Test Attachment:  Attachment Size in MB: 0.5

2. Pateikite šią savo kompanijos informaciją:

- **„SMTP Server Name“ (SMTP serverio pavadinimas)** – išsiunčiamų el. laiškų serverio jūsų kompanijoje pavadinimas.
- **„Port“ (prievedas)** – jūsų SMTP serverio prievedo numeris. Paprastai tai yra 25.
- **„Use SSL“ (naudoti SSL)** – saugiųjų jungčių lygmens (SSL) parinktis. Kai kuriems SMTP serveriams reikia šios nuostatos. Jeigu jūsų kompanijai to nereikia, panaikinkite šio žymės langelio žymėjimą.
- **„Use Default “From” Address“ (naudoti numatytąjį išsiuntimo „iš“ adresą)** – jūsų kompanijos el. pašto serverio pavadinimas. Kai kuriems SMTP serveriams reikia, kad visi išsiųsti el. laiškai turėtų adresą „iš“, tai yra iš tam tikro domeno, pavyzdžiui, name@YourCompany.com. Jeigu tai galioja, panaikinkite šio žymės langelio žymėjimą ir pateikite galiojantį el. pašto adresą.
- **„Authentication Required“ (būtina autentifikuoti)** – jeigu jūsų vietoje reikia autentifikuoti paskyrą, patikrinkite, ar pažymėtas žymės langelis.
- **„User Name“ (vartotojo vardas)** – autentifikuotos paskyros pavadinimas. To reikalaujama tik tada, jeigu pasirinkta „Authentication Required“ (būtina autentifikuoti).
- **„Password“ (slaptažodis)** – autentifikuotos paskyros slaptažodis. To reikalaujama tik tada, jeigu pasirinkta „Authentication Required“ (būtina autentifikuoti).

- Norėdami patikrinti, ar teisingos SMTP serverio nuostatos, į tekstinį langelį „Test Email Address“ (patikrinti el. pašto adresą) įveskite galiojantį el. pašto adresą ir pasirinkite „Test Email“ (patikrinti el. paštą).

**Pastaba.** Kai kurie SMTP serveriai neleidžia siųsti priedų, o kiti leidžia siųsti tik tam tikro didžiausio dydžio priedus. Jeigu planuojate el. paštu siųsti duomenų failus ir (arba) ataskaitas naudodami CFX Manager Dx, pasirinkite „Test Attachment“ (patikrinti priedą) ir nustatykite 5 megabaitų (MB) ar didesnę „Attachment Size in MB“ (priedo dydis megabaitais).

- Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langelį.

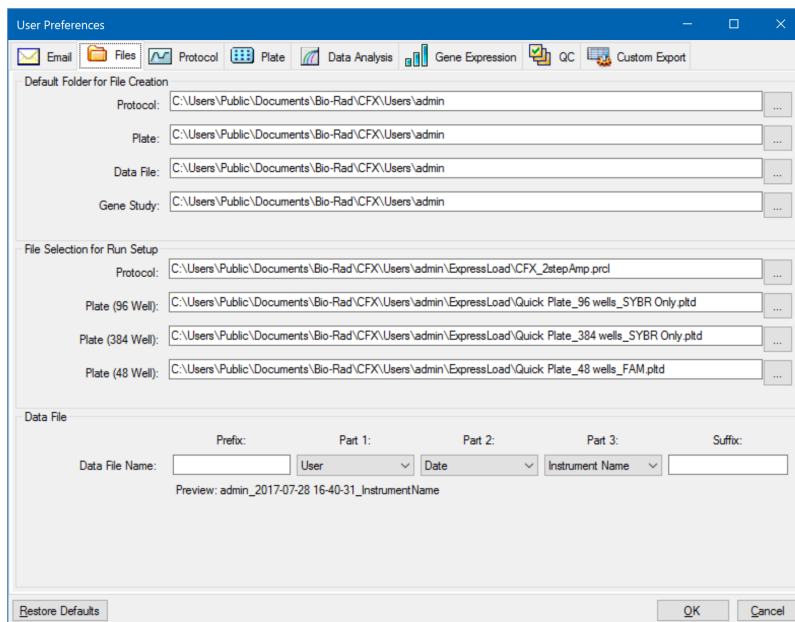
### Numatytųjų failų nuostatų keitimas

Dialogo lango failo kortelėje „User Preference“ (vartotojo nuostatos) galite pakeisti šias nuostatas:

- Numatytąją vietą CFX Manager Dx failams įrašyti
- Numatytuosius failus paleidimo sąrankai
- Numatytuosius failo pavadinimo parametrus

### Kaip pakeisti numatytųjų failų nuostatas

- Pasirinkite „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) ir atverkite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).
- Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) pasirinkite kortelę „Files“ (failai).



3. Pereikite į skyrių „Default Folder for File Creation“ (numatytasis aplankas failui sukurti) ir pasirinkite numatytąjį aplanką, kuriame norite įrašyti naujus failus. Kiekvienam failų tipui galite pasirinkti skirtingą vietą:
  - Protokolas
  - Plokštelė
  - Duomenų failas
  - Geno tyrimas
4. Eikite į skyrių „File Selection for Run Setup“ (failo pasirinkimas paleidimo sąrankai) ir pasirinkite rodomus tikslinio protokolo ir plokštelės failus, kai atversite langą „Experiment Setup“ (eksperimento sąranka).
5. Skyriuje „Data File“ (duomenų failas) nustatykite duomenų failų pavardį ir (arba) povardį. Bet kuriai daliai išplečiamajame sąraše pasirinkite naują vertę. Pavardžio ir povardžio tekstiniuose langeliuose taip pat galite pateikti tinkintą pavardį ir povardį.

CFX Manager Dx po pasirinkimo langeliais parodo failo pavadinimo apžvalgą.
6. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą.

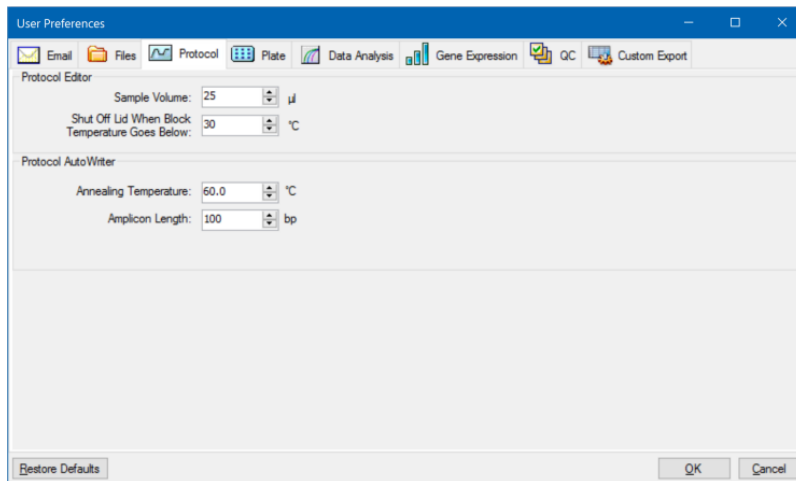
**Svarbu.** Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) spustelėjus „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) visose kortelėse iš naujo nustatomos visos nuostatos į pradinės gamyklines nuostatas. Būkite atsargūs, kai spustelėsite šį mygtuką.



## Numatytųjų protokolo parametrų nustatymas

### Numatytųjų protokolų parametrų „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) ir „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) nustatymas

1. Pasirinkite „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) ir atverkite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).
2. Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) pasirinkite kortelę „Protocol“ (protokolas).



3. Skyriuje „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) nurodykite šių nuostatų vertes, kurios rodomos „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius):
  - **„Sample volume“ (mėginio tūris)** – kiekvieno mėginio šulinėlyje tūris (µl).
  - **„Lid Shutoff temperature“ (dangtelio išjungimo temperatūra)** – temperatūra °C, kuriai esant paleidimo metu dangtelio kaitinimas išjungiamas.
4. Skyriuje „Protocol AutoWriter“ (protokolo automatinio kūrimo priemonė) nurodykite šių nuostatų vertes, kurios rodomos „Protocol AutoWriter“ (protokolo automatinio kūrimo priemonė):
  - **„Annealing temperature“ (atkaitinimo temperatūra)** – temperatūra °C eksperimentams, kuriuose naudojama „iProof“ DNR polimerazė, „iTaq“ DNR polimerazė ar kitos polimerazės.
  - **„Amplicon length“ (amplikono ilgis)** – amplikono ilgis bp.
5. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą.

**Svarbu.** Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) spustelėjus „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) visose kortelėse iš naujo nustatomos visos nuostatos į pradinę gamyklines nuostatas. Būkite atsargūs, kai spaudžiate šį mygtuką.

## Numatytųjų plokštelės parametrų nustatymas

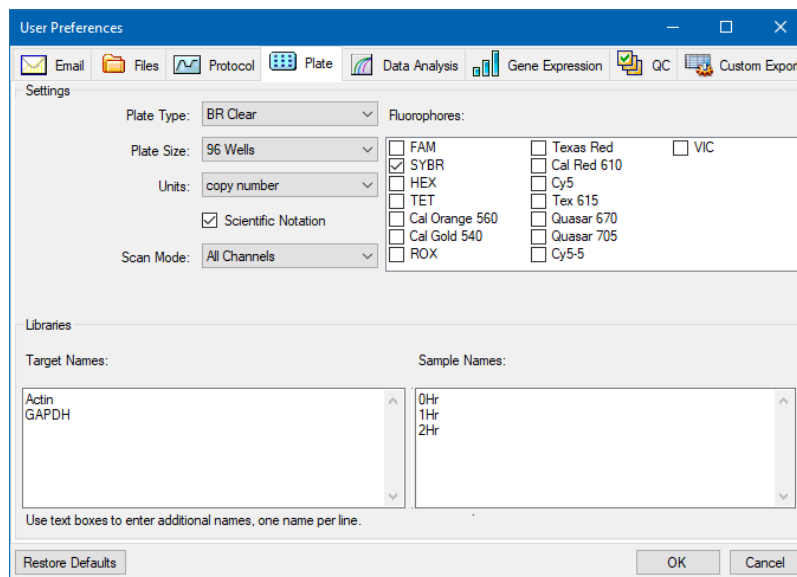
Kortelėje „Plate“ (plokštelė) padaryti pakeitimai galioja visiems programinės įrangos vartotojams. Per plokštelės sąranką atlikti pakeitimai pritaikomi vartotojams tada, kai juos įrašote ir uždarote.

Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) galima atlikti šiuos veiksmus:

- Nustatyti numatytuosius plokštelės parametrus
- Pridėti naują tikslo ir mėginio pavadinimą į atitinkamą biblioteką
- Pašalinti tikslo ir mėginio pavadinimą iš atitinkamos bibliotekos

### Kaip nustatyti numatytuosius plokštelės parametrus

1. Pasirinkite „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) ir atverkite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).
2. Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) pasirinkite kortelę „Plate“ (plokštelė).



3. Nurodykite šių naujo plokštelės failo nuostatų reikšmes. Šios reikšmės pateikiamos lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius):

- **„Plate type“ (plokštelės rūšis)**
- **„Plate size“ (plokštelės dydis)**
- **„Units“ (vienetai)** – pradinio šablono koncentracija šulinėliuose, kuriuose yra standartų.  
CFX Manager Dx šie vienetai naudojami standartinei kreivei sukurti kortelėje „Data Analysis Quantification“ (duomenų analizės kiekybinis įvertinimas).
- **„Scientific notation“ (standartinė skaičiaus išraiška)** – pasirinkus šią parinktį CFX Manager Dx standartinėje skaičiaus išraiškoje rodomi koncentracijos vienetai.
- **„Scan mode“ (nuskaitymo režimas)** – kanalų, kuriuos norite nuskaityti per paleidimą, skaičius ar tipas.
- **„Fluorophores“ (fluoroforai)** – numatytieji fluoroforai, pateikiami „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) šulinėlių apkrovimo valdikliuose.
- **„Libraries“ (bibliotekos)** – tikslo ir mėginio pavadinimai, kuriuos paprastai naudojate eksperimentuose:
  - **„Target names“ (tikslų pavadinimai)** – tikslo genų ir sekų pavadinimai.
  - **„Sample names“ (mėginių pavadinimai)** – eksperimentinių mėginių pavadinimai arba identifikavimo charakteristika (pavyzdžiui, „Mouse1“ (1 pelė), „Mouse2“ (2 pelė), „Mouse3“ (3 pelė)).

4. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą.

#### **Kaip pridėti naują tikslo ar mėginio pavadinimą**

- ▶ Atitinkamame bibliotekos laukelyje įrašykite tikslo ar mėginio pavadinimą ir spustelėkite OK (gerai).

#### **Kaip pašalinti tikslo ar mėginio pavadinimą**

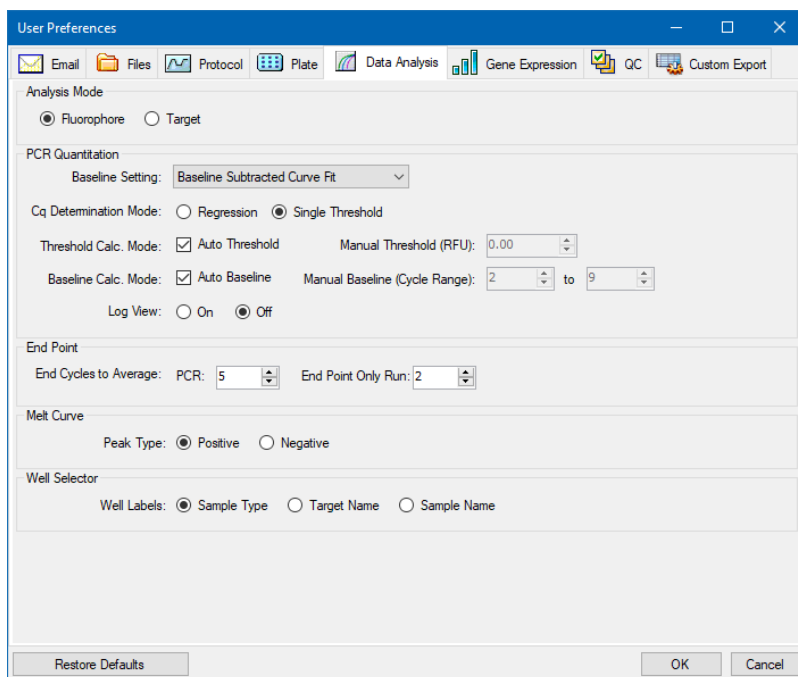
- ▶ Atitinkamame bibliotekos laukelyje pasirinkite pavadinimą ir spauskite mygtuką „Delete“ (šalinti) ir OK (gerai).

**Svarbu.** Pavadinimai, kuriuos pašalinate iš bibliotekos, pašalinami iš programinės įrangos ir vartotojas daugiau negali jų naudoti. Norėdami atkurti numatytuosius CFX Manager Dx pavadinimus, spauskite „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus). Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) spustelėjęs „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) visose kortelėse iš naujo nustatomos visos nuostatos į pradinės gamyklines nuostatas. Būkite atsargūs, kai šalinate numatytuosius „CFX Manager Dx“ pavadinimus ir spaudžiate šį mygtuką.

## Numatyųjų duomenų analizės parametrų nustatymas

### Kaip nustatyti numatytuosius duomenų analizės parametrus

1. Pasirinkite „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) ir atverkite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).
2. Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) pasirinkite kortelę „Data Analysis“ (duomenų analizė).



3. Dalyje „Analysis Mode“ (analizės režimas) pasirinkite režimą, kuriame analizuoti duomenis („Fluorophore“ (fluoroforas) arba „Target“ (tikslas)).
4. Dalyje „PCR Quantitation“ (PGR kiekybinis įvertinimas) nustatykite šių parinkčių numatytuosius parametrus:
  - **„Baseline Setting“ (pagrindinė nuostata)** – pagrindinis analizės režimo metodas.
  - **„Cq Determination Mode“ (Cq nustatymo režimas)** – režimas, kuriame  $C_q$  reikšmės apskaičiuojamos kiekvienam fluorescencijos pėdsakui (regresijos arba atskiros ribinės reikšmės).

- **„Threshold Calc. Mode“ (ribinės reikšmės skaičiavimo režimas)** – galutinio taško tikslo kiekis.

Numatytoji nuostata – „Auto“ (automatinė). Tai reiškia, kad programinė įranga automatiškai apskaičiuoja galutinio taško tikslą. Norėdami nustatyti konkrečią ribinę reikšmę, išvalykite žymės langelį „Auto“ (automatinė) ir įveskite galutinio taško kiekį, apskaičiuotą santykiniais fluorescencijos vienetais (arba RFU). Didžiausia reikšmė – 65 000,00 RFU. Duomenų failuose, skirtuose vėlesniems paleidimams, bus naudojama ši ribinės reikšmės nuostata.

- **„Baseline Calc. Mode“ (pagrindinės reikšmės skaičiavimo režimas)** – visų pėdsakų pagrindinė reikšmė.

Numatytoji nuostata – „Auto“ (automatinė). Tai reiškia, kad programinė įranga automatiškai apskaičiuoja visų pėdsakų pagrindinę reikšmę. Norėdami nustatyti konkrečią pagrindinę reikšmę, išvalykite žymės langelį „Auto“ (automatinė) ir įveskite mažiausią ir didžiausią ciklo intervalo reikšmes (nuo 1 iki 9999). Duomenų failuose, skirtuose vėlesniems paleidimams, bus naudojamas šis ciklo intervalas.

- **„Log View“ (žurnalo rodinys)** – nustato, kaip programinėje įrangoje atvaizduojami amplifikavimo duomenys:

- „On“ (įjungta)** – amplifikavimo duomenys rodomi pusiau logaritminiame grafike.

- „Off“ (išjungta)** – (numatytieji) amplifikavimo duomenys rodomi linijiniame grafike.

6. Dalyje „End Point“ (galutinis taškas) pasirinkite galutinių ciklų skaičių, kuris bus naudojamas atliekant galutinio taško skaičiavimus:

- **„PCR“** – galutinių ciklų skaičius, kuris bus naudojamas kiekybinio įvertinimo duomenims (numatytasis – 5).

- **„End Point Only run“ (paleidimas tik galutiniame taške)** – galutinių ciklų skaičius, kuris bus naudojamas galutinio taško duomenims (numatytasis – 2).

7. Dalyje „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) pasirinkite, kokio tipo didžiausią temperatūrą norite aptikti (teigiamą arba neigiamą).

8. Dalyje „Well Selector“ (šulinėlių parinkiklis) pasirinkite, kaip rodyti šulinėlių etiketes (pagal mėginio rūšį, tikslo pavadinimą arba mėginio pavadinimą).

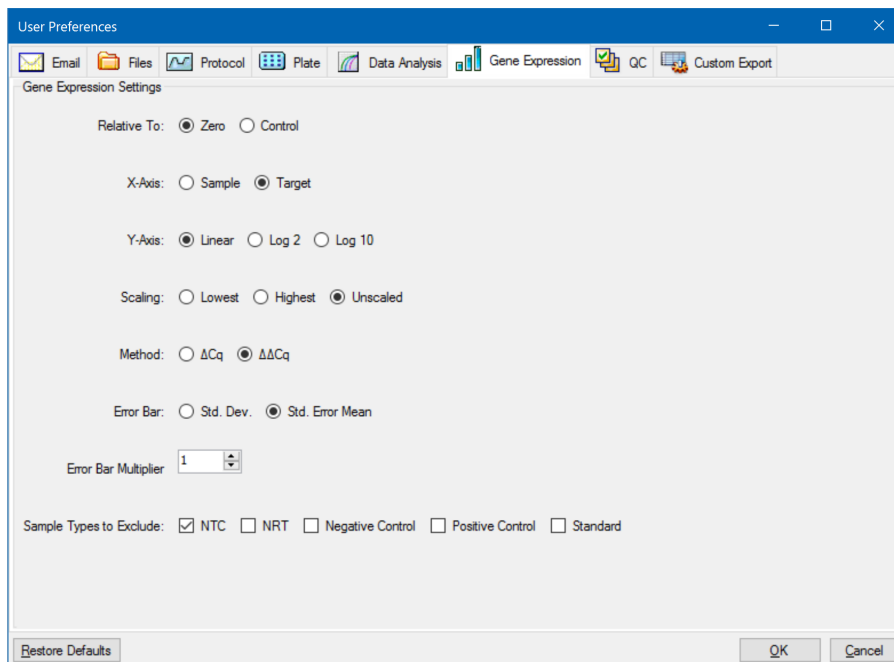
9. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą.

**Svarbu.** Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) spustelėjus „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) visose kortelėse iš naujo nustatomos visos nuostatos į pradinę gamyklines nuostatas. Būkite atsargūs, kai spaudžiate šį mygtuką.

## Numatyjų geno ekspresijos duomenų failo parametrų nustatymas

### Kaip nustatyti numatytuosius naujo geno ekspresijos duomenų failo parametrus

1. Pasirinkite „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) ir atverkite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).
2. Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) pasirinkite kortelę „Gene Expression“ (geno ekspresija).



3. Nurodykite šių nuostatų reikšmes:

- **„Relative to“ (lyginant su)** – grafike parodomi geno ekspresijos duomenys, lyginant su kontroliniu mėginiu (prasidedančiu nuo 1) arba nuliu:
  - **„Zero“ (nulis)** – programinė įranga ignoruoja kontrolinį mėginį. Ši nuostata yra numatytoji, kai lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) nėra priskirto kontrolinio mėginio.
  - **„Control“ (kontrolė)** – programinė įranga apskaičiuoja duomenis, lygindama su kontroliniu mėginiu, priskirtu lange „Experiment Setup“ (eksperimento sąranka).
- **„X-axis“ (x ašis)** – mėginys arba tikslas grafiškai atvaizduojamas ant x ašies.
- **„Y-axis“ (y ašis)** – linijinė, log2 arba log10 skalė grafiškai atvaizduojama ant y ašies.

- **„Scaling“ (mastelio keitimas)** – grafiko mastelio keitimo parinktis (numatytoji parinktis – neapdorota):
  - **„Highest“ (didžiausias)** – programinė įranga pakeičia grafiko dydį į didžiausią duomenų tašką.
  - **„Lowest“ (mažiausias)** – programinė įranga pakeičia grafiko dydį į mažiausią duomenų tašką.
  - **„Unscaled“ (neapdorotas)** – programinė įranga pateikia neapdorotus duomenis grafike.
- **„Mode“ (režimas)** – analizės režimas: santykinis kiekis ( $\Delta C_q$ ) arba normalizuota ekspresija ( $\Delta \Delta C_q$ ).
- **„Error Bar“ (paklaidos juosta)** – duomenų kintamumas, pateikiamas kaip standartinis nuokrypis („Std. Dev.“) arba vidurkio standartinė paklaida („Std. Error Mean“).
- **„Error Bar Multiplier“ (paklaidos juostos daugiklis)** – standartinio nuokrypio daugiklis, naudojamas grafiškai atvaizduoti paklaidų juostoms (numatytasis – 1).

Daugiklį galite padidinti iki 2 arba 3.

- **„Sample Types to Exclude“ (neįtrauktini mėginių tipai)** – mėginių tipai, kurių nenorite įtraukti į analizę.

Galite pasirinkti vieną ar kelis mėginius, kurių nenorite įtraukti į analizę. Jei nenorite įtraukti nė vieno mėginio tipo, išvalykite pasirinktų tipų žymės langelius.

4. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą.

**Svarbu.** Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) spustelėjus „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) visose kortelėse iš naujo nustatomos visos nuostatos į pradinės gamyklines nuostatas. Būkite atsargūs, kai spaudžiate šį mygtuką.

### Kaip tinkinti kokybės kontrolės taisykles

CFX Manager Dx galite nustatyti kokybės kontrolės taisykles, kurios galiotų duomenims lange „Data Analysis“ (duomenų analizė). Programinė įranga patvirtina duomenis pagal jūsų nustatytas taisykles.

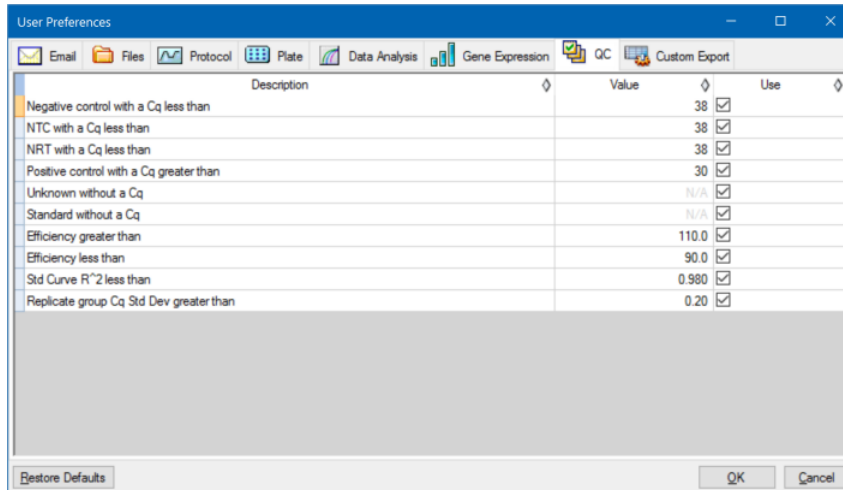
**Pastaba.** Pagal numatytąsias nuostatas visos kokybės kontrolės taisyklės yra įjungtos.

**Patarimas.** Galite lengvai pašalinti šulinėlius, kurie neatitinka KK parametro, iš analizės lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) KK modulyje.



## Kaip tinkinti kokybės kontrolės taisykles

1. Pasirinkite „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) ir atverkite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).
2. Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) pasirinkite kortelę QC (KK).



kur:

- **NTC** – nėra šablono kontrolės
  - **NRT** – nėra atvirkštinės transkriptazės kontrolės
  - **„Efficiency“ (veiksmingumas)** – reakcijos veiksmingumas
  - **„Std Curve R<sup>2</sup>“ (standartinės kreivės R<sup>2</sup>)** – R kvadratinė vertė standartinei kreivei
  - **„Replicate group Cq Std Dev“ (kopijų grupės apskaičiuotas standartinis nuokrypis)** – standartinis nuokrypis, apskaičiuotas kiekvienai kopijų grupei
3. Kiekvienai QC (KK) taisyklei atlikite vieną iš šių veiksmų:
    - Norėdami naudoti numatytąją vertę, nieko nedarykite.
    - Norėdami pakeisti jos vertę, spustelėkite tekstinį langelį „Value“ (vertė), įrašykite naują vertę ir paspauskite klavišą „Enter“ (įvesti).
    - Norėdami išjungti taisyklę, panaikinkite žymės langelio „Use“ (taikyti) žymėjimą.
  4. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą.

**Svarbu.** Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) spustelėjus „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) visose kortelėse iš naujo nustatomos visos nuostatos į pradinės gamyklinės nuostatas. Būkite atsargūs, kai spaudžiate šį mygtuką.

### Duomenų eksporto parametrų tinkinimas

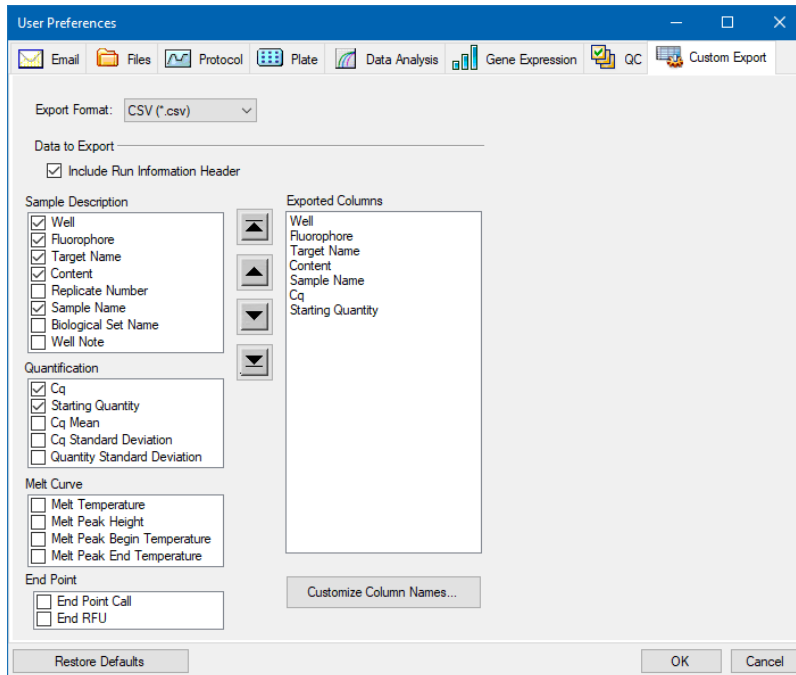
CFX Manager Dx duomenis galite eksportuoti šiais formatais:

- Tekstinis (.txt)
- CSV (.csv)
- „Excel 2007“ (.xlsx)
- „Excel 2003“ (.xls)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

Galite nurodyti, kokio tipo duomenis eksportuoti, ir tinkinti eksportuojamų duomenų išvestį.

## Kaip tinkinti duomenų eksporto parametrus

1. Pasirinkite „Users > User Preferences“ (vartotojai > vartotojo nuostatos) ir atverkite dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).
2. Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) pasirinkite kortelę „Custom Export“ (pasirinktinis eksportas).



3. Išplečiamajame sąrašė „Export Format“ (eksporto formatas) pasirinkite, kokių formatu eksportuoti duomenis.
4. Dalyje „Data to Export“ (eksportuojami duomenys) pasirinkite arba išvalykite eksportuojamų duomenų tipo žymės langelius. Pasirinkti elementai pasirodo sąrašo lauke „Exported Columns“ (eksportuoti stulpeliai).

**Pastaba.** Pagal numatytąsias nuostatas paleisties informacija įtraukta į antraštę. Jei nenorite įtraukti paleisties informacijos, išvalykite šį žymės langelį.

5. Galite keisti pasirinktų elementų išvesties rodymo tvarką.

Sąrašo lauke „Exported Columns“ (eksportuoti stulpeliai) pažymėkite elementą ir spausdami sąrašo kairėje esančias rodykles perkeltkite jį aukštyn arba žemyn.

6. Pasirinktinai galite keisti pasirinktų elementų išvesties stulpelių pavadinimus:
  - a. Spustelėkite „Customize Column Names“ (tinkinti stulpelių pavadinimus).

Pasirodo dialogo langas „Column Name Customizer“ (stulpelių pavadinimų pasirinkimo priemonė).
  - b. Kiekvieno numatytojo stulpelio pavadinimo, kurį norite pakeisti, naują pavadinimą įveskite laukelyje „Custom Name“ (pasirinktinis pavadinimas).
  - c. Atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
    - Spustelėkite OK (gerai), įrašykite keitimus ir grįžkite į kortelę „Custom Export“ (pasirinktinis eksportas). Naujasis pavadinimas pasirodo skliausteliuose, šalia numatytojo stulpelio pavadinimo sąrašo lauke „Exported Columns“ (eksportuoti stulpeliai).
    - Spustelėkite „Cancel“ (atšaukti), išvalykite pakeitimus ir grįžkite į kortelę „Custom Export“ (pasirinktinis eksportas).
7. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą.

**Svarbu.** Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) spustelėjus „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) visose kortelėse iš naujo nustatomos visos nuostatos į pradinės gamyklines nuostatas. Būkite atsargūs, kai spaudžiate šį mygtuką.

## Reakcijos pagrindinio mišinio sukūrimas

Naudodamiesi CFX Manager Dx „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvą) galite lengvai apskaičiuoti kiekvieno komponento savo pagrindiniame mišinyje reikiamą tūrį. Galite atspausdinti pagrindinio mišinio skaičiavimų lentelę savo numatytuoju spausdintuvu ir įrašyti kiekvieno tikslo skaičiavimus ateičiai.

### Reakcijos mišinio sukūrimas naudojant „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvą)

1. Norėdami atverti „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvą), atlikite vieną iš šių veiksmų:

- Pasirinkite „Tools > Master Mix Calculator“ (įrankiai > pagrindinio mišinio skaičiuotuvą).
- Įrankių juostoje spustelėkite „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvą).

Parodomas „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvą).

| Component | Volume Per Reaction (μl) | Total Volume for 96 Reactions + (5)% |
|-----------|--------------------------|--------------------------------------|
| *         |                          |                                      |

2. Skyriuje „Reaction“ (reakcija) pasirinkite aptikimo metodą:
  - „SYBR® Green“ / „EvaGreen“
  - „Probes“ (zondai)
3. Norėdami sukurti naują tikslą, tikslo skyriuje spustelėkite „Create New“ (sukurti naują). Tikslo išplečiamajame sąrašė parodomas naujo tikslo pavadinimas.
4. (Neprivaloma) Norėdami pakeisti numatytąjį tikslo pavadinimą:
  - a. Išplečiamajame tikslų sąrašė paryškinkite tikslo pavadinimą.
  - b. Langelyje „Target“ (tikslas) įrašykite naują tikslo pavadinimą.
  - c. Paspauskite klavišą „Enter“ (įvesti).
5. Koreguokite tiesioginių ir atvirkštinių pradmenų ir visų zondų pradžios ir pabaigos koncentracijas.
6. Skyriuje „Master Mix Setup“ (pagrindinio mišinio sąranka) pakoreguokite vertes:
  - Paleidžiamų reakcijų skaičių
  - Reakcijos tūrį šulinėliui
  - Šablono tūrį šulinėliui
  - Supermišinio koncentraciją šulinėliui
  - Perteklinės reakcijos tūrį šulinėliui
7. (Neprivaloma) Atlikite 2–6 veiksmus su tiek tikslų, kiek reikia.
8. Skyriuje „Choose Target to Calculate“ (pasirinkite skaičiuotiną tikslą) pasirinkite skaičiuotiną tikslą.

**Patarimas.** Vienu metu galite apskaičiuoti tik vieną, kelis arba visus tikslus.

Kiekvieno pasirinkto tikslo reikiamų komponentų apskaičiuoti tūriai rodomi pagrindinio mišinio lentelėje.
9. Spustelėkite „Set as Default“ (nustatyti kaip numatytąjį) ir skyriuose „Target“ (tikslas) ir „Master Mix Setup“ (pagrindinio mišinio sąranka) nustatykite įvedamus kiekius kaip naujus numatytuosius.
10. Spustelėkite OK (gerai) ir įrašykite dialogo lango „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvą) turinį.

### **Pagrindinio mišinio skaičiavimų lentelės spausdinimas**

- ▶ Norėdami atspausdinti pagrindinio mišinio skaičiavimų lentelę, spustelėkite „Print“ (spausdinti).  
Skaičiavimų lentelė atspausdinama jūsų numatytajame spausdintuve.

### **Pagrindinio mišinio skaičiavimų lentelės įrašymas PDF formatu**

- ▶ Savo numatytąjį spausdintuvą pakeiskite į PDF tvarkyklę ir „Master Mix Calculator“ (pagrindinio mišinio skaičiuotuvas) spustelėkite „Print“ (spausdinti).

### **Tikslų naikinimas**

- ▶ Išplečiamajame tikslų sąraše pasirinkite tikslą ir spustelėkite „Remove“ (pašalinti).  
**Svarbu.** Tikslą šalinant iš tikslų sąrašo, jis taip pat pašalinamas iš visų pagrindinių mišinių skaičiavimų, kuriuose buvo naudojamas. Būkite atsargūs, kai šalinate tikslą.

## Naujų dažų kalibravimas

Sistemos „CFX96 Dx“ yra gamykloje sukalibruotos dažniausiai naudojamiems fluoroforams baltų ir skaidrių šulinėlių plokštelėse. **11 lentelė** išvardyti fluoroforai ir kanalai, kuriems sukalibruotas kiekvienas instrumentas.

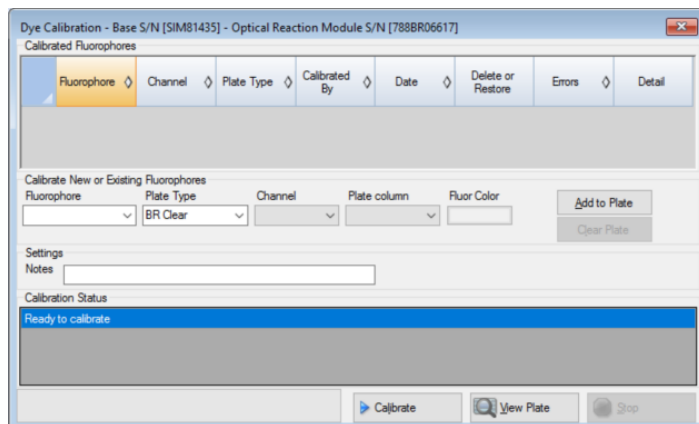
**Pastaba.** Sistemos „CFX96 taip pat apima kanalą, skirtą FRET chemijai. Šio kanalo nereikia kalibruoti konkrečiam dažui.

**11 lentelė. Gamykloje kalibruoti fluoroforai ir kanalai**

| Fluoroforai  | Kanalas | Sužadınimas, nm | Aptikimas, nm |
|--|---------|-----------------|---------------|
| FAM, „SYBR® Green I“                                   | 1       | 450–490         | 515–530       |
| VIC, HEX, „CAL Fluor Gold 540“, „Cal Fluor Orange 560“ | 2       | 515–535         | 560–580       |
| ROX, „Texas Red“, „CAL Fluor Red 610“, TEX 615         | 3       | 560–590         | 610–650       |
| CY5, „Quasar 670“                                      | 4       | 620–650         | 675–690       |
| „Quasar 705“, „Cy5.5“                                  | 5       | 672–684         | 705–730       |

## Naujų dažų kalibravimas CFX sistemoms

1. Lango „Home“ (pagrindinis) srityje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai) pasirinkite tikslinį instrumentą.
2. Pasirinkite „Tools > Calibration Wizard“ (įrankiai > kalibravimo vedlys) ir atverkite vedlį „Dye Calibration“ (dažų kalibravimas).





Fluoroforas, jau kalibruotas tiksliam instrumentui, rodomas lentelėje „Calibrated Fluorophores“ (kalibruoti fluoroforai).

3. Skyriuje „Calibrate New or Existing Fluorophores“ (kalibruoti naujus ir esamus fluoroforus) iš išplečiamojo sąrašo pasirinkite kalibruojamą fluoroforą.

Jeigu fluoroforo pavadinimas į sąrašą neįtrauktas, jo pavadinimą įrašykite į tekstinį langelį ir įtraukite jį į sąrašą.

4. Pasirinkite fluoroforo plokštelės tipą.

Jeigu fluoroforo tipas į sąrašą neįtrauktas, pavadinimą įrašykite į tekstinį langelį ir įtraukite jį į sąrašą.

5. Pasirinkite fluoroforo kanalą.

6. Pasirinkite fluoroforo plokštelės stulpelį.

7. (Neprivaloma) Įrašykite su fluoroforu siejamą spalvą.

8. Spustelėkite „Add to Plate“ ( pridėti plokštelėje) ir pridėkite fluoroforą.

9. (Neprivaloma) Pakartokite 3–8 veiksmus ir pridėkite kiekvieną fluoroforą, kurį planuojate kalibruoti plokštei.

10. Kai pridėsite fluoroforus, spustelėkite „View Plate“ (peržiūrėti plokštelę) ir atverkite langą „Pure Dye Plate Display“ (grynų dažų plokštelės rodmuo).

Šiuo langu naudokitės kaip rekomendacija dažams įdėti į plokštelę.

11. Paruoškite 96 šulinėlių plokštelę dažams kalibruoti:

- a. Pagal „Pure Dye Plate Display“ (grynų dažų plokštelės rodmuo) rodomą schemą į kiekvieną šulinėlį pipetuokite dažų tirpalą.
- b. Kiekvienam fluoroforui keturis šulinėlius pripildykite 50 µl (96 šulinėlių plokštelė) 300 nM dažo tirpalo. Atkreipkite dėmesį, kad mažiausiai pusėje plokštelių yra tuščių šulinėlių.
- c. Plokštelę užsandarinkite sandarinimo metodu, kurį naudosite savo eksperimente.

12. Kalibravimo plokštelę padėkite į bloką ir uždarykite dangtelį.

13. Vedlyje „Dye Calibration“ (dažų kalibravimas) spustelėkite „Calibrate“ (kalibruoti), OK (gerai) ir patvirtinkite, kad plokštelė yra bloke.

14. Kai CFX Manager Dx programinė įranga baigia kalibravimą, parodomas dialogo langas. Spustelėkite „Yes“ (taip), baikite kalibravimą ir atverkite „Dye Calibration Viewer“ (dažų kalibravimo žiūryklė).

15. Spustelėkite OK (gerai) ir užverkite langą.

5 skyrius. Langas „Home“ (pagrindinis)

## 6 skyrius. Protokolų kūrimas

Protokolas yra veiksmų, kurie atliekami nurodyta seka, rinkinys. „CFX Manager Dx“ programinėje įrangoje visi šie veiksmai susiję su instrumento parinktimis. Pavyzdžiui, veiksmu instrumentui nurodoma kontroliuoti bloko ir dangtelio temperatūrą, taikyti temperatūros skirtumą bloke, nuskaityti plokštelę arba atlikti lydymosi kreivės analizę. Kiekviena parinktis nurodoma skirtingoms plokštelėms ir paleidimų tipams.

CFX Manager Dx teikia dvi protokolų kūrimo parinktis: „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) ir „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė).

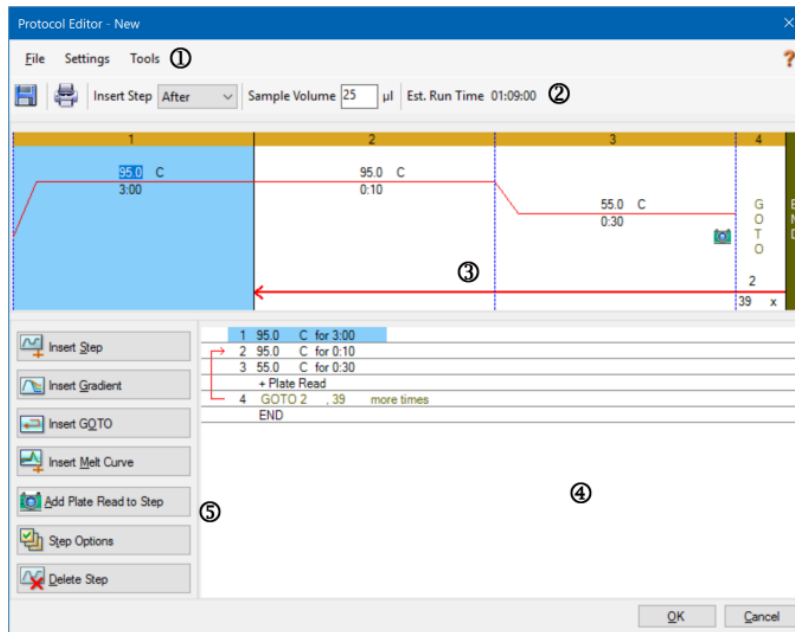
„Protocol Editor“ (protokolo redaktorius) funkcijos:

- Standartiniai protokolo valdikliai sparčiam protokolų kūrimui
- Galimybė greitai apskaičiuoti gradientą pasirinktam eilučių skaičiui
- Galimybė greitai apskaičiuoti gradientą pasirinkto tipo plokštei
- Galimybė redaguoti protokolo veiksmus
- Galimybė įrašyti protokolą, kad būtų galima naudoti pakartotinai
- Galimybė atspausdinti protokolą numatytoju spausdintuvu

„Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) automatiškai sukuria tinkintą PGR protokolą su karšta pradžia, pradine denatūracija, atkaitinimu ir pratęsimo veiksmais taikydama jūsų pateiktus parametrus. Tada jūs galite peržiūrėti siūlomo protokolo grafinį pavaizdavimą ir redaguoti, paleisti ar įrašyti protokolą.

## Langas „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius)

Lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) galite kurti, atverti, peržiūrėti ir redaguoti protokolą. Pagal numatytąsias nuostatas atvėrus langą „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) rodomas bendras tikralaikis 2 veiksmų protokolą 96 šulinėlių plokštei.



### LEGENDA

1. Meniu juosta suteikia sparčią prieigą prie meniu „File“ (failas), „Settings“ (nuostatos) ir „Tools“ (įrankiai) komandų.
2. Įrankių juosta suteikia sparčią prieigą prie protokolo įrašymo ir spausdinimo, naujo veiksmo įterpimo vietos nustatymo, mėginio tūrio nustatymo ir protokolo numatomo veikimo laiko rodymo parinkčių.
3. Pagrindinėje srityje rodomas protokolo grafinis vaizdas.
4. Toliau esančioje srityje rodoma protokolo schema.
5. Kairėje srityje rodomi protokolo valdymo elementai, kuriuos galite pridėti pritaikydami protokolą.

## Meniu „File“ (failas) komandos

„Save“ (įrašyti) – įrašomas esamas protokolas.

„Save As“ (įrašyti kaip) – esamas protokolas įrašomas nauju pavadinimu arba naujoje vietoje.

„Close“ (užverti) – užveriamas „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius).

## Meniu „Settings“ (nuostatos) komanda

„Lid Settings“ (dangtelio nuostatos) – atveriamas dialogo langas „Lid Setting“ (dangtelio nuostata), kuriame galite pakeisti arba nustatyti dangtelio temperatūrą.

## Meniu „Tools“ (įrankiai) komandos

„Gradient Calculator“ (gradiento skaičiuotuvai) – atveriamas dialogo langas, kuriame galite pasirinkti gradiento veiksmo bloko tipą. Numatytoji nuostata yra 96 šulinėliai.

„Run time Calculator“ (paleidimo trukmės skaičiuotuvai) – atveria dialogo langą, kuriame galite pasirinkti plokštelės tipą ir nuskaitymo režimą, kad būtų galima apskaičiuoti paleidimo trukmę lange „Run Setup“ (paleidimo sąranka). Numatyti 96 šulinėliai visuose kanaluose.

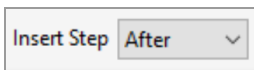
## Įrankių juostos komandos



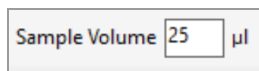
– įrašo esamą protokolo failą.



– atspausdina pasirinktą langą.

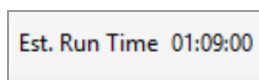


– naudokite šią komandą pasirinkti, kur įterpti veiksmus, palyginus su esamu pasirinktu veiksmu.



– naudokite šią komandą ir įveskite mėginio tūrį µl. Mėginio tūris skiriasi priklausomai nuo bloko tipo:

- 96 gilių šulinėlių bloko intervalas yra 0–125 µl.
- 96 šulinėlių bloko intervalas yra 0–50 µl.



– rodo apskaičiuotą paleidimo trukmę, remiantis protokolo veiksmais, kitimo greičiu ir pasirinkto bloko tipu.

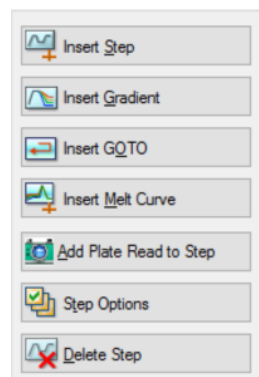


– rodo žinyno informacija apie protokolus.

## Protokolų redagavimo valdikliai

Lango „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) kairę sritį sudaro valdikliai, kuriais galite sukurti protokolus.

Kiekvieną valdiklį sudaro keli parametrai, reiškiantys veiksmą protokole. Kiekvieną parametrą galite keisti ir pridėti arba pašalinti, kad tinkintumėte savo protokolą. Šiame skyriuje apibūdintos kiekvieno valdiklio parinktys.



- **„Insert Step“ (įterpti veiksmą)** – įterpia veiksmą prieš pasirinktą veiksmą arba po jo. Galite redaguoti temperatūros arba užlaikymo trukmės vertes arba protokolo grafiniame rodinyje, arba protokolo schemeje.
- **„Insert Gradient“ (įterpti gradientą)** – įterpiamas gradiento veiksmas, remiantis gradiento skaičiuotuve pasirinkto šulinėlių bloko tipu. Gradiento intervalą galite redaguoti srityje „Gradient“ (gradientas), kuris parodomas, kai įterpiamas gradiento veiksmas.
- **„Insert GOTO“ (įterpti GOTO)** – įterpiamas ciklinis (kilpos) veiksmas, kuris programinei įrangai nurodo pakartoti veiksmus sekoje nurodytą ciklų skaičių. Kartojimas pradedamas, kai baigiamas pirmasis ciklas. Pavyzdžiui, jūs galite programinei įrangai nurodyti 2–4 veiksmus pakartoti 39 kartus. Po paskutinio pakartojimo programinė įranga 2–4 veiksmus bus atlikusi 40 kartų. Galite koreguoti sugrįžimo į (GOTO) veiksmą ir ciklų skaičių arba grafiniame rodinyje, arba protokolo schemeje.
- **„Insert Melt Curve“ (įterpti lydymosi kreivę)** – įterpiamas lydymosi kreivės nuskaitymo veiksmas.

- **„Insert Plate Read to Step“ (įterpti plokštelės nuskaitymą į veiksmą)** – į pasirinktą veiksmą įtraukiama plokštelės nuskaitymo komanda. Plokštelės nuskaitymo funkcija ciklo pabaigoje išmatuoja fluorescencijos kiekį. Plokštelės nuskaitymo veiksmas paprastai yra paskutinis veiksmas GOTO cikle.

**Patarimas.** Kai prie veiksmo pridedate plokštelės nuskaitymo komandą, pasirinkus veiksmą mygtukas pasikeičia į „Remove Plate Read“ (pašalinti plokštelės nuskaitymą).

- **„Remove Plate Read“ (pašalinti plokštelės nuskaitymą)** – iš pasirinkto veiksmo pašalinama plokštelės nuskaitymo komanda.

**Patarimas.** Kai iš veiksmo pašalinate plokštelės nuskaitymo komandą, pasirinkus veiksmą mygtukas pasikeičia į „Add Plate Read to Step“ (į veiksmą įtraukti plokštelės nuskaitymą).

- **„Step Options“ (veiksmų parinktys)** – atveriamas dialogo langas „Step Options“ (veiksmų parinktys) ir rodomos pasirinkto veiksmo galimos parinktys. Išsamią informaciją apie veiksmų parinktis žr. [Veiksmų parinktys, p. 89](#).

**Patarimas.** „Step Options“ (veiksmų parinktys) galite pasiekti grafiniame rodinyje veiksmą spustelėję pelės dešiniuoju klavišu.

- **„Delete Step“ (pašalinti veiksmą)** – iš protokolo pašalina pasirinktą veiksmą.

## Veiksmų parinktys

Atverkite dialogo langą „Step Options“ (veiksmų parinktys) ir peržiūrėkite parinktis, kurias galite pridėti, pakeisti ar pašalinti iš veiksmo.

- **„Plate Read“ (plokštelės nuskaitymas)** – pasirinkus į veiksmą įtraukiamas plokštelės nuskaitymas.
- **„Temperature“ (temperatūra)** – nustatoma pasirinkto veiksmo tikslinė temperatūra.

- **„Gradient“ (gradientas)** – veiksmui nustatomas gradiento intervalas; intervalas yra 1–24 °C.  
**Pastaba.** Gradientas paleidžiamas mažiausia temperatūra bloko priekyje (šiose paveikslėlyje – H eilė) ir didžiausia temperatūra bloko gale (šiose paveikslėlyje – A eilė).
- **„Increment“ (kitimas)** – temperatūros didinimo (ar mažinimo) dydis pasirinktam veiksmui; šis vertės dydis pridedamas tikslinei temperatūrai kiekvienam ciklui. Diapazonas –  $\pm 0,1$ –10 °C.  
**Pastaba.** Norėdami sumažinti temperatūrą, prieš skaitinę vertę parašykite minuso ženklą (pavyzdžiui, –5 °C).
- **„Ramp Rate“ (kitimo greitis)** – pasirinkto veiksmo kitimo greitis; intervalas priklauso nuo bloko dydžio.
- **„Time“ (laikas)** – pasirinkto veiksmo užlaikymo laikas.
- **„Extend“ (pratęsimas)** – laikas (sek.), kuriuo pratęsimas ar sutrumpinamas pasirinktas veiksmas; ši parinktis pridedama prie užlaikymo laiko kiekviename cikle; intervalas yra 1–60 sek.
- **„Beep“ (pypsėjimas)** – pasirinkus kiekvieno veiksmo pabaigoje pasigirsta pypsėjimas.  
**Patarimas.** Įvedus skaičių, kuris nepatenka į parinkties intervalą, programinė įranga jį pakeičia artimiausia įvestimi intervale.



## Protokolo kūrimas lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius)

Lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) galite kurti pasirinktinius protokolų failus. Taip pat galite redaguoti ir įrašyti anksčiau įrašytus protokolo failus arba pavyzdinius protokolų failus, pridėtus prie CFX Manager Dx programinės įrangos.

Kaip sukurti naują protokolo failą:

- Lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) atverkite protokolo failą.  
**Patarimas.** Lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) galite atverti naują arba esamą protokolą.
- Sukurkite naują protokolą.
- Pridėkite prie protokolo veiksmus iš protokolų valdymo srities.
- Redaguokite veiksmų ypatybes.
- Įrašykite protokolą.

**Patarimas.** Apie tai, kaip sukurti naują protokolą iš anksčiau įrašytų arba pavyzdinių protokolų failų, žr. [Esamo protokolo atvėrimas lange „Protocol Editor“ \(protokolų redaktorius\), p. 93](#).

## Naujo protokolo failo atvėrimas lange „Protocol Editor“ (protokolo redaktorius)

CFX Manager Dx turi kelias galimybes naujo protokolo failui atverti:

- Lange „Home“ (pagrindinis)
- Dialogo lange „Startup Wizard“ (paleisties vedlys)
- Dialogo lange „Run Setup“ (paleidimo sąranka)

### Kaip atverti naujo protokolo failą lange „Home“ (pagrindinis)

- ▶ Pasirinkite „File > New > Protocol“ (failas > naujas > protokolas).

Atveriamas langas „Protocol Editor“ (protokolo redaktorius), kuriame rodomas numatytasis protokolo failas.

**Patarimas.** Daugiau informacijos apie numatytojo protokolo nustatymą žr. [Numatytųjų failų nuostatų keitimas, p. 65](#).

### **Kaip atverti naujo protokolo failą per „Startup Wizard“ (paleisties vedlys)**

1. Lange „Home“ (pagrindinis) atlikite vieną iš šių veiksmų ir atverkite „Startup Wizard“ (paleisties vedlys), jeigu jis dar nerodomas:

- Pasirinkite „View > Startup Wizard“ (peržiūrėti > paleisties vedlys).
- Įrankių juostoje spustelėkite „Startup Wizard“ (paleisties vedlys).

Pagal numatytąsias nuostatas „Startup Wizard“ (paleisties vedlys) parodo kortelę „Run setup“ (paleidimo sąranka) su pasirinktu CFX96 instrumento tipu.

2. Jeigu reikia, išplečiamajame sąraše pasirinkite instrumento tipą.
3. Spustelėkite „User-defined“ (vartotojo nustatytas) kaip paleidimo tipą.

Dialogo langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka) atveria kortelę „Protocol“ (protokolas) ir rodo numatytąjį protokolo failą.

4. Spustelėkite „Create New“ (kurti naują).

Atveriamas langas „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius), kuriame rodomas tikralaikis protokolas.

### **Kaip atverti naują protokolą dialogo lange „Run Setup“ (paleidimo sąranka)**

1. Lange „Home“ (pagrindinis) atlikite vieną iš šių veiksmų ir atverkite dialogo langą „Run Setup“ (paleidimo sąranka):

- Pasirinkite „Run > User-defined Run“ (paleidimas > vartotojo nustatytas paleidimas).
- Įrankių juostoje spustelėkite „User-defined Run Setup“ (vartotojo nustatyto paleidimo sąranka).

Dialogo langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka) atveria kortelę „Protocol“ (protokolas) ir rodo jūsų numatytąjį protokolo failą.

2. Spustelėkite „Create New“ (kurti naują).

Atveriamas langas „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius), kuriame rodomas realiojo laiko protokolas.

## Esamo protokolo atvėrimas lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius)

CFX Manager Dx pateikia mėginių protokolų failus, kuriuos galite redaguoti ir įrašyti kaip tinkintus naujus protokolus. Taip pat galite sukurti naujus protokolus pagal esamą tinkintą protokolą.

### Kaip atidaryti mėginio protokolo failą

1. Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „File > Open > Protocol“ (failas > atverti > protokolas).  
Pagal numatytuosius parametrus „Windows Explorer“ atveriamas CFX Manager Dx mėginių failų aplanko vietoje.
2. Atverkite mėginių failų aplanką. Galite matyti šiuos aplankus:
  - **„ConventionalProtocols“ (įprasti protokolai)** – protokolų pavyzdžių failai tradicinei PGR analizei.
  - **„DataFiles“ (duomenų failai)** – duomenų pavyzdžių failai, kuriuos galite naudoti CFX Manager Dx funkcijoms tyrinėti.
  - **„MeltCalibration“ (lydymosi kalibravimas)** – protokolų pavyzdžių failai, skirti naudoti su „Bio-Rad“ rezultatų lydymosi analizės programine įranga.
  - **„Plates“ (plokštelės)** – plokštelės pavyzdžių failai.
  - **„RealTimeProtocols“ (tikralaikiai protokolai)** – protokolų pavyzdžių failai PGR analizei tikruoju laiku.
3. Atverkite protokolų aplanką planuojamam atlikti paleidimo tipui („ConventionalProtocols“ (įprasti protokolai) arba „RealTimeProtocols“ (tikralaikiai protokolai)).
4. Pasirinkite reikiamą protokolą ir spustelėkite „Open“ (atverti).  
Lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) atveriamas mėginių protokolas.
5. Pasirinkite „File > Save As“ (failas > įrašyti kaip) ir įrašykite protokolą nauju pavadinimu ar naujame aplanke.

### Kaip atverti esamą protokolą

1. Lango „Home“ (pagrindinis) atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Pasirinkite „File > Open > Protocol“ (failas > atverti > protokolas), suraskite tikslinį protokolą, jį atverkite ir spustelėkite „Open“ (atverti).
  - Atverkite „Startup Wizard“ (paleisties vedlys) ir atlikite vieną iš šių veiksmų:
    - Norėdami redaguoti rodomą protokolą, spustelėkite „Edit Selected“ (redaguoti pasirinktą).
    - Norėdami redaguoti kitą esamą protokolą, spustelėkite „Select Existing“ (pasirinkti esamą) ir raskite tikslinį failą.

Lango „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) atveriamas protokolas.

2. Pasirinkite „File > Save As“ (failas > įrašyti kaip) ir įrašykite protokolą nauju pavadinimu ar naujame aplanke.

## Naujo protokolo nustatymas

**Patarimas.** Jei jūsų protokolo faile yra reikalingi parametrai (pvz., jei redaguojate esamą plokštelės failą), galite šį skyrių praleisti. Tęskite, kaip nurodyta skirsnyje [Protokolo veiksmų pridėjimas, p. 96](#).

Naujiems protokolo failams reikalingi šie parametrai:

- Bloko tipas
- Pasirinkto bloko tipo nuskaitymo režimas
- Dangtelio temperatūra
- Mėginio tūris

### Bloko tipo nustatymas

CFX Manager Dx automatiškai apskaičiuoja gradiento veiksmų temperatūros kitimus, remiantis bloko tipu.

**Pastaba.** Plokštelės tipas, nustatytas „Protocol Editor“ (protokolo redaktorius), turi būti toks pat, kaip ir plokštelė reakcijos modulyje.

### Kaip nustatyti bloko tipą

- ▶ Lango „Protocol Editor“ (protokolo redaktorius) pasirinkite „Tools > Gradient Calculator“ (įrankiai > gradiento skaičiuotuvai) ir rodomame išplečiamajame sąraše pasirinkite atitinkamo tipo plokštelę.

## Nuskaitymo režimo pasirinkimas pasirinkto tipo blokui

Norėdami nustatyti protokolo paleidimo laiką, pasirinkite tikslo bloko tipą ir nuskaitymo režimą.

### Kaip pasirinkti bloko tipą ir nuskaitymo režimą

- ▶ Lange „Protocol Editor“ (protokolo redaktorius) pasirinkite „Tools > Run time Calculator“ (įrankiai > paleidimo laiko skaičiuotuvas) ir rodomame išplečiamajame sąraše pasirinkite atitinkamo tipo plokštelę.

## Dangtelio temperatūros koregavimas

CFX Manager Dx nustato numatytąją dangtelio temperatūrą iki 105,0 °C.

Galite pakeisti numatytąsias nuostatas arba dangtelio kaitintuvą išjungti, kai reikia, pagal protokolo reikalavimus.

**Patarimas.** Numatytąją dangtelio temperatūrą galite pakeisti dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos). Žr. [Numatytųjų protokolo parametrų nustatymas, p. 67](#).

### Kaip koreguoti dangtelio temperatūrą

1. Lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) pasirinkite „Settings > Lid Settings“ (nuostatos > dangtelio nuostatos).  
Parodomas dialogo langas „Lid Settings“ (dangtelio nuostatos).
2. Atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
  - Pasirinkite „User Defined“ (vartotojo nustatyta) ir teksto langelyje įrašykite temperatūros vertę.
  - Pasirinkite „Turn Off Lid Heater“ (išjungti dangtelio kaitintuvą).
3. Spustelėkite OK (gerai) ir patvirtinkite pakeitimus bei uždarykite dialogo langą

## Mėginio tūrio nustatymas

Pagal numatytąsias nuostatas CFX Manager Dx kiekvienam šulinėliui nustato 25 µl mėginio tūrį. Vis dėlto Sistema CFX Dx diapazonas yra 0–125 µl.

Prietaisas naudoja vieną iš dviejų temperatūros reguliavimo režimų, kad nustatytų, kada mėginys pasiekia tikslinę temperatūrą protokole:

- **„Calculated mode“ (apskaičiuotas režimas)** – kai mėginio tūris yra nustatomas pagal blokui tinkamą tūrį, prietaisas apskaičiuoja mėginio temperatūrą pagal mėginio tūrį. Tai standartinis režimas.

- „**Block mode**“ (**bloko režimas**) – kai nustatytas mėginio tūris yra nulis (0) µl, prietaisas užfiksuoja tokią pačią mėginio temperatūrą, kaip išmatuota bloko temperatūra.

#### Mėginio tūrio konkrečiam blokui nustatymas

- ▶ Lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) įveskite reikiamą reikšmę įrankių juostoje esančiame tekstiniame langelyje „Sample Volume“ (mėginio tūris).

**Patarimas.** Numatytąjį mėginio tūrį galite pakeisti dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos). Daugiau informacijos žr. skirsnyje [Numatytųjų failų nuostatų keitimas](#), p. 65.

## Protokolo veiksmų pridėjimas

#### Kaip pridėti protokolo veiksmą

1. Atidarykite protokolą lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius).
2. Nustatykite, kur įterpti naują veiksmą. Įrankių juostoje esančiame išplečiamajame sąrašė „Step“ (veiksmas) pasirinkite „Before“ (prieš) arba „After“ (po).
3. Diagramoje pasirinkite veiksmą, prieš kurį arba po kurio planuojate įterpti naują veiksmą.
4. Kairėje srityje pasirinkite „Insert Step“ (įterpti veiksmą).
5. Norėdami pakeisti temperatūrą ar sulaikymo laiką, spustelėkite numatytąją reikšmę diagramoje arba protokolo kontūre ir įveskite naują reikšmę.
6. (Neprivaloma) Kairėje srityje spustelėkite „Step Options“ (veiksmų parinktys), kad atidarytumėte dialogo langą „Step Options“ (veiksmų parinktys) ir pakeistumėte pasirinkto veiksmo parinktį.

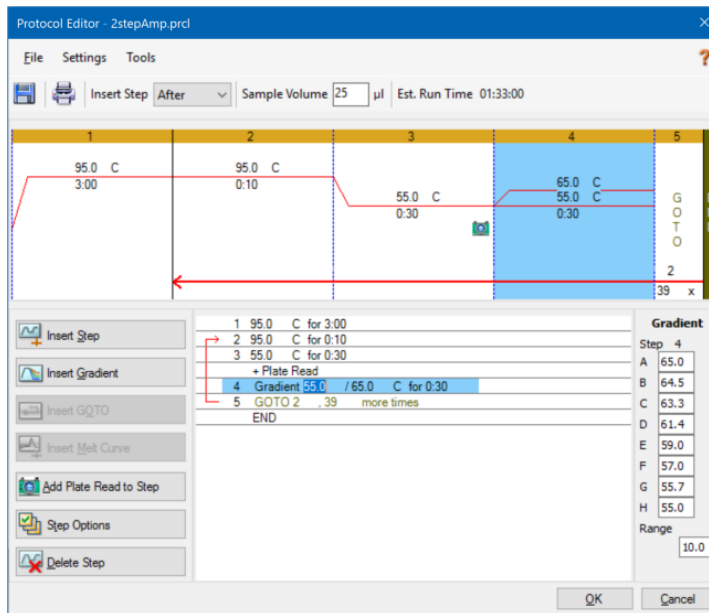
**Patarimas.** Dialogo langą „Step Options“ (veiksmų parinktys) galite rasti dešiniuoju pelės klavišu paspaudę diagramos arba protokolo kontūro sritį ir atidarę meniu.

7. Spustelėkite OK (gerai) ir „Yes“ (taip), kad įrašytumėte protokolo pakeitimus.  
Pasirodo dialogo langas „Save As“ (įrašyti kaip)
8. Lange „Save As“ (įrašyti kaip) įveskite naujo protokolo failo pavadinimą ir spustelėkite „Save“ (įrašyti).

## Gradiento veiksmo įterpimas

### Kaip įterpti gradiento veiksmą

1. Patikrinkite, ar gradiento plokštelės dydis yra toks pat, kaip ir instrumento bloko tipo, 96.
2. Jeigu to dar neatlikote, pasirinkite plokštelės dydį gradientui:  
Pasirinkite „Tools > Gradient Calculator“ (įrankiai > gradiento skaičiuotuvą) ir išplečiamajame sąrašė pasirinkite šulinėlių tipą.
3. Įrankių juostoje esančiame išplečiamajame sąrašė „Insert Step“ (įterpti veiksmą) pasirinkite arba „Before“ (prieš), arba „After“ (po).
4. Diagramoje arba paryškintoje srityje pasirinkite veiksmą, prieš kurį arba po kurio planuojate įterpti gradiento veiksmą.
5. Kairėje srityje spustelėkite „Insert Gradient“ (įterpti gradientą). Naujas gradiento veiksmas paryškintas diagramoje ir apibrėžtoje srityje, pavyzdžiui:



Kiekvienos eilutės temperatūra gradiente parodoma lentelėje „Gradient“ (gradientas) dešinėje srityje.

6. Norėdami koreguoti gradiento temperatūros intervalą, atlikite šiuos veiksmus:
  - Spustelėkite numatytąją temperatūrą diagramoje ar apibrėžtoje srityje ir įveskite naują temperatūrą.
  - Spustelėkite „Step Options“ (veiksmų parinktys) ir lange „Step Options“ (veiksmų parinktys) įveskite gradiento intervalą.
  - Pakeiskite lentelėje „Gradient“ (gradientas) esančią vertę „Range“ (intervalas).
7. Norėdami koreguoti užlaikymo laiką, grafike ar tekstiniame vaizde spustelėkite numatytąjį laiką ir įveskite naują laiką.
8. Kad įrašytumėte pakeitimus, spustelėkite mygtuką OK (gerai), o tada „Yes“ (taip).

## Veiksmo GOTO įterpimas

**Pastaba.** Veiksmo GOTO negalite įterpti į GOTO rinkinį; negalite sukurti rinkinio GOTO pasikartojančių veiksmų.

### Kaip įterpti veiksmą GOTO

1. Įrankių juostoje esančiame išplečiamajame sąrašė „Insert Step“ (įterpti veiksmą) pasirinkite „Before“ (prieš) arba „After“ (po).
2. Diagramoje pasirinkite veiksmą, prieš kurį arba po kurio planuojate įterpti GOTO veiksmą.
3. Kairėje srityje spustelėkite „Insert GOTO“ (įterpti GOTO).
4. Norėdami koreguoti GOTO veiksmo numerį ar GOTO pasikartojimų numerį, diagramoje pasirinkite numatytąjį numerį arba pažymėkite sritį ir įveskite naują vertę.
5. Kad įrašytumėte pakeitimus, spustelėkite mygtuką OK (gerai), o tada „Yes“ (taip).

## Lydymosi kreivės veiksmo įterpimas

**Patarimas.** Lydymosi kreivės veiksmo negalite įterpti į GOTO ciklą.

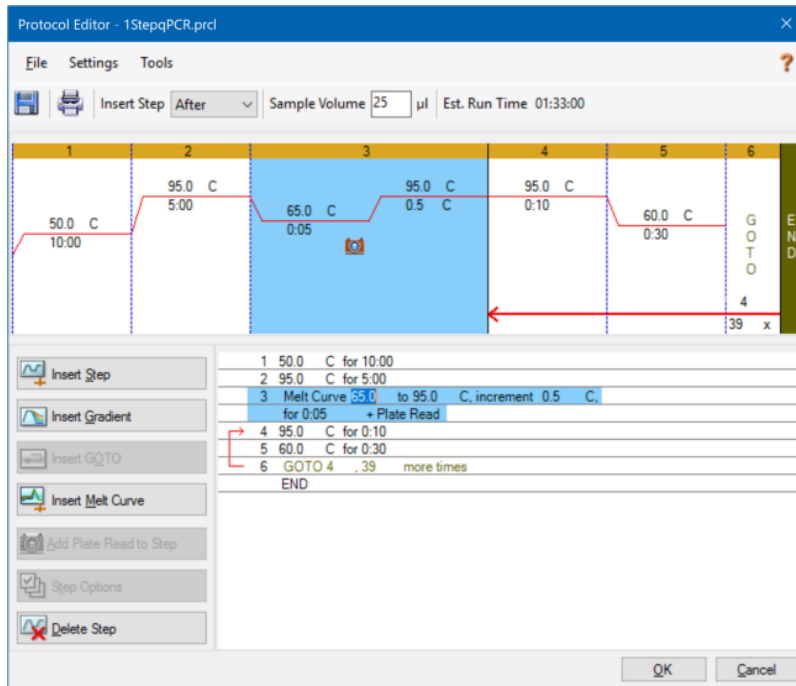
**Pastaba.** Lydymosi kreivės veiksmas apima 30 sek. užlaikymą veiksmo, kuris neparodytas protokole, pradžioje.

### Kaip įterpti lydymosi kreivės veiksmą

1. Įrankių juostoje esančiame išplečiamajame sąrašė „Insert Step“ (įterpti veiksmą) pasirinkite „Before“ (prieš) arba „After“ (po).
2. Diagramoje pasirinkite veiksmą, prieš kurį arba po kurio planuojate įterpti lydymosi kreivės veiksmą.



3. Kairėje srityje spustelėkite „Insert Melt Curve“ (įterpti lydymosi kreivę). Naujas lydymosi kreivės veiksmas parodytinamas diagramoje ir apibrėžtoje srityje, pavyzdžiui:



4. Norėdami koreguoti lydymosi temperatūros intervalą arba padidinimo laiką, diagramoje pasirinkite numatytąjį numerį arba apibraukite sritį ir įveskite naują vertę.
5. Kad įrašytumėte pakeitimus, spustelėkite mygtuką OK (gerai), o tada „Yes“ (taip).

## Plokštelės nuskaitymo veiksmo pridėjimas arba pašalinimas

**Patarimas.** Kai prie veiksmo pridedate plokštelės nuskaitymo komandą, pasirinkus veiksmą mygtukas pasikeičia į „Remove Plate Read“ (pašalinti plokštelės nuskaitymą).

### Plokštelės nuskaitymo pridėjimas prie veiksmo

1. Įrankių juostoje esančiame išplečiamajame sąrašė „Insert Step“ (įterpti veiksmą) pasirinkite „Before“ (prieš) arba „After“ (po).
2. Diagramoje pasirinkite veiksmą, prieš kurį arba po kurio planuojate įterpti plokštelės nuskaitymo veiksmą.
3. Norėdami prie pasirinkto veiksmo pridėti plokštelės nuskaitymą, kairėje srityje spustelėkite „Add Plate Read to Step“ (plokštelės nuskaitymą pridėti prie veiksmo).
4. Kad įrašytumėte pakeitimus, spustelėkite mygtuką OK (gerai), o tada – „Yes“ (taip).

### Plokštelės nuskaitymo pašalinimas iš veiksmo

- ▶ Diagramoje pasirinkite veiksmą, į kurį įtrauktas plokštelės nuskaitymas, ir kairiojoje srityje spustelėkite „Remove Plate Read“ (pašalinti plokštelės nuskaitymą).

## Veiksmų parinkčių keitimas

### Pasirinkto veiksmo parinkčių keitimas

1. Diagramoje ar kontūro srityje pasirinkite tikslinį veiksmą.
2. Kairėje srityje spustelėkite „Step Options“ (veiksmų parinktys) ir atverkite dialogo langą „Step Options“ (veiksmų parinktys).

Taip pat galite dešiniuoju pelės mygtuku bet kurioje srityje spustelėti tikslinį veiksmą ir rodomame meniu pasirinkti „Step Options“ (veiksmų parinktys).

3. Norėdami pridėti, keisti ar pašalinti parinktį, atlikite šiuos veiksmus:
  - Atitinkamame tekstiniame langelyje įrašykite vertę.
  - Konkrečiame tekstiniame langelyje koreguokite vertę.
  - Pasirinkite arba išvalykite žymės langelį.
4. Spustelėkite OK (gerai) ir įrašykite pakeitimus bei uždarykite dialogo langą „Step Options“ (veiksmų parinktys).
5. Spustelėkite OK (gerai), paskui „Yes“ (taip) ir įrašykite protokolą.

## Veiksmo šalinimas

### Veiksmo protokole šalinimas

1. Diagramoje ar kontūro srityje pasirinkite veiksmą.
2. Kairiame skydelyje spustelėkite „Delete Step“ (šalinti veiksmą) ir pašalinkite pasirinktą veiksmą.
3. Spustelėkite OK (gerai), paskui „Yes“ (taip) ir įrašykite protokolą.

## Protokolo kopijavimas, eksportavimas arba spausdinimas

### Protokolo kopijavimas

- ▶ Pelės dešiniuoju mygtuku spustelėkite protokolo schemą ir pasirinkite „Copy Protocol“ (kopijuoti protokolą).

Galite įklijuoti schemą į .txt, .xls, .doc arba .ppt failą.

### Protokolo eksportavimas

1. Pelės dešiniuoju mygtuku spustelėkite protokolo schemą ir pasirinkite „Export Protocol“ (eksportuoti protokolą).

Parodomas dialogo langas „Save As“ (įrašyti kaip).

2. (Neprivaloma) Per naršyklę „Windows Explorer“ pasiekite aplanką, kuriame norite įrašyti protokolo failą.
3. Lauke „File Name“ (failo pavadinimas) įrašykite eksportuoto protokolo failo pavadinimą.
4. Spustelėkite „Save“ (įrašyti).

### Protokolo spausdinimas

- ▶ Pelės dešiniuoju mygtuku spustelėkite protokolo schemą ir pasirinkite „Print“ (spausdinti).

Galite atspausdinti protokolo schemą jūsų numatuoju spausdintuvu.

## Protokolų kūrimas su „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė)

**Svarbu.** „Bio-Rad“ negarantuoja, kad paleidžiant su „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) sukurtą protokolą bus gaunamas tikslus PGR produktas.

CFX Manager Dx „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) automatiškai sukuria ciklinius protokolus pagal šiuos įvesties parametrus:

- **„Amplicon length“ (amplikono ilgis)** – PGR produkto tikėtinas ilgis.
- **„Annealing temperature“ (atkaitinimo temperatūra)** – reakcija  $T_a$  naudojamiems pradmenims.

Jeigu  $T_a$  yra nežinoma, galite naudoti „ $T_a$  Calculator“ ( $T_a$  skaičiuotuvą) ir automatiškai apskaičiuoti pagal jūsų pradmenų sekas.

**Pastaba.**  $T_a$  yra koreguota iš pradmenų lydymosi temperatūros ( $T_m$ ) informacijos, kuri pagrįsta pažymėtu fermentu ir protokolo greičiu.

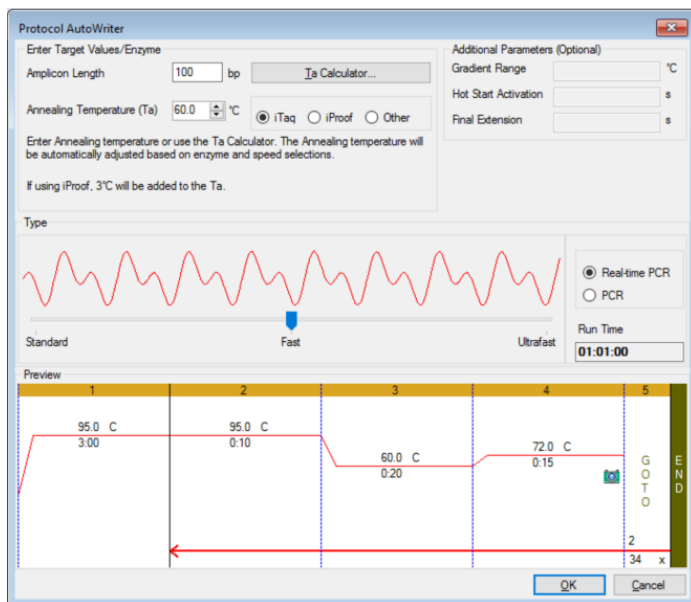
- **„Enzyme type“ (fermento tipas)** – DNA (DNR) polimerazės fermentas („iTaQ“, „iProof DNA“ („iTaQ“, „iProof DNR“) polimerazė arba „Other“ (kt.))
- Jeigu jūs naudojate kitą fermentą, ne „iTaQ“ ar „iProof DNA“ („iProof DNR“) polimerazę, galite įvesti papildomą informaciją, įskaitant gradiento intervalą, karšto paleidimo aktyvinimo laiką (sek.) ir galutinį pratęsimo laiką (sek.).
- **„Run speed“ (paleidimo greitis)** – reakcijos greitis (standartinis, greitas arba itin greitas)
- „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) optimizuoja protokolą, priklausomai nuo pasirinktos greičio nuostatos. Bendras paleidimo laikas nustatomas pagal veiksmų ir ciklų skaičių, inkubavimo laiką kiekvienu etapu ir laiką, kiek užtruko pasiekti vienodą tikslią temperatūrą.

Pagal jūsų įvestus parametrą ir standartines PGR rekomendacijas „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) automatiškai sukuria tinkintą PGR protokolą su karšta pradžia, pradine denatūracija, atkaitinimu ir pratęsimo veiksmiais. Tada jūs galite peržiūrėti siūlomo protokolo grafinį vaizdą ir redaguoti, paleisti ar įrašyti protokolą.

## Naujo protokolo sukūrimas naudojant CFX Manager Dx „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė)

1. Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „Tools > Protocol AutoWriter“ (įrankiai > protokolų automatinio kūrimo priemonė).

Parodomas dialogo langas „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė).



2. Skyriuje „Enter Target Values/Enzyme“ (įvesti tikslines vertes / fermentą) atlikite šiuos veiksmus:

- Įveskite pradmens atkaitinimo temperatūrą ( $T_a$ ), jeigu žinoma.

**Patarimas.** Daugiau informacijos žr. „[Ta Calculator](#)“ (Ta skaičiuotuvą) naudojimas, p. 105.

**Pastaba.** Informacijos apie skaičiavimus, atliekamus „[T<sub>a</sub> Calculator](#)“ (Ta skaičiuotuvą), žr. Breslauer et al., 1986.

- Įveskite amplikono ilgį bazių porose (bp).
- Iš parinkčių („iTaq DNA“ („iTaq DNR“) polimerazė, „iProof DNA“ („iProof DNR“) polimerazė ar „Other“ (kt.)) sąrašo pasirinkite fermento tipą.

**Patarimas.** Jeigu pasirenkate fermento tipą „Other“ (kt.), parametras skyriuje „Additional Parameters (Optional)“ (papildomi parametrai (neprivaloma) tampa aktyvus.

3. Jeigu pasirinkote fermento tipą „Other“ (kt.), galite pridėti bet kurį iš pateikiamų arba visus protokolo parametrus:
  - Gradiento intervalas
  - Karštos pradžios aktyvinimo temperatūra
  - Galutinis pratęsimo laikas
4. Skyriuje „Type“ (tipas) slinkite slankiąją juostą ir pasirinkite protokolo greitį („Standard“ (standartinis), „Fast“ (greitas) arba „Ultrafast“ (itin greitas)). CFX Manager Dx koreguoja bendrą paleidimo laiką.
5. Pasirinkite atliekamos PGR tipą („Real-time PCR“ (tikralaikė PGR) yra numatytasis).  
Su tikralaike PGR CFX Manager Dx prideda plokštelės nuskaitymo veiksmą fluorescencijos duomenims surinkti.
6. Skyriuje „Preview“ (apžvalga) peržiūrėkite protokolą. Jeigu reikia, galite atlikti pakeitimus.
7. Atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Spustelėkite OK (gerai) ir įrašykite naują protokolą. Jį įrašius, protokolas atveriamas lange „Startup Wizard“ (paleisties vedlys). Spustelėkite „Edit Selected“ (redaguoti pasirinktą) ir keiskite protokolą. Pavyzdžiui, jums gali reikėti pakeisti dangtelio temperatūrą ir mėginio tūrį.
  - Spustelėkite „Cancel“ (atšaukti) ir užverkite langą neįrašę protokolo.

## „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus) naudojimas

Kai nežinoma pradmens atkaitinimo temperatūra, galite pasinaudoti „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus) ir apskaičiuoti vertę. Vertę galite naudoti priemonėje „Protocol AutoWriter“ (protokolo automatinio kūrimo priemonė) arba „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) ir sukurti savo protokolą.

### Apie „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus)

„T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus) skaičiuoja kiekvieno pradmens T<sub>m</sub> vertę, taip pat T<sub>a</sub> vertę standartinio greičio protokolui.

T<sub>a</sub> protokolą grindžiamas vidutinėmis pradmens T<sub>m</sub> vertėmis taikant šias galiojančias taisykles:

- Jeigu skirtumas tarp pradmens T<sub>m</sub> verčių yra >4 °C, T<sub>a</sub> = (mažesnė iš dviejų pradmens T<sub>m</sub> verčių + 2) – 4 °C
- Jeigu skirtumas tarp T<sub>m</sub> verčių yra ≤4 °C, T<sub>a</sub> = (pradmens T<sub>m</sub> verčių vidurkis) – 4 °C

### Bazių porų skaičiavimo metodas

Kiekvienam pradmeniui „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus) taiko bazių porų skaičiavimo metodą sekoms su 14 ar mažiau bazių porų (bp).

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

kur atitinkamai w, x, y ir z yra bazių A, T, G ir C skaičius sekoje.

### Artimiausių kaimynų metodas

Sekoms su daugiau nei 14 bp naudojamas artimiausių kaimynų metodas. Artimiausių kaimynų metode lydymosi temperatūros skaičiavimai grindžiami termodinaminiu ryšiu tarp entropijos (oligonukleotido sekos ar matmenų atsitiktinumo), entalpijos (oligonukleotido išskiriamos arba absorbuotos šilumos), laisvosios energijos ir temperatūros.

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

kur:

- $\Delta H$  = entalpijos reikšmė, cal/mol\*K
- T = temperatūra pagal Kelvino skalę
- $\Delta S$  = entropijos reikšmė, cal/mol\*K
- $\Delta G$  = Gibso laisvoji energija, cal/mol\*K

Entropijos ir entalpijos pokyčiai yra tiesiogiai apskaičiuojami sumuojant nukleotidų porų reikšmes, pateiktas [12 lentelė](#) (Breslauer et al., 1986).

Laisvosios energijos ir reaktantų bei produktų koncentracijos pusiausvyrai reikalingas santykis apskaičiuojamas pagal:

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln \left( \frac{DNR \cdot \text{pradmuo}}{DNR + \text{pradmuo}} \right)$$

kur R yra dujų konstanta (1,986 cal/mol\*K).

Pakeitus G dviejoje lygtyse ir apskaičius T gaunama

$$T = \frac{\Delta H}{\Delta S + R \cdot \ln \left( \frac{DNR \cdot \text{pradmuo}}{DNR + \text{pradmuo}} \right)}$$

darant prielaidą, kad DNR ir DNR pradmenų komplekso koncentracija yra vienoda.

Empiriškai nustatyta, kad perėjimo nuo vienos grandinės DNR prie B formos DNR metu atsiranda 5 kcal (3,4 kcal) (Sugimoto et al., 1996) laisvosios energijos pokytis. Tai tikriausiai spiralės inicijavimo energija. Galiausiai, pridėjus druskos paklaidą, gaunama lygtis, kurią naudoja  $T_a$  skaičiuotuvai:

$$T = \frac{(\Delta H - 5(\text{KCal/K} \cdot \text{mol}))}{\Delta S + (R \cdot \ln(1/(\text{pradmuo})))} + 16,6 \log_{10}(\text{druskos molinė koncentracija})$$

Nereikia taikyti jokios paklaidos druskos koncentracijos konstantai, nes įvairūs parametrai buvo nustatyti esant 1 M NaCl, o  $\log_{10} 1$  lygus nuliui.

Termodinaminiais skaičiavimais daroma prielaida, kad atkaitinimas vyksta esant pH 7,0.  $T_m$  skaičiavimo metu daroma prielaida, kad sekos nėra simetriškos ir turi bent vieną G ar C.

Tam, kad būtų gautos pagrįstos  $T_m$  reikšmės, oligonukleotido seka turi būti mažiausiai 14 bazių ilgio. Mažiau nei 14 bazių atveju naudojamas bazių porų skaičiavimo metodas (žr. toliau pateiktą [12 lentelę](#)).

**12 lentelė. Breslauer sąveikos konstantos**

| Sąveika |    | $\Delta H$ | $\Delta S$ | $\Delta G$ |
|---------|----|------------|------------|------------|
| 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        |



12 lentelė. Breslauer sąveikos konstantos (tęsinys)

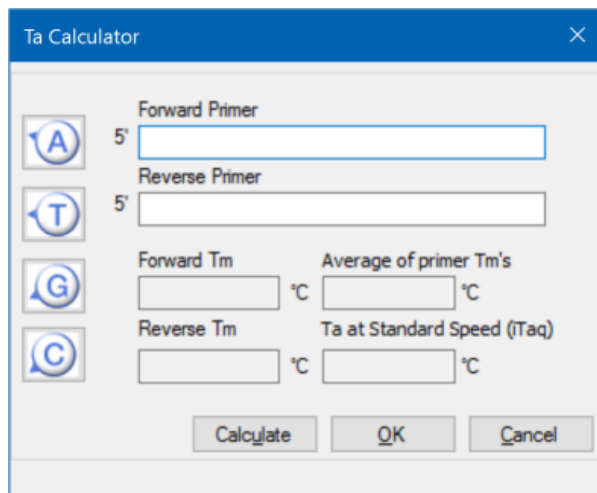
| Sąveika |    | $\Delta H$ | $\Delta S$ | $\Delta G$ |
|---------|----|------------|------------|------------|
| CA      | GT | 5,8        | 12,9       | 1,9        |
| CT      | GA | 7,8        | 20,8       | 1,6        |
| CC      | GG | 11         | 26,6       | 3,1        |
| CG      | GC | 11,9       | 27,8       | 3,6        |
| GA      | CT | 5,6        | 13,5       | 1,6        |
| GT      | CA | 6,5        | 17,3       | 1,3        |
| GC      | CG | 11,1       | 26,7       | 3,1        |
| GG      | CC | 11         | 26,6       | 3,1        |

## „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvas) naudojimas

### Kaip naudoti „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvas)

1. Tam, kad atvertumėte langą „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvas), atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
  - Jei šiuo metu esate atvėrę „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė), spustelėkite „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvas).
  - Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „Tools > T<sub>a</sub> Calculator“ (įrankiai > T<sub>a</sub> skaičiuotuvas).

Atveriamas dialogo langas „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvas).



2. Tekstiniame langelyje „Forward Primer“ (tiesioginis pradmuo) įrašykite arba įklijuokite tiesioginio pradmens seką.  
**Patarimas.** Seką įvesti taip pat galite mygtukais A, T, G, C dialogo lango kairėje pusėje.
3. Tekstiniame langelyje „Reverse Primer“ (atvirkštinis pradmuo) įrašykite arba įklijuokite atvirkštinio pradmens seką.

4. Spustelėkite mygtuką „Calculate“ (skaičiuoti).

„T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus) skaičiuoja ir parodo kiekvieno pradmens T<sub>m</sub> reikšmę bei vidutines T<sub>m</sub> ir T<sub>a</sub> reikšmes, pavyzdžiui:

| Field                                   | Value                         | Unit |
|---|-------------------------------|------|
| Forward Primer                          | 5' CTG GAG CCT TCA GTT GCA G  |      |
| Reverse Primer                          | 5' GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC |      |
| Forward T <sub>m</sub>                  | 59.7                          | °C   |
| Reverse T <sub>m</sub>                  | 56.9                          | °C   |
| Average of primer T <sub>m</sub> 's     | 58.3                          | °C   |
| T <sub>a</sub> at Standard Speed (iTaQ) | 54.3                          | °C   |

Jei pradmens T<sub>m</sub> reikšmės skiriasi daugiau nei 4 °C, „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė) remiasi žemesne pradmens T<sub>m</sub> reikšme + 2 °C kaip pagrindu apskaičiuodama T<sub>a</sub> reikšmę, kurią galite toliau koreguoti, keisdami fermentą ir reakcijos greitį.

„T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus) su „iTaQ DNR“ polimeraze generuoja atkaitinimo temperatūrą standartiniam greičiui. Naudojant kitą fermentą, greičio nuostatos automatiškai koreguoja T<sub>a</sub>.

5. Atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:

- Jei atvėrėte langą „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus) iš „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė), spustelėkite OK (gerai). Tada grįšite į „Protocol AutoWriter“ (protokolų automatinio kūrimo priemonė). Atkaitinimo temperatūra keičiama automatiškai.
- Jei atvėrėte langą „T<sub>a</sub> Calculator“ (T<sub>a</sub> skaičiuotuvus) iš meniu „Tools“ (įrankiai), įrašykite skaičiavimus ir spustelėkite „Cancel“ (atšaukti), kad užvertumėte skaičiuotuvą.

## 6 skyrius. Protokolų kūrimas

## 7 skyrius. Plokštelių paruošimas

Plokštelės faile yra informacijos apie paleidimo parametrus, pvz., nuskaitymo režimą, fluoroforus ir šulinėlių turinį. Po paleidimo „CFX Manager Dx“ programinė įranga susieja šulinėlio turinį su fluorescencijos duomenimis, surinktais paleidimo metu, ir lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) atliekama atitinkama analizė. Pavyzdžiui, šulinėliai, į kuriuos įdėtas standartinio tipo mėginys, naudojami sukurti standartinei kreivei.

CFX Manager Dx programinė įranga teikia dvi parinktis plokštelėms kurti: „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) tikralaikį PGR paleidimams ir „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) normalizuotos geno ekspresijos analizei.

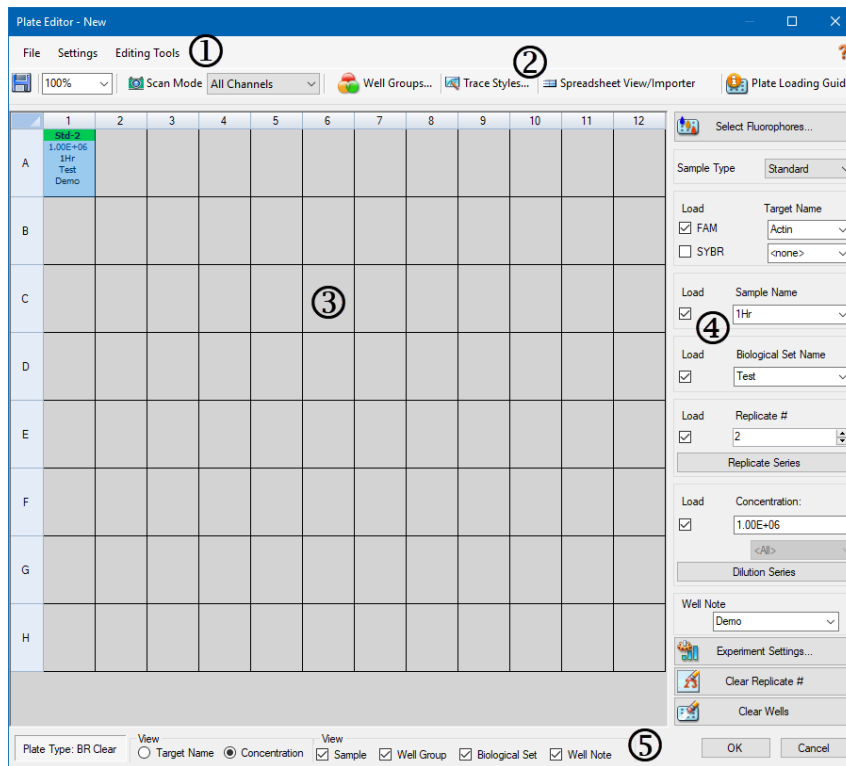
„Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) apima šias funkcijas:

- Standartinių fluoroforų ir mėginių tipų priskyrimas plokštelių šulinėliams
- Galimybė nustatyti etaloninį tikslą ir kontrolinį mėginį geno ekspresijos analizei
- Galimybė redaguoti plokštelių sąranką prieš paleidimą, jo metu arba po jo
- Galimybė įrašyti failus, kad būtų galima naudoti pakartotinai
- Galimybė atspausdinti plokštelės failą numatytoju spausdintuvu

„Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) padės jums sukurti plokštelės schemą normalizuotai geno ekspresijos analizei. Parinktį „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) galite naudoti prieš paleidimą, jo metu arba po jo.

## Langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)

Naudodami „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) sukurkite tinkintas plokšteles ar keiskite esamas plokšteles.



### LEGENDA

1. Meniu juosta suteikia sparčią prieigą prie meniu „File“ (failas) ir „Settings“ (nuostatos) komandų bei plokštelės redagavimo įrankių parinkčių.
2. Įrankių juosta leidžia greitai pasiekti svarbias plokštelės įdėjimo funkcijas.
3. Pagrindinėje srityje rodoma plokštelės schema ir plokštelės parinktys, kurias joms taikysite.
4. Dešinėje srityje rodomos parinktys, kurias naudojate savo plokštelei tinkinti.
5. Apatinėje srityje rodomas plokštelės tipas ir suteikiama greita prieiga prie peržiūros parinkčių.

## Meniu „File“ (failas) komandos

„**Save**“ (**įrašyti**) – plokštelės duomenų failas įrašomas dialogo lango „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) kortelėje „File“ (failas) nurodytoje vietoje. Daugiau informacijos žr. [Numatytųjų failų nuostatų keitimas, p. 65](#). Šis meniu elementas prieinamas tik kuriant naują plokštelės failą.

„**Save As**“ (**įrašyti kaip**) – atvertos plokštelės duomenų failas įrašomas nauju, jūsų nurodytu pavadinimu. Šis meniu elementas prieinamas tik kuriant naują plokštelės failą.

„**Extract Plate**“ (**išskleisti plokštelę**) – atveriamas dialogo langas, kuriame galite išskleisti (įrašyti) plokštelės failą (.pltd). Šis meniu elementas prieinamas tik peržiūrint arba redaguojant esamą plokštelės failą.

„**Print**“ (**spausdinti**) – atspausdina atvertos plokštelės duomenų failą.

„**Close**“ (**uždaryti**) – užveria langą „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius).

## Meniu „Settings“ (nuostatos) komandos

„**Plate Size**“ (**plokštelės dydis**) – pateikia parinktis, kuriomis galite pasirinkti paleidimo plokštelės dydį.

**Pastaba.** Sistema CFX Dx gali naudoti tik 96 šulinėlių plokštelę.

„**Plate Type**“ (**plokštelės tipas**) – leidžia jums pasirinkti šulinėlių tipą plokštelėje, kurioje laikomi jūsų mėginiai, arba „BR White“ (BR balta), arba „BR Clear“ (BR skaidri). Kad gautumėte tikslią duomenų analizę, pasirinktas plokštelės tipas turi būti toks pat, kaip paleidimo metu naudojamos plokštelės tipas.

„**Number Convention**“ (**sutartinis skaičių žymėjimas**) – leidžia jums pasirinkti ar panaikinti parinkties žymėjimą, kad standartinėje skaičiaus išraiškoje būtų rodomi matavimo vienetai. Pagal numatytąsias nuostatas standartinėje skaičiaus išraiškoje rodomi matavimo vienetai.

„**Units**“ (**matavimo vienetai**) – leidžia pasirinkti matavimo vienetus, kurie bus rodomi skaičiuoklėse, kai atliekamas nežinomų mėginių kiekybinis vertinimas, palyginus su standartinė kreive.

## Meniu „Editing Tools“ (redagavimo įrankiai) komandos

„**Setup Wizard**“ (sąrankos vedlys) – atidaroma parinktis „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys), kuria galite nustatyti dabartinės plokštelės schemos ir analizės parametrus. Parinktį „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) galite naudoti prieš paleidimą, jo metu arba po jo.

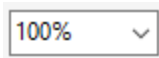
„**Spreadsheet View/Importer**“ (skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis) – atveriamas dialogo langas „View“ (peržiūrėti), kuriame plokštelės schema rodoma kaip šablonas skaičiuoklės formatu. Galite naudoti šį dialogo langą, jei norite eksportuoti arba importuoti plokštelės šablono duomenis .csv formatu.

„**Flip Plate**“ (plokštelės apvertimas) – plokštelės turinys apverčiamas 180 ° kampu.

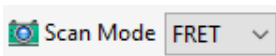
## Įrankių juostos komandos



Įrašomas esamas plokštelės failas.



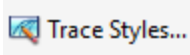
Rodomas išplečiamasis sąrašas, kuriame galite padidinti arba sumažinti plokštelės vaizdą.



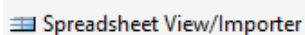
Rodomas išplečiamasis sąrašas, kuriame galite pasirinkti skenavimo režimą, kuriuo instrumentui nurodoma, kuriuose kanaluose rinkti fluorescencijos duomenis paleidimo metu.



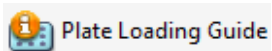
Atidaro „Well Groups Manager“ (šulinėlių grupių tvarkyklė), kurioje galima sukurti naudojamos plokštelės šulinėlių grupes.



Rodomas dialogo langas, kuriame galite pasirinkti amplifikavimo pėdsakų spalvas ir simbolius.



Atveriamas dialogo langas „View“ (peržiūrėti), kuriame plokštelės schema rodoma kaip šablonas skaičiuoklės formatu. Galite naudoti šį dialogo langą, jei norite eksportuoti arba importuoti plokštelės šablono duomenis .csv formatu.



Rodomi būtini veiksmai plokštei nustatyti ir šulinėliams įkelti.



## Plokštelės failo sukūrimas naudojant „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)

Naudodami „Protocol Editor“ (plokštelės redaktorius) galite kurti pasirinktinius plokštelių failus. Taip pat galite redaguoti ir įrašyti anksčiau įrašytus plokštelių failus arba pavyzdinius plokštelių failus, pridėtus prie CFX Manager Dx programinė įranga.

Norėdami sukurti naują plokštelės failą, atlikite šiuos veiksmus:

- Atidarykite plokštelės failą per „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius).

- Pasirinkite plokštelės tipą.

**Pastaba.** Plokštelės faile nurodytas plokštelės tipas turi būti toks pats kaip reakcijos modulyje.

- Pasirinkite, kokį nuskaitymo režimą naudoti protokole.

- Pasirinkite, kokius fluoroforus naudoti plokštelėje.

- Pasirinkite mėginio tipą, tikslus ir mėginius.

- Jei reikia, pasirinkite kopijas.

- Įrašykite plokštelės išdėstymą.

**Patarimas.** Norėdami sukurti naują plokštelę iš anksčiau įrašytų arba pavyzdinių plokštelių failų, žr. [Esamo plokštelės failo atvėrimas lange „Plate Editor“ \(plokštelės redaktorius\), p. 118](#).

## Naujos plokštelės failo atvėrimas lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)

CFX Manager Dx programinė įranga turi kelias galimybes naujos plokštelės failui atverti:

- Lange „Home“ (pagrindinis)

- Dialogo lange „Startup Wizard“ (paleisties vedlys)

- Dialogo lange „Run Setup“ (paleidimo sąranka)

### **Naujos plokštelės failo atvėrimas lange „Home“ (pagrindinis)**

- ▶ Pasirinkite „File > New > Plate“ (failas > naujas > plokštelė).

Atveriamas langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), kuriame rodomas numatytasis plokštelės failas pasirinktam instrumentui.

**Patarimas.** Daugiau informacijos apie numatytojo plokštelės failo nustatymą žr. [Numatytųjų failų nuostatų keitimas, p. 65](#).

### **Kaip atverti naujos plokštelės failą lange „Startup Wizard“ (paleisties vedlys)**

1. Lange „Home“ (pagrindinis) atlikite vieną iš šių veiksmų ir atverkite „Startup Wizard“ (paleisties vedlys), jeigu jis dar nerodomas:

- Pasirinkite „View > Startup Wizard“ (peržiūrėti > paleisties vedlys).
- Įrankių juostoje spustelėkite „Startup Wizard“ (paleisties vedlys).

Pagal numatytąsias nuostatas „Startup Wizard“ (paleisties vedlys) parodo kortelę „Run Setup“ (paleidimo sąranka) su pasirinktu CFX96 instrumentu.

2. Jeigu reikia, išplečiamajame sąraše pasirinkite instrumento tipą.
3. Norėdami sukurti naują plokštelę, spustelėkite „User-defined“ (vartotojo nustatytas) kaip paleidimo tipą.

Atveriamas dialogo langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka), kuriame rodoma kortelė „Protocol“ (protokolas).

4. Spustelėkite kortelę „Plate“ (plokštelė) ir „Create New“ (kurti naują).

Atveriamas langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), kuriame rodoma numatytoji plokštelės schema pasirinktam instrumentui.

### **Kaip atverti naujos plokštelės failą dialogo lange „Run Setup“ (paleidimo sąranka)**

1. Lange „Home“ (pagrindinis) atlikite vieną iš šių veiksmų ir atverkite dialogo langą „Run Setup“ (paleidimo sąranka):
  - Pasirinkite „Run > User-defined Run“ (paleidimas > vartotojo nustatytas paleidimas).
  - Įrankių juostoje spustelėkite „User-defined Run Setup“ (vartotojo nustatyto paleidimo sąranka).

Dialogo langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka) atveria kortelę „Protocol“ (protokolas).

2. Norėdami sukurti naują plokštelę, spustelėkite kortelę „Plate“ (plokštelė) ir „Create New“ (kurti naują).

Atveriamas langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), kuriame rodoma numatytoji plokštelės schema pasirinktam instrumentui.

## Esamo plokštelės failo atvėrimas lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)

CFX Manager Dx programinė įranga pateikia mėginių plokštelės failus, kuriuos galite redaguoti ir įrašyti kaip naują plokštelę. Taip pat galite sukurti naują failą iš anksčiau įrašyto plokštelės failo.

### Kaip atidaryti mėginio plokštelės failą

1. Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „File > Open > Plate“ (failas > atverti > plokštelė).  
„Windows Explorer“ atveriamas CFX Manager Dx aplanko „Sample files“ (mėginių failai) vietoje.
2. Atverkite aplanką „Sample files“ (mėginių failai), o tada – aplanką „Plates“ (plokštelės).
3. Pasirinkite reikiamą plokštelę ir spustelėkite „Open“ (atverti).  
Lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) atveriamas mėginių plokštelės failas.
4. Pasirinkite „File > Save As“ (failas > įrašyti kaip) ir įrašykite plokštelės failą nauju pavadinimu ar naujame aplanke.

### Kaip atidaryti anksčiau įrašytą plokštelės failą

1. Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „File > Open > Plate“ (failas > atverti > plokštelė), raskite ir pasirinkite tikslinę plokštelę, tada spustelėkite „Open“ (atverti).  
Lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) atveriamas tikslinė plokštelė.
2. Pasirinkite „File > Save As“ (failas > įrašyti kaip) ir įrašykite plokštelės failą nauju pavadinimu ar naujame aplanke.

## Naujo plokštelės failo nustatymas

**Patarimas.** Jei jūsų plokštelės faile yra reikalingų parametrų (pvz., jei redaguojate mėginį ar esamą plokštelės failą), galite šį skyrių praleisti. Tęskite, kaip nurodyta skirsnyje [Pasirenkamųjų parametrų priskyrimas plokštelės failui, p. 126](#).

Naujiems plokštelės failams reikalingi šie parametrai:

- Plokštelės dydis
- Plokštelės tipas
- Nuskaitymo režimas
- Vienas fluoroforas (dažas)
- Vienas mėginio tipas

### Plokštelės dydžio ir tipo pasirinkimas

**Svarbu.** Plokštelės dydį turite pasirinkti per plokštelės sąranką. Negalite keisti plokštelės dydžio paleidimo metu arba po jo.

Programinėje įrangoje plokštelės dydis ir tipas pritaikomi visiems šulinėliams. Įsitikinkite, kad pasirinktas plokštelės dydis yra toks pat, kaip plokštelės, kurią naudosite per paleidimą.

„Bio-Rad“ CFX96 ir „CFX96 Deep Well“ priemonės sukalibruotos gamykloje daugeliui fluorescencinių dažų ir plokštelių derinių. Kalibravimas priklauso nuo prietaiso, dažų ir plokštelės tipo. Įsitikinkite, kad fluoroforas, kurį ketinate naudoti, sukalibruotas pagal pasirinktą plokštelės tipą.

### Nuskaitymo režimo pasirinkimas

„CFX96 ir „CFX96 Deep Well“ sistemos sužadina ir aptinka fluoroforus penkiuose kanaluose. Visos sistemos taiko kelis duomenų gavimo nuskaitymo režimus fluorescencijos duomenims paleidimo metu gauti.

CFX Manager Dx programinė įranga teikia tris skenavimo režimus:

- Visi kanalai
  - Skenuojami „CFX96 ir „CFX96 Deep Well“ sistemų 1–5 kanalai

- SYBR®/FAM
  - Skenuojamas tik 1 kanalas
  - Galimas greitis skenavimas
- FRET
  - Skenuojamas tik FRET kanalas
  - Galimas greitis skenavimas

### Fluoroforų pasirinkimas

**Svarbu.** Prieš pradėdant paleidimą, CFX Manager Dx programinė įranga plokštelę patikrina, ar jūsų plokštelėje nurodyti fluoroforai yra kalibruoti su jūsų instrumentu. Negalite paleisti plokštelės, jeigu joje yra fluoroforų, kurie nebuvo kalibruoti instrumente.

Prieš paleisdami į plokštelę turite įkelti bent vieną fluoroforą. Šiuo momentu galite pridėti tiek fluoroforų, kiek reikia, bet plokštelėje turi būti bent vienas fluoroforas. Pasirinkti fluoroforai „Target Names“ (tikslų pavadinimai) parodomi kaip tikslų parinktys.

Dialogo lange „Select Fluorophores“ (pasirinkti fluoroforus) įkeliate fluoroforus (arba plokštelės dažus) „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) šulinėlių įkėlimo valdikliuose. Fluoroforai, parodomi dialogo lange „Select Fluorophores“ (pasirinkti fluoroforus), priklauso nuo jūsų pasirinkto nuskaitymo režimo.

- Visi kanalai

Parodomi visi galimi fluoroforai.

**Patarimas.** Galite pridėti tiek fluoroforų, kiek reikia, tačiau į kiekvieną šulinėlį galite įdėti tik vieną fluoroforą kanalui.

- SYBR®/FAM

Parodomi tik 1 kanalo fluoroforai.

- FRET

Parodomas tik 6 kanalo fluoroforas.

**Patarimas.** 6 kanalo FRET fluoroforas rodomas tik tada, kai FRET yra pasirinktas nuskaitymo režimas. Jis negalimas „All Channels“ (visi kanalai) nuskaitymo režimu.

**Pastaba.** Jūs negalite fluoroforų pridėti tiesiogiai į dialogo langą „Select Fluorophore“ (pasirinkti fluoroforą) arba iš jo pašalinti. Privalote naujus fluoroforus kalibruoti naujame instrumente naudodami „Calibration Wizard“ (kalibravimo vedlys). Po kalibravimo naujas fluoroforas automatiškai įtraukiamas į sąrašą.

## Mėginių tipų pasirinkimas

**Svarbu.** Prieš paleisdami turite pasirinkti bent vieną mėginio tipą, kurį priskirti plokštelių šulinėliams.

CFX Manager Dx programinė įranga galimi penki mėginių tipai:

- „Unknown“ (nežinoma)
- „Standard“ (standartinis)
- NTC (nėra šablono kontrolės)
- „Positive Control“ (teigiama kontrolė)
- „Negative Control“ (neigiama kontrolė)
- NRT (nėra atvirkštinės transkriptazės)

Priskiriate mėginių tipus plokštelių šulinėliams.

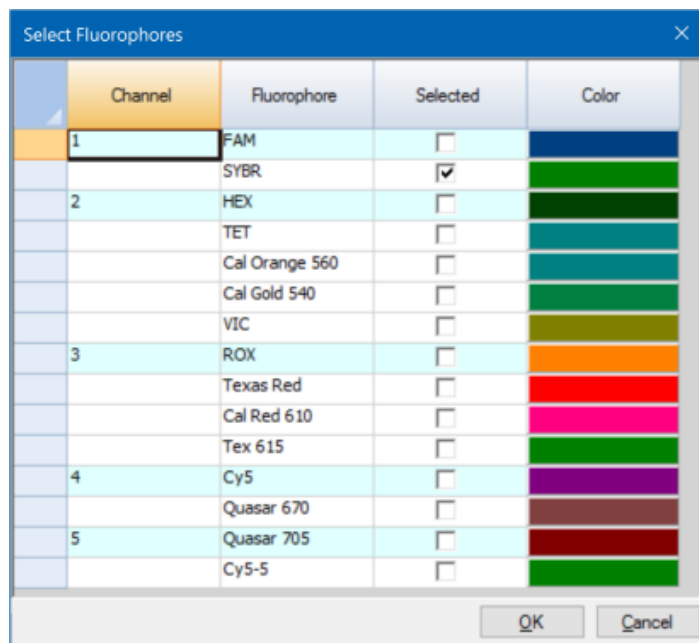
## Naujos plokštelės nustatymas

### Kaip nustatyti naują plokštelę

1. Lango „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) atverkite naują plokštelę.
  2. Norėdami nustatyti plokštelės dydį, pasirinkite „Settings > Plate Size“ (nuostatos > plokštelės dydis) ir išplečiamajame meniu pasirinkite tinkamą plokštelės dydį.
  3. Norėdami nustatyti plokštelės tipą, pasirinkite „Settings > Plate Type“ (nuostatos > plokštelės tipas), o tada išplečiamajame meniu pasirinkite „BR White“ (BR baltas) arba „BR Clear“ (BR skaidrus).
  4. Arba galite meniu „Settings“ (nuostatos) keisti skaičių rašymo išraišką ir rodomus matavimo vienetus:
    - Norėdami pakeisti numeravimo tvarką, pasirinkite „Settings > Number Convention“ (nuostatos > skaičių rašymo išraiška), o tada pasirinkite „Scientific Notation“ (standartinė skaičiaus išraiška).
- Patarimas.** Pagal numatytąsias nuostatas pasirinkta „Scientific Notation“ (standartinė skaičiaus išraiška). Tokiu atveju pasirinkus „Scientific Notation“ (standartinė skaičiaus išraiška), numatytoji nuostata pašalinama ir nustatoma standartinės formos skaičių rašymo išraiška.
- Norėdami pakeisti rodomus vienetus, pasirinkite „Settings > Units“ (nuostatos > matavimo vienetai) ir pasirinkite naują matavimo vieneto reikšmę.

5. Norėdami nustatyti nuskaitymo režimą, pasirinkite tinkamą nuskaitymo režimą išplečiamajame sąraše „Scan Mode“ (nuskaitymo režimas), esančiame lango „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) įrankių juostoje.
6. Pasirinkite reikiamus plokštelės flouoroforus:
  - a. Dešinėje srityje spustelėkite „Select Fluorophores“ (pasirinkti flouoroforus).

Pasirodo dialogo langas „Select Fluorophores“ (pasirinkti flouoroforus). Pamatysite flouoroforus, skirtus nuskaitymo režimo tipui, kurį pasirinkote atlikdami [5 veiksmas](#), pavyzdžiui:



- b. Norėdami pasirinkti flouoroforą, spustelėkite jo žymės langelį.
- c. Norėdami pakeisti flouoroforo rodmens spalvą, spustelėkite jo spalvą stulpelyje „Color“ (spalvos).

**Pastaba.** Jūsų pasirinkta spalva flouoroforas rodomas lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) ir lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) diagramose.

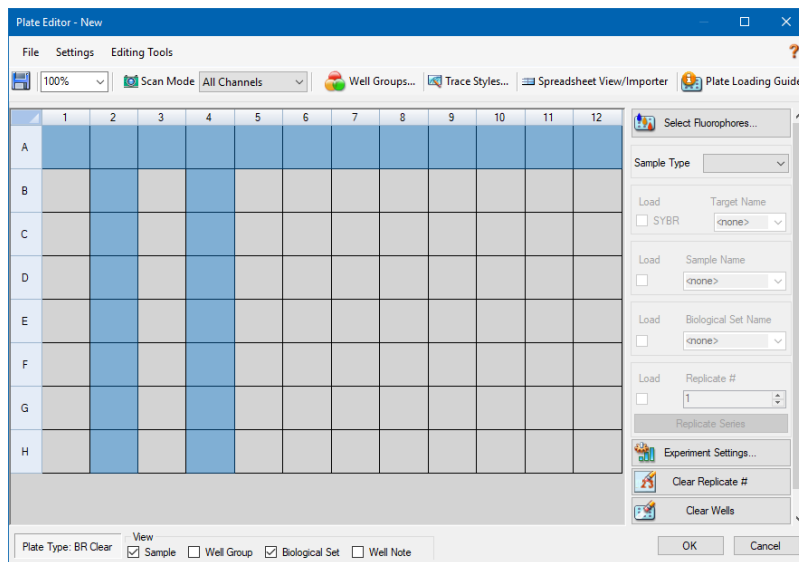


- d. Dialogo lange „Color“ (spalva) pasirinkite norimą spalvą arba spustelėkite „Define Custom Colors“ (nustatyti pasirinktines spalvas) ir sukurkite naują spalvą, kuria turi būti rodomas fluoroforas.
  - e. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir išeikite iš dialogo lango „Select Fluorophores“ (pasirinkti fluoroforus).
7. Turite pasirinkti bent vieną šulinėlį, į kurį turi būti įkeliamas mėginio tipas. Pagal numatytąsias nuostatas pasirinktas šulinėlis A1.

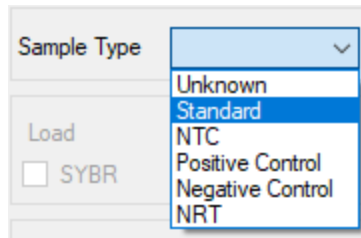
Plokštelių srityje atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:

- Tam, kad įkeltumėte kelis gretimus šulinėlius, spustelėkite šulinėlį ir vilkite iki tikslinio šulinėlio.
- Tam, kad įkeltumėte kelis negretimus šulinėlius, laikykite nuspauštą klavišą „Control“ (valdymas) ir spustelėkite kiekvieną šulinėlį.
- Tam, kad įkeltumėte visą stulpelį su tokio paties tipo mėginiais, spustelėkite stulpelio numerį.
- Tam, kad įkeltumėte visą eilutę, spustelėkite eilutės numerį.
- Tam, kad įkeltumėte visą plokštelę, spustelėkite viršutinį kairįjį plokštelės kampą.

Pavyzdžiui:



- Išplečiamajame meniu „Sample Type“ (mėginio tipas) priskirkite mėginio tipą pasirinktam šulinėliui arba šulinėliams.

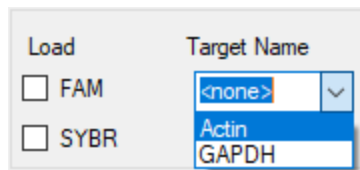


- Visiems šulinėliams, turintiems mėginio tipą, priskirkite bent vieną fluoroforą. Galite šulinėliui ar šulinėlių grupei priskirti daugiau nei vieną fluoroforą.

**Pastaba.** Vienam kanalui galite priskirti tik vieną fluoroforą. Jūs negalite priskirti daugiau nei vieno fluoroforo iš to paties kanalo į tą patį šulinėlį.

**Patarimas.** Galite susieti tikslą su fluoroforu arba galite dabar tik priskirti fluoroforą, o tikslą su fluoroforu susieti paskui, kai atliksite eksperimentą.

- Jei norite tik priskirti fluoroforą pasirinktiems šulinėliams, dešinės srities dalyje „Target Names“ (tikslų pavadinimai) pažymėkite konkretaus fluoroforo žymės langelį „Load“ (įkėlimas).
- Jei norite susieti tikslą su fluoroforu, dalyje „Target Names“ (tikslų pavadinimai) išplečiamajame sąraše pasirinkite tikslo pavadinimą konkrečiam fluoroforui. Programinė įranga automatiškai pažymi žymės langelį „Load“ (įkėlimas).



- Jei šulinėliams priskirtas mėginio tipas yra „Standard“ (standartinis), turite įkelti koncentracijos reikšmę. Kiekvieno šulinėlio koncentracijos reikšmė gali būti skirtinga. Pagal numatytąsias nuostatas CFX Manager Dx programinė įranga įkelia 1.00E+06 koncentracijos reikšmę visiems šulinėliams, kuriems priskirtas mėginio tipas yra „Standard“ (standartinis). Jei reikia, galite pakeisti reikšmę.
  - Plokštelių srityje pasirinkite šulinėlį ar šulinėlių grupę „Standard“ (standartinis).
  - Dalyje „Concentration“ (koncentracija) spustelėkite „Load“ (įkėlimas), kad įkeltumėte pasirinkto šulinėlio arba šulinėlių reikšmę.

- c. (Neprivaloma) Norėdami įkelti kitą koncentracijos reikšmę, tekstiniame langelyje „Concentration“ (koncentracija) įrašykite naują reikšmę ir paspauskite „Enter“ (įvesti).
- d. Atlikite šį veiksma visiems šulinėliams, kurių mėginio tipas yra „Standard“ (standartinis).

**Patarimas.** Tam, kad įkeltumėte tą pačią koncentracijos reikšmę visiems šulinėliams, kurie yra „Standard“ (standartinis), įsitikinkite, kad išplečiamajame sąraše po „Concentration“ (koncentracija) reikšme rodoma „<All>“ (visi). Tam, kad įkeltumėte tą pačią koncentracijos reikšmę visiems šulinėliams, kuriems priskirtas konkretus fluoroforas, spustelėkite išplečiamąjį sąrašą ir pasirinkite fluoroforą.

- 11. Spustelėkite mygtuką OK (gerai), kad įrašytumėte naują plokštelę.

## Pasirenkamųjų parametrų priskyrimas plokštelės failui

Plokštelės faile yra informacijos apie kiekvieno šulinėlio, į kurį įdėta mėginio paleisti, turinį. Po paleidimo CFX Manager Dx programinė įranga susieja šulinėlio turinį su fluorescencijos duomenimis, gautais įgyvendinus protokolą, ir lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) atliekama atitinkama analizė.

Prieš eksperimento paleidimą, paleidimo metu ar net po paleidimo CFX Manager Dx kiekvienam plokštelės šulinėliui galite priskirti parametrus. Galite priskirti parametrus esančiame plokštelės faile arba naujame plokštelės faile. Tai šie parametrai:

- **„Target names“ (tikslų pavadinimas)** – kiekvieno įdėto šulinėlio objekto tikslas ar tikslai (genai ar sekos).
- **„Sample names“ (mėginių pavadinimai)** – identifikatorius ar būseną, kuri atitinka mėginį kiekviename šulinėlyje, pvz., 0Hr, 1Hr arba 2Hr.

**Patarimas.** Tikslų ir mėginių pavadinimai turi būti tokie patys tarp šulinėlių, kad būtų galima palyginti duomenis kortelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija) lange „Data Analysis“ (duomenų analizė). Kiekvienas pavadinimas turi būti tokiomis pačiomis didžiosiomis raidėmis, skyryba ir tarpais. Pavyzdžiui, „Actin“ nėra tas pats, kaip „actin“, „2Hr“ nėra tas pats, kaip „2 hr“ ir „Mouse 1“ nėra tas pats, kaip „mouse1“. Norėdami užtikrinti pavadinimų vientisumą, pavadinimus įveskite į bibliotekų skyrių, esantį „User > User Preferences > Plate“ (vartotojas > vartotojo nuostatos > plokštelė) lange „Home“ (pagrindinis).

- **„Biological sets“ (biologiniai rinkiniai)** – identifikatorius arba būseną, kuri atitinka šulinėlių rinkinį.
- **„Replicates“ (kopijos)** – kiekvienas šulinėlis, kuris naudojamas analizuojant tokį patį mėginį ir tikslų derinį, tai yra pakartojant qPCR reakcijas.
- **Skiedimo serijos** – kiekis, skirtas pakeisti „Standard“ (standartinis) mėginio tipo koncentraciją kopijų grupėje, kad būtų sukurta standartinė duomenų kreivė analizei.

### Tikslų priskyrimas šulinėliams

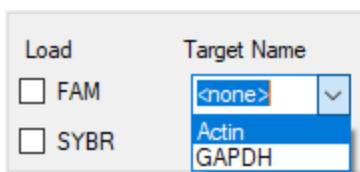
**Patarimas.** Tokio paties pavadinimo tikslą galite priskirti vienam ar keliems šulinėliams. Taip pat galite kelis tikslus priskirti tam pačiam šulinėliui.

#### Tikslų priskyrimas šulinėliui ar šulinėlių grupei

1. Lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) įsitikinkite, kad šulinėliui ar šulinėlių grupei buvo priskirtas mėginio tipas.

Informacijos apie mėginių tipų priskyrimą šulinėliams žr. [Mėginių tipų pasirinkimas, p. 121](#).

2. Plokštelių srityje pasirinkite šulinėlį ar šulinėlių grupę:
  - Norėdami pasirinkti atskirą šulinėlį, jį spustelėkite.
  - Norėdami pasirinkti kelis gretimus šulinėlius, spustelėkite šulinėlį ir nutempkite jį į norimą šulinėlį.
  - Norėdami pasirinkti kelis negretimus šulinėlius, laikykite nuspaustą klavišą „Control“ (valdymas) ir spustelėkite kiekvieną šulinėlį.
  - Norėdami pasirinkti visą stulpelį su tokio paties tipo mėginiais, spustelėkite stulpelio numerį.
  - Norėdami pasirinkti visą eilutę, spustelėkite eilutės numerį.
3. Dešiniajame lange iš išplečiamojo sąrašo „Target Name“ (tikslų pavadinimas) pasirinkite kiekvieno pasirinkto fluoroforo pavadinimą.



4. **3 veiksmas** pakartokite kiekvienam šulinėliui ir šulinėlių grupei, kuriai turite priskirti tikslą.
 

**Patarimas.** Kiekvienam pasirinktam fluoroforui galite priskirti tokį patį ar skirtingą tikslo pavadinimą.
5. Spustelėkite OK (gerai) ir patvirtinkite pakeitimus bei įrašykite plokštelę.

### Tikslo pavadinimo šalinimas

- ▶ Norėdami pašalinti tikslo pavadinimą iš pasirinkto šulinėlio ar šulinėlių grupės, pašalinkite jo žymės langelio „Load“ (ikėlimas) žymėjimą.

**Svarbu.** Pašalinus šulinėlio tikslo pavadinimą, taip pat pašalinamas jo susijęs fluoroforas. Būkite atsargūs šalindami šulinėlio tikslo pavadinimą.

### Tikslo pavadinimo įtraukimas į sąrašą

- ▶ Norėdami tikslo pavadinimą įtraukti į išplečiamąjį sąrašą, atlikite šiuos veiksmus:
  - Išplečiamajame sąrašo „Target Name“ (tikslų pavadinimas) įrašykite pavadinimą ir paspauskite „Enter“ (įvesti).

**Patarimas.** Viename sąrašo įrašyti tikslo pavadinimai rodomi visuose kituose tikslo sąrašuose.

- Išplečiamojo sąrašo dešinėje spustelėkite žalią + simbolį, įrašykite tikslo pavadinimą ir paspauskite „Enter“ (įvesti).
- Įrankių juostoje spustelėkite „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) ir bibliotekoje „Target Names“ (tikslų pavadinimas), esančioje kortelėje „Plate“ (plokštelė), įrašykite pavadinimą.

**Svarbu.** Jūsų į išplečiamąjį sąrašą įrašyti tikslų pavadinimai taikomi tik naudojamai plokštelei ir tik jeigu pavadinimą priskiriate šulinėliui ir įrašote plokštelės schemą. Jeigu šulinėliui nepriskiriate pavadinimo ir įrašote plokštelės schemą, pavadinimas neįrašomas ir jo negalima naudoti ateityje. Norėdami tikslo pavadinimą įrašyti visam laikui, jį taip pat įrašykite į biblioteką „Target Names“ (tikslų pavadinimai) naudodami dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos). Jūsų į biblioteką įtrauktus pavadinimus bus galima naudoti jums vėl atvėrus langą „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius). Daugiau informacijos žr. [Numatytyjų plokštelės parametrų nustatymas, p. 68](#).

### Tikslo pavadinimo šalinimas iš sąrašo

1. Įrankių juostoje spustelėkite „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).  
Parodomas dialogo langas „User Preferences“ (vartotojo nuostatos), kuriame rodoma kortelė „Plate“ (plokštelė).
2. Bibliotekoje „Target Names“ (tikslų pavadinimai), esančioje kortelėje „Plate“ (plokštelė), pasirinkite šalinamą pavadinimą ir paspauskite klavišą „Delete“ (šalinti).
3. Spustelėkite OK (gerai) ir įrašykite pakeitimus bei išeikite iš dialogo lango „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).

**Svarbu.** Negalite pašalinti tikslų pavadinimų, kuriuos įrašėte su plokštelės failu. Pasirinkiniai pavadinimai, kuriuos įrašėte į išplečiamąjį sąrašą „Target Names“ (tikslų pavadinimai), nenaudojote ir įrašėte su plokštele, yra automatiškai pašalinami iš sąrašo. Pavadinimai, kuriuos pašalinate iš bibliotekos „Target Names“ (tikslų pavadinimai), yra visam laikui pašalinami iš programinės įrangos ir vartotojas daugiau jų naudoti negali. Būkite atsargūs, kai šalinate tikslo pavadinimus.

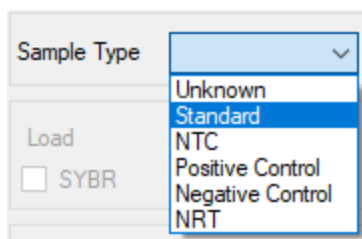
### Mėginio pavadinimo priskyrimas šulinėliams

**Pastaba.** Tam, kad priskirtumėte mėginio pavadinimą, turite pasirinktiems šulinėliams priskirti bent vieną fluoroforą. Jei pasirinktiems šulinėliams nepriskirtas fluoroforas, išplečiamasis sąrašas „Sample Names“ (mėginių pavadinimai) išjungtas. Informaciją apie fluoroforų priskyrimą žr. skirsnyje [Tikslo priskyrimas šulinėliams, p. 126](#).

**Patarimas.** Galite priskirti tik vieną mėginio pavadinimą kiekvienam šulinėliui arba šulinėlių grupei.

### Mėginio pavadinimo priskyrimas šulinėliui ar šulinėlių grupei

1. Lango „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) įsitikinkite, ar šulinėliui arba šulinėlių grupei buvo priskirtas fluoroforas.
2. Plokštelių srityje pasirinkite šulinėlį ar šulinėlių grupę.
3. Dešinėje srityje iš išplečiamojo sąrašo „Sample Names“ (mėginių pavadinimai) pasirinkite pavadinimą.



4. **3 veiksmas** pakartokite kiekvienam šulinėliui ir šulinėlių grupei, kuriai turite priskirti mėginio pavadinimą.
5. Spustelėkite OK (gerai) ir patvirtinkite pakeitimus bei įrašykite plokštelę.

### Mėginio pavadinimo šalinimas

- ▶ Norėdami pašalinti mėginio pavadinimą iš pasirinkto šulinėlio ar šulinėlių grupės, pašalinkite jo žymės langelio „Load“ (ikėlimas) žymėjimą.

### Mėginio pavadinimo įtraukimas į sąrašą

- ▶ Norėdami mėginio pavadinimą įtraukti į išplečiamąjį sąrašą, atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
  - Išplečiamajame sąraše „Sample Names“ (mėginių pavadinimai) įrašykite pavadinimą ir paspauskite „Enter“ (įvesti).
  - Išplečiamojo sąrašo dešinėje spustelėkite žalią + simbolį ir įrašykite mėginio pavadinimą.
  - Įrankių juostoje spustelėkite „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) ir bibliotekoje „Sample Names“ (mėginių pavadinimai), esančioje kortelėje „Plate“ (plokštelė), įrašykite pavadinimą.

**Svarbu.** Jūsų į išplečiamąjį sąrašą įrašyti mėginių pavadinimai taikomi tik naudojami plokštei ir tik jeigu pavadinimą priskiriate šulinėliui ir įrašote plokštelės schemą. Jeigu šulinėliui nepriskiriate pavadinimo ir įrašote plokštelės schemą, pavadinimas neįrašomas ir jo negalima naudoti ateityje. Norėdami mėginio pavadinimą įrašyti visam laikui, jį taip pat įrašykite į biblioteką „Sample Names“ (mėginių pavadinimai), naudodami dialogo langą „User Preferences“ (vartotojo nuostatos). Jūsų į biblioteką įtrauktus pavadinimus bus galima naudoti jums vėl atvėrus langą „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius). Daugiau informacijos žr. [Numatytųjų plokštelės parametrų nustatymas, p. 68](#).

### Mėginio pavadinimo šalinimas iš sąrašo

1. Įrankių juostoje spustelėkite „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).  
Parodomas dialogo langas „User Preferences“ (vartotojo nuostatos), kuriame rodoma kortelė „Plate“ (plokštelė).
2. Bibliotekoje „Sample Names“ (mėginių pavadinimai), esančioje kortelėje „Plate“ (plokštelė), pasirinkite šalinamą pavadinimą ir paspauskite klavišą „Delete“ (šalinti).
3. Spustelėkite OK (gerai) ir įrašykite pakeitimus bei išeikite iš dialogo lango „User Preferences“ (vartotojo nuostatos).

**Svarbu.** Negalite pašalinti mėginių pavadinimų, kuriuos įrašėte su plokštelės failu. Pasirinkiniai pavadinimai, kuriuos įrašėte į sąrašą „Sample Names“ (mėginių pavadinimai), nenaudojote ir įrašėte su plokštele, yra automatiškai pašalinami iš išplečiamąjo sąrašo. Pavadinimai, kuriuos pašalinate iš bibliotekos „Sample Names“ (mėginių pavadinimai), yra visam laikui pašalinami iš programinės įrangos ir vartotojas daugiau negali jų naudoti. Šalindami mėginių pavadinimus, būkite atidūs.

## Biologinių rinkinių priskyrimas šulinėliams

**Pastaba.** Tam, kad priskirtumėte biologinį rinkinį, turite pasirinktiems šulinėliams priskirti bent vieną fluoroforą. Priskiriant fluoroforą, įjungiamas išplečiamasis sąrašas „Biological Set Name“ (biologinio rinkinio pavadinimas). Informacijos apie fluoroforų priskyrimą žr. [Tikslo priskyrimas šulinėliams, p. 126](#).

**Patarimas.** Galite priskirti vieną biologinį rinkinį kiekvienam šulinėliui arba šulinėlių grupei.

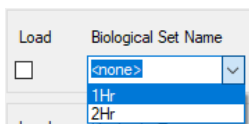
### Biologinio rinkinio priskyrimas šulinėliui arba šulinėlių grupei

1. Parinkčių srityje „View“ (rodymas), esančioje lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), pasirinkite žymės langelį „Biological Set“ (biologinis rinkinys).
2. Lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) įsitikinkite, ar šulinėliui arba šulinėlių grupei buvo priskirtas fluoroforas.
3. Plokštelių srityje pasirinkite šulinėlį ar šulinėlių grupę.



- Dešinėje srityje pasirinkite elementą iš išplečiamojo sąrašo „Biological Set Name“ (biologinio rinkinio pavadinimas).

CFX Manager Dx programinė įranga automatiškai pažymi žymės langelį „Load“ (ikėlimas).



- 4 veiksmas** pakartokite kiekvienam šulinėliui ir šulinėlių grupei, kuriai turite priskirti biologinį rinkinį.
- Spustelėkite OK (gerai) ir patvirtinkite pakeitimus bei įrašykite plokštelę.

**Patarimas.** Priskiriant biologinių rinkinių pavadinimus šulinėliams, įjungiamas rodinys „Biological Set Analysis Options“ (biologinio rinkinio analizės parinktys) dialogo lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos), kuriame galite atlikti mėginių analizę, pasirinkę vieną iš keturių konfigūracijų. Daugiau informacijos žr. [Eksperimento nuostatų keitimas, p. 137](#).

### Biologinio rinkinio šalinimas

- Tam, kad pašalintumėte biologinį rinkinį iš pasirinkto šulinėlio ar šulinėlių grupės, pašalinkite žymės langelio „Load“ (ikėlimas) žymėjimą.

### Biologinio rinkinio įtraukimas į sąrašą

- Tam, kad biologinį rinkinį įtrauktumėte į išplečiamąjį sąrašą, įrašykite pavadinimą į išplečiamąjį laukelį „Biological Set Name“ (biologinio rinkinio pavadinimas) ir paspauskite „Enter“ (įvesti).

**Svarbu.** Jūsų į išplečiamąjį sąrašą įrašyti biologinių rinkinių pavadinimai taikomi tik naudojamai plokštelei ir tik jeigu pavadinimą priskiriate šulinėliui ir įrašote plokštelės schemą. Jeigu šulinėliui nepriskiriate pavadinimo ir įrašote plokštelės schemą, pavadinimas neįrašomas ir jo negalima naudoti ateityje.

### Visų biologinių rinkinių plokštelėje peržiūrėjimas

- Pasirinkite žymės langelį „Biological Set“ (biologinis rinkinys) parinkčių srityje „View“ (rodymas), esančioje lango „Editor“ (redaktorius) apačioje.



Parodomi visų šulinėlių atitinkami biologinių rinkinių pavadinimai, jei priskirti. Valdymo elementas „Biological Set Name“ (biologinio rinkinio pavadinimas) rodomas dešinėje srityje.

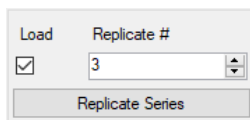
Norėdami paslėpti biologinius rinkinius, pašalinkite žymės langelio „Biological Set“ (biologinis rinkinys) žymėjimą parinkčių srityje „View“ (rodymas) .

## Kopijų skaičiaus priskyrimas šulinėliams

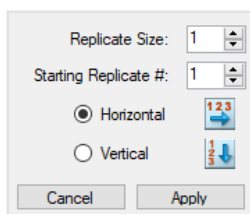
**Svarbu.** Kad būtų galima priskirti kopijų skaičių, pasirinkti šulinėliai turi būti su identišku šulinėlių turiniu. Tai yra pasirinkti šulinėliai turi būti tokio paties mėginio tipo ir fluoroforo. Jeigu taikoma, jiems taip pat turi būti priskirtas toks pats tikslo ir mėginio pavadinimas bei toks pats biologinis rinkinys. Jeigu jie ne tokie patys, CFX Manager Dx programinė įranga šios parinktys neįjungia.

### Kopijų skaičiaus priskyrimas šulinėlių grupei

1. Lango „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) įsitikinkite, ar šulinėlių grupės turinys yra vienodas.
2. Plokštelių lange pasirinkite šulinėlių grupės tikslą.
3. Norėdami tokį patį kopijos numerį priskirti visiems pasirinktiems šulinėliams, dešinėje srityje skyriuje „Replicate #“ (kopijos Nr.) į langelį įrašykite kopijos numerį ir pasirinkite „Load“ (įkėlimas).



4. (Neprivaloma) Norėdami kopijų serijas taikyti pasirinktų šulinėlių rinkiniui, atlikite šiuos veiksmus:
  - a. Spustelėkite „Technical Replicates“ (techninės kopijos), „Replicate Series“ (kopijų serijos). Pasikeičia skyrius „Replicate #“ (kopijos Nr.), kad būtų parodytos šios parinktys:



- **„Replicate size“ (kopijos dydis)** – skaičius, kuris reiškia šulinėlių kiekvienoje kopijų grupėje, skaičių
- **„Starting replicate #“ (pradinės kopijos Nr.)** – pasirinktos kopijų grupės pirmasis numeris kopijų serijoje

**Pastaba.** Pagal numatytuosius parametrus CFX Manager Dx programinė įranga rodo pradinės kopijos numerį kaip didesnį skaičių nei paskutinį kopijos skaičių, priskirtą plokštei. Pavyzdžiui, jeigu paskutinis kopijos numeris plokštelėje yra penki, kitas pradinis skaičius yra šeši. Pradinį numerį galite pakeisti į bet kurį dar nepriskirtą numerį.

- Įkėlimo kryptis (horizontali ar vertikali)

b. Spustelėkite „Apply“ (taikyti) ir pritaikykite parametrus serijai bei grįžkite į rodmenį „Replicate #“ (kopijos Nr.).

5. Spustelėkite OK (gerai) ir patvirtinkite pakeitimus bei įrašykite plokštelę.

### Šulinėlio pašalinimas iš kopijų serijos

► Pasirinkite šalinamą šulinėlį ar šulinėlių grupę ir panaikinkite žymės langelio „Replicate # Load“ (kopijos numerio įkėlimas) žymėjimą.

Taip pat galite spustelėti „Clear Replicate #“ (išvalyti kopijos Nr.) ir iš pasirinkto šulinėlio ar šulinėlių grupės pašalinti kopijos numerį.

## Skiedimo serijų priskyrimas standartinių tipų mėginiams

Kaip jau minėta, visiems šulinėliams su standartinio tipo mėginiais turi būti priskirta koncentracijos reikšmė. Skiedimo serijas galite priskirti keliems šulinėliams su standartinio tipo mėginiais.

**Pastaba.** Norint skiedimo serijas priskirti šulinėlių grupei, šulinėliai turi būti įtraukti į kopijų serijas. Informacijos apie šulinėlių įtraukimą į kopijų serijas žr. skirsnyje [Kopijų skaičiaus priskyrimas šulinėliams, p. 132](#).

### Skiedimo serijų priskyrimas grupei šulinėlių su standartiniais mėginiais

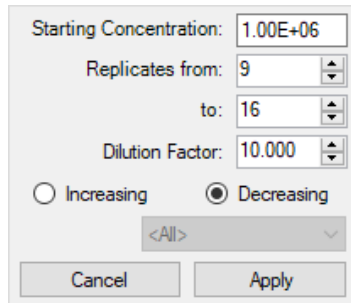
1. Lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) įsitikinkite, kad įvykdyti šie reikalavimai:

- Šulinėlių grupės mėginių tipas yra „Standard“ (standartinis).
- Visiems grupės šulinėliams yra priskirtas bent vienas fluoroforas ir jie visi turi tuos pačius fluoroforus.
- Visi grupės šulinėliai yra įtraukti į tą pačią kopijų seriją.

**Pastaba.** CFX Manager Dx programinė įranga įjungia parinktį „Dilution Series“ (skiedimo serijos) tik tuo atveju, jei visi pasirinkti šulinėliai atitinka šiuos kriterijus.

2. Plokštelių lange pasirinkite šulinėlių grupės tikslą.

- Dešinėje srityje esančioje dalyje „Concentration“ (koncentracija) spustelėkite „Dilution series“ (skiedimo serijos). Dalis „Concentration“ (koncentracija) pasikeičia, kad būtų parodytos šios parinktys:



Starting Concentration: 1.00E+06  
Replicates from: 9  
to: 16  
Dilution Factor: 10.000  
 Increasing  Decreasing  
<All>  
Cancel Apply

- **„Starting concentration“ (pradinė koncentracija)** – koncentracijos reikšmė, nuo kurios prasideda serijos
  - **„Replicates from and to“ (kopijos nuo ir iki)** – kopijos serijoje, kuriai bus taikomas skiedimo koeficientas
  - **„Dilution factor“ (skiedimo koeficientas)** – kiekis, kuriuo siekiama pakeisti koncentraciją kiekvienoje kopijų grupėje
- Nustatykite parinkčių reikšmes arba patvirtinkite numatytąsias.
  - Pagal numatytąsias nuostatas skiedimo serijos sumažinamos skiedimo koeficientu. Norėdami padidinti skiedimo seriją, pasirinkite „Increasing“ (didinti).
  - (Neprivaloma) Pagal numatytąsias nuostatas skiedimo koeficientas taikomas visiems fluoroforams kopijų serijose. Jei jūsų serijoje yra daugiau nei vienas fluoroforas ir norite taikyti skiedimą vienam fluoroforui, pasirinkite jį iš išplečiamojo sąrašo.
  - Spustelėkite „Apply“ (taikyti), kad skiedimo serijos būtų taikomos šulinėlių grupei, ir grįžkite į rodmenį „Concentration“ (koncentracija).
  - Spustelėkite OK (gerai) ir patvirtinkite pakeitimus bei įrašykite plokštelę.

## Šulinėlio turinio kopijavimas į kitą šulinėlį

Galite nukopijuoti šulinėlio turinį ir įklijuoti jį į vieną ar kelis šulinėlius. Tačiau galite kopijuoti tik vieno šulinėlio turinį. Negalite pasirinkti kelių šulinėlių ir kopijuoti jų turinio.

### Kaip nukopijuoti šulinėlio turinį į kitą šulinėlį

1. Plokštelės srityje pasirinkite šulinėlį, kurio turinį norite kopijuoti.
2. Pelės dešiniuoju mygtuku spustelėkite šulinėlį ir pasirinkite „Copy Well“ (kopijuoti šulinėlį).
3. Pasirinkite šulinėlį ar šulinėlius, į kuriuos norite įklijuoti turinį:
  - Norėdami pasirinkti vieną šulinėlį, spustelėkite jį.
  - Norėdami pasirinkti kelis gretimus šulinėlius, spustelėkite šulinėlį ir nutempkite jį į norimą šulinėlį.
  - Norėdami pasirinkti kelis negretimus šulinėlius, laikykite nuspaustą klavišą „Control“ (valdymas) ir spustelėkite kiekvieną šulinėlį.
4. Pasirinkę norimus šulinėlius, spustelėkite dešinįjį pelės mygtuką ir pasirinkite „Paste Well“ (įklijuoti šulinėlį).

„CFX Manager Dx programinė įranga“ įklijuoja pirmojo šulinėlio turinį į pasirinktus šulinėlius.

## Pastabos pridėjimas prie šulinėlio

Prie šulinėlio galite pridėti aiškinamąją pastabą. Galite peržiūrėti šulinėliui skirtas pastabas lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas).

### Kaip pridėti pastabą prie šulinėlio

1. Plokštelių srityje pasirinkite šulinėlį ar šulinėlių grupę, prie kurios planuojate pridėti pastabą.
2. Apatinėje srityje esančioje dalyje „View“ (rodymas) pasirinkite „Well Note“ (šulinėliui skirta pastaba).

Dešinėje srityje parodomas laukas „Well Note“ (šulinėliui skirta pastaba).



3. Teksto laukelyje įrašykite pastabos turinį ir paspauskite „Enter“ (įvesti).

Tekstas rodomas pasirinktų šulinėlių apačioje.

**Patarimas.** Jei sukūrėte ankstesnę šulinėliui skirtą pastabą, galite ją pasirinkti išplečiamajame sąraše ir taikyti pasirinktiems šulinėliams.

## Viso šulinėlių turinio išvalymas

Galite išvalyti visą atskiro šulinėlio, šulinėlių grupės arba visos plokštelės turinį. Išvalius šulinėlius, fluorescencijos duomenys, surinkti skaitant plokštelę, nėra pašalinami.

Išvalius šulinėlį, jo turinys pašalinamas visam laikui. Būkite atsargūs valydami šulinėlius.

### Kaip išvalyti visus šulinėlių nuostatas

1. Lango „Plate Editor“ (plokštelių redaktorius) pasirinkite šulinėlį ar jų grupę plokštelių srityje:
  - Norėdami pasirinkti vieną šulinėlį, spustelėkite jį.
  - Norėdami pasirinkti kelis gretimus šulinėlius, spustelėkite šulinėlį ir nutempkite jį į norimą šulinėlį.
  - Norėdami pasirinkti kelis negretimus šulinėlius, laikykite nuspauštą klavišą „Control“ (valdymas) ir spustelėkite kiekvieną šulinėlį.
  - Norėdami pasirinkti visą stulpelį su tokio paties tipo mėginiais, spustelėkite stulpelio numerį.
  - Norėdami pasirinkti visą eilutę, spustelėkite eilutės numerį.
2. Dešinėje srityje spustelėkite „Clear Wells“ (išvalyti šulinėlius).  
CFX Manager Dx programinė įranga išvalo visas pasirinktų šulinėlių nuostatas.
3. Spustelėkite OK (gerai) ir patvirtinkite keitimus bei įrašykite plokštelę.

## Eksperimento nuostatų keitimas

Dialogo lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) peržiūrėkite arba pakeiskite tikslų ar mėginių sąrašą arba pasirinkite geno ekspresijos analizės grupę ir analizės parinktį, jeigu šulinėliams plokštelėje priskyrite biologinių rinkinių.

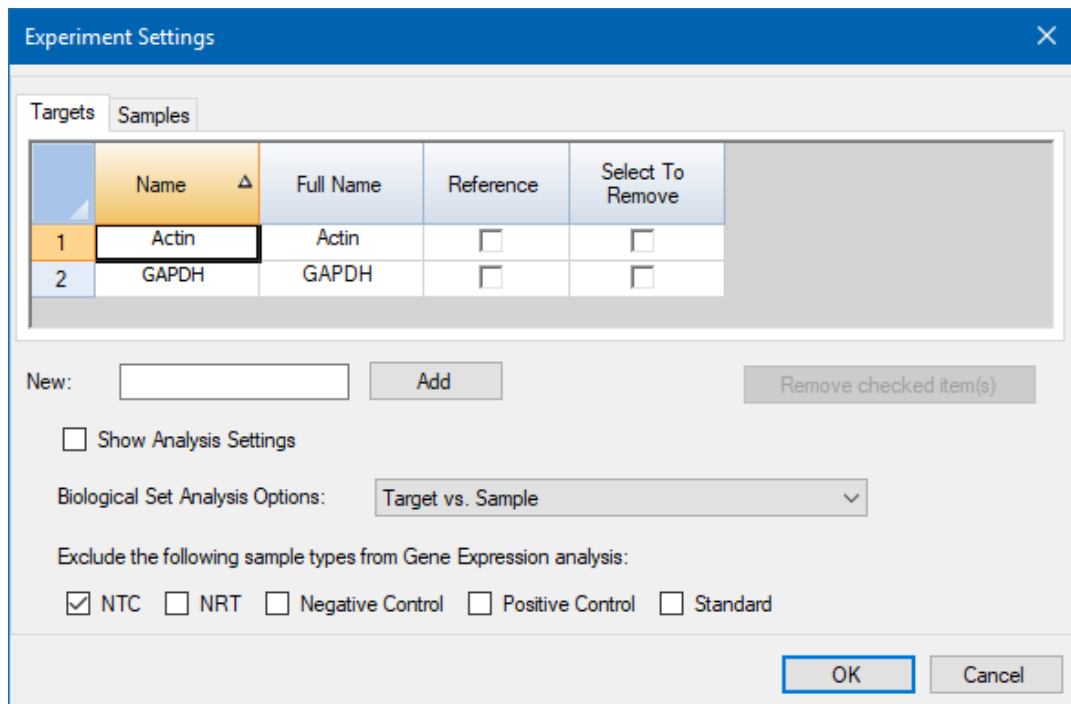
Dialogo lango „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) kortelėje „Targets“ (tikslai) rodomas tikslinių pavadinimų kiekvienai PGR reakcijai sąrašas, pvz., tikslinio geno ar dominančių genų sekų.

Kortelėje „Samples“ (mėginiai) rodomas mėginių pavadinimų, kuriuo nurodomas tikslo šaltinis, pvz., mėginių, paimtų „1 hour (1Hr)“ (1 val.) ar nuo konkretaus atskiro („mouse1“ (1 pelė)), sąrašas.

### Plokštelės nuostatų keitimas eksperimento nuostatų dialogo lange

1. Norėdami atverti dialogo langą „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) atlikite šiuos veiksmus:
  - „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) dešinėje srityje spustelėkite „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos).
  - Kortelės „Gene Expression“ (geno ekspresija) lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) spustelėkite „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos).

Atveriamas dialogo langas „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos), kuriame rodomas kortelės „Targets“ (tikslai) turinys.



- Norėdami pridėti tikslo ar mėginio pavadinimą, atitinkamos kortelės tekstiniame langelyje „New“ (naujas) įrašykite pavadinimą ir spustelėkite „Add“ (pridėti).
- Norėdami pašalinti vieną ar kelis tikslo ar mėginio pavadinimus iš sąrašo, atitinkamoje kortelėje pasirinkite elemento žymės langelį stulpelyje „Select to Remove“ (pasirinkti ir pašalinti) ir spustelėkite „Remove checked item(s)“ (pašalinti pažymėtą (-us) elementą (-us)).
- CFX Manager Dx programinė įranga neįtraukia mėginio tipo NTC (nėra šablono kontrolės) iš geno ekspresijos analizės.

Norėdami įtraukti NTC mėginių tipų, skyriuje „Exclude the following sample types“ (pašalinti šiuos mėginių tipus) panaikinkite žymės langelio žymėjimą. Galite pašalinti šiuos mėginių tipus pasirinkę atitinkamą žymės langelį:

- NRT (nėra atvirkštinės transkriptazės)
- „Negative Control“ (neigiama kontrolė)
- „Positive Control“ (teigiama kontrolė)
- „Standard“ (standartinis)



## 5. Kortelėje „Targets“ (tikslai):

- a. Norėdami tikslą pasirinkti kaip etaloną geno ekspresijos duomenų analizei, jį pasirinkite stulpelyje „Reference“ (etalonas).
- b. Norėdami paslėpti analizės nuostatas, kurios bus taikomos lango „Analysis Settings“ (analizės nuostatos) kortelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija), panaikinkite „Show Analysis Settings“ (rodyti analizės nuostatas) žymėjimą.

Programinė įranga paslepia šiuos stulpelius:

- „Color“ (spalva)
- „Show Chart“ (rodyti diagramą)
- „Auto Efficiency“ (automatinis veiksmingumas)
- „Efficiency“ (veiksmingumas) (%)

- c. Norėdami pakeisti tikslo, pateikto diagramoje „Gene Expression“ (geno ekspresija), spalvą, stulpelio „Color“ (spalva) išskylančiame dialogo lange „Color“ (spalva), spustelėkite jos langelį ir spustelėkite OK (gerai).
- d. Norėdami tikslą diagramoje „Gene Expression“ (geno ekspresija) parodyti pasirinkta spalva, stulpelyje „Show Chart“ (rodyti diagramą) pasirinkite jos žymės langelį.
- e. Pagal numatytuosius parametrus CFX Manager Dx automatiškai apskaičiuoja tikslo santykinį veiksmingumą, jeigu jo duomenys apima standartinę kreivę.

Norėdami panaudoti anksčiau nustatytą veiksmingumo vertę, stulpelio „Efficiency“ (veiksmingumas) (%) langelyje įrašykite vertę ir paspauskite klavišą „Enter“ (įvesti). CFX Manager Dx panaikina žymės langelio „Auto Efficiency“ (automatinis veiksmingumas) žymėjimą.

## 6. Kortelėje „Samples“ (mėginiai) ir atlikite šiuos veiksmus:

- a. Norėdami mėginį pasirinkti kaip kontrolinį mėginį geno ekspresijos duomenų analizei, stulpelyje „Control“ (kontrolė) pasirinkite žymės langelį.
- b. Norėdami paleidimo mėginiui priskirti kontrolinę būseną, stulpelyje „Control“ (kontrolė) spustelėkite žymės langelį.
- c. Jeigu jis dar nepasirinktas, spustelėkite „Show Analysis Settings“ (rodyti analizės nuostatas) ir peržiūrėkite arba pakeiskite analizės parametrus, kurie bus taikomi kortelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija). Programinė įranga paslepia stulpelius „Color“ (spalva) ir „Show Chart“ (rodyti diagramą).

7. Jei šulinėliams plokštelėje priskyrėte vieną ar kelis biologinius rinkinius (žr. [Biologinių rinkinių priskyrimas šulinėliams, p. 130](#)), sąrašė „Biological Set Analysis Options“ (biologinio rinkinio analizės parinktys) pasirinkite vieną iš šių parinkčių:
  - „**Target vs. Sample**“ (tikslo palyginimas su mėginiu) – geno ekspresijos skaičiavimuose naudojamas tik šulinėlio mėginio pavadinimas.
  - „**Target vs. Biological Set**“ (tikslo palyginimas su biologiniu rinkiniu) – skaičiavimuose naudojamas tik biologinio rinkinio pavadinimas.
  - „**Target vs. Sample\_Biological Set**“ (tikslo palyginimas su mėginio biologiniu rinkiniu) – mėginio pavadinimas ir biologinio rinkinio pavadinimas derinami, sukuriant bendrą pavadinimą, kuris naudojamas skaičiavimuose.
  - „**Target vs. Biological Set\_Sample**“ (tikslo palyginimas su biologinio rinkinio mėginiu) – biologinio rinkinio pavadinimas derinamas su mėginio pavadinimu, sukuriant bendrą pavadinimą, kuris naudojamas skaičiavimuose.
8. Spustelėkite OK (gerai), dialogo laukelyje „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) įrašykite parametrus ir grįžkite į langą Plate Editor (plokštelės redaktorius).

## Šulinėlių grupių kūrimas

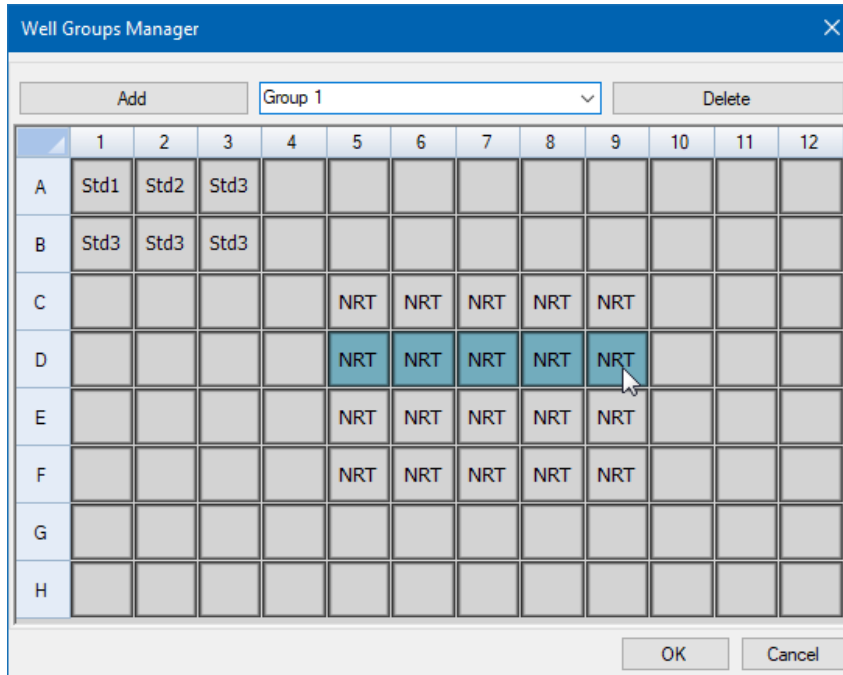
Šulinėlių grupės dalija atskirą plokštelę į šulinėlių poaibius, kuriuos galima analizuoti nepriklausomai lange „Data Analysis“ (duomenų analizė). Kai nustatomos šulinėlių grupės, lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) pasirinkite vieną duomenims, kaip nepriklausomai grupei, analizuoti. Pavyzdžiui, nustatykite šulinėlių grupes, kad būtų analizuojami keli eksperimentai, paleisti vienoje plokštelėje, arba kiekviena šulinėlių grupė būtų analizuojama su skirtingomis standartinėmis kreivėmis.

**Pastaba.** Numatytoji šulinėlių grupė yra „All Wells“ (visi šulinėliai).

### Kaip kurti šulinėlių grupes

1. Norėdami atidaryti „Well Groups Manager“ (šulinėlių grupių tvarkyklė), atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Įrankių juostoje „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) spustelėkite „Well Groups“ (šulinėlių grupės).
  - Lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) spustelėkite „Manage Well Groups“ (tvarkyti šulinėlių grupes).

Parodomas dialogo langas „Well Groups Manager“ (šulinėlių grupių tvarkytuvė).



2. Spustelėkite „Add“ ( pridėti) ir sukurkite naują grupę. Išplečiamajame meniu rodomas pirmosios grupės pavadinimas „Group 1“ (1 grupė).
3. Spustelėdami ir vilkdami žymeklį per šulinėlių grupę, pasirinkite šulinėlių iš šulinėlių grupės plokštelės vaizde. Pasirinkti šulinėliai „Manager“ (tvarkytuvė) rodomi mėlynai.
4. (Neprivaloma) Norėdami pakeisti grupės pavadinimą, išplečiamajame meniu pasirinkite jos pavadinimą ir įrašykite naują pavadinimą.
5. (Neprivaloma) Norėdami šalinti šulinėlių grupę, išplečiamajame sąrašė pasirinkite jos pavadinimą ir spustelėkite „Delete“ (šalinti).
6. Spustelėkite OK (gerai) norėdami baigti ir uždaryti langą arba spustelėkite „Cancel“ (atšaukti) ir užverkite langą neatlikę pakeitimų.

**Svarbu.** Norėdami rodyti šulinėlių grupes, lango „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) apačioje parinktyse „View“ (peržiūrėti) pasirinkite „Well Groups“ (šulinėlių grupės).

## Dialogo lango „Well Groups Manager“ (šulinėlių grupių tvarkytuvė) pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai

13 lentelė pateikti meniu elementai, esantys dialogo lange „Well Groups Manager“ (šulinėlių grupių tvarkytuvė), kai pelės dešiniuojų mygtuku spustelėte šulinėlį.

**13 lentelė. Pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai dialogo lange „Plate Editor Well Selector“ (plokštelių redaktoriaus šulinėlių parinkiklis)**

| Elementas                                    | Funkcija   |
|--|--|
| „Copy“ (kopijuoti)                           | Kopijuojamas šulinėlio turinys, kurį galima įklijuoti į kitą šulinėlį ar šulinėlius. |
| „Copy as Image“ (kopijuoti kaip paveikslėlį) | Šulinėlio parinkiklio rodinys kopijuojamas kaip paveikslėlis.                        |
| „Print“ (spausdinti)                         | Atspausdinamas šulinėlio parinkiklio rodinys.  |
| „Print Selection“ (spausdinti pasirinkimą)   | Atspausdinami tik pasirinkti langeliai.  |
| „Export to Excel“ (eksportuoti į „Excel“)    | Duomenys eksportuojami į „Excel“ skaičiuoklę.  |
| „Export to Csv“ (eksportuoti į Csv)          | Duomenys eksportuojami kaip kableliais atskirų duomenų dokumentas.                   |
| „Export to Xml“ (eksportuoti į Xml)          | Duomenys eksportuojami kaip .xml dokumentas.   |
| „Export to Html“ (eksportuoti į Html)        | Duomenys eksportuojami kaip .html dokumentas.  |

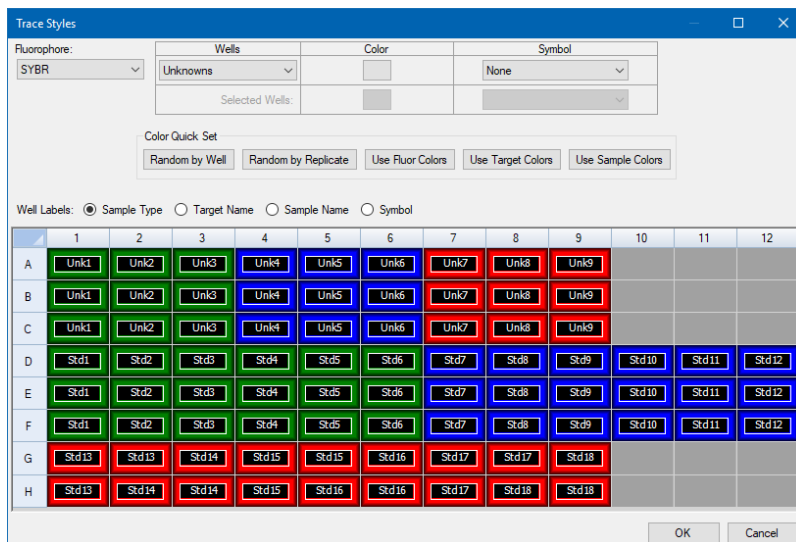
## Pėdsakų stiliaus keitimas

Atlikdami plokštelės sąranką per bandymą, galite keisti amplifikavimo pėdsakų spalvą ir stilių. Tada galite lengvai peržiūrėti pėdsakus tikralaikės būsenos lange, kai duomenys renkami.

### Kaip pakeisti pėdsakų stilių

1. Spustelėkite „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai) įrankių juostoje „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius).

Pasirodo atidarytos plokštelės dialogo langas „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai), pavyzdžiui:



2. Kad pėdsakų stilius būtų rodomas pagal konkretų fluoroforą, pasirinkite jį išplečiamajame meniu „Fluorophores“ (fluoroforai).
3. Kaip pakeisti pėdsakų rodymą:
  - a. Pasirinkite pėdsako rūšį išplečiamajame sąraše „Wells“ (šulinėliai).
  - b. Spustelėkite spalvą stulpelyje „Color“ (spalva).
  - c. Pasirodžiusiame dialogo lange „Color“ (spalva) pasirinkite kitą pėdsako spalvą ir spustelėkite OK (gerai).  
Pakeistas šulinėlio tipas pasirodo žemiau esančiame tinklelyje.
  - d. (Neprivaloma) Pasirinkite pėdsako simbolį išplečiamajame sąraše „Symbols“ (simboliai).

4. Norėdami greitai pakeisti spalvų rinkinį, spustelėkite atitinkamą pasirinktį dalyje „Color Quick Set“ (greitas spalvos nustatymas).
5. Norėdami peržiūrėti šulinėlių etiketes tinklelyje, pasirinkite etiketės rūšį dalyje „Well Labels“ (šulinėlių etiketės).
6. Spustelėkite OK (gerai), kad įrašytumėte pakeitimus, arba „Cancel“ (atšaukti), norėdami juos atšaukti.

## Plokštelės peržiūrėjimas skaičiuoklės formatu

Įrankis „Spreadsheet View/Importer“ (skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis) rodo plokštelės turinį skaičiuoklės formatu. Įrankiu „Spreadsheet View/Importer“ (skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis) galite eksportuoti šulinėlių turinį tabuliacijos žymėmis atskirtu formatu į programas, pvz., „Microsoft Excel“. Taip pat galite importuoti šulinėlių turinį iš tabuliacijos žymes taikančių programų.

### Kaip naudoti įrankį „Spreadsheet View/Importer“ (skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis)

1. Įrankių juostoje „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) spustelėkite „Spreadsheet View/Importer“ (skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis) ir atverkite dialogo langą „Plate Spreadsheet View“ (plokštelės skaičiuoklės peržiūra).

| Row | Column | Sample Type | Replicate # | *Target Name | *Sample Name | Starting Quantity | Units       |
|-----|--------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------------|-------------|
| D   | 10     | Std         | 10          | Tubulin      | dil-10       | 1.000E+005        | copy number |
| D   | 11     | Std         | 11          | Tubulin      | dil-11       | 1.000E+006        | copy number |
| D   | 12     | Std         | 12          | Tubulin      | dil-12       | 1.000E+007        | copy number |
| E   | 1      | Std         | 1           | Actin        | dil-1        | 1.000E+002        | copy number |
| E   | 2      | Std         | 2           | Actin        | dil-2        | 1.000E+003        | copy number |
| E   | 3      | Std         | 3           | Actin        | dil-3        | 1.000E+004        | copy number |
| E   | 4      | Std         | 4           | Actin        | dil-4        | 1.000E+005        | copy number |
| E   | 5      | Std         | 5           | Actin        | dil-5        | 1.000E+006        | copy number |
| E   | 6      | Std         | 6           | Actin        | dil-6        | 1.000E+007        | copy number |
| E   | 7      | Std         | 7           | Tubulin      | dil-7        | 1.000E+002        | copy number |
| E   | 8      | Std         | 8           | Tubulin      | dil-8        | 1.000E+003        | copy number |
| E   | 9      | Std         | 9           | Tubulin      | dil-9        | 1.000E+004        | copy number |
| E   | 10     | Std         | 10          | Tubulin      | dil-10       | 1.000E+005        | copy number |
| E   | 11     | Std         | 11          | Tubulin      | dil-11       | 1.000E+006        | copy number |
| E   | 12     | Std         | 12          | Tubulin      | dil-12       | 1.000E+007        | copy number |

2. Dialogo lange „Spreadsheet View“ (skaičiuoklės peržiūra) rodomas atskiro fluoroforo turinys plokštelėje. Norėdami peržiūrėti kito fluoroforo plokštelės turinį, jį pasirinkite išplečiamajame sąrašė „Fluors List“ (fluoroforų sąrašas).
3. Spustelėkite „Export Template“ (eksportuoti šabloną) ir eksportuokite plokštelės skaičiuoklės šabloną į „Excel“ failą (.csv formatu). Šį šabloną galite redaguoti ir importuoti šulinėlio turinio informaciją.
4. (Neprivaloma) Spustelėkite „Import“ (importuoti) ir importuokite šulinėlių turinį iš kableliais atskirtų reikšmių failo.

- Norėdami skaičiuoklės duomenis rūšiuoti pagal duomenis konkrečiame stulpelyje, spustelėkite trikampį šalia stulpelio pavadinimo.

**Patarimas.** Galite redaguoti bet kurio langelio stulpelyje, šalia kurio pavadinimas pažymėtas žvaigždute (\*), turinį (pavyzdžiui, \*tikslas pavadinimas).

**Pastaba.** Atvėrę „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) ir meniu juostoje pasirinkę „Settings > Units“ (nuostatos > matavimo vienetai) stulpelyje „Quantity“ (kiekis) pasirinkite standartinės kreivės duomenų matavimo vienetus. Kai baigtas plokštelės paleidimas, duomenys iš šių standartų parodomi su pasirinktais matavimo vienetais lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) kortelės „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) diagramoje „Standard Curve“ (standartinė kreivė).

### Įrankio „Plate Spreadsheet View/Importer“ (plokštelės skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis) pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai

14 lentelė pateikiami meniu elementai, matomi įrankyje „Spreadsheet View/Importer“ (skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis) dešiniuoju pelės mygtuku paspaudus bet kurį įrankyje esantį šulinėlį.

#### 14 lentelė. Įrankio „Plate Spreadsheet View/Importer“ (plokštelės skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis) pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai

| Elementas                                    | Funkcija                                   |
|--|--|
| „Copy“ (kopijuoti)                           | Nukopijuoja visą skaičiuoklę.              |
| „Copy as Image“ (kopijuoti kaip paveikslėlį) | Nukopijuoja skaičiuoklę kaip vaizdo failą. |
| „Print“ (spausdinti)                         | Atspausdina skaičiuoklę.                   |
| „Print Selection“ (spausdinti pasirinkimą)   | Atspausdina tik pasirinktus langelius.     |
| „Export to Excel“ (eksportuoti į „Excel“)    | Eksportuoja failą į „Excel“ skaičiuoklę.   |
| „Export to Csv“ (eksportuoti į Csv)          | Eksportuoja failą .csv formatu.            |
| „Export to Xml“ (eksportuoti į Xml)          | Eksportuoja failą .xml formatu.            |



**14 lentelė. Įrankio „Plate Spreadsheet View/Importer“ (plokštelės skaičiuoklės peržiūra / importavimo įrankis) pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai (tęsinys)**

| <b>Elementas</b>                         | <b>Funkcija</b>  |
|--|--|
| „Export to Html“<br>(eksportuoti į Html) | Eksportuoja failą .html formatu.   |
| „Find“ (ieškoti)                         | Ieško konkretaus teksto.   |
| „Sort“ (rūšiuoti)                        | Rūšiuoja skaičiuoklę pasirinkus iki trijų duomenų stulpelių lange „Sort“ (rūšiuoti). |

## Plokštelės schemos kūrimas, naudojant parinktį „Plate Setup Wizard“ (plokštelės sąrankos vedlys)

Galite pasinaudoti parinktimi „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) ir įvesti normalizuoto geno ekspresijos analizei reikalingą plokštelės schemos informaciją, į kurią būtų įtraukti šie elementai:

- Tikslų pavadinimai
- Mėginių pavadinimai
- Tikslų ir mėginių vieta ant plokštelės
- Etaloninis (-iai) genas (-ai)
- Kontrolinis mėginys

Parinktį „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) galite naudoti prieš paleidimą, jo metu arba po jo.

### Plokštelės „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) naudojimas

Šioje dalyje aiškinama, kaip kurti plokštelės išdėstymą naudojant plokštelės „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys). Norėdami lengviau peržiūrėti kiekvieno plokštelės šulinio turinį, spustelėkite „Zoom plate“ (keisti plokštelės mastelį) lango „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) viršuje.

**Svarbu.** Esant bet kurioje lango „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys) kortelėje ir grįžus į kortelę „Auto layout“ (automatinis išdėstymas), atstatomas plokštelės išdėstymas. Būkite atsargūs, kai renkatės šią kortelę.

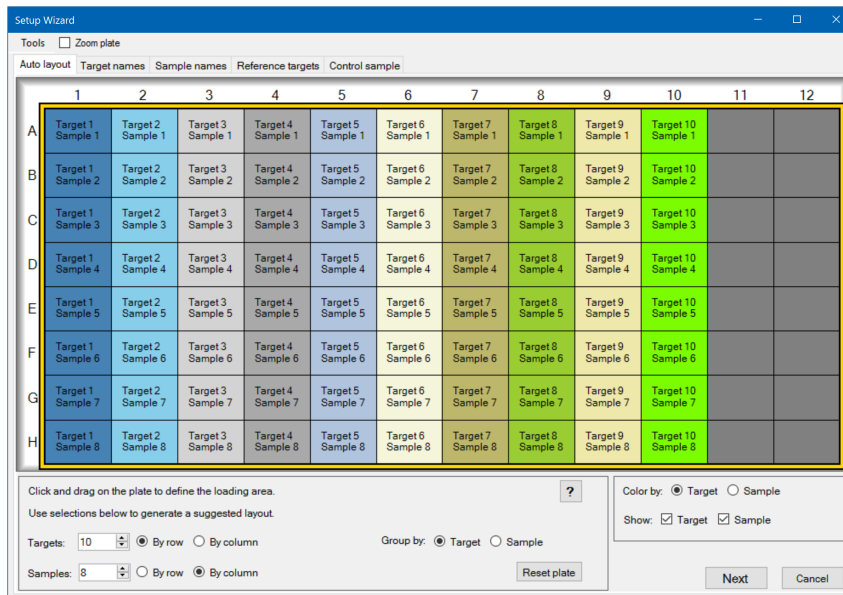
**Patarimas.** Išdėstymą galite atstatyti pasirinkdami „Tools > Clear Plate“ (įrankiai > išvalyti plokštelę) lange „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys).

#### Kaip naudoti „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys)

1. Atidarykite langą „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius).
2. Norėdami atidaryti langą „Setup Wizard“, pasirinkite „Editing Tools > Setup Wizard“ (redagavimo įrankiai > sąrankos vedlys).

Pasirodo „Setup Wizard“ (sąrankos vedlys), kuriame yra kortelė „Auto layout“ (automatinis išdėstymas).

Plokštelės schemas kūrimas, naudojant parinktį „Plate Setup Wizard“ (plokštelės sąrankos vedlys)



3. Kortelėje „Auto layout“ (automatinis išdėstymas) atlikite šiuos veiksmus:

- Spustelėkite šulinėlį tinklelyje, vilkite skersai ir žemyn, kad nurodytumėte plokštelės sritį, kurioje planuojate įkelti mėginį.
- Įveskite tikslų ir mėginių, kuriuos norite įkelti, skaičių.

**Patarimas.** Tikslų ir mėginių skaičius turi atitikti pasirinktų langelių skaičių. Jei įvesti skaičiai netelpa į pasirinktą sritį, pakeiskite skaičius arba plokštelių pasirinkimo sritį. Galite nurodyti plokštelės elementų padėtį ir grupavimą.

- (Neprivaloma) Pakeiskite plokštelės padėtį. Pavyzdžiui, galite stulpeliuose nustatyti tikslus, o eilutėse – mėginius, arba grupuoti pagal mėginius.
- Spustelėkite „Next“ (toliau), kad pereitumėte į kortelę „Target names“ (tikslų pavadinimai).

**Pastaba.** Jei jūsų plokštelės išdėstymas neturi dėsningo modelio, naudokite kortelę „Target names“ (tikslų pavadinimai), kad rankiniu būdu nustatytumėte tikslų padėtį, arba kortelę „Sample Names“ (mėginių pavadinimai), kad rankiniu būdu nustatytumėte mėginių padėtį ant plokštelės. Spustelėkite ir vilkite, kad pasirinktumėte keletą šulinėlių.

4. Kortelėje „Target Names“ (tikslų pavadinimai) nurodykite tikslų grupių tikslų pavadinimus:
  - a. Atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
    - Norėdami pervadinti tikslus pagal grupę, nustatykite „Select by“ (pasirinkti pagal) į „Target“ (tikslas).
    - Norėdami pervadinti tikslus pagal šulinėlį, nustatykite „Select by“ (pasirinkti pagal) į „Well“ (šulinėlis).
  - b. Pasirinkite tikslų grupę arba šulinėlį tinklelyje ir išplečiamajame sąraše „Target Name“ (tikslų pavadinimas) įrašykite pavadinimą.

**Patarimas.** Spustelėkite tabuliavimo klavišą, kad pasirinktumėte kitą grupę arba dešinėje esantį šulinėlį, arba „Enter“ (įvesti), kad pasirinktumėte kitą grupę arba žemiau esantį šulinėlį. Taip pat galite kortelėse „Target Name“ (tikslų pavadinimas) ir „Sample Name“ (mėginio pavadinimas) laikyti „Control“ (valdymas) mygtuką ir spustelėti šulinėlį, kad pasirinktumėte kelis ne greta esančius šulinėlius.
  - c. Spustelėkite „Next“ (toliau), kad pereitumėte į kortelę „Sample Names“ (mėginių pavadinimai).
5. Kortelėje „Sample Names“ (mėginių pavadinimai) nurodykite mėginių grupių mėginių pavadinimus.
6. Spustelėkite „Next“ (toliau), kad pereitumėte į kortelę „Reference Targets“ (etaloniniai tikslai).
7. Kortelėje „Reference Targets“ (etaloniniai tikslai) pasirinkite vieną ar kelis tikslus, kuriuos naudosite kaip etalonus normalizuotoje geno ekspresijoje, ir spustelėkite „Next“ (toliau), kad pereitumėte į kortelę „Control Sample“ (kontrolinis mėginys).
8. Kortelėje „Control Sample“ (kontrolinis mėginys) pasirinkite vieną mėginį, kurį naudosite kaip kontrolinį santykinės geno ekspresijos skaičiavimams.
9. Spustelėkite OK (gerai), kad įrašytumėte plokštelės išdėstymą ir grįžtumėte į langą „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), kuriame galėsite nustatyti kitus plokštelės parametrus. Daugiau informacijos rasite dalyje [Pasirenkamųjų parametrų priskyrimas plokštelės failui, p. 126](#).

Arba galite spausti „Previous“ (atgal), kad grįžtumėte į prieš tai buvusią kortelę ir atliktumėte pakeitimus.

**Pastaba.** Grįžus į kortelę „Auto layout“ (automatinis išdėstymas), plokštelė automatiškai atstatoma. Būkite atsargūs, kai spaudžiate „Previous“ (atgal).

## 8 skyrius. Eksperimentų paleidimas

Šiame skyriuje paaiškinama, kaip naudojant „CFX Manager Dx“ programinę įrangą pradėti vykdyti tinkintus (vartotojo apibrėžtus) arba „PrimePCR“ (PGR pradmenys) analizės eksperimentus.

Paleidimo duomenų faile pateikiama paleisti reikalinga protokolo ir plokštelės informacija. Taip pat faile pateikiami analizių, kurias CFX Manager Dx atlieka pasibaigus paleidimo veiksmui, duomenys.

CFX Manager Dx programinė įranga suteikia galimybę paprastai pradėti ir vykdyti vartotojo apibrėžtus arba „PrimePCR“ (PGR pradmenys) eksperimentus. Lango „Run Setup“ (paleidimo sąranka) nuosekliai jums nurodomi bendrieji eksperimento nustatymo veiksmai, kuriuos atlikę pateksite į dialogo langą „Start Run“ (paleidimo pradžia), iš kurio pradėsite paleidimą.

### Lango „Run Setup“ (paleidimo sąranka) įjungimas

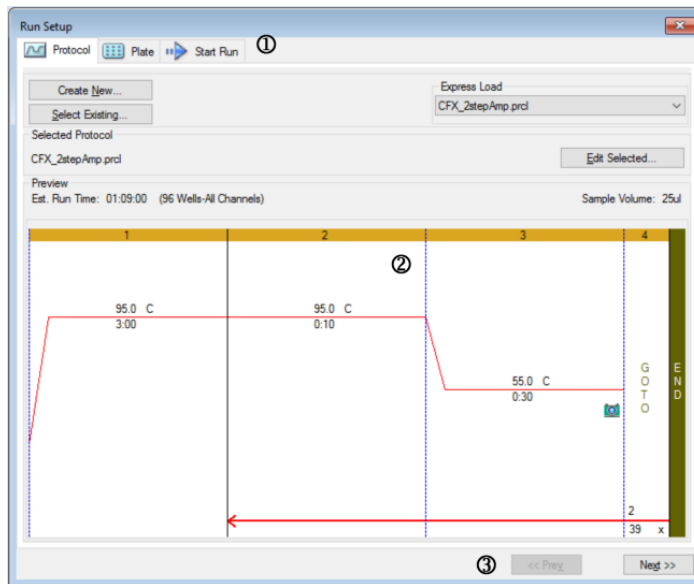
#### Kaip įjungti langą „Run Setup“ (paleidimo sąranka)

- ▶ Atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
  - Kortelėje „Run Setup“ (paleidimo sąranka), kurią rasite lange „Startup Wizard“ (paleisties vedlys), spustelėkite „User-defined“ (vartotojo apibrėžta) arba „PrimePCR“ (PGR pradmenys).
  - Lango „Home“ (pagrindinis) įrankių juostoje spustelėkite „User-defined Run Setup“ (vartotojo apibrėžta paleidimo sąranka) arba „PrimePCR Run Setup“ (PGR pradmenų paleidimo sąranka).
  - Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „Run > User-defined Run“ (paleidimas > vartotojo apibrėžtas paleidimas) arba „Run > PrimePCR Run“ (paleidimas > PGR pradmenų paleidimas).

## Langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka)

Langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka) suteikia sparčią prieigą prie failų ir nuostatų, kurių reikia norint parengti ir paleisti eksperimentą. Kai pasirenkate paleisti vartotojo apibrėžtą eksperimentą, atveriamas dialogo langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka), kuriame rodoma kortelė „Protocol“ (protokolas). Kai pasirenkate paleisti „PrimePCR“ (PGR pradmenys) eksperimentą, atveriamas dialogo langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka), kuriame rodoma kortelė „Start run“ (paleidimo pradžia).

**Patarimas.** Informacijos apie „PrimePCR“ (PGR pradmenys) žr. [„PrimePCR“ \(PGR pradmenys\) eksperimentų atlikimas, p. 170](#); informacijos apie kortelę „Start Run“ (paleidimo pradžia) žr. [Kortelė „Start Run“ \(paleidimo pradžia\), p. 160](#).



## LEGENDA

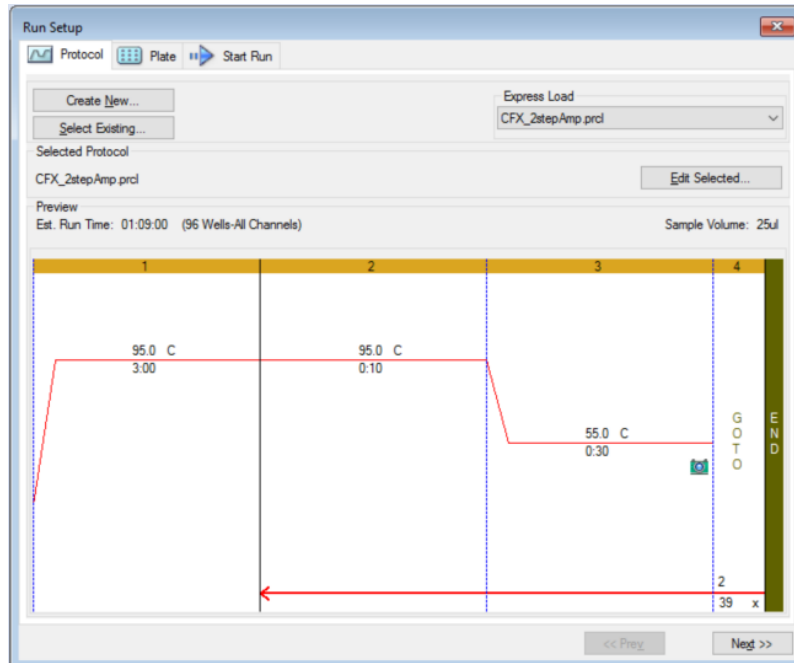
1. Kortelėse būsite nukreipti į eksperimento nuostatas ir paleidimą:
  - Kortelė „Protocol“ (protokolas) – pasirinkite esamą paleidžiamą ar redaguojamą protokolą arba „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius) ir sukurkite naują protokolą.
  - Kortelė „Plate“ (plokštelė) – pasirinkite esamą paleidžiamą ar redaguojamą plokštelę arba „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) ir sukurkite naują plokštelę.
  - Kortelė „Start Run“ (paleidimo pradžia) – peržiūrėkite eksperimento nuostatas, pasirinktie vieną ar kelis instrumentų blokus ir pradėkite paleidimą.

---
2. Pagrindiniame lange rodomos kiekvienos kortelės parinktys, kokias jūs taikote.

---
3. Naršymo mygtukas nukreips jus į kortelę „Start Run“ (paleidimo pradžia).

## Kortelė „Protocol“ (protokolas)

Kortelėje „Protocol“ (protokolas) rodoma jūsų planuojamo paleidimo protokolo failo apžvalga. Protokolo faile yra instrukcijos dėl instrumento temperatūros etapų ir instrumento parinkčių, kuriomis valdomas kitimo greitis, mėginio tūris ir dangtelio temperatūra.



Pagal numatytąsias nuostatas programinė įranga rodo protokolą, apibūdintą skyriuje „File Selection for Run Setup“ (failo pasirinkimas paleidimo sąrankai) kortelėje „Files“ (failai), kuri yra dialogo lange „User > User Preferences“ (vartotojas > vartotojo nuostatos). Numatytąjį protokolą galite pakeisti dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos). Daugiau informacijos žr. [Numatytųjų failų nuostatų keitimas, p. 65](#).

Kortelėje „Protocol“ (protokolas) galite atlikti šiuos veiksmus:

- Sukurti naują paleidimo protokolą
- Pasirinkti esamą paleidžiamą ar redaguojamą protokolą

Daugiau informacijos apie protokolų sukūrimą ir keitimą žr. [6 skyrius, Protokolų kūrimas](#).



### Kaip sukurti naują protokolą

1. Kortelėje „Protocol“ (protokolas) spustelėkite „Create New“ (kurti naują).  
Parodomas „Protocol Editor“ (protokolo redaktorius).
2. Naudodami „Protocol Editor“ (protokolo redaktorius) sukurkite naują protokolą.
3. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite protokolą ir grįžkite į kortelę „Protocol“ (protokolas), esančią „Run Setup“ (paleidimo sąranka).
4. Peržiūrėkite protokolo išsamią informaciją ir atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Jeigu jūsų informacija teisinga, spustelėkite „Next“ (toliau) ir pereikite į kortelę „Plate“ (plokštelė).
  - Jeigu jūsų informacija neteisinga, spustelėkite „Edit Selected“ (redaguoti pasirinktą) ir grįžkite į langą „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius). Peržiūrėkite protokolą, įrašykite pakeitimus, tada kortelėje „Protocol“ (protokolas) spustelėkite „Next“ (toliau) ir pereikite prie kortelės „Plate“ (plokštelė).

### Kaip pasirinkti esamą protokolą

1. Kortelėje „Protocol“ (protokolas) atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Spustelėkite „Select Existing“ (pasirinkti esamą) ir raskite esamą protokolą.
  - Spustelėkite „Express Load“ (specialioji apkrova) ir protokolų išplečiamajame sąrašė pasirinkite protokolą.  
**Patarimas.** Į išplečiamąjį sąrašą „Express Load“ (specialioji apkrova) galite įtraukti protokolus arba iš jo pašalinti. Daugiau informacijos žr. [Specialiosios apkrovos protokolų pridėjimas ir šalinimas](#).
2. Peržiūrėkite protokolo išsamią informaciją ir atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Jeigu jūsų informacija teisinga, spustelėkite „Next“ (toliau) ir pereikite į kortelę „Plate“ (plokštelė).
  - Jeigu jūsų informacija neteisinga, spustelėkite „Edit Selected“ (redaguoti pasirinktą) ir atverkite „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius). Peržiūrėkite protokolą, įrašykite pakeitimus, tada kortelėje „Protocol“ (protokolas) spustelėkite „Next“ (toliau) ir pereikite prie kortelės „Plate“ (plokštelė).

## Specialiosios apkrovos protokolų pridėjimas ir šalinimas

Galite keisti išplečiamojo sąrašo „Express Load“ (specialioji apkrova), kuris parodomas lange „Protocol Editor“ (protokolų redaktorius), turinį. Šio sąrašo protokolai įrašomi šiame aplanke:

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

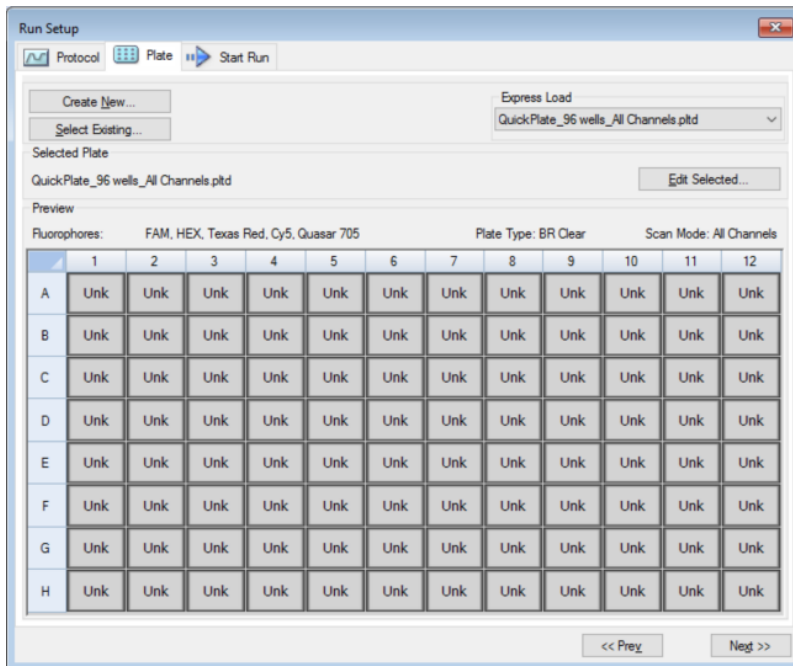
### **Kaip keisti protokolų sąrašą „Express Load“ (specialioji apkrova):**

1. Suraskite ir atidarykite aplanką „Express Load“ (specialioji apkrova).
2. Aplanke peržiūrėkite protokolo failus (.pctl).
3. Atlikite bet kurį iš šių veiksmų:
  - Pašalinkite protokolus iš aplanko, kad pašalintumėte juos iš išplečiamojo sąrašo.
  - Kopijuokite protokolus į aplanką, kad pridėtumėte juos į išplečiamąjį sąrašą.

## Kortelė „Plate“ (plokštelė)

**Pastaba.** Jeigu kortelėje „Protocol“ (protokolas) pasirinktame protokole nėra plokštelės nuskaitymo veiksmo tikralaikės PCR (PGR) analizei, kortelė „Plate“ (plokštelė) paslepia. Norėdami peržiūrėti kortelę „Plate“ (plokštelė), į protokolą įtraukite bent vieną plokštelės nuskaitymą.

Kortelėje „Plate“ (plokštelė) rodoma jūsų planuojamo plokštelės failo apžvalga. Tikralaikės PCR (PGR) paleidimo metu plokštelės failu yra kiekvieno šulinėlio turinio aprašymas, įskaitant jo fluoroforus, nuskaitymo režimą ir plokštelės tipą. CFX Manager Dx programinė įranga šiuos apibūdinimus naudoja duomenims rinkti ir analizuoti.



Pagal numatytąsias nuostatas programinė įranga rodo plokštelę, apibūdintą failo pasirinkimo veiksmo paleidimo sąrankos skyriuje kortelėje „Files“ (failai), kuri yra dialogo lange „User > User Preferences“ (vartotojas > vartotojo nuostatos). Numatytąją plokštelę galite pakeisti dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos). Daugiau informacijos žr. [Numatytųjų failų nuostatų keitimas, p. 65](#).

Kortelėje „Plate“ (plokštelė) galite atlikti šiuos veiksmus:

- Sukurti naują įdedamą plokštelę
- Pasirinkti esamą įdedamą ar redaguojamą plokštelę

Daugiau informacijos apie plokštelių kūrimą ir keitimą žr. [7 skyrius, Plokštelių paruošimas](#).

### Naujos plokštelės kūrimas

1. Kortelėje „Plate“ (plokštelė) spustelėkite „Create New“ (kurti naują).  
Parodomas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius).
2. Naują plokštelę kurkite naudodami „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius).
3. Spustelėkite OK (gerai), norėdami įrašyti plokštelę ir grįžti į kortelę „Plate“ (plokštelė), esančią „Run Setup“ (paleidimo sąranka).
4. Peržiūrėkite plokštelės išsamią informaciją ir atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Jeigu jūsų informacija teisinga, spustelėkite „Next“ (toliau) ir pereikite į kortelę „Start Run“ (paleidimo pradžia).
  - Jeigu jūsų informacija neteisinga, spustelėkite „Edit Selected“ (redaguoti pasirinktą) ir grįžkite į „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius). Peržiūrėkite plokštelės failą, įrašykite pakeitimus, tada kortelėje „Plate“ (plokštelė) spustelėkite „Next“ (toliau) ir pereikite prie kortelės „Start Run“ (paleidimo pradžia).

### Kaip pasirinkti esamos plokštelės failą

1. Kortelėje „Plate“ (plokštelė) atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Spustelėkite „Select Existing“ (pasirinkti esamą) ir raskite tikslinį plokštelės failą.
  - Spustelėkite „Express Load“ (specialioji apkrova) ir išplečiamajame sąraše pasirinkite plokštelės failą.  
**Patarimas.** Į išplečiamąjį sąrašą „Express Load“ (specialioji apkrova) galite įtraukti plokšteles arba iš jo pašalinti. Daugiau informacijos žr. [Specialiosios apkrovos plokštelių failų pridėjimas ir šalinimas](#).
2. Peržiūrėkite plokštelės išsamią informaciją ir atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Jeigu jūsų informacija teisinga, spustelėkite „Next“ (toliau) ir pereikite į kortelę „Start Run“ (paleidimo pradžia).
  - Jeigu jūsų informacija neteisinga, spustelėkite „Edit Selected“ (redaguoti pasirinktą) ir atverkite langą „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius). Peržiūrėkite plokštelės failą, įrašykite pakeitimus, tada spustelėkite „Next“ (toliau) ir pereikite prie kortelės „Start Run“ (paleidimo pradžia).

### Specialiosios apkrovos plokštelių failų pridėjimas ir šalinimas

Galite keisti išplečiamąjį sąrašą „Express Load“ (specialioji apkrova), kuris pasirodo lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), turinį. Šiame sąraše pateiktos plokštelės įrašomos aplanke:

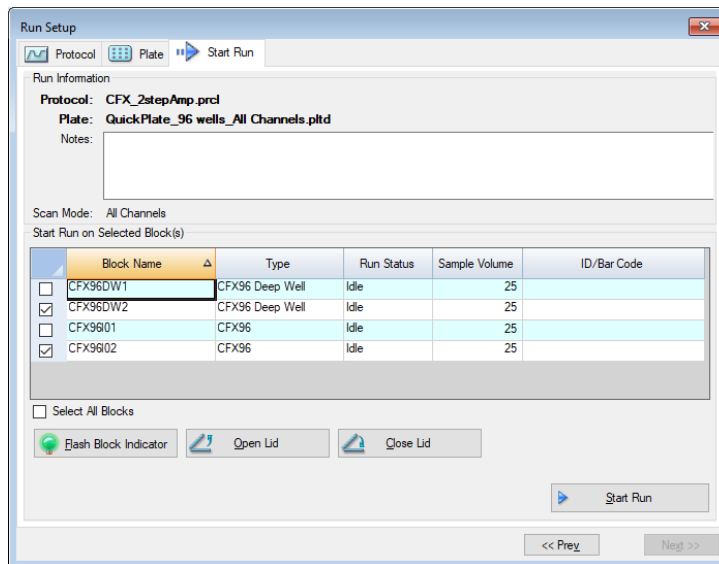
```
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\
```

### **Kaip keisti plokštelių failų „Express Load“ (specialioji apkrova) sąrašą**

1. Suraskite ir atidarykite aplanką „Express Load“ (specialioji apkrova).
2. Peržiūrėkite aplanke esančius plokštelių failus (.pltd).
3. Atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
  - Pašalinkite plokštelių failus iš aplanko, kad pašalintumėte juos iš išplečiamojo sąrašo.
  - Kopijuokite plokštelių failus į aplanką, kad pridėtumėte juos į išplečiamąjį sąrašą.

## Kortelė „Start Run“ (paleidimo pradžia)

Kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia) rodoma informacija apie norimą vykdyti eksperimentą. Joje taip pat rodomas prijungtas prietaisų blokas arba blokai, kuriuose galite paleisti eksperimentą.



Kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia) galite atlikti šiuos veiksmus:

- Peržiūrėti išsamią paleidimo informaciją, įskaitant pasirinktą protokolo failą, plokštelės failą ir nuskaitymo režimą
- Pridėti pastabų apie paleidimą
- Peržiūrėti išsamią informaciją apie visus prijungtus instrumentus, įskaitant jų paleidimo būseną (paleistas ar neveikia), mėginio tūrį  $\mu$ l, dangtelio temperatūrą, emuliacijos režimą ir ID ar turimą brūkšninį kodą

**Pastaba.** Galite keisti lentelėje „Start Run on Selected Blocks“ (pradėti paleidimą pasirinktuose blokuose) rodomus stulpelius. Kaip tai daryti, žr. [Išsamios informacijos lentelėje „Selected Blocks“ \(pasirinkti blokai\) keitimas, p. 161.](#)

- Pasirinkti bloką ar blokus, kuriuose vykdomas paleidimas
- Nuotoliniu būdu atidaryti arba uždaryti kiekvieno pasirinkto instrumento dangtelį
- Pradėkite paleidimą.

## Išsamios informacijos lentelėje „Selected Blocks“ (pasirinkti blokai) keitimas

Galite keisti lentelėje „Start Run on Selected Block(s)“ (pradėti paleidimą pasirinktame (-uose) bloke (-uose)) rodomus stulpelius. Lentelėje taip pat galite keisti numatytąjį mėginio tūrį ir dangtelio temperatūros vertes. Nuostatų pakeitimai taikomi paleidimui, kuris bus atliekamas.

### Kaip pridėti stulpelius lentelėje „Start Run on Selected Blocks“ (pradėti paleidimą pasirinktuose blokuose)

- ▶ Pelės dešiniuoju mygtuku spustelėkite lentelėje ir pateiktame meniu pasirinkite parinktį.

### Kaip panaikinti stulpelius lentelėje „Start Run on Selected Blocks“ (pradėti paleidimą pasirinktuose blokuose)

- ▶ Pelės dešiniuoju mygtuku spustelėkite lentelėje ir pateiktame meniu panaikinkite parinkties žymėjimą.

### Kaip koreguoti mėginio tūrio ar bloko dangtelio temperatūros vertes

- ▶ Pasirinkite tikslinio bloko mėginio tūrį ar dangtelio temperatūros langelį ir į jį įrašykite naują vertę.

### Kaip pridėti paleidimo ID ar bloko brūkšninį kodą

- ▶ Pasirinkite tikslinio bloko langelį „ID/Bar Code“ (ID / brūkšninis kodas) ir įrašykite ID arba nuskenuokite bloką brūkšninių kodų skaitytuvu.

## Eksperimento paleidimas

**Svarbu.** Prieš paleisdami eksperimentą, turite užtikrinti, kad paleidimo metu jūsų kompiuterio antivirusinė programa nepradės skenuoti.

### Kaip paleisti eksperimentą

1. Kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia) paleidimo informacijos skyriuje patikrinkite plokštelės ir protokolo išsamią informaciją.
2. (Neprivaloma) Į pastabų tekstinį laukelį įrašykite pastabas apie paleidimą ar eksperimentą.
3. Pasirinkite vieno ar kelių blokų, kuriuose vykdomas paleidimas, žymės langelį.

**Patarimas.** Norėdami eksperimentą paleisti visuose blokuose, pasirinkite „Select All Blocks“ (pasirinkti visus blokus) parinktį, esančią po pasirinktų blokų lentele.

4. (Neprivaloma) Spustelėkite „Flash Block Indicator“ (mirksintis bloko indikatorius), kad sumirksėtų LED indikatorius, esantis pasirinkto instrumento blokuose.

5. Į bloką įdėkite eksperimento plokšteles:
  - a. Spustelėkite „Open Lid“ (atidaryti dangtelį). Atsidaro kiekvieno pasirinkto bloko motorizuotas dangtelis.
  - b. Į kiekvieną pasirinktą bloką įdėkite eksperimento bloką.
  - c. Spustelėkite „Close Lid“ (uždaryti dangtelį).

**Patarimas.** Taip pat galite instrumento priekyje paspausti dangtelio mygtuką ir atidaryti arba uždaryti dangtelį.

6. Spustelėkite „Open Lid“ (atidaryti dangtelį) ir „Close Lid“ (uždaryti dangtelį), kad atidarytumėte arba uždarytumėte kiekvieno pasirinkto instrumento bloko motorizuotą dangtelį.
7. Peržiūrėkite paleidimo išsamią informaciją ir atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Jeigu išsami informacija teisinga, spustelėkite „Start Run“ (paleidimo pradžia).
  - Jeigu išsami informacija neteisinga:
    - Lentelėje „Selected Blocks“ (pasirinkti blokai) pakoreguokite informaciją ir spustelėkite „Start Run“ (paleidimo pradžia).
    - Grįžkite į tinkamą kortelę ir atlikite reikiamus pakeitimus, juos įrašykite, tada spustelėkite „Next“ (toliau) ir grįžkite į kortelę „Start Run“ (paleidimo pradžia) ir pradėkite paleidimą.

### **Kaip pradėti naują paleidimą iš ankstesnio paleidimo**

- ▶ Atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Pagrindinio programinės įrangos meniu juostoje pasirinkite „File > Repeat a Run“ (failas > pakartoti paleidimą); raskite ir du kartus spustelėkite paleidimo, kurį norite pakartoti, duomenų failą.
  - Pasirinkite kortelę „Repeat Run“ (pakartoti paleidimą), esančią „Startup Wizard“ (paleisties vedlys), ir du kartus spustelėkite paleidimo, kurį norite pakartoti, duomenų failą.

Be to, kortelėje „Repeat Run“ (pakartoti paleidimą) galite spustelėti „Browse“ (naršyti) ir raskite bei du kartus spustelėkite paleidimo duomenų failą, kuri norite pakartoti.



## Dialogo langas „Run Details“ (paleidimo išsami informacija)

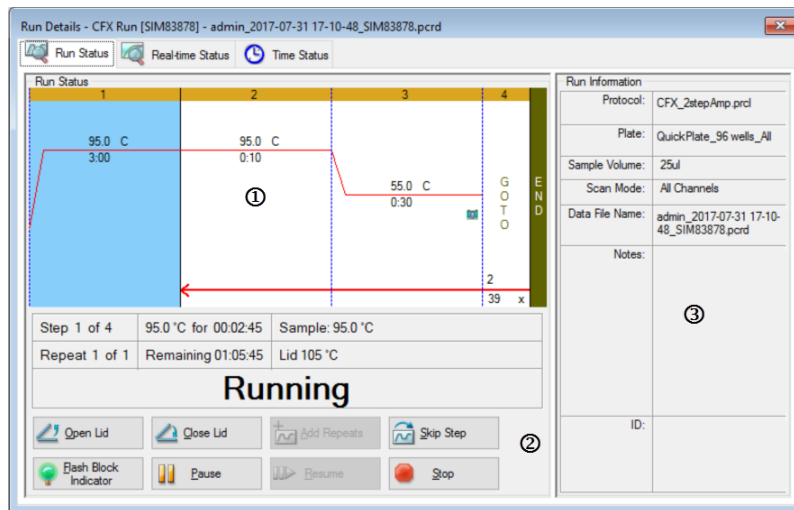
Spustelėjus „Start Run“ (paleidimo pradžia), CFX Manager Dx programinė įranga paragina įrašyti duomenų failą (.pcrd), pradeda analizę ir atidaro dialogo langą „Run Details“ (paleidimo išsami informacija). Dialogo langą „Run Details“ (paleidimo išsami informacija) sudaro trys būsenos kortelės:

- **„Run Status“ (paleidimo būseną)** – naudokite šią kortelę, jei norite peržiūrėti dabartinę protokolo būseną, atidaryti arba uždaryti dangtį, pristabdyti analizę, pridėti pakartojimų, praleisti veiksmus arba sustabdyti paleidimą.
- **„Real-time Status“ (tikralaikė būseną)** – naudokite šią kortelę, jei norite peržiūrėti PCR (PGR) fluorescencijos duomenis tikroju laiku, kai jie renkami.
- **„Time Status“ (laiko būseną)** – naudokite šią kortelę, jei norite matyti per visą ekraną protokolo atgalinės atskaitos laikmatį.

Šios kortelės išsamiai paaiškintos tolesniuose skyriuose.

## Kortelė „Run Status“ (paleidimo būseną)

Kortelėje „Run Status“ (paleidimo būseną) rodoma dabartinė vykstančio paleidimo būseną. Šiame rodinyje taip pat galite valdyti dangtelį ir keisti paleidimą.



### LEGENDA

1. Sritis „Run Status“ (paleidimo būseną) – rodoma dabartinė protokolo eiga.
2. „Run Status“ (paleidimo būseną) valdikliai – leidžia valdyti prietaisą arba nutraukti dabartinį protokolą.
3. Sritis „Run Information“ (paleidimo išsami informacija) – rodoma išsami paleidimo informacija.

## Komandos kortelėje „Run Status“ (paleidimo būseną)

Naudokite komandas kortelėje „Run Status“ (paleidimo būseną), jei norite valdyti prietaisą iš programinės įrangos arba keisti vykdomą paleidimą.

**Pastaba.** Padarius pakeitimų protokole paleidimo metu, pvz., pridėjus pakartojimų, nepakeičiamas protokolo failas, susijęs su paleidimu. Šie veiksmai registruojami žurnale „Run Log“ (paleidimo žurnalas).



– atidaromas pasirinktų instrumentų motorizuotas dangtelis.

**Svarbu.** Atidarius dangtelį paleidimo metu, paleidimas esamo veiksmo metu pristabdomas, todėl gali būti iškreipti duomenys.



– uždaromas pasirinktų instrumentų motorizuotas dangtelis.



– įtraukiama daugiau pakartojimų į GOTO veiksmą protokole. Ši parinktis galima tik tada, kai vyksta GOTO veiksmas.



– praleidžiamas esamas protokolo veiksmas.

**Pastaba.** Jei praleidžiate GOTO veiksmą, programinė įranga paragina patvirtinti, kad norite praleisti visą GOTO ciklą ir pereiti prie kito protokolo veiksmo.



– įjungiamas mirksintis pasirinkto instrumento šviesos diodas, kad būtų galima nustatyti pasirinktus blokus.



– pristabdomas protokolas.

**Pastaba.** Šis veiksmas registruojamas žurnale „Run Log“ (paleidimo žurnalas).



– atnaujinamas pristabdytas protokolas.

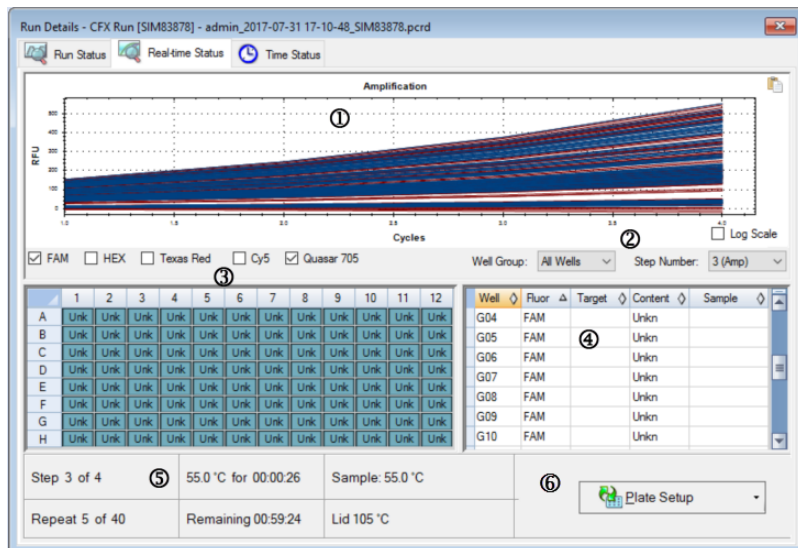


– paleidimas sustabdomas prieš pasibaigiant protokolams.

**Pastaba.** Sustabdžius paleidimą prieš pasibaigiant protokolui, gali būti iškreipti duomenys.

## Kortelė „Real-time Status“ (tikralaikė būseną)

Kortelėje „Real-time Status“ (tikralaikė būseną) rodomi PCR (PGR) tikralaikiai duomenys, surinkti per kiekvieną paleidimo ciklą po pirmų dviejų plokštelių nuskaitymų.



### LEGENDA

1. „Amplification trace pane“ (amplifikavimo pėdsako sritis) – per paleidimą rodomi tikralaikiai amplifikavimo duomenys.

---

2. „Well group identifier“ (šulinėlių grupės identifikatorius) – jei šulinėlių grupės identifikuotos plokštelės sąrankoje, naudotojai gali pasirinkti konkrečią šulinėlių grupę ir peržiūrėti jos pėdsakus, šulinėlius ir informaciją lentelėse.  
 „Step number identifier“ (veiksmo numerio identifikatorius) – jei protokole renkami duomenys iš daugiau nei vieno veiksmo (pavyzdžiui, per amplifikavimą ir lydymosi kreivę), naudotojai gali pasirinkti konkretų veiksmą ir peržiūrėti tame veiksmo surinktus pėdsakus.

---

3. „Well selector pane“ (šulinėlių parinkiklio sritis) – rodo aktyvius, neaktyvius ir tuščius plokštelės šulinėlius.

---

4. „Plate setup table pane“ (plokštelės sąrankos lentelės sritis) – rodo plokštelės sąranką lentelėje.

5. „Run details pane“ (paleidimo išsamios informacijos sritis) – rodo paleidimo tikrąsias būsenas, įskaitant:
  - Dabartinį veiksmą
  - Dabartinį kartojimą
  - Dabartinę temperatūrą
  - Likusį laiką
  - Mėginio temperatūrą
  - Dangtelio temperatūrą

---

6. „Plate Setup“ (plokštelės sąranka) – atveria dialogo langą „Plate Setup“ (plokštelės sąranka), kuriame naudotojai gali keisti dabartinės plokštelės sąranką vykstant paleidimo veiksmui.

Kortelėje „Real-time Status“ (tikrąsias būsenas) galite atlikti šiuos veiksmus:

- Rodyti arba slėpti tikrąsias pėdsakus pasirinkdami juos šulinėlių parinkiklio srityje arba plokštelės sąrankos lentelėje
- Peržiūrėti vieną pėdsaką ar jų grupes, pasirinkdami juos šulinėlių grupių išplečiamajame meniu
- Redaguoti plokštelę arba pakeisti plokštelės failą
- Paleisčiai taikykite „PrimePCR“ (PGR pradmenys) failą.

### Tikrąsias pėdsakų rodymas arba paslėpimas

Pagal numatytuosius parametrus visi pripildyti šulinėliai yra aktyvūs ir rodomi plokštelės sąrankos lentelėje. Aktyvūs šulinėliai šulinėlių parinkiklio srityje rodomi mėlynai. Paslėpti šulinėliai šulinėlių parinkiklio srityje rodomi šviesiai pilka spalva, o nenaudojami šulinėliai – tamsiai pilka spalva.

Paleidimo metu galite paslėpti pėdsakus iš aktyvių šulinėlių. CFX Manager Dx toliau renka duomenis iš visų šulinėlių; kai paslėpiate šulinėlius, jų duomenys nerodomi plokštelės sąrankos lentelėje.

#### Kaip paslėpti tikrąsias pėdsakus

- ▶ Šulinėlių parinkiklio srityje spustelėkite aktyvius (mėlynus) šulinėlius, kuriuos norite paslėpti.

#### Kaip rodyti tikrąsias laiko pėdsakus

- ▶ Šulinėlių parinkiklio srityje spustelėkite paslėptus (šviesiai pilkus) šulinėlius, kuriuos norite rodyti.

Daugiau informacijos apie šulinėlių parinkiklį žr. [Šulinėlių parinkiklis, p. 184](#).

## Plokštelės sąrankos redagavimas

### Kaip redaguoti plokštelės sąranką

- ▶ Spustelėkite „Plate Setup“ (plokštelės sąranka), o tada pasirinkite „View/Edit Plate“ (peržiūrėti / redaguoti plokštelę).

Parodomas langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), kuriame galite redaguoti plokštelę, kol vykdomas paleidimas. Daugiau informacijos apie plokštelių redagavimą žr. [7 skyrius, Plokštelių paruošimas](#).

**Pastaba.** Lango „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) taip pat galite redaguoti pėdsakų stilius. Kortelėje „Real-time Status“ (būsena realiuoju laiku) parodomi pakeitimai amplifikavimo pėdsakų diagramoje.

### Plokštelės failo pakeitimas

**Patarimas.** Plokštelės failo pakeitimas yra itin naudingas, jeigu paleidimą pradėsite „Quick Plate“ (sparčioji plokštelė) failu aplanke „ExpressLoad“ (specialioji apkrova).

### Kaip pakeisti plokštelės failą

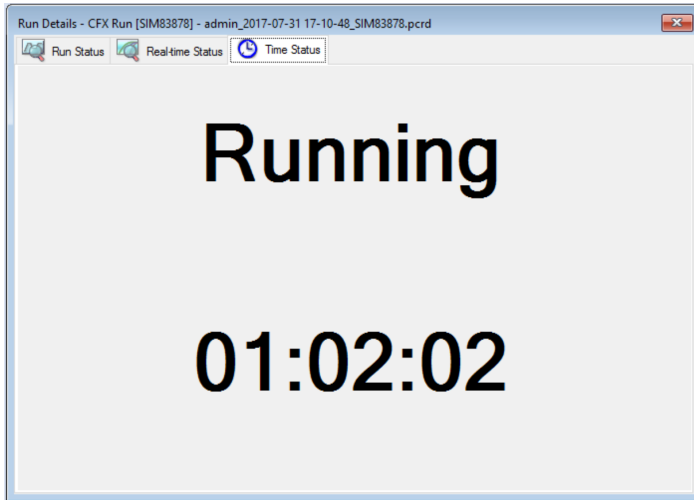
- ▶ Spustelėkite „Plate Setup“ (plokštelės sąranka) ir pasirinkite vieną iš šių parinkčių:
  - Pakeiskite plokštelės failą – naršyklės lango sąrašė pasirinkite naują plokštelės failą
  - Taikyti „PrimePCR“ (PGR pradmenys) failą – ieškokite paleidimo failo, kuriame bus gauta plokštelės schema naudojant išmanią paiešką, arba spustelėkite „Browse“ (naršyti) ir raskite failą, kurį įkėlėte iš „Bio-Rad“ svetainės ir kurio nėra aplanke „PrimePCR“ (PGR pradmenys)

**Pastaba.** CFX Manager Dx patikrina nuskaitymo režimą ir plokštelės failo plokštelės dydį. Jie turi būti tokie patys, kaip ir paleidimo nuostatos, su kuriomis buvo pradėtas paleidimas.

Dialogo langas „Run Details“ (paleidimo išsami informacija)

## Kortelė „Time Status“ (laiko būseną)

Kortelėje „Time Status“ (laiko būseną) rodomas laikas, likęs iki esamo paleidimo baigimo.



## „PrimePCR“ (PGR pradmenys) eksperimentų atlikimas

„PrimePCR“ (PGR pradmenys) eksperimentų metu naudojami trakto arba konkrečios ligos analizių duomenys, kuriuos „Bio-Rad“ patvirtino ir optimizavo tradicinėje laboratorijoje ir kurie yra prieinami šiais formatais:

- Iš anksto apdorotos plokštelės – plokštelės, kuriose yra analizių, būdingų biologiniam traktui arba konkrečiai ligai; jos apima „PrimePCR“ (PGR pradmenys) kontrolines medžiagas ir etaloninius genus
- Pagal užsakymą sukonfigūruotos plokštelės – plokštelės, kurias galima pritaikyti pagal vartotojo nustatytą konfigūraciją, sudarančią galimybę pasirinkti analizes, susijusias su dominančiais objektais, kontrolinėmis medžiagomis ir etalonais
- Individualūs tyrimai – mėgintuvėliai, kuriuose yra atskiri pradmenų rinkiniai, naudojami tikralaikėms reakcijoms

Jei norite sumažinti bendrą paleidimo laiką, galite protokole pašalinti lydymo veiksmą. „Bio-Rad“ primygtinai rekomenduoja „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimo protokole nedaryti jokių kitų pakeitimų. Numatytasis protokolas yra tas, kuris naudojamas analizei patvirtinti. Bet koks nukrypimas nuo jo gali turėti įtakos rezultatams. Protokolo pakeitimai pažymimi gauto duomenų failo kortelėje „Run Information“ (paleidimo išsami informacija) ir visose sukurtose ataskaitose.

### „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimo pradžia

- ▶ Kad paleistumėte „PrimePCR“ (PGR pradmenys) procesą, atlikite toliau nurodytus veiksmus:
  - Meniu „Startup Wizard“ (paleisties vedlys) pasirinkite „PrimePCR“ (PGR pradmenys) kortelėje „Run Setup“ (paleidimo sąranka), o tada pasirinkite tinkamą cheminę sudėtį (SYBER arba zondas).
  - Pasirinkite „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimo parinktį iš sąrašo „Recent Runs“ (naujausi paleidimai), esančio meniu „Startup Wizard“ (paleisties vedlys) kortelėje „Repeat Run“ (pakartotinis paleidimas).
  - Pasirinkite „File > New > PrimePCR Run“ (failas > naujas > PGR pradmenų paleidimas) pagrindiniame lange.
  - Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „File > New > PrimePCR Run File“ (failas > atidaryti > PGR pradmenų paleidimo failas).
  - Nutempkite „PrimePC“ (PGR pradmenys) paleidimo failą pagrindiniame lange.

Pasirinkus „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimą, atsidaro kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia) esantis „Run Setup“ (paleidimo sąranka) langas su numatytąja „PrimePCR“ (PGR pradmenys) plokštelės schema, kuri įkeliama pagal pasirinktą instrumentą.



### **Kaip pašalinti lydymo veiksmą iš protokolo**

- ▶ Kortelėje „Protocol“ (protokolas) panaikinkite žymą žymės langelyje „Include Melt Step“ (įtraukti lydymo veiksmą).

### **Kaip importuoti informaciją apie tikslą, skirtą „PrimePCR“ (PGR pradmenys) plokštelėms, į plokštelės schemą**

1. Atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
    - Kortelėje „Real-time Status“ (tikralaikė būseną), esančioje dialogo lange „Run Details“ (paleidimo išsami informacija), pasirinkite „Plate Setup > Apply PrimePCR File“ (plokštelės sąranka > taikyti PGR pradmenų failą).
    - Lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) pasirinkite „Plate Setup > Apply PrimePCR File“ (plokštelės sąranka > taikyti PGR pradmenų failą).
  2. Paleidimo failo dialogo lange „PrimePCR“ (PGR pradmenys) spustelėkite mygtuką „Browse“ (naršyti), kad pasiektumėte atitinkamą „PrimePCR“ (PGR pradmenys) failą (.csv).
  3. Pasirinkite tikslo „PrimePCR“ (PGR pradmenys) failą ir spustelėkite „Open“ (atidaryti).
- „CFX Manager Dx“ importuoja tikslo informaciją į jūsų plokštelės schemą.

## 8 skyrius. Eksperimentų paleidimas

## 9 skyrius. Duomenų analizės apžvalga

„CFX Manager Dx“ siūlo kelis metodus duomenų failams atverti ir peržiūrėti. Veiksmai, kuriuos galite atlikti:

- Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „File > Open > Data File“ (failas > atverti > duomenų failas) ir pereikite prie tikslo .pcrd failo.
- Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „File > Recent Data Files“ (failas > naujausi duomenų failai) ir sąrašė pasirinkite naujausius atidarytus duomenų failus.

### Langas „Data Analysis“ (duomenų analizė)

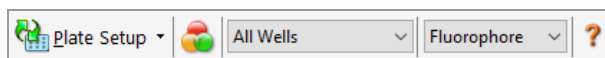
Lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) yra kelios kortelės; kiekviena kortelė rodo išanalizuotus su konkrečiu analizės metodu susijusius duomenis arba su tam tikru paleidimu susijusią informaciją. Kortelės rodomos tik tuo atveju, jei duomenys, surinkti paleidimo metu, gali būti naudojami to tipo analizei.



**Patarimas.** Norėdami išsirinkti rodytinas korteles, pasirinkite jas iš išplečiamojo sąrašo „View“ (rodytas) lange „Data Analysis“ (duomenų analizė). Norėdami grįžti prie pirminio skirtukų išdėstymo, pasirinkite „Settings > Restore Default Window Layout“ (nuostatos > atkurti numatytąjį langų išdėstymą).



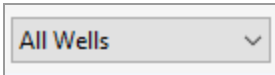
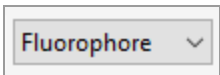

## Duomenų analizės įrankių juosta

Įrankių juosta lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) leidžia greitai pasiekti svarbias duomenų analizės funkcijas.



15 lentelė išvardytos įrankių juostoje esančių mygtukų funkcijos.

15 lentelė. Įrankių juosta lange „Data Analysis“ (duomenų analizė)

| Mygtukas  | Pavadinimas               | Funkcija  |
|---|---------------------------|---|
|    | Plokštelės sąranka        | „View/Edit“ (žiūrėti / redaguoti) plokštelę: atidaro „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), kuriame galima peržiūrėti ir redaguoti šulinėlių turinį.<br>Failas „Replace Plate“ (pakeisti plokštelę): pasirenka plokštelės failą, kuriuo keičiamas plokštelės išdėstymas.<br>Taikyti „PrimePCR“ (PGR pradmenys) failą: pasirenka paleidimo failą, kuriuo keičiamas „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimo plokštelės išdėstymas. |
|  | Tvarkyti šulinėlių grupes | Atidaro langą „Well Groups Manager“ (šulinėlių grupių tvarkyklė), kuriame galima kurti, redaguoti ir šalinti šulinėlių grupes.  |
|  | Šulinėlių grupė           | Pasirenka esamą šulinėlių grupės pavadinimą iš išplečiamojo meniu. Numatytoji parinktis yra „All Wells“ (visi šulinėliai). Šis mygtukas pasirodo tik tada, kai sukuriama šulinėlių grupė.   |
|  | Analizės režimas          | Analizuoja duomenis režimu „Fluorophore“ (fluoroforas) arba „Target“ (tikslas).   |
|  | Pagalba                   | Atidaro elektroninę šių instrukcijų kopiją „Acrobat PDF“ formatu.   |

## Duomenų analizės meniu juosta

16 lentelė pateikiami meniu juostos elementai, esantys lange „Data Analysis“ (duomenų analizė).

16 lentelė. Lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) meniu juostos elementai

| Meniu elementas        | Komanda  | Funkcija  |
|------------------------|--|---|
| „File“ (failas)        | „Save“ (įrašyti)   | Įrašo failą.  |
|                        | „Save As“ (įrašyti kaip)   | Įrašo failą nauju pavadinimu.   |
|                        | „Repeat Run“ (pakartoti paleidimą)   | Ištraukia protokolą ir plokštelės failą iš esamos paleisties ir paleidžia juos iš naujo.  |
|                        | „Close“ (uždaryti)   | Uždaro langą „Data Analysis“ (duomenų analizė).   |
| „View“ (rodinys)       | „Run Log“ (paleidimų žurnalas)   | Atidaro langą „Run Log“ (paleidimų žurnalas), kuriame galite peržiūrėti esamo duomenų failo paleidimų žurnalą.  |
|                        | „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas), „Melt Curve“ (lydymosi kreivė), „Gene Expression“ (geno ekspresija), „End Point“ (pabaigos taškas), „Custom Data View“ (pasirinktinių duomenų rodinys), QC (KK), „Run Information“ (paleidimo išsami informacija) | Rodo analizuojamus duomenis pasirinktose lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) kortelėse. Reikia pasirinkti bent vieną kortelę.   |
| „Settings“ (nuostatos) | „C <sub>q</sub> Determination Mode“ (C <sub>q</sub> nustatymo režimas)   | Pasirinkite režimą „Regression“ (regresija) arba „Single Threshold“ (atskira ribinė reikšmė), norėdami nustatyti, kaip skaičiuojamos kiekvieno pėdsako C <sub>q</sub> reikšmės. |
|                        | „Baseline Setting“ (pradinis nustatymas)   | Pasirinkite metodą „Baseline Subtraction“ (pradinė atimtis) pasirinktoms šulinėlių grupėms.   |

16 lentelė. Lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) meniu juostos elementai (tęsinys)

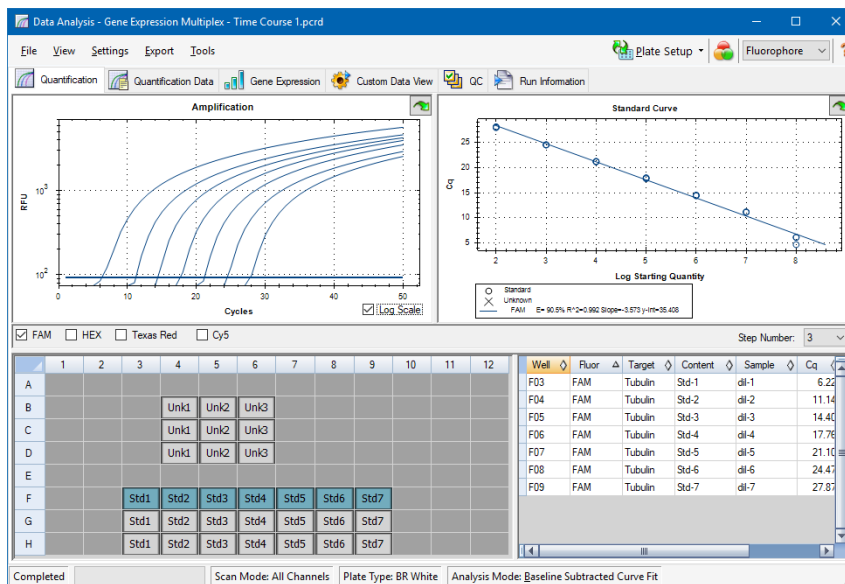
| Meniu elementas | Komanda  | Funkcija   |
|-----------------|--|--|
|                 | „Analysis Mode“ (analizės režimas)                                   | Pasirinkite, ar duomenis analizuoti pagal „Fluorophore“ (fluoroforas), ar „Target“ (tikslas).  |
|                 | „Cycles to Analyze“ (analizuotini ciklai)                            | Pasirinkite analizuotinus ciklus.  |
|                 | „Baseline Thresholds“ (pagrindinės ribinės reikšmės)                 | Atidaro „Baseline Thresholds“ (pagrindinės ribinės reikšmės) langą, kuriame galima keisti pradinę arba ribinę reikšmę.   |
|                 | „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai)                                     | Atidaro langą „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai).  |
|                 | „Plate Setup“ (plokštelės sąranka)                                   | Atidaro „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), kuriame galima peržiūrėti ir redaguoti plokštelę; pakeiskite esamą plokštelę ta, kuri yra vartotojo apibrėžtos plokštelės faile arba „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimo faile.                        |
|                 | „Include All Excluded Wells“ (įtraukti visus neįtrauktus šulinėlius) | Įtraukia visus neįtrauktus šulinėlius į analizę.   |
|                 | „Mouse Highlighting“ (žymėjimas pele)                                | Įjungia arba išjungia funkciją, kuri leidžia tuo pačiu metu paryškinti duomenis pelės rodykle.<br><b>Patarimas.</b> Jei funkcija „Mouse Highlighting“ (žymėjimas pele) išjungta, spustelėkite mygtuką „Control“ (kontrolė), kad laikinai ją įjungtumėte. |
|                 | „Restore Default Window Layout“ (atkurti numatytąjį langų išdėstymą) | Atkuria langų išdėstymą pagal numatytąsias nuostatas.  |

16 lentelė. Lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) meniu juostos elementai (tęsinys)

| Meniu elementas        | Komanda   | Funkcija  |
|------------------------|---|---|
| „Export“ (eksportuoti) | „Export All Data Sheets to Excel“ (eksportuoti visus duomenų lapus į „Excel“) | Eksportuoja visus skaičiuoklių rodinius iš visų kortelių į atskirą „Excel“ failą.   |
|                        | „Custom Export“ (pasirinktinis eksportas)                                     | Atidaro langą „Custom Export“ (pasirinktinis eksportas), kuriame galima nurodyti eksportuotinus laukelius ir failo formatą.                                       |
|                        | „Export to LIMS Folder“ (eksportuoti į LIMS aplanką)                          | Atidaro langą, kuriame galima įrašyti duomenis iš anksto nustatyto formatu LIMS aplanke.  |
|                        | „Seegene Export“ („Seegene“ eksportas)  | Atidaro langą, kuriame galima pasirinkti vietą, kurioje „Excel“ formatu, specialiai pritaikytu „Seegene, Inc“, bus įrašyti duomenys iš visų skaičiuoklių rodinių. |
| „Tools“ (įrankiai)     | „Reports“ (ataskaitos)  | Atidaro šio duomenų failo ataskaitą.  |
|                        | „Well Group Reports“ (šulinėlių grupės ataskaitos)                            | Atidaro langą „Well Group Report“ (šulinėlių grupės ataskaita), kuriame galima kurti ataskaitas nurodytoms šulinėlių grupėms.                                     |
|                        | „Import Fluorophore Calibration“ (importuoti fluoroforo kalibravimą)          | Pasirinkite kalibravimo failą, kurį norite taikyti esamam duomenų failui.   |
|                        | „qbase+“  | Paleidžia 2.5 versijos „qbase+“ tiesiai iš esamo .pcrd failo (jei jis įdiegtas).  |

## Kortelės išsami informacija

Kiekvienoje lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) kortelėje rodomi diagramų ir skaičiuoklių duomenys, skirti tam tikram analizės metodui, taip pat yra šulinėlių parinkiklis, kad galėtumėte pasirinkti norimus rodyti duomenis. Atidarius langą „Data Analysis“ (duomenų analizė) pagal numatytąsias nuostatas jame rodoma kortelė „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas). Jei norite nustatyti tinkamus analizės parametrus, galite naudoti diagramą „Amplification“ (amplifikavimas), esančią kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas).



**Pastaba.** Programinė įranga susieja kiekvienos kortelės „Data Analysis“ (duomenų analizė) sričių duomenis. Pavyzdžiui, jei šulinėlis yra paryškintas, užvedus virš jo pelės rodyklę šulinėlių parinkiklio rodyneje, taip pat paryškunami su juo susiję duomenys visose kitose srityse.

## Parinkiklis „Step Number“ (veiksmo numeris)

Sistemos „CFX96“ ir „CFX96 Deep Well“ gali gauti fluorescencijos duomenis, surinktus atlikus įvairius protokolo veiksmus; programinė įranga išsaugo kiekvieno veiksmo metu gautus duomenis atskirai vienus nuo kitų. Programinė įranga rodo parinkiklį „Step Number“ (veiksmo numeris). Jei protokolas apima bent vieną duomenų rinkimo veiksmą, CFX Manager Dx programinė įranga rodo pirmojo rinkimo veiksmo metu gautus duomenis.

Jei protokolas apima daugiau nei vieną rinkimo veiksmą, išplečiamajame sąrašė galite pasirinkti kitą veiksmą, pavyzdžiui:

Step Number:  ▼



Kai pasirenkate veiksmą, programinė įranga taiko šią parinktį visiems duomenims, rodomiems lange „Data Analysis“ (duomenų analizė).

## Šulinėlių grupių lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) peržiūrėjimas

Plokštelės šulinėlius galima sugrupuoti į pogrupius nepriklausomai analizei, naudojant šulinėlių grupes. Kai sukuriate šulinėlių grupes, jų pavadinimai pasirodo įrankių juostoje esančiame išplečiamajame sąrašo „Well Groups“ (šulinėlių grupės) lange „Data Analysis“ (duomenų analizė).

Jei sukūrėte šulinėlių grupių, programinėje įrangoje atidarius langą „Data Analysis“ (duomenų analizė) rodoma numatytoji šulinėlių grupė „All Wells“ (visi šulinėliai). Joje diagramų ir skaičiuoklių forma pateikiami visų šulinėlių duomenys. Šulinėlių parinkiklyje rodomi tik grupės šulinėliai su turiniu ir tik šių šulinėlių duomenys įtraukiami į duomenų analizės skaičiavimus.

**Pastaba.** Jei nesate sukūrę šulinėlių grupių, išplečiamasis sąrašas „Well Groups“ (šulinėlių grupės) įrankių juostoje nerodomas.

## Šulinėlių turinio keitimas po paleidimo

Kai duomenų analizės metu keičiamas duomenų rodymo būdas, keičiant šulinėlių turinį „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), niekada nesikeičia fluorescencijos duomenys, kurie buvo surinkti iš kiekvieno šulinėlio paleidimo metu. Kai modulis renka fluorescencinius duomenis, negalite šalinti šių duomenų, tačiau galite pasirinkti pašalinti duomenis iš peržiūros ir analizės.

### Šulinėlių turinio pakeitimas po paleidimo

- ▶ Lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) spustelėkite „Plate Setup“ (plokštelės sąranka) ir pasirinkite vieną iš šių parinkčių:
  - **„Edit/View Plate“ (redaguoti / peržiūrėti plokštelę)** – atveriamas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius), kuriame rankiniu būdu galite atlikti schemos pakeitimus.

- **„Replace Plate file“ (pakeisti plokštelės failą)** – atveriamas plokštelių parinkčių naršyklė, kuria naudodamiesi galite pasiekti anksčiau įrašytą plokštelės failą, kuriuo galite pakeisti dabartinę plokštelės schemą.
- **„Apply PrimePCR file“ (taikyti PGR pradmenų failą)** – atveriamas failo dialogo langas „Select PrimePCR“ (pasirinkti PGR pradmenis), iš kurio galite pasiekti „PrimePCR“ (PGR pradmenys) analizės failą ir taikyti jį plokštelės schemai.

**Patarimas.** Jūs galite pridėti arba redaguoti informaciją apie šulinėlio turinį prieš paleidimą, paleidimo metu arba tada, kai PCR (PGR) paleidimas baigtas. Nuskaitymo režimą ir plokštelės dydį turite priskirti prieš pradėdami paleidimą. Šie parametrai pradėjus paleidimą negali būti keičiami.

## Duomenų analizės nuostatos

Diagramos „Amplification“ (amplifikavimas) duomenys kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) rodo kiekvieno šulinėlio santykinę fluorescenciją (RFU) kiekvieno ciklo metu. Kiekvienas pėdsakas diagramoje reiškia duomenis iš atskiro fluoroforo viename šulinėlyje. Šie duomenys naudojami nustatyti  $C_q$  vertėms kiekvienam šulinėliui pagal fluoroforą. Programinė įranga taiko vieną iš dviejų režimų  $C_q$  vertėms nustatyti:

- **„Regression“ (regresija)** – taiko daugialypį, netiesinės regresijos modelį atskirų šulinėlių pėdsakams ir tada šį modelį naudoja apskaičiuoti optimaliai  $C_q$  vertei.
- **„Single Threshold“ (atskira ribinė reikšmė)** – naudoja atskirą ribinę reikšmę  $C_q$  vertei apskaičiuoti pagal atskirų fluorescencijos pėdsakų ribinę reikšmę kertantį tašką.

Pasirinkite „Settings >  $C_q$  Determination Mode“ (nuostatos >  $C_q$  nustatymo režimas) ir pasirinkite  $C_q$  nustatymo režimą.

## Ribinės reikšmės koregavimas

Režimu „Single Threshold“ (atskira ribinė reikšmė) galite koreguoti fluoroforo ribinę reikšmę spustelėję ribinės reikšmės liniją diagramoje „Amplification“ (amplifikavimas) ir pelės rodyklę perkėlę vertikaliai. Taip pat galite nurodyti pasirinkto fluoroforo tikslią perėjimo ribinę reikšmę.

## Pradinės nuostatos

Programinė įranga automatiškai nustato pradinės nuostatas atskirai kiekvienam šulinėliui. Pradinė nuostata apibrėžia pradinį atimties metodą, taikomą visiems fluorescencijos pėdsakams. Programinėje įrangoje numatytos trys pradinės atimties parinktys:

- **„No Baseline Subtraction“ (pradinės atimties nėra)** – rodo duomenis kaip santykinius fluorescencijos pėdsakus. Kai kuri analizė šiuo analizės režimu neįmanoma, todėl programinė įranga nerodo kortelių „Gene Expression“ (geno ekspresija), „End Point“ (pabaigos taškas) ir „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija).
- **„Baseline Subtracted“ (pradinė atimtis)** – rodo duomenis kaip pėdsako pradinę atimtį, susijusią su kiekvienu šulinėlio fluoroforu. Programinė įranga turi sukurti duomenų pradinę atimtį, kad nustatytų kiekybinius ciklus, braižytų standartines kreives ir nustatytų nežinomų mėginių koncentraciją. Kai norima sukurti pėdsako pradinę atimtį, programinė įranga nustato pradinio ciklo metu kiekvienam šulinėliui įrašytą fluorescencijos geriausią tiesiąją liniją ir tada atrenka tinkamiausius duomenis iš foninių kiekvieno ciklo metu atrinktų duomenų.
- **„Baseline Subtracted Curve Fit“ (pradinės atimties kreivės atitiktis)** – rodo duomenis kaip pėdsako pradinę atimtį, o programinė įranga išlygina pradinės atimties kreivę, naudodama centruotą vidurkio filtrą. Šis procesas atliekamas taip, kad kiekvienas  $C_q$  liktų nepakitęs.

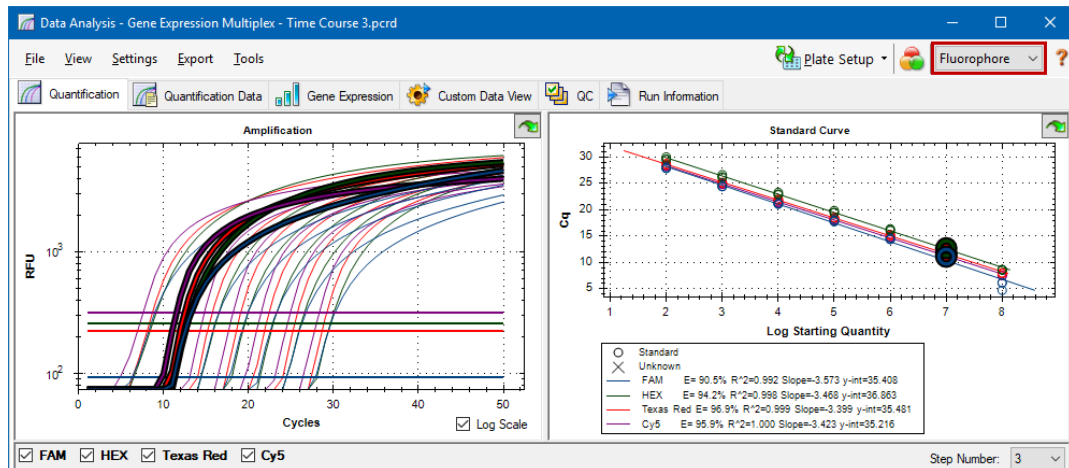
Be šių parinkčių, taip pat galite pasirinkti „Apply Fluorescent Drift Correction“ (taikyti fluorescencijos dreifo korekciją). Šulinėlių, kuriuose per pradinis kelis analizės ciklus gaunamos neįprastai išsisklaidžiusios RFU reikšmės, atveju programinė įranga apskaičiuoja numatytą pradinę liniją iš gretimų šulinėlių, kuriems sėkmingai sukurta horizontali pradinė linija.

### Pradinės atimties nuostatos keitimas

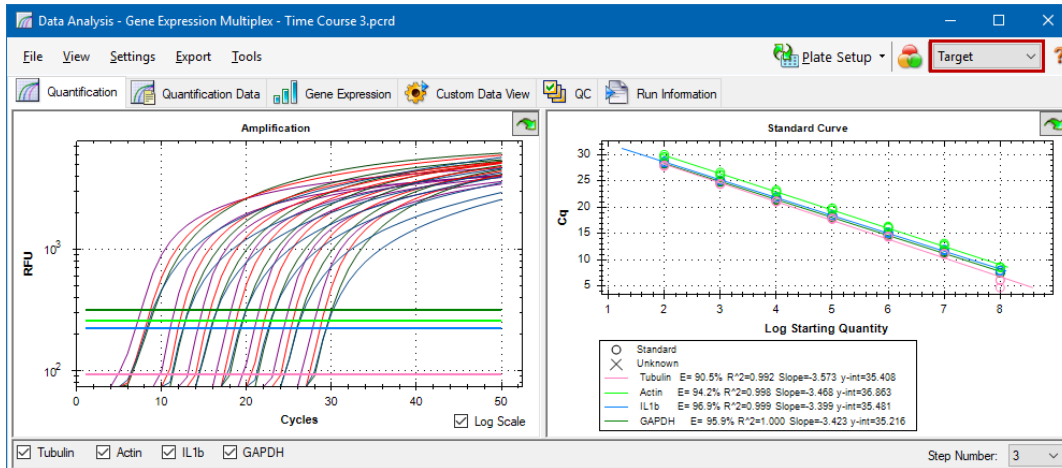
- ▶ Pasirinkite „Settings > Baseline Setting“ (nuostatos > pradinis nustatymas).

## Analizės režimas

Duomenis galima sugrupuoti ir analizuoti arba pagal fluoroforą, arba tikslo pavadinimą. Sugrupavus pagal fluoroforą, duomenų pėdsakai rodomi pagal fluoroforą, kaip nurodyta to paleidimo plokštelės nuostatoje. Atskiro fluoroforo duomenys parodomi amplifikavimo ir standartinės kreivės diagramoje (jeigu yra), kai pažymimi atitinkami fluoroforo pasirinkimo priemonės žymės langeliai, esantys po amplifikavimo diagrama.



Sugrupavus pagal tikslą, duomenų pėdsakai parodomi pagal tikslo pavadinimą, koks jis buvo įvestas į paleidimo plokštelės sąranką.



## Duomenų analizės režimo pasirinkimas

► Atlikite vieną iš šių veiksmų:

- Pasirinkite „Settings > Analysis Mode“ (nuostatos > analizės režimas).
- Įrankių juostos išplečiamajame meniu „Analysis Mode“ (analizės režimas) pasirinkite režimą.

## Analizuotini ciklai

Galite riboti analizuotinų ciklų skaičių. Taip pat galite analizuoti duomenis iš konkretaus ciklų rinkinio. Didžiausias ciklų, kurį galite analizuoti, skaičius yra 50.

**Pastaba.** Pašalinus ciklus iš paleidimo pradžios galima padaryti didelę įtaką pradiniam lygiui.

### Duomenų analizės apribojimas iki konkretaus ciklų intervalo

1. Pasirinkite „Settings > Cycles to Analyze“ (nuostatos > analizuotini ciklai).

Parodomas dialogo langas „Cycles to Analyze“ (analizuotini ciklai).

2. Įveskite pradžios ir pabaigos ciklo vertes ir spustelėkite OK (gerai).

Dialogo lange „Cycles to Analyze“ (analizuotini ciklai) spustelėkite „Restore Defaults“ (atkurti numatytuosius parametrus) ir grįžkite į analizei pradžioje naudojamus ciklus.

## Šulinėlių parinkiklis

Pasinaudokite šulinėlių parinkikliu šulinėlio duomenims parodyti arba paslėpti diagramose arba skaičiuoklėse lange „Data Analysis“ (duomenų analizė). Šulinėlių parinkiklyje galima pasirinkti tik su mėginiais įdėtus šulinėlius. Programinė įranga šulinėlių parinkiklyje nuspalvina šulinėlius:

- **„Blue“ (mėlyna)** – reiškia pasirinktus šulinėlius. Duomenys iš pasirinktų šulinėlių rodomi lange „Data Analysis“ (duomenų analizė).
- **„Light gray“ (šviesiai pilka)** – reiškia nepasirinktus šulinėlius. Duomenys iš nepasirinktų šulinėlių nerodomi lange „Data Analysis“ (duomenų analizė).
- **„Dark gray“ (tamsiai pilka)** – reiškia tuščius šulinėlius.

|   | 1 | 2 | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|------|------|------|------|------|------|------|----|----|----|
| A |   |   |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |
| B |   |   |      | Unk1 | Unk2 | Unk3 |      |      |      |    |    |    |
| C |   |   |      | Unk1 | Unk2 | Unk3 |      |      |      |    |    |    |
| D |   |   |      | Unk1 | Unk2 | Unk3 |      |      |      |    |    |    |
| E |   |   |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |
| F |   |   | Std1 | Std2 | Std3 | Std4 | Std5 | Std6 | Std7 |    |    |    |
| G |   |   | Std1 | Std2 | Std3 | Std4 | Std5 | Std6 | Std7 |    |    |    |
| H |   |   | Std1 | Std2 | Std3 | Std4 | Std5 | Std6 | Std7 |    |    |    |

## Šulinėlių duomenų rodymas arba paslėpimas

- ▶ Šulinėlių parinkiklyje atlikite toliau nurodytus veiksmus:
  - Norėdami paslėpti vieną šulinėlį, spustelėkite atskirą šulinėlį. Norėdami rodyti tą šulinėlį, jį spustelėkite dar kartą.
  - Norėdami paslėpti kelis šulinėlius, vilkite per šulinėlius, kuriuos norite pasirinkti. Norėdami šiuos šulinėlius rodyti, vėl vilkite per šiuos šulinėlius.
  - Spustelėkite plokštelės viršutinį kairįjį kampą ir paslėpkite visus šulinėlius. Spustelėkite viršutinį kairįjį kampą dar kartą ir rodykite visus šulinėlius.
  - Spustelėkite stulpelio ar eilutės pradžią ir šiuos šulinėlius paslėpkite. Stulpelį ar eilutę spustelėkite dar kartą ir parodykite šulinėlius.

## Šulinėlių parinkiklio pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai

17 lentelė pateikiamos pelės dešiniojo mygtuko parinktys, prieinamos šulinėlių parinkiklio rodinyje.

### 17 lentelė. Pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, skirti šulinėlių parinkikliams

| Elementas   | Funkcija  |
|---|---|
| „Well XX“ (šulinėlis XX)  | Rodomas tik šis šulinėlis, šis šulinėlis pašalinamas iš rodinio, nustatoma šio šulinėlio spalva arba šis šulinėlis pašalinamas iš analizės. |
| „Selected Wells“ (pasirinkti šulinėliai) (spustelėjus dešinįjį pelės mygtuką ir tempiant) | Rodomi tik šie šulinėliai, šie šulinėliai pašalinami iš rodinio, nustatoma šių šulinėlių spalva arba šie šulinėliai pašalinami iš analizės. |
| „Copy“ (kopijuoti)  | Šulinėlio turinys, įskaitant mėginio tipą ir pasirinktines kopijas (Nr.), kopijuojamas į iškarpinę.   |
| „Copy as Image“ (kopijuoti kaip paveikslėlį)  | Šulinėlio parinkiklio rodinys kopijuojamas kaip paveikslėlis.   |
| „Print“ (spausdinti)  | Atspausdinamas šulinėlio parinkiklio rodinys.   |
| „Print Selection“ (spausdinti pasirinkimą)  | Atspausdinamas esamas pasirinkimas.   |
| „Export to Excel“ (eksportuoti į „Excel“)   | Duomenys eksportuojami į „Excel“ skaičiuoklę.   |

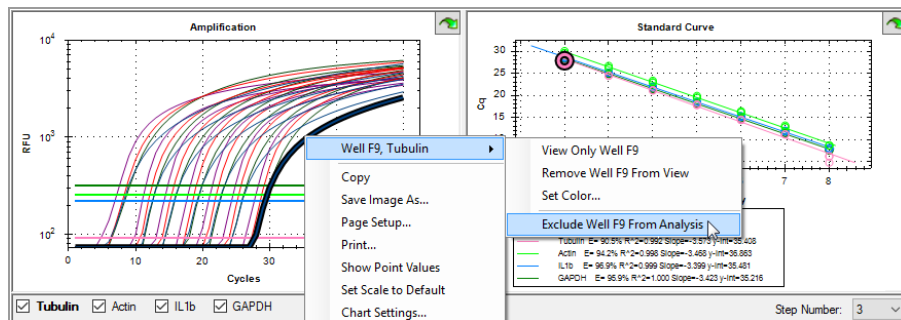
**17 lentelė. Pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, skirti šulinėlių parinkikliams (tęsinys)**

| Elementas                           | Funkcija   |
|-------------------------------------|--|
| „Export to Csv“ (eksportuoti į Csv) | Duomenys eksportuojami kaip tekstinis dokumentas.  |
| „Export to Xml“ (eksportuoti į Xml) | Duomenys eksportuojami kaip .xml dokumentas.   |
| „Well Labels“ (šulinėlių etiketės)  | Šulinėlių etiketės pakeičiamos į „Sample Type“ (mėginio tipas), „Target Name“ (tikslų pavadinimas) arba „Sample Name“ (mėginio pavadinimas). |

## Iš analizės laikinai pašalinami šulinėliai

### Kaip laikinai pašalinti šulinėlius iš analizės

- Spustelėkite šulinėlį dešiniuju pelės mygtuku šulinėlių parinkiklyje. Jei norite pašalinti kelis šulinėlius, spustelėkite dešinią pelės mygtuką ir vilkite pelės rodyklę, kad pažymėtumėte keletą šulinėlių, pėdsakų ar taškų.
- Dešiniojo pelės mygtuko meniu pasirinkite norimą parinktį:
  - „Well > Exclude Well“ (šulinėlis > pašalinti šulinėlį)
  - „Selected Wells > Exclude from Analysis“ (pasirinkti šulinėliai > pašalinti iš analizės)
  - „Selected Traces > Exclude these wells from Analysis“ (pasirinkti pėdsakai > pašalinti šiuos šulinėlius iš analizės)





Norėdami visam laikui pašalinti šulinėlius iš analizės, taip pat galite išvalyti šulinėlių turinį lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) paspausdami mygtuką „Clear Wells“ (valyti šulinėlius).

**Svarbu.** Turite iš naujo įvesti bet kokį pašalintą turinį.

### **Kaip grąžinti pašalintą šulinėlį**

- ▶ Spustelėkite atitinkamą šulinėlį dešiniuoju pelės mygtuku šulinėlių parinkiklyje ir pasirinkite „Well > Include Well in Analysis“ (šulinėlis > įtraukti šulinėlį į analizę).

## Diagramos

Kiekvienoje lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) esančioje diagramoje duomenų rodymas skiriasi grafiškai ir pateikiamos duomenų arba diagramų grafikos koregavimo ir eksportavimo parinktys.

### Bendrieji pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, skirti diagramoms

18 lentelė pateikiami pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, kurie gali būti naudojami diagramose. Kai kurie galimi elementai yra skirti visoms diagramoms; šie elementai gali būti naudojami, norint keisti duomenų rodymo būdą arba paprastai eksportuoti duomenis iš diagramos.

**18 lentelė. Pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, skirti diagramoms**

| Elementas   | Funkcija   |
|---|--|
| „Copy“ (kopijuoti)                                  | Diagrama nukopijuojama į iškarpinę.  |
| „Save Image As“ (įrašyti paveikslėlį kaip)          | Įrašomas nustatyto dydžio, raiškos ir failo tipo vaizdas. Galimi vaizdo formatai yra PNG (numatytasis), JPG ir BMP.  |
| „Page Setup“ (puslapio sąranka)                     | Peržiūrima ir parenkama puslapio sąranka spausdinti.   |
| „Print“ (spausdinti)                                | Atspausdinama diagrama.  |
| „Set Scale to Default“ (nustatyti numatytąją skalę) | Padidinta diagrama grąžinama į numatytąjį rodinį.  |
| „Chart Options“ (diagramos parinktys)               | Atveriamas langas „Chart Options“ (diagramos parinktys), kuriame galima pakeisti diagramą, įskaitant pavadinimo keitimą, x ir y ašių ribų pasirinkimą, tinkelio linijų rodymą ir mažųjų varnelių ašyse rodymą. |

**Pastaba.** Meniu elementai, taikomi konkrečioms diagramoms, aprašyti [10 skyrius, Išsami duomenų analizės informacija](#).

## Diagramos duomenų kopijavimas į iškarpinę

Galite nukopijuoti diagramos rodinio turinį ir įklijuoti jį į bet kurią programą, kuri priima taškinės grafikos vaizdo failus.

### Kaip kopijuoti diagramos duomenis į iškarpinę

1. Iš diagramos dešiniojo pelės mygtuko meniu pasirinkite „Copy“ (kopijuoti).
2. Atidarykite programą, kuri priima taškinės grafikos vaizdus, pvz., „Microsoft Word“.
3. Dešiniuuoju pelės mygtuku spustelėkite ir pasirinkite „Paste“ (įklijuoti), kad įklijuotumėte taškinės grafikos vaizdą iš iškarpinės į taikomąją programą.

## Pradinės ribinės reikšmės nuostatų modifikavimas

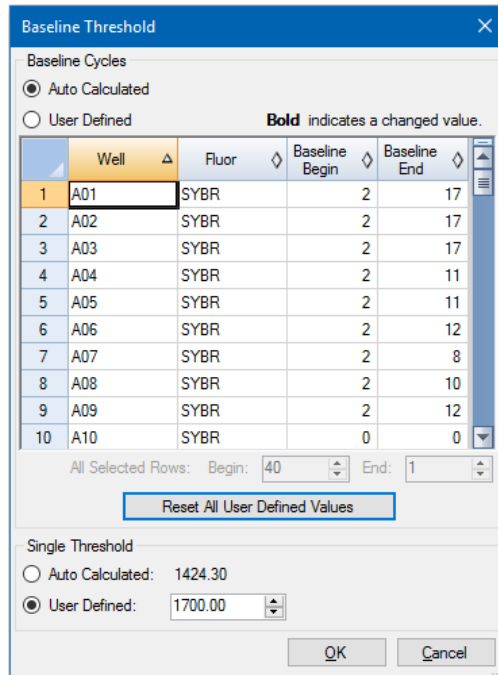
Režimu „Single Threshold“ (atskira ribinė reikšmė) galite koreguoti fluoroforo ribinę reikšmę spustelėję ribinės reikšmės liniją amplifikavimo diagramoje ir pelės rodyklę perkėlę vertikaliai. Taip pat galite nurodyti pasirinkto fluoroforo tikslią perėjimo ribinę reikšmę.

**Patarimas.** Galite nurodyti ciklo intervalą, kad būtų galima nustatyti pradinį visų duomenų failų lygį, kortelėje „Data Analysis“ (duomenų analizė), esančioje „User > User Preferences“ (vartotojas > vartotojo nuostatos).

### Kiekvieno šulinėlio pradinio lygio pradžios ir pabaigos ciklo koregavimas

1. Kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) pasirinkite atskirą fluoroforą diagramoje „Amplification“ (amplifikavimas).
2. Diagramos dešiniojo pelės mygtuko meniu pasirinkite „Baseline Threshold“ (pradinė ribinė reikšmė).

Parodomas dialogo langas „Baseline Threshold“ (pradinė ribinė reikšmė).



3. Skyriuje „Baseline Cycles“ (pradiniai ciklai) atlikite šiuos veiksmus:
  - Norėdami pasirinkti vieną šulinėlį, spustelėkite jo eilutės numerį.
  - Norėdami pasirinkti kelis gretimus šulinėlius, spustelėkite pirmojo šulinėlio eilės numerį ir vilkite stulpeliu žemyn iki galutinio šulinėlio.
  - Norėdami pasirinkti kelis negretimus šulinėlius, paspauskite klavišą „Control“ (valdyti) ir spustelėkite kiekvieną tikslinį šulinėlį.
  - Norėdami pasirinkti visus šulinėlius, spustelėkite lentelės viršutinį kairįjį kampą.
4. Koreguokite visų pasirinktų šulinėlių pradinį pradžios ciklą ir pradinį pabaigos ciklą arba skaičiuoklės apačioje pakeiskite pradžios ir pabaigos ciklo numerį.
 

**Patarimas.** Norėdami sugrąžinti nuostatų paskutines įrašytas vertes, spustelėkite „Reset All User Defined Values“ (atstatyti visas vartotojo apibrėžtas vertes).
5. Spustelėkite „OK“ (gerai), įrašykite pakeitimus ir grįžkite į diagramą.

### Visų duomenų failų ciklo intervalo nurodymas

- ▶ Lange „Home“ (pagrindinis) arba „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) pasirinkite „User > User Preferences“ (vartotojas > vartotojo nuostatos) ir pasirinkite kortelę „Data Analysis“ (duomenų analizė).

## Tikslo ir mėginių duomenų rūšiavimas

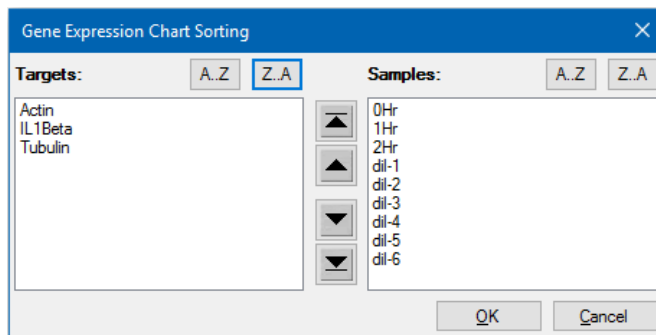
**Pastaba.** Ši parinktis galima tik geno ekspresijos diagramose.

Pagal numatytuosius parametrus tikslų ir mėginių sąrašai pateikiami abėcėline tvarka. Dialogo lange „Sort“ (rūšiuoti) galite rūšiuoti rodmenis atvirkštine tvarka pagal abėcėlę arba rankiniu būdu perkelti terminą į kitą padėtį sąrašė.

### Tikslo ir mėginio duomenų rūšiavimas

1. Diagramos dešiniojo pelės mygtuko meniu spustelėkite „Sort“ (rūšiuoti).

Parodomas dialogo langas „Gene Expression Chart Sorting“ (geno ekspresijos diagramų rūšiavimas).



2. Dialogo lange spustelėkite Z–A ir surūšiuokite sąrašą atvirkštine abėcėline tvarka.
3. Norėdami rankiniu būdu perkelti terminą, jį pasirinkite ir spustelėkite atitinkamą mygtuką tarp diagramų:
  - Spustelėkite rodyklę aukštyn ar žemyn ir pasirinktą terminą perkeltite per vieną padėtį.
  - Spustelėkite juostos rodyklę aukštyn ar žemyn ir pasirinktą terminą perkeltite į sąrašo viršų ar apačią.
4. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir grįžkite į „Gene Expression“ (geno ekspresija) kortelę.

## Diagramos srities didinimas

### Kaip didinti diagramos sritį

- ▶ Spustelėkite ir vilkite pele diagramoje, o tada spustelėkite „Zoom“ (keisti mastelį)\*. Programinė įranga pakeičia diagramos dydį ir ją centruoja pasirinktoje srityje.

**Pastaba.** \* Stulpelinėje diagramoje nereikia spustelėti „Zoom“ (keisti mastelį) išplečiamosios komandos.

### Diagramos nustatymas į visą rodinį

- ▶ Diagramoje spustelėkite dešiniuju klavišu ir pasirinkite „Set Scale to Default“ (nustatyti numatytąją skalę).

## Diagramų kopijavimas į „Microsoft“ failą

Duomenų diagramas galite kopijuoti į „Microsoft Word“, „Excel“ arba „PowerPoint“ dokumentus. Vaizdo skiriamoji geba atitinka ekrano, iš kurio buvo gautas vaizdas, skiriamąją gebą

### Kaip nukopijuoti diagramas į „Microsoft“ failą

1. Lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) pasirinkite „Copy“ (kopijuoti) diagramos dešiniojo mygtuko meniu.
2. Atidarykite tuščią „Microsoft“ failą ir įklijuokite turinį iš iškarpinės.



**Taip pat galite:** spustelėti ant „click-and-drag“ (spustelėti ir tempti) piktogramos ir nutempti diagramą į „Microsoft“ failą.

## Skaičiuoklės

Lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) pateiktos skaičiuoklės apima duomenų rūšiavimo ir perdavimo galimybes. Rūšiuokite stulpelius vienu iš šių būdų:

- Spustelėkite ir vilkite stulpelį į naują vietą pasirinktoje lentelėje.
- Spustelėkite stulpelio antraštę, jei norite rūšiuoti duomenis didėjančia ar mažėjančia tvarka.

### **Kaip rūšiuoti iki trijų duomenų stulpelių lange „Sort“ (rūšiuoti)**

1. Dešiniu ju pelės mygtuku spustelėkite skaičiuoklę ir pasirinkite „Sort“ (rūšiuoti).
2. Dialogo lange „Sort“ (rūšiuoti) pasirinkite pirmą stulpelio pavadinimą, kurį rūšiuosite. Rūšiuokite duomenis didėjančia ar mažėjančia tvarka.
3. Pasirinkite antrą arba trečią stulpelį ir rūšiuokite jį „Ascending“ (didėjančia tvarka) arba „Descending“ (mažėjančia tvarka).
4. Spustelėkite OK (gerai), kad išrūšiuotumėte duomenis, arba „Cancel“ (atšaukti), kad sustabdytumėte rūšiavimą.

Paryškinkite duomenis susijusiose diagramose ir šulinėlių parinkiklyje laikydami pelės rodyklę virš langelio. Spustelėkite langelį, jei norite kopijuoti ir įklijuoti jo turinį į kitą programinę įrangą.

## Skaičiuoklių bendrieji pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai

19 lentelė pateikiami pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, kurie gali būti naudojami skaičiuoklės rodinyje.

**19 lentelė. Skaičiuoklių pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai**

| Elementas                                    | Funkcija   |
|--|--|
| „Copy“ (kopijuoti)                           | Pasirinkto šulinėlio turinį kopijuoja į iškarpinę, tada jį įkelia į skaičiuoklę, pvz., „Excel“.  |
| „Copy as Image“ (kopijuoti kaip paveikslėlį) | Kopijuoja skaičiuoklės vaizdą kaip paveikslėlio failą ir įkelia į failą, kuris priima vaizdinius failus, pvz., tekstinį, vaizdinį ar skaičiuoklės failą. |
| „Print“ (spausdinti)                         | Atspausdinamas esamas vaizdas.   |
| „Print Selection“ (spausdinti pasirinkimą)   | Atspausdinamas esamas pasirinkimas.  |
| „Export to Excel“ (eksportuoti į „Excel“)    | Duomenys eksportuojami į „Excel“ skaičiuoklę.  |
| „Export to CSV“ (eksportuoti į CSV)          | Eksportuoja duomenis į kableliu atskirtų duomenų (.csv) failą.   |
| „Export to Xml“ (eksportuoti į Xml)          | Duomenys eksportuojami į Xml failą.  |
| „Export to Html“ (eksportuoti į Html)        | Duomenys eksportuojami į Html failą.   |
| „Find“ (ieškoti)                             | Ieškoma teksto.  |
| „Sort“ (rūšiuoti)                            | Rūšiuoja duomenis į iki trijų stulpelių.   |
| „Select Columns“ (pasirinkti stulpelius)     | Pasirenkami stulpeliai, kurie bus rodomi skaičiuoklėje.  |



## Eksportas

CFX Manager Dx programinė įranga eksporto išplečiamajame meniu jums suteikia keturias eksportavimo parinktis:

- „Export All Data Sheets“ (eksportuoti visus duomenų lapus)
- „Custom Export“ (pasirinktinis eksportas)
- „Export to LIMS“ (eksportuoti į LIMS)
- „Seegene Export“ („Seegene“ eksportas)

### Visų duomenų lapų eksportavimas

Visus skaičiuoklės rodinius iš kiekvienos „CFX Manager Dx programinė įranga“ kortelės galite eksportuoti į atskirus failus.

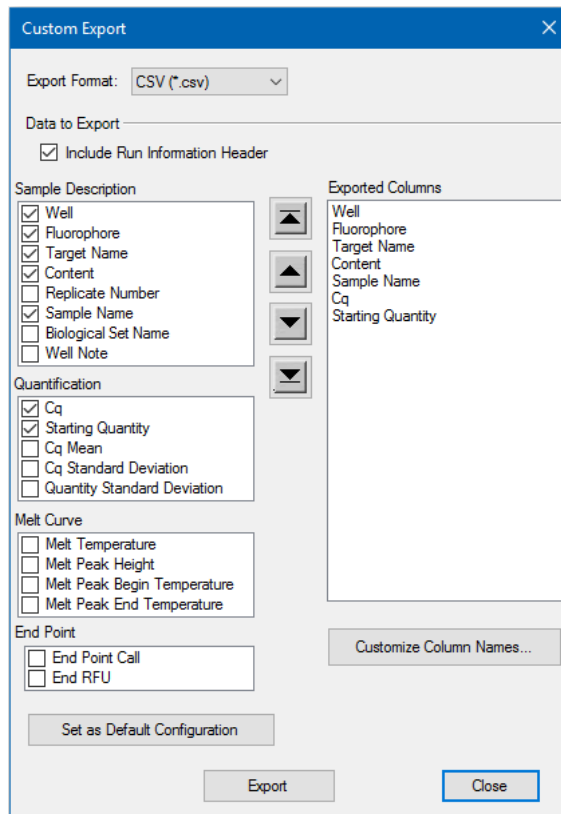
#### Kaip eksportuoti visus duomenų lapus

- ▶ Pasirinkite „Export > Export All Data Sheets“ (eksportuoti > eksportuoti visus duomenų lapus) ir tada pasirinkite pageidaujamą failo tipą:
  - CSV (\*.csv)
  - „Text“ (tekstinis) (\*.txt)
  - „Excel 2007“ (\*.xlsx)
  - „Excel 2003“ (\*.xls)
  - XML (\*.xml)

## Pasirinktinio eksporto failo sukūrimas

### Kaip sukurti pasirinktinio eksporto failą

1. Pasirinkite „Export > Custom Export“ (eksportuoti > pasirinktinis eksportas). Pasirodo dialogo langas „Custom Export“ (pasirinktinis eksportas).



2. Pasirinkite eksporto formatą iš pasirodžiusio išplečiamojo sąrašo.
3. Pažymėkite norimų eksportuoti elementų žymės langelius.
4. (Neprivaloma) Spustelėkite „Customize Column Names“ (tinkinti stulpelių pavadinimus), norėdami pakeisti stulpelių pavadinimus.
5. Spustelėkite „Export“ (eksportuoti). Parodomas dialogo langas „Save As“ (įrašyti kaip).
6. Dialogo lange „Save As“ (įrašyti kaip) nurodykite failo pavadinimą ir vietą, kurioje norite įrašyti eksportuojamą failą.
7. Kad įrašytumėte eksportuojamą failą, spustelėkite OK (gerai).

## Eksportavimas į LIMS aplanką

Duomenis galite eksportuoti su LIMS suderinamu failo formatu.

### Kaip eksportuoti duomenis LIMS formatu

1. Pasirinkite „Export > Export to LIMS Folder“ (eksportuoti > eksportuoti į LIMS aplanką).  
Parodomas dialogo langas „Save As“ (įrašyti kaip).
2. Dialogo lange „Save As“ (įrašyti kaip) nurodykite failo pavadinimą ir vietą, kurioje norite įrašyti eksportuojamą failą.
3. Kad įrašytumėte eksportuojamą failą, spustelėkite OK (gerai).

## Duomenų „Seegene“ formatu eksportavimas

Duomenis galite eksportuoti iš visų skaičiuoklių rodinių į „Excel“ failus, specialiai pritaikytus „Seegene, Inc“.

### Kaip eksportuoti duomenis „Seegene“ formatu

1. Pasirinkite „Export > Seegene Export“ (eksportuoti > „Seegene“ eksportas).  
Parodomas dialogo langas „Save As“ (įrašyti kaip).
2. Dialogo lange „Save As“ (įrašyti kaip) nurodykite aplanko vietą, kurioje norite įrašyti eksportuojamą „Excel“ (.xlsx) failą „Seegene“ formatu.
3. Kad įrašytumėte eksportuojamus failus, spustelėkite OK (gerai).

## 9 skyrius. Duomenų analizės apžvalga

## 10 skyrius. Išsami duomenų analizės informacija

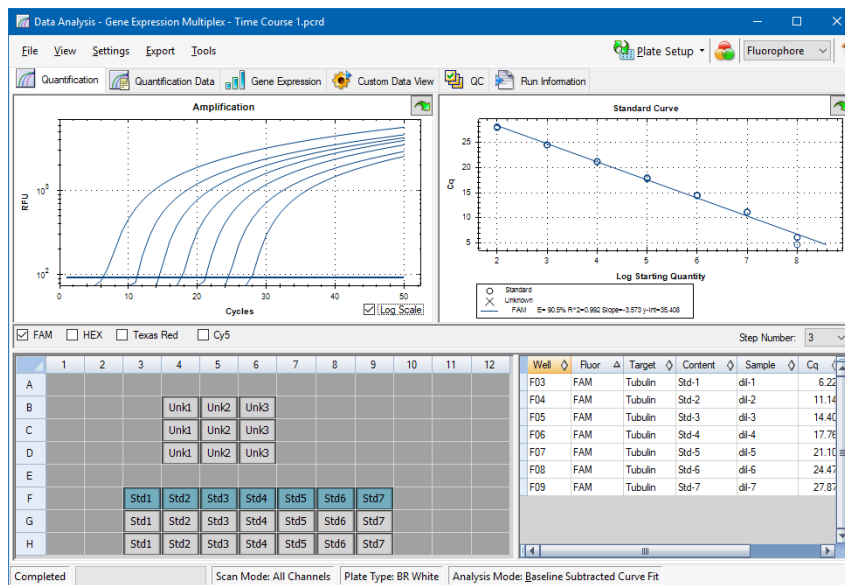
„CFX Manager Dx“ programinės įrangos langą „Data Analysis“ (duomenų analizė) sudaro kelios kortelės, kuriose galima peržiūrėti duomenis. Šiame skyriuje išsamiai paaiškinamos šios kortelės.

**Patarimas.** Galite pasirinkti, kurias korteles peržiūrėti lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) pasinaudoję meniu „View“ (rodymas) meniu. Pasirinktinis išdėstymas įrašomas su duomenų failu.

## Kortelė „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas)

Pasinaudokite duomenimis kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) ir nustatykite duomenų analizės sąlygas, įskaitant atskirų šulinėlių pagrindines nuostatas ir ribinės reikšmės nuostatas. Kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) rodomi duomenys keturiuose šiuose rodiniuose:

- Diagrama „Amplification“ (amplifikavimas) – kiekvienam šulinėliui kiekviename cikle rodomi santykiniai fluorescencijos vienetai (RFU). Kiekvienas pėdsakas diagramoje reiškia duomenis iš atskiro fluoroforo viename šulinėlyje.
- „Standard curve“ (standartinė kreivė) – rodoma tik jeigu paleidimas apima šulinėlius, skirtus mėginių tipo standartui („Std“ (standartinis)). Standartinėje kreivėje rodomas ribinės reikšmės ciklas, pažymėtas grafike pradinio kiekio logaritmo atžvilgiu. Sutartiniame žymėjime rodomas reakcijos veiksmingumas (E) kiekvienam fluoroforui šulinėliuose, kuriuose yra standartinio tipo mėginiai.
- Šulinėlių parinkiklis – pasirenkami šulinėliai su fluorescenciniais duomenimis, kuriuos norite parodyti.
- Skaičiuoklė – rodoma pasirinkto šulinėlio surinktų duomenų skaičiuoklė.



## Fluoroforų parinktys

Norėdami kortelės „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) diagramose ir skaičiuoklėse pateikti fluoroforo duomenis, pasirinkite tikslinį (-ius) fluoroforą (-us), esantį (-čius) po diagrama „Amplification“

(amplifikavimas). Norėdami paslėpti duomenų analizės lange esančius fluoroforo duomenis, pašalinkite jo žymės langelio žymėjimą.

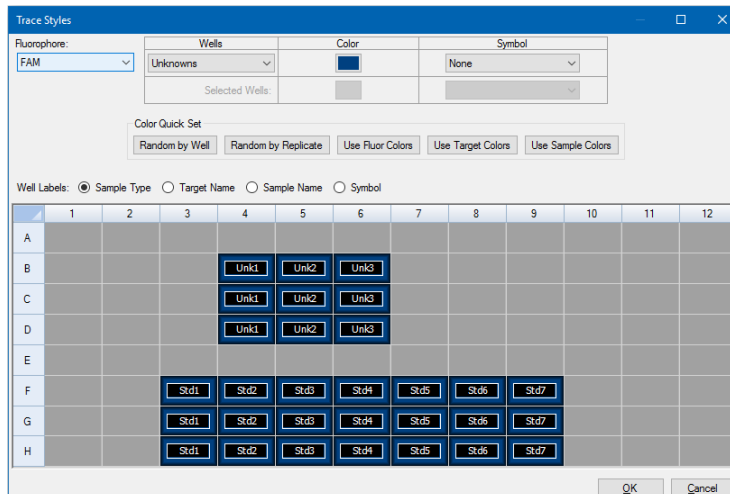
## Dialogo langas „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai)

Dialogo lange „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai) galite koreguoti visų pėdsakų amplifikavimo ir lydymosi kreivių diagramų išvaizdą kortelėse „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) ir „Melt Curve“ (lydymosi kreivė). Tada jūs galite peržiūrėti šulinėlių parinkiklio pakeitimus, kurie rodomi dialogo lange „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai).

### Kaip koreguoti pėdsakų stilių

1. Diagramoje „Amplification“ (amplifikavimas) pasirinkite tik vieną fluoroforą.
2. Norėdami atverti dialogo langą „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai) atlikite vieną iš šių veiksmų:
  - Diagramoje „Amplification“ (amplifikavimas) spustelėkite „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai).
  - Meniu juostoje „Data Analysis“ (duomenų analizė) pasirinkite „Settings > Trace Styles“ (nuostatos > pėdsakų stiliai).
  - Pelės dešiniuju klavišu spustelėkite pėdsaką ir pasirinkite „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai).

Parodomas dialogo langas „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai).

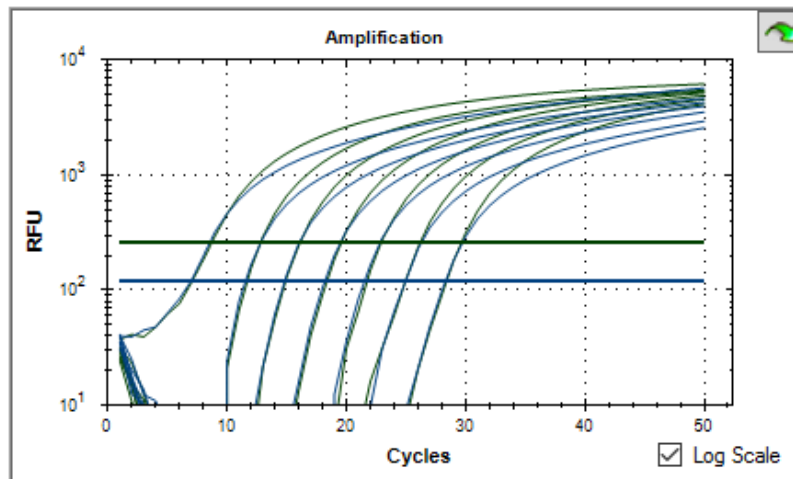


3. Dialogo lango „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai) šulinėlių parinkiklyje apatinėje srityje pasirinkite konkretų šulinėlių rinkinį. Taip pat galite pasirinkti šulinėlius, kurių išplečiamojo meniu stulpelyje „Wells“ (šulinėliai) mėginiai yra vieno tipo.
4. Atlikite toliau nurodytus veiksmus:

- Norėdami pasirinkti pasirinktų šulinėlių spalvą, stulpelyje „Color“ (spalva) spustelėkite langelį.
- Norėdami pasirinktiems šulinėliams priskirti simbolį, išplečiamajame sąrašė „Symbol“ (simbolis) pasirinkite simbolį.
- Norėdami gretai nuspalvinti šulinėlius pagal mygtuko ženklimą, spustelėkite atitinkamą spartųjį rinkinį:
  - „Random by Well“ (atsitiktinai pagal šulinėlį)
  - „Random by Replicate“ (atsitiktinai pagal kopiją)
  - „Use Fluor Colors“ (naudoti fluoroforo spalvas)
  - „Use Target Colors“ (naudoti tikslo spalvas)
  - „Use Sample Colors“ (naudoti mėginio spalvas)
- Norėdami priskirti šulinėlių etiketes, pasirinkite arba „Sample Type“ (mėginio tipas), „Target Name“ (tikslo pavadinimas), „Sample Name“ (mėginio pavadinimas), arba „Symbol“ (simbolis).

## Parinktis „Log Scale“ (logaritminė skalė)

Pasirinkite „Log Scale“ (logaritminė skalė), esančią po diagrama „Amplification“ (amplifikavimas), kad pamatytumėte fluorescencijos pėdsakus antrinio žurnalo skalėje:

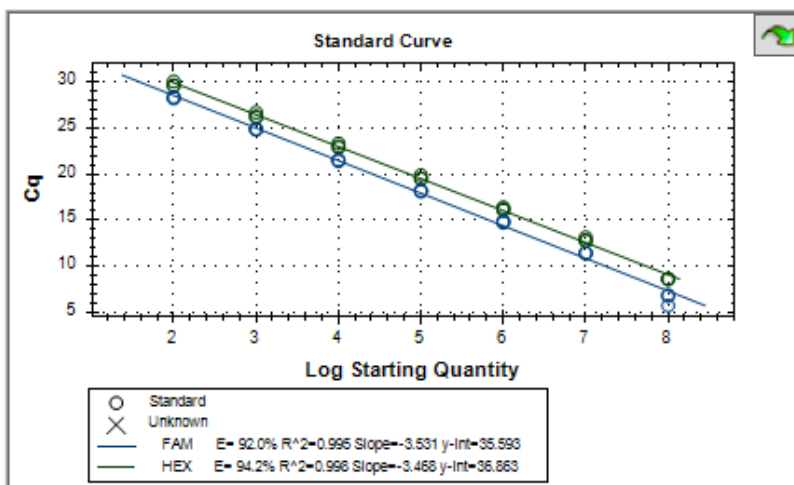


**Patarimas.** Jei norite padidinti bet kurią diagramos sritį, vilkite pele per tikslinę sritį. Jei norite grįžti į rodinį per visą ekraną, diagramoje spustelėkite dešiniuju klavišu ir pasirinkite „Set Scale to Default“ (nustatyti numatytąją skalę).



## Diagrama „Standard Curve“ (standartinė kreivė)

Programinė įranga kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) sukuria diagramą „Standard Curve“ (standartinė kreivė), jei duomenys apima mėginių tipus, apibrėžtus kaip „Std“ (standartinis) bent vienam fluoroforui analizėje.



Diagramoje „Standard Curve“ (standartinė kreivė) rodoma ši informacija:

- Kiekvienos kreivės (fluoroforo arba tikslo) pavadinimas
- Kiekvieno fluoroforo arba tikslo spalva
- Reakcijos veiksmingumas (E). Naudokite šiuos statistinius duomenis, kad optimizuotumėte daugkartinę reakciją ir išlygintumėte standartinės kreivės duomenis.

**Pastaba.** Reakcijos veiksmingumas nusako, kokia jūsų tikslo dalis sukuriama kiekvieno protokolo ciklo metu. 100 % veiksmingumas parodo, kad kiekvieno ciklo metu padvigubinate savo tikslą.

- Nustatymo koeficientas  $R^2$  (rašoma  $R^2$ ). Naudokite šiuos statistinius duomenis, kad nustatytumėte, ar teisingai linija apibūdina duomenis (atitikties laipsnis).
- Statumas
- y ašinė atkarpa

## Diagramos „Amplification“ (amplifikavimas) meniu parinktys

Papildomai įprastoms dešiniuoju pelės mygtuku atidaromo meniu parinktims (žr. [Bendrieji pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, skirti diagramoms, p. 188](#)), 20 lentelė išvardytos meniu parinktys, galimos tik diagramoje „Amplification“ (amplifikavimas).

**Pastaba.** Diagramoje „Standard Curve“ (standartinė kreivė) pateikiamos tik įprastos dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu parinktys.

**20 lentelė. Amplifikavimo diagramos dešiniojo ir kairiojo pelės mygtukų meniu elementai**

| Meniu parinktis                                      | Funkcija  |
|--|---|
| „Show Threshold Values“ (rodyti ribines reikšmes)    | Rodoma kiekvienos diagramos amplifikavimo kreivės ribinė vertė.   |
| „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai)                     | Atidaromas langas „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai), kuriame galima keisti pėdsakų, rodomų kortelėse „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) ir „Melt Curve“ (lydymosi kreivė), stilių.  |
| „Baseline Thresholds“ (pagrindinės ribinės reikšmės) | Atidaromas langas „Baseline Thresholds“ (pagrindinės ribinės reikšmės), kuriame keičiama kiekvieno fluoroforo pagrindinė arba ribinė reikšmės (pakeitimai rodomi diagramoje „Amplification“ (amplifikavimas), esančioje kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas)). |

## Kiekybinio įvertinimo kortelės skaičiuoklė

21 lentelė apibūdinami duomenys, kurie rodomi kiekybinio įvertinimo kortelės skaičiuoklėje.

**21 lentelė. Kiekybinio įvertinimo kortelės skaičiuoklės turinys**

| Informacija | Aprašymas   |
|-------------|---|
| Šulinėlis   | Šulinėlio padėtis plokštelėje   |
| Fluoroforas | Aptiktas fluoroforas  |
| Tikslo      | Tikslo, įdėto į plokštelės redaktoriaus šulinėlius, pavadinimas                                 |
| Turinys     | Mėginio tipo (privalomas) ir kopijų Nr. (pasirinktinai), įdėtų į plokštelės redaktorių, derinys |
| Mėginys     | Į plokštelės redaktorių šulinėlius įdėto mėginio pavadinimas                                    |
| $C_q$       | Kiekvienam pėdsako kiekybinio įvertinimo ciklas   |

### Tikslo, turinio ar mėginio duomenų keitimas

Stulpeliuose „Target“ (tikslas), „Content“ (turinys) ir „Sample“ (mėginys) esančius duomenis galite keisti redaguodami plokštelės failą su „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) net ir po eksperimento.

#### **Kaip pakeisti duomenis stulpeliuose „Content“ (turinys), „Target“ (tikslas) ir „Sample“ (mėginys)**

- ▶ Spustelėkite „Plate Setup“ (plokštelės sąranka) ir pasirinkite „View/Edit Plate“ (rodyti / redaguoti plokštelę), kad atidarytumėte „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius).

## Kortelė „Quantification Data“ (kiekybinio įvertinimo duomenys)

Kortelėje „Quantification Data“ (kiekybinio įvertinimo duomenys) rodomi iš kiekvieno šulinėlio gauti kiekybinio įvertinimo duomenys. CFX Manager Dx programinė įranga duomenis pateikia keturiuose skirtinguose skaičiuoklės rodiniuose:

- „Results“ (rezultatai) – rodoma duomenų skaičiuoklė. Tai numatytasis rodinys.
- „Standard Curve Results“ (standartinės kreivės rezultatai) – rodoma standartinės kreivės duomenų skaičiuoklė.
- „Plate“ (plokštelė) – rodomi duomenys kiekviename šulinėlyje kaip plokštelės schema.
- RFU – rodomi kiekvieno ciklo kiekvieno šulinėlio RFU kiekiai.

Pasirinkite kiekvieną skaičiuoklę iš išplečiamojo sąrašo, kuris rodomas po kortelę „Quantification Data“ (kiekybinio įvertinimo duomenys).

## Skaičiuoklė „Results“ (rezultatai)

Skaičiuoklėje „Results“ (rezultatai) rodomi kiekvieno šulinėlio plokštelėje duomenys.

| Well | Fluor | Target | Content | Sample | Cq    | Cq Mean | Cq Std. Dev | Starting Quantity (SQ) | Log Starting Quantity |
|------|-------|--------|---------|--------|-------|---------|-------------|------------------------|-----------------------|
| B04  | Cy5   | GAPDH  | Unkn-1  | 6Hr    | 17.14 | 17.13   | 0.003       | 1.911E+05              | 5.281                 |
| B05  | Cy5   | GAPDH  | Unkn-2  | 7Hr    | 17.07 | 17.09   | 0.024       | 1.993E+05              | 5.300                 |
| B06  | Cy5   | GAPDH  | Unkn-3  | 8Hr    | 17.08 | 17.08   | 0.035       | 1.980E+05              | 5.297                 |
| C04  | Cy5   | GAPDH  | Unkn-1  | 6Hr    | 17.13 | 17.13   | 0.003       | 1.917E+05              | 5.283                 |
| C05  | Cy5   | GAPDH  | Unkn-2  | 7Hr    | 17.12 | 17.09   | 0.024       | 1.937E+05              | 5.287                 |
| C06  | Cy5   | GAPDH  | Unkn-3  | 8Hr    | 17.12 | 17.08   | 0.035       | 1.930E+05              | 5.285                 |
| D04  | Cy5   | GAPDH  | Unkn-1  | 6Hr    | 17.14 | 17.13   | 0.003       | 1.908E+05              | 5.281                 |
| D05  | Cy5   | GAPDH  | Unkn-2  | 7Hr    | 17.08 | 17.09   | 0.024       | 1.988E+05              | 5.298                 |

**Pastaba.** Visi „Std. Dev“ (standartinis nuokrypis) skaičiavimai galioja kopijų grupėms, priskirtoms šulinėliams lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius). Apskaičiuojamas kiekvieno šulinėlio kopijų grupėje  $C_q$  vertės vidurkis.

[22 lentelė](#) apibrėžiami duomenys, pateikiami skaičiuoklėje „Results“ (rezultatai).

**22 lentelė. Rezultatų skaičiuoklės turinys**

| <b>Informacija</b>   | <b>Aprašymas</b>  |
|--|---|
| „Well“ (šulinėlis)   | Šulinėlio padėtis plokštelėje                               |
| „Fluor“ (fluoroforas)                                      | Aptiktas fluoroforas  |
| „Target“ (tikslas)   | Amplifikacijos tikslo pavadinimas (genas)                   |
| „Content“ (turinys)  | Mėginio tipas ir kopijos Nr.                                |
| „Sample“ (mėginys)   | Mėginio aprašymas   |
| „Biological Set Name“<br>(biologinio rinkinio pavadinimas) | Biologinio rinkinio pavadinimas                             |
| $C_q$  | Kiekybinio įvertinimo ciklas                                |
| „ $C_q$ Mean“ ( $C_q$ vidurkis)                            | Kopijos grupės kiekybinio įvertinimo vidurkis               |
| „ $C_q$ Std. Dev“ ( $C_q$ standartinis nuokrypis)          | Kopijos grupės kiekybinio įvertinimo standartinis nuokrypis |
| „Starting Quantity“ (pradinis kiekis) (SQ)                 | Tikslo pradinio kiekio įvertis                              |
| „Log Starting Quantity“<br>(pradinio kiekio registravimas) | Pradinio kiekio registravimas                               |
| „SQ Mean“ (pradinio kiekio vidurkis)                       | Pradinio kiekio vidurkis                                    |
| „SQ Std. Dev“ ( $C_q$ standartinis nuokrypis)              | Kopijų pradinio kiekio standartinis nuokrypis               |

## Skaičiuoklė „Standard Curve Results“ (standartinės kreivės rezultatai)

Skaičiuoklėje „Standard Curve Results“ (standartinės kreivės rezultatai) rodomi apskaičiuoti standartinės kreivės parametrai.

| Fluor     | Efficiency % | Slope  | Y-Intercept | R <sup>2</sup> |
|-----------|--------------|--------|-------------|----------------|
| Cy5       | 95.93        | -3.423 | 35.216      | 1.000          |
| FAM       | 91.97        | -3.531 | 35.593      | 0.995          |
| HEX       | 94.24        | -3.468 | 36.863      | 0.998          |
| Texas Red | 96.86        | -3.399 | 35.481      | 0.999          |

23 lentelė apibrėžiami duomenys, pateikiami skaičiuoklėje „Standard Curve Results“ (standartinės kreivės rezultatai).

### 23 lentelė. Skaičiuoklės „Standard Curve Results“ (standartinės kreivės rezultatai) turinys

| Informacija                                     | Aprašymas                           |
|---|-------------------------------------|
| „Fluor“ (fluoroforas) (arba „Target“ (tikslas)) | Aptiktas fluoroforas (arba tikslas) |
| „Efficiency“ (veiksmingumas) (%)                | Reakcijos veiksmingumas             |
| „Slope“ (statumas)                              | Standartinės kreivės statumas       |
| „Y-intercept“ (y ašinė atkarpa)                 | Taškas, kuriame kreivė kerta y ašį  |
| R <sup>2</sup>                                  | Nustatymo koeficientas              |

## Skaičiuoklė „Plate“ (plokštelė)

Skaičiuoklėje „Plate“ (plokštelė) vienu metu rodoma vieno fluoroforo duomenų plokštelės schema.

|   | 1 | 2 | 3 | 4             | 5             | 6             | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---------------|---------------|---------------|---|---|---|
| A |   |   |   |               |               |               |   |   |   |
| B |   |   |   | Unkn-1<br>6Hr | Unkn-2<br>7Hr | Unkn-3<br>8Hr |   |   |   |
| C |   |   |   | Unkn-1<br>6Hr | Unkn-2<br>7Hr | Unkn-3<br>8Hr |   |   |   |

### Kaip peržiūrėti konkretaus fluoroforo duomenis

- Skaičiuoklės apačioje spustelėkite jo kortelę.

## Skaičiuoklė RFU

Skaičiuoklėje RFU rodomos kiekvieno šulinėlio santykinų fluorescencijos vienetų (RFU) reikšmės, gautos paleidimo kiekvieno ciklo metu. Šulinėlio numeris rodomas kiekvieno stulpelio viršuje, o ciklo numeris parodomas kiekvienos eilutės kairėje.

| 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 |

## Kortelė „Melt Curve“ (lydymosi kreivė)

**Atsakomybės apribojimas:** „Bio-Rad“ nesuteikia teisės naudoti lydymosi kreivės analizės didelės skiriamosios gebos lydymosi analizėje žmonių ar veterinarijos „in vitro“ diagnostikos srityje. Be to, pirkėjas atsakingas už bet kokių intelektinės nuosavybės teisių, kurios gali būti reikalingos konkrečioms programoms, įsigijimą.

DNR jungiančių dažų ir neskaidrių hibridizacijos zondų atveju fluorescencija yra ryškiausia, kai dvi DNR grandinės atkaitinamos. Todėl tada, kai temperatūra kyla iki lydymosi temperatūros ( $T_m$ ), fluorescencija mažėja pastoviu greičiu (pastovus statusas). Kai pasiekama  $T_m$ , fluorescencija smarkiai sumažėja ir pastebimai pasikeičia statusas. Šio pokyčio norma nustatoma pagal neigiamos pirmosios fluorescencijos regresijos priklausomybę nuo temperatūros ( $-d(RFU)/dT$ ). Dėl didžiausio fluorescencijos pokyčio susidaro matomos smailės, kurios atitinka dvigubos DNR kompleksų  $T_m$ .

CFX Manager Dx programinė įranga parodo RFU duomenų, surinktų lydymosi kreivės analizės metu, priklausomybę nuo temperatūros. Siekiant išanalizuoti didžiausios lydymosi temperatūros duomenis, programinė įranga, perkeldama ribinės reikšmės juostą, kiekvienai smailei priskiria pradinę ir galutinę temperatūrą. Smailės srities pagrindas nustatomas pagal ribinės reikšmės juostos padėtį. Galiojantis smailės aukštis turi bent jau atitikti atstumą tarp ribinės reikšmės juostos ir aukščiausios smailės viršūnės taško.

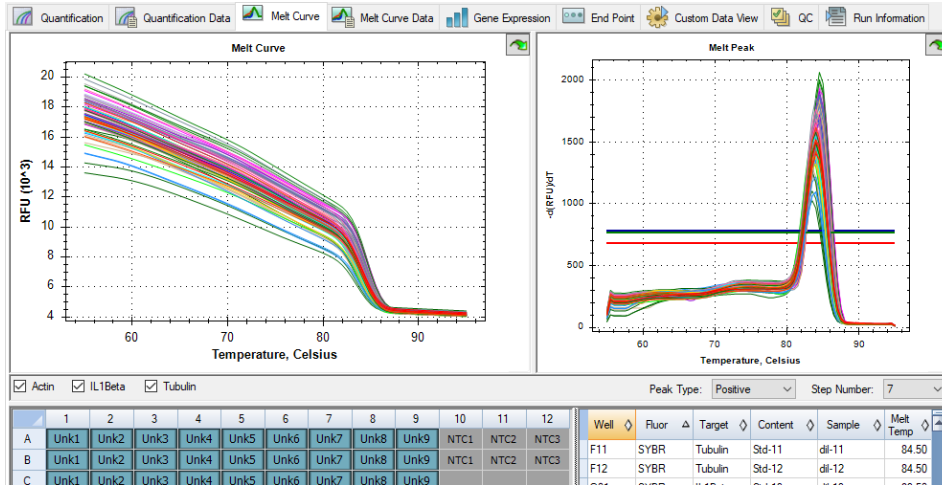
Kortelėje „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) rodomi keturi amplifikuotų PCR (PGR) produktų  $T_m$  lydymosi temperatūros rodiniai:

- „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) – rodomi tikralaikiai kiekvieno fluoroforo duomenys, kaip su temperatūra susietos RFU reikšmės kiekvienam šulinėliui.
- „Melt Peak“ (didžiausia lydymosi temperatūra) – rodomas neigiamas su temperatūra susietų kiekvieno šulinėlio RFU duomenų sumažėjimas.
- „Well selector“ (šulinėlių parinkiklis) – rodomi šulinėliai, kurių atveju būtų rodomi arba paslėpti duomenys.



- „Peak spreadsheet“ (smailės skaičiuoklė) – rodomi pasirinkto šulinėlio surinkti duomenys.

**Pastaba.** Ši skaičiuoklė rodo iki dviejų kiekvieno pėdsako smailių. Jei norite pamatyti daugiau smailių, spustelėkite kortelę „Melt Curve Data“ (lydymosi kreivės duomenys).



24 lentelė, p. 211 apibūdinami duomenys, pateikiami skaičiuoklėje „Melt Curve“ (lydymosi kreivė).

#### 24 lentelė. Lydymosi kreivės skaičiuoklės turinys

| Informacija                        | Aprašymas  |
|------------------------------------|--|
| „Well“ (šulinėlis)                 | Šulinėlio padėtis plokštelėje                        |
| „Fluor“ (fluoroforas)              | Aptiktas fluoroforas                                 |
| „Content“ (turinys)                | Mėginio tipo ir kopijų skaičiaus derinys             |
| „Sample“ (mėginys)                 | Mėginio, įkelto į plokštelės redaktorių, pavadinimas |
| „Melt Temp“ (lydymosi temperatūra) | Didžiausia kiekvieno šulinėlio lydymosi temperatūra  |

**Pastaba.** Šioje skaičiuoklėje rodomos tik dvi aukščiausios smailės.

## „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) duomenų koregavimas

### Kaip koreguoti „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) duomenis

- ▶ Atlikite toliau nurodytus veiksmus:
  - Spustelėkite ir vilkite ribinės reikšmės juostas diagramoje „Melt Peak“ (didžiausia lydymosi temperatūra) ir į duomenų analizę įtraukite didžiausią temperatūrą arba iš jos pašalinkite.
  - Išplečiamajame meniu „Peaks“ (didžiausia temperatūra) pasirinkite „Positive“ (teigiama), kad virš linijos „Melt Threshold“ (lydymosi ribinė reikšmė) būtų rodoma didžiausios temperatūros skaičiuoklė, arba pasirinkite „Negative“ (neigiama), kad didžiausios temperatūros skaičiuoklės duomenys būtų rodomi po lydymosi ribinės reikšmės linija.
  - Atidarykite langą „Trace Styles“ (pėdsakų stiliai), kuriame galima keisti pėdsakų, rodomų kortelėse „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) ir „Melt Peak“ (didžiausia lydymosi temperatūra), spalvą.
  - Parinkiklyje „Step Number“ (veiksmo numeris) pasirinkite numerį ir peržiūrėkite „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) duomenis kitame protokolo veiksmo. Sąraše rodomi keli veiksmai, jeigu į protokolą įtraukti plokštelių nuskaitymai keliuose lydymosi kreivės veiksmuose.
  - Pasirinkite šulinėlius šulinėlių parinkiklyje, norėdami susikonscentruoti į duomenų pogrupius.
  - Pasirinkite šulinėlių grupę, kurios šulinėlių pogrupį norite peržiūrėti ir analizuoti plokštelėje. Pasirinkite kiekvieną šulinėlių grupę pagal pavadinimą įrankių juostoje esančiame išskleidžiamajame meniu „Well Group“ (šulinėlių grupė).

## Kortelė „Melt Curve Data“ (lydymosi kreivės duomenys)

Kortelėje „Melt Curve Data“ (lydymosi kreivės duomenys) rodomi duomenys iš kortelės „Melt Curve“ (lydymosi kreivė), pateikiami keliose skaičiuoklėse, apimančiose visus kiekvienos kreivės didžiausios lydymosi temperatūros duomenis. „CFX Manager Dx“ programinėje įrangoje yra keturios skaičiuoklių, kuriose galima peržiūrėti lydymosi kreivės duomenis, parinktys:

- „Melt Peaks“ (didžiausia lydymosi temperatūra) – rodomi visi duomenys, įskaitant visus kiekvienos kreivės didžiausios lydymosi temperatūros duomenis. Tai numatytasis rodinys.
- „Plate“ (plokštelė) – rodomas kiekvieno šulinėlio plokštelėje duomenų ir turinio rodinys.
- RFU – rodomi kiekvieno šulinėlio RFU kiekiai kiekvienoje temperatūroje.
- $-d(\text{RFU})/dT$  – rodomas neigiamas RFU pokyčio, keičiantis temperatūrai (T), rodiklis. Tai pirmasis kiekvieno šulinėlio plokštelėje regresijos grafikas.

Pasirinkite kiekvieną skaičiuoklę iš išplečiamojo sąrašo, kuris rodomas po kortelę „Melt Curve Data“ (lydymosi kreivės duomenys).

## Skaičiuoklė „Melt Peaks“ (didžiausia lydymosi temperatūra)

Skaičiuoklėje „Melt Peaks“ (didžiausia lydymosi temperatūra) rodomi visi lydymosi kreivės duomenys.

| Well | Fluor | Target | Content | Sample | Melt Temperature | Peak Height | Begin Temperature | End Temperature |
|------|-------|--------|---------|--------|------------------|-------------|-------------------|-----------------|
| A01  | SYBR  | Actin  | Unkn-1  | 0Hr    | 84.00            | 1497.19     | 78.00             | 88.50           |
| A02  | SYBR  | Actin  | Unkn-2  | 1Hr    | 84.00            | 1426.57     | 78.50             | 94.00           |
| A03  | SYBR  | Actin  | Unkn-3  | 2Hr    | 84.00            | 1492.53     | 78.50             | 91.00           |
| B01  | SYBR  | Actin  | Unkn-1  | 0Hr    | 84.00            | 1408.73     | 78.50             | 92.50           |
| B02  | SYBR  | Actin  | Unkn-2  | 1Hr    | 84.00            | 1510.77     | 78.00             | 89.00           |
| B03  | SYBR  | Actin  | Unkn-3  | 2Hr    | 84.00            | 1493.25     | 78.00             | 88.50           |
| C01  | SYBR  | Actin  | Unkn-1  | 0Hr    | 84.00            | 1521.98     | 78.50             | 91.50           |
| C02  | SYBR  | Actin  | Unkn-2  | 1Hr    | 84.00            | 1618.79     | 78.00             | 90.00           |
| C03  | SYBR  | Actin  | Unkn-3  | 2Hr    | 84.00            | 1581.56     | 78.00             | 89.00           |
| D01  | SYBR  | Actin  | Std-1   | dil-1  | 84.00            | 1100.08     | 79.00             | 94.00           |

25 lentelė, p. 214 apibūdinami duomenys, kurie pateikiami skaičiuoklėje „Melt Peaks“ (didžiausia lydymosi temperatūra).

**25 lentelė. Skaičiuoklės „Melt Peaks“ (didžiausia lydymosi temperatūra) turinys**

| Informacija   | Aprašymas   |
|---|---|
| „Well“ (šulinėlis)  | Šulinėlio padėtis plokštelėje   |
| „Fluor“ (fluoroforas)                                     | Aptiktas fluoroforas  |
| „Content“ (turinys)                                       | Mėginio tipas, nurodytas lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)                        |
| „Target“ (tikslas)  | Amplifikavimo tikslas (genas)   |
| „Sample“ (mėginys)  | Mėginio pavadinimas, nurodytas lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)                  |
| „Melt Temperature“ (lydymosi temperatūra)                 | Kiekvieno produkto lydymosi temperatūra, nurodyta kaip viena didžiausia skaičiuoklės eilutėje |
| „Peak Height“ (didžiausios temperatūros viršūnės aukštis) | Didžiausios temperatūros viršūnės aukštis   |
| „Begin Temperature“ (pradžios temperatūra)                | Temperatūra viršūnės pradžioje  |
| „End Temperature“ (pabaigos temperatūra)                  | Temperatūra viršūnės pabaigoje  |

## Skaičiuoklė „Plate“ (plokštelė)

Skaičiuoklėje „Plate“ (plokštelė) rodomi lydymosi kreivės duomenys plokštelės formatu.

|   |         | 1      | 2      | 3      | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---|---------|--------|--------|--------|---|---|---|---|---|---|----|----|
| A | Content | Unkn-1 | Unkn-2 | Unkn-3 |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Sample  | 0Hr    | 1Hr    | 2Hr    |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 1  | 84.00  | 84.00  | 84.00  |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 2  | None   | None   | None   |   |   |   |   |   |   |    |    |
| B | Content | Unkn-1 | Unkn-2 | Unkn-3 |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Sample  | 0Hr    | 1Hr    | 2Hr    |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 1  | 84.00  | 84.00  | 84.00  |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 2  | None   | None   | None   |   |   |   |   |   |   |    |    |
| C | Content | Unkn-1 | Unkn-2 | Unkn-3 |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Sample  | 0Hr    | 1Hr    | 2Hr    |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 1  | 84.00  | 84.00  | 84.00  |   |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 2  | None   | None   | None   |   |   |   |   |   |   |    |    |

**Pastaba.** Jei norite koreguoti programinės įrangos apibrėžiamą smailę, pakoreguokite kortelėje „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) esančios diagramos „Melt Peak“ (didžiausia lydymosi temperatūra) linijos ribinę reikšmę.

26 lentelė, p. 215 apibūdinti duomenys, kurie rodomi skaičiuoklėje „Plate“ (plokštelė).

**26 lentelė. Skaičiuoklės „Plate“ (plokštelė) turinys**

| Informacija                            | Aprašymas   |
|--|---|
| „Content“ (turinys)                    | Mėginio tipo (privalomas) ir kopijų Nr. (pasirinktinai) derinys |
| „Sample“ (mėginys)                     | Mėginio aprašymas   |
| „Peak 1“<br>(1 didžiausia temperatūra) | Pirmoji pagal didumą lydymosi temperatūra (aukščiausia)         |
| „Peak 2“<br>(2 didžiausia temperatūra) | Antroji pagal didumą lydymosi temperatūra (žemesnė)             |

## RFU skaičiuoklė

RFU skaičiuoklėje rodoma kiekvieno šulinėlio fluorescencija kiekvieno ciklo, kuris nustatomas lydymosi kreivėje, metu.

27 lentelė apibūdinami duomenys, kurie rodomi RFU skaičiuoklėje.

**27 lentelė. RFU skaičiuoklės turinys**

| Informacija  | Aprašymas  |
|--|--|
| „Well number (A1, A2, A3, A4, A5)“<br>(šulinėlio numeris (A1, A2, A3, A4, A5)) | Šulinėlio padėtis plokštelėje įkeltų šulinėlių atveju  |
| „Temperature“ (temperatūra)  | Amplifikuoto tikslo, pateikiamo kaip vienas šulinėlis kiekvienai eilutei ir keli šulinėliai keliems produktams tame pačiame šulinėlyje, lydymosi temperatūra |

## -d(RFU)/dT skaičiuoklė

d(RFU)/dT skaičiuoklėje rodomas neigiamas RFU pokyčio dydis keičiantis temperatūrai (T).

| Temperature | A1  | A2   | A3  | B1   | B2  | B3  | C1  | C2  | C3  | D1   | D2  | D3  | D4  | D5  |
|-------------|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| 55.00       | 105 | 95.0 | 101 | 99.5 | 119 | 115 | 107 | 125 | 120 | 77.8 | 104 | 103 | 121 | 114 |
| 55.50       | 227 | 206  | 219 | 215  | 258 | 249 | 231 | 271 | 260 | 169  | 225 | 224 | 263 | 246 |
| 56.00       | 210 | 190  | 202 | 199  | 238 | 230 | 214 | 250 | 240 | 156  | 207 | 207 | 243 | 227 |
| 56.50       | 210 | 190  | 202 | 199  | 238 | 230 | 214 | 250 | 240 | 156  | 207 | 207 | 243 | 227 |
| 57.00       | 210 | 190  | 202 | 199  | 238 | 230 | 214 | 250 | 240 | 156  | 207 | 207 | 243 | 227 |
| 57.50       | 209 | 189  | 202 | 198  | 238 | 229 | 213 | 250 | 239 | 154  | 206 | 206 | 242 | 227 |
| 58.00       | 214 | 193  | 204 | 202  | 242 | 232 | 215 | 253 | 243 | 164  | 214 | 210 | 245 | 231 |
| 58.50       | 222 | 200  | 210 | 209  | 247 | 237 | 221 | 260 | 249 | 184  | 228 | 219 | 249 | 237 |

28 lentelė apibrėžiami duomenys, kurie pateikiami -d(RFU)/dT skaičiuoklėje.

### 28 lentelė. Skaičiuoklės -d(RFU)/dT turinys

| Informacija  | Aprašymas   |
|--|---|
| „Well number (A1, A2, A3, A4, A5)“<br>(šulinėlio numeris (A1, A2, A3, A4, A5)) | Šulinėlio padėtis plokštelėje įkeltų šulinėlių atveju   |
| „Temperature -d(RFU)/dT“<br>(temperatūros riba -d(RFU)/dT)                     | Neigiamas RFU pokyčio dydis keičiantis temperatūrai (T) |

## Kortelė „End Point“ (pabaigos taškas)

Atverkite kortelę „End Point“ (pabaigos taškas) ir analizuokite mėginių šulinėlių galutinius santykinius fluorescencijos vienetus (RFU). Programinė įranga šulinėlių su nežinomais mėginiais RFU lygius palygina su neigiamos kontrolės šulinėlių RFU lygiais ir nežinomą „pavadina“ teigiamu arba neigiamu. Teigiamų mėginių RFU vertė yra didesnė nei neigiamos kontrolės vidutinė RFU vertė plus ribinė vertė.

| Well | Fluor | Content  | Sample | End RFU | Call         |
|------|-------|----------|--------|---------|--------------|
| C03  | HEX   | Std-1    |        | 15271   | (+) Positive |
| C04  | HEX   | Std-2    |        | 10788   | (+) Positive |
| C05  | HEX   | Std-3    |        | 6245    | (+) Positive |
| C06  | HEX   | Std-4    |        | 4035    | (+) Positive |
| C07  | HEX   | Neg Ctrl |        | 1887    |              |
| D03  | HEX   | Std-1    |        | 15193   | (+) Positive |
| D04  | HEX   | Std-2    |        | 10781   | (+) Positive |
| D05  | HEX   | Std-3    |        | 6294    | (+) Positive |
| D06  | HEX   | Std-4    |        | 4013    | (+) Positive |
| D07  | HEX   | Neg Ctrl |        | 1882    |              |
| E03  | HEX   | Std-1    |        | 14530   | (+) Positive |
| E04  | HEX   | Std-2    |        | 10240   | (+) Positive |
| E05  | HEX   | Std-3    |        | 5838    | (+) Positive |
| E06  | HEX   | Std-4    |        | 3896    | (+) Positive |
| E07  | HEX   | Neg Ctrl |        | 1882    |              |
| F03  | HEX   | Std-1    |        | 14055   | (+) Positive |
| F04  | HEX   | Std-2    |        | 9932    | (+) Positive |
| F05  | HEX   | Std-3    |        | 5826    | (+) Positive |
| F06  | HEX   | Std-4    |        | 3964    | (+) Positive |
| F07  | HEX   | Neg Ctrl |        | 1883    |              |

Norint išanalizuoti galutinio taško duomenis, plokštelėje turi būti neigiamų kontrolių arba programinė įranga negalės atlikti užklauso. Paleiskite vieną iš šių tipų protokolų:

- Paleiskite „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) protokolą – nustatykite standartinį protokolą. Baigę paleidimą atverkite langą „Data Analysis“ (duomenų analizė), kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) koreguokite duomenų analizės nuostatas, tada spustelėkite kortelę „End Point“ (pabaigos taškas) ir pasirinkite pabaigos taško ciklą.
- Paleiskite protokolą „End Point Only“ (tik pabaigos taškas) – protokolą „End Point Only“ (tik pabaigos taškas) įkelkite į lango „Run Setup“ (paleidimo sąranka) plokštelės kortelę ir pradėkite paleidimą.

Kortelėje „End Point“ (pabaigos taškas) rodomos vidutinės RFU vertės, skirtos nustatyti, ar tikslas buvo amplifikuotas paskutiniu (pabaigos) ciklu. Šiuos duomenis naudokite nustatyti, ar mėginyje yra konkreti tikslo seka (teigiama). Teigiamų tikslų RFU vertės yra didesnės nei jūsų nustatyta ribinė vertė.

**Patarimas.** Norėdami sukurti pabaigos taško protokolą, atverkite protokolo kortelę (langas „Run Setup“ (paleidimo sąranka)) ir pasirinkite „Run“ > End Point Only Run“ (paleidimas > tik galutinio taško paleidimas).

Kai paleidimas baigiamas, duomenų failas atveriamas kortelėje „End Point“ (pabaigos taškas), kurią sudaro šie skyriai:

- „Settings“ (nuostatos) c koreguojamos duomenų analizės nuostatos.
- „Results“ (rezultatai) – rezultatai, rodomi iš karto jums pakoregavus nuostatas.
- „Well Selector“ (šulinėlių parinkiklis) – pasirenkami šulinėliai su pabaigos taško duomenimis, kuriuos norite parodyti.
- „RFU spreadsheet“ (RFU skaičiuoklė) – rodomi pabaigos RFU, gauti pasirinktuose šulinėliuose.

## Rezultatų duomenys

Skyriuje „Results“ (rezultatai) pateikiami šie duomenys:

- „Lowest RFU value“ (mažiausia RFU vertė) – mažiausia RFU vertė duomenyse
- „Highest RFU value“ (didžiausia RFU vertė) – didžiausia RFU vertė duomenyse
- „Negative Control Average“ (neigiamos kontrolės vidurkis) – vidutinis šulinėlių, kuriuose yra neigiamos kontrolės, RFU
- „Cut Off Value“ (ribinė vertė) – apskaičiuojama sudedant leistiną nuokrypį (intervalo, pateikto nuostatose, RFU arba „Percentage“ (procentas)) ir neigiamos kontrolės vidurkį. Mėginiai, kurių RFU didesni nei ribinė vertė, bus laikomi teigiamais. Norėdami pakoreguoti ribinę vertę, pakeiskite RFU arba „Percentage of Range“ (intervalo procentas).

„Cut Off Value“ (ribinė vertė) apskaičiuojama taikant šią formulę:

$$\text{Ribinė vertė} = \text{neigiamos kontrolės vidurkis} + \text{leistinas nuokrypis}$$

Leistiną nuokrypį pasirinkite vienu iš šių būdų:

- RFU (numatytoji nuostata) – pasirinkite šį metodą ir naudokite absoliučią leistinojo nuokrypio RFU vertę. Mažiausia RFU leistinojo nuokrypio vertė yra 2. Didžiausia yra didžiausia RFU absoliuti vertė minus mažiausia RFU absoliuti vertė. Numatytoji RFU leistinojo nuokrypio vertė yra 10 % bendrojo RFU intervalo.
- „Percent of Range“ (intervalo procentas) – pasirinkite šį metodą ir leistinajam nuokrypiui taikykite RFU intervalo procentą. Minimalus intervalo procentas yra 1 %. Maksimalus intervalo procentas yra 99 %. Numatytasis intervalo procentas yra 10 %.



## Pabaigos taško duomenų analizės keitimas

### Kaip keisti duomenis kortelėje „End Point“ (pabaigos taškas)

- ▶ Atlikite toliau nurodytus veiksmus:
  - Išplečiamajame sąraše pasirinkite fluoroforą.
  - Pasirinkite reikšmę „End Cycle to Average“ (pabaigos taško vidurkio ciklų skaičius), norėdami nustatyti ciklų skaičių, pagal kurį skaičiuojamas vidutinis pabaigos taško RFU.
  - Pasirinkite RFU, norėdami peržiūrėti duomenis santykiniais fluorescencijos vienetais.
  - Pasirinkite „Percentage of Range“ (intervalo procentas), norėdami peržiūrėti duomenis kaip RFU intervalo procentą.
  - Pasirinkite šulinėlius šulinėlių parinkiklyje, norėdami susikoncentruoti į duomenų pogrupius.
  - Pasirinkite šulinėlių grupę, kurios šulinėlių pogrupį norite peržiūrėti ir analizuoti plokštelėje. Pasirinkite kiekvieną šulinėlių grupę pagal pavadinimą įrankių juostoje esančiame išskleidžiamajame meniu „Well Group“ (šulinėlių grupė).

## RFU skaičiuoklė, skirta pabaigos taško analizei

29 lentelė apibūdinami duomenys, kurie rodomi RFU skaičiuoklės kortelėje „End Point“ (pabaigos taškas).

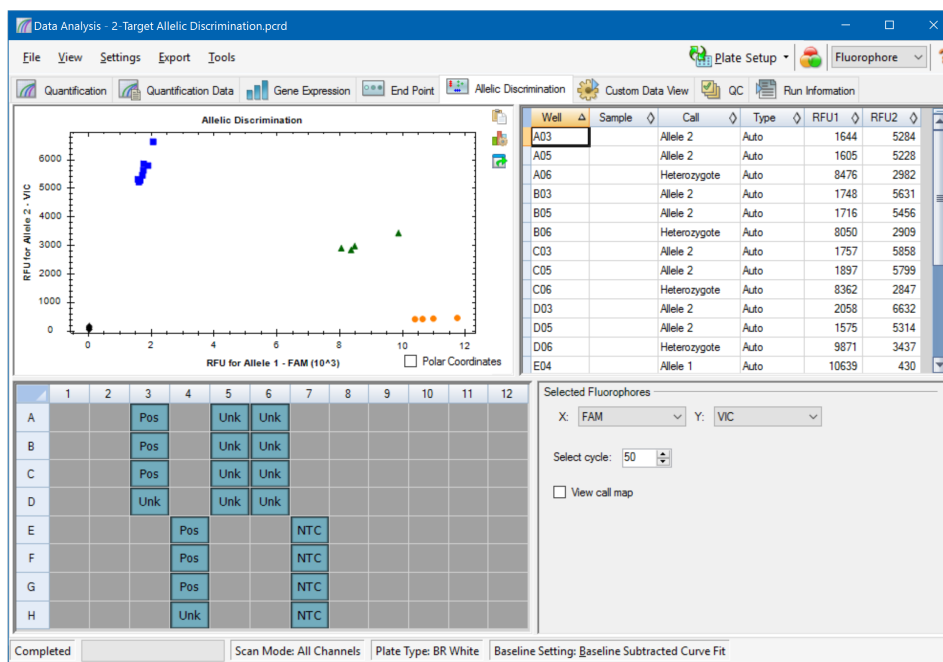
29 lentelė. „End Point“ (pabaigos taškas) skaičiuoklės turinys

| Informacija              | Aprašymas   |
|--------------------------|---|
| „Well“ (šulinėlis)       | Šulinėlio padėtis plokštelėje   |
| „Fluor“ (fluoroforas)    | Aptiktas fluoroforas  |
| „Content“ (turinys)      | Mėginio tipo ir kopijų Nr. derinys  |
| „End RFU“ (pabaigos RFU) | RFU galiniame ciklo taške   |
| „Call“ (paskyrimas)      | Teigiamas arba neigiamas, kai teigiamų mėginių RFU reikšmė yra didesnė už vidutinės neigiamų kontrolinių elementų RFU reikšmės ir ribinės reikšmės sumą |
| „Sample“ (mėginys)       | Mėginio pavadinimas, įkeltas į langą „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius)  |

## Kortelė „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija)

Kortelėje „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) šulinėliams su nežinomais mėginiais priskiriami genotipai. Remdamiesi šiais duomenimis, galite nustatyti mėginius su įvairiais genotipais, įskaitant „Allele 1“ (1-asis alelis), „Allele 2“ (2-asis alelis), „Heterozygote“ (heterozigota), „No Call“ (jokio paskyrimo) arba „Undetermined“ (nenustatyta).

**Pastaba.** Alelių diskriminacijos duomenys turi būti gaunami iš daugkartinių paleidimų su mažiausiai dviem fluoroforais. Kiekvienas fluoroforas identifikuoja vieną alelį visuose mėginiuose.



Alelių diskriminacijos analizei reikalingas minimalus šulinėlių turinys:

- Du fluoroforai kiekviename šulinėlyje
- NTC (nėra šablono kontrolės) mėginiai optimizuotai duomenų analizei

CFX Manager Dx programinė įranga siūlo keturis variantus alelių diskriminacijos duomenims peržiūrėti:

- Diagramoje „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) RFU grafiko forma rodomi pirmojo ir (arba) antrojo alelio duomenys. Kiekvienas grafiko taškas rodo abiejų viename šulinėlyje esančių fluoroforų duomenis. Koordinates galite perjungti iš Dekarto į polines ir atvirkščiai, pasirinkdami ir išvalydami žymės langelį „Polar Coordinates“ (polinės koordinatės). Dekarto koordinatinių sistemoje x ašyje pateikiamas pirmojo, o y – antrojo alelio RFU. Polinių koordinatinių sistemoje x ašyje pateikiamas kampas, o y – atstumas tarp atskaitos taško ir RFU (visų NTC mediana).
- „Well spreadsheet“ (šulinėlių skaičiuoklė) rodomi alelių diskriminacijos duomenys, surinkti kiekviename plokštelės šulinėlyje.
- „Well selector“ (šulinėlių parinkiklis) leidžia pasirinkti šulinėlius su norimais rodyti alelių duomenimis.
- „Selected Fluorophores panel“ (pasirinktų fluoroforų skydelis) keičiamos alelių diskriminacijos diagramos x ir y ašių etiketės, analizuojamas ciklas ir nustatoma, ar rodyti paskyrimo schemą.

## Alelių diskriminacijos duomenų koregavimas

Programinė įranga automatiškai priskiria genotipą šulinėliams su nežinomais mėginiais atsižvelgdama į NTC padėtis ir nežinomų duomenų taškų padėtį bei kampą ir atstumą nuo NTC.

### Kaip koreguoti alelių diskriminacijos duomenis

- ▶ Atlikite toliau nurodytus veiksmus:
  - Kad būtų rodomos polinės koordinatės, diagramoje „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) pažymėkite žymės langelį.
  - Kad peržiūrėtumėte kitą fluoroforą, jį pasirinkite išplečiamajame sąrašė skydelyje „Selected Fluorophores“ (pasirinkti fluoroforai).
  - Norėdami pakeisti paskyrimą, diagramoje „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) vilkite žymeklį per duomenų elementą (-us) ir pasirinktų šulinėlių sąrašė pasirinkite parinktį:
    - „Allele 1“ (1-asis alelis)
    - „Allele 2“ (2-asis alelis)
    - „Heterozygote“ (heterozigota)

10 skyrius. Išsami duomenų analizės informacija

- „Undetermined“ (nenustatyta)
- „No Call“ (nėra paskyrimo)
- „Auto Call“ (automatinis paskyrimas)

**Patarimas.** Pasirinkite „Auto Call“ (automatinis paskyrimas) ir pakeiskite į numatytąjį paskyrimą.

## Diagramos meniu parinktys

Papildomai įprastai dešiniuoju klavišu atidaromo diagramos meniu parinktims (žr. [Bendrieji pelės dešiniojo mygtuko meniu elementai, skirti diagramoms, p. 188](#)), [30 lentelė](#) išvardytos galimos diagramos „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) meniu parinktys.

### 30 lentelė. Diagramos „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) meniu dešinėje ir kairėje parinktys

| Meniu parinktis                          | Funkcija  |
|--|---|
| „Zoom“ (keisti mastelį)                  | Diagramos vaizdą fokusuoja pasirinktoje srityje (spustelint žymeklį ir jį patraukiant diagramoje).<br><b>Patarimas.</b> Kad atkurtumėte mastelį ir būtų rodomi visi duomenų taškai, spustelėkite dešinįjį klavišą ir pasirinkite „Set Scale to Default“ (nustatyti mastelį į numatytąjį). |
| „Well“ (šulinėlis)                       | Pasirinktų šulinėlių galimos funkcijos: rodyti tik šiuos šulinėlius, pašalinti šį šulinėlį iš vaizdo, nustatyti šio pėdsako spalvą arba šį šulinėlį pašalinti iš analizės.  |
| „Selected Wells“ (pasirinkti šulinėliai) | Pasirinktų šulinėlių (pasirenkami spustelint ir patraukiant žymeklį diagramoje) parinktys yra: rodyti tik šiuos šulinėlius, šiuos šulinėlius pašalinti iš vaizdo, nustatyti šių pėdsakų spalvas arba šiuos šulinėlius pašalinti iš analizės.  |

## „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) skaičiuoklė

[31 lentelė](#) apibrėžiami duomenys, kurie pateikiami „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) skaičiuoklėje.

### 31 lentelė. „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) skaičiuoklės turinys

| Informacija         | Aprašymas  |
|---------------------|--|
| „Well“ (šulinėlis)  | Šulinėlio padėtis plokštelėje  |
| „Sample“ (mėginys)  | Mėginio pavadinimo aprašymas   |
| „Call“ (paskyrimas) | Identifikuokite alelį, įskaitant automatinį „Allele 1“ (1-asis alelis), „Allele 2“ (2-asis alelis), „Heterozygote“ (heterozigota), „No Call“ (jokio paskyrimo) arba „Undetermined“ (nenustatyta) |

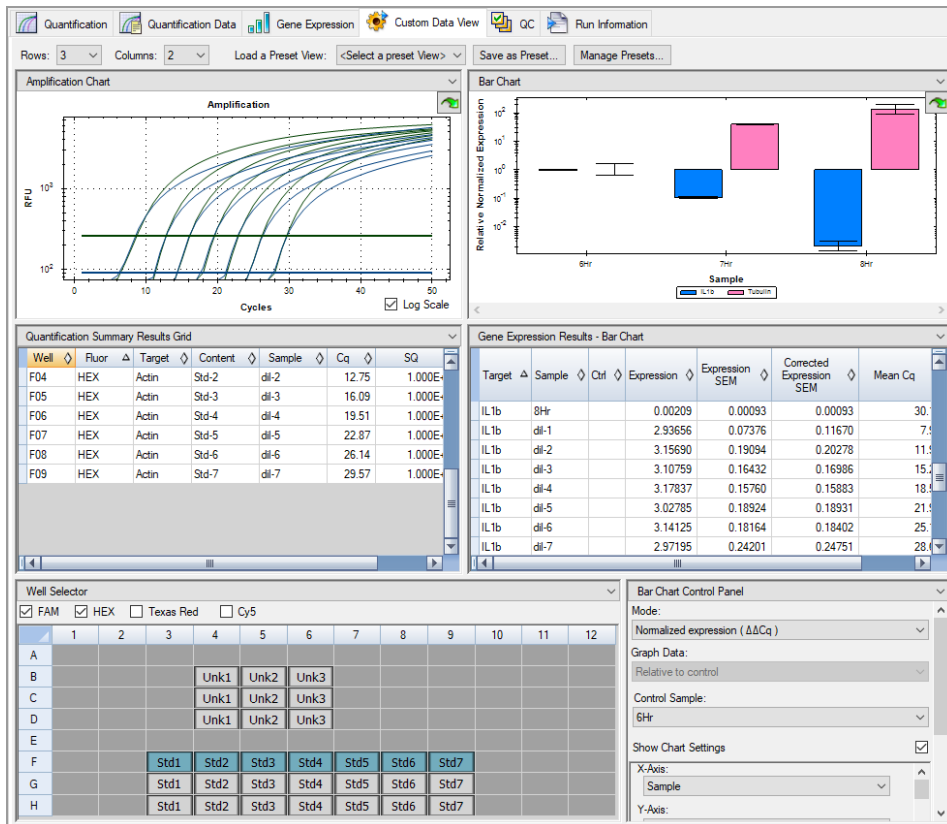
**31 lentelė. „Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija) skaičiuoklės turinys (tęsinys)**

| <b>Informacija</b> | <b>Aprašymas</b>  |
|--------------------|---|
| „Type“ (tipas)     | Automatinis arba rankinis – taip apibūdinama, kaip buvo atliktas paskyrimas. Automatinis reiškia, kad programinė įranga pasirinko paskyrimą. Rankinis reiškia, kad paskyrimą pasirinko naudotojas |
| RFU1               | RFU 1-ajam aleliui  |
| RFU2               | RFU 2-ajam aleliui  |

## Kortelė „Custom Data View“ (pasirinktinių duomenų rodymas)

Kortelėje „Custom Data View“ (pasirinktinių duomenų rodymas) vienu metu rodomos kelios sritys pritaikomu formatu.

Išplečiamajame sąraše „Load a Preset View“ (įkelti iš anksto nustatytą rodinį) pateikiama įvairių rodinų formatų šablonų. Numatytasis rodinys parenkamas priklausomai nuo analizuojamo failo rūšies. Pavyzdžiui, jei pateikiami kortelės „Melt Curve“ (lydymosi kreivė) duomenys, parodomas numatytasis Amp+Melt rodinys.



## Pasirinktinių duomenų rodinio sukūrimas

### Kaip sukurti pasirinktinių duomenų rodinį

- ▶ Atlikite toliau nurodytus veiksmus:
  - Išplečiamajame sąraše pasirinkite kitą iš anksto nustatytą rodinį.
  - Išplečiamajame sąraše, esančiame kiekvienos atskiros srities viršuje, pasirinkite kitą diagramos rodinį.
  - Pakeiskite eilučių ir stulpelių skaičių kortelėje.
  - Pakeiskite atskiros srities matmenis. Vilkite juostas kiekvienos srities pakraštyje.

Spustelėkite „Save as Preset“ (įrašyti kaip išankstinę nuostatą), kad įrašytumėte pasirinktą rodinį kaip iš anksto nustatytą šabloną. Jei norite pašalinti, pervardyti arba atkurti esamus iš anksto nustatytus rodinis, spustelėkite „Manage Presets“ (valdyti išankstines nuostatas).

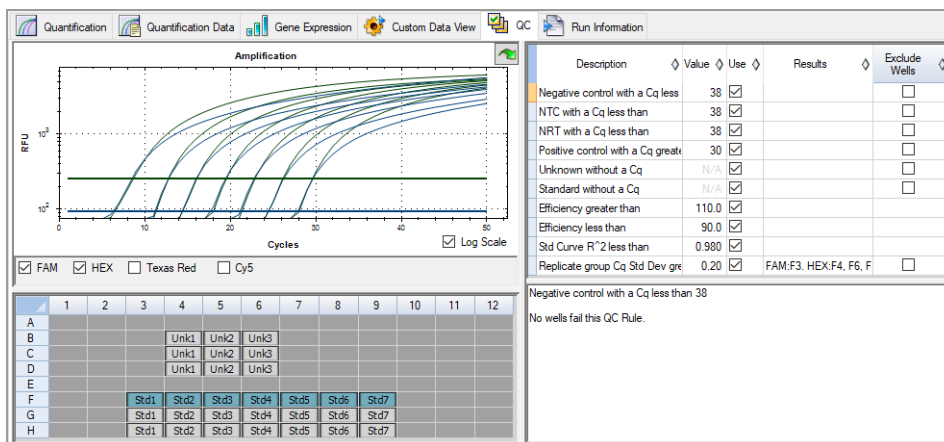


## Kortelė QC (KK)

Kortelėje QC (KK) galite greitai įvertinti paleidimo duomenų kokybę, remdamiesi taisyklėmis, nustatytomis kortelėje QC (KK).

CFX Manager Dx programinė įranga siūlo keturis variantus QC (KK) duomenims peržiūrėti:

- **„Amplification chart“ (amplifikavimo diagrama)** – kiekvienam šulinėliui kiekviename cikle rodomas RFU. Kiekvienas pėdsakas diagramoje reiškia duomenis iš atskiro fluoroforo viename šulinėlyje.
- **„QC rules table“ (KK taisyklių lentelė)** – rodomos taikomos QC (KK) taisyklės ir nuostatos, kuriomis apibrėžiama kiekviena taisyklė. Galiojančios QC (KK) taisyklės nurodomos varnele.
- **„Well selector“ (šulinėlių parinkiklis)** – pasirenkami šulinėliai su fluorescenciniais duomenimis, kuriuos norite parodyti.
- **„QC rule summary pane“ (KK taisyklių santraukos sritis)** – rodoma pasirinkta QC (KK) taisyklė ir paryškunami šulinėliai, kurie neatitinka taisyklės.



## QC (KK) kriterijų keitimas

### Kaip keisti QC (KK) kriterijus

- ▶ Pažymėkite arba išvalykite taisyklės, kurią norite įtraukti į QC (KK) arba pašalinti iš jo, žymės langelyje „Use“ (naudoti).

## Šulinėlių, kurie neatitinka QC (KK), pašalinimas

CFX Manager Dx programinė įranga rezultatų stulpelyje QC (KK) taisyklių lentelėje ir santraukos srityje parodo šulinėlius, kurie neatitinka QC (KK) kriterijų.

### Šulinėlių, kurie neatitinka QC (KK) kriterijų, pašalinimas

- ▶ Prie kiekvieno šalinamo šulinėlio pasirinkite „Exclude Wells“ (pašalinti šulinėlius).

## Kortelė „Run Information“ (paleidimo išsami informacija)

Kortelėje „Run Information“ (paleidimo išsami informacija) rodomas protokolas ir kita informacija apie kiekvieną paleidimą. Veiksmai, kuriuos galima atlikti šioje kortelėje:

- Peržiūrėti protokolą
- Įvesti arba redaguoti paleidimo pastabas
- Įvesti arba redaguoti paleidimo ID arba brūkšninį kodą
- Peržiūrėti įvykius, kurie įvyko per paleidimą. Naudokite šiuos pranešimus paleidimo problemoms spręsti.

**Patarimas.** Paspauskite protokolą dešiniuoju pelės mygtuku, norėdami jį kopijuoti, eksportuoti arba spausdinti. Dešiniuoju pelės mygtuku spauskite sritis „Notes“ (pastabos), „ID/Bar Code“ (ID / brūkšninis kodas) arba „Other“ (kita), kad iškirptumėte, kopijuotumėte, įklijuotumėte, pašalintumėte arba pasirinktumėte tekstą.

The screenshot displays the 'Run Information' window for a protocol named 'CFX\_2stepAmp50.1 min.pcl'. The interface includes a graph showing fluorescence intensity over time, divided into four steps. Below the graph is a table of the protocol steps:

| Step         | Intensity | Channel | Duration      |
|--------------|-----------|---------|---------------|
| 1            | 95.0      | C       | for 3:00      |
| 2            | 95.0      | C       | for 0:10      |
| 3            | 55.0      | C       | for 1:00      |
| + Plate Read |           |         |               |
| 4            | GOTO 2    |         | 49 more times |
| END          |           |         |               |

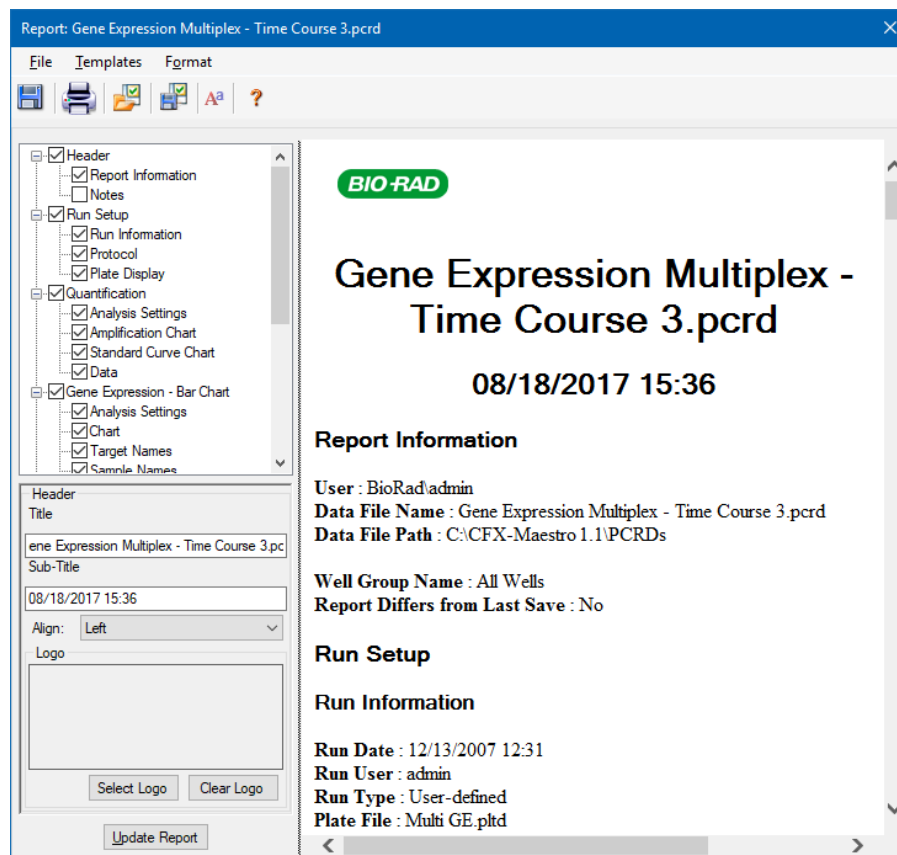
On the right side of the window, there are sections for 'Notes' (containing an example of an artificial time course), 'ID/Bar Code', and 'Other' (containing run details such as 'Run Started: 12/13/2007 12:31:47 PM', 'User: admin', and 'Plate File: Multi GE.pld').

## Duomenų analizės ataskaitos

Dialogo lange „Report“ (ataskaita) rodoma informacija apie esamą duomenų failą lange „Data Analysis“ (duomenų analizė). Norėdami atverti ataskaitą, pasirinkite „Tools > Reports“ (įrankiai > ataskaitos).

Dialogą „Report“ (ataskaita) sudaro šie skyriai:

- Meniu ir įrankių juosta – pateikia ataskaitos ar šablono formato, įrašymo ir spausdinimo parinkčių.
- Parinkčių sąrašas (dialogo lango viršutinė kairė pusė) – pateikia ataskaitos pateikimo parinkčių.
- Parinkčių sritis (dialogo lango apatinė kairė pusė) – rodomi tekstiniai langeliai, kuriuose galite įrašyti informaciją apie pasirinktą parinktį.
- Peržiūros sritis (dialogo lango dešinė pusė) – rodoma esamos ataskaitos peržiūra.



## Duomenų analizės ataskaitų kategorijos

32 lentelė išvardytos visos parinktys, galimos duomenų analizės ataskaitoje, priklausomai nuo lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) esančių duomenų tipo.

**32 lentelė. Duomenų analizės ataskaitų kategorijos parinkčių sąrašas**

| Kategorija                                       | Parinktis                                      | Aprašymas   |
|--|--|---|
| <b>„Header“ (antraštė)</b>                       |  |   |
|  |  | Ataskaitos antraštė, poantraštė ir logotipas  |
|  | „Report Information“ (ataskaitos informacija)  | Paleidimo data, vartotojo vardas, duomenų failo pavadinimas, duomenų failo kelias ir pasirinktų šulinėlių grupė |
|  | „Audit Information“ (audito informacija)       | Papildoma informacija, kurios reikia auditui atlikti, įskaitant parašus   |
|  | „Notes“ (pastabos)                             | Pastabos apie duomenų ataskaitą   |
| <b>„Run Setup“ (paleidimo sąranka)</b>           |  |   |
|  | „Run Information“ (paleidimo informacija)      | Paleidimo data, vartotojo vardas, duomenų failo pavadinimas, duomenų failo kelias ir pasirinktų šulinėlių grupė |
|  | „Protocol“ (protokolas)                        | Protokolo veiksmų ir parinkčių tekstinis vaizdas  |
|  | „Plate Display“ (plokštelės rodmuo)            | Informacijos plokštelės vaizdas kiekviename plokštelės šulinėlyje   |
| <b>„Quantification“ (kiekybinis įvertinimas)</b> |  |   |
|  | „Analysis Settings“ (analizės nuostatos)       | Duomenų rinkimo veiksmo numeris, analizės režimas ir pradinio taško atėmimo metodas                             |
|  | „Amplification Chart“ (amplifikavimo diagrama) | Amplifikavimo diagrama paleidimams, kurie apima kiekybinio įvertinimo duomenis                                  |

**32 lentelė. Duomenų analizės ataskaitų kategorijos parinkčių sąrašė (tęsinys)**

| Kategorija  | Parinktis   | Aprašymas  |
|---|---|--|
|   | „Standard Curve Chart“<br>(standartinės kreivės diagrama) | Standartinės kreivės diagrama  |
|   | „Data“ (duomenys)   | Skaičiuoklėje išvardyti kiekvieno šulinėlio duomenys                           |
| <b>Stulpelinė diagrama „Gene Expression“ (geno ekspresija)</b>                  |   |  |
|   | „Analysis Settings“ (analizės nuostatos)                  | Analizės režimas, diagramos duomenys, mastelio parinktys ir diagramos paklaida |
|   | „Chart“ (diagrama)  | Stulpelinės diagramos kopija   |
|   | „Target Names“ (tikslų pavadinimai)                       | Tikslų pavadinimų diagrama   |
|   | „Sample Names“ (mėginių pavadinimai)                      | Mėginių pavadinimų diagrama  |
|   | „Data“ (duomenys)   | Skaičiuoklėje išvardyti kiekvieno šulinėlio duomenys                           |
|   | „Target Stability“ (tikslų stabilumas)                    | Tikslų stabilumo reikšmių diagrama   |
| <b>Grupinė diagrama ir taškinė diagrama „Gene Expression“ (geno ekspresija)</b> |   |  |
|   | „Analysis Settings“ (analizės nuostatos)                  | Kiekvieno diagramos tipo nuostatos   |
|   | „Chart“ (diagrama)  | Diagramos kopija   |
|   | „Data“ (duomenys)   | Skaičiuoklėje išvardyti kiekvieno tikslo duomenys                              |
| <b>„Melt Curve“ (lydymosi kreivė)</b>   |   |  |
|   | „Analysis Settings“ (analizės nuostatos)                  | Lydymosi veiksmų skaičius ir ribinės reikšmės juostos nuostata                 |

32 lentelė. Duomenų analizės ataskaitų kategorijos parinkčių sąrašė (tęsinys)

| Kategorija  | Parinktis  | Aprašymas  |
|---|--|--|
|   | „Melt Curve“ (lydymosi kreivės) diagrama                         | Lydymosi kreivės diagrama  |
|   | „Melt Peak“ (didžiausia lydymosi temperatūra) diagrama           | Didžiausia lydymosi temperatūra  |
|   | „Data“ (duomenys)  | Skaičiuoklėje išvardyti kiekvieno šulinėlio duomenys   |
| <b>„Allelic Discrimination“ (alelių diskriminacija)</b> |  |  |
|   | „Analysis Settings“ (analizės nuostatos)                         | Rodomi fluoroforai, ciklas ir vaizdo paskyrimų schema  |
|   | „Allelic Discrimination Chart“ (alelių diskriminacijos diagrama) | Alelių diskriminacijos diagramos kopija  |
|   | „Data“ (duomenys)  | Skaičiuoklėje išvardyti kiekvieno šulinėlio duomenys   |
| <b>„End Point“ (pabaigos taškas)</b>                    |  |  |
|   | „Analysis Settings“ (analizės nuostatos)                         | Fluoroforas, pabaigos ciklai vidurkiui, režimui, mažiausiai RFU vertei, didžiausiai RFU vertei ir vertinimo vertei |
|   | „Data“ (duomenys)  | Skaičiuoklėje išvardyti kiekvieno šulinėlio duomenys   |
| <b>„QC Parameters“ (KK parametrai)</b>                  |  |  |
|   | „Data“ (duomenys)  | Skaičiuoklėje išvardyti parametrai kiekvienai QC (KK) taisyklei  |

## Duomenų analizės ataskaitos kūrimas

Ataskaitos išdėstymą galite įrašyti kaip šabloną, kurį vėl galite naudoti panašioms ataskaitoms.

### Kaip sukurti duomenų analizės ataskaitą

1. Prieš kurdami ataskaitą, atlikite paskutinius šulinėlių turinio, pasirinktų šulinėlių, diagramų ir skaičiuoklių pakeitimus lange „Data Analysis“ (duomenų analizė).
2. Pasirinkite „Tools > Reports“ (įrankiai > ataskaitos) meniu juostoje „Data Analysis“ (duomenų analizė), kad atidarytumėte dialogo langą „Report“ (ataskaita).
3. Pasirinkite parinktis, kurias norite įtraukti į ataskaitą. Ataskaita atidaroma pagal pasirinktas numatytąsias parinktis. Pasirinkite arba išvalykite žymės langelius, kad pakeistumėte visas kategorijas ar atskiras kategorijos parinktis.

**Pastaba.** Ataskaitoje pateikiami duomenys priklauso nuo esamų pasirinkimų kortelėse, esančiose lange „Data Analysis“ (duomenų analizė). Pavyzdžiui, kiekybinio įvertinimo paleistyje gali nebūti standartinės kreivės, todėl šie duomenys nerodomi lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) arba duomenų ataskaitoje.

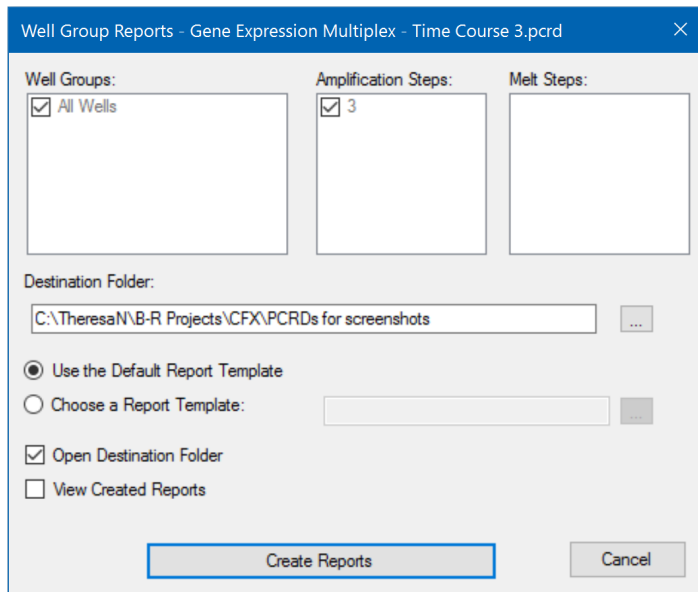
4. Pakeiskite kategorijų ir elementų tvarką ataskaitoje. Vilkite parinktis į santykinę padėtį. Elementus pertvarkyti galima tik tose kategorijose, kurioms jie priklauso.
5. (Neprivaloma) Srityje „Report Options“ (ataskaitų parinktys) įveskite pasirinktai parinkčiai reikalingą informaciją:
  - Pasirinkite informacijos, kurią norite rodyti ataskaitoje, pogrupį.
  - Pasirinkite konkrečias pasirinktos parinkties nuostatas.
  - Pakeiskite tekstą, kuris bus rodomas pasirinktai parinkčiai.
6. Spauskite „Update Report“ (atnaujinti ataskaitą), kad atnaujintumėte „Report Preview“ (ataskaitos peržiūra) su pakeitimais.
7. Spausdinkite arba įrašykite ataskaitą. Paspauskite įrankių juostos mygtuką „Print Report“ (spausdinti ataskaitą), norėdami atspausdinti esamą ataskaitą. Pasirinkite „File > Save“ (failas > įrašyti), kad įrašytumėte ataskaitą PDF („Adobe Acrobat Reader“ failas) formatu, ir pasirinkite, kur norite failą įrašyti. Pasirinkite „File > Save As“ (failas > įrašyti kaip), kad įrašytumėte ataskaitą nauju pavadinimu arba naujoje vietoje.
8. (Neprivaloma) Sukurkite ataskaitos šabloną su norima informacija. Norėdami įrašyti esamas ataskaitos nuostatas šablone, pasirinkite „Template > Save“ (šablonas > įrašyti) arba „Save As“ (įrašyti kaip). Tada įkelkite ataskaitos šabloną kitą kartą, kai norėsite sukurti naują ataskaitą.



## Šulinėlių grupės ataskaitų kūrimas

### Kaip sukurti šulinėlių grupės ataskaitą

1. Lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) pasirinkite „Tools > Well Group Reports“ (įrankiai > šulinėlių grupės ataskaitos).



2. Dialogo lange „Well Groups Reports“ (šulinėlių grupių ataskaitos) pasirinkite šulinėlių grupes, amplifikavimo veiksmus ir lydymosi veiksmus, kuriuos norite įtraukti į ataskaitą.
3. Įveskite kelią arba eikite į paskirties aplanką, kuriame norite įrašyti ataskaitą.
4. (Neprivaloma) Pasirinkite „Choose a Report Template“ (pasirinkti ataskaitos šabloną) ir eikite į šablono failo aplanką.
5. (Neprivaloma) Pasirinkite „Open Destination Folder“ (atidaryti paskirties aplanką), norėdami atidaryti aplanką ir peržiūrėti sugeneruotas ataskaitas.
6. Spauskite „Create Reports“ (sukurti ataskaitas).

10 skyrius. Išsami duomenų analizės informacija

## 11 skyrius. Geno ekspresijos analizė

Naudodamiesi griežtai atrinktomis kontrolės priemonėmis reakcijose, galite naudoti „CFX Manager Dx“ programinę įrangą, kad paleistumėte geno ekspresiją, siekdami normalizuoti santykinius skirtumus tarp tikslo koncentracijų mėginiuose. Paprastai norimo geno ekspresijos lygiams normalizuoti naudojami vieno ar daugiau etaloninių genų ekspresijos lygiai. Etaloniniuose genuose atsižvelgiama į apkrovos skirtumus arba kitus kiekviename mėginyje esančius skirtumus, o jų ekspresijos lygiai neturi būti paveikti tiriamoje biologinėje sistemoje.

Pasirinkite kortelę „Gene Expression“ (geno ekspresija) lange „Data Analysis“ (duomenų analizė), kad įvertintumėte santykinius skirtumus tarp PCR (PGR) reakcijų dviejuose ar daugiau šulinėlių. Pavyzdžiui, galite įvertinti santykinį viruso genomų skaičių arba santykinį transfekuotų sekų skaičių PCR (PGR) reakcijoje. Geno ekspresijos tyrime tai dažniausiai taikoma lyginant cDNA (cDNR) koncentracijas daugiau nei vienoje reakcijoje, siekiant įvertinti pastovios būsenos informacinės RNA (RNR) lygį.

Programinė įrangą apskaičiuoja santykinį tikslo ekspresijos lygį pagal vieną iš šių scenarijų:

- Tikslo sekos santykinis ekspresijos lygis (1 tikslas), lyginant su kitu tikslu (2 tikslas); pavyzdžiui, vieno geno kiekis, lyginant su kitu genu taip pat apdorojamame mėginyje.
- Santykinis vienos tikslo sekos ekspresijos lygis viename mėginyje, lyginant su tuo pačiu tikslu kitaip apdorojamame mėginyje; pavyzdžiui, santykinis vieno geno kiekis, lyginant su tuo pačiu genu skirtingomis laiko, geografinėmis ar vystymosi sąlygomis.

### Plokštelės sąranka geno ekspresijos analizei

Elementai, kurie turi būti šulinėliuose norint atlikti geno ekspresijos analizę:

- Du ar daugiau tikslų – du tikslai, atitinkantys skirtingus amplifikuotus genus ar sekas jūsų mėginiuose.
- Vienas ar daugiau etaloninių tikslų – bent vienas normalizuotos ekspresijos tikslas turi būti etaloninis. Visus etaloninius tikslus priskirkite lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos), kad išanalizuotumėte duomenis režimu „Normalized Expression“ (normalizuota ekspresija) ( $\Delta\Delta C_q$ ). Paleidimai, kuriuose nėra etalono, turi būti analizuojami režimu „Relative Expression“ (santykinė ekspresija) ( $\Delta C_q$ ).

- Bendrieji mėginiai – jūsų reakcijose turi būti bendrų mėginių (mažiausiai du), kad galėtumėte peržiūrėti duomenis kortelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija). Šie mėginiai turi atspindėti įvairius kiekvienos tikslo sekos apdorojimo būdus arba sąlygas. Lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) priskirkite kontrolinį mėginį (neprivaloma). Nepasirinkus kontrolinės imties, programinė įranga vietoj jos pasirenka  $C_q$ .

„Gene Expression“ (geno ekspresija) sąrankos reikalavimai „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) priklauso nuo to, ar reakcijos turinį sudaro vienkartinė PCR (PGR), kurioje dalyvauja vienas fluoroforas, ar daugartinė PCR (PGR), kurioje dalyvauja daugiau nei vienas fluoroforas.

## Interaktyvioji plokštelės sąranka

Jei duomenų failų plokštelės sąrankoje nėra analizei reikalingos informacijos ir pasirinkta kortelė „Gene Expression“ (geno ekspresija), toje vietoje, kurioje paprastai pateikiama stulpelinė diagrama, pateikiami nurodymai, kaip įvesti šią informaciją. Normalizuotai geno ekspresijai atlikite šiuos veiksmus:

1. Nurodykite „Target“ (tikslas) ir „Sample“ (mėginys) pavadinimus naudodami vieną iš šių parinkčių:
  - „Plate Setup“ (plokštelės sąranka) – atidaromas langas „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius).
  - „Replace Plate file“ (pakeisti plokštelės failą) – atidaroma naršyklė „Select Plate“ (pasirinkti plokštelę), kurioje galite pasirinkti anksčiau įrašytą plokštelės failą dabartiniam plokštelės išdėstymui pakeisti.
  - „Replace PrimePCR file“ (keisti PGR pradmenų failą) – atidaromas dialogo langas „Select PrimePCR“ (pasirinkti PGR pradmenis), kuriame galite pasirinkti „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimo failą ir taikyti jį plokštelės išdėstymui.
2. Pasirinkite vieną ar daugiau etaloninių tikslų ir kontrolinį mėginį dialogo lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos).





Jei plokštelės išdėstymo vietoje jau yra tikslo ir mėginio informacija, reikia atlikti tik antrąjį veiksmą, kuris pažymėtas oranžine spalva. Šį veiksmą reikia atlikti prieš normalizuotą geno ekspresijos analizę.

**Pastaba.** grupinės diagramos ir taškinės diagramos duomenys rodomi tik jei išpildomi visi normalizuotos geno ekspresijos reikalavimai, nurodyti geno ekspresijos analizės dalyje „Plate Setup“ (plokštelės sąranka).

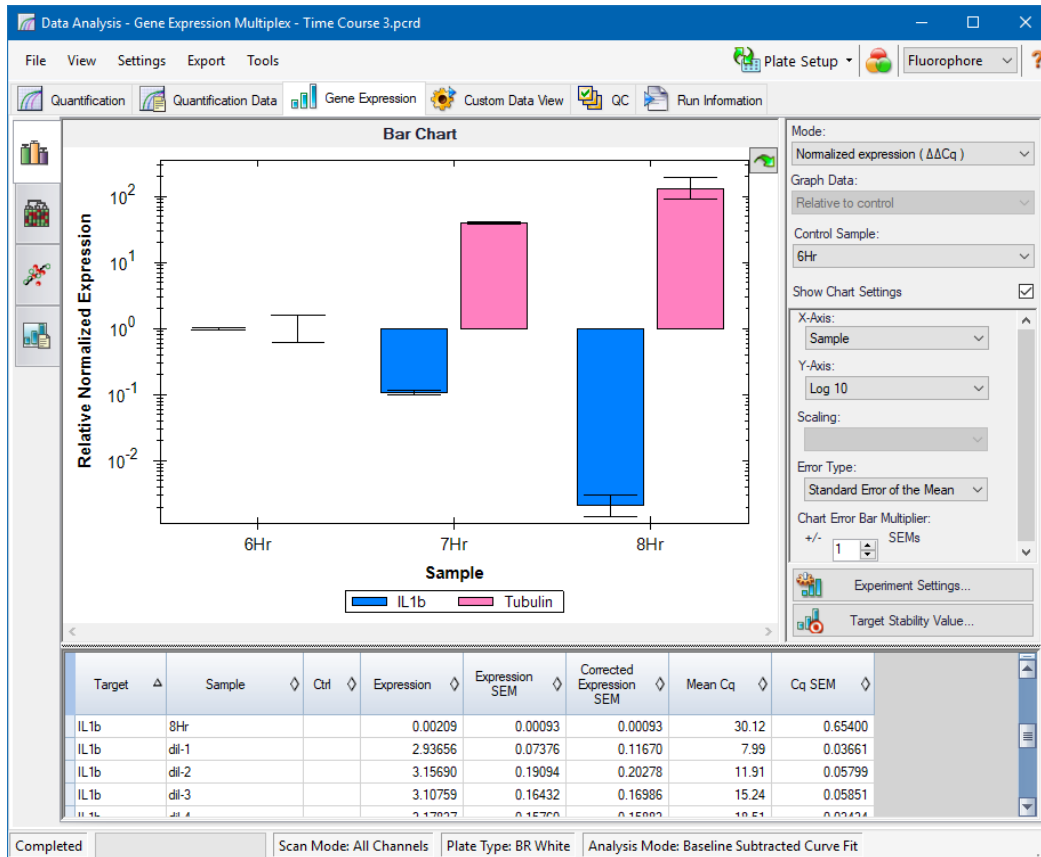
## Geno ekspresijos diagramos

CFX Manager Dx programinėje įrangoje įvairiais rodiniais rodomi geno ekspresijos duomenys. [33 lentelė](#) pateikiamos programinėje įrangoje siūlomos diagramos parinktys.

**33 lentelė. Geno ekspresijos diagramos parinktys**

| Mygtukas  | Pavadinimas         | Funkcija   |
|---|---------------------|--|
|    | Stulpelinė diagrama | Rodo normalizuotos geno ekspresijos duomenis stulpelinėje diagramoje.  |
|    | Grupinė diagrama    | Rodo normalizuotos ekspresijos duomenis hierarchine tvarka, kuri grindžiama skirtingų tikslų ir mėginių ekspresijos panašumo laipsniu. |
|   | Taškinis grafikas   | Rodo kontrolinės ir eksperimentinės imties tikslų normalizuotą ekspresiją.   |
|  | Rezultatai          | Apibendrina visų diagramų duomenis.  |

## Stulpelinė diagrama



Santykinė tikslų išraiška pateikiama šiuose dviejuose rodiniuose:

- Geno ekspresijos diagrama – rodomi tikralaikiai PGR duomenys kaip vienas iš šių variantų:
  - $\Delta\Delta C_q$  – santykinė normalizuota ekspresija, apskaičiuota naudojant kontrolinius mėginius ir etaloninius tikslus.
  - $\Delta C_q$  – santykinis tikslinio geno kiekis mėginyje, palyginus su kontroliniu mėginiu.

- Skaičiuoklė – rodoma geno ekspresijos duomenų skaičiuoklė.

**Patarimas.** Parinktis galite pasiekti spustelėję dešiniuju klavišu bet kurią diagramą ar skaičiuoklę. Išplečiamajame meniu „Plate Setup“ (plokštelės sąranka) pasirinkite „View/Edit Plate“ (peržiūrėti / redaguoti plokštelę) ir atverkite „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius) bei pakeiskite šulinėlio turinį plokštelėje.

**Patarimas.** Dešiniuju pelės mygtuku atvėrę meniu pasirinkite „Sort“ (rūšiuoti) ir pertvarkykite „Target“ (tikslas) bei „Sample“ (mėginys) pavadinimų tvarką diagramoje.

## Normalizuota geno ekspresija

Norėdami normalizuoti duomenis, naudokite vieno ar kelių etaloninių genų, kaip normalizavimo koeficiento, išmatuotą ekspresijos lygį. Etaloniniai genai yra tikslai, kurie nereguliuojami tiriamoje biologinėje sistemoje, pvz., *aktinas*, *GAPDH* arba *tubulinas*.

### Normalizuotos geno ekspresijos ( $\Delta\Delta C_q$ ) analizės nustatymas

1. Atidarykite failą (.pcrd plėtiniu).
2. Peržiūrėkite duomenis lango „Data Analysis“ (duomenų analizė) kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas). Pakoreguokite duomenis, pvz., pakeisdami ribinę reikšmę ir analizės režimą.
3. Pasirinkite kortelę „Gene Expression“ (geno ekspresija).
4. Kortelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija) spustelėkite „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos).
5. Dialogo lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) atlikite šiuos veiksmus:
  - a. Pasirinkite kortelę „Samples“ (mėginiai) ir pasirinkite kontrolę. Kai kontrolė priskirta, CFX Manager Dx programinė įranga normalizuoja visų genų santykinius kiekius į kontrolės kiekį, kuris yra 1.
  - b. Pasirinkite kortelę „Target“ (tikslas) ir pasirinkite etaloninius genus. Geno ekspresijos analizei reikia vienos kontrolės tarp tikslų jūsų mėginiuose.
6. Pasirinkite „Normalized Expression“ (normalizuota ekspresija) ( $\Delta\Delta C_q$ ), jeigu dar nepasirinkta, ir tada kortelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija) peržiūrėkite ekspresijos lygius.

## Santykinis kiekis

Iš esmės santykinio kiekio ( $\Delta C_q$ ) duomenys nėra normalizuoti. Šis metodas naudojamas mėginiams, kuriuose nėra jokių etaloninių genų (tikslų), kiekybiškai įvertinti. Paprastai, atlikdami analizę, mokslininkai žino, kad vienas iš šių aspektų teisingas:

- Kiekviename šulinėlyje esančiame mėginyje yra vienodas RNA (RNR) arba cDNA (cDNR) kiekis.
- Bet kokio įdėto biologinio mėginio kiekio dispersija bus normalizuota po paleidimo, taikant tam tikrą duomenų analizės metodą už programinės įrangos ribų. Pavyzdžiui, mokslininkas gali pasirinkti, kad santykinio kiekio reikšmė būtų padalyta iš normalizuojančio faktoriaus, galbūt iš kiekviename mėginyje esančios nukleino rūgšties svorio arba iš ląstelių, iš kurių buvo išskirta nukleino rūgštis, skaičiaus.

### Santykinis kiekio ( $\Delta C_q$ ) analizės paleidimas

- ▶ Kortelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija) iš dešinėje srityje esančio išplečiamojo sąrašo „Mode“ (režimas) pasirinkite „Relative Quantity“ (santykinis kiekis) ( $\Delta C_q$ ).

**Patarimas.** Norėdami palyginti rezultatus su kitų geno ekspresijos paleidimų duomenimis, atidarykite naują geno tyrimą arba pridėkite duomenų failą į esamą geno tyrimą.

## Tikslo ir mėginių duomenų rūšiavimas

**Pastaba.** Ši parinktis galima tik geno ekspresijos diagramose.

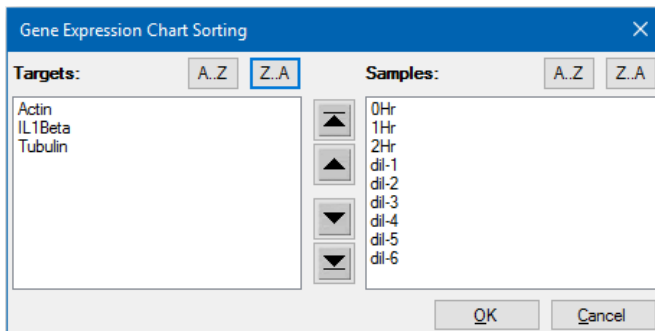
Pagal numatytuosius parametrus tikslų ir mėginių sąrašai pateikiami abėcėline tvarka. Dialogo lange „Sort“ (rūšiuoti) galite rūšiuoti rodmenis atvirkštine tvarka pagal abėcėlę arba rankiniu būdu perkelti terminą į kitą padėtį sąrašė.



## Tikslo ir mėginio duomenų rūšiavimas

1. Diagramos dešiniojo pelės mygtuko meniu spustelėkite „Sort“ (rūšiuoti).

Parodomas dialogo langas „Gene Expression Chart Sorting“ (geno ekspresijos diagramų rūšiavimas).



2. Dialogo lange spustelėkite Z–A ir surūšiuokite sąrašą atvirkštine abėcėline tvarka.
3. Norėdami rankiniu būdu perkelti terminą, jį pasirinkite ir spustelėkite atitinkamą mygtuką tarp diagramų:
  - Spustelėkite rodyklę aukštyn ar žemyn ir pasirinktą terminą perkeltite per vieną padėtį.
  - Spustelėkite juostos rodyklę aukštyn ar žemyn ir pasirinktą terminą perkeltite į sąrašo viršų ar apačią.
4. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir grįžkite į „Gene Expression“ (geno ekspresija) kortelę.

## Geno ekspresijos duomenų koregavimas

Pasirinkę analizės režimą – normalizuotą ekspresiją ( $\Delta\Delta Cq$ ) arba santykinį kiekį ( $\Delta Cq$ ) – pakoreguokite kortelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija) rodomus duomenis keisdami nuostatų parinktis diagramos dešinėje.

**Patarimas.** Dialogo lange „User Preferences“ (vartotojo nuostatos) nustatykite numatytąsias „Gene Expression“ (geno ekspresija) duomenų parinktis (žr. [Numatytųjų geno ekspresijos duomenų failo parametrų nustatymas, p. 73](#)).

## Diagramos duomenys

Y ašies vertei nustatykite tiesinį mastelį, kad būtų įjungtos diagramos duomenų parinktys. Diagramos duomenų parinktys jums leidžia pateikti duomenis diagramoje viena iš šių parinkčių:

- Lyginant su kontrole – diagramos duomenys su ašimi vertinami nuo 0 iki 1. Jeigu paleisdami priskiriate kontrolę, pasirinkite parinktį, kad greitai vizualizuotumėte tikslo padidinimą ir sumažinimą.
- Lyginant su nuliu – diagramos duomenys su nuline pradžia.

### Kontrolinis mėginys

Išplečiamajame meniu „Control Sample“ (kontrolinis mėginys) pasirinkite mėginį, kuris bus naudojamas normalizuojant santykinį kiekį:

### Diagramos nuostatos

Šios parinktys (apibūdintos toliau) parodomos, kai „Show Chart Settings“ (rodyti diagramos nuostatas) pažymimas langelis: „X-Axis“ (X ašis), „Y-Axis“ (Y ašis), „Scaling“ (mastelio keitimas), „Error Type“ (paklaidos tipas) ir „Chart Error Multiplier“ (diagramos paklaidos daugintuvas).

### X ašies parinktys

X ašies parinktis leidžia pasirinkti diagramos „Gene Expression“ (geno ekspresija) x ašies duomenis:

- Tikslas – tikslų pavadinimai grafiškai atvaizduojami ant x ašies.
- Mėginys – mėginių pavadinimai grafiškai atvaizduojami ant x ašies.

### Y ašies parinktys

Y ašies parinktis leidžia jums parodyti diagramą „Gene Expression“ (geno ekspresija) viena iš šių trijų skalių:

- Tiesinė – šią parinktį pasirinkite norėdami, kad būtų rodoma tiesinė skalė.

**Patarimas.** Nustačius „Linear“ (tiesinė) y ašį, įjungiamas išplečiamasis sąrašas „Graph Data“ (diagramos duomenys), kuriame galite pasirinkti diagramos duomenis, palygintus su kontrole ar nuliu.

- „Log 2“ – pasirinkite šią parinktį, norėdami mėginius įvertinti dideliame dinaminiame intervale.
- Log 10 – pasirinkite šią parinktį, norėdami mėginius įvertinti labai dideliame dinaminiame intervale.

## Mastelio parinktys

Pasirinkite „Normalized Gene Expression“ (normalizuota geno ekspresija) ( $\Delta\Delta C_q$ ) ir nustatykite „Control Sample“ (kontrolinis mėginys) į „None“ (nėra), kad įjungtų mastelio parinktis geno ekspresijos diagramoje. Pasirinkite vieną iš mastelio parinkčių, apskaičiuokite ir pateikite savo duomenis tokiu būdu, kuris geriausiai tiktų jūsų paleidimo dizainui:

- „Unscaled“ (neskaidytas) – pateikia neskaidytą normalizuotą geno ekspresiją.
- „Highest“ (didžiausias) – suskaido normalizuotą geno ekspresiją kiekvienam tikslui kiekvieno mėginio ekspresijos lygį padalydamas iš visų mėginių ekspresijos didžiausio lygio.  
Ši skaidymo parinktis taiko suskaidytą iki didžiausio lygio formulę.
- „Lowest“ (mažiausias) – suskaido normalizuotą geno ekspresiją kiekvienam tikslui kiekvieno mėginio ekspresijos lygį padalydamas iš visų mėginių ekspresijos mažiausio lygio.  
Ši skaidymo parinktis taiko suskaidytą iki mažiausio lygio formulę.
- „Average“ (vidutinis) – suskaido normalizuotą geno ekspresiją kiekvienam tikslui kiekvieno mėginio ekspresijos lygį padalydamas iš visų mėginių ekspresijos geometrinio vidurkio.  
Ši skaidymo parinktis taiko suskaidytą iki vidutinio lygio formulę.

## Paklaidos tipas

Diagramoje „Gene Expression“ (geno ekspresija) pasirinkite paklaidų skaičiavimų (paklaidų juostų) tipą:

- „Standard error of the mean (default)“ (vidurkio standartinė paklaida (numatytoji))
- „Standard deviation“ (standartinis nuokrypis)

## Diagramos paklaidų juostos dauginuvas

Diagramoje „Gene Expression“ (geno ekspresija) pasirinkite paklaidų juostos dauginuvą. Pasirinkite vieną iš šių sveikųjų skaičių: +/- 1 (numatytoji vertė), 2 arba 3. Dauginuvo pokyčių tipas, kai pasirenkate paklaidų tipą:

- SEM – vidurkio standartinė paklaida
- Std Devs standartiniam nuokrypiui

## Eksperimento nuostatos

**Patarimas.** Šis dialogo langas taip pat prieinamas lange „Plate Editor“ (plokštelės redaktorius). Daugiau informacijos žr. [Eksperimento nuostatų keitimas, p. 137](#).

Dialogo lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) galite peržiūrėti arba keisti tikslų ar mėginių sąrašą, pasirinkti etaloninius genus, pasirinkti kontrolines medžiagas arba kortelėje „Gene Expression Analysis“ (geno ekspresijos analizė) nustatyti grupę, kuri turi būti analizuojama, jei prie šulinėlių buvo pridėta biologinių rinkinių pavadinimų.

### Dialogo lango „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) atvėrimas

- ▶ Kortelės „Bar Chart“ (stulpelinė diagrama) dešinės srities apačioje spustelėkite „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos).

Atveriamas dialogo langas „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos), kuriame rodoma kortelė „Targets“ (tikslai).

|   | Name ▲  | Full Name | Reference                           | Color      | <input checked="" type="checkbox"/> Show Chart | Auto Efficiency                     | Efficiency(%) |
|---|---------|-----------|-------------------------------------|------------|--|-------------------------------------|---------------|
| 1 | Actin   | Actin     | <input checked="" type="checkbox"/> | Green      | <input checked="" type="checkbox"/>            | <input checked="" type="checkbox"/> | 94.2          |
| 2 | GAPDH   | GAPDH     | <input checked="" type="checkbox"/> | Dark Green | <input checked="" type="checkbox"/>            | <input checked="" type="checkbox"/> | 95.9          |
| 3 | IL1b    | IL1b      | <input type="checkbox"/>            | Blue       | <input checked="" type="checkbox"/>            | <input checked="" type="checkbox"/> | 96.9          |
| 4 | Tubulin | Tubulin   | <input type="checkbox"/>            | Pink       | <input checked="" type="checkbox"/>            | <input checked="" type="checkbox"/> | 90.5          |

New:

Show Analysis Settings

Biological Set Analysis Options:

Exclude the following sample types from Gene Expression analysis:

NTC  NRT  Negative Control  Positive Control  Standard

### Nuostatų „Targets“ (tikslai) koregavimas

- ▶ Kortelėje „Targets“ (tikslai) atlikite kurį nors iš toliau nurodytų veiksmų:
  - Tam, kad pasirinktumėte tikslą kaip etaloną geno ekspresijos duomenų analizei, stulpelyje „Reference“ (etalonas) pažymėkite jo pavadinimą.
  - Tam, kad pakeistumėte tikslo spalvą, spustelėkite jo langelį stulpelyje „Color“ (spalva) ir pasirodžiusiame dialogo lange „Color“ (spalva) pakeiskite spalvą.  
  
Pasikeitusi spalva matoma „Gene Expression“ (geno ekspresija) diagramose.
  - Jei norite naudoti anksčiau nustatytą veiksmingumo reikšmę, stulpelyje „Auto Efficiency“ (automatinis veiksmingumas) panaikinkite tikslo žymės langelio žymėjimą ir įveskite skaičių, rodantį tikslo veiksmingumą procentais.  
  
Programinė įranga, naudodama „Auto Efficiency“ (automatinis veiksmingumas) funkciją, apskaičiuoja tikslo santykinį veiksmingumą, jei tikslo duomenys apima standartinę duomenų kreivę.

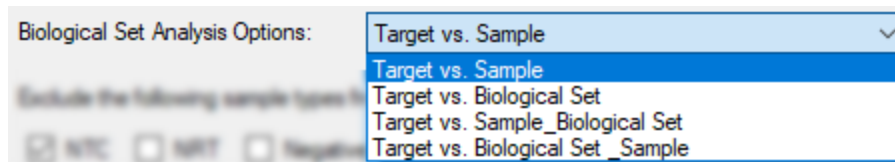
### Nuostatų „Sample“ (mėginys) koregavimas

- ▶ Kortelėje „Samples“ (mėginiai) atlikite kurį nors iš toliau nurodytų veiksmų:
  - Tam, kad pasirinktumėte mėginį kaip kontrolinę medžiagą geno ekspresijos duomenų analizei, stulpelyje „Control“ (kontrolė) pažymėkite jo pavadinimą.
  - Tam, kad pakeistumėte mėginio grupės spalvą, spustelėkite jo elementą stulpelyje „Color“ (spalva) ir pasirodžiusiame dialogo lange „Color“ (spalva) pakeiskite spalvą.  
  
Pasikeitusi spalva matoma „Gene Expression“ (geno ekspresija) diagramose.
  - Tam, kad mėginys būtų rodomas „Gene Expression“ (geno ekspresija) diagramose, pažymėkite mėginį arba grupę stulpelyje „Show Chart“ (rodyti diagramą).
  - Tam, kad mėginys būtų pašalintas iš „Gene Expression“ (geno ekspresija) diagramų, panaikinkite mėginio arba grupės žymėjimą stulpelyje „Show Chart“ (rodyti diagramą).

**Patarimas.** Mėginio grupės duomenys išlieka lentelėje „Results“ (rezultatai).

### Parinkčių „Biological Set Analysis Options“ (biologinio rinkinio analizės parinktys) keitimas

- ▶ Jei priskyrėte vieną ar daugiau biologinių rinkinių šulinėliams plokštelėje (žr. [Biologinių rinkinių priskyrimas šulinėliams, p. 130](#)), dialogo lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) atveriamas sąrašas „Biological Set Analysis Options“ (biologinio rinkinio analizės parinktys), kuriame galite prireikus keisti parinktį.



- „**Target vs. Sample**“ (tikslo palyginimas su mėginiu) – geno ekspresijos skaičiavimuose naudojamas tik šulinėlio mėginio pavadinimas.
- „**Target vs. Biological Set**“ (tikslo palyginimas su biologiniu rinkiniu) – skaičiavimuose naudojamas tik biologinio rinkinio pavadinimas.
- „**Target vs. Sample\_Biological Set**“ (tikslo palyginimas su mėginiu\_biolginiu rinkiniu) – mėginio pavadinimas ir biologinio rinkinio pavadinimas kombinuojami, sukuriant bendrą pavadinimą, kuris naudojamas skaičiavimuose.
- „**Target vs. Biological Set\_Sample**“ (tikslo palyginimas su biologiniu rinkiniu\_mėginiu) – biologinio rinkinio pavadinimas ir mėginio pavadinimas kombinuojami, sukuriant bendrą pavadinimą, kuris naudojamas skaičiavimuose.

### Mėginio tipo pašalinimas iš analizės skaičiavimų

- ▶ Pažymėkite jo žymės langelį dialogo lango „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) apačioje.

**Pastaba.** Tokiu būdu iš geno ekspresijos analizės pašalinamos kontrolinės medžiagos ir (arba) etaloniniai tirpalai.

## Tikslo stabilumo reikšmė

Tikslo stabilumo reikšmės apskaičiuojamos, kai naudojamas daugiau nei vienas etaloninis genas. Programinė įranga CFX Manager Dx apskaičiuoja du etaloninių genų kokybės parametrus:

- Normalizuotų etaloninių genų santykinių kiekių **koeficiento dispersiją (CV)**. Kuo mažesnė CV reikšmė, tuo didesnis stabilumas.
- **M reikšmę (M)**, etaloninio geno ekspresijos stabilumo matą.

Rekomenduojamos CV ir M reikšmės pateikiamos dialogo lango „Stability Value“ (stabilumo reikšmė) apačioje.

### Kaip peržiūrėti tikslo stabilumo reikšmę

- Kortelėje „Gene Expression Bar Chart“ (geno ekspresijos stulpelinė diagrama) dešinės srities apačioje spustelėkite „Target Stability Value“ (tikslo stabilumo reikšmė).

Pasirodo dialogo langas „Stability Value“ (stabilumo reikšmė).

## Dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu parinktys

Dešiniuojų mygtuku spustelėkite geno ekspresijos diagramą ir pasirinkite [34 lentelė](#) esančius elementus.

### 34 lentelė. Geno ekspresijos dešiniojo mygtuko meniu elementai

| Elementas   | Funkcija  |
|---|---|
| „Copy“ (kopijuoti)  | Diagramą kopijuoja į iškarpinę.   |
| „Save Image As“ (įrašyti paveikslėlį kaip)                        | Diagrama įrašoma kaip vaizdinis failas. Nustatykite vaizdo raišką ir dydį, o tada pasirinkite failo tipą (PNG, GIF, JPG, TIF arba BMP).   |
| „Page Setup“ (puslapio sąranka)                                   | Parenkama puslapio sąranka spausdinti.  |
| „Print“ (spausdinti)  | Atspausdina diagramą.   |
| „Set Scale to Default“ (nustatyti numatytąją skalę)               | „Show All“ (parodyti viską) parodo visus duomenis stulpelinėje diagramoje. „Scroll Bar“ (slinkties juosta) rodoma slinkties juosta, jeigu diagramos rėme yra per daug rodytinių mėginių išlaikant minimalų juostos plotį. |
| „Chart Options“ (diagramos parinktys)                             | Atveriamas langas „Chart Options“ (diagramos parinktys), kad būtų galima pakoreguoti diagramą.  |
| „Sort“ (rūšiuoti)   | Rūšiuoja mėginių ar tikslų užsakymus, kurie rodomi diagramos x ašyje.   |
| „Use Corrected Std Devs“ (naudoti koreguotą standartinį nuokrypį) | Apskaičiuoja nuokrypio juostas taikant koreguoto standartinio nuokrypio formulę.  |
| „Use Solid Bar Colors“ (naudoti vientisos juostos spalvas)        | Diagramoje rodo vientisas juostas.  |

**34 lentelė. Geno ekspresijos dešiniojo mygtuko meniu elementai (tęsinys)**

| Elementas                          | Funkcija   |
|------------------------------------|--|
| „X–Axis Labels“ (x ašies etiketės) | Rodo horizontalias arba pakreiptas x ašies etiketes. |

**Duomenų skaičiuoklė**

35 lentelė apibūdinti duomenys, rodomi duomenų lentelėje „Gene Expression“ (geno ekspresija).

**Pastaba.** Reikšmės lentelėje apskaičiuojamos remiantis diagramos tipu ir nuostatomis, pasirinktomis dešinėje srityje.

**35 lentelė. Informacijos, esančios stupelinės diagramos skaičiuoklėje, kortelėje „Graphing“ (grafikai), apibūdinimas**

| Informacija   | Aprašymas  |
|---|--|
| Tikslas   | Lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) pasirinkto tikslo pavadinimas (amplifikuotas genas).  |
| Mėginys   | Lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) pasirinktas mėginio pavadinimas.  |
| Ctrl  | Lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) pasirinktas kontrolės pavadinimas.  |
| Santykinis kiekis arba ekspresija                           | Santykinis kiekis ( $\Delta C_q$ ) arba normalizuota geno ekspresija ( $\Delta\Delta C_q$ ), priklausomai nuo pasirinkto režimo.                               |
| Santykinis kiekis arba ekspresijos SEM (arba SD)            | Santykinių kiekių arba normalizuotos ekspresijos vidurkio standartinė paklaida (SEM) arba standartinis nuokrypis (SD), priklausomai nuo pasirinktos parinktės. |
| Koreguotas santykinis kiekis arba ekspresijos SEM (arba SD) | Santykinių kiekių ar normalizuotos ekspresijos SEM arba SD koreguotos vertės skaičiavimas, priklausomai nuo pasirinktos parinktės.                             |
| $C_q$ vidurkis  | Kiekio nustatymo vidurkis.   |
| $C_q$ SEM (arba SD)   | Kiekio nustatymo ciklo SEM arba SD, priklausomai nuo pasirinktos parinktės.  |



## Parinktis „Show Details“ (rodyti išsamią informaciją)

36 lentelė apibrėžiami duomenys, rodomi stulpelinės diagramos skaičiuoklės dešiniojo pelės mygtuko meniu pasirinkus „Show Details“ (rodyti išsamią informaciją).

**36 lentelė. Informacija, esanti stulpelinės diagramos skaičiuoklėje, pasirinkus „Show Details“ (rodyti išsamią informaciją)**

| Informacija                              | Aprašymas   |
|--|---|
| Duomenų rinkinys                         | Fluorescencijos duomenys iš vieno fluoroforo duomenų faile                      |
| Santykinis kiekis                        | Apskaičiuotas santykinis mėginių kiekis   |
| Santykinio kiekio SD                     | Santykinio kiekio skaičiavimo standartinis nuokrypis                            |
| Pakoreguoto santykinio kiekio SD         | Apskaičiuotas pakoreguoto santykinio kiekio standartinis nuokrypis              |
| Santykinio kiekio SEM                    | Santykinio kiekio apskaičiavimo vidurkio standartinė paklaida                   |
| Pakoreguoto santykinio kiekio SEM        | Apskaičiuota pakoreguoto santykinio kiekio vidurkio standartinė paklaida        |
| Santykinis kiekis (lg)                   | Santykinio kiekio, naudojamo statistinei analizei, $\log_2$                     |
| SD RQ (lg)                               | Santykinio kiekio standartinis nuokrypis ( $\log_2$ )                           |
| Ekspresijos SEM (lg)                     | Ekspresijos vidurkio standartinė paklaida ( $\log_2$ )                          |
| Neapdorota ekspresija                    | Apskaičiuota neapdorota ekspresija  |
| Neapdorotos ekspresijos SD               | Apskaičiuotas neapdorotos ekspresijos standartinis nuokrypis                    |
| Pakoreguotos neapdorotos ekspresijos SD  | Apskaičiuotas pakoreguotos neapdorotos ekspresijos standartinis nuokrypis       |
| Neapdorotos ekspresijos SEM              | Apskaičiuota neapdorotos ekspresijos vidurkio standartinė paklaida              |
| Pakoreguotos neapdorotos ekspresijos SEM | Apskaičiuota pakoreguotos neapdorotos ekspresijos vidurkio standartinė paklaida |
| Neapdorota ekspresija (lg)               | Neapdorotos ekspresijos $\log_2$  |
| Neapdorotos ekspresijos SD (lg)          | Neapdorotos ekspresijos standartinis nuokrypis ( $\log_2$ )                     |

**36 lentelė. Informacija, esanti stulpelinės diagramos skaičiuoklėje, pasirinkus „Show Details“ (rodyti išsamią informaciją) (tęsinys)**

| <b>Informacija</b>               | <b>Aprašymas</b>   |
|----------------------------------|--|
| Neapdorotos ekspresijos SEM (lg) | Neapdorotos ekspresijos vidurkio standartinė paklaida ( $\log_2$ )                 |
| Ekspresija                       | Normalizuota geno ekspresija   |
| Pakoreguotos ekspresijos SD      | Apskaičiuotas standartinis nuokrypis   |
| Ekspresijos SEM                  | Vidurkio standartinė paklaida  |
| Pakoreguotos ekspresijos SEM     | Apskaičiuota vidurkio standartinė paklaida   |
| Ekspresija (lg)                  | Ekspresijos (normalizuotos ekspresijos), naudojamos statistinei analizei, $\log_2$ |
| Ekspresijos SD (lg)              | Ekspresijos standartinis nuokrypis ( $\log_2$ )                                    |
| Ekspresijos SEM (lg)             | Ekspresijos vidurkio standartinė paklaida ( $\log_2$ )                             |
| C <sub>q</sub> vidurkis          | Kiekybinio įvertinimo ciklo vidurkis   |
| C <sub>q</sub> SD                | Kiekybinio įvertinimo ciklo standartinis nuokrypis                                 |
| C <sub>q</sub> SEM               | Kiekybinio įvertinimo ciklo vidurkio standartinė paklaida                          |

## Grupinė diagrama

Grupinėje diagramoje duomenys pateikiami hierarchine tvarka, kuri grindžiama skirtingų tikslų ir mėginių ekspresijos panašumo laipsniu.

**Pastaba.** Turite pasirinkti etaloninį tikslą tam, kad būtų rodomos bet kokios duomenų diagramos, išskyrus santykinės ekspresijos stulpelines diagramas.

Grupinės diagramos vaizde parodyta santykinė mėginio ar tikslo ekspresija:

- Didinimas (raudona) – didesnė ekspresija
- Sumažinimas (žalia arba mėlyna) – mažesnė ekspresija
- Nereguliuojama (juoda)
- Nėra apskaičiuotų reikšmių (juoda su baltu X)

Kuo šviesesnis atspalvis, tuo didesnė santykinė ekspresija. Jei nepavyks apskaičiuoti normalizuotos  $C_q$  reikšmės, bus rodomas juodas kvadratas su baltu X.

Duomenų diagramos išoriniuose kraštuose yra dendrograma, nurodanti grupavimo hierarchiją. Tikslai arba mėginiai, kurie turi panašius ekspresijos modelius, turės gretimų šakų, o tie, kurių modeliai skirtingi, bus tolesni.

## Nuostatos

Galite nustatyti šias parinktis:

- „Cluster By“ (grupė) – pasirinkite iš „Targets“ (tikslai), „Samples“ (mėginiai), „Both“ (abu) arba „None“ (joks).
- „Size“ (dydis) – koreguojamas vaizdo dydis ir pakeičiamas diagramos didinimo laipsnis.
- „Split Out Replicates“ (padalyti kopijas) – rodomos atskirų kopijų vertės.

**Patarimas.** Galite pakeisti grupinės diagramos ir taškinio grafiko spalvų schemą iš numatytosios raudonos / žalios į raudoną / mėlyną pasirinkdami kiekvienos diagramos šią dešiniojo pelės klavišo meniu parinktį.

## Dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu parinktys

Dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu grupinės diagramos parinktys yra tokios pačios, kaip juostinės diagramos. Galimas parinktis žr. čia: [34 lentelė, p. 249](#). Be to, pasirinkite „Color Scheme“ (spalvų schema), kad pakeistumėte iš numatytosios raudoną / žalią į raudoną / mėlyną sumažinimo veiksmui diagramoje vaizduoti.

## Duomenų skaičiuoklė

Skaičiuoklėje pateikiamos tikslų, mėginių ir normalizuotos ekspresijos vertės. Spustelėkite šalia tikslo esantį žymės langelį ir jį įtraukite į grafiką arba pašalinkite iš jo.

## Taškinis grafikas

Taškiniame grafike rodoma kontrolės ir eksperimentinio mėginio tikslų normalizuota ekspresija. Grafiko linijos reiškia taisyklės ribinę reikšmę. Duomenų taškai tarp eilučių rodo, kad to tikslo (geno) ekspresijos skirtumas tarp mėginių yra nereikšmingas. Duomenų taškai, esantys už linijų, viršija taisyklės ribinę reikšmę ir galėtų būti dominantys.

Grafiko vaizdas parodo šiuos tikslo ekspresijos pokyčius, remiantis taisyklės ribine reikšme.

- Didinimas (raudonas apskritimas) – santykinai didesnė ekspresija
- Sumažinimas (žalias arba mėlynas apskritimas) – santykinai mažesnė ekspresija
- Be pakeitimų (juodas apskritimas)

Spustelėkite ir vilkite bet kurią ribinės reikšmės liniją ir pakoreguokite taisyklės ribinės reikšmės vertę.

## Nuostatos

Galite nustatyti šias parinktis:

- Kontrolinį mėginį
- Eksperimentinį mėginį
- Reguliavimo ribinę reikšmę. Didinant arba mažinant reguliavimo reikšmę, ribinių reikšmių linijos diagramoje atitinkamai keičiasi.

## Dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu parinktys

Taškinio grafiko dešiniojo mygtuko paspaudimu atveriamo meniu parinktys yra tokios pačios, kaip ir stulpelinių diagramų. Galimas parinktis žr. čia: [34 lentelė, p. 249](#). Be to, pasirinkite „Symbol“ (simbolis), kad pakeistumėte diagramoje naudojamą numatytąjį apskritimo simbolį į vieną iš šių:

- Trikampis
- Kryžius
- Kvadratas
- Rombas

## Duomenų skaičiuoklė

Skaičiuoklėje pateikiamos tikslų, mėginių ir normalizuotos ekspresijos reikšmės kontroliniams ir eksperimentiniams mėginiams. Ji taip pat parodo, ar tikslai yra padidinti, ar sumažinti, lyginant su kontroline ribine verte. Spustelėkite šalia tikslo esantį žymės langelį ir jį įtraukite į grafiką arba pašalinkite iš jo.

## Rezultatų

Rezultatų kortelėje pateikiama skaičiuoklė, kurioje apibendrinti visų diagramų duomenys. [37 lentelė](#) apibūdinami duomenys, kurie rodomi rezultatų skaičiuoklėje.

**37 lentelė. Informacija rezultatų kortelėje**

| Informacija  | Aprašymas  |
|--|--|
| „Target“ (tikslas)   | Tikslo pavadinimas (amplifikuotas genas)   |
| „Sample“ (mėginys)   | Mėginio pavadinimas  |
| „Mean C <sub>q</sub> “ (C <sub>q</sub> vidurkis)   | Kiekybinio įvertinimo ciklo vidurkis   |
| „Mean Efficiency Corrected C <sub>q</sub> “<br>(vidutinis koreguotas veiksmingumo C <sub>q</sub> ) | Kiekybinio įvertinimo ciklo vidurkis pakoregavus reakcijos veiksmingumą                    |
| „Normalized Expression“<br>(normalizuota ekspresija)   | Tikslinė ekspresija, normalizuota etaloniniam tikslui ( $\Delta\Delta C_q$ )               |
| „Relative Normalized Expression“ (santykinė normalizuota ekspresija)                               | Normalizuota ekspresija, palyginus su kontroliniu mėginiu, dar vadinama kartotiniu keitimu |
| „Regulation“ (taisyklė)  | Ekspresijos pokytis, palyginus su kontroliniu mėginiu                                      |
| „Compared to Regulation Threshold“ (palyginus su taisyklės ribine reikšme)                         | Ekspimentinio mėginio padidinimas ar sumažinimas, remiantis ribinės reikšmės nuostatomis   |

**Pastaba.** Duomenų kopijos aptinkamos tik duomenų analizės kortelių skaičiuoklėse, kuriose buvo pasirinkta „Split Out Replicates“ (išskirti kopijas) (t. y. „Clustergram“ (grupinė diagrama)). Gali būti neatitikimų tarp ekspresijos duomenų geno ekspresijos analizės skaičiuoklėje, jeigu stulpelinėje diagramoje kaip kontrolinį mėginį pasirinktumėte „nėra“.

## Geno tyrimas

Sukurkite geno tyrimą, kad būtų galima palyginti geno ekspresijos duomenis iš vieno ar kelių tikralaikinių PCR (PGR) eksperimentų taikant kalibratorių tarp paleidimų, kad būtų normalizuota tarp eksperimentų. Sukurkite geno tyrimą į jį įtraukdami duomenis iš vieno ar kelių duomenų failų (.pcrd plėtiniu). Programinė įranga juos sugrupuoja į vieną failą (.mgxd plėtiniu).

**Pastaba.** Didžiausią mėginių, kuriuos galite analizuoti geno tyrime, skaičių riboja kompiuterio RAM ir virtualios atminties dydis.

### Kalibravimas tarp paleidimų

Kiekviename geno tyrime kiekvienam tikslui automatiškai bandoma atlikti kalibravimą tarp paleidimų, siekiant normalizuoti tarpines variacijas tarp tikslų, ištirtų atskiruose PGR paleidimuose tikruoju laiku (t. y. skirtingi .pcrd failai, gauti iš skirtingų plokštelių).

Kad programinė įranga atpažintų mėginį kaip kalibratorių tarp paleidimų, jis turi turėti tą patį tikslo pavadinimą, mėginio pavadinimą ir, jei naudojama, biologinio rinkinio pavadinimą visose lyginamose plokštelėse.

**Pastaba.** Geno tyrime turi būti bent vienas kalibravimo tarp paleidimų mėginys, kad būtų atliktas kalibravimas tarp paleidimų. Tikslai be tinkamų kalibratoriaus tarp paleidimų mėginių bus tvarkomi be korekcijos geno tyrime (nerekomenduojama).

Kalibratoriai tarp paleidimų gali būti taikomi dviem būdais:

- Tikslui – skirtingi PCR (PGR) pradmenys gali turėti skirtingą efektyvumą. Pagal numatytąsias nuostatas kalibratorius tarp paleidimų taikomas visiems tos pačios plokštelės šulinėliams, turintiems tą patį tikslo pavadinimą, pavyzdžiui,  $C_q$ , gautas su tuo pačiu tyrimu.
- Visam tyrimui – vartotojas pasirenka vieną kalibratorių tarp paleidimų, kuris taikomas visam geno tyrimui.

### Dialogo langas „Gene Study“ (geno tyrimas)

Dialogo lange „Gene Study“ (geno tyrimas) yra dvi kortelės:

- Kortelėje „Study Setup“ (tyrimo sąranka) tvarkomi geno tyrimo paleidimai.  
**Svarbu.** Duomenų failų įtraukimas į geno tyrimą ar šalinimas iš jo nekeičia pirminio failo duomenų.
- Kortelėje „Study Analysis“ (tyrimo analizė) rodomi kombinuotų paleidimų geno ekspresijos duomenys.



## Kortelė „Study Setup“ (tyrimo sąranka)

38 lentelė apibūdinti duomenys, rodomi kortelėje „Study Setup“ (tyrimo sąranka).

**38 lentelė. Kortelė „Study Setup“ (tyrimo sąranka) dialogo lange „Gene Study“ (geno tyrimas)**

| Stulpelio pavadinimas                            | Aprašymas  |
|--|--|
| „File Name“ (failo pavadinimas)                  | Analizės duomenų failo pavadinimas (.pcrd plėtinys)  |
| „File Folder“ (failo aplankas)                   | Katalogas, kuriame saugomas kiekvieno geno tyrimo metu atlikto paleidimo duomenų failas  |
| „Date Created“ (sukūrimo data)                   | Paleidimo duomenų surinkimo data   |
| „Well Group Name“ (šulinėlių grupės pavadinimas) | Šulinėlių grupės, kuri buvo pasirinkta pridėdant failą prie genų tyrimo, pavadinimas<br><b>Patarimas.</b> Jei geno tyrimo metu norite analizuoti vieną šulinėlių grupę, prieš importuodami duomenų failą į geno tyrimą turite pasirinkti tą šulinėlių grupę lange „Data Analysis“ (duomenų analizė). |
| „Step“ (veiksmas)                                | Protokolo veiksmas, kurio metu nuskaitoma plokštelė, siekiant rinkti tikrą laikų PGR duomenis  |
| „Run Type“ (paleidimo tipas)                     | Nustatytas vartotojo arba „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimas  |
| „Protocol Edited“ (redaguotas protokolas)        | Jei pasirinkta, rodoma, kuris protokolas, naudotas atliekant „PrimePCR“ (PGR pradmenys) paleidimą, buvo redaguotas   |
| „View Plate“ (peržiūrėti plokštelę)              | Atveriamą plokštelės schema su kiekvieno paleidimo, įtraukto į geno tyrimą, duomenimis   |

## Geno tyrimo paruošimas

### Kaip paruošti geno tyrimą

1. Prieš importuodami duomenis į geno tyrimą, lange „Data Analysis“ (duomenų analizė) atlikite šiuos veiksmus:
  - Patikrinkite, ar mėginiai, kurių turinys toks pats, yra tokio paties pavadinimo. Geno tyrime programinė įranga daro prielaidą, kad šulinėliai su tokiu pačiu tikslu ar mėginio pavadinimu turi tokius pačius mėginius.
  - Kortelėje „Quantification“ (kiekybinis įvertinimas) koreguokite pradinį lygį ir ribinę vertę ( $C_q$ ) ir optimizuokite kiekvieno paleidimo duomenis.
  - Pasirinkite šulinėlių grupę, kurią norite įtraukti į genų tyrimą.

Kad galėtumėte parodyti vienos šulinėlių grupės geno tyrime duomenis, ta grupė turi būti pasirinkta prieš importuojant duomenų failą.

Kortelėje „Study Setup“ (tyrimo sąranka) rodomas visų paleidimų geno tyrime sąrašas.

2. Dialogo lange „Gene Study“ (geno tyrimas) pasirinkite kortelę „Study Setup“ (tyrimo sąranka).
3. Spustelėkite „Add Data Files“ ( pridėti duomenų failus) ir naršyklės lange pasirinkite failą.  
**Patarimas.** Norėdami į geno tyrimą greitai įtraukti paleidimus, duomenų failus (.pcrd plėtiniu) nuvilkite į dialogo langą „Study Setup“ (tyrimo sąranka).
4. CFX Manager Dx programinė įranga automatiškai atlieka geno tyrimo analizę, kai pridodate duomenų failus. Pasirinkite kortelę „Study Analysis“ (tyrimo analizė) ir peržiūrėkite rezultatus.

### Paleidimų pašalinimas iš geno tyrimo

- ▶ Sąraše pasirinkite vieną ar kelis failus ir spustelėkite „Remove“ (pašalinti).

### Pastabų apie geno tyrimą pridėjimas

- ▶ Į tekstinį laukelį „Notes“ (pastabos) įrašykite pastabų apie failus ir analizę.

## Kortelė „Study Analysis“ (tyrimo analizė)

Kortelėje „Study Analysis“ (tyrimo analizė) rodomi duomenys iš visų geno tyrimo paleidimų. Geno ekspresijos duomenų analizės parinktis yra tokia pati, kaip ir atskiro duomenų failo, išskyrus šį atvejį:

- Stulpelių diagramų kalibracijos tarp paleidimų vertės (jeigu apskaičiuotos) parodomos, kai paspaudžiate „Inter-run Calibration“ (kalibravimas tarp paleidimų).

**Pastaba.** Kaip kalibratoriai tarp paleidimų gali būti naudojami tik šių tipų mėginiai:

- Nežinoma
- Standartas
- Teigiama kontrolė

Neigiama kontrolė, nėra šablono kontrolės (NTC) ir nėra atvirkštinės transkriptazės kontrolės (NRT) mėginių tipų negalima naudoti kaip kalibratoriaus tarp paleidimų.

## Geno tyrimo ataskaitos kūrimas

### Kaip sukurti geno tyrimo ataskaitą

1. Prieš sukurdami ataskaitą, pakoreguokite geno tyrimo ataskaitos duomenis ir diagramas, kai reikia.
2. Pasirinkite „Tools > Reports“ (Įrankiai > ataskaitos) meniu „Gene Study“ (geno tyrimas), kad atidarytumėte dialogo langą „Report“ (ataskaita).
3. Pasirinkite parinktis, kurias norite įtraukti į ataskaitą. Ataskaita atidaroma pagal pasirinktas numatytąsias parinktis. Pasirinkite arba išvalykite žymės langelius, kad pakeistumėte visas kategorijas ar atskiras kategorijas parinktis.

Galimos parinktys pateikiamos skyriaus [Geno tyrimo ataskaitų kategorijos, p. 262](#), sąrašuose.

4. Pakeiskite kategorijų ir elementų tvarką ataskaitoje. Vilkite parinktis į reikiamą padėtį. Elementus pertvarkyti galima tik tose kategorijose, kurioms jie priklauso.
5. Spauskite „Update Report“ (atnaujinti ataskaitą), kad atnaujintumėte „Report Preview“ (ataskaitos peržiūra) su pakeitimais.
6. Spausdinkite arba įrašykite ataskaitą. Paspauskite įrankių juostos mygtuką „Print Report“ (spausdinti ataskaitą), norėdami atspausdinti esamą ataskaitą. Pasirinkite „File > Save“ (failas > įrašyti), kad įrašytumėte PDF („Adobe Acrobat Reader“ failas) formatu, ir pasirinkite, kur norite įrašyti failą. Pasirinkite „File > Save As“ (failas > įrašyti kaip), ir įrašykite ataskaitą nauju pavadinimu ar naujoje vietoje.
7. (Neprivaloma) Sukurkite ataskaitos šabloną su norima informacija. Norėdami įrašyti esamas ataskaitos nuostatas šablone, pasirinkite „Template > Save“ (šablonas > įrašyti) arba „Save As“ (įrašyti kaip). Tada įkelkite ataskaitos šabloną kitą kartą, kai norėsite sukurti naują ataskaitą.

## Geno tyrimo ataskaitų kategorijos

Dialogo lange „Gene Study Report“ (geno tyrimo ataskaita) organizuokite geno tyrimo duomenis į ataskaitą. [39 lentelė](#) išvardytos visos parinktys, galimos geno tyrimo ataskaitoje

### 39 lentelė. Geno tyrimo ataskaitos kategorijos

| Kategorija      | Parinktis | Aprašymas                                    |
|-----------------|-----------|--|
| <b>Antraštė</b> |           | Ataskaitos antraštė, poantraštė ir logotipas |

**39 lentelė. Geno tyrimo ataskaitos kategorijos (tęsinys)**

| Kategorija  | Parinktis  | Aprašymas   |
|---|--|---|
|   | „Report Information“<br>(ataskaitos informacija)         | Data, vartotojo vardas, duomenų failo pavadinimas, duomenų failo kelias ir pasirinktų šulinėlių grupė |
|   | „Gene Study File List“<br>(geno tyrimo failų sąrašas)    | Visų duomenų failų geno tyrime sąrašas  |
|   | „Notes“ (pastabos)                                       | Pastabos apie duomenų ataskaitą   |
| <b>Stulpelinė diagrama „Study Analysis“ (tyrimo analizė)</b>                  |  |   |
|   | „Analysis Settings“<br>(analizės nuostatos)              | Pasirinktų analizės parametrų sąrašas   |
|   | „Chart“ (diagrama)                                       | Geno ekspresijos stulpelinė diagrama, kurioje rodomi duomenys   |
|   | „Target Names“ (tikslų pavadinimai)                      | Visų tikslų geno tyrime sąrašas   |
|   | „Sample Names“ (mėginių pavadinimai)                     | Visų mėginių geno tyrime sąrašas  |
|   | „Data“ (duomenys)  | Skaičiuoklė, kurioje pateikiami duomenys  |
|   | „Target Stability“ (tikslų stabilumas)                   | Tikslų stabilumo duomenys   |
|   | „Inter-run Calibration“<br>(kalibravimas tarp paleidimų) | Kalibravimo tarp paleidimų duomenys   |
| <b>Grupinė diagrama ir taškinė diagrama „Study Analysis“ (tyrimo analizė)</b> |  |   |
|   | „Analysis Settings“<br>(analizės nuostatos)              | Kiekvieno diagramos tipo nuostatos  |
|   | „Chart“ (diagrama)                                       | Geno ekspresijos diagrama, kurioje rodomi duomenys  |
|   | „Data“ (duomenys)  | Skaičiuoklėje išvardyti kiekvieno tikslo duomenys   |

## 11 skyrius. Geno ekspresijos analizė

## A priedas. Duomenų analizės skaičiavimai

„CFX Manager Dx“ programinė įranga formules apskaičiuoja automatiškai ir rezultatus parodo kortelėse „Data Analysis“ (duomenų analizė). Šiame priede išsamiai paaiškinta, kaip „CFX Manager Dx“ programinė įranga apskaičiuoja formules.

### Reakcijos veiksmingumas

Įrodymai rodo, kad taikant kiekvieno pradmens ir zondo rinkinio veiksmingumo tikslas priemones bus gauti tikslesni rezultatai, kai analizuojami geno ekspresijos duomenys. Veiksmingumo, taikomo geno ekspresijos skaičiavimuose, numatytoji vertė yra 100 %. Norėdami įvertinti reakcijos veiksmingumą, sukurkite standartinę kreivę, taikydami reprezentatyvaus mėginio serijinius skiedimus atitinkamame dinaminiam intervale ir tada registruokite kitos geno ekspresijos analizės veiksmingumą. Jeigu jūsų paleistyje yra standartinė kreivė, tada programinė įranga automatiškai apskaičiuoja veiksmingumą ir jį pateikia „Standard Curve“ (standartinė kreivė) kortelėje „Quantification“ (kiekybinis vertinimas), kai lango „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) kortelėje „Targets“ (tikslai) pažymima „Auto Efficiency“ (automatinis veiksmingumas).

Veiksmingumas (E) veiksmingumo formulėse reiškia „veiksmingumas“, kaip jie apibūdinti Pfaffl (2001) ir Vandesompele et al. (2002). Šiose publikacijose 2 veiksmingumas (idealus padvigubėjimas su kiekvienu ciklu) yra lygus 100 % veiksmingumui programinėje įrangoje. Jūs turite galimybę konvertuoti savo skaičiavimus į naudojamus programinėje įrangoje taikydami šias matematinės lygtis:

- $E = (\% \text{ veiksmingumas} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ veiksmingumas} = (E - 1) * 100$

## Santykinis kiekis

Santykinio kiekio ( $\Delta C_q$ ) formulė bet kuriam mėginiui (GOI) yra:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

**Pastaba.** Ši formulė naudojama santykiniam kiekiui apskaičiuoti, kai nėra apibrėžtas kontrolinis mėginys.

Kur:

- E = pradmens ir zondo rinkinio veiksmingumas. Šis veiksmingumas apskaičiuojamas pagal formulę  
(% veiksmingumas \* 0,01) + 1, kur 100 % veiksmingumas = 2
- $C_{q(\text{min})}$  = vidutinis  $C_q$  mėginiui su mažiausiu vidutiniu  $C_q$ , skirtas GOI
- $C_{q(\text{mėginys})}$  = vidutinis  $C_q$  mėginiui
- GOI = tikslinis genas (vienas tikslas)

## Santykinis kiekis pasirinkus kontrolę

Kai priskirtas kontrolinis mėginys, mėginio su tiriamu genu (GOI) santykinis kiekis (RQ) apskaičiuojamas pagal šią formulę:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Kur:

- E = pradmens ir zondo rinkinio veiksmingumas. Šis veiksmingumas apskaičiuojamas pagal formulę  
(% veiksmingumas \* 0,01) + 1, kur 100 % veiksmingumas = 2
- $C_{q(\text{kontrolė})}$  = vidutinis  $C_q$  kontroliniam mėginiui
- $C_{q(\text{mėginys})}$  = vidutinis  $C_q$  visiems mėginiams su GOI
- GOI = tikslinis genas (vienas tikslas)



## Santykinio kiekio standartinis nuokrypis

Santykinio kiekio standartinio nuokrypio formulė yra

$$SD \text{ Relative Quantity} = SD C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Kur:

- SD santykinis kiekis = santykinio kiekio standartinis nuokrypis
- $SD C_{q \text{ GOI}}$  mėginys = mėginio (GOI)  $C_q$  standartinis nuokrypis
- Santykinis kiekis = mėginio santykinis kiekis
- E = pradmens ir zondo rinkinio veiksmingumas. Šis veiksmingumas apskaičiuojamas pagal formulę  
(% veiksmingumas \* 0,01) + 1, kur 100 % veiksmingumas = 2
- GOI = tikslinis genas (vienas tikslas)

## Koreguotas veiksmingumas $C_q$ ( $C_{qE}$ )

Koreguoto veiksmingumo  $C_q$  formulė yra

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Kur:

- E = veiksmingumas

## Vidutinis koreguotas veiksmingumas $C_q$ ( $MC_{qE}$ )

Vidutinio koreguoto veiksmingumo  $C_q$  formulė yra

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE \text{ (Rep 1)}} + C_{qE \text{ (Rep 2)}} + \dots + C_{qE \text{ (Rep n)}}}{n}$$

Kur:

- $C_{qE}$  = koreguotas veiksmingumas  $C_q$
- n = kopijų skaičius

## Normalizavimo koeficientas

Normalizuotos ekspresijos lygties vardiklis vadinamas normalizavimo koeficientu. Normalizavimo koeficientas yra visų atitinkamo mėginio etaloninių tikslų (genų) santykinų kiekių geometrinis vidurkis, kaip aprašyta šioje formulėje:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

Kur:

- RQ = santykinis kiekis
- n = etaloninių tikslų skaičius
- GOI = tikslinis genas (vienas tikslas)

## Normalizuota ekspresija

Normalizuota ekspresija ( $\Delta\Delta C_q$ ) yra jūsus tikslo (geno), normalizuoto iki etaloninių taikinių (genų ar sekų) jūsus biologinėje sistemoje, santykinis kiekis. Norėdami pasirinkti etaloninius tikslus, atverkite langą „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos) ir spustelėkite kiekvieno tikslo, kuris naudojamas kaip etaloninis genas, etalono stulpelį.

Normalizuotos ekspresijos formulė, kuri naudojama apskaičiuoti santykiniam kiekiui (RQ), yra

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{sample (GOI)}}}{(RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Kur:

- RQ = mėginio santykinis kiekis
- Ref = etaloninis tikslas paleidimo metu, kuris apima vieną ar kelis etaloninius tikslus kiekviename mėginyje
- GOI = tikslinis genas (vienas tikslas)

Jei etaloniniai tikslai jūsus biologinėje sistemoje nekeičia jų ekspresijos lygio, normalizuotos ekspresijos apskaičiavimas apims krovimo skirtumus arba ląstelių skaičiaus skirtumus, kurie yra vaizduojami kiekviename jūsus mėginyje.

## Normalizuota ekspresija pasirinkus kontrolę

Pasirinkus kontrolinį mėginį lange „Experiment Settings“ (eksperimento nuostatos), programinė įranga nustato kontrolinio mėginio ekspresijos lygį į 1. Esant tokiai situacijai, programinė įranga normalizuoja santykinius visų tikslinių (geno) ekspresijų kiekius į kontrolinį kiekį (reikšmė = 1). Ši normalizuota ekspresija lygi neapdorotos normalizuotos ekspresijos analizei, kai pasirinkta kontrolė.

**Pastaba.** Ji dar vadinama santykinė normalizuota ekspresija (RNE) ir kartotiniu keitimu.

## Normalizuotos ekspresijos standartinis nuokrypis

Pakartotinis normalizuotos ekspresijos reikšmės mastelio keitimas atliekamas padalijus normalizuotos ekspresijos standartinį nuokrypį iš jos reikšmės, atitinkančios aukščiausių arba žemiausių ekspresijos lygį, priklausomai nuo pasirinktos mastelio keitimo parinktės. Normalizavimo koeficiento standartinio nuokrypio (SD) formulė:

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ n)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ n)}}\right)^2}$$

Čia:

- RQ = mėginio santykinis kiekis
- SD = standartinis nuokrypis
- NF = normalizavimo koeficientas
- Ref = etaloninis tikslas
- n = etaloninių tikslų skaičius

Priskyrus kontrolinį mėginį, nereikia atlikti standartinio nuokrypio pakartotinio mastelio keitimo, parodyto šioje formulėje:

$$SD\ NE_{sample\ (GOI)} = NE_{sample\ (GOI)} \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{sample}}{NF_{sample}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (GOI)}}{RQ_{sample\ (GOI)}}\right)^2}$$

Čia:

- NE = normalizuota ekspresija
- RQ = mėginio santykinis kiekis
- SD = standartinis nuokrypis
- GOI = tikslinis genas (vienas tikslas)

## Normalizuota ekspresija, padidinta iki didžiausio ekspresijos lygio

Kai paleidimo metu nėra kontrolių, pakeiskite normalizuotos ekspresijos (NE) mastelį kiekvienam tikslui (genui) padalydami kiekvieno mėginio ekspresijos lygį iš aukščiausio ekspresijos lygio visuose mėginiuose. Programinė įranga nustato 1 vertės ekspresijos aukščiausią lygį ir pakeičia visų mėginių ekspresijos lygių mastelį. Aukščiausio mastelio formulė yra

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

Kur:

- GOI = tikslinis genas (tikslas)

## Normalizuota ekspresija, pakeista į mažiausią ekspresijos lygį

Kai paleidimo metu nėra kontrolių, pakeiskite kiekvieno tikslo (geno) normalizuotos ekspresijos (NE) mastelį padalydami kiekvieno mėginio ekspresijos lygį iš visų mėginių žemiausio ekspresijos lygio. Programinė įranga nustato žemiausią ekspresijos lygį į 1 ir pakeičia visų mėginių ekspresijos lygių mastelį. Žemiausio mastelio formulė

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

Čia:

- GOI = tikslinis genas (tikslas)

## Normalizuota ekspresija, pakeista iki vidutinio ekspresijos lygio

Kai paleidimo metu nėra kontrolių, pakeiskite kiekvieno tikslo (geno) normalizuotos ekspresijos (NE) mastelį padalydami kiekvieno mėginio ekspresijos lygį iš visų mėginių ekspresijos lygių geometrinio vidurkio. Programinė įranga nustato vidutinį ekspresijos lygį į 1 ir pakeičia visų mėginių ekspresijos lygių mastelį. Vidutinio mastelio formulė

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Čia:

- GOI = tikslinis genas (tikslas)
- GM = visų mėginių normalizuotos ekspresijos geometrinis vidurkis

## Patikslintos normalizuotos ekspresijos standartinis nuokrypis

Pakartotinis patikslintos normalizuotos ekspresijos (NE) reikšmės tikslinimas atliekamas padalijus normalizuotos ekspresijos standartinį nuokrypį (SD) iš normalizuotos ekspresijos reikšmės, atitinkančios didžiausią (MAX) arba mažiausią (MIN) ekspresijos lygį, priklausomai nuo jūsų tikslinimo parinkties.

**Pastaba.** Kai kontrolinis mėginys priskiriamas, jums nereikia standartiniam nuokrypiui naudoti šios pakartotinio tikslinimo funkcijos.

Apskaičiuojama pagal formulę

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

Kur:

- NE = normalizuota ekspresija
- SD = standartinis nuokrypis
- GOI = tikslinis genas (tikslas)
- MAX = aukščiausias ekspresijos lygis
- MIN = žemiausias ekspresijos lygis

## Taisyklė

Taisyklė yra priemonė padidinti ar sumažinti tikslo ekspresiją eksperimentiniame mėginyje, palyginus su kontrole, ir nustatoma taip:

Jeigu ekspresija (eksperimentinė) > ekspresija (kontrolinė):

$$\text{Regulation} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Jeigu ekspresija (eksperimentinė) < ekspresija (kontrolinė):

$$\text{Regulation} = -1 / \left( \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

**Pastaba.** Stulpelinėje diagramoje *ekspresija* pagrįsta arba santykiniu kiekiu, arba normalizuota ekspresija, priklausomai nuo pasirinkto režimo (žr. [Stulpelinė diagrama, p. 240](#)). Tačiau taškinei ir grupinei diagramai taisyklė visada apskaičiuojama iš normalizuotos ekspresijos.

## Koreguotų verčių formulės

Skirtumas tarp koreguotų verčių ir nekoreguotų verčių matomas tik tada, jeigu sukurta standartinė kreivė kaip tikralaikio PGR paleidimo dalis. Paklaidos sklaidai nustatyti programinė įranga taiko tris lygtis:

- Standartinė paklaida
- Standartinė paklaida normalizuotai ekspresijai
- Standartinė paklaida tiriamam normalizuotam genui (tikslas)

Standartinės paklaidos formulė yra

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Kur:

- $n$  = etaloninių tikslų skaičius (genai)
- $SD$  = standartinis nuokrypis

Normalizavimo koeficiento standartinė paklaida normalizuotos ekspresijos formulėje yra

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{\text{example (Ref 1)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{example (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{example (Ref 2)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{example (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{example (Ref n)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{example (Ref n)}}}\right)^2}$$

Kur:

- $n$  = etaloninių tikslų skaičius
- $SE$  = standartinė paklaida
- $NF$  = normalizavimo koeficientas
- $RQ$  = santykinis kiekis

Tiriamo normalizuoto geno (GOI) standartinės paklaidos formulė yra

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

Kur:

- $SE$  = standartinė paklaida
- $GOI$  = tikslinis genas (vienas tikslas)
- $NF$  = normalizavimo koeficientas
- $n$  = etaloninių tikslų skaičius



## B priedas. CFX Manager Dx vartotojų ir vaidmenų valdymas

„CFX Manager Dx“ programinėje įrangoje galite sukurti vartotojų ir jiems priskirti vaidmenis. Vaidmenys riboja prieigą prie CFX Manager Dx funkcijų. Vartotojui vienu metu galima priskirti vieną vaidmenį. Tačiau CFX Manager Dx programinės įrangos administratorius bet kuriuo metu gali pakeisti vartotojo vaidmenį.

**Patarimas.** Nebūtina sukurti vartotojų, kad būtų galima naudotis CFX Manager Dx. Jeigu nesukursite vartotojų, visa veikla atliekama per numatytojo vartotojo paskyrą „*admin*“.

**Svarbu.** Vartotojo administratorius yra numatytoji administratoriaus paskyra, kuri naudojama pradžioje prisijungti prie CFX Manager Dx. Rekomenduojama sukurti konkretų vartotoją CFX Manager Dx administruoti. Šiam vartotojui priskirkite administratoriaus vaidmenį ir su šiuo vartotoju atlikite visas administravimo užduotis.

**Svarbu.** CFX Manager Dx programinė įranga neturi neaktyvumo skirtojo laiko funkcijos vartotojo sesijoms. Todėl rekomenduojama naudoti „Windows“ arba trečiųjų šalių saugos priemonės (pavyzdžiui, nustatyti ekrano apsaugą su prisijungimo funkcija).

### Vartotojų valdymas

Standartiniame CFX Manager Dx programinėje įrangoje leidime vartotojo paskyra gali būti su vardu ir slaptažodžiu.

Norėdami kiekvienam vartotojui priskirti vaidmenį, lange „User Administration“ (vartotojų administravimas) pasirinkite iš vaidmenų sąrašo. Šiame pavyzdyje svečiui vartotojui suteikta teisė įrašyti failus.

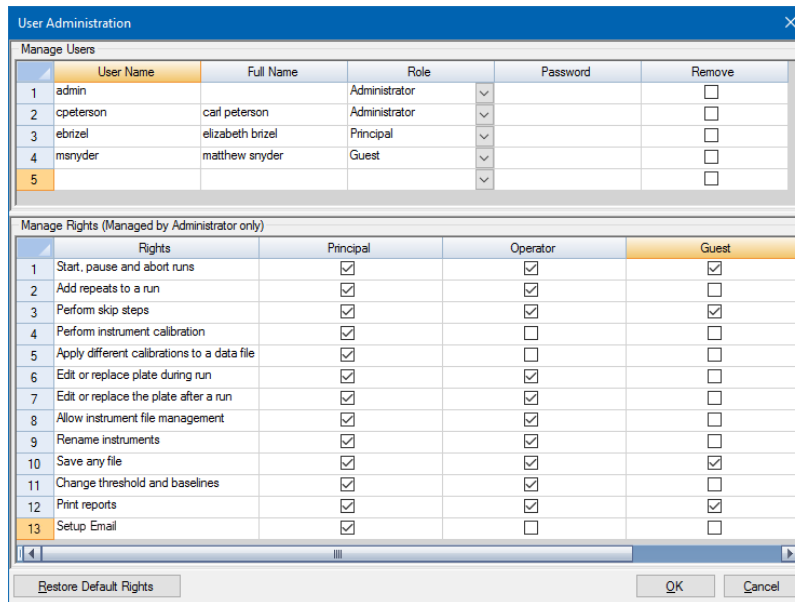
### Vartotojų pridėjimas ir šalinimas

**Pastaba.** Pridėti ir pašalinti vartotojus gali tik CFX Manager Dx administratorius.

#### Kaip pridėti vartotojo paskyrą programoje CFX Manager Dx

1. Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „User > User Administration“ (vartotojas > vartotojų administravimas).

Pasirodo dialogo langas „User Administration“ (vartotojų administravimas).



2. Srityje „Manage Users“ (valdyti vartotojus) įrašykite vartotojo vardą.

3. Pasirinkite vartotojo „Role“ (vaidmuo).

Vaidmenys riboja vartotojo teises. Numatytasis vaidmuo – „Principal“ (pagrindinis).

**Patarimas.** Galite keisti kiekvieno vaidmens teises. Teisės pakeičiamos visiems vartotojams, kuriems priskirta ši funkcija. Daugiau informacijos žr. [Vaidmenų teisių valdymas, p. 277](#).

4. (Neprivaloma) Įveskite vartotojo „Full Name“ (vardas, pavardė) ir „Password“ (slaptažodis).

5. Spustelėkite OK (gerai), kad atidarytumėte dialogo langą ir patvirtintumėte, kad norite uždaryti langą.

6. Spustelėkite „Yes“ (taip), kad uždarytumėte dialogo langą ir langą.

### Kaip pašalinti vartotoją

1. Srityje „Manage Users“ (valdyti vartotojus) pasirinkite „Remove“ (šalinti) prie kiekvieno vartotojo, kurį norite pašalinti.

2. Spustelėkite OK (gerai), kad atidarytumėte dialogo langą ir patvirtintumėte, kad norite uždaryti langą.

3. Spustelėkite „Yes“ (taip), kad uždarytumėte dialogo langą ir programos langą.

**Pastaba.** Programinės įrangos vartotojų sąrašė visada turi būti vienas administratorius.

## Vaidmenų teisių valdymas

CFX Manager Dx numatyti šie keturi vaidmenys:

- Administratorius (privalomas) – administratoriai turi visas teises ir jūs negalite šių teisių pakeisti. Administratoriai taip pat gali pridėti ir pašalinti vartotojus ir keisti kiekvienam vaidmeniui priskirtas teises.

**Pastaba.** Keisti bet kuriam vaidmeniui priskirtas teises gali tik administratorius.

- Pagrindinis – pagal numatytąsias nuostatas pagrindinis vartotojas turi visas teises
- Operatorius – pagal numatytąsias nuostatas vartotojas, kuris yra operatorius, turi visas teises, išskyrus ciklų praleidimo
- Svečias – pagal numatytąsias nuostatas vartotojas, kuris yra svečias, gali tik skaityti failus

**Svarbu.** Vaidmeniui numatytų teisių pakeitimas taikomas visiems vartotojams, kuriems priskirtas tas vaidmuo. Jūs negalite pritaikyti vaidmens konkrečiam vartotojui. Keisdami vaidmenims priskirtas teises, būkite atidūs.

### Teisių kiekvienam vaidmeniui nustatymas

1. Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „User > User Administration“ (vartotojas > vartotojų administravimas).
2. Srityje „Manage Rights“ (teisių valdymas) atlikite vieną iš toliau nurodytų veiksmų:
  - Jei norite pašalinti vaidmeniui priskirtą teisę, panaikinkite jos žymės langelio žymėjimą.
  - Jei norite pridėti vaidmeniui teisę, pažymėkite jos žymės langelį.
3. Spustelėkite OK (gerai), kad atidarytumėte dialogo langą ir patvirtintumėte, kad norite uždaryti langą.
4. Spustelėkite „Yes“ (taip), kad uždarytumėte dialogo langą ir programos langą.

### Visų teisių visiems vaidmenims atkūrimas

- ▶ Dialogo lange „User Administration“ (vartotojų administravimas) spustelėkite „Restore Default Rights“ (numatytųjų teisių atkūrimas).

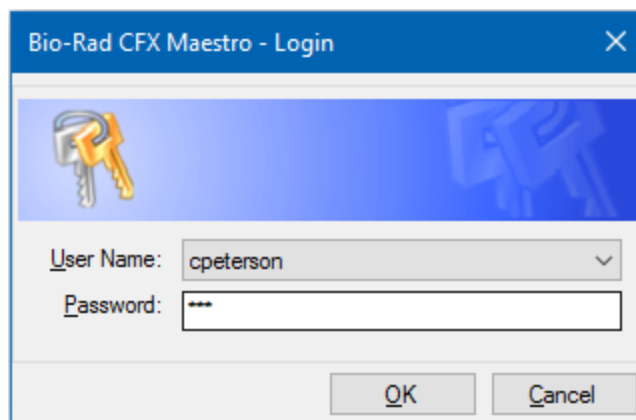
## Prisijungimas prie CFX Manager Dx programinės įrangos

CFX Manager Dx programinė įranga reguliuoja, kas prisijungia prie programinės įrangos, dialogo lange „Login“ (prisijungimas). Kai paleidžiate programinę įrangą, „CFX Manager Dx“ automatiškai parodo dialogo langą „Login“ (prisijungimas), kai lange „User Administration“ (vartotojų administravimas) pateikti du ar keli vartotojai.

Lango „Home“ (pagrindinis) viršuje CFX Manager Dx rodo prisijungusio vartotojo vardą.

### Kaip prisijungti prie CFX Manager Dx

1. Dialogo lango „Login“ (prisijungimas) išplečiamajame sąraše „User Name“ (vartotojo vardas) pasirinkite savo vardą.
2. Įrašykite savo slaptažodį.
3. Spustelėkite OK (gerai) ir užverkite prisijungimo dialogo langą ir atverkite programinę įrangą.



### Vartotojų keitimas

Vartotojus galite keisti veikiant programinei įrangai.

#### Vartotojų perjungimas

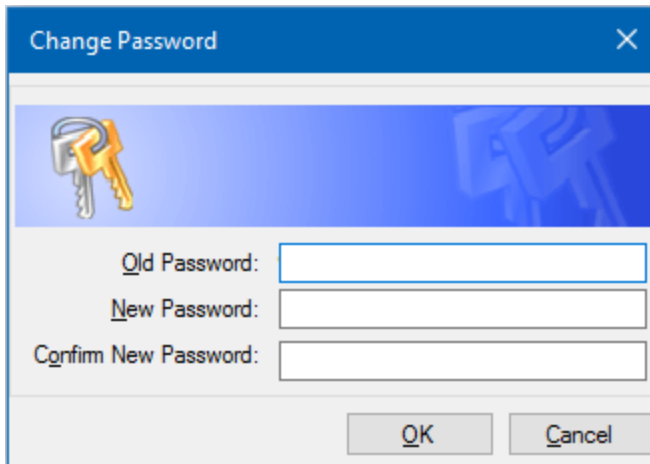
1. Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „User > Select User“ (vartotojas > pasirinkti vartotoją) ir atverkite dialogo langą „Login“ (prisijungimas).
2. Išplečiamajame sąraše „User Name“ (vartotojo vardas) pasirinkite vardą.
3. Įrašykite naujo vartotojo slaptažodį.
4. Spustelėkite OK (gerai), užverkite dialogo langą „Login“ (prisijungimas) ir atverkite programinę įrangą.

## Vartotojų slaptažodžių keitimas

CFX Manager Dx vartotojai gali bet kada pakeisti savo slaptažodį.

### Kaip pakeisti vartotojų slaptažodžius

1. Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „User > Change Password“ (vartotojas > keisti slaptažodį) ir atverkite dialogo langą „Change Password“ (slaptažodžio keitimas).



2. Laukelyje „Old Password“ (senas slaptažodis) įveskite dabartinį slaptažodį.
3. Laukelyje „New Password“ (naujas slaptažodis) įveskite naują slaptažodį ir pakartokite jį laukelyje „Confirm New Password“ (patvirtinti naują slaptažodį).
4. Spustelėkite OK (gerai), kad patvirtintumėte pakeitimą.

## Jūsų vaidmens ir teisių peržiūrėjimas

**Patarimas.** Vartotojai, kuriems priskirti „Principal“ (pagrindinis), „Operator“ (operatorius) arba „Guest“ (svečias) vartotojo vaidmenys, gali peržiūrėti tik savo vartotojo nuostatus, teises ir vaidmenis.

### Esamų vartotojo vaidmenų ir teisių peržiūrėjimas

- Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „User > User Administration“ (vartotojas > vartotojų administravimas).

Kreipkitės į savo „CFX Manager Dx“ administratorių ir pakeiskite vartotojo nuostatus, teises ir vaidmenis, išvardytus lango „User Administration“ (vartotojų administravimas).

B priedas. CFX Manager Dx vartotojų ir vaidmenų valdymas

## C priedas. LIMS integravimas

Jūs galite konfigūruoti „CFX Manager Dx“ programinę įrangą naudoti su laboratorijos informacijos valdymo sistema (LIMS). Tam, kad galėtų būti integruota LIMS, CFX Manager Dx reikalauja, kad būtų LIMS platformos generuota plokštelės sąrankos informacija (LIMS failas, \*.plrn), protokolo failas, sukurtas naudojant „CFX Manager Dx programinę įrangą“ (\*.prcl), apibrėžta duomenų eksportavimo vieta ir eksportavimo formatas.

Pasibaigus paleidimui, CFX Manager Dx sukuria duomenų failą (.pcrd) ir įrašo jį numatytoje vietoje duomenų eksportavimo aplanke. „CFX Manager Dx“ taip pat gali sukurti su LIMS suderinamą duomenų failą .csv formatu ir įrašyti jį toje pačioje vietoje.

### Su LIMS suderinamų duomenų failų kūrimas

Šiame priede paaiškinama, kaip nustatyti programinę įrangą „CFX Manager Dx“, kad būtų galima kurti, įrašyti ir eksportuoti su LIMS suderinamus duomenų failus.

#### LIMS aplanko ir duomenų eksporto parinkčių nustatymas

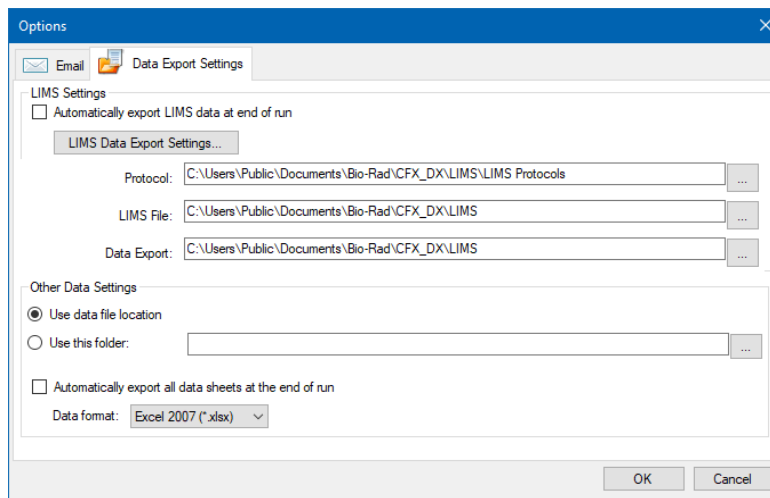
Pagal numatytąsias nuostatas CFX Manager Dx LIMS protokolus, failus ir duomenų eksportavimo failus įrašo šiame aplanke:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_Dx\LIMS

Galite sukonfigūruoti CFX Manager Dx ir failus įrašyti kitame aplanke, taip pat galite pakeisti LIMS duomenų eksporto parinktis.

#### Kaip nustatyti LIMS aplanko ir duomenų eksporto parinktis

1. Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „Tools > Options“ (įrankiai > parinktys).
2. Dialogo lange „Options“ (parinktys) pasirinkite „Data Export Settings“ (duomenų eksportavimo nuostatos).



3. (Neprivaloma) Pasirinkite „Automatically export LIMS data at end of run“ (automatiškai eksportuoti LIMS duomenis paleidimo pabaigoje).

Programinė įranga automatiškai eksportuos LIMS duomenis po kiekvieno paleidimo ir juos įrašys nurodytoje vietoje.

4. Norėdami pakeisti numatytąsias LIMS duomenų eksporto parinktis, spustelėkite „LIMS Data Export Settings“ (LIMS duomenų eksporto nuostatos).

**Svarbu.** Atgal į CFX Manager Dx LIMS duomenis galima eksportuoti tik kaip .csv failą.

5. Dialogo lange „LIMS Data Export Format Settings“ (LIMS duomenų eksporto formato nuostatos) pasirinkite reikiamas eksporto parinktis ir spustelėkite OK (gerai).
6. Dialogo lange „Options“ (parinktys) raskite ir pasirinkite numatytąjį aplanką, kuriame norite įrašyti LIMS duomenų failus. Kiekvienam failų tipui galite pasirinkti skirtingą vietą:

- Protokolas
- LIMS failas
- Duomenų eksportas

7. Spustelėkite OK (gerai), įrašykite pakeitimus ir uždarykite dialogo langą „Options“ (parinktys).

## LIMS protokolo kūrimas

Tam, kad galėtumėte paleisti LIMS, sukurkite CFX Manager Dx protokolo failą (\*.prcl) ir įrašykite jį numatytoje vietoje LIMS protokolo aplanke.

Daugiau informacijos žr. [6 skyrius](#), [Protokolų kūrimas](#).



## LIMS failo kūrimas

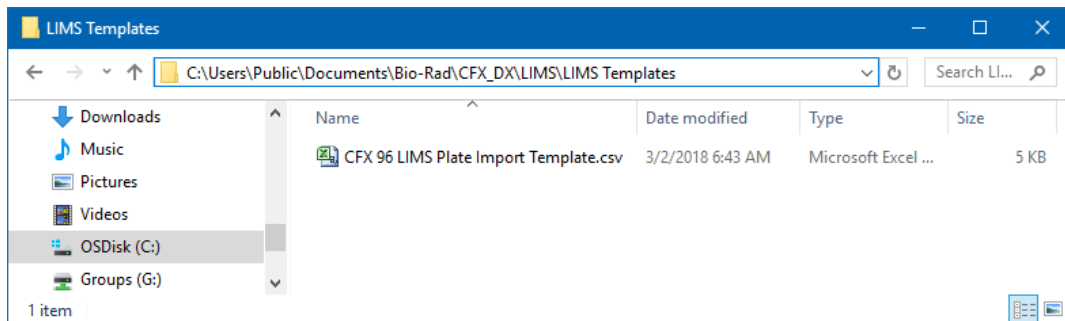
LIMS faile (\*.plrn) yra išsamiai informacija apie plokštelės sąranką ir protokolo failo pavadinimas. Failas sukuriamas vidaus LIMS sistemoje. CFX Manager Dx naudojamas LIMS failas ir jo pagrindu kuriamas plokštelės failas, skirtas naudoti su protokolo failu.

CFX Manager Dx pateikiami šabloniniai failai plokštelėms importuoti, kuriuos galite redaguoti, kad būtų sukurti specialūs LIMS plokštės failai.

**Patarimas.** Šią užduotį atlieka LIMS specialistas.

### Kaip sukurti LIMS failą

1. Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „View > Show > LIMS File Folder“ (peržiūrėti > rodyti > LIMS failo aplankas).
2. Atidarykite aplanką „LIMS Templates“ (LIMS šablonai) ir pasirinkite .csv failą, kurį norite importuoti į vidaus LIMS sistemą.



3. Naudodami LIMS, redaguokite šablono failą įvesdami reikalingus laukelius, nurodytus čia: [40 lentelė](#).
4. Įrašykite šabloną su failo pavadinimo plėtimu .plrn LIMS failo aplanke.

**Svarbu.** CFX Manager Dx gali atidaryti tik .plrn failą. Norėdami paleisti LIMS, turite įrašyti .csv failą kaip .plrn.

40 lentelė. LIMS .csv failo turinio apibrėžimas

| Stulpelis | Eilutė | Aprašymas                       | Turinys  | Tikslas              |
|-----------|--------|---------------------------------|--|----------------------|
| A         | 1      | Plokštelės antraštė             | Neredaguoti  | Iš anksto nustatytas |
| A, B, C   | 2      | Laukelis / duomenys / nurodymas | Neredaguoti  | Iš anksto nustatytas |
| B         | 3      | Versija                         | Neredaguoti  | Iš anksto nustatytas |
| B         | 4      | Plokštelės dydis                | Neredaguoti  | Iš anksto nustatytas |
| B         | 5      | Plokštelės tipas                | Įveskite „BR White“, „BR Clear“ arba kitą sukalibruotos plokštelės tipą            | Privaloma            |
| B         | 6      | Nuskaitymo režimas              | Įveskite „SYBR/FAM Only:“ (tik SYBR/FAM:), „All Channels“ (visi kanalai) arba FRET | Privaloma            |

40 lentelė. LIMS .csv failo turinio apibrėžimas (tęsinys)

| Stulpelis | Eilutė | Aprašymas         | Turinys   | Tikslas     |
|-----------|--------|-------------------|---|-------------|
| B         | 7      | Matavimo vienetai | Įveskite: „copy number“<br>(kopijos numeris), „fold dilution“ (skiedimo kartotinis), „micromoles“ (mikromoliai), „nanomoles“ (nanomoliai), „picomoles“ (pikomoliai), „femtomoles“ (femtomoliai), „attomoles“ (atomoliai), „milligrams“ (miligramai), „micrograms“ (mikrogramai), „nanograms“ (nanogramai), „picograms“ (pikogramai), „femtograms“ (femtogramai), „attograms“ (atogramai) arba „percent“ (procentai) | Privaloma   |
| B         | 8      | Paleidimo ID      | Įveskite trumpą aprašymą arba brūkšninį kodą šiam paleidimui identifikuoti (daugiausia 30 ženklų; neleidžiama naudoti kablelių)   | Neprivaloma |
| B         | 9      | Paleidimo pastaba | Įveskite paleidimo aprašymą   | Neprivaloma |

40 lentelė. LIMS .csv failo turinio apibrėžimas (tęsinys)

| Stulpelis | Eilutė | Aprašymas   | Turinys   | Tikslas              |
|-----------|--------|---|---|----------------------|
| B         | 10     | Paleidimo protokolas  | Įveskite protokolo failo pavadinimą tiksliai taip, kaip nurodyta sąraše   | Privaloma            |
| A         | 11     | Duomenų failas  | Įveskite duomenų failo pavadinimą   | Neprivaloma          |
| A         | 12–15  | Bus nuspręsta / tuščia                                      | Neredaguoti   | Iš anksto nustatytas |
| A         | 16     | Plokštelės duomenys   | Neredaguoti   | Iš anksto nustatytas |
| A         | 17–113 | Šulinėlio padėtis   | Neredaguoti   | Iš anksto nustatytas |
| B–G       |        | Ch1 dažai, Ch2 dažai, Ch3 dažai, Ch4 dažai, Ch5 dažai, FRET | Įveskite kiekvieno naudojamo kanalo vieną sukalibruotų dažų pavadinimą (pavyzdžiui, FAM)  | Privaloma            |
| H         |        | Mėginio tipas   | Įveskite vieną iš šių mėginių tipų:<br>„Unknown“ (nežinomas), „Standard“ (standartinis), „Positive Control“ (teigiama kontrolė), „Negative Control“ (neigiama kontrolė), NTC (jokios šablono kontrolės) arba NRT (jokios atvirkštinės transkripcijos) | Privaloma            |

40 lentelė. LIMS .csv failo turinio apibrėžimas (tęsinys)

| Stulpelis | Eilutė  | Aprašymas   | Turinys  | Tikslas                       |
|-----------|---|---|--|-------------------------------|
| I         |   | Mėginio pavadinimas   | Įveskite mėginio pavadinimą  | Neprivaloma                   |
| J–O       |   | CH1 tikslas, CH2 tikslas, CH3 tikslas, CH4 tikslas, CH5 tikslas, FRET tikslas                           | Įveskite kiekvieno naudoto kanalo tikslo pavadinimą  | Neprivaloma                   |
| P         |   | Biologinio rinkinio pavadinimas   | Įveskite biologinio rinkinio pavadinimą  | Neprivaloma                   |
| Q         |   | Kartotinis  | Įveskite kiekvieno kartotinių rinkinio teigiamą sveikąjį skaičių. Reikšmė negali būti nulis. | Neprivaloma                   |
| R–W       |   | CH1 kiekis, CH2 kiekis, CH3 kiekis, CH4 kiekis, CH5 kiekis, FRET kiekis                                 | Įveskite bet kurių standartų kiekių vertes. Įveskite koncentraciją dešimtaine forma.         | Privaloma visiems standartams |
| X         |   | Šulinėlio pastaba   | Įveskite šulinėlio pastabą (daugiausia 20 ženklų)  | Neprivaloma                   |
| Y–AD      | Ch1 šulinėlio spalva, Ch2 šulinėlio spalva, Ch3 šulinėlio spalva, Ch4 šulinėlio spalva, Ch5 šulinėlio spalva, FRET šulinėlio spalva | Įveskite vartotojo nustatytą pėdsako stiliaus spalvą 32 bitų sveikojo skaičiaus (ARGB) dešimtaine forma | Neprivaloma  |                               |

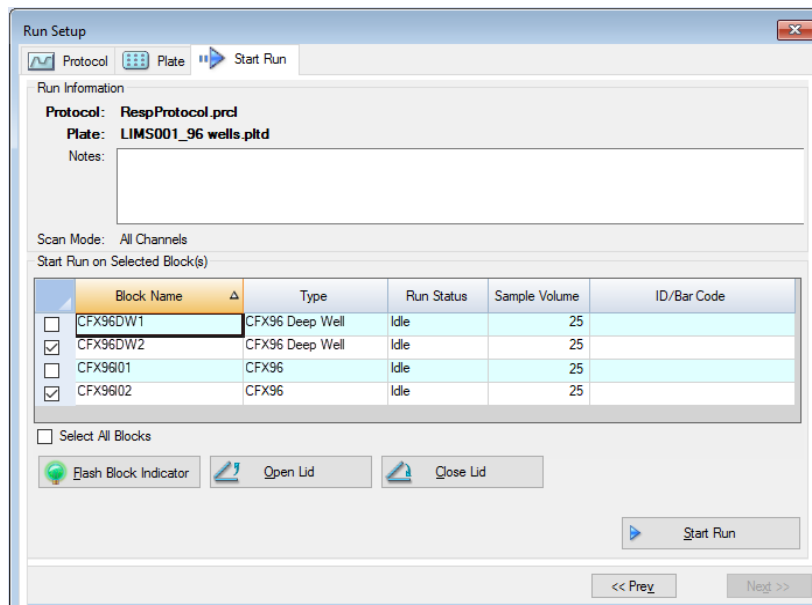
## LIMS paleidimo pradžia

### Kaip pradėti LIMS paleidimą

1. Atlikite šiuos veiksmus, kad atidarytumėte LIMS .plrn failą:
  - Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „View > Show > LIMS File Folder“ (rodinys > rodyti > LIMS failo aplankas) ir atidarykite tikslo .plrn failą.
  - Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „File > Open > LIMS File“ (failas > atidaryti > LIMS failas) ir atidarykite tikslo .plrn failą.

Failas atidaromas kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia), esančioje „Run Setup“ (paleidimo sąranka) vedlyje. Kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia) rodoma informacija apie norimą vykdyti eksperimentą. Joje taip pat rodomas prijungtas prietaisų blokas arba blokai, kuriuose galite paleisti eksperimentą.

2. Kortelėje „Start Run“ (paleidimo pradžia) pasirinkite prietaisą ir spustelėkite „Start Run“ (paleidimo pradžia).



## Duomenų eksportavimas į LIMS

Baigus paleidimą CFX Manager Dx generuoja duomenų (.pcrd) failą, jį įrašo į nurodytą duomenų eksporto aplanko vietą.

### Duomenų failo eksportavimas į LIMS

- ▶ Atverkite .pcrd failą ir pasirinkite „Export > Export to LIMS Folder“ (eksportuoti > eksportuoti į LIMS aplanką).

**Patarimas.** Jeigu „LIMS Options“ (LIMS parinktys) pasirenkate „Automatically Export Data after Run“ (automatiškai eksportuoti duomenis po paleidimo), „CFX Manager Dx“ sukuria su LIMS suderinamą duomenų failą .csv formatu ir jį įrašo tame pačiame aplanke.

C priedas. LIMS integravimas



## D priedas. Trikčių šalinimas. Prisijungimo prie CFX Manager Dx programinės įrangos problemos

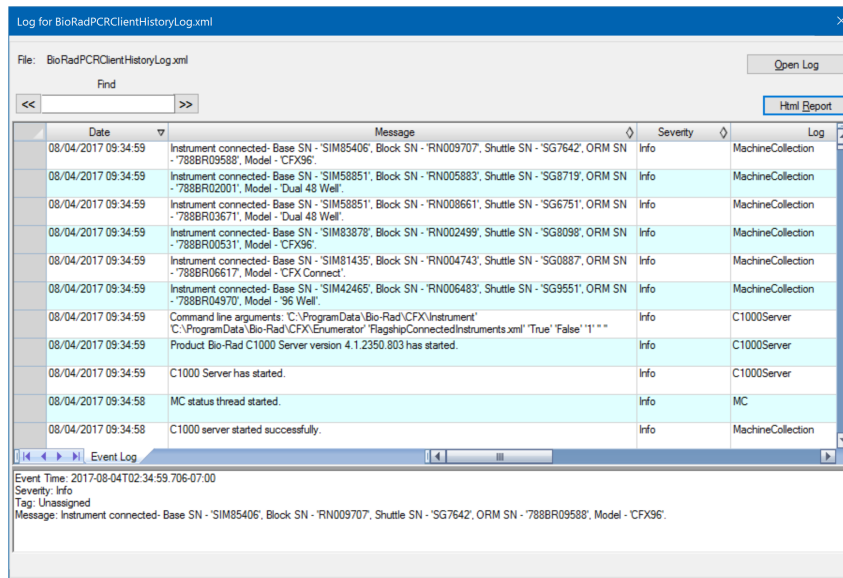
### Programos žurnalas

Prieš naują paleidimą prietaisai CFX96 ir „CFX96 Deep Well“ inicijuoja savidiagnostikos testą, kad būtų patikrinta, ar jie paleidžiami pagal specifikacijas. Programinė įranga įrašo šių testų rezultatus „Run Log“ (paleidimo žurnalas) ir „Application Log“ (programos žurnalas) failuose. Jei vieno ar kelių eksperimentų metu pastebėtumėte problemą, atidarykite paleidimo ir programos žurnalus, kad sužinotumėte, kuriuo momentu prasidėjo problema.

„CFX Manager Dx“ stebi prietaiso būsenos informaciją žurnale „Application Log“ (programos žurnalas). Naudokitės šiais žurnalais, kad stebėtumėte įvykius, susijusius su prietaisais ir programine įranga, ir pašalintumėte triktis.

## Kaip atidaryti programos žurnalą

- ▶ Lange „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „View > Application Log“ (peržiūrėti > programos žurnalas).



## Trikčių šalinimas

Paprastai programinės įrangos ir prietaisų ryšio problemas galima išspręsti iš naujo paleidus kompiuterį ir sistemą. Prieš paleisdami kompiuterį iš naujo, būtinai įrašykite visus vykdomus darbus.

**Pastaba.** Patikrinkite, ar kompiuteryje yra pakankamai RAM atminties ir laisvos vietos diske. Turi būti ne mažiau nei 4 GB RAM atminties ir 128 GB vietos standžiajame diske.

### Nutrūkęs maitinimas

Nutrūkus maitinimui instrumentas ir kompiuteris išsijungs. Jeigu maitinimas nutrūksta trumpam, instrumentas atnaujins protokolo paleidimą, tačiau programos žurnale bus pažymėta, kad maitinimas nutrūko. Priklausomai nuo kompiuterio nuostatų ir maitinimo nutrūkimo trukmės, instrumentas ir programinė įranga mėgins tęsti paleidimą, priklausomai nuo protokolo veiksmo:

- Jeigu atliekamas protokolo veiksmas be plokštelės nuskaitymo, protokolas tęsiamas, kai tik atnaujinamas instrumento maitinimas.
- Jeigu atliekamas protokolo veiksmas su plokštelės nuskaitymu, instrumentas laukia, kol programinė įranga bus paleista iš naujo ir atnaujins ryšį duomenims gauti. Tokiu atveju protokolas tęsiamas tik tada, jeigu kompiuteris programinės įrangos neišjungė. Kai kompiuteris ir programinė įranga vėl paleidžiami, protokolas tęsiamas.

### Mėginių išėmimas iš reakcijos modulio nutrūkus maitinimui

Nutrūkus maitinimui galite atidaryti reakcijos modulio užrakintą motorizuotą dangtelį ir išimti savo mėginius.

#### Kaip išimti fiksavimo plokštelę

1. Paspauskite fiksavimo juostą ir išimkite reakcijos modulį iš „C1000 Dx“ termociklerio.
2. Reakcijos modulį atsargiai padėkite ant stalo ar laboratorijos stalo.

3. Modulį padėkite taip, kad modulio priekis būtų išsikišęs 2 colius iš už krašto.



4. Šešiakampių veržliarakčiu atsukite du didelius varžtus, esančius po reakcijos modulio priekiniu kraštu (po dangtelio atidarymo mygtuku).

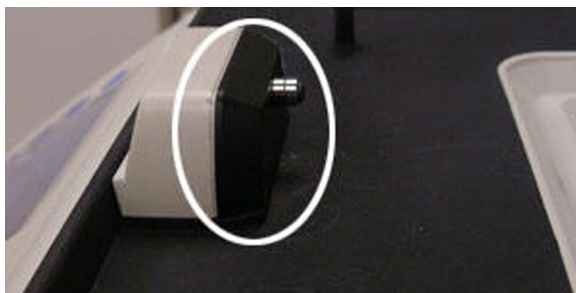
Turėtumėte modulio viduje išgirsti atsileidžiantį fiksavimo skląstį.

**Svarbu.** Neatsukite dviejų mažų varžtų modulio priekiniame krašte.



5. Paspauskite ir atidarykite reakcijos modulio dangtelį. Atkreipkite dėmesį, kad skląstis (tamsus, plastikinis) nebeuždėtas. Iš bloko išimkite savo mėginius.

- Uždėkite fiksavimo skląstį ir jį fiksukite dideliais varžtais, kad vėl surinktumėte reakcijos modulį su atidarytu dangteliu.



## Failų parsisiuntimas į CFX Manager Dx kompiuterį

Galite parsisiųsti instrumente esančius duomenis ir žurnalo failus ir juos perkelti į prijungto kompiuterio standųjį diską.

**Pastaba.** Visi failai tikralaikio duomenų aplanke instrumento pagrindiniame bloke yra parsiončiami į kompiuterį.

### Kaip parsisiųsti failus iš instrumento

- Skyriuje „Detected Instruments“ (aptikti instrumentai), esančiame lange „Home“ (pagrindinis), pelės dešiniuoju mygtuku spustelėkite tikslinį instrumentą ir pasirinkite vieną iš šių veiksmų:
  - Parsisiųsti žurnalo failus
  - Parsisiųsti duomenų failus
- Pasirinkite aplanko vietą ir įrašykite parsisiųstus failus.
- Spustelėkite „Okay“ (gerai).

## CFX Manager Dx programinės įrangos įdiegimas rankiniu būdu

### CFX Manager Dx programinė įranga įdiegimas rankiniu būdu

- Jei reikia, atjunkite nuo kompiuterio visus prijungtus prietaisus.  
Raskite ir atjunkite nuo CFX Manager Dx kompiuterio prietaiso USB kabelį. Prie prietaiso prijungtas kabelio galas gali likti neatjungtas.
- Prisijunkite prie CFX Manager Dx kompiuterio administratoriaus teisėmis.
- Įdėkite programinės įrangos kompaktinį diską (CD).

D priedas. Trikčių šalinimas. Prisijungimo prie CFX Manager Dx programinės įrangos problemos

4. Naudodamiesi naršykle „Windows Explorer“, pasiekite CD, dukart spustelėkite CD piktogramą ir pasirinkite „Explore“ (naršyti), kad būtų atvertas CD langas.
5. Dukart spustelėkite aplanką „CFX\_Manager“, kad jį atvertumėte, o tada dukart spustelėkite setup.exe, kad paleistumėte programinės įrangos diegimo vedlį.
6. Vadovaukitės vedlio nurodymais, kad įdiegtumėte programinę įrangą, o tada spustelėkite „Finish“ (baigti).

## Tvarkyklių įdiegimas iš naujo

### Kaip naujo įdiegti prietaiso tvarkykles

- ▶ Lango „Home“ (pagrindinis) pasirinkite „Tools > Reinstall Instrument Drivers“ (įrankiai > iš naujo įdiegti prietaisų tvarkykles).

**Pastaba.** Iškilus programinės įrangos ryšio su sistema realiuoju laiku problemoms tada, kai buvo iš naujo įdiegtos tvarkyklės kreipkitės (prieš tai patikrinę USB jungtį) „Bio-Rad“ techninės pagalbos.

## E priedas. Literatūra

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.).

### **„Minpack“ autoriaus teisių pranešimas, Čikagos universitetas, 1999. Visos teisės saugomos.**

Leidžiama platinti ir naudoti pirminiu ir skaitmeniniu formatu, su pakeitimais arba be jų, jei laikomasi šių sąlygų:

1. Platinant pirminį šaltinį turi būti pateiktas pirmiau nurodytas autoriaus teisių pranešimas, šis sąlygų sąrašas ir šis atsakomybės apribojimas.
2. Platinant skaitmeniniu formatu turi būti pateiktas pirmiau nurodytas autoriaus teisių pranešimas, šis sąlygų sąrašas ir šis atsakomybės apribojimas šiuose dokumentuose ir (arba) kitoje platinamoje medžiagoje.
3. Galutinio vartotojo platinamuose dokumentuose, jeigu jie yra, turi būti šis pareiškimas:

„Šį produktą sudaro Čikagos universiteto, kaip „Argonne National Laboratory“ operatoriaus, sukurta programinė įranga.“

E priedas. Literatūra







Bio-Rad Laboratories, Inc.  
5731 W Las Positas Blvd  
Pleasanton, CA 94588  
USA

|    |     |
|----|-----|
| EC | REP |
|----|-----|

Bio-Rad  
3, boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette, France  
Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00  
Fax: +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