

# СИСТЕМИ CFX96 Dx і CFX96 Deep Well Dx

## Інструкція з експлуатації

REF

1845097-IVD  
1844095-IVD  
1841000-IVD  
12007917

Дата останнього перегляду  
інструкції: 2022 р.  
Версія програмного  
забезпечення: 3.1



ETL LISTED  
**ВІДПОВІДАЄ СТАНДАРТАМ**  
UL Std. 61010-1  
UL Std. 61010-2-010  
UL Std. 61010-2-101  
UL Std. 61010-2-081  
**СЕРТИФІКОВАНО ЗГІДНО З**  
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**



# **Системи CFX96 Dx і CFX96 Deep Well Dx**

## **Інструкція з експлуатації**

**Версія 3.1**

**BIO-RAD**

## **Bio-Rad**Технічна підтримка

Відділ технічної підтримки Bio-Rad в США працює з понеділка по п'ятницю з 5:00 до 17:00 за тихоокеанським часом.

**Телефон:** 1-800-424-6723, пункт 2

**Електронна пошта:** Support@bio-rad.com (тільки для США/Канади)

Щоб отримати технічну допомогу за межами США та Канади, зверніться в місцевий офіс служби технічної підтримки або натисніть на посилання Contact us (Зв'яжіться з нами) на вебсайті [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com).

## **Попередження**

Жодну частину цієї публікації не можна відтворювати або передавати в будь-якому вигляді чи будь-яким способом, електронним або механічним, включно з фотокопіюванням, записом чи використанням будь-якої системи збереження або пошуку інформації, без письмового дозволу компанії Bio-Rad.

Bio-Rad зберігає за собою право будь-коли змінювати свої продукти та послуги. Цей посібник може бути змінено без попередження. Хоча ця інформація було підготовлено з дотриманням точності, компанія Bio-Rad не несе відповідальності за помилки чи упущення або за будь-які пошкодження внаслідок її застосування чи використання.

BIO-RAD є торговим знаком компанії Bio-Rad Laboratories, Inc.

BIO-RAD, HARD-SHELL та MICROSEAL є торговими знаками компанії Bio-Rad Laboratories, Inc. у деяких юрисдикціях.

SYBR є торговим знаком компанії Thermo Fisher Scientific Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. має ліцензію на продаж реактивів, що містять SYBR Green I для використання в ПЛР у реальному часі, лише з метою дослідження.

EvaGreen є торговим знаком компанії Biotium, Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. має ліцензію від компанії Biotium, Inc. на продаж реактивів, що містять барвник EvaGreen для використання у ПЦР в реальному часі, лише з метою дослідження.

Усі торгові знаки, використані в цьому документі, належать їх відповідним власникам.

© Bio-Rad Laboratories, Inc., 2022. Усі права захищено.



## Цільове використання

Системи CFX96 Dx і CFX96 Deep Well Dx із програмним забезпеченням CFX Manager Dx призначені для проведення ПЛР з флуоресцентною детекцією для виявлення та кількісного визначення послідовностей нуклеїнових кислот. Системи й програмне забезпечення призначені для проведення діагностики in vitro кваліфікованими лаборантами. Системи використовуються з діагностичними тестами нуклеїнових кислот сторонніх виробників, які виготовлені та марковані для діагностичних цілей.

## Словник символів

**Важливо!** Підкреслено суттєві зміни!

 <p>Виробник</p>	 <p>Номер партії</p>
 <p>Використати до</p>	 <p>Для діагностики in vitro</p>
 <p>Температурна межа</p>	 <p>Номер у каталогу</p>
 <p>Звернутися до інструкцій із застосування</p>	 <p>Кількість тестів</p>

 <p>Для використання разом з</p>	 <p>Серійний номер</p>
<p><b>Rx Only</b></p> <p>Використовувати тільки згідно з інструкцією</p>	 <p>Містить латекс</p>
 <p>Маркування CE – Регламент (ЄС) 2017/746 щодо медичних виробів для діагностики in vitro</p>	

## Переклади

Документацію на виріб може бути надано додатковими мовами на електронних носіях.

# Зміст

Цільове використання .....	iii
Словник символів .....	iii
Переклади .....	iv
<b>Безпека та нормативно-правова відповідність .....</b>	<b>15</b>
Попереджувальні таблички про техніку безпеки .....	15
Параметри безпечної експлуатації та відповідність нормативним вимогам .....	16
Відповідність нормативним вимогам .....	17
Небезпеки .....	18
Біологічно небезпечні речовини .....	18
Хімічні небезпеки .....	20
Небезпека вибуху або займання .....	20
Небезпека ураження електричним струмом .....	20
Транспортування .....	20
Акумулятор .....	21
Утилізація .....	21
Гарантія .....	21
<b>Розділ 1 Вступ .....</b>	<b>23</b>
Системи детекції ПЛР CFX Dx .....	23
Додаткова інформація .....	24
<b>Розділ 2 Налаштування термоциклера C1000 Dx .....</b>	<b>25</b>
Вимоги до встановлення та експлуатації .....	25
Вимоги до місця встановлення .....	25
Вимоги до середовища експлуатації .....	26
Вимоги до електричного живлення .....	26
Огляд системи .....	27
Вигляд спереду .....	27
Вигляд задньої сторони .....	28
Оптичні реакційні модулі .....	30

Рекомендовані об'єми проб .....	31
Встановлення термоциклера C1000 Dx .....	32
Розпакування та встановлення термоциклера C1000 Dx .....	32
Приєднання оптичних реакційних модулів .....	33
Видалення транспортувального гвинта .....	34
Завантаження планшетів для проб .....	35
Виявлення підключених інструментів .....	37
Від'єднання реакційного модуля .....	38
Завершення роботи термоциклера C1000 Dx .....	38
<b>Розділ 3 Встановлення програмного забезпечення CFX Manager Dx .....</b>	<b>39</b>
Вимоги до системи .....	40
Встановлення програмного забезпечення CFX Manager Dx .....	41
Виявлення підключених інструментів .....	42
Файли програмного забезпечення .....	42
Рекомендовані заходи кібербезпеки .....	43
<b>Розділ 4 Робоче місце .....</b>	<b>45</b>
Вікно Home (Головне) .....	46
Startup Wizard (Майстер запуску) .....	47
Вікно Protocol Editor (Редактор протоколу) .....	48
Вікно Plate Editor (Редактор планшетів) .....	49
Вікно Data Analysis (Аналіз даних) .....	50
<b>Розділ 5 Вікно Home (Головне) .....</b>	<b>51</b>
Вікно Home (Головне) .....	52
Команди меню File (Файл) .....	53
Команди меню View (Перегляд) .....	53
Команди меню User (Користувач) .....	54
Команди меню Run (Підхід) .....	55
Команди меню Tools (Інструменти) .....	55
Команди меню Help (Довідка) .....	56
Команди панелі інструментів .....	57
Startup Wizard (Майстер запуску) .....	58
Рядок стану .....	58
Панель Detected Instruments (Виявлені інструменти) .....	59

Перегляд властивостей інструмента .....	63
Перед початком роботи .....	66
Встановлення налаштувань користувача .....	66
Створення майстер-міксу .....	83
Калібрування нових барвників .....	86
<b>Розділ 6 Створення протоколів .....</b>	<b>89</b>
Вікно Protocol Editor (Редактор протоколу) .....	90
Команди меню File (Файл) .....	91
Команда меню Settings (Налаштування) .....	91
Команди меню Tools (Інструменти) .....	91
Команди панелі інструментів .....	91
Елементи керування редагуванням протоколу .....	92
Створення протоколу в Protocol Editor (Редактор протоколу) .....	95
Відкриття нового файлу протоколу у вікні Protocol Editor (Редактор протоколу) .....	95
Відкриття наявного протоколу в Protocol Editor (Редактор протоколу) .....	97
Налаштування нового протоколу .....	98
Додавання кроків до протоколу .....	100
Вставлення кроку градієнта .....	101
Вставлення кроку GOTO .....	102
Вставлення кроку кривої плавлення .....	102
Додавання або видалення кроку зчитування планшетів .....	104
Зміна параметрів кроку .....	104
Видалення кроку .....	105
Копіювання, експорт або друк протоколу .....	105
Створення протоколу за допомогою діалогового вікна Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) .....	106
Використання Ta Calculator (Калькулятор температур анелювання) .....	108
Інформація про Ta Calculator (Калькулятор температур анелювання) .....	108
<b>Розділ 7 Підготовка планшетів .....</b>	<b>115</b>
Вікно Plate Editor (Редактор планшетів) .....	116
Команди меню File (Файл) .....	117
Команди меню Settings (Налаштування) .....	117
Команди меню Editing Tools (Інструменти редагування) .....	118
Команди панелі інструментів .....	118

Створення файлу планшета у вікні Plate Editor (Редактор планшетів) .....	119
Відкриття нового файлу планшета у вікні Plate Editor (Редактор планшетів) .....	119
Відкриття існуючого файлу планшета у вікні Plate Editor (Редактор планшетів) .....	121
Налаштування нового файлу планшета .....	122
Призначення додаткових параметрів файлу планшета .....	130
Призначення мішені лункам .....	131
Призначення назви проби лункам .....	133
Призначення біологічних наборів лункам .....	134
Призначення лункам номерів реплікатів .....	136
Призначення серій розведення пробам типу Standard (Стандартна) .....	138
Копіювання вмісту лунки в іншу лунку .....	139
Додавання примітки до лунки .....	140
Очищення лунок від усього вмісту .....	140
Зміна налаштувань експерименту .....	142
Створення груп лунок .....	145
Змінення вигляду кривих .....	148
Перегляд планшета у форматі таблиці .....	150
Створення макета планшета за допомогою Plate Setup Wizard (Майстер налаштування планшетів) .....	153
Використання Plate Setup Wizard (Майстер налаштування планшетів) .....	153
<b>Розділ 8 Проведення експериментів .....</b>	<b>157</b>
Доступ до вікна Run Setup (Налаштування підходу) .....	157
Вікно Run Setup (Налаштування підходу) .....	158
Вкладка Protocol (Протокол) .....	160
Вкладка Plate (Планшети) .....	163
Вкладка Start Run (Почати підхід) .....	166
Проведення експерименту .....	167
Діалогове вікно Run Details (Інформація про підхід) .....	169
Вкладка Run Status (Статус підходу) .....	169
Вкладка Real-time Status (Поточний статус) .....	172
Вкладка Time Status (Час) .....	175
Виконання експериментів PrimePCR .....	176
<b>Розділ 9 Огляд аналізу даних .....</b>	<b>179</b>
Вікно Data Analysis (Аналіз даних) .....	179

Панель інструментів Data Analysis (Аналіз даних) .....	180
Рядок меню Data Analysis (Аналіз даних) .....	181
Інформація на вкладках .....	184
Селектор Step number (Номер кроку) .....	185
Перегляд груп лунок на вкладці Data Analysis (Аналіз даних) .....	185
Змінення вмісту лунки після підходу .....	186
Налаштування вікна Data Analysis (Аналіз даних) .....	187
Регулювання порогу .....	187
Налаштування початкового рівня .....	187
Режим аналізу .....	188
Цикли для аналізу .....	189
Інструмент вибору лунок .....	190
Елементи контекстного меню інструмента вибору лунок .....	191
Тимчасове виключення лунок з аналізу .....	193
Діаграми .....	194
Стандартні елементи контекстного меню для графіків .....	194
Копіювання даних графіків у буфер обміну даними .....	195
Зміна налаштувань порогу початкового рівня .....	195
Сортування даних мішеней і проб .....	197
Збільшення області на графіку .....	198
Копіювання графіків у файл Microsoft .....	198
Таблиці .....	199
Стандартні елементи контекстного меню для таблиць .....	199
Експорт .....	201
Експорт усіх аркушів даних .....	201
Створення спеціального файлу для експорту .....	202
Експорт у папку LIMS (Лабораторна система управління інформацією) .....	203
Експорт даних у спеціальному форматі для використання компанією Seegene .....	203
<b>Розділ 10 Деталі аналізу даних .....</b>	<b>205</b>
Вкладка Quantification (Кількісний аналіз) .....	206
Параметри флуорофору .....	206
Діалогове вікно Trace Styles (Вигляд кривих) .....	207
Опція Log Scale (Логарифмічна шкала) .....	208
Графік Standard Curve (Стандартна крива) .....	209

Пункти меню графіка Amplification (Ампліфікація) .....	210
Таблиця вкладки Quantification (Кількісний аналіз) .....	211
Вкладка Quantification Data (Кількісні дані) .....	212
Таблиця Results (Результати) .....	212
Таблиця Standard Curve Results (Параметри стандартної кривої) .....	214
Таблиця Plate (Планшет) .....	215
Таблиця RFU (Відносна одиниця флуоресценції) .....	215
Вкладка Melt Curve (Крива плавлення) .....	216
Налаштування даних Melt Curve (Крива плавлення) .....	219
Вкладка Melt Curve Data (Дані кривої плавлення) .....	220
Таблиця Melt Peaks (Піки плавлення) .....	220
Таблиця Plate (Планшет) .....	221
Таблиця RFU (Відносна одиниця флуоресценції) .....	222
Таблиця -d(RFU)/dT .....	223
Вкладка End Point (Кінцева точка) .....	224
Дані результатів .....	225
Налаштування аналізу даних кінцевої точки .....	227
Таблиця відносної одиниці флуоресценції (RFU) для аналізу кінцевої точки .....	228
Вкладка Allelic Discrimination (Алельна дискримінація) .....	229
Налаштування даних для алельної дискримінації .....	230
Елементи меню графіка .....	232
Таблиця Allelic Discrimination (Алельна дискримінація) .....	233
Вкладка Custom Data View (Спеціальний режим перегляду даних) .....	234
Створення спеціального режиму перегляду даних .....	235
Вкладка QC (Контроль якості) .....	236
Зміна критеріїв QC (Контроль якості) .....	236
Виключення лунок, які не пройшли QC (Контроль якості) .....	237
Вкладка Run Information (Інформація про підхід) .....	238
Звіти про аналіз даних .....	239
Категорії звітів про аналіз даних .....	240
Створення звіту про аналіз даних .....	243
Створення звітів про групи лунок .....	244
<b>Розділ 11 Аналіз експресії гена</b> .....	<b>247</b>
Налаштування планшета для аналізу експресії гена .....	247



Кероване налаштування планшета .....	248
Графіки експресії гена .....	249
Стовпчаста діаграма .....	250
Сортування даних мішеней і проб .....	253
Налаштування даних експресії гена .....	254
Налаштування експерименту .....	256
Значення стабільності мішені .....	258
Елементи контекстного меню .....	260
Таблиця даних .....	261
Опція Show Details (Показати додаткову інформацію) .....	262
Кластерограма .....	265
Налаштування .....	265
Елементи контекстного меню .....	266
Таблиця даних .....	266
Діаграма розсіювання .....	267
Налаштування .....	267
Елементи контекстного меню .....	267
Таблиця даних .....	268
Таблиця Results (Результати) .....	269
Дослідження гена .....	270
Калібрування варіацій підходів .....	270
Діалогове вікно Gene Study (Дослідження гена) .....	271
Вкладка Study Setup (Налаштування дослідження) .....	271
Підготовка дослідження гена .....	272
Вкладка Study Analysis (Аналіз дослідження) .....	273
Створення звіту про дослідження гена .....	274
Категорії звітів із дослідження гена .....	275
<b>Додаток А Розрахунки аналізу даних .....</b>	<b>277</b>
Ефективність реакції .....	277
Відносна кількість .....	278
Відносна кількість при вибраному контролі .....	278
Стандартне відхилення відносної кількості .....	279
Скоректований по ефективності Cq (CqE) .....	279
Cq з поправкою на середню ефективність (MCqE) .....	279

Фактор нормалізації .....	280
Нормалізована експресія .....	281
Нормалізована експресія, коли вибрано контроль .....	281
Стандартне відхилення для нормалізованої експресії .....	282
Нормалізована експресія, масштабована до найвищого рівня експресії .....	283
Нормалізована експресія, масштабована до найнижчого рівня експресії .....	283
Нормалізована експресія, масштабована до середнього рівня експресії .....	284
Стандартне відхилення для масштабованої нормалізованої експресії .....	285
Регулювання .....	286
Формули скоригованих значень .....	287
<b>Додаток В Керування користувачами та ролями CFX Manager Dx .....</b>	<b>289</b>
Керування користувачами .....	289
Додавання та видалення користувачів .....	290
Керування правами ролей .....	291
Вхід у систему програмного забезпечення CFX Manager Dx .....	293
Змінення користувачів .....	294
Змінення паролів користувача .....	294
Перегляд своєї ролі та прав .....	295
<b>Додаток С Інтеграція з LIMS (Лабораторна система управління інформацією) .....</b>	<b>297</b>
Створення файлів даних, сумісних з LIMS (Лабораторна система управління інформацією) .....	297
Налаштування папки LIMS (Лабораторна система управління інформацією) та параметрів експорту даних .....	297
Створення протоколу LIMS .....	299
Створення файлу LIMS .....	299
Запуск підходу лабораторної системи управління інформацією (LIMS) .....	305
Експорт даних у LIMS (Лабораторна система управління інформацією) .....	306
<b>Додаток D Пошук і усунення несправностей, пов'язаних із підключенням програмного забезпечення CFX Manager Dx .....</b>	<b>307</b>
Журнал додатка .....	307
Пошук і усунення несправностей .....	308
Аварійне відключення електроживлення .....	308
Завантаження файлів на комп'ютер CFX Manager Dx .....	310

Встановлення програмного забезпечення CFX Manager Dx вручну .....	311
Повторне встановлення драйверів .....	311
<b>Додаток Е Література .....</b>	<b>313</b>

Зміст

## Безпека та нормативно-правова відповідність



Для безпечної експлуатації системи детекції ПЛР в режимі реального часу CFX96 Dx або системи детекції ПЛР в режимі реального часу CFX96 Deep Well Dx з програмним забезпеченням CFX Manager Dx (далі в цьому документі — Система CFX Dx) компанія Bio-Rad настійно рекомендує дотримуватися правил техніки безпеки, перерахованих в даному розділі й далі в цій інструкції з експлуатації.

**Важливо!** Системи CFX96 Dx і CFX96 Deep Well Dx схвалені до використання у якості медичних пристроїв для діагностики in vitro.



### Попереджувальні таблички про техніку безпеки

Попереджувальні таблички, розміщені на приборі і наведені в цьому посібнику, попереджають про джерела травми або шкоди здоров'ю. В [Таблиця 1](#) визначена кожна попереджувальна табличка про техніку безпеки.

**Таблиця 1. Значення попереджувальних табличок про техніку безпеки**

Значок	Значення
	<p><b>Попередження про ризик шкоди здоров'ю або обладнанню</b></p> <p>Експлуатація системи CFX Dx до прочитання цього посібника може призвести до отримання травм. З метою безпечного використання забороняється експлуатувати цей прибор будь-яким іншим способом, крім описаного в цьому посібнику. Експлуатація цього прибору повинна здійснюватися тільки кваліфікованим лабораторним персоналом, обізнаним з правилами безпечного використання електричного обладнання. Завжди з обережністю поведіться з усіма компонентами системи; руки повинні бути чистими і сухими.</p>
	<p><b>Попередження про поводження з біологічно небезпечними матеріалами</b></p> <p>При роботі з біологічно небезпечними пробами дотримуйтеся рекомендованих запобіжних заходів і вказівок, а також місцевих правил, чинних у вашій лабораторії та регіоні.</p>

**Таблиця 1. Значення попереджувальних табличок про техніку безпеки, продовження**

Значок	Значення
	<p><b>Попередження про ризик опіку</b></p> <p>Термоциклер виробляє достатньо тепла, щоб викликати важкі опіки. Під час роботи завжди носіть захисні окуляри або інші засоби захисту органів зору. Перед виконанням дій з кришкою і вийманням проб завжди чекайте, поки блок проб охолоне до температури стану простою. Завжди тримайтеся на достатній відстані, щоб уникнути випадкових опіків шкіри.</p>
	<p><b>Попередження про ризик вибуху</b></p> <p>Під час нормальної експлуатації блоки проб можуть досить нагріватися, щоб викликати кипіння і вибух рідин.</p>

## Параметри безпечної експлуатації та відповідність нормативним вимогам

В [Таблиця 2](#) перераховані параметри безпечної експлуатації систем детекції ПЛР в режимі реального часу CFX Dx виробництва компанії Bio-Rad. З цими приборами потрібно використовувати захищені кабелі, що входять в комплект поставки, для забезпечення відповідності обмеженням ФКЗ для приладів класу А.

**Таблиця 2. Умови безпечної експлуатації**

Аспект експлуатації	Умови безпечної експлуатації
Розрахункова споживана потужність	100–240 В змін. струму; 50–60 Гц; 850 Вт макс.
Категорія перенапруги	II
Запобіжники	10 А, 250 В, 5 x 20 мм, малоінерційні (2 шт.)
Навколишнє середовище	Тільки для використання всередині приміщень
Температура експлуатації	15–31 °С
Температура зберігання	від –20 до 60 °С
Відносна вологість	До 80% (без конденсату)
Висота	До 2000 метрів над рівнем моря
Ступінь забруднення	2

## Відповідність нормативним вимогам

Система детекції ПЛР в режимі реального часу CFX Dx пройшла необхідні випробування, за результатами яких був зроблений висновок про те, що вона відповідає всім застосовним вимогам наступних стандартів безпеки та електромагнітної сумісності:

- IEC 61010-1:2010 (3-тє видання), EN61010-1:2010 (3-тє видання). Електричне обладнання для вимірювання, керування і лабораторного застосування. - Частина 1: Загальні вимоги
- IEC 61010-2-010:2014, EN 61010-2-010:2014. Безпечність електричних контрольно-вимірювальних приладів і лабораторного обладнання. Частина 2-010: Додаткові вимоги до лабораторного обладнання для нагрівання матеріалів
- IEC 61010-2-081:2015, EN 61010-2-081:2015. Безпечність електричних контрольно-вимірювальних приладів і лабораторного обладнання. Частина 2-081: Додаткові вимоги до автоматичного і напівавтоматичного лабораторного обладнання для аналізу та інших цілей (включаючи Поправку 1)
- IEC 61010-2-101:2015 (2-ге видання). Безпечність електричних контрольно-вимірювальних приладів і лабораторного обладнання. Додаткові вимоги до медичного обладнання для лабораторної діагностики in vitro
- IEC 61326-1:2012 (клас А), EN 61326-1:2013 (клас А). Електричне обладнання для вимірювання, керування і лабораторного застосування. Вимоги до EMC, Частина 1: Загальні вимоги
- IEC 61326-2-6:2012, EN 61326-2-6:2013 (клас А). Електричне обладнання для вимірювання, керування і лабораторного застосування. Вимоги до EMC. Додаткові вимоги до медичного обладнання для лабораторної діагностики in vitro

**Важливо!** Це обладнання генерує, використовує і може випромінювати радіочастотну енергію. Щоб не створювати неприпустимих перешкод для радіозв'язку, обладнання необхідно встановити і експлуатувати відповідно до інструкції з використання. Використання цих систем в житлових районах може створити неприпустимі перешкоди, які користувачеві доведеться усувати за свій рахунок.

## Небезпеки

Система CFX Dx для виявлення ПЛР у реальному часі призначена для безпечної роботи під час її використання в порядку, визначеному виробником. Якщо система CFX Dx для виявлення ПЛР у реальному часі або будь-який із її відповідних компонентів використовується способом, не зазначеним виробником, властивий інструменту захист може бути порушений. Компанія Bio-Rad Laboratories, Inc. не несе відповідальності за будь-які травми або пошкодження, спричинені використанням цього обладнання будь-яким не зазначеним способом або через модифікацію інструмента, яка виконана не компанією Bio-Rad або не її вповноваженим агентом. Обслуговування системи CFX Dx для виявлення ПЛР у реальному часі має виконуватися тільки кваліфікованим персоналом компанії Bio-Rad.

## Біологічно небезпечні речовини

Система для проведення ПЛР з детекцією в режимі реального часу CFX Dx призначена для використання в лабораторії. Однак при роботі зі зразками, що становлять біологічну небезпеку, необхідно дотримуватися викладених нижче правил, а також всіх діючих на місцевому рівні вимог, чинних для вашої лабораторії і вашого регіону.

**Примітка.** При роботі приладу в звичайному режимі біологічно небезпечні речовини не випускаються в навколишнє середовище.

## Загальні запобіжні заходи

- Завжди надягайте халат, лабораторні рукавички і захисні окуляри з бічними щитками або захисні окуляри типу «маска».
- Не торкайтеся руками рота, носа і очей.
- Перед роботою з будь-якими потенційно інфікованими матеріалами забезпечте повний захист всіх порізів і саден.
- Перед виходом з лабораторії після роботи з будь-яким потенційно інфікованим матеріалом ретельно мийте руки водою з милом.
- Перед роботою за лабораторним столом знімайте наручні годинники і ювелірні прикраси.
- Зберігайте всі інфіковані і потенційно інфіковані матеріали в небитких герметичних контейнерах.
- Знімайте захисний одяг перед виходом з лабораторії.
- Рукою в рукавичці не пишіть, не відповідайте на телефонні дзвінки, не вмикайте світло і не торкайтеся жодних предметів, до яких можуть доторкнутися інші люди без рукавичок.



- Часто міняйте рукавички. Знімайте рукавички негайно після появи на них видимих забруднень.
- Матеріали, належна деконтамінація яких неможлива, не повинні контактувати з потенційно інфікованим матеріалом.
- Після завершення роботи з біологічно небезпечними матеріалами проводьте деконтамінацію робочої зони належним дезінфікуючим засобом (наприклад, господарським відбілювачем, розведеним в пропорції 1:10).

### Особливі запобіжні заходи для діагностики *in vitro*

- Усі проби пацієнтів потенційно є біологічно небезпечними, і з ними слід поводитися належним чином, дотримуючись стандартних заходів безпеки.
- Під час нормальної роботи інструмента назовні не виділяються жодні біологічно небезпечні речовини.

### Очищення поверхонь



**ОБЕРЕЖНО!** Для запобігання ураженню електричним струмом перед виконанням процедур очищення завжди вимикайте прибор і відключайте його кабель живлення від джерела живлення.

Наступні області можна очищувати будь-яким бактерицидним, віруліцидним або фунгіцидним дезінфікуючим засобом, придатним для застосування в лікувальних установах:

- Зовнішня кришка і корпус
- Внутрішня поверхня реакційного блоку і лунки реакційного блоку
- Панель управління і дисплей

Для отримання відомостей про підготовку та нанесення дезінфікуючого засобу див. інструкції виробника цього засобу. Після застосування дезінфікуючого засобу кілька разів промивайте водою реакційний блок і лунки реакційного блоку. Після миття водою реакційного блоку і лунок реакційного блоку ретельно просушіть їх.

**Важливо!** Не використовуйте абразивні миючі засоби, миючі засоби, які призводять до корозії, або міцні лужні розчини. Ці засоби можуть стати причиною подряпин на поверхнях і пошкодження реакційного блоку, що призведе до втрати точності температурного контролю.

## Утилізація біологічно небезпечних матеріалів

Утилізуйте наступні потенційно контаміновані матеріали відповідно до місцевих, регіональних і державних лабораторних нормативів:

- Клінічні проби
- Реактиви
- Використані реакційні резервуари та інші витратні матеріали, що можуть бути контаміновані

## Хімічні небезпеки

Система для проведення ПЛР з детекцією в режимі реального часу CFX Dx не містить потенційно небезпечних хімічних речовин.

## Небезпека вибуху або займання

Система для проведення ПЛР з детекцією в режимі реального часу CFX Dx не представляє особливої небезпеки, пов'язаної з займанням або вибухом, за умови належного використання згідно з вказівками компанії Bio-Rad Laboratories.

## Небезпека ураження електричним струмом

Система детекції ПЛР в режимі реального часу CFX Dx не представляє нетипової небезпеки ураження електричним струмом для операторів за умови її належного встановлення і експлуатації без внесення фізичних змін, а також за умови підключення до джерела живлення з належними технічними характеристиками.

## Транспортування

Перед переміщенням або транспортуванням системи виявлення ПЛР у реальному часі CFX Dx, її оптичного реакційного модуля або бази термоциклера, потрібно виконати процедури з очищення. Завжди переміщуйте або транспортуйте систему виявлення ПЛР у реальному часі CFX Dx та оптичні реакційні модулі в окремих контейнерах з пакувальними матеріалами, що входять у комплект, для захисту інструмента від пошкодження. Якщо не вдається знайти відповідні контейнери, зверніться в місцевий офіс Bio-Rad.

## Акумулятор

В термоциклері Система CFX Dx використовується мініатюрний елемент живлення — літійовий акумулятор напругою 3 В, а також нікель-металогідридний акумуляторний блок, що перезаряджається, напругою 4,8 В, для збереження налаштувань часу і даних підходу на випадок відключення струму. Якщо налаштування часу та/або дані підходу збиваються після відключення пристрою, це може свідчити про зниження ємності акумуляторів. В такому випадку зверніться за допомогою в службу технічної підтримки Bio-Rad.

Не намагайтеся самостійно замінити акумулятори. Зверніться в службу технічної підтримки Bio-Rad.

## Утилізація

Система CFX Dx для проведення ПЛР із детекцією в режимі реального часу містить електричні матеріали. Їх заборонено утилізувати як несортовані відходи та потрібно збирати окремо відповідно до Директиви Європейського Союзу 2012/19/EU про відходи електричного та електронного обладнання — Директива WEEE. Перед утилізацією зверніться до місцевого представника компанії Bio-Rad, щоб отримати інструкції для конкретної країни.

## Гарантія

На систему виявлення ПЛР в реальному часі CFX Dx і відповідне додаткове обладнання поширюються умови стандартної гарантії Bio-Rad. Зверніться в місцеве представництво Bio-Rad, щоб отримати детальну інформацію про гарантію.

Безпека та нормативно-правова відповідність

## Розділ 1 Вступ

Системи ампліфікації ПЛР в режимі реального часу виробництва компанії Bio-Rad CFX Dx для діагностики in vitro (IVD) втілюють у собі останні технологічні досягнення, що дозволяють виконувати кількісний аналіз ПЛР з використанням стандартної кривої, аналізу експресії гена, аельної дискримінації та аналізу за кінцевою точкою.

Системи детекції CFX Dx складаються з двох апаратних модулів і програмного забезпечення:

- Оптичний реакційний модуль (OPM) CFX96 Dx або CFX96 Deep Well Dx
- Термоциклер C1000 Dx
- Програмне забезпечення CFX Manager Dx від

При використанні з програмним забезпеченням CFX Manager Dx користувач може:

- Оперативно отримувати результати за допомогою Startup Wizard (Майстер запуску)
- Вводити або редагувати інформацію про лунку до, під час або після підходу
- Інтерпретувати складні дані і ефективно виконувати дослідження експресії гена за допомогою таких інструментів як інструмент аналізу контролів PrimePCR і інструмент вибору еталонних генів
- Готувати вичерпні звіти на підставі отриманих даних ПЛР в режимі реального часу

## Системи детекції ПЛР CFX Dx

В [Таблиця 3](#) перераховані прибори для in vitro діагностики ПЛР виробництва компанії Bio-Rad, що поставляються разом з Система CFX Dx.

**Примітка.** Система CFX Dx поставляється з програмним забезпеченням CFX Manager Dx, термоциклером C1000 Dx і оптичним реакційним модулем CFX96 Dx чи CFX96 Deep Well Dx.

**Таблиця 3. Системи детекції ПЛР CFX IVD**

Номер за каталогом	Опис
1845097-IVD	CFX96 Dx ORM *
1844095-IVD	CFX96 Deep Well Dx ORM
1841000-IVD	Термоциклер C1000 Dx
12007917	Програмне забезпечення версії 3.1 CFX Manager Dx

\* Оптичний реакційний модуль

## Додаткова інформація

У цьому документі описаний порядок безпечного налаштування та експлуатації систем детекції ПЛР в режимі реального часу CFX96 Dx і CFX96 Deep Well Dx з маркуванням CE-IVD. У тексті документа ці системи називаються Система CFX Dx. Крім цього, в цьому документі пояснюється, як використовувати Програмне забезпечення CFX Manager Dx з Система CFX Dx.

**Підказка.** Натисніть на логотип Bio-Rad у верхньому правому куті будь-якого вікна Програмне забезпечення CFX Manager Dx, щоб перейти на веб-сайт компанії Bio-Rad. Цей сайт містить посилання на технічні примітки, посібники, інформацію про продукти і технічну підтримку. Цей сайт також надає доступ до численних технічних ресурсів, присвячених різноманітним методам і додаткам, пов'язаним з ПЛР, ПЛР в режимі реального часу та аналізом експресії генів.

## Розділ 2 Налаштування термоциклера C1000 Dx

У цьому розділі пояснюється, як налаштувати термоциклер C1000 Dx Система CFX Dx у своїй установі.

**Підказка.** Перед налаштуванням термоциклера ознайомтеся з відомостями про термоциклер і його оптичний реакційний модуль, порти та додаткове обладнання.

### Вимоги до встановлення та експлуатації

У таблицях цього розділу наведено перелік вимог щодо місця, середовища та електричного живлення, необхідних для встановлення та експлуатації термоциклера Система CFX Dx.

**Примітка.** Щоб термоциклер Система CFX Dx працював належним чином, установіть його на рівну суху поверхню, де циркулює прохолодний потік повітря.

### Вимоги до місця встановлення

Таблиця 4. Вимоги до місця встановлення термоциклера Система CFX Dx

Пункт	Технічні характеристики
Вхідна потужність	До 850 Вт, макс.
Частота	50–60 Гц, однофазна
USB-порти	5 А, 1 В
Розміри	Ширина: 33 см Довжина: 46 см Висота: 36 см
Вага	21 кг

## Вимоги до середовища експлуатації

Таблиця 5. Вимоги до середовища експлуатації термоциклера Система CFX Dx

Параметр	Діапазон	Діапазон вологості
Умови роботи	15–31 °C 59–87.8°F	0–80 % відносної вологості, без конденсації
Умови зберігання	15–31 °C 59–87.8°F	0–80 % відносної вологості, без конденсації

## Вимоги до електричного живлення

Для забезпечення належної роботи подача електроживлення до термоциклера Система CFX Dx повинна бути стабільною та в межах технічних характеристик. Кабель живлення, підключений до вхідного отвору живлення, має бути розрахований на 7 ампер або більше.

Таблиця 6. Вимоги до електричного живлення Система CFX Dx

Пункт	Технічні характеристики
Вхідна напруга мережі	100–240 В змін. струму; 50–60 Гц, однофазна
Максимальне споживання енергії	До 850 Вт
Кількість розеток	Мінімум 2 розетки: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 1 гніздо для термоциклера</li> <li>■ 1 гніздо для комп'ютера, на якому встановлено програмне забезпечення CFX Manager Dx</li> </ul>



## Огляд системи

На малюнках у цьому розділі зображені основні компоненти бази термоциклера C1000 Dx .

### Вигляд спереду



#### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

1. **Оптичний реакційний модуль** — містить оптичну систему для збору даних флуоресценції та блок термоциклера. Системи виявлення ПЛР в режимі реального часу CFX Dx підтримують модуль CFX96 Dx або CFX96 Deep Well Dx.

---

2. **Світлодіодний індикатор стану** — показує, коли блок використовується.

---

3. **Кнопка кришки** — відкриває та закриває кришку оптичного реакційного модуля, герметизуючи реакційну камеру.

---

4. База термоциклера **C1000 Dx** — забезпечує живлення і обмін даними системи і служить для розміщення на ній оптичних реакційних модулів CFX96 Dx і CFX96 Deep Well.

5. **Дисплей і кнопки передньої панелі** — дозволяють управляти системою в автономному режимі.  
**Важливо!** Щоб забезпечити цілісність даних діагностики *in vitro* при дослідженні гена, програмне забезпечення CFX Manager Dx не підтримує дані, згенеровані термоциклером в автономному режимі.

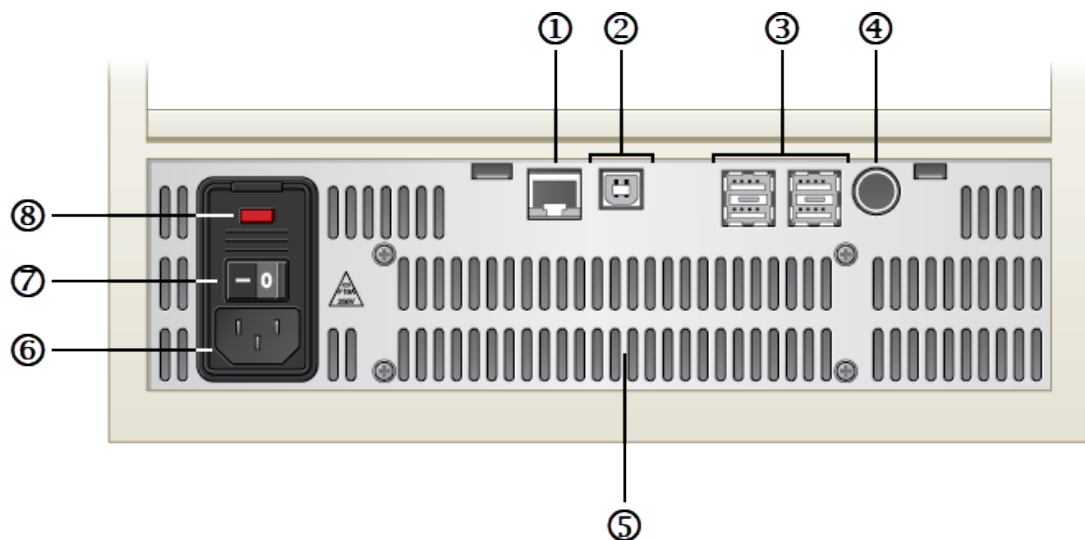
---

6. **Нагрівальна внутрішня кришка** — підтримує температуру кришки для запобігання конденсації та випаровуванню.

---

7. **Реакційний блок або блок для проб** — містить реакційний резервуар, включно з пробірками й мікропланшетами.

## Вигляд задньої сторони



### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

1. **Порт Ethernet** — слугує для підключення термоциклера C1000 Dx до вашої мережі.

---

2. **Порт USB типу B** — слугує для підключення термоциклера C1000 Dx до комп'ютера, на який встановлено програмне забезпечення CFX Manager Dx.

3. **Порти USB типу A** — слугують для передавання даних на USB-накопичувач і з нього.  
**Важливо!** Щоб забезпечити достовірність даних діагностики in vitro при дослідженні гена, програмне забезпечення CFX Manager Dx не підтримує дані, згенеровані термоциклером в автономному режимі.

---

4. **Послідовний порт для тестування** — лише для тестування прибору під час обслуговування.

---

5. **Охолоджуючі вентиляційні отвори** — охолоджують термоциклер.  
**Важливо!** Не перекривайте охолоджуючі вентиляційні отвори. Для оптимальної роботи переконайтесь, що повітря може циркулювати за базою термоциклера.

---

6. **Вхід живлення** — вхід для підключення кабелю живлення прибору. Використовуйте кабель живлення з комплекту постачання.

---

7. **Кнопка живлення** — тумблер для вмикання та вимикання термоциклера.

---

8. **Запобіжники** — специфікації запобіжників див. в розділі [Параметри безпечної експлуатації та відповідність нормативним вимогам на стор. 16](#).

## Оптичні реакційні модулі

Термоциклер C1000 Dx сумісний із такими оптичними реакційними модулями компанії Bio-Rad для ПЛР у реальному часі:

- оптичний реакційний модуль CFX96 Dx;
- оптичний реакційний модуль CFX96 Deep Well Dx.

Вибраний оптичний реакційний модуль CFX Dx і термоциклер постачаються в окремих коробках. Програмне забезпечення CFX Manager Dx постачається з оптичним реакційним модулем.

**Важливо!** Оптичний реакційний модуль калібрований відносно бази термоциклера, з якою він постачається. Тому не використовуйте оптичний реакційний модуль із будь-якою іншою базою термоциклера, а також базу термоциклера з будь-яким іншим оптичним реакційним модулем.

Обидва оптичні реакційні модулі включають повністю регульовану нагрівальну кришку, яка здатна надійно працювати з широким діапазоном реакційних резервуарів. Кожний оптичний реакційний модуль містить охолоджувальні вентилятори для швидкого нагрівання й охолодження.

Кожний оптичний реакційний модуль CFX Dx складається із зазначених далі компонентів.

- **Нагрівальна внутрішня кришка** — підтримує температуру кришки для запобігання конденсації та випаровуванню.
- **Реакційний блок або блок для проб** — містить реакційні резервуари, включно з пробірками й мікропланшетами.
- **Кнопка кришки** — відкриває та закриває кришку, герметизуючи реакцію.
- **Світлодіодний індикатор стану** — коли ввімкнутий, показує, що блок використовується.

## Рекомендовані об'єми проб

Коли використовується термоциклер C1000 Dx, максимальний об'єм проби визначається типом реакційного модуля, що застосовується. У [Таблиця 7](#) перелічені рекомендовані об'єми для використання з кожним реакційним модулем.

**Таблиця 7. Розмір і обмеження об'єму для реакційних модулів**

Кількість лунок	Кількість блоків	Рекомендований об'єм проб, мкл (верхня межа)
96 лунок	1	10–50
96 глибоких лунок	1	10–125

## Встановлення термоциклера C1000 Dx

База термоциклера C1000 Dx поставляється в окремій від оптичного реакційного модуля коробці. Вміст упаковки:

- База термоциклера C1000 Dx
- Шнур живлення
- 1 USB-кабель

Щоб встановити термоциклер C1000 Dx:

1. Розпакуйте і встановіть базу термоциклера C1000 Dx.
2. Приєднайте реакційний модуль до бази.
3. Видаліть транспортувальний гвинт.

Ці дії детально пояснюються в даному розділі.

## Розпакування та встановлення термоциклера C1000 Dx

**Важливо!** Перед початком експлуатації термоциклера уважно ознайомтеся з інформацією, що міститься в розділах [Безпека та нормативно-правова відповідність на стор. 15](#) і [Попереджувальні таблички про техніку безпеки на стор. 15](#).

**Підказка.** Під час встановлення переконайтеся, що поруч з термоциклером достатньо місця для комп'ютера, на якому буде працювати програмне забезпечення CFX Manager Dx.

### Щоб розпакувати і встановити базу термоциклера

1. Знайдіть упаковку, в якій знаходиться база термоциклера.
2. Вийміть базу з пакувального матеріалу.

**Підказка.** Збережіть пакувальний матеріал для майбутнього використання. Якщо будь-які елементи відсутні або пошкоджені, зверніться до місцевого представництва Bio-Rad.

3. Встановіть базу термоциклера на плоскій сухій поверхні з достатнім рівнем обдування прохолодним повітрям для ефективного функціонування.

4. Знайдіть кабель електроживлення в транспортувальній упаковці і вставте один його кінець в порт для підключення живлення на задній стороні термоциклера.

**Важливо!** На цьому етапі не підключайте прибор до джерела живлення.

5. Приєднайте реакційний модуль IVD до бази. Перейдіть до розділу [Приєднання оптичних реакційних модулів на стор. 33](#).

## Приєднання оптичних реакційних модулів

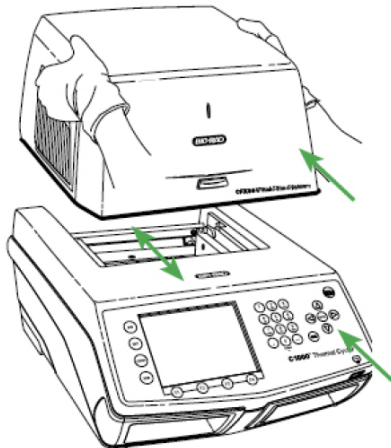
Bio-Rad постачає оптичний реакційний модуль CFX96 Dx або CFX96 Deep Well разом із базою термоциклера C1000 Dx (але в окремій коробці). Обережно розпакуйте оптичний реакційний модуль і переконайтеся, що в транспортній тарі наявні кабель живлення та USB-кабель.

**Важливо!** Кожний оптичний реакційний модуль відкалібрований відповідно до бази термоциклера, з якою він постачається. Тому не використовуйте оптичний реакційний модуль із будь-якою іншою базою термоциклера.

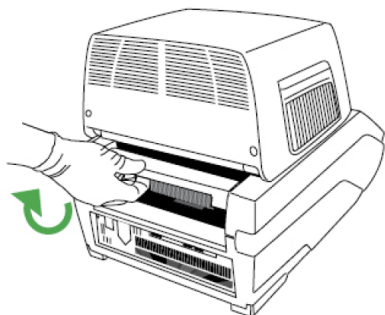
Щоб термоциклер працював належним чином, переконайтеся, що база термоциклера C1000 Dx розташована на рівній сухій поверхні, де циркулює потік прохолодного повітря.

### Приєднання реакційного модуля до бази термоциклера

1. Розташуйте термоциклер C1000 Dx у відповідному місці запірною планкою донизу.
2. Підніміть оптичний реакційний модуль, тримаючись руками за поглиблення над вентиляційними отворами з боків. Розташуйте його у відсіку для реакційного модуля на термоциклері C1000 Dx, залишивши приблизно 2 см попереду. Оптичний модуль, розташований у відсіку, має накривати логотип Bio-Rad у передній частині відсіку.



3. Потягніть запірну планку, щоб вона вирівнялася зі сторонами відсіку модуля. Унаслідок цього модуль посунеться вперед і зафіксується в необхідному місці.



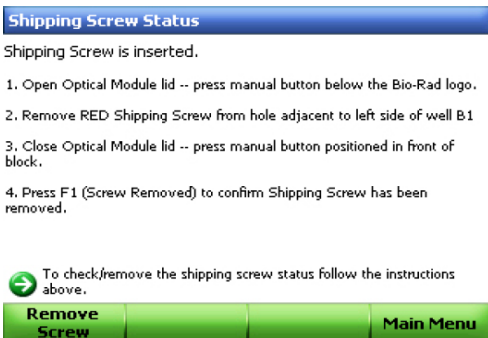
4. Переконайтеся, що модуль повністю встановлений на базі термоциклера C1000 Dx і розташований у рівному положенні. Між модулем і базою не має бути додаткового простору.
5. Щоб запустити систему, вставте шнур живлення в задню частину бази термоциклера C1000 Dx й підключіть його до відповідної електричної розетки, а потім натисніть розташовану на задній панелі термоциклера C1000 Dx кнопку живлення.

## Видалення транспортувального гвинта

**Важливо!** Оптичні реакційні модулі виробництва компанії Bio-Rad поставляються з червоним транспортувальним гвинтом, вставленим у внутрішню кришку для стабілізації оптичного реакційного модуля під час транспортування. Перед початком використання оптичного реакційного модуля транспортувальний гвинт повинен бути видалений.

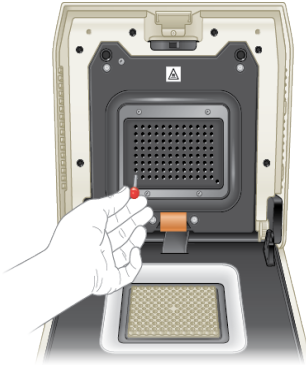
### Щоб видалити транспортувальний гвинт

1. Термоциклер C1000 Dx розпізнає, що транспортувальний гвинт вставлений в оптичний реакційний модуль, та виводить повідомлення з інструкціями з видалення гвинта.





- Щоб видалити транспортувальний гвинт, дотримуйтеся цих інструкцій. На малюнку нижче зображене місце розташування транспортувального гвинта.



**Примітка.** Якщо вам знадобиться повернути реакційний модуль з будь-якої причини, вам потрібно буде вставити транспортувальний гвинт на місце. Зберігайте гвинт у безпечному та доступному місці.

## Завантаження планшетів для проб

Щоб забезпечити рівномірне нагрівання та охолодження проб, планшети повинні повністю торкатися реакційного блоку. Для забезпечення належного контакту виконайте наступне:

- Перш ніж завантажувати проби, переконайтеся, що блок чистий.
- Міцно втисніть окремі пробірки, обойми пробірок або мікропланшети в лунки блока.
- При роботі з однією пробіркою або невеликою кількістю пробірок використовуйте рамку для пробірок (номер за каталогом 1849000 або номер за каталогом 1849001) або завантажуйте щонайменше одну порожню пробірку в кожен кут блока, щоб забезпечити рівномірний тиск кришки на окремі пробірки.

## Завантаження планшетів в оптичний реакційний модуль

**Важливо!** При роботі з Система CFX Dx завжди врівноважуйте обійми пробірок або додавайте ковпачки пробірок в кутові лунки, щоб гарантувати рівномірний тиск нагрітої кришки на весь блок.

### Щоб завантажити планшети в оптичний реакційний модуль

1. Щоб відкрити кришку з електроприводом, виконайте одну з таких дій:
  - На панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) в програмі CFX Manager Dx натисніть Open Lid (Відкрити кришку).
  - На вкладці Start Run (Почати підхід) в програмі натисніть Open Lid (Відкрити кришку).
  - Натисніть кнопку кришки на передній стороні прибору.
2. Помістіть мікропланшет, окремі пробірки або обійми пробірок з герметично закритими кришками в блок.

**Важливо!** Переконайтеся, що пробірки повністю ізольовані, щоб уникнути витoku.

**Підказка.** Для досягнення оптимального результату завантажуйте проби в об'ємі 10-25 мкл для Система CFX Dx.

3. Щоб аналіз даних був точним, переконайтеся, що орієнтація реакцій в блоці така ж, як і орієнтація вмісту лунок на вкладці Plate (Планшети) в програмі CFX Manager Dx.

**Підказка.** Вміст лунок можна редагувати за допомогою програми CFX Manager Dx до, під час або після підходу.

4. Щоб закрити кришку з електроприводом, виконайте одну з таких дій:
  - Натисніть кнопку кришки на приборі.
  - На панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) в програмі натисніть Close Lid (Закрити кришку).
  - На вкладці Start Run (Почати підхід) в програмі натисніть Close Lid (Закрити кришку).

**Важливо!** Переконайтеся, що ніщо не блокує кришку, коли вона закривається. Хоча є запобіжний механізм, який запобігає закриттю кришки, якщо вона натикається на перешкоду, не поміщайте нічого на шляху кришки перед закриттям.

## Пластикові витратні матеріали та реагенти для ПЛР

Щоб знайти та замовити рекомендовані пластикові витратні матеріали для системи CFX Dx, відвідайте [веб-сайт компанії Bio-Rad](#). Відкрити цей веб-сайт можна з меню Help > PCR Plastic Consumables Web Site (Довідка > Веб-сайт пластикових витратних матеріалів для ПЛР) у програмному забезпеченні CFX Manager Dx. Крім того, використайте ресурси для [вибору пластику](#) й [вибору реагентів](#), за допомогою яких можна легко знайти й замовити пластикові витратні матеріали та реагенти для конкретного обладнання та потреб ПЛР.

## Виявлення підключених інструментів

Під час встановлення інстальатор програмного забезпечення Програмне забезпечення CFX Manager Dx автоматично встановлює драйвери приборів на комп'ютер, на якому працює Програмне забезпечення CFX Manager Dx. Під час запуску програмного забезпечення CFX Manager Dx виявляє приєднані прибори.

**Важливо!** Перед встановленням програмного забезпечення необхідно від'єднати термоциклер C1000 Dx від комп'ютера CFX Manager Dx. Вимикати термоциклер під час встановлення програмного забезпечення не обов'язково.

### Щоб виявити приєднані прибори

1. Якщо це ще не зроблено, вставте квадратний (охоплюваний) кінець USB-кабелю типу B в USB-порт типу B на зворотному боці бази .
2. Вставте інший кінець кабелю в USB-порт на комп'ютері з програмним забезпеченням CFX Manager Dx.
3. Якщо термоциклер ще не увімкнений, натисніть кнопку живлення на зворотному боці прибору, щоб увімкнути його.
4. Запустіть Програмне забезпечення CFX Manager Dx.

Програма автоматично виявить приєднаний прибор і відобразить його назву на панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) вікна Home (Головне).

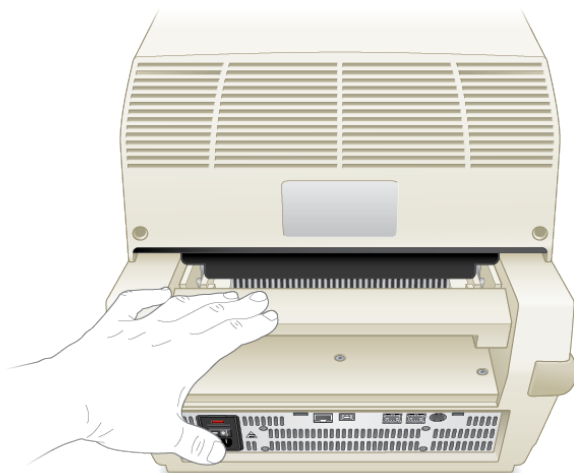
**Примітка.** Якщо прибор не з'являється на панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти), перевірте правильність встановлення USB-кабелю. Щоб перевстановити драйвери, виберіть Tools (Інструменти)> Reinstall Instrument Drivers (Повторно встановити драйвери прибору) у вікні Home (Головне) в Програмне забезпечення CFX Manager Dx.

## Від'єднання реакційного модуля

**Важливо!** Перш ніж від'єднувати реакційний модуль, вимкніть живлення термоциклера C1000 Dx (див. [Завершення роботи термоциклера C1000 Dx на стор. 38](#)). Відразу після виконання протоколу або інкубації охолоджуючі ребра реакційного модуля можуть бути гарячими. Перш ніж від'єднувати реакційний модуль, переконайтеся, що ребра охолонули.

### Щоб від'єднати оптичний реакційний модуль від бази термоциклера

1. На зворотному боці бази термоциклера натисніть на запірну планку, щоб розблокувати і звільнити оптичний реакційний модуль.



2. Обережно підніміть оптичний реакційний модуль з відсіку за виїмки для захоплення на кожній стороні.
3. Встановіть оптичний реакційний модуль на чисту рівну поверхню, де його не вдарять, де він не подряпається і звідки він не впаде.

## Завершення роботи термоциклера C1000 Dx

### Щоб завершити роботу термоциклера

1. Після підходу натисніть кнопку відкриття кришки на передній стороні оптичного реакційного модуля CFX, щоб отримати доступ до проб, завантажених у блок.
2. Вийміть проби з блоку і натисніть кнопку закриття кришки, щоб закрити кришку.
3. Натисніть розташовану на задній панелі термоциклера C1000 Dx кнопку живлення, щоб вимкнути живлення системи.

## Розділ 3 Встановлення програмного забезпечення CFX Manager Dx

У цьому розділі пояснюється, як встановити програмне забезпечення CFX Manager Dx.

Програмне забезпечення Програмне забезпечення CFX Manager Dx необхідне для аналізу даних ПЛР в реальному часі із систем CFX96 Dx і CFX96 Deep Well Dx. Крім того, це програмне забезпечення можна використовувати для керування цими системами в програмно-керованому режимі.

Докладніше про встановлення термоциклера Система CFX Dx і оптичного реакційного модуля див. в розділі [Налаштування термоциклера C1000 Dx на стор. 25](#).

## Вимоги до системи

В [Таблиця 8](#) перераховані мінімальні і рекомендовані вимоги до системи для комп'ютера, на якому працює Програмне забезпечення CFX Manager Dx (так званий комп'ютер CFX Manager Dx).

**Таблиця 8. Вимоги до комп'ютера для Програмне забезпечення CFX Manager Dx**

Система	Мінімальні	Рекомендовані
Операційна система	Microsoft Windows 7 SP1 Pro	Будь-яка з наступних: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Microsoft Windows 7 SP2 Pro (32 і 64-розрядна)</li> <li>■ Microsoft Windows 10 Pro (тільки 64-розрядна)</li> <li>■ Microsoft Windows 10 Enterprise (тільки 64-розрядна)</li> </ul>
<b>Важливо!</b> Для обох версій, Microsoft Windows 10 Pro і Enterprise, безпечне завантаження (Secure Boot) повинне бути відключене.		
Порти	2 високошвидкісних порти USB 2.0	2 високошвидкісних порти USB 2.0
Простір на жорсткому диску	128 ГБ	128 ГБ
Швидкість процесора	2,4 ГГц, двоядерний	2,4 ГГц, чотирьохядерний
Оперативна пам'ять	4 ГБ оперативної пам'яті	8 ГБ оперативної пам'яті
Роздільна здатність екрану	1024 × 768 з режимом True Color	1280 × 1024 з режимом True Color
Засіб читання PDF-файлів		Adobe PDF Reader або Windows PDF Reader з одного з підтримуваних програмних комплексів Microsoft Office: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 2007</li> <li>■ 2010</li> <li>■ 2013</li> </ul>

## Встановлення програмного забезпечення CFX Manager Dx

**Важливо!** Перш ніж встановлювати або оновлювати програмне забезпечення, потрібно відключити будь-які підключені інструменти від комп'ютера CFX Manager Dx. Під час встановлення програмного забезпечення не потрібно вимикати термоциклер. Переконайтеся, що всі підходи збережено, а експерименти не запущено.

**Примітка.** Якщо Програмне забезпечення CFX Manager Dx встановлюється на ОС Windows 10, перед початком процедури встановлення переконайтеся, що безпечно завантаження (Secure Boot) вимкнено.

### Встановлення Програмне забезпечення CFX Manager Dx

1. Якщо потрібно, відключіть будь-які підключені прилади від комп'ютера.  
Знайдіть і від'єднайте USB-кабель інструмента від комп'ютера CFX Manager Dx. Кінець, вставлений в інструмент, можна залишити на місці.
2. Увійдіть у систему комп'ютера CFX Manager Dx із правами адміністратора.
3. Помістіть компакт-диск із програмним забезпеченням CFX Manager Dx у дисковод комп'ютера.
4. Сторінка запуску програмного забезпечення має з'явитись автоматично. Двічі натисніть Install Software (Установити програмне забезпечення) на сторінці запуску програмного забезпечення.

**Примітка.** Якщо сторінка запуску не з'являється автоматично, перейдіть до дисководу компакт-дисків і відкрийте папку CFX\_Manager, після цього двічі натисніть файл setup.exe, щоб запустити майстер встановлення програмного забезпечення.

**Підказка.** У вікні майстра встановлення натисніть кнопку Documentation (Документація), щоб знайти доступні для пошуку копії супровідної інформації, посібників до інструментів та інших документів.

5. Щоб завершити встановлення, дотримуйтеся вказівок на екрані. Після завершення на робочому столі комп'ютера з'явиться іконка програмного забезпечення CFX Manager.
6. Коли встановлення виконано, можна безпечно вийняти компакт-диск.

## Виявлення підключених інструментів

Під час встановлення інсталятор програмного забезпечення CFX Manager Dx автоматично встановлює драйвери інструмента на комп'ютер із програмним забезпеченням CFX Manager Dx. Під час запуску програмного забезпечення CFX Manager Dx воно автоматично виявляє підключені інструменти.

### Виявлення підключених інструментів

1. Якщо це ще не зроблено, вставте квадратний (вхідний) кінець USB-кабелю типу B з комплекту в USB-порт типу B, розташований на задній частині бази інструмента.
2. Вставте інший кінець кабелю в USB-порт на комп'ютері з програмним забезпеченням CFX Manager Dx.
3. Якщо інструмент ще не працює, натисніть вимикач живлення на задній панелі інструмента, щоб увімкнути його.
4. Запустіть програмне забезпечення CFX Manager Dx.

Програмне забезпечення автоматично виявляє підключений інструмент і відображає його назву на панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) у вікні Home (Головне).

**Примітка.** Якщо інструмент не відображається на панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти), перевірте, чи правильно вставлений USB-кабель. Щоб повторно встановити драйвери, у вікні Home (Головне) програмного забезпечення CFX Manager Dx послідовно виберіть елементи Tools > Reinstall Instrument Drivers (Інструменти > Повторно встановити драйвери інструмента).

## Файли програмного забезпечення

В [Таблиця 9](#) перераховані типи файлів Програмне забезпечення CFX Manager Dx.

**Таблиця 9. Типи файлів Програмне забезпечення CFX Manager Dx**

Тип файлу	Розширення	Відомості
Протокол	.prcl	Містить відомості про налаштування протоколу для виконання підходу ПЛР.
Планшет	.pltd	Містить відомості про налаштування планшета для виконання підходу ПЛР.
Дані	.pcrd	Містить результати виконання експерименту і аналізу ПЛР.



Таблиця 9. Типи файлів Програмне забезпечення CFX Manager Dx, продовження

Тип файлу	Розширення	Відомості
Підхід PrimePCR	.csv	Містить протокол і макет планшета для планшетів PrimePCR.
Дослідження гена	.mgxd	Містить результати декількох підходів ПЛР і аналізів експресії генів.
Лабораторна система управління інформацією (LIMS)	.pln	Містить інформацію про налаштування планшета і протоколу, необхідну для виконання підходу, сумісне з LIMS (Лабораторна система управління інформацією).

## Рекомендовані заходи кібербезпеки

Компанія Bio-Rad рекомендує разом зі спеціалістами IT-відділу вашої компанії реалізувати заходи кібербезпеки для комп'ютера, що використовується разом з системою CFX96 Dx. Наприклад:

- Встановіть і налаштуйте належні антивірусну програму і брандмауер.
  - Важливо!** Налаштуйте перевірку на наявність вірусів у неробочий час, або коли прилад не використовується активно. Якщо перевірка на віруси ініційована, коли CFX Manager Dx виконує експеримент, підхід може бути скасований, а дані втрачені.
- Програмне забезпечення CFX Manager Dx не має функції припинення сеансу користувача через перевищення часу очікування. Застосуйте заходи безпеки для Windows або захист від доступу стороннього користувача (наприклад, налаштуйте заставку із захищеним паролем входом).
- Заходи безпеки, пов'язані з використанням знімних носіїв:
  - Для захисту даних використовуйте паролі і шифрування на USB-пристрої.
  - Вимкніть функції автозапуску і автоматичного програвання для всіх знімних пристроїв зберігання даних.
  - Примусово виконуйте сканування флеш-накопичувача при кожному вставленні в порт USB.
- Використовуйте службову програму резервного копіювання для полегшення відновлення даних.



## Розділ 4 Робоче місце

Програмне забезпечення CFX Manager Dx забезпечує інтерфейс для налаштування планшетів, розробки протоколів ПЛР, їх запуску на приборах CFX Dx і аналізу даних, отриманих в результаті виконання підходів ПЛР.

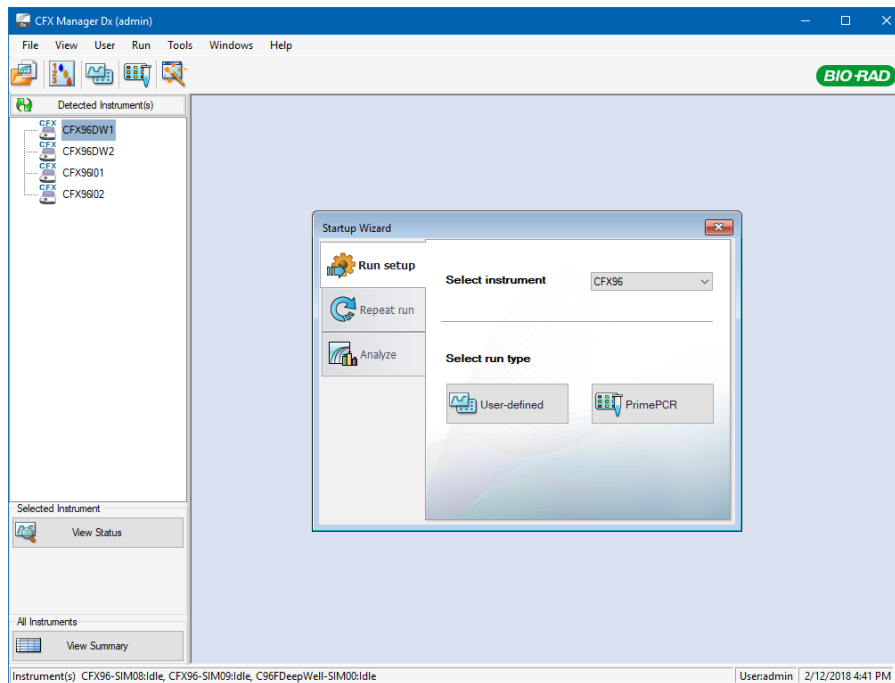
Програмне забезпечення CFX Manager Dx має п'ять основних робочих місць:

- Вікно Home (Головне)
- Startup Wizard (Майстер запуску)
- Вікно Protocol Editor (Редактор протоколу)
- Вікно Plate Editor (Редактор планшетів)
- Вікно Data Analysis (Аналіз даних)

В цьому розділі представлені всі ці робочі місця і наводиться короткий опис кожного з них.

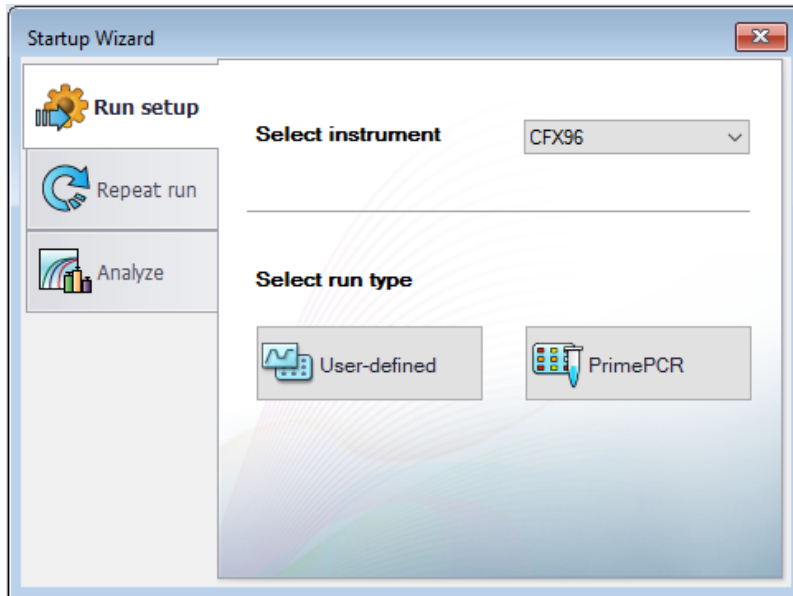
## Вікно Home (Головне)

Програма Програмне забезпечення CFX Manager Dx відкриває вікно Home (Головне) і відображає Startup Wizard (Майстер запуску), за допомогою якого можна здійснити налаштування експерименту, виконати або повторити підхід або проаналізувати існуючий підхід. За допомогою вікна Home (Головне) можна також переглядати журнали додатку та прибору, створювати і керувати користувачами, а також отримати доступ до різноманітних корисних інструментів. Додаткові відомості див. у [Розділ 5, Вікно Home \(Головне\)](#).



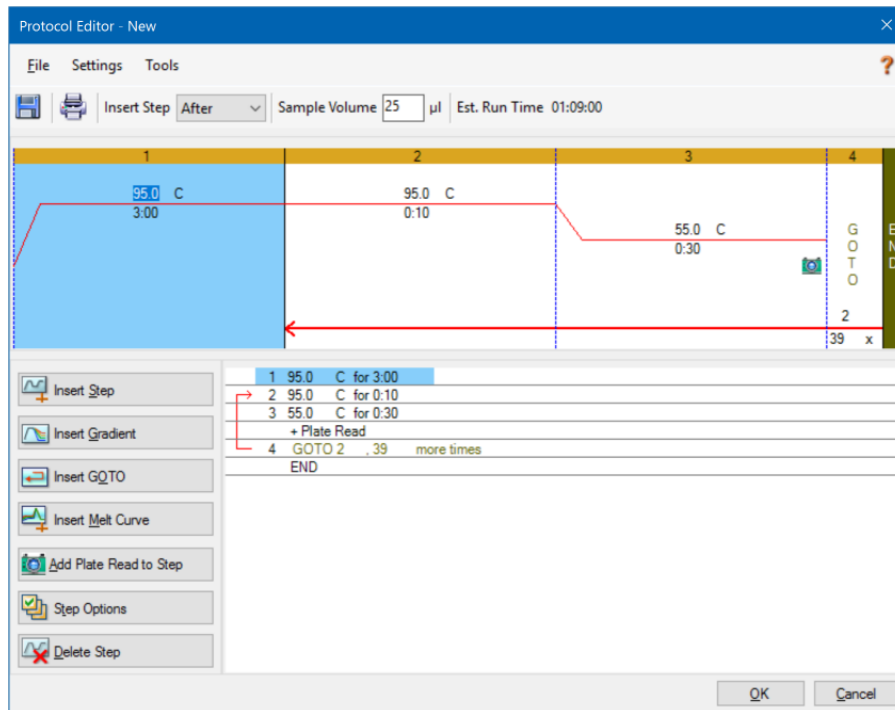
## Startup Wizard (Майстер запуску)

За допомогою Startup Wizard (Майстер запуску) можна швидко налаштувати й запустити задані користувачем експерименти або вибрати та запустити експеримент PrimePCR. За допомогою цього майстра можна також повторити підхід або проаналізувати дані підходу.



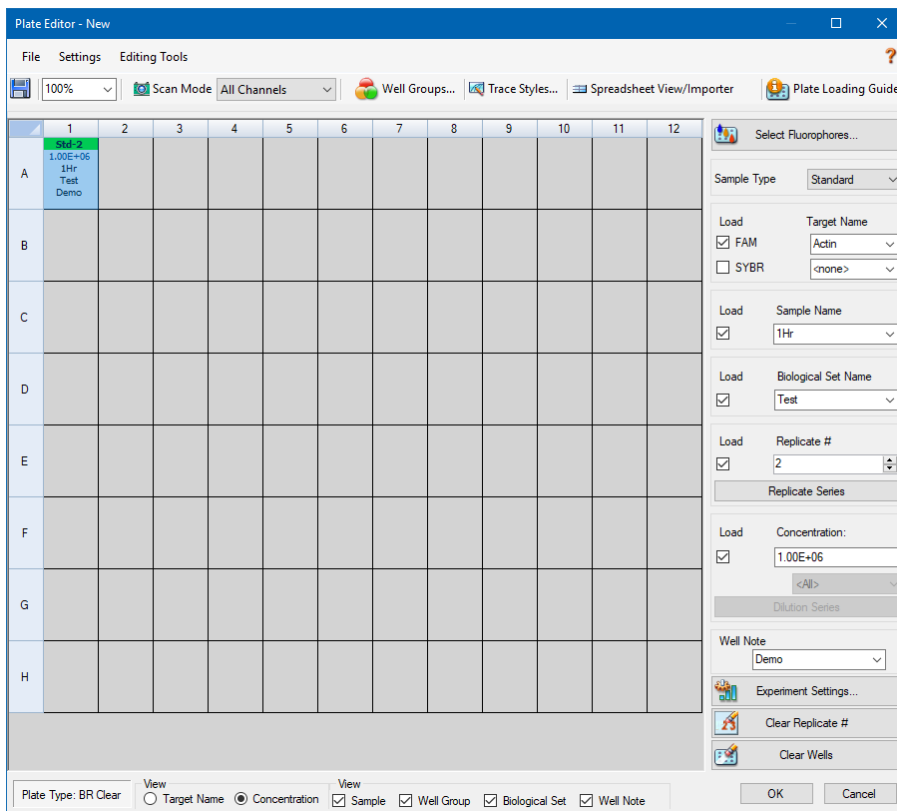
## Вікно Protocol Editor (Редактор протоколу)

У вікні Protocol Editor (Редактор протоколу) можна створювати, відкривати, переглядати та редагувати протоколи. Крім того, можна змінювати температуру кришки для відкритого протоколу. Функціональні можливості Protocol Editor (Редактор протоколу) детально описані в [Розділ 6, Створення протоколів](#).



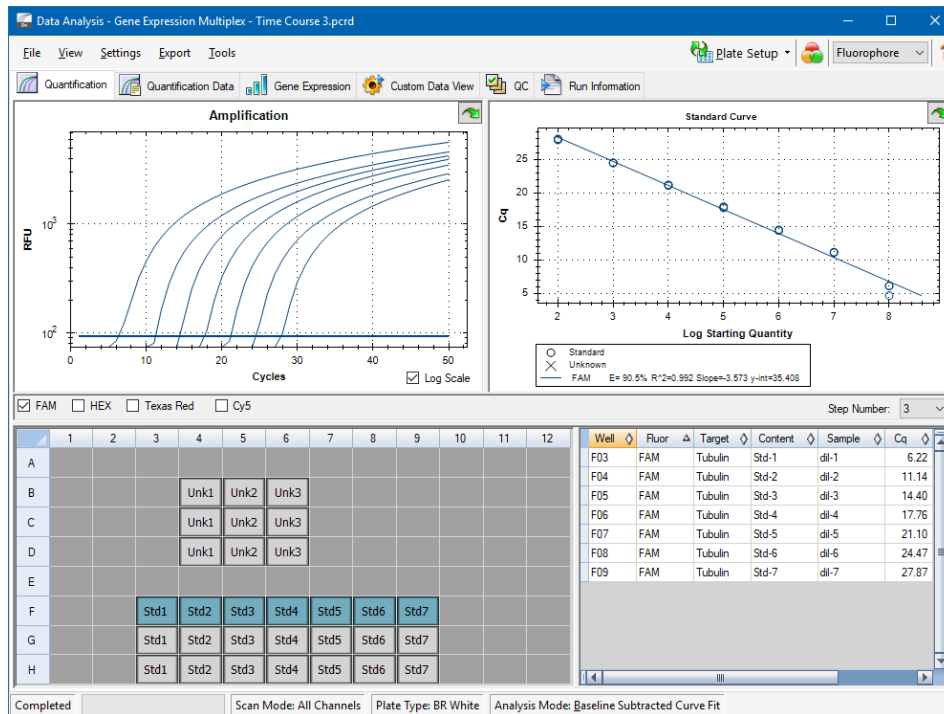
## Вікно Plate Editor (Редактор планшетів)

У вікні Plate Editor (Редактор планшетів) можна створювати, відкривати, переглядати та редагувати планшети. Функціональні можливості Plate Editor (Редактор планшетів) детально описані в [Розділ 7, Підготовка планшетів](#).



## Вікно Data Analysis (Аналіз даних)

У вікні Data Analysis (Аналіз даних) можна переглядати та порівнювати дані підходу, виконувати статистичний аналіз, експортувати дані та створювати звіти, готові до публікації. Функції вікна Data Analysis (Аналіз даних) детально описано в [Розділ 9, Огляд аналізу даних](#). Див. також [Розділ 10, Деталі аналізу даних](#).





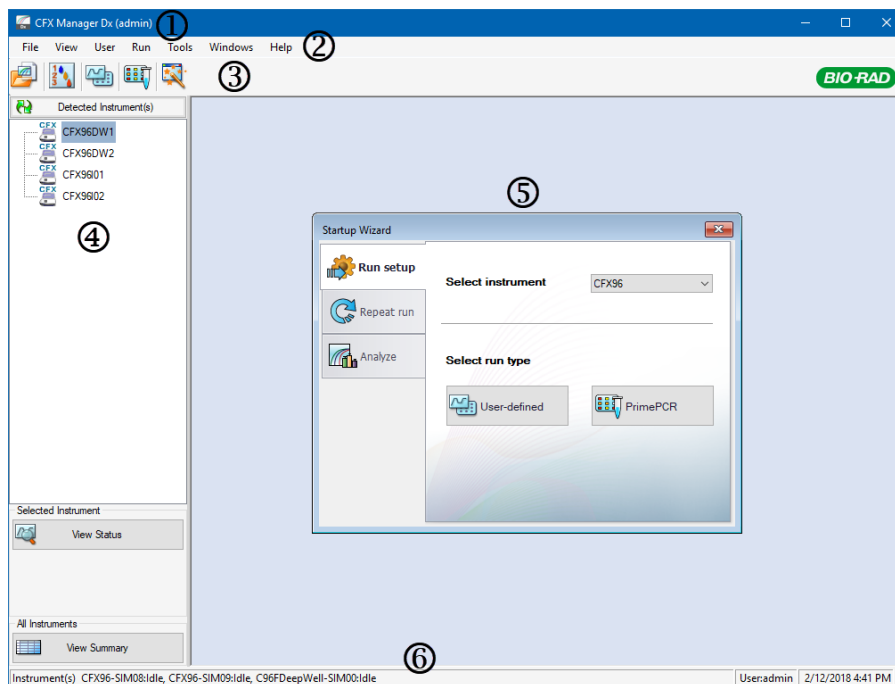
## Розділ 5 Вікно Home (Головне)

Програмне забезпечення CFX Manager Dx забезпечує інтерфейс для розробки протоколів ПЛР, їх виконання в системах Dx CFX і аналізу даних підходу ПЛР.

Цей розділ містить загальну інформацію про Програмне забезпечення CFX Manager Dx та опис функцій, доступних у вікні Home (Головне).

## Вікно Home (Головне)

Програма CFX Manager Dx відкриває вікно Home (Головне) і відображує Startup Wizard (Майстер запуску), за допомогою якого можна здійснити налаштування підходу, виконати або повторити підхід або проаналізувати існуючий підхід. За допомогою вікна Home (Головне) можна також переглядати журнали додатку та прибору, створювати і керувати користувачами, а також отримати доступ до різноманітних корисних інструментів.



### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

1. У рядку заголовка програмного забезпечення відображується назва програмного забезпечення та ім'я користувача, що здійснив вхід.
2. Рядок меню забезпечує швидкий доступ до команд меню File (Файл), View (Перегляд), Users (Користувачі), Run (Підхід), Tools (Інструменти), Window (Вікно) та Help (Довідка).
3. Команди панелі інструментів забезпечують швидкий доступ до параметрів меню.

4. На лівій панелі відображуються прилади, підключені до комп'ютера CFX Manager Dx, і знаходяться кнопки, за допомогою яких можна управляти кришкою та переглядати стан приладів.

---

5. На головній панелі відображується робоче вікно. Робочим вікном на екрані Home (Головне) за замовчуванням є вікно Startup Wizard (Майстер запуску).

---

6. У рядку стану відображуються назви підключених приладів та ім'я користувача, що здійснив вхід.

## Команди меню File (Файл)

**New (Новий)** — відкрити діалогове вікно, у якому можна створити протокол, планшет або дослідження гена.

**Open (Відкрити)** — відкрити діалогове вікно, у якому можна перейти до або відкрити поточний протокол, планшет, файл даних, дослідження гена, файл LIMS (Лабораторна система управління інформацією), або робочий файл PrimePCR.

**Recent Data Files (Останні файли даних)** — відображається список останніх відкритих файлів PCR (ПЛР).

**Repeat a Run (Повторити підхід)** — відкрити Провідник Windows у розташуванні збережених файлів PCR (ПЛР), у якому можна розташувати підхід для повторення.

**Exit (Вихід)** — закрити програмне забезпечення CFX Manager Dx.

## Команди меню View (Перегляд)

**Application Log (Журнал додатка)** — відображує журнал використання програмного забезпечення від початкового встановлення до поточного дня.

**Run Reports (Звіти про підходи)** — відображує перелік звітів про підходи.

**Startup Wizard (Майстер запуску)** — відображує Startup Wizard (Майстер запуску) на головній панелі.

**Run Setup (Налаштування підходу)** — відображує вікно Run Setup (Налаштування підходу) на головній панелі.

**Instrument Summary (Панель керування прибором)** — відображує вікно Instrument Summary (Панель керування прибором) на головній панелі.

**Detected Instruments (Виявлені інструменти)** — вмикає і вимикає режим відображення приєднаних приборів на лівій панелі. За замовчуванням програмне забезпечення відображує підключені прибори на лівій панелі.

**Toolbar (Панель інструментів)** — вмикає та вимикає режим відображення панелі інструментів у верхній частині екрана. За замовчуванням програмне забезпечення відображує панель інструментів.

**Status Bar (Рядок стану)** — вмикає та вимикає режим відображення рядка стану в нижній частині екрана. За замовчуванням програмне забезпечення відображує рядок стану.

**Show (Показати)** — відкриває діалогове вікно, в якому можна

- Переглядати або блокувати журнал Status (Стан).
- Відкривати і переглядати папку даних CFX Manager Dx.
- Відкривати і переглядати папку даних користувача.
- Відкривати і переглядати папку з файлами LIMS (Лабораторна система управління інформацією).
- Відкривати і переглядати папку PrimePCR.
- Переглядати історію підходів.
- Переглядати властивості всіх підключених приборів.

## Команди меню User (Користувач)

**Select User (Вибрати користувача)** — відкриває екран Login (Вхід), на якому можна вибрати користувачів з випадаючого списку User Name (Ім'я користувача) і увійти в програму.

**Change Password (Змінити пароль)** — відкриває діалогове вікно Change Password (Змінити пароль), в якому користувачі можуть змінювати свій пароль Програмне забезпечення CFX Manager Dx.

**User Preferences (Налаштування користувача)** — відкриває діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача), в якому користувачі можуть змінювати налаштування за замовчуванням для:

- Відправки і отримання повідомлення електронною поштою після завершення підходу
- Збереження файлів даних
- Створення протоколів за допомогою Protocol Editor (Редактор протоколу) або Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу)
- Створення планшетів
- Аналізу даних
- Виконання аналізу експресії гена
- Визначення якості даних

- Експортування даних прибору CFX Dx

**User Administration (Адміністрування користувачів)** — відкриває діалогове вікно User Administration (Адміністрування користувачів), в якому адміністратори можуть створювати користувачів, змінювати дозволи ролей і призначати ролі користувачам.

**Bio-Rad Service Login (Вхід для технічного персоналу)** — для використання виключно технічним персоналом компанії Bio-Rad. Не вибирайте цю команду.

## Команди меню Run (Підхід)

**User-defined Run (Заданий користувачем підхід)** — відкрити вікно Run Setup (Налаштування підходу), у якому можна налаштувати заданий користувачем протокол і планшет, а потім запустити експеримент ПЛР на вибраних інструментах.

**Підхід PrimePCR** — відкрити вкладку Start Run (Почати підхід) у вікні Run Setup (Налаштування підходу) з протоколом за замовчуванням PrimePCR і завантаженим макетом планшета на основі вибраного інструмента.

**End-Point Only Run (Підхід тільки за кінцевою точкою)** — відкрити вкладку Start Run (Почати підхід) у вікні Run Setup (Налаштування підходу) з протоколом кінцевої точки за замовчуванням і завантаженим макетом планшета на основі вибраного інструмента.

**Qualification Run (Кваліфікаційний підхід)** — відкрити вкладку Start Run (Почати підхід) у вікні Run Setup (Налаштування підходу) з кваліфікаційним протоколом Bio-Rad за замовчуванням і завантаженим макетом планшета для вибраного інструмента.

## Команди меню Tools (Інструменти)

**Master Mix Calculator (Калькулятор майстер-міксу)** — відкриває Master Mix Calculator (Калькулятор майстер-міксу), в якому можна створити реакційну суміш і роздрукувати результати обчислення.

**Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу)** — відкриває діалогове вікно Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу), в якому можна легко створити новий протокол.

**T<sub>a</sub> Calculator (Калькулятор T<sub>a</sub>)** — відкриває T<sub>a</sub> Calculator (Калькулятор T<sub>a</sub>), в якому можна легко обчислити температуру відпалу (анелювання) праймерів.

**Dye Calibration Wizard (Майстер калібрування барвників)** — відкриває майстер Dye Calibration (Калібрування фарбників), в якому можна відкалібрувати прибор для нового флуорофора.

**Reinstall Instrument Drivers (Повторно встановити драйвери приладу)** — повторно встановлює драйвери, які керують обміном даних з системами ПЛР в режимі реального часу Bio-Rad.

**Zip Data and Log Files (Заархівувати файли даних і журналу)** — відкриває діалогове вікно, в якому можна вибрати файли, які необхідно стиснути і зберегти у заархівованому вигляді для зберігання чи відправки електронною поштою.

**Batch Analysis (Пакетний аналіз)** — відкриває діалогове вікно Batch Analysis (Пакетний аналіз), в якому можна налаштувати параметри для аналізу декількох файлів даних одночасно.

**Options (Параметри)** — відкриває діалогове вікно, в якому можна

- Конфігурувати налаштування сервера електронної пошти
- Конфігурувати налаштування експорту для файлів LIMS (Лабораторна система управління інформацією) або інших файлів даних.

## Команди меню Help (Довідка)

**Підказка.** Меню Help (Довідка) є в рядку меню всіх вікон Програмне забезпечення CFX Manager Dx.

**Open Operation Manual (Відкрити інструкцію з експлуатації)** — відкриття файлу PDF цієї інструкції.

**Gene Expression Gateway Web Site (Веб-портал з інформацією про експресію генів)** — відкриття головної сторінки Bio-Rad для Система CFX Dx.

**PCR Reagents Web Site (Веб-сайт реактивів для ПЛР)** — відкриття веб-сайту компанії Bio-Rad, присвяченого реактивам для ПЛР, де можна замовити реактиви, супермікси, барвники та набори для ПЛР.

**PCR Plastic Consumables Web Site (Веб-сайт витратних матеріалів з пластмаси для ПЛР)** — відкриття веб-сайту компанії Bio-Rad, присвяченого витратним матеріалам з пластмаси для ПЛР, де можна замовити планшети, плівку для герметизації планшетів, пробірки й ковпачки, а також інше пластмасове допоміжне приладдя для проведення ПЛР.

**Software Web Site (Веб-сайт програмного забезпечення)** — відкриття веб-сайту програмного забезпечення для аналізу результатів ПЛР, розробленого компанією Bio-Rad, де можна замовити оновлені версії Програмне забезпечення CFX Manager Dx.

**About (Інформація)** — виведення на екран інформації про авторські права і версію CFX Manager Dx.

## Команди панелі інструментів



— відкриття Провідника Windows, у якому можна перейти до файлу даних або файлу дослідження гена та відкрити його.



— відкриття Master Mix Calculator (Калькулятор майстер-міксу).



— відкриття вікна Run Setup (Налаштування підходу).



— відкриття вікна Run Setup (Налаштування підходу) з протоколом PrimePCR за замовчуванням та завантаженням компонентів планшета на підставі вибраного інструмента.

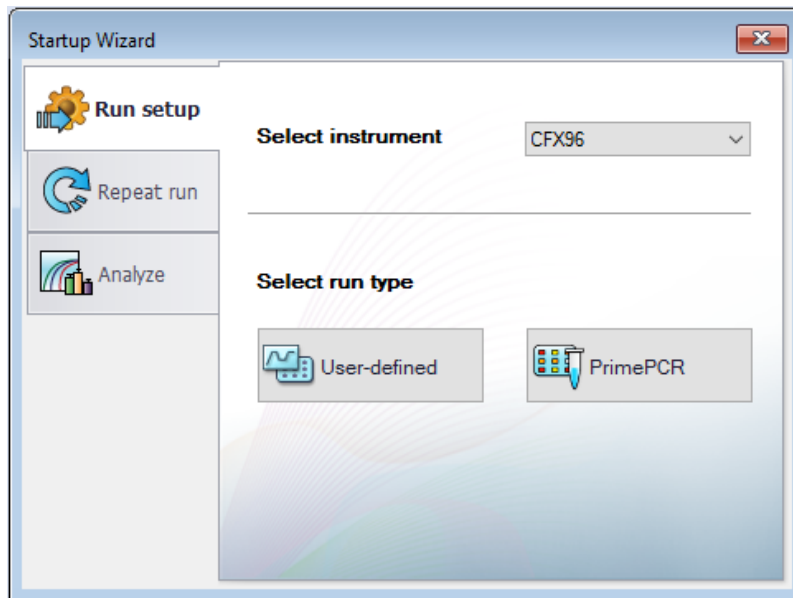


— відкриття Startup Wizard (Майстер запуску).

## Startup Wizard (Майстер запуску)

Коли запускається програма CFX Manager Dx, на робочій панелі відображається Startup Wizard (Майстер запуску). У Startup Wizard (Майстер запуску) можна виконати наведені нижче дії.

- Вибрати інструмент із виявлених інструментів і налаштувати заданий користувачем підхід або підхід PrimePCR.
- Відкрити та повторити підхід.
- Відкрити файл із даними, щоб проаналізувати результати одного підходу або файлу дослідження гена з результатами кількох підходів дослідження експресії гена.



Процедури виконання цих завдань детально пояснено в наступних розділах.

## Рядок стану

Зліва в рядку стану в нижній частині головного вікна програмного забезпечення відображається поточний стан виявлених приборів. Справа в рядку стану відображається ім'я поточного користувача, дата і час.

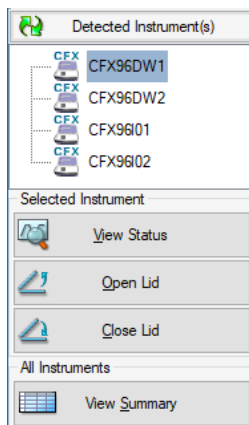


## Панель Detected Instruments (Виявлені інструменти)

На панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) відображуються всі прибори, підключені до комп'ютера CFX Manager Dx. За замовчуванням кожен прибор відображується у вигляді значка, а в якості його імені відображується його серійний номер.

Наприклад, на зображенні нижче показано чотири виявлених прибори:

- Два термоциклери C1000 з реакційними модулями CFX96 Deep Well (CFX96DW1 і CFX96DW2)
- Два термоциклери C1000 з реакційними модулями CFX96 (CFX96I01 і CFX96I02)



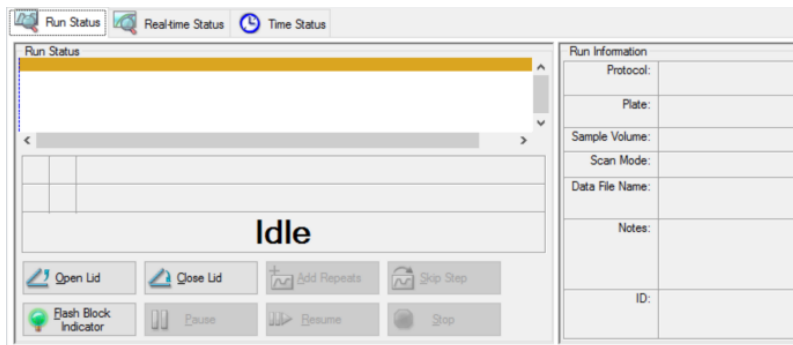
На цій панелі можна виконувати наступні дії:

- Переглядати властивості обраного прибору і відомості про те, за якими барвниками він відкалібрований.  
Про властивості приборів див. у розділі [Перегляд властивостей інструмента на стор. 63](#)
- Переглядати статус підключеного прибору.
- Відкривати кришку з електроприводом вибраного прибору.
- Закривати кришку з електроприводом вибраного прибору.
- Переглядати статус усіх підключених приборів.

### Щоб переглянути статус підключеного прибору

- ▶ На панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) виберіть потрібний прибор і виконайте одну з наступних дій:
  - Натисніть View Status (Переглянути статус) в розділі Selected Instrument (Вибраний інструмент).
  - Клацніть правою кнопкою миші і виберіть пункт View Status (Переглянути статус) в меню.

З'явиться діалогове вікно Run Details (Інформація про підхід) з вкладкою Run Status (Статус підходу). Під панеллю статусу підходу відобразиться статус обраного прибору, наприклад:



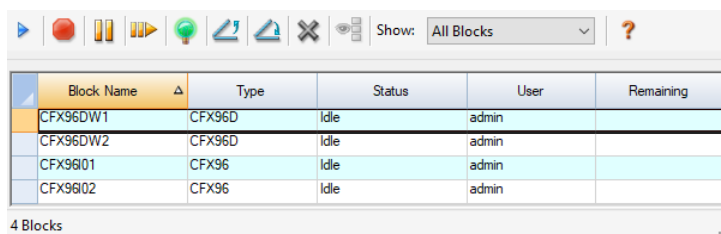
### Щоб відкрити і закрити кришку прибору

- ▶ На панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) виберіть потрібний прибор і виконайте одну з наступних дій:
  - Натисніть Open Lid (Відкрити кришку) або Close Lid (Закрити кришку) в розділі Selected Instrument (Вибраний інструмент).
  - Клацніть правою кнопкою миші і виберіть потрібну дію в меню.
  - Відкрийте діалогове вікно Run Details (Інформація про підхід), виберіть вкладку Run Status (Статус підходу) і натисніть Open Lid (Відкрити кришку) або Close Lid (Закрити кришку).

### Щоб переглянути статус всі виявлених інструментів

- ▶ Виконайте одну з наступних дій:
  - В розділі All Instruments (Всі інструменти) панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) натисніть View Summary (Переглянути зведену інформацію).
  - У рядку меню виберіть View (Перегляд) > Instrument Summary (Панель керування прибору).

З'явиться діалогове вікно Instrument Summary (Панель керування прибору):



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	
CFX96I01	CFX96	Idle	admin	
CFX96I02	CFX96	Idle	admin	










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

**Підказка.** Якщо система виявила тільки один підключений прибор, то в розділі All Instruments (Всі інструменти) не відображується панель Detected Instruments (Виявлені інструменти). Щоб переглянути зведену інформацію про один прибор, виберіть View (Перегляд) > Instrument Summary (Панель керування прибору).


## Елементи керування панелі інструментів Instrument Summary (Панель керування прибору)

В Таблиця 10 перераховані елементи керування панелі інструментів Instrument Summary (Панель керування прибору) та їхні функції.

**Таблиця 10. Елементи керування панелі інструментів Instrument Summary (Панель керування прибору)**

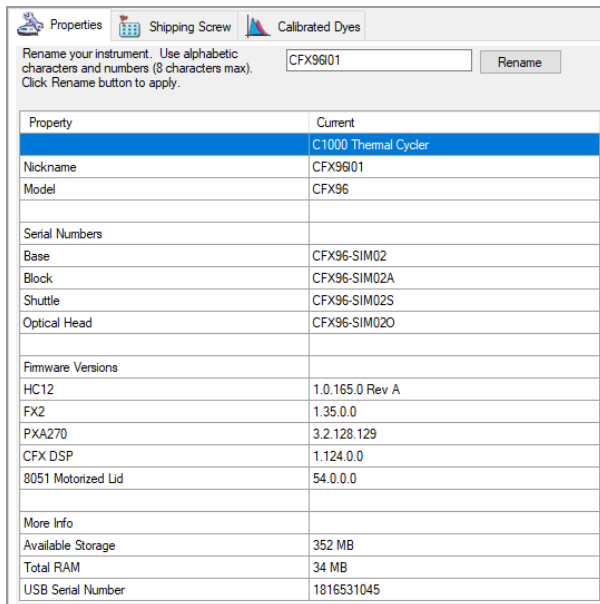
Кнопка	Назва кнопки	Функція
	Створити новий підхід	Створення нового підходу на вибраному блоці шляхом відкриття вікна Run Setup (Налаштування підходу).
	Стоп	Зупинка поточного підходу на вибраних блоках.
	Пауза	Призупинення поточного підходу на вибраних блоках.
	Продовжити	Продовження виконання поточного підходу на вибраних блоках.
	Включити індикатор блоку	Мерехтіння світлодіодного індикатора на кришках вибраних блоків.
	Відкрити кришку	Відкриття кришки з електроприводом вибраного блоку.
	Закрити кришку	Закривання кришки з електроприводом вибраного блоку.
	Сховати вибрані блоки	Ховання вибраних блоків у списку Instrument Summary (Панель керування прибору)
	Показати всі блоки	Відображення вибраних блоків у списку Instrument Summary (Панель керування прибору)

**Таблиця 10. Елементи керування панелі інструментів Instrument Summary (Панель керування прибору), продовження**

Кнопка	Назва кнопки	Функція
	Показати	Вибір блоків, що відображаються у списку. Виберіть один з варіантів, щоб вивести на екран всі виявлені блоки; всі блоки, що не працюють; всі блоки, що працюють у поточного користувача, або всі блоки, що працюють.

## Перегляд властивостей інструмента

На панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) можна переглянути докладні відомості про обраний прибор, в тому числі, його властивості, стан транспортувального гвинта, а також перелік його каліброваних барвників (флуорофорів).



### Щоб переглянути властивості інструмента

- ▶ На панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) клацніть правою кнопкою миші на цільовому приборі і виберіть команду Properties (Властивості) в меню, що відобразиться.

### Вкладка Properties (Властивості)

На вкладці Properties (Властивості) вказані технічні відомості про обраний прибор, включаючи модель, серійні номери всіх компонентів і версії програмно-апаратних засобів. Назва прибору за замовчуванням (його серійний номер) відображується в багатьох місцях, в тому числі на вкладці Detected Instruments (Виявлені інструменти) і в рядку заголовка діалогового вікна Instrument Properties (Властивості інструмента). Користувач може змінити назву прибору, щоб спростити його ідентифікацію.

#### Щоб змінити назву прибору

- ▶ На вкладці Instrument Properties (Властивості інструмента) введіть назву в поле Rename (Перейменувати) у верхній частині вкладки Properties (Властивості) і натисніть Rename (Перейменувати).

Нова назва відображується в рядку Nickname (Назва) вкладки Properties (Властивості), а також в рядку заголовка Instrument Properties (Властивості інструмента) і панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти).

### Вкладка Shipping Screw (Транспортувальний гвинт)

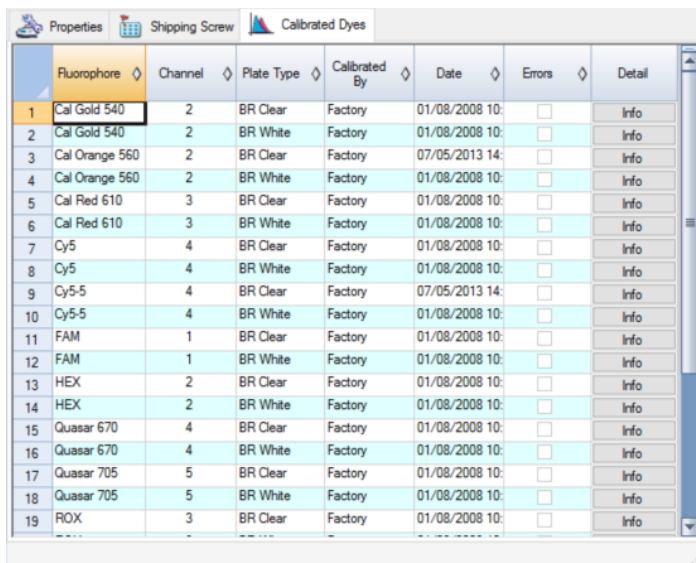
На вкладці Shipping Screw (Транспортувальний гвинт) відображується поточний стан транспортувального гвинта обраного прибору: Removed (Вилучений) або Installed (Встановлений). Вкладка також містить інструкції для встановлення або видалення червоного транспортувального гвинта.

**Підказка.** Якщо програмне забезпечення виявляє транспортувальний гвинт, діалогове вікно Instrument Properties (Властивості інструмента) автоматично відображує вкладку Shipping Screw (Транспортувальний гвинт). Вийміть гвинт, дотримуючись інструкцій.

**Примітка.** Перед початком використання прибору транспортувальний гвинт повинен бути видалений. Для отримання додаткової інформації див. розділ [Видалення транспортувального гвинта на стор. 34](#).

## Вкладка Calibrated Dyes (Відкалібровані барвники)

На вкладці Calibrated Dyes (Відкалібровані барвники) відображуються відкалібровані флуорофори та планшети для обраного прибору.



	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

Для перегляду детальної інформації про калібрування натисніть на відповідну кнопку Info (Інформація) в колонці Detail (Детальна інформація).

## Перед початком роботи

### Встановлення налаштувань користувача

**Підказка.** Виконання цих дій не є обов'язковим, щоб використовувати Програмне забезпечення CFX Manager Dx. Можна безпечно пропустити цей розділ або виконати ці дії в будь-який час.

У програмному забезпеченні CFX Manager Dx можна налаштувати своє робоче середовище. Якщо адміністратор створив користувачів програмного забезпечення, кожен користувач може налаштувати своє робоче середовище. Якщо адміністратор не створив користувачів, зміни налаштувань застосовуються до кожного, хто входить у програмне забезпечення CFX Manager Dx. (Відомості про створення користувачів програмного забезпечення CFX Manager Dx див. в [Додаток В, Керування користувачами та ролями CFX Manager Dx.](#))

Зокрема, у меню Users > User Preferences (Користувачі > Налаштування користувача) можна виконати такі дії:

- налаштувати повідомлення електронною поштою про завершення підходу;
- змінити параметри за замовчуванням для:
  - розташування, у якому зберігатимуться файли;
  - файлів налаштування підходу;
  - префікса іменування файлів;
- налаштувати параметри за замовчуванням для використання під час створення протоколу та планшета;
- налаштувати аналіз даних за замовчуванням і параметри експресії гена;
- налаштувати параметри контролю якості за замовчуванням;
- налаштувати параметри експорту даних.

У меню Tools (Інструменти) можна виконати такі дії:

- створити майстер-мікс;
- відкалібрувати барвники для конкретного інструмента.

**Примітка.** Майстер-мікс і калібрування барвників доступні для всіх, хто входить у програмне забезпечення CFX Manager Dx.

У цьому розділі докладно пояснюється, як виконувати ці дії.



## Налаштування повідомлення електронною поштою

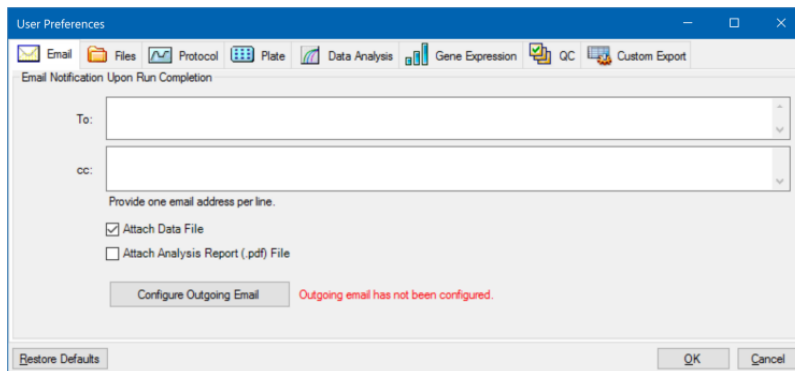
Можна підключити програмне забезпечення CFX Manager Dx до свого сервера вихідної електронної пошти, щоб надсилати користувачам зі списку повідомлення електронною поштою про завершення підходу. Крім того, можна прикріпити файл даних і звіт про аналіз користувачам зі списку. Щоб налаштувати з'єднання між програмним забезпеченням CFX Manager Dx і сервером SMTP, див. розділ [Підключення CFX Manager Dx до сервера SMTP на стор. 68](#).

**Примітка.** Можливість користувача мати доступ до функцій налаштування електронної пошти залежить від групи користувачів і дозволів, призначених адміністратором. Докладніше про керування користувачами та їх ролями див. в розділі [Керування користувачами на стор. 289](#).

### Щоб налаштувати повідомлення електронною поштою, виконайте дії далі

1. Послідовно виберіть елементи Users > User Preferences (Користувачі > Налаштування користувача), щоб відкрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).

З'явиться діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача) з відображенням вкладки Email (Електронна пошта).



**Примітка.** Ви отримаєте повідомлення, якщо система виявить, що для програмного забезпечення CFX Manager Dx не встановлено дійсний сервер SMTP. Натисніть пункт Configure Outgoing Email (Налаштувати вихідну пошту), щоб відкрити діалогове вікно Options (Параметри) та налаштувати сервер SMTP для електронної пошти. Докладніше див. в розділі [Підключення CFX Manager Dx до сервера SMTP на стор. 68](#).

2. У текстовому полі To (Кому) введіть адресу електронної пошти для кожної особи, яку потрібно повідомляти про завершення підходу. Після завершення підходу всі одержувачі отримуватимуть електронні листи.

**Примітка.** Потрібно ввести кожну адресу електронної пошти в окремому рядку. Після введення кожної адреси натисніть кнопку Enter (Ввести) або Return (Повернутися).

3. (Додатково) У текстовому полі «сс» (Копія) введіть адресу електронної пошти будь-якого одержувача, якому потрібно надсилати копію кожного повідомлення електронною поштою.
4. (Додатково) За замовчуванням усі одержувачі отримують копію файлу даних у вкладенні. Зніміть цей прапорець, якщо не потрібно прикріплювати копію файлу даних.
5. (Додатково) Виберіть пункт Attach Analysis Report (Прикріпити звіт про аналіз), щоб прикріпити до електронного листа звіт про аналіз у форматі PDF.
6. Натисніть кнопку ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).

#### Редагування адреси електронної пошти одержувача

- Якщо потрібно, змініть адресу електронної пошти та натисніть кнопку ОК.

#### Видалення одержувача електронної пошти

1. Виберіть одержувача електронної пошти та натисніть клавішу Delete (Видалити).
2. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно.

**Важливо!** Якщо в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) натиснути пункт Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням), усі налаштування на всіх вкладках будуть скинуті до початкових заводських налаштувань. Будьте уважні, коли натискаєте на цю кнопку.

#### Підключення CFX Manager Dx до сервера SMTP

**Важливо!** Деякі комерційні провайдери поштових веб-сервісів (наприклад, Yahoo! і Gmail) мають підвищені вимоги до безпеки електронної пошти. При використанні таких облікових записів необхідно увімкнути налаштування **Allow less secure apps (Дозволити використання менш захищених додатків)** в налаштуваннях облікового запису для забезпечення можливості відправки програмою CFX Manager Dx електронної пошти. Детальніше див. в інформації про безпеку вашого провайдера поштового веб-сервісу.

Для того щоб програма могла відправляти повідомлення електронною поштою, необхідно встановити з'єднання CFX Manager Dx з використовуваним поштовим сервером.

## Щоб підключити CFX Manager Dx до поштового сервера

1. Виконайте одну з наступних дій:

- Виберіть User (Користувач) > User Preferences (Налаштування користувача) і натисніть Configure Outgoing Email (Налаштувати конфігурацію для вихідних повідомлень) на вкладці Email (Електронна пошта).
- Виберіть Tools (Інструменти) > Options (Параметри).

З'явиться діалогове вікно Options (Параметри), в якому відобразиться вкладка Email (Електронна пошта).

2. Введіть наступну інформацію вашої організації:

- **SMTP Server Name (Ім'я сервера SMTP)** — ім'я сервера вихідних поштових повідомлень у вашій організації.
- **Port (Порт)** — номер порту вашого сервера SMTP. Зазвичай це номер 25.
- **Use SSL (Використовувати SSL)** — параметр протоколу безпечних з'єднань (SSL). Це налаштування необхідне для деяких серверів SMTP. Якщо у вашій організації в ньому немає потреби, не ставте прапорця в цьому полі.
- **Use Default "From" Address (Використовувати адресу «від» за замовчуванням)** — ім'я поштового сервера вашої організації. Для деяких серверів SMTP потрібно, щоб вся електронна пошта мала адресу «від» з певного домену, наприклад ім'я@НазваВашоїОрганізації.com. В такому разі не встановлюйте прапорця в цьому полі і вкажіть діючу адресу електронної пошти.

- **Authentication Required (Обов'язкова аутентифікація)** — якщо у вашій організації потрібна аутентифікація облікового запису, переконайтеся, що в цьому полі поставлений прапорець.
  - **User Name (Ім'я користувача)** — ім'я аутентифікованого облікового запису. Потрібно тільки в тому випадку, якщо ви обрали Authentication Required (Обов'язкова аутентифікація).
  - **Password (Пароль)** — пароль для аутентифікованого облікового запису. Потрібно тільки в тому випадку, якщо ви обрали Authentication Required (Обов'язкова аутентифікація).
3. Щоб переконатися в правильності налаштувань сервера SMTP, введіть діючу адресу електронної пошти в текстовому полі Test Email Address (Тестова адреса електронної пошти) і натисніть Test Email (Перевірити електронну пошту).
- Примітка.** Деякі сервери SMTP не дозволяють відправляти вкладення, інші сервери допускають тільки відправку вкладень, що не перевищують певний розмір. Якщо ви плануєте відправляти електронною поштою файли даних та/або звіти CFX Manager Dx, виберіть пункт Test Attachment (Тестове вкладення) і задайте для параметра Attachment Size in MB (Розмір вкладень в Мбайт) значення 5 мегабайтів (Мбайт) або більше.
4. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно.

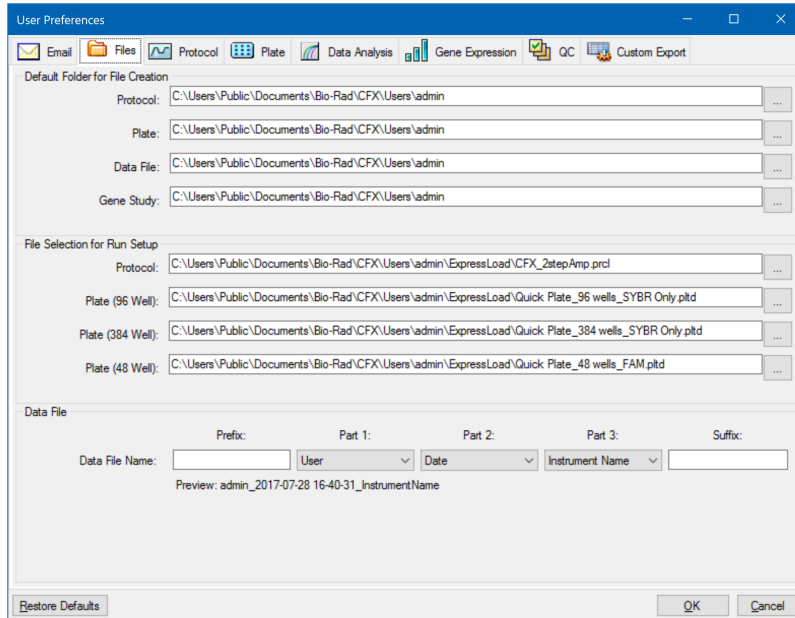
### Зміна налаштувань файлу за замовчуванням

На вкладці Files (Файли) в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) можна змінити такі параметри:

- Розташування за замовчуванням, у якому CFX Manager Dx зберігатиме файли
- Файли за замовчуванням для налаштувань підходу
- Параметри присвоєння назв файлам за замовчуванням

### Зміна налаштувань файлу за замовчуванням

1. Послідовно виберіть елементи Users > User Preferences (Користувачі > Налаштування користувача), щоб відкрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).
2. У діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) виберіть вкладку Files (Файли).



3. У розділі Default Folder for File Creation (Папка за замовчуванням для створення файлу) виберіть папку за замовчуванням, у якій потрібно зберегти нові файли. Можна вибрати різне розташування для кожного типу файлу:
  - Протокол
  - Планшет
  - Файл даних
  - Дослідження гена
4. У розділі File Selection for Run Setup (Вибір файлів для налаштування підходу) виберіть відкривання файлів цільового протоколу та планшета при відкриванні вікна Experiment Setup (Налаштування експерименту).

- У розділі Data File (Файл даних) введіть префікс та/або суфікс для файлу даних. Для будь-якої частини виберіть з випадаючого списку нове значення. Також можна ввести префікс та суфікс користувача в текстових полях Prefix (Префікс) і Suffix (Суфікс).

Програмне забезпечення CFX Manager Dx відображає попередній перегляд назви файлу під полем вибору.

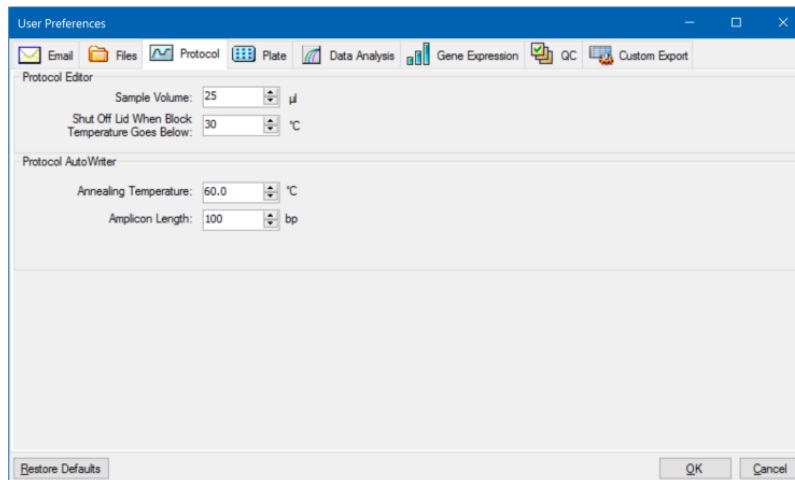
- Натисніть кнопку OK, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно.

**Важливо!** Якщо в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) натиснути пункт Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням), усі налаштування на всіх вкладках будуть скинуті до початкових заводських налаштувань. Будьте уважні, коли натискаєте на цю кнопку.

### Налаштування параметрів протоколу за замовчуванням

**Щоб установити параметри протоколу за замовчуванням для елементів Protocol Editor (Редактор протоколу) і Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу), виконайте дії нижче.**

- Послідовно виберіть елементи Users > User Preferences (Користувачі > Налаштування користувача), щоб відкрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).
- У діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) виберіть вкладку Protocol (Протокол).



- У розділі Protocol Editor (Редактор протоколу) вкажіть значення для зазначених далі параметрів, які відображаються у вікні Protocol Editor (Редактор протоколу).
  - **Sample volume (Об'єм проб)** — об'єм кожної проби в лунках (у мкл).
  - **Lid Shutoff temperature (Температура вимкнення кришки)** — температура в °C, при якій нагрівач кришки вимикається під час підходу.
- У розділі Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) вкажіть значення для зазначених далі параметрів, які відображаються у вікні Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу).
  - **Annealing temperature (Температура анелювання)** — температура в °C для експериментів, що використовують ДНК-полімеразу iProof, ДНК-полімеразу iTaq або інші полімерази.
  - **Amplicon length (Довжина амплікону)** — довжина амплікону в bp (пара основ).
- Натисніть ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно.

**Важливо!** Якщо в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) натиснути пункт Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням), усі налаштування на всіх вкладках будуть скинуті до початкових заводських налаштувань. Будьте уважні, коли натискаєте на цю кнопку.

### Налаштування параметрів планшета за замовчуванням

Зміни, внесені на вкладці Plate (Планшети), стають доступними для всіх користувачів програмного забезпечення. Зміни, внесені під час налаштування планшета, стають доступними користувачам після збереження і закриття файлу планшета.

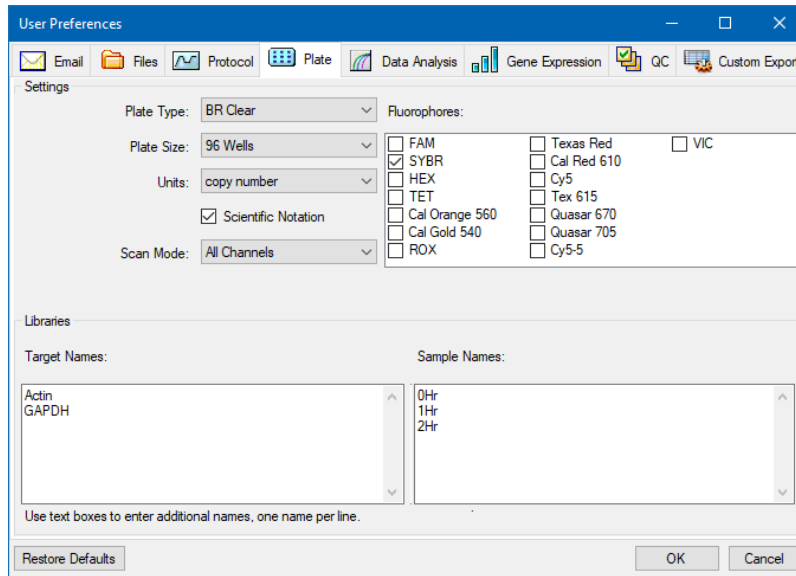
У діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) користувач може зробити наступне:

- Налаштувати параметри планшета за замовчуванням
- Додати нові назви мішені і проби до відповідних бібліотек.
- Видалити назви мішені і проби з відповідних бібліотек.

### Щоб налаштувати параметри планшета за замовчуванням

- Виберіть Users (Користувачі) > User Preferences (Налаштування користувача), щоб відкрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).

2. В діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) виберіть вкладку Plate (Планшети).



3. Вкажіть значення наступних параметрів для нового планшета. Ці значення відображуються у вікні Plate Editor (Редактор планшетів):

- **Plate type (Тип планшета)**
- **Plate size (Розмір планшета)**
- **Units (Одиниці)** — концентрація початкового шаблону для лунок, які містять стандарти.  
  
CFX Manager Dx використовує ці одиниці для створення стандартної кривої на вкладці Data Analysis Quantification (Кількісний аналіз даних).
- **В експоненціальному форматі** — якщо цей параметр вибраний, CFX Manager Dx відображує одиниці вимірювання концентрації в експоненціальному форматі.
- **Scan mode (Режим сканування)** — кількість або тип каналів для сканування під час підходу.
- **Fluorophores (Флуорофори)** — флуорофори за замовчуванням, що відображуються в елементах керування завантаженням лунок Plate Editor (Редактор планшетів).
- **Libraries (Бібліотеки)** — назви мішені і проби, що зазвичай використовуються при проведенні експериментів:
  - **Target names (Назви мішеней)** — назви мішеней (генів і послідовностей).



- **Sample names (Назви проб)** — назви експериментальних проб або ідентифікуючі характеристики проб (наприклад, Mouse1 (Миша1), Mouse2 (Миша2), Mouse3 (Миша3)).

4. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни і закрити діалогове вікно.

#### **Щоб додати нову назву мішені або проби**

- ▶ У відповідному текстовому полі бібліотеки введіть назву мішені або проби і натисніть ОК.

#### **Щоб видалити назву мішені або проби**

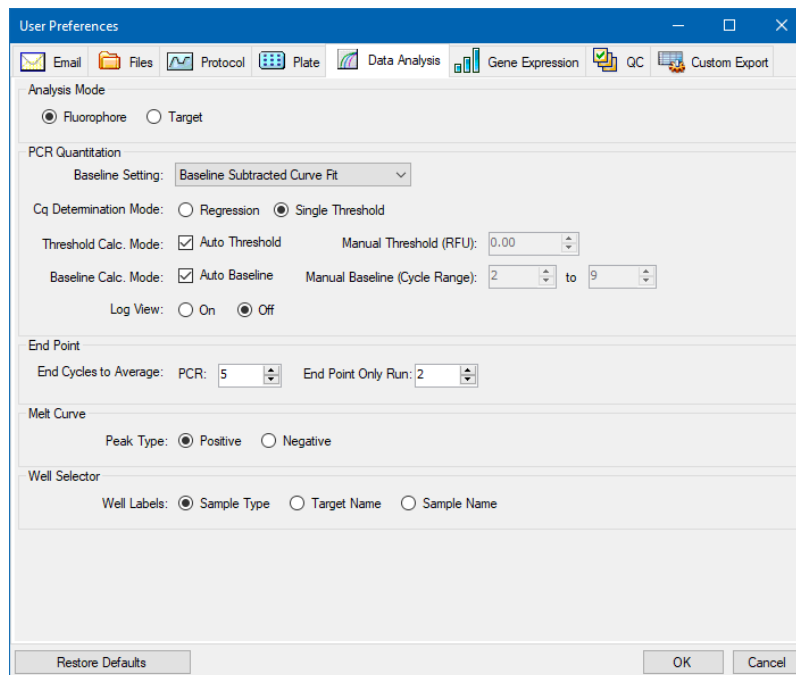
- ▶ У відповідному текстовому полі бібліотеки виберіть назву, натисніть кнопку Delete (Видалити), а потім натисніть ОК.

**Важливо!** Назви, видалені з бібліотеки, видаляються з програмного забезпечення і більше не доступні користувачам. Щоб відновити назви CFX Manager Dx за замовчуванням, натисніть Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням). Якщо в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) натиснути пункт Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням), усі налаштування на всіх вкладках будуть скинуті до початкових заводських налаштувань. Будьте обережні, видаляючи назви CFX Manager Dx за замовчуванням і натискаючи цю кнопку.

## Налаштування параметрів аналізу даних за замовчуванням

### Щоб налаштувати параметри аналізу даних за замовчуванням

1. Виберіть Users (Користувачі) > User Preferences (Налаштування користувача), щоб відкрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).
2. В діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) виберіть вкладку Data Analysis (Аналіз даних).



3. В розділі Analysis Mode (Режим аналізу) виберіть режим аналізу даних (Fluorophore (Флуорофор) або Target (Мішень)).
4. В розділі PCR Quantitation (Кількісний аналіз ПЦР) задайте параметри за замовчуванням для наступних опцій:
  - **Baseline Setting (Налаштування початкового рівня)** — метод початкового рівня для режиму аналізу.
  - **Cq Determination Mode (Режим визначення Cq)** — режим обчислення значень C<sub>q</sub> для кожної кривої флуоресценції (регресія або один поріг).

- **Threshold Calc. Mode (Режим обчислення порога)** — кількість мішені в кінцевій точці.

За замовчуванням цей параметр налаштований на значення Auto (Авто). Це означає, що програма розраховує кількість мішені в кінцевій точці автоматично. Щоб задати певний поріг, приберіть прапорець з поля Auto (Авто) і введіть своє значення кількості в кінцевій точці у відносних одиницях флуоресценції (RFU). Максимальне значення - 65 000,00 RFU. Це порогове значення буде використовуватися в файлах даних для наступних підходів.

- **Baseline Calc. Mode (Режим обчислення початкового рівня)** — значення початкового рівня для всіх кривих.

За замовчуванням цей параметр налаштований на значення Auto (Авто). Це означає, що програма автоматично розраховує початкову лінію для всіх кривих. Щоб налаштувати певне значення початкового рівня, приберіть прапорець з поля Auto (Авто) і введіть мінімальне і максимальне значення для діапазону циклу (від 1 до 9999). Цей діапазон циклу буде використовуватися в файлах даних для наступних підходів.

- **Log View (Перегляд журналу)** — визначає, як програма відображує дані ампліфікації:

- On (Увімкнути)** — дані ампліфікації відображуються у вигляді графіка в напівлогарифмічному масштабі.
- Off (Вимкнути)** — (за замовчуванням) дані ампліфікації відображуються у вигляді лінійного графіка.

- У розділі End Point (Кінцева точка) задайте кількість кінцевих циклів для усереднення при виконанні обчислень кінцевої точки:
  - **PCR** — кількість кінцевих циклів для усереднення даних кількісного аналізу (значення за замовчуванням: 5).
  - **End Point Only run (Підхід тільки кінцевої точки)** — кількість кінцевих циклів для усереднення даних кінцевої точки (значення за замовчуванням: 2).
- У розділі Melt Curve (Крива плавлення) виберіть тип піків для детекції (позитивні або негативні).
- У розділі Well Selector (Інструмент вибору лунок) задайте спосіб відображення міток лунок (за типом проби, за назвою мішені, за назвою проби).
- Натисніть ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно.

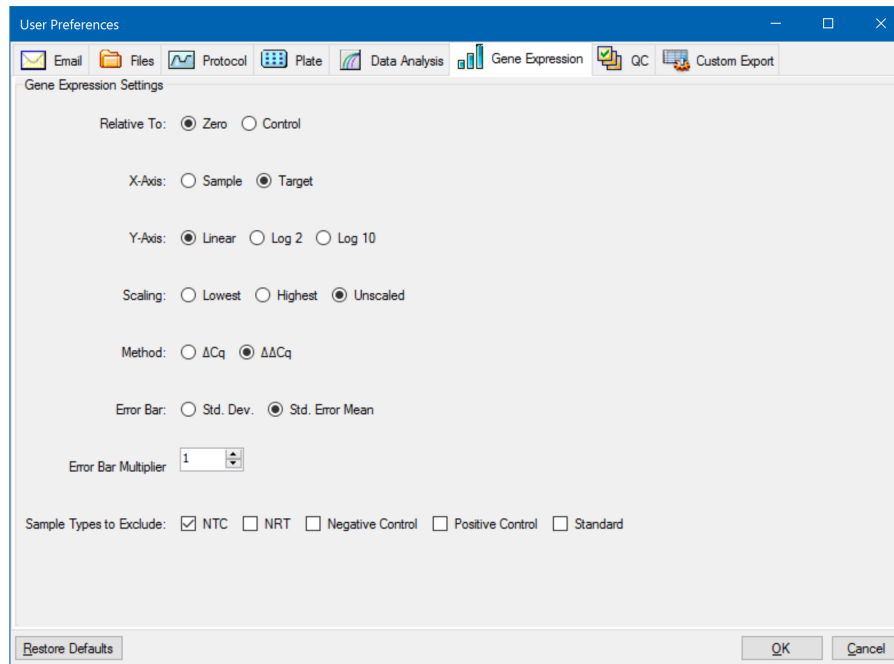
**Важливо!** Якщо в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) натиснути пункт Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням), усі налаштування

на всіх вкладках будуть скинуті до початкових заводських налаштувань. Будьте уважні, коли натискаєте на цю кнопку.

## Налаштування параметрів файлів даних експресії гена за замовчуванням

**Щоб налаштувати параметри за замовчуванням для нового файлу даних експресії гена, виконайте дії нижче.**

1. Послідовно виберіть елементи Users > User Preferences (Користувачі > Налаштування користувача), щоб відкрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).
2. У діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) виберіть вкладку Gene Expression (Експресія гена).



3. Укажіть значення для параметрів нижче.
  - **Relative to (Відносно до)** — графіки даних експресії гена відносно контролю (що виникає з 1) або відносно нуля:
    - **Zero (Нуль)** — програмне забезпечення ігнорує контроль. Це параметр за замовчуванням, коли у вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту) не призначено жодної контрольної проби;
    - **Control (Контроль)** — програмне забезпечення обчислює дані відносно контрольної проби, призначеної у вікні Experiment Setup (Налаштування

експерименту).

- **X-axis (Вісь X)** — графіки проби або мішені по осі X.
- **Y-axis (Вісь Y)** — графіки лінійної шкали, log2, або log10 по осі Y.
- **Scaling (Масштабування)** — параметр масштабування для графіка (параметр за замовчуванням - немасштабований графік):
  - Highest (Найвищий)** — програмне забезпечення масштабує графік до найвищої точки даних;
  - Lowest (Найнижчий)** — програмне забезпечення масштабує графік до найнижчої точки даних;
  - Unscaled (Немасштабований)** — програмне забезпечення представляє дані на немасштабованому графіку.
- **Mode (Режим)** — режим аналізу: відносна величина ( $\Delta C_q$ ) або нормалізована експресія ( $\Delta\Delta C_q$ ).
- **Error Bar (Значення похибки)** — мінливість даних представлена або як стандартне відхилення (Std. Dev. (Станд. відх.)), або як стандартна похибка середнього (Std. Error Mean (Станд. похибка середнього)).
- **Error Bar Multiplier (Коефіцієнт значення похибки)** — коефіцієнт стандартного відхилення, який використовується для побудови графіків значень похибки (за замовчуванням становить 1).  
Коефіцієнт можна збільшити до 2 або 3.
- **Sample Types to Exclude (Типи проб для вилучення)** — типи проб для вилучення з аналізу.  
Можна вибрати одну або кілька проб, щоб вилучити їх з аналізу. Щоб вилучити всі типи проб, зніміть прапорці вибраних типів проб.

4. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно.

**Важливо!** Якщо в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) натиснути пункт Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням), усі налаштування на всіх вкладках будуть скинуті до початкових заводських налаштувань. Будьте уважні, коли натискаєте на цю кнопку.

### Налаштування правил контролю якості

В CFX Manager Dx можна створювати правила контролю якості, що застосовуються до даних у вікні Data Analysis (Аналіз даних). Програма перевіряє дані, спираючись на задані користувачем

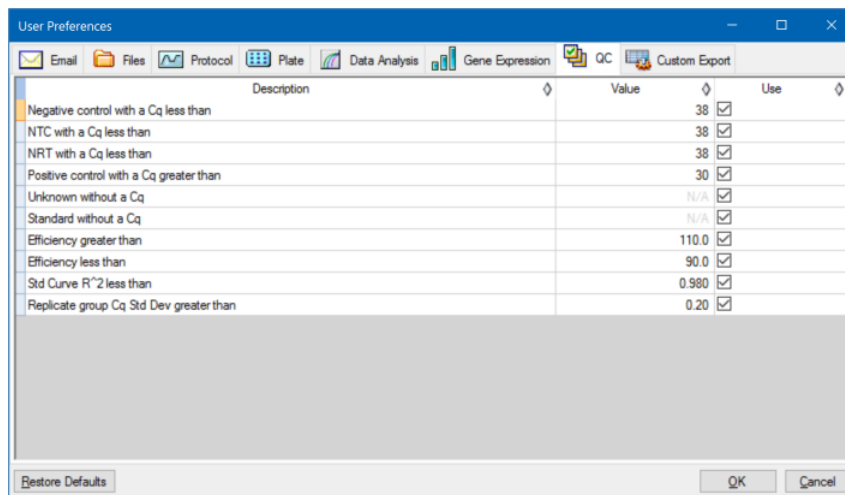
правила.

**Примітка.** За замовчуванням всі правила контролю якості активовані.

**Підказка.** Лунки, які не пройшли контроль якості за якимось параметром, можна легко виключити з аналізу в модулі контролю якості у вікні Data Analysis (Аналіз даних).

### Щоб налаштувати правила контролю якості

1. Виберіть пункт меню Users (Користувачі) > User Preferences (Налаштування користувача), щоб відкрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).
2. У діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) виберіть вкладку QC (Контроль якості).



де:

- **NTC (безматричний контроль)** — контроль без матриці
  - **NRT (Без ревертази)** — контроль без ревертази
  - **Efficiency (Ефективність)** — ефективність реакції
  - **Std Curve R<sup>2</sup>** — значення R в квадраті для стандартної кривої
  - **Replicate group Cq Std Dev (Станд. відхилення Cq групи реплікатів)** — стандартне відхилення, розраховане для кожної групи реплікатів
3. Для кожного правила QC (Контроль якості) виконайте одну з наступних дій:
    - Якщо потрібно використовувати значення за замовчуванням, не виконуйте ніяких дій.

- Щоб змінити значення для правила, клацніть на відповідному текстовому полі Value (Значення), введіть нове значення і натисніть кнопку Enter (Ввести).
- Щоб деактивувати правило, зніміть прапорець у полі Use (Використовувати) для цього правила.

4. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни і закрити діалогове вікно.

**Важливо!** Якщо в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) натиснути пункт Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням), усі налаштування на всіх вкладках будуть скинуті до початкових заводських налаштувань. Будьте уважні, коли натискаєте на цю кнопку.

### Налаштування параметрів експорту даних

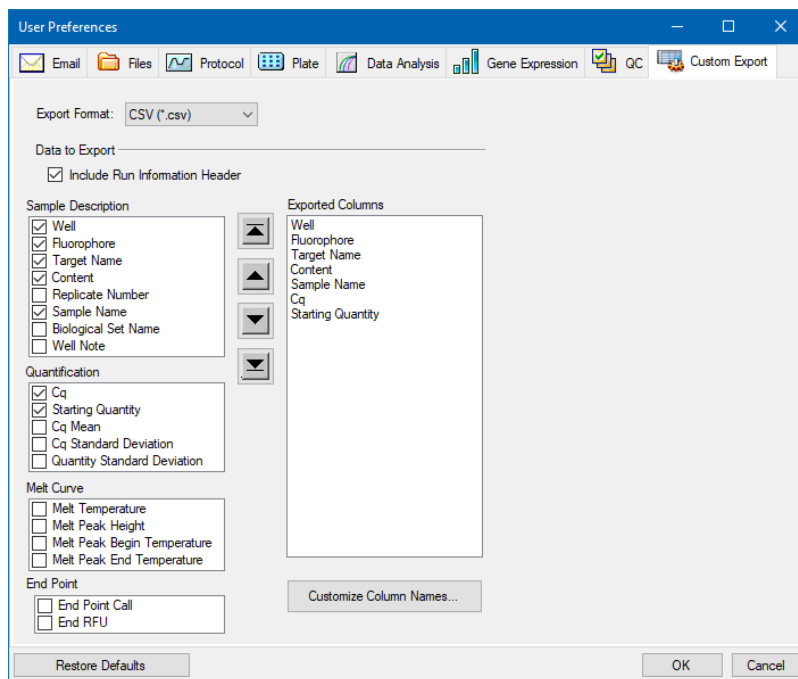
Можливий експорт даних CFX Manager Dx в наступних форматах:

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

Користувач може задати тип даних для експорту і налаштувати властивості експортованих даних, одержуваних на виході.

### Щоб налаштувати параметри експорту даних

1. Виберіть Users (Користувачі) > User Preferences (Налаштування користувача), щоб відкрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).
2. У діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) виберіть вкладку Custom Export (Експорт за заданими налаштуваннями).



3. У випадяючому списку Export Format (Формат експорту) виберіть формат, в якому повинні експортуватися дані.
4. У розділі Data to Export (Дані для експорту) задайте тип експортованих даних, встановивши або прибравши прапорці у відповідних полях. Вибрані елементи відобразяться в полі списку Exported Columns (Колонки, що експортуються).

**Примітка.** За замовчуванням заголовки містять інформацію про підхід. Якщо включати інформацію про підхід не потрібно, приберить прапорець з відповідного поля.

5. Порядок відображення обраних елементів на виході можна поміняти.

В полі списку Exported Columns (Колонки, що експортуються) виділіть необхідний елемент, а потім скористайтеся кнопками зі стрілками ліворуч від списку для переміщення цього елемента вгору або вниз.



6. Додатково можна поміняти назви колонок вихідних даних для вибраних елементів:
  - a. Натисніть **Customize Column Names** (Спеціальні налаштування назв колонок).  
З'явиться діалогове вікно **Column Name Customizer** (Інструмент налаштування назв колонок).
  - b. Для кожної назви колонки за замовчуванням, яку потрібно змінити, введіть нову назву у відповідному полі **Custom Name** (Ім'я, задане користувачем).
  - c. Виконайте одну з наступних дій:
    - Натисніть **OK**, щоб зберегти зміни і повернутися на вкладку **Custom Export** (Експорт за заданими налаштуваннями). Нова назва колонки відобразиться в дужках поруч з її назвою за замовчуванням в полі списку **Exported Columns** (Колонки, що експортуються).
    - Натисніть **Cancel** (Скасувати), щоб скасувати зміни і повернутися на вкладку **Custom Export** (Експорт за заданими налаштуваннями).
7. Натисніть **OK**, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно.

**Важливо!** Якщо в діалоговому вікні **User Preferences** (Налаштування користувача) натиснути пункт **Restore Defaults** (Відновити значення за замовчуванням), усі налаштування на всіх вкладках будуть скинуті до початкових заводських налаштувань. Будьте уважні при натисканні цієї кнопки.

## Створення майстер-міксу

**Master Mix Calculator** (Калькулятор майстер-міксу) виробництва компанії **CFX Manager Dx** дає змогу легко розрахувати необхідний об'єм кожного компонента майстер-міксу. Таблицю розрахунку можна надрукувати на принтері за замовчуванням і зберегти розрахунки для кожної мішені для подальшого використання.

### Створення майстер-міксу за допомогою засобу **Master Mix Calculator** (Калькулятор майстер-міксу)

1. Щоб відкрити **Master Mix Calculator** (Калькулятор майстер-міксу), виконайте одну з наведених далі дій.
  - Послідовно виберіть **Tools > Master Mix Calculator** (Інструменти > Калькулятор майстер-міксу).
  - На панелі інструментів натисніть **Master Mix Calculator** (Калькулятор майстер-міксу).

Відкриється Master Mix Calculator (Калькулятор майстер-міксу).

Master Mix Calculator

Reaction

Detection Method:  SYBR Green/EvaGreen  Probes

Target

Create New SYBR\_target\_1 Remove Remove All

Starting Concentration Final Concentration

Forward Primer 10 pmol/µl (µM) 200 nM

Reverse Primer 10 pmol/µl (µM) 200 nM

Probe 10 pmol/µl (µM) 200 nM

Master Mix Setup

Number of Reactions 96

Reaction Volume Per Well 20 µl

Template Volume 1.0 µl

Supemix Concentration 2.0 X

Excess Reaction Volume 5 %

Choose SYBR Green Target to Calculate

SYBR\_target\_1

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

Print Set as Default Restore Defaults OK Cancel

- У розділі Reaction (Реакція) виберіть метод визначення:
  - SYBR<sup>®</sup> Green/EvaGreen
  - Probes (Зонди)
- Щоб створити нову мішень, у розділі Target (Мішень) натисніть Create New (Створити). У випадяючому списку мішеней з'явиться назва нової мішені.
- (Додатково) Зміна назви мішені за замовчуванням:
  - Виділіть назву мішені у випадяючому списку мішеней.
  - У вікні Target (Мішень) введіть нову назву мішені.
  - Натисніть клавішу Enter.
- Налаштуйте початкову та фінальну концентрацію для переднього й зворотного праймера та будь-яких зондів.

6. У розділі Master Mix Setup (Налаштування майстер-міксу) налаштуйте такі значення:
  - Кількість реакцій для підходу
  - Об'єм реакції на лунку
  - Об'єм шаблону на лунку
  - Концентрація суперміксу на лунку
  - Надмірний об'єм реакції на лунку
7. (Додатково) Виконайте кроки 2–6 для всіх мішеней за необхідністю.
8. У розділі Choose Target to Calculate (Вибрати мішень для розрахунку) виберіть мішень для розрахунку.

**Підказка.** Одночасно можна розрахувати лише одну, декілька або всі мішені.

Розраховані об'єми необхідних компонентів для кожної вибраної мішені відобразяться в таблиці майстер-міксу.
9. Натисніть Set as Default (Використовувати за замовчуванням), щоб установити введені кількості в розділах Target (Мішень) і Master Mix Setup (Налаштування майстер-міксу) як нові значення за замовчуванням.
10. Натисніть ОК, щоб зберегти зміст діалогового вікна Master Mix Calculator (Калькулятор майстер-міксу).

#### **Друк таблиці розрахунків майстер-міксу**

- ▶ Щоб роздрукувати таблицю розрахунків майстер-міксу, натисніть Print (Друк).

Таблицю розрахунків буде роздруковано на принтері за замовчуванням.

#### **Збереження таблиці розрахунків майстер-міксу у форматі PDF**

- ▶ Змініть принтер за замовчуванням на драйвер PDF і натисніть Print (Друк) у вікні Master Mix Calculator (Калькулятор майстер-міксу).

#### **Видалення мішеней**

- ▶ Виберіть мішень у випадяючому списку мішеней і натисніть Remove (Видалити).

**Важливо!** Видалення мішені зі списку мішеней також видалить її з усіх розрахунків майстер-міксу, в яких вона використовувалась. Будьте уважні, коли видаляєте мішень.

## Калібрування нових барвників

Системи CFX96 Dx мають заводське калібрування для найбільш часто використовуваних флуорофорів на планшетах з білими і прозорими лунками. Таблиця 11 представлений перелік флуорофорів, за якими відкалібрований кожен прибор, із зазначенням каналу.

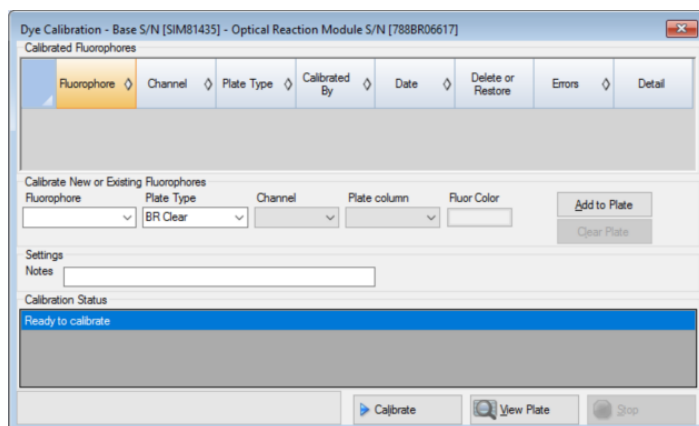
**Примітка.** На системах CFX96 також є канал, призначений спеціально для аналізу методом FRET. Цей канал не потребує калібрування для конкретних барвників.

**Таблиця 11. Флуорофори, для яких є заводське калібрування і канали**

Флуорофори	Канал	Збудження, нм	Детекція, нм
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

### Щоб відкалібрувати нові барвники для систем CFX

1. У вікні Home (Головне) виберіть потрібний прибор на панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти).
2. Виберіть Tools (Інструменти) > Calibration Wizard (Майстер калібрування), щоб відкрити майстер Dye Calibration (Калібрування барвників).



Флуорофори, уже відкалібровані для цільового прибору, відобразяться в таблиці Calibrated Fluorophores (Відкалібровані флуорофори).

- У розділі Calibrate New or Existing Fluorophores (Калібрування нових або наявних флуорофорів) виберіть у випадяючому списку флуорофор, для якого потрібно виконати калібрування.

Якщо назва флуорофора відсутня в списку, введіть його назву в текстове поле, щоб додати його в список.

- Виберіть тип планшета для флуорофора.

Якщо потрібний тип планшета відсутній в списку, введіть його назву в текстове поле, щоб додати його в список.

- Виберіть канал для флуорофора.

- Виберіть стовпець планшета для флуорофора.

- (Додатково) Вкажіть колір, який буде пов'язаний з цим флуорофором.

- Натисніть Add to Plate (Додати до планшета), щоб додати флуорофор.

- (Додатково) Повторіть кроки 3—8 для додавання кожного флуорофора, який плануєте відкалібрувати для цього планшета.

- По завершенні процедури додавання флуорофорів натисніть View Plate (Перегляд планшета), щоб відкрити вікно Pure Dye Plate Display (Відображення планшета з калібрувальними барвниками).

Керуйтеся вмістом цього вікна при завантаженні барвників у планшет.

- Приготуйте 96-лунковий планшет для калібрування барвників.
  - Піпеткою внесіть розчин барвника в кожну лунку за схемою у вікні Pure Dye Plate Display (Відображення планшета з калібрувальними барвниками).
  - Для кожного флуорофора заповніть чотири лунки по 50 мкл (96-лунковий планшет) розчину барвника для довжини хвилі 300 нм. Зверніть увагу, що як мінімум половина лунок планшета залишається порожньою.
  - Герметично закрийте планшет, використовуючи спосіб герметизації, який буде застосовуватися при виконанні експерименту.

12. Помістіть калібрувальний планшет в блок і закрийте кришку.
13. В майстрі Dye Calibration (Калібрування барвників) натисніть Calibrate (Калібрувати), а потім ОК, щоб підтвердити, що планшет знаходиться в блоці.
14. Коли Програмне забезпечення CFX Manager Dx завершить цикл калібрування, відобразиться діалогове вікно. Натисніть Yes (Так), щоб завершити калібрування і відкрити вікно Dye Calibration Viewer (Засіб перегляду калібрування барвників).
15. Натисніть ОК, щоб закрити вікно.

## Розділ 6 Створення протоколів

Протокол — це набір кроків, які виконуються в певній послідовності. У програмному забезпеченні CFX Manager Dx усі кроки пов'язані з параметрами на інструменті. Наприклад, за допомогою кроків інструмент може керувати блоком і температурою кришки, застосовувати різницю температур по всьому блоку, зчитувати дані з планшета або виконувати аналіз кривої плавлення. Для різних типів планшетів і підходів указані свої параметри.

Програмне забезпечення CFX Manager Dx підтримує два варіанти створення протоколів: Protocol Editor (Редактор протоколу) і Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу).

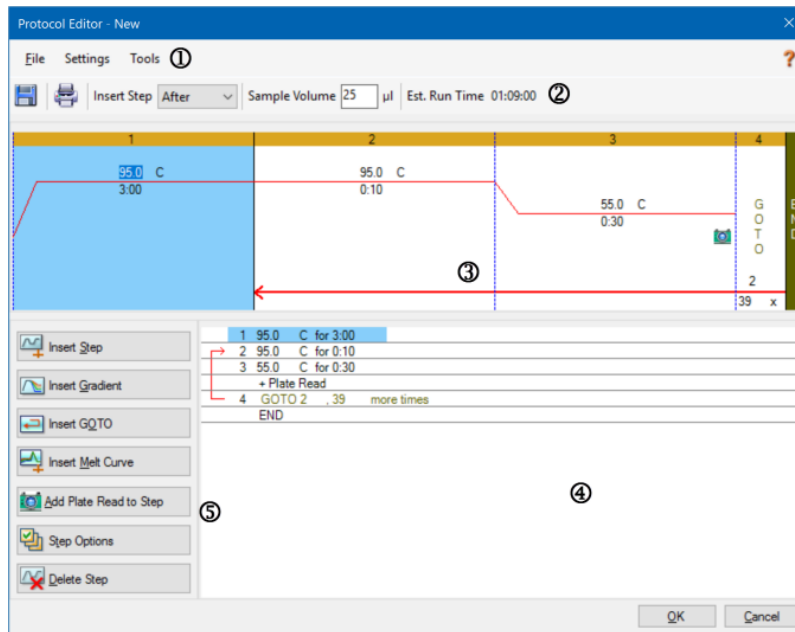
Вікно Protocol Editor (Редактор протоколу) включає зазначені далі функції.

- Стандартні елементи керування для швидкого створення протоколів
- Можливість швидкого обчислення градієнта для вибраної кількості рядків
- Можливість швидкого обчислення часу підходу для вибраного типу планшета
- Можливість редагування кроків протоколу
- Можливість збереження протоколів для повторного використання
- Можливість друку протоколу на принтері за замовчуванням

За допомогою заданих параметрів Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) автоматично генерує налаштований протокол ПЛР із гарячим запуском, початковою денатурацією, відпалом і кроками розширення. Потім можна переглянути графічне подання запропонованого протоколу та відредагувати, запустити або зберегти його.

## Вікно Protocol Editor (Редактор протоколу)

Вікно Protocol Editor (Редактор протоколу) використовується для створення, відкриття, перегляду та редагування протоколу. За замовчуванням відкривається вікно Protocol Editor (Редактор протоколу), що відображає загальний 2-кроковий протокол у реальному часі для 96-лункового планшета.



### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

1. Рядок меню забезпечує швидкий доступ до команд меню File (Файл), Settings (Налаштування) і Tools (Інструменти).
2. Панель інструментів надає швидкий доступ до збереження та друку протоколу, визначення місця вставлення кроку, встановлення об'єму проби та перегляду очікуваного часу виконання протоколу.
3. Основна панель відображає графічне подання протоколу.
4. На нижній панелі відображається структура протоколу.
5. На лівій панелі відображаються елементи керування протоколом, які можна використати для його налаштування.



## Команди меню File (Файл)

**Save (Зберегти)** — зберегти поточний протокол.

**Save As (Зберегти як)** — зберегти поточний протокол під новим ім'ям або в новому розташуванні.

**Close (Закрити)** — закрити вікно Protocol Editor (Редактор протоколу).

## Команда меню Settings (Налаштування)

**Lid Settings (Налаштування кришки)** — відкрити діалогове вікно Lid Settings (Налаштування кришки), у якому можна змінити або встановити температуру кришки.

## Команди меню Tools (Інструменти)

**Gradient Calculator (Калькулятор градієнта)** — відкриття діалогового вікна, у якому можна вибрати тип блока для кроку градієнта. Кількість лунок за замовчуванням — 96.

**Run time Calculator (Калькулятор часу підходу)** — відкриття діалогового вікна, у якому можна вибрати тип планшета та режим сканування, щоб розрахувати приблизний час підходу у вікні Run Setup (Налаштування підходу). Кількість лунок за замовчуванням — 96, для всіх каналів.

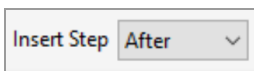
## Команди панелі інструментів



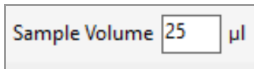
— збереження поточного файлу протоколу.



— друк вибраного вікна.

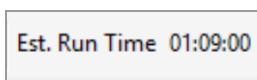


— за допомогою цієї команди можна вибрати, де вставити кроки відносно поточного вибраного кроку.



— за допомогою цієї команди можна ввести об'єм проби в мкл. Об'єм проб відрізняється залежно від типу блока.

- Для блока з 96 глибокими лунками діапазон становить 0–125 мкл.
- Для блока з 96 лунками діапазон становить 0–50 мкл.



— відображення приблизного часу підходу на підставі даних про кроки протоколу, швидкість лінійної зміни та вибраний тип блока.



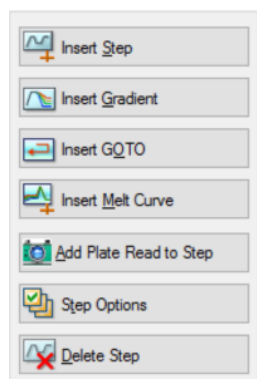
— відображення довідкової інформації про протоколи.

## Елементи керування редагуванням протоколу

Ліва панель вікна Protocol Editor (Редактор протоколу) містить елементи керування, які можна використовувати для створення протоколів.

Кожен елемент керування складається з набору параметрів, які є кроком у протоколі.

Налаштовуючи протокол, можна змінювати параметри, додавати або видаляти їх. У цьому розділі описано параметри кожного елемента керування.



- **Insert Step (Вставити крок)** — вставлення кроку до або після вибраного кроку. Ви можете редагувати значення температури й часу витримки на графічному дисплеї або в структурі протоколу.
- **Insert Gradient (Вставити градієнт)** — вставлення кроку градієнта на основі типу блоку лунок, вибраного в калькуляторі градієнта. Ви можете редагувати діапазон градієнтів на панелі Gradient (Градієнт), яка з'являється після вставлення кроку градієнта.
- **Insert GOTO (Вставити крок GOTO)** — вставлення циклічного кроку (циклу), протягом яких програмне забезпечення послідовно повторюватиме певні кроки задану кількість разів. Повторення починається після завершення першого циклу. Наприклад, ви можете налаштувати програмне забезпечення на виконання 39 повторів кроків 2–4. Разом з останнім повторенням програмне забезпечення виконає кроки 2–4 в цілому 40 разів. Ви можете редагувати налаштування повернення до кроку (GOTO) і кількість повторюваних циклів на графічному дисплеї або в структурі протоколу.
- **Insert Melt Curve (Вставити криву плавлення)** — вставлення кроку зчитування кривої плавлення.
- **Insert Plate Read to Step (Вставити зчитування планшета до кроку)** — додавання команди зчитування планшета до вибраного кроку. Зчитування планшета вимірює кількість флуоресценції в кінці циклу. Зазвичай крок зчитування планшета — останній крок у циклі GOTO.

**Підказка.** Якщо додати до кроку команду зчитування планшета, у разі вибору кроку кнопка змінюється на Remove Plate Read (Видалити зчитування планшета).

- **Remove Plate Read (Видалити зчитування планшета)** — видалення команди зчитування планшета з вибраного кроку.

**Підказка.** Якщо видалити з кроку команду зчитування планшета, у разі вибору кроку кнопка змінюється на Add Plate Read to Step (Додати зчитування планшета до кроку).

- **Step Options (Параметри кроку)** — відкриття діалогового вікна Step Options (Параметри кроку) і відображення доступних параметрів для вибраного кроку. Щоб отримати докладну інформацію про параметри кроку, див. розділ [Параметри кроку на стор. 93](#).

**Підказка.** Можна також відкрити Step Options (Параметри кроку), клацнувши правою кнопкою миші на графічному дисплеї.

- **Delete Step (Видалити крок)** — видалення вибраного кроку з протоколу.

## Параметри кроку

Відкрийте діалогове вікно Step Options (Параметри кроку), щоб переглянути, які елементи можна додавати, змінювати чи видаляти з кроку.

- **Plate Read (Зчитування планшетів)** — при виборі цього параметра команди зчитування планшета додаються до вибраного кроку.
- **Temperature (Температура)** — налаштування цільової температури для вибраного кроку.
- **Gradient (Градiєнт)** — налаштування діапазону градієнта для вибраного кроку; діапазон: 1–24°C.

**Примітка.** Всередині діапазону градієнта найнижча температура досягається перед блоком (на цьому малюнку рядок H), а найвища температура за блоком (на цьому малюнку рядок A).

- **Increment (Приріст)** — кількість, на яку необхідно збільшити (або зменшити) температуру вибраного кроку; значення цієї кількості додається до цільової температури у кожному циклі. Діапазон становить  $\pm 0,1-10$  °C.

**Примітка.** Щоб зменшити температуру, введіть знак мінуса (–) перед числовим значенням (наприклад,  $-5$  °C).

- **Ramp Rate (Швидкість лінійної зміни)** — швидкість лінійної зміни для вибраного кроку; діапазон залежить від розміру блока.
- **Time (Час)** — час витримки для вибраного кроку.
- **Extend (Продовження)** — кількість часу (в секундах), на яку необхідно продовжити або скоротити вибраний крок; цей параметр додається до часу витримки у кожному циклі; діапазон становить 1–60 сек.
- **Beep (Звуковий сигнал)** — при виборі цього параметра звуковий сигнал лунає наприкінці кроку.

**Підказка.** Якщо ви вводите кількість, що знаходиться за межами діапазону параметра, програмне забезпечення змінює цю кількість на найближче їй у межах діапазону.

## Створення протоколу в Protocol Editor (Редактор протоколу)

За допомогою Protocol Editor (Редактор протоколу) можна створювати файли протоколу за користувацькими налаштуваннями. Крім того, можна редагувати й зберігати раніше збережені файли протоколу або зразки файлів протоколу, що постачаються з програмним забезпеченням Програмне забезпечення CFX Manager Dx.

Щоб створити новий файл протоколу, виконайте наступні дії:

- Відкрийте файл протоколу в Protocol Editor (Редактор протоколу).  
**Підказка.** В Protocol Editor (Редактор протоколу) можна відкрити новий або вже існуючий протокол.
- Налаштуйте новий протокол.
- Додайте до протоколу потрібні кроки з панелі елементів керування протоколом.
- Відредагуйте властивості кроків.
- Збережіть протокол.

**Підказка.** Порядок дій при створенні нового протоколу з раніше збереженого файлу або зразка файлу протоколу див. у розділі [Відкриття наявного протоколу в Protocol Editor \(Редактор протоколу\) на стор. 97](#).

## Відкриття нового файлу протоколу у вікні Protocol Editor (Редактор протоколу)

CFX Manager Dx пропонує кілька варіантів відкриття нового файлу протоколу:

- з вікна Home (Головне);
- з діалогового вікна Startup Wizard (Майстер запуску);
- з діалогового вікна Run Setup (Налаштування підходу).

### Відкриття нового файлу протоколу з вікна Home (Головне)

- ▶ Послідовно виберіть елементи File > New > Protocol (Файл > Новий > Протокол).

Відкриється вікно Protocol Editor (Редактор протоколу), відображаючи файл протоколу за замовчуванням.

**Підказка.** Відомості про налаштування протоколу за замовчуванням див. в розділі [Зміна налаштувань файлу за замовчуванням на стор. 70](#).

### **Відкривання нового файлу протоколу з вікна Startup Wizard (Майстер запуску)**

1. Щоб відкрити Startup Wizard (Майстер запуску), якщо він не відображається, у вікні Home (Головне) виконайте одну з таких дій:

- послідовно натисніть елементи View > Startup Wizard (Вигляд > Майстер запуску);
- на панелі інструментів натисніть елемент Startup Wizard (Майстер запуску).

За замовчуванням Startup Wizard (Майстер запуску) відображає вкладку Run setup (Налаштування підходу) з вибраним типом інструмента CFX96.

2. Якщо необхідно, виберіть тип інструмента з випадаючого списку.
3. Як тип підходу виберіть User-defined (Заданий користувачем).

У діалоговому вікні Run Setup (Налаштування підходу) відкривається вкладка Protocol (Протокол) і відображається файл протоколу за замовчуванням.

4. Натисніть Create New (Створити).

Відкриється вікно Protocol Editor (Редактор протоколу), відображаючи протокол реального часу за замовчуванням.

### **Відкривання нового протоколу з діалогового вікна Run Setup (Налаштування підходу)**

1. Щоб відкрити діалогове вікно Run Setup (Налаштування підходу), у вікні Home (Головне) виконайте одну з таких дій:

- послідовно виберіть елементи Run > User-defined Run (Підхід > Заданий користувачем підхід);
- на панелі інструментів натисніть User-defined Run Setup (Налаштування заданого користувачем підходу).

У діалоговому вікні Run Setup (Налаштування підходу) відкриється вкладка Protocol (Протокол), на якій відобразиться ваш файл протоколу за замовчуванням.

2. Натисніть Create New (Створити).

Відкриється вікно Protocol Editor (Редактор протоколу), відображаючи протокол реального часу за замовчуванням.

## Відкриття наявного протоколу в Protocol Editor (Редактор протоколу)

CFX Manager Dx надає зразки файлів протоколу, які можна редагувати і зберігати як нові протоколи з користувацькими налаштуваннями. Крім того, можна створити новий протокол з існуючого користувацького протоколу.

### Щоб відкрити зразок файлу протоколу

1. У вікні Home (Головне) виберіть File (Файл)> Open (Відкрити)> Protocol (Протокол).

За замовчуванням Провідник Windows відкриє місце розташування папки Sample files (Зразки файлів) CFX Manager Dx.

2. Відкрийте папку Sample files (Зразки файлів). У ній знаходяться наступні папки:

- **ConventionalProtocols** — містить приклади файлів протоколів для традиційного аналізу ПЛР.
- **DataFiles** — містить приклади файлів даних, які можна використовувати для вивчення властивостей CFX Manager Dx.
- **MeltCalibration** — містить приклади файлів протоколів для застосування з програмним забезпеченням Bio-Rad Precision Melt Analysis.
- **Plates** — містить приклади файлів планшетів.
- **RealTimeProtocols** — містить приклади файлів протоколів для аналізу ПЛР в режимі реального часу.

3. Відкрийте папку протоколів для типу підходу, який ви плануєте виконати — ConventionalProtocols або RealTimeProtocols.

4. Виберіть протокол і натисніть Open (Відкрити).

Зразок протоколу відкриється у вікні Protocol Editor (Редактор протоколу).

5. Виберіть File (Файл)> Save As (Зберегти як) і збережіть протокол під новим ім'ям або в новій папці.

### Щоб відкрити наявний протокол

1. У вікні Home (Головне) виконайте одну з наступних дій:
  - Виберіть File (Файл) > Open (Відкрити) > Protocol (Протокол), перейдіть до потрібного протоколу, виберіть його та натисніть Open (Відкрити).
  - Відкрийте Startup Wizard (Майстер запуску) і виконайте одну з наступних дій:
    - Щоб відредагувати протокол, що відображується, натисніть Edit Selected (Редагувати вибране).
    - Щоб відредагувати інший наявний протокол, натисніть Select Existing (Вибрати наявний) і перейдіть до потрібного файлу.

Протокол відкриється у вікні Protocol Editor (Редактор протоколу).
2. Виберіть File (Файл) > Save As (Зберегти як) і збережіть протокол під новим ім'ям або в новій папці.

### Налаштування нового протоколу

**Підказка.** Якщо ваш файл протоколу містить потрібні параметри (наприклад, якщо ви редагуєте наявний файл планшета), можна пропустити цей розділ. Перейдіть до розділу [Додавання кроків до протоколу на стор. 100](#).

Для нових файлів протоколу необхідно налаштувати наведені нижче параметри:

- Тип блока
- Режим сканування для вибраного типу блока
- Температура кришки
- Об'єм проби

### Налаштування типу блока

Програмне забезпечення CFX Manager Dx автоматично обчислює приріст температури для кроків градієнта на основі типу блока.

**Примітка.** Тип планшета, встановлений у вікні Protocol Editor (Редактор протоколу), має збігатися з планшетом у реакційному модулі.

### Налаштування типу блока

- ▶ У вікні Protocol Editor (Редактор протоколу) послідовно натисніть елементи Tools > Gradient Calculator (Інструменти > Калькулятор градієнта) і виберіть відповідний тип планшета з випадаючого списку, що відобразиться.



## Вибір режиму сканування для вибраного типу блока

Щоб визначити час підходу для протоколу, виберіть тип цільового блока та режим сканування.

### Вибір типу блока та режиму сканування

- ▶ У вікні Protocol Editor (Редактор протоколу) послідовно натисніть елементи Tools > Run time Calculator (Інструменти > Калькулятор часу підходу) і виберіть відповідний тип планшета й режим сканування з випадаючого списку.

## Регулювання температури кришки

CFX Manager Dx встановлює за замовчуванням температуру кришки на 105,0 °C.

Якщо необхідно, для протоколу можна змінити налаштування за замовчуванням або вимкнути нагрівач кришки.

**Підказка.** Налаштування температури кришки за замовчуванням можна змінити в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача). Див. розділ [Налаштування параметрів протоколу за замовчуванням на стор. 72](#).

### Як відрегулювати температуру кришки

1. У вікні Plate Editor (Редактор планшетів) виберіть розділ Settings > Lid Settings (Налаштування > Налаштування кришки).  
З'явиться діалогове вікно Lid Settings (Налаштування кришки).
2. Виконайте одну з наведених далі дій.
  - Виберіть пункт User Defined (Задані користувачем) і введіть у текстовому полі значення температури.
  - Виберіть пункт Turn Off Lid Heater (Вимкнути нагрівач кришки).
3. Натисніть кнопку ОК, щоб прийняти зміни та закрити діалогове вікно.

## Встановлення об'єму проби

За замовчуванням CFX Manager Dx встановлює об'єм проби для кожної лунки на 25 мкл. Однак діапазон Система CFX Dx становить 0–125 мкл.

Прибор використовує один з двох режимів контролю температури, щоб визначити, коли проба досягає цільової температури в протоколі:

- **Calculated mode (Режим обчислення)** — коли об'єм проби встановлений на об'єм, відповідний для блоку, прибор обчислює температуру проби на основі об'єму проби. Це стандартний режим.
- **Block mode (Режим блоку)** — коли об'єм проби встановлений на нуль (0) мкм, прибор реєструє температуру проби, аналогічну виміряній температурі блока.

#### Щоб встановити об'єм проби для конкретного блоку

- ▶ У вікні Plate Editor (Редактор планшетів) введіть правильне значення в текстовому полі Sample Volume (Об'єм проби) на панелі інструментів.

**Підказка.** Змінити встановлений за замовчуванням об'єм проби можна в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача). Див. розділ [Зміна налаштувань файлу за замовчуванням на стор. 70](#).

## Додавання кроків до протоколу

#### Щоб додати крок до протоколу

1. Відкрийте протокол у вікні Protocol Editor (Редактор протоколу).
2. Визначте, куди потрібно вставити новий крок. На панелі інструментів виберіть Before (До) або After (Після) з випадаючого списку Step (Крок).
3. На графіку виберіть крок, до або після якого ви плануєте вставити новий крок.
4. На лівій панелі натисніть Insert Step (Вставити крок).
5. Щоб змінити температуру або час витримки, натисніть на значення за замовчуванням на графіку або структурі протоколу і встановіть нове значення.
6. (Додатково) На лівій панелі натисніть Step Options (Опції кроку), щоб відкрити діалогове вікно Step Options (Опції кроку) і змінити доступні опції для обраного кроку.

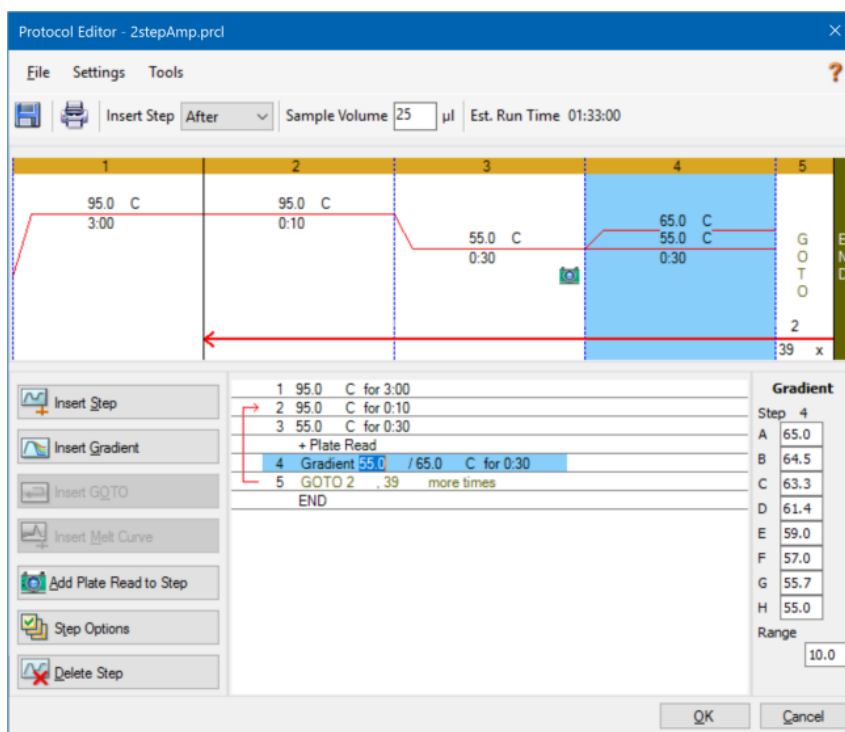
**Підказка.** Також можна відкрити діалогове вікно Step Options (Опції кроку) в контекстному меню на панелі графіка або панелі структури протоколу.

7. Натисніть OK і потім Yes (Так), щоб зберегти зміни, внесені в протокол.  
З'явиться діалогове вікно Save As (Зберегти як).
8. У діалоговому вікні Save As (Зберегти як) введіть назву нового файлу протоколу і натисніть Save (Зберегти).

## Вставлення кроку градієнта

Щоб вставити крок градієнта, виконайте дії нижче.

1. Переконайтеся, що розмір планшета для градієнта такий самий, як і тип блока інструмента: на 96 лунок.
2. Якщо це ще не зроблено, виберіть розмір планшета для градієнта:  
 послідовно натисніть Tools > Gradient Calculator (Інструменти > Калькулятор градієнта) і виберіть відповідний тип лунки з випадаючого списку.
3. На панелі інструментів виберіть Before (Перед) або After (Після) з випадаючого списку Insert Step (Вставити крок).
4. На графіку або в області структури виберіть крок, до або після якого потрібно вставити крок градієнта.
5. На панелі ліворуч натисніть команду Insert Gradient (Вставити градієнт). Новий крок градієнта виділений на графіку та в області структури, як показано нижче.



Температура кожного рядка в градієнті відображається в таблиці Gradient (Градiєнт) на панелі праворуч.

6. Щоб змінити діапазон температур градієнта, виконайте одну з таких дій:
  - на графіку або в області структури натисніть температуру за замовчуванням і введіть нове значення;
  - натисніть елемент Step Options (Параметри кроку), щоб ввести діапазон градієнта у вікні Step Options (Параметри кроку);
  - змініть значення в полі Range (Діапазон) у таблиці Gradient (Градієнт).
7. Щоб змінити час витримки, натисніть час за замовчуванням у графічному або текстовому поданні та введіть новий час.
8. Натисніть ОК, а потім Yes (Так), щоб зберегти зміни.

## Вставлення кроку GOTO

**Примітка.** Крок GOTO не можна вставити в набір GOTO; створення вкладених петель GOTO неможливе.

### Щоб вставити крок GOTO

1. На панелі інструментів виберіть Before (До) або After (Після) з випадаючого списку Insert Step (Вставити крок).
2. На графіку виберіть крок, до або після якого потрібно вставити крок GOTO.
3. На лівій панелі натисніть Insert GOTO (Вставити GOTO).
4. Щоб змінити номер кроку GOTO або кількість повторів GOTO, виберіть номер за замовчуванням на графіку або в області структури та введіть нове значення.
5. Натисніть ОК, а потім Yes (Так), щоб зберегти зміни.

## Вставлення кроку кривої плавлення

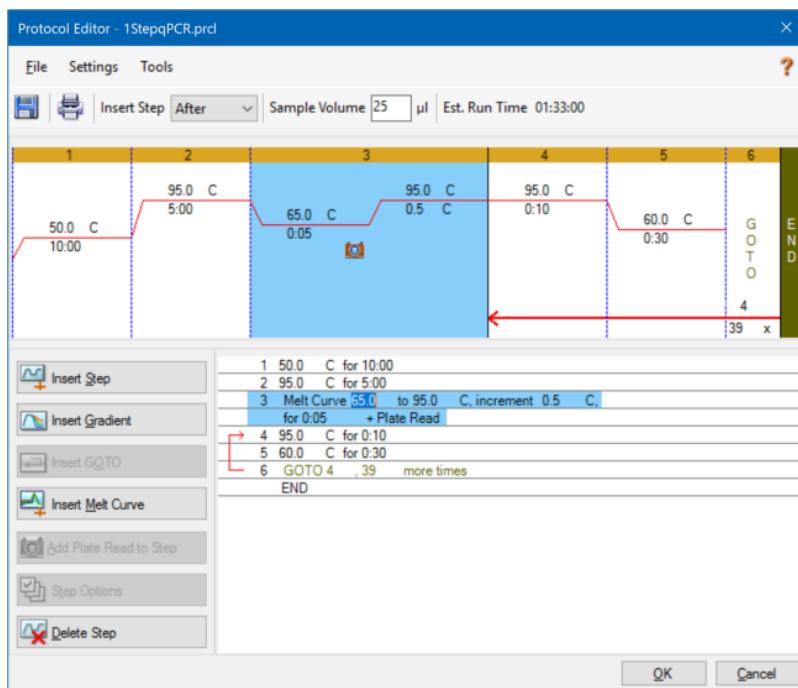
**Підказка.** Неможливо вставити крок кривої плавлення в цикл GOTO.

**Примітка.** Крок кривої плавлення містить витримку довжиною 30 с на початку кроку, що не показано в протоколі.

### Щоб вставити крок кривої плавлення, виконайте дії нижче.

1. На панелі інструментів виберіть Before (Перед) або After (Після) з випадаючого списку Insert Step (Вставити крок).
2. На графіку виберіть крок, до або після якого потрібно вставити крок кривої плавлення.

3. На панелі ліворуч натисніть команду Insert Melt Curve (Вставити криву плавлення). Новий крок кривої плавлення виділений на графіку та в області структури, як показано нижче.



4. Щоб змінити діапазон температур плавлення або час збільшення, виберіть номер за замовчуванням на графіку або в області структури та введіть нове значення.
5. Натисніть ОК, а потім Yes (Так), щоб зберегти зміни.

## Додавання або видалення кроку зчитування планшетів

**Підказка.** Якщо додати до кроку команду зчитування планшета, у разі вибору кроку кнопка змінюється на Remove Plate Read (Видалити зчитування планшета).

### Щоб додати зчитування планшетів до кроку

1. На панелі інструментів виберіть Before (До) або After (Після) з випадаючого списку Insert Step (Вставити крок).
2. На графіку виберіть крок, до або після якого ви плануєте вставити крок зчитування планшетів.
3. На лівій панелі натисніть Add Plate Read to Step (Додати зчитування планшетів до кроку), щоб додати зчитування планшетів до вибраного кроку.
4. Натисніть ОК, а потім Yes (Так), щоб зберегти зміни.

### Щоб видалити зчитування планшетів з кроку

- ▶ На графіку виберіть крок, що містить зчитування планшетів, і натисніть Remove Plate Read (Видалити зчитування планшетів) на лівій панелі.

## Зміна параметрів кроку

### Щоб змінити параметри кроку для вибраного кроку

1. Виберіть потрібний крок на панелі графіка або структури.
2. На лівій панелі натисніть Step Options (Параметри кроку), щоб відкрити діалогове вікно Step Options (Параметри кроку).

Або ж клацніть правою кнопкою миші на потрібному кроку на будь-якій з двох панелей і виберіть Step Options (Параметри кроку) у меню, що з'явиться.

3. Щоб додати, змінити або видалити параметри:
  - Введіть значення у відповідному текстовому полі.
  - Відредагуйте значення у конкретному текстовому полі.
  - Встановіть або зніміть прапорець.
4. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни і закрити діалогове вікно Step Options (Параметри кроку).
5. Натисніть ОК, а потім Yes (Так), щоб зберегти протокол.

## Видалення кроку

**Щоб видалити крок у протоколі, виконайте дії далі.**

1. Виберіть крок на графіку або в області структури.
2. На панелі ліворуч натисніть команду Delete Step (Видалити крок), щоб видалити вибраний крок.
3. Натисніть ОК, а потім Yes (Так), щоб зберегти протокол.

## Копіювання, експорт або друк протоколу

**Щоб скопіювати протокол**

- ▶ Клацніть правою кнопкою миші на структурі протоколу і виберіть Copy Protocol (Копіювати протокол).

Вміст структури можна перенести в файл .txt, .xls, .doc або .ppt.

**Щоб експортувати протокол**

1. Клацніть правою кнопкою миші на структурі протоколу і виберіть Export Protocol (Експортувати протокол).  
З'явиться діалогове вікно Save As (Зберегти як).
2. (Додатково) В провіднику Windows перейдіть до папки, в якій потрібно зберегти файл протоколу.
3. В полі File name (Ім'я файлу) введіть ім'я експортованого файлу протоколу.
4. Натисніть Save (Зберегти).

**Щоб надрукувати протокол**

- ▶ Клацніть правою кнопкою миші на структурі протоколу і виберіть Print (Друк).

Вміст структури протоколу можна роздрукувати на принтері, заданому за замовчуванням.

## Створення протоколу за допомогою діалогового вікна Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу)

**Важливо!** Компанія Bio-Rad не гарантує, що наслідком застосування протоколу, створеного у діалоговому вікні Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу), завжди буде продукт ПЛР в реальному часі.

Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) компанії CFX Manager Dx автоматично генерує циклічні протоколи на основі таких вхідних параметрів:

- **Amplicon length (Довжина амплікону)** — очікувана довжина продукту ПЛР.
- **Annealing temperature (Температура анелювання)** — це  $T_a$  реакції для праймерів, які використовуються.

Якщо  $T_a$  невідома, можна застосувати  $T_a$  Calculator (Калькулятор температур анелювання) для її автоматичного розрахунку на основі послідовностей праймерів.

**Примітка.**  $T_a$  налаштовується на основі відомостей про температуру плавлення праймера ( $T_m$ ), що залежить від вибраного ферменту та швидкості протоколу.

- **Enzyme type (Тип ферменту)** — це полімеразний фермент ДНК (полімераза ДНК іTaq, іProof або Other (Інше)).

У разі використання іншого ферменту, крім полімерази іTaq DNA (ДНК іTaq) або DNA іProof (ДНК іProof), можна ввести додаткові відомості, зокрема діапазон градієнта, час активації гарячого запуску (в секундах) і фінальний час розширення (в секундах).

- **Run speed (Швидкість підходу)** — швидкість реакції (стандартна, швидка або ультрашвидка).

Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) оптимізує протокол залежно від вибраного налаштування швидкості. Загальний час підходу визначається кількістю кроків і циклів, часом інкубації на кожному кроці та часом, необхідним для досягнення однорідності при цільовій температурі.

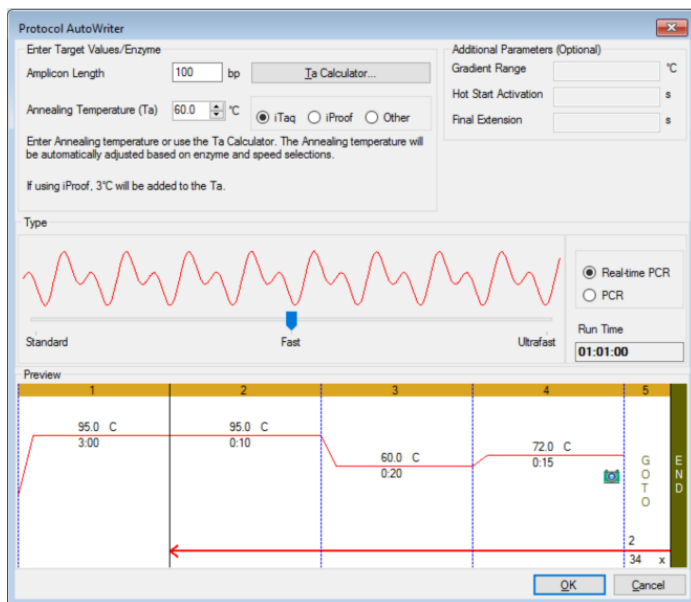
За допомогою параметрів, які вводить користувач, і стандартних посібників до проведення ПЛР Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) автоматично генерує налаштований протокол ПЛР із гарячим запуском, початковою денатурацією, відпалом і кроками розширення. Потім можна переглянути графічне подання запропонованого протоколу та відредагувати, запустити або зберегти його.



## Створення нового протоколу за допомогою засобу Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) компанії CFX Manager Dx

1. У вікні Home (Головне) виберіть Tools > Protocol AutoWriter (Інструменти > Автоскладач протоколу).

Відкриється діалогове вікно Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу).



2. У розділі Enter Target Values/Enzyme (Ввести значення мішеней/фермент) виконайте такі дії:

- Введіть температуру анелювання ( $T_a$ ) для праймерів, якщо вона відома.

**Підказка.** Докладніше див. в розділі [Використання Ta Calculator \(Калькулятор температур анелювання\)](#) на стор. 108.

**Примітка.** Інформацію про розрахунки в  $T_a$  Calculator (Калькулятор температур анелювання) див. в документі Breslauer et al. 1986.

- Введіть довжину амплікону в парах основ (bp).
- Виберіть тип ферменту зі списку варіантів (полімераза iTaq DNA (ДНК iTaq), iProof DNA (ДНК iProof) або Other (Інше)).

**Підказка.** Якщо як тип ферменту вибрати Other (Інше), активуються параметри в розділі Additional Parameters (Optional) (Додаткові параметри (необов'язково)).

3. Якщо як тип ферменту вибрати Other (Інше), до протоколу можна буде додати будь-які або всі з наступних параметрів:
  - діапазон градієнта;
  - температура активації гарячого запуску;
  - фінальний час розширення.
4. У розділі Type (Тип) пересуньте повзунок і виберіть швидкість протоколу (Standard (Стандартна), Fast (Швидка) або Ultrafast (Ультрашвидка)). CFX Manager Dx налаштовує загальний час підходу.
5. Виберіть тип ПЛР для виконання (за замовчуванням вибрано Real-time PCR (ПЛР в реальному часі)).

У режимі ПЛР в реальному часі CFX Manager Dx додає крок зчитування планшета, щоб зібрати дані флуоресценції.
6. Перегляньте протокол у розділі Preview (Попередній перегляд). Користувач може внести потрібні зміни.
7. Виконайте одну з наведених далі дій.
  - Натисніть OK, щоб зберегти новий протокол. Після збереження протоколу він відкриється у вікні Startup Wizard (Майстер запуску). Натисніть Edit Selected (Редагувати вибране), щоб внести будь-які зміни до протоколу. Наприклад, може виникнути потреба змінити температуру кришки та об'єм проби.
  - Натисніть Cancel (Скасувати), щоб закрити вікно без збереження протоколу.

## Використання $T_a$ Calculator (Калькулятор температур анелювання)

Якщо температура анелювання праймера невідома, можна розрахувати її значення за допомогою  $T_a$  Calculator (Калькулятор температур анелювання). Для створення протоколу можна скористатися значенням у Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) або Protocol Editor (Редактор протоколу).

## Інформація про $T_a$ Calculator (Калькулятор температур анелювання)

$T_a$  Calculator (Калькулятор температур анелювання) розраховує значення  $T_m$  для кожного праймера, а також значення  $T_a$  для протоколу при стандартній швидкості.

Значення  $T_a$  для протоколу базується на середніх арифметичних значеннях  $T_m$  для праймера із застосуванням наведених далі правил.

- Якщо різниця між значеннями  $T_m$  праймера становить  $> 4$  °C, значення  $T_a = (\text{нижче з двох значень } T_m \text{ праймера} + 2) - 4$  °C.
- Якщо різниця між значеннями  $T_m$  праймера становить  $\leq 4$  °C, значення  $T_a = (\text{середнє арифметичне значень } T_m \text{ праймера}) - 4$  °C.

### Метод підрахунку пар основ

Для кожного праймера Ta Calculator (Калькулятор температур анелювання) використовує метод підрахунку пар основ для послідовностей з 14 пар основ (base pairs — bp) або менше.

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

де w, x, y та z — номери нуклеотидів A, T, G, та C у послідовностях, відповідно.

### Метод найближчого сусідства

Для послідовностей, довших за 14 bp, застосовується метод найближчого сусідства. Згідно з методом найближчого сусідства обчислення температури плавлення базується на термодинамічному зв'язку між ентропією (характеристика або міра неупорядкованості олігонуклеотида), ентальпією (кількість тепла, що виділяються чи поглинається олігонуклеотидом), вільною енергією і температурою.

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

де:

- $\Delta H$  = значення ентальпії, кал/моль\*К
- T = температура, в кельвінах
- $\Delta S$  = значення ентропії, кал/моль\*К
- $\Delta G$  = вільна енергія Гіббса в кал/моль\*К

Зміна значень ентропії та ентальпії безпосередньо обчислюється шляхом додавання значень для нуклеотидних пар, як показано в [Таблиця 12](#) (Breslauer et al. 1986).

Зв'язок між вільною енергією і концентрацією реагентів та продуктів в рівноважному стані обчислюється наступним чином:

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

де R — газова константа (1,986 кал/мол\*К).

Заміна G в двох рівняннях і обчислення T дає

$$T = \Delta H / (\Delta S + R \cdot \ln((\text{DNA} \cdot \text{Primer}) / (\text{DNA} + \text{Primer})))$$

виходячи з припущення, що концентрації ДНК і комплексу ДНК-праймер рівні.

Емпіричним шляхом було визначено (Sugimoto et al. 1996), що кількість вільної енергії під час переходу з одностричкової в B-форму ДНК змінюється на 5 ккал (3,4 ккал). Існує припущення, що це енергія ініціації спіралі. Нарешті, після внесення поправки на сіль отримуємо рівняння, яке використовує  $T_a$  калькулятор:

$$T = (\Delta H - 5(\text{KCal/K} \cdot \text{Mole})) / (\Delta S + (R \cdot \ln(1/(\text{primer})))) + 16.6 \log_{10}(\text{SaltMolarity})$$

Коригування константи з огляду на концентрацію солі не потрібне, оскільки різні параметри визначалися при 1 M NaCl, а  $\log_{10}$  для 1 дорівнює нулю.

На підставі термодинамічних обчислень можна припустити, що анелювання відбувається при рН 7,0. Обчислення  $T_m$  дозволяють зробити припущення, що послідовності не є симетричними і містять принаймні одну G або C.

Для отримання прийнятних значень  $T_m$  послідовність олігонуклеотидів повинна складатися не менше ніж з 14 основ. При менше ніж 14 основах застосовується метод підрахунку пар основ (див. [Таблиця 12](#) нижче).

**Таблиця 12. Константи взаємодії Бреслауера**

Взаємодія		$\Delta H$	$\Delta S$	$\Delta G$
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
CA	GT	5,8	12,9	1,9
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1

Таблиця 12. Константи взаємодії Бреслауера, продовження

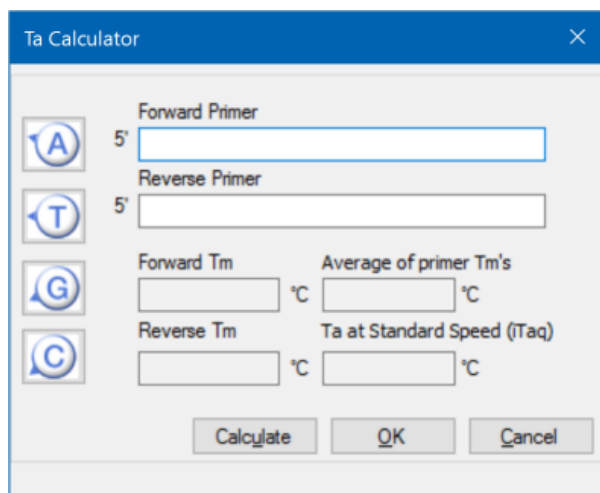
Взаємодія		$\Delta H$	$\Delta S$	$\Delta G$
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3
GC	CG	11,1	26,7	3,1
GG	CC	11	26,6	3,1

## Використання $T_a$ Calculator (Калькулятор температур анелювання)

Щоб скористатися  $T_a$  Calculator (Калькулятор температур анелювання), виконайте зазначені нижче дії.

1. Щоб відкрити  $T_a$  Calculator (Калькулятор температур анелювання), виконайте одну з наведених далі дій.
  - Якщо відкрито Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу), натисніть  $T_a$  Calculator (Калькулятор температур анелювання).
  - У вікні Home (Головне) виберіть Tools >  $T_a$  Calculator (Інструменти > Калькулятор температур анелювання).

Відобразиться діалогове вікно  $T_a$  Calculator (Калькулятор температур анелювання).



2. У текстовому вікні Forward Primer (Прямий праймер) введіть або вставте послідовність прямого праймера.

**Підказка.** Послідовність можна ввести за допомогою кнопок A, T, G, C з лівого боку діалогового вікна.
3. Введіть або вставте послідовність зворотного праймера в текстовому вікні Reverse Primer (Зворотний праймер).

## 4. Натисніть Calculate (Розрахувати).

T<sub>a</sub> Calculator (Калькулятор температур анелювання) розраховує та відображає T<sub>m</sub> кожного праймера та середні значення T<sub>m</sub> і T<sub>a</sub>, наприклад:

Parameter	Value (°C)
Forward T <sub>m</sub>	59.7
Reverse T <sub>m</sub>	56.9
Average of primer T <sub>m</sub> 's	58.3
T <sub>a</sub> at Standard Speed (iTaQ)	54.3

Якщо різниця значень T<sub>m</sub> праймера становить понад 4 °C, Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу) використовує нижче значення T<sub>m</sub> праймера + 2 °C як основу для розрахунку значення T<sub>a</sub>, яке потім можна змінити, змінивши фермент і швидкість реакції.

T<sub>a</sub> Calculator (Калькулятор температур анелювання) генерує температуру анелювання для стандартної швидкості з ДНК-полімеразою iTaq. Якщо використовується інший фермент, налаштування швидкості автоматично коригує T<sub>a</sub>.

## 5. Виконайте одну з наведених далі дій.

- Якщо ви відкрили T<sub>a</sub> Calculator (Калькулятор температур анелювання) з Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу), натисніть OK. Ви повернетеся в Protocol AutoWriter (Автоскладач протоколу). Температура анелювання зміниться автоматично.
- Якщо ви відкрили T<sub>a</sub> Calculator (Калькулятор температур анелювання) з меню Tools (Інструменти), запишіть розрахунки та натисніть Cancel (Скасувати), щоб закрити калькулятор.





## Розділ 7 Підготовка планшетів

Файл планшета містить інформацію про параметри підходу, як-от режим сканування та флуорофори, а також вміст лунок. Коли підхід завершено, програмне забезпечення CFX Manager Dx зв'яже вміст лунок із даними флуоресценції, зібраними під час підходу, і проводить відповідні аналізи у вікні Data Analysis (Аналіз даних). Наприклад, лунки, що містять стандартні проби, використовуються для побудови стандартної кривої.

Програмне забезпечення CFX Manager Dx підтримує два варіанти створення планшетів: Plate Editor (Редактор планшетів) для підходів ПЛР у реальному часі та Setup Wizard (Майстер налаштування) для аналізу нормалізованої експресії генів.

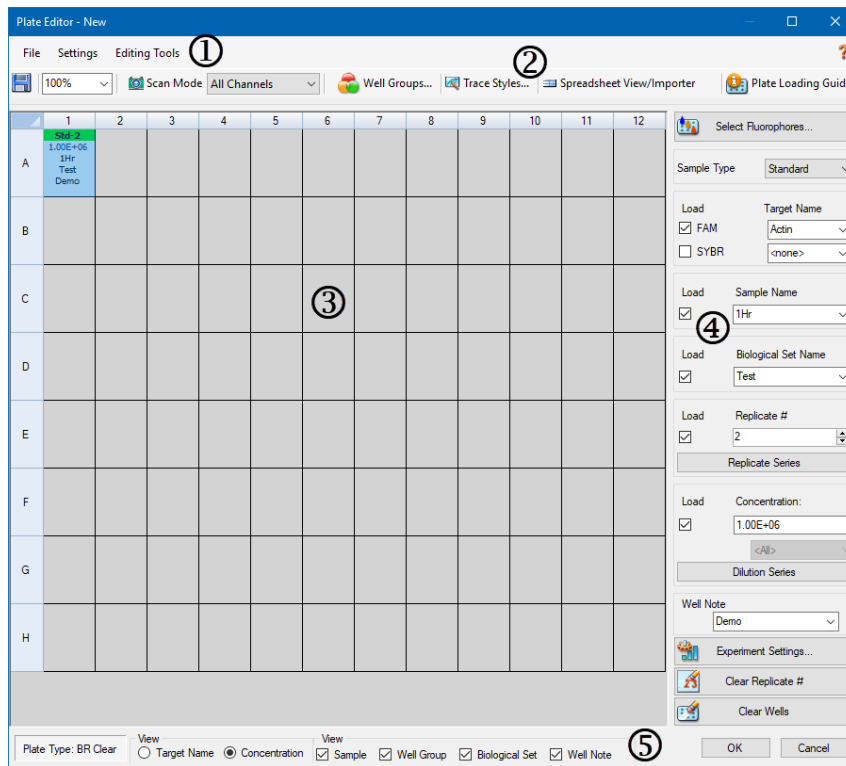
Вікно Plate Editor (Редактор планшетів) включає зазначені далі функції.

- Стандартні флуорофори й типи проб, які призначаються лункам планшета
- Можливість встановлення еталонної мішені та контрольної проби для аналізу експресії генів
- Можливість зміни налаштувань планшета до, під час або після підходу
- Можливість збереження файлів планшета для повторного використання
- Можливість друку файлів планшета на принтері за замовчуванням

Програма Setup Wizard (Майстер налаштування) допоможе створити конфігурацію планшета для аналізу нормалізованої експресії генів. Setup Wizard (Майстер налаштування) можна використовувати перед підходом, під час або після нього.

## Вікно Plate Editor (Редактор планшетів)

Використовуйте вікно Plate Editor (Редактор планшетів) для створення користувацьких планшетів або зміни існуючих планшетів.



### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

1. З рядка меню можна здійснити швидкий доступ до команд меню File (Файл) і Settings (Налаштування), а також до параметрів інструментів редагування планшета.
2. Панель інструментів надає швидкий доступ до важливих функцій завантаження планшета.
3. На основній панелі по мірі застосування відображуються структура планшета та параметри планшета.
4. На правій панелі відображуються параметри, що використовуються для користувацького налаштування планшета.
5. На нижній панелі відображується тип планшета і надається швидкий доступ до варіантів перегляду.

## Команди меню File (Файл)

**Save (Зберегти)** — дає змогу зберегти файли даних планшетів у місці, указаному на вкладці File (Файл) у діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача). Докладніше див. в розділі [Зміна налаштувань файлу за замовчуванням на стор. 70](#). Цей елемент меню доступний тільки під час створення файлу планшета.

**Save As (Зберегти як)** — дає змогу зберегти відкритий файл даних планшета з новим зазначеним ім'ям. Цей елемент меню доступний тільки під час створення файлу планшета.

**Extract Plate (Вилучити планшет)** — дає змогу відкрити діалогове вікно, у якому можна вилучити або зберегти файл планшета (.pltd). Цей елемент меню доступний лише під час перегляду або редагування наявного файлу планшета.

**Print (Друк)** — друк відкритого файлу даних планшета.

**Close (Закрити)** — дає змогу закрити вікно Plate Editor (Редактор планшетів).

## Команди меню Settings (Налаштування)

**Plate Size (Розмір планшета)** — містить варіанти для вибору розміру планшета для підходу.

**Примітка.** Система CFX Dx може використовувати тільки планшет на 96 лунок.

**Plate Type (Тип планшета)** — дає змогу вибрати тип лунок у планшеті, який містить проби: BR White (Білі) або BR Clear (Прозорі). Для точного аналізу даних вибраний тип планшета має збігатися з типом планшета, використаного в підході.

**Number Convention (Правила оформлення чисел)** — можливість установити або скасувати вибір відображення одиниць вимірювання в експоненціальному форматі. За замовчуванням встановлено відображення одиниць вимірювання в експоненціальному форматі.

**Units (Одиниці вимірювання)** — можливість вибрати формат відображення одиниць вимірювання в таблицях під час кількісного аналізу невідомих порівняно зі стандартною кривою.

## Команди меню Editing Tools (Інструменти редагування)

**Setup Wizard (Майстер налаштування)** — відкриває Setup Wizard (Майстер налаштування), у якому можна визначити параметри макета й аналізу поточного планшета. Setup Wizard (Майстер налаштування) можна використовувати перед підходом, під час або після нього.

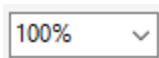
**Spreadsheet View/Importer (Перегляд/Імпортер таблиці)** — відкриває діалогове вікно View (Перегляд), в якому відображується макет планшета як шаблон у форматі таблиці. Це діалогове вікно можна використовувати для експорту або імпорту даних шаблону планшета у форматі .csv.

**Flip Plate (Перевернути планшет)** — обертає вміст планшета на 180°.

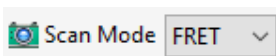
## Команди панелі інструментів



Зберегти поточний файл планшета.



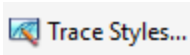
Відобразити випадаючий список, у якому можна збільшувати або зменшувати масштаб вигляду планшета.



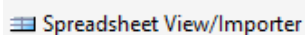
Відобразити випадаючий список, у якому можна вибрати режим сканування, який вказує інструменту, з яких каналів збирати дані флуоресценції під час підходу.



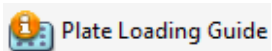
Відкрити Well Groups Manager (Диспетчер груп лунок), за допомогою якого можна створювати групи лунок для поточного планшета.



Відобразити діалогове вікно, у якому можна вибрати кольори та символи для слідів ампліфікації.



Відкрити діалогове вікно View (Вигляд), яке відображає макет планшета як шаблон у форматі таблиці. Це діалогове вікно можна використовувати для експорту або імпорту даних шаблону планшета у форматі .csv.



Відобразити необхідні кроки для налаштування планшета й завантаження лунок.

## Створення файлу планшета у вікні Plate Editor (Редактор планшетів)

У вікні Plate Editor (Редактор планшетів) можна створювати користувацькі файли планшетів. Крім того, можна редагувати й зберігати раніше збережені файли планшетів або зразки файлів, що постачаються з Програмне забезпечення CFX Manager Dx.

Щоб створити файл планшета, виконайте зазначені далі дії.

- Відкрийте файл планшета у вікні Plate Editor (Редактор планшетів).

- Виберіть тип планшета.

**Примітка.** Тип планшета для файлу має збігатися з планшетом у реакційному модулі.

- Виберіть, який режим сканування використовуватиметься в протоколі.

- Виберіть, який флуорофор використовуватиметься в планшеті.

- Виберіть тип проби, мішені й проби.

- Якщо потрібно, виберіть реплікати.

- Збережіть розташування планшета.

**Підказка.** Щоб створити планшет із попередньо збережених або зі зразків файлів планшетів, див. розділ [Відкриття існуючого файлу планшета у вікні Plate Editor \(Редактор планшетів\)](#) на стор. 121.

## Відкривання нового файлу планшета у вікні Plate Editor (Редактор планшетів)

Програмне забезпечення Програмне забезпечення CFX Manager Dx пропонує кілька варіантів відкривання нового файлу планшета:

- з вікна Home (Головне);

- з діалогового вікна Startup Wizard (Майстер запуску);

- з діалогового вікна Run Setup (Налаштування підходу).

### Відкривання нового файлу планшета з вікна Home (Головне)

- ▶ послідовно виберіть File > New > Plate (Файл > Новий > Планшет).

Відкриється вікно Plate Editor (Редактор планшетів), відображаючи файл планшета за замовчуванням для вибраного інструмента.

**Підказка.** Відомості про налаштування файлу планшета за замовчуванням див. в розділі [Зміна налаштувань файлу за замовчуванням на стор. 70](#).

### **Відкривання нового файлу планшета з вікна Startup Wizard (Майстер запуску)**

1. Щоб відкрити Startup Wizard (Майстер запуску), якщо він не відображається, у вікні Home (Головне) виконайте одну з таких дій:

- послідовно натисніть елементи View > Startup Wizard (Вигляд > Майстер запуску);
- на панелі інструментів натисніть елемент Startup Wizard (Майстер запуску).

За замовчуванням Startup Wizard (Майстер запуску) відображає вкладку Run setup (Налаштування підходу) з вибраним інструментом CFX96.

2. Якщо необхідно, виберіть тип інструмента з випадаючого списку.
3. Щоб створити планшет, для типу підходу виберіть User-defined (Заданий користувачем).

У діалоговому вікні Run Setup (Налаштування підходу) відкриється вкладка Protocol (Протокол).

4. Натисніть вкладку Plate (Планшети) і виберіть Create New (Створити).

Відкриється вікно Plate Editor (Редактор планшетів), відображаючи макет планшета за замовчуванням для вибраного інструмента.

### **Відкривання нового файлу планшета з діалогового вікна Run Setup (Налаштування підходу)**

1. Щоб відкрити діалогове вікно Run Setup (Налаштування підходу), у вікні Home (Головне) виконайте одну з таких дій:

- послідовно виберіть елементи Run > User-defined Run (Підхід > Заданий користувачем підхід);
- на панелі інструментів натисніть User-defined Run Setup (Налаштування заданого користувачем підходу).

У діалоговому вікні Run Setup (Налаштування підходу) відкриється вкладка Protocol (Протокол).

2. Щоб створити планшет, натисніть вкладку Plate (Планшети) і виберіть Create New (Створити).

Відкриється вікно Plate Editor (Редактор планшетів), відображаючи макет планшета за замовчуванням для вибраного інструмента.

## Відкриття існуючого файлу планшета у вікні Plate Editor (Редактор планшетів)

Програмне забезпечення CFX Manager Dx надає зразки файлів планшета, які можна редагувати і зберігати як новий планшет. Також можна створювати новий файл планшета з раніше збереженого файлу планшета.

### Щоб відкрити зразок файлу планшета

1. У вікні Home (Головне) виберіть File (Файл) > Open (Відкрити) > Plate (Планшет).

Провідник Windows відкриє розташування папки CFX Manager Dx Sample files (Зразки файлів).

2. Відкрийте папку Sample files (Зразки файлів), а потім відкрийте папку Plates (Планшети).
3. Виберіть потрібний планшет і натисніть Open (Відкрити).

Зразок файлу планшета відкриється у вікні Plate Editor (Редактор планшетів).

4. Виберіть File (Файл) > Save As (Зберегти як) і збережіть файл планшета під новим ім'ям або в новій папці.

### Щоб відкрити раніше збережений файл планшета

1. У вікні Home (Головне) виберіть File (Файл) > Open (Відкрити) > Plate (Планшет), перейдіть до потрібного планшета, виділіть його та натисніть Open (Відкрити).

Потрібний планшет відкриється у вікні Plate Editor (Редактор планшетів).

2. Виберіть File (Файл) > Save As (Зберегти як) і збережіть файл планшета під новим ім'ям або в новій папці.

## Налаштування нового файлу планшета

**Підказка.** Якщо ваш файл планшета містить потрібні параметри (наприклад, якщо ви редагуєте зразок або наявний файл планшета), можна пропустити цей розділ. Перейдіть до розділу [Призначення додаткових параметрів файлу планшета на стор. 130](#).

Для нових файлів планшета потрібно встановити наведені нижче параметри.

- Розмір планшета
- Тип планшета
- Режим сканування
- Один флуорофор (барвник)
- Один тип проби

### Вибір розміру та типу планшета

**Важливо!** Під час налаштування планшета необхідно вибрати розмір планшета. Змінити розмір планшета під час або після підходу неможливо.

Програмне забезпечення застосовує розмір та тип планшета до всіх лунок під час підходу. Переконайтеся, що вибраний розмір планшета такий же, як і планшет, що буде використовуватися в підході.

Прибори виробництва компанії Bio-Rad CFX96 і CFX96 Deep Well мають заводське калібрування для багатьох комбінацій флуоресцентного барвника і планшета. Калібрування є специфічним для прибору, барвника і типу планшета. Переконайтеся, що флуорофор, який планується використовувати, відкалібрований для вибраного типу планшета.



## Вибір режиму сканування

Системи CFX96 і CFX96 Deep Well збуджують і виявляють флуорофори в п'яти каналах. Усі системи використовують кілька режимів сканування для збору даних флуоресценції під час підходу.

Програмне забезпечення CFX Manager Dx пропонує три режими сканування, описані далі.

- Усі канали:
  - сканування каналів 1–5 на системах CFX96 і CFX96 Deep Well;
- SYBR® / FAM:
  - сканування лише каналу 1;
  - забезпечення швидкого сканування.
- FRET (резонансне перенесення енергії флуоресценції):
  - сканування тільки каналу FRET;
  - забезпечення швидкого сканування.

## Вибір флуорофорів

**Важливо!** Перед початком підходу Програмне забезпечення CFX Manager Dx перевіряє, чи флуорофори, вказані у планшеті, відкалібровані на цьому приборі. Неможливо виконати підхід з планшетом, якщо він включає флуорофори, що не були відкалібровані на цьому приборі.

Перед виконанням підходу необхідно завантажити принаймні один флуорофор в макет планшета. Можна додавати стільки флуорофорів, скільки необхідно, але планшет повинен містити принаймні один флуорофор. Вибрані флуорофори з'являються як опції для мішеней у Target Names (Назви мішеней).

Використовуйте діалогове вікно Select Fluorophores (Вибрати флуорофори), щоб завантажити флуорофори (або барвники планшета) в елементи керування завантаженням лунок Plate Editor (Редактор планшетів). Флуорофори, які відображаються в діалоговому вікні Select Fluorophores (Вибрати флуорофори), залежать від вибраного режиму сканування:

- All Channels (Усі канали)

Відображаються всі наявні флуорофори.

**Підказка.** Можна додавати стільки флуорофорів, скільки необхідно, але можна завантажувати тільки один флуорофор на канал у кожній лунці.

- SYBR®/FAM

Відображаються тільки флуорофори каналу 1.

- FRET

Відображується тільки флуорофор каналу 6.

**Підказка.** Флуорофор каналу 6 FRET відображується тільки тоді, коли вибрано режим сканування FRET. Він недоступний у режимі сканування All Channels (Усі канали).

**Примітка.** Не можна безпосередньо додавати флуорофори до діалогового вікна Select Fluorophore (Вибрати флуорофори) або видаляти їх звідти. Необхідно відкалібрувати нові флуорофори на приборі за допомогою Calibration Wizard (Майстер калібрування). Після калібрування новий флуорофор автоматично додається до цього списку.

## Вибір типів проб

**Важливо!** Потрібно вибрати принаймні один тип проби, щоб присвоїти лункам планшета перед підходом.

Програмне забезпечення CFX Manager Dx пропонує п'ять типів проб:

- Unknown (Невідомо);
- Standard (Стандарт);
- NTC (контроль без матриці);
- Positive Control (Позитивний контроль);
- Negative Control (Негативний контроль);
- NRT (без ревертази).

Ви призначаєте типи проб для лунок планшета.

## Налаштування нового планшета

### Щоб налаштувати новий планшет

1. Відкрийте новий планшет у вікні Plate Editor (Редактор планшетів).
2. Щоб налаштувати розмір планшета, виберіть Settings (Налаштування) > Plate Size (Розмір планшета), після чого виберіть відповідний розмір планшета з випадаючого меню.
3. Щоб налаштувати тип планшета, виберіть Settings (Налаштування) > Plate Type (Тип планшета), а потім виберіть BR White (Білий) або BR Clear (Прозорий) з випадаючого меню.
4. Додатково в меню Settings (Налаштування) можна змінити правила оформлення чисел та формат відображення одиниць вимірювання:

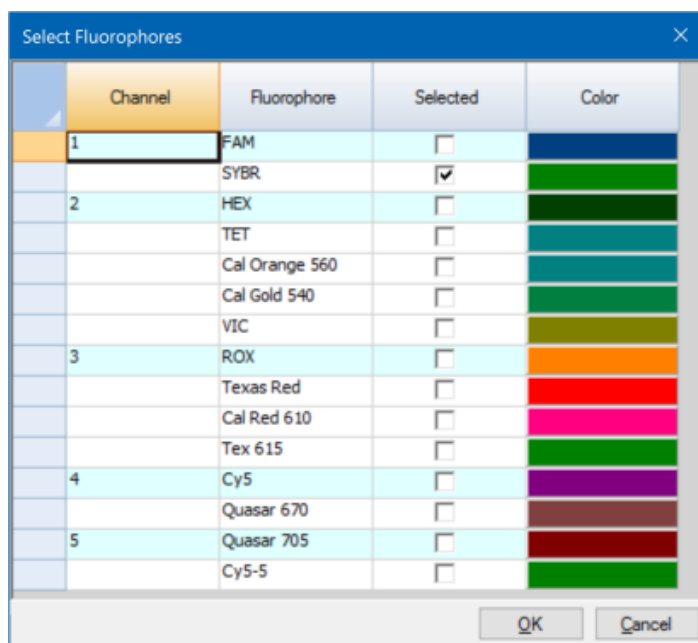
- Щоб змінити правила оформлення чисел, виберіть Settings (Налаштування) > Number Convention (Правила оформлення чисел), після чого виберіть Scientific Notation (В експоненціальному форматі).

**Підказка.** Параметр Scientific Notation (В експоненціальному форматі) вибраний за замовчуванням. У цьому випадку при виборі Scientific Notation (В експоненціальному форматі) параметр за замовчуванням очищується, а правила оформлення чисел налаштовуються на стандартну форму.

- Щоб змінити формат відображення одиниць вимірювання, виберіть Settings (Налаштування) > Units (Одиниці вимірювання) і виберіть нове значення для одиниць вимірювання.

5. Щоб налаштувати режим сканування, виберіть відповідний режим сканування з випадаючого списку Scan Mode (Режим сканування) на панелі інструментів вікна Plate Editor (Редактор планшетів) .
6. Виберіть необхідні флуорофори для планшета:
  - a. На правій панелі натисніть Select Fluorophores (Вибрати флуорофори).

З'явиться діалогове вікно Select Fluorophores (Вибрати флуорофори). У вікні будуть відображені флуорофори, доступні для типу режиму сканування, вибраного під час [Крок 5](#), наприклад:



- b. Щоб вибрати флуорофор, встановіть прапорець у полі Selected (Вибраний) для цього флуорофора.
 

**Підказка.** Щоб видалити флуорофор зі списку, зніміть прапорець у полі Selected (Вибраний) для цього флуорофора.
- c. Щоб змінити колір відображення флуорофора, натисніть Color (Колір) для цього флуорофора.
 

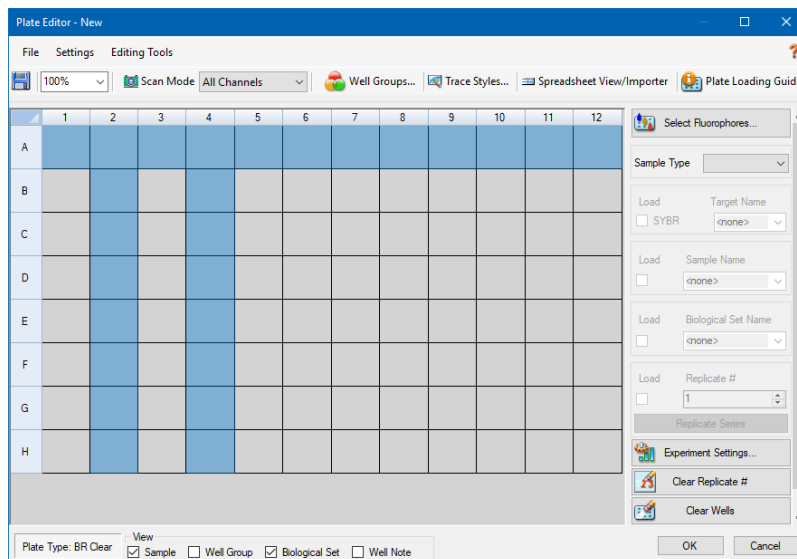
**Примітка.** Вибраний колір використовуватиметься для відображення флуорофора у вікні Plate Editor (Редактор планшетів) і на графіках Data Analysis (Аналіз даних).

- d. В діалоговому вікні Color (Колір) виберіть потрібний колір або натисніть Define Custom Colors (Створення кольорів користувачем) і створіть новий колір для відображення флуорофора.
  - e. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни та вийти з діалогового вікна Select Fluorophores (Вибрати флуорофори).
7. Необхідно вибрати принаймні одну лунку для завантаження типу проби. За замовчуванням вибрана лунка A1.

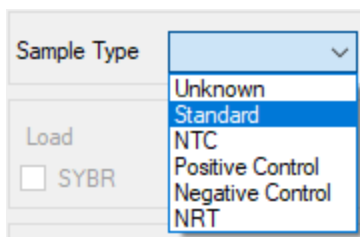
На панелі планшета виконайте одну з наступних дій:

- Щоб завантажити кілька суміжних лунок, натисніть на одну лунку та, утримуючи кнопку миші, перетягніть курсор миші до лунки мішені.
- Щоб завантажити кілька несуміжних лунок, утримуйте клавішу Control і натисніть на кожну лунку.
- Щоб завантажити цілий стовпець з однаковим типом проб, натисніть на номер стовпця.
- Щоб завантажити цілий рядок, натисніть на номер рядка.
- Щоб завантажити весь планшет, клацніть у верхньому лівому куті планшета.

Наприклад:



8. Призначте тип проби вибраній лунці або лункам з випадаючого меню Sample Type (Тип проби).

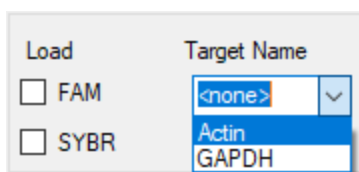


9. Призначте принаймні один флуорофор всім лункам, які містять тип проби. Лунці або групі лунк можна призначити більше одного флуорофора.

**Примітка.** Каналу можна призначити тільки один флуорофор. Не можна призначити більше одного флуорофора з одного каналу тій же самій лунці.

**Підказка.** Можна пов'язати мішень з флуорофором або ж можна на цьому етапі просто призначити флуорофор лунці і пов'язати мішень з флуорофором після проведення експерименту.

- Щоб призначити вибраним лункам тільки флуорофор, в розділі Target Names (Назви мішеней) на правій панелі поставте прапорець у полі Load (Завантажити) для конкретного флуорофора.
- Щоб пов'язати мішень з флуорофором, у розділі Target Names (Назви мішеней) виберіть з випадаючого списку назву мішені для конкретного флуорофора. Програмне забезпечення автоматично поставить прапорець в полі Load (Завантажити) для цього флуорофора.



10. Для лунок, що містять тип проби Standard (Стандартний) необхідно завантажити концентрацію. Кожна лунка може мати різне значення концентрації. За замовчуванням Програмне забезпечення CFX Manager Dx завантажує концентрацію  $1,00E+06$  в усі лунки з типом проби Standard (Стандартний). За потреби це значення можна змінити.

- a. На панелі планшета виберіть Standard (Стандартний) для лунки або групи лунок.
- b. В розділі Concentration (Концентрація) натисніть Load (Завантажити), щоб завантажити вибране значення у вибрану лунку чи лунки.
- c. (Додатково) Щоб завантажити іншу концентрацію, введіть нове значення у текстове поле Concentration (Концентрація) і натисніть кнопку Enter (Ввести).
- d. Виконайте цей крок для всіх лунок з типом проби Standard (Стандартний).

**Підказка.** Щоб завантажити одну і ту ж концентрацію в усі лунки з типом проби Standard (Стандартний), переконайтеся, що <All> (Всі) відображується у випадаючому списку під значенням Concentration (Концентрація). Щоб завантажити одне і те ж значення концентрації в усі лунки з певним флуорофором, клацніть на випадаючому списку і виберіть флуорофор.

11. Натисніть ОК, щоб зберегти новий планшет.

## Призначення додаткових параметрів файлу планшета

Файл планшета містить відомості про вміст кожної лунки, до якої завантажено пробу для підходу. Коли підхід завершено, Програмне забезпечення CFX Manager Dx зв'яже вміст лунок із даними флуоресценції, зібраними під час занесення до протоколу, і проводить відповідні аналізи у вікні Data Analysis (Аналіз даних).

У CFX Manager Dx можна призначити параметри кожній лунці в планшеті перед, під час або навіть після підходу. Можна призначити параметри наявному або новому файлу планшета. Такі параметри включають наведені далі елементи.

- **Target names (Назви мішеней)** — мішень або мішені (гени або послідовності) у кожній завантаженій лунці.
- **Sample names (Назви проб)** — ідентифікатор або стан, що відповідає пробі в кожній завантаженій лунці, як-от: 0Hr, 1Hr або 2Hr.

**Підказка.** Назви мішеней і проб мають бути однаковими між лунками для порівняння даних на вкладці Gene Expression (Експресія гена) у вікні Data Analysis (Аналіз даних). У кожній назві слід використовувати однакові знаки пунктуації, пробіли та принципи написання з великої або малої літери. Наприклад, Actin — це не те ж саме, що actin, 2Hr — не те ж саме, що 2 hr., а Mouse 1 — не те ж саме, що mouse1. Щоб забезпечити коректність присвоєння назв, вводьте назви в розділі Libraries (Бібліотеки) на вкладці User > User Preferences > Plate (Користувач > Налаштування користувача > Планшети), що доступна у вікні Home (Головне).

- **Biological sets (Біологічні набори)** — ідентифікатор або стан, який відповідає набору лунок.
- **Replicates (Реплікати)** — кожна лунка, яку використовують для аналізу однакової комбінації проби та мішеней, тобто реплікат реакцій qPCR.
- **Dilution series (Серії розведень)** — кількість, щоб змінити концентрацію типу проби Standard (Стандартний) з групи репліката для створення стандартної кривої даних для аналізу.



## Призначення мішені лункам

**Підказка.** Можна призначати однакову назву мішені одній або кільком лункам. Крім того, можна призначати кілька мішеней одній лунці.

### Призначення мішені лунці або групі лунок

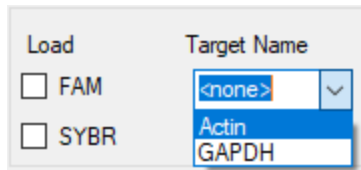
1. Перевірте в розділі Plate Editor (Редактор планшетів), що лунці або групі лунок призначений тип проби.

Відомості про призначення типів проб лункам див. в розділі [Вибір типів проб на стор. 125](#).

2. На панелі планшета виберіть лунку або групу лунок.

- Щоб вибрати одну лунку, натисніть на неї.
- Щоб вибрати кілька суміжних лунок, натисніть на одну лунку та, утримуючи клавішу миші, перетягніть вказівник миші до лунки мішені.
- Щоб вибрати кілька несуміжних лунок, утримуйте клавішу Control і натисніть на кожну лунку.
- Щоб вибрати цілий стовпець з однаковим типом проб, натисніть на номер стовпця.
- Щоб вибрати цілий рядок, натисніть на номер рядка.

3. На правій панелі виберіть назву з випадаючого списку Target Name (Назва мішені) для кожного вибраного флуорофору.



4. Повторіть [Крок 3](#) для кожної лунки або групи лунок, яким потрібно призначити мішень.

**Підказка.** Можна призначити однакові або різні назви мішеней для кожного вибраного флуорофору.

5. Натисніть кнопку ОК, щоб прийняти зміни та зберегти налаштування планшета.

### Видалення назви мішені

- Щоб видалити назву мішені з вибраної лунки або групи лунок, видаліть її прапорець Load (Завантажити).

**Важливо!** Видалення назви мішені з лунки також видалить її пов'язаний флуорофор.

Будьте уважні, коли видаляєте назву мішені з лунки.

### Додавання назви мішені до списку

- ▶ Щоб додати назву мішені до випадального списку, виконайте одну з наведених далі дій.
  - Введіть назву у випадальному списку Target Name (Назва мішені) і натисніть клавішу Enter.

**Підказка.** Назви мішеней, додані до одного списку, з'являться в усіх інших списках мішеней.
  - Натисніть зелений символ + праворуч від випадального списку, введіть назву мішені та натисніть клавішу Enter.
  - Натисніть пункт User Preferences (Налаштування користувача) на панелі інструментів і додайте назву до бібліотеки Target Names (Назви мішеней) на вкладці Plate (Планшети).

**Важливо!** Назви мішеней, додані до випадального списку, доступні лише для поточного планшета та тільки в разі призначення назви лунці та збереження структури планшета. Якщо не призначити назву лунці та не зберегти структуру планшета, назва не збережеться та не буде доступною для майбутнього використання. Щоб остаточно додати назву мішені, додайте її також до бібліотеки Target Names (Назви мішеней), використовуючи діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача). Назви, додані до бібліотеки, доступні після наступного відкриття Plate Editor (Редактор планшетів). Докладніше див. в розділі [Налаштування параметрів планшета за замовчуванням на стор. 73](#).

### Видалення назви мішені зі списку

1. Натисніть User Preferences (Налаштування користувача) на панелі інструментів.

З'явиться діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача), у якому відобразатиметься вкладка Plate (Планшети).
2. У бібліотеці Target Names (Назви мішеней) на вкладці Plate (Планшети) виберіть назву, яку бажаєте видалити, і натисніть клавішу Delete.
3. Натисніть кнопку ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).

**Важливо!** Не можна видалити назви мішеней, збережені у файлі планшета. Користувацькі назви, додані до випадального списку Target Names (Назви мішеней), які не використовуються та не збережені на планшеті, будуть автоматично видалені зі списку. Назви, видалені з бібліотеки Target Names (Назви мішеней), остаточно видаляються з програмного забезпечення та не будуть доступними для користувачів. Будьте уважні, коли видаляєте назви мішеней.

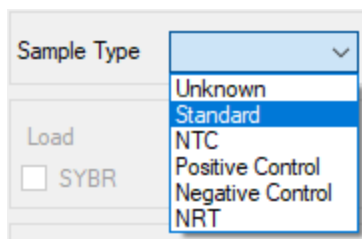
## Призначення назви проби лункам

**Примітка.** Для призначення назви проби необхідно призначити вибраним лункам як мінімум один флуорофор. Якщо вибраним лункам не призначено флуорофор, випадаючий список Sample Names (Назви проб) недоступний. Див. [Призначення мішені лункам на стор. 131](#) для отримання додаткової інформації про призначення флуорофорів.

**Підказка.** Користувач може призначити тільки одну назву проби кожній лунці або групі лунок.

### Для призначення назви проби лунці або групі лунок

1. У вікні Plate Editor (Редактор планшетів) переконайтеся, що лунці або групі лунок призначений флуорофор.
2. На панелі планшета виберіть лунку або групу лунок.
3. На правій панелі виберіть назву у випадаючому списку Sample Names (Назви проб).



4. Повторіть [Крок 3](#) для кожної лунки або групи лунок, яким потрібно призначити назву проби.
5. Натисніть кнопку ОК, щоб прийняти зміни та зберегти налаштування планшета.

### Щоб видалити назву проби

- ▶ Щоб видалити назву проби з обраної лунки або групи лунок, зніміть її прапорець в полі Load (Завантажити).

### Щоб додати назву проби у список

- ▶ Щоб додати назву проби у випадаючий список, виконайте одну з наступних дій:
  - Введіть назву у випадаючому списку Sample Names (Назви проб) і натисніть кнопку Enter (Ввести).
  - Клацніть на зеленому символі + праворуч від випадаючого списку і введіть назву для проби.
  - Натисніть кнопку User Preferences (Налаштування користувача) на панелі інструментів і додайте назву в бібліотеку Sample Names (Назви проб) на вкладці Plate (Планшети).

**Важливо!** Назви проб, що додаються у випадючий список, доступні тільки для поточного планшета і тільки в тому випадку, якщо назва призначена лунці і макет планшета збережений. Якщо не призначити назву лунці і зберегти макет планшета, назва не зберігається і недоступна для майбутнього використання. Щоб додати назву проби на постійній основі, додайте її також в бібліотеку Sample Names (Назви проб) за допомогою діалогового вікна User Preferences (Налаштування користувача). Назви, додані в бібліотеку, будуть доступні після наступного відкриття вікна Plate Editor (Редактор планшетів). Детальніше див. у розділі [Налаштування параметрів планшета за замовчуванням на стор. 73](#).

### Щоб видалити назву проби зі списку

1. Натисніть User Preferences (Налаштування користувача) на панелі інструментів.  
З'явиться діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача) із вкладкою Plate (Планшети).
2. В бібліотеці Sample Names (Назви проб) на вкладці Plate (Планшети) виберіть назву для видалення і натисніть кнопку Delete (Видалити).
3. Натисніть кнопку ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно User Preferences (Налаштування користувача).

**Важливо!** Назви проб, збережені в файлі планшета, неможливо видалити. Призначені користувачем назви, додані у випадючий список Sample Names (Назви проб), але не використані і не збережені разом з планшетом, автоматично видаляються з випадючого списку. Назви, видалені з бібліотеки Sample Names (Назви проб), видаляються з програмного забезпечення і більше не доступні користувачам. Будьте уважні при видаленні назв проб.

## Призначення біологічних наборів лункам

**Примітка.** Для призначення біологічних наборів необхідно призначити вибраним лункам принаймні один флуорофор. Призначення флуорофора активує випадючий список Назва біологічного набору. Див. [Призначення мішені лункам на стор. 131](#) для отримання додаткової інформації про призначення флуорофорів.

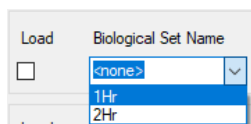
**Підказка.** Користувач може призначити тільки один біологічний набір кожній лунці або групі лунок.

### Щоб призначити біологічний набір лунці або групі лунок

1. В параметрах View (Перегляд) в нижній частині вікна Plate Editor (Редактор планшетів) поставте прапорець в полі Biological Set (Біологічний набір).

2. У вікні Plate Editor (Редактор планшетів) переконайтеся, що лунці або групі лунок призначений флуорофор.
3. На панелі планшета виберіть лунку або групу лунок.
4. На правій панелі виберіть потрібну назву у випадяючому списку Biological Set Name (Назва біологічного набору).

Програмне забезпечення CFX Manager Dx автоматично поставить прапорець в полі Load (Завантажити).



5. Повторіть [Крок 4](#) для кожної лунки або групи лунок, яким потрібно призначити біологічний набір.
6. Натисніть кнопку ОК, щоб прийняти зміни та зберегти налаштування планшета.

**Підказка.** Призначення назв біологічних наборів лункам активує Biological Set Analysis Options (Параметри аналізу біологічних наборів) в діалоговому вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту), в якому можна виконати аналіз зразка в одній з чотирьох конфігурацій. Для отримання додаткової інформації див. [Зміна налаштувань експерименту на стор. 142](#).

### Щоб видалити біологічний набір

- ▶ Щоб видалити біологічний набір з вибраної лунки або групи лунок, зніміть відповідний прапорець в полі Load (Завантажити).

### Щоб додати біологічний набір в список

- ▶ Щоб додати біологічний набір у випадяючий список, введіть назву у випадяюче вікно Biological Set Name (Назва біологічного набору) і натисніть кнопку Enter (Ввести).

**Важливо!** Назви біологічних наборів, що додаються у випадяючий список, доступні тільки для поточного планшета і тільки в тому випадку, якщо назва призначена лунці, а макет планшета збережений. Якщо не призначити назву лунці і зберегти макет планшета, назва не зберігається і недоступна для майбутнього використання.

### Щоб переглянути всі біологічні набори на планшеті

- ▶ Поставте прапорець у полі Biological Set (Біологічний набір) в параметрах View (Перегляд) в нижній частині вікна Editor (Редактор) .



При призначенні всі лунки відображують назву відповідного біологічного набору. Елемент управління Biological Set Name (Назва біологічного набору) відображується на правій панелі.

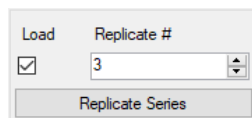
Щоб приховати біологічні набори, зніміть прапорець в полі Biological Set (Біологічний набір) в параметрах View (Перегляд).

### Призначення лункам номерів реплікатів

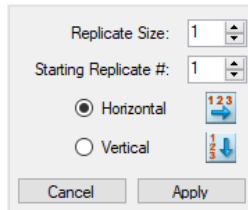
**Важливо!** Щоб призначити номери реплікатів, вміст вибраних лунок має бути однаковим. Це означає, що вибрані лунки повинні мати однаковий тип проби та флуорофору. Якщо це доцільно, їм також потрібно призначити однакові назви мішені й проби та той самий біологічний набір. Якщо ці дані відрізнятимуться, Програмне забезпечення CFX Manager Dx не активує цей параметр.

#### Призначення групі лунок номерів реплікатів

1. Перевірте в розділі Plate Editor (Редактор планшетів), чи ідентичний вміст групи лунок.
2. На панелі планшета виберіть групу лунок мішені.
3. Щоб призначити однакові номери реплікатів усім вибраним лункам, на панелі праворуч у розділі Replicate # (№ репліката) введіть номер репліката у відповідному полі та виберіть пункт Load (Завантажити).



4. (Додатково) Застосування серії реплікатів до набору вибраних лунок.
  - a. Натисніть пункт Technical Replicates (Технічні реплікати) Replicate Series (Серія реплікатів). У розділі Replicate # (№ репліката) відобразатимуться такі параметри:



- **Replicate size (Розмір репліката)** — число, що відповідає кількості лунок у кожній групі реплікатів.
- **Starting replicate # (Початковий № репліката)** — перший номер у серії реплікатів для вибраної групи реплікатів.

**Примітка.** За замовчуванням Програмне забезпечення CFX Manager Dx відображає початковий номер репліката як номер, більший за останній номер репліката, призначеного в планшеті. Наприклад, якщо останній номер репліката в планшеті — п'ять, наступний початковий номер становитиме шість. Можна змінити початковий номер на будь-який номер, який ще не призначений.

- Напрямок завантаження (Horizontal (Горизонтальний) або Vertical (Вертикальний))
- b. Натисніть кнопку Apply (Застосувати), щоб застосувати параметри до серії та повернутися на екран Replicate # (№ репліката).
  5. Натисніть кнопку OK, щоб прийняти зміни та зберегти налаштування планшета.

#### Видалення лунки із серії реплікатів

- ▶ Виберіть лунку або групу лунок, яку потрібно видалити, і зніміть прапорець у полі Replicate # Load (Завантажити № репліката).

Або можна натиснути пункт Clear Replicate # (Видалити № репліката), щоб видалити номер репліката з вибраної лунки або групи лунок.

## Призначення серій розведення пробам типу Standard (Стандартна)

Як зазначалося раніше, всім лункам з типом проби Standard (Стандартна) має призначатися значення концентрації. Користувач може призначити серію розведення декільком лунках з типом проби Standard (Стандартна).

**Примітка.** Щоб призначити серію розведення групі лунок, лунки необхідно включити в серію реплікатів. Див. [Призначення лункам номерів реплікатів на стор. 136](#) для отримання додаткової інформації про додавання лунок в серію реплікатів.

### Для призначення серії розведення групі лунок з пробою Standard (Стандартна)

1. В Plate Editor (Редактор планшетів) переконайтеся, що наступні вимоги виконано:

- Тип проби для групи лунок: Standard (Стандартна).
- Всім лункам в групі призначений як мінімум один флуорофор, і всі вони містять однакові флуорофори.
- Всі лунки в групі включені в одну і ту ж серію реплікатів.

**Примітка.** Програмне забезпечення CFX Manager Dx активує параметр Dilution Series (Серія розведення), тільки якщо всі вибрані лунки відповідають цим критеріям.

2. На панелі планшета виберіть потрібну групу лунок.



- У розділі Concentration (Концентрація) на правій панелі натисніть Dilution Series (Серія розведення). Розділ Concentration (Концентрація) зміниться і відобразить наступні параметри:

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

- **Starting concentration (Початкова концентрація)** — значення концентрації, з якого починається серія
- **Replicates from and to (Реплікати від і до)** — реплікати в серії, до якої буде застосовуватися коефіцієнт розведення
- **Dilution factor (Коефіцієнт розведення)** — кількість для зміни концентрації всередині кожної групи реплікатів

- Встановіть значення параметрів або прийміть значення за замовчуванням.
- За замовчуванням серія розведення зменшується із застосуванням коефіцієнта розведення. Натисніть Increasing (Збільшення), щоб збільшити серію розведення.
- (Додатково) За замовчуванням коефіцієнт розведення застосовується до всіх флуорофорів в серії реплікатів. Якщо серія містить більше одного флуорофора, а ви хочете застосувати розведення тільки до одного флуорофора, виберіть його у випадяючому списку.
- Натисніть Apply (Застосувати), щоб застосувати серію розведення до групи лунок і повернутися до відображення Concentration (Концентрація).
- Натисніть кнопку ОК, щоб прийняти зміни та зберегти налаштування планшета.

## Копіювання вмісту лунки в іншу лунку

Вміст лунки можна скопіювати і вставити в одну лунку або кілька лунок. Однак скопіювати вміст можна тільки однієї лунки. Неможливо вибрати кілька лунок і скопіювати їхній вміст.

### Щоб скопіювати вміст лунки в іншу лунку

- На панелі планшета виберіть лунку, яку потрібно скопіювати.
- Клацніть на лунці правою кнопкою миші і виберіть Copy Well (Копіювати лунку).

3. Виберіть лунку або лунки, в які потрібно вставити вміст:
  - Щоб вибрати одну лунку, клацніть на ній.
  - Щоб вибрати кілька суміжних лунок, клацніть на лунці і перетягніть курсор до бажаної лунки.
  - Щоб вибрати кілька несуміжних лунок, утримуйте кнопку Control і клацніть на кожній лунці.
4. Вибравши потрібні лунки, клацніть правою кнопкою миші і виберіть Paste Well (Вставити лунку).

Програмне забезпечення CFX Manager Dx вставить вміст першої лунки в обрані лунки.

## Додавання примітки до лунки

Користувач може додавати до лунки описову примітку. Переглянути примітки до лунки можна на вкладці Quantification (Кількісний аналіз) у вікні Data Analysis (Аналіз даних).

### Щоб додати примітку до лунки

1. На панелі планшета виберіть лунку або лунки, до яких плануєте додати примітку.
2. В розділі View (Перегляд) на нижній панелі натисніть Well Note (Примітка до лунки).

На правій панелі з'явиться зона Well Note (Примітка до лунки).



3. Наберіть текст примітки в текстовому полі і натисніть кнопку Enter (Ввести).

Текст з'явиться у нижній частині вибраних лунок.

**Підказка.** Якщо ви раніше вже створювали примітку до лунки, ви можете вибрати її з випадаючого списку і застосувати до вибраних лунок.

## Очищення лунок від усього вмісту

Можна очистити окрему лунку, групу лунок або весь планшет від усього вмісту. Очищення лунок не видаляє дані флуоресценції, зібрані під час зчитування планшета.

Очищення лунки назавжди видаляє її вміст. Будьте уважні, коли очищуєте лунки.

### Очищення лунок від усіх налаштувань

1. На панелі Plate Editor (Редактор планшетів) виберіть лунку або групу лунок на панелі планшета:
  - Щоб вибрати одну лунку, натисніть на неї.
  - Щоб вибрати кілька суміжних лунок, натисніть на одну лунку та, утримуючи клавішу миші, перетягніть вказівник миші до лунки мішені.
  - Щоб вибрати кілька несуміжних лунок, утримуйте клавішу Control і натисніть на кожну лунку.
  - Щоб вибрати цілий стовпець з однаковим типом проб, натисніть на номер стовпця.
  - Щоб вибрати цілий рядок, натисніть на номер рядка.
2. На правій панелі натисніть Clear Wells (Очистити лунки).

Програмне забезпечення CFX Manager Dx очищує вибрані лунки від усіх налаштувань.
3. Натисніть ОК, щоб прийняти зміни та зберегти налаштування планшета.

## Зміна налаштувань експерименту

Використовуйте діалогове вікно Experiment Settings (Налаштування експерименту), щоб переглянути або змінити список мішеней або проб, або вибрати групу аналізу експресії гена, якщо лункам в планшеті призначені біологічні набори.

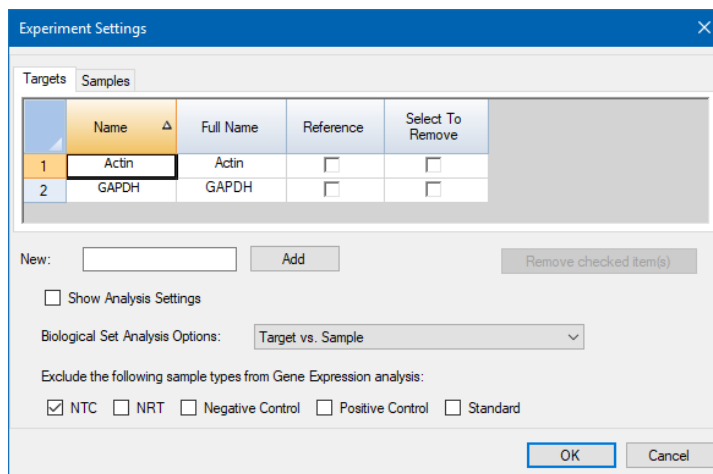
В діалоговому вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту) на вкладці Targets (Мішені) відобразиться список назв мішеней для кожної реакції ПЛР, як-от: ген-мішень або досліджувані послідовності гена.

На вкладці Samples (Проби) відобразиться список назв проб, які відобразатимуть походження мішені, як-от: пробу взято за 1 годину (1Hr) або від конкретної особини (mouse1).

### Зміна налаштувань планшета за допомогою діалогового вікна Experiment Settings (Налаштування експерименту)

- Щоб відкрити діалогове вікно Experiment Setting (Налаштування експерименту), виконайте одну з таких дій:
  - На правій панелі у вікні Plate Editor (Редактор планшетів) натисніть Experiment Settings (Налаштування експерименту).
  - У вкладці Gene Expression (Експресія гена) у вікні Data Analysis (Аналіз даних) натисніть Experiment Settings (Налаштування експерименту).

Відкриється діалогове вікно Experiment Settings (Налаштування експерименту) і відобразить вміст вкладки Targets (Мішені).



- Щоб додати нову назву мішені або проб, у відповідному типі вкладки введіть назву в текстовому полі New (Нове) та натисніть Add (Додати).

3. Щоб видалити одну чи кілька назв мішеней або проб зі списку, на відповідній вкладці установіть прапорець біля пункту в стовпці Select to Remove (Виберіть, щоб видалити) та натисніть Remove checked item(s) (Видалити позначені пункти).
4. Програмне забезпечення CFX Manager Dx виключає тип проби NTC (контроль без матриці) з аналізу експресії гена.

Щоб включити тип проби NTC, зніміть навпроти нього прапорець у розділі Exclude the following sample types (Виключити такі типи проби). Можна виключати такі типи проби, вибираючи відповідний прапорець:

- NRT (без ревертази);
- Negative Control (Негативний контроль);
- Positive Control (Позитивний контроль);
- Standard (Стандарт).

5. На вкладці Targets (Мішені):
  - a. Щоб вибрати мішень як еталон для аналізу даних експресії гена, виберіть її в стовпці Reference (Еталон).
  - b. Щоб приховати налаштування аналізу, які буде застосовано на вкладці Gene Expression (Експресія гена) у вікні Analysis Settings (Налаштування аналізу), зніміть прапорець з пункту Show Analysis Settings (Показати налаштування аналізу).

Програмне забезпечення приховає наступні стовпці:

- Color (Колір)
  - Show Chart (Показати графік)
  - Auto Efficiency (Автоматична ефективність)
  - Efficiency (%) (Ефективність (%))
- c. Щоб змінити колір мішені на графіку Gene Expression (Експресія гена), натисніть на її клітинку в стовпці Color (Колір), виберіть новий колір у діалоговому вікні Color (Колір), яке відкриється, і натисніть ОК.

- d. Для відображення мішені на графіку Gene Expression (Експресія гена) у вибраному кольорі виберіть її в стовпці Show Chart (Показати графік).
  - e. За замовчуванням CFX Manager Dx автоматично розраховує відносну ефективність для мішені, якщо її дані включено до стандартної кривої.  
  
Щоб застосувати визначене раніше значення ефективності, введіть значення в його клітинці в стовпці Efficiency (%) (Ефективність (%)) та натисніть клавішу Enter. CFX Manager Dx видаляє прапорець Auto Efficiency (Автоматична ефективність).
6. Вкладки Samples (Проби):
- a. Щоб вибрати мішень як контрольну пробу для аналізу даних експресії гена, виберіть її в стовпці Control (Контроль).
  - b. Щоб призначити пробу в якості контролю для підхода, виберіть її в стовпці Control (Контроль).
  - c. Якщо ще не вибрано, натисніть Show Analysis Settings (Показати налаштування аналізу), щоб переглянути або змінити параметри аналізу, які буде застосовано на вкладці Gene Expression (Експресія гена). Програмне забезпечення приховує стовпці Color (Колір) та Show Chart (Показати графік).
7. Якщо ви призначили один чи більше біологічних наборів лункам у планшеті (див. розділ [Призначення біологічних наборів лункам на стор. 134](#)), виберіть один із наведених нижче параметрів зі списку Biological Set Analysis Options (Параметри аналізу біологічних наборів).
- **Target vs. Sample (Мішень vs. Проба)** — в розрахунках експресії гена застосовується лише назва проби лунки.
  - **Target vs. Biological Set (Мішень vs. Біологічний набір)** — в розрахунках експресії гена застосовується лише назва біологічного набору.
  - **Target vs. Sample\_Biological Set (Мішень vs. Проба\_Біологічний набір)** — назва проби та назва біологічного набору об'єднуються з утворенням однієї назви, яка застосовується в розрахунках.
  - **Target vs. Biological Set\_Sample (Мішень vs. Біологічний набір\_Проба)** — назва біологічного набору та назва проби об'єднуються з утворенням однієї назви, яка застосовується в розрахунках.
8. Натисніть кнопку ОК, щоб зберегти параметри в діалоговому вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту) і повернутися до вікна Plate Editor (Редактор планшетів).

## Створення груп лунок

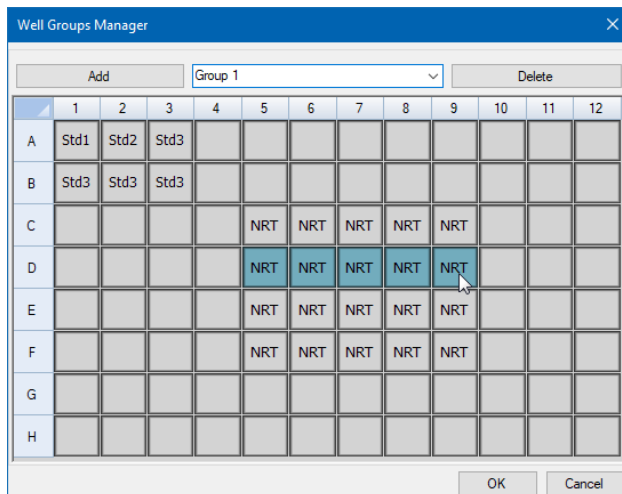
Створення груп лунок дозволяє поділити один планшет на підмножини лунок, які можна аналізувати у вікні Data Analysis (Аналіз даних) незалежно одна від одної. Після налаштування груп лунок виберіть одну з них у вікні Data Analysis (Аналіз даних), щоб проаналізувати її дані окремо. Наприклад, створіть групи лунок для аналізу результатів кількох експериментів, виконаних на одному планшеті, або для аналізу кожної групи лунок з використанням окремої стандартної кривої.

**Примітка.** Група лунок за замовчуванням — All Wells (Всі лунки).

### Щоб створити групи лунок

- Щоб відкрити вікно Well Groups Manager (Менеджер груп лунок), виконайте одну з наступних дій:
  - На панелі інструментів Plate Editor (Редактор планшетів) натисніть Well Groups (Групи лунок).
  - У вікні Data Analysis (Аналіз даних) натисніть Manage Well Groups (Керування групами лунок).

Відкриється діалогове вікно Well Groups Manager (Менеджер груп лунок).



- Натисніть Add (Додати), щоб створити нову групу. У випадяючому меню відобразиться назва групи Group 1 (Група 1) для першої групи.
- Виберіть лунки для групи лунок в області перегляду планшета. Для цього клацніть кнопкою миші на лунці і перетягніть її через групи лунок. Вибрані лунки відображуються в області Manager (Менеджер) синім кольором.

4. (Додатково) Щоб перейменувати групу, виберіть її назву у випадаючому меню і введіть нову назву.
5. (Додатково) Щоб видалити групу лунок, виберіть її назву у випадаючому списку і натисніть Delete (Видалити).
6. Натисніть ОК, щоб завершити процедуру і закрити вікно, або Cancel (Скасувати), щоб закрити вікно без внесення змін.

**Важливо!** Щоб вивести на екран групи лунок, виберіть Well Groups (Групи лунок) в параметрах View (Перегляд) в нижній частині вікна Plate Editor (Редактор планшетів).



## Елементи меню правої кнопки миші для діалогового вікна Well Groups Manager (Менеджер груп лунок)

В Таблиця 13 перераховані елементи меню, доступні в діалоговому вікні Well Groups Manager (Менеджер груп лунок) при натисканні правою кнопкою миші на будь-якій лунці.

**Таблиця 13. Елементи меню правої кнопки миші в діалоговому вікні Plate Editor Well Selector (Інструмент вибору лунок редактора планшетів)**

Елемент	Функція
Copy (Копіювати)	Копіювання вмісту лунок, який потім можна вставити в іншу лунку або лунки.
Copy as Image (Копіювати як зображення)	Копіювання перегляду інструмента вибору лунок у вигляді зображення.
Print (Друк)	Друк перегляду інструмента вибору лунок.
Print Selection (Друкувати вибране)	Друк тільки вибраних комірок.
Export to Excel (Експортувати в Excel)	Експорт даних у таблицю Excel.
Export to CSV (Експортувати у файл CSV)	Експорт даних у документ із роздільниками-комами.
Export to Xml (Експортувати у форматі XML)	Експорт даних у вигляді документа .xml.
Export to Html (Експортувати у форматі HTML)	Експорт даних у вигляді документа .html.

## Змінення вигляду кривих

Під час налаштування планшета, а також під час виконання підходу можна змінити колір і вигляд кривих ампліфікації. Після цього можна легко переглядати криві у вікні стану в режимі реального часу по мірі збору даних.

### Щоб змінити вигляд кривих

1. Натисніть Trace Styles (Вигляд кривих) на панелі інструментів Plate Editor (Редактор планшетів).

Для відкритого планшета відобразиться діалогове вікно Trace Styles (Вигляд кривих), наприклад:



2. Щоб відобразити вигляд кривих для конкретного флуорофора, виберіть цей флуорофор у випадаючому списку Fluorophores (Флуорофори).
3. Щоб змінити відображення кривих:
  - a. Виберіть тип кривих у випадаючому списку Wells (Лунки).
  - b. Натисніть на відповідному кольорі в колонці Color (Колір).
  - c. В діалоговому вікні Color (Колір) виберіть інший колір для відображення кривої і натисніть ОК.  
Результат зміни для типу лунок відобразиться в сітці нижче.
  - d. (Додатково) Виберіть символ для кривої у випадаючому списку Symbol (Символ).

4. Щоб швидко змінити налаштування кольору, натисніть на потрібний варіант в розділі Color Quick Set (Швидке налаштування кольору).
5. Для перегляду міток лунок в сітці виберіть відповідний тип міток в розділі Well Labels (Мітки лунок).
6. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни, або Cancel (Скасувати), щоб скасувати зміни.

## Перегляд планшета у форматі таблиці

Інструмент Spreadsheet View/Importer (Перегляд таблиці та засіб імпорту) відображає вміст планшета у форматі таблиці. Інструмент Spreadsheet View/Importer (Перегляд таблиці та засіб імпорту) можна використовувати, щоб експортувати вміст лунки у форматі розділення символами табуляції до програми, зокрема до Microsoft Excel. Крім того, можна імпортувати вміст лунки з програми у форматі розділення табуляцією.

### Використання інструменту Spreadsheet View/Importer (Перегляд таблиці та засіб імпорту)

1. На панелі інструментів Plate Editor (Редактор планшетів) натисніть Spreadsheet View/Importer (Перегляд таблиці та засіб імпорту), щоб відкрити діалогове вікно Plate Spreadsheet View (Перегляд таблиці планшета).

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. У діалоговому вікні Spreadsheet View (Перегляд таблиці) відображається вміст планшета для одного флуорофору. Щоб переглянути вміст планшетів для іншого флуорофору, виберіть його з випадаючого списку Fluors List (Список флуорофорів).
3. Натисніть кнопку Export Template (Експортувати шаблон), щоб експортувати шаблон таблиці планшета у файл Excel (формат .csv). Щоб імпортувати інформацію про вміст лунки, можна редагувати цей шаблон.
4. (Додатково) Натисніть кнопку Import (Імпортувати), щоб імпортувати вміст лунки з файлу з роздільниками-комами.

- Щоб відсортувати таблицю відповідно до даних у певному стовпці, натисніть трикутник біля назви стовпця.

**Підказка.** Вміст будь-якої клітинки в стовпці, який позначений зірочкою (\*) поруч із назвою стовпця (наприклад, \*Target Name (\*Назва мішені)), можна редагувати.

**Примітка.** Виберіть одиниці для даних стандартних кривих у стовпці Quantity (Кількість), відкривши вікно Plate Editor (Редактор планшетів) і послідовно вибравши в рядку меню Settings > Units (Налаштування > Одиниці вимірювання). Після завершення підходу планшета дані з цих стандартів відображаються на діаграмі Standard Curve (Стандартна крива) на вкладці Quantification (Кількісний аналіз) у вікні Data Analysis (Аналіз даних) із вибраними одиницями вимірювання.

### Елементи контекстного меню для Plate Spreadsheet View/Importer (Засіб перегляду/імпорту таблиці планшета)

В [Таблиця 14](#) перераховані елементи меню, доступні для Spreadsheet View/Importer (Засіб перегляду/імпорту таблиці) при натисканні правою кнопкою миші на будь-якій лунці в інструменті.

**Таблиця 14. Елементи контекстного меню для Plate Spreadsheet View/Importer (Засіб перегляду/імпорту таблиці планшета)**

Елемент	Функція
Сору (Копіювати)	Копіювання всієї таблиці.
Сору as Image (Копіювати як зображення)	Копіювання таблиці як файлу зображення.
Print (Друк)	Друк таблиці.
Print Selection (Друкувати вибране)	Друк тільки вибраних комірок.
Export to Excel (Експортувати в Excel)	Експорт файлу в таблицю Excel
Export to CSV (Експортувати у файл CSV)	Експорт файлу у файл формату .csv.

**Таблиця 14. Елементи контекстного меню для Plate Spreadsheet View/Importer (Засіб перегляду/імпорту таблиці планшета), продовження**

<b>Елемент</b>	<b>Функція</b>
Export to Xml (Експортувати у форматі XML)	Експорт файлу у файл формату .xml.
Export to Html (Експортувати у форматі HTML)	Експорт файлу у файл формату .html.
Find (Знайти)	Пошук певного тексту.
Sort (Сортувати)	Сортування таблиці шляхом вибору до трьох колонок даних у вікні Sort (Сортувати).

## Створення макета планшета за допомогою Plate Setup Wizard (Майстер налаштування планшетів)

У вікні Setup Wizard (Майстер налаштування) можна вводити інформацію про макет планшета, необхідну для аналізу нормалізованої експресії генів, в тому числі:

- Назви мішеней
- Назви проб
- Розташування мішеней і проб на планшеті
- Еталонний ген (або гени)
- Контрольна проба

Setup Wizard (Майстер налаштування) можна використовувати перед підходом, під час або після нього.

### Використання Plate Setup Wizard (Майстер налаштування планшетів)

В цьому розділі пояснюється, як створити макет планшета за допомогою вікна Plate Setup Wizard (Майстер налаштування планшетів). Для полегшення перегляду вмісту кожної лунки в планшеті натисніть Zoom plate (Збільшити планшет) у верхній частині вікна Setup Wizard (Майстер налаштування).

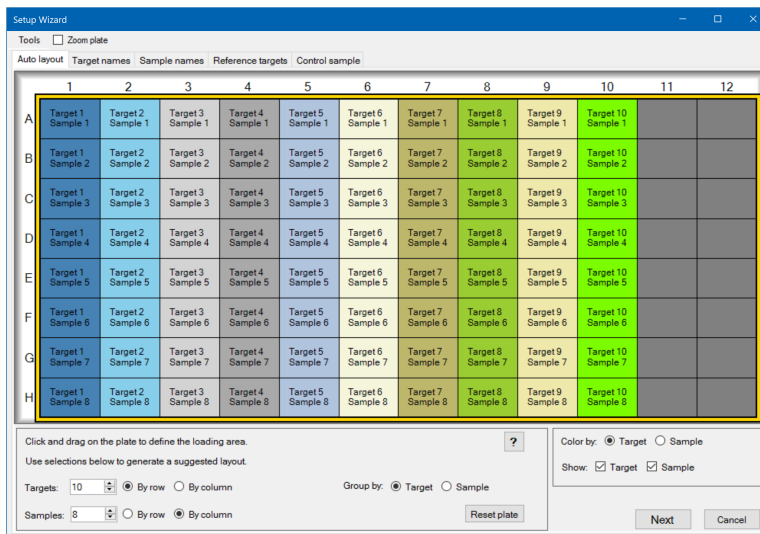
**Важливо!** При поверненні на вкладку Auto layout (Автоматичний макет) з будь-якої іншої вкладки Setup Wizard (Майстер налаштування) відбувається скидання макета планшета. Будьте обережні при виборі цієї вкладки.

**Підказка.** Макет можна скинути, вибравши Tools (Інструменти) > Clear Plate (Очистити планшет) в Setup Wizard (Майстер налаштування).

#### Щоб використати Setup Wizard (Майстер налаштування) планшета

1. Відкрийте Plate Editor (Редактор планшетів).
2. Щоб відкрити Setup Wizard (Майстер налаштування), виберіть Editing Tools (Інструменти редагування) > Setup Wizard (Майстер налаштування).

З'явиться Setup Wizard (Майстер налаштування), в якому відображується вкладка Auto layout (Автоматичний макет).



3. На вкладці Auto layout (Автоматичний макет) виконайте наступні дії:
  - a. Клацніть кнопкою миші на лунці в таблиці і перетягніть курсор по таблиці і вниз, щоб зазначити область на планшеті, в яку ви плануєте завантажити пробу.
  - b. Введіть кількість завантажених мішеней і проб.
 

**Підказка.** Кількість мішеней і проб має дорівнювати кількості обраних комірок. Якщо введена кількість не вписується в обрану область, змініть цю кількість або область вибору на планшеті. Користувач може вказати орієнтацію елементів та їх угруповання.
  - c. (Додатково) Змініть орієнтацію планшета. Наприклад, можна встановити мішені в колонках, а проби в рядках, або згрупувати за пробами.
  - d. Натисніть Next (Далі) для переходу до вкладки Target names (Назви мішеней).

**Примітка.** Якщо в макеті планшета немає якоїсь чіткої схеми розташування, використовуйте вкладку Target names (Назви мішеней) для ручного розміщення мішеней або вкладку Sample names (Назви проб) для ручного розміщення проб на планшеті. Щоб вибрати декількох лунок, перетягніть курсор миші.



4. На вкладці Target names (Назви мішеней) задайте назви мішеней для груп мішеней:
  - a. Виконайте одну з наступних дій:
    - Для перейменування мішеней за групами встановіть значення Target (Мішень) для параметра Select by (Вибрати за).
    - Для перейменування мішеней за лунками встановіть значення Well (Лунка) для параметра Select by (Вибрати за).
  - b. Виберіть групу мішеней або лунок в таблиці і введіть назву у випадаючому списку Target name (Назва мішені).

**Підказка.** Натисніть Tab (Пробіл) для вибору наступної групи або лунки справа або Enter (Ввести) для вибору наступної групи або лунки внизу. В якості альтернативи на вкладках Target name (Назва мішені) і Sample name (Назва проби) утримуйте Control і клацніть кнопкою миші на лунці, щоб вибрати декілька несуміжних лунок.
  - c. Натисніть Next (Далі) для переходу до вкладки Sample names (Назви проб).
5. На вкладці Sample names (Назви проб) задайте назви проб для груп проб.
6. Натисніть Next (Далі) для переходу до вкладки Reference targets (Еталонні мішені)
7. На вкладці Reference targets (Еталонні мішені) виберіть одну або кілька мішеней для використання в якості еталонів для нормалізованої експресії гена і натисніть Next (Далі) для переходу до вкладки Control sample (Контрольна проба).
8. На вкладці Control sample (Контрольна проба) виберіть одну пробу для використання в якості контрольної для обчислення відносної експресії гена.
9. Натисніть OK, щоб зберегти макет планшета і повернутися до вікна Plate Editor (Редактор планшетів), де можна налаштувати подальші параметри планшета. Додаткову інформацію див. в розділі [Призначення додаткових параметрів файлу планшета на стор. 130](#).

В якості альтернативи натисніть Previous (Попередній), щоб повернутися до попередньої вкладки для внесення змін.

**Примітка.** При поверненні на вкладку Auto layout (Автоматичний макет) відбувається автоматичне скидання планшета. Будьте уважні, натискаючи Previous (Попередній).



## Розділ 8 Проведення експериментів

У цьому розділі пояснюється, як виконувати налаштовані користувачем експерименти або експерименти PrimePCR за допомогою програмного забезпечення CFX Manager Dx.

У файлі даних підходу міститься протокол та інформація про планшет для виконання підходу. Крім того, у файлі містяться дані аналізів, які CFX Manager Dx виконує після закінчення підходу.

Програма CFX Manager Dx спрощує процес налаштування та виконання налаштованих користувачем експериментів чи експериментів PrimePCR. У вікні Run Setup (Налаштування підходу) користувач може виконати стандартні кроки налаштування експерименту, після чого перейти у діалогове вікно Start Run (Почати підхід), з якого запускається виконання підходу.

### Доступ до вікна Run Setup (Налаштування підходу)

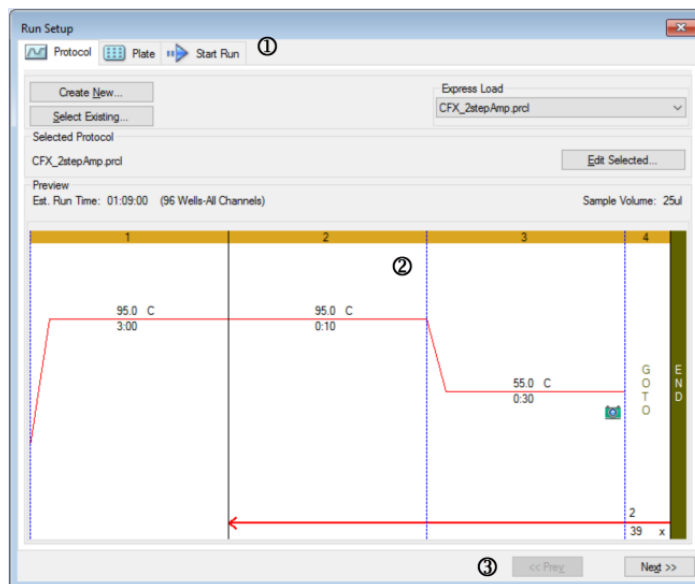
#### Як отримати доступ до вікна Run Setup (Налаштування підходу)

- ▶ Виконайте одну з наведених далі дій.
  - На вкладці Run Setup (Налаштування підходу) в розділі Startup Wizard (Майстер запуску) натисніть пункт User-defined (Задані користувачем) або PrimePCR.
  - У вікні Home (Головне вікно) натисніть на панелі інструментів пункт User-defined Run Setup (Налаштування підходу, заданого користувачем) або PrimePCR Run Setup (Налаштування підходу PrimePCR).
  - Виберіть у вікні Home (Головне) розділ Run > User-defined Run (Підхід > Підхід, заданий користувачем) або Run > PrimePCR Run (Підхід > Підхід PrimePCR).

## Вікно Run Setup (Налаштування підходу)

За допомогою вікна Run Setup (Налаштування підходу) можна швидко отримати доступ до файлів і налаштувань, потрібних для налаштування та виконання експерименту. Якщо вам потрібно запустити заданий користувачем експеримент, вікно Run Setup (Налаштування підходу) відкриється на вкладці Protocol (Протокол). Якщо вам потрібно запустити експеримент PrimePCR, вікно Run Setup (Налаштування підходу) відкриється на вкладці Start run (Почати підхід).

**Підказка.** Див. розділ [Виконання експериментів PrimePCR на стор. 176](#), щоб дізнатися більше про PrimePCR, розділ [Вкладка Start Run \(Почати підхід\) на стор. 166](#), щоб дізнатися більше про вкладку Start Run (Почати підхід).



#### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

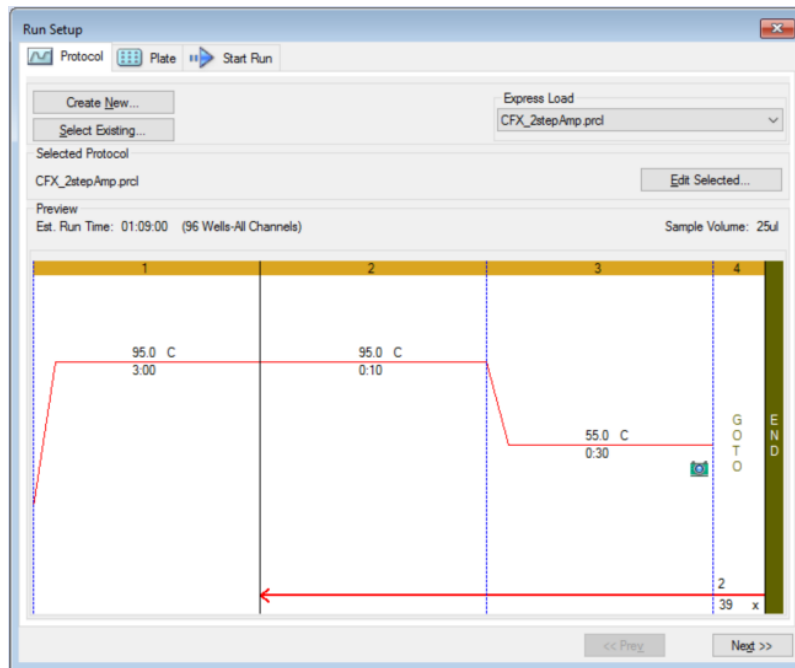
1. За допомогою наведених нижче вкладок можна виконати налаштування та запустити експеримент.
  - Вкладка Protocol (Протокол): виберіть наявний протокол, який потрібно запустити чи відредагувати, або створіть новий протокол у Protocol Editor (Редактор протоколу).
  - Вкладка Plate (Планшети): виберіть наявний планшет, щоб запустити або відредагувати, або створіть новий планшет у Plate Editor (Редактор планшетів).
  - Вкладка Start Run (Почати підхід): перегляньте налаштування експерименту, виберіть один або кілька блоків інструмента та почніть підхід.

---
2. У головному вікні відображаються параметри кожної вкладки, які ви застосовуєте.

---
3. За допомогою навігаційних кнопок можна перейти на вкладку Start Run (Почати підхід).

## Вкладка Protocol (Протокол)

На вкладці Protocol (Протокол) відображується попередній перегляд файлу протоколу, який планується виконати. Файл протоколу містить інструкції щодо температури на кожному кроці, а також щодо параметрів прибору, які контролюють швидкість зміни температури, об'єм пробки і температуру кришки.



За замовчуванням програма відображує протокол, визначений в розділі File Selection for Run Setup (Вибір файлів для налаштування підходу) на вкладці Files (Файли) діалогового вікна User (Користувач) > User Preferences (Налаштування користувача). Змінити протокол, що відображується за замовчуванням, можна в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача). Докладніше див. в розділі [Зміна налаштувань файлу за замовчуванням на стор. 70](#).

На вкладці Protocol (Протокол) користувач може зробити наступне:

- Створити новий протокол для виконання підходу
- Вибрати наявний протокол для виконання підходу або редагування

Більш докладно про створення і зміну протоколів див. у [Розділ 6, Створення протоколів](#).

### Щоб створити новий протокол

1. На вкладці Protocol (Протокол) натисніть Create New (Створити новий).  
Відобразиться Protocol Editor (Редактор протоколу).
2. Використовуйте Protocol Editor (Редактор протоколу), щоб створити новий протокол.
3. Натисніть ОК, щоб зберегти протокол і повернутися на вкладку Protocol (Протокол) у вікні Run Setup (Налаштування підходу).
4. Перегляньте інформацію про протокол і виконайте одну з наступних дій:
  - Якщо інформація правильна, натисніть Next (Далі), щоб перейти на вкладку Plate (Планшети).
  - Якщо інформація неправильна, натисніть Edit Selected (Редагувати вибране), щоб повернутись у вікно Protocol Editor (Редактор протоколу). Перегляньте протокол, збережіть зміни, а потім натисніть Next (Далі) на вкладці Protocol (Протокол), щоб перейти на вкладку Plate (Планшети).

### Щоб вибрати наявний протокол

1. На вкладці Protocol (Протокол) виконайте одну з наступних дій:
  - Натисніть Select Existing (Вибрати наявний) і перейдіть до наявного протоколу.
  - Натисніть Express Load (Експрес-завантаження) та виберіть протокол з випадючого списку.  
**Підказка.** Користувач може додавати протоколи та видаляти їх із випадючого списку Express Load (Експрес-завантаження). Докладніше дивіться далі в розділі [Додавання та видалення протоколів експрес-завантаження](#).
2. Перегляньте інформацію про протокол і виконайте одну з наступних дій:
  - Якщо інформація правильна, натисніть Next (Далі), щоб перейти на вкладку Plate (Планшети).
  - Якщо інформація неправильна, натисніть Edit Selected (Редагувати вибране), щоб відкрити вікно Protocol Editor (Редактор протоколу). Перегляньте протокол, збережіть зміни, а потім натисніть Next (Далі) на вкладці Protocol (Протокол), щоб перейти на вкладку Plate (Планшети).

### Додавання та видалення протоколів експрес-завантаження

Користувач може змінювати вміст випадючого списку Express Load (Експрес-завантаження), який з'являється в Protocol Editor (Редактор протоколу). Протоколи в цьому списку зберігаються в такій папці:

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

#### Змінення списку протоколів Express Load (Експрес-завантаження)

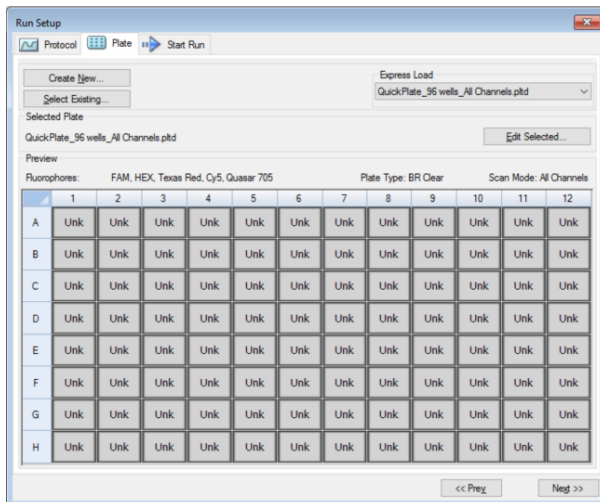
1. Перейдіть до папки ExpressLoad (Експрес-завантаження) і відкрийте її.
2. Перегляньте файли протоколу (.prcl) у папці.
3. Виконайте одну з таких дій:
  - видаліть протоколи з папки, щоб видалити їх із випадючого списку;
  - скопіюйте протоколи в папку, щоб додати їх до випадючого списку.



## Вкладка Plate (Планшети)

**Примітка.** Якщо протокол, вибраний на вкладці Protocol (Протокол), не включає етап зчитування планшета для аналізу PCR (ПЛР) у реальному часі, вкладка Plate (Планшети) буде прихована. Щоб переглянути вкладку Plate (Планшети), додайте принаймні одне зчитування планшета в протокол.

На вкладці Plate (Планшети) відображається попередній перегляд файлу планшета, який планується завантажити. Під час здійснення підходу PCR (ПЛР) у реальному часі файл планшета містить опис вмісту кожної лунки, включно з її флуорофором, режимом сканування та типом планшета. Програмне забезпечення CFX Manager Dx використовує ці описи для збору й аналізу даних.



За замовчуванням програмне забезпечення відображає планшет, визначений у розділі File Selection for Run Setup (Вибір файлу для налаштування підходу) на вкладці Files (Файли) в діалоговому вікні User > User Preferences (Користувач > Налаштування користувача). Планшет за замовчуванням можна змінити в діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача). Докладніше див. в розділі [Зміна налаштувань файлу за замовчуванням на стор. 70](#).

На вкладці Plate (Планшети) можна:

- створити планшет для завантаження;
- вибрати наявний планшет для завантаження або редагування.

Докладніше про створення та змінення планшетів див. в [Розділ 7, Підготовка планшетів](#).

### Створення планшета

1. На вкладці Plate (Планшети) натисніть Create New (Створити).  
Відобразиться вікно Plate Editor (Редактор планшетів).
2. Створіть планшет у вікні Plate Editor (Редактор планшетів).
3. Натисніть ОК, щоб зберегти планшет і повернутися до вкладки Plate (Планшети) у вікні Run Setup (Налаштування підходу).
4. Перегляньте інформацію про планшет і виконайте одну з таких дій:
  - якщо інформація правильна, натисніть Next (Далі), щоб перейти на вкладку Start Run (Почати підхід);
  - якщо інформація неправильна, натисніть Edit Selected (Редагувати вибране), щоб повернутись у вікно Plate Editor (Редактор планшетів). Перегляньте файл планшета, збережіть зміни, а потім натисніть Next (Далі) на вкладці Plate (Планшети), щоб перейти на вкладку Start Run (Почати підхід).

### Вибір наявного файлу планшета

1. На вкладці Plate (Планшети) виконайте одну з таких дій:
  - натисніть Select Existing (Вибрати наявний) і перейдіть до наявного файлу планшета;
  - натисніть Express Load (Експрес-завантаження) та виберіть файл планшета з випадючого списку.

**Підказка.** Можна додавати планшети та видаляти їх із випадючого списку Express Load (Експрес-завантаження). Докладніше дивіться далі в розділі [Додавання та видалення файлів планшетів експрес-завантаження](#).
2. Перегляньте інформацію про планшет і виконайте одну з таких дій:
  - якщо інформація правильна, натисніть Next (Далі), щоб перейти на вкладку Start Run (Почати підхід);
  - якщо інформація неправильна, натисніть Edit Selected (Редагувати вибране), щоб відкрити вікно Plate Editor (Редактор планшетів). Перегляньте файл планшета, збережіть зміни, а потім натисніть Next (Далі), щоб перейти на вкладку Start Run (Почати підхід).

### Додавання та видалення файлів планшетів експрес-завантаження

Користувач може змінити вміст випадючого списку Express Load (Експрес-завантаження), що з'являється в Plate Editor (Редактор планшетів). Планшети, що відображуються в цьому списку, зберігаються в такій папці:

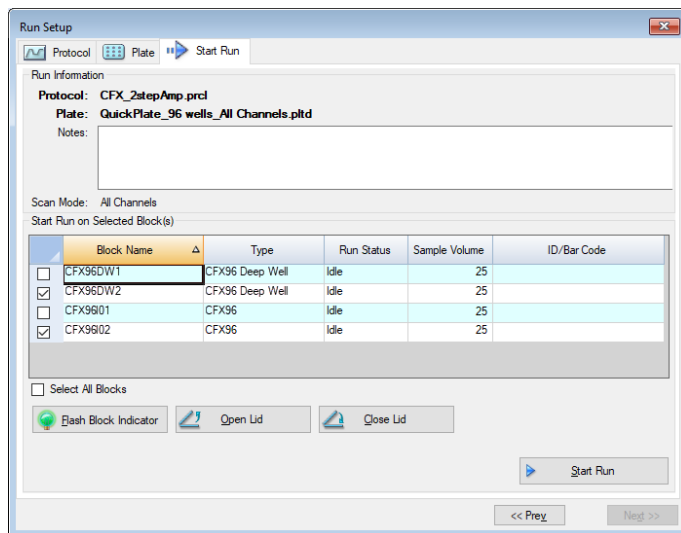
```
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\
```

**Щоб змінити список файлів планшетів у списку Express Load (Експрес-завантаження)**

1. Перейдіть до папки ExpressLoad (Експрес-завантаження) і відкрийте її.
2. Перегляньте файли планшетів (.pltd) у папці.
3. Виконайте одну з таких дій:
  - Видаліть файли планшетів з папки, щоб видалити їх із випадючого списку.
  - Скопіюйте файли планшетів у папку, щоб додати їх до випадючого списку.

## Вкладка Start Run (Почати підхід)

На вкладці Start Run (Почати підхід) відображається інформація про експеримент, який має бути виконано. Крім того, на ній відображається відповідний блок чи блоки інструмента, у яких можна виконати експеримент.



На вкладці Start Run (Почати підхід) можна виконувати зазначені далі дії.

- Переглядати детальну інформацію про підхід, зокрема вибраний файл протоколу, файл планшета й режим сканування.
- Додавати нотатки про підхід.
- Переглядати відомості про всі пов'язані інструменти, зокрема стан підходу (виконується чи ні), об'єм проби в мкл, температуру кришки, режим емуляції та ідентифікаційний код або штрих-код, якщо такий є.

**Примітка.** Можна змінювати стовпці, які відображаються в таблиці Start Run on Selected Blocks (Почати підхід у вибраних блоках). Див. розділ [Змінення деталей у таблиці Selected Blocks \(Вибрані блоки\) на стор. 167](#), щоб дізнатися більше.

- Вибирати блок чи блоки, у яких потрібно виконати підхід.
- Віддалено відкривати або закривати кришку кожного вибраного інструмента.
- Почати підхід.

## Змінення деталей у таблиці Selected Blocks (Вибрані блоки)

Стовпці, які відображаються в таблиці Start Run on Selected Block(s) (Почати підхід для вибраних блоків), можна змінити. Крім того, у таблиці можна змінювати значення об'єму проби й температури кришки. Внесені зміни застосовуються до підходу, який має виконуватися.

### Додавання стовпців у таблицю Start Run on Selected Blocks (Почати підхід для вибраних блоків)

- ▶ Клацніть правою кнопкою миші на таблиці та виберіть параметр у меню, що з'явиться.

### Видалення стовпців із таблиці Start Run on Selected Blocks (Почати підхід для вибраних блоків)

- ▶ Клацніть правою кнопкою миші на таблиці та видаліть параметр у меню, що з'явиться.

### Редагування об'єму проби або значення температури кришки для блоку

- ▶ Виберіть клітинку об'єму проби або температури кришки для цільового блоку та введіть у неї нове значення.

### Додавання ідентифікатора підходу або штрих-кода для блоку

- ▶ Виберіть клітинку ID/Bar Code (Ідентифікатор або штрих-код) для цільового блоку й введіть ідентифікатор або відскануйте блок за допомогою зчитувача штрих-кодів.

## Проведення експерименту

**Важливо!** Перед початком експерименту переконайтеся, що антивірусне програмне забезпечення комп'ютера не ініціюватиме сканування під час виконання підходу.

### Щоб виконати експеримент

1. На вкладці Start Run (Почати підхід) перевірте інформацію про планшет і протокол у розділі Run Information (Інформація про підхід).
2. (Додатково) Додайте примітки про підхід або експеримент в текстовому вікні Notes (Примітки).
3. Поставте прапорець для одного або декількох блоків, які аналізуватимуться під час підходу.

**Підказка.** Щоб виконати експеримент на всіх блоках, виберіть Select All Blocks (Вибрати всі блоки) під таблицею Selected Blocks (Вибрані блоки).

4. (Додатково) Натисніть Flash Block Indicator (Включити індикатор блоку), щоб увімкнути мерехтіння світлодіодного індикатора на вибраних блоках інструмента.

5. Вставте експериментальні планшети у блок:
  - a. Натисніть Open Lid (Відкрити кришку). Кришка з електроприводом кожного вибраного блока відкривається.
  - b. Вставте експериментальний блок в кожний вибраний блок.
  - c. Натисніть Close Lid (Закрити кришку).

**Підказка.** Щоб відкрити і закрити кришку, можна також натиснути кнопку на передній стороні кожного блока.

6. Натисніть Open Lid (Відкрити кришку) і Close Lid (Закрити кришку), щоб відкрити і закрити кришку з електроприводом кожного вибраного блока інструмента.
7. Перегляньте інформацію про підхід і виконайте одну з наступних дій:
  - Якщо інформація правильна, натисніть Start Run (Почати підхід).
  - Якщо інформація неправильна:
    - Внесіть необхідні зміни в таблиці Selected Blocks (Вибрані блоки) і натисніть Start Run (Почати підхід).
    - Поверніться на вкладку коригування інформації, внесіть необхідні зміни, збережіть зміни, після чого натисніть Next (Далі), щоб повернутися на вкладку Start Run (Почати підхід) і почати підхід.

### Щоб почати новий підхід з попереднього підходу

- ▶ Виконайте одну з наступних дій:
  - Виберіть File (Файл) > Repeat a Run (Повторити підхід) в рядку меню програмного забезпечення; знайдіть файл даних підходу, який необхідно повторити, і двічі клацніть на ньому кнопкою миші.
  - Виберіть вкладку Repeat Run (Повторити підхід) в Startup Wizard (Майстер запуску) і двічі клацніть кнопкою миші на файлі даних підходу, який необхідно повторити.  
  
(Додатково) На вкладці Repeat Run (Повторити підхід) натисніть Browse (Пошук), знайдіть файл даних підходу, який необхідно повторити, і двічі клацніть на ньому кнопкою миші.

## Діалогове вікно Run Details (Інформація про підхід)

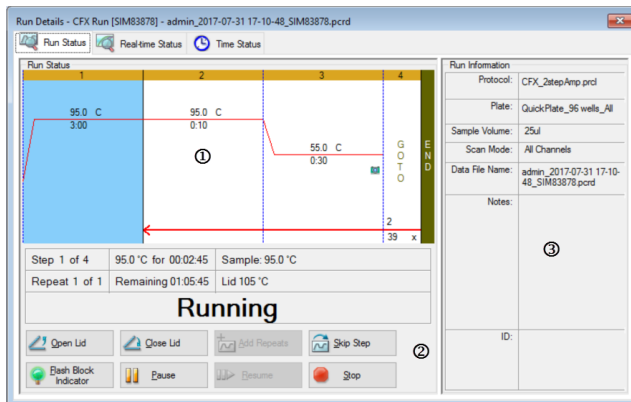
При натисканні Start Run (Почати підхід) програма CFX Manager Dx пропонує зберегти файл даних (.pcrd), починає підхід і відкриває діалогове вікно Run Details (Інформація про підхід). Діалогове вікно Run Details (Інформація про підхід) складається з трьох вкладок статусу:

- **Run Status (Статус підходу)** — використовуйте цю вкладку для перегляду поточного стану протоколу, відкриття або закриття кришки, припинення підходу, додавання повторів, пропуску кроків або зупинки підходу.
- **Real-time Status (Статус у реальному часі)** — використовуйте цю вкладку для перегляду даних флуоресценції ПЛР в режимі реального часу по мірі їх збору.
- **Time Status (Статус часу)** — використовуйте цю вкладку для перегляду повноекранного таймера зворотного відліку для протоколу.

Ці вкладки детально пояснюються в наступних розділах.

### Вкладка Run Status (Статус підходу)

На вкладці Run Status (Статус підходу) відображується поточний стан підходу, що виконується. В цьому перегляді також можна керувати кришкою та змінювати підхід, що виконується.



#### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

1. На панелі Run Status (Статус підходу) відображується поточний хід виконання підходу.
2. Елементи управління Run Status (Статус підходу) дозволяють керувати прибором або переривати поточний протокол.
3. На панелі Run Information (Інформація про підхід) відображуються відомості про підхід.

### Команди Run Status (Статус підходу)

Використовуйте команди на вкладці Run Status (Статус підходу) для управління прибором з програми або зміни підходу, що виконується.

**Примітка.** Внесення змін до протоколу під час підходу, наприклад, додавання повторів, не змінює файл протоколу, пов'язаний з підходом. Ці дії записуються в Run Log (Журнал підходу).



— відкриває кришку з електроприводом на вибраних приборах.

**Важливо!** Відкриття кришки під час підходу призупиняє підхід на поточному кроці і може призвести до зміни даних.



— закриває кришку з електроприводом на вибраних приборах.



— додає повтори до поточного кроку GOTO в протоколі. Ця можливість доступна тільки під час виконання кроку GOTO.



— пропускає поточний крок у протоколі.

**Примітка.** Якщо пропустити крок GOTO, програма запропонує підтвердити, що потрібно пропустити всю петлю GOTO і перейти до наступного кроку в протоколі.



— на вибраному приборі мерехтить світлодіодний індикатор, щоб вказати на вибрані блоки.





— призупиняє протокол.

**Примітка.** Ця дія записується в Run Log (Журнал підходу).



— відновлює призупинений протокол.

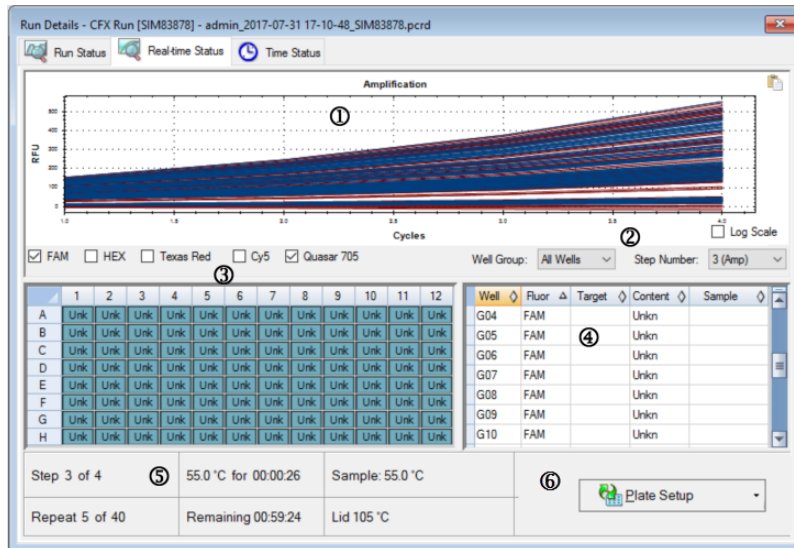


— зупиняє підхід до завершення протоколу.

**Примітка.** Зупинка підходу до завершення протоколу може призвести до зміни даних.

## Вкладка Real-time Status (Поточний статус)

На вкладці Real-time Status (Поточний статус) відображуються дані ПЛР в режимі реального часу, зібрані під час кожного циклу в рамках підходу після перших двох зчитувань планшета.



### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

1. Панель Amplification trace (Крива ампліфікації) — відображує дані ампліфікації в режимі реального часу під час виконання підходу.
2. Well group identifier (Ідентифікатор груп лунок) — якщо групи лунок були ідентифіковані під час налаштування планшета, користувачі можуть вибрати певну групу лунок, щоб переглядати її криві, лунки та інформацію в форматі таблиці.  
Step number identifier (Ідентифікатор номера кроку) — якщо протокол збирає дані більше ніж на одному кроці (наприклад, під час ампліфікації і кривої плавлення), користувачі можуть вибрати певний крок і переглядати криві, зібрані на цьому кроці.
3. Well selector pane (Панель інструмента вибору лунок) — відображує активні, неактивні і порожні лунки в планшеті.
4. Plate setup table pane (Панель таблиці налаштування планшета) — відображує налаштування планшета в табличному форматі.

5. Run details pane (Панель інформації про підхід) — відображує статус підходу в реальному часі, включаючи наступні дані:
- Поточний крок
  - Поточне повторення
  - Поточна температура
  - Час, що залишився
  - Температура проби
  - Температура кришки

6. Plate Setup (Налаштування планшетів) — відкриває діалогове вікно Plate Setup (Налаштування планшетів), в якому користувачі можуть змінювати поточні налаштування планшета під час підходу.

На вкладці Real-time Status (Поточний статус) користувач може:

- Показувати або приховувати криві в режимі реального часу, вибираючи їх на панелі інструмента вибору лунок або панелі таблиці налаштування планшета.
- Переглядати криву або групу кривих, вибираючи їх з випадаючого списку груп лунок.
- Редагувати планшет або замінювати файл планшета.
- Застосувати файл PrimePCR до підходу.

### Відображення або приховування кривих у реальному часі

За замовчуванням усі заповнені лунки є активними та відображаються в таблиці налаштування планшета. Активні лунки мають синій колір на панелі вибору лунок. Приховані лунки мають світло-сірий, а невикористані лунки — темно-сірий колір на панелі вибору лунок.

Можна приховати криві активних лунок під час підходу. CFX Manager Dx й надалі збирає дані всіх лунок; коли ви приховуєте лунки, їхні дані не відображаються в таблиці налаштування планшета.

#### Приховування кривих у реальному часі

- ▶ На панелі вибору лунок клацніть активні лунки (синього кольору), які потрібно приховати.

#### Відображення кривих у реальному часі

- ▶ На панелі вибору лунок клацніть приховані лунки (світло-сірого кольору), які потрібно відобразити.

Щоб дізнатися більше про інструмент вибору лунок, перегляньте розділ [Інструмент вибору лунок на стор. 190](#).

## Редагування налаштувань планшета

Щоб редагувати налаштування планшета, виконайте дії далі.

- ▶ Натисніть Plate Setup (Налаштування планшетів), а потім виберіть пункт View/Edit Plate (Перегляд/редагування планшетів).

Відобразиться вікно Plate Editor (Редактор планшетів), у якому можна редагувати планшет під час підходу. Докладніше про редагування планшетів див. в [Розділ 7, Підготовка планшетів](#).

**Примітка.** Крім того, у вікні Plate Editor (Редактор планшетів), можна редагувати вигляд кривих. Зміни відображаються на графіку ампліфікації на вкладці Real-time Status (Поточний статус).

## Заміна файлу планшета

**Підказка.** Заміна файлу планшета може бути особливо корисною у разі початку виконання підходу з файлом Quick Plate (Швидкий планшет) у папці ExpressLoad.

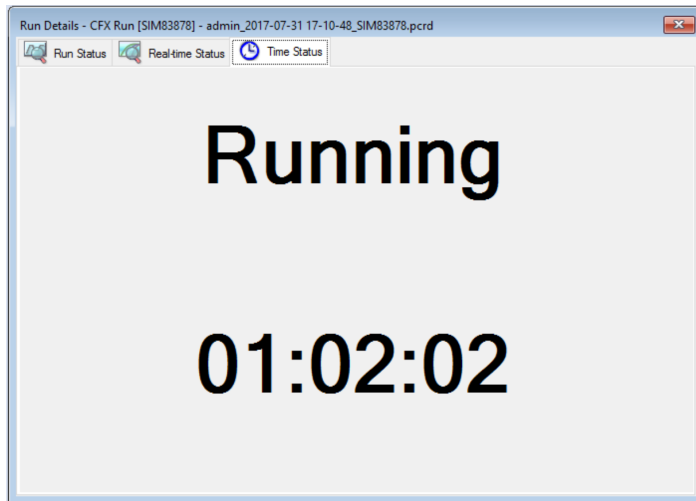
Щоб замінити файл планшета

- ▶ Натисніть Plate Setup (Налаштування планшетів) і виберіть один з наступних параметрів:
  - Replace Plate file (Замінити файл планшета) — виберіть новий файл планшета зі списку у вікні браузера.
  - Apply PrimePCR file (Застосувати файл PrimePCR) — знайдіть файл підходу, на основі якого був отриманий макет планшета, за допомогою браузера Smart search або натисніть Browse (Пошук), щоб знайти файл, що був завантажений з веб-сайту компанії Bio-Rad і не розміщений у папці PrimePCR

**Примітка.** CFX Manager Dx перевіряє режим сканування та розмір планшета для файлу планшета. Вони мають бути аналогічні налаштуванням підходу, з якими підхід розпочався.

## Вкладка Time Status (Час)

На вкладці Time Status (Час) відображається час, що залишився до завершення поточного підходу.



## Виконання експериментів PrimePCR

Експерименти PrimePCR використовують специфічні для певного захворювання або біологічного шляху аналізи, валідовані і оптимізовані компанією Bio-Rad шляхом практичних експериментів і доступні в одному з наступних форматів:

- Попередньо зконфігуровані панелі — планшети, що містять аналізи, специфічні по відношенню до біологічного шляху або захворювання; вони включають еталонні гени і контролю PrimePCR
- Планшети з користувацькою конфігурацією — планшети, які можуть налаштовуватися згідно з заданим користувачем макетом, з можливістю вибору аналізу з огляду на досліджувані мішені, контролю та еталони.
- Індивідуальні аналізи — пробірки, що містять індивідуальні набори праймерів для використання в реакціях в режимі реального часу

Щоб зменшити загальну тривалість підходу, можна видалити крок плавлення з протоколу. Компанія Bio-Rad настійно не рекомендує вносити будь-які зміни у протокол підходу PrimePCR. В якості протоколу за замовчанням використовується протокол, який використовувався для валідації аналізу. Будь-які відхилення від цього правила можуть вплинути на результати. Зміни протоколу відмічаються на вкладці Run Information (Інформація про підхід) результуючого файлу даних і в будь-яких створених звітах.

### Щоб почати підхід PrimePCR

- ▶ Щоб почати підхід PrimePCR, виконайте одну з наступних дій:
  - У вікні Startup Wizard (Майстер запуску) виберіть PrimePCR на вкладці Run Setup (Налаштування підходу), після чого виберіть відповідний компонент (SYBER або зонд).
  - Виберіть підхід PrimePCR зі списку Recent Runs (Нещодавно виконані підходи) на вкладці Repeat Run (Повторити підхід) у вікні Startup Wizard (Майстер запуску).
  - Виберіть File (Файл) > New (Новий) > PrimePCR Run (Підхід PrimePCR) у вікні Home (Головне).
  - Виберіть File (Файл) > Open (Відкрити) > PrimePCR Run (Підхід PrimePCR) у вікні Home (Головне).
  - Перетягніть файл підходу PrimePCR у вікно Home (Головне).

Після вибору підходу PrimePCR відкриється вікно Run Setup (Налаштування підходу) на вкладці Start Run (Почати підхід) із завантаженим макетом планшета PrimePCR за замовчуванням в залежності від вибраного інструмента.

### Щоб видалити крок плавлення з протоколу

- ▶ На вкладці Protocol (Протокол) зніміть прапорець у полі поряд з Include Melt Step (Включити крок плавлення).

### Щоб імпортувати цільову інформацію для планшетів PrimePCR в макет планшета

1. Виконайте одну з наступних дій:
  - На вкладці Real-time Status (Поточний статус) в діалоговому вікні Run Details (Інформація про підхід) виберіть Plate Setup (Налаштування планшетів) > Apply PrimePCR File (Застосувати файл PrimePCR).
  - У вікні Data Analysis (Аналіз даних) виберіть Plate Setup (Налаштування планшетів) > Apply PrimePCR File (Застосувати файл PrimePCR).
2. В діалоговому вікні файлу підходу PrimePCR натисніть Browse (Пошук), щоб знайти відповідний файл PrimePCR (.csv).
3. Виберіть цільовий файл PrimePCR і натисніть Open (Відкрити).

CFX Manager Dx імпортує цільову інформацію в макет файлу.

## Розділ 8 Проведення експериментів



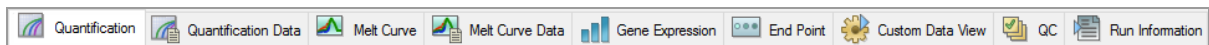
## Розділ 9 Огляд аналізу даних

В CFX Manager Dx передбачено кілька способів відкриття і перегляду файлів даних. Користувач може зробити наступне:

- Вибрати File (Файл) > Open (Відкрити) > Data File (Файл даних) у вікні Home (Головне) і перейти в провіднику до цільового файлу .pcrd.
- Вибрати File (Файл) > Recent Data Files (Нещодавно відкриті файли даних) у вікні Home (Головне) і потім вибрати потрібний файл в списку десяти файлів даних, які відкривалися нещодавно.

### Вікно Data Analysis (Аналіз даних)

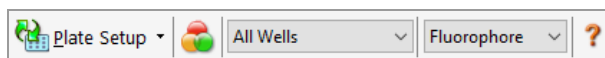
У вікні Data Analysis (Аналіз даних) є кілька вкладок, на кожній з яких відображуються дані, проаналізовані певним методом, або інформація, що відноситься до конкретного підходу. Вкладки з'являються тоді, коли дані, зібрані в ході підходу, доступні для відповідного типу аналізу.



**Підказка.** Щоб вибрати вкладки, які потрібно вивести на екран, виберіть їх у випадяючому меню View (Перегляд) у вікні Data Analysis (Аналіз даних). Для повернення до вихідної структури вікна вкладок виберіть Settings (Налаштування) > Restore Default Window Layout (Відновити початкове розташування вкладок).



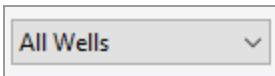
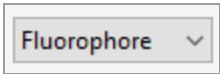

## Панель інструментів Data Analysis (Аналіз даних)

Панель інструментів у вікні Data Analysis (Аналіз даних) забезпечує швидкий доступ до важливих функцій аналізу даних.



У [Таблиця 15](#) перераховані функції кнопок на панелі інструментів.

**Таблиця 15. Панель інструментів у вікні Data Analysis (Аналіз даних)**

Кнопка	Назва	Функція
	Plate Setup (Налаштування планшетів)	View/Edit Plate (Перегляд/редагування планшетів) — відкрити вікно Plate Editor (Редактор планшетів), щоб переглянути й редагувати вміст лунок.  Replace Plate File (Заміна файлу планшета) — вибрати файл планшета, щоб замінити макет планшета.  Apply PrimePCR file (Застосувати файл PrimePCR) — вибрати робочий файл, щоб замінити макет планшета для підходу PrimePCR.
	Manage Well Groups (Керування групами лунок)	Відкрити вікно Well Groups Manager (Диспетчер груп лунок), щоб створювати, редагувати або видаляти групи лунок.
	Well Group (Група лунок)	Вибрати назву наявної групи лунок із випадаючого меню. За замовчуванням вибрано значення All Wells (Усі лунки). Ця кнопка відображається, лише коли створено групи лунок.
	Analysis Mode (Режим аналізу)	Аналіз даних у режимі Fluorophore (Флуорофор) або Target (Мішень).
	Help (Довідка)	Відкрити цифрову копію цього посібника у форматі Acrobat PDF.

## Рядок меню Data Analysis (Аналіз даних)

В Таблиця 16 перераховані елементи рядка меню у вікні Data Analysis (Аналіз даних).

**Таблиця 16. Елементи рядка меню у вікні Data Analysis (Аналіз даних)**

Елемент меню	Команда	Функція
File (Файл)	Save (Зберегти)	Збереження файлу.
	Save As (Зберегти як)	Збереження файлу з новим ім'ям.
	Repeat Run (Повторити підхід)	Діставання протоколу і файлу планшета з поточного підходу для його повторного виконання.
	Close (Закрити)	Закриття вікна Data Analysis (Аналіз даних)
View (Перегляд)	Run Log (Журнал підходу)	Відкриття вікна Run Log (Журнал підходу) для перегляду журналу підходу для поточного файлу даних.
	Quantification (Кількісний аналіз), Melt Curve (Крива плавлення), Gene Expression (Експресія гена), End Point (Кінцева точка), Custom Data View (Спеціальний режим перегляду даних), QC (Контроль якості), Run Information (Інформація про підхід)	Відображення проаналізованих даних в обраних вкладках у вікні Data Analysis (Аналіз даних). Необхідно вибрати принаймні одну вкладку.
Settings (Налаштування)	C <sub>q</sub> Determination Mode (Режим визначення C <sub>q</sub> )	Вибір режиму Regression (Регресія) або Single Threshold (Один поріг) для зазначення способу обчислення значень C <sub>q</sub> для кожної кривої.
	Baseline Setting (Налаштування початкового рівня)	Вибір методу Baseline Subtraction (Компенсація початкового рівня) для обраних груп лунок.

Таблиця 16. Елементи рядка меню у вікні Data Analysis (Аналіз даних), продовження

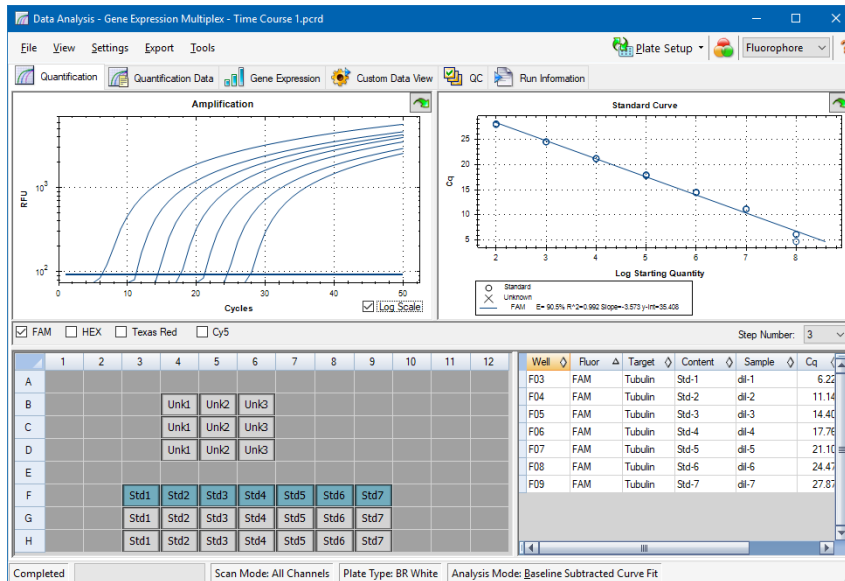
Елемент меню	Команда	Функція
	Analysis Mode (Режим аналізу)	Вибір аналізу даних за критерієм Fluorophore (Флуорофор) або Target (Мішень).
	Cycles to Analyze (Цикли для аналізу)	Вибір циклів для аналізу.
	Baseline Threshold (Поріг початкового рівня)	Відкриття вікна Baseline Thresholds (Поріг початкового рівня) для регулювання початкового рівня або порога.
	Trace Styles (Вигляд кривих)	Відкриття вікна Trace Styles (Вигляд кривих).
	Plate Setup (Налаштування планшетів)	Відкриття Plate Editor (Редактор планшетів) для перегляду і редагування вмісту планшета; заміна поточного планшета планшетом з заданого користувачем файлу планшета або файлу підходу PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Включити всі виключені лунки)	Включення в аналіз всіх виключених лунок.
	Mouse Highlighting (Відмітки мишею)	Вмикання або вимикання одночасних відміток даних курсором миші. <b>Підказка.</b> Якщо функція Mouse Highlighting (Відмітки мишею) вимкнена, натисніть кнопку Control, щоб тимчасово увімкнути відмітки.
	Restore Default Window Layout (Відновити початкове розташування вкладок)	Відновлення конфігурації вікон, встановленої за замовчуванням.

Таблиця 16. Елементи рядка меню у вікні Data Analysis (Аналіз даних), продовження

Елемент меню	Команда	Функція
Export (Експорт)	Export All Data Sheets to Excel (Експорт усіх аркушів даних в Excel)	Експорт всіх переглядів таблиць з кожної вкладки в окремий файл Excel.
	Custom Export (Експорт за заданими налаштуваннями)	Відкриття вікна Custom Export (Експорт за заданими налаштуваннями), де можна вказати поля, які підлягають експорту, і формат файлу.
	Export to LIMS Folder (Експорт в папку LIMS)	Відкриття вікна для збереження даних в попередньо заданому форматі в папці LIMS (Лабораторна система управління інформацією).
	Seegene Export (Експорт для використання компанією Seegene)	Відкриття вікна для зазначення місця збереження даних з усіх переглядів таблиць у вигляді файлів Excel зі структурою, призначеною спеціально для використання компанією Seegene, Inc.
Tools (Інструменти)	Reports (Звіти)	Відкриття звіту для поточного файлу даних.
	Well Group Reports (Звіти про групи лунок)	Відкриття вікна Well Group Report (Звіт про групи лунок) для створення звітів про зазначені групи лунок.
	Import Fluorophore Calibration (Імпорт калібрування флуорофора)	Вибір файлу калібрування, який буде застосовуватися до поточного файлу даних.
	qbase+	Запуск програми qbase+ v2.5 безпосередньо з поточного файлу .pcrd (якщо ця програма встановлена).

## Інформація на вкладках

Кожна вкладка у вікні Data Analysis (Аналіз даних) відображає дані в діаграмах і таблицях для конкретного методу аналізу, а також містить селектор лунок для вибору даних, які потрібно показати. Коли вікно Data Analysis (Аналіз даних) відкривається, у ньому за замовчуванням відображається вкладка Quantification (Кількісний аналіз). Щоб визначити належні налаштування аналізу для підходу, можна використати дані діаграми Amplification (Ампліфікація) на вкладці Quantification (Кількісний аналіз).

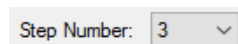


**Примітка.** Програмне забезпечення зв'яже дані на панелях кожної вкладки Data Analysis (Аналіз даних). Наприклад, якщо виділити лунку, розмістивши курсор миші на лунці у вікні селектора лунок, будуть виділені дані на всіх інших панелях.

## Селектор Step number (Номер кроку)

Системи CFX96 і CFX96 Deep Well можуть отримувати дані флуоресценції на декількох кроках протоколу; програма підтримує дані, зібрані незалежно одні від одних на кожному етапі. Програма відображує селектор Step Number (Номер кроку) . Якщо протокол містить принаймні один крок збору даних, Програмне забезпечення CFX Manager Dx відображує дані з першого кроку збору.

Якщо протокол містить більше одного кроку збору, можна вибрати інший крок у випадяючому списку, наприклад:



При виборі кроку програма застосовує цей вибір до всіх даних, представлених у вікні Data Analysis (Аналіз даних).

## Перегляд груп лунок на вкладці Data Analysis (Аналіз даних)

Лунки на планшеті можуть бути згруповані в підмножини для незалежного аналізу з використанням груп лунок. При створенні груп лунок їхні назви груп з'являються у вікні Data Analysis (Аналіз даних) у випадяючому списку Well Groups (Групи лунок) на панелі інструментів.

Якщо групи лунок створені, програма відображує групу лунок за замовчуванням All Wells (Всі лунки) при відкритті вікна Data Analysis (Аналіз даних), відображуючи дані всіх лунок з їхнім вмістом на графіках і в таблицях. В інструменті вибору лунок з'являються тільки ті лунки з цієї групи лунок, в які завантажено вміст, і дані тільки цих лунок включаються в обчислення при виконанні аналізу даних.

**Примітка.** Якщо групи лунок не створені, випадяючий список Well Groups (Групи лунок) на панелі інструментів не з'являється.

## Змінення вмісту лунки після підходу

Якщо під час аналізу даних змінити спосіб відображення даних, змінивши вміст лунок у вікні Plate Editor (Редактор планшетів), це ніколи не призведе до змінення даних флуоресценції, які були зібрані з кожної лунки під час підходу. Після того, як модуль збере дані флуоресценції, ці дані неможливо видалити, однак можна вибрати видалення окремих даних із перегляду й аналізу.

**Щоб змінити вміст лунки після підходу, виконайте наступні дії.**

- ▶ У вікні Data Analysis (Аналіз даних) натисніть пункт Plate Setup (Налаштування планшетів) і виберіть один із таких параметрів:
  - **Edit/View Plate (Змінити або переглянути планшет)** — відкрити вікно Plate Editor (Редактор планшетів), у якому можна вручну вносити зміни в макет;
  - **Replace Plate File (Заміна файлу планшета)** — відкрити програму перегляду Select Plate (Вибір планшета), де можна перейти до попередньо збереженого файлу планшета, за допомогою якого можна замінити поточний макет планшета;
  - **Apply PrimePCR file (Застосувати файл PrimePCR)** — відкрити файлове діалогове вікно Select PrimePCR (Вибір PrimePCR), у якому можна перейти до робочого файлу PrimePCR і застосувати його до макета планшета.

**Підказка.** Відомості про вміст лунки можна додавати або редагувати перед підходом, під час нього або після завершення підходу PCR (ПЛР). Перед підходом необхідно призначити режим сканування та розмір планшета. Ці параметри неможливо змінити після підходу.



## Налаштування вікна Data Analysis (Аналіз даних)

Дані графіка Amplification (Ампліфікація) на вкладці Quantification (Кількісний аналіз) відображають відносну флуоресценцію (RFU) для кожної лунки під час кожного циклу. Кожна крива на графіку представляє дані одного флуорофору в одній лунці. Ці дані використовуються для визначення значень  $C_q$  для кожної лунки й для кожного флуорофору. Програмне забезпечення застосовує один з двох режимів визначення значень  $C_q$ .

- **Регресія** — застосовує багатопараметричну нелінійну модель регресії до окремих кривих лунок, а потім використовує цю модель для розрахунку оптимального значення  $C_q$ .
- **Один поріг** — використовує одне значення порога для розрахунку значення  $C_q$  на основі точки перетину порога окремих кривих флуоресценції.

Виберіть Settings >  $C_q$  Determination Mode (Налаштування > Режим визначення  $C_q$ ), щоб вибрати режим визначення  $C_q$ .

### Регулювання порогу

В режимі Single Threshold (Один поріг) можна регулювати поріг для флуорофора, клацнувши на лінії порогу на графіку Amplification (Ампліфікація) і переміщуючи курсор миші у вертикальному напрямку. Або ж можна зазначити точний поріг перетину для обраного флуорофору.

### Налаштування початкового рівня

Програмне забезпечення автоматично налаштовує початковий рівень окремо для кожної лунки. Налаштування початкового рівня визначає метод із компенсацією початкового рівня для всіх кривих флуоресценції. Програмне забезпечення забезпечує три варіанти компенсації початкового рівня, описані далі.

- **No Baseline Subtraction (Без компенсації початкового рівня)** — дані відображаються як відносні криві флуоресценції. У цьому режимі аналізу недоступні деякі види аналізу, тому програмне забезпечення не відображає вкладки Gene Expression (Експресія гена), End Point (Кінцева точка) і Allelic Discrimination (Алельна дискримінація).
- **Baseline Subtracted (3 компенсацією початкового рівня)** — дані відображаються як криві з компенсацією початкового рівня для кожного флуорофору в лунці. Програмне забезпечення має застосувати дані з компенсацією початкового рівня, щоб визначити цикли кількісного аналізу, побудувати стандартні криві й визначити концентрацію невідомих проб. Щоб згенерувати криву з компенсацією початкового рівня, програмне забезпечення підбирає найкращу пряму лінію із зареєстрованої флуоресценції кожної лунки під час циклів початкового рівня, а потім вилучає дані, що найкраще підходять, з даних компенсації фону в кожному циклі.

- **Baseline Subtracted Curve Fit (Підбір кривих із компенсацією початкового рівня)** — дані відображаються як криві з компенсацією початкового рівня, а програмне забезпечення згладжує криву з компенсацією початкового рівня, використовуючи фільтри по центру. Цей процес виконується так, що кожне значення  $C_q$  залишається незмінним.

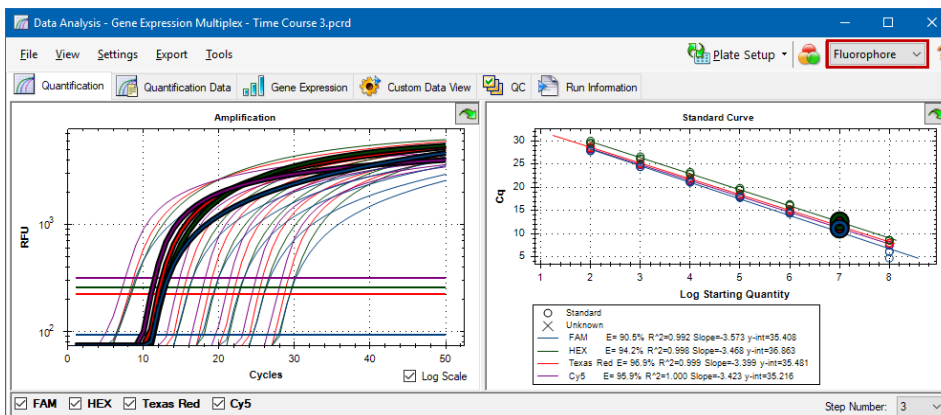
Крім цих параметрів, можна також вибрати пункт Apply Fluorescent Drift Correction (Застосувати корекцію зміщення флуоресценції). Для лунок, які мають аномально зміщені значення RFU (Відносна одиниця флуоресценції) під час кількох початкових циклів підходу, програмне забезпечення отримує розрахункову базову лінію із суміжних лунок, для яких створена горизонтальна базова лінія.

### Змінення налаштувань компенсації базової лінії

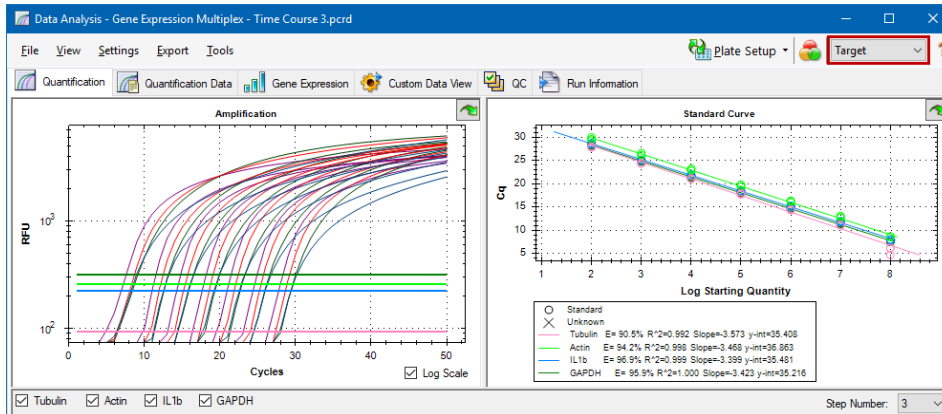
- Послідовно виберіть елементи Settings > Baseline Setting (Налаштування > Налаштування початкового рівня).

## Режим аналізу

Дані можна згрупувати та проаналізувати за флуорофором або назвою мішені. У разі групування за флуорофором криві даних відображаються за флуорофором, який указано в налаштуваннях планшета для цього підходу. Дані окремого флуорофору відображаються на графіках ампліфікації та стандартної кривої (за наявності), якщо встановлено відповідні прапорці вибору флуорофорів під графіком ампліфікації.



У разі групування за мішенню криві даних відображаються за назвою мішені, яку введено в налаштуваннях планшета для цього підходу.



## Вибір режиму аналізу даних

- ▶ Виконайте одну з наведених далі дій.
  - Виберіть Settings > Analysis Mode (Налаштування > Режим аналізу).
  - Виберіть режим із розкривного меню Analysis Mode (Режим аналізу) на панелі інструментів.

## Цикли для аналізу

Можна обмежити кількість циклів для аналізу. Крім того, можна аналізувати дані з певного набору циклів. Можна проаналізувати щонайбільше 50 циклів.

**Примітка.** Видалення циклів із початку підходу може мати значний вплив на формування базової лінії.

**Щоб обмежити аналіз даних для конкретного діапазону циклів, виконайте дії далі.**

1. Послідовно виберіть елементи Settings > Cycles to Analyze (Налаштування > Цикли для аналізу).

З'явиться діалогове вікно Cycles to Analyze (Цикли для аналізу).

2. Введіть значення початкового й кінцевого циклів і натисніть ОК.

У діалоговому вікні Cycles to Analyze (Цикли для аналізу) натисніть пункт Restore Defaults (Відновити значення за замовчуванням), щоб повернутися до циклів, які спочатку використовувалися для аналізу.

## Інструмент вибору лунок

Використовуйте інструмент вибору лунок для відображення або приховування даних лунок у графіках чи таблицях у вікні Data Analysis (Аналіз даних). Лише лунки, у які завантажено пробу, можна вибрати в інструменті вибору лунок. Програмне забезпечення позначає кольором лунки в інструменті вибору лунок.

- **Синій** — вибрані лунки. Дані вибраних лунок відображаються у вікні Data Analysis (Аналіз даних).
- **Світло-сірий** — невибрані лунки. Дані невибраних лунок не відображаються у вікні Data Analysis (Аналіз даних).
- **Темно-сірий** — порожні лунки.

	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			

## Відображення або приховання даних лунок

- ▶ В інструменті вибору лунок виконайте одну з наведених далі дій.
  - Щоб приховати одну лунку, клацніть окрему лунку. Щоб відобразити ту лунку, знову клацніть її.
  - Щоб приховати кілька лунок, проведіть вказівником миші з натиснутою кнопкою по потрібних лунках. Щоб відобразити ті лунки, знову проведіть по них вказівником миші з натиснутою кнопкою.
  - Клацніть лівий верхній кут планшета, щоб приховати всі лунки. Клацніть лівий верхній кут знову, щоб відобразити всі лунки.
  - Клацніть початок стовпця або рядка, щоб приховати відповідні лунки. Клацніть початок стовпця або рядка знову, щоб відобразити лунки.

## Елементи контекстного меню інструмента вибору лунок

В [Таблиця 17](#) перераховані елементи контекстного меню, доступні для інструмента вибору лунок.

**Таблиця 17. Елементи контекстного меню інструментів вибору лунок**

Елемент	Функція
Well XX (Лунка XX)	Відображення лише цієї лунки, видалення цієї лунки з перегляду, налаштування кольору для цієї лунки або виключення цієї лунки з аналізу.
Selected Wells (Вибрані лунки) (права кнопка миші і перетягування)	Відображення лише цих лунок, видалення цих лунок з перегляду, налаштування кольору для цих лунок або виключення цих лунок з аналізу.
Сору (Копіювати)	Копіювання вмісту лунки в буфер обміну, включаючи дані Sample Type (Тип проби) і необов'язкову інформацію Replicate # (Номер репліката).
Сору as Image (Копіювати як зображення)	Копіювання перегляду інструмента вибору лунок у вигляді зображення.
Print (Друк)	Друк перегляду інструмента вибору лунок.
Print Selection (Друкувати вибране)	Друк вибраних елементів

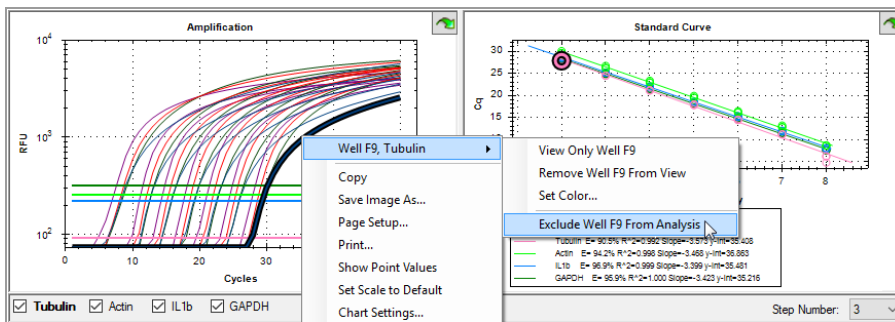
**Таблиця 17. Елементи контекстного меню інструментів вибору лунок, продовження**

<b>Елемент</b>	<b>Функція</b>
Export to Excel (Експортувати в Excel)	Експорт даних у таблицю Excel.
Export to CSV (Експортувати у файл CSV)	Експорт даних у вигляді текстового документа.
Export to Xml (Експортувати у форматі XML)	Експорт даних у вигляді документа .xml.
Well Labels (Мітки лунки)	Зміна міток лунки на Sample Type (Тип проби), Target Name (Назва мішені) або Sample Name (Назва проби).

## Тимчасове виключення лунок з аналізу

Щоб тимчасово виключити лунки з аналізу даних, виконайте зазначені нижче дії.

1. Клацніть лунку правою кнопкою миші в інструменті вибору лунок. Щоб виключити кілька лунок, натисніть праву кнопку миші та проведіть нею, щоб виділити кілька лунок, кривих або точок.
2. Виберіть відповідний пункт у контекстному меню.
  - Well > Exclude Well (Лунка > Виключити лунку)
  - Selected Wells > Exclude from Analysis (Вибрані лунки > Виключити з аналізу)
  - Selected Traces > Exclude these wells from Analysis (Вибрані криві > Виключити ці лунки з аналізу)



Щоб назавжди видалити лунки з аналізу, можна видалити вміст лунок в Plate Editor (Редактор планшетів), натиснувши кнопку Clear Wells (Очистити лунки).

**Важливо!** За потреби буде необхідно повторно ввести весь раніше видалений вміст лунок.

Щоб включити виключену лунку, виконайте зазначені нижче дії.

- ▶ Клацніть правою кнопкою миші відповідну лунку в інструменті вибору лунок і виберіть Well > Include Well in Analysis (Лунка > Включити лунку в аналіз).

## Діаграми

На кожній діаграмі у вікні Data Analysis (Аналіз даних) дані представлені у вигляді окремого графіка: передбачені опції налаштування та експорту даних або графічних елементів діаграми.

### Стандартні елементи контекстного меню для графіків

У [Таблиця 18](#) перелічені елементи контекстного меню, доступні для графіків. Деякі з доступних елементів наявні для всіх графіків, і за допомогою таких елементів можна змінювати спосіб відображення даних або легко експортувати дані з графіка.

**Таблиця 18. Елементи контекстного меню для графіків**

Елемент	Функція
Copy (Копіювання)	Копіює графік до буфера обміну.
Save Image As (Зберегти зображення як)	Зберігає зображення із вказаним розміром, роздільною здатністю та типом файлу. Доступні формати зображень: PNG (за замовчуванням), JPG та BMP.
Page Setup (Налаштування сторінки)	Попередній перегляд і вибір налаштувань сторінки для друку.
Print (Друк)	Друк графіка.
Set Scale to Default (Установити масштаб за замовчуванням)	Повертає попередній вигляд графіка після збільшення.
Chart Options (Параметри графіка)	Відкриває вікно Chart Options (Параметри графіка), щоб змінити налаштування графіка, зокрема назву, вибір меж для осей X та Y, відображення ліній координатної сітки та маленьких засічок на осях.

**Примітка.** Елементи меню, що застосовуються до конкретних графіків, описані в [Розділ 10, Деталі аналізу даних](#).



## Копіювання даних графіків у буфер обміну даними

Дані графіка можна скопіювати та вставити до-будь-якого додатка, який підтримує растрові зображення.

### Копіювання даних графіків у буфер обміну даними

1. У контекстному меню графіка виберіть Сору (Копіювати).
2. Відкрийте додаток, що підтримує растрові зображення, як-от Microsoft Word.
3. Клацніть правою кнопкою миші та виберіть Paste (Вставити), щоб вставити растрове зображення з буфера обміну в додаток.

## Зміна налаштувань порогу початкового рівня

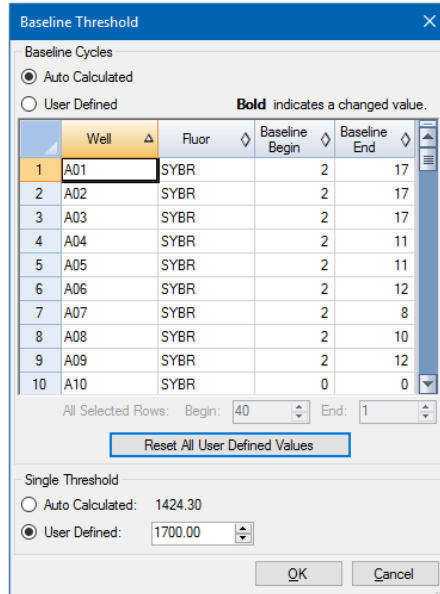
У режимі Single Threshold (Один поріг) можна регулювати поріг для флуорофору, клацнувши на лінії порога на графіку Amplification (Ампліфікація) і переміщуючи курсор миші у вертикальному напрямку. Або ж можна зазначити точний поріг перетину для вибраного флуорофору.

**Підказка.** Користувач може вказати діапазон циклу для визначення початкового рівня для всіх файлів даних на вкладці Data Analysis (Аналіз даних) у меню User > User Preferences (Користувач > Налаштування користувача).

### Налаштування початкового та кінцевого циклу початкового рівня для кожної лунки

1. На вкладці Quantification (Кількісний аналіз) виберіть тільки один флуорофор під графіком Amplification (Ампліфікація).
2. За допомогою контекстного меню графіка виберіть Baseline Threshold (Поріг початкового рівня).

Відкриється діалогове вікно Baseline Threshold (Поріг початкового рівня).



3. У розділі Baseline Cycles (Цикли початкового рівня) виконайте одну з таких дій:
  - Щоб вибрати одну лунку, натисніть на номер рядка.
  - Щоб вибрати кілька суміжних лунок, натисніть на номер рядка першої лунки та, утримуючи клавішу миші, перетягніть курсором вздовж стовпця до кінцевої лунки.
  - Щоб вибрати кілька несуміжних лунок, утримуйте клавішу Control і натисніть на номер рядка кожної потрібної лунки.
  - Щоб вибрати всі лунки, натисніть на верхній лівий кут таблиці.
4. Налаштуйте початковий цикл базової лінії та кінцевий цикл базової лінії для всіх вибраних лунок або змініть номер початкового та кінцевого циклу внизу таблиці.
 

**Підказка.** Щоб повернути налаштування назад до останніх збережених значень, натисніть Reset All User Defined Values (Скинути всі встановлені користувачем значення).
5. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни та повернутися до графіка.

## Встановлення діапазону циклу для всіх файлів даних

- ▶ У вікні Home (Головне) або Plate Editor (Редактор планшетів) натисніть User > User Preferences (Користувач > Налаштування користувача) та виберіть вкладку Data Analysis (Аналіз даних).

## Сортування даних мішеней і проб

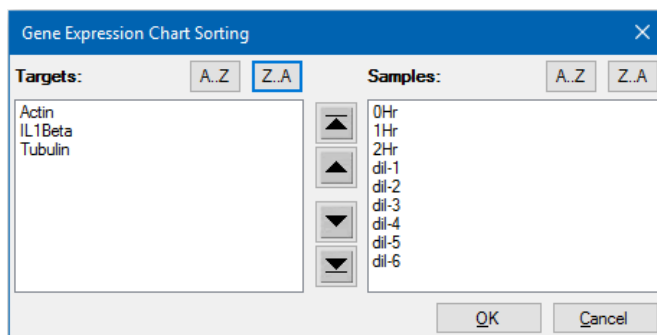
**Примітка.** Цей параметр доступний лише в графіках експресії гена.

За замовчуванням списки Targets and Samples (Мішені та проби) відкриваються в алфавітному порядку. Використовуйте діалогове вікно Sort (Сортування), щоб відсортувати дані в зворотному алфавітному порядку або вручну пересунути термін на іншу позицію в списку.

### Сортування даних мішеней і проб

1. За допомогою контекстного меню графіка натисніть Sort (Сортування).

Відкриється діалогове вікно Gene Expression Chart Sorting (Сортування графіків експресії гена).



2. У діалоговому вікні натисніть Z-A, щоб відсортувати дані в зворотному алфавітному порядку.
3. Щоб вручну пересунути термін, виберіть його та натисніть відповідну кнопку між графіками:
  - Натисніть стрілку «Вгору» або «Вниз», щоб пересунути вибраний термін на одну позицію.
  - Натисніть на область стрілки «Вгору» або «Вниз», щоб пересунути вибраний термін вгору або вниз списку.
4. Натисніть OK, щоб зберегти зміни та повернутися до вкладки Gene Expression (Експресія гена).

## Збільшення області на графіку

### Щоб збільшити область на графіку

- ▶ Клацніть мишею і перетягніть курсор по графіку, після чого натисніть Zoom (Збільшити)\*. Програма змінить розмір графіка і відцентрує його на вибраній області.

**Примітка.** \* У випадку стовпчастої діаграми вибрати команду Zoom (Збільшити) у спливаючому меню не потрібно.

### Щоб відновити графік до повного перегляду

- ▶ Клацніть правою кнопкою миші на графіку і виберіть Set Scale to Default (Встановити масштаб за замовчуванням).

## Копіювання графіків у файл Microsoft

Графіки даних можна копіювати в документи Microsoft Word, Excel або PowerPoint. Роздільна здатність зображення відповідає роздільній здатності екрана, з якого було отримано зображення

### Копіювання графіків у файл Microsoft

1. У вікні Data Analysis (Аналіз даних) виберіть Copy (Копіювати) з контекстного меню графіка.
2. Відкрийте порожній файл Microsoft і вставте дані з буфера обміну.



**Альтернативний спосіб:** натисніть значок «перетягування кнопкою миші» та перетягніть графік у файл Microsoft.

## Таблиці

Таблиці, відображені у вікні Data Analysis (Аналіз даних), включають в себе можливості для сортування та переміщення даних. Сортуйте колонки одним з наступних способів:

- Клацніть на колонці та перетягніть її на нове місце в обраній таблиці.
- Клацніть на заголовку колонки, щоб відсортувати дані в порядку зростання або в порядку спадання.

### Щоб відсортувати до трьох колонок даних у вікні Sort (Сортувати)

1. Клацніть правою кнопкою миші в таблиці і виберіть Sort (Сортувати).
2. В діалоговому вікні Sort (Сортувати) виберіть заголовок першої колонки, яку потрібно відсортувати. Відсортуйте дані в порядку зростання або в порядку спадання.
3. Виберіть другу або третю колонку для сортування, після чого виберіть Ascending (В порядку зростання) або Descending (В порядку спадання).
4. Натисніть ОК, щоб відсортувати дані, або натисніть Cancel (Скасувати), щоб зупинити сортування.

Виділіть дані на відповідних графіках та інструменті вибору лунок, утримуючи курсор миші на комірці. Клацніть у комірці, щоб скопіювати і вставити її вміст в іншу програму.

## Стандартні елементи контекстного меню для таблиць

У [Таблиця 19](#) наведено елементи контекстного меню, доступні в будь-якому табличному поданні.

**Таблиця 19. Елементи контекстного меню для таблиць**

Елемент	Функція
Сору (Копіювати)	Копіювання вмісту вибраних лунок у буфер обміну для подальшого вставлення вмісту в таблицю, як-от Excel
Сору as Image (Копіювати як зображення)	Копіювання табличного подання як файлу зображення для вставлення його у файл, що підтримує файли зображення, як-от текстові файли, файли зображень чи таблиці
Print (Друк)	Друк поточного подання
Print Selection (Друкувати вибране)	Друк вибраних елементів

**Таблиця 19. Елементи контекстного меню для таблиць, продовження**

<b>Елемент</b>	<b>Функція</b>
Export to Excel (Експортувати в Excel)	Експорт даних у таблицю Excel
Export to CSV (Експортувати у файл CSV)	Експорт даних у файл із роздільниками-комами (.csv)
Export to Xml (Експортувати у форматі XML)	Експорт даних у файл XML
Export to Html (Експортувати у форматі HTML)	Експорт даних у файл HTML
Find (Знайти)	Пошук тексту
Sort (Сортування)	Сортування даних в 1–3 стовпцях
Select Columns (Вибрати стовпці)	Вибір стовпців, які відобразатимуться в таблиці

## Експорт

Програмне забезпечення CFX Manager Dx дозволяє зробити вибір з чотирьох варіантів експорту у відповідному випадючому меню:

- Export All Data Sheets (Експорт усіх аркушів даних)
- Custom Export (Експорт за заданими налаштуваннями)
- Export to LIMS (Експорт у LIMS (Лабораторна система управління інформацією))
- Seegene Export (Експорт для використання компанією Seegene)

### Експорт усіх аркушів даних

Всі перегляди таблиць з кожної вкладки Програмне забезпечення CFX Manager Dx можна експортувати в окремі файли.

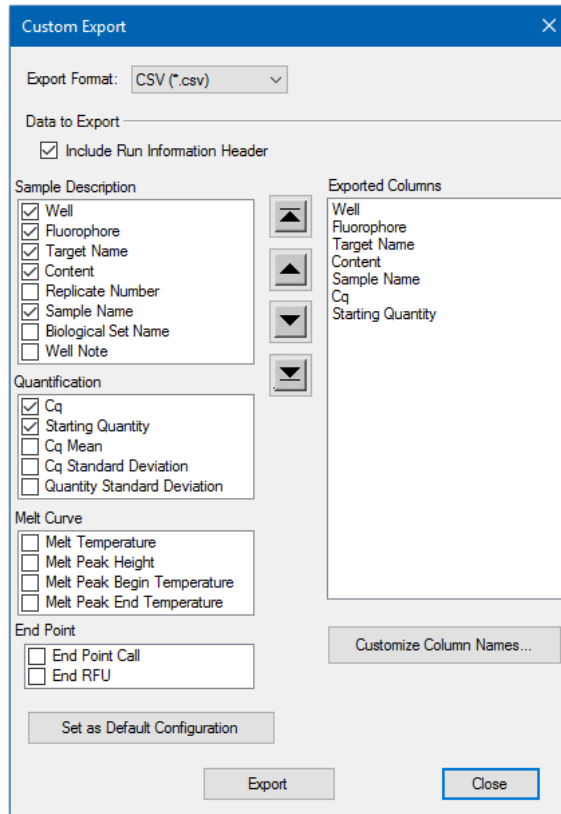
#### Щоб експортувати усі листки даних

- ▶ Виберіть Export (Експорт) > Export All Data Sheets (Експорт усіх аркушів даних), а потім виберіть необхідний тип файла:
  - CSV (\*.csv)
  - Text (\*.txt)
  - Excel 2007 (\*.xlsx)
  - Excel 2003 (\*.xls)
  - XML (\*.xml)

## Створення спеціального файлу для експорту

### Створення спеціального файлу для експорту

1. Виберіть Export > Custom Export (Експорт > Експорт за заданими налаштуваннями). Відкриється діалогове вікно Custom Export (Експорт за заданими налаштуваннями).



2. Виберіть формат експорту з випадаючого списку, що відкриється.
3. Поставте прапорці біля елементів, які плануєте експортувати.
4. (Додатково) Натисніть Customize Column Names (Налаштувати назви стовпців), щоб змінити назви стовпців.
5. Натисніть Export (Експорт). Відкриється діалогове вікно Save As (Зберегти як).
6. У діалоговому вікні Save As (Зберегти як) укажіть назву файлу та розташування, у якому буде збережено експортований файл.
7. Натисніть ОК, щоб зберегти експортований файл.



## Експорт у папку LIMS (Лабораторна система управління інформацією)

Можна експортувати дані у формат, сумісний із LIMS (Лабораторна система управління інформацією).

### Щоб експортувати дані у формат LIMS (Лабораторна система управління інформацією), виконайте дії далі.

1. Послідовно виберіть елементи Export > Export to LIMS Folder (Експорт > Експорт у папку лабораторної системи управління інформацією (LIMS)).  
Відкриється діалогове вікно Save As (Зберегти як).
2. У діалоговому вікні Save As (Зберегти як) укажіть назву файлу та розташування, у якому буде збережено експортований файл.
3. Натисніть ОК, щоб зберегти експортований файл.

## Експорт даних у спеціальному форматі для використання компанією Seegene

Користувач може експортувати дані з усіх таблиць у файли Excel зі структурою, призначеною спеціально для використання компанією Seegene, Inc.

### Щоб експортувати дані в спеціальний формат Seegene

1. Виберіть Export (Експорт) > Seegene Export (Експорт для використання компанією Seegene).  
З'явиться діалогове вікно Save As (Зберегти як).
2. В діалоговому вікні Save As (Зберегти як) вкажіть шлях до папки, де потрібно зберегти експортовані файли Excel (.xlsx) у форматі Seegene.
3. Натисніть ОК, щоб зберегти експортовані файли.



## Розділ 10 Деталі аналізу даних

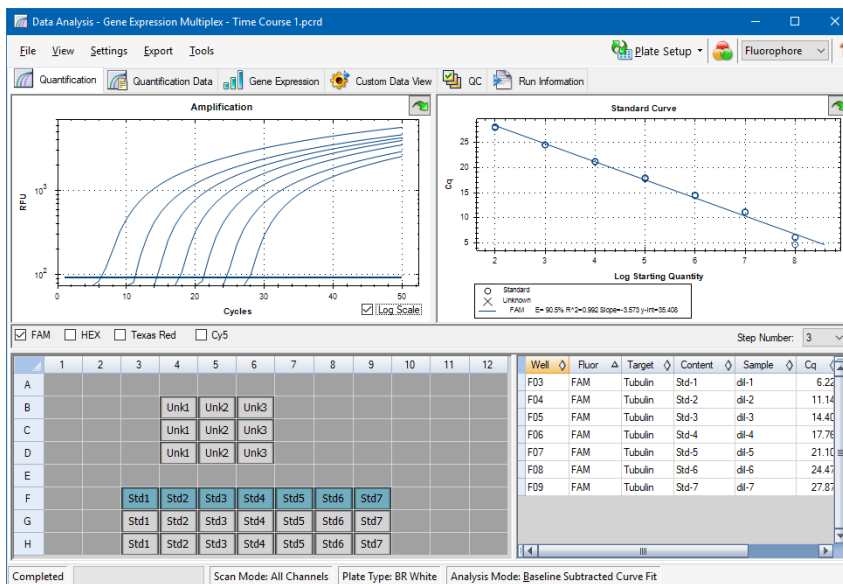
Вікно Data Analysis (Аналіз даних) програми CFX Manager Dx містить кілька вкладок для перегляду даних. У цьому розділі ці вкладки описуються докладно.

**Підказка.** Вибрати вкладки, що відображуються у вікні Data Analysis (Аналіз даних), можна за допомогою меню View (Перегляд). Задана користувачем структура вкладок зберігається з файлом даних.

## Вкладка Quantification (Кількісний аналіз)

Використовуючи дані на вкладці Quantification (Кількісний аналіз), установить умови аналізу даних, включно з параметрами базової лінії для окремих лунок і налаштуваннями порогових значень. Вкладка Quantification (Кількісний аналіз) відображає дані в зазначених далі чотирьох виглядах.

- Графік Amplification (Ампліфікація) — відображає відносні одиниці флуоресценції (RFU (Відносна одиниця флуоресценції)) для кожної лунки під час кожного циклу. Кожна крива на графіку представляє дані одного флуорофору в одній лунці.
- Standard curve (Стандартна крива) — з'являється, тільки якщо підхід включає лунки, позначені як стандарт типу проб (Std (Станд.)). Стандартна крива відображає пороговий цикл, нанесений залежно від логарифма початкової кількості. Легенда відображає ефективність реакції (E) для кожного флуорофору в лунках зі стандартним типом проби.
- Селектор лунок — вибирає лунки з даними флуоресценції, які потрібно показати.
- Таблиця — відображає таблицю даних, зібраних у вибраних лунках.



## Параметри флуорофору

Щоб відобразити дані флуорофору на вкладці Quantification (Кількісний аналіз) і в таблицях, виберіть цільовий флуорофор внизу графіка Amplification (Ампліфікація). Щоб у вікні аналізу даних приховати дані флуорофору, зніміть білий прапорець.

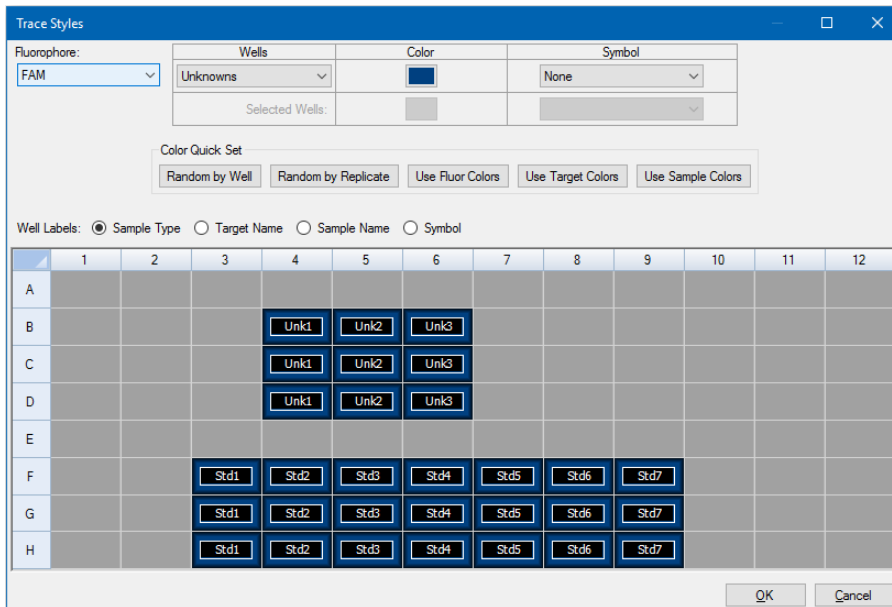
## Діалогове вікно Trace Styles (Вигляд кривих)

За допомогою діалогового вікна Trace Styles (Вигляд кривих) можна налаштувати вигляд кривих на графіках ампліфікації та кривих плавлення на вкладках Quantification (Кількісний аналіз) і Melt Curve (Крива плавлення). Потім можна здійснити попередній перегляд змін у селекторі лунок, що відображається в діалоговому вікні Trace Styles (Вигляд кривих).

### Налаштування вигляду кривих

1. Виберіть тільки один флуорофор під графіком Amplification (Ампліфікація).
2. Щоб відкрити діалогове вікно Trace Styles (Вигляд кривих), виконайте одну з таких дій:
  - натисніть пункт Trace Styles (Вигляд кривих) на графіку Amplification (Ампліфікація);
  - послідовно виберіть елементи Settings > Trace Styles (Налаштування > Вигляд кривих) у рядку меню Data Analysis (Аналіз даних);
  - клацніть правою кнопкою миші криву та виберіть елемент Trace Styles (Вигляд кривих).

Відобразиться діалогове вікно Trace Styles (Вигляд кривих).

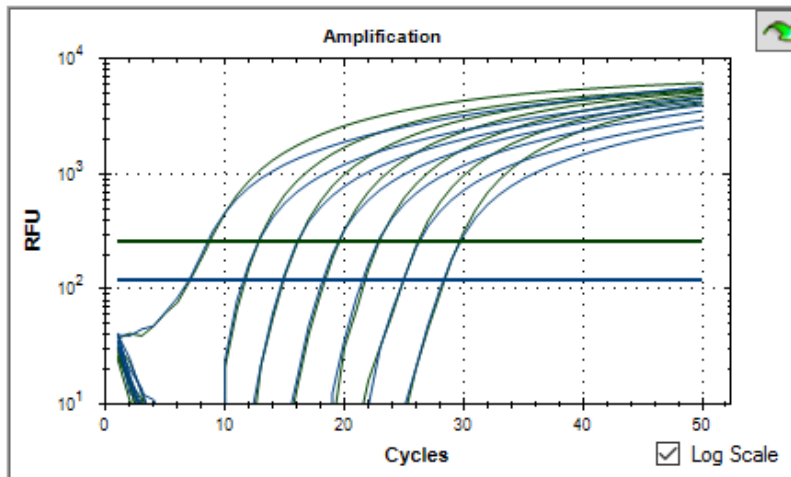


3. У діалоговому вікні Trace Styles (Вигляд кривих) виберіть певний набір лунок у селекторі лунок у нижній панелі. Або у випадяючому меню в стовпці Wells (Лунки) виберіть лунки, які містять один тип проб.

4. Виконайте будь-яку з наведених далі дій.
  - Щоб задати колір вибраним лункам, натисніть поле в стовпці Color (Колір).
  - Щоб призначити символ вибраним лункам, виберіть символ із випадваючого списку Symbol (Символ).
  - Щоб швидко зафарбувати лунки в залежності від підпису кнопки, натисніть відповідний швидкий набір:
    - Random by Well (Випадково за лункою);
    - Random by Replicate (Випадково за реплікатом);
    - Use Fluor Colors (Використати кольори флуорів);
    - Use Target Colors (Використати кольори мішеней);
    - Use Sample Colors (Використати кольори проб).
  - Щоб призначити підписи лунок, виберіть один з елементів: Sample Type (Тип проби), Target Name (Назва мішені), Sample Name (Назва проби) або Symbol (Символ).

## Опція Log Scale (Логарифмічна шкала)

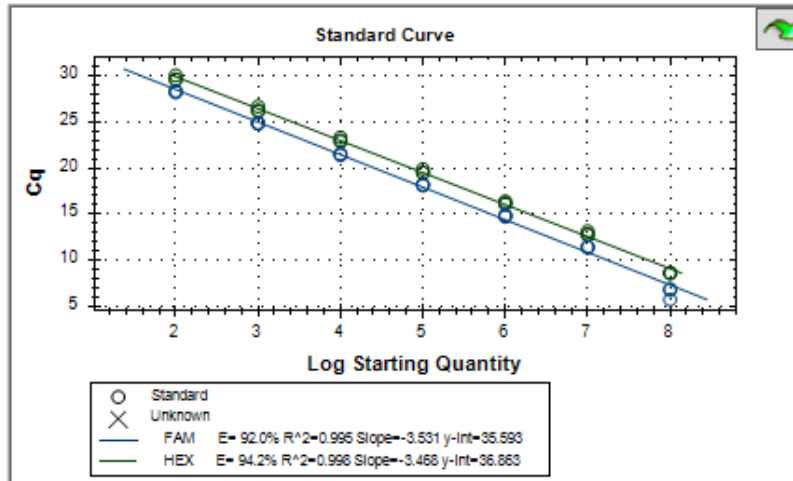
Виберіть Log Scale (Логарифмічна шкала) під графіком Amplification (Ампліфікація), щоб переглядати криві флуоресценції в напівлогарифмічному масштабі:



**Підказка.** Щоб збільшити область на графіку, перетягніть курсор миші по необхідній області. Щоб повернутися до повного перегляду, клацніть правою кнопкою миші на графіку і виберіть Set Scale to Default (Встановити масштаб за замовчуванням).

## Графік Standard Curve (Стандартна крива)

Програмне забезпечення створює графік Standard Curve (Стандартна крива) на вкладці Quantification (Кількісний аналіз), якщо дані включають типи проб, визначені як Std (Станд.) для принаймні одного флуорофору в підході.



На графіку Standard Curve (Стандартна крива) відображається наведена нижче інформація.

- Назва кожної кривої (флуорофор або мішень)
- Колір кожного флуорофору або мішені
- Ефективність реакції (E). Використовуйте цю статистику, щоб оптимізувати мультиплексну реакцію та вирівняти дані для стандартної кривої.

**Примітка.** Ефективність реакції показує, скільки мішені виробляється з кожним циклом у протоколі. Ефективність 100 % означає, що кількість мішені подвоюється з кожним циклом;

- Коефіцієнт детермінації,  $R^2$  (записано як  $R^2$ ). Використовуйте цю статистику, щоб визначити, наскільки правильно лінія описує дані (критерій відповідності).
- Нахил
- Точка перетину з віссю Y

## Пункти меню графіка Amplification (Ампліфікація)

Крім загальних пунктів контекстного меню для графіків (див. розділ [Стандартні елементи контекстного меню для графіків на стор. 194](#)), [Таблиця 20](#) містить список параметрів меню, доступних тільки на графіку Amplification (Ампліфікація).

**Примітка.** Standard Curve (Графік стандартної кривої) містить лише загальні параметри контекстного меню.

**Таблиця 20. Пункти меню за лівою та правою кнопками миші для графіків ампліфікації**

Пункт меню	Функція
Show Threshold Values (Показати порогові значення)	Відображення порогового значення для кожної кривої ампліфікації на графіку.
Trace Styles (Вигляд кривих)	Відкриття вікна Trace Styles (Вигляд кривих) для зміни вигляду даних на вкладках Quantification (Кількісний аналіз) і Melt Curve (Крива плавлення).
Baseline Thresholds (Базова лінія / Порогові рівні)	Відкриття вікна Baseline Thresholds (Базова лінія / Порогові рівні) для зміни базової лінії або порогових значень кожного флуорофору. Зміни з'являються на графіку Amplification (Ампліфікація) на вкладці Quantification (Кількісний аналіз).



## Таблиця вкладки Quantification (Кількісний аналіз)

У [Таблиця 21](#) описано дані, які відображаються в таблиці на вкладці Quantification (Кількісний аналіз).

**Таблиця 21. Дані таблиці на вкладці Quantification (Кількісний аналіз)**

Інформація	Опис
Лунка	Положення лунки в планшеті
Флуорофор	Виявлений флуорофор
Мішень	Назва мішені, завантаженої в лунки в Plate Editor (Редактор планшетів)
Вміст	Поєднання типу проби (обов'язково) і номера репліката (необов'язково), завантажених у Plate Editor (Редактор планшетів)
Проба	Назва проби, завантаженої в лунки в Plate Editor (Редактор планшетів)
C <sub>q</sub>	Цикл кількісного аналізу для кожної кривої

### Зміна даних мішені, вмісту або проби

Дані в колонках Target (Мішень), Content (Вміст) і Sample (Проба) можна змінювати шляхом редагування файлу планшета за допомогою вікна Plate Editor (Редактор планшетів) навіть після виконання експерименту.

#### Щоб змінити дані в колонках Target (Мішень), Content (Вміст) і Sample (Проба)

- ▶ Натисніть Plate Setup (Налаштування планшетів) і виберіть View/Edit Plate (Переглянути/редагувати планшет), щоб відкрити Plate Editor (Редактор планшетів).

## Вкладка Quantification Data (Кількісні дані)

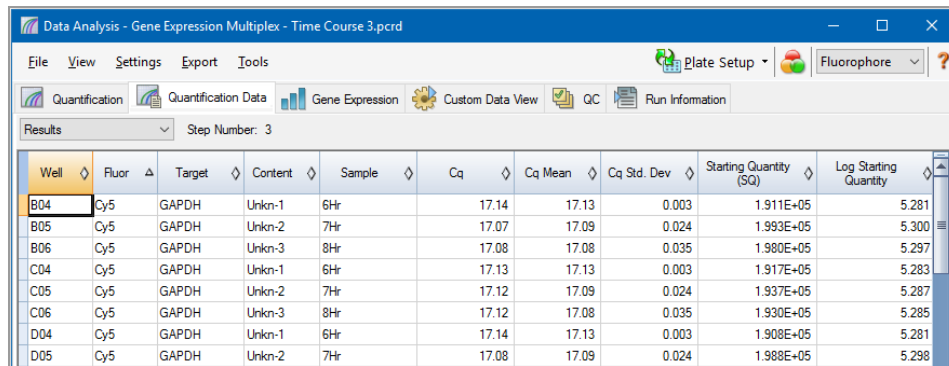
Вкладка Quantification Data (Кількісні дані) відображає кількісні дані, зібрані в кожній лунці. У програмному забезпеченні Програмне забезпечення CFX Manager Dx доступні такі чотири вигляди електронних таблиць.

- Results (Результати) — відображення таблиці даних. Це вигляд за замовчуванням.
- Standard Curve Results (Параметри стандартної кривої) — відображення таблиці даних стандартної кривої.
- Plate (Планшет) — відображення даних у кожній лунці як карти даних планшета.
- RFU (Відносна одиниця флуоресценції) — відображення показника RFU (Відносна одиниця флуоресценції) в кожній лунці для кожного циклу.

Виберіть кожну таблицю з випадаючого списку, що відображається на вкладці Quantification Data (Кількісні дані).

## Таблиця Results (Результати)

Таблиця Results (Результати) відображає дані для кожної лунки в планшеті.



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

**Примітка.** Усі стандартні відхилення (Std. Dev (Стандартні відхилення)) застосовуються до груп реплікацій, призначених у лунках у вікні Plate Editor (Редактор планшетів). Обчислення середнього значення  $C_q$  для кожної лунки в групі реплікацій.

Таблиця 22 визначає дані, що відображаються в таблиці Results (Результати).

Таблиця 22. Дані таблиці результатів

Інформація	Опис
Well (Лунка)	Положення лунки в планшеті
Fluor (Флуорофор)	Виявлений флуорофор
Target (Мішень)	Назва мішені ампліфікації (ген)
Content (Вміст)	Тип проби та номер реплікації
Sample (Проба)	Опис проби
Biological Set Name (Назва біологічного набору)	Назва біологічного набору
$C_q$	Цикл кількісного аналізу
$C_q$ Mean (Середнє значення $C_q$ )	Середнє значення циклу кількісного аналізу для групи реплікацій
$C_q$ Std. Dev (Станд. відх. $C_q$ )	Стандартне відхилення циклу кількісного аналізу для групи реплікацій
Starting Quantity (SQ) (Початкова кількість)	Оціночна початкова кількість мішені
Log Starting Quantity (Логарифм початкової кількості)	Логарифм початкової кількості
SQ Mean (Серед. знач. поч. кільк.)	Середнє значення початкової кількості
SQ Std. Dev (Станд. відх. $C_q$ )	Стандартне відхилення початкової кількості серед реплікацій

## Таблиця Standard Curve Results (Параметри стандартної кривої)

В таблиці Standard Curve Results (Параметри стандартної кривої) відображуються обчислені параметри стандартної кривої.

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

В [Таблиця 23](#) зазначені дані, що відображаються в таблиці Standard Curve Results (Параметри стандартної кривої).

**Таблиця 23. Дані таблиці Standard Curve Results (Параметри стандартної кривої)**

Інформація	Опис
Fluor (or Target) (Флуорофор (або Мішень))	Виявлений флуорофор (або мішень)
Efficiency % (Ефективність %)	Ефективність реакції
Slope (Нахил)	Нахил стандартної кривої
Y-intercept (Точка перетину з віссю Y)	Точка, в якій крива перетинається з віссю Y
R <sup>2</sup>	Коефіцієнт детермінації

## Таблиця Plate (Планшет)

Таблиця Plate (Планшет) відображає карту даних планшета для одного флуорофору за раз.

The screenshot shows the 'Plate' tab in the software. The 'Output' section has checkboxes for Content, Sample, Cq, and Starting Quantity, all of which are checked. The data grid is as follows:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	Content								
	Sample								
	Cq								
	copy number								
B	Content				Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3		
	Sample				6Hr	7Hr	8Hr		
	Cq				27.36	22.11	19.07		
	copy number				2.14e+02	6.60e+03	4.78e+04		
C	Content				Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3		
	Sample				6Hr	7Hr	8Hr		
	Cq				30.38	22.11	19.24		
	copy number				3.00e+01	6.58e+03	4.27e+04		

Щоб переглянути дані для певного флуорофору,

- ▶ клацніть його вкладку внизу таблиці.

## Таблиця RFU (Відносна одиниця флуоресценції)

Таблиця RFU (Відносна одиниця флуоресценції) відображає результат (RFU) для кожної лунки в кожному циклі підходу. Номер лунки з'являється у верхній частині кожного стовпця, а номер циклу відображається ліворуч від кожного рядка.

The screenshot shows the 'RFU' tab in the software. The data grid is as follows:

Cycle	B4	B5	B6	C4	C5	C6	D4	D5	D6	F3	F4	F5
1	45.6	11.6	15.0	5.48	7.14	23.6	1.35	-17.5	192	39.9	30.6	35.5
2	29.9	5.01	5.65	0.0416	-0.989	12.4	-0.689	-17.2	157	39.4	20.4	15.2
3	15.0	0.773	6.65	-2.41	-0.154	9.63	-3.27	-6.84	133	44.9	13.8	8.62
4	6.29	3.24	5.62	-0.119	-1.37	7.70	2.58	-3.87	112	47.9	6.28	4.95
5	5.02	2.66	3.65	1.75	3.86	4.31	-3.29	0.0588	92.1	63.4	1.48	3.60
6	-2.71	2.83	0.862	3.84	3.17	7.76	2.50	8.79	65.9	84.3	-4.18	1.53
7	-9.01	-0.350	1.51	-0.970	4.06	3.31	-0.340	5.18	45.7	121	-8.35	-4.28

## Вкладка Melt Curve (Крива плавлення)

**Юридична примітка:** Компанія Bio-Rad не надає ніяких прав на використання аналізу кривої плавлення при проведенні аналізів кривих плавлення з високою роздільною здатністю для діагностики *in vitro* в області медицини або ветеринарії. Крім того, покупець несе відповідальність за отримання будь-яких прав на інтелектуальну власність, які можуть знадобитися у зв'язку із застосуванням цієї інтелектуальної власності.

При використанні ДНК-зв'язуючих барвників і гібридизаційних зондів, що не розщеплюються, найбільш яскрава флуоресценція спостерігається, коли дві нитки ДНК ренатурують. Тому по мірі того, як температура піднімається до значення температури плавлення ( $T_m$ ), флуоресценція знижується з постійною швидкістю (постійний нахил). При досягненні  $T_m$  спостерігається виражене скорочення флуоресценції, яке супроводжується помітною зміною нахилу. Швидкість цієї зміни визначається шляхом побудови графіка залежності негативної регресії флуоресценції від температури ( $-d(\text{RFU})/dT$ ). Найбільша швидкість зміни флуоресценції призводить до появи видимих піків і представляє  $T_m$  двохспіральных комплексів ДНК.

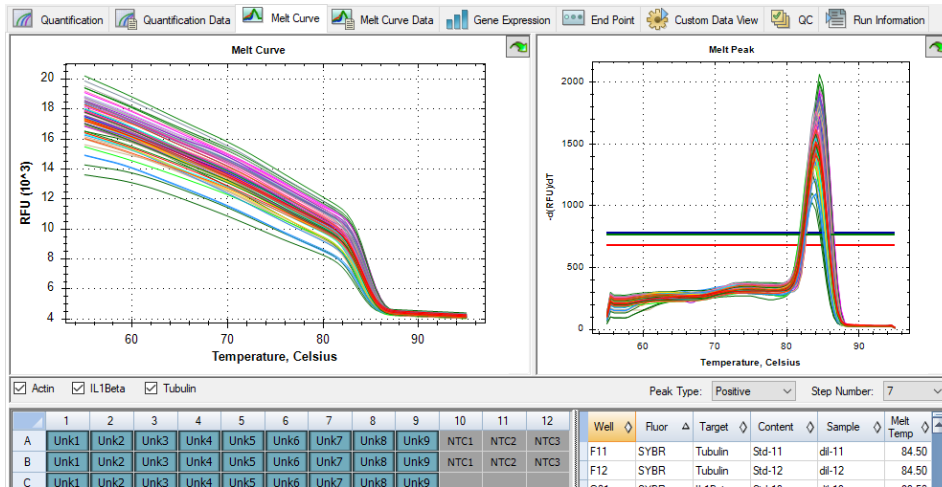
Програмне забезпечення CFX Manager Dx будує графік даних RFU (Відносна одиниця флуоресценції), зібраних під час кривої плавлення, як функцію температури. Щоб проаналізувати дані піка плавлення, програма призначає початкову і кінцеву температуру кожному піку, переміщуючи планку порога. Нижня межа області піка визначається на підставі положення планки порога плавлення. Прийнятний пік повинен мати мінімальну висоту по відношенню до відстані між планкою порога і висотою найвищого піка.

На вкладці Melt Curve (Крива плавлення) відображується  $T_m$  (температура плавлення) ампліфікованих продуктів ПЛР в чотирьох переглядах:

- Melt Curve (Крива плавлення) — відображує дані реального часу для кожного флуороскопа як кількість RFU (Відносна одиниця флуоресценції) на температуру для кожної лунки.
- Melt Peak (Пік плавлення) — відображує негативну регресію даних RFU (Відносна одиниця флуоресценції) на температуру для кожної лунки.
- Well selector (Інструмент вибору лунок) — відображує лунки, дані яких потрібно показати або сховати.

- Peak spreadsheet (Таблиця піків) — відображує дані, зібрані у вибраній лунці.

**Примітка.** У цій таблиці відображуються не більше двох піків для кожної кривої. Щоб бачити більше піків, перейдіть на вкладку Melt Curve Data (Дані кривої плавлення).



В [Таблиця 24 на стор. 217](#) зазначені дані, що відображуються в таблиці Melt Curve (Крива плавлення).

**Таблиця 24. Дані таблиці Melt Curve (Крива плавлення)**

Інформація	Опис
Well (Лунка)	Положення лунки в планшетах
Fluor (Флуорофор)	Виявлений флуорофор
Content (Вміст)	Поєднання типу проби і номера репліката
Sample (Проба)	Назва проби, завантаженої в Plate Editor (Редактор планшетів)

**Таблиця 24. Дані таблиці Melt Curve (Крива плавлення), продовження**

Інформація	Опис
Melt Temp (Температура плавлення)	Температура піка плавлення для кожної лунки
	<b>Примітка.</b> В таблиці відображуються тільки два найвищих піка.



## Налаштування даних Melt Curve (Крива плавлення)

### Щоб налаштувати дані Melt Curve (Крива плавлення)

- ▶ Виконайте одну з наступних дій:
  - Клацніть кнопкою миші на планках порогу на графіку Melt Peak (Пік плавлення) і перетягніть їх, щоб включити піки в аналіз даних чи виключити піки з аналізу даних.
  - Виберіть Positive (Позитивні) у випадаючому меню Peaks (Піки), щоб відобразити дані таблиці для піків, що перевищують лінію Melt Threshold (Поріг плавлення), або виберіть Negative (Негативні), щоб відобразити дані таблиці для піків, що знаходяться нижче лінії Melt Threshold (Поріг плавлення).
  - Відкрийте вікно Trace Styles (Вигляд кривих), щоб змінити колір кривих на графіках Melt Curve (Крива плавлення) і Melt Peak (Пік плавлення).
  - Виберіть номер в інструменті вибору Step Number (Номер кроку), щоб переглянути дані Melt Curve (Крива плавлення) під час іншого кроку в протоколі. У списку відображується більше одного кроку, якщо протокол включає зчитування планшета під час більше ніж одного кроку кривої плавлення.
  - Виберіть лунки в інструменті вибору лунок, щоб зосередитися на підмножинах даних.
  - Виберіть групу лунок для перегляду та аналізу підмножини лунок у планшеті. Виберіть кожну групу лунок за назвою з випадаючого меню Well Group (Група лунок) на панелі інструментів.

## Вкладка Melt Curve Data (Дані кривої плавлення)

На вкладці Melt Curve Data (Дані кривої плавлення) відображаються дані з вкладки Melt Curve (Крива плавлення) в декількох таблицях, що містять всі піки плавлення для кожної кривої. Програмне забезпечення CFX Manager DX має чотири варіанти таблиць для перегляду даних кривої плавлення:

- Melt Peaks (Піки плавлення) — відображаються всі дані, включаючи всі піки плавлення, для кожної кривої. Це перегляд за замовчуванням.
- Plate (Планшет) — відображується перегляд даних і вмісту кожної лунки в планшеті.
- RFU (Відносна одиниця флуоресценції) — відображується кількість RFU (Відносна одиниця флуоресценції) за кожної температури для кожної лунки.
- $-d(\text{RFU})/dT$  — відображується негативна швидкість зміни RFU (Відносна одиниця флуоресценції) зі зміною температури (T). Це перший графік регресії для кожної лунки в планшеті.

Вибирайте кожну таблицю у випадаючому списку, що відображується під вкладкою Melt Curve Data (Крива плавлення).

## Таблиця Melt Peaks (Піки плавлення)

В таблиці Melt Peaks (Піки плавлення) відображуються всі дані кривої плавлення.

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

В [Таблиця 25 на стор. 221](#) зазначені дані, що відображуються в таблиці Melt Peaks (Піки плавлення).

Таблиця 25. Дані, що наводяться в таблиці Melt Peaks (Піки плавлення)

Інформація	Опис
Well (Лунка)	Положення лунки в планшеті
Fluor (Флуорофор)	Виявлений флуорофор
Content (Вміст)	Тип проби, зазначений у вікні Plate Editor (Редактор планшетів)
Target (Мішень)	Мішень ампліфікації (ген)
Sample (Проба)	Назва проби, зазначена у вікні Plate Editor (Редактор планшетів)
Melt Temperature (Температура плавлення)	Температура плавлення кожного продукту, вказана у вигляді одного (найвищого піка) для кожного рядка у таблиці
Peak Height (Висота піка)	Висота піка
Begin Temperature (Початкова температура)	Температура на початку піка
End Temperature (Кінцева температура)	Температура в кінці піка

## Таблиця Plate (Планшет)

В таблиці Plate (Планшет) відображуються дані кривої плавлення у форматі планшета.

		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								

**Примітка.** Щоб налаштувати пік для пошуку програмою, скоригуйте порогову лінію на графіку Melt Peak (Пік плавлення) на вкладці Melt Curve (Крива плавлення).

В [Таблиця 26 на стор. 222](#) зазначені дані, що відображуються в таблиці Plate (Планшет).

**Таблиця 26. Дані таблиці Plate (Планшет)**

Інформація	Опис
Content (Вміст)	Поєднання типу проби (обов'язково) і номера репліката (необов'язково)
Sample (Проба)	Опис проби
Peak 1 (Пік 1)	Перший пік плавлення (найвищий)
Peak 2 (Пік 2)	Другий (нижчий) пік плавлення

### Таблиця RFU (Відносна одиниця флуоресценції)

Таблиця RFU (Відносна одиниця флуоресценції) відображає флуоресценцію для кожної лунки в кожному циклі, отриманої для кривої плавлення.

[Таблиця 27](#) визначає дані, що відображаються в таблиці RFU (Відносна одиниця флуоресценції).

**Таблиця 27. Дані таблиці RFU (Відносна одиниця флуоресценції)**

Інформація	Опис
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (Номер лунки (A1, A2, A3, A4, A5))	Положення лунки на планшеті для завантажених лунок
Temperature (Температура)	Температура плавлення ампліфікованої мішені, показана як одна лунка на рядок і кілька лунок для кількох продуктів у тій самій лунці

## Таблиця -d(RFU)/dT

В таблиці -d(RFU)/dT відображується негативна швидкість зміни RFU (Відносна одиниця флуоресценції) зі зміною температури (Т).

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

В [Таблиця 28](#) зазначені дані, що відображуються в таблиці -d(RFU)/dT.

**Таблиця 28. Дані таблиці -d(RFU)/dT**

Інформація	Опис
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (Номер лунки (A1, A2, A3, A4, A5))	Положення лунки на планшеті для завантажених лунок
Temperature (Температура)	Негативна швидкість зміни RFU (Відносна одиниця флуоресценції) зі зміною температури (Т).

## Вкладка End Point (Кінцева точка)

Відкрийте вкладку End Point (Кінцева точка), щоб виконати аналіз кінцевих відносних одиниць флуоресценції (RFUs) для лунок із пробами. Програмне забезпечення порівнює рівні RFU (Відносна одиниця флуоресценції) для лунок із невідомими пробами з рівнями відносною одиниці флуоресценції (RFU) для лунок із негативним контролем і визначає невідому пробу як позитивну або негативну. Значення RFU (Відносна одиниця флуоресценції) позитивних проб більше, ніж середнє значення RFU (Відносна одиниця флуоресценції) негативного контролю разом із пороговим значенням.

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	

Щоб проаналізувати дані кінцевої точки, планшет має містити проби негативного контролю, інакше програмне забезпечення не зможе зробити визначення. Запустіть один із двох типів протоколів, описаних далі.

- Запустіть протокол Quantification (Кількісний аналіз), щоб налаштувати стандартний протокол. Після завершення підходу відкрийте вікно Data Analysis (Аналіз даних), налаштуйте параметри аналізу даних на вкладці Quantification (Кількісний аналіз), а потім перейдіть на вкладку End Point (Кінцева точка), щоб вибрати цикл кінцевої точки.
- Запустіть протокол End Point Only (Тільки кінцева точка), щоб завантажити протокол End Point Only (Тільки кінцева точка) на вкладці Plate (Планшети) у вікні Run Setup (Налаштування підходу), виберіть або створіть планшет і почніть підхід.

На вкладці End Point (Кінцева точка) відображаються середні значення RFU (Відносна одиниця флуоресценції), щоб визначити, чи була мішень ампліфікована останнім (кінцевим) циклом. Використовуйте ці дані, щоб визначити, чи в пробі присутня конкретна послідовність мішені (позитивна). Позитивні мішені мають вищі значення RFU (Відносна одиниця флуоресценції), ніж визначений вами пороговий рівень.

**Підказка.** Щоб створити протокол кінцевої точки, відкрийте вкладку Protocol (Протокол) (у вікні Run Setup (Налаштування підходу)) і послідовно виберіть елементи Run > End Point Only Run (Підхід > Підхід тільки для кінцевої точки).

Коли підхід завершено, файл даних відкривається на вкладці End Point (Кінцева точка), яка містить зазначені далі розділи.

- Settings (Налаштування) — налаштування параметрів аналізу даних.
- Results (Результати) — відображення результатів одразу після завершення налаштування параметрів.
- Well Selector (Селектор лунок) — вибір лунок із даними кінцевої точки, які потрібно показати.
- RFU spreadsheet (Таблиця RFU (Відносна одиниця флуоресценції)) — відображення останніх значень RFU (Відносна одиниця флуоресценції), зібраних у вибраних лунках.

## Дані результатів

У розділі Results (Результати) відображаються наступні дані:

- Lowest RFU value (Найменше значення в RFU) — найменше значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) для наявних даних
- Highest RFU value (Найбільше значення в RFU) — найбільше значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) для наявних даних
- Negative Control Average (Середнє для негативних контролів) — середнє значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) для лунок з негативними контролями
- Cut Off Value (Граничне значення) — обчислюється шляхом додавання допуску (значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) або Percentage of Range (Відсоток від діапазону), зазначені в налаштуваннях) до середнього для негативних контролів. Проби зі значеннями в RFU, що перевищують граничне значення, визначаються як позитивні («Positive»). Щоб скорегувати граничне значення, змініть значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) або Percentage of Range (Відсоток від діапазону)

Cut Off Value (Граничне значення) обчислюється за такою формулою:

$$\text{Граничне значення} = \text{Середнє для негативних контролів} + \text{Допуск}$$

Допуск задається одним з наступних способів:

- RFUs (Значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції)) (за замовчуванням) — виберіть цей спосіб, щоб використовувати для допуску абсолютне значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції). Мінімальне значення допуску в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) дорівнює 2. Максимальним є найбільше абсолютне значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) мінус найменше абсолютне значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції). Значення допуску в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) за замовчуванням становить 10% від загального діапазону RFU (Відносна одиниця флуоресценції).
- Percent of Range (Відсоток від діапазону) — виберіть цей спосіб, щоб використовувати для допуску відсоток від діапазону значень в RFU (Відносна одиниця флуоресценції). Мінімальний відсоток від діапазону: 1%. Максимальний відсоток від діапазону: 99%. Відсоток від діапазону за замовчуванням: 10%.



## Налаштування аналізу даних кінцевої точки

### Налаштування аналізу даних кінцевих точок на вкладці End Point (Кінцева точка)

- ▶ Виконайте будь-яку з наведених далі дій.
  - виберіть флуорофор із випадуючого списку;
  - виберіть значення End Cycle to Average (Кінцевий цикл до середнього), щоб задати кількість циклів, за допомогою яких розраховується середнє значення RFU (Відносна одиниця флуоресценції) для кінцевої точки;
  - виберіть RFUs (Відносна одиниця флуоресценції), щоб переглянути дані у відносних одиницях флуоресценції;
  - виберіть Percentage of Range (Відсоток діапазону), щоб переглянути дані у відсотках від діапазону RFU (Відносна одиниця флуоресценції);
  - виберіть лунки в селекторі лунок, щоб зосередитися на підмножинах даних;
  - виберіть групу лунок для перегляду та аналізу підмножини лунок у планшеті. Виберіть кожену групу лунок за назвою з випадуючого меню Well Group (Група лунок) на панелі інструментів.

## Таблиця відносної одиниці флуоресценції (RFU) для аналізу кінцевої точки

В [Таблиця 29](#) зазначені дані, що відображаються в таблиці RFU (Відносна одиниця флуоресценції) на вкладці End Point (Кінцева точка).

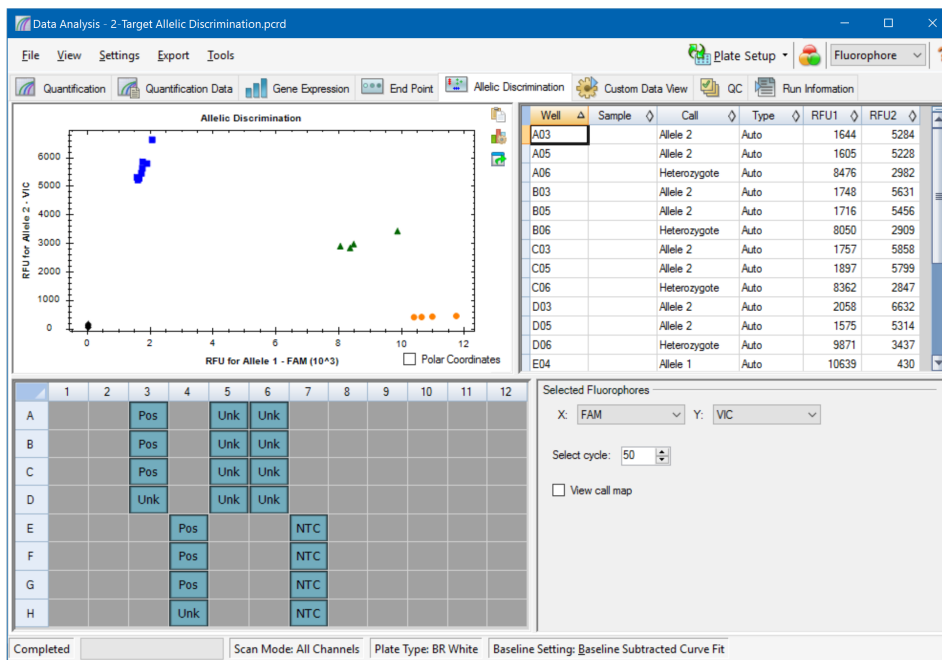
**Таблиця 29. Вміст таблиці End Point (Кінцева точка).**

Інформація	Опис
Well (Лунка)	Положення лунки в планшеті
Fluor (Флуорофор)	Виявлений флуорофор
Content (Вміст)	Поєднання типу проби і номера репліката
End RFU (RFU в кінці)	Значення в RFU (Відносна одиниця флуоресценції) в циклі кінцевої точки
Call (Визначення)	Positive (Позитивне) або Negative (Негативне): у позитивних проб значення в RFU перевищує середнє значення в RFU негативних зразків плюс граничне значення
Sample (Проба)	Назва проби, завантаженої в Plate Editor (Редактор планшетів)

## Вкладка Allelic Discrimination (Алельна дискримінація)

На вкладці Allelic Discrimination (Алельна дискримінація) можна призначати генотипи лункам із невідомими пробами. Використовуйте ці дані, щоб ідентифікувати проби з різними генотипами, зокрема «Алель 1», «Алель 2», «Гетерозигота», «Без визначення» (немає ампліфікації) або «Не визначено».

**Примітка.** Дані для алельної дискримінації мають надходити з кількох підходів із принаймні двома флуорофорами. Кожний флуорофор визначає один алель у всіх пробах.



Для аналізу алельної дискримінації необхідний мінімальний вміст лунки, який наведено нижче.

- Два флуорофори в кожній лунці
- Проби NTC (no template control — без контролю шаблону) для оптимізованого аналізу даних

Програмне забезпечення CFX Manager Dx має чотири варіанти для перегляду даних алельної дискримінації:

- Діаграма Allelic Discrimination (Алельна дискримінація) — відображає дані в графіку відносної одиниці флуоресценції (RFU) для алеля 1/алеля 2. Кожна точка на графіку зображує дані з обох флуорофорів в одній лунці. Можна переключатися між декартовою та полярною системою координат, ставлячи та знімаючи прапорець Polar Coordinates (Полярні координати). У декартовій системі координат відносна одиниця флуоресценції (RFU) для алеля 1 відображається на осі X, а для алеля 2 — на осі Y. У полярній системі координат кут відображається на осі X, а відстань між початком і відносною одиницею флуоресценції (RFU) — на осі Y (медіана всіх проб NTC).
- Well spreadsheet (Таблиця лунок) — відображає дані алельної дискримінації, зібрані з кожної лунки на планшеті.
- Well selector (Селектор лунок) — вибирає лунки з алельними даними, які ви хочете показати.
- Selected Fluorophores panel (Панель вибраних флуорофорів) — змінює мітки осей X та Y на діаграмі алельної дискримінації, цикл, що підлягає аналізу, і наявність відображення карти визначення.

## Налаштування даних для алельної дискримінації

Програма автоматично призначає генотип лункам з невідомими пробками на підставі позицій NTC (контроль без матриці), а також кута і відстані невідомих точок даних від NTC (контроль без матриці).

### Щоб налаштувати дані для алельної дискримінації

- ▶ Виконайте будь-яку з наведених далі дій.
  - Щоб відобразити полярні координати, встановіть прапорець на графіку Allelic Discrimination (Алельна дискримінація).
  - Щоб переглянути інший флуорофор, виберіть його у випадяючому списку на панелі Selected Fluorophores (Вибрані флуорофори).

- Щоб змінити визначення, перетягніть курсор через точки даних на графіку Allelic Discrimination (Алельна дискримінація) і виберіть у списку Selected Wells (Вибрані лунки) один з наступних варіантів:
  - Allele 1 (Алель 1)
  - Allele 2 (Алель 2)
  - Heterozygote (Гетерозигота)
  - Undetermined (Не визначено)
  - No Call (Без визначення)
  - Auto Call (Автоматичне визначення)

**Підказка.** Щоб повернутися до виклику за замовчуванням, виберіть Auto Call (Автоматичний виклик).

## Елементи меню графіка

Крім загальних пунктів контекстного меню для графіків (див. розділ [Стандартні елементи контекстного меню для графіків на стор. 194](#)), у [Таблиця 30](#) містяться пункти меню, доступні на діаграмі Allelic Discrimination (Алельна дискримінація).

**Таблиця 30. Пункти меню графіка Allelic Discrimination (Алельна дискримінація) (відкриваються натисканням правої або лівої клавіші миші)**

Пункт меню	Функція
Zoom (Збільшення)	Детальний перегляд вибраної області діаграми (для цього натисніть клавішу миші та перетягуйте курсор по діаграмі). <b>Підказка.</b> Щоб відновити відображення всіх точок даних, натисніть праву кнопку миші та виберіть пункт Set Scale to Default (Встановити масштаб за замовчуванням).
Well (Лунка)	Для вибраної лунки доступні такі варіанти: Display only this well (Відобразити лише цю лунку), Remove this well from view (Видалити цю лунку з перегляду), Set color for this trace (Встановити колір для цієї кривої) або Exclude this well from analysis (Виключити цю лунку з аналізу).
Selected Wells (Вибрані лунки)	Для вибраних лунок (щоб вибрати, натисніть клавішу миші та перетягуйте курсор по діаграмі) доступні такі варіанти: Display only these wells (Відобразити лише ці лунки), Remove these wells from view (Видалити ці лунки з перегляду), Set color for these traces (Встановити колір для цих кривих) або Exclude these wells from analysis (Виключити ці лунки з аналізу).

## Таблиця Allelic Discrimination (Алельна дискримінація)

У [Таблиця 31](#) зазначені дані, що відображаються в таблиці Allelic Discrimination (Алельна дискримінація).

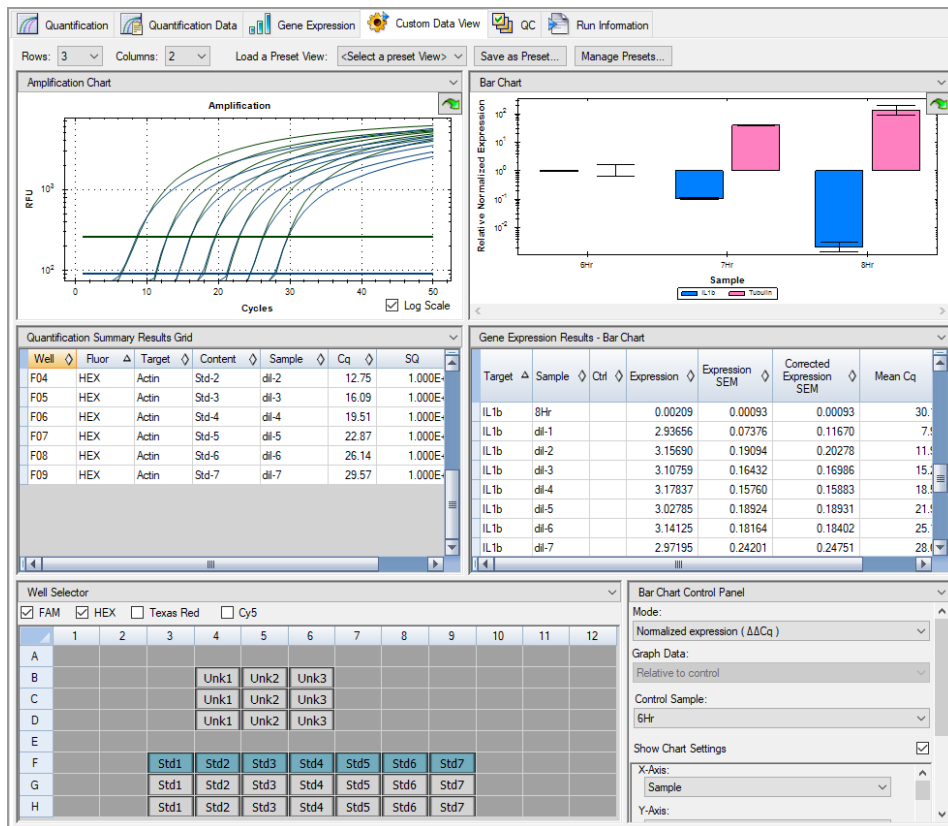
**Таблиця 31. Дані таблиці Allelic Discrimination (Алельна дискримінація)**

Інформація	Опис
Well (Лунка)	Положення лунки в планшеті
Sample (Проба)	Опис назви проби
Call (Визначення)	Ідентичність алеля, зокрема автоматичний «Алель 1», «Алель 2», «Гетерозигота», «Без визначення» або «Не визначено»
Type (Тип)	Спосіб, у який зроблено визначення: автоматичний або ручний. «Автоматичний» означає, що визначення вибрано програмним забезпеченням. «Ручний» означає, що визначення вибрав користувач.
RFU1	RFU (Відносна одиниця флуоресценції) для алеля 1
RFU2	RFU (Відносна одиниця флуоресценції) для алеля 2

## Вкладка Custom Data View (Спеціальний режим перегляду даних)

На вкладці Custom Data View (Спеціальний режим перегляду даних) одночасно відображується декілька панелей у настроюваному форматі.

У випадяючому списку Load a Preset View (Завантажити перегляд попередніх налаштувань) можна вибрати різні шаблони формату відображення даних. Вигляд перегляду даних за замовчуванням залежить від файлу, що аналізується. Наприклад, за наявності даних Melt Curve (Крива плавлення) відображується перегляд за замовчуванням Amp+Melt (Ампліфікація+плавлення).





## Створення спеціального режиму перегляду даних

### Як створити спеціальний режим перегляду даних

- ▶ Виконайте будь-яку з наведених далі дій.
  - Виберіть у випадаючому списку альтернативний попередньо налаштований режим перегляду.
  - Виберіть у випадаючому списку у верхній частині кожної окремої панелі інший режим перегляду діаграми.
  - Змініть на вкладці кількість рядків і стовпців.
  - Змініть розміри окремих панелей. Перетягніть рядки по краях кожної панелі.

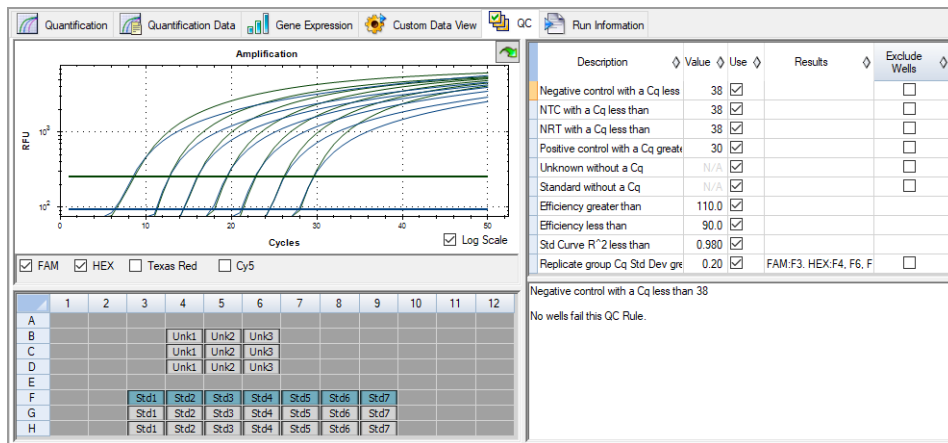
Натисніть пункт Save as Preset (Зберегти як попередньо налаштований), щоб зберегти налаштування як попередньо налаштований шаблон. Натисніть пункт Manage Presets (Керувати попередньо налаштованими), щоб видалити, перейменувати або відновити наявні попередньо налаштовані режими перегляду.

## Вкладка QC (Контроль якості)

Вкладка QC (Контроль якості) надає користувачеві можливість швидко оцінити якість даних підходу на підставі правил, визначених на вкладці QC (Контроль якості).

Програмне забезпечення CFX Manager Dx має чотири варіанти для перегляду даних QC (Контроль якості):

- **Amplification chart (Графік ампліфікації)** — відображує RFU (Відносна одиниця флуоресценції) для кожної лунки під час кожного циклу. Кожна крива на графіку представляє дані одного флуорофору в одній лунці.
- **QC rules table (Таблиця правил контролю якості)** — відображує наявні правила QC (Контроль якості) та налаштування, що визначають кожне з цих правил. Застосовані правила QC (Контроль якості) відмічені прапорцем.
- **Well selector (Інструмент вибору лунок)** — вибирає лунки з даними флуоресценції, які потрібно показати.
- **QC rule summary pane (Зведена панель правил контролю якості)** — відображує вибране правило QC (Контроль якості) і підсвічує лунки, які підпадають під дію цього правила.



## Зміна критеріїв QC (Контроль якості)

### Щоб змінити критерії QC (Контроль якості)

- Встановіть або зніміть прапорець з поля Use (Використати) для правила, яке необхідно включити у QC (Контроль якості) або виключити з нього.

## Виключення лунки, які не пройшли QC (Контроль якості)

Програмне забезпечення CFX Manager Dx відображує лунки, які не задовольнили критерії QC (Контроль якості) в колонці Results (Результати) в таблиці правил QC (Контроль якості) і на панелі підсумків.

### Щоб виключити лунки, які не задовольнили критерії QC (Контроль якості)

- ▶ Виберіть Exclude Wells (Виключити лунки) для кожної лунки, яку необхідно виключити.

## Вкладка Run Information (Інформація про підхід)

На вкладці Run Information (Інформація про підхід) відображується протокол та інша інформація про кожний підхід. Використовуйте цю вкладку, щоб виконувати наступні дії:

- Переглядати протокол.
- Додавати або редагувати примітки про підхід.
- Вказувати або редагувати ID (Ідентифікатор) або штрих-код для підходу.
- Переглядати інформацію про події, які могли трапитися під час підходу. Використовувати ці повідомлення для усунення несправностей при виконанні підходу.

**Підказка.** Копіювати, експортувати чи друкувати протокол, клацнувши на ньому правою кнопкою миші. Клацнувши правою кнопкою миші на Notes (Примітки), ID/Bar Code (Ідентифікатор/Штрих-код) або Other panes (Інші вкладки), вирізати, скопіювати, вставити, видалити чи вибрати текст.

Protocol: CFX\_2stepAmp50 1 min.pcl

Step	Temperature	Action	Duration
1	95.0 C	for	3:00
2	95.0 C	for	0:10
3	55.0 C	for	1:00
4	GOTO 2		49 more times

Notes:  
Multiplex Gene Expression Example  
Artificial Time course in which  
Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run  
Cy5 (Gapdh) is constant at ~ 1e6 cps/run  
Fam (Tubulin) increases 4 fold with time  
Texas Red (H1b) decreases 4 fold with time

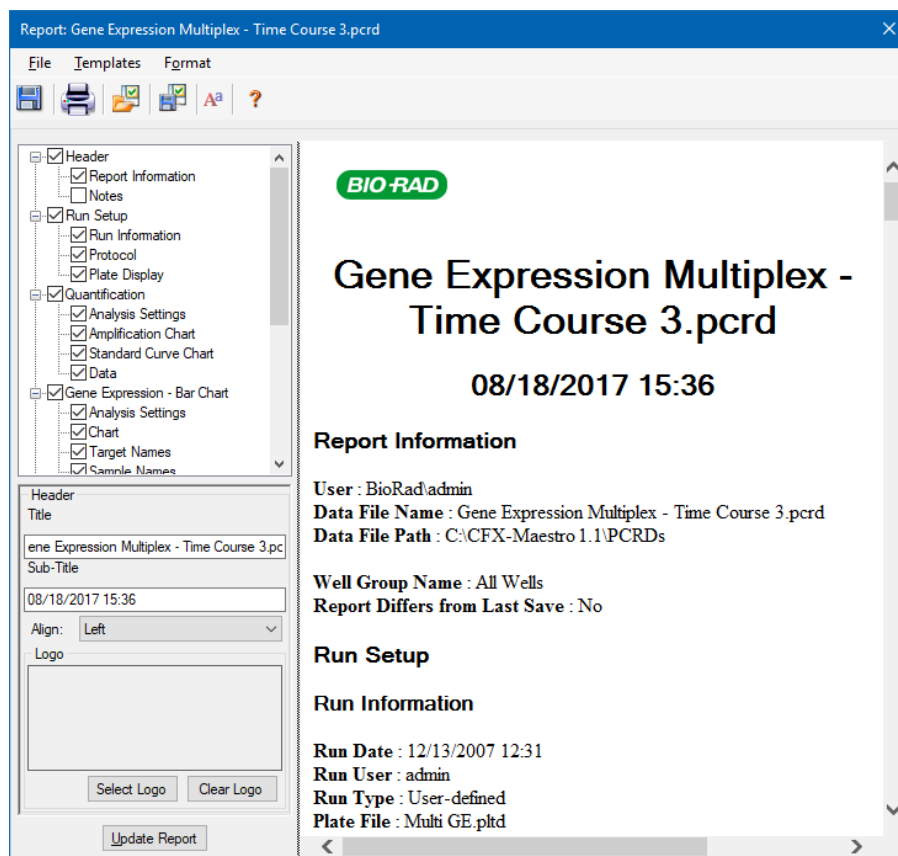
Other:  
Run Started : 12/13/2007 12:31:47 PM  
User : admin  
Run Type: User-defined  
Plate File: Multi GE.pcl  
Sample Vol: 25  
Lid Temp: 105  
Optical Head Serial Number:  
Base Serial Number : C001095  
CFX Manager Version : 1.0.956.1212

## Звіти про аналіз даних

Діалогове вікно Report (Звіт) відображає інформацію про поточний файл даних у вікні Data Analysis (Аналіз даних). Щоб відкрити звіт, виберіть Tools > Reports (Інструменти > Звіти).

Діалогове вікно Report (Звіт) містить описані нижче частини.

- Меню та панель інструментів: команди форматування, збереження та друку звіту або шаблону.
- Список параметрів (ліва верхня частина діалогового вікна): елементи для відображення в звіті.
- Панель параметрів (нижня ліва частина діалогового вікна): текстові поля, у які можна ввести відповідні відомості.
- Панель попереднього перегляду (права частина діалогового вікна): попередній перегляд поточного звіту.



## Категорії звітів про аналіз даних

У [Таблиця 32](#) перераховані елементи, доступні для звіту про аналіз даних залежно від типу даних у вікні Data Analysis (Аналіз даних).

**Таблиця 32. Категорії звітів про аналіз даних у списку елементів**

Категорія	Елемент	Опис
<b>Header (Заголовок)</b>		
		Назва, підзаголовок та логотип звіту
	Report Information (Інформація про звіт)	Дата підходу, ім'я користувача, назва файлу даних, розташування файлу даних і вибрана група лунок
	Audit Information (Інформація для перевірки)	Додаткова інформація, необхідна для перевірки звіту, зокрема підписи
	Notes (Примітки)	Примітки щодо звіту з даними
<b>Run Setup (Налаштування підходу)</b>		
	Run Information (Інформація про підхід)	Дата підходу, ім'я користувача, назва файлу даних, розташування файлу даних і вибрана група лунок
	Protocol (Протокол)	Текстовий опис кроків протоколу та параметрів
	Plate Display (Відображення планшета)	Планшетне подання інформації з кожної лунки планшета.
<b>Quantification (Кількісний аналіз)</b>		
	Analysis Settings (Налаштування аналізу)	Кількість кроків збирання даних, режим аналізу та спосіб віднімання базової лінії
	Amplification Chart (Графік ампліфікації)	Графік ампліфікації для підходів, які включають дані кількісного аналізу

Таблиця 32. Категорії звітів про аналіз даних у списку елементів, продовження

Категорія	Елемент	Опис
	Standard Curve Chart (Графік стандартної кривої)	Графік стандартної кривої
	Data (Дані)	Таблиця з даними по кожній лунці
<b>Gene Expression — Bar Chart (Експресія Гена — стовпчаста діаграма)</b>		
	Analysis Settings (Налаштування аналізу)	Режим аналізу, дані графіка, параметри масштабування та похибка графіка
	Chart (Графік)	Копія стовпчастої діаграми
	Target Names (Назви мішеней)	Графік назв мішеней
	Sample Names (Назви проб)	Графік назв проб
	Data (Дані)	Таблиця з даними по кожній лунці
	Target Stability (Стабільність мішені)	Графік значень стабільності мішені
<b>Gene Expression (Експресія гена) — Clustergram and Scatter Plot (Кластерограма та графік розсіювання)</b>		
	Analysis Settings (Налаштування аналізу)	Налаштування для кожного типу графіка
	Chart (Графік)	Копія графіка
	Data (Дані)	Таблиця з даними по кожній мішені
<b>Melt Curve (Крива плавлення)</b>		
	Analysis Settings (Налаштування аналізу)	Кількість кроків плавлення та налаштування порогової лінії
	Melt Curve Chart (Графік кривої плавлення)	Графік кривої плавлення

Таблиця 32. Категорії звітів про аналіз даних у списку елементів, продовження

Категорія	Елемент	Опис
	Melt Peak Chart (Графік піків плавлення)	Графік піків плавлення
	Data (Дані)	Таблиця з даними по кожній лунці
<b>Allelic Discrimination (Алельна дискримінація)</b>		
	Analysis Settings (Налаштування аналізу)	Відображення флуорофорів, циклу та карти виклику
	Allelic Discrimination Chart (Графік алельної дискримінації)	Копія графіка алельної дискримінації
	Data (Дані)	Таблиця з даними по кожній лунці
<b>End Point (Кінцева точка)</b>		
	Analysis Settings (Налаштування аналізу)	Флуорофор, кінцевий цикл до середнього, режим, найнижче значення RFU, найвище значення RFU та граничне значення
	Data (Дані)	Таблиця з даними по кожній лунці
<b>QC Parameters (Параметри контролю якості)</b>		
	Data (Дані)	Таблиця параметрів для кожного правила контролю якості (QC)



## Створення звіту про аналіз даних

Макет звіту можна зберегти як шаблон, який в подальшому можна використовувати повторно для підготовки аналогічних звітів.

### Щоб створити звіт про аналіз даних

1. Перед створенням звіту внесіть заключні корективи у вміст лунок, вибрані лунки, графіки і таблиці у вікні Data Analysis (Аналіз даних).
2. Виберіть Tools (Інструменти) > Reports (Звіти) в рядку меню Data Analysis (Аналіз даних), щоб відкрити діалогове вікно Report (Звіт).
3. Виберіть параметри, які потрібно включити в звіт. Звіт відкриється з параметрами, вибраними за замовчуванням. Встановлюючи або знімаючи прапорці в полях, можна змінювати цілі категорії або окремі параметри всередині категорії.

**Примітка.** Дані, які відображуються в звіті, залежать від того, які параметри вибрані в поточний момент на вкладках вікна Data Analysis (Аналіз даних). Так, наприклад, цикл кількісного аналізу може не містити стандартної кривої, і в цьому випадку відповідні дані не будуть відображуватися у вікні Data Analysis (Аналіз даних) або в звіті за отриманими даними.

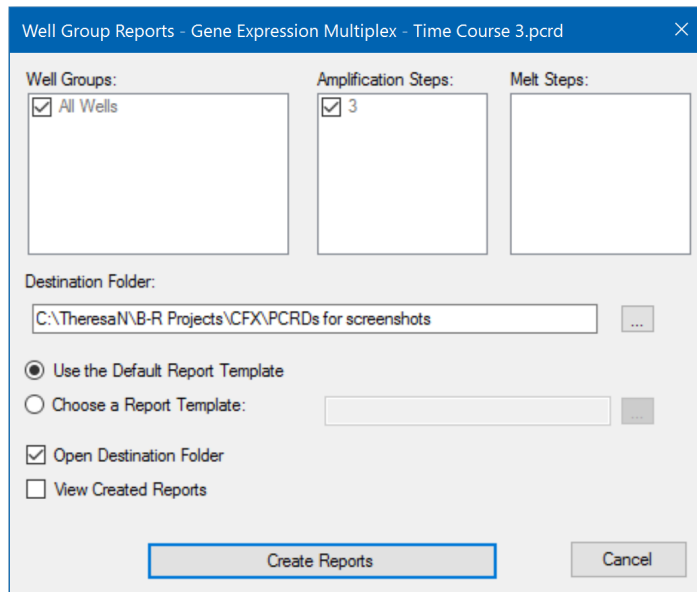
4. Розмістіть категорії та інші елементи звіту в потрібному порядку. Перетягніть параметри у відповідне положення. Порядок елементів можна змінювати тільки всередині категорій, до яких вони належать.
5. (Додатково) На панелі Report Options (Параметри звіту) введіть інформацію, що має відношення до вибраного параметра:
  - Виберіть частину інформації, яка повинна відображуватися в звіті.
  - Задайте конкретні налаштування для обраного параметра.
  - Змініть текст, який буде відображуватися для вибраного параметра.
6. Натисніть Update Report (Оновити звіт), щоб оновити будь-які зміни для елемента Report Preview (Попередній перегляд звіту).

- Надрукуйте або збережіть звіт. Натисніть кнопку Print Report (Друк звіту) на панелі інструментів, щоб надрукувати поточний звіт. Виберіть File (Файл) > Save (Зберегти), щоб зберегти звіт у файловому форматі PDF (файл Adobe Acrobat Reader), після чого виберіть місце збереження файлу. Виберіть File (Файл) > Save As (Зберегти як), щоб зберегти звіт з новим ім'ям або в новому місці.
- (Додатково) Створіть шаблон звіту з потрібною інформацією. Щоб зберегти налаштування поточного звіту в шаблон, виберіть Template (Шаблон) > Save (Зберегти) або Save As (Зберегти як). Завантажте шаблон звіту наступного разу, коли буде потрібно створити новий звіт.

## Створення звітів про групи лунок

### Щоб створити звіт про групи лунок

- Виберіть Tools (Інструменти) > Well Group Reports (Звіти про групи лунок) у вікні Data Analysis (Аналіз даних).



- В діалоговому вікні Well Groups Reports (Звіти про групи лунок) виберіть групи лунок, етапи ампліфікації та етапи плавлення, які необхідно включити у звіт.
- Виберіть шлях або перейдіть у папку призначення, в яку необхідно зберегти звіт.

4. (Додатково) Виберіть Choose a Report Template (Вибрати шаблон звіту) і перейдіть у папку з файлом шаблону.
5. (Додатково) Виберіть Open Destination Folder (Відкрити папку призначення), щоб відкрити папку і переглянути звіти після створення.
6. Натисніть Create Reports (Створити звіти).



## Розділ 11 Аналіз експресії гена

Використовуючи в ході реакцій контролі зі строго визначеними характеристиками, за допомогою програми CFX Manager Dx можна виконати експресію генів для нормалізації відносних розбіжностей концентрацій мішені між зразками. Зазвичай для нормалізації рівнів експресії досліджуваного гена використовуються рівні експресії одного або більше еталонних генів. Еталонні гени дозволяють врахувати відмінності в процедурі завантаження та інші відмінності проб, а їхні рівні експресії не повинні змінюватися в рамках досліджуваної біологічної системи.

Виберіть вкладку Gene Expression (Експресія гена) у вікні Data Analysis (Аналіз даних), щоб оцінити відносні розбіжності реакцій ПЛР в двох або більше лунках. Наприклад, можна визначити відносну кількість вірусних геномів або відносну кількість трансфікованих послідовностей в реакції ПЛР. Найбільш поширена область застосування досліджень експресії генів — порівняння концентрації кДНК в декількох реакціях для оцінки рівнів інформаційної РНК в стаціонарній фазі.

Програма обчислює відносний рівень експресії мішені за одним з наступних сценаріїв:

- Відносний рівень експресії послідовності мішені (мішень 1) по відношенню до іншої мішені (мішень 2), наприклад кількість одного гена по відношенню до кількості іншого гена при однаковій обробці проб.
- Відносний рівень експресії однієї послідовності мішені в одній пробі у порівнянні з тією ж мішенню при іншій обробці проб, наприклад відносна кількість одного і того ж гена за різних умов (час, географія, розвиток).

## Налаштування планшета для аналізу експресії гена

Для виконання аналізу експресії гена лунки повинні містити наступне:

- Дві або більше мішеней — дві мішені, які представляють різні ампліфіковані гени або послідовності в досліджуваних пробах.
- Одну або більше еталонних мішеней — щонайменше одна мішень повинна бути еталонною мішенню для нормалізованої експресії. Призначайте всі еталонні мішені у вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту), щоб аналізувати дані в режимі нормалізованої експресії ( $\Delta\Delta C_q$ ). Підходи, які не містять еталону, необхідно аналізувати в режимі відносної експресії ( $\Delta C_q$ ).

- Загальні проби — реакції повинні включати в себе загальні проби (принаймні дві обов'язкових), щоб переглядати представлені у вигляді графіка дані на вкладці Gene Expression (Експресія гена). Ці проби повинні представляти різні обробки або умови для кожної з досліджуваних послідовностей мішені. Призначайте контрольну пробу (необов'язково) у вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту). Якщо контроль не обраний, програма використовує найнижче значення  $C_q$  в якості контролю.

Вимоги до налаштування Gene Expression (Експресія гена) у вікні Plate Editor (Редактор планшетів) залежать від того, чи є вміст реакції одноплексною ПЛР, тобто з одним флуорофором в реакціях, чи мультиплексною ПЛР, тобто з декількома флуорофорами в реакціях.

## Кероване налаштування планшета

Якщо налаштування планшетів у файлі даних не містить відомостей, необхідних для аналізу, і вибрано вкладку Gene Expression (Експресія гена), у місці, де зазвичай розташована стовпчаста діаграма, містяться інструкції для введення цих відомостей. Для нормалізованої експресії гена виконайте дії, описані далі.

1. Визначте назву елементів Target (Мішень) і Sample (Проба), використовуючи будь-яку з таких команд:
  - Plate Setup (Налаштування планшетів) — відкрити вікно Plate Editor (Редактор планшетів);
  - Replace Plate File (Заміна файлу планшета) — відкрити програму перегляду Select Plate (Вибір планшета), де можна перейти до попередньо збереженого файлу планшета, за допомогою якого можна замінити поточний макет планшета.
  - Replace PrimePCR File (Заміна файлу PrimePCR) — відкрити файлове діалогове вікно Select PrimePCR (Вибір PrimePCR), у якому можна перейти до робочого файлу PrimePCR і застосувати його до макета планшета.
2. У діалоговому вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту) виберіть одну або кілька еталонних мішеней і контрольну пробу.





Якщо макет планшета вже містить відомості про мішень і пробу, потрібно виконати тільки другу дію, яка виділена помаранчевим. Цю дію потрібно завершити до виконання аналізу нормалізованої експресії гена.

**Примітка.** Дані для кластерограми й діаграми розсіювання відображаються, тільки якщо дотримані всі вимоги для нормалізованої експресії гена, які перераховані в розділі Plate Setup (Налаштування планшетів) для аналізу експресії гена.

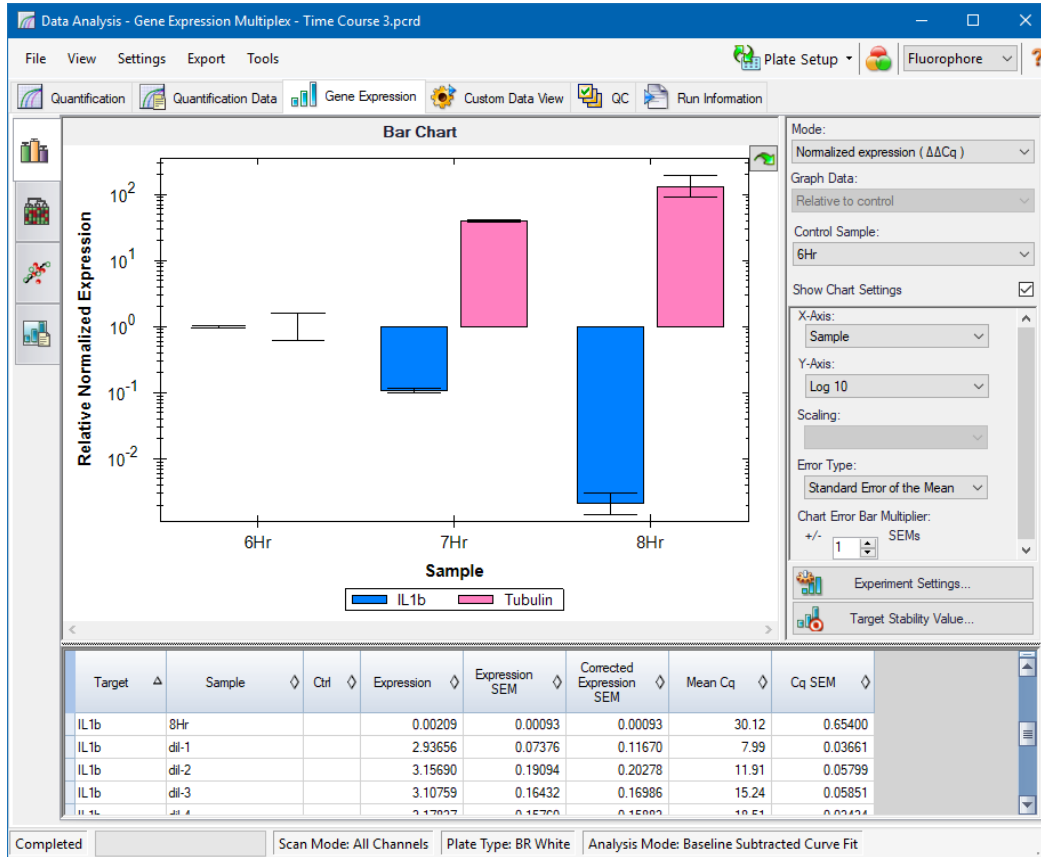
## Графіки експресії гена

Програмне забезпечення CFX Manager Dx відображає дані експресії гена в кількох поданнях. У [Таблиця 33](#) перелічені параметри графіка, доступні в програмному забезпеченні.

**Таблиця 33. Параметри графіка експресії гена**

Кнопка	Назва	Функція
	Стовпчаста діаграма	Відображаються дані нормалізованої експресії гена у форматі стовпчастої діаграми.
	Кластерограма	Відображаються дані нормалізованої експресії в ієрархії на основі ступеня подібності експресії для різних мішеней і проб.
	Діаграма розсіювання	Відображається нормалізована експресія мішеней для контрольної проби порівняно з експериментальною.
	Результати	Узагальнюються дані з усіх діаграм.

## Стовпчаста діаграма



Відносна експресія мішеней представлена в таких двох виглядах:

- Графік експресії генів — відображає дані ПЛР у реальному часі як одне з наступного:
  - $\Delta\Delta C_q$  — відносна нормалізована експресія, розрахована з використанням контрольних проб та еталонних мішеней.
  - $\Delta C_q$  — відносна кількість гена-мішені в пробі відносно контрольної проби.



- Таблиця — відображає таблицю даних експресії генів.

**Підказка.** Клацніть правою кнопкою миші будь-який графік або таблицю для перегляду параметрів. Виберіть View/Edit Plate (Перегляд/редагування планшета) з випадючого меню Plate Setup (Налаштування планшетів), щоб відкрити Plate Editor (Редактор планшетів) і змінити вміст планшета.

**Підказка.** Виберіть Sort (Сортування) з контекстного меню, щоб перевпорядкувати назви Target (Мішень) і Sample (Проба) на графіку.

### Нормалізована експресія гена

Щоб нормалізувати дані, використовуйте вимірний рівень експресії одного чи більше еталонних генів як фактор нормалізації. Еталонні гени — це мішені, які не регулюються в досліджуваній біологічній системі, як-от *актин*, *ГАФДГ* або *тубулін*.

#### Налаштування аналізу нормалізованої експресії гена ( $\Delta\Delta C_q$ )

1. Відкрийте файл даних (розширення .pcrd).
2. Перегляньте дані на вкладці Quantification (Кількісний аналіз) у вікні Data Analysis (Аналіз даних). Відкорируйте дані, наприклад, змініть поріг і режим аналізу.
3. Виберіть вкладку Gene Expression (Експресія гена).
4. На вкладці Gene Expression (Експресія гена) натисніть Experiment Settings (Налаштування експерименту).
5. У діалоговому вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту) виконайте такі дії:
  - a. Виберіть вкладку Samples (Проби) та виберіть контроль. Після призначення контролю Програмне забезпечення CFX Manager Dx нормалізує відносну кількість для всіх генів до контрольної кількості, яку встановлено на 1.
  - b. Виберіть вкладку Target (Мішень) і виберіть еталонні гени. Для аналізу експресії гена потрібен один еталон серед мішеней у вашій пробі.
6. Виберіть Normalized Expression (Нормалізована експресія) ( $\Delta\Delta C_q$ ), якщо її ще не вибрано, а потім перегляньте рівні експресії на вкладці Gene Expression (Експресія гена).

## Відносна кількість

За своєю природою, дані відносної кількості ( $\Delta C_q$ ) не нормалізовані. Цей спосіб використовується для кількісного визначення проб, які не містять еталонних генів (мішеней). Як правило, під час налаштування підходу дослідники виходять з одного з таких міркувань:

- Кожна проба містить однакову кількість РНК або кДНК в кожній лунці.
- Після підходу будь-яка варіація в кількості завантаженої біологічної проби буде нормалізована певним методом при аналізі даних поза цим програмним забезпеченням. Наприклад, дослідник може прийняти рішення поділити значення відносної кількості на нормалізуючий коефіцієнт, можливо, на масу завантаженої нуклеїнової кислоти для кожної проби або на кількість клітин, з яких ізолювали нуклеїнову кислоту.

### Щоб виконати аналіз відносної кількості ( $\Delta C_q$ )

- ▶ На вкладці Gene Expression (Експресія гена) виберіть Relative Quantity ( $\Delta C_q$ ) (Відносна кількість) з випадючого списку Mode (Режим) на правій панелі.

**Підказка.** Щоб порівняти результати з даними з інших підходів експресії генів, відкрийте нове дослідження генів або додайте файл даних в існуюче дослідження генів.

## Сортування даних мішеней і проб

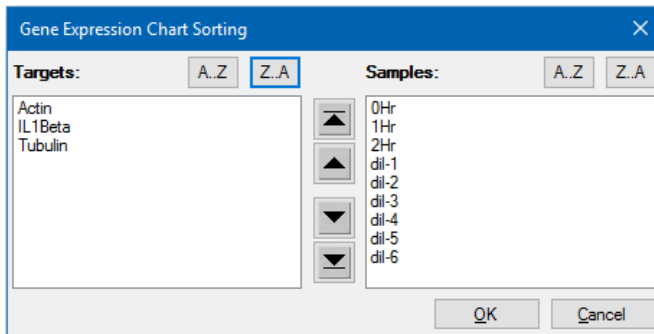
**Примітка.** Цей параметр доступний лише в графіках експресії гена.

За замовчуванням списки Targets and Samples (Мішені та проби) відкриваються в алфавітному порядку. Використовуйте діалогове вікно Sort (Сортування), щоб відсортувати дані в зворотному алфавітному порядку або вручну пересунути термін на іншу позицію в списку.

### Сортування даних мішеней і проб

1. За допомогою контекстного меню графіка натисніть Sort (Сортування).

Відкриється діалогове вікно Gene Expression Chart Sorting (Сортування графіків експресії гена).



2. У діалоговому вікні натисніть Z-A, щоб відсортувати дані в зворотному алфавітному порядку.
3. Щоб вручну пересунути термін, виберіть його та натисніть відповідну кнопку між графіками:
  - Натисніть стрілку «Вгору» або «Вниз», щоб пересунути вибраний термін на одну позицію.
  - Натисніть на область стрілки «Вгору» або «Вниз», щоб пересунути вибраний термін вгору або вниз списку.
4. Натисніть ОК, щоб зберегти зміни та повернутися до вкладки Gene Expression (Експресія гена).

## Налаштування даних експресії гена

Після вибору режиму аналізу — нормалізована експресія ( $\Delta\Delta Cq$ ) або відносна кількість ( $\Delta Cq$ ) — встановить дані для перегляду у вкладці Gene Expression (Експресія гена) шляхом зміни варіантів налаштувань справа від графіка.

**Підказка.** Можна встановити варіанти даних Gene Expression (Експресія гена) за замовчуванням у діалоговому вікні User Preferences (Налаштування користувача) (див. розділ [Налаштування параметрів файлів даних експресії гена за замовчуванням на стор. 78](#)).

### Дані графіка

Щоб увімкнути варіанти даних графіка, встановить значення осі Y на шкалу Linear (Лінійна). Варіанти даних графіка дозволяють представляти дані на графіку одним із наступних способів:

- Relative to control (Відносно контролю) — графік даних на осі зі шкалою від 0 до 1. У випадку призначення контролю в підході виберіть цей варіант, щоб швидко візуалізувати позитивну та негативну регуляцію мішені.
- Relative to zero (Відносно нуля) — графік даних з початком координат від нуля.

### Контрольна проба

Використовуйте випадуючий список Control Sample (Контрольна проба), щоб вибрати пробу, що буде використовуватися для нормалізації відносної кількості:

### Налаштування графіка

Якщо встановити прапорець у вікні Show Chart Settings (Показати налаштування графіка), показуються наведені нижче параметри: X-Axis (Вісь X), Y-Axis (Вісь Y), Scaling (Масштабування), Error Type (Тип похибки) та Chart Error Multiplier (Коефіцієнт похибки графіка).

### Параметри осі X

Параметр осі x дозволяє вибрати дані, що відображуються по цій осі, для графіка Gene Expression (Експресія гена):

- Target (Мішень) — відображення по осі X назв мішеней.
- Sample (Проба) — відображення по осі X назв проб.

## Параметри осі Y

Параметр осі Y дає змогу показати графік Gene Expression (Експресія гена) в одній із таких трьох шкал:

- Linear (Лінійна) — при виборі цього параметра відобразиться лінійна шкала.
 

**Підказка.** Встановлення для осі Y значення Linear (Лінійна) активує випадуючий список Graph Data (Графік на основі даних), з якого можна побудувати графік із даними відносно контролю або нуля.
- Log 2 — виберіть цей варіант, щоб оцінити проби у широкому динамічному діапазоні.
- Log 10 — виберіть цей варіант, щоб оцінити проби у дуже широкому динамічному діапазоні.

## Параметри масштабування

Виберіть Normalized Gene Expression (Нормалізована експресія гена) ( $\Delta\Delta C_q$ ) і встановіть налаштування параметра Control Sample (Контрольна проба) на None (Ні), щоб активувати опції масштабування на графіку Gene Expression (Експресія гена). Виберіть одну з наступних опцій масштабування для обчислення і відображення даних в зручному форматі:

- Unscaled (Без масштабування) — нормалізована експресія гена без масштабування.
- Highest (Найвищий) — масштабує нормалізовану експресію гена для кожної мішені шляхом поділу рівня експресії кожної проби на найвищий рівень експресії у всіх пробах.
 

Для цієї опції масштабування використовується формула масштабування за найвищими значеннями.
- Lowest (Найнижчий) — масштабує нормалізовану експресію гена для кожної мішені шляхом поділу рівня експресії кожної проби на найнижчий рівень експресії у всіх пробах.
 

Для цієї опції масштабування використовується формула масштабування за найнижчими значеннями.
- Average (Середній) — масштабує нормалізовану експресію гена для кожної мішені шляхом поділу рівня експресії кожної проби на середнє геометричне значення рівнів експресії у всіх пробах.
 

Для цієї опції масштабування використовується формула масштабування за середнім значенням.

## Тип похибки

Виберіть тип розрахунків похибки (значення похибки) на графіку Gene Expression (Експресія гена):

- Standard error of the mean (default) (Стандартна похибка середнього) (за замовчуванням)
- Standard deviation (Стандартне відхилення)

### Коефіцієнт значення похибки графіка

Виберіть коефіцієнт для значень похибки на графіку Gene Expression (Експресія гена). Виберіть одне з таких цілих:

+/- 1 (за замовчуванням), 2 або 3. Тип коефіцієнта зміниться при виборі типу похибки:

- SEMs (Станд. похиб. сер.) для стандартної похибки середнього
- Std Devs (Станд. відх.) для стандартних відхилень

### Налаштування експерименту

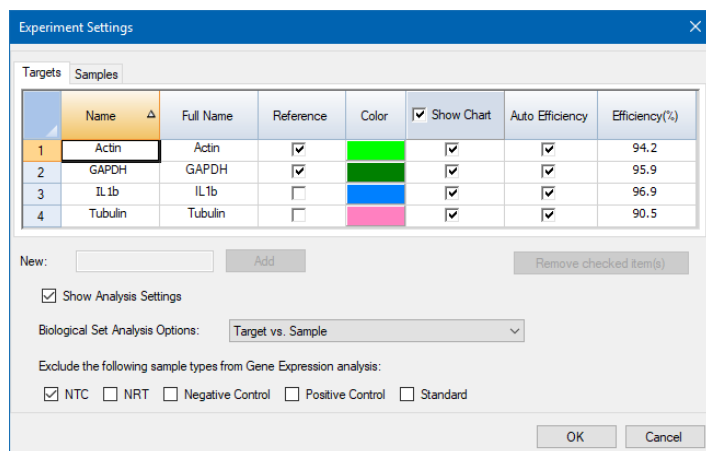
**Підказка.** Це діалогове вікно також є в Plate Editor (Редактор планшетів). Докладніше див. в розділі [Зміна налаштувань експерименту на стор. 142](#).

В діалоговому вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту) можна переглянути або змінити список мішеней або проб, вибрати еталонні гени, вибрати контролі або налаштувати групу Gene Expression Analysis (Аналіз експресії гена) для проведення аналізу, якщо до лунок додані назви біологічних наборів.

#### Щоб відкрити діалогове вікно Experiment Settings (Налаштування експерименту)

- На вкладці Bar Chart (Стовпчаста діаграма) натисніть на Experiment Settings (Налаштування експерименту) в нижній частині правої панелі.

З'явиться діалогове вікно Experiment Settings (Налаштування експерименту) з вкладкою Targets (Мішені).



### Щоб відкоригувати налаштування вкладки **Targets (Мішені)**

- ▶ На вкладці **Targets (Мішені)** виконайте одну з наступних дій:
  - Щоб вибрати мішень як еталон для аналізу даних експресії гена, виберіть її назву в колонці **Reference (Еталон)**.
  - Щоб змінити колір мішені, клацніть на її клітинці в колонці **Color (Колір)** і виберіть новий колір в діалоговому вікні **Color (Колір)**, яке відкриється.  
  
Зміна кольору відобразиться на графіках **Gene Expression (Експресія гена)**.
  - Щоб використовувати попередньо визначене значення ефективності, зніміть прапорець мішені в колонці **Auto Efficiency (Автоматична ефективність)** і введіть цифрове значення для відсотка ефективності мішені.  
  
Програма обчислює відносну ефективність для мішені за допомогою **Auto Efficiency (Автоматична ефективність)**, якщо дані мішені містять стандартну криву.

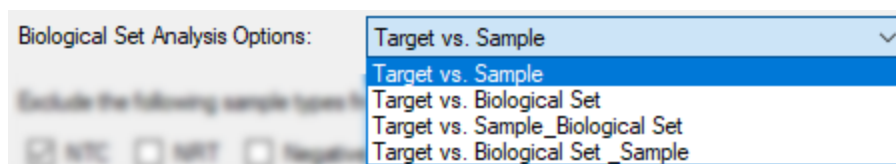
### Щоб відкоригувати налаштування вкладки **Sample (Проба)**

- ▶ На вкладці **Samples (Проби)** виконайте одну з наступних дій:
  - Щоб вибрати пробу як контроль для аналізу даних експресії гена, виберіть її назву в колонці **Control (Контроль)**.
  - Щоб змінити колір проби групи, клацніть на її клітинці в колонці **Color (Колір)** і виберіть новий колір в діалоговому вікні **Color (Колір)**, яке відкриється.  
  
Зміна кольору відобразиться на графіках **Gene Expression (Експресія гена)**.
  - Для відображення проби в графіках **Gene Expression (Експресія гена)** виберіть її в колонці **Show Chart (Показати графік)**.
  - Щоб видалити пробу з графіків **Gene Expression (Експресія гена)**, приберіть її в колонці **Show Chart (Показати графік)**.

**Підказка.** Дані проби групи залишаться в таблиці **Results (Результати)**.

### Щоб змінити встановлене значення для Biological Set Analysis Options (Параметри аналізу біологічних наборів)

- ▶ Якщо ви призначили один чи більше біологічних наборів лункам у планшеті (див. розділ [Призначення біологічних наборів лункам на стор. 134](#)), у списку Biological Set Analysis Options (Параметри аналізу біологічних наборів) відобразиться діалогове вікно Experiment Settings (Налаштування експерименту), в якому можна за необхідності змінити вибране значення.



- **Target vs. Sample (Мішень vs. Проба)** — в розрахунках експресії гена застосовується лише назва проби лунки.
- **Target vs. Biological Set (Мішень vs. Біологічний набір)** — в розрахунках експресії гена застосовується лише назва біологічного набору.
- **Target vs. Sample\_Biological Set (Мішень vs. Проба\_Біологічний набір)** — назва проби та назва біологічного набору об'єднуються з утворенням однієї назви, яка застосовується в розрахунках.
- **Target vs. Biological Set\_Sample (Мішень vs. Біологічний набір\_Проба)** — назва біологічного набору та назва проби об'єднуються з утворенням однієї назви, яка застосовується в розрахунках.

### Щоб виключити тип проби з обчислень аналізу

- ▶ Встановіть її прапорець в нижній частині діалогового вікна Experiment Settings (Налаштування експерименту).

**Примітка.** Контролі та/або стандарти будуть виключені з аналізу експресії гена.

## Значення стабільності мішені

Значення стабільності мішені розраховуються у випадках, коли використовується більше ніж один еталонний ген. Програмне забезпечення CFX Manager Dx розраховує два параметри якості для еталонних генів:

- **Coefficient Variance (Коефіцієнт дисперсії, КД)** відносної кількості нормалізованого еталонного гена. Нижче значення КД означає вищу стабільність.
- **M Value (Значення M)**, міра стабільності експресії еталонного гена.



Рекомендовані значення КД й М відображаються внизу діалогового вікна Stability Value (Значення стабільності).

**Перегляд значення стабільності мішені**

- ▶ На вкладці Gene Expression Bar Chart (Стовпчаста діаграма експресії гена) клацніть пункт Target Stability Value (Значення стабільності мішені) внизу правої панелі.

Відкриється діалогове вікно Stability Value (Значення стабільності).

## Елементи контекстного меню

Правою кнопкою миші клацніть на графіку експресії гена і виберіть елементи, зазначені в [Таблиця 34](#).

**Таблиця 34. Елементи контекстного меню**

Елемент	Функція
Copy (Копіювати)	Копіювання графіка в буфер обміну.
Save Image As (Зберегти зображення як)	Збереження графіка у вигляді файлу зображення. Встановить роздільну здатність та розміри зображення і виберіть тип файлу (PNG, GIF, JPG, TIF або BMP).
Page Setup (Налаштування сторінки)	Вибір налаштувань сторінки для друку.
Print (Друк)	Друк графіка.
Set Scale to Default (Встановити масштаб за замовчуванням)	Show All (Показати все): відображення всіх даних на стовпчастій діаграмі. Scroll Bar (Смуга прокрутки): відображення смуги прокрутки, якщо проб занадто багато для відображення в рамці графіка при збереженні мінімальної ширини стовпчиків.
Chart Options (Параметри графіка)	Відкриття вікна Chart Options (Параметри графіка) для налаштування графіка.
Sort (Сортувати)	Сортування порядку відображення проб або мішеней на осі X графіка.
Use Corrected Std Devs (Використовувати скориговані стандартні відхилення)	Обчислення значень похибки за допомогою формули скоригованого стандартного відхилення.
Use Solid Bar Colors (Використовувати суцільні кольори стовпчиків)	Використання суцільних кольорів на графіку.
X-Axis Labels (Мітки осі X)	Відображення міток осі X в горизонтальному або нахиленому вигляді.

## Таблиця даних

Таблиця 35 визначає дані, що відображаються в таблиці даних Gene Expression (Експресія гена).

**Примітка.** Значення в таблиці розраховуються на основі типу графіка та налаштувань, вибраних на правій панелі.

**Таблиця 35. Опис інформації в таблиці на вкладці Graphing (Побудова графіків) Bar Chart (Стовпчаста діаграма)**

Інформація	Опис
Target (Мішень)	Назва мішені (ампліфікований ген), вибрана у вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту).
Sample (Проба)	Назва проби, вибрана у вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту).
Ctrl	Назва контролю, вибрана у вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту).
Відносна кількість або експресія	Відносна кількість ( $\Delta C_q$ ) або нормалізована експресія гена ( $\Delta\Delta C_q$ ), залежно від вибраного режиму.
Відносна кількість або експресія SEM (або СВ)	Стандартна похибка середнього (Standard error of the mean — SEM) або стандартне відхилення (СВ) відносної кількості або нормалізованої експресії, залежно від вибраного варіанту.
Скоректована відносна кількість або експресія SEM (або СВ)	Скоректоване значення розрахунку SEM або СВ відносної кількості чи нормалізованої експресії, залежно від вибраного варіанту.
Середнє $C_q$	Середнє циклу кількісного аналізу.
$C_q$ SEM (або СВ)	SEM або СВ кількісного аналізу залежно від вибраного варіанту.

## Опція Show Details (Показати додаткову інформацію)

В Таблиця 36 даються визначення показників, які відображуються при виборі опції Show Details (Показати додаткову інформацію) в контекстному меню в таблиці стовпчастої діаграми.

**Таблиця 36. Інформація, що наводиться в таблиці стовпчастої діаграми при виборі опції Show Details (Показати додаткову інформацію)**

Інформація	Опис
Набір даних	Дані про флуоресценцію від одного флуорофора в файлі даних
Відносна кількість	Розрахована відносна кількість проб
Стандартне відхилення відносної кількості	Стандартне відхилення розрахунку відносної кількості
Стандартне відхилення скоригованої відносної кількості	Розраховане стандартне відхилення скоригованої відносної кількості
Стандартна похибка середнього відносної кількості	Стандартна похибка середнього для розрахунку відносної кількості
Стандартна похибка середнього скоригованої відносної кількості	Розрахована стандартна похибка середнього скоригованої відносної кількості
Відносна кількість (lg)	$\log_2$ відносної кількості, що використовується для статистичного аналізу
Стандартне відхилення відносної кількості (lg)	Стандартне відхилення відносної кількості ( $\log_2$ )
Стандартна похибка середнього експресії (lg)	Стандартна похибка середнього експресії ( $\log_2$ )
Немасштабована експресія	Розрахована немасштабована експресія
Стандартне відхилення немасштабованої експресії	Розраховане стандартне відхилення немасштабованої експресії
Стандартне відхилення скоригованої немасштабованої експресії	Розраховане стандартне відхилення скоригованої немасштабованої експресії

**Таблиця 36. Інформація, що наводиться в таблиці стовпчастої діаграми при виборі опції Show Details (Показати додаткову інформацію), продовження**

Інформація	Опис
Стандартна похибка середнього немасштабованої експресії	Розрахована стандартна похибка середнього немасштабованої експресії
Стандартна похибка середнього скоригованої немасштабованої експресії	Розрахована стандартна похибка середнього скоригованої немасштабованої експресії
Немасштабована експресія (lg)	Log <sub>2</sub> немасштабованої експресії
Стандартне відхилення немасштабованої експресії (lg)	Стандартне відхилення немасштабованої експресії (log <sub>2</sub> )
Стандартна похибка середнього немасштабованої експресії (lg)	Стандартна похибка середнього немасштабованої експресії (log <sub>2</sub> )
Експресія	Нормалізована експресія гена
Стандартне відхилення скоригованої експресії	Розраховане стандартне відхилення
Стандартна похибка середнього експресії	Стандартна похибка середнього
Стандартна похибка середнього скоригованої експресії	Розрахована стандартна помилка середнього
Експресія (lg)	Log <sub>2</sub> експресії (нормалізованої експресії), що використовується для статистичного аналізу
Стандартне відхилення експресії (lg)	Стандартне відхилення експресії (log <sub>2</sub> )
Стандартна похибка середнього експресії (lg)	Стандартна похибка середнього експресії (log <sub>2</sub> )

**Таблиця 36. Інформація, що наводиться в таблиці стовпчастої діаграми при виборі опції Show Details (Показати додаткову інформацію), продовження**

<b>Інформація</b>	<b>Опис</b>
Середнє $C_q$	Середнє для циклу кількісного аналізу
Стандартне відхилення $C_q$	Стандартне відхилення для циклу кількісного аналізу.
Стандартна похибка середнього $C_q$	Стандартна похибка середнього для циклу кількісного аналізу.

## Кластерограма

На кластерограмі відображаються дані в ієрархії на основі ступеня подібності експресії для різних мішеней і проб.

**Примітка.** Для відображення будь-яких графіків даних окрім відносної експресії для стовпчастих діаграм необхідно вибрати еталонну мішень.

На зображенні кластерограми представлена відносна експресія проби або мішені наступним чином:

- Позитивна регуляція (червоний колір) — вища експресія
- Негативна регуляція (зелений або синій колір) — нижча експресія
- Регуляція відсутня (чорний колір)
- Значення не обчислене (чорний колір з білим значком X)

Чим світліше відтінок кольору, тим більше різниця в плані відносної експресії. Якщо нормалізоване значення  $C_d$  не може бути обчислене, квадрат буде чорного кольору з білим значком X.

Зовні по краях графіка даних знаходиться дендрограма, яка зображає ієрархію розбиття на кластери. Мішені або проби з подібними профілями експресії матимуть сусідні гілки, тоді як мішені або проби з несхожими профілями будуть більш віддаленими.

## Налаштування

Користувач може налаштувати такі параметри:

- Cluster By (Кластер за) — виберіть із таких варіантів: Targets (Мішені), Samples (Проби), Both (Обидва) або None (Жодне).
- Size (Розмір) — налаштовує розмір зображення та змінює масштаб графіка.
- Split Out Replicates (Відщеплення реплікатів) — відображає значення для окремих реплікатів.

**Підказка.** Користувач може змінити колір схеми для кластерограми й діаграми розсіювання зі встановленого за замовчуванням значення Red/Green (Червоний/Зелений) на Red/Blue (Червоний/Синій), обираючи даний варіант із контекстного меню на будь-якому з цих графіків.

## Елементи контекстного меню

Елементи контекстного меню для кластерограми такі ж, як і для стовпчастої діаграми. Доступні варіанти див. у [Таблиця 34 на стор. 260](#). Крім того, можна вибрати опцію Color Scheme (Кольорове кодування), щоб налаштувати кодування Red/Blue (Червоний/Синій) замість встановленого за замовчуванням кодування Red/Green (Червоний/Зелений) для негативної регуляції експресії на діаграмі.

## Таблиця даних

Таблиця відображає значення для мішені, проби та нормалізованої експресії. Натисніть на прапорець поруч із мішенню, щоб включити або виключити її з діаграми.



## Діаграма розсіювання

Діаграма розсіювання відображає нормалізовану експресію мішеней для контрольної проби порівняно з експериментальною. Лінії на діаграмі показують поріг регулювання. Точки даних між лініями вказують на те, що різниця в експресії для цієї мішені (гена) між пробами незначна. Точки даних поза лініями перевищують поріг регулювання і можуть мати значення для дослідження.

На зображенні графіка показано зазначені далі зміни в експресії мішені на основі порогу регулювання:

- позитивна регуляція (червоне коло) — відносно вища експресія;
- негативна регуляція (зелене або синє коло) — відносно нижча експресія;
- без змін (чорне коло).

Натисніть і перетягніть будь-яку порогову лінію, щоб відрегулювати значення порогу регулювання.

## Налаштування

Користувач може налаштувати такі параметри:

- Контрольна проба
- Експериментальна проба
- Поріг регулювання. Лінії порога на діаграмі переміщуються відповідно до збільшення або зменшення значення регулювання.

## Елементи контекстного меню

Елементи контекстного меню для графіка розсіювання такі ж, як і для стовпчастої діаграми. Доступні варіанти див. у [Таблиця 34 на стор. 260](#). Крім того, натиснувши Symbol (Символ), можна змінити символ, що використовується на графіку, з кола (налаштування за замовчуванням) на один з наступних:

- Трикутник
- Хрест
- Квадрат
- Ромб

## Таблиця даних

В таблиці відображуються значення для мішені і нормалізованої експресії для контрольних і експериментальних проб. В таблиці також вказується, чи рівні мішеней є підвищеним або зниженим в порівнянні з порогом регуляції. Щоб включити мішень в графік або виключити з графіка, встановіть або приберіть прапорець поряд з нею.

## Таблиця Results (Результати)

В таблиці на вкладці Results (Результати) узагальнені дані з усіх графіків. В [Таблиця 37](#) наведені дані, які відображуються в таблиці Results (Результати).

**Таблиця 37. Інформація на вкладці Results (Результати)**

Інформація	Опис
Target (Мішень)	Назва мішені (ампліфікований ген)
Sample (Проба)	Назва проби
Mean (Середнє) $C_q$	Середнє значення циклу кількісного аналізу
Mean Efficiency Corrected $C_q$ ( $C_q$ з поправкою на середню ефективність)	Середнє значення циклу кількісного аналізу після поправки на ефективність реакції
Normalized Expression (Нормалізована експресія)	Експресія мішені, нормалізована щодо еталонної мішені ( $\Delta\Delta C_q$ )
Relative Normalized Expression (Відносна нормалізована експресія)	Експресія, нормалізована щодо контрольної проби; називається також «кратною зміною»
Regulation (Регуляція)	Зміна експресії щодо контрольної проби
Compared to Regulation Threshold (В порівнянні з порогом регуляції)	Позитивна або негативна регуляція експериментальної проби на основі налаштувань порога

**Примітка.** Дані реплікатів є тільки в таблицях на вкладках аналізу даних, на яких було обрано Split Out Replicates (Відділяти реплікати) (тобто Clustergram (Кластерграма)). В таблицях аналізу експресії гена можлива розбіжність між даними експресії, якщо в якості контрольної проби на стовпчастій діаграмі вибрано «none» (немає).

## Дослідження гена

Створіть дослідження гена, щоб порівняти дані експресії гена з одного або кількох експериментів PCR (ПЛР) у реальному часі, використовуючи інструмент для взаємного калібрування підходів для нормалізації між експериментами. Створіть дослідження гена, додавши дані з одного або кількох файлів даних (розширення .pcrd) у дослідження гена. Програмне забезпечення групує їх в один файл (розширення .mgxd).

**Примітка.** Максимальна кількість проб, які можна проаналізувати під час дослідження гена, обмежена розміром оперативної пам'яті комп'ютера та віртуальної пам'яті.

## Калібрування варіацій підходів

Калібрація в межах підходу автоматично виконується в кожному дослідженні генів для кожної мішені з метою нормалізації варіацій в межах підходу серед мішеней, які аналізуються в окремих підходах ПЛР в режимі реального часу (тобто для різних файлів .pcrd, сформованих з різних планшетів).

Для того щоб програма розпізнавала пробу як калібратор в межах підходу, проба повинна мати однакові назву мішені, назву проби і, якщо використовується, назву біологічного набору у всіх планшетах, що порівнюються.

**Примітка.** Калібрація в межах підходу в дослідженні генів відбувається тільки за наявності щонайменше однієї проби, що використовується як калібратор в межах підходу. У дослідженні генів мішені без відповідних проб-калібраторів в межах підходу будуть аналізуватися без корекції (не рекомендується).

Калібратори в межах підходу можна застосовувати двома способами:

- Для кожної мішені — різні праймери ПЛР можуть мати різні ефективності. За замовчуванням калібратор в межах підходу застосовується до всіх лунок на одному і тому ж планшеті, які мають однакову назву мішені, наприклад,  $C_q$ , сформоване в одному і тому ж аналізі.
- Все дослідження — один калібратор в межах підходу вибирається користувачем і застосовується до всього дослідження генів.

## Діалогове вікно Gene Study (Дослідження гена)

У діалоговому вікні Gene Study (Дослідження гена) міститься дві вкладки, описані нижче.

- Вкладка Study Setup (Налаштування дослідження) — керування підходами під час дослідження гена.
  - Важливо!** Додавання або видалення файлів даних у дослідженні гена не призводить до змінення даних у початковому файлі.
- Вкладка Study Analysis (Аналіз дослідження) — відображення даних експресії гена для комбінованих підходів.

## Вкладка Study Setup (Налаштування дослідження)

В [Таблиця 38](#) зазначені дані, які відображуються в таблиці Study Setup (Налаштування дослідження).

**Таблиця 38. Вкладка Study Setup (Налаштування дослідження) в діалоговому вікні Gene Study (Дослідження гена)**

Заголовок колонки	Опис
File Name (Ім'я файлу)	Ім'я файлу даних підходу (з розширенням .pcrd)
File Folder (Папка файлу)	Директорія, в якій знаходиться файл даних для кожного підходу в дослідженні гена
Date Created (Дата створення)	Дата отримання даних підходу
Well Group Name (Назва групи лунок)	Назва групи лунок, обрана при додаванні файлу до дослідження гена <b>Підказка.</b> Для аналізу однієї групи лунок в дослідженні гена необхідно вибрати цю групу лунок у вікні Data Analysis (Аналіз даних) перед імпортом файлу даних в дослідження гена.
Step (Крок)	Крок протоколу, який включає зчитування даних з планшета для збору даних ПЛР в реальному часі
Run Type (Тип підходу)	Підхід, налаштований користувачем, або підхід PrimePCR
Protocol Edited (Протокол відредагований)	Якщо ця опція вибрана, це означає, що протокол, який використовується для підходу PrimePCR, редагувався
View Plate (Перегляд планшета)	Відкриття карти даних планшета з даними кожного підходу, включеного в дослідження гена

## Підготовка дослідження гена

### Щоб підготувати дослідження гена

1. Перед імпортуванням даних в дослідження гена виконайте у вікні Data Analysis (Аналіз даних) наступні дії:
  - Переконайтеся, що пробки з однаковим вмістом мають однакові назви. У дослідженні гена програма передбачає, що лунки з однаковими назвами мішені або пробки містять одні й ті ж пробки.
  - Скорегуйте початковий рівень і поріг ( $C_q$ ) на вкладці Quantification (Кількісний аналіз) для оптимізації даних в кожному підході.
  - Виберіть групу лунок, яку потрібно включити в дослідження гена.

Для того щоб в дослідженні гена відображалися дані однієї групи лунок, ця група повинна бути обрана до імпорту файлу даних.

На вкладці Study Setup (Налаштування дослідження) відображується список всіх підходів в рамках дослідження гена.

2. В діалоговому вікні Gene Study (Дослідження гена) виберіть вкладку Study Setup (Налаштування дослідження).
3. Натисніть Add Data Files (Додати файли даних), щоб вибрати файл у вікні браузера.

**Підказка.** Щоб швидко додати підходи в дослідження гена, перетягніть файли даних (з розширенням .pcrd) в діалогове вікно Study Setup (Налаштування дослідження).
4. Програмне забезпечення CFX Manager Dx автоматично виконує аналіз, передбачений дослідженням гена, по мірі додавання файлів даних. Для перегляду результатів виберіть вкладку Study Analysis (Аналіз дослідження).

### Щоб видалити підходи з дослідження гена

- ▶ Виберіть один або більше файлів в списку і натисніть Remove (Видалити).

### Щоб додати примітки про дослідження гена

- ▶ Введіть примітки, що стосуються файлів і аналізу, в текстове поле Notes (Примітки).

## Вкладка Study Analysis (Аналіз дослідження)

На вкладці Study Analysis (Аналіз дослідження) відображаються дані з усіх підходів під час дослідження гена. Параметри аналізу даних експресії гена такі самі, що й для окремого файлу даних, крім зазначеного далі винятку.

- Для стовпчастої діаграми значення взаємного калібрування підходів (якщо вони розраховані) відображаються, якщо натиснути пункт Inter-run Calibration (Взаємне калібрування підходів).

**Примітка.** Як інструмент для взаємного калібрування підходів можна використовувати тільки такі типи проб:

- невідомо;
- стандарт;
- позитивний контроль.

Такі типи проб, як негативний контроль, контроль без матриці (NTC) і контроль без ревертази (NRT) не можуть використовуватися як інструмент для взаємного калібрування підходів.

## Створення звіту про дослідження гена

**Щоб створити звіт про дослідження гена, виконайте наступні дії.**

1. Перш ніж створювати звіт, налаштуйте дані й графіки звіту про дослідження гена.
2. У меню Gene Study (Дослідження гена) послідовно виберіть елементи Tools > Reports (Інструменти > Звіти), щоб відкрити діалогове вікно Report (Звіт).
3. Виберіть параметри, які потрібно включити в звіт. Звіт відкривається з вибраними параметрами за замовчуванням. Установіть або зніміть прапорці, щоб змінити цілі категорії або окремі параметри в категорії.

У розділі [Категорії звітів із дослідження гена на стор. 275](#) містяться списки доступних варіантів відображення.

4. Змініть порядок категорій і елементів у звіті. Перетягніть параметри в потрібне положення. Елементи можуть бути переупорядковані тільки в межах категорій, до яких вони належать.
5. Натисніть Update Report (Оновити звіт), щоб оновити будь-які зміни для елемента Report Preview (Попередній перегляд звіту).
6. Надрукуйте або збережіть звіт. Натисніть кнопку Print Report (Друк звіту) на панелі інструментів, щоб надрукувати поточний звіт. Послідовно виберіть елементи File > Save (Файл > Зберегти), щоб зберегти звіт у форматі PDF (файл Adobe Acrobat Reader) і виберіть розташування для збереження файлу. Виберіть елементи File > Save As (Файл > Зберегти як), щоб зберегти звіт під новим ім'ям або в новому розташуванні.
7. (Додатково) Створіть шаблон звіту з потрібною інформацією. Щоб зберегти налаштування поточного звіту в шаблон, послідовно виберіть Template > Save (Шаблон > Зберегти) або Template > Save As (Шаблон > Зберегти як). Потім завантажте шаблон звіту під час наступного створення звіту.



## Категорії звітів із дослідження гена

Використовуйте діалогове вікно Gene Study Report (Звіт щодо дослідження гена) для впорядкування даних дослідження гена у формі звіту. В [Таблиця 39](#) перераховані всі варіанти, доступні для звіту щодо дослідження гена.

**Таблиця 39. Категорії для звіту щодо дослідження гена**

Категорія	Варіант	Опис
<b>Header (Верхній колонтитул)</b>		
		Заголовок, підзаголовок і логотип для звіту
	Report Information (Інформація про звіт)	Дата, ім'я користувача, ім'я файлу даних, шлях до файлу даних і обрана група лунок
	Gene Study File List (Список файлів дослідження гена)	Список всіх файлів даних в дослідженні гена
	Notes (Примітки)	Примітки щодо звіту з даними
<b>Study Analysis: Bar Chart (Аналіз дослідження: стовпчаста діаграма)</b>		
	Analysis Settings (Налаштування аналізу)	Список вибраних параметрів аналізу
	Chart (Графік)	Стовпчаста діаграма експресії гена, що показує дані
	Target Names (Назви мішеней)	Список всіх мішеней в дослідженні гена
	Sample Names (Назви проб)	Список всіх проб в дослідженні гена
	Data (Дані)	Таблиця, в якій показані дані
	Target Stability (Стабільність мішені)	Дані про стабільність мішені
	Inter-run Calibration (Калібрація в межах підходу)	Дані про калібрацію в межах підходу

Таблиця 39. Категорії для звіту щодо дослідження гена, продовження

Категорія	Варіант	Опис
<b>Study Analysis (Аналіз дослідження): Clustergram (Кластерграма) і Scatter Plot (Графік розсіювання)</b>		
	Analysis Settings (Налаштування аналізу)	Налаштування для кожного типу графіка
	Chart (Графік)	Графік експресії гена, що показує дані
	Data (Дані)	Таблиця з даними по кожній мішені

## Додаток А Розрахунки аналізу даних

Програма CFX Manager Dx виконує обчислення за формулами автоматично і виводить результати на вкладки Data Analysis (Аналіз даних). У цьому додатку міститься детальна інформація про те, як програма CFX Manager Dx виконує обчислення за формулами.

### Ефективність реакції

Як свідчать дані, використання точного вимірювання ефективності кожного набору праймера й зонда забезпечить точніші результати аналізу даних експресії гена. За замовчуванням у розрахунках експресії гена застосовується значення ефективності 100 %. Щоб оцінити ефективність реакції, згенеруйте стандартну криву за допомогою серійних розведень репрезентативної проби у відповідному динамічному діапазоні, а потім зареєструйте ефективність подальшого аналізу експресії гена. Якщо підхід включає стандартну криву, програмне забезпечення автоматично розраховує ефективність і відображає її в розділі Standard Curve (Стандартна крива) на вкладці Quantification (Кількісний аналіз), коли встановлено прапорець Auto Efficiency (Автоматичне визначення ефективності) на вкладці Targets (Мішені) у вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту).

Ефективність (E) у формулах ефективності означає «ефективність», як її описано в публікаціях Pfaffl (2001) і Vandesompele et al. (2002). Ефективність на рівні 2 (ідеальне дублювання в кожному циклі) у цих публікаціях — еквівалент ефективності 100 % у цьому програмному забезпеченні. Ви можете конвертувати свої розрахунки ефективності в значення, які використовуються в цьому програмному забезпеченні, за допомогою таких математичних залежностей:

- $E = (\% \text{ ефективності} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ ефективності} = (E - 1) * 100$

## Відносна кількість

Формула відносної кількості ( $\Delta C_q$ ) для будь-якої проби (GOI):

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

**Примітка.** Ця формула використовується для обчислення відносної кількості, коли не визначено контрольну пробу .

Де:

- E = ефективність набору праймера й зонда. Ця ефективність обчислюється за формулою (% Ефективності \* 0,01) + 1, де 100% ефективності = 2
- $C_{q(\text{min})}$  = середнє значення  $C_q$  для проби з найнижчим середнім значенням  $C_q$  для GOI
- $C_{q(\text{sample})}$  = середнє значення  $C_q$  для проби
- GOI = цільовий ген (одна мішень)

## Відносна кількість при вибраному контролі

У випадку призначення контрольної проби відносна кількість (RQ) для будь-якої проби з потрібним геном (GOI) обчислюється за наступною формулою:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Де:

- E = ефективність набору праймера й зонда. Ця ефективність обчислюється за формулою (% Ефективності \* 0,01) + 1, де 100% ефективності = 2
- $C_{q(\text{control})}$  = середнє значення  $C_q$  для контрольної проби
- $C_{q(\text{sample})}$  = середнє значення  $C_q$  для будь-яких проб з GOI
- GOI = цільовий ген (одна мішень)

## Стандартне відхилення відносної кількості

Формула для розрахунку стандартного відхилення відносної кількості:

$$SD \text{ Relative Quantity} = SD C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Де:

- SD Relative Quantity = стандартне відхилення відносної кількості
- SD  $C_{q \text{ GOI}}$  sample = стандартне відхилення  $C_q$  для проби (GOI)
- Relative Quantity = відносна кількість проби
- E = ефективність набору праймера й зонда. Ця ефективність обчислюється за формулою  $(\% \text{ Ефективності} \cdot 0,01) + 1$ , де 100% ефективності = 2
- GOI = цільовий ген (одна мішень)

## Скоректований по ефективності $C_q$ ( $C_{qE}$ )

Формула визначення скоригованої ефективності  $C_q$ :

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Де:

- E = ефективність

## $C_q$ з поправкою на середню ефективність ( $MC_{qE}$ )

Формула для  $C_q$  з поправкою на середню ефективність:

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE \text{ (Rep 1)}} + C_{qE \text{ (Rep 2)}} + \dots + C_{qE \text{ (Rep n)}}}{n}$$

Де:

- $C_{qE}$  =  $C_q$  з поправкою на ефективність
- n = кількість реплікатів

## Фактор нормалізації

Знаменник рівняння нормалізованої експресії називають фактором нормалізації. Фактор нормалізації — це середнє геометричне відносних кількостей усіх еталонних мішеней (генів) для даної проби, як описано в формулі:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

Де:

- RQ = відносна кількість
- n = кількість еталонних мішеней
- GOI = цільовий ген (одна мішень)

## Нормалізована експресія

Нормалізована експресія ( $\Delta\Delta C_q$ ) — це відносна кількість мішені (гена), нормалізована до кількості еталонних мішеней (генів або послідовностей) у біологічній системі. Щоб вибрати еталонні мішені, відкрийте вікно Experiment Settings (Налаштування експерименту) і натисніть на еталонну колонку для кожної мішені, яка служить еталонним геном.

Формула для розрахунку нормалізованої експресії, у якій використовується розрахована відносна кількість (RQ):

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{sample (GOI)}}}{(RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Де:

- RQ = відносна кількість проби
- Ref = еталонна мішень у підході, який включає одну або більше еталонних мішеней у кожній пробі
- GOI = цільовий ген (одна мішень)

Зважаючи на те, що еталонні мішені не змінюють рівень експресії в біологічній системі, розрахунок нормалізованої експресії врахує різницю в навантаженні або варіації у кількості клітин, представлених у кожній із проб.

## Нормалізована експресія, коли вибрано контроль

При виборі контрольної проби у вікні Experiment Settings (Налаштування експерименту) програма встановлює для контрольної проби рівень експресії 1. У цьому випадку програма нормалізує відносні кількісні значення експресії всіх мішеней (генів) до рівня контролю (значення 1). Така нормалізована експресія відповідає аналізу нормалізованої експресії без масштабування при виборі контролю.

**Примітка.** Цей варіант називається також відносною нормалізованою експресією (RNE) і кратністю зміни.

## Стандартне відхилення для нормалізованої експресії

Перемасштабування значення нормалізованої експресії здійснюється шляхом ділення стандартного відхилення нормалізованої експресії на значення нормалізованої експресії для найвищого або найнижчого рівня експресії в залежності від вибору варіанту масштабування. Формула стандартного відхилення (SD) коефіцієнта нормалізації:

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ n)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ n)}}\right)^2}$$

Де:

- RQ = відносна кількість проби
- SD = стандартне відхилення
- NF = фактор нормалізації
- Ref = еталонна мішень
- n = кількість еталонних мішеней

Якщо контрольна проба призначена, необхідності у виконанні цієї функції перемасштабування на стандартному відхиленні немає. Див. формулу нижче:

$$SD\ NE_{sample\ (GOI)}^3 = NE_{sample\ (GOI)}^3 \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{sample}}{NF_{sample}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (GOI)}}{RQ_{sample\ (GOI)}}\right)^2}$$

Де:

- NE = нормалізована експресія
- RQ = відносна кількість проби
- SD = стандартне відхилення
- GOI = цільовий ген (одна мішень)



## Нормалізована експресія, масштабована до найвищого рівня експресії

Коли підхід не включає в себе контролю, масштабувати нормалізовану експресію (NE) для кожної мішені (гена) можна шляхом поділу рівня експресії кожної проби на найвищий рівень експресії в усіх пробах. Програма встановлює для найвищого рівня експресії значення 1 і перемасштабує всі рівні експресії проб. Формула для масштабування до найвищого рівня:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI}) = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI})}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample}}(\text{GOI})}$$

Де:

- GOI = потрібний ген (мішень)

## Нормалізована експресія, масштабована до найнижчого рівня експресії

Коли підхід не включає в себе контролю, масштабувати нормалізовану експресію (NE) для кожної мішені (гена) можна шляхом поділу рівня експресії кожної проби на найнижчий рівень експресії в усіх пробах. Програма встановлює для найнижчого рівня експресії значення 1 і перемасштабує всі рівні експресії проб. Формула для масштабування до найнижчого рівня:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI}) = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI})}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample}}(\text{GOI})}$$

Де:

- GOI = потрібний ген (мішень)

## Нормалізована експресія, масштабована до середнього рівня експресії

Коли підхід не включає в себе контролю, масштабувати нормалізовану експресію (NE) для кожної мішені (гена) можна шляхом поділу рівня експресії кожної проби на геометричний середній рівень експресії в усіх пробах. Програма встановлює для середнього рівня експресії значення 1 і перемасштабує всі рівні експресії проб. Формула для масштабування до середнього рівня:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Де:

- GOI = потрібний ген (мішень)
- GM = середнє геометричне нормалізованої експресії для всіх проб

## Стандартне відхилення для масштабованої нормалізованої експресії

Перемасштабування значення масштабованої нормалізованої експресії (NE) здійснюється шляхом ділення стандартного відхилення (SD) нормалізованої експресії на значення нормалізованої експресії для найвищого (MAX) або найнижчого (MIN) рівня експресії в залежності від вибору варіанту масштабування.

**Примітка.** Якщо контрольна проба призначена, необхідності у виконанні цієї функції перемасштабування на стандартному відхиленні немає.

Обчислення для цієї формули:

$$SD \text{ Scaled } NE_{\text{sample (GOI)}} = \frac{SD \text{ } NE_{\text{sample (GOI)}}}{NE_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

Де:

- NE = нормалізована експресія
- SD = стандартне відхилення
- GOI = потрібний ген (мішень)
- MAX = найвищий рівень експресії
- MIN = найнижчий рівень експресії

## Регулювання

Регулювання — це показник збільшення або зменшення експресії мішені експериментальної проби порівняно з контрольною пробою, що визначається, як описано нижче.

Якщо значення експресії експериментальної проби > значення експресії контрольної проби:

$$\text{Regulation} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Якщо експресія експериментальної проби < експресія контрольної проби:

$$\text{Regulation} = -1 / \left( \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

**Примітка.** Для стовпчастої діаграми показник *експресії* базується на відносній кількості або нормалізованій експресії залежно від вибраного режиму (див. розділ [Стовпчаста діаграма на стор. 250](#)). Проте для діаграми розсіювання, кластерограми регулювання завжди розраховується з нормалізованої експресії.

## Формули скоригованих значень

Різниця між скоригованими й нескоригованими значеннями помітна, лише якщо стандартна крива створюється як частина підходу ПЛР у реальному часі. Програмне забезпечення застосовує три рівняння для визначення поширення похибки.

- Стандартна похибка
- Стандартна похибка для нормалізованої експресії
- Стандартна похибка для нормалізованого цільового гена (мішені)

Формула визначення стандартної похибки:

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Де:

- n = кількість еталонних мішеней (генів)
- SD = стандартне відхилення

Формула визначення стандартної похибки для фактору нормалізації в нормалізованій експресії:

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{\text{example (Ref 1)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{example (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{example (Ref 2)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{example (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{example (Ref n)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{example (Ref n)}}}\right)^2}$$

Де:

- n = кількість еталонних мішеней
- SE = стандартна похибка
- NF = фактор нормалізації
- RQ = відносна кількість

Формула визначення стандартної похибки для нормалізованого цільового гена (GOI):

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

Де:

- SE = стандартна похибка
- GOI = цільовий ген (одна мішень)
- NF = фактор нормалізації
- n = кількість еталонних мішеней

## Додаток В Керування користувачами та ролями CFX Manager Dx

У програмному забезпеченні CFX Manager Dx можна створювати користувачів і призначати їм ролі. Ролі обмежують доступ до функцій CFX Manager Dx. Одночасно користувачеві може бути призначена тільки одна роль. Однак адміністратор програмного забезпечення CFX Manager Dx в будь-який час може змінити роль користувача.

**Підказка.** Для використання CFX Manager Dx створювати користувачів не потрібно. Якщо не створювати користувачів, то всі дії будуть виконуватися за допомогою облікового запису користувача за замовчуванням *admin*.

**Важливо!** Користувач *admin* - це обліковий запис Administrator (Адміністратор) за замовчуванням, який використовується для початкового входу в систему CFX Manager Dx. Рекомендується створити спеціальний запис користувача для виконання завдань з адміністрування CFX Manager Dx. Обліковому запису цього користувача призначають роль Administrator (Адміністратор) і використовують цього користувача для виконання всіх завдань з адміністрування.

**Важливо!** Програмне забезпечення CFX Manager Dx не має функції припинення сеансу користувача через перевищення часу очікування. Тому рекомендується впровадити засоби забезпечення безпеки для Windows або захисту від доступу стороннього користувача (наприклад, налаштувати заставку із захищеним паролем входом).

### Керування користувачами

В стандартній версії Програмне забезпечення CFX Manager Dx облікові записи користувача можуть мати будь-яке ім'я чи пароль.

Щоб призначити роль кожному користувачеві, виберіть роль зі списку ролей у вікні User Administration (Адміністрування користувача). В цьому прикладі користувачеві з роллю Guest (Гість) було надане додаткове право зберігати файли.

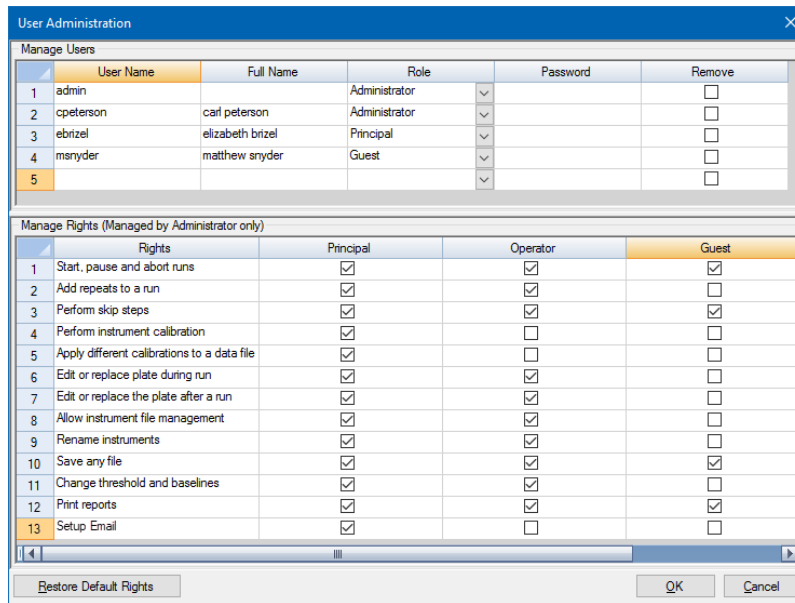
## Додавання та видалення користувачів

**Примітка.** Додавати та видаляти користувачів може лише адміністратор CFX Manager Dx.

### Як додати обліковий запис користувача до CFX Manager Dx

1. У вікні Home (Головне) виберіть пункт User > User Administration (Користувач > Адміністрування користувача).

З'явиться діалогове вікно User Administration (Адміністрування користувача).



2. На панелі Manage Users (Керування користувачами) введіть ім'я користувача в стовпець User Name (Ім'я користувача).
3. Виберіть для користувача параметр у стовпці Role (Роль).

Ролі обмежують права користувачів. За замовчуванням встановлено роль Principal (Основний).

**Підказка.** Ви можете змінювати права для кожної ролі. Змінення прав для ролі впливає на всіх користувачів, яким призначена ця роль. Докладнішу інформацію див. в розділі [Керування правами ролей на стор. 291](#).



4. (Додатково) Введіть для користувача Full Name (Повне ім'я) та Password (Пароль).
5. Натисніть кнопку ОК, щоб відкрити діалогове вікно, і підтвердьте закривання основного вікна.
6. Натисніть Yes (Так), щоб закрити діалогове вікно й основне вікно.

### Видалення користувача

1. На панелі Manage Users (Керування користувачами) виберіть пункт Remove (Видалити) для кожного користувача, якого хочете видалити.
2. Натисніть кнопку ОК, щоб відкрити діалогове вікно, і підтвердьте закривання основного вікна.
3. Натисніть Yes (Так), щоб закрити діалогове вікно й основне вікно.

**Примітка.** У списку користувачів програмного забезпечення завжди має бути один адміністратор.

## Керування правами ролей

Програмне забезпечення CFX Manager Dx включає зазначені далі чотири ролі.

- Адміністратор (обов'язково) — адміністратори мають усі права, які неможливо змінювати. Крім того, адміністратори можуть додавати та видаляти користувачів і змінювати права для кожної ролі.

**Примітка.** Тільки адміністратор може змінити права на будь-яку роль.

- Основний користувач — за замовчуванням основний користувач має всі права.
- Оператор — за замовчуванням оператор має всі права, крім пропуску циклів.
- Гість — за замовчуванням гостьовий користувач може тільки читати файли.

**Важливо!** Змінення прав для ролі впливає на всіх користувачів, яким призначена ця роль. Неможливо змінити налаштування ролі для певного користувача. Змінійте права для ролі уважно.

### Зазначення прав для кожної ролі

1. У вікні Home (Головне) виберіть пункт User > User Administration (Користувач > Адміністрування користувача).
2. На панелі Manage Rights (Керування правами) виконайте одну з таких дій:
  - щоб видалити право з ролі, зніміть його прапорець;
  - щоб додати право для ролі, встановіть його прапорець.

3. Натисніть кнопку ОК, щоб відкрити діалогове вікно, і підтвердьте закривання основного вікна.
4. Натисніть Yes (Так), щоб закрити діалогове вікно й саме вікно.

**Скидання всіх прав для всі ролей**

- ▶ У діалоговому вікні User Administration (Адміністрування користувачів) натисніть команду Restore Default Rights (Відновити права за замовчуванням).

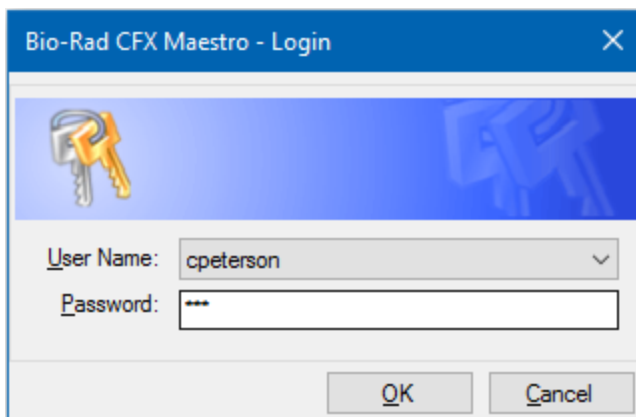
## Вхід у систему програмного забезпечення CFX Manager Dx

Програмне забезпечення CFX Manager Dx керує входом у програму за допомогою діалогового вікна Login (Вхід). Коли програмне забезпечення запускається, CFX Manager Dx автоматично відображає діалогове вікно Login (Вхід), якщо у вікні User Administration (Адміністрування користувачів) зазначено два користувача або більше.

Ім'я користувача, що здійснив вхід, відображається в програмі CFX Manager Dx у верхній частині вікна Home (Головне).

### Вхід у програму CFX Manager Dx

1. У діалоговому вікні Login (Вхід) виберіть своє ім'я з випадаючого списку User Name (Ім'я користувача).
2. Введіть свій пароль.
3. Натисніть OK, щоб закрити діалогове вікно Login (Вхід) і відкрити програмне забезпечення.



## Змінення користувачів

Можна змінювати користувачів під час експлуатації програмного забезпечення.

### Зміна користувачів

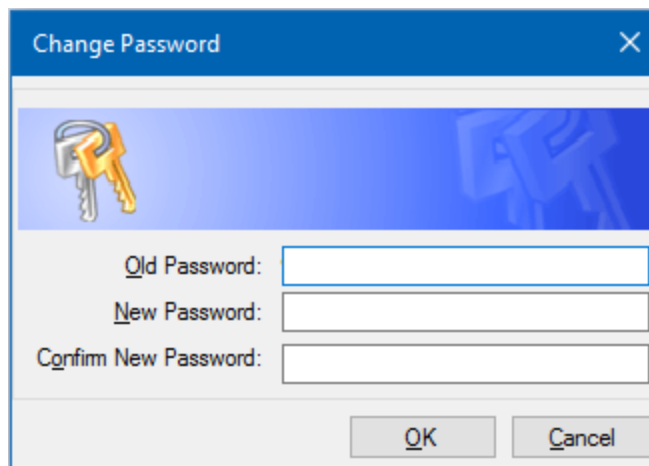
1. У вікні Home (Головне) виберіть пункт User > Select User (Користувач > Вибрати користувача), щоб відкрити діалогове вікно Login (Вхід).
2. Виберіть ім'я з випадаючого списку User Name (Ім'я користувача)
3. Введіть новий пароль користувача.
4. Натисніть ОК, щоб закрити діалогове вікно Login (Вхід) і відкрити програмне забезпечення.

## Змінення паролів користувача

Користувачі CFX Manager Dx можуть змінити свій пароль в будь-який час.

### Зміна паролів користувача

1. У вікні Home (Головне) виберіть пункт User > Change Password (Користувач > Зміна пароля), щоб відкрити діалогове вікно Change Password (Зміна пароля).



2. У полі Old Password (Старий пароль) введіть свій старий пароль.
3. У полі New Password (Новий пароль) введіть новий пароль і введіть його ще раз у полі Confirm New Password (Підтвердити новий пароль).
4. Натисніть ОК, щоб підтвердити зміну.

## Перегляд своєї ролі та прав

**Підказка.** Користувачі, для яких встановлено ролі Principal (Основний), Operator (Оператор) або Guest (Гість), можуть переглядати лише свої налаштування користувача, права та ролі.

**Щоб переглянути свою поточну роль користувача та права, виконайте зазначені нижче дії.**

- ▶ У вікні Home (Головне) виберіть User > User Administration (Користувач > Адміністрування користувача).

Зв'яжіться з адміністратором CFX Manager Dx, щоб змінити налаштування, права та ролі користувача, зазначені у вікні User Administration (Керування користувачами).



## Додаток С Інтеграція з LIMS (Лабораторна система управління інформацією)

Програмне забезпечення CFX Manager Dx можна налаштувати для використання з лабораторною системою управління інформацією (LIMS). Щоб здійснити інтеграцію з LIMS (Лабораторна система управління інформацією), програмному забезпеченню CFX Manager Dx потрібні відомості про налаштування планшета, згенеровані платформою LIMS (файл LIMS, \*.pln), файл протоколу (\*.prcl), створений за допомогою Програмне забезпечення CFX Manager Dx, визначене розташування для експорту даних, а також визначений формат експорту.

Коли підхід завершено, програмне забезпечення CFX Manager Dx генерує файл даних (.pcrd), зберігає його у визначеному розташуванні папки для експорту даних. Крім того, програмне забезпечення CFX Manager Dx може створювати файл даних у форматі .csv, що сумісний із LIMS (Лабораторна система управління інформацією), і зберігати його в тому самому розташуванні.

## Створення файлів даних, сумісних з LIMS (Лабораторна система управління інформацією)

В цьому додатку пояснюється, як налаштувати програмне забезпечення CFX Manager Dx для створення, збереження і експорту файлів даних, сумісних з LIMS (Лабораторна система управління інформацією).

### Налаштування папки LIMS (Лабораторна система управління інформацією) та параметрів експорту даних

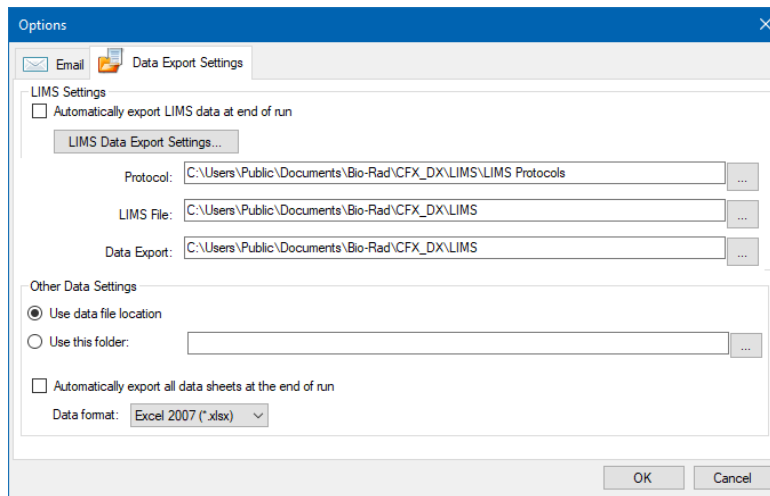
За замовчуванням програмне забезпечення CFX Manager Dx зберігає протоколи LIMS (Лабораторна система управління інформацією), файли та файли експорту даних у цю папку:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_Dx\LIMS

Для програмного забезпечення CFX Manager Dx можна налаштувати збереження файлів в іншу папку та змінити параметри експорту даних LIMS (Лабораторна система управління інформацією).

### Встановлення папки LIMS (Лабораторна система управління інформацією) та параметрів експорту даних

1. У вікні Home (Головне) послідовно виберіть елементи Tools > Options (Інструменти > Параметри).
2. У діалоговому вікні Options (Параметри) виберіть елемент Data Export Settings (Параметри експорту даних).



3. (Додатково) Виберіть Automatically export LIMS data at end of run (Автоматично експортувати дані LIMS (Лабораторна система управління інформацією) наприкінці підходу).

Програмне забезпечення автоматично експортуватиме дані LIMS (Лабораторна система управління інформацією) після кожного підходу та зберігатиме їх у вказаному місці.

4. Щоб змінити параметри експорту за замовчуванням для даних LIMS (Лабораторна система управління інформацією), натисніть LIMS Data Export Settings (Параметри експорту даних LIMS).

**Важливо!** Назад до програмного забезпечення CFX Manager Dx можна імпортувати лише дані LIMS (Лабораторна система управління інформацією), експортовані як файл .csv.

5. У діалоговому вікні LIMS Data Export Format Settings (Параметри формату експорту даних LIMS) виберіть необхідні параметри експорту та натисніть кнопку OK.



6. У діалоговому вікні Options (Параметри) виберіть папку за замовчуванням, у якій потрібно зберегти файли даних LIMS (Лабораторна система управління інформацією). Можна вибрати різне розташування для кожного типу файлу:
  - протокол;
  - файл LIMS (Лабораторна система управління інформацією);
  - файл експорту даних.
7. Натисніть кнопку ОК, щоб зберегти зміни та закрити діалогове вікно Options (Параметри).

## Створення протоколу LIMS

Щоб почати підхід LIMS (Лабораторної системи управління інформацією), створіть файл протоколу CFX Manager Dx (\*.prcl) і збережіть його у визначеному місці розташування папки протоколів LIMS.

Додаткові відомості див. в [Розділ 6, Створення протоколів](#).

## Створення файлу LIMS

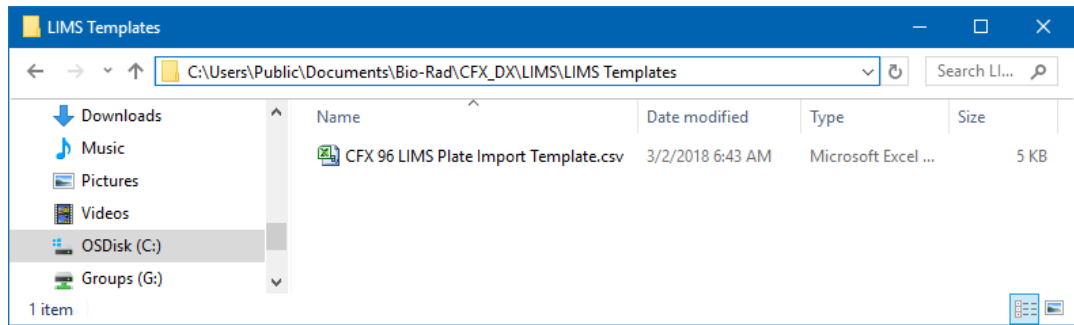
Файл LIMS (\*.plgn) містить деталі налаштування планшета та назву файлу протоколу. Цей файл згенерований внутрішньою лабораторною системою управління інформацією (LIMS). CFX Manager Dx використовує файл LIMS, щоб створити файл планшета для використання з файлом протоколу.

CFX Manager Dx надає файли шаблону імпорту планшета, які можна редагувати, щоб створити користувацькі файли планшета LIMS.

**Підказка.** Це завдання повинен виконувати фахівець із LIMS.

### Створення файлу LIMS

1. У вікні Home (Головне) виберіть View > Show > LIMS File Folder (Вигляд > Показати > Папка з файлом LIMS).
2. Відкрийте папку LIMS Templates (Шаблони LIMS) і виберіть файл .csv, щоб імпортувати до внутрішньої системи LIMS.



3. Використовуйте LIMS, щоб редагувати файл шаблону, заповнюючи необхідні поля, перераховані в Таблиця 40.
4. Збережіть шаблон із розширенням .plrn у папці LIMS File (Файл LIMS).

**Важливо!** CFX Manager Dx підтримує відкривання файлів лише у форматі .plrn. Щоб почати підхід LIMS, необхідно зберегти файл .csv як .plrn.

**Таблиця 40. Визначення змісту файлу LIMS у форматі .csv**

Стовпець	Рядок	Опис	Зміст	Мета
A	1	Заголовок планшета	Не редагувати	Попередньо встановлено
A,B,C	2	Поле/дані/інструкція	Не редагувати	Попередньо встановлено
B	3	Версія	Не редагувати	Попередньо встановлено
B	4	Розмір планшета	Не редагувати	Попередньо встановлено
B	5	Тип планшета	Введіть «BR White (Білий)», «BR Clear (Прозорий)» або інший тип відкаліброваного планшета	Обов'язково

Таблиця 40. Визначення змісту файлу LIMS у форматі .csv, продовження

Стовпець	Рядок	Опис	Зміст	Мета
B	6	Режим сканування	Введіть «SYBR/FAM Only: (Тільки SYBR/FAM)», «All Channels (Усі канали)» або «FRET»	Обов'язково
B	7	Одиниці	Введіть одне з нижченаведеного: «copy number (номер копії)», «fold dilution (кратність розведення)», «micromoles (мікромолі)», «nanomoles (наномолі)», «picomoles (пікомолі)», «femtomoles (фемтомолі)», «attomoles (аттомолі)», «milligrams (міліграми)», «micrograms (мікрограми)», «nanograms (нанограми)», «picograms (пікограми)», «femtograms (фемтограми)», «attograms (аттограми)» або «percent (процент)»	Обов'язково

**Таблиця 40. Визначення змісту файлу LIMS у форматі .csv, продовження**

Стовпець	Рядок	Опис	Зміст	Мета
B	8	Ідентифікатор підходу	Введіть короткий опис або штрих-код, який ідентифікує цей підхід (максимум 30 символів, використання ком заборонено)	Необов'язково
B	9	Примітка про підхід	Введіть опис підходу	Необов'язково
B	10	Протокол підходу	Введіть ім'я файлу протоколу, яке точно співпадає зі списком.	Обов'язково
A	11	Файл даних	Введіть назву файлу даних	Необов'язково
A	12–15	Має бути уточнено / Не заповнено	Не редагувати	Попередньо встановлено
A	16	Дані планшета	Не редагувати	Попередньо встановлено

Таблиця 40. Визначення змісту файлу LIMS у форматі .csv, продовження

Стовпець	Рядок	Опис	Зміст	Мета
A	17–113	Розташування лунки	Не редагувати	Попередньо встановлено
B–G		Барвник Ch1, барвник Ch2, барвник Ch3, барвник Ch4, барвник Ch5, FRET	Введіть назву одного відкаліброваного барвника (наприклад, «FAM») для кожного використовуваного каналу	Обов'язково
H		Тип проби	Введіть один з нижченаведених типів проби: «Unkown (Невідома)», «Standard (Стандарт)», «Positive Control (Позитивний контроль)», «Negative Control (Негативний контроль)», «NTC (Контроль без матриці)» або «NRT (Контроль без ревертази)»	Обов'язково
I		Назва проби	Введіть назву проби	Необов'язково
J–O		Мішень CH1, Мішень CH2, Мішень CH3, Мішень CH4, Мішень CH5, Мішень FRET	Введіть назву мішені для кожного використаного каналу	Необов'язково

Таблиця 40. Визначення змісту файлу LIMS у форматі .csv, продовження

Стовпець	Рядок	Опис	Зміст	Мета
P		Назва біологічного набору	Введіть назву біологічного набору	Необов'язково
Q		Реплікат	Введіть ціле додатне число для кожного набору реплікатів. Значення не повинно становити нуль.	Необов'язково
R–W		Кількість CH1, Кількість CH2, Кількість CH3, Кількість CH4, Кількість CH5, Кількість FRET	Введіть значення кількості для будь-яких стандартів. Введіть концентрацію у формі десяткового дробу.	Обов'язково для всіх стандартів
X		Примітка про лунку	Введіть примітку про лунку (максимум 20 символів)	Необов'язково
Y–AD		Колір лунки Ch1, Колір лунки Ch2, Колір лунки Ch3, Колір лунки Ch4, Колір лунки Ch5, Колір лунки FRET	Введіть будь-який визначений користувачем колір стилю кривих у формі десяткового дробу 32-розрядного цілого числа (argb)	Необов'язково

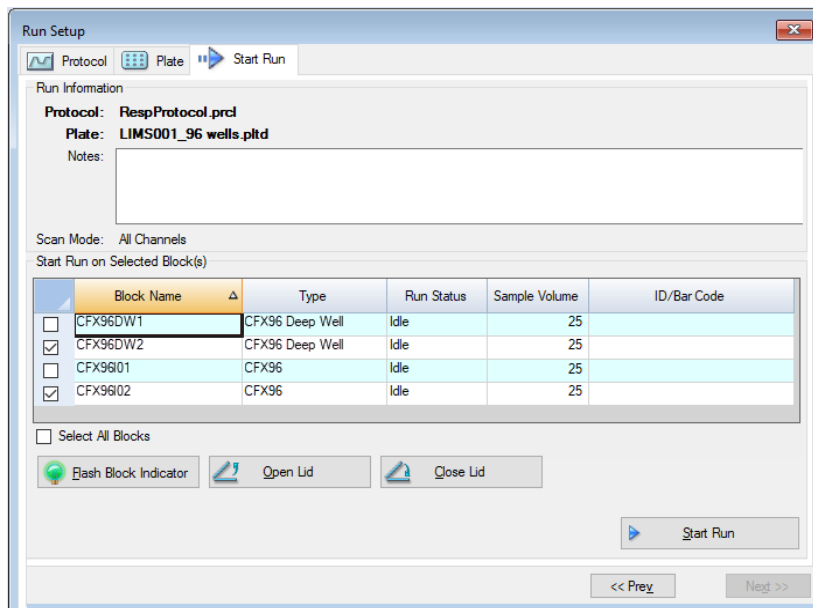
## Запуск підходу лабораторної системи управління інформацією (LIMS)

Щоб почати підхід лабораторної системи управління інформацією (LIMS), виконайте зазначені нижче дії.

1. Виконайте одну з наведених нижче дій, щоб відкрити файл LIMS у форматі .plrn.
  - У вікні Home (Головне) виберіть View > Show > LIMS File Folder (Вигляд > Показати > Папка з файлами LIMS) і відкрийте цільовий файл .plrn.
  - У вікні Home (Головне) виберіть File > Open > LIMS File (Файл > Відкрити > Файл LIMS) і відкрийте цільовий файл .plrn.

Файл відкриється на вкладці Start Run (Почати підхід) у майстрі Run Setup (Налаштування підходу). На вкладці Start Run (Почати підхід) відображається інформація про експеримент, який має бути виконано. Крім того, на ній відображається відповідний блок чи блоки інструмента, у яких можна виконати експеримент.

2. На вкладці Start Run (Почати підхід) виберіть інструмент і натисніть Start Run (Почати підхід).



## Експорт даних у LIMS (Лабораторна система управління інформацією)

Коли підхід завершено, програмне забезпечення CFX Manager Dx генерує файл даних (.pcrd) і зберігає його у визначеному розташуванні папки для експорту даних.

**Щоб експортувати файл даних у LIMS (Лабораторна система управління інформацією), виконайте наступні дії.**

- ▶ Відкрийте файл .pcrd і послідовно виберіть елементи Export > Export to LIMS Folder (Експорт > Експорт у папку лабораторної системи управління інформацією (LIMS)).

**Підказка.** Якщо в меню LIMS Options (Параметри лабораторної системи управління інформацією (LIMS)) вибрати пункт Automatically Export Data after Run (Автоматично експортувати дані після підходу), програмне забезпечення CFX Manager Dx створить файл даних, сумісний із LIMS (Лабораторна система управління інформацією), у форматі .csv і збереже його в ту саму папку.



# Додаток D Пошук і усунення несправностей, пов'язаних із підключенням програмного забезпечення CFX Manager Dx

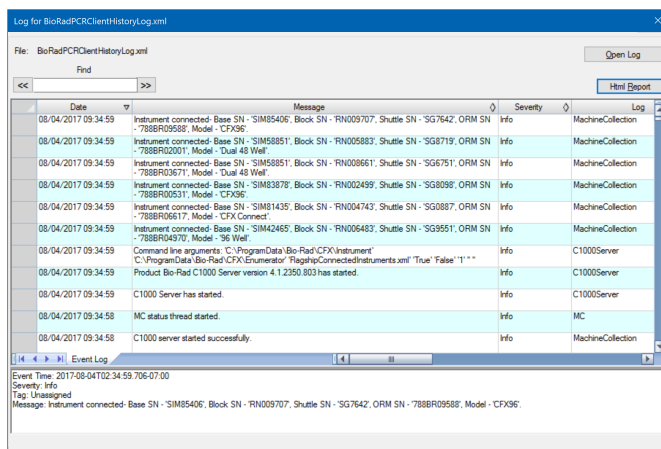
## Журнал додатка

Перед початком нового підходу прибори CFX96 і CFX96 Deep Well ініціюють діагностичну самоперевірку для підтвердження своєї роботи відповідно до технічних вимог. Програма записує результати цієї перевірки в Run Log (Журнал підходів) і файл Application Log (Журнал додатка). У разі виявлення проблеми в одному або декількох експериментах відкрийте журнали підходів і додатка, щоб з'ясувати, коли почалася проблема.

CFX Manager Dx відстежує інформацію про стан прибору під час підходу в Application Log (Журнал додатка). Використовуйте ці журнали для відстеження подій, пов'язаних з роботою прибору і програмного забезпечення, і для усунення несправностей.

### Щоб відкрити Application Log (Журнал додатка)

- У вікні Home (Головне) виберіть View (Перегляд) > Application Log (Журнал додатка).



## Пошук і усунення несправностей

Зазвичай, щоб усунути проблеми з обміном даними між програмним забезпеченням та інструментом, достатньо перезавантажити комп'ютер і перезапустити систему. Збережіть незавершену роботу перед перезапуском.

**Примітка.** Переконайтеся, що комп'ютер має достатньо оперативної пам'яті та вільного місця на диску. Мінімальний обсяг оперативної пам'яті становить 4 ГБ, а мінімальний розмір жорсткого диска — 128 ГБ.

## Аварійне відключення електроживлення

Під час аварійного відключення електроживлення інструмент і комп'ютер вимикаються. У разі короткострокового відключення електроживлення інструмент відновить виконання протоколу, але журнал додатка зафіксує аварійне відключення електроживлення. Залежно від налаштувань комп'ютера та тривалості відключення живлення, інструмент і програмне забезпечення роблять спробу продовжити роботу залежно від кроку протоколу.

- Якщо протокол перебуває на кроці, який не включає зчитування планшета, то його виконання продовжиться, щойно відновиться подача електроживлення до інструмента.
- Якщо протокол перебуває на кроці, який включає зчитування планшета, інструмент чекатиме на повторний запуск програмного забезпечення та відновлення зв'язку для збору даних. У цьому випадку виконання протоколу продовжиться, тільки якщо комп'ютер не закриє програмне забезпечення. Після запуску комп'ютера та програмного забезпечення виконання протоколу відновиться.

## Видалення проб із реакційного модуля під час відключення електроживлення

Щоб видалити проби під час аварійного відключення електроживлення, потрібно відкрити кришку з електроприводом на реакційному модулі.

**Щоб зняти стопорну пластину, виконайте вказані нижче дії.**

1. Вийміть реакційний модуль з термоциклера C1000 Dx, натиснувши на запірну планку.
2. Обережно помістіть реакційний модуль на лабораторний стіл.

3. Розташуйте модуль так, щоб передня частина модуля виступала на 5 см за край столу.



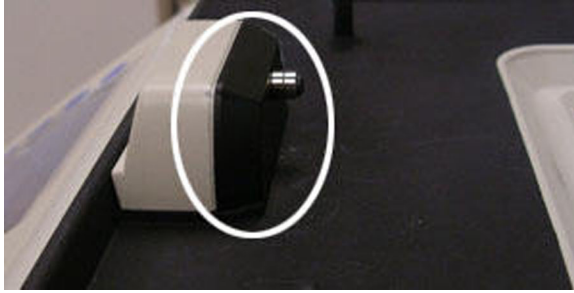
4. За допомогою універсального ключа витягніть два великі гвинти з-під передньої частини реакційного модуля (під кнопкою відкриття кришки).

Ви маєте почути звук фіксатора модуля.

**Важливо!** Не витягуйте два маленькі гвинти, розташовані на передній частині модуля.



5. Відкрийте кришку реакційного модуля вручну. Зверніть увагу, що фіксатор (з темного пластику) вже не прикріплений. Витягніть проби з блока.
6. Поверніть фіксатор на місце та прикріпіть його великими гвинтами, щоб знову зібрати реакційний модуль із відкритою кришкою.



## Завантаження файлів на комп'ютер CFX Manager Dx

Дані та файли журналів можна завантажувати з інструмента та переносити на жорсткий диск підключеного комп'ютера.

**Примітка.** Усі файли в папці даних реального часу на базі інструмента завантажуються на комп'ютер.

### Отримання файлів з інструмента

1. На панелі Detected Instruments (Виявлені інструменти) у вікні Home (Головне) клацніть правою кнопкою миші на цільовому інструменті та виберіть одну з таких дій:
  - Retrieve Log Files (Отримати файли журналу);
  - Retrieve Data Files (Отримати файли даних).
2. Виберіть розташування папки, щоб зберегти отримані файли.
3. Натисніть ОК.

## Встановлення програмного забезпечення CFX Manager Dx вручну

**Щоб встановити програмне забезпечення Програмне забезпечення CFX Manager Dx вручну, виконайте дії, описані далі.**

1. Якщо потрібно, відключіть будь-які підключені прилади від комп'ютера.  
Знайдіть і від'єднайте USB-кабель інструмента від комп'ютера CFX Manager Dx. Кінець, вставлений в інструмент, можна залишити на місці.
2. Увійдіть у систему комп'ютера CFX Manager Dx із правами адміністратора.
3. Вставте компакт-диск із програмним забезпеченням.
4. У Провіднику Windows перейдіть до компакт-диска, натисніть правою кнопкою миші піктограму компакт-диска програмного забезпечення та виберіть Explore (Огляд), щоб відкрити вікно компакт-диска.
5. Щоб відкрити папку CFX\_Manager, двічі натисніть на неї, після цього двічі натисніть файл setup.exe, щоб запустити майстер встановлення програмного забезпечення.
6. Щоб установити програмне забезпечення, дотримуйтесь інструкцій у вікні майстра встановлення, а потім натисніть кнопку Finish (Завершити).

## Повторне встановлення драйверів

**Процедура повторного встановлення драйверів інструмента**

- У вікні Home (Головне) послідовно виберіть Tools > Reinstall Instrument Drivers (Інструменти > Повторно встановити драйвери інструмента).

**Примітка.** Якщо після повторного встановлення драйверів і перевірки підключення USB і досі існують проблеми з програмним забезпеченням, підключеним до системи реального часу, зверніться до служби технічної підтримки компанії Bio-Rad.

Додаток D Пошук і усунення несправностей, пов'язаних із підключенням програмного забезпечення CFX Manager Dx

## Додаток Е Література

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 Copyright Notice (1999) University of Chicago. Всі права захищені**

Дозволяється повторне поширення і використання як у вигляді програмного коду, так і в двійковій формі, із змінами або без, при дотриманні наступних умов:

1. При повторному поширенні програмного коду повинне залишатися вказане вище повідомлення про авторське право, цей список умов і подальша відмова від гарантій.
2. При повторному поширенні двійкового коду повинна бути відтворена вказана вище інформація про авторське право, цей список умов і подальша відмова від гарантій в документації і/або в інших матеріалах, що поставляються при поширенні.
3. Документація для кінцевого користувача (якщо передбачається), включена в це поширення, повинна містити наступне повідомлення:

«Цей продукт включає в себе програмне забезпечення, розроблене Чиказьким університетом, що виступає у якості експлуатанта Аргонської національної лабораторії.»

Додаток Е Література







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