

CFX96 Dx un CFX96 Deep Well Dx sistēmas

Lietošanas rokasgrāmata

REF

1845097-IVD
1844095-IVD
1841000-IVD
12007917

Rokasgrāmatas
pārskatīšanas gads:
2022. gada maijs

Programmatūras izlaides
versija: 3.1



ETL LISTED
ATBILST
UL Std. 61010-1
UL Std. 61010-2-010
UL Std. 61010-2-101
UL Std. 61010-2-081
SERTIFICĒTAS
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

CFX96 Dx un CFX96 Deep Well Dx sistēmas

Lietošanas rokasgrāmata

Versija 3.1

BIO-RAD

Bio-Rad Tehniskais atbalsts

Bio-Rad tehniskā atbalsta dienesta ASV darba laiks ir no pirmdienas līdz piektdienai, no plkst. 05.00 līdz 17.00 PT.

Tālrunis: 1-800-424-6723, 2. opcija

E-pasts: Support@bio-rad.com (tikai ASV/Kanāda)

Lai saņemtu tehnisko palīdzību ārpus ASV un Kanādas, sazinieties ar savu vietējo tehniskā atbalsta biroju vai noklikšķiniet uz saites Contact Us (Sazinieties ar mums) vietnē www.bio-rad.com.

Paziņojums

Nevienu šīs publikācijas daļu nedrīkst reproducēt vai pārsūtīt nekādā formā un ne ar kādiem elektroniskiem vai mehāniskiem līdzekļiem, tostarp fotokopēšanu, ierakstīšanu vai kādu citu informācijas glabāšanas vai izgūšanas sistēmu, bez Bio-Rad rakstiskas atļaujas.

Bio-Rad patur tiesības jebkurā laikā modificēt savus izstrādājumus un pakalpojumus. Šī rokasgrāmata var tikt pārveidota bez iepriekšēja brīdinājuma. Lai gan šī informācija ir sagatavota, lai nodrošinātu precizitāti, Bio-Rad neuzņemas nekādu atbildību par kļūdām vai izlaidumiem, vai par kādu kaitējumu, kas izriet no šīs informācijas piemērošanas vai lietojuma.

BIO-RAD ir Bio-Rad Laboratories, Inc. preču zīme

BIO-RAD, HARD-SHELL un MICROSEAL ir Bio-Rad Laboratories, Inc. preču zīmes noteiktās jurisdikcijās.

SYBR ir Thermo Fisher Scientific Inc. preču zīme. Bio-Rad Laboratories, Inc. ir licence pārdot reaģentus, kas satur SYBR Green, lietojumam reāllaika PCR tikai zinātniskās pētniecības nolūkos.

EvaGreen ir Biotium Inc. preču zīme. Bio-Rad Laboratories, Inc. ir Biotium Inc. izsniegta licence pārdot reaģentus, kas satur EvaGreen krāsvielu lietojumam reāllaika PCR tikai zinātniskās pētniecības nolūkos.

Visas pārējās šajā dokumentā lietotās preču zīmes pieder attiecīgajiem to īpašniekiem.













Autortiesības © 2022 pieder Bio-Rad Laboratories, Inc. Visas tiesības paturētas.

Paredzētā lietošana

CFX96 Dx sistēma un CFX96 Deep Well Dx sistēma ar CFX Manager Dx programmatūru ir paredzētas PCR veikšanai ar fluorescences analīzi, lai noteiktu kvantitatīvās nukleīnskābes sekvences. Paredzēts, ka sistēmas un programmatūru in vitro diagnostikā lietos apmācīti laboratoriju tehniķi. Sistēmas ir paredzētas lietošanai ar trešo pušu diagnostikas nukleīnskābes testiem, kas ražoti un marķēti diagnostikas nolūkiem.

Lexicon simboli

Svarīgi! Būtiskas izmaiņas ir **izceltas!**

 Ražotājs	 Partijas numurs
 Izlietot līdz	 Lietošanai in vitro diagnostikā
 Temperatūras ierobežojumi	 Kataloga numurs
 Meklējiet lietošanas instrukcijās	 Testu skaits
 Lietošanai ar	 Sērijas numurs
 Tikai ar recepti	 Satur lateksu



CE marķējums – Regula (ES) 2017/746
par in vitro diagnostikas medicīnas
ierīcēm

Tulkojumi

Produkta dokumenti var tikt nodrošināti papildu valodās elektroniskā formā.

Satura rādītājs

Paredzētā lietošana	iii
Lexicon simboli	iii
Tulkojumi	iv
Drošuma un normatīvā atbilstība	13
Drošuma brīdinājumu etiķetes	13
Droša lietojuma specifikācijas un atbilstība	14
Normatīvā atbilstība	15
Apdraudējumi	15
Bioloģiskie apdraudējumi	16
Ķīmiskais apdraudējums	17
Sprādzienbīstamības vai uzliesmojamības apdraudējumi	17
Elektriskās strāvas riska faktori	18
Transportēšana	18
Akumulators	18
Utilizācija	18
Garantija	18
1. nodaļa. Ievads	19
CFX Dx PCR noteikšanas sistēmas	19
Papildu informācija	20
2. nodaļa. C1000 Dx DNS amplifikatora iestatīšana	21
Prasības attiecībā uz uzstādīšanas vietu	21
Prasības attiecībā uz vietu uz galda	21
Darba vides prasības	22
Strāvas prasības	22
Sistēmas pārskats	23
Priekšskats	23
skats no aizmugures	24
Optiskās reakcijas moduļi	25

Ieteicamie paraugu tilpumi	25
DNS amplifikatora C1000 Dx instalēšana	26
DNS amplifikatora C1000 Dx izsaiņošana un uzstādīšana	26
Optiskās reakcijas moduļa piesaistīšana	27
Transportēšanas skrūves izņemšana	28
Paraugu trauciņu ielādēšana	29
Pievienoto instrumentu atklāšana	31
Reakcijas moduļa atvienošana	32
DNS amplifikators C1000 Dx izslēgšana	32
3. nodaļa. CFX Manager Dx programmatūras instalēšana	33
Sistēmas prasības	34
CFX Manager Dx programmatūras instalēšana	35
Pievienoto instrumentu atklāšana	36
Programmatūras faili	37
Ieteicamie kiberdrošības pasākumi	38
4. nodaļa. Darba zona	39
Home (Sākums) logs	40
Startup Wizard (Startēšanas vednis)	41
Protocol Editor (Protokola redaktors) logs	42
Plate Editor (Trauciņa redaktors) logs	43
Logs Data Analysis (Datu analīze)	44
5. nodaļa. Home (Sākums) logs	45
Logs Home (Sākums)	46
Izvēlnes File (Fails) komandas	47
Skatīšanas izvēlnes komandas	47
Izvēlnes User (Lietotājs) komandas	48
Izvēlnes Run (Izpilde) komandas	49
Tools (Rīki) izvēlnes komandas	49
Izvēlnes Help (Palīdzība) komandas	50
Rīkjostas komandas	50
Startup Wizard (Startēšanas vednis)	51
Statusa josla	51
Rūts Detected Instruments (Atklātie instrumenti)	52

Instrumenta rekvizītu skatīšana	56
Pirms jūs sākat	58
Lietotāja preferenču iestatīšana	58
Reakcijas galvenā maisījuma izveide	73
Jaunu kontrastvielu kalibrēšana	77
6. nodaļa. Protokolu izveide	79
Logs Protocol Editor (Protokola redaktors)	80
Izvēlnes File (Fails) komandas	81
Izvēlnes Settings (Iestatījumi) komanda	81
Tools (Rīki) izvēlnes komandas	81
Rīkjostas komandas	81
Protokola rediģēšanas vadīklas	82
Protokola izveide logā Protocol Editor (Protokola redaktors)	85
Jauna protokola faila atvēršana rīkā Protocol Editor (Protokola redaktors)	85
Esoša protokola atvēršana logā Protocol Editor (Protokola redaktors)	87
Jauna protokola iestatīšana	88
Darbību pievienošana protokolam	90
Gradianta darbības ievietošana	91
GOTO darbības ievietošana	93
Kušanas līknes darbības ievietošana	93
Trauciņa nolasiņuma darbības pievienošana vai noņemšana	95
Darbības opciju mainīšana	95
Darbības dzēšana	96
Protokola kopēšana, eksportēšana vai drukāšana	96
Protokola izveide, izmantojot Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs)	97
Ta Calculator (Ta kalkulators) lietošana	99
Par Ta Calculator (Ta kalkulators)	99
7. nodaļa. Trauciņu sagatavošana	105
Logs Plate Editor (Trauciņa redaktors)	106
Izvēlnes File (Fails) komandas	107
Izvēlnes Settings (Iestatījumi) komandas	107
Izvēlnes Editing Tools (Rediģēšanas rīki) komandas	107
Rīkjostas komandas	108
Trauciņa faila izveide, izmantojot logu Plate Editor (Trauciņa redaktors)	109

Jaunā trauciņa faila atvēršana rīkā Plate Editor (Trauciņa redaktors)	110
Esošā trauciņa faila atvēršana logā Plate Editor (Trauciņa redaktors)	112
Jaunā trauciņa faila iestatīšana	113
Papildu parametru piešķiršana trauciņa failam	119
Mērķa piešķiršana iedobēm	119
Parauga nosaukuma piešķiršana iedobēm	122
Bioloģisko kopu piešķiršana iedobēm	123
Replikātu numuru piešķiršana iedobēm	125
Atšķaidīšanas sērijas piešķiršana standarta paraugu veidiem	126
Iedobju satura kopēšana citā iedobē	127
Piezīmes pievienošana iedobei	128
Visa satura notīrīšana no iedobēm	128
Eksperimenta iestatījumu mainīšana	130
Iedobju grupu izveide	133
Trasējumu stilu maiņa	136
Trauciņa skatīšana izklājlapas formātā	138
Trauciņu izkārtojuma izveide, izmantojot Plate Setup Wizard (Trauciņa iestatīšanas vednis)	140
Trauciņa Setup Wizard (Iestatīšanas vednis) lietošana	140
8. nodaļa. Eksperimentu veikšana	143
Piekļuve logam Run Setup (Izpildes iestatīšana)	143
Run Setup (Izpildes iestatīšana) logs	144
Cilne Protocol (Protokols)	146
Cilne Plate (Trauciņš)	149
Cilne Start Run (Sākt izpildi)	152
Eksperimenta izpilde	153
Dialoglodziņš Run Details (Izpildes dati)	155
Cilne Run Status (Izpildes statuss)	155
Cilne Real-time Status (Reāllaika statuss)	158
Time Status (Laika statuss) cilne	161
PrimePCR eksperimentu veikšana	162
9. nodaļa. Pārskats par datu analīzi	165
Logs Data Analysis (Datu analīze)	165
Datu analīzes rīkjosla	166
Izvēlņu josla Data Analysis (Datu analīze)	167

Ciļņu informācija	170
Opcijas Step Number (Darbības numurs) atlasītājs	171
Iedobju grupu skatīšana datu analīzē	171
Iedobju satura mainīšana pēc izpildes	172
Datu analīzes iestatījumi	173
Sliekšņa vērtības pielāgošana	173
Bāzlīnijas iestatījumi	173
Analīzes režīms	174
Analizējamie cikli	175
Iedobju atlasītājs	176
Iedobju atlasītāja peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi	177
Iedobju īslaicīga izslēgšana no analīzes	178
Diagrammas	179
Diagrammu kopējie peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi	179
Diagrammas datu kopēšana starpliktuvē	180
Bāzlīnijas sliekšņa vērtības iestatījumu modificēšana	180
Mērķu un paraugu datu kātošana	182
Apgabala palielināšana diagrammā	183
Diagrammu iekopēšana Microsoft failā	183
Izklājlapas	184
Izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, kopējie vienumi izklājpām	184
Eksports	186
Visu datu lapu eksportēšana	186
Pielāgota eksportēšanas faila izveide	187
Eksportēšana LIMS mapē	188
Seegene formatēto datu eksportēšana	188
10. nodaļa. Datu analīzes detaļas	189
Cilne Quantification (Kvantitatīvā noteikšana)	190
Fluorofora opcijas	190
Dialoglodziņš Trace Styles (Trajektorijas stili)	191
Opcija Log Scale (Logaritmiskā skala)	192
Standard Curve (Standarta līknes) diagramma	193
Diagrammas Amplification (Amplifikācija) izvēlnes opcijas	194
Kvantitatīvās noteikšanas cilnes izklājlapa	195

Cilne Quantification Data (Kvantitatīvās noteikšanas dati)	196
Izklājlapa Results (Rezultāti)	196
Izklājlapa Standard Curve Results (Standarta līknes rezultāti)	198
Plate (Trauciņš) izklājlapa	199
Izklājlapa RFU (RFV)	199
Cilne Melt Curve (Kušanas līkne)	200
Melt Curve (Kušanas līkne) datu pielāgošana	202
Cilne Melt Curve Data (Kušanas līknes dati)	203
Melt Peaks (Kušanas maksimālā temperatūra) izklājlapa	203
Plate (Trauciņš) izklājlapa	204
Izklājlapa RFU (RFV)	205
-d(RFU)/dT (-d(RFV)/dT) izklājlapa	206
Cilne End Point (Galamērķis)	207
Dati rezultātu sadaļā	208
Galamērķa datu analīzes pielāgošana	209
RFU (RFV) izklājlapa galamērķa analīzei	209
Cilne Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija)	210
Alēliskās diskriminācijas datu pielāgošana	211
Diagrammas izvēlnes opcijas	212
Izklājlapa Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija)	213
Cilne Custom Data View (Pielāgota datu skatīšana)	214
Pielāgota datu skata izveide	215
Cilne QC (KK)	216
QC (KK) kritēriju maiņa	216
Iedobju ar neatbilstošiem QC (KK) rezultātiem izslēgšana	217
Cilne Run Information (Informācija par izpildi)	218
Datu analīzes atskaites	219
Datu analīzes atskaišu kategorijas	220
Datu analīzes atskaites izveide	223
Iedobju grupas atskaišu izveide	224
11. nodaļa. Gēnu ekspresijas analīze	225
Trauciņa iestatīšana gēnu ekspresijas analīzei	225
Pakāpeniskā trauciņa iestatīšana	226
Diagrammas Gene Expression (Gēnu ekspresija)	227

Joslu diagramma	228
Mērķu un paraugu datu kārtošana	230
Gēnu ekspresijas datu pielāgošana	231
Eksperimenta iestatījumi	233
Mērķa stabilitātes vērtība	236
Peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas	236
Datu izklājlapa	237
Opcija Show Details (Rādīt informāciju)	238
Klastergramma	240
Iestatījumi	240
Peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas	240
Datu izklājlapa	241
Izkliedes diagramma	242
Iestatījumi	242
Peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas	242
Datu izklājlapa	243
Rezultāti	244
Gēnu pētījums	245
Iekšējās izpildes kalibrēšana	245
Dialoglodziņš Gene Study (Gēnu pētījums)	245
Cilne Study Setup (Pētījuma iestatīšana)	246
Gēnu pētījuma sagatavošana	246
Cilne Study Analysis (Pētījuma analīze)	247
Gēnu pētījuma atskaites izveide	248
Gēnu pētījuma atskaišu kategorijas	249
A pielikums. Datu analīzes aprēķini	251
Reakcijas efektivitāte	251
Relatīvais daudzums	252
Relatīvais daudzums, kad ir atlasīta kontrole	252
Relatīvā daudzuma standarta novirze	253
Efektivitātes koriģētais Cq (CqE)	253
Vidējās efektivitātes koriģētais Cq (MCqE)	253
Normēšanas koeficients	254
Normalizēta ekspresija	255

Normalizēta ekspresija, kad atlasīta kontrole	255
Standarta novirze normalizētas ekspresijas gadījumā	256
Normalizēta ekspresija, kas mērogota augstākajā ekspresijas līmenī	257
Normalizēta ekspresija, kas mērogota zemākajā ekspresijas līmenī	257
Normalizēta ekspresija, kas mērogota vidējā ekspresijas līmenī	258
Standarta novirze mērogotas normalizētas ekspresijas gadījumā	259
Regulēšana	259
Koriģēto vērtību formulas	260
B pielikums. Lietotāju un lomu CFX Manager Dx pārvaldīšana	261
Lietotāju pārvaldīšana	261
Lietotāju pievienošana un noņemšana	261
Lomu tiesību pārvaldīšana	263
Pieteikšanās CFX Manager Dx programmatūrā	264
Lietotāju maiņa	265
Lietotāju paroļu mainīšana	265
Savas lomas un tiesību skatīšana	266
C pielikums. LIMS integrācija	267
Ar LIMS saderīgu datu failu izveide	267
LIMS mapes un datu eksportēšanas opciju iestatīšana	267
LIMS protokola izveide	268
LIMS faila izveide	269
LIMS izpildes palaišana	276
Datu eksportēšana uz LIMS	277
D pielikums. Problēmu novēršana CFX Manager Dx programmatūras savienojuma problēmas	279
Lietojumprogrammas žurnāls	279
Problēmu novēršana	280
Strāvas padeves pārtraukums	280
Failu izgūšana CFX Manager Dx datorā	282
CFX Manager Dx programmatūras manuāla instalēšana	282
Draiveru pārinstalēšana	283
E pielikums. Bibliogrāfija	285

Drošuma un normatīvā atbilstība




Lai CFX96 Dx sistēma vai CFX96 Deep Well Dx sistēma ar CFX Manager Dx programmatūru, turpmāk šajā dokumentā saukta CFX Dx system, darbotos droši, Bio-Rad ļoti iesaka, lai jūs ievērojāt šajā sadaļā un visā rokasgrāmatā uzskaitītās drošuma specifikācijas.

Svarīgi! CFX96 Dx un CFX96 Deep Well Dx sistēmas ir apstiprinātas lietojumam kā in vitro diagnosticēšanas (IVD) medicīniskās ierīces.


Drošuma brīdinājumu etiķetes

Uz instrumenta un šajā rokasgrāmatā izvietotās brīdinājumu etiķetes brīdina jūs par fiziskas traumas vai kaitējuma avotiem. [1. tabula](#) definēta katra drošuma brīdinājuma etiķete.

1. tabula. Drošuma brīdinājumu etiķešu nozīme

Ikona	Nozīme
	Brīdinājums par fiziskas traumas vai iekārtas sabojāšanas risku CFX Dx sistēmas ekspluatēšana pirms šīs rokasgrāmatas lasīšanas var radīt fiziskas traumas risku. Droša lietojuma nolūkā nedarbiniet šo instrumentu nekādā citā veidā, kas nav norādīts šajā rokasgrāmatā. Ar šo instrumentu drīkst strādāt tikai kvalificēts laboratorijas personāls, kas apmācīts drošā darbā ar elektroiekārtām. Vienmēr ar visiem sistēmas komponentiem darbojieties rūpīgi un ar tīrām, sausām rokām.
	Brīdinājums par rīkošanos ar bioloģiski bīstamiem materiāliem Rīkojoties ar bioloģiski bīstamiem paraugiem, ņemiet vērā ieteiktos piesardzības pasākumus un vadlīnijas un ievērojiet visas vietējās vadlīnijas konkrēti jūsu laboratorijai un atrašanās vietai.
	Brīdinājums par apdegumu risku DNS amplifikators ģenerē pietiekami lielu karstumu, lai radītu smagus apdegumus. Darba laikā vienmēr valkājiet aizsargbrilles vai kādu citu acu aizsardzības līdzekli. Vienmēr uzgaidiet, līdz paraugu bloks atgūst gaidstāves temperatūru, un tikai tad veriet vaļā vāku un izņemiet paraugus. Vienmēr saglabājiet maksimālu atstatumu, lai nepieļautu netīšus ādas apdegumus.

1. tabula. Drošuma brīdinājumu etiķešu nozīme, turpinājums

Ikona	Nozīme
	Brīdinājums par sprādzienbīstamību Parastas ekspluatācijas laikā paraugu bloki var sakarst pietiekami, lai šķidrums sāktu vārīties un eksplodētu.

Droša lietojuma specifikācijas un atbilstība

2. tabula uzskaitītas droša lietojuma specifikācijas attiecībā uz Bio-Rad CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēmām. Lai nodrošinātu atbilstību A klases FCC ierobežojumiem, ar šiem instrumentiem jālieto piegādātie ekranētie kabeli.

2. tabula. Droša lietojuma nosacījumi

Lietošanas aspekts	Droša lietojuma nosacījumi
Nominālā ievades jauda	100–240 VAC, 50–60 Hz, 850 W maks.
Pārsprieguma kategorija	II
Drošinātāji	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, ātra izdegšana (daudz. 2)
Darba vide	Lietot tikai iekštelpās
Darba temperatūra	15–31 °C
Glabāšanas temperatūra	no -20 °C līdz 60 °C
Relatīvais mitrums	Līdz 80 % (bez kondensēšanās)
Augstums virs jūras līmeņa	Līdz 2000 metriem virs jūras līmeņa
Piesārņojuma pakāpe	2

Normatīvā atbilstība

CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēma ir testēta un atzīta par atbilstošu visām spēkā esošajām šādu drošuma un elektromagnētisko standartu prasībām:

- IEC 61010-1:2010 (3. izd.), EN61010-1:2010 (3. izd.). Elektriskās iekārtas mērīšanai, kontrolei un laboratorijas lietojumam — 1. daļa. Vispārējās prasības
- IEC 61010-2-010:2014, EN 61010-2-010:2014. Drošuma prasības attiecībā uz elektriskajām iekārtām mērīšanai, kontrolei un laboratorijas lietojumam. 2-010. daļa: Īpašas prasības attiecībā uz laboratorijas iekārtām materiālu karsēšanai
- IEC 61010-2-081:2015, EN 61010-2-081:2015. Drošuma prasības attiecībā uz elektriskajām iekārtām mērīšanai, kontrolei un laboratorijas lietojumam. 2-081. daļa: Īpašas prasības attiecībā uz automātiskajām un pusautomātiskajās laboratorijas iekārtām analīzei un citiem nolūkiem (ietver 1. grozījumu)
- IEC 61010-2-101:2015 (2. izd.). Drošuma prasības attiecībā uz elektriskajām iekārtām mērīšanai, kontrolei un laboratorijas lietojumam. Īpašas prasības attiecībā uz in vitro diagnosticēšanas (IVD) medicīniskajām iekārtām
- IEC 61326-1:2012 (A klase), EN 61326-1:2013 (A klase). Elektriskās iekārtas mērīšanai, kontrolei un laboratorijas lietojumam. EMS prasības, 1. daļa. Vispārējās prasības
- IEC 61326-2-6:2012, EN 61326-2-6:2013 (A klase). Elektriskās iekārtas mērīšanai, kontrolei un laboratorijas lietojumam. EMS prasības. Īpašas prasības attiecībā uz in vitro diagnosticēšanas (IVD) medicīniskajām iekārtām

Svarīgi! Šī iekārta ģenerē, lieto un var izstarot radiofrekvenču enerģiju, un, ja tā nav uzstādīta un netiek lietota saskaņā ar nodrošināto instruējošo dokumentāciju, var izraisīt kaitīgus radiosakaru traucējumus. Sistēmu darbināšana dzīvojamā rajonā, iespējams, radīs kaitīgus traucējumus, un tādā gadījumā no lietotājiem tiks prasīts novērst šādus traucējumus uz sava rēķina.

Apdraudējumi

CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēma ir paredzēta, lai droši darbotos, kad to lieto veidā, ko noteicis ražotājs. Ja CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēmu vai kādu no tā komponentiem izmanto veidā, kuru nav norādījis ražotājs, raksturīgā aizsardzība, ko nodrošina instruments, var tikt traucēta. Bio-Rad Laboratories, Inc. nav atbildīga par jebkādu traumu vai kaitējumu, ko izraisījusi šī aprīkojuma izmantošana jebkādā nenorādītā veidā vai instrumenta pārveidojumi, kurus nav veicis Bio-Rad vai pilnvarotais pārstāvis. CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēmas apkope jāveic tikai apmācītam Bio-Rad personālam.

Bioloģiskie apdraudējumi

CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēma ir laboratorijas produkts. Tomēr, ja strādājat ar bioloģiski bīstamiem paraugiem, rīkojieties saskaņā ar vietējiem noteikumiem un vadlīnijām konkrēti jūsu laboratorijai, kā arī pildiet turpmākos norādījumus.

Piezīme. Parastajās šī instrumenta darbībās nekādu bioloģiski bīstamu vielu izplūde nenotiek.

Vispārējie piesardzības pasākumi

- Vienmēr valkājiet laboratorijas virssvārci, laboratorijas cimdus un aizsargbrilles ar sānu vairogiem vai cieši piegulošās aizsargbrilles.
- Nepieļaujiet roku saskari ar muti, degunu un acīm.
- Pirms darba ar potenciāli infekcioziem materiāliem nodrošiniet, lai jebkādas brūces vai nobrāzumi būtu pilnībā pasargāti.
- Pirms aiziešanas no laboratorijas un pēc darba ar potenciāli infekciozu materiālu rūpīgi nomazgājiet rokas ar ziepēm un ūdeni.
- Pirms strādāšanas pie darba galda noņemiet rokas pulksteni un rotaslietas.
- Glabājiet visus infekciozos vai potenciāli infekciozos materiālus neplīstošos hermētiskos konteineros.
- Pirms laboratorijas atstāšanas novelciet aizsargapģērbu.
- Nedrīkst ar uzvilktu cimdu rokā rakstīt, atbildēt uz tālruņa zvanu, ieslēgt gaismas slēdzi vai pieskarties kaut kam tādām, kam citi cilvēki var pieskarties bez cimdiem.
- Cimdus mainiet bieži. Ja cimdi ir acīmredzami piesārņoti, tie nekavējoties jānoveļ.
- Materiālus, kurus nevar pienācīgi attīrīt, nedrīkst pakļaut potenciāli infekciozu materiālu iedarbībai.
- Pabeidzot darbu ar bioloģiski bīstamiem materiāliem, notīriet darba zonu ar atbilstošu dezinfekcijas līdzekli (piem., ar 1:10 atšķaidītu sadzīves balināšanas līdzekli).

Konkrēti IVD piesardzības pasākumi

- Visi pacientu paraugi ir potenciāli bioloģiski bīstami materiāli, tāpēc ar tiem atbilstoši jāstrādā, piemērojot universālos drošības pasākumus.
- Parastas šī instrumenta darbības laikā nekādu bioloģiski bīstamu vielu izplūde nenotiek.

Virsmas atsārņošana



BRĪDINĀJUMS! Lai nepieļautu elektriskā trieciena risku, pirms atsārņošanas procedūru veikšanas vienmēr izslēdziet instrumentu un atvienojiet no elektrotīkla.

Nosauktos laukumus var tīrīt ar jebkādu slimnīcas kategorijas baktericīdu, virucīdu vai fungicīdu dezinfekcijas līdzekli:

- Ārējais vāks un šasija
- Iekšējā reakcijas bloka virsma un reakcijas bloka iedobes
- Vadības panelis un displejs

Lai sagatavotu un lietotu dezinfekcijas līdzekli, skatiet produkta ražotāja sniegtās instrukcijas. Vienmēr pēc dezinfekcijas līdzekļa lietošanas vairākas reizes skalojiet reakcijas bloku un reakcijas bloka iedobes ar ūdeni. Pēc skalošanas ar ūdeni rūpīgi nosusiniet reakcijas bloku un reakcijas bloka iedobes.

Svarīgi! Nelietojiet abrazīvus vai kodīgus mazgāšanas līdzekļus vai spēcīgus sārmainus šķīdumus. Šie līdzekļi var saskrāpēt virsmas un sabojāt reakcijas bloku, attiecīgi sagraujot precīzu termisko kontroli.

Bioloģiski bīstamu materiālu utilizācija

Tālāk norādītos potenciāli piesārņotus materiālus utilizējiet saskaņā ar vietējiem, reģionālajiem un valsts laboratorijas prakses noteikumiem:

- Klīniskie paraugi.
- Reaģenti
- Izlietoti reakciju trauki vai citi palīgmateriāli, kas var tikt piesārņoti.

Ķīmiskais apdraudējums

CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēma nesatur potenciāli bīstamus ķīmiskos materiālus.

Sprādzienbīstamības vai uzliesmojamības apdraudējumi

CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēma nerada nekādu neparastu apdraudējumu, kas saistīts ar uzliesmojamību vai sprādzienbīstamību, ja to lieto pareizi, atbilstoši Bio-Rad Laboratories norādījumiem.

Elektriskās strāvas riska faktori

CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēma nerada neparastu elektrisko apdraudējumu operatoriem, ja tā ir uzstādīta un darbināta pareizi, neveicot fiziskus pārveidojumu, kā arī pieslēgta barošanas avotam ar atbilstošiem parametriem.

Transportēšana

Pirms CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēmas, tā optiskās reakcijas moduļa vai DNS amplifikatora pamatnes pārvietošanas vai transportēšanas jāveic atsārņošanas procedūra. CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēmu un optiskās reakcijas moduli vienmēr pārvietojiet vai transportējiet atsevišķos konteineros kopā ar komplektācijā ietilpstošajiem iepakojuma materiāliem, kas aizsargās instrumentu pret bojājumiem. Ja pienācīgi konteineri nav atrodami, sazinieties ar vietējo Bio-Rad biroju.

Akumulators

CFX Dx system DNS amplifikatorā tiek lietota 3 V litija metāla monētveida baterija un 4,8 V niķeļa-metāla hibrīdais atkārtoti uzlādējamais akumulators, lai saglabātu laika iestatījumus un darba datus maiņstrāvas energoapgādes pārtraukuma gadījumā. Ja laika un/vai darba dati nepaliek iestatīti pēc tam, kad ierīce tiek izslēgta, tā var būt norāde uz to, ka akumulators/baterija izlādējas. Ja tā notiek, sazinieties ar Bio-Rad tehniskā atbalsta dienestu, lai saņemtu palīdzību.

Nemēģiniet mainīt bateriju/akumulatoru. Sazinieties ar Bio-Rad tehniskā atbalsta dienestu.

Utilizācija

CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēma satur elektromateriālus; tie jāutilizē kā nešķīroti atkritumi un jāsavāc atsevišķi saskaņā ar Eiropas Savienības Direktīvu 2012/19/ES par elektrisko un elektronisko iekārtu atkritumiem — EEIA direktīvu. Pirms utilizācijas sazinieties ar vietējo Bio-Rad pārstāvi, lai saņemtu valstij specifiskus norādījumus.

Garantija

Uz CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēmu un ar to saistītajiem piederumiem attiecas standarta Bio-Rad garantija. Lai iegūtu papildu informāciju par garantiju, sazinieties ar vietējo Bio-Rad biroju.

1. nodaļa. Ievads

Bio-Rad CFX Dx reāllaika PCR amplifikācijas sistēmas in vitro diagnostikai (IVD) piedāvā jaunākos tehnoloģijas sasniegumus, ļaujot veikt PCR kvantitatīvo noteikšanu ar standarta līkni, gēnu ekspresijas analīzi, alēlisko diskrimināciju un galapunkta analīzi.

CFX Dx sistēmas veido divi aparatūras moduļi un programmatūra:

- CFX96 Dx vai CFX96 Deep Well Dx optiskās reakcijas modulis (ORM)
- C1000 Dx DNS amplifikatora
- CFX Manager Dx programmatūra

Izmantojot kopā ar CFX Manager Dx programmatūru, jūs varat veikt tālāk norādīto.

- Ģenerēt tūlītējus rezultātus ar rīku Startup Wizard (Startēšanas vednis)
- Ievadīt vai rediģēt informāciju par iedobēm pirms izpildes, izpildes laikā un pēc izpildes
- Interpretēt sarežģītus datus un izskaidrot gēnu ekspresijas pētījumu, izmantojot rīkus, piemēram, PrimePCR kontroles materiālu analīzi, un atsaucēs gēnu atlasītāju.
- Sagatavot visaptverošas atskaites par reāllaika PCR datiem.

CFX Dx PCR noteikšanas sistēmas

[3. tabula](#) uzskaitīti Bio-Rad IVD PCR produkti, ko piegādā ar CFX Dx system.

Piezīme. CFX Dx system piegādā ar CFX Manager Dx programmatūru, C1000 Dx DNS amplifikatora un vai nu CFX96 Dx, vai CFX96 Deep Well Dx optiskās reakcijas moduli.

3. tabula. CFX IVD PCR noteikšanas sistēmas

Kataloga Nr.	Apraksts
1845097-IVD	CFX96 Dx ORM *
1844095-IVD	CFX96 Deep Well Dx ORM
1841000-IVD	C1000 Dx DNS amplifikatora
12007917	CFX Manager Dx programmatūra v3.1

* Optiskās reakcijas modulis

Papildu informācija

Šajā dokumentā izskaidrots, kā droši iestatīt un darbināt CFX96 Dx un CFX96 Deep Well Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēmas ar CE-IVD marķējumu. Šajā dokumentā šīs sistēmas tiek sauktas par CFX Dx system. Turklāt šajā dokumentā paskaidrots, kā lietot CFX Manager Dx software ar CFX Dx system.

Padoms. Noklikšķiniet uz Bio-Rad logotipa jebkura CFX Manager Dx software loga augšējā labajā stūrī, lai palaistu Bio-Rad tīmekļa vietni. Šajā vietnē ir saites uz tehniskām piezīmēm, rokasgrāmatām, informāciju par produktiem un tehnisko atbalstu. Šajā vietnē nodrošināti arī daudzi tehniski resursi par trauciņu metožu un pielietojumu dažādību saistībā ar PCR, reāllaika PCR un gēnu ekspresiju.

2. nodaļa. C1000 Dx DNS amplifikatora iestatīšana

Šajā nodaļā izskaidrots, kā iestatīt CFX Dx system C1000 Dx DNS amplifikatoru jūsu darba vietā.

Padoms. Pirms DNS amplifikatora iestatīšanas iepazīstieties ar DNS amplifikatoru un tā optisko reakcijas moduli, portiem un piederumiem.

Prasības attiecībā uz uzstādīšanas vietu

Šajā sadaļā redzamajās tabulās ir uzskaitītas prasības attiecībā uz telpām, apkārtējās vides aizsardzību un barošanu, kurām jāatbilst, lai veiksmīgi uzstādītu un izmantotu DNS amplifikatoru CFX Dx system.

Piezīme. Uzstādiet DNS amplifikatoru CFX Dx system uz līdzenas, sausas virsmas ar pietiekamu vēsa gaisa plūsmu, lai tas darbotos pareizi.

Prasības attiecībā uz vietu uz galda

4. tabula. Prasības attiecībā uz CFX Dx system DNS amplifikatoru paredzēto vietu uz galda

Vienums	Tehniskie dati
Ieejas jauda	Līdz 850 W, maksimums
Frekvence	50–60 Hz, vienfāzes
USB porti	5 A, 1 B
Izmēri	P: 13 collas; 33 cm D: 18 collas; 46 cm A: 14 collas; 36 cm
Svars	47 mārciņas; 21 kg

Darba vides prasības

5. tabula. CFX Dx system DNS amplifikatora darba vides prasības

Parametrs	Diapazons	Mitruma diapazons
Ekspluatācijas apstākļi	15–31 °C 59–87,8 °F	0–80 % (relatīvais mitrums), nekondensējošs
Uzglabāšanas apstākļi	15–31 °C 59–87,8 °F	0–80 % (relatīvais mitrums), nekondensējošs

Strāvas prasības

CFX Dx system DNS amplifikatora barošanai jābūt stabilai un jāatbilst tehniskajiem datiem, lai nodrošinātu pareizu darbību. Barošanas vada, kas pievienots barošanas ievadam, nominālajam strāvas stiprumam jābūt 7 A vai vairāk.

6. tabula. Prasības attiecībā uz CFX Dx system barošanu

Vienums	Tehniskie dati
Elektrotīkla spriegums	100–240 V, maiņstrāva; 50–60 Hz, vienfāzes
Maksimālā jauda	<850 vati
Barošanas kontaktligzdu skaits	Ne mazāk par 2 barošanas kontaktligzdām: <ul style="list-style-type: none">■ 1 kontaktligzda DNS amplifikatoram;■ 1 kontaktligzda datoram, kurā darbojas CFX Manager Dx programmatūra.

Sistēmas pārskats

Šajā sadaļā redzamajās ilustrācijās tiek parādīti DNS amplifikatora C1000 Dx galvenie komponenti.

Priekšskats



APZĪMĒJUMI

1. **Optiskās reakcijas modulis** — ietver optisko sistēmu, lai vāktu fluorescences datus, un DNS amplifikatora bloku. CFX Dx reāllaika PCR noteikšanas sistēmas atbalsta CFX96 vai CFX96 Deep Well Dx moduli.

2. **Statusa LED** — norāda, kad tiek izmantots bloks.

3. **Vāka poga** — atver un aizver optiskās reakcijas moduļa vāku un hermetizē reakcijas kameru.

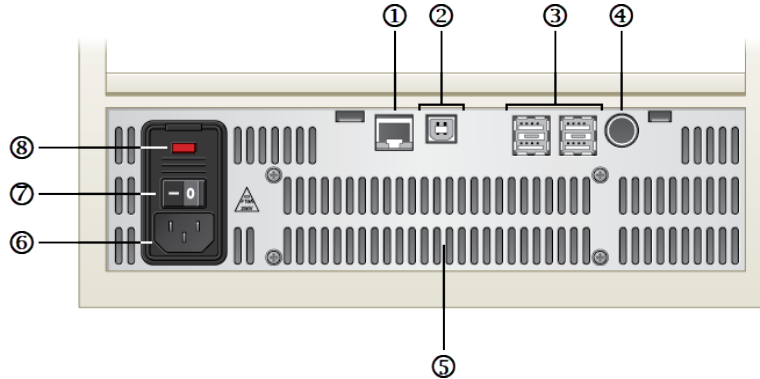
4. **DNS amplifikatora C1000 Dx pamatne** — nodrošina sistēmas barošanu sakarus un ietver optiskās reakcijas modeļus CFX96 Dx un CFX96 Deep Well.

5. **Priekšējā paneļa displejs un pogas** — ļauj kontrolēt sistēmu savrupā režīmā.
Svarīgi! Lai nodrošinātu in vitro diagnostikas gēnu pētījuma datu integritāti, CFX Manager Dx programmatūra neatbalsta datus, kurus DNS amplifikators ir ģenerējis savrupā režīmā.

6. **Apsildīts iekšējais vāks** — uztur vāka temperatūru, lai nepieļautu kondensāciju un iztvaikošanu.

7. **Parauga/reakcijas bloks** — notur reakciju trauku, tostarp mēģenes un mikrotrauciņi.

skats no aizmugures



APZĪMĒJUMI

1. **Ethernet ports** — izveido DNS amplifikatora C1000 Dx un tīkla savienojumu.
2. **USB B tipa ports** — izveido DNS amplifikatora C1000 Dx un datora, kurā darbojas CFX Manager Dx programmatūra, savienojumu.
3. **USB A tipa porti** — pārsūta datus uz USB zibatmiņas disku un no USB zibatmiņas diska.
Svarīgi! Lai nodrošinātu in vitro diagnostikas gēnu pētījuma datu integritāti, CFX Manager Dx programmatūra neatbalsta datus, kurus DNS amplifikators ir ģenerējis savrupā režīmā.
4. **Seriālais pārbaudes ports** — tikai pakalpojuma pārbaudei.
5. **Dzesēšanas atveres** — dzesē DNS amplifikatoru.
Svarīgi! Nenobloķējiet dzesēšanas atveres. Optimālai darbībai nodrošiniet, lai gaiss varētu cirkulēt aiz DNS amplifikatora pamatnes.
6. **Barošanas ieeja** — maiņstrāva; izmantojiet komplektācijā iekļauto barošanas vadu.
7. **Barošanas slēdzis** — balansiera slēdzis DNS amplifikatora ieslēgšanai un izslēgšanai.
8. **Drošinātāji** — drošinātāju tehniskos datus skat. [Droša lietojuma specifikācijas un atbilstība 14. lpp.](#)

Optiskās reakcijas moduļi

DNS amplifikators C1000 Dx ir saderīgs ar tālāk norādītajiem Bio-Rad optiskās reakcijas moduļiem, lai veiktu reāllaika PCR:

- CFX96 Dx optiskās reakcijas modulis.
- CFX96 Deep Well Dx optiskās reakcijas modulis.

Izvēlētais CFX Dx optiskās reakcijas modulis un DNS amplifikators tiek piegādāti atsevišķās kārbās. CFX Manager Dx programmatūra tiek piegādāta kopā ar optiskās reakcijas moduli.

Svarīgi! Optiskās reakcijas modulis ir kalibrēts ar to DNS amplifikatora pamatni, ar kuru tas tiek piegādāts. Tādēļ nelietojiet optiskās reakcijas moduli ne ar vienu citu DNS amplifikatora pamatni vai DNS amplifikatora pamatni ne ar vienu citu optiskās reakcijas moduli.

Abi optiskās reakcijas moduļi ietver pilnībā pielāgojamu apsildīto vāku, kas spēj uzticami darboties ar plašu reakciju trauku klāstu. Katrs optiskās reakcijas modulis satur dzesēšanas ventilatorus straujas karsēšanas un dzesēšanas vajadzībām.

Katru CFX Dx optiskās reakcijas moduli veido tālāk norādītie komponenti:

- **Apsildīts iekšējais vāks** — uztur vāka temperatūru, lai nepieļautu kondensāciju un iztvaikošanu.
- **Paraugu/reakcijas bloks** — tur reakcijas traukus, tostarp mēģenes un mikrotrauciņus.
- **Vāka poga** — atver un aizver vāku un hermetizē reakciju.
- **Statusa LED** — kad šis indikators deg, tas norāda uz to, ka bloks tiek lietots.

Ieteicamie paraugu tilpumi

Lietojot C1000 Dx DNS amplifikatoru, maksimālo parauga tilpumu nosaka lietotā reakcijas moduļa veids. [7. tabula](#) uzskaitīti ieteicamie apjomi, kādus lietot ar katru reakcijas moduli.

7. tabula. Lieluma un tilpuma ierobežojums reakcijas moduļiem

Iedobju skaits	Bloku skaits	Ieteicamais parauga tilpums, µl (augšējā robežvērtība)
96 iedobes	1	10–50
96 dziļās iedobes	1	10–125

DNS amplifikatora C1000 Dx instalēšana

DNS amplifikatora C1000 Dx pamatne ir piegādāta no optiskā reakcijas moduļa atsevišķā kārbā. Iesaiņojuma saturs:

- DNS amplifikatora C1000 Dx pamatne;
- Strāvas vads
- 1 USB kabelis.

DNS amplifikatora C1000 Dx instalēšana.

1. Izsaīņojiet un uzstādiet DNS amplifikatora C1000 Dx pamatni.
2. Reakcijas moduli piestipriniet pie pamatnes.
3. Izņemiet transportēšanas skrūvi.

Sadaļā šie uzdevumi ir izskaidroti sīkāk.

DNS amplifikatora C1000 Dx izsaīņošana un uzstādīšana

Svarīgi! Pirms DNS amplifikatora ekspluatācijas izlasiet informāciju, kas sniegta [Drošuma un normatīvā atbilstība 13. lpp.](#) un [Drošuma brīdinājumu etiķetes 13. lpp.](#)

Padoms. Nodrošiniet, ka uzstādīšanas laikā datoram, kurā darbosies CFX Manager Dx programmatūra, blakus DNS amplifikatoram ir pietiekami daudz vietas.

DNS amplifikatora pamatnes izsaīņošana un uzstādīšana

1. Atrodiet iepakojumu, kas satur DNS amplifikatora pamatni.
2. Izņemiet pamatni no iepakojuma materiāliem.
Padoms. Uzglabājiet iepakojuma materiālus turpmākam lietojumam. Ja trūkst kādas daļas vai tā ir bojāta, sazinieties ar vietējo Bio-Rad biroju.
3. Novietojiet DNS amplifikatora pamatni uz līdzenas, sausas virsmas ar pietiekamu vēsa gaisa plūsmu, lai tas darbotos pareizi.
4. Iepakojuma materiālos atrodiet barošanas vadu un vienu tā galu pievienojiet barošanas ievadam DNS amplifikatora aizmugurē.

Svarīgi! Vēl nepieslēdziet instrumentam barošanu.

5. IVD reakcijas moduli piestipriniet pie pamatnes. Turpiniet ar [Optiskās reakcijas moduļa piesaistīšana 27. lpp.](#)

Optiskās reakcijas moduļa piesaistīšana

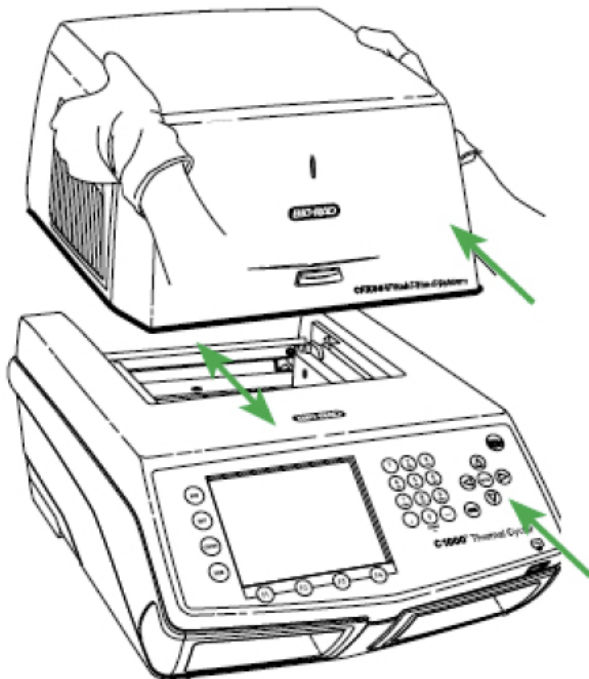
Bio-Rad piegādā CFX96 Dx vai CFX96 Deep Well optiskās reakcijas moduli ar tā DNS amplifikatora C1000 Dx bāzi (taču atsevišķā kastē). Rūpīgi izsaiņojiet optiskās reakcijas moduli un pārbaudiet, vai piegādes konteinerā ir barošanas un USB kabeļi.

Svarīgi! Katrs optiskās reakcijas modulis ir kalibrēts ar to DNS amplifikatora bāzi, ar kuru tas tiek piegādāts. Tādēļ nelietojiet optiskās reakcijas moduli ne ar vienu citu DNS amplifikatora bāzi.

Nodrošiniet, lai DNS amplifikatora C1000 Dx bāze balstītos uz līdzenas, sausas virsmas ar pietiekami vēsu gaisa plūsmu, lai darbotos pareizi.

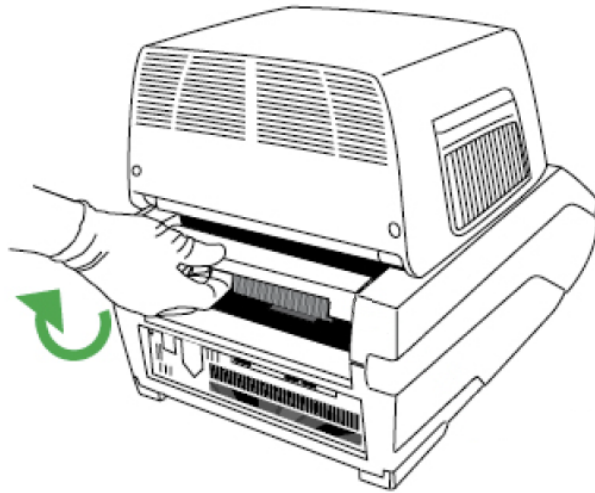
Reakcijas moduļa pievienošana DNS amplifikatora bāzei

1. Novietojiet DNS amplifikatoru C1000 Dx piemērotā vietā ar fiksējošo aizturi uz leju.
2. Paceliet optiskās reakcijas moduli, satverot to rokturu iedobēs virs sānu gaisa ventilācijas atverēm, pozicionējiet moduli C1000 Dx reakcijas moduļa nišā, atstājot aptuveni 2 cm brīvu vietu priekšpusē. Kad optiskais modulis ir ievietots nišā, tam jānosedz Bio-Rad logotips nišas priekšpusē.



3. Velciet fiksējošo aizturi uz augšu, līdz tas ir vienā līmenī ar moduļa nišas sāniem. Šī darbība pavirza moduli uz priekšu, nofiksējot vietā.

2. nodaļa. C1000 Dx DNS amplifikatora iestatīšana



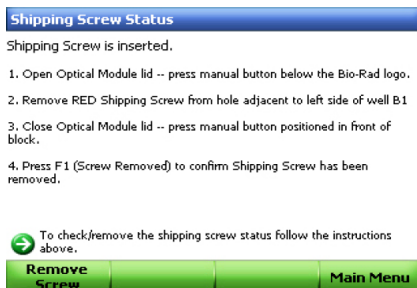
4. Pārliecinieties, vai modulis ir pilnībā un līdzeni uzlikts uz DNS amplifikatora C1000 Dx bāzes. Starp moduli un bāzi nedrīkst būt tukšas telpas.
5. Iespraudiet barošanas kabeli DNS amplifikatora C1000 Dx bāzes aizmugurē un atbilstošā elektrotīkla kontaktligzdā, pēc tam nospiediet jaudas slēdzi DNS amplifikatora C1000 Dx aizmugures panelī, lai sistēmu iedarbinātu.

Transportēšanas skrūves izņemšana

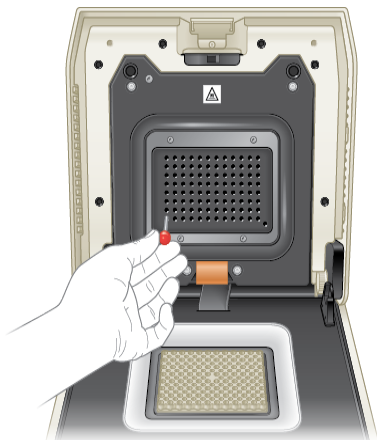
Svarīgi! Bio-Rad optiskās reakcijas moduļi tiek piegādāti ar sarkano transportēšanas skrūvi, kas ievietota iekšējā vākā, lai stabilizētu optisko reakcijas moduli transportēšanas laikā. Pirms optiskās reakcijas moduļa ekspluatācijas transportēšanas skrūve jāizņem.

Transportēšanas skrūves izņemšana

1. DNS amplifikators C1000 Dx atpazīst transportēšanas skrūves atrašanos optiskās reakcijas modulī un parāda ziņojumu, kurā sniegts norādījums izņemt skrūvi.



2. Lai izņemtu transportēšanas skrūvi, ievērojiet norādījumus. Tālāk redzamajā diagrammā ir parādīta transportēšanas skrūves atrašanās vieta.



Piezīme. Ja jebkāda iemesla dēļ reakcijas modulis ir jāatgriež, transportēšanas skrūve jāievieto atpakaļ. Uzglabājiet skrūvi drošā un pieejamā vietā.

Paraugu trauciņu ielādēšana

Lai nodrošinātu paraugu vienmērīgu sasildīšanu un atdzesēšanu, trauciņiem jābūt pilnīgā saskarē ar reakcijas bloku. Lai nodrošinātu atbilstošu saskari, veiciet tālāk norādītās darbības.

- Pirms paraugu ielādēšanas pārlicinieties, vai bloks ir tīrs.
- Stingri iespiediet atsevišķās mēģenes, mēģeņu joslas vai mikrotrauciņus bloka iedobēs.
- Lietojot vienu vai vairākas mēģenes, izmantojiet mēģeņu ietvaru (kataloga Nr. 1849000 vai Nr. 1849001), vai arī ielādējiet vismaz vienu tukšu mēģeni katrā bloka stūrī, lai nodrošinātu to, ka vāks vienādi piespiež visas atsevišķās mēģenes.

Trauciņu ielāde optiskās reakcijas modulī

Svarīgi! Eksploatējot CFX Dx system, vienmēr vienmērīgi līdzsvaro mēģeņu stripus vai pievieno mēģeņu vāciņus stūros esošajām iedobēm, lai nodrošinātu, ka apsildītais vāciņš visam blokam veido vienmērīgu spiedienu.

Trauciņu ielāde optiskās reakcijas modulī

1. Lai atvērtu motorizētu vāku, veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām.
 - CFX Manager Dx programmatūras rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti) noklikšķiniet uz Open Lid (Atvērt vāku).
 - Programmatūras cilnē Start Run (Sākt izpildi) noklikšķiniet uz Open Lid (Atvērt vāku).
 - Nospiediet vāka pogu instrumenta priekšpusē.

2. Blokā ievietojiet mikrotrauciņu, atsevišķas mēģenes vai mēģeņu stripus ar hermētiskiem vāciņiem.

Svarīgi! Pārbaudiet, vai mēģenes ir pilnībā noslēgtas, lai nepieļautu noplūdi.

Padoms. Optimālu rezultātu sasniegšanai CFX Dx system.

3. Precīzai datu analīzei pārbaudiet, vai reakciju orientācija blokā ir tieši tāda pati kā iedobju satura orientācija CFX Manager Dx programmatūras cilnē Plate (Trauciņš).

Padoms. Jūs varat rediģēt iedobju saturu, izmantojot CFX Manager Dx programmatūru pirms izpildes, izpildes laikā vai pēc izpildes.

4. Lai aizvērtu motorizētu vāku, veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Nospiediet vāka pogu uz instrumenta.
 - Programmatūras rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti) noklikšķiniet uz Close Lid (Aizvērt vāku).
 - Programmatūras cilnē Start Run (Sākt izpildi) noklikšķiniet uz Close Lid (Aizvērt vāku).

Svarīgi! Nodrošiniet, lai nekas nenobloķētu vāku, kad tas aizveras. Lai gan vāks ir aprīkots ar drošības mehānismu, kas neļauj tam aizvērties, sajūtot šķērsli, pirms aizvēršanas novietojiet neko vāka ceļā.

PCR plastmasas un reaģentu patēriņa produkti

Lai atrastu un pasūtītu ieteiktos plastmasas patēriņa produktus darbam ar CFX Dx sistēmu, dodieties uz [Bio-Rad tīmekļa vietni](#). Šai vietnei var piekļūt no izvēlnes vienuma Help > PCR Plastic Consumables Web Site (Palīdzība > PCR plastmasas patēriņa produktu tīmekļa vietne) CFX Manager Dx programmatūrā. Papildus ieskatieties [plastmasu atlasītāja](#) un [reaģentu atlasītāja](#) resursos, kas palīdzēs jums viegli atrast un pasūtīt plastmasas patēriņa produktus un reaģentus konkrēti savas aparatūras un PCR vajadzībām.

Pievienoto instrumentu atklāšana

Instalēšanas laikā CFX Manager Dx software instalētājs automātiski instalē instrumentu draiverus datorā, kurā darbojas CFX Manager Dx software. CFX Manager Dx atklāj pievienotos instrumentus, kad jūs palaižat programmatūru.

Svarīgi! Pirms programmatūras instalēšanas C1000 Dx DNS amplifikators jāatvieno no CFX Manager Dx datora. Programmatūras instalēšanas laikā DNS amplifikators nav jāizslēdz.

Pievienoto instrumentu atklāšana

1. Ja tas vēl nav izdarīts, ievietojiet piegādātā USB B tipa kabeļa kvadrātveida (ārējo) galu USB B tipa portā, kas atrodas bāzes aizmugurē.
2. Ievietojiet otru (porta) galu USB portā CFX Manager Dx datorā.
3. Ja DNS amplifikators jau nedarbojas, nospiediet jaudas slēdzi instrumenta aizmugurē, lai to ieslēgtu.
4. Palaidiet CFX Manager Dx software.

Programmatūra automātiski atklāj pievienoto instrumentu un parāda tā nosaukumu Detected Instruments (Atklātie instrumenti) rūtī Home (Sākums) logā.

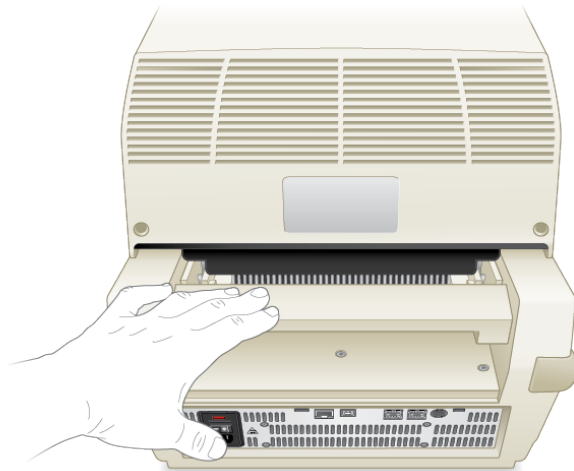
Piezīme. Ja instruments neparādās rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti), pārlicinieties, vai USB kabelis ir pievienots pareizi. Lai pārinstalētu draiverus, atlasiet Tools > Reinstall Instrument Drivers (Rīki > Atkārtoti instalēt instrumentu draiverus) CFX Manager Dx software logā Home (Sākums).

Reakcijas moduļa atvienošana

Svarīgi! Pirms reakcijas moduļa atvienošanas izslēdziet DNS amplifikatoru C1000 Dx (skat. [DNS amplifikators C1000 Dx izslēgšana 32. lpp.](#)). Atdziestēšanas stabilizatori reakcijas modulī uzreiz pēc protokola izpildes vai inkubēšanas var būt karsti. Pirms reakcijas moduļa atvienošanas pārliecinieties, ka stabilizatori ir vēsi.

Optiskā Reakcijas moduļa atvienošana no DNS amplifikatora pamatnes

1. DNS amplifikatora pamatnes aizmugurē piespiediet fiksatoru, lai atbloķētu un atbrīvotu optisko reakcijas moduli.



2. Uzmanīgi izceliet optisko reakcijas moduli no nišas, katrā pusē satverot aiz roktura ierobežojumiem.
3. Uztādiet optisko reakcijas moduli uz tīras, līdzenas virsmas, kur tas ir aizsargāts pret triecieniem un skrāpējumiem un no kurienes to nav iespējams nomest.

DNS amplifikators C1000 Dx izslēgšana

DNS amplifikatora izslēgšana

1. Pēc izpildes nospiediet vāka atvēršanas pogu CFX optiskās reakcijas moduļa priekšpusē, lai piekļūtu paraugiem, kas ielādēti blokā.
2. Izņemiet paraugus no bloka un nospiediet vāka aizvēršanas pogu, lai aizvērtu vāku.
3. Nospiediet barošanas slēdzi DNS amplifikatora C1000 Dx aizmugures panelī, lai izslēgtu sistēmu.

3. nodaļa. CFX Manager Dx programmatūras instalēšana

Šajā nodaļā izskaidrots, kā instalēt CFX Manager Dx programmatūru.

CFX Manager Dx software ir vajadzīga, lai analizētu reāllaika PCR datus no CFX96 Dx un CFX96 Deep Well Dx sistēmām. Varat izmantot šo programmatūru, lai vadītu šīs sistēmas programmatūras vadības režīmā.

Informāciju par CFX Dx system DNS amplifikatora un optiskās reakcijas moduļa instalēšanu skatīt [C1000 Dx DNS amplifikatora iestatīšana 21. lpp.](#)

Sistēmas prasības

8. tabula uzskaitītas minimālās un ieteicamās sistēmas prasības attiecībā uz datoru, kurā darbojas CFX Manager Dx software (turpmāk tekstā saukts CFX Manager Dx dators).

8. tabula. Datora prasības darbā ar CFX Manager Dx software

Sistēma	Minimums	Ieteicamais
Operētājsistēma	Microsoft Windows 7 SP1 Pro	Jebkura no šīm: <ul style="list-style-type: none"> ■ Microsoft Windows 7 SP2 Pro (32 un 64 bitu) ■ Microsoft Windows 10 Pro (tikai 64 bitu) ■ Microsoft Windows 10 Enterprise (tikai 64 bitu)
Svarīgi! Secure Boot funkcijai jābūt atspējotai gan Microsoft Windows 10 Pro, gan Enterprise.		
Porti	2 USB 2.0 ātrdarbības porti	2 USB 2.0 ātrdarbības porti
Vieta cietajā diskā	128 GB	128 GB
Procesora ātrums	2,4 GHz, divkodolu	2,4 GHz, četrkodolu
RAM	4 GB RAM	8 GB RAM
Ekrāna izšķirtspēja	1024 x 768 ar dabisko krāsu režīmu	1280 x 1024 ar dabisko krāsu režīmu
PDF lasītājs		Adobe PDF Reader vai Windows PDF Reader no viena no atbalstītajiem Microsoft Office Suites: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2007 ■ 2010 ■ 2013

CFX Manager Dx programmatūras instalēšana

Svarīgi! Pirms programmatūras instalēšanas vai jaunināšanas no CFX Manager Dx datora jāatvieno visi pievienotie instrumenti. Programmatūras instalēšanas laikā DNS amplifikators nav jāizslēdz. Pārliecinieties, vai visas izpildes ir saglabātas un vai neviens eksperiments šobrīd nenotiek.

Piezīme. Ja instalējat CFX Manager Dx software operētājsistēmā Windows 10, pirms instalēšanas procedūras sākšanas pārliecinieties, vai ir atspējota drošās sāknēšanas funkcija.

CFX Manager Dx software instalēšana

1. Ja nepieciešams, atvienojiet no datora visus pievienotos instrumentus.
Sameklējiet un atvienojiet instrumenta USB kabeli no CFX Manager Dx datora. Instrumentā iespraustais kabeļa gals var palikt savā vietā.
2. Piesakieties CFX Manager Dx datorā ar administratora tiesībām.
3. Ievietojiet CFX Manager Dx programmatūras kompaktdisku datora CD dzinī.
4. Programmatūras palaišanas lapai jāparādās automātiski. Veiciet dubultklikšķi uz komandas Install Software (Instalēt programmatūru) programmatūras palaišanas lapā.

Piezīme. Ja palaišanas lapa neatveras automātiski, navigējiet uz CD dzini un atveriet CFX_Manager mapi, pēc tam veiciet dubultklikšķi uz setup.exe, lai palaistu programmatūras instalēšanas vedni.

Padoms. Instalēšanas vednī noklikšķiniet uz pogas Documentation (Dokumentācija), lai atrastu izlaiduma piezīmju, instrumentu rokasgrāmatu un citas dokumentācijas pārmeklējamus eksemplārus.

5. Lai pabeigtu instalēšanu, izpildiet ekrānā redzamos norādījumus. Kad instalēšana būs pabeigta, datora darbvirsnā parādīsies CFX Manager programmatūras ikona.
6. Kad instalēšana ir pabeigta, kompaktdisku var droši izņemt.

Pievienoto instrumentu atklāšana

Instalēšanas laikā CFX Manager Dx programmatūras instalēšanas programma automātiski instalē instrumentu draiverus CFX Manager Dx datorā. CFX Manager Dx atklāj pievienotos instrumentus, kad jūs palaižat programmatūru.

Pievienoto instrumentu atklāšana

1. Ja tas vēl nav izdarīts, ievietojiet komplektācijā iekļautā USB B tipa kabeļa kvadrātveida (spraudņa tipa) galu USB B tipa portā, kas atrodas instrumenta pamatnes aizmugurē.
2. Ievietojiet otru (porta) galu USB portā CFX Manager Dx datorā.
3. Ja instruments jau nedarbojas, instrumenta aizmugurē nospiediet barošanas slēdzi, lai to ieslēgtu.
4. Palaidiet CFX Manager Dx.

Programmatūra automātiski nosaka atklāto instrumentu un parāda tā nosaukumu loga Home (Sākums) rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti).

Piezīme. Ja instruments neparādās rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti), pārlicinieties, vai USB kabelis ir pievienots pareizi. Lai atkārtoti instalētu draiverus, CFX Manager Dx logā Home (Sākums) atlasiet Tools > Reinstall Instrument Drivers (Rīki > Atkārtoti instalēt instrumentu draiverus).

Programmatūras faili

9. tabula ir uzskaitīti CFX Manager Dx software failu tipi.

9. tabula. CFX Manager Dx software failu tipi

Faila tips	Paplašinājums	Details
Protokols	.prcl	Satur protokola iestatīšanas informāciju, lai veiktu PCR izpildi.
Plāksne	.pltd	Satur trauciņa iestatīšanas informāciju, lai veiktu PCR izpildi.
Dati	.pcrd	Satur eksperimenta izpildes un PCR analīzes rezultātus.
PrimePCR izpilde	.csv	Satur protokolu un trauciņu izkārtojumu PrimePCR trauciņiem.
Gēnu pētījums	.mgxd	Satur vairāku PCR izpilžu un gēnu ekspresijas analīžu rezultātus.
LIMS	.plrn	Satur trauciņa iestatīšanas un protokola informāciju, kas nepieciešama, lai veiktu ar LIMS saderīgu izpildi.

Ieteicamie kiberdrošības pasākumi

Bio-Rad iesaka sadarboties ar jūsu uzņēmuma IT nodaļu, lai attiecībā uz kopā ar CFX96 Dx sistēmu izmantoto datoru ieviestu kiberdrošības pasākumus. Piemēram:

- Instalējiet un konfigurējiet atbilstošas pretvīrusu un ugunsmūra lietojumprogrammas.
Svarīgi! Konfigurējiet vīrusu skenēšanu, lai tā notiktu ārpus darba laika vai tad, kad instruments netiek aktīvi darbināts. Ja vīrusu skenēšana tiek uzsākta, kad CFX Manager Dx veic eksperimentu, izpilde var tikt atcelta un dati — zaudēti.
- CFX Manager Dx software nav aprīkots ar lietotāja sesijas neaktivitātes noilguma funkciju. Ieviesiet Windows vai trešās puses lietotāju piekļuves drošības pasākumus (piemēram, ekrānsaudzētāju ar pieteikšanās funkciju).
- Noņemamo datu nesēju drošība:
 - Datu aizsardzībai USB ierīcē izmantojiet paroles un šifrēšanu.
 - Visiem noņemamajiem datu nesējiem atspējojiet automātiskās startēšanas un automātiskās atskaņošanas funkcijas.
 - Izpildiet USB skenēšanu katru reizi, kad tiek iesprausta zibatmiņa.
- Lai atvieglotu datu atkopšanu, izmantojiet dublēšanas utilītu.

4. nodaļa. Darba zona

CFX Manager Dx programmatūra nodrošina interfeisu trauciņu iestatīšanai, izstrādājot PCR protokolus, darbinot tos CFX Dx instrumentos un analizējot datus no PCR izpildēm.

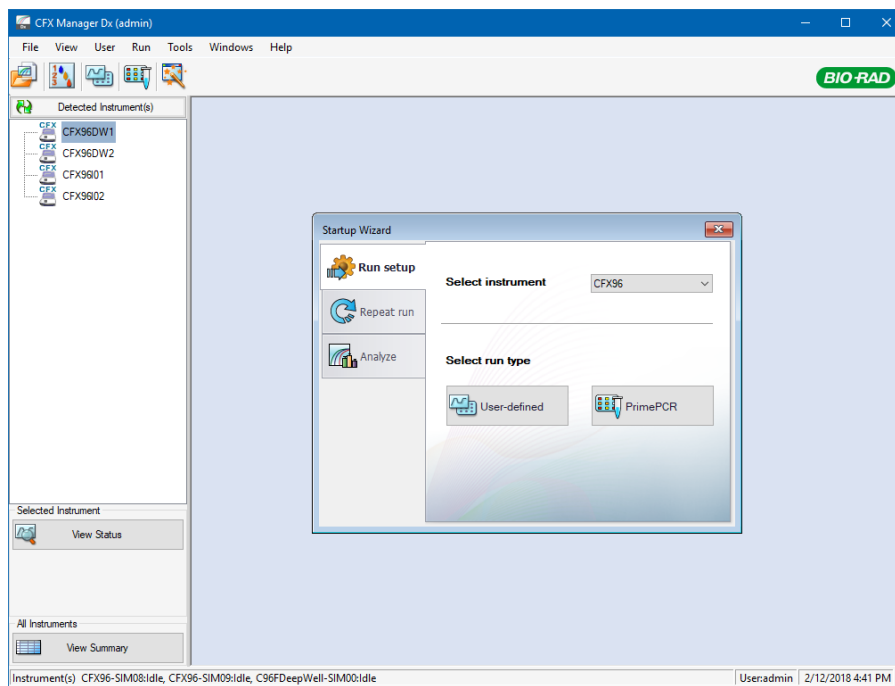
CFX Manager Dx programmatūra piedāvā piecas primārās darba zonas:

- logu Home (Sākums);
- Startup Wizard (Startēšanas vednis);
- logu Protocol Editor (Protokola redaktors);
- logu Plate Editor (Trauciņa redaktors);
- logu Data Analysis (Datu analīze).

Šajā nodaļā ir parādīta un īsi aprakstīta katra darba zona.

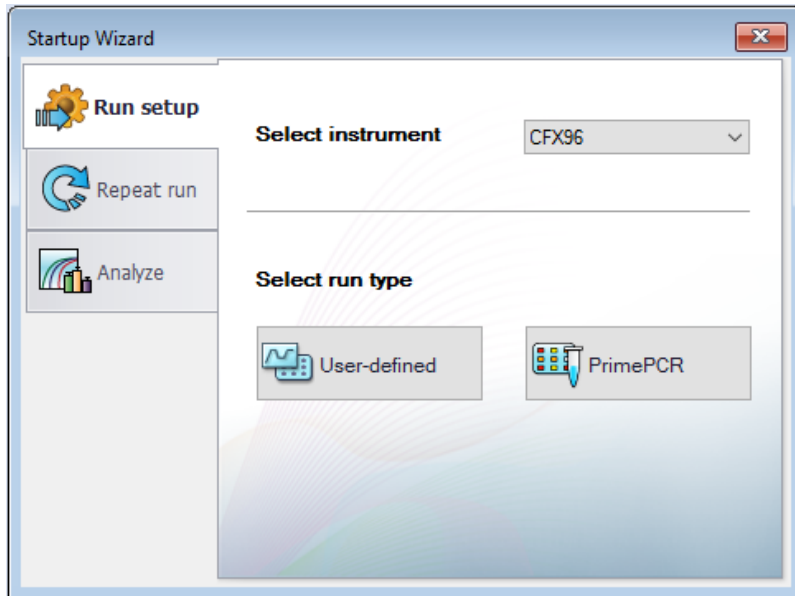
Home (Sākums) logs

CFX Manager Dx software atveras uz Home (Sākums) logu un rāda Startup Wizard (Startēšanas vednis), no kura jūs varat iestatīt eksperimentu, veikt vai atkārtot izpildi vai analizēt esošu izpildi. No Home (Sākums) loga jūs varat skatīt arī pielietojuma un instrumentu žurnālus, izveidot un pārvaldīt lietotājus un piekļūt daudziem noderīgiem rīkiem. Papildu informāciju skatīt [5. nodaļa, Home \(Sākums\) logs](#)



Startup Wizard (Startēšanas vednis)

Lietojiet rīku Startup Wizard (Startēšanas vednis), lai ātri iestatītu un izpildītu lietotāju definētos eksperimentus vai atlasītu un izpildītu PrimePCR eksperimentu. Tāpat jūs varat lietot šo vedni, lai atkārtotu izpildi vai analizētu izpildes datus.



Protocol Editor (Protokola redaktors) logs

Protocol Editor (Protokola redaktors) logā jūs varat izveidot, atvērt, pārskatīt un rediģēt protokolu. Varat modificēt arī vāka temperatūru atvērtā protokolā. Protocol Editor (Protokola redaktors) funkcionalitāti detalizēti aprakstīta 6. nodaļa, [Protokolu izveide](#).

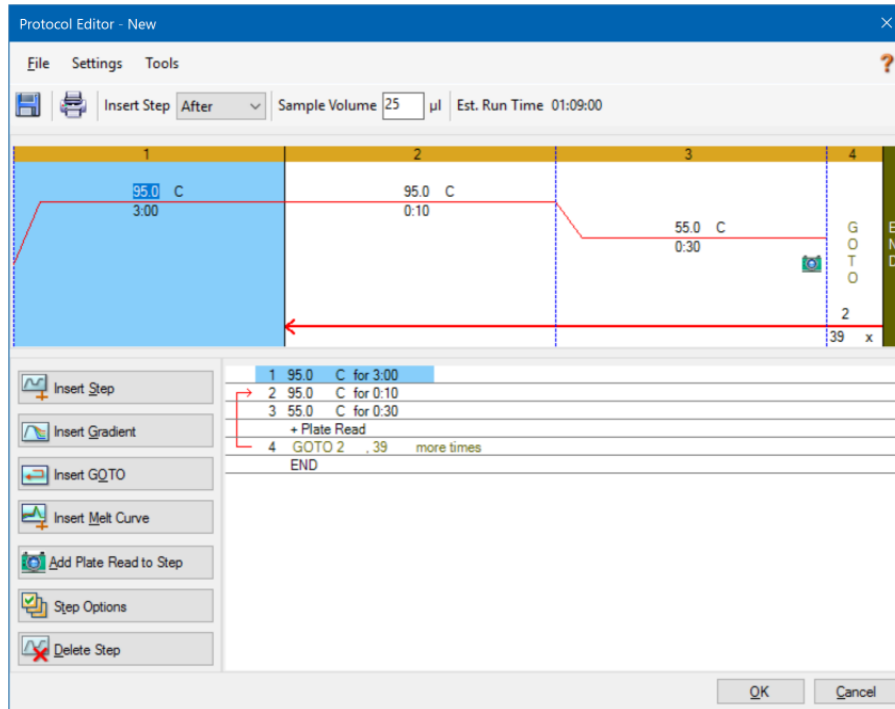
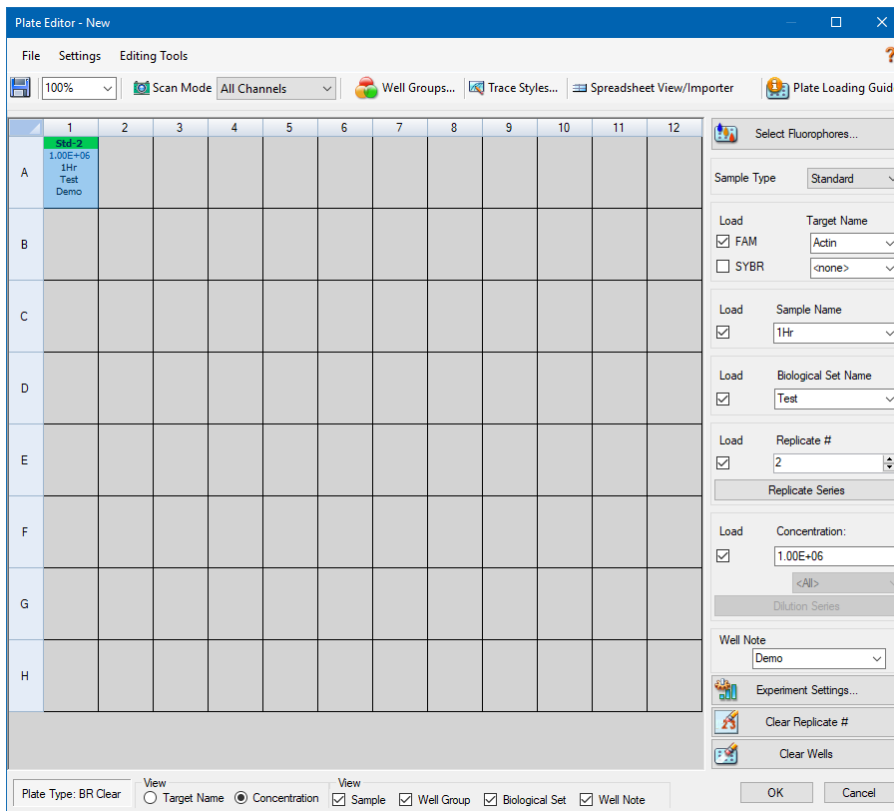


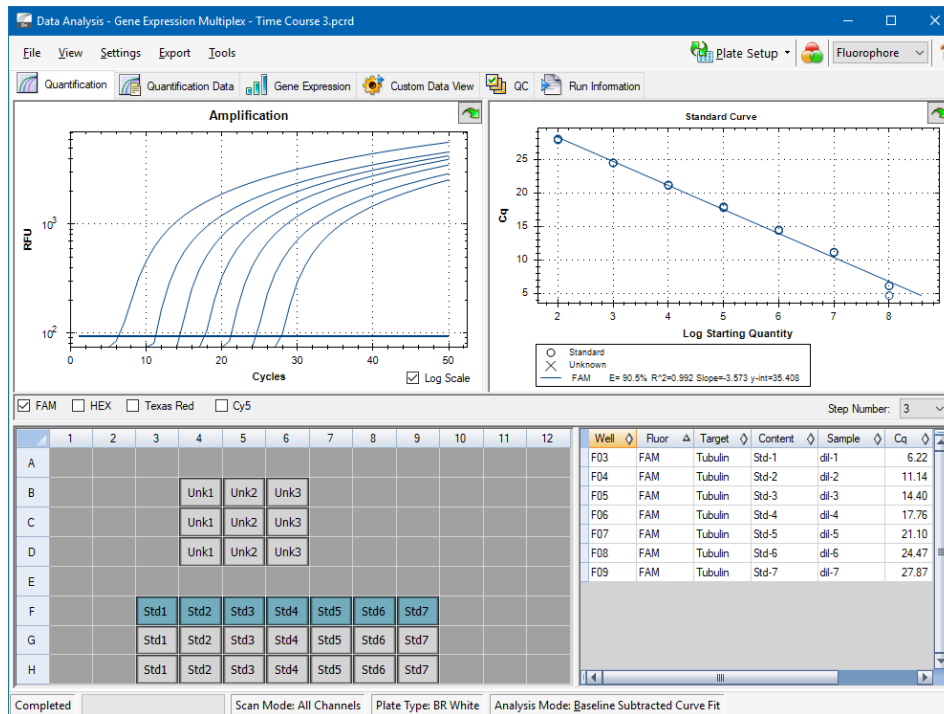
Plate Editor (Trauciņa redaktors) logs

Plate Editor (Trauciņa redaktors) logā jūs varat izveidot, atvērt, pārskatīt un rediģēt trauciņu. Plate Editor (Trauciņa redaktors) funkcionalitāte detalizēti aprakstīta šeit [7. nodaļa, Trauciņu sagatavošana](#)



Logs Data Analysis (Datu analīze)

Logā Data Analysis (Datu analīze) jūs varat skatīt un salīdzināt izpildes datus, veikt statistiskās analīzes, eksportēt datus un izveidot publicēšanai gatavas atskaites. Loga Data Analysis (Datu analīze) funkcionalitāte sīki aprakstīta 9. nodaļā, Pārskats par datu analīzi. Skat. arī 10. nodaļa, Datu analīzes detaļas.



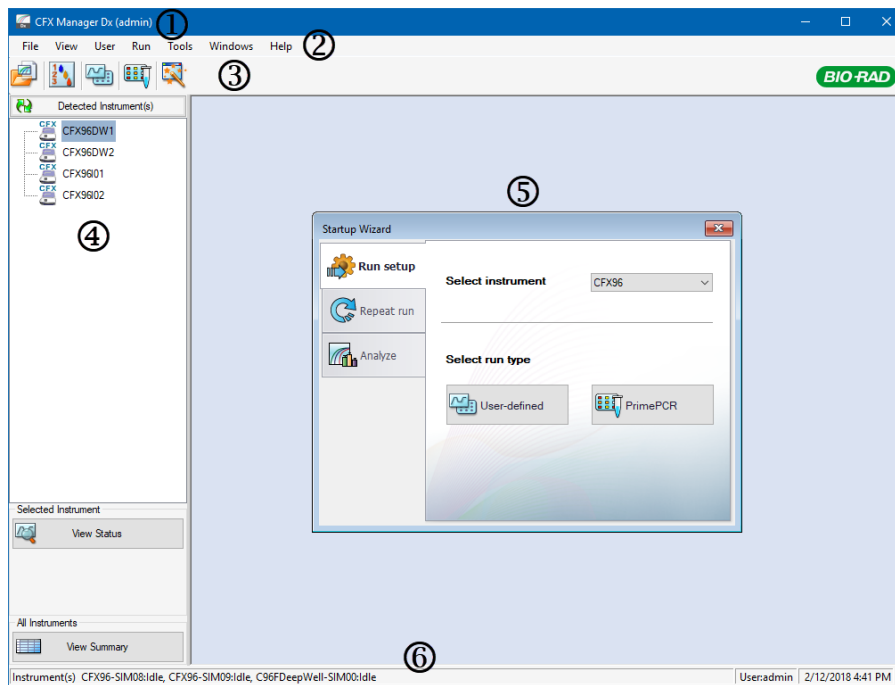
5. nodaļa. Home (Sākums) logs

CFX Manager Dx programmatūra nodrošina interfeisu PCR protokolu izstrādāšanai, izpildot tos CFX Dx sistēmās un analizējot datus no PCR izpildēm.

Šajā nodaļā notiek iepazīstināšana ar CFX Manager Dx software un tiek aprakstītas funkcijas, kurām var piekļūt logā Home (Sākums).

Logs Home (Sākums)

CFX Manager Dx atveras logā Home (Sākums) un parāda Startup Wizard (Startēšanas vednis), no kura jūs varat iestatīt izpildi, veikt vai atkārtot izpildi vai analizēt esošu izpildi. No Home (Sākums) loga jūs varat skatīt arī pielietojuma un instrumentu žurnālus, izveidot un pārvaldīt lietotājus un piekļūt daudziem noderīgiem rīkiem.



APZĪMĒJUMI

1. Programmatūras virsrakstjoslā tiek parādīts programmatūras nosaukums un pieteicies lietotājs.
2. Izvēlnes josla nodrošina ātru piekļuvi komandām izvēlnēs File (Fails), View (Skatīt), Users (Lietotāji), Run (Izpilde), Tools (Rīki), Window (Logs) un Help (Palīdzība).
3. Rīkjoslas komandas nodrošina ātru piekļuvi izvēlnes opcijām.
4. Kreisajā rūtī tiek parādīti instrumenti, kas pievienoti CFX Manager Dx datoram, un pogas, ar kuru palīdzību var darbināt vāku un skatīt instrumentu statusu.
5. Galvenajā rūtī tiek parādīts darba logs. Noklusējuma darba logs ekrānā Home (Sākums) ir Startup Wizard (Startēšanas vednis).
6. Statusa joslā tiek parādīti pievienoto instrumentu nosaukumi un pieteicies lietotājs.

Izvēlnes File (Fails) komandas

New (Jauns) — atver dialoglodziņu, kurā varat izveidot jaunu protokolu, trauciņu vai gēnu pētījumu.

Open (Atvērt) — atver dialoglodziņu, kurā varat navigēt un atvērt esošo protokolu, trauciņu, datu failu, gēnu pētījumu, LIMS failu, vai atvērt PrimePCR izpildes failu.

Recent Data Files (Nesenie datu faili) — parāda neseni atvērto PCR failu sarakstu.

Repeat a Run (Atkārtot izpildi) — atver Windows Explorer saglabāto PCR failu atrašanās vietā, kurā varat atrast atkārtojamo izpildi.

Exit (Iziet) — aizver CFX Manager Dx.

Skatīšanas izvēlnes komandas

Application Log (Lietojumprogrammas žurnāls) — rāda programmatūras lietojuma žurnālu no sākotnējās instalēšanas līdz šodienai.

Run Reports (Izpildes atskaites) — rāda izpildes atskaišu sarakstu.

Startup Wizard (Startēšanas vednis) — rāda Startup Wizard (Startēšanas vednis) galvenajā rūtī.

Run Setup (Izpildes iestatīšana) — rāda Run Setup (Izpildes iestatīšana) logu galvenajā rūtī.

Instrument Summary (Kopsavilkums par instrumentiem) — rāda Instrument Summary (Kopsavilkums par instrumentiem) logu galvenajā rūtī.

Detected Instruments (Atklātie instrumenti) — pārslēdzas starp pievienoto instrumentu rādīšanu un nerādīšanu kreisās puses rūtī. Pēc noklusējuma programmatūra rāda pievienotos instrumentus kreisās puses rūtī.

Toolbar (Rīkjoslā) — pārslēdzas starp rīkjoslā rādīšanu un nerādīšanu ekrāna augšā. Pēc noklusējuma programmatūra rīkjoslā rāda.

Status Bar (Statusa josla) — pārslēdzas starp statusa joslas rādīšanu un nerādīšanu ekrāna apakšā. Pēc noklusējuma programmatūra statusa joslu rāda.

Show (Rādīt) — atver dialoglodziņu, no kura jūs varat veikt tālāk norādīto.

- Skatīt vai bloķēt Status (Statusa) žurnālu.
- Atvērt un skatīt CFX Manager Dx datu mapi.
- Atvērt un skatīt lietotāja datu mapi.

- Atvērt un skatīt LIMS failu mapi.
- Atvērt un skatīt PrimePCR mapi.
- Skatīt izpildes vēsturi.
- Skatīt visu pievienoto instrumentu rekvizītus.

Izvēlnes User (Lietotājs) komandas

Select User (Atlasīt lietotāju) — atver ekrānu Login (Pieteikšanās), kura nolaižamajā sarakstā User Name (Lietotājevārds) varat atlasīt lietotāju un pieteikties lietojumprogrammā.

Change Password (Mainīt paroli) — atver dialoglodziņu Change Password (Mainīt paroli), kurā lietotāji var mainīt savu CFX Manager Dx software paroli.

User Preference s (Lietotāja preferences) — atver dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences), kurā lietotāji var mainīt noklusējuma iestatījumus tālāk norādītajām opcijām.

- E-pasta paziņojumu sūtīšana un saņemšana pēc izpildes pabeigšanas
- Datu failu saglabāšana
- Protokolu izveide, izmantojot rīku Protocol Editor (Protokola redaktors) vai Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs)
- Trauciņu izveide
- Datu analizēšana
- Gēnu ekspresijas analīzes veikšana
- Datu kvalitātes noteikšana
- CFX Dx instrumenta datu eksportēšana

User Administration (Lietotāju administrēšana) — atver dialoglodziņu User Administration (Lietotāju administrēšana), kurā administratori var izveidot lietotājus, mainīt lomu atļaujas un piešķirt lomas lietotājiem.

Bio-Rad Service Login (Pakalpojuma pieteikšanās) — paredzēta tikai Bio-Rad tehniskās apkalpošanas personālam. Neatlasiet šo komandu.

Izvēlnes Run (Izpilde) komandas

User-defined Run (Lietotāja definēta izpilde) — atver logu Run Setup (Izpildes iestatīšana), kurā varat iestatīt lietotāja definētu protokolu un trauciņu, un pēc tam atlasītajos instrumentos izpilda PCR eksperimentu.

PrimePCR Run (PrimePCR izpilde) — logā Run Setup (Izpildes iestatīšana) atver cilni Start Run (Sākt izpildi) ar noklusējuma PrimePCR protokolu un trauciņu izkārtojumu, kas ielādēts, balstoties uz atlasīto instrumentu.

End-Point Only Run (Tikai galapunkta izpilde) — logā Run Setup (Izpildes iestatīšana) atver cilni Start Run (Sākt izpildi) ar noklusējuma galapunkta protokolu un trauciņu izkārtojumu, kas ielādēts, balstoties uz atlasīto instrumentu.

Qualification Run (Kvalifikācijas izpilde) — logā Run Setup (Izpildes iestatīšana) atver cilni Start Run (Sākt izpildi) ar noklusējuma Bio-Rad kvalifikācijas protokolu un trauciņu izkārtojumu, kas ielādēts, balstoties uz atlasīto instrumentu.

Tools (Rīki) izvēlnes komandas

Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators) — atver rīku Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators, kurā varat izveidot reakcijas maisījumu un izdrukāt aprēķinus.

Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) — atver dialoglodziņu Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs), kurā varat viegli izveidot jaunu protokolu.

T_a Calculator (T_a kalkulators) — atver rīku T_a Calculator (T_a kalkulators), kurā varat viegli aprēķināt praimeru renaturācijas temperatūru.

Dye Calibration Wizard (Kontrastvielu kalibrēšanas vednis) — atver rīku Dye Calibration Wizard (Kontrastvielu kalibrēšanas vednis), kurā varat kalibrēt instrumentu jaunam fluoroforam.

Reinstall Instrument Drivers (Atkārtoti instalēt instrumentu draiverus) — atkārtoti instalē draiverus, kas kontrolē sakarus ar Bio-Rad reāllaika PCR sistēmām.

Zip Data and Log Files (Tilpsaspieštos datus un žurnāla failus) — atver dialoglodziņu, kurā varat atlasīt failus saspiešanai un saglabāšanai tilpsaspieštajā failā, lai tos uzglabātu vai nosūtītu pa e-pastu.

Batch Analysis (Partijas analīze) — atver dialoglodziņu Batch Analysis (Partijas analīze), kurā varat iestatīt parametrus vairāk nekā viena datu faila vienlaicīgai analizēšanai.

Options (Opcijas) — atver dialoglodziņu, kurā varat:

- konfigurēt e-pasta servera iestatījumus;
- konfigurēt eksportēšanas iestatījumus LIMS un citiem datu failiem.

Izvēlnes Help (Palīdzība) komandas

Padoms. Izvēlne Help (Palīdzība) ir pieejama izvēlņu joslā visos CFX Manager Dx software logos.

Open Operation Manual (Atvērt ekspluatācijas rokasgrāmatu) — atver šīs rokasgrāmatas PDF.

Gene Expression Gateway Web Site (Gēnu ekspresijas vārtejas tīmekļa vietne) — atver Bio-Rad CFX Dx system lapu Home (Sākums).

PCR Reagents Web Site (PCR reaģentu tīmekļa vietne) — atver Bio-Rad PCR reaģentu tīmekļa vietni, kurā varat pasūtīt PCR reaģentus, supermaisījumus, kontrastvielas un komplektus.

PCR Plastic Consumables Web Site (PCR plastmasas patēriņa produktu tīmekļa vietne) — atver Bio-Rad PCR plastmasas un patēriņa produktu tīmekļa vietni, kurā varat pasūtīt PCR trauciņus, trauciņu plombas, mēģenes un vāciņus, kā arī citus plastmasas piederumus.

Software Web Site (Programmatūras tīmekļa vietne) — atver Bio-Rad PCR analīzes programmatūras tīmekļa vietni, kurā varat pasūtīt Bio-Rad CFX Manager Dx software atjauninātas versijas.

About (Par) — rāda informāciju par CFX Manager Dx autortiesībām un versiju.

Rīkjoslas komandas



— atver Windows Explorer, kurā varat navigēt un atvērt datu failu vai gēnu pētījuma failu.



— atver Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators).



— atver logu Run Setup (Izpildes iestatīšana).



— atver logu Run Setup (Izpildes iestatīšana) ar noklusējuma PrimePCR protokolu un trauciņu izkārtojumu, kas ielādēts, balstoties uz atlasīto instrumentu.

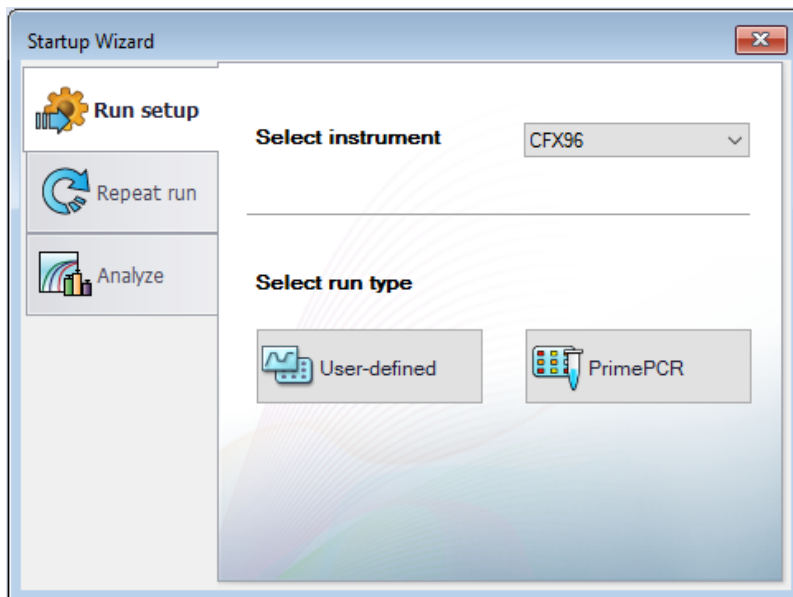


— atver Startup Wizard (Startēšanas vednis).

Startup Wizard (Startēšanas vednis)

Kad CFX Manager Dx tiek palaista, darba rūtī tiek rādīts Startup Wizard (Startēšanas vednis). No Startup Wizard (Startēšanas vednis) jūs varat

- atlasīt instrumentu no atklātajiem instrumentiem un iestatīt lietotāja definētu vai PrimePCR izpildi;
- atvērt un atkārtot izpildi;
- atvērt datu failu, lai analizētu rezultātus no atsevišķas izpildes vai gēnu pētījuma failu, kurā ir rezultāti no daudzām gēnu ekspresijas izpildēm.



Sīkāk šie uzdevumi ir izskaidroti turpmākajās nodaļās.

Statusa josla

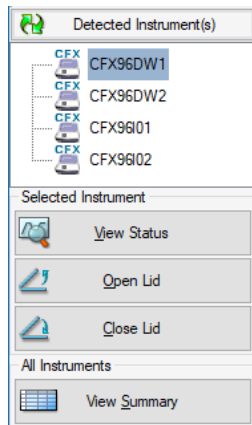
Statusa joslas kreisajā pusē, kas atrodas galvenā programmatūras loga apakšdaļā, tiek parādīts atklāto instrumentu pašreizējais statuss. Statusa joslas labajā pusē tiek parādīts pašreizējā lietotāja nosaukums, kā arī datums un laiks.

Rūts Detected Instruments (Atklātie instrumenti)

Rūti Detected Instruments (Atklātie instrumenti) tiek rādīts ikviens instruments, kas savienots ar CFX Manager Dx datoru. Pēc noklusējuma katrs instruments redzams kā ikona, un tā sērijas numurs — kā nosaukums.

Piemēram, šajā attēlā tiek rādīti četri atklāti instrumenti:

- Divi C1000 DNS amplifikatori ar CFX96 Deep Well reakcijas moduļiem (CFX96DW1 un CFX96DW2)
- Divi C1000 DNS amplifikatori ar CFX96 reakcijas moduļiem (CFX96I01 un CFX96I02)



No šīs rūts var veikt tālāk norādītās darbības.

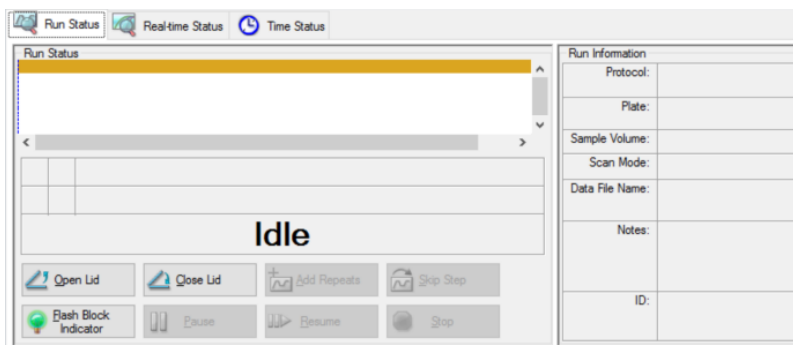
- Skatīt atlasītā instrumenta rekvizītus un kalibrētās kontrastvielas.
Informāciju par instrumenta rekvizītiem skatīt [Instrumenta rekvizītu skatīšana 56. lpp.](#)
- Skatīt pievienotā instrumenta statusu.
- Atvērt atlasītā instrumenta motorizēto vāku.
- Aizvērt atlasītā instrumenta motorizēto vāku.
- Skatīt visu pievienoto instrumentu statusu.

Pievienota instrumenta statusa skatīšana

► Rūti Detected Instruments (Atklātie instrumenti) atlasiet mērķa instrumentu un veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:

- Noklikšķiniet uz View Status (Skatīt statusu) sadaļā Selected Instrument (Atlasīts instruments).
- Noklikšķiniet ar peles labo pogu un izvēlnē, kas parādās, atlasiet View Status (Skatīt statusu).

Parādīsies dialoglodziņš Run Details (Izpildes dati), kurā redzama cilne Run Status (Izpildes statuss). Atlasītā instrumenta statuss redzams zem izpildes statusa rūts, piemēram:



Instrumenta vāka atvēršana vai aizvēršana

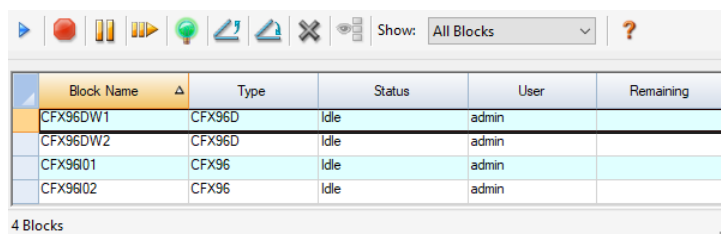
► Rūti Detected Instruments (Atklātie instrumenti) atlasiet mērķa instrumentu un veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:

- Noklikšķiniet uz Open Lid (Atvērt vāku) vai Close Lid (Aizvērt vāku) sadaļā Selected Instrument (Atlasīts instruments).
- Noklikšķiniet ar peles labo pogu un izvēlnē, kas parādās, atlasiet atbilstošo darbību.
- Atveriet dialoglodziņu Run Details (Izpildes dati), atlasiet cilni Run Status (Izpildes statuss) un noklikšķiniet uz Open Lid (Atvērt vāku) vai Close Lid (Aizvērt vāku).

Visu atklāto instrumentu statusa skatīšana

- ▶ Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Sadaļas All Instruments (Visi instrumenti) rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti) noklikšķiniet uz View Summary (Skatīt kopsavilkumu).
 - Izvēlnes joslā atlasiet View > Instrument Summary (Skatīt > Kopsavilkums par instrumentiem).

Parādīsies dialoglodziņš Instrument Summary (Kopsavilkums par instrumentiem):



The screenshot shows a software interface with a toolbar at the top containing various icons and a 'Show: All Blocks' dropdown menu. Below the toolbar is a table with the following data:

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










At the bottom of the dialog, it says '4 Blocks'.

Padoms. Ja sistēma atklāj tikai vienu pievienotu instrumentu, sadaļa All Instruments (Visi instrumenti) rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti) nav redzama. Lai skatītu atsevišķa instrumenta kopsavilkumu, atlasiet View > Instrument Summary (Skatīt > Kopsavilkums par instrumentiem).

Instrument Summary (Kopsavilkums par instrumentiem) rīkjoslas elementi

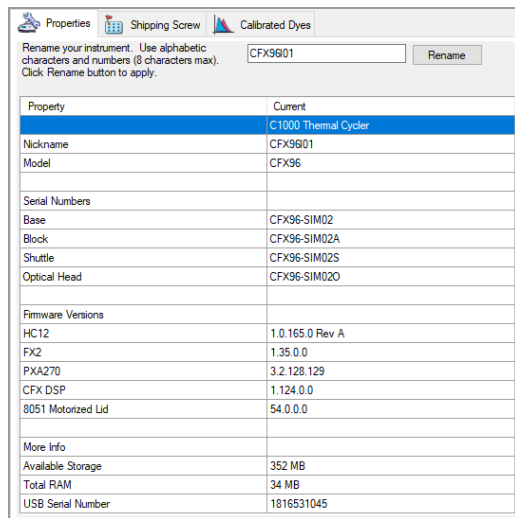
10. tabula uzskaitīti elementi un funkcijas rīkjoslā Instrument Summary (Kopsavilkums par instrumentiem).

10. tabula. Instrument Summary (Kopsavilkums par instrumentiem) rīkjoslas elementi

Poga	Pogas nosaukums	Funkcija
	Create a new Run (Izveidot jaunu izpildi)	Izveido izpildi atlasītajam blokam, atverot logu Run Setup (Izpildes iestatīšana).
	Stop (Apturēt)	Aptur pašreizējo izpildi atlasītajos blokos.
	Pause (Pauzēt)	Pauzē pašreizējo izpildi atlasītajos blokos.
	Atsākt	Atsāk pašreizējo izpildi atlasītajos blokos.
	Mirgojoša bloka indikators	Mirgo LED indikators uz atlasīto bloku vāka.
	Atvērt vāku	Atver atlasītā bloka motorizēto vāku.
	Aizvērt vāku	Aizver atlasītā bloka motorizēto vāku.
	Hide Selected Blocks (Paslēpt atlasītos blokus)	Sarakstā Instrument Summary (Kopsavilkums par instrumentiem) paslēpj atlasītos blokus
	Rādīt visus blokus	Sarakstā Instrument Summary (Kopsavilkums par instrumentiem) rāda atlasītos blokus
<input type="text" value="Show: All Blocks"/>	Rādīt	Atlasiet, kurus blokus rādīt sarakstā. Atlasiet vienu no opcijām, lai rādītu visus atklātos blokus, visus neietotos blokus, visus blokus, kas darbojas ar pašreizējo lietotāju vai visus darbojošos blokus

Instrumenta rekvizītu skatīšana

Rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti) varat skatīt informāciju par atlasīto instrumentu, tostarp tā rekvizītus, transportēšanas skrūves statusu un kalibrēto kontrastvielu (fluoroforu) sarakstu.



Instrumenta rekvizītu skatīšana

- ▶ Rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti) ar peles labo pogu noklikšķiniet uz mērķa instrumenta un izvēlnē, kas parādīsies, atlasiet Properties (Rekvizīti).

Cilnē Properties (Rekvizīti)

Cilnē Properties (Rekvizīti) tiek norādīta tehniskā informācija par atlasīto instrumentu, tostarp modelis, tā komponentu sērijas numuri un aparātprogrammatūras versijas. Instrumenta noklusējuma nosaukums (tā sērijas numurs) parādās vairākās vietās, tostarp rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti) un dialoglodziņa Instrument Properties (Instrumenta rekvizīti) galvenes joslā. Jūs varat pārdēvēt instrumentu, lai to varētu vieglāk identificēt.

Instrumenta pārdēvēšana

- ▶ Cilnē Instrument Properties (Instrumenta rekvizīti) ierakstiet nosaukumu lodziņā Rename (Pārdēvēt) cilnes Properties (Rekvizīti) augšdaļā un noklikšķiniet uz Rename (Pārdēvēt).

Jaunais nosaukums parādās cilnes Properties (Rekvizīti) rindā Nickname (Segvārds), kā arī galvenes joslā Instrument Properties (Instrumenta rekvizīti) un rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti).

Cilne Shipping Screw (Transportēšanas skrūve)

Cilnē Shipping Screw (Transportēšanas skrūve) tiek parādīts atlasītā instrumenta transportēšanas skrūves pašreizējais statuss (Removed (Izņemta) vai Installed (Uzstādīta)). Cilne ietver arī norādījumus par sarkanās transportēšanas skrūves uzstādīšanu vai izņemšanu.

Padoms. Ja programmatūra atklās skrūvi, dialoglodziņā Instrument Properties (Instrumenta rekvizīti) automātiski parādīsies cilne Shipping Screw (Transportēšanas skrūve). Lai izņemtu skrūvi, ievērojiet norādījumus.

Piezīme. Pirms instrumenta lietošanas transportēšanas skrūve jāizņem. Papildu informāciju skatīt [Transportēšanas skrūves izņemšana 28. lpp.](#)

Cilne Calibrated Dyes (Kalibrētās krāsvielas)

Cilnē Calibrated Dyes (Kalibrētās krāsvielas) tiek parādīti kalibrētie fluorofori un atlasītā instrumenta trauciņi.

	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

Lai redzētu sīkāku informāciju par kalibrēšanu, kolonnā Detail (Detalizēti dati) noklikšķiniet uz pogas Info (Informācija).

Pirms jūs sākat

Lietotāja preferenču iestatīšana

Padoms. Lai lietotu CFX Manager Dx software, nav nepieciešams veikt šos uzdevumus. Jūs varat droši izlaist šo sadaļu vai jebkurā laikā veikt tajā aprakstītos uzdevumus.

CFX Manager Dx ļauj pielāgot darba vidi. Ja jūsu administrators ir izveidojis programmatūras lietotājus, katrs lietotājs var pielāgot savu darba vidi. Ja jūsu administrators nav izveidojis lietotājus, izmaiņas attiecas uz katru, kurš piesakās CFX Manager Dx. (Informāciju par CFX Manager Dx lietotāju izveidi skat. [B pielikums, Lietotāju un lomu CFX Manager Dx pārvaldīšana.](#))

Piemēram, izvēlnē Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences) varat veikt tālāk norādītās darbības:

- Lai iestatītu e-pasta paziņojumu par izpildes pabeigšanu
- Mainiet noklusējuma iestatījumus tālāk norādītajiem vienumiem:
 - Vieta, kur saglabāt failus
 - Izpildes iestatīšanas faili
 - Faila nosaukšanas prefikss
- Iestatiet noklusējuma parametrus, kas lietojami, izveidojot jaunu protokolu un trauciņu.
- Iestatiet noklusējuma datu analīzi un gēnu ekspresijas parametrus.
- Pielāgojiet noklusējuma kvalitātes kontroles parametrus.
- Pielāgojiet datu eksportēšanas datu parametrus.

Izvēlnē Tools (Rīki) jūs varat veikt tālāk norādītās darbības:

- Izveidojiet galveno maisījumu.
- Kalibrējiet kontrastvielas konkrētam instrumentam.

Piezīme. Galvenais maisījums un kontrastvielu kalibrēšana ir pieejama ikvienam, kurš piesakās CFX Manager Dx.

Sadaļā ir sīkāk izskaidrots, kā veikt šos uzdevumus.

E-pasta paziņojuma iestatīšana

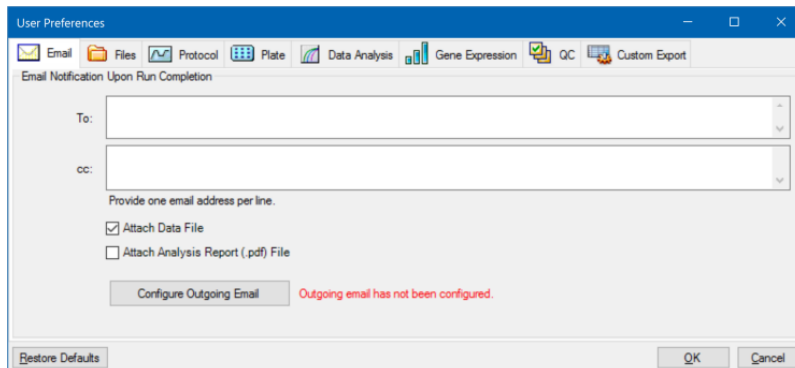
Varat savienot CFX Manager Dx ar savu izejošā e-pasta serveri, lai izsūtītu e-pasta paziņojumu par izpildes pabeigšanu lietotāju sarakstam. Varat izvēlēties arī pievienot lietotāju sarakstam datu failu un analīzes atskaiti. Kā iestatīt savienojumu starp CFX Manager Dx un jūsu SMTP serveri, skatiet [Savienojuma izveidošana starp CFX Manager Dx un SMTP serveri 60. lpp.](#)

Piezīme. Lietotāja iespēja piekļūt e-pasta iestatīšanas līdzekļiem ir atkarīga no lietotāju grupas un administratora piešķirtajām atļaujām. Papildu informāciju par lietotāju un viņu lomu pārvaldīšanu skatīt [Lietotāju pārvaldīšana 261. lpp.](#)

E-pasta paziņojumu iestatīšana

1. Atlasiet Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences), lai atvērtu dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).

Atveras dialoglodziņš User Preferences (Lietotāja preferences), kurā redzama cilne Email (E-pasts).



Piezīme. Jūs redzat attiecīgu informāciju, ja sistēma konstatē, ka CFX Manager Dx nav iestatīts derīgs SMTP serveris. Noklikšķiniet uz Configure Outgoing Email (Konfigurēt izejošo e-pastu), lai atvērtu dialoglodziņu Options (Opcijas) un konfigurētu e-pasta SMTP serveri. Papildu informāciju skatīt [Savienojuma izveidošana starp CFX Manager Dx un SMTP serveri 60. lpp.](#)

2. Tekstlodziņā To (Kam) ierakstiet katras personas e-pasta adresi, kuru plānojat informēt par izpildes pabeigšanu. Pēc izpildes pabeigšanas visi adresāti saņems e-pastu.

Piezīme. Katra e-pasta adrese jāievada atsevišķā rindā. Pēc katras adreses nospiediet ievadīšanas taustiņu vai Return (Atpakaļ).

3. (Papildiespēja) Tekstlodziņā cc ierakstiet jebkura adresāta e-pasta adresi, kuram plānojat sūtīt katra e-pasta paziņojuma kopiju.

4. (Papildiespēja) Pēc noklusējuma visi adresāti saņem datu faila kopiju kā pielikumu. Izņemiet atzīmi no šīs izvēles rūtiņas, ja nevēlaties pievienot datu faila kopiju.
5. (Papildiespēja) Atlasiet Attach Analysis Report (Pievienot analīzes atskaiti), lai e-pastam pievienotu analīzes atskaites PDF.
6. Lai saglabātu izmaiņas, noklikšķiniet uz OK (Labi) un aizveriet dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).

Adresāta e-pasta adreses rediģēšana

- Modificējiet e-pasta adresi, kā nepieciešams, un noklikšķiniet uz OK (Labi).

E-pasta adresāta noņemšana

1. Atlasiet e-pasta adresātu un nospiediet dzēšanas taustiņu.
2. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Svarīgi! Noklikšķinot uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumu) dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences), visas preferences visās cilnēs tiek atiestatītas uz sākotnējiem rūpnīcas iestatījumiem. Ievērojiet piesardzību, noklikšķinot uz šīs pogas.

Savienojuma izveidošana starp CFX Manager Dx un SMTP serveri

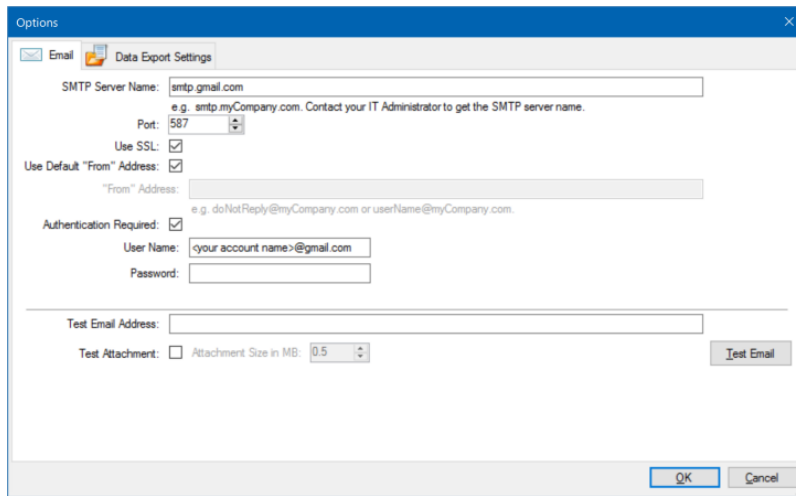
Svarīgi! Daži komerciālā tīmekļa pasta pakalpojumu sniedzēji (piemēram, Yahoo! un Gmail) ir paaugstinājuši e-pasta drošību. Ja izmantojat šos kontus, jums konta iestatījumos jāiespējo opcija **Allow less secure apps (Pieļauve lietotnēm ar zemāku drošības līmeni)**, lai CFX Manager Dx varētu nosūtīt e-pasta ziņojumus. Sīkāku informāciju skatiet tīmekļa pasta pakalpojumu sniedzēja nodrošināto informāciju par drošību.

Jums jāizveido CFX Manager Dx un e-pasta servera savienojums, lai programmatūra varētu nosūtīt e-pasta paziņojumu.

CFX Manager Dx un e-pasta servera savienojuma izveide

1. Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Atlasiet User > User Preferences (Lietotājs > Lietotāja preferences) un cilnē Email (E-pasts) noklikšķiniet uz Configure Outgoing Email (Konfigurēt izejošo e-pastu).
 - Atlasiet Tools > Options (Rīki > Opcijas).

Parādīsies dialoglodziņš Options (Opcijas), parādot cilni Email (E-pasts).



2. Sniedziet tālāk aprakstīto informāciju par jūsu uzņēmumu:

- **SMTP Server Name (SMTP servera nosaukums)** — izejošā e-pasta servera nosaukums uzņēmumā.
- **Port (Ports)** — SMTP servera porta numurs. Tas parasti ir 25. ports.
- **Use SSL (Izmantot SSL)** — drošīgzdu slāņa (SSL) opcija. Dažiem SMTP serveriem ir nepieciešams šis iestatījums. Ja jūsu uzņēmumā tas nav nepieciešams, notīriet izvēles rūtiņu.
- **Use Default "From" Address (Izmantot noklusējuma adresi "No")** — e-pasta servera nosaukums uzņēmumā. Dažiem SMTP serveriem tiek prasīts visiem e-pasta ziņojumiem norādīt adresi "No", kas pieder konkrētam domēnam, piemēram, name@YourCompany.com. Tādā gadījumā notīriet izvēles rūtiņu un norādiet derīgu e-pasta adresi.
- **Authentication Required (Nepieciešama autentifikācija)** — ja jūsu vietne pieprasa konta autentifikāciju, pārbaudiet, vai ir atlasīta šī izvēles rūtiņa.
- **User Name (Lietotājvārds)** — autentificētā konta nosaukums. Tas ir nepieciešams tikai tad, ja ir atlasīta opcija Authentication Required (Nepieciešama autentifikācija).
- **Password (Parole)** — autentificētā konta parole. Tas ir nepieciešams tikai tad, ja ir atlasīta opcija Authentication Required (Nepieciešama autentifikācija).

5. nodaļa. Home (Sākums) logs

3. Lai pārbaudītu SMTP servera iestatījumu pareizību, tekstlodziņā Test Email Address (Pārbaudīt e-pasta adresi) ievadiet derīgu e-pasta adresi un noklikšķiniet uz Test Email (Pārbaudīt e-pastu).

Piezīme. Daži SMTP serveri neļauj pielikumu nosūtīšanu, un citi SMTP serveri ļauj nosūtīt pielikumus līdz noteiktam izmēram. Ja plānojat pa e-pastu nosūtīt datu failus un/vai atskaites, izmantojot CFX Manager Dx, atlasiet Test Attachment (Pārbaudīt pielikumu) un iestatiet Attachment Size in MB (Pielikuma izmērs MB) uz 5 megabaitiem (MB) vai vairāk.

4. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

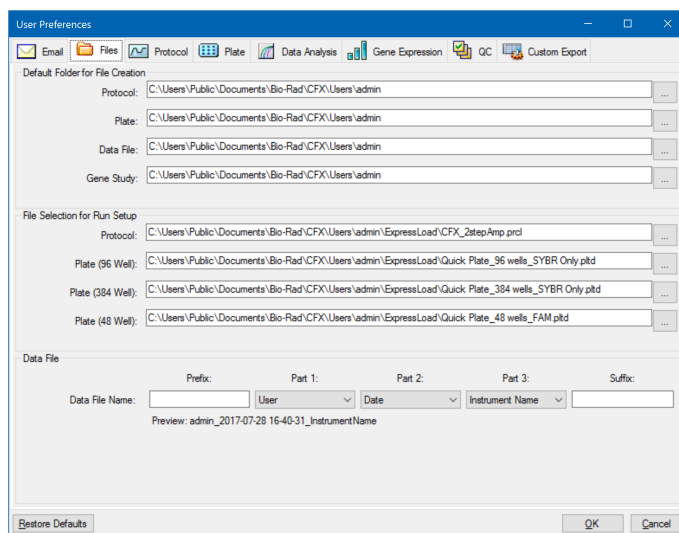
Noklusējuma failu iestatījumu maiņa

Cilnē Files (Faili) dialoglodziņā User Preference (Lietotāja preferences) var mainīt šādus vienumus:

- Noklusējuma atrašanās vietu, kurā saglabāt CFX Manager Dx failus
- Noklusējuma failus izpildes iestatīšanai
- Noklusējuma failu nodēvēšanas parametrus

Noklusējuma failu iestatījumu maiņa

1. Atlasiet Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences), lai atvērtu dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).
2. Dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) atlasiet cilni Files (Faili).



3. Sadaļā Default Folder for File Creation (Noklusējuma mape failu izveidei) navigējiet un atlasiet noklusējuma mapi, kurā vēlaties saglabāt jaunus failus. Katram failu veidam varat atlasīt citu atrašanās vietu:
 - Protokols
 - Plāksne
 - Datu fails
 - Gēnu pētījums
4. Sadaļā File Selection for Run Setup (Faila atlase izpildes iestatīšanai) navigējiet uz mērķa protokolu un trauciņa failiem un atlasiet tos, kam jāparādās, kad atverat logu Experiment Setup (Eksperimenta iestatīšana).
5. Sadaļā Data File (Datu fails) definējiet datu failu prefiksu un/vai sufiksu. Ikvienas daļas gadījumā atlasiet jaunu vērtību no nolaižamā saraksta. Tekstlodziņos Prefix (Prefikss) un Suffix (Sufikss) varat ierakstīt arī pielāgotas prefiksa un sufiksa vērtības.

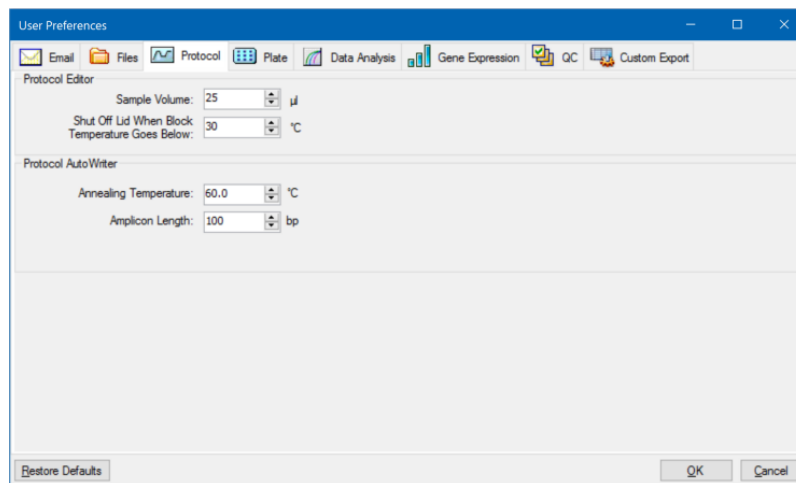
CFX Manager Dx rāda faila nosaukuma priekšskatījumu zem atlases lodziņiem.
6. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Svarīgi! Noklikšķinot uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus) dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences), visas preferences visās cilnēs tiek atiestatītas uz sākotnējiem rūpnīcas iestatījumiem. Ievērojiet piesardzību, noklikšķinot uz šīs pogas.

Noklusējuma protokola parametru iestatīšana

Noklusējuma protokola parametru iestatīšana rīkos Protocol Editor (Protokola redaktors) un Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs)

1. Atlasiet Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences), lai atvērtu dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).
2. Dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) atlasiet cilni Protocol (Protokols).



3. Sadaļā Protocol Editor (Protokola redaktors) norādiet šādu iestatījumu vērtības, kas parādās rīkā Protocol Editor (Protokola redaktors):
 - **Sample volume (Parauga tilpums)** — katra parauga tilpums iedobēs (in µl).
 - **Lid Shutoff temperature (Vāka izslēgšanas temperatūra)** — temperatūra °C, pie kādas vāka sildītājs izpildes laikā izslēdzas.
4. Sadaļā Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) norādiet šādu iestatījumu vērtības, kas parādās Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs):
 - **Annealing temperature (Renaturācijas temperatūra)** — temperatūra °C eksperimentiem, kuros lieto iProof DNS polimerāzi, iTaq DNS polimerāzi vai citas polimerāzes.
 - **Amplicon length (Amplikona garums)** — amplikona garums bp.
5. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Svarīgi! Noklikšķinot uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus) dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences), visas preferences visās cilnēs tiek atiestatītas uz sākotnējiem rūpnīcas iestatījumiem. Ievērojiet piesardzību, noklikšķinot uz šīs pogas.

Trauciņa noklusējuma parametru iestatīšana

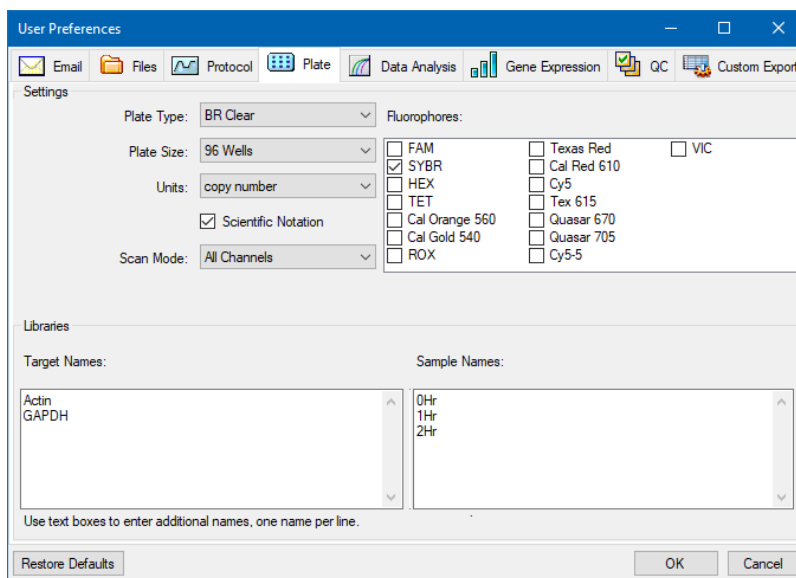
Izmaiņas, ko veicat cilnē Plate (Trauciņš), ir pieejamas visiem programmatūras lietotājiem. Izmaiņas, ko veicat trauciņa iestatīšanas laikā, ir pieejamas lietotājiem pēc tam, kad saglabājat un aizverat trauciņa failu.

Dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) var veikt tālāk norādītās darbības:

- Iestatīt trauciņa noklusējuma parametrus.
- Pievienot jaunu mērķu un paraugu nosaukumus to attiecīgajās bibliotēkās.
- Dzēst mērķu un paraugunosaukumus to attiecīgajās bibliotēkās.

Trauciņa noklusējuma parametru iestatīšana

1. Atlasiet Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences), lai atvērtu dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).
2. Dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) atlasiet cilni Plate (Trauciņš).



3. Norādiet vērtības tālāk minētajiem jauna trauciņa faila iestatījumiem. Šīs vērtības parādās logā Plate Editor (Trauciņa redaktors):

- **Plate type (Trauciņa veids)**
- **Plate size (Trauciņa lielums)**
- **Units (Mērvienības)** — iedobju sākuma veidnes, kas satur standartus, koncentrācija.
CFX Manager Dx izmanto šīs mērvienības, lai cilnē Data Analysis Quantification (Datu analīzes kvantitatīvā noteikšana) izveidotu standarta līkni.
- **Scientific notation (Zinātnisks apzīmējums)** — atlasot to, CFX Manager Dx parāda koncentrācijas mērvienības zinātniskā apzīmējumā.
- **Scan mode (Skenēšanas režīms)** — kanālu skaits vai veids, kas jāskenē skenēšanas laikā.
- **Fluorophores (Fluorofori)** — noklusējuma fluorofori, kas parādās rīka Plate Editor (Trauciņa redaktors) kontroles materiālos, kas tiek ielādēti iedobē.
- **Libraries (Bibliotēkas)** — mērķu un paraugu nosaukumi, kurus parasti izmantojat eksperimentos.
 - **Target names (Mērķa nosaukumi)** — mērķu gēnu un sekvenču nosaukumi.
 - **Sample names (Paraugu nosaukumi)** — eksperimenta paraugu nosaukumi paraugus raksturojoša iezīme (piemēram, Mouse1, Mouse2, Mouse3).

4. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Lai pievienotu jaunu mērķa vai parauga nosaukumu

- ▶ Atbilstošajā bibliotēkas lodziņā ierakstiet mērķa vai parauga nosaukumu un noklikšķiniet uz OK (Labi).

Lai dzēstu mērķa vai parauga nosaukumu

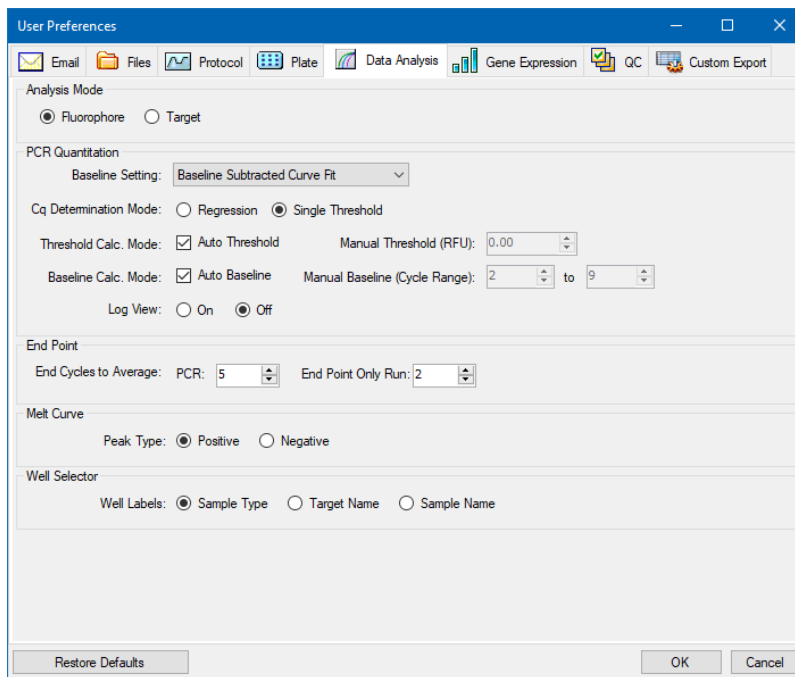
- ▶ Atbilstošajā bibliotēkas lodziņā atlasiet nosaukumu un nospiediet dzēšanas taustiņu; pēc tam noklikšķiniet uz OK (Labi).

Svarīgi! Nosaukumi, ko noņemat no bibliotēkas, tiek noņemti no programmatūras un lietotājiem vairs nav pieejami. Lai atjauninātu CFX Manager Dx noklusējuma nosaukumus, noklikšķiniet uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus). Noklikšķinot uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus) dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences), visas preferences visās cilnēs tiek atiestatītas uz sākotnējiem rūpnīcas iestatījumiem. Ievērojiet piesardzību, dzēšot noklusējuma CFX Manager Dx nosaukumus un noklikšķinot uz šīs pogas.

Noklusējuma datu analīzes parametru iestatīšana

Noklusējuma datu analīzes parametru iestatīšana

1. Atlasiet Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences), lai atvērtu dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).
2. Dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) atlasiet cilni Data Analysis (Datu analīze).



3. Sadaļā Analysis Mode (Analīzes režīms) atlasiet režīmu, kādā analizēt datus (vai nu Fluorophore (Fluorofors), vai Target (Mērķis)).
4. Sadaļā PCR Quantitation (PCR kvantitatīvā noteikšana) iestatiet šādu opciju noklusējuma parametrus:

- **Baseline Setting (Bāzlīnijas iestatījums)** — bāzlīnijas metode analīzes režīmam.
- **Cq Determination Mode (Cq noteikšanas režīms)** — režīms, kurā tiek aprēķinātas C_q vērtības katram fluorescences trasējumam (vai nu regresijas, vai atsevišķa sliekšņa vērtība).
- **Threshold Calc. Mode (Sliekšņa vērtības aprēķināšanas režīms)** — galapunkta mērķa daudzums.

Noklusējums ir Auto (Automātiski). Proti, programmatūra automātiski aprēķina galapunkta mērķi. Lai iestatītu konkrētu sliekšņa vērtību, izņemiet atzīmi no Auto (Automātiski) izvēles

rūtiņas un ievadiet savu galapunkta daudzumu, kas aprēķināts relatīvās fluorescences vienībās (jeb RFV). Maksimālā vērtība ir 65000,00 RFV. Sekojošo izpilžu datu faili lietos šo sliekšņa vērtības iestatījumu.

- **Baseline Calc. Mode (Bāzlīnijas aprēķināšanas režīms)** — bāzlīnijas vērtība visiem trasējumiem.

Noklusējums ir Auto (Automātiski). Proti, programmatūra automātiski aprēķina bāzlīniju visiem trasējumiem. Lai iestatītu konkrētu bāzlīnijas vērtību, izņemiet atzīmi no Auto (Automātiski) izvēles rūtiņas un ierakstiet minimālās un maksimālās vērtības cikla diapazonam (no 1 līdz 9999). Sekojošo izpilžu datu faili lietos šo cikla diapazonu.

- **Log View (Žurnāla skats)** — nosaka, kā programmatūra rāda amplifikācijas datus:

- On (Ieslēgts)** — amplifikācijas dati tiek rādīti puslogaritmiskā grafikā.
- Off (Izslēgts)** — amplifikācijas dati tiek rādīti lineārā grafikā.

5. Sadaļā End Point (Galamērķis) atlasiet galaciklu skaitu līdz vidējam, veicot galapunkta aprēķinus:

- **PCR (PCR)** — galaciklu skaits līdz vidējam kvantitatīvās noteikšanas datu nolūkā (noklusējums ir 5).
- **End Point Only run (Tikai galamērķa izpilde)** — galaciklu skaits līdz vidējam galapunkta datu nolūkā (noklusējums ir 2).

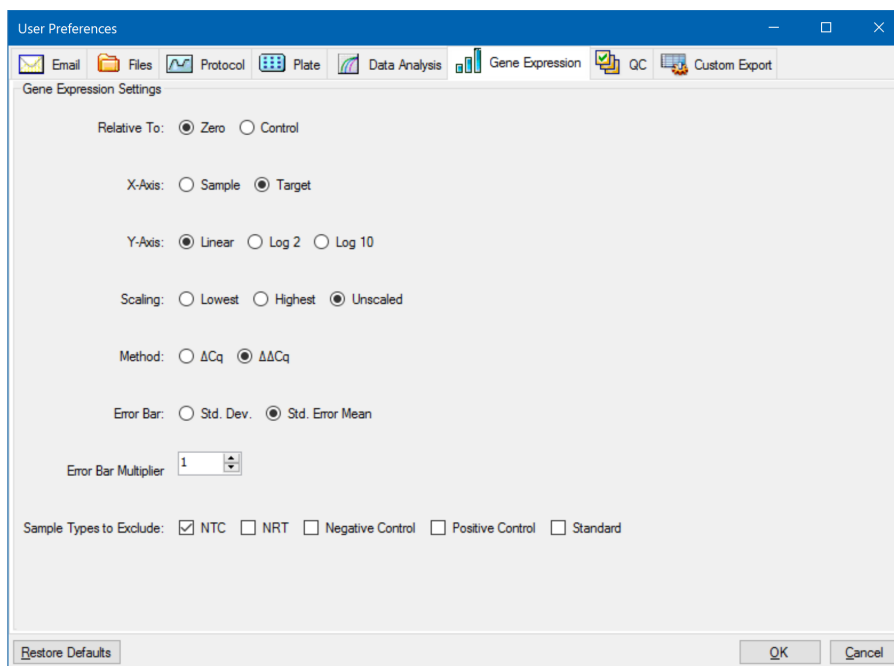
6. Sadaļā Melt Curve (Kušanas līkne) atlasiet nosakāmo maksimuma veidu (vai nu pozitīvo, vai negatīvo).
7. Sadaļā Well Selector (Iedobju atlasītājs) atlasiet, kā rādīt iedobju etiķetes (pēc parauga veida, mērķa nosaukuma vai parauga nosaukuma).
8. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Svarīgi! Noklikšķinot uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus) dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences), visas preferences visās cilnēs tiek atiestatītas uz sākotnējiem rūpnīcas iestatījumiem. Ievērojiet piesardzību, noklikšķinot uz šīs pogas.

Noklusējuma gēnu ekspresijas datu faila parametru iestatīšana

Lai iestatītu noklusējuma parametrus jaunam gēnu ekspresijas datu failam, veiciet tālāk norādīto.

1. Atlasiet Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences), lai atvērtu dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).
2. Dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) atlasiet cilni Gene Expression (Gēnu ekspresija).



3. Norādiet vērtības tālāk minētajiem iestatījumiem:

- **Relative to (Attiecībā pret)** — grafiski attēlo gēnu ekspresijas datus attiecībā pret kontroli (sākas ar 1) vai nulli:
 - **Zero (Nulle)** — programmatūra ignorē kontroli. Šis ir noklusējums, kad kontroles paraugs tiek piešķirts logā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi).
 - **Control (Kontrolē)** — programmatūra aprēķina datus attiecībā pret kontroles paraugu, kas piešķirts logā Experiment Setup (Eksperimenta iestatīšana).
- **X-axis (X ass)** — grafiski attēlo mērķa paraugu uz x ass.
- **Y-axis (Y ass)** — grafiski attēlo lineāro, log2 vai log10 skalu uz y ass.

- **Scaling (Mērogošana)** — mērogošanas opcija grafikam (noklusējuma opcija ir Unscaled (Nemērogots)):
 - Highest (Augstākais)** — programmatūra mērogo grafiku līdz augstākajam datu punktam.
 - Lowest (Zemākais)** — programmatūra mērogo grafiku līdz zemākajam datu punktam.
 - Unscaled (Nemērogots)** — programmatūra grafikā parāda nemērogotus datus.
- **Mode (Režīms)** — analīzes režīms, kas ir relatīvais daudzums (ΔC_q) vai normalizēta ekspresija ($\Delta\Delta C_q$).
- **Error Bar (Kļūdas josla)** — datu mainīgums, kas parādīts, kā standarta novirze (Std. Dev. (Standarta novirze)) vai vidējās vērtības standarta kļūda (Std. Error Mean (Vidējās vērtības standarta kļūda)).
- **Error Bar Multiplier (Kļūdas joslas reizinātājs)** — standarta novirzes reizinātājs, ko izmanto, lai grafiski attēlotu kļūdu joslas (noklusējums ir 1).

Jūs varat palielināt reizinātāju līdz 2 vai 3.
- **Sample Types to Exclude (Izslēdzamie paraugu veidi)** — paraugu veidi, kas jāizslēdz no analīzes.

Izslēgšanai no analīzes varat atlasīt vienu vai vairākus paraugus. Lai izslēgtu visus paraugu veidus, notīriet jebkuru atlasīto paraugu veidu izvēles rūtiņas.

4. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Svarīgi! Noklikšķinot uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus) dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences), visas preferences visās cilnēs tiek atiestatītas uz sākotnējiem rūpnīcas iestatījumiem. Ievērojiet piesardzību, noklikšķinot uz šīs pogas.

Kvalitātes kontroles noteikumu pielāgošana

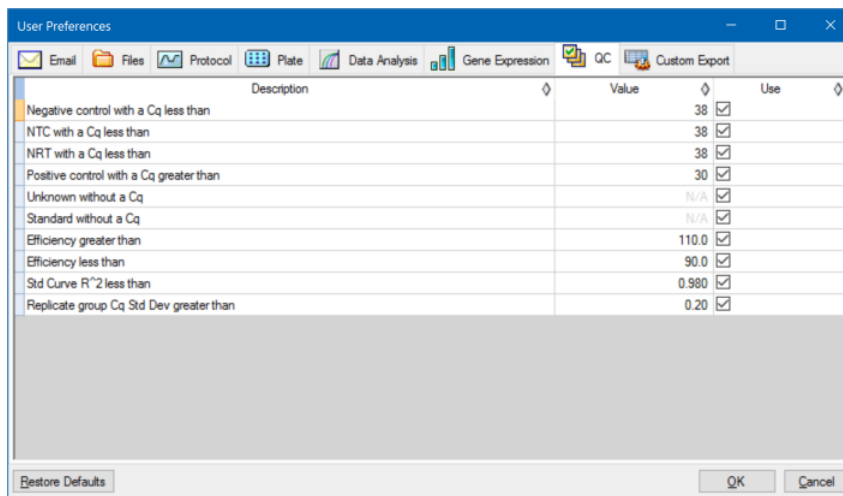
Sistēmā CFX Manager Dx var iestatīt kvalitātes kontroles noteikumus, kas tiek piemēroti datiem logā Data Analysis (Datu analīze). Programmatūra validē šos datus atbilstoši iestatītajiem noteikumiem.

Piezīme. Pēc noklusējuma ir iespējoti visi kvalitātes kontroles noteikumi.

Padoms. Jūs varat bez grūtībām izslēgt iedobes, kas neatbilst kvalitātes kontroles parametram, no analīzes loga Data Analysis (Datu analīze) kvalitātes kontroles modulī.

Kvalitātes kontroles noteikumu pielāgošana

1. Atlasiet Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences), lai atvērtu dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).
2. Dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) atlasiet cilni QC (KK),



kur:

- **NTC (Bez veidnes kontroles)** — bez veidnes kontroles
 - **NRT (Bez reversās transkriptāzes)** — bez reversās transkriptāzes kontroles
 - **Efficiency (Efektivitāte)** — reakcijas efektivitāte
 - **Std Curve R² (Standarta līknes kvadrāts)** — standarta līknes R kvadrāta vērtība
 - **Replicate group Cq Std Dev (Replikātu grupai aprēķinātā standarta novirze)** — katrai replikātu grupai aprēķinātā standarta novirze
3. Attiecībā uz katru QC (KK) noteikumu, veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Lai lietotu tā noklusējuma vērtību, nedarīet neko.
 - Lai mainītu tā vērtību, noklikšķiniet uz tā tekstlodziņa Value (Vērtība), ierakstiet jaunu vērtību un nospiediet ievadīšanas taustiņu.
 - Lai atspējotu noteikumu, izņemiet atzīmi no tā izvēles rūtiņas Use (Lietot).
 4. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Svarīgi! Noklikšķinot uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus) dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences), visas preferences visās cilnēs tiek atiestatītas uz sākotnējiem rūpnīcas iestatījumiem. Ievērojiet piesardzību, noklikšķinot uz šīs pogas.

Datu eksporta parametru pielāgošana

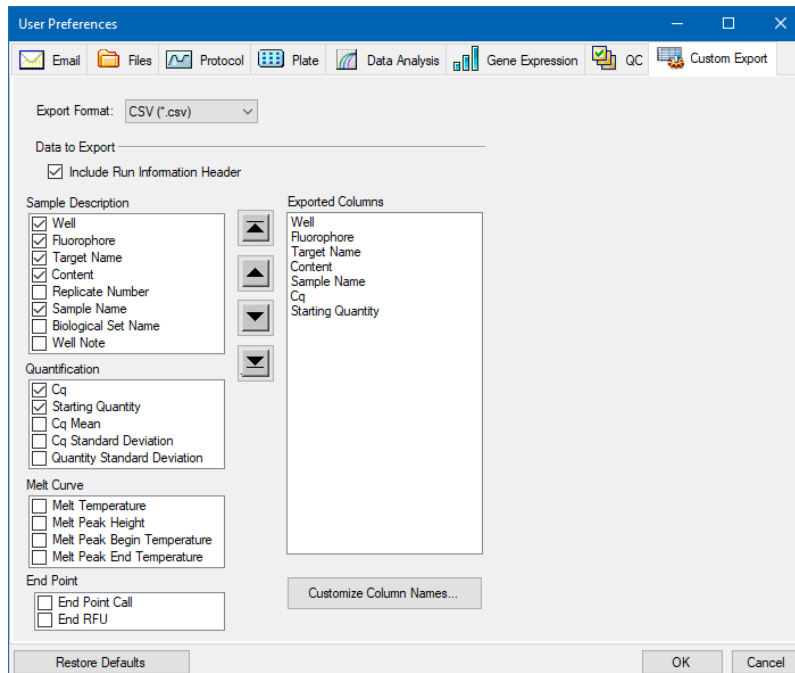
CFX Manager Dx datus var eksportēt šādos formātos:

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

Varat norādīt eksportējamo datu veidu un pielāgot eksportēto datu izvadi.

Datu eksporta parametru pielāgošana

1. Atlasiet Users > User Preferences (Lietotāji > Lietotāja preferences), lai atvērtu dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences).
2. Dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) atlasiet cilni Custom Export (Pielāgots eksports).



3. Nolaižamajā sarakstā Export Format (Eksportēšanas formāts) atlasiet formātu, kurā datus eksportēt.
4. Sadaļā Data to Export (Eksportējamie dati) ielieciet atzīmi eksportējamo datu veida izvēles rūtiņās vai arī izņemiet atzīmi no šīm rūtiņām. Atlasītie vienumi ir redzami saraksta lodziņā Exported Columns (Eksportētās kolonnas).

Piezīme. Pēc noklusējuma izpildes informācija ir ietverta galvenē. Izņemiet atzīmi no šīs izvēles rūtiņas, ja nevēlaties iekļaut izpildes informāciju.

5. Varat mainīt atlasīto vienumu izvades rādīšanas secību.

Saraksta lodziņā Exported Columns (Eksportētās kolonnas) iezīmējiet vienumu un pēc tam noklikšķiniet uz bulthaustiņiem saraksta kreisajā pusē, lai pārvietotu šo vienumu uz augšu vai uz leju.

6. Pēc izvēles varat mainīt atlasīto vienumu izvades kolonnu nosaukumus:

- a. Noklikšķiniet uz Customize Column Names (Pielāgot kolonnu nosaukumus).
Parādīsies dialoglodziņš Column Name Customizer (Kolonnu nosaukumu pielāgotājs).

- b. Katra noklusējuma kolonnas nosaukuma gadījumā, ko vēlaties mainīt, ierakstiet jauno nosaukumu tā laukā Custom Name (Pielāgots nosaukums).

- c. Veiciet kādu no tālāk norādītajām darbībām:

- Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un atgrieztos cilnē Custom Export (Pielāgots eksports). Jaunais nosaukums parādās iekavās blakus noklusējuma kolonnas nosaukumam saraksta lodziņā Exported Columns (Eksportētās kolonnas).
- Noklikšķiniet uz Cancel (Atcelt), lai notīrītu izmaiņas un atgrieztos cilnē Custom Export (Pielāgots eksports).

7. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Svarīgi! Noklikšķinot uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus) dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences), visas preferences visās cilnēs tiek atiestatītas uz sākotnējiem rūpnīcas iestatījumiem. Ievērojiet piesardzību, noklikšķinot uz šīs pogas.

Reakcijas galvenā maisījuma izveide

Izmantojot CFX Manager Dx Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators), iespējams viegli aprēķināt vajadzīgo katra komponenta daudzumu galvenajā maisījumā. Galvenā maisījuma aprēķinu tabulu var nosūtīt drukāšanai uz noklusējuma printeri, kā arī saglabāt aprēķinus attiecībā uz katru mērķi vēlākam lietojumam.

Reakcijas Master maisījuma izveide, izmantojot Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators)

1. Lai atvērtu Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators), veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:

- Atlasiet Tools > Master Mix Calculator (Rīki > Galvenā maisījuma kalkulators).
- Rīkjoslā noklikšķiniet uz Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators).

Parādās Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators).

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

2. Sadaļā Reaction (Reakcija) atlasiet noteikšanas metodi:

- SYBR® Green/EvaGreen
- Probes (Zondes)

3. Lai izveidotu jaunu mērķi, sadaļā Target (Mērķis) noklikšķiniet uz Create New (Izveidot jaunu). Mērķu nolaižamajā sarakstā parādās jauns mērķa nosaukums.

4. (Papildiespēja) Noklusējuma mērķa nosaukuma maiņa
 - a. Iezīmējiet mērķa nosaukumu nolaižamajā mērķu sarakstā.
 - b. Lodziņā Target (Mērķis) ierakstiet jaunu mērķa nosaukumu.
 - c. Nospiediet taustiņu Enter (Ievadīt).
5. Pielāgojiet turpvirziena un reverso praimeru, kā arī jebkuras zondes sākuma un galīgās koncentrācijas.
6. Sadaļā Master Mix Setup (Galvenā maisījuma iestatīšana) pielāgojiet vērtības attiecībā uz tālāk norādītajiem vienumiem
 - Reakciju skaits izpildē
 - Reakciju apjoms vienā iedobē
 - Veidnes apjoms vienā iedobē
 - Supermaisījuma koncentrācija vienā iedobē
 - Lieko reakciju apjoms vienā iedobē
7. (Papildiespēja) Veiciet 2.–6. darbību attiecībā uz tik mērķiem, cik nepieciešams.
8. Sadaļā Choose Target to Calculate (Izvēlēties aprēķināmo mērķi) atlasiet aprēķināmo mērķi.

Padoms. Vienlaikus var aprēķināt vienu vai vairākus, vai visus mērķus.

Vajadzīgo komponentu aprēķinātie apjomi katram atlasītajam mērķim parādās galvenā maisījuma tabulā.
9. Noklikšķiniet uz Set as Default (Iestatīt kā noklusējumu), lai iestatītu daudzumu ievadi sadaļās Target (Mērķis) un Master Mix Setup (Galvenā maisījuma iestatīšana) kā jaunās noklusējuma vērtības.
10. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu dialoglodziņa Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators) saturu.

Lai izdrukātu Master maisījuma aprēķinu tabulas izdrukāšana

- ▶ Lai izdrukātu Master maisījuma aprēķinu tabulu, noklikšķiniet uz Print (Drukāt).

Aprēķinu tabula tiek nosūtīta uz noklusējuma printeri drukāšanai.

Master maisījuma aprēķinu tabulas saglabāšana kā PDF

- ▶ Mainiet noklusējuma printeri uz PDF draiveri un noklikšķiniet uz Print (Drukāt) dialoglodziņā Master Mix Calculator (Galvenā maisījuma kalkulators).

Mērķu dzēšana

- ▶ Atlasiet mērķi, izmantojot nolaižamo mērķu sarakstu, un noklikšķiniet uz Remove (Noņemt).

Svarīgi! Mērķa noņemšana no mērķu saraksta noņem to arī no jebkuriem galvenā maisījuma aprēķiniem, kuros tas lietots. Ievērojiet piesardzību, dzēšot mērķi.

Jaunu kontrastvielu kalibrēšana

CFX96 Dx sistēmas ir kalibrētas rūpnīcā biežāk lietotajiem fluoroforiem balto iedobju un caurspīdīgo iedobju trauciņos. [11. tabula](#) uzskaitīti fluorofori un kanāls, kuram katrs instruments ir kalibrēts.

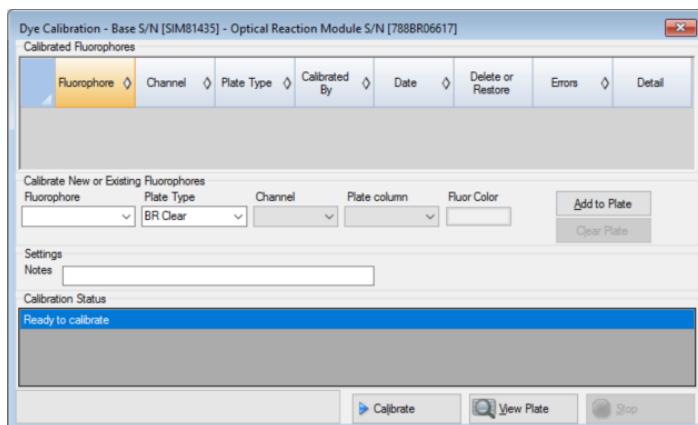
Piezīme. CFX96 sistēmas ietver arī kanālu, kas paredzēts FRET ķīmijai. Šis kanāls nav jākalibrē konkrētām kontrastvielām.

11. tabula. Rūpnīcā kalibrēti fluorofori un kanāli

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

Jaunu kontrastvielu CFX sistēmām kalibrēšana

1. Logā Home (Sākums) atlasiet mērķa instrumentu rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti).
2. Atlasiet Tools > Calibration Wizard (Rīki > Kalibrēšanas vednis), lai atvērtu vedni Dye Calibration (Kontrastvielu kalibrēšana).



Mērķa instrumentam jau kalibrētie fluorofori ir redzami tabulā Calibrated Fluorophores (Kalibrētie fluorofori).

3. Sadaļā Calibrate New or Existing Fluorophores (Kalibrēt jaunus vai esošus fluoroforus) no nolaižamā saraksta atlasiet kalibrējamo fluoroforu.

Ja fluorofora nosaukums nav iekļauts sarakstā, ierakstiet tā nosaukumu tekstlodziņā, lai pievienotu to sarakstam.
4. Atlasiet šim fluoroforam trauciņa veidu.

Ja trauciņa veids nav iekļauts sarakstā, ierakstiet nosaukumu tekstlodziņā, lai pievienotu to sarakstam.
5. Atlasiet šim fluoroforam kanālu.
6. Atlasiet šim fluoroforam trauciņa kolonnu.
7. (Papildiespēja) Ierakstiet ar fluoroforu saistāmo krāsu.
8. Lai pievienotu fluoroforu, noklikšķiniet uz Add to Plate (Pievienot trauciņam).
9. (Papildiespēja) Atkārtojiet 3.–8. darbību, lai pievienotu katru fluoroforu, ko plānojat trauciņam kalibrēt.
10. Kad fluoroforu pievienošana ir pabeigta, noklikšķiniet uz View Plate (Skatīt trauciņu), lai atvērtu logu Pure Dye Plate Display (Tīras kontrastvielas trauciņa displejs).

Izmantojiet šo logu kā norādi kontrastvielu ielādēšanai trauciņā.
11. Sagatavojiet 96 iedobju trauciņu kontrastvielu kalibrēšanai:
 - a. Ar pipeti iepiliniet kontrastvielas šķīdumu katrā iedobē, ievērojot displejā Pure Dye Plate Display (Tīras kontrastvielas trauciņa displejs) redzamo modeli.
 - b. Katra fluorofora gadījumā piepildiet četras iedobes ar 50 µl (96 iedobju trauciņš) 300 nM kontrastvielas šķīduma. Ņemiet vērā, ka vismaz puse trauciņa satur tukšas iedobes.
 - c. Hermetizējiet trauciņu, izmantojot to hermetizēšanas metodi, kādu lietosiet savā eksperimentā.
12. Ievietojiet kalibrēšanas trauciņu blokā un aizveriet vāku.
13. Vednī Dye Calibration (Kontrastvielu kalibrēšana) noklikšķiniet uz Calibrate (Kalibrēt) un uz OK (Labi), lai apstiprinātu, ka trauciņš atrodas blokā.
14. Kad CFX Manager Dx software pabeidz kalibrēšanas izpildi, parādās dialoglodziņš. Lai pabeigtu kalibrēšanu, noklikšķiniet uz Yes (Jā) un atveriet Dye Calibration Viewer (Kontrastvielu kalibrēšanas skatītājs).
15. Lai aizvērtu logu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

6. nodaļa. Protokolu izveide

Protokols ir to darbību kopa, kuras tiek izpildītas īpašā secībā. CFX Manager Dx programmatūrā visas darbības ir saistītas ar instrumenta opcijām. Piemēram, darbības instruē instrumentu kontrolēt bloku un vāka temperatūru, lietot temperatūru starpību visā blokā, veikt trauciņa nolasīšanu vai veikt kušanas līknes analīzi. Katra opcija tiek norādīta atsevišķam trauciņam un izpildes veidiem.

CFX Manager Dx nodrošina divas protokolu izveides opcijas: Protocol Editor (Protokola redaktors) un Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs).

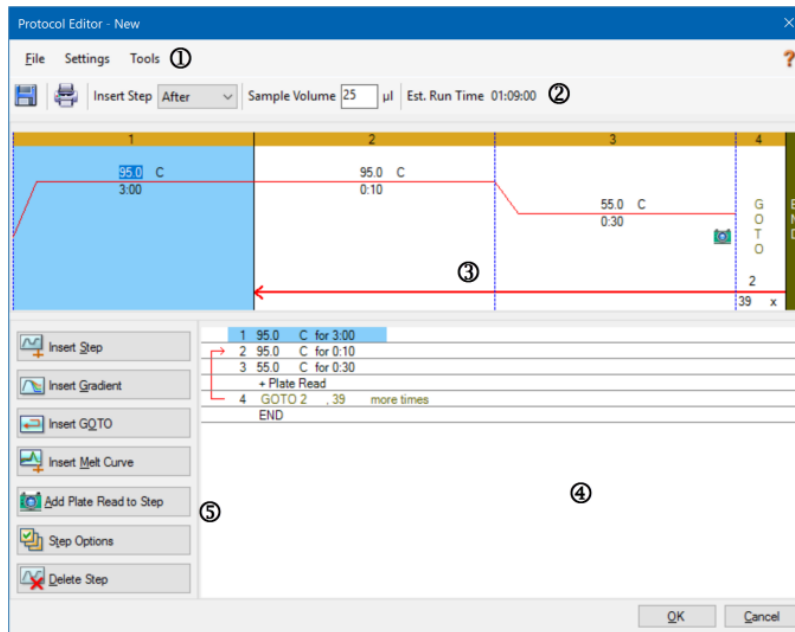
Opcijas Protocol Editor (Protokola redaktors) funkcijas:

- Standarta protokols vadīklas ātrai protokolu izveidei
- Iespēja ātri aprēķināt gradientu atlasītajam rindu skaitam
- Iespēja ātri aprēķināt izpildes laiku atlasītajam trauciņu veidam
- Iespēja rediģēt protokola darbības
- Iespēja saglabāt protokolus atkārtotam lietojumam
- Iespēja nosūtīt protokolu uz noklusējuma printeri drukāšanai

Opcija Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs), izmantojot jūsu sniegtos parametrus, automātiski ģenerē pielāgotu PCR protokolu ar karsto sākšanu, sākotnējo denaturāciju, renaturāciju un pagarinājuma darbībām. Pēc tam jūs varat skatīt ierosinātā protokola grafisko attēlojumu un rediģēt, izpildīt vai saglabāt protokolu.

Logs Protocol Editor (Protokola redaktors)

Izmantojiet logu Protocol Editor (Protokola redaktors), lai izveidotu, atvērtu, pārskatītu un rediģētu protokolu. Logs Protocol Editor (Protokola redaktors) atveras, pēc noklusējuma parādot vispārīgu reāllaika 2 darbību protokolu 96 iedobju traucīgam.



APZĪMĒJUMI

1. Izvēlnes josla nodrošina ātru piekļuvi izvēļņu File (Fails), Settings (Iestatījumi) un Tools (Rīki) komandām.
2. Rīkjoslā nodrošina ātru piekļuvi, lai saglabātu un izdrukātu protokolu, noteiktu, kur ievietot darbību, iestatītu parauga tilpumu un skatītu paredzēto protokola izpildes laiku.
3. Galvenajā rūtī tiek parādīts protokola grafiskais attēlojums.
4. Apakšējā rūtī tiek parādīta protokola kontūra.
5. Kreisajā rūtī tiek parādītas protokola vadīklas, kuras varat pievienot, lai pielāgotu protokolu.

Izvēlnes File (Fails) komandas

Save (Saglabāt) — saglabā pašreizējo protokolu.

Save As (Saglabāt kā) — saglabā pašreizējo protokolu ar jaunu nosaukumu vai jaunā vietā.

Close (Aizvērt) — aizver logu Protocol Editor (Protokola redaktors).

Izvēlnes Settings (Iestatījumi) komanda

Lid Settings (Vāka iestatījumi) — atver dialoglodziņu Lid Setting (Vāka iestatījums), kurā var mainīt vai iestatīt vāka temperatūru.

Tools (Rīki) izvēlnes komandas

Gradient Calculator (Gradients kalkulators) — atver dialoglodziņu, no kura var atlasīt bloka veidu gradienta darbībai. Noklusējums ir 96 iedobes.

Run time Calculator (Izpildes laika kalkulators) — atver dialoglodziņu, no kura var atlasīt trauciņa veidu un skenēšanas režīmu, lai aprēķinātu lēsto izpildes laiku logā Run Setup (Izpildes iestatīšana). Noklusējums ir 96 iedobes, visi kanāli.

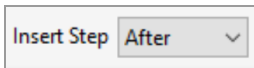
Rīkjoslas komandas



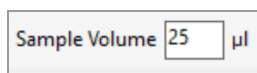
— saglabā pašreizējā protokola failu.



— izdrukā atlasīto logu.

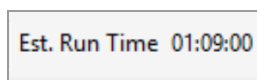


— lietojiet šo komandu, lai atlasītu, kur ievietot darbības, kas attiecas uz pašreiz atlasīto darbību.



— lietojiet šo komandu, lai ievadītu parauga tilpumu µl. Paraugu tilpumi atšķiras atkarībā no bloka veida:

- 96 dziļo iedobju bloka gadījumā diapazons ir 0–125 µl.
- 96 iedobju bloka gadījumā diapazons ir 0–50 µl.



— rāda aplēsto izpildes laiku, pamatojoties uz protokola darbībām, rampveida izmaiņu ātrumu un atlasītā bloka veidu.

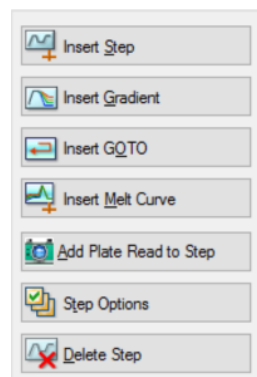


— rāda palīdzības informāciju attiecībā uz protokoliem.

Protokola rediģēšanas vadīklas

Loga Protocol Editor (Protokola redaktors) kreisā rūts satur vadīklas, kuras varat izmantot protokolu izveidei.

Katra vadīkla sastāv no parametru, kas parāda protokola darbību, kopas. Jūs varat izmainīt katru parametru un pievienot vai noņemt to, lai pielāgotu protokolu. Šajā sadaļā ir aprakstītas katras vadīklas opcijas.



- **Insert Step (ievietot darbību)** — ievieto darbību pirms vai pēc atlasītās darbības. Jūs varat rediģēt temperatūras un turēšanas laika vērtības protokola grafiskajā attēlojumā vai protokola kontūrā.
- **Insert Gradient (ievietot gradientu)** — ievieto gradienta darbību, balstoties uz iedobju bloka veidu, kas atlasīts gradienta kalkulatorā. Jūs varat rediģēt gradienta diapazonu rūtī Gradient (Gradients), kas parādās, kad ir ievietota gradienta darbība.
- **Insert GOTO (ievietot GOTO)** — ievieto ciklēšanas (cilpas) darbību, kas informē programmatūru, lai tā sekvencē veiktu konkrētas darbības noteiktam ciklu skaitam. Atkārtojumi sākas pēc pirmā cikla pabeigšanas. Piemēram, jūs varat informēt

programmatūru, lai tā 39 reizes atkārtotu 2.–4. darbību. Pēc pēdējā atkārtojuma programmatūra būs 40 reizes atkārtojusi 2.–4. darbību. Jūs varat rediģēt atgriešanās (GOTO) darbību un ciklu skaitu grafiskajā attēlojumā vai protokola kontūrā.

- **Insert Melt Curve (ievietot kušanas līkni)** — ievieto kušanas līknes nolasišanas darbību.

- **Insert Plate Read to Step (Ievietot darbībā trauciņa nolasīšanu)** — atlasītajai darbībai pievieno trauciņa nolasīšanas komandu. Trauciņa nolasīšanas laikā tiek mērīts fluorescences daudzums cikla beigās. Parasti trauciņa nolasīšanas darbība ir pēdējā darbība GOTO cilpā.

Padoms. Pēc trauciņa nolasīšanas komandas pievienošanas darbībai, atlasot darbību, poga mainās uz pogu Remove Plate Read (Noņemt trauciņa nolasījumu).

- **Remove Plate Read (Noņemt trauciņa nolasījumu)** — atlasītajai darbībai noņem trauciņa nolasīšanas komandu.

Padoms. Pēc trauciņa nolasīšanas komandas noņemšanas no darbības, atlasot darbību, poga mainās uz pogu Add Plate Read to Step (Pievienot darbībai trauciņa nolasījumu).

- **Step Options (Darbības opcijas)** — atver dialoglodziņu Step Options (Darbības opcijas) un parāda atlasītajai darbībai pieejamās opcijas. Sīkāku informāciju par darbības opcijām skat. [Darbības opcijas 83. lpp.](#)

Padoms. Tāpat jūs varat piekļūt vadīklai Step Options (Darbības opcijas), ar labo peles pogu noklikšķinot uz grafiskā attēlojuma.

- **Delete Step (Dzēst darbību)** — protokolā dzēš atlasīto darbību.

Darbības opcijas

Atveriet dialoglodziņu Step Options (Darbības opcijas), lai skatītu opcijas, kuras varat pievienot, mainīt vai noņemt no darbības.

- **Plate Read (Trauciņa nolasījums)** — atlasot šo opciju, darbībai tiek pievienots trauciņa nolasījums.
- **Temperature (Temperatūra)** — atlasītajai darbībai iestata mērķa temperatūru.
- **Gradient (Gradients)** — darbībai iestata gradienta diapazonu; diapazons ir no 1 līdz 24 °C.

Piezīme. Gradients tiek izpildīts ar zemāko temperatūru bloka priekšpusē (šajā attēlā — H rinda) un augstāko temperatūru bloka aizmugurē (šajā attēlā — A rinda).

- **Increment (Pieaugums)** — atlasītās darbības palielinājuma (vai samazinājuma) apmērs; šī vērtība katrā ciklā tiek pievienota mērķa temperatūrai. Diapazons ir $\pm 0,1-10$ °C.

Piezīme. Lai samazinātu temperatūru, pirms skaitliskās vērtības ierakstiet mīnus zīmi (–) (piemēram, -5 °C).

- **Ramp Rate (Izmaiņu ātrums)** — atlasītās darbības izmaiņu ātrums; diapazons ir atkarīgs no bloka izmēra.
- **Time (Laiks)** — atlasītās darbības turēšanas laiks
- **Extend (Pagarināt)** — laiks (sekundēs), par kādu tiek pagarināta vai saīsināta atlasītā darbība; šī opcija katrā ciklā tiek pievienota turēšanas laikam; diapazons ir no 1 līdz 60 sekundēm.
- **Beep (Signāls)** — atlasot šo opciju, darbības beigās atskan signāls.

Padoms. Ievadot skaitli, kas ir ārpus opcija diapazona, programmatūra maina skaitli uz tuvāko ierakstu diapazonā.

Protokola izveide logā Protocol Editor (Protokola redaktors)

Logā Protocol Editor (Protokola redaktors) varat izveidot pielāgotus protokola failus. Tāpat jūs varat rediģēt un saglabāt iepriekš saglabātos protokola failus vai parauga protokola failus, kas ietilpst CFX Manager Dx software komplektācijā.

Lai izveidotu jaunu protokola failu, veiciet tālāk norādīto.

- Logā Protocol Editor (Protokola redaktors) atveriet protokola failu.

Padoms. Logā Protocol Editor (Protokola redaktors) varat atvērt jauno vai esošo protokolu.

- Iestatiet jauno protokolu.
- Protokola vadības rūtī protokolam pievienojiet darbības.
- Rediģējiet darbību rekvizītus.
- Saglabājiet protokolu.

Padoms. Lai izveidotu jaunu protokola failu no iepriekš saglabātā vai parauga protokola faila, skat. [Esoša protokola atvēršana logā Protocol Editor \(Protokola redaktors\) 87. lpp.](#)

Jauna protokola faila atvēršana rīkā Protocol Editor (Protokola redaktors)

CFX Manager Dx piedāvā vairākas opcijas jaunā protokola faila atvēršanai:

- Izmantojot logu Home (Sākums)
- Izmantojot dialoglodziņu Startup Wizard (Startēšanas vednis)
- Izmantojot dialoglodziņu Run Setup (Izpildes iestatīšana)

Jauna protokola faila atvēršana, izmantojot logu Home (Sākums)

- ▶ Atlasiet File > New > Protocol (Fails > Jauns > Protokols).

Atvērsies logs Protocol Editor (Protokola redaktors), parādot noklusējuma protokola failu.

Padoms. Informāciju par noklusējuma protokola iestatīšanu skat. [Noklusējuma failu iestatījumu maiņa 62. lpp.](#)

Lai atvērtu jauno protokola failu, izmantojot Startup Wizard (Startēšanas vednis)

1. Logā Home (Sākums) veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām, lai atvērtu Startup Wizard (Startēšanas vednis), ja tas netiek skatīts:

- Atlasiet View > Startup Wizard (Skatīt > Startēšanas vednis).
- Rīkjoslā noklikšķiniet uz Startup Wizard (Startēšanas vednis).

Dialoglodziņā Startup Wizard (Startēšanas vednis) pēc noklusējuma tiek parādīta cilne Run setup (Izpildes iestatīšana) ar atlasītu instrumenta veidu CFX96.

2. Ja nepieciešams, nolaižamajā sarakstā atlasiet instrumenta veidu.
3. Noklikšķiniet uz izpildes veida User-defined (Lietotāja definēts).

Cilnē Protocol (Protokols) atvērsies dialoglodziņš Run Setup (Izpildes iestatīšana) un tiks parādīts noklusējuma protokola fails.

4. Noklikšķiniet uz Create New (Izveidot jaunu).

Atvērsies logs Protocol Editor (Protokola redaktors), parādot noklusējuma reāllaika protokolu.

Jauno protokola failu atvēršana, izmantojot dialoglodziņu Run Setup (Izpildes iestatīšana)

1. Logā Home (Sākums) veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām, lai atvērtu dialoglodziņu Run Setup (Izpildes iestatīšana):

- Atlasiet Run > User-defined Run (Izpilde > Lietotāja definēta izpilde).
- Rīkjoslā noklikšķiniet uz User-defined Run Setup (Lietotāja definēta izpildes iestatīšana).

Cilnē Protocol (Protokols) atvērsies dialoglodziņš Run Setup (Izpildes iestatīšana) un tiks parādīts noklusējuma protokola fails.

2. Noklikšķiniet uz Create New (Izveidot jaunu).

Atvērsies logs Protocol Editor (Protokola redaktors), parādot noklusējuma reāllaika protokolu.

Esoša protokola atvēršana logā Protocol Editor (Protokola redaktors)

CFX Manager Dx nodrošina parauga protokolu failus, ko varat rediģēt un saglabāt kā pielāgotus jaunus protokolus. Varat izveidot jaunu protokolu arī no esoša pielāgota protokola.

Parauga protokola faila atvēršana

1. Logā Home (Sākums) atlasiet File > Open > Protocol (Fails > Atvērt > Protokols).

Pēc noklusējuma pārlūkprogramma Windows Explorer atveras CFX Manager Dx parauga failu mapes atrašanās vietā.

2. Atveriet parauga failu mapi. Redzamas šādas mapes:

- **ConventionalProtocols (Tradicionālie protokoli)** — satur tradicionālas PCR analīzes parauga protokolu failus.
- **DataFiles (Datu faili)** — satur parauga datu failus, ko varat izmantot, lai iepazītos ar CFX Manager Dx funkcijām.
- **MeltCalibration (Kušanas kalibrēšana)** — satur parauga protokolu failus lietojumam ar Bio-Rad Precision Melt Analysis (Precīza kušanas analīze) programmatūru.
- **Plates (Trauciņi)** — satur parauga trauciņu failus.
- **RealTimeProtocols (Reāllaika protokoli)** — satur reāllaika PCR analīzes parauga protokolu failus.

3. Atveriet protokolu mapi, kas attiecas uz tā veida izpildi, ko plānojat veikt, vai nu ConventionalProtocols (Tradicionālie protokoli), vai RealTimeProtocols (Reāllaika protokoli).
4. Atlasiet atbilstošu protokolu un noklikšķiniet uz Open (Atvērt).
Parauga protokols atveras logā Protocol Editor (Protokola redaktors).
5. Atlasiet File > Save As (Fails > Saglabāt kā) un saglabājiēt protokolu ar jaunu nosaukumu vai jaunā mapē.

Esoša protokola atvēršana

1. Logā Home (Sākums) veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Atlasiet File > Open > Protocol (Fails > Atvērt > Protokols), navigējiet uz mērķa protokolu un atlasiet to, pēc tam noklikšķiniet uz Open (Atvērt).
 - Atveriet Startup Wizard (Startēšanas vednis) un veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Lai rediģētu redzamo protokolu, noklikšķiniet uz Edit Selected (Rediģēt atlasīto).
 - Lai rediģētu citu atlasītu protokolu, noklikšķiniet uz Select Existing (Atlasīt esošu) un navigējiet uz mērķa failu.

Protokols atveras logā Protocol Editor (Protokola redaktors).
2. Atlasiet File > Save As (Fails > Saglabāt kā) un saglabājat protokolu ar jaunu nosaukumu vai jaunā mapē.

Jauna protokola iestatīšana

Padoms. Ja protokola failā ir iekļauti vajadzīgie parametri (piemēram, ja rediģējat esošu trauciņa failu), varat izlaist šo sadaļu. Turpiniet ar [Darbību pievienošana protokolam 90. lpp.](#)

Jaunos protokola failos ir vajadzīgi šādi parametri:

- Bloka veids
- Skenēšanas režīms izvēlētajam bloka veidam
- Vāka temperatūra
- Parauga tilpums

Bloka veida iestatīšana

CFX Manager Dx automātiski aprēķina temperatūras soļus gradienta darbībām, pamatojoties uz bloka veidu.

Piezīme. Logā Protocol Editor (Protokola redaktors) iestatītajam trauciņa veidam jābūt tādām pašām kā trauciņam reakcijas modulī.

Bloka veida iestatīšana

- Logā Protocol Editor (Protokola redaktors) atlasiet Tools > Gradient Calculator (Rīki > Gradienta kalkulators) un izvēlieties attiecīgo trauciņa veidu no parādītā nolaižamā saraksta.

Skenēšanas režīma atlasīšana izvēlētajam bloka veidam

Lai noteiktu protokola izpildes laiku, atlasiet mērķa bloka veidu un skenēšanas režīmu.

Bloka veida un skenēšanas režīma atlase

- Logā Protocol Editor (Protokola redaktors) atlasiet Tools > Run time Calculator (Rīki > Izpildes laika kalkulators) un nolaižamajā sarakstā, kas parādās, izvēlieties atbilstošo trauciņa veidu un skenēšanas režīmu.

Vāka temperatūras regulēšana

CFX Manager Dx iestata noklusējuma vāka temperatūru 105,0 °C

Jūs atbilstoši protokolam varat mainīt noklusējuma iestatījumus vai izslēgt vāka sildītāju.

Padoms. Jūs varat mainīt noklusējuma vāka temperatūru dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences). Skat. [Noklusējuma protokola parametru iestatīšana 64. lpp.](#)

Vāka temperatūras regulēšana

1. Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) atlasiet Settings > Lid Settings (Iestatījumi > Vāka iestatījumi).
Parādīsies dialoglodziņš Lid Settings (Vāka iestatījumi).
2. Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Atlasiet opciju User Defined (Lietotāja definēts) un tekstlodziņā ievadiet temperatūras vērtību.
 - Atlasiet opciju Turn Off Lid Heater (Izslēgt vāka sildītāju).
3. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai apstiprinātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu.

Parauga tilpuma iestatīšana

CFX Manager Dx katrai iedobei iestata 25 µl noklusējuma parauga tilpumu. Tomēr CFX Dx system diapazons ir 0–125 µl.

Instrumenti izmanto vienu diviem temperatūras kontroles režīmiem, lai noteiktu, kad paraugs sasniedz protokolā noteikto mērķa temperatūru:

- **Calculated mode (Aprēķinātais režīms)** — kad tiek iestatīts blokam atbilstošais parauga tilpums, instruments aprēķina parauga temperatūru, balstoties uz parauga tilpumu. Šis ir standarta režīms.
- **Block mode (Bloka režīms)** — kad parauga tilpums ir iestatīts uz nulli (0) µl, instruments reģistrē parauga temperatūru kā ekvivalentu izmērītajai bloka temperatūrai.

Lai konkrētam blokam iestatītu parauga tilpumu

- ▶ Loga Plate Editor (Trauciņa redaktors) rīkjoslās tekstlodziņā Sample Volume (Parauga tilpums) ierakstiet pareizo vērtību.

Padoms. Jūs varat mainīt noklusējuma parauga tilpumu dialoglodziņā Lietotāja preferences. Skat. [Noklusējuma failu iestatījumu maiņa 62. lpp.](#)

Darbību pievienošana protokolam

Darbības pievienošana protokolam

1. Atveriet protokolu logā Protocol Editor (Protokola redaktors).
2. Nosakiet, kur ievietot jauno darbību. Rīkjoslā atlasiet Before (Pirms) vai After (Pēc) no nolaižamā saraksta Step (Darbība).
3. Diagrammā atlasiet darbību, pirms kuras vai pēc kuras plānojat jauno darbību.
4. Kreisajā rūtī noklikšķiniet uz Insert Step (Ievietot darbību).
5. Lai mainītu temperatūru vai aizturētu laiku, noklikšķiniet diagrammā vai protokola strukturējumā uz noklusējuma vērtības un ierakstiet jauno vērtību.
6. (Papildiespēja) Rūtī pa kreisi noklikšķiniet uz Step Options (Darbības opcijas), lai rādītu dialoglodziņu Step Options (Darbības opcijas) un modificētu atlasītās darbības pieejamās opcijas.

Padoms. Dialoglodziņam Step Options (Darbības opcijas) var piekļūt ar peles labās pogas izvēlni, noklikšķinot vai nu diagrammas rūtī, vai protokola strukturējuma rūtī.

7. Lai saglabātu izmaiņas protokolā, noklikšķiniet uz OK (Labi) un pēc tam uz Yes (Jā).
Parādīsies dialoglodziņš Save As (Saglabāt kā)
8. Dialoglodziņā Save As (Saglabāt kā) ierakstiet jaunā protokola faila nosaukumu un noklikšķiniet uz Save (Saglabāt).

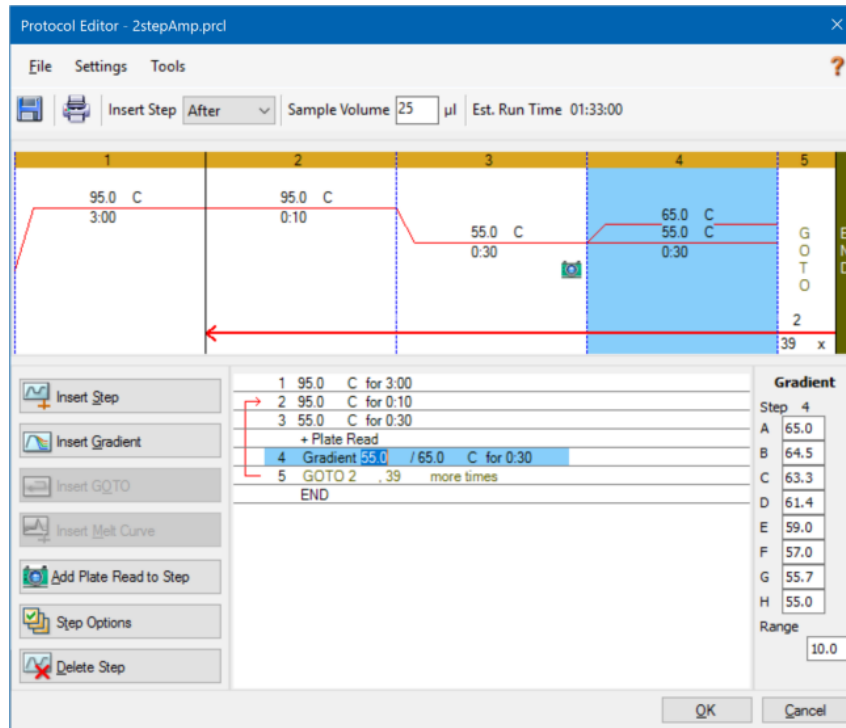
Gradients darbības ievietošana

Gradients darbības ievietošana

1. Pārbaudiet, vai trauciņa lielums gradientam ir tāds pats kā instrumenta bloka veids — 96 iedobju.
2. Ja tas jau nav izdarīts, atlasiet gradientam trauciņa lielumu.
Atlasiet Tools > Gradient Calculator (Rīki > Gradients kalkulators) un nolaižamajā sarakstā izvēlieties atbilstošu iedobes veidu.
3. Rīkjoslās nolaižamajā sarakstā Insert Step (Ievietot darbību) atlasiet opciju Before (Pirms) vai After (Pēc).
4. Grafikā vai strukturējuma rūtī atlasiet darbību pirms vai pēc, ko plānojat ievietot gradiens darbībā.

6. nodaļa. Protokolu izveide

5. Kreisajā rūtī noklikšķiniet uz Insert Gradient (ievietot gradientu). Jaunā gradienta darbība ir izcelta grafikā un strukturējuma rūtī, piemēram:



Katras rindas temperatūra gradientā parādās labās rūtīs tabulā Gradient (Gradients).

6. Lai rediģētu gradienta temperatūras diapazonu, veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Grafikā vai strukturējuma rūtī noklikšķiniet uz noklusējuma temperatūras un ievadiet jauno temperatūru.
 - Noklikšķiniet uz Step Options (Darbības opcijas), lai logā Step Options (Darbības opcijas) ievadītu gradientu diapazonu.
 - Tabulā Gradient (Gradients) mainiet opcijas Range (Diapazons) vērtību.
7. Lai rediģētu turēšanas laiku, grafikā vai teksta skatā noklikšķiniet uz noklusējuma laika un ievadiet jauno laiku.
8. Lai saglabātu izmaiņas, noklikšķiniet uz OK (Labi) un pēc tam uz Yes (Jā).

GOTO darbības ievietošana

Piezīme. Jūs nevarat ievietot GOTO darbību GOTO komplektā; jūs nevarat izveidot vajadzīgās GOTO cilpas.

Lai ievietotu GOTO darbību

1. Rīkjoslā atlasiet Before (Pirms) vai After (Pēc) no nolaižamā saraksta Insert Step (Ievietot darbību).
2. Grafika atlasiet darbību pirms vai pēc, ko plānojat ievietot GOTO darbībā.
3. Kreisajā rūtī noklikšķiniet uz Insert GOTO (Ievietot GOTO).
4. Lai rediģētu GOTO darbības numuru vai GOTO atkārtojumu skaitu, grafikā vai strukturējuma rūtī atlasiet noklusējuma skaitli un ievadiet jauno vērtību.
5. Lai saglabātu izmaiņas, noklikšķiniet uz OK (Labi) un pēc tam uz Yes (Jā).

Kušanas līknes darbības ievietošana

Padoms. GOTO cilpā nevar ievietot kušanas līknes darbību.

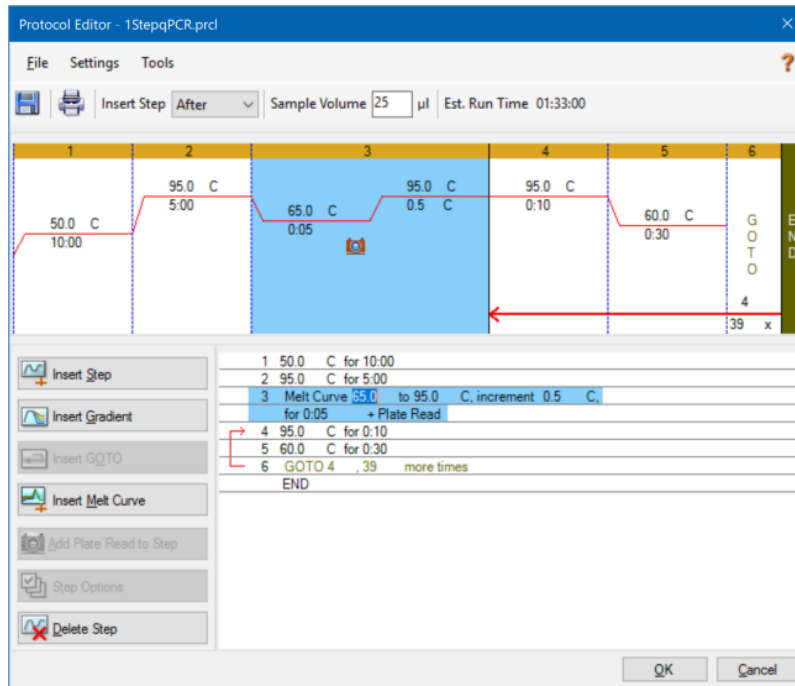
Piezīme. Kušanas līknes darbība ietver 30 sek. ilgu aizturi darbības sākumā, kas protokolā netiek rādīta.

Kušanas līknes darbības ievietošana

1. Rīkjoslā atlasiet Before (Pirms) vai After (Pēc) no nolaižamā saraksta Insert Step (Ievietot darbību).
2. Diagrammā atlasiet darbību, pirms kuras vai pēc kuras plānojat ievietot kušanas līknes darbību.

6. nodaļa. Protokolu izveide

3. Rūtī pa kreisi noklikšķiniet uz Insert Melt Curve (ievietot kušanas līkni). Jaunā kušanas līknes darbība ir izcelta grafikā un strukturējuma rūtī, piemēram:



4. Lai rediģētu kušanas temperatūras diapazonu vai palielinājumu laiku, atlasiet noklusējuma skaitli grafikā vai strukturējuma rūtī un ievadiet jauno vērtību.
5. Lai saglabātu izmaiņas, noklikšķiniet uz OK (Labi) un pēc tam uz Yes (Jā).

Trauciņa nolasījuma darbības pievienošana vai noņemšana

Padoms. Kad darbībai pievieno trauciņa nolasījuma komandu, tad, atlasot šo darbību, poga mainās uz Remove Plate Read (Noņemt trauciņa nolasījumu).

Trauciņa nolasījuma pievienošana darbībai

1. Rīkjoslā atlasiet Before (Pirms) vai After (Pēc) no nolaižamā saraksta Insert Step (Ievietot darbību).
2. Diagrammā atlasiet darbību, pirms kuras vai pēc kuras plānojat ievietot trauciņa nolasījuma darbību.
3. Lai pievienotu trauciņa nolasījumu atlasītajai darbībai, kreisajā rūtī noklikšķiniet uz Add Plate Read to Step (Pievienot darbībai trauciņa nolasījumu).
4. Lai saglabātu izmaiņas, noklikšķiniet uz OK (Labi) un pēc tam uz Yes (Jā).

Trauciņa nolasījumu noņemšana no darbības

- ▶ Diagrammā atlasiet darbību, kas satur trauciņa nolasījumu, un kreisajā rūtī noklikšķiniet uz Remove Plate Read (Noņemt trauciņa nolasījumu).

Darbības opciju mainīšana

Darbības opciju mainīšana atlasītajai darbībai

1. Atlasiet mērķa darbību grafikā vai strukturējuma rūtī.
2. Kreisajā rūtī noklikšķiniet uz Step Options (Darbības opcijas), lai atvērtu dialoglodziņu Step Options (Darbības opcijas).

Vai arī ar labo peles pogu noklikšķiniet rūtī un parādītajā izvēlnē atlasiet Step Options (Darbības opcijas).

3. Lai pievienotu, mainītu vai noņemtu opcijas:
 - attiecīgajā tekstlodziņā ievadiet vērtību;
 - konkrētajā tekstlodziņā redīgējiet vērtību;
 - atlasiet vai notīriet izvēles rūtiņu.
4. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai apstiprinātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu Step Options (Darbības opcijas).
5. Lai saglabātu protokolu, noklikšķiniet uz OK (Labi) un tad uz Yes (Jā).

Darbības dzēšana

Darbības dzēšana protokolā

1. Atlasiet darbību grafikā vai strukturējuma rūtī.
2. Lai dzēstu atlasīto darbību, rūtī pa kreisi noklikšķiniet uz Delete Step (Dzēst darbību).
3. Lai saglabātu protokolu, noklikšķiniet uz OK (Labi) un tad uz Yes (Jā).

Protokola kopēšana, eksportēšana vai drukāšana

Protokola kopēšana

- ▶ Ar labo peles pogu noklikšķiniet uz protokola kontūras un atlasiet Copy Protocol (Kopēt protokolu).

Jūs varat ielīmēt strukturējumu .txt, .xls, .doc vai .ppt failā.

Protokola eksportēšana

1. Ar labo peles pogu noklikšķiniet uz protokola kontūras un atlasiet Export Protocol (Eksportēt protokolu).
Parādīsies dialoglodziņš Save As (Saglabāt kā).
2. (Papildiespēja) Pārlūkprogrammā Windows Explorer navigējiet uz mapi, kurā jāsaglabā protokola fails.
3. Laukā File name (Faila nosaukums), ierakstiet eksportētā protokola faila nosaukumu.
4. Noklikšķiniet uz Saglabāt.

Protokola drukāšana

- ▶ Ar labo peles pogu noklikšķiniet uz protokola strukturējuma un atlasiet Print (Drukāt).

Jūs varat drukāt protokola strukturējuma, izmantojot noklusējuma printeri.

Protokola izveide, izmantojot Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs)

Svarīgi! Bio-Rad negarantē, ka ar Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) izveidota protokola izpilde vienmēr ļaus izveidot reāllaika PCR produktu.

CFX Manager Dx Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) automātiski ģenerē ciklēšanas protokolus, balstoties uz tālāk norādītajiem ievades parametriem:

- **Amplicon length (Amplikona garums)** — gaidāmais PCR produkta garums.
- **Annealing temperature (Renaturācijas temperatūra)** — reakcijas T_a izmantotajiem praimeriem.

Ja T_a nav zināma, varat izmantot rīku T_a Calculator (T_a kalkulators), lai automātiski aprēķinātu to, balstoties uz praimera sekvencēm.

Piezīme. T_a tiek regulēta, ņemot vērā informāciju par praimera kušanas temperatūru (T_m), kas balstās uz atlasīto fermentu un protokola ātrumu.

- **Enzyme type (Fermentu veids)** — DNA (DNS) polimerāzes ferments (iTaQ DNA (iTaQ DNS), iProof DNA (iProof DNS) polimerāze vai Other (Cits)).

Ja izmantojat fermentu, kas nav saistīts ar iTaQ vai iProof DNA (iProof DNS) polimerāzi, varat ievadīt papildu informāciju, tostarp gradientu diapazonu, karstās sākšanas aktivizēšanas laiku (sekundēs) un galīgo pagarinājuma laiku (sekundēs).

- **Run speed (Izpildes ātrums)** — reakcijas ātrums (standarta, liels vai ultraliels).

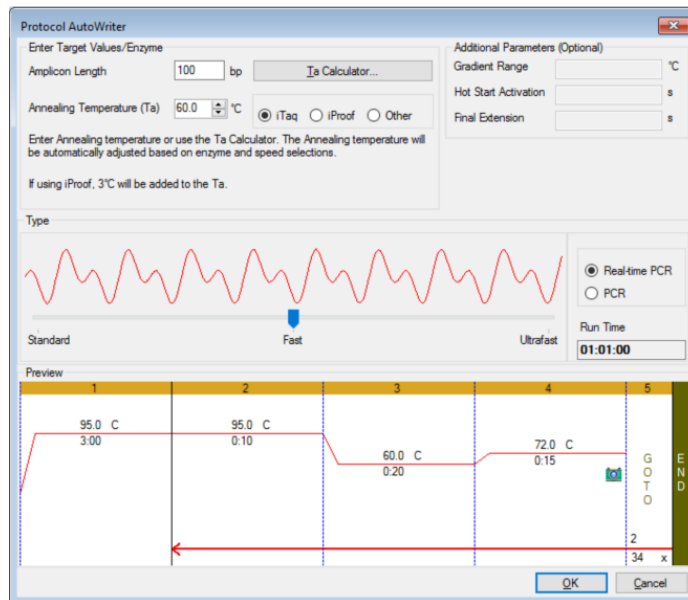
Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) optimizē protokolu atkarībā no atlasītā ātruma iestatījuma. Kopējo izpildes laiku nosaka darbību un ciklu skaits, inkubācijas laiks katrā darbībā un laiks, kas nepieciešams viendabīguma sasniegšanai mērķa temperatūrā.

Izmantojot ievadītos parametrus un standarta PCR vadlīnijas, Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) automātiski ģenerē pielāgotu PCR protokolu ar karsto sākšanu, sākotnējo denaturāciju, renaturāciju un pagarinājuma darbībām. Pēc tam jūs varat skatīt ierosinātā protokola grafisko attēlojumu un rediģēt, izpildīt vai saglabāt protokolu.

Jauna protokola izveide, izmantojot CFX Manager Dx Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs)

1. Logā Home (Sākums) atlasiet Tools > Protocol AutoWriter (Rīki > Protokola automātiskais rakstītājs).

Parādīsies dialoglodziņš Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs).



2. Sadaļā Enter Target Values/Enzyme (Ievadīt mērķa vērtības/fermentu) veiciet tālāk norādīto.

- Ievadiet praimeru renaturācijas temperatūru (T_a), ja tā ir zināma.

Padoms. Sīkāku informāciju skat. [Ta Calculator \(Ta kalkulators\) lietošana 99. lpp.](#)

Piezīme. Informāciju par rīkā T_a Calculator (T_a kalkulators) izmantotajiem aprēķiniem skat. Breslauer et al. 1986.

- Bāzu pāros (bp) ievadiet amplikona garumu.
- Opciju sarakstā atlasiet fermentu veidu (iTa_q DNA (iTa_q DNS) polimerāze, iProof DNA (iProof DNS) polimerāze vai Other (Cits)).

Padoms. Kā fermentu veidu atlasot Other (Cits), parametri sadaļā Additional Parameters (Optional) (Papildu parametri (Papildiespēja)) kļūs aktīvi.

3. Ja kā fermentu veidu atlasījāt Other (Cits), jūs varat pievienot protokolam jebkuru vai visus tālāk norādītos parametrus.
 - Gradientu diapazons
 - Karstās sākšanas aktivizēšanas temperatūra
 - Galīgais pagarinājuma laiks
4. Sadaļā Type (Veids) bīdīet slīdņi, lai atlasītu protokola ātrumu (Standard (Standarta), Fast (Liels) vai Ultrafast (Ultraliels)). CFX Manager Dx regulē kopējo izpildes laiku.
5. Atlasiet veicamā PCR veidu (noklusējuma iestatījums ir Real-time PCR (Reāllaika PCR)).
Reāllaika PCR laikā CFX Manager Dx pievieno trauciņa nolasīšanas darbību, lai vāktu fluorescences datus.
6. Sadaļā Preview (Priekšskatījums) pārskatiet protokolu. Jūs varat veikt izmaiņas pēc nepieciešamības.
7. Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu jauno protokolu. Pēc tā saglabāšanas protokols atveras rīkā Startup Wizard (Startēšanas vednis). Noklikšķiniet uz Edit Selected (Rediģēt atlasīto), lai veiktu izmaiņas protokolā. Piemēram, jums var būt nepieciešams mainīt vāka temperatūru un parauga tilpumu.
 - Noklikšķiniet uz Cancel (Atcelt), lai aizvērtu logu, nesaglabājot protokolu.

T_a Calculator (T_a kalkulators) lietošana

Kad praimera renaturācijas temperatūra nav zināma, jūs varat lietot T_a Calculator (T_a kalkulators), lai aprēķinātu vērtību. Šo vērtību var lietot Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) vai Protocol Editor (Protokola redaktors), lai izveidotu savu protokolu.

Par T_a Calculator (T_a kalkulators)

T_a Calculator (T_a kalkulators) aprēķina T_m vērtību katram praimerim, kā arī T_a vērtību protokolam standarta ātrumā.

Protokolam paredzētā T_a vērtība balstās uz vidējām praimera T_m vērtībām, piemērojot šādas kārtulas:

- ja praimera T_m vērtību starpība > 4°C, T_a = (zemākā no abām praimera T_m vērtībām + 2) — 4°C
- ja T_m vērtību starpība ir ≤4°C, T_a = (vidējā praimera T_m vērtība) — 4°C

Bāzes pāru skaitīšanas metode

Katra praimera gadījumā T_a Calculator (T_a kalkulators) lieto bāzes pāru skaitīšanas metodi 14 bāzes pāru (bp) vai mazāka pāru skaita secībām.

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

kur w, x, y un z ir bāzu A, T, G un C skaits attiecīgajā secībā.

Tuvāko kaimiņu metode

Sekvencēm, kas ir garākas par 14 bp, tiek izmantota tuvāko kaimiņu metode. Tuvāko kaimiņu metodē kušanas temperatūras aprēķini balstās uz entropijas (oligonukleotīda nejaušības kārtības vai mērījuma), entalpijas (siltuma, ko izdala vai absorbē oligonukleotīds), brīvās enerģijas un temperatūras termodinamiskā attiecība.

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

kur:

- ΔH = entalpijas vērtība, Cal/Mol*K
- T = temperatūra (Kelvini)
- ΔS = entropijas vērtība, Cal/Mol*K
- ΔG = Gibbsa brīvā enerģija, Cal/Mol*K

Entropijas un entalpijas izmaiņas tiek tieši aprēķinātas, saskaitot [12. tabula](#) rādīto nukleotīdu pāru vērtības (Breslauer et al. 1986).

Saistību starp brīvo enerģiju un reaģentu un produktu koncentrāciju līdzsvara stāvoklī aprēķina ar tālāk norādīto formulu.

$$\Delta G = R * T * \ln((DNS * praimeris)/(DNS + praimeris)),$$

kur R ir gāzes konstante (1,986 Cal/Mol*K).

Aizvietojot G divos vienādojumos un aprēķinot T, tiek iegūts vienādojums

$$T = \Delta H / (\Delta S + R * \ln((DNS * praimersi)/(DNS + praimeris))),$$

pieņemot, ka DNS un DNS praimera kompleksa koncentrācijas ir vienādas.

Empīriski noteikts, ka pārejas laikā no vienvavediena DNS uz B formas DNS notiek 5 kcal brīvas enerģijas (3,4 kcal) apmaiņa (Sugimoto et al. 1996). Tiek uzskatīts, ka tā ir spirāles iniciācijas enerģija. Visbeidzot, ar sāli saistītas korekcijas pievienošana ļauj izveidot vienādojumu, ko izmanto T_a kalkulators:

$$T = (\Delta H - 5(KCal/K * Mol)) / (\Delta S + (R * \ln(1/(praimeris)))) + 16,6 \log_{10}(\text{sāls molārā koncentrācija})$$

Sāls koncentrācijai nav nepieciešama koriģēšana, jo pie 1 M NaCl tika noteikti dažādi parametri un \log_{10} ir nulle.

Termodinamiskajos aprēķinos tiek pieņemts, ka renaturācija parādās pie pH 7,0. T_m aprēķinos tiek pieņemts, ka sekvences nav simetriskas un satur vismaz vienu G vai C.

Oligonukleotīdu sekvencai jābūt vismaz 14 bāzes garai, lai saņemtu pamatotas T_m vērtības. Ja ir mazāk nekā 14 bāzes, tiek izmantota bāzu pāru skaitīšanas metode (skat. [12. tabula](#) zemāk).

12. tabula. Breslauera mijiedarbības konstantes

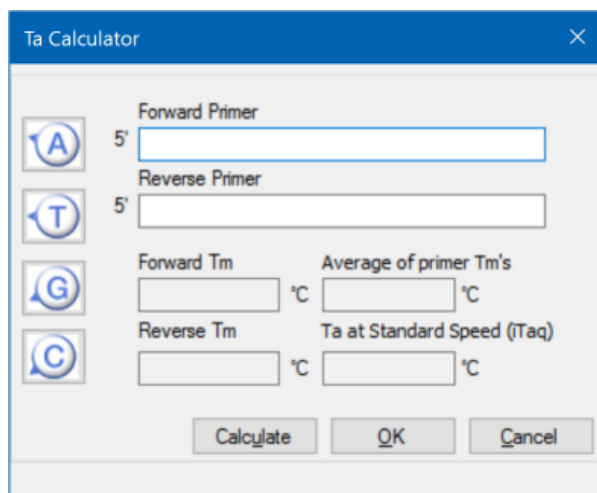
Mijiedarbība		ΔH	ΔS	ΔG
Aa	TT	9,1	24	1,5
AT	TA	8,6	23,9	1,5
AC	TG	6,5	17,3	1,3
AG	TC	7,8	20,8	1,6
TA	AT	6	16,9	0,9
TT	Aa	9,1	24	1,9
TC	AG	5,6	13,5	1,6
TG	AC	5,8	12,9	1,9
CA	GT	5,8	12,9	1,9
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3
GC	CG	11,1	26,7	3,1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

T_a Calculator (T_a kalkulatora) lietošana

Lai lietotu T_a Calculator (T_a kalkulators)

1. Lai atvērtu T_a Calculator (T_a kalkulators), veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Ja ir atvērts rīks Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs), noklikšķiniet uz T_a Calculator (T_a kalkulators).
 - Logā Home (Sākums) atlasiet Tools > T_a Calculator (Rīki > T_a kalkulators).

Parādīsies dialoglodziņš T_a Calculator (T_a kalkulators).



2. Tekstlodziņā Forward Primer (Tiešais praimeris) ierakstiet vai ielīmējiet tiešā praimera sekvenci.
Padoms. Tāpat jūs varat izmantot pogas A, T, G, C dialoglodziņa kreisajā pusē, lai ievadītu sekvenci.
3. Tekstlodziņā Reverse Primer (Atgriezeniskais praimeris) ierakstiet vai ielīmējiet atgriezeniskā praimera sekvenci.

4. Noklikšķiniet uz Calculate (Aprēķināt).

T_a Calculator (T_a kalkulators) aprēķina un parāda katra praimera T_m, vidējās T_m un T_a vērtības, piemēram:

Field	Value	Unit
Forward Primer	5' CTG GAG CCT TCA GTT GCA G	
Reverse Primer	5' GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC	
Forward T _m	59.7	°C
Reverse T _m	56.9	°C
Average of primer T _m 's	58.3	°C
T _a at Standard Speed (iTaQ)	54.3	°C

Ja praimera T_m vērtības atšķiras par vairāk kā 4 °C, rīks Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) izmanto zemāko praimera T_m vērtību + 2 °C kā pamatu T_a vērtības, kuru varat papildus pārveidot, mainot fermentu un reakcijas ātrumu, aprēķināšanai.

T_a Calculator (T_a kalkulators) ģenerē renaturācijas temperatūru standarta ātrumam ar iTaq DNS polimerāzi. Izmantojot citu fermentu, ātruma iestatījumi automātiski regulē T_a.

5. Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:

- Ja ar rīka Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs) palīdzību ir atvērts T_a Calculator (T_a kalkulators), noklikšķiniet uz OK (Labi). Atgriezīsieties rīkā Protocol AutoWriter (Protokola automātiskais rakstītājs). Renaturācijas temperatūra tiek automātiski mainīta.
- Ja T_a Calculator (T_a kalkulators) ir atvērts ar izvēlnes Tools (Rīki) palīdzību, reģistrējiet aprēķinus un noklikšķiniet uz Cancel (Atcelt), lai aizvērtu kalkulatoru.

6. nodaļa. Protokolu izveide

7. nodaļa. Trauciņu sagatavošana

Trauciņa fails satur informāciju par izpildes parametriem, tādiem kā skenēšanas režīms, fluorofori un iedobju saturs. Pēc izpildes CFX Manager Dx programmatūra, saista iedobju saturu ar izpildes laikā savāktajiem fluorescences datiem un lieto atbilstošu analīzi logā Data Analysis (Datu analīze). Piemēram, ar standarta parauga veidu ielādētas iedobes tiek lietotas, lai ģenerētu standarta līkni.

CFX Manager Dx software nodrošina divas trauciņu izveides iespējas: logs Plate Editor (Trauciņa redaktors) reāllaika PCR izpildēm un logs Setup Wizard (Iestatīšanas vednis) normalizētai gēnu ekspresijas analīzei.

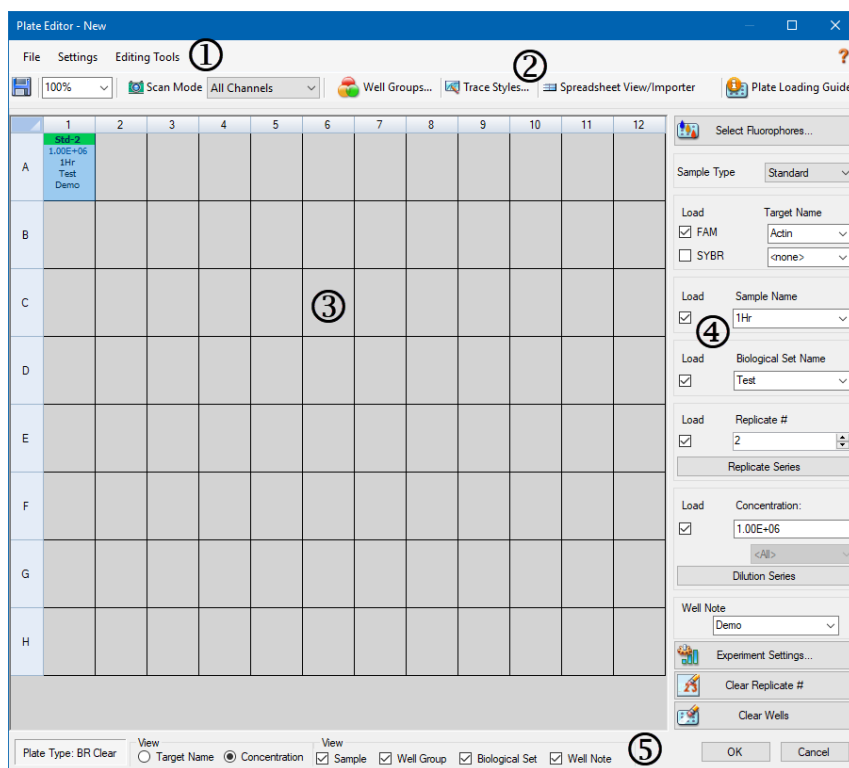
Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) ir ietvertas šādas iespējas:

- Standarta fluorofori un paraugu veidi, ko piešķirt trauciņu iedobēm
- Iespēja iestatīt atsauces mērķi un kontroles paraugu gēnu ekspresijas analīzei
- Iespēja rediģēt trauciņa iestatījumu pirms izpildes, tās laikā un pēc izpildes
- Iespēja saglabāt trauciņu failus atkārtotam lietojumam
- Iespēja nosūtīt trauciņa failus un noklusējuma printeri drukāšanai

Setup Wizard (Iestatīšanas vednis) vada trauciņu izkārtojuma izveidošanas procesu normalizētas gēnu ekspresijas analīzei. Setup Wizard (Iestatīšanas vedni) var lietot pirms izpildes, tās laikā un pēc izpildes.

Logs Plate Editor (Trauciņa redaktors)

Logu Plate Editor (Trauciņa redaktors) varat lietot, lai veidotu pielāgotus trauciņus vai modificētu esošos trauciņus.



APZĪMĒJUMI

1. Izvēļņu josla sniedz ātru piekļuvi izvēļņu File (Fails) un Settings (Iestatījumi) komandām, kā arī trauciņu rediģēšanas rīku opcijām.
2. Rīkjoslā sniedz ātru piekļuvi svarīgām trauciņa ielādēšanas funkcijām.
3. Galvenajā rūtī tiek rādīts trauciņu izkārtojums un trauciņa opcijas atbilstoši tam, kā tās lietojat.
4. Labās puses rūtī tiek rādītas opcijas, kuras izmantojat, lai trauciņu pielāgotu.
5. Apakšējā rūtī tiek rādīts trauciņa veids un sniegta ātra piekļuve skatīšanas opcijām.

Izvēlnes File (Fails) komandas

Save (Saglabāt) — saglabā trauciņa datu failu vietā, kas norādīta dialoglodziņa User Preferences (Lietotāja preferences) cilnē File (Fails). Papildinformāciju skatiet šeit [Noklusējuma failu iestatījumu maiņa 62. lpp.](#) Šis izvēlnes viens ir pieejams tikai tad, kad tiek izveidots jaunais trauciņa fails.

Save As (Saglabāt kā) — saglabā atklātu trauciņa datu failu ar jaunu jūsu norādīto nosaukumu. Šis izvēlnes viens ir pieejams tikai tad, kad tiek izveidots jaunais trauciņa fails.

Extract Plate (Izvilkt trauciņu) — atver dialoglodziņu, kurā varat izvilkt/saglabāt trauciņa failu (.pltd). Šis izvēlnes viens ir pieejams tikai esošā trauciņa faila skatīšanas vai rediģēšanas laikā.

Print (Drukāt) — izdrukā atvērto trauciņa datu failu.

Close (Aizvērt) — aizver rīku Plate Editor (Trauciņa redaktors).

Izvēlnes Settings (Iestatījumi) komandas

Plate Size (Trauciņa lielums) — sniedz opcijas, no kurām var atlasīt trauciņa lielumu konkrētajai izpildei.

Piezīme. CFX Dx system var lietot tikai 96 iedobju trauciņu.

Plate Type (Trauciņa veids) — sniedz iespēju izvēlēties iedobju veidu trauciņā, kas tur paraugus, proti, BR White (BR balts) vai BR Clear (BR caurspīdīgs). Lai datu analīze būtu precīza, atlasītā trauciņa veidam jābūt tādā pašam kā izpildē lietotais trauciņa veids.

Number Convention (Numuru konvencija) — sniedz iespēju atlasīt opciju rādīt mērvienības ar zinātnisku apzīmējumu vai noņemt šādas opcijas atlasī. Noklusējums ir rādīt mērvienības ar zinātnisku apzīmējumu.

Units (Mērvienības) — sniedz iespēju izvēlēties mērvienības, kādas rādīt izklājlappās, veicot nezināmo līkņu kvantitatīvo noteikšanu salīdzinājumā ar standarta līknēm.

Izvēlnes Editing Tools (Rediģēšanas rīki) komandas

Setup Wizard (Startēšanas vednis) — atver dialoglodziņu Setup Wizard (Startēšanas vednis), kurā varat definēt izkārtojumu un esošā trauciņa analīzes parametrus. Jūs varat izmantot Setup Wizard (Startēšanas vednis) pirms izpildes, izpildes laikā un pēc izpildes.

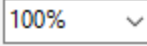
Spreadsheet View/Importer (Izklājlapas skats/importētājs) — atver dialoglodziņu View (Skats), kurā tiek parādīts trauciņa izkārtojums kā veidne izklājlapas formātā. Jūs varat izmantot šo dialoglodziņu, lai eksportētu vai importētu trauciņa veidnes datus .csv formātā.

Flip Plate (Apvērš trauciņu) — apvērš trauciņa saturu par 180°.

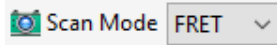
Rīkjoslas komandas



Saglabā esošo trauciņa failu.



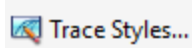
Parāda nolaižamo sarakstu, kurā varat paaugstināt vai pazemināt trauciņa skata palielināšanu.



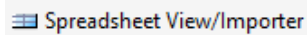
Parāda nolaižamo sarakstu, kurā varat atlasīt skenēšanas režīmu, kura laikā instrumentam tiek noteikts, no kuriem kanāliem vākt fluorescences datus izpildes laikā.



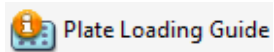
Atver logu Well Groups Manager (Iedobju grupu pārvaldnieks), ko varat izmantot, lai esošajam trauciņam izveidotu iedobju grupas.



Parāda dialoglodziņu, kurā varat izvēlēties krāsas un simbolus amplifikācijas trajektorijām.



Atver dialoglodziņu View (Skats), kurā tiek parādīts trauciņu izkārtojums kā veidne izklājlapas formātā. Jūs varat izmantot šo dialoglodziņu, lai eksportētu vai importētu trauciņa veidnes datus .csv formātā.



Parāda nepieciešamās darbības trauciņa iestatīšanai un iedobju ielādei.

Trauciņa faila izveide, izmantojot logu Plate Editor (Trauciņa redaktors)

Izmantojot logu Plate Editor (Trauciņa redaktors), var veidot pielāgotus trauciņu failus. Varat rediģēt un saglabāt arī iepriekš saglabātus trauciņu failus vai parauga trauciņu failus, kas piegādāti kopā ar CFX Manager Dx software.

Lai izveidotu jaunu trauciņa failu, veiciet tālāk norādīto.

- Atveriet trauciņa failu logā Plate Editor (Trauciņa redaktors).

- Atlasiet trauciņa veidu.

Piezīme. Konkrētā trauciņa faila trauciņa veidam jābūt tādām pašām kā trauciņam reakcijas modulī.

- Atlasiet protokolā lietojamo skenēšanas režīmu.

- Atlasiet trauciņā lietojamos fluoroforus.

- Atlasiet parauga veidu, mērķus un paraugus.

- Atlasiet replikātus, ja tas ir atbilstoši.

- Saglabājiet trauciņu izkārtojumu.

Padoms. Lai izveidotu jaunu trauciņu no iepriekš saglabāta vai parauga trauciņa faila, skatiet [Esošā trauciņa faila atvēršana logā Plate Editor \(Trauciņa redaktors\) 112. lpp.](#)

Jaunā trauciņa faila atvēršana rīkā Plate Editor (Trauciņa redaktors)

CFX Manager Dx software piedāvā vairākas opcijas jaunā trauciņa faila atvēršanai:

- Izmantojot logu Home (Sākums)
- Izmantojot dialoglodziņu Startup Wizard (Startēšanas vednis)
- Izmantojot dialoglodziņu Run Setup (Izpildes iestatīšana)

Lai atvērtu jauno trauciņa failu, izmantojot logu Home (Sākums)

- ▶ Atlasiet File > New > Plate (Fails > Jauns > Trauciņš).

Atvērsies logs Plate Editor (Trauciņa redaktors), atlasītajam instrumentam parādot noklusējuma trauciņa failu.

Padoms. Informāciju par noklusējuma trauciņa faila iestatīšanu skat. [Noklusējuma failu iestatījumu maiņa 62. lpp.](#)

Lai atvērtu jauno trauciņa failu, izmantojot Startup Wizard (Startēšanas vednis)

1. Logā Home (Sākums) veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām, lai atvērtu Startup Wizard (Startēšanas vednis), ja tas netiek skatīts:

- Atlasiet View > Startup Wizard (Skatīt > Startēšanas vednis).
- Rīkjoslā noklikšķiniet uz Startup Wizard (Startēšanas vednis).

Dialoglodziņā Startup Wizard (Startēšanas vednis) pēc noklusējuma tiek parādīta cilne Run Setup (Izpildes iestatīšana) ar atlasītu instrumentu CFX96.

2. Ja nepieciešams, nolaižamajā sarakstā atlasiet instrumenta veidu.
3. Lai izveidotu jaunu trauciņu, noklikšķiniet uz izpildes veida User-defined (Lietotāja definēts).

Atvērsies dialoglodziņš Run Setup (Izpildes iestatīšana), parādot cilni Protocol (Protokols).

4. Noklikšķiniet uz cilnes Plate (Trauciņš) un uz Create New (Izveidot jaunu).

Atvērsies logs Plate Editor (Trauciņa redaktors), atlasītajam instrumentam parādot noklusējuma trauciņu izkārtojumu.

Lai atvērtu jauno trauciņa failu, izmantojot dialoglodziņu Run Setup (Izpildes iestatīšana)

1. Logā Home (Sākums) veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām, lai atvērtu dialoglodziņu Run Setup (Izpildes iestatīšana):

- Atlasiet Run > User-defined Run (Izpilde > Lietotāja definēta izpilde).
- Rīkjoslā noklikšķiniet uz User-defined Run Setup (Lietotāja definēta izpildes iestatīšana).

Cilnē Protocol (Protokols) atvērsies dialoglodziņš Run Setup (Izpildes iestatīšana).

2. Lia izveidotu jaunu trauciņu, noklikšķiniet uz cilnes Plate (Trauciņš) un uz Create New (Izveidot jaunu).

Atvērsies logs Plate Editor (Trauciņa redaktors), atlasītajam instrumentam parādot noklusējuma trauciņu izkārtojumu.

Esošā trauciņa faila atvēršana logā Plate Editor (Trauciņa redaktors)

CFX Manager Dx software nodrošina parauga trauciņu failus, ko varat rediģēt un saglabāt kā jaunu trauciņu. Varat izveidot jaunu trauciņa failu arī no iepriekš saglabāta trauciņa faila.

Parauga trauciņa faila atvēršana

1. Logā Home (Sākums) atlasiet File > Open > Plate (Fails > Atvērt > Trauciņš).

Pārlūkprogrammas Windows Explorer atveras mapes CFX Manager Dx Sample files (Parauga faili) atrašanās vietā.

2. Atveriet mapi Sample files (Parauga faili) un tad atveriet mapi Plates (Trauciņi).
3. Atlasiet atbilstošu trauciņu un noklikšķiniet uz Open (Atvērt).

Parauga trauciņa fails atveras logā Plate Editor (Trauciņa redaktors).

4. Atlasiet File > Save As (Fails > Saglabāt kā) un saglabājat trauciņa failu ar jaunu nosaukumu vai jaunā mapē.

Iepriekš saglabāta trauciņa faila atvēršana

1. Logā Home (Sākums) atlasiet File > Open > Plate (Fails > Atvērt > Trauciņš), navigējiet uz mērķa trauciņu, atlasiet to un noklikšķiniet uz Open (Atvērt).

Mērķa trauciņa fails atveras logā Plate Editor (Trauciņa redaktors).

2. Atlasiet File > Save As (Fails > Saglabāt kā) un saglabājat trauciņa failu ar jaunu nosaukumu vai jaunā mapē.

Jaunā trauciņa faila iestatīšana

Padoms. Ja trauciņa failā ir iekļauti vajadzīgie parametri (piemēram, ja rediģējat parauga vai esošu trauciņa failu), varat izlaist šo sadaļu. Turpiniet ar [Papildu parametru piešķiršana trauciņa failam 119. lpp.](#)

Jaunos trauciņa failos ir vajadzīgi šādi parametri:

- Trauciņa lielums
- Trauciņa veids
- Skenēšanas režīms
- Viens fluorofors (kontrastviela)
- Viens parauga veids

Trauciņa lieluma un veida atlasīšana

Svarīgi! Trauciņa iestatīšanas laikā jāatlasa trauciņa lielums. Trauciņa lielumu nevar mainīt izpildes laikā vai pēc tam.

Programmatūra izpildes laikā lieto trauciņa lielumu un veidu attiecībā uz visām iedobēm. Nodrošiniet, ka atlasītais trauciņa lielums ir tāds pats kā trauciņam, ko lietosiet izpildē.

Bio-Rad CFX96 un CFX96 Deep Well instrumenti ir kalibrēti rūpnīcā daudzām fluorescējošām kontrastvielu un trauciņu kombinācijām. Kalibrēšana ir saistīta ar konkrēto instrumentu, kontrastvielu un trauciņa veidu. Pārliecinieties, vai fluorofors, ko plānojat lietot, ir kalibrēts jūsu atlasītajam trauciņa veidam.

Skenēšanas režīma atlasīšana

CFX96 un CFX96 Deep Well sistēmas meklē un nosaka fluoroforus piecos kanālos. Visas sistēmas lieto daudzu datu iegūšanas skenēšanas režīmus., lai izpildes laikā vāktu fluorescences datus.

CFX Manager Dx software nodrošina trīs skenēšanas režīmus:

- Visi kanāli
 - Skenē 1.–5. kanālu CFX96 un CFX96 Deep Well sistēmā

- SYBR®/FAM
 - Skenē tikai 1. kanālu
 - Nodrošina ātru skenēšanu
- FRET
 - Skenē tikai FRET kanālu
 - Nodrošina ātru skenēšanu

Fluoroforu atlasīšana

Svarīgi! Pirms izpildes sākšanas CFX Manager Dx software pārbauda, vai jūsu trauciņā norādītie fluorofori ir kalibrēti attiecīgajam instrumentam. Jūs nevarat izpildīt trauciņu, ja tas ietver fluoroforus, kas nav kalibrēti attiecīgajam instrumentam.

Jums pirms izpildes trauciņu izkārtojumā jāielādē vismaz viens fluorofors. Jūs šajā reizē varat ielādēt tik daudz fluoroforu, cik nepieciešams, taču trauciņam jā satur vismaz viens fluorofors. Atlasītie fluorofori parādās kā mērķu opcijas sadaļā Target Names (Mērķa nosaukumi).

Dialoglodziņu Select Fluorophores (Atlasīt fluoroforus) varat lietot, lai rīka Plate Editor (Trauciņa redaktors) kontroles materiālos, kas tiek ielādēti, ielādētu arī fluoroforus (vai trauciņu kontrastvielas) Fluorofori dialoglodziņā Select Fluorophores (Atlasīt fluoroforus) parādās atkarībā no atlasītā skenēšanas režīma:

- Visi kanāli

Parādās visi pieejamie fluorofori.

Padoms. Jūs varat pievienot tik daudz fluoroforu, cik nepieciešams, taču jūs katrā iedobē varat ielādēt tikai vienu fluoroforu vienam kanālam.

- SYBR®/FAM

Parādās tikai 1. kanāla fluorofori.

- FRET

Parādās tikai 6. kanāla fluorofors.

Padoms. 6. kanāla FRET fluorofors parādās tikai tad, kad atlasīts FRET skenēšanas režīms. Tas nav pieejams skenēšanas režīmam All Channels (Visi kanāli).

Piezīme. Jūs nevarat tieši pievienot fluoroforus un noņemt tos dialoglodziņā Select Fluorophore (Atlasīt fluoroforu). Jums jākalibrē jaunie fluorofori instrumentā, izmantojot rīku Calibration Wizard (Kalibrēšanas vednis). Pēc kalibrēšanas jaunaus fluorofors tiek automātiski pievienots sarakstam.

Parauga veidu atlase

Svarīgi! Jums jāatlasa vismaz viens parauga veids, ko pirms izpildes piešķirt trauciņa iedobēm.

CFX Manager Dx software piedāvā piecus paraugs veidus:

- Unknown (Nezināms);
- Standard (Standarta);
- NTC (bez veidnes kontroles);
- Positive Control (Pozitīvā kontrole);
- Negative Control (Negatīvā kontrole);
- NRT (bez reversās transkriptāzes).

Parauga veidus trauciņa iedobēm piešķirāt jūs.

Jauna trauciņa iestatīšana

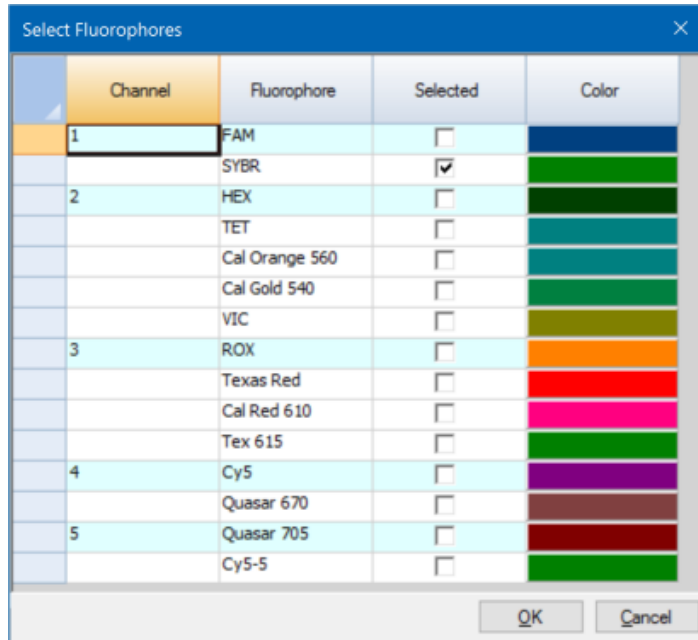
Jauna trauciņa iestatīšana

1. Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) atveriet jaunu trauciņu.
2. Lai iestatītu trauciņa lielumu, atlasiet Settings > Plate Size (Iestatījumi > Trauciņa lielums) un atlasiet atbilstošu trauciņa lielumu no nolaižamā saraksta.
3. Lai iestatītu trauciņa veidu, atlasiet Settings > Plate Type (Iestatījumi > Trauciņa veids) un atlasiet vai nu BR White (BR balts), vai BR Clear (BR caurspīdīgs) no nolaižamā saraksta.
4. Pēc izvēles no izvēlnes Settings (Iestatījumi) varat mainīt skaitļu konvenciju un rādāmās mērvienības.
 - Lai mainītu skaitļu konvenciju, atlasiet Settings > Number Convention (Iestatījumi > Skaitļu konvencija) un atlasiet Scientific Notation (Zinātnisks apzīmējums).
 - Padoms.** Scientific Notation (Zinātnisks apzīmējums) ir atlasīts pēc noklusējuma. Šajā gadījumā Scientific Notation (Zinātnisks apzīmējums) noīra noklusējumu un iestata skaitļu konvenciju uz standarta formu.
 - Lai mainītu rādāmās mērvienības, atlasiet Settings > Units (Iestatījumi > Mērvienības) un atlasiet jaunu mērvienības vērtību.
5. Lai iestatītu skenēšanas režīmu, atlasiet attiecīgo skenēšanas režīmu no nolaižamā saraksta Scan Mode (Skenēšanas režīms) loga Plate Editor (Trauciņa redaktors) rīkjoslā.

6. Atlasiet nepieciešamos fluoroforus trauciņam.

- a. Rūpīgi pa labi noklikšķiniet uz Select Fluorophores (Atlasīt fluoroforus).

Parādīsies dialoglodziņš Select Fluorophores (Atlasīt fluoroforus). Jūs redzat fluoroforus, kādi pieejami skenēšanas režīma veidam, ko atlasījāt 5. solis, piemēram:



- b. Lai atlasītu fluoroforu, ielieciet atzīmi tā izvēles rūtiņā Selected (Atlasīts).

Padoms. Lai noņemtu fluoroforu no saraksta, izņemiet atzīmi no tā izvēles rūtiņas Selected (Atlasīts).

- c. Lai mainītu fluorofora rādāmo krāsu, noklikšķiniet tā lodziņā Color (Krāsa).

Piezīme. Krāsa, ko atlasāt, reprezentē šo fluoroforu gan logā Plate Editor (Trauciņa redaktors), gan Data Analysis (Datu analīze) diagrammās.

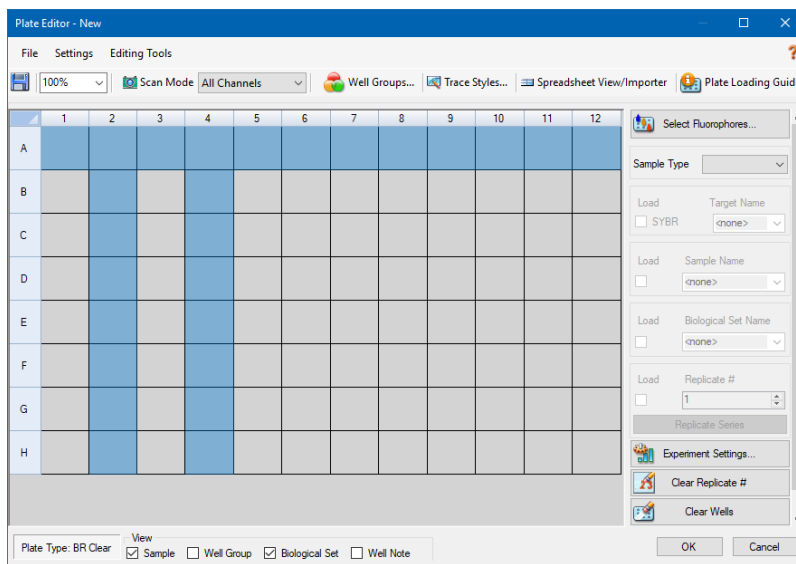
- d. Dialoglodziņā Color (Krāsa) atlasiet vēlamu krāsu vai arī noklikšķiniet uz Define Custom Colors (Noteikt pielāgotas krāsas) un izveidojiet jaunu krāsu, kas reprezentēs šo fluoroforu.
- e. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas un izietu no dialoglodziņa Select Fluorophores (Atlasīt fluoroforus).

7. Jums jāatlasa vismaz viena iedobe, kurā ielādēt parauga veidu. Pēc noklusējuma ir atlasīta iedobe A1.

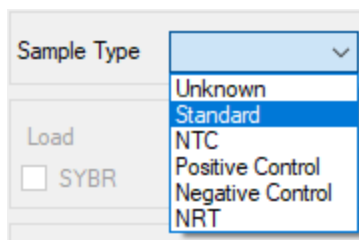
Trauciņa rūtī veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:

- Lai ielādētu vairākas blakus esošas iedobes, noklikšķiniet uz iedobes un velciet uz mērķa iedobi.
- Lai ielādētu vairākas iedobes, kas neatrodas viena otrai blakus, turiet nospiestu vadīšanas taustiņu un noklikšķiniet uz katras iedobes.
- Lai ielādētu visu kolonnu ar vienu un to pašu parauga veidu, noklikšķiniet uz kolonnas numura.
- Lai ielādētu visu rindu, noklikšķiniet uz šīs rindas numura.
- Lai ielādētu visu trauciņu, noklikšķiniet trauciņa augšējā kreisajā stūrī.

Piemēram:



8. Piešķiriet parauga veidu atlasītajai iedobei vai iedobēm no nolaižamās izvēlnes Sample Type (Parauga veids).

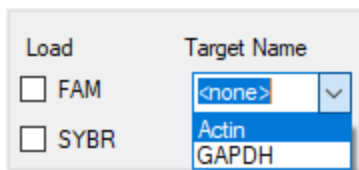


9. Piešķiriet visām iedobēm, kas satur parauga veidu, vismaz vienu fluoroforu. Iedobei vai iedobju grupai var piešķirt vairāk nekā vienu fluoroforu.

Piezīme. Taču uz katru kanālu var piešķirt tikai vienu fluoroforu. No viena kanāla nevar piešķirt vienai un tai pašai iedobei vairāk par vienu fluoroforu.

Padoms. Varat saistīt mērķi ar fluoroforu vai arī šajā reizē varat piešķirt iedobei tikai fluoroforu, un saistīt mērķi ar fluoroforu pēc eksperimenta izpildes.

- Lai atlasītajām iedobēm piešķirtu tikai fluoroforu, sadaļā Target Names (Mērķa nosaukumi) rūtī pa labi ielieciet atzīmi konkrētā fluorofora izvēles rūtiņā Load (Ielādēt).
- Lai saistītu mērķi ar fluoroforu, sadaļā Target Names (Mērķa nosaukumi) atlasiet no nolaižamā saraksta mērķa nosaukumu konkrētajam fluoroforam. Programmatūra automātiski atlasa savu izvēlēto rūtiņu Load (Ielāde).



10. Iedobju gadījumā, kas satur Standard (Standarta) parauga veidu, jāielādē koncentrācija. Katrai iedobei var būt atšķirīga koncentrācijas vērtība. Pēc noklusējuma CFX Manager Dx software ielādē 1.00E+06 koncentrāciju visās iedobēs ar standarta parauga veidu. Ja nepieciešams, šo vērtību var mainīt.

- Trauciņa rūtī jāatlasa standarta iedobe vai iedobju grupa.
- Sadaļā Concentration (Koncentrācija) noklikšķiniet uz Load (Ielādēt), lai ielādētu vērtību atlasītajai iedobei vai iedobēm.
- (Papildiespēja) Lai ielādētu citu koncentrāciju, ierakstiet jauno vērtību tekstlodziņā Concentration (Koncentrācija) un nospiediet ievadīšanas taustiņu.
- Veiciet šo darbību attiecībā uz visām iedobēm ar standarta parauga veidu.

Padoms. Lai ielādētu vienādu koncentrāciju visās standarta iedobēs, pārlicinieties, vai <All> (<Visi>) ir redzams nolaižamajā sarakstā zem vērtības Concentration (Koncentrācija). Lai ielādētu vienādu koncentrācijas vērtību visām iedobēm ar konkrētu fluoroforu, noklikšķiniet uz nolaižamā saraksta un atlasiet fluoroforu.

11. Lai saglabātu jauno trauciņu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Papildu parametru piešķiršana trauciņa failam

Trauciņa fails satur informāciju par katras iedobes, kas ielādēta ar paraugu izpildei, saturu. Pēc izpildes CFX Manager Dx software saista iedobes saturu ar fluorescences datiem, kas ievākti protokola laikā, un lieto atbilstošo analīzi logā Data Analysis (Datu analīze).

CFX Manager Dx jūs varat piešķirt parametrus katrai iedobei trauciņā pirms izpildes eksperimentiem, to laikā vai pēc izpildes eksperimentiem. Jūs varat piešķirt parametrus esošajam trauciņa failam vai jaunam trauciņa failam. Šie parametri ietver:

- **Target names (Mērķa nosaukumi)** — interesējošais mērķis vai mērķi (gēni vai sekvences) katrā ielādētā iedobē.
- **Sample names (Paraugu nosaukumi)** — identifikators vai stāvoklis, kas atbilst paraugam katrā ielādētajā iedobē kā 0Hr, 1Hr vai 2Hr.

Padoms. Iedobju mērķu un paraugu nosaukumiem jābūt vienādiem, lai salīdzinātu datus loga Data Analysis (Datu analīze) cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija). Katrā nosaukumā jābūt vienādam lielo burtu, pieturzīmju un atstarpju lietojumam. Piemēram, "Actin" nav tas pats, kas "actin", "2Hr" nav tas pats, kas "2 hr", un "Mouse 1" nav tas pats, kas "mouse1". Lai nodrošinātu konsekveni nosaukumu piešķiršanā, ievadiet nosaukumus User > User Preferences > Plate (Lietotājs > Lietotāja preferences > Trauciņš) bibliotēkas sadaļā logā Home (Sākums).

- **Biological sets (Bioloģiskie komplekti)** — identifikators vai stāvoklis, kas atbilst iedobju komplektam.
- **Replicates (Replikāti)** — katra iedobe, kas tiek izmantota vienādas parauga un mērķa(-u) kombinācijas analizēšanai; tas ir, kopē qPCR reakcijas.
- **Dilution series (Atšķaidīšanas sērija)** — daudzums Standard (Standarta) parauga veida koncentrācijas mainīšanai kopiju grupā, lai izveidotu standarta līknes datus analizēšanai.

Mērķa piešķiršana iedobēm

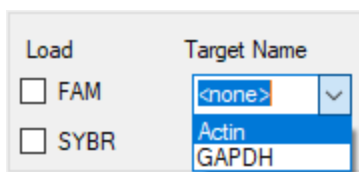
Padoms. Jūs varat piešķirt vienu mērķa nosaukumu vienai vai vairākām iedobēm. Tāpat jūs varat piešķirt vairākus mērķus vieni iedobei.

Mērķa piešķiršana iedobei vai iedobju grupai

1. Funkcijā Plate Editor (Trauciņa redaktors) pārliecinieties, ka iedobei vai iedobju grupai ir piešķirts parauga veids.

Informāciju par paraugu veidu piešķiršanu iedobēm skat. [Parauga veidu atlase 115. lpp.](#)

2. Trauciņa rūtī atlasiet iedobi vai iedobju grupu.
 - Lai atlasītu vienu iedobi, noklikšķiniet uz iedobes.
 - Lai atlasītu vairākas blakus esošās iedobes, noklikšķiniet uz iedobes un velciet to uz mērķa iedobi.
 - Lai atlasītu vairākas iedobes, kas neatrodas viena otram blakus, turiet nospiebtu vadīšanas taustiņu un noklikšķiniet uz katras iedobes.
 - Lai atlasītu visu kolonnu ar vienu un to pašu parauga veidu, noklikšķiniet uz kolonnas numura.
 - Lai atlasītu visu rindu, noklikšķiniet uz šīs rindas numura.
3. Labajā rūtī katram atlasītajam fluoroforam atlasiet nosaukumu no nolaižamā saraksta Target Name (Mērķa nosaukums).



4. Atkārtojiet 3. solis katrai iedobei vai iedobju grupai, kurai jāpiešķir mērķis.

Padoms. Katram atlasītajam fluoroforam jūs varat piešķirt vienu vai dažādus mērķa nosaukumus.

5. Lai apstiprinātu izmaiņas un saglabātu trauciņu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Mērķa nosaukuma noņemšana

- ▶ Lai no atlasītās iedobes vai iedobju grupas noņemtu mērķa nosaukumu, notīriet tās izvēles rūtiņu Load (Ielādēt).

Svarīgi! Noņemot mērķa nosaukumu no iedobes, tiek noņemts arī ar to saistītais fluorofors. Ievērojiet piesardzību, noņemot mērķa nosaukumu no iedobes.

Mērķa nosaukuma pievienošana sarakstam

- ▶ Lai nolaižamajam sarakstam pievienotu mērķa nosaukumu, veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Nolaižamajā sarakstā Target Name (Mērķa nosaukums) ierakstiet nosaukumu un nospiediet ievadīšanas taustiņu.

Padoms. Mērķa nosaukumus, ko pievienojat vienam sarakstam, parādās visos pārējos mērķa sarakstos.

- Noklikšķiniet uz zaļā + simbola pa labi no nolaižamā sarakstā, ierakstiet mērķa nosaukumu un nospiediet ievadīšanas taustiņu.
- Rītkjoslā noklikšķiniet uz User Preferences (Lietotāja preferences) un pievienojiet nosaukumu bibliotēkai Target Names (Mērķa nosaukumi) cilnē Plate (Trauciņš).

Svarīgi! Mērķa nosaukumi, ko pievienojat nolaižamajam sarakstam, ir pieejami tikai esošajai trauciņam un tikai tad, ja piešķirat nosaukumu iedobei un saglabājat trauciņu izkārtojumu. Ja nosaukumu iedobei nepiešķirat un trauciņu izkārtojumu nesaglabājat, nosaukums netiek saglabāts un nav pieejams turpmākam lietojumam. Lai neatgriezeniski pievienotu mērķa nosaukumu, pievienojiet to bibliotēkai Target Names (Mērķa nosaukumi), izmantojot dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences). Nosaukumi, ko pievienojat bibliotēkai, ir pieejami pēc tam, kad no jauna atverat logu Plate Editor (Trauciņa redaktors). Papildinformāciju skatiet šeit [Trauciņa noklusējuma parametru iestafīšana 65. lpp.](#)

Mērķa nosaukuma dzēšana no saraksta

1. Rītkjoslā noklikšķiniet uz User Preferences (Lietotāja preferences).
Atveras dialoglodziņš User Preferences (Lietotāja preferences), kurā redzama cilne Plate (Trauciņš).
2. Bibliotēkas Target Names (Mērķa nosaukumi) cilnē Plate (Trauciņš) atlasiet dzēšamo nosaukumu un nospiediet dzēšanas taustiņu.
3. Lai saglabātu izmaiņas, noklikšķiniet uz OK (Labi) un izejiet no dialoglodziņa User Preferences (Lietotāja preferences).

Svarīgi! Jūs nevarat saglabāt mērķa nosaukumus, kurus saglabājat ar trauciņa nosaukumu. Pielāgotie nosaukumi, kurus pievienojat nolaižamajam sarakstam Target Names (Mērķa nosaukumi), bet nelietojat un saglabājat ar trauciņu, tiks automātiski noņemti no saraksta. Nosaukumi, kurus dzēšat bibliotēkā Target Names (Mērķa nosaukumi) tiek neatgriezeniski dzēsti no programmatūras un vairs nav pieejami lietotājiem. Ievērojiet piesardzību, dzēšot mērķa nosaukumus.

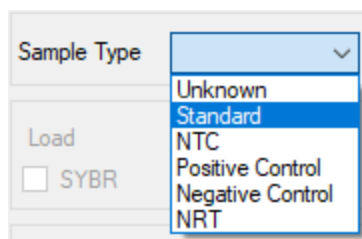
Parauga nosaukuma piešķiršana iedobēm

Piezīme. Lai piešķirtu parauga nosaukumu, atlasītajām iedobēm jāpiešķir vismaz viens fluorofors. Ja atlasītajām iedobēm fluorofors netiek piešķirts, nolaižamais saraksts Sample Names (Paraugu nosaukumi) tiek atspējots. Informāciju par fluoroforu piešķiršanu skatīt [Mērķa piešķiršana iedobēm 119. lpp.](#)

Padoms. Katrai iedobei vai iedobju grupai var piešķirt tikai vienu parauga nosaukumu.

Lai iedobei vai iedobju grupai piešķirtu parauga nosaukumu

1. Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) jāpārliecinās, vai iedobei vai iedobju grupai ir piešķirts fluorofors.
2. Trauciņa rūtī jāatlasa iedobe vai iedobju grupa.
3. Rūtī pa labi nolaižamajā sarakstā Sample Names (Paraugu nosaukumi) atlasiet nosaukumu.



4. Atkārtojiet [3. solis](#) ar katru iedobi vai iedobju grupu, kam jāpiešķir parauga nosaukums.
5. Lai apstiprinātu izmaiņas un saglabātu trauciņu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Parauga nosaukuma noņemšana

- ▶ Lai noņemtu parauga nosaukumu no atlasītas iedobes vai iedobju grupas, izņemiet atzīmi no tā izvēles rūtiņas Load (Ielāde).

Lai parauga nosaukumu pievienotu sarakstam

- ▶ Lai parauga nosaukumu pievienotu nolaižamajam sarakstam, veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Nolaižamajā sarakstā Sample Names (Paraugu nosaukumi) ierakstiet nosaukumu un nospiediet ievadīšanas taustiņu.
 - Noklikšķiniet uz zaļā + simbola pa labi no nolaižamā saraksta un ierakstiet parauga nosaukumu.
 - Rīkjoslā noklikšķiniet uz User Preferences (Lietotāja preferences) un pievienojiet nosaukumu bibliotēkai Sample Names (Paraugu nosaukumi) cilnē Plate (Trauciņš).

Svarīgi! Paraugu nosaukumi, ko pievienojat nolaižamajā sarakstā, ir pieejami tikai attiecībā uz pašreizējo trauciņu un tikai tādā gadījumā, ja piešķirat nosaukumu iedobei un saglabājat trauciņu izkārtojumu. Ja nosaukumu iedobei nepiešķirat un trauciņu izkārtojumu nesaglabājat, nosaukums netiek saglabāts un nav pieejams turpmākam lietojumam. Lai parauga nosaukumu pievienotu pastāvīgi, tas jāpievieno arī bibliotēkai Sample Names (Paraugu nosaukumi), izmantojot dialoglodziņu User Preferences (Lietotāja preferences). Nosaukumi, ko pievienojat bibliotēkai, ir pieejami pēc tam, kad no jauna atverat logu Plate Editor (Trauciņa redaktors). Papildinformāciju skatiet šeit [Trauciņa noklusējuma parametru iestatīšana 65. lpp.](#)

Parauga nosaukuma dzēšana no saraksta

1. Rīkjoslā noklikšķiniet uz User Preferences (Lietotāja preferences).
Atveras dialoglodziņš User Preferences (Lietotāja preferences), kurā redzama cilne Plate (Trauciņš).
2. Bibliotēkā Sample Names (Paraugu nosaukumi), kas atrodas cilnē Plate (Trauciņš), atlasiet dzēšamo nosaukumu un nospiediet dzēšanas taustiņu.
3. Lai saglabātu izmaiņas, noklikšķiniet uz OK (Labi) un izejiet no dialoglodziņa User Preferences (Lietotāja preferences).

Svarīgi! Nav iespējams dzēst paraugu nosaukumus, kas saglabāti ar trauciņa failu. Pielāgotie nosaukumi, ko pievienojat nolaižamajam sarakstam Sample Names (Paraugu nosaukumi) un nelietojat un nesaglabājat ar trauciņu, tiek automātiski noņemti no nolaižamā saraksta. Nosaukumi, ko dzēšat no bibliotēkas Sample Names (Paraugu nosaukumi), tiek pastāvīgi noņemti no programmatūras un lietotājiem vairs nav pieejami. Ievērojiet piesardzību, dzēšot paraugu nosaukumus.

Bioloģisko kopu piešķiršana iedobēm

Piezīme. Lai piešķirtu bioloģisku kopu, jums jāpiešķir atlasītajām iedobēm vismaz viens fluorofors. Fluorofora piešķiršana iespējo Biological Set Name (Bioloģisko kopu nosaukums) nolaižamo sarakstu. Informāciju par fluoroforu piešķiršanu skatīt [Mērķa piešķiršana iedobēm 119. lpp.](#)

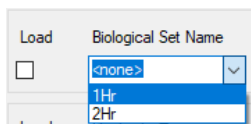
Padoms. Katrai iedobei vai iedobju grupai var piešķirt vienu bioloģisku kopu.

Lai piešķirtu iedobei vai iedobju grupai bioloģisku kopu, veiciet tālāk norādīto.

1. View (Skats) opcijās loga Plate Editor (Trauciņa redaktors) apakšā jāatlasa izvēles rūtiņa Biological Set (Bioloģiska kopa).
2. Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) jāpārlicinās, vai iedobei vai iedobju grupai ir piešķirts fluorofors.

3. Trauciņa rūtī jāatlase iedobe vai iedobju grupa.
4. Rūtī pa labi jāveic atlase no Biological Set Name (Bioloģisko kopu nosaukumu) nolaižamā saraksta.

CFX Manager Dx software automātiski atlasa savu izvēles rūtiņu Load (Ielāde).



5. Atkārtojiet 4. solis ar katru iedobes vai iedobju grupu, kam jāpiešķir bioloģiska kopa.
6. Lai apstiprinātu izmaiņas un saglabātu trauciņu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Padoms. Bioloģisko kopu nosaukumu piešķiršana iedobēm iespējo Biological Set Analysis Options (Bioloģiskās kopas analīzes opcijas) dialoglodziņā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi), kurā varat veikt paraugu analīzi vienā no četrām konfigurācijām. Papildinformāciju skatiet šeit [Eksperimenta iestatījumu mainīšana 130. lpp.](#)

Bioloģisko kopu noņemšana

- ▶ Lai noņemtu bioloģisko kopu no atlasītās iedobes vai iedobju grupas, jāizņem atzīme no tā izvēles rūtiņas Load (Ielāde).

Bioloģisku kopu pievienošana sarakstam

- ▶ Lai pievienotu nolaižamajam sarakstam bioloģisku kopu, ierakstiet nosaukumu nolaižamajā lodziņā Biological Set Name (Bioloģiskās kopas nosaukums) un nospiediet ievadīšanas taustiņu.

Svarīgi! Bioloģisko kopu nosaukumi, ko pievienojat nolaižamajā sarakstā, ir pieejami tikai attiecībā uz pašreizējo trauciņu un tikai tādā gadījumā, ja piešķirat nosaukumu iedobei un saglabājat trauciņu izkārtojumu. Ja nosaukumu iedobei nepiešķirat un nesaglabājat trauciņu izkārtojumu, nosaukums netiek saglabāts un nav pieejams turpmākam lietojumam.

Lai skatītu visas bioloģiskās kopas trauciņā

- ▶ Atlasiet izvēles rūtiņu Biological Set (Bioloģiskā kopa) View (Skats) opcijās, kas atrodas loga Editor (Redaktors) apakšā.



Visas iedobes parāda attiecīgo savas bioloģiskās kopas nosaukumu, ja tāds ir piešķirts. Biological Set Name (Bioloģiskās kopas nosaukums) kontrole tiek rādīta rūtī pa labi.

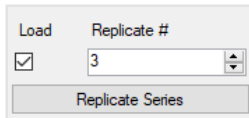
Lai paslēptu bioloģiskās kopas, izņemiet atzīmi no izvēles rūtiņas Biological Set (Bioloģiskā kopa) View (Skats) opcijās.

Replikātu numuru piešķiršana iedobēm

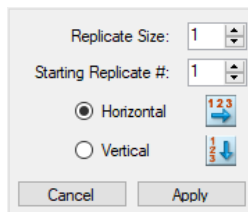
Svarīgi! Lai piešķirtu replikātu numurus, atlasītajām iedobēm jāsaturs identisks iedobju saturs. Proti, atlasītajām iedobēm jābūt viena un tā paša veida paraugiem un fluoroforam. Ja tas ir atbilstīgi, tiem jābūt piešķirtam vienam un tam pašam mērķim un paraugu nosaukumiem un vienai un tai pašai bioloģiskai kopai. Ja tie nav vienādi, CFX Manager Dx software neiespējo šo opciju.

Lai piešķirtu replikātu numurus iedobju grupai

1. Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) pārliecinieties, vai iedobju grupas saturs ir identisks.
2. Trauciņa rūtī jāatlasa mērķa iedobju grupa.
3. Lai piešķirtu vienu un to pašu replikāta numuru visiem atlasītajām iedobēm, sadaļā Replicate # (Replikāta Nr.) rūtī pa labi lodziņā ierakstiet replikāta numuru un atlasiet Load (Ielādēt).



4. (Papildiespēja) Lai atlasītu iedobes kopai piemērotu replikātu sēriju, veiciet tālāk norādītās darbības.
 - a. Noklikšķiniet uz Replicate Series (Replikātu sērija). Sadaļa Replicate # (Replikāta Nr.) mainās, lai parādītu šādas opcijas:



- **Replicate size (Replikāta lielums)** — skaitlis, kas reprezentē iedobju skaitu katrā replikātu grupā
- **Starting replicate # (Sākuma replikāta Nr.)** — pirmais numurs replikātu sērijā atlasītajai replikātu grupai

Piezīme. Pēc noklusējuma CFX Manager Dx software rāda sākuma replikāta numuru, kā tādu, kas par vienu numuru lielāks par pēdējo trauciņā piešķirto replikāta numuru. Piemēram, ja trauciņā pēdējais replikāta numurs būs pieci, nākamais sākuma numurs būs seši. Jūs varat mainīt sākuma numuru uz jebkuru numuru, kas nav jau piešķirts.

- Ielādes virziens (horizontāls vai vertikāls)

- Noklikšķiniet uz Apply (Lietot), lai parametrus piemērotu sērijai, un atgriezieties ekrānā Replicate # (Replikāta Nr.).

- Lai apstiprinātu izmaiņas un saglabātu trauciņu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Iedobes noņemšana no replikātu sērijas

- ▶ Atlasiet noņemamo iedobi vai iedobju grupu un izņemiet atzīmi no izvēles rūtiņas Replicate # Load (Replikāta Nr. ielāde).

Vai arī, lai notīrītu replikāta numuru no atlasītās iedobes vai iedobju grupas, varat noklikšķināt uz Clear Replicate # (Notīrīt replikāta Nr.).

Atšķaidīšanas sērijas piešķiršana standarta paraugu veidiem

Kā minēts iepriekš, visām iedobēm ar standarta parauga veidu jāpiešķir koncentrācijas vērtība. Jūs varat piešķirt atšķaidīšanas sēriju vairākām iedobēm ar standarta paraugu veidu.

Piezīme. Lai iedobju grupai piešķirtu atšķaidīšanas sēriju, iedobes jāiekļauj replikātu sērijā.

Informāciju par iedobju pievienošanu replikātu sērijā skat [Replikātu numuru piešķiršana iedobēm 125. lpp.](#)

Atšķaidīšanas sērijas piešķiršana standarta paraugu iedobju grupai

- Rīkā Plate Editor (Trauciņa redaktors) pārlicinieties, ka tiek ievērotas tālāk norādītās prasības:

- Iedobju grupas paraugu veids ir Standard (Standarta).
- Visām iedobēm grupā ir piešķirts vismaz viens fluorofors, un tās visas satur tos pašus fluoroforus.
- Visas iedobes grupā ir iekļautas vienā kopiju sērijā.

Piezīme. CFX Manager Dx software iespējo opciju Dilution Series (Atšķaidīšanas sērija) tikai tad, kad atlasītās iedobes atbilst šiem kritērijiem.

2. Trauciņa rūtī jāatlasa mērķa iedobju grupa.
3. Labās rūts koncentrācijas sadaļā noklikšķiniet uz Dilution Series (Atšķaidīšanas sērija). Sadaļa Concentration (Koncentrācija) mainās, lai parādītu tālāk norādītās opcijas:

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

- **Starting concentration (Sākuma koncentrācija)** — koncentrācijas vērtība sērijas sākumā.
 - **Replicates from and to (Kopē no un uz)** — kopijas sērijās, kurām tiks piemērots atšķaidīšanas koeficients
 - **Dilution factor (Atšķaidīšanas koeficients)** — daudzums koncentrācijas mainīšanai katrā kopiju grupā
4. Iestatiet opciju vērtības vai apstipriniet noklusējuma vērtības.
 5. Atšķaidīšanas sērija pēc noklusējuma samazinās par atšķaidīšanas koeficientu. Atlasiet Palielināšana, lai palielinātu atšķaidīšanas sēriju.
 6. (Papildiespēja) Atšķaidīšanas koeficients pēc noklusējuma tiek piemērots visiem fluoroforiem replikātu sērijā. Ja jūsu sērija satur vairāk nekā vienu fluoroforu un jūs vēlaties piemērot atšķaidīšanu vienam fluoroforam, atlasiet to no nolaižamā saraksta.
 7. Noklikšķiniet uz Apply (Lietot), lai lietotu atšķaidīšanas sēriju iedobju grupai un atgrieztos skatā Concentration (Koncentrācija).
 8. Lai apstiprinātu izmaiņas un saglabātu trauciņu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Iedobju satura kopēšana citā iedobē

Iedobes saturu var kopēt un ielīmēt atsevišķā iedobē vai vairākās iedobēs. Tomēr nokopēt var tikai vienas iedobes saturu. Nevar atlasīt vairākas iedobes un kopēt to saturu.

Iedobes satura pārkopēšana citā iedobē

1. Rūtī Plate (Trauciņš) jāatlasa kopējamā iedobe.
2. Ar peles labo pogu jānoklikšķina uz iedobes un jāatlasa Copy Well (Kopēt iedobi).

3. Atlasiet iedobi vai iedobes, kur saturs jāielīmē, veicot tālāk norādītās darbības.
 - Lai atlasītu atsevišķu iedobi, noklikšķiniet uz šīs iedobes.
 - Lai atlasītu vairākas blakus esošās iedobes, noklikšķiniet uz iedobes un velciet to uz mērķa iedobi.
 - Lai atlasītu vairākas iedobes, kas neatrodas viena otram blakus, turiet nospiestu vadīšanas taustiņu un noklikšķiniet uz katras iedobes.
4. Kad mērķa iedobes ir atlasītas, jānoklikšķina ar peles labo pogu un jāatlasa Paste Well (Ielīmēt iedobi).

CFX Manager Dx software ielīmē pirmās iedobes saturu atlasītajās iedobēs.

Piezīmes pievienošana iedobei

Jūs varat pievienot iedobei aprakstošu piezīmi. Iedobes piezīmes varat skatīt cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana), kas atrodama logā Data Analysis (Datu analīze).

Piezīmes pievienošana iedobei

1. Rūti Plate (Trauciņš) atlasiet iedobi vai iedobes, kurām plānojat pievienot piezīmi.
2. Apakšējās rūts sadaļā View (Skatīt) atlasiet Well Note (Iedobes piezīme).

Labajā rūtī parādās apgabals Well Note (Iedobes piezīme).



The image shows a screenshot of a software interface element labeled "Well Note". It consists of a rectangular box with a light gray background. Inside the box, there is a white rectangular area containing a dropdown menu. The dropdown menu currently displays the text "<none>" and has a small downward-pointing arrow on its right side.

3. Tekstlodziņā ierakstiet piezīmes saturu un nospiediet ievadīšanas taustiņu.

Teksts parādās atlasīto iedobju apakšdaļā.

Padoms. Ja jūs izveidojāt iepriekšējo iedobes piezīmi, varat atlasīt to nolaižamajā sarakstā un izmantot atlasītajām iedobēm.

Visa satura notīrīšana no iedobēm

Visu saturu var notīrīt no atsevišķas iedobes, no iedobju grupas vai no visa trauciņa. Iedobju notīrīšana nenotiek trauciņa nolasīšanas laikā savāktos fluorescences datus.

Iedobju neatgriezeniska notīrīšana noņem saturu no iedobes. Ievērojiet piesardzību iedobju notīrīšanā.

Visu iestatījumu notīrīšana no iedobēm

1. Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) trauciņa rūtī atlasiet iedobi vai iedobju grupu, kā norādīts tālāk.
 - Lai atlasītu atsevišķu iedobi, noklikšķiniet uz šīs iedobes.
 - Lai atlasītu vairākas blakus esošās iedobes, noklikšķiniet uz iedobes un velciet to uz mērķa iedobi.
 - Lai atlasītu vairākas iedobes, kas neatrodas viena otrai blakus, turiet nospiestu vadīšanas taustiņu un noklikšķiniet uz katras iedobes.
 - Lai atlasītu visu kolonnu ar vienu un to pašu parauga veidu, noklikšķiniet uz kolonnas numura.
 - Lai atlasītu visu rindu, noklikšķiniet uz šīs rindas numura.
2. Rūtī pa labi noklikšķiniet uz Clear Wells (Notīrīt iedobes).

CFX Manager Dx software notīra visus iestatījumus no atlasītajām iedobēm.
3. noklikšķiniet uz OK (Labi), lai apstiprinātu izmaiņas un saglabātu trauciņu.

Eksperimenta iestatījumu mainīšana

Izmantojiet dialoglodziņu Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi), lai skatītu vai mainītu mērķu vai paraugu sarakstus vai atlasītu analizējamo gēnu ekspresijas analīzes grupu un analīzes opciju, ja bioloģiskās grupas piešķirāt iedobēm trauciņā.

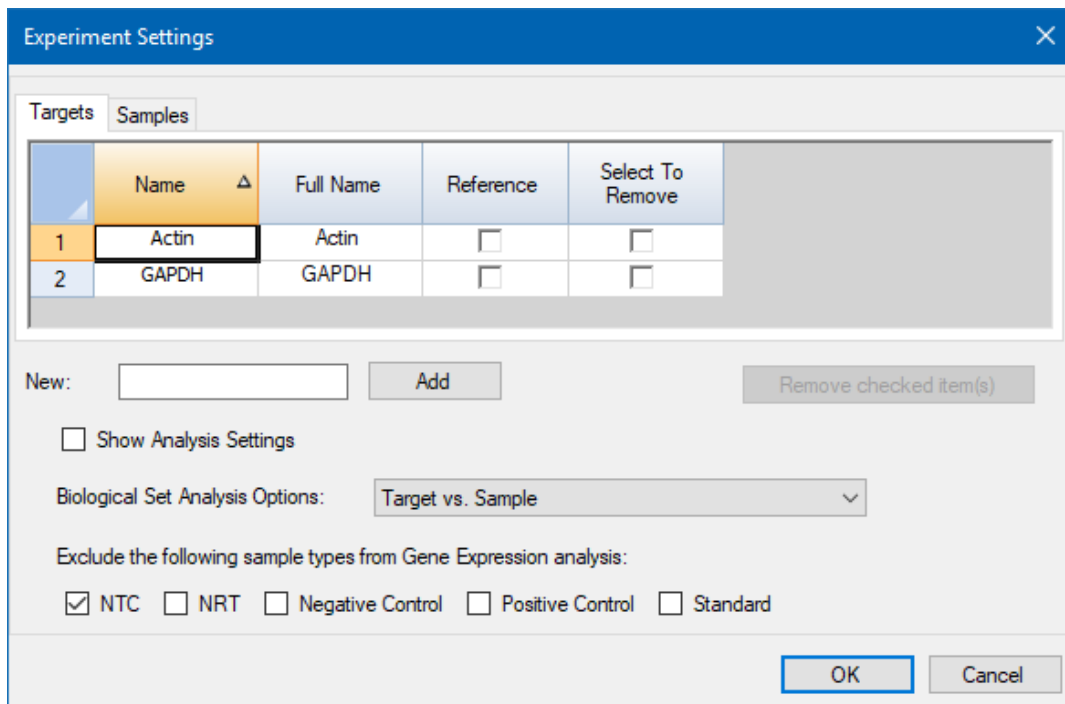
Dialoglodziņa Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) cilnē Targets (Mērķi) ir parādīts mērķa nosaukumu saraksts katrai PCR reakcijai, piemēram, interesējošais mērķa gēns vai gēnu sekvences.

Cilnē Samples ir parādīts paraugu nosaukumu saraksts, kurā norādīts mērķa avots, piemēram, paraugs, kas paņemts 1 hour (1Hr) (1 stunda (1 h)) laikā vai no konkrētas personas (mouse1).

Trauciņa iestatījumu maiņa, izmantojot eksperimenta iestatījumu dialoglodziņu

1. Lai atvērtu dialoglodziņu Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi), veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Loga Plate Editor (Trauciņa redaktors) labajā rūtī noklikšķiniet uz Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi).
 - Logā Data Analysis (Datu analīze) redzamajā cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija) noklikšķiniet uz Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi).

Parādīsies dialoglodziņš Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi), attēlojot cilnes Targets (Mērķi) saturu.



- Lai pievienotu jaunu mērķa vai parauga nosaukumu, atbilstošās cilnes tekstlodziņā New (Jauns) ierakstiet nosaukumu un noklikšķiniet uz Add (Piešķirt).
- Lai sarakstā noņemtu vienu vai vairākus mērķu vai paraugu nosaukumus, atbilstošās cilnes kolonnā Select to Remove (Atlasīt vai noņemt) atlasiet vienuma izvēles rūtiņu un noklikšķiniet uz Remove checked item(s) (Noņemt atzīmēto(-s) vienumu(-s)).
- CFX Manager Dx software izslēdz paraugu veidu NTC (bez veidnes kontroles) no gēnu ekspresijas analīzes.

Lai iekļautu NTC paraugu veidus, notīriet izvēles rūtiņu sadaļā Exclude the following sample types (Izslēgt tālāk norādītos paraugu veidus). Jūs varat izslēgt tālāk norādītos paraugu veidus, atlasot atbilstošu izvēles rūtiņu:

- NRT (bez reversās transkriptāzes);
- Negative Control (Negatīvā kontrole);
- Positive Control (Pozitīvā kontrole);
- Standard (Standarta).

5. Cilnē Targets (Mērķi):

- a. Lai atlasītu mērķi kā atsauci gēnu ekspresijas datu analīzei, atlasiet to kolonnā Reference (Atsauce).
- b. Lai noslēptu analīzes iestatījumus, kas tiks lietoti cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija) logā Analysis Settings (Analīzes iestatījumi), notīriet izvēles rūtiņu Show Analysis Settings (Rādīt analīzes iestatījumus).

Sistēma noslēpj tālāk norādītās kolonnas.

- Color (Krāsa);
- Show Chart (Rādīt diagrammu);
- Auto Efficiency (Automātiskā efektivitāte);
- Efficiency (%) (Efektivitāte (%)).

- c. Lai mainītu diagrammā Gene Expression (Gēnu ekspresija) uzzīmētā mērķa krāsu, kolonnā Color (Krāsa) noklikšķiniet uz tā šūnas, parādītajā dialoglodziņā Color (Krāsa) atlasiet jauno krāsu un noklikšķiniet uz OK (Labi).
- d. Lai diagrammā Gene Expression (Gēnu ekspresija) parādītu mērķi atlasītajā krāsā, kolonnā Show Chart (Rādīt diagrammu) atlasiet tā izvēles rūtiņu.
- e. CFX Manager Dx pēc noklusējuma automātiski aprēķina mērķa relatīvo efektivitāti, ja tā dati ietver standarta līkni.

Lai izmantotu iepriekš noteikto efektivitātes vērtību, ierakstiet vērtību tās šūnā kolonnā Efficiency (%) (Efektivitāte (%)) un nospiediet ievadišanas taustiņu. CFX Manager Dx notīra izvēles rūtiņu Auto Efficiency (Automātiskā efektivitāte).

6. Cilnē Samples (Paraugi):

- a. Lai atlasītu paraugu kā kontroles paraugu gēnu ekspresijas datu analīzei, atlasiet tā izvēles rūtiņu kolonnā Control (Kontrole).
- b. Lai paraugam izpildei piešķirtu kontroles nosacījumu, noklikšķiniet uz tā izvēles rūtiņas kolonnā Control (Kontrole).
- c. Ja nav atlasīts, noklikšķiniet uz izvēlnes rūtiņas Show Analysis Settings (Rādīt analīzes iestatījumus), lai skatītu vai mainītu analīzes parametrus, kas tiks lietoti cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija). Programmatūra noslēpj kolonnas Color (Krāsa) un Show Chart (Rādīt diagrammu):

7. Ja jūs iedobēm trauciņā piešķīrāt vienu vai vairākus bioloģiskos komplektus (skat. [Bioloģisko kopu piešķiršana iedobēm 123. lpp.](#)), sarakstā Biological Set Analysis Options (Bioloģiskā komplekta analīzes opcijas) atlasiet vienu no tālāk norādītajām opcijām:
 - **Target vs. Sample (Mērķis salīdzinājumā ar paraugu)** — gēnu ekspresijas aprēķinos tiek izmantots tikai iedobes parauga nosaukums.
 - **Target vs. Biological Set (Mērķis salīdzinājumā ar bioloģisko komplektu)** — aprēķinos tiek izmantots tikai bioloģiskā komplekta nosaukums.
 - **Target vs. Sample_Biological Set (Mērķis salīdzinājumā ar paraugu_bioloģisko komplektu)** — parauga nosaukums un bioloģiskā komplekta nosaukums tiek apvienoti, lai izmantošanai aprēķinos izveidotu vienu nosaukumu.
 - **Target vs. Biological Set_Sample (Mērķis salīdzinājumā ar bioloģisko komplektu_paraugu)** — bioloģiskā komplekta nosaukums un parauga nosaukums tiek apvienoti, lai izmantošanai aprēķinos izveidotu vienu nosaukumu.
8. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai dialoglodziņā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) saglabātu parametrus un atgrieztos logā Plate Editor (Trauciņa redaktors).

Iedobju grupu izveide

Iedobju grupas sadala vienu trauciņu iedobju apakškomplektos, kurus logā Data Analysis (Datu analīze) var analizēt neatkarīgi. Kad iedobju grupas ir iestatītas, logā Data Analysis (Datu analīze) atlasiet vienu grupu, lai analizētu datus kā neatkarīgu grupu. Piemēram, iestatiet iedobju grupas, lai analizētu vairāku eksperimentu izpildi vienā trauciņā vai analizētu katru iedobju grupu ar atšķirīgu standarta līkni.

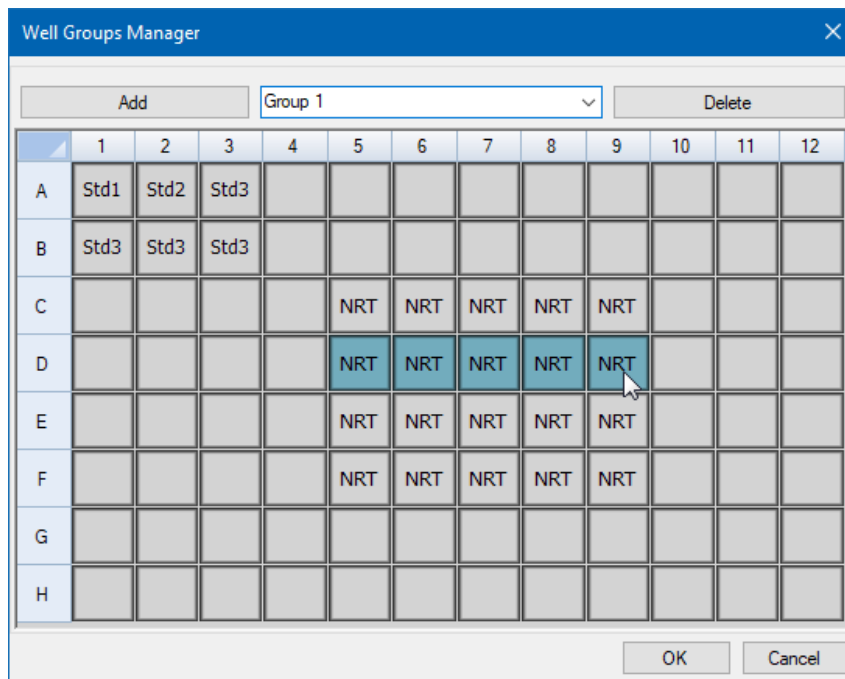
Piezīme. Noklusējuma iedobju grupa ir All Wells (Visas iedobes).

Iedobju grupu izveide

1. Lai atvērtu Well Groups Manager (Iedobju grupu pārvaldnieks), veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Rīkjoslā Plate Editor (Trauciņa redaktors) noklikšķiniet uz Well Groups (Iedobju grupas).
 - Logā Data Analysis (Datu analīze) noklikšķiniet uz Manage Well Groups (Pārvaldīt iedobju grupas).

Parādīsies dialoglodziņš Well Groups Manager (Iedobju grupu pārvaldnieks).

7. nodaļa. Trauciņu sagatavošana



2. Lai izveidotu jaunu grupu, noklikšķiniet uz Add (Pievienot). Nolaižamajā izvēlnē tiks parādīts grupas nosaukums; pirmajai grupai tas būs Group 1 (1. grupa).
3. Trauciņa skatā atlasiet iedobes iedobju grupai, noklikšķinot un velkot pāri iedobju grupai. Atlasītās iedobes logā Manager (Pārvaldnieks) parādīsies zilā krāsā.
4. (Papildiespēja) Lai mainītu grupas nosaukumu, atlasiet tās nosaukumu nolaižamajā izvēlnē un ierakstiet jauno nosaukumu.
5. (Papildiespēja) Lai dzēstu iedobju grupu, atlasiet tās nosaukumu nolaižamajā izvēlnē un noklikšķiniet uz Delete (Dzēst).
6. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai pabeigtu un aizvērtu logu, vai noklikšķiniet uz Cancel (Atcelt), lai aizvērtu logu bez izmaiņu veikšanas.

Svarīgi! Lai parādītu iedobju grupas, loga Plate Editor (Trauciņa redaktors) apakšdaļā redzamajās opcijās View (Skatīt) atlasiet Well Groups (Iedobju grupas).

Izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, vienumi dialoglodziņam Well Groups Manager (Iedobju grupu pārvaldnieks)

13. tabula ir uzskaitīti izvēlnes vienumi, kas pieejami dialoglodziņā Well Groups Manager (Iedobju grupu pārvaldnieks), ar peles labo pogu noklikšķinot uz jebkuras iedobes.

13. tabula. Izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, vienumi dialoglodziņā Plate Editor (Trauciņa redaktors) Well Selector (Iedobju atlasītājs)

Vienums	Funkcija
Copy (Kopēt)	Kopē iedobes saturu, kuru pēc tam var ielīmēt citā iedobē vai iedobēs.
Copy as Image (Kopēt kā attēlu)	Kopē Iedobju atlasītāja skatu kā attēlu.
Print (Drukāt)	Drukā Iedobju atlasītāja skatu.
Print Selection (Drukāt atlasi)	Drukā tikai atlasītās šūnas.
Export to Excel (Eksportēt uz Excel)	Eksportē datus uz Excel izklājlapu.
Export to Csv (Eksportēt uz Csv)	Eksportē datus kā ar komatu atdalīto datu dokumentu.
Export to Xml (Eksportēt uz Xml)	Eksportē datus kā .xml dokumentu.
Export to Html (Eksportēt uz Html)	Eksportē datus kā .html dokumentu.

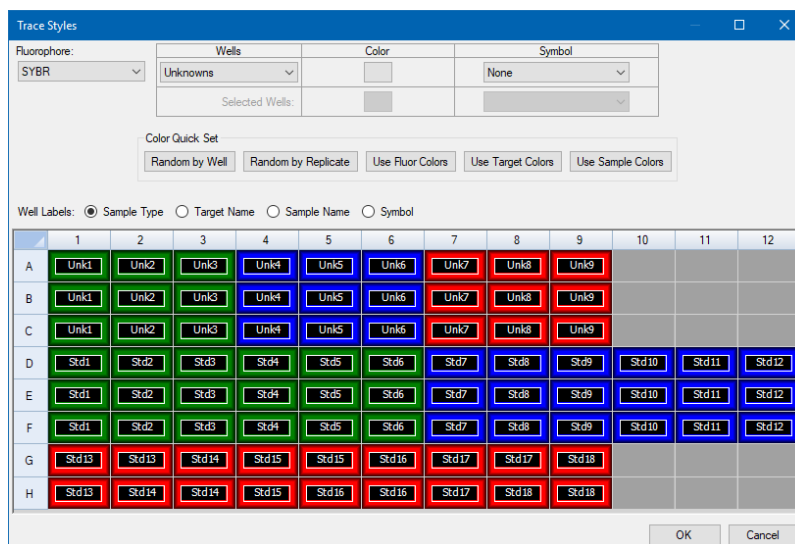
Trasējumu stilu maiņa

Trauciņa iestatīšanas laikā un izpildes gaitā var modificēt amplifikācijas trasējumu krāsu un stilu. Pēc tam trasējumus var viegli skatīt reāllaika stāvokļa logā, notiekot datu vākšanai.

Trajektorijas stilu maiņa

1. Noklikšķiniet uz Trace Styles (Trajektorijas stili) rīkjoslā Plate Editor (Trauciņa redaktors).

Attiecībā uz atvērto trauciņu atveras dialoglodziņš Trace Styles (Trajektorijas stili), piemēram:



2. lai rādītu trasējumu stilus pēc konkrēta fluorofora, atlasiet to no nolaižamā saraksta Fluorophores (Fluorofori).
3. Trajektoriju rādīšanas maiņa
 - a. Atlasiet trasējuma veidu no nolaižamā saraksta Wells (Iedobes).
 - b. Noklikšķiniet uz tā krāsas kolonnā Color (Krāsa).
 - c. Parādītajā dialoglodziņā Color (Krāsa) izvēlieties trasējumam citu krāsu un noklikšķiniet uz OK (Labi).
Izmaiņas attiecībā uz konkrēto iedobes veidu parādās režģī zemāk.
 - d. (Papildiespēja) Atlasiet trasējumam simbolu no nolaižamā saraksta Symbols (Simboli).

4. Lai ātri mainītu krāsu kopu, noklikšķiniet uz attiecīgās izvēles sadaļā Color Quick Set (Krāsu ātra iestatīšana).
5. Lai skatītu iedobes etiķetes režģī, atlasiet etiķetes veidu sadaļā Well Labels (Iedobju etiķetes).
6. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu izmaiņas, vai uz Cancel (Atcelt), lai izmaiņas atceltu.

Trauciņa skatīšana izklājlapas formātā

Rīkā Spreadsheet View/Importer (Izklājlapas skats/importētājs) trauciņš tiek parādīts izklājlapas formātā. Jūs varat izmantot rīku Spreadsheet View/Importer (Izklājlapas skats/importētājs), lai eksportētu saturu ar tabulatoriem atdalīta teksta formātā lietotnē, piemēram, Microsoft Excel. Tāpat jūs varat eksportēt iedobju saturu ar tabulatoriem atdalīta teksta formātā no lietotnes.

Izklājlapas skata/importētāja rīku izmantošana

1. Rīkjoslā Plate Editor (Trauciņa redaktors) noklikšķiniet uz Spreadsheet View/Importer (Izklājlapas skats/importētājs), lai atvērtu dialoglodziņu Plate Spreadsheet View (Trauciņa izklājlapas skats).

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

2. Dialoglodziņā Spreadsheet View (Izklājlapas skats) tiks parādīts trauciņa saturs vienam fluoroforam. Lai skatītu trauciņa saturu citam fluoroforam, atlasiet to nolaižamajā sarakstā Fluors List (Fluoroforu saraksts).
3. Noklikšķiniet uz Export Template (Eksportēt veidni), lai eksportētu trauciņa izklājlapas veidni Excel failā (.csv formātā). Jūs varat rediģēt šo veidni, lai importētu informāciju par iedobes saturu.
4. (Papildiespēja) Noklikšķiniet uz Import (Importēt), lai importētu iedobes saturu no komatatdalīto vērtību faila.
5. Lai kārtotu datus izklājlapā saskaņā ar datiem konkrētā kolonnā, noklikšķiniet uz trijstūra blakus kolonnas nosaukuma.

Padoms. Jūs varat rediģēt jebkuras šūnas saturu kolonnā, kuras nosaukumam blakus ir zvaigznīte (*) (piemēram, * Target Name (Mērķa nosaukums)).

Piezīme. Atlasiet mērvienības standarta līknes datiem kolonnā Quantity (Daudzums), atverot rīku Plate Editor (Trauciņa redaktors) un izvēlnes joslā atlasot Settings > Units (Iestatījumi > Mērvienības). Pēc trauciņa izpildes pabeigšanas dati ar jūsu atlasītajām mērvienībām no šiem

standartiem parādās loga Data Analysis (Datu analīze) cilnes Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) diagrammā Standard Curve (Standarta līkne).

Izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, vienumi rīkam Plate Spreadsheet View/Importer (Trauciņa izklājlapas skats/importētājs)

14. tabula ir uzskaitīti izvēlnes vienumi, kas pieejami rīkā Spreadsheet View/Importer (Izklājlapas skats/importētājs), ar peles labo pogu noklikšķinot uz jebkuras iedobes rīkā.

14. tabula. Izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, vienumi rīkā Plate Spreadsheet View/Importer (Trauciņa izklājlapas skats/importētājs)

Vienums	Funkcija
Copy (Kopēt)	Kopē visu izklājlapu.
Copy as Image (Kopēt kā attēlu)	Kopē diagrammu kā attēla failu.
Print (Drukāt)	Izdrukā izklājlapu.
Print Selection (Drukāt atlasī)	Drukā tikai atlasītās šūnas.
Export to Excel (Eksportēt uz Excel)	Eksportē failu uz Excel izklājlapu.
Export to CSV (Eksportēt uz CSV)	Eksportē failu .csv formātā.
Export to Xml (Eksportēt uz Xml)	Eksportē failu .xml formātā.
Export to Html (Eksportēt uz Html)	Eksportē failu .html formātā.
Find (Atrast)	Meklē specifisku tekstu.
Sort (Kārtot)	Kārto izklājlapu, atlasot līdz trim datu kolonnām logā Sort (Kārtot).

Trauciņu izkārtojuma izveide, izmantojot Plate Setup Wizard (Trauciņa iestatīšanas vednis)

Jūs varat lietot Setup Wizard (Iestatīšanas vedni), lai ievadītu informāciju par trauciņu izkārtojumu, kāda nepieciešama normalizētas gēnu ekspresijas analīzē, ieskaitot šādus vienumus:

- Mērķa nosaukumi
- Paraugu nosaukumi
- Mērķu un parauga atrašanās vietas trauciņā
- Atsauces gēns(-i)
- Control Sample (Kontroles paraugs)

Setup Wizard (Iestatīšanas vedni) var lietot pirms izpildes, tās laikā un pēc izpildes.

Trauciņa Setup Wizard (Iestatīšanas vednis) lietošana

Šajā sadaļā paskaidrots, kā izveidot trauciņu izkārtojumu, izmantojot trauciņu Setup Wizard (Iestatīšanas vednis). Lai katras trauciņā esošās iedobes satura skatīšana būtu vienkāršāka, noklikšķiniet uz Zoom plate (Tuvināt trauciņu) Setup Wizard (Iestatīšanas vedņa) augšpusē.

Svarīgi! Atgriešanās cilnē Auto layout (Automātiskais izkārtojums), ja esat kādā citā cilnē Setup Wizard (Iestatīšanas vednis), atiestata trauciņu izkārtojumu. Ievērojiet piesardzību, atlasot šo cilni.

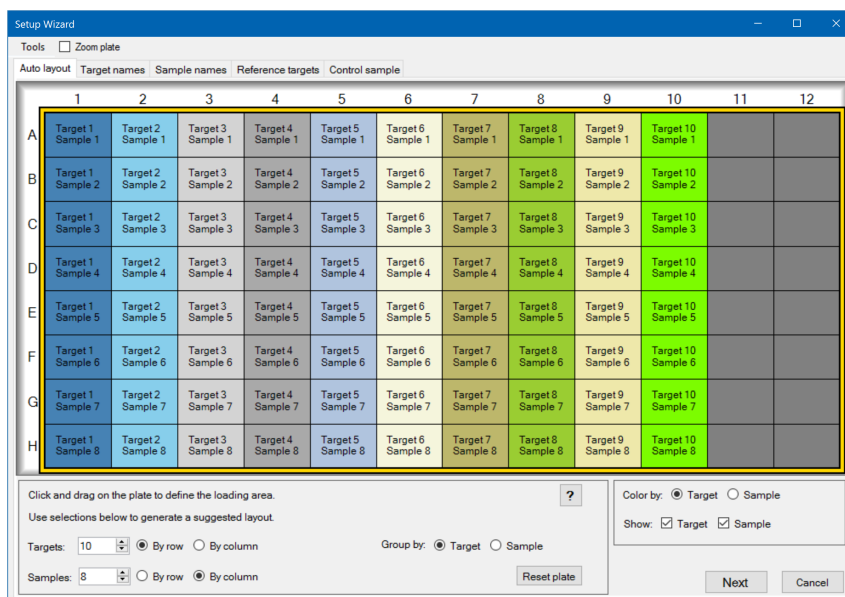
Padoms. Izkārtojumu var atiestatīt, atlasot Tools > Clear Plate (Rīki > Notīrīt trauciņu); šīs komandas atrodas iestatīšanas vednī.

Trauciņa Setup Wizard (Iestatīšanas vednis) lietošana

1. Atveriet logu Plate Editor (Trauciņa redaktors).
2. Lai atvērtu Setup Wizard (Iestatīšanas vednis), izvēlieties Editing Tools > Setup Wizard (Rediģēšanas rīki > Iestatīšanas vednis).

Parādās Setup Wizard (Iestatīšanas vednis), rādot cilni Auto layout (Automātiskais izkārtojums).

Trauciņu izkārtojuma izveide, izmantojot Plate Setup Wizard (Trauciņa iestatīšanas vednis)



3. Cilnē Auto layout (Automātiskais izkārtojums) veiciet tālāk norādītās darbības.
 - a. Noklikšķiniet režģī uz iedobes un velciet to pāri un uz leju, lai precizētu trauciņā apgabalu, kur plānojat paraugu ielādēt.
 - b. Ievadiet ielādējamo mērķu un paraugu skaitu.

Padoms. Mērķu un paraugu skaitam jābūt vienādam ar atlasīto šūnu skaitu. Ja ievadītie skaiti neietilpst atlasītajā apgabalā, modificējiet skaitļus vai trauciņa atlasē apgabalu. Vienumu orientāciju trauciņā, kā arī to grupējumu ir iespējams norādīt.
 - c. (Papildiespēja) Mainiet trauciņa orientāciju. Piemēram, jūs varat iestatīt mērķus kolonnās un paraugus rindās vai arī grupēt pa paraugiem.
 - d. Noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai pārietu uz cilni Target names (Mērķa nosaukumi).

Piezīme. Ja trauciņu izkārtojumam nav pastāvīga modeļa, lietojiet cilni Target names (Mērķa nosaukumi), lai manuāli pozicionētu mērķus, vai cilni Sample names (Paraugu nosaukumi), lai manuāli pozicionētu paraugus trauciņā. Noklikšķiniet un velciet, lai atlasītu vairākas iedobes.

4. Cilnē Target names (Mērķa nosaukumi) definējiet mērķa grupu mērķa nosaukumus:
 - a. Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Lai pārdēvētu mērķus atbilstoši grupai, iestatiet Select by (Atlasīt pēc) uz Target (Mērķis).
 - Lai pārdēvētu mērķus atbilstoši iedobei, iestatiet Select by (Atlasīt pēc) uz Well (Iedobe).
 - b. Atlasiet režģī mērķa grupu vai iedobi un ierakstiet nosaukumu nolaižamajā sarakstā Target name (Mērķa nosaukums).

Padoms. Nospiediet tabulēšanas taustiņu, lai atlasītu nākamo grupu vai iedobi pa labi, vai ievadīšanas taustiņu, lai atlasītu nākamo grupu vai iedobi uz leju. Vai arī cilnēs Target name (Mērķa nosaukums) un Sample name (Parauga nosaukums) turiet nospiestu vadīšanas taustiņu un noklikšķiniet uz iedobes, lai atlasītu vairākas iedobes, kas neatrodas viens otram blakus.
 - c. Noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai pārietu uz cilni Sample names (Paraugu nosaukumi).
5. Cilnē Sample names (Paraugu nosaukumi) definējiet paraugu grupu paraugu nosaukumus.
6. Noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai pārietu uz cilni Reference targets (Atsauces mērķi).
7. Cilnē Reference targets (Atsauces mērķi) atlasiet vienu vai vairākus mērķus, kurus lietot kā atsauces normalizētā gēnu ekspresijā, un noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai pārietu uz cilni Control sample (Kontroles paraugs).
8. Cilnē Control sample (Kontroles paraugs) atlasiet vienu paraugu, ko lietot kā kontroli relatīvās gēnu ekspresijas aprēķinos.
9. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu trauciņu izkārtojumu un atgrieztos logā Plate Editor (Trauciņa redaktors), kurā varat turpināt trauciņa parametru noteikšanu. Papildinformāciju skatiet šeit [Papildu parametru piešķiršana trauciņa failam 119. lpp.](#)

Vai arī noklikšķiniet uz Previous (Atpakaļ), lai atgrieztos iepriekšējā cilnē un izdarītu kādas izmaiņas.

Piezīme. Atgriešanās cilnē Auto layout (Automātiskais izkārtojums) automātiski atiestata trauciņu. Ievērojiet piesardzību, noklikšķinot uz Previous (Atpakaļ).

8. nodaļa. Eksperimentu veikšana

Šajā nodaļā ir izskaidrots, kā veikt pielāgotu (lietotāja definētu) vai PrimePCR testu eksperimentus, izmantojot CFX Manager Dx programmatūru.

Izpildes datu fails satur izpildei nepieciešamo protokolu un informāciju par trauciņu. Tāpat fails satur datus no analīzēm, ko CFX Manager Dx veic pēc izpildes pabeigšanas.

CFX Manager Dx programmatūra atvieglo iestatīšanu un veic lietotāja definētus vai PrimePCR eksperimentus. Logs Run Setup (Izpildes iestatīšana) palīdz veikt vispārējas eksperimenta iestatīšanas darbības, lai atvērtu dialoglodziņu Start Run (Sākt izpildi), kurā varat sākt izpildi.

Pieklūve logam Run Setup (Izpildes iestatīšana)

Pieklūve logam Run Setup (Izpildes iestatīšana)

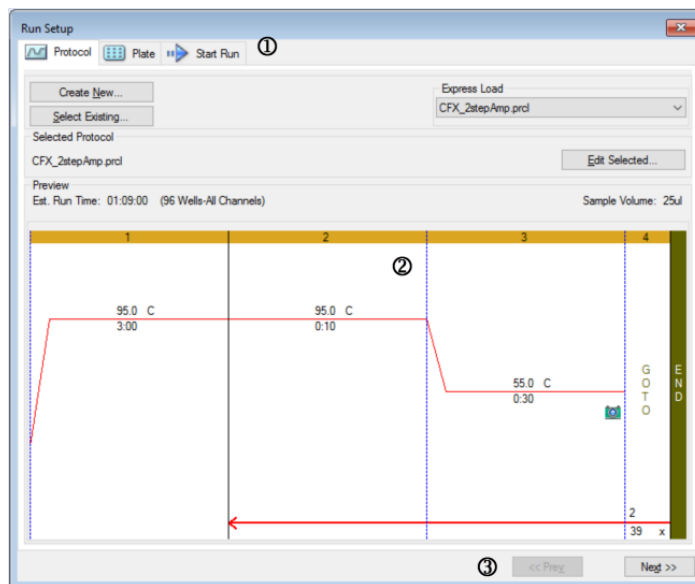
► Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:

- Cilnē Run Setup (Izpildes iestatīšana) vednī Startup Wizard (Startēšanas vednis) noklikšķiniet vai nu uz User-defined (Lietotāja definēta), vai uz PrimePCR.
- Loga Home (Sākums) rīkjoslā noklikšķiniet vai nu uz User-defined Run Setup (Lietotāja definēta izpildes iestatīšana), vai uz PrimePCR Run Setup (PrimePCR izpildes iestatīšana).
- Logā Home (Sākums) atlasiet vai nu Run > User-defined Run (Izpilde > Lietotāja definēta izpilde), vai arī Run > PrimePCR Run (Izpilde > PrimePCR izpilde).

Run Setup (Izpildes iestatīšana) logs

Run Setup (Izpildes iestatīšana) logs sniedz ātru piekļuvi failiem un iestatījumiem, kādi vajadzīgi, lai iestatītu un izpildītu eksperimentu. Kad izvēlaties izpildīt lietotāja definētu eksperimentu, atveras Run Setup (Izpildes iestatīšana) logs, kurā redzama cilne Protocol (Protokols). Kad izvēlaties izpildīt PrimePCR eksperimentu, atveras Run Setup (Izpildes iestatīšana) logs, kurā redzama cilne Start run (Sākt izpildi).

Padoms. Skatīt [PrimePCR eksperimentu veikšana 162. lpp.](#), lai iegūtu informāciju par PrimePCR; skatīt [Cilne Start Run \(Sākt izpildi\) 152. lpp.](#), lai iegūtu informāciju par cilni Start Run (Sākt izpildi).



APZĪMĒJUMI

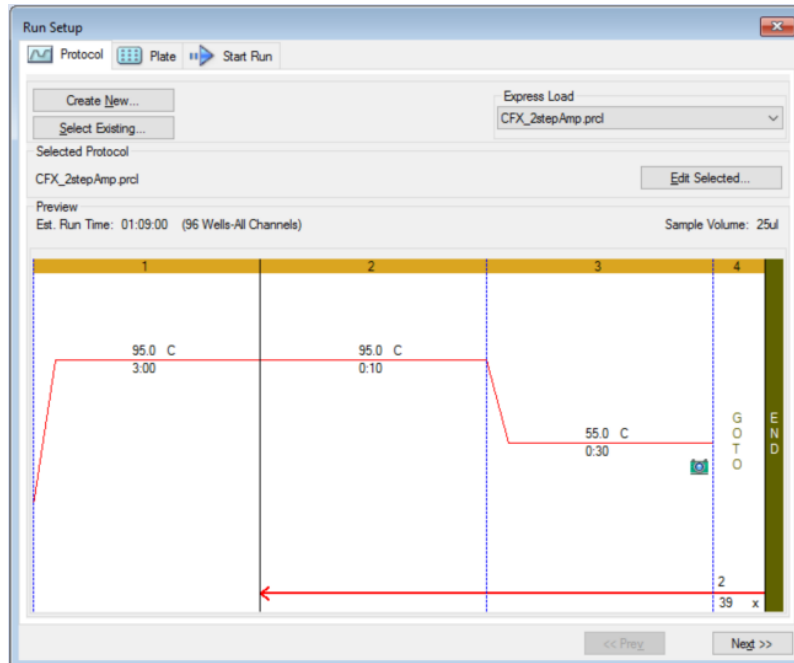
1. Cilnes jūs vada iestatīšanas un eksperimenta izpildes procesā:
 - Cilne Protocol (Protokols) — atlasiet izpildīšanai vai rediģēšanai esošu protokolu vai veidojiet jaunu protokolu rīkā Protocol Editor (Protokola redaktors).
 - Cilne Plate (Trauciņš) — atlasiet izpildīšanai vai rediģēšanai esošu trauciņu vai izveidojiet jaunu trauciņu rīkā Plate Editor (Trauciņa redaktors).
 - Cilne Start Run (Sākt izpildi) — skatiet eksperimenta iestatījumus, atlasiet vienu vai vairākus instrumentu blokus un sāciet izpildi.

2. Galvenajā logā tiek rādītas katras cilnes opcijas atbilstoši tam, kā jūs tās lietojat.

3. Navigācijas pogas jūs aizved līdz cilnei Start Run (Sākt izpildi).

Cilne Protocol (Protokols)

Cilnē Protocol (Protokols) tiek parādīts protokola fails, kuru plānojat izpildīt, priekšskatījums. Protokola fails satur norādījumus instrumenta temperatūras darbībām, kā arī instrumenta opcijām, kas ļauj kontrolēt izmaiņu ātrumu, parauga tilpumu un vāka temperatūru.



Programmatūra pēc noklusējuma parāda protokolu, kas definēts dialoglodziņā User > User Preferences (Lietotājs > Lietotāja preferences) cilnes Files (Faili) sadaļā File Selection for Run Setup (Faila atlase izpildes iestatīšanai). Jūs varat mainīt noklusējuma protokolu dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences). Papildinformāciju skatiet šeit [Noklusējuma failu iestatījumu maiņa 62. lpp.](#)

Cilnē Protocol (Protokols) jūs varat veikt tālāk norādīto.

- Jauna protokola izveide palaidei
- Atlasiet izpildīšanai vai rediģēšanai esošu protokolu.

Sīkāku informāciju par protokolu izveidi un pārveidošanu skat. [6. nodaļa, Protokolu izveide.](#)

Jauna protokola izveide

1. Cilnē Protocol (Protokols) noklikšķiniet uz Create New (Izveidot jaunu).
Parādīsies logs Protocol Editor (Protokola redaktors).
2. Izmantojiet rīku Protocol Editor (Protokola redaktors), lai izveidotu jaunu protokolu.
3. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu protokolu un atgrieztos dialoglodziņa Run Setup (Izpildes iestatīšana) cilnē Protocol (Protokols).
4. Skatiet protokola informāciju un veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Ja informācija ir pareiza, noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai dotos uz cilni Plate (Trauciņš).
 - Ja informācija nav pareiza, noklikšķiniet uz Edit Selected (Rediģēt atlasīto), lai atgrieztos logā Protocol Editor (Protokola redaktors). Pārskatiet protokolu, saglabājiet izmaiņas un tad cilnē Protocol (Protokols) noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai dotos uz cilni Plate (Trauciņš).

Esoša protokola atlase

1. Cilnē Protocol (Protokols) veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Noklikšķiniet uz Select Existing (Atlasīt esošo) un navigējiet uz esošo protokolu.
 - Noklikšķiniet uz Express Load (Izteikt slodzi) un protokolu nolaižamajā sarakstā atlasiet protokolu.
Padoms. Jūs varat pievienot protokolus vai noņemt tos nolaižamajā sarakstā Express Load (Izteikt slodzi). Sīkāku informāciju skat. nākamajā sadaļā [Ekspresielādes protokolu pievienošana un noņemšana](#).
2. Skatiet protokola informāciju un veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Ja informācija ir pareiza, noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai dotos uz cilni Plate (Trauciņš).
 - Ja informācija nav pareiza, noklikšķiniet uz Edit Selected (Rediģēt atlasīto), lai atvērtu logu Protocol Editor (Protokola redaktors). Pārskatiet protokolu, saglabājiet izmaiņas un tad cilnē Protocol (Protokols) noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai dotos uz cilni Plate (Trauciņš).

Ekspresielādes protokolu pievienošana un noņemšana

Nolaižamā saraksta Express Load (Ekspresielāde), kas parādās logā Protocol Editor (Protokola redaktors), saturu var modificēt. Protokoli, kas redzami šajā sarakstā, ir saglabāti šādā mapē:

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

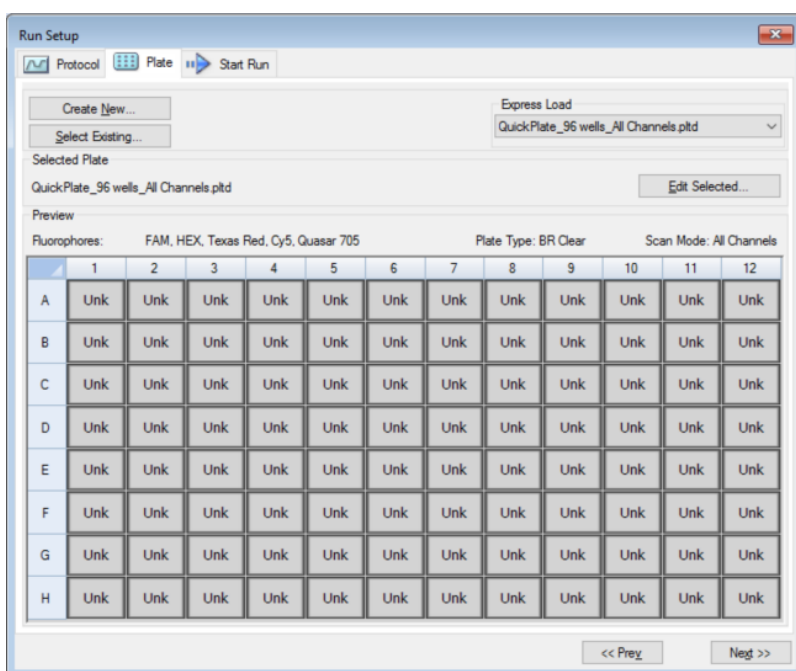
Protokolu saraksta Express Load (Ekspresielāde) modificēšana

1. Navigējiet uz mapi ExpressLoad (Ekspresielāde) un atveriet to.
2. Pārskatiet mapē esošos protokolu failus (.pcri).
3. Veiciet kādu no norādītajām darbībām.
 - Lai noņemtu protokolus no nolaižamā saraksta, izdzēsiet tos no mapes.
 - Lai pievienotu protokolus nolaižamajam sarakstam, kopējiet tos mapē.

Cilne Plate (Trauciņš)

Piezīme. Ja cilnē Protocol (Protokols) atlasītais protokols neietver trauciņa nolasīšanas darbību reāllaika PCR analīzei, cilne Plate (Trauciņš) ir paslēpts. Lai skatītu cilni Plate (Trauciņš), protokolam pievienojiet vismaz vienu trauciņa nolasīšanu.

Cilnē Plate (Trauciņš) tiek parādīts trauciņa fails, kuru plānojat ielādēt, priekšskatījums. Reāllaika PCR izpildes laikā trauciņa fails satur katras iedobes satura aprakstu, tostarp par tā fluoroforiem, skenēšanas režīmu un trauciņa veidu. CFX Manager Dx programmatūra izmanto šos aprakstus datu vākšanai un analīzei.



Programmatūra pēc noklusējuma parāda trauciņu, kas definēts dialoglodziņa User > User Preferences (Lietotājs > Lietotāja preferences) cilnes Files (Faili) sadaļā File Selection for Run Setup (Faila atlase izpildes iestatīšanai). Jūs varat mainīt noklusējuma trauciņu dialoglodziņā User Preference (Lietotāja preferences). Papildinformāciju skatiet šeit [Noklusējuma failu iestatījumu maiņa 62. lpp.](#)

Cilnē Plate (Trauciņš) jūs varat veikt tālāk norādīto.

- Izveidot jaunu trauciņu ielādei.
- Atlasīt esošo trauciņu ielādei vai rediģēšanai.

Sīkāku informāciju par trauciņu izveidi un pārveidošanu skat. [7. nodaļa, Trauciņu sagatavošana.](#)

Jauna trauciņa izveide

1. Cilnē Plate (Trauciņš) noklikšķiniet uz Create New (Izveidot jaunu).
Parādīsies rīks Plate Editor (Trauciņa redaktors).
2. Izmantojiet rīku Plate Editor (Trauciņa redaktors), lai izveidotu jaunu trauciņu.
3. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu trauciņu un atgrieztos dialoglodziņa Run Setup (Izpildes iestatīšana) cilnē Plate (Trauciņš).
4. Skatiet informāciju par trauciņu un veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Ja informācija ir pareiza, noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai dotos uz cilni Start Run (Sākt izpildi).
 - Ja informācija nav pareiza, noklikšķiniet uz Edit Selected (Rediģēt atlasīto), lai atgrieztos rīkā Plate Editor (Trauciņa redaktors). Pārskatiet trauciņa failu, saglabājiet izmaiņas un tad cilnē Plate (Trauciņš) noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai dotos uz cilni Start Run (Sākt izpildi).

Esošā trauciņa faila atlasīšana

1. Cilnē Plate (Trauciņš) veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Noklikšķiniet uz Select Existing (Atlasīt esošo) un navigējiet uz esošo trauciņa failu.
 - Noklikšķiniet uz Express Load (Izteikt slodzi) un nolaižamajā sarakstā atlasiet trauciņa failu.
Padoms. Jūs varat pievienot trauciņus vai noņemt tos nolaižamajā sarakstā Express Load (Izteikt slodzi). Sīkāku informāciju skat. nākamajā sadaļā [Ekspresielādes trauciņu failu pievienošana un noņemšana](#).
2. Skatiet informāciju par trauciņu un veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Ja informācija ir pareiza, noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai dotos uz cilni Start Run (Sākt izpildi).
 - Ja informācija nav pareiza, noklikšķiniet uz Edit Selected (Rediģēt atlasīto), lai atvērtu logā Plate Editor (Trauciņa redaktors). Pārskatiet trauciņa failu, saglabājiet izmaiņas un tad noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai dotos uz cilni Start Run (Sākt izpildi).

Ekspresielādes trauciņu failu pievienošana un noņemšana

Nolaižamā saraksta Express Load (Ekspresielāde), kas parādās logā Plate Editor (Trauciņa redaktors), saturu var modificēt. Trauciņi, kas redzami šajā sarakstā, ir saglabāti šādā mapē:

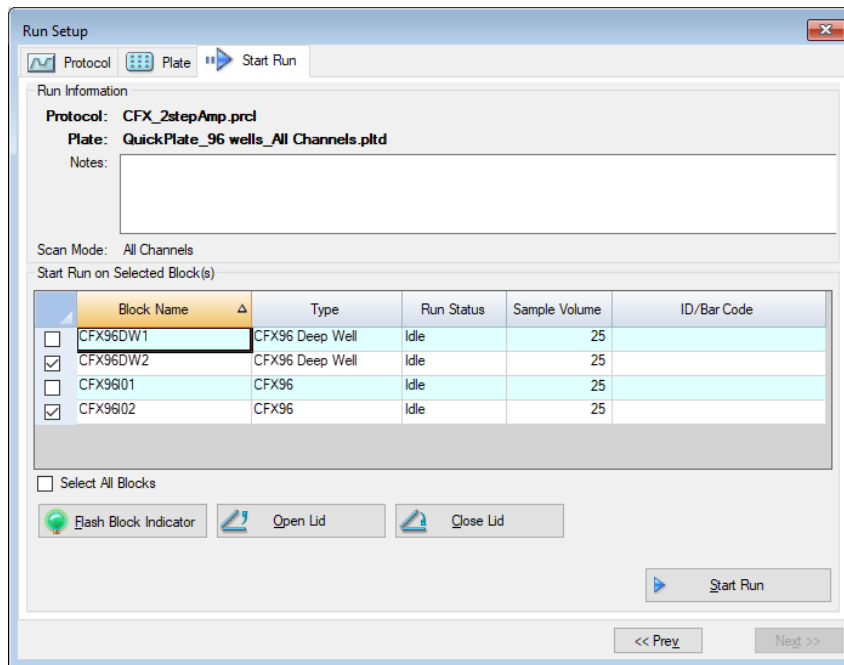
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\

Trauciņu failu saraksta Express Load (Ekspresielāde) modificēšana

1. Navigējiet uz mapi ExpressLoad (Ekspresielāde) un atveriet to.
2. Pārskatiet mapē esošos trauciņu failus (.pltd).
3. Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Lai noņemtu trauciņu failus no nolaižamā saraksta, izdzēsiet tos no mapes.
 - Lai pievienotu trauciņu failus nolaižamajam sarakstam, kopējiet tos mapē.

Cilne Start Run (Sākt izpildi)

Cilnē Start Run (Sākt izpildi) redzama informācija par izpildāmo eksperimentu. Tur redzams arī pievienotais instrumentu bloks vai bloki, kuros varat izpildīt eksperimentu.



Cilnē Start Run (Sākt izpildi) jūs varat veikt tālāk norādītās darbības.

- Skatīt sīku izpildes informāciju, tostarp atlasīto protokola failu, trauciņa failu un skenēšanas režīmu.
- Pievienot piezīmes par izpildi.
- Skatīt informāciju par visiem pievienotajiem instrumentiem, tostarp to izpildes statusu (darbojas vai ir neaktīvs), parauga tilpumu (μ l), vāka temperatūru (vāka temperatūra, emulācijas režīmu un ID or svītrkodu, ja pieejams).

Piezīme. Kolonnas, kas parādās tabulā Start Run on Selected Block(s) (Sākt izpildi atlasītajā (-os) blokā(-os), var modificēt. Informāciju skat [Datu modificēšana tabulā Selected Blocks \(Atlasītie bloki\) 153. lpp.](#)

- Atlasiet bloku vai blokus, kam) veikt izpildi.
- Attālināti atveriet vai aizveriet katra atlasītā instrumenta vāku.
- Sāciet izpildi.

Datu modificēšana tabulā Selected Blocks (Atlasītie bloki)

Kolonnas, kas parādās tabulā Start Run on Selected Block(s) (Sākt izpild atlasītajā(-os) blokā(-os)), var modificēt. Var modificēt arī noklusējuma parauga tilpuma un vāka temperatūras vērtības tabulā. Izmaiņas iestatījumos tiek lietotas izpildē, kas tiks veikta.

Kolonnu pievienošana tabulā Start Run on Selected Blocks (Sākt izpild atlasītajā(-os) blokā(-os))

- ▶ Ar peles labo pogu noklikšķiniet tabulā un atlasiet opciju parādītajā izvēlnē.

Kolonnu noņemšana tabulā Start Run on Selected Blocks (Sākt izpild atlasītajā(-os) blokā(-os))

- ▶ Ar peles labo pogu noklikšķiniet tabulā un notīriet opciju parādītajā izvēlnē.

Parauga tilpuma vai vāka temperatūras vērtību rediģēšana blokā

- ▶ Atlasiet mērķa bloka parauga tilpuma vai vāka temperatūras šūnu un ierakstiet šūnā jaunu vērtību.

Izpildes ID vai svītrkoda pievienošana attiecībā uz bloku

- ▶ Atlasiet mērķa bloka šūnu ID/Bar Code (ID/Svītrkods) un ierakstiet ID vai skenējiet bloku ar svītrkodu lasītāju.

Eksperimenta izpilde

Svarīgi! Pirms eksperimenta izpildes pārliecinieties, vai jūsu datora antivīrusu programmatūra izpildes laikā neuzsāks skenēšanu.

Eksperimenta izpilde

1. Cilnē Start Run (Sākt izpildi) pārliecinieties par trauciņa un protokola datiem sadaļā Run Information (Informācija par izpildi).
2. (Papildiespēja) Pievienojiet piezīmes par izpildi vai eksperimentu tekstlodziņā Notes (Piezīmes).
3. Ielieciet atzīmi viena vai vairāku bloku izvēles rūtiņā, ar kuriem veikt izpildi.

Padoms. Lai eksperimentu izpildītu visos blokos, atlasiet Select All Blocks (Atlasīt visus blokus), kas atrodas zem tabulas Selected Blocks (Atlasītie bloki).

4. (Papildiespēja) Noklikšķiniet uz Flash Block Indicator (Bloka indikators mirgo), lai LED indikators uz atlasītajiem instrumentu blokiem mirgotu.

5. Ievietojiet blokā eksperimenta trauciņus:
 - a. Noklikšķiniet uz Open Lid (Atvērt vāku). Atveras katra atlasītā bloka motorizētais vāks.
 - b. Ievietojiet eksperimenta bloku katrā atlasītajā blokā.
 - c. Noklikšķiniet uz Close Lid (Aizvērt vāku).

Padoms. Lai atvērtu un aizvērtu vāku, var arī nospiegt pogu katra bloka priekšpusē.
6. Noklikšķiniet Open Lid (Atvērt vāku) un Close Lid (Aizvērt vāku), lai atvērtu un aizvērtu katra atlasītā instrumentu bloka motorizēto vāku.
7. Skatiet izpildes datus un veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Ja dati ir pareizi, noklikšķiniet uz Start Run (Sākt izpildi).
 - Ja dati nav pareizi:
 - Koriģējiet datus tabulā Selected Blocks (Atlasītie bloki) un pēc tam noklikšķiniet uz Start Run (Sākt izpildi).
 - Atgriezieties, lai koriģētu cilni, un veiciet attiecīgās izmaiņas, saglabājiet izmaiņas un tad noklikšķiniet uz Next (Tālāk), lai atgrieztos cilnē Start Run (Sākt izpildi) un izpildi palaistu.

Jaunas izpildes sākšana no iepriekšējās izpildes

- ▶ Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Atlasiet File > Repeat a Run (Fails > Atkārtot izpildi) galvenajā programmatūras izvērņu joslā; navigējiet uz datu failu, ko vēlaties atkārtot, un veiciet uz tā dubultklikšķi.
 - Atlasiet cilni Repeat Run (Atkārtot izpildi) Startup Wizard (Startēšanas vednis) un veiciet dubultklikšķi uz tās izpildes datu faila, ko vēlaties atkārtot.

Pēc izvēles cilnē Repeat Run (Atkārtot izpildi) varat noklikšķināt uz Browse (Pārlūkot) un navigēt uz tās izpildes datu failu, ko vēlaties atkārtot, un veikt uz tā dubultklikšķi.

Dialoglodziņš Run Details (Izpildes dati)

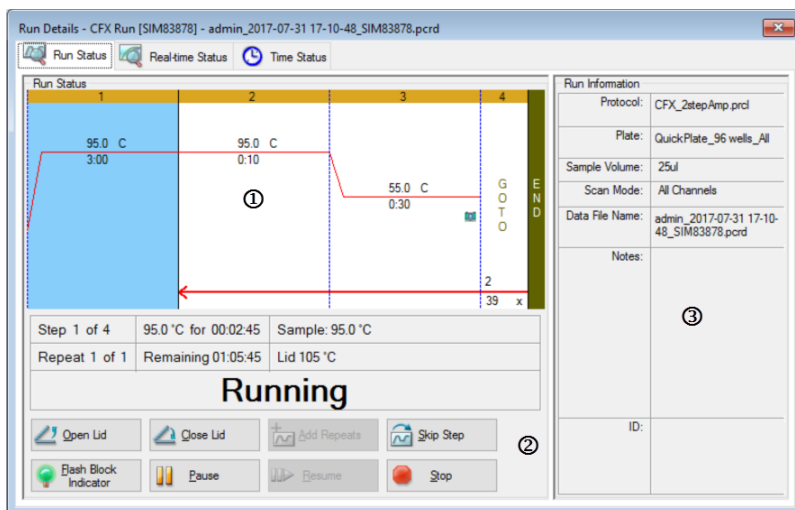
Kad noklikšķināt uz Start Run (Sākt izpildi), CFX Manager Dx programmatūra jūs aicina saglabāt datu failu (.pcrd), palaiž izpildi un atver dialoglodziņu Run Details (Izpildes dati). Dialoglodziņu Run Details (Izpildes dati) veido trīs statusa cilnes:

- **Run Status (Izpildes statuss)** — lietojiet šo cilni, lai skatītu protokola pašreizējo statusu, atvērtu vai aizvērtu vāku, pauzētu izpildi, pievienotu atkārtojumus, izlaistu darbības vai apturētu izpildi.
- **Real-time Status (Reāllaika statuss)** — lietojiet šo cilni, lai skatītu reāllaika PCR fluorescences datus to vākšanas procesā.
- **Time Status (Laika statuss)** — lietojiet šo cilni, lai skatītu pilnekrāna laika atpakaļskaitīšanas taimeri attiecībā uz konkrēto protokolu.

Detalizēts šo cilņu skaidrojums ir sniegts turpmākajās sadaļās.

Cilne Run Status (Izpildes statuss)

Cilnē Run Status (Izpildes statuss) tiek parādīts notiekošās izpildes pašreizējais statuss. Tāpat šajā skatā jūs varat kontrolēt vāku un mainīt notiekošo izpildi.



APZĪMĒJUMI

1. Rūts Run Status (Izpildes statuss) — parāda pašreizējo protokola izpildes gaitu.
2. Vadīklas Run Status (Izpildes statuss) — ļauj darbināt instrumentu vai pārtraukt pašreizējā protokola izpildi.
3. Rūts Run Information (Informācija par izpildi) — parāda izpildes datus.

Cilnes Run Status (Izpildes statuss) komandas

Izmantojiet cilnē Run Status (Izpildes statuss) pieejamās komandas, lai ar programmatūras palīdzību darbinātu instrumentu vai mainītu notiekošo izpildi.

Piezīme. Izmaiņu veikšana protokolā, piemēram, atkārtojumu pievienošana, izpildes laikā nemaina ar izpildi saistīto protokola failu. Šīs darbības tiek reģistrētas Run Log (Izpildes žurnāls).



— atver atlasīto instrumentu motorizētos vākus.

Svarīgi! Vāka atvēršana izpildes laikā aptur izpildi esošajā darbībā un var mainīt datus.



— aizver atlasīto instrumentu motorizētos vākus.



— pievieno vairāk atkārtojumu pašreizējai GOTO darbībai protokolā. Šī opcija ir pieejama tikai tad, kad tiek izpildīta GOTO darbība.



— izlaiž pašreizējo darbību protokolā.

Piezīme. Ja izlaidīsiet GOTO darbību, programmatūra aicina apstiprināt, ka vēlaties izlaist visu GOTO cilpu un turpināt ar protokola nākamo darbību.



— liek mirgot LED atlasītajam instrumentam, lai identificētu atlasītos blokus.



— pauzē protokolu.

Piezīme. Šī darbība tiek reģistrēta Run Log (Izpildes žurnāls).



— atsāk pauzētā protokola izpildi.

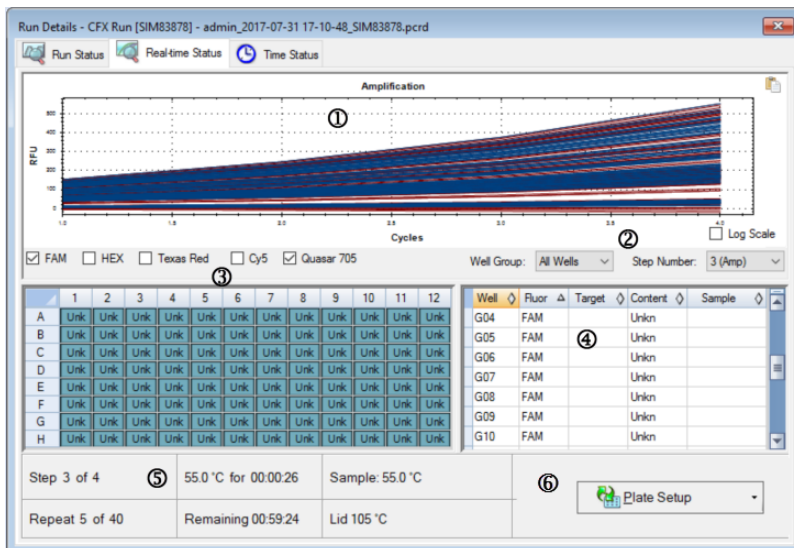


— aptur izpildi pirms protokola beigām.

Piezīme. Apturot izpildi pirms protokola beigām, var tikt mainīti dati.

Cilne Real-time Status (Reāllaika statuss)

Cilne Real-time Status (Reāllaika statuss) rāda reāllaika PCR datus, kas savākti katrā ciklā izpildes laikā pēc pirmajiem diviem trauciņu nolasījumiem.



APZĪMĒJUMI

1. Amplification trace pane (Amplifikācijas trasējumu rūts) — rāda reāllaika amplifikācijas datus izpildes laikā.
2. Well group identifier (Iedobju grupu identifikators) — ja iedobju grupas ir identificētas trauciņa iestatījumā, lietotāji var atlasīt konkrētu iedobes grupu, lai skatītu tās trasējumus, iedobes un tabulāro informāciju.
Step number identifier (Darbību skaita identifikators) — ja protokols vāc datus vairāk nekā vienā darbībā (piemēram, amplifikācijas un kušanas līknes laikā), lietotāji var atlasīt konkrētu darbību un skatīt šajā darbībā savāktos trasējumus.
3. Rūts Well selector (Iedobju atlasītājs) — rāda aktīvās, neaktīvās un tukšās iedobes trauciņā.
4. Rūts Plate setup table (Trauciņa iestatīšanas tabula) — rāda trauciņa iestatīšanu tabulas formātā.

5. Rūts Run details (Izpildes dati) — rāda izpildes reāllaika statusu, ieskaitot šādus vienumus:
 - Current step (Pašreizējā darbība)
 - Current repeat (Pašreizējais atkātojums)
 - Current temperature (Pašreizējā temperatūra)
 - Time remaining (Atlikušais laiks)
 - Sample temperature (Parauga temperatūra)
 - Lid temperature (Vāka temperatūra)

6. Plate Setup (Trauciņa iestatīšana) — atver dialoglodziņu Plate Setup (Trauciņa iestatīšana), kurā lietotāji var modificēt pašreizējos trauciņa iestatījumus izpildes laikā.

Cilne Real-time Status (Reāllaika statuss) jūs varat veikt tālāk norādīto.

- Rādīt vai paslēpt reāllaika trasējumus, atlasot tos iedobju atlasītāja rūtī vai trauciņa iestatīšanas tabulā.
- Skatīt atsevišķu trasējumu vai trasējumu grupas, atlasot tās iedobju grupu nolaižamajā sarakstā.
- Rediģēt trauciņu vai nomainīt trauciņa failu.
- Lietot izpildē PrimePCR failu.

Reāllaika trajektoriju rādīšana un paslēpšana

Visas piepildītās iedobes pēc noklusējuma ir aktīvas un parādās trauciņa iestatīšanas tabulā. Aktīvās iedobes iedobju atlasītāja rūtī parādās zilā krāsā. Iedobju atlasītāja rūtī paslēptās iedobes parādās gaiši pelēkā krāsā, un neizmantotās iedobes parādās tumši pelēkā krāsā.

Izpildes laikā varat paslēpt trajektorijas no aktīvajām iedobēm. CFX Manager Dx turpina vākt datus par visiem datiem; kad paslēpjat iedobes, to dati neparādās trauciņa iestatīšanas tabulā.

Reāllaika trajektoriju paslēpšana

- ▶ Iedobju atlasītāja rūtī noklikšķiniet uz aktīvajām (zilajām) iedobēm, kuras vēlaties paslēpt.

Reāllaika trajektoriju rādīšana

- ▶ Iedobju atlasītāja rūtī noklikšķiniet uz paslēptajām (gaiši pelēkajām) iedobēm, kurus vēlaties parādīt.

Sīkāku informāciju par iedobju atlasītāju skat. [Iedobju atlasītājs 176. lpp.](#)

Trauciņa iestatījuma rediģēšana

Trauciņa iestatījuma rediģēšana

- ▶ Noklikšķiniet uz Plate Setup (Trauciņa iestatīšana) un tad atlasiet View/Edit Plate (Skatīt/Rediģēt trauciņu).

Parādās logs Plate Editor (Trauciņa redaktors), kurā var rediģēt trauciņu, kamēr notiek izpilde. Papildu informāciju par trauciņu rediģēšanu skatīt [7. nodaļa, Trauciņu sagatavošana](#)

Piezīme. No loga Plate Editor (Trauciņa redaktors) varat rediģēt arī trasējumu stilus. Izmaiņas parādās amplifikācijas trasējumu plānā cilnē Real-time Status (Reāllaika statuss).

Trauciņa faila nomainīšana

Padoms. Trauciņa faila nomainīšana ir īpaši noderīga, ja izpildi sākat ar failu Quick Plate (Ātrais trauciņš) mapē Express Load (Ekspresielāde).

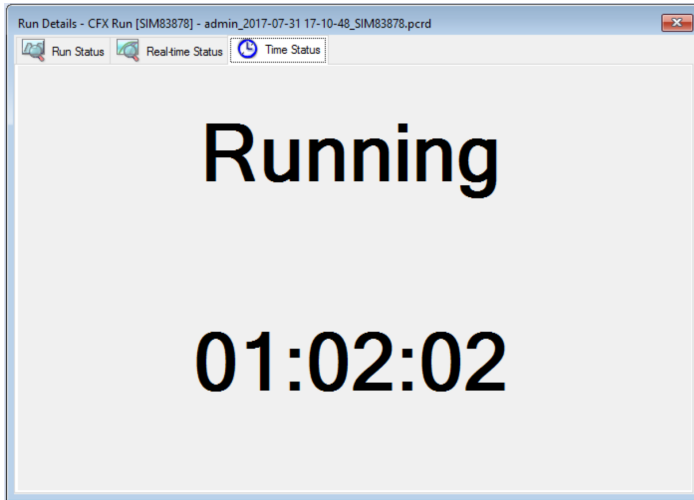
Trauciņa faila nomainīšana

- ▶ Noklikšķiniet uz Plate Setup (Trauciņa iestatīšana) un atlasiet vienu no tālāk norādītajām opcijām.
 - Replace Plate File (Nomainīt trauciņa failu) — atlasiet jaunu trauciņa failu pārlūkprogrammas logā
 - Apply PrimePCR file (Lietot PrimePCR failu) — meklējiet izpildes failu, no kura ar viedās meklēšanas palīdzību tiks iegūts trauciņu izkārtojums, vai noklikšķiniet uz Browse (Pārlūkot), lai atrastu failu, kuru lejupielādējāt no Bio-Rad tīmekļa vietnes un kas neatrodas PrimePCR mapē

Piezīme. CFX Manager Dx pārbauda trauciņa faila skenēšanas režīmu un trauciņa lielumu. Tiem jābūt tādiem pašiem kā izpildes iestatījumiem, ar kuriem tika sākta izpilde.

Time Status (Laika statuss) cilne

Time Status (Laika statuss) cilne rāda laiku, kāds atlicis līdz pašreizējās izpildes pabeigšanai.



PrimePCR eksperimentu veikšana

PrimePCR eksperimentiem tiek izmantots ceļš vai slimībām specifiski testi, kurus Bio-Rad ir validējis praktiskajos eksperimentos un optimizējis. Tie ir pieejami tālāk norādītajos formātos.

- Iepriekš pārklāti paneli — trauciņi, kas satur testus, kuri ir specifiski bioloģiskajam ceļam vai slimībai; tie ietver PrimePCR kontroles materiālus un atsaucē gēnus.
- Individuāli konfigurēti trauciņi — trauciņi, kurus var iestatīt lietotāja definētajā izkārtojumā ar opciju izvēlēties testus interesējošajiem mērķiem, kontroles materiāliem un atsaucēm.
- Atsevišķi testi — mēģenes, kas satur atsevišķus praimera komplektus izmantošanai reāllaika reakcijās.

Lai samazinātu vispārējo izpildes laiku, jūs protokolā varat noņemt kušanas darbību. Bio-Rad stingri iesaka neveikt nekādas citas modifikācijas ar PrimePCR izpildes protokolu. Noklusējuma protokols ir protokols, kas tika izmantots testa validācijai. Jebkāda novirze no tā var ietekmēt rezultātus. Protokola izmaiņas ir atzīmētas iegūto datu faila cilnē Run Information (Informācija par izpildi) un visās izveidotajās atskaitēs.

PrimePCR izpildes sākšana

- ▶ Lai sāktu PrimePCR izpildi, veiciet jebkuru no tālāk minētajām darbībām.
 - Dialoglodziņa Startup Wizard (Startēšanas vednis) cilnē Run Setup (Izpildes iestatīšana) atlasiet PrimePCR un tad atlasiet atbilstošo ķīmisko analīzi (SYBER vai ģscauruli).
 - Dialoglodziņa Startup Wizard (Startēšanas vednis) cilnes Repeat Run (Atkārtot izpildi) sarakstā Recent Runs (Nesenās izpildes) atlasiet PrimePCR izpildi.
 - Logā Home (Sākums) atlasiet File > New > PrimePCR Run File (Fails > Jauns > PrimePCR izpildes fails).
 - Logā Home (Sākums) atlasiet File > Open > PrimePCR Run File (Fails > Atvērt > PrimePCR izpildes fails).
 - Velciet un nometiet PrimePCR izpildes failu logā Home (Sākums).

Pēc PrimePCR atlasē cilnē Start Run (Sākt izpildi) atveras logs Run Setup (Izpildes iestatīšana) ar noklusējuma PrimePCR trauciņu izkārtojumu, kas ielādēts, balstoties uz atlasīto instrumentu.

Kušanas darbības noņemšana protokolā

- ▶ Cilnē Protocol (Protokols) notīriet lodziņu blakus opcijai Include Melt Step (Iekļaut kušanas darbību).

Mērķa informācijas importēšana PrimePCR trauciņiem trauciņu izkārtojumā

1. Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Dialoglodziņa Run Details (Izpildes dati) cilnē Real-time Status (Reāllaika statuss) atlasiet Plate Setup > Apply PrimePCR File (Trauciņa iestatīšana > Lietot PrimePCR failu).
 - Logā Data Analysis (Datu analīze) atlasiet Plate Setup > Apply PrimePCR File (Trauciņa iestatīšana > Lietot PrimePCR failu).
 2. PrimePCR izpildes faila dialoglodziņā noklikšķiniet uz Browse (Pārlūkot), lai navigētu uz atbilstošo PrimePCR failu (.csv).
 3. Atlasiet mērķa PrimePCR failu un noklikšķiniet uz Open (Atvērt).
- CFX Manager Dx importē mērķa informāciju trauciņu izkārtojumā.

8. nodaļa. Eksperimentu veikšana

9. nodaļa. Pārskats par datu analīzi

CFX Manager Dx piedāvā vairākas datu failu atvēršanas un skatīšanas metodes. Jūs varat veikt tālāk norādīto.

- Logā Home (Sākums) atlasiet File > Open > Data File (Fails > Atvērt > Datu fails) un pārlūkojiet, lai atrastu mērķa .pcrd failu.
- Logā Home (Sākums) atlasiet File > Recent Data Files (Fails > Nesenie datu faili), lai izvēlētos kādu no desmit pēdējiem atvērtajiem datu failiem.

Logs Data Analysis (Datu analīze)

Logā Data Analysis (Datu analīze) tiek parādītas vairākas cilnes; katrā cilnē tiek rādīti analizētie dati konkrētai analīzes metodei vai izpildei specifiska informācija. Cilnes parādās tikai tad, ja izpildes laikā savāktie dati ir pieejami attiecīgajam analīzes veidam.



Padoms. Lai izvēlētos parādāmās cilnes, atlasiet tās nolaižamajā izvēlnē View (Skatīt) logā Data Analysis (Datu analīze). Lai atgrieztos sākotnējā cilņu izkārtojumā, atlasiet Settings > Restore Default Window Layout (Iestatījumi > Atjaunot noklusējuma loga izkārtojumu).

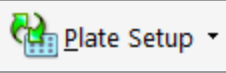

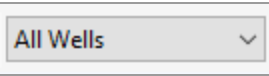
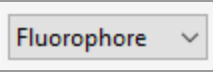

Datu analīzes rīkjosla

Rīkjosla logā Data Analysis (Datu analīze) nodrošina ātru piekļuvi svarīgām datu analīzes funkcijām.



15. tabula ir uzskaitītas rīkjoslas pogu funkcijas.

15. tabula. Rīkjosla logā Data Analysis (Datu analīze)

Poga	Nosaukums	Funkcija
	Plate Setup (Trauciņa iestatīšana)	View/Edit plate (Skatīt/rediģēt trauciņu): atver rīku Plate Editor (Trauciņa redaktors), lai skatītu unrediģētu iedobes saturu. Replace Plate file (Nomainīt trauciņa failu): atlasa trauciņa failu trauciņu izkārtojuma nomainīšanai. Apply PrimePCR file (Lietot PrimePCR failu): atlasa izpildes failu, lai nomainītu trauciņu izkārtojumu PrimePCR izpildei.
	Iedobju grupu pārvaldīšana	Atver logu Well Groups Manager (Iedobju grupu pārvaldnieks), lai izveidotu, rediģētu un dzēstu iedobju grupas.
	Iedobju grupa	Nolaižamajā izvēlnē atlasa esošās iedobju grupas nosaukumu. Pēc noklusējuma ir atlasīta opcija All Wells (Visas iedobes). Šī poga parādās tikai tad, kad ir izveidotas iedobju grupas.
	Analīzes režīms	Analizē datus režīmā Fluorophore (Fluorofors) vai režīmā Target (Mērķis).
	Palīdzība	Atver šīs rokasgrāmatas digitālo versiju Acrobat PDF formātā.

Izvēlņu josla Data Analysis (Datu analīze)

16. tabula ir uzskaitīti izvēlņu joslas vienumi, kas redzami logā Data Analysis (Datu analīze).

16. tabula. Izvēlņu joslas vienumi logā Data Analysis (Datu analīze)

Izvēlnes vienums	Komanda	Funkcija
File (Fails)	Save (Saglabāt)	Saglabā failu.
	Save As (Saglabāt kā)	Saglabā failu ar jaunu nosaukumu.
	Repeat Run (Atkārtot izpildi)	Izvelk protokolu un trauciņa failu no esošās izpildes un veic atkārtotu izpildi.
	Close (Aizvērt)	Aizver logu Data Analysis (Datu analīze).
View (Skatīt)	Run Log (Izpildes žurnāls)	Atver logu Run Log (Izpildes žurnāls), lai skatītu esošā datu faila izpildes žurnālu.
	Quantification (Kvantitatīvā noteikšana), Melt Curve (Kušanas līkne), Gene Expression (Gēnu ekspresija), End Point (Galamērķis), Custom Data View (Pielāgota datu skatīšana), QC (KK), Run Information (Izpildes informācija)	Loga Data Analysis (Datu analīze) atlasītajās cilnēs parāda analizētos datus. Jāatlasa vismaz viena cilne.
Settings (Iestatījumi)	C _q Determination Mode (C _q noteikšanas režīms)	Atlasiet režīmu Regression (Regresija) vai režīmu Single Threshold (Atsevišķa sliekšņa vērtība), lai noteiktu, kā katrai trajektorijai tiek aprēķinātas C _q vērtības.
	Baseline Setting (Bāzlīnijas iestatījums)	Atlasītajām iedobju grupām atlasiet metodi Baseline Subtraction (Bāzlīnijas atņemšana).
	Analysis Mode (Analīzes režīms)	Atlasiet, lai analizētu datus pēc Fluorophore (Fluorofors) vai Target (Mērķis).

16. tabula. Izvēlņu joslas vienumi logā Data Analysis (Datu analīze), turpinājums

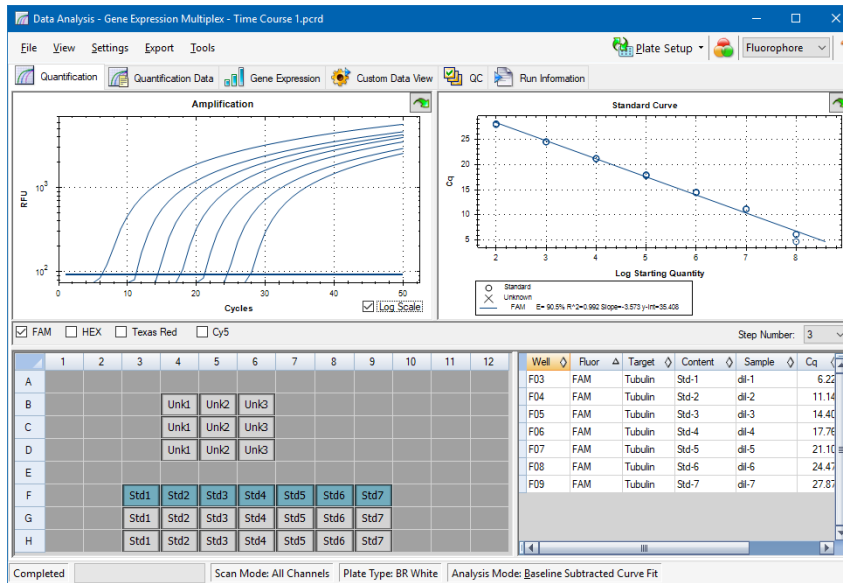
Izvēlnes vienums	Komanda	Funkcija
	Cycles to Analyze (Analizējamie cikli)	Atlasiet analizējamos ciklus.
	Baseline Threshold (Bāzlīnijas sliekšņa vērtības)	Atver logu Baseline Threshold (Bāzlīnijas sliekšņa vērtības), lai pielāgotu bāzes līniju vai sliekšņa vērtību.
	Trace Styles (Trajektorijas stili)	Atver logu Trace Styles (Trajektorijas stili).
	Plate Setup (Trauciņa iestatīšana)	Atver rīku Plate Editor (Trauciņa redaktors), lai skatītu un rediģētu trauciņu; nomainiet esošo trauciņu pret trauciņu no lietotāja definētā trauciņa faila vai PrimePCR izpildes faila.
	Include All Excluded Wells (Iekļaut visas izslēgtās iedobes)	Iekļauj analizē visas izslēgtās iedobes.
	Mouse Highlighting (Kursora izcelšana)	Ieslēdz vai izslēdz vienlaicīgu datu izcelšanu ar peles rādītāja palīdzību. Padoms. Ja komanda Mouse Highlighting (Kursora izcelšana) ir izslēgta, nospiediet kontroles taustiņu, lai īslaicīgi ieslēgtu izcelšanu.
	Restore Default Window Layout (Atjaunot noklusējuma loga izkārtojumu)	Atjauno logu kārtošanas noklusējuma iestatījumu.

16. tabula. Izvēlņu joslas vienumi logā Data Analysis (Datu analīze), turpinājums

Izvēlnes vienums	Komanda	Funkcija
Export (Eksports)	Export All Data Sheets to Excel (Eksportēt visas datu lapas programmā Excel)	Eksportē visus izklājlapu skatus no katras cilnes atsevišķā Excel failā.
	Custom Export (Pielāgots eksports)	Atver logu Custom Export (Pielāgots eksports), kurā jāeksportē lauki un kur var norādīt faila formātu.
	Export to LIMS Folder (Eksportēt uz LIMS mapi)	Atver logu, lai iepriekš noteiktā formātā saglabātu datus LIMS mapē.
	Seegene Export (Seegene eksports)	Atver logu, lai identificētu vietu datu no visiem izklājlapu skatiem saglabāšanai Excel failos, kas īpaši strukturēti Seegene, Inc vajadzībām.
Tools (Rīki)	Reports (Atskaites)	Atver šī datu faila atskaiti.
	Well Group Reports (Atskaites par iedobju grupām)	Atver logu Well Group Report (Atskaite par iedobju grupu), lai ģenerētu atskaites par norādītajām iedobju grupām.
	Import Fluorophore Calibration (Importēt fluorofora kalibrēšanu)	Atlasiet kalibrācijas failu, lai lietotu esošo datu failu.
	qbase+	Palaiž qbase+ v2.5 tieši no esošā .pcrd faila, ja tas ir instalēts.

Ciļņu informācija

Katras loga Data Analysis (Datu analīze) cilnes diagrammās un izklājlappās tiek parādīti konkrētas analīzes metodes dati, un tas ietver iedobju atlasītāju, lai atlasītu datus, kurus vēlaties rādīt. Kad tā tiek atvērta, logā Data Analysis (Datu analīze) pēc noklusējuma tiek parādīta cilne Quantification (Kvantitatīvā noteikšana). Jūs varat izmantot diagrammas Amplifikācijadatus cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana), lai noteiktu atbilstošos analīzes iestatījumus izpildei.



Piezīme. Programmatūra saista datus katras cilnes Data Analysis (Datu analīze) rūtīs. Piemēram, iedobes izcelšana iedobju atlasītāja skatā, novietojot peles rādītāju virs iedobes, izceļ datus visās pārējās rūtīs.

Opcijas Step Number (Darbības numurs) atlasītājs

CFX96 un CFX96 Deep Well sistēmas var iegūt fluorescences datus vairākās protokola darbībās; programmatūra uztur datus, kas neatkarīgi iegūti katrā darbībā. Programmatūrā tiek parādīts opcijas Step Number (Darbības numurs) atlasītājs. Kad protokols satur vismaz vienu datu vākšanas darbību, CFX Manager Dx software parāda datus no pirmās vākšanas darbības.

Ja protokols satur vairāk nekā vienu vākšanas darbību, jūs nolaižamajā sarakstā varat atlasīt vēl vienu darbību, piemēram:

Step Number: ▼

Atlasot darbību, programmatūra lieto šo atlasī visiem datiem, kad tiek rādīti logā Data Analysis (Datu analīze).

Iedobju grupu skatīšana datu analīzē

Neatkarīgas analīzes nolūkā, kurā izmanto iedobju grupas, iedobes trauciņā var sagrupēt apakškopās. Izveidojot iedobju grupas, to grupu nosaukumi parādās loga Data Analysis (Datu analīze) nolaižamajā sarakstā Well Groups (Iedobju grupas) rīkjoslā.

Ja izveidojāt iedobju grupas, programmatūra rāda noklusējuma iedobju grupu All Wells (Visas iedobes), kad atverat logu Data Analysis (Datu analīze), rādot datus visās iedobēs ar saturu diagrammās un izklājlappās. Iedobju atlasītājā parādās tikai tās iedobes šajā iedobju grupā, kurās ielādēts saturs, un tikai to iedobju dati ir iekļauti datu analīzes aprēķinos.

Piezīme. Ja iedobju grupas nav izveidotas, rīkjoslā nolaižamais saraksts Well Groups (Iedobju grupas) neparādās.

Iedobju satura mainīšana pēc izpildes

Datu analīzes laikā mainot veidu, kādā dati tiek rādīti, proti, mainot iedobju saturu logā Plate Editor (Trauciņa redaktors), nekad netiek mainīti fluorescences dati, kas savākti no katras iedobes izpildes laikā. Pēc tam, kad modulis savāc fluorescences datus, jūs šos datus nevarat dzēst, taču jūs varat izvēlēties noņemt šos datus no skata un no analīzes.

Iedobju satura maiņa pēc izpildes

- ▶ Logā Data Analysis (Datu analīze) noklikšķiniet uz Plate Setup (Trauciņa iestatīšana) un atlasiet vienu no šādām opcijām:
 - **Edit/View Plate (Rediģēt/Skatīt trauciņu)** — atver rīku Plate Editor (Trauciņa redaktors), kurā var veikt manuālas izkārtojuma izmaiņas.
 - **Replace Plate file (Nomainīt trauciņa failu)** — atver pārlūkprogrammu Select Plate (Atlasīt trauciņu), kurā varat navigēt līdz iepriekš saglabātam trauciņa failam, ar kuru nomainīt pašreizējo trauciņu izkārtojumu.
 - **Apply PrimePCR file (Lietot PrimePCR failu)** — atver dialoglodziņu Select PrimePCR file (Atlasīt PrimePCR failu), kurā varat navigēt līdz PrimePCR izpildes failam un piemērot to trauciņu izkārtojumam.

Padoms. Varat pievienot vai rediģēt informāciju par iedobju saturu pirms izpildes, izpildes laikā vai pēc tam, kad PCR izpilde ir pabeigta. Pirms izpildes jāpiešķir skenēšanas režīms un trauciņa lielums. Šos parametrus pēc izpildes nevar mainīt.

Datu analīzes iestatījumi

Diagrammas Amplification (Amplifikācija) dati cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) rāda katras iedobes relatīvo fluorescenci (RFV) katrā ciklā. Katrs trasējums diagrammā reprezentē datus no atsevišķa fluorofora vienā iedobē. Šos datus lieto, lai noteiktu C_q vērtības katrai iedobei saistībā ar katru atsevišķo fluoroforu. Programmatūra lieto vienu no diviem režīmiem, lai noteiktu C_q vērtības:

- **Regression (Regresija)** — piemēro atsevišķiem iedobes trasējumiem daudzvariējamu, nelineāru regresijas modeli un pēc tam lieto šo modeli, lai aprēķinātu optimālu C_q vērtību.
- **Single Threshold (Atsevišķa sliekšņa vērtība)** — lieto atsevišķu sliekšņa vērtību, lai aprēķinātu C_q vērtību, pamatojoties uz atsevišķu fluorescences trasējumu sliekšņa vērtības šķērsošanas punktu.

Atlasiet Settings > C_q Determination Mode (Iestatījumi > Noteikšanas režīms), lai izvēlētos C_q noteikšanas režīmu.

Sliekšņa vērtības pielāgošana

Režīmā Single Threshold (Atsevišķa sliekšņa vērtība) var pielāgot fluorofora sliekšņa vērtību, noklikšķinot uz sliekšņa vērtību rindas Amplification (Amplifikācija) un virzot peles rādītāju vertikāli. Vai arī var norādīt atlasītā fluorofora precīzu šķērsošanas sliekšņa vērtību.

Bāzlīnijas iestatījumi

Programmatūra automātiski katrai iedobei iestata atsevišķu bāzlīniju. Bāzlīnijas iestatījums nosaka bāzes līnijas atņemšanas metodi visām fluorescences trajektorijām. Programmatūra nodrošina trīs bāzlīnijas atņemšanas opcijas:

- **No Baseline Subtraction (Bāzlīnijas atņemšana nenotiek)** — parāda datus kā relatīvās fluorescences trajektorijas. Šajā analīzes režīmā nav iespējams veikt dažas analīzes, tāpēc programmatūra neparāda cilnes Gene Expression (Gēnu ekspresija), End Point (Galamērķis) un Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija).
- **Baseline Subtracted (Bāzlīnija atņemta)** — parāda datus kā trajektorijas ar atņemtām bāzes līnijām katram fluoroforam iedobē. Programmatūrai jāatņem bāzlīnija no datiem, lai noteiktu kvantitatīvās noteikšanas ciklus, veidotu standarta līknes un noteiktu nezināmu paraugu koncentrāciju. Lai ģenerētu trajektoriju ar atņemtu bāzlīniju, programmatūra pielāgo vispiemērotāko taisno līniju, kas iegūta, bāzes līnijas ciklu laikā reģistrējot katras iedobes fluorescenci, un pēc tam katrā ciklā atņem vispiemērotākos datus no datiem ar atņemtajiem pamatdatiem.
- **Baseline Subtracted Curve Fit (Līknes atbilstība ar atņemtu bāzlīniju)** — parāda datus kā trajektorijas ar atņemtām bāzlīnijām, un programmatūra izlīdzina līkni ar atņemtu bāzes līniju,

izmantojot centrētu vidējo vērtību filtru. Šis process tiek veikts tā, ka katra C_q vērtība paliek nemainīga.

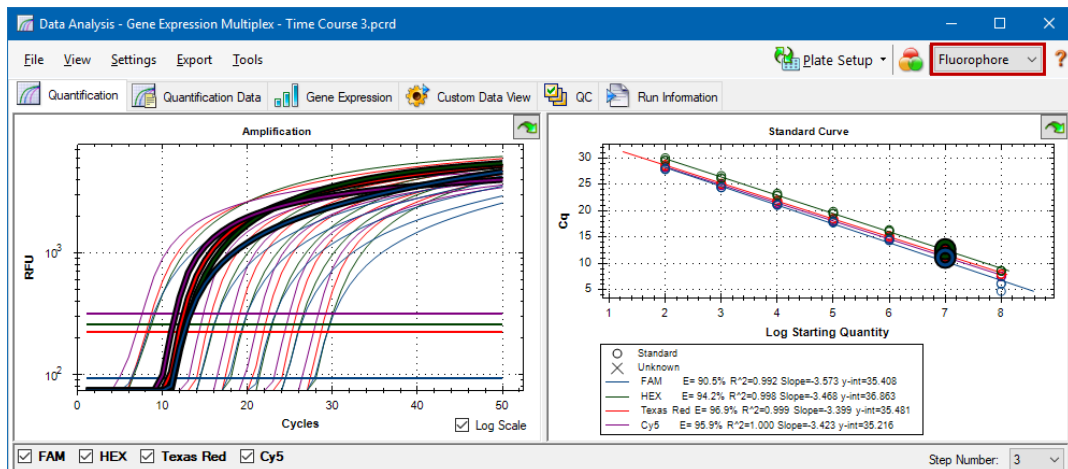
Papildus šīm opcijām jūs varat atlasīt arī opciju Apply Fluorescent Drift Correction (Lietot fluorescences nobīdes korekciju). Iedobes, kuru RFU (RFV) vērtības dažu sākotnējo izpildes ciklu laikā ir ar neparastu nobīdi, programmatūra no blakus esošajām iedobēm, kurām ir veiksmīgi ģenerēta horizontālā bāzes līnija, iegūst paredzēto bāzliniju.

Bāzlinijas atņemšanas iestatījuma maiņa

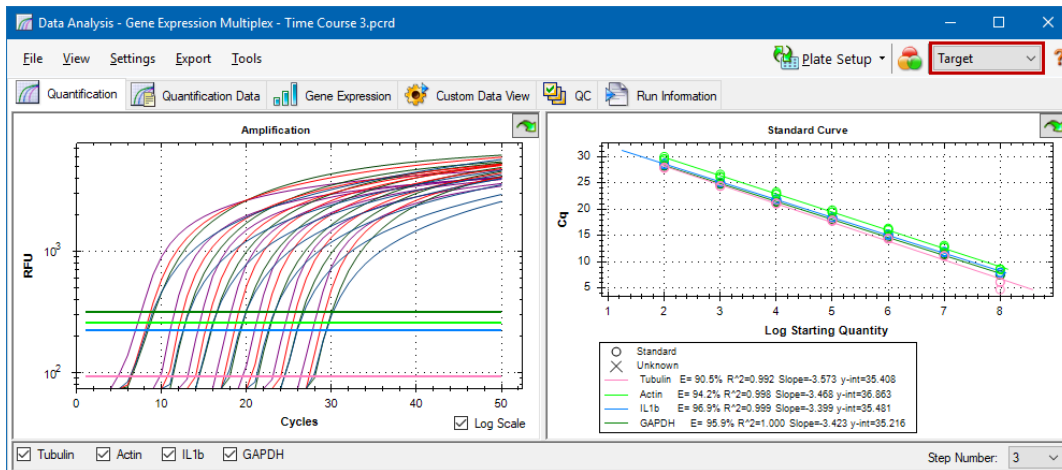
- Atlasiet Settings > Baseline Setting (Iestatījumi > Bāzlinijas iestatījums).

Analīzes režīms

Datus var grupēt un analizēt pēc katra fluorofora vai mērķa nosaukuma Grupējot pēc fluorofora, datu trajektorijas tiek parādītas pēc fluorofora, kā norādīts trauciņa iestatījumā attiecīgajai izpildei. Atsevišķi fluorofora dati parādās amplifikācijas un standarta līknes diagrammā (ja pieejama), kad ir atlasītas attiecīgās fluorofora atlasītāja izvēles rūtiņas, kas atrodas zem amplifikācijas diagrammas.



Grupējot pēc mērķa, datu trajektorijas tiek parādītas pēc mērķa nosaukuma, kas ievadīts trauciņa iestatījumā attiecīgajai izpildei.



Datu analīzes režīma izvēle

► Veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:

- Atlasiet Settings > Analysis Mode (Iestatījumi > Analīzes režīms).
- Izvēlieties režīmu rīkjoslas nolaižamajā izvēlnē Analysis Mode (Analīzes režīms).

Analizējamie cikli

Jūs varat ierobežot analizējamo ciklu skaitu. Varat analizēt datus arī no konkrētu ciklu kopas. Maksimālais ciklu skaits, ko var analizēt, ir 50.

Piezīme. Ciklu noņemšanai no virknes sākuma var būt nozīmīga ietekme uz bāzes līnijas veidošanu.

Datu analīzes aprobežošana ar konkrētu ciklu diapazonu

1. Atlasiet Settings > Cycles to Analyze (Iestatījumi > Analizējamie cikli).

Parādīsies dialoglodziņš Cycles to Analyze (Analizējamie cikli).

2. Ievadiet sākuma un beigu ciklu vērtības un noklikšķiniet uz OK (Labi).

Noklikšķiniet uz Restore Defaults (Atjaunot noklusējumus) dialoglodziņā Cycles to Analyze (Analizējamie cikli), lai atgrieztos pie sākotnēji analizē izmantotajiem cikliem.

Iedobju atlasītājs

Lietojiet iedobju atlasītāju, lai rādītu vai paslēptu iedobju datus diagrammās vai izklājlapās visā Data Analysis (Datu analīzes) logā. Iedobju atlasītājā var atlasīt tikai iedobes ar ielādētu paraugu. Iedobju programmatūras krāsas iedobju atlasītājā:

- **Zila** — norāda atlasītās iedobes. Dati no atlasītajām iedobēm ir redzami Data Analysis (Datu analīzes) logā.
- **Gaiši pelēka** — norāda neatlasītās iedobes. Dati no neatlasītajām iedobēm nav redzami Data Analysis (Datu analīzes) logā.
- **Tumši pelēka** — norāda tukšas iedobes.

	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			

Iedobju datu rādīšana vai paslēpšana

- ▶ Iedobju atlasītājā veiciet kādu no norādītajām darbībām.
 - Lai paslēptu vienu iedobi, noklikšķiniet uz atsevišķas iedobes. Lai rādītu šo iedobi, vēlreiz noklikšķiniet uz šīs iedobes.
 - Lai paslēptu vairākas iedobes, velciet pār iedobēm, kuras vēlaties atlasīt. Lai rādītu šīs iedobes, vēlreiz velciet pār šīm iedobēm.
 - Noklikšķiniet trauciņa augšējā kreisajā stūrī, lai paslēptu visas iedobes. Vēlreiz noklikšķiniet trauciņa augšējā kreisajā stūrī, lai rādītu visas iedobes.
 - Noklikšķiniet uz kolonnas vai rindas sākuma, lai paslēptu šīs iedobes. Vēlreiz noklikšķiniet uz kolonnas vai rindas sākuma, lai rādītu iedobes.

Iedobju atlasītāja peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi

17. tabula uzskaitītas iedobju atlasītāja skatā pieejamās peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas.

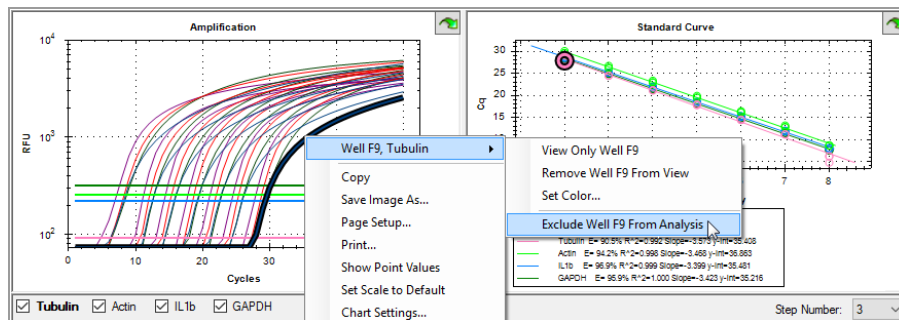
17. tabula. Peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi iedobju atlasītājos

Vienums	Funkcija
Well XX (Iedobe XX)	Rāda tikai šo iedobi, noņem šo iedobi no skata, iestata krāsu šai iedobei vai izslēdz šo iedobi no analīzes.
Selected Wells (Atlasītās iedobes) (noklikšķināt ar peles labo pogu un vilkt)	Rāda tikai šīs iedobes, noņem šīs iedobes no skata, iestata krāsu šīm iedobēm vai izslēdz šīs iedobes no analīzes.
Copy (Kopēt)	Kopē iedobes saturu starpliktuvē, iekļaujot parauga veidu un pēc izvēles replikāta Nr.
Copy as Image (Kopēt kā attēlu)	Kopē iedobju atlasītāja skatu kā attēlu.
Print (Drukāt)	Drukā iedobju atlasītāja skatu.
Print Selection (Drukāt atlasi)	Drukā pašreizējo atlasī.
Export to Excel (Eksportēt uz Excel)	Eksportē datus uz Excel izklājlapu.
Export to Csv (Eksportēt uz Csv)	Eksportē datus kā teksta dokumentu.
Export to Xml (Eksportēt uz Xml)	Eksportē datus kā .xml dokumentu.
Well Labels (Iedobju etiķetes)	Maina iedobju etiķetes uz Sample Type (Parauga veids), Target Name (Mērķa nosaukums) vai Sample Name (Parauga nosaukums).

Iedobju īslaicīga izslēgšana no analīzes

Iedobju īslaicīga izslēgšana no analīzes

1. Iedobju atlasītājā ar peles labo pogu noklikšķiniet uz iedobes. Lai izslēgtu vairākas iedobes, ar peles labo pogu noklikšķiniet uz vairākām iedobēm, trajektorijām vai punktiem un velciet tās.
2. Izvēlnē, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, izvēlieties atbilstošu opciju:
 - Well > Exclude Well (Iedobe > Izslēgt iedobi).
 - Selected Wells > Exclude from Analysis (Atlasītās iedobes > Izslēgt no analīzes).
 - Selected Traces > Exclude these wells from Analysis (Atlasītās trajektorijas > Izslēgt šīs iedobes no analīzes).



Vai arī, lai neatgriezeniski no analīzes noņemtu iedobes, notīriet iedobju saturu, rīkā Plate Editor (Trauciņa redaktors) noklikšķinot uz pogas Clear Wells (Notīrīt iedobes).

Svarīgi! Jums atkārtoti jāievada jebkuras notīrītās iedobes saturs.

Lai iekļautu izslēgto iedobi

- Iedobju atlasītājā ar peles labo pogu noklikšķiniet uz atbilstošas iedobes un atlasiet Well > Include Well in Analysis (Iedobe > Iekļaut iedobi analīzē).

Diagrammas

Katrā logā Data Analysis (Datu analīze) redzamajā diagrammā dati tiek parādīti atsevišķā grafikā un ietver opcijas datu vai diagrammu grafiku pielāgošanai un eksportēšanai.

Diagrammu kopējie peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi

[18. tabula](#) uzskaitīti diagrammās pieejamie peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi. Daži pieejamie vienumi ir visās diagrammās, un šos vienumus var izmantot, lai mainītu to, kā dati tiek rādīti, vai bez grūtibām datus no diagrammas eksportētu.

18. tabula. Peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi diagrammām

Vienums	Funkcija
Copy (Kopēt)	Kopē diagrammu starpliktuvē.
Save Image As (Saglabāt attēlu kā)	Saglabā attēlu ar norādīto izmēru, izšķirtspēju un faila veidu. Pieejamie attēlu formāti ir PNG (noklusējuma), JPG un BMP.
Page Setup (Lapas iestatīšana)	Priekšskata un atlasa lapas iestatījumu drukāšanai.
Print (Drukāt)	Izdrukā diagrammu.
Set Scale to Default (Iestatīt mērogu kā noklusējumu)	Atgriežas diagrammas noklusējuma skatā pēc diagrammas palielināšanas.
Chart Options (Diagrammas opcijas)	Atver logu Chart Options (Diagrammas opcijas), lai mainītu diagrammu, ieskaitot virsraksta maiņu, robežvērtību izvēli x un y asij, režģa līniju rādīšanu un mazāku atzīmju rādīšanu uz asīm.

Piezīme. Izvēlnes vienumi, kas attiecas uz konkrētām diagrammām, aprakstīti [10. nodaļa, Datu analīzes detaļas](#).

Diagrammas datu kopēšana starpliktuvē

Diagrammas skata saturu var kopēt un ielīmēt jebkurā lietojumprogrammā, kas akceptē bitkartes attēlu failus.

Diagrammas datu kopēšana starpliktuvē

1. No diagrammas peles labās pogas klikšķa izvēlnes atlasiet Copy (Kopēt).
2. Atveriet lietojumprogrammu, kas akceptē bitkartes attēlus, piemēram, Microsoft Word.
3. Noklikšķiniet ar peles labo pogu un atlasiet Paste (Ielīmēt), lai ielīmētu bitkartes attēlu no starpliktuves lietojumprogrammā.

Bāzlīnijas sliekšņa vērtības iestatījumu modificēšana

Režīmā Single Threshold (Atsevišķa sliekšņa vērtība) var pielāgot fluorofora sliekšņa vērtību, noklikšķinot uz sliekšņa vērtību rindas diagrammā Amplification (Amplifikācija) un virzot peles rādītāju vertikāli. Vai arī var norādīt atlasītā fluorofora precīzu šķērsošanas sliekšņa vērtību.

Padoms. Var norādīt cikla diapazonu, lai noteiktu bāzlīniju visiem datu failiem cilnē Data Analysis (Datu analīze), ejot User > User Preferences (Lietotājs > Lietotāja preferences).

Sākuma un beigu bāzlīnijas ciklu pielāgošana attiecībā uz katru iedobi

1. Cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) atlasiet atsevišķu fluoroforu diagrammā Amplification (Amplifikācija).
2. No diagrammas peles labās pogas klikšķa izvēlnes atlasiet Baseline Threshold (Bāzlīnijas sliekšņa vērtība).

Parādīsies dialoglodziņš Baseline Threshold (Bāzlīnijas sliekšņa vērtība).

Baseline Threshold

Baseline Cycles

Auto Calculated

User Defined **Bold** indicates a changed value.

	Well	Fluor	Baseline Begin	Baseline End
1	A01	SYBR	2	17
2	A02	SYBR	2	17
3	A03	SYBR	2	17
4	A04	SYBR	2	11
5	A05	SYBR	2	11
6	A06	SYBR	2	12
7	A07	SYBR	2	8
8	A08	SYBR	2	10
9	A09	SYBR	2	12
10	A10	SYBR	0	0

All Selected Rows: Begin: 40 End: 1

Reset All User Defined Values

Single Threshold

Auto Calculated: 1424.30

User Defined: 1700.00

OK Cancel

3. Sadaļā Baseline Cycles (Bāzlīnijas cikli) veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Lai atlasītu vienu iedobi, noklikšķiniet uz tā rindas numura.
 - Lai atlasītu vairākas blakus esošas iedobes, noklikšķiniet uz pirmās iedobes rindas numura un velciet kolonnā uz leju līdz beidzamajai iedobei.
 - Lai atlasītu vairākas iedobes, kas neatrodas viena otrai blakus, nospiediet vadīšanas taustiņu un noklikšķiniet uz katras mērķa iedobes rindas numura.
 - Lai atlasītu visas iedobes, noklikšķiniet tabulas augšējā kreisajā stūrī.
4. Pielāgojiet bāzlīnijas sākuma ciklu un bāzes līnijas beigu ciklu visām atlasītajām iedobēm vai mainiet sākuma un beigu cikla numuru izklājlapas apakšā.

Padoms. Lai atjaunotu iestatījumus uz pēdējā reizē saglabātajām vērtībām, noklikšķiniet uz Reset All User Defined Values (Atiestatīt visas lietotāja definētās vērtības).

5. Lai saglabātu izmaiņas un atgrieztos pie diagrammas, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Ciklu diapazonu norādīšana visiem datu failiem

- Logā Home (Sākums) vai Plate Editor (Trauciņa redaktors) atlasiet User > User Preferences (Lietotājs > Lietotāja preferences) un izvēlieties cilni Data Analysis (Datu analīze).

Mērķu un paraugu datu kārtošana

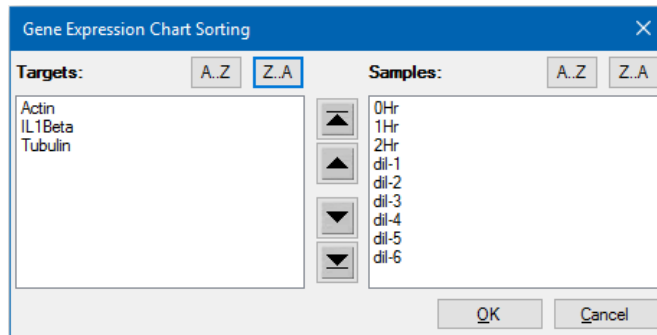
Piezīme. Šī opcija ir pieejama tikai gēnu ekspresijas diagrammās.

Pēc noklusējuma saraksti Targets and Samples (Mērķi un paraugi) tiek rādīti alfabētiskā secībā. Izmantojiet dialoglodziņu Sort (Kārtot), lai kārtotu rādīšanu apvērstā burtu secībā vai lai manuāli pārvietotu terminu citā pozīcijā sarakstā.

Mērķu un paraugu datu kārtošana

1. No diagrammas peles labās pogas klikšķa izvēlnes noklikšķiniet uz Sort (Kārtot).

Parādīsies dialoglodziņš Gene Expression Chart Sorting (Gēnu ekspresijas diagrammas kārtošana).



2. Lai sarakstu kārtotu pretēji alfabētiskajai secībai, dialoglodziņā noklikšķiniet uz Z-A.
3. Lai manuāli pārvietotu terminu, atlasiet to un noklikšķiniet uz attiecīgās pogas starp diagrammām:
 - Noklikšķiniet uz augšupvērstās vai lejupvērstās bultiņas, lai pārvietotu atlasīto terminu par vienu pozīciju.
 - Noklikšķiniet uz augšupvērstās vai lejupvērstās joslas bultiņas, lai pārvietotu atlasīto terminu uz saraksta sākumu vai beigām.
4. Lai saglabātu izmaiņas un atgrieztos cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija), noklikšķiniet uz OK (Labi).

Apgabala palielināšana diagrammā

Apgabala palielināšana diagrammā

- ▶ Noklikšķiniet un velciet pāri diagrammai un pēc tam noklikšķiniet uz Zoom (Tālummaiņa)*. Programmatūra maina diagrammas izmērus un centrē to atlasītajā apgabalā.

Piezīme. * Joslu diagrammai nav nepieciešama noklikšķināšana uz uznirstošās komandas Zoom (Tālummaiņa).

Diagrammas pilna skata atiestatīšana

- ▶ Ar labo peles pogu noklikšķiniet diagrammā un atlasiet Set Scale to Default (Iestatīt mērogu kā noklusējumu).

Diagrammu iekopēšana Microsoft failā

Jūs varat iekopēt datu diagrammas Microsoft Word, Excel vai PowerPoint dokumentos. Attēla izšķirtspēja atbilst ekrāna, no kura iegūts attēls, izšķirtspējai

Diagrammu kopēšana Microsoft failā

1. Logā Data Analysis (Datu analīze) izvēlnē, kurai var piekļūt, noklikšķinot ar peles labo pogu, atlasiet Copy (Kopēt).
2. Atveriet tukšu Microsoft failu un ielīmējiet starpliktuves saturu.



Alternatīva: noklikšķiniet uz noklikšķināšanas un vilkšanas ikonas un velciet un nometiet diagrammu Microsoft failā.

Izklājlapas

Data Analysis (Datu analīzē) rādītās izklājlapas ietver datu kārtošanas un pārsūtīšanas opcijas. Kārtojiet kolonnas, izmantojot vienu no tālāk norādītajām metodēm.

- Noklikšķiniet kolonnā un velciet kolonnu uz jaunu atrašanās vietu atlasītajā tabulā.
- Noklikšķiniet uz kolonnas galvenes, lai kārtotu datus augošā vai dilstošā secībā.

Līdz trim datu kolonnu kārtošana logā Sort (Kārtot)

1. Ar peles labo pogu noklikšķiniet izklājlappā un atlasiet Sort (Kārtot).
2. Dialoglodziņā Sort (Kārtot) atlasiet pirmās kārtojamās kolonnas virsrakstu. Kārtojiet datus augošā vai dilstošā secībā.
3. Atlasiet otro un trešo kārtojamo kolonnu un izvēlieties Ascending (Augošs) vai Descending (Dilstošs).
4. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai datus kārtotu, vai uz Cancel (Atcelt), lai pārtrauktu kārtošānu.

Iezīmējiet datus saistītajās diagrammās un iedobju atlasītajā, turot peles rādītāju virs šūnas. Noklikšķiniet šūnā, lai kopētu un ielīmētu tās saturu citā programmatūras programmā.

Izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, kopējie vienumi izklājlapām

19. tabula ir uzskaitīti jebkurā izklājlapas skatā pieejamie izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, vienumi

19. tabula. Izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, kopējie vienumi izklājlapām

Vienums	Funkcija
Copy (Kopēt)	Kopē atlasīto iedobju saturu starpliktuvē, pēc tam ielīmē saturu izklājlapā, piemēram, Excel failā.
Copy as Image (Kopēt kā attēlu)	Kopē izklājlapas skatu kā attēla failu un ielīmē to failā, kas pieņem attēla failu, piemēram, teksta, attēla vai izklājlapas failā.
Print (Drukāt)	Drukā pašreizējo skatu.
Print Selection (Drukāt atlasi)	Drukā pašreizējo atlasī.

19. tabula. Izvēlnes, kas pieejama, noklikšķinot ar peles labo pogu, kopējie vienumi izklājlapām, turpinājums

Vienums	Funkcija
Export to Excel (Eksportēt uz Excel)	Eksportē datus uz Excel izklājlapu.
Export to CSV (Eksportēt uz CSV)	Eksportē datus uz ar komatu atdalīto datu (.csv) failu.
Export to Xml (Eksportēt uz Xml)	Eksportē datus uz Xml failu.
Export to Html (Eksportēt uz Html)	Eksportē datus uz Html failu.
Find (Atrast)	Meklē tekstu.
Sort (Kārtot)	Kārto datus trīs datu kolonnās.
Select Columns (Atlasīt kolonnas)	Atlasa kolonnas, kas tiks parādītas izklājlapā.

Eksports

CFX Manager Dx software nodrošina četras eksportēšanas opcijas no nolaižamās izvēlnes Export (Eksports):

- Export All Data Sheets
- Custom Export (Pielāgots eksports)
- Export to LIMS (Eksportēt uz LIMS)
- Seegene Export (Seegene eksports)

Visu datu lapu eksportēšana

Jūs varat eksportēt visus izklājlapu skatus no katras CFX Manager Dx software cilnes atsevišķos failos.

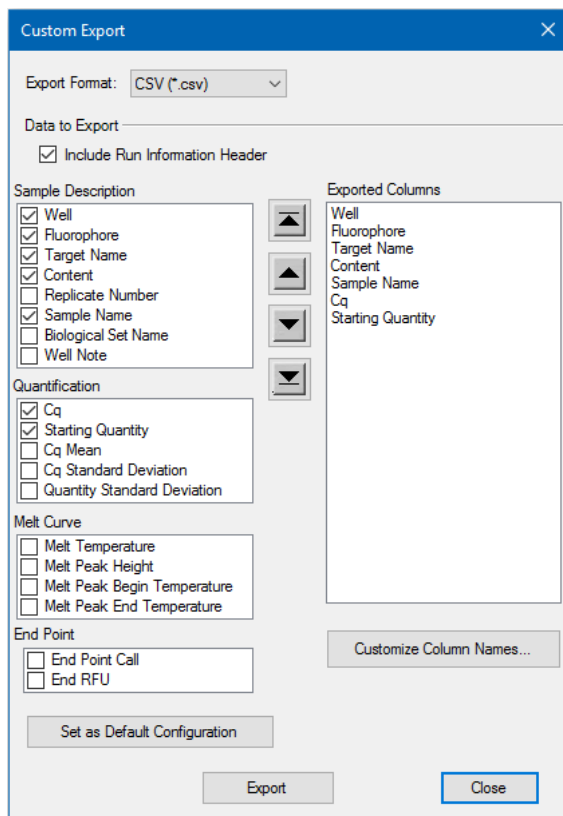
Visu datu lapu eksportēšana

- ▶ Atlasiet Export > Export All Data Sheets to Excel (Eksports > Eksportēt visas datu lapas programmā Excel) un tad atlasiet vēlamo faila tipu:
 - CSV (*.csv).
 - Teksta failu (*.txt).
 - Excel 2007 (*.xlsx).
 - Excel 2003 (*.xls).
 - XML (*.xml).

Pielāgota eksportēšanas faila izveide

Pielāgota eksporta faila izveidošana

1. Atlasiet Export > Custom Export (Eksports > Pielāgots eksports). Atveras dialoglodziņš Custom Export (Pielāgots eksports).



2. Atlasiet eksportēšanas formātu no parādītā nolaižamā saraksta.
3. Atlasiet eksportējamo vienumu izvēles rūtiņas.
4. (Papildiespēja) Lai mainītu kolonnu nosaukumus, noklikšķiniet uz Customize Column Names (Pielāgot kolonnu nosaukumus).
5. Noklikšķiniet uz Export (Eksports). Parādīsies dialoglodziņš Save As (Saglabāt kā).
6. Dialoglodziņā Save As (Saglabāt kā) norādiet faila nosaukumu un vietu, kur saglabāt eksportēto failu.
7. Lai saglabātu eksportēto failu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Eksportēšana LIMS mapē

Jūs varat eksportēt datus ar LIMS saderīgā faila formātā.

Datu eksportēšana LIMS formātā

1. Atlasiet Export > Export to LIMS Folder (Eksports > Eksportēt LIMS mapē).
Parādīsies dialoglodziņš Save As (Saglabāt kā).
2. Dialoglodziņā Save As (Saglabāt kā) norādiet faila nosaukumu un vietu, kur saglabāt eksportēto failu.
3. Lai saglabātu eksportēto failu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

Seegene formatēto datu eksportēšana

Jūs varat eksportēt datus no visiem izklājlapu skatiem Excel failos, kas īpaši strukturēti Seegene, Inc vajadzībām.

Datu eksportēšana Seegene specifiskā formātā

1. Atlasiet Export > Seegene Export (Eksports > Seegene eksports).
Parādīsies dialoglodziņš Save As (Saglabāt kā).
2. Dialoglodziņā Save As (Saglabāt kā) norādiet mapes, kurā saglabāt eksportētos Seegene formatētos Excel (.xlsx) failus, atrašanās vietu.
3. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai saglabātu eksportētos failus.

10. nodaļa. Datu analīzes detaļas

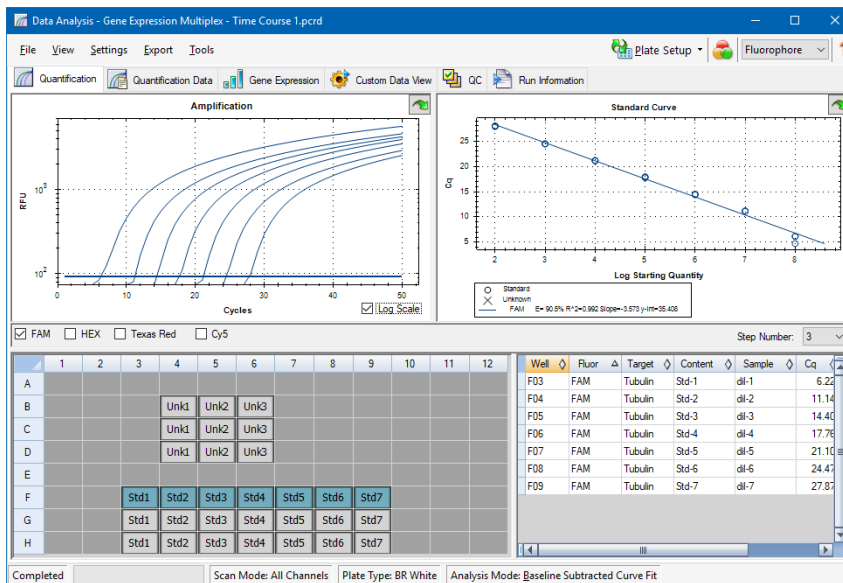
CFX Manager Dx programmatūras logu Data Analysis (Datu analīze) veido daudzas cilnes, no kurām skatīt datus. Šajā nodaļā minētās cilnes ir detalizēti izskaidrotas.

Padoms. Jūs varat izvēlēties, kuras cilnes logā Data Analysis (Datu analīze) skatīt, izmantojot izvēlni View (Skatīt). Pielāgotais izkārtojums tiek saglabāts ar datu failu.

Cilne Quantification (Kvantitatīvā noteikšana)

Lietojiet datus cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana), lai iestatītu datu analīzes nosacījumus, ieskaitot bāzlīnijas iestatījumus atsevišķām iedobēm un sliekšņa vērtību iestatījumus. Cilne Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) rāda datus šādos četros skatos:

- Amplification (Amplifikācijas) diagramma — rāda relatīvās fluorescences vienības (RFU(RFV)) attiecībā uz katru iedobi ikvienā ciklā. Katrs trasējums diagrammā reprezentē datus no atsevišķa fluorofora vienā iedobē.
- Standard curve (Standarta līkne) — redzama tikai tad, ja izpildē ir iekļautas iedobes, kas apzīmētas kā parauga veida standarts (Std). Standarta līkne rāda sliekšņa vērtības ciklu, kāds izplānots attiecībā pret sākuma daudzuma log. Leģenda rāda katras iedobes ar standarta parauga veidu esošā fluorofora reakcijas efektivitāti (E).
- Well selector (Iedobju atlasītājs) — atlasa iedobes ar fluorescences datiem, kurus vēlaties rādīt.
- Spreadsheet (Izklājlapa) — rāda atlasītajās iedobēs savākto datu izklājlapu.



Fluorofora opcijas

Lai rādītu fluorofora datus cilnes Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) diagrammās un izklājlappās, atlasiet mērķa fluoroforu(-s) zem diagrammas Amplification (Amplifikācija). Lai paslēptu fluorofora datus datu analīzes logā, izņemiet atzīmi no tā izvēles rūtiņas.

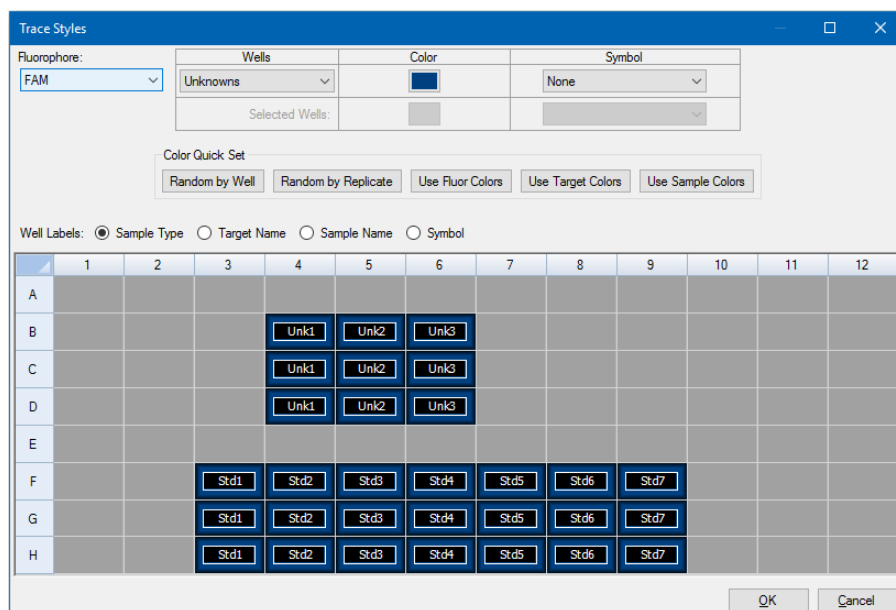
Dialoglodziņš Trace Styles (Trajektorijas stili)

Izmantojot dialoglodziņu Trace Styles (Trajektorijas stili), jūs varat pielāgot trajektoriju izskatu amplifikācijas un kušanas līknes diagrammās cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) un cilnē Melt Curve (Kušanas līkne). Pēc tam jūs varat priekšskatīt izmaiņas iedobju atlasītājā, kas parādās dialoglodziņā Trace Styles (Trajektorijas stili).

Trajektorijas stilu

1. Diagrammā Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) atlasiet tikai vienu fluoroforu.
2. Lai atvērtu dialoglodziņu Trace Styles (Trajektorijas stili), veiciet vienu no tālāk norādītajām darbībām:
 - Diagrammā Amplification (Amplifikācija) noklikšķiniet uz Trace Styles (Trajektorijas stili).
 - Izvēļņu joslā Data Analysis (Datu analīze) atlasiet Settings > Trace Styles (Iestatījumi > Trajektorijas stili).
 - Ar peles labo pogu noklikšķiniet uz trajektorijas un atlasiet Trace Styles (Trajektorijas stili).

Parādīsies dialoglodziņš Trace Styles (Trajektorijas stili).

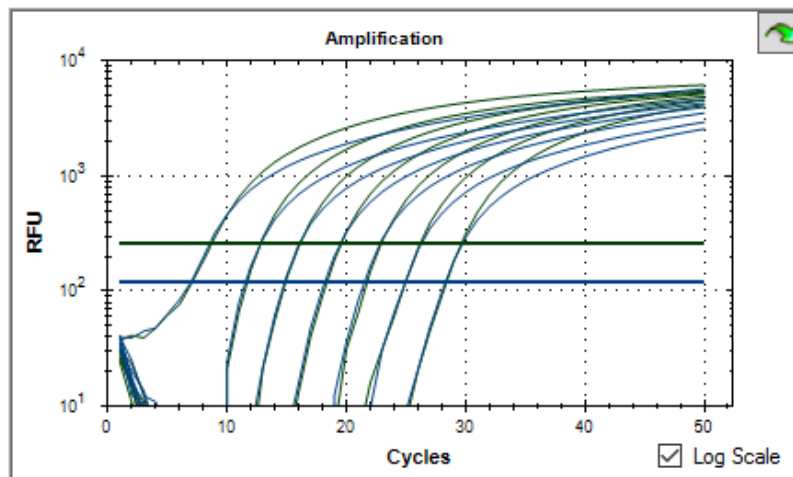


3. Dialoglodziņa Trace Styles (Trajektorijas stili) iedobju atlasītājā, kas pieejams, apakšējā rūtī, atlasiet noteiktu iedobju komplektu. Vai arī kolonnas Wells (Iedobes) nolaižamajā izvēlnē atlasiet iedobes, kas satur vienu parauga tipu.

4. Veiciet kādu no tālāk norādītajām darbībām.
 - Lai izvēlētos atlasīto iedobju krāsu, kolonnā Color (Krāsa) noklikšķiniet uz lodziņa.
 - Lai atlasītajām iedobēm piešķirtu simbolu, nolaižamajā sarakstā Symbol (Simbols) atlasiet simbolu.
 - Lai ātri iekrāsotu iedobes ar pogas etiķeti, noklikšķiniet uz atbilstošas ātrās iestatīšanas opcijas:
 - Random by Well (Nejauša pēc iedobes).
 - Random by Replicate (Nejauša pēc kopijas).
 - Use Solid Bar Colors (Izmantot fluorofora krāsas).
 - Use Target Colors (Izmantot mērķa krāsas).
 - Use Sample Colors (Izmantot parauga krāsas).
 - Lai piešķirtu iedobju etiķetes, izvēlieties opciju Sample Type (Parauga tips), Target Name (Mērķa nosaukums), Sample Name (Parauga nosaukums) vai Symbol (Simbols).

Opcija Log Scale (Logaritmiskā skala)

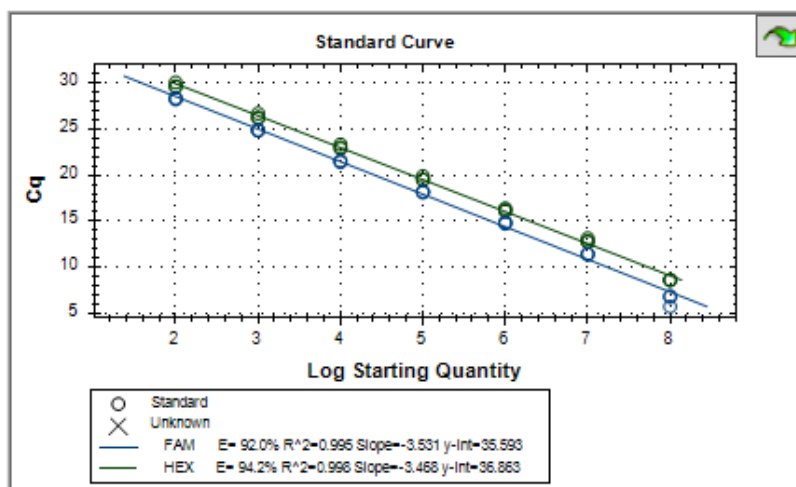
Atlasiet Log Scale (Logaritmiskā skala) zem diagrammas Amplification (Amplifikācija), lai skatītu fluorescences trasējumus puslogaritma mērogā:



Padoms. Lai palielinātu jebkuru diagrammas apgabalu, velciet pāri mērķa apgabalam. Lai atgrieztos pilnskata režīmā, ar peles labo pogu noklikšķiniet diagrammā un atlasiet Set Scale to Default (Iestatīt mērogu uz noklusējumu).

Standard Curve (Standarta līknes) diagramma

Programmatūra izveido standarta līknes diagrammu cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana), ja datos ir ietverti paraugu veidi, kas definēti kā Std vismaz vienam izpildē esošam fluoroforam.



Standard Curve (Standarta līknes) diagrammā tiek rādīta šāda informācija:

- Katras līknes (fluorofora vai mērķa) nosaukums.
- Katra fluorofora vai mērķa krāsa.
- Reakcijas efektivitāte (E). Lietojiet šo statistiku, lai optimizētu multipleksu reakciju un vai vienādotu standarta līknes datus.

Piezīme. Reakcijas efektivitāte raksturo, cik daudz mērķa tiek radīts ar katru protokola ciklu. 100 % efektivitāte norāda, ka mērķis ar katru ciklu tiek dubultots.

- Noteikšanas koeficients, R^2 (raksta kā R^2). Lietojiet šo statistiku, lai noteiktu, cik pareizi līnija raksturo datus (atbilstības labums).
- Gradients
- y krustpunkts

Diagrammas Amplification (Amplifikācija) izvēlnes opcijas

Papildus vispārējām izvēlnes, kurai var piekļūt, noklikšķinot ar peles labo pogu, opcijām, kas paredzētas diagrammām (skat. [Diagrammu kopējie peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi 179. lpp.](#)), [20. tabula](#) uzskaita izvēlnes opcijas, kas pieejamas tikai diagrammā Amplification (Amplifikācija).

Piezīme. Diagrammā Standard Curve (Standarta līkne) ir sniegtas tikai vispārējās izvēlnes, kurai var piekļūt, noklikšķinot ar peles labo pogu, opcijas.

20. tabula. Diagrammas Amplification (Amplifikācija) izvēlnes, kurai var piekļūt, noklikšķinot ar peles labo un kreiso pogu, vienumi

Izvēlnes opcija	Funkcija
Show Threshold Values (Rādīt sliekšņa vērtības)	Rāda sliekšņa vērtību katrai amplifikācijas līknei diagrammā.
Trace Styles (Trajektorijas stili)	Atver logu Trace Styles (Trajektorijas stili), lai mainītu trajektoriju stilus, kas parādās cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) un cilnē Melt Curve (Kušanas līkne).
Baseline Thresholds (Bāzlīnijas sliekšņa vērtības)	Atver logu Baseline Thresholds (Bāzlīnijas sliekšņa vērtības), lai mainītu katra fluorofora bāzes līniju vai sliekšņa vērtības (izmaiņas parādās diagrammas Amplification (Amplifikācija) cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana)).

Kvantitatīvās noteikšanas cilnes izklājlapa

21. tabula definēti dati, kas tiek rādīti izklājlapā cilnē Kvantitatīvā noteikšana.

21. tabula. Kvantitatīvās noteikšanas cilnes izklājlapas saturs

Informācija	Apraksts
Well (Iedobe)	Iedobes pozīcija trauciņā
Fluor (Fluors)	Noteikts fluorofors
Target (Mērķis)	Rīka Plate Editor (Trauciņa redaktors) iedobēs ielādētā mērķa nosaukums
Content (Saturs)	Rīkā Plate Editor (Trauciņa redaktors) parauga veida (obligāts) un replikāta Nr. (papildiespēja) kombinācija
Paraugs	Rīka Plate Editor (Trauciņa redaktors) iedobēs ielādētā parauga nosaukums
C_q	Kvantitatīvās noteikšanas cikls katram trasējumam

Mērķa, satura vai parauga datu mainīšana

Jūs varat mainīt datus mērķa, satura un parauga kolonnās, ar rīka Plate Editor (Trauciņa redaktors) palīdzību rediģējot trauciņa failu, pat pēc eksperimenta izpildes.

Datu maiņa satura, mērķa un parauga kolonnās

- Noklikšķiniet uz Plate Setup (Trauciņa iestatīšana) un atlasiet Wiew/Edit Plate (Skatīt/rediģēt trauciņu), lai atvērtu Plate Editor (Trauciņa redaktors).

Cilne Quantification Data (Kvantitatīvās noteikšanas dati)

Cilne Quantification Data (Kvantitatīvās noteikšanas dati) rāda katrā iedobē savāktos kvantitatīvās noteikšanas datus. CFX Manager Dx software rāda datus četros dažādos izklājlapu skatos:

- Results (Rezultāti) — rāda datu izklājlapu. Tas ir noklusējuma skats.
- Standard Curve Results (Standarta līknes rezultāti) — rāda standarta līknes datu izklājlapu.
- Plate (Trauciņš) — rāda datus katrā iedobē, kā arī trauciņa karti.
- RFU (RFV) — rāda katras iedobes RFU (RFV) daudzumus katrā ciklā.

Atlasiet katru izklājlapu no nolaižamā saraksta, kas redzams zem cilnes Quantification Data (Kvantitatīvās noteikšanas dati).

Izklājlapa Results (Rezultāti)

Izklājlappā Results (Rezultāti) tiek parādīti katras trauciņā esošās iedobes dati.

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

Piezīme. Visi Std. Dev (Standarta novirze) aprēķini attiecas uz kopiju grupām, kas logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) piešķirtas iedobēm. Aprēķinos tiek iegūta C_q vidējā vērtība katrai iedobei kopiju grupā.

[22. tabula](#) definē datus, kas parādās izklājlappā Results (Rezultāti).

22. tabula. Izklājlapas Results (Rezultāti) saturs

Informācija	Apraksts
Well (Iedobe)	Iedobes pozīcija trauciņā
Fluor (Fluors)	Noteikts fluorofors

22. tabula. Izklājlapas Results (Rezultāti) saturs, turpinājums

Informācija	Apraksts
Target (Mērķis)	Amplifikācijas mērķa nosaukums (gēns)
Content (Saturs)	Parauga tips un kopijas numurs
Paraugs	Parauga apraksts
Biological Set Name (Bioloģiskā komplekta nosaukums)	Bioloģiskā komplekta nosaukums
C_q	Kvantitatīvās noteikšanas cikls
C_q Mean (C_q vidējais)	Kvantitatīvās noteikšanas cikla vidējais rādītājs kopiju grupai
C_q Std. Dev (C_q standarta novirze)	Kvantitatīvās noteikšanas cikla standarta novirze kopiju grupai
Starting Quantity (SQ) (Sākuma daudzums (SQ))	Mērķa sākuma daudzuma aplēse
Log Starting Quantity (SQ) (Log sākuma daudzums (SQ))	Sākuma daudzuma log
SQ Mean (SQ vidējais)	Sākuma daudzuma vidējā vērtība
SQ Std. Dev (C_q standarta novirze)	Sākuma daudzuma standarta novirze kopijās

Izklājlapa Standard Curve Results (Standarta līknes rezultāti)

Standard Curve Results (Standarta līknes rezultāti) izklājlapa rāda aprēķinātos standarta līknes parametrus.

Fluor	Efficiency %	Slope	Y-Intercept	R ²
Cy5	95.93	-3.423	35.216	1.000
FAM	91.97	-3.531	35.593	0.995
HEX	94.24	-3.468	36.863	0.998
Texas Red	96.86	-3.399	35.481	0.999

23. tabula definēti dati, kas parādās Standard Curve Results (Standarta līknes rezultāti) izklājlappā.

23. tabula. Standarta līknes rezultātu izklājlapas saturs

Informācija	Apraksts
Fluor (or Target) (Fluors (vai mērķis))	Noteiktais fluorofors (vai mērķis)
Efficiency % (Efektivitāte %)	Reakcijas efektivitāte
Slīpums	Standarta līknes gradients
Y-intercept (Y krustpunkts)	Punkts, kurā līkne krusto y asi
R ²	Noteikšanas koeficients

Plate (Trauciņš) izklājlapa

Izklājlappā Plate (Trauciņš) tiek parādīta trauciņu datu karte vienlaicīgi vienam fluoroforam.

	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			

Lai skatītu konkrēta fluorofora datus

- Noklikšķiniet uz to cilnes izklājlapas apakšdaļā.

Izklājlapa RFU (RFV)

Izklājlappā RFU (RFV) tiek parādītas relatīvās fluorescences vienības (RFV) katrai iedobei, kas iegūts katrā izpildes ciklā. Iedobes numurs parādās katras kolonnas augšdaļā, un cikla numurs parādās pa kreisi no katras rindas.

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

Cilne Melt Curve (Kušanas līkne)

Atruna: Bio-Rad nepiešķir nekādas tiesības lietot kušanas līknes analīzi augstas izšķirtspējas kušanas analīzē cilvēku vai veterinārajā in vitro diagnostikā. Turklāt šīs sistēmas pircēja pienākums ir iegūt jebkādas intelektuālā īpašuma tiesības, kādas var būt vajadzīgas konkrētajos pielietojumos.

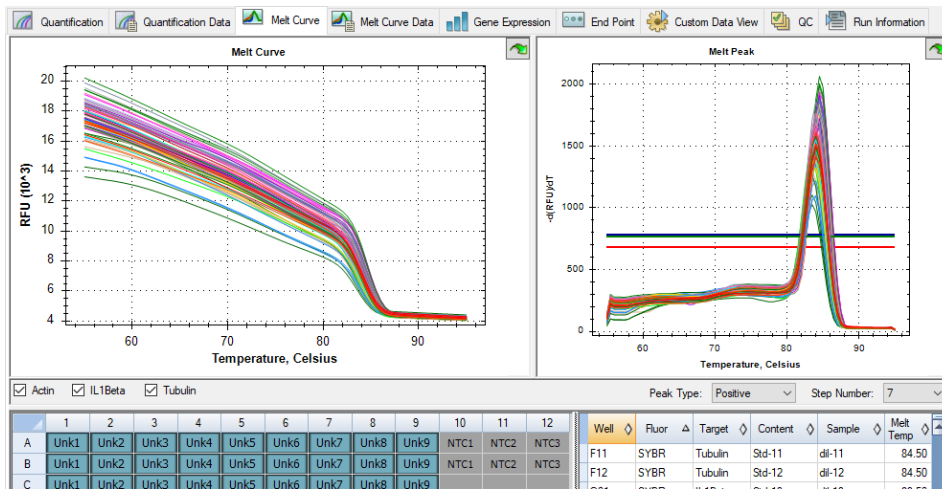
DNA (DNS) saistošo kontrastvielu un neskaldāmās hibridizācijas zonžu gadījumā fluorescences ir visspilgtākā, kad divas DNA (DNS) dzīslas atkvēlinās. Tādēļ, temperatūrai paaugstinoties kušanas temperatūras (T_m) virzienā, fluorescences mazinās ar pastāvīgu ātrumu (pastāvīgs gradients). Pie T_m notiek ievērojams fluorescences samazinājums ar pamanāmu maiņu gradientā. Šīs maiņas ātrumu nosaka fluorescences negatīvās pirmās regresijas plānošana salīdzinājumā ar temperatūru ($-d(RFU)/dT$) ($-d(RFU)/dT$). Lielākais izmaiņu ātrums fluorescencē rada redzamus maksimumus un pārstāv T_m , kāda ir divu dzīslu DNA (DNS) kompleksiem.

CFX Manager Dx software plāno RFU (RFV) datus, kas savākti kušanas līknes laikā kā temperatūras funkcija. Lai analizētu kušanas maksimuma datus, programmatūra piešķir sākuma un beigu temperatūru katram maksimumam, pārvietojot sliekšņa vērtības joslu. Maksimuma apgabala pamatni norāda kušanas sliekšņa vērtības josla. Derīga maksimuma minimālajam augstumam jābūt relatīvam pret attālumu starp sliekšņa vērtības joslu un augstākā maksimuma augstumu.

Cilnē Melt Curve (Kušanas līkne) tiek rādīta T_m (kušanas temperatūra), kāda ir amplificētajiem PCR produktiem; tas redzams četros skatos:

- Melt Curve (Kušanas līkne) — rāda katra fluorofora reāllaika datus kā RFV uz katras iedobes temperatūru.
- Melt Peak (Kušanas maksimums) — rāda RFV datu negatīvo regresiju uz katras iedobes temperatūru.
- Well selector (Iedobju atlasītājs) — rāda iedobes, lai rādītu vai paslēptu datus.
- Peak spreadsheet (Maksimumu izklājlapa) — rāda atlasītajā iedobē savāktos datus.

Piezīme. Šajā izklājlapā tiek rādīti līdz diviem maksimumiem uz katru trasējumu. Lai redzētu vairāk maksimumu, noklikšķiniet uz cilnes Melt Curve Data (Kušanas līknes dati).



24. tabula 201. lappusē definēti dati, kas parādās izklājlapā Melt Curve (Kušanas līkne).

24. tabula. Kušanas līknes izklājlapas saturs

Informācija	Apraksts
Well (Iedobe)	Iedobes pozīcija trauciņā
Fluor (Fluors)	Noteikts fluorofors
Content (Saturš)	Parauga veida un replikāta numura kombinācija
Sample (Paraugs)	Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) ielādētā parauga nosaukums
Melt Temp (Kušanas temperatūra)	Kušanas maksimuma temperatūra attiecībā uz katru iedobi

Piezīme. Šajā izklājlapā tiek rādīti tikai divi augstākie maksimumi.

Melt Curve (Kušanas līkne) datu pielāgošana

Melt Curve (Kušanas līkne) datu pielāgošana

- ▶ Veiciet kādu no tālāk norādītajām darbībām.
 - Noklikšķiniet un velciet sliekšņa vērtību joslas diagrammā Melt Peak (Kušanas maksimums), lai iekļautu maksimumus datu analīzē vai izslēgtu no tās.
 - Atlasiet Positive (Pozitīvs) nolaižamajā izvēlnē Peaks (Maksimums), lai rādītu to maksimumu izklājlapu, kas paceļas virs līnijas Melt Threshold (Kušanas sliekšņa vērtība), vai atlasiet Negative (Negatīvs), lai skatītu to maksimumu izklājlapas datus, kas atrodas zem kušanas sliekšņa vērtības līnijas.
 - Atveriet logu Trace Styles (Trasējumu stili), lai mainītu trasējumu krāsas diagrammās Melt Curve (Kušanas līkne) un Melt Peak (Kušanas maksimums).
 - Atlasiet numuru atlasītājā Step Number (Darbības numurs), lai skatītu Melt Curve (Kušanas līkne) datus citā protokola darbībā. Šajā sarakstā ir redzams vairāk par vienu darbību, ja protokolā ir iekļauti trauciņu nolasījumi vairāk nekā vienā kušanas līknes darbībā.
 - Iedobju atlasītājā atlasiet iedobes, lai galveno uzmanību pievērstu datu apakškopām.
 - Atlasiet iedobju grupu, lai skatītu un analizētu iedobju apakškopu trauciņā. Atlasiet katru iedobju grupu pēc nosaukuma rīkjoslās nolaižamajā izvēlnē Well Group (Iedobju grupa).

Cilne Melt Curve Data (Kušanas līknes dati)

Cilnē Melt Curve Data (Kušanas līknes dati) tiek rādīti dati no cilnes Melt Curve (Kušanas līkne) daudzās izklājlapās, kas ietver katra trasējuma visas kušanas maksimālās temperatūras vērtības. piedāvā četras izklājlapu opcijas, kurās skatīt kušanas līknes datus:

- Melt Peaks (Kušanas maksimālā temperatūra) — rāda visus katra trasējuma datus, tostarp visas kušanas maksimālās temperatūras vērtības. Tas ir noklusējuma skats.
- Plate (Trauciņš) — rāda katras trauciņā esošās iedobes datu un satura skatu.
- RFU (RFV) — rāda katras iedobes RFU daudzumus katrā temperatūrā.
- $-d(\text{RFU})/dT$ ($-d(\text{RFV})/dT$) — rāda negatīvu maiņas koeficientu RFU (RFV), mainoties temperatūrai (T). Tas ir katras trauciņā esošās iedobes pirmais regresijas plāns.

Atlasiet katru izklājlapu no nolaižamā saraksta, kas redzams zem cilnes Melt Curve Data (Kušanas līknes dati).

Melt Peaks (Kušanas maksimālā temperatūra) izklājlapa

Melt Peaks (Kušanas maksimālā temperatūra) izklājlapā tiek rādīti visi kušanas līknes dati.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Melt Temperature	Peak Height	Begin Temperature	End Temperature
A01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1497.19	78.00	88.50
A02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1426.57	78.50	94.00
A03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1492.53	78.50	91.00
B01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1408.73	78.50	92.50
B02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1510.77	78.00	89.00
B03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1493.25	78.00	88.50
C01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1521.98	78.50	91.50
C02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1618.79	78.00	90.00
C03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1581.56	78.00	89.00
D01	SYBR	Actin	Std-1	dil-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

25. tabula 204. lappusē definēti dati, kas parādās Melt Peaks (Kušanas maksimālā temperatūra) izklājlapā.

25. tabula. Melt Peaks (Kušanas maksimālā temperatūra) izklājlapas saturs

Informācija	Apraksts
Well (Iedobe)	Iedobes pozīcija trauciņā
Fluor (Fluors)	Noteikts fluorofors
Content (Saturs)	Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) uzskaitītais parauga veids
Target (Mērķis)	Amplifikācijas mērķis (gēns)
Sample (Paraugšs)	Logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) uzskaitītais parauga nosaukums
Melt Temperature (Kušanas temperatūra)	Katra produkta kušanas temperatūra, uzskaitīta kā maksimums (augstākā) katrā rindā šajā izklājlapā
Peak Height (Maksimuma augstums)	Maksimuma augstums
Begin Temperature (Sākuma temperatūra)	Temperatūra maksimuma sākumā
End Temperature (Beigu temperatūra)	Temperatūra maksimuma beigās

Plate (Trauciņš) izklājlapa

Plate (Trauciņš) izklājlapa rāda kušanas līknes datus trauciņa formātā.

		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								

Piezīme. Lai ieregulētu maksimumu, kādu izsauc programmatūra, pielāgojiet sliekšņa vērtības līniju diagrammā Melt Peak (Kušanas maksimums) cilnē Melt Curve (Kušanas līkne).

26. tabula 205. lappusē definēti dati, kas parādās izklājlapā Plate (Trauciņš).

26. tabula. Plate (Trauciņš) izklājlapas saturs

Informācija	Apraksts
Content (Saturs)	Parauga veida (obligāts) un replikāta Nr. (papildiespēja) kombinācija
Sample (Paraugs)	Parauga apraksts
Peak 1 (Maksimums 1)	Pirmais kušanas maksimums (augstākais)
Peak 2 (Maksimums 2)	Otrais (zemākais) kušanas maksimums

Izklājlapa RFU (RFV)

Izklājlapā RFU (RFV) tiek parādīta fluorescence katrai iedobei katrā ciklā, kas iegūts kušanas līknes laikā.

[27. tabula](#) ir definēti dati, kas parādīti izklājlapā RFU (RFV).

27. tabula. Izklājlapas RFU (RFV) saturs

Informācija	Apraksts
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (Iedobes numurs)	Iedobes pozīcija ielādēto iedobju trauciņā
Temperature (Temperatūra)	Amplificētā mērķa kausēšanas temperatūra, kas attēlota kā viena iedobe katrā rindā un vairākas iedobes vairākiem produktiem tajā pašā iedobē

-d(RFU)/dT (-d(RFV)/dT) izklājlapa

-d(RFU)/dT (-d(RFV)/dT) izklājlapa rāda negatīvu maiņas koeficientu RFU (RFV), mainoties temperatūrai (T).

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	105	95.0	101	99.5	119	115	107	125	120	77.8	104	103	121	114
55.50	227	206	219	215	258	249	231	271	260	169	225	224	263	246
56.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
56.50	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.50	209	189	202	198	238	229	213	250	239	154	206	206	242	227
58.00	214	193	204	202	242	232	215	253	243	164	214	210	245	231
58.50	222	200	210	209	247	237	221	260	249	184	228	219	249	237

28. tabula definēti dati, kas parādās izklājlapā -d(RFU)/dT (-d(RFV)/dT).

28. tabula. -d(RFU)/dT (-d(RFV)/dT) izklājlapas saturs

Informācija	Apraksts
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (Iedobes numurs)	Iedobes pozīcija ielādēto iedobju traucējā
Temperature -d(RFU)/dT (Temperatūra -d(RFV)/dT)	Negatīvs maiņas koeficients RFU (RFV), mainoties temperatūrai (T)

Cilne End Point (Galamērķis)

Atveriet cilni End Point (Galamērķis), lai analizētu paraugu iedobju galīgās relatīvās fluorescences vienības (RFV). Programmatūra salīdzina iedobju ar nezināmiem paraugiem RFU (RFV) līmeņus ar iedobju ar negatīvām kontrolēm RFU (RFV) līmeņiem un “nosauc” nezināmo pozitīvu vai negatīvu. Pozitīviem paraugiem ir RFU (RFV) vērtība, kas ir lielāka par negatīvo kontroļu vidējo RFU (RFV) vērtību plus bāzes vērtību.

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	

Lai analizētu galapunkta datus, trauciņam jāsaturs negatīvās kontroles, vai arī programmatūra nevar veikt nosaukšanu. Palaidiet vienu no šiem divu veidu protokoliem:

- Palaidiet protokolu Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) protokolu — iestatiet standarta protokolu. Pēc izpildes pabeigšanas atveriet logu Data Analysis (Datu analīze), pielāgojiet datu analīzes iestatījumus cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) un tad noklikšķiniet uz cilnes End Point (Galamērķis), lai izvēlētos galamērķa ciklu.
- Palaidiet End Point Only (Tikai galamērķa) protokolu — ielādējiet protokolu End Point Only (Tikai galamērķis) cilnē Plate (Trauciņš) logā Run Setup (Izpildes iestatīšana), atlasiet vai izveidojiet trauciņu un palaidiet izpildi

Cilnē End Point (Galamērķis) tiek rādītas vidējās RFU (RFV) vērtības, lai noteiktu, vai pēdējais (beigu) cikls ir amplificējis mērķi. Lietojiet šos datus, lai noteiktu, vai paraugā ir (pozitīva) konkrēta mērķa secība. Pozitīviem mērķiem ir augstākas RFU (RFV) vērtības par jūsu definēto bāzes līmeni.

Padoms. Lai izveidotu galamērķa protokolu, atveriet protokola cilni (logs Run Setup (Izpildes iestatīšana)) un atlasiet Run > End Point Only Run (Izpile > Tikai galapunkta izpile).

Kad izpile pabeigta, atveras datu fails uz cilni End Point (Galamērķis), ko veido šādas sadaļas:

- Settings (Iestatījumi) — pielāgo datu analīzes iestatījumus.
- Results (Rezultāti) — rāda rezultātus uzreiz pēc iestatījumu pielāgošanas.
- Well Selector (Iedobju atlasītājs) — atlasa iedobes ar galapunkta datiem, kādus vēlaties rādīt.
- RFU spreadsheet (RFV izklājlapa) — rāda atlasītajos iedobēs savāktās RFU (RFV).

Dati rezultātu sadaļā

Sadaļā Results (Rezultāti) ir parādīti tālāk norādītie dati:

- Lowest RFU value (Mazākā RFV vērtība) — datu mazākā RFV vērtība.
- Highest RFU value (Lielākā RFV vērtība) — datu lielākā RFV vērtība.
- Negative Control Average (Negatīvo kontroļu vidējā vērtība) — vidējā RFU (RFV) vērtība iedobēm, kas satur negatīvās kontroles.
- Cut Off Value (Robežvērtība) — aprēķināta, pievienojot toleranci (iestatījumos norādītos RFU (RFV) vai Percentage of Range (Diapazona procenti)) un negatīvo kontroļu vidējo vērtību. Paraugi ar RFV, kas ir lielākas par robežvērtību, tiks saukti par "pozitīviem". Lai pielāgotu robežvērtību, mainiet RFU (RFV) vai Percentage of Range (Diapazona procenti).

Cut Off Value (Robežvērtība) tiek aprēķināta, izmantojot tālāk norādīto formulu:

$$\text{Robežvērtība} = \text{Negatīvo kontroļu vidējā vērtība} + \text{Tolerance}$$

Atlasiet toleranci, izmantojot vienu no tālāk norādītajām metodēm:

- RFU (RFV) (noklusējuma) — atlasiet šo metodi, lai toleranci izmantotu absolūto RFU (RFV) vērtību. Minimālā RFU (RFV) tolerances vērtība ir 2. Maksimālā vērtība ir augstākās RFU (RFV) vērtības absolūtā vērtība, no kuras atņemta zemākās RFU (RFV) vērtības absolūtā vērtība. Noklusējuma RFU (RFV) tolerances vērtība ir 10 % no kopējā RFU (RFV) diapazona.
- Percent of Range (Diapazona procenti) — atlasiet šo metodi, lai toleranci izmantotu RFU (RFV) diapazona procentuālo daļu. Minimālā diapazona procentu vērtība ir 1 %. Maksimālā diapazona procentu vērtība ir 99 %. Noklusējuma diapazona procentu vērtība ir 10 %.

Galamērķa datu analīzes pielāgošana

Lai pielāgotu datus cilnē End Point (Galamērķis)

- ▶ Veiciet kādu no tālāk norādītajām darbībām.
 - Izvēlieties fluoroforu no nolaižamā saraksta.
 - Izvēlieties vērtību End Cycle to Average (Mērķcikls vidējai vērtībai), lai iestatītu ciklu skaitu, ar kādu aprēķināt vidējo galapunkta RFU (RFV).
 - Atlasiet RFUs (RFV), lai skatītu datus relatīvās fluorescences vienībās.
 - Atlasiet Percentage of Range (Diapazona procentuālā attiecība), lai skatītu datus kā RFU (RFV) diapazona procentuālo attiecību.
 - Iedobju atlasītājā atlasiet iedobes, lai galveno uzmanību pievērstu datu apakškopām.
 - Atlasiet iedobju grupu, lai skatītu un analizētu iedobju apakškopu trauciņā. Atlasiet katru iedobju grupu pēc nosaukuma rīkjoslas nolaižamajā izvēlnē Well Group (Iedobju grupa).

RFU (RFV) izklājlapa galamērķa analīzei

29. tabula ir izskaidroti dati, kas parādās cilnes End Point (Galamērķis) izklājlapā RFU (RFV).

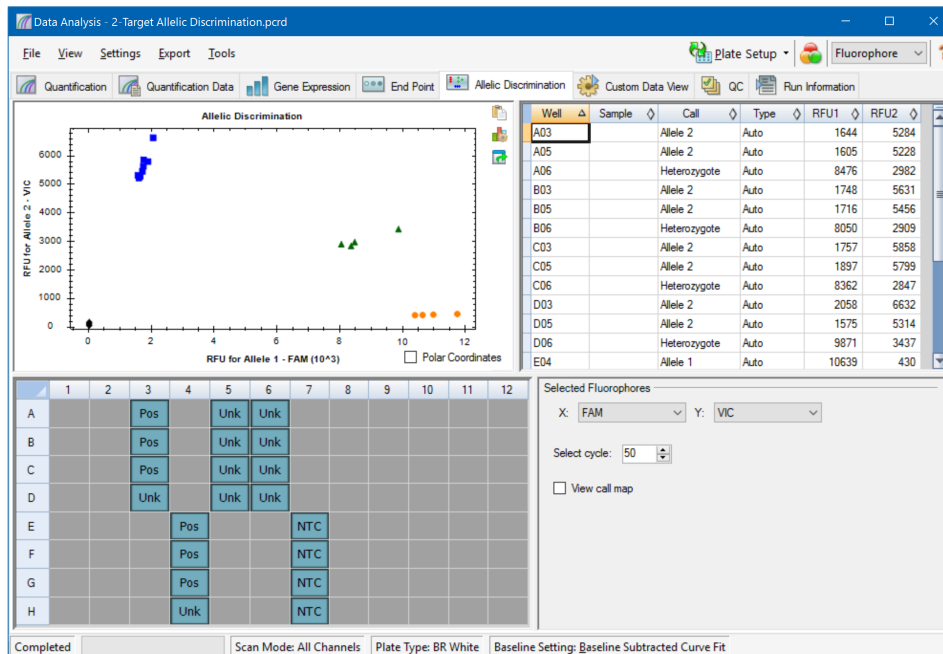
29. tabula. Izklājlapas End Point (Galamērķis) saturs

Informācija	Apraksts
Well (Iedobe)	Iedobes pozīcija trauciņā
Fluor (Fluors)	Noteikts fluorofors
Content (Saturs)	Parauga tipa un kopijas numura kombinācija
End RFU (Beigu RFV)	RFU (RFV) galapunkta ciklā
Call (Signāls)	Pozitīvais vai negatīvais, ja pozitīvajiem paraugiem RFU (RFV) vērtība ir lielāka par negatīvo kontroļu vidējo RFV, kam pieskaitīta robežvērtība
Sample (Paraugs)	Rīkjoslā Plate Editor (Trauciņa redaktors) ielādētais parauga nosaukums

Cilne Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija)

Cilnē Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija) iedobēm ar nezināmiem paraugiem tiek piešķirti genotipi. Izmantojiet šos datus, lai identificētu paraugus ar dažādiem genotipiem, tostarp 1. alēle, 2. alēle, Heterozigota, Nav signāla (nav amplifikācijas) vai Nav noteikts.

Piezīme. Alēliskās diskriminācijas datiem jānāk no daudzkārtīgām izpildēm vismaz ar diviem fluoroforiem. Katrs fluorofors visos paraugos identificē vienu alēli.



Alēliskās diskriminācijas analīzei nepieciešams tālāk norādītais minimālais iedobju saturs:

- Divi fluorofori katrā iedobē.
- NTC (bez veidnes kontroles) paraugi optimizētai datu analīzei.

CFX Manager Dx software piedāvā četras opcijas alēliskās diskriminācijas datu skatīšanai:

- Diagramma Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija) — parāda datus RFV diagrammā 1 alēlei/2. alēlei. Katrs punkts diagrammā parāda datus no abiem fluoroforiem vienā iedobē. Jūs varat pārslēgties starp Dekarta un polārajām koordinātām, atlasot un noīrot izvēles rūtiņu Polar Coordinates (Polārās koordinātas). Dekarta koordinātās ir parādītas RFV 1. alēlei uz x ass un RFV 2. alēlei uz y ass. Polārajās koordinātās ir parādīts leņķis uz x ass un attālums starp sākuma punktu un RFV uz y ass (visu NTC vidējā vērtība).

- Well spreadsheet (Iedobes izklājlapa) — parāda alēliskās diskriminācijas datus, kas savākti katrā trauciņa iedobē.
- Well selector (Iedobju atlasītājs) — atlasa iedobes ar datiem par alēlēm, kurus vēlaties parādīt.
- Panelis Selected Fluorophores (Atlasītie fluorofori) — maina x un y ass etiķetes alēliskās diskriminācijas diagrammā, analizējamo ciklu un to, vai parādīt signālu karti.

Alēliskās diskriminācijas datu pielāgošana

Programmatūra automātiski piešķir genotipus iedobēm ar nezināmiem paraugiem, pamatojoties uz NTCs (NTC) un nezināmo datu punktu leņķa un attāluma no NTCs (NTC).

Alēliskās diskriminācijas datu pielāgošana

- ▶ Veiciet kādu no tālāk norādītajām darbībām.
 - Lai parādītu polāras koordinātas, atlasiet izvēles rūtiņu diagrammā Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija).
 - Lai skatītu citu fluoroforu, izvēlieties to paneļa Selected Fluorophores (Atlasītie fluorofori) nolaižamajā sarakstā.
 - Lai mainītu signālu, velciet pāri datu punktam(-iem) diagrammā Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija) un izvēlieties opciju sarakstā Atlasītās iedobes:
 - Allele 1 (1. alēle)
 - Allele 2 (2. alēle)
 - Heterozygote (Heterozigota)
 - Undetermined (Nav noteikts)
 - No Call (Nav signāla)
 - Auto Call (Automātiskais signāls)

Padoms. Atlasiet Auto Call (Automātiskais signāls), lai atjaunotu noklusējuma signālu.

Diagrammas izvēlnes opcijas

Papildus vispārējām izvēlnes, kurai var piekļūt, noklikšķinot ar peles labo pogu, opcijām, kas paredzētas diagrammām (skatīt [Diagrammu kopējie peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi 179. lpp.](#)), [30. tabula](#) uzskaita izvēlnes opcijas, kas pieejamas diagrammā Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija).

30. tabula. Diagrammas Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija) labās un kreisās izvēlnes opcijas

Izvēlnes opcija	Funkcija
Zoom (Tālummaiņa)	Fokusē diagrammas skatu uz atlasīto apgabalu (noklikšķinot un velkot kursoru diagrammā). Padoms. Lai atjaunotu tālummaiņu visu datu punktu rādīšanai, noklikšķiniet ar peles labo pogu un atlasiet Set Scale to Default (Iestatīt mērogu kā noklusējumu).
Well (Iedobe)	Atlasītajai iedobei ir šādas opcijas: parādīt tikai šo iedobi, noņemt šo iedobi no skata, iestatīt krāsu šai trajektorijai vai izslēgt šīs iedobes no analīzes.
Selected Wells (Atlasītās iedobes)	Atlasītajām iedobēm (atlasīti, noklikšķinot un velkot kursoru diagrammā) ir šādas opcijas: parādīt tikai šīs iedobes, noņemt šīs iedobes no skata, iestatīt krāsu šīm trajektorijām vai izslēgt šīs iedobes no analīzes.

Izklājlapa Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija)

31. tabula definē datus, kas parādās izklājlapā Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija).

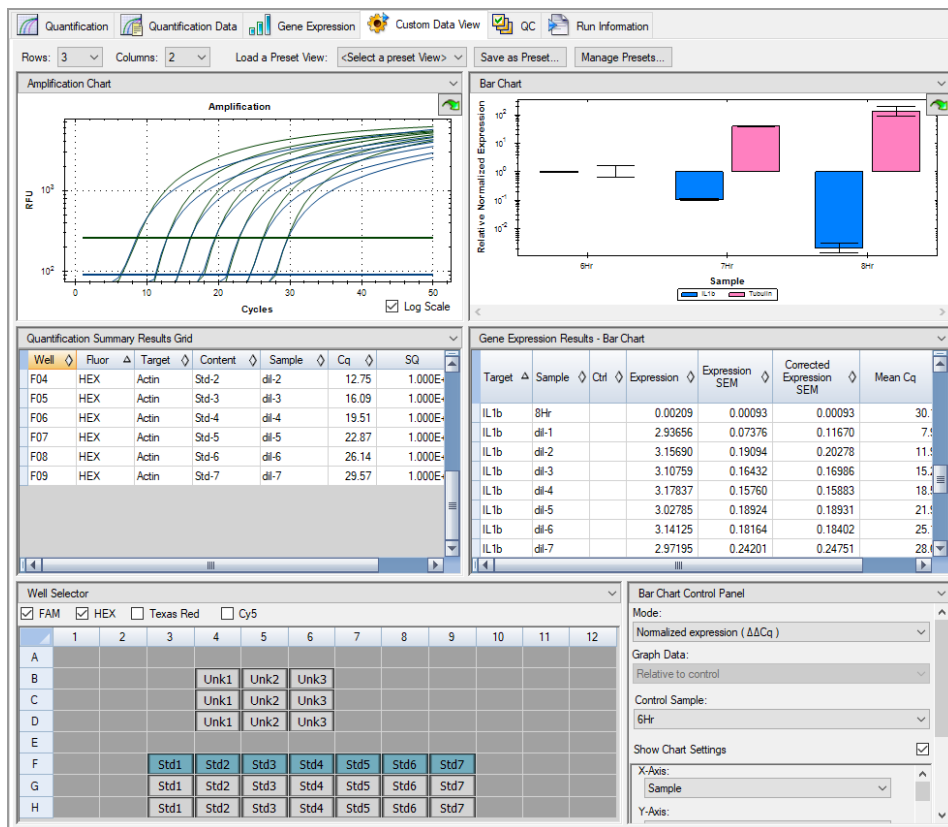
31. tabula. Izklājlapas Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija) saturs

Informācija	Apraksts
Well (Iedobe)	Iedobes pozīcija trauciņā
Sample (Paraugš)	Parauga nosaukuma apraksts
Call (Signāls)	Alēles identitāte, ieskaitot automātisko Allele 1 (1. alēle), Allele 2 (2. alēle), Heterozygote (Heterozigota), No Call (Nav signāla) vai Undetermined (Nav noteikts)
Type (Veids)	Auto (Automatic) (Automātiski) vai Manual (Manuāli) raksturo, kā veikts izsaukums. Automatic (Automātiski) norāda, ka izsaukumu izvēlējās programmatūra. Manual (Manuāli) norāda, ka izsaukumu izvēlējās lietotājs
RFU1 (RFV1)	RFU (RFV) Allele1 gadījumā
RFU2 (RFV2)	RFU (RFV) Allele2 gadījumā

Cilne Custom Data View (Pielāgota datu skatīšana)

Cilne Custom Data View (Pielāgota datu skatīšana) vienlaicīgi rāda vairākas rūtis pielāgojamā formātā.

Nolaižamajā sarakstā Load a Preset View (Ielādēt iepriekš iestatītu skatu) tiek piedāvāta rādījuma formāta veidņu izlase. Rādītais noklusējuma skats ir atkarīgs no analizētā faila. Piemēram, ja ir redzami opcijas Melt Curve (Kušanas līkne) dati, parādās noklusējuma skats Amp+Melt (Ampl.+Kausēšana).



Pielāgota datu skata izveide

Pielāgota datu skata izveide

- ▶ Veiciet kādu no tālāk norādītajām darbībām.
 - Nolaižamajā sarakstā atlasiet izvēles priekšiestatītu skatu.
 - Nolaižamajā sarakstā, kas atrodas katras atsevišķās rūts augšā, atlasiet citu diagrammas skatu.
 - Mainiet rindu un kolonnu skaitu cilnē.
 - Mainiet atsevišķās rūts izmērus. Velciet joslas katras rūts perifērijā.

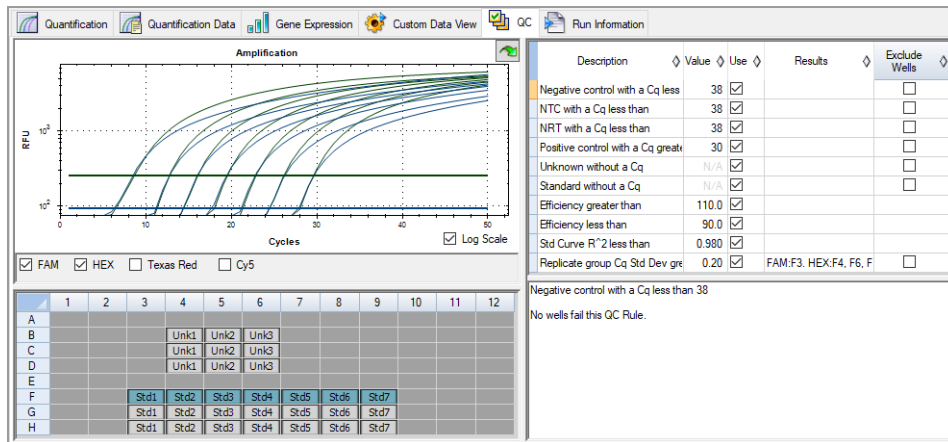
Lai pielāgoto veidni saglabātu kā priekšiestatītu veidni, noklikšķiniet uz Save as Preset (Saglabāt kā priekšiestatītu). Lai dzēstu, pārdēvētu vai atjaunotu esošos priekšiestatītos skatus, noklikšķiniet uz Manage Presets (Pārvaldīt priekšiestatītos).

Cilne QC (KK)

Izmantojiet cilni QC (KK), lai ātri novērtētu izpildes datu kvalitāti, balstoties uz noteikumiem, kas definēti loga cilnē QC (KK).

CFX Manager Dx software piedāvā četras opcijas QC (KK) datu skatīšanai:

- **Diagramma Amplification (Amplifikācijas)** — rāda katras iedobes RFV katrā ciklā. Katrs trasējums diagrammā reprezentē datus no atsevišķa fluorofora vienā iedobē.
- **Tabula QC rules (KK noteikumi)** — parāda pieejamos QC (KK) noteikumus un iestatījumus, kas definē katru noteikumu. Lietotie QC (KK) noteikumi tiek norādīti ar atzīmi.
- **Well selector (Iedobju atlasītājs)** — atlasa iedobes ar fluorescences datiem, kurus vēlaties rādīt.
- **Rūts QC rule summary (KK noteikumu kopsavilkums)** — parāda atlasīto QC (KK) noteikumu un izceļ iedobes, kas neatbilst noteikuma prasībām.



QC (KK) kritēriju maiņa

QC (KK) kritēriju mainīšana

- ▶ Ielieciet atzīmi izvēles rūtiņā Use (Lietot), lai noteikumu iekļautu QC (KK), vai arī izņemiet atzīmi no izvēles rūtiņu, lai noteikumu no tās izslēgtu.

Iedobju ar neatbilstošiem QC (KK) rezultātiem izslēgšana

CFX Manager Dx software QC (KK) noteikumu tabulas kolonnā Results (Rezultāti) un kopsavilkuma rūtī parāda iedobes, kas neatbilst QC (KK) kritērijiem.

Iedobju ar neatbilstošiem QC (KK) rezultātiem izslēgšana

- ▶ Atlasiet opciju Exclude Wells (Izslēgt iedobes) katrai izslēdzamajai iedobei.

Cilne Run Information (Informācija par izpildi)

Cilnē Run Information (Informācija par izpildi) tiek parādīts protokols un cita informācija par katru izpildi. Izmantojiet šo cilni, lai veiktu tālāk aprakstītās darbības.

- Skatīt protokolu.
- Ievadīt vai rediģēt piezīmes par izpildi.
- Ievadīt vai rediģēt izpildes ID vai svītrkodu.
- Skatīt notikumus, kas var parādīties izpildes laikā. Izmantot šos ziņojumus, lai palīdzētu novērst izpildes problēmas.

Padoms. Ar peles labo pogu noklikšķiniet uz protokola, lai to kopētu, eksportētu vai izdrukātu. Ar peles labo pogu noklikšķiniet uz rūtīm Notes (Piezīmes), ID/Bar Code (ID/svītrkods) vai Other (Cits), lai izgrieztu, kopētu, ielīmētu, dzēstu vai atlasītu tekstu.

Protocol: CFX_2stepAmp50 1 min.prcf

Step	Temp	Time
1	95.0 C	for 3:00
2	95.0 C	for 0:10
3	55.0 C	for 1:00
4	GOTO 2	49 more times

Notes:
Multiplex Gene Expression Example
Artificial Time course in which
Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run
Cyp (Gapdh) is constant at ~ 1e6 cps/run
Fam (Tubulin) increases 4 fold with time
Texas Red (I1b) decreases 4 fold with time

ID/Bar Code:

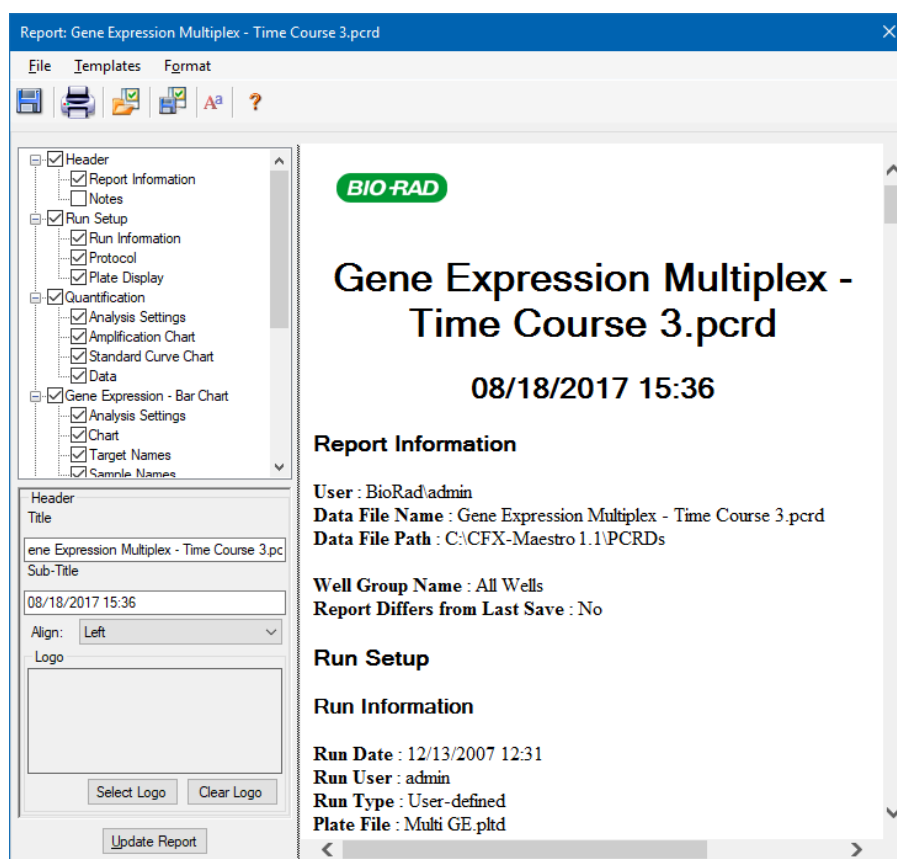
Other:
Run Started : 12/13/2007 12:31:47 PM
User : admin
Run Type: User-defined
Plate File: Multi GE.pltd
Sample Vol : 25
Lid Temp : 105
Optical Head Serial Number :
Base Serial Number : CC001095
CFX Manager Version : 1.0.956.1212.

Datu analīzes atskaites

Dialoglodziņā Report (Atskaite) tiek rādīta informācija par pašreizējo datu failu logā Data Analysis (Kušanas pētījums). Lai atvērtu atskaiti, atlasiet Tools > Reports.

Dialoglodziņu Report (Atskaite) veido tālāk norādītās sadaļas.

- Izvēlne un rīkjosla — sniedz atskaites vai veidnes formatēšanas, saglabāšanas un drukāšanas iespējas.
- Opciju saraksts (dialoglodziņa augšējā malā pa kreisi) — nodrošina atskaitē rādāmās iespējas.
- Opciju rūts (dialoglodziņa apakšējā malā pa kreisi) — rāda tekstlodziņus, kuros var ievadīt informāciju par atlasīto opciju.
- Priekšskatījuma rūts (dialoglodziņa labajā pusē) — rāda pašreizējās atskaites priekšskatījumu.



Datu analīzes atskaišu kategorijas

32. tabula ir uzskaitītas visas opcijas, kas pieejamas datu analīzes atskaitei atkarībā no logā Data Analysis (Datu analīze) parādītā datu tipa.

32. tabula. Datu analīzes atskaišu kategorijas opciju sarakstā

Kategorija	Opcija	Apraksts
Header (Galvene)		
		Atskaites virsraksts, apakšvirsraksts un logotips
	Report Information (Informācija par atskaiti)	Izpildes datums, lietotājvārds, datu faila nosaukums, datu faila ceļš un atlasītā iedobju grupa
	Audit Information (Informācija par auditu)	Papildinformācija, kas nepieciešama auditēšanai, tostarp paraksti
	Notes (Piezīmes)	Piezīmes par datu atskaiti
Run Setup (Izpildes iestatīšana)		
	Run Information (Informācija par izpildi)	Izpildes datums, lietotājvārds, datu faila nosaukums, datu faila ceļš un atlasītā iedobju grupa
	Protocol (Protokols)	Protokola darbību un opciju teksta skats
	Plate Display (Trauciņa rādījums)	Trauciņa skats ar informāciju par katru trauciņa iedobi.
Quantification (Kvantitatīvā noteikšana)		
	Analysis Settings (Analīzes iestatījumi)	Datu vākšanas darbības numurs, analīzes režīms un bāzlinijas atņemšanas metode
	Amplification Chart (Amplifikācijas diagramma)	Amplifikācijas diagramma izpildēm, kas ietver kvantitatīvās noteikšanas datus
	Standard Curve Chart (Standarta līknes diagramma)	Standarta līknes diagramma

32. tabula. Datu analīzes atskaišu kategorijas opciju sarakstā, turpinājums

Kategorija	Opcija	Apraksts
	Data (Dati)	Izklājlapa, kurā uzskaitīti dati par katru iedobi
Gene Expression — Bar Chart (Gēnu ekspresija — joslu diagramma)		
	Analysis Settings (Analīzes iestatījumi)	Analīzes režīms, diagrammas dati, mērogošanas opcija un diagrammas kļūda
	Chart (Diagramma)	Joslu diagrammas kopija
	Target Names (Mērķa nosaukumi)	Mērķa nosaukumu diagramma
	Sample Names (Paraugu nosaukumi)	Paraugu nosaukumu diagramma
	Data (Dati)	Izklājlapa, kurā uzskaitīti dati par katru iedobi
	Target Stability (Mērķa stabilitāte)	Mērķa stabilitātes vērtību diagramma
Gene Expression (Gēnu ekspresija) — klastergramma un izkliedes diagramma		
	Analysis Settings (Analīzes iestatījumi)	Katra diagrammas veida iestatījumi
	Chart (Diagramma)	Diagrammas kopija
	Data (Dati)	Izklājlapa, kurā uzskaitīti dati katrā mērķī
Melt Curve (Kušanas līkne)		
	Analysis Settings (Analīzes iestatījumi)	Kušanas darbības numurs un sliekšņa vērtības joslas iestatījums
	Kušanas līknes diagramma	Kušanas līknes diagramma

32. tabula. Datu analīzes atskaišu kategorijas opciju sarakstā, turpinājums

Kategorija	Opcija	Apraksts
	Diagramma Melt Peak (Kušanas maksimālā temperatūra)	Kušanas maksimālās temperatūras diagramma
	Data (Dati)	Izklājlapa, kurā uzskaitīti dati par katru iedobi
Allelic Discrimination (Alēliskā diskriminācija)		
	Analysis Settings (Analīzes iestatījumi)	Parāda fluoroforus, ciklu un skata signālu karti
	Allelic Discrimination Chart (Diagramma Alēliskā diskriminācija)	Alēliskās diskriminācijas diagrammas kopija
	Data (Dati)	Izklājlapa, kurā uzskaitīti dati par katru iedobi
End Point (Galamērķis)		
	Analysis Settings (Analīzes iestatījumi)	Fluorofors, beigu cikli līdz vidējai vērtībai, režīms, mazākā RFV, augstākā RFV un robežvērtība
	Data (Dati)	Izklājlapa, kurā uzskaitīti dati par katru iedobi
QC Parameters (KK parametri)		
	Data (Dati)	Izklājlapa, kurā uzskaitīti parametri katram QC (KK) noteikumam

Datu analīzes atskaite izveide

Atskaite izkārtojumu var saglabāt kā veidni, kuru var lietot atkārtoti līdzīgām atskaitēm.

Datu analīzes atskaite izveide

1. Pirms atskaite veidošanas veiciet galīgos pielāgojumus iedobju saturā, atlasītajās iedobēs, diagrammās un izklājlapās logā Data Analysis (Datu analīze).
2. Atlasiet Tools > Reports (Rīki > Atskaite) izvēlnes joslā Data Analysis (Datu analīze), lai atvērtu dialoglodziņu Report (Atskaite).
3. Izvēlieties opcijas, kuras vēlaties iekļaut atskaitē. Atskaite atveras ar atlasītām noklusējuma opcijām. Ielieciet atzīmes izvēles rūtiņās vai arī izņemiet atzīmes no tām, lai mainītu veselas kategorijas vai tikai atsevišķas opcijas kategorijas robežās.

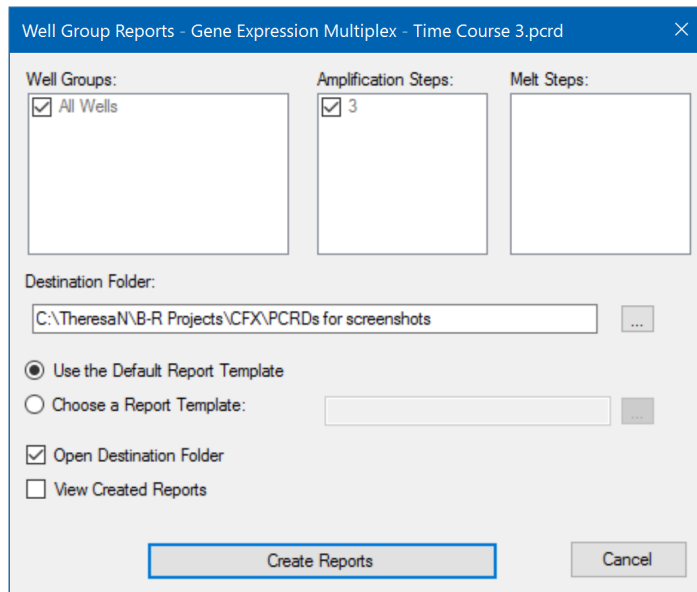
Piezīme. Dati, kas parādās atskaitē, ir atkarīgi no pašreizējām atlasēm cilnēs logā Data Analysis (Kušanas pētījums). Piemēram, kvantitātes noteikšanas izpilde var nesaturēt standarta līkni un tādēļ šie dati neparādās logā Data Analysis (Datu analīze) vai datu atskaitē.

4. Mainiet kategoriju un vienumu secību atskaitē. Aizvelciet opcijas uz attiecīgo pozīciju. Vienumus var pārkārtot tikai to kategoriju robežās, pie kurām šie vienumi pieder.
5. (Papildiespēja) Rūti Report Options (Atskaite opcijas) ievadiet informāciju, kas attiecas uz atlasīto opciju:
 - Izvēlieties atskaitē rādāmo informācijas apakškopu.
 - Izvēlieties konkrētus iestatījumus atlasītajai opcijai.
 - Mainiet tekstu, kāds jārāda attiecībā uz atlasīto opciju.
6. Noklikšķiniet uz Update Report (Atjaunināt atskaiti), lai atjauninātu Report Preview (Atskaite priekšskatījumu) ar visām izmaiņām.
7. Izdrukājiet vai saglabājiet atskaiti. Lai izdrukātu pašreizējo atskaiti, noklikšķiniet uz pogas Print Report (Drukāt atskaiti) rīkjoslā. Atlasiet File > Save (Fails > Saglabāt), lai saglabātu atskaiti PDF (Adobe Acrobat Reader fails) formātā un atlasiet vietu, kurā failu saglabāt. Select File > Save As (Atlasīt failu > Saglabāt kā), lai saglabātu atskaiti ar jaunu nosaukumu vai jaunā atrašanās vietā.
8. (Papildiespēja) Izveidojiet atskaite veidni ar tādu informāciju, kādu vēlaties. Lai saglabātu pašreizējos atskaite iestatījumus veidnē, atlasiet Template > Save (Veidne > Saglabāt) vai Save As (Saglabāt kā). Pēc tam nākamajā reizē, kad vēlaties veidot jaunu atskaiti, ielādējiet atskaite veidni.

Iedobju grupas atskaišu izveide

Iedobju grupas atskaites izveide

1. Atlasiet Tools > Well Group Reports (Rīki > Iedobju grupu atskaites) logā Data Analysis (Datu analīze).



2. Dialoglodziņā Well Groups Reports (Iedobju grupu atskaites) atlasiet iedobju grupas, amplifikācijas darbības un kušanas darbības, lai iekļautu atskaitē.
3. Ievadiet ceļu vai navigējiet līdz galamērķa mapei, kurā atskaiti saglabāt.
4. (Papildiespēja) Atlasiet Choose a Report Template (Izvēlēties atskaites veidni) un navigējiet līdz veidņu failu mapei.
5. (Papildiespēja) Atlasiet Open Destination Folder (Atvērt galamērķa mapi), lai mapi atvērtu un skatītu atskaites pēc tam, kad tās ģenerētas.
6. Noklikšķiniet uz Create Reports (Izveidot atskaites).

11. nodaļa. Gēnu ekspresijas analīze

Lietojot reakcijās stingri kvalificētas kontroles, jūs varat izmantot CFX Manager Dx programmatūru, lai veiktu gēnu ekspresijas izpildi un normalizētu relatīvās atšķirības mērķu koncentrācijā starp paraugiem. Parasti interesējošā gēna ekspresijas līmeņu normalizēšanā lieto viena vai vairāku interesējošo gēnu ekspresijas līmeņus. Atsauces gēni ņem vērā ielādēšanas atšķirības vai citas variācijas, kādas reprezentētas katrā paraugā, un to ekspresijas līmeņi nedrīkst tikt ietekmēti pētāmajā bioloģiskajā sistēmā.

Izvēlieties cilni Gene Expression (Gēnu ekspresija) logā Data Analysis (Datu analīze), lai izvērtētu relatīvās atšķirības starp PCR reakcijām divās vai vairākās iedobēs. Piemēram, varat izvērtēt virusālo genomu relatīvos skaitus vai transfektēto secību relatīvos skaitus PCR reakcijā. Izplatītākais pielietojums gēnu ekspresijas pētījumā ir cDNA (cDNS) koncentrācijas salīdzinājums vairāk nekā vienā reakcijā, lai izvērtētu stabila stāvokļa ziņotāja RNS līmeņus.

Programmatūra aprēķina mērķa relatīvās ekspresijas līmeni vienā no šiem scenārijiem:

- Mērķa secības (1. mērķis) relatīvās ekspresijas līmenis attiecībā pret citu mērķi (2. mērķis); piemēram, viena gēna daudzums attiecībā pret citu gēnu vienādas paraugu apstrādes apstākļos.
- Vienas mērķa secības relatīvais ekspresijas līmenis vienā paraugā salīdzinājumā ar to pašu mērķi atšķirīgas parauga apstrādes apstākļos; piemēram, viena gēna relatīvais daudzums attiecībā pašam pret sevi dažādos laika, ģeogrāfijas vai attīstības stāvokļos.

Trauciņa iestatīšana gēnu ekspresijas analīzei

Lai veiktu gēnu ekspresijas analīzi, iedobju saturā jābūt iekļautiem šādiem vienumiem:

- Diviem vai vairākiem mērķiem — divi mērķi, kas reprezentē dažādus amplificētus gēnus vai secības jūsu paraugos.
- Vienam vai vairākiem atsauces mērķiem — normalizētas ekspresijas gadījumā vismaz vienam mērķim jābūt atsauces mērķim. Piešķiriet visus mērķus logā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi), lai analizētu datus normalizētas ekspresijas režīmā ($\Delta\Delta C_q$). Virknes, kas nesatur atsauci, jāanalizē, izmantojot relatīvās ekspresijas režīmu (ΔC_q).

- Kopēji paraugi — reakcijām jāietver kopēji paraugi (vajadzīgi vismaz divi), lai skatītu savus datus, plānotus cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija). Šiem paraugiem jāpārstāv dažādas apstrādes vai nosacījumus attiecībā uz katru no jūsu mērķu secībām. Piešķiriet kontroles paraugu (papildiespēja) logā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi). Ja kontrole nav atlasīta, programmatūra kā kontroli izmanto zemāko C_q .

Gēnu ekspresijas iestatīšanas prasības logā Plate Editor (Trauciņa redaktors) ir atkarīgas no tā, vai reakcijas saturs ir vienkārtējs (singleplex) PCR, ar vienu fluoroforu reakcijās, vai daudzkārtējs (multiplex) PCR, ar vairāk par vienu fluoroforu reakcijās.

Pakāpeniskā trauciņa iestatīšana

Ja datu faila trauciņa iestatīšana nesatur informāciju, kas nepieciešama analīzei, un ir atlasīta cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija), vieta, ko parasti aizņem joslu diagramma, saturēs norādījumus par šīs informācijas ievadīšanu. Normalizētas gēnu ekspresijas veikšanai veiciet tālāk aprakstītās darbības:

1. Definējiet vienumu Target (Mērķis) un Sample (Paraugš) nosaukumus, izmantojot jebkuru no tālāk minētajām opcijām:
 - Plate Setup (Trauciņa iestatīšana) — atver logu Plate Editor (Trauciņa redaktors).
 - Replace Plate File (Nomainīt trauciņa failu) — atver pārlūkprogrammu Select Plate (Atlasīt trauciņu), kurā varat navigēt uz iepriekš saglabāto trauciņa failu, ar kuru nomainīt esošo trauciņu izkārtojumu.
 - Replace PrimePCR File (Nomainīt PrimePCR failu) — atver faila dialoglodziņu Select PrimePCR (Atlasīt PrimePCR), kurā varat navigēt uz izpildes failu PrimePCR un lietot to trauciņu izkārtojumam.
2. Atlasiet vienu vai vairākus atsauces mērķus un kontroles paraugu, izmantojot dialoglodziņu Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi).





Ja trauciņu izkārtojums jau satur mērķa un parauga informāciju, jāveic tikai otra darbība un tas ir izcelts oranžā krāsā. Šī darbība jāpabeidz, pirms var notikt normalizētas gēnu ekspresijas analīze.

Piezīme. Klastergrammas un izkliedes diagrammas dati tiek parādīti vienīgi tad, ja ir izpildītas visas prasības attiecībā uz normalizētu gēnu ekspresiju, kas uzskaitītas gēnu ekspresijas analīzes opcijā Plate Setup (Trauciņa iestatīšana).

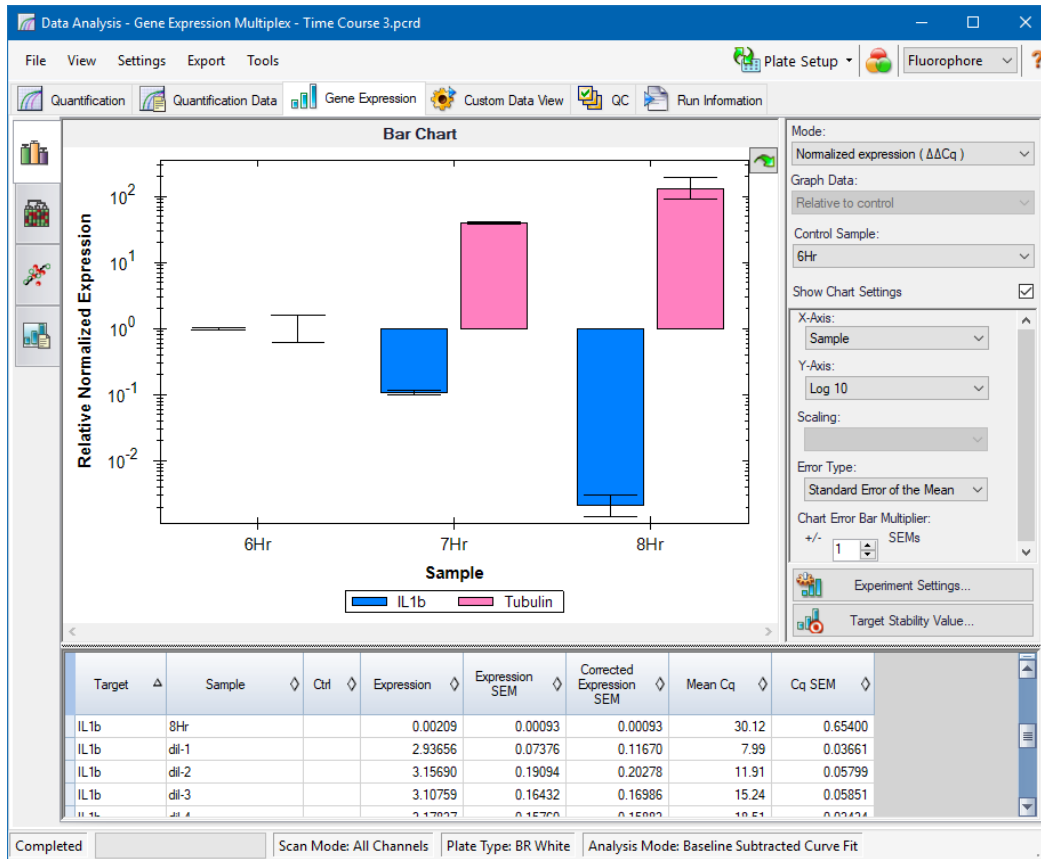
Diagrammas Gene Expression (Gēnu ekspresija)

CFX Manager Dx programmatūra vairākos skatos parāda gēnu ekspresijas datus. [33. tabula](#) ir uzskaitītas diagrammas opcijas, kas pieejamas programmatūrā.

33. tabula. Diagrammas Gene Expression (Gēnu ekspresija) opcijas

Poga	Nosaukums	Funkcija
	Joslu diagramma	Parāda normalizētus gēnu ekspresijas datus joslu diagrammas formātā.
	Klastergramma	Parāda normalizētas ekspresijas datus hierarhijā, balstoties uz ekspresijas līdzības pakāpi dažādiem mērķiem un paraugiem.
	Izkliedes diagramma	Parāda mērķu normalizētu ekspresiju kontrolei salīdzinājumā ar eksperimenta paraugu.
	Rezultāti	Apkopo datus no visām diagrammām.

Joslu diagramma



Mērķu relatīvā ekspresija ir prezentēta šajos divos skatos:

- Gēnu ekspresijas diagramma — rāda reāllaika PCR datus kā vienu no šīm:
 - $\Delta\Delta C_q$ — relatīvā normalizēta ekspresija, ko aprēķina, izmantojot kontrolparaugus un atsauces mērķus.
 - ΔC_q — mērķa gēna relatīvais daudzums paraugā attiecībā pret kontrolparaugu.

- Izklājlapa — rāda gēnu ekspresijas datu izklājlapu.

Padoms. Noklikšķiniet ar peles labo pogu jebkurā diagrammā vai izklājlapā, lai skatītu piedāvātās opcijas. Atlasiet opciju View/Edit Plate (Skatīt/Rediģēt trauciņu) no nolaižamās izvēlnes Plate Setup (Trauciņa iestatīšana), lai atvērtu logu Plate Editor (Trauciņa redaktors) un mainītu iedobes saturu trauciņā.

Padoms. No peles labās pogas klikšķa izvēlnes atlasiet Sort (Kārtot), lai pārkārtotu Target (Mērķis) un Sample (Paraugs) nosaukumu secību diagrammā.

Normalizēta gēnu ekspresija

Lai normalizētu datus, lietojiet viena vai vairāku atsauces gēnu izmērīto ekspresijas līmeni kā normēšanas koeficientu. Atsauces gēni ir mērķi, kas nav regulēti pētāmajā bioloģiskajā sistēmā, tādi kā *aktīns*, *GAPDH* vai *tubulīns*.

Normalizētas gēnu ekspresijas ($\Delta\Delta C_q$) analīzes iestatīšana

1. Atveriet datu failu (paplašinājums .pcrd).
2. Pārskatiet datus, kas atrodas cilnes Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) logā Data Analysis (Datu analīze). Veiciet datu pielāgošanu, piemēram, mainiet sliekšņa vērtību un analīzes režīmu.
3. Izvēlieties cilni Gene Expression (Gēnu ekspresija).
4. Cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija) noklikšķiniet uz Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi).
5. Dialoglodziņā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) veiciet tālāk norādītās darbības.
 - a. Izvēlieties cilni Samples (Paraugi) un atlasiet kontroli. Kad kontrole ir piešķirta, CFX Manager Dx software normalizē visu gēnu relatīvos daudzumus uz kontroles daudzumu, kas iestatīts uz 1.
 - b. Izvēlieties cilni Target (Mērķis) un atlasiet atsauces gēnus. Gēnu ekspresijas analīzē ir vajadzīga viena atsauce starp mērķiem jūsu paraugos.
6. Atlasiet Normalized Expression ($\Delta\Delta C_q$) (Normalizēta ekspresija ($\Delta\Delta C$)), ja tā nav jau atlasīta, un tad skatiet ekspresijas līmeņus cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija).

Relatīvais daudzums

Pēc definīcijas relatīvā daudzuma (ΔC_q) dati netiek normalizēti. Šo metodi lieto, lai kvantificētu paraugus, kuros nav iekļauts neviens atsauces gēns (mērķis). Parasti pētnieki ir pārliecināti par vienu no šādiem apsvērumiem, kad iestata savu virkni:

- Katrs paraugs satur vienu un to pašu daudzumu RNA (RNS) vai cDNA (cDNS) katrā iedobē.
- Jebkura dispersija ielādētā bioloģiskā parauga daudzumā tiks normalizēta pēc izpildes, izmantojot kādu metodi datu analīzē ārpus programmatūras. Piemēram, pētnieks var izvēlēties dalīt relatīvā daudzuma vērtību ar normalizēšanas koeficientu, iespējami ar katram paraugam ielādētās nukleīnskābes masu vai šūnu skaitu, no kurām nukleīnskābe izolēta.

Relatīvā daudzuma (ΔC_q) analīzes izpilde

- ▶ Cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija) atlasiet Relative Quantity (ΔC_q) (Relatīvais daudzums (ΔC_q)) no nolaižamā saraksta Mode (Režīms) labās puses rūtī.

Padoms. Lai salīdzinātu rezultātus ar datiem no citām gēnu ekspresijas virknēm, atveriet jaunu gēnu pētījumu vai pievienojiet datu failu esošam gēnu pētījumam.

Mērķu un paraugu datu kārtošana

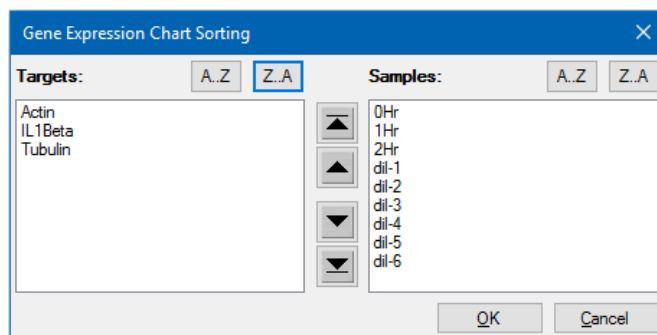
Piezīme. Šī opcija ir pieejama tikai gēnu ekspresijas diagrammās.

Pēc noklusējuma saraksti Targets and Samples (Mērķi un paraugi) tiek rādīti alfabētiskā secībā. Izmantojiet dialoglodziņu Sort (Kārtot), lai kārtotu rādīšanu apvērstā burtu secībā vai lai manuāli pārvietotu terminu citā pozīcijā sarakstā.

Mērķu un paraugu datu kārtošana

1. No diagrammas peles labās pogas klikšķa izvēlnes noklikšķiniet uz Sort (Kārtot).

Parādīsies dialoglodziņš Gene Expression Chart Sorting (Gēnu ekspresijas diagrammas kārtošana).



2. Lai sarakstu kārtotu pretēji alfabētiskajai secībai, dialoglodziņā noklikšķiniet uz Z-A.
3. Lai manuāli pārvietotu terminu, atlasiet to un noklikšķiniet uz attiecīgās pogas starp diagrammām:
 - Noklikšķiniet uz augšupvērstās vai lejupvērstās bultiņas, lai pārvietotu atlasīto terminu par vienu pozīciju.
 - Noklikšķiniet uz augšupvērstās vai lejupvērstās joslas bultiņas, lai pārvietotu atlasīto terminu uz saraksta sākumu vai beigām.
4. Lai saglabātu izmaiņas un atgrieztos cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija), noklikšķiniet uz OK (Labi).

Gēnu ekspresijas datu pielāgošana

Pēc jūsu analīzes režīma — normalizētas ekspresijas ($\Delta\Delta Cq$) vai relatīvā daudzuma (ΔCq) — atlasēs pielāgojiet cilnē Gene Expression (Gēnu ekspresija) redzamos datus, mainot iestatījumu opcijas pa labi no diagrammas.

Padoms. Jūs varat iestatīt noklusējuma Gene Expression (Gēnu ekspresija) datu opcijas dialoglodziņā User Preferences (Lietotāja preferences) (skat. [Noklusējuma gēnu ekspresijas datu faila parametru iestatīšana 69. lpp.](#)).

Grafika dati

Iestatiet y ass vērtību uz lineārās skalas, lai iespējotu grafika datu opcijas. Grafika datu opcijas ļauj parādīt datus grafikā ar vienu no tālāk norādītajām opcijām:

- Relative to control (Attiecībā pret kontroli) — zīmējiet grafika datus ar ass mērogu no 0 līdz 1. Ja jūs izpildē piešķirat kontroli, atlasiet šo opciju, lai ātri vizualizētu mērķa ekspresijas līmeņa paaugstināšanu un pazemināšanu.
- Relative to zero (Attiecībā pret nulli) — zīmējiet grafika datus ar sākuma punktu nullē.

Kontroles paraugs

Izmantojiet nolaižamo izvēlni Kontroles paraugs, lai atlasītu paraugu kas tiks izmantota, lai normalizētu Relative Quantity (Relatīvais daudzums):

Diagrammas iestatījumi

Atzīmējot lodziņu Show Chart Settings (Rādīt diagrammas iestatījumus), tiek atklātas tālāk minētās opcijas (aprakstītas zemāk): X-Axis (X ass), Y-Axis (Y ass), Scaling (Mērogošana), Error Type (Kļūdas tips) un Chart Error Multiplier (Diagrammas kļūdas reizinātājs).

X ass opcijas

X ass opcija sniedz iespēju atlasīt gēnu ekspresijas diagrammas x ass datus:

- Target (Mērķis) — grafiski attēlo mērķa nosaukumus uz x ass.
- Sample (Paraugs) — grafiski attēlo paraugu nosaukumus uz x ass.

Y ass opcijas

Y ass opcija ļauj rādīt diagrammu Gebe Expression (Gēnu ekspresija) uz vienas no tālāk norādītajām skalām:

- Linerārā — atlasiet šo opciju, lai rādītu lineāro skalu.

Padoms. Y ass iestatījums Linear (Lineārā) iespējo nolaižamo sarakstu Graph Data (Grafika dati), kurā varat izvēlēties zīmēt grafiku attiecībā pret kontroli vai attiecībā pret nulli.

- Log 2 — atlasiet šo opciju, lai novērtētu paraugus lielā dinamiskajā diapazonā.
- Log 10 — atlasiet šo opciju, lai novērtētu paraugus ļoti lielā dinamiskajā diapazonā.

Mērogošanas opcijas

Atlasiet Normalized Gene Expression ($\Delta\Delta C_q$) (Normalizēta gēnu ekspresija) un iestatiet Control Sample (Kontrolparaugs) uz None (Neviens), lai iespējotu mērogošanas opcijas gēnu ekspresijas diagrammā. Atlasiet vienu no šīm mērogošanas opcijām, lai aprēķinātu un prezentētu savus datus savas virknes noformējumam atbilstošākajā veidā:

- Unscaled (Nemērogots) — prezentē nemērotu normalizētu gēnu ekspresiju.
- Highest (Augstākais) — mērogo katra mērķa normalizētu gēnu ekspresiju, dalot katra parauga ekspresijas līmeni ar ekspresijas augstāko līmeni visos paraugos.

Šajā mērogošanas opcijā tiek izmantota mērogošanas augstākajā līmenī formula.

- Lowest (Zemākais) — mērogo katra mērķa normalizētu gēnu ekspresiju, dalot katra parauga ekspresijas līmeni ar ekspresijas zemāko līmeni visos paraugos.

Šajā mērogošanas opcijā tiek izmantota mērogošanas zemākajā līmenī formula.

- Average (Vidējais) — mērogo katra mērķa normalizētu gēnu ekspresiju, dalot katra parauga ekspresijas līmeni ar visu paraugu ekspresijas līmeņa ģeometrisku vidējo.

Šajā mērogošanas opcijā tiek izmantota mērogošanas uz vidējo vērtību formula.

Kļūdas tips

Diagrammā Gene Expression (Gēnu ekspresija) atlasiet opciju kļūdas tipa aprēķiniem (kļūdu joslas):

- Standard error of the mean (default) (Vidējās vērtības standarta kļūda (noklusējums)).
- Standard deviation (Standartnovirze).

Diagrammas kļūdas joslas reizinātājs

Diagrammā Gene Expression (Gēnu ekspresija) atlasiet reizinātāju kļūdu joslām. Atlasiet vienu no šiem veseliem skaitļiem:

+/- 1 (noklusējuma), 2 vai 3. Reizinātāja veids mainās, atlasot kļūdas tipu:

- SEMs — vidējās vērtības standarta kļūda;
- Std Devs — standartnovirze.

Eksperimenta iestatījumi

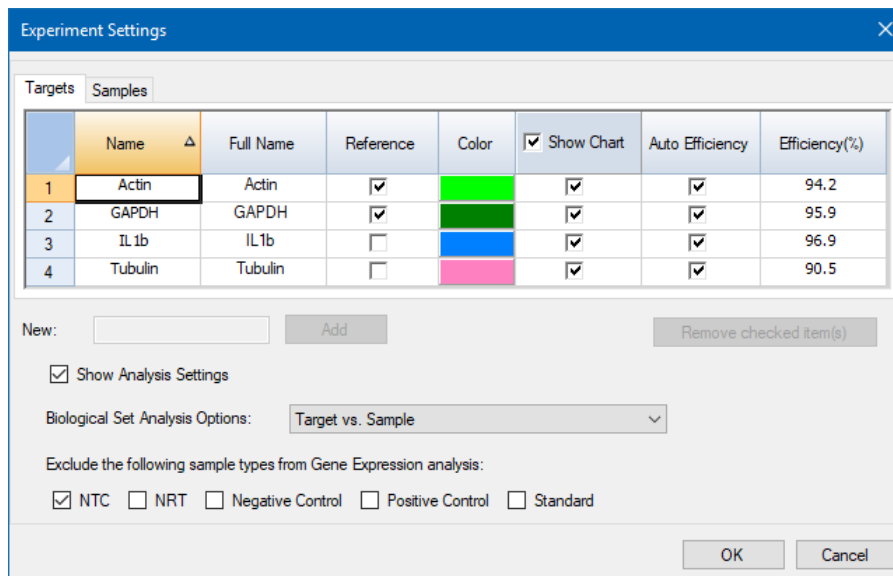
Padoms. Šis dialoglodziņš ir pieejams arī logā Plate Editor (Trauciņa redaktors). Papildu informāciju skatīt [Eksperimenta iestatījumu mainīšana 130. lpp.](#)

Dialoglodziņā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) var skatīt vai mainīt mērķu vai paraugu sarakstus, atlasīt atsauces gēnus, atlasīt kontroles vai iestatīt analizējamo gēnu ekspresijas analīzes grupu, ja iedobēm ir pievienoti bioloģisko kopu nosaukumi.

Dialoglodziņa Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) atvēršana

- ▶ Cilnē Bar Chart (Joslu diagramma) noklikšķiniet uz Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) labās puses rūts apakšā.

Parādīsies dialoglodziņš Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi), rādot cilni Targets (Mērķi).



Targets (Mērķi) iestatījumu pielāgošana

► Cilnē Targets (Mērķi) veiciet vienu no šādām darbībām:

- Lai atlasītu mērķi kā gēnu ekspresijas datu analīzes atsauci, atlasiet tā nosaukumu kolonnā Reference (Atsauce).
- Lai mainītu mērķa krāsu, noklikšķiniet tās šūnā kolonnā Color (Krāsa) un mainiet krāsu parādītajā dialoglodziņā Color (Krāsa).

Krāsu maiņa parādās Gene Expression (Gēnu ekspresija) diagrammās.

- Lai lietotu iepriekš noteiktu efektivitātes vērtību, izņemiet atzīmi no mērķa izvēles rūtiņas kolonnā Auto Efficiency (Automātiskā efektivitāte) un ievadiet mērķa efektivitātes procentuālās attiecības skaitli.

Programmatūra aprēķina mērķa relatīvo efektivitāti, izmantojot Auto Efficiency (Automātiskā efektivitāte), ja mērķa dati ietver standarta līkni.

Iestatījumu pielāgošana Sample (Bioloģiskā grupa)

► Cilnē Samples (Bioloģiskās grupas) veiciet tālāk norādītās darbības.

- Lai atlasītu paraugu kā gēnu ekspresijas datu analīzes kontroli, atlasiet tā nosaukumu kolonnā Control (Kontrolē).
- Lai mainītu parauga grupas krāsu, noklikšķiniet tās šūnā kolonnā Color (Krāsa) un mainiet krāsu parādītajā dialoglodziņā Color (Krāsa).

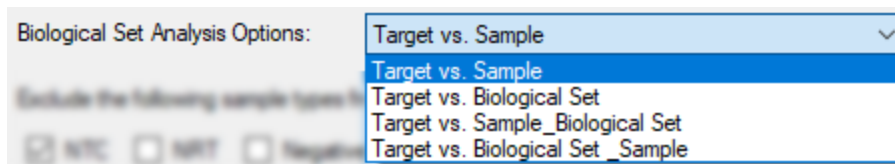
Krāsu maiņa parādās Gene Expression (Gēnu ekspresija) diagrammās.

- Lai rādītu paraugu gēnu ekspresijas diagrammās, atlasiet to kolonnā Show Chart (Rādīt diagrammu).
- Lai izņemtu paraugu no gēnu ekspresijas diagrammām, izdzēsiet to kolonnā Show Chart (Rādīt diagrammu).

Padoms. Parauga grupas dati paliek tabulā Results (Rezultāti).

Lai mainītu atlasi Biological Set Analysis Options (Bioloģisko kopu analīzes opcijas)

- ▶ Ja iedobēm traucīnā ir piešķirta viena vai vairākas bioloģiskās kopas (skatīt [Bioloģisko kopu piešķiršana iedobēm 123. lpp.](#)), saraksts Biological Set Analysis Options (Bioloģisko kopu analīzes opcijas) tiek rādīts dialoglodziņā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi), sniedzot jums iespēju mainīt atlasī, kā nepieciešams.



- **Target vs. Sample (Mērķis salīdzinājumā ar paraugu)** — gēnu ekspresijas aprēķinos tiek izmantots tikai iedobes parauga nosaukums.
- **Target vs. Biological Set (Mērķis salīdzinājumā ar bioloģisko komplektu)** — aprēķinos tiek izmantots tikai bioloģiskā komplekta nosaukums.
- **Target vs. Sample_Biological Set (Mērķis salīdzinājumā ar paraugu_bioloģisko komplektu)** — parauga nosaukums un bioloģiskā komplekta nosaukums tiek apvienoti, izveidojot vienu nosaukumu, ko lieto aprēķinos.
- **Target vs. Biological Set_Sample (Mērķa salīdzinājums ar bioloģisko kopu_paraugu)** — bioloģiskās kopas nosaukums un parauga nosaukums tiek apvienoti, izveidojot vienu nosaukumu, ko lieto aprēķinos.

Parauga veida izslēgšana no analīzes aprēķiniem

- ▶ Atlasiet tā izvēles rūtiņu dialoglodziņa Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) apakšā.

Piezīme. Tādējādi kontroles un/vai standarti tiek izslēgti no gēnu ekspresijas analīzes.

Mērķa stabilitātes vērtība

Mērķa stabilitātes vērtības tiek aprēķinātas katru reizi, kad tiek izmantots vairāk nekā viens atsauces gēns. CFX Manager Dx programmatūra atsauces gēniem aprēķina divus kvalitātes parametrus:

- Normalizētu atsauces gēnu relatīvā daudzuma **Coefficient Variance (CV) (Variāciju koeficients (VK))**. Zemāka VC vērtība apzīmē lielāku stabilitāti.
- **M Value (M) (M vērtība (M))** — atsauces gēna ekspresijas stabilitātes mērījums.

Ieteicamās CV (VK) un M vērtības tiek parādītas dialoglodziņa Stability Value (Stabilitātes vērtība) apakšdaļā.

Mērķa stabilitātes vērtības skatīšana

- ▶ Cilnes Gene Expression Bar Chart (Gēnu ekspresijas joslu diagramma) labās rūts apakšdaļā noklikšķiniet uz vienuma Target Stability Value (Mērķa stabilitātes vērtība).

Parādīsies dialoglodziņš Stability Value (Stabilitātes vērtība).

Peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas

Noklikšķiniet ar peles labo pogu uz gēnu ekspresijas diagrammas, lai atlasītu [34. tabula](#) parādītos vienumus.

34. tabula. Gēnu ekspresijas peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi

Vienums	Funkcija
Copy (Kopēt)	Kopē diagrammu starpliktuvē.
Save Image As (Saglabāt attēlu kā)	Saglabā diagrammu kā attēla failu. Iestatiet attēla izšķirtspēju un izmērus un tad atlasiet faila veidu (PNG, GIF, JPG, TIF vai BMP).
Page Setup (Lapas iestatīšana)	Atlasa lapas iestatījumu drukāšanai.
Print (Drukāt)	Izdrukā diagrammu.
Set Scale to Default (Iestatīt mērogu kā noklusējumu)	Show All (Rādīt visu) rāda visus datus joslu diagrammā. Scroll Bar (Ritjosla) rāda ritjoslu, ja paraugu ir pārāk daudz, lai rādītu diagrammas ietvarā un vienlaikus saglabātu minimālo joslu platumu.
(Diagrammas iestatījumi) Chart Options (Diagrammas opcijas)	Atver logu Chart Options (Diagrammas iestatījumi/Diagrammas opcijas), lai pielāgotu grafiku.

34. tabula. Gēnu ekspresijas peles labās pogas klikšķa izvēlnes vienumi, turpinājums

Vienums	Funkcija
Sort (Kārtot)	Kārto paraugu vai mērķu secību, kas redzami uz diagrammas x ass.
Use Corrected Std Devs (Lietot koriģētās standarta novirzes)	Aprēķina kļūdu joslas, izmantojot koriģētās standarta novirzes formulu.
Use Solid Bar Colors (Lietot tīrtoņa joslu krāsas)	Rāda tīrtoņu joslas diagrammā.
X–Axis Labels (X ass etiķetes)	Rāda x ass etiķetes horizontāli vai slīpi.

Datu izklājlapa

35. tabula ir definēti dati, kas parādīti datu tabulā Gene Expression (Gēnu ekspresija).

Piezīme. Vērtības tabulā tiek aprēķinātas, pamatojoties uz grafika veidu un preferencēm, kas atlasītas labajā rūtī.

35. tabula. Cilnes Graphing (Grafika veidošana) Bar Chart (Joslu diagramma) izklājlappā sniegtās informācijas apraksts

Informācija	Apraksts
Mērķis	Logā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) ir atlasīts mērķa nosaukums (amplificētais gēns).
Paraugs	Logā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) ir atlasīts parauga nosaukums.
Ctrl	Logā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) ir atlasīts kontroles nosaukums.
Relatīvais daudzums vai Ekspresija	Relatīvais daudzums (Δ_q) vai normalizēta gēnu ekspresija ($\Delta\Delta_q$) atkarībā no atlasītā režīma.
Relatīvais daudzums vai ekspresija SEM (vai standartnovirze)	Relatīvā daudzuma vai normalizētas ekspresijas vidējās vērtības standarta kļūda (SEM) vai standartnovirze atkarībā no atlasītās opcijas.
Koriģētais relatīvais daudzums vai ekspresija SEM (vai standartnovirze)	Koriģētā vērtība relatīvā daudzuma vai normalizētas ekspresijas SEM vai standartnovirzes aprēķināšanai atkarībā no atlasītās opcijas.

35. tabula. Cilnes Graphing (Grafika veidošana) Bar Chart (Joslu diagramma) izklājlapā sniegtās informācijas apraksts, turpinājums

Informācija	Apraksts
Vidējais C_q	Kvantitatīvās noteikšanas cikla vidējā vērtība.
C_q SEM (vai standartnovirze)	Kvantitatīvās noteikšanas cikla SEM vai standartnovirze atkarībā no atlasītās opcijas.

Opcija Show Details (Rādīt informāciju)

36. tabula definē rādāmos datus, kad no joslu diagrammas izklājlapas peles labās poga klikšķa izvēlnes tiek atlasīta opcija Show Details (Rādīt informāciju).

36. tabula. Informācija joslu diagrammas izklājlapā ar atlasītu opciju Show Details (Rādīt informāciju)

Informācija	Apraksts
Datu kopa	Fluorescences dati no viena fluorofora datu failā
Relatīvais daudzums	Aprēķinātais paraugu relatīvais daudzums
Relatīvais daudzums SD	Relatīvā daudzuma aprēķina standarta novirze
Koriģētais relatīvais daudzums SD	Aprēķinātā koriģētā relatīvā daudzuma standarta novirze
Relatīvais daudzums SEM	Relatīvā daudzuma aprēķina vidējā rādītāja standarta kļūda
Koriģētais relatīvais daudzums SEM	Aprēķinātā koriģētā relatīvā daudzuma vidējā rādītāja standarta kļūda
Relatīvais daudzums(lg)	Relatīvā daudzuma \log_2 , ko lieto statistiskajā analīzē
SD RQ(lg)	Relatīvā daudzuma standarta novirze (\log_2)
SEM ekspresija (lg)	Ekspresijas vidējā rādītāja standarta kļūda (\log_2)
Nemērogotā ekspresija	Aprēķinātā nemērogotā ekspresija
Nemērogotā ekspresija SD	Aprēķinātā nemērogotās ekspresijas standarta novirze
Koriģētā nemērogotā ekspresija SD	Aprēķinātā koriģētās nemērogotās ekspresijas standarta novirze

36. tabula. Informācija joslu diagrammas izklājlappā ar atlasītu opciju Show Details (Rādīt informāciju), turpinājums

Informācija	Apraksts
Nemērogotā ekspresija SEM	Aprēķinātā nemērogotās ekspresijas vidējā rādītāja standarta kļūda
Koriģētā nemērogotā ekspresija SEM	Aprēķinātā koriģētās nemērogotās ekspresijas vidējā rādītāja standarta kļūda
Nemērogotā ekspresija (lg)	Nemērogotās ekspresijas \log_2
SD nemērogotā ekspresija (lg)	Nemērogotās ekspresijas standarta novirze (\log_2)
SEM nemērogotā ekspresija (lg)	Nemērogotās ekspresijas vidējā rādītāja standarta kļūda (\log_2)
Ekspresija	Normalizētā gēnu ekspresija
Koriģētā ekspresija SD	Aprēķinātā standarta novirze
Ekspresija SEM	Vidējā rādītāja standarta kļūda
Koriģētā ekspresija SEM	Aprēķinātā vidējā rādītāja standarta kļūda
Ekspresija (lg)	Ekspresijas (normalizētas ekspresijas) \log_2 , ko lieto statistiskajā analīzē
SD ekspresija (lg)	Ekspresijas standarta novirze (\log_2)
SEM ekspresija (lg)	Ekspresijas vidējā rādītāja standarta kļūda (\log_2)
Vidējais C_q	Kvantitatīvās noteikšanas cikla vidējais
C_q SD	Kvantitatīvās noteikšanas cikla standarta novirze
C_q SEM	Kvantitatīvās noteikšanas cikla vidējā rādītāja standarta kļūda

Klastergramma

Klastergrammā dati tiek parādīti hierarhijā, balstoties uz ekspresijas līdzības pakāpi dažādiem mērķiem un paraugiem.

Piezīme. Jums jāizvēlas atsaucē mērķis, lai joslu diagrammās parādītu jebkurus datu grafiskos attēlojumus, kas nav relatīvā ekspresija.

Klastergrammas attēlā ir parādīta šāda parauga vai mērķa relatīvā ekspresija:

- ekspresijas līmeņa paaugstināšana (sarkans) — lielāka ekspresija;
- ekspresijas līmeņa pazemināšana (zaļš vai ziils) — mazāka ekspresija;
- regulēšana nenotiek (melns);
- vērtība netiek aprēķināta (melns ar baltu X zīmi).

Jo gaišāks krāsas tonis, jo lielāka relatīvo ekspresijas vērtību starpība. Ja nav iespējams aprēķināt normalizētu C_q vērtību, kvadrāts būs melns ar baltu X zīmi.

Datu grafiskā attēlojuma ārpusē ir dendrogramma, kas norāda uz klasterēšanas hierarhiju. Mērķiem vai paraugiem ar līdzīgiem ekspresijas profiliem būs blakus esošie atzarojumi, savukārt mērķi vai paraugi ar atšķirīgiem profiliem būs attālāki.

Iestatījumi

Jūs varat iestatīt šādas opcijas:

- Cluster By (Izveidot klasteri pēc) — izvēlieties Targets (Mērķi), Samples (Paraugi), Both (Abi) vai None (Neviens).
- Size (Izmērs) — regulē attēla izmēru maina diagrammas palielināšanas pakāpi.
- Split Out Replicates (Sadalītie replikāti) — parāda atsevišķu replikātu vērtības.

Padoms. Jūs varat mainīt krāsu shēmu klastergrammai un izkļiedes diagrammai no sarkanā/zaļā līdz sarkanajam/zilajam, atlasot šo opciju no izvēlnes, kurai var piekļūt, noklikšķinot ar peles labo pogu no šīm diagrammām.

Peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas

Peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas klastergrammai ir tādas pašas kā joslu diagrammai. Pieejamās opcijas skatīt [34. tabula 236. lappusē](#) Papildus atlasiet Color Scheme (Krāsu shēma), lai mainītu samazinošo (downregulation) ekspresiju no noklusējuma Red/Green (Sarkana/zaļa) uz Red/Blue (Sarkana/zila) diagrammā.

Datu izklājlapa

Izklājlapā redzamas mērķa, parauga un normalizētas ekspresijas vērtības. Noklikšķiniet izvēles rūtiņā blakus mērķim, lai to iekļautu plānā vai izslēgtu no tā.

Izkliedes diagramma

Izkliedes diagrammā tiek parādīta mērķu normalizēta ekspresija kontrolei salīdzinājumā ar eksperimenta paraugu. Līnijas diagrammā norāda regulēšanas sliekšņa vērtību. Datu punkti starp līnijām norāda, ka starpība paraugu attiecīgā mērķa (gēna) ekspresijā ir nenozīmīga. Datu punkti ārpus līnijām pārsniedz regulēšanas sliekšņa vērtību un var būt nozīmīgi.

Diagrammas attēlā tiek rādītas tālāk attēlotās mērķa ekspresijas izmaiņas, balstoties uz regulēšanas sliekšņa vērtību:

- Ekspresijas līmeņa paaugstināšana (sarkans aplis) — relatīvi lielāka ekspresija.
- Ekspresijas līmeņa pazemināšana (zaļš vai zils aplis) — relatīvi mazāka ekspresija.
- Nav izmaiņu (melns aplis).

Noklikšķiniet un velciet sliekšņa vērtības līniju, lai pielāgotu regulēšanas sliekšņa vērtību.

Iestatījumi

Jūs varat iestatīt šādas opcijas:

- Control Sample (Kontroles paraugs)
- Experimental Sample (Eksperimentālais paraugs)
- Regulation Threshold (Regulēšanas sliekšņa vērtība) Palielinot vai samazinot opcijas regulēšanas vērtību, sliekšņa vērtību līnijas diagrammā attiecīgi pārvietojas.

Peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas

Peles labās pogas klikšķa izvēlnes opcijas izkliedes plānam ir tādas pašas kā joslu diagrammai. Pieejamās opcijas skatīt [34. tabula 236. lappusē](#) Papildus atlasiet Symbol (Symbols), lai mainītu plānā lietoto simbolu no noklusējuma apla uz kādu no šiem:

- Trijstūris
- Krusts
- Kvadrāts
- Rombs

Datu izklājlapa

Izklājlapā tiek parādītas mērķa un normalizētas ekspresijas vērtības kontroles un eksperimenta paraugiem. Tajā arī norādīts, vai mērķi ir ar pazeminātu vai paaugstinātu ekspresijas līmeni, salīdzinot ar regulēšanas sliekšņa vērtību. Noklikšķiniet izvēles rūtiņā blakus mērķim, lai to iekļautu plānā vai izslēgtu no tā.

Rezultāti

Rezultātu cilne sniedz izklājlapu, kurā apkopoti dati no visām diagrammām. [37. tabula](#) definē rezultātu izklājlappā rādītos datus.

37. tabula. Informācija rezultātu cilnē

Informācija	Apraksts
Target (Mērķis)	Mērķa nosaukums (amplificēts gēns)
Sample (Paraugs)	Parauga nosaukums
Mean C _q (Vidējais)	Kvantitatīvās noteikšanas cikla vidējais rādītājs
Mean Efficiency Corrected C _q (Vidējais C _q ar koriģētu efektivitāti)	Kvantitatīvās noteikšanas cikla vidējais rādītājs pēc reakcijas efektivitātes pielāgošanas
Normalized Expression (Normalizēta ekspresija)	Mērķa ekspresija, normalizēta uz atsauces mērķi ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Relatīvā normalizēta ekspresija)	Normalizēta ekspresija, kas attiecas uz kontroles paraugu, saukta arī par Fold Change
Regulation (Regulēšana)	Izmaiņas ekspresijā attiecībā pret kontroles paraugu
Compared to Regulation Threshold (Salīdzinājumā ar regulēšanas sliekšņa vērtību)	Eksperimentāla parauga regulēšana augšup vai lejup, pamatojoties uz sliekšņa vērtības iestatījumu

Piezīme. Replikātu dati atrodami tikai datu analīžu cilņu izklājlappās, kurās atlasīts Split Out Replicates (Izdalīt replikātus) (proti, Clustergram). Ja atlasāt "nav" kā kontroles paraugu joslu diagrammā, starp ekspresijas datiem gēnu ekspresijas analīzes izklājlappās var būt neatbilstības.

Gēnu pētījums

Izveidojiet gēnu pētījumu, lai salīdzinātu viena vai vairāku reāllaika PCR eksperimentu gēnu ekspresijas datus, izmantojot starpizpildes kalibratoru, lai veiktu normalizēšanu starp eksperimentiem. Izveidojiet gēnu pētījumu, pievienojot gēnu pētījumam datus no viena vai vairākiem datu failiem (paplašinājums .bpcrd). Programmatūra tos sagrupē vienā failā (paplašinājums .mgxd).

Piezīme. Maksimālo paraugu skaitu, kādu var analizēt gēnu pētījumā, ierobežo datora RAM un virtuālās atmiņas lielums.

Iekšējās izpildes kalibrēšana

Iekšējās izpildes kalibrēšanas mēģinājums notiek katrā gēnu pētījumā katram mērķim, lai normalizētu iekšējās izpildes variācijas starp mērķiem, kas testēti atsevišķās reāllaika PCR izpildēs (tas ir, dažādiem .pcrd failiem, kas ģenerēti no dažādiem traucieniem).

Lai programmatūra atpazītu paraugu kā iekšējās izpildes kalibrētāju, tam katrā salīdzināmajā traucīnā jābūt vienādam mērķa nosaukumam, parauga nosaukumam un, ja tāds tiek izmantots, bioloģiskā komplekta nosaukumam.

Piezīme. Lai tiktu veikta iekšējās izpildes kalibrēšana, gēnu pētījumā jābūt vismaz vienam iekšējās izpildes kalibrēšanas paraugam. Mērķi bez atbilstošiem iekšējās izpildes kalibrētāja paraugiem gēnu pētījumā tiks apstrādāti bez korekcijas (nav ieteicams).

Iekšējās izpildes kalibrētājus var lietot divos veidos:

- Mērķim — dažādiem PCR praimeriem var būt dažāda efektivitāte. Iekšējās izpildes kalibrētājs pēc noklusējuma tiek lietots visām viena traucīna iedobēm, kurām ir vienāds mērķa nosaukums, piemēram, C_q, kas ģenerēti ar vienu testu.
- Visam pētījumam — lietotājs atlasa vienu iekšējās izpildes kalibrētāju un lieto to visam gēnu pētījumam.

Dialoglodziņš Gene Study (Gēnu pētījums)

Dialoglodziņā Gene Study (Gēnu pētījums) ir divas cilnes.

- Cilne Study Setup (Pētījuma iestatīšana) — pārvalda izpildes gēnu pētījumā.

Svarīgi! Datu failu pievienošana un noņemšana gēnu pētījumā nemaina datus oriģinālajā failā.

- Cilne Study Analysis (Pētījuma analīze) — parāda gēnu ekspresijas datus apvienotajām izpildēm.

Cilne Study Setup (Pētījuma iestatīšana)

38. tabula ir izskaidroti dati, kas parādās cilnē Study Setup (Pētījuma iestatīšana).

38. tabula. Dialoglodziņā Gene Study (Gēnu pētījums) izvēlieties cilni Study Setup (Pētījuma iestatīšana).

Kolonnas nosaukums	Apraksts
File Name (Faila nosaukums)	Izpildes datu faila nosaukums (.pcrd paplašinājums)
File Folder (Faila mape)	Direktorijā, kurā tiek uzglabāts katras datu pētījuma izpildes datu fails
Date Created (Izveides datums)	Datums, kad izpildes dati tika savākti
Well Group Name (Iedobju grupas nosaukums)	Iedobju grupas, kas tika atlasīta, kad fails tika pievienots gēnu pētījumam, nosaukums Padoms. Lai gēnu pētījumā analizētu vienu iedobju grupu, jums pirms datu faila importēšanas gēnu pētījumā šī iedobju grupa jāatlasa logā Data Analysis (Datu analīze).
Step (Darbība)	Protokola darbība, kas ietver trauciņa nolasišanu, lai vāktu reāllaika PCR datus
Run Type (Izpildes veids)	Lietotāja definēta vai PrimePCR izpilde
Protocol Edited (Rediģētais protokols)	Ja ir atlasīta šī opcija, tā norāda, ka PrimePCR izpildei izmantotais protokols tika rediģēts
View Plate (Skatīt trauciņu)	Atver trauciņu karti ar datiem katrā izpildē, kas iekļauta gēnu pētījumā

Gēnu pētījuma sagatavošana

Gēnu pētījuma sagatavošana

- Pirms datu importēšanas gēnu pētījumā, logā Data Analysis (Datu analīze) veiciet tālāk aprakstīto darbību.
 - Pārbaudiet, vai paraugiem ar vienādu saturu ir vienāds nosaukums. Gēnu pētījumā programmatūra pieņem, ka iedobes ar vienādiem mērķa vai parauga nosaukumiem satur vienādus paraugus.
 - Cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana) pielāgojiet bāzlīniju un sliekšņa vērtību (C_q), lai katrā izpildē optimizētu datus.

- Atlasiet iedobju grupu, kuru vēlaties iekļaut gēnu pētījumā.

Lai gēnu pētījumā rādītu datus no vienas iedobju grupas, šai grupai jābūt atlasītai pirms datu faila importēšanas.

Cilnē Study Setup (Pētījuma iestatīšana) tiek rādīts visu gēnu pētījuma izpildžu saraksts.

2. Dialoglodziņā Gene Study (Gēnu pētījums) izvēlieties cilni Study Setup (Pētījuma iestatīšana).
3. Noklikšķiniet uz Add Data Files (Pievienot datu failus), lai atlasītu failu no pārlūkprogrammas loga.

Padoms. Lai gēnu pētījumam ātri pievienotu izpildes, velciet datu failus (.pcrd paplašinājums) dialoglodziņā Study Setup (Pētījuma iestatīšana).

4. CFX Manager Dx software automātiski veic gēnu pētījuma analīzi, kad pievienojat datu failus. Izvēlieties cilni Study Analysis (Pētījuma analīze), lai skatītu rezultātus.

Izpilžu noņemšana no gēnu pētījuma

- ▶ Sarakstā atlasiet vienu vai vairākus failus un noklikšķiniet uz Remove (Noņemt).

Piezīmju pievienošana par gēnu pētījumu

- ▶ Piezīmes par failiem un analīzi pievienojiet tekstlodziņā Notes (Piezīmes).

Cilne Study Analysis (Pētījuma analīze)

Cilnē Study Analysis (Pētījuma analīze) tiek parādīti dati no visām izpildēm gēnu pētījumā. Gēnu ekspresijas datu analīzes opcijas ir tādas pašas kā vienam datu failam ar tālāk norādītajiem izņēmumiem:

- Joslu diagrammām parādās iekšējās izpildes kalibrēšanas vērtības (ja aprēķinātas), noklikšķinot uz Inter-run Calibration (Iekšējās izpildes kalibrēšana).

Piezīme. Kā iekšējās izpildes kalibrētājus var izmantot tikai tālāk norādītos paraugu veidus.

- Nezināms
- Standarta
- Pozitīvā kontrole

Paraugu veidus Negatīvā kontrole, Bez veidnes kontroles (NTC) un Bez reversās transkriptāzes (NRT) nevar izmantot kā iekšējās izpildes kalibrētājus.

Gēnu pētījuma atskaites izveide

Gēnu pētījuma atskaites izveidošana

1. Pirms atskaites veidošanas pielāgojiet gēnu pētījuma atskaites datus un diagrammas, kā nepieciešams.
2. Atlasiet Tools > Reports (Rīki > Atskaites) izvēlnē Gene Study (Gēnu pētījums), lai atvērtu dialoglodziņu Report (Atskaite).
3. Izvēlieties opcijas, kuras vēlaties iekļaut atskaitē. Atskaite atveras ar atlasītām noklusējuma opcijām. Ielieciet atzīmes izvēles rūtiņās vai arī izņemiet atzīmes no tām, lai mainītu veselas kategorijas vai tikai atsevišķas opcijas kategorijas robežās.

[Gēnu pētījuma atskaišu kategorijas 249. lpp.](#) uzskaitītas pieejamās opcijas rādīšanai.

4. Mainiet kategoriju un vienumu secību atskaitē. Aizvelciet opcijas uz vajadzīgo pozīciju. Vienumus var pārkārtot tikai to kategoriju robežās, pie kurām šie vienumi pieder.
5. Noklikšķiniet uz Update Report (Atjaunināt atskaiti), lai atjauninātu Report Preview (Atskaites priekšskatījumu) ar visām izmaiņām.
6. Izdrukājiet vai saglabājiet atskaiti. Lai izdrukātu pašreizējo atskaiti, noklikšķiniet uz pogas Print Report (Drukāt atskaiti) rīkjoslā. Atlasiet File > Save (Fails > Saglabāt), lai saglabātu atskaiti PDF (Adobe Acrobat Reader fails) formātā un atlasiet vietu, kurā failu saglabāt. Atlasiet File > Save As (Fails > Saglabāt kā), lai saglabātu atskaiti ar jaunu nosaukumu vai jaunā atrašanās vietā.
7. (Papildiespēja) Izveidojiet atskaites veidni ar tādu informāciju, kādu vēlaties. Lai saglabātu pašreizējos atskaites iestatījumus veidnē, atlasiet Template > Save vai Save As (Veidne > Saglabāt vai Saglabāt kā). Pēc tam nākamajā reizē, kad vēlaties veidot jaunu atskaiti, ielādējiet atskaites veidni.

Gēnu pētījuma atskaišu kategorijas

Izmantojiet dialoglodziņu Gene Study Report (Gēnu pētījuma atskaite), lai sakārtotu gēnu pētījuma datus atskaitē. [39. tabula](#) uzskaitītas visas gēnu pētījuma atskaitē pieejamās opcijas.

39. tabula. Gēnu pētījuma atskaišu kategorijas

Kategorija	Opcija	Apraksts
Header (Galvene)		
		Atskaites virsraksts, apakšvirsraksts un logotips
	Report Information (Informācija par atskaiti)	Datums, lietotājs, datu faila nosaukums, datu faila ceļš un atlasītā iedobju grupa
	Gene Study File List (Gēnu pētījuma failu saraksts)	Visu gēnu pētījumā esošo datu failu saraksts
	Notes (Piezīmes)	Piezīmes par datu atskaiti
Study Analysis: Bar Chart (Pētījuma analīze: joslu diagramma)		
	Analysis Settings (Analīzes iestatījumi)	Atlasīto analīzes parametru saraksts
	Chart (Diagramma)	Gēnu ekspresijas joslu diagramma, kas atspoguļo datus
	Target Names (Mērķa nosaukumi)	Gēnu pētījumā izmantoto mērķu saraksts
	Sample Names (Paraugu nosaukumi)	Gēnu pētījumā izmantoto paraugu saraksts
	Data (Dati)	Izklājlapa, kas atspoguļo datus
	Target Stability (Mērķa stabilitāte)	Mērķa stabilitātes dati
	Inter-run Calibration (Iekšējās izpildes kalibrēšana)	Iekšējās izpildes kalibrēšanas dati

39. tabula. Gēnu pētījuma atskaišu kategorijas, turpinājums

Kategorija	Opcija	Apraksts
Study Analysis: Clustergram and Scatter Plot (Pētījuma analīze: klastergramma, izkliedes plāns, vulkāna plāns un siltuma karte/Klastergramma un izkliedes plāns)		
	Analysis Settings (Analīzes iestatījumi)	Katra diagrammas veida iestatījumi
	Chart (Diagramma)	Gēnu ekspresijas diagramma, kas atspoguļo datus
	Data (Dati)	Izklājlapa, kurā uzskaitīti dati katrā mērķī

A pielikums. Datu analīzes aprēķini

CFX Manager Dx programmatūra automātiski aprēķina formulas un parāda rezultātus cilnēs Data Analysis (Datu analīze). Šajā pielikumā sīki izskaidrots, kā CFX Manager Dx programmatūra aprēķina formulas.

Reakcijas efektivitāte

Pierādījumi liecina, ka, analizējot gēnu ekspresijas datus, katra praimera un zonžu kopas efektivitātes precīza mērījuma lietojums sniegs precīzākus rezultātus. Gēnu ekspresijas aprēķinos lietotā efektivitātes noklusējuma vērtība ir 100 %. Lai izvērtētu reakcijas efektivitāti, ģenerējiet standarta līkni, izmantojot reprezentatīvā parauga seriālus atšķaidījumus attiecīgajā dinamiskajā diapazonā un tad reģistrējiet efektivitāti sekojošas gēnu ekspresijas analīzes nolūkā. Ja jūsu virknē ir iekļauta standarta līkne, tad programmatūra automātiski aprēķina efektivitāti un parāda to zem virsraksta Standard Curve (Standarta līkne) cilnē Quantification (Kvantitatīvā noteikšana), ja ielikta atzīme izvēles rūtiņā Auto Efficiency (Automātiskā efektivitāte) cilnē Targets (Mērķi), kas atrodas logā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi).

Efektivitāte (E) efektivitātes formulās attiecas uz "efektivitātēm", kādas aprakstījis Pfaffl (2001) and Vandesompele et al. (2002). Šajās publikācijās efektivitāte 2 (perfekta dubultošana ar katru ciklu) ir līdzvērtīga 100 % efektivitātei šajā programmatūrā. Jums ir iespēja konvertēt savus efektivitātes aprēķinus uz tiem, kādi lietoti programmatūrā, izmantojot šādas matemātiskas attiecības:

- $E = (\% \text{ efektivitāte} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ efektivitāte} = (E - 1) * 100$

Relatīvais daudzums

Jebkuram paraugam (GOI) paredzētā relatīvā daudzuma (ΔC_q) aprēķināšanas formula ir:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Piezīme. Šī formula tiek izmantota, lai aprēķinātu relatīvo daudzumu, kad nav definēts kontroles paraugs.

kur:

- E = praimera un zonžu kopas efektivitāte. Šo efektivitāti aprēķina ar formulu (% efektivitāte * 0,01) + 1, kur 100 % efektivitāte = 2
- $C_{q(\text{min})}$ = vidējā C_q vērtība paraugam ar zemāko vidējo C_q vērtību GOI;
- $C_{q(\text{paraugs})}$ = parauga vidējā C_q vērtība;
- GOI = interesējošais gēns (viens mērķis)

Relatīvais daudzums, kad ir atlasīta kontrole

Kad ir piešķirts kontroles paraugs, jebkura parauga interesējošā gēna (GOI) relatīvais daudzums (RQ) tiek aprēķināts, izmantojot tālāk norādīto formulu:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{kontrolē})} - C_{q(\text{sample})})}$$

kur:

- E = praimera un zonžu kopas efektivitāte. Šo efektivitāti aprēķina ar formulu (% efektivitāte * 0,01) + 1, kur 100 % efektivitāte = 2
- $C_{q(\text{kontrolē})}$ = vidējā C_q kontroles paraugam
- $C_{q(\text{paraugs})}$ = vidējā C_q jebkuriem paraugiem ar GOI
- GOI = interesējošais gēns (viens mērķis).

Relatīvā daudzuma standarta novirze

Relatīvā daudzuma standarta novirzes formula ir

$$SD \text{ Relative Quantity} = SD C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

kur:

- SD relatīvais daudzums = relatīvā daudzuma standarta novirze
- $SD C_{q \text{ GOI sample}} = C_q$ standarta novirze paraugam (GOI)
- Relative Quantity = parauga relatīvais daudzums
- E = praimera un zonžu kopas efektivitāte. Šo efektivitāti aprēķina ar formulu (% efektivitāte * 0,01) + 1, kur 100 % efektivitāte = 2
- GOI = interesējošais gēns (viens mērķis)

Efektivitātes korigētais C_q (C_{qE})

Efektivitātes korigētā C_q (C_{qE}) formula ir

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

kur:

- E = efektivitāte

Vidējās efektivitātes korigētais C_q (MC_{qE})

Vidējās efektivitātes korigētā C_q formula ir

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE \text{ (Rep 1)}} + C_{qE \text{ (Rep 2)}} + \dots + C_{qE \text{ (Rep n)}}}{n}$$

kur:

- C_{qE} = efektivitātes korigētais C_q ;
- n = kopiju skaits.

Normēšanas koeficients

Normalizētās ekspresijas vienādojuma saucēju sauc par normējošo koeficientu. Normējošais koeficients ir visu atsauces mērķu (gēnu) relatīvo daudzumu ģeometriskais vidējais konkrēta parauga gadījumā, kā aprakstīts šajā formulā:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

kur:

- RQ = relatīvais daudzums
- n = atsauces mērķu skaits
- GOI = interesējošais gēns (viens mērķis)

Normalizēta ekspresija

Normalizēta ekspresija ($\Delta\Delta C_q$) ir jūsu mērķa (gēna) relatīvais daudzums, normalizēts uz atsaucē mērķu (gēnu vai secību) daudzumiem jūsu bioloģiskajā sistēmā. Lai atlasītu atsaucē mērķus, atveriet logu Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) un noklikšķiniet uz atsaucē kolonnas katram mērķim, kas kalpo kā atsaucē gēns.

Formula normalizētas ekspresijas gadījumā, kurā lieto aprēķināto relatīvā daudzuma (RQ) aprēķinu, ir

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{(\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

kur:

- RQ = parauga relatīvais daudzums
- Ref = atsaucē mērķis virknē, kurā iekļauts viens vai vairāki atsaucē mērķi katrā paraugā
- GOI = interesējošais gēns (viens mērķis)

Ar nosacījumu, ka atsaucē mērķi nemaina savu ekspresijas līmeni jūsu bioloģiskajā sistēmā, normalizētas ekspresijas aprēķinā tiks ņemtas vērā ielādes starptības vai variācijas šūnu skaitā, kāds pārstāvēts katrā jūsu paraugā.

Normalizēta ekspresija, kad atlasīta kontrole

Logā Experiment Settings (Eksperimenta iestatījumi) atlasot kontroles paraugu, programmatūra iestata kontroles parauga ekspresijas līmeni uz 1. Šajā situācijā programmatūra normalizē visu mērķu (gēnu) ekspresijas relatīvos daudzumus uz kontroles daudzumu (vērtība 1). Šī normalizētā ekspresija ir līdzvērtīga nemērogotas normalizētas ekspresijas analīzei, izvēloties kontroli.

Piezīme. Tā zināma arī kā relatīvā normalizētā ekspresija (RNE) un kārtu maiņa.

Standarta novirze normalizētas ekspresijas gadījumā

Normalizētas ekspresijas vērtības pārmērošanu veic, dalot normalizētas ekspresijas standarta novirzi ar normalizētas ekspresijas vērtību augstākajā vai zemākajā individuālās ekspresijas līmenī atkarībā no jūsu izvēlētās mērogošanas opcijas. Normēšanas koeficienta standarta novirzes (SD) formula ir

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

kur:

- RQ = parauga relatīvais daudzums
- SD = standarta novirze
- NF = normēšanas koeficients
- Ref = atsauces mērķis
- n = atsauces mērķu skaits

Piešķirot kontroles paraugu, nevajag veikt šo standarta novirzes pārmērošanas funkciju, kā parādīts šajā formulā:

$$SD\ NE_{\text{sample (GOI)}} = NE_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{\text{sample}}}{NF_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{sample (GOI)}}}{RQ_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

kur:

- NE = normalizēta ekspresija
- RQ = parauga relatīvais daudzums
- SD = standarta novirze
- GOI = interesējošais gēns (viens mērķis)

Normalizēta ekspresija, kas mērogota augstākajā ekspresijas līmenī

Kad izpilde neietver kontroles, mērogojiet normalizētu ekspresiju katram mērķim (gēnam), katra parauga ekspresijas līmeni sadalot ar visu paraugu ekspresijas augstāko līmeni. Programmatūra iestata augstāko ekspresijas līmeni uz 1 un atkārtoti mērogo visus parauga ekspresijas līmeņus. Augstākās mērogošanas formula ir

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

kur:

- GOI = interesējošais gēns (mērķis)

Normalizēta ekspresija, kas mērogota zemākajā ekspresijas līmenī

Kad izpildē nav iekļautas kontroles, mērogojiet katra mērķa (gēna) normalizētu ekspresiju (NE), dalot katra parauga ekspresijas līmeni ar ekspresijas zemāko līmeni visos paraugos. Programmatūra iestata ekspresijas zemāko līmeni uz vērtību 1 un pārmērogo visus paraugu ekspresijas līmeņus. Zemākā mērogošanas formula ir

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

kur:

- GOI = interesējošais gēns (mērķis)

Normalizēta ekspresija, kas mērogota vidējā ekspresijas līmenī

Kad izpilde neietver kontroles, mērogojiet normalizētu ekspresiju katram mērķim (gēnam), katra parauga ekspresijas līmeni sadalot ar visu paraugu ekspresijas līmeņa vērtību vidējo ģeometrisku. Programmatūra iestata vidējo ekspresijas līmeni uz 1 un atkārtoti mērogo visus parauga ekspresijas līmeņus. Vidējās mērogošanas formula ir

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

kur:

- GOI = interesējošais gēns (mērķis);
- GM = visu paraugu normalizētas ekspresijas vērtību vidējais ģeometriskais.

Standarta novirze mērogotas normalizētas ekspresijas gadījumā

Mērogotas normalizētas ekspresijas (NE) vērtības pārmērošanu veic, dalot normalizētas ekspresijas standarta novirzi (SD) ar normalizētas ekspresijas vērtību augstākajā (MAX) vai zemākajā (MIN) ekspresijas līmenī atkarībā no tā, kuru mērogošanas opciju izvēlējāties.

Piezīme. Piešķirot kontroles paraugu, nevajag veikt šo standarta novirzes pārmērošanas funkciju.

Šīs formulas aprēķins ir

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

kur:

- NE = normalizēta ekspresija
- SD = standarta novirze
- GOI = interesējošais gēns (mērķis)
- MAX = augstākais ekspresijas līmenis
- MIN = zemākais ekspresijas līmenis

Regulēšana

Regulēšana ir palielinājuma vai samazinājuma mērījums mērķa ekspresijā eksperimentāla parauga salīdzinājuma gadījumā ar kontroles paraugu un tiek noteikta šādi:

Ja ekspresija (eksperimentālā) > ekspresija (kontroles):

$$\text{Regulation} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Ja ekspresija (eksperimentālā) < ekspresija (kontroles):

$$\text{Regulation} = -1 / \left(\frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

Piezīme. Joslu diagrammai *ekspresija* tiek balstīta vai nu uz relatīvo daudzumu, vai normalizētu ekspresiju atkarībā no atlasītā režīma (skatīt [Joslu diagramma 228. lpp.](#)). Tomēr izkliedes plāna un klastergrammas gadījumā regulēšana vienmēr tiek aprēķināta no normalizētās ekspresijas.

Koriģēto vērtību formulas

Koriģēto vērtību un nekoriģēto vērtību starpība ir redzama tikai tad, ja kā daļa no reāllaika PCR izpildes tiek izveidota standarta līkne. Lai noteiktu kļūdas izplatību, programmatūra lieto trīs vienādojumus:

- Standarta novirze
- Standarta kļūda normalizētas ekspresijas gadījumā
- Standarta kļūda normalizētā interesējošā gēna (mērķa) gadījumā

Standarta kļūdas formula ir

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

kur:

- n = atsauces mērķu (gēnu) skaits
- SD = standarta novirze

Standarta kļūda normēšanas koeficienta gadījumā normalizētas ekspresijas formulā ir

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

kur:

- n = atsauces mērķu skaits
- SE = standarta kļūda
- NF = normēšanas koeficients
- RQ = relatīvais daudzums

Standarta kļūdas normalizētā interesējošā gēna (GOI) gadījumā formula ir,

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

kur:

- SE = standarta kļūda
- GOI = interesējošais gēns (viens mērķis)
- NF = normēšanas koeficients
- n = atsauces mērķu skaits

B pielikums. Lietotāju un lomu CFX Manager Dx pārvaldīšana

CFX Manager Dx programmatūrā var izveidot lietotājus un piešķirt lomu šiem lietotājiem. Lomas ierobežo piekļuvi CFX Manager Dx līdzekļiem. Lietotājam vienā laikā var tikt piešķirta tikai viena loma. Tomēr CFX Manager Dx programmatūras administrators jebkurā laikā lietotāja lomu var mainīt.

Padoms. Lai lietotu CFX Manager Dx, nav nepieciešams izveidot lietotājus. Ja lietotājus neizveido, visa darbība tiek veikta ar noklusējuma lietotāja kontu *admin* (Administrators).

Svarīgi! Lietotājs *admin* ir noklusējuma administratora konts, ko lieto, sākotnēji piesakoties CFX Manager Dx. Ieteicams izveidotu konkrētu lietotāju, kas veic CFX Manager Dx administrēšanu. Piešķiriet šim lietotājam administratora lomu un veiciet visus administrēšanas uzdevumus ar šo lietotāju.

Svarīgi! CFX Manager Dx programmatūrai nav lietotāja sesijas neaktivitātes taimauta funkcijas. Tādēļ ir ieteicams ieviest Windows vai trešās puses drošības pasākumus (piemēram, ieviestu ekrānsaudzētāju ar obligātu pieteikšanos).

Lietotāju pārvaldīšana

CFX Manager Dx software standarta laidienā lietotāju kontiem var būt jebkāds nosaukums vai parole.

Lai katram lietotājam piešķirtu lomu, logā User Administration (Lietotāju administrēšana) veiciet atlasī no lomu saraksta. Šajā piemērā vieslietotājam ir piešķirtas papildu tiesības saglabāt failus.

Lietotāju pievienošana un noņemšana

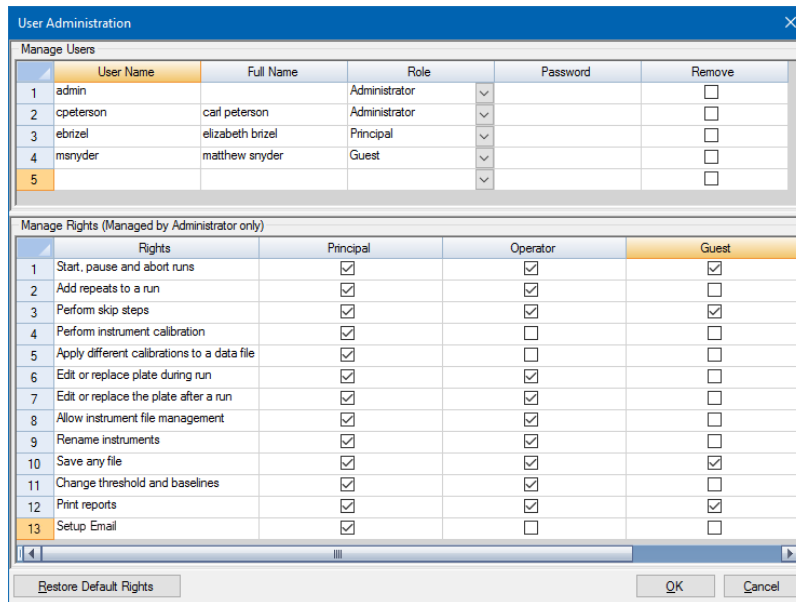
Piezīme. Lietotājus var pievienot un noņemt tikai CFX Manager Dx administrators.

Lietotāja kontu pievienošana CFX Manager Dx

1. Logā Home (Sākums) atlasiet User > User Administration (Lietotājs > Lietotāju administrēšana).

Parādīsies dialoglodziņš User Administration (Lietotāju administrēšana).

B pielikums. Lietotāju un lomu CFX Manager Dx pārvaldīšana



2. Rūpīt Manage Users (Pārvaldīt lietotājus) ierakstiet lietotāja lietotājvārdu.

3. Atlasiet lietotāja opciju Role (Loma).

Lomas ierobežo lietotāja tiesības. Noklusējuma loma ir Principal (Pamatlietotājs).

Padoms. Jūs varat mainīt katras lomas tiesības. Lomas tiesību izmaiņas ietekmē visus lietotājus, kuriem ir piešķirta šī loma. Papildu informāciju skatīt [Lomu tiesību pārvaldīšana 263. lpp.](#)

4. (Papildiespēja) Ierakstiet lietotāja Full Name (Pilns vārds) un Password (Parole).

5. Lai atvērtu dialoglodziņu un apstiprinātu, ka vēlaties aizvērt logu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

6. Lai aizvērtu dialoglodziņu un logu, noklikšķiniet uz Yes (Jā).

Lietotāja noņemšana

1. Rūpīt Manage Users (Pārvaldīt lietotājus) katram lietotājam, kuru vēlaties noņemt, atlasiet opciju Remove (Noņemt).

2. Lai atvērtu dialoglodziņu un apstiprinātu, ka vēlaties aizvērt logu, noklikšķiniet uz OK (Labi).

3. Lai aizvērtu dialoglodziņu un logu, noklikšķiniet uz Yes (Jā).

Piezīme. Programmatūras lietotāju sarakstā vienmēr jābūt vienam administratoram.

Lomu tiesību pārvaldīšana

CFX Manager Dx ietver šādas četras lomas:

- Administrators (obligāts) — administratoriem ir visas tiesības, un jūs šīs tiesības nevarat mainīt. Administratori var arī pievienot un noņemt lietotājus un mainīt katras lomas tiesības.

Piezīme. Tikai administrators var mainīt jebkuras lomas tiesības.
- Galvenais — pēc noklusējuma galvenajam lietotājam ir visas tiesības
- Operators — pēc noklusējuma lietotājam operatoram ir visas tiesības, izņemot tiesības izlaist ciklus
- Viesis — pēc noklusējuma lietotājs viesis drīkst tikai lasīt failus

Svarīgi! Lomas tiesību maiņa ietekmē visus lietotājus, kuriem šī loma piešķirta. Lomu nav iespējams pielāgot konkrētam lietotājam. Ievērojiet piesardzību, modificējot lomu tiesības.

Tiesību norādīšana katrai lomai

1. Logā Home (Sākums) atlasiet User > User Administration (Lietotājs > Lietotāju administrēšana).
2. Rūtī Manage Rights (Pārvaldīt tiesības) veiciet vienu no šādām darbībām:
 - Lai noņemtu kādas tiesības no lomas, izņemiet atzīmi no attiecīgās izvēles rūtiņas.
 - Lai pievienotu lomai kādas tiesības, ielieciet atzīmi attiecīgajā izvēles rūtiņā.
3. Lai atvērtu dialoglodziņu un apstiprinātu, ka vēlaties aizvērt logu, noklikšķiniet uz OK (Labi).
4. Lai aizvērtu dialoglodziņu un logu, noklikšķiniet uz Yes (Jā).

Visu tiesību atiestatīšana visām lomām

- ▶ Dialoglodziņā User Administration (Lietotāju administrēšana) noklikšķiniet uz Restore Default Rights (Atjaunot noklusējuma tiesības).

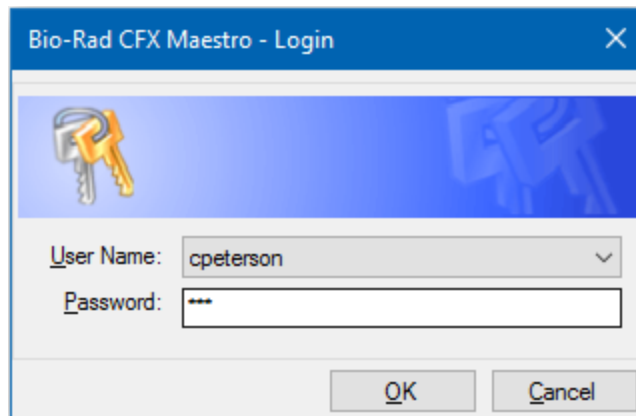
Pieteikšanās CFX Manager Dx programmatūrā

CFX Manager Dx programmatūra pārvalda, kurš piesakās programmatūrā ar dialoglodziņa Login (Pieteikšanās) starpniecību. Palaižot programmatūru, CFX Manager Dx automātiski rāda dialoglodziņu Login (Pieteikšanās), ja logā User Administration (Lietotāju administrēšana) ir norādīti divi vai vairāki lietotāji.

CFX Manager Dx rāda tā lietotāja vārdu, kurš pieteicies sistēmā, loga Home (Sākums) augšā.

Pieteikšanās CFX Manager Dx

1. Dialoglodziņā Login (Pieteikšanās) atlasiet savu vārdu no nolaižamā saraksta User Name (Lietotājvārds).
2. Ierakstiet savu paroli.
3. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai aizvērtu dialoglodziņu Login (Pieteikšanās) un atvērtu programmatūru.



Lietotāju maiņa

Lietotājus var mainīt, kamēr programmatūra darbojas.

Lietotāju pārslēgšana

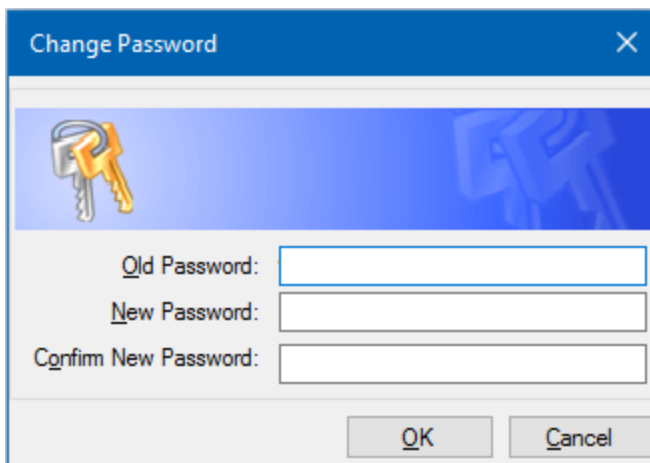
1. Logā Home (Sākums) atlasiet User > Select User (Lietotājs > Atlasīt lietotāju), lai atvērtu dialoglodziņu Login (Pieteikšanās).
2. Atlasiet vārdu no nolaižamā saraksta User Name (Lietotājvārds).
3. Ierakstiet jaunā lietotāja paroli.
4. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai aizvērtu dialoglodziņu Login (Pieteikšanās) un atvērtu programmatūru.

Lietotāju parolu mainīšana

CFX Manager Dx lietotāji jebkurā laikā var mainīt savu paroli.

Lietotāju parolu maiņa

1. Logā Home (Sākums) atlasiet User > Change Password (Lietotājs > Mainīt paroli), lai atvērtu dialoglodziņu Change Password (Mainīt paroli).



2. Laukā Old Password (Vecā parole) ierakstiet pašreizējo paroli.
3. Laukā New Password (Jaunā parole) ierakstiet jauno paroli, un vēlreiz ierakstiet to laukā Confirm New Password (Apstiprināt jauno paroli).
4. Noklikšķiniet uz OK (Labi), lai apstiprinātu izmaiņas.

Savas lomas un tiesību skatīšana

Padoms. Lietotāji, kuriem piešķirtas lietotāju lomas Galvenais, Operators vai Viesis, var skatīt tikai savus lietotāja iestatījumus, tiesības un lomas.

Savu pašreizējo lietotāja lomu un tiesību skatīšana

► Logā Home (Sākums) atlasiet User > User Administration (Lietotājs > Lietotāju administrēšana).

Sazinieties ar savu CFX Manager Dx administratoru, lai modificētu lietotāja iestatījumus, tiesības un lomas, kādas uzskaitītas logā User Administration (Lietotāju administrēšana).

C pielikums. LIMS integrācija

Jūs varat konfigurēt CFX Manager Dx programmatūru lietošanai kopā ar laboratorijas informācijas vadības sistēmu (LIMS). Lai integrētu LIMS, CFX Manager Dx nepieciešama trauciņu iestatīšanas informācija, ko ģenerē LIMS platforma (LIMS fails — *.plrn), protokola fails, kas izveidots, izmantojot CFX Manager Dx software (*.prcl), definēta datu eksportēšanas vieta un definēts eksportēšanas formāts.

Pēc izpildes pabeigšanas CFX Manager Dx ģenerē datu failu (.pcrd) un saglabā to definētā datu eksportēšanas mapē. CFX Manager Dx var izveidot arī ar LIMS saderīgu datu failu .csv formātā un saglabāt to tajā pašā vietā.

Ar LIMS saderīgu datu failu izveide

Šajā pielikumā izskaidrots, kā iestatīt CFX Manager Dx programmatūru, lai izveidotu, saglabātu un eksportētu ar LIMS saderīgus datu failus.

LIMS mapes un datu eksportēšanas opciju iestatīšana

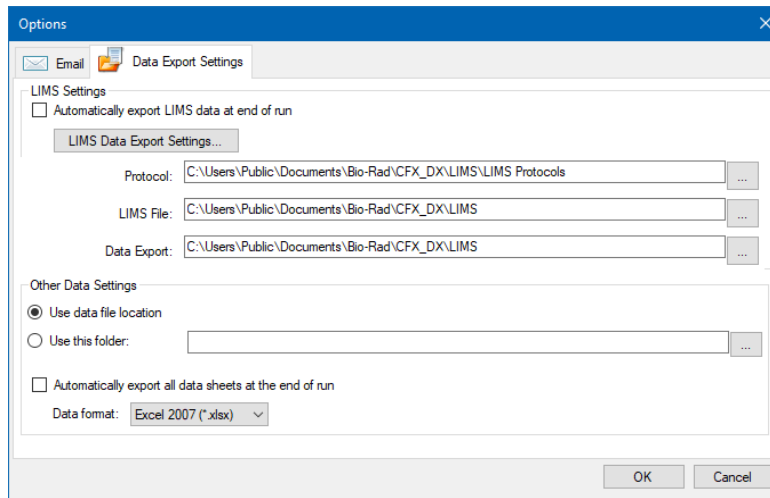
CFX Manager Dx Pēc noklusējuma saglabā LIMS protokolus, failus un datu eksportēšanas failus mapē

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

Jūs varat konfigurēt CFX Manager Dx, lai saglabātu failus citā mapē, un mainīt LIMS datu eksportēšanas opcijas.

LIMS mapes un datu eksportēšanas opciju iestatīšana

1. Logā Home (Sākums) atlasiet Tools > Options (Rīki > Opcijas).
2. Dialoglodziņā Options (Opcijas) atlasiet Data Export Settings (Datu eksportēšanas iestatījumi).



3. (Papildiespēja) Atlasiet opciju **Automatically export LIMS data at end of run** (Automātiski eksportēt LIMS datus izpildes beigās).

Programmatūra automātiski eksportē LIMS datus pēc katras izpildes un saglabā tos norādītajā vietā.

4. Lai mainītu LIMS datu eksportēšanas opcijas, noklikšķiniet uz **LIMS Data Export Settings** (LIMS datu eksportēšanas opcijas).

Svarīgi! Atpakaļ CFX Manager Dx var importēt tikai tos LIMS datus, kas eksportēti .csv failā.

5. Dialoglodziņā **LIMS Data Export Format Settings** (LIMS datu eksportēšanas formāta iestatījumi) atlasiet nepieciešamās eksportēšanas opcijas un noklikšķiniet uz **OK** (Labi).
6. Dialoglodziņā **Options** (Opcijas) navigējiet un atlasiet noklusējuma mapi, kurā vēlaties saglabāt LIMS datu failus. Katram failu veidam varat atlasīt citu atrašanās vietu:

- Protokols
- LIMS fails
- Datu eksportēšana

7. Noklikšķiniet uz **OK** (Labi), lai saglabātu izmaiņas un aizvērtu dialoglodziņu **Options** (Opcijas).

LIMS protokola izveide

Lai palaistu LIMS izpildi, izveidojiet CFX Manager Dx protokola failu (*.prcl) un saglabājiet to tam paredzētajā LIMS protokolu mapes atrašanās vietā.

Papildinformāciju skatiet šeit [6. nodaļa, Protokolu izveide](#)

LIMS faila izveide

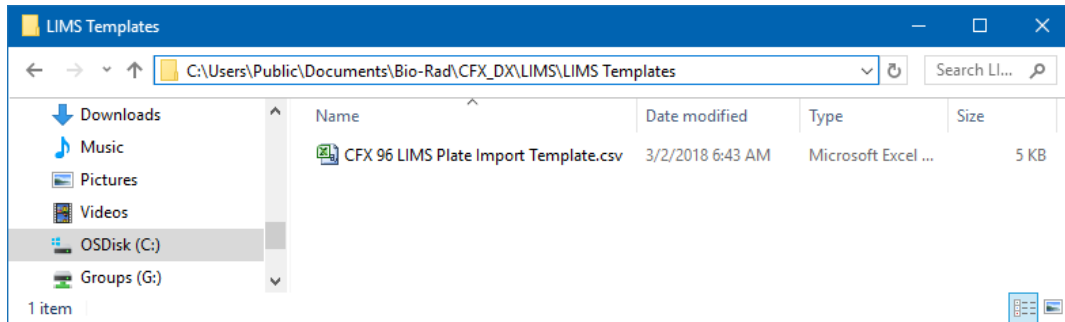
LIMS fails (*.plm) satur trauciņa iestatīšanas informāciju un protokola faila nosaukumu. Šo failu ir ģenerējis jūsu iekšējais LIMS. CFX Manager Dx izmanto LIMS failu, lai izveidotu trauciņa failu izmantošanai kopā ar protokola failu.

CFX Manager Dx nodrošina trauciņa importēšanas veidnes failus, kurus varat rediģēt, lai izveidotu pielāgotu LIMS trauciņu failus.

Padoms. Šis uzdevums jāveic LIMS speciālistam.

LIMS faila izveide

1. Logā Home (Sākums) atlasiet View > Show > LIMS File Folder (Skatīt > Rādīt > LIMS failu mape).
2. Atveriet mapi LIMS Templates (LIMS veidnes) un atlasiet .csv failu, lai importētu to iekšējā LIMS.



3. Ar LIMS palīdzību rediģējiet veidnes failu, aizpildot obligātos laukus, kas uzskaitīti 40. tabula.
4. Saglabājiet veidni mapē LIMS File Folder (LIMS failu mape) ar faila nosaukuma paplašinājumu .plm.

Svarīgi! CFX Manager Dx var atvērt tikai .plm failu. Lai sāktu LIMS izpildi, jums jāsavienā .csv fails kā .plm fails.

40. tabula. LIMS .csv faila satura skaidrojums

Kolonna	Row (rinda)	Apraksts	Content (Saturs)	Nolūks
A	1	Trauciņa galvene	Nerediģēt	Iepriekš definēts
A, B, C	2	Lauks/dati/norādījums	Nerediģēt	Iepriekš definēts

40. tabula. LIMS .csv faila satura skaidrojums, turpinājums

Kolonna	Row (rinda)	Apraksts	Content (Saturs)	Nolūks
B	3	Versija	Nerediģēt	Iepriekš definēts
B	4	Trauciņa lielums	Nerediģēt	Iepriekš definēts
B	5	Trauciņa veids	Ievadiet "BR White" (BR balts), "BR Clear" (BR caurspīdīgs) vai citu kalibrētu trauciņa veidu	Obligāts
B	6	Skenēšanas režīms	Ievadiet "SYBR/FAM Only:" (Tikai SYBR/FAM:), "All Channels" (Visi kanāli) vai "FRET"	Obligāts

40. tabula. LIMS .csv faila satura skaidrojums, turpinājums

Kolonna	Row (rinda)	Apraksts	Content (Saturs)	Nolūks
B	7	Mērvienības	Ievadiet vienu no tālāk norādītajām: "copy number" (kopijas numurs), "fold dilution" (atšķaidīšanas kārtā), "micromoles" (mikromoli), "nanomoles" (nanomoli), "picomoles" (pikomoli), "femtomoles" (femtomoli), "attomoles" (atomoli), "milligrams" (miligrami), "micrograms" (mikrogrami), "nanograms" (nanogrami), "picograms" (pikogrami), "femtograms" (femogrami), "attograms" (atogrami) vai "percent" (procenti)	Obligāts

40. tabula. LIMS .csv faila satura skaidrojums, turpinājums

Kolonna	Row (rinda)	Apraksts	Content (Saturs)	Nolūks
B	8	Run ID (Izpildes ID)	levadiet īsu aprakstu par svītrkodu, kas identificē šo izpildi (ne vairāk kā 30 rakstzīmes, komatu lietošana nav atļauta)	Optional (Izvēles)
B	9	Piezīme par izpildi	levadiet izpildes aprakstu	Optional (Izvēles)
B	10	Izpildes protokols	levadiet protokola failu precīzi, kā norādīts.	Obligāts
A	11	Datu fails	levadiet datu faila nosaukumu	Optional (Izvēles)
A	12–15	Jāaizpilda/tukšs	Nerediģēt	Iepriekš definēts
A	0	Trauciņa dati	Nerediģēt	Iepriekš definēts

40. tabula. LIMS .csv faila satura skaidrojums, turpinājums

Kolonna	Row (rinda)	Apraksts	Content (Saturs)	Nolūks
A	17–113	ledobes pozīcija	Nerediģēt	Iepriekš definēts

40. tabula. LIMS .csv faila satura skaidrojums, turpinājums

Kolonna	Row (rinda)	Apraksts	Content (Saturs)	Nolūks
B-G		Ch1 krāsviela, Ch2 krāsviela, Ch3 krāsviela, Ch4 krāsviela, Ch5 krāsviela, FRET	Ievadiet vienu kalibrētās krāsvielas nosaukumu (piemēram, "FAM") katram izmantotajam kanālam	Obligāts

40. tabula. LIMS .csv faila saturs skaidrojums, turpinājums

Kolonna	Row (rinda)	Apraksts	Content (Saturs)	Nolūks
H		Parauga veids	Ievadiet vienu no tālāk norādītajiem paraugu veidiem: "Nezināms", "Standarta", "Pozitīvā kontrole", "Negatīvā kontrole", "NTC" vai "NRT"	Obligāts
I		Parauga nosaukums	Ievadiet parauga nosaukumu	Optional (Izvēles)
J–O		CH1 mērķis, CH2 mērķis, CH3 mērķis, CH4 mērķis, CH5 mērķis, FRET mērķis	Ievadiet mērķa nosaukumu katram izmantotajam kanālam	Optional (Izvēles)
P		Bioloģiskā komplekta nosaukums	Ievadiet bioloģiskā komplekta nosaukumu	Optional (Izvēles)
Q		Kopija	Ievadiet pozitīvu veselu skaitli katram kopiju komplektam. Vērtība nevar būt nulle.	Optional (Izvēles)
R–W		CH1 daudzums, CH2 daudzums, CH3 daudzums, CH4 daudzums, CH5 daudzums, FRET daudzums	Ievadiet daudzuma vērtības jebkuriem standartiem. Ievadiet koncentrāciju decimālā formātā.	Obligāts visiem standartiem

40. tabula. LIMS .csv faila satura skaidrojums, turpinājums

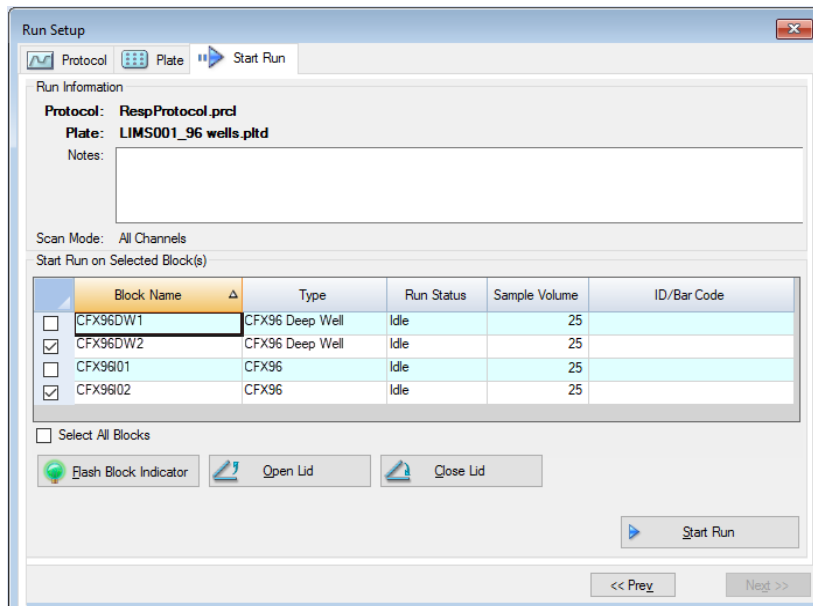
Kolonna	Row (rinda)	Apraksts	Content (Saturs)	Nolūks
X		Iedobes piezīme	Ievadiet iedobes piezīmi (ne vairāk par 20 rakstzīmēm)	Optional (Izvēles)
Y-AD		Ch1 iedobes krāsa, Ch2 iedobes krāsa, Ch3 iedobes krāsa, Ch4 iedobes krāsa, Ch5 iedobes krāsa, FRET iedobes krāsa	Ievadiet jebkuru lietotāja definētu trajektorijas stila krāsu 32 bitu veselu skaitļu (argb) decimālā formātā	Optional (Izvēles)

LIMS izpildes palaišana

LIMS izpildes palaišana

- Lai atvērtu LIMS .plrн failu, veiciet vienu no norādītajām darbībām:
 - Logā Home (Sākums) atlasiet View > Show > LIMS File Folder (Skatīt > Rādīt > LIMS failu mape) un atveriet mērķa .plrн failu.
 - Logā Home (Sākums) atlasiet File > Open > LIMS File (Fails > Atvērt > LIMS fails) un atveriet mērķa .plrн failu.

Fails atveras cilnē Start Run (Sākt izpildi) vednī Run Setup (Izpildes iestatīšana). Cīlnē Start Run (Sākt izpildi) redzama informācija par izpildāmo eksperimentu. Tur redzams arī pievienotais instrumentu bloks vai bloki, kuros varat izpildīt eksperimentu.
- Cīlnē Start Run (Sākt izpildi) atlasiet instrumentu un noklikšķiniet uz Start Run (Sākt izpildi).



Datu eksportēšana uz LIMS

Kad izpilde ir pabeigta, CFX Manager Dx ģenerē datu (.pcrd) failu un saglabā to noteiktajā datu eksporta mapes atrašanās vietā.

Lai eksportētu datu failu uz LIMS

- ▶ Atveriet .pcrd failu un atlasiet Export > Export to LIMS Folder (Eksports > Eksportēt uz LIMS mapi).

Padoms. Ja atlasāt Automatically Export Data after Run (Automātiski eksportēt datus pēc izpildes) logā LIMS Options (LIMS opcijas), CFX Manager Dx izveido ar LIMS saderīgu datu failu .csv formātā un saglabā to tajā pašā mapē.

C pielikums. LIMS integrācija

Problēmu novēršana

Parasti programmatūras un instrumentu sakaru problēmas var atrisināt, restartējot datoru un sistēmu. Pirms restartēšanas noteikti saglabāriet ikvienu notiekošo darbu.

Piezīme. Pārliecinieties, vai datoram ir pietiekama RAM un brīva vieta diskā. Minimālais RAM ir 4 GB, un minimālā vieta cietajā diskā — 128 GB.

Strāvas padeves pārtraukums

Strāvas padeves pārtraukuma gadījumā instruments un dators izslēgsies. Ja strāvas padeves pārtraukums ir īss, instruments atsāks izpildīt protokolu, taču lietojumprogrammas žurnālā tiks veikta piezīme par strāvas padeves pārtraukumu. Atkarībā no datora iestatījumiem, barošanas atslēgšanas ilguma un protokola darbības instruments un programmatūra mēģina turpināt izpildi:

- Ja jāizpilda protokola darbība bez trauciņa nolasīšanas, protokola izpilde tiks turpināta, tiklīdz instruments saņems barošanu.
- Ja jāizpilda protokola darbība ar trauciņa nolasīšanu, instruments gaidīs, kamēr programmatūra restartēsies un atjaunos sakarus, lai vāktu datus. Šādā situācijā protokola izpilde turpināsies tikai tad, ja programmatūru nav izslēdzis dators. Kad dators un programmatūra tiek palaisti atkārtoti, turpinās protokola izpilde.

Paraugu izņemšana no reakcijas moduļa strāvas padeves pārtraukuma gadījumā

Jūs varat atvērt reakcijas moduļa motorizētu vāku, lai strāvas padeves pārtraukuma gadījumā izņemtu paraugus.

Fiksējošās plāksnes noņemšana

1. Piespiediet fiksatoru, lai noņemtu reakcijas moduli no DNS amplifikatora C1000 Dx.
2. Uzmanīgi uzlieciet reakcijas moduli uz galda vai laboratorijas sola.
3. Novietojiet moduli tā, lai tā priekšpuse sniegtos pāri malai par 5 cm (2 collas).



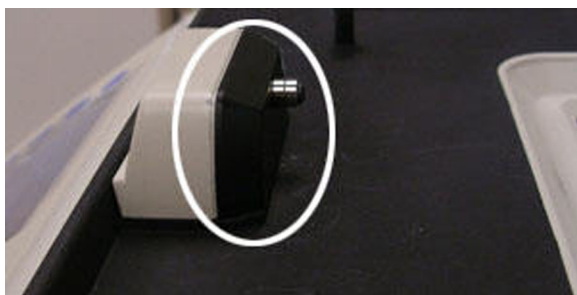
4. Ar sešstūra stienātslēgas palīdzību noskrūvējiet divas lielās skrūves zem reakcijas moduļa priekšējās malas (zem pogas, kas paredzēta vāka atvēršanai).

No moduļa jābūt dzirdamam, kā atbrīvojas slēgmehānisms.

Svarīgi! Neizņemiet divas mazās skrūves, kas atrodas uz moduļa priekšējās malas.



5. Pabīdiet reakcijas moduļa vāku, lai to atvērtu. Ņemiet vērā, ka slēgmehānisms (tumša plastmasa) vairs nav piestiprināts. Izņemiet paraugus no bloka.
6. Ievietojiet atpakaļ slēgmehānismu un nostipriniet to ar lielajām skrūvēm, lai uzstādītu atpakaļ reakcijas moduļa vāku.



Failu izgūšana CFX Manager Dx datorā

Jūs varat izgūt datus un žurnāla failus, kas atrodas instrumentā, un pārsūtīt tos pievienotā datora cieto disku.

Piezīme. Visi faili instrumenta pamatnes reāllaika datu mapē tiek izgūti datorā.

Lai izgūtu failus no instrumenta

1. Loga Home (Sākums) rūtī Detected Instruments (Atklātie instrumenti) ar peles labo pogu noklikšķiniet uz mērķa instrumenta un atlasiet vienu no tālāk redzamajām opcijām:
 - Retrieve Log Files (Izgūt žurnāla failus)
 - Retrieve Data Files (Izgūt datu failus)
2. Izvēlieties mapes, kurā saglabāt izgūtos failus, atrašanās vietu.
3. Noklikšķiniet uz Okay (Labi).

CFX Manager Dx programmatūras manuāla instalēšana

Manuāla CFX Manager Dx software programmatūras instalēšana

1. Ja nepieciešams, atvienojiet no datora visus pievienotos instrumentus.
Sameklējiet un atvienojiet instrumenta USB kabeli no CFX Manager Dx datora. Instrumentā iespraustais kabeļa gals var palikt savā vietā.
2. Piesakieties CFX Manager Dx datorā ar administratora tiesībām.
3. Ievietojiet programmatūras CD.
4. Pārlūkprogrammā Windows Explorer navigējiet uz CD, ar labo peles pogu noklikšķiniet uz programmatūras CD ikonas un atlasiet Explore (Pārlūkot), lai atvērtu logu CD.
5. Veiciet dubultklikšķi uz mapes CFX_Manager, lai to atvērtu, un pēc tam veiciet dubultklikšķi uz setup.exe, lai startētu programmatūras instalēšanas vedni.
6. Ievērojiet vednī sniegtos norādījumus, lai instalētu programmatūru, un pēc tam noklikšķiniet uz Finish (Pabeigt).

Draiveru pārinstalēšana

Instrumentu draiveru pārinstalēšana

- ▶ Logā Home (Sākums) atlasiet Tools > Reinstall Instrument Drivers (Rīki > Atkārtoti instalēt instrumentu draiverus).

Piezīme. Ja pēc draiveru pārinstalēšanas un USB savienojuma pārbaudes ir problēmas programmatūras sakaros ar reāllaika sistēmu, sazinieties ar Bio-Rad tehniskā atbalsta dienestu.

D pielikums. Problēmu novēršana CFX Manager Dx programmatūras savienojuma problēmas

E pielikums. Bibliogrāfija

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. Visas tiesības paturētas

Pārdale un lietojums avota un binārajās formās, ar modificēšanu vai bez tās, ir atļauti ar nosacījumu, ka ir ievēroti šādi nosacījumi:

1. Avota koda pārdaļēs ir jā saglabā iepriekš redzamais autortiesību paziņojums, šis nosacījumu saraksts un turpinājumā esošā atruna.
2. Pārdaļēs binārā formā ir jāreproducē iepriekš redzamais autortiesību paziņojums, šis nosacījumu saraksts un turpinājumā esošā atruna dokumentācijā un/vai citos materiālos, kas tiek iedalīti līdzī.
3. Galalietotāja dokumentācijā (ja tāda ir), kas tiek iekļauta pārdaļē, jāietver šāds apliecinājums:

“Šajā produktā ir iekļauta programmatūra, ko izstrādājusi Čikāgas universitāte kā Argonnes Nacionālās laboratorijas operators.”



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