

Systemy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx

Návod na obsluhu

REF 1845097-IVD
1844095-IVD
1841000-IVD
12007917

Revízia návodu: 2022
Revízia softvéru: 3.1



ZARADENÉ V ZOZNAME ETL

VYHOVUJE

UL Std. 61010-1

UL Std. 61010-2-010

UL Std. 61010-2-101

UL Std. 61010-2-081

CERTIFIKOVANÉ PODĽA

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

Systemy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well

Návod na obsluhu

Verzia 3.1

BIO-RAD

Technickú podporu Bio-Rad

Oddelenie technickej podpory Bio-Rad v USA je otvorené od pondelka do piatku od 5:00 do 17:00 pacifického času.

Telefón: 1-800-424-6723, voľba 2

E-mail: Support@bio-rad.com (iba USA/Kanada)

Ak chcete získať technickú pomoc mimo USA a Kanady, obráťte sa na miestne oddelenie technickej podpory alebo kliknite na odkaz Kontaktujte nás na adrese www.bio-rad.com.

Poznámka

Žiadna časť tejto publikácie nesmie byť reprodukováná alebo prenášaná v akejkoľvek forme alebo akýmkoľvek spôsobom, elektronicky alebo mechanicky, vrátane fotokópie, záznamu alebo akéhokoľvek systému na ukladanie alebo vyhľadávanie informácií bez písomného povolenia Bio-Rad.

Bio-Rad si vyhradzuje právo kedykoľvek upraviť svoje produkty a služby. Táto príručka sa môže zmeniť bez predchádzajúceho upozornenia. Hoci je pripravená na zaistenie presnosti, Bio-Rad nepreberá žiadnu zodpovednosť za chyby alebo opomenutia alebo za škody spôsobené aplikáciou alebo použitím týchto informácií.

BIO-RAD je ochranná známka spoločnosti Bio-Rad Laboratories, Inc.

BIO-RAD, HARD-SHELL a MICROSEAL sú ochranné známky spoločnosti Bio-Rad Laboratories, Inc. v určitých jurisdikciách.

SYBR je ochranná známka spoločnosti Thermo Fisher Scientific Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. je držiteľom licencie na predaj činidiel obsahujúcich SYBR Green na použitie v PCR v reálnom čase, len na výskumné účely.

EvaGreen je ochranná známka spoločnosti Biotium Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. je držiteľom licencie od spoločnosti Biotium Inc. na predaj činidiel obsahujúcich EvaGreen na použitie v PCR v reálnom čase, len na výskumné účely.

Všetky tu použité ochranné známky sú majetkom príslušného vlastníka.













Copyright © 2022 by Bio-Rad Laboratories, Inc. Všetky práva vyhradené.

Určené použitie

Systémy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx so softvérom CFX Manager Dx software sú určené na vykonávanie PCR na báze fluorescencie na detekciu a kvantifikáciu sekvencií nukleových kyselín. Systémy a softvér sú určené pre in vitro diagnostické použitie vyškolenými laboratórnymi technikmi. Systémy sú určené na použitie s diagnostickými testami nukleových kyselín tretích strán, ktoré boli vyrobené a označené na diagnostické účely.

Vysvetlivky

Dôležité upozornenie: Významné zmeny sú **zvýraznené!**

 Výrobca	 Číslo šarže
 Dátum spotreby	 In vitro diagnostické účely
 Teplotné obmedzenie	 Katalógové číslo
 Prečítajte si návod na použitie	 Počet testov
 Na použitie s	 Sériové číslo
 Použitie len na predpis	 Obsahuje latex



Označenie CE - Nariadenie (EÚ)
2017/746 o diagnostických zdravotníckych
pomôckach in vitro

Preklady

Príslušné dokumenty spolu s návodom na použitie je možné poskytnúť aj v iných jazykoch v elektronickej forme.

Obsah

Určené použitie	iii
Vysvetlivky	iii
Preklady	iv
Bezpečnosť a dodržiavanie predpisov	15
Bezpečnostné výstražné štítky	15
Špecifikácie bezpečného používania a zhoda s predpismi	16
Súlad s predpismi	17
Nebezpečenstvá	17
Biologické nebezpečenstvá	18
Chemické nebezpečenstvá	19
Nebezpečenstvo výbuchu alebo horľavosti	19
Elektrické nebezpečenstvá	20
Transport	20
Batéria	20
Likvidácia	20
Záruka	20
Kapitola 1 Úvod	21
Detekčné systémy PCR CFX Dx	22
Ďalšie informácie	22
Kapitola 2 Nastavenie tepelného cyklovača C1000 Dx	23
Požiadavky súvisiace s pracoviskom	23
Požiadavky na miesto na pracovnom stole	23
Požiadavky súvisiace s prostredím	24
Požiadavky na napájanie	24
Prehľad systému	25
Predný pohľad	25
Zadný pohľad	26
Moduly optickej reakcie	27

Odporúčaný objem vzorky	27
Inštalácia tepelného cyklovača C1000 Dx	28
Vybalenie a nastavenie tepelného cyklovača C1000 Dx	28
Pripojenie modulov optickej reakcie	29
Odstránenie prepravnej skrutky	30
Vloženie platničiek so vzorkami	32
Detekcia pripojených prístrojov	34
Odpojenie reakčného modulu	35
Vypnutie tepelného cyklovača C1000 Dx	35
Kapitola 3 Inštalácia softvéru CFX Manager Dx software	37
Systémové požiadavky	38
Inštalácia softvéru CFX Manager Dx software	39
Detekcia pripojených prístrojov	39
Súbory softvéru	40
Odporúčané opatrenia v oblasti kybernetickej bezpečnosti	41
Kapitola 4 Pracovný priestor	43
Okno Home (Domovské okno)	44
Startup Wizard (Sprievodca spustením)	45
Okno Protocol Editor (Editor protokolov)	46
Okno Plate Editor (Editor platničky)	47
Okno Data Analysis (Analýza dát)	48
Kapitola 5 Okno Home (Domovské okno)	49
Okno Home (Domovské okno)	50
Príkazy ponuky File (Súbor)	51
Príkazy ponuky View (Zobraziť)	51
Príkazy ponuky User (Používateľ)	52
Príkazy ponuky Run (Chod)	52
Príkazy ponuky Tools (Nástroje)	53
Príkazy ponuky Help (Pomocník)	53
Príkazy panela nástrojov	54
Startup Wizard (Sprievodca spustením)	55
Stavový riadok	55
Tabla Detected Instruments (Detegované prístroje)	56

Prehliadanie vlastností prístroja	60
Skôr než začnete	62
Nastavenie používateľských preferencií	62
Vytvorenie reakcie Master Mix	77
Kalibrácia nových farbív	81
Kapitola 6 Vytváranie protokolov	83
Okno Protocol Editor (Editor protokolov)	84
Príkazy ponuky File (Súbor)	85
Príkaz ponuky Settings (Nastavenia)	85
Príkazy ponuky Tools (Nástroje)	85
Príkazy panela nástrojov	85
Ovládače na úpravu protokolu	86
Vytvorenie protokolu v Protocol Editor (Editor protokolov)	89
Otváranie nového súboru protokolu v Protocol Editor (Editor protokolov)	89
Otvorenie existujúceho protokolu v aplikácii Protocol Editor (Editor protokolov)	90
Nastavenie nového protokolu	92
Pridanie krokov do protokolu	94
Vloženie kroku stúpania	94
Vloženie kroku GOTO	96
Vloženie kroku krivky tavenia	96
Pridanie alebo odstránenie kroku čítania platničky	98
Zmena možnosti kroku	98
Odstránenie kroku	99
Kopírovanie, export alebo tlač protokolu	99
Vytvorenie protokolu pomocou aplikácie Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter)	100
Používanie Ta Calculator (Ta kalkulačka)	102
Informácie o Ta Calculator (Ta kalkulačka)	102
Kapitola 7 Príprava platničiek	107
Okno Plate Editor (Editor platničky)	108
Príkazy ponuky File (Súbor)	109
Príkazy ponuky Settings (Nastavenia)	109
Príkazy ponuky Editing Tools (Nástroje na úpravu)	110
Príkazy panela nástrojov	110
Vytvorenie súboru platničky pomocou aplikácie Plate Editor (Editor platničky)	111

Otvorenie nového súboru platničky v Plate Editor (Editor platničky)	111
Otvorenie existujúcej platničky v aplikácii Plate Editor (Editor platničky)	114
Nastavenie súboru novej platničky	115
Priradenie voliteľných parametrov k súboru platničky	122
Priradenie cieľa k jamkám	122
Priradenie názvu vzorky k jamkám	124
Priradenie biologických súprav k jamkám	126
Priradenie čísiel replikátov jamkám	127
Priradenie série riedení k štandardným typom vzoriek	129
Kopírovanie obsahu jamky do inej jamky	130
Pridanie poznámky k jamke	130
Vymazanie všetkého obsahu z jamiek	131
Zmena nastavení experimentov	132
Vytváranie skupín jamiek	135
Zmena štýlov stôp	138
Prezeranie platničky vo formáte tabuľkového procesora	140
Vytvorenie rozloženia platničky pomocou Plate Setup Wizard (Sprievodca nastavením platničky)	143
Používanie aplikácie Setup Wizard (Sprievodca nastavením) platničky	143
Kapitola 8 Spúšťanie experimentov	147
Otvorenie okna Run Setup (Nastavenie chodu)	147
Okno Run Setup (Nastavenie chodu)	148
Karta Protocol (Protokol)	150
Karta Plate (Platnička)	153
Karta Start Run (Spustiť chod)	156
Spustenie experimentu	157
Dialógové okno Run Details (Podrobnosti chodu)	159
Karta Run Status (Stav chodu)	159
Karta Real-time Status (Stav v reálnom čase)	162
Karta Time Status (Stav času)	165
Vykonanie experimentov PrimePCR	166
Kapitola 9 Prehľad analýzy dát	169
Okno Data Analysis (Analýza dát)	169
Panel nástrojov analýzy dát	170

Panel menu s analýzou dát	171
Podrobnosti karty	174
Selektor Step Number (Číslo kroku)	175
Zobrazenie skupín jamiek v analýze dát	175
Zmena obsahu jamky po chode	175
Nastavenia analýzy dát	177
Nastavenie prahu	177
Základné nastavenie	177
Režim analýzy	178
Cykly na analýzu	179
Selektor jamiek	180
Položky pravým kliknutím myši v selektore jamiek	181
Jamky dočasne vylúčené z analýzy	182
Grafy	183
Bežné položky menu pre grafy, dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši	183
Kopírovanie údajov grafu do schránky	184
Upravenie nastavení základnej prahovej hodnoty	184
Usporiadanie údajov cieľa a vzorky	186
Zväčšenie oblasti v grafe	186
Kopírovanie grafov do súboru Microsoft	187
Tabuľkové procesory	188
Bežné položky menu pre tabuľkové procesory, dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši	188
Exportovať	190
Exportovanie všetkých kariet údajov	190
Vytvorenie súboru vlastného exportu	191
Export do priečinka LIMS	192
Exportovanie údajov vo formáte Seegene	192
Kapitola 10 Podrobnosti analýzy dát	193
Tabuľka Quantification (Kvantifikácia)	194
Možnosti fluoroforu	194
Dialógové okno Trace Styles (Štýly stôp)	195
Možnosť Log Scale (Logaritmickej mierky)	196
Graf Standard Curve (Štandardná krivka)	197

Možnosti menu grafu Amplification (Amplifikácia)	198
Tabuľkový procesor karty Kvantifikácia	198
Karta Quantification Data (Kvantifikačné dáta)	200
Tabuľkový procesor Results (Výsledky)	200
Tabuľkový procesor Standard Curve Results (Výsledky štandardnej krivky)	202
Tabuľkový procesor Plate (Platnička)	203
Tabuľkový procesor RFU	203
Karta Melt Curve (Krivka tavenia)	204
Prispôsobenie údajov Melt Curve (Krivka tavenia)	206
Karta Melt Curve Data (Dáta krivky tavenia)	207
Tabuľkový procesor Melt Peaks (Vrcholy tavenia)	207
Tabuľkový procesor Plate (Platnička)	208
Tabuľkový procesor RFU	209
Tabuľkový procesor -d(RFU)/dT	210
Karta End Point (Koncový bod)	211
Dáta výsledkov	212
Nastavenie koncového bodu analýzy dát	214
Tabuľkový procesor RFU pre analýzu koncového bodu	214
Karta Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia)	215
Prispôsobenie údajov pre alelickú diskrimináciu	216
Možnosti menu grafov	217
Tabuľkový procesor Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia)	218
Tabuľka Custom Data View (Vlastné zobrazenie údajov)	219
Vytvorenie vlastného zobrazenia údajov	220
Karta QC (Kontrola kvality)	221
Zmena kritérií QC	221
Vylúčenie jamiek, ktoré nevyhovujú QC	222
Karta Run Information (Informácie o chode)	223
Správy analýzy dát	224
Kategórie správy analýzy dát	225
Vytvorenie správy analýzy dát	228
Vytváranie správ o skupinách jamiek	229
Kapitola 11 Analýza expresie génu	231
Nastavenie platničky pre analýzu expresie génu	231

Nastavenie platničky pomocou sprievodcu	232
Grafy expresie génu	233
Stĺpcový graf	234
Usporiadanie údajov cieľa a vzorky	236
Prispôsobenie údajov expresie génu	237
Nastavenia experimentu	239
Hodnota stability cieľa	241
Možnosti menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši	242
Tabuľkový procesor údajov	243
Možnosť zobrazenia podrobností	244
Clustergram	246
Nastavenia	246
Možnosti menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši	246
Tabuľkový procesor údajov	247
Diagram rozptylu	248
Nastavenia	248
Možnosti menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši	248
Tabuľkový procesor údajov	249
Výsledky	250
Génová štúdia	251
Kalibrácia medzi chodmi	251
Dialógové okno Gene Study (Génová štúdia)	251
Karta Study Setup (Nastavenie štúdie)	251
Príprava génovej štúdie	252
Karta Study Analysis (Analýza štúdie)	253
Vytvorenie správy o génovej štúdii	254
Kategórie správ génovej štúdie	255
Príloha A Výpočty analýzy dát	257
Účinnosť reakcie	257
Relatívne množstvo	257
Relatívne množstvo, keď je vybraná kontrolná vzorka	258
Štandardná odchýlka relatívneho množstva	258
Korigovaná účinnosť Cq (CqE)	259
Korigovaná priemerná účinnosť Cq (MCqE)	259

Normalizačný faktor	259
Normalizovaná expresia	260
Normalizovaná expresia, keď je vybraná kontrola	260
Štandardná odchýlka pre normalizovanú expresiu	261
Normalizovaná expresia upravená na najvyššiu úroveň expresie	262
Normalizovaná expresia upravená na najnižšiu úroveň expresie	262
Normalizovaná expresia upravená na priemernú úroveň expresie	263
Štandardná odchýlka pre upravenú normalizovanú expresiu	264
Regulácia	264
Vzorce s korigovanými hodnotami	265
Príloha B Správa používateľov a úloh CFX Manager Dx	267
Správa používateľov	267
Pridávanie a odstraňovanie používateľov	268
Správa práv funkcií	269
Prihlásenie do softvéru CFX Manager Dx software	270
Zmena používateľov	270
Zmena používateľských hesiel	271
Zobrazenie vašej funkcie a práv	271
Príloha C Integrácia LIMS	273
Vytváranie dátových súborov kompatibilných s LIMS	273
Nastavenie možností priečinku LIMS a export dát	273
Vytvorenie protokolu LIMS	274
Vytvorenie súboru LIMS	275
Spustenie chodu LIMS	280
Export údajov do LIMS	281
Príloha D Riešenie problémov s pripojením softvéru CFX Manager Dx software	283
Protokol aplikácie	283
Riešenie problémov	284
Zlyhanie napájania	284
Načítanie súborov do počítača CFX Manager Dx	286
Manuálna inštalácia softvéru CFX Manager Dx software	287
Preinštalovanie ovládačov	287

Príloha E Referencie 289

Obsah

Bezpečnosť a dodržiavanie predpisov




Pre bezpečnú prevádzku systému CFX96 Dx alebo systému CFX96 Deep Well Dx so softvérom CFX Manager Dx software, ktorý sa v tomto dokumente označuje ako CFX Dx system, spoločnosť Bio-Rad dôrazne odporúča, aby ste dodržiavali bezpečnostné špecifikácie uvedené v tejto časti a príručke.

Dôležité upozornenie: Systémy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well sú schválené na použitie ako diagnostické zdravotnícke pomôcky in vitro (IVD).


Bezpečnostné výstražné štítky

Výstražné štítky umiestnené na prístroji a v tomto návode vás upozorňujú na zdroje zranenia alebo poškodenia. [Tabuľka 1](#) definuje všetky bezpečnostné výstražné štítky.

Tabuľka 1. Význam bezpečnostných výstražných štítkov

Ikona	Význam
	Upozornenie na nebezpečenstvo poškodenia tela alebo zariadenia Používanie systému CFX Dx system pred prečítaním tohto návodu môže predstavovať nebezpečenstvo poranenia osôb. Pre bezpečné používanie nepoužívajte tento prístroj žiadnym spôsobom, ktorý nie je špecifikovaný v tomto návode. Tento prístroj smie obsluhovať iba kvalifikovaný laboratórny personál vyškolený na bezpečné používanie elektrických zariadení. So všetkými komponentmi systému zaobchádzajte vždy opatrne a čistými, suchými rukami.
	Upozornenie na zaobchádzanie s biologicky nebezpečnými materiálmi Pri manipulácii s biologicky nebezpečnými vzorkami dodržiavajte odporúčané bezpečnostné opatrenia a pokyny a dodržiavajte všetky miestne smernice špecifické pre vaše laboratórium a jeho polohu.
	Upozornenie na nebezpečenstvo popálenia Tepelný cyklovač generuje dostatok tepla, aby spôsobil vážne popáleniny. Počas používania noste vždy ochranné okuliare alebo inú ochranu očí. Pred otvorením veka a vybratím vzoriek vždy nechajte blok vzorky, aby sa vrátil do pokojovej teploty. Vždy dbajte na to, aby ste zabránili náhodnému popáleniu pokožky.

Tabuľka 1. Význam bezpečnostných výstražných štítkov, pokračovanie

Ikona	Význam
	Upozornenie na nebezpečenstvo výbuchu Bloky vzoriek sa môžu počas normálnej prevádzky zahriať dostatočne, aby spôsobili var a explóziu kvapalín.

Špecifikácie bezpečného používania a zhoda s predpismi

Tabuľka 2 uvádza špecifikácie bezpečného používania pre Bio-Rad CFX Dx systémy detekcie PCR v reálnom čase. Dodávané tienené káble sa musia používať s týmito prístrojmi, aby sa zabezpečil súlad s limitmi FCC triedy A.

Tabuľka 2. Podmienky pre bezpečné použitie

Aspekt použitia	Podmienky pre bezpečné použitie
Menovitý vstupný prúd	100 – 240 VAC, 50 – 60 Hz, 850 W max
Kategória prepätia	II
Poistky	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, rýchla poistka (počet 2)
Prostredie	Len na použitie vnútri
Teplota použitia	15 – 31 °C
Teplota skladovania	-20 °C až 60 °C
Relatívna vlhkosť	Až 80 % (nekondenzujúca)
Nadmorská výška	Až 2000 metrov nad morom
Stupeň znečistenia	2

Súlady s predpismi

Systém na detekciu PCR v reálnom čase CFX Dx bol testovaný a je v súlade so všetkými platnými požiadavkami nasledujúcich bezpečnostných a elektromagnetických noriem:

- IEC 61010-1: 2010 (3. vyd.), EN61010-1: 2010 (3. vyd.). Elektrické zariadenia na meranie, riadenie a laboratórne použitie. Časť 1: Všeobecné požiadavky
- IEC 61010-2-010: 2014, EN 61010-2-010: 2014. Bezpečnostné požiadavky na elektrické zariadenia na meranie, riadenie a laboratórne použitie. Časť 2-010: Osobitné požiadavky na laboratórne zariadenia na ohrev materiálov
- IEC 61010-2-081: 2015, EN 61010-2-081: 2015. Bezpečnostné požiadavky na elektrické zariadenia na meranie, riadenie a laboratórne použitie. Časť 2-081: Osobitné požiadavky na automatické a poloautomatické laboratórne zariadenia na analýzu a iné účely (vrátane dodatku 1)
- IEC 61010-2-101: 2015 (2. vydanie). Bezpečnostné požiadavky na elektrické zariadenia na meranie, riadenie a laboratórne použitie. Osobitné požiadavky na diagnostické zdravotnícke zariadenia in vitro (IVD)
- IEC 61326-1: 2012 (trieda A), EN 61326-1: 2013 (trieda A). Elektrické zariadenia na meranie, riadenie a laboratórne použitie. Požiadavky na elektromagnetickú kompatibilitu. Časť 1: Všeobecné požiadavky
- IEC 61326-2-6: 2012, EN 61326-2-6: 2013 (trieda A). Elektrické zariadenia na meranie, riadenie a laboratórne použitie. Požiadavky na elektromagnetickú kompatibilitu. Osobitné požiadavky na diagnostické zdravotnícke zariadenia in vitro (IVD)

Dôležité upozornenie: Toto zariadenie vytvára, používa a môže vyžarovať rádiovú frekvenciu energiu a ak nie je inštalované a používané poskytnutou inštruktážnou dokumentáciou, môže spôsobiť škodlivé rušenie rádiodokomunikácií. Prevádzka systémov v obytnej zóne pravdepodobne spôsobí škodlivé rušenie, v takom prípade sa od používateľov bude vyžadovať, aby rušenie odstránili na vlastné náklady.

Nebezpečenstvá

Systém detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx je skonštruovaný na bezpečnú prevádzku, keď sa používa spôsobom predpísaným výrobcom. Keď sa systém detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx alebo ktorékoľvek jeho príslušné komponenty používajú spôsobom nešpecifikovaným výrobcom, vnútorná ochrana zabezpečená nástrojom môže byť narušená. Bio-Rad Laboratories, Inc. nie je zodpovedná za žiadne zranenie ani škody spôsobené použitím tohto systému nešpecifikovaným spôsobom alebo úpravami inštrumentu, ktoré nevykoná Bio-Rad alebo jej autorizovaný agent. Servis systému detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx smie vykonávať len kvalifikovaný personál Bio-Rad.

Biologické nebezpečenstvá

Systém detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx je produkt určený pre laboratóriá. Ak sú však prítomné biologicky nebezpečné vzorky, dodržujte nasledujúce smernice a dodržiavajte všetky miestne smernice špecifické pre vaše laboratórium a pracovisko.

Poznámka: Počas normálnej prevádzky tohto prístroja sa netvorí žiadne biologicky nebezpečné látky.

Všeobecné opatrenia

- Vždy používajte laboratórny plášť, laboratórne rukavice a bezpečnostné okuliare s bočnými krytmi alebo ochranné okuliare.
- Nedávajte si ruky k ústam, nosu ani očiam.
- Akúkoľvek reznú ranu alebo odreninu pred prácou s potenciálne infekčnými materiálmi úplne zakryte.
- Pred odchodom z laboratória si dôkladne umyte ruky mydlom a vodou po práci s akýmkoľvek potenciálne infekčným materiálom.
- Pred prácou na pracovnom stole si zložte náramkové hodinky a šperky.
- Všetky infekčné alebo potenciálne nebezpečné materiály uskladnite v nerozbitných nepresakujúcich nádobách.
- Pred opustením laboratória si vyzlečte ochranný odev.
- Rukou v rukavici nepíšte, netelefonujte, nerozsvecujte svetlo ani sa nedotýkajte ničoho, čoho sa môžu dotýkať iní ľudia bez rukavíc.
- Rukavice často vymieňajte. Rukavice si okamžite dajte dolu, keď sú viditeľne kontaminované.
- Nevystavujte materiály, ktoré nie je možné riadne dekontaminovať, potenciálne infekčnému materiálu.
- Po dokončení operácie zahŕňajúcej biologicky nebezpečný materiál dekontaminujte pracovnú oblasť vhodným dezinfekčným prostriedkom (napríklad roztokom 1:10 bielidla na použitie v domácnosti).

Špecifické bezpečnostné opatrenia súvisiace s in vitro diagnostikou

- Všetky vzorky pacientov predstavujú potenciálne biologické riziko a musí sa s nimi podľa toho manipulovať v súlade so všeobecnými bezpečnostnými opatreniami.
- Počas normálnej prevádzky tohto prístroja sa netvorí žiadne biologicky nebezpečné látky.

Dekontaminácia povrchu



VAROVANIE! Aby sa zabránilo úrazu elektrickým prúdom, pred vykonaním postupov dekontaminácie prístroj vždy vypnite a odpojte od elektrickej siete.

Nasledujúce oblasti sa môžu čistiť akýmkoľvek dezinfekčným prostriedkom proti baktériám, vírusom alebo hubám:

- Vonkajšie veko a rám
- Povrch vnútorného reakčného bloku a jamky reakčného bloku
- Ovládací panel a displej

Pokyny na prípravu a aplikáciu dezinfekčného prostriedku nájdete v pokynoch dodaných výrobcom daného produktu. Po použití dezinfekčného prostriedku niekoľkokrát vodou opláchnite reakčný blok a jamky reakčného bloku. Po opláchnutí vodou dôkladne vysušte reakčný blok a jamky reakčného bloku.

Dôležité upozornenie: Nepoužívajte abrazívne, korozívne čistiace prostriedky alebo silné alkalické roztoky. Tieto činidlá môžu poškriabať povrchy a poškodiť reakčný blok, čo má za následok stratu presnej regulácie teploty.

Likvidácia biologicky nebezpečného materiálu

Nasledujúce potenciálne kontaminované materiály zlikvidujte v súlade s laboratórnymi, regionálnymi a národnými predpismi:

- Klinické vzorky
- Reagencie
- Použité reakčné nádoby alebo iný spotrebný materiál, ktoré môžu byť kontaminované

Chemické nebezpečenstvá

Systém detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx neobsahuje žiadne potenciálne nebezpečné chemické materiály.

Nebezpečenstvo výbuchu alebo horľavosti

Systém detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx nepredstavuje žiadne nezvyčajné nebezpečenstvo súvisiace s horľavosťou alebo výbuchom, ak sa použije správnym spôsobom tak, ako špecifikovala spoločnosť Bio-Rad Laboratories.

Elektrické nebezpečenstvá

Systém detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx nepredstavuje pre operátorov žiadne nezvyčajné elektrické nebezpečenstvo, ak je nainštalovaný a prevádzkovaný správne bez fyzickej modifikácie a pripojený k zdroju napájania správnej špecifikácie.

Transport

Pred premiestnením alebo odoslaním systému na detekciu PCR v reálnom čase CFX Dx alebo jeho optického reakčného modulu alebo jeho tepelnej cyklickej základne sa musia vykonať dekontaminačné postupy. Systém na detekciu PCR v reálnom čase CFX Dx a optické reakčné moduly vždy premiestňujte alebo dodávajte v samostatných nádobách s dodanými obalovými materiálmi, ktoré budú prístroj chrániť pred poškodením. Ak nie je možné nájsť vhodné kontajnery, obráťte sa na miestnu pobočku Bio-Rad.

Batéria

Tepelný cyklovač systému CFX Dx system využíva 3 V lítium-kovovú plochú batériu a 4,8 V nikel-kovovú hydridovú nabíjateľnú batériu na udržanie nastavenia času a údajov o chode v prípade výpadku striedavého prúdu. Ak údaje o čase a/alebo chode nezostanú nastavené po vypnutí zariadenia, môže to znamenať, že úroveň nabitia batérie je nízka. Ak sa tak stane, vyhľadajte pomoc technickej podpory Bio-Rad.

Nepokúšajte sa vymeniť batérie. Kontaktujte technickú podporu Bio-Rad.

Likvidácia

Systém detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx obsahuje elektrické materiály; nemali by sa likvidovať ako netriedený odpad a musia sa zbierať oddelene v súlade so smernicou Európskej únie 2012/19/EÚ o odpade z elektrických a elektronických zariadení - smernica o OEEZ. Pred likvidáciou sa obráťte na miestneho zástupcu Bio-Rad pre špecifické pokyny pre danú krajinu.

Záruka

Na systém detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx a s ním súvisiace príslušenstvo sa vzťahuje štandardná záruka Bio-Rad. Podrobnosti o záruke vám poskytne miestna pobočka Bio-Rad.

Kapitola 1 Úvod

Amplifikačné systémy Bio-Rad CFX Dx PCR v reálnom čase pre in vitro diagnostiku (IVD) sú vybavené najnovším technologickým pokrokom, ktorý umožňuje kvantifikáciu PCR so štandardnou krivkou, analýzou expresie génu, alelickou diskrimináciou a analýzou koncového bodu.

Systémy CFX Dx system sa skladajú z dvoch hardvérových modulov a softvéru:

- Modul optickej reakcie (ORM) CFX96 Dx alebo CFX96 Deep Well Dx
- Tepelný cyklovač C1000 Dx
- CFX Manager Dx software

Pri použití so softvérom CFX Manager Dx software môžete

- Generovať okamžité výsledky Startup Wizard (Sprievodca spustením)
- Zadávať alebo upravovať informácie o jamke pred, počas alebo po cykle
- Interpretovať komplexné údaje a porozumieť štúdiu expresie génu pomocou nástrojov, ako je napríklad analýza PrimePCR a referenčný nástroj na výber génu
- Pripraviť si komplexné správy o svojich údajoch PCR v reálnom čase

Detekčné systémy PCR CFX Dx

Tabuľka 3 uvádza Bio-Rad produkty IVD PCR, ktoré sa dodávajú so systémom CFX Dx system.

Poznámka: CFX Dx system sa dodáva so softvérom CFX Manager Dx software, základňou tepelného cyklovača C1000 Dx a s modulom optickej reakcie CFX96 Dx alebo CFX96 Deep Well Dx.

Tabuľka 3. Detekčné systémy CFX IVD PCR

Katalógové č.	Opis
1845097-IVD	CFX96 Dx ORM *
1844095-IVD	CFX96 Deep Well Dx ORM
1841000-IVD	Tepelný cyklovač C1000 Dx
12007917	CFX Manager Dx software v3.1

* Modul optickej reakcie

Ďalšie informácie

Tento dokument vysvetľuje, ako bezpečne nastaviť a prevádzkovať systémy na detekciu PCR v reálnom čase CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx, ktoré sú označené značkou CE-IVD. Tieto systémy sa v tomto dokumente označujú ako CFX Dx system. Tento dokument navyše vysvetľuje, ako používať CFX Manager Dx software so systémom CFX Dx system.

Tip: Kliknutím na logo spoločnosti Bio-Rad v pravom hornom rohu ľubovoľného okna softvéru CFX Manager Dx software otvoríte webovú stránku spoločnosti Bio-Rad. Táto stránka obsahuje prepojenia na technické poznámky, príručky, informácie o produkte a technickú podporu. Táto stránka tiež poskytuje mnoho technických zdrojov pre širokú škálu metód a použití týkajúcich sa PCR, PCR v reálnom čase a expresie génov.

Kapitola 2 Nastavenie tepelného cyklovača C1000 Dx

Táto kapitola vysvetľuje, ako nastaviť tepelný cyklovač C1000 Dx systému CFX Dx system na vašom pracovisku.

Tip: Pred nastavením tepelného cyklovača sa oboznámte so samotným tepelným cyklovačom, jeho optickým reakčným modulom, portami a príslušenstvom.

Požiadavky súvisiace s pracoviskom

Tabuľky v tejto časti uvádzajú požiadavky na miestnosť, prostredie a napájanie, ktoré sú potrebné na úspešnú inštaláciu a používanie tepelného cyklovača systému CFX Dx system.

Poznámka: Tepelný cyklovač systému CFX Dx system nainštalujte na rovný, suchý povrch s dostatočným prúdením studeného vzduchu.

Požiadavky na miesto na pracovnom stole

Tabuľka 4. Požiadavky tepelného cyklovača systému CFX Dx system na miesto na pracovnom stole

Položka	Špecifikácia
Vstupný výkon	Maximálne 850 W
Frekvencia	50 – 60 Hz, jedna fáza
Porty USB	5 A, 1 B
Rozmery	Š: 13 palcov; 33 cm H: 18 palcov; 46 cm V: 14 palcov; 36 cm
Hmotnosť	47 lb; 21 kg

Požiadavky súvisiace s prostredím

Tabuľka 5. Požiadavky tepelného cyklovača systému CFX Dx system súvisiace s prostredím

Parameter	Rozsah	Rozsah vlhkosti
Prevádzkové podmienky	15 – 31 °C 59 – 87,8 °F	0 – 80 % RH, bez kondenzácie
Skladovacie podmienky	15 – 31 °C 59 – 87,8 °F	0 – 80 % RH, bez kondenzácie

Požiadavky na napájanie

Napájanie tepelného cyklovača systému CFX Dx system musí byť stabilné a v rámci špecifikácií, aby sa zabezpečilo správne fungovanie. Napájací kábel pripojený k vstupnému portu musí byť dimenzovaný na 7 alebo viac ampérov.

Tabuľka 6. Požiadavky na napájanie systému CFX Dx system

Položka	Špecifikácia
Sieťové vstupné napätie	100 – 240 VAC; 50 – 60 Hz, jedna fáza
Maximálna spotreba energie	< 850 W
Počet zásuviek	Minimálne 2 zásuvky: <ul style="list-style-type: none"> ■ 1 zásuvka na tepelný cyklovač ■ 1 zásuvka na počítač na spustenie softvéru CFX Manager Dx software

Prehľad systému

Ilustrácie v tejto časti zobrazujú hlavné komponenty základne tepelného cyklovača C1000 Dx.

Predný pohľad



LEGENDA

1. **Optický reakčný modul** — zahŕňa optický systém na zhromažďovanie fluorescenčných dát a blok tepelného cyklovača. Systémy detekcie PCR v reálnom čase CFX Dx podporujú buď modul CFX96 Dx, alebo CFX96 Deep Well Dx.

2. **Stavová LED kontrolka** — označuje, kedy sa blok používa.

3. **Tlačidlo veka** — otvára a zatvára veko optického reakčného modulu a utesňuje reakčnú komoru.

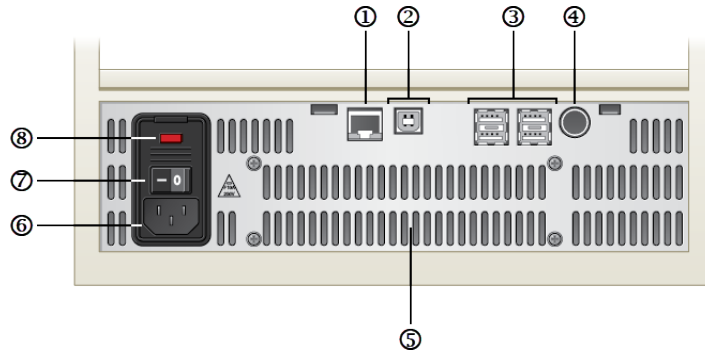
4. **Základňa tepelného cyklovača C1000 Dx** — poskytuje napájanie systému a komunikáciu a obsahuje optické reakčné moduly CFX96 Dx a CFX96 Deep Well.

5. **Displej a tlačidlá predného panela** — umožňujú ovládanie systému v samostatnom režime.
Dôležité upozornenie: Aby sa zabezpečila integrita údajov o štúdií IVD génu, CFX Manager Dx software nepodporuje údaje generované tepelným cyklovačom v samostatnom režime.

6. **Vyhrievané vnútorné veko** — udržuje teplotu veka, aby sa zabránilo kondenzácii a odparovaniu.

7. **Blok vzoriek/reakcie** — obsahuje reakčnú nádobu, vrátane hadičiek a mikroplatničiek.

Zadný pohľad



LEGENDA

1. **Ethernetový port** — pripojí tepelný cyklovač C1000 Dx k vašej sieti.
2. **Port USB typu B** — pripojí tepelný cyklovač C1000 Dx k spustenému počítaču so softvérom CFX Manager Dx software.
3. **Porty USB typu A** — prenos dát do a z USB flash disku.
Dôležité upozornenie: Aby sa zabezpečila integrita údajov o štúdiu IVD génu, CFX Manager Dx software nepodporuje údaje generované tepelným cyklovačom v samostatnom režime.
4. **Sériový testovací port** — len pre servisné testovanie.
5. **Chladiace otvory** — chladia tepelný cyklovač.
Dôležité upozornenie: Neblokujte chladiace otvory. Pre optimálnu prevádzku zaistite, aby za základňou tepelného cyklovača mohol prúdiť vzduch.
6. **Napájací vstup** — napájanie striedavým prúdom; použite dodaný napájací kábel.
7. **Prepínač napájania** — kolískový prepínač na zapnutie a vypnutie tepelného cyklovača.
8. **Poistky** — pozrite si [Špecifikácie bezpečného používania a zhoda s predpismi na strane 16](#) pre špecifikácie poistky.

Moduly optickej reakcie

Tepelný cyklovač C1000 Dx je kompatibilný s nasledujúcimi modulmi optickej reakcie na PCR v reálnom čase značky Bio-Rad.

- Modul optickej reakcie CFX96 Dx
- Modul optickej reakcie CFX96 Deep Well Dx

Vybraný modul optickej reakcie CFX Dx a tepelný cyklovač sa dodávajú v samostatných baleniach. CFX Manager Dx software sa dodáva spolu s modulom optickej reakcie.

Dôležité upozornenie: Modul optickej reakcie sa kalibruje so základňou tepelného cyklovača, s ktorým sa dodáva. Z tohto dôvodu nepoužívajte modul optickej reakcie so žiadnou inou základňou tepelného cyklovača, ani základňu tepelného cyklovača so žiadnym iným modulom optickej reakcie.

Oba moduly optickej reakcie obsahujú plne nastaviteľné vyhrievané veko, ktoré dokáže spoľahlivo fungovať s veľkým množstvom reakčných nádob. Každý modul optickej reakcie obsahuje chladiace ventilátory na rýchle ohrievanie a chladenie.

Každý modul optickej reakcie CFX Dx pozostáva z nasledujúcich komponentov:

- **Vyhrievané vnútorné veko** — udržuje teplotu veka, aby sa zabránilo kondenzácii a odparovaniu.
- **Blok vzoriek/reakcie** — obsahuje reakčné nádoby, vrátane hadičiek a mikroplatničiek.
- **Tlačidlo veka** — otvára a zatvára veko a utesňuje reakciu.
- **Stavová LED kontrolka** — keď je rozsvietená, znamená to, že sa blok používa.

Odporúčaný objem vzorky

Pri používaní tepelného cyklovača C1000 Dx je maximálny objem vzorky určený typom použitého reakčného modulu. [Tabuľka 7](#) uvádza zoznam odporúčaných objemov, ktoré sa majú použiť pri každom reakčnom module.

Tabuľka 7. Limit veľkosti a objemu pre reakčné moduly

Počet jamiek	Počet blokov	Odporúčaný objem vzorky, μ l (Horný limit)
96-jamkový	1	10 – 50
96-hlbokojamkový	1	10 – 125

Inštalácia tepelného cyklovača C1000 Dx

Základňa tepelného cyklovača C1000 Dx sa prepravuje v oddelenom boxe od optického reakčného modulu. Balenie obsahuje:

- Základňa tepelného cyklovača C1000 Dx
- Sieťový kábel
- 1 USB kábel

Na inštaláciu tepelného cyklovača C1000 Dx:

1. Rozbalte a nastavte základňu tepelného cyklovača C1000 Dx.
2. Pripojte reakčný modul k základni.
3. Odstráňte prepravnú skrutku.

Táto časť podrobne vysvetľuje tieto úlohy.

Vybalenie a nastavenie tepelného cyklovača C1000 Dx

Dôležité upozornenie: Pred použitím tepelného cyklovača si prečítajte informácie v [Bezpečnosť a dodržiavanie predpisov na strane 15](#) a [Bezpečnostné výstražné štítky na strane 15](#).

Tip: Počas nastavovania sa uistite, že v blízkosti tepelného cyklovača máte dostatok miesta na počítač, na ktorom sa bude spúšťať CFX Manager Dx software.

Ak chcete vybalit' a nastaviť základnú časť tepelného cyklovača

1. Nájdite balenie, ktoré obsahuje základňu tepelného cyklovača.
2. Vyberte základňu z obalového materiálu.
Tip: Obalový materiál si uschovajte pre budúce použitie. Ak nejaká položka chýba alebo je poškodená, obráťte sa na miestnu pobočku spoločnosti Bio-Rad.
3. Základňu tepelného cyklovača umiestnite na rovný, suchý povrch s dostatočným prúdením studeného vzduchu.
4. Nájdite napájací kábel v prepravnom balení a jeden koniec vložte do portu napájania na zadnej časti tepelného cyklovača.

Dôležité upozornenie: Prístroj v tomto okamihu nezapínajte.

5. Pripojte reakčný modul IVD k základni. Pokračujte na [Pripojenie modulov optickej reakcie na strane 29](#).

Pripojenie modulov optickej reakcie

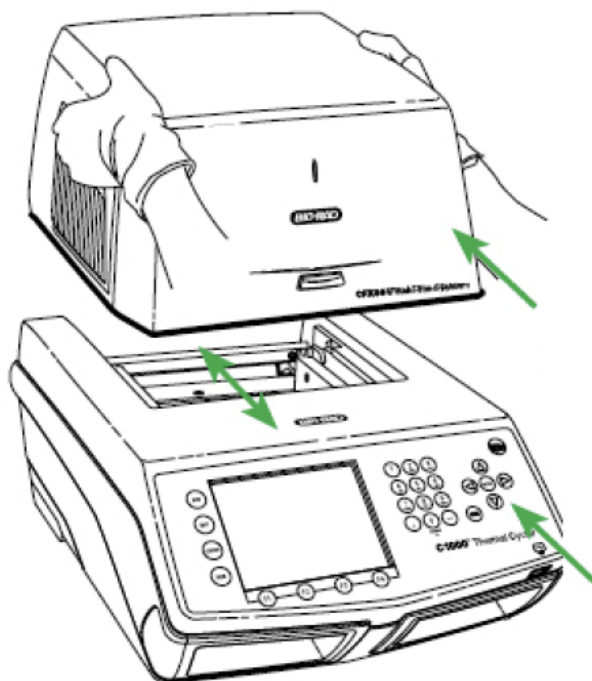
Spoločnosť Bio-Rad dodáva modul optickej reakcie CFX96 Dx alebo CFX96 Deep Well spolu so základňou tepelného cyklovača C1000 Dx (ale v samostatnom balení). Opatrne rozbaľte modul optickej reakcie a overte si, či sú napájacie káble a káble USB súčasťou prepravného balenia.

Dôležité upozornenie: Každý modul optickej reakcie sa kalibruje so základňou tepelného cyklovača, s ktorou sa dodáva. Z tohto dôvodu nepoužívajte modul optickej reakcie so žiadnou inou základňou tepelného cyklovača.

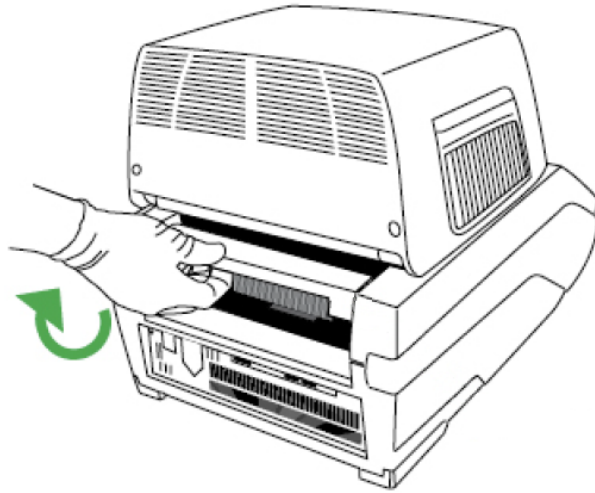
Aby sa dosiahlo správne fungovanie, základňu tepelného cyklovača C1000 Dx umiestnite na rovný, suchý povrch s dostatočným prúdením studeného vzduchu.

Ak chcete pripojiť reakčný modul k základni tepelného cyklovača

1. Tepelný cyklovač C1000 Dx umiestnite na vhodné miesto so zaistenou poistnou tyčou.
2. Nadvihnite modul optickej reakcie pomocou rukoväte nad drážky bočných vetracích otvorov, umiestnite modul do stojana na reakčný modul C1000 Dx . V prednej časti ponechajte približne 2 cm voľného priestoru. Keď sa modul optickej reakcie nachádza v stojane, mal by zakrývať logo Bio-Rad na prednej časti stojana.



3. Potiahnite poistnú tyč tak, aby bola v jednej rovine so stranami stojana modulu. Tento úkon posunie modul dopredu a zaistí ho na svojom mieste.



4. Skontrolujte, či je modul úplne a rovnomerne usadený v základni tepelného cyklovača C1000 Dx. Medzi modulom a základňou by nemal byť žiadny ďalší priestor.
5. Zapojte napájací kábel do zadnej časti základne tepelného cyklovača C1000 Dx a vhodnej elektrickej zásuvky, následne stlačením vypínača na zadnom paneli tepelného cyklovača C1000 Dx spustíte systém.

Odstránenie prepravnej skrutky

Dôležité upozornenie: Optické reakčné moduly Bio-Rad sa dodávajú s červenou prepravou skrutkou vloženou do vnútorného veka na stabilizáciu modulu optickej reakcie počas prepravy. Pred použitím modulu optickej reakcie musíte odstrániť prepravnú skrutku.


Na odstránenie prepravnej skrutky

1. Tepelný cyklovač C1000 Dx rozpozná, že prepravná skrutka je vložená do modulu optickej reakcie a zobrazí správu, ktorá vás vyzve na odstránenie skrutky.

Shipping Screw Status

Shipping Screw is inserted.

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

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

Remove
Screw

Main Menu

2. Na odstránenie prepravnej skrutky postupujte podľa pokynov. Nasledujúca schéma znázorňuje umiestnenie prepravnej skrutky.



Poznámka: Pre prípad, že by ste z nejakého dôvodu museli vrátiť reakčný modul, musíte zasunúť prepravnú skrutku. Skrutku uložte na bezpečné a prístupné miesto.

Vloženie platničiek so vzorkami

Aby sa zabezpečilo rovnomerné zahrievanie a chladenie vzoriek, platničky musia byť v úplnom kontakte s reakčným blokom. Ak chcete zabezpečiť primeraný kontakt, postupujte takto:

- Pred vloženíím vzoriek skontrolujte, či je blok čistý.
- Jednotlivé skúmavky, skúmavkové prúžky alebo mikroplatničky pevne zatlačte do jamiek bloku.
- Pri použití jednej alebo niekoľkých skúmaviek použite rám skúmaviek (katalógové č. 1849000 alebo č. 1849001) alebo nasadte aspoň jednu prázdnu skúmavku do každého rohu bloku, aby ste zabezpečili rovnomerný tlak veka na jednotlivé skúmavky.

Vloženie platničiek do modulu optickej reakcie

Dôležité upozornenie: Pri spustení systému CFX Dx system vždy vyvážite skúmavkové prúžky alebo pridajte uzávery skúmaviek do rohových jamiek, aby sa zabezpečilo, že vyhrievané veko aplikuje rovnomerný tlak cez blok.

Vloženie platničiek do modulu optickej reakcie

1. Na otvorenie motorizovaného veka vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - V okienku Detected Instruments (Detegované prístroje) v softvéri CFX Manager Dx software kliknite na položku Open Lid (Otvoriť veko).
 - V softvéri na karte Start Run (Spustiť chod) kliknite na Open Lid (Otvoriť veko).
 - Stlačte tlačidlo veka na prednej strane prístroja.
2. Do bloku vložte mikroplatničku, jednotlivé skúmavky alebo skúmavkové prúžky s utesnenými vekami.

Dôležité upozornenie: Overte, či sú skúmavky úplne utesnené, aby sa zabránilo úniku.

Tip: Pre optimálne výsledky vložte objem vzorky 10–25 µl pre CFX Dx system.

3. Pre presnú analýzu údajov overte, či je orientácia reakcií v bloku presne rovnaká ako orientácia obsahu jamiek na karte Plate (Platnička) v softvéri CFX Manager Dx software.

Tip: Obsah jamiek môžete upravovať pomocou softvéru CFX Manager Dx software pred, počas alebo po cykle.

4. Na zatvorenie motorizovaného veka vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Stlačte tlačidlo veka na prístroji.
 - V okienku Detected Instruments (Detegované prístroje) v softvéri kliknite na položku Close Lid (Zatvoriť veko).
 - V softvéri na karte Start Run (Spustiť chod) kliknite na Close Lid (Zatvoriť veko).

Dôležité upozornenie: Uistite sa, že pri zatváraní nič neblokuje veko. Aj keď existuje bezpečnostný mechanizmus, ktorý zabraňuje zatváraní veka, ak zistí prekážku, pred uzavretím nič nedávajte do priestoru veka.

Plastové spotrebné materiály PCR a reagensie

Ak chcete nájsť a objednať odporúčaný plastový spotrebný materiál pre CFX Dx system, prejdite na [webovú stránku spoločnosti Bio-Rad](#). Na túto stránku sa dostanete pomocou položky Help (Pomocník) > PCR Plastic Consumables Web Site (Webová stránka plastových spotrebných materiálov PCR) v softvéri CFX Manager Dx software. Okrem toho si pozrite zdroje [výberu plastov](#) a [reagencií](#), ktoré vám pomôžu jednoducho vyhľadať a objednať plastové spotrebné materiály a reagensie pre váš konkrétny hardvér a potreby v súvislosti s PCR.

Detekcia pripojených prístrojov

Počas inštalácie softvéru CFX Manager Dx software automaticky nainštaluje ovládače prístrojov do počítača so spusteným softvérom CFX Manager Dx software. CFX Manager Dx zistí pripojené prístroje po spustení softvéru.

Dôležité upozornenie: Pred inštaláciou softvéru musíte odpojiť tepelný cyklovač C1000 Dx od počítača CFX Manager Dx. Počas inštalácie softvéru nemusíte vypnúť tepelný cyklovač.

Detekcia pripojených prístrojov

1. Ak ste to ešte neurobili, vložte štvorcový (zasunovací) koniec dodaného kábla USB typu B do portu USB typu B, ktorý sa nachádza na zadnej časti základne.
2. Druhý koniec (port) vložte do portu USB na počítači CFX Manager Dx.
3. Ak tepelný cyklovač ešte nie je spustený, zapnite ho stlačením vypínača na zadnej strane prístroja.
4. Spustite CFX Manager Dx software.

Softvér automaticky zistí pripojený prístroj a zobrazí jeho názov v table Detected instruments (Detegované prístroje) v okne Home (Domovské okno).

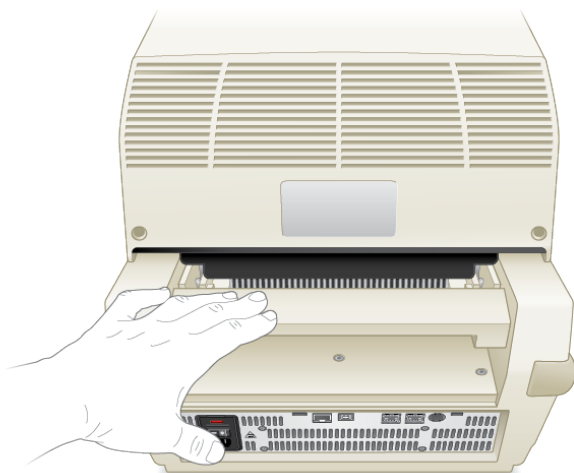
Poznámka: Ak sa prístroj nezobrazuje v table Detected Instruments (Detegované prístroje), skontrolujte, či je správne pripojený kábel USB. Ak chcete preinštalovať ovládače, v okne Home (Domovské okno) softvéru CFX Manager Dx software vyberte položku Tools (Nástroje) > Reinstall Instrument Drivers (Preinštalovať ovládače prístrojov).

Odpojenie reakčného modulu

Dôležité upozornenie: Pred odpojením reakčného modulu vypnite tepelný cyklovač C1000 Dx (pozrite si [Vypnutie tepelného cyklovača C1000 Dx na strane 35](#)). Chladiace rebrá v reakčnom module môžu byť ihneď po chode protokolu alebo inkubácie horúce. Pred odpojením reakčného modulu sa uistite, že rebrá sú chladné.

Odpojenie optického reakčného modulu od základne tepelného cyklovača

1. Na zadnej strane základne tepelného cyklovača zatlačte blokovaciu lištu nadol, aby ste ju odomkli a uvoľnili optický reakčný modul.



2. Na uvoľnenie z pozície opatrne zdvihnite optický reakčný modul pomocou záračok na rukoväti na každej strane.
3. Postavte optický reakčný modul na čistý, rovný povrch, na ktorom sa nemôže prevrhnúť, poškriabať alebo spadnúť.

Vypnutie tepelného cyklovača C1000 Dx

Vypnutie tepelného cyklovača

1. Po skončení chodu stlačte tlačidlo otvorenia veka na prednej strane modulu optickej reakcie CFX, aby ste získali prístup ku vzorkám vloženým do bloku.
2. Vyberte vzorky z bloku a stlačením tlačidla zatvorenia veka zavrite veko.
3. Stlačením vypínača na zadnom paneli tepelného cyklovača C1000 Dx vypnite systém.

Kapitola 3 Inštalácia softvéru CFX Manager Dx software

Táto kapitola vysvetľuje, ako nainštalovať softvér CFX Manager Dx software.

CFX Manager Dx software sa vyžaduje na analýzu údajov PCR v reálnom čase zo systémov CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx. Tento softvér môžete použiť aj na ovládanie týchto systémov v softvérovom riadenom režime.

Informácie o inštalácii tepelného cyklovača systému CFX Dx system a optického reakčného modulu uvádza [Nastavenie tepelného cyklovača C1000 Dx na strane 23](#).

Systemové požiadavky

Tabuľka 8 uvádza minimálne a odporúčané systémové požiadavky pre počítač so softvérom CFX Manager Dx software (označovaný ako počítač CFX Manager Dx).

Tabuľka 8. Požiadavky na počítač so softvérom CFX Manager Dx software

System	Minimálne	Odporúčané
Operačný systém	Microsoft Windows 7 SP1 Pro	Niektorý z nasledujúcich: <ul style="list-style-type: none"> ■ Microsoft Windows 7 SP2 Pro (32- a 64-bitový) ■ Microsoft Windows 10 Pro (iba 64-bitový) ■ Microsoft Windows 10 Enterprise (iba 64-bitový)
Dôležité upozornenie: V prípade systému Microsoft Windows 10 Pro a Enterprise musí byť vypnutá funkcia Secure Boot (Zabezpečené spustenie).		
Porty	2 vysokorýchlostné porty USB 2.0	2 vysokorýchlostné porty USB 2.0
Miesto na pevnom disku	128 GB	128 GB
Rýchlosť procesora	2,4 GHz, Dual Core	2,4 GHz, Quad Core
RAM	4 GB RAM	8 GB RAM
Rozlíšenie obrazovky	1024 x 768 s režimom true-color	1280 x 1024 s režimom true-color
Program na zobrazenie súborov vo formáte PDF		Program Adobe PDF Reader alebo Windows PDF Reader z jedného z nasledujúcich podporovaných balíkov Microsoft Office: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2007 ■ 2010 ■ 2013

Inštalácia softvéru CFX Manager Dx software

Dôležité upozornenie: Pred inštaláciou alebo aktualizáciou softvéru musíte odpojiť všetky pripojené prístroje od počítača CFX Manager Dx. Počas inštalácie softvéru nemusíte vypnúť tepelný cyklovač. Uistite sa, že ste uložili všetky chody a že nie sú spustené žiadne experimenty.

Poznámka: Ak inštalujete CFX Manager Dx software na Windows 10, pred začatím inštalácie overte, či je funkcia Secure Boot vypnutá.

Inštalácia softvéru CFX Manager Dx software

1. V prípade potreby odpojte od počítača všetky pripojené prístroje.
Nájdite a odpojte kábel USB prístroja z počítača CFX Manager Dx. Koniec vložený do prístroja môže zostať na svojom mieste.
2. Prihláste sa do počítača CFX Manager Dx s právami správcu.
3. Vložte disk CD so softvérom CFX Manager Dx software do jednotky CD počítača.
4. Stránka na spustenie softvéru by sa mala zobrazíť automaticky. Dvakrát kliknite na položku Install Software (Inštalovať softvér) na stránke spustenia softvéru.

Poznámka: Ak sa úvodná stránka nezobrazí automaticky, prejdite na jednotku CD a otvorte priečinok CFX_Manager a potom dvakrát kliknite na setup.exe, čím spustíte sprievodcu inštaláciou softvéru.

Tip: V sprievodcovi inštaláciou kliknite na tlačidlo Dokumentácia a vyhľadajte kópie poznámok k vydaniu, príručiek nástrojov a inej dokumentácie.

5. Dokončíte inštaláciu podľa pokynov na obrazovke. Po dokončení sa na pracovnej ploche počítača zobrazí ikona softvéru CFX manager.
6. Po dokončení inštalácie môžete bezpečne vybrať CD.

Detekcia pripojených prístrojov

Počas inštalácie softvér CFX Manager Dx automaticky nainštaluje ovládače prístrojov do počítača CFX Manager Dx. Systém CFX Manager Dx zistí pripojené prístroje po spustení softvéru.

Detekcia pripojených prístrojov

1. Ak ste to ešte neurobili, vložte štvorcový (zasunovací) koniec dodaného kábla USB typu B do portu USB typu B, ktorý sa nachádza na zadnej časti základne prístroja.
2. Druhý koniec (port) vložte do portu USB na počítači CFX Manager Dx.
3. Ak prístroj ešte nie je spustený, zapnite ho stlačením vypínača na zadnej strane prístroja.

4. Spustíte CFX Manager Dx software.

Softvér automaticky rozpozná pripojený prístroj a zobrazí jeho názov v table Detected Instruments (Detegované prístroje) v okne Home (Domovské okno).

Poznámka: Ak sa prístroj nezobrazuje v table Detected Instruments (Detegované prístroje), skontrolujte, či je správne pripojený kábel USB. Ak chcete preinštalovať ovládače, v okne Home (Domovské okno) softvéru CFX Manager Dx software vyberte položku Tools (Nástroje) > Reinstall Instrument Drivers (Preinštalovať ovládače nástrojov).

Súbory softvéru

Tabuľka 9 uvádza typy súborov softvéru CFX Manager Dx software.

Tabuľka 9. Typy súborov softvéru CFX Manager Dx software

Typ súboru	Rozšírenie	Podrobnosti
Protokol	.prcl	Obsahuje podrobnosti o nastavení protokolu na vykonanie PCR chodu.
Platnička	.pltd	Obsahuje podrobnosti o nastavení platničky na vykonanie PCR chodu.
Údaje	.pcrd	Obsahuje výsledky experimentu a analýzu PCR.
Chod PrimePCR	.csv	Obsahuje protokol a usporiadanie platničky pre platničky PrimePCR.
Génová štúdia	.mgxd	Obsahuje výsledky viacerých PCR chodov a analýz expresie génu.
LIMS	.plrn	Obsahuje informácie o nastavení platničky a protokoloch, ktoré sú potrebné na vykonanie chodu kompatibilného s LIMS.

Odporúčané opatrenia v oblasti kybernetickej bezpečnosti

Spoločnosť Bio-Rad odporúča spolupracovať so svojim oddelením IT na implementácii opatrení na zabezpečenie počítačovej bezpečnosti pre počítač používaný so systémom CFX96 Dx. Napríklad:

- Nainštalujte a nakonfigurujte vhodnú ochranu pred vírusmi a aplikáciu firewall.
Dôležité upozornenie: Nakonfigurujte antivírusovú kontrolu tak, aby sa objavila mimo prevádzkových hodín alebo keď prístroj nie je aktívne spustený. Ak sa spustí antivírusová kontrola počas spustenia experimentu CFX Manager Dx, môže sa chod zrušiť a údaje sa stratiť.
- CFX Manager Dx software nemá funkciu časového limitu nečinnosti relácie používateľa. Implementujte bezpečnostné opatrenia systému Windows alebo tretej strany (napríklad implementujte šetrič obrazovky s požadovaným protokolom).
- Zabezpečenie vymeniteľných médií:
 - Na ochranu údajov používajte heslá a šifrovanie na zariadení USB.
 - Zakážte funkcie automatického spustenia a automatického prehrávania pre všetky zariadenia s vymeniteľnými médiami.
 - Vynúťte USB skenovanie vždy, keď je pripojená jednotka USB.
- Použite záložný nástroj na uľahčenie obnovy dát.

Kapitola 4 Pracovný priestor

CFX Manager Dx software poskytuje rozhranie na nastavenie platničiek, vývoj protokolov PCR ich spustenie na CFX Dx nástrojoch a analýzu údajov z chodov PCR.

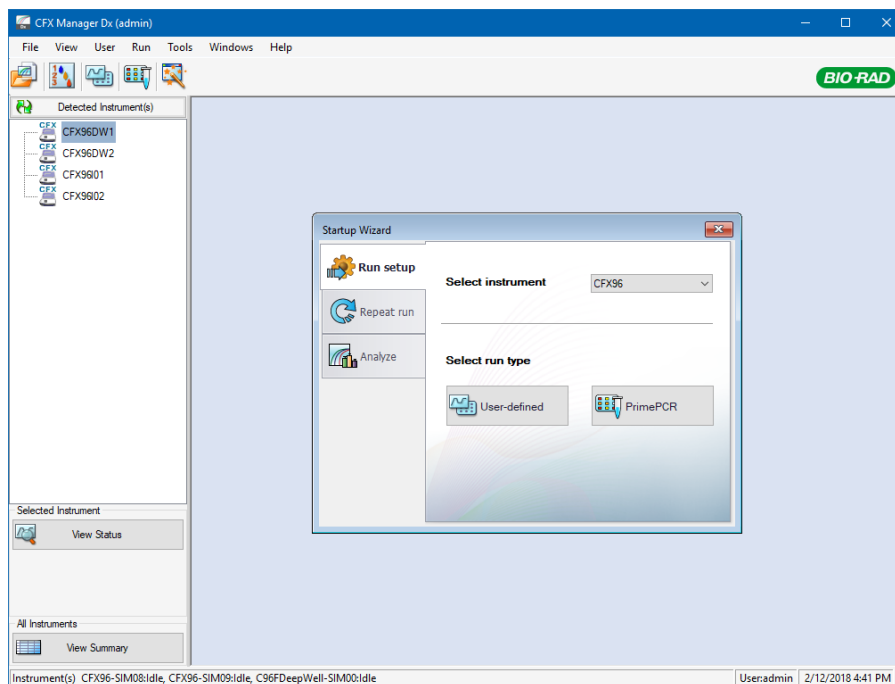
CFX Manager Dx software predstavuje päť základných pracovných priestorov:

- Okno Home (Domovské okno)
- Startup Wizard (Sprievodca spustením)
- Okno Protocol Editor (Editor protokolov)
- Okno Plate Editor (Editor platničky)
- Okno Data Analysis (Analýza dát)

Každá pracovný priestor je zobrazený a stručne opísaný v tejto kapitole.

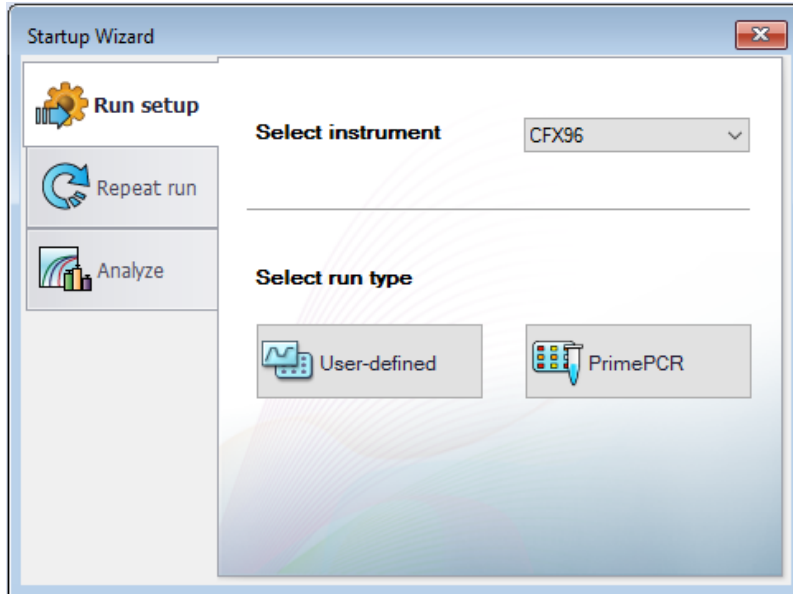
Okno Home (Domovské okno)

CFX Manager Dx software otvorí okno Home (Domovské okno) a zobrazí aplikáciu Startup Wizard (Sprievodca spustením), pomocou ktorej môžete nastaviť experiment, vykonať alebo zopakovať chod, prípadne analyzovať existujúci chod. Z okna Home (Domovské okno) môžete tiež zobraziť záznamy aplikácií a prístrojov, vytvárať a spravovať používateľov a prístupovať k viacerým užitočným nástrojom. Viac informácií uvádza [Kapitola 5, Okno Home \(Domovské okno\)](#).



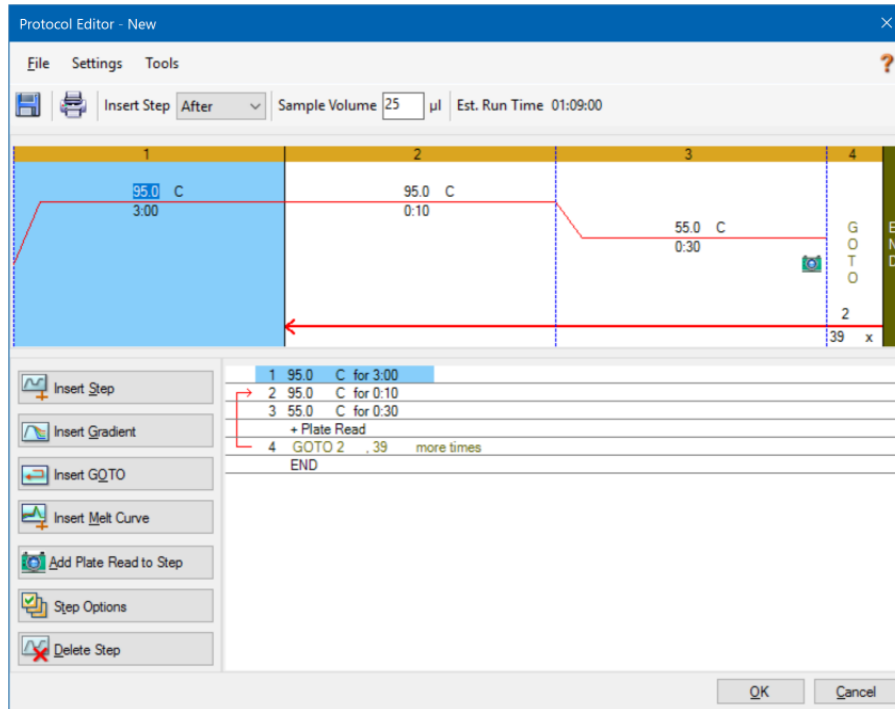
Startup Wizard (Sprievodca spustením)

Použite Startup Wizard (Sprievodca spustením) na rýchle nastavenie a spustenie experimentov definovaných používateľom alebo vyberte a spustíte experiment PrimePCR. Sprievodcu môžete použiť aj na opakovanie chodu alebo analýzu údajov chodu.



Okno Protocol Editor (Editor protokolov)

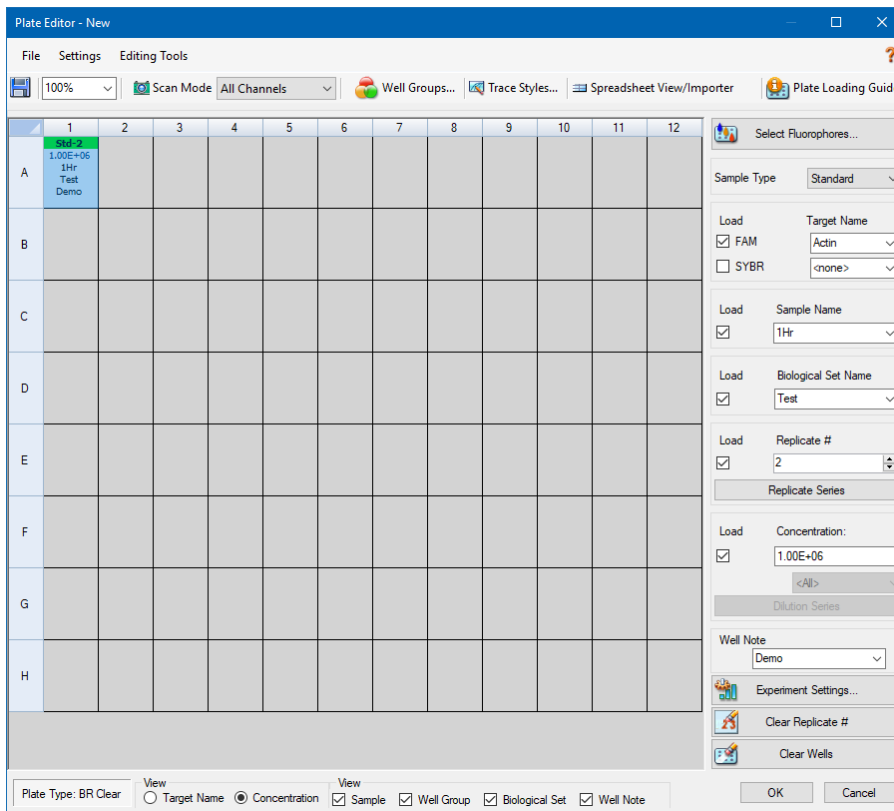
V okne Protocol Editor (Editor protokolov) môžete vytvoriť, otvoriť, skontrolovať a upraviť protokol. Môžete tiež zmeniť teplotu veka pre otvorený protokol. Fungovanie aplikácie Protocol Editor (Editor protokolov) podrobne popisuje [Kapitola 6, Vytváranie protokolov](#).



Okno Plate Editor (Editor platničky)

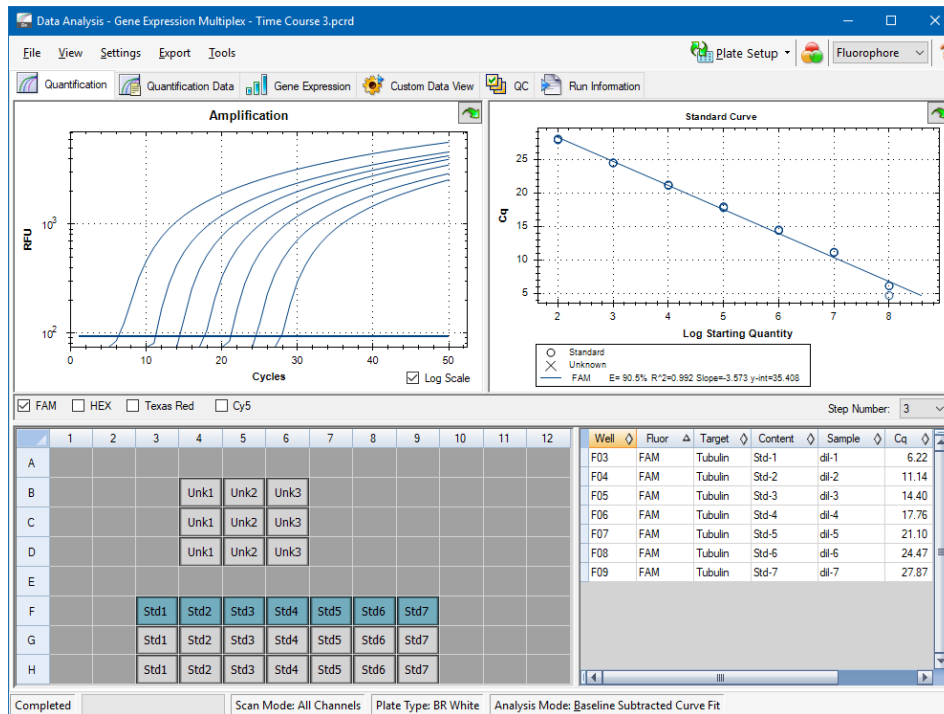
V okne Plate Editor (Editor platničky) môžete vytvoriť, otvoriť, skontrolovať a upraviť platničku.

Fungovanie aplikácie Plate Editor (Editor platničky) podrobne popisuje [Kapitola 7, Príprava platničiek](#).



Okno Data Analysis (Analýza dát)

V okne Data Analysis (Analýza dát) môžete zobrazit' a porovnať údaje chodu, vykonávať štatistické analýzy, exportovať údaje a vytvárať prehľady pripravené na publikovanie. Funkciu Data Analysis (Analýza dát) podrobne vysvetľuje [Kapitola 9, Prehľad analýzy dát](#). Pozrite si tiež [Kapitola 10, Podrobnosti analýzy dát](#).



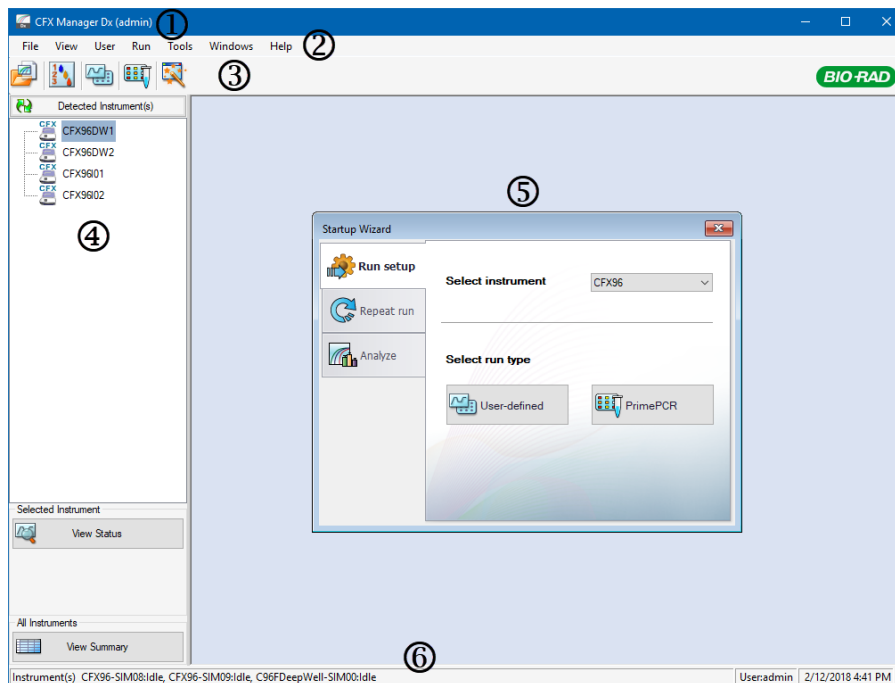
Kapitola 5 Okno Home (Domovské okno)

CFX Manager Dx software poskytuje rozhranie na vývoj protokolov PCR, ich spustenie na systémoch CFX Dx system a analýzu údajov chodu PCR.

Táto kapitola predstavuje CFX Manager Dx software a popisuje funkcie dostupné z okna Home (Domovské okno).

Okno Home (Domovské okno)

CFX Manager Dx otvorí okno Home (Domovské okno) a zobrazí aplikáciu Startup Wizard (Sprievodca spustením), pomocou ktorej môžete nastaviť, vykonať alebo zopakovať chod, prípadne analyzovať existujúci chod. Z okna Home (Domovské okno) môžete tiež zobraziť záznamy aplikácií a prístrojov, vytvárať a spravovať používateľov a prístupovať k viacerým užitočným nástrojom.



LEGENDA

1. V záhlaví softvéru sa zobrazuje názov softvéru a prihlásený používateľ.
2. Lišta ponuky poskytuje rýchly prístup k položkám File (Súbor), View (Zobraziť), Users (Používateľia), Run (Chod), Tools (Nástroje), Window (Okno) a príkazom menu Help (Pomocník).
3. Príkazy panela nástrojov umožňujú rýchly prístup k možnostiam menu.
4. V ľavom paneli sa zobrazujú prístroje pripojené k počítaču CFX Manager Dx a nachádzajú sa v ňom tlačidlá, pomocou ktorých môžete ovládať veko a zobraziť stav prístrojov.
5. Hlavný panel zobrazuje pracovné okno. Predvolené pracovné okno na obrazovke Home (Domovské okno) je Startup Wizard (Sprievodca spustením).
6. Stavový riadok zobrazuje názvy pripojených prístrojov a prihláseného používateľa.

Príkazy ponuky File (Súbor)

New (Nové) — otvorí dialógové okno, z ktorého si môžete vybrať vytvorenie nového protokolu, platničky alebo génovej štúdie.

Open (Otvoriť) — otvorí dialógové okno, z ktorého si môžete vybrať, či chcete prejsť na a otvoriť existujúci protokol, platničku, dátový súbor, génovú štúdiu, súbor LIMS, alebo súbor chodu PrimePCR.

Recent Data Files (Posledné dátové súbory) — zobrazí zoznam nedávno otvorených súborov PCR.

Repeat a Run (Zopakovať chod) — otvorí prieskumníka Windows Explorer na mieste uložených súborov PCR, kde môžete vyhľadať chod, ktorý sa má opakovať.

Exit (Ukončiť) — zatvorí systém CFX Manager Dx.

Príkazy ponuky View (Zobraziť)

Application Log (Protokol aplikácie) — zobrazí denník používania softvéru od počiatočnej inštalácie až po aktuálny deň.

Run Reports (Správy chodov) — zobrazí zoznam správ chodov.

Startup Wizard (Sprievodca spustením) — zobrazí Startup Wizard (Sprievodca spustením) v hlavnom paneli.

Run Setup (Nastavenie chodu) — zobrazí okno Run Setup (Nastavenie chodu) v hlavnom paneli.

Instrument Summary (Sumár prístroja) — zobrazí okno Instrument Summary (Sumár prístroja) v hlavnom paneli.

Detected Instruments (Detegované prístroje) — prepína medzi zobrazovaním a nezobrazovaním pripojených prístrojov v ľavom paneli. Softvér predvolene zobrazuje pripojené prístroje v ľavom paneli.

Toolbar (Panel nástrojov) — prepína medzi zobrazovaním a nezobrazovaním panela nástrojov v hornej časti obrazovky. Softvér predvolene zobrazuje panel nástrojov.

Status Bar (Stavový riadok) — prepína medzi zobrazovaním a nezobrazovaním stavového riadka v spodnej časti obrazovky. Softvér predvolene zobrazuje stavový riadok.

Show (Zobraziť) — otvorí dialógové okno, z ktorého môžete

- Zobraziť alebo zablokovať záznam Status (Stav).
- Otvoriť a zobraziť priečinok s údajmi systému CFX Manager Dx.
- Otvoriť a zobraziť priečinok s údajmi používateľa.
- Otvoriť a zobraziť priečinok so súborom LIMS.

- Otvoriť a zobraziť priečinok PrimePCR.
- Zobraziť históriu chodov.
- Zobraziť vlastnosti všetkých pripojených prístrojov.

Príkazy ponuky User (Používateľ)

Select User (Vybrať používateľa) — otvorí obrazovku Login (Prihlásenie), na ktorej môžete vybrať používateľa z rozbaľovacieho zoznamu User Name (Meno používateľa) a prihlásiť sa do aplikácie.

Change Password (Zmeniť heslo) — otvorí dialógové okno Change Password (Zmeniť heslo), v ktorom si používatelia môžu zmeniť svoje heslo do softvéru CFX Manager Dx software.

User Preferences (Používateľské preferencie) — otvorí dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie), v ktorom používatelia môžu zmeniť predvolené nastavenia nasledujúcich činností:

- Odosielanie a prijímanie e-mailových upozornení po dokončení chodu
- Ukladanie dátových súborov
- Vytváranie protokolov pomocou aplikácie Protocol Editor (Editor protokolov) alebo Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter)
- Vytváranie platničiek
- Analýza dát
- Vykonanie analýzy expresie génu
- Stanovenie kvality dát
- Export dát prístroja CFX Dx

User Administration (Správa používateľov) — otvorí dialógové okno User Administration (Správa používateľov), v ktorom správcovia môžu vytvárať používateľov, upravovať povolenia funkcií a priradovať funkcie používateľom.

Bio-Rad Service Login (Servisné prihlásenie Bio-Rad) — len pre servisný personál spoločnosti Bio-Rad. Nevyberajte tento príkaz.

Príkazy ponuky Run (Chod)

User-defined Run (Používateľom definovaný chod) — otvorí okno Run Setup (Nastavenie chodu), v ktorom môžete nastaviť používateľsky definovaný protokol a platničku a potom spustiť experiment PCR na vybraných prístrojoch.

PrimePCR Run (Chod PrimePCR) — otvorí kartu Start Run (Spustiť chod) v okne Run Setup (Nastavenie chodu) s predvoleným protokolom PrimePCR a rozložením platničky načítanej na základe zvoleného prístroja.

End-Point Only Run (Chod iba koncovým bodom) — otvorí kartu Start Run (Spustiť chod) v okne Run Setup (Nastavenie chodu) s predvoleným protokolom koncového bodu a rozložením platničky na základe zvoleného prístroja.

Qualification Run (Kvalifikačný chod) — otvorí kartu Start Run (Spustiť chod) v okne Run Setup (Nastavenie chodu) s predvoleným kvalifikačným protokolom Bio-Rad a rozložením platničky na základe zvoleného nástroja.

Príkazy ponuky Tools (Nástroje)

Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka) — otvorí Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka), v ktorej môžete vytvoriť reakčnú zmes a vytlačiť výpočty.

Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) — otvorí dialógové okno Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter), v ktorom môžete jednoducho vytvoriť nový protokol.

T_a Calculator (T_a kalkulačka) — otvorí T_a Calculator (T_a kalkulačka), v ktorej môžete jednoducho vypočítať teplotu žihania primérov.

Dye Calibration Wizard (Sprievodca kalibráciou farbiva) — otvorí sprievodcu Dye Calibration (Kalibrácia farbiva), v ktorom môžete kalibrovať prístroj na nový fluorofor.

Reinstall Instrument Drivers (Opätovne inštalovať ovládače prístrojov) — obnoví ovládače, ktoré riadia komunikáciu so systémami PCR Bio-Rad v reálnom čase.

Zip Data a Log Files (Zozipované údaje a súbory záznamu) — otvorí dialógové okno, v ktorom môžete vybrať súbory, ktoré sa majú kondenzovať a uložiť do zozipovaného súboru na uloženie alebo odoslanie e-mailom.

Batch Analysis (Analýza dávky) — otvorí dialógové okno Batch Analysis (Analýza dávky), v ktorom môžete nastaviť parametre na analýzu viacerých dátových súborov naraz.

Options (Možnosti) — otvorí dialógové okno, v ktorom môžete

- Konfigurovať nastavenia e-mailového servera.
- Konfigurovať nastavenia exportu pre LIMS a iné dátové súbory.

Príkazy ponuky Help (Pomocník)

Tip: Ponuka Help (Pomocník) je k dispozícii na paneli s ponukami vo všetkých oknách softvéru CFX Manager Dx software.

Open Operation Manual (Otvoriť návod na obsluhu) — otvorí túto príručku vo formáte PDF.

Gene Expression Gateway Web Site (Webová stránka Brána expresie génu) — otvorí domovskú webovú stránku spoločnosti Bio-Rad pre CFX Dx system.

PCR Reagents Web Site (Webová stránka reagensí PCR) — otvorí webovú stránku reagensí PCR spoločnosti Bio-Rad, na ktorej si môžete objednať reagensie, superzmesi, farbivá a súbavy PCR.

PCR Plastic Consumables Web Site (Webová stránka plastového spotrebného materiálu PCR) — otvorí webovú stránku plastových spotrebných materiálov PCR spoločnosti Bio-Rad, kde si môžete objednať platničky, tesnenia platničiek, skúmavky, uzávery a ďalšie plastové príslušenstvo PCR.

Software Web Site (Webová stránka softvéru) — otvorí webovú stránku softvérovej analýzy PCR spoločnosti Bio-Rad, kde si môžete objednať aktualizované verzie softvéru CFX Manager Dx software spoločnosti Bio-Rad.

About (Informácie) — zobrazí informácie o autorských právach a verzii softvéru CFX Manager Dx.

Príkazy panela nástrojov



— otvorí Windows Explorer, v ktorom môžete navigovať a otvárať súbor s údajmi alebo súbor génovej štúdie.



— otvorí Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka).



— otvorí okno Run Setup (Nastavenie chodu).



— otvorí okno Run Setup (Nastavenie chodu) s predvoleným protokolom PrimePCR a rozložením platničky na základe zvoleného prístroja.

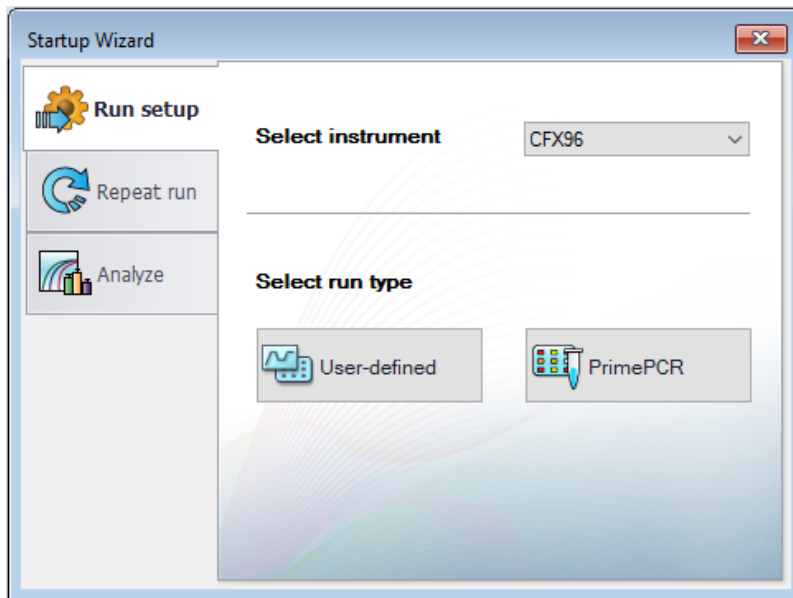


— otvorí Startup Wizard (Sprievodca spustením).

Startup Wizard (Sprievodca spustením)

Keď sa spustí CFX Manager Dx, v pracovnom paneli sa zobrazí Startup Wizard (Sprievodca spustením). Zo Startup Wizard (Sprievodca spustením) môžete

- Zvoliť nástroj z detegovaných prístrojov a nastaviť používateľsky definovaný alebo PrimePCR chod.
- Otvoriť a zopakovať chod.
- Otvoriť dátový súbor na analýzu výsledkov z jedného chodu alebo súboru génovej štúdie pre výsledky z viacerých chodov expresie génu.



Tieto úlohy sú podrobne vysvetlené v nasledujúcich kapitolách.

Stavový riadok

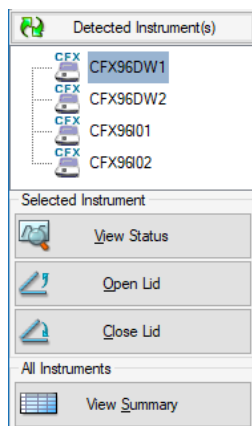
Na ľavej strane stavového riadku v spodnej časti hlavného okna softvéru sa zobrazuje aktuálny stav zistených prístrojov. Na pravej strane stavového riadku sa zobrazuje meno aktuálneho používateľa a dátum a čas.

Tabla Detected Instruments (Detegované prístroje)

Tabla Detected Instruments (Detegované prístroje) zobrazuje každý prístroj, ktorý je pripojený k počítaču CFX Manager Dx. Predvolene sa každý prístroj zobrazuje ako ikona so sériovým číslom ako názvom.

Na nasledujúcom obrázku sa napríklad zobrazujú štyri zistené prístroje:

- Dva tepelné cyklovače C1000 s reakčnými modulmi CFX96 Deep Well (CFX96DW1 a CFX96DW2)
- Dva tepelné cyklovače C1000 s reakčnými modulmi CFX96 (CFX96I01 a CFX96I02)



V tomto paneli môžete vykonať nasledujúce kroky:

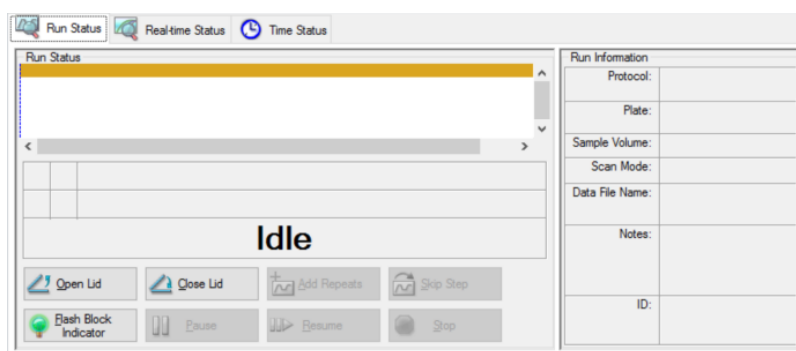
- Zobrazíť vlastnosti a skalibrované farby pre vybraný prístroj.
Informácie o vlastnostiach prístrojov uvádza časť [Prehľadanie vlastností prístroja na strane 60](#).
- Zobrazíť stav pripojeného prístroja.
- Otvoriť motorizované veko na vybranom prístroji.
- Zatvoriť motorizované veko na vybranom prístroji.
- Zobrazíť stav všetkých pripojených prístrojov.

Ak chcete zobrazit' stav pripojeného prístroja

- ▶ V paneli Detected Instruments (Detegované prístroje) vyberte cieľový prístroj a vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Kliknite na položku View Status (Zobrazit' stav) v časti Selected Instrument (Vybraný prístroj).
 - Kliknite pravým tlačidlom myši a v zobrazenej ponuke vyberte položku View Status (Zobrazit' stav).

Zobrazí sa dialógové okno Run Details (Podrobnosti chodu) s kartou Run Status (Stav chodu).

Stav vybraného prístroja sa zobrazí pod tabuľou stavu chodu, napríklad:



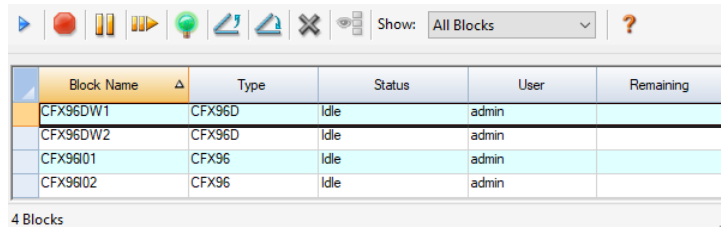
Ak chcete otvoriť alebo zatvoriť veko prístroja

- ▶ V table Detected Instruments (Detegované prístroje) vyberte cieľový prístroj a vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Kliknite na položku Open Lid (Otvoriť veko) alebo Close Lid (Zatvoriť veko) v časti Selected Instrument (Vybraný prístroj).
 - Kliknite pravým tlačidlom myši a v zobrazenej ponuke vyberte vhodný úkon.
 - Otvorte dialógové okno Run Details (Podrobnosti chodu), vyberte kartu Run Status (Stav chodu) a kliknite na položku Open Lid (Otvoriť veko) alebo Close Lid (Zatvoriť veko).

Ak chcete zobrazit' stav všetkých pripojených prístrojov

- ▶ Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - V časti All Instruments (Všetky prístroje) v table Detected Instruments (Detegované prístroje) kliknite na položku View Summary (Zobrazit' súhrn).
 - Na lište ponuky vyberte položku View (Zobrazit') > Instrument Summary (Sumár prístroja).

Zobrazí sa dialógové okno Instrument Summary (Sumár prístroja):



Tip: Ak systém zistí iba jeden pripojený prístroj, časť All Instruments (Všetky prístroje) sa nezobrazí v table Detected Instruments (Detegované prístroje). Ak chcete zobrazíť súhrn prístroja pre jeden prístroj, vyberte položku View (Zobrazíť) > Instrument Summary (Sumár prístroja).



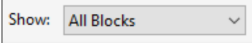
Ovládacie prvky panela nástrojov položky Instrument Summary (Sumár prístroja)

Tabuľka 10 uvádza ovládacie prvky a funkcie panela nástrojov Instrument Summary (Sumár prístroja).

Tabuľka 10. Ovládacie prvky panela nástrojov položky Instrument Summary (Sumár prístroja)

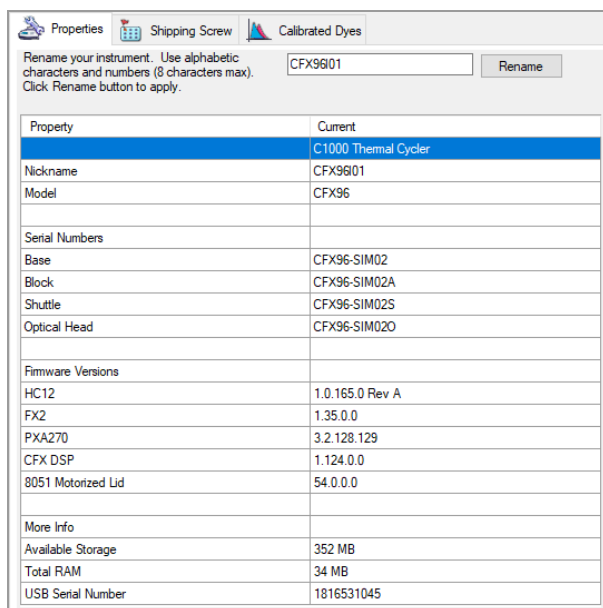
Tlačidlo	Názov tlačidla	Funkcia
	Vytvoríť nový chod	Vytvorí chod na vybranom bloku otvorením okna Run Setup (Nastavenie chodu).
	Zastaviť	Zastaví aktuálny chod na vybraných blokoch.
	Pozastaviť	Pozastaví aktuálny chod na vybraných blokoch.
	Pokračovať	Obnoví chod na vybraných blokoch.
	Indikátor blikania bloku	Blikanie LED indikátora na veku vybraných blokov.
	Otvoriť veko	Otvorí motorizované veko vybraného bloku.

Tabuľka 10. Ovládacie prvky panela nástrojov položky Instrument Summary (Sumár prístroja), pokračovanie

Tlačidlo	Názov tlačidla	Funkcia
	Zatvoriť veko	Zatvorí motorizované veko vybraného bloku.
	Skryť vybrané bloky	Skryje vybrané bloky v zozname Instrument Summary (Sumár prístroja)
	Zobrazit' všetky bloky	Zobrazí vybrané bloky v zozname Instrument Summary (Sumár prístroja)
	Zobrazit'	Vyberte bloky, ktoré sa majú zobrazit' v zozname. Vyberte jednu z možností na zobrazenie všetkých zistených blokov, všetkých nečinných blokov, všetkých blokov, ktoré spustil aktuálny používateľ, alebo všetkých spustených blokov.

Prehľadanie vlastností prístroja

V paneli Detected Instruments (Detegované prístroje) môžete zobrazit' podrobnosti o vybranom prístroji vrátane jeho vlastností, stavu jeho prepravnej skrutky a zoznamu jeho kalibrovaných farbív (fluoroforov).



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

Na zobrazenie vlastností prístroja

- ▶ V okienku Detected Instruments (Detegované prístroje) kliknite pravým tlačidlom myši na cieľový prístroj a vyberte položku Properties (Vlastnosti) v ponuke, ktorá sa objaví.

Karta Properties (Vlastnosti)

Karta Properties (Vlastnosti) obsahuje technické podrobnosti o zvolenom prístroji vrátane modelu, sériových čísel jeho komponentov a verzií firmvéru. Predvolený názov prístroja (jeho sériové číslo) sa objavuje na mnohých miestach, vrátane panelu Detected Instruments (Detegované prístroje) a na paneli záhlavia dialógového okna Instrument Properties (Vlastnosti prístroja). Prístroj môžete premenovať, aby ste ho ľahšie identifikovali.

Na premenovanie prístroja

- ▶ Na karte Instrument Properties (Vlastnosti prístroja) zadajte názov do poľa Rename (Premenovať) v hornej časti karty Properties (Vlastnosti) a kliknite na položku Rename (Premenovať).

Nový názov sa objaví v riadku Nickname (Prezývka) na karte Properties (Vlastnosti), ako aj na paneli Instrument Properties (Vlastnosti prístroja) a v paneli Detected Instruments (Detegované prístroje).

Karta Shipping Screw (Prepravná skrutka)

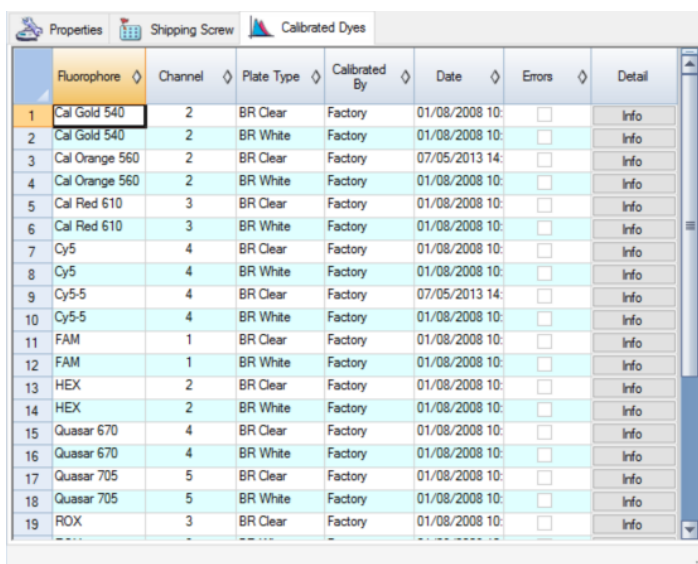
Karta Shipping Screw (Prepravná skrutka) zobrazuje aktuálny stav prepravnej skrutky pre vybraný prístroj (odstránená alebo nainštalovaná). Karta tiež obsahuje pokyny na inštaláciu alebo odstránenie červenej prepravnej skrutky.

Tip: Ak softvér zistí prepravnú skrutku, v dialógovom okne Instrument Properties (Vlastnosti prístroja) sa automaticky zobrazí karta Shipping Screw (Prepravná skrutka). Skrutku odstráňte podľa pokynov.

Poznámka: Pred použitím prístroja musíte odstrániť prepravnú skrutku. Viac informácií nájdete v časti [Odstránenie prepravnej skrutky na strane 30](#).

Karta Calibrated Dyes (Kalibrované farbivá)

Karta Calibrated Dyes (Kalibrované farbivá) zobrazuje kalibrované fluorofory a platničky pre vybraný prístroj.



	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

Ak chcete zobraziť podrobné informácie o kalibrácii, kliknite na tlačidlo Info v stĺpci Detail (Podrobnosti).

Skôr než začnete

Nastavenie používateľských preferencií

Tip: Na používanie softvéru CFX Manager Dx software nie je potrebné vykonať tieto úkony. Túto časť môžete bezpečne vynechať. Tieto úkony môžete vykonať v ľubovoľnom čase.

V CFX Manager Dx môžete prispôsobiť svoje pracovné prostredie. Ak váš správca vytvoril používateľov softvéru, každý používateľ si môže prispôsobiť svoje pracovné prostredie. Ak váš správca nevytvoril používateľov, zmeny preferencií sa vzťahujú na každého, kto sa prihlási do CFX Manager Dx. (Viac informácií o vytváraní používateľov CFX Manager Dx uvádza [Príloha B, Správa používateľov a úloh CFX Manager Dx.](#))

Napríklad v ponuke Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) môžete vykonať nasledujúce činnosti:

- Nastavenie e-mailového upozornenia na dokončenie chodu.
- Zmena predvolených nastavení pre
 - Umiestnenie, do ktorého sa ukladajú súbory
 - Súbory nastavenia chodu
 - Predpona pomenovania súboru
- Nastaviť predvolené parametre, ktoré sa použijú pri vytváraní nového protokolu a platničky.
- Nastaviť predvolenú analýzu dát a parametre génovej expresie.
- Prispôsobiť predvolené parametre kontroly kvality.
- Prispôsobiť parametre exportu údajov.

V menu Tools (Nástroje) môžete vykonať nasledujúce činnosti:

- Vytvoriť reakciu Master Mix.
- Kalibrovať farbivá pre konkrétny prístroj.

Poznámka: Reakcia Master Mix a kalibrácia farbiva sú dostupné pre každého, kto sa prihlási do CFX Manager Dx.

Táto časť podrobne vysvetľuje spôsob vykonávania týchto úkonov.

Nastavenie e-mailového upozornenia

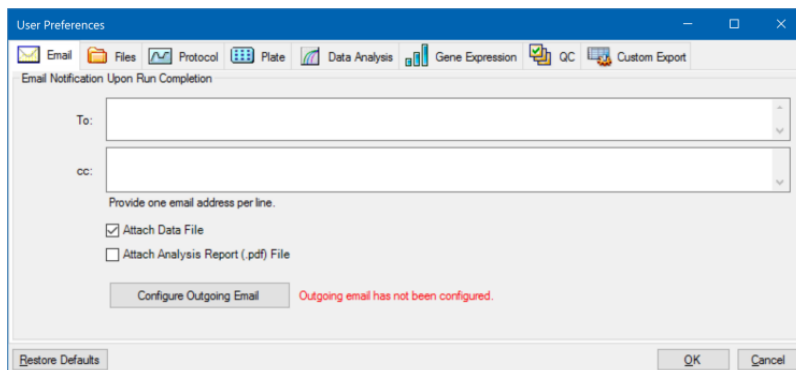
CFX Manager Dx môžete pripojiť k vášmu e-mailovému serveru, aby ste zoznamu používateľov mohli posielat' e-mailové upozornenia týkajúce sa dokončenia chodu. Môžete tiež vybrať, aby sa k zoznamu používateľov pripojil dátový súbor a správa o analýze. Ak chcete nastaviť pripojenie medzi CFX Manager Dx a vaším serverom SMTP, pozrite si [Pripojenie CFX Manager Dx k serveru SMTP na strane 64](#).

Poznámka: Schopnosť používateľa získať prístup k funkciám nastavenia e-mailu závisí od používateľskej skupiny a oprávnení pridelených správcom. Podrobné informácie o správe používateľov a ich funkciách nájdete v časti [Správa používateľov na strane 267](#).

Nastavenie e-mailových upozornení

1. Výberom položky Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) otvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).

Zobrazí sa dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie) s kartou Email (E-mail).



Poznámka: Systém vás informuje, ak zistí, že ste nenastavili platný server SMTP pre CFX Manager Dx. Kliknutím na položku Configure Outgoing Email (Konfigurovať odchádzajúce e-mail) otvorte dialógové okno Options (Možnosti) a nakonfigurujte e-mailový server SMTP. Viac informácií uvádza [Pripojenie CFX Manager Dx k serveru SMTP na strane 64](#).

2. Do textového poľa To (Príjemca) zadajte e-mailovú adresu všetkých osôb, ktoré chcete informovať o dokončení chodu. Po skončení chodu všetci príjemcovia dostanú e-mail.

Poznámka: Každú e-mailovú adresu musíte zadať do samostatného riadka. Po každej adrese stlačte tlačidlo Enter alebo Return.

3. (Voliteľné) Do textového poľa cc (kópia) zadajte e-mailovú adresu každého príjemcu, ktorému chcete odoslať kópiu každého e-mailového upozornenia.

4. (Voliteľné) Všetci príjemcovia dostanú predvolene kópiu dátového súboru ako prílohu. Zrušte začiarknutie tohto políčka, ak nechcete pripojiť kópiu dátového súboru.
5. (Voliteľné) Výberom položky Attach Analysis Report (Pripojiť správu o analýze) pripojíte súbor vo formáte PDF k e-mailu.
6. Kliknutím na tlačidlo OK uložíte zmeny a zatvoríte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).

Upravenie e-mailovej adresy príjemcu

- Upravte e-mailovú adresu podľa potreby a kliknite na tlačidlo OK.

Odstránenie príjemcu e-mailu

1. Vyberte príjemcu e-mailu a stlačte tlačidlo Delete (Odstrániť).
2. Kliknutím na tlačidlo OK uložíte zmeny a zatvoríte dialógové okno.

Dôležité upozornenie: Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) resetujete všetky preferencie na všetkých kartách na pôvodné továrenské nastavenia. Dávajte pozor pri kliknutí na toto tlačidlo.

Pripojenie CFX Manager Dx k serveru SMTP

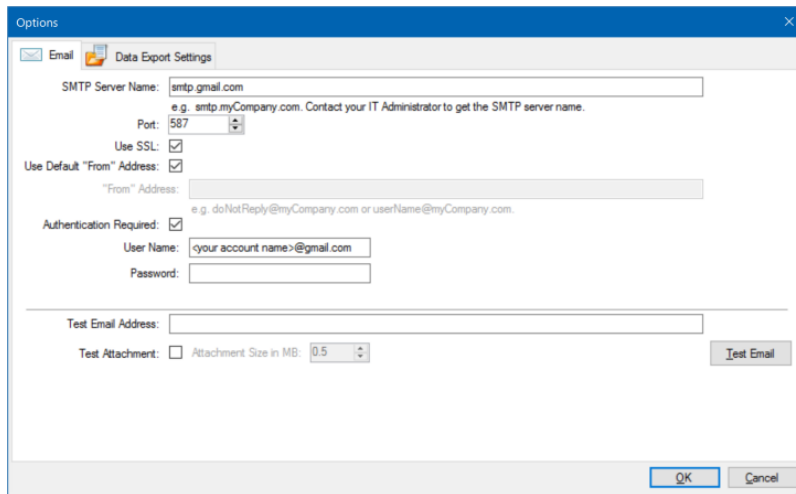
Dôležité upozornenie: Niektorí poskytovatelia webových služieb (napr. Yahoo! a Gmail) zvýšili zabezpečenie e-mailov. Ak používate tieto účty, musíte v nastaveniach účtu povoliť nastavenie **Allow less secure apps** (Povoliť menej bezpečné aplikácie), aby ste povolili CFX Manager Dx odosielanie e-mailov. Ďalšie informácie nájdete v informáciách o zabezpečení poskytovateľa webových služieb.

Pred odoslaním e-mailového upozornenia musíte nadviazať spojenie z CFX Manager Dx na váš e-mailový server.

Pripojenie CFX Manager Dx k e-mailovému serveru

1. Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Vyberte User (Používateľ) > User Preferences (Používateľské preferencie) a kliknite na Configure Outgoing Email (Konfigurovať odchádzajúce e-maily) na karte Email (E-mail).
 - Zvoľte Tools (Nástroje) > Options (Možnosti).

Zobrazí sa dialógové okno Options (Možnosti) s kartou Email (E-mail).



2. Pre vašu spoločnosť poskytnite nasledujúce informácie:

- **SMTP Server Name** (Názov servera SMTP) — názov servera odchádzajúcich e-mailov vo vašej spoločnosti.
- **Port** (Port) — počet portov vášho servera SMTP. To je zvyčajne 25.
- **Use SSL** (Použite SSL) — možnosť Secure Sockets Layer (SSL) (Vrstva zabezpečených zásuviek). Niektoré servery SMTP si vyžadujú toto nastavenie. Ak sa to vo vašej spoločnosti nevyžaduje, zrušte túto kontrolnú značku.
- **Use Default "From" Address** (Použite predvolenú adresu „Od“) — názov e-mailového servera vo vašej spoločnosti. Niektoré servery SMTP vyžadujú, aby všetky odoslané e-maily mali adresu „od“, ktorá je z určitej domény, napríklad názov@VašejSpoločnosti.com V takom prípade zrušte kontrolnú značku a zadajte platnú e-mailovú adresu.
- **Authentication Required** (Vyžaduje sa overenie) — ak vaša lokalita vyžaduje overenie účtu, overte, či je táto kontrolná značka vybraná.
- **User Name** (Meno používateľa) — názov overeného účtu. Vyžaduje sa to len v prípade, ak je vybraná možnosť Authentication Required (Vyžaduje sa overenie).
- **Password** (Heslo) — heslo pre overený účet. Vyžaduje sa to len v prípade, ak je vybraná možnosť Authentication Required (Vyžaduje sa overenie).

3. Ak chcete overiť, či sú nastavenia servera SMTP správne, zadajte do textového poľa Test Email Address (Testovať e-mailovú adresu) platnú e-mailovú adresu a kliknite na položku Test Email (Testovať e-mail).

Poznámka: Niektoré servery SMTP nepovoľujú prílohy a iné umožňujú prílohy iba do určitej veľkosti. Ak plánujete odosielať e-mailové súbory s údajmi a / alebo reporty pomocou CFX Manager Dx, vyberte položku Test Attachment (Testovať prílohu) a nastavte Attachment Size in MB (Veľkosť prílohy v MB) na 5 megabajtov (MB) alebo viac.

4. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno.

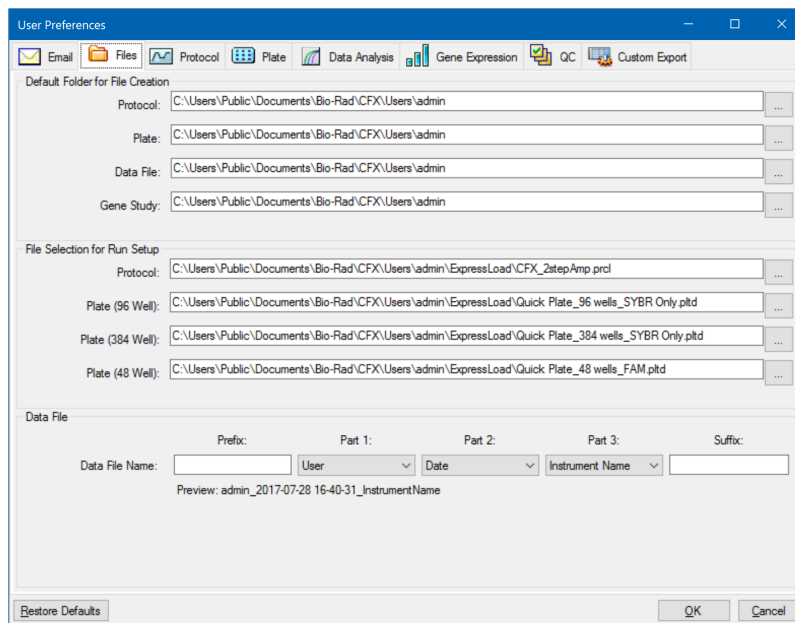
Zmena predvolených nastavení súborov

Na karte Files (Súbory) v dialógovom okne User Preference (Preferencie používateľa) môžete zmeniť nasledujúce položky:

- Predvolené umiestnenie, do ktorého sa ukladajú súbory CFX Manager Dx
- Predvolené súbory pre nastavenie chodu
- Predvolené parametre pomenovania súborov

Na zmenu predvolených nastavení súborov

1. Výberom položky Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) otvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).
2. V dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) vyberte kartu Files (Súbory).



3. V časti Default Folder for File Creation (Predvolený priečinok pre tvorbu súborov) prejdite na a vyberte predvolený priečinok, do ktorého chcete uložiť nové súbory. Pre každý typ súboru môžete vybrať iné umiestnenie:
 - Protokol
 - Platnička
 - Dátový súbor
 - Génová štúdiá
4. V časti File Selection for Run Setup (Výber súboru pre nastavenie chodu) prejdite na a vyberte cieľový protokol a súbory platničiek, ktoré sa majú zobraziť, keď otvoríte okno Experiment Setup (Nastavenie experimentu).
5. V časti Data File (Dátový súbor) definujte predponu a/alebo príponu pre dátové súbory. Pre ľubovoľnú časť vyberte v rozbaľovacom zozname novú hodnotu. Môžete tiež zadať vlastné hodnoty predponu a prípony v textových poliach Prefix (Predpona) a Suffix (Prípona).

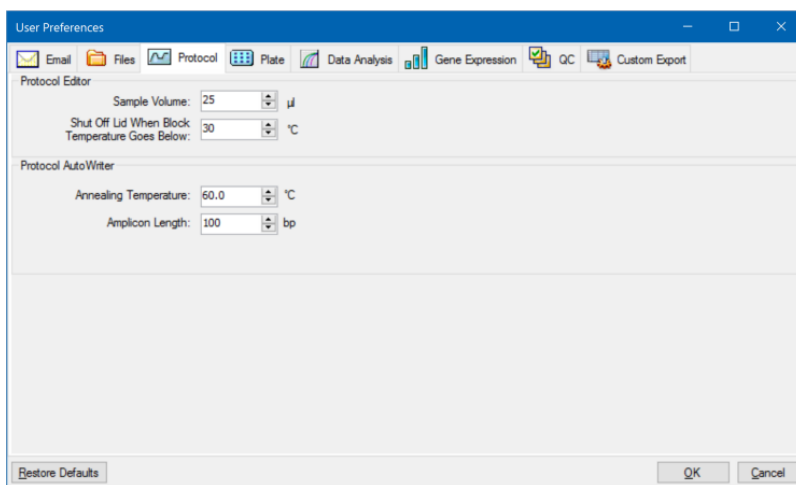
CFX Manager Dx zobrazí náhľad názvu súboru pod poľami výberu.
6. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno.

Dôležité upozornenie: Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) resetujete všetky preferencie na všetkých kartách na pôvodné továrenské nastavenia. Dávajte pozor pri kliknutí na toto tlačidlo.

Nastavenie predvolených parametrov protokolu

Na nastavenie predvolených parametrov protokolu pre Protocol Editor (Editor protokolov) a Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter)

1. Výberom položky Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) otvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).
2. V dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) zvolte kartu Protocol (Protokol).



3. V časti Protocol Editor (Editor protokolov) zadajte hodnoty pre nasledujúce nastavenia, ktoré sa zobrazia v Protocol Editor (Editor protokolov):
 - **Sample volume** (Objem vzorky) — objem každej vzorky v jamkách (v µl).
 - **Lid Shutoff temperature** (Teplota vypnutia veka) — teplota v °C, pri ktorej sa ohrievač veka počas chodu vypne.
4. V časti Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) zadajte hodnoty pre nasledujúce nastavenia, ktoré sa zobrazia v Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter):
 - **Annealing temperature** (Teplota žihania) — teplota v °C pre experimenty, ktoré využívajú iProof DNA polymerázu, iTaq DNA polymerázu alebo iné polymerázy.
 - **Amplicon length** (Dĺžka amplikónu) — dĺžka amplikónu v bp.
5. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno.

Dôležité upozornenie: Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) resetujete všetky preferencie na všetkých kartách na pôvodné továrenské nastavenia. Dávajte pozor pri kliknutí na toto tlačidlo.

Nastavenie predvolených parametrov platničky

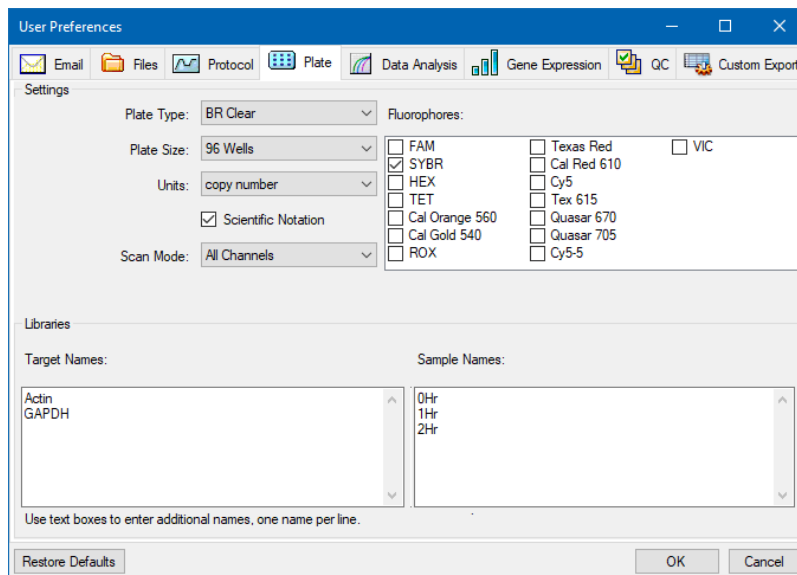
Zmeny, ktoré vykonáte na karte Plate (Platnička), sú k dispozícii pre všetkých používateľov softvéru. Zmeny, ktoré urobíte počas nastavenia platničky, sú dostupné používateľom po uložení a zatvorení súboru platničky.

V dialógovom okne User Preference (Preferencie používateľa) môžete urobiť nasledujúce:

- Nastaviť predvolené parametre platničky.
- Pridať nové názvy cieľa a vzorky do ich príslušných knižníc.
- Odstrániť nové názvy cieľa a vzorky z ich príslušných knižníc.

Nastavenie predvolených parametrov platničky

1. Výberom položky Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) otvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).
2. V dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) vyberte kartu Plate (Platnička).



3. Zadáte hodnoty pre nasledujúce nastavenia pre nový súbor platničky. V okne Plate Editor (Editor platničky) sa objavia tieto hodnoty:

- **Plate type** (Typ platničky)
- **Plate Size** (Veľkosť platničky)
- **Units** (Jednotky) — koncentrácia východiskovej šablóny pre jamky, ktoré obsahujú štandardy.

CFX Manager Dx používa tieto jednotky na vytvorenie štandardnej krivky na karte Data Analysis Quantification (Kvantifikácia analýzy dát).
- **Scientific notation** (Vedecká notácia) — ak je vybraná, CFX Manager Dx zobrazuje jednotky koncentrácie vo vedeckej notácii.
- **Scan mode** (Režim skenovania) — počet alebo typ kanálov na skenovanie počas chodu.
- **Fluorofores** (Fluorofory) — predvolené fluorofory, ktoré sa objavia v ovládacích prvkoch načítania jamky Plate Editor (Editor platničky).
- **Libraries** (Knižnice) — názvy cieľa a vzorky, ktoré bežne používate vo svojich experimentoch.
 - Target names** (Názvy cieľov) — názvy cieľových génov a sekvencií.
 - Sample names** (Názvy vzoriek) — názvy experimentálnych vzoriek alebo identifikačné charakteristiky pre vzorky (napríklad Mouse1, Mouse2, Mouse3).

4. Kliknutím na tlačidlo OK uložíte zmeny a zatvoríte dialógové okno.

Na pridanie nového cieľa alebo vzorky

- ▶ V príslušnom poli knižnice zadajte názov cieľa alebo vzorky a kliknite na tlačidlo OK.

Na odstránenie nového cieľa alebo vzorky

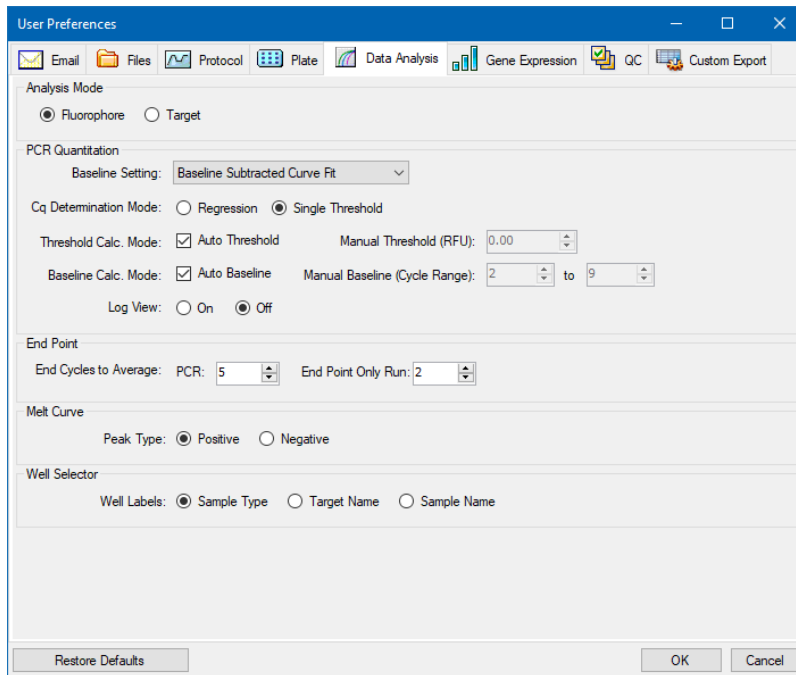
- ▶ V príslušnom poli knižnice vyberte názov a stlačte kláves Delete a potom kliknite na tlačidlo OK.

Dôležité upozornenie: Názvy, ktoré odstránite z knižnice, sa odstránia zo softvéru a už nie sú k dispozícii používateľom. Ak chcete obnoviť predvolené názvy CFX Manager Dx, kliknite na Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia). Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) resetujete všetky preferencie na všetkých kartách na pôvodné továrenské nastavenia. Pri odstraňovaní predvolených CFX Manager Dx názvov a kliknutí na toto tlačidlo buďte opatrní.

Nastavenie predvolených parametrov analýzy dát

Ak chcete nastaviť predvolené parametre analýzy dát

1. Výberom položky Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) otvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).
2. V dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) vyberte kartu Data Analysis (Analýza dát).



3. V časti Analysis Mode (Režim analýzy) vyberte režim, v ktorom sa budú analyzovať dáta (Fluorophore (Fluorofor) alebo Target (Cieľ)).
4. V časti PCR Quantitation (Kvantifikácia PCR) nastavte predvolené parametre pre nasledujúce možnosti:
 - **Baseline Setting** (Základné nastavenie) — základná metóda pre režim analýzy.
 - **Cq Determination Mode** (Režim určovania Cq) — režim, v ktorom sa počítajú hodnoty Cq pre každú stopu fluorescence (regresia alebo jednoduchá prahová hodnota).

- **Threshold Calc. Mode** (Režim počítania prahovej hodnoty) — cieľová suma koncového bodu.

Predvolená je možnosť Auto (Automatická). To znamená, že softvér automaticky vypočíta cieľový koncový bod. Ak chcete nastaviť špecifickú prahovú hodnotu, zrušte začiarknutie začiarkavacieho políčka Auto (Automatická) a zadajte hodnotu koncového bodu vypočítanú v jednotkách relatívnej fluorescencie (RFU). Maximálna hodnota je 65 000,00 RFU. Dátové súbory pre nasledujúce chody budú používať toto nastavenie prahovej hodnoty.

- **Baseline Calc. Mode** (Režim počítania základnej hodnoty) — základná hodnota pre všetky stopy.

Predvolená je možnosť Auto (Automatická). To znamená, že softvér automaticky vypočíta základnú hodnotu pre všetky stopy. Ak chcete nastaviť konkrétnu základnú hodnotu, zrušte začiarknutie začiarkavacieho políčka Auto (Automatická) a zadajte minimálnu a maximálnu hodnotu pre rozsah cyklu (1 až 9 999). Dátové súbory pre nasledujúce chody budú používať tento rozsah cyklu.

- **Log View** (Zobrazenie denníka) — určuje to, ako bude softvér zobrazovať dáta amplifikácie:

- On** (Zap.) — dáta amplifikácie sa zobrazujú v semilogaritmickej grafe.
- Off** (Vyp.) — (predvolené nastavenie) dáta amplifikácie sa zobrazujú v lineárnom grafe.

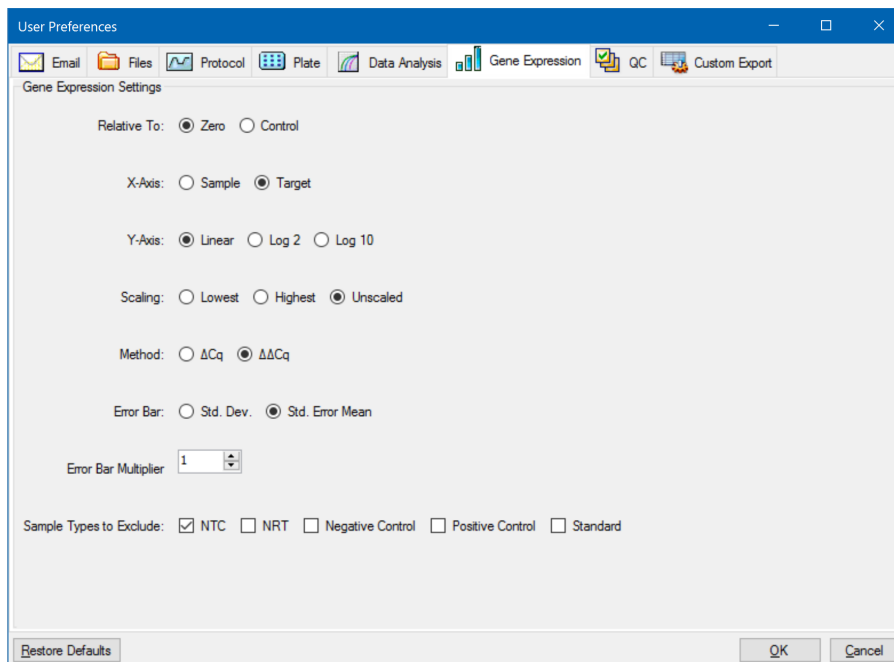
5. V časti End Point (Koncový bod) vyberte počet koncových cyklov na spriemerovanie pri výpočtoch koncových bodov.
 - **PCR** — počet koncových cyklov na spriemerovanie pre kvantifikačné dáta (predvolená hodnota je 5).
 - **End Point Only run** (Iba chod koncového bodu) — počet koncových cyklov na spriemerovanie pre dáta koncového bodu (predvolená hodnota je 2).
6. V časti Melt Curve (Krivka tavenia) vyberte typ vrcholu, ktorý sa má zisťovať (kladný alebo záporný).
7. V časti Well Selector (Selektor jamiek) vyberte spôsob zobrazovania označení jamiek (podľa typu vzorky, názvu cieľa alebo názvu vzorky).
8. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno.

Dôležité upozornenie: Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) resetujete všetky preferencie na všetkých kartách na pôvodné továrenské nastavenia. Dávajte pozor pri kliknutí na toto tlačidlo.

Nastavenie predvolených parametrov dátových súborov expresie génu

Na nastavenie predvolených parametrov dátových súborov expresie génu

1. Výberom položky Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) otvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).
2. V dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) vyberte kartu Gene Expression (Expresia génu).



3. Zadáajte hodnoty pre nasledujúce nastavenia:

- **Relative to** (Relatívne k) — grafy údajov o expresii génu, ktoré sa týkajú buď kontrolnej hodnoty (začínajúcej od 1), alebo nuly:
 - **Zero** (Nula) — softvér ignoruje kontrolu. Toto je predvolené, ak nie je priradená žiadna kontrolná vzorka v okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu).
 - **Control** (Kontrolná) — softvér vypočíta údaje týkajúce sa kontrolnej vzorky priradenej v okne Experiment Setup (Nastavenie experimentu).
- **X-axis** (Os X) — zobrazuje názvy vzoriek na osi X.
- **Y-axis** (Os Y) — grafy lineárnej, log2 alebo log10 stupnice na osi Y.
- **Scaling** (Škálovanie) — voľba mierky pre graf (predvolená možnosť je nezmenená):

- Highest** (Najvyšší) — softvér škáluje graf na najvyšší dátový bod.
- Lowest** (Najnižší) — softvér škáluje graf na najnižší bod údajov.
- Unscaled** (Neškálované) — softvér zobrazuje údaje, ktoré nie sú v grafe zobrazené.
- **Mode** (Režim) — v režime analýzy buď relatívna veličina (ΔC_q), alebo normalizovaná expresia ($\Delta\Delta C_q$)
- **Error Bar** (Chybový stĺpec) — variabilita údajov prezentovaná buď ako štandardná odchýlka (Std. Dev.), alebo štandardná chyba strednej hodnoty (Std. Error Mean).
- **Error Bar Multiplier** (Násobiteľ chybových stĺpcov) — násobiteľ štandardnej odchýlky, ktorý sa používa na grafovanie úsečiek chýb (predvolená hodnota je 1).
Násobiteľ sa môže zvýšiť na 2 alebo 3.
- **Sample Types to Exclude** (Typy vzoriek na vylúčenie) — typy vzoriek, ktoré sa majú vylúčiť z analýzy.
Môžete vybrať jednu alebo viac vzoriek, ktoré sa majú vylúčiť z analýzy. Ak chcete vylúčiť všetky typy vzoriek, zrušte kontrolné značky vybraných typov vzoriek.

4. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno.

Dôležité upozornenie: Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) resetujete všetky preferencie na všetkých kartách na pôvodné továrenské nastavenia. Dávajte pozor pri kliknutí na toto tlačidlo.

Prispôsobenie pravidiel kontroly kvality

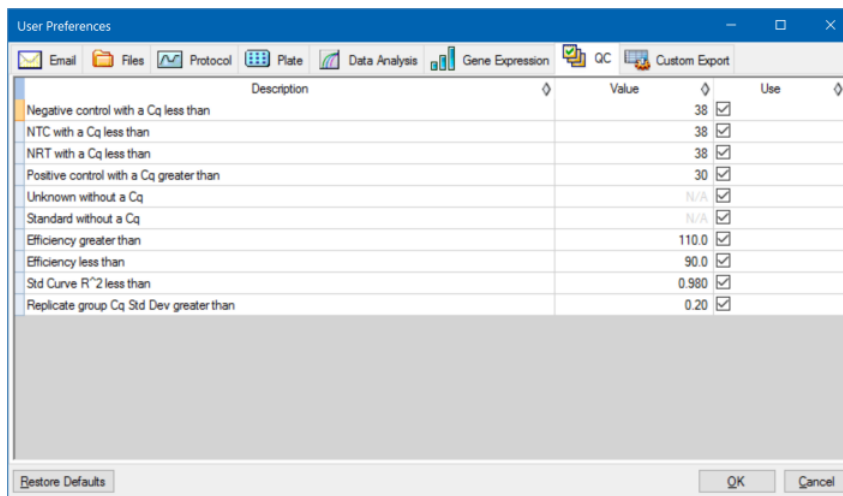
V CFX Manager Dx môžete nastaviť pravidlá kontroly kvality, ktoré sa aplikujú na dáta v okne Data Analysis (Analýza dát). Softvér validuje údaje v porovnaní s nastavenými pravidlami.

Poznámka: Predvolene sú aktivované všetky pravidlá kontroly kvality.

Tip: Z analýzy v module QC okna Data Analysis (Analýza dát) môžete ľahko vylúčiť jamky, ktoré nevyhovujú parametru QC.

Na prispôsobenie pravidiel kontroly kvality

1. Výberom položky Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) otvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).
2. V dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) vyberte kartu QC.



kde:

- **NTC** — bez kontroly šablóny
 - **NRT** — bez kontroly reverznej transkriptázy
 - **Efficiency** (Účinnosť) — účinnosť reakcie
 - **Std Curve R²** (Štd. krivka R²) — štvorcová hodnota R pre štandardnú krivku
 - **Replicate group Cq Std Dev** (Replikovaná skupina Gq štd.odchýlka) — štandardná odchýlka vypočítaná pre každú replikovanú skupinu
3. Pre každé pravidlo QC vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak chcete použiť predvolenú hodnotu, nerobte nič.
 - Ak chcete zmeniť jeho hodnotu, kliknite na textové pole Value (Hodnota), zadajte novú hodnotu a stlačte kláves Enter.
 - Ak chcete pravidlo vypnúť, zrušte začiarknutie políčka Use (Použiť).
 4. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno.

Dôležité upozornenie: Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) resetujete všetky preferencie na všetkých kartách na pôvodné továrenské nastavenia. Dávajte pozor pri kliknutí na toto tlačidlo.

Prispôsobenie parametrov exportu dát

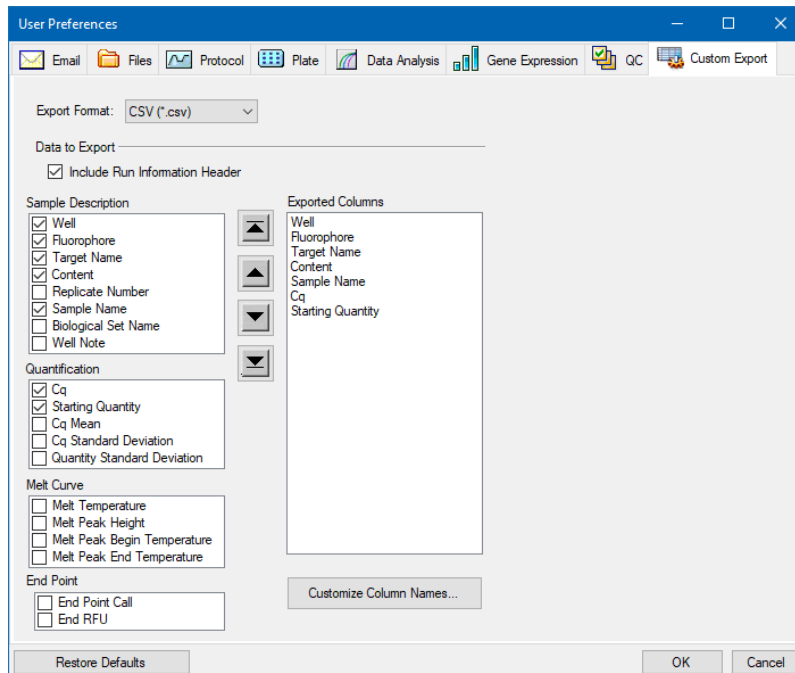
Dáta CFX Manager Dx môžete exportovať v nasledujúcich formátoch:

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

Môžete špecifikovať typ dát na export a prispôbiť výstup exportovaných dát.

Ak chcete prispôbiť parametre exportu dát

1. Výberom položky Users (Používatelia) > User Preferences (Používateľské preferencie) otvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).
2. V dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) vyberte kartu Custom Export (Vlastný export).



3. V rozbaľovacom zozname Export Format (Formát exportu) vyberte formát, v ktorom sa majú dáta exportovať.
4. V časti Data to Export (Dáta na export) začiarknite alebo zrušte začiarknutie políček pre typ údajov, ktoré sa majú exportovať. Vybrané položky sa zobrazia v okne zoznamu Exported Columns (Exportované stĺpce).

Poznámka: Informácie o chode sa predvolene nachádzajú v hlavičke. Zrušte začiarknutie tohto políčka, ak nechcete zahrnúť informácie o chode.

5. Môžete zmeniť poradie zobrazenia výstupu vybraných položiek.

V okne zoznamu Exported Columns (Exportované stĺpce) zvýraznite položku a následne kliknutím na tlačidlo sa šípkami naľavo od zoznamu posuňte položku nahor alebo nadol.

6. Voliteľne môžete zmeniť názvy výstupných stĺpcov vybraných položiek:

- a. Kliknite na položku Customize Column Names (Prispôsobiť názvy stĺpcov).

Zobrazí sa dialógové okno Column Name Customizer (Prispôsobenie názvu stĺpca)

- b. Pre každý predvolený názov stĺpca, ktorý chcete zmeniť, zadajte nový názov do poľa Custom Name (Vlastný názov).

- c. Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:

- Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a vráťte sa na kartu Custom Export (Vlastný export). Nový názov sa zobrazí v zátvorkách vedľa predvoleného názvu stĺpca v zozname Exported Columns (Exportované stĺpce).
- Kliknutím na tlačidlo Cancel zrušíte zmeny a vrátite sa na kartu Custom Export (Vlastný export).

7. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno.

Dôležité upozornenie: Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie) resetujete všetky preferencie na všetkých kartách na pôvodné továrenské nastavenia. Dávajte pozor pri kliknutí na toto tlačidlo.

Vytvorenie reakcie Master Mix

Pomocou Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka) softvéru CFX Manager Dx software môžete ľahko vypočítať požadovaný objem každého komponentu vo vašej reakcii Master Mix. Tabuľku výpočtov reakcie Master Mix môžete vytlačiť na predvolenej tlačiarne a uložiť výpočty pre každý cieľ na neskoršie použitie.

Ak chcete vytvoriť reakciu Master Mix pomocou položky Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka)

1. Ak chcete otvoriť položku Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka), vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:

- Vyberte položku Tools (Nástroje) > Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka).
- Kliknite na položku Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka) na paneli nástrojov.

Zobrazí sa aplikácia Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka).

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

2. V časti Reaction (Reakcia) vyberte metódu zisťovania:
 - SYBR® Green/EvaGreen
 - Probes (Sondy)
3. Ak chcete vytvoriť nový cieľ, v časti Target (Cieľ) kliknite na položku Create New (Vytvoriť nový). V rozbaľovacom zozname cieľa sa zobrazí nový názov cieľa.

4. (Voliteľné) Ak chcete zmeniť predvolený názov cieľa:
 - a. Zvýraznite názov cieľa v rozbaľovacom zozname cieľa.
 - b. Zadajte nový názov do poľa Target (Cieľ).
 - c. Stlačte kláves Enter.
5. Upravte počiatočnú a konečnú koncentráciu pre predné a reverzné priméry a všetky sondy.
6. V časti Master Mix Setup (Nastavenie reakcie Master Mix) upravte hodnoty pre
 - Počet reakcií na spustenie
 - Objem reakcie na jamku
 - Objem šablóny na jamku
 - Koncentráciu reakcie Supermix na jamku
 - Prebytok objemu reakcie na jamku
7. (Voliteľné) Vykonajte kroky 2 – 6 pre požadované množstvo cieľov.
8. V časti Choose Target to Calculate (Vybrať cieľ na výpočet) vyberte cieľ, ktorý sa má vypočítať.

Tip: Môžete vypočítať iba jeden alebo niekoľko cieľov naraz.

Vypočítané objemy požadovaných komponentov pre každý vybraný cieľ sa zobrazia v tabuľke reakcie Master Mix.
9. Kliknutím na položku Set as Default (Nastaviť ako predvolené) nastavte vstupné hodnoty množstva v časti Target (Cieľ) a Master Mix Setup (Nastavenie reakcie Master Mix) ako nové predvolené hodnoty.
10. Kliknutím na tlačidlo OK uložte obsah dialógového okna Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka).

Ak chcete vytlačiť tabuľku reakcie Master Mix

- ▶ Ak chcete vytlačiť tabuľku reakcie Master Mix, kliknite na položku Print (Tlač).

Tabuľka výpočtov sa vytlačí na predvolenej tlačiarni.

Ak chcete uložiť tabuľku reakcie Master Mix vo formáte PDF

- ▶ Zmeňte predvolenú tlačiareň na ovládač PDF a kliknite na položku Print (Tlač) v aplikácii Master Mix Calculator (Master Mix kalkulačka).

Ak chcete odstrániť ciele

- ▶ Vyberte cieľ pomocou rozbaľovacieho zoznamu cieľa a kliknite na položku Remove (Odstrániť).

Dôležité upozornenie: Odstránenie cieľa zo zoznamu cieľov ho tiež odstráni z akýchkoľvek výpočtov reakcie Master Mix, v ktorom sa používa. Pri odstraňovaní cieľa postupujte opatrne.

Kalibrácia nových farbív

Systémy CFX96 Dx sú z výroby kalibrované pre bežne používané fluorofory s bielymi jamkami a bezfarebnými jamkami. Systém [Tabuľka 11](#) uvádza fluorofory a kanál, pre ktorý je každý prístroj kalibrovaný.

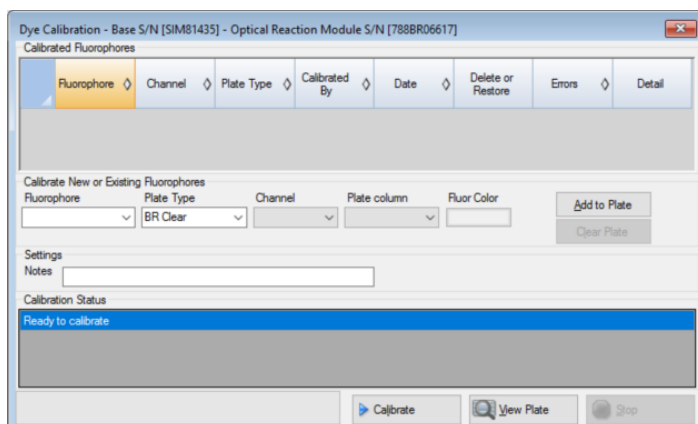
Poznámka: Systémy CFX96 zahŕňajú aj kanál určený pre chémiu FRET. Tento kanál nevyžaduje kalibráciu pre špecifické farbivá.

Tabuľka 11. Z výroby kalibrované fluorofory a kanály

Fluorofory	Kanály	Excitácia, nm	Detekcia, 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

Na kalibrovanie nových farbív pre systémy CFX

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte cieľový nástroj v paneli Detected Instruments (Detegované nástroje).
2. Zvoľte Tools (Nástroje) > Calibration Wizard (Sprievodca kalibráciou) na otvorenie sprievodcu Dye Calibration (Kalibrácia farbiva).



Fluorofory už kalibrované pre cieľový prístroj sa zobrazia v tabuľke Calibrated Fluorophores (Kalibrované fluorofory).

3. V časti Calibrate New or Existing Fluorofor (Kalibrovať nový alebo existujúci fluorofor) z rozbaľovacieho zoznamu zvolte fluorofor, ktorý chcete kalibrovať.

Ak názov fluoroforu nie je zahrnutý do zoznamu, zadajte ho do textového poľa a pridajte ho do zoznamu.
4. Vyberte typ platničky pre fluorofor.

Ak názov platničky nie je zahrnutý do zoznamu, zadajte ho do textového poľa a pridajte ho do zoznamu.
5. Zvoľte kanál pre fluorofor.
6. Zvoľte stĺpec platničky pre fluorofor.
7. (Voliteľné) Zadajte farbu, ktorú chcete priradiť k fluoroforu.
8. Na pridanie fluoroforu kliknite na Add to Plate (Pridať na platničku).
9. (Voliteľné) Zopakujte kroky 3 – 8 na pridanie každého fluoroforu, ktorý plánujete kalibrovať pre platničku.
10. Keď dokončíte pridávanie fluoroforov, kliknutím na tlačidlo View Plate (Zobraziť platničku) otvoríte okno Pure Dye Plate Display (Zobrazenie platničky s čistým farbivom).

Toto okno použite ako pomôcku pre vkladanie farbív do platničky.
11. Pripravte 96-jamkovú platničku pre kalibráciu farbiva:
 - a. Do každej jamky napipetujte roztok farbiva podľa vzoru zobrazeného na Pure Dye Plate Display (Zobrazenie platničky s čistým farbivom).
 - b. Pre každý fluorofór naplňte štyri jamky po 50 µl (96-jamková platnička) 300 nM roztoku farbiva. Nezabúdajte, že aspoň pol platničky obsahuje prázdne jamky.
 - c. Utesnite platničku pomocou tesniacej metódy, ktorú použijete vo svojom experimente.
12. Umiestnite kalibračnú platničku do bloku a zatvorte veko.
13. V sprievodcovi Dye Calibration (Kalibrácia farbiva), kliknutím na Calibrate (Kalibrovať) a OK potvrdíte, že platnička je v bloku.
14. Keď CFX Manager Dx software dokončí kalibráciu, objaví sa dialógový rámček. Kliknutím na Yes (Áno) dokončíte kalibráciu a otvoríte Dye Calibration Viewer (Prehliadač kalibrácie farbiva).
15. Kliknutím na OK zatvoríte okno.

Kapitola 6 Vytváranie protokolov

Protokol je súbor krokov, ktoré sa vykonávajú v špecifickom poradí. V softvéri CFX Manager Dx software sú všetky kroky spojené s voľbami na prístroji. Kroky napríklad inštruujú prístroj, aby riadil teplotu bloku a veka, aplikoval teplotný rozdiel naprieč blokom, odčítal platničku alebo vykonal analýzu krivky tavenia. Každá voľba je určená pre rôzne typy platničiek a chodov.

CFX Manager Dx poskytuje dve možnosti pre vytváranie protokolov: Protocol Editor (Editor protokolov) a Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter).

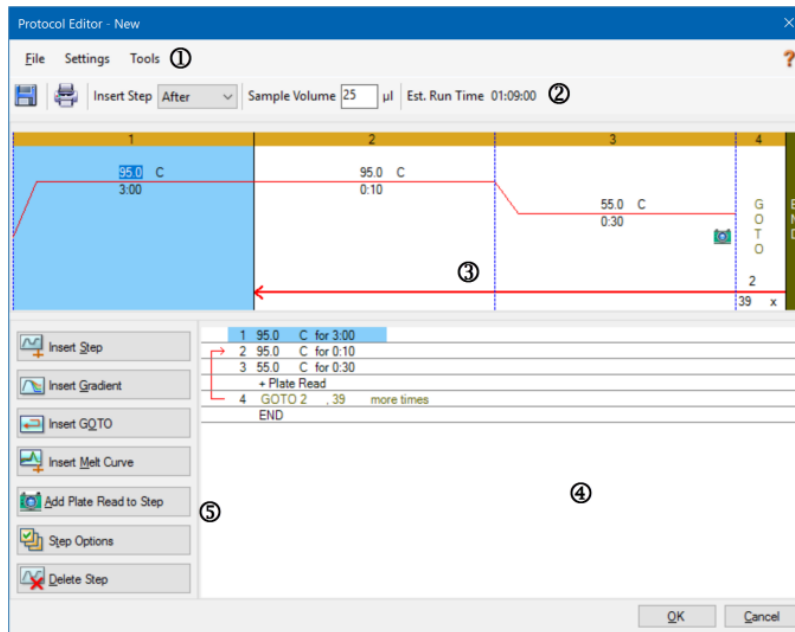
Medzi funkcie okna Protocol Editor (Editor protokolov) patria nasledujúce:

- Štandardné ovládacie prvky protokolu na rýchle vytváranie protokolov
- Schopnosť rýchlo vypočítať stúpanie pre zvolený počet riadkov
- Schopnosť rýchlo vypočítať dobu chodu pre zvolený typ platničky
- Schopnosť editovať kroky protokolu
- Schopnosť uložiť protokoly na opätovné použitie
- Schopnosť vytlačiť protokol na predvolenej tlačiarni

Aplikácia Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) automaticky generuje prispôsobený protokol PCR so štartom za tepla, počiatočnou denaturáciou, anelovaním a krokmi rozšírenia pomocou parametrov, ktoré poskytnete. Potom si môžete prezrieť grafické znázornenie navrhovaného protokolu a upraviť, spustiť alebo uložiť protokol.

Okno Protocol Editor (Editor protokolov)

Pomocou protokolu Protocol Editor (Editor protokolov) vytvoríte, otvoríte, preskúmate a upravíte protokol. Predvolene sa otvorí Protocol Editor (Editor protokolov), ktorý zobrazí generický 2-krokový protokol v reálnom čase pre 96-jamkovú platničku.



LEGENDA

1. Panel s menu poskytuje rýchly prístup k príkazom menu File (Súbor), Settings (Nastavenia) a Tools (Nástroje).

2. Panel nástrojov poskytuje rýchly prístup na uloženie a tlač protokolu, určenie miesta vloženia kroku, nastavenie objemu vzorky a zobrazenie odhadovaného času spustenia protokolu.

3. Hlavný panel zobrazuje grafické znázornenie protokolu.

4. V dolnom paneli sa zobrazuje prehľad protokolu.

5. Ľavý panel zobrazuje ovládacie prvky protokolu, ktoré môžete pridať na prispôbenie protokolu.

Príkazy ponuky File (Súbor)

Save (Uložiť) — uloží aktuálny protokol.

Save As (Uložiť ako) — uloží aktuálny protokol s novým názvom alebo na novom mieste.

Close (Zatvoriť) — zatvorí Protocol Editor (Editor protokolov).

Príkaz ponuky Settings (Nastavenia)

Lid Settings (Nastavenia veka) — otvorí dialógové okno Lid Setting (Nastavenie veka), v ktorom môžete zmeniť alebo nastaviť teplotu veka.

Príkazy ponuky Tools (Nástroje)

Gradient Calculator (Kalkulačka stúpania) — otvorí dialógové okno, z ktorého môžete vybrať typ bloku pre krok stúpania. Predvolených je 96 jamiek.

Run time Calculator (Kalkulačka doby chodu) — otvorí dialógové okno, z ktorého môžete vybrať typ platničky a režim skenovania, aby ste mohli vypočítať odhadovaný čas chodu v okne Run Setup (Nastavenie chodu). Predvolených je 96 jamiek, všetky kanály.

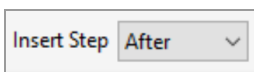
Príkazy panela nástrojov



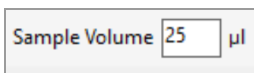
— uloží aktuálny súbor protokolu.



— vytlačí vybrané okno.

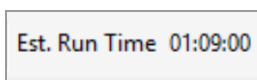


— pomocou tohto príkazu vyberte, kam sa majú vložiť kroky vzhľadom na aktuálne vybraný krok.



— pomocou tohto príkazu zadajte objem vzorky v µl. Objemy vzoriek sa líšia v závislosti od typu bloku:

- Pre hlboký blok s 96 jamkami je rozsah 0 – 125 µl.
- Pre blok s 96 jamkami je rozsah 0 – 50 µl.



— zobrazí odhadovaný čas chodu na základe krokov protokolu, konštantnej rýchlosti a typu vybraného bloku.

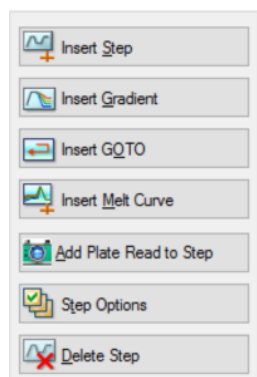


— zobrazí informácie pomocníka o protokoloch.

Ovládače na úpravu protokolu

Ľavý panel okna Protocol Editor (Editor protokolov) obsahuje ovládacie prvky, ktoré môžete použiť na vytvorenie protokolov.

Každý ovládací prvok sa skladá zo setu parametrov, ktoré predstavujú krok v protokole. Každý parameter môžete upraviť a pridať alebo odstrániť, aby ste si svoj protokol prispôbili. Táto časť popisuje možnosti jednotlivých ovládacích prvkov.



- **Insert Step** (Vložiť krok) — vloží krok pred alebo po zvolenom kroku. Hodnoty teploty a podržania môžete upraviť buď v grafickom zobrazení protokolu, alebo v prehľade protokolu.
- **Insert Gradient** (Vložiť stúpanie) — vloží krok stúpania na základe typu bloku jamiek zvoleného v kalkulačke stúpania. Rozsah stúpania môžete upraviť v okienku Gradient (Stúpanie), ktorý sa zobrazí po vložení kroku stúpania.
- **Insert GOTO** (Vložiť GOTO) — vloží cyklický (slučkový) krok, ktorý informuje softvér, aby opakoval špecifické kroky v postupnosti pre určený počet cyklov. Opakovania sa začnú po dokončení prvého cyklu. Môžete napríklad informovať softvér, aby vykonal 39

opakovaní krokov 2 – 4. Po poslednom opakovaní bude softvér vykonávať kroky 2 – 4 celkovo 40-krát. Krok návratu (GOTO) a počet cyklov môžete upraviť buď v grafickom zobrazení, alebo v prehľade protokolu.

- **Insert Melt Curve** (Vložiť krivku tavenia) — vloží krok čítania krivky tavenia.
- **Insert Plate Read to Step** (Vložiť čítanie platničky do kroku) — po výbere tejto položky sa do kroku pridá čítanie platničky. Čítanie platničky meria množstvo fluorescencie na konci cyklu. Krok čítania platničiek je vo všeobecnosti posledným krokom v cykle GOTO.

Tip: Keď pridáte ku kroku príkaz Čítať platničku, tlačidlo sa zmení na Remove Plate Read (Odstrániť čítanie platničky), keď zvolíte daný krok.

- **Remove Plate Read** (Odstrániť čítanie platničky) — po výbere tejto položky sa v kroku odstráni čítanie platničky.

Tip: Po odstránení príkazu na čítanie platničky z kroku sa tlačidlo zmení na Add Plate Read to Step (Pridať čítanie platničky do kroku), keď vyberiete krok.

- **Step Options** (Možnosti kroku) — otvorí sa dialógové okno Step Options (Možnosti kroku) a zobrazí dostupné možnosti pre vybraný krok. Podrobné informácie o možnostiach kroku nájdete v časti [Možnosti kroku na strane 87](#).

Tip: Prístup k Step Options (Možnosti kroku) môžete otvoriť aj kliknutím pravým tlačidlom myši na grafický displej.

- **Delete Step** (Odstrániť krok) — vymaže vybraný krok z protokolu.

Možnosti kroku

Otvorením dialógového okna Step Options (Možnosti kroku) môžete pridať, zmeniť alebo odstrániť krok.

- **Plate Read** (Čítanie platničky) — po výbere tejto položky sa do kroku pridá čítanie platničky.
- **Temperature** (Teplota) — nastaví cieľovú teplotu pre vybraný krok.
- **Gradient** (Stúpanie) — nastaví rozsah teploty pre krok; rozsah je 1 – 24 °C.

Poznámka: Stúpanie prebieha s najnižšou teplotou v prednej časti bloku (riadok H na tomto obrázku) a s najvyššou teplotou v zadnej časti bloku (riadok A na tomto obrázku).

- **Increment** (Prírastok) — hodnota zvýšenia (alebo zníženia) teploty vybraného kroku; táto hodnota sa pri každom cykle pripočíta k cieľovej teplote. Rozsah je $\pm 0,1 - 10$ °C.
Poznámka: Ak chcete znížiť teplotu, napíšte znak mínus (–) pred číselnú hodnotu (napríklad –5 °C).
- **Ramp Rate** (Konštantná rýchlosť) — konštantná rýchlosť vybraného kroku; rozsah závisí od veľkosti bloku.
- **Time** (Doba) — doba pozastavenia vybraného kroku.
- **Extend** (Rozšíriť) — doba (v sekundách) predĺženia alebo skrátenia vybraného kroku; táto možnosť sa pridá k času pozastavenia každého cyklu; rozsah je 1 – 60 s.
- **Beep** (Zvukový signál) — po výbere tejto položky zaznie zvukový signál na konci kroku.
Tip: Ak zadáte hodnotu, ktorá je mimo rozsahu možnosti, softvér zmení hodnotu na najbližší záznam v danom rozsahu.

Vytvorenie protokolu v Protocol Editor (Editor protokolov)

Pomocou Protocol Editor (Editor protokolov) môžete vytvoriť vlastné súbory protokolov. Môžete tiež upravovať a ukladať predtým uložené súbory protokolov alebo vzorové súbory protokolov dodané so softvérom CFX Manager Dx software.

Ak chcete vytvoriť nový súbor protokolu, vykonajte nasledujúce:

- Otvorte protokol v Protocol Editor (Editor protokolov).
Tip: Otvorte nový alebo existujúci protokol v Protocol Editor (Editor protokolov).
- Zostavte nový protokol.
- Pridajte kroky do protokolu z panela ovládacích prvkov protokolu.
- Upravte vlastnosti krokov.
- Uložte protokol.

Tip: Ak chcete vytvoriť nový protokol z predtým uloženého alebo vzorového súboru protokolu, pozrite si [Otvorenie existujúceho protokolu v aplikácii Protocol Editor \(Editor protokolov\) na strane 90](#).

Otváranie nového súboru protokolu v Protocol Editor (Editor protokolov)

CFX Manager Dx ponúka viacero možností na otvorenie nového súboru protokolu:

- Z okna Home (Domovské okno)
- Z dialógového okna Startup Wizard (Sprievodca spustením)
- Z dialógového okna Run Setup (Nastavenie chodu)

Otvorenie nového súboru protokolu z okna Home (Domovské okno)

- ▶ Zvoľte File (Súbor) > New (Nový) > Protocol (Protokol).

Otvorí sa okno Protocol Editor (Editor protokolov) a zobrazí predvolený súbor protokolu.

Tip: Informácie o nastavení predvoleného protokolu nájdete v časti [Zmena predvolených nastavení súborov na strane 66](#).

Na otvorenie nového protokolu z Startup Wizard (Sprievodca spustením)

1. V okne Home (Domovské okno) vykonaním jedného z nasledujúcich krokov otvoríte Startup Wizard (Sprievodca spustením), ak nie je viditeľný:
 - Zvoľte View (Zobraziť) > Startup Wizard (Sprievodca spustením).

- Na paneli nástrojov kliknite na Startup Wizard (Sprievodca spustením).

Predvolene Startup Wizard (Sprievodca spustením) štandardne zobrazuje kartu Run Setup (Nastavenie chodu) s vybratým typom CFX96 .

2. V prípade potreby vyberte typ prístroja z rozbaľovacieho zoznamu.
3. Ako typ chodu vyberte User-defined (Definované používateľom).

Otvorí sa dialógové okno Run Setup (Nastavenie chodu) na karte Protocol (Protokol) a zobrazí predvolený súbor protokolu.

4. Kliknite na Create New (Vytvoriť nový).

Otvorí sa okno Protocol Editor (Editor protokolov), ktoré zobrazuje predvolený protokol v reálnom čase.

Na otvorenie nového protokolu z dialógového okna Run Setup (Nastavenie chodu)

1. V okne Home (Domovské okno) vykonaním jedného z nasledujúcich krokov otvoríte Run Setup (Nastavenie chodu):

- Zvoľte Run (Chod) > User-defined Run (Používateľom definovaný chod).

- Na paneli nástrojov kliknite na User-defined Run Setup (Používateľom definované nastavenie chodu).

Otvorí sa dialógové okno Run Setup (Nastavenie chodu) na karte Protocol (Protokol) a zobrazí váš predvolený súbor protokolu.

2. Kliknite na Create New (Vytvoriť nový).

Otvorí sa okno Protocol Editor (Editor protokolov), ktoré zobrazuje predvolený protokol v reálnom čase.

Otvorenie existujúceho protokolu v aplikácii Protocol Editor (Editor protokolov)

CFX Manager Dx poskytuje vzorové súbory protokolov, ktoré môžete upravovať a ukladať ako vlastné nové protokoly. Môžete tiež vytvoriť nový protokol z existujúceho vlastného protokolu.

Ak chcete otvoriť vzorový súbor protokolu

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte položku File (Súbor) > Open (Otvoriť) > Protocol (Protokol).

Prieskumník Windows Explorer sa predvolene otvorí v priečinku vzorových súborov softvéru CFX Manager Dx software.

2. Otvorte priečinok Sample files (Vzorové súbory). Uvidíte nasledujúce priečinky:
 - **ConventionalProtocols** (Bežné protokoly) — obsahuje príklady súborov protokolu pre tradičnú analýzu PCR.
 - **DataFiles** (Dátové súbory) — obsahuje príklady súborov, ktoré môžete použiť na preskúmanie funkcií softvéru CFX Manager Dx software.
 - **MeltCalibration** (Kalibrácia tavenia) — obsahuje príklady súborov protokolu na použitie so softvérom Bio-Rad Precision Melt Analysis.
 - **Plates** (Platničky) — obsahuje príklady súborov platničky.
 - **RealTimeProtocols** (Protokoly v reálnom čase) — obsahuje príklady súborov protokolu pre analýzu PCR v reálnom čase.
3. Otvorte priečinok protokolu pre typ chodu, ktorý chcete vykonať: ConventionalProtocols (Bežné protokoly) alebo RealTimeProtocols (Protokoly v reálnom čase).
4. Vyberte zvolený protokol a kliknite na položku Open (Otvoriť).

Vzorové protokoly sa otvoria v okne Protocol Editor (Editor protokolov).
5. Vyberte položku File (Súbor) > Save As (Uložiť ako) a uložte protokol s novým názvom alebo do nového priečinka.

Ak chcete otvoriť existujúci protokol

1. V okne Home (Domovské okno) vykonajte jedno z nasledujúcich:
 - Vyberte položku File (Súbor) > Open (Otvoriť) > Protocol (Protokol), prejdite na cieľový protokol vyberte ho a kliknite na položku Open (Otvoriť).
 - Otvorte aplikáciu Startup Wizard (Sprievodca spustením) a vykonajte jeden z nasledujúcich krokov.
 - Ak chcete upraviť existujúci protokol, kliknite na položku Edit Selected (Upraviť vybrané položky).
 - Ak chcete upraviť iný existujúci protokol, kliknite na položku Select Existing (Vybrať existujúci) a prejdite na cieľový súbor.

Protokol sa otvorí v okne Protocol Editor (Editor protokolov).
2. Vyberte položku File (Súbor) > Save As (Uložiť ako) a uložte protokol s novým názvom alebo do nového priečinka.

Nastavenie nového protokolu

Tip: Ak váš súbor protokolu obsahuje požadované parametre (napríklad ak upravujete existujúci súbor platničky), môžete túto časť preskočiť. Pokračujte na [Pridanie krokov do protokolu na strane 94](#).

Nové súbory protokolu vyžadujú nasledujúce parametre:

- Typ bloku
- Režim skenovania pre zvolený typ bloku
- Teplota veka
- Objem vzorky

Nastavenie typu bloku

Systém CFX Manager Dx automaticky vypočíta prírastky teploty pre intervaly stúpania podľa typu bloku.

Poznámka: Typ platničky nastavený v položke Protocol Editor (Editor protokolov) musí byť rovnaký ako platnička v reakčnom module.

Nastavenie typu bloku

- ▶ V okne Protocol Editor (Editor protokolov) vyberte položku Tools (Nástroje) > Gradient Calculator (Kalkulačka stúpania) a vyberte vhodný typ platničky zo zobrazeného rozbaľovacieho zoznamu.

Výber režimu skenovania pre vybraný typ bloku

Ak chcete určiť dobu chodu protokolu, vyberte cieľový typ bloku a režim skenovania.

Výber typu bloku a režimu skenovania

- ▶ V okne Protocol Editor (Editor protokolov) vyberte položku Tools (Nástroje) > Run time Calculator (Kalkulačka doby chodu) a vyberte vhodný typ platničky a režimu skenovania zo zobrazeného rozbaľovacieho zoznamu.

Nastavenie teploty veka

Systém CFX Manager Dx nastaví predvolenú teplotu veka na 105,0 °C.

Môžete zmeniť predvolené nastavenia alebo vypnúť ohrievač veka tak, ako je to potrebné pre protokol.

Tip: Predvolenú teplotu veka môžete zmeniť v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie). Pozrite si [Nastavenie predvolených parametrov protokolu na strane 68](#).

Ak chcete nastaviť teplotu veka

1. V okne Plate Editor (Editor platničky) vyberte položku Settings (Nastavenia) > Lid Settings (Nastavenia veka).

Zobrazí sa dialógové okno Lid Settings (Nastavenia veka).

2. Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Vyberte položku User Defined (Definované používateľom) a do textového poľa zadajte hodnotu teploty.
 - Vyberte položku Turn Off Lid Heater (Vypnúť ohrievač veka).
3. Kliknutím na tlačidlo OK prijmite zmeny a zatvorte dialógové okno.

Nastavenie objemu vzorky

Predvolene CFX Manager Dx nastaví objem vzorky pre každú jamku na 25 µl. Avšak rozsah systému CFX Dx system je 0 – 125 µl.

Prístroj používa jeden z dvoch režimov regulácie teploty na určenie, kedy vzorka dosiahne cieľovú teplotu v protokole:

- **Calculated mode** (Vypočítaný režim) — keď je objem vzorky nastavený na objem vhodný pre daný blok, prístroj vypočíta teplotu vzorky na základe objemu vzorky. Toto je štandardné zobrazenie.
- **Block mode** (Režim bloku) — keď je objem vzorky nastavený na nula (0) µl, prístroj zaznamená teplotu vzorky rovnako ako nameranú teplotu bloku.

Nastavenie objemu vzorky pre konkrétny blok

- ▶ V okne Plate Editor (Editor platničky) zadajte správnu hodnotu do textového poľa Sample Volume (Objem vzorky) na paneli nástrojov.

Tip: Predvolený objem vzorky môžete zmeniť v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie). Pozrite si [Zmena predvolených nastavení súborov na strane 66](#).

Pridanie krokov do protokolu

Ak chcete pridať krok do protokolu

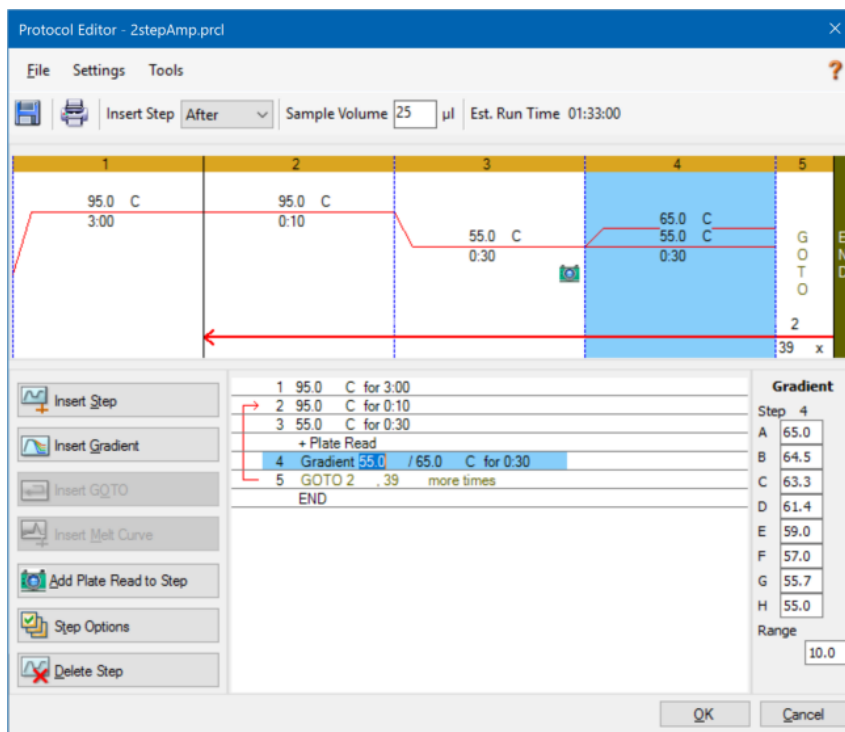
1. Otvorte protokol v okne Protocol Editor (Editor protokolov).
2. Určite miesto vloženia nového kroku. Na paneli nástrojov zvolte položku Before (Pred) alebo After (Po) z rozbaľovacieho zoznamu Step (Krok).
3. V grafe vyberte krok, pred ktorým alebo po ktorom plánujete vložiť nový krok.
4. V ľavom paneli kliknite na položku Insert Step (Vložiť krok).
5. Ak chcete zmeniť teplotu alebo dobu pozastavenia, kliknite na predvolenú hodnotu v grafe alebo prehľade protokolu a zadajte novú hodnotu.
6. (Voliteľné) V ľavom paneli kliknutím na položku Step Options (Možnosti kroku) zobrazte dialógové okno Step Options (Možnosti kroku) a upravte dostupné možnosti pre vybraný krok.
Tip: Prístup k dialógovému oknu Step Options (Možnosti kroku) môžete získať v ponuke dostupnej po kliknutí pravým tlačidlom myši v paneli grafu alebo prehľadu protokolu.
7. Kliknutím na položku OK a následne na položku Yes (Áno) uložte zmeny protokolu.
Zobrazí sa dialógové okno Save As (Uložiť ako).
8. V dialógovom okne Save As (Uložiť ako) zadajte názov nového súboru protokolu a kliknite na položku Save (Uložiť).

Vloženie kroku stúpania

Vloženie kroku stúpania

1. Overte si, že veľkosť platničky pre stúpanie je rovnaká ako typ bloku nástroja, 96-jamkový.
2. Ak ste tak ešte neurobili, vyberte veľkosť platničky pre stúpanie:
Vyberte položku Tools (Nástroje) > Gradient Calculator (Kalkulačka stúpania) a vyberte vhodný typ jamiek zo zobrazeného rozbaľovacieho zoznamu.
3. Na paneli nástrojov zvolte Before (pred) alebo After (po) z rozbaľovacieho zoznamu Insert Step (Vložiť krok).
4. V grafe alebo okienku osnovy vyberte krok pred alebo za ktorým plánujete vložiť krok stúpania.

5. V ľavom paneli kliknite na Insert Gradient (Vložiť stúpanie). Nový krok stúpania sa zvýrazní v grafe a paneli prehľadu, napríklad:



Teplota v každom riadku v stúpaní sa zobrazuje v tabuľke Gradient (Stúpanie) v pravom paneli.

6. Na úpravu rozsahu teploty stúpania vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Kliknite na predvolenú teplotu v grafe alebo paneli prehľadu a zadajte novú teplotu.
 - Kliknutím na položku Step Options (Možnosti kroku) zadáte rozsah stúpania v okne Step Options (Možnosti kroku).
 - Zmeňte hodnotu Range (Rozsah) v tabuľke Gradient (Stúpanie).
7. Ak chcete upraviť čas zadržania, kliknite na predvolený čas v grafickom alebo textovom zobrazení a zadajte nový čas.
8. Kliknutím na tlačidlo OK a následne Yes (Áno) uložte zmeny.

Vloženie kroku GOTO

Poznámka: Nemôžete vložiť krok GOTO v rámci nastavenia GOTO; nemôžete vytvoriť vnorené okruhy GOTO.

Na vloženie kroku GOTO

1. Na paneli nástrojov zvolte Before (Pred) alebo After (Po) z rozbaľovacieho zoznamu Insert Step (Vložiť krok).
2. V grafe vyberte krok pred alebo po ktorom plánujete vložiť krok GOTO.
3. V ľavom paneli kliknite na Insert GOTO (Vložiť GOTO).
4. Ak chcete upraviť číslo kroku GOTO alebo počet opakovaní GOTO, vyberte predvolené číslo v paneli grafov alebo prehľadu a zadajte novú hodnotu.
5. Kliknutím na tlačidlo OK a následne Yes (Áno) uložte zmeny.

Vloženie kroku krivky tavenia

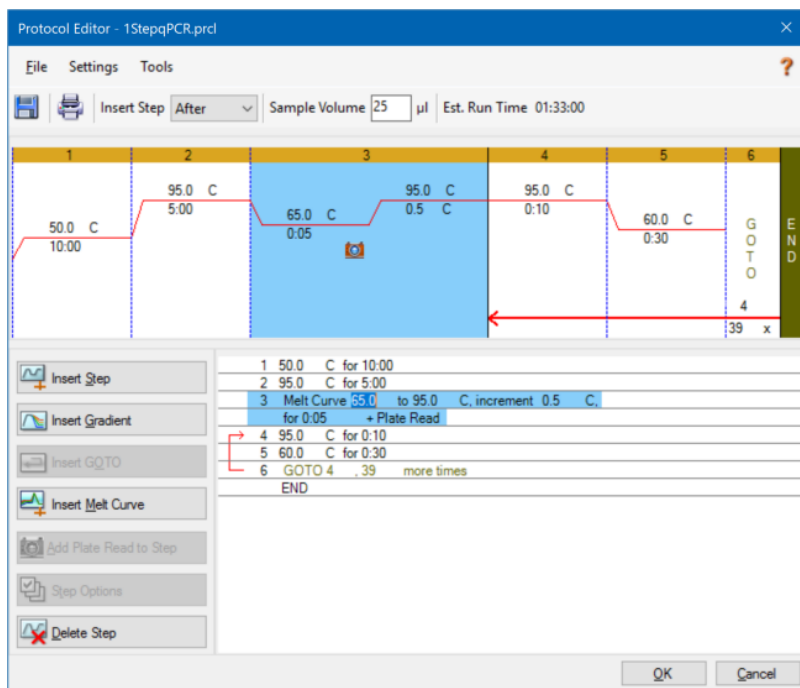
Tip: Krok krivky tavenia nemôžete vložiť do cyklu GOTO.

Poznámka: Krok krivky tavenia obsahuje pozastavenie 30 s na začiatku kroku, ktoré sa nezobrazuje v protokole.

Ak chcete vložiť krok krivky tavenia

1. Na paneli nástrojov zvolte Before (Pred) alebo After (Po) z rozbaľovacieho zoznamu Insert Step (Vložiť krok).
2. Na grafe zvolte krok pred alebo po, ktorý plánujete vložiť do kroku krivky tavenia.

3. V ľavej table kliknite na položku Insert Melt Curve (Vložiť krivku tavenia). Nový krok krivky tavenia sa zvýrazní v grafe a paneli prehľadu, napríklad:



4. Ak chcete upraviť rozsah alebo dobu zvyšovania teploty tavenia, vyberte predvolené číslo v table grafov alebo prehľadu a zadajte novú hodnotu.
5. Kliknutím na tlačidlo OK a následne Yes (Áno) uložte zmeny.

Pridanie alebo odstránenie kroku čítania platničky

Tip: Keď pridáte ku kroku príkaz čítania platničky, tlačidlo sa zmení na Remove Plate Read (Odstrániť čítanie platničky), keď zvolíte daný krok.

Pridanie príkazu čítania platničky ku kroku

1. Na paneli nástrojov zvolte Before (Pred) alebo After (Po) z rozbaľovacieho zoznamu Insert Step (Vložiť krok).
2. Na grafe zvolte krok pred alebo po, ktorý plánujete vložiť do kroku čítania platničky.
3. Ak chcete pridať krok čítania platničky k zvolenému kroku, na ľavom paneli kliknite na možnosť Add Plate Read to Step (Pridať čítanie platničky ku kroku).
4. Kliknutím na tlačidlo OK a následne Yes (Áno) uložte zmeny.

Odstránenie príkazu čítania platničky z kroku

- ▶ Na grafe zvolte krok, ktorý obsahuje príkaz čítania platničky a v ľavom paneli kliknite na možnosť Remove Plate Read (Odstrániť čítanie platničky).

Zmena možnosti kroku

Zmena možností kroku pre vybraný krok

1. Vyberte cieľový krok v grafe alebo paneli prehľadu.
2. V ľavom paneli kliknutím na položku Step Options (Možnosti kroku) otvorte dialógové okno Step Options (Možnosti kroku).

Prípadne kliknite pravým tlačidlom myši na cieľový krok v ktoromkoľvek z panelov a v zobrazenom menu vyberte položku Step Options (Možnosti kroku).

3. Pridanie, úprava alebo odstránenie možností:
 - Zadaťte hodnotu do príslušného textového poľa.
 - Upravte hodnotu v konkrétnom textovom poli.
 - Zvoľte alebo odstráňte kontrolnú značku.
4. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno Step Options (Možnosti kroku).
5. Kliknutím na položku OK a následne položku Yes (Áno) uložte protokol.

Odstránenie kroku

Ak chcete odstrániť krok v protokole

1. Vyberte krok v grafe alebo table prehľadu.
2. Vybraný krok odstránite kliknutím na položku Delete Step (Odstrániť krok) v ľavom paneli.
3. Kliknutím na položku OK a následne položku Yes (Áno) uložte protokol.

Kopírovanie, export alebo tlač protokolu

Kopírovanie protokolu

- ▶ Pravým tlačidlom myši kliknite na osnovu protokolu a vyberte položku Copy Protocol (Kopírovať protokol).

Obrys môžete vložiť do súboru .txt, .xls, .doc alebo .ppt.

Exportovanie protokolu

1. Pravým tlačidlom myši kliknite na osnovu protokolu a vyberte položku Export Protocol (Exportovať protokol).
Zobrazí sa dialógové okno Save As (Uložiť ako).
2. (Voliteľné) V programe Windows Explorer prejdite do priečinka, do ktorého chcete uložiť súbor protokolu.
3. Do poľa File name (Názov súboru) zadajte názov exportovaného súboru protokolu.
4. Kliknite na Save (Uložiť).

Vytlačenie protokolu

- ▶ Pravým tlačidlom myši kliknite na osnovu protokolu a vyberte položku Print (Tlačiť).

Osnovu protokolu môžete vytlačiť na predvolenú tlačiareň.

Vytvorenie protokolu pomocou aplikácie Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter)

Dôležité upozornenie: Spoločnosť Bio-Rad nezaručuje, že spustenie protokolu vytvoreného pomocou aplikácie Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) bude mať za následok vytvorenie produktu PCR v reálnom čase.

Aplikácia Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) softvéru CFX Manager Dx software automaticky vytvára protokoly cyklov založené na nasledujúcich vstupných parametroch:

- **Amplicon length** (Dĺžka amplikónu) — očakávaná dĺžka produktu PCR

- **Annealing temperature** (Teplota žihania) — reakcia T_a pre použité priméry

Ak je T_a neznáma, môžete použiť T_a Calculator (T_a kalkulačka) na automatický výpočet na základe sekvencií primérov.

Poznámka: T_a sa upraví podľa informácií o teplote tavenia priméra (T_m), ktorá je založená na zvolenom enzýme a rýchlosti protokolu.

- **Enzyme type** (Typ enzýmu) — enzým polymerázy DNA (iTaq, polymeráza iProof DNA alebo Other (Iné))

Ak použijete iný enzým ako iTaq alebo polymeráza iProof DNA, môžete zadať ďalšie informácie vrátane rozsahu stúpania, času aktivácie štartu za tepla (v sekundách) a konečného času predĺženia (v sekundách).

- **Run speed** (Rýchlosť chodu) — rýchlosť reakcie (štandardná, rýchla alebo ultrarýchla)

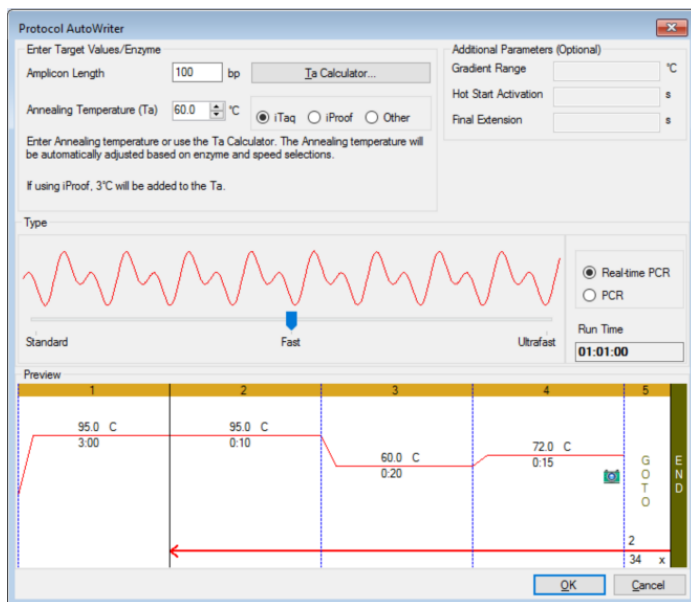
Aplikácia Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) optimalizuje protokol v závislosti od zvoleného nastavenia rýchlosti. Celková doba chodu je určená počtom krokov a cyklov, inkubačnou dobou v každom kroku a dobou potrebnou na dosiahnutie jednotnosti pri cieľovej teplote.

Aplikácia Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) automaticky generuje prispôsobený protokol PCR so štartom za tepla, počiatočnou denaturáciou, anelovaním a krokmi rozšírenia pomocou vami zadaných parametrov a pokynov pre PCR. Potom si môžete prezrieť grafické znázornenie navrhovaného protokolu a upraviť, spustiť alebo uložiť protokol.

Ak chcete vytvoriť nový protokol pomocou aplikácie Protocol AutoWriter (Protocol AutoWriter) softvéru CFX Manager Dx software

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte položku Tools (Nástroje) > Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter).

Zobrazí sa dialógové okno Protocol AutoWriter (Protocol AutoWriter).



2. V časti Enter Target Values/Enzyme (Zadať cieľové hodnoty/enzým) vykonajte nasledujúci krok:

- Zadajte teplotu žihania pre priméry (T_a), ak je známa.

Tip: Viac informácií uvádza časť [Používanie Ta Calculator \(Ta kalkulačka\)](#) na strane 102.

Poznámka: Informácie o výpočtoch používaných v T_a Calculator (T_a kalkulačka) uvádza autor Breslauer et al. 1986.

- Zadajte dĺžku amplikónu v bázových pároch (bp).
- Vyberte typ enzýmu zo zoznamu možností (polymeráza iTaq DNA, polymeráza iProof DNA alebo Other (Iné)).

Tip: Ak ako typ enzýmu vyberiete položku Other (Iné), aktivujú sa parametre v časti Additional Parameters (Optional) (Ďalšie parametre (Voliteľné)).

3. Ak ako typ enzýmu vyberiete položku Other (Iné), môžete do protokolu pridať ľubovoľný alebo všetky nasledujúce parametre:
 - Rozsah stúpania
 - Teplota aktivácie štartu za tepla
 - Konečný čas rozšírenia
4. V časti Type (Typ) posunutím posuvnej lišty vyberte rýchlosť protokolu (Standard (Štandardná), Fast (Rýchla) alebo Ultrafast (Ultrarýchla)). CFX Manager Dx upravuje celkovú dobu chodu.
5. Vyberte typ PCR, ktorý sa má vykonať (predvolená je možnosť Real-time PCR (PCR v reálnom čase)).

CFX Manager Dx v prípade PCR v reálnom čase pridá krok merania platničky, aby sa získali dáta fluorescence.
6. Skontrolujte protokol v časti Preview (Náhľad). Zmeny môžete vykonať podľa potreby.
7. Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Kliknutím na tlačidlo OK uložte nový protokol. Po uložení sa protokol otvorí v aplikácii Startup Wizard (Sprievodca spustením). Kliknutím na položku Edit Selected (Upraviť vybrané položky) vykonáte zmeny v protokole. Možno budete musieť zmeniť napríklad teplotu veka a objem vzorky.
 - Kliknutím na položku Cancel (Zrušiť) zatvoríte okno bez uloženia protokolu.

Používanie T_a Calculator (T_a kalkulačka)

Ak nie je známa teplota žihania pre primer, na výpočet hodnoty môžete použiť T_a Calculator (T_a kalkulačka). Túto hodnotu môžete použiť v protokole Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) alebo v protokole Protocol Editor (Editor protokolov) na vytvorenie vášho protokolu.

Informácie o T_a Calculator (T_a kalkulačka)

T_a Calculator (T_a kalkulačka) vypočítava hodnotu T_m pre každý primér, ako aj hodnotu T_a pre každý protokol pri štandardnej rýchlosti.

T_a pre protokol je založená na priemerných hodnotách T_m priméru s uplatnením nasledujúcich pravidiel:

- Ak je rozdiel medzi hodnotami T_m priméru > 4 °C, $T_a = (\text{nižšia z dvoch hodnôt } T_m \text{ priméru} + 2) - 4$ °C
- Ak je rozdiel medzi hodnotami priméru $T_m \leq 4$ °C, $T_a = (\text{priemer hodnôt priméru } T_m) - 4$ °C

Metóda výpočtu básových párov

T_a Calculator (T_a kalkulačka) používa pre každý primér metódu výpočtu básového páru pre sekvencie 14 alebo menej básových párov (bp).

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

kde w, x, y a z je počet báz A, T, G a C v postupnosti, v uvedenom poradí.

Metóda najbližšieho suseda

Pri sekvenciách dlhších ako 14 bp sa používa metóda najbližšieho suseda. V metóde najbližšieho suseda sú výpočty teploty tavenia založené na termodynamickom vzťahu medzi entropiou (rádom alebo mierou náhodnosti oligonukleotidu), entalpiou (teplo uvoľnené alebo absorbované oligonukleotidom), voľnou energiou a teplotou.

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

kde:

- ΔH = hodnota entalpie, kal/mol*K
- T = teplota, Kelvin
- ΔS = hodnota entropie, kal/mol*K
- ΔG = Gibbsova voľná energia v kal/mol*K

Zmena entropie a entalpie sa vypočíta priamo spočítaním hodnôt nukleotidových párov, pozrite si [Tabuľka 12](#) (Breslauer et al. 1986).

Vzťah medzi voľnou energiou a koncentráciou reaktantov a produktov v rovnováhe je daný:

$$\Delta G = R * T * \ln ((DNA * Primer) / (DNA + Primer))$$

kde R je plynová konštanta (1,986 kal/mol*K).

Substitúcia G v dvoch rovniciach a riešenie pre T dáva

$$T = \Delta H / (\Delta S + R * \ln((DNA * Primer) / (DNA + Primer)))$$

za predpokladu, že koncentrácia DNA a komplexu DNA-priméru je rovnaká.

Bolo empiricky zistené, že dochádza k zmene 5 kcal voľnej energie (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996) počas prechodu z jednovláknovej do B-formy DNA. Toto je pravdepodobne helixová iniciačná energia. Nakoniec prídanie úpravy pre soľ dáva rovnicu, ktorú používa T_a Calculator (T_a kalkulačka):

$$T = (\Delta H - 5(\text{kcal/K*mol})) / (\Delta S + (R * \ln(1/(\text{primer})))) + 16,6 \log_{10} (\text{Molarita soli})$$

Nie je potrebná žiadna nastavovacia konštanta pre koncentráciu soli, pretože rôzne parametre boli stanovené pri 1 M NaCl a hodnota \log_{10} z 1 je nula.

Termodynamické výpočty predpokladajú, že k žihaniu dochádza pri pH 7,0. Výpočty T_m predpokladajú, že sekvencie nie sú symetrické a obsahujú aspoň jedno G alebo C.

Sekvencia oligonukleotidov by mala byť dlhá aspoň 14 báz, aby sa získali primerané hodnoty T_m . Menej ako 14 báz používa metódu počítania bázoového páru (pozrite si ďalej [Tabuľka 12](#)).

Tabuľka 12. Breslauerove interakčné konštanty

Interakcia		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

Používanie Ta Calculator (Ta kalkulačka)

Na použitie Ta Calculator (Ta kalkulačka)

1. Na otvorenie Ta Calculator (Ta kalkulačka) vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak sa práve nachádzate v programe Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter), kliknite na položku Ta Calculator (Ta kalkulačka).
 - V okne Home (Domovské okno) vyberte položku Tools (Nástroje) > Ta Calculator (Ta kalkulačka).

Objaví sa dialógové okno Ta Calculator (Ta kalkulačka).

2. V textovom poli Forward Primer (Predný primer) zadajte alebo prilepte sekvenciu predného primeru.

Tip: Na zadanie sekvencie môžete tiež použiť tlačidlá A, T, G, C na ľavej strane dialógového okna.

3. Napíšte alebo prilepte sekvenciu reverzného primeru do textového poľa Reverse Primer (Reverzný primer).

4. Kliknite na Calculate (Počítať).

T_a Calculator (T_a kalkulačka) vypočíta a zobrazí T_m každého primeru a priemerné T_m a T_a hodnoty, napríklad:

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

Ak sú T_m hodnoty primeru od seba vzdialené o viac ako 4 °C, Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter) použije ako základ pre výpočet hodnoty T_a hodnotu T_m spodného primeru + 2 °C; ktoré môžete ďalej modifikovať zmenou enzýmu a reakčnej rýchlosti.

T_a Calculator (T_a kalkulačka) generuje teplotu žihania pre štandardnú rýchlosť s DNA polymerázou iTaq. Ak používate iný enzým, nastavenia rýchlosti automaticky upraví T_a .

5. Vykonaňte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak ste otvorili T_a Calculator (T_a kalkulačka) z Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter), kliknite na OK. Vráťte sa do Protocol AutoWriter (Protokol AutoWriter). Teplota žihania sa automaticky upraví.
 - Ak ste otvorili T_a Calculator (T_a kalkulačka) z menu Tools (Nástroje), kliknutím na Cancel (Zrušiť) zatvoríte kalkulačku.

Kapitola 7 Príprava platničiek

Súbor platničky obsahuje informácie o parametroch chodu, ako je napríklad režim skenovania, fluorofory a obsah jamiek. Po dokončení chodu softvér CFX Manager Dx software prepojí obsah jamky s fluorescenčnými dátami zhromaždenými počas chodu a aplikuje príslušnú analýzu v okne Data Analysis (Analýza dát). Napríklad na vytvorenie štandardnej krivky sa použijú jamky naplnené štandardným typom vzorky.

CFX Manager Dx software poskytuje dve možnosti na vytvorenie platničiek: aplikáciu Plate Editor (Editor platničky) pre chody PCR v reálnom čase a aplikáciu Setup Wizard (Sprievodca nastavením) pre analýzu normalizovanej expresie génu.

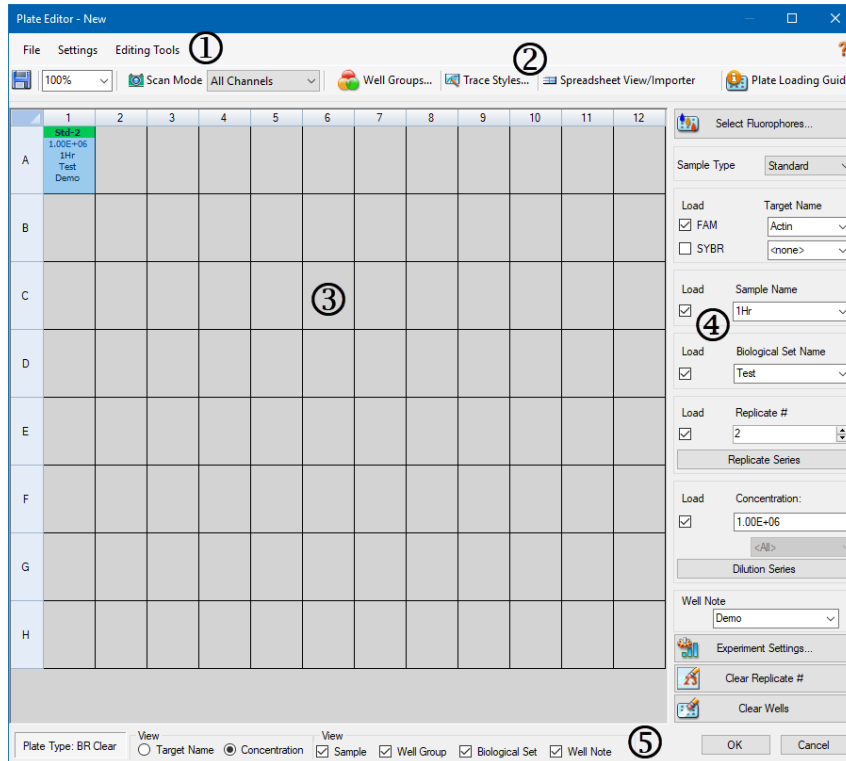
Aplikácia Plate Editor (Editor platničky) obsahuje nasledujúce funkcie:

- Štandardné fluorofory a typy vzoriek, ktoré sa majú priradiť do jamiek platničky
- Možnosť stanoviť referenčný cieľ a kontrolnú vzorku pre analýzu expresie génu
- Možnosť upraviť nastavenie platničky pred, počas alebo po chode
- Možnosť uložiť súbory platničky na opakované použitie
- Možnosť vytlačiť súbor platničky na predvolenej tlačiarni

Aplikácia Setup Wizard (Sprievodca nastavením) vás prevedie vytvorením rozloženia platničky pre analýzu normalizovanej expresie génu. Aplikáciu Setup Wizard (Sprievodca nastavením) môžete použiť pred, počas alebo po dokončení chodu.

Okno Plate Editor (Editor platničky)

Pomocou Plate Editor (Editor platničky) vytvoríte vlastné platničky alebo upravíte existujúce platničky.



LEGENDA

1. Lišta ponuky poskytuje rýchly prístup k príkazom ponuky File (Súbor) a Settings (Nastavenia), ako aj k možnostiam nástrojov na úpravu platničky.

2. Panel nástrojov poskytuje rýchly prístup k dôležitým funkciám načítania platničiek.

3. V hlavnom okienku sa zobrazia obrisy platničky a možnosti platničiek pri ich aplikácii.

4. V pravom okienku sa zobrazia možnosti, ktoré môžete použiť na prispôbenie platničky.

5. V dolnom okienku sa zobrazuje typ platničky a poskytuje rýchly prístup k možnostiam zobrazenia.

Príkazy ponuky File (Súbor)

Save (Uložiť) — uloží súbor s dátami o platničke do umiestnenia špecifikovaného na karte File (Súbor) v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie). Viac informácií uvádza časť [Zmena predvolených nastavení súborov na strane 66](#). Táto položka menu je k dispozícii iba pri vytváraní nového súboru platničky.

Save As (Uložiť ako) — uloží otvorený dátový súbor platničky s novým názvom, ktorý zadáte. Táto položka menu je k dispozícii iba pri vytváraní nového súboru platničky.

Extract Plate (Extrahovať platničku) — otvorí dialógové okno, v ktorom môžete extrahovať/uložiť súbor platničky (.pltd). Táto položka menu je k dispozícii iba pri prezeraní alebo upravovaní existujúceho súboru platničky.

Print (Tlač) — vytlačí otvorený dátový súbor platničky.

Close (Zatvoriť) — zatvorí aplikáciu Plate Editor (Editor platničky).

Príkazy ponuky Settings (Nastavenia)

Plate Size (Veľkosť platničky) — poskytuje možnosti, z ktorých môžete vybrať veľkosť platničky pre chod.

Poznámka: CFX Dx system môže použiť len 96-jamkovú platničku.

Plate Type (Typ platničky) — umožňuje vybrať typ jamiek na platničke, v ktorej sú uložené vaše vzorky, buď BR White, alebo BR Clear. Pre presnú analýzu dát musí byť zvolený typ platničky rovnaký ako typ platničky použitý v chode.

Number Convention (Pravidlá číslovania) — Umožňuje vybrať alebo zrušiť výber zobrazenia jednotiek vo vedeckom zápise. Predvolene sa zobrazujú jednotky vo vedeckom zápise.

Units (Jednotky) — umožňuje vybrať jednotky, ktoré sa majú zobraziť v tabuľkových procesoroch pri vykonávaní kvantifikácie neznámych hodnôt v porovnaní so štandardnou krivkou.

Príkazy ponuky Editing Tools (Nástroje na úpravu)

Setup Wizard (Sprievodca nastavením) — otvorí aplikáciu Setup Wizard (Sprievodca nastavením), v ktorej môžete definovať rozloženie a parametre analýzy pre aktuálnu platničku. Aplikáciu Setup Wizard (Sprievodca nastavením) môžete použiť pred, počas alebo po dokončení chodu.

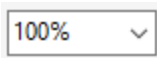
Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora) — otvorí dialógové okno View (Zobraziť), v ktorom sa zobrazí rozloženie platničky ako šablóna vo formáte tabuľkového procesora. Toto dialógové okno môžete použiť na export alebo import údajov šablón platničky vo formáte .csv.

Flip Plate (Otočiť platničku) — otočí obsah platničky o 180°.

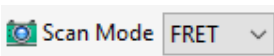
Príkazy panela nástrojov



Uloží aktuálny súbor platničky.



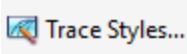
Zobrazí rozbaľovací zoznam, z ktorého môžete zväčšiť alebo zmenšiť zväčšenie zobrazenia platničky.



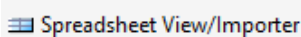
Zobrazuje rozbaľovací zoznam, z ktorého môžete vybrať režim skenovania, ktorý inštruuje prístroj, z ktorých kanálov sa majú zbierať údaje o fluorescencii počas chodu.



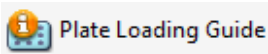
Otvorí okno Well Groups Manager (Správca skupín jamiek), ktorý môžete použiť na vytvorenie, úpravu a odstránenie skupín jamiek pre aktuálnu platničku.



Zobrazí dialógové okno, v ktorom si môžete vybrať farby a symboly pre stopy amplifikácie.



Otvorí dialógové okno View (Zobraziť), v ktorom sa zobrazí rozloženie platničky ako šablóna vo formáte tabuľkového procesora. Toto dialógové okno môžete použiť na export alebo import údajov šablón platničky vo formáte .csv.



Zobrazuje potrebné kroky na nastavenie platničky a načítanie jamiek.

Vytvorenie súboru platničky pomocou aplikácie Plate Editor (Editor platničky)

Pomocou aplikácie Plate Editor (Editor platničky) môžete vytvoriť vlastné súbory platničiek. Môžete tiež upravovať a ukladať predtým uložené súbory platničiek alebo vzorové súbory platničiek dodané so softvérom CFX Manager Dx software.

Ak chcete vytvoriť nový súbor platničky, vykonajte nasledujúce:

- Otvorte súbor platničky v aplikácii Plate Editor (Editor platničky).
- Vyberte typ platničky.

Poznámka: Typ platničky pre súbor platničky musí byť rovnaký ako platnička v reakčnom module.

- Vyberte režim skenovania na použitie v protokole.
- Vyberte fluorofory na použitie na platničke.
- Vyberte typ vzorky, ciele a vzorky.
- V prípade potreby vyberte replikáty.
- Uložte rozloženie platničky.

Tip: Ak chcete vytvoriť novú platničku z predtým uložených alebo vzorových súborov platničiek, pozrite si časť [Otvorenie existujúcej platničky v aplikácii Plate Editor \(Editor platničky\)](#) na strane 114.

Otvorenie nového súboru platničky v Plate Editor (Editor platničky).

CFX Manager Dx software ponúka viacero možností na otvorenie nového súboru platničky:

- Z okna Home (Domovské okno)
- Z dialógového okna Startup Wizard (Sprievodca spustením)
- Z dialógového okna Run Setup (Nastavenie chodu)

Na otvorenie nového súboru platničky z okna Home (Domovské okno)

- ▶ Zvoľte File (Súbor) > New (Nový) > Plate (Platnička).

Otvorí sa okno Plate Editor (Editor platničky), ktoré zobrazuje predvolený súbor platničky pre zvolený prístroj.

Tip: Informácie o nastavení predvoleného súboru platničky nájdete v časti [Zmena predvolených nastavení súborov na strane 66](#).

Na otvorenie nového súboru platničky z Startup Wizard (Sprievodca spustením)

1. V okne Home (Domovské okno) vykonaním jedného z nasledujúcich krokov otvoríte Startup Wizard (Sprievodca spustením), ak nie je viditeľný:

- Zvoľte View (Zobraziť) > Startup Wizard (Sprievodca spustením).
- Na paneli nástrojov kliknite na Startup Wizard (Sprievodca spustením).

Predvolene Startup Wizard (Sprievodca spustením) štandardne zobrazuje kartu Run Setup (Nastavenie chodu) s vybratým nástrojom CFX96.

2. V prípade potreby vyberte typ prístroja z rozbaľovacieho zoznamu.
3. Na vytvorenie novej platničky ako typ chodu vyberte User-defined (Definované používateľom).
Otvorí sa dialógové okno Run Setup (Nastavenie chodu) a zobrazí kartu Protocol (Protokol).
4. Kliknite na kartu Plate (Platnička) a kliknite na Create New (Vytvoriť nový).

Otvorí sa okno Plate Editor (Editor platničky), v ktorom sa zobrazí predvolené rozloženie tabuľky pre vybraný prístroj.

Na otvorenie nového súboru platničky z dialógového okna Run Setup (Nastavenie chodu)

1. V okne Home (Domovské okno) vykonaním jedného z nasledujúcich krokov otvoríte Run Setup (Nastavenie chodu):

- Zvoľte Run (Chod) > User-defined Run (Používateľom definovaný chod).
- Na paneli nástrojov kliknite na User-defined Run Setup (Používateľom definované nastavenie chodu).

Otvorí sa dialógové okno Run Setup (Nastavenie chodu) pre kartu Protocol (Protokol).

2. Na vytvorenie novej platničky kliknite na kartu Plate (Platnička) a kliknite na Create New (Vytvoriť nový).

Otvorí sa okno Plate Editor (Editor platničky), v ktorom sa zobrazí predvolené rozloženie tabuľky pre vybraný prístroj.

Otvorenie existujúcej platničky v aplikácii Plate Editor (Editor platničky)

CFX Manager Dx software poskytuje vzorové súbory platničky, ktoré môžete upraviť a uložiť ako novú platničku. Môžete tiež vytvoriť nový súbor platničky z predtým uloženého súboru platničky.

Ak chcete otvoriť vzorový súbor platničky

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte položku File (Súbor) > Open (Otvoriť) > Plate (Platnička).
Prieskumník Windows Explorer sa predvolene otvorí v priečinku Sample files (Vzorové súbory) softvéru CFX Manager Dx software.
2. Otvorte priečinok Sample files (Vzorové súbory) a následne otvorte priečinok Plates (Platničky).
3. Vyberte požadovanú platničku a kliknite na položku Open (Otvoriť).
Vzorový súbor platničky sa otvorí v okne Plate Editor (Editor platničky).
4. Vyberte položku File (Súbor) > Save As (Uložiť ako) a uložte súbor platničky s novým názvom alebo do nového priečinka.

Ak chcete otvoriť predtým uložený súbor platničky

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte položku File (Súbor) > Open (Otvoriť) > Plate (Platnička), prejdite na cieľovú platničku, vyberte ju a kliknite na položku Open (Otvoriť).
Cieľová platnička sa otvorí v okne Plate Editor (Editor platničky).
2. Vyberte položku File (Súbor) > Save As (Uložiť ako) a uložte súbor platničky s novým názvom alebo do nového priečinka.

Nastavenie súboru novej platničky

Tip: Ak váš súbor platničky obsahuje požadované parametre (napríklad ak upravujete vzorový alebo existujúci súbor platničky), môžete túto časť preskočiť. Pokračujte na [Priradenie voliteľných parametrov k súboru platničky na strane 122](#).

Nové súbory platničiek vyžadujú nasledujúce parametre:

- Veľkosť platničky
- Typ platničky
- Režim skenovania
- Jeden fluorofor (farba)
- Jeden typ vzorky

Výber veľkosti a typu platničky

Dôležité upozornenie: Počas nastavenia platničky musíte vybrať veľkosť platničky. Veľkosť platničky nemôžete meniť počas alebo po chode.

Softvér počas chodu aplikuje veľkosť a typ platničky na všetky jamky. Uistite sa, že vybraná veľkosť platničky je rovnaká ako platnička, ktorú použijete v chode.

Prístroje Bio-Rad CFX96 a CFX96 Deep Well sú kalibrované vo výrobe pre mnoho kombinácií fluorescenčných farbív a platničiek. Kalibrácia je špecifická pre prístroj, farbivo a typ platničky. Uistite sa, že fluorofor, ktorý plánujete použiť, je kalibrovaný pre vybraný typ platničky.

Výber režimu skenovania

Systémy CFX96 a CFX96 Deep Well excitujú a detegujú fluorofory v piatich kanáloch. Všetky systémy používajú viacero režimov snímania dát na zber dát fluorescencie počas chodu.

CFX Manager Dx software poskytuje tri režimy skenovania:

- Všetky kanály
 - Skenuje kanály 1 až 5 na systémoch CFX96 a CFX96 Deep Well
- SYBR® /FAM
 - Skenuje iba kanál 1
 - Poskytuje rýchle skenovanie
- FRET
 - Skenuje iba kanál FRET
 - Poskytuje rýchle skenovanie

Výber fluoroforov

Dôležité upozornenie: Pred začiatkom chodu CFX Manager Dx software overí, že fluorofory, ktoré ste uviedli na platničke, sú kalibrované na tomto prístroji. Platnička sa nedá spustiť, ak obsahuje fluorofory, ktoré neboli na tomto prístroji kalibrované.

Pred samotným chodom musíte vybrať aspoň jeden fluorofor na priradenie k platničke. V tomto čase môžete pridať toľko fluoroforov, koľko je potrebných, ale platnička musí obsahovať aspoň jeden fluorofor. Vybrané fluorofory sa zobrazia ako možnosti pre ciele v Target Names (Názvy cieľov).

Na načítanie fluoroforov (alebo farbív platničky) do ovládacích prvkov pre načítanie jamky do Plate Editor (Editor platničky) použijete dialógové okno Select Fluorophores (Vybrať fluorofory). Fluorofory, ktoré sa objavia v dialógovom Select Fluorophores (Vybrať fluorofory), závisia od zvoleného režimu skenovania:

- Všetky kanály

Zobrazia sa všetky dostupné fluorofory.

Tip: Môžete pridať toľko fluoroforov, koľko je potrebné, ale do každej jamky môžete načítať len jeden fluorofor na kanál.

- SYBR[®]/FAM

Objavia sa iba fluorofory kanála 1.

- FRET

Objaví sa iba fluorofor kanála 6.

Tip: Fluorofor FRET kanála 6 sa objaví len vtedy, keď je zvolený režim skenovania FRET. Nie je k dispozícii pre režim skenovania All Channels (Všetky kanály).

Poznámka: Fluorofory nemôžete priamo pridať alebo odstrániť z dialógového okna Select Fluorophore (Vybrať fluorofor). Nové fluorofory musíte kalibrovať na prístroji pomocou Calibration Wizard (Sprievodca kalibráciou). Po kalibrácii sa nový fluorofor automaticky pridá do tohto zoznamu.

Výber typov vzoriek

Dôležité upozornenie: Pred samotným chodom musíte vybrať aspoň jeden typ vzorky na priradenie k jamkám platničky.

CFX Manager Dx software ponúka päť typov vzoriek:

- Unknown (Neznámy)
- Standard (Štandardný)
- NTC (Bez kontroly šablóny)
- Positive Control (Pozitívna kontrola)
- Negative Control (Negatívna kontrola)
- NRT (Bez reverznej transkriptázy)

Typy vzoriek priradiť k jamkám platničky.

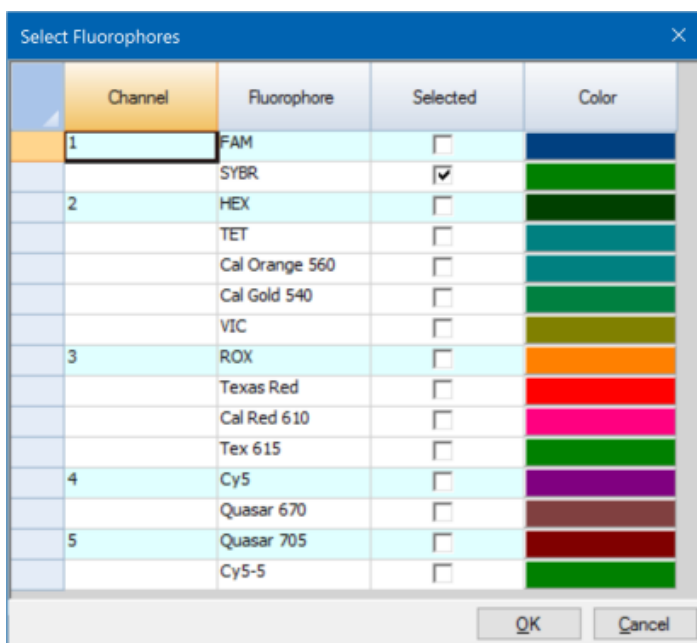
Nastavenie novej platničky

Ak chcete nastaviť novú platničku

1. Otvorte novú platničku v okne Plate editor (Editor platničky).
2. Ak chcete nastaviť veľkosť platničky, vyberte položku Settings (Nastavenia) > Plate Size (Veľkosť platničky) a vyberte vhodnú veľkosť platničky z rozbaľovacieho zoznamu.
3. Ak chcete nastaviť typ platničky, vyberte položku Settings (Nastavenia) > Plate Type (Typ platničky) a vyberte položku BR White (BR biela) alebo BR Clear (BR priehľadná) z rozbaľovacieho zoznamu.
4. V ponuke Settings (Nastavenia) môžete voliteľne zmeniť pravidlá číslovania a zobrazované jednotky:
 - Ak chcete zmeniť pravidlá číslovania, vyberte položku Settings (Nastavenia) > Number Convention (Pravidlá číslovania) a následne položku Scientific Notation (Vedecké záznamy).
Tip: Predvolené je vybraná položka Scientific Notation (Vedecké záznamy). V tomto prípade výberom položky Scientific Notation (Vedecké záznamy) vymažete predvolené hodnoty a nastavíte pravidlá číslovania na štandardné.
 - Ak chcete zmeniť zobrazované jednotky, vyberte položku Settings (Nastavenia) > Units (Jednotky) a vyberte novú hodnotu jednotky.

5. Ak chcete nastaviť režim skenovania, vyberte príslušný režim skenovania z rozbaľovacieho zoznamu Scan Mode (Režim skenovania) v okne panela nástrojov aplikácie Plate Editor (Editor platničky).
6. Vyberte potrebné fluorofory pre platničku:
 - a. V pravej table kliknite na položku Select Fluorophores (Vybrať fluorofory).

Zobrazí sa dialógové okno Select Fluorophores (Vybrať fluorofory). Vidíte fluorofory, ktoré sú k dispozícii pre typ režimu skenovania, ktorý ste vybrali v predchádzajúcom kroku ([Krok 5](#)), napríklad:



- b. Ak chcete vybrať fluorofor, kliknite na jeho začiarkavacie políčko Selected (Vybrané).

Tip: Ak chcete fluorofor odstrániť zo zoznamu, zrušte začiarknutie začiarkavacieho políčka Selected (Vybrané).
- c. Ak chcete zmeniť farbu zobrazovania fluoroforu, kliknite na políčko Color (Farba).

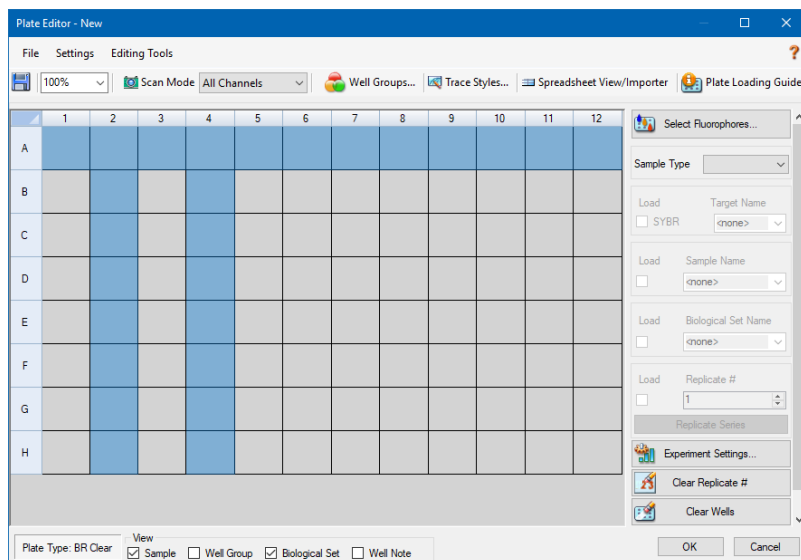
Poznámka: Vybraná farba znázorňuje fluorofor v okne Plate Editor (Editor platničky) a na grafoch Data Analysis (Analýza dát).

- d. V dialógovom okne Color (Farba) vyberte požadovanú farbu alebo kliknite na položku Define Custom Colors (Definovať vlastné farby) a vytvorte novú farbu na zobrazenie fluoroforu.
 - e. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno Select Fluorophores (Vybrať fluorofory).
7. Musíte vybrať aspoň jednu jamku, do ktorej sa načíta typ vzorky. Predvolene je vybraná jamka A1.

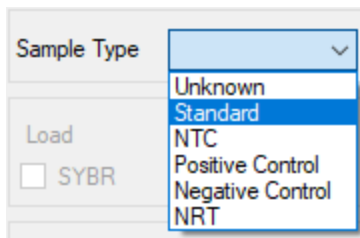
V paneli platničky vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:

- Ak chcete načítať viacero priľahlých jamiek, kliknite na jamku a presuňte ju na cieľovú jamku.
- Ak chcete načítať viacero nesusediacich jamiek, podržte kláves Control a kliknite na jednotlivé jamky.
- Ak chcete načítať celý stĺpec s rovnakým typom vzorky, kliknite na číslo stĺpca.
- Ak chcete načítať celý riadok, kliknite na číslo daného riadka.
- Ak chcete načítať celú platničku, kliknite na ľavý horný roh platničky.

Napríklad:



8. Priradíte typ vzorky vybranej jamke alebo jamkám z rozbaľovacej ponuky Sample Type (Typ vzorky).

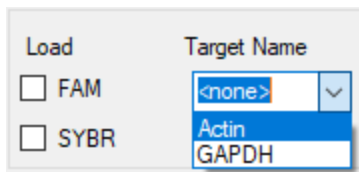


9. Priradíte aspoň jeden fluorofor do všetkých jamiek, ktoré obsahujú typ vzorky. Jednej jamke alebo skupine jamiek môžete priradiť viac ako jeden fluorofor.

Poznámka: Môžete priradiť iba jeden fluorofor na kanál. Nemôžete priradiť viac ako jeden fluorofor z toho istého kanála rovnakej jamke.

Tip: Cieľ môžete priradiť k fluoroforu alebo môžete zatiaľ iba pridať jamke fluorofor a po spustení experimentu priradiť cieľ k fluoroforu.

- Ak chcete priradiť fluorofor iba k vybraným jamkám, v časti Target Names (Názvy cieľov) v pravom paneli začiarknite začiarkavacie políčko Load (Načítať) konkrétneho fluoroforu.
- Ak chcete priradiť cieľ k fluoroforu, v časti Target Names (Názvy cieľov) vyberte názov cieľa z rozbaľovacieho zoznamu pre konkrétny fluorofor. Softvér automaticky vyberie príslušné začiarkavacie políčko Load (Načítať).



10. V prípade jamiek, ktoré obsahujú typ vzorky Standard (Štandardný), musíte načítať koncentráciu. Každá jamka môže mať inú hodnotu koncentrácie. CFX Manager Dx software predvolene načíta koncentráciu 1,00E+06 do všetkých jamiek s typom vzorky Standard (Štandardný). V prípade potreby môžete hodnotu zmeniť.
 - a. V paneli platničky vyberte jamku alebo skupinu jamiek Standard (Štandardný).
 - b. V časti Concentration (Koncentrácia) kliknutím na položku Load (Načítať) načítajte hodnotu do vybranej jamky alebo jamiek.
 - c. (Voliteľné) Ak chcete načítať inú koncentráciu, zadajte novú hodnotu do textového poľa Concentration (Koncentrácia) a stlačte tlačidlo Enter.

- d. Tento krok vykonajte pre všetky jamky s typom vzorky Standard (Štandardný).

Tip: Ak chcete načítať rovnakú koncentráciu pre všetky jamky typu Standard (Štandardný), uistite sa, že sa položka <All> (Všetky) zobrazuje v rozbaľovacom zozname pod hodnotou Concentration (Koncentrácia). Ak chcete načítať rovnakú hodnotu koncentrácie pre všetky jamky s konkrétnym fluoroforom, kliknite na rozbaľovací zoznam a vyberte fluorofor.

11. Kliknutím na tlačidlo OK uložte novú platničku.

Priradenie voliteľných parametrov k súboru platničky

Súbor platničky obsahuje informácie o obsahu každej jamky naplnenej vzorkou pre chod. Po dokončení chodu CFX Manager Dx software prepojí obsah jamky s fluorescenčnými dátami zhromaždenými počas chodu a aplikuje príslušnú analýzu v okne Data Analysis (Analýza dát).

V CFX Manager Dx môžete parametre priradiť ku každej jamke v platničke pred, počas alebo dokonca aj po spustení experimentov. Parametre môžete priradiť k existujúcemu súboru platničiek alebo k novému súboru platničiek. Tieto parametre zahŕňajú:

- **Target names** (Názvy cieľov) — cieľ alebo ciele záujmov (gény alebo sekvencie) v každej naplnenej jamke.
- **Sample names** (Názvy vzoriek) — identifikátor alebo stav, ktorý zodpovedá vzorke v každej naplnenej jamke, ako 0Hr, 1Hr, alebo 2Hr.

Tip: Target and sample names (Názvy cieľa a vzorky) musia byť rovnaké medzi jamkami na porovnanie údajov karty Gene Expression (Expresia génu) okna Data Analysis (Analýza dát). Každé meno musí obsahovať rovnaké veľké písmená, interpunkciu a medzery. Napríklad, "Actin" (Aktín) nie je to isté ako "actin" (aktín), "2Hr" (2 Hod) nie je to isté ako "2 hr." (2 hod.), a "Mouse 1" (Myš 1) nie je to isté ako "mouse1" (myš1). Na zaistenie konzistencie pomenovania zadajte názvy v sekcii Knižnice v User (Používateľ) > User Preferences (Používateľské preferencie) > Plate (Platnička), dostupné v okne Home (Domovské okno).

- **Biological sets** (Biologické súbory) — identifikátor alebo stav, ktorý zodpovedá množine jamiek.
- **Replicates** (Replikáty) — každá jamka, ktorá sa používa na analýzu rovnakej kombinácie vzorky a cieľa (cieľov); to znamená replikuje reakcie qPCR.
- **Dilution series** (Séria riedení) — množstvo, ktoré má zmeniť koncentráciu typu Standard (Štandardný) v rámci replikovanej skupiny, aby sa vytvorili údaje štandardnej krivky na analýzu.

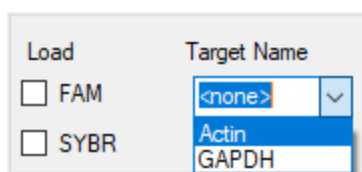
Priradenie cieľa k jamkám

Tip: Rovnaký názov cieľa môžete priradiť k jednému alebo viacerým jamkám. K jednej jamke môžete priradiť aj viaceré ciele.

Ak chcete priradiť cieľ k jamke alebo skupine jamiek

1. V Plate Editor (Editor platničky) sa uistite, že sa jamke alebo skupine jamiek priradil typ vzorky.
Informácie o priradení typov vzoriek k jamkám nájdete v časti [Výber typov vzoriek na strane 117](#).
2. V paneli platničky vyberte jamku alebo skupinu jamiek:
 - Ak chcete vybrať jednu jamku, kliknite na jamku.

- Ak chcete vybrať viacero príľahlých jamiek, kliknite na jamku a presuňte ju na cieľovú jamku.
 - Ak chcete vybrať viacero nesusediacich jamiek, podržte kláves Control a kliknite na jednotlivé jamky.
 - Ak chcete vybrať celý stĺpec s rovnakým typom vzorky, kliknite na číslo stĺpca.
 - Ak chcete vybrať celý riadok, kliknite na číslo daného riadka.
3. V pravom paneli vyberte názov z rozbaľovacieho zoznamu Target Name (Názov cieľa) pre každý vybraný fluorofor.



4. Zopakujte **Krok 3** pre každú jamku alebo skupinu jamiek, ktorým sa musí priradiť cieľ.
- Tip:** Ku každému vybranému fluoroforu môžete priradiť rovnaký alebo iný názov cieľa.
5. Kliknutím na tlačidlo OK prijmite zmeny a uložte platničku.

Ak chcete odstrániť názov cieľa

- ▶ Ak chcete odstrániť názov cieľa z vybranej jamky alebo skupiny jamiek, zrušte začiarknutie kontrolnej značky Load (Načítať).

Dôležité upozornenie: Odstránenie názvu cieľa z jamky tiež odstráni jeho priradený fluorofor. Buďte opatrní pri odstraňovaní názvu cieľa z jamky.

Pridanie názvu cieľa do zoznamu

- ▶ Ak chcete pridať názov cieľa do rozbaľovacieho zoznamu, vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - V rozbaľovacom zozname Target Name (Názov cieľa) zadajte názov a stlačte tlačidlo Enter.

Tip: Názvy cieľov, ktoré pridáte do jedného zoznamu, sa zobrazia vo všetkých ostatných cieľových zoznamoch.
 - Kliknite na zelený symbol + napravo od rozbaľovacieho zoznamu, zadajte názov cieľa a stlačte Enter.
 - Kliknite na položku User Preferences (Používateľské preferencie) na paneli nástrojov a pridajte názov do knižnice Target Names (Názvy cieľov) na karte Plate (Platnička).

Dôležité upozornenie: Názvy cieľov, ktoré pridáte do rozbaľovacieho zoznamu, sú k dispozícii iba pre aktuálnu platničku a len vtedy, ak názov priradíte jamke a uložíte rozloženie platničky. Ak nepriradíte názov jamke a uložíte rozloženie platničky, názov sa neuloží a nebude k dispozícii na použitie v budúcnosti. Ak chcete natrvalo priradiť názov cieľa, tiež ho pridajte do knižnice Target Names (Názvy cieľov) pomocou dialógového okna User Preferences (Používateľské preferencie). Názvy, ktoré pridáte do knižnice, sú k dispozícii po opätovnom otvorení Plate Editor (Editor platničky). Viac informácií uvádza časť [Nastavenie predvolených parametrov platničky na strane 69](#).

Ak chcete odstrániť názov cieľa zo zoznamu

1. Kliknite na položku User Preferences (Používateľské preferencie) v paneli nástrojov.
Zobrazí sa dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie) s kartou Plate (Platnička).
2. V knižnici Target Names (Názvy cieľov) na karte Plate (Platnička) vyberte názov, ktorý chcete odstrániť, a stlačte tlačidlo Delete (Odstrániť).
3. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).

Dôležité upozornenie: Nemôžete odstrániť názvy cieľov, ktoré ste uložili so súborom platničky. Vlastné názvy, ktoré pridáte do rozbaľovacieho zoznamu Target Names (Názvy cieľov) a nepoužijete ich ani neuložíte s platničkou, sa automaticky odstránia zo zoznamu. Názvy, ktoré odstránite z knižnice Target Names (Názvy cieľov), sa natrvalo odstránia zo softvéru a už nie sú k dispozícii používateľom. Pri odstraňovaní názvov cieľov postupujte opatrne.

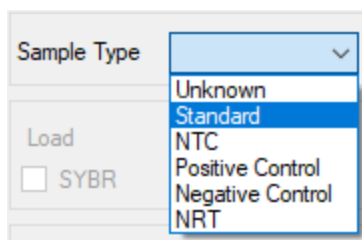
Priradenie názvu vzorky k jamkám

Poznámka: Ak chcete priradiť názov vzorky, musíte vybratým jamkám priradiť aspoň jeden fluorofor. Ak vybrané jamky nemajú priradený fluorofor, rozbaľovací zoznam Sample Names (Názvy vzoriek) je deaktivovaný. Ďalšie informácie o priradení fluoroforov nájdete v časti [Priradenie cieľa k jamkám na strane 122](#).

Tip: Jednej jamke alebo skupine jamiek môžete priradiť iba jeden názov vzorky.

Ak chcete priradiť názov vzorky jamke alebo skupine jamiek

1. V aplikácii Plate Editor (Editor platničky) sa uistite, že sa jamke alebo skupine jamiek priradil fluorofor.
2. V paneli platničky vyberte jamku alebo skupinu jamiek.
3. V pravom paneli vyberte názov v rozbaľovacom zozname Sample Names (Názvy vzoriek).



4. Zopakujte [Krok 3](#) pre každú jamku alebo skupinu jamiek, ktorým sa musí priradiť názov vzorky.
5. Kliknutím na tlačidlo OK prijmite zmeny a uložte platničku.

Ak chcete odstrániť názov vzorky

- ▶ Ak chcete odstrániť názov vzorky z vybranej jamky alebo skupiny jamiek, zrušte začiarknutie príslušného začiarkavacieho políčka Load (Načítať).

Ak chcete pridať názov vzorky do zoznamu

- ▶ Ak chcete pridať názov vzorky do rozbaľovacieho zoznamu, vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - V rozbaľovacom zozname Sample Names (Názvy vzoriek) zadajte názov a stlačte tlačidlo Enter.
 - Kliknite na zelený symbol + napravo od rozbaľovacieho zoznamu a zadajte názov vzorky.
 - Na paneli s nástrojmi kliknite na položku User Preferences (Používateľské preferencie) a pridajte názov do knižnice Sample Names (Názvy vzoriek) na karte Plate (Platnička).

Dôležité upozornenie: Názvy vzoriek, ktoré pridáte do rozbaľovacieho zoznamu, sú k dispozícii iba pre aktuálnu platničku a len vtedy, ak názov priradíte jamke a uložíte rozloženie platničky. Ak nepriradíte názov jamke a uložíte rozloženie platničky, názov sa neuloží a nebude k dispozícii na použitie v budúcnosti. Ak chcete natrvalo priradiť názov vzorky, tiež ho pridajte do knižnice Sample Names (Názvy vzoriek) pomocou dialógového okna User Preferences (Používateľské preferencie). Názvy, ktoré pridáte do knižnice, sú k dispozícii po opätovnom otvorení Plate Editor (Editor platničky). Viac informácií uvádza časť [Nastavenie predvolených parametrov platničky na strane 69](#).

Ak chcete odstrániť názov vzorky zo zoznamu

1. Kliknite na položku User Preferences (Používateľské preferencie) v paneli nástrojov.
Zobrazí sa dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie) s kartou Plate (Platnička).

2. V knižnici Sample Names (Názvy vzoriek) na karte Plate (Platnička) vyberte názov, ktorý chcete odstrániť, a stlačte tlačidlo Delete (Odstrániť).
3. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a zatvorte dialógové okno User Preferences (Používateľské preferencie).

Dôležité upozornenie: Nemôžete odstrániť názvy vzoriek, ktoré ste uložili so súborom platničky. Vlastné názvy, ktoré pridáte do zoznamu Sample Names (Názvy vzoriek) a nepoužijete ich ani neuložíte s platničkou, sa automaticky odstránia z rozbaľovacieho zoznamu. Názvy, ktoré odstránite z knižnice Sample Names (Názvy vzoriek), sa odstránia zo softvéru a už nie sú k dispozícii používateľom. Pri odstraňovaní názvov vzoriek postupujte opatrne.

Priradenie biologických súprav k jamkám

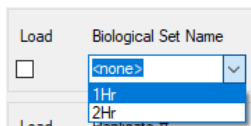
Poznámka: Ak chcete priradiť biologickú súpravu, musíte vybratým jamkám priradiť aspoň jeden fluorofor. Priradenie fluoroforu aktivuje rozbaľovací zoznam Biological Set Name (Názov biologickej súpravy). Ďalšie informácie o priradení fluoroforov nájdete v časti [Priradenie cieľa k jamkám na strane 122](#).

Tip: Každý jamke alebo skupine jamiek môžete priradiť jednu biologickú súpravu.

Ak chcete priradiť biologickú súpravu jamke alebo skupine jamiek

1. V možnostiach položky View (Zobraziť) v spodnej časti okna Plate Editor (Editor platničky) začiarknite začiarkavacie políčko Biological Set (Biologická súprava).
2. V aplikácii Plate Editor (Editor platničky) sa uistíte, že sa jamke alebo skupine jamiek priradil fluorofor.
3. V paneli platničky vyberte jamku alebo skupinu jamiek.
4. Na pravom paneli vyberte v rozbaľovacom zozname Biological Set Name (Názov biologickej súpravy).

CFX Manager Dx software automaticky zvolí začiarkavacie políčko Load (Načítať).



5. Zopakujte [Krok 4](#) pre každú jamku alebo skupinu jamiek, ktorým sa musí priradiť biologická súprava.
6. Kliknutím na tlačidlo OK prijmite zmeny a uložte platničku.

Tip: Priradenie názvov biologických súprav k jamkám aktivuje položku Biological Set Analysis Options (Možnosti analýzy biologických súprav) v dialógovom okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu), kde môžete vykonať analýzu vzoriek v jednej zo štyroch konfigurácií. Viac informácií uvádza časť [Zmena nastavení experimentov na strane 132](#).

Ak chcete odstrániť biologickú súpravu

- ▶ Ak chcete odstrániť biologickú súpravu z vybranej jamky alebo skupiny jamiek, zrušte výber začiarkavacieho políčka Load (Načítať).

Ak chcete pridať biologickú súpravu do zoznamu

- ▶ Ak chcete pridať biologickú súpravu do rozbaľovacieho zoznamu, zadajte názov do rozbaľovacieho okna Biological Set Name (Názov biologickej súpravy) a stlačte tlačidlo Enter.

Dôležité upozornenie: Názvy biologických súprav, ktoré pridáte do rozbaľovacieho zoznamu, sú k dispozícii iba pre aktuálnu platničku a iba vtedy, ak priradíte názov k jamke a uložíte rozloženie platničky. Ak nepriradíte názov k jamke a uložíte rozloženie platničky, názov sa neuloží a nebude k dispozícii na použitie v budúcnosti.

Ak chcete zobraziť všetky biologické súpravy na platničke

- ▶ (Zobraziť biologické skupiny) Začiarknite začiarkavacie políčko Biological Set (Biologická súprava) v možnostiach View (Zobraziť) v spodnej časti okna Editor.



Všetky jamky zobrazia svoj názov príslušnej biologickej súpravy, ak je priradený. Ovládací prvok Biological Set Name (Názov biologickej súpravy) sa zobrazuje v pravom paneli.

Ak chcete skryť biologické skupiny, zrušte začiarknutie začiarkavacieho políčka Biological Set (Biologická súprava) v možnostiach položky View (Zobraziť).

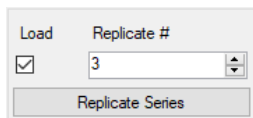
Priradenie čísiel replikátov jamkám

Dôležité upozornenie: Ak chcete priradiť čísla replikátov, vybrané jamky musia mať rovnaký obsah. To znamená, že vybrané jamky musia mať rovnaký typ vzorky a fluorofór. Ak je to vhodné, musia mať priradené rovnaké názvy cieľov a vzoriek a rovnakú biologickú súpravu. Ak nie sú rovnaké, CFX Manager Dx software túto možnosť nepovolí.

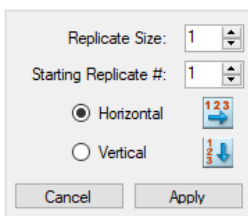
Ak chcete priradiť čísla replikátov skupine jamiek

1. V aplikácii Plate Editor (Editor platničky) sa uistite, že obsahy skupiny jamiek sú rovnaké.
2. V paneli platničky vyberte cieľovú skupinu jamiek.

3. Ak chcete priradiť rovnaké čísla replikátov všetkým vybraným jamkám, v časti Replicate # (Č. replikátu) v pravom paneli zadajte do políčka číslo replikátu a vyberte položku Load (Načítať).



4. (Voliteľné) Ak chcete aplikovať sériu replikátov na súbor vybraných jamiek:
 - a. Kliknite na položku Replicate Series (Série replikátov). Časť Replicate # (Č. replikátu) sa zmení tak, aby zobrazovala nasledujúce možnosti:



- **Replicate size** (Veľkosť replikátu) — číslo, ktoré predstavuje počet jamiek v každej skupine replikátov
- **Starting replicate #** (Č. počiatočného replikátu) — prvé číslo v sérii replikátov pre vybranú skupinu replikátov

Poznámka: CFX Manager Dx software predvolene zobrazuje číslo počiatočného replikátu ako jedno číslo, ktoré je väčšie ako posledné číslo replikátov priradené na platničke. Ak je napríklad posledné číslo replikátov v platničke päť, ďalšie počiatočné číslo je šesť. Počiatočné číslo môžete zmeniť na ľubovoľné číslo, ktoré ešte nie je priradené.

- Smer načítania (horizontálny alebo vertikálny)
- b. Kliknutím na položku Apply (Použiť) použijete parametre na sériu a vrátite sa na zobrazenie Replicate # (Č. replikátu).
5. Kliknutím na tlačidlo OK prijmite zmeny a uložte platničku.

Ak chcete odstrániť jamku zo série replikátov

- Vyberte jamku alebo skupinu jamiek, ktoré sa majú odstrániť, a zvolte začiarkavacie políčko Replicate # Load (Načítať č. replikátu).

Prípadne môžete kliknúť na položku Clear Replicate # (Vymazať č. replikátu) a vymazať číslo replikátu z vybranej jamky alebo skupiny jamiek.

Priradenie série riedení k štandardným typom vzoriek

Ako už bolo uvedené, všetkým jamkám so vzorkou štandardného typu musí byť priradená hodnota koncentrácie. Sériu riedení môžete priradiť viacerým jamkám so vzorkou štandardného typu.

Poznámka: Aby bolo možné priradiť sériu riedení skupine jamiek, jamky sa musia zahrnúť do série replikátov. Ďalšie informácie o pridávaní jamiek do série replikátov nájdete v časti [Priradenie čísiel replikátov jamkám na strane 127](#).

Ak chcete priradiť sériu riedení skupine jamiek štandardného typu

- V aplikácii Plate Editor (Editor platničky) sa uistite, že sú splnené nasledujúce podmienky:
 - Typ vzorky pre skupinu je Standard (Štandardný).
 - Všetkým jamkám v skupine je priradený aspoň jeden fluorofor a všetky obsahujú rovnaký fluorofor.
 - Všetky jamky v skupine sú zahrnuté v rovnakej sérii replikátov.

Poznámka: CFX Manager Dx software povolí možnosť Dilution Series (Séria riedení) iba v prípade, ak všetky vybrané jamky spĺňajú tieto kritériá.
- V paneli platničky vyberte cieľovú skupinu jamiek.
- V časti Concentration (Koncentrácia) v pravom paneli kliknite na položku Dilution Series (Séria riedení). Časť Concentration (Koncentrácia) sa zmení tak, aby zobrazovala nasledujúce možnosti:

- **Starting concentration** (Počiatočná koncentrácia) — hodnota koncentrácie, z ktorej séria začína
- **Replicates from and to** (Replikáty od a do) — replikáty v sérii, na ktoré sa použije faktor riedenia
- **Dilution factor** (Faktor riedenia) — množstvo na zmenu koncentrácie v rámci každej skupiny replikátov

4. Nastavte hodnoty pre voľby alebo akceptujte predvolené hodnoty.
5. Štandardne sa riediaca séria znižuje o riediaci faktor. Výberom položky Increasing (Zvýšenie) zvýšite sériu riedení.
6. (Voliteľné) Faktor riedenia sa predvolene použije na všetky fluorofory v sérii replikátov. Ak vaša séria obsahuje viac ako jeden fluorofor a chcete použiť riedenie na jeden fluorofor, vyberte ho z rozbaľovacieho zoznamu.
7. Kliknutím na položku Apply (Použiť) použijete sériu riedení a vrátite sa na zobrazenie Concentration (Koncentrácia).
8. Kliknutím na tlačidlo OK prijmite zmeny a uložte platničku.

Kopírovanie obsahu jamky do inej jamky

Obsah jamky môžete kopírovať a prilepiť do jedného alebo viacerých jamiek. Môžete však kopírovať obsah iba jednej jamky. Nemôžete vybrať viacero jamiek a kopírovať ich obsah.

Kopírovanie obsahu jamky do inej jamky

1. V paneli platničky vyberte jamku, ktorú chcete skopírovať.
2. Pravým tlačidlom myši kliknite na jamku a vyberte položku Copy Well (Kopírovať jamku).
3. Vyberte jamku alebo skupinu jamiek, do ktorých chcete skopírovať obsah:
 - Ak chcete vybrať jednu jamku, kliknite na jamku.
 - Ak chcete vybrať viacero priľahlých jamiek, kliknite na jamku a presuňte ju na cieľovú jamku.
 - Ak chcete vybrať viacero nesusediacich jamiek, podržte kláves Control a kliknite na jednotlivé jamky.
4. Vyberte cieľové jamky, kliknite pravým tlačidlom myši a vyberte položku Paste Well (Prilepiť jamku).

CFX Manager Dx software prilepí obsah prvej jamky do vybraných jamiek.


Pridanie poznámky k jamke

K jamke môžete pridať popisnú poznámku. Poznámky k jamkám môžete zobrazit' na karte Quantification (Kvantifikácia) v okne Data Analysis (Analýza dát).

Pridanie poznámky k jamke

1. V paneli platničky vyberte jamku alebo jamky, do ktorých chcete pridať poznámku.
2. V časti View (Zobraziť) v spodnom paneli vyberte položku Well Note (Poznámka k jamke).

V pravom paneli sa zobrazí oblasť Well Note (Poznámka k jamke).



3. Napíšte obsah poznámky do textového poľa a stlačte tlačidlo Enter.

Text sa zobrazí v dolnej časti vybraných jamiek.

Tip: Ak ste predtým vytvorili poznámku k jamke, môžete ju vybrať z rozbaľovacieho zoznamu a použiť na vybrané jamky.

Vymazanie všetkého obsahu z jamiek

Môžete vymazať obsah jednej jamky, skupiny jamiek alebo celej platničky. Vymazanie jamiek neodstráni fluorescenčné dáta zhromaždené počas čítania platničky.

Vymazanie jamky natrvalo odstráni obsah z jamky. Pri odstraňovaní jamiek postupujte opatrne.

Ak chcete vymazať všetky nastavenia jamiek

1. V aplikácii Plate Editor (Editor platničky) v paneli platničky vyberte jamku alebo skupinu jamiek:
 - Ak chcete vybrať jednu jamku, kliknite na jamku.
 - Ak chcete vybrať viacero priľahlých jamiek, kliknite na jamku a presuňte ju na cieľovú jamku.
 - Ak chcete vybrať viacero nesusediacich jamiek, podržte kláves Control a kliknite na jednotlivé jamky.
 - Ak chcete vybrať celý stĺpec s rovnakým typom vzorky, kliknite na číslo stĺpca.
 - Ak chcete vybrať celý riadok, kliknite na číslo daného riadka.
2. V pravej table kliknite na položku Clear Wells (Vymazať jamky).

CFX Manager Dx software vymaže všetky nastavenia vybraných jamiek.
3. Kliknutím na tlačidlo OK prijmite zmeny a uložte platničku.

Zmena nastavení experimentov

Použite dialógové okno Experiment Settings (Nastavenia experimentu) na zobrazenie alebo zmenu zoznamu cieľov alebo vzoriek alebo výber analýzy skupiny expresie génu a možnosť analýzy, ak ste priradili biologické skupiny k jamkám na platničke.

V dialógovom okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu) karta Targets (Ciele) zobrazuje zoznam cieľových mien pre každú reakciu PCR, napríklad cieľový gén alebo sledované génové sekvencie.

Karta Samples (Vzorky) zobrazuje zoznam názvov vzoriek, ktoré označujú zdroj cieľa, ako napríklad vzorka odobratá v 1 hour (1Hr) (1 hodina) alebo od špecifického jedinca (mouse1) (myš1).

Zmena nastavení platničky pomocou dialógového okna Experiment Settings (Nastavenia experimentu)

1. Ak chcete otvoriť dialógové okno Experiment Settings (Nastavenie experimentu), vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - V pravom okienku v Plate Editor (Editor platničky) kliknite na Experiment Settings (Nastavenia experimentu).
 - Na karte Gene Expression (Expresia génu) v okne Data Analysis (Analýza dát) kliknite na položku Experiment Settings (Nastavenia experimentu).

Zobrazí sa dialógové okno Experiment Settings (Nastavenia experimentu), v ktorom sa zobrazí obsah karty Targets (Ciele).

Experiment Settings

Targets Samples

	Name	Full Name	Reference	Select To Remove
1	Actin	Actin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	GAPDH	GAPDH	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

New: Add Remove checked item(s)

Show Analysis Settings

Biological Set Analysis Options: Target vs. Sample

Exclude the following sample types from Gene Expression analysis:

NTC NRT Negative Control Positive Control Standard

OK Cancel

2. Ak chcete pridať nový názov cieľa alebo vzorky, na príslušnej karte zadajte názov do textového poľa New (Nový) a kliknite na položku Add (Pridať).
3. Ak chcete zo zoznamu odstrániť jeden alebo viac názvov cieľa alebo vzorky zo zoznamu, na príslušnej karte vyberte kontrolnú značku položky v stĺpci Select to Remove (Vybrať na odstránenie) a kliknite na položku Remove checked item(s) (Odstrániť označené položky).
4. CFX Manager Dx software vylučuje vzorku typu NTC (bez kontroly šablóny) z analýzy génovej expresie.

Ak chcete zahrnúť typy vzoriek NTC, zrušte kontrolnú značku v časti Exclude the following sample types (Vylúčiť nasledujúce typy vzoriek). Výberom príslušnej kontrolnej značky môžete vylúčiť nasledujúce typy vzoriek:

- NRT (Bez reverznej transkriptázy)
- Negative Control (Negatívna kontrola)
- Positive Control (Pozitívna kontrola)
- Standard (Štandardný)

5. V karte Targets (Ciele):

- a. Ak chcete vybrať cieľ ako referenciu pre analýzu dát expresie génu, vyberte ho v stĺpci Reference (Referencia).
- b. Ak chcete skryť nastavenia analýzy, ktoré sa použijú na karte Gene Expression (Expresia génu) v okne Analysis Settings (Nastavenia analýzy), zrušte možnosť Show Analysis Settings (Ukázať nastavenia analýzy).

Softvér skryje nasledujúce stĺpce:

- Color (Farba)
- Show Chart (Zobraziť graf)
- Auto Efficiency (Automatická účinnosť)
- Efficiency % (Účinnosť %)

- c. Ak chcete zmeniť farbu cieľa ako je zobrazené v grafe Gene Expression (Expresia génu), kliknite na jeho bunku v stĺpci Color (Farba) a vyberte novú farbu v zobrazenom dialógovom okne Color (Farba) a kliknite na OK.
- d. Ak chcete zobraziť cieľ vo zvolenej farbe v grafe Gene Expression (Expresia génu), vyberte ich kontrolnú značku v stĺpci Show Chart (Zobraziť graf).
- e. Predvolene CFX Manager Dx automaticky vypočíta relatívnu účinnosť cieľa, ak jeho údaje obsahujú štandardnú krivku.

Ak chcete použiť predtým určenú hodnotu účinnosti, zadajte hodnotu do bunky v stĺpci Efficiency (%) (Účinnosť %) a stlačte kláves Enter. CFX Manager Dx odstráni kontrolnú značku Auto Efficiency (Automatická účinnosť).

6. Na karte Samples (Vzorky):

- a. Ak chcete vybrať vzorku ako kontrolnú vzorku pre analýzu dát expresie génu, vyberte jej kontrolnú značku v stĺpci Control (Kontrolná vzorka).
- b. Ak chcete priradiť kontrolnú podmienku pre vzorku k chodu, kliknite na jej kontrolnú značku v stĺpci Control (Kontrolná).
- c. Ak ešte nie je vybraté, kliknite na položku Show Analysis Settings (Zobraziť nastavenia analýzy), aby ste zobrazili alebo zmenili parametre analýzy, ktoré sa použijú na karte Gene Expression (Expresia génu). Softvér skryje stĺpce Color (Farba) a Show Chart (Zobraziť graf).

7. Ak ste priradili jednu alebo viac biologických skupín do jamiek na platničke (pozrite si [Priradenie biologických súprav k jamkám na strane 126](#)), vyberte jednu z nasledujúcich možností zo zoznamu Biological Set Analysis Options (Biologické možnosti nastavenia analýzy):
 - **Target vs. Sample** (Cieľ v porovnaní so vzorkou) — Pri výpočtoch expresie génu sa použije iba názov vzorky v jamke.
 - **Target vs. Biological Set** (Cieľ v porovnaní s biologickou súpravou) — Pri výpočtoch expresie génu sa použije iba jeden názov biologickej súpravy.
 - **Target vs. Sample_Biological Set** (Cieľ v porovnaní so vzorkou a biologickou súpravou) — Názov vzorky a názov biologického súboru sa skombinujú, aby sa vytvoril jeden názov na použitie vo výpočtoch.
 - **Target vs. Biological Set_Sample** (Cieľ v porovnaní s biologickou súpravou a vzorkou) — Názov biologickej súpravy a názov vzorky sa skombinujú, aby sa vytvoril jeden názov na použitie vo výpočtoch.
8. Kliknutím na tlačidlo OK uložte parametre do dialógového okna Experiment Settings (Nastavenia experimentu) and a vráťte sa do okna Plate Editor (Editor platničky).

Vytváranie skupín jamiek

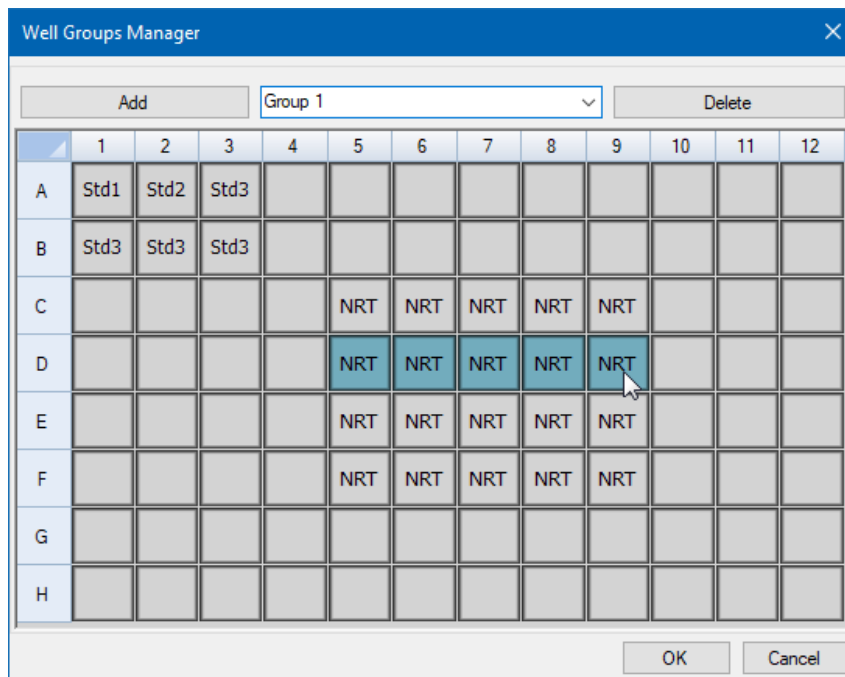
Skupiny jamiek rozdeľujú samostatnú platničku na podskupiny jamiek, ktoré sa môžu nezávisle analyzovať v okne Data Analysis (Analýza dát). Po nastavení skupín jamiek vyberte skupinu v okne Data Analysis (Analýza dát), aby ste dáta analyzovali ako nezávislú skupinu. Nastavte skupiny jamiek, aby ste napríklad analyzovali chody viacerých experimentov na jednej platničke alebo analyzovali jednotlivé skupiny jamiek s inou štandardnou krivkou.

Poznámka: Predvolená skupina jamiek je All Wells (Všetky jamky).

Vytvorenie skupiny jamiek

1. Aby ste otvorili okno Well Groups Manager (Správca skupín jamiek), vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - V paneli nástrojov aplikácie Plate Editor (Editor platničky) kliknite na položku Well Groups (Skupiny jamiek).
 - V okne Data Analysis (Analýza dát) kliknite na položku Manage Well Groups (Správa skupín jamiek).

Zobrazí sa dialógové okno Well Groups Manager (Správca skupín jamiek).



2. Kliknutím na položku Add (Pridať). Rozbaľovacia ponuka zobrazuje názov prvej skupiny ako Group 1 (Skupina 1).
3. Kliknutím a potiahnutím cez skupinu jamiek vyberte jamky pre skupinu jamiek v zobrazení platničiek. Vybrané jamky sa v aplikácii Manager (Správca) zobrazujú modrou farbou.
4. (Voliteľné) Ak chcete zmeniť názov skupiny, vyberte jej názov v rozbaľovacej ponuke a zadajte nový názov.
5. (Voliteľné) Ak chcete odstrániť skupinu jamiek, vyberte jej názov v rozbaľovacom zozname a kliknite na položku Delete (Odstrániť).
6. Kliknutím na položku OK dokončíte a zatvorte okno alebo kliknutím na položku Cancel (Zrušiť) zatvorte okno bez vykonania zmien.

Dôležité upozornenie: Ak chcete zobraziť skupiny jamiek, vyberte položku Well Groups (Skupiny jamiek) v možnostiach položky View (Zobraziť) v spodnej časti okna aplikácie Plate Editor (Editor platničiek).

Položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši dialógového okna Well Groups Manager (Správca skupín jamiek)

Tabuľka 13 uvádza položky menu, ktoré sú k dispozícii v dialógovom okne Well Groups Manager (Správca skupín jamiek), keď kliknete pravým tlačidlom myši na ľubovoľnú jamku.

Tabuľka 13. Položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši v dialógovom okne Plate Editor Well Selector (Selektor jamiek v editore platničky)

Položka	Funkcia
Copy (Kopírovať)	Skopíruje obsah jamiek, ktorý sa následne môže vložiť do inej jamky/iných jamiek.
Copy as Image (Kopírovať ako obrázok)	Skopíruje zobrazenie selektora jamiek ako obrázok.
Print (Tlač)	Vytlačí zobrazenie selektora jamiek
Print Selection (Tlač vybraných položiek)	Vytlačí iba vybrané bunky.
Export to Excel (Export do programu Excel)	Exportuje údaje do tabuľkového procesora programu Excel.
Export to Csv (Export do formátu Csv)	Exportuje údaje do čiarkami rozdeleného dokumentu.
Export to Xml (Export do formátu Xml)	Exportuje údaje ako dokument vo formáte .xml.
Export to Html (Export do formátu Html)	Exportuje údaje ako dokument vo formáte .Html.

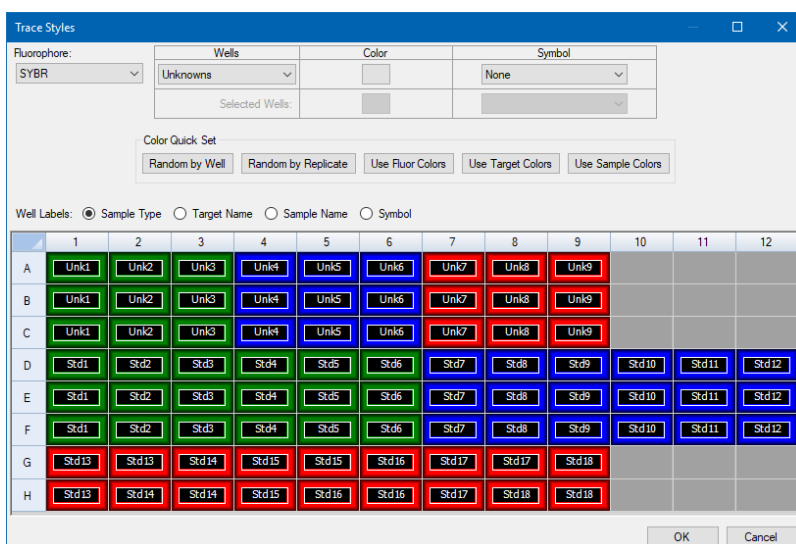
Zmena štýlov stôp

Počas nastavenia platničky a počas chodu môžete zmeniť farbu a štýl stôp zosilnenia. Počas zhromažďovania údajov potom môžete jednoducho zobrazíť stopy v stavovom okne v reálnom čase.

Zmena štýlov stôp

1. Kliknite na Trace Styles (Štýly stôp) na paneli nástrojov Plate Editor (Editor platničky).

Dialógové okno Trace Styles (Štýly stôp) sa otvorí pre otvorenie platničky, napríklad:



2. Ak chcete zobrazíť štýly stôp konkrétnym fluoroforom, vyberte ho z rozbaľovacej ponuky Fluorophores (Fluorofory).
3. Zmena zobrazenia stopy:
 - a. Vyberte typ stopy z rozbaľovacieho zoznamu Wells (Jamky).
 - b. Kliknite na jeho farbu v stĺpci Color (Farba).
 - c. V zobrazenom dialógovom okne Color (Farba), vyberte inú farbu stopy a kliknite na tlačidlo OK.
Zmena typu jamky sa zobrazí v mriežke nižšie.
 - d. (Voliteľné) Z rozbaľovacieho zoznamu Symbols (Symboly) vyberte symbol pre stopu.

4. Ak chcete rýchlo zmeniť set farieb, kliknite na príslušnú voľbu v časti Color Quick Set (Rýchle nastavenie farby).
5. Ak chcete zobrazit' označenia v mriežke, vyberte typ označenia v časti Well Labels (Označenia jamiek).
6. Kliknutím na OK uložíte zmeny alebo na Cancel (Zrušiť), ak chcete zmeny zrušiť.

Prezeranie platničky vo formáte tabuľkového procesora

Nástroj Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora) zobrazí obsah platničky vo formáte tabuľkového procesora. Môžete použiť nástroj Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora) na exportovanie obsahu jamky vo formáte oddelenom tabulátormi do aplikácie, ako je napríklad Microsoft Excel. Obsah jamky môžete tiež importovať z aplikácie oddelenej tabulátormi.

Použitie nástroja Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora)

1. Na paneli nástrojov Plate Editor (Editor platničky) kliknutím na Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora) otvoríte dialógové okno Plate Spreadsheet View (Zobrazenie tabuľkového procesora platničky).

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

2. Dialógové okno Spreadsheet View (Zobrazenie tabuľkového procesora) zobrazí obsah v platničke pre jeden fluorofor. Ak chcete zobraziť obsah platničky pre iný fluorofor, vyberte ho z rozbaľovacieho zoznamu Fluors List (Zoznam fluoroforov).
3. Kliknutím na Export Template (Exportovať šablónu) exportujete šablónu platničky do tabuľkového procesora v súbore Excel (formát .csv). Túto šablónu môžete upraviť na importovanie informácií o obsahu jamiek.
4. (Voliteľné) Kliknutím na položku Import (Importovať) importujete obsah jamky zo súboru oddeleného čiarkou.

5. Ak chcete tabuľkový procesor usporiadať podľa údajov v konkrétnom stĺpci, kliknite na trojuholník vedľa názvu stĺpca.

Tip: Obsah ľubovoľnej bunky môžete upraviť v stĺpci, ktorý obsahuje hviezdičku (*) vedľa názvu stĺpca (napríklad *Target Name (*Názov cieľa)).

Poznámka: V stĺpci Quantity (Množstvo) vyberte jednotky pre údaje štandardnej krivky otvorením Plate Editor (Editor platničky) a výberom Settings (Nastavenia) > Units (Jednotky) na paneli s ponukami. Po dokončení chodu platničky sa údaje z týchto štandardov zobrazia v grafe Standard Curve (Štandardná krivka) na karte Quantification (Kvantifikácia) v okne Data Analysis (Analýza dát) s jednotkami, ktoré vyberiete.

Položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši nástroja Plate Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora platničky)

Tabuľka 14 zobrazí položky menu, ktoré sú k dispozícii v nástroji Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora), keď kliknete pravým tlačidlom myši na ľubovoľnú jamku v prístroji.

Tabuľka 14. Položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši v nástroji Plate Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora platničky)

Položka	Funkcia
Copy (Kopírovať)	Skopíruje celý tabuľkový procesor.
Copy as Image (Kopírovať ako obrázok)	Uloží tabuľkový procesor ako súbor s obrázkom.
Print (Tlač)	Vytlačí tabuľkový procesor.
Print Selection (Tlač vybraných položiek)	Vytlačí iba vybrané bunky.
Export to Excel (Export do programu Excel)	Exportuje súbor do tabuľkového procesora programu Excel.
Export to CSV (Export do formátu CSV)	Exportuje súbor ako súbor .csv.
Export to Xml (Export do formátu Xml)	Exportuje súbor ako súbor .xml.

Tabuľka 14. Položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši v nástroji Plate Spreadsheet View/Importer (Zobrazenie/import tabuľkového procesora platničky), pokračovanie

Položka	Funkcia
Export to Html (Export do formátu Html)	Exportuje súbor ako súbor .html.
Find (Nájsť)	Vyhľadá konkrétny text.
Sort (Usporiadať)	Usporiada tabuľkový procesor výberom maximálne troch stĺpcov dát v okne Sort (Usporiadať).

Vytvorenie rozloženia platničky pomocou Plate Setup Wizard (Sprievodca nastavením platničky)

Setup Wizard (Sprievodca nastavením) môžete použiť na zadanie informácií o rozložení platničky, ktoré sú potrebné pre normalizovanú analýzu expresie génu vrátane:

- Názvy cieľov
- Názvy vzoriek
- Umiestnenie cieľov a vzorky na platničke
- Referenčný gén(y)
- Kontrolná vzorka

Aplikáciu Setup Wizard (Sprievodca nastavením) môžete použiť pred, počas alebo po dokončení chodu.

Používanie aplikácie Setup Wizard (Sprievodca nastavením) platničky

Táto časť popisuje spôsob vytvorenia rozloženia platničky pomocou aplikácie Setup Wizard (Sprievodca nastavením) platničky. Ak chcete jednoduchšie zobrazit' obsah jednotlivých jamiek na platničke, kliknite na položku Zoom plate (Priblížiť platničku) v hornej časti aplikácie Setup Wizard (Sprievodca nastavením).

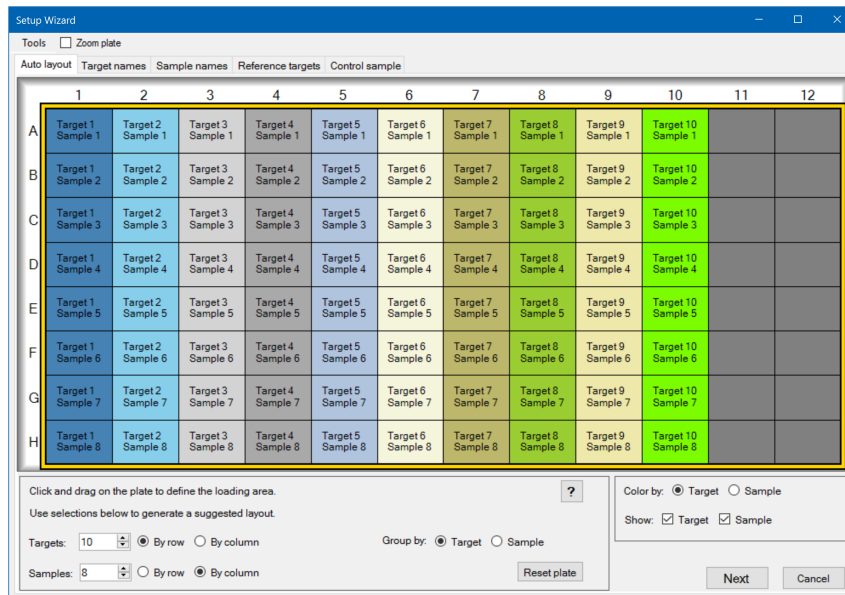
Dôležité upozornenie: Ak sa vrátite na kartu Auto layout (Automatické rozloženie), keď sa nachádzate na akejkolvek inej karte v aplikácii Setup Wizard (Sprievodca nastavením), rozloženie platničky sa resetuje. Pri výbere tejto karty dávajte pozor.

Tip: Rozloženie môžete resetovať výberom položky Tools (Nástroje) > Clear Plate (Vymazať platničku) v aplikácii Setup Wizard (Sprievodca nastavením).

Ak chcete použiť aplikáciu Setup Wizard (Sprievodca nastavením) platničky

1. Otvorte aplikáciu Plate Editor (Editor platničky).
2. Ak chcete otvoriť aplikáciu Setup Wizard (Sprievodca nastavením), vyberte položku Editing Tools (Nástroje na úpravu) > Setup Wizard (Sprievodca nastavením).

Zobrazí sa aplikácia Setup Wizard (Sprievodca nastavením) s kartou Auto layout (Automatické rozloženie).



3. Na karte Auto layout (Automatické rozloženie) vykonajte nasledujúci krok:
 - a. Kliknite na jamku na mriežke a potiahnite ju, aby ste určili oblasť na platničke, do ktorej chcete načítať vzorku.
 - b. Zadajte počet cieľov a vzoriek na načítanie.

Tip: Počet cieľov a vzoriek sa musí rovnať počtu vybraných buniek. Ak sa zadaný počet nezmesť do zvolenej oblasti, upravte počet alebo vybranú oblasť na platničke. Môžete špecifikovať orientáciu položiek na platničke a ich zoskupenie.
 - c. (Voliteľné) Zmeňte orientáciu platničky. Môžete napríklad nastaviť ciele v stĺpcoch a vzorky v riadkoch alebo vykonať zoskupenie podľa vzoriek.
 - d. Kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Target names (Názvy cieľov).

Poznámka: Ak rozloženie platničky nemá pravidelný vzor, pomocou karty Target names (Názvy cieľov) manuálne umiestnite ciele alebo pomocou karty Sample names (Názvy vzoriek) manuálne umiestnite vzorky na platničke. Kliknutím a potiahnutím vyberte viacero jamiek.

4. Na karte Target names (Názvy cieľov) zadefinujte názvy cieľov pre skupiny cieľov:
 - a. Vykonať jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak chcete premenovať ciele podľa skupiny, nastavte položku Select by (Vybrať podľa) na možnosť Target (Cieľ).
 - Ak chcete premenovať ciele podľa jamky, nastavte položku Select by (Vybrať podľa) na možnosť Well (Jamka).
 - b. Vyberte cieľovú skupinu alebo jamku na mriežke a zadajte názov v rozbaľovacom zozname Target name (Názov cieľa).

Tip: Stlačením klávesu Tab vyberte ďalšiu skupinu alebo jamku napravo, alebo stlačením klávesu Enter vyberte ďalšiu skupinu alebo jamku nižšie. Prípadne na karte Target name (Názov cieľa) alebo Sample name (Názov vzorky) podržte kláves Control a kliknutím na jamku vyberte viacero nesusediacich jamiek.
 - c. Kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Sample names (Názvy vzoriek).
5. Na karte Sample names (Názvy vzoriek) zadefinujte názvy vzoriek pre skupiny vzoriek.
6. Kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Reference targets (Referenčné ciele).
7. Na karte Reference targets (Referenčné ciele) vyberte jeden alebo viac cieľov, ktoré sa použijú ako referencie pre normalizovanú expresiu génu, a kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Control sample (Kontrolná vzorka).
8. Na karte Control sample (Kontrolná vzorka) vyberte jednu vzorku, ktorá sa použije ako kontrola pre výpočty relatívnej expresie génu.
9. Kliknutím na tlačidlo OK uložte rozloženie platničky a vráťte sa do aplikácie Plate Editor (Editor platničky), kde môžete ďalej definovať parametre platničky. Viac informácií uvádza časť [Priradenie voliteľných parametrov k súboru platničky na strane 122.](#)

Prípadne sa kliknutím na položku Previous (Predchádzajúce) vráťte na predchádzajúcu kartu a vykonajte zmeny.

Poznámka: Ak sa vrátite na kartu Auto layout (Automatické rozloženie), platnička sa automaticky resetuje. Pri kliknutí na položku Previous (Predchádzajúce) dávajte pozor.

Kapitola 8 Spúšťanie experimentov

Táto kapitola vysvetľuje, ako spustiť vlastné (používateľsky definované) alebo experimenty PrimePCR použitím softvéru CFX Manager Dx software.

Súbor s údajmi o chode obsahuje protokol a informácie platničky pre chod. Súbor obsahuje aj údaje z analýz, ktoré sa CFX Manager Dx vykonávajú po dokončení chodu.

CFX Manager Dx software umožňuje jednoduché nastavenie a spustenie experimentov definovaných používateľom alebo PrimePCR. Okno Run Setup (Nastavenie chodu) vás prevedie spoločnými krokmi nastavenia experimentu, čo vás zavedie do dialógového okna Start Run (Spustiť chod), z ktorého spustíte chod.

Otvorenie okna Run Setup (Nastavenie chodu)

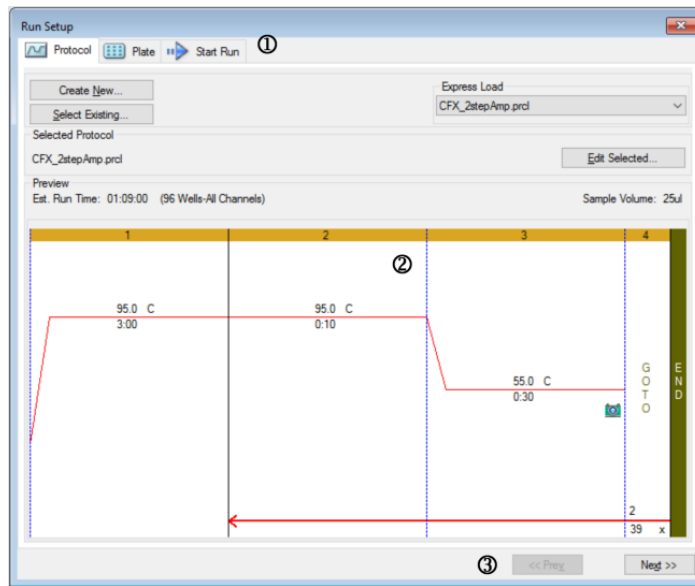
Na otvorenie okna Run Setup (Nastavenie chodu)

- ▶ Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Na karte Run Setup (Nastavenie chodu) v položke Startup Wizard (Sprievodca spustením) kliknite buď na položku User-defined (Definované používateľom), alebo PrimePCR.
 - V okne Home (Domovské okno) na paneli nástrojov kliknite buď na položku User-defined Run Setup (Používateľom definované nastavenie chodu), alebo PrimePCR Run Setup (Nastavenie chodu PrimePCR).
 - V okne Home (Domovské okno) vyberte buď položku Run (Chod) > User-defined Run (Používateľom definovaný chod), alebo Run (Chod) > PrimePCR Run (Chod PrimePCR).

Okno Run Setup (Nastavenie chodu)

Okno Run Setup (Nastavenie chodu) umožňuje rýchly prístup k súborom a nastaveniam potrebným na nastavenie a spustenie experimentu. Keď sa rozhodnete spustiť experiment definovaný používateľom, otvorí sa okno Run Setup (Nastavenie chodu) so zobrazenou kartou Protocol (Protokol). Keď sa rozhodnete spustiť experiment PrimePCR, otvorí sa okno Run Setup (Nastavenie chodu) so zobrazenou kartou Start run (Spustiť chod).

Tip: Informácie o PrimePCR nájdete v časti [Vykonanie experimentov PrimePCR na strane 166](#); informácie o karte Start Run (Spustiť chod) nájdete v časti [Karta Start Run \(Spustiť chod\) na strane 156](#).



LEGENDA

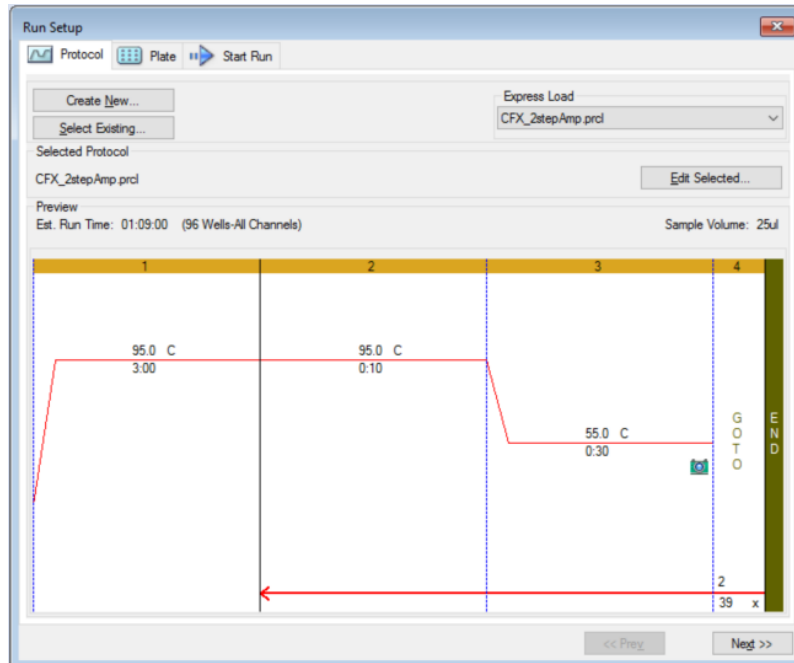
1. Karty vám poskytujú usmernenia počas nastavovania a spustenia experimentu:
 - Karta Protocol (Protokol) — vyberte existujúci protokol, ktorý sa má spustiť alebo upraviť, alebo vytvorte nový protokol v aplikácii Protocol Editor (Editor protokolov).
 - Karta Plate (Platnička) — vyberte existujúcu platničku, ktorá sa má spustiť alebo upraviť, alebo vytvorte novú platničku v aplikácii Plate Editor (Editor platničky).
 - Karta Start Run (Spustiť chod) — zobrazte nastavenia experimentu, vyberte jeden alebo viacero blokov prístroja a spustíte chod.

2. Hlavné okno zobrazuje možnosti pre každú kartu pri ich použití.

3. Pomocou navigačných tlačidiel prejdete na kartu Start Run (Spustiť chod).

Karta Protocol (Protokol)

Karta Protocol (Protokol) zobrazuje náhľad súboru protokolu, ktorý chcete spustiť. Súbor protokolu obsahuje pokyny pre teplotné kroky prístroja, ako aj možnosti prístroja, ktoré riadia konštantnú rýchlosť, objem vzorky a teplotu veka.



Softvér predvolene zobrazuje protokol definovaný v časti File Selection for Run Setup (Výber súboru pre nastavenie chodu) na karte Files (Súbory) v dialógovom okne User (Používateľ) > User Preferences (Používateľské preferencie). Predvolený protokol môžete zmeniť v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie). Viac informácií uvádza časť [Zmena predvolených nastavení súborov na strane 66](#).

Na karte Protocol (Protokol) môžete:

- Vytvoriť nový protokol na spustenie
- Vybrať existujúci protokol na spustenie alebo úpravu

Viac informácií o vytváraní a úprave protokolov uvádza [Kapitola 6, Vytváranie protokolov](#).

Ak chcete vytvoriť nový protokol

1. Na karte Protocol (Protokol) kliknite na položku Create New (Vytvoriť nový).
Zobrazí sa aplikácia Protocol Editor (Editor protokolov).
2. Pomocou aplikácie Protocol Editor (Editor protokolov) vytvorte nový protokol.
3. Kliknutím na tlačidlo OK uložte protokol a vráťte sa na kartu Protocol (Protokol) v položke Run Setup (Nastavenie chodu).
4. Pozrite si údaje protokolu a vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak sú údaje správne, kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Plate (Platnička).
 - Ak sú údaje nesprávne, kliknutím na položku Edit Selected (Upraviť vybrané položky) sa vráťte do okna Protocol Editor (Editor protokolov). Upravte protokol, uložte zmeny a následne kliknutím na položku Next (Ďalej) na karte Protocol (Protokol) pokračujte na kartu Plate (Platnička).

Ak chcete vybrať existujúci protokol

1. Na karte Protocol (Protokol) vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Kliknite na položku Select Existing (Vybrať existujúci) a prejdite na existujúci protokol.
 - Kliknite na položku Express Load (Expresné načítanie) a vyberte protokol z rozbaľovacieho zoznamu protokolov.
Tip: Protokoly môžete pridať alebo odstrániť z rozbaľovacieho zoznamu Express Load (Expresné načítanie). Viac informácií uvádza nasledujúca časť [Pridávanie a odstraňovanie protokolov expresného načítania](#).
2. Pozrite si údaje protokolu a vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak sú údaje správne, kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Plate (Platnička).
 - Ak sú údaje nesprávne, kliknutím na položku Edit Selected (Upraviť vybrané položky) otvorte aplikáciu Protocol Editor (Editor protokolov). Upravte protokol, uložte zmeny a následne kliknutím na položku Next (Ďalej) na karte Protocol (Protokol) pokračujte na kartu Plate (Platnička).

Pridávanie a odstraňovanie protokolov expresného načítania

Môžete meniť obsah rozbaľovacieho zoznamu Express Load (Expresné načítanie), ktorý sa zobrazí v položke Protocol Editor (Editor protokolov). Protokoly v tomto zozname sú uložené v nasledujúcom priečinku:

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

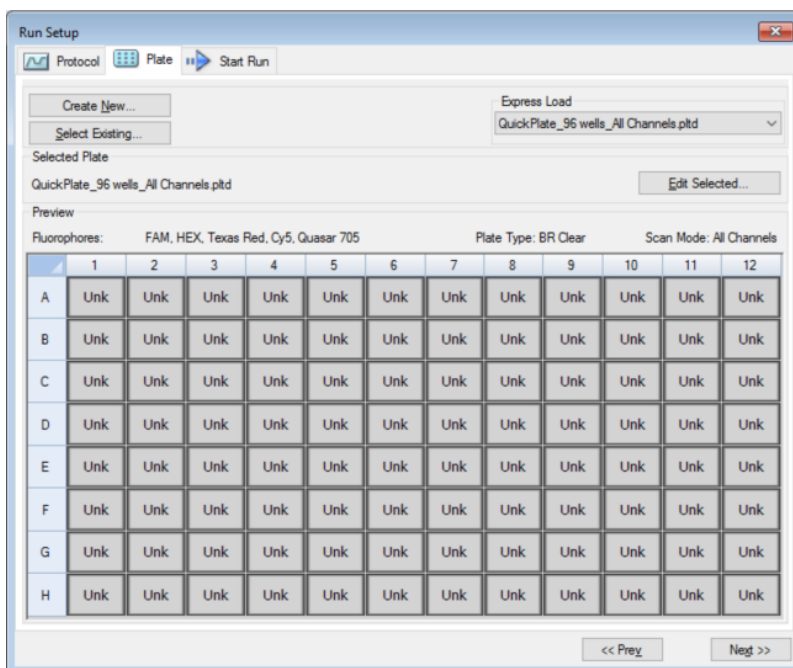
Zmena zoznamu protokolov položky Express Load (Expresné načítanie)

1. Prejdite na priečinok ExpressLoad (Expresné načítanie) a otvorte ho.
2. Skontrolujte súbory protokolu (.pcri) v priečinku.
3. Vykonaajte jednu z nasledujúcich činností:
 - Odstránením protokolov z priečinka ich odstráňte z rozbaľovacieho zoznamu.
 - Skopírovaním protokolov do priečinka ich pridajte do rozbaľovacieho zoznamu.

Karta Plate (Platnička)

Poznámka: Ak protokol zvolený na karte Protocol (Protokol) neobsahuje krok čítania platničky pre analýzu PCR v reálnom čase, karta Plate (Platnička) je skrytá. Ak chcete zobrazíť kartu Plate (Platnička), pridajte do protokolu aspoň jedno čítanie platničky.

Karta Plate (Platnička) zobrazuje náhľad súboru platničky, ktorú chcete načítať. V cykle PCR v reálnom čase súbor platničky obsahuje opis obsahu každej jamky vrátane jeho fluoroforov, režimu skenovania a typu platničky. CFX Manager Dx software používa tieto opisy na zber a analýzu údajov.



Softvér predvolene zobrazuje platničku definovanú v časti File Selection for Run Setup (Výber súboru pre nastavenie chodu) na karte Files (Súbory) v dialógovom okne User (Používateľ) > User Preferences (Používateľské preferencie). Predvolenú platničku môžete zmeniť v dialógovom okne User Preferences (Používateľské preferencie). Viac informácií uvádza časť [Zmena predvolených nastavení súborov na strane 66](#).

Na karte Plate (Platnička) môžete:

- Vytvoriť novú platničku na načítanie.
- Vybrať existujúcu platničku na načítanie alebo úpravu.

Viac informácií o vytváraní a úprave platničiek uvádza [Kapitola 7, Príprava platničiek](#).

Vytvorenie novej platničky

1. Na karte Plate (Platnička) kliknite na položku Create New (Vytvoriť nový).
Objaví sa Plate Editor (Editor platničky).
2. Použite Plate Editor (Editor platničky) na vytvorenie nového súboru.
3. Kliknutím na tlačidlo OK uložte platničku a vráťte sa na kartu Plate (Platnička) v položke Run Setup (Nastavenie chodu).
4. Pozrite si podrobnosti platničky a vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak sú údaje správne, kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Start Run (Spustiť chod).
 - Ak sú údaje nesprávne, kliknutím na položku Edit Selected (Upraviť vybrané položky) sa vráťte do Plate Editor (Editor platničky). Upravte súbor platničky, uložte zmeny a následne kliknutím na položku Next (Ďalej) na karte Plate (Platnička) pokračujte na kartu Start Run (Spustiť chod).

Ak chcete vybrať existujúci súbor platničky

1. Na karte Plate (Platnička) vykonajte jedno z nasledujúcich:
 - Kliknite na položku Select Existing (Vybrať existujúci) a prejdite na existujúci súbor platničky.
 - Kliknite na položku Express Load (Expresné načítanie) a vyberte súbor platničky z rozbaľovacieho zoznamu.

Tip: Platničky môžete pridať alebo odstrániť z rozbaľovacieho zoznamu Express Load (Expresné načítanie). Viac informácií uvádza nasledujúca časť [Pridávanie a odstraňovanie súborov expresného načítania platničky](#).
2. Pozrite si podrobnosti platničky a vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak sú údaje správne, kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Start Run (Spustiť chod).
 - Ak sú údaje nesprávne, kliknutím na položku Edit Selected (Upraviť vybrané položky) otvorte aplikáciu Plate Editor (Editor platničky). Upravte súbor platničky, uložte zmeny a následne kliknutím na položku Next (Ďalej) pokračujte na kartu Start Run (Spustiť chod).

Pridávanie a odstraňovanie súborov expresného načítania platničky

Môžete meniť obsah rozbaľovacieho zoznamu Express Load (Expresné načítanie), ktorý sa zobrazí v položke Plate Editor (Editor platničky). Platničky, ktoré sa zobrazujú v tomto zozname, sú uložené v nasledujúcom priečinku:

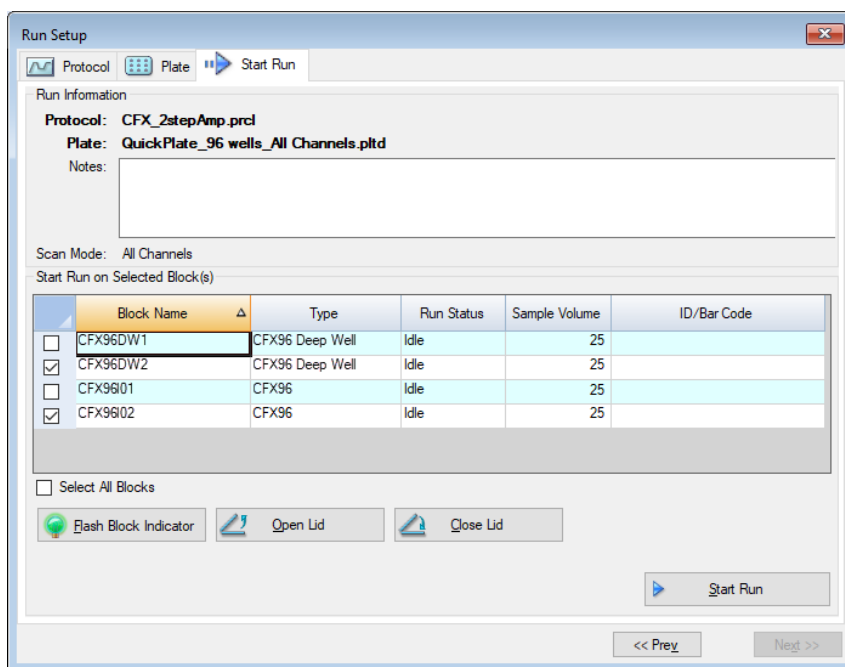
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\

Na úpravu zoznamu súborov platničky Express Load (Expresné načítanie)

1. Prejdite na priečinok ExpressLoad (Expresné načítanie) a otvorte ho.
2. Skontrolujte súbory platničky (.pltd) v priečinku.
3. Vykonaňte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Odstránením súborov platničky z priečinka ich odstránite z rozbaľovacieho zoznamu.
 - Skopírovaním súborov platničky do priečinka ich pridáte do rozbaľovacieho zoznamu.

Karta Start Run (Spustiť chod)

Karta Start Run (Spustiť chod) zobrazuje informácie o experimente, ktorý sa má spustiť. Zobrazuje tiež pripojený blok alebo bloky prístrojov, na ktorých môžete experiment spustiť.



Na karte Start Run (Spustiť chod) môžete vykonať nasledujúce:

- Zobrazenie podrobných informácií o spustení vrátane vybraného súboru protokolu, súboru platničky a režimu skenovania.
- Pridajte poznámky o chode.
- Pozrite si podrobnosti o všetkých pripojených prístrojoch, vrátane ich prevádzkového stavu (bežiaci alebo nečinný), objemu vzorky v μl , teploty veka, režimu emulácie a ID alebo čiarových kódov, ak sú k dispozícii.

Poznámka: Stĺpce, ktoré sa zobrazia v tabuľke Start Run on Selected Blocks (Spustiť chod na zvolených blokoch), môžete upraviť. Viac informácií uvádza časť [Úprava podrobností v tabuľke Selected Blocks \(Vybrané bloky\) na strane 157](#).

- Vyberte blok alebo bloky, na ktorých sa má vykonať chod.
- Vzdialene otvorte alebo zatvorte veko každého vybraného prístroja.
- Spustite chod.

Úprava podrobností v tabuľke Selected Blocks (Vybrané bloky)

Stĺpce, ktoré sa zobrazia v tabuľke Start Run on Selected Block(s) (Spustiť chod na zvolených blokoch) môžete upraviť. Môžete tiež zmeniť predvolené hodnoty objemu vzorky a teploty veka v tabuľke. Zmeny nastavenia sa aplikujú na chod, ktorý sa má vykonať.

Pridanie stĺpcov do tabuľky Start Run on Selected Blocks (Spustiť chod na zvolených blokoch)

- ▶ Kliknite pravým tlačidlom myši na tabuľku a v zobrazenej ponuke vyberte možnosť.

Odstránenie stĺpcov v tabuľke Start Run on Selected Blocks (Spustiť chod na zvolených blokoch)

- ▶ Kliknite pravým tlačidlom myši na tabuľku a zrušte voľbu v zobrazenej ponuke.

Úprava objemu vzorky alebo teploty veka pre blok

- ▶ Vyberte bunku objemu vzorky alebo teploty veka pre cieľový blok a do bunky zadajte novú hodnotu.

Pridanie ID chodu alebo čiarového kódu pre blok

- ▶ Vyberte bunku ID/Bar Code (ID/čiarový kód) pre cieľový blok a zadajte ID alebo naskenujte blok pomocou čítačky čiarových kódov.

Spustenie experimentu

Dôležité upozornenie: Pred spustením experimentu sa uistite, že antivírusový softvér vášho počítača počas chodu nespustí skenovanie.

Ak chcete spustiť experiment

1. Na karte Start Run (Spustiť chod) v časti Run Information (Informácie o chode) skontrolujte podrobnosti platničky a protokolu.
2. (Voliteľné) Pridajte poznámky o chode alebo experimente do textového poľa Notes (Poznámky).
3. Začiarknite začiarkavacie políčko jedného alebo viacerých blokov, na ktorých sa má vykonať chod.

Tip: Ak chcete spustiť experiment na všetkých blokoch, vyberte položku Select All Blocks (Vybrať všetky bloky), ktorá sa nachádza pod tabuľkou Selected Blocks (Vybrané bloky).

4. (Voliteľné) Kliknutím na položku Flash Block Indicator (Indikátor blikania bloku) aktivujete LED indikátor na vybraných blokoch prístroja.

5. Vložte platničky experimentu do bloku:
 - a. Kliknite na položku Open Lid (Otvoriť veko). Otvorí sa motorizované veko jednotlivých vybraných blokov.
 - b. Vložte blok experimentu do každého vybraného bloku.
 - c. Kliknite na položku Close Lid (Zatvoriť veko).

Tip: Ak chcete otvoriť a zatvoriť veko, môžete tiež stlačiť tlačidlo na prednej strane každého bloku.
6. Kliknutím na položku Open Lid (Otvoriť veko) a Close Lid (Zatvoriť veko) otvoríte a zatvoríte motorizované veko vybraného bloku prístroja.
7. Pozrite si údaje chodu a vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Ak sú údaje správne, kliknite na položku Start Run (Spustiť chod).
 - Ak sú údaje nesprávne:
 - Upravte údaje v tabuľke Selected Blocks (Vybrané bloky) a kliknite na položku Start Run (Spustiť chod).
 - Vráťte sa na správnu kartu a vykonajte príslušné zmeny, uložte zmeny a následne sa kliknutím na položku Next (Ďalej) vráťte na kartu Start Run (Spustiť chod) a spustíte chod.

Ak chcete spustiť nový chod z predchádzajúceho chodu

- ▶ Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - V hlavnej ponuke softvéru vyberte položku File (Súbor) > Repeat a Run (Zopakovať chod), prejdite na dátový súbor chodu, ktorý chcete zopakovať, a dvakrát naň kliknite.
 - Vyberte kartu Repeat Run (Zopakovať chod) v aplikácii Startup Wizard (Sprievodca spustením) a dvakrát kliknite na dátový súbor chodu, ktorý chcete zopakovať.

Na karte Repeat Run (Zopakovať chod) môžete voľiteľne kliknúť na položku Browse (Prehliadať), prejsť na dátový súbor chodu, ktorý chcete zopakovať, a dvakrát naň kliknúť.

Dialógové okno Run Details (Podrobnosti chodu)

Po kliknutí na položku Start Run (Spustiť chod) softvér CFX Manager Dx software vyzve na uloženie údajového súboru (.pcrd), spustí chod a otvorí dialógové okno Run Details (Podrobnosti chodu).

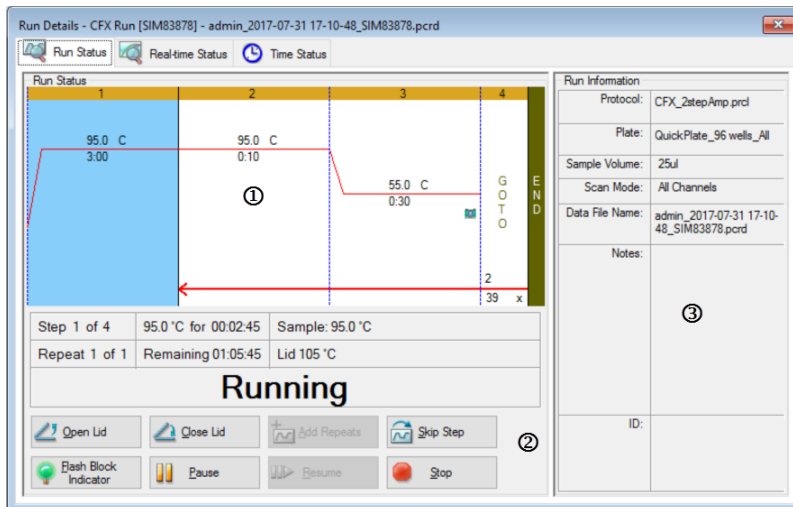
Dialógové okno Run Details (Podrobnosti chodu) obsahuje tri stavové karty:

- **Run Status** (Stav chodu) — táto karta slúži na zobrazenie aktuálneho stavu protokolu, otvorenie alebo zatvorenie veka, pozastavenie chodu, pridanie opakovaní, preskočenie krokov alebo zastavenie chodu.
- **Real-time Status** (Stav v reálnom čase) — táto karta slúži na zobrazenie fluorescenčných dát PCR v reálnom čase pri ich zhromažďovaní.
- **Time Status** (Stav času) — táto karta slúži na zobrazenie časovača odpočítavania protokolu v režime na celú obrazovku.

Tieto karty sú podrobne vysvetlené v nasledujúcich častiach.

Karta Run Status (Stav chodu)

Karta Run Status (Stav chodu) zobrazuje aktuálny stav chodu, ktorý prebieha. V tomto zobrazení môžete tiež ovládať veko a meniť prebiehajúci chod.



LEGENDA

1. Panel Run Status (Stav chodu) — zobrazuje aktuálny priebeh protokolu.
2. Ovládače Run Status (Stav chodu) — umožnia ovládať prístroj alebo prerušiť aktuálny protokol.
3. Panel Run Information (Informácie o chode) — zobrazí podrobnosti chodu.

Príkazy Run Status (Stav chodu)

Použite príkazy na karte Run Status (Stav chodu), aby ste buď ovládali prístroj zo softvéru, alebo zmenili prebiehajúci chod.

Poznámka: Vykonávanie zmien v protokole počas chodu, ako napríklad pridávanie opakovaní, nemení súbor protokolu, ktorý je priradený k chodu. Tieto akcie sa zaznamenávajú do Run Log (Denník chodu).



— otvorí motorizované veko na vybraných prístrojoch.

Dôležité upozornenie: Otvorenie veka počas chodu pozastaví chod počas aktuálneho kroku a môže zmeniť údaje.



— zatvorí motorizované veko na vybraných prístrojoch.



— pridáva viac opakovaní k aktuálnemu kroku GOTO v protokole. Táto možnosť je k dispozícii, len ak je spustený krok GOTO.



— preskočí aktuálny krok v protokole.

Poznámka: Ak preskočíte krok GOTO, softvér vás vyzve, aby ste potvrdili, že chcete preskočiť celý chod GOTO a prejsť na ďalší krok v protokole.



— na zvolenom prístroji bliká LED na identifikáciu vybraných blokov.



— pozastaví protokol.

Poznámka: Táto akcie je zaznamenaná do Run Log (Denník chodu).



— obnoví pozastavený protokol.

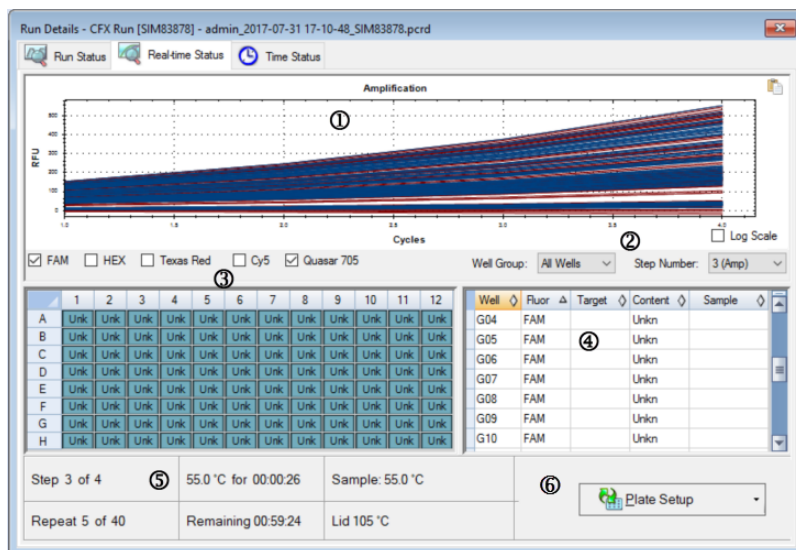


— zastaví chod pred ukončením protokolu.

Poznámka: Zastavenie chodu pred ukončením protokolu môže zmeniť vaše údaje.

Karta Real-time Status (Stav v reálnom čase)

Karta Real-time Status (Stav v reálnom čase) zobrazuje dáta PCR v reálnom čase zozbierané v každom cykle počas chodu počas prvých dvoch meraní platničky.



LEGENDA

1. Tabla krivky amplifikácie — zobrazuje údaje o amplifikácii v reálnom čase počas chodu.

2. Identifikátor skupiny jamiek — ak sa počas nastavenia platničky identifikovali skupiny jamiek, používateľi si môžu vybrať konkrétnu skupinu jamiek, aby zobrazili príslušné stopy, jamky a tabuľkové informácie.
 Identifikátor čísla kroku — ak protokol zhromažďuje údaje vo viac ako jednom kroku (napríklad počas amplifikácie a krivky tavenia), používateľi si môžu vybrať konkrétny krok a zobrazíť stopy zhromaždené v tomto kroku.

3. Panel selektora jamiek — zobrazuje aktívne, neaktívne a prázdne jamky v platničke.

4. Panel s tabuľkou nastavenia platničky — zobrazuje nastavenie platničky v tabuľkovom formáte.

5. Panel s podrobnosťami o chode — zobrazuje stav chodu v reálnom čase vrátane nasledujúcich informácií:
 - Aktuálny krok
 - Aktuálne opakovanie
 - Aktuálna teplota
 - Zostávajúci čas
 - Teplota vzorky
 - Teplota veka

6. Plate Setup (Nastavenie platničky) — otvorí dialógové okno Plate Setup (Nastavenie platničky), v ktorom používatelia môžu upraviť aktuálne nastavenie platničky počas chodu.

Na karte Real-time Status (Stav v reálnom čase) môžete:

- Zobrazit' alebo skryt' stopy v reálnom čase tak, že ich vyberiete v paneli selektora jamiek alebo nastavení platničky.
- Zobrazit' samostatné jamky, stopy alebo ich skupiny tak, že ich vyberiete v rozbaľovacej ponuke skupiny jamiek.
- Upraviť platničku alebo nahradiť súbor platničky.
- Použiť súbor PrimePCR v chode.

Zobrazit' alebo skryt' stopy v reálnom čase

Predvolene sú všetky naplnené jamky aktívne a zobrazia sa v tabuľke nastavenia platničky. Aktívne jamky sa zobrazia v paneli selektora jamiek. Skryté jamky sa javia ako svetlosivé a nepoužité jamky sa v paneli selektora jamiek javia ako tmavosivé.

Počas chodu môžete skryt' stopy z aktívnych jamiek. CFX Manager Dx naďalej zhromažďuje údaje pre všetky jamky; keď skryjete jamky, ich údaje sa nezobrazia v tabuľke nastavenia platničky.

Skryt' stopy v reálnom čase

- ▶ V paneli selektora jamiek kliknite na aktívne (modré) jamky, ktoré chcete skryt'.

Ak chcete zobrazit' stopy v reálnom čase

- ▶ V paneli selektora jamiek kliknite na skryté (svetlosivé) jamky, ktoré chcete zobrazit'.

Viac informácií o selektore jamiek uvádza [Selektor jamiek na strane 180](#).

Upravenie nastavenia platničky

Ak chcete upraviť nastavenie platničky

- ▶ Kliknite na položku Plate Setup (Nastavenie platničky) a následne vyberte položku View/Edit Plate (Zobraziť/upraviť platničku).

Zobrazí sa okno Plate Editor (Editor platničky), v ktorom môžete upraviť platničku počas chodu. Viac informácií o úprave platničiek uvádza [Kapitola 7, Príprava platničiek](#).

Poznámka: V okne Plate Editor (Editor platničky) môžete upraviť aj štýly grafov. Zmeny sa zobrazia na grafe amplifikácie na karte Real-time Status (Stav v reálnom čase).

Nahradenie súboru platničky

Tip: Nahradenie súboru platničky je užitočné najmä v prípade, ak spustíte chod so súborom Quick Plate (Rýchla platnička) v priečinku ExpressLoad (Expresné načítanie).

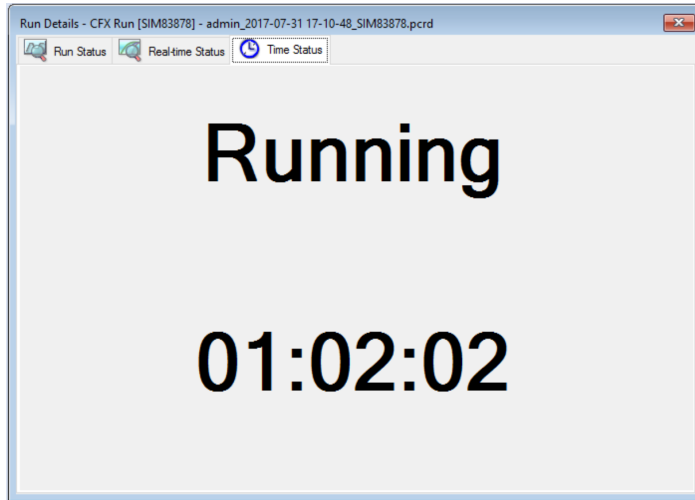
Ak chcete nahradiť súbor platničky

- ▶ Kliknite na položku Plate Setup (Nastavenie platničky) a následne vyberte jednu z nasledujúcich možností:
 - Replace Plate file (Nahradiť súbor platničky) — vyberte nový súbor platničky zo zoznamu v okne prehliadača
 - Apply PrimePCR file (Použiť súbor PrimePCR) — pomocou inteligentného vyhľadávania vyhľadajte súbor chodu, z ktorého sa získa rozloženie platničky, alebo kliknutím na položku Browse (Prehľadávať) nájdite súbor, ktorý ste si prevzali z webovej lokality Bio-Rad a ktorý sa nenachádza v priečinku PrimePCR

Poznámka: Systém CFX Manager Dx skontroluje režim skenovania a veľkosť platničky pre súbor platničky. Musia byť rovnaké ako nastavenia chodu, s ktorými sa chod spustil.

Karta Time Status (Stav času)

Karta Time Status (Stav času) zobrazuje čas, ktorý zostáva do dokončenia aktuálnej analýzy.



Vykonanie experimentov PrimePCR

Experimenty PrimePCR využívajú cesty alebo testy špecifické pre jednotlivé ochorenia, ktoré Bio-Rad má validované a optimalizované v experimentálnom laboratóriu a sú dostupné v nasledujúcich formátoch:

- Predplatničkované panely — platničky obsahujúce testy, ktoré sú špecifické pre biologickú cestu alebo ochorenie; zahŕňajú PrimePCR kontroly a referenčné gény
- Vlastné konfigurované platničky — platničky, ktoré možno nastaviť v používateľsky definovanom rozložení s možnosťou výberu testov pre ciele záujmu, ovládacie prvky a referencie
- Jednotlivé testy — skúmavky, ktoré obsahujú jednotlivé sety primérov na použitie reakcií v reálnom čase

Ak chcete skrátiť celkový čas chodu, môžete krok tavenia v protokole odstrániť. Spoločnosť Bio-Rad dôrazne odporúča, aby ste nevykonávali žiadne ďalšie úpravy protokolu chodu PrimePCR. Predvolený protokol je protokol, ktorý sa použil na validáciu testu. Každá odchýlka od neho môže ovplyvniť výsledky. Zmeny protokolu sa zaznamenávajú na karte Run Information (Informácie o chode) výsledného dátového súboru a vo všetkých vytvorených správach.

Na spustenie chodu PrimePCR

- ▶ Na spustenie chodu PrimePCR vykonajte ktorékofvek z nasledujúcich:
 - V Startup Wizard (Sprievodca spustením) zvolte PrimePCR na karte Run Setup (Nastavenie chodu) a potom vyberte príslušnú chémiu (SYBER alebo sondu).
 - Vyberte PrimePCR spustite zo zoznamu Recent Runs (Nedávne chody) na karte Repeat Run (Opakovať chod) v Startup Wizard (Sprievodca spustením).
 - Zvolte File (Súbor) > New (Nový) > PrimePCR Run (Chod PrimePCR) v okne Home (Domovské okno).
 - Zvolte File (Súbor) > Open (Otvoriť) > PrimePCR Run (Chod PrimePCR) v okne Home (Domovské okno).
 - Presuňte súbor chodu PrimePCR do okna Home (Domovské okno).

Po zvolení chodu PrimePCR okno Run Setup (Nastavenie chodu) otvorí tabuľku Start Run (Spustiť chod) s predvoleným rozložením platničky PrimePCR načítaným na základe zvoleného prístroja.

Odstránenie kroku tavenia v protokole

- ▶ Na karte Protocol (Protokol) zrušte začiarknutie políčka vedľa Include Melt Step (Zahrnúť krok tavenia).

Na importovanie informácie o celi pre platničky PrimePCR do rozloženia platničky

1. Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Na karte Real-time Status (Stav v reálnom čase) v dialógovom okne Run Details (Podrobnosti chodu) zvolíte Plate Setup (Nastavenie platničky) > Apply PrimePCR File (Použiť súbor PrimePCR).
 - V okne Data Analysis (Analýza dát) vyberte Plate Setup (Nastavenie platničky) > Apply PrimePCR File (Použiť súbor Prime PCR).
 2. V dialógovom okne PrimePCR kliknite na Browse (Prehliadať) a prejdite na príslušný súbor PrimePCR (.csv).
 3. Vyberte cieľový súbor PrimePCR a kliknite na položku Open (Otvoriť).
- CFX Manager Dx importuje cieľové informácie do rozloženia platničky.

Kapitola 9 Prehľad analýzy dát

CFX Manager Dx ponúka niekoľko spôsobov otvárania a zobrazovania dátových súborov. Môžete:

- Zvoľte File (Súbor) > Open (Otvoriť) > Data File (Dátový Súbor) v okne Home (Domovské okno) a vyhľadajte cieľový súbor .pcrd.
- Zvoľte File (Súbor) > Recent Data Files (Nedávne dátové súbory) v okne Home (Domovské okno) na výber zo zoznamu desiatich naposledy otvorených dátových súborov.

Okno Data Analysis (Analýza dát)

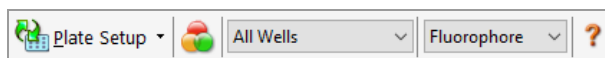
Okno Data Analysis (Analýza dát) zobrazuje niekoľko kariet. Každá karta zobrazuje analyzované dáta pre konkrétnu metódu analýzy alebo informácie pre konkrétny chod. Karty sa zobrazia iba v prípade, ak sú pre daný typ analýzy k dispozícii dáta zhromaždené počas chodu.



Tip: Ak chcete vybrať karty, ktoré sa majú zobraziť, vyberte ich v rozbaľovacej ponuke View (Zobraziť) v okne Data Analysis (Analýza dát). Ak sa chcete vrátiť k pôvodnému rozloženiu karty, vyberte položku Settings (Nastavenia) > Restore Default Window Layout (Obnoviť predvolené rozloženie okna).

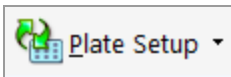

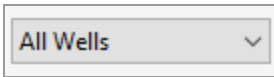
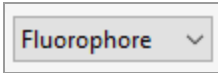

Panel nástrojov analýzy dát

Panel nástrojov v okne Data Analysis (Analýza dát) poskytuje rýchly prístup k dôležitým funkciám analýzy dát.



Tabuľka 15 uvádza zoznam funkcií tlačidiel v paneli nástrojov.

Tabuľka 15. Panel nástrojov okna Data Analysis (Analýza dát)

Tlačidlo	Názov	Funkcia
	Nastavenie platničky	View/Edit plate (Zobraziť/upraviť platničku): otvorí aplikáciu Plate Editor (Editor platničky) na zobrazenie a úpravu obsahu jamiek. Nahradiť súbor platničky: vyberie súbor platničky na nahradenie rozloženia platničky. Použiť súbor PrimePCR: vyberie súbor chodu na nahradenie rozloženia platničky pre chod PrimePCR.
	Správa skupín jamiek	Otvorí okno Well Groups Manager (Správca skupín jamiek) na vytvorenie, úpravu a odstránenie skupín jamiek.
	Skupina jamiek	Vyberie názov existujúcej skupiny jamiek z rozbaľovacej ponuky. Predvolene je vybratá položka All Wells (Všetky jamky). Toto tlačidlo sa zobrazí len vtedy, keď sú vytvorené skupiny jamiek.
	Režim analýzy	Analyzuje dáta v režime Fluorophore (Fluorofor) alebo Target (Cieľ).
	Pomocník	Otvorí digitálnu kópiu tejto príručky vo formáte Acrobat PDF.

Panel menu s analýzou dát

Tabuľka 16 zobrazí položky panela menu v okne Data Analysis (Analýza dát).

Tabuľka 16. Okno položiek panela menu Data Analysis (Analýza dát)

Položka menu	Príkaz	Funkcia
File (Súbor)	Save (Uložiť)	Uloží súbor.
	Save As (Uložiť ako)	Uloží súbor s novým menom.
	Repeat Run (Zopakovať chod)	Vyberie súbor protokolu a platničky z aktuálneho chodu, aby ho znova spustil.
	Close (Zatvoriť)	Zatvorí okno Data Analysis (Analýza dát).
View (Zobraziť)	Run Log (Denník chodu)	Otvorí okno Run Log (Denník chodu) zobrazenie denníka chodu aktuálnych dát súboru.
	Quantification, Melt Curve, Gene Expression, End Point, Custom Data View, QC, Run Information (Kvantifikácia, Krivka tavenia, Expresia génu, Koncový bod, Vlastné zobrazenie údajov, QC, Informácie o chode)	Zobrazuje analyzované dáta vo vybraných kartách v okne Data Analysis (Analýza dát) Musí byť vybratá aspoň jedna karta.
Settings (Nastavenia)	Determination Mode C_q (Režim určovania)	Zvoľte režim Regression (Regresia) alebo Single Threshold (Jedna prahová hodnota) na určenie, ako sú hodnoty C_q počítané pre každú stopu.
	Baseline Setting (Základné nastavenie)	Zvoľte metódu Baseline Subtraction (Odčítanie základnej hodnoty) pre zvolené skupiny jamiek.
	Analysis Mode (Režim analýzy)	Zvoľte pre analýzu údajov pomocou Fluorofor (Fluorofor) alebo Target (Cieľ).

Tabuľka 16. Okno položiek panela menu Data Analysis (Analýza dát), pokračovanie

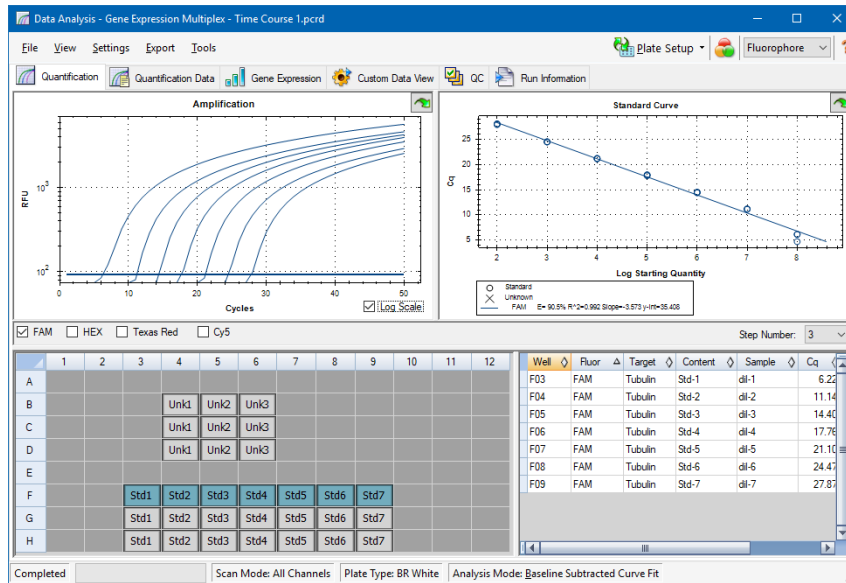
Položka menu	Príkaz	Funkcia
	Cycles to Analyze (Cykly na analýzu)	Zvoľte cykly, ktoré sa majú analyzovať.
	Baseline Threshold (Základné prahové hodnoty)	Otvorí okno Baseline Threshold (Základné prahové hodnoty) na úpravu základnej hodnoty alebo prahovej hodnoty.
	Trace Styles (Štýly stôp)	Otvorí okno Trace Styles (Štýly stôp).
	Plate Setup (Nastavenie platničky)	Otvorí Plate Editor (Editor platničky) pre zobrazenie a úpravu platničky; výmenu aktuálnej platničky za jeden z používateľsky definovaných súborov platničky alebo súbor chodu PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Zahrnúť všetky vylúčené jamky)	Zahŕňa všetky vylúčené jamky v analýze.
	Mouse Highlighting (Zvýraznenie myši)	Zapne alebo vypne súčasné zvýraznenie údajov pomocou kurzora myši. Tip: Ak je Mouse Highlighting (Zvýraznenie myši) vypnuté, stlačte kláves Control na dočasné zapnutie zvýraznenia.
	Restore Default Window Layout (Obnoviť predvolené rozloženie okna)	Obnoví usporiadanie okien na predvolené nastavenie.

Tabuľka 16. Okno položiek panela menu Data Analysis (Analýza dát), pokračovanie

Položka menu	Príkaz	Funkcia
Export (Exportovať)	Export All Data Sheets to Excel (Exportovať všetky karty údajov do programu Excel)	Exportuje všetky zobrazenia tabuľky z každej karty do samostatného súboru Excel.
	Custom Export (Vlastný export)	Otvorí okno Custom Export (Vlastný export), v ktorom sa môžu zadávať polia, ktoré sa majú exportovať a formát súboru.
	Export to LIMS Folder (Export do priečinka LIMS)	Otvorí okno na uloženie údajov v preddefinovanom formáte do priečinka LIMS.
	Seegene Export (Export Seegene)	Otvorí okno na identifikáciu umiestnenia, do ktorého sa ukladajú údaje zo všetkých zobrazených tabuľkových procesorov do súborov Excel štruktúrovaných špeciálne na použitie spoločnosťou Seegene, Inc.
Tools (Nástroje)	Reports (Správy)	Otvorí Správu pre tento dátový súbor.
	Well Group Reports (Správy o skupinách jamiek)	Otvorí okno Well Group Report (Správy o skupinách jamiek) pre generovanie reportov pre zadané skupiny jamiek.
	Import Fluorophore Calibration (Importovať kalibráciu fluoroforu)	Zvoľte kalibračný súbor, ktorý sa má aplikovať na aktuálny dátový súbor.
	qbase+	Spustí qbase + v2.5 priamo z aktuálneho .pcrd súboru, ak je nainštalovaný.

Podrobnosti karty

Každá karta v okne Data Analysis (Analýza dát) zobrazuje údaje v grafoch a tabuľkových procesoroch pre konkrétnu metódu analýzy a obsahuje selektor jamiek na výber údajov, ktoré chcete zobraziť. Keď sa otvorí Data Analysis (Analýza dát) zobrazí kartu Quantification (Kvantifikácia), ako bolo predvolené. Údaje z grafu Amplification (Amplifikácia) môžete použiť na karte Quantification (Kvantifikácia), aby ste určili vhodné nastavenia analýzy pre daný chod.



Poznámka: Softvér spája údaje v paneloch každej karty Data Analysis (Analýza dát). Napríklad zvýraznenie jamky umiestnením kurzora myši na jamku v zobrazení selektora zvýrazní údaje vo všetkých ostatných paneloch.

Selektor Step Number (Číslo kroku)

Systémy CFX96 a CFX96 Deep Well môžu získavať fluorescenčné dáta vo viacerých krokoch protokolu; softvér nezávisle uchováva údaje získané v každom kroku. Softvér zobrazuje výber položky Step Number (Číslo kroku). Ak protokol obsahuje aspoň jeden krok získavania údajov, CFX Manager Dx software zobrazí údaje z prvého kroku získavania.

Ak protokol obsahuje viac ako jeden krok získavania, z rozbaľovacieho zoznamu môžete vybrať ďalší krok, napríklad:

Step Number: ▼

Keď vyberiete krok, softvér použije tento výber na všetky údaje, ktoré sa zobrazujú v okne Data Analysis (Analýza dát).

Zobrazenie skupín jamiek v analýze dát

Jamky v platničke môžete zoskupiť do podskupín pre nezávislú analýzu pomocou skupín jamiek. Keď vytvoríte skupiny jamiek, ich názvy skupín sa zobrazia v okne Data Analysis (Analýza dát) rozbaľovacieho zoznamu Well Groups (Skupiny jamiek) v paneli nástrojov.

Ak ste vytvorili skupiny jamiek, softvér zobrazí predvolenú skupinu jamiek All Wells (Všetky jamky), keď otvoríte okno Data Analysis (Analýza údajov), a zobrazí údaje vo všetkých jamkách s obsahom v grafoch a tabuľkových procesoroch. V selektore jamiek sa v danej skupine jamiek zobrazia iba jamky s vloženým obsahom a do výpočtov analýzy dát za zahrnú iba údaje týchto jamiek.

Poznámka: Ak ste nevytvorili skupiny jamiek, rozbaľovací zoznam Well Groups (Skupiny jamiek) sa nezobrazí v paneli nástrojov.

Zmena obsahu jamky po chode

Počas analýzy dát, zmena spôsobu zobrazovania údajov zmenou obsahu jamiek v Plate Editor (Editor platničky) nikdy nemení fluorescenčné údaje, ktoré boli zozbierané z každej jamky počas chodu. Po tom, ako modul zozbiera fluorescenčné údaje, nemôžete tieto údaje vymazať, ale môžete si vybrať, či chcete odstrániť údaje z prehľadu a analýzy.

Zmena obsahu jamky po chode

- ▶ V okne Data Analysis (Analýza dát) kliknite na Plate Setup (Nastavenie platničky) a vyberte jednu z nasledujúcich možností:
 - **Edit/View Plate** (Upraviť/Zobraziť platničku) — otvorí Plate Editor (Editor platničky), v ktorom môžete vykonávať manuálne zmeny rozloženia.

- **Replace Plate File** (Nahradiť súbor platničky) — otvorí prehliadač Select Plate (Vybrať platničku), v ktorom môžete prejsť na predtým uložený súbor platničky, ktorým môžete nahradiť aktuálne rozloženie platničky.
- **Apply PrimePCR File** (Použiť súbor PrimePCR) — otvorí dialógové okno súboru Select PrimePCR (Vybrať PrimePCR), v ktorom môžete prejsť na spustený súbor chodu PrimePCR a aplikovať ho na rozloženie platničky.

Tip: Môžete pridať alebo upraviť informácie o obsahu jamky pred spustením, počas chodu alebo po dokončení PCR. Režim skenovania a veľkosť platničky musíte priradiť pred spustením. Tieto parametre po spustení nie je možné zmeniť.

Nastavenia analýzy dát

Dáta grafu Amplification (Amplifikácia) na karte Quantification (Kvantifikácia) zobrazujú relatívnu fluorescenciu (RFU) pre každú jamku v každom cykle. Každá stopa v grafe predstavuje dáta z jedného fluoroforu v jednej jamke. Tieto dáta sa použijú na stanovenie hodnôt C_q pre každú jamku na základe fluoroforu. Softvér používa na určenie hodnôt C_q jeden z dvoch režimov:

- **Regression** (Regresia) — aplikuje viacrozmerný, nelineárny regresný model na jednotlivé stopy jamiek a následne tento model použije na vypočítanie hodnoty C_q .
- **Single Threshold** (Jedna prahová hodnota) — použije jednu prahovú hodnotu na výpočet hodnoty C_q na základe hraničného bodu prekríženia jednotlivých fluorescenčných stôp.

Výberom položky Settings (Nastavenia) > C_q Determination Mode (Režim určovania C_q) vyberte režim určovania C_q .

Nastavenie prahu

V režime Single Threshold (Jedna prahová hodnota) môžete nastaviť prah pre fluorofor tak, že kliknete na hraničnú čiaru v grafe Amplification (Amplifikácia) a presuniete ukazovateľ myši vertikálne. Prípadne môžete zadať presný prah prekročenia pre vybraný fluorofor.

Základné nastavenie

Softvér automaticky nastaví základnú hodnotu individuálne pre každú jamku. Nastavenie základnej hodnoty určuje spôsob základného odčítania pre všetky stopy fluorescencie. Softvér poskytuje tri možnosti odčítania základnej hodnoty:

- **No Baseline Subtraction** (Bez odčítania základnej hodnoty) — zobrazuje údaje ako relatívne fluorescenčné stopy. Niektoré analýzy nie sú možné v tomto režime analýzy, a preto softvér nezobrazuje karty Gene Expression (Expresia génu), End Point (Koncový bod) a Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia).
- **Baseline Subtracted** (Odčítaná základná hodnota) — zobrazuje údaje ako východiskové odčítané stopy pre každý fluorofor v jamke. Softvér musí odčítať údaje základnej hodnoty na určenie kvantifikačných cyklov, vytvoriť štandardné krivky a určiť koncentráciu neznámych vzoriek. Aby sa vygenerovala stopa odčítanej základnej hodnoty, softvér sa hodí najlepšie na priamu líniu cez zaznamenanú fluorescenciu každej jamky počas základných cyklov a potom odčíta najvyhovujúcejšie údaje z odčítaných údajov pozadia v každom cykle.
- **Baseline Subtracted Curve Fit** (Odčítaná základná hodnota krivky) — zobrazí údaje ako odčítané stopy základnej hodnoty a softvér vyhladí odčítanú základnú hodnotu krivky pomocou centrovaného filtra strednej hodnoty. Tento proces sa vykonáva tak, že každý C_q je ponechaný nemenný.

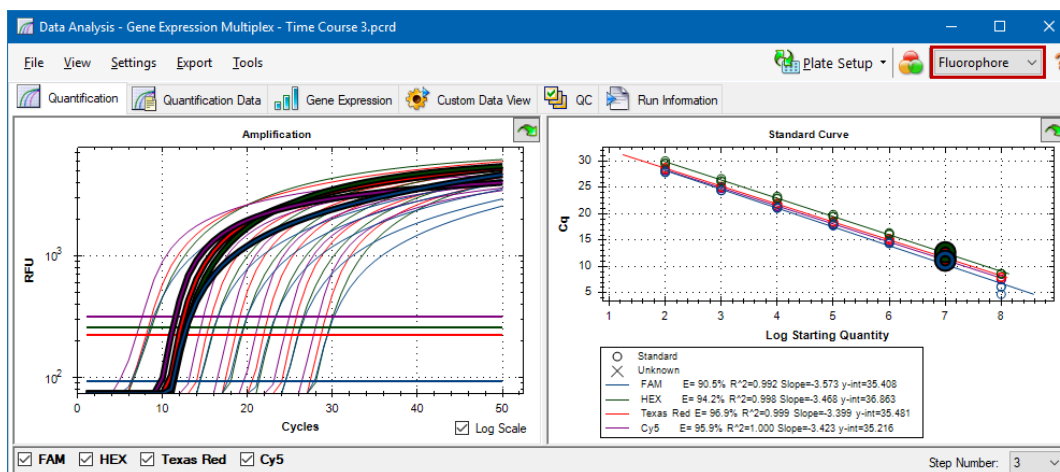
Okrem týchto možností môžete tiež zvoliť možnosť Apply Fluorescent Drift Correction (Aplikovať korekciu fluorescenčného posunu). Pre jamky, ktoré majú abnormálny posun hodnôt RFU počas počiatočných niekoľkých cyklov chodu, softvér odvodí odhadovanú základnú hodnotu z príľahlych jamiek, pre ktoré sa úspešne vytvorila horizontálna základná hodnota.

Na zmenu nastavenia odčítania základnej hodnoty

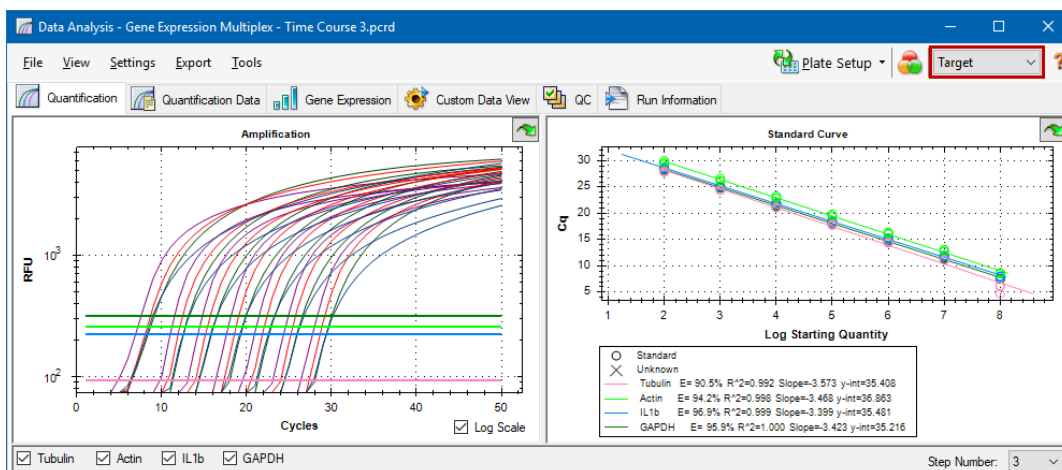
- ▶ Zvoľte Settings (Nastavenia) > Baseline Setting (Základné nastavenie).

Režim analýzy

Dáta môžete zoskupiť a analyzovať podľa fluoroforu alebo názvu cieľa. Ak sú dáta zoskupené podľa fluoroforu, stopy dát sa zobrazujú podľa fluoroforu tak, ako je uvedené v nastavení platničky pre daný chod. Jednotlivé dáta fluoroforu sa zobrazujú v grafe amplifikácie a štandardnom grafe (ak je k dispozícii), ak sú vybrané príslušné začiarkavacie políčka výberu fluoroforu, ktoré sa nachádzajú pod grafom amplifikácie.



Ak sú dáta zoskupené podľa cieľa, stopy dát sa zobrazujú podľa názvu cieľa tak, ako je uvedené v nastavení platničky pre daný chod.



Ak chcete vybrať režim analýzy dát

- ▶ Vykonať jeden z nasledujúcich krokov:
 - Vyberte položku Settings (Nastavenia) > Analysis Mode (Režim analýzy).
 - Vyberte režim z rozbaľovacej ponuky Analysis Mode (Režim analýzy) v paneli nástrojov.

Cykly na analýzu

Počet cyklov, ktoré sa majú analyzovať, môžete obmedziť. Môžete tiež analyzovať údaje zo špecifického súboru cyklov. Maximálny počet cyklov, ktoré môžete analyzovať, je 50.

Poznámka: Odstránenie cyklov zo začiatku chodu môže mať významný dopad na stanovenie základných hodnôt.

Ak chcete obmedziť analýzu dát na určitý rozsah cyklov

1. Vyberte položku Settings (Nastavenia) > Cycles to Analyze (Cykly na analýzu).
Zobrazí sa dialógové okno Cycles to Analyze (Cykly na analýzu).
2. Zadať hodnoty počiatočného a koncového cyklu a kliknite na tlačidlo OK.

Kliknutím na položku Restore Defaults (Obnoviť predvolené nastavenia) v dialógovom okne Cycles to Analyze (Cykly na analýzu) sa vrátite k cyklom pôvodne používaným na analýzu.

Selektor jamiek

Pomocou selektora jamiek môžete zobrazit' alebo skryt' údaje o jamkách v grafoch alebo tabuľkových procesoroch v okne Data Analysis (Analýza dát). V selektore jamiek je možné zvolit' len jamky načítané so vzorkou. Softvér zafarbí jamky v selektore jamiek:

- **Blue** (Modrá) — označuje vybrané jamky. Údaje z vybraných jamiek sa zobrazia v okne Data Analysis (Analýza dát).
- **Light gray** (Svetlosivá) — označuje nevybrané jamky. Údaje z nevybraných jamiek sa nezobrazia v okne Data Analysis (Analýza dát).
- **Dark gray** (Tmavosivá) — označuje prázdnu jamku.

	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			

Ak chcete zobrazit' alebo skryt' údaje jamiek

- ▶ V selektore jamiek vykonajte ktorékoľvek z nasledujúcich:
 - Na skrytie jednej jamky kliknite na jamku. Na zobrazenie danej jamky opäť kliknite na jamku.
 - Ak chcete skryt' viaceré jamky, ťahajte cez jamky, ktoré chcete vybrať. Ak chcete tieto jamky zobrazit', znova potiahnite cez jamky.

- Kliknutím na ľavý horný roh platničky skryjete všetky jamky. Ak chcete zobrazit' všetky jamky, znova kliknite na ľavý horný roh.
- Kliknutím na začiatok stĺpca alebo riadka skryjete tieto jamky. Ak chcete zobrazit' jamky, znova kliknite na stĺpec alebo riadok.

Položky pravým kliknutím myši v selektore jamiek

Tabuľka 17 zobrazuje voľby pravého kliknutia, ktoré sú k dispozícii v zobrazení selektora jamiek.

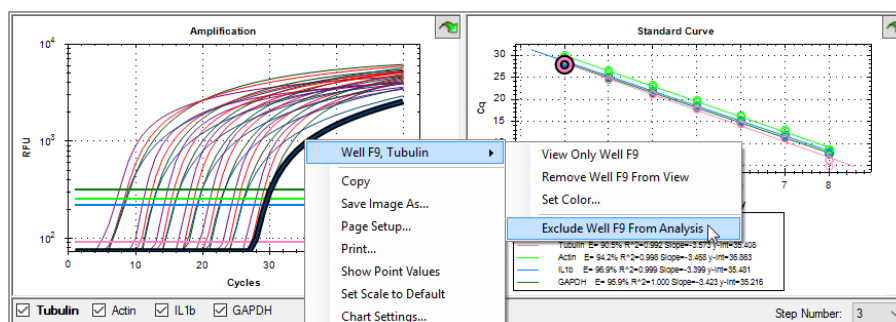
Tabuľka 17. Položky pravým kliknutím myši v selektoroch jamiek

Položka	Funkcia
Well XX (Jamka XX)	Zobrazí iba túto jamku, odstráni túto jamku zo zobrazenia, nastaví farbu tejto jamky alebo vylúči túto jamku z analýzy.
Selected Wells (Vybrané jamky) (kliknite pravým tlačidlom a potiahnite)	Zobrazí iba tieto jamky, odstráni tieto jamky zo zobrazenia, nastaví farbu týchto jamiek alebo vylúči tieto jamky z analýzy.
Copy (Kopírovať)	Skopíruje obsah jamky do schránky, vrátane typu vzorky a voliteľného čísla replikátu.
Copy as Image (Kopírovať ako obrázok)	Skopíruje zobrazenie selektora jamiek ako obrázok.
Print (Tlač)	Vytlačí zobrazenie selektora jamiek
Print Selection (Tlač vybraných položiek)	Vytlačí aktuálne vybrané položky.
Export to Excel (Export do programu Excel)	Exportuje údaje do tabuľkového procesora programu Excel.
Export to Csv (Export do formátu Csv)	Exportuje údaje ako textový dokument.
Export to Xml (Export do formátu Xml)	Exportuje údaje ako dokument vo formáte .xml.
Well Labels (Označenia jamiek)	Zmení označenia jamiek na Sample Type (Typ vzorky), Target Name (Názov cieľa) alebo Sample Name (Názov vzorky).

Jamky dočasne vylúčené z analýzy

Ak chcete dočasne vylúčiť jamky z analýzy údajov

1. Pravým tlačidlom myši kliknite na jamku v selektore jamiek. Ak chcete vylúčiť viacnásobné jamky, kliknite pravým tlačidlom myši a ťahaním zvýraznite viacnásobné jamky, stopy alebo body.
2. V menu pravého tlačidla vyberte príslušnú možnosť:
 - Well (Jamka) > Exclude Well (Vylúčiť jamku)
 - Selected Wells (Vybrané jamky) > Exclude from Analysis (Vylúčiť z analýzy)
 - Selected Traces (Vybrané stopy) > Exclude these wells from Analysis (Vylúčiť tieto jamky z analýzy)



Prípadne, aby ste z analýzy natrvalo odstránili jamky, vymažte obsah z jamiek v Plate Editor (Editor platničky) kliknutím na tlačidlo Clear Wells (Vymazať jamky).

Dôležité upozornenie: Musíte znova zadať každý obsah jamky, ktorá je vymazaná.

Na zahrnutie vylúčených jamiek

- Kliknite pravým tlačidlom myši na jamku v selektore jamiek a vyberte Well (Jamka) > Include Well in Analysis (Zahrnúť jamku do analýzy).

Grafy

Každý graf v okne Data Analysis (Analýza dát) zobrazuje údaje v inom grafe a obsahuje možnosti nastavenia a exportu údajov alebo grafiky grafov.

Bežné položky menu pre grafy, dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši

Tabuľka 18 uvádza položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši, ktoré sú dostupné na grafoch. Niektoré z dostupných položiek sú k dispozícii pre všetky grafy a tieto položky sa môžu použiť na zmenu zobrazenia dát alebo na jednoduché exportovanie dát z grafu.

Tabuľka 18. Položky menu pre grafy dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši

Položka	Funkcia
Copy (Kopírovať)	Skopíruje graf do schránky.
Save Image As (Uložiť obrázok ako)	Uloží obrázok v určenej veľkosti, rozlíšení a type súboru. Dostupné formáty obrázkov sú PNG (predvolený), JPG a BMP.
Page Setup (Nastavenie strany)	Ukážka a výber nastavenia strany pre tlač.
Print (Tlač)	Vytlačí graf.
Set Scale to Default (Nastaviť mierku na predvolenú)	Po zväčšení grafu vráti graf do predvoleného zobrazenia.
Chart Options (Možnosti grafu)	Otvorí okno Chart Options (Možnosti grafu) na zmenu grafu vrátane zmeny názvu, výberu limitov osi X a Y, zobrazenia čiar mriežky a zobrazenia malých dielikov na osiach.

Poznámka: Položky ponuky, ktoré sa vzťahujú na špecifické grafy, uvádza [Kapitola 10, Podrobnosti analýzy dát](#).

Kopírovanie údajov grafu do schránky

Obsah zobrazenia grafu môžete kopírovať a prilepiť do ľubovoľnej aplikácie, ktorá prijíma súbory bitmapových obrázkov.

Ak chcete kopírovať údaje grafu do schránky

1. Z menu grafu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši vyberte ikonu Copy (Kopírovať).
2. Otvorte aplikáciu, ktorá prijíma bitmapové obrázky, napríklad Microsoft Word.
3. Ak chcete do aplikácie vložiť bitmapový obrázok zo schránky, kliknite pravým tlačidlom myši a vyberte položku Paste (Prilepiť).

Upravenie nastavení základnej prahovej hodnoty

V režime Single Threshold (Jedna prahová hodnota) môžete nastaviť prah pre fluorofoor tak, že kliknete na hraničnú čiaru v grafe Amplification (Amplifikácia) a presuniete ukazovateľ myši vertikálne. Prípadne môžete zadať presný prah prekročenia pre vybraný fluorofoor.

Tip: Na karte Data Analysis (Analýza dát) v položke User (Používateľ) > User Preferences (Používateľské preferencie) môžete určiť rozsah cyklu na stanovenie základnej hodnoty pre všetky dátové súbory.

Úprava počiatkovej a koncovej základnej hodnoty jednotlivých jamiek

1. Na karte Quantification (Kvantifikácia) v grafe Amplification (Amplifikácia) vyberte jeden fluorofoor.
2. V ponuke grafu dostupnej po kliknutí pravým tlačidlom myši vyberte položku Baseline Threshold (Základná prahová hodnota).

Zobrazí sa dialógové okno Baseline Threshold (Základná prahová hodnota).

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

- V časti Baseline Cycles (Základné cykly) vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:

 - Ak chcete vybrať jednu jamku, kliknite na jej číslo riadka.
 - Ak chcete vybrať viacero priľahlých jamiek, kliknite na číslo riadka prvej jamky a potiahnite stĺpec nadol na konečnú jamku.
 - Ak chcete vybrať viacero nesusediacich jamiek, podržte kláves Control a kliknite na číslo riadka každej cieľovej jamky.
 - Ak chcete vybrať všetky jamky, kliknite na ľavý horný roh tabuľky.
- Upravte cyklus počiatočnej základnej hodnoty a koncovej základnej hodnoty pre všetky vybrané jamky alebo zmeňte číslo počiatočného a koncového cyklu v spodnej časti tabuľkového procesora.

Tip: Ak chcete vrátiť nastavenia späť na naposledy uložené hodnoty, kliknite na položku Reset All User Defined Values (Resetovať všetky používateľom definované hodnoty).
- Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a vráťte sa na graf.

Určenie rozsahu cyklu pre všetky dátové súbory

- ▶ V okne Home (Domovské okno) alebo Plate Editor (Editor platničky) vyberte položku User (Používateľ) > User Preferences (Používateľské preferencie) a vyberte kartu Data Analysis (Analýza dát).

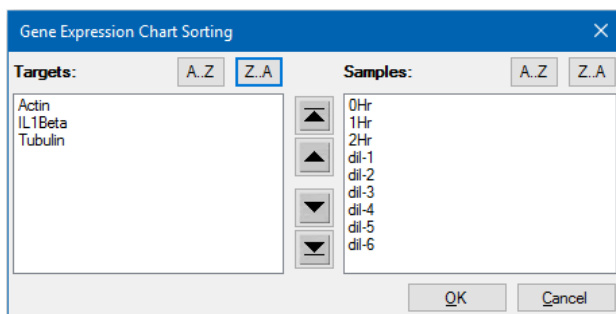
Usporiadanie údajov cieľa a vzorky

Poznámka: Táto možnosť je k dispozícii iba v grafoch expresie génu.

V predvolenom nastavení sa zoznamy Targets (Ciele) a Samples (Vzorky) zobrazujú v abecednom poradí. Pomocou dialógového okna Sort (Usporiadať) môžete usporiadať zobrazenie v opačnom abecednom poradí alebo manuálne presunúť výraz na inú pozíciu v zozname.

Ak chcete zoradiť údaje cieľa a vzorky

1. V menu grafu dostupnom po kliknutí pravým tlačidlom myši kliknite na položku Sort (Usporiadať). Zobrazí sa dialógové okno Gene Expression Chart Sorting (Usporiadanie grafu expresie génu).



2. V dialógovom okne kliknite na položku Z-A, čím zoradíte zoznam v opačnom abecednom poradí.
3. Ak chcete výraz presunúť manuálne, vyberte ho a kliknite na príslušné tlačidlo medzi grafmi:
 - Kliknutím na šípku nahor alebo nadol presuniete vybraný výraz o jednu pozíciu.
 - Kliknutím na šípku stĺpca nahor alebo nadol presuniete vybraný výraz na začiatok alebo koniec zoznamu.
4. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a vráťte sa na kartu Gene Expression (Expresia génu).

Zväčšenie oblasti v grafe

Na zväčšenie oblasti v grafe

- ▶ Kliknite a potiahnite cez graf a potom kliknite na položku Zoom* (Priblížiť). Softvér zmení veľkosť grafu a vycentruje ho na vybranú oblasť.

Poznámka: *Stĺpcový graf nevyžaduje, aby ste klikli na rozbaľovaciu ponuku Zoom (Priblížiť).

Obnovenie grafu pre plné zobrazenie

- ▶ Pravým tlačidlom myši kliknite na graf a zvolte Set Scale to Default (Nastaviť mierku na predvolenú).

Kopírovanie grafov do súboru Microsoft

Grafy dát môžete kopírovať do dokumentov programu Microsoft Word, Excel alebo PowerPoint. Rozlíšenie obrázka zodpovedá rozlíšeniu obrazovky, z ktorej sa obrázok získal.

Skopírovanie grafu do súboru Microsoft

1. V okne Data Analysis (Analýza dát) vyberte položku Copy (Kopírovať) z menu grafu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši.
2. Otvorte prázdny súbor Microsoft a vložte obsah zo schránky.



Alternatíva: Kliknite na ikonu kliknutia a ťahania a presuňte graf do súboru Microsoft.

Tabuľkové procesory

Tabuľkové procesory zobrazené v Data Analysis (Analýza dát) obsahujú možnosti usporiadania a prenosu údajov. Usporiadajte stĺpce niektorou z nasledujúcich metód:

- Kliknite a presuňte stĺpec do nového umiestnenia vo vybratej tabuľke.
- Kliknutím na hlavičku stĺpca sa údaje zoradia vzostupne alebo zostupne.

Na usporiadanie do maximálne troch stĺpcov dát v okne Sort (Usporiadať)

1. Kliknutím pravým tlačidlom myši na tabuľkový procesor a vyberiete položku Sort (Usporiadať).
2. V dialógovom okne Sort (Usporiadať) vyberte názov prvého stĺpca na usporiadanie. Zoradiť údaje vzostupne alebo zostupne.
3. Vyberte druhý alebo tretí stĺpec, ktorý chcete zoradiť, a vyberte položku Ascending (Vzostupne) alebo Descending (Zostupne).
4. Kliknutím na OK usporiadate údaje alebo kliknutím na Cancel (Zrušiť) zastavíte usporiadanie.

Zvýraznite údaje v pridružených grafoch a selektore jamiek podržaním kurzoru myši nad bunkou. Kliknutím na bunku skopírujete a prilepíte jej obsah do iného softvérového programu.

Bežné položky menu pre tabuľkové procesory, dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši

Tabuľka 19 uvádza položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši, ktoré sú dostupné na ľubovoľnom zobrazení tabuľkového procesora.

Tabuľka 19. Položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši pre tabuľkové procesory

Položka	Funkcia
Copy (Kopírovať)	Skopíruje obsah vybraných jamiek do schránky a následne vloží obsah do tabuľkového procesora, napríklad do programu Excel.
Copy as Image (Kopírovať ako obrázok)	Skopíruje zobrazený tabuľkový procesor ako súbor s obrázkom a vloží ho do súboru, ktorý prijíma súbor s obrázkom, ako je napríklad textový súbor, súbor s obrázkom alebo súbor tabuľkového procesora.
Print (Tlač)	Vytlačí aktuálne zobrazenie.

Tabuľka 19. Položky menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši pre tabuľkové procesory, pokračovanie

Položka	Funkcia
Print Selection (Tlač vybraných položiek)	Vytlačí aktuálne vybrané položky.
Export to Excel (Export do programu Excel)	Exportuje údaje do tabuľkového procesora programu Excel.
Export to CSV (Export do formátu CSV)	Exportuje čiarkami oddelené údaje do súboru (.csv).
Export to Xml (Export do formátu Xml)	Exportuje údaje do súboru vo formáte Xml.
Export to Html (Export do formátu Html)	Exportuje údaje do súboru vo formáte Html.
Find (Nájsť)	Vyhľadá text.
Sort (Usporiadať)	Usporiada údaje do maximálne troch stĺpcov.
Select Columns (Vybrať stĺpce)	Vyberie stĺpce, ktoré sa zobrazia v tabuľkovom procesore.

Exportovať

Rozbaľovacia ponuka softvéru CFX Manager Dx software ponúka štyri možnosti exportu:

- Export All Data Sheets (Exportovať všetky karty údajov do programu Excel)
- Custom Export (Vlastný export)
- Export to LIMS (Export do LIMS)
- Seegene Export (Export Seegene)

Exportovanie všetkých kariet údajov

Všetky tabuľkové procesory môžete exportovať z každej karty softvéru CFX Manager Dx software do jednotlivých súborov.

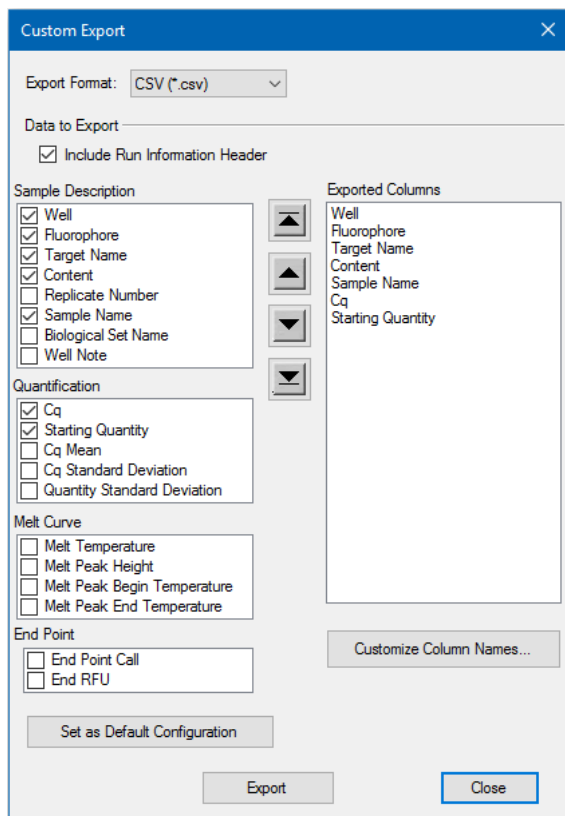
Exportovanie všetkých kariet údajov

- ▶ Zvoľte Export (Exportovať) > Export All Data Sheets (Exportovať všetky karty údajov) a potom zvoľte typ súboru, ktorý si želáte.
 - CSV (*.csv)
 - Text (*.txt)
 - Excel 2007 (*.xlsx)
 - Excel 2003 (*.xls)
 - XML (*.xml)

Vytvorenie súboru vlastného exportu

Vytvorenie súboru vlastného exportu

1. Zvoľte Export (Export) > Custom Export (Vlastný export). Objaví sa dialógové okno Custom Export (Vlastný export).



2. Z rozbaľovacieho zoznamu, ktorý sa zobrazí, vyberte formát exportu.
3. Zvoľte kontrolné značky pre položky, ktoré chcete exportovať.
4. (Voliteľné) Ak chcete zmeniť názvy stĺpcov, kliknite na položku Customize Column Names (Prispôbiť názvy stĺpcov).
5. Kliknite na Export (Exportovať). Zobrazí sa dialógové okno Save As (Uložiť ako).
6. V dialógovom okne Save As (Uložiť ako) zadajte názov súboru a umiestnenie, do ktorého sa uloží exportovaný súbor.
7. Kliknutím na tlačidlo OK uložte súbor exportu.

Export do priečinka LIMS

Dáta môžete exportovať do formátu súborov, ktorý je kompatibilný s LIMS.

Export údajov vo formáte LIMS

1. Vyberte položku Export (Exportovať) > Export to LIMS Folder (Export do priečinka LIMS).
Zobrazí sa dialógové okno Save As (Uložiť ako).
2. V dialógovom okne Save As (Uložiť ako) zadajte názov súboru a umiestnenie, do ktorého sa uloží exportovaný súbor.
3. Kliknutím na tlačidlo OK uložte súbor exportu.

Exportovanie údajov vo formáte Seegene

Údaje zo všetkých zobrazených tabuľkových procesorov môžete exportovať do súborov Excel štruktúrovaných špeciálne na použitie spoločnosťou Seegene, Inc.

Na exportovanie údajov vo formáte Seegene

1. Zvoľte Export (Exportovať) > Seegene Export.
Zobrazí sa dialógové okno Save As (Uložiť ako).
2. V dialógovom okne Save As (Uložiť ako) zadajte názov súboru a umiestnenie, do ktorého sa uložia exportované súbory Excel (.xlsx) vo formáte Seegene.
3. Kliknutím na tlačidlo OK uložte súbory exportu.

Kapitola 10 Podrobnosti analýzy dát

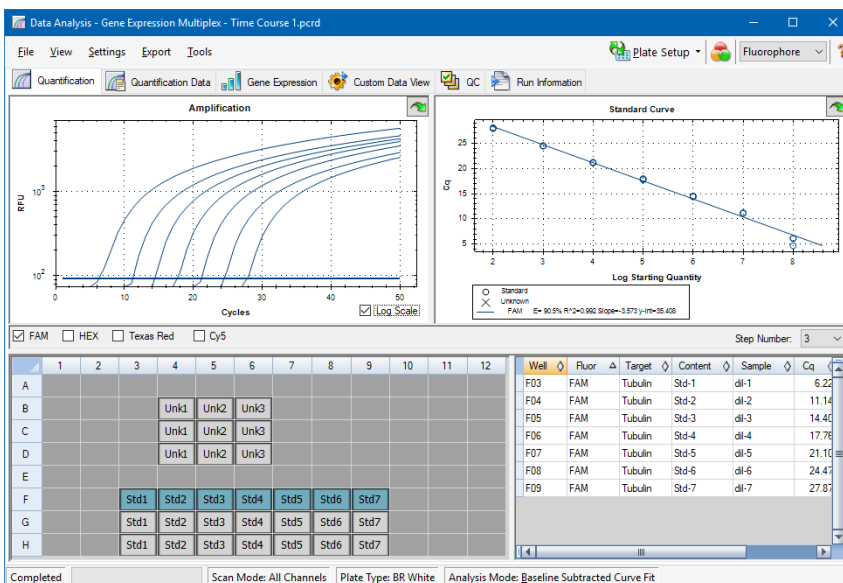
Okno Data Analysis (Analýza dát) softvéru CFX Manager Dx software obsahuje viac kariet, z ktorých sa zobrazujú údaje. Táto kapitola podrobne vysvetľuje tieto karty.

Tip: V okne Data Analysis (Analýza dát) si môžete vybrať, ktoré karty sa majú zobraziť v ponuke View (Zobraziť). Vlastné rozloženie sa uloží s dátovým súborom.

Tabuľka Quantification (Kvantifikácia)

Použite údaje na karte Quantification (Kvantifikácia) na nastavenie podmienok analýzy údajov vrátane základných nastavení pre jednotlivé jamky a nastavenia prahových hodnôt. Karta Quantification (Kvantifikácia) zobrazuje údaje v týchto štyroch zobrazeniach:

- Amplification chart (Graf amplifikácie) — zobrazí jednotky relatívnej fluorescence (RFU) pre každú jamku v každom cykle. Každá stopa v grafe predstavuje dáta z jedného fluoroforu v jednej jamke.
- Standard curve (Štandardná krivka) — sa objaví len vtedy, ak chod zahŕňa jamky označené ako štandardný typ vzorky (Std). Štandardná krivka zobrazuje prahový cyklus zakreslený v porovnaní s počiatočnou veličinou. Legenda zobrazuje účinnosť reakcie (E) pre každý fluorofor v jamkách so štandardným typom vzorky.
- Selektor jamiek — vyberie jamky s fluorescenčnými dátami, ktoré chcete zobraziť.
- Tabuľkový procesor — zobrazí tabuľkový procesor údajov zozbieraných vo vybraných jamkách.



Možnosti fluoroforu

Ak chcete zobraziť údaje fluoroforu v grafoch a tabuľkových procesoroch karty Quantification (Kvantifikácia), vyberte cieľový fluorofor(-y) pod grafom Amplification (Amplifikácia). Ak chcete skryť údaje fluoroforu v okne analýzy dát, zrušte zvolenie začiarkavacieho políčka.

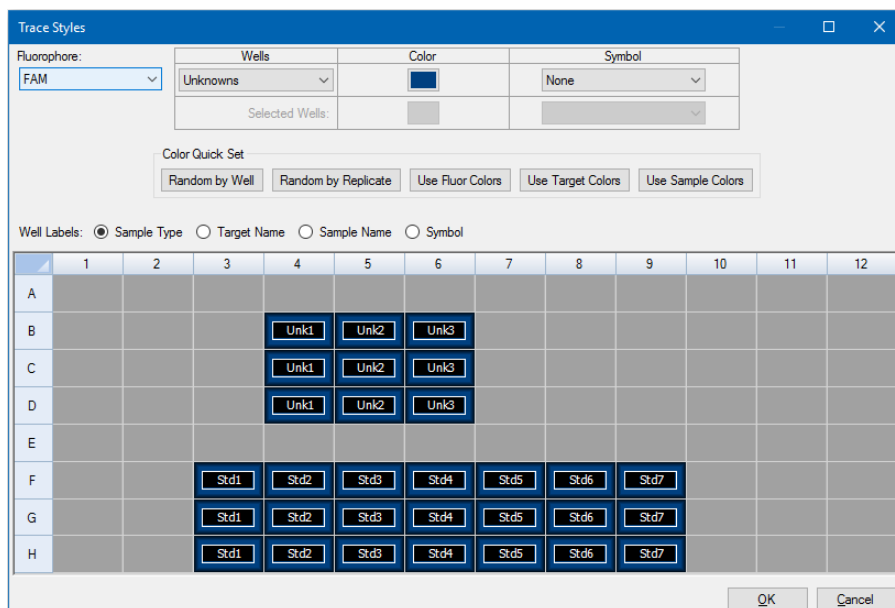
Dialógové okno Trace Styles (Štýly stôp)

Pomocou dialógového okna Trace Styles (Štýly stôp) môžete upraviť vzhľad stôp v grafoch zosilnenia a krivky tavenia na kartách Quantification (Kvantifikácia) a Melt Curve (Krivka tavenia). Potom môžete zobraziť zmeny v selektore jamiek, ktoré sa zobrazia v dialógovom okne Trace Styles (Štýly stôp).

Na úpravu štýlov stôp

1. V grafe Amplification (Amplifikácia) vyberte len jeden fluorofor.
2. Ak chcete otvoriť dialógové okno Trace Styles (Štýly stôp), vykonajte jeden z nasledujúcich krokov:
 - Kliknite na Trace Styles (Štýly stôp) v grafe Amplification (Amplifikácia).
 - Zvoľte Settings (Nastavenia) > Trace Styles (Štýly stôp) v paneli menu Data Analysis (Analýza dát).
 - Kliknite pravým tlačidlom myši na stopu a vyberte Trace Styles (Štýly stôp).

Objaví sa dialógové okno Trace Styles (Štýly stôp).



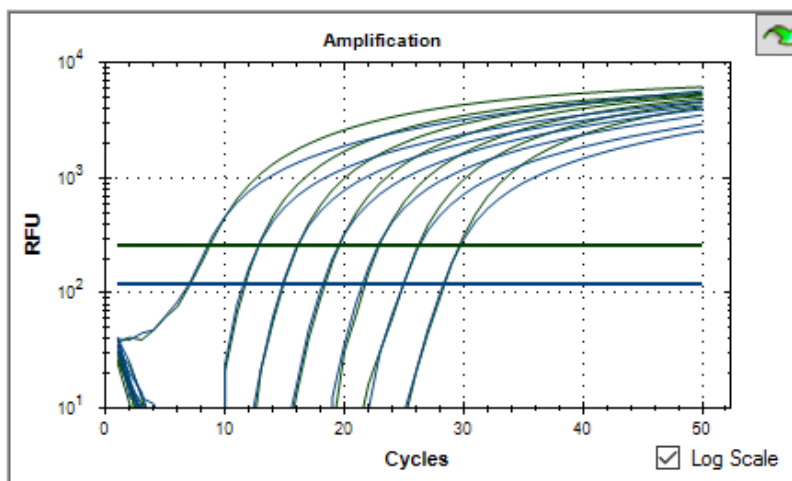
3. V dialógovom okne Trace Styles (Štýly stôp) vyberte konkrétnu množinu jamiek v selektore jamiek v dolnom paneli. Prípadne vyberte jamky, ktoré obsahujú jeden typ vzorky v rozbaľovacej ponuke v stĺpci Wells (Jamky).

4. Vykonaňte ktorékoľvek z nasledujúcich:

- Ak chcete vybrať farbu pre vybrané jamky, kliknite na políčko v stĺpci Color (Farba).
- Ak chcete priradiť symboly k vybraným jamkám, vyberte symbol z rozbaľovacieho zoznamu Symbol.
- Ak chcete rýchlo zafarbiť jamky označením tlačidla, kliknite na príslušnú rýchlu množinu:
 - Random by Well (Náhodný podľa jamky)
 - Random by Replicate (Náhodný podľa replikátu)
 - Use Fluor Colors (Použiť farby fluoroforu)
 - Use Target Colors (Použiť farby cieľa)
 - Use Sample Colors (Použiť farby vzorky)
- Na priradenie označenia jamky vyberte Sample Type (Typ vzorky), Target Name (Názov cieľa), Sample Name (Názov vzorky) alebo Symbol (Symbol).

Možnosť Log Scale (Logaritmická mierka)

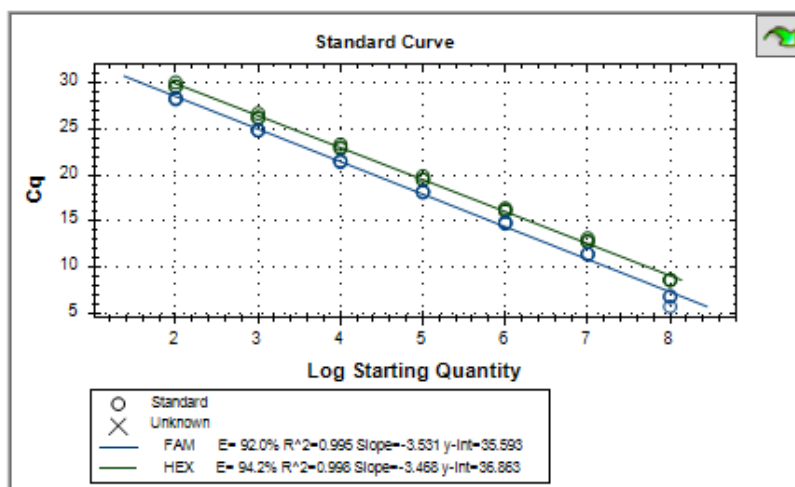
Ak chcete zobraziť fluorescenčné stopy v polologaritmickej stupnici, vyberte možnosť Log Scale (Logaritmická mierka) pod grafom Amplification (Amplifikácia):



Tip: Ak chcete zväčšiť ľubovoľnú oblasť grafu, presuňte myš cez cieľovú oblasť. Pre návrat k úplnému zobrazeniu pravým tlačidlom myši kliknite na graf a zvolte Set Scale to Default (Nastaviť mierku na predvolenú).

Graf Standard Curve (Štandardná krivka)

Softvér vytvorí graf Standard Curve (Štandardná krivka) na karte Quantification (Kvantifikácia), ak údaje zahŕňajú typy vzoriek definované ako Std (Štandardné) pre aspoň jeden fluorofor v chode.



Graf Standard Curve (Štandardná krivka) zobrazuje nasledujúce informácie:

- Názov každej krivky (fluorofor alebo cieľ).
- Farbu každého fluorofora alebo cieľa.
- Účinnosť reakcie (E). Túto štatistiku použite na optimalizáciu multiplexnej reakcie a na vyrovnanie údajov pre štandardnú krivku.

Poznámka: Účinnosť reakcie opisuje, koľko z vášho cieľa sa vytvára s každým cyklom v protokole. Účinnosť 100 % znamená, že zdvojnásobujete svoj cieľ s každým cyklom.

- Koeficient určenia, R^2 (zapísaný ako R^2). Pomocou tejto štatistiky zistíte, ako správne riadok popisuje údaje (kvalita alebo vhodnosť).
- Sklon
- Priesečník osi Y

Možnosti menu grafu Amplification (Amplifikácia)

Okrem bežných možností menu pre grafy dostupných po kliknutí pravým tlačidlom myši (pozrite si [Bežné položky menu pre grafy, dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši na strane 183](#)), [Tabuľka 20](#) uvádza možnosti menu dostupné iba na grafe Amplification (Amplifikácia).

Poznámka: Graf Standard Curve (Štandardná krivka) poskytuje iba spoločné možnosti menu dostupné po kliknutí pravým tlačidlom myši.

Tabuľka 20. Položky menu grafu Amplification (Amplifikácia) dostupné po kliknutí pravým a ľavým tlačidlom myši

Možnosť ponuky	Funkcia
Show Threshold Values (Zobraziť prahové hodnoty)	Zobrazí prahovú hodnotu každej krivky amplifikácie na grafe.
Trace Styles (Štýly stôp)	Otvorí okno Trace Styles (Štýly stôp) na zmenu štýlov stôp, ktoré sa zobrazujú na karte Quantification (Kvantifikácia) a Melt Curve (Krivka tavenia).
Baseline Thresholds (Základné prahové hodnoty)	Otvorí okno Baseline Thresholds (Základné prahové hodnoty) na zmenu základných alebo prahových hodnôt jednotlivých fluoroforov (zmeny sa zobrazia na grafe Amplification (Amplifikácia) na karte Quantification (Kvantifikácia).

Tabuľkový procesor karty Kvantifikácia

[Tabuľka 21](#) uvádza údaje zobrazené v tabuľkovom procesore na karte Quantification (Kvantifikácia).

Tabuľka 21. Obsah tabuľkového procesora karty Quantification (Kvantifikácia)

Informácie	Opis
Well (Jamka)	Poloha jamky na platničke
Fluor (Fluorofor)	Zistený fluorofor
Target (Cieľ)	Názov cieľa načítaný v jamkách editora platničky
Content (Obsah)	Kombinácia typu vzorky (povinné) a č. replikátu (voliteľné) načítaná v editore platničky
Sample (Vzorka)	Názov vzorky načítaný v jamkách editora platničky
C _q	Kvantifikačný cyklus pre každú stopu

Zmena údajov cieľa, obsahu alebo vzorky

Údaje v stĺpcoch Target (Cieľ), Content (Obsah) a Sample (Vzorka) môžete zmeniť úpravou súboru tabuľky pomocou Plate Editor (Editor platničky) aj po spustení experimentu.

Ak chcete zmeniť údaje v stĺpcoch Target (Cieľ), Content (Obsah) a Sample (Vzorka)

- ▶ Kliknite na položku Plate Setup (Nastavenie platničky) a následne vyberte položku View/Edit Plate (Zobraziť/upraviť platničku) na otvorenie editora platničiek.

Karta Quantification Data (Kvantifikačné dáta)

Karta Quantification Data (Kvantifikačné dáta) zobrazuje kvantifikačné dáta zhromaždené v každej jamke. CFX Manager Dx software zobrazí údaje v štyroch rôznych zobrazeniach tabuľkového procesora:

- Results (Výsledky) — zobrazí tabuľkový procesor údajov. Toto je predvolené zobrazenie.
- Standard Curve Results (Výsledky štandardnej krivky) — zobrazí tabuľkový procesor dát štandardnej krivky.
- Plate (Platnička) — zobrazí dáta v každej jamke ako mapu platničky.
- RFU — zobrazí množstvá RFU v každej jamke pre každý cyklus.

Jednotlivé tabuľkové procesory môžete vybrať z rozbaľovacieho zoznamu, ktorý je zobrazený pod kartou Quantification Data (Kvantifikačné dáta).

Tabuľkový procesor Results (Výsledky)

Tabuľkový procesor Results (Výsledky) zobrazuje údaje pre každú jamku v platničke.

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

Poznámka: Všetky výpočty Std. Dev (Štandardná odchýlka) sa vzťahujú na replikované skupiny priradené v jamkách v okne Plate Editor (Editor platničky). Vo výpočtoch sa vypočíta priemerná hodnota C_q pre každú jamku v replikovanej skupine.

Tabuľka 22 definuje údaje, ktoré sa zobrazujú v tabuľkovom procesore Results (Výsledky).

Tabuľka 22. Obsah tabuľkového procesora Results (Výsledky)

Informácie	Opis
Well (Jamka)	Poloha jamky na platničke
Fluor (Fluorofor)	Zistený fluorofor
Target (Cieľ)	Cieľový názov amplifikácie (gén)
Content (Obsah)	Typ vzorky a číslo replikátu
Sample (Vzorka)	Opis vzorky
Biological Set Name (Názov biologickej súpravy)	Názov biologickej súpravy
C_q	Kvantifikačný cyklus
C_q Mean (Stredná hodnota C_q)	Stredná hodnota kvantifikačného cyklu pre replikovanú skupinu
C_q Std. Dev (Štandardná odchýlka C_q)	Štandardná odchýlka kvantifikačného cyklu pre replikovanú skupinu
Starting Quantity (SQ) (Počiatočné množstvo)	Odhad počiatočného množstva cieľa
Log Starting Quantity (Počiatočné množstvo denníka)	Denník počiatočného množstva cieľa
SQ Mean (Stredná hodnota SQ)	Stredná hodnota počiatočného množstva
SQ Std. Dev (Štandardná odchýlka C_q)	Štandardná odchýlka počiatočného množstva naprieč replikáciami

Tabuľkový procesor Standard Curve Results (Výsledky štandardnej krivky)

Tabuľkový procesor Standard Curve Results (Výsledky štandardnej krivky) zobrazuje vypočítané parametre štandardnej krivky.

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

Tabuľka 23 uvádza údaje, ktoré sa zobrazujú v tabuľkovom procesore Standard Curve Results (Výsledky štandardnej krivky)

Tabuľka 23. Obsah tabuľkového procesora Standard Curve Results (Výsledky štandardnej krivky)

Informácie	Opis
Fluor (or Target) (Fluorofor (alebo Cieľ))	Zistený fluorofor (alebo cieľ)
Efficiency % (Účinnosť %)	Účinnosť reakcie
Slope (Sklon)	Sklon štandardnej krivky
Y-intercept (Priesečník osi Y)	Bod, v ktorom krivka pretína os Y
R ²	Koeficient určenia

Tabuľkový procesor Plate (Platnička)

Tabuľkový procesor Plate (Platnička) zobrazuje mapu údajov platničky pre jeden fluorofor v danom čase.

	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			

Na zobrazenie údajov špecifických pre fluorofory

- Kliknite na kartu v spodnej časti tabuľkového procesora

Tabuľkový procesor RFU

Tabuľkový procesor RFU zobrazuje hodnoty relatívnych fluorescenčných jednotiek (RFU) pre každú jamku získané v každom cykle chodu. Číslo jamky sa objaví v hornej časti každého stĺpca a číslo cyklu sa zobrazí naľavo od každého riadka.

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

Karta Melt Curve (Krivka tavenia)

Vyhlasenie o odmietnutí zodpovednosti: Spoločnosť Bio-Rad neposkytuje žiadne práva na použitie analýzy krivky tavenia vo vysokorozlišovacej analýze tavenia v oblasti ľudskej alebo veterinárnej diagnostiky in vitro. Kúpajúci navyše zodpovedá za získanie všetkých práv duševného vlastníctva, ktoré sa môžu vyžadovať na konkrétne použitia.

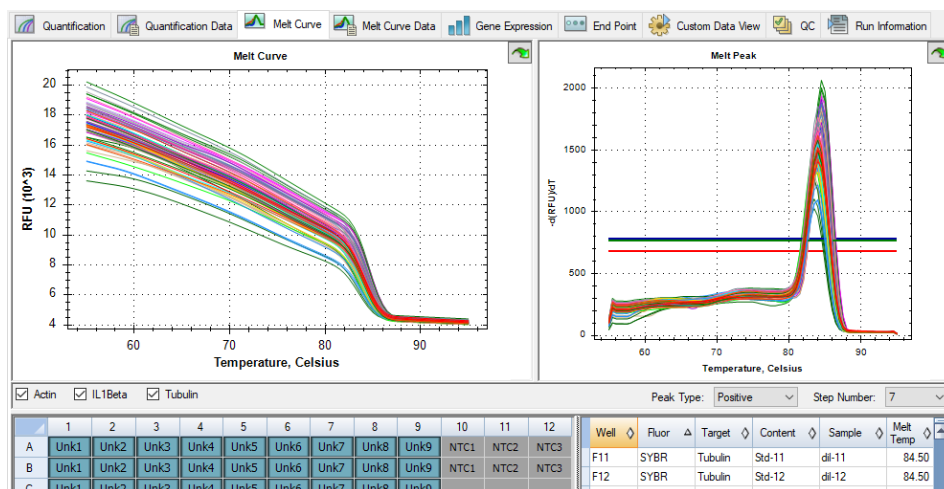
V prípade farbív viažucich DNA a neštiepiteľných hybridizačných sond je fluorescencia najjasnejšia, keď sa spoja dva reťazce DNA. Z tohto dôvodu sa spolu s rastom teploty k teplote tavenia (T_m) konštantnou rýchlosťou znižuje fluorescencia (konštantný sklon). Pri dosiahnutí teploty T_m dochádza k výraznému zníženiu fluorescencie s výraznou zmenou sklonu. Rýchlosť tejto zmeny sa stanoví znázornením zápornej prvej regresie fluorescencie voči teplote ($-d(\text{RFU})/dT$). Najväčšia rýchlosť zmeny fluorescencie vedie k viditeľným vrcholom a predstavuje T_m dvojvláknových komplexov DNA.

CFX Manager Dx software zobrazí dáta RFU zozbierané počas krivky tavenia ako funkciu teploty. Aby sa mohla vykonať analýza dát vrcholu tavenia, softvér každému vrcholu priradí počiatočnú a konečnú teplotu posunutím stĺpca prahovej hodnoty. Spodná časť oblasti vrcholu je určená polohou stĺpca prahovej hodnoty tavenia. Platný vrchol musí mať minimálnu výšku vzhľadom na vzdialenosť medzi stĺpcom prahovej hodnoty a výškou najvyššieho vrcholu.

Karta Melt Curve (Krivka tavenia) zobrazuje teplotu T_m (teplota tavenia) amplifikovaných produktov PCR v štyroch zobrazeniach:

- Melt Curve (Krivka tavenia) — zobrazuje dáta v reálnom čase pre každý fluorofor ako RFU na teplotu každej jamky.
- Melt Peak (Vrchol tavenia) — zobrazuje zápornú regresiu dát RFU na teplotu pre každú jamku.
- Well selector (Selektor jamiek) — zobrazí jamky na zobrazenie alebo skrytie údajov.
- Peak spreadsheet (Tabuľkový procesor vrcholu) — zobrazí údaje zozbierané vo vybranej jamke.

Poznámka: Tento tabuľkový procesor zobrazí až dva vrcholy pre každú stopu. Ak chcete zobrazíť viac vrcholov, kliknite na kartu Melt Curve Data (Dáta krivky tavenia).



Tabuľka 24 na strane 205 uvádza údaje, ktoré sa zobrazujú v tabuľkovom procesore Melt Curve (Krivka tavenia).

Tabuľka 24. Obsah tabuľkového procesora krivky tavenia

Informácie	Opis
Well (Jamka)	Poloha jamky na platničke
Fluor (Fluorofor)	Zistený fluorofor
Content (Obsah)	Kombinácia typu vzorky a čísla replikátu
Sample (Vzorka)	Názov vzorky načítaný v editore platničky
Melt Temp (Teplota tavenia)	Teplota vrcholu tavenia pre každú jamku

Poznámka: V tomto tabuľkovom procesore sa zobrazujú iba dva najvyššie vrcholy.

Prispôsobenie údajov Melt Curve (Krivka tavenia)

Na prispôsobenie údajov Melt Curve (Krivka tavenia)

- ▶ Vykonaňte ktorékoľvek z nasledujúcich:
 - Kliknite a pretiahnite panely prahových hodnôt v grafe Melt Peak (Vrchol tavenia), aby ste zahrnuli alebo vylúčili vrcholy v analýze dát.
 - Vyberte Positive (Kladné) v rozbaľovacej ponuke Peaks (Vrcholy) na zobrazenie údajov tabuľkového procesora pre vrcholy nad čiarou Melt Threshold (Prahová hodnota tavenia) alebo vyberte možnosť Negative (Záporné), ak chcete zobrazit' údaje tabuľkového procesora pre vrcholy pod čiarou prahovej hodnoty tavenia.
 - Otvorte okno Trace Styles (Štýly stôp) a zmeňte farbu stôp v grafoch Melt Curve (Krivka tavenia) a Melt Peak (Vrchol tavenia).
 - Vyberte číslo v zozname Step Number (Číslo kroku), aby ste zobrazili údaje Melt Curve (Krivka tavenia) v ďalšom kroku protokolu. Zoznam obsahuje viac ako jeden krok, ak protokol obsahuje čítanie platničiek vo viac ako jednom kroku krivky tavenia.
 - Výberom jamky v selektore jamiek zaostríte na podmnožiny údajov.
 - Vyberte skupinu jamiek na zobrazenie a analýzu podmnožiny jamiek na platničke. V rozbaľovacej ponuke Well Group (Skupina jamiek) na paneli nástrojov vyberte každú skupinu jamiek podľa názvu.

Karta Melt Curve Data (Dáta krivky tavenia)

Karta Melt Curve Data (Dáta krivky tavenia) zobrazuje údaje z karty Melt Curve (Krivka tavenia) vo viacerých tabuľkových procesoroch, ktoré obsahujú všetky vrcholy tavenia pre každú stopu. Softvér CFX Manager Dx ponúka štyri možnosti tabuľkového procesora, v ktorých sa zobrazujú údaje krivky tavenia:

- Melt Peaks (Vrchol tavenia) — zobrazuje všetky údaje vrátane všetkých vrcholov tavenia pre každú stopu. Toto je predvolené zobrazenie.
- Plate (Platnička) — zobrazuje pohľad na údaje a obsah každej jamky v platničke.
- RFU — zobrazuje hodnoty RFU pri každej teplote pre každú jamku.
- $-d(\text{RFU})/dT$ — zobrazí zápornú hodnotu zmeny v RFU ako zmeny teplôt (T). Toto je prvý regresný graf pre každú jamku v platničke.

Jednotlivé tabuľkové procesory môžete vybrať z rozbaľovacieho zoznamu, ktorý je zobrazený pod kartou Melt Curve Data (Dáta krivky tavenia).

Tabuľkový procesor Melt Peaks (Vrcholy tavenia)

Tabuľkový procesor Melt Peaks (Vrcholy tavenia) zobrazuje všetky údaje krivky tavenia.

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

Tabuľka 25 na strane 208 uvádza údaje, ktoré sa zobrazujú v tabuľkovom procesore Melt Peaks (Vrcholy tavenia).

Tabuľka 25. Obsah tabuľkového procesora Melt Peaks (Vrcholy tavenia)

Informácie	Opis
Well (Jamka)	Poloha jamky na platničke
Fluor (Fluorofor)	Zistený fluorofor
Content (Obsah)	Typ vzorky uvedený v okne Plate Editor (Editor platničky)
Target (Cieľ)	Cieľ amplifikácie (gén)
Sample (Vzorka)	Názov vzorky uvedený v okne Plate Editor (Editor platničky)
Melt Temperature (Teplota tavenia)	Taviaca teplota každého produktu, uvedená ako jeden vrchol (najvyšší) na riadok v tabuľkovom procesore
Peak Height (Výška vrcholu)	Výška vrcholu
Begin Temperature (Počiatočná teplota)	Teplota na začiatku vrcholu
End Temperature (Konečná teplota)	Teplota na konci vrcholu

Tabuľkový procesor Plate (Platnička)

Tabuľkový procesor Plate (Platnička) zobrazuje údaje krivky tavenia vo formáte platničky.

	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							

Poznámka: Ak chcete nastaviť vrchol, ktorý softvér ohlási, nastavte prahovú hodnotu v tabuľke Melt Peak (Vrchol tavenia) na karte Melt Curve (Krivka tavenia).

[Tabuľka 26 na strane 209](#) definuje údaje, ktoré sa zobrazujú v tabuľkovom procesore Plate (Platnička).

Tabuľka 26. Obsah tabuľkového procesora Plate (Platnička)

Informácie	Opis
Content (Obsah)	Kombinácia typu vzorky (povinné) a č. replikátu (voliteľné)
Sample (Vzorka)	Opis vzorky
Peak 1 (Vrchol 1)	Prvý vrchol tavenia (najvyšší)
Peak 2 (Vrchol 2)	Druhý (nižší) vrchol tavenia

Tabuľkový procesor RFU

Tabuľkový procesor RFU zobrazuje fluorescenciu pre každú jamku, získanú počas krivky tavenia.

[Tabuľka 27](#) uvádza údaje zobrazené v tabuľkovom procesore RFU.

Tabuľka 27. Obsah tabuľkového procesora RFU

Informácie	Opis
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (Číslo jamky) (A1, A2, A3, A4, A5)	Poloha jamiek na platničke pre načítané jamky
Temperature (Teplota)	Teplota tavenia zosilneného cieľa, zaznamenaná ako jedna jamka na riadok a viac jamiek pre viaceré produkty v rovnakej jamke

Tabuľkový procesor -d(RFU)/dT

Tabuľkový procesor -d(RFU)/dT zobrazuje zápornú mieru zmeny RFU pri zmene teploty (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

Tabuľka 28 uvádza údaje, ktoré sa zobrazujú v tabuľkovom procesore -d(RFU)/dT.

Tabuľka 28. Obsah tabuľkového procesora -d(RFU)/dT

Informácie	Opis
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (Číslo jamky) (A1, A2, A3, A4, A5)	Poloha jamiek na platničke pre načítané jamky
Temperature -d(RFU)/dT (Teplota -d(RFU)/dT)	Záporná zmena RFU pri zmene teploty (T)

Karta End Point (Koncový bod)

Otvorením karty End Point (Koncový bod) môžete analyzovať konečné relatívne fluorescenčné jednotky (RFU) vzorky v jamke. Softvér porovná úroveň RFU v jamkách s neznámymi vzorkami s úrovňami RFU v jamkách s negatívnymi kontrolnými vzorkami a „označí“ neznáme vzorky ako pozitívne alebo negatívne. Pozitívne vzorky majú hodnotu RFU, ktorá je väčšia ako priemerná hodnota RFU negatívnych kontrolných vzoriek plus neznáma hodnota.

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	

Aby bolo možné analyzovať údaje koncového bodu, platnička musí obsahovať negatívne kontrolné vzorky alebo softvér nesmie uskutočniť označenie. Spustíte jeden z nasledujúcich dvoch typov protokolov:

- Spustenie protokolu Quantification (Kvantifikácia) — nastavenie štandardného protokolu. Po dokončení chodu otvorte okno Data Analysis (Analýza dát), upravte nastavenia analýzy dát na karte Quantification (Kvantifikácia) a následne kliknutím na kartu End Point (Koncový bod) vyberte cyklus koncového bodu.
- Spustenie protokolu End Point Only (Iba koncový bod) — načítajte protokol End Point Only (Iba koncový bod) v okne Run Setup (Nastavenie chodu), vyberte alebo vytvorte platničku a spustíte chod.

Karta End Point (Koncový bod) zobrazuje priemerné hodnoty RFU na určenie toho, či sa cieľ amplifikoval posledným (koncovým) cyklom. Tieto údaje použite na určenie toho, či je špecifická cieľová sekvencia prítomná (pozitívna) vo vzorke. Pozitívne ciele majú vyššie RFU hodnoty, ako je vami zadaná úroveň limitnej hodnoty.

Tip: Ak chcete vytvoriť protokol koncového bodu, otvorte kartu Protocol (Protokol) (okno Run Setup (Nastavenie chodu)) a vyberte položku Run (Chod) > End Point Only Run (Iba chod koncového bodu).

Po dokončení chodu sa na karte End Point (Koncový bod) otvorí dátový súbor, ktorý pozostáva z nasledujúcich častí:

- Settings (Nastavenia) — upravenie nastavení analýzy dát.
- Results (Výsledky) — zobrazenie výsledkov okamžite po upravení nastavení.
- Well Selector (Selektor jamiek) — vyberie jamky s dátami koncového bodu, ktoré chcete zobraziť.
- RFU spreadsheet (Tabuľkový procesor RFU) — zobrazuje koncový RFU zhromaždený vo vybraných jamkách.

Dáta výsledkov

Časť Results (Výsledky) zobrazuje nasledujúce dáta:

- Lowest RFU value (Najnižšia hodnota RFU) — najnižšia hodnota RFU v dátach
- Highest RFU value (Najvyššia hodnota RFU) — najvyššia hodnota RFU v dátach
- Negative Control Average (Priemer negatívnej kontrolnej vzorky) — priemerná hodnota RFU jamiek, ktoré obsahujú negatívne kontrolné vzorky
- Cut Off Value (Medzná hodnota) — vypočíta sa pridaním tolerancie (RFU alebo percento rozsahu uvedené v nastaveniach) a priemeru negatívnych kontrolných vzoriek. Vzorky s RFU, ktoré sú väčšie ako medzná hodnota, sa budú nazývať „pozitívne“. Ak chcete upraviť medznú hodnotu, zmeňte položku RFU alebo Percentage of Range (Percento rozsahu)

Položka Cut Off Value (Medzná hodnota) sa počíta pomocou nasledujúceho vzorca:

$$\text{Medzná hodnota} = \text{priemer negatívnych kontrolných vzoriek} + \text{tolerancia}$$

Toleranciu vyberte niektorou z nasledujúcich metód:

- RFUs (predvolené) — vyberte túto metódu na použitie absolútnej hodnoty RFU pre toleranciu. Minimálna hodnota tolerancie RFU je 2. Maximálna hodnota je absolútna hodnota najvyššej hodnoty RFU mínus absolútna hodnota najnižšej hodnoty RFU. Predvolená hodnota tolerancie RFU je 10 % celkového rozsahu RFU.
- Percent of Range (Percento rozsahu) — vyberte túto metódu na použitie percenta rozsahu RFU pre toleranciu. Minimálne percento rozsahu je 1 %. Maximálne percento rozsahu je 99 %. Predvolené percento rozsahu je 10 %.

Nastavenie koncového bodu analýzy dát

Na nastavenie údajov na karte End Point (Koncový bod)

- ▶ Vykonaňte ktorékoľvek z nasledujúcich:
 - Vyberte fluorofor z rozbaľovacieho zoznamu.
 - Vyberte hodnotu End Cycle to Average (Priemerný koncový cyklus) na nastavenie počtu cyklov, pomocou ktorých sa vypočíta priemerný koncový bod RFU.
 - Výberom položky RFU zobrazíte údaje v jednotkách relatívnej fluorescence.
 - Vyberte Percent of Range (Percento rozsahu) na zobrazenie údajov ako percenta rozsahu RFU.
 - Výberom jamky v selektore jamiek zaostříte na podmnožiny údajov.
 - Vyberte skupinu jamiek na zobrazenie a analýzu podmnožiny jamiek na platničke. V rozbaľovacej ponuke Well Group (Skupina jamiek) na paneli nástrojov vyberte každú skupinu jamiek podľa názvu.

Tabuľkový procesor RFU pre analýzu koncového bodu

Tabuľka 29 uvádza údaje, ktoré sa zobrazujú v tabuľkovom procesore RFU na karte End Point (Koncový bod).

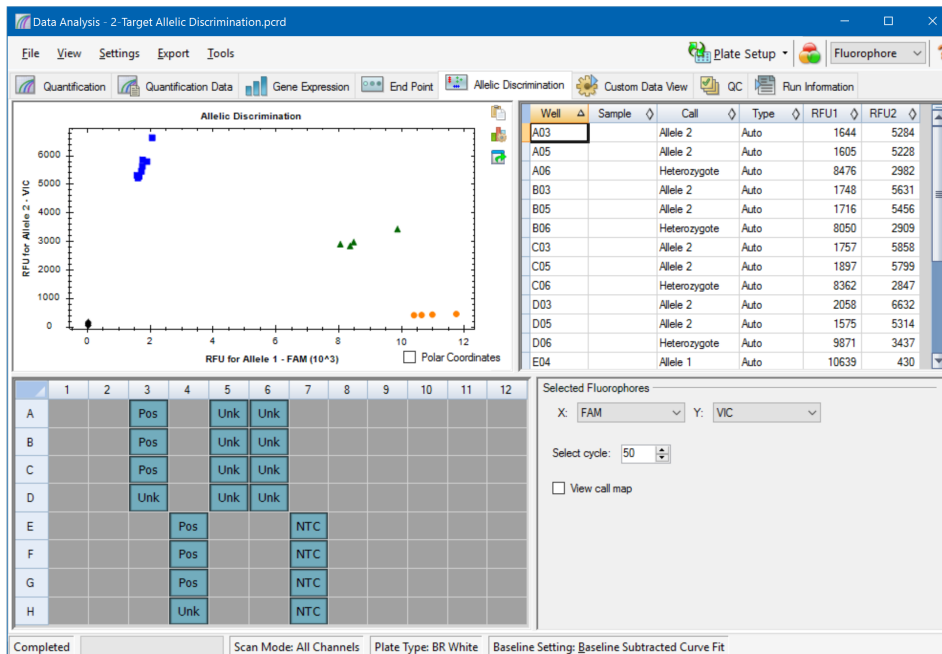
Tabuľka 29. Obsah tabuľkového procesora End Point (Koncový bod)

Informácie	Opis
Well (Jamka)	Poloha jamky na platničke
Fluor (Fluorofor)	Zistený fluorofor
Content (Obsah)	Kombinácia typu vzorky a č. replikátu
End RFU (Koncové RFU)	RFU v koncovom bode cyklu
Call (Vyvolanie)	Kladné alebo záporné, kde kladné vzorky majú hodnotu RFU väčšiu ako priemer RFU záporných kontrol plus medzná hodnota.
Sample (Vzorka)	Názov vzorky načítaný v aplikácii Plate Editor (Editor platničky)

Karta Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia)

Karta Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia) priradzuje genotypy k jamkám s neznámymi vzorkami. Tieto údaje použité na identifikáciu vzoriek s rôznymi genotypmi, vrátane Alela 1, Alela 2, Heterozygóta, Bez vyvolania (bez amplifikácie) alebo Neurčené.

Poznámka: Údaje pre alelickú diskrimináciu musia pochádzať z viacerých chodov s najmenej dvomi fluoroformi. Každý fluoroform identifikuje jednu alelu vo všetkých vzorkách.



Analýza alelickej diskriminácie si vyžaduje nasledujúci minimálny obsah jamky:

- Dva fluoroformy v každej jamke
- Vzorky NTC (bez kontroly šablóny) pre optimálnu analýzu dát

CFX Manager Dx software ponúka štyri možnosti na zobrazenie údajov alelickej diskriminácie:

- Graf Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia) — zobrazuje údaje v grafe RFU pre Alelu 1/Alelu 2. Každý bod grafu predstavuje údaje z oboch fluoroformov v jednej jamke. Medzi karteziánskymi a polárnymi súradnicami môžete prepínať výberom a zrušením zaškrtnutého políčka Polar Coordinates (Polárne súradnice). Karteziánske súradnice predstavujú RFU pre Alelu 1 na osi X a RFU pre Alelu 2 na osi Y. Polárne súradnice predstavujú uhol na osi X a vzdialenosť medzi východiskovým bodom a RFU na osi Y (medián všetkých NTC).

- Well spreadsheet (Tabuľkový procesor jamiek) — zobrazuje údaje alelickej diskriminácie zozbierané v každej jamke platničky.
- Well Selector (Selektor jamiek) — vyberá jamky s alelickými údajmi, ktoré chcete zobraziť.
- Selected Fluorophores panel (Panel vybraných fluoroforov) — na grafe alelickej diskriminácie zmení označenia osí X a Y, cyklus na analýzu a či zobrazí mapu vyvolania.

Prispôsobenie údajov pre alelickú diskrimináciu

Softvér automaticky priradí genotyp k jamkám s neznámymi vzorkami na základe polôh NTC a uhla a vzdialenosti bodov neznámych údajov od NTC.

Na nastavenie alelických diskriminačných údajov

- ▶ Vykonaňte ktorékoľvek z nasledujúcich:
 - Ak chcete zobraziť polárne súradnice, začiarknite políčko v tabuľke Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia).
 - Ak chcete zobraziť ďalší fluorofor, vyberte ho z rozbaľovacieho zoznamu v paneli Selected Fluorophores (Vybrané fluorofory).
 - Ak chcete zmeniť vyvolanie, potiahnite bod(y) údajov v tabuľke Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia) a vyberte možnosť v zozname Vybrané jamky:
 - Allele 1 (Alela 1)
 - Allele 2 (Alela 2)
 - Heterozygote (Heterozygóta)
 - Undetermined (Neurčené)
 - No Call (Bez vyvolania)
 - Auto Call (Automatické vyvolanie)

Tip: Zvoľte Auto Call (Automatické vyvolanie) pre návrat k predvolenému vyvolaniu.

Možnosti menu grafov

Okrem bežných možností menu pre grafy pravým tlačidlom myši (pozrite si [Bežné položky menu pre grafy, dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši na strane 183](#)), **Tabuľka 30** uvádza možnosti menu dostupné na grafe Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia).

Tabuľka 30. Možnosti pravej a ľavej ponuky grafu Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia)

Možnosť ponuky	Funkcia
Zoom (Priblížiť)	Zameriava zobrazenie grafu na vybranú oblasť (kliknutím a ťahaním kurzora v grafe). Tip: Ak chcete obnoviť priblíženie a zobrazit' všetky údajové body, kliknite pravým tlačidlom myši a vyberte položku Set Scale to Default (Nastaviť mierku na predvolené).
Well (Jamka)	Možnosti pre zvolenú jamku sú: zobrazit' len túto jamku, odstrániť jamku zo zobrazenia, nastaviť farbu pre túto stopu alebo vylúčiť túto jamku z analýzy.
Selected Wells (Vybrané jamky)	Možnosti pre zvolené jamky (zvolené kliknutím a potiahnutím kurzora v grafe) sú: zobrazit' len tieto jamky, odstrániť jamky zo zobrazenia, nastaviť farbu pre tieto stopy alebo vylúčiť tieto jamky z analýzy.

Tabuľkový procesor Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia)

Tabuľka 31 definuje údaj, ktoré sa objavujú v tabuľkovom procesore Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia).

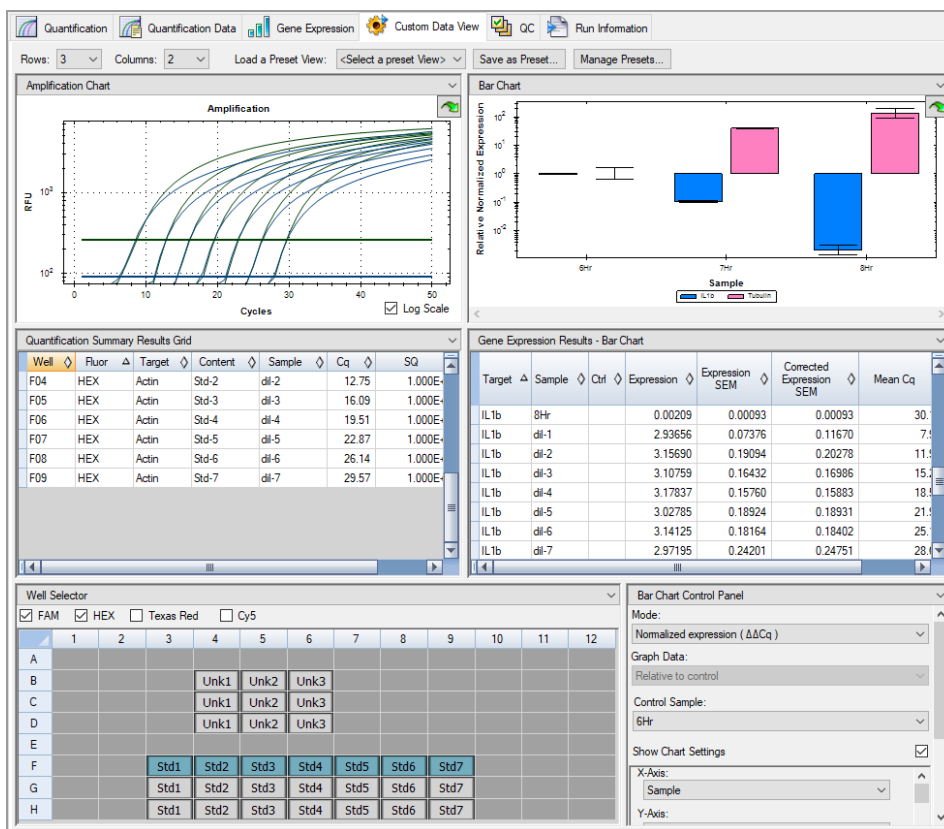
Tabuľka 31. Obsah tabuľkového procesora Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia)

Informácie	Opis
Well (Jamka)	Poloha jamky na platničke
Sample (Vzorka)	Opis názvu vzorky
Call (Vyvolanie)	Identita alely, vrátane automatickej alely 1, alely 2, heterozygóty, bez vyvolania alebo neurčené
Type (Typ)	Auto (Automatický) alebo Manual (Manuálny), ako bolo vyvolanie vykonané. Automatický naznačuje, že vyvolanie bolo zvolené softvérom. Manuálny naznačuje, že vyvolanie bolo zvolené používateľom
RFU1	RFU pre alelu 1
RFU2	RFU pre alelu 2

Tabuľka Custom Data View (Vlastné zobrazenie údajov)

Tabuľka Custom Data View (Vlastné zobrazenie údajov) súčasne zobrazuje viacero panelov v prispôsobiteľnom formáte.

Rozbaľovací zoznam Load a Preset View (Načítať prednastavené zobrazenie) ponúka výber šablón formátu zobrazenia. Zobrazené predvolené zobrazenie závisí od analyzovaného súboru. Napríklad ak sú prítomné údaje Melt Curve (Krivka tavenia), objaví sa predvolené zobrazenie Amp+Melt (Amplifikácia + tavenie).



Vytvorenie vlastného zobrazenia údajov

Na vytvorenie vlastného zobrazenia údajov

- ▶ Vykonaňte ktorékoľvek z nasledujúceho:
 - Z rozbaľovacieho zoznamu vyberte alternatívne predvolené zobrazenie.
 - Vyberte ďalšie zobrazenie tabuľky z rozbaľovacieho zoznamu v hornej časti každého samostatného panelu.
 - Zmeňte počet riadkov a stĺpcov v tabuľke.
 - Zmeňte rozmery jednotlivých panelov. Potiahnite ohraničenia na okraji každého panelu.

Ak chcete úpravy uložiť ako predvolenú šablónu, kliknite na Save as Preset (Uložiť ako predvolené).

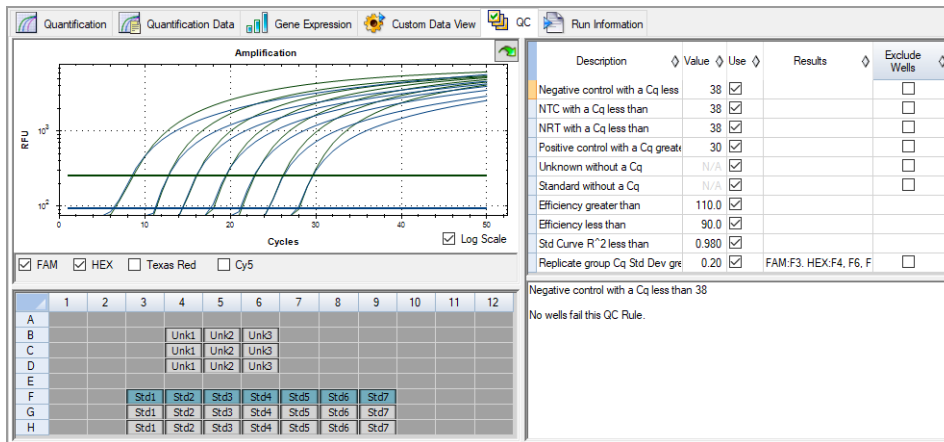
Ak chcete odstrániť, premenovať alebo obnoviť existujúce predvolené zobrazenia, kliknite na Manage Presets (Spravovať predvolené).

Karta QC (Kontrola kvality)

Na karte QC (Kontrola kvality) môžete rýchlo vyhodnotiť kvalitu dát chodu na základe pravidiel definovaných na karte QC.

CFX Manager Dx software ponúka štyri možnosti na zobrazenie údajov QC:

- **Amplification chart** (Graf amplifikácie) — zobrazí RFU pre každú jamku v každom cykle. Každá stopa v grafe predstavuje dáta z jedného fluoroforu v jednej jamke.
- **QC rules table** (Tabuľka pravidiel QC) — zobrazí dostupné pravidlá QC a nastavenia, ktoré definujú každé pravidlo. Použité pravidlá QC sú označené značkou začiarknutia.
- **Well selector** (Selektor jamiek) — vyberie jamky s fluorescenčnými dátami, ktoré chcete zobraziť.
- **QC rule summary pane** (Panel súhrnu pravidiel QC) — zobrazí vybrané pravidlo QC a zvýrazní jamky, ktoré nespĺňajú pravidlo.



Zmena kritérií QC

Zmena kritérií QC

- Zaškrtnite alebo zrušte kontrolnú značku Use (Použiť), aby sa pravidlo zahrnulo alebo vylúčilo z QC.

Vylúčenie jamiek, ktoré nevyhovujú QC

CFX Manager Dx software zobrazuje jamky, ktoré nevyhovujú kritériám QC v stĺpci Results (Výsledky) v tabuľke pravidiel a paneli zhrnutia QC.

Na vylúčenie jamiek, ktoré nevyhovujú QC

- ▶ Zvoľte Exclude Wells (Vylúčiť jamky) pre každú jamku, ktorá má byť vylúčená.

Karta Run Information (Informácie o chode)

Karta Run Information (Informácie o chode) zobrazuje protokol a ďalšie informácie o každom chode. Pomocou tejto karty môžete vykonať nasledujúce činnosti:

- Zobrazit' protokol.
- Zadať alebo upraviť poznámky o chode.
- Zadať alebo upraviť ID alebo čiarový kód chodu.
- Zobrazit' udalosti, ku ktorým došlo počas chodu. Tieto správy použite na pomoc pri riešení problémov chodu.

Tip: Po kliknutí pravým tlačidlom myši na protokol ho môžete kopírovať, exportovať alebo vytlačiť. Kliknutím pravým tlačidlom myši na paneloch Notes (Poznámky), ID/Bar Code (ID/čiarový kód) alebo Other (Iné) môžete vystrihnúť, kopírovať, prilepiť alebo vybrať text.

The screenshot displays the 'Run Information' window for a protocol named 'CFX_2stepAmp50 1 min.prl'. The main area shows a graph of temperature over time, divided into four steps:

Step	Temperature (°C)	Duration (min)
1	95.0	3:00
2	95.0	0:10
3	55.0	1:00
4	GOTO 2	49 more times

Below the graph is a table with the following data:

Step	Temp (°C)	Time
1	95.0	C for 3:00
2	95.0	C for 0:10
3	55.0	C for 1:00
+ Plate Read		
4	GOTO 2	49 more times
END		

On the right side, there are several panels:

- Notes:** Multiplex Gene Expression Example. Artificial Time course in which Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run, Cy5 (Gad6l) is constant at ~ 1e6 cps/run, Fam (Tubulin) increases 4 fold with time, Texas Red (IITb) decreases 4 fold with time.
- ID/Bar Code:** (Empty)
- 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: CC001035, CFX Manager Version: 1.0.956.1212.

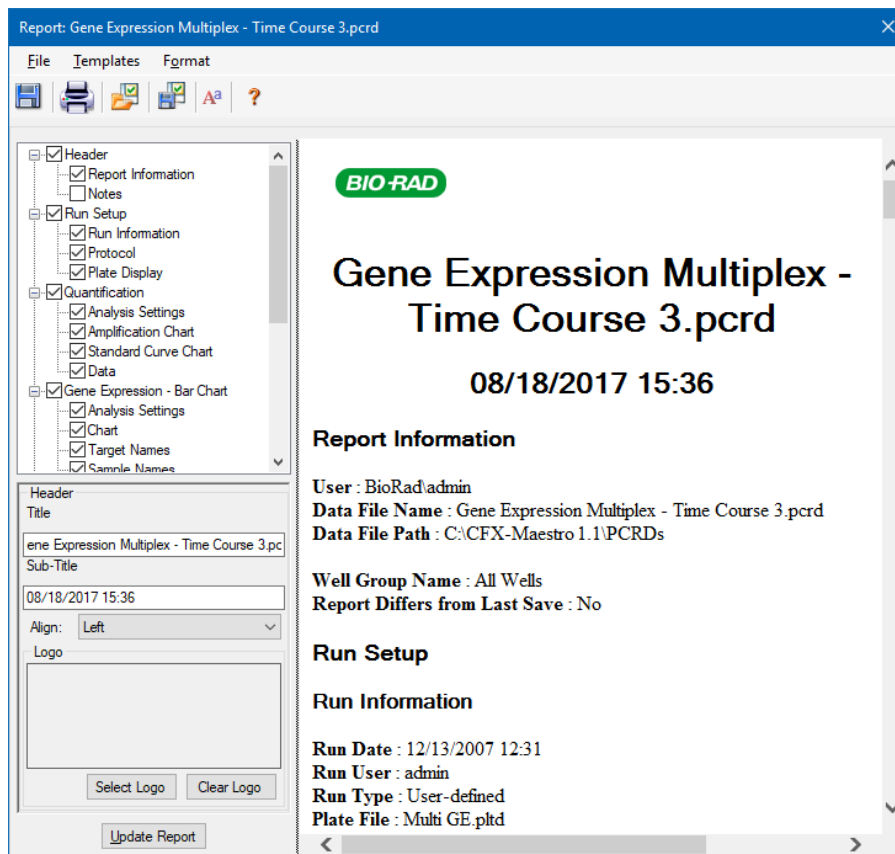
At the bottom, the status bar shows: Completed, Scan Mode: All Channels, Plate Type: BR White, Baseline Setting: Baseline Subtracted Curve Fit.

Správy analýzy dát

Dialógové okno Report (Správa) zobrazuje informácie o aktuálnom dátovom súbore v okne Data Analysis (Analýza dát). Ak chcete otvoriť správu, vyberte položku Tools (Nástroje) > Reports (Správy).

Dialógové okno Report (Správa) pozostáva z nasledujúcich častí:

- Ponuka a panel nástrojov — poskytujú možnosti na formátovanie, uloženie a tlač správy alebo šablóny.
- Zoznam možností (ľavá horná strana dialógového okna) — poskytuje možnosti na zobrazenie v správe.
- Tabla možností (ľavá dolná strana dialógového okna) — zobrazí textové polia, do ktorých môžete zadať informácie o vybranej možnosti.
- Tabla Ukážka (pravá strana dialógového okna) — zobrazí ukážku aktuálnej správy.



Kategórie správy analýzy dát

Tabuľka 32 uvádza všetky možnosti dostupné pre správu analýzy údajov v závislosti od typu údajov v okne Data Analysis (Analýza dát).

Tabuľka 32. Kategórie správy analýzy dát na zozname možností

Kategória	Možnosť	Opis
Header (Hlavička)		
		Nadpis, podnadpis a logo správy
	Report Information (Informácie o správe)	Dátum chodu, meno používateľa, názov dátového súboru, cesta k dátovému súboru a vybraná skupina jamiek
	Audit Information (Informácie o audite)	Doplňujúce informácie potrebné pre audit vrátane podpisov
	Notes (Poznámky)	Poznámky o správe údajov
Run Setup (Nastavenie chodu)		
	Run Information (Informácie o chode)	Dátum chodu, meno používateľa, názov dátového súboru, cesta k dátovému súboru a vybraná skupina jamiek
	Protocol (Protokol)	Textové zobrazenie krokov a možností protokolu
	Plate Display (Zobrazenie platničky)	Zobrazenie platničky na informácie v každej jamke platničky
Quantification (Kvantifikácia)		
	Analysis Settings (Nastavenia analýzy)	Číslo kroku zberu dát, režim analýzy a metóda odčítania základnej hodnoty
	Amplification Chart (Graf amplifikácie)	Graf amplifikácie pre chody, ktoré obsahujú kvantifikačné dáta

Tabuľka 32. Kategórie správy analýzy dát na zozname možností, pokračovanie

Kategória	Možnosť	Opis
	Standard Curve Chart (Graf štandardnej krivky)	Graf štandardnej krivky
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor uvádzajúci údaje v každej jamke
Gene Expression — Bar Chart (Expresia génu — stĺpcový graf)		
	Analysis Settings (Nastavenia analýzy)	Režim analýzy, údaje grafu, možnosť škálovania a chyba grafu
	Chart (Graf)	Kopírovať stĺpcový graf
	Target Names (Názvy cieľov)	Graf názvov cieľov
	Sample Names (Názvy vzoriek)	Graf názvov vzoriek
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor uvádzajúci údaje v každej jamke
	Target Stability (Stabilita cieľa)	Graf hodnôt stability cieľa
Gene Expression — Clustergram and Scatter Plot (Expresia génu – clustergram a diagram rozptylu)		
	Analysis Settings (Nastavenia analýzy)	Nastavenia pre každý typ grafu
	Chart (Graf)	Kópia grafu
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor uvádzajúci údaje v každom cieľi
Melt Curve (Krivka tavenia)		
	Analysis Settings (Nastavenia analýzy)	Číslo kroku tavenia a prahová hodnota
	Graf krivky tavenia	Graf krivky tavenia
	Graf Melt Peak (Vrchol tavenia)	Graf vrcholu tavenia

Tabuľka 32. Kategórie správy analýzy dát na zozname možností, pokračovanie

Kategória	Možnosť	Opis
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor uvádzajúci údaje v každej jamke
Allelic Discrimination (Alelická diskriminácia)		
	Analysis Settings (Nastavenia analýzy)	Zobrazí fluorofóry, cyklus a mapu zobrazenia vyvolaní
	Allelic Discrimination Chart (Graf alelickej diskriminácie)	Kópia grafu alelickej diskriminácie
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor uvádzajúci údaje v každej jamke
End Point (Koncový bod)		
	Analysis Settings (Nastavenia analýzy)	Fluorofor, koncové cykly do priemeru, režim, najnižšia hodnota RFU, najvyššia hodnota RFU a medzná hodnota
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor uvádzajúci údaje v každej jamke
QC Parameters (Parametre QC)		
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor uvádzajúci parametre pre všetky pravidlá QC

Vytvorenie správy analýzy dát

Rozloženie správy môžete uložiť ako šablónu, ktorú môžete znova použiť pre podobné správy.

Ak chcete vytvoriť správu analýzy dát

1. Pred vytvorením správy vykonajte záverečné úpravy obsahu jamiek, vybraných jamiek, grafov a tabuľkových procesorov v okne Data Analysis (Analýza dát).
2. Výberom položky Tools (Nástroje) > Reports (Správy) v lište ponuky Data Analysis (Analýza dát) otvorte dialógové okno Report (Správa).
3. Vyberte možnosti, ktoré chcete zahrnúť do správy. Správa sa otvorí s vybranými predvolenými možnosťami. Začiarknutím alebo zrušením začiarknutia začiarkavacích políčok zmeníte celé kategórie alebo jednotlivé možnosti v rámci kategórie.

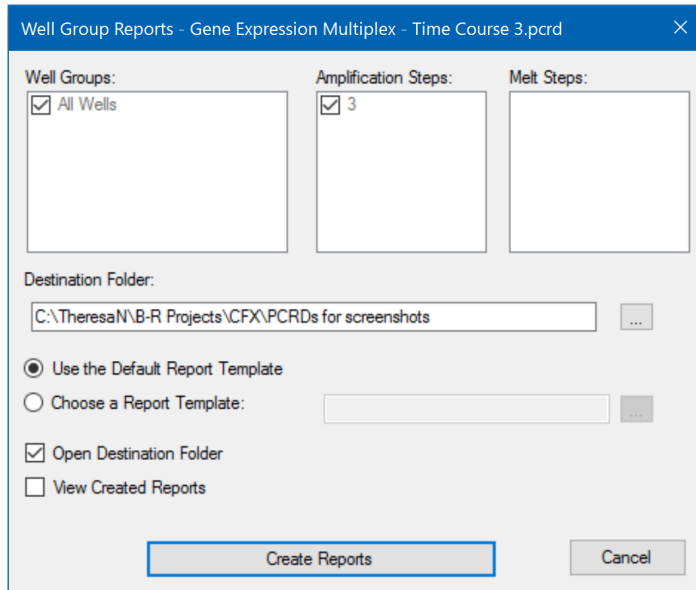
Poznámka: Dáta, ktoré sa zobrazia v správe, závisia od aktuálnych výberov na kartách okna Data Analysis (Analýza dát). Napríklad proces kvantifikácie nemusí obsahovať štandardnú krivku, takže sa tieto údaje nezobrazia v okne Data Analysis (Analýza dát) alebo v správe o dátach.

4. Zmeňte poradie kategórií a položiek v správe. Presuňte možnosti do relatívnej polohy. Položky sa môžu usporiadať iba v rámci kategórií, do ktorých patria.
5. (Voliteľné) V paneli Report Options (Možnosti správy) zadajte informácie relevantné pre vybranú možnosť:
 - Vyberte podmnožinu informácií, ktoré sa majú zobraziť v správe.
 - Vyberte konkrétne nastavenia pre vybranú možnosť.
 - Zmeňte text, ktorý sa má zobraziť pre vybranú možnosť.
6. Kliknutím na položku Update Report (Aktualizovať správu) sa všetky zmeny prejavia v položke Report Preview (Ukážka správy).
7. Vytlačte alebo uložte správu. Kliknutím na tlačidlo Print Report (Vytlačiť správu) v paneli nástrojov vytlačíte aktuálnu správu. Výberom položky File (Súbor) > Save (Uložiť) uložte správu vo formáte PDF (súbor Adobe Acrobat Reader) a vyberte umiestnenie, do ktorého sa súbor uloží. Výberom položky File (Súbor) > Save As (Uložiť ako) uložíte správu s novým názvom alebo do nového umiestnenia.
8. (Voliteľné) Vytvorte šablónu správy s požadovanými informáciami. Ak chcete uložiť aktuálne nastavenia správy do šablóny, vyberte položku Template (Šablóna) > Save (Uložiť) alebo Save As (Uložiť ako). Keď budete chcieť v budúcnosti vytvoriť správu, načítajte šablónu správy.

Vytváranie správ o skupinách jamiek

Ak chcete vytvoriť správu o skupine jamiek

1. Vyberte položku Tools (Nástroje) > Well Group Reports (Správy o skupinách jamiek) v okne Data Analysis (Analýza dát).



2. V dialógovom okne Well Groups Reports (Správy o skupinách jamiek) vyberte skupiny jamiek, kroky amplifikácie a kroky tavenia, ktoré sa majú zahrnúť do správy.
3. Zadáajte cestu alebo prejdite na cieľový priečinok, do ktorého chcete uložiť správu.
4. (Voliteľné) Vyberte položku Choose a Report Template (Vybrať šablónu správy) a prejdite na priečinok so súborom šablóny.
5. (Voliteľné) Výberom položky Open Destination Folder (Otvoriť cieľový priečinok) môžete otvoriť priečinok a pozrieť si správy po vytvorení.
6. Kliknite na položku Create Reports (Vytvoriť správy).

Kapitola 11 Analýza expresie génu

Pomocou starostlivo vybraných kontrolných vzoriek vo vašich reakciách môžete použiť CFX Manager Dx software na vykonanie chodu expresie génu, s cieľom normalizovať relatívne rozdiely v cieľovej koncentrácii medzi vzorkami. Zvyčajne sa úrovne expresie pre jeden alebo viac referenčných génov používajú na normalizáciu úrovni expresie požadovaného génu. Referenčné gény berú do úvahy rozdiely zaťaženia alebo iné premenné prítomné v každej vzorke a úrovne ich expresie by nemali byť ovplyvnené študovaným biologickým systémom.

Výberom karty Gene Expression (Expresia génu) v okne Data Analysis (Analýza dát) vyhodnoťte relatívne rozdiely medzi reakciami PCR v dvoch alebo viacerých jamkách. Môžete napríklad vyhodnotiť relatívne počty vírusových genómov alebo relatívne počty transfektovaných sekvencií v reakcii PCR. Štúdium génovej expresie sa najčastejšie využíva pri porovnávaní koncentrácie cDNA vo viac ako jednej reakcii, aby sa stanovili hladiny mediátora RNA v ustálenom stave.

Softvér vypočíta relatívnu úroveň expresie cieľa pomocou jedného z nasledujúcich scenárov:

- Relatívna úroveň expresie cieľovej sekvencie (cieľ 1) vzhľadom na iný cieľ (cieľ 2); napríklad množstvo jedného génu vo vzťahu k inému génu pri rovnakom spracovaní vzorky.
- Relatívna úroveň expresie jednej cieľovej sekvencie v jednej vzorke v porovnaní s rovnakým cieľom pri inom spracovaní vzorky; napríklad relatívne množstvo jedného génu vzhľadom k samému sebe za rôznych časových, geografických alebo vývojových podmienok.

Nastavenie platničky pre analýzu expresie génu

Ak chcete vykonať analýzu expresie génu, obsah jamiek musí obsahovať nasledujúce položky:

- Dva alebo viac cieľov — dva ciele, ktoré predstavujú rôzne amplifikované gény alebo sekvencie vo vzorkách.
- Jeden alebo viac referenčných cieľov — najmenej jeden cieľ musí byť referenčný cieľ pre normalizovanú expresiu. Priradením všetkých referenčných cieľov v okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu) vykonáte analýzu dát v režime normalizovanej expresie ($\Delta\Delta C_q$). Chody, ktoré neobsahujú referenciu, sa musia analyzovať pomocou režimu relatívnej expresie (ΔC_q).

- Bežné vzorky — reakcie musia obsahovať bežné vzorky (minimálne dve), aby sa údaje zobrazili v grafe na karte Gene Expression (Expresia génu). Tieto vzorky musia predstavovať rôznu úpravu alebo podmienky pre každú z cieľových sekvencií. Priradte kontrolnú vzorku (voliteľné) v okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu). Ak sa nevyberie žiadna kontrola, softvér použije najnižšiu hodnotu C_q ako kontrolu.

Požiadavky na nastavenie položky Gene Expression (Expresia génu) v aplikácii Plate Editor (Editor platničky) závisia od toho, či je obsah reakcií singleplex PCR, s jedným fluoroforom v reakciách, alebo multiplex PCR, s viac ako jedným fluoroforom v reakciách.

Nastavenie platničky pomocou sprievodcu

Ak nastavenie platničky dátového súboru neobsahuje informácie požadované na analýzu a vyberie sa karta Gene Expression (Expresia génu), priestor, kde sa za normálnych okolností nachádza stĺpcový graf, bude obsahovať pokyny na zadanie týchto informácií. V prípade normalizovanej expresie génu vykonajte nasledujúce kroky:

1. Zadefinujte názvy položiek Target (Cieľ) a Sample (Vzorka) pomocou niektorej z nasledujúcich možností:
 - Plate Setup (Nastavenie platničky) — otvorí okno Plate Editor (Editor platničky).
 - Replace Plate File (Nahradiť súbor platničky) — otvorí prehliadač Select Plate (Vybrať platničku), v ktorom môžete prejsť na predtým uložený súbor platničky, ktorým môžete nahradiť aktuálne rozloženie platničky.
 - Replace PrimePCR File (Nahradiť súbor PrimePCR) — otvorí dialógové okno súboru Select PrimePCR (Vybrať PrimePCR), v ktorom môžete prejsť na spustený súbor chodu PrimePCR a aplikovať ho na rozloženie platničky.
2. V dialógovom okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu) vyberte jeden alebo viac referenčných cieľov a kontrolnú vzorku.





Ak rozloženie platničky už obsahuje informácie o cieľi a vzorke, vyžaduje sa iba druhý krok a je zvýraznený oranžovo. Tento krok sa musí vykonať pred uskutočnením analýzy normalizovanej génovej expresie.

Poznámka: Dáta pre clustergram a diagram rozptylu sa zobrazujú len vtedy, ak sú splnené všetky požiadavky na normalizovanú expresiu génu uvedené v položke Plate Setup (Nastavenie platničky) pre analýzu expresie génu.

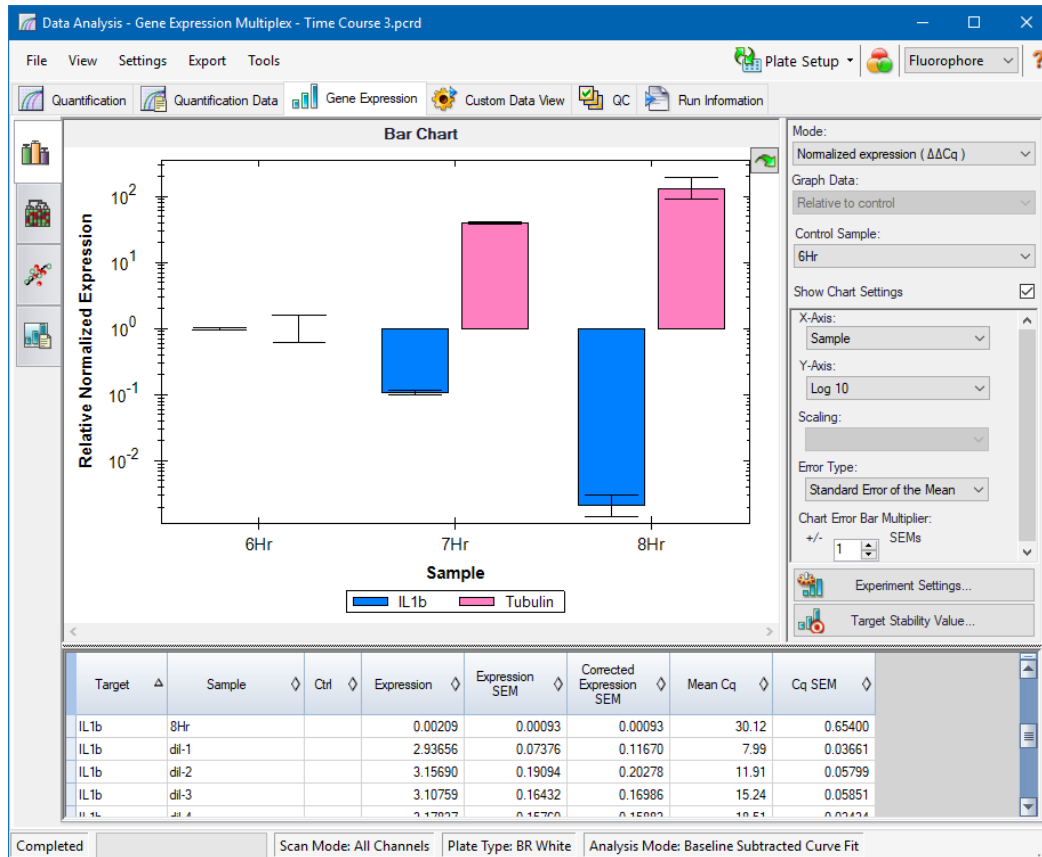
Grafy expsie génu

CFX Manager Dx software zobrazuje údaje expsie génu vo viacerých pohľadoch. [Tabuľka 33](#) udáva možnosti grafu dostupné v softvéri.

Tabuľka 33. Možnosti grafu expsie génu

Tlačidlo	Názov	Funkcia
	Stĺpcový graf	Zobrazuje normalizované údaje expsie génu vo formáte stĺpcového grafu.
	Clustergram	Zobrazuje údaje normalizovanej expsie v hierarchii na základe stupňa podobnosti expsie pre rôzne ciele a vzorky.
	Diagram rozptylu	Zobrazuje normalizovanú expsiu cieľov pre kontrolnú vzorku v porovnaní so vzorkou.
	Výsledky	Sumarizuje údaje zo všetkých grafov.

Stípcový graf



Relatívne vyjadrenie cieľov je uvedené v týchto dvoch zobrazeniach:

- Graf exprese génu — zobrazuje údaje PCR v reálnom čase ako jednu z nasledujúcich možností:
 - $\Delta\Delta C_q$ — relatívna normalizovaná expresia vypočítaná pomocou kontrolných vzoriek a referenčných cieľov.
 - ΔC_q — relatívne množstvo cieľového génu vo vzorke vzhľadom na kontrolnú vzorku.
- Tabuľkový procesor — zobrazí tabuľkový procesor údajov génovej exprese.

Tip: Na zobrazenie možností kliknite pravým tlačidlom myši na ľubovoľný graf alebo tabuľkový procesor. Výberom View/Edit Plate (Zobraziť/upraviť platničku) v rozbaľovacom menu Plate Setup (Nastavenie platničky) otvoríte Plate Editor (Editor platničky) a zmeníte obsah jamiek v platničke.

Tip: Ak chcete zmeniť usporiadanie poradia názvov Target (Cieľ) a Sample (Vzorka) v grafe, vyberte položku Sort (Usporiadať) z ponuky pravým tlačidlom myši.

Normalizovaná expresia génu

Ak chcete normalizovať dáta, ako faktor normalizácie použite nameranú úroveň expresie jedného alebo viacerých referenčných génov. Referenčné gény sú cieľe, ktoré nie sú regulované v skúmanom biologickom systéme, ako napríklad *actín*, *GAPDH* alebo *tubulín*.

Nastavenie analýzy normalizovanej expresie génu ($\Delta\Delta C_q$)

1. Otvorte dátový súbor (prípona .pcrd).
2. Skontrolujte údaje na karte Quantification (Kvantifikácia) okna Data Analysis (Analýza dát). Vykonať úpravy údajov, napríklad zmenu prahovej hodnoty a režimu analýzy.
3. Vyberte kartu Gene Expression (Expresia génu).
4. Na karte Gene Expression (Expresia génu) kliknite na položku Experiment Settings (Nastavenia experimentu).
5. V dialógovom okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu) vykonajte nasledujúcu činnosť:
 - a. Vyberte kartu Samples (Vzorky) a vyberte kontrolnú vzorku. Po priradení kontrolnej vzorky CFX Manager Dx software normalizuje relatívne množstvá pre všetky gény na kontrolné množstvo, ktoré je nastavené na 1.
 - b. Vyberte kartu Target (Cieľ) a vyberte referenčné gény. Analýza expresie génu vyžaduje jednu referenciu medzi cieľmi vo vzorkách.
6. Vyberte možnosť Normalized Expression ($\Delta\Delta C_q$) (Normalizovaná expresia), ak už nie je vybraná, a následne si pozrite úroveň expresie na karte Gene Expression (Expresia génu).

Relatívne množstvo

Podľa definície údaje relatívneho množstva (ΔC_q) nie sú normalizované. Táto metóda sa používa na kvantifikáciu vzoriek, ktoré neobsahujú žiadne referenčné gény (ciele). Typicky, výskumníci sú si istí v jednej z nasledujúcich úvah, keď si nastavujú svoj chod:

- Každá vzorka obsahuje rovnaké množstvo RNA alebo cDNA v každej jamke.
- Akákoľvek odchýlka v množstve zavedenej biologickej vzorky sa normalizuje až po vykonaní chodu niektorou z metód analýzy dát mimo softvéru. Výskumník by sa napríklad mohol rozhodnúť deliť hodnotu relatívneho množstva normalizačným faktorom, prípadne hmotnosťou nukleovej kyseliny pridanej do každej vzorky, alebo počtom buniek, z ktorých bola nukleová kyselina izolovaná.

Na spustenie analýzy Relative Quantity (Relatívne množstvo) (ΔC_q)

- ▶ Na karte Gene Expression (Expresia génu) vyberte Relative Quantity (Relatívne množstvo) (ΔC_q) z rozbaľovacieho zoznamu Mode (Režim) v pravom paneli.

Tip: Na porovnanie výsledkov s údajmi z iných chodov génovej expresie, otvorte novú štúdiu génu alebo pridajte dátový súbor do existujúcej génovej štúdie.

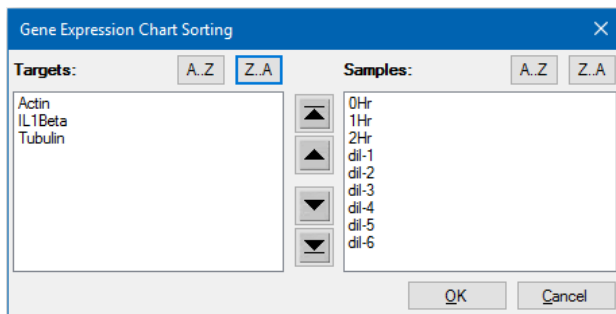
Usporiadanie údajov cieľa a vzorky

Poznámka: Táto možnosť je k dispozícii iba v grafoch expresie génu.

V predvolenom nastavení sa zoznamy Targets (Ciele) a Samples (Vzorky) zobrazujú v abecednom poradí. Pomocou dialógového okna Sort (Usporiadať) môžete usporiadať zobrazenie v opačnom abecednom poradí alebo manuálne presunúť výraz na inú pozíciu v zozname.

Ak chcete zoradiť údaje cieľa a vzorky

1. V menu grafu dostupnom po kliknutí pravým tlačidlom myši kliknite na položku Sort (Usporiadať).
Zobrazí sa dialógové okno Gene Expression Chart Sorting (Usporiadanie grafu expresie génu).



2. V dialógovom okne kliknite na položku Z-A, čím zoradíte zoznam v opačnom abecednom poradí.
3. Ak chcete výraz presunúť manuálne, vyberte ho a kliknite na príslušné tlačidlo medzi grafmi:
 - Kliknutím na šípku nahor alebo nadol presuniete vybraný výraz o jednu pozíciu.
 - Kliknutím na šípku stĺpca nahor alebo nadol presuniete vybraný výraz na začiatok alebo koniec zoznamu.
4. Kliknutím na tlačidlo OK uložte zmeny a vráťte sa na kartu Gene Expression (Expresia génu).

Prispôsobenie údajov expresie génu

Po výbere režimu analýzy — normalizovanej expresie ($\Delta\Delta Cq$) alebo relatívneho množstva (ΔCq) upravte zobrazované údaje na karte Gene Expression (Expresia génu) zmenou možností nastavenia vpravo od grafu.

Tip: V dialógovom okne User Preferences (Preferencie používateľa) nastavíte predvolené možnosti údajov Gene Expression (Expresia génu) (pozrite si [Nastavenie predvolených parametrov dátových súborov expresie génu na strane 73](#)).

Údaje grafu

Nastavte hodnotu osi Y na Lineárnu mierku, aby ste sprístupnili možnosti údajov grafu. Možnosti grafových údajov vám umožňujú prezentovať údaje v grafe jednou z týchto možností:

- Relatívne ku kontrole — graf údajov s osou škálovanou od 0 do 1. Ak vo svojom cykle priradíte ovládací prvok, vyberte túto možnosť na rýchle zobrazenie regulácie cieľa smerom nahor a nadol.
- Relatívne k nulovému — graf údajov so začiatkom na nule.

Kontrolná vzorka

Pomocou rozbaľovacej ponuky Control Sample (Kontrolná vzorka) vyberte vzorku, ktorá sa použije na normalizáciu relatívneho množstva:

Nastavenia grafu

Po začiarnutí políčka Show Chart Settings (Zobraziť nastavenia grafu) sa zobrazia nasledujúce možnosti (popísané nižšie): X-Axis (Os X), Y-Axis (Os Y), Scaling (Škálovanie), Error Type (Typ chyby) a Chart Error Multiplier (Násobiteľ chyby grafu).

Možnosti osi X

Možnosť osi x umožňuje vybrať údaje osi x grafu Gene Expression (Expresia génu):

- Cieľ — zobrazuje názvy cieľov na osi X.

- Vzorok — zobrazuje názvy vzoriek na osi X.

Možnosti osi Y

Možnosť osi Y umožňuje zobrazit' graf Gene Expression (Expresia génu) v jednej z týchto troch mierok:

- Lineárna — vyberte túto možnosť, ak chcete zobrazit' lineárnu mierku.

Tip: Nastavenie osi Y na Linear (Lineárna) aktivuje rozbaľovací zoznam Graph Data (Údaje grafu), z ktorého si môžete vybrať, či chcete zobrazit' údaje relatívne ku kontrole, alebo k nule.

- Log 2 — vyberte túto možnosť na vyhodnotenie vzoriek vo veľkom dynamickom rozsahu.
- Log 10 — vyberte túto možnosť na vyhodnotenie vzoriek vo veľmi veľkom dynamickom rozsahu.

Možnosti škálovania

Výberom položky Normalized Gene Expression (Normalizovaná expresia génu) ($\Delta\Delta C_q$) a nastavením položky Control Sample (Kontrolná vzorka) na možnosť None (Žiadna) aktivujete možnosti škálovania v grafe expresie génu. Vyberte jednu z týchto možností škálovania, aby ste mohli vypočítať a prezentovať svoje údaje spôsobom, ktorý najlepšie vyhovuje vášmu návrhu chodu:

- Unscaled (Neškálovaná) — predstavuje neškálovanú expresiu normalizovaného génu.
- Highest (Najvyššia) — škáluje normalizovanú expresiu génu tak, že pre každý cieľ vydolí úroveň expresie každej vzorky najvyššou úrovňou expresie vo všetkých vzorkách.

Táto možnosť škálovania používa vzorec s mierkou škálovanou na najvyššiu hodnotu.

- Lowest (Najnižšia) — škáluje normalizovanú expresiu génu tak, že pre každý cieľ vydolí úroveň expresie každej vzorky najnižšou úrovňou expresie vo všetkých vzorkách.

Táto možnosť škálovania používa vzorec s mierkou škálovanou na najnižšiu hodnotu.

- Average (Priemerná) — škáluje normalizovanú expresiu génu tak, že pre každý cieľ vydolí úroveň expresie každej vzorky geometrickým priemerom úrovni expresie vo všetkých vzorkách.

Táto možnosť škálovania používa vzorec s mierkou škálovanou na priemernú hodnotu.

Typ chyby

Vyberte možnosť pre typ výpočtov chýb (stĺpec chýb) v grafe Gene Expression (Expresia génu):

- Standard error of the mean (default) (Štandardná chyba strednej hodnoty (predvolené))
- Standard deviation (Štandardná odchýlka)

Multiplikátor grafu chybového stĺpca

Vyberte multiplikátor pre stĺpce chýb v grafe Gene Expression (Expresia génu). Vyberte jedno z týchto celých čísiel:

+/- 1 (predvolené nastavenie), 2 alebo 3. Typ multiplikátora sa zmení, keď vyberiete typ chyby:

- SEMs (Štandardná chyba strednej hodnoty) pre štandardnú chybu strednej hodnoty
- Std Devs (Štandardná odchýlka) pre štandardné odchýlky

Nastavenia experimentu

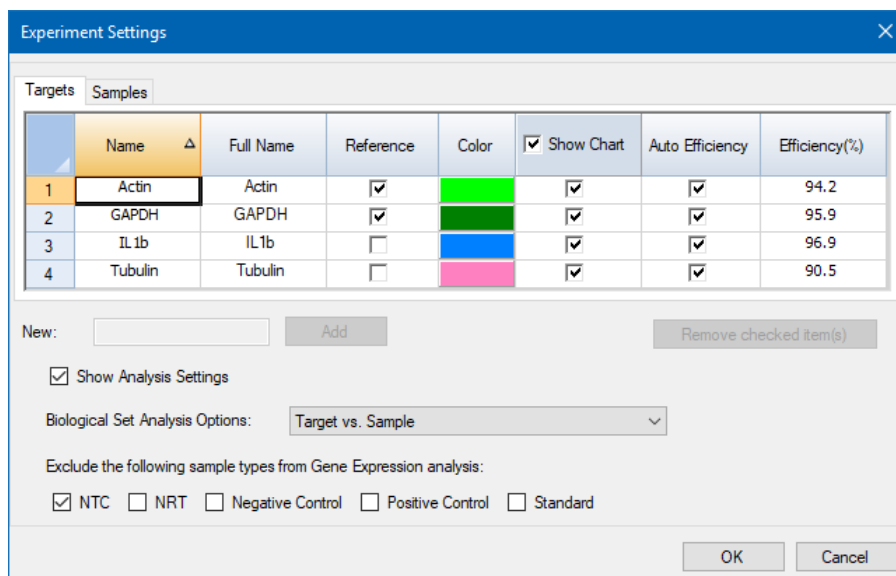
Tip: Toto dialógové okno je dostupné aj v aplikácii Plate Editor (Editor platničky). Viac informácií uvádza [Zmena nastavení experimentov na strane 132](#).

V dialógovom okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu) môžete zobrazit' alebo zmenit' zoznam cieľov alebo vzoriek, vybrať referenčné gény, vybrať kontrolné vzorky alebo nastaviť skupinu Gene Expression Analysis (Analýza expresie génu) na analýzu, ak sa do jamiek pridali názvy biologických súborov.

Ak chcete otvoriť dialógové okno Experiment Settings (Nastavenia experimentu)

- ▶ Na karte Bar Chart (Stĺpcový graf) kliknite na položku Experiment Settings (Nastavenia experimentu) v spodnej časti pravom paneli.

Zobrazí sa dialógové okno Experiment Settings (Nastavenia experimentu) s kartou Targets (Ciele).



Ak chcete upraviť nastavenia položky Targets (Ciele)

- ▶ Na karte Targets (Ciele) vykonajte niektorý z nasledujúcich krokov:
 - Ak chcete vybrať cieľ ako referenciu pre analýzu dát expresie génu, vyberte jeho názov v stĺpci Reference (Referencia).
 - Ak chcete zmeniť farbu cieľa, kliknite na jeho bunku v stĺpci Color (Farba) a zmeňte farbu v zobrazenom dialógovom okne Color (Farba).

Zmena farby sa zobrazí na grafoch Gene Expression (Expresia génu).
 - Ak chcete použiť predtým stanovenú hodnotu účinnosti, zrušte začiarknutie políčka cieľa v stĺpci Auto Efficiency (Automatická účinnosť) a zadajte hodnotu percenta účinnosti cieľa.

Softvér vypočíta relatívnu účinnosť pre cieľ pomocou položky Auto Efficiency (Automatická účinnosť), ak dáta pre cieľ obsahujú štandardnú krivku.

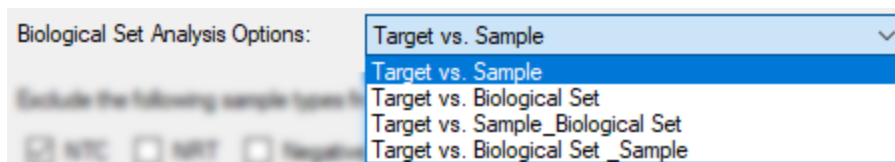
Ak chcete upraviť nastavenia položky Sample (Vzorka)

- ▶ Na karte Samples (Vzorky) vykonajte niektorý z nasledujúcich krokov:
 - Ak chcete vybrať vzorku ako kontrolnú vzorku pre analýzu dát expresie génu, vyberte jej názov v stĺpci Control (Kontrolná vzorka).
 - Ak chcete zmeniť farbu vzorky skupiny, kliknite na jej bunku v stĺpci Color (Farba) a zmeňte farbu v dialógovom okne Color (Farba), ktoré sa zobrazí.

Zmena farby sa zobrazí na grafoch Gene Expression (Expresia génu).
 - Ak chcete zobraziť vzorku v grafoch Gene Expression (Expresia génu), vyberte ich v stĺpci Show Chart (Zobraziť graf).
 - Ak chcete odstrániť vzorku z grafov Gene Expression (Expresia génu), vymažte ich v stĺpci Show Chart (Zobraziť graf).
- Tip:** Dáta vzorky skupiny zostanú v tabuľke Results (Výsledky).

Ak chcete zmeniť výber položky **Biological Set Analysis Options (Možnosti analýzy biologickej súpravy)**

- ▶ Ak ste priradili jednu alebo viac biologických súprav k jamkám na platničke (pozrite si [Priradenie biologických súprav k jamkám na strane 126](#)), zoznam Biological Set Analysis Options (Možnosti analýzy biologickej súpravy) sa zobrazí v dialógovom okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu), čo vám umožňuje zmeniť výber podľa potreby.



- **Target vs. Sample** (Cieľ v porovnaní so vzorkou) — Pri výpočtoch expresie génu sa použije iba názov vzorky v jamke.
- **Target vs. Biological Set** (Cieľ v porovnaní s biologickou súpravou) — Pri výpočtoch expresie génu sa použije iba jeden názov biologickej súpravy.
- **Target vs. Sample_Biological Set** (Cieľ v porovnaní so vzorkou a biologickou súpravou) — Názov vzorky a názov biologického súboru sa skombinujú, aby sa vytvoril jeden názov na použitie vo výpočtoch.
- **Target vs. Biological Set_Sample** (Cieľ v porovnaní s biologickou súpravou a vzorkou) — Názov biologickej súpravy a názov vzorky sa skombinujú, aby sa vytvoril jeden názov na použitie vo výpočtoch.

Ak chcete vylúčiť typ vzorky z výpočtov analýzy

- ▶ Začiarknite príslušné políčko v dolnej časti dialógového okna Experiment Settings (Nastavenia experimentu).

Poznámka: Tým sa vylúčia kontroly a/alebo štandardy z analýzy expresie génu.

Hodnota stability cieľa

Hodnoty stability cieľa sa vypočítajú, keď sa použije viac ako jeden referenčný gén. CFX Manager Dx software vypočíta dva parametre kvality pre referenčné gény:

- **Coefficient Variance (CV)** (Koefficientová odchýlka) relatívnych množstiev normalizovaného referenčného génu. Nižšia hodnota CV znamená vyššiu stabilitu.
- **M Value (M)** (M-hodnota), miera expresie stability referenčného génu.

Odporúčané hodnoty CV a M sa zobrazia v dolnej časti dialógového okna Stability Value (Hodnota stability).

Zobrazenie hodnoty stability cieľa

- Na karte Gene Expression Bar Chart (Stĺpcový graf expresie génu) kliknite na položku Target Stability Value (Hodnota stability cieľa) v dolnej časti pravého panelu.

Objaví sa dialógové okno Stability Value (Hodnota stability).

Možnosti menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši

Kliknite pravým tlačidlom myši na graf expresie génu a vyberte položky, ktoré uvádza [Tabuľka 34](#).

Tabuľka 34. Položky ponuky expresie génu dostupné po kliknutí pravým tlačidlom myši

Položka	Funkcia
Copy (Kopírovať)	Skopíruje graf do schránky.
Save Image As (Uložiť obrázok ako)	Uloží graf ako súbor s obrázkom. Nastavte rozlíšenie a rozmery obrázka a potom vyberte typ súboru (PNG, GIF, JPG, TIF alebo BMP).
Page Setup (Nastavenie strany)	Vyberie nastavenie strany pre tlač.
Print (Tlač)	Vytlačí graf.
Set Scale to Default (Nastaviť mierku na predvolenú)	Položka Show All (Zobraziť všetko) zobrazí všetky údaje v stĺpcovom grafe. Položka Scroll Bar (Rolovacia lišta) zobrazí rolovaciu lištu, ak existuje príliš veľa vzoriek, ktoré sa majú zobraziť v rámci grafu pri zachovaní minimálnej šírky stĺpca.
Chart Options (Možnosti grafu)	Otvorí okno Chart Options (Možnosti grafu) na nastavenie grafu.
Sort (Usporiadať)	Usporiada poradie vzoriek alebo cieľov, ktoré sa zobrazujú na osi x grafu.
Use Corrected Std Devs (Použiť korigované štandardné odchýlky)	Vypočíta chybové stĺpce pomocou upraveného vzorca štandardnej odchýlky.
Use Solid Bar Colors (Použiť plné farby stĺpcov)	Zobrazí plné stĺpce v grafe.
X-Axis Labels (Označenia osi X)	Vodorovne alebo šikmo zobrazí označenia osi X.

Tabuľkový procesor údajov

Tabuľka 35 uvádza údaje zobrazené v tabuľke údajov Gene Expression (Expresia génu).

Poznámka: Hodnoty v tabuľke sa vypočítajú na základe typu grafu a preferencií vybratých v pravej časti okna.

Tabuľka 35. Popis informácie v tabuľkovom procesore na karte GraphingBar Chart (Stĺpcového grafu)

Informácie	Opis
Cieľ	Názov cieľa (amplifikovaný gén) zvolený v okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu).
Vzorka	Názov vzorky zvolený v okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu).
Ctrl	Názov kontrolnej vzorky zvolený v okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu).
Relatívne množstvo alebo expresia	Relatívne množstvo (ΔC_q) alebo normalizovaná expresia génu ($\Delta\Delta C_q$) v závislosti od zvoleného režimu.
Relatívne množstvo alebo expresia SEM (alebo SD)	Štandardná chyba strednej hodnoty (SEM) alebo štandardná odchýlka (SD) od relatívneho množstva alebo normalizovanej expresie v závislosti na zvolenej možnosti.
Opravené relatívne množstvo alebo expresia SEM (alebo SD)	Opravená hodnota výpočtu pre SEM alebo štandardná odchýlka (SD) normalizovanej expresie v závislosti na zvolenej možnosti.
Stredná hodnota C_q	Stredná hodnota cyklu kvantifikácie
C_q SEM (alebo SD)	SEM alebo SD cyklu kvantifikácie v závislosti od zvolenej možnosti

Možnosť zobrazenia podrobností

Tabuľka 36 uvádza údaje, ktoré sa zobrazia, keď vyberiete položku Show Details (Zobraziť podrobnosti) z menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši tabuľkového procesora stĺpcového grafu.

Tabuľka 36. Informácie v tabuľkovom procesore stĺpcového grafu, keď je vybraná položka Show Details (Zobraziť podrobnosti)

Informácie	Opis
Súbor dát	Fluorescenčné dáta z jedného fluoroforu v dátovom súbore
Relatívne množstvo	Vypočítané relatívne množstvo vzoriek
Štandardná odchýlka relatívneho množstva	Štandardná odchýlka výpočtu relatívneho množstva
Korigovaná štandardná odchýlka relatívneho množstva	Vypočítaná štandardná odchýlka korigovaného relatívneho množstva
Štandardná chyba strednej hodnoty relatívneho množstva	Štandardná chyba strednej hodnoty výpočtu relatívneho množstva
Štandardná chyba strednej hodnoty korigovaného relatívneho množstva	Vypočítaná štandardná chyba strednej hodnoty korigovaného relatívneho množstva
Relatívne množstvo (lg)	\log_2 relatívneho množstva, ktoré sa používa na štatistickú analýzu
SD RQ(lg)	Štandardná odchýlka relatívneho množstva (\log_2)
Štandardná chyba strednej hodnoty expresie (lg)	Štandardná chyba strednej hodnoty expresie (\log_2)
Neupravená expresia	Vypočítaná neupravená expresia
Štandardná odchýlka neupravenej expresie	Vypočítaná štandardná odchýlka neupravenej expresie
Štandardná odchýlka korigovanej neupravenej expresie	Vypočítaná štandardná odchýlka korigovanej neupravenej expresie
Štandardná chyba strednej hodnoty neupravenej expresie	Vypočítaná štandardná chyba strednej hodnoty neupravenej expresie

Tabuľka 36. Informácie v tabuľkovom procesore stípcového grafu, keď je vybraná položka Show Details (Zobrazit' podrobnosti), pokračovanie

Informácie	Opis
Štandardná chyba strednej hodnoty korigovanej neupravenej expresie	Vypočítaná štandardná chyba strednej hodnoty korigovanej neupravenej expresie
Neupravená expresia (lg)	Log ₂ neupravenej expresie
Štandardná odchýlka neupravenej expresie (lg)	Štandardná odchýlka neupravenej expresie (log ₂)
Štandardná chyba strednej hodnoty neupravenej expresie (lg)	Štandardná chyba strednej hodnoty neupravenej expresie (log ₂)
Expresia	Normalizovaná expresia génu
Štandardná odchýlka korigovanej expresie	Vypočítaná štandardná odchýlka
Štandardná chyba strednej hodnoty expresie	Štandardná chyba strednej hodnoty
Štandardná chyba strednej hodnoty korigovanej expresie	Vypočítaná štandardná chyba strednej hodnoty
Expresia(lg)	Log ₂ expresie (normalizovaná expresia), ktorá sa používa na štatistickú analýzu
Štandardná odchýlka expresie (lg)	Štandardná odchýlka expresie (log ₂)
Štandardná chyba strednej hodnoty expresie (lg)	Štandardná chyba strednej hodnoty expresie (log ₂)
Stredná hodnota C _q	Stredná hodnota cyklu kvantifikácie
Štandardná odchýlka C _q	Štandardná odchýlka cyklu kvantifikácie
Chyba strednej hodnoty C _q	Štandardná chyba strednej hodnoty cyklu kvantifikácie

Clustergram

Clustergram zobrazuje údaje v hierarchii na základe stupňa podobnosti expresie pre rôzne ciele a vzorky.

Poznámka: Ak chcete zobrazit' iné dáta grafu, než je relatívna expresia pre stĺpcové grafy, musíte vybrať referenčný cieľ na zobrazenie.

Obrázok clustergramu zobrazuje relatívnu expresiu vzorky alebo cieľa nasledovne:

- Regulácia smerom nahor (červená) — vyššia expresia
- Regulácia smerom nadol (zelená alebo modrá) — nižšia expresia
- Žiadna regulácia (čierna)
- Žiadna vypočítaná hodnota (čierna s bielym X)

Čím svetlejší je odtieň farby, tým väčší je rozdiel relatívnej expresie. Ak nie je možné vypočítať normalizovanú hodnotu C_q , štvorec bude čierny s bielym X.

Na vonkajších okrajoch dátového grafu je dendrogram, ktorý označuje klastrovú hierarchiu. Ciele alebo vzorky, ktoré majú podobné vzory expresie, budú mať príľahlé vetvy, zatiaľ čo ciele alebo vzorky s odlišnými vzormi budú vzdialenejšie.

Nastavenia

Môžete nastaviť nasledujúce možnosti:

- Cluster By (Zoskupenie podľa) — zvolte z Targets (Ciele), Samples (Vzorky), Both (Oboje) alebo None (Žiadne).
- Size (Veľkosť) — upraví veľkosť obrázka a zmení stupeň zväčšenia grafu.
- Split Out Replicates (Rozdelené replikáty) — zobrazuje hodnoty pre jednotlivé replikáty.

Tip: Môžete zmeniť farebnú schému pre a bodový graf z predvolenej červenej/zelenej na červenú/modrú výberom tejto možnosti z menu kliknutím pravým tlačidlom myši na z týchto grafov.

Možnosti menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši

Možnosti menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši pre clustergram sú rovnaké ako možnosti pre stĺpcový graf. Dostupné možnosti uvádza [Tabuľka 34 na strane 242](#). Pomocou položky Color Scheme (Farebná schéma) môžete navyše zmeniť znázornenie regulácie smerom nadol z červenej/zelenej na červenú/modrú na grafe.

Tabuľkový procesor údajov

Tabuľkový procesor zobrazuje hodnoty pre cieľ, vzorku a normalizovanú expresiu. Kliknutím na začiarkavacie políčko vedľa cieľa ho zahrniete do grafu alebo vylúčite z grafu.

Diagram rozptylu

Diagram rozptylu zobrazuje normalizovanú expresiu cieľov pre kontrolnú vzorku v porovnaní so vzorkou experimentu. Čiary na grafe označujú prahovú hodnotu regulácie. Dátové body medzi riadkami označujú, že rozdiel v expresii pre daný cieľ (gén) je medzi vzorkami zanedbateľný. Dátové body mimo čiar prekračujú prahovú hodnotu regulácie a môžu byť predmetom záujmu.

Graf znázorňuje nasledujúce zmeny v cieľovej expresii na základe prahovej hodnoty regulácie:

- Regulácia smerom nahor (červený kruh) — relatívne vyššia expresia
- Regulácia smerom nadol (zelený alebo modrý kruh) — relatívne nižšia expresia
- Žiadna zmena (čierny kruh)

Kliknutím na niektorú čiaru prahovej hodnoty a jej potiahnutím upravte prahovú hodnotu regulácie.

Nastavenia

Môžete nastaviť nasledujúce možnosti:

- Control Sample (Kontrolná vzorka)
- Experimental Sample (Experimentálna vzorka)
- Regulation Threshold (Prahová hodnota regulácie). So zvyšovaním alebo znižovaním položky regulation value (Regulačná hodnota) sa budú príslušným spôsobom pohybovať prahové čiary v grafe.

Možnosti menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši

Možnosti menu dostupného po kliknutí pravým tlačidlom myši pre diagram rozptylu sú rovnaké ako možnosti pre stĺpcový graf. Dostupné možnosti uvádza [Tabuľka 34 na strane 242](#). Ak navyše vyberiete položku Symbol, môžete zmeniť symbol použitý v grafe z predvoleného kruhu na jednu z nasledujúcich možností:

- Trojuholník
- Krížik
- Štvorec
- Kosoštvorec

Tabuľkový procesor údajov

Tabuľkový procesor zobrazuje hodnoty pre cieľ a normalizovanú expresiu pre kontrolné a experimentálne vzorky. Tiež zobrazuje, či sú ciele regulované nahor alebo nadol v porovnaní s cieľovej regulácie. Kliknutím na začiarkavacie políčko vedľa cieľa ho zahrniete do grafu alebo vylúčite z grafu.

Výsledky

Karta Results (Výsledky) sumarizuje dáta zo všetkých grafov. [Tabuľka 37](#) definuje dáta zobrazené v tabuľkovom procesore Results (Výsledky).

Tabuľka 37. Informácie na karte Results (Výsledky)

Informácie	Opis
Target (Cieľ)	Názov cieľa (amplifikovaný gén)
Sample (Vzorka)	Názov vzorky
Mean C _q (Stredná hodnota C _q)	Stredná hodnota kvantifikačného cyklu
Mean Efficiency Corrected C _q (Stredná hodnota účinnosti korigovaného C _q)	Stredná hodnota kvantifikačného cyklu po upravení na účinnosť reakcie
Normalized Expression (Normalizovaná expresia)	Expresia cieľa normalizovaná na referenčný cieľ ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Relatívna normalizovaná expresia)	Normalizovaná expresia v porovnaní s kontrolnou vzorkou; tiež nazývaná násobok zmeny
Regulation (Regulácia)	Zmena v expresii vo vzťahu ku kontrolnej vzorke
Compared to Regulation Threshold (V porovnaní s prahovou hodnotou regulácie)	Regulácia smerom nahor alebo nadol experimentálnej vzorky na základe nastavenia prahovej hodnoty

Poznámka: Údaje pre replikáty sa nachádzajú iba v tabuľkových procesoroch analýzy dát, v ktorých sa vybrala položka Split Out Replicates (Rozdeliť replikáty) (to znamená Clustergram). Môže existovať nesúlad medzi dátami expresie v tabuľkových procesoroch analýzy expresie génu, ak v stĺpcovom grafe zvolíte ako kontrolnú vzorku položku „none“ (žiadna).

Génová štúdia

Vytvorte génovú štúdiu na porovnanie údajov expresie génu z jedného alebo viacerých experimentov PCR v reálnom čase pomocou interne spusteného kalibrátora, aby sa vykonala normalizácia medzi experimentmi. Génovú štúdiu vytvoríte pridaním dát z jedného alebo viacerých dátových súborov (prípona .pcrd) do génovej štúdie. Softvér ich zoskupuje do jedného súboru (prípona .mgxd).

Poznámka: Maximálny počet vzoriek, ktoré môžete analyzovať v génovej štúdii, je obmedzený veľkosťou pamäte RAM počítača a virtuálnej pamäte.

Kalibrácia medzi chodmi

Snaha o kalibráciu medzi chodmi sa automaticky nastane v každej génovej štúdii pre každý cieľ, aby sa normalizovali medziúrovňové variácie medzi cieľmi testovanými v oddelených PCR testoch v reálnom čase (to znamená rôzne súbory .pcrd vytvorené z rôznych platničiek).

Aby softvér rozpoznal vzorku ako kalibrátor medzi chodmi, musí zdieľať rovnaký cieľový názov, názov vzorky a, ak sa používa, názov biologickej súpravy v každej porovnáwanej platničke.

Poznámka: Aspoň jedna vzorka medziúrovňového kalibrátora musí byť prítomná v génovej štúdii, aby sa uskutočnila kalibrácia medzi chodmi. Ciele bez vhodných vzoriek medziúrovňového kalibrátora budú spracované bez korekcie v génovej štúdii (neodporúča sa).

Kalibrátory medzi jednotlivými chodmi je možné aplikovať dvoma spôsobmi:

- Na cieľ — rôzne PCR primery môžu mať rôznu účinnosť. Predvolene sa kalibrátor medzi chodmi aplikuje do všetkých jamiek na tej istej platničke, ktoré majú rovnaký cieľový názov, napr. C_q generovaný rovnakým testom.
- Celková štúdia — jeden kalibrátor medzi chodmi je vybraný používateľom a aplikovaný na celú štúdiu génu.

Dialógové okno Gene Study (Génová štúdia)

Dialógové okno Gene Study (Génová štúdia) obsahuje dve karty:

- Karta Study Setup (Nastavenie štúdie) — riadi cykly v génovej štúdii.
 - **Dôležité upozornenie:** Pridanie alebo odstránenie dátových súborov nezmení údaje v pôvodnom súbore.
- Karta Study Analysis (Analýza štúdie) — zobrazuje údaje expresie génu kombinovaných cyklov.

Karta Study Setup (Nastavenie štúdie)

Tabuľka 38 definuje údaje, ktoré sa objavia na karte Study Setup (Nastavenie štúdie)

Tabuľka 38. Karta Study Setup (Nastavenie štúdie) v dialógovom okne Gene Study (Génová štúdia)

Názov stĺpca	Opis
File Name (Názov súboru)	Pomenujte dátový súbor chodu (prípona .pcrd)
File Folder (Priečinok súboru)	Adresár, do ktorého sa ukladá dátový súbor pre každý chod v génovej štúdii
Date Created (Dátum vytvorenia)	Dátum zberu dát chodu
Well Group Name (Názov skupiny jamiek)	Názov skupiny jamiek, ktorá bola vybraná, keď bol súbor pridaný do génovej štúdie Tip: Ak chcete v génovej štúdii analyzovať jednu skupinu jamiek, musíte túto skupinu vybrať v okne Data Analysis (Analýza dát) pred importom dátového súboru do génovej štúdie.
Step (Krok)	Protokolový krok, ktorý zahŕňa čítanie platničky na zhromažďovanie údajov PCR v reálnom čase
Run Type (Typ chodu)	Chod buď používateľsky definovaný, alebo PrimePCR
Protocol Edited (Upravený protokol)	Ak je zvolené, označuje, že bol upravený protokol použitý pre chod PrimePCR
View Plate (Zobraziť platničku)	Otvorí mapu platničky s údajmi v každom z pokusov zahrnutých v génovej štúdii

Príprava génovej štúdie

Ak chcete pripraviť génovú štúdiu

- Pred importovaním dát do génovej štúdie vykonajte v okne Data Analysis (Analýza dát) nasledujúci krok:
 - Skontrolujte, či vzorky s rovnakým obsahom majú rovnaký názov. V génovej štúdii softvér predpokladá, že jamky s rovnakým cieľom alebo názvom vzorky obsahujú rovnaké vzorky.
 - Upravením základnej a prahovej hodnoty (C_q) na karte Quantification (Kvantifikácia) optimalizujte dáta v každom chode.
 - Vyberte skupinu jamiek, ktorú chcete zahrnúť do génovej štúdie.

Aby sa zobrazili údaje z jednej skupiny jamiek v génovej štúdii, daná skupina sa musí vybrať pred importovaním dátového súboru.

Karta Study Setup (Nastavenie štúdie) zobrazuje zoznam všetkých chodov v génovej štúdii.

2. V dialógovom okne Gene Study (Génová štúdia) vyberte kartu Study Setup (Nastavenie štúdie).
3. Kliknutím na položku Add Data Files (Pridať dátové súbory) vyberte súbor z okna prehliadača.
Tip: Ak chcete rýchlo pridať chody do génovej štúdie, presuňte dátové súbory (prípona .pcrd) do dialógového okna Study Setup (Nastavenie štúdie).
4. CFX Manager Dx software automaticky vykonáva analýzu génovej štúdie pri pridávaní dátových súborov. Výberom karty Study Analysis (Analýza štúdie) zobrazíte výsledky.

Ak chcete odstrániť chody z génovej štúdie

- ▶ Vyberte jeden alebo viac súborov a kliknite na tlačidlo Remove (Odstrániť).

Ak chcete pridať poznámky o génovej štúdii

- ▶ Zadajte poznámky o súboroch a analýze do textového poľa Notes (Poznámky).

Karta Study Analysis (Analýza štúdie)

Karta Study Analysis (Analýza štúdie) zobrazuje dáta zo všetkých pokusov v génovej štúdii. Možnosti analýzy údajov expresie génu sú rovnaké ako pre jeden dátový súbor s nasledujúcimi výnimkami:

- Pre stĺpcové grafy sa pri kliknutí na tlačidlo Inter-run Calibration (Kalibrácia medzi chodmi) zobrazia medzichodové kalibračné hodnoty (ak sú vypočítané).

Poznámka: Ako medzichodový kalibrátor je možné použiť len nasledujúce typy vzoriek:

- Neznáme
- Štandardné
- Pozitívna kontrola

Typy vzoriek Negative control (Negatívna kontrola), no template control (NTC) (Bez šablóny kontrolnej vzorky), a no reverse transcriptase control (NRT) (Bez kontrolnej vzorky reverznej transkriptázy) sa nemôžu použiť ako medzichodový kalibrátor.

Vytvorenie správy o génovej štúdií

Ak chcete vytvoriť správu o génovej štúdií

1. Pred vytvorením správy podľa potreby upravte dáta a grafy správy o génovej štúdií.
2. Výberom položky Tools (Nástroje) > Reports (Správy) v ponuke Gene Study (Génová štúdia) otvorte dialógové okno Report (Správa).
3. Vyberte možnosti, ktoré chcete zahrnúť do správy. Správa sa otvorí s vybranými predvolenými možnosťami. Začiarknutím alebo zrušením začiarknutia začiarkavacích políčok zmeníte celé kategórie alebo jednotlivé možnosti v rámci kategórie.

[Kategórie správ génovej štúdie na strane 255](#) uvádza zoznam dostupných možností na zobrazenie.

4. Zmeňte poradie kategórií a položiek v správe. Presuňte možnosti do požadovanej polohy. Položky sa môžu usporiadať iba v rámci kategórií, do ktorých patria.
5. Kliknutím na položku Update Report (Aktualizovať správu) sa všetky zmeny prejavia v položke Report Preview (Ukážka správy).
6. Vytlačte alebo uložte správu. Kliknutím na tlačidlo Print Report (Vytlačiť správu) v paneli nástrojov vytlačíte aktuálnu správu. Výberom položky File (Súbor) > Save (Uložiť) uložte správu vo formáte PDF (súbor Adobe Acrobat Reader) a vyberte umiestnenie, do ktorého sa súbor uloží. Výberom položky File (Súbor) > Save As (Uložiť ako) uložíte správu s novým názvom alebo do nového umiestnenia.
7. (Voliteľné) Vytvorte šablónu správy s požadovanými informáciami. Ak chcete uložiť aktuálne nastavenia správy do šablóny, vyberte položku Template (Šablóna) > Save (Uložiť) alebo Save As (Uložiť ako). Keď budete chcieť v budúcnosti vytvoriť správu, načítajte šablónu správy.

Kategórie správ génovej štúdie

Použite dialógové okno Gene Study Report (Správa génovej štúdie) na usporiadanie údajov o štúdií génov do správy. [Tabuľka 39](#) uvádza všetky možnosti dostupné pre správu o génovej štúdií.

Tabuľka 39. Kategórie pre správu génovej štúdie

Kategória	Možnosť	Opis
Header (Hlavička)		
		Nadpis, podnadpis a logo správy
	Report Information (Informácie o správe)	Dátum, meno používateľa, názov dátového súboru, cesta k dátovému súboru a vybraná skupina jamiek
	Gene Study File List (Zoznam súborov génovej štúdie)	Zoznam všetkých dátových súborov v génovej štúdií
	Notes (Poznámky)	Poznámky o správe údajov
Study Analysis: Bar Chart (Analýza štúdie: Stĺpcový graf)		
	Analysis Settings (Nastavenia analýzy)	Zoznam vybraných parametrov analýzy
	Chart (Graf)	Stĺpcový graf expresie génu zobrazujúci údaje
	Target Names (Názvy cieľov)	Zoznam cieľov v génovej štúdií
	Sample Names (Názvy vzoriek)	Zoznam vzoriek v génovej štúdií
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor, ktorý zobrazuje údaje
	Target Stability (Stabilita cieľa)	Údaje stability cieľa
	Inter-run Calibration (Kalibrácia medzi chodmi)	Údaje kalibrácie medzi chodmi
Study Analysis: Clustergram and Scatter Plot (Analýza štúdie: clustergram a diagram rozptylu)		
	Analysis Settings (Nastavenia analýzy)	Nastavenia pre každý typ grafu
	Chart (Graf)	Graf expresie génu zobrazujúci údaje

Tabuľka 39. Kategórie pre správy génovej štúdie, pokračovanie

Kategória	Možnosť	Opis
	Data (Údaje)	Tabuľkový procesor uvádzajúci údaje v každom ciele

Príloha A Výpočty analýzy dát

CFX Manager Dx software automaticky počíta rovnice a výsledky zobrazuje na kartách Data Analysis (Analýza dát). Táto príloha podrobne vysvetľuje, ako CFX Manager Dx software počíta rovnice.

Účinnosť reakcie

Dôkazy naznačujú, že použitie presnej miery účinnosti pre každý súbor primérov a sond vám poskytne presnejšie výsledky pri analýze údajov expresie génu. Predvolená hodnota účinnosti použitá vo výpočtoch expresie génu je 100 %. Na vyhodnotenie účinnosti reakcie sa vytvorí štandardná krivka s použitím sériových riedení reprezentatívnej vzorky v príslušnom dynamickom rozsahu a potom sa zaznamená účinnosť pre následnú analýzu expresie génu. Ak váš chod obsahuje štandardnú krivku, softvér automaticky vypočíta efektivitu a zobrazí ho pod Standard Curve (Štandardná krivka) na karte Quantification (Kvantifikácia), keď je na karte Target (Cieľ) v okne Experiment Settings (Nastavenie experimentu) zaškrtnuté políčko Auto Efficiency (Automatická účinnosť).

Účinnosť (E) vo vzorcoch účinnosti sa vzťahuje na „účinnosť“, ako je opísané v Pfaffl (2001) a Vandesompele et al. (2002). V týchto publikáciách účinnosť 2 (dokonalé zdvojenie v každom cykle) zodpovedá 100 % účinnosti v softvéri. Máte možnosť previesť svoje výpočty efektivity na výpočty používané v softvéri pomocou nasledujúcich matematických vzťahov:

- $E = (\% \text{ Účinnosti} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ Účinnosti} = (E - 1) * 100$

Relatívne množstvo

Vzorec pre relatívne množstvo (ΔC_q) ľubovoľnej vzorky (GOI) je:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Poznámka: Tento vzorec sa používa na výpočet relatívneho množstva, ak nie je definovaná žiadna kontrolná vzorka.

Kde:

- E = účinnosť súpravy primérov a sond. Táto účinnosť sa vypočíta podľa vzorca (% účinnosti * 0,01) + 1, kde 100 % účinnosť = 2
- $C_{q(\min)}$ = priemer C_q pre vzorku s najnižším priemerným C_q pre GOI
- $C_{q(\text{sample})}$ = priemer C_q pre vzorku
- GOI = cieľový gén (jeden cieľ)

Relatívne množstvo, keď je vybraná kontrolná vzorka

Ak je priradená kontrolná vzorka relatívne množstvo (RQ) pre ľubovoľnú vzorku v cieľovom géne (GOI) sa vypočíta podľa tohto vzorca:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})} \right)$$

Kde:

- E = účinnosť súpravy primérov a sond. Táto účinnosť sa vypočíta podľa vzorca (% účinnosti * 0,01) + 1, kde 100 % účinnosť = 2
- $C_{q(\text{control})}$ = priemer C_q pre kontrolnú vzorku
- $C_{q(\text{sample})}$ = priemer C_q pre ľubovoľné vzorky s GOI
- GOI = cieľový gén (jeden cieľ)

Štandardná odchýlka relatívneho množstva

Vzorec pre štandardnú odchýlku relatívneho množstva je

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q\text{GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Kde:

- SD Relative Quantity = štandardná odchýlka relatívneho množstva
- $\text{SD } C_{q\text{GOI}} \text{ sample}$ = štandardná odchýlka C_q pre vzorku (GOI)
- Relative Quantity = relatívne množstvo vzorky
- E = účinnosť súpravy primérov a sond. Táto účinnosť sa vypočíta podľa vzorca (% účinnosti * 0,01) + 1, kde 100 % účinnosť = 2
- GOI = cieľový gén (jeden cieľ)

Korigovaná účinnosť C_q (C_{qE})

Vzorec pre korigovanú účinnosť C_q je

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Kde:

- E = účinnosť

Korigovaná priemerná účinnosť C_q (MC_{qE})

Vzorec pre korigovanú priemernú účinnosť C_q je

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE}(\text{Rep 1}) + C_{qE}(\text{Rep 2}) + \dots + C_{qE}(\text{Rep n})}{n}$$

Kde:

- C_{qE} = korigovaná účinnosť C_q
- n = počet replikátov

Normalizačný faktor

Menovateľ rovnice normalizovanej expresie sa označuje ako normalizačný faktor. Normalizačný faktor je geometrický priemer relatívnych množstiev všetkých referenčných cieľov (génov) pre danú vzorku, ako je opísané v tomto vzorci:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

Kde:

- RQ = relatívne množstvo
- n = počet referenčných cieľov
- GOI = cieľový gén (jeden cieľ)

Normalizovaná expresia

Normalizovaná expresia ($\Delta\Delta C_q$) je relatívne množstvo vášho cieľa (génu) normalizované na množstvo referenčných cieľov (génov alebo sekvencií) v biologickom systéme. Ak chcete vybrať referenčné ciele, otvorte okno Experiment Settings (Nastavenia experimentu) a kliknite na referenčný stĺpec pre každý cieľ, ktorý slúži ako referenčný gén.

Vzorec pre normalizovanú expresiu, ktorý používa vypočítanú hodnotu relatívneho množstva (RQ), je

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{sample (GOI)}}}{(RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Kde:

- RQ = relatívne množstvo vzorky
- Ref = referenčný cieľ v chode, ktorý obsahuje jeden alebo viac referenčných cieľov v každej vzorke
- GOI = cieľový gén (jeden cieľ)

Za predpokladu, že referenčné ciele nemenia úroveň svojej expresie vo vašom biologickom systéme, výpočet normalizovanej expresie bude zodpovedať rozdielom v zaťažení alebo odchýlkam v počte buniek, ktoré sú zastúpené v každej z vašich vzoriek.

Normalizovaná expresia, keď je vybraná kontrola

Keď vyberiete kontrolnú vzorku v okne Experiment Settings (Nastavenia experimentu), softvér nastaví úroveň expresie kontrolnej vzorky na 1. V tejto situácii softvér normalizuje relatívne množstvá všetkých cieľových (génových) expresií na kontrolné množstvo (hodnota 1). Táto normalizovaná expresia sa rovná analýze neškálovanej normalizovanej expresie, keď je vybraná kontrola.

Poznámka: To je tiež známe ako relatívna normalizovaná expresia (RNE) a násobok zmeny.

Štandardná odchýlka pre normalizovanú expresiu

Zmena hodnoty normalizovanej expresie sa dosiahne vydelením štandardnej odchýlky normalizovanej expresie hodnotou normalizovanej expresie pre najvyššiu alebo najnižšiu úroveň expresie, v závislosti na tom, ktorú možnosť škálovania zvolíte. Vzorec pre štandardnú odchýlku (SD) normalizačného faktoru je

$$SD NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

Kde:

- RQ = relatívne množstvo vzorky
- SD = štandardná odchýlka
- NF = faktor normalizácie
- Ref = referenčný cieľ
- n = počet referenčných cieľov

Keď je priradená kontrolná vzorka, nemusíte vykonávať túto funkciu pre zmenu mierky na štandardnej odchýlke, ako je znázornené v nasledujúcom vzorci:

$$SD NE_{\text{sample (GOI)}} = NE_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD NF_{\text{sample}}}{NF_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (GOI)}}}{RQ_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

Kde:

- NE = normalizovaná expresia
- RQ = relatívne množstvo vzorky
- SD = štandardná odchýlka
- GOI = cieľový gén (jeden cieľ)

Normalizovaná expresia upravená na najvyššiu úroveň expresie

Ak chod neobsahuje kontroly, upravte normalizovanú expresiu (NE) pre každý cieľ (gén) rozdelením úrovne expresie každej vzorky podľa najvyššej expresie vo všetkých vzorkách. Softvér nastaví najvyššiu úroveň expresie na hodnotu 1 a zmení hodnoty všetkých úrovní expresie vzorky. Vzorec pre najvyššiu úpravu je

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

Kde:

- GOI = cieľový gén (cieľ)

Normalizovaná expresia upravená na najnižšiu úroveň expresie

Ak chod neobsahuje kontroly, upravte normalizovanú expresiu (NE) pre každý cieľ (gén) rozdelením úrovne expresie každej vzorky podľa najnižšej expresie vo všetkých vzorkách. Softvér nastaví najnižšiu úroveň expresie na hodnotu 1 a zmení hodnoty všetkých úrovní expresie vzorky. Vzorec pre najnižšiu úpravu je

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

Kde:

- GOI = cieľový gén (cieľ)

Normalizovaná expresia upravená na priemernú úroveň expresie

Ak chod neobsahuje kontroly, upravte normalizovanú expresiu (NE) pre každý cieľ (gén) rozdelením úrovne expresie každej vzorky geometrickým priemerom expresie všetkých vzoriek. Softvér nastaví priemernú úroveň expresie na hodnotu 1 a zmení všetky úrovne expresie vzorky. Vzorec pre úpravu priemeru je

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Kde:

- GOI = cieľový gén (cieľ)
- GM = geometrický priemer normalizovanej expresie pre všetky vzorky

Štandardná odchýlka pre upravenú normalizovanú expresiu

Zmena upravenej hodnoty normalizovanej expresie (NE) sa dosiahne vydelením štandardnej odchýlky (SD) normalizovanej expresie hodnotou normalizovanej expresie pre najvyššiu (MAX) alebo najnižšiu (MIN) úroveň expresie, v závislosti na tom, ktorú možnosť škálovania zvolíte.

Poznámka: Po priradení kontrolnej vzorky nemusíte vykonať túto zmenu štandardnej odchýlky.

Výpočet pre tento vzorec je

$$SD \text{ Scaled } NE_{\text{sample (GOI)}} = \frac{SD \text{ } NE_{\text{sample (GOI)}}}{NE_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

Kde:

- NE = normalizovaná expresia
- SD = štandardná odchýlka
- GOI = cieľový gén (cieľ)
- MAX = najvyššia úroveň expresie
- MIN = najnižšia úroveň expresie

Regulácia

Regulácia je miera zvýšenia alebo zníženia expresie cieľa experimentálnej vzorky v porovnaní s kontrolnou vzorkou a je určená nasledovne:

Ak je expresia (experimentálna vzorka) > expresia (kontrolná vzorka):

$$\text{Regulation} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Ak je expresia (experimentálna vzorka) < expresia (kontrolná vzorka):

$$\text{Regulation} = -1 / \left(\frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

Poznámka: Pre položku stĺpcový graf je *expresia* založená na relatívnom množstve alebo normalizovanej expresii v závislosti od vybraného režimu (pozrite si časť [Stĺpcový graf na strane 234](#)). Pre diagram rozptylu a clustergram sa regulácia vždy vypočíta z normalizovanej expresie.

Vzorce s korigovanými hodnotami

Rozdiel medzi korigovanými hodnotami a nekorigovanými hodnotami sa zistí len vtedy, ak sa ako súčasť chodu PCR v reálnom čase vytvorí štandardná krivka. Softvér používa na stanovenie šírenia chýb tri rovnice:

- Štandardná chyba
- Štandardná chyba normalizovanej expresie
- Štandardná chyba normalizovaného cieľového génu (cieľa)

Vzorec pre štandardnú chybu je

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Kde:

- n = počet referenčných cieľov (génov)
- SD = štandardná odchýlka

Štandardná chyba pre faktor normalizácie vo vzorci normalizovanej expresie je

$$SE NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref 1)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref 2)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref n)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref n)}}}\right)^2}$$

Kde:

- n = počet referenčných cieľov
- SE = štandardná chyba
- NF = faktor normalizácie
- RQ = relatívne množstvo

Vzorec štandardnej chyby normalizovaného cieľového génu (GOI) je

$$SE GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE GOI}{GOI}\right)^2}$$

Kde:

- SE = štandardná chyba
- GOI = cieľový gén (jeden cieľ)
- NF = faktor normalizácie
- n = počet referenčných cieľov

Príloha A Výpočty analýzy dát

Príloha B Správa používateľov a úloh CFX Manager Dx

V softvéri CFX Manager Dx software môžete vytvoriť používateľov a priradiť im úlohu. Úlohy obmedzujú prístup k funkciám CFX Manager Dx. Používateľovi môže byť súčasne priradená iba jedna úloha. Avšak správca softvéru CFX Manager Dx software môže kedykoľvek zmeniť úlohu používateľa.

Tip: Nie je potrebné vytvárať používateľov na používanie CFX Manager Dx. Ak nevytvárate používateľov, všetku aktivitu vykonáva *správca* predvoleného používateľského účtu.

Dôležité upozornenie: Používateľský správca je predvolený správcovský účet, ktorý sa používa na počiatočné prihlásenie do CFX Manager Dx. Odporúča sa, aby ste vytvorili konkrétneho používateľa na spravovanie CFX Manager Dx. Priradte tomuto používateľovi úlohu správcu a vykonávajte všetky administračné úlohy s týmto používateľom.

Dôležité upozornenie: CFX Manager Dx software nemá funkciu časového limitu nečinnosti relácie používateľa. Preto sa odporúča, aby ste implementovali bezpečnostné opatrenia systému Windows alebo tretej strany (napríklad implementujte šetrič obrazovky s požadovaním prihlásenia sa).

Správa používateľov

V štandardnom vydaní softvéru CFX Manager Dx software môžu mať používateľské účty akékoľvek meno alebo heslo.

Ak chcete priradiť úlohu každému používateľovi, vyberte zo zoznamu rolí v okne User Administration (Správa používateľov). V tomto príklade je používateľovi-hosťovi pridelené právo na ukladanie súborov.

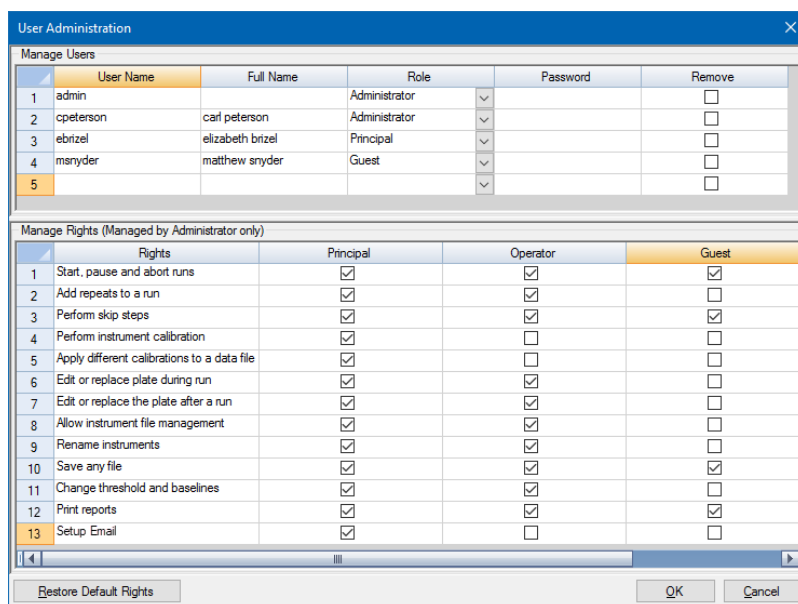
Pridávanie a odstraňovanie používateľov

Poznámka: Pridávať a odstraňovať používateľov môže iba správca softvéru CFX Manager Dx software.

Ak chcete pridať používateľské účty do CFX Manager Dx

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte položku User (Používateľ) > User Administration (Správa používateľov).

Zobrazí sa dialógové okno User Administration (Správa používateľov).



2. V paneli Manage Users (Spravovať používateľov) zadajte používateľské meno používateľa.
3. Vyberte položku Role (Funkcia) používateľa.

Funkcie obmedzujú práva používateľa. Predvolená je možnosť Principal (Hlavný používateľ).

Tip: Môžete zmeniť práva pre každú funkciu. Zmena práv funkcie ovplyvní všetkých používateľov, ktorým je priradená daná funkcia. Viac informácií uvádza [Správa práv funkcií na strane 269](#).

4. (Voliteľné) Zadajte Full Name (Celé meno) a Password (Heslo) pre používateľa.
5. Kliknutím na tlačidlo OK otvorte dialógové okno a potvrdte, že chcete okno zatvoriť.
6. Ťuknutím na položku Yes (Áno) zatvorte dialógové okno a okno.

Ak chcete odstrániť používateľa

1. V paneli Manage Users (Spravovať používateľov) vyberte položku Remove (Odstrániť) pre každého používateľa, ktorého chcete odstrániť.
2. Kliknutím na tlačidlo OK otvorte dialógové okno a potvrdte, že chcete okno zatvoriť.
3. Ťuknutím na položku Yes (Áno) zatvorte dialógové okno a okno.

Poznámka: Zoznam používateľov softvéru musí vždy obsahovať jedného správcu.

Správa práv funkcií

System CFX Manager Dx obsahuje nasledujúce štyri funkcie:

- Správca (povinné) — správcovia majú všetky práva a tieto práva nie je možné zmeniť. Správcovia môžu tiež pridávať a odstraňovať používateľov a meniť práva jednotlivých funkcií.

Poznámka: Práva akejkoľvek funkcie môže meniť iba správca.

- Hlavný používateľ — hlavný používateľ má predvolene všetky práva
- Operátor — operátor má predvolene všetky práva okrem práva na preskočenie cyklov
- Host' — host' môže predvolene iba čítať súbory

Dôležité upozornenie: Zmena práv funkcie ovplyvní všetkých používateľov priradených k danej funkcii. Nemôžete upraviť funkciu konkrétneho používateľa. Pri úprave práv funkcií postupujte opatrne.

Ak chcete špecifikovať práva jednotlivých funkcií

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte položku User (Používateľ) > User Administration (Správa používateľov).
2. V table Manage Rights (Správa práv) vykonajte jednu z nasledujúcich činností:
 - Ak chcete odstrániť právo z funkcie, zrušte začiarknutie príslušného začiarkavacieho políčka.
 - Ak chcete pridať právo k funkcii, začiarknite príslušné začiarkavacie políčko.
3. Kliknutím na tlačidlo OK otvorte dialógové okno a potvrdte, že chcete okno zatvoriť.
4. Ťuknutím na položku Yes (Áno) zatvorte dialógové okno a okno.

Ak chcete resetovať práva pre všetky funkcie

- ▶ V dialógovom okne User Administration (Správa používateľov) kliknite na položku Restore Default Rights (Obnoviť predvolené práva).

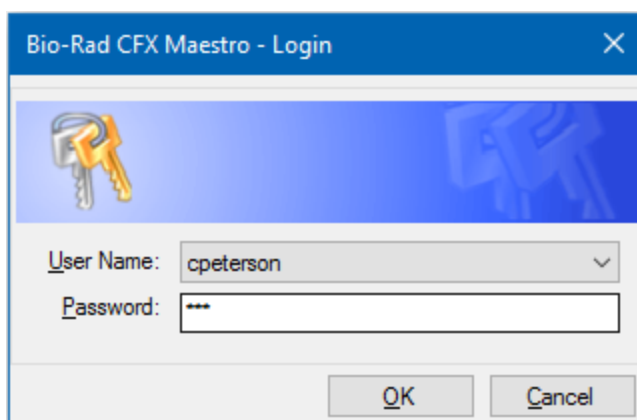
Prihlásenie do softvéru CFX Manager Dx software

CFX Manager Dx software spravuje prihlásenie používateľov do softvéru pomocou dialógového okna Login (Prihlásenie). Keď spustíte softvér, CFX Manager Dx automaticky zobrazí dialógové okno Login (Prihlásenie) v prípade, ak sú v okne User Administration (Správa používateľov) uvedení aspoň dvaja používatelia.

CFX Manager Dx zobrazuje meno prihláseného používateľa v okne Home (Domovské okno).

Prihlásenie do softvéru CFX Manager Dx software

1. V dialógovom okne Login (Prihlásenie) vyberte svoje meno z rozbaľovacieho zoznamu User Name (Meno používateľa).
2. Zadajte svoje heslo.
3. Kliknutím na tlačidlo OK zatvorte dialógové okno Login (Prihlásenie) a otvorte softvér.



Zmena používateľov

Používateľov môže zmeniť, keď sa softvér používa.

Na prepnutie používateľov:

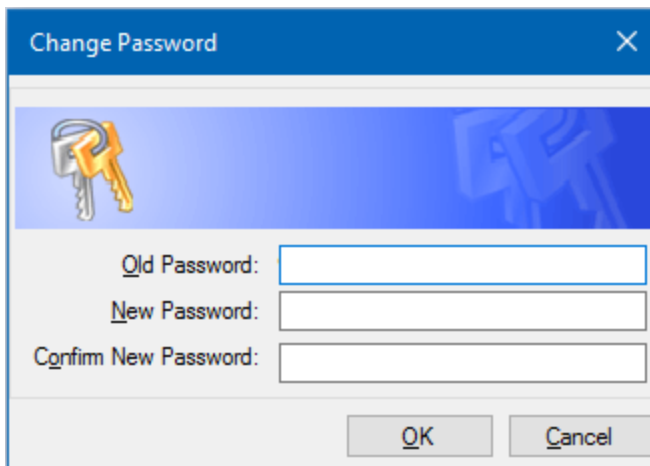
1. V okne Home (Domovské okno) vyberte položku User (Používateľ) > Select User (Vybrať používateľa) na otvorenie dialógového okna Login (Prihlásiť sa).
2. V rozbaľovacom zozname User Name (Meno používateľa) vyberte meno.
3. Zadajte heslo nového používateľa.
4. Kliknutím na tlačidlo OK zatvoríte dialógové okno Login (Prihlásenie) a otvoríte softvér.

Zmena používateľských hesiel

Používatelia CFX Manager Dx si môžu svoje heslá kedykoľvek zmeniť.

Zmena používateľských hesiel

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte položku User (Používateľ) > Change Password (Zmeniť heslo) na otvorenie dialógového okna Change Password (Zmeniť heslo).



2. V Old Password (Staré heslo) zadajte svoje aktuálne heslo.
3. V New Password (Nové heslo) zadajte nové heslo a opäť ho zadajte v Confirm New Password (Potvrdiť nové heslo).
4. Kliknutím na OK potvrdíte zmenu.

Zobrazenie vašej funkcie a práv

Tip: Používatelia, ktorým boli priradené používateľské funkcie Principal (Hlavný používateľ), Operator (Operátor) alebo Guest (Host'), môžu zobraziť iba svoje používateľské nastavenia, práva a funkcie.

Zobrazenie vašej používateľskej funkcie a práv

- V okne Home (Domovské okno) vyberte položku User (Používateľ) > User Administration (Správa používateľov).

Ak chcete upraviť používateľské nastavenia, práva a funkcie uvedené v okne User Administration (Správa používateľov), obráťte sa na správcu softvéru CFX Manager Dx software.

Príloha C Integrácia LIMS

CFX Manager Dx software môžete nakonfigurovať na používanie s laboratórnym systémom riadenia informácií (LIMS). Na integráciu LIMS systém CFX Manager Dx vyžaduje informácie o nastavení platníčky vytvorené platformou LIMS (súbor LIMS, *.plrn), súbor protokolu vytvorený pomocou softvéru CFX Manager Dx software (*.prcl), definované umiestnenie exportu dát a definovaný formát exportu.

Po dokončení chodu CFX Manager Dx vygeneruje dátový súbor (.pcrd), ktorý sa uloží do definovaného priečinka exportu dát. CFX Manager Dx tiež vytvorí dátový súbor kompatibilný s LIMS vo formáte .csv a uloží ho do rovnakého umiestnenia.

Vytváranie dátových súborov kompatibilných s LIMS

Táto príloha vysvetľuje, ako nastaviť softvér CFX Manager Dx software na vytvorenie, uloženie a export dátových súborov kompatibilných s LIMS.

Nastavenie možností priečinku LIMS a export dát

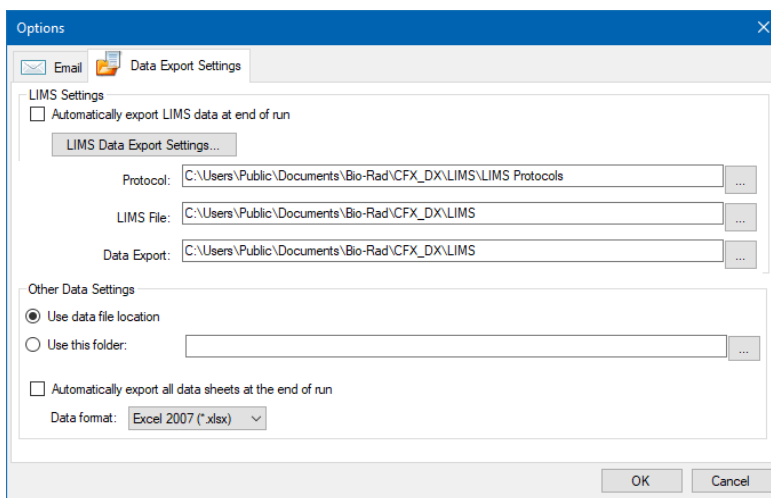
Predvolene CFX Manager Dx uloží LIMS protokoly, súbory a súbory exportu údajov do tohto priečinka:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

Môžete nakonfigurovať CFX Manager Dx, aby sa súbory uložili do iného priečinka, a môžete zmeniť možnosti exportu údajov LIMS.

Nastavenie priečinka LIMS a možností exportu údajov

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte Tools (Nástroje) > Options (Možnosti).
2. V dialógovom okne Options (Možnosti) vyberte položku Data Export Settings (Nastavenia exportu údajov).



3. (Voliteľné) Vyberte **Automatically export LIMS data at end of run** (Automaticky exportovať údaje LIMS na konci chodu).

Softvér automaticky exportuje údaje LIMS po každom chode a uloží ich na určené miesto.

4. Ak chcete zmeniť predvolené možnosti exportu pre údaje LIMS, kliknite na položku **LIMS Data Export Settings** (Nastavenia exportu údajov LIMS).

Dôležité upozornenie: Do CFX Manager Dx možno importovať iba údaje LIMS exportované ako súbor .csv.

5. V dialógovom okne **LIMS Data Export Format Settings** (Nastavenia formátu exportu údajov) vyberte požadované možnosti exportu a kliknite na **OK**.
6. V dialógovom okne **Options** (Možnosti) prejdite na a vyberte predvolený priečinok, do ktorého chcete uložiť súbory s údajmi LIMS. Pre každý typ súboru môžete vybrať iné umiestnenie:

- Protokol
- Súbor LIMS
- Export údajov

7. Kliknutím na tlačidlo **OK** uložíte zmeny a zatvoríte dialógové okno **Options** (Možnosti).

Vytvorenie protokolu LIMS

Ak chcete spustiť chod LIMS, vytvorte súbor protokolu systému CFX Manager Dx (*.prcl) a uložte ho do určeného umiestnenia v priečinku LIMS.

Viac informácií uvádza časť [Kapitola 6, Vytváranie protokolov](#).

Vytvorenie súboru LIMS

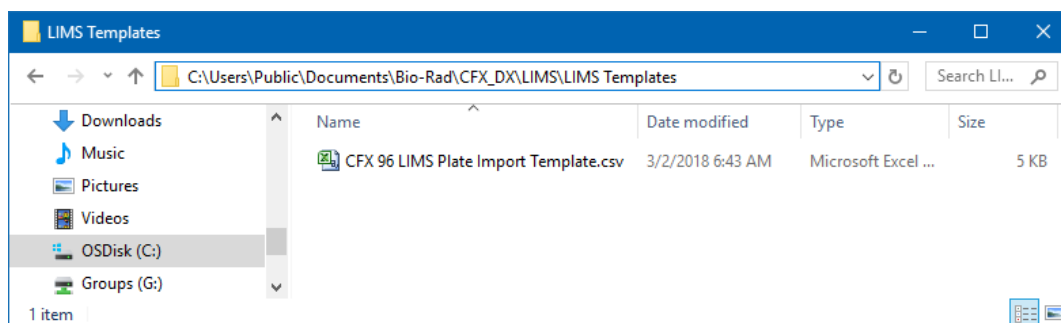
Súbor LIMS (*.plrn) obsahuje detaily nastavenia platničky a názov súboru protokolu. Tento súbor je vytvorený vašim interným LIMS. CFX Manager Dx používa súbor LIMS na vytvorenie súboru platničky, ktorý sa má použiť so súborom protokolu.

CFX Manager Dx poskytuje súbory šablóny importu platničky, ktoré môžete upraviť pre vytvorenie vlastných LIMS súborov platničiek.

Tip: Túto úlohu by mal vykonať špecialista LIMS.

Na vytvorenie súboru LIMS

1. V okne Home (Domovské okno) vyberte View (Zobraziť) > Show (Zobraziť) > LIMS File Folder (Priečinok súboru LIMS).
2. Otvorte priečinok LIMS Templates (Šablóny LIMS) a vyberte súbor .csv, ktorý chcete importovať do interného LIMS.



3. Pomocou LIMS upravte súbor šablóny vyplnením požadovaných polí v zozname [Tabuľka 40](#).
4. Šablónu uložte s príponou názvu súboru .plrn do priečinka LIMS File (Súbor LIMS).

Dôležité upozornenie: CFX Manager Dx vie otvoriť len súbor .plrn. Ak chcete spustiť chod LIMS, musíte súbor .csv uložiť vo formáte .plrn.

Tabuľka 40. Definícia obsahov súborov LIMS .csv

Stĺpec	Rad	Opis	Obsah	Príčina
A	1	Hlavička platničky	Neupravovať	Preddefinované
A,B,C	2	Pole/Údaj/Pokyn	Neupravovať	Preddefinované
B	3	Verzia	Neupravovať	Preddefinované

Tabuľka 40. Definícia obsahov súborov LIMS .csv, pokračovanie

Stĺpec	Rad	Opis	Obsah	Príčina
B	4	Veľkosť platničky	Neupravovať	Preddefinované
B	5	Typ platničky	Zadajte "BR White," "BR Clear," („BR biela“, „BR priehľadná“) alebo iný kalibrovaný typ platničky	Požadované
B	6	Režim skenovania	Zadajte "SYBR/FAM Only:," "All Channels," alebo "FRET" („Iba SYBR/FAM“, „Všetky kanály“, „FRET“)	Požadované

Tabuľka 40. Definícia obsahov súborov LIMS .csv, pokračovanie

Stĺpec	Rad	Opis	Obsah	Príčina
B	7	Jednotky	Zadajte jedno z nasledujúcich "copy number," "fold dilution," "micromoles," "nanomoles," "picomoles," "femtomoles," "attomoles," "milligrams," "micrograms," "nanograms," "picograms," "femtograms," "attograms," alebo "percent" („počet kópií, „násobné riedenie“, „mikromoly“, „nanomoly“, „pikomoly“, „femtomoly“, „attomoly“, „miligramy“, „mikrogramy“, „nanogramy“, „pikogramy“, „femtogramy“. attogramy, alebo „percentá“)	Požadované
B	8	ID chodu	Zadajte krátky popis alebo čiarový kód identifikujúci tento chod (maximálne 30 znakov, čiarky nie sú povolené)	Voliteľné
B	9	Poznámka k chodu	Zadajte popis chodu	Voliteľné
B	10	Protokol chodu	Zadajte názov súboru protokolu presne, ako je uvedené.	Požadované

Tabuľka 40. Definícia obsahov súborov LIMS .csv, pokračovanie

Stĺpec	Rad	Opis	Obsah	Príčina
A	11	Dátový súbor	Zadať názov dátového súboru	Voliteľné
A	12-15	TBD/Prázdne	Neupravovať	Preddefinované
A	16	Údaje platničky	Neupravovať	Preddefinované

Tabuľka 40. Definícia obsahov súborov LIMS .csv, pokračovanie

Stĺpec	Rad	Opis	Obsah	Príčina
A	17-113	Poloha jamky	Neupravovať	Preddefinované
B-G		Farbivo Ch1, farbivo Ch2, farbivo Ch3, farbivo Ch4, farbivo Ch5, FRET	Zadajte jeden názov kalibrovaného farbiva (napríklad „FAM“) pre každý používaný kanál	Požadované
H		Typ vzorky	Zadajte jeden z nasledujúcich typov vzorky „Unknown,“ „Standard,“ „Positive Control,“ „Negative Control,“ „NTC,“ or „NRT“ („Neznámy“, „Štandardný“, „Pozitívna kontrola“, „Negatívna kontrola“, „NTC“ alebo „NRT“)	Požadované
I		Názov vzorky	Zadajte názov vzorky	Voliteľné
J-O		Cieľ CH1, Cieľ CH2, Cieľ CH3, Cieľ CH4, Cieľ CH5, Cieľ FRET,	Zadajte názov cieľa pre každý použitý kanál	Voliteľné
P		Názov biologickej súpravy	Zadajte názov biologickej súpravy	Voliteľné
Q		Replikát	Zadajte kladné celé číslo pre každú množinu replikátov. Hodnota nemôže byť nulová.	Voliteľné

Tabuľka 40. Definícia obsahov súborov LIMS .csv, pokračovanie

Stĺpec	Rad	Opis	Obsah	Príčina
R-W		Množstvo CH1, Množstvo CH2, Množstvo CH3, Množstvo CH4, Množstvo CH5, Množstvo FRET	Zadajte hodnoty množstva pre všetky normy. Zadajte koncentráciu v desiatkovej forme.	Požadované pre všetky normy
X		Poznámka k jamke	Zadajte poznámku k jamke (maximálne 20 znakov)	Voliteľné
Y-AD		Farba jamky Ch1, Farba jamky Ch2, Farba jamky Ch3, Farba jamky Ch4, Farba jamky Ch5, Farba jamky FRET	Zadajte ľubovoľnú farbu štýlu stopy definovanú používateľom v 32-bitovom celočíselnom (argb) desiatkovom formáte	Voliteľné

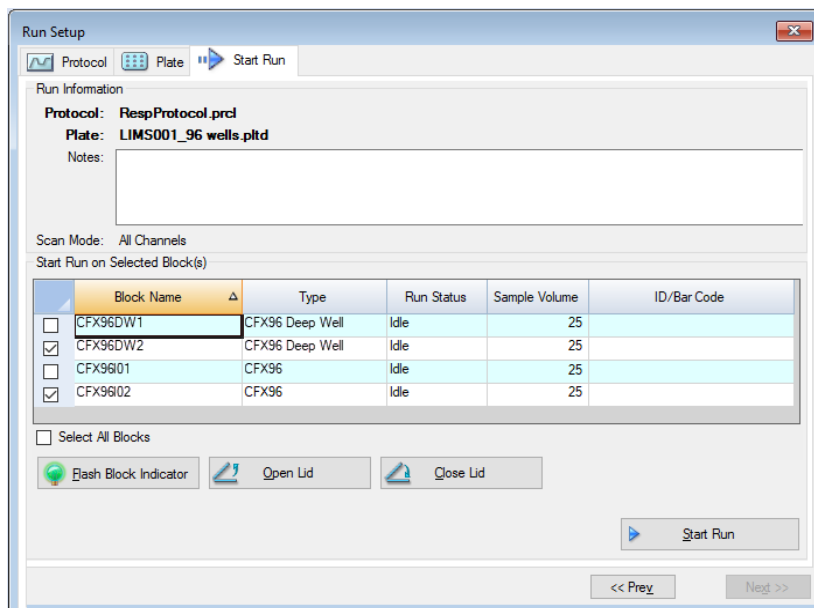
Spustenie chodu LIMS

Na spustenie chodu LIMS

- Vykonajte jeden z nasledujúcich krokov na otvorenie súboru LIMS .plrn:
 - V okne Home (Domovské okno) vyberte položku View (Zobraziť) > Show (Ukázať) > LIMS File Folder (Priečinok súboru LIMS) a otvorte cieľový súbor .plrn.
 - V okne Home (Domovské okno) vyberte položku File (Súbor) > Open (Otvoriť) > LIMS File (Súbor LIMS) a otvorte cieľový súbor .plrn.

Súbor sa otvorí na karte Start Run (Spustiť chod) v sprievodcovi Run Setup (Nastavenie chodu). Karta Start Run (Spustiť chod) zobrazuje informácie o experimente, ktorý sa má spustiť. Zobrazuje tiež pripojený blok alebo bloky prístrojov, na ktorých môžete experiment spustiť.

2. Na karte Start Run (Spustiť chod) vyberte prístroj a kliknite na Start Run (Spustiť chod).



Export údajov do LIMS

Po dokončení chodu CFX Manager Dx vygeneruje dátový súbor (.pcrd), ktorý sa uloží do definovaného priečinka exportu údajov.

Export súboru údajov do LIMS

- ▶ Otvorte súbor .pcrd a vyberte Export (Exportovať) > Export to LIMS Folder (Export do priečinka LIMS).

Tip: Ak zvolíte Automatically Export Data after Run (Automaticky exportovať údaje po chode) v LIMS Options (Možnosti LIMS), CFX Manager Dx vytvorí súbor údajov kompatibilný s LIMS vo formáte .csv a uloží ho do rovnakého priečinku.

Riešenie problémov

Problémy s komunikáciou softvéru a prístroja vo všeobecnosti môžete vyriešiť reštartovaním počítača a systému. Pred reštartovaním si nezabudnite uložiť prebiehajúcu prácu.

Poznámka: Skontrolujte, či má počítač dostatok pamäte RAM a voľného miesta na disku. Minimálna pamäť RAM je 4 GB a minimálne miesto na pevnom disku je 128 GB.

Zlyhanie napájania

Pri výpadku napájania sa prístroj a počítač vypnú. Ak je výpadok napájania krátky, prístroj obnoví prevádzku protokolu, ale Protokol aplikácie zaznamená výpadok napájania. V závislosti od nastavenia počítača a dĺžky vypnutia sa prístroj a softvér pokúšajú pokračovať v prevádzke v závislosti od kroku protokolu:

- Ak je protokol v kroku bez čítania platničky, protokol pokračuje v chode, keď prístroj znovu získa energiu.
- Ak je protokol v kroku s čítaním platničky, prístroj čaká na reštartovanie softvéru a obnovenie komunikácie na zber údajov. V tejto situácii protokol pokračuje len v prípade, že softvér v počítači nie je vypnutý. Keď sa počítač a softvér znovu spustia, protokol pokračuje.

Odstránenie vzoriek z reakčného modulu počas výpadku napájania

Na odstránenie vzoriek počas výpadku napájania na reakčnom module môžete otvoriť uzamknuté motorizované veko.

Na odstránenie zaisťovacej dosky

1. Zatláčajte na uzamykaciu tyč na odstránenie reakčného modulu z tepelného cyklovača C1000 Dx.
2. Opatrne položte reakčný modul na laboratórny stôl alebo lavicu.

3. Modul umiestnite tak, aby predná časť modulu presahovala 2 palce cez okraj.



4. Imbusovým kľúčom odstráňte dve veľké skrutky pod predným okrajom reakčného modulu (pod tlačidlom na otvorenie veka).

Mali by ste počuť uvoľnenie blokovacej západky z vnútra modulu.

Dôležité upozornenie: Neodstraňujte dve malé skrutky umiestnené na prednom okraji modulu.



5. Otvorte veko reakčného modulu. Všimnite si, že západka (tmavý plast) už nie je pripojená. Vyberte vzorky z bloku.

6. Vymeňte zaistovacia západku a zaistite ju veľkými skrutkami na opätovné zloženie reakčného modulu s otvoreným vekom.



Načítanie súborov do počítača CFX Manager Dx

Môžete načítať údaje a súbory denníka umiestnené na prístroji a preniesť ich na pevný disk pripojeného počítača.

Poznámka: Všetky súbory v priečinku s údajmi v reálnom čase na základni prístroja sa načítajú do počítača.

Načítanie súborov do počítača

1. V okienku Detected Instruments (Detegované prístroje) v okne Home (Domovské okno) kliknite pravým tlačidlom myši na cieľový prístroj a vyberte jedno z nasledujúcich:
 - Retrieve Log Files (Načítať súbory denníka)
 - Retrieve Data Files (Načítať dátové súbory)
2. Vyberte umiestnenie priečinka na uloženie načítaných súborov.
3. Kliknite na Okay (OK).

Manuálna inštalácia softvéru CFX Manager Dx software

Manuálna inštalácia softvéru CFX Manager Dx software

1. V prípade potreby odpojte od počítača všetky pripojené prístroje.
Nájdite a odpojte kábel USB prístroja z počítača CFX Manager Dx. Koniec vložený do prístroja môže zostať na svojom mieste.
2. Prihláste sa do počítača CFX Manager Dx s právami správcu.
3. Vložte CD so softvérom.
4. V prieskumníkovi Windows Explorer prejdite na CD, kliknite pravým tlačidlom myši na ikonu CD so softvérom a výberom položky Explore (Preskúmať) otvorte okno CD.
5. Dvojitým kliknutím na priečinok CFX_Manager otvorte priečinok a potom dvakrát kliknite na súbor setup.exe, čím spustíte sprievodcu inštaláciou softvéru.
6. Postupujte podľa pokynov sprievodcu, nainštalujte softvér a následne kliknite na položku Finish (Dokončiť).

Preinštalovanie ovládačov

Na preinštalovanie ovládačov prístrojov

- V okne Home (Domovské okno) vyberte položku Tools (Nástroje) > Reinstall Instrument Drivers (Preinštalovať ovládače prístrojov).

Poznámka: Ak máte problémy so softvérom komunikujúcim so systémom v reálnom čase po opätovnom nainštalovaní ovládačov a kontrole pripojenia USB, obráťte sa na technickú podporu Bio-Rad.

Príloha E Referencie

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. Všetky práva vyhradené

Redistribúcia a použitie v zdrojových a binárnych formách s úpravou alebo bez nej sú povolené za predpokladu splnenia nasledujúcich podmienok:

1. Redistribúcie zdrojového kódu si musia ponechať vyššie uvedené oznámenie o autorských právach, tento zoznam podmienok a nasledujúce vyhlásenie o odmietnutí zodpovednosti.
2. Redistribúcie v binárnej forme musia obsahovať vyššie uvedené oznámenie o autorských právach, tento zoznam podmienok a nasledujúce vyhlásenie o odmietnutí zodpovednosti v dokumentácii a/alebo iných materiáloch poskytovaných s distribúciou.
3. Dokumentácia pre koncového používateľa, ktorá je súčasťou redistribúcie (ak existuje), musí obsahovať toto potvrdenie:

„Tento produkt obsahuje softvér vyvinutý Chicagskou univerzitou, ktorá pôsobí ako prevádzkovateľ Národného laboratória Argonne.“

Príloha E Referencie



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