



Softver CFX Maestro Dx SE

Korisnički vodič
Inačica 2.3

REF

12014330
12014334
12014335
12014348
12014349
12016659
12016687

Izmjena priručnika: svibanj 2022.

Inačica softvera: 2.3



IVD

BIO-RAD

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Korisnički vodič

Inačica 2.3



Tehnička podrška tvrtke Bio-Rad™

Odjel tehničke podrške tvrtke Bio-Rad u SAD-u otvoren je od ponedjeljka do petka od 5:00 do 17:00 po pacifičkom vremenu.

Telefon: 1-800-424-6723, opcija 2

E-pošta: Support@bio-rad.com (samo SAD/Kanada)

Za tehničku pomoć izvan SAD-a i Kanade obratite se lokalnom uredu za tehničku podršku ili kliknite na poveznicu Contact us (Obratite nam se) na [bio-rad.com](https://www.bio-rad.com).

Obavijest

Niti jedan se dio ove publikacije ne smije reproducirati ili prenositi ni u kojem obliku ili na bilo koji način, elektronički ili mehanički, uključujući fotokopiranje, snimanje ili bilo koji sustav za pohranu ili dohvaćanje podataka bez pismenog odobrenja tvrtke Bio-Rad Laboratories, Inc.

Tvrtka Bio-Rad zadržava pravo izmjene svojih proizvoda i usluga u bilo kojem trenutku. Ovaj je vodič podložan promjeni bez najave. Iako je tvrtka Bio-Rad spremna jamčiti točnost, ne preuzima odgovornost za pogreške ili propuste, ni za bilo kakvu štetu koja nastane zbog primjene ili upotrebe ovih podataka.

BIO-RAD zaštitni je znak društva Bio-Rad Laboratories, Inc.

SYBR zaštitni je znak društva Thermo Fisher Scientific Inc.

EvaGreen zaštitni je znak društva Biotium, Inc.

Svi zaštitni znakovi koji se ovdje upotrebljavaju vlasništvo su njihovih vlasnika.

Autorska prava © 2022. tvrtke Bio-Rad Laboratories, Inc. Sva prava pridržana.

Namjena

Sustav Sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu™ uz Softver CFX Maestro Dx, Security Edition™ namijenjen je za izvođenje PCR-a na bazi fluorescencije radi otkrivanja i kvantifikacije sekvenci nukleinskih kiselina. Sustav i softver namijenjeni su osposobljenim laboratorijskim tehničarima za in vitro dijagnostičku upotrebu. Sustavi su namijenjeni za upotrebu s dijagnostičkim testovima za detekciju nukleinskih kiselina drugih proizvođača koji su proizvedeni i označeni za dijagnostičke svrhe.

Leksikon simbola

 Proizvođač	 Broj serije
 Upotrijebiti do	 Za in vitro dijagnostičku upotrebu
 Ograničenje temperature	 Kataloški broj
 Pogledajte upute za upotrebu	 Broj testova
 Za upotrebu s	 Serijski broj
Rx Only Samo na recept	 Sadržava lateks

CE

Oznaka CE – Uredba
(EU) 2017/746 IVDR

Prijevodi

Dokumenti proizvoda mogu se dostaviti na dodatnim jezicima na elektroničkim medijima.

Povijest izmjena

Dokument	Datum	Opis promjene
Softver CFX Maestro Dx, Security Edition Korisnički vodič, 2.0 (ID broj dokumenta 10000136678)	prosinac 2020.	Ver. A, početno izdanje
Softver CFX Maestro Dx, Security Edition Korisnički vodič, 2.3 (ID broj dokumenta 10000136678)	svibanj 2022.	<ul style="list-style-type: none">■ Ažurirano za podršku sustavima CFX Opus Deepwell Dx■ Ažurirana tablica leksikona simbola■ Dodajte bilješku o kibernetičkoj sigurnosti u uvod

Sadržaj

Namjena	iii
Leksikon simbola	iii
Prijevod	iv
Povijest izmjena	v
Sigurnost i usklađenost s propisima	17
Oznake sigurnosnih upozorenja	17
Sigurnost i usklađenost s propisima	19
Sukladnost sa sigurnošću	19
Elektromagnetska kompatibilnost (EMC)	20
EMC upozorenja i napomene	20
Zahtjevi okoline	22
Opasnosti	23
Biološka opasnost	23
Kemijske opasnosti	24
Opasnost od eksplozije ili zapaljivosti	24
Električne opasnosti	25
Prijevoz	25
Baterija	25
Odlaganje	25
Jamstvo	25
Poglavlje 1 Uvod	27
Glavne značajke za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	29
Saznajte više	29
Poglavlje 2 Softver CFX Maestro Dx, Security Edition, instalacija	31
Zahtjevi sustava	32
Instalacija softvera CFX Maestro Dx SE	33
Otkrivanje povezanih uređaja	34
Softverske datoteke	35

Poglavlje 3 Upravljanje korisničkim računima za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	37
Pokretanje za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	38
Dodavanje korisnika sustava Microsoft Windows u računalo za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	40
Dodavanje i uklanjanje korisnika za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	42
Upravljanje ulogama korisnika za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	43
Pregled vaše uloge i dozvola	44
Poglavlje 4 Uporaba za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	45
Zaštićene datoteke	45
Poglavlje 5 Radni prostor	55
Prozor Home (Početno)	56
Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje)	57
Prozor Protocol Editor (Uređivač protokola)	58
Prozor Plate Editor (Uređivač pločice)	59
Prozor Data Analysis (Analiza podataka)	60
Poglavlje 6 Prozor Home (Početno)	61
Prozor Home (Početno)	62
Naredbe izbornika File (Datoteka)	63
Naredbe izbornika View (Prikaz)	63
Naredbe korisničkog izbornika	64
Naredbe izbornika Run (Izvođenje)	65
Naredbe izbornika Tools (Alati)	65
Naredbe izbornika Help (Pomoć)	66
Naredbe na alatnoj traci	67
Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje)	68
Status Bar	68
Okno Detected Instruments (Otkriveni uređaji)	69
Pregled svojstava uređaja	72
Prije početka	73
Spravljanje glavne mješavine za reakciju	73
Kalibriranje novih boja	75
Postavljanje korisničkih postavki	78

Poglavlje 7 Postavljanje protokola	95
Parametri i rasponi za korake protokola	96
Prozor Protocol Editor (Uređivač protokola)	98
Naredbe izbornika File (Datoteka)	98
Naredba izbornika Settings (Postavke)	99
Naredbe izbornika Tools (Alati)	99
Naredbe na alatnoj traci	99
Kontrole za uređivanje protokola	100
Postavljanje protokola u programu Protocol Editor (Uređivač protokola)	104
Otvaranje nove datoteke protokola u programu Protocol Editor (Uređivač protokola)	104
Otvaranje postojećeg protokola u programu Protocol Editor (Uređivač protokola)	106
Postavljanje novog protokola	107
Dodavanje koraka protokolu	109
Umetanje koraka gradijenta	110
Umetanje koraka za GOTO	111
Umetanje koraka za Melt Curve (Krivulja taljenja)	111
Dodavanje ili uklanjanje koraka za Plate Read (Očitavanje pločice)	113
Promjena koraka Options (Opcije)	113
Brisanje koraka	114
Kopiranje, izvoz ili ispis protokola	114
Postavljanje protokola programom Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola)	115
Upotreba kalkulatora Ta Calculator	117
Informacije o kalkulatoru Ta Calculator	117
Poglavlje 8 Priprema pločica	123
Prozor Plate Editor (Uređivač pločice)	124
Naredbe izbornika File (Datoteka)	124
Naredbe izbornika Edit (Uredi)	125
Naredbe izbornika Settings (Postavke)	125
Naredbe izbornika Editing Tools (Alati za uređivanje)	126
Naredbe na alatnoj traci	126
Stvaranje datoteke pločice prozorom Plate Editor (Uređivač pločice)	128
Otvaranje nove datoteke pločice u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice)	128
Otvaranje postojeće datoteke pločice u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice)	130
Postavljanje nove datoteke pločice	131

Dodjeljivanje opcionalnih parametara datoteci pločice	138
Dodjeljivanje ciljne vrijednosti jažicama	138
Dodjeljivanje naziva uzorka jažicama	140
Dodjeljivanje bioloških skupina jažicama	142
Dodjeljivanje brojeva tehničkog replikata jažicama	144
Dodjeljivanje serije razrjeđivanja standardnim vrstama uzoraka	146
Kopiranje sadržaja jažice u drugu jažicu	147
Dodavanje zapisa Note (Bilješka) jažici	147
Čišćenje cijelokupnog sadržaja u jažici	148
Promjena Experiment Settings (Postavke eksperimenta)	149
Stvaranje skupina jažica	152
Promjena Trace Styles (Stilovi tragova)	154
Prikaz, izvoz i uvoz pločice u formatu proračunske tablice	156
Stvaranje rasporeda pločice pomoću Plate Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje pločice)	158
Upotreba programa Plate Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje pločice)	158
Poglavlje 9 Pokretanje eksperimenata	161
Prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja)	162
Pristup prozoru Run Setup (Postavljanje izvođenja)	163
Kartica Protocol (Protokol)	164
Kartica Plate (Pločica)	166
Kartica Start Run (Pokreni izvođenje)	169
Pokretanje eksperimenta	170
Dijaloški okvir Run Details (Detalji izvođenja)	172
Run Status Tab	172
Kartica Real-time Status (Status u stvarnom vremenu)	175
Kartica Time Status (Status vremena)	178
Izvođenje PrimePCR eksperimenata	179
Prijenos samostalnih podataka za analizu	181
Prijenos podataka putem e-pošte	181
Sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu: prijenos podataka	181
Prijenos podataka kroz Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	183
Prijenos podataka s pomoću USB pogona	183
Prijenos podataka putem zajedničkog mrežnog pogona uz Sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu	184

Izrada podatkovne datoteke	184
Poglavlje 10 Pregled analize podataka	185
Prozor Data Analysis (Analiza podataka)	185
Alatna traka Data Analysis (Analiza podataka)	186
Traka izbornika Data Analysis (Analiza podataka)	187
Pojedivosti kartice	190
Step Number Selector (Birač broja koraka)	190
Pregled skupina jažica u analizi podataka	191
Promjena sadržaja jažica nakon izvođenja	191
Postavke analize podataka	193
Podešavanje praga	193
Baseline Settings (Postavke osnovne vrijednosti)	193
Analysis Mode (Način analize)	194
Cycles to Analyze (Ciklusi za analizu)	195
Well Selector (Birač jažica)	196
Stavke izbornika Well Selector (Birač jažica) koji se otvara desnim klikom miša	197
Privremeno izuzimanje jažica iz analize	198
Grafikoni	199
Alati za grafikone	199
Uvećavanje područja na grafikonu	207
Kopiranje grafikona u Microsoft datoteku	207
Uobičajene stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za grafikone	207
Proračunske tablice	209
Uobičajene stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za proračunske tablice	209
Export (Izvezi)	211
Izvoz svih podatkovnih listova	211
Izvoz RDML datoteka	212
Stvaranje prilagođene datoteke za izvoz	213
Izvoz u mapu sustava LIMS	215
Izvoz podataka u formatu Seegene	215
Poglavlje 11 Pojedivosti analize podataka	217
Kartica Quantification (Kvantifikacija)	218
Opcije fluorofora	218
Dijaloški okvir Trace Styles (Stilovi tragova)	219

Opcija Log Scale (Logaritamska skala)	220
Grafikon Standard Curve (Standardna krivulja)	221
Opcije izbornika grafikona Amplification (Pojačanje)	222
Proračunska tablica kartice Quantification (Kvantifikacija)	222
Kartica Quantification Data (Kvantifikacijski podaci)	224
Proračunska tablica Results (Rezultati)	224
Proračunska tablica Standard Curve Results (Rezultati standardne krivulje)	226
Proračunska tablica Plate (Pločica)	227
RFU proračunska tablica	228
Kartica Melt Curve (Krivulja taljenja)	229
Prilagođavanje podataka krivulje taljenja	231
Kartica Melt Curve Data (Podaci krivulje taljenja)	232
Proračunska tablica Melt Peaks (Vršne vrijednosti taljenja)	232
Proračunska tablica Plate (Pločica)	233
RFU proračunska tablica	234
Proračunska tablica -d(RFU)/dT	235
Kartica End Point (Krajnja točka)	236
Podaci o rezultatima	237
Prilagođavanje analize podataka krajnje točke	238
Proračunska tablica RFU-ova za analizu krajnjih točaka	238
Kartica Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija)	239
Prilagođavanje podataka za alelnu diskriminaciju	240
Opcije izbornika grafikona	241
Proračunska tablica Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija)	241
Kartica Custom Data View (Prilagođeni prikaz podataka)	243
Stvaranje prilagođenog prikaza podataka	244
Kartica QC (Kontrola kvalitete)	245
Promjena kriterija kontrole kvalitete	246
Izuzimanje jažica koje ne zadovoljavaju kontrolu kvalitete	246
Kartica Run Information (Informacije o izvođenju)	247
Izvešća o analizi podataka	248
Kategorije izvješća o analizi podataka	249
Izrada izvješća o analizi podataka	253
Izrada izvješća o skupinama jažica	255

Poglavlje 12 Analiza genske ekspresije	257
Postavljanje pločice za analizu genske ekspresije	257
Vođeno postavljanje pločice	258
Grafikoni genske ekspresije	259
Izrada grafikona	260
Promjena i bilježenje prikaza grafikona	262
Prilagođavanje podataka o genskoj ekspresiji	268
Postavke eksperimenta	270
Opcije izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša	271
Proračunska tablica podataka	273
Opcija prikaza detalja	275
Clustergram (Dijagram klastera)	277
Settings (Postavke)	277
Opcije izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša	277
Proračunska tablica podataka	278
Scatter Plot (Raspršeni dijagram)	279
Settings (Postavke)	279
Opcije izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša	279
Proračunska tablica podataka	279
Proračunska tablica Results (Rezultati)	280
Gene Study (Genetička studija)	281
Kalibracija između izvođenja	281
Dijaloški okvir Gene Study (Genetička studija)	282
Kartica Study Setup (Postavljanje studije)	282
Priprema genetičke studije	283
Kartica Study Analysis (Analiza studije)	284
Kategorije za Gene Study Report (Izvešće o genetičkoj studiji)	285
Izrada izvješća o genetičkoj studiji	288
Dodatak A Proračuni analize podataka	289
Učinkovitost reakcije	289
Relativna količina	289
Relativna količina kada se odabere kontrola	290
Standardno odstupanje relativne količine	290
Ispravljena učinkovitost Cq (CqE)	291

Ispravljena srednja učinkovitost C _q (MC _q E)	291
Normalizirana ekspresija	292
Ekspresija i relativna količina za biološke skupine	293
Normalizirana ekspresija kad je odabrana kontrola	293
Standardno odstupanje za normaliziranu ekspresiju	294
Normalizirana ekspresija skalirana na najvišu razinu ekspresije	295
Normalizirana ekspresija skalirana na najnižu razinu ekspresije	295
Normalizirana ekspresija skalirana na prosječnu razinu ekspresije	295
Standardno odstupanje za skaliranu normaliziranu ekspresiju	297
Error Bars (Trake pogrešaka) za Standard Deviation(Ig) (Standardno odstupanje (Ig)) i Standard Error of the Mean (Ig) (Standardna pogreška srednje vrijednosti (Ig))	298
Promjena omjera	299
Formule ispravljenih vrijednosti	300
Izračun intervala pouzdanosti za biološku analizu skupine	301
Izračuni grafikona s okvirima i poveznicama	301
Dodatak B Revizijski tragovi	303
Pregled revizijskih tragova	303
Događaji podložni reviziji	305
Dodatak C Integracija LIMS-a	309
Izrada podatkovnih datoteka kompatibilnih s LIMS-om	309
Postavljanje LIMS mape i mogućnosti izvoza podataka	309
Izrada LIMS protokola	311
Izrada LIMS datoteke	311
Pokretanje LIMS izvođenja	316
Izvoz podataka u LIMS	316
Dodatak D Rješavanje problema za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	319
Popis dopuštenih datoteka i mapa za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition	319
Zapisnik aplikacije	320
Dohvaćanje datoteka zapisnika aplikacije i firmvera	321
Rješavanje problema	321
Nestanak napajanja	321
Prijenos datoteka u računalo CFX Maestro Dx SE	322
Softver CFX Maestro Dx, Security Edition, ručna instalacija	322
Ponovna instalacija upravljačkih programa	323

Dodatak E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products	325
Software Notices	326
ZedGraph	326
Standard Open License Text	326
LGPL-2.1	326
Dodatak F Reference	339

Sadržaj





Sigurnost i usklađenost s propisima

Sustavi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx i CFX Opus Deepwell Dx PCR u stvarnom vremenu (u ovom se vodiču nazivaju Sustav CFX Opus Dx) tijekom rada se vrlo brzo zagrijavaju i hlade. Za siguran rad sustava PCR u stvarnom vremenu, tvrtka Bio-Rad toplo preporučuje da se pridržavate sigurnosnih specifikacija navedenih u ovom odjeljku i u ovom priručniku.




Oznake sigurnosnih upozorenja

Oznake upozorenja postavljene na Sustav CFX Opus Dx i u ovom priručniku upozoravaju vas na izvore ozljeda ili štete. [Tablica 1](#) definira svaku oznaku sigurnosnog upozorenja.

Tablica 1. Opća sigurnosna upozorenja

Ikona	Značenje
	Upravljanje sustavom Sustav CFX Opus Dx prije čitanja ovog priručnika može predstavljati opasnost od ozljeda. Upotreba ovog uređaja na način koji nije naveden u ovom priručniku ili koji nije navela tvrtka Bio-Rad može rezultirati oštećenjem ili onemogućavanjem zaštitnih značajki uređaja.
	Ne postoji biološka ili radioaktivna opasnost povezana sa samim sustavom Sustav CFX Opus Dx. Te opasnosti postaju razlog za brigu tek kada se u sustav unesu putem uzoraka koji se ispituju. Pri rukovanju biološki opasnim ili radioaktivnim uzorcima pridržavajte se preporučenih mjera opreza i smjernica specifičnih za vaš laboratorij i lokaciju. Ove smjernice trebaju uključivati metode čišćenja, praćenja i zbrinjavanja opasnih materijala koje upotrebljavate.
	
	
	Uz to, kao što je gore navedeno, postoji mali rizik od eksplozije ili izbacivanja tekućina ili para iz spremnika za uzorke. Pri radu s opasnim materijalima rizik od ozljeda od izbačenog materijala dodatno je pogoršan rizikom da se opasni materijal sam rasprši u uređaju i oko njega. Korisnici bi trebali poduzeti odgovarajuće mjere predostrožnosti za takvu situaciju.

Tablica 1. Opća sigurnosna upozorenja, nastavak

Ikona	Značenje
	<p>Sustav CFX Opus Dx radi radi na visokim temperaturama koje mogu izazvati ozbiljne opekline. Uvijek dopustite da se blok za uzroke ohladi na sobnu temperaturu prije otvaranja poklopca i vađenja uzoraka. Čak i nakon što se blok za uzroke ohladi, okolna područja, kao i ploča grijača, mogu ostati vruća još neko vrijeme. U situacijama kada nema dovoljno vremena da se uređaj ohladi, preporučuje se upotreba zaštitne opreme kao što su termo rukavice ili „kuhinjske rukavice“.</p>
	<p>Sigurnost i izvedba bilo kojeg sustava koji uključuje sustav Sustav CFX Opus Dx isključiva je odgovornost montera sustava.</p>
	<p>Sustav CFX Opus Dx može se dovoljno zagrijati tijekom normalnog rada da izazove prokuhavanje ili isparavanje tekućine u uzorcima, pritišćući spremnike za uzorke. Postoji mogućnost od kvara spremnika za uzorke, a to može dovesti do curenja, raspršivanja tekućine ili eksplozivnog pucanja i izbacivanje para ili tekućina u uređaj i oko njega.</p> <p>Korisnici bi uvijek trebali upotrebljavati uređaj sa zatvorenim poklopcem ili nositi zaštitne naočale, termo rukavice i drugu osobnu zaštitnu opremu tijekom rada kako bi izbjegli ozljede. Otvaranje uređaja dok su uzorci još vrući, na primjer nakon prekida izvođenja, može omogućiti istjecanje, prskanje ili šiktanje tekućine iz spremnika pod tlakom. Uvijek pustite da se uzorci ohlade prije otvaranja poklopca.</p> <p>Korisnici nikada ne bi smjeli pokretati reakciju dok su poklopac ili brtva otvoreni, labavi, probušeni ili oštećeni na bilo koji drugi način jer će povećati vjerojatnost opasnog puknuća ili eksplozije.</p> <p>Korisnici nikada ne smiju izvoditi reakciju hlapljivim reagensima koji mogu povećati vjerojatnost opasnog puknuća ili eksplozije.</p>

Sigurnost i usklađenost s propisima

Sukladnost sa sigurnošću

Sustav CFX Opus Dx testiran je i utvrđeno je da je u skladu sa svim primjenjivim zahtjevima sljedećih sigurnosnih i elektromagnetskih standarda:

- IEC 61010-1:2010 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu, Dio 1: Opći zahtjevi
- IEC 61010-2-010: 2019 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-010: Posebni zahtjevi za laboratorijsku opremu za grijanje tvari
- IEC 61010-2-081:2019 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu, Dio 2-081: Posebni zahtjevi za automatsku i poluautomatsku laboratorijsku opremu za analize i druge namjene
- IEC 61010-2-101:2018 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-101: Posebni zahtjevi za in vitro dijagnostičku (IVD) medicinsku opremu

- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-1-12:2018 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu, 1. dio: Opći zahtjevi
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-010:19 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-010: Posebni zahtjevi za laboratorijsku opremu za grijanje tvari
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-081:19 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-081: Posebni zahtjevi za automatsku i poluautomatsku laboratorijsku opremu za analize i druge namjene
- CSA-C22.2 NO. 61010-2-101:19 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-101: Posebni zahtjevi za in vitro dijagnostičku (IVD) medicinsku opremu

- EN 61010-1:2010 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – 1. dio: Opći zahtjevi
- EN 61010-2-010:2014 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-010: Posebni zahtjevi za laboratorijsku opremu za grijanje tvari
- EN 61010-2-081:2015 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-081: Posebni zahtjevi za automatsku i poluautomatsku laboratorijsku opremu za analize i druge namjene

- EN 61010-2-101:2017 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-101: Posebni zahtjevi za in vitro dijagnostičku (IVD) medicinsku opremu
- UL 61010-1:2012 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – 1. dio: Opći zahtjevi
- UL 61010-2-010:2019 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-010: Posebni zahtjevi za laboratorijsku opremu za grijanje tvari
- UL 61010-2-081:2019 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-081: Posebni zahtjevi za automatsku i poluautomatsku laboratorijsku opremu za analize i druge namjene
- UL 61010-2-101:19 Sigurnosni zahtjevi za mjernu, upravljačku i laboratorijsku električnu opremu – Dio 2-101: Posebni zahtjevi za in vitro dijagnostičku (IVD) medicinsku opremu

Elektromagnetska kompatibilnost (EMC)

Sustav CFX Opus Dx testiran je i utvrđeno je da je u skladu sa svim primjenjivim zahtjevima sljedećih standarda za elektromagnetsku kompatibilnost:

- IEC 61326-1: 2012 Električna oprema za mjerenje, vođenje i laboratorijsku uporabu – Zahtjevi za elektromagnetsku kompatibilnost (EMC) – 1. dio: Opći zahtjevi. Testiran kao uređaj klase A
- IEC 61326-2-6:2012 Električna oprema za mjerenje, vođenje i laboratorijsku uporabu – Zahtjevi za elektromagnetsku kompatibilnost (EMC) – Dio 2-6: Posebni zahtjevi – Medicinski uređaji za in vitro dijagnostiku
- EN 61326-1:2013 Električna oprema za mjerenje, vođenje i laboratorijsku uporabu – Zahtjevi za elektromagnetsku kompatibilnost (EMC) – 1. dio: Opći zahtjevi. Testiran kao uređaj klase A
- EN 61326-2-6:2013 Električna oprema za mjerenje, vođenje i laboratorijsku uporabu – Zahtjevi za elektromagnetsku kompatibilnost (EMC) – Dio 2-6: Posebni zahtjevi – Medicinski uređaji za in vitro dijagnostiku
- FCC dio 15, pododjeljak B, odjeljci 15.107 i 15.109. Testiran kao digitalni uređaj klase A
- CAN ICES-003v6: 2019 Standard opreme koja uzrokuje smetnje, oprema informacijske tehnologije (uključujući digitalne uređaje) – Ograničenja i metode mjerenja. Testirano do ograničenja klase A

EMC upozorenja i napomene

- **Upozorenje:** Izmjene ili preinake na ovoj jedinici, koje nije izričito odobrila tvrtka Bio-Rad, mogle bi poništiti ovlaštenje korisnika da upravlja opremom.

- **Napomena:** Ova je oprema testirana i utvrđeno je da udovoljava ograničenjima za digitalni uređaj klase A, u skladu s dijelom 15 FCC pravila. Ova su ograničenja osmišljena kako bi pružila razumnu zaštitu od štetnih smetnji kada oprema radi u komercijalnom okruženju. Ova oprema generira, upotrebljava i može zračiti radiofrekvencijsku energiju i, ako se ne postavi i ne upotrebljava u skladu s priručnikom za rad, može uzrokovati štetne smetnje u radio komunikacijama. Rad ove opreme u stambenom području vjerojatno će prouzročiti štetne smetnje, a u tom će slučaju korisnik trebati ispraviti smetnje o svom trošku.
- **Napomena o usklađenosti s FCC-om:** Iako je ovaj uređaj testiran i utvrđeno je da je u skladu s dijelom 15, pododjeljkom B FCC pravila za digitalni uređaj klase A, imajte na umu da je ta usklađenost dobrovoljna, jer se uređaj kvalificira kao „izuzeti uređaj” prema 47 CFR 15.103 (c), s obzirom na citirane FCC propise koji su bili na snazi u vrijeme proizvodnje.
- **Napomena u vezi s kabelima:** Ovaj je uređaj testiran za EMC usklađenost s pomoću posebno dizajniranih USB kabela koji se isporučuju s uređajem. Ti kabeli ili zamjene koje je odobrila tvrtka Bio-Rad moraju se upotrebljavati s ovim uređajem kako bi se jamčila stalna usklađenost s ograničenjima EMC emisija.

Zahtjevi okoline

Sustav CFX Opus Dx dizajnirani su za siguran rad u uvjetima okoline navedenim u tablici u nastavku.

Tablica 2. Zahtjevi okoline za Sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu

Parametar	Specifikacija
Okolina	Samo u zatvorenom
Radna nadmorska visina	Do 2.000 metara nadmorske visine
Sobna temperatura u okolini	15 – 31 °C*
Temperatura transporta i skladištenja	–20 ° do 60 °C** –4 do 140 °F
Relativna vlažnost	20 % do 80 % (bez kondenzacije)***
Radna snaga	100 do 240 VAC ± 10 %, 50/60 Hz, 850 W maks.
Fluktuacije napona električne mreže	± 10 %
Maksimalna potrošnja energije	<850 W
Osigurači	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, brzi (kol. 2)
Kategorija prenapona	II
Stupanj onečišćenja	2

*Upotreba uređaja izvan navedenog raspona temperature možda neće udovoljavati specifikacijama izvedbe. Sigurnom temperaturom smatra se sobna temperatura od 5 – 40 °C.

**Skladištite i transportirajte uređaj u odgovarajućem spremniku za dostavu kako bi se zadovoljili zahtjevi temperature.

***Upotrebu uređaja pri temperaturi od 4 °C treba ograničiti na 18 sati pri navedenim uvjetima. Zadržavanje na temperaturi od 4 °C moguće je u trajanju do 72 sata ako vlažnost iznosi manje od 60 % (bez kondenzacije).

Opasnosti

Sustav CFX Opus Dx Sustav CFX Opus Dx je dizajniran je za siguran rad kada se upotrebljava na način koji je propisao proizvođač. Ako se sustav ili bilo koji pridruženi dijelovi upotrebljavaju na način koji nije odredio proizvođač, svojstvena zaštita koju pruža uređaj može biti narušena. Bio-Rad nije odgovoran za bilo kakvu ozljedu ili štetu nastalu upotrebom ove opreme na bilo koji način koji nije naveden ili preinakama uređaja koje nije izvršila tvrtka Bio-Rad ili ovlašteni posrednik. Servis Sustav CFX Opus Dx treba obavljati samo obučeno osoblje tvrtke Bio-Rad .

Biološka opasnost

Sustav CFX Opus Dx je laboratorijski proizvod. Međutim, ako su prisutni biološki opasni uzorci, pridržavajte se sljedećih smjernica i svih lokalnih smjernica koje se odnose na vaš laboratorij i lokaciju.

Napomena: Tijekom uobičajenog rada ovog uređaja ne ispušta se niti jedna opasna tvar.

Opće mjere opreza

- Uvijek nosite laboratorijsku kutu, laboratorijske rukavice i sigurnosne naočale s bočnim štitičima ili zaštitne naočale.
- Držite ruke dalje od usta, nosa i očiju.
- U potpunosti zaštitite porezotine ili ogrebotine prije rada s potencijalno zaraznim materijalima.
- Temeljito operite ruke vodom i sapunom nakon rada s potencijalno zaraznim materijalom prije napuštanja laboratorija.
- Uklonite ručne satove i nakit prije rada za stolom.
- Sav zarazni ili potencijalno zarazni materijal čuvajte u nelomljivim nepropusnim spremnicima.
- Prije napuštanja laboratorija uklonite zaštitnu odjeću.
- Uvijek nosite rukavice na rukama kada pišete, javljate se na telefon, uključujete prekidače svjetla ili dodirujete bilo što drugo što bi drugi ljudi mogli dodirnuti bez rukavica.
- Često mijenjajte rukavice. Skinite rukavice odmah kad su vidljivo onečišćene.
- Ne izlažite materijale koji se ne mogu pravilno dekontaminirati potencijalno zaraznim materijalima.
- Po završetku postupka koji uključuje biološki opasan materijal, dekontaminirajte radno područje odgovarajućim dezinficijensom (na primjer, razrijedite kućni izbjeljivač u omjeru 1 : 10).

Dekontaminacija površine



UPOZORENJE! Da biste spriječili strujni udar, uvijek isključite i iskopčajte uređaj prije izvođenja dekontaminacije.

Sljedeća područja mogu se očistiti bilo kojim bolničkim baktericidnim, virucidnim ili fungicidnim dezinficijensom:

- Vanjski poklopac i kućište
- Unutarnja površina bloka za uzroke i jažice bloka za uzroke
- Upravljačka ploča i zaslون

Kako biste pripremili i primijenili dezinficijens, pogledajte upute proizvođača proizvoda. Nakon nanošenja dezinficijensa, blok za uzroke i jažice bloka za uzroke obvezno nekoliko puta isperite vodom. Temeljito osušite blok za uzroke i jažice bloka za uzroke nakon ispiranja vodom.

Važno: Nemojte upotrebljavati abrazivne ili korozivne deterdžente ili jake lužnate otopine. Ta sredstva mogu ogrepsiti površine i oštetiti blok za uzroke, što rezultira gubitkom precizne kontrole topline.

Odlaganje biološki opasnog materijala

Odložite sljedeće potencijalno kontaminirane materijale u skladu s lokalnim, regionalnim i nacionalnim propisima:

- Klinički uzorci
- Reagensi
- Korištene reakcijske posude ili drugi potrošni materijal koji može biti kontaminiran

Kemijske opasnosti

Sustav CFX Opus Dx ne sadržava potencijalno opasne kemijske materijale.

Opasnost od eksplozije ili zapaljivosti

Sustav CFX Opus Dx ne predstavlja opasnost povezanu sa zapaljivošću ili eksplozijom kada se upotrebljava na odgovarajući način kako navodi tvrtka Bio-Rad Laboratories.

Električne opasnosti

Sustav CFX Opus Dx ne predstavljaju predstavljaju neobičajenu električnu opasnost za rukovatelje ako je pravilno postavljen i radi bez fizičkih preinaka i priključen je na izvor napajanja odgovarajućih specifikacija.

Prijevoz

Prije nego što premjestite ili otpremite Sustav CFX Opus Dx moraju se provesti postupci dekontaminacije. Uvijek premjestite ili otpremite sustav u zasebnom spremniku u ambalaži koju dostavlja tvrtka Bio-Rad, a koja štiti sustav od oštećenja.

Za informacije o transportu sustava i da biste zatražili odgovarajuću ambalažu, obratite se lokalnom uredu tvrtke Bio-Rad.

Baterija

Sustav CFX Opus Dx upotrebljava jednu litij-metal gumbaste baterije od 3 V za održavanje vremenskih postavki u slučaju nestanka izmjenične struje. Ako vrijeme ne ostane postavljeno nakon isključivanja uređaja, to može biti znak da baterije slabe.



UPOZORENJE! Ne pokušavajte zamijeniti baterije. Korisnik ih ne može servisirati. Umjesto toga, pomoć zatražite od tehničke podrške tvrtke Bio-Rad.

Samo za državu Kaliforniju, SAD

- Perkloratni materijal – litijeve baterije sadržavaju perklorat; možda je potrebno posebno rukovanje. Pogledajte www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate.

Odlaganje

Sustav CFX Opus Dx sadržavaju električne materijale; ne smiju se odlagati kao nesortirani otpad i moraju se odvojeno sakupljati, u skladu s Direktivom Europske unije 2012/19/EU o otpadnoj električnoj i elektroničkoj opremi – Direktiva OEEO. Prije odlaganja obratite se lokalnom predstavniku tvrtke Bio-Rad za upute specifične za pojedinu zemlju.

Jamstvo

Sustav CFX Opus Dx i njegovi pripadajući dodaci obuhvaćeni su standardnim jamstvom tvrtke Bio-Rad. Obratite se lokalnom uredu tvrtke Bio-Rad za pojedinosti o jamstvu.

Sigurnost i usklađenost s propisima

Poglavlje 1 Uvod

Sustavi za pojačanje PCR visokih performansi tvrtke Bio-Rad odlikuju se najnovijim tehnološkim dostignućima, pružajući veću preciznost i ponovljivost pojačanja nukleinske kiseline za genomske pokuse.

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition tvrtke Bio-Rad kompatibilan je sa sljedećim uređajima i ima optimizirane datoteke izvođenja za PrimePCR ispitivanja početnice i sonde tvrtke Bio-Rad:

- CFX Opus 96 Dx PCR sustav u stvarnom vremenu (spominje se u ovom vodiču kao CFX Opus 96 Dx)
- CFX Opus 384 Dx PCR sustav u stvarnom vremenu (spominje se u ovom vodiču kao CFX Opus 384 Dx)
- PCR sustav u stvarnom vremenu CFX Opus Deepwell Dx (spominje se u ovom vodiču kao CFX Opus Deepwell Dx)

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition (u ovom se vodiču spominje kao CFX Maestro Dx SE) može protumačiti složene podatke i izraditi moćne studije za genetsku analizu. U samo nekoliko klikova možete postaviti studiju i smisliti svoju studiju genske ekspresije s pomoću alata kao što su t-testovi, jednosmjerna analiza ANOVA, analiza kontrola PrimePCR i referentni alat za odabir gena. Zatim svoje rezultate možete pripremiti za publikacije i plakate s pomoću vrlo prilagodljivog alata koji nudi CFX Maestro Dx SE za vizualizaciju podataka i bilješki.

Napomena: Prikaz nekih ekrana u softveru CFX Maestro može se razlikovati od onih prikazanih u ovom korisničkom vodiču. Prikaz u softveru točan je, a funkcionalnost je ista.

Važno: Kibernetička sigurnost odnosi se na zaštitu imovine u kibernetičkom prostoru od kibernetičkih napada. Kibernetička sigurnost predstavlja sposobnost društva Bio-Rad da zaštiti svoje zaposlenike, informacije, sustave i ugled u kibernetičkom prostoru. Kibernetički prostor odnosi se na svijet koji je uvijek dostupan i tehnološki međusobno povezan. Sastoji se od osoba, organizacija, informacija i tehnologije.

Važno je brzo reagirati na probleme povezane s kibernetičkom sigurnošću! Ako sumnjate u postojanje problema povezanog s kibernetičkom sigurnošću Vašeg instrumenta ili u narušavanje kibernetičke sigurnosti Vaše internetske stranice, odmah kontaktirajte svojeg predstavnika društva Bio-Rad zaduženog za tehničku podršku.

Glavne značajke za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

CFX Maestro Dx SE može vam pomoći pri sljedećem:

- Analizirati podatke s pomoću trakastih grafikona, dijagrama klastera ili raspršenih dijagrama kako biste brzo protumačili i razumjeli svoje rezultate.
- Prilagoditi prikaz podataka i izvesti grafikone visoke razlučivosti za objavljivanje i izradu izvješća.
- Utvrditi kvalitetu RNK i riješiti probleme s eksperimentima s PrimePCR kontrolama analize.
- Odabrati odgovarajući referentni gen i analizirati njegovu stabilnost s pomoću alata za odabir referentnog gena.
- Izvršiti statističku analizu uključujući jednosmjernu analizu genske ekspresije ANOVA.

Ovaj korisnički vodič objašnjava ove značajke i kako ih upotrijebiti.

Saznajte više

Nakon što se instalira CFX Maestro Dx SE i postavi povezani PCR uređaj Bio-Rad, ovom vodiču kao i detaljnim temama pomoći CFX Maestro Dx SE možete pristupiti putem izbornika Help (Pomoć) u bilo kojem prikazu.

Savjet: Kliknite logotip tvrtke Bio-Rad u gornjem desnom kutu bilo kojeg prozora za CFX Maestro Dx SE kako biste pokrenuli internetsku stranicu tvrtke Bio-Rad. Na ovoj internetskoj stranici nalaze se poveznice na tehničke napomene, priručnike, snimke, informacije o proizvodu i tehničku podršku. Na stranici se također nalaze brojni tehnički izvori o širokom spektru metoda i primjena povezanih s PCR-om, PCR-om u stvarnom vremenu i genskom ekspresijom.

Poglavlje 2 Softver CFX Maestro Dx, Security Edition, instalacija

Ovo poglavlje objašnjava instalaciju za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition. Za informacije o postavljanju podržanih Bio-Rad PCR uređaja u stvarnom vremenu pogledajte odgovarajući vodič.

CFX Maestro Dx SE potreban je za analizu PCR podataka u stvarnom vremenu iz PCR sustava u stvarnom vremenu CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx i CFX Opus Deepwell Dx. Ovim softverom možete upravljati i tim sustavima u načinu upravljanja softverom.

Sustavi CFX Opus Dx isporučuju se s USB kabelom u torbi za pribor. Upotrijebite USB kabel za povezivanje računala na kojem je pokrenut softver CFX Maestro Dx SE za Sustav CFX Opus Dx.

Uklonite materijale za pakiranje i spremite ih za buduću upotrebu. Ako bilo koji predmet nedostaje ili je oštećen, obratite se lokalnom uredu tvrtke Bio-Rad.

Zahtjevi sustava

Tablica 3 navodi minimalne i preporučene sistemske zahtjeve za računalo na kojem je pokrenut CFX Maestro Dx SE.

Tablica 3. Računalni zahtjevi za CFX Maestro Dx SE

Sustav	Minimum	Preporučeno
Operacijski sustav	Microsoft Windows 10 (samo 64-bitni), međuverzija 1511 ili novija, s najnovijim sigurnosnim ažuriranjima.	Microsoft Windows 10 (samo 64-bitni), međuverzija 1511 ili novija, s najnovijim sigurnosnim ažuriranjima.
Napomena: Windows 11 isto tako podržava Softver CFX Maestro Dx, Security Edition.		
Važno: Opcija Secure Boot (Sigurno pokretanje) mora biti onemogućena na računalima na kojima je pokrenut CFX Maestro Dx SE. Računala na kojima je pokrenut CFX Maestro Dx SE trebaju biti konfigurirana tako da se automatski ne pokrenu nakon ažuriranja sustava ili sigurnosti ako je izvođenje u tijeku. Za pomoć se obratite administratoru sustava.		
Priključci	2 USB 2.0 priključka velike brzine	2 USB 2.0 priključka velike brzine
Prostor na tvrdom disku	128 GB	128 GB
Brzina procesora	2,4 GHz, dvojezgreni	2,4 GHz, četverojezgreni
RAM	4 GB RAM-a	8 GB RAM-a
Razlučivost zaslona	1024 x 768 s načinom stvarne boje	1280 x 1024 s načinom stvarne boje
PDF čitač		Adobe PDF Reader ili Windows PDF Reader iz jednog od podržanih Microsoft Office sustava: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2016. ■ 2019.
Lokalizacija	64-bitni OS Microsoft Windows na engleskom, kineskom i ruskom jeziku podržan	64-bitni OS Microsoft Windows na engleskom, kineskom i ruskom jeziku podržan

Napomena: Ako planirate pokrenuti softver CFX Automation Control na istom računalu kao i CFX Maestro Dx SE, postavite razlučivost zaslona na 1280 x 1024 s načinom stvarne boje.

Instalacija softvera CFX Maestro Dx SE

Važno: morate odspojiti sve povezane instrumente od računala za CFX Maestro Dx SE prije instalacije ili nadogradnje softvera. Tijekom instalacije softvera ne morate isključiti uređaj. Provjerite jeste li spremili sva izvođenja i da se ne izvode nikakvi eksperimenti.

Napomena: prije početka postupka instalacije provjerite je li onemogućena opcija Secure Boot (Sigurno pokretanje). Provjerite je li računalo konfigurirano tako da se ne pokreće automatski nakon ažuriranja sustava ili sigurnosnog ažuriranje ako je izvođenje u tijeku. Za pomoć se obratite administratoru sustava.

Za instalaciju softvera CFX Maestro Dx SE

1. Ako je potrebno, odspojite sve povezane instrumente od računala.
 Pronađite i odspojite USB kabel instrumenta na računalu za CFX Maestro Dx SE. Kraj umetnut u uređaj Sustav CFX Opus Dx može ostati na svom mjestu.
2. Prijavite se na računalo za CFX Maestro Dx SE s administratorskim pravima.
3. Umetnite USB pogon softvera CFX Maestro Dx SE u USB priključak računala.
4. U pregledniku Windows Explorer dođite do i otvorite USB pogon softvera CFX Maestro Dx SE.
 USB pogon sadržava napomene o izdanju i sljedeće mape:
 - CFX
 - Drivers (Upravljački programi)
 - Firmware (Firmver)
 - Quick Start (Brzi početak).
 Zajedno s ostalim datotekama mapa CFX sadržava CFX Maestro Dx SE instalacijski softver (CFXMaestroDxSetup.exe).
5. Otvorite mapu CFX i dvaput kliknite CFXMaestroDxSetup.exe da biste pokrenuli instalacijski program.
6. Slijedite upute za instalaciju na zaslonu.
 Kad ste dovršili, ikona Bio-Rad Softver CFX Maestro Dx, Security Edition pojavljuje se na zaslonu računala.
Savjet: Instalacijski program CFX Maestro automatski instalira korisnički vodič Softver CFX Maestro Dx, Security Edition. Kako biste pronašli te vodiče, idite na izbornik Help (Pomoć) i odaberite Open User Guides (Otvori korisničke vodiče).
7. Nakon završetka instalacije možete sigurno izbaciti USB pogon softvera.

Otkrivanje povezanih uređaja

Tijekom instalacije, program za instalaciju za CFX Maestro Dx SE automatski instalira upravljačke programe uređaja na računalo na kojem je instaliran CFX Maestro Dx SE. CFX Maestro Dx SE otkriva povezane uređaje kad pokrenete softver.

Otkrivanje povezanih uređaja

1. Ako to još niste učinili, umetnite kvadratni (muški) kraj isporučenog USB kabela tipa B u USB priključak tipa B koji se nalazi na stražnjoj strani uređaja.
2. Umetnite drugi kraj (za priključak) u USB priključak na računalo za CFX Maestro Dx SE.
3. Ako sustav već nije pokrenut, pritisnite prekidač za napajanje na stražnjoj strani uređaja da biste ga uključili.
4. Pokrenite CFX Maestro Dx SE.

Softver automatski otkriva povezani uređaj i prikazuje njegov naziv u oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji) u prozoru Home (Početno).

Napomena: Ako se uređaj ne pojavi u oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji), provjerite je li USB kabel pravilno postavljen. Da biste ponovo instalirali upravljačke programe, na početnom prozoru za CFX Maestro Dx SE odaberite Tools (Alati) > Reinstall Instrument Drivers (Ponovno instaliraj upravljačke programe uređaja).

Softverske datoteke

Tablica 4 navodi vrste datoteka softvera CFX Maestro Dx SE.

Tablica 4. CFX Maestro Dx SE – vrste datoteka

Vrsta datoteke	Ekstenzija	Pojedinosti
Protocol (Protokol)	.prcl	Sadržava pojedinosti o prilagodbi protokola za izvođenje PCR izvođenja.
Plate (Pločica)	.pltd	Sadržava pojedinosti o postavljanju pločice za izvođenje PCR izvođenja.
Data (Podaci)	.pcrd	Sadržava rezultate pokusa i PCR analizu.
PrimePCR izvođenje	.csv	Sadržava protokol i raspored pločica za PrimePCR pločice.
Genetička studija	.mgxd	Sadržava rezultate više PCR izvođenja i analize ekspresije gena.
Samostalna datoteka prije podataka	.zpcr	Sadržava očitavanja fluorescencije iz samostalnog rada koja se pretvaraju u podatkovnu datoteku.
LIMS	.plrn	Sadržava informacije o prilagodbi pločice i protokolu potrebne za provođenje izvođenja kompatibilnog s LIMS-om.
JSON	.json	Datoteka samo za čitanje koju generiraju samo sustavi CFX Opus Dx sadržava podatke datoteke izvođenja koji se pojavljuju u oknu s pojedinosti u pregledniku datoteka kada je odabrana datoteka izvođenja. Ova se datoteka generira nakon završetka izvođenja. Izvozi se sa .zpcr datotekom i sprema s podatkovnim datotekama kada je Save Location (Lokacija spremanja) USB pogon ili zajednička mrežna mapa.

Poglavlje 3 Upravljanje korisničkim računima za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition korisnici se prijavljuju sa svojim korisničkim imenom i lozinkom za sustav Windows. Osobi koja je instalirala CFX Maestro Dx SE automatski se dodjeljuje uloga Administrator i može stvarati korisničke račune i uloge te upravljati njima. Svim ostalim korisnicima mora biti dodijeljen korisnički račun da bi se mogli prijaviti i upotrebljavati softver.

Važno: Svaki korisnik mora imati Windows račun i lozinku na računalu za CFX Maestro Dx SE kako biste mu mogli dodijeliti korisnički račun i ulogu. Korisnici mogu biti članovi grupe korisnika sustava Windows ili grupe administratora sustava Windows. Članovi grupe korisnika sustava Windows mogu pristupiti samo svojim datotekama i mapama za CFX Maestro Dx SE. Članovi grupe administratora sustava Windows mogu pristupiti datotekama i mapama svih korisnika na računalu.

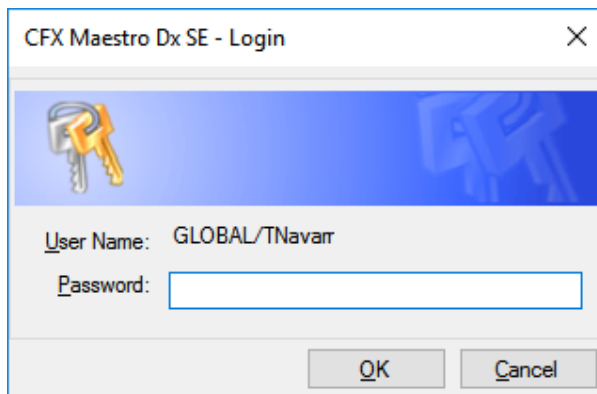
Ovo poglavlje objašnjava kako izraditi korisnike sustava Microsoft Windows kako bi ih dodali u CFX Maestro Dx SE. Ovaj odjeljak također objašnjava kako dodati korisnike za CFX Maestro Dx SE i upravljati korisničkim ulogama i dozvolama.

Pokretanje za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

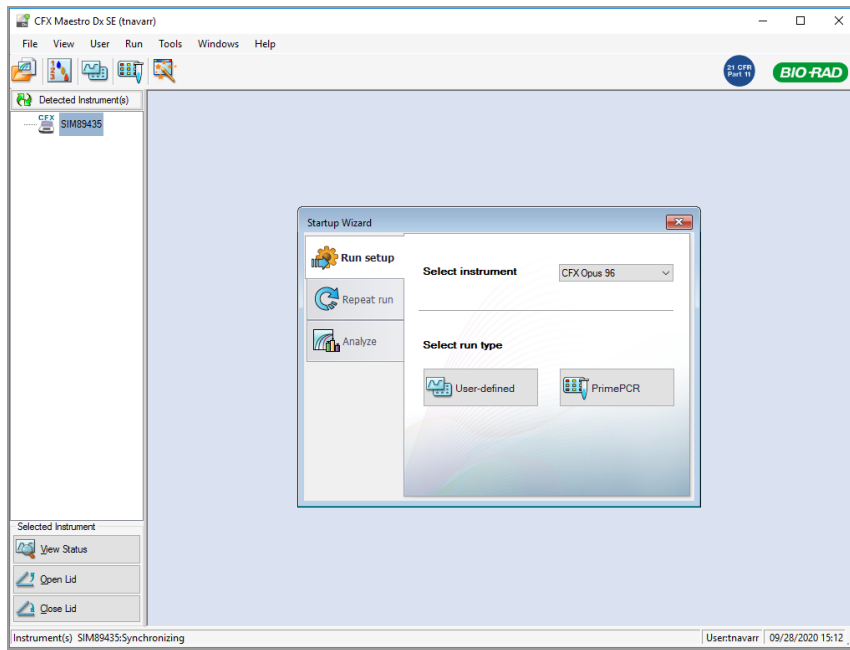
Napomena: Svaki se korisnik mora prijaviti sa svojim korisničkim imenom i lozinkom za sustav Windows.

Pokretanje za CFX Maestro Dx SE

1. Na radnoj površini računala za CFX Maestro Dx SE, dvaput kliknite na ikonu prečaca za CFX Maestro Dx SE da biste pokrenuli aplikaciju.
2. U dijaloški okvir Login (Prijava) upišite lozinku za sustav Windows i kliknite OK (U redu).



CFX Maestro Dx SE otvara se na prozoru Home (Početno). Naslovna traka prikazuje korisničko ime korisnika prijavljenog u sustav Windows, a traka izbornika prikazuje plavu naljepnicu koja označava da je softver usklađen s 21. Kodeksom saveznih propisa (CFR), dio 11, na primjer:



Dodavanje korisnika sustava Microsoft Windows u računalo za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Svi korisnici moraju se prijaviti na računalo za CFX Maestro Dx SE sa svojim korisničkim imenom i lozinkom za sustav Windows. Za precizno praćenje revizije korisnički računi sustava Windows ne mogu se dodati putem dijaloškog okvira Start (Početak)> Settings (Postavke) > Accounts (Računi). Korisnički računi sustava Windows **moraju** se dodati putem konzole Computer Management (Upravljanje računalom).

Važno: Promjene u korisničkim svojstvima sustava Windows (uključujući User name (Korisničko ime) i Full name (Puno ime)) nakon što ste izradili povezanog korisnika za CFX Maestro Dx SE poništavaju korisnika CFX Maestro Dx SE. Pobrinite se da su informacije točne prije spremanja korisnika sustava Windows i stvaranja povezanog korisnika za CFX Maestro Dx SE.

Savjet: Prije stvaranja računa sustava Windows pregledajte administracijsku dokumentaciju za sustav Microsoft Windows i potražite više informacija kod svog administratora sustava Windows.

Dodavanje korisničkih računa za sustav Windows u računalo za CFX Maestro Dx SE

1. Prijavite se u računalo za CFX Maestro Dx SE kao član grupe administratora sustava Windows.
2. Na radnoj površini desnom tipkom miša kliknite My Computer (Moje računalo) i odaberite Manage (Upravljanje) da biste otvorili konzolu Computer Management (Upravljanje računalom).
3. U konzoli Computer Management (Upravljanje računalom) proširite odjeljak Local Users and Groups (Lokalni korisnici i grupe).
4. Desnom tipkom miša kliknite mapu Users (Korisnici) i odaberite New User (Novi korisnik) da biste otvorili dijaloški okvir New User (Novi korisnik).

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

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

Buttons at the bottom: Help, Create, Close

5. U dijaloškom okviru New User (Novi korisnik) morate ispuniti sljedeća polja:

- User name (Korisničko ime)
- Full name (Puno ime)
- Password (Lozinka)
- Confirm Password (Potvrda lozinke)

6. Kliknite Create (Izradi).

Dodavanje i uklanjanje korisnika za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Savjet: Samo korisnici s ulogom Administrator za CFX Maestro Dx SE mogu stvarati i uklanjati korisničke račune za CFX Maestro Dx SE. Osobi koja je instalirala CFX Maestro Dx SE automatski se dodjeljuje uloga Administrator. Ta osoba može dodijeliti ulogu Administrator drugim korisnicima.

Napomena: Barem jednom korisniku mora biti dodijeljena uloga Administrator za CFX Maestro Dx SE.

Dodavanje korisničkih računa za CFX Maestro Dx SE

1. Provjerite je li svaki predviđeni korisnik član grupe korisnika sustava Windows ili grupe administratora sustava Windows te ima li lozinku za sustav Windows na računalu za CFX Maestro Dx SE.
2. Pokrenite CFX Maestro Dx SE i prijavite se kao Administrator.
3. U prozoru Home (Početno) odaberite User (Korisnik) > User Administration (Administracija korisnika).

Pojavljuje se dijaloški okvir User Administration (Administracija korisnika).

The screenshot shows the 'User Administration' dialog box. It is divided into two main sections: 'Manage Users' and 'Manage Rights (Managed by Administrator only)'. The 'Manage Users' section contains a table with columns for User Name, Full Name, Role, Domain, and Remove. The 'Manage Rights' section contains a table with columns for Rights, Principal, Operator, and Guest. At the bottom, there are buttons for 'Restore Default Rights', 'OK', and 'Cancel'.

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

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

Restore Default Rights OK Cancel

4. U odjeljku Manage Users (Upravljanje korisnicima) navedite sljedeće podatke za svakog korisnika:
 - **User name** (Korisničko ime) – za CFX Maestro Dx SE ovo **mora** biti korisničko ime za prijavu korisnika u sustav Windows.
 - **Full name** (Puno ime) – puno ime korisnika.

Ovo se ime pojavljuje u polju Full User (Puno ime korisnika) u revizijskom tragu. Ovo ime mora biti jednako imenu unesenom u polje Full Name (Puno ime) prilikom stvaranja korisnika sustava Windows.
 - **Role** (Uloga) – uloga koju treba dodijeliti korisniku.

Napomena: S padajućeg popisa možete odabrati samo jednu ulogu. Pogledajte [Upravljanje ulogama korisnika za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition](#) za više informacija.
 - **Domain** (Domena) – domena sustava Windows s koje korisnik pristupa softveru.

Dodatne informacije potražite kod administratora sustava Windows.
5. Kliknite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje promjena i zatvaranje dijaloškog okvira User Administration (Administracija korisnika).

Uklanjanje korisničkog računa za CFX Maestro Dx SE

1. Pokrenite CFX Maestro Dx SE i prijavite se kao Administrator.
2. U prozoru Home (Početno) odaberite User (Korisnik) > User Administration (Administracija korisnika) da biste otvorili dijaloški okvir User Administration (Administracija korisnika).
3. U oknu Manage Users (Upravljanje korisnicima) odaberite Remove (Ukloni) za svakog korisnika kojeg želite ukloniti.
4. Kliknite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje promjena i zatvaranje dijaloškog okvira User Administration (Administracija korisnika).

Upravljanje ulogama korisnika za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Važno: CFX Maestro Dx SE zahtijeva da se barem jednom korisniku dodijeli uloga Administrator. Ovu ulogu možete dodijeliti više korisnika.

CFX Maestro Dx SE ima četiri korisničke uloge. Svakom korisniku mora biti dodijeljena uloga kako bi mogao pristupiti softveru. Iako se korisnicima može dodijeliti samo jedna uloga, ulogu korisnika možete promijeniti u bilo kojem trenutku.

Osim uloge Administrator, možete promijeniti i dozvole dodijeljene svakoj ulozi. Svi korisnici kojima je dodijeljena uloga nasljeđuju dozvole samo te uloge.

Prema zadanim postavkama, prava za svaku ulogu su sljedeća:

- Administrator – ova uloga ima sve dozvole; ne možete promijeniti te dozvole.
- Principal (Upravitelj) – ova uloga ima sve dozvole osim postavljanja e-pošte.
- Operator – ova uloga ima sve dozvole osim preskakanja ciklusa i postavljanja e-pošte.
- Guest (Gost) – ova uloga može samo čitati datoteke.

Pri dodjeli uloga za CFX Maestro Dx SE pažljivo odredite zahtjeve za svakog korisnika. Na primjer, korisnici kojima je dodijeljena uloga Guest (Gost), bez dozvole za spremanje neće moći potpisati datoteku. Bez dozvole za postavljanje računa e-pošte nijedna uloga neće primiti e-poštu kada se završi izvođenje.

Izmjena dozvola za ulogu

1. Pokrenite CFX Maestro Dx SE i prijavite se kao Administrator.
2. U prozoru Home (Početno) odaberite User (Korisnik) > User Administration (Administracija korisnika) da biste otvorili dijaloški okvir User Administration (Administracija korisnika).
3. U odjeljku Manage Rights (Upravljanje pravima) po potrebi za svaku ulogu označite ili odznačite potvrdni okvir za određene dozvole.
4. Kliknite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje promjena i zatvaranje dijaloškog okvira User Administration (Administracija korisnika).

Pregled vaše uloge i dozvola

Savjet: korisnici kojima su dodijeljene korisničke uloge Principal (Glavni korisnik), Operator (Operator) i Guest (Gost) mogu pregledavati samo svoje korisničke postavke, dozvole i uloge. Korisnici kojima je dodijeljena uloga Administrator (Administrator) mogu pregledavati sve korisničke dozvole i uloge.

Za pregled svoje trenutne korisničke uloge i dozvola

- ▶ U prozoru Home (Početno) odaberite User (Korisnik) > User Administration (Administracija korisnika).

Obratite se svom administratoru za softver CFX Maestro Dx SE za izmjenu korisničkih postavki, dozvola i uloga navedenih u prozoru User Administration (Administracija korisnika).

Poglavlje 4 Uporaba za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Važno: Softver CFX Maestro Dx, Security Edition upotrebljava provjeru autentičnosti korisnika sustava Microsoft Windows za provjeru pristupa zaštićenim podatkovnim datotekama sustava CFX. Obratite se administratoru sustava Windows da biste stvorili okruženje koje je u skladu sa zahtjevima 21. Kodeksom saveznih propisa (CFR), dio 11.

CFX Maestro Dx SE korisnicima omogućuje

- Potpisivanje podatkovnih datoteka i datoteka genetičke studije.
- Zaštitu datoteka lozinkom.
- Pregledavanje i ispis revizijskih tragova.

U ovom odjeljku te su značajke detaljno objašnjene.

Zaštićene datoteke

Prema zadanim postavkama, softver CFX Maestro Dx SE sprema zaštićene datoteke u osobnu mapu prijavljenog korisnika koja se nalazi u

C:\Users\

Možete spremiti .pcrd datoteke u tu mapu i uređivati ih. Ta mapa sadržava poveznice na druge mape (na primjer, mapu datoteka Sample (Uzorak)) koje sadržavaju datoteke samo za čitanje. Međutim, administrator može izbrisati sadržaj te mape.

Savjet: Druga je mogućnost da vaš administrator sustava Windows izradi zajedničku mapu i vaš administrator za CFX Maestro Dx SE programira softver tako da sprema sve datoteke u tu mapu.

U softveru CFX Maestro Dx SE datoteke pločica, protokola, podatkovne datoteke i datoteke genetičke studije označene su kao zaštićene kada su spremljene. Softver CFX Maestro ili CFX Maestro Dx SE mogu izraditi takve datoteke. Nakon što su spremljene u CFX Maestro Dx SE, ove datoteke možete otvoriti samo u CFX Maestro Dx SE.

CFX Maestro Dx SE stvara revizijski trag za sve zaštićene podatke i datoteke genetičke studije (.pcrd, odnosno .mgxd datoteke). Softver bilježi sve aktivnosti koje se mogu provjeriti u revizijskom tragu datoteke. Za više informacija pogledajte [Revizijski tragovi na stranici 303](#).

Potpisivanje zaštićenih datoteka

Nakon spremanja datoteke u softveru CFX Maestro Dx SE, korisnici mogu dodati elektronički potpis. Uloga korisnika mora imati dozvolu za spremanje datoteke kako bi mogao potpisati datoteku. Na primjer, prema zadanim postavkama uloga Guest (Gost) nema dozvolu za spremanje datoteke pa korisnici kojima je ta uloga dodijeljena ne mogu potpisati datoteku.

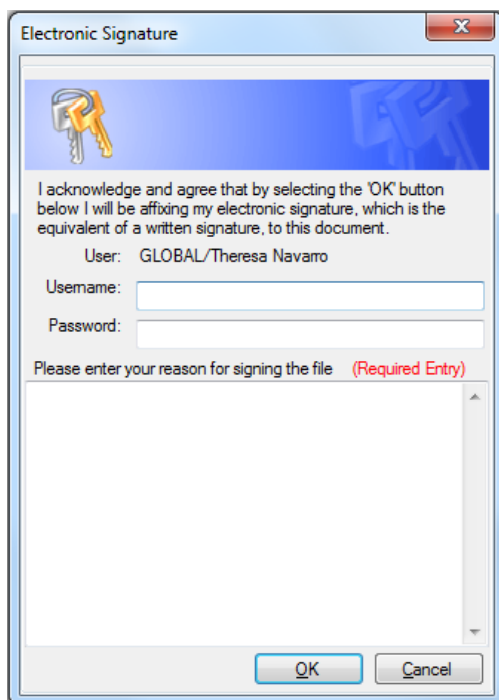
Za CFX Maestro Dx SE potpisane datoteke nisu označene kao samo za čitanje. Mogu se pregledavati, mijenjati i potpisivati više puta. Sve promjene i potpisi prate se u revizijskom tragu datoteke. Možete potpisati sljedeće vrste datoteka:

- Podatkovne datoteke (.pcrd)
- Datoteke genetičke studije (.mgxd)

Napomena: Datoteke moraju biti spremljene kako bi se mogle potpisati. Ako ste nedavno izvršili izvođenje u softveru CFX Maestro Dx SE, najprije spremite dobivenu podatkovnu datoteku.

Potpisivanje datoteke

1. Prijavite se na CFX Maestro Dx SE s vašim vjerodajnicama za prijavu u sustav Windows.
2. Otvorite zaštićenu podatkovnu datoteku ili datoteke genetičke studije za potpisivanje.
3. Odaberite File (Datoteka) > Sign (Potpiši). Pojavljuje se dijaloški okvir Electronic Signature (Elektronički potpis).



4. Unesite svoje korisničko ime i lozinku za sustav Windows i razlog za potpisivanje datoteke.

Korisničko ime i razlog za potpisivanje uključeni su u revizijski trag (za više informacija pogledajte [Revizijski tragovi na stranici 303](#)).

5. Kliknite OK (U redu) da biste poslali potpis i zatvorili dijaloški okvir.

Izmjena zaštićenih datoteka

U CFX Maestro Dx SE korisnici mogu mijenjati zaštićene datoteke, uključujući potpisane i nepotpisane podatke i datoteke genetičke studije. Softver od vas traži da navedete razlog promjene kada spremite izmijenjenu zaštićenu podatkovnu datoteku ili datoteku genetičke studije. Promjene se prate u revizijskom tragu datoteke.

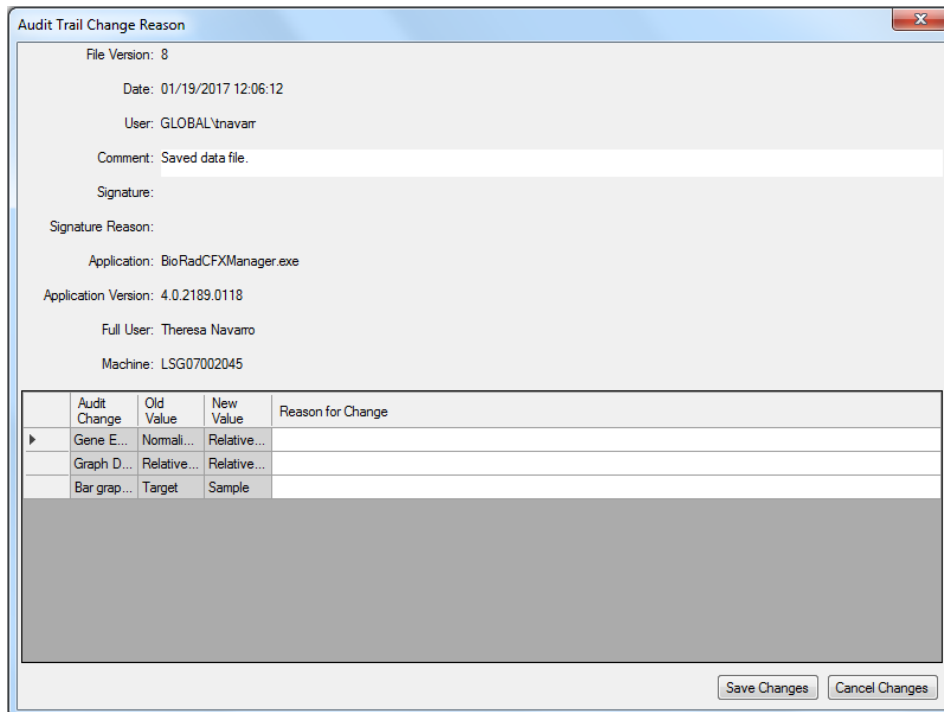
Savjet: Budući da softver ne stvara revizijske tragove za datoteke pločice ili protokola, od vas se neće tražiti da navedete razlog kada spremate promjene tih datoteka.

Spremanje modificiranih podataka ili datoteke genetičke studije

1. Prijavite se na CFX Maestro Dx SE s vašim vjerodajnicama za prijavu u sustav Windows.
2. Otvorite i izmijenite zaštićenu podatkovnu datoteku ili datoteku genetičke studije.

Savjet: Za popis aktivnosti podložnih reviziji pogledajte [Događaji podložni reviziji na stranici 305](#).

3. Odaberite File (Datoteka) > Save (Spremi). Pojavit će se dijaloški okvir Audit Trail Change Reason (Razlog promjene revizijskog traga).



Ovaj dijaloški okvir prikazuje sljedeće podatke koji su zabilježeni u zaglavlju traga revizije datoteke za svaki događaj izmjene:

- **Date** (Datum) – datum kada je došlo do promjene.
- **User** (Korisnik) – domena sustava Windows i korisničko ime prijavljenog korisnika.
- **Comment** (Komentar) – posljednji spremljeni komentar.
- **Signature** (Potpis) – elektronički potpis posljednje osobe koja je potpisala datoteku.
- **Signature reason** (Razlog za potpisivanje) – razlog za potpisivanje.
- **Application** (Aplikacija) – CFX Maestro Dx SE (pojavljuje se kao BioRadCFXManager.exe, što je točno).
- **Application version** (Inačica aplikacije) – trenutna inačica za CFX Maestro Dx SE.
- **Full user** (Puno ime korisnika) – puno ime prijavljenog korisnika.

Napomena: Ovo se ime pojavljuje u revizijskom tragu.

- **Machine** (Stroj) – računalo na kojem je instaliran.

Tablica promjena prikazuje promjene podložne reviziji koje su se dogodile kao rezultat izmjene. Može se pojaviti i kratki opis razloga promjene.

Savjet: Možete dodati ili urediti opise u stupcu Reason for Change (Razlog za promjenu).

4. Pregledajte popis promjena. Ako je potrebno, navedite detaljne razloge.

5. Učinite jedno od sljedećeg:

- Kliknite Save Changes (Spremi promjene) da biste spremili promjene u datoteku kao i sve promjene koje ste unijeli u tablicu te zatvorite dijaloški okvir.

Izmjene datoteke i razlozi za promjene pojavljuju se u revizijskom tragu datoteke.

- Kliknite Cancel Changes (Otkazi promjene) da biste datoteku vratili u prethodno stanje i zatvorili dijaloški okvir.

Promjene se ne spremaju u datoteku i revizijski trag se ne ažurira.

Zaštita datoteka lozinkom

Kao dodatna razina sigurnosti, softver CFX Maestro Dx SE korisnicima omogućava postavljanje lozinki za sve zaštićene datoteke. Pri stvaranju lozinki za zaštićenu datoteku u obzir uzmite sljedeće uvjete:

Stanje	Radnja
Nije potrebna lozinka.	Svi korisnici mogu otvoriti, izmijeniti i spremiti zaštićenu datoteku, ovisno o svojim dozvolama.
Datoteka zahtijeva Save password (Lozinka za spremanje).	Svi korisnici mogu otvoriti zaštićenu datoteku, a korisnici koji znaju Save password (Lozinka za spremanje) mogu izmijeniti i spremiti zaštićenu datoteku.
Datoteka zahtijeva Open password (Lozinka za otvaranje).	Samo korisnici koji znaju Open password (Lozinka za otvaranje) mogu otvoriti, izmijeniti i spremiti zaštićenu datoteku.
Datoteka zahtijeva Open password (Lozinka za otvaranje) i Save password (Lozinka za spremanje.)	Neki korisnici mogu otvoriti zaštićenu datoteku, a podgrupa tih korisnika datoteku može izmijeniti i spremiti.

Ovisno o ulozi korisnika, bilo koji korisnik može upotrijebiti naredbu Save As (Spremi kao) za stvaranje nove zaštićene datoteke s drugim nazivom ili spremanje datoteku s istim nazivom na drugu lokaciju ako vrijedi jedno od sljedećeg:

- Zaštićena datoteka nije zaštićena lozinkom.
- Korisnik ima lozinku za otvaranje datoteke.

Savjet: Nova datoteka sprema se bez zaštite lozinkom. Izvorna datoteka zadržava svoje lozinke.

Ovisno o ulozi, korisnik može mijenjati i spremiti izvornu datoteku sve dok vrijedi jedno od sljedećeg:

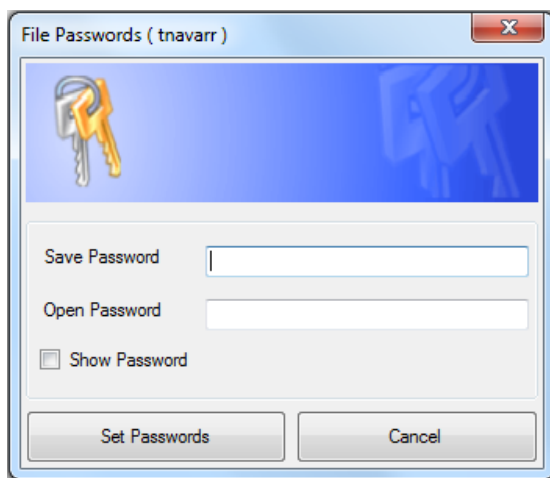
- Datoteka nije zaštićena lozinkom.
- Korisnik ima lozinku za otvaranje i lozinku za spremanje datoteke.

Napomena: Uloga korisnika mora uključivati pravo spremanja datoteka radi postavljanja lozinki. Na primjer, korisnici s ulogom Guest (Gost) ne mogu spremiti datoteke i stoga ne mogu postaviti lozinke za datoteku.

Važno: Samo administratori softvera CFX Maestro Dx SE mogu ponovno postaviti ili ukloniti lozinke.

Zaštita datoteke lozinkom

1. Prijavite se na CFX Maestro Dx SE s vašim vjerodajnicama za Windows.
2. Otvorite zaštićenu datoteku.
3. Odaberite File (Datoteka) > File Passwords (Lozinke datoteka). Pojavljuje se dijaloški okvir File Passwords (Lozinke datoteka).



4. Unesite lozinke u okvire Save Password (Spremi lozinku) i Open Password (Otvori lozinku).

Savjet: Prema zadanim postavkama, lozinke se pri upisu pojavljuju kao znakovi zvjezdice. Odaberite Show Password (Prikaži lozinku) za prikaz lozinke dok je upisujete.

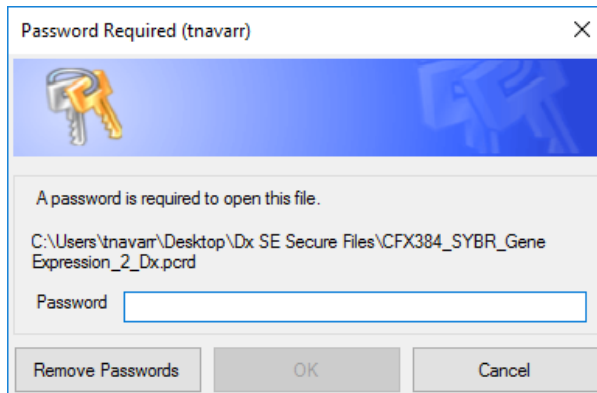
Važno: Lozinke razlikuju velika i mala slova. Softver CFX Maestro Dx SE ne postavlja ograničenja na lozinke. Za najbolji postupak obratite se svom administratoru sustava za preduvjet za lozinku na vašem web-mjestu.

5. Kliknite Set Passwords (Postavi lozinke) da biste postavili lozinke i zatvorili dijaloški okvir.
6. Odaberite File (Datoteka) > Save (Spremi) da biste promjene spremili u datoteku.

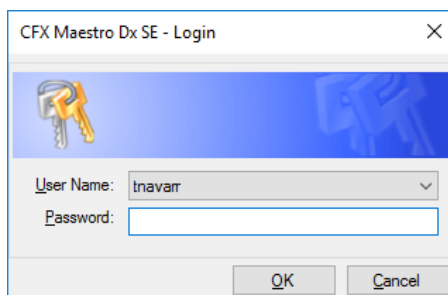
Uklanjanje lozinki

Važno: Morate biti administrator softvera CFX Maestro Dx SE da biste uklonili lozinku.

1. U dijaloškem okviru Password Required (Potrebna je lozinka) kliknite Remove Passwords (Ukloni lozinke).



Pojavljuje se dijaloški okvir Login (Prijava) za CFX Maestro Dx SE.



2. Navedite Windows korisničko ime i lozinku administratora za softver CFX Maestro Dx SE i kliknite OK (U redu).

Pojavljuje se izvorna podatkovna datoteka.

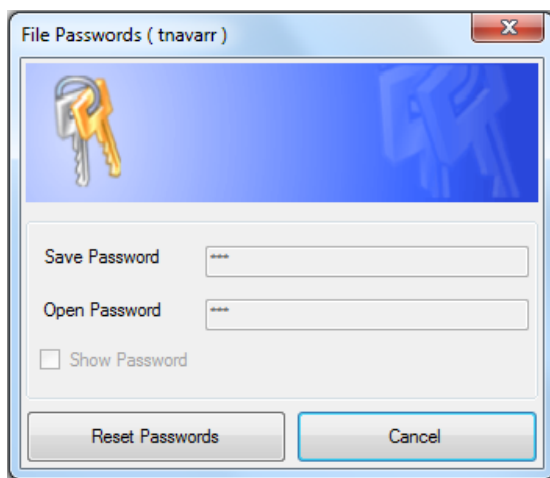
Važno: Morate spremiti datoteku da biste uklonili lozinke.

3. Odaberite File (Datoteka) > Save (Spremi) da biste promjene spremili u datoteku.

Promjena lozinki

Važno: Samo administratori softvera CFX Maestro Dx SE mogu mijenjati lozinke.

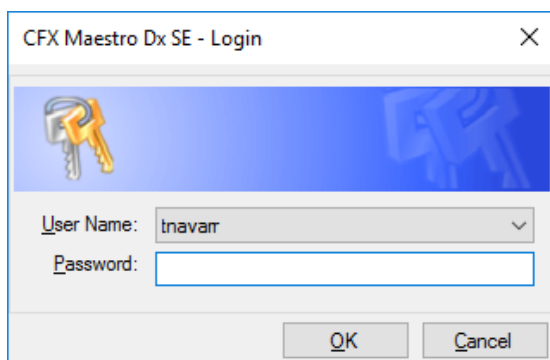
1. Otvorite zaštićenu datoteku.
2. Odaberite File (Datoteka) > File Passwords (Lozinke datoteka). Pojavljuje se dijaloški okvir File Passwords (Lozinke datoteka).



Savjet: Onemogućene su naredbe Save Password (Spremi lozinku), Open Password (Otvori lozinku) i Show Password (Prikaži lozinku).

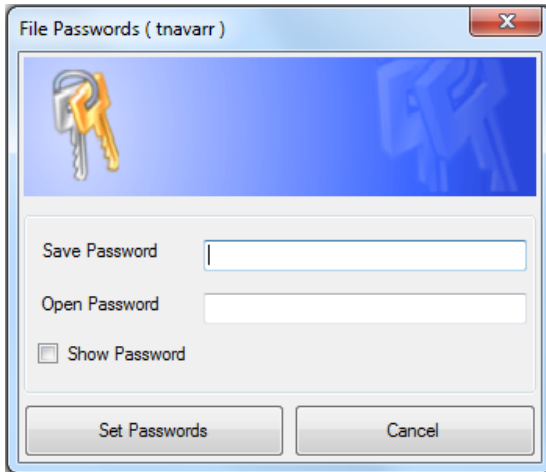
3. Kliknite Reset Passwords (Ponovno postavi lozinke).

Pojavljuje se dijaloški okvir Login (Prijava) za CFX Maestro Dx SE.



4. Navedite Windows korisničko ime i lozinku administratora za softver CFX Maestro Dx SE i kliknite OK (U redu).

Pojavljuje se dijaloški okvir File Passwords (Lozinke datoteka).



5. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Da biste ponovno postavili zaštitu lozinkom, upišite novu lozinku u odgovarajući okvir za lozinku.
 - Da biste uklonili zaštitu lozinkom, odznačite okvire s lozinkom.
6. Kliknite Set Passwords (Postavi lozinke) da biste spremili promjene lozinke i izašli iz dijaloškog okvira.

Poglavlje 5 Radni prostor

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition pruža sučelje za postavljanje pločica, razvoj PCR protokola, njihovo izvođenje na uređajima CFX Opus Dx Deepwell Dx i analizu podataka iz izvođenja PCR-a.

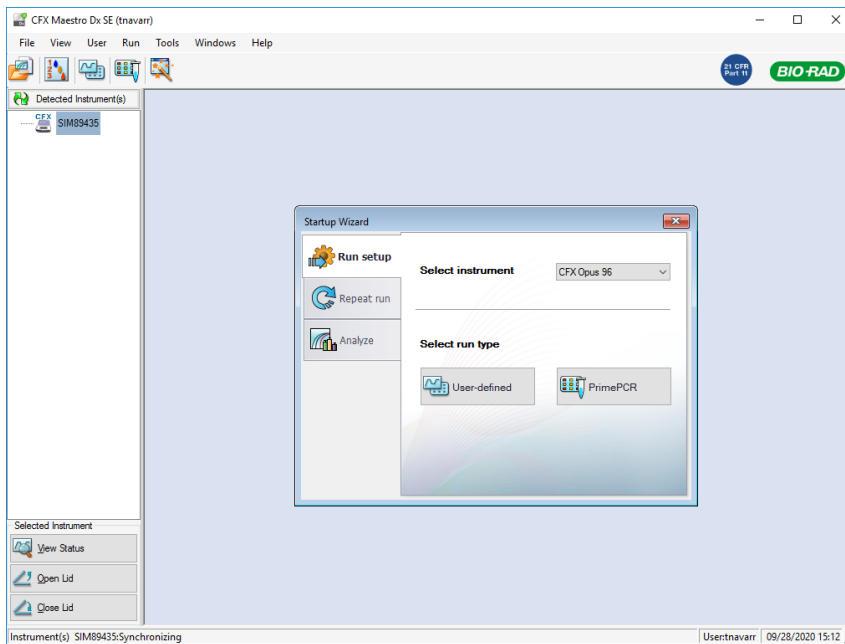
CFX Maestro Dx SE predstavlja pet osnovnih radnih prostora:

- prozor Home (Početno)
- Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje)
- Prozor Protocol Editor (Uređivač protokola)
- Prozor Plate Editor (Uređivač pločice)
- Prozor Data Analysis (Analiza podataka).

Svaki radni prostor prikazan je i ukratko opisan u ovom poglavlju.

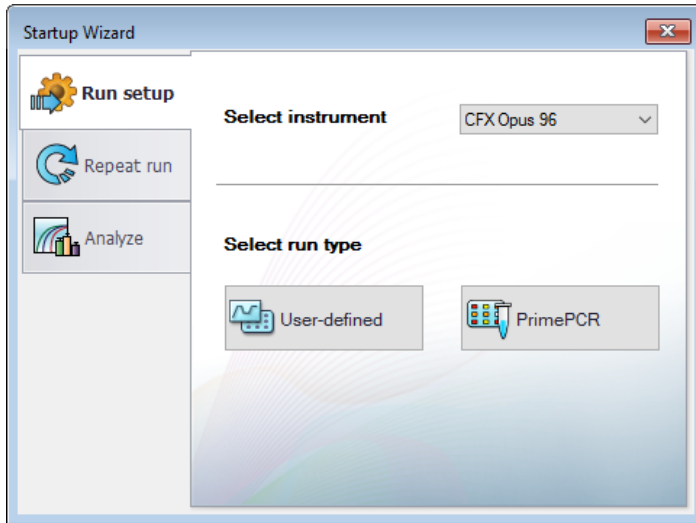
Prozor Home (Početno)

CFX Maestro Dx SE otvara prozor Home (Početno) i prikazuje program Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) iz kojeg možete postaviti eksperiment, obaviti ili ponoviti izvođenje ili analizirati trenutno izvođenje. U prozoru Home (Početno) također možete pregledavati zapisnike aplikacije i uređaja, stvarati korisnike i upravljati njima te pristupiti više korisnih alata. Za više informacija pogledajte [Poglavlje 6, Prozor Home \(Početno\)](#).



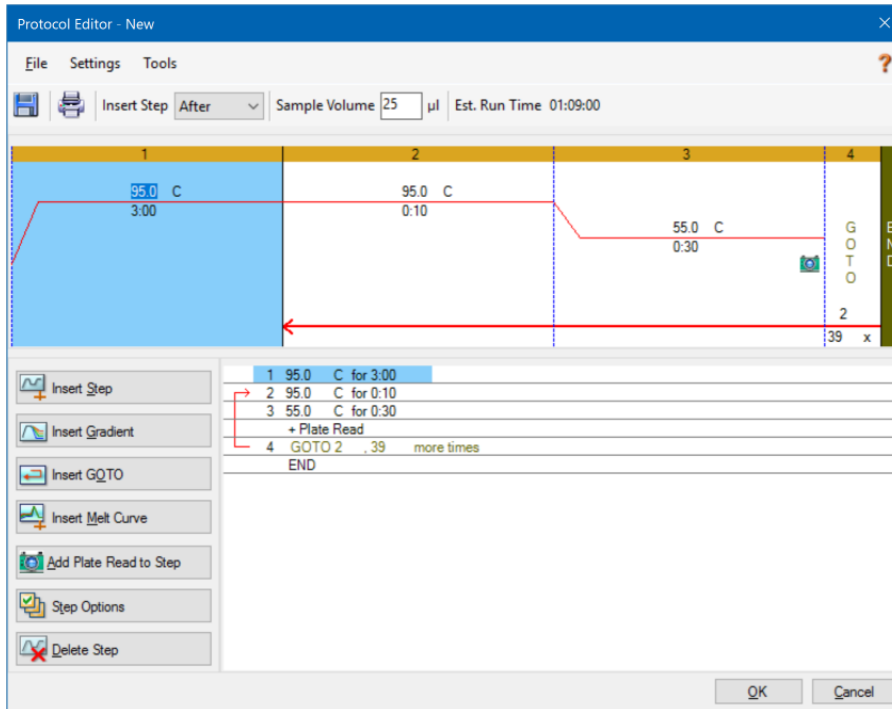
Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje)

S pomoću programa Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) brzo postavite i izvedite eksperimente koje definira korisnik ili odaberite i izvedite eksperiment PrimePCR. Ovaj čarobnjak možete upotrijebiti i za ponavljanje izvođenja ili analiziranje podataka o izvođenju.



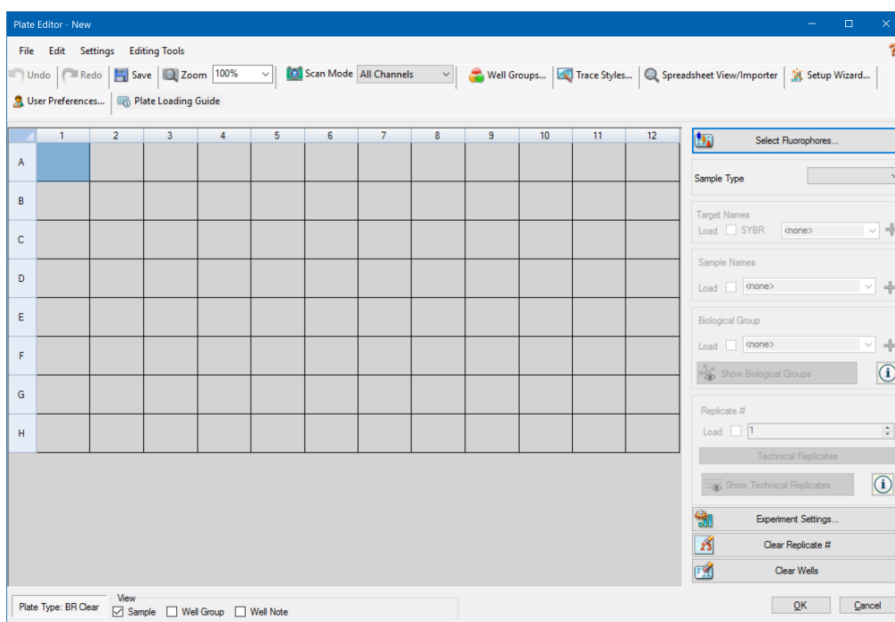
Prozor Protocol Editor (Uređivač protokola)

U programu Protocol Editor (Uređivač protokola) možete stvarati, otvarati, pregledavati i uređivati pločicu. Također možete izmijeniti temperaturu poklopca za otvoreni protokol. Funkcija Protocol Editor (Uređivač protokola) detaljno je opisana u [Poglavlje 7, Postavljanje protokola](#).



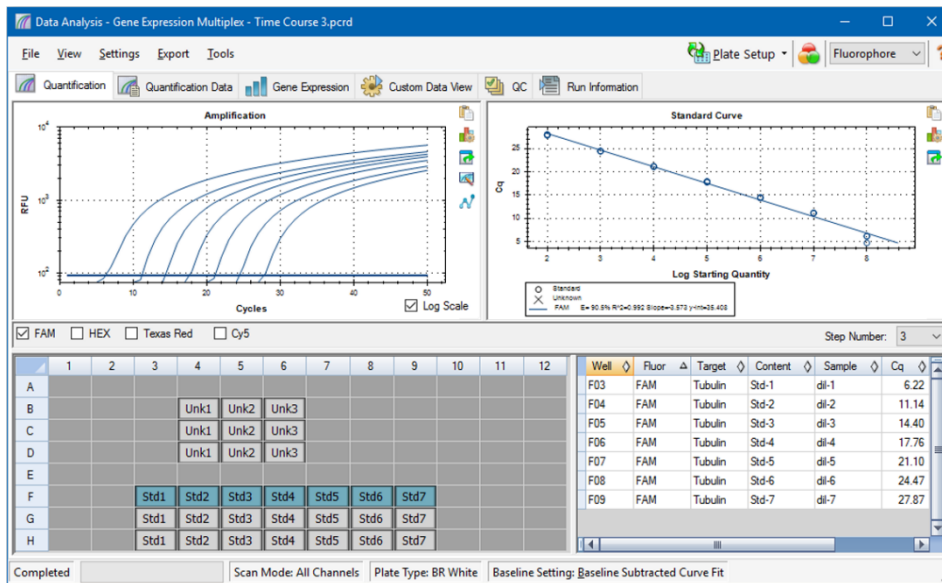
Prozor Plate Editor (Uređivač pločice)

U programu Plate Editor (Uređivač pločice) možete stvarati, otvarati, pregledavati i uređivati pločicu. Funkcija programa Plate Editor (Uređivač pločice) detaljno je opisana u [Poglavlje 8, Priprema pločica](#).



Prozor Data Analysis (Analiza podataka)

U prozoru Data Analysis (Analiza podataka) možete pregledavati i uspoređivati izvršene podatke, izvoditi statističke analize, izvoziti podatke i stvarati izvješća spremna za objavljivanje. Funkcija Data Analysis (Analiza podataka) detaljno je objašnjena u [Poglavlje 10, Pregled analize podataka](#) i [Poglavlje 11, Pojedinsti analize podataka](#).



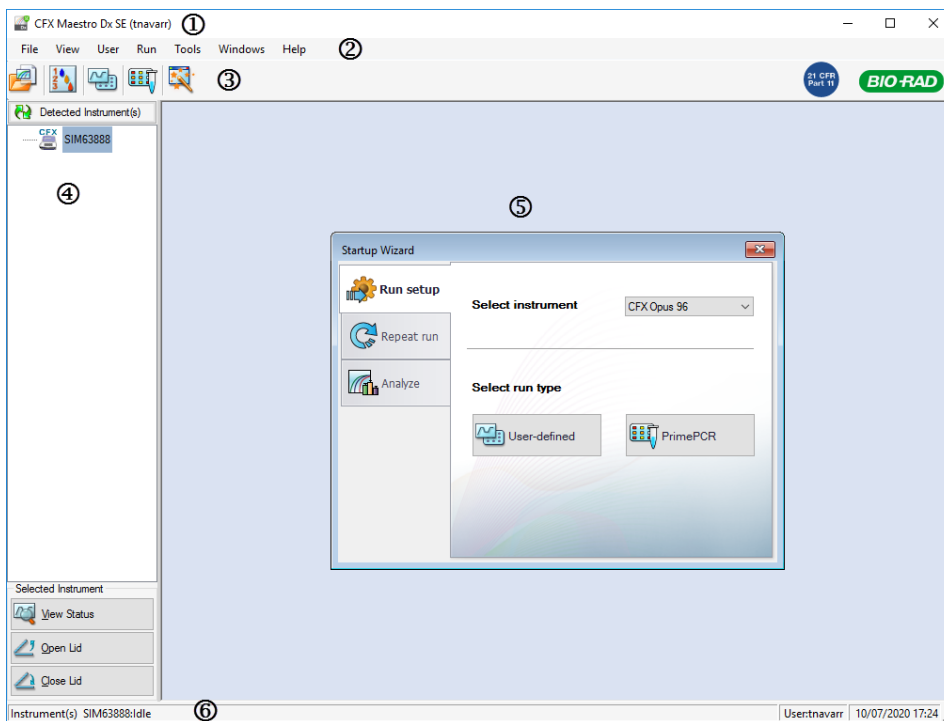
Poglavlje 6 Prozor Home (Početno)

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition pruža sučelje za razvoj PCR protokola, njihovo pokretanje na sustavu CFX Dx i analizu podataka izvedenih PCR-ova.

Ovo poglavlje predstavlja CFX Maestro Dx SE i objašnjava značajke dostupne iz prozora Home (Početno).

Prozor Home (Početno)

U prozoru Home (Početno) otvara se CFX Maestro Dx SE i prikazuje se Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje), odakle možete postaviti izvođenje, izvesti ili ponoviti izvođenje ili analizirati postojeće izvođenje. U prozoru Home (Početno) također možete pregledavati zapisnike aplikacije i uređaja, stvarati korisnike i upravljati njima te pristupiti više korisnih alata.



LEGENDA

1. Na naslovnoj traci softvera prikazuje se naziv softvera i prijavljeni korisnik.
2. Traka izbornika omogućuje brzi pristup naredbama izbornika File (Datoteka), View (Prikaz), Users (Korisnici), Run (Izvođenje), Tools (Alati), Window (Prozor) i Help (Pomoć).
3. Naredbe na alatnoj traci omogućuju brz pristup opcijama izbornika.
4. Lijevo okno prikazuje uređaje spojene na računalo za CFX Maestro Dx SE i nudi gumbse pomoću kojih možete upravljati poklopcem i pregledati status uređaja.
5. Glavno okno prikazuje radni prozor. Zadani radni prozor na zaslonu Home (Početno) jest Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje).

6. Statusna traka prikazuje nazive povezanih uređaja i prijavljenog korisnika.

Naredbe izbornika File (Datoteka)

New (Novo) – otvara dijaloški okvir iz kojeg možete odabrati postavljanje novog protokola, pločice ili genetičke studije.

Open (Otvori) – otvara dijaloški okvir iz kojeg možete odabrati otići na i otvoriti postojeći protokol, pločicu, podatkovnu datoteku, genetičku studiju, LIMS datoteku, izvođenje iz samostalnog uređaja (samostalno pokretanje) ili datoteke za izvođenje PrimePCR.

Recent Data Files (Nedavne podatkovne datoteke) – prikazuje popis nedavno otvorenih PCR datoteka.

Repeat a Run (Ponovi izvođenje) – otvara Windows Explorer na lokaciji spremljenih PCR datoteka gdje možete pronaći izvođenje koje želite ponoviti.

Exit (Izlaz) - zatvara CFX Maestro Dx SE.

Naredbe izbornika View (Prikaz)

Application Log (Zapisnik aplikacije) – prikazuje zapisnik uporabe softvera od početne instalacije do danas.

Run Reports (Izvešća o izvođenju) – prikazuje popis izvješća o izvođenju.

Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) – prikazuje Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) u glavnom oknu.

Run Setup (Postavljanje izvođenja) – prikazuje prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja) u glavnom oknu.

Instrument Summary (Sažetak uređaja) – prikazuje prozor Instrument Summary (Sažetak uređaja) u glavnom oknu.

Detected Instruments (Otkriveni uređaji) – prebacuje se između prikazivanja i neprikazivanja povezanih uređaja u lijevom oknu. Prema zadanim postavkama, softver prikazuje povezane uređaje u lijevom oknu.

Toolbar (Alatna traka) – prebacuje se između prikazivanja i neprikazivanja alatne trake na vrhu zaslona. Prema zadanim postavkama softver prikazuje alatnu traku.

Status Bar (Statusna traka) – prebacuje se između prikazivanja i neprikazivanja statusne trake na dnu zaslona. Prema zadanim postavkama softver prikazuje statusnu traku.

Show (Prikaži) – otvara dijaloški okvir iz kojeg možete

- pregledati ili blokirati Status log (Zapisnik statusa)
- otvoriti i pregledati podatkovnu mapu za CFX Maestro Dx SE

- otvoriti i pregledati podatkovnu mapu korisnika
- otvoriti i pregledati mapu datoteke LIMS
- otvoriti i pregledati mapu PrimePCR
- pregledati povijest izvođenja
- pregledati svojstva svih povezanih uređaja.

Naredbe korisničkog izbornika

Select User (Odaberi korisnika) – otvara zaslon za prijavu na kojem možete odabrati korisnika s padajućeg popisa User Name (Korisničko ime) i prijaviti se u aplikaciju.

Change Password (Promijeni lozinku) – otvara dijaloški okvir Change Password (Promijeni lozinku) u kojem korisnici mogu promijeniti svoju lozinku .

Napomena: Ova je opcija onemogućena za CFX Maestro Dx SE. Korisnici moraju promijeniti svoju lozinku za sustav Windows kako bi promijenili svoju lozinku za CFX Maestro Dx SE.

User Preferences (Korisničke postavke) – otvara dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke) u kojem korisnici mogu promijeniti zadane postavke za

- slanje i primanje obavijesti e-poštom po završetku izvođenja
- spremanje podatkovnih datoteka
- postavljanje protokola putem Protocol Editor (Uređivač protokola) ili Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola)
- stvaranje pločica
- analiziranje podataka
- provođenje analize genske ekspresije
- utvrđivanje kvalitete podataka
- izvoz CFX podataka o uređaju

User Administration (Administracija korisnika) – otvara dijaloški okvir User Administration (Administracija korisnika) u kojem administratori mogu stvarati korisnike, mijenjati dozvole uloga i dodijeliti uloge korisnicima.

Bio-Rad Service Login (Servisna prijava tvrtke Bio-Rad) – samo za osoblje tehničke službe tvrtke Bio-Rad. Nemojte odabrati ovu naredbu.

Naredbe izbornika Run (Izvođenje)

User-defined Run (Korisnički definirano izvođenje) – otvara prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja) u kojem možete postaviti korisnički definirani protokol i pločicu, a zatim pokrenuti PCR eksperiment na odabranom uređaju.

PrimePCR Run (Izvođenje PrimePCR) – otvara karticu Start Run (Pokretanje izvođenja) u prozoru Run Setup (Postavljanje izvođenja) sa zadanim PrimePCR protokolom i rasporedom pločica učitanim na temelju odabranog uređaja.

End-Point Only Run (Izvođenje samo krajnje točke) – otvara karticu Start Run (Pokretanje izvođenja) u prozoru Run Setup (Postavljanje izvođenja) sa zadanim protokolom krajnje točke i rasporedom pločica učitanim na temelju odabranog uređaja.

Qualification Run (Izvođenje kvalifikacije) – otvara karticu Start Run (Pokretanje izvođenja) u prozoru Run Setup (Postavljanje izvođenja) sa zadanim kvalifikacijskim protokolom tvrtke Bio-Rad i rasporedom pločica učitanim na temelju odabranog uređaja.

Naredbe izbornika Tools (Alati)

Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine) – otvara značajku Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine) u kojoj možete izraditi reakcijsku smjesu i ispisati izračune.

Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola) – otvara dijaloški okvir Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola) u kojem možete lako izraditi novi protokol.

T_a Calculator (Kalkulator T_a) – otvara T_a Calculator (Kalkulator T_a) s pomoću kojeg možete lako izračunati temperaturu popuštanja početnica.

Dye Calibration Wizard (Čarobnjak za kalibraciju boje) – otvara Dye Calibration Wizard (Čarobnjak za kalibraciju boje) s pomoću kojeg možete kalibrirati uređaj za novi fluorofor.

Reinstall Instrument Drivers (Ponovno instaliraj upravljačke programe) – ponovno instalira upravljačke programe koji kontroliraju komunikaciju s PCR sustavima tvrtke Bio-Rad u stvarnom vremenu.

Zip Data and Log Files (Sažmi podatke i datoteke zapisnika) – otvara dijaloški okvir u kojem možete odabrati datoteke za sažimanje i spremi ih u datoteku zip formata za pohranu ili slanje putem e-pošte.

Batch Analysis (Skupna analiza) – otvara dijaloški okvir Batch Analysis (Skupna analiza) u kojem možete postaviti parametre za analizu više podataka odjednom.

Option (Opcije) – otvara dijaloški okvir u kojem možete

- konfigurirati postavke poslužitelja e-pošte
- konfigurirati postavke izvoza za LIMS, Seegene i druge podatkovne datoteke

Savjet: Također možete odabrati opciju automatskog pokretanja Seegene Viewer (Preglednik Seegene) prilikom izvoza ako odlučite izvesti podatke u formatu Seegene.

- Promijenite jezik prikaza korisničkog sučelja (engleski, kineski, ruski)

Važno: Za prikaz odabranog jezika obvezno je ponovno pokrenuti CFX Maestro Dx SE.

Važno: Jezik vašeg operacijskog sustava mora odgovarati vašem željenom jeziku prikaza sučelja CFX Maestro Dx SE.

Naredbe izbornika Help (Pomoć)

Savjet: Izbornik Help (Pomoć) dostupan je na traci izbornika u svim prozorima za CFX Maestro Dx SE.

Contents (Sadržaj) – prikazuje karticu Contents (Sadržaj) u sustavu Help (Pomoć) za CFX Maestro Dx SE.

Index (Indeks) – prikazuje karticu Index (Indeks) u sustavu Help (Pomoć) za CFX Maestro Dx SE.

Search (Pretraživanje) – prikazuje karticu Search (Pretraživanje) u sustavu Help (Pomoć) za CFX Maestro Dx SE.

Open User Guide (Otvori korisnički vodič) – otvara ovaj vodič u PDF formatu.

Additional Documentation (Dodatna dokumentacija) – omogućuje pristup priručniku za uporabu za sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu.

Release Notes (Napomene o izdanju) – otvara dokument Release Notes (Napomene o izdanju) za instaliranu inačicu za CFX Maestro Dx SE.

Video Resources (Video izvori) – otvara web-mjesto gdje se nalaze video izvori za Bio-Rad, kao što su videozapisi s uputama.

qPCR Applications and Technologies Web Site (Web-mjesto za qPCR Applications and Technologies) – otvara se web-mjesto za qPCR Applications & Technologies tvrtke Bio-Rad gdje možete saznati više o PCR-u u stvarnom vremenu (qPCR).

PCR Reagents Web Site (Web-mjesto za PCR reagents) – otvara se web-mjesto za PCR i qPCR reagents tvrtke Bio-Rad s kojeg možete naručiti PCR reagents, supermješavine, boje i komplete.

PCR Plastic Consumables Web Site (Web-mjesto za plastični potrošni materijal za PCR) – otvara web-mjesto za plastiku i potrošni materijal za PCR tvrtke Bio-Rad s kojeg možete naručiti PCR pločice, brtve za pločice, cijevi i poklopce i ostale plastične dodatke.

Software Web Site (Web-mjesto softvera) – otvara web-mjesto softvera za PCR analizu tvrtke Bio-Rad odakle se može naručiti ažurirani CFX Maestro Dx SE tvrtke Bio-Rad.

About (Osnovne informacije) – prikazuje informacije o autorskim pravima i inačicama za CFX Maestro Dx SE.

Naredbe na alatnoj traci



– otvara Windows Explorer u kojem možete ići na i otvoriti podatkovnu datoteku ili datoteku genetičke studije.



– otvara značajku Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine).



– otvara prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja).



– otvara prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja) sa zadanim protokolom PrimePCR i rasporedom pločica učitanim na temelju odabranog uređaja.

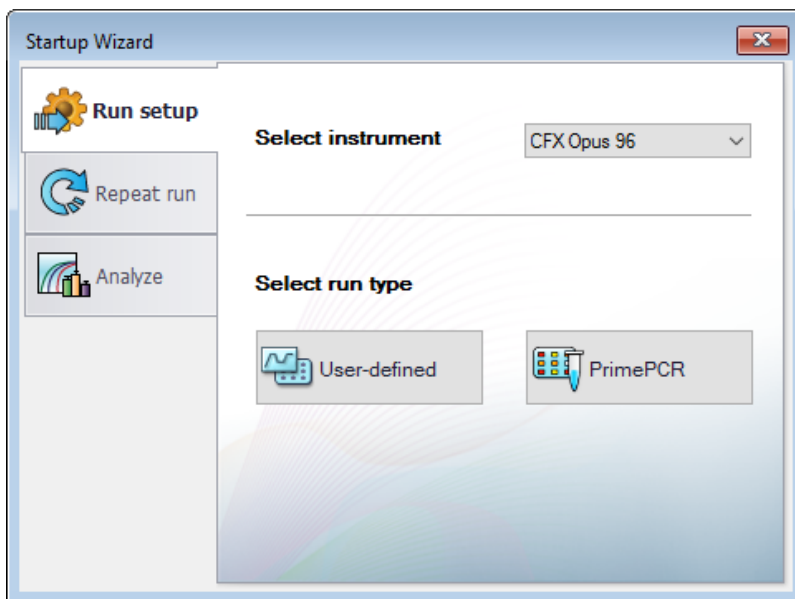


– otvara Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje).

Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje)

Kada se pokreće CFX Maestro Dx SE, radno okno prikazuje Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje). Iz Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) možete

- odabrati uređaj iz otkrivenih uređaja i postaviti korisnički definirano ili izvođenje PrimePCR
- otvoriti i ponoviti izvođenje
- otvoriti podatkovnu datoteku da biste analizirali rezultate iz jednog izvođenja ili datoteke genetičke studije za rezultate iz više izvođenja genske ekspresije



Ti su zadaci detaljno objašnjeni u poglavljima koja slijede.

Status Bar

Lijeva strana statusne trake na dnu glavnog prozora softvera prikazuje trenutni status otkrivenih uređaja. Desna strana statusne trake prikazuje naziv trenutnog korisnika te datum i vrijeme.

Okno Detected Instruments (Otkriveni uređaji)

Okno Detected Instruments (Otkriveni uređaji) prikazuje svaki uređaj koji je povezan na računalo za CFX Maestro Dx SE. Prema zadanim postavkama, svaki se uređaj prikazuje kao ikona, a njegov serijski broj kao naziv.

Iz ovog okna možete

- pregledati svojstva i kalibrirane boje za odabrani uređaj

Za informacije o svojstvima uređaja, pogledajte [Pregled svojstava uređaja na stranici 72](#).

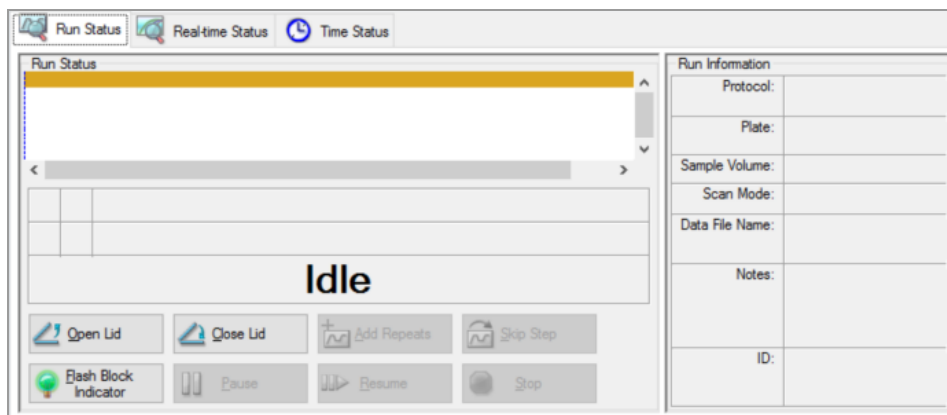
- pregledati status povezanog uređaja
- otvoriti motorizirani poklopac na odabranom uređaju
- zatvoriti motorizirani poklopac na odabranom uređaju
- pregledati status svih povezanih uređaja.

Pregled statusa povezanog uređaja

- ▶ U oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji) odaberite ciljani uređaj i učinite jedno od sljedećeg:

- Kliknite View Status (Prikaz statusa) u odjeljku Selected Instrument (Odabrani uređaj).
- Desnom tipkom miša kliknite i odaberite View Status (Prikaz statusa) na izborniku koji se pojavi.

Pojavljuje se dijaloški okvir Run Details (Detalji izvođenja) i prikazuje karticu Run Status (Status izvođenja). Status odabranog uređaja pojavljuje se ispod okna statusa izvođenja, na primjer:



Otvaranje ili zatvaranje poklopca uređaja

- ▶ U oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji) odaberite ciljani uređaj i učinite jedno od sljedećeg:

- Kliknite Open Lid (Otvori poklopac) ili Close Lid (Zatvori poklopac) u odjeljku Selected Instrument (Odabrani uređaj).
- Desnom tipkom miša kliknite odgovarajuću radnju na izborniku koji se pojavi.
- Otvorite dijaloški okvir Run Details (Detalji izvođenja), odaberite karticu Run Status (Status izvođenja) i kliknite Open Lid (Otvori poklopac) ili Close Lid (Zatvori poklopac).

Prikaz statusa svih otkrivenih uređaja

► Učinite jedno od sljedećeg:

- U odjeljku All Instruments (Svi uređaji) u oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji) kliknite View Summary (Prikaz sažetka).
- Na traci izbornika odaberite View (Prikaz) > Instrument Summary (Sažetak uređaja).

Pojavljuje se dijaloški okvir Instrument Summary (Sažetak uređaja).

Savjet: Ako sustav otkrije samo jedan povezani uređaj, odjeljak All Instruments (Svi uređaji) neće se pojaviti u oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji). Da biste pregledali sažetak uređaja za pojedini uređaj, odaberite View (Prikaz) > Instrument Summary (Sažetak uređaja).

Kontrole sažetka uređaja na alatnoj traci

Tablica 5 navodi kontrole i funkcije na alatnoj traci Instrument Summary (Sažetak uređaja).

Tablica 5. Kontrole sažetka uređaja na alatnoj traci

Gumb	Naziv gumba	Funkcija
	Create a new Run (Izradi novo izvođenje)	Stvara izvođenje na odabranom bloku otvaranjem prozora Run Setup (Postavljanje izvođenja).
	Stop (Zaustavi)	Zaustavlja trenutno izvođenje na odabranim blokovima.
	Pause (Pauza)	Pauzira trenutno izvođenje na odabranim blokovima.
	Resume (Nastavi)	Nastavlja izvođenje na odabranim blokovima.
	Flash Block Indicator (Indikator bloka bljeskalice)	LED indikator treperi na poklopcu odabranih blokova.
	Open Lid (Otvori poklopac)	Otvora motorizirani poklopac odabranog bloka.
	Close Lid (Zatvori poklopac)	Zatvara motorizirani poklopac odabranog bloka.
	Hide Selected Blocks (Sakrij odabrane blokove)	Sakriva odabrane blokove na popisu Instrument Summary (Sažetak uređaja)
	Show All Blocks (Prikaži sve blokove)	Prikazuje odabrane blokove na popisu Instrument Summary (Sažetak uređaja)
Show: <input type="text" value="All Blocks"/>	Show (Prikaži)	Odaberite koji će blokovi biti prikazani na popisu. Odaberite jednu od opcija za prikaz svih otkrivenih blokova, svih neaktivnih blokova, svih blokova koji se izvode s trenutnim korisnikom ili svih blokova koji se izvode

Pregled svojstava uređaja

U oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji) možete pregledati informacije o odabranom uređaju, uključujući njegova svojstva, status transportnog vijka (samo za uređaje CFX Connect i CFX Touch) i popis kalibriranih boja (fluorofora).

Za pregled svojstava uređaja

- ▶ U oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji) desnom tipkom miša kliknite ciljni uređaj i odaberite Properties (Svojstva) na izborniku koji se pojavi.

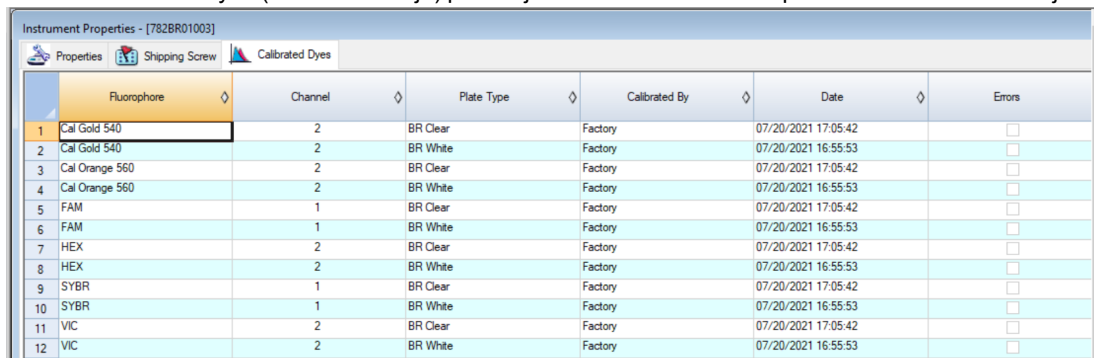
Kartica Properties (Svojstva)

Na kartici Properties (Svojstva) nalaze se tehnički detalji o odabranom uređaju, uključujući model, serijske brojeve njegovih komponenata i inačice firmvera. Zadani naziv uređaja (njegov serijski broj) pojavljuje se na mnogim mjestima, uključujući okno Detected Instruments (Otkriveni uređaji) i traku zaglavlja dijaloškog okvira Instrument Properties (Svojstva uređaja). Možete preimenovati uređaj kako biste ga lakše prepoznali.

Napomena: Ne možete promijeniti naziv uređaja CFX Opus sa softverom CFX Maestro.

Kartica Calibrated Dyes (Kalibrirane boje)

Kartica Calibrated Dyes (Kalibrirane boje) prikazuje kalibrirane fluorofore i pločice za odabrani uređaj.



	Fluorophore	Channel	Plate Type	Calibrated By	Date	Errors
1	Cal Gold 540	2	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
2	Cal Gold 540	2	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
3	Cal Orange 560	2	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
4	Cal Orange 560	2	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
5	FAM	1	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
6	FAM	1	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
7	HEX	2	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
8	HEX	2	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
9	SYBR	1	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
10	SYBR	1	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
11	VIC	2	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
12	VIC	2	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>

Kako biste vidjeli detaljne informacije o kalibraciji, kliknite gumb Info (Informacije) u stupcu Detail (Pojediniosti).

Prije početka

Ovaj odjeljak objašnjava zadatke koje ćete možda trebati obaviti prije nego što počnete upotrebljavati CFX Maestro Dx SE. To uključuje

- Spravljanje glavne mješavine za reakciju
- Kalibriranje novih boja

Spravljanje glavne mješavine za reakciju

Uporabom značajke Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine) za CFX Maestro Dx SE možete jednostavno izračunati potrebnu količinu svake komponente u vašoj glavnoj mješavini. Možete ispisati tablicu izračuna glavne mješavine na zadani pisač i spremiti izračune za svaki cilj za kasniju upotrebu.

Spravljanje glavne mješavine za reakciju s pomoću značajke Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine)

1. Da biste otvorili značajku Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine), učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite Tools (Alati) > Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine).
 - Kliknite Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine) na alatnoj traci.

Pojavljuje se značajka Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine).

Poglavlje 6 Prozor Home (Početno)

Master Mix Calculator

Reaction
Detection Method: SYBR Green/EvaGreen Probes

Target
Create New SYBR_target_1 Remove Remove All

Starting Concentration Final Concentration
Forward Primer 10 pmol/µl (µM) 200 nM
Reverse Primer 10 pmol/µl (µM) 200 nM
Probe 10 pmol/µl (µM) 200 nM

Master Mix Setup
Number of Reactions 96
Reaction Volume Per Well 20 µl
Template Volume 1.0 µl
Supemix Concentration 2.0 X
Excess Reaction Volume 5 %

Choose SYBR Green Target to Calculate
 SYBR_target_1

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

Print Set as Default Restore Defaults OK Cancel

- U odjeljku Reaction (Reakcija) odaberite metodu otkrivanja:
 - SYBR® Green/EvaGreen®
 - Sonda
- Da biste izradili novi cilj u odjeljku Target (Cilj) kliknite Create New (Izradi novo). Na padajućem popisu ciljeva pojavljuje se novi naziv cilja.
- (Opcionalno) Promjena zadanog naziva cilja:
 - Označite naziv cilja na padajućem popisu ciljeva.
 - Upišite novi naziv cilja u okvir Target (Cilj).
 - Pritisnite tipku Enter.
- Prilagodite početnu i krajnju koncentraciju za uzvodne i nizvodne početnice i sve sonde.
- U odjeljku Master Mix Setup (Postavljanje glavne mješavine) prilagodite vrijednosti za
 - broj reakcija koje treba pokrenuti

- volumen reakcije po jažici
 - volumen predloška po jažici
 - koncentraciju glavne mješavine po jažici
 - višak reakcijskog volumena po jažici.
7. (Opcionalno) Izvedite korake 2–6 za onoliko ciljeva koliko je potrebno.
 8. U odjeljku Choose Target to Calculate (Odabir cilja za izračun) odaberite cilj za izračun.
Savjet: Istodobno možete izvesti izračun samo za jedan, nekoliko ili sve ciljeve.
Izračunati volumeni potrebnih komponenti za svaki odabrani cilj pojavljuju se u tablici glavne mješavine.
 9. Kliknite Set as Default (Postavi kao zadano) da biste postavili unos količina u odjeljcima Target (Cilj) i Master Mix Setup (Postavljanje glavne mješavine) kao nove zadane vrijednosti.
 10. Kliknite OK (U redu) da biste spremili sadržaj dijaloškog okvira Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine).

Ispis tablice izračuna glavne mješavine

- ▶ Da biste ispisali tablicu izračuna glavne mješavine, kliknite Print (Ispis).

Tablica izračuna ispisuje se na zadanom pisaču.

Spremanje tablice izračuna glavne mješavine u PDF formatu

- ▶ Promijenite zadani pisač u PDF upravljački program i kliknite Print (Ispis) na značajci Master Mix Calculator (Kalkulator glavne mješavine).

Brisanje ciljeva

- ▶ Odaberite cilj s pomoću padajućeg popisa ciljeva i kliknite Remove (Ukloni).

Važno: Uklanjanje cilja s popisa ciljeva također ga uklanja iz svih izračuna glavnih mješavina u kojima se upotrebljava. Budite pažljivi prilikom brisanja cilja.

Kalibriranje novih boja

Sustavi CFX Opus 96 Dx i CFX Opus Deepwell Dx tvornički su kalibrirani za fluorofore koji se najčešće upotrebljavaju na pločicama s bijelim i prozirnim jažicama. Sustavi CFX Opus 384 Dx tvornički su kalibrirani za fluorofore koji se najčešće upotrebljavaju isključivo na pločicama s bijelim jažicama. [Tablica 6](#) navodi fluorofore i kanale za koje je svaki uređaj kalibriran.

Napomena: Sustavi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx i CFX Opus Deepwell Dx također uključuju kanal posvećen kemiji fluorescentnog rezonantnog prijenosa energije (eng. Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET). Ovaj kanal ne zahtijeva kalibraciju za određene boje.

Važno: Ako provodite korisnički definiranu kalibraciju boje koja je tvornički kalibrirana, uređaj upotrebljava korisničku kalibraciju umjesto tvorničke kalibracije.

Tablica 6. Tvornički kalibrirani fluorofori, kanali i uređaji

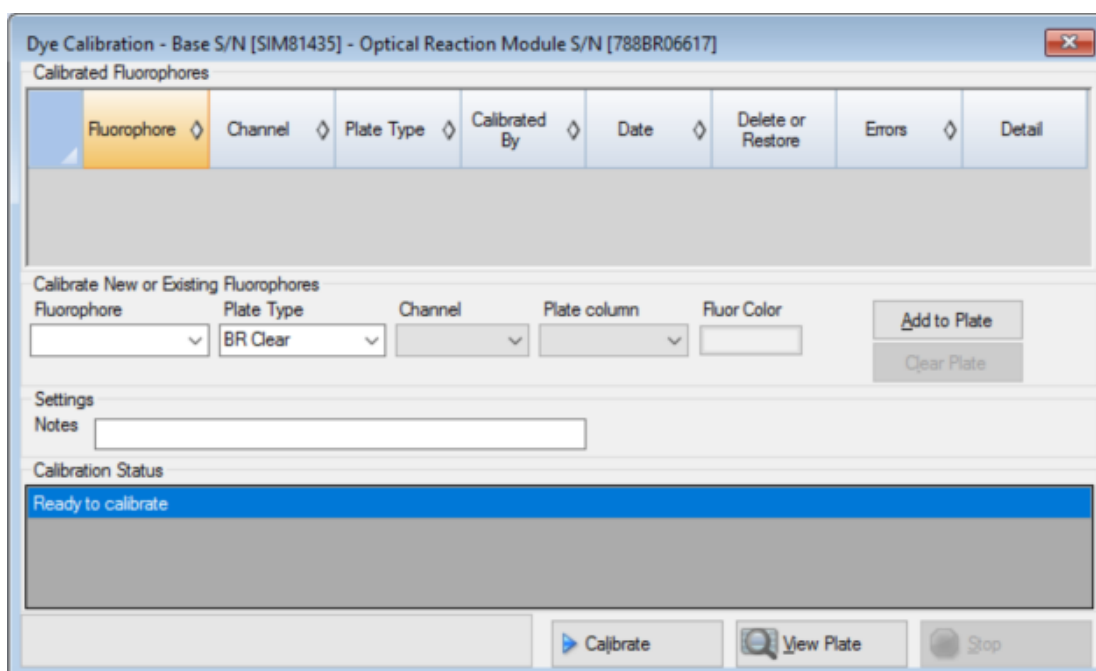
Fluorofori	Kanal	Ekscitacija, nm	Otkrivanje, nm	Uređaj
FAM, SYBR® Green I	1	450 – 490	515 – 530	Sustavi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx i CFX Opus Deepwell Dx
VIC, HEX, CAL Fluor Gold 540, CAL Fluor Orange 560	2	515 – 535	560 – 580	Sustavi CFX Opus 96 Dx ,CFX Opus 384 Dx i CFX Opus Deepwell Dx
ROX, Texas Red, CAL Fluor Red 610, TEX 615	3	560 – 590	610 – 650	Sustavi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx i CFX Opus Deepwell Dx
Cy5, Quasar 670	4	620 – 650	675 – 690	Sustavi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx i CFX Opus Deepwell Dx
Quasar 705, Cy5.5	5	672 – 684	705 – 730	Samo sustavi CFX Opus 96 Dx

Kemija fluorescentnog rezonantnog prijenosa energije (FRET) (bez tvorničke kalibracije)

Fluorofori	Kanal	Ekscitacija, nm	Otkrivanje, nm	Uređaj
Boja bez tvorničke kalibracije	FRET	450 – 490	560 – 580	Sustavi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx i CFX Opus Deepwell Dx

Kalibracija novih boja za sustave CFX

1. U prozoru Home (Početno) odaberite ciljni uređaj u oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji).
2. Odaberite Tools (Alati)> Calibration Wizard (Čarobnjak za kalibraciju) da biste otvorili čarobnjak Dye Calibration (Kalibracija boje).



Fluorofori koji su već kalibrirani za ciljni uređaj pojavljuju se u tablici Calibrated Fluorophores (Kalibrirani fluorofori).

3. U odjeljku Calibrate New or Existing Fluorophores (Kalibriranje novih ili postojećih fluorofora) s padajućeg popisa odaberite fluorofor za kalibriranje.

Ako naziv fluorofora nije na popisu, upišite njegov naziv u tekstni okvir da biste ga dodali na popis.

Važno: Budite pažljivi kad imenujete prilagođene kalibrirane fluorofore. Ako izradite prilagođenu kalibraciju boje za fluorofor s istim nazivom kao tvornički kalibrirani fluorofor, uređaj će prilikom izvođenja upotrebljavati prilagođeni fluorofor (a ne tvornički kalibrirani fluorofor).

4. Odaberite vrstu ploče za fluorofor.
Ako vrsta ploče nije na popisu, upišite naziv u tekstni okvir da biste je dodali na popis.
5. Odaberite kanal za fluorofor.
6. Odaberite stupac pločice za fluorofor.
7. (Opcionalno) Upišite boju koju želite povezati s fluoroforom.
8. Kliknite Add to Plate (Dodaj na pločicu) da biste dodali fluorofor.
9. (Opcionalno) Ponovite korake 3 – 8 da biste dodali svaki fluorofor koji namjeravate kalibrirati za pločicu.
10. Kad završite s dodavanjem fluorofora, kliknite View Plate (Prikaz pločice) da biste otvorili prozor Pure Dye Plate Display (Prikaz pločice s čistim bojama).
Upotrijebite ovaj prozor kao vodič za umetanje boja na pločicu.
11. Pripremite pločicu s 96 ili 384 jažice ili dubokim jažicama za kalibraciju boje:
 - a. U svaku jažicu pipetirajte otopinu boje prema uzorku prikazanom na Pure Dye Plate Display (Prikaz pločice s čistim bojama).
 - b. Za svaki fluorofor napunite četiri jažice s 50 µl (pločica s 96 jažica ili dubokim jažicama), 30 µl (pločica s 384 jažice) otopine boje od 300 nM. Neka barem polovica pločice sadržava prazne jažice.
 - c. Zatvorite pločicu metodom brtvljenja koju ćete primjenjivati u eksperimentu.
12. Postavite kalibracijsku pločicu u blok i zatvorite poklopac.
13. U čarobnjaku Dye Calibration (Kalibracija boje) kliknite Calibrate (Kalibriraj), a zatim OK (U redu) da biste potvrdili da je pločica u bloku.
14. Kada Softver CFX Maestro Dx, Security Edition dovrši postupak kalibracije, pojavljuje se dijaloški okvir. Pritisnite Yes (Da) da biste završili kalibraciju i otvorili Dye Calibration Viewer (Preglednik za kalibraciju boje).
15. Kliknite OK (U redu) da biste zatvorili prozor.

Postavljanje korisničkih postavki

Savjet: Nije potrebno izvršiti ove zadatke da biste upotrebljavali CFX Maestro Dx SE. Možete sigurno preskočiti ovaj odjeljak ili izvršiti ove zadatke u bilo kojem trenutku.

Za CFX Maestro Dx SE svaki korisnik može prilagoditi svoje radno okruženje. Na primjer, u izborniku Users (Korisnici) > User Preferences (Korisničke postavke) možete učiniti sljedeće:

- Postaviti obavijest e-poštom o završetku izvođenja.

Napomena: Ova je značajka dostupna samo korisnicima čija je uloga dobila to pravo. Pogledajte [Upravljanje ulogama korisnika za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition na stranici 43](#) za više informacija.
- Promijeniti zadane postavke za
 - lokaciju za spremanje datoteka
 - datoteke za postavljanje izvođenja
 - prefiks imenovanja datoteke
- Postaviti zadane parametre koji će se upotrebljavati pri stvaranju novog protokola i pločice.
- Postaviti zadane parametre analize podataka i genske ekspresije.
- Prilagoditi zadane parametre kontrole kvalitete.
- Prilagoditi parametre izvoza podataka.

U izborniku Tools (Alati) možete učiniti sljedeće:

- Izraditi glavnu mješavinu.
- Kalibrirati boje za određeni uređaj.

Napomena: Glavna mješavina i kalibracija boje dostupne su svima koji se prijave u softver.

Ovaj odjeljak objašnjava kako izvršiti ove zadatke.

Postavljanje obavijesti putem e-pošte

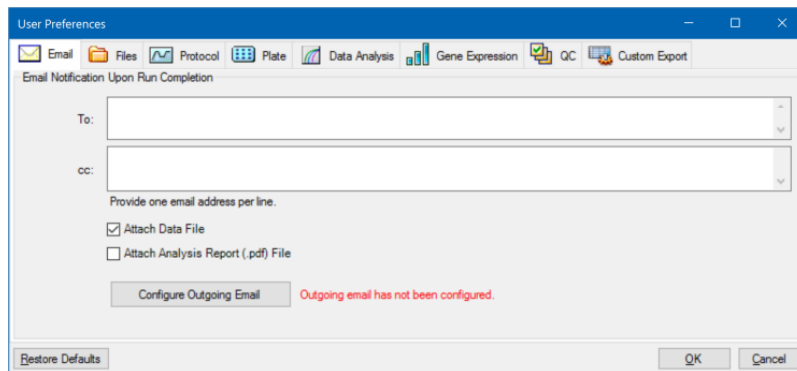
Možete povezati CFX Maestro Dx SE na svoj poslužitelj odlazne e-pošte kako biste popisu korisnika poslali obavijest o završetku izvođenja putem e-pošte. Također možete priložiti podatkovnu datoteku i izvješće o analizi popisu korisnika. Za uspostavljanje veze između CFX Maestro Dx SE i vašeg SMTP poslužitelja pogledajte [Povezivanje softvera Security Edition sa SMTP poslužiteljem na stranici 81](#).

Napomena: Sposobnost korisnika da pristupi značajkama za postavljanje e-pošte ovisi o ulozi korisnika i dozvolama koje mu je dodijelio administrator. Za detalje o upravljanju korisnicima i njihovim ulogama pogledajte [Upravljanje ulogama korisnika za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition na stranici 43](#).

Za postavljanje obavijesti putem e-pošte

1. Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) da biste otvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).

Pojavljuje se dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke) i prikazana je kartica Email (E-pošta).



Napomena: Primit ćete obavijest ako sustav otkrije da niste postavili valjani SMTP poslužitelj za CFX Maestro Dx SE. Kliknite Configure Outgoing Email (Konfiguriraj odlaznu e-poštu) da biste otvorili dijaloški okvir Options (Opcije) i konfigurirali SMTP poslužitelj e-pošte. Za više informacija pogledajte [Povezivanje softvera Security Edition sa SMTP poslužiteljem na stranici 81](#).

2. U tekstni okvir To (Za) unesite adresu e-pošte svake osobe koju želite obavijestiti o završetku izvođenja. Svi primatelji primit će poruku e-pošte nakon završetka izvođenja.

Napomena: Svaku adresu e-pošte morate unijeti u zaseban redak. Pritisnite tipku Enter ili Return nakon svake adrese.

3. (Opcionalno) U tekstni okvir CC (Kopija) upišite adresu e-pošte bilo kojeg primatelja kojem planirate poslati kopiju svake obavijesti e-poštom.
4. (Opcionalno) Prema zadanim postavkama svi primatelji primaju kopiju podatkovne datoteke kao privitak. Odznačite ovaj potvrdni okvir ako ne želite priložiti kopiju podatkovne datoteke.
5. (Opcionalno) Odaberite Attach Analysis Report (Priloži izvješće o analizi) da biste poruci e-pošte priložili izvješće o analizi u PDF formatu.
6. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).

Napomena: Možda je moguće konfigurirati sustav za slanje obavijesti na vaš mobilni telefon putem e-pošte, ovisno o pružatelju usluga. Obratite se svojem pružatelju mobilnih usluga i zatražite

konkretne informacije o adresi e-pošte vašeg mobilnog telefona. Unesite adresu e-pošte svojeg telefona (na primjer, 5552221234@vas_pruzatelj_usluga_domenaeposte.net) u tekstni okvir To (Primatelj) na zaslonu User Preferences (Korisničke postavke).

Uređivanje adrese e-pošte primatelja

- ▶ Po potrebi izmijenite adresu e-pošte i kliknite OK (U redu).

Uklanjanje primatelja e-pošte

1. Odaberite primatelja e-pošte i pritisnite tipku Delete (Izbriši).
2. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Važno: Klikom na Restore Defaults (Vrati zadane postavke) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) sve postavke na svim karticama ponovno se postavljaju na izvorne tvorničke postavke. Budite pažljivi kada kliknete ovaj gumb.

Povezivanje softvera Security Edition sa SMTP poslužiteljem

Važno: Neki komercijalni pružatelji usluga web-pošte poboljšali su sigurnost e-pošte. Ako upotrebljavate njihove račune, morate omogućiti postavku **Allow less secure apps** (Omogući manje sigurne aplikacije) u njihovim postavkama računa da biste omogućili da CFX Maestro Dx SE šalje e-poštu. Dodatne informacije potražite u sigurnosnim informacijama pružatelja usluga web-pošte.

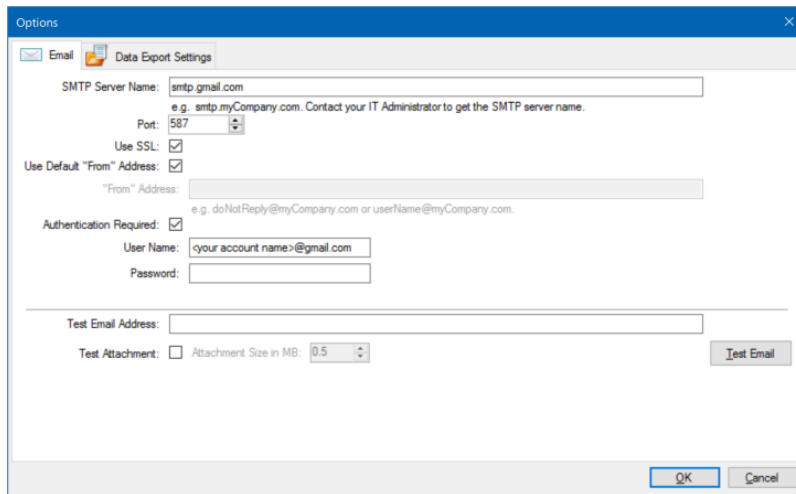
Ako upotrebljavate SMTP poslužitelj Google Gmail ili Microsoft Office 365 za slanje e-pošte, obavezno omogućite potvrdu u dva koraka i generirajte „lozinku za aplikaciju” u postavkama vašeg računa za Gmail ili Office365. Za potrebe provjere autentičnosti u dijalogu za postavljanje e-pošte sustava Maestro u polje za lozinku kopirajte pa zalijepite „lozinku za aplikaciju” umjesto uobičajene lozinke e-pošte.

CFX Maestro Dx SE treba uspostaviti vezu na vaš poslužitelj e-pošte kako bi softver mogao slati obavijesti e-poštom.

CFX Maestro Dx SE i povezivanje na poslužitelj za e-poštu

1. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) i kliknite Configure Outgoing Email (Konfiguriraj odlaznu e-poštu) na kartici E-mail (E-pošta).
 - Odaberite Tools (Alati) > Options (Opcije).

Pojavit će se dijaloški okvir Options (Opcije) koji prikazuje karticu E-mail (E-pošta).



2. Navedite sljedeće podatke za svoju tvrtku:

- **SMTP server name** (Naziv SMTP poslužitelja) – naziv poslužitelja za odlaznu e-poštu u vašoj tvrtki.
- **Port** – broj porta vašeg SMTP poslužitelja. To je obično 25.
- **Use SSL** (Upotrijebite opciju SSL) – opcija Secure Sockets Layer (SSL). Neki SMTP poslužitelji zahtijevaju ovu postavku. Ako to nije potrebno u vašoj tvrtki, odznačite ovaj okvir.
- **Use Default „From” Address** (Upotrijebite zadanu adresu za polje „Od”) – naziv poslužitelja za e-poštu u vašoj tvrtki. Neki SMTP poslužitelji zahtijevaju da sva poslana e-pošta ima adresu za polje „Od” koja dolazi s određene domene, na primjer, ime@VašaTvrka.com. Ako je to slučaj, odznačite ovaj potvrdni okvir i navedite valjanu adresu e-pošte.
- **Authentication Required** (Potrebna provjera autentičnosti) – ako vaše web-mjesto zahtijeva provjeru autentičnosti računa, provjerite je li označen ovaj potvrdni okvir.
- **User name** (Korisničko ime) – naziv provjerenog računa. To je potrebno samo ako je odabran potvrdni okvir Authentication Required (Potrebna provjera autentičnosti).

- **Password** (Lozinka) – lozinka za provjereni račun. To je potrebno samo ako je odabran potvrdni okvir Authentication Required (Potrebna provjera autentičnosti).

Važno: Ako upotrebljavate SMTP poslužitelj Google Gmail ili Microsoft Office 365 za slanje e-pošte, obvezno omogućite potvrdu u dva koraka pa generirajte „lozinku za aplikaciju” u postavkama vašeg računa za Gmail ili Office365. Za potrebe provjere autentičnosti u dijalogu za postavljanje e-pošte sustava Maestro u polje za lozinku sustava CFX Maestro Dx SE kopirajte pa zalijepite „lozinku za aplikaciju” umjesto uobičajene lozinke e-pošte.

Da biste provjerili jesu li postavke SMTP poslužitelja točne, u tekstni okvir Test Email Address (Ispitaj adresu e-pošte) unesite valjanu adresu e-pošte i kliknite Test Email (Ispitaj e-poštu).

Napomena: Neki SMTP poslužitelji ne dopuštaju priritke, a drugi dopuštaju priritke samo do određene veličine. Ako planirate e-poštom slati podatkovne datoteke i/ili izvješća s pomoću CFX Maestro Dx SE, odaberite Test Attachment (Ispitaj priritak) i postavite Attachment Size in MB (Veličina priritka u MB) na 5 megabajta (MB) ili više.

3. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Promjena zadanih postavki datoteka

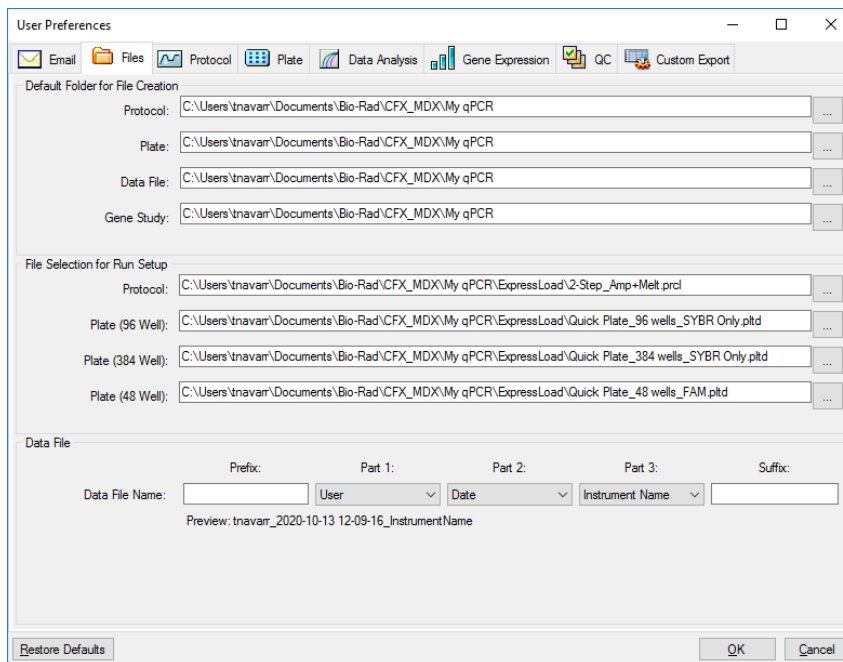
Na kartici Files (Datoteke) u dijaloškom okviru User Preference (Korisničke postavke) možete promijeniti

- zadanu lokaciju za spremanje datoteka za CFX Maestro Dx SE
- zadane datoteke za postavljanje izvođenja
- zadane parametre za imenovanje datoteka.

Za promjenu zadanih postavki datoteke

1. Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) da biste otvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).
2. U dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) odaberite karticu Files (Datoteke).

Poglavlje 6 Prozor Home (Početno)



3. U odjeljku Default Folder for File Creation (Zadana mapa za stvaranje datoteka) idite na i odaberite zadanu mapu u koju želite spremiti nove datoteke. Za svaku vrstu datoteke možete odabrati različitu lokaciju:

- Protocol (Protokol)
- Plate (Pločica)
- Data File (Podatkovna datoteka)
- Gene Study (Genetička studija)

4. U odjeljku File Selection for Run Setup (Odabir datoteke za postavljanje izvođenja) idite na ciljni protokol i datoteke pločica koje će se pojaviti kada otvorite prozor Experiment Setup (Postavljanje eksperimenta) i odaberite ih.
5. U odjeljku Data File (Podatkovna datoteka) definirajte prefiks i/ili sufiks za podatkovne datoteke. Za bilo koji dio odaberite novu vrijednost s padajućeg popisa. U tekstne okvire Prefix (Prefiks) i Suffix (Sufiks) također možete unijeti prilagođene vrijednosti prefiksa i sufiksa.

CFX Maestro Dx SE prikazuje pretpregled naziva datoteke ispod okvira za odabir.

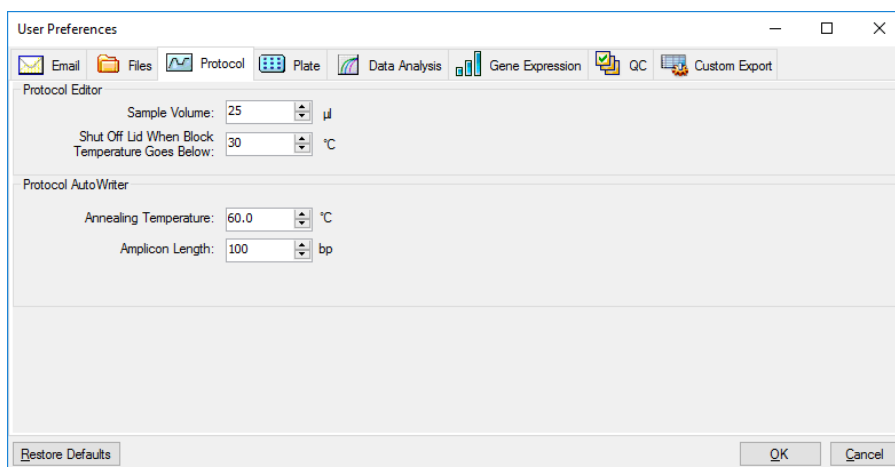
6. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Važno: Klikom na Restore Defaults (Vrati zadane postavke) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) sve postavke na svim karticama ponovno se postavljaju na izvorne tvorničke postavke. Budite pažljivi kada kliknete ovaj gumb.

Postavljanje zadanih parametara protokola

Postavljanje zadanih parametara protokola za Protocol Editor (Uređivač protokola) i Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola)

1. Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) da biste otvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).
2. U dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) odaberite karticu Protocol (Protokol).



3. U odjeljku Protocol Editor (Uređivač protokola) navedite vrijednosti za sljedeće postavke koje se pojavljuju u Protocol Editor (Uređivač protokola):
 - **Sample volume** (Volumen uzorka) – volumen svakog uzorka u jažicama (u µl).
 - **Lid Shutoff temperature** (Temperatura isključivanja poklopca) – temperatura u °C na kojoj se grijač poklopca isključuje tijekom izvođenja.
4. U odjeljku Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola) navedite vrijednosti za sljedeće postavke koje se pojavljuju u Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola):
 - **Annealing temperature** (Temperatura za komplementarno sparivanje) – temperatura u °C za eksperimente u kojima se upotrebljavaju DNK polimeraza iProof, DNK polimeraza iTaq ili druge polimeraze.
 - **Amplicon length** (Duljina produkta umnažanja) – duljina produkta umnažanja u bp.
5. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Važno: Klikom na Restore Defaults (Vrati zadane postavke) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) sve postavke na svim karticama ponovno se postavljaju na izvorne tvorničke postavke. Budite pažljivi kada kliknete ovaj gumb.

Postavljanje zadanih parametara pločice

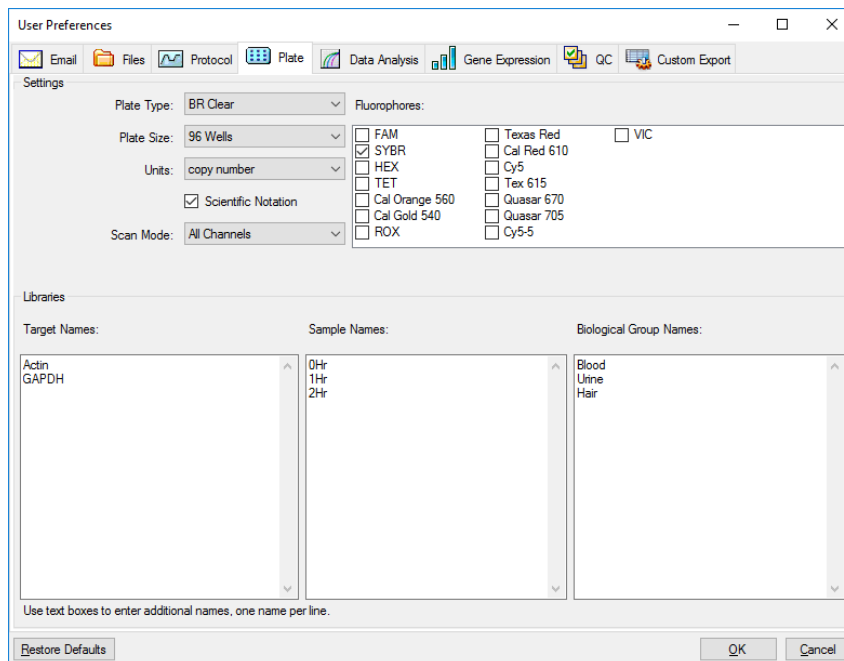
Promjene koje izvršite na kartici Plate (Pločica) dostupne su svim korisnicima softvera. Promjene koje izvršite tijekom postavljanja pločice dostupne su korisnicima nakon što spremite i zatvorite datoteku pločice.

U dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) možete učiniti sljedeće:

- Postaviti zadane parametre pločice.
- Dodati nove nazive cilja, uzorka i bioloških skupina u odgovarajuće biblioteke.
- Izbrisati nazive cilja, uzorka i bioloških skupina u odgovarajućim bibliotekama.

Za postavljanje zadanih parametara pločice

1. Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) da biste otvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).
2. U dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) odaberite karticu Plate (Pločica).



3. Navedite vrijednosti za sljedeće postavke za novu datoteku pločice. Te se vrijednosti pojavljuju u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice):

- **Plate Type (Vrsta pločice)**

- **Plate Size (Veličina pločice)**

- **Units (Jedinice)** – koncentracija početnog predloška za jažice koje sadržavaju standardne otopine.

CFX Maestro Dx SE upotrebljava ove jedinice za stvaranje standardne krivulje na kartici Data Analysis Quantification (Kvantifikacija analize podataka).

- **Scientific notation (Znanstveni zapis)** – kad je odabran, CFX Maestro Dx SE prikazuje jedinice koncentracije u znanstvenom zapisu.
- **Scan mode (Način skeniranja)** – broj ili vrsta kanala za skeniranje tijekom izvođenja.
- **Fluorophores (Fluorofori)** – zadani fluorofori koje se pojavljuju na kontrolama za umetanje jažica prozora Plate Editor (Uređivač pločice).
- **Libraries (Biblioteke)** – nazivi cilja, uzorka i bioloških skupina koje obično upotrebljavate u svojim eksperimentima:
 - **Target names (Nazivi ciljeva)** – nazivi ciljnih gena i sekvenci.
 - **Sample names (Nazivi uzoraka)** – nazivi eksperimentalnih uzoraka ili identifikacijska karakteristika uzoraka (na primjer, Miš1, Miš2, Miš3).
 - **Biological group names (Nazivi bioloških skupina)** – nazivi za skupine sličnih uzoraka koji imaju isti status ili uvjete liječenja (na primjer, 0Hr, 1Hr, 2Hr).

4. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Dodavanje novih naziva cilja, uzorka i bioloških skupina

- ▶ U odgovarajući okvir biblioteke unesite nazive cilja, uzorka i bioloških skupina i kliknite OK (U redu).

Brisanje naziva cilja, uzorka i bioloških skupina

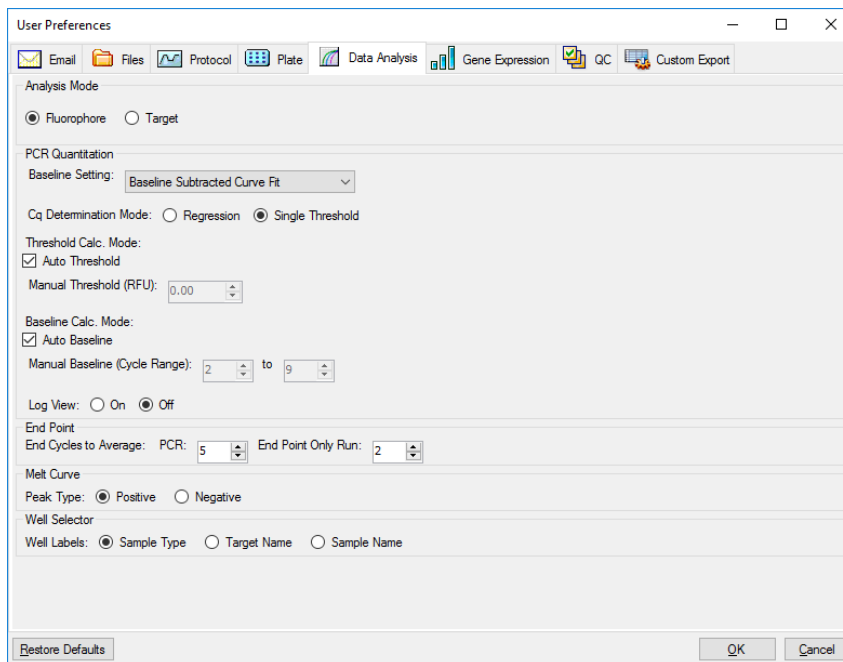
- ▶ U odgovarajućem okviru biblioteke odaberite naziv i pritisnite tipku Delete (Izbriši), a zatim kliknite OK (U redu).

Važno: Nazivi koje uklonite iz biblioteke uklanjaju se iz softvera i više nisu dostupni korisnicima. Da biste vratili zadane vrijednosti naziva za CFX Maestro Dx SE, kliknite Restore Defaults (Vrati zadane postavke). Klikom na Restore Defaults (Vrati zadane postavke) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) sve postavke na svim karticama ponovno se postavljaju na izvorne tvorničke postavke. Budite pažljivi kada brišete zadana imena za CFX Maestro Dx SE i kada kliknete ovaj gumb.

Postavljanje zadanih parametara za analizu podataka

Postavljanje zadanih parametara za analizu podataka

1. Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) da biste otvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).
2. U dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) odaberite karticu Data Analysis (Analiza podataka).



3. U odjeljku Analysis mode (Način analize) odaberite način na koji ćete analizirati podatke (Fluorophore (Fluorofor) ili Target (Cilj)).
4. U odjeljku PCR Quantitation (Određivanje PCR-a) postavite zadane parametre za sljedeće opcije:
 - **Baseline Setting** (Postavljanje osnovne vrijednosti) – osnovna metoda za način analize.
 - **Cq Determination Mode** (Način određivanja Cq) – način u kojem se izračunavaju vrijednosti C_q za svaki trag fluorescencije (regresija ili pojedinačni prag).
 - **Threshold Calc. Mode** (Način izračuna praga) – ciljni iznos krajnje točke.

Zadana postavka je Auto (Automatski). Odnosno, softver automatski izračunava cilj krajnje točke. Da biste postavili određeni prag, odznačite potvrdni okvir Auto (Automatski) i unesite iznos krajnje točke izračunat u relativnim jedinicama fluorescencije (eng. relative fluorescence

- units, RFU). Maksimalna vrijednost je 65.000,00 RFU. Podatkovne datoteke za sljedeća izvođenja upotrebljavat će ovu postavku praga.
- **Baseline Calc. Mode** (Način izračuna osnovne vrijednosti) – osnovna vrijednost za sve tragove.
Zadana postavka je Auto (Automatski). Odnosno, softver automatski izračunava osnovnu vrijednost za sve tragove. Da biste postavili određenu osnovnu vrijednost, odznačite potvrdni okvir Auto (Automatski) i unesite minimalne i maksimalne vrijednosti za raspon ciklusa (od 1 do 9999). Podatkovne datoteke za sljedeća izvođenja upotrebljavat će ovaj raspon ciklusa.
 - **Log View** (Prikaz zapisnika) – određuje kako softver prikazuje podatke o pojačanju:
 - On** (Uključeno) – podaci o pojačanju prikazuju se u polulogaritamskom grafikonu.
 - Off** (Isključeno) – (zadano) podaci o pojačanju prikazuju se u linearnom grafikonu.
5. U odjeljku End Point (Krajnja točka) odaberite broj završnih ciklusa za uprosječivanje pri izračunavanju izračuna krajnje točke:
- **PCR** – broj završnih ciklusa za uprosječivanje za podatke kvantifikacije (zadana vrijednost je 5).
 - **End-Point Only Run** (Izvođenje samo krajnje točke) – prosječni broj završnih ciklusa za podatke krajnje točke (zadana vrijednost je 2).
6. U odjeljku Melt Curve (Krivulja taljenja) odaberite vrstu vršne vrijednosti za otkrivanje (pozitivnu ili negativnu).
7. U odjeljku Well Selector (Birač jažica) odaberite način prikazivanja oznaka jažica (prema vrsti uzorka, nazivu cilja ili nazivu uzorka).
8. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Važno: Klikom na Restore Defaults (Vrati zadane postavke) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) sve postavke na svim karticama ponovno se postavljaju na izvorne tvorničke postavke. Budite pažljivi kada kliknete ovaj gumb.

Postavljanje zadanih parametara genske ekspresije za podatkovne datoteke

Za postavljanje zadanih parametara genske ekspresije za podatkovne datoteke

1. Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) da biste otvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).
2. U dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) odaberite karticu Gene Expression (Genska ekspresija).
3. Navedite vrijednosti za sljedeće postavke:
 - **Relative to** (U odnosu na) – prikazuje podatke o genskoj ekspresiji u odnosu na kontrolu (koja kreće od 1) ili nulu:
 - Zero** (Nula) – softver ignorira kontrolu. To je zadana postavka kada u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta) nije dodijeljen kontrolni uzorak.
 - Control** (Kontrola) – softver izračunava podatke u odnosu na kontrolni uzorak dodijeljen u prozoru Experiment Setup (Postavljanje eksperimenta).
 - **X-axis** (Os X) – prikazuje uzorak ili cilj na osi X.
 - **Y-axis** (Os Y) – prikazuje linearnu, log2 ili log10 ljestvicu na osi Y.
 - **Scaling** (Skaliranje) – opcija skaliranja za grafikon (zadana opcija je bez skaliranja):
 - Highest** (Najviša) – softver skalira grafikon na najvišu podatkovnu točku.
 - Lowest** (Najniža) – softver skalira grafikon na najnižu podatkovnu točku.
 - Unscaled** (Neskalirano) – softver prikazuje neskalirane podatke na grafikonu.
 - **Mode** (Način) – način analize, bilo relativna kvantifikacija (ΔC_q) ili normalizirana ekspresija ($\Delta\Delta C_q$).
 - **Error Bar** (Traka pogrešaka) – varijabilnost podataka predstavljena je kao standardno odstupanje (Std. Dev.) ili standardna pogreška srednje vrijednosti (Std. Error Mean).
 - **Error Bar Multiplier** (Množitelj trake pogrešaka) – množitelj standardnog odstupanja koji se upotrebljava za izradu grafičkog prikaza trake pogrešaka (zadana je vrijednost 1).

Množitelj možete povećati na 2 ili 3.
 - **Sample Types to Exclude** (Vrste uzoraka koje treba izuzeti) – vrste uzoraka koje treba izuzeti iz analize.

Možete odabrati jedan ili više uzoraka koje ćete izuzeti iz analize. Da biste izuzeli sve vrste uzoraka, odznačite potvrdne okvire svih odabranih vrsta uzoraka.
4. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Važno: Klikom na Restore Defaults (Vrati zadane postavke) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) sve postavke na svim karticama ponovno se postavljaju na izvorne tvorničke postavke. Budite pažljivi kada kliknete ovaj gumb.

Prilagođavanje pravila za kontrole kvalitete

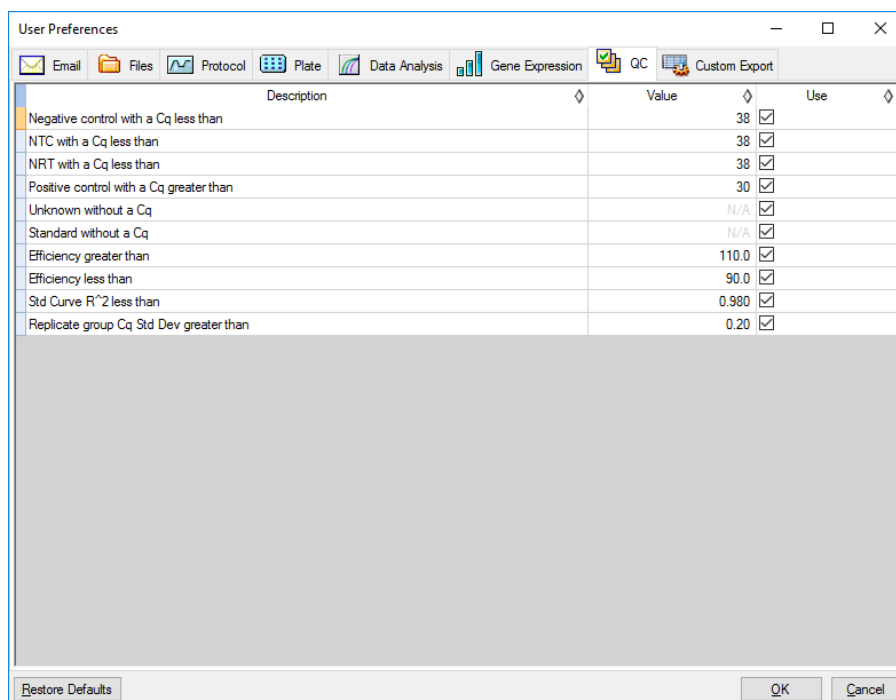
Za CFX Maestro Dx SE možete postaviti pravila za kontrolu kvalitete koja se primjenjuju na podatke u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Softver provjerava valjanost podataka u skladu s pravilima koja ste postavili.

Napomena: Prema zadanim postavkama omogućena su sva pravila za kontrolu kvalitete.

Savjet: Jažice koje ne odgovaraju parametrima kontrole kvalitete možete jednostavno isključiti iz analize u modulu za kontrolu kvalitete prozora Data Analysis (Analiza podataka).

Prilagodba pravila za kontrolu kvalitete

1. Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) da biste otvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).
2. U dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) odaberite karticu QC (Kontrola kvalitete).



Gdje je:

- **NTC** – bez kontrole predloška
 - **NRT** – nema kontrole reverzne transkriptaze
 - **Efficiency** (Učinkovitost) – učinkovitost reakcije
 - **Std Curve R²** (Standardna krivulja R²) – R kvadratna vrijednost za standardnu krivulju
 - **Replicate group Cq Std Dev** (Standardno odstupanje skupine replika Cq) – standardno odstupanje izračunato za svaku skupinu replika
3. Za svako pravilo kontrole kvalitete učinite jedno od sljedećeg:
- Da biste upotrijebili njegovu zadanu vrijednost, nemojte ništa raditi.
 - Da biste promijenili njegovu vrijednost, kliknite tekstni okvir Value (Vrijednost), unesite novu vrijednost i pritisnite tipku Enter.
 - Da biste onemogućili pravilo, odznačite njegov potvrdni okvir Use (Upotrijebi).
4. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Važno: Klikom na Restore Defaults (Vrati zadane postavke) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) sve postavke na svim karticama ponovno se postavljaju na izvorne tvorničke postavke. Budite pažljivi kada kliknete ovaj gumb.

Prilagođavanje parametara za izvoz podataka

Možete izvesti podatke za CFX Maestro Dx SE u sljedećim formatima:

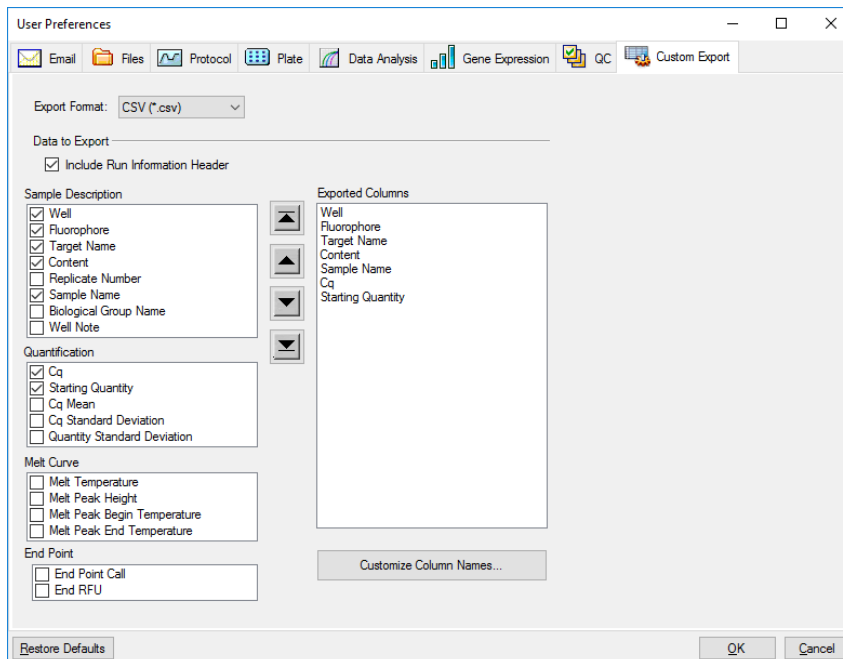
- tekst (.txt)
- CSV (.csv)
- datoteka programa Excel (.xls, .xlsx)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

Važno: na vašem računalu mora biti instaliran Microsoft Excel kako biste mogli izvesti podatke u proračunsku tablicu Microsoft Excel.

Možete odrediti vrstu podataka za izvoz i prilagoditi izlaz izvezenih podataka.

Za prilagođavanje parametara za izvoz podataka

1. Odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) da biste otvorili dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke).
2. U dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) odaberite karticu Custom Export (Prilagođeni izvoz).



3. Na padajućem popisu Export Format (Format izvoza) odaberite format za izvoz podataka.
4. U odjeljku Data to Export (Podaci za izvoz) označite ili odznačite potvrdne okvire za vrstu podataka za izvoz. Odabrane se stavke pojavljuju u okviru s popisom Exported Columns (Izvezeni stupci).

Napomena: Prema zadanim postavkama, podaci o izvođenju uključeni su u zaglavlje. Odnajite ovaj potvrdni okvir ako ne želite da se uključuju podaci o izvođenju.

5. Možete promijeniti redoslijed prikaza izlaza odabranih stavki.

U okviru s popisom Exported Columns (Izvezeni stupci) istaknite stavku, a zatim kliknite gumbe sa strelicama lijevo od popisa da biste je pomaknuli prema gore ili dolje.

6. Po želji možete promijeniti nazive izlaznih stupaca odabranih stavki:
 - a. Kliknite Customize Column Names (Prilagodi nazive stupaca).

Pojavljuje se dijaloški okvir Column Name Customizer (Prilagoditelj naziva stupca).

- b. Za svaki zadani naziv stupca koji želite promijeniti upišite novi naziv u njegovo polje Custom Name (Prilagođeni naziv).
 - c. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Kliknite OK (U redu) za spremanje promjena i povratak na karticu Custom Export (Prilagođeni izvoz). Novi se naziv pojavljuje u zagradama pored zadanog naziva stupca u okviru s popisom Exported Columns (Izvezeni stupci).
 - Kliknite Cancel (Odustani) da biste obrisali promjene i vratili se na karticu Custom Export (Prilagođeni izvoz).
7. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Važno: Klikom na Restore Defaults (Vrati zadane postavke) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) sve postavke na svim karticama ponovno se postavljaju na izvorne tvorničke postavke. Budite pažljivi kada kliknete ovaj gumb.

Poglavlje 7 Postavljanje protokola

Protokol je niz koraka koji se izvršavaju u određenom slijedu. Softver CFX Maestro Dx, Security Edition sadržava sve korake koji su povezani s opcijama u uređaju. Na primjer, koraci upućuju uređaj da kontrolira temperaturu bloka i poklopca, primijeni temperaturnu razliku na blok, uzme očitavanje s pločice ili izvrši analizu krivulje taljenja. Svaka je opcija određena za različite tipove pločica i izvođenja.

CFX Maestro Dx SE pruža dvije opcije za postavljanje protokola: Protocol Editor (Uređivač protokola) i Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola).

Značajke opcije Protocol Editor (Uređivač protokola) uključuju sljedeće:

- standardne kontrole protokola za brzo postavljanje protokola,
- sposobnost brzog izračuna gradijenta za odabrani broj redaka,
- sposobnost brzog izračunavanja vremena izvođenja za odabranu vrstu pločice,
- sposobnost uređivanja koraka protokola,
- sposobnost spremanja protokola za ponovnu upotrebu,
- mogućnost ispisa protokola na zadani pisač.

Program Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola) automatski generira prilagođeni PCR protokol s vrućim pokretanjem, početnim denaturiranjem, komplementarnim sparivanjem i produljenjem koraka upotrebom parametara koje navedete. Zatim možete pregledati grafički prikaz predloženog protokola i urediti, pokrenuti ili spremiti protokol.

Parametri i rasponi za korake protokola

Upotrijebite podatke koje navodi [Tablica 7](#) za izmjenu zadanih postavki za korake u vašem protokolu.

Koraci temperature

Ciljna temperatura je vrijednost između 4,0 i 100,0 °C, postavljena u desetinkama stupnja. Sustav postiže ciljnu temperaturu i zadržava tu vrijednost određeno vrijeme (vrijeme zadržavanja).

Koraci gradijenta

Raspon gradijenta je razlika između donje i gornje temperature u koraku gradijenta. Maksimalni dopušten raspon je 24 °C. Donja temperatura je vrijednost između 30,0 i 99,0 °C postavljena u desetinkama stupnja. Maksimalna gornja temperatura je 100 °C. Termocikler postiže temperaturu do ciljnog temperaturnog gradijenta preko bloka i zadržava tu temperaturu određeno vrijeme zadržavanja.

Važno: Uređaj izračunava vrijednost gradijenta. Kada u gornje i donje polje kalkulatora gradijenta unesete vrijednost, softver automatski izračunava i dodjeljuje temperature za preostala polja. Kada unesete temperaturu u bilo koje polje između gornjeg i donjeg polja, uređaj automatski izračunava preostala polja. Ne možete ručno unijeti vrijednost temperature u svako polje.

Tablica 7. Parametri i rasponi za korake protokola

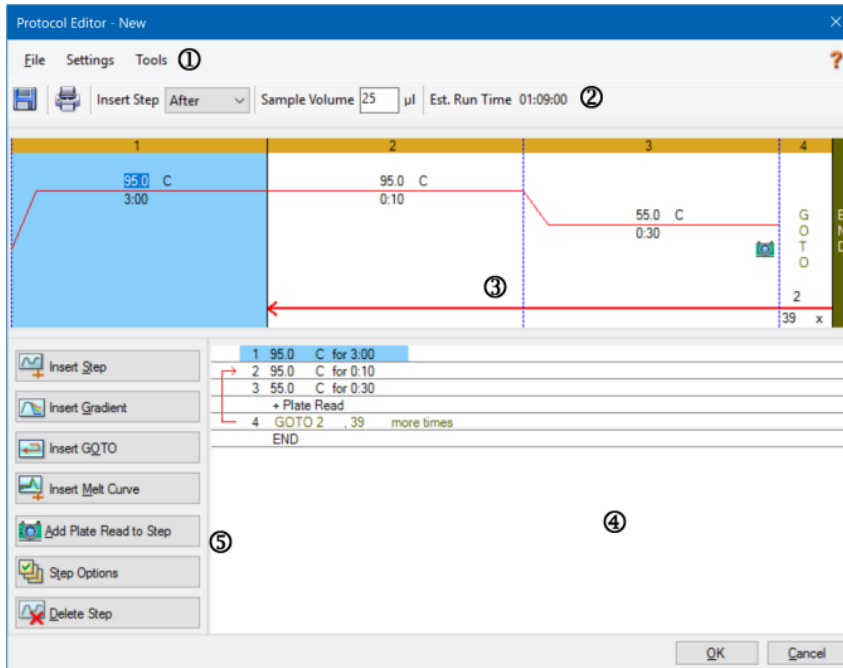
Parametar	Raspon	Opis
stopa promjene temperature	<ul style="list-style-type: none"> ■ Za sustave CFX Opus 96 Dx : 0,1 – 5 °C u sekundi ■ Za sustave CFX Opus 384 Dx : 0,1 – 2,5 °C u sekundi ■ Za sustave CFX Opus Deepwell Dx : 0,1 – 2,5 °C u sekundi 	<p>Upućuje termocikler da u tom koraku promijeni na ciljnu temperaturu zadanom stopom.</p> <p>Dostupno samo za korake temperature.</p>
Increment (Promjena)	Broj od -10,0 do 10,0 °C po ciklusu u desetinkama stupnja	<p>Upućuje termocikler da promijeni ciljnu temperaturu koraka sa svakim ciklusom, gdje pozitivan broj povećava temperaturu, a negativan smanjuje temperaturu.</p> <p>Dostupno samo za korake temperature.</p>

Tablica 7. Parametri i rasponi za korake protokola, nastavak

Parametar	Raspon	Opis
Extend (Produljenje)	Vrijeme od -60 do 60 sekundi po ciklusu	Upućuje termocikler da promijeni vrijeme zadržavanja sa svakim ciklusom. Pozitivan broj povećava vrijeme zadržavanja, a negativan broj smanjuje vrijeme zadržavanja. Dostupno za korak temperature i korak gradijenta.
Beep (Zvučni signal)	(Nema parametara)	Upućuje termocikler da emitira zvučni signal da je termocikler dostigao ciljnu temperaturu za taj korak. Dostupno samo za korake temperature.
Plate read (Očitavanje ploče)	(Nema parametara)	Upućuje termocikler da odabranom koraku doda očitano ploču. Dostupno za korak temperature i korak gradijenta.

Prozor Protocol Editor (Uređivač protokola)

Upotrijebite Protocol Editor (Uređivač protokola) za postavljanje, otvaranje, pregled i uređivanje protokola. Prema zadanim postavkama, Protocol Editor (Uređivač protokola) prikazuje generički protokol u dva koraka u stvarnom vremenu za pločicu s 96 jažica.



LEGENDA

1. Traka izbornika omogućuje brzi pristup naredbama izbornika File (Datoteka), Settings (Postavke) i Tools (Alati).
2. Alatna traka omogućuje brzi pristup spremanju i ispisu protokola, određivanju mjesta za umetanje koraka, postavljanju volumena uzorka i pregledavanju procijenjenog vremena izvođenja protokola.
3. Glavno okno prikazuje grafički prikaz protokola.
4. Donje okno prikazuje raspored protokola.
5. Lijevo okno prikazuje kontrole protokola koje možete dodati za prilagodbu protokola.

Naredbe izbornika File (Datoteka)

Save (Spremi) – sprema trenutni protokol.

Save As (Spremi kao) – sprema trenutni protokol s novim nazivom ili na novom mjestu.

Lozinke datoteke (File Passwords) – omogućuje korisnicima postavljanje lozinki za spremanje datoteka i otvaranje datoteka.

Savjet: Za više informacija pogledajte [Zaštita datoteka lozinkom na stranici 50](#).

Close (Zatvori) – zatvara program Protocol Editor (Uređivač protokola).

Naredba izbornika Settings (Postavke)

Lid Settings (Postavke poklopca) – otvara dijaloški okvir Lid Setting (Postavke poklopca) u kojem možete promijeniti ili postaviti temperaturu poklopca.

Naredbe izbornika Tools (Alati)

Gradient Calculator (Kalkulator gradijenta) – otvara dijaloški okvir iz kojeg možete odabrati vrstu bloka za korak gradijenta. Zadana vrijednost je 96 jažica.

Run time Calculator (Kalkulator vremena izvođenja) – otvara dijaloški okvir iz kojeg možete odabrati vrstu pločice i način skeniranja kako biste izračunali procijenjeno vrijeme rada u prozoru Run Setup (Postavljanje izvođenja). Zadana je vrijednost 96 jažica, svi kanali.

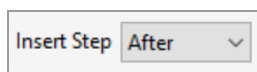
Naredbe na alatnoj traci



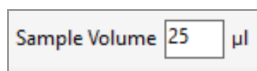
– sprema trenutnu datoteku protokola.



– ispisuje odabrani prozor.

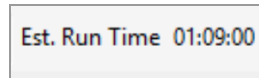


– upotrijebite ovu naredbu za odabir mjesta gdje ćete umetnuti korake u odnosu na trenutno odabrani korak.



– upotrijebite ovu naredbu za unos volumena uzorka u µl. Količine uzoraka razlikuju se ovisno o vrsti bloka:

- Za blok s 96 jažica raspon je 0 – 50 µl.
- Za blok s 384 jažice raspon je 0 – 30 µl.
- Za blok s 96 dubokih jažica raspon je 0 – 125 µl.



– prikazuje procijenjeno vrijeme izvođenja na temelju koraka protokola, stope povećanja i vrste odabranog bloka.

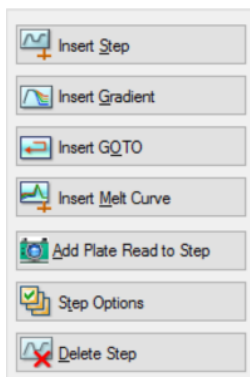


– prikazuje informacije izbornika Help (Pomoć) o protokolima.

Kontrole za uređivanje protokola

Lijevo okno prozora programa Protocol Editor (Uređivač protokola) sadržava kontrole koje možete upotrijebiti za postavljanje protokola.

Svaka se kontrola sastoji od niza parametara koji predstavljaju korak u protokolu. Svaki parametar možete prilagođavati, dodavati ili ga uklanjati kako biste prilagodili svoj protokol. Ovaj odjeljak opisuje opcije svake kontrole.



- **Insert Step (Umetni korak)** – ubacuje korak prije ili nakon odabranog koraka. Vrijednosti temperature i vremena zadržavanja možete urediti na grafičkom prikazu protokola ili u rasporedu protokola.
- **Insert Gradient (Umetni gradijent)** – ubacuje korak gradijenta na temelju vrste bloka jažice odabrane u kalkulatoru gradijenta. Raspon gradijenta možete urediti u okviru Gradient (Gradijent) koji se pojavljuje kad se umetne korak gradijenta.
- **Insert GOTO (Umetni GOTO)** – ubacuje korak ciklusa (petlje) koji informira softver da ponavlja određene korake u nizu za određeni broj ciklusa. Ponavljanja započinju nakon završetka prvog ciklusa. Na primjer, možete obavijestiti softver da izvede 39 ponavljanja koraka 2. – 4. Nakon konačnog ponavljanja, softver će izvesti korake 2. – 4. ukupno 40 puta. Možete urediti korak povratka (GOTO) i broj ciklusa bilo na grafičkom prikazu ili u rasporedu protokola.
- **Insert Melt Curve (Umetni krivulju taljenja)** – ubacuje korak očitavanja krivulje taljenja.
- **Insert Plate Read to Step (Umetni očitavanje pločice u korak)** – dodaje naredbu za očitavanje pločice odabranom koraku. Očitavanjem pločice mjeri se količina fluorescencije na kraju ciklusa. Korak očitavanja pločice općenito je zadnji korak u GOTO petlji.

Savjet: nakon što koraku dodate naredbu za očitavanje pločice, gumb se mijenja u Remove Plate Read (Ukloni očitavanje pločice) kad odaberete korak.

- **Remove Plate Read (Ukloni očitavanje pločice)** – uklanja naredbu za očitavanje pločice iz odabranog koraka.
Savjet: Nakon što iz koraka uklonite naredbu za očitavanje pločice, gumb se mijenja u Add Plate Read to Step (Dodaj očitavanje pločice u korak) kad odaberete korak.
- **Step Options (Opcije koraka)** – otvara dijaloški okvir Step Options (Opcije koraka) i prikazuje opcije dostupne za odabrani korak. Za više informacija pogledajte [Opcije koraka na stranici 102](#).
Savjet: opciji Step Options (Opcije koraka) možete pristupiti i desnim pritiskom miša na korak na grafičkom zaslonu.
- **Delete Step (Izbriši korak)** – briše odabrani korak iz protokola.

Opcije koraka

Otvorite dijaloški okvir Step Options (Opcije koraka) da biste pregledali opcije koje možete dodati, promijeniti ili ukloniti iz koraka.

Step Options

Step 1

Plate Read

Temperature 95.0 °C

Gradient °C

Increment °C/cycle

Ramp Rate °C/sec

Time 3:00 sec/cycle

Extend sec/cycle

Beep

Gradient

A

B

C

D

E

F

G

H

OK Cancel

- **Plate Read (Očitavanje pločice)** – kad je odabrano, koraku dodaje očitavanje pločice.
- **Temperature (Temperatura)** – postavlja ciljanu temperaturu za odabrani korak.
- **Gradient (Gradijent)** – postavlja raspon gradijenta za korak; raspon je 1–24 °C.

Napomena: gradijent se izvodi s najnižom temperaturom u prednjem dijelu bloka (na ovoj slici red H) i najvišom temperaturom u stražnjem dijelu bloka (na ovoj slici red A).

- **Increment (Povećanje)** – količina za povećanje (ili smanjenje) temperature odabranog koraka; ta se vrijednost dodaje ciljanoj temperaturi sa svakim ciklusom. Raspon je ± 0,1–10 °C.

Napomena: da biste smanjili temperaturu, unesite znak minus (–) prije numeričke vrijednosti (na primjer, –5 °C).

- **Ramp Rate (Stopa povećanja)** - stopa povećanja za odabrani korak; stopa ovisi o veličini bloka.
- **Time (Vrijeme)** – vrijeme zadržavanja za odabrani korak.

- **Extend (Proširi)** – vrijeme (u sekundama) za produženje ili smanjenje odabranog koraka; ova se opcija dodaje vremenu zadržavanja u svakom ciklusu; raspon je $\pm 1-60$ sekunda.
- **Beep (Zvučni signal)** – kad je odabran, tijekom koraka oglašava se zvučni signal.

Savjet: kada unesete broj koji je izvan raspona opcija, softver mijenja broj u najbliži unos unutar raspona.

Postavljanje protokola u programu Protocol Editor (Uređivač protokola)

S pomoću Protocol Editor (Uređivač protokola) možete stvoriti prilagođene datoteke protokola. Također možete uređivati i spremati prethodno spremljene datoteke protokola ili datoteke protokola uzorka isporučene uz CFX Maestro Dx SE.

Da biste stvorili novu datoteku protokola, učinite nešto od sljedećeg:

- Otvorite datoteke protokola u programu Protocol Editor (Uređivač protokola).
Savjet: Otvorite postojeći protokol u programu Protocol Editor (Uređivač protokola).
- Postavite novi protokol.
- Dodajte korake protokolu iz okna za kontrolu protokola.
- Uredite svojstva koraka.
- Spremite protokol.

Savjet: da biste stvorili novi protokol iz prethodno spremljenog protokola ili datoteke protokola uzorka, pogledajte [Otvaranje postojećeg protokola u programu Protocol Editor \(Uređivač protokola\) na stranici 106](#).

Otvaranje nove datoteke protokola u programu Protocol Editor (Uređivač protokola)

CFX Maestro Dx SE nudi više mogućnosti za otvaranje nove datoteke protokola:

- iz izbornika File (Datoteka) u prozoru Home (Početno)
- iz dijaloškog okvira Run Setup (Postavljanje izvođenja) u prozoru Home (Početno)
- iz dijaloškog okvira Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) u prozoru Home (Početno).

Za otvaranje nove datoteke protokola s izbornika File (datoteka)

- ▶ U prozoru Home (Početno) odaberite File (Datoteka) > New (Novo) > Protocol (Protokol).

Otvora se prozor Protocol Editor (Uređivač protokola) koji prikazuje zadanu datoteku protokola.

Savjet: Za informacije o postavljanju zadanog protokola pogledajte [Promjena zadanih postavki datoteka na stranici 83](#).

Za otvaranje novog protokola iz dijaloškog okvira Run Setup (Postavljanje izvođenja)

1. U prozoru Home (Početno) učinite jedno od sljedećeg da biste otvorili dijaloški okvir Run Setup (Postavljanje izvođenja):
 - Odaberite Run (Izvođenje) > User-defined Run (Korisnički definirano izvođenje)
 - Pritisnite User-defined Run Setup (Postavljanje korisnički definiranog izvođenja) na alatnoj traci.

Dijaloški okvir Run Setup (Postavljanje izvođenja) otvara se u kartici Protocol (Protokol) i prikazuje vašu zadanu datoteku protokola.

2. Kliknite Create New (Izradi novi).

Otvara se prozor Protocol Editor (Uređivač protokola) koji prikazuje zadani protokol u stvarnom vremenu.

Za otvaranje nove datoteke protokola iz programa Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje)

1. U prozoru Home (Početno) učinite jedno od sljedećeg da biste otvorili program Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje):

- Odaberite View (Pogled) > Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje).
- Pritisnite Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) na alatnoj traci.

2. Ako je potrebno, na padajućem popisu odaberite vrstu uređaja.

3. Pritisnite User-defined run (Korisnički definirano izvođenje) kao tip izvođenja.

Dijaloški okvir Run Setup (Postavljanje izvođenja) otvara se u kartici Protocol (Protokol) i prikazuje zadanu datoteku protokola.

4. Kliknite Create New (Izradi novi).

Otvara se prozor Protocol Editor (Uređivač protokola) koji prikazuje zadani protokol u stvarnom vremenu.

Za otvaranje novog protokola iz izbornika Run (Izvođenje)

1. U prozoru Home (Početno) učinite jedno od sljedećeg da biste otvorili dijaloški okvir Run Setup (Postavljanje izvođenja):

- Odaberite Run (Izvođenje) > User-defined Run (Korisnički definirano izvođenje)
- Pritisnite User-defined Run Setup (Postavljanje korisnički definiranog izvođenja) na alatnoj traci.

Dijaloški okvir Run Setup (Postavljanje izvođenja) otvara se u kartici Protocol (Protokol) i prikazuje vašu zadanu datoteku protokola.

2. Kliknite Create New (Izradi novi).

Otvara se prozor Protocol Editor (Uređivač protokola) koji prikazuje zadani protokol u stvarnom vremenu.

Otvaranje postojećeg protokola u programu Protocol Editor (Uređivač protokola)

CFX Maestro Dx SE pruža datoteke protokola uzorka koje možete uređivati i spremati kao prilagođene nove protokole. Također možete stvoriti novi protokol od postojećeg prilagođenog protokola.

Za otvaranje datoteke protokola uzorka

1. U prozoru Home (Početno) odaberite File (Datoteka) > Open (Otvori) > Protocol (Protokol).
Prema zadanim postavkama, Windows Explorer otvara se na lokaciji u mapi datoteka Sample (Uzorak) CFX Maestro Dx SE.
2. Otvorite mapu datoteka Sample (Uzorak). Prikazat će vam se sljedeće mape:
 - **ConventionalProtocols (Konvencionalni protokoli)** – sadržava primjere datoteka protokola za tradicionalnu PCR analizu.
 - **DataFiles (datoteke podataka)** – sadržava primjere datoteka podataka koje možete upotrijebiti za istraživanje značajki programa CFX Maestro Dx SE.
 - **MeltCalibration (Kalibracija taljenja)** – sadržava primjere datoteka protokola za upotrebu sa softverom Precision Melt Analysis Bio-Rad (Analiza preciznosti taljenja).
 - **Plates (Pločice)** – sadržava primjere datoteka pločica.
 - **RealTimeProtocols (Protokoli u stvarnom vremenu)** - sadržava primjere datoteka protokola za PCR analizu u stvarnom vremenu.
3. Otvorite mapu protokola za vrstu izvođenja koje planirate izvesti, bilo ConventionalProtocols (Konvencionalni protokoli) ili RealTimeProtocols (Protokoli u stvarnom vremenu).
4. Odaberite protokol po želji i pritisnite Open (Otvori).
Protokol uzorka otvara se u prozoru Protocol Editor (Uređivač protokola).
5. Odaberite File (Datoteka) > Save As (Spremi kao) i spremite protokol pod novim nazivom ili u novu mapu.

Za otvaranje postojećeg protokola

1. U prozoru Home (Početno) učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite File (Datoteka) > Open (Otvori) > Protocol (Protokol) i dođite do ciljnog protokola i odaberite ga te pritisnite Open (Otvori).

- Otvorite program Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) i učinite jedno od sljedećeg:
 - Da biste uredili prikazani protokol, Pritisnite Edit Selected (Uredi odabrano).
 - Da biste uredili postojeći protokol, pritisnite Select Existing (Odaberi postojeću) i dođite do ciljne datoteke.

Protokol se otvara u prozoru Protocol Editor (Uređivač protokola).

2. Odaberite File (Datoteka) > Save As (Spremi kao) i spremite protokol pod novim nazivom ili u novu mapu.

Postavljanje novog protokola

Savjet: ako vaša datoteka protokola sadržava potrebne parametre (na primjer, ako uređujete postojeću datoteku pločice), možete preskočiti ovaj odjeljak. Idite na [Dodavanje koraka protokolu na stranici 109](#).

Nove datoteke protokola zahtijevaju sljedeće parametre:

- Block type (Vrsta bloka)
- Scan mode for the chosen block type (Način skeniranja za odabranu vrstu bloka)
- Lid temperature (Temperatura poklopca)
- Sample volume (Volumen uzorka)

Postavljanje vrste bloka

CFX Maestro Dx SE automatski izračunava promjenu temperature za korake gradijenta na temelju vrste bloka.

Napomena: Vrsta pločice postavljena u programu Protocol Editor (Uređivač protokola) mora biti jednaka pločici u reakcijskom modulu.

Za postavljanje vrste bloka

- ▶ U prozoru Protocol Editor (Uređivač protokola) odaberite Tools (Alati) > Gradient Calculator (Kalkulator gradijenta) i na padajućem popisu koji se pojavi odaberite odgovarajuću vrstu pločice.

Odabir načina Scan Mode (Način skeniranja) za odabranu vrstu bloka

Da biste odredili vrijeme izvođenja protokola, odaberite vrstu bloka cilja i način skeniranja.

Za odabir vrste bloka i načina skeniranja

- ▶ U prozoru Protocol Editor (Uređivač protokola) odaberite Tools (Alati) > Run time Calculator (Kalkulator vremena izvođenja) i na padajućem popisu koji se pojavi odaberite odgovarajuću vrstu pločice i način skeniranja.

Prilagođavanje temperature poklopca

CFX Maestro Dx SE postavlja zadane temperature poklopca kako slijedi:

- uređaji s 96 jažica i dubokim jažicama – 105,0 °C
- uređaji s 384 jažice – 95,0 °C

Možete promijeniti zadane postavke ili isključiti grijač poklopca prema potrebi za protokol.

Za prilagođavanje temperature poklopca

1. U prozoru Plate Editor (Uređivač pločice) odaberite Settings (Postavke) > Lid Settings (Postavke poklopca).

Pojavljuje se dijaloški okvir Lid Settings (Postavke poklopca).

2. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite User Defined (Definira korisnik) i u tekstni okvir unesite vrijednost temperature.
 - Odaberite Turn Off Lid Heater (Isključi grijač poklopca).
3. Pritisnite OK (U redu) da biste prihvatili promjene i zatvorili dijaloški okvir.

Postavljanje volumena uzorka

Prema zadanim postavkama, CFX Maestro Dx SE postavlja volumen uzorka za svaku jažicu na 25 µl. Volumeni uzoraka razlikuju se ovisno o vrsti bloka, na primjer:

- 0–50 µl za blok s 96 jažica
- 0–30 µl za blok s 384 jažice

Uređaj upotrebljava jedan od dva načina kontrole temperature kako bi odredio kada uzorak u protokolu dosegne ciljanu temperaturu:

- **Calculated mode (Izračunati način)** – kada je volumen uzorka podstavljen na volumen koji ne može biti nula i koji odgovara bloku, uređaj izračunava temperaturu uzorka na temelju volumena uzorka. Ovo je standardni način rada.
- **Block mode (Način rada bloka)** – kada je volumen uzorka postavljen na nula (0) µl, uređaj bilježi temperaturu uzorka kao jednaku izmjerenoj temperaturi bloka.

Za postavljanje volumena uzorka za određeni blok

- ▶ U prozoru Plate Editor (Uređivač pločice) upišite točnu vrijednost u tekstualni okvir Sample Volume (Volumen uzorka) na alatnoj traci.

Savjet: Zadani volumen uzorka možete promijeniti u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke). Pogledajte [Promjena zadanih postavki datoteka na stranici 83](#).

Dodavanje koraka protokolu

Za dodavanje koraka protokolu

1. Otvorite protokol u prozoru Protocol Editor (Uređivač protokola).
2. Odredite gdje ćete umetnuti novi korak. Na alatnoj traci na padajućem popisu odaberite Before (Prije u koraku) ili After in the Step (Naknadno u koraku)
3. Na grafikonu odaberite korak prije ili nakon kojeg planirate umetnuti novi korak.
4. U lijevom oknu pritisnite Insert Step (Umetni korak).
5. Da biste promijenili temperaturu ili vrijeme zadržavanja, pritisnite zadanu vrijednost na grafikonu ili obrisu protokola i unesite novu vrijednost.
6. (Opcionalno) U lijevom oknu pritisnite Step Options (Opcije koraka) da biste prikazali dijaloški okvir Step Options (Opcije koraka) i izmijenili dostupne opcije za odabrani korak.

Savjet: dijaloškom okviru Step Options (Opcije koraka) možete pristupiti na izborniku s desnim pritiskom miša u oknu grafikona ili oknu rasporeda protokola.

7. Pritisnite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje promjena u protokol.

Pojavit će se dijaloški okvir Save As (Spremi kao):

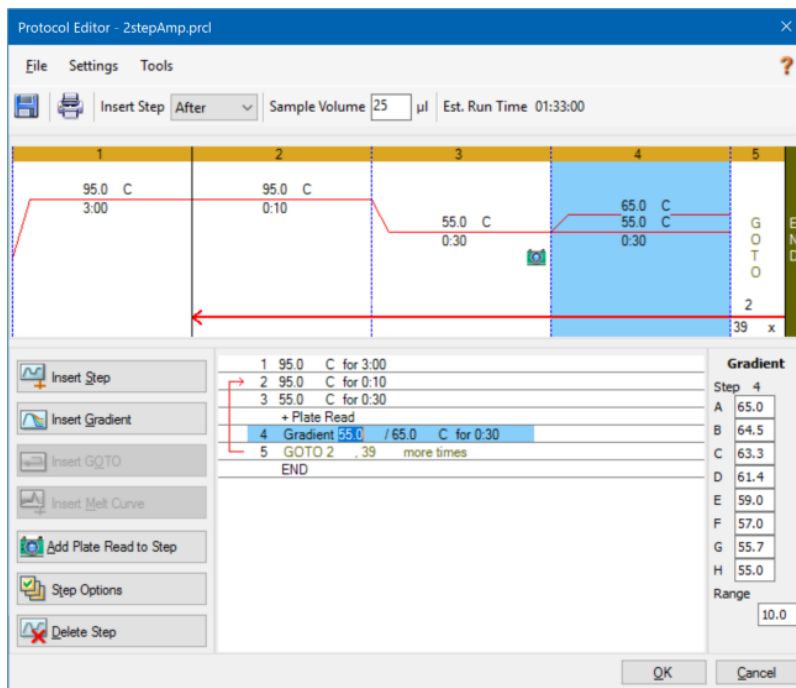
- U dijaloški okvir Save As (Spremi kao) upišite naziv nove datoteke protokola i pritisnite Save (Spremi).

Umetanje koraka gradijenta

Za umetanje koraka gradijenta

- Provjerite je li veličina pločice za gradijent jednaka vrsti bloka uređaja, 96 jažica, 384 jažice ili duboke jažice.
- Ako to još niste učinili, odaberite veličinu pločice za gradijent:

Odaberite Tools (Alati) > Gradient Calculator (Kalkulator gradijenta) i s padajućeg popisa odaberite odgovarajuću vrstu jažice.
- Na alatnoj traci na padajućem popisu odaberite Before (Prije) ili After (Naknadno) u padajućem popisu Insert Step (Umetni korak).
- U grafikonu ili oknu rasporeda odaberite korak prije ili nakon kojeg planirate umetnuti korak gradijenta.
- U lijevom oknu pritisnite Insert Gradient (Umetni gradijent). Novi korak gradijenta istaknut je na grafikonu i oknu rasporeda, na primjer:



temperatura svakog retka u gradijentu pojavljuje se u tablici Gradient (Gradijent) u desnom oknu.

6. Da biste uredili raspon temperature gradijenta, učinite jedno od sljedećeg:
 - Pritisnite zadanu temperaturu u grafikonu ili oknu rasporeda i unesite novu temperaturu.
 - Pritisnite Step Options (Opcije koraka) da biste unijeli raspon gradijenta u prozoru Step Options (Opcije koraka).
 - Promijenite vrijednost Range (Raspon) u tablici Gradient (Gradijent).
7. Da biste uredili vrijeme zadržavanja, pritisnite zadano vrijeme u grafikonu ili tekstualnom prikazu i unesite novo vrijeme.
8. Pritisnite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje promjena.

Umetanje koraka za GOTO

Napomena: Ne možete umetnuti GOTO korak unutar GOTO niza; ne možete stvoriti ugniježdene GOTO petlje.

Za umetanje GOTO koraka

1. Na alatnoj traci na padajućem popisu odaberite Before (Prije) ili After (Naknadno) u padajućem popisu Insert Step (Umetni korak).
2. Na grafikonu odaberite korak prije ili nakon kojeg planirate umetnuti GOTO korak.
3. U lijevom oknu pritisnite Insert GOTO (Umetni GOTO).
4. Da biste uredili broj GOTO koraka ili broj GOTO ponavljanja, odaberite zadani broj na grafikonu ili rasporedu i unesite novu vrijednost.
5. Pritisnite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje promjena.

Umetanje koraka za Melt Curve (Krivulja taljenja)

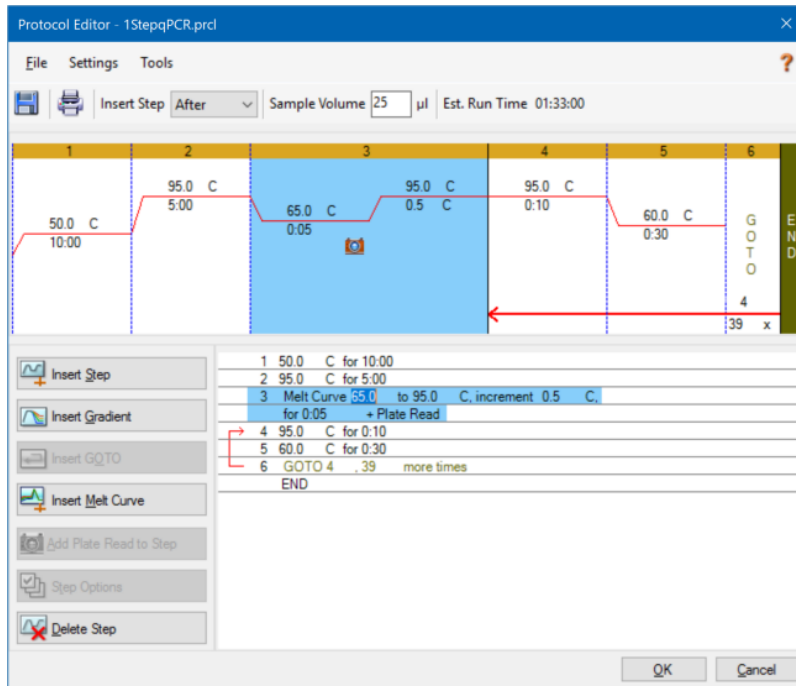
Savjet: ne možete umetnuti korak krivulje taljenja unutar GOTO petlje.

Napomena: korak krivulje taljenja uključuje zadržavanje od 30 sekundi na početku koraka, što nije prikazano u protokolu.

Umetanje koraka krivulje taljenja

1. Na alatnoj traci na padajućem popisu odaberite Before (Prije) ili After (Naknadno) u padajućem popisu Insert Step (Umetni korak).
2. Na grafikonu odaberite korak prije ili nakon kojeg planirate umetnuti korak krivulje taljenja.

- U lijevom oknu pritisnite Insert Melt Curve (Umetni krivulju taljenja). Novi korak krivulje taljenja istaknut je na grafikonu i oknu rasporeda, na primjer:



- Da biste uredili raspon temperature taljenja ili vrijeme promjena, odaberite zadani broj na grafikonu ili rasporedu i unesite novu vrijednost.
- Pritisnite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje promjena.

Dodavanje ili uklanjanje koraka za Plate Read (Očitavanje pločice)

Savjet: nakon što koraku dodate naredbu za očitavanje pločice, gumb se mijenja u Remove Plate Read (Ukloni očitavanje pločice) kad odaberete korak.

Za dodavanje očitavanja pločice koraku

1. Na alatnoj traci na padajućem popisu odaberite Before (Prije) ili After (Naknadno) u padajućem popisu Insert Step (Umetni korak).
2. Na grafikonu odaberite korak prije ili nakon kojeg planirate umetnuti novo očitavanje pločice.
3. U lijevom oknu pritisnite Add Plate Read to Step (Dodaj očitavanje pločice u korak) da biste dodali očitavanje pločice u odabrani korak.
4. Pritisnite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje promjena.

Za uklanjanje očitavanja pločice iz koraka

- ▶ Na grafikonu odaberite korak koji sadržava očitavanje pločice i pritisnite Remove Plate Read (Ukloni očitavanje pločice) u lijevom oknu.

Promjena koraka Options (Opcije)

Za promjenu koraka Options (Opcije) za poseban korak

1. Odaberite željeni korak na grafikonu ili oknu.
2. U lijevom oknu pritisnite Step Options (Opcije koraka) da biste otvorili dijaloški okvir Step Options (Opcije koraka).

Umjesto toga, pritisnite desnom tipkom miša željeni korak u bilo kojem oknu i odaberite Step Options (Opcije koraka) u izborniku koji se pojavi.
3. Da biste dodali, izmijenili ili uklonili opcije:
 - Unesite vrijednost u odgovarajući tekstni okvir.
 - Uredite vrijednost u određenom tekstnom okviru.
 - Označite ili poništite potvrđni okvir.
4. Pritisnite OK (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir Step Options (Opcije koraka).
5. Pritisnite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje protokola.

Brisanje koraka

Važno: Ovu funkciju ne možete poništiti. Budite pažljivi prilikom brisanja koraka.

Za brisanje koraka u protokolu

1. Odaberite korak na grafikonu ili oknu rasporeda.
2. U lijevom oknu pritisnite Delete Step (Izbriši korak) da biste izbrisali odabrani korak.
3. Pritisnite OK (U redu), a zatim Yes (Da) za spremanje protokola.

Kopiranje, izvoz ili ispis protokola

Za kopiranje protokola

- ▶ Desnom tipkom miša pritisnite raspored protokola i odaberite Copy Protocol (Kopiraj protokol).
Raspored možete zalijepiti u datoteku .txt, .xls, .doc ili .ppt.

Za izvoz protokola

1. Desnom tipkom miša pritisnite raspored protokola i odaberite Export Protocol (Izvezi protokol).
Pojavit će se dijaloški okvir Save As (Spremi kao):
2. (Opcionalno) U pregledniku Windows Explorer dođite do mape u koju ćete spremiti datoteku protokola.
3. Pod File name (Naziv datoteke) upišite naziv izvezene datoteke protokola.
4. Pritisnite Save (Spremi).

Za ispis protokola

- ▶ Desnom tipkom miša pritisnite raspored protokola i odaberite Print Protocol (Ispiši protokol).
Raspored protokola možete ispisati na zadani pisač.

Postavljanje protokola programom Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola)

Važno: Tvrtka Bio-Rad ne jamči da će pokretanje protokola stvorenog programom Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola) uvijek rezultirati PCR proizvodom.

Program Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola) od CFX Maestro Dx SE automatski generira protokole ciklusa na temelju sljedećih ulaznih parametara:

- **Amplicon length (Duljina produkta umnažanja)** – očekivana duljina PCR proizvoda
- **Annealing temperature (Temperatura komplementarnog sparivanja)** – reakcija T_a za primjenjene početnice

Ako je T_a nepoznat, pomoću kalkulatora T_a Calculator možete ga automatski izračunati na temelju vaših sekvenci početnica.

Napomena: T_a se prilagođava na temelju podataka o temperaturi taljenja početnice (T_m) koji se temelje na odabranom enzimu i brzini protokola.

- **Enzyme type (Vrsta enzima)** – enzim DNK polimeraze (iTaq, iProof DNA polymerase (iProof DNK polimeraza) ili Other (Ostale))

Ako upotrebljavate enzim koji nije iTaq ili iProof DNA polymerase (iProof DNK polimeraza), možete unijeti dodatne informacije, uključujući raspon gradijenta, vrijeme aktivacije vrućeg pokretanja (u sekundama) i konačno vrijeme produženja (u sekundama).

- **Run speed** — brzina reakcije (standardna, brza, ultrabrza)

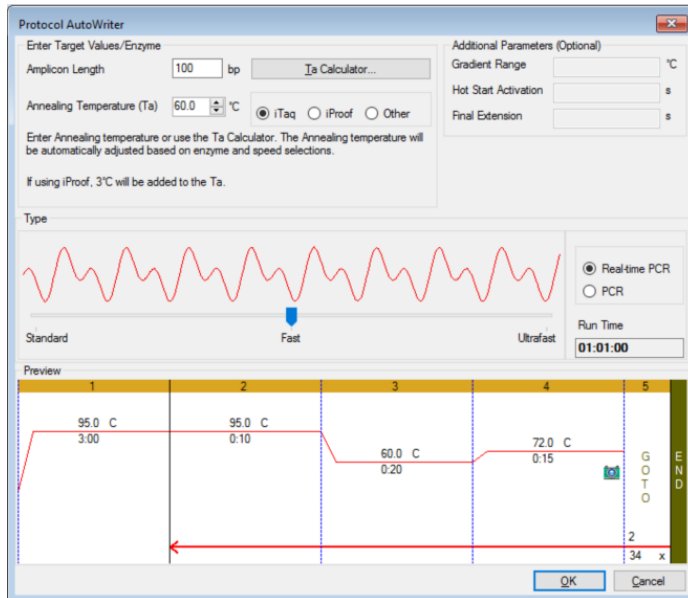
program Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola) optimizira protokol ovisno o odabranoj postavci brzine. Ukupno vrijeme izvođenja određeno je brojem koraka i ciklusa, vremenom inkubacije u svakom koraku i vremenom potrebnim za postizanje ujednačenosti na ciljanoj temperaturi.

Upotrebom parametara koje unesete i standardnih smjernica za PCR, program Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola) automatski generira prilagođeni PCR protokol s vrućim pokretanjem, početnim denaturiranjem, komplementarnim sparivanjem i produljenjem koraka. Zatim možete pregledati grafički prikaz predloženog protokola i urediti, pokrenuti ili spremiti protokol.

Za postavljanje novog protokola pomoću programa Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola) od CFX Maestro Dx SE

1. U početnom prozoru odaberite Tools (Alati) > Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola).

Pojavljuje se dijaloški okvir Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola).



2. U odjeljku Enter Target Values/Enzyme (Unesi ciljane vrijednosti/enzim) učinite sljedeće:

- Unesite temperaturu komplementarnog sparivanja (T_a) za početnice ako je poznata.

Savjet: za više informacija pogledajte [Upotreba kalkulatora Ta Calculator na stranici 117](#).

Napomena: Informacije o izračunima upotrijebljenima u kalkulatoru T_a Calculator potražite u Breslauer et al. 1986.

- Unesite duljinu produkta umnažanja u bazne parove (bp).
- Odaberite vrstu enzima s popisa opcija (iTaq, iProof DNA polymerase (iProof DNK polimeraza) ili Other (Ostale)).

Savjet: ako kao vrstu enzima odaberete Other (Ostalo), parametri u odjeljku Additional Parameters (Optional) (Dodatni parametri (opcionalno)) postaju aktivni.

3. Ako ste za vrstu enzima odabrali Other (Ostalo), u protokol možete dodati bilo koji ili sve sljedeće parametre:
 - raspon gradijenta
 - temperatura aktivacije vrućeg starta
 - konačno vrijeme produženja.
4. U odjeljku Type (Vrsta) pomaknite kliznu traku da biste odabrali brzinu protokola (Standard (Standardno), Fast (Brzo) ili Ultrafast (Ultrabrzo)). CFX Maestro Dx SE podešava ukupno vrijeme izvođenja.
5. Odaberite vrstu PCR-a koji želite izvršiti (zadani je PCR u stvarnom vremenu).
Uz PCR u stvarnom vremenu CFX Maestro Dx SE dodaje korak očitavanja pločice za prikupljanje podataka o fluorescenciji.
6. U odjeljku Preview (Pregled) pregledajte protokol. Promjene možete uvrstiti po potrebi.
7. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Pritisnite OK (U redu) da biste spremili novi protokol. Nakon spremanja, protokol se otvara u čarobnjaku Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje). Pritisnite Edit Selected (Uredi izabrano) da biste unijeli bilo kakve promjene u protokol. Na primjer, možda ćete trebati promijeniti temperaturu poklopca i volumen uzorka.
 - Pritisnite Cancel (Odustani) da biste zatvorili prozor bez spremanja protokola.

Upotreba kalkulatora T_a Calculator

Kada je temperatura komplementarnog sparivanja početnice nepoznata, za izračunavanje vrijednosti možete upotrijebiti kalkulator T_a Calculator. Za izradu protokola možete upotrijebiti vrijednost u programu Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola) ili Protocol Editor (Uređivač protokola).

Informacije o kalkulatoru T_a Calculator

Kalkulator T_a Calculator izračunava vrijednost T_m za svaku temeljnu početnicu, kao i vrijednost T_a za protokol pri standardnoj brzini.

T_a za protokol temelji se na prosječnim vrijednostima T_m početnice s primjenom sljedećih pravila:

- Ako je razlika između vrijednosti početnice $T_m > 4$ °C, $T_a = (\text{niža od vrijednosti dviju početnica } T_m + 2) - 4$ °C.
- Ako je razlika između vrijednosti $T_m \leq 4$ °C, $T_a = (\text{prosjeck vrijednosti početnice } T_m) - 4$ °C

Metoda brojanja baznog para

Za svaku početnicu kalkulator T_a Calculator upotrebljava metodu brojanja baznih parova za sekvence od 14 parova baza (bp) ili manje.

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

gdje su w, x, y i z brojevi baza A, T, G i C u nizu.

Metoda najbližeg susjeda

Za sekvence dulje od 14 bp koristi se metoda najbližeg susjeda. U metodi najbližeg susjeda izračuni temperature taljenja temelje se na termodinamičkom odnosu između entropije (redosljed ili mjera nasumičnosti oligonukleotida), entalpije (topline koju oligonukleotid oslobađa ili apsorbira), slobodne energije i temperature.

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

gdje je:

- ΔH = vrijednost entalpije, Cal/Mole*K
- T = temperatura, Kelvin
- ΔS = vrijednost entropije, Cal/Mole*K
- ΔG = Gibbsova slobodna energija u Cal/Mole*K

Promjena entropije i entalpije izravno se izračunava zbrajanjem vrijednosti za nukleotidne parove prikazane u [Tablica 8](#) (Breslauer et al. 1986.).

Odnos između slobodne energije i koncentracije reaktanata i proizvoda u ravnoteži daje:

$$\Delta G = R * T * \ln ((DNK * početnica) / (DNK + početnica))$$

gdje je R plinska konstanta (1,986 Cal/Mole*K).

Zamjenom G u dvije jednadžbe i rješenjem za T dobivamo

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

pod pretpostavkom da su koncentracija DNK i DNK-početnica kompleksa jednake.

Empirijski je utvrđeno da postoji promjena od 5 kcal slobodne energije (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996.) tijekom prijelaza iz jednolančane DNK u DNK B-oblika. Ovo je vjerojatno energija inicijacije zavojnice. Napokon, dodavanjem prilagodbe za sol dobiva se jednadžba koju kalkulator T_a Calculator upotrebljava:

$$T = (\Delta H - 5(KCal/K * Mole)) / (\Delta S + (R * \ln(1 / (početnica)))) + 16.6 \log_{10} (\text{molarnost soli})$$

Nije potrebna konstantna prilagodba koncentracije soli jer su različiti parametri određeni pri 1 M NaCl i \log_{10} od 1 je nula.

Termodinamički izračuni pretpostavljaju da se komplementarno sparivanje događa pri pH 7,0. Izračuni T_m pretpostavljaju da nizovi nisu simetrični i sadrže barem jedan G ili C.

Slijed oligonukleotida trebao bi biti dug najmanje 14 baza da bi se dobio prihvatljiv T_m . Manje od 14 baza koristi metodu brojanja baznih parova (pogledajte [Tablica 8](#) u nastavku).

Tablica 8. Breslauerove konstante interakcije

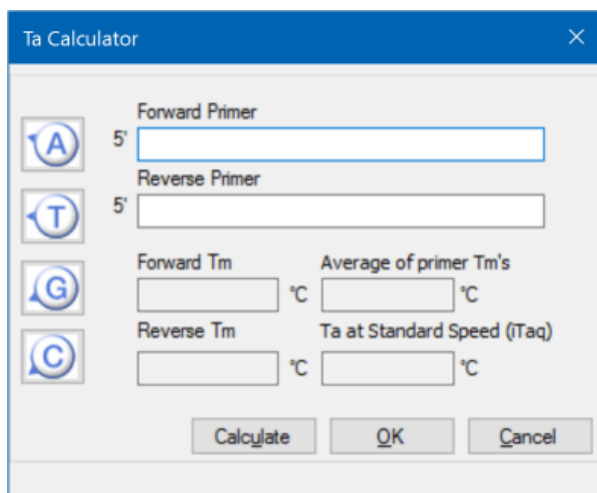
Interakcija		ΔH	ΔS	ΔG
AA	TT	9,1	24	1,5
AT	TA	8,6	23,9	1,5
AC	TG	6,5	17,3	1,3
AG	TC	7,8	20,8	1,6
TA	AT	6	16,9	0,9
TT	AA	9,1	24	1,9
TC	AG	5,6	13,5	1,6
TG	AC	5,8	12,9	1,9
CA	GT	5,8	12,9	1,9
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3
GC	CG	11,1	26,7	3,1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

Upotreba kalkulatora T_a Calculator

Za upotrebu kalkulatora T_a Calculator

1. Da biste otvorili kalkulator T_a Calculator, učinite jedno od sljedećeg:
 - Ako ste trenutno u programu Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola), pritisnite T_a Calculator.
 - U prozoru Home (Početno) odaberite Tools (Alati) > T_a Calculator.

Pojavit će se dijaloški okvir kalkulatora T_a Calculator.



2. U tekstni okvir Forward Primer (Uzvodna početnica) upišite ili zalijepite slijed uzvodne početnice.
Savjet: za unos niza možete upotrijebiti i gumbе A, T, G, C s lijeve strane dijaloškog okvira.
3. Utipkajte ili zalijepite slijed nizvodne početnice u dijaloški okvir Reverse Primer (Nizvodna početnica).
4. Pritisnite Calculate (Izračunaj).

Kalkulator T_a Calculator izračunava i prikazuje T_m svake početnice i prosječne vrijednosti T_m i T_a, na primjer:

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

ako je razlika između vrijednosti T_m početnice veća od 4 °C, program Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola) upotrebljava donju vrijednost T_m početnice +2 °C kao osnovu za izračunavanje vrijednosti T_a, što možete dalje mijenjati promjenom enzima i brzine reakcije.

Kalkulator T_a Calculator generira temperaturu komplementarnog sparivanja za standardnu brzinu pomoću iTaq DNA polimeraze. Kada upotrebljavate drugi enzim, postavke brzine automatski podešavaju T_a Calculator.

5. Učinite jedno od sljedećeg:

- Ako ste otvorili T_a Calculator iz programa Protocol AutoWriter (Automatski upisivač protokola), pritisnite OK (U redu). Vratit ćete se na program Protocol AutoWriter (Automatski upisivač Protokola). Temperatura komplementarnog sparivanja mijenja se automatski.
- Ako ste otvorili kalkulator T_a Calculator u izborniku Tools (Alati), snimite izračune i pritisnite Cancel (Odustani) da biste zatvorili kalkulator.

Poglavlje 8 Priprema pločica

Datoteka pločice sadržava informacije o parametrima izvođenja kao što su način skeniranja, fluorofori i sadržaj jažice. Nakon izvođenja Softver CFX Maestro Dx, Security Edition povezuje sadržaj jažice s podacima o fluorescenciji prikupljenima tijekom izvođenja i primjenjuje odgovarajuću analizu u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Na primjer, jažice s umetnutom standardnom vrstom uzorka koriste se za generiranje standardne krivulje.

CFX Maestro Dx SE pruža dvije opcije za stvaranje pločica: pokreće se Plate Editor (Uređivač pločice) za PCR u stvarnom vremenu i Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) za normaliziranu analizu genske ekspresije.

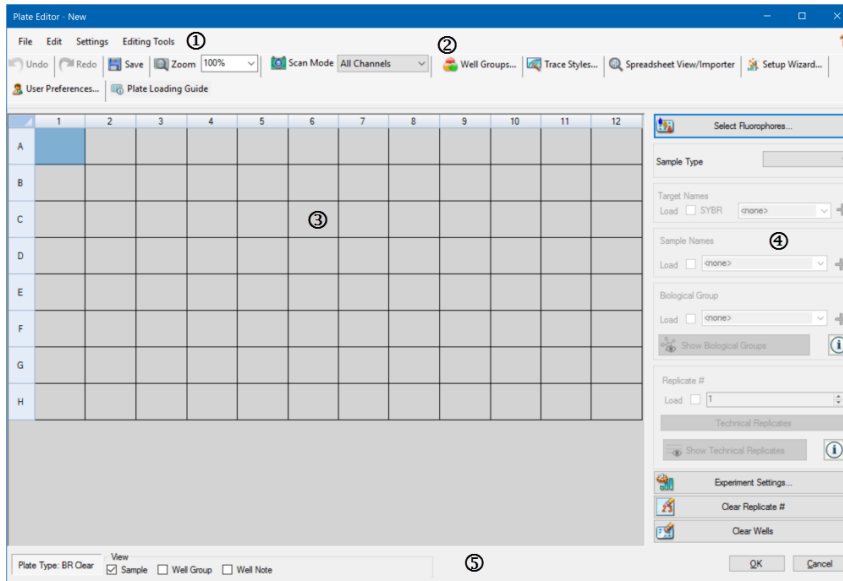
Plate Editor (Uređivač pločice) uključuje sljedeće značajke:

- standardni fluorofori i vrste uzoraka koji se dodjeljuju u pločaste jažice
- sposobnost postavljanja referentnog cilja i kontrolnog uzorka za analizu genske ekspresije
- sposobnost uređivanja postavki pločice prije, tijekom ili nakon izvođenja
- sposobnost spremanja datoteka pločica za ponovnu upotrebu
- sposobnost ispisa datoteke pločica na zadani pisač.

Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) vodi vas kroz izradu rasporeda pločice za normaliziranu analizu genske ekspresije. Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) možete upotrijebiti prije, tijekom ili nakon izvođenja.

Prozor Plate Editor (Uređivač pločice)

Plate Editor (Uređivač pločice) upotrijebite za izradu prilagođenih pločica ili izmjenu postojećih pločica.



LEGENDA

1. Traka izbornika omogućuje brzi pristup naredbama izbornika File (Datoteka) i Settings (Postavke), kao i opcijama alata za uređivanje pločica.
2. Alatna traka omogućuje brzi pristup važnim funkcijama umetanja pločica.
3. Glavno okno prikazuje raspored pločice i opcije pločice dok ih primjenjujete.
4. Desno okno prikazuje opcije koje se koristite za prilagodbu pločice.
5. Donje okno prikazuje vrstu pločice i pruža brzi pristup opcijama prikaza.

Naredbe izbornika File (Datoteka)

Save (Spremi) – sprema datoteku podataka pločice na mjesto navedeno na kartici File (Datoteka) u dijaloškom okviru User Preference (Korisničke postavke). Pogledajte [Promjena zadanih postavki datoteka na stranici 83](#) za više informacija. Ova je stavka izbornika dostupna samo prilikom izrade nove datoteke pločice.

Save As (Spremi kao) – sprema datoteku podataka otvorene pločice pod novim nazivom koje ste unijeli. Ova je stavka izbornika dostupna samo prilikom izrade nove datoteke pločice.

Lozinke datoteke (File Passwords) – omogućuje korisnicima postavljanje lozinki za spremanje datoteka i otvaranje datoteka.

Extract Plate (Izdvajanje pločice) – otvara dijaloški okvir u kojem možete izdvojiti/spremiti datoteku pločice (.pltd). Ova je stavka izbornika dostupna samo kada pregledavate ili uređujete postojeću datoteku pločice.

Print (Ispis) – ispisuje datoteku podataka otvorene pločice.

Close (Zatvori) – zatvara program Plate Editor (Uređivač pločice).

Naredbe izbornika Edit (Uredi)

Undo (Poništi) – poništava promjenu na datoteci pločice sve dok se datoteka pločice ne spremi.

Redo (Ponovi) – poništava najnoviju radnju Undo (Poništi) sve dok se datoteka pločice ne spremi.

Naredbe izbornika Settings (Postavke)

Plate Size (Veličina pločice) – otvara dijaloški okvir iz kojeg možete odabrati veličinu pločice za izvođenje.

Napomena: Veličina pločice mora biti jednaka veličini bloka na uređaju na kojem se obavlja izvođenje.

Izaberite 96-well (96 jažica) za:

- CFX Opus 96 Dx
- CFX Opus Deepwell Dx

Izaberite 384-well (384 jažica) za:

- CFX Opus 384Dx

Plate Type (Tip pločice) – omogućuje vam odabir vrste jažica na pločici u kojoj se nalaze vaši uzorci, bilo BR White ili BR Clear. Za točnu analizu podataka odabrana vrsta pločice mora biti jednaka vrsti pločice upotrebljavanoj u izvođenju.

Napomena: morate kalibrirati nove vrste pločica. Za više informacija pogledajte [Kalibriranje novih boja na stranici 75](#).

Number Convention (Konvencija brojeva) – omogućuje vam odabir ili poništavanje mogućnosti prikazivanja jedinica u znanstvenom zapisu. Zadano je prikazivanje jedinica u znanstvenom zapisu.

Units (Jedinice) – omogućuje vam odabir jedinica koje će se prikazivati u proračunskim tablicama prilikom izvođenja kvantifikacije nepoznanica u odnosu na standardnu krivulju.

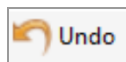
Naredbe izbornika Editing Tools (Alati za uređivanje)

Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) –otvara Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) u kojem možete definirati raspored i parametre analize za trenutnu pločicu. Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) možete upotrijebiti prije, tijekom ili nakon završetka izvođenja.

Spreadsheet View/Importer (Prikaz proračunske tablice / uvoznik) – otvara dijaloški okvir View (Prikaz) koji prikazuje raspored pločica kao predložak u obliku proračunske tablice. Ovaj dijaloški okvir možete upotrijebiti za izvoz ili uvoz podataka predloška pločice u .csv formatu.

– preokretanje sadržaja pločice za 180°.

Naredbe na alatnoj traci



Undo

Vraća promjenu na pločicu. CFX Maestro Dx SE podržava do deset akcija poništavanja.



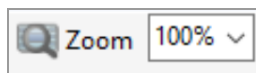
Redo

Poništava najnoviju radnju Undo (Poništi). CFX Maestro Dx SE podržava do deset radnji ponavljanja.



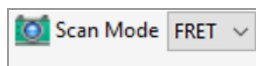
Save

Sprema trenutnu datoteku pločice.



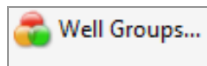
Zoom 100% ▾

Prikazuje padajući popis s kojeg možete povećati ili smanjiti povećanje prikaza pločice.



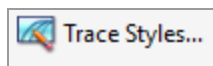
Scan Mode FRET ▾

Prikazuje padajući popis na kojem možete odabrati način skeniranja koji upućuje uređaj s kojih će kanala prikupljati podatke o fluorescenciji tijekom izvođenja.



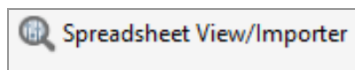
Well Groups...

Otvora Well Groups Manager (Upravitelj skupina jažica) pomoću kojeg možete stvoriti skupine jažica za trenutnu pločicu.



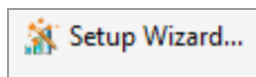
Trace Styles...

Prikazuje dijaloški okvir u kojem možete odabrati boje i simbole za tragove pojačanja.



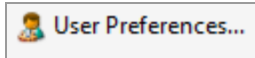
Spreadsheet View/Importer

Otvora dijaloški okvir View (Prikaz) koji prikazuje raspored pločice kao predložak u obliku proračunske tablice. Ovaj dijaloški okvir možete upotrijebiti za izvoz ili uvoz podataka predloška pločice u .csv formatu.

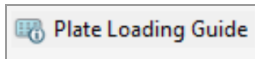


Setup Wizard...

Otvora Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) u kojem možete definirati raspored i parametre analize za trenutnu pločicu. Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) možete upotrijebiti prije, tijekom ili nakon izvođenja.



Otvora karticu Plate (Pločica) u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke), u kojoj možete definirati parametre rasporeda pločice i stvoriti ili izbrisati nazive ciljeva, uzoraka i bioloških skupina. Promjene koje napravite na kartici Plate (Pločica) dostupne su pri sljedećem otvaranju Plate Editor (Uređivač pločice).



Prikazuje potrebne korake za postavljanje pločice i umetanje jažica.

Stvaranje datoteke pločice prozorom Plate Editor (Uređivač pločice)

S pomoću Plate Editor (Uređivač pločice) možete stvoriti prilagođene datoteke pločica. Također možete uređivati i spremati prethodno spremljene datoteke pločica ili datoteke pločica s uzorcima isporučene uz Sustav CFX Opus Dx.

Da biste stvorili novu datoteku pločice, učinite nešto od sljedećeg:

- Otvorite datoteku pločice u programu Plate Editor (Uređivač pločice).

- Odaberite vrstu pločice.

Napomena: vrsta pločice za datoteku pločice mora biti jednaka pločici u reakcijskom modulu.

- Odaberite način skeniranja koji ćete upotrijebiti u protokolu.

- Odaberite fluorofore koje ćete upotrijebiti na pločici.

- Odaberite vrstu uzorka, ciljeve i uzorke.

- Odaberite tehničke replikate, ako je to prikladno.

- Spremite raspored pločice.

Savjet: Da biste stvorili novu pločicu od prethodno spremljenih ili datoteka pločica s uzorkom, pogledajte [Otvaranje postojeće datoteke pločice u prozoru Plate Editor \(Uređivač pločice\)](#) na stranici 130.

Otvaranje nove datoteke pločice u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice)

CFX Maestro Dx SE nudi više mogućnosti za otvaranje nove datoteke pločice:

- iz prozora Home (Početno)
- iz dijaloškog okvira Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje)
- iz dijaloškog okvira Run Setup (Postavljanje izvođenja).

Za otvaranje nove datoteke pločice iz prozora Home (Početno)

- ▶ Odaberite File (Datoteka) > New (Nova) > Plate (Pločica).

Otvora se prozor Plate Editor (Uređivač pločice) koji prikazuje zadanu datoteku pločice za odabrani uređaj.

Savjet: Za informacije o postavljanju zadane datoteke pločice pogledajte [Promjena zadanih postavki datoteka na stranici 83](#).

Za otvaranje nove datoteke pločice iz programa Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje)

1. U prozoru Home (Početno) učinite jedno od sljedećeg da biste otvorili program Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje):

- Odaberite View (Pogled) > Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje).
- Pritisnite Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) na alatnoj traci.

2. Ako je potrebno, na padajućem popisu odaberite vrstu uređaja.
3. Da biste stvorili novu pločicu, pritisnite User-defined run (Korisnički definirano izvođenje) kao tip izvođenja.

Otvara se dijaloški okvir Run Setup (Postavljanje izvođenja) koji prikazuje karticu Protocol (Protokol).

4. Na kartici Plate (Pločica) pritisnite Create New (Izradi novo).

Otvara se prozor Plate Editor (Uređivač pločice) koji prikazuje zadani raspored pločice za odabrani uređaj.

Za otvaranje nove datoteke pločice iz dijaloškog okvira Run Setup (Postavljanje izvođenja)

1. U prozoru Home (Početno) učinite jedno od sljedećeg da biste otvorili dijaloški okvir Run Setup (Postavljanje izvođenja):

- Odaberite Run (Izvođenje) > User-defined Run (Korisnički definirano izvođenje)
- Pritisnite User-defined Run Setup (Postavljanje korisnički definiranog izvođenja) na alatnoj traci.

Dijaloški okvir Run Setup (Postavljanje izvođenja) otvara se na kartici Protocol (Protokol).

2. Da biste stvorili novu pločicu, pritisnite karticu Plate (Pločica) i zatim pritisnite Create New (Izradi novu).

Otvara se prozor Plate Editor (Uređivač pločice) koji prikazuje zadani raspored pločice za odabrani uređaj.

Otvaranje postojeće datoteke pločice u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice)

CFX Maestro Dx SE pruža datoteke uzorka pločice koje možete uređivati i spremati kao nove pločice. Također možete stvoriti novu datoteku pločice iz prethodno spremljene datoteke pločice.

Za otvaranje datoteke pločice s uzorkom

1. U prozoru Home (Početno) odaberite File (Datoteka) > Open (Otvori) > Plate (Pločica).
Windows Explorer otvara lokaciju mape datoteka Sample (Uzorak) za Sustav CFX Opus Dx.
2. Otvorite mapu datoteka Sample (Uzorak), a zatim otvorite mapu Plates (Pločice).
3. Odaberite datoteku pločice i pritisnite Open (Otvori).
Datoteka pločice s uzorkom otvara se u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice).
4. Odaberite File (Datoteka) > Save As (Spremi kao) da biste datoteku pločice spremili pod novim nazivom ili u novu mapu.

Za otvaranje prethodno spremljene datoteke pločice

1. U prozoru Home (Početno) učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite File (Datoteka) > Open (Otvori) > Plate (Pločica) i dođite do ciljne datoteke i odaberite je te pritisnite Open (Otvori).
 - Otvorite program Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) i učinite jedno od sljedećeg:
 - Da biste uredili postojeću datoteku pločice, pritisnite Select Existing (Odaberi postojeću) i dođite do ciljne datoteke.
 - Da biste uredili prikazanu datoteku pločice, pritisnite Edit Selected (Uredi odabrano).Ciljna pločica otvara se u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice).
2. Odaberite File (Datoteka) > Save As (Spremi kao) da biste datoteku pločice spremili pod novim nazivom ili u novu mapu.

Postavljanje nove datoteke pločice

Savjet: ako vaša datoteka pločice sadržava potrebne parametre (na primjer, ako uređujete postojeći uzorak ili postojeću datoteku pločice), možete preskočiti ovaj odjeljak. Pređite na [Dodjeljivanje opcionalnih parametara datoteci pločice na stranici 138](#).

Nove datoteke pločice zahtijevaju sljedeće parametre:

- Plate Size (Veličina pločice)
- Plate Type (Vrsta pločice)
- Scan mode (Način skeniranja)
- Jedan fluorofor (boja)
- Jedna vrsta uzorka

Odabir veličine i vrste pločice

Važno: Tijekom postavljanja pločice morate odabrati veličinu pločice. Ne možete promijeniti veličinu pločice tijekom ili nakon izvođenja.

Softver primjenjuje veličinu i vrstu pločice na sve jažice tijekom izvođenja. Pazite da je odabrana veličina pločice jednaka pločici koju ćete upotrijebiti u izvođenju.

Sustavi društva Bio-Rad CFX Opus Dx tvornički su kalibrirani za mnogobrojne kombinacije fluorescentnih boja i pločica. Kalibracija ovisi o tipu instrumenta, boji i vrsti pločice. Provjerite je li fluorofor koji planirate upotrijebiti kalibriran za odabranu vrstu pločice.

Savjet: da biste kalibrirali novu kombinaciju boje i pločice na uređaju, odaberite Tools (Alati) > Dye Calibration Wizard (Čarobnjak za kalibraciju boje). Za informacije o kalibraciji boja i vrstama pločica pogledajte [Kalibriranje novih boja na stranici 75](#).

Odabir načina Scan Mode (Način skeniranja)

Sustavi CFX Opus 96 Dx i CFX Opus Deepwell Dx pobuđuju i otkrivaju fluorofore u pet kanala (plus FRET). Sustav CFX Opus 384 Dx pobuđuje i otkriva fluorofore u četiri kanala (plus FRET). Svi sustavi upotrebljavaju više načina skeniranja prikupljanja podataka za prikupljanje podataka o fluorescenciji tijekom izvođenja.

CFX Maestro Dx SE pruža tri načina skeniranja:

- All Channels (Svi kanali)
 - Skenira kanale od 1 do 5 na sustavima CFX Opus 96 Dx i CFX Opus Deepwell Dx
 - Skenira kanale od 1 do 4 na sustavima CFX Opus 384 Dx.

- SYBR®/FAM
 - Skenira samo kanal 1.
 - Omogućuje brzo skeniranje.
- FRET
 - Skenira samo FRET kanal.
 - Omogućuje brzo skeniranje.

Odabir fluorofora

Važno: prije početka izvođenja sustavi CFX provjeravaju jesu li fluorofori koje ste naveli na pločici kalibrirani na tom uređaju. Ne možete provesti izvođenje pločice ako sadržava fluorofore koji nisu kalibrirani na tom uređaju.

Prije izvođenja na pločicu morate umetnuti najmanje jedan fluorofor. Tada možete dodati onoliko fluorofora koliko je potrebno, ali pločica mora sadržavati barem jedan fluorofor. Odabrani fluorofori pojavljuju se kao opcije za ciljeve u Target Names (Nazivi ciljeva).

Dijaloški okvir Select Fluorophores (Odaberi fluorofore) upotrebljavate za učitavanje fluorofora (ili bojila za pločice) u kontrole za umetanje jažica u programu Plate Editor (Uređivač pločice). Fluorofori koji se pojavljuju u dijaloškom okviru Select Fluorophores (Odaberi fluorofore) ovise o odabranom načinu skeniranja:

- All Channels (Svi kanali)

Pojavljaju se svi dostupni fluorofori.

Savjet: možete dodati onoliko fluorofora koliko je potrebno, ali možete umetnuti samo jedan fluorofor po kanalu u svaku jažicu.

- SYBR®/FAM

Pojavljaju se samo fluorofori kanala 1.

- FRET

Pojavljuje se samo fluorofor kanala 6.

Savjet: fluorofor kanala 6 pojavljuje se samo kada je FRET odabran način skeniranja. Nije dostupan za način skeniranja All Channels (Svi kanali).

Napomena: ne možete izravno dodati fluorofore ili ih ukloniti iz dijaloškog okvira Select Fluorophore (Odaberi fluorofore) Morate kalibrirati nove fluorofore na uređaju pomoću čarobnjaka Dye Calibration Wizard (Čarobnjak za kalibraciju boje). Nakon kalibracije, novi fluorofor automatski se dodaje na ovaj popis. Za više informacija pogledajte [Kalibriranje novih boja na stranici 75](#).

Odabir vrsta uzoraka

Važno: Morate odabrati barem jednu vrstu uzorka koju ćete dodijeliti jažicama s pločicama prije izvođenja.

CFX Maestro Dx SE nudi pet vrsta uzoraka:

- Unknown (Nepoznato)
- Standard
- NTC (no template control) (NTC (bez kontrole predloška))
- Positive Control (Pozitivna kontrola)
- Negative Control (Negativna kontrola)
- NRT (no reverse transcriptase) (NRT (bez reverzne transkriptaze))

Vrste uzoraka dodjeljujete jažicama pločica.

Postavljanje nove pločice

Za postavljanje nove pločice

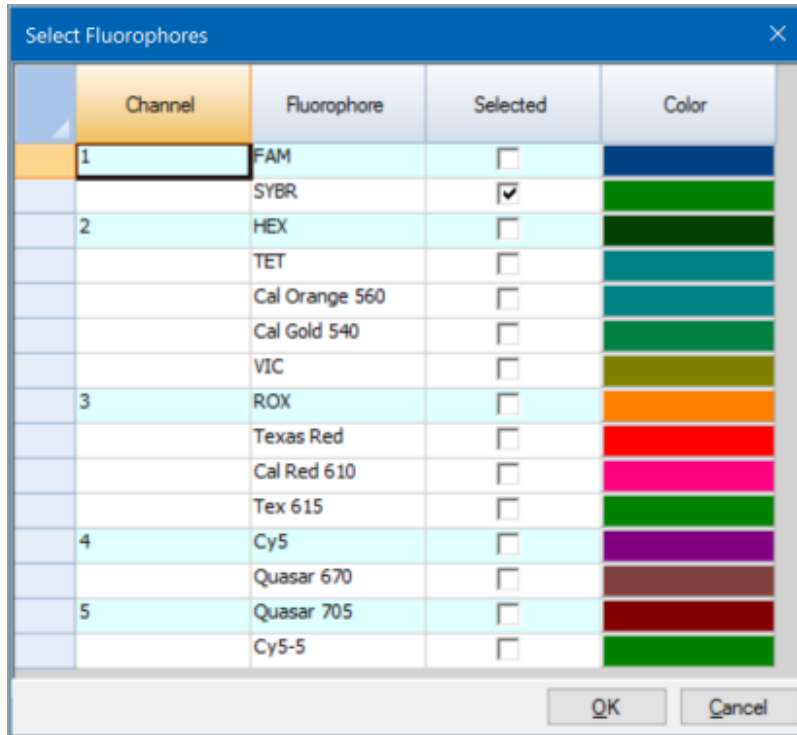
1. Otvorite novu pločicu u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice).
2. Da biste postavili veličinu pločice, odaberite Settings (Postavke) > Plate Size (Veličina pločice) i s padajućeg izbornika odaberite odgovarajuću veličinu pločice.
3. Da biste postavili vrstu pločice, odaberite Settings (Postavke) > Plate Type (Vrsta pločice) i odaberite BR White ili BR Clear s padajućeg izbornika.
4. Opcionalno, u izborniku Settings (Postavke) možete promijeniti konvenciju brojeva i jedinice prikaza:
 - Da biste promijenili konvenciju s brojevima, odaberite Settings (Postavke) > Number Convention (Konvencija brojeva) i odaberite Scientific Notation (Znanstveni zapis).

Savjet: Scientific Notation (Znanstveni zapis) odabran je prema zadanim postavkama. U ovom slučaju odabirom opcije Scientific Notation (Znanstveni zapis) briše se zadani okvir i postavlja konvencija brojeva na standardni oblik.
 - Da biste promijenili jedinice prikaza, odaberite Settings (Postavke) > Units (Jedinice) i odaberite novu vrijednost jedinice.
5. Da biste postavili način skeniranja, odaberite odgovarajući način skeniranja s padajućeg popisa Scan Mode (Način skeniranja) na alatnoj traci prozora Plate Editor (Uređivač pločice).

6. Odaberite potrebne fluorofore za ploču:

- a. U desnom oknu pritisnite Select Fluorophores (Odaberi fluorofore).

Pojavljuje se dijaloški okvir Select Fluorophores (Odaberi fluorofore). Vidite fluorofore dostupne za vrstu načina skeniranja koji ste odabrali u [Korak 5](#), na primjer:



- b. Da biste odabrali fluorofor, pritisnite njegov potvrdni okvir Selected (Odabrano).

Savjet: Da biste uklonili fluorofor sa popisa, poništite njegov potvrdni okvir Selected (Odabrano).

- c. Da biste promijenili boju prikaza fluorofora, pritisnite okvir Color (Boja).

Napomena: Boja koju ste odabrali predstavlja fluorofor u prozoru Plate Editor i grafikonima Data Analysis (Analiza podataka).

- d. U dijaloškom okviru Color (Boja) odaberite boju koju želite ili pritisnite Define Custom Color (Definiraj prilagođene boje) i stvorite novu boju koja će predstavljati fluorofor.

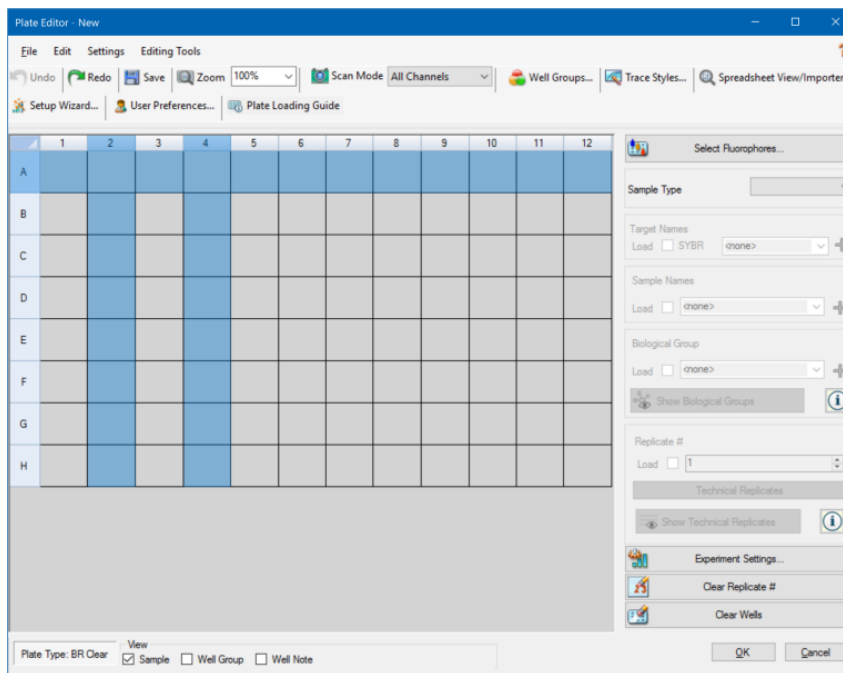
- e. Pritisnite OK (U redu) da biste spremili promjene i izašli iz dijaloškog okvira Select Fluorophores (Odaberi fluorofore).

7. Morate odabrati barem jednu jažicu u koju ćete umetnuti vrstu uzorka. Prema zadanim postavkama odabrana je jažica A1.

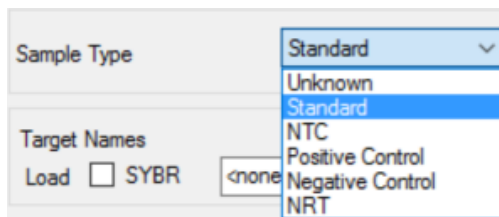
U oknu pločice učinite jedno od sljedećeg:

- Da biste umetnuli više susjednih jažica, pritisnite jažicu i povucite do ciljne jažice.
- Da biste umetnuli više susjednih jažica, držite tipku Control i pritisnite svaku jažicu.
- Da biste umetnuli cijeli stupac s istom vrstom uzorka, pritisnite broj stupca.
- Da biste umetnuli cijeli redak, pritisnite broj retka.
- Da biste umetnuli cijelu pločicu, pritisnite gornji lijevi kut pločice.

Na primjer:



8. Dodijelite vrstu uzorka odabranoj jažici ili jažicama s padajućeg izbornika Sample Type (Vrsta uzorka).

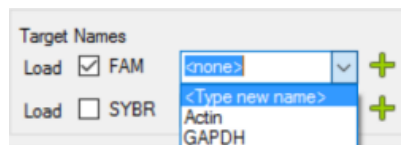


9. Dodijelite barem jedan fluorofor svim jažicama koje sadrže vrstu uzorka. U jažicu ili skupinu jažica možete dodijeliti više fluorofora.

Napomena: Po kanalu možete dodijeliti samo jedan fluorofor. Ne možete dodijeliti više fluorofora s istog kanala istoj jažici.

Savjet: Možete povezati cilj s fluoroforom ili trenutno možete dodijeliti samo fluorofor jažici i pridružiti cilj fluoroforu nakon izvođenja eksperimenta.

- Da biste odabranim jažicama dodijelili samo fluorofor, u odjeljku Target Names (Nazivi ciljeva) u desnom oknu potvrdite okvir Load (Umetni) za određeni fluorofor.
- Da biste cilj povezali s fluoroforom, u odjeljku Target Names (Nazivi ciljeva) odaberite naziv cilja s padajućeg popisa za određeni fluorofor. Softver automatski bira potvrdni okvir Load (Umetni).



10. Za jažice koje sadrže vrstu uzorka Standard (Standardni) morate unijeti koncentraciju. Svaka jažica može imati različitu koncentracijsku vrijednost. Prema zadanim postavkama, CFX Maestro Dx SE puni koncentraciju od 1,00E+06 u sve jažice s vrstom uzorka Standard (Standardni). Ako je potrebno, možete promijeniti vrijednost.

- U oknu pločice odaberite jažicu Standard (Standardna) ili skupinu jažica.
- U odjeljku Concentration (Koncentracija) pritisnite Load (Umetni) da biste učitali vrijednost u odabranu jažicu ili jažice.
- (Opcionalno) Da biste učitali drugu koncentraciju, upišite novu vrijednost u tekstualni okvir Concentration (Koncentracija) i pritisnite tipku Enter.
- Izvršite ovaj korak za sve jažice s uzorkom vrste Standard (Standardni).

Savjet: da biste učitali istu koncentraciju u sve jažice Standard (Standardne), pazite da se <All> (Svi) pojavi na padajućem popisu ispod vrijednosti koncentracije. Da biste učitali istu vrijednost koncentracije u sve jažice s određenim fluoroforom, pritisnite padajući popis i odaberite fluorofor.

11. Pritisnite OK (U redu) da biste spremili novu pločicu.

Stavke izbornika alata Plate Editor (Uređivač pločice) za pritisak desnom tipkom

Tablica 9 navedene su stavke izbornika dostupne u alatu Plate Editor (Uređivač pločice) kada pritisnete desnu tipku miša na bilo koju jažicu u alatu. Taj izbornik pojavljuje se i u alatu Spreadsheet View/Importer (Prikaz proračunske tablice / uvoznik).

Tablica 9. Stavke izbornika dobivene desnom tipkom miša za alat Spreadsheet View/Importer (Prikaz proračunske tablice / uvoznik)

Stavka	Funkcija
Copy (Kopiraj)	Kopira cijelu proračunsku tablicu.
Copy as Image (Kopiraj kao sliku)	Kopira proračunsku tablicu kao datoteku slike.
Print (Ispis)	Ispisuje proračunsku tablicu.
Print Selection (Ispis odabira)	Ispisuje samo odabrane ćelije.
Export to Excel (Izvoz u Excel)	Izvozi datoteku u Excel proračunsku tablicu.
Export to CSV (Izvoz u CSV)	Izvozi datoteku kao .csv datoteku.
Export to Xml (Izvoz u Xml)	Izvozi datoteku kao .xml datoteku.
Export to Html (Izvoz u HTML)	Izvozi datoteku kao .html datoteku.
Find (Pretraži)	Pretražuje određeni tekst.
Sort (Sortiraj)	Sortira proračunsku tablicu odabirom do tri stupca podataka u prozoru Sort (Sortiraj).

Dodjeljivanje opcionalnih parametara datoteci pločice

Datoteka pločice sadržava informacije o sadržaju svake jažice koja sadržava uzorak za izvođenje. Nakon izvođenja, CFX Maestro Dx SE povezuje sadržaje jažice s podacima o fluorescenciji prikupljenim tijekom protokola i primjenjuje odgovarajuću analizu u prozoru Data Analysis (Analiza podataka).

U softveru CFX Maestro Dx SE možete dodijeliti parametre svakoj jažici na pločici prije, tijekom ili čak nakon izvođenja eksperimenata. Parametre možete dodijeliti postojećoj datoteci pločice ili novoj datoteci pločice. Ti parametri uključuju:

- **Target Names (Nazivi ciljeva)** – cilj ili ciljevi od interesa (geni ili sekvence) u svakoj napunjenoj jažici.
- **Sample Names (Nazivi uzoraka)** – identifikator ili uvjet koji odgovara uzorku u svakoj napunjenoj jažici, kao što je miš1, miš2 ili miš3.
- **Biological groups (Biološke skupine)** – identifikator ili uvjet koji odgovara skupini jažica, poput 0Hr, 1Hr ili 2Hr.

Savjet: Nazivi ciljeva, nazivi uzoraka i biološke skupine moraju biti jednake između jažica za uspoređivanje podataka na kartici Gene Expression (Genska ekspresija) u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Svaki naziv mora sadržavati ista velika i mala slova, interpunkciju i razmak. Na primjer, „Aktin” nije isto što i „aktin”, „2Hr” nije isto što i „2 h”, a „Miš 1” nije isto što i „miš1”. Da biste osigurali dosljednost imenovanja, unesite ih u odjeljak Libraries (Knjižnice) pod User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) > Plate (Pločica), dostupno u prozoru Home (Početno).

- **Technical replicates (Tehnički replikati)** – svaka jažica koja se koristi za analizu iste kombinacije uzorka i cilja, odnosno replicirane qPCR reakcije.
- **Dilution series (Serija razrjeđivanja)** – količina za promjenu koncentracije standardne vrste uzorka unutar replicirane skupine za stvaranje podataka standardne krivulje za analizu.

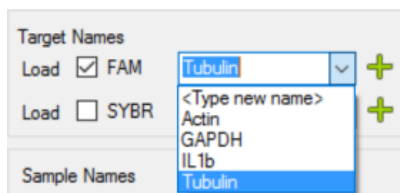
Dodjeljivanje ciljne vrijednosti jažicama

Savjet: Možete dodijeliti isti naziv cilja jednoj ili više jažica. Istoj jažici također možete dodijeliti više ciljeva.

Važno: pritiskom na OK (U redu) nakon što odredite cilj spremate promjene i onemogućujete Undo (Poništi) na alatnoj traci Plate Editor (Uređivač pločice). Budite pažljivi kada pritisnete OK (U redu).

Za dodjeljivanje cilja jažici ili skupini jažica

- U programu Plate Editor (Uređivač pločice) provjerite je li jažici ili skupini jažica dodijeljena vrsta uzorka.
Informacije o dodjeljivanju vrste uzoraka jažicama potražite pod [Odabir vrsta uzoraka na stranici 133](#).
- U oknu pločice odaberite jažicu ili skupinu jažica:
 - Da biste odabrali jednu jažicu, pritisnite jažicu.
 - Da biste odabrali više susjednih jažica, pritisnite jažicu i povucite do ciljne jažice.
 - Da biste odabrali više susjednih jažica, držite tipku Control i pritisnite svaku jažicu.
 - Da biste odabrali cijeli stupac s istom vrstom uzorka, pritisnite broj stupca.
 - Da biste odabrali cijeli redak, pritisnite broj retka.
- U desnom oknu odaberite naziv s padajućeg popisa Target Name (Naziv cilja) za svaki odabrani fluorofor.



- Ponovite [Korak 3](#) za svaku jažicu ili skupinu jažica kojima morate dodijeliti cilj.
Savjet: za svaki odabrani fluorofor možete dodijeliti isti ili različit naziv cilja.
- Pritisnite OK (U redu) da biste prihvatili promjene i spremili pločicu.

Napomena: Ako ste pločicu promijenili pogreškom, pritisnite Undo (Poništi) na alatnoj traci funkcije Plate Editor (Uređivač pločice) prije nego što kliknete OK (U redu) da biste prihvatili promjene.

Za uklanjanje naziva cilja

- Da biste uklonili naziv cilja iz odabrane jažice ili skupine jažica, poništite mu okvir Load (Umetni).
Važno: Uklanjanjem ciljanog naziva iz jažice uklanjate i pripadajući fluorofor. Budite pažljivi kada uklanjate naziv cilja iz jažice.

Za dodavanje naziva cilja na popis

- Da biste dodali naziv cilja na padajući popis, učinite jedno od sljedećeg:
 - Upišite naziv na padajući popis Target Name (Naziv cilja) i pritisnite tipku Enter.

Savjet: nazivi ciljeva koje dodate na jedan popis pojavljuju se na svim ostalim popisima ciljeva.

- Pritisnite zeleni simbol + s desne strane padajućeg popisa i upišite naziv cilja i pritisnite tipku Enter.
- Pritisnite User Preferences (Korisničke postavke) na alatnoj traci i dodajte naziv u knjižnicu Target Names (Naziv cilja) na kartici Plate (Pločica).

Važno: nazivi ciljeva koje dodate na padajući popis dostupni su samo za trenutnu pločicu i samo ako naziv dodijelite jažici i spremite raspored pločice. Ako ne dodijelite naziv jažici i ne spremite raspored pločice, naziv se ne sprema i nije dostupan za buduću upotrebu. Da biste trajno dodali naziv cilja, dodajte ga i u knjižnicu Target Names (Nazivi ciljeva) s pomoću dijaloškog okvira User Preferences (Korisničke postavke). Nazivi koje dodate u knjižnicu dostupni su nakon ponovnog otvaranja funkcije Plate Editor (Uređivač pločice). Pogledajte [Postavljanje zadanih parametara pločice na stranici 86](#) za više informacija.

Za brisanje naziva cilja s popisa

1. Pritisnite User Preferences (Korisničke postavke) na alatnoj traci.

Pojavljuje se dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke) koji prikazuje karticu Plate (pločica).

2. U knjižnici Target Names (Nazivi ciljeva) na kartici Plate (Pločica) odaberite naziv za brisanje i pritisnite tipku Delete (Izbriši).
3. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i izašli iz dijaloškog okvira User Preferences (Korisničke postavke).

Važno: Ne možete izbrisati nazive ciljeva koje ste spremili s datotekom s pločicama. Prilagođeni nazivi koje dodate na padajući popis Target Names (Nazivi ciljeva), a ne upotrebljavate i ne spremate s pločicom, automatski se uklanjaju s popisa. Nazivi koje izbrišete iz knjižnice Target Names (Nazivi ciljeva) trajno se uklanjaju iz softvera i više nisu dostupni korisnicima. Budite pažljivi prilikom brisanja naziva cilja.

Dodjeljivanje naziva uzorka jažicama

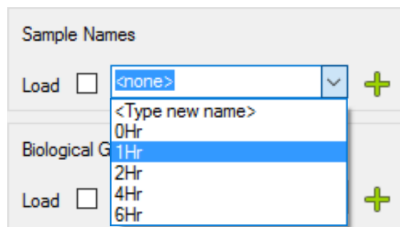
Napomena: Da biste dodijelili naziv uzorka, morate dodijeliti barem jedan fluorofor odabranim jažicama. Ako odabranim jažicama nije dodijeljen fluorofor, padajući popis Sample Names (Nazivi uzoraka) je onemogućen. Pogledajte [Dodjeljivanje ciljnih vrijednosti jažicama na stranici 138](#) za informacije o dodjeljivanju fluorofora.

Savjet: Svakoj jažici ili skupini jažica možete dodijeliti samo jedan naziv uzorka.

Dodjeljivanje naziva uzorka jažici ili skupini jažica

1. U funkciji Plate Editor (Uređivač pločice) provjerite je li jažici ili skupini jažica dodijeljen fluorofor.
2. U oknu pločice odaberite jažicu ili skupinu jažica.
3. U desnom oknu odaberite naziv s padajućeg popisa Sample Names (Nazivi uzoraka).

Softver automatski bira potvrdni okvir Load (Umetni).



4. Ponovite [Korak 3](#) za svaku jažicu ili skupinu jažica kojima morate dodijeliti naziv uzorka.
5. Pritisnite OK (U redu) da biste prihvatili promjene i spremili pločicu.

Napomena: Ako ste pločicu promijenili pogreškom, pritisnite Undo (Poništi) na alatnoj traci funkcije Plate Editor (Uređivač pločice) prije nego što kliknete OK (U redu) da biste prihvatili promjene.

Za uklanjanje naziva uzorka

- ▶ Da biste uklonili naziv uzorka iz odabrane jažice ili skupine jažica, poništite mu okvir Load (Umetni).

Za dodavanje naziva uzorka na popis

- ▶ Da biste dodali naziv uzorka na padajući popis, učinite jedno od sljedećeg:
 - Upišite naziv na padajući popis Sample Names (Naziv uzoraka) i pritisnite tipku Enter.
 - Pritisnite zeleni simbol + s desne strane padajućeg popisa i upišite naziv uzorka.
 - Pritisnite User Preferences (Korisničke postavke) na alatnoj traci i dodajte naziv u knjižnicu Sample Names (Nazivi uzoraka) na kartici Plate (Pločica).

Važno: nazivi uzoraka koje dodate na padajući popis dostupni su samo za trenutnu pločicu i samo ako naziv dodijelite jažici i spremite raspored pločice. Ako ne dodijelite naziv jažici i ne spremite raspored pločice, naziv se ne sprema i nije dostupan za buduću upotrebu. Da biste trajno dodali naziv uzorka, dodajte ga i u knjižnicu Sample Names (Nazivi uzoraka) s pomoću dijaloškog okvira User Preferences (Korisničke postavke). Nazivi koje dodate u knjižnicu dostupni su nakon ponovnog otvaranja funkcije Plate Editor (Uređivač pločice). Pogledajte [Postavljanje zadanih parametara pločice na stranici 86](#) za više informacija.

Za brisanje naziva uzoraka s popisa

1. Pritisnite User Preferences (Korisničke postavke) na alatnoj traci.
Pojavljuje se dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke) koji prikazuje karticu Plate (pločica).
2. U knjižnici Sample Names (Nazivi uzoraka) na kartici Plate (Pločica) odaberite naziv za brisanje i pritisnite tipku Delete (Izbriši).
3. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i izašli iz dijaloškog okvira User Preferences (Korisničke postavke).

Važno: ne možete izbrisati nazive uzoraka koje ste spremili s datotekom pločice. Prilagođeni nazivi koje dodate na padajući popis Sample Names (Nazivi uzoraka), a ne upotrebljavate i ne spremate s pločicom, automatski se uklanjaju s padajućeg popisa. Nazivi koje uklonite iz knjižnice Sample Names (Nazivi uzoraka) uklanjaju se iz softvera i više nisu dostupni korisnicima. Budite pažljivi prilikom brisanja naziva uzoraka.

Dodjeljivanje bioloških skupina jažicama

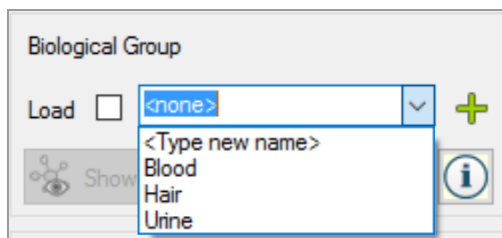
Napomena: Da biste dodijelili biološku skupinu, morate dodijeliti odabranim jažicama barem jedan fluorofor. Dodjela fluorofora omogućuje padajući popis Biological Groups (Biološke skupine). Pogledajte [Dodjeljivanje ciljne vrijednosti jažicama na stranici 138](#) za informacije o dodjeljivanju fluorofora.

Savjet: Možete dodijeliti po jednu biološku skupinu svakoj jažici ili skupini jažica.

Za dodjeljivanje biološke skupine jažici ili skupini jažica

1. U funkciji Plate Editor (Uređivač pločice) provjerite je li jažici ili skupini jažica dodijeljen fluorofor.
2. U oknu pločice odaberite jažicu ili skupinu jažica.
3. U desnom oknu odaberite ih s padajućeg popisa Biological Group (Biološka skupina) .

CFX Maestro Dx SE automatski odabire svoj potvrdni okvir za učitavanje.



4. Ponovite [Korak 3](#) za svaku jažicu ili skupinu jažica kojima morate dodijeliti biološku skupinu.

5. Pritisnite OK (U redu) da biste prihvatili promjene i spremili pločicu.

Napomena: Ako ste pločicu promijenili pogreškom, pritisnite Undo (Poništi) na alatnoj traci funkcije Plate Editor (Uređivač pločice) prije nego što kliknete OK (U redu) da biste prihvatili promjene.

Za uklanjanje biološke skupine

- ▶ Da biste uklonili biološku skupinu iz odabrane jažice ili skupine jažica, poništite njezin okvir Load (učitavanje).

Dodavanje biološke skupine na popis

- ▶ Da biste dodali biološku skupinu na padajući popis, učinite jedno od sljedećeg:
 - Upišite naziv u padajući okvir Biological Group (Biološka skupina) i pritisnite tipku Enter.
 - Kliknite zeleni simbol + s desne strane padajućeg popisa i unesite naziv za biološku skupinu.
 - Kliknite User Preferences (Korisničke postavke) na alatnoj traci i dodajte naziv biblioteci Biological Group Names (Nazivi bioloških skupina) na kartici Plate (Pločica).

Važno: Nazivi bioloških skupina koje dodate na padajući popis dostupna su samo za trenutačnu pločicu i samo ako naziv dodijelite jažici i spremite raspored pločice. Ako ne dodijelite naziv jažici i ne spremite raspored pločice, naziv se ne sprema i nije dostupan za buduću upotrebu. Da biste trajno dodali naziv biološke skupine, dodajte ga i u biblioteku Biological Group Names (Nazivi bioloških skupina) s pomoću dijaloškog okvira User Preferences (Korisničke postavke). Nazivi koje dodate u knjižnicu dostupni su nakon ponovnog otvaranja funkcije Plate Editor (Uređivač pločice). Pogledajte [Postavljanje zadanih parametara pločice na stranici 86](#) za više informacija.

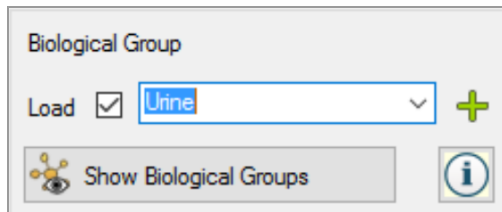
Brisanje naziva biološke skupine s popisa

1. Pritisnite User Preferences (Korisničke postavke) na alatnoj traci.
Pojavljuje se dijaloški okvir User Preferences (Korisničke postavke) koji prikazuje karticu Plate (pločica).
2. U biblioteci Biological Group Names (Nazivi bioloških skupina) na kartici pločica odaberite naziv za brisanje i pritisnite tipku Delete (Izbriši).
3. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i izašli iz dijaloškog okvira User Preferences (Korisničke postavke).

Važno: Ne možete izbrisati nazive bioloških skupina koje ste spremili s datotekom s pločicama. Prilagođeni nazivi koje dodate na padajući popis Biological Group Names (Nazivi bioloških skupina), a ne upotrebljavate i ne spremate s pločicom, automatski se uklanjaju s popisa. Nazivi koje izbrišete iz biblioteke Biological Group Names (Nazivi bioloških skupina) trajno se uklanjaju iz softvera i više nisu dostupni korisnicima. Pazite kad brišete biološke nazive.

Pregled svih bioloških skupina na pločici

- ▶ Kliknite Show Biological Groups (Prikaži biološke skupine) da biste vidjeli sve biološke skupine na pločici.



Svaka se skupina prepoznaje po određenoj boji, a gumb Show Biological Groups (Prikaži biološke skupine) mijenja se u Hide Biological Groups (Sakrij biološke skupine).

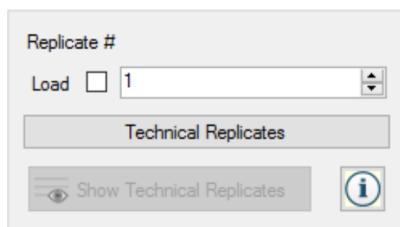
Kliknite Hide Biological Groups (Sakrij biološke skupine) da biste očistili boju u jažicama. Možete i kliknuti bilo koji otvor na pločici kako biste sakrili biološke skupine.

Dodjeljivanje brojeva tehničkog replikata jažicama

Važno: za dodjeljivanje brojeva tehničkih replikata odabrane jažice moraju sadržavati identičan sadržaj jažica. Odnosno, odabrane jažice moraju imati isti tip uzorka i fluorofor. Ako je to prikladno, moraju im se također dodijeliti ista nazivi ciljeva i uzoraka te ista biološka skupina. Ako nisu isti, CFX Maestro Dx SE ne omogućuje ovu opciju.

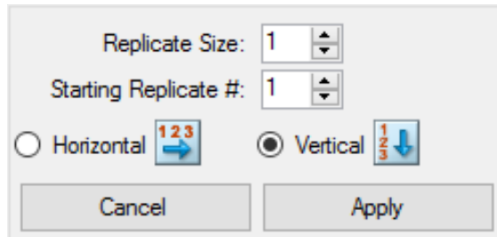
Za dodjeljivanje brojeva tehničkih replikata skupini jažica

1. U programu Plate Editor (Uređivač pločica) provjerite jesu li sadržaji skupine jažica identični.
2. U oknu pločice odaberite ciljnu skupinu jažica.
3. Da biste dodijelili isti broj replikata svim odabranim jažicama, u odjeljak Replicate # (Broj replikata) u desnom oknu upišite broj replikata u okvir i odaberite Load (Umetni).



4. (Opcionalno) Da biste primijenili seriju replikata na niz odabranih jažica:

- a. Pritisnite Technical Replicates (Tehnički replikati). Odjeljak Replicate # (Broj replikata) mijenja se da bi se prikazale sljedeće mogućnosti:



- **(Veličina replikata)** – broj koji predstavlja broj jažica u svakoj skupini replikata
- **(Početni broj replikata)** – prvi broj u seriji replikata za odabranu skupinu replikata

Napomena: prema zadanim postavkama, CFX Maestro Dx SE prikazuje početni broj replikata kao jedan broj veći od zadnjeg broja tehničkog replikata dodijeljenog na pločici. Primjerice, ako je zadnji broj tehničkog replikata na pločici pet, sljedeći početni broj je šest. Početni broj možete promijeniti u bilo koji broj koji već nije dodijeljen.

- Smjer umetanja (vodoravni ili okomiti)

- b. Pritisnite Apply (Primjeni) da biste primijenili parametre na seriju i vratite se na zaslon Replicate # (Broj replikata).

5. Pritisnite OK (U redu) da biste prihvatili promjene i spremili pločicu.

Napomena: Ako ste pločicu promijenili pogreškom, pritisnite Undo (Poništi) na alatnoj traci funkcije Plate Editor (Uređivač pločice) prije nego što kliknete OK (U redu) da biste prihvatili promjene.

Za uklanjanje jažice iz serije replikata

- ▶ Označite jažicu ili skupinu jažica koje želite ukloniti i poništite potvrdni okvir Replicate # Load (Umetni broj replikata).

Možete i pritisnuti Clear Replicate # (Ukloni broj replikata) da biste uklonili broj replikata iz odabrane jažice ili skupine jažica.

Za pregled svih tehničkih replikata na pločici

- ▶ Kliknite Show Technical Replicates (Prikaži tehničke replikate) za prikaz svih tehničkih replikata na pločici.

Svaka se skupina određuje po posebnoj boji, a gumbom Show Technical Replicates (Prikaži tehničke replikate) mijenjate u Hide Technical Replicates (Sakrij tehničke replikate).

Pritisnite Hide Technical Replicates (Sakrij tehničke replikate) da biste očistili boju u jažicama. Možete i pritisnuti bilo koji otvor na pločici kako biste sakrili tehničke replikate.

Dodjeljivanje serije razrjeđivanja standardnim vrstama uzoraka

Kao što je prethodno spomenuto, svim jažicama s uzorkom vrste Standard mora se dodijeliti vrijednost koncentracije. Seriju razrjeđivanja možete dodijeliti više jažica s uzorkom vrste Standard.

Napomena: Da bi se skupini jažica dodijelila serija razrjeđivanja, jažice moraju biti uključene u tehnički ponovljenu seriju. Pogledajte [Dodjeljivanje brojeva tehničkog replikata jažicama na stranici 144](#) za informacije o dodavanju jažica u repliciranu seriju.

Dodjeljivanje serije razrjeđenja skupini jažica standardnih uzoraka

1. U funkciji Plate Editor (Uređivač pločice) provjerite jesu li ispunjeni sljedeći zahtjevi:

- Vrsta uzorka za skupinu jažica je Standard.
- Svim jažicama u skupini dodijeljen je barem jedan fluorofor i svi sadržavaju iste fluorofore.
- Sve jažice u skupini uključene su u istu seriju tehničkih replikacija.

Napomena: CFX Maestro Dx SE omogućuje opciju Dilution Series (Serija razrjeđivanja) samo kada sve odabrane jažice udovoljavaju tim kriterijima.

2. U oknu pločice odaberite ciljnu skupinu jažica.

3. U odjeljku Concentration (Koncentracija) u desnom oknu Dilution Series (Serija razrjeđivanja). Odjeljak Concentration (Koncentracija) mijenja se da bi se prikazale sljedeće mogućnosti:

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

- **Starting concentration (Početna koncentracija)** – vrijednost koncentracije od koje serija započinje
- **Replicates from/to (Replicira se od/do)** – replike u seriji na koju će se primijeniti faktor razrjeđivanja

- **Dilution factor (Faktor razrjeđivanja)** – količina za promjenu koncentracije unutar svake replicirane skupine
4. Postavite vrijednosti za opcije ili prihvatite zadane vrijednosti.
 5. Prema zadanim postavkama, serija razrjeđivanja smanjuje se za faktor razrjeđivanja. Odaberite Increasing (Povećavanje) da biste povećali seriju razrjeđivanja.
 6. (Opcionalno) Prema zadanim postavkama, faktor razrjeđivanja odnosi se na sve fluorofore u repliciranoj seriji. Ako vaša serija sadržava više od jednog fluorofora i želite primijeniti razrjeđivanje na jedan fluorofor, odaberite ga s padajućeg popisa.
 7. Kliknite Apply (Primijeni) da primijenite seriju razrjeđivanja na skupinu jažica i vratite se u prikaz Concentration (Koncentracija).
 8. Pritisnite OK (U redu) da biste prihvatili promjene i spremili pločicu.

Kopiranje sadržaja jažice u drugu jažicu

Možete kopirati sadržaj jažice i zalijepiti ga u jednu ili više jažica. Međutim, možete kopirati sadržaj samo jedne jažice. Ne možete odabrati više jažica i kopirati njihov sadržaj.

Za kopiranje sadržaja jažice u drugu jažicu

1. U oknu pločice odaberite jažicu za kopiranje.
2. Desnom tipkom miša pritisnite jažicu i odaberite Copy Well (Kopiraj jažicu).
3. Odaberite jažicu ili jažice u koje ćete lijepiti sadržaj:
 - Da biste odabrali jednu jažicu, pritisnite jažicu.
 - Da biste odabrali više susjednih jažica, pritisnite jažicu i povucite do ciljne jažice.
 - Da biste odabrali više susjednih jažica, držite tipku Control i pritisnite svaku jažicu.
4. S odabranim ciljnim jažicama pritisnite desnu tipku miša i odaberite Paste Well (Zalijepi jažicu).
CFX Maestro Dx SE lijepi sadržaj prve jažice u odabrane jažice.

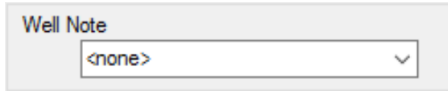
Dodavanje zapisa Note (Bilješka) jažici

Jažici možete dodati opisnu bilješku. Bilješke o jažicama možete pregledati na kartici Quantification (Kvantifikacija) u prozoru Data Analysis (Analiza podataka).

Za dodavanje bilješke jažici

1. U oknu pločice odaberite jažicu ili jažice kojima planirate dodati bilješku.
2. U odjeljku View (Prikaz) u donjem oknu odaberite Well Note (Bilješka o jažici).

Područje Well Note (Bilješka o jažici) pojavljuje se u desnom oknu.



3. Upišite sadržaj bilješke u okvir za tekst i pritisnite tipku Enter.

Tekst se pojavljuje na dnu odabranih jažica.

Savjet: Ako ste stvorili prethodnu bilješku jažice, možete je odabrati s padajućeg popisa i primijeniti na odabrane jažice.

Čišćenje cjelokupnog sadržaja u jažici

Možete cjelokupni sadržaj za pojedinu jažicu, skupinu jažica ili cijelu pločicu. Čišćenjem jažica ne uklanjaju se podaci o fluorescenciji prikupljeni tijekom očitavanja s pločice.

Važno: čišćenjem jažice trajno uklanjate sadržaj iz jažice. Ako nakon čišćenja jažice pritisnete OK (U redu) i spremite pločicu, ne možete poništiti radnju čišćenja. Budite pažljivi prilikom čišćenja jažice.

Za brisanje svih postavki jažica

1. U Plate Editor (Uređivač pločice) odaberite jažicu ili skupinu jažica u oknu pločice:
 - Da biste odabrali jednu jažicu, pritisnite jažicu.
 - Da biste odabrali više susjednih jažica, pritisnite jažicu i povucite do ciljne jažice.
 - Da biste odabrali više susjednih jažica, držite tipku Control i pritisnite svaku jažicu.
 - Da biste odabrali cijeli stupac s istom vrstom uzorka, pritisnite broj stupca.
 - Da biste odabrali cijeli redak, pritisnite broj retka.
2. U desnom oknu pritisnite Clear Wells (Očisti jažice).
CFX Maestro Dx SE briše sve postavke u odabranim jažicama.
3. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Ako ste jažicu izbrisali pogreškom, pritisnite Undo (Poništi) na alatnoj traci funkcije Plate Editor (Uređivač pločice) prije nego što kliknete OK (U redu) da biste prihvatili promjene.
Važno: pritiskom na OK (U redu) prije nego pritisnete Undo (Poništi) spremate promjene i onemogućujete Undo (Poništi) na alatnoj traci Plate Editor (Uređivač pločice).
 - Pritisnite OK (U redu) da biste prihvatili promjene i spremili pločicu.

Promjena Experiment Settings (Postavke eksperimenta)

Upotrijebite dijaloški okvir Experiment Settings (Postavke eksperimenta) za prikaz ili promjenu popisa ciljeva, uzoraka ili bioloških skupina ili za postavljanje skupine uzoraka za analizu genske ekspresije da biste analizirali jeste li dodijelili biološke skupine jažicama na ploči.

U dijaloškom okviru Experiment Settings (Postavke eksperimenta), kartica Targets (Ciljevi) prikazuje popis ciljanih imena za svaku PCR reakciju, kao što su ciljni gen ili sekvence gena od interesa.

Kartica Samples and Biological Groups (Uzorci i biološke skupine) prikazuje popis uzoraka i imena bioloških skupina koji ukazuju na izvor cilja, poput uzorka uzetog nakon 1 sata (1Hr) ili od određenog pojedinca (miš1).

Za promjenu postavki pločice pomoću dijaloškog okvira Experiment Settings (Postavke eksperimenta)

- Da biste otvorili dijaloški okvir Experiment Settings (Postavke eksperimenta), učinite jedno od sljedećeg:
 - U desnom oknu u programu Plate Editor (Uređivač ploča) pritisnite Experiment Settings (Postavke eksperimenta).
 - Na kartici Gene Expression (Genska ekspresija) u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) pritisnite Experiment Settings (Postavke eksperimenta).

Pojavit će se dijaloški okvir Experiment Settings (Postavke eksperimenta) koji prikazuje sadržaj kartice Targets (Ciljevi).

	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"/>
3	IL1-b	IL1-b	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	Tubulin	Tubulin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

New:

Show Analysis Settings

Exclude the following sample types from Gene Expression analysis:

NTC NRT Negative Control Positive Control Standard

2. Da biste dodali novi naziv cilja, uzorka ili biološke skupine, u odgovarajuću karticu upišite naziv u tekstualni okvir New (Novo) i pritisnite Add (Dodaj).
3. Da biste s popisa uklonili jedan ili više naziva ciljeva, uzoraka ili bioloških skupina, na odgovarajućoj kartici označite okvir stavke u stupcu Select to Remove (Odaberi za uklanjanje) i pritisnite Remove checked item(s) (Ukloni označenu(e) stavku(e)).
4. CFX Maestro Dx SE isključuje vrstu uzorka NTC (bez kontrole predloška) iz analize genske ekspresije.

Da biste uključili NTC vrste uzoraka, poništite njegov potvrdni okvir u odjeljku Izuzmi sljedeće tipove uzoraka. Možete izuzeti sljedećih vrsta uzoraka odabirom odgovarajućeg potvrdnog okvira:

- NRT (no reverse transcriptase) (NRT (bez reverzne transkriptaze))
- Negative Control (Negativna kontrola)
- Positive Control (Pozitivna kontrola)
- Standard

5. Na kartici Targets (Ciljevi):

- a. Da biste odabrali cilj kao referencu za analizu podataka genske ekspresije, odaberite ga u stupcu Reference (Referenca).
- b. Da biste sakrili postavke analize koje će se primijeniti na kartici Gene Expression (Genska ekspresija) u prozoru Analysis Settings (Postavke analize), izbrišite opciju Show Analysis Settings (Prikaži postavke analize).

Softver skriva sljedeće stupce:

- Color (Boja)
 - Show Chart (Prikaži grafikon)
 - Auto Efficiency (Automatska učinkovitost)
 - Efficiency (%) (Učinkovitost (%))
- c. Da biste promijenili boju cilja kako je prikazan na grafikonu Gene Expression (Genska ekspresija), pritisnite njegovu ćeliju u stupcu Color (Boja), odaberite novu boju u dijaloškom okviru Color (Boja) koji se pojavi i pritisnite OK (U redu).
 - d. Da biste prikazali cilj u odabranoj boji na grafikonu Gene Expression (Genska ekspresija), označite njegov okvir u stupcu Show Chart (Prikaži grafikon).
 - e. Prema zadanim postavkama, CFX Maestro Dx SE automatski izračunava relativnu učinkovitost cilja ako njegovi podaci uključuju standardnu krivulju.

Da biste upotrijebili prethodno utvrđenu vrijednost učinkovitosti, upišite vrijednost u njegovu ćeliju u stupac Efficiency (%) (Učinkovitost (%)) i pritisnite tipku Enter. CFX Maestro Dx SE briše okvir Auto Efficiency (Automatska učinkovitost).

6. Na kartici Samples (Uzorci) i Biological Groups (Biološke skupine):
 - a. Da biste odabrali uzorak ili biološku skupinu kao uzorak kontrole za analizu podataka genske ekspresije, odaberite im potvrdni okvir u stupcu Control (Kontrola).
 - b. Da biste dodijelili kontrolni uvjet uzorku ili biološkoj skupini za izvođenje, pritisnite njegov potvrdni okvir u stupcu Control (Kontrola).
 - c. Ako već nije odabran, pritisnite Show Analysis Settings (Prikaži postavke analize) da biste pogledali ili promijenili parametre analize koji će se primijeniti na kartici Gene Expression (Genska ekspresija). Softver skriva stupce Color (Boja) i Show Chart (Prikaži grafikon).
7. Pritisnite OK (U redu) da biste parametre spremili u dijaloški okvir (Experiment Settings) Postavke eksperimenta i vratili se u prozor Plate Editor (Uređivač pločice).

Stvaranje skupina jažica

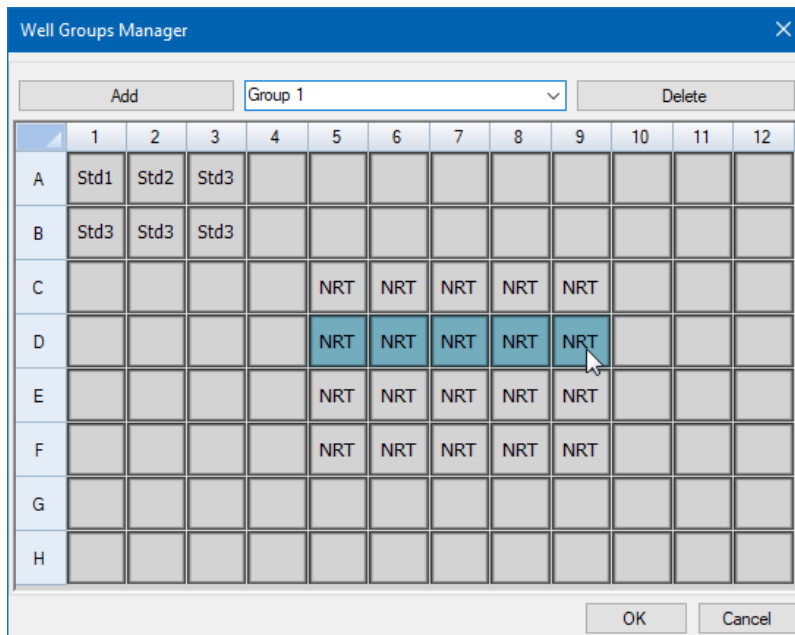
Skupine jažica dijele jednu pločicu na podskupine jažica koje se mogu samostalno analizirati u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Nakon postavljanja skupina jažica, odaberite jednu u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) da biste analizirali podatke kao neovisnu skupinu. Na primjer, postavite skupine jažica za analizu više eksperimenata u jednoj pločici ili za analizu svake skupine jažica s različitim standardnim krivuljama.

Napomena: zadana skupina jažica je All Wells (Sve jažice).

Stvaranje skupina jažica

- Da biste otvorili Well Groups Manager (Upravitelj skupina jažica), učinite jedno od sljedećeg:
 - Na alatnoj traci Plate Editor (Uređivača pločica) pritisnite Well Groups (Skupina jažica).
 - U prozoru Data Analysis (Analiza podataka) pritisnite Manage Well Groups (Upravljanje skupinama jažica).

Pojavljuje se dijaloški okvir Well Groups Manager (Upravitelj za skupine jažica).



- Pritisnite Add (Dodaj) da biste stvorili novu skupinu. Padajući izbornik prikazuje Group 1 (Skupina 1) kao naziv prve skupine.
- Odaberite jažice za skupinu jažica u prikazu pločice pritiskom i povlačenjem preko skupine jažica. Odabrane jažice u programu Manager (Upravitelj) izgledaju plavo.

4. (Opcionalno) Da biste promijenili naziv skupine, odaberite njezino ime na padajućem izborniku i unesite novi naziv.
5. (Opcionalno) Da biste izbrisali skupinu jažica, odaberite njezino ime na padajućem popisu i pritisnite Delete (Izbriši).
6. Pritisnite OK (U redu) da biste dovršili i zatvorili prozor ili pritisnite Cancel (Otkazi) da biste zatvorili prozor bez izmjena.

Stavke dijaloškog okvira Well Groups Manager (Upravitelj za skupine jažica) za pritisak desnom tipkom

Tablica 10 prikazuje stavke izbornika dostupne u dijaloškom okviru Well Groups Manager (Upravitelj za skupine jažica) kada desnom tipkom miša pritisnete bilo koju jažicu.

Tablica 10. Stavke dijaloškog okvira Well Groups Manager (Upravitelj za skupine jažica) programa Plate Editor (Uređivač pločice) za pritisak desnom tipkom

Stavka	Funkcija
Copy (Kopiraj)	Kopira sadržaj jažice, koji se zatim može zalijepiti u drugu jažicu ili jažice.
Copy as Image (Kopiraj kao sliku)	Kopira prikaz birača jažica kao sliku.
Print (Ispis)	Ispisuje prikaz birača jažica.
Print Selection (Ispis odabira)	Ispisuje samo odabrane ćelije.
Export to Excel (Izvoz u Excel)	Izvozi podatke u Excel proračunsku tablicu.
Export to CSV (Izvoz u CSV)	Izvozi podatke kao dokument razdvojen zarezom.
Export to Xml (Izvoz u Xml)	Izvozi podatke kao .xml dokument.
Export to Html (Izvoz u HTML)	Izvozi podatke kao .html dokument.

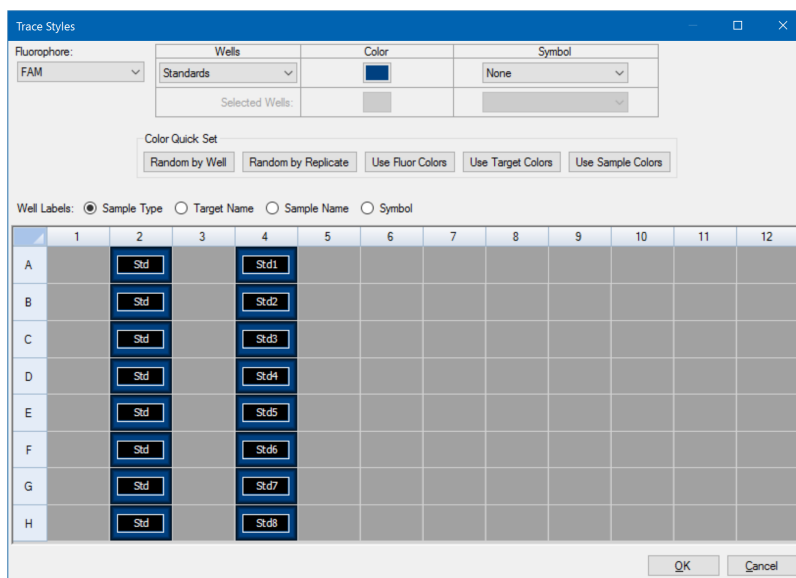
Promjena Trace Styles (Stilovi tragova)

Tijekom postavljanja pločice i dok je izvođenje u tijeku možete izmijeniti boju i stil tragova pojačanja. Tada možete lako pregledavati tragove u prozoru statusa u stvarnom vremenu dok se podaci prikupljaju.

Za promjenu stilova praćenja

1. Pritisnite Trace Styles (Stilovi tragova) na alatnoj traci Plate Editor (Uređivač pločice).

Dijaloški okvir Trace Styles (Stilovi tragova) pojavljuje se za otvorenu pločicu, na primjer:



2. Da biste prikazali stilove tragova pomoću određenog fluorofora, odaberite ga u padajućem izborniku Fluorophores (Fluorofori).
3. Da biste promijenili prikaz traga:
 - a. Odaberite vrstu traga s padajućeg popisa Wells (Jažice).
 - b. Pritisnite njegovu boju u stupcu Color (Boja).
 - c. U dijaloškom okviru Color (Boja) koji se pojavi odaberite drugu boju za praćenje i pritisnite OK (U redu).
CFX Maestro Dx SE prikazuje promjenu boje za vrstu jažice na mreži.
 - d. (Opcionalno) Na padajućem popisu Symbols (Simboli) odaberite simbol za trag.
4. Da biste brzo promijenili skup boja, pritisnite odgovarajući izbor u odjeljku Color Quick Set (Brzo postavljanje boja).

5. Da biste pregledali oznake jažica u mreži, odaberite vrstu oznake u odjeljku Well Labels (Oznake jažica)
6. Pritisnite OK (U redu) za spremanje promjena ili Cancel (Odustani) za otkazivanje promjena.

Prikaz, izvoz i uvoz pločice u formatu proračunske tablice

Alat Spreadsheet View/Importer (Prikaz proračunske tablice / uvoznik) prikazuje sadržaj pločice u obliku proračunske tablice. Preglednik nudi opciju prikaza, uvoza i izvoza podataka jažice kako je opisano u nastavku.

Upotreba preglednika proračunske tablice za izvoz i uvoz podataka pločice

U pregledniku proračunske tablice možete izvesti naziv cilja, naziv uzorka, naziv biološke skupine i bilješke o jažici kao predložak u formatu razgraničenom tabulatorima u aplikaciju kao što je Microsoft Excel. Isto tako možete uvesti te podatke iz aplikacije razgraničene tabulatorima u prethodno definiranu pločicu iz datoteke s informacijama o eksperimentu.

Za upotrebu alata Spreadsheet View/Importer (Prikaz proračunske tablice / uvoznik)

1. Izradite i spremite datoteku pločice (vidjeti [Stvaranje datoteke pločice prozorom Plate Editor \(Uređivač pločice\)](#)).
2. Na alatnoj traci Plate Editor (Uređivač pločice) pritisnite karticu Spreadsheet View/Importer (Prikaz proračunske tablice / uvoznik) da biste otvorili dijaloški okvir Plate Spreadsheet View (Prikaz proračunske tablice).

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

3. (Opcionalno) Kliknite okvire Show Biological Set Name (Pokaži naziv biološkog skupa) i Show Well Note (Pokaži bilješku o jažici) za prikaz tih stupaca u Spreadsheet View (Prikaz proračunske tablice) i izvezenoj datoteci.
4. Kliknite gumb Export Template (Izvezi predložak) kako biste izradili prazan predložak u datoteci Excel (format .csv). Izvezena datoteka prikazivat će isti raspored kao vaša pločica.

Savjet: Upotrijebite naziv datoteke pločice pri spremanju svojih datoteka pločice kako biste jednostavno identificirali datoteku.

5. Popunite ćelije datoteke Excel svojim sadržajem jažica.

Napomena: Možete urediti samo sadržaj ćelija u stupcu koji pored naziva stupca ima zvjezdicu (*) (na primjer * Target Name (Naziv cilja), *Sample Name (Naziv uzorka), *Biological Group Name (Naziv biološke skupine), *Well Note (Bilješka o jažici)).

Napomena: Ne možete dodavati vrijednosti stupcima Standard Curve (Standardna krivulja) i Quantity (Količina) u izvezenoj datoteci Excel. Kako biste izmijenili te podatke, vratite se u Plate Editor (Uređivač pločice) i odaberite Settings (Postavke) > Units (Jedinice) u traci izbornika. Nakon završetka izvođenja pločice, podaci iz navedenih standarda pojavljuju se na grafikonu Standard Curve (Standardna krivulja) na kartici Quantification (Kvantifikacija) u prozoru Analiza podataka s odabranim jedinicama.

6. Uvezite popunjenu datoteku Excel natrag u Plate Editor (Uređivač pločice) tako što ćete kliknuti gumb Import (Uvezi). Uvezeni podaci pločice pojavljuju se u prozoru Plate Spreadsheet View (Prikaz proračunske tablice pločice).

Važno: Ako imate više fluorofora, korake 3 do 5 trebat ćete izvesti za svaki fluorofor s pomoću padajućeg izbornika Flours List (Popis fluorofora) u Plate Spreadsheet View (Prikaz proračunske tablice pločice).

7. Kliknite gumb OK (U redu). Novi podaci pločice sad se pojavljuju u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice).

Savjet: Stavke izbornika dostupne u alatu Spreadsheet View/Importer (Prikaz proračunske tablice / uvoznik) možete prikazati kada pritisnete desnu tipku miša na bilo koju jažicu u alatu ili bilo koje od zaglavlja tablice u prikazu Plate Spreadsheet (Proračunska tablica pločice).

Stvaranje rasporeda pločice pomoću Plate Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje pločice)

S pomoću programa Plate Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje pločice) možete unijeti informacije o rasporedu pločica potrebne za normaliziranu analizu genske ekspresije, uključujući:

- nazive ciljeva
- nazive uzoraka
- mjesta ciljeva i uzoraka na pločici
- referentne gene
- kontrolni uzorak.

Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) možete upotrijebiti prije, tijekom ili nakon izvođenja.

Upotreba programa Plate Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje pločice)

Ovaj odjeljak objašnjava kako stvoriti raspored pločice pomoću programa Plate Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje pločice). Da biste lakše pregledali sadržaj svake jažice na pločici, pritisnite Zoom (Zumiranje) pločice na gornjem dijelu programa Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje).

Važno: povratak na karticu Auto layout (Automatski raspored) dok ste na bilo kojoj drugoj kartici u programu Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) poništava raspored pločice. Budite pažljivi pri odabiru ove kartice.

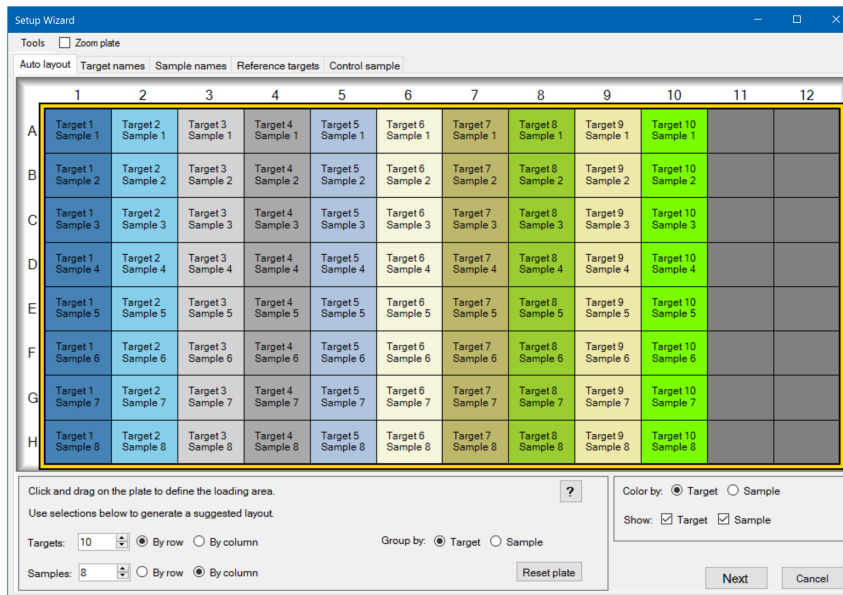
Savjet: Raspored možete poništiti odabirom Tools (Alati) > Clear Plate (Očisti ploču) u programu Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje).

Za upotrebu programa Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) za pločice

1. Otvorite Plate Editor (Uređivač pločice).
2. Da biste otvorili program Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje), učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite Editing Tools (Alat za uređivanje) > Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje).
 - Pritisnite Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) na alatnoj traci Plate Editor (Uređivač pločice).

Pojavit će se Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) koji prikazuje karticu Auto layout (Automatski raspored).

Stvaranje rasporeda pločice pomoću Plate Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje pločice)



3. Na kartici Auto layout (Automatski raspored) učinite sljedeće:
 - a. Pritisnite jažicu na mreži i povucite preko i prema dolje kako biste odredili područje na pločici u koje planirate umetnuti uzorak.
 - b. Unesite broj ciljeva i uzoraka za umetanje.

Savjet: broj ciljeva i uzoraka mora biti jednak broju odabranih stanica. Ako se uneseni brojevi ne uklapaju u odabrano područje, izmijenite brojeve ili područje za odabir pločice. Može se odrediti orijentacija predmeta na pločici i njihovo grupiranje.
 - c. (Opcionalno) Promijenite orijentaciju pločice. Na primjer, možete postaviti ciljeve u stupce i uzorke u retke ili grupirati po uzorcima.
 - d. Pritisnite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Target names (Nazivi ciljeva).

Napomena: Ako raspored pločice nema uobičajeni obrazac, upotrijebite karticu Target names (Nazivi ciljeva) za ručno postavljanje ciljeva ili karticu Sample names (Nazivi uzoraka) za ručno postavljanje uzoraka na pločici. Pritisnite i povucite za odabir više jažica.

4. Na kartici Target names (Nazivi ciljeva) definirajte nazive ciljeva za skupine ciljeva:
 - a. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Da biste preimenovali ciljeve prema skupini, postavite Select by (Odaberi prema) na Target (Cilj).

- Da biste ciljeve preimenovali prema jažici, postavite Select by (Odaberi prema) na Well (Jažica).
 - b. Odaberite skupinu ciljeva ili jažicu u mreži i upišite naziv na padajući popis Target name (naziv cilja).
Savjet: pritisnite Tab (Kartica) za odabir sljedeće skupine ili jažice zdesna ili tipku Enter za odabir sljedeće skupine ili jažice ispod. Umjesto toga, u karticama Target name (Naziv cilja) i Sample name (Naziv uzorka) držite tipku Control i pritisnite jažicu da biste odabrali više jažica koje nisu susjedne.
 - c. Pritisnite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Sample names (Nazivi uzoraka).
5. U kartici Sample Names (Nazivi uzoraka) definirajte nazive uzoraka za skupine uzoraka.
 6. Kliknite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Reference targets (Referentni ciljevi).
 7. Na kartici Reference targets (Referentni ciljevi) odaberite jedan ili više ciljeva koji će se koristiti kao reference za normaliziranu gensku ekspresiju i pritisnite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Control sample (Kontrolni uzorak).
 8. U kartici Control sample (Kontrolni uzorak) odaberite jedan uzorak koji ćete upotrijebiti kao kontrolu za izračun relativne genske ekspresije.
 9. Pritisnite OK (U redu) da biste spremili raspored pločice i vratili se u Plate Editor (Uređivač pločice) u kojem možete dalje definirati parametre pločice. Za više informacija pogledajte [Dodjeljivanje opcionalnih parametara datoteci pločice na stranici 138](#).

Možete i pritisnuti Previous (Natrag) za povratak na prethodnu karticu da biste unijeli promjene.

Napomena: Povratak na karticu Auto layout (Automatski raspored) automatski resetira pločicu. Budite pažljivi kada pritisnete Previous (Natrag).

Poglavlje 9 Pokretanje eksperimenata

Ovo poglavlje objašnjava kako izvesti prilagođene (korisnički definirane) ili PrimePCR eksperimente za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition.

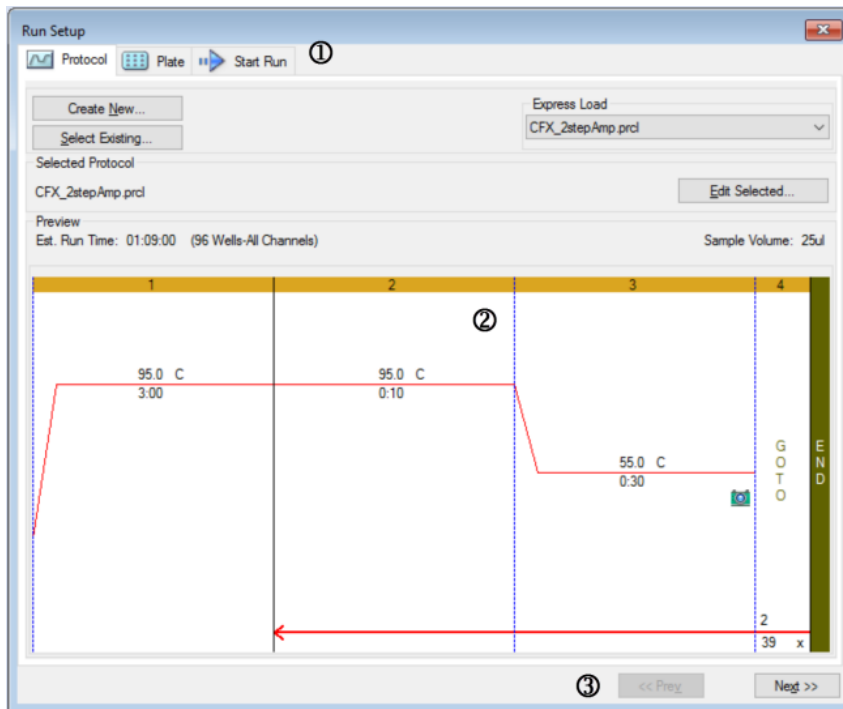
Podatkovna datoteka za izvođenje sadržava podatke o protokolu i pločici za izvođenje. Datoteka sadržava i podatke iz analiza koje CFX Maestro Dx SE izvodi nakon završetka izvođenja.

CFX Maestro Dx SE olakšava postavljanje i izvođenje korisničkih ili PrimePCR eksperimenata. Prozor Run Setup (Pokretanje izvođenja) vodi vas kroz uobičajene korake postavljanja eksperimenta, vodeći vas do dijaloškog okvira Start Run (Pokreni izvođenje) iz kojeg započinjete izvođenje.

Prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja)

Prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja) pruža brzi pristup datotekama i postavkama potrebnim za postavljanje i izvođenje eksperimenata. Kada odlučite izvesti korisnički definirani eksperiment, otvara se prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja) koji prikazuje karticu Protocol (Protokol). Kada odlučite izvesti eksperiment PrimePCR, otvara se prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja) koji prikazuje karticu Start run (Pokreni izvođenje).

Savjet: Informacije o PrimePCR potražite u odjeljku [Izvođenje PrimePCR eksperimenata na stranici 179](#); pogledajte [Kartica Start Run \(Pokreni izvođenje\) na stranici 169](#) za informacije o kartici Start Run (Pokretanje izvođenja).



LEGENDA

1. Kartice vas vode kroz postavljanje i izvođenje eksperimenta:
 - Kartica Protocol (Protokol) – odaberite postojeći protokol za izvođenje ili uređivanje ili za izradu novog protokola u programu Protocol Editor (Uređivač protokola).
 - Kartica Plate (Pločica) – odaberite postojeću pločicu za izvođenje ili uređivanje ili za izradu nove pločice u programu Protocol Editor (Uređivač protokola).
 - Kartica Start Run (Pokreni izvođenje) – pregledajte postavke eksperimenta, odaberite jedan ili više blokova s uređajima i započnite s izvođenjem.

2. Glavni prozor prikazuje opcije za svaku karticu dok ih primjenjujete.

3. Navigacijski gumbi vode vas do kartice Start Run (Pokreni izvođenje).

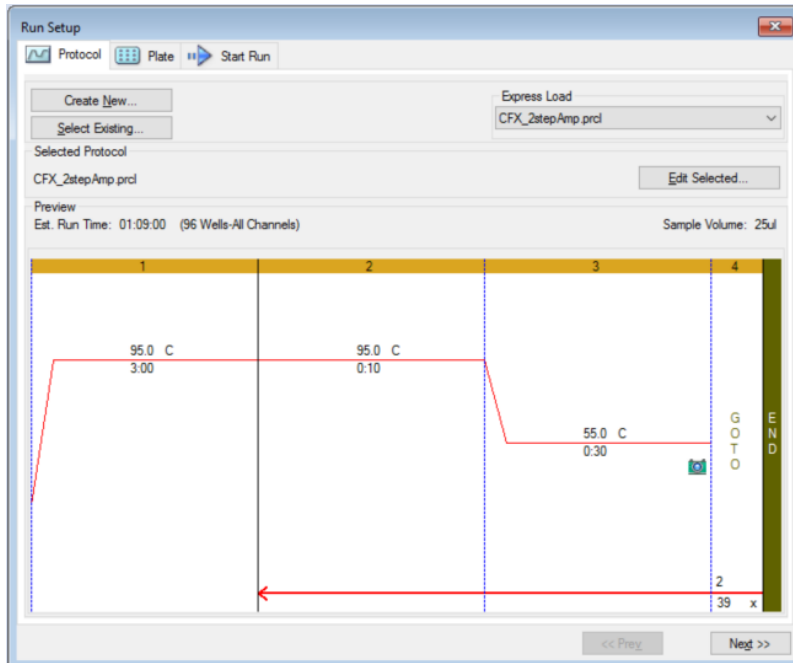
Pristup prozoru Run Setup (Postavljanje izvođenja)

Za pristup prozoru Run Setup (Postavljanje izvođenja)

- ▶ Učinite jedno od sljedećeg:
 - Na kartici Run setup (Postavljanje izvođenja) u funkciji Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) kliknite User-defined (Korisnički definirano) ili PrimePCR.
 - U prozoru Home (početno) na alatnoj traci kliknite User-defined Run Setup (Korisnički definirano postavljanje izvođenja) ili PrimePCR Run Setup (Postavljanje izvođenja PrimePCR).
 - U prozoru Home (početno) odaberite Run (Izvedi) > User-defined Run (Korisnički definirano izvođenje) ili Run (Izvođenje) > PrimePCR Run (PrimePCR izvođenje).

Kartica Protocol (Protokol)

Kartica Protocol (Protokol) prikazuje pregled datoteke protokola koju planirate pokrenuti. Datoteka protokola sadrži upute za korake temperature uređaja, kao i opcije uređaja koje kontroliraju stopu povećanja, volumen uzorka i temperaturu poklopca.



Prema zadanim postavkama, softver prikazuje protokol definiran u odjeljku File Selection for Run Setup (Izbor datoteke za pokretanje izvođenja) na kartici Files (Datoteke) u dijaloškom okviru User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke). Zadani protokol možete promijeniti u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke). Pogledajte [Promjena zadanih postavki datoteka na stranici 83](#) za više informacija.

Na kartici Protocol (Protokol) možete

- Izraditi novi protokol za izvođenje
- Odabrati postojeći protokol za izvođenje ili uređivanje

Za više informacija o izradi i izmjeni protokola, pogledajte [Poglavlje 7, Postavljanje protokola](#).

Izrada novog protokola

1. Na kartici Protocol (Protokol) kliknite Create New (Izradi novo).
Pojavljuje se program Protocol Editor (Uređivač protokola).

2. Upotrijebite funkciju Plate Protocol (Uređivač protokola) za izradu novog protokola.
3. Kliknite OK (U redu) da biste spremili protokol i vratili se na karticu Protocol (Protokol) u Run Setup (Postavljanje izvođenja).
4. Pogledajte detalje protokola i učinite jedno od sljedećeg:
 - Ako su detalji točni, kliknite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Plate (Pločica).
 - Ako su detalji netočni, kliknite Edit Selected (Uredi odabrano) da biste se vratili u prozor Protocol Editor (Uređivač protokola). Pregledajte protokol, spremite promjene, a zatim kliknite Next (Dalje) na kartici Protocol (Protokol) da biste nastavili do kartice Plate (Pločica).

Za odabir postojećeg protokola

1. Na kartici Protocol (Protokol) učinite jedno od sljedećeg:
 - Kliknite Select Existing (Odaberi postojeće) i prijedite na postojeći protokol.
 - Kliknite Express Load (Brzo umetanje) i odaberite protokol s padajućeg popisa protokola.

Savjet: Možete dodati protokole ili ih ukloniti s padajućeg popisa Express Load (Brzo umetanje). Pogledajte [Dodavanje i uklanjanje protokola brzog umetanja](#) koje slijedi za više informacija.
2. Pogledajte detalje protokola i učinite jedno od sljedećeg:
 - Ako su detalji točni, kliknite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Plate (Pločica).
 - Ako su detalji netočni, kliknite Edit Selected (Uredi odabrano) da biste otvorili Protocol Editor (Uređivač protokola). Pregledajte protokol, spremite promjene, a zatim kliknite Next (Dalje) na kartici Protocol (Protokol) da biste nastavili do kartice Plate (Pločica).

Dodavanje i uklanjanje protokola brzog umetanja

Možete izmijeniti sadržaj padajućeg popisa Express Load (Brzo umetanje) koji se pojavljuje u funkciji Protocol Editor (Uređivač protokola). Protokoli s ovog popisa spremaju se u sljedeću mapu:

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX_MDX\Users\<user_name>\ExpressLoad\

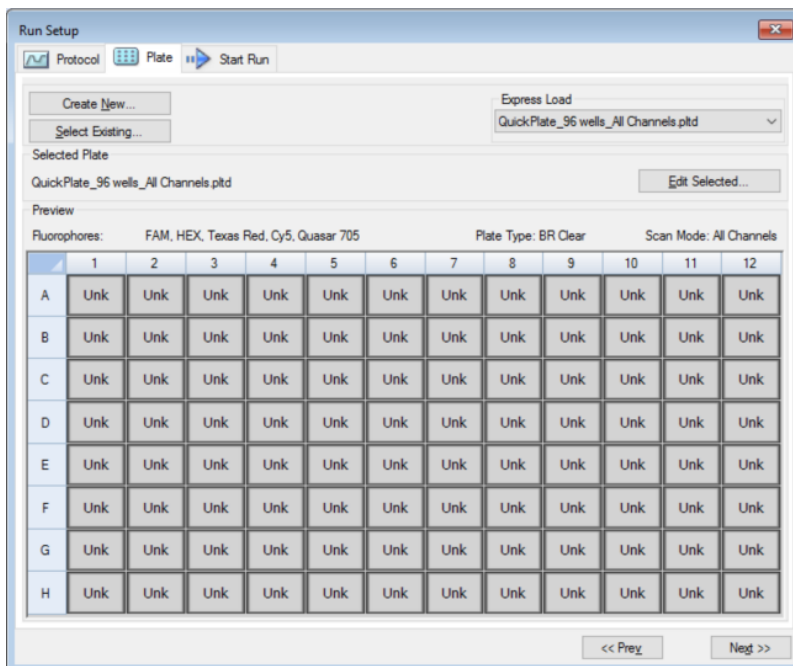
Izmjena popisa Express Load (Brzo umetanje) protokola

1. Dođite do mape ExpressLoad (Brzo umetanje) i otvorite je.
2. Pregledajte datoteke protokola (.pctl) u mapi.
3. Učinite nešto od sljedećeg:
 - Izbrišite protokole iz mape da biste ih uklonili s padajućeg popisa.
 - Kopirajte protokole u mapu da biste ih dodali na padajući popis.

Kartica Plate (Pločica)

Napomena: Ako protokol odabran na kartici Protokol ne uključuje korak čitanja s pločica za PCR analizu u stvarnom vremenu, kartica Plate (Pločica) je skrivena. Da biste pogledali karticu Plate (Pločica), dodajte barem jednu očitanu pločicu u protokol.

Kartica Plate (Pločica) prikazuje pregled datoteke pločice koju planirate učitati. U PCR izvođenju u stvarnom vremenu, datoteka s pločicom sadržava opis sadržaja svake jažice, uključujući njezine fluorofore, način skeniranja i vrstu pločice. CFX Maestro Dx SE koristi ove opise za prikupljanje i analizu podataka.



Prema zadanim postavkama, softver prikazuje pločicu definiranu u odjeljku File Selection for Run Setup (Izbor datoteke za pokretanje izvođenja) na kartici Files (Datoteke) u dijaloškom okviru User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke). Možete promijeniti zadanu pločicu u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke). Pogledajte [Promjena zadanih postavki datoteka na stranici 83](#) za više informacija.

Na kartici Plate (Pločica) možete

- Izraditi novu pločicu za umetanje
- Odabrati postojeću pločicu za umetanje ili uređivanje

Za više informacija o izradi i izmjeni pločica, pogledajte [Poglavlje 8, Priprema pločica](#).

Za izradu nove pločice

1. Na kartici Plate (Pločica) kliknite Create New (Izradi novo).
Pojavljuje se Plate Editor (Uređivač pločice).
2. Upotrijebite funkciju Plate Editor (Uređivač pločice) za izradu nove pločice.
3. Kliknite OK (U redu) da biste spremili pločicu i vratili se na karticu Plate (pločica) u Run Setup (Postavljanje izvođenja).
4. Pogledajte detalje pločice i napravite jedno od sljedećeg:
 - Ako su detalji točni, kliknite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Start Run (Pokretanja izvođenja).
 - Ako su detalji netočni, kliknite Edit Selected (Uredi odabrano) da biste se vratili u funkciju Plate Editor (Uređivač pločice). Pregledajte datoteku pločice, spremite promjene, a zatim kliknite Next (Dalje) na kartici pločica da biste nastavili do kartice Start Run (Pokretanja izvođenja).

Za odabir postojeće datoteke pločice

1. Na kartici pločica učinite jedno od sljedećeg:
 - Kliknite Select Existing (Odaberi postojeće) i prijedite na postojeću datoteku pločice.
 - Kliknite Express Load (Brzo umetanje) i odaberite datoteku pločice s padajućeg popisa.

Savjet: Možete dodati pločice ili ih ukloniti s padajućeg popisa Express Load (Brzo umetanje). Pogledajte [Dodavanje i uklanjanje datoteka za brzo umetanje pločice](#) što slijedi za više informacija.
2. Pogledajte detalje pločice i napravite jedno od sljedećeg:
 - Ako su detalji točni, kliknite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Start Run (Pokretanja izvođenja).
 - Ako su detalji netočni, kliknite Edit Selected (Uredi odabrano) da biste otvorili prozor Plate Editor (Uređivač pločice). Pregledajte datoteku pločice, spremite promjene, a zatim kliknite Next (Dalje) da biste nastavili do kartice Start Run (Pokretanje izvođenja).

Dodavanje i uklanjanje datoteka za brzo umetanje pločice

Možete izmijeniti sadržaj padajućeg popisa Express Load (Brzo umetanje) koji se pojavljuje u funkciji Plate Editor (Uređivač pločice). Pločice koje se pojavljuju na ovom popisu spremaju se u sljedeću mapu:

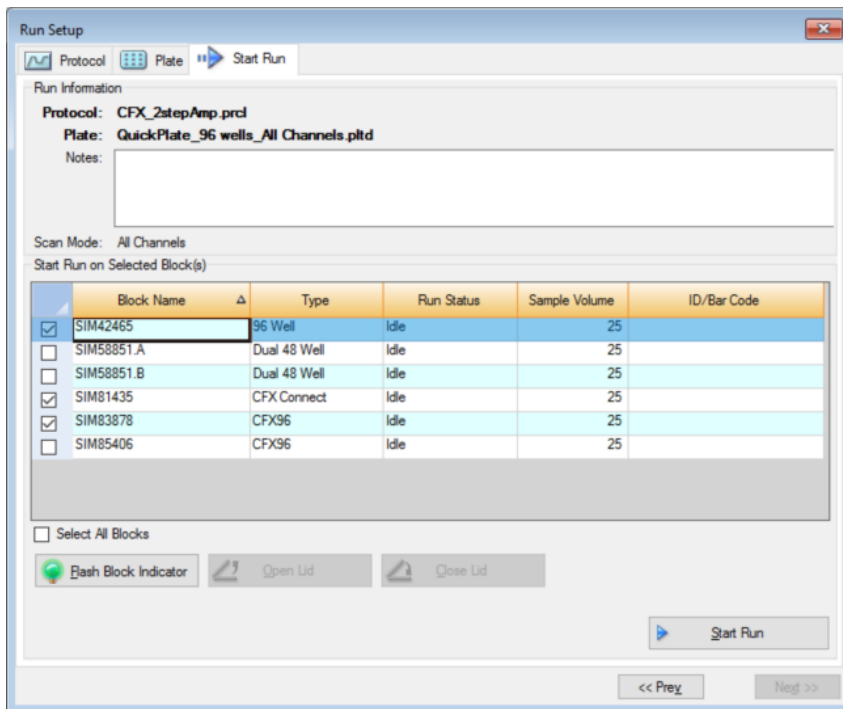
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDX\Users\\ExpressLoad\

Za izmjenu popisa Express Load (Brzo umetanje) datoteka pločica

1. Dođite do mape ExpressLoad (Brzo umetanje) i otvorite je.
2. Pregledajte datoteke s pločicama (.pltd) u mapi.
3. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Izbrišite datoteke s pločicama iz mape da biste ih uklonili s padajućeg popisa.
 - Kopirajte datoteke s pločicama u mapu da biste ih dodali na padajući popis.

Kartica Start Run (Pokreni izvođenje)

Kartica Start Run (Pokreni izvođenje) prikazuje informacije o eksperimentu koji treba izvesti. Također prikazuje povezani blok uređaja ili blokove na kojima možete izvoditi eksperiment.



Na kartici Start Run (Pokreni izvođenje) možete učiniti sljedeće:

- Pregledati detaljne podatke o izvođenju, uključujući odabranu datoteku protokola, datoteku pločice i način skeniranja.
- Dodati bilješke o izvođenju.
- Pregledati detalje o svim povezanim uređajima, uključujući njihov status izvođenja (izvodi se ili u praznom hodu), volumen uzorka u μl , temperaturu poklopcu, način emulacije i ID ili crtični kod ako su dostupni.

Napomena: Možete izmijeniti stupce koji se pojavljuju na kartici Start Run (Pokreni izvođenje) u tablici Selected Blocks (Odabrani blokovi). Pogledajte [Izmjena detalja u tablici Selected Blocks \(Odabrani blokovi\) na stranici 170](#).

- Odaberite blok ili blokove na kojima ćete izvesti izvođenje.
- Daljinski otvorite ili zatvorite poklopac svakog odabranog uređaja.

- Započnite izvođenje.

Izmjena detalja u tablici Selected Blocks (Odabrani blokovi)

Možete izmijeniti stupce koji se pojavljuju na kartici Start Run (Pokreni izvođenje) u tablici Selected Block (s) (Odabrani blokovi). Također možete izmijeniti zadane vrijednosti volumena uzorka i temperature poklopca u tablici. Promjene postavki primjenjuju se na izvođenje koje će se izvesti.

Dodavanje stupaca na kartici Start Run (Pokreni izvođenje) u tablici Selected Blocks (Odabrani blokovi)

- ▶ Desnom tipkom miša kliknite tablicu i odaberite opciju u izborniku koji će se pojaviti.

Uklanjanje stupaca na kartici Start Run (Pokreni izvođenje) u tablici Selected Blocks (Odabrani blokovi)

- ▶ Desnom tipkom miša kliknite tablicu i izbrišite opciju u izborniku koji će se pojaviti.

Za uređivanje vrijednosti volumena uzorka ili temperature poklopca za blok

- ▶ Odaberite ćeliju zapremnine uzorka ili temperature poklopca za ciljni blok i unesite novu vrijednost u ćeliju.

Dodavanje ID-a izvođenja ili crtični kod za blok

- ▶ Odaberite ID / crtični kod ćelije za ciljni blok i upišite ID ili skenirajte blok čitačem crtičnog koda.

Pokretanje eksperimenta

Važno: Prije izvođenja eksperimenta, pobrinite se da antivirusni softver vašeg računala neće pokrenuti skeniranje tijekom izvođenja. Pogledajte [Instalacija softvera CFX Maestro Dx SE na stranici 33](#) i kontaktirajte s vašim administratorom sustava za više informacija.

Za izvođenje eksperimenta

1. Na kartici Start Run (Pokretanje izvođenja) provjerite pločicu i detalje protokola u odjeljku Run Information (Informacije o izvođenju).
2. (Opcionalno) U tekstni okvir Notes (Bilješke) dodajte bilješke o izvođenju ili eksperimentu.
3. Označite potvrdni okvir jednog ili više blokova na kojima ćete izvesti izvođenje.

Savjet: Da biste izveli eksperiment na svim blokovima, odaberite opciju Select All Blocks (Odaberi sve blokove) koji se nalazi ispod tablice Selected Blocks (Odabrani blokovi).

4. (Opcionalno) Kliknite Flash Block Indicator (Indikator bloka bljeskalice) da biste nakratko osvijetlili odabrane blokove uređaja LED svjetlom indikatora.
5. U blok umetnite pločice eksperimenta:

- a. Kliknite Open Lid (Otvori poklopac). Otvara se motorizirani poklopac svakog odabranog bloka.
- b. U svaki odabrani blok umetnite pločicu za pokus.
- c. Kliknite Close Lid (Zatvori poklopac).

Savjet: Sustav CFX Opus Dx: na početnom zaslonu dodirnite Open Lid (Otvori poklopac) ili Close Lid (Zatvori poklopac).

6. Kliknite Open Lid (Otvori poklopac) i Close Lid (Zatvori poklopac) da otvorite i zatvorite motorizirani poklopac svakog odabranog bloka uređaja.
7. Pogledajte detalje izvođenja i učinite jedno od sljedećeg:
 - Ako su detalji točni, kliknite Start Run (Pokreni izvođenje).
 - Ako su podaci netočni:
 - Ispravite detalje u tablici Selected Blocks (Odabrani blokovi) i kliknite Start Run (Pokreni izvođenje).
 - Vratite se na ispravnu karticu i napravite odgovarajuće promjene, spremite promjene, a zatim kliknite Next (Dalje) za povratak na karticu Start Run (Pokreni izvođenje) i pokrenite izvođenje.

Za započinjanje novog izvođenja iz prethodnog izvođenja

- ▶ Učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite File (Datoteka) > Repeat a Run (Ponovi izvođenja) na glavnoj traci izbornika softvera; dođite do i dvaput kliknite podatkovnu datoteku izvođenja koju želite ponoviti.
 - Odaberite karticu Repeat Run (Ponovi izvođenje) u funkciji Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) i dvokliknite podatkovnu datoteku izvođenja koje želite ponoviti.
- Po želji, na kartici Repeat Run (Ponavljanje izvođenja) možete kliknuti Browse (Pregledaj) i pomaknuti se na i dvostruko kliknuti podatkovnu datoteku izvođenja koje želite ponoviti.

Dijaloški okvir Run Details (Detalji izvođenja)

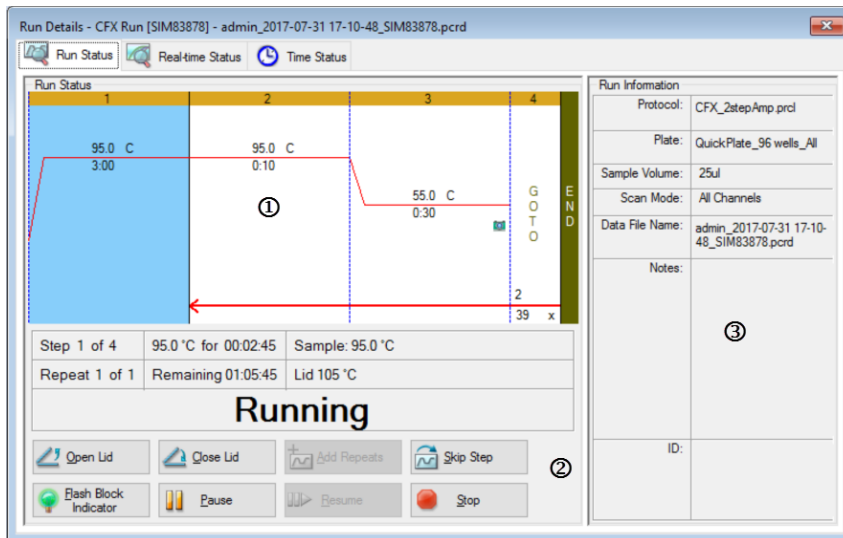
Kada kliknete Start Run (Pokreni izvođenje), CFX Maestro Dx SE od vas traži da spremite podatkovnu datoteku (.pcrd), pokrene izvođenje i otvori dijaloški okvir Run Details (Detalji izvođenja). Dijaloški okvir Run Details (Detalji izvođenja) sadržava tri kartice statusa:

- **Run Status (Status pokretanja)** – upotrijebite ovu karticu za prikaz trenutnog statusa protokola, otvaranje ili zatvaranje poklopca, pauziranje izvođenja, dodavanje ponavljanja, preskakanje koraka ili zaustavljanje izvođenja.
- **Real-time Status (Status u stvarnom vremenu)** – upotrijebite ovu karticu za prikaz podataka o fluorescenciji PCR-a u stvarnom vremenu dok se prikupljaju.
- **Time Status (Status vremena)** – upotrijebite ovu karticu za prikaz odbrojavanja preko cijelog zaslona za protokol.

Te su kartice detaljno objašnjene u sljedećim odjeljcima.

Run Status Tab

Kartica Run Status (Status izvođenja) prikazuje trenutni status izvođenja u tijeku. U ovom prikazu također možete kontrolirati poklopac i promijeniti izvođenje.



LEGENDA

1. Okno Run Status (Status izvođenja) – prikazuje trenutni napredak protokola.

2. Kontrole Run Status (Status izvođenja) – omogućuju vam upravljanje uređajem ili prekid trenutnog protokola.

3. Okno Run Information (Informacije o izvođenju) – prikazuje detalje o izvođenju.

Run Status Commands

Upotrijebite naredbe na kartici Run Status (Status izvođenja) da biste upravljali uređajem s pomoću softvera ili promijenili izvođenje koje je u tijeku.

Napomena: Izmjene protokola tijekom izvođenja, poput dodavanja ponavljanja, ne mijenjaju datoteku protokola povezanu s izvođenjem. Te se radnje bilježe u bilješci Run Log (Zapisnik izvođenja).



– otvara motorizirani poklopac na odabranim uređajima.

Važno: Otvaranje poklopca tijekom izvođenja zaustavlja pokretanje tijekom trenutnog koraka i može promijeniti podatke. [Run Status Commands na stranici 173.](#)



– zatvara motorizirani poklopac na odabranim uređajima.



– dodaje više ponavljanja trenutnom GOTO koraku u protokolu. Ova je opcija dostupna samo kada je pokrenut GOTO korak.

Napomena: Možete dodati dodatna ponavljanja u ciklusu GOTO dok je protokol u tijeku. Međutim, CFX Maestro Dx SE prepoznaje najnoviju promjenu u broju ponavljanja. Na primjer, ako dodate 10 dodatnih ponavljanja tijekom ciklusa GOTO, softver će ukupan broj promijeniti na $n + 10$. Ako zatim dodate dodatnih pet (5) ponavljanja dok ste u istom ciklusu, CFX Maestro promijenit će ukupan broj ponavljanja na $n + 5$. Prva promjena (10 ponavljanja) se zanemaruje. Da biste osigurali da softver izvodi ciljni broj ponavljanja, unesite ukupan broj (u ovom slučaju 15 ponavljanja).



– preskače trenutni korak u protokolu.

Napomena: Ako pokrenete preskakanje tijekom GOTO koraka, sustav preskače na sljedeći ciklus u GOTO petlji. Ako je zadnji ciklus GOTO koraka bio u tijeku u trenutku preskakanja, sustav preskače na sljedeći korak.



– treperi LED svjetlo na odabranom uređaju za prepoznavanje odabranih blokova.



– pauzira protokol.

Napomena: Ova se radnja bilježi u zapisniku pokretanja.



– nastavlja pauzirani protokol.

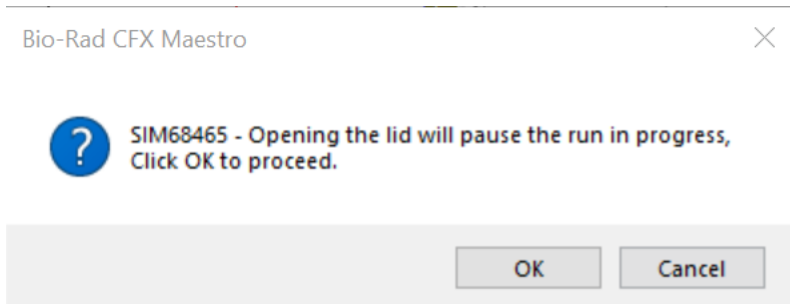


– zaustavlja pokretanje prije završetka protokola.

Napomena: Zaustavljanje izvođenja prije završetka protokola može promijeniti vaše podatke.

Otvaranje poklopca uređaja tijekom izvođenja PCR-a

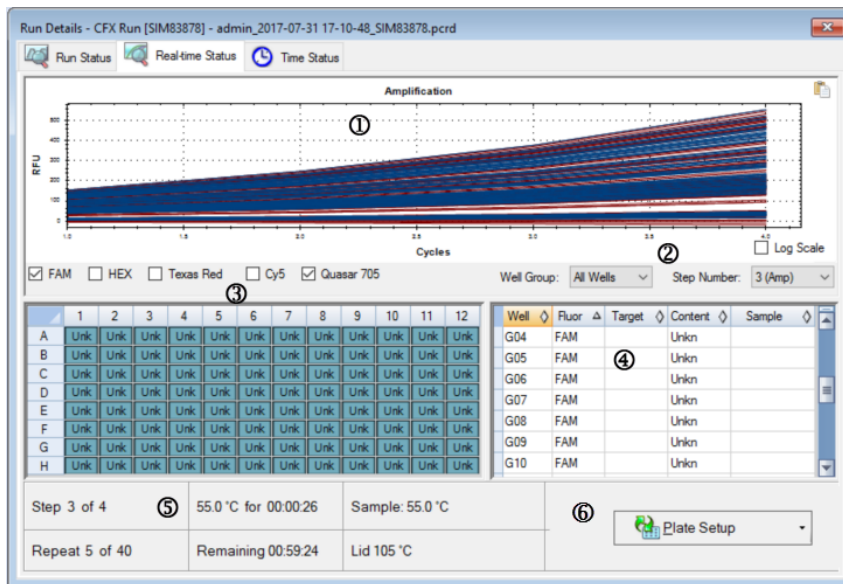
Ako se tijekom izvođenja PCR-a otvori poklopac bilo kojeg uređaja, proizvod CFX Maestro Dx SE prikazat će sljedeći dijalog potvrde:



Uređaji nastavljaju izvoditi protokol dok se dijalog prikazuje. Gumbom OK (U redu) izvođenje se pauzira, a poklopac uređaja odspaja se i otvara. Gumbom Cancel (Odustani) dijalog se odbacuje, a izvođenje se nastavlja.

Kartica Real-time Status (Status u stvarnom vremenu)

Kartica Real-time Status (Status u stvarnom vremenu) prikazuje PCR podatke u stvarnom vremenu prikupljene u svakom ciklusu tijekom izvođenja nakon čitanja prve dvije pločice.



LEGENDA

1. Okno za praćenje Amplification (Pojačanje) – prikazuje podatke pojačanja u stvarnom vremenu tijekom izvođenja.
2. Identifikator skupine jažica – ako su skupine jažica identificirane pri postavljanju pločice, korisnici mogu odabrati određenu skupinu jažica kako bi pregledali njezine tragove, jažice i tablične informacije.
Identifikator broja koraka – ako protokol prikuplja podatke u više od jednog koraka (na primjer tijekom pojačanja i krivulje taljenja), korisnici mogu odabrati određeni korak i pregledati tragove prikupljene u tom koraku.
3. Okno za odabir jažice – prikazuje aktivne, neaktivne i prazne jažice u pločici.
4. Okno tablice za postavljanje pločice – prikazuje postavljanje pločice u tabličnom formatu.

5. Okno Run details (Detalji izvođenja) – prikazuje status izvođenja u stvarnom vremenu, uključujući:
 - Trenutačni korak
 - Trenutačno ponavljanje
 - Trenutačna temperatura
 - Preostalo vrijeme (Remaining)
 - Temperatura uzorka
 - Lid temperature (Temperatura poklopca)

6. Plate Setup (Postavljanje pločice) – otvara dijaloški okvir Plate Setup (Postavljanje pločice), u kojem korisnici mogu izmijeniti trenutačnu postavku pločice tijekom izvođenja.

Na kartici Real-time Status (Status u stvarnom vremenu) možete

- Prikazati ili sakriti tragove u stvarnom vremenu odabirom u oknu za odabir jažice ili tablici postavljanja pločice
- Pregledati pojedinačne ili skupine tragova odabirom na padajućem izborniku skupine jažica
- Urediti pločice ili zamijenite datoteku pločice
- Primijeniti PrimePCR datoteku na izvođenje.

Prikazivanje ili skrivanje tragova u stvarnom vremenu

Prema zadanim postavkama sve napunjene jažice su aktivne i pojavljuju se u tablici postavljanja pločice. Aktivne jažice izgledaju plavo u oknu za odabir jažice. Skriveno jažice izgledaju svijetlo sive, a neiskorištene jažice tamno sive u oknu za odabir jažice.

Za vrijeme izvođenja možete sakriti tragove iz aktivnih jažica. CFX Maestro Dx SE nastavlja prikupljati podatke za sve jažice; kada sakrijete jažice, njihovi se podaci ne pojavljuju u tablici postavljanja pločice.

Sakrivanje tragova u stvarnom vremenu

- ▶ U oknu za odabir jažice kliknite aktivne (plave) jažice koje želite sakriti.

Za prikaz tragova u stvarnom vremenu

- ▶ U oknu za odabir jažice kliknite skrivene (svijetlo sive) jažice koje želite prikazati.

Za više informacija o biraču jažica, pogledajte [Well Selector \(Birač jažica\)](#) na stranici 196.

Uređivanje postavljanja pločice

Uređivanje postavljanja pločice

- ▶ Kliknite Plate Setup (Postavljanje pločice), a zatim odaberite View/Edit Plate (Prikaz/uređivanje pločice).

Pojavljuje se prozor Plate Editor (Uređivač pločice) u kojem možete uređivati pločicu dok je izvođenje u tijeku. Za više informacija o uređivanju pločica, pogledajte [Poglavlje 8, Priprema pločica](#).

Napomena: Također možete urediti stilove praćenja iz prozora Plate Editor (Uređivač pločice). Promjene se pojavljuju u grafikonu praćenja pojačanja na kartici Real-time Status (Status u stvarnom vremenu).

Zamjena datoteke pločice

Savjet: Zamjena datoteke pločice posebno je korisna ako pokrenete izvođenje datotekom Quick Plate (Brza pločica) u mapi ExpressLoad (Brzo umetanje).

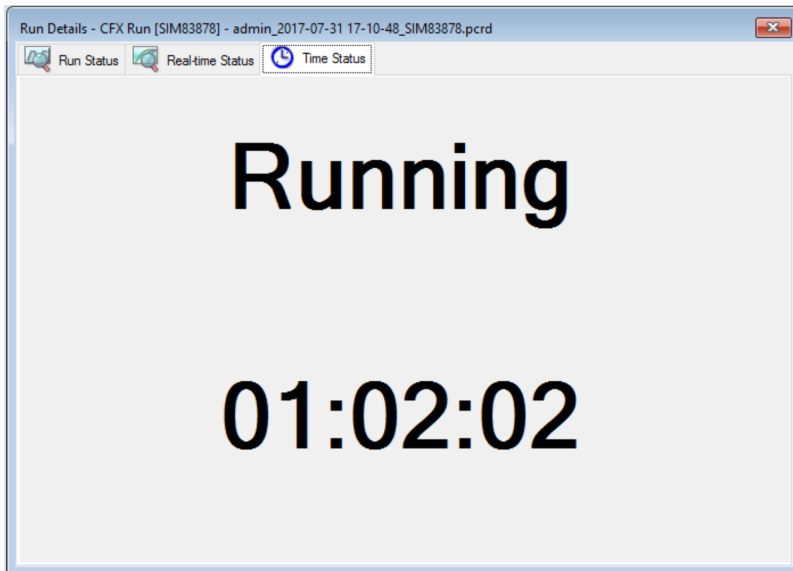
Zamjena datoteke pločice

- ▶ Kliknite Plate Setup (Postavljanje pločice), a zatim odaberite jednu od sljedećih opcija:
 - Replace Plate file (Zamijeni datoteku pločice) – odaberite novu datoteku pločice s popisa u prozoru preglednika
 - Apply PrimePCR file (Primijeni datoteku PrimePCR) – potražite datoteku za izvođenje iz koje će se s pomoću funkcije Smart search (Pametno pretraživanje) dobiti raspored pločice ili kliknite Browse (Pregledaj) da biste pronašli datoteku koju ste preuzeli s internetske stranice tvrtke Bio-Rad, a koja se ne nalazi u mapi PrimePCR

Napomena: CFX Maestro Dx SE provjerava način skeniranja i veličinu pločice za datoteku pločice. Moraju biti jednake postavkama izvođenja s kojima je izvođenje pokrenuto.

Kartica Time Status (Status vremena)

Kartica Time Status (Status vremena) prikazuje preostalo vrijeme za završetak trenutnog izvođenja.



Izvođenje PrimePCR eksperimenata

PrimePCR eksperimenti koriste ispitivanja specifična za kanal ili bolest koje je tvrtka Bio-Rad potvrdila i optimizirala u laboratoriju, a dostupna su u sljedećim formatima:

- Prethodno pripremljene pločice – pločice koje sadržavaju ispitivanja specifična za biološki kanal ili bolest; uključuju PrimePCR kontrole i referentne gene.
- Prilagođene konfiguracijske pločice – pločice koje se mogu postaviti u korisnički definiranom rasporedu s opcijom odabira ispitivanja za ciljeve od interesa, kontrole i reference.
- Pojedinačna ispitivanja – epruvete koje sadržavaju pojedinačne setove početnica za upotrebu u reakcijama u stvarnom vremenu.

Da biste smanjili ukupno vrijeme izvođenja, možete ukloniti korak taljenja u protokolu. Bio-Rad preporučuje da ne pravite nikakve druge izmjene na protokolu izvođenja PrimePCR-a. Zadani protokol je onaj koji je korišten za validaciju ispitivanja. Svako odstupanje od ovoga može utjecati na rezultate. Izmjene protokola bilježe se na kartici Run Information (Podaci o izvođenju) rezultirajuće podatkovne datoteke i u svim stvorenim izvješćima.

Pokretanje izvođenja PrimePCR

- ▶ Da biste započeli izvođenje PrimePCR-a, učinite nešto od sljedećeg:
 - U funkciji Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) odaberite PrimePCR na kartici Run setup (Postavljanje izvođenja), a zatim odaberite odgovarajuću kemiju (SYBR[®] ili Probe (Sonda)).
 - Odaberite izvođenje PrimePCR-a s popisa Recent Runs (Nedavna izvođenja) na kartici Repeat run (Ponavljanje izvođenja) u Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje).
 - Odaberite File (Datoteka) > Open (Otvori) > PrimePCR Run File (PrimePCR datoteka za izvođenje) u prozoru Home (Početno).
 - Povucite i ispustite datoteku za izvođenje PrimePCR u početni prozor.

Nakon što odaberete pokretanje PrimePCR-a, otvorit će se prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja) na kartici Start Run (Pokretanje izvođenja) sa zadanim rasporedom pločice PrimePCR postavljenim na temelju odabranog uređaja.

Uklanjanje koraka taljenja u protokolu

- ▶ Na kartici Protocol (Protokol) poništite okvir pored Include Melt Step (Dodaj korak taljenja).

Uvoz ciljnih podataka za PrimePCR pločice u raspored pločica

1. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Na kartici Real-time Status (Status u stvarnom vremenu) u dijaloškom okviru Run Details (Detalji izvođenja) odaberite Plate Setup (Postavljanje pločice) > Apply PrimePCR File (Primijeni datoteku PrimePCR).
 - U prozoru Data Analysis (Analiza podataka) odaberite Plate Setup (Postavljanje pločice) > Apply PrimePCR File (Primijeni datoteku PrimePCR).
2. U dijaloškom okviru PrimePCR run file (Datoteka za izvođenje PrimePCR), kliknite Browse (Pregledaj) da biste došli do odgovarajuće PrimePCR datoteke (.csv).
3. Odaberite ciljnu datoteku PrimePCR i kliknite Open (Otvori).

Sustav CFX Opus Dx uvozi informacije o cilju u raspored pločica.

Prijenos samostalnih podataka za analizu

Važno: Prilikom prijena podatkovnih datoteka u smjeru Sustav CFX Opus Dx na CFX Maestro Dx SE, prenose se sve datoteke spremljene u sustavu. Provjerite imate li dovoljno prostora na disku za siguran prijenos podataka.

Kada je izvođenje završeno, CFX Maestro Dx SE analizira podatke o fluorescenciji. Ako se izvođenje izvodi u samostalnom načinu i spremi na sam Sustav CFX Opus Dx, podaci se trebaju prenijeti na računalo sa softverom CFX Maestro Dx SE radi analize.

Sustav CFX Opus Dx može pohraniti do 100 PCR izvođenja u stvarnom vremenu. Po završetku izvođenja možete prenijeti samostalne podatkovne datoteke u računalo za CFX Maestro Dx SE putem e-pošte, USB pogona ili putem samog softvera.

Ovaj odjeljak objašnjava kako prenijeti samostalne podatkovne datoteke na računalo za CFX Maestro Dx SE.

Prijenos podataka putem e-pošte

Slanje podatkovne datoteke e-poštom na kraju izvođenja

1. Postavite obavijesti e-poštom za uređaj.

Pogledajte [Postavljanje obavijesti putem e-pošte na stranici 79](#) ili upute za upotrebu za Sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu .

2. Kada postavljate obavijesti e-poštom, provjerite je li odabrano Attach Data File (Priloži podatkovnu datoteku).

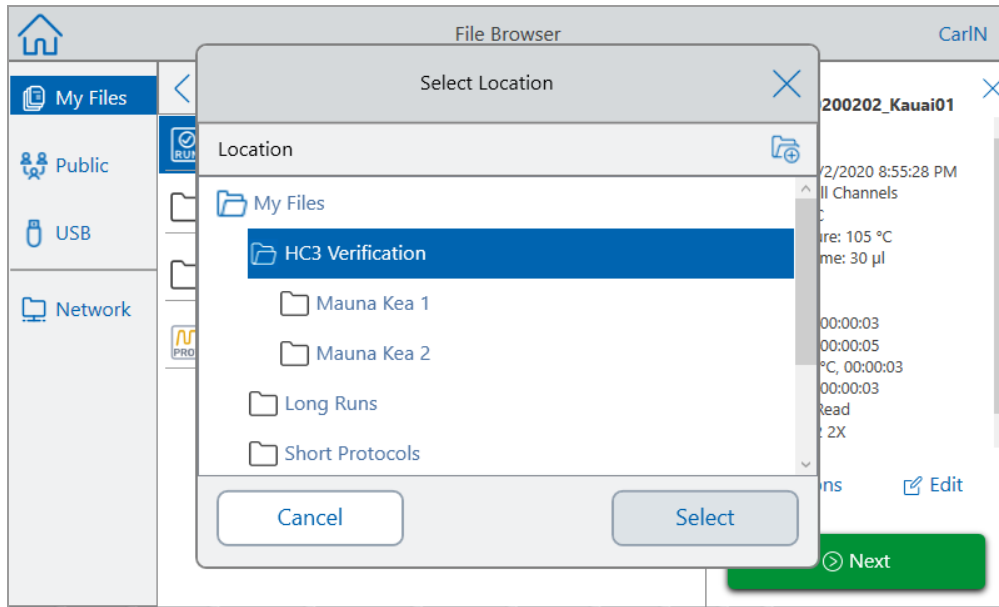
Podaci o izvođenju šalju se u obliku .pcrd datoteke.

Sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu: prijenos podataka


Uporabom značajke File Browser (Preglednik datoteka) za Sustav CFX Opus Dx možete prenijeti podatkovne datoteke na priključeni USB pogon ili u zajedničku mrežnu mapu. Također možete prenijeti datoteke protokola CFX Maestro Dx SE s USB pogona ili zajedničkog mrežnog pogona u vašu mapu ili mapu Public (Javno) na Sustav CFX Opus Dx i pokrenite ih na Sustav CFX Opus Dx.

Savjet: U ovom odjeljku objašnjen je način prijena podataka. Informacije o postavljanju Ethernet potražite u Priručniku za rad za Sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu koji je dostupan u izborniku Help (Pomoć) za CFX Maestro Dx SE.

1. Na početnom zaslonu za Sustav CFX Opus Dx dodirnite Files (Datoteke) za prikaz zaslona File Browser (Preglednik datoteka).
2. Na zaslonu File Browser (Preglednik datoteka) dođite do datoteke koju želite kopirati, a zatim dodirnite datoteku za prikaz okna s pojedinostima o datoteci.
3. U oknu s pojedinostima o datoteci dodirnite Options (Mogućnosti) i zatim Copy (Kopiraj).



Pojavljuje se dijaloški okvir Select Location (Odaberi lokaciju).

4. U dijaloškom okviru Select Location (Odaberi lokaciju) učinite jedno od sljedećeg:
 - Dođite do postojeće mape.
 - Dođite do lokacije za stvaranje mape u koju ćete spremiti datoteku, a zatim dodirnite Create Folder (Izradi mapu)  kako biste izradili novu mapu na toj lokaciji.
5. Dodirnite Select (Odaberi) za kopiranje datoteke u odabranu lokaciju ili Cancel (Odustani) za povratak na zaslon File Browser (Preglednik datoteka).

Napomena: Ako datoteka s istim nazivom postoji u odabranoj lokaciji, pojavit će se okvir poruke. Dodirnite Yes (Da) da biste presnimili preko postojeće datoteke ili No (Ne) da biste se vratili na zaslon File Browser (Preglednik datoteka).

Sustav CFX Opus Dx prikazuje poruku potvrde kada se datoteka uspješno kopira.

Prijenos podataka kroz Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Prijenos podataka kroz CFX Maestro Dx SE

1. U oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji) na početnom prozoru desnom tipkom miša kliknite ciljni uređaj i odaberite Retrieve Data Files (Dohvati podatkovne datoteke).

CFX Maestro Dx SE prikazuje dijaloški okvir Browse For Folder (Pregledaj mapu).

2. U dijaloškom okviru Browse For Folder (Pregledaj mapu) pronađite mjesto na kojem planirate spremiti podatkovne datoteke i kliknite OK (U redu).

Postupak prijena stvara mapu s oznakom Real-Time Data (Podaci u stvarnom vremenu) na odabranom mjestu. Podaci izvođenja spremaju se u mapu Real-Time Data (Podaci u stvarnom vremenu) kao zasebne .zpcr datoteke.

Prijenos podataka s pomoću USB pogona

Ako umetnete USB pogon u USB priključak na uređaju, podatkovna datoteka automatski se sprema u korijenski direktorij USB pogona kada je izvođenje završeno. Također možete pronaći prethodno spremljene podatkovne datoteke i spremiti ih na priključeni USB pogon.

Prijenos podatkovnih datoteka na USB pogon za Sustav CFX Opus Dx

- ▶ U dijaloškom okviru Select Location (Odaberi lokaciju) dodirnite USB i dođite do ciljne mape u koju želite kopirati datoteku ili dodirnite Cancel (Odustani) za povratak na zaslon File Browser (Preglednik datoteka).

Napomena: Ako datoteka s istim nazivom postoji u odabranoj lokaciji, pojavit će se dijaloški okvir. Dodirnite Yes (Da) da biste presnimili preko postojeće datoteke ili No (Ne) da biste se vratili na zaslon File Browser (Preglednik datoteka).

Sustav CFX Opus Dx prikazuje poruku potvrde kada se datoteka uspješno kopira.

Prijenos podataka putem zajedničkog mrežnog pogona uz Sustav CFX Opus Dx PCR u stvarnom vremenu

Savjet: Podatke možete prenijeti na i sa zajedničkog mrežnog pogona samo uz Sustav CFX Opus Dx.

Sustav CFX Opus Dx omogućuje vam povezivanje sa zajedničkim mrežnim pogonom s pomoću Ethernet . Uspješnom vezom možete prenijeti podatkovne datoteke u i iz mape na zajedničkom mrežnom pogonu.

Za prijenos podataka na i sa zajedničkog mrežnog pogona

- ▶ U dijaloškom okviru Select Location (Odaberi lokaciju) dodirnite Network (Mreža) i dođite do ciljne mape u koju ćete kopirati datoteku ili dodirnite Cancel (Odustani) za povratak na zaslon File Browser (preglednik datoteka).

Napomena: Ako datoteka s istim nazivom postoji u odabranoj lokaciji, pojavit će se dijaloški okvir. Dodirnite Yes (Da) da biste presnimili preko postojeće datoteke ili No (Ne) da biste se vratili na zaslon File Browser (Preglednik datoteka).

Sustav CFX Opus Dx prikazuje poruku potvrde kada se datoteka uspješno kopira.

Izrada podatkovne datoteke

Za analizu podataka prenesenih s uređaja na CFX Maestro Dx SE računalo, komprimirana podatkovna datoteka (.zpcr datoteka) mora se pretvoriti u podatkovnu datoteku (.pcrd datoteka). CFX Maestro Dx SE pretvara .zpcr datoteku u .pcrd datoteku, a zatim odabire datoteku pločice koja ima isti način skeniranja i veličinu pločice i primjenjuje je na datoteku .pcrd.

Izrada podatkovne datoteke iz samostalne podatkovne datoteke

1. U CFX Maestro Dx SE učinite jedno od sljedećeg:
 - Pronađite ciljnu .zpcr datoteku i povucite je na CFX Maestro Dx SE prozor Home (Početno).
 - Odaberite File (Datoteka) > Open (Otvori) > Stand-alone Run (Samostalno izvođenje) i dođite do ciljne datoteke i odaberite je.

CFX Maestro Dx SE prikazuje dijaloški okvir Save As (Spremi kao).

2. Dođite do mape u koju planirate spremiti .pcrd datoteku i kliknite Save (Spremi).

Nakon što spremite .pcrd datoteku, CFX Maestro Dx SE otvara prozor Data Analysis (Analiza podataka) i prikazuje rezultirajuće podatke.

Poglavlje 10 Pregled analize podataka

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition obrađuje PCR podatke u stvarnom vremenu automatski na kraju svakog izvođenja i otvara prozor Data Analysis (Analiza podataka) za prikaz tih podataka (.pcrd datoteka).

- povući podatkovnu datoteku (s ekstenzijom .pcrd) u prozoru Home (Početno) i otpustite je
- odabrati File (Datoteka) > Open (Otvori) > Data File (Podatkovna datoteka) u prozoru Home (Početno) i pronaći ciljnu .pcrd datoteku
- odabrati File (Datoteka) > Recent Data Files (Nedavne podatkovne datoteke) u prozoru Home (Početno) da biste s popisa odabrali deset nedavno otvorenih podatkovnih datoteka
- odabrati karticu Analyze (Analiza) u Startup Wizard (Čarobnjak za pokretanje) i odaberite Recent Files (Nedavne datoteke) u čarobnjaku ili kliknite Browse (Pregledaj) da biste pronašli podatkovnu datoteku.

Prozor Data Analysis (Analiza podataka)

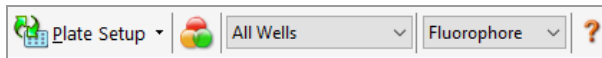
Prozor Data Analysis (Analiza podataka) prikazuje više kartica, a svaka kartica prikazuje analizirane podatke za određenu metodu analize ili informacije specifične za izvođenje. Kartice se pojavljuju samo ako su podaci prikupljeni u izvođenju dostupni za tu vrstu analize.



Savjet: Da biste odabrali kartice za prikaz, odaberite ih s padajućeg izbornika View (Prikaz) u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Da biste se vratili na izvorni izgled kartice, odaberite Settings (Postavke) > Restore Default Window Layout (Vrati zadani izgled prozora).

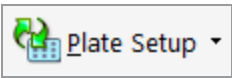

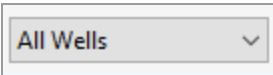
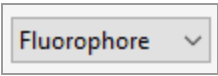

Alatna traka Data Analysis (Analiza podataka)

Alatna traka u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) omogućuje brzi pristup važnim funkcijama analize podataka.



Tablica 11 navodi funkcije gumba na alatnoj traci.

Tablica 11. Alatna traka u prozoru Data Analysis (Analiza podataka)

Gumb	Naziv	Funkcija
	Plate Setup (Postavljanje pločice)	View/Edit plate (Prikaz/uređivanje pločice) – otvara Plate Editor (Uređivač pločice) za pregled i uređivanje sadržaja jažica. Replace Plate (Zamijeni pločicu) – odabire datoteku pločice koja će zamijeniti raspored pločice. Apply PrimePCR file (Primijeni datoteku PrimePCR) – odabire datoteku izvođenja koja će zamijeniti izgled pločice za pokretanje PrimePCR-a.
	Manage Well Groups (Upravljanje skupinama jažica)	Otvora prozor Well Groups Manager (Upravitelj skupina jažica) za stvaranje, uređivanje i brisanje skupina jažica.
	Well Group (Skupina jažica)	S padajućeg izbornika odabire postojeći naziv skupine jažica. Zadani je odabir All Wells (Sve jažice). Ovaj se gumb pojavljuje samo kada se kreiraju skupine jažica.
	Analysis Mode (Način analize)	Analizira podatke prema načinu Fluorophore (Fluorofor) ili Target (Cilj).
	Help (Pomoć)	Otvora Help (Pomoć) za softver gdje možete pronaći internetsku pomoć i digitalnu kopiju ovog priručnika u Acrobat PDF formatu.

Traka izbornika Data Analysis (Analiza podataka)

Tablica 12 navodi stavke na traci izbornika u prozoru Data Analysis (Analiza podataka).

Tablica 12. Stavke izbornika prozora Data Analysis (Analiza podataka)

Stavka izbornika	Naredba	Funkcija
File (Datoteka)	Save (Spremi)	Sprema datoteku.
	Save As (Spremi kao)	Sprema datoteku s novim nazivom.
	File Password (Lozinka datoteke)	Omogućuje korisnicima postavljanje lozinke za spremanje i otvaranje.
	Sign (Potpisivanje)	Omogućuje korisnicima potpisivanje podatkovne datoteke.
	Repeat Run (Ponovi izvođenje)	Izdvaja protokol i datoteku pločice iz trenutnog izvođenja da bi je ponovno pokrenuo.
	Close (Zatvori)	Zatvara prozor Data Analysis (Analiza podataka).
View (Prikaz)	Run Log (Zapisnik izvođenja)	Otvora prozor Run Log (Zapisnik izvođenja) za prikaz zapisnika izvođenja za trenutnu podatkovnu datoteku.
	Revizijski trag	Otvora revizijski trag za datoteku.
	Quantification (Kvantifikacija), Melt Curve (Krivulja taljenja), Gene Expression (Genska ekspresija), End Point (Krajnja točka), Custom Data View (Prilagođeni prikaz podataka), QC (Kontrola kvalitete), Run Information (Podaci o izvođenju)	Prikazuje analizirane podatke na odabranim karticama u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Mora biti odabrana najmanje jedna kartica.

Tablica 12. Stavke izbornika prozora Data Analysis (Analiza podataka), nastavak

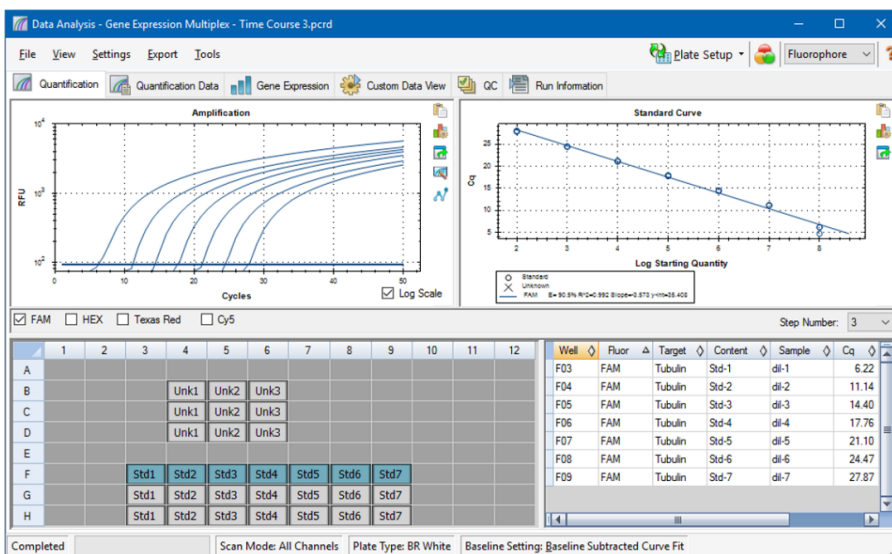
Stavka izbornika	Naredba	Funkcija
Settings (Postavke)	C _q Determination Mode (Način određivanja C _q)	Omogućuje vam odabir načina Regression (Regresija) ili Single Threshold (Pojedinačni prag) da biste odredili kako se izračunavaju vrijednosti C _q za svaki trag.
	Baseline Setting (Postavke osnovne vrijednosti)	Omogućuje vam odabir metode Baseline Subtraction (Oduzimanje osnovne vrijednosti) za odabrane skupine jažica.
	Analysis Mode (Način analize)	Omogućuje vam analizu podataka prema Fluorophore (Fluorofor) ili Target (Cilj).
	Cycles to Analyze (Ciklusi za analizu)	Omogućuje vam odabir ciklusa koji će se analizirati.
	Baseline Threshold (Osnovni prag)	Otvora prozor Baseline Threshold (Osnovni prag) za prilagodbu osnovne vrijednosti ili praga.
	Trace Styles (Stilovi tragova)	Otvora prozor Trace Styles (Stilovi tragova).
	Plate Setup (Postavljanje pločice)	Otvora Plate Editor (Uređivač pločice) za pregled i uređivanje pločice; zamijenite trenutnu pločicu onom iz datoteke definirane od strane korisnika ili datoteke za izvođenje PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Uključi sve izuzete jažice)	U analizu uključuje sve izuzete jažice.
	Mouse Highlighting (Isticanje mišem)	Uključuje ili isključuje istodobno isticanje podataka pokazivačem miša. Savjet: Ako je Mouse Highlighting (Isticanje mišem) isključeno, pritisnite tipku Control (Ctrl) da biste privremeno uključili označavanje.
	Restore Default Window Layout (Vrati zadani raspored prozora)	Vraća raspored prozora na zadane postavke.

Tablica 12. Stavke izbornika prozora Data Analysis (Analiza podataka), nastavak

Stavka izbornika	Naredba	Funkcija
Export (Izvezi)	Export All Data Sheets (Izvezi sve listove podataka)	Omogućuje vam da odaberete želite li izvesti sve prikaze proračunske tablice sa svake kartice u .csv, .txt, Excel ili .xml datoteku.
	Export RDML File (Izvoz RDML datoteke)	Omogućuje vam odabir inačice RDML-a 1.1 ili 1.0 u koju želite izvesti datoteku.
	Custom Export (Prilagođeni izvoz)	Otvora prozor Custom Export (Prilagođeni izvoz) u kojem se mogu navesti polja koja se izvoze i format datoteke.
	Export to LIMS Folder (Izvoz u mapu sustava LIMS)	Otvora prozor za spremanje podataka u unaprijed određenom formatu u mapu sustava LIMS.
	Manual Export (Izvezi ručno)	Otvora prozor za odabir lokacije za spremanje podataka iz svih prikaza proračunskih tablica u Excel datoteke koje su strukturirane posebno za upotrebu za društvo Seegene, Inc. i Bio-Rad Laboratories. Savjet: Također možete automatski pokrenuti Seegene Viewer prilikom izvoza. Pogledajte Naredbe izbornika Tools (Alati) na stranici 65 za više informacija.
Tools (Alati)	Reports (Izvjешća)	Otvora Report (Izvjешće) za ovu podatkovnu datoteku.
	Well Group Reports (Izvjешća skupine jažica)	Otvora prozor Well Group Report (Izvjешće skupine jažica) za generiranje izvješća za određene skupine jažica.
	Import Fluorophore Calibration (Uvezi kalibraciju fluorofora)	Odaberite datoteku za kalibraciju koja će se primijeniti na trenutačnu podatkovnu datoteku.
	qbase+	Pokreće qbase + v2.5 izravno iz trenutačne .pcrd datoteke ako je instalirana.
	Generate LIMS PLRN file (Generiraj LIMS PLRN datoteku)	Sprema podatkovnu datoteku kao .plrn datoteku u formatu LIMS.

Pojedinosti kartice

Svaka kartica u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) prikazuje podatke na grafikonima i proračunskim tablicama za određenu metodu analize i uključuje birač jažica za odabir podataka koje želite prikazati. Kad se otvori, Data Analysis (Analiza podataka) prema zadanim postavkama prikazuje karticu Quantification (Kvantifikacija). Podatke za grafikon Amplification (Pojačanje) možete upotrijebiti na kartici Quantification (Kvantifikacija) da odredite odgovarajuće postavke analize za izvođenje.



Napomena: Softver povezuje podatke u oknima svake kartice Data Analysis (Analiza podataka). Na primjer, označavanje jažica postavljanjem pokazivača miša preko jažice u prikazu birača jažice naglašava podatke u svim ostalim oknima.

Step Number Selector (Birač broja koraka)

Sustavi CFX Opus Dx mogu prikupiti podatke o fluorescenciji u više koraka protokola; softver neovisno održava podatke prikupljene u svakom koraku. CFX Maestro Dx SE prikazuje birač Step Number (Broj koraka) ispod grafikona Standard Curve (Standardna krivulja) na kartici Quantification (Kvantifikacija). Kada protokol sadržava barem jedan korak prikupljanja podataka, CFX Maestro Dx SE prikazuje podatke iz prvog koraka prikupljanja.

Ako protokol sadržava više od jednog koraka prikupljanja, s padajućeg popisa možete odabrati drugi korak. Na primjer:

Step Number:

Kada odaberete korak, softver taj odabir primjenjuje na sve podatke koji su prikazani u prozoru Data Analysis (Analiza podataka).

Pregled skupina jažica u analizi podataka

Jažice na pločici mogu se grupirati u podskupine za neovisnu analizu s pomoću skupina jažica. Kada izradite skupine jažica, nazivi njihovih skupina pojavit će se na padajućem popisu prozora Data Analysis (Analiza podataka) na alatnoj traci.

Ako ste izradili skupine jažica, softver prikazuje zadanu skupinu jažica All Wells (Sve jažice) kada otvorite prozor Data Analysis (Analiza podataka), prikazujući podatke u svim jažicama sa sadržajem na grafikonima i proračunskim tablicama. Samo se jažice u toj skupini jažica napunjenih sadržajem pojavljuju u biraču jažica, a samo su podaci za te jažice uključeni u izračune analize podataka.

Savjet: Da biste izradili, uredili i izbrisali skupine jažica, kliknite Manage Well Groups (Upravljanje skupinama jažica) na alatnoj traci.

Napomena: Ako niste izradili skupine jažica, padajući popis Well Groups (Skupina jažica) neće se pojaviti na alatnoj traci.

Promjena sadržaja jažica nakon izvođenja

Tijekom analize podataka promjena načina prikaza podataka promjenom sadržaja jažica u značajki Plate Editor (Uređivač pločice) nikada ne mijenja podatke o fluorescenciji prikupljene iz svake jažice tijekom izvođenja. Nakon što modul prikupi podatke o fluorescenciji, te podatke ne možete izbrisati, ali možete odabrati uklanjanje podataka iz prikaza i analize.

Promjena sadržaja jažica nakon izvođenja

- ▶ U prozoru Data Analysis (Analiza podataka) kliknite Plate Setup (Postavljanje pločice) i odaberite jednu od sljedećih opcija:
 - **Edit/View Plate (Uređivanje/prikaz pločice)** – otvara Plate Editor (Uređivač pločice) u kojem možete ručno izmijeniti izgled.
 - **Replace Plate File (Zamjena datoteke pločice)** – otvara preglednik Select Plate (Odaberi pločicu) u kojem možete prijeći na prethodno spremljenu datoteku pločice kojom ćete zamijeniti trenutni raspored pločice.
 - **Apply PrimePCR file (Primijeni datoteku PrimePCR)** – otvara dijaloški okvir Select PrimePCR (Odabir datoteke PrimePCR), u kojem možete doći do datoteke za izvođenje PrimePCR i primijeniti je na raspored pločice.

Savjet: Možete dodati ili urediti podatke o sadržaju jažice prije izvođenja, tijekom izvođenja ili nakon završetka PCR-a. Prije izvođenja morate dodijeliti način skeniranja i veličinu pločice. Ovi se parametri ne mogu mijenjati nakon izvođenja.

Postavke analize podataka

Podaci grafikona Amplification (Pojačanje) na kartici Quantification (Kvantifikacija) prikazuju relativnu fluorescentnu jedinicu (RFU) za svaku jažicu u svakom ciklusu. Svaki trag na grafikonu predstavlja podatke iz jednog fluorofora u jednoj jažici. Ti se podaci upotrebljavaju za određivanje vrijednosti C_q za svaku jažicu na osnovi fluorofora. Softver upotrebljava jedan od dva načina za određivanje vrijednosti C_q :

- **Regression (Regresija)** – primjenjuje multivarijabilni, nelinearni regresijski model na pojedinačne tragove jažica, a zatim upotrebljava taj model za izračunavanje optimalne vrijednosti C_q .
- **Single Threshold (Pojedinačni prag)** – upotrebljava pojedinačnu vrijednost praga za izračunavanje vrijednosti C_q na temelju točke prijelaza praga pojedinačnih tragova fluorescencije.

Odaberite Settings (Postavke) > C_q Determination Mode (Način određivanja C_q) da biste odabrali način određivanja C_q .

Podešavanje praga

U načinu Single Threshold (Pojedinačni prag) možete prilagoditi prag za fluorofor klikom na liniju praga na grafikonu Amplification (Pojačanje) i pomicanjem pokazivača miša okomito. Možete i odrediti točan prag prijelaza za odabrani fluorofor.

Baseline Settings (Postavke osnovne vrijednosti)

Softver automatski postavlja osnovnu vrijednost pojedinačno za svaku jažicu. Postavka osnovne vrijednosti određuje metodu oduzimanja osnovice za sve tragove fluorescencije. Softver nudi tri osnovne mogućnosti oduzimanja:

- **No Baseline Subtraction (Bez oduzimanja osnovne vrijednosti)** – prikazuje podatke kao relativne tragove fluorescencije. Neke analize nisu moguće u ovom načinu analize, pa softver stoga ne prikazuje kartice Gene Expression (Genska ekspresija), End Point (Krajnja točka) i Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija).
- **Baseline Subtracted (Oduzimanje osnovne vrijednosti)** – prikazuje podatke kao tragove oduzetih osnovnih vrijednosti za svaki fluorofor u jažici. Softver mora oduzeti osnovnu vrijednost podataka kako bi odredio cikluse kvantifikacije, konstruirao standardne krivulje i odredio koncentraciju nepoznatih uzoraka. Za generiranje osnovne vrijednosti oduzetog traga, softver uklapa najbolju ravnu liniju kroz zabilježenu fluorescenciju svake jažice tijekom osnovnih ciklusa, a zatim u svakom ciklusu oduzima podatke koji se najbolje uklapaju iz pozadinskih oduzetih podataka.
- **Baseline Subtracted Curve Fit (Postavljanje krivulje oduzete osnovne vrijednosti)** – prikazuje podatke u obliku tragova oduzete osnovne vrijednosti, a softver izravnavlja krivulju oduzete osnovne vrijednosti s pomoću filtra centrirane srednje vrijednosti. Taj se postupak izvodi tako da svaki C_q ostane nepromijenjen.

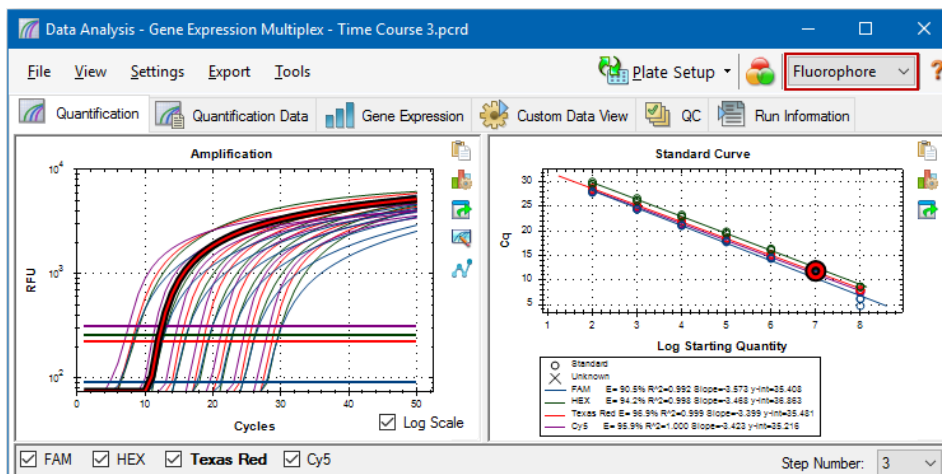
Osim ovih opcija možete odabrati i Apply Fluorescent Drift Correction (Primijeni korekciju fluorescentnog pomaka). Za jažice koje imaju RFU vrijednosti s abnormalnim pomakom tijekom nekoliko početnih ciklusa izvođenja softver izvodi procijenjenu osnovnu vrijednost iz susjednih jažica za koje je uspješno generirana vodoravna osnovna vrijednost.

Promjena postavke oduzimanja osnovne vrijednosti

- ▶ Odaberite Settings (Postavke) > Baseline Setting (Postavke osnovne vrijednosti).

Analysis Mode (Način analize)

Podaci se mogu grupirati i analizirati nazivom fluorofora ili cilja. Kada se grupiraju prema fluoroforu, fluorofor prikazuje tragove podataka kako je naznačeno u postavci pločice za to izvođenje. Pojedinačni podaci o fluoroforu pojavljuju se na grafikonu pojačanja i standardne krivulje (ako su dostupni) kada su odabrani odgovarajući potvrdni okviri za odabir fluorofora, smješteni ispod grafikona pojačanja.



Kada se grupiraju prema cilju, tragovi podataka prikazuju se prema nazivu cilja kako je uneseno u postavku pločice za to izvođenje.

Za odabir načina analize podataka

- ▶ Učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite Settings (Postavke) > Analysis Mode (Način analize).
 - Odaberite način s padajućeg izbornika Analysis Mode (Način analize) na alatnoj traci.

Cycles to Analyze (Ciklusi za analizu)

Možete ograničiti broj ciklusa za analizu. Također možete analizirati podatke iz određenog skupa ciklusa. Maksimalan broj ciklusa koje možete analizirati je 50.

Napomena: Uklanjanje ciklusa s početka izvođenja može imati značajan utjecaj na osnovnu vrijednost.

Ograničiti analizu podataka na određeni raspon ciklusa

1. Odaberite Settings (Postavke) > Cycles to Analyze (Ciklusi za analizu).
Pojavljuje se dijaloški okvir Cycles to Analyze (Ciklusi za analizu).
2. Unesite početnu i završnu vrijednost ciklusa i kliknite OK (U redu).

Kliknite Restore Defaults (Vraćanje zadanih vrijednosti) u dijaloškom okviru Cycles to Analyze (Ciklusi za analizu) da biste se vratili na cikluse koji su izvorno upotrijebljeni za analizu.

Well Selector (Birač jažica)

S pomoću značajke Well Selector (Birač jažica) prikažite ili sakrijte podatke o jažici na grafikonima ili proračunskim tablicama putem prozora Data Analysis (Analiza podataka). U izborniku jažica mogu se odabrati samo jažice napunjene uzorkom. Softver boji jažice u značajki Well Selector (Birač jažica):

- **Blue (Plava)** – označava odabrane jažice. Podaci iz odabranih jažica pojavljuju se u prozoru Data Analysis (Analiza podataka).
- **Light gray (Svijetlosiva)** – označava neodabrane jažice. Podaci iz neodabranih jažica ne pojavljuju se u prozoru Data Analysis (Analiza podataka).
- **Dark gray (Tamnosiva)** – označava prazne jažice.

	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			

Prikaz ili skrivanje podataka jažica

- ▶ U biraču jažica učinite nešto od sljedećeg:
 - Da biste sakrili jednu jažicu kliknite pojedinačnu jažicu. Da biste prikazali tu jažicu ponovno kliknite jažicu.
 - Da biste sakrili više jažica, povucite preko jažica koje želite odabrati. Da biste prikazali te jažice, ponovno povucite preko njih.
 - Kliknite gornji lijevi kut pločice da biste sakrili sve jažice. Ponovno kliknite gornji lijevi kut za prikaz svih jažica.
 - Kliknite početak stupca ili retka da biste sakrili te jažice. Ponovno kliknite stupac ili redak da biste prikazali jažice.

Stavke izbornika Well Selector (Birač jažica) koji se otvara desnim klikom miša

Tablica 13 navodi opcije desnog klika miša dostupne u prikazu birača jažica.

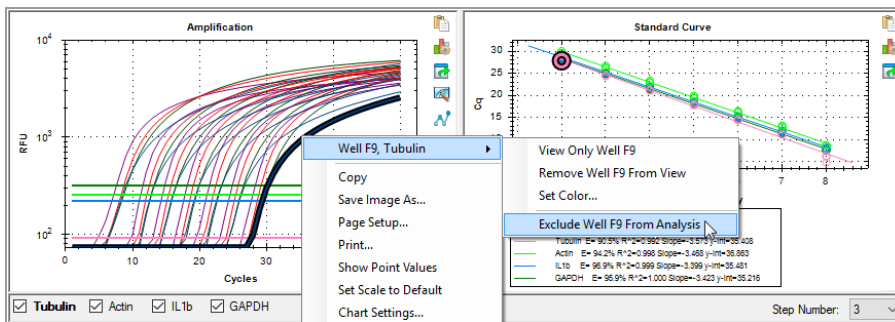
Tablica 13. Stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša u prikazu birača jažica

Stavka	Funkcija
Well XX (Jažica XX)	Prikazuje samo ovu jažicu, uklanja je iz prikaza, postavlja boju za tu jažicu ili je izuzima iz analize.
Selected Wells (Odabrane jažice) (desni klik i povlačenje)	Prikazuje samo ove jažice, uklanja ih iz prikaza, postavlja boju za te jažice ili ih izuzima iz analize.
Copy (Kopiraj)	Kopira sadržaj jažice u međuspremnik, uključujući Sample Type (Vrsta uzorka) i opcionalni Replicate # (Broj replike).
Copy as Image (Kopiraj kao sliku)	Kopira prikaz birača jažica kao sliku.
Print (Ispis)	Ispisuje prikaz birača jažica.
Print Selection (Ispis odabira)	Ispisuje trenutni odabir.
Export to Excel (Izvoz u Excel)	Izvozi podatke u Excel proračunsku tablicu.
Export to CSV (Izvoz u CSV)	Izvozi podatke kao .csv dokument.
Export to Xml (Izvoz u Xml)	Izvozi podatke kao .xml dokument.
Well Labels (Oznake jažica)	Mijenja oznake jažica u Sample Type (Vrsta uzorka), Target Name (Naziv cilja) ili Sample Name (Naziv uzorka).

Privremeno izuzimanje jažica iz analize

Privremeno izuzimanje jažica iz analize podataka

1. Desnom tipkom miša kliknite jažicu u biraču jažica, na tragu fluorescencije ili na točki prikazanoj na standardnoj krivulji. Da biste izuzeli više jažica, kliknite desnu tipku miša i povucite da biste istaknuli više jažica, tragova ili točaka.
2. U izborniku koji se otvara desnim klikom miša odaberite odgovarajuću opciju:
 - Well (Jažica) > Exclude Well (Izuzmi jažicu)
 - Selected Wells (Odabrane jažice) > Exclude from Analysis (Izuzmi iz analize)
 - Selected Traces (Odabrani tragovi) > Exclude these wells from Analysis (Izuzmi ove jažice iz analize)



Da biste trajno uklonili jažice iz analize, očistite sadržaj iz jažica u značajki Plate Editor (Uređivač pločica) klikom na gumb Clear Wells (Očisti jažice).

Važno: Morate ponovo unijeti sav sadržaj jažica koji je očišćen.

Uključivanje izuzete jažice

- ▶ Desnom tipkom miša kliknite odgovarajuću jažicu u biraču jažice i odaberite Well (Jažica) > Include Well in Analysis (Uključi jažicu u analizu).

Grafikoni

Svaki grafikon u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) prikazuje podatke u drugom grafikonu i uključuje opcije za prilagođavanje i izvoz podataka ili grafičkog prikaza grafikona.

Alati za grafikone

Tablica 14 navodi opcije kojima se pristupa desnom tipkom miša dostupne za većinu grafikona.

Tablica 14. Stavke izbornika grafikona kojima se pristupa desnom tipkom miša

Stavka	Funkcija
Copy (Kopiraj)	Kopira grafikon u međuspremnik.
Save Image As... (Spremi sliku kao...)	Sprema grafikon kao slikovnu datoteku. Postavite razlučivost i dimenzije slike, a zatim odaberite vrstu datoteke (PNG, GIF, JPG, TIF ili BMP).
Page Setup... (Postavljanje stranice...)	Odobire postavke stranice za ispis.
Print... (Ispis...)	Ispisuje grafikon.
Set Scale to Default (Postavi skaliranje na zadano)	Prikazuje sve podatke na trakastom grafikonu. Klizači se prikazuju ako ima previše podatkovnih točaka / uzoraka za prikaz u okviru grafikona.
Chart Settings (Postavke grafikona)	Otvora dijaloški okvir Chart Settings (Postavke grafikona) u kojem možete izmijeniti opcije prikaza grafikona, uključujući: <ul style="list-style-type: none"> ■ Naslove grafikona i osi ■ Font i veličinu grafikona i osi ■ Skaliranje osi ■ Položaj legende

Alati za grafikone također se pojavljuju na svakom grafikonu u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Svi grafikoni prikazuju alate u nastavku:

Copy to Clipboard (Kopiraj u međuspremnik) – kopira sadržaj prikaza grafikona u međuspremnik.

Chart Settings (Postavke grafikona) – otvara dijaloški okvir Chart Settings (Postavke grafikona) u kojem možete izmijeniti opcije prikaza grafikona.

Export (Izvezi) – otvara dijaloški okvir Export Options (Mogućnosti izvoza) gdje možete izmijeniti razlučivost i veličinu grafikona i spremiti ga na određenu lokaciju kao jednu od sljedećih vrsta datoteka:

- .bmp

- .jpg
- .png

Alati stupčastih grafikona

Uz alate za grafikone, trakasti grafikoni prikazuju sljedeće alate:

Sort (Sortiraj) – sortira ciljeve i uzorke po abecedi ili obrnutim redoslijedom abecede.

Color Settings (Postavke boje) – otvara dijaloški okvir Color Settings (Postavke boje) u kojem možete promijeniti boju ciljeva i uzoraka.

Za više informacija o tim alatima pogledajte [Promjena i bilježenje prikaza grafikona na stranici 262](#).

Alati grafikona Amplification (Pojačanje)

Uz gore navedene, grafikoni pojačanja prikazuju sljedeće alate:

Trace Styles (Stilovi tragova) – otvara dijaloški okvir Trace Styles (Stilovi tragova) u kojem možete izmijeniti izgled tragova u grafikonu pojačanja.

Baseline Threshold (Osnovni prag) – otvara dijaloški okvir Baseline Threshold (Osnovni prag), u kojem možete izmijeniti zadanu osnovicu za odabrane jažice ili promijeniti prag za svaku krivulju fluorescencije na grafikonu pojačanja.

Kopiranje podataka grafikona u međuspremnik

Možete kopirati sadržaj prikaza grafikona i zalijepiti ga u bilo koju aplikaciju koja prihvaća bitmapne slikovne datoteke.

Kopiranje podataka grafikona u međuspremnik

1. Iz alata za grafikone odaberite ikonu Copy to Clipboard (Kopiraj u međuspremnik).
2. Otvorite program koji prihvaća bitmapne slike, na primjer Microsoft Word.
3. Kliknite desnom tipkom miša i odaberite Paste (Zalijepi) da biste zalijepili bitmapnu sliku iz međuspremnika u aplikaciju.

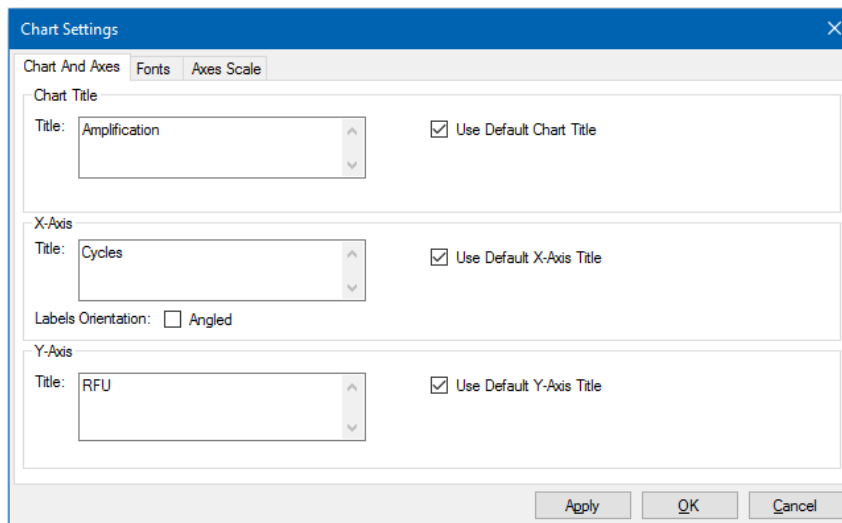
Promjena postavki prikaza grafikona

S pomoću dijaloškog okvira Chart Settings (Postavke grafikona) promijenite naslove, fontove i veličine, skalu osi i lokaciju legende za prikazani grafikon. Promjene koje napravite odnose se samo na prikazani grafikon i spremaju se s grafikonom.

Promjena postavki prikaza grafikona

1. Među alatima za grafikone kliknite Chart Settings (Postavke grafikona).

Pojavljuje se dijaloški okvir Chart Settings (Postavke grafikona).



2. Odaberite karticu Chart And Axes (Grafikoni i osi) da biste:

- Upisali naslov za grafikon.
- Upisali novi naslov za os X i nagnuli oznake.
- Upisali novi naslov za os Y.

3. Odaberite karticu Fonts (Fontovi) da biste promijenili font i veličinu fonta.

Savjet: Prema zadanim postavkama veličina fonta se automatski skalira kako se veličina grafikona mijenja. Odaberite Change Font Size (Promijeni veličinu fonta) da biste postavili statičnu veličinu fonta za svaku vrstu oznake.

4. Odaberite karticu Axes Scale (Skaliranje osi) da biste:

- Izbrisali automatsko skaliranje osi X i Y i odredili minimalne i maksimalne vrijednosti skaliranja.
- Odabrali prikazivanje crti rešetke ili crtičnih oznaka na osi na grafikonu.

5. Odaberite karticu Legend (Legenda) da biste:

- Sakrili legendu grafikona.
- Promijenili zadani položaj legende grafikona.

Napomena: Kad je legenda smještena lijevo ili desno od grafikona, prikazuje samo prvih deset fluorofora na grafikonu.

6. U bilo kojem trenutku kliknite Apply (Primijeni) za prikaz promjena postavki grafikona bez spremanja promjena.
7. Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i vratili se na grafikon.

Izvoz grafikona

Upotrijebite ovaj dijaloški okvir za izmjenu širine, visine i razlučivosti grafikona za izvoz u jedan od sljedećih formata datoteka:

- .bmp
- .jpg
- .png

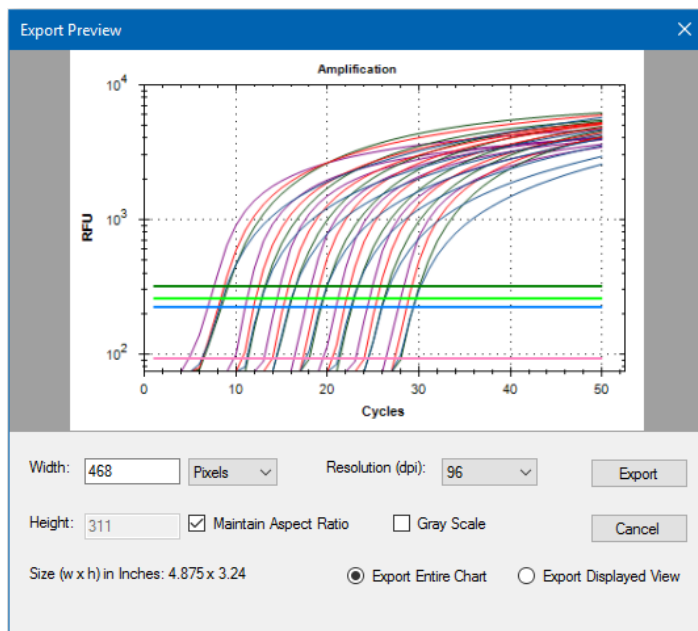
Zatim možete upotrijebiti izvezeni grafikon za prikaz rezultata na znanstvenim konferencijama s posterima, Microsoft PowerPoint prezentacijama i u profesionalnim časopisima.

Napomena: Pri izmjeni postavki uzmite u obzir sljedeće:

- Ograničenja maksimalne i minimalne širine i visine
 - Pri 72 dpi: 0,1 – 83 in
 - Pri 96 dpi: 0,1 – 62 in
 - Pri 150 dpi: 0,1 – 40 in
 - Pri 300 dpi: 0,1 – 20 in
 - Pri 600 dpi: 0,1 – 10 in
 - U svim rezolucijama: 2 – 6000 piksela
- Proporcije se temelje na širini.

Izvoz grafikona

1. U alatu za grafikone kliknite Export (Izvezi).
Pojavit će se dijaloški okvir Export Preview (Pregled izvoza).



2. Prema potrebi prilagodite postavke zaslona.
3. Kliknite Export (Izvezi).
4. U dijaloškom okviru Export (Izvezi) učinite sljedeće:
 - a. (Opcionalno) Idite na mapu u koju ćete spremiti datoteku grafikona.
 - b. Upišite naziv datoteke i s padajućeg popisa odaberite vrstu datoteke.
5. Kliknite Save (Spremi) da biste spremili datoteku grafikona.

Izmjena postavki osnovnog praga

U načinu Single Threshold (Pojedinačni prag) možete prilagoditi prag za fluorofor klikom na liniju praga na grafikonu Amplification (Pojačanje) i pomicanjem pokazivača miša okomito. Možete i odrediti točan prag prijelaza za odabrani fluorofor.

Savjet: Možete odrediti raspon ciklusa da biste odredili osnovnu vrijednost za sve podatkovne datoteke na kartici Data Analysis (Analiza podataka) u User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke).

Prilagodba početnog i završnog osnovnog ciklusa za svaku jažicu

1. Na kartici Quantification (Kvantifikacija) odaberite jedan fluorofor iz grafikona Amplification (Pojačanje).
2. Iz alata za grafikone odaberite Baseline Threshold (Osnovni prag).

Pojavit će se dijaloški okvir Baseline Threshold (Osnovni prag).

- U odjeljku Baseline Cycles (Osnovni ciklusi) učinite jedno od sljedećeg:
 - Da biste odabrali jednu jažicu, kliknite njezin broj retka.
 - Da biste odabrali više susjednih jažica, kliknite broj retka prve jažice i povucite stupac prema dolje do završne jažice.
 - Da biste odabrali više susjednih jažica, pritisnite tipku Control (Ctrl) i kliknite broj retka svake ciljne jažice.
 - Da biste odabrali sve jažice, kliknite gornji lijevi kut u tablici.
- Prilagodite ciklus Baseline Begin (Početni osnovni ciklus) i Baseline End (Završni osnovni ciklus) za sve odabrane jažice ili promijenite broj početnog i završnog ciklusa na dnu proračunske tablice.

Savjet: Da biste vratili postavke na zadnju spremljenu vrijednost, kliknite Reset All User Defined Values (Poništi sve korisnički definirane vrijednosti).
- Kliknite OK (U redu) da biste spremili promjene i vratili se na grafikon.

Određivanje raspona ciklusa za sve podatkovne datoteke

- U prozoru Home (Početno) ili Plate Editor (Uređivač pločice) odaberite User (Korisnik) > User Preferences (Korisničke postavke) i odaberite karticu Data Analysis (Analiza podataka).

Sortiranje podataka o cilju, uzorku i biološkim skupinama

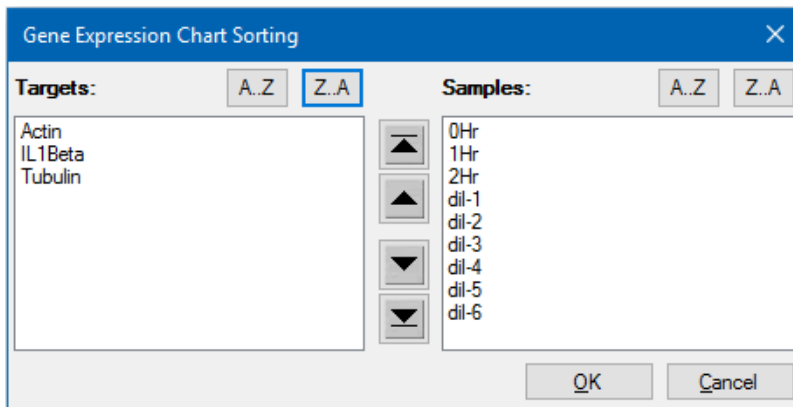
Napomena: Ova je opcija dostupna samo na grafikonima genske ekspresije.

Prema zadanim postavkama, popisi Targets (Ciljevi), Samples (Uzorci) i Biological Groups (Biološke skupine) pojavljuju se po abecednom redu. Upotrijebite dijaloški okvir Sort (Sortiraj) za sortiranje prikaza obrnutim abecednim redoslijedom ili za ručno premještanje pojma na drugo mjesto na popisu.

Za sortiranje podataka o ciljevima, uzorcima i biološkim skupinama

- Iz alata za grafikone kliknite Sort (Sortiraj).

Pojavljuje se dijaloški okvir Gene Expression Chart Sorting (Sortiranje grafikona genske ekspresije).



2. U dijaloškom okviru kliknite Z–A da biste sortirali popis obrnutim abecednim redom.
3. Da biste ručno premjestili pojam, odaberite ga i kliknite odgovarajući gumb između grafikona:
 - Kliknite strelicu gore ili dolje za pomicanje odabranog pojma za jedan položaj.
 - Pritisnite strelicu gore ili dolje da biste odabrani pojam premjestili na vrh ili na dno popisa.
4. Pritisnite OK (U redu) za spremanje promjena i povratak na karticu Gene Expression (Genska ekspresija).

Promjena Color Settings (Postavke boje) za Target (Cilj) i Sample (Uzorak)

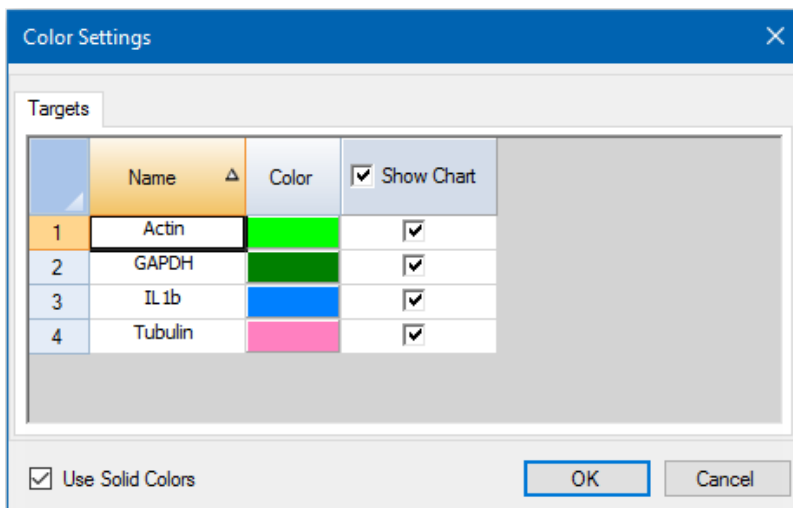
Napomena: Ova je opcija dostupna samo na grafikonima genske ekspresije.

S pomoću dijaloškog okvira Color Settings (Postavke boje) promijenite boju cilja ili uzorka ili uklonite stavku s grafikona.

Promjena postavki boje

1. Iz alata za grafikone odaberite Color Settings (Postavke boje).

Pojavljuje se dijaloški okvir Color Settings (Postavke boje).



2. Da biste promijenili boju prikaza za cilj ili uzorak, kliknite njegovu boju u stupcu Color (Boja).
3. U dijaloškom okviru Color (Boja) koji se pojavi odaberite novu boju i kliknite OK (U redu).
4. Da biste uklonili stavku s grafikona genske ekspresije, odznačite njezin potvrdni okvir u stupcu Show Chart (Prikaži grafikon).

Savjet: Da biste očistili sve stavke s grafikona genske ekspresije, odznačite potvrdni okvir Show Chart (Prikaži grafikon) na zaglavlju stupca.

5. (Opcionalno) Prema zadanim postavkama boja trakastih grafikona pojavljuje se u gradijentnom obliku. Da biste prikazali punu boju odaberite Use Solid Colors (Upotrijebi pune boje).
6. Pritisnite OK (U redu) za spremanje promjena i povratak na karticu Gene Expression (Genska ekspresija).

Uvećavanje područja na grafikonu

Uvećavanje područja na grafikonu

- ▶ Kliknite i povucite preko grafikona, a zatim kliknite Zoom (Uvećaj). Softver mijenja veličinu grafikona i centrira ga na odabrano područje.

Napomena: Za Bar Chart (Trakasti grafikon) nije potrebno kliknuti na skočnu naredbu Zoom (Zumiraj).

Ponovno postavljanje grafikona u puni prikaz

- ▶ Desnom tipkom miša kliknite grafikon i odaberite Set Scale to Default (Postavi skaliranje na zadano).

Kopiranje grafikona u Microsoft datoteku

Grafikone podataka možete kopirati u dokumente Microsoft Word, Excel ili PowerPoint. Rezolucija slike odgovara onoj na zaslonu s kojeg je slika dobivena.

Kopiranje grafikona u Microsoft datoteku

1. U prozoru Data Analysis (Analiza podataka) kliknite Copy To Clipboard (Kopiraj u međuspremnik) u gornjem desnom kutu okna grafikona.
2. Otvorite praznu Microsoft datoteku i zalijepite sadržaj iz međuspremnika.

Uobičajene stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za grafikone

Tablica 15 navodi stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša dostupne na grafikonima. Neke stavke prisutne su na svim grafikonima, uključujući stavke za promjenu načina prikaza podataka ili za jednostavan izvoz podataka s grafikona.

Tablica 15. Stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za grafikone

Stavka	Funkcija
Copy (Kopiraj)	Kopira grafikon u međuspremnik.
Save Image As (Spremi sliku kao)	Sprema sliku u određenoj veličini, razlučivosti i vrsti datoteke, uključujući PNG (zadano), JPG i BMP.
Page Setup (Postavljanje stranice)	Prikazuje mogućnosti postavljanja ispisa.

Stavka	Funkcija
Print (Ispis)	Ispisuje grafikon.
Set Scale to Default (Postavi skaliranje na zadano)	Vraća grafikon u zadani prikaz nakon povećavanja grafikona.
Chart Options (Opcije grafikona)	Otvora prozor Chart Options (Opcije grafikona) za promjenu grafikona, uključujući promjenu naslova, odabir ograničenja za osi X i Y, kao i prikaz linija mreže i manjih kvačica u osi.

Napomena: Stavke izbornika koje se primjenjuju na određene grafikone opisane su u [Poglavlje 11, Pojediniosti analize podataka](#).

Proračunske tablice

Proračunske tablice prikazane u Data Analysis (Analiza podataka) uključuju opcije za sortiranje i prijenos podataka. Razvrstajte stupce na jedan od ovih načina:

- Kliknite i povucite stupac na novo mjesto u odabranoj tablici.
- Kliknite zaglavlje stupca da biste sortirali podatke u uzlaznom ili silaznom redosljedu.

Sortiranje do tri stupca podataka u prozoru Sort (Sortiraj)

1. Desnom tipkom miša kliknite proračunsku tablicu i odaberite Sort (Sortiraj).
2. U dijaloškom okviru Sort (Sortiraj) odaberite naslov prvog stupca za sortiranje. Sortirajte podatke u uzlaznom ili silaznom redosljedu.
3. Odaberite drugi ili treći stupac za sortiranje i odaberite Ascending (Uzlazno) ili Descending (Silazno).
4. Kliknite OK (U redu) da biste sortirali podatke ili kliknite Cancel (Odustani) da biste zaustavili sortiranje.

Savjet: Označite podatke na pridruženim grafikonima i biraču jažica držeći pokazivač miša iznad ćelije. Kliknite ćeliju da biste kopirali i zalijepili njezin sadržaj u drugi softverski program.

Uobičajene stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za proračunske tablice

Tablica 16 navodi stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša dostupne u bilo kojem prikazu proračunske tablice.

Tablica 16. Stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za proračunske tablice

Stavka	Funkcija
Copy (Kopiraj)	Kopira sadržaj odabranih jažica u međuspremnik, a zatim zalijepi sadržaj u proračunsku tablicu kao što je Excel.
Copy as Image (Kopiraj kao sliku)	Kopira prikaz proračunske tablice kao datoteku slike i zalijepi je u datoteku koja prihvaća datoteku slike, poput teksta, slike ili datoteke proračunske tablice.
Print (Ispis)	Ispisuje trenutni prikaz.
Print Selection (Ispis odabira)	Ispisuje trenutni odabir.
Export to Excel (Izvoz u Excel)	Izvozi podatke u Excel proračunsku tablicu.

Tablica 16. Stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za proračunske tablice, nastavak

Stavka	Funkcija
Export to Text (Izvoz u tekst)	Izvozi podatke u uređivač teksta.
Export to CSV (Izvoz u CSV)	Izvozi podatke u .csv datoteku.
Export to Xml (Izvoz u Xml)	Izvozi podatke u .xml datoteku.
Export to Html (Izvoz u HTML)	Izvozi podatke u .html datoteku.
Find (Pretraži)	Traži tekst.
Sort (Sortiraj)	Sortira podatke u najviše tri stupca.
Select Columns (Odaberi stupce)	Odabire stupce koji će se prikazati u proračunskoj tablici.

Export (Izvezi)

CFX Maestro Dx SE nudi nekoliko opcija izvoza u padajućem izborniku Export (Izvoz):

- Export All Data Sheets (Izvezi sve listove podataka)
- Export RDML Files (Izvoz RDML datoteka)
- Custom Export (Prilagođeni izvoz)
- Export to LIMS Folder (Izvoz u mapu sustava LIMS)
- Manual Export (Izvezi ručno)

Izvoz svih podatkovnih listova

Možete prikazati sve prikaze proračunskih tablica sa svake kartice za CFX Maestro Dx SE u pojedinačne datoteke.

Izvoz svih podatkovnih listova

- ▶ Odaberite Export (Izvoz) > Export All Data Sheets (Izvoz svih podatkovnih listova), a zatim odaberite željenu vrstu datoteke:

- CSV (*.csv)
- Tekst (*.txt)
- Radna knjiga programa Excel (*.xlsx)

Izvezene analize spremaju se u više radnih knjiga programa Excel s jednom karticom radnog lista podataka po datoteci. Kada analiza uključuje više fluorofora, podaci iz svakog fluorofora izvoze se na zasebnu karticu radnog lista.

- Radna knjiga programa Excel – kombinirano (*.xlsx)

Izvezene analize spremaju se u jednu radnu knjigu programa Excel koja uključuje više kartica radnog lista, po jednu za svaki skup podataka analize.

- Excel 97 – 2003 (*.xls)

Važno: na vašem računalu mora biti instaliran Microsoft Excel kako biste mogli izvesti podatke u proračunsku tablicu Microsoft Excel.

- Xml (*.xml)

Izvoz RDML datoteka

RDML je strukturirani i univerzalni standard podataka za razmjenu kvantitativnih PCR (qPCR) podataka. Podatkovni standard je tekstualna datoteka u formatu Extensible Markup Language (.xml). Dodatne informacije o formatu razmjene podataka RDML potražite na web-mjestu Međunarodnog RDML konzorcija (www.rdml.org).

Važno: izvezene RDML datoteke uključuju podatke analize s postavkama osnovne vrijednosti koje primijenite u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Za više informacija o postavkama osnovne vrijednosti pogledajte [Baseline Settings \(Postavke osnovne vrijednosti\)](#) na stranici 193.

Napomena: Spremite RDML datoteku kao inačicu 1.1 ako upotrebljavate inačicu softvera qbase+ 2.3 ili noviju.

Izvoz RDML datoteke

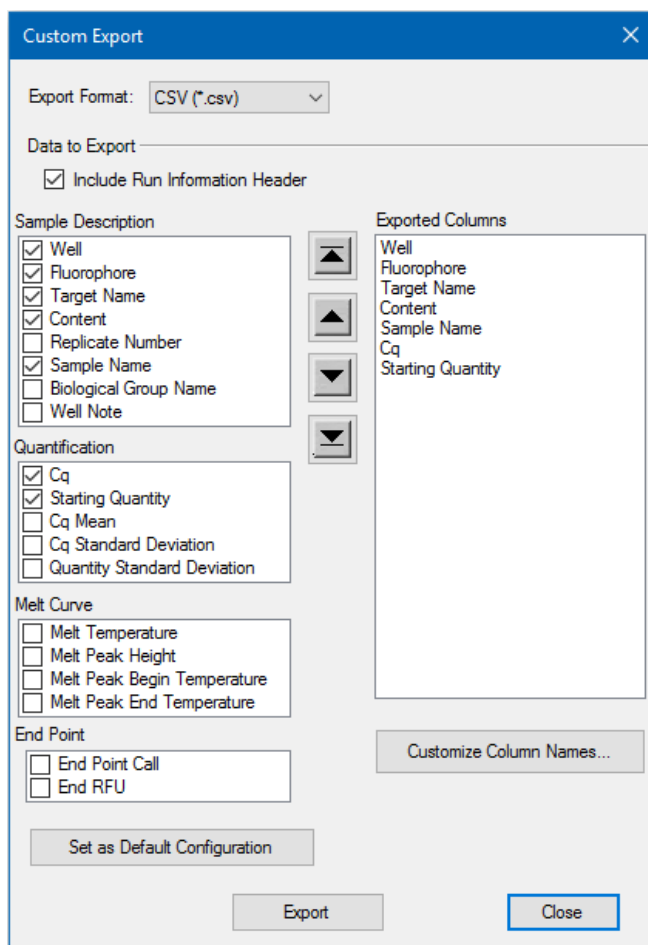
1. Odaberite Export (Izvoz) > Export RDML Files (Izvoz RDML datoteka) i na popisu koji se pojavi odaberite RDML v1.1 ili RDML v1.0.

 Pojavit će se dijaloški okvir Save As (Spremi kao):
2. U dijaloškom okviru Save As (Spremi kao) navedite naziv datoteke i lokaciju za spremanje RDML datoteke.
3. Kliknite OK (U redu) za spremanje izvozne datoteke.

Stvaranje prilagođene datoteke za izvoz

Da biste izradili prilagođenu datoteku za izvoz

1. Odaberite Export (Izvezi) > Custom Export (Prilagođeni izvoz). Pojavljuje se dijaloški okvir Custom Export (Prilagođeni izvoz).



2. Na padajućem popisu koji se pojavi odaberite format izvoza.
3. Označite potvrdne okvire za stavke za izvoz.
4. (Opcionalno) Kliknite Customize Column Names (Prilagodi nazive stupaca) da biste promijenili nazive stupaca.
5. Kliknite Export (Izvezi). Pojavit će se dijaloški okvir Save As (Spremi kao):

6. U dijaloškom okviru Save As (Spremi kao) navedite naziv datoteke i lokaciju za spremanje izvezene datoteke.
7. Kliknite OK (U redu) za spremanje izvozne datoteke.

Izvoz u mapu sustava LIMS

Podatke možete izvesti u format datoteke kompatibilan sa sustavom LIMS. Za više informacija o stvaranju, upravljanju i uporabi datoteka sustava LIMS pogledajte [Dodatak C, Integracija LIMS-a](#).

Izvoz podataka u LIMS formatu

1. Odaberite Export (Izvoz) > Export to LIMS Folder (Izvoz u LIMS mapu).
Pojavit će se dijaloški okvir Save As (Spremi kao):
2. U dijaloškom okviru Save As (Spremi kao) navedite naziv datoteke i lokaciju za spremanje izvezene datoteke.
3. Kliknite OK (U redu) za spremanje izvozne datoteke.

Izvoz podataka u formatu Seegene

Možete izvesti podatke iz svih prikaza proračunskih tablica u Excel datoteke strukturane posebno za upotrebu tvrtke Seegene, Inc.

Savjet: Također možete automatski pokrenuti preglednik Seegene kada se izvoz dovrši. Pogledajte [Naredbe izbornika Tools \(Alati\) na stranici 65](#) za više informacija.

Izvoz podataka u formatu specifičnom za Seegene

1. Odaberite Export (Izvezi) > Manual Export (Izvezi ručno).
Pojavit će se dijaloški okvir Browse For Folder (Pregledaj mapu).
2. U dijaloškom okviru Browse For Folder (Pregledaj mapu) navedite lokaciju mape u koju ćete spremiti izvezene Excel datoteke (.xlsx) u formatu Seegene.
Analize se izvoze u više radnih knjiga programa Excel s jednom karticom radnog lista podataka po datoteci.
3. Kliknite OK (U redu) za spremanje izvoznih datoteka.

Poglavlje 11 Pojedinosti analize podataka

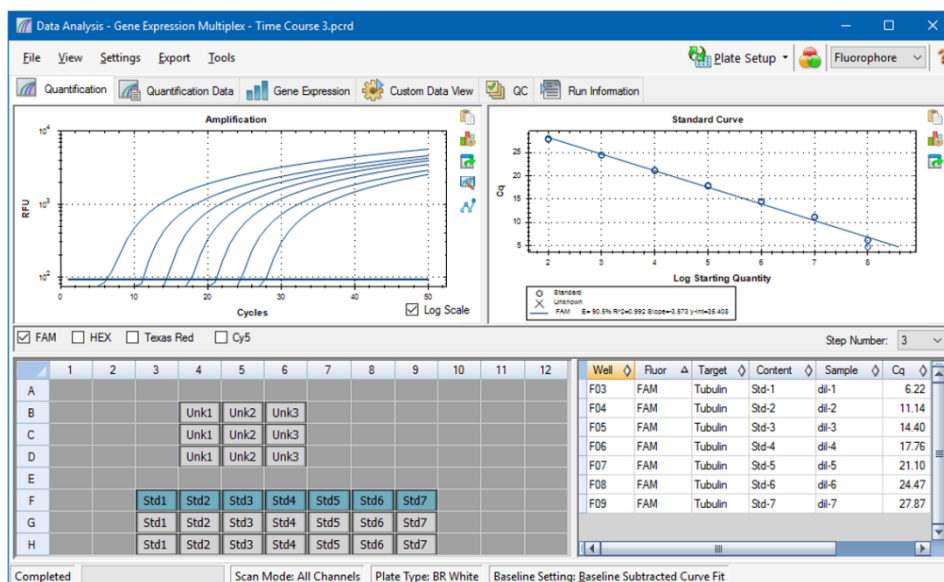
Prozor Data Analysis (Analiza podataka) za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition sadržava više kartica s kojih se mogu pregledavati podaci. U ovom se poglavlju detaljno objašnjavaju ove kartice.

Savjet: S pomoću izbornika View (Prikaz) možete odabrati koje kartice ćete prikazati u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Prilagođeni izgled sprema se s podatkovnom datotekom.

Kartica Quantification (Kvantifikacija)

S pomoću podataka na kartici Quantification (Kvantifikacija) postavite uvjete analize podataka, uključujući postavke osnovne vrijednosti za pojedinačne jažice i postavke pragova. Kartica Quantification (Kvantifikacija) prikazuje podatke u ova četiri prikaza:

- Amplification chart (Grafikon pojačanja) – prikazuje relativne jedinice fluorescencije (RFU) za svaku jažicu u svakom ciklusu. Svaki trag na grafikonu predstavlja podatke iz jednog fluorofora u jednoj jažici.
- Standard curve (Standardna krivulja) – pojavljuje se samo ako izvođenje uključuje jažice označene kao standardnu vrstu uzorka (Std). Standardna krivulja prikazuje ciklus praga ucrtan u odnosu na logaritam početne veličine. Legenda prikazuje Reaction Efficiency (Reakcijsku učinkovitost) (E) za svaki fluorofor u jažicama s vrstom uzorka Standard (Standardno).
- Well selector (Birač jažica) – odabire jažice s podacima fluorescencije koje želite prikazati.
- Spreadsheet (Proračunska tablica) – prikazuje proračunsku tablicu podataka prikupljenih u odabranim jažicama.



Opcije fluorofora

Za prikaz podataka o fluoroforu na grafikonima i u proračunskim tablicama kartice Quantification (Kvantifikacija), odaberite ciljne fluorofore ispod grafikona Amplification (Pojačanje). Da biste sakrili podatke fluorofora u prozoru za analizu podataka odznačite njegov potvrdni okvir.

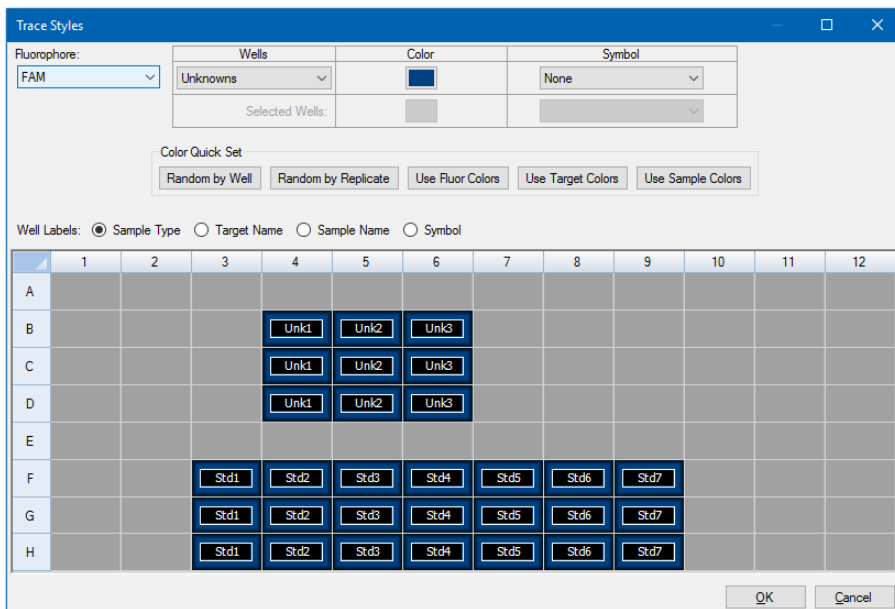
Dijaloški okvir Trace Styles (Stilovi tragova)

S pomoću dijaloškog okvira Trace Styles (Stilovi tragova) možete prilagoditi izgled tragova na grafikonima pojačanja i krivulje taljenja na karticama Quantification (Kvantifikacija) i Melt Curve (Krivulja taljenja). Zatim možete pregledati promjene u biraču jažica koji se pojavljuje u dijaloškom okviru Trace Styles (Stilovi tragova).

Prilagodba stilova tragova

1. Odaberite samo jedan fluorofor ispod grafikona Amplification (Pojačanje).
2. Da biste otvorili dijaloški okvir Trace Styles (Stilovi tragova), učinite jedno od sljedećeg:
 - Kliknite Trace Styles (Stilovi tragova) na grafikonu Amplification (Pojačanje).
 - Odaberite Settings (Postavke) > Trace Styles (Stilovi tragova) na traci izbornika Data Analysis (Analiza podataka).
 - Desnom tipkom miša kliknite trag i odaberite Trace Styles (Stilovi tragova).

Pojavljuje se dijaloški okvir Stilovi tragova.

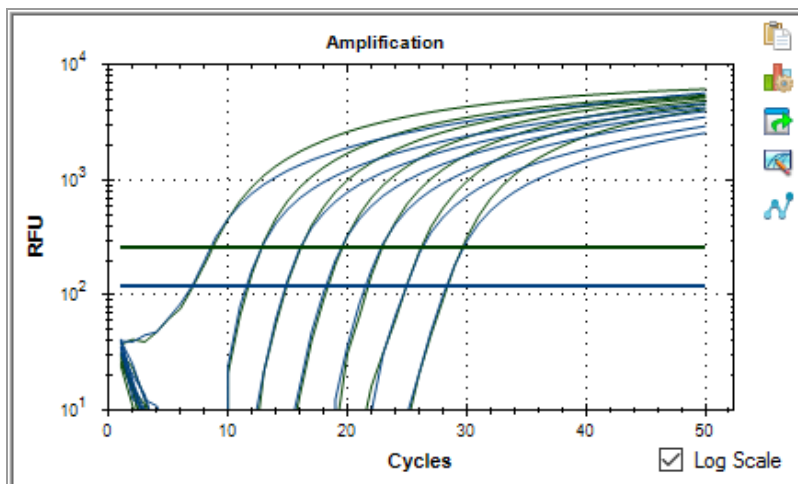


3. U dijaloškom okviru Trace Styles (Stilovi tragova) odaberite određeni skup jažica u biraču jažica u donjem oknu. Ili na padajućem izborniku u stupcu Wells (Jažice) odaberite jažice koje sadržavaju jednu vrstu uzorka.
4. Učinite nešto od sljedećeg:

- Da biste odabrali boju za odabrane jažice, kliknite okvir u stupcu Color (Boja).
- Da biste odabranim jažicama dodijelili simbol, odaberite simbol s padajućeg popisa Symbol (Simbol).
- Da biste brzo obojili jažice oznakom na gumbu kliknite odgovarajući brzi set:
 - Random by Well (Nasumično po jažici)
 - Random by Replicate (Nasumično po replici)
 - Use Fluor Colors (Upotrijebi boje fluorofora)
 - Use Target Colors (Upotrijebi boje cilja)
 - Use Sample Colors (Upotrijebi boje uzorka)
- Da biste dodijelili oznake jažica, odaberite Sample Type (Vrsta uzorka), Target Name (Naziv cilja), Sample Name (Naziv uzorka) ili Symbol (Simbol).

Opcija Log Scale (Logaritamska skala)

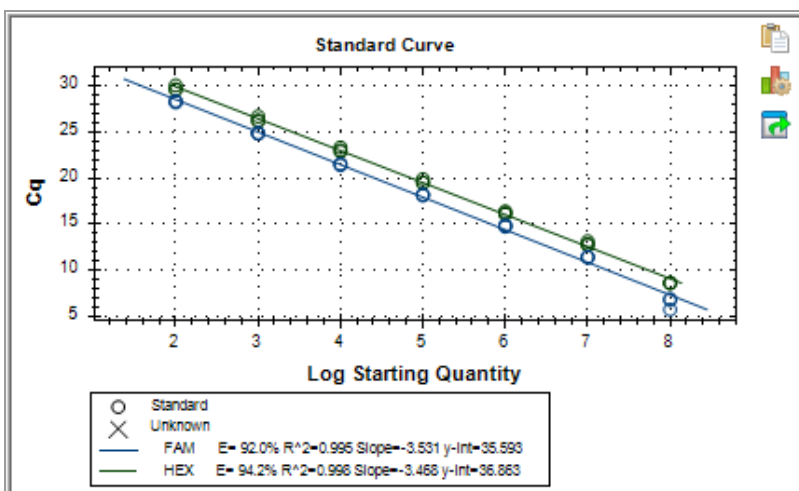
Odaberite Log Scale (Logaritamska skala) ispod grafikona Amplification (Pojačanje) da biste vidjeli tragove fluorescencije u polulogaritamskoj skali:



Savjet: Da biste povećali bilo koje područje grafikona, povucite preko ciljanog područja. Da biste se vratili u puni prikaz, desnom tipkom miša kliknite grafikom i odaberite Set Scale to Default (Postavi skalu na zadano).

Grafikon Standard Curve (Standardna krivulja)

Softver stvara grafikon Standard Curve (Standardna krivulja) na kartici Quantification (Kvantifikacija) ako podaci uključuju vrste uzoraka definirane kao Std (Standardni) za barem jedan fluorofor tijekom izvođenja.



Grafikon Standard Curve (Standardna krivulje) prikazuje sljedeće podatke:

- Naziv za svaku krivulju (fluorofor ili cilj).
- Boja svakog fluorofora ili cilja.
- Učinkovitost reakcije (E). Ovaj statistički podatak upotrijebite za optimizaciju multipleks reakcije i za izjednačavanje podataka za standardnu krivulju.

Napomena: Učinkovitost reakcije opisuje koliko se vašeg cilja stvara sa svakim ciklusom u protokolu. Učinkovitost od 100 % ukazuje na to da udvostručujete cilj sa svakim ciklusom.

- Koeficijent determinacije, R^2 (piše se kao R^2). Ovaj statistički podatak upotrijebite da biste odredili koliko točno linija opisuje podatke (mjera prikladnosti modela).
- Slope (Nagib)
- Y-intercept (Sjecište s osi Y)

Opcije izbornika grafikona Amplification (Pojačanje)

Osim uobičajenih opcija izbornika grafikona kojima se pristupa desnom tipkom miša (pogledajte [Uobičajene stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za grafikone na stranici 207](#)), [Tablica 17](#) navodi opcije izbornika dostupne samo na grafikonu Amplification (Pojačanje).

Tablica 17. Opcije izbornika grafikona Amplification (Pojačanje) kojima se pristupa desnom i lijevom tipkom miša

Opcija izbornika	Funkcija
Well XX, Fluor Target (Jažica XX, Ciljni fluorofor)	Prikazuje samo tu jažicu, uklanja je iz prikaza, postavlja boju za ovaj trag ili izuzima jažicu iz analize.
Selected Traces (Odabrani tragovi)	Prikazuje samo ove jažice, uklanja ih iz prikaza, postavlja boju za te jažice ili ih isključuje iz analize.
Show Threshold Values (Prikaži granične vrijednosti)	Prikazuje granične vrijednosti za svaku krivulju pojačanja na grafikonu.
Trace Styles (Stilovi tragova)	Otvora prozor Trace Styles (Stilovi tragova) za promjenu stilova tragova koji se pojavljuju na karticama Quantification (Kvantifikacija) i Melt Curve (Krivulja taljenja).
Baseline Thresholds (Osnovni pragovi)	Otvora prozor Baseline Thresholds (Osnovni pragovi) za promjenu osnovne linije ili pragova svakog fluorofora (promjene se pojavljuju na grafikonu Amplification (Pojačanje) na kartici Quantification (Kvantifikacija)).

Proračunska tablica kartice Quantification (Kvantifikacija)

[Tablica 18](#) definira podatke prikazane u proračunskoj tablici na kartici Quantification (Kvantifikacija).

Tablica 18. Sadržaj proračunske tablice Quantification (Kvantifikacija)

Informacija	Opis
Well (Jažica)	Položaj jažice na pločici
Fluor (Fluorofor)	Otkriven fluorofor
Target (Cilj)	Naziv cilja učitano u jažice Plate Editor (Uređivač pločice)

Informacija	Opis
Content (Sadržaj)	Kombinacija Sample Type (Vrsta uzorka) (obavezno) i broja replike (opcionarno) učitanih u Plate Editor (Uređivač pločice)
Sample (Uzorak)	Naziv uzorka učitanih u jažice Plate Editor (Uređivač pločice)
C _q	Ciklus kvantifikacije za svaki trag

Promjena podataka Target (Cilj), Content (Sadržaj) ili Sample (Uzorak)

Možete promijeniti podatke u stupcima Target (Cilj), Content (Sadržaj) ili Sample (Uzorak) uređivanjem datoteke pločice s pomoću Plate Editor (Uređivač pločice) čak i nakon izvođenja eksperimenta.

Promjena podataka u stupcima Target (Cilj), Content (Sadržaj) ili Sample (Uzorak)

- ▶ Kliknite Plate Setup (Postavljanje pločice) i odaberite View/Edit Plate (Pregled/uređivanje pločice) da biste otvorili Plate Editor (Uređivač pločice).

Kartica Quantification Data (Kvantifikacijski podaci)

Kartica Quantification Data (Kvantifikacijski podaci) prikazuje kvantifikacijske podatke prikupljene u svakoj jažici. CFX Maestro Dx SE prikazuje podatke u četiri različita prikaza proračunskih tablica:

- Results (Rezultati) – prikazuje proračunsku tablicu podataka. Ovo je zadani prikaz.
- Standard Curve Results (Rezultati standardne krivulje) – prikazuje proračunsku tablicu podataka standardne krivulje.
- Plate (Pločica) – prikazuje podatke u svakoj jažici kao pločicu mape.
- RFU – prikazuje količine RFU u svakoj jažici za svaki ciklus.

Odaberite svaku proračunsku tablicu s padajućeg popisa koji se prikazuje ispod kartice Quantification Data (Kvantifikacijski podaci).

Proračunska tablica Results (Rezultati)

Proračunska tablica Results (Rezultati) prikazuje podatke za svaku jažicu na pločici.

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

Napomena: Svi izračuni Std. Izračuni odstupanja (standardnog odstupanja) primjenjuju se na skupine replika koje su dodijeljene u jažicama prozora Plate Editor (Uređivač pločice). Izračuni uprosječavaju vrijednost C_q za svaku jažicu u skupini replika.

Tablica 19 definira podatke koji se pojavljuju u proračunskoj tablici Results (Rezultati).

Tablica 19. Sadržaj proračunske tablice Results (Rezultati)

Informacija	Opis
Well (Jažica)	Položaj jažice na pločici
Fluor (Fluorofor)	Otkriven fluorofor
Target (Cilj)	Naziv cilja pojačanja (gen)
Content (Sadržaj)	Vrsta uzorka i broj replike
Sample (Uzorak)	Opis uzorka
Biological Set Name (Naziv biološkog skupa)	Naziv biološkog skupa
C_q	Ciklus kvantifikacije
C_q Mean (Srednja vrijednost C_q)	Srednja vrijednost ciklusa kvantifikacije za skupinu replika
C_q Std. Dev	Standardno odstupanje ciklusa kvantifikacije za skupinu replika
Starting Quantity (SQ) (Početna količina)	Procjena početne količine cilja
Log Starting Quantity (Zapisnik početne količine)	Zapisnik početne količine
SQ Mean (Srednja vrijednost početne količine)	Srednja vrijednost početne količine
SQ Std. Dev	Standardno odstupanje početne količine u replikama

Proračunska tablica Standard Curve Results (Rezultati standardne krivulje)

Proračunska tablica Standard Curve Results (Rezultati standardne krivulje) prikazuje izračunate parametre standardne krivulje.

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

Tablica 20 definira podatke koji se pojavljuju u proračunskoj tablici Standard Curve Results (Rezultati standardne krivulje).

Tablica 20. Sadržaj proračunske tablice Standard Curve Results (Rezultati standardne krivulje)

Informacija	Opis
Fluor (or Target) (Fluorofor (ili cilj))	Otkriven je fluorofor (ili cilj)
Efficiency % (Učinkovitost %)	Učinkovitost reakcije
Slope (Nagib)	Nagib standardne krivulje
Y-intercept (Sjecište s osi Y)	Točka u kojoj krivulja presijeca os Y
R ²	Koeficijent determinacije

Proračunska tablica Plate (Pločica)

Proračunska tablica Plate (Pločica) prikazuje pločicu s mapom podataka za po jedan fluorofor.

	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		

Prikaz podataka za određeni fluorofor

- Kliknite njegovu karticu na dnu proračunske tablice.

RFU proračunska tablica

RFU proračunska tablica prikazuje očitavanja relativne jedinice fluorescencije (RFU) za svaku jažicu stečenu u svakom ciklusu izvođenja. Broj jažice nalazi se na vrhu svakog stupca, a broj ciklusa s lijeve strane svakog retka.

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

Kartica Melt Curve (Krivulja taljenja)

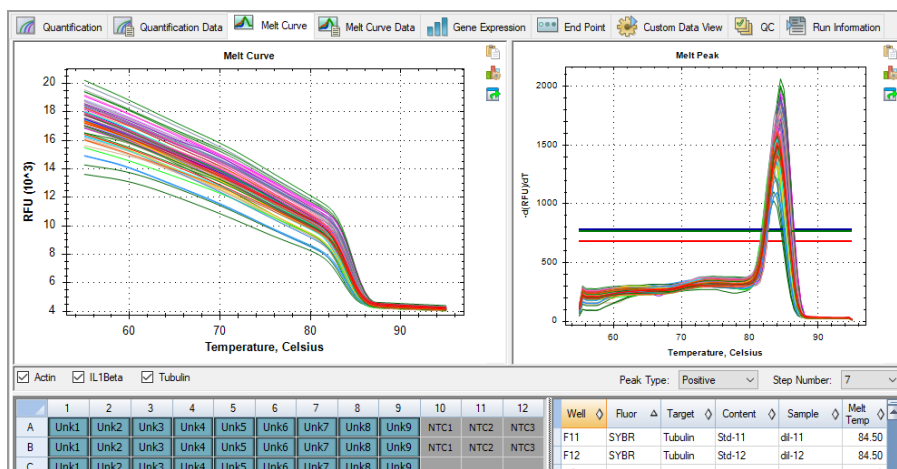
Za boje koje vežu DNK i sonde za hibridizaciju koje se ne mogu dijeliti, fluorescencija je najsjajnija kada se dvije niti DNK komplementarno spare. Stoga, kako temperatura raste prema temperaturi taljenja (T_m), fluorescencija opada konstantnom brzinom (stalni nagib). Na T_m dolazi do dramatičnog smanjenja fluorescencije s primjetnom promjenom nagiba. Brzina ove promjene određuje se prikazom negativne prve regresije fluorescencije u odnosu na temperaturu ($-d(RFU)/dT$). Najveća brzina promjene fluorescencije rezultira vidljivim vršnim vrijednostima i predstavlja T_m dvolančanih kompleksa DNK.

Ucrtavanje RFU podataka prikupljenih uz krivulju taljenja u ovisnosti o temperaturi izvodi CFX Maestro Dx SE. Za analizu podataka vršne vrijednosti taljenja softver dodjeljuje početnu i završnu temperaturu pomicanjem trake praga. Dno vršnog područja određuje se položajem trake praga taljenja. Važeća vršna vrijednost mora imati minimalnu visinu u odnosu na udaljenost između trake praga i visine najviše vršne vrijednosti.

Kartica Melt Curve (Krivulja taljenja) prikazuje T_m (temperatura taljenja) pojačanih PCR produkata u četiri prikaza:

- Melt Curve (Krivulja taljenja) – prikazuje podatke u stvarnom vremenu za svaki fluorofor kao RFU-ove podijeljene temperaturom za svaku jažicu.
- Melt Peak (Vršna vrijednost taljenja) – prikazuje negativnu regresiju RFU podataka po temperaturi za svaku jažicu.
- Well selector (Birač jažica) – prikazuje jažice za prikaz ili skrivanje podataka.
- Proračunska tablica Peak (Vršna vrijednost) – prikazuje podatke prikupljene u odabranoj jažici.

Napomena: Ova proračunska tablica prikazuje do dvije vršne vrijednosti za svaki trag. Da biste vidjeli više vršnih vrijednosti, kliknite karticu Melt Curve Data (Podaci krivulje taljenja).



[Tablica 21](#) definira podatke koji se pojavljuju u proračunskoj tablici Melt Curve (Krivulja taljenja).

Tablica 21. Sadržaj proračunske tablice Melt Curve (Krivulja taljenja)

Informacija	Opis
Well (Jažica)	Položaj jažice na pločici
Fluor (Fluorofor)	Otkriven fluorofor
Content (Sadržaj)	Kombinacija Sample Type (Vrsta uzorka) i broja replike
Sample (Uzorak)	Naziv uzorka učitani u Plate Editor (Uređivač pločice)
Melt Temp (Temp. taljenja)	Temperatura vršne vrijednosti taljenja za svaku jažicu Napomena: U ovoj proračunskoj tablici pojavljuju se samo dvije najviše vršne vrijednosti.

Prilagođavanje podataka krivulje taljenja

Prilagođavanje podataka krivulje taljenja

- ▶ Učinite nešto od sljedećeg:
 - Kliknite i povucite trake pragova na grafikonu Melt Peak (Vršna vrijednost taljenja) da biste uključili ili izuzeli vršne vrijednosti u analizi podataka.
 - Odaberite Positive (Pozitivno) iz padajućeg izbornika Peaks (Vršne vrijednosti) da biste prikazali podatke proračunske tablice za vršne vrijednosti iznad linije Melt Threshold (Linija taljenja) ili odaberite Negative (Negativno) da biste pregledali podatke proračunske tablice za vršne vrijednosti Melt Threshold (Linija taljenja).
 - Otvorite prozor Trace Styles (Stilovi tragova) da biste promijenili boju tragova na grafikonima Melt Curve (Krivulja taljenja) i Melt Peak (Vršna vrijednost taljenja).
 - Odaberite broj u biraču Step Number (Broj koraka) da biste vidjeli podatke krivulje taljenja u drugom koraku u protokolu. Popis prikazuje više od jednog koraka ako protokol uključuje očitavanja s pločice u više od jednog koraka krivulje taljenja.
 - Odaberite jažice u biraču jažica da biste se usredotočili na podskupine podataka.
 - Odaberite skupinu jažica za prikaz i analizu podskupine jažica na pločici. Odaberite svaku skupinu jažica po nazivu s padajućeg izbornika Well Group (Skupina jažica) na alatnoj traci.

Kartica Melt Curve Data (Podaci krivulje taljenja)

Kartica Melt Curve Data (Podaci krivulje taljenja) prikazuje podatke s kartice Melt Curve (Krivulja taljenja) u više proračunskih tablica koje uključuju sve vršne vrijednosti taljenja za svaki trag. CFX Maestro Dx SE nudi četiri mogućnosti proračunske tablice u kojima je moguće prikazati podatke krivulje taljenja:

- Melt Peaks (Vršne vrijednosti taljenja) – prikazuje sve podatke, uključujući sve vršne vrijednosti taljenja, za svaki trag. Ovo je zadani prikaz.
- Plate (Pločica) – prikazuje prikaz podataka i sadržaja svake jažice na pločici.
- RFU – prikazuje količine RFU pri svakoj temperaturi za svaku jažicu.
- $-d(\text{RFU})/dT$ – prikazuje negativnu brzinu promjene u RFU prema promjeni temperature (T). Ovo je prvi regresijski dijagram za svaku jažicu na pločici.

Odaberite svaku proračunsku tablicu s padajućeg popisa koji se prikazuje ispod kartice Melt Curve Data (Podaci krivulje taljenja).

Proračunska tablica Melt Peaks (Vršne vrijednosti taljenja)

Proračunska tablica Melt Peaks (Vršne vrijednosti taljenja) prikazuje sve podatke krivulje taljenja.

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	dl-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

Tablica 22 na stranici 233 definira podatke koji se pojavljuju u proračunskoj tablici Melt Peaks (Vršne vrijednosti taljenja).

Tablica 22. Sadržaj proračunske tablice Melt Peaks (Vršne vrijednosti taljenja)

Informacija	Opis
Well (Jažica)	Položaj jažice na pločici
Fluor (Fluorofor)	Otkriven fluorofor
Content (Sadržaj)	Vrsta uzorka navedena u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice)
Target (Cilj)	Cilj pojačanja (gen)
Sample (Uzorak)	Naziv uzorka naveden u prozoru Plate Editor (Uređivač pločice)
Melt Temperature (Temperatura taljenja)	Temperatura taljenja svakog proizvoda, navedena u proračunskoj tablici kao jedna vršna vrijednost (najviša) po redu
Peak Height (Vršna visina)	Visina vršne vrijednosti
Begin Temperature (Početna temperatura)	Temperatura na početku vršne vrijednosti
End Temperature (Završna temperatura)	Temperatura na završetku vršne vrijednosti

Proračunska tablica Plate (Pločica)

Proračunska tablica Plate (Pločica) prikazuje podatke krivulje taljenja u formatu pločice.

	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							

Napomena: Da biste prilagodili vršnu vrijednost koju softver poziva, prilagodite liniju praga u grafikonu Melt Peak (Vršna vrijednost taljenja) na kartici Melt Curve (Krivulja taljenja).

Tablica 23 na stranici 234 definira podatke koji se pojavljuju u proračunskoj tablici Plate (Pločica).

Tablica 23. Sadržaj proračunske tablice

Informacija	Opis
Content (Sadržaj)	Kombinacija Sample Type (Vrsta uzorka) (obavezno) i broja replike (opcionalno)
Sample (Uzorak)	Opis uzorka
Peak 1 (Vršna vrijednost 1)	Prva vršna vrijednost taljenja (najviša)
Peak 2 (Vršna vrijednost 2)	Druga vršna vrijednost taljenja (niža)

RFU proračunska tablica

RFU proračunska tablica prikazuje fluorescenciju za svaku jažicu u svakom ciklusu stečenom tijekom krivulje taljenja.

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	17243	16043	16541	16440	17362	17038	17387	18303	17813	14914	16441	16356	17906	17758
55.50	17138	15948	16440	16340	17243	16923	17280	18178	17693	14836	16337	16252	17784	17644
56.00	17033	15853	16339	16241	17124	16808	17173	18053	17574	14758	16233	16149	17663	17530
56.50	16929	15758	16238	16141	17005	16693	17067	17928	17454	14681	16130	16046	17542	17417
57.00	16824	15663	16136	16042	16885	16579	16960	17802	17334	14603	16026	15942	17420	17303
57.50	16719	15568	16035	15942	16766	16464	16853	17677	17214	14525	15922	15839	17299	17189
58.00	16614	15473	15934	15843	16647	16349	16746	17552	17094	14447	15819	15736	17178	17075
58.50	16505	15375	15831	15740	16524	16232	16637	17423	16971	14360	15707	15628	17054	16958
59.00	16393	15273	15724	15634	16400	16112	16525	17292	16845	14264	15591	15517	16928	16839

Tablica 24 definira podatke prikazane u proračunskoj tablici RFU.

Tablica 24. Sadržaj proračunske tablice RFU

Informacija	Opis
Well number (Broj jažice) (A1, A2, A3, A4, A5)	Položaj jažice na pločici za napunjene jažice
Temperature (Temperatura)	Temperatura taljenja pojačanog cilja, prikazana kao jedna jažica po redu i više jažica za više proizvoda u istoj jažici

Proračunska tablica -d(RFU)/dT

Proračunska tablica -d(RFU)/dT prikazuje negativnu brzinu promjene u RFU prema promjeni temperature (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

Tablica 25 definira podatke koji se pojavljuju u proračunskoj tablici -d(RFU)/dT.

Tablica 25. Sadržaj proračunske tablice -d(RFU)/dT

Informacija	Opis
Well number (Broj jažice) (A1, A2, A3, A4, A5)	Položaj jažice na pločici za napunjene jažice
Temperatura -d(RFU)/dT	Negativna brzina promjene RFU prema promjeni temperature (T)

Kartica End Point (Krajnja točka)

Otvorite karticu End Point (Krajnja točka) da biste analizirali konačne relativne jedinice fluorescencije (RFU) za jažice za uzorke. Softver uspoređuje razine RFU-ova za jažice s nepoznatim uzorcima s razinama RFU za jažice s negativnom kontrolom i „poziva” nepoznate pozitivne ili negativne. Pozitivni uzorci imaju veću RFU vrijednost od vrijednosti prosječne RFU negativnih kontrola zajedno s graničnom vrijednosti.

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	

Da biste analizirali podatke o krajnjoj točki, pločica mora sadržavati negativne kontrole ili softver ne može uputiti poziv.

- Pokrenite protokol Quantification (Kvantifikacija) – postavite standardni protokol. Nakon završetka izvođenja otvorite prozor Data Analysis (Analiza podataka), prilagodite postavke analize podataka na kartici Quantification (Kvantifikacija), a zatim kliknite karticu End Point (Krajnja točka) da biste odabrali ciklus krajnje točke.
- Pokrenite protokol End Point Only (Samo krajnja točka) – učitajte protokol End Point Only (Samo krajnja točka) na karticu Plate (Pločica) prozora Run Setup (Postavljanje izvođenja), odaberite ili izradite pločicu i pokrenite izvođenje

Kartica End Point (Krajnja točka) prikazuje prosječne vrijednosti RFU da bi se utvrdilo je li cilj pojačan posljednjim (završnim) ciklusom. S pomoću ovih podataka utvrdite je li određena ciljna sekvenca prisutna (pozitivna) u uzorku. Pozitivni ciljevi imaju veće RFU vrijednosti od granične vrijednosti koju definirate.

Savjet: Da biste izradili protokol krajnje točke, otvorite karticu Protocol (Protokol) (prozor Run Setup (Postavljanje izvođenja)) i odaberite Run (Izvođenje) > End Point Only Run (Izvođenje samo krajnje točke).

Kada se izvršavanje završi, podatkovna datoteka otvara se na kartici End Point (Krajnja točka) koja sadržava sljedeće odjeljke:

- Settings (Postavke) – prilagođava postavke analize podataka.
- Results (Rezultati) – prikazuje rezultate odmah nakon što prilagodite postavke.
- Well Selector (Birač jažica) – odabire jažice s podacima o krajnjoj točki koje želite prikazati.
- RFU proračunska tablica – prikazuje krajnji RFU prikupljen u odabranim jažicama.

Podaci o rezultatima

Odjeljak Results (Rezultati) prikazuje sljedeće podatke:

- Najniža vrijednost RFU – najniža vrijednost RFU u podacima
- Najveća vrijednost RFU - najviša vrijednost RFU u podacima
- Prosjek negativne kontrole – prosječni RFU za jažice koje sadržavaju negativne kontrole
- Granična vrijednost – izračunava se zbrajanjem tolerancije (RFU ili Percentage of Range (Postotak raspona) naveden u Settings (Postavke)) i prosjeka negativnih kontrola. Uzorci s RFU-ovima koji su veći od granične vrijednosti zvat će se „Positive” (Pozitivni). Da biste prilagodili graničnu vrijednost promijenite RFU ili Percentage of Range (Postotak raspona)

Granična vrijednost izračunava se s pomoću ove formule:

$$\text{Granična vrijednost} = \text{negativni kontrolni prosjek} + \text{tolerancija}$$

Odaberite toleranciju jednom od ovih metoda:

- RFU-ovi (zadani) – odaberite ovu metodu da biste upotrijebili apsolutnu vrijednost RFU za toleranciju. Minimalna vrijednost tolerancije RFU je 2. Maksimum je apsolutna vrijednost najviše vrijednosti RFU umanjena za apsolutnu vrijednost najniže vrijednosti RFU. Zadana vrijednost tolerancije RFU je 10 % od ukupnog raspona RFU-ova.
- Postotak raspona – odaberite ovu metodu da biste upotrijebili postotak raspona RFU-ova za toleranciju. Minimalni postotak raspona je 1 %. Maksimalni postotak raspona je 99 %. Zadani postotak raspona je 10 %.

Prilagođavanje analize podataka krajnje točke

Prilagođavanje analize podataka na kartici End Point (Krajnja točka)

- ▶ Učinite nešto od sljedećeg:
 - Na padajućem popisu odaberite fluorofor.
 - Odaberite vrijednost End Cycle to Average (Završni ciklus za uprosječivanje) da biste postavili broj ciklusa s pomoću kojih će se izračunati prosječni RFU krajnje točke.
 - Odaberite RFU-ove za prikaz podataka u relativnim jedinicama fluorescencije.
 - Odaberite Percentage of Range (Postotak raspona) za prikaz podataka kao postotka raspona RFU-ova.
 - Odaberite jažice u biraču jažica da biste se usredotočili na podskupine podataka.
 - Odaberite skupinu jažica za prikaz i analizu podskupine jažica na pločici. Odaberite svaku skupinu jažica po nazivu s padajućeg izbornika Well Group (Skupina jažica) na alatnoj traci.

Proračunska tablica RFU-ova za analizu krajnjih točaka

Tablica 26 definira podatke koji se pojavljuju u proračunskoj tablici RFU-ova na kartici End Point (Krajnja točka).

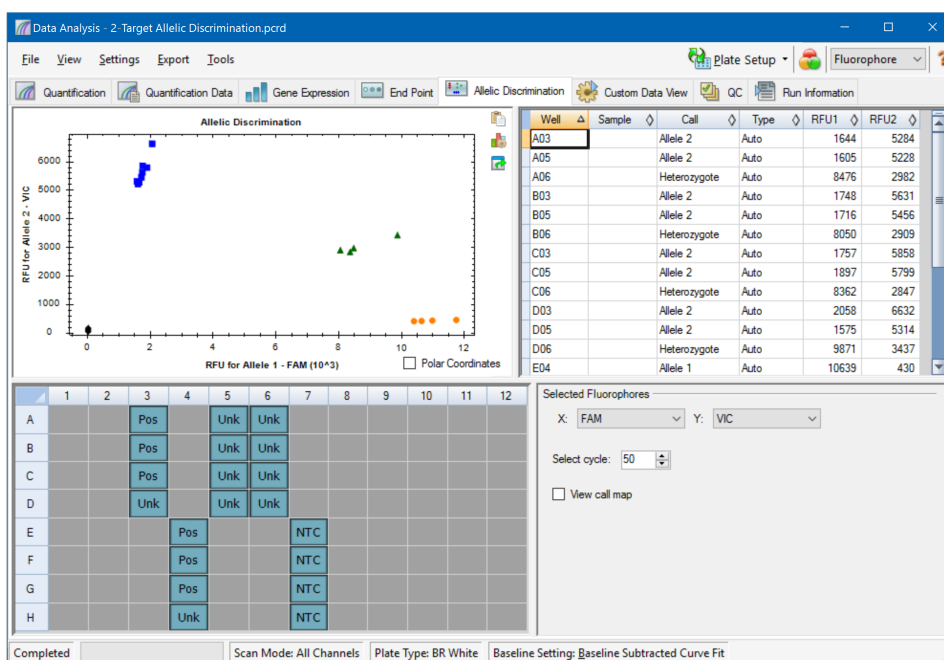
Tablica 26. Sadržaj proračunske tablice RFU-ova za krajnje točke

Informacija	Opis
Well (Jažica)	Položaj jažice na pločici
Fluor (Fluorofor)	Otkriven fluorofor
Content (Sadržaj)	Kombinacija vrste uzorka i broja replike
End RFU (Krajnji RFU)	RFU u ciklusu krajnje točke
Call (Pozivanje)	Positivno ili negativno, gdje pozitivni uzorci imaju veću RFU vrijednost od vrijednosti prosječne RFU negativnih kontrola zajedno s graničnom vrijednosti
Sample (Uzorak)	Naziv uzorka učitani u Plate Editor (Uređivač pločice)

Kartica Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija)

Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija) dodjeljuje genotipove jažicama s nepoznatim uzorcima. Upotrijebite ove podatke za identifikaciju uzoraka s različitim genotipovima, uključujući Allele 1 (Alel 1), Allele 2 (Alel 2), Heterozygote (Heterozigot), No Call (Bez pozivanja) (bez pojačanja) ili Undetermined (Neodređeno).

Napomena: Podaci o alelnoj diskriminaciji moraju potjecati iz multipleks izvođenja s najmanje dva fluorofora. Svaki fluorofor identificira jedan alel u svim uzorcima.



Analiza alelna diskriminacije zahtijeva sljedeći minimalni sadržaj jažice:

- dva fluorofora u svakoj jažici
- NTC (eng. no template control, bez kontrole predloška) uzorci za optimiziranu analizu podataka

CFX Maestro Dx SE nudi četiri mogućnosti pregledavanja podataka o alelnoj diskriminaciji:

- Grafikon alelna diskriminacije – prikazuje podatke u RFU grafikonu za Allele 1 (Alel 1) / Allele 2 (Alel 2). Svaka točka na grafikonu predstavlja podatke s oba fluorofora u jednoj jažici. Možete se prebacivati između pravokutnih i polarnih koordinata označavanjem i odznačavanjem potvrdnog okvira Polar Coordinates (Polarne koordinate). Pravokutne koordinate predstavljaju RFU za Allele 1 (Alel 1) na osi X i RFU za Allele 2 (Alel 2) na osi Y. Polarne koordinate predstavljaju kut na osi X i udaljenost između ishodišta i RFU na osi Y (medijan svih NTC-ova).

- Proračunska tablica jažice – prikazuje podatke o alelnoj diskriminaciji prikupljene u svakoj jažici pločice.
- Birač jažica – odabire jažice s alelnim podacima koje želite prikazati.
- Odabrana pločica fluorofora – mijenja oznake osi X i Y na grafikonu Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija), ciklus koji se analizira te prikaz mape pozivanja.

Prilagođavanje podataka za alelnu diskriminaciju

Softver automatski dodjeljuje genotip jažicama s nepoznatim uzorcima na temelju položaja NTC-a i kuta i udaljenosti nepoznatih podatkovnih točaka od NTC-a.

Prilagođavanje podataka alelne diskriminacije

- ▶ Učinite nešto od sljedećeg:
 - Da biste prikazali polarne koordinate, označite potvrdni okvir na grafikonu Allelic Discrimination (Alelne diskriminacije).
 - Da biste pogledali drugi fluorofor, odaberite ga s padajućeg popisa na pločici Selected Fluorophores (Odabrani fluorofori).
 - Da biste promijenili pozivanje, povucite preko podatkovnih točaka na grafikonu Allelic Discrimination (Alelne diskriminacije) i odaberite opciju s popisa Selected Wells (Odabrane jažice):
 - Allele 1 (Alel 1)
 - Allele 2 (Alel 2)
 - Heterozygote (Heterozigot)
 - Undetermined (Neodređeno)
 - No call (Bez pozivanja)
 - Auto Call (Automatsko pozivanje)

Savjet: Odaberite Auto Call (Automatsko pozivanje) da biste se vratili na zadano pozivanje.

Opcije izbornika grafikona

Osim uobičajenih opcija izbornika grafikona kojima se pristupa desnom tipkom miša (pogledajte [Uobičajene stavke izbornika koji se otvara desnim klikom miša za grafikone na stranici 207](#)), [Tablica 27](#) navodi opcije izbornika dostupne na grafikonu Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija).

Tablica 27. Opcije izbornika grafikona Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija) kojima se pristupa desnom i lijevom tipkom miša

Opcija izbornika	Funkcija
Zoom (Zumiranje)	Fokusira prikaz grafikona na odabrano područje (klikom i povlačenjem pokazivača miša na grafikonu). Savjet: Da biste vratili zumiranje tako da se prikažu sve podatkovne točke, kliknite desnom tipkom miša i odaberite Set Scale to Default (Postavi skalu na zadanu vrijednost).
Well (Jažica)	Za odabranu jažicu možete prikazati samo tu jažicu, ukloniti tu jažicu iz prikaza, postaviti boju za taj trag ili isključiti tu jažicu iz analize.
Selected Wells (Odabrane jažice)	Za odabrane jažice (odabrane klikom i povlačenjem pokazivača miša na grafikonu) možete prikazati samo te jažice, ukloniti te jažice iz prikaza, postaviti boju za te tragove ili isključiti te jažice iz analize.

Proračunska tablica Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija)

[Tablica 28](#) definira podatke koji se pojavljuju u proračunskoj tablici Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija).

Tablica 28. Sadržaj proračunske tablice Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija)

Informacija	Opis
Well (Jažica)	Položaj jažice na pločici
Sample (Uzorak)	Opis naziva uzorka
Call (Pozivanje)	Identitet alela, uključujući automatske Allele 1 (Alel 1), Allele 2 (Alel 2), Heterozygote (Heterozigot), No Call (Bez pozivanja) ili Undetermined (Neodređeno)

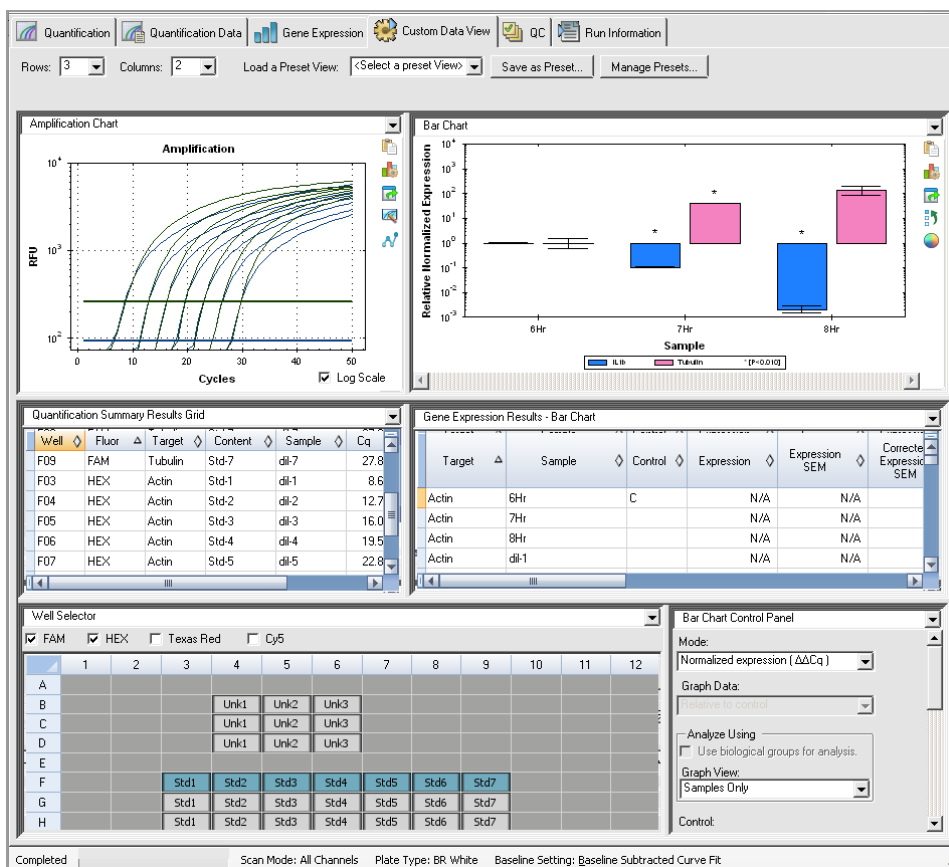
Tablica 28. Sadržaj proračunske tablice Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija), nastavak

Informacija	Opis
Type (Vrsta)	Auto (Automatski) ili Manual (Ručno), opisuje kako je pozivanje upućeno. Automatic (Automatski) označava da je softver odabrao pozivanje. Manual (Ručno) označava da je korisnik odabrao pozivanje
RFU1	RFU za Allele1 (Alel 1)
RFU2	RFU za Allele2 (Alel 2)

Kartica Custom Data View (Prilagođeni prikaz podataka)

Kartica Custom Data View (Prilagođeni prikaz podataka) istovremeno prikazuje više okna u prilagodljivom formatu.

Padajući popis Load a Preset View (Učitaj unaprijed postavljeni prikaz) nudi izbor predložaka formata prikaza. Prikazani zadani prikaz ovisi o datoteci koja se analizira. Na primjer, ako su prisutni podaci krivulje taljenja, pojavit će se zadani prikaz Amp+Melt.



Stvaranje prilagođenog prikaza podataka

Stvaranje prilagođenog prikaza podataka

- ▶ Učinite nešto od sljedećeg:
 - Na padajućem popisu odaberite drugi unaprijed postavljeni prikaz.
 - S padajućeg popisa koji se nalazi na vrhu svakog pojedinačnog okna odaberite drugi prikaz grafikona.
 - Promijenite broj redaka i stupaca na kartici.
 - Promijenite pojedinačne dimenzije okna. Povucite trake na obodu svakog okna.

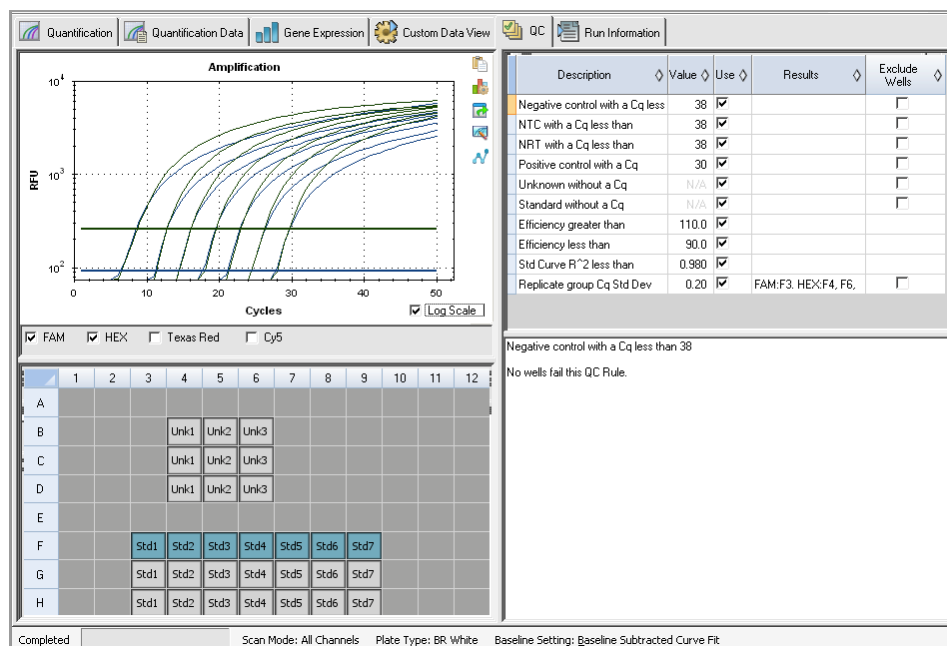
Kliknite **Save as Preset** (Spremi kao unaprijed postavljeno) za spremanje prilagođenog predloška kao unaprijed postavljenog predloška. Kliknite **Manage Presets** (Upravljanje unaprijed postavljenim postavkama) da biste izbrisali, preimenovali ili vratili postojeće unaprijed postavljene prikaze.

Kartica QC (Kontrola kvalitete)

Upotrijebite karticu QC (Kontrola kvalitete) za brzu procjenu kvalitete podataka o izvođenju na temelju pravila definiranih na kartici QC (Kontrola kvalitete) na prozoru User Preferences (Korisničke postavke).

CFX Maestro Dx SE nudi četiri mogućnosti za pregled podataka kontrole kvalitete:

- **Amplification chart** (Grafikon pojačanja) – prikazuje RFU za svaku jažicu u svakom ciklusu. Svaki trag na grafikonu predstavlja podatke iz jednog fluorofora u jednoj jažici.
- **QC rules table** (Tablica pravila za kontrolu kvalitete) – prikazuje dostupna pravila za kontrolu kvalitete i postavke kojima se definira svako pravilo. Primijenjena pravila za kontrolu kvalitete označena su kvačicom.
- **Well selector** (Birač jažica) – odabire jažice s podacima fluorescencije koje želite prikazati.
- **QC rule summary pane** (Okno sažetka pravila za kontrolu kvalitete) – prikazuje odabrano pravilo za kontrolu kvalitete i ističe jažice koje ne zadovoljavaju pravilo.



Promjena kriterija kontrole kvalitete

Promjena kriterija kontrole kvalitete

- ▶ Označite ili odznačite potvrdni okvir Use (Upotrijebi) za pravilo koje nešto uključuje ili isključuje iz kontrole kvalitete.

Izuzimanje jažica koje ne zadovoljavaju kontrolu kvalitete

CFX Maestro Dx SE prikazuje jažice koje ne zadovolje kriterije kontrole kvalitete u stupcu Results (Rezultati) u tablici pravila kontrole kvalitete i u oknu sažetka.

Izuzimanje jažica koje ne zadovoljavaju kontrolu kvalitete

- ▶ Odaberite Exclude Wells (Izuzmi jažice) za svaku jažicu koju želite izuzeti.

Kartica Run Information (Informacije o izvođenju)

Kartica Run Information (Informacije o izvođenju) prikazuje protokol i ostale informacije o svakom izvođenju. S pomoću ove kartice učinite sljedeće:

- Pogledajte protokol.
- Unesite ili uredite bilješke o izvođenju.
- Unesite ili uredite ID ili crtični kod za izvođenje.
- Pogledajte događaje koji su se mogli dogoditi tijekom izvođenja. Upotrijebite te poruke za otklanjanje poteškoća s izvođenjem.

Savjet: Desnom tipkom miša kliknite Protocol (Protokol) da biste ga kopirali, izvezli ili ispisali. Desnom tipkom miša kliknite okna Notes (Bilješke), ID/Bar Code (ID / crtični kod) ili Other (Ostalo) da biste poništili, izrezali, kopirali, zalijepili, izbrisali ili odabrali tekst.

The screenshot displays the 'Run Information' window with the following components:

- Protocol Graph:** A line graph showing temperature changes over time. The temperature starts at 95.0°C for 3.00 minutes, drops to 95.0°C for 0.10 minutes, and then drops to 55.0°C for 1.00 minute. The graph is divided into four steps (1, 2, 3, 4).
- Protocol Table:**

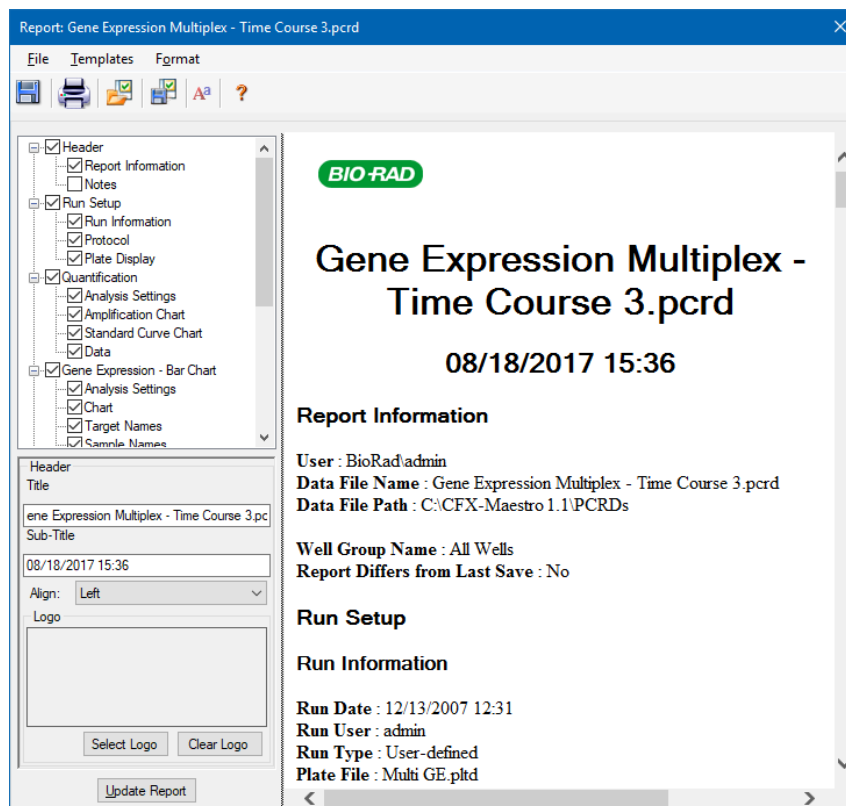
Step	Temp (°C)	Time (min)	Action
1	95.0	3:00	C
2	95.0	0:10	C
3	55.0	1:00	C
4	GOTO 2, 49 more times		
- Notes Panel:** Contains text describing the experimental setup: "Multiplex Gene Expression Example. Artificial Time course in which Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run, Cy5 (Gad6l) is constant at ~ 1e6 cps/run, Fam (Tubulin) increases 4 fold with time, Texas Red (It1b) decreases 4 fold with time."
- ID/Bar Code:** A field for entering identification codes.
- Other:** A section for additional run parameters:
 - Run Started: 12/13/2007 12:31:47 PM
 - User: admin
 - Run Type: User-defined
 - Plate File: Multi GE.pltd
 - Sample Vol: 25
 - Lid Temp: 105
 - Optical Head Serial Number:
 - Base Serial Number: CC001095
 - CPX Manager Version: 1.0.956.1212.

Izvešća o analizi podataka

Dijaloški okvir Report (Izvešće) prikazuje informacije o trenutnoj podatkovnoj datoteci u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Da biste otvorili izvješće odaberite Tools (Alati) > Reports (Izvešća) ili kliknite Reports (Izvešća) na alatnoj traci.

Dijaloški okvir Report (Izvešće) sadržava sljedeće odjeljke:

- Izbornik i alatna traka – pružaju mogućnosti oblikovanja, spremanja i ispisa izvješća ili predloška.
- Popis Options (Opcije) (gornja lijeva strana dijaloškog okvira) – pruža opcije za prikaz u izvješću.
- Okno Options (Opcije) (donja lijeva strana dijaloškog okvira) – prikazuje okvire za tekst u koje možete unijeti podatke o odabranoj opciji.
- Okno Preview (Pretpregled) (desna strana dijaloškog okvira) – prikazuje pregled trenutnog izvješća.



Kategorije izvješća o analizi podataka

Tablica 29 navodi sve opcije dostupne za izvješće o analizi podataka, ovisno o vrsti podataka u prozoru Data Analysis (Analiza podataka).

Tablica 29. Kategorije izvješća o analizi podataka na popisu opcija

Kategorija	Opcija	Opis
Header (Zaglavlje)		
		Naslov, podnaslov i logotip izvješća
	Report Information (Informacije o izvješću)	Datum izvođenja, korisničko ime, naziv podatkovne datoteke, put podatkovne datoteke i odabrana skupina jažica
	Audit Information (Informacije o reviziji)	Dodatne informacije potrebne za reviziju, uključujući potpise
	Notes (Napomene)	Bilješke o podatkovnom izvješću
Postavljanje izvođenja		
	Run information (Informacije o izvođenju)	Datum izvođenja, korisničko ime, naziv podatkovne datoteke, put podatkovne datoteke i odabrana skupina jažica
	Protocol (Protokol)	Tekstualni prikaz koraka i opcija protokola
	Plate Display (Prikaz pločice)	Prikaz informacija na pločici za svaki jažicu pločice
Kvantifikacija		
	Analysis Settings (Postavke analize)	Broj koraka prikupljanja podataka, način analize i metoda oduzimanja osnovne vrijednosti
	Amplification Chart (Grafikon pojačanja)	Grafikon pojačanja za izvođenja koja uključuju kvantifikacijske podatke
	Grafikon Standard Curve (Standardna krivulja)	Grafikon Standardna krivulja

Tablica 29. Kategorije izvješća o analizi podataka na popisu opcija, nastavak

Kategorija	Opcija	Opis
	Data (Podaci)	Proračunska tablica s popisom podataka u svakoj jažici
Genska ekspresija –trakasti grafikon		
	Analysis Settings (Postavke analize)	Način analize, podaci grafikona, mogućnost skaliranja i pogreška grafikona
	Chart (Grafikon)	Kopija trakastog grafikona
	Target Names (Nazivi ciljeva)	Grafikon naziva ciljeva
	Sample Names (Nazivi uzoraka)	Grafikon naziva uzoraka
	Data (Podaci)	Proračunska tablica s popisom podataka u svakoj jažici
	Target Stability (Stabilnost cilja)	Grafikon vrijednosti ciljne stabilnosti
	Box-and-Whisker Chart (Grafikon s okvirima i poveznicama)	Grafikon s okvirima i poveznicama
	Dot Plot Chart (Točkasti grafikon)	Dot Plot chart (Točkasti grafikon)
Gene Expression — Clustergram (Dijagram klastera) i Scatter Plot (Raspršeni dijagram)		
	Analysis Settings (Postavke analize)	Postavke za svaku vrstu grafikona
	Chart (Grafikon)	Kopija grafikona
	Data (Podaci)	Proračunska tablica s popisom podataka u svakom cilju
Genska ekspresija - podaci analize ANOVA		
	ANOVA Settings (Postavke ANOVA)	Prag vrijednosti P upotrijebljen u analizi

Tablica 29. Kategorije izvješća o analizi podataka na popisu opcija, nastavak

Kategorija	Opcija	Opis
	ANOVA Results (Rezultati ANOVA)	Tablica rezultata analize ANOVA i Tukeyjeve HSD post-hoc analize
Melt Curve (Krivulja taljenja)		
	Analysis Settings (Postavke analize)	Broj koraka taljenja i postavka trake praga
	Melt Curve Chart (Grafikon krivulje taljenja)	Grafikon krivulje taljenja
	Melt Peak Chart (Grafikon vršne vrijednosti taljenja)	Grafikon vršne vrijednosti taljenja
	Data (Podaci)	Proračunska tablica s popisom podataka u svakoj jažici
Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija)		
	Analysis Settings (Postavke analize)	Fluorofori, ciklus i prikaz mape pozivanja
	Allelic Discrimination Chart (Grafikon alelna diskriminacije)	Kopija grafikona alelna diskriminacije
	Data (Podaci)	Proračunska tablica s popisom podataka u svakoj jažici
Krajnja točka		
	Analysis Settings (Postavke analize)	Fluorofor, završni ciklusi za uprosječivanje, način rada, najniža vrijednost RFU, najviša vrijednost RFU i granična vrijednost
	Data (Podaci)	Proračunska tablica s popisom podataka u svakoj jažici
QC Parameters (Parametri kontrole kvalitete)		

Tablica 29. Kategorije izvješća o analizi podataka na popisu opcija, nastavak

Kategorija	Opcija	Opis
	Data (Podaci)	Proračunska tablica s popisom parametara za svako pravilo kontrole kvalitete

Izrada izvješća o analizi podataka

Izgled izvješća možete spremati kao predložak koji možete ponovo upotrebljavati za slična izvješća.

Izrada izvješća o analizi podataka

1. Konačna prilagođavanja sadržaja jažice, odabranih jažica, grafikona i proračunskih tablica izvedite u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) prije stvaranja izvješća.
2. Odaberite Tools (Alati) > Reports (Izvešća) na traci izbornika Data Analysis (Analiza podataka) da biste otvorili dijaloški okvir Report (Izvešća).
3. Odaberite opcije koje želite uključiti u izvješće. Izvješće se otvara s odabranim zadanim opcijama. Označite ili odznačite potvrdne okvire da biste promijenili cijele kategorije ili pojedinačne opcije unutar kategorije.

[Tablica 29 na stranici 249](#) navodi opcije dostupne za prikaz.

Napomena: Podaci koji se pojavljuju u izvješću ovise o trenutačnim odabirima na karticama prozora Data Analysis (Analiza podataka). Na primjer, izvođenje kvantifikacije možda neće sadržavati standardnu krivulju pa se ti podaci ne pojavljuju u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) ili u podatkovnom izvješću.

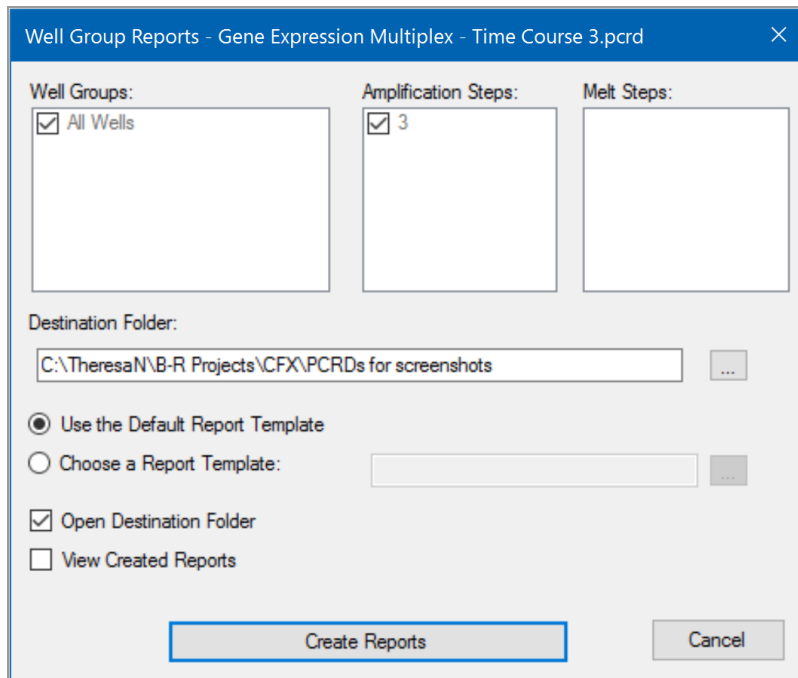
4. Promijenite redoslijed kategorija i stavki u izvješću. Povucite opcije u relativni položaj. Stavkama se može mijenjati redoslijed samo unutar kategorija kojima pripadaju.
5. (Opcionalno) U okno Report Options (Opcije izvješća) unesite podatke relevantne za odabranu opciju:
 - Odaberite podskup podataka koji će se prikazivati u izvješću.
 - Odaberite određene postavke za odabranu opciju.
 - Promijenite prikaz teksta za odabranu opciju.
6. Kliknite Update Report (Ažuriraj izvješće) da biste ažurirali pregled izvješća s promjenama.
7. Ispis ili spremanje izvješća:
 - a. Na alatnoj traci kliknite gumb Print Report (Ispiši izvješće) da biste ispisali trenutačno izvješće.
 - b. Odaberite File (Datoteka) > Save (Spremi) da biste izvješće spremili u formatu PDF (datoteka Adobe Acrobat Reader), MHT (Microsoft dokument) ili MHTML (Microsoft dokument).
 - c. Odaberite lokaciju za spremanje datoteke.
 - d. Odaberite File (Datoteka) > Save As (Spremi kao) da biste izvješće spremili pod novim nazivom ili na novu lokaciju.

8. (Opcionalno) Izradite predložak izvješća s informacijama koje želite. Da biste trenutačne postavke izvješća spremili u predložak, odaberite Template (Predložak) > Save (Spremi) ili Save As (Spremi kao). Zatim učitajte predložak izvješća sljedeći puta kada želite izraditi novo izvješće.

Izrada izvješća o skupinama jažica

Izrada izvješća o skupinama jažica

1. Odaberite Tools (Alati) > Well Group Reports (Izvešća o skupinama jažica) u prozoru Data Analysis (Analiza podataka).



2. U dijaloškom okviru Well Groups Reports (Izvešća o skupinama jažica) odaberite skupine jažica, korake pojačanja i korake taljenja koje ćete uključiti u izvješće.
3. Unesite put ili idite do određene mape u koju ćete spremiti izvješće.
4. (Opcionalno) Odaberite Choose a Report Template (Odaberite predložak izvješća) i idite na mapu datoteke predloška.
5. (Opcionalno) Odaberite Open Destination Folder (Otvori određenu mapu) da biste otvorili mapu i pregledali izvješća nakon generiranja.
6. Kliknite Create Reports (Izradi izvješća).

Poglavlje 12 Analiza genske ekspresije

Uz upotrebu strogo kvalificiranih kontrola u svojim reakcijama, možete upotrijebiti Softver CFX Maestro Dx, Security Edition za izvođenje genske ekspresije radi normalizacije relativnih razlika u ciljnoj koncentraciji među uzorcima. Tipično, razine ekspresije za jedan ili više referentnih gena koriste se za normalizaciju razine ekspresije gena od interesa. Referentni geni uzimaju u obzir razlike u opterećenju ili druge varijacije zastupljene u svakom uzorku i na razinu njihove ekspresije ne bi trebao utjecati biološki sustav koji se proučava.

Odaberite karticu Gene Expression (Genska ekspresija) u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) da biste procijenili relativne razlike između PCR reakcija u dvije ili više jažica. Na primjer, možete procijeniti relativni broj virusnih genoma ili relativni broj transkribiranih sekvenci u PCR reakciji. Najčešća primjena studije genske ekspresije jest usporedba koncentracije kDNK u više od jedne reakcije za procjenu razina glasničke RNK u ravnotežnom stanju.

Softver izračunava relativnu razinu ekspresije cilja s jednim od ovih scenarija:

- Relativna razina ekspresije ciljne sekvence (Target (Cilj) 1) u odnosu na drugi cilj (Target (Cilj) 2); na primjer količina jednog gena u odnosu na drugi gen pod istom obradom uzorka.
- Relativna razina ekspresije jednog ciljne sekvence u jednom uzorku u usporedbi s istim ciljem pod različitom obradom uzorka; na primjer, relativna količina jednog gena u odnosu na sebe u različitim vremenskim, zemljopisnim ili razvojnim uvjetima.

Postavljanje pločice za analizu genske ekspresije

Da bi se izvršila analiza genske ekspresije, sadržaj jažica mora sadržavati sljedeće:

- Dva ili više ciljeva – dva cilja koji predstavljaju različite pojačane gene ili sekvence u vašim uzorcima.
- Jedan ili više referentnih ciljeva – barem jedan cilj mora biti referentni cilj za normaliziranu ekspresiju. Dodijelite sve referentne ciljeve u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta) za analizu podataka u načinu Normalized Expression (Normalizirana ekspresija) ($\Delta\Delta C_q$). Izvođenja koja ne sadržavaju referencu moraju se analizirati s pomoću načina Relative Expression (Relativna ekspresija) (ΔC_q).
- Uobičajeni uzorci – vaše reakcije moraju uključivati uobičajene uzorke (potrebna su najmanje dva) da biste vidjeli svoje podatke nacrtane na kartici Gene Expression (Genska ekspresija). Ti bi uzorci trebali predstavljati različite tretmane ili uvjete za svaku od vaših ciljnih sekvenci. Dodijelite kontrolni

uzorak (nije obavezno) u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta). Ako nije odabrana nijedna kontrola, softver koristi najniži C_q kao kontrolu.

Zahtjevi za postavljanje značajke Gene Expression (Genska ekspresija) u Plate Editor (Uređivač pločice) ovise o tome jesu li reakcijski sadržaji pojedinačni PCR, s jednim fluoroforom u reakcijama ili multipleksni PCR, s više od jednog fluorofora u reakcijama.

Vođeno postavljanje pločice

Ako postavljanje pločice podatkovne datoteke ne sadržava podatke potrebne za analizu i ako je odabrana kartica Gene Expression (Genska ekspresija), prostor koji inače zauzima trakasti grafikon sadržavat će upute za unos tih podataka. Za normaliziranu gensku ekspresiju izvršite sljedeće korake:

1. Definirajte nazive za Target (Cilj) i Sample (Uzorak) koristeći bilo što od sljedećeg:
 - Plate Setup (Postavljanje pločice) – otvara prozor Plate Editor (Uređivač pločice).
 - Replace Plate File (Zamjena datoteke pločice) – otvara preglednik Select Plate (Odaberi pločicu) u kojem možete prijeći na prethodno spremljenu datoteku pločice kojom ćete zamijeniti trenutni raspored pločice.
 - Replace PrimePCR File (Zamjena datoteke PrimePCR) – otvara dijaloški okvir Select PrimePCR file (Odabir PrimePCR datoteke), u kojem možete doći do datoteke za izvođenje PrimePCR i primijeniti je na raspored pločice.
2. Odaberite jedan ili više referentnih ciljeva i kontrolni uzorak s pomoću dijaloškog okvira Experiment Settings (Postavke eksperimenta).







Ako raspored pločice već sadržava podatke o cilju i uzorku, potreban je samo drugi korak i označen je narančastom bojom. Ovaj korak mora biti završen prije nego što se može dogoditi normalizirana analiza genske ekspresije.

Napomena: Podaci za raspršeni dijagram i dijagram klastera prikazuju se samo ako su zadovoljeni svi zahtjevi za normaliziranu gensku ekspresiju navedeni u odjeljku Plate Setup (Postavljanje pločice) za Gene Expression Analysis (Analiza genske ekspresije).

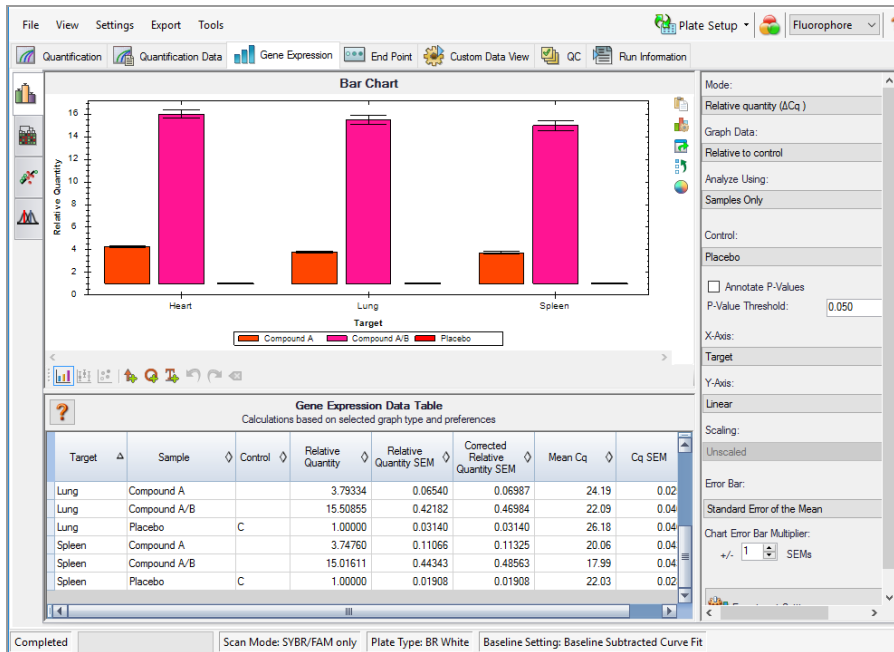
Grafikoni genske ekspresije

CFX Maestro Dx SE prikazuje podatke genske ekspresije u više prikaza. [Tablica 30](#) navodi opcije grafikona dostupne u softveru.

Tablica 30. Opcije grafikona genske ekspresije

Gumb	Naziv	Funkcija
	Izrada grafikona	Prikazuje normalizirane podatke genske ekspresije u jednom od sljedećih prikaza: <ul style="list-style-type: none"> ■ Trakasti grafikon (zadano) ■ Grafikon s okvirima i poveznicama ■ Dot Plot chart (Točkasti grafikon)
	Clustergram (Dijagram klastera)	Prikazuje normalizirane podatke ekspresije u hijerarhiji na temelju stupnja sličnosti ekspresije za različite ciljeve i uzorke.
	Scatter Plot (Raspršeni dijagram)	Prikazuje normalizirane ekspresije ciljeva za kontrolu u odnosu na eksperimentalni uzorak.
	ANOVA	Prikazuje rezultate jednosmjerne analize ANOVA na podacima genske ekspresije s pomoću sljedećih R paketa za izvođenje analize ANOVA i određivanje Tukey rezultata: <ul style="list-style-type: none"> ■ Companion to Applied Regression (car) (Pratitelj primijenjene regresije (car)) ■ Najmanja kvadratna sredstva (lsmeans)
	Referentni alat za odabir gena	(Dostupno na kartici Study Analysis (Analiza studije) u prozoru Gene Study (Genetička studija)) Identificira testirane referentne gene i kategorizira ih kao Ideal (Idealno), Acceptable (Prihvatljivo) ili Unstable (Nestabilno) na temelju njihove stabilnosti.
	Analiza PrimePCR kontrola	(Dostupno na kartici Study Analysis (Analiza studije) u prozoru Gene Study (Genetička studija)) Prikazuje rezultate testiranih uzoraka.

Izrada grafikona



Relativna ekspresija ciljeva predstavljena je u ova dva pogleda:

- Grafikon Gene Expression (Genska ekspresija) – prikazuje podatke PCR-a u stvarnom vremenu kao jedno od sljedećeg:
 - $\Delta\Delta C_q$ – relativna normalizirana ekspresija izračunata s pomoću kontrolnih uzoraka i referentnih ciljeva.
 - ΔC_q – relativna količina ciljnog gena u uzorku u odnosu na kontrolni uzorak.

Pogledajte [Promjena i bilježenje prikaza grafikona na stranici 262](#) za više informacija i prikazu podataka.

- Spreadsheet (Proračunska tablica) – prikazuje proračunsku tablicu podataka o genskoj ekspresiji.

Savjet: Desnom tipkom miša kliknite bilo koji grafikon ili proračunsku tablicu za opcije. Odaberite View/Edit Plate (Prikaz/uređivanje pločice) s padajućeg izbornika Plate Setup (Postavljanje pločice) da biste otvorili Plate Editor (Uređivač pločice) i promijenili sadržaj jažice u pločici.

Savjet: Odaberite Sort (Sortiraj) s izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša da biste preuredili redoslijed naziva Target (Cilj) i Sample (Uzorak) na grafikonu.

Normalizirana genska ekspresija

Da biste normalizirali podatke, upotrijebite izmjerenu razinu ekspresije jednog ili više referentnih gena kao faktor normalizacije. Referentni geni su ciljevi koji nisu regulirani u biološkom sustavu koji se proučava, poput *aktina*, *GAPDH* ili *tubulina*.

Postavljanje analize normalizirane genske ekspresije ($\Delta\Delta C_q$)

1. Otvorite podatkovnu datoteku (.pcrd nastavak).
2. Pregledajte podatke na kartici Quantification (Kvantifikacija) u prozoru Data Analysis (Analiza podataka). Izvršite prilagodbe podataka, poput promjene praga i načina analize.
3. Odaberite karticu Gene Expression (Genska ekspresija).
4. Na kartici Gene Expression (Genska ekspresija) kliknite Experiment Settings (Postavke eksperimenta).
5. U dijaloškom okviru Experiment Settings (Postavke eksperimenta) učinite sljedeće:
 - a. Odaberite karticu Samples (Uzorci) i odaberite kontrolu. Kada se dodijeli kontrola, CFX Maestro Dx SE normalizira relativne količine za sve gene na kontrolnu količinu koja je postavljena na 1.
 - b. Odaberite karticu Target (Cilj) i odaberite referentne gene. Analiza genske ekspresije zahtijeva jednu referencu među ciljevima u vašim uzorcima.
6. Odaberite Normalized Expression (Normalizirana ekspresija) ($\Delta\Delta C_q$) ako već nije odabrano, a zatim pogledajte razine ekspresije na kartici Gene Expression (Genska ekspresija).

Napomena: Setup Wizard (Čarobnjak za postavljanje) možete upotrijebiti i za postavljanje izgleda pločice za normaliziranu analizu genske ekspresije.

Relativna količina

Prema definiciji, podaci o relativnoj količini (ΔC_q) nisu normalizirani. Ova se metoda koristi za kvantificiranje uzoraka koji ne uključuju nikakve referentne gene (ciljeve). Tipično, istraživači su sigurni u jedno od sljedećih razmatranja kada postavljaju svoje izvođenje:

- Svaki uzorak sadržava jednaku količinu RNK ili kDNK u svakoj jažici.
- Sve razlike u količini učitanih bioloških uzoraka normalizirat će se nakon izvođenja nekom metodom u analizi podataka izvan softvera. Na primjer, istraživač može odabrati podijeliti vrijednost relativne količine s normalizirajućim faktorom, možda masom nukleinske kiseline napunjene za svaki uzorak ili brojem stanica iz kojih je nukleinska kiselina izolirana.

Izvođenje analize relativne količine (ΔC_q)

- ▶ Na kartici Gene Expression (Genska ekspresija) odaberite Relative Quantity (Relativna količina) (ΔC_q) s padajućeg popisa Mode (Način rada) u desnom oknu.

Savjet: Da biste usporedili rezultate s podacima iz drugih izvoda genske ekspresije, otvorite novu genetičku studiju ili dodajte podatkovnu datoteku u postojeću genetičku studiju.

Promjena i bilježenje prikaza grafikona

S pomoću naredbi izbornika alatne trake grafikona i alata grafikona za analizu podataka možete promijeniti prikaz grafikona, označiti svaki grafikon i promijeniti prikaz grafikona. Alatna traka grafikona pojavljuje se između grafikona i proračunske tablice za analizu podataka na dnu zaslona.

Alati alatne trake grafikona





Savjet: Pogledajte [Grafikoni na stranici 199](#) za informacije o alatima za grafikone koji se pojavljuju na desnoj strani grafikona za analizu podataka.

Alatna traka ispod grafikona omogućuje brzi pristup alatima za bilješke.








Tablica 31 navodi funkcije gumba na alatnoj traci grafikona.

Tablica 31. Alatna traka grafikona

Gumb	Naziv	Funkcija
	Trakasti grafikon	Prikazuje relativnu ekspresiju ciljeva.
	Grafikon s okvirima i poveznicama	Prikazuje podatke u rasponima kvartila (za detalje o izračunu pogledajte Izračuni grafikona s okvirima i poveznicama na stranici 301). Napomena: Dostupno samo ako je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljena na Biological Groups Only (Samo biološke skupine).
	Dot Plot chart (Točkasti grafikon)	Prikazuje pojedinačne uzorke podatkovnih točaka za svaki cilj. Napomena: Dostupno samo ako je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljena na Biological Groups Only (Samo biološke skupine).
	Add Arrow (Dodaj strelicu)	Na aktivnom grafikonu crta strelicu.

Tablica 31. Alatna traka grafikona, nastavak

Gumb	Naziv	Funkcija
	Add Circle (Dodaj krug)	Na aktivnom grafikonu crta krug
	Add Text (Dodaj tekst)	Na aktivni grafikon ubacuje okvir za tekst u koji možete dodati tekst kako biste prepoznali stavke od interesa u grafikonu.
	Undo (Poništi)	Uklanja ili vraća zadnju bilješku izvedenu na aktivnom grafikonu.
	Redo (Ponovi)	Vraća zadnju radnju poništavanja koja je izvršena na aktivnom grafikonu.
	Clear All (Očistiti sve)	Čisti sve bilješke na aktivnom grafikonu.

Sortiranje podataka o cilju, uzorku i biološkim skupinama

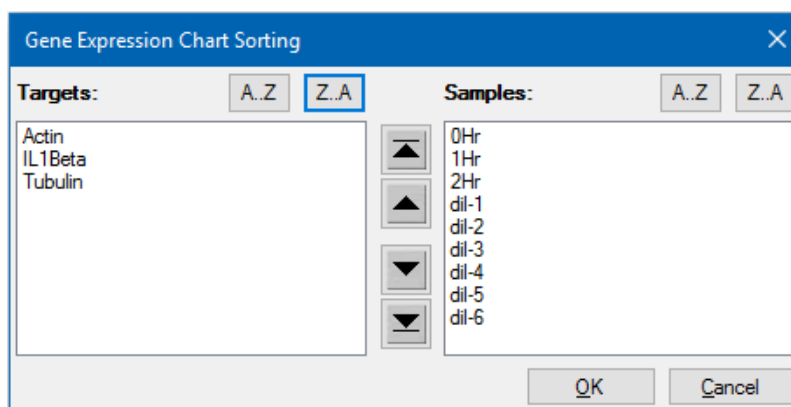
Napomena: Ova je opcija dostupna samo na grafikonima genske ekspresije.

Prema zadanim postavkama, popisi Targets (Ciljevi), Samples (Uzorci) i Biological Groups (Biološke skupine) pojavljuju se po abecednom redu. Upotrijebite dijaloški okvir Sort (Sortiraj) za sortiranje prikaza obrnutim abecednim redoslijedom ili za ručno premještanje pojma na drugo mjesto na popisu.

Za sortiranje podataka o ciljevima, uzorcima i biološkim skupinama

- Iz alata za grafikone kliknite Sort (Sortiraj).

Pojavljuje se dijaloški okvir Gene Expression Chart Sorting (Sortiranje grafikona genske ekspresije).



- U dijaloškom okviru kliknite Z–A da biste sortirali popis obrnutim abecednim redom.

3. Da biste ručno premjestili pojam, odaberite ga i kliknite odgovarajući gumb između grafikona:
 - Kliknite strelicu gore ili dolje za pomicanje odabranog pojma za jedan položaj.
 - Pritisnite strelicu gore ili dolje da biste odabrani pojam premjestili na vrh ili na dno popisa.
4. Pritisnite OK (U redu) za spremanje promjena i povratak na karticu Gene Expression (Genska ekspresija).

Promjena postavki boje cilja, uzorka i biološke skupine

S pomoću dijaloškog okvira Color Settings (Postavke boje) promijenite boju cilja, uzorka ili biološke skupine ili uklonite stavku s grafikona.

Promjena postavki boje cilja

1. U desnom oknu u dijaloškom okviru Gene Expression (Genska ekspresija) provjerite prikazuje li se Sample (Uzorak) na padajućem popisu osi X.
2. U značajki Chart Tools (Alati za grafikone) odaberite Color Settings (Postavke boje).
Pojavljuje se dijaloški okvir Color Settings (Postavke boje).
3. Da biste promijenili postavke boje cilja, kliknite njegovu boju u stupcu Color (Boja).
4. U dijaloškom okviru Color (Boja) koji se pojavi odaberite novu boju i kliknite OK (U redu).
5. Da biste uklonili cilj s grafikona genske ekspresije, poništite njegov potvrdni okvir u stupcu Show Chart (Prikaži grafikon).

Savjet: Da biste očistili sve ciljeve, očistite Show Chart (Prikaži grafikon) u zaglavlju stupca.

6. (Opcionalno) Prema zadanim postavkama trake se pojavljuju u jednobožnim bojama. Da biste prikazali trake u gradijentnim bojama, odznačite opciju Use Solid Colors (Upotrijebi pune boje).
7. Pritisnite OK (U redu) za spremanje promjena i povratak na karticu Gene Expression (Genska ekspresija).

Promjena postavki boje uzorka ili biološke skupine

1. U desnom oknu dijaloškog okvira Gene Expression (Genska ekspresija) provjerite prikazuje li se cilj na padajućem popisu osi X.
2. Izvršite korake u [Promjena postavki boje cilja na stranici 265](#).

Promjena značajke Chart View (Prikaz grafikona)

Promjena trenutnog prikaza grafikona

- Odaberite naredbu izbornika alatne trake za ciljni prikaz.

Napomena: Kartica Gene Expression (Genska ekspresija) uvijek se otvara prikazujući podatke u zadanom prikazu Bar Chart (Trakasti grafikon).

Izuzimanje izvanrednih podatkovnih točaka

U točkastom grafikonu možete lako pregledati i izuzeti netipične vrijednosti iz svoje analize.

Izuzimanje podatkovnih točaka netipičnih vrijednosti

- ▶ U grafikonu Dot Plot (Točkasti grafikon) desnom tipkom miša kliknite ciljnu netipičnu vrijednost i odaberite Exclude Well from Analysis (Izuzmi jažicu iz analize).

Podatkovna točna uklonjena je s grafikona Dot Plot (Točkasti grafikon), a jažica postaje siva u Well Selector (Birač jažica) na kartici Quantification (Kvantifikacija).

Uključivanje podatkovne točke netipične vrijednosti

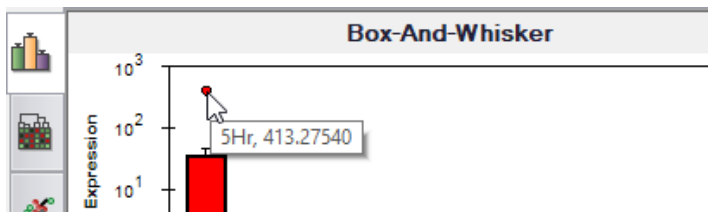
- ▶ Na kartici Quantification (Kvantifikacija) desnom tipkom miša kliknite jažicu u značajki Well Selector (Birač jažice) i odaberite Well (Jažica) > Include in Analysis (Uključi u analizu).

Prikaz pojedinosti o podatkovnoj točki

Prikaz pojedinosti o podatkovnoj točki

- ▶ U grafikonima Box and Whisker plot (Grafikon s okvirima i poveznicama) i Dot Plot (Točkasti grafikon) zaustavite pokazivač na pojedinoj podatkovnoj točki.

Prikazuje se opis koji prikazuje naziv uzorka i njegov izraz (relativna količina ili normalizirani izraz, ovisno o odabranom načinu rada).



Bilješke grafikona

U svaki prikaz trakastog grafikona možete dodati strelice, krugove i tekst kako biste jasno prenijeli podatke. Bilješke se spremaju u trakasti grafikon i pojavljuju se u izvezenoj i ispisanoj datoteci. Međutim, bilješke izrađene u jednom prikazu grafikona ne dodaju se u druge prikaze grafikona.

Crtanje strelice ili kruga na grafikonu

1. Na alatnoj traci trakastog grafikona kliknite određeni alat.
2. Kliknite na trakasti grafikon i po potrebi povucite pokazivač preko grafikona.

Dodavanje teksta na grafikon

1. Na alatnoj traci trakastog grafikona kliknite Add Text (Dodaj tekst).
2. Kliknite na trakasti grafikon. Na tom mjestu pojavit će se tekstni okvir.
3. Dodajte tekst u tekstni okvir.
4. Kliknite bilo gdje na grafikonu da biste izašli iz tekstnog okvira.

Savjet: Pritisnite tipku Enter za dodavanje više redaka u tekstni okvir.

Premještanje bilješke

1. Zadržite pokazivač iznad bilješke. Ikona se mijenja u prst koji pokazuje i označena je granica bilješke.
2. Kliknite bilješku i povucite je na drugo mjesto.
3. Otpustite bilješku da biste osigurali njezin položaj.

Poništavanje bilješke

- ▶ Kliknite Undo (Poništi).

Uklonjena je posljednja dodana bilješka.

Savjet: Možete poništiti deset najnovijih bilješki, jednu po jednu.

Ponavljanje poništene bilješke

- ▶ Kliknite Redo (Ponovi).

Vraća se zadnja uklonjena bilješka.

Savjet: Možete ponoviti deset najnovije poništenih bilješki, jednu po jednu.

Brisanje bilješke

- ▶ Desnom tipkom miša kliknite bilješku i odaberite Delete (Izbriši).

Prilagođavanje podataka o genskoj ekspresiji

Nakon odabira načina analize, normalizirane ekspresije ($\Delta\Delta Cq$) ili relativne količine (ΔCq), prilagodite podatke koje pregledavate na kartici Gene Expression (Genska ekspresija) promjenom opcija postavki s desne strane grafikona.

Savjet: Zadane opcije podataka za Gene Expression (Ekspresija gena) postavljate u dijaloškom okviru User Preferences (Korisničke postavke) (pogledajte [Postavljanje zadanih parametara genske ekspresije za podatkovne datoteke na stranici 90](#)).

Graph data (Podaci grafikona)

Postavite vrijednost osi Y na značajku Linear scale (Linearna skala) kako biste omogućili opcije podataka grafikona. Opcije podataka grafikona omogućuju vam prikazivanje podataka na grafikonu s jednom od ovih opcija:

- Relative to control (U odnosu na kontrolu) – grafički prikažite podatke s osi skaliranom od 0 do 1. Ako dodijelite kontrolu u svom izvođenju, odaberite ovu opciju za brzu vizualizaciju povećanja ili smanjenja cilja.
- Relative to zero (U odnosu na nulu) – grafički prikažite podatke kojima je ishodište nula.

Analyze Using (Analizirajte s pomoću)

S pomoću padajućeg izbornika odaberite način na koji se podaci analiziraju i prikazuju. Opcije su:

- Samples Only (Samo uzorci) – podaci se analiziraju i prikazuju na osnovi uzorka.
- Biological Groups Only (Samo biološke skupine) – podaci se analiziraju i prikazuju za biološke skupine. Ekspresija prikazana za biološku skupinu geometrijska je sredina uzoraka u toj skupini.
- Sample Biological Group (Uzimanje uzorka biološke skupine) – podaci se analiziraju i crtaju na osnovi uzorka s biološkom skupinom koja je dodana nakon naziva uzorka. Prikazane p-vrijednosti izračunavaju se na temelju biološke skupine.
- Biological Group Sample (Uzorak biološke skupine) – podaci se analiziraju i prikazuju na osnovi uzorka, a biološka skupina se dodaje ispred naziva uzorka. Prikazane p-vrijednosti izračunavaju se na temelju biološke skupine.

S pomoću padajućeg izbornika odaberite uzorak koji će se upotrijebiti za normalizaciju Relative Quantity (Relativna količina):

Annotate P-values (Označi p-vrijednosti) i P-Value Threshold (Prag p-vrijednosti)

Kad je odabrano Annotate P-values (Označi p-vrijednosti), softver prikazuje zvjezdicu (*) na trakastom grafikonu iznad cilja ako je njegova p-vrijednost ispod odabranog praga. Softver automatski izračunava

p–vrijednost uspoređujući razinu ekspresije uzorka s razinom ekspresije odabranog kontrolnog uzorka s pomoću standardnog t-testa. Raspon praga vrijednosti P je 0,000 – 1,000.

Opcije osi X

Opcija osi X omogućuje vam odabir podataka o x osi na grafikonu Gene Expression (Genska ekspresija):

- Target (Cilj) – prikazuje nazive ciljeva na osi X.
- Sample (Uzorak) – grafički prikazuje nazive uzoraka na osi X.

Opcije osi Y

Opcija osi Y omogućuje vam prikaz grafikona Gene Expression (Genska ekspresija) u jednoj od ove tri skale:

- Linear (Linearno) – odaberite ovu opciju za prikaz linearne skale.
Savjet: Postavljanje osi Y na Linear (Linearno) omogućuje padajući popis Graph Data (Podaci grafikona) s kojeg možete odabrati grafički prikaz podataka u odnosu na kontrolu ili u odnosu na nulu.
- Log 2 – odaberite ovu opciju za procjenu uzoraka u velikom dinamičkom rasponu.
- Log 10 – odaberite ovu opciju za procjenu uzoraka u vrlo velikom dinamičkom rasponu.

Opcije skaliranja

Odaberite Normalized Gene Expression (Normalizirana genska ekspresija) ($\Delta\Delta C_q$) i postavite na None (Ništa) kako biste omogućili mogućnosti skaliranja na grafikonu Gene Expression (Genska ekspresija). Odaberite jednu od ovih mogućnosti skaliranja da biste izračunali i prikazali svoje podatke na način koji najbolje odgovara vašoj izvedbi izvođenja:

- Unscaled (Neskalirano) – predstavlja neskaliranu normaliziranu gensku ekspresiju.
- Highest (Najviše) – skalira normaliziranu gensku ekspresiju za svaki cilj dijeljenjem razine ekspresije svakog uzorka s najvišom razinom ekspresije u svim uzorcima.
Ova opcija skaliranja koristi formulu skaliranja do najvišeg.
- Lowest (Najniže) – skalira normaliziranu gensku ekspresiju za svaki cilj dijeljenjem razine ekspresije svakog uzorka s najnižom razinom ekspresije u svim uzorcima.
Ova opcija skaliranja koristi formulu skaliranja do najnižeg.
- Average (Prosjek) – skalira normaliziranu gensku ekspresiju za svaki cilj dijeljenjem razine ekspresije svakog uzorka s geometrijskom sredinom razina ekspresije za sve uzorke.
Ova opcija skaliranja koristi formulu prilagođenog prosjeka.

Odaberite opciju za vrstu izračuna pogrešaka (trake pogrešaka) na grafikonu Gene Expression (Genska ekspresija):

Množitelj trake pogrešaka grafikona

Odaberite množitelj za trake pogrešaka na grafikonu Gene Expression (Genska ekspresija). Odaberite jedan od ovih cijelih brojeva:

- +/- 1 (zadano)
- 2
- 3

Vrsta množitelja mijenja se kad odaberete traku pogreške:

- SEMs (SEM-ovi) za standardnu pogrešku srednje vrijednosti
- Std Devs (Standardna odstupanja) za standardna odstupanja

Postavke eksperimenta

Savjet: Ovaj dijaloški okvir također je dostupan u značajki Plate Editor (Uređivač pločice). Za više informacija pogledajte [Promjena Experiment Settings \(Postavke eksperimenta\) na stranici 149](#).

U dijaloškom okviru Experiment Settings (Postavke eksperimenta) možete pregledati ili promijeniti popis ciljeva, uzoraka ili bioloških skupina, odabrati referentne gene, odabrati kontrole ili postaviti skupinu Gene Expression Analysis (Analiza genske ekspresije) koja će biti analizirana ako su biološke skupine dodane jažicama.

Otvaranje dijaloškog okvira Experiment Settings (Postavke eksperimenta)

- ▶ Na kartici Graphing (Izrada grafikona) kliknite Experiment Settings (Postavke eksperimenta) na dnu desnog okna.

Pojavit će se dijaloški okvir Experiment Settings (Postavke eksperimenta) koji prikazuje karticu Targets (Ciljevi).

Prilagodba postavki za Targets (Ciljevi)

- ▶ Na kartici Targets (Ciljevi) učinite nešto od sljedećeg:
 - Da biste odabrali cilj kao referencu za analizu podataka genske ekspresije, odaberite njegov naziv u stupcu Reference (Referenca).
 - Da biste promijenili boju cilja, kliknite njegovu ćeliju u stupcu Color (Boja) i promijenite boju u dijaloškom okviru Color (Boja) koji se pojavio.

Promjena boje pojavljuje se na grafikonima Gene Expression (Genska ekspresija).

- Da biste upotrijebili prethodno utvrđenu vrijednost učinkovitosti, odznačite potvrdni okvir cilja u stupcu Auto Efficiency (Automatska učinkovitost) i unesite broj za postotak učinkovitosti cilja.

Softver izračunava relativnu učinkovitost za cilj s pomoću značajke Auto Efficiency (Automatska učinkovitost) ako podaci za cilj uključuju standardnu krivulju.

Prilagodba postavki za Sample (Uzorak)

- ▶ Na kartici Samples (Uzorci) učinite nešto od sljedećeg:
 - Da biste odabrali uzorak kao kontrolu za analizu podataka genske ekspresije, odaberite njegov naziv u stupcu Control (Kontrola).
 - Da biste promijenili boju uzorka skupine, kliknite njezinu ćeliju u stupcu Color (Boja) i promijenite boju u dijaloškom okviru Color (Boja) koji se pojavi.
Promjena boje pojavljuje se na grafikonima Gene Expression (Genska ekspresija).
 - Da biste prikazali uzorak na grafikonima Gene Expression (Genska ekspresija), odaberite ih u stupcu Show Chart (Prikaži grafikon).
 - Da biste uklonili uzorak s grafikona genske ekspresije, obrišite ga u stupcu Show Chart (Prikaži grafikon).

Savjet: Podaci uzorka skupine ostaju u tablici Results (Rezultati).

Izuzimanje vrste uzorka iz izračuna analize

- ▶ Označite njegov potvrdni okvir na dnu dijaloškog okvira Experiment Settings (Postavke eksperimenta).

Napomena: Ovo izuzima kontrole i/ili standarde iz analize genske ekspresije.

Opcije izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša

Desnom tipkom miša kliknite grafikon genske ekspresije za odabir stavki prikazanih u [Tablica 32](#).

Tablica 32. Stavke izbornika za gensku ekspresiju kojemu se pristupa desnim klikom miša

Stavka	Funkcija
Copy (Kopiraj)	Kopira grafikon u međuspremnik.
Save Image As (Spremi sliku kao)	Sprema grafikon kao slikovnu datoteku. Postavite razlučivost i dimenzije slike, a zatim odaberite vrstu datoteke (PNG, JPG, ili BMP).

Tablica 32. Stavke izbornika za gensku ekspresiju kojemu se pristupa desnim klikom miša, nastavak

Stavka	Funkcija
Page Setup (Postavljanje stranice)	Odabire postavke stranice za ispis.
Print (Ispis)	Ispisuje grafikon.
Set Scale to Default (Postavi skaliranje na zadano)	Prikaži sve prikazuje sve podatke na trakastom grafikonu. Scroll Bar (Klizač) prikazuje klizač ako ima previše uzoraka za prikaz u okviru grafikona dok održava minimalne širine trake.
Chart Settings (Postavke grafikona)	Otvora prozor Chart Settings (Postavke grafikona) za prilagodbu grafikona.
Sort (Sortiraj)	Sortira redoslijed uzoraka ili ciljeva koji se pojavljuju na osi X grafikona.
Use Corrected Std Devs (Upotrijebi ispravljeno standardno odstupanje)	Izračunava trake pogrešaka s pomoću formule ispravljenog standardnog odstupanja.
Use Solid Bar Colors (Koristi pune trakaste boje)	Prikazuje pune trake na grafikonu.
Oznake osi X	Prikazuje oznake osi X vodoravno ili pod kutom.

Proračunska tablica podataka

Tablica 33 definira podatke prikazane u Gene Expression Data Table (Tablica podataka o genskoj ekspresiji).

Napomena: Vrijednosti u tablici izračunavaju se na temelju vrste grafikona i postavke odabranih u desnom oknu.

Tablica 33. Opis podataka u proračunskoj tablici na kartici

Informacija	Opis
Target (Cilj)	Naziv cilja (pojačani gen) odabran u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta).
Biological Group (Biološka skupina) Sample Biological Group (Uzimanje uzorka biološke skupine) Biological Group Sample (Uzorak biološke skupine)	Uzorak i/ili naziv biološke skupine odabran u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta).
Control (Kontrola)	Naziv značajke Control (Kontrola) odabran u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta). Kada je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljeno na Samples Only (Samo uzorci), Control (Kontrola) je uzorak odabran u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta). Kad je odabrana Biological Groups Only (Samo biološke skupine), Biological Group Sample (Uzimanje uzorka biološke skupine) ili Biological Group Sample (Uzorak biološke skupine), kontrola je biološka skupina odabrana u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta).
Relativna količina ili Ekspresija	Relativna količina (ΔC_q) ili normalizirana genska ekspresija ($\Delta\Delta C_q$), ovisno o odabranom načinu rada.
Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (Relativna količina ili Ekspresija SEM (ili SD))	Standardna pogreška srednje vrijednosti (SEM) ili standardnog odstupanja (SD) relativne količine ili normalizirane ekspresije, ovisno o odabranoj opciji. Dostupno samo ako je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljena na Samples Only (Samo uzorci), Sample Biological Group (Uzimanje uzorka biološke skupine) ili Biological Group Sample (Uzorak biološke skupine).

Informacija	Opis
Corrected Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (Ispravljena relativna količina ili Ekspresija SEM (ili SD))	Izračun ispravljene vrijednosti za SEM ili SD relativne količine ili normalizirane ekspresije, ovisno o odabranoj opciji. Dostupno samo ako je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljena na Samples Only (Samo uzorci), Sample Biological Group (Uzimanje uzorka biološke skupine) ili Biological Group Sample (Uzorak biološke skupine).
Mean C _q (Srednji C _q)	Srednja vrijednost ciklusa kvantifikacije (ne prikazuje se ako je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljeno na Biological Groups Only (Samo biološke skupine)).
C _q SEM (or SD) (C _q SEM (ili SD))	SEM ili SD ciklusa kvantifikacije, ovisno o odabranoj opciji (ne prikazuje se ako je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljeno na Biological Groups Only (Samo biološke skupine)).

Opcija prikaza detalja

Tablica 34 definira podatke koji se prikazuju kada se odabere Show Details (Prikaz detalja) iz izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša na proračunske tablice stupaca.

Tablica 34. Informacije u proračunskoj tablici trakastog grafikona s odabranom opcijom Show Details (Prikaz detalja)

Informacija	Opis
Data Set (Skup podataka)	Podaci o fluorescenciji iz jednog fluorofora u podatkovnoj datoteci
Relativna količina	Izračunata relativna količina uzoraka
Relative Quantity SD (Relativna količina SD)	Standardno odstupanje izračuna relativne količine
Corrected Relative Quantity SD (Ispravljena relativna količina SD)	Izračunato standardno odstupanje ispravljene relativne količine
Relative Quantity SEM (Relativna količina SEM)	Standardna pogreška srednje vrijednosti izračuna relativne količine
Corrected Relative Quantity SEM (Ispravljena relativna količina SEM)	Izračunata standardna pogreška srednje vrijednosti ispravljene relativne količine
Relative Quantity(lg) (Relativna količina (lg))	Log ₂ relativne količine koja se koristi za statističku analizu
SD RQ(lg)	Standardno odstupanje relativne količine (log ₂)
SEM Expression(lg) (SEM ekspresija (lg))	Standardna pogreška srednje vrijednosti ekspresije (log ₂)
Unscaled Expression (Neskalirana ekspresija)	Izračunata neskalirana ekspresija
Unscaled Expression SD (Neskalirana ekspresija SD)	Izračunato standardno odstupanje neskalirane ekspresije
Corrected Unscaled Expression SD (Ispravljeni SD bez ekspresije)	Izračunato standardno odstupanje ispravljene neskalirane ekspresije

Tablica 34. Informacije u proračunskoj tablici trakastog grafikona s odabranom opcijom Show Details (Prikaz detalja), nastavak

Informacija	Opis
Unscaled Expression SEM (Neskalirana SEM ekspresija)	Izračunata standardna pogreška srednje vrijednosti neskalirane ekspresije
Corrected Unscaled Expression SEM (Ispravljena neskalirana SEM ekspresija)	Izračunata standardna pogreška srednje vrijednosti ispravljene neskalirane ekspresije
Unscaled Expression(lg) (Neskalirana ekspresija (lg))	Log ₂ neskalirane ekspresije
SD Unscaled Expression(lg) (SD neskalirana ekspresija (lg))	Standardno odstupanje neskalirana ekspresija (log ₂)
SEM Unscaled Expression(lg) (SEM neskalirana ekspresija (lg))	Standardna pogreška srednje vrijednosti neskalirane ekspresije (log ₂)
Ekspresija	Normalizirana genska ekspresija
Corrected Expression SD (Ispravljena SD ekspresija)	Izračunato standardno odstupanje ispravljene ekspresije
Expression SEM (Ekspresija SEM)	Standardna pogreška srednje vrijednosti ekspresije
Corrected Expression SEM (Ispravljena SEM ekspresija)	Izračunata standardna pogreška srednje vrijednosti ispravljene ekspresije
Expression(lg) (Ekspresija (lg))	Log ₂ ekspresije (normalizirana ekspresija) koji se koristi za statističku analizu
SD Expression(lg) (SD ekspresije (lg))	Standardno odstupanje ekspresije (log ₂)
SEM Expression(lg) (SEM ekspresija (lg))	Standardna pogreška srednje vrijednosti ekspresije (log ₂)
Mean C _q (Srednji C _q)	Srednja vrijednost ciklusa kvantifikacije
C _q SD	Standardno odstupanje ciklusa kvantifikacije
C _q SEM	Standardna pogreška srednje vrijednosti ciklusa kvantifikacije

Clustergram (Dijagram klastera)

Dijagram klastera prikazuje podatke u hijerarhiji na temelju stupnja sličnosti ekspresija za različite ciljeve i uzorke.

Napomena: Morate odabrati referentni cilj da biste prikazali bilo koju grafiku podataka, osim relativne ekspresije za trakaste grafikone.

Slika dijagrama klastera prikazuje relativnu ekspresiju uzorka ili cilja na sljedeći način:

- Upregulation (red) (Poboljšanje (crvena)) – viša ekspresija
- Downregulation (green or blue) (Smanjenje (zelena ili plava)) – niža ekspresija
- No regulation (black) (Nema promjene (crno))
- No value calculated (black with a white X) (Nije izračunata vrijednost (crno s bijelim X))

Što je svjetlija sjena boje, to je veća relativna razlika u izražavanju. Ako se ne može izračunati normalizirana vrijednost C_q , kvadrat će biti crn s bijelim X.

Na vanjskim rubovima grafikona podataka nalazi se dendrogram koji označava hijerarhiju klasteriranja. Ciljevi ili uzorci koji imaju slične uzorke ekspresije imat će susjedne grane, dok će oni s različitim uzorcima biti udaljeniji.

Settings (Postavke)

Možete postaviti sljedeće opcije:

- Cluster By (Izradi klaster prema) – odaberite između Targets (Ciljevi), Samples (Uzorci), Both (Oboje) ili None (Nijedno).
- Size (Veličina) – prilagođava veličinu slike i mijenja stupanj povećanja grafikona .
- Split Out Replicates (Podijeli replike) – prikazuje vrijednosti za pojedinačne replike.

Savjet: Možete promijeniti shemu boja za sa zadanog Red/Green (Crvena/Zelena) u Red/Blue (Crvena/Plava) odabirom ove opcije iz izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša na od ovih grafikona.

Opcije izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša

Opcije izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša za dijagram klastera iste su kao i one za trakasti grafikon. Pogledajte [Tablica 32 na stranici 271](#) za dostupne opcije. Uz to, odaberite Color Scheme (Shema boja) da biste na grafikonu promijenili smanjenje ekspresije iz zadanog Red/Green (Crvena/Zelena) u Red/Blue (Crvena/Plava).

Proračunska tablica podataka

Proračunska tablica prikazuje vrijednosti za cilj, uzorak i normaliziranu ekspresiju.

Scatter Plot (Raspršeni dijagram)

Raspršeni dijagram prikazuje normaliziranu ekspresiju ciljeva za kontrolu u odnosu na ogledni uzorak. Linije u dijagramu označavaju prag promjene omjera. Točke podataka između linija ukazuju da je razlika u ekspresiji za taj cilj (gen) zanemariva između uzoraka. Podatkovne točke izvan linija premašuju prag promjene omjera i mogu biti zanimljive.

Slika dijagrama prikazuje sljedeće promjene u ekspresiji cilja na temelju praga promjene omjera:

- Pобољшanje (crveni krug) – relativno viša ekspresija
- Smanjenje (zeleni ili plavi krug) – relativno niža ekspresija
- Bez promjene (crni krug)

Kliknite i povucite bilo koju liniju praga da biste prilagodili vrijednost praga promjene omjera.

Settings (Postavke)

Možete postaviti sljedeće opcije:

- Control Sample (Kontrolni uzorak)
- Experimental Sample (Eksperimentalni uzorak)
- Fold Change Threshold (Prag promjene omjera). Kako povećavate ili smanjujete vrijednost promjene omjera, linije praga na crtežu pomiču se u skladu s tim.

Opcije izbornika kojemu se pristupa desnim klikom miša

Opcije izbornika koji se otvara desnim klikom miša za grafikon raspršenja jednake su onima za trakasti grafikon. Pogledajte [Tablica 32 na stranici 271](#) za dostupne opcije. Osim toga, odaberite opciju Symbol (Simbol) da biste promijenili simbol koji se koristi na crtežu iz zadanog kruga u jedan od sljedećih:

- Trokut
- Križ
- Kvadrat
- Dijamant

Proračunska tablica podataka

Proračunska tablica prikazuje vrijednosti ciljne i normalizirane ekspresije za kontrolne i eksperimentalne uzorke. Također ukazuje jesu li ciljevi povećani ili smanjeni u usporedbi s propisima o ciljevima.

Proračunska tablica Results (Rezultati)

Proračunska tablica Results (Rezultati) sažima podatke sa svih grafikona. [Tablica 35](#) definira podatke prikazane u proračunskoj tablici Results (Rezultati).

Tablica 35. Informacije na kartici Results (Rezultati)

Informacija	Opis
Target (Cilj)	Naziv cilja (pojačani gen)
Sample (Uzorak)	Sample Name (Naziv uzorka)
Mean C _q (Srednji C _q)	Prosjek ciklusa kvantifikacije
Mean Efficiency Corrected C _q (Ispravljena srednja učinkovitost C _q)	Srednja vrijednost ciklusa kvantifikacije nakon prilagođavanja učinkovitosti reakcije
Normalizirana ekspresija	Ekspresija cilja normalizirana na referentni cilj ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Relativna normalizirana ekspresija)	Normalizirana ekspresija u odnosu na kontrolni uzorak; naziva se i promjena ekspresije gena
Regulation (Regulacija)	Promjena u ekspresiji u odnosu na kontrolni uzorak
Compared to Regulation Threshold (U usporedbi s pragom regulacije)	Povećanje ili smanjenje eksperimentalnog uzorka na temelju postavljenog praga

Napomena: Podaci za replike nalaze se samo u proračunskim tablicama kartica za analizu podataka u kojima je odabrano Split Out Replicates (Podijeli replike) (odnosno Clustergram (Dijagram klastera)). Možda u podacima o proračunu za analizu genske ekspresije postoji razlika između podataka o ekspresiji ako na trakastom grafikonu kao kontrolni uzorak odaberete „none”(„ništa”).

Gene Study (Genetička studija)

Izradite genetičku studiju za usporedbu podataka genske ekspresije iz jednog ili više PCR eksperimenata u stvarnom vremenu s pomoću kalibratora između izvođenja za normalizaciju između pokusa. Izradite genetičku studiju dodavanjem podataka iz jedne ili više podatkovnih datoteka (nastavak .pcrd) u genetičkoj studiji. Softver ih grupira u jednu datoteku (nastavak .mgxd).

Napomena: Maksimalni broj uzoraka koje možete analizirati u genetičkoj studiji ograničen je veličinom RAM-a i virtualne memorije računala.

Kalibracija između izvođenja

Kalibracija između izvođenja pokušava se automatski u svakoj genetičkoj studiji za svaki cilj kako bi se normalizirale varijacije između izvođenja među ciljevima ispitivanja u odvojenim PCR izvođenjima u stvarnom vremenu (to jest, različite .pcrd datoteke generirane s različitih pločica).

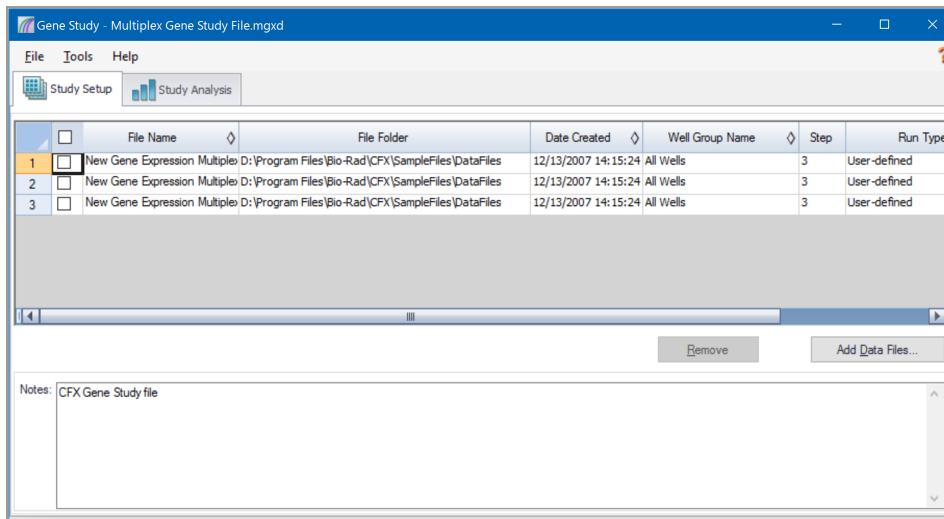
Da bi softver prepoznao uzorak kao kalibrator između izvođenja, mora dijeliti isti naziv cilja, naziv uzorka i, ako se upotrebljava, naziv biološke skupine na svakoj pločici koja se uspoređuje.

Napomena: Da bi došlo do kalibracije između izvođenja, u genetičkoj studiji mora biti prisutan najmanje jedan uzorak kalibratora između izvođenja. Ciljevi bez odgovarajućih uzoraka kalibratora između izvođenja obrađivat će se bez korekcije u genetičkoj studiji (ne preporučuje se).

Kalibratori između izvođenja mogu se primijeniti na dva načina:

- Po cilju – različite PCR početnice mogu imati različitu učinkovitost. Prema zadanim postavkama kalibrator između izvođenja primjenjuje se na sve jažice na istoj pločici koje imaju isti naziv cilja, na primjer C_q generiran istim ispitivanjem.
- Cijela studija – korisnik odabire jedan kalibrator između izvođenja koji se primjenjuje na cijelu genetičku studiju.

Dijaloški okvir Gene Study (Genetička studija)



Dijaloški okvir Gene Study (Genetička studija) uključuje dvije kartice:

- Kartica Study Setup (Postavljanje studije) – upravlja izvođenjem u genetičkoj studiji.
 - **Važno:** Dodavanje ili uklanjanje podatkovne datoteke u genetičkoj studiji ne mijenja podatke u izvornoj datoteci.
- Kartica Study Analysis (Analiza studije) – prikazuje podatke genske ekspresije za kombinirana izvođenja.

Kartica Study Setup (Postavljanje studije)

Tablica 36 definira podatke koji se pojavljuju na kartici Study Setup (Postavljanje studije).

Tablica 36. Kartica Study Setup (Postavljanje studije) u dijaloškom okviru Gene Study (Genetička studija)

Naslov stupca	Opis
File Name (Naziv datoteke)	Naziv podatkovne datoteke za izvođenje (.pcrd nastavak)
File Folder (Mapa datoteke)	Direktorij koji pohranjuje podatkovnu datoteku za svako izvođenje u genetičkoj studiji
Date Created (Datum kreiranja)	Datum prikupljanja podataka o izvođenju

Tablica 36. Kartica Study Setup (Postavljanje studije) u dijaloškom okviru Gene Study (Genetička studija), nastavak

Naslov stupca	Opis
Well Group Name (Naziv skupine jažica)	Naziv skupine jažica koja je odabrana kada je datoteka dodana u genetičku studiju Savjet: Da biste analizirali jednu skupinu jažica u genetičkoj studiji, morate odabrati tu skupinu jažica u prozoru Data Analysis (Analiza podataka) prije uvoza podatkovne datoteke u genetičku studiju.
Step (Korak)	Korak protokola koji uključuje očitavanje s pločice za prikupljanje PCR podataka u stvarnom vremenu
Run Type (Vrsta izvođenja)	Korisnički definirano ili PrimePCR izvođenje
Protocol Edited (Protokol uređen)	Ako je odabrano, znači da je uređen protokol koji se upotrebljava za izvođenje PrimePCR-a
View Plate (Pregled pločice)	Otvora mapu pločice s podacima u svakom od ciklusa obuhvaćenih u opciji Gene Study (Genetička studija)

Priprema genetičke studije

Za pripremu genetičke studije

- Prije uvoza podataka u genetičku studiju, učinite sljedeće u prozoru Data Analysis (Analiza podataka):
 - Provjerite imaju li uzorci istog sadržaja isti naziv. U genetičkoj studiji softver pretpostavlja da jažice s istim nazivom za Target (Cilj) ili Sample (Uzorak) sadržavaju iste uzorke.
 - Prilagodite osnovnu vrijednost i prag (C_q) na kartici Quantification (Kvantifikacija) kako biste optimizirali podatke u svakom izvođenju.
 - Odaberite skupinu jažica koju želite uključiti u genetičku studiju.
Da bi se u genetičkoj studiji prikazali podaci iz jedne skupine jažica, ta skupina mora biti izabrana prije uvoza podatkovne datoteke.

Kartica Study Setup (Postavljanje studije) prikazuje popis svih izvođenja u genetičkoj studiji.

- U dijaloškom okviru Gene Study (Genetička studija) odaberite karticu Study Setup (Postavljanje studije).
- Kliknite Add Data Files (Dodaj podatkovne datoteke) da biste odabrali datoteku iz prozora preglednika.

Savjet: Da biste brzo dodali izvođenja u genetičku studiju, povucite podatkovne datoteke (nastavak .pcrd) u dijaloški okvir Study Setup (Postavljanje studije).

4. CFX Maestro Dx SE automatski vrši analizu genetičke studije dok dodajete podatkovne datoteke. Odaberite karticu Study Analysis (Analiza studije) za prikaz rezultata.

Uklanjanje izvođenja iz genetičke studije

- ▶ Odaberite jednu ili više datoteka s popisa i kliknite Ukloni.

Da biste dodali bilješke o genetičkoj studiji

- ▶ Unesite bilješke o datotekama i analizama u okvir za tekst Notes (Bilješke).

Kartica Study Analysis (Analiza studije)

Kartica Study Analysis (Analiza studije) prikazuje podatke iz svih izvođenja genetičke studije. Opcije analize podataka genske ekspresije jednake su onima za jednu podatkovnu datoteku sa sljedećim iznimkama:

- Za trakaste dijagrame, vrijednosti kalibracije između izvođenja (ako se izračunavaju) pojavit će se kada kliknete Inter-run Calibration (Kalibracija između izvođenja).

Napomena: Za kalibrator između izvođenja mogu se upotrijebiti samo sljedeće vrste uzoraka:

- Unknown (Nepoznato)
- Standard
- Positive Control (Pozitivna kontrola)

Vrste uzoraka negativne kontrole, bez kontrole predloška (NTC) i bez kontrole reverzne transkriptaze (NRT) ne mogu se upotrijebiti kao kalibratori između izvođenja.

- Alat Reference Gene Selection (Alat za odabir referentnih gena) identificira testirane referentne gene i kategorizira ih kao Ideal (Idealno), Acceptable (Prihvatljivo) ili Unstable (Nestabilno) na temelju njihove stabilnosti:
 - Idealni referentni geni su stabilni i predstavljaju minimalne varijacije u testiranim uzorcima.
 - Prihvatljivi referentni geni nisu idealno stabilni i predstavljaju umjerene razlike u testiranim uzorcima. Upotrijebite ove referentne gene u analizi ako nisu prisutni Idealni referentni geni.
 - Nestabilni referentni geni predstavljaju pretjerane varijacije u testiranim uzorcima. Preporučuje se da se ti geni izuzmu iz analiza.
- Alat PrimePCR Analysis Controls (Analiza PrimePCR kontrole) prikazuje rezultate testiranih uzoraka u tablici:

- Kartica Summary (Sažetak) prikazuje sažetak svih testiranih uzoraka. Uzorci koji su prošli sva kontrolna ispitivanja pojavljuju se u zelenoj boji. Uzorci koji nisu uspjeli na jednom ili više kontrolnih ispitivanja pojavljuju se u žutoj boji.
- Kartica PCR prikazuje rezultate pozitivnog ispitivanja PCR kontrole. Ovim se ispitivanjem otkrivaju problemi s inhibicijom ili eksperimentalni problemi koji utječu na gensku ekspresiju.
- Kartica RT prikazuje rezultate ispitivanja kontrole reverzne transkripcije. Ovim ispitivanjem kvalitativno se ocjenjuju performanse RT-a i identificiraju uzorci kod kojih će izvedba RT-a vjerojatno ugroziti gensku ekspresiju.
- Kartica gDNA (gDNK) prikazuje rezultate ispitivanja kontrole kontaminacije DNK. Ovim se ispitivanjem utvrđuje je li genomska DNK (gDNK) prisutna u uzorku na razini koja bi mogla utjecati na rezultate qPCR.
- Kartica RQ prikazuje rezultate ispitivanja kvalitete RNK (RQ1 i RQ2). Ova ispitivanja kvalitativno procjenjuju može li integritet RNK negativno utjecati na gensku ekspresiju.

Kategorije za Gene Study Report (Izvešće o genetičkoj studiji)

S pomoću dijaloškog okvira Gene Study Report (Izvešće o genetičkoj studiji) rasporedite podatke o genetičkoj studiji u izvješće. [Tablica 37](#) navodi sve opcije dostupne za izvješće o genetičkoj studiji.

Tablica 37. Kategorije za izvješće Gene Study (Genetička studija)

Kategorija	Opcija	Opis
Header (Zaglavlje)		
		Naslov, podnaslov i logotip izvješća
	Report Information (Informacije o izvješću)	Datum, korisničko ime, naziv podatkovne datoteke, put do podatkovne datoteke i odabrana skupina jažica
	Gene Study File List (Popis datoteka genetičke studije)	Popis svih podatkovnih datoteka u Gene Study (Genetička studija)
	Notes (Napomene)	Bilješke o podatkovnom izvješću
Analiza studije: Trakasti grafikon		
	Analysis Settings (Postavke analize)	Popis odabranih parametara analize
	Chart (Grafikon)	Trakasti grafikon Gene Expression (Genska ekspresija) koji prikazuje podatke

Tablica 37. Kategorije za izvješće Gene Study (Genetička studija), nastavak

Kategorija	Opcija	Opis
	Target Names (Nazivi ciljeva)	Popis ciljeva u Genetičkoj studiji
	Sample Names (Nazivi uzoraka)	Popis uzoraka u Genetičkoj studiji
	Data (Podaci)	Proračunska tablica koja prikazuje podatke
	Target Stability (Stabilnost cilja)	Podaci o stabilnosti cilja
	Inter-run Calibration (Kalibracija između izvođenja)	Podaci o kalibraciji između izvođenja
	Box-and-Whisker Chart (Grafikon s okvirima i poveznicama)	Grafikon s okvirima i poveznicama Gene Expression (Genska ekspresija)
	Dot-Plot Chart (Točkasti grafikon)	Točkasti grafikon Gene Expression (Genska ekspresija)
Analiza studije: dijagram klastera i raspršeni dijagram		
	Analysis Settings (Postavke analize)	Postavke za svaku vrstu grafikona
	Chart (Grafikon)	Grafikon Gene Expression (Genska ekspresija) koji prikazuje podatke
	Data (Podaci)	Proračunska tablica s popisom podataka u svakom cilju
Analiza studije: ANOVA Data (Podaci ANOVA)		
	ANOVA Settings (Postavke ANOVA)	Prag P-vrijednosti korišten u analizi
	ANOVA Results (Rezultati ANOVA)	Tablica rezultata analize ANOVA i Tukeyjeve HSD post-hoc analize

Tablica 37. Kategorije za izvješće Gene Study (Genetička studija), nastavak

Kategorija	Opcija	Opis
	Shapiro-Wilk Normality Test (Shapiro-Wilkov test normalnosti)	Biološka skupina, broj, P-vrijednost i sve pogreške koje se javljaju za svaki cilj u analizi
	ANOVA Errors (Pogreške ANOVA)	Pogreške utvrđene tijekom izračuna ANOVA

Izrada izvješća o genetičkoj studiji

Izrada izvješća o genetičkoj studiji

1. Prije izrade izvješća prilagodite podatke i grafikone izvješća o genetičkoj studiji po potrebi.
2. Odaberite Tools (Alati) > Reports (Izvješća) u izborniku Gene Study (Genetička studija) da biste otvorili dijaloški okvir Report (Izvješće).
3. Odaberite opcije koje želite uključiti u izvješće. Izvješće se otvara s odabranim zadanim opcijama. Označite ili odznačite potvrdne okvire da biste promijenili cijele kategorije ili pojedinačne opcije unutar kategorije.

[Kategorije za Gene Study Report \(Izvješće o genetičkoj studiji\) na stranici 285](#) navode dostupne opcije za prikaz.

4. Promijenite redoslijed kategorija i stavki u izvješću. Povucite opcije na željeni položaj. Stavkama se može mijenjati redoslijed samo unutar kategorija kojima pripadaju.
5. Kliknite Update Report (Ažuriraj izvješće) da biste ažurirali pregled izvješća s promjenama.
6. Ispišite ili spremite izvješće. Na alatnoj traci kliknite gumb Print Report (Ispiši izvješće) da biste ispisali trenutno izvješće. Odaberite File (Datoteka) > Save (Spremi) da biste izvješće spremili u PDF (datoteka Adobe Acrobat Reader) i odaberite lokaciju na koju ćete spremiti datoteku. Odaberite File (Datoteka) > Save As (Spremi kao) da biste izvješće spremili pod novim nazivom ili na novu lokaciju.
7. (Opcionalno) Izradite predložak izvješća s informacijama koje želite. Da biste trenutne postavke izvješća spremili u predložak, odaberite Template (Predložak) > Save (Spremi) ili Save As (Spremi kao). Zatim učitajte predložak izvješća sljedeći puta kada želite izraditi novo izvješće.

Dodatak A Proračuni analize podataka

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition automatski izračunava formule i prikazuje rezultate na karticama Data Analysis (Analiza podataka). Ovaj dodatak detaljno objašnjava kako CFX Maestro Dx SE izračunava formule.

Učinkovitost reakcije

Dokazi sugeriraju da će vam korištenje točne mjere učinkovitosti za svaki set početnice i sonde dati točnije rezultate pri analizi podataka o genskoj ekspresiji. Zadana vrijednost učinkovitosti koja se koristi u izračunima genske ekspresije je 100 %. Da bi se procijenila učinkovitost reakcije, generirajte standardnu krivulju s pomoću serijskih razrjeđenja reprezentativnog uzorka u relevantnom dinamičkom rasponu, a zatim zabilježite učinkovitost za naknadnu analizu genske ekspresije. Ako vaše izvođenje uključuje standardnu krivulju, tada softver automatski izračunava učinkovitost i prikazuje je ispod standardne krivulje na kartici Quantification (Kvantifikacija) kada je automatska učinkovitost označena na kartici Targets (Ciljevi) u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta).

Učinkovitost (E) u formulama učinkovitosti odnosi se na „učinkovitost“ kako su je opisali Pfaffl (2001) i Vandesompele et al. (2002). U ovim je publikacijama učinkovitost od 2 (savršeno udvostručavanje sa svakim ciklusom) jednaka 100 % učinkovitosti ovog softvera. Imate mogućnost pretvoriti izračune učinkovitosti u one koji se koriste u softveru s pomoću sljedećih matematičkih odnosa:

- $E = (\% \text{ učinkovitost} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ učinkovitost} = (E - 1) * 100$

Relativna količina

Formula za relativnu količinu (ΔC_q) za bilo koji uzorak (GOI) je:

$$\text{Relativna količina}_{\text{uzorak (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_q(\text{min.}) - C_q(\text{uzorak}))}$$

Napomena: Ova se formula koristi za izračunavanje relativne količine kada nije definiran kontrolni uzorak .

Gdje je:

- E = Učinkovitost seta početnice i sonde. Ova se učinkovitost izračunava s pomoću formule $(\% \text{ učinkovitost} * 0,01) + 1$, gdje je 100 % učinkovitost = 2
- $C_{q(\text{min.})}$ = Prosječni C_q za uzorak s najnižim prosječnim C_q za GOI
- $C_q(\text{uzorak})$ = Prosječni C_q za uzorak
- GOI = Gen od interesa (jedan cilj)

Relativna količina kada se odabere kontrola

Kada se dodijeli kontrolni uzorak ili biološka skupina, tada se relativna količina (RQ) za bilo koji uzorak s genom od interesa (GOI) izračunava ovom formulom:

$$\text{Relativna količina}_{\text{uzorak (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left(C_{q(\text{kontrola})} - C_{q(\text{uzorak})} \right)$$

Gdje je:

- E = Učinkovitost seta početnice i sonde. Ova se učinkovitost izračunava s pomoću formule $(\% \text{ učinkovitost} * 0,01) + 1$, gdje je 100 % učinkovitost = 2
- $C_{q(\text{kontrola})}$ = Prosječni C_q za kontrolni uzorak
- $C_{q(\text{uzorak})}$ = Prosječni C_q za bilo koji uzorak s GOI
- GOI = Gen od interesa (jedan cilj)

Standardno odstupanje relativne količine

Važno: Ovaj izračun primjenjiv je samo ako je Analize Using (Analiza s pomoću) postavljena na Samples Only (Samo uzorci), Sample Biological Group (Uzimanje uzorka biološke skupine) ili Biological Group Sample (Uzorak biološke skupine).

Formula za standardno odstupanje relativne količine je

$$\text{SD Relativna količina} = \text{SD } C_{q\text{GOI}} \times \text{Relativna količina}_{\text{uzorak (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Gdje je:

- SD relativne količine = standardno odstupanje relativne količine
- $\text{SD } C_{q\text{GOI}} \text{ uzorak}$ = Standardno odstupanje C_q za uzorak (GOI)
- Relativna količina = Relativna količina uzorka
- E = Učinkovitost seta početnice i sonde. Ova se učinkovitost izračunava s pomoću formule $(\% \text{ učinkovitost} * 0,01) + 1$, gdje je 100 % učinkovitost = 2

- GOI = Gen od interesa (jedan cilj)

Ispravljena učinkovitost C_q (C_{qE})

Formula za ispravljenu učinkovitost C_q je

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Gdje je:

- E = Učinkovitost

Ispravljena srednja učinkovitost C_q (MC_{qE})

Formula za ispravljenu srednju učinkovitost C_q je

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE} \text{ (rep. 1)} + C_{qE} \text{ (rep. 2)} + \dots + C_{qE} \text{ (rep. n)}}{n}$$

Gdje je:

- C_{qE} = Ispravljena učinkovitost C_q
- n = Broj replika

Normalizirana ekspresija

Normalizirana ekspresija ($\Delta\Delta C_q$) relativna je količina vašeg cilja (gena) normalizirana na količine referentnih ciljeva (geni ili sekvence) u vašem biološkom sustavu. Da biste odabrali referentne ciljeve, otvorite prozor Postavke eksperimenta i kliknite referentni stupac za svaki cilj koji služi kao referentni gen.

Formula za normaliziranu ekspresiju, koja upotrebljava izračunati izračun relativne količine (RQ), je

$$\text{normalizirana Ekspresija}_{\text{uzorak (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{uzorak (GOI)}}}{(RQ_{\text{uzorak (ref. 1)}} \times RQ_{\text{uzorak (ref. 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{uzorak (ref. n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Gdje je:

- RQ = Relativna količina uzorka
- Ref = Referentni cilj u izvođenju koji uključuje jedan ili više referentnih ciljeva u svakom uzorku
- GOI = Gen od interesa (jedan cilj)

Pod uvjetom da referentni ciljevi ne mijenjaju razinu ekspresije u vašem biološkom sustavu, izračun normalizirane ekspresije uzet će u obzir razlike u učitavanju ili razlike u broju stanica koje su zastupljene u svakom od vaših uzoraka.

Ekspresija i relativna količina za biološke skupine

Kad je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljena na Biological Groups Only (Samo biološke skupine), softver prikazuje prosječnu ekspresiju (normalizirana ekspresija ili relativna količina, ovisno o odabiru načina) uzoraka unutar biološke skupine. Budući da je izraz obično normalno logaritamski raspoređeno, prosjek ekspresije izražava se s pomoću geometrijske sredine:

$$\text{Expression biological group} = \sqrt[n]{\text{Exp}_1 \cdot \text{Exp}_2 \cdot \dots \cdot \text{Exp}_n}$$

Gdje je:

- $\text{Exp}_1, \text{Exp}_2, \text{Exp}_n$ = Relativna količina ili normalizirana ekspresija uzoraka u biološkoj skupini
- n = Broj uzoraka u biološkoj skupini

Normalizirana ekspresija kad je odabrana kontrola

Kada odaberete kontrolni uzorak u prozoru Experiment Settings (Postavke eksperimenta), softver postavlja razinu ekspresije kontrolnog uzorka na 1. U ovoj situaciji softver normalizira relativne količine svih ekspresija cilja (gena) na kontrolnu količinu (vrijednost 1). Ova normalizirana ekspresija ekvivalentna je analiza neskalirane normalizirane ekspresije kada se odabere kontrola.

Napomena: To je također poznato kao relativna normalizirana ekspresija (RNE) i promjena ekspresije gena.

Standardno odstupanje za normaliziranu ekspresiju

Ponovno skaliranje vrijednosti normalizirane ekspresije postiže se dijeljenjem standardnog odstupanja normalizirane ekspresije s normaliziranom vrijednošću ekspresije za najvišu ili najnižu pojedinačnu razinu ekspresije, ovisno o odabranoj opciji skaliranja. Formula za standardno odstupanje (SD) faktora normalizacije je

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{uzorak\ (ref.\ 1)}}{n \times RQ_{uzorak\ (ref.\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{uzorak\ (ref.\ 2)}}{n \times RQ_{uzorak\ (ref.\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{uzorak\ (ref.\ n)}}{n \times RQ_{uzorak\ (ref.\ n)}}\right)^2}$$

Gdje je:

- RQ = Relativna količina uzorka
- SD = Standardno odstupanje
- NF = Faktor normalizacije
- Ref = Referentni cilj
- n = Broj referentnih ciljeva

Kada je dodijeljen kontrolni uzorak, ne trebate izvoditi ovu funkciju skaliranja na standardnom odstupanju, kao što je prikazano u sljedećoj formuli:

$$SD\ NE_{uzorak\ (GOI)} = NE_{uzorak\ (GOI)} \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{uzorak}}{NF_{uzorak}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{uzorak\ (GOI)}}{RQ_{uzorak\ (GOI)}}\right)^2}$$

Gdje je:

- NE = Normalizirana ekspresija
- RQ = Relativna količina uzorka
- SD = Standardno odstupanje
- GOI = Gen od interesa (jedan cilj)

Normalizirana ekspresija skalirana na najvišu razinu ekspresije

Kada izvođenje ne uključuje kontrole, skalirajte normaliziranu ekspresiju (NE) za svaki cilj (gen) dijeljenjem razine ekspresije svakog uzorka s najvišom razinom ekspresije u svim uzorcima. Softver postavlja najvišu razinu ekspresije na vrijednost 1 i ponovno skalira sve razine uzorka ekspresije. Formula za najveće skaliranje je

$$\text{Skalirana normalizirana Ekspresija}_{\text{uzorak (GOI)}} = \frac{\text{normalizirana Ekspresija}_{\text{uzorak (GOI)}}}{\text{normalizirana ekspresija}_{\text{najviši uzorak (GOI)}}}$$

Gdje je:

- GOI = Gen od interesa (cilj)

Normalizirana ekspresija skalirana na najnižu razinu ekspresije

Kada izvođenje ne uključuje kontrole, skalirajte normaliziranu ekspresiju (NE) za svaki cilj (gen) dijeljenjem razine ekspresije svakog uzorka s najnižom razinom ekspresije u svim uzorcima. Softver postavlja najnižu razinu ekspresije na vrijednost 1 i ponovno skalira sve razine uzorka ekspresije. Formula za najniže skaliranje je

$$\text{Skalirana normalizirana Ekspresija}_{\text{uzorak (GOI)}} = \frac{\text{normalizirana Ekspresija}_{\text{uzorak (GOI)}}}{\text{normalizirana ekspresija}_{\text{najniži uzorak (GOI)}}}$$

Gdje je:

- GOI = Gen od interesa (cilj)

Normalizirana ekspresija skalirana na prosječnu razinu ekspresije

Kada izvođenje ne uključuje kontrole, skalirajte normaliziranu ekspresiju (NE) za svaki cilj (gen) dijeljenjem razine ekspresije svakog uzorka s geometrijskom srednjom razinom ekspresije svih uzoraka. Softver postavlja prosječnu razinu ekspresije na vrijednost od 1 i skalira sve razine uzorka ekspresije. Formula za prosječno skaliranje je

$$\text{Skalirana normalizirana Ekspresija}_{\text{uzorak (GOI)}} = \frac{\text{normalizirana Ekspresija}_{\text{uzorak (GOI)}}}{\text{normalizirana Ekspresija}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Gdje je:

- GOI = Gen od interesa (cilj)

- GM = Geometrijska sredina normalizirane ekspresije za sve uzorke

Standardno odstupanje za skaliranu normaliziranu ekspresiju

Premjeravanje vrijednosti skalirane normalizirane ekspresije (NE) postiže se dijeljenjem standardnog odstupanja (SD) normalizirane ekspresije s normaliziranom vrijednošću ekspresije za najvišu (MAX) ili najnižu (MIN) razinu ekspresije, ovisno o odabranoj opciji skaliranja.

Napomena: Kada je dodijeljen kontrolni uzorak, ne trebate izvoditi ovu funkciju skaliranja na standardnom odstupanju.

Izračun za ovu formulu je

$$SD \text{ Skalirana } NE_{\text{uzorak (GOI)}} = \frac{SD \text{ } NE_{\text{uzorak (GOI)}}}{NE_{\text{MAKS. ili MIN. (GOI)}}$$

Gdje je:

- NE = Normalizirana ekspresija
- SD = Standardno odstupanje
- GOI = Gen od interesa (cilj)
- MAKS. = Najviša razina ekspresije
- MIN. = Najniža razina ekspresije

Error Bars (Trake pogrešaka) za Standard Deviation(Ig) (Standardno odstupanje (Ig)) i Standard Error of the Mean (Ig) (Standardna pogreška srednje vrijednosti (Ig))

Uz upotrebu intervala pouzdanosti, trake pogrešaka mogu se prikazati za biološke skupine na temelju standardnog odstupanja ili standardne pogreške srednje vrijednosti \log_2 izraza. Trake pogrešaka izračunavaju se na sljedeći način:

$$\text{RQ donje trake pogreške} = 2^{\text{RQ(Ig)} - \text{SD RQ(Ig)}} \text{ ili } 2^{\text{RQ(Ig)} - \text{SEM RQ(Ig)}}$$

$$\text{RQ gornje trake pogreške} = 2^{\text{RQ(Ig)} + \text{SD RQ(Ig)}} \text{ ili } 2^{\text{RQ(Ig)} + \text{SEM RQ(Ig)}}$$

Gdje je:

- RQ(Ig) = \log_2 relativne količine za biološku skupinu
- SD RQ(Ig) = standardno odstupanje relativne količine (\log_2)
- SEM RQ(Ig) = standardna pogreška srednje vrijednosti relativne količine (\log_2)

$$\text{Eksp. donje trake pogreške} = 2^{\text{Eksp.(Ig)} - \text{SD Eksp.(Ig)}} \text{ ili } 2^{\text{Eksp.(Ig)} - \text{SEM Eksp.(Ig)}}$$

$$\text{Eksp. gornje trake pogreške} = 2^{\text{Eksp.(Ig)} + \text{SD Eksp.(Ig)}} \text{ ili } 2^{\text{Eksp.(Ig)} + \text{SEM Eksp.(Ig)}}$$

Gdje je:

- Eksp.(Ig) = \log_2 ekspresije (normalizirana ekspresija) za biološku skupinu
- SD RQ(Ig) = standardno odstupanje ekspresije (\log_2)
- SEM RQ(Ig) = standardna pogreška srednje vrijednosti ekspresije (\log_2)

Promjena omjera

Promjena ekspresije gena mjera je povećanja ili smanjenja ekspresije cilja za eksperimentalni u odnosu na kontrolni uzorak ili biološku skupinu i određuje se na sljedeći način:

Ako je Ekspresija (eksperimentalno) > Ekspresija (kontrola):

$$\text{Promjena omjera} = \frac{\text{Ekspresija (eksperimentalno)}}{\text{Ekspresija (kontrola)}}$$

Ako je Ekspresija (eksperimentalno) < Ekspresija (kontrola):

$$\text{Promjena omjera} = -1 / \left(\frac{\text{Ekspresija (eksperimentalno)}}{\text{Ekspresija (kontrola)}} \right)$$

Napomena: Za izradu grafikona *ekspresija* se temelji ili na relativnoj količini ili na normaliziranoj ekspresiji, ovisno o odabranom načinu rada (pogledajte [Izrada grafikona na stranici 260](#)). Međutim, za raspršeni dijagram i dijagram klastera promjena ekspresije gena uvijek se izračunava iz normalizirane ekspresije.

Formule ispravljenih vrijednosti

Važno: Ovi su izračuni primjenjivi samo kada je Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljena na Samples Only (Samo uzorci), Sample Biological Group (Uzimanje uzorka biološke skupine) ili Biological Group Sample (Uzorak biološke skupine).

Razlika između ispravljenih vrijednosti i neispravljenih vrijednosti vidi se samo ako se izradi standardna krivulja kao dio izvođenja PCR-a u stvarnom vremenu. Softver koristi tri jednadžbe za utvrđivanje širenja pogreške:

- Standard Error (Standardna pogreška)
- Standard Error for Normalized Expression (Standardna pogreška za normaliziranu ekspresiju)
- Standard Error for the Normalized Gene of Interest (target) (Standardna pogreška za normalizirani gen od interesa (cilj))

Formula standardne pogreške je

$$\text{Standardna pogreška} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Gdje je:

- n = Broj referentnih ciljeva (gena)
- SD = Standardno odstupanje

Standardna pogreška za faktor normalizacije u formuli normalizirane ekspresije je

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{uzorak\ (ref.\ 1)}}{n \times SE\ RQ_{uzorak\ (ref.\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{uzorak\ (ref.\ 2)}}{n \times SE\ RQ_{uzorak\ (ref.\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{uzorak\ (ref.\ n)}}{n \times SE\ RQ_{uzorak\ (ref.\ n)}}\right)^2}$$

Gdje je:

- n = Broj referentnih ciljeva
- SE = Standardna pogreška
- NF = Faktor normalizacije
- RQ = Relativna količina

Standardna pogreška formule za normalizirani gen od interesa (GOI) je

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

Gdje je:

- SE = Standardna pogreška

- GOI = Gen od interesa (jedan cilj)
- NF = Faktor normalizacije
- n = Broj referentnih ciljeva

Izračun intervala pouzdanosti za biološku analizu skupine

Pri provođenju analize bioloških skupina (Analyze Using (Analiza s pomoću) postavljena je na Biological Groups Only (Samo biološke skupine)), intervali pouzdanosti izračunavaju se za relativnu količinu i relativnu normaliziranu ekspresiju.

Intervali pouzdanosti izračunavaju se u logaritamskoj ljestvici na temelju t-raspodjele s pomoću sljedeće formule:

$$CI = \bar{X} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Gdje je:

- \bar{X} = Srednja ekspresija ekspresije logaritamske ljestvice uzoraka u biološkoj skupini
- SD = standardno odstupanje razina ekspresije logaritamske ljestvice uzoraka u biološkoj skupini
- n = broj uzoraka u biološkoj skupini
- t = dobiveno iz t-raspodjele na temelju stupnjeva slobode i alfa razine

Napomena: Alfa razinu može se postaviti s pomoću polja praga vrijednosti P na kartici Graphing (Izrada grafikona).

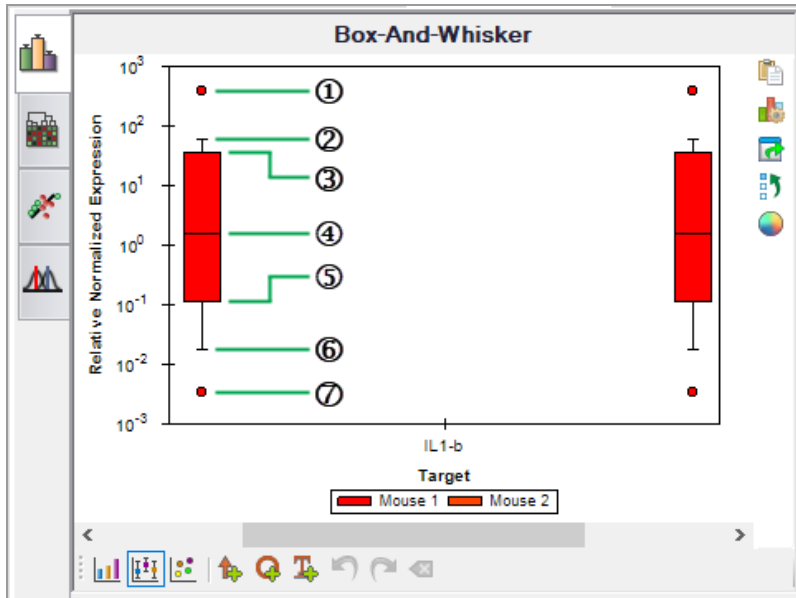
Nakon izračuna intervala pouzdanosti, oni se pretvaraju u linearnu skalu i prikazuju u Gene Expression Data Table (Tablica podataka genetske ekspresije) i trakastom grafikonu na kartici Graphing (Izrada Grafikona).

Izračuni grafikona s okvirima i poveznicama

Grafikon Box and Whisker (Grafikon s okvirima i poveznicama) prikazuje raspodjelu vrijednosti ekspresija unutar biološke skupine crtanjem podataka kao kvartila. ^{I.} i ^{III.} kvartil predstavljeni su donjom i gornjom granicom okvira. Medijan je prikazan kao puna crta preko okvira. Poveznice predstavljaju minimalne i maksimalne tipične vrijednosti u skupu podataka. Netipične vrijednosti su koje prelaze ^{I.} i ^{III.} kvartil za 1,5 raspona između kvartila.

Napomena: Ako je u biološkoj skupini samo jedan uzorak, prikazan je kao jedan krug, što označava jednu podatkovnu točku.

Sljedeći grafikon Box and Whisker (Grafikon s okvirima i poveznicama) pokazuje kako su ti podaci predstavljeni.



LEGENDA

1. Netipična vrijednost. Vrijednost ove netipične vrijednosti je $> Q3 + (1,5 \times [Q3 - Q1])$.
Napomena: Postavite pokazivač iznad kruga da biste vidjeli opis alata koji prikazuje naziv uzorka i relativnu količinu ili normalizirane informacije o ekspresiji, ovisno o odabranom načinu rada.
2. Maksimalno razgraničenje tipične vrijednosti
3. Gornji/III. kvartil (Q3). 75 % vrijednosti ekspresije manje je od Q3.
4. Medijan ili najviša srednja vrijednost vrijednosti po redoslijedu ekspresija
5. Niži/I. kvartil (Q1). 25 % vrijednosti ekspresije manje je od Q1.
6. Minimalno razgraničenje tipične vrijednosti
7. Netipična vrijednost. Vrijednost ove netipične vrijednosti je $< Q1 - (1,5 \times [Q3 - Q1])$.

Dodatak B Revizijski tragovi

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition stvara revizijske tragove za podatkovne datoteke i datoteke genetičke studije (.prcd odnosno .mgxd datoteke). Sve promjene ili radnje izvedene na zaštićenim podatkovnim datotekama i datotekama genetičke studije bilježe se u revizijski trag datoteke kad se datoteka spremi. CFX Maestro Dx SE stvara zasebni revizijski trag za svaku datoteku.

Možete odabrati File (Datoteka) > Save As (Spremi kao) i spremiti zaštićene potpisane ili nepotpisane podatkovne datoteke i datoteke genetičke studije u drugu mapu ili pod drugim nazivom. Nova datoteka nasljeđuje revizijski trag izvorne datoteke. Revizijski trag za novu datoteku također uključuje aktivnost Save As (Spremi kao). Promjene ili radnje izvršene na novoj datoteci bilježe se u njezin revizijski trag. Izvorna datoteka zadržava svoj revizijski trag u kojem se bilježe daljnje aktivnosti.

[Događaji podložni reviziji na stranici 305](#) navodi događaje koji se mogu revidirati koje bilježi softver.

Pregled revizijskih tragova

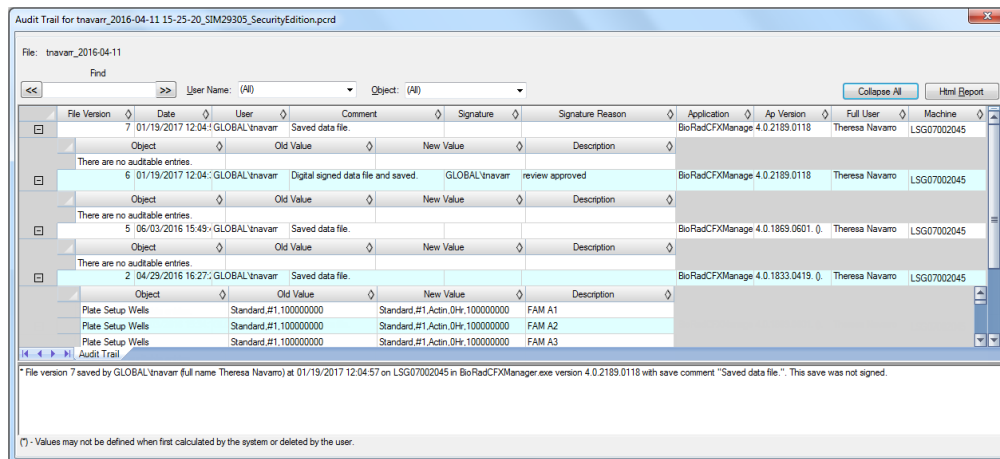
Svaki revizijski trag prikazuje sljedeće podatke:

- Pojediniosti zaglavlja revizije
 - File version (Inačica datoteke) – spremljena inačica datoteke
 - Date (Datum) – datum trenutnog događaja koji je podložan reviziji
 - User (Korisnik) – domena sustava Windows i korisničko ime prijavljenog korisnika
 - Comment (Komentar) – posljednji spremljeni komentar
 - Signature (Potpis) – elektronički potpis posljednje osobe koja je potpisala datoteku
 - Signature reason (Razlog za potpisivanje) – razlog za potpisivanje
 - Application (Aplikacija) – CFX Maestro Dx SE
 - Application version (Inačica aplikacije) – trenutna inačica za CFX Maestro Dx SE
 - Full user (Puno ime korisnika) – puno ime prijavljenog korisnika
 - Machine (Stroj) – računalo na kojem je instaliran CFX Maestro Dx SE
- Pojediniosti promjene revizije
 - Object (Objekt) – stavka koja je promijenjena (stavka revizije)

- Old value (Stara vrijednost) – prethodna vrijednost
- New value (Nova vrijednost) – nova vrijednost
- Description (Opis) – opis promjene

Pregled revizijskog traga

- ▶ U otvorenoj podatkovnoj datoteci ili datoteci genetičke studije odaberite View (Prikaz) > Audit Trail (Revizijski trag). Pojavljuje se trag revizije datoteke.



Podaci su prema zadanim postavkama poredani po datumu i vremenu, a svi se događaji pojavljuju u proširenom prikazu. Možete filtrirati prikaz prema korisničkom imenu i objektu i sažeti prošireni prikaz da biste ga lako sortirali po bilo kojem polju zaglavlja. Revizijski trag možete pogledati i kao html izvješće.

Sortiranje prema korisničkom imenu

- ▶ Odaberite ciljnog korisnika s padajućeg popisa User Name (Korisničko ime).

Razvrstavanje prema objektu

- ▶ Odaberite cilj s padajućeg popisa Object (Objekt).

Skrivanje čitavog opisa događaja

- ▶ Kliknite Collapse All (Sažmi sve).

Sortiranje podataka u tablici o pojedinostima promjene

- ▶ Kliknite simbol dijamanta u zaglavlju stupca podataka da biste proveli uzlazno sortiranje (od A do Ž, od najmanjeg do najvećeg broja ili od najstarijeg do najnovijeg).

Ispisivanje revizijskog traga

1. Kliknite HTML Report (HTML izvješće) da biste u web-pregledniku prikazali revizijski trag.
2. U prozoru preglednika učinite jedno od sljedećeg:
 - Odaberite File (Datoteka) > Print (Ispis).
 - Desnom tipkom miša kliknite izvješće i odaberite Print (Ispis).

Događaji podložni reviziji

CFX Maestro Dx SE bilježi sljedeće događaje podložne reviziji u podatkovnim datotekama i datotekama genetičke studije.

Događaji podložni reviziji tijekom izvođenja

- Run Start Time (Vrijeme početka izvođenja)
- Uređivanja Run Time Plate (Ploča vremena izvođenja)
- Uređivanja Run Time Protocol (Protokol vremena izvođenja)
- Run End Time (Vrijeme završetka izvođenja)

Događaji podložni reviziji kada se izradi podatkovna datoteka

- Izrađena podatkovna datoteka
- Interpolated Plate Reads (Očitavanja interpolirane ploče) koje je dodao sustav

Događaji koji se mogu revidirati kada se spremi podatkovna datoteka

- General (Općenito)
 - Naziv
 - Signing (Potpisivanje)
 - Plate Setup (Postavljanje pločice)
 - Display Wells (Prikaz jažica)
 - Analizirani fluorofori
 - Uređivanja pločice
 - Analysis mode (Način analize)
 - PCR aktivna skupina jažica

- Kartica Quantification (Kvantifikacija)
 - Aktivni korak
 - Settings (Postavke) – način C_q Determination (Određivanje C_q)
 - Settings (Postavke) – Baseline Setting (Postavljanje osnovne vrijednosti)
 - Primijenjena korekcija pomaka
 - Settings (Postavke) – Cycles to Analyze (Ciklusi za analizu)
 - Settings (Postavke) – Analysis Mode (Način analize)
 - Settings (Postavke) – Baseline Threshold (Osnovni prag)
- Kartica Melt Curve (Krivulja taljenja)
 - Aktivni korak
 - Prikazana vrsta vršne vrijednosti
 - Vršni prag analize
- Kartica End Point (Krajnja točka)
 - Aktivni fluorofor/cilj
 - Završni ciklusi za uprosječivanje
 - Metoda izračuna tolerancije
 - Postotak raspona
- Kartica Allelic Discrimination (Alelna diskriminacija)
 - X- and Y-axis fluorophore (Fluorofor osi X i Y)
 - Select cycle number (Odaberi broj ciklusa)
 - View call map (Prikaz mape pozivanja)
- Kartica Gene Expression (Genska ekspresija) – svi grafikoni
 - Experiment Settings (Postavke eksperimenta) – Target reference (Ciljna referenca)
 - Experiment Settings (Postavke eksperimenta) – Sample Control (Kontrola uzorka)
 - Experiment Settings (Postavke eksperimenta) – Auto efficiency (Automatska učinkovitost)
 - Experiment Settings (Postavke eksperimenta) – Efficiency (Učinkovitost)

- Kartica Gene Expression (Genska ekspresija) – Graphing (Izrada grafova)
 - Analysis mode (Način analize)
 - Graph data (Podaci grafikona)
 - X-axis (Os X)
 - Y-axis (Os Y)
 - Opcija skaliranja
 - Error bar (Traka pogrešaka)
 - Error bar multiplier (Množitelj trake pogrešaka)
 - P-value threshold (Prag p-vrijednosti)
- Kartica Gene Expression (Genska ekspresija) – Clustergram (Dijagram klastera)
 - Cluster By (Izradi klaster prema)
 - Split out replicates (Podijeli replike)
- Kartica Gene Expression (Genska ekspresija) – Scatter Plot (Raspršeni dijagram)
 - Kontrolna biološka skupina
 - Eksperimentalna biološka skupina
 - Prag promjene ekspresije gena
- Kartica Gene Expression (Genska ekspresija) – ANOVA
 - P-value threshold (Prag p-vrijednosti)
- Plate Setup (Postavljanje pločice) – View/Edit Plate (Prikaz/uređivanje pločice)
 - Settings (Postavke) – PlateType (Vrsta pločice)
 - Settings (Postavke) – Units (Jedinice)
 - Editing Tools (Alati za uređivanje) – Flip Plate (Preokretanje pločice)
 - Skupine jažica
 - Pločasti fluorofori
- Plate Setup (Postavljanje pločice) – Replace Plate (Zamjena pločice) i Apply PrimePCR File (Primjena datoteke PrimePCR)
 - Plate Setup Import (Uvoz postavki pločice)

Promjene revizije za datoteke genetičke studije

General (Općenito)

- Naziv
- Kartica Study Setup (Postavljanje studije)
 - Add/Remove data files (Dodaj/ukloni podatkovne datoteke)
- Kartica Study Analysis (Analiza studije)

Dodatak C Integracija LIMS-a

Možete konfigurirati Softver CFX Maestro Dx, Security Edition za upotrebu s laboratorijskim sustavom za upravljanje informacijama (LIMS). Za integraciju LIMS-a, CFX Maestro Dx SE zahtijeva podatke o postavljanju pločice koju generira LIMS platforma (LIMS datoteka, *.plrn), datoteka protokola izrađena s pomoću CFX Maestro Dx SE (*.prcl), definirano mjesto izvoza podataka i definirani format izvoza.

Nakon završetka izvođenja, CFX Maestro Dx SE generira datoteku podataka (.pcrd) i sprema je na definirano mjesto mape za izvoz podataka. CFX Maestro Dx SE također može izraditi podatkovnu datoteku kompatibilnu s LIMS-om u .csv formatu i spremiti je na isto mjesto.

Izrada podatkovnih datoteka kompatibilnih s LIMS-om

Ovaj dodatak objašnjava kako postaviti CFX Maestro Dx SE za izradu, spremanje i izvoz LIMS kompatibilnih podatkovnih datoteka.

Postavljanje LIMS mape i mogućnosti izvoza podataka

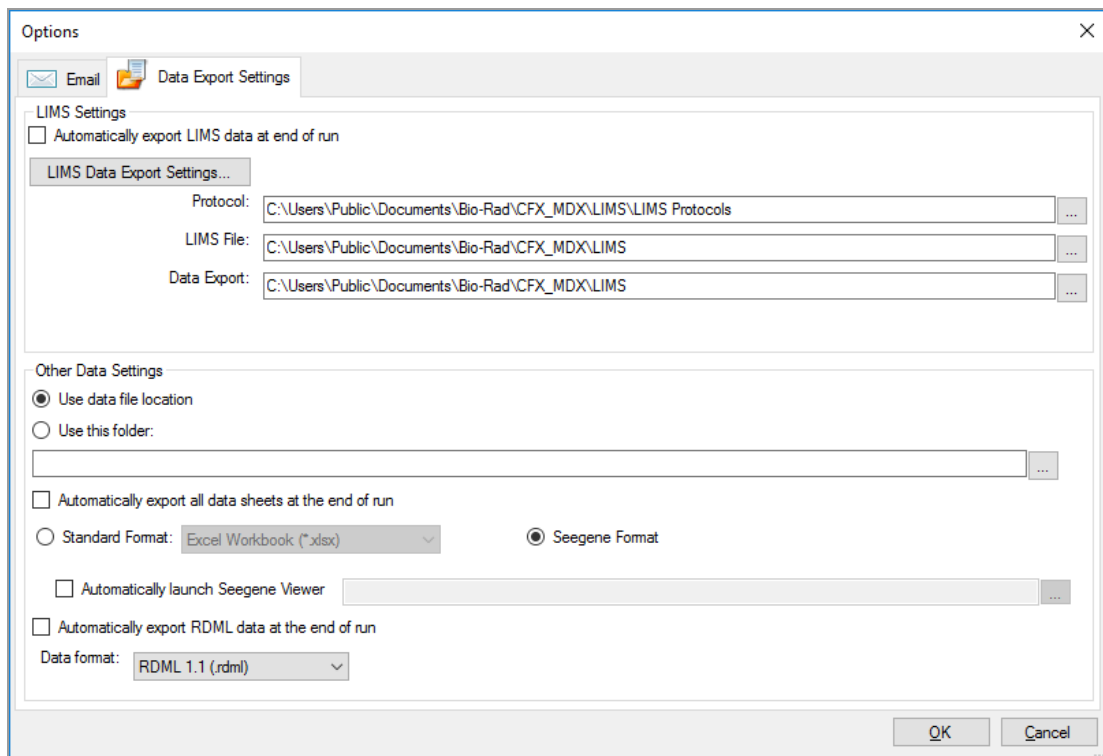
Prema zadanim postavkama, CFX Maestro Dx SE sprema LIMS protokole, datoteke i datoteke za izvoz podataka u ovu mapu:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

Možete konfigurirati CFX Maestro Dx SE za spremanje datoteka u drugu mapu i promjenu mogućnosti izvoza za LIMS podatke.

Za postavljanje mape LIMS i mogućnosti izvoza podataka

1. U početnom prozoru odaberite Tools (Alati) > Opcije (Options).
2. U dijaloškom okviru Options (Opcije) odaberite Data Export Settings (Postavke izvoza podataka).



3. (Opcionalno) Odaberite **Automatically export LIMS data at end of run** (Automatski izvozi LIMS podatke na kraju izvođenja).
Softver će automatski izvesti LIMS podatke nakon svakog izvođenja i spremiti ih na određeno mjesto.
4. Da biste promijenili zadane mogućnosti izvoza za LIMS podatke, kliknite **LIMS Data Export Settings** (Postavke izvoza podataka LIMS).
Važno: Samo LIMS podaci izvezeni kao .csv datoteka mogu se vratiti u CFX Maestro Dx SE.
5. U dijaloškom okviru **LIMS Data Export Format Settings** (Postavke formata izvoza podataka LIMS) odaberite potrebne mogućnosti izvoza i kliknite **OK** (U redu).
6. U dijaloškom okviru **Options** (Opcije) navigirajte do i odaberite zadanu mapu u koju želite spremiti LIMS podatkovne datoteke. Za svaku vrstu datoteke možete odabrati različitu lokaciju:
 - Protocol (Protokol)
 - LIMS datoteka
 - Izvoz podataka
7. Kliknite **OK** (U redu) da biste spremili promjene i zatvorili dijaloški okvir **Options** (Opcije).

Izrada LIMS protokola

Da biste započeli LIMS izvođenje, izradite datoteku protokola za CFX Maestro Dx SE (*.prcl) i spremite je na određeno mjesto mape protokola LIMS.

Pogledajte [Poglavlje 7, Postavljanje protokola](#) za više informacija.

Izrada LIMS datoteke

LIMS datoteka (*.plrn) sadržava detalje o postavljanju pločice i naziv datoteke protokola. Ovu datoteku generira vaš interni LIMS. CFX Maestro Dx SE koristi datoteku LIMS za izradu datoteke pločice koja će se upotrijebiti s datotekom protokola.

CFX Maestro Dx SE pruža datoteke predloška za uvoz pločica koje možete uređivati kako biste izradili prilagođene LIMS datoteke pločica.

Savjet: Ovaj zadatak treba obaviti stručnjak za LIMS.

Izrada LIMS datoteke

1. U početnom prozoru odaberite View (Prikaz) > Show (Pokaži) > LIMS File Folder (Mapa datoteke LIMS).
2. Otvorite mapu LIMS Templates (LIMS Predlošci) i odaberite .csv datoteku za uvoz u vaš interni LIMS.
3. Uredite datoteku predloška popunjavanjem obaveznih polja navedenih u [Tablica 38](#).
4. Učinite jedno od sljedećeg:
 - Da biste sačuvali promjene za buduću upotrebu, spremite datoteku u obliku .csv datoteke.
 - Da biste spremili promjene i datoteku upotrijebili odmah, spremite datoteku s nastavkom .plrn.
 - Spremite predložak s nastavkom naziva datoteke .plrn u mapu LIMS File (LIMS datoteka).

Važno: CFX Maestro Dx SE može otvoriti samo .plrn datoteku. Morate spremiti .csv datoteku kao .plrn da biste pokrenuli izvođenje LIMS-a.

Tablica 38. Definicija sadržaja LIMS .csv datoteke

Stupac	Red	Opis	Content (Sadržaj)	Svrha
A	1	Plate Header (Zaglavlje pločice)	Nemojte uređivati	Unaprijed definirano
A, B, C	2	Field/Data/Instruction (Polje/Podaci/Upute)	Nemojte uređivati	Unaprijed definirano
B	3	Version (Verzija)	Nemojte uređivati	Unaprijed definirano
B	4	Plate Size (Veličina pločice)	Nemojte uređivati	Unaprijed definirano
B	5	Plate Type (Vrsta pločice)	Unesite „BR White”, „BR Clear” ili drugu kalibriranu vrstu pločice	Potrebno
B	6	Scan Mode (Način skeniranja)	Unesite „SYBR/FAM Only:” („Samo SYBR/FAM:”), „All Channels” („Svi kanal”) ili „FRET”	Potrebno

Tablica 38. Definicija sadržaja LIMS .csv datoteke, nastavak

Stupac	Red	Opis	Content (Sadržaj)	Svrha
B	7	Units (Jedinice)	Unesite jedan od sljedećih „copy number” (broj kopija), „fold dilution” (razblaživanja u omjerima), „micromoles” (mikromoli), „nanomoles” (nanomoli), „picomoles” (pikomoli), „femtomoles” (femtomoli), „attomoles” (atomoli), „milligrams” (miligrami), „micrograms” (mikrogrami), „nanograms” (nanogrami), „picograms” (pikogrami), „femtograms” (femtogrami), „attograms” (attogrami) ili „percent” (postotak)	Potrebno
B	8	Run ID (ID izvođenja)	Unesite kratki opis ili crtični kod koji identificira ovo izvođenje (maksimalno 30 znakova, zarezi nisu dopušteni)	Opcionalno
B	9	Run Notes (Bilješke o izvođenju)	Unesite opis izvođenja	Opcionalno
B	10	Run Protocol (Protokol izvođenja)	Unesite naziv datoteke protokola točno onako kako je navedeno.	Potrebno
A	11	Data File (Podatkovna datoteka)	Unesite naziv podatkovne datoteke	Opcionalno
A	12 – 15	Treba odrediti / Prazno	Nemojte uređivati	Unaprijed definirano

Tablica 38. Definicija sadržaja LIMS .csv datoteke, nastavak

Stupac	Red	Opis	Content (Sadržaj)	Svrha
A	16	Plate Data (Podaci o pločici)	Nemojte uređivati	Unaprijed definirano
A	17 – 113	Well Position (Pozicija jažice)	Nemojte uređivati	Unaprijed definirano
B-G		Ch1 Dye, Ch2 Dye, Ch3 Dye, Ch4 Dye, Ch5 Dye, FRET	Unesite jedan kalibrirani naziv boje (na primjer „FAM“) za svaki kanal koji se koristi	Potrebno
H		Sample Type (Vrsta uzorka)	Unesite jednu od sljedećih vrsta uzoraka „Unknown“ (Nepoznato), „Standard“ (Standardno), „Positive Control“ (Pozitivna kontrola), „Negative Control“ (Negativna kontrola), „NTC“ ili „NRT“	Potrebno
I		Sample Name (Naziv uzorka)	Unesite naziv uzorka	Opcionalno
J-O		CH1 Target, CH2 Target, CH3 Target, CH4 Target, CH5 Target, FRET Target	Unesite naziv cilja za svaki korišteni kanal	Opcionalno
P		Collection Name (Naziv seta)	Unesite naziv biološkog seta	Opcionalno
Q		Replicate (Replika)	Unesite pozitivan cijeli broj za svaki set replika. Vrijednost ne može biti nula.	Opcionalno
R-W		CH1 Quantity (količina), CH2 Quantity, CH3 Quantity, CH4 Quantity, CH5 Quantity, FRET Quantity	Unesite vrijednosti količine za bilo koji standard. Unesite koncentraciju u decimalnom obliku.	Potrebno za sve standarde

Tablica 38. Definicija sadržaja LIMS .csv datoteke, nastavak

Stupac	Red	Opis	Content (Sadržaj)	Svrha
X		Well Note (Bilješka o jažici)	<p>Unesite bilješku o jažici (najviše 20 znakova)</p> <p>Napomena: Iako CFX Maestro Dx SE ima ograničenje od 20 znakova prilikom unosa bilješki u polje Well Note (Bilješka o jažici) putem softvera, polje Well Note (Bilješka o jažici) može sadržavati do 500 znakova ako je uključeno u uvezenu .plrn datoteku. Međutim, CFX Maestro Dx SE prikazat će samo prvih 20 znakova. Izvezena .pcrd datoteka sadržavat će sve znakove u polju Well Note (Bilješka o jažici), a podaci se neće izgubiti.</p>	Opcionalno
Y-AD		Ch1 Well Color (boja jažice), Ch2 Well Color, Ch3 Well Color, Ch4 Well Color, Ch5 Well Color, FRET Well Color	Unesite bilo koju korisnički definiranu boju stila traga u 32-bitnom cjelovitom (argb) decimalnom formatu	Opcionalno

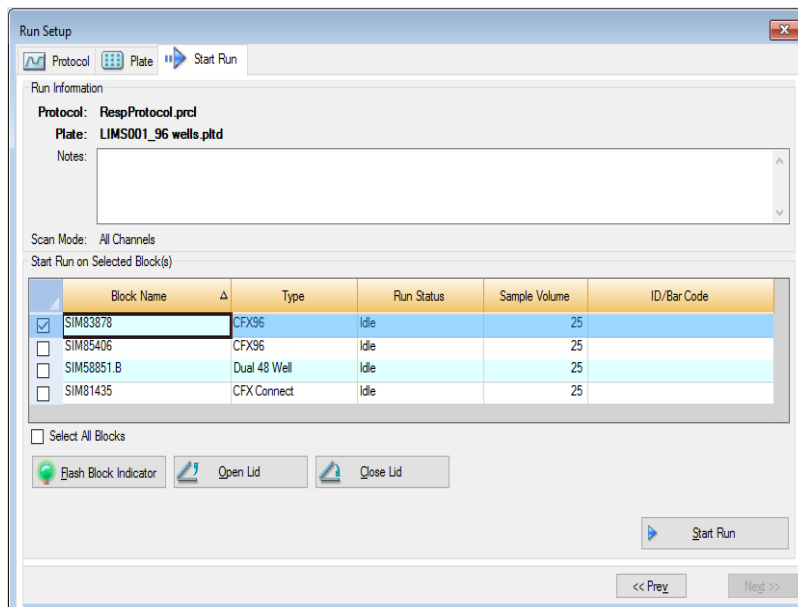
Pokretanje LIMS izvođenja

Pokretanje LIMS izvođenja

1. Učinite jedno od sljedećeg da biste otvorili LIMS .plrn datoteku:
 - U prozoru Home (početno) odaberite View (Prikaz) > Show (Pokaži) > LIMS File Folder (Mapa datoteke LIMS) i otvorite ciljnu .plrn datoteku.
 - U prozoru Home (početno) odaberite File (Datoteka) > Open (Otvori) > LIMS File (LIMS datoteka) i otvorite ciljnu .plrn datoteku.

Datoteka se otvara u kartici Start Run (Pokreni izvođenje) u čarobnjaku Run Setup (Pokreni postavljanje). Kartica Start Run (Pokreni izvođenje) prikazuje informacije o eksperimentu koji treba izvesti. Također prikazuje povezani blok uređaja ili blokove na kojima možete izvoditi eksperiment.

2. Na kartici Start Run (Pokreni izvođenje) odaberite uređaj i kliknite Start Run (Pokreni izvođenje).



Izvoz podataka u LIMS

Kada se izvođenje završi, CFX Maestro Dx SE generira podatkovnu datoteku (.pcrd) i sprema je na definirano mjesto mape za izvoz podataka.

Za izvoz podatkovne datoteke u LIMS

- ▶ Otvorite .pcrd datoteku i odaberite Export (Izvoz) > Export to LIMS Folder (Izvezi u LIMS mapu).

Savjet: Ako odaberete Automatically Export Data after Run (Automatski izvoz podataka nakon izvođenja) u LIMS Options (LIMS mogućnosti), CFX Maestro Dx SE izrađuje podatkovnu datoteku kompatibilnu sa sustavom LIMS u .csv formatu i sprema je u istu mapu.

Dodatak D Rješavanje problema za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Ovaj dodatak predlaže rješenja za probleme s kojima biste se mogli susresti tijekom nadogradnje ili pokretanja za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition.

Popis dopuštenih datoteka i mapa za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition

Za zaštitu od virusa i zlonamjernog softvera vaš informatički odjel možda je primijenio vrlo stroge mjere sigurnosti softvera. Te mjere mogu utjecati na vrijeme nadogradnje ili pokretanja softvera CFX Maestro Dx SE.

Za poboljšanje radnu učinkovitost softvera CFX Maestro Dx SE tvrtka Bio-Rad preporučuje da informatički odjel sljedeće datoteke i mape stavi na popis dopuštenih datoteka i mapa u postavkama vatrozida u vašem antivirusnom softveru instaliranom na računalo CFX Maestro Dx SE:

Mape

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\ProgramData\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx

Datoteke

- Sve datoteke .exe files koje se nalaze u mapi C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- R.exe i Rscript.exe (u mapi C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx\R\R-3.3.1\bin)

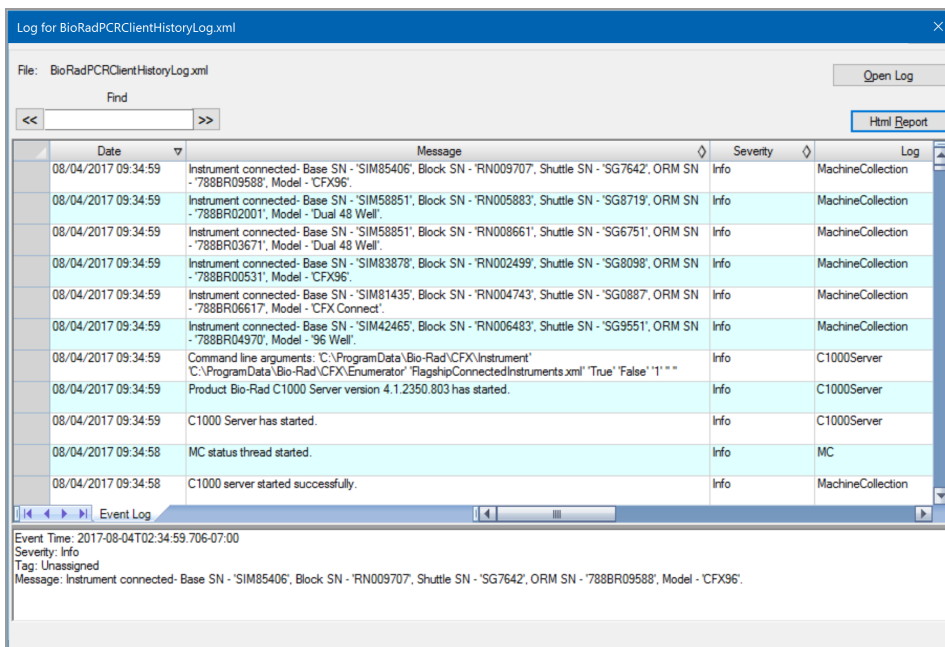
Zapisnik aplikacije

Prije početka novog izvođenja sustav CFX Opus Dx pokreće dijagnostičko samotestiranje kako bi provjerio radi li prema specifikacijama. Softver bilježi rezultate ovog testa u datoteku Run Log (Zapisnik izvođenja) i Application Log (Zapisnik aplikacije). Ako primijetite problem u jednom ili više eksperimenata, otvorite zapisnike izvođenja i aplikacije da biste saznali kada je problem započeo.

CFX Maestro Dx SEDx prati informacije o stanju uređaja tijekom izvođenja datoteke Application Log (Zapisnik aplikacije). Upotrijebite ove zapisnike za praćenje događaja koji se događaju u uređaju i u softveru te za rješavanje problema.

Za otvaranje datoteke Application log (Zapisnik aplikacije)

- U prozoru Home (Početno) odaberite View (Prikaz) > Application Log (Zapisnik aplikacije).



Za prikaz datoteke Application Log (Zapisnik aplikacije) kao HTML datoteke kliknite gumb HTML Report (HTML izvješće).

Dohvaćanje datoteka zapisnika aplikacije i firmvera

Zapisnici aplikacije i firmvera sadržavaju detaljne informacije o radnjama izvršenima tijekom upotrebe softvera i provedbe izvođenja. U tim zapisnicima bilježe se i pogreške softvera i firmvera do kojih dođe tijekom rada softvera ili uređaja.

Za pristup datotekama zapisnika aplikacije i firmvera:

1. U oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji), desnom tipkom miša kliknite na instrument.
2. Odaberite Retrieve Log Files (Dohvati datoteke zapisnika).
3. U dijalogu Browse for Folder (Pregledaj mapu) odaberite određenu mapu na svojoj mreži ili lokalnom pogonu na koji želite spremiti datoteke zapisnika.

Napomena: mapa nosi naslov „Logs” (Zapisnici).

4. Kliknite OK (U redu) da biste spremili datoteke.

Važno: Spremanjem datoteke zapisnika koja nosi isti naziv datoteke kao postojeća datoteka zapisnika prebrisat će se postojeća datoteka zapisnika.

Rješavanje problema

Problemi s komunikacijom softvera i instrumenata obično se mogu riješiti ponovnim pokretanjem računala i sustava. Prije ponovnog pokretanja obavezno spremite sav rad u tijeku.

Napomena: provjerite ima li vaše računalo dovoljno RAM-a i slobodnog prostora na disku. Minimalni RAM je 4 GB, a minimalni prostor na tvrdom disku 128 GB.

Nestanak napajanja

U slučaju nestanka napajanja, uređaj i računalo će se isključiti. Ako je nestanak napajanja kratak, uređaj će nastaviti s izvođenjem protokola, ali Application Log (Zapisnik aplikacije) primijetit će nestanak napajanja. Ovisno o postavkama računala i trajanju nestanka napajanja, uređaj i softver pokušavaju nastaviti raditi, ovisno o koraku protokola:

- Ako je protokol u koraku bez čitanja s pločice, protokol nastavlja s izvođenjem čim uređaj vrati energiju.
- Ako je protokol u koraku s čitanjem pločice, uređaj čeka ponovno pokretanje softvera i nastavak komunikacije za prikupljanje podataka. U ovoj se situaciji protokol nastavlja samo ako računalo ne isključuje softver. Kada se računalo i softver ponovno pokrenu, protokol se nastavlja.

Prijenos datoteka u računalo CFX Maestro Dx SE

Možete prenijeti podatke i datoteke zapisnika smještene na instrumentu na tvrdi disk priključenog računala CFX Maestro Dx SE.

Savjet: Sve datoteke u mapi s podacima u stvarnom vremenu na bazi uređaja prenose se na računalo.

Napomena: iz instrumenta CFX Opus Dx možete prenositi samo datoteke zapisnika. Sve datoteke zapisnika na uređaju prenose se na računalo.

Za dohvaćanje datoteka s uređaja

1. U oknu Detected Instruments (Otkriveni uređaji) u prozoru Home (Početno) desnom tipkom miša pritisnite ciljni uređaj i odaberite Retrieve Log Files (Dohvati datoteke zapisnika).
2. Odaberite mjesto mape za spremanje dohvaćenih datoteka.
3. Pritisnite OK (U redu).

Softver CFX Maestro Dx, Security Edition, ručna instalacija

Za ručnu instalaciju softvera CFX Maestro Dx SE

1. Ako je potrebno, odspojite sve povezane instrumente od računala.
Pronađite i odspojite USB kabel instrumenta na računalo za CFX Maestro Dx SE. Kraj umetnut u uređaj može ostati na svom mjestu.
2. Prijavite se na računalo za CFX Maestro Dx SE s administratorskim pravima.
3. Umetnite USB pogon softvera CFX Maestro Dx SE u USB priključak računala.
4. U pregledniku Windows Explorer dođite do i otvorite USB pogon CFX Maestro Dx SE.
5. Otvorite mapu CFX i dvaput pritisnite CFXMaestro Dx Setup.exe za instalaciju softvera CFX Maestro Dx SE.
6. Slijedite upute na zaslonu za instalaciju softvera.
Po završetku pojaviti će se pozdravni zaslon za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition tvrtke Bio-Rad na zaslonu računala i ikona za Softver CFX Maestro Dx, Security Edition tvrtke Bio-Rad na radnoj površini.
7. Sigurno izbacite USB pogon softvera i pokrenite softver CFX Maestro Dx SE.

Ponovna instalacija upravljačkih programa

Za ponovnu instalaciju upravljačkih programa uređaja

- ▶ U prozoru Home (Početno) odaberite Tools (Alati) > Reinstall Instrument Drivers (Ponovo instaliraj upravljačke programe uređaja).

Napomena: Ako imate problema s komunikacijom softvera sa sustavom u stvarnom vremenu nakon što ponovo instalirate upravljačke programe i provjerite USB vezu, obratite se tehničkoj podršci tvrtke Bio-Rad.

Dodatak E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products

This document includes licensing information relating to free, open-source, and public-source software and data (together, the “MATERIALS”) included with or used to develop Bio-Rad products and services. The terms of the applicable free, open-source, and public-source licenses (each an “OPEN LICENSE”) govern Bio-Rad’s distribution and your use of the MATERIALS. Bio-Rad and the third-party authors, licensors, and distributors of the MATERIALS disclaim all warranties and liability arising from all use and distribution of the MATERIALS. To the extent the OSS is provided under an agreement with Bio-Rad that differs from the applicable OSS LICENSE, those terms are offered by Bio-Rad alone.

Bio-Rad has reproduced below copyright and other licensing notices appearing within the MATERIALS. While Bio-Rad seeks to provide complete and accurate copyright and licensing information for all MATERIALS, Bio-Rad does not represent or warrant that the following information is complete, correct, or error-free. MATERIALS recipients are encouraged to (a) investigate the identified MATERIALS to confirm the accuracy of the licensing information provided and (b) notify Bio-Rad of any inaccuracies or errors found in this document so that Bio-Rad may update this document accordingly.

Certain OPEN LICENSES (such as the Affero General Public Licenses, Common Development and Distribution Licenses, Common Public License, Creative Commons Share-Alike License, Eclipse Public License, Mozilla Public Licenses, GNU General Public Licenses, GNU Library/Lesser General Public Licenses, and Open Data Commons Open Database License) require that the source materials be made available to recipients or other requestors under the terms of the same OPEN LICENSE.

The corresponding open source software is available for download from the links in the section that follows.

Software Notices

ZedGraph

Project homepage/download site:

<https://sourceforge.net/projects/zedgraph/>

Bio-Rad source code site:

<https://github.com/bio-rad-lsg-open-source/ZedGraph-5.0.1>

External source code site:

<https://github.com/ZedGraph/ZedGraph>

Project licensing notices:

/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

/sources/ZedGraph/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

Standard Open License Text

LGPL-2.1

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

Version 2.1, February 1999

Copyright (C) 1991, 1999 Free Software Foundation, Inc. 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

[This is the first released version of the Lesser GPL. It also counts as the successor of the GNU Library Public License, version 2, hence the version number 2.1.]

Preamble

The licenses for most software are designed to take away your freedom to share and change it. By contrast, the GNU General Public Licenses are intended to guarantee your freedom to share and change free software--to make sure the software is free for all its users.

This license, the Lesser General Public License, applies to some specially designated software packages--typically libraries--of the Free Software Foundation and other authors who decide to use it. You can use it too, but we suggest you first think carefully about whether this license or the ordinary General Public License is the better strategy to use in any particular case, based on the explanations below.

When we speak of free software, we are referring to freedom of use, not price. Our General Public Licenses are designed to make sure that you have the freedom to distribute copies of free software (and charge for this service if you wish); that you receive source code or can get it if you want it; that you can change the software and use pieces of it in new free programs; and that you are informed that you can do these things.

To protect your rights, we need to make restrictions that forbid distributors to deny you these rights or to ask you to surrender these rights. These restrictions translate to certain responsibilities for you if you distribute copies of the library or if you modify it.

For example, if you distribute copies of the library, whether gratis or for a fee, you must give the recipients all the rights that we gave you. You must make sure that they, too, receive or can get the source code. If you link other code with the library, you must provide complete object files to the recipients, so that they can relink them with the library after making changes to the library and recompiling it. And you must show them these terms so they know their rights.

We protect your rights with a two-step method: (1) we copyright the library, and (2) we offer you this license, which gives you legal permission to copy, distribute and/or modify the library.

To protect each distributor, we want to make it very clear that there is no warranty for the free library. Also, if the library is modified by someone else and passed on, the recipients should know that what they have is not the original version, so that the original author's

reputation will not be affected by problems that might be introduced by others.

Finally, software patents pose a constant threat to the existence of any free program. We wish to make sure that a company cannot effectively restrict the users of a free program by obtaining a restrictive license from a patent holder. Therefore, we insist that any patent license obtained for a version of the library must be consistent with the full freedom of use specified in this license.

Most GNU software, including some libraries, is covered by the ordinary GNU General Public License. This license, the GNU Lesser General Public License, applies to certain designated libraries, and is quite different from the ordinary General Public License. We use this license for certain libraries in order to permit linking those libraries into non-free programs.

When a program is linked with a library, whether statically or using a shared library, the combination of the two is legally speaking a combined work, a derivative of the original library. The ordinary General Public License therefore permits such linking only if the entire combination fits its criteria of freedom. The Lesser General Public License permits more lax criteria for linking other code with the library.

We call this license the "Lesser" General Public License because it does Less to protect the user's freedom than the ordinary General Public License. It also provides other free software developers Less of an advantage over competing non-free programs. These disadvantages are the reason we use the ordinary General Public License for many libraries. However, the Lesser license provides advantages in certain special circumstances.

For example, on rare occasions, there may be a special need to encourage the widest possible use of a certain library, so that it becomes a de-facto standard. To achieve this, non-free programs must be allowed to use the library. A more frequent case is that a free library does the same job as widely used non-free libraries. In this case, there is little to gain by limiting the free library to free software only, so we use the Lesser General Public License.

In other cases, permission to use a particular library in non-free programs enables a greater number of people to use a large body of free software. For example, permission to use the GNU C Library in non-free programs enables many more people to use the whole GNU

operating system, as well as its variant, the GNU/Linux operating system.

Although the Lesser General Public License is Less protective of the users' freedom, it does ensure that the user of a program that is linked with the Library has the freedom and the wherewithal to run that program using a modified version of the Library.

The precise terms and conditions for copying, distribution and modification follow. Pay close attention to the difference between a "work based on the library" and a "work that uses the library". The former contains code derived from the library, whereas the latter must be combined with the library in order to run.

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

TERMS AND CONDITIONS FOR COPYING, DISTRIBUTION AND MODIFICATION

0. This License Agreement applies to any software library or other program which contains a notice placed by the copyright holder or other authorized party saying it may be distributed under the terms of this Lesser General Public License (also called "this License"). Each licensee is addressed as "you".

A "library" means a collection of software functions and/or data prepared so as to be conveniently linked with application programs (which use some of those functions and data) to form executables.

The "Library", below, refers to any such software library or work which has been distributed under these terms. A "work based on the Library" means either the Library or any derivative work under copyright law: that is to say, a work containing the Library or a portion of it, either verbatim or with modifications and/or translated straightforwardly into another language. (Hereinafter, translation is included without limitation in the term "modification".)

"Source code" for a work means the preferred form of the work for making modifications to it. For a library, complete source code means all the source code for all modules it contains, plus any associated interface definition files, plus the scripts used to control compilation and installation of the library.

Activities other than copying, distribution and modification are not covered by this License; they are outside its scope. The act of running a program using the Library is not restricted, and output

from such a program is covered only if its contents constitute a work based on the Library (independent of the use of the Library in a tool for writing it). Whether that is true depends on what the Library does and what the program that uses the Library does.

1. You may copy and distribute verbatim copies of the Library's complete source code as you receive it, in any medium, provided that you conspicuously and appropriately publish on each copy an appropriate copyright notice and disclaimer of warranty; keep intact all the notices that refer to this License and to the absence of any warranty; and distribute a copy of this License along with the Library. You may charge a fee for the physical act of transferring a copy, and you may at your option offer warranty protection in exchange for a fee.

2. You may modify your copy or copies of the Library or any portion of it, thus forming a work based on the Library, and copy and distribute such modifications or work under the terms of Section 1 above, provided that you also meet all of these conditions:

a) The modified work must itself be a software library.

b) You must cause the files modified to carry prominent notices stating that you changed the files and the date of any change.

c) You must cause the whole of the work to be licensed at no charge to all third parties under the terms of this License.

d) If a facility in the modified Library refers to a function or a table of data to be supplied by an application program that uses the facility, other than as an argument passed when the facility is invoked, then you must make a good faith effort to ensure that, in the event an application does not supply such function or table, the facility still operates, and performs whatever part of its purpose remains meaningful. (For example, a function in a library to compute square roots has a purpose that is entirely well-defined independent of the application. Therefore, Subsection 2d requires that any application-supplied function or table used by this function must be optional: if the application does not supply it, the squareroot function must still compute square roots.)

These requirements apply to the modified work as a whole. If identifiable sections of that work are not derived from the Library, and can be reasonably considered independent and separate works in themselves, then this License, and its terms, do not apply to those sections when you distribute them as separate works. But when you

distribute the same sections as part of a whole which is a work based on the Library, the distribution of the whole must be on the terms of this License, whose permissions for other licensees extend to the entire whole, and thus to each and every part regardless of who wrote it.

Thus, it is not the intent of this section to claim rights or contest your rights to work written entirely by you; rather, the intent is to exercise the right to control the distribution of derivative or collective works based on the Library.

In addition, mere aggregation of another work not based on the Library with the Library (or with a work based on the Library) on a volume of a storage or distribution medium does not bring the other work under the scope of this License.

3. You may opt to apply the terms of the ordinary GNU General Public License instead of this License to a given copy of the Library. To do this, you must alter all the notices that refer to this License, so that they refer to the ordinary GNU General Public License, version 2, instead of to this License. (If a newer version than version 2 of the ordinary GNU General Public License has appeared, then you can specify that version instead if you wish.) Do not make any other change in these notices. Once this change is made in a given copy, it is irreversible for that copy, so the ordinary GNU General Public License applies to all subsequent copies and derivative works made from that copy. This option is useful when you wish to copy part of the code of the Library into a program that is not a library.

4. You may copy and distribute the Library (or a portion or derivative of it, under Section 2) in object code or executable form under the terms of Sections 1 and 2 above provided that you accompany it with the complete corresponding machine-readable source code, which must be distributed under the terms of Sections 1 and 2 above on a medium customarily used for software interchange. If distribution of object code is made by offering access to copy from a designated place, then offering equivalent access to copy the source code from the same place satisfies the requirement to distribute the source code, even though third parties are not compelled to copy the source along with the object code.

5. A program that contains no derivative of any portion of the Library, but is designed to work with the Library by being compiled or linked with it, is called a "work that uses the Library". Such a work, in isolation, is not a derivative work of the Library, and

therefore falls outside the scope of this License. However, linking a "work that uses the Library" with the Library creates an executable that is a derivative of the Library (because it contains portions of the Library), rather than a "work that uses the library". The executable is therefore covered by this License. Section 6 states terms for distribution of such executables. When a "work that uses the Library" uses material from a header file that is part of the Library, the object code for the work may be a derivative work of the Library even though the source code is not. Whether this is true is especially significant if the work can be linked without the Library, or if the work is itself a library. The threshold for this to be true is not precisely defined by law. If such an object file uses only numerical parameters, data structure layouts and accessors, and small macros and small inline functions (ten lines or less in length), then the use of the object file is unrestricted, regardless of whether it is legally a derivative work. (Executables containing this object code plus portions of the Library will still fall under Section 6.) Otherwise, if the work is a derivative of the Library, you may distribute the object code for the work under the terms of Section 6. Any executables containing that work also fall under Section 6, whether or not they are linked directly with the Library itself.

6. As an exception to the Sections above, you may also combine or link a "work that uses the Library" with the Library to produce a work containing portions of the Library, and distribute that work under terms of your choice, provided that the terms permit modification of the work for the customer's own use and reverse engineering for debugging such modifications. You must give prominent notice with each copy of the work that the Library is used in it and that the Library and its use are covered by this License. You must supply a copy of this License. If the work during execution displays copyright notices, you must include the copyright notice for the Library among them, as well as a reference directing the user to the copy of this License. Also, you must do one of these things:

a) Accompany the work with the complete corresponding machine-readable source code for the Library including whatever changes were used in the work (which must be distributed under Sections 1 and 2 above); and, if the work is an executable linked with the Library, with the complete machine-readable "work that uses the Library", as object code and/or source code, so that the user can modify the Library and then relink to produce a modified executable containing the modified Library. (It is understood that the user who changes the

contents of definitions files in the Library will not necessarily be able to recompile the application to use the modified definitions.)

b) Use a suitable shared library mechanism for linking with the Library. A suitable mechanism is one that (1) uses at run time a copy of the library already present on the user's computer system, rather than copying library functions into the executable, and (2) will operate properly with a modified version of the library, if the user installs one, as long as the modified version is interface-compatible with the version that the work was made with.

c) Accompany the work with a written offer, valid for at least three years, to give the same user the materials specified in Subsection 6a, above, for a charge no more than the cost of performing this distribution.

d) If distribution of the work is made by offering access to copy from a designated place, offer equivalent access to copy the above specified materials from the same place.

e) Verify that the user has already received a copy of these materials or that you have already sent this user a copy.

For an executable, the required form of the "work that uses the Library" must include any data and utility programs needed for reproducing the executable from it. However, as a special exception, the materials to be distributed need not include anything that is normally distributed (in either source or binary form) with the major components (compiler, kernel, and so on) of the operating system on which the executable runs, unless that component itself accompanies the executable.

It may happen that this requirement contradicts the license restrictions of other proprietary libraries that do not normally accompany the operating system. Such a contradiction means you cannot use both them and the Library together in an executable that you distribute.

7. You may place library facilities that are a work based on the Library side-by-side in a single library together with other library facilities not covered by this License, and distribute such a combined library, provided that the separate distribution of the work based on the Library and of the other library facilities is otherwise permitted, and provided that you do these two things:

a) Accompany the combined library with a copy of the same work based on the Library, uncombined with any other library facilities. This must be distributed under the terms of the Sections above.

b) Give prominent notice with the combined library of the fact that part of it is a work based on the Library, and explaining where to find the accompanying uncombined form of the same work.

8. You may not copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library except as expressly provided under this License. Any attempt otherwise to copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

9. You are not required to accept this License, since you have not signed it. However, nothing else grants you permission to modify or distribute the Library or its derivative works. These actions are

prohibited by law if you do not accept this License. Therefore, by modifying or distributing the Library (or any work based on the Library), you indicate your acceptance of this License to do so, and all its terms and conditions for copying, distributing or modifying the Library or works based on it.

10. Each time you redistribute the Library (or any work based on the Library), the recipient automatically receives a license from the original licensor to copy, distribute, link with or modify the Library subject to these terms and conditions. You may not impose any further restrictions on the recipients' exercise of the rights granted herein. You are not responsible for enforcing compliance by third parties with this License.

11. If, as a consequence of a court judgment or allegation of patent infringement or for any other reason (not limited to patent issues), conditions are imposed on you (whether by court order, agreement or otherwise) that contradict the conditions of this License, they do not excuse you from the conditions of this License. If you cannot distribute so as to satisfy simultaneously your obligations under this License and any other pertinent obligations, then as a consequence you may not distribute the Library at all. For example, if a patent license would not permit royalty-free redistribution of the Library by all those who receive copies directly or indirectly through you, then the only way you could satisfy both it and this

License would be to refrain entirely from distribution of the Library.

If any portion of this section is held invalid or unenforceable under any particular circumstance, the balance of the section is intended to apply, and the section as a whole is intended to apply in other circumstances.

It is not the purpose of this section to induce you to infringe any patents or other property right claims or to contest validity of any such claims; this section has the sole purpose of protecting the integrity of the free software distribution system which is implemented by public license practices. Many people have made generous contributions to the wide range of software distributed through that system in reliance on consistent application of that system; it is up to the author/donor to decide if he or she is willing to distribute software through any other system and a licensee cannot impose that choice. This section is intended to make thoroughly clear what is believed to be a consequence of the rest of this License.

12. If the distribution and/or use of the Library is restricted in certain countries either by patents or by copyrighted interfaces, the original copyright holder who places the Library under this License may add an explicit geographical distribution limitation excluding those countries, so that distribution is permitted only in or among countries not thus excluded. In such case, this License incorporates the limitation as if written in the body of this License.

13. The Free Software Foundation may publish revised and/or new versions of the Lesser General Public License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns.

Each version is given a distinguishing version number. If the Library specifies a version number of this License which applies to it and "any later version", you have the option of following the terms and conditions either of that version or of any later version published by the Free Software Foundation. If the Library does not specify a license version number, you may choose any version ever published by the Free Software Foundation.

14. If you wish to incorporate parts of the Library into other free programs whose distribution conditions are incompatible with these, write to the author to ask for permission. For software which is

copyrighted by the Free Software Foundation, write to the Free Software Foundation; we sometimes make exceptions for this. Our decision will be guided by the two goals of preserving the free status of all derivatives of our free software and of promoting the sharing and reuse of software generally.

NO WARRANTY

15. BECAUSE THE LIBRARY IS LICENSED FREE OF CHARGE, THERE IS NO WARRANTY FOR THE LIBRARY, TO THE EXTENT PERMITTED BY APPLICABLE LAW. EXCEPT WHEN OTHERWISE STATED IN WRITING THE COPYRIGHT HOLDERS AND/OR OTHER PARTIES PROVIDE THE LIBRARY "AS IS" WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. THE ENTIRE RISK AS TO THE QUALITY AND PERFORMANCE OF THE LIBRARY IS WITH YOU. SHOULD THE LIBRARY PROVE DEFECTIVE, YOU ASSUME THE COST OF ALL NECESSARY SERVICING, REPAIR OR CORRECTION.

16. IN NO EVENT UNLESS REQUIRED BY APPLICABLE LAW OR AGREED TO IN WRITING WILL ANY COPYRIGHT HOLDER, OR ANY OTHER PARTY WHO MAY MODIFY AND/OR REDISTRIBUTE THE LIBRARY AS PERMITTED ABOVE, BE LIABLE TO YOU FOR DAMAGES, INCLUDING ANY GENERAL, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE THE LIBRARY (INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOSS OF DATA OR DATA BEING RENDERED INACCURATE OR LOSSES SUSTAINED BY YOU OR THIRD PARTIES OR A FAILURE OF THE LIBRARY TO OPERATE WITH ANY OTHER MATERIALS), EVEN IF SUCH HOLDER OR OTHER PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES.

END OF TERMS AND CONDITIONS

How to Apply These Terms to Your New Libraries

If you develop a new library, and you want it to be of the greatest possible use to the public, we recommend making it free software that everyone can redistribute and change. You can do so by permitting redistribution under these terms (or, alternatively, under the terms of the ordinary General Public License).

To apply these terms, attach the following notices to the library. It is safest to attach them to the start of each source file to most effectively convey the exclusion of warranty; and each file should have at least the "copyright" line and a pointer to where the full notice is found.

<one line to give the library's name and a brief idea of what it does.>

Copyright (C) <year> <name of author>

This library is free software; you can redistribute it and/or modify it under the terms of the GNU Lesser General Public License as published by the Free Software Foundation; either version 2.1 of the License, or (at your option) any later version. This library is distributed in the hope that it will be useful, but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the GNU Lesser General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU Lesser General Public License along with this library; if not, write to the Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Also add information on how to contact you by electronic and paper mail. You should also get your employer (if you work as a programmer) or your school, if any, to sign a "copyright disclaimer" for the library, if necessary. Here is a sample; alter the names:

Yoyodyne, Inc., hereby disclaims all copyright interest in the library `Frob' (a library for tweaking knobs) written by James Random Hacker.

<signature of Ty Coon>, 1 April 1990

Ty Coon, President of Vice

That's all there is to it!

Dodatak F Reference

1. Sugimoto et al. (1996.). Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes. *Nucleic Acids Research* 24, 4501–4505.
2. Breslauer KJ et al. (1986.). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3746–3750.
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, 2002–2007.
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*. 2. izdanje (New York: SAGE Publications, Inc.).

Obavijest o autorskim pravima Minpack (1999.) University of Chicago. Sva prava pridržana.

Preraspodjela i upotreba u izvornom i binarnom obliku, s izmjenama ili bez njih, dopušteni su pod uvjetom da su ispunjeni sljedeći uvjeti:

1. Preraspodjela izvornog koda mora zadržati gornju obavijest o autorskim pravima, ovaj popis uvjeta i sljedeću izjavu o odricanju odgovornosti.
2. Preraspodjela u binarnom obliku mora reproducirati gornju obavijest o autorskim pravima, ovaj popis uvjeta i sljedeću izjavu o odricanju odgovornosti u dokumentaciji i/ili drugim materijalima koji se isporučuju u distribuciji.
3. Dokumentacija krajnjeg korisnika koja je uključena u preraspodjelu, ako postoji, mora sadržavati sljedeću potvrdu:

„Ovaj proizvod uključuje softver koji je razvilo Sveučilište u Chicagu kao operator američkog državnog laboratorija Argonne National Laboratory.”

Dodatak F Reference



Bio-Rad Laboratories, Inc.
4000 Alfred Nobel Drive
Hercules, CA 94547



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette, Francuska
Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00
Telefaks: +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

