

CFX96™ Dx og CFX96 Deep Well Dx systemer

Driftsvejledning

REF

1845097-IVD
1844095-IVD
1841000-IVD
12007917

Vejledningsrevision: maj 2022
Softwarerevision: 3.1

CE IVD



ETL ANFØRT
OVERHOLDER
UL Std. 61010-1
UL Std. 61010-2-010
UL Std. 61010-2-101
UL Std. 61010-2-081
CERTIFICERET IHT.
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-1-12
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-010
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-101
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-081:2015



BIO-RAD

CFX96™ Dx og CFX96 Deep Well Dx systemer

Driftsvejledning

Version 3.1

BIO-RAD

Bio-Rad Teknisk support

Bio-Rad Tech support nordic:

Telefon: 00800 0024 6723 / +45 4452 1000

E-mail: techsupport.nordic@bio-rad.com

Hvis du har brug for teknisk hjælp uden for USA og Canada, skal du kontakte den lokale tekniske support eller klikke på linket Contact us (Kontakt os) på www.bio-rad.com.

Meddelelse

Ingen dele af denne udgivelse må gengives, kopieres eller sendes i nogen form eller på nogen måde, elektronisk eller mekanisk, herunder fotokopiering, optagelse eller lagring i søge- eller registreringssystemer, uden skriftlig tilladelse fra Bio-Rad.

Bio-Rad forbeholder sig retten til at ændre sine produkter og tjenester når som helst. Denne vejledning kan ændres uden varsel. Selvom den er udarbejdet for at sikre nøjagtig information, påtager Bio-Rad sig intet ansvar for fejl eller udeladelser eller for eventuelle skader, der måtte opstå fra anvendelse eller brug af denne information.

BIO-RAD er et varemærke tilhørende.

BIO-RAD, HARD-SHELL og MICROSEAL er varemærker tilhørende Bio-Rad i visse jurisdiktioner.

SYBR er et varemærke tilhørende Thermo Fisher Scientific Inc. Bio-Rad har licens til at sælge reagenser indeholdende SYBR Green I til brug i realtid PCR, kun til forskningsformål.

EvaGreen er et varemærke tilhørende Biotium, Inc. Bio-Rad er licenseret af Biotium, Inc. til at sælge reagenser, der indeholder EvaGreen farvestof til brug i realtid PCR, kun til forskningsformål.

Alle her anvendte varemærker tilhører deres respektive ejer.












Copyright © 2022 Bio-Rad Laboratories, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

Tilslgtet anvendelse

CFX96 Dx systemet og CFX96 Deep Well Dx systemet med CFX Manager Dx software er beregnet til udførelse af fluorescensbaseret PCR til detektion og kvantifikation af nukleinsyresekvenser. Disse systemer og den tilhørende software er beregnet til in vitro-diagnostisk brug af uddannet laboratoriepersonale. Systemerne er beregnet til anvendelse med diagnostiske nukleinsyretest fra tredjeparter, som er produceret og mærket til diagnostiske formål.

Symbolleksikon

Væsentlige ændringer er fremhævede!

 Fabrikant	 Partinummer
 Udløbsdato	 Til In Vitro-diagnostisk brug
 Temperaturgrænse	 Katalognummer
 Se brugsanvisningen	 Antal tests
 Til brug med	 Serienummer
Rx Only Kun receptpligtig brug	 Indeholder latex



CE-mærkning – forordning (EU)
2017/746 IVDR

Oversættelser

Produktdokumenter kan leveres på flere sprog på elektroniske medier.

Indholdsfortegnelse

Tilsluttet anvendelse	iii
Symbolleksikon	iii
Oversættelser	iv
Sikkerhed og overholdelse af lovgivningen	13
Advarselmærkat om sikkerhed	13
Specifikationer for sikker brug og overholdelse af lovgivningen	14
Overholdelse af lovgivningen	15
Farer	15
Biologiske farer	16
Kemiske farer	17
Eksplodings- eller brandfare	17
Elektriske farer	18
Transport	18
Batteri	18
Bortskaffelse	18
Garanti	18
Kapitel 1 Indledning	19
CFX Dx PCR-detektionssystemer	19
Få mere at vide	20
Kapitel 2 Opsætning af C1000 Dx termocycleren	21
Krav til installationsstedet	21
Pladskrav til bordet	21
Miljøkrav	22
Strømkrav	22
Systemoversigt	23
Set forfra	23
Set bagfra	24
Optiske reaktionsmoduler	25

Anbefalede prøvevolumener	25
Installation af C1000 Dx termocykler	26
Udpakning og opsætning af C1000 Dx termocykler	26
Påsætning af det optiske reaktionsmodul	27
Fjernelse af forsendelseskruen	28
Isætning af prøveplader	29
Registrering af tilsluttede instrumenter	31
Fjernelse af reaktionsmodulet	32
Nedlukning af C1000 Dx termocyklere	32
Kapitel 3 Installation af CFX Manager Dx softwaren	33
Systemkrav	34
Installation af CFX Manager Dx softwaren	35
Registrering af tilsluttede instrumenter	35
Softwarefiler	36
Anbefalede foranstaltninger omkring internetsikkerhed	37
Kapitel 4 Arbejdsområdet	39
Startvinduet	40
Startup Wizard (Guiden Opstart)	41
Vinduet Protocol Editor (Protokoleditor)	42
Vinduet Plate Editor (Pladeeditor)	43
Vinduet Data Analysis (Dataanalyse)	44
Kapitel 5 Startvinduet	45
Startvinduet	46
Kommandoer i menuen File (Fil)	47
Kommandoer i menuen View (Vis)	47
Kommandoer i menuen User (Bruger)	48
Kommandoer i menuen Run (Kør)	49
Kommandoer i menuen Tools (Værktøjer)	49
Kommandoer i menuen Help (Hjælp)	50
Kommandoer på værktøjslinjen	50
Startup Wizard (Guiden Opstart)	51
Statuslinje	51
Ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter)	52

Visning af egenskaberne for et instrument	56
Inden du starter	59
Indstilling af brugerpræferencer	59
Oprettelse af et reaktions-mastermix	75
Kalibrering af nye farvestoffer	78
Kapitel 6 Oprettelse af protokoller	81
Vinduet Protocol Editor (Protokoleditor)	82
Kommandoer i menuen File (Fil)	82
Kommandoer i menuen Settings (Indstillinger)	83
Kommandoer i menuen Tools (Værktøjer)	83
Kommandoer på værktøjslinjen	83
Betjeningselementer for protokolredigering	84
Oprettelse af en protokol i Protocol Editor (Protokoleditor)	87
Åbning af en ny protokolfil i Protocol Editor (Protokoleditor)	87
Åbning af en eksisterende protokol i Protocol Editor (Protokoleditor)	88
Opsætning af en ny protokol	90
Tilføjelse af trin i en protokol	91
Indsættelse af et gradienttrin	92
Indsættelse af en forekomst af trinnet GOTO (GÅ TIL)	94
Indsættelse af et smeltekurvetrin	94
Tilføjelse eller fjernelse af trinnet Plate Read (Pladeaflysning)	96
Ændring af Step Options (Valgmuligheder for trin)	96
Sletning af et trin	97
Kopiering, eksport eller udskrivning af en protokol	97
Oprettelse af en protokol med Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver)	98
Brug af Ta Calculator (Ta-beregner)	100
Om Ta Calculator (Ta-beregner)	101
Kapitel 7 Klargøring af plader	107
Vinduet Plate Editor (Pladeeditor)	108
Kommandoer i menuen File (Fil)	109
Kommandoer i menuen Settings (Indstillinger)	109
Kommandoer i menuen Editing Tools (Redigeringsværktøjer)	109
Kommandoer på værktøjslinjen	110
Oprettelse af en pladefil med Plate Editor (Pladeeditor)	111

Åbning af en ny pladefil i Plate Editor (Pladeeditor)	111
Åbning af en eksisterende pladefil i Plate Editor (Pladeeditor)	113
Opsætning af en ny pladefil	114
Tildeling af valgfri parametre til pladefilen	120
Tildeling af en målsekvens (target) til brønde	120
Tildeling af et prøvenavn til brønde	122
Tildeling af biologiske sæt til brønde	124
Tildeling af replikatnumre til brønde	125
Tildeling af en fortyndingsserie til standardprøvetyper	127
Kopiering af brøndindhold til en anden brønd	128
Tilføjelse af en bemærkning til en brønd	129
Rydning af brønde for alt indhold	129
Ændring af eksperimentindstillinger	131
Oprettelse af brøndgrupper	134
Ændring af kurvelinjelayout	137
Visning af pladen i regnearksformat	139
Oprettelse af et pladelayout ved brug af Setup Wizard (Guiden Opsætning) for plader	141
Anvendelse af Setup Wizard (Guiden Opsætning) for plader	141
Kapitel 8 Kørsel af eksperimenter	145
Åbning af vinduet Run Setup (Kørselsopsætning)	145
Vinduet Run Setup (Kørselsopsætning)	146
Fanen Protocol (Protokol)	147
Fanen Plate (Plade)	150
Fanen Start Run (Start kørsel)	153
Kørsel af et eksperiment	154
Dialogboksen Run Details (Kørselsdetaljer)	156
Fanen Run Status (Kørselsstatus)	156
Fanen Real-time Status (Realtidsstatus)	158
Fanen Time Status (Tidsstatus)	161
Udførelse af PrimePCR-eksperimenter	162
Kapitel 9 Oversigt over dataanalyse	165
Vinduet Data Analysis (Dataanalyse)	165
Værktøjslinjen Data Analysis (Dataanalyse)	166
Menulinjen Data Analysis (Dataanalyse)	167

Fanen Details (Detaljerede oplysninger)	170
Vælgeren Step Number (Trinnummer)	171
Visning af Well Groups (Brøndgrupper) i Data Analysis (Dataanalyse)	171
Ændring af brøndindhold efter en kørsel	171
Indstillinger for dataanalyse	173
Justering af tærsklen	173
Baselineindstillinger	173
Analysetilstand	174
Cyklusser, der skal analyseres	175
Brøndvælger	176
Genvejsmenupunkter for brøndvælger	177
Midlertidig udeladelse af brønde fra analyse	178
Diagrammer	179
Fælles genvejsmenupunkter for diagrammer	179
Kopiering af diagramdata til udklipsholderen	180
Ændring af indstillingerne for Baseline Threshold (Baselinetærskel)	180
Sortering af data for måsekvens (target) og prøve	182
Forstørrelse af et område i diagrammet	183
Kopiering af diagrammer til en Microsoft-fil	183
Regneark	184
Fælles genvejsmenupunkter for regneark	184
Eksport	186
Eksport af alle dataark	186
Oprettelse af en tilpasset eksportfil	187
Eksport til en LIMS-mappe	188
Eksport af Seegene-formaterede data	188
Kapitel 10 Detaljerede oplysninger om dataanalyse	189
Fanen Quantification (Kvantifikation)	190
Valgmuligheder for fluorofoer	190
Dialogboksen Trace Styles (Kurvelinjelayout)	191
Funktionen Log Scale (Logaritmisk Skala)	192
Standardkurve-diagram	193
Menupunkter for Amplification Chart (Amplifikationsdiagram)	194
Fanen Quantification (Kvantifikation) i regneark	194

Fanen Quantification Data (Kvantifikationsdata)	196
Regnearket Results (Resultater)	196
Regnearket Standard Curve Results (Standardkurve-resultater)	198
Regnearket Plate (Plade)	199
Regnearket RFU	199
Fanen Melt Curve (Smeltekurve)	200
Justering af smeltekurvedata	202
Fanen Melt Curve Data (Smeltekurvedata)	203
Regnearket Melt Peaks (Smeltekurvetoppe)	203
Regnearket Plate (Plade)	204
Regnearket RFU	205
Regnearket -d(RFU)/dT	206
Fanen End Point (Endepunkt)	207
Resultatdata	208
Justering af endepunktsdataanalysen	209
RFU-regneark til analyse af endepunkter	209
Fanen Allelic Discrimination (Alleldiskrimination)	210
Justering af data til alleldiskrimination	211
Valgmuligheder i diagrammenuen	212
Regnearket Allelic Discrimination (Alleldiskrimination)	212
Fanen Custom Data View (Tilpasset datavisning)	214
Oprettelse af en tilpasset datavisning	215
Fanen QC (Kvalitetskontrol)	216
Ændring af kriterier for kvalitetskontrol	216
Udeladelse af brønde, som ikke består QC (Kvalitetskontrol)	217
Fanen Run Information (Kørselsoplysninger)	218
Dataanalyserapporter	219
Kategorier for dataanalyserapporter	220
Oprettelse af en dataanalyserapport	223
Oprettelse af Well Group Reports (Brøndgrupperapporter)	224
Kapitel 11 Genekspressionsanalyse	225
Opsætning af plader til genekspressionsanalyse	226
Vejledt pladeopsætning	226
Diagrammer for genekspression	228

Søjlediagram	229
Sortering af data for målsekvens (target) og prøve	230
Tilpasning af genekspressionsdata	231
Eksperimentindstillinger	233
Stabilitetsværdi for målsekvens (target)	236
Genvejsmenuer	236
Dataregneark	237
Valgmuligheden Show Details (Vis detaljerede oplysninger)	238
Klyngeoversigt	241
Indstillinger	241
Genvejsmenuer	241
Dataregneark	242
Punktdiagram	243
Indstillinger	243
Genvejsmenuer	243
Dataregneark	244
Resultater	245
Genstudie	246
Kalibrering mellem kørsler	246
Dialogboksen Gene Study (Genstudie)	246
Fanen Study Setup (Studieopsætning)	247
Klargøring af et genstudie	247
Fanen Study Analysis (Studieanalyse)	248
Oprettelse af en genstudierapport	249
Kategorier af genstudierapporter	249
Appendiks A Dataanalyseberegninger	251
Reaktionseffektivitet	251
Relativ mængde	251
Relativ mængde når der er valgt en kontrol	252
Standardafvigelse for relativ mængde	252
Effektivitetskorrigeret Cq (CqE)	253
Middelværdi for effektivitetskorrigeret Cq (MCqE)	253
Normaliseringsfaktor	253
Normaliseret ekspression	254

Normaliseret ekspression når der er valgt en kontrol	254
Standardafvigelse for normaliseret ekspression	255
Normaliseret ekspression skaleret til højeste ekspressionsniveau	256
Normaliseret ekspression skaleret til laveste ekspressionsniveau	256
Normaliseret ekspression skaleret til gennemsnitligt ekspressionsniveau	257
Standardafvigelse for skaleret normaliseret ekspression	258
Regulering	258
Formler til korrigerede værdier	259
Appendiks B Administration af brugere og roller på CFX Manager Dx	261
Administration af brugere	261
Tilføjelse og fjernelse af brugere	261
Administration af rettigheder for roller	263
Indlogging på CFX Manager Dx softwaren	264
Skift af bruger	264
Ændring af brugeradgangskoder	265
Visning af roller og rettigheder	265
Appendiks C LIMS-integration	267
Oprettelse af LIMS-kompatible datafiler	267
Opsætning af valgmuligheder for LIMS-mappen og for dataeksport	267
Oprettelse af en LIMS-protokol	268
Oprettelse af en LIMS-fil	269
Start af en LIMS-kørsel	274
Eksport af data til et LIMS	275
Appendiks D Fejlfinding af CFX Manager Dx softwaretilslutningsproblemer	277
Applikationslogfil	277
Fejlfinding	278
Strømsvigt	278
Overførsel af filer til CFX Manager Dx computeren	280
Manuel installation af CFX Manager Dx softwaren	280
Geninstallation af drivere	281
Appendiks E Referencer	283

Sikkerhed og overholdelse af lovgivningen




For sikker betjening af CFX96™ Dx systemet eller CFX96 Deep Well Dx systemet med CFX Manager™ Dx softwaren, omtalt som CFX Dx systemet i dette dokument, anbefaler Bio-Rad på det kraftigste, at du følger de sikkerhedsspecifikationer, der fremgår af dette afsnit og i resten af denne vejledning.

Vigtigt: CFX96 Dx og CFX96 Deep Well Dx systemerne er godkendt til brug som in vitro diagnostiske (IVD) medicinske anordninger.


Advarselsmærkater om sikkerhed

Advarselsmærkater, som er placeret på instrumentet og i denne vejledning, advarer brugeren om kilder til personskade eller fare. [Tabel 1](#) definerer hver advarselsmærkat om sikkerhed.

Tabel 1. Betydning af advarselsmærkater om sikkerhed

Ikon	Betydning
	<p>Advarsel om risiko for skade på kroppen eller udstyret</p> <p>Betjening af CFX Dx systemet inden denne vejledning er blevet læst, kan udgøre en risiko for personskade. For at opnå sikker brug må dette instrument ikke betjenes på måder, som ikke er angivet i denne vejledning. Kun kvalificeret laboratoriepersonale, som er uddannet i sikker brug af elektrisk udstyr, må betjene dette instrument. Alle systemets komponenter skal altid håndteres med forsigtighed og med rene, tørre hænder.</p>
	<p>Advarsel om håndtering af biologisk farlige materialer</p> <p>Ved håndtering af biologisk farlige prøver skal de anbefalede forsigtighedsregler og retningslinjer overholdes, og eventuelle lokale retningslinjer, der er specifikke for laboratoriet og stedet, skal følges.</p>
	<p>Advarsel om risiko for forbrændinger</p> <p>En termocykler genererer tilstrækkelig varme til at forårsage svære forbrændinger. Brug altid sikkerhedsbriller eller anden øjenbeskyttelse under betjeningen. Lad altid prøveblokken vende tilbage til inaktiv temperatur, inden låget åbnes og prøverne tages ud. Sørg altid for maksimalt frirum for at undgå utilsigtede hudforbrændinger.</p>

Tabel 1. Betydning af advarselmærkater om sikkerhed, fortsat

Ikon	Betydning
	Advarsel om risiko for eksplosion Prøveblokkene kan blive så varme i løbet af normal drift, at de får væsker til at koge og eksplodere.

Specifikationer for sikker brug og overholdelse af lovgivningen

[Tabel 2](#) indeholder en liste over specifikationerne for sikker brug af Bio-Rads CFX Dx real-time PCR-detektionssystemer. De medfølgende skærmede kabler skal anvendes med disse instrumenter for at sikre overholdelse af FCC's klasse A-grænser.

Tabel 2. Betingelser for sikker brug

Anvendelsesaspekt	Betingelser for sikker brug
Nominel indgangseffekt	100-240 VAC, 50-60 Hz, maks. 850 W
Overspændingskategori	II
Sikringer	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, flink (antal 2 stk.)
Miljøforhold	Kun til indendørs brug
Anvendelsestemperatur	15-31 °C
Opbevaringstemperatur	-20 til 60 °C
Relativ luftfugtighed	Op til 80 % (ikke-kondenserende)
Højde over havet	Op til 2000 meter over havets overflade
Forureningsgrad	2

Overholdelse af lovgivningen

CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet er blevet testet og fundet at være i overensstemmelse med alle gældende krav i følgende standarder for sikkerhed og elektromagnetisme:

- IEC 61010-1:2010 (3. udg.), DS/EN 61010-1:2010 (3. udg.). Sikkerhedskrav til elektrisk måle-, regulerings- og laboratorieudstyr - Del 1: Generelle krav
- IEC 61010-2-010:2014, DS/EN 61010-2-010:2014. Sikkerhedskrav til elektrisk udstyr til måling, styring og laboratoriebrug. Del 2-010: Særlige krav til laboratorieudstyr til opvarmning af materialer
- IEC 61010-2-081:2015, DS/EN 61010-2-081:2015. Sikkerhedskrav til elektrisk udstyr til måling, styring og laboratoriebrug. Del 2-081: Særlige krav til automatisk og halvautomatisk laboratorieudstyr til analyse og andre formål (omfatter Tillæg 1)
- IEC 61010-2-101:2015 (2. udg.). Sikkerhedskrav til elektrisk udstyr til måling, styring og laboratoriebrug. Særlige krav til in vitro-diagnostisk (IVD) medicinsk udstyr
- IEC 61326-1:2012 (Klasse A), DS/EN 61326-1:2013 (Klasse A). Elektrisk udstyr til måling, styring og laboratoriebrug. EMC-krav - Del 1: Generelle krav
- IEC 61326-2-6:2012, DS/EN 61326-2-6:2013 (Klasse A). Elektrisk udstyr til måling, styring og laboratoriebrug. EMC-krav. Særlige krav til in vitro-diagnostisk (IVD) medicinsk udstyr

Vigtigt: Dette udstyr genererer, anvender og kan udstråle radiofrekvent energi og kan, hvis det ikke installeres og anvendes i overensstemmelse med den medfølgende vejledning, forårsage skadelig interferens med radiokommunikation. Anvendelse af systemerne i beboelsesområder vil sandsynligvis forårsage skadelig interferens. I sådanne tilfælde vil det være brugerens ansvar at korrigere dette for egen regning.

Farer

CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet er konstrueret til sikker og effektiv drift, når det anvendes som foreskrevet af producenten. Brug af CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet eller de tilhørende komponenter på en måde, der ikke er specificeret af producenten, kan forringe den beskyttelse, der ellers ydes af instrumentet. [[[Undefined variable Global Variables.CompanyName]]] er ikke ansvarlig for eventuelle personskader eller beskadigelser, som dette udstyr forvolder, hvis det anvendes på en uspecificeret måde, eller for ændringer i instrumentet, der ikke er udført af Bio-Rad eller en autoriseret agent. Service af CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet må kun udføres af kvalificeret personale fra Bio-Rad.

Biologiske farer

CFX Dx real-time PCR-detektionssystem er et produkt til laboratoriebrug. Ved tilstedeværelse af biologisk farlige prøver skal følgende retningslinjer og eventuelle lokale retningslinjer, der er specifikke for laboratoriet og stedet, imidlertid følges.

Bemærk: Der undslipper ikke biologisk farlige stoffer under den normale brug af dette instrument.

Generelle forholdsregler

- Bær altid laboratoriekittel, laboratoriehandsker og sikkerhedsbriller med sideskærm eller øjenværn.
- Hold hænderne væk fra øjne, næse og mund.
- Beskyt alle sår og hudafskrabninger fuldstændigt, inden der arbejdes med potentielt smittefarlige materialer.
- Vask hænderne omhyggeligt med sæbe og vand, når du har arbejdet med potentielt smittefarligt materiale, inden du forlader laboratoriet.
- Tag armbåndsure og smykker af, inden du går i gang med arbejdet.
- Opbevar alle smittefarlige eller potentielt smittefarlige materialer i brudsikre, tætte beholdere.
- Tag den beskyttende beklædning af, inden du forlader laboratoriet.
- Du må ikke skrive, tage telefonen, tænde for lyset eller røre ved noget med din behandskede hånd, som andre personer uden handsker kan komme til at røre ved.
- Skift hyppigt handsker. Fjern handskerne straks, når de er blevet synligt kontamineret.
- Materialer, der ikke kan dekontamineres korrekt, må ikke udsættes for potentielt infektiøse materialer.
- Efter afslutning af en procedure, der involverer biologisk farlige materialer, skal arbejdsområdet dekontamineres med et passende desinficeringsmiddel (for eksempel en 1:10 fortynding af klorblegemiddel til husholdningsbrug).

IVD-specifikke forholdsregler

- Alle patientprøver udgør en potentiel biologisk fare og skal håndteres i overensstemmelse hermed og under overholdelse af generelle forholdsregler.
- Der undslipper ikke biologisk farlige stoffer under den normale brug af dette instrument.

Overfladedekontaminering



ADVARSEL! For at forhindre elektrisk stød skal instrumenter altid slukkes og frakobles før dekontaminering.

Følgende områder kan rengøres med et hvilket som helst bakteriedræbende, virusdræbende eller svampedræbende desinfektionsmiddel til hospitalsbrug:

- Udvendigt låg og kabinet
- Indvendig reaktionsblokoeverflade og reaktionsblokbrønde
- Kontrolpanel og skærm

For yderligere oplysninger om at klargøre og anvende desinfektionsmidlet henvises til producentens anvisninger. Skyl altid reaktionsblokken og reaktionsblokbrøndene flere gange med vand efter anvendelse af desinfektionsmiddel. Aftør reaktionsblokken og reaktionsblokbrøndene grundigt efter skylning med vand.

Vigtigt: Undgå at bruge slibe- eller skuremidler eller stærke alkaliske opløsninger. Disse stoffer kan ridse overflader og beskadige reaktionsblokken og dermed medføre reduceret nøjagtighed i forbindelse med termisk kontrol.

Bortskaffelse af biologisk farlige materialer

Bortskaf følgende potentielt kontaminede materialer i overensstemmelse med lokale og nationale laboratoriestemmelser:

- Kliniske prøver
- Reagenser
- Brugte reaktionsbeholdere eller andre forbrugsartikler, der kan være kontaminede

Kemiske farer

CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet indeholder ingen potentielt farlige kemiske materialer.

Eksplodings- eller brandfare

CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet udgør ikke nogen usædvanlig fare for så vidt angår brand eller eksplosion, når det anvendes på korrekt vis som anvist af Bio-Rad Laboratories.

Elektriske farer

CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet udgør ingen unormale elektriske farer for operatører, hvis det installeres og anvendes korrekt uden fysiske modifikationer, og hvis det er tilsluttet til en strømkilde med den korrekte specifikation.

Transport

Før flytning eller forsendelse af CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet eller det tilhørende optiske reaktionsmodul eller den tilhørende termocykler-base skal procedurerne for dekontaminering udføres. Flyt eller send altid CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet og optiske reaktionsmoduler i separate beholdere med det medfølgende emballeringsmateriale, som beskytter instrumentet mod skader. Kontakt det lokale Bio-Rad-kontor, hvis du mangler passende beholdere.

Batteri

CFX Dx systemets termocykler anvender et 3 V litiummetal-knapcellebatteri og en 4,8 V genopladelig nikkelmetalhydrid-batteripakke til at sikre opretholdelsen af tidsindstillinger og kørselsdata i tilfælde af, at vekselstrømforsyningen svigter. Hvis tids- og/eller kørselsdata ikke forbliver indstillet, efter der er blevet slukket for enheden, kan det være et tegn på, at batterierne er ved at løbe tør. Kontakt teknisk support hos Bio-Rad for at få hjælp, hvis dette skulle forekomme.

Forsøg ikke selv at skifte batterierne. Kontakt teknisk support hos Bio-Rad.

Bortskaffelse

CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet indeholder elektriske materialer. Disse må ikke bortskaffes som usorteret affald og skal indsamles separat i henhold til EU-direktiv 2012/19/EU om affald af elektrisk og elektronisk udstyr – WEEE-direktivet. Kontakt den lokale Bio-Rad-repræsentant vedrørende landespecifikke anvisninger inden bortskaffelse.

Garanti

CFX Dx real-time PCR-detektionssystemet og dets tilknyttede tilbehør er dækket af en standardgaranti fra Bio-Rad. Kontakt den lokale Bio-Rad-afdeling for at få nærmere oplysninger om garantien.

Kapitel 1 Indledning

Bio-Rads CFX Dx real-time PCR-amplifikationssystem til in vitro-diagnosticering (IVD) omfatter de nyeste teknologiske fremskridt og muliggør PCR-kvantifikation med standardkurve, genekspressionsanalyse, alleldiskrimination og endepunktsanalyse.

CFX Dx systemerne består af to hardwaremoduler og software:

- CFX96™ Dx eller CFX96 Deep Well Dx optisk reaktionsmodul (ORM)
- C1000™ Dx termocykler
- CFX Manager™ Dx software

Ved brug sammen med CFX Manager Dx softwaren kan du

- generere øjeblikkelige resultater med Startup Wizard (Guiden Opstart)
- indtaste eller redigere brøndoplysninger før, under eller efter en kørsel
- fortolke komplekse data og fortolke et genekspressionsstudie ved hjælp af værktøjer som PrimePCR™ kontrolanalyse og værktøjet til valg af referencegen
- udfærdige omfattende rapporter over dine real-time PCR-data

CFX Dx PCR-detektionssystemer

Tabel 3 indeholder en liste over Bio-Rads IVD PCR-produkter, som leveres med CFX Dx systemer.

Bemærk: Et CFX Dx system leveres med CFX Manager Dx softwaren, C1000 Dx termocykler og enten CFX96 Dx eller CFX96 Deep Well Dx optisk reaktionsmodul.

Tabel 3. CFX IVD PCR-detektionssystemer

Katalognr.	Beskrivelse
1845097-IVD	CFX96 Dx ORM *
1844095-IVD	CFX96 Deep Well Dx ORM
1841000-IVD	C1000 Dx termocykler
12007917	CFX Manager Dx software v3.1

* Optisk reaktionsmodul

Få mere at vide

Dette dokument forklarer sikker opsætning og betjening af CFX96 Dx og CFX96 Deep Well Dx real-time PCR-detektionssystemerne, som bærer CE IVD-mærket. I dette dokument omtales disse systemer som CFX Dx system. Hertil kommer, at dokumentet forklarer, hvordan CFX Manager Dx software anvendes sammen med CFX Dx system.

Tip: Klik på Bio-Rad-logoet i det øverste højre hjørne på ethvert af vinduerne i CFX Manager Dx software for at åbne Bio-Rads websted. På hjemmesiden er der også links til tekniske bemærkninger, manualer, produktoplysninger og teknisk support. Den indeholder desuden et stort antal tekniske ressourcer vedrørende mange forskellige metoder og applikationer med relation til PCR, real-time PCR og genekspression.

Kapitel 2 Opsætning af C1000 Dx termocyklere

Dette kapitel forklarer opsætningen af CFX Dx systemets C1000 Dx termocykler på din institution.

Tip: Inden opsætningen af termocyklere skal du gøre dig bekendt med både termocyklere og dens optiske reaktionsmodul, porte og tilbehør.

Krav til installationsstedet

Tabellerne i dette afsnit angiver de krav til lokale, miljø og strøm, som er nødvendige for problemfri installation og brug af CFX Dx system termocyklere.

Bemærk: Installer CFX Dx system termocyklere på en flad, tør overflade med tilstrækkeligt luft omkring, så den kan køre optimalt.

Pladskrav til bordet

Table 4. Krav til bordplads for CFX Dx system termocykler

Element	Specifikation
Indgangseffekt	Op til 850 W, maksimum
Frekvens	50-60 Hz, enkelt fase
USB-porte	5 A, 1 B
Dimensioner	B: 33 cm, 13" D: 46, 18" H: 36 cm, 14"
Vægt	21 kg, 47 lb

Miljøkrav

Tabel 5. Miljøkrav til CFX Dx systemets termocykler

Parameter	Område	Område for luftfugtighed
Driftsbetingelser	15-31 °C 59-87,8 °F	0-80 % RH, ikke-kondenserende
Opbevaringsbetingelser	15-31 °C 59-87,8 °F	0-80 % RH, ikke-kondenserende

Strømkrav

Strømmen til CFX Dx system termocykleren skal være stabil og inden for specifikationerne for at sikre korrekt drift. Det strømkabel, der tilsluttes til strømindgangsporten, skal være normeret til 7 A eller derover.

Tabel 6. Strømkrav for CFX Dx system

Element	Specifikation
Lysnetindgangsspænding	100-240 VAC; 50-60 Hz, enkelt fase
Maks. strømforbrug	< 850 watt
Antal strømudtag	Mindst 2 strømudtag: <ul style="list-style-type: none"> ■ 1 udtag til termocykleren ■ 1 udtag til den computer, som kører CFX Manager Dx-softwaren

Systemoversigt

Illustrationerne i dette afsnit viser hovedkomponenterne i C1000 Dx termocykler-basen.

Set forfra



FORKLARING

1. **Optisk reaktionsmodul** – omfatter et optisk system til indsamling af fluorescensdata og en termocyklerblok. CFX Dx real-time PCR-detektionssystemer understøtter enten et CFX96™ Dx eller et CFX96 Deep Well Dx modul.

2. **Status-LED** – viser, om blokken er i brug.

3. **Låg-knap** – åbner eller lukker låget til det optiske reaktionsmodul og forsejler reaktionskammeret.

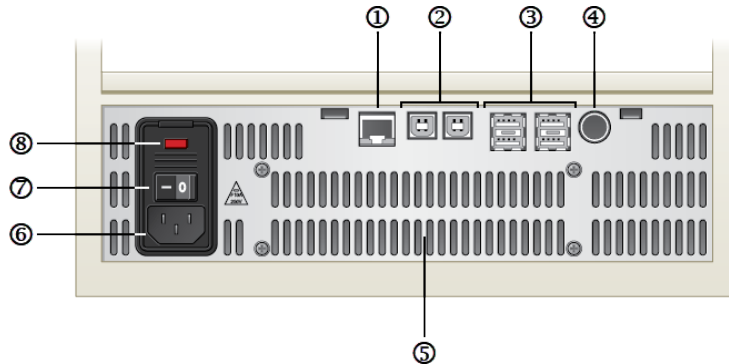
4. **C1000™ Dx termocykler-base** – leverer systemspænding og kommunikation og indeholder CFX96 Dx og CFX96 Deep Well optiske reaktionsmoduler.

5. **Frontpanelskærm og knapper** – giver mulighed for at betjene systemet i separat tilstand.
Vigtigt: For at sikre dataintegritet i forbindelse med et IVD-genstudie understøtter CFX Manager Dx softwaren ikke data, som er genereret af termocyklere i separat tilstand.

6. **Opvarmet, indvendigt låg** – opretholder lågets temperatur for at undgå kondens og fordampning.

7. **Prøve/reaktionsblok** – rummer reaktionsbeholderen, herunder rør og mikroplader.

Set bagfra



FORKLARING

1. **Ethernet-port** – forbinder C1000 Dx termocyklere med netværket.
2. **USB-porte (Type B)** – forbinder C1000 Dx termocyklere med en computer, der kører CFX Manager Dx softwaren.
3. **USB-porte (Type A)** – overfører data til og fra et USB-flashdrev.
Vigtigt: For at sikre dataintegritet i forbindelse med et IVD-genstudie understøtter CFX Manager Dx softwaren ikke data, som er genereret af termocyklere i separat tilstand.
4. **Seriell testport** – kun til brug i forbindelse med servicetest.
5. **Køleventilatorer** – afkøler termocyklere.
Vigtigt: Undgå at blokere køleventilatorerne. For optimal drift skal det sikres, at der kan cirkulere luft bag termocykler-basen.
6. **Strømindgang** – vekselstrøm. Brug det medfølgende strømkabel.
7. **Tænd/sluk-knap** – vippekontakt til at tænde/slukke termocyklere.
8. **Sikringer** – se [Specifikationer for sikker brug og overholdelse af lovgivningen på side 14](#) for sikringspecifikationer.

Optiske reaktionsmoduler

C1000 Dx termocykler er kompatibel med følgende Bio-Rad optiske reaktionsmoduler til real-time PCR.

- CFX96 Dx optisk reaktionsmodul
- CFX96 Deep Well Dx optisk reaktionsmodul

Det valgte CFX Dx optiske reaktionsmodul og termocykleren leveres i separate kasser. CFX Manager Dx softwaren leveres sammen med det optiske reaktionsmodul.

Vigtigt: Det optiske reaktionsmodul kalibreres med den termocykler-base, det leveres sammen med. Det optiske reaktionsmodul må derfor ikke anvendes sammen med en anden termocykler-base, lige som termocykler-basen ikke må anvendes sammen med andre optiske reaktionsmoduler.

Begge optiske reaktionsmoduler indeholder et fuldt justerbart opvarmet låg, der er i stand til at køre pålideligt med et bredt udvalg af reaktionsbeholdere. Det optiske reaktionsmodul indeholder køleventilatorer til hurtig opvarmning og afkøling.

Hvert enkelt CFX Dx optiske reaktionsmodul omfatter følgende komponenter:

- **Opvarmet, indvendigt låg** – opretholder lågets temperatur for at undgå kondens og fordampning.
- **Prøve/reaktionsblok** – rummer reaktionsbeholderne, herunder rør og mikroplader.
- **Låg-knap** – åbner og lukker låget og forseglar reaktionen.
- **Status-LED** – når den lyser, angiver det, at blokken er i brug.

Anbefalede prøvevolumener

Når C1000 Dx termocykleren bruges, bestemmes det maksimale prøvevolumen af den type reaktionsmodul, der bruges. [Tabel 7](#) angiver de anbefalede volumener, der skal bruges med de enkelte reaktionsmoduler.

Tabel 7. Størrelse og volumengrænse for reaktionsmoduler

Antal brønde	Antal blokke	Anbefalet prøvevolumen, µl (Øvre grænse)
96 brønde	1	10-50
96 dybe brønde	1	10-125

Installation af C1000 Dx termocykler

C1000 Dx termocykler-basen leveres i en separat pakke og ikke sammen med det optiske reaktionsmodul. Pakken indeholder:

- C1000 Dx termocykler-base
- Strømkabel
- 1 USB-kabel

Sådan installeres C1000 Dx termocyklere:

1. Udpak og opsæt C1000 Dx termocykler-basen.
2. Tilslut reaktionsmodulet til basen.
3. Fjern forsendelseskruen.

Dette afsnit forklarer i detaljer, hvordan disse opgaver udføres.

Udpakning og opsætning af C1000 Dx termocykler

Vigtigt: Inden du betjener termocyklere, skal du læse oplysningerne i [Sikkerhed og overholdelse af lovgivningen på side 13](#) og [Advarselsmærkat om sikkerhed på side 13](#).

Tip: Under opsætningen skal du sikre, at der er tilstrækkelig plads nær termocyklere til en computer, der skal køre CFX Manager Dx softwaren.

Sådan pakkes termocykler-basen ud og sættes op

1. Find pakken, der indeholder termocykler-basen.
2. Fjern basen fra indpakningsmaterialet.
Tip: Gem indpakningsmaterialet til fremtidig brug. Hvis en del mangler eller er beskadiget, skal du kontakte det lokale Bio-Rad-kontor.
3. Anbring termocykler-basen på en flad, tør overflade med tilstrækkelig afkølet luftstrøm til, at den kan køre korrekt.
4. Find strømkablet i forsendelsespakken og sæt den ene ende i strømindgangsporten bag på termocyklere.

Vigtigt: Tænd ikke for instrumentet på dette tidspunkt.

5. Tilslut IVD-reaktionsmodulet til basen. Fortsæt med [Påsætning af det optiske reaktionsmodul på side 27](#).

Påsætning af det optiske reaktionsmodul

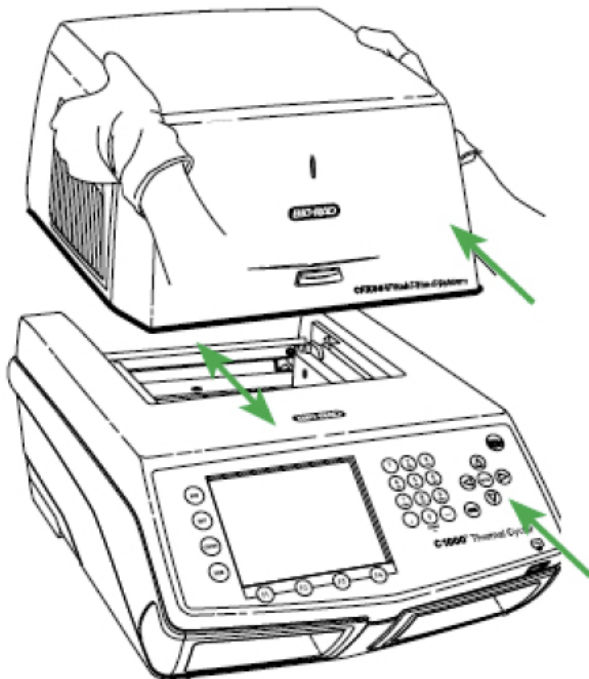
Bio-Rad leverer det optiske reaktionsmodul CFX96 Dx eller CFX96 Deep Well sammen med C1000 Dx termocykler-basen (men i en separat kasse). Pak forsigtigt det optiske reaktionsmodul ud, og kontrollér, at strøm- og USB-kablerne findes i kassen.

Vigtigt: Det optiske reaktionsmodul kalibreres med den termocykler-base, det leveres sammen med. Det optiske reaktionsmodul må derfor ikke anvendes sammen med en anden termocykler-base.

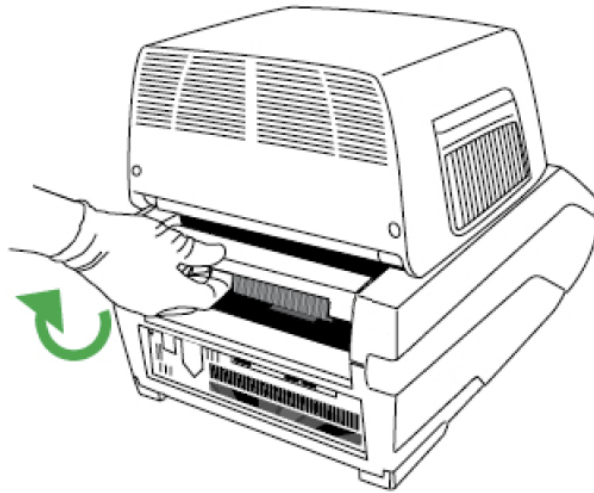
Sørg for, at C1000 Dx termocykler-basen står på en flad, tør overflade med tilstrækkelig cirkulation af kølig luft til, at den kan køre korrekt.

Sådan sættes reaktionsmodulet på termocykler-basen

1. Anbring C1000 Dx termocykleren et passende sted med låsearmen nedad.
2. Løft det optiske reaktionsmodul ved at bruge håndtagene over ventilationsrillerne i siderne, anbring modulet i rummet til C1000 Dx reaktionsmodulet, og sørg for, at der er ca. 2 cm plads foran. Når det optiske modul er i rummet, bør det dække Bio-Rad-logoet foran rummet.



3. Træk op i låsearmen, indtil den flugter med siderne af modulrummet. Denne handling flytter modulet fremad og låser det på plads.



4. Kontrollér, at modulet sidder fuldt ud og jævnt i C1000 Dx termocykler-basen. Der må ikke være frigang mellem modulet og basen.
5. Sæt strømkablet i bag på C1000 Dx termocykler-basen og i en stikkontakt, og tryk derefter på tænd/sluk-kontakten på bagpanelet på C1000 Dx termocykler for at starte systemet.

Fjernelse af forsendelsesskruen

Vigtigt: Bio-Rads optiske reaktionsmodul leveres med en rød forsendelsesskrue isat det indvendige låg for at stabilisere det optiske reaktionsmodul under transport. Du skal fjerne forsendelsesskruen, før du kan betjene det optiske reaktionsmodul.

Sådan fjernes forsendelsesskruen

1. C1000 Dx termocykler registrerer, at der er isat en forsendelsesskrue i det optiske reaktionsmodul og viser en meddelelse om, hvordan skruen fjernes.

Shipping Screw Status

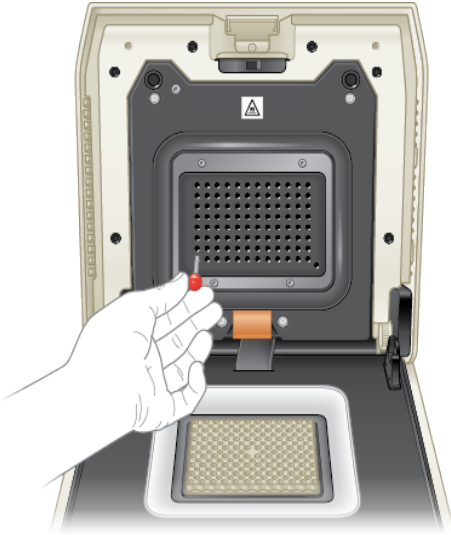
Shipping Screw is inserted.

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

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

Remove Screw **Main Menu**

2. Følg instruktionerne for at fjerne forsendelsesskruen. Det følgende diagram viser placeringen af forsendelsesskruen.



Bemærk: Du skal isætte skruen igen, hvis det skulle blive nødvendigt at returnere reaktionsmodulet. Gem skruet et sikkert og tilgængeligt sted.

Isætning af prøveplader

For at sikre ensartet opvarmning og afkøling af prøver skal pladerne være i fuldstændig kontakt med reaktionsblokken. For at sikre tilstrækkelig kontakt skal du gøre følgende:

- Kontrollér, at blokken er ren inden indsætning af prøver.
- Tryk de individuelle rør, rørstrips eller mikroplader ind i blokbrøndene med fast hånd.
- Når der anvendes et eller nogle få rør, skal du anvende rørholderen (katalognr. 1849000 eller 1849001) eller isætte mindst ét tomt rør i hvert hjørne af blokken for at sikre, at låget udøver et jævnt tryk på de enkelte rør.

Isætning af plader i det optiske reaktionsmodul

Vigtigt: Ved kørsel af CFX Dx system skal rørstrips altid afbalanceres eller der skal sættes hætter på hjørnebrøndene for at sikre, at det opvarmede låg påfører et jævnt tryk på tværs af blokken.

Sådan isættes pladerne i det optiske reaktionsmodul

1. For at åbne det motoriserede låg skal du gøre et af følgende:
 - Klik på Open Lid (Åbn låget) i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter) i CFX Manager Dx softwaren.
 - Klik på Open Lid (Åbn låget) på fanen Start Run (Start kørsel) i softwaren.
 - Tryk på knappen til låget på fronten af instrumentet.

2. Placer mikropladen, individuelle rør eller rørstrips med forseglede låg på blokken.

Vigtigt: Kontrollér, at rørene er fuldstændigt forseglede for at undgå lækage.

Tip: For optimale resultater isættes der et prøvevolumen på 10-25 µl på CFX Dx system.

3. For at sikre en nøjagtig dataanalyse skal det kontrolleres, at orienteringen af reaktionerne på blokken er præcis den samme som orienteringen af brøndenes indhold på fanen Plate (Plade) i CFX Manager Dx softwaren.

Tip: Du kan redigere brøndenes indhold ved hjælp af CFX Manager Dx softwaren før, under eller efter kørslen.

4. For at lukke det motoriserede låg skal du gøre et af følgende:
 - Tryk på knappen til låget på instrumentet.
 - Klik på Close Lid (Luk låget) i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter) i softwaren.
 - Klik på Close Lid (Luk låget) på fanen Start Run (Start kørsel) i softwaren.

Vigtigt: Sørg for, at der ikke er noget, som blokerer låget, når det lukker. Selv om der er en sikkerhedsmekanisme, som forhindrer låget i at lukke, hvis der registreres en obstruktion, må du aldrig placere noget, der kan komme i vejen for låget, før dette lukkes.

PCR-plastik og reagensforbrugsvarer

For at finde og bestille anbefalede plastikforbrugsvarer til CFX Dx systemet skal du gå til [Bio-Rads websted](#). Du kan åbne dette websted fra menupunktet Help > PCR Plastic Consumables Web Site (Hjælp > Websted for PCR-plastikforbrugsvarer) i CFX Manager Dx softwaren. Derudover henvises til [Plastics Selector](#) (Plastikvælger) og [Reagents Selector](#) (Reagensvælger) for nemmere at finde og bestille plastikforbrugsvarer og reagenser til dine specifikke hardware- og PCR-behov.

Registrering af tilsluttede instrumenter

Under installationen installerer CFX Manager Dx software automatisk instrumentets drivere på den computer, der kører CFX Manager Dx software. CFX Manager Dx registrerer tilsluttede instrumenter, når softwaren startes.

Vigtigt: Du skal frakoble C1000 Dx termocyklere fra CFX Manager Dx computeren, før du installerer softwaren. Det er ikke nødvendigt at slukke for termocyklere under installation af softwaren.

Sådan registreres tilsluttede instrumenter

1. Hvis det ikke allerede er gjort, skal den firkantede (han) ende af det medfølgende USB type B-kabel tilsluttes til USB type B-porten, der findes bag på -basen.
2. Indsæt den anden ende (port) i en USB-port på CFX Manager Dx computeren.
3. Hvis termocyklere ikke allerede kører, skal du trykke på tænd/sluk-knappen bag på instrumentet for at tænde det.
4. Start CFX Manager Dx software.

Software registrerer automatisk det tilsluttede instrument og viser dets navn i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter) i startvinduet.

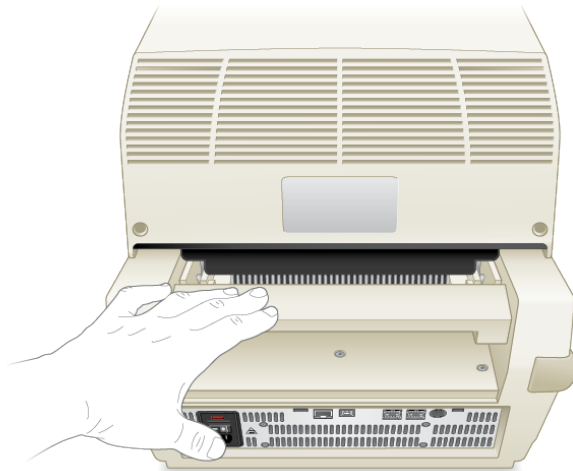
Bemærk: Hvis instrumentet ikke vises i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter), skal du kontrollere, at USB-kablet er isat korrekt. For at geninstallere driverne skal du vælge Tools > Reinstall Instrument Drivers (Værktøjer > Geninstaller instrumentdrivere) i startvinduet i CFX Manager Dx software.

Fjernelse af reaktionsmodul

Vigtigt: Sluk for C1000 Dx termocykleren, inden reaktionsmodul fjernes (se [Nedlukning af C1000 Dx termocykleren på side 32](#)). Kølefinnerne i reaktionsmodul kan være meget varme lige efter kørsel af en protokol eller inkubation. Kontrollér, at finnerne af afkølede, inden reaktionsmodul fjernes.

Sådan fjernes det optiske reaktionsmodul fra termocykler-basen

1. Tryk låsestangen på bagsiden af termocykler-basen ned for at oplåse og frigøre det optiske reaktionsmodul.



2. Løft forsigtigt det optiske reaktionsmodul ud af rummet med grebene på hver side.
3. Sæt det optiske reaktionsmodul på en ren, flad overflade, hvor det ikke kan stødes, rides eller falde på gulvet.

Nedlukning af C1000 Dx termocykleren

Sådan lukkes termocykleren ned

1. Tryk på knappen til at åbne låget foran på CFX optisk reaktionsmodul efter kørslen for at få adgang til de prøver, der er sat i blokken.
2. Tag prøverne ud af blokken, og tryk på knappen til at lukke låget for at lukke det.
3. Tryk på tænd/sluk-knappen på bagpanelet på C1000 Dx termocykleren for at slukke for systemet.

Kapitel 3 Installation af CFX Manager Dx softwaren

Dette kapitel forklarer, hvordan CFX Manager™ Dx softwaren installeres.

CFX Manager Dx software er nødvendig for at kunne analysere real-time PCR-data fra CFX96™ Dx og CFX96 Deep Well Dx systemerne. Du kan også bruge softwaren til at styre disse systemer i software-styret tilstand.

For oplysninger om installation af CFX Dx system termocykleren og det optiske reaktionsmodul henvises til [Opsætning af C1000 Dx termocykleren på side 21](#).

Systemkrav

Tabel 8 indeholder en liste med minimums- og anbefalede systemkrav for den computer, der kører CFX Manager Dx software (kaldet CFX Manager Dx computeren).

Tabel 8. Krav til computeren for CFX Manager Dx software

System	Minimum	Anbefalet
Operativsystem	Microsoft Windows 7 SP1 Pro	Et af følgende: <ul style="list-style-type: none"> ■ Microsoft Windows 7 SP2 Pro (32- og 64-bit) ■ Microsoft Windows 10 Pro (kun 64-bit) ■ Microsoft Windows 10 Enterprise (kun 64-bit)
Vigtigt: Sikker bootstart skal være deaktiveret både på Microsoft Windows 10 Pro og Enterprise.		
Porte	2 USB 2.0 højhastighedsporte	2 USB 2.0 højhastighedsporte
Harddiskplads	128 GB	128 GB
Processorhastighed	2,4 GHz, Dual Core	2,4 GHz, Quad Core
RAM	4 GB RAM	8 GB RAM
Skærmopløsning	1024 x 768 med true-color-tilstand	1280 x 1024 med true-color-tilstand
PDF-læser		Adobe PDF Reader eller Windows PDF Reader fra en af de understøttede Microsoft Office Suites: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2007 ■ 2010 ■ 2013

Installation af CFX Manager Dx softwaren

Vigtigt: Du skal frakoble alle tilsluttede instrumenter fra CFX Manager Dx computeren, før du installerer og opgraderer softwaren. Det er ikke nødvendigt at slukke for termocykleren under installation af softwaren. Kontrollér, at alle kørsler er gemt, og at der ikke kører nogen eksperimenter.

Bemærk: Hvis CFX Manager Dx software installeres på Windows 10, skal du kontrollere, at Sikker bootstart er deaktiveret inden installationen.

Sådan installeres CFX Manager Dx software

1. Om nødvendigt frakobles alle tilsluttede instrumenter fra computeren.
Find og frakobl instrumentets USB-kabel fra CFX Manager Dx computeren. Den ende, der er tilsluttet til instrumentet, behøver ikke at blive frakoblet.
2. Log på CFX Manager Dx computeren med administratorrettigheder.
3. Læg CFX Manager Dx software-cd'en i computerens cd-drev.
4. Softwarens velkomstsider vises normalt automatisk. Dobbeltklik på Install Software (Installer software) på softwarens velkomstsider.

Bemærk: Hvis velkomstsiden ikke åbnes automatisk, skal du navigere til cd-drevet, åbne mappen CFX_Manager og dobbeltklikke på setup.exe for at starte guiden til installation af softwaren.

Tip: I installationsguiden skal du klikke på knappen Documentation (Dokumentation) for at finde kopier af versionsnoter, instrumentvejledninger og anden dokumentation, der kan søges i.

5. Følg instruktionerne på skærmen for at fuldføre installationen. Efter installationen vises ikonet for CFX Manager på computerens skrivebord.
6. Cd'en kan skubbes ud, når installationen er færdig.

Registrering af tilsluttede instrumenter

Under installationen installerer CFX Manager Dx softwareinstallationsprogrammet automatisk instrumentets drivere på CFX Manager Dx computeren. CFX Manager Dx registrerer tilsluttede instrumenter, når softwaren startes.

Sådan registreres tilsluttede instrumenter

1. Hvis det ikke allerede er gjort, skal den firkantede ende (han) af det medfølgende USB-kabel (type B) sættes i USB-porten (type B) bag på instrumentets base.

2. Indsæt den anden ende (port) i en USB-port på CFX Manager Dx computeren.
3. Hvis instrumentet ikke allerede kører, skal du trykke på tænd/sluk-knappen bag på instrumentet for at tænde det.
4. Start CFX Manager Dx.

Software registrerer automatisk det tilsluttede instrument og viser dets navn i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter) i startvinduet.

Bemærk: Hvis instrumentet ikke vises i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter), skal du kontrollere, at USB-kablet er isat korrekt. For at geninstallere driverne skal du vælge Tools > Reinstall Instrument Drivers (Værktøjer > Geninstaller instrumentdrivere) i startvinduet i CFX Manager Dx.

Softwarefiler

Tabel 9 indeholder en liste over filtyperne i CFX Manager Dx software.

Tabel 9. Filtyper i CFX Manager Dx software

Filtype	Filtypenavn	Detaljer
Protokol	.prcl	Indeholder detaljerede oplysninger om protokollens opsætning til udførelse af en PCR-kørsel.
Plade	.pltd	Indeholder detaljerede oplysninger om pladens opsætning til udførelse af en PCR-kørsel.
Data	.pcrd	Indeholder resultaterne af en eksperimentkørsel og PCR-analyse.
PrimePCR™ kørsel	.csv	Indeholder protokol og pladelayout til PrimePCR-plader.
Genstudie	.mgxd	Indeholder resultaterne fra flere PCR-kørsler og genekspressionsanalyser.
LIMS	.plm	Indeholder oplysninger om pladeopsætningen og protokollen, der er nødvendige for at kunne køre en LIMS-kompatibel kørsel.

Anbefalede foranstaltninger omkring internetsikkerhed

Bio-Rad anbefaler at implementere foranstaltninger vedrørende internetsikkerhed i samarbejde med it-afdelingen for den computer, der bruges med CFX96 Dx systemet. For eksempel:

- Installer og konfigurer passende antivirus- og firewallapplikationer.
Vigtigt: Konfigurer virusscanning til at køre uden for arbejdstiden, eller når instrumentet ikke bruges. Hvis der startes en virusscanning, mens CFX Manager Dx kører et eksperiment, kan det annullere kørslen, og dataene kan gå tabt.
- CFX Manager Dx software har ikke en timeout-funktion for inaktiv bruger. Implementer sikkerhedsforanstaltninger for brugeradgang ved brug af Windows eller tredjepartssoftware (implementer for eksempel en pauseskærm, der kræver login).
- Sikkerhed omkring flytbare medier:
 - Brug adgangskoder og kryptering på din USB-enhed for at beskytte dataene.
 - Deaktiver funktioner for automatisk eksekvering og afspilning for alle flytbare medieenheder.
 - Håndhæv scanning af USB-enheder, når der tilsluttes et USB-drev.
- Brug et sikkerhedskopieringsværktøj for at gøre gendannelse af data lettere.

Kapitel 3 Installation af CFX Manager Dx softwaren

Kapitel 4 Arbejdsområdet

CFX Manager™ Dx software indeholder en grænseflade til opsætning af plader, udvikling af PCR-protokoller, kørsel af disse på CFX Dx instrumenter og analyse af data fra PCR-kørsler.

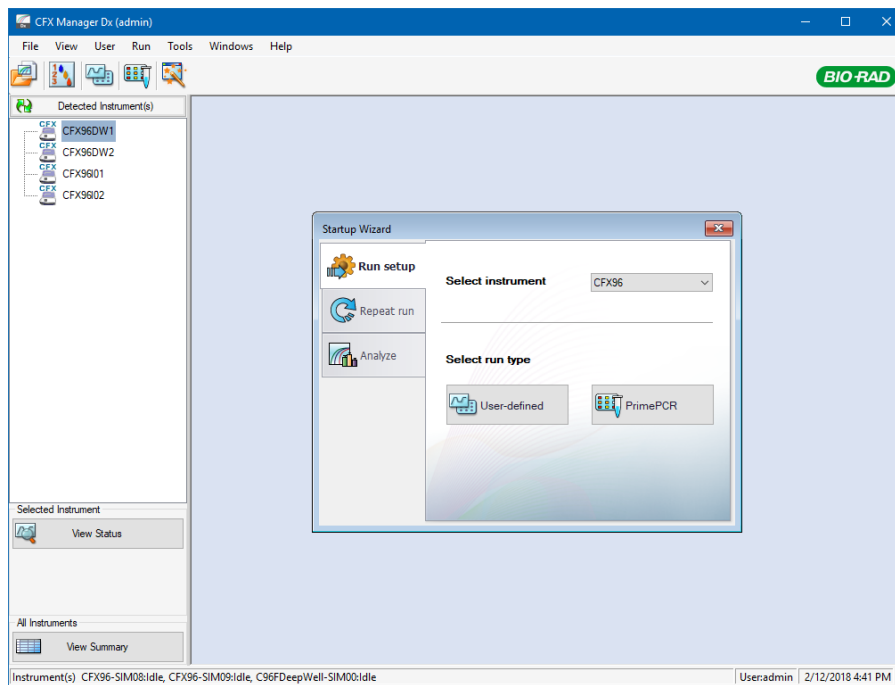
CFX Manager Dx softwaren indeholder fem primære arbejdsområder:

- Startvinduet
- Startup Wizard (Guiden Opstart)
- Vinduet Protocol Editor (Protokoleditor)
- Vinduet Plate Editor (Pladeeditor)
- Vinduet Data Analysis (Dataanalyse)

Dette kapitel indeholder en kort beskrivelse og en visning af hvert arbejdsområde.

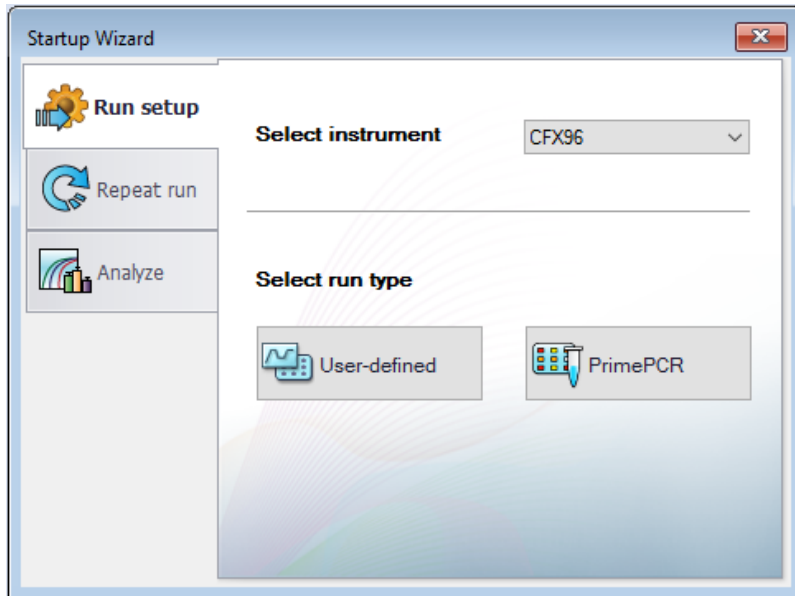
Startvinduet

CFX Manager Dx software åbner i startvinduet og viser Startup Wizard (Guiden Opstart), og her kan du opsætte et eksperiment, foretage eller gentage en kørsel eller analysere en eksisterende kørsel. I startvinduet kan du desuden se applikations- og instrumentlogfiler, oprette og administrere brugere samt få adgang til adskillige nyttige redskaber. Der står flere oplysninger i [Kapitel 5, Startvinduet](#).



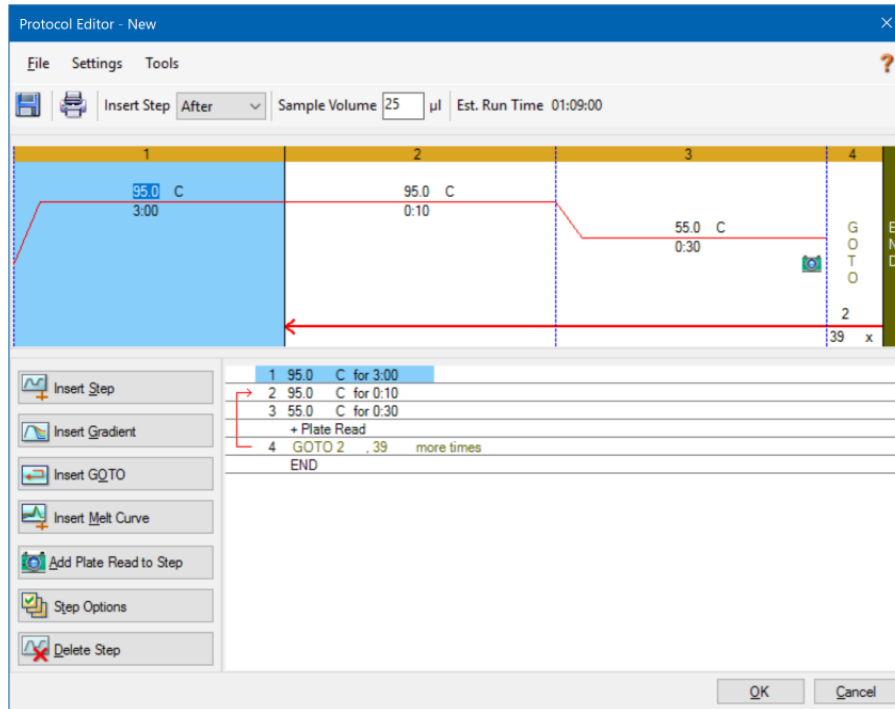
Startup Wizard (Guiden Opstart)

Brug Startup Wizard (Guiden Opstart) til hurtig opsætning og kørsel af brugerdefinerede eksperimenter, eller vælg og kørsel et PrimePCR™ eksperiment. Du kan også bruge denne guide til at gentage en kørsel eller analysere kørselsdata.



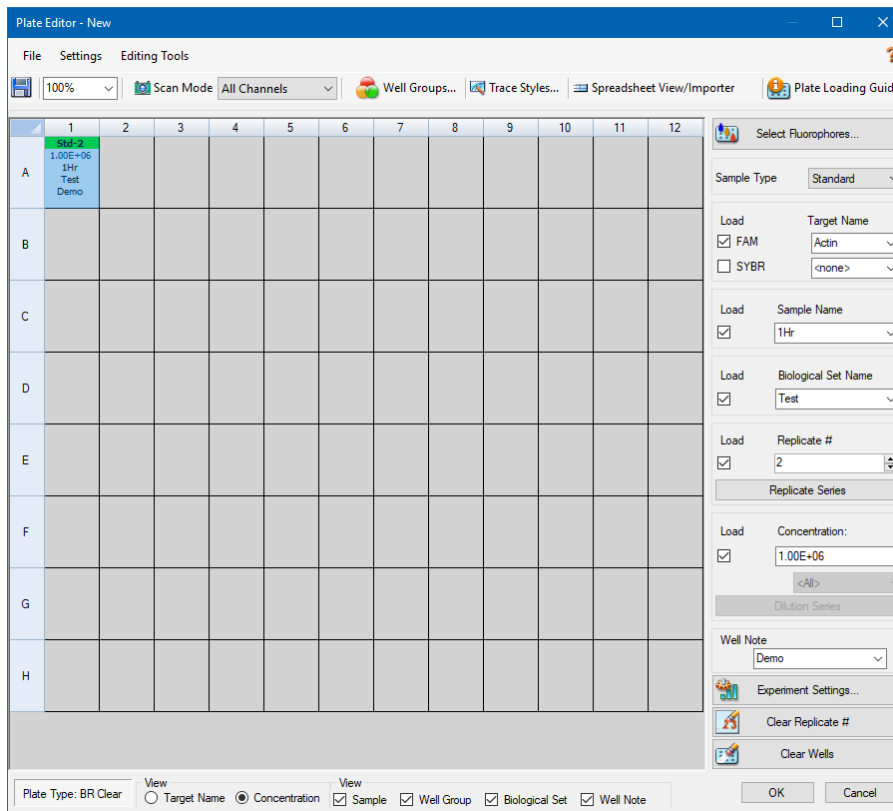
Vinduet Protocol Editor (Protokoleditor)

I Protocol Editor (Protokoleditor) kan du oprette, åbne, gennemgå og redigere en protokol. Du kan også ændre lågets temperatur for den åbne protokol. Funktionerne i Protocol Editor (Protokoleditor) er nærmere beskrevet i [Kapitel 6, Oprettelse af protokoller](#).



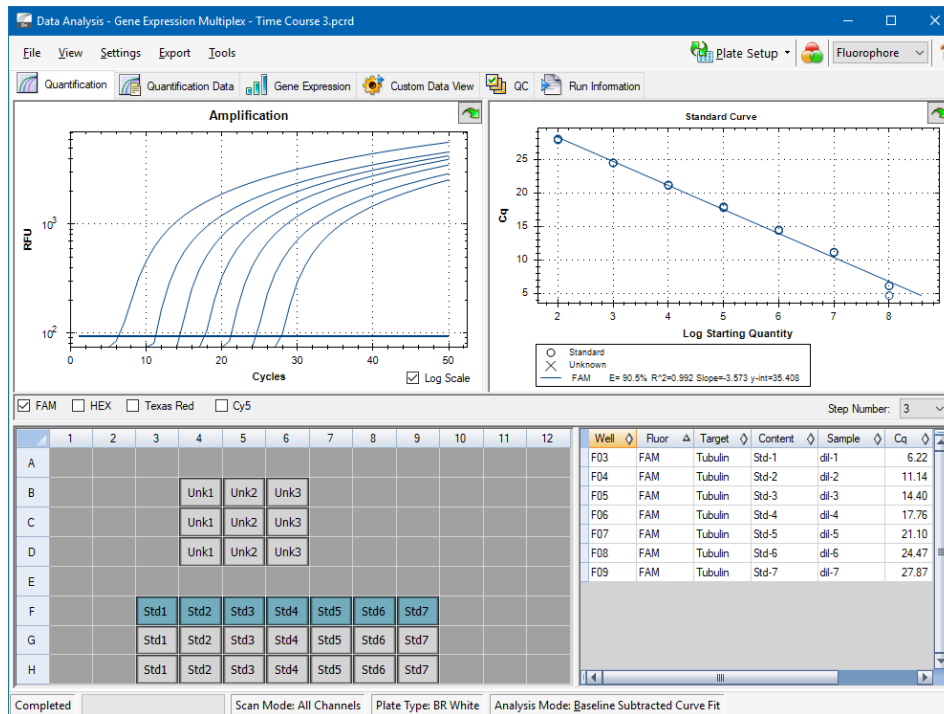
Vinduet Plate Editor (Pladeeditor)

I Plate Editor (Pladeeditor) kan du oprette, åbne, gennemgå og redigere en plade. Funktionerne i Plate Editor (Pladeeditor) er nærmere beskrevet i [Kapitel 7, Klargøring af plader](#).



Vinduet Data Analysis (Dataanalyse)

I vinduet Data Analysis (Dataanalyse) er der mulighed for at se og sammenligne kørselsdata, foretage statistiske analyser, eksportere data og oprette rapporter, der er klar til offentliggørelse. Funktionen Data Analysis (Dataanalyse) er nærmere beskrevet i [Kapitel 9, Oversigt over dataanalyse](#). Se desuden [Kapitel 10, Detaljerede oplysninger om dataanalyse](#).



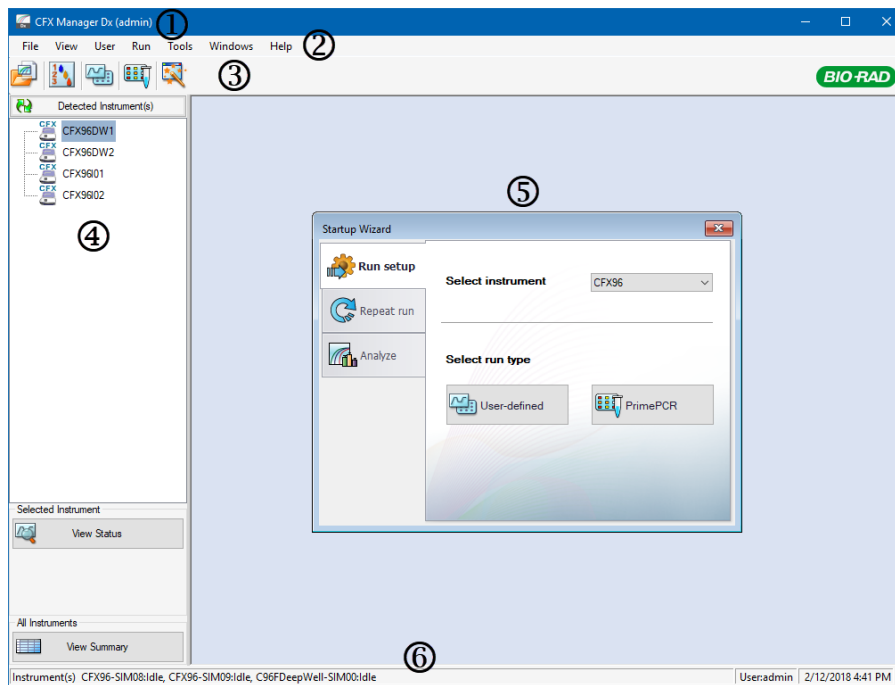
Kapitel 5 Startvinduet

CFX Manager™ Dx softwaren indeholder en grænseflade til udvikling af PCR-protokoller, kørsel af dem på CFX Dx systemer og analyse af PCR-kørte data.

Dette kapitel indeholder en introduktion til CFX Manager Dx software og en beskrivelse af de funktioner, som er tilgængelige fra startvinduet.

Startvinduet

CFX Manager Dx åbner i startvinduet og viser Startup Wizard (Guiden Opstart), og her kan du opsætte en kørsel, foretage eller gentage en kørsel eller analysere en eksisterende kørsel. I startvinduet kan du desuden se applikations- og instrumentlogfiler, oprette og administrere brugere samt få adgang til adskillige nyttige redskaber.



FORKLARING

1. Softwarens titellinje viser navnet på softwaren og den bruger, der er logget på.
2. Menulinjen giver hurtig adgang til kommandoerne i menuerne File (Fil), View (Vis), User (Bruger), Run (Kørsel), Tools (Værktøjer), Window (Vindue) og Help (Hjælp).
3. Kommandoerne på værktøjslinjen giver hurtig adgang til menupunkterne.
4. Venstre rude viser de instrumenter, der er forbundet til CFX Manager Dx computeren, og indeholder knapper, som anvendes til betjening af låget og visning af instrumenternes status.
5. Hovedruden viser arbejdsvinduet. Standardarbejdsvinduet på startskærmen er Startup Wizard (Guiden Opstart).
6. Statuslinjen viser navne på de tilsluttede instrumenter og den bruger, der er logget på.

Kommandoer i menuen File (Fil)

New (Ny) – åbner en dialogboks, hvorfra du kan vælge at oprette en ny protokol, en ny plade eller et nyt genstudie.

Open (Åbn) – åbner en dialogboks, hvorfra du kan vælge at navigere til og åbne en eksisterende protokol, en eksisterende plade, en eksisterende datafil, et eksisterende genstudie eller en eksisterende LIMS-fil eller PrimePCR™ kørselsfil.

Recent Data Files (Seneste datafiler) – viser en liste over senest åbnede PCR-filer.

Repeat a Run (Gentag en kørsel) – åbner Windows Stifinder på placeringen af gemte PCR-filer, hvor du kan finde en kørsel, der skal gentages.

Exit (Afslut) – lukker CFX Manager Dx.

Kommandoer i menuen View (Vis)

Application Log (Applikationslogfil) – viser en logfil over softwarebrug fra den første installation til dags dato.

Run Reports (Kør rapporter) – viser en liste over kørte rapporter.

Startup Wizard (Guiden Opstart) – viser Startup Wizard (Guiden Opstart) i hovedvinduet.

Run Setup (Kørselsopsætning) – viser vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) i hovedvinduet.

Instrument Summary (Instrumentoversigt) – viser vinduet Instrument Summary (Instrumentoversigt) i hovedvinduet.

Detected Instruments (Registrerede instrumenter) – skifter mellem at vise og skjule tilsluttede instrumenter i venstre rude. Softwaren viser som standard tilsluttede instrumenter i venstre rude.

Toolbar (Værktøjslinje) – skifter mellem at vise og skjule værktøjslinjen øverst på skærmen. Softwaren viser som standard værktøjslinjen.

Statuslinje – skifter mellem at vise og skjule statuslinjen nederst på skærmen. Softwaren viser som standard statuslinjen.

Show (Vis) – åbner en dialogboks, hvorfra du kan

- se eller blokere statuslogfilen.
- åbne og se CFX Manager Dx datamappen.
- åbne og se brugerens datamappe.
- åbne og se LIMS-filmappen.

- åbne og se PrimePCR-mappen.
- se kørselshistorikken.
- se egenskaber for alle tilsluttede instrumenter.

Kommandoer i menuen User (Bruger)

Select User (Vælg bruger) – åbner skærmen Login, hvor du kan vælge en bruger fra rullelisten User Name (Brugernavn) og logge på applikationen.

Change Password (Skift adgangskode) – åbner dialogboksen Change Password (Skift adgangskode), hvor brugerne kan ændre deres adgangskode til CFX Manager Dx software.

User Preferences (Brugerpræferencer) – åbner dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer), hvor brugerne kan ændre standardindstillingerne for

- Afsendelse og modtagelse af e-mailbesked ved afslutningen af kørslen
- Lagring af datafiler
- Oprettelse af protokoller via Protocol Editor (Protokoleditor) eller Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver)
- Oprettelse af plader
- Analyse af data
- Udførelse af genekspressionsanalyse
- Bestemmelse af datakvalitet
- Eksport af CFX Dx instrumentdata

User Administration (Brugeradministration) – åbner dialogboksen User Administration (Brugeradministration), hvor administratorene kan oprette brugere, ændre rolletilladelser og tildele roller til brugere.

Bio-Rad Service Login – kun til brug for Bio-Rad teknisk servicepersonale. Undlad at bruge denne kommando.

Kommandoer i menuen Run (Kør)

User-defined Run (Brugerdefineret kørsel) – åbner vinduet Run Setup (Kørselsopsætning), i hvilket det er muligt at indstille en brugerdefineret protokol og plade og derefter køre et PCR-eksperiment på udvalgte instrumenter.

PrimePCR Run (PrimePCR-kørsel) – åbner fanen Start Run (Start kørsel) i vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) med standard-PrimePCR-protokollen og -pladelayoutet indlæst baseret på det valgte instrument.

End-Point Only Run (Kun endepunktskørsel) – åbner fanen Start Run (Start kørsel) i vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) med standardendepunktsprotokollen og -pladelayoutet indlæst baseret på det valgte instrument.

Qualification Run (Kvalificeringskørsel) – åbner fanen Start Run (Start kørsel) i vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) med standardkvalificeringsprotokollen og -pladelayoutet i Bio-Rad indlæst for det valgte instrument.

Kommandoer i menuen Tools (Værktøjer)

Master Mix Calculator (Mastermix-beregner) – åbner Master Mix Calculator (Mastermix-beregner), hvor du kan oprette en reaktionsblanding og udskrive beregningerne.

Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) – åbner dialogboksen Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver), hvor du nemt kan oprette en ny protokol.

T_a Calculator (T_a-beregner) – åbner T_a Calculator (T_a-beregner), hvor du nemt kan beregne hybridiseringstemperaturen for primerne.

Dye Calibration Wizard (Guide til farvestofkalibrering) – åbner Dye Calibration Wizard (Guide til farvestofkalibrering), hvor du kan kalibrere et instrument til en ny fluorofor.

Reinstall Instrument Drivers (Geninstaller instrumentdrivere) – geninstallerer de drivere, som kontrollerer kommunikationen med Bio-Rads real-time PCR-systemer.

Zip Data and Log Files (Zip data- og logfiler) – åbner en dialogboks, hvor du kan vælge filer, der skal pakkes og gemmes i en zippet fil, som kan gemmes eller sendes via e-mail.

Batch Analysis (Batchanalyse) – åbner dialogboksen Batch Analysis (Batchanalyse), hvor du kan indstille parametre til analyse af mere end én datafil ad gangen.

Options (Valgmuligheder) – åbner en dialogboks, hvor du kan

- Konfigurere indstillingerne for e-mailserveren.
- Konfigurere eksportindstillinger for LIMS og andre datafiler.

Kommandoer i menuen Help (Hjælp)

Tip: Menuen Help (Hjælp) er tilgængelig på menulinjen i alle vinduer i CFX Manager Dx software.

Open Operation Manual (Åbn driftsvejledning) – åbner en PDF med denne vejledning.

Gene Expression Gateway Web Site – åbner Bio-Rads hjemmeside for CFX Dx system.

PCR Reagents Web Site – åbner Bio-Rads websted for PCR-reagenser, hvor du kan bestille PCR-reagenser, supermixes, farvestoffer og kits.

PCR Plastic Consumables Web Site – åbner Bio-Rads websted for PCR Plastics and Consumables, hvor du kan bestille PCR-plader, pladeforseglinger, rør og hætter og andet tilbehør i plastik.

Software Web Site – åbner Bio-Rads websted for PCR Analysis softwaren, hvor du kan bestille opdaterede version af Bio-Rads CFX Manager Dx software.

About (Om) – viser oplysninger om copyright og version for CFX Manager Dx.

Kommandoer på værktøjslinjen



– åbner Windows Stifinder, hvor du kan navigere til og åbne en datafil eller en genstudiefil.



– åbner Master Mix Calculator (Mastermix-beregner).



– åbner vinduet Run Setup (Kørselsopsætning).



– åbner vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) med standard-PrimePCR-protokollen og -pladelayoutet indlæst baseret på det valgte instrument.

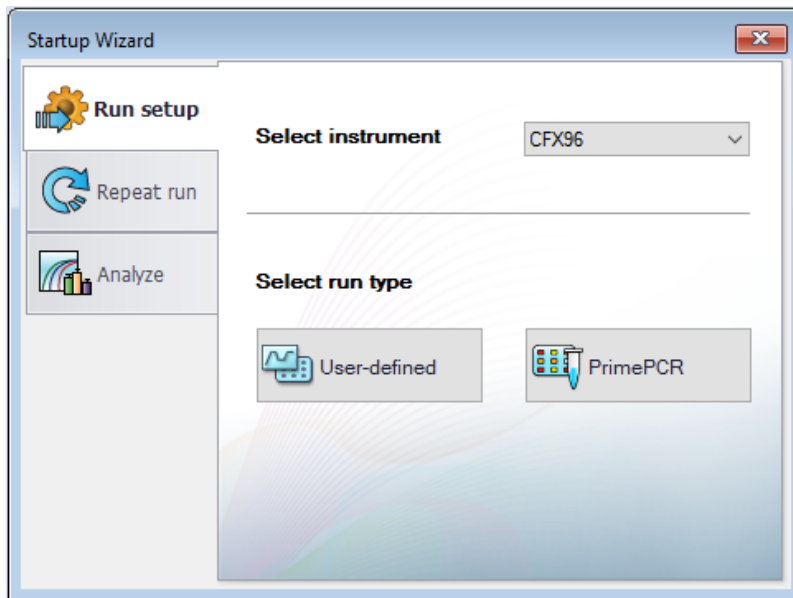


– åbner Startup Wizard (Guiden Opstart).

Startup Wizard (Guiden Opstart)

Når CFX Manager Dx starter, viser arbejdsruden Startup Wizard (Guiden Opstart). I Startup Wizard (Guiden Opstart) kan du

- Vælge et instrument fra listen med registrerede instrumenter og opsætte en brugerdefineret eller PrimePCR-kørsel.
- Åbne og gentage en kørsel.
- Åbne en datafil for at analysere resultater fra en enkelt kørsel eller en genstudiefil med resultater fra flere genekspressionskørsler.



Disse opgaver er nærmere beskrevet i de efterfølgende kapitler.

Statuslinje

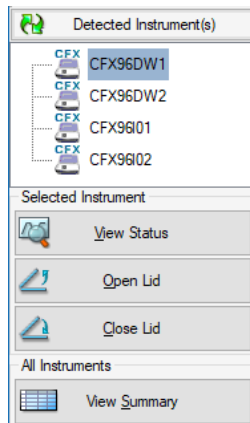
I venstre side af statuslinjen nederst i hovedvinduet i softwaren vises aktuel status for registrerede instrumenter. I højre side af statuslinjen vises navnet på den aktuelle bruger samt dato og klokkeslæt.

Ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter)

I ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter) vises alle instrumenter, som er forbundet til CFX Manager Dx computeren. Hvert instrument vises som standard som et ikon og dets serienummer vises som dets navn.

For eksempel viser følgende billede fire registrerede instrumenter:

- To C1000™ termocyklere med CFX96™ Deep Well reaktionsmoduler (CFX96DW1 og CFX96DW2)
- To C1000™ termocyklere med CFX96™ reaktionsmoduler (CFX96I01 og CFX96I02)



Følgende kan gøres i denne rude:

- Se egenskaber og kalibrerede farvestoffer for et valgt instrument.

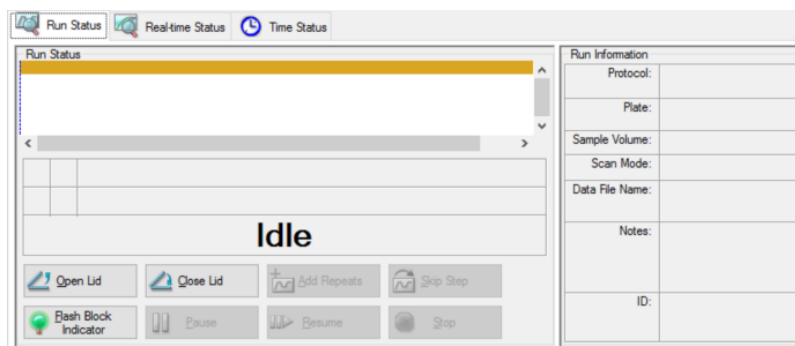
Der findes flere oplysninger om instrumentegenskaber i [Visning af egenskaberne for et instrument på side 56](#).

- Se status for et tilsluttet instrument.
- Åbne det motoriserede låg på det valgte instrument.
- Lukke det motoriserede låg på det valgte instrument.
- Se status for alle tilsluttede instrumenter.

Sådan vises status for et tilsluttet instrument

- ▶ Vælg det ønskede instrument i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter), og gør et af følgende:
 - Klik på View Status (Vis status) i sektionen Selected Instrument (Valgt instrument).
 - Højreklik, og vælg View Status (Vis status) i den menu, som vises.

Dialogboksen Run Details (Kørselsdetaljer) åbner og viser fanen Run Status (Kørselsstatus). Status for det valgte instrument vises neden for ruden med kørselens status, for eksempel:



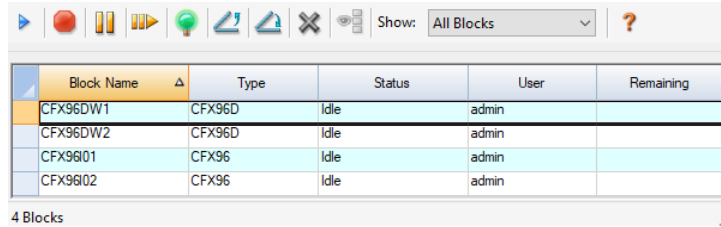
Sådan åbnes eller lukkes låget på et instrument

- ▶ Vælg det ønskede instrument i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter), og gør et af følgende:
 - Klik på Open Lid (Åbn låget) eller Close Lid (Luk låget) i sektionen Selected Instrument (Valgt instrument).
 - Højreklik, og vælg den relevante handling i den menu, som vises.
 - Åbn dialogboksen Run Details (Kørselsdetaljer), vælg fanen Run Status (Kørselsstatus), og klik på Open Lid (Åbn låget) eller Close Lid (Luk låget).

Sådan vises status for alle registrerede instrumenter

- ▶ Gør et af følgende:
 - Klik på View Summary (Vis oversigt) i sektionen All Instruments (Alle instrumenter) i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter).
 - Vælg View > Instrument Summary (Vis > Instrumentoversigt) på menulinjen.

Dialogboksen Instrument Summary (Instrumentoversigt) vises:



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

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


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

Tip: Hvis systemet kun registrerer ét tilsluttet instrument, vises sektionen All Instruments (Alle instrumenter) ikke i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter). Vælg View > Instrument Summary (Vis > Instrumentoversigt) for at se instrumentoversigten for et enkelt instrument.

Betjeningselementer i værktøjslinjen Instrument Summary (Instrumentoversigt)

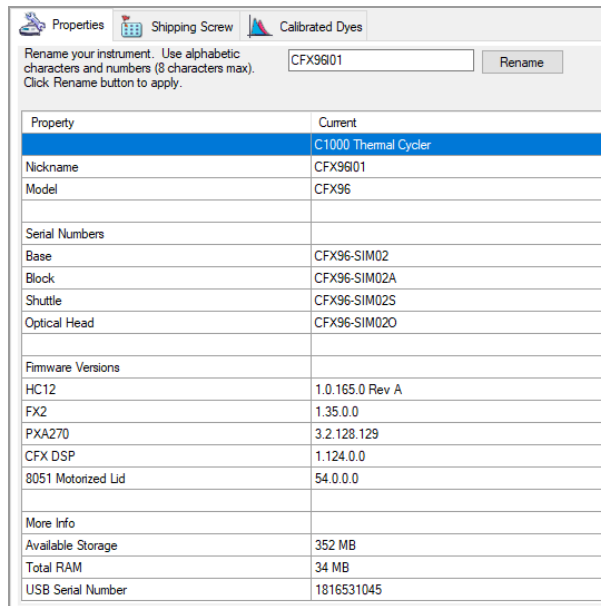
Tabel 10 indeholder en liste over betjeningselementer og funktioner i værktøjslinjen Instrument Summary (Instrumentoversigt).

Tabel 10. Betjeningselementer i værktøjslinjen Instrument Summary (Instrumentoversigt)

Knap	Knapnavn	Funktion
	Create a new Run (Opret en ny kørsel)	Opretter en kørsel på den valgte blok ved at åbne vinduet Run Setup (Kørselsopsætning).
	Stop	Stopper den igangværende kørsel på valgte blokke.
	Pause	Sætter den igangværende kørsel på valgte blokke på pause.
	Resume (Genoptag)	Genoptager kørslen på valgte blokke.
	Flash Block Indicator (Lad blokindikator blinke)	Blinker med LED-indikatoren på låget af de valgte blokke.
	Open Lid (Åbn låget)	Åbner den valgte bloks motoriserede låg.
	Close Lid (Luk låget)	Lukker den valgte bloks motoriserede låg.
	Hide Selected Blocks (Skjul valgte blokke)	Skjuler de valgte blokke på listen Instrument Summary (Instrumentoversigt).
	Show All Blocks (Vis alle blokke)	Viser de valgte blokke på listen Instrument Summary (Instrumentoversigt).
	Show (Vis)	Vælger, hvilke blokke der skal vises på listen. Vælg en af mulighederne for at vise alle registrerede blokke, alle inaktive blokke, blokke der kører med den aktuelle bruger, eller alle igangværende blokke

Visning af egenskaberne for et instrument

I ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter) kan du se detaljerede oplysninger om et valgt instrument, herunder instruments egenskaber, status for forsendelsesskruen og en liste over kalibrerede farvestoffer (fluoroforer).



Sådan vises instrumentegenskaber

- ▶ Højreklik på det ønskede instrument i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter), og vælg Properties (Egenskaber) i den viste menu.

Fanen Properties (Egenskaber)

Fanen Properties (Egenskaber) viser tekniske oplysninger om det valgte instrument, herunder model, serienumre på komponenter og firmwareversioner. Instrumentets standardnavn (serienummeret) vises mange steder, herunder i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter) og i overskriftslinjen i dialogboksen Instrument Properties (Instrumentegenskaber). Du kan omdøbe instrumentet for lettere at identificere det.

Sådan omdøbes et instrument

- Skriv et navn i feltet Rename (Omdøb) øverst på fanen Properties (Egenskaber) på fanen Instrument Properties (Instrumentegenskaber), og klik på Rename (Omdøb).

Det nye navn vises i rækken Nickname (Kaldenavn) på fanen Properties (Egenskaber) samt på overskriftslinjen i Instrument Properties (Instrumentegenskaber) og i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter).

Fanen Shipping Screw (Forsendelsesskrue)

På fanen Shipping Screw (Forsendelsesskrue) vises den aktuelle status for forsendelsesskruen til det valgte instrument (Removed (Fjernet) eller Installed (Installeret)). Fanen indeholder også instruktioner til installation eller fjernelse af den røde forsendelsesskrue.

Tip: Hvis softwaren registrerer forsendelsesskruen, vises fanen Shipping Screw (Forsendelsesskrue) automatisk i dialogboksen Instrument Properties (Instrumentegenskaber). Følg instruktionerne for at fjerne skruen.

Bemærk: Du skal fjerne forsendelsesskruen, før du kan bruge instrumentet. Du kan finde flere oplysninger i [Fjernelse af forsendelsesskruen på side 28](#).

Fanen Calibrated Dyes (Kalibrerede farvestoffer)

Fanen Calibrated Dyes (Kalibrerede farvestoffer) viser de kalibrerede fluoroforer og plader for det valgte instrument.

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

For at se detaljerede oplysninger om en kalibrering skal du klikke på Info-knappen i kolonnen Details (Detaljer).

Inden du starter

Indstilling af brugerpræferencer

Tip: Det er ikke nødvendigt at udføre disse trin for at kunne bruge CFX Manager Dx software. Det er ikke et problem at springe dette afsnit over eller udføre disse opgaver på et andet tidspunkt.

I CFX Manager Dx er det muligt at tilpasse arbejdsmiljøet. Hvis stedets systemadministrator har oprettet softwarebrugere, kan den enkelte bruger tilpasse sit arbejdsmiljø. Hvis systemadministratoren ikke har oprettet brugere, vil ændringer af præferencer gælde for alle, som logger på CFX Manager Dx. (For oplysninger om oprettelse af brugere i CFX Manager Dx henvises til [Appendiks B, Administration af brugere og roller på CFX Manager Dx](#)).

For eksempel kan du gøre følgende i menuen Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer):

- Opsætte e-mailbeskeder ved afslutning af kørslen.
- Ændre standardindstillingerne for
 - Den placering, hvor filer gemmes
 - Kørselsopsætningsfiler
 - Præfiks til filnavn
- Indstille de standardparametre, der skal bruges ved oprettelse af en ny protokol og plade.
- Indstille standardparametre for dataanalyse og genekspression.
- Tilpasse standardkvalitetskontrolparametrene.
- Tilpasse dataparametrene for dataeksport.

I menuen Tools (Værktøjer) kan du gøre følgende:

- Oprette en mastermix.
- Kalibrere farvestoffer til et specifikt instrument.

Bemærk: Mastermix og farvestofkalibrering er tilgængelige for enhver, som logger på CFX Manager Dx.

Dette afsnit forklarer i detaljer, hvordan disse opgaver udføres.

Opsætning af e-mailbeskeder

Du kan oprette forbindelse mellem CFX Manager Dx og en udgående e-mailserver for at sende e-mailbeskeder ved kørselens afslutning til en liste med brugere. Du kan også vedhæfte en datafil og

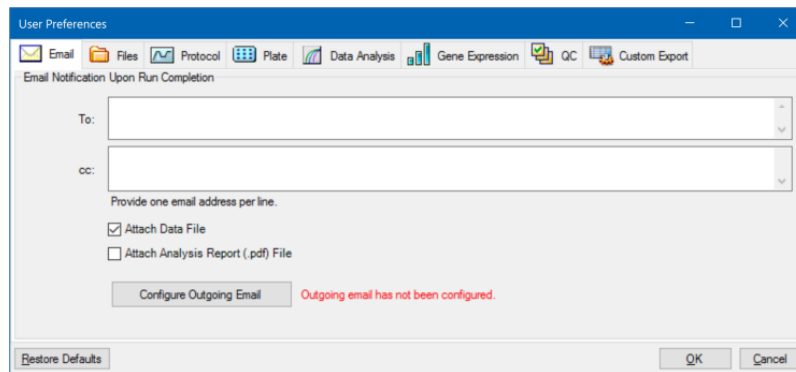
en analyserapport til listen over brugere. For yderligere oplysninger om forbindelsen mellem CFX Manager Dx og din SMTP-server henvises til [Oprettelse af forbindelse mellem CFX Manager Dx og en SMTP-server på side 61](#).

Bemærk: En brugers mulighed for at få adgang til e-mailopsætningsfunktionen afhænger af den brugergruppe og de tilladelser, brugeren har fået tildelt af administratoren. Se [Administration af brugere på side 261](#) for nærmere oplysninger om administration af brugere og disses roller.

Sådan opsættes e-mailbeskeder

1. Vælg Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer) for at åbne dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).

Dialogen User Preferences (Brugerpræferencer) vises med fanen Email (E-mail).



Bemærk: Systemet giver besked, hvis det registrerer, at der ikke er registreret en gyldig SMTP-server for CFX Manager Dx. Klik på Configure Outgoing Email (Konfigurer udgående e-mail) for at åbne dialogboksen Options (Valgmuligheder) og konfigurere SMTP-serveren til e-mail. Se [Oprettelse af forbindelse mellem CFX Manager Dx og en SMTP-server på side 61](#) for yderligere oplysninger.

2. Indtast e-mailadressen til hver af de personer, der skal have besked, når kørslen er gennemført, i tekstfeltet To (Til). Alle modtagerne får en e-mail, så snart kørslen er gennemført.

Bemærk: Du skal angive hver enkelt e-mailadresse på en separat linje. Tryk på Enter eller Return efter hver adresse.

3. (Valgfrit) Indtast e-mailadressen til hver af de personer, der skal have en kopi af e-mailbeskederne, når kørslen er gennemført, i tekstfeltet cc.
4. (Valgfrit) Alle modtagere får som standard en kopi af datafilen som vedhæftet fil. Fjern markeringen af dette afkrydsningsfelt, hvis der ikke skal vedhæftes en kopi af datafilen.

5. (Valgfrit) Vælg Attach Analysis Report (Vedhæft analyserapport) for at vedhæfte en PDF med analyserapporten til e-mailen.
6. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).

Sådan redigeres en modtagers e-mailadresse

- Rediger e-mailadressen efter behov, og klik på OK.

Sådan fjernes en e-mailmodtager

1. Vælg e-mailmodtageren, og tryk på tasten Delete (Slet).
2. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

Vigtigt: Alle præferencer for alle faner kan nulstilles til de oprindelige fabriksindstillinger ved at klikke på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Vær forsigtig, når du klikker på denne knap.

Oprettelse af forbindelse mellem CFX Manager Dx og en SMTP-server

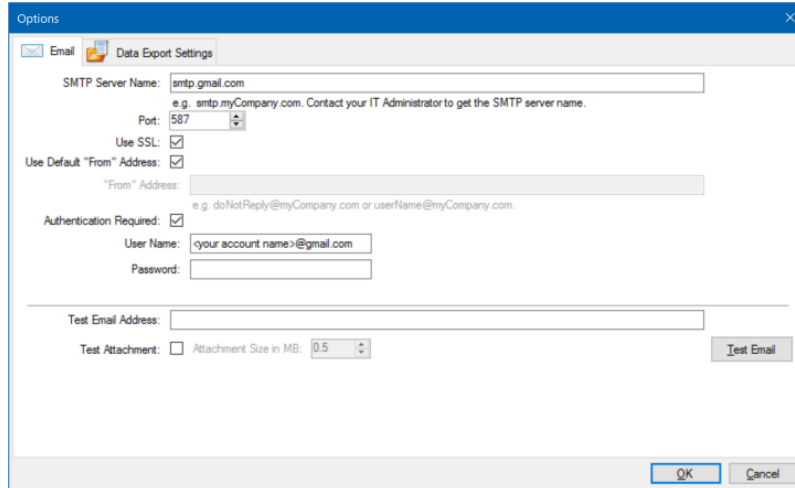
Vigtigt: Visse kommercielle webmail-tjenesteudbydere (f.eks. Yahoo! og Gmail) har øget e-mailsikkerhed. Hvis du bruger disse konti, skal du aktivere indstillingen **Allow less secure apps** (Tillad mindre sikre apps) i kontoindstillingerne for den relevante konto for at aktivere afsendelse af e-mail i CFX Manager Dx. Se sikkerhedsoplysningerne for din webmail-tjenesteudbyder for at få flere oplysninger.

Du skal oprette forbindelse mellem CFX Manager Dx og din e-mailserver, før softwaren kan sende en e-mailbesked.

Sådan oprettes der forbindelse mellem CFX Manager Dx og en e-mailserver

1. Gør et af følgende:
 - Vælg User > User Preferences (Bruger > Brugerpræferencer), og klik på Configure Outgoing Email (Konfigurer udgående e-mail) på fanen Email (E-mail).
 - Vælg Tools > Options (Værktøjer > Valgmuligheder).

Dialogboksen Options (Valgmuligheder) vises med fanen Email (E-mail).



2. Angiv følgende oplysninger for din virksomhed:
 - **SMTP Server Name** (SMTP-servernavn) – navnet på den udgående e-mailserver i din virksomhed.
 - **Port** – din SMTP-servers portnummer. Dette er normalt 25.
 - **Use SSL** (Brug SSL) – mulighed for anvendelse af Secure Sockets Layer (SSL). Visse SMTP-servere kræver denne indstilling. Fjern markeringen i afkrydsningsfeltet, hvis det ikke kræves af din virksomhed.
 - **Use Default "From" Address** (Brug standard "Fra"-adresse) – navnet på e-mailserveren i din virksomhed. Visse SMTP-servere kræver, at alle sendte e-mails har en "fra"-adresse, som er fra et bestemt domæne, f.eks. navn@dinvirksomhed.com. Hvis dette er tilfældet, skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet og angive en gyldig e-mailadresse.
 - **Authentication Required** (Godkendelse kræves) – hvis websitet kræver kontogodkendelse, skal dette afkrydsningsfelt være markeret.
 - **User Name** (Brugernavn) – navnet på den godkendte konto. Dette kræves kun, hvis Authentication Required (Godkendelse kræves) er valgt.
 - **Password** (Adgangskode) – adgangskoden til den godkendte konto. Dette kræves kun, hvis Authentication Required (Godkendelse kræves) er valgt.
3. For at verificere at indstillingerne for SMTP-serveren er korrekte, skal du angive en gyldig e-mailadresse i tekstfeltet Test Email Address (Test e-mailadresse) og klikke på Test Email (Test e-mail).

Bemærk: Visse SMTP-servere tillader ikke vedhæftede filer, og andre tillader vedhæftede filer op til en bestemt størrelse. Hvis du vil sende datafiler og/eller rapporter via e-mail ved hjælp af CFX Manager Dx, skal du vælge Test Attachment (Test vedhæftet fil) og indstille Attachment Size in MB (Størrelse på vedhæftet fil i MB) til 5 megabyte (MB) eller mere.

4. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

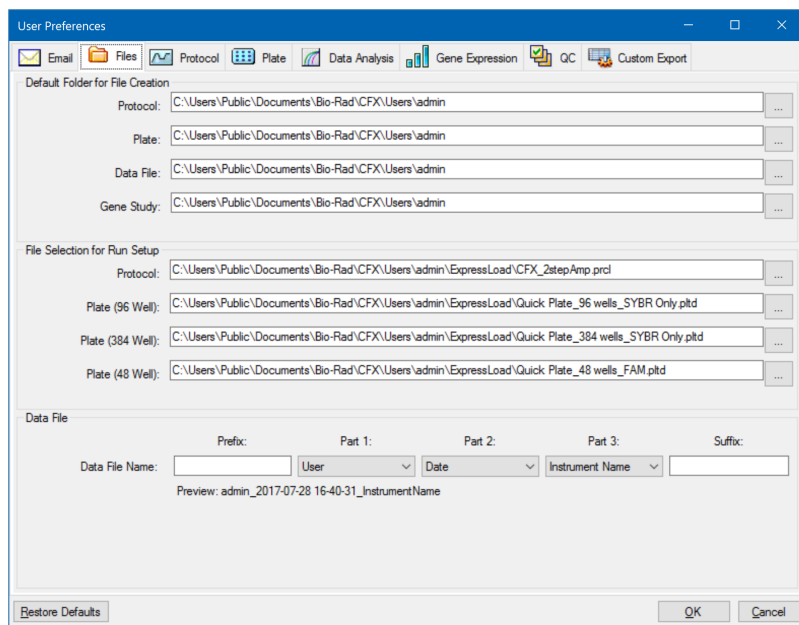
Ændring af standardindstillinger for filer

På fanen Files (Filer) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer) kan du ændre følgende:

- Standardplaceringen, hvor filer gemmes i CFX Manager Dx
- Standardfiler til kørselsopsætning
- Standardparametre for filnavngivning

Sådan ændres standardindstillingerne for filer

1. Vælg Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer) for at åbne dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).
2. Vælg fanen Files (Filer) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).



3. Naviger til og vælg en standardmappe, hvor nye filer skal gemmes, i sektionen Default Folder for File Creation (Standardmappe til filoprettelse). Du kan vælge en forskellig placering for hver filtype:
 - Protocol (Protokol)
 - Plate (Plade)
 - Data File (Datafil)
 - Gene Study (Genstudie)
4. I sektionen File Selection for Run Setup (Filvalg til kørselsopsætning) skal du navigere til og vælge de protokol- og pladefiler for targets (målskvenser), som skal vises, når vinduet Experiment Setup (Eksperimentopsætning) åbnes.
5. Definer præfiks og/eller suffiks for datafiler i sektionen Data File (Datafil). Vælg en ny værdi på rullelisten for hver enkelt del. Det er desuden muligt at angive tilpassede præfiks- og suffiksværdier i tekstfelterne Prefix (Præfiks) og Suffix (Suffiks).

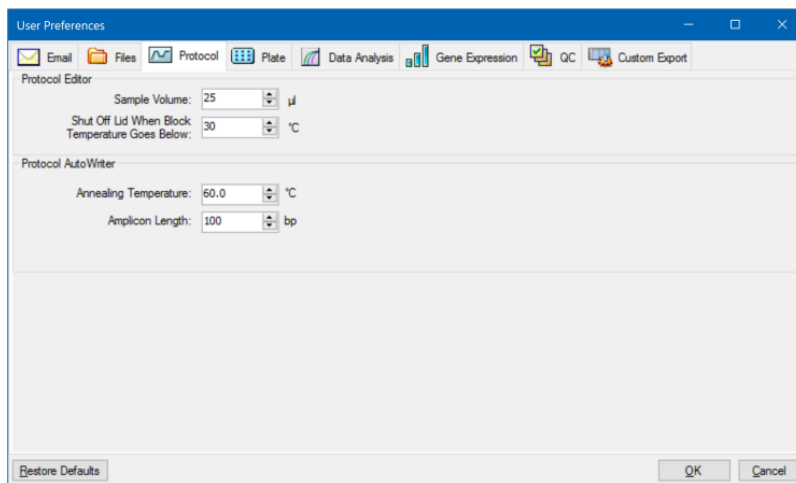
CFX Manager Dx viser en forhåndsvisning af filnavnet neden for valgfelterne.
6. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

Vigtigt: Alle præferencer for alle faner kan nulstilles til de oprindelige fabriksindstillinger ved at klikke på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Vær forsigtig, når du klikker på denne knap.

Indstilling af standardparametre for protokoller

Sådan indstilles standardparametre for protokoller for Protocol Editor (Protokoleditor) og Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver)

1. Vælg Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer) for at åbne dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).
2. Vælg fanen Protocol (Protokol) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).



3. Angiv værdierne for følgende indstillinger, som vises i Protocol Editor (Protokoleditor), i sektionen Protocol Editor (Protokoleditor):
 - **Sample volume** (Prøvevolumen) – volumenet for hver af prøverne i brøndene (i µl).
 - **Lid Shutoff temperature** (Lågets slukketemperatur) – den temperatur i °C ved hvilken varmelegemet i låget slukker under en kørsel.
4. Angiv værdierne for følgende indstillinger, som vises i Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver), i sektionen Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver):
 - **Annealing temperature** (Hybridiseringstemperatur) – temperaturen i °C til eksperimenter, der bruger iProof™ DNA-polymerase, iTaq™ DNA-polymerase eller andre polymeraser.
 - **Amplicon length** (Amplikonlængde) – længden af amplikonet i bp.
5. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

Vigtigt: Alle præferencer for alle faner kan nulstilles til de oprindelige fabriksindstillinger ved at klikke på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Vær forsigtig, når du klikker på denne knap.

Indstilling af standardparametre for plader

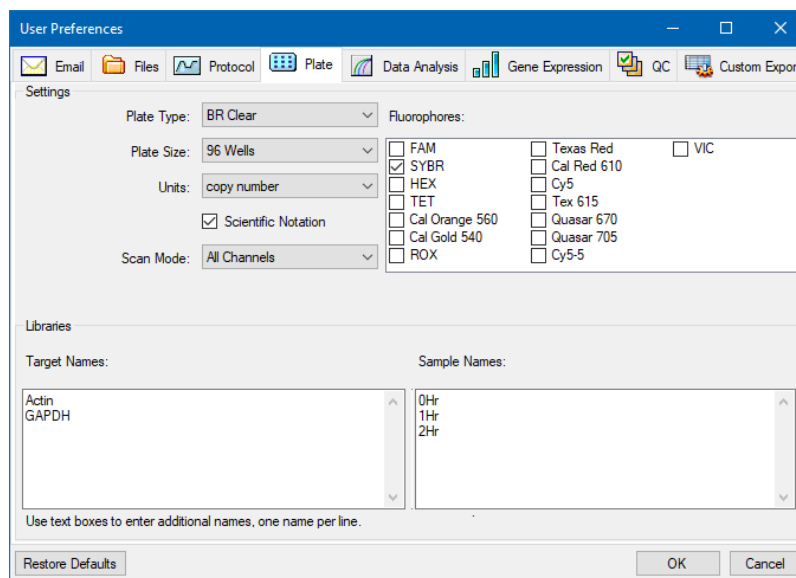
Ændringer, der foretages på fanen Plate (Plade), er tilgængelige for alle brugere af softwaren. Ændringer, der foretages under opsætningen af pladen, bliver tilgængelige for brugerne, når de er blevet gemt og pladefilen lukket.

I dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer) kan du gøre følgende:

- Indstille standardpladeparametre.
- Tilføje nye navne på målsekvenser (targets) og prøver i de respektive biblioteker.
- Slette navne på målsekvenser (targets) og prøver fra de respektive biblioteker.

Sådan indstilles standardparametre for plader

1. Vælg Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer) for at åbne dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).
2. Vælg fanen Plate (Plade) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).



3. Angiv værdierne for følgende indstillinger for en ny pladefil. Disse værdier vises i vinduet Plate Editor (Pladeeditor):

- **Plate Type** (Pladetype)
- **Plate size** (Pladestørrelse)
- **Units** (Enheder) – koncentrationen i udgangsskabelonen for brønde, som indeholder standarder.

CFX Manager Dx bruger disse enheder til at oprette en standardkurve under Quantification (Kvantifikation) på fanen Data Analysis (Dataanalyse).
- **Scientific notation** (Videnskabelig notation) – når dette er valgt, viser CFX Manager Dx koncentrationenhederne i videnskabelig notation.
- **Scan mode** (Scanningstilstand) – antallet eller typen af kanaler, der skal scannes under en kørsel.
- **Fluorophores** (Fluoroforer) – de standardfluoroforer, der vises i betjeningslementerne for brøndisætning i Plate Editor (Pladeeditor).
- **Libraries** (Biblioteker) – de navne på målsekvenser (targets) og prøver, der typisk anvendes i eksperimenterne:
 - **Target names** (Navne på målsekvenser) – navnene på målgener og -sekvenser.
 - **Sample names** (Prøvenavne) – navnene på eksperimentprøver eller identificerende kendetegn for prøverne (f.eks. Mouse1, Mouse2, Mouse3).

4. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

Sådan tilføjes et nyt navn på en målsekvens (target) eller en prøve

- ▶ Indtast navnet på målsekvensen (target) eller prøven i det relevante felt under Libraries (Biblioteker), og klik på OK.

Sådan slettes et navn på en målsekvens (target) eller en prøve

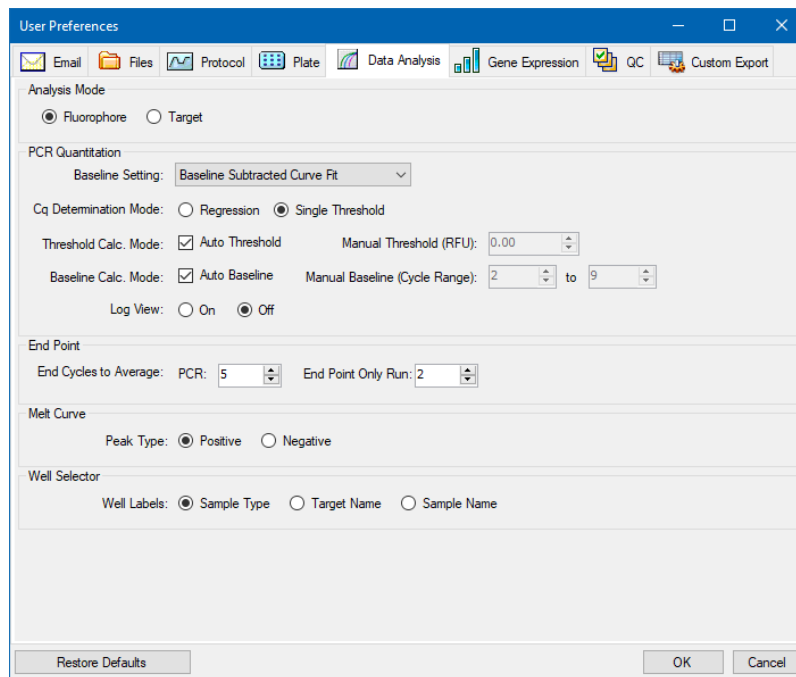
- ▶ Vælg navnet i det relevante felt under Libraries (Biblioteker), og tryk på tasten Delete og derefter på OK.

Vigtigt: Navne, du fjerner fra biblioteket, fjernes fra softwaren og er ikke længere tilgængelige for brugerne. For at gendanne standardnavnene i CFX Manager Dx skal du klikke på Restore Defaults (Gendan standardindstillinger). Alle præferencer for alle faner kan nulstilles til de oprindelige fabriksindstillinger ved at klikke på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Vær forsigtig, når du sletter standardnavne i CFX Manager Dx, og når du klikker på denne knap.

Indstilling af standardparametre for dataanalyse

Sådan indstilles standardparametre for dataanalyse

1. Vælg Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer) for at åbne dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).
2. Vælg fanen Data Analysis (Dataanalyse) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).



3. Vælg den tilstand, der skal bruges til at analysere data (enten Fluorophore (Fluorofor) eller Target (Måsekvens)), i sektionen Analysis Mode (Analysetilstand).
4. Indstil standardparametrene for nedenstående valgmuligheder i sektionen PCR Quantitation (PCR-kvantifikation):
 - **Baseline Setting** (Baselineindstilling) – den baselinemetode, der skal anvendes i analysetilstand.
 - **Cq Determination Mode** (Cq-bestemmelsestilstand) – den tilstand i hvilken C_q-værdierne beregnes for hver enkel fluorescenskurvelinje (enten Regression (Regression) eller Single Threshold (Enkelt tærskel)).

- **Threshold Calc. Mode** (Tærskelberegningstilstand) – endepunktsmålmængden.

Standard er Auto (Automatisk). Det betyder, at softwaren automatisk beregner endepunktsmålet. For at indstille en specifik tærskel skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Auto (Automatisk) og indtaste den ønskede endepunktsmængde beregnet i relative fluorescenseenheder (RFU). Maksimumværdien er 65.000,00 RFU'er. Datafilerne for efterfølgende kørsler vil anvende denne tærskelindstilling.

- **Baseline Calc. Mode** (Baselineberegningstilstand) – baselineværdien for alle kurvelinjer.

Standard er Auto (Automatisk). Det betyder, at softwaren automatisk beregner baseline for alle kurvelinjer. For at indstille en specifik baselineværdi skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Auto (Automatisk) og indtaste minimum- og maksimumværdier for cyklusområdet (1 til 9999). Datafilerne for efterfølgende kørsler vil anvende dette cyklusområde.

- **Log View** (Logvisning) – bestemmer, hvordan softwaren viser amplifikationsdataene:

- On** (Til) – amplifikationsdataene vises i en semilogaritmisk graf.
- Off** (Fra) (standardindstilling) – amplifikationsdataene vises i en lineær graf.

5. Vælg antallet af slutcyklusser til gennemsnitsberegning under udførelse af endepunktsberegningerne i sektionen End Point (Endepunkt):

- **PCR** – antallet af slutcyklusser til gennemsnitsberegning af kvantifikationsdata (standard er 5).
- **End Point Only run** (Kun endepunktskørsel) – antallet af slutcyklusser til gennemsnitsberegning af endepunktsdata (standard er 2).

6. Vælg den Peak Type (Kurvetoptype), der skal detekteres, i sektionen Melt Curve (Smeltekurve) (enten Positive (Positiv) eller Negative (Negativ)).

7. Vælg, hvordan brøndbetegnelserne skal vises, i sektionen Well Selector (Brøndvælger) (efter Sample Type (Prøvetype), Target Name (Navn på målsekvens) eller Sample Name (Prøvenavn)).

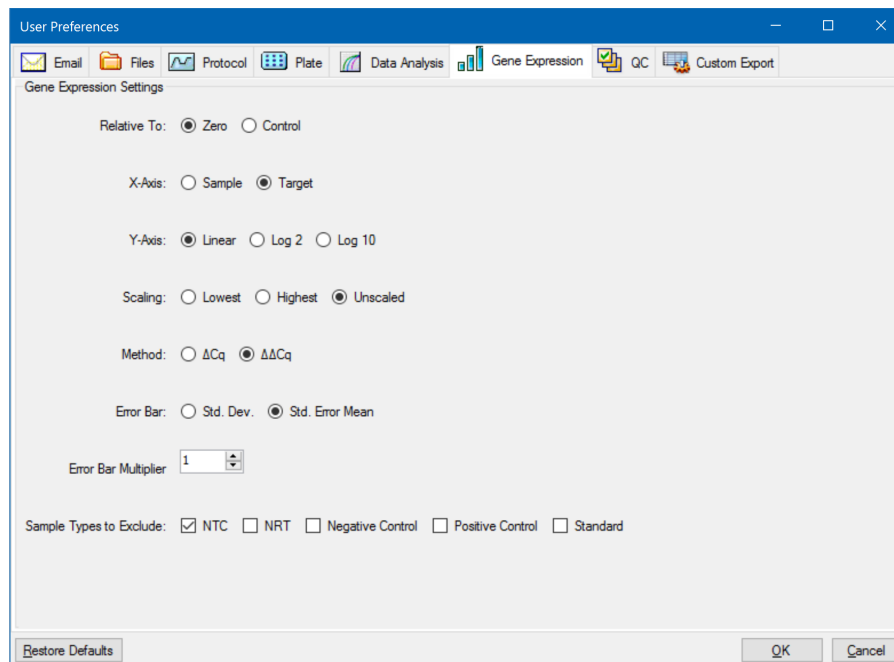
8. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

Vigtigt: Alle præferencer for alle faner kan nulstilles til de oprindelige fabriksindstillinger ved at klikke på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Vær forsigtig, når du klikker på denne knap.

Indstilling af standardparametre for genekspressionsdatafiler

Sådan indstilles standardparametrene for en ny genekspressionsdatafil

1. Vælg Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer) for at åbne dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).
2. Vælg fanen Gene Expression (Genekspression) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).



3. Angiv værdierne for følgende indstillinger:
 - **Relative to** (I forhold til) – indtegner genekspressionsdataene i forhold til en kontrol (startende ved 1) eller i forhold til nul:
 - Zero** (Nul) – softwaren ignorerer kontrollen. Dette er standard, hvis der ikke er tildelt en kontrolprøve i vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger).
 - Control** (Kontrol) – softwaren beregner dataene i forhold til den kontrolprøve, som er tildelt i vinduet Experiment Setup (Eksperimentopsætning).
 - **X-axis** (X-akse) – indtegner prøven eller målskvensen (target) på x-aksen.
 - **Y-axis** (Y-akse) – indtegner lineær skala, log2- eller log10-skala på y-aksen.

- **Scaling** (Skalering) – skaleringsindstillingen for grafen (standardindstillingen er Unscaled (Ikke skaleret)):
 - **Highest** (Højeste) – softwaren skalerer grafen efter det højeste datapunkt.
 - **Lowest** (Laveste) – softwaren skalerer grafen efter det laveste datapunkt.
 - **Unscaled** (Ikke skaleret) – softwaren viser dataene uden skaling i grafen.
- **Mode** (Tilstand) – analysetilstanden, enten relativ mængde (ΔC_q) eller normaliseret ekspression ($\Delta\Delta C_q$).
- **Error Bar** (Fejllinje) – datavariabilitet vist som enten standardafvigelse (Std. Dev.) eller middelfejlen på middelværdien (Std. Error Mean).
- **Error Bar Multiplier** (Multiplikator for fejllinjer) – standardafvigelsesmultiplikator, der bruges til at indtegne fejllinjerne (standarden er 1).

Du kan øge multiplikatoren til 2 eller 3.
- **Sample Types to Exclude** (Prøvetyper, der skal udelades) – de prøvetyper, der skal udelades fra analysen.

Du kan vælge at udelade to eller flere prøver fra analysen. For at udelade alle prøvetyper skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfelterne for alle markerede prøvetyper.

4. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

Vigtigt: Alle præferencer for alle faner kan nulstilles til de oprindelige fabriksindstillinger ved at klikke på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Vær forsigtig, når du klikker på denne knap.

Tilpasning af regler for kvalitetskontrol

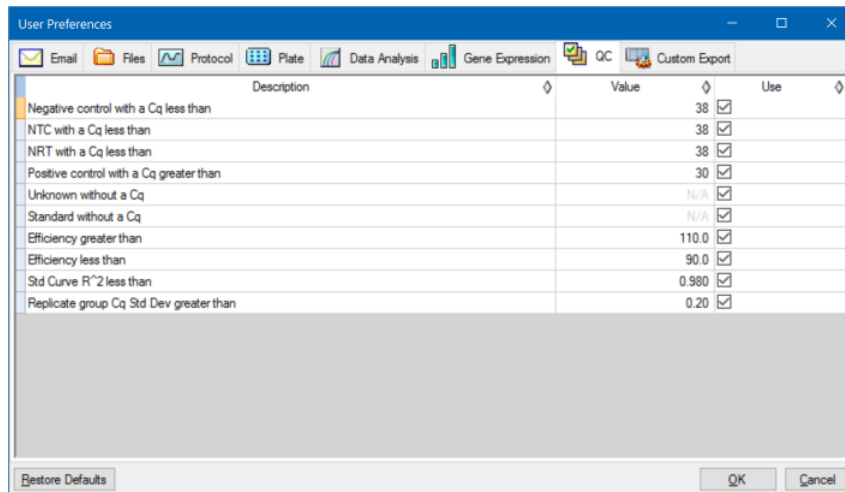
I CFX Manager Dx er det muligt at indstille regler for kvalitetskontrol, der anvendes på data i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). Softwaren validerer dataene iht. de indstillede regler.

Bemærk: Som standard er alle regler for kvalitetskontrol aktiveret.

Tip: Du kan nemt udelade brønde, der ikke består en kvalitetskontrolparameter, fra analysen i kvalitetskontrolmodulet i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).

Sådan tilpasses regler for kvalitetskontrol

1. Vælg Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer) for at åbne dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).
2. Vælg fanen QC (Kvalitetskontrol) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).



hvor:

- **NTC** – ingen skabelonkontrol
 - **NRT** – ingen revers transkriptasekontrol
 - **Efficiency** (Effektivitet) – reaktionseffektivitet
 - **Std Curve R²** (Standardkurve R²) – R-kvadratværdi for standardkurven
 - **Replicate group Cq Std Dev** (Replikatgruppe Cq standardafvigelse) – standardafvigelse beregnet for hver replikatgruppe
3. Gør et af følgende for hver kvalitetskontrolregel:
 - For at bruge standardværdien skal du ikke gøre noget.
 - For at ændre værdien skal du klikke på det tilhørende tekstfelt Value (Værdi), indtaste en ny værdi og trykke på tasten Enter.
 - For at deaktivere reglen skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Use (Brug).
 4. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

Vigtigt: Alle præferencer for alle faner kan nulstilles til de oprindelige fabriksindstillinger ved at klikke på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Vær forsigtig, når du klikker på denne knap.

Tilpasning af parametre for dataeksport

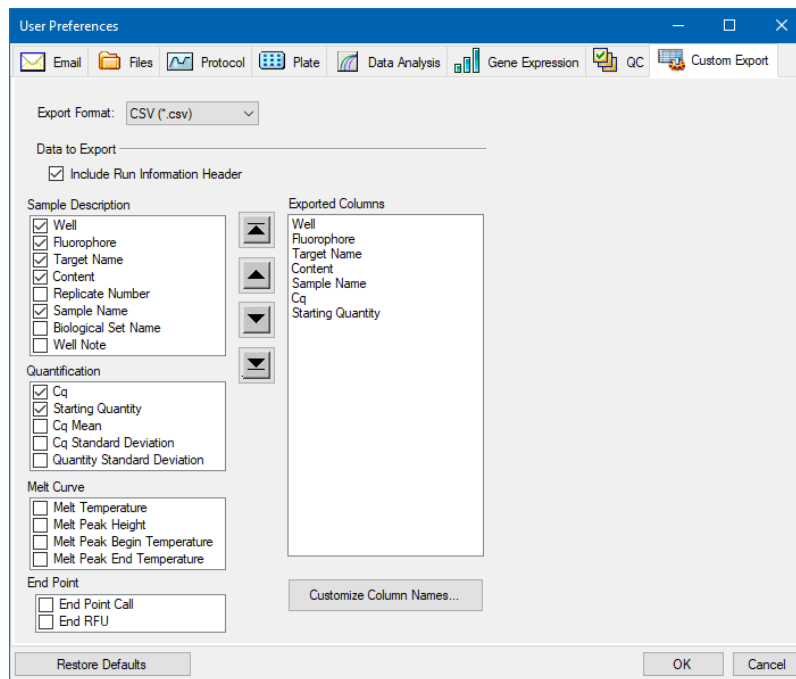
Du kan eksportere CFX Manager Dx data i følgende formater:

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

Du kan specificere typen af data, som skal eksporteres, og tilpasse det eksporterede data-output.

Sådan tilpasses parametre for dataeksport

1. Vælg Users > User Preferences (Brugere > Brugerpræferencer) for at åbne dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).
2. Vælg fanen Custom Export (Tilpasset eksport) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).



3. Vælg et format, som dataene skal eksporteres i, på rullelisten Export Format (Eksportformat).
4. Markér eller fjern markeringen i afkrydsningsfelterne for den type af data, der skal eksporteres, i sektionen Data to Export (Data som skal eksporteres). De valgte elementer vises i listefeltet Exported Columns (Eksporterede kolonner).

Bemærk: Kørselsoplysningerne er som standard inkluderet i overskriften. Fjern markeringen i dette afkrydsningsfelt, hvis kørselsoplysningerne ikke skal medtages.

5. Du kan ændre outputvisningsrækkefølge for de valgte elementer.

Fremhæv elementet i listefeltet Exported Columns (Eksporterede kolonner), og klik på pileknapperne til venstre for listen for at flytte det op eller ned.

6. Kolonnenavnene for outputtet af de valgte elementer kan eventuelt ændres:

- a. Klik på Customize Column Names (Tilpas kolonnenavne).

Dialogboksen Column Name Customizer (Tilpasning af kolonnenavne) vises.

- b. Skriv et nyt navn i feltet Custom Name (Tilpasset navn) for hvert standardkolonnenavn, som skal ændres.

c. Gør et af følgende:

- Klik på OK for at gemme ændringerne og vende tilbage til fanen Custom Export (Tilpasset eksport). Det nye navn vises i parentes ved siden af standardkolonnenavnet i listefeltet Exported Columns (Eksporterede kolonner).
- Klik på Cancel (Annuller) for at rydde ændringerne og vende tilbage til fanen Custom Export (Tilpasset eksport).

7. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen.

Vigtigt: Alle præferencer for alle faner kan nulstilles til de oprindelige fabriksindstillinger ved at klikke på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Vær forsigtig, når du klikker på denne knap.

Oprettelse af et reaktions-mastermix

Brug CFX Manager Dxs Master Mix Calculator (Mastermix-beregner) til nemt at beregne det påkrævede volumen af hver komponent i mastermixet. Du kan udskrive beregningstabellen for mastermix på standardprinterens og gemme beregningerne for hver målsekvens (target) til senere brug.

Sådan oprettes et reaktions-mastermix ved brug af Master Mix Calculator (Mastermix-beregner)

1. For at åbne Master Mix Calculator (Mastermix-beregner) skal du gøre et af følgende:

- Vælg Tools > Master Mix Calculator (Værktøjer > Mastermix-beregner).
- Klik på Master Mix Calculator (Mastermix-beregner) i værktøjslinjen.

Master Mix Calculator (Mastermix-beregner) vises.

2. Vælg en detektionsmetode i sektionen Reaction (Reaktion):
 - SYBR[®] Green/EvaGreen
 - Probes (Prober)
3. Klik på Create New (Opret ny) i sektionen Target (Målsekvens) for at oprette en ny målsekvens (target). Der vises et nyt navn på målsekvensen (target) på rullelisten med målsekvenser.
4. (Valgfrit) Sådan ændres navnet på standardmålsekvensen (target):
 - a. Fremhæv navnet på målsekvensen (target) på rullelisten med målsekvenser.
 - b. Skriv et nyt navn i feltet Target (Målsekvens).
 - c. Tryk på Enter-tasten.
5. Juster start- og slutkoncentrationerne for forward primer og revers primer samt eventuelle prober.
6. I sektionen Master Mix Setup (Opsætning af mastermix) justeres værdierne for
 - Number of reactions (Antal reaktioner) der skal køres

- Reaction volume per well (Reaktionsvolumen pr. brønd)
 - Template volume (Skabelonvolumen) pr. brønd
 - Supermix concentration (Supermix-koncentration) pr. brønd
 - Excess reaction volume (Overskydende reaktionsvolumen) pr. brønd
7. (Valgfrit) Udfør trin 2-6 for så mange målsekvenser (targets), som der er behov for.
 8. Vælg den målsekvens (target), der skal beregnes, i sektionen Choose Target to Calculate (Vælg målsekvens der skal beregnes).
Tip: Du kan beregne kun én, flere eller alle målsekvenser (targets) på én gang.
De beregnede volumener af de påkrævede komponenter for hver valgt målsekvens (target) vises i mastermix-tabellen.
 9. Klik på Set as Default (Angiv som standard) for at indstille de mængder, der blev angivet i sektionen Target (Målsekvens) og Master Mix Setup (Opsætning af mastermix), som nye standardværdier.
 10. Klik på OK for at gemme indholdet af dialogboksen Master Mix Calculator (Mastermix-beregner).

Sådan udskrives tabellen over mastermix-beregninger

- ▶ For at udskrive en tabel over mastermix-beregninger skal du klikke på Print (Udskriv).
Beregningstabellen udskrives på standardprinterens.

Sådan gemmes tabellen over mastermix-beregninger som en PDF

- ▶ Skift standardprinterens ud med en PDF-driver, og klik på Print (Udskriv) på Master Mix Calculator (Mastermix-beregner).

Sådan slettes målsekvenser (targets)

- ▶ Vælg målsekvensen (target) i rullelisten med målsekvenser, og klik på Remove (Fjern).
Vigtigt: Hvis en målsekvens (target) fjernes fra listen med målsekvenser, fjernes det også fra de mastermix-beregninger, det anvendes i. Vær forsigtig, når du sletter en målsekvens.

Kalibrering af nye farvestoffer

CFX96™ Dx systemerne leveres kalibreret fra fabrikken for almindeligt anvendte fluoroforer i plader med hvide og klare brønde. [Tabel 11](#) indeholder en liste over de fluoroforer og kanaler, som hvert enkelt instrument er kalibreret til.

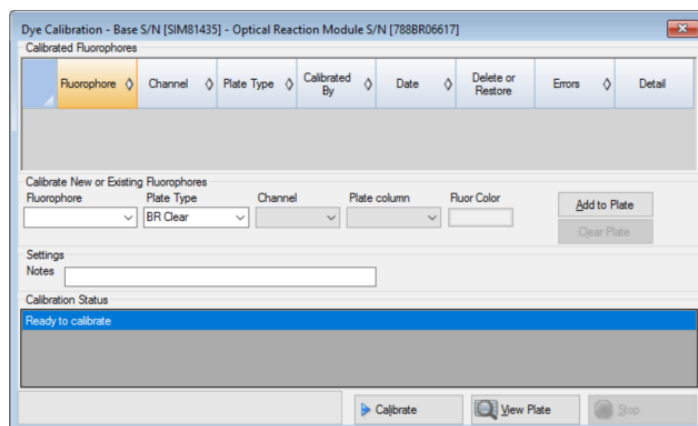
Bemærk: CFX96 systemerne indeholder desuden en kanal, der er beregnet til FRET-kemi. Denne kanal kræver ikke kalibrering for specifikke farvestoffer.

Tabel 11. Fabrikskalibrerede fluoroforer og kanaler

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

Sådan kalibreres nye farvestoffer på CFX systemer

1. Vælg det ønskede instrument i startvinduet i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter).
2. Vælg Tools > Calibration Wizard (Værktøjer > Guiden Kalibrering) for at åbne guiden Dye Calibration (Farvestofkalibrering).



Fluoroforer, der allerede er blevet kalibreret på det ønskede instrument, vises i tabellen Calibrated Fluorophores (Kalibrerede fluoroforer).

3. Vælg den fluorofor, der skal kalibreres, på rullelisten i sektionen Calibrate New or Existing Fluorophores (Kalibrer nye eller eksisterende fluoroforer).

Hvis navnet på fluoroforen ikke findes på listen, skal du indtaste navnet i tekstfeltet for at tilføje det til listen.

4. Vælg en plate type (pladetype) for fluoroforen.

Hvis pladetyperen ikke findes på listen, skal du indtaste navnet i tekstfeltet for at tilføje det til listen.

5. Vælg en channel (kanal) for fluoroforen.
6. Vælg en plate column (pladekolonne) for fluoroforen.
7. (Valgfrit) Indtast en farve, der skal tilknyttes til fluoroforen.
8. Klik på Add to Plate (Tilføj til plade) for at tilføje fluoroforen.

9. (Valgfrit) Gentag trin 3-8 for at tilføje alle de fluoroforer, du planlægger at kalibrere for pladen.

10. Klik på View Plate (Vis plade), når du er færdig med at tilføje fluoroforer, for at åbne vinduet Pure Dye Plate Display (Rent farvestof-pladedisplay).

Brug dette vindue som guide i forbindelse med påføring af farvestoffer på pladen.

11. Klargør en plade med 96 brønde til farvestofkalibrering:

- a. Pipetter farvestofopløsning ned i hver af brøndene i henhold til det mønster, der vises i Pure Dye Plate Display (Rent farvestof-pladedisplay).
- b. For hver fluorofor fyldes fire brønde med 50 µl (plade med 96 brønde) 300 nM farvestofopløsning. Bemærk, at mindst halvdelen af pladen indeholder blindbrønde.
- c. Forsegel pladen med den forseglingsmetode, du vil anvende til analysen.

12. Placer kalibreringspladen i blokken, og luk låget.

13. Klik på Calibrate (Kalibrer) i guiden Dye Calibration (Farvestofkalibrering), og klik derefter på OK for at bekræfte, at pladen befinder sig i blokken.

14. Når CFX Manager Dx software afslutter kalibreringskørslen, vises der en dialogboks. Klik på Yes (Ja) for at afslutte kalibreringen og åbne Dye Calibration Viewer (Farvestofkalibreringsfremviser).

15. Klik på OK for at lukke vinduet.

Kapitel 6 Oprettelse af protokoller

En protokol er et sæt af trin, der udføres i en specifik rækkefølge. I CFX Manager™ Dx softwaren er alle trinnene forbundet med valgmuligheder på instrumentet. For eksempel instruerer trinnene instrumentet i at kontrollere blokkens og lågets temperatur, anvende en temperaturforskel hen over blokken, tage en pladeaflysning eller udføre en smeltekurveanalyse. Hver valgmulighed er angivet for forskellige plade- og kørselstyper.

CFX Manager Dx indeholder to muligheder for oprettelse af protokoller: Protocol Editor (Protokoleditor) og Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver).

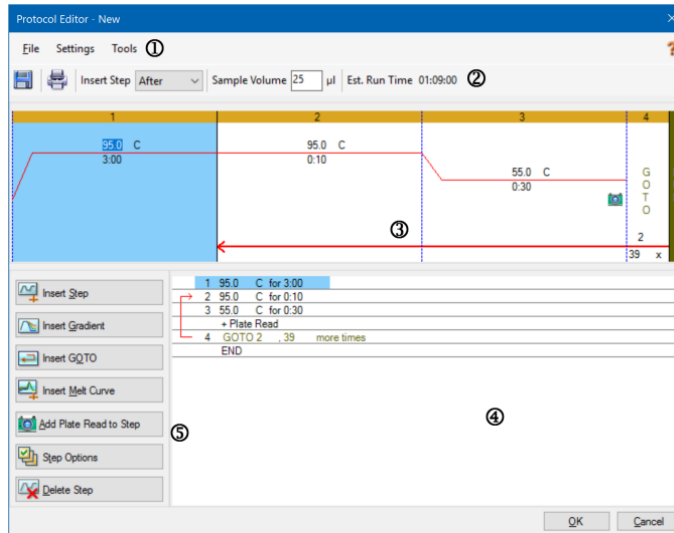
Protocol Editor (Protokoleditor) indeholder følgende funktioner:

- Standardbetjeningslementer for protokoller til hurtig oprettelse af protokoller
- Mulighed for hurtigt at beregne en gradient for det valgte antal rækker
- Mulighed for hurtigt at beregne kørselstid for den valgte pladetype
- Mulighed for at redigere protokoltrin
- Mulighed for at gemme protokoller med henblik på genanvendelse
- Mulighed for at udskrive protokollen til en standardprinter

Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) genererer automatisk en tilpasset PCR-protokol med hot-start, første denaturering, hybridisering og forlængelsestrin ved brug af de angivne parametre. Du kan derefter se en grafisk repræsentation af den foreslåede protokol og redigere, køre eller gemme protokollen.

Vinduet Protocol Editor (Protokoleditor)

Brug Protocol Editor (Protokoleditor) til at oprette, gennemgå og redigere en protokol. Som standard åbnes Protocol Editor (Protokoleditor) med visning af en generisk 2-trins real-time-protokol for en plade med 96 brønde.



FORKLARING

1. Menulinjen giver hurtig adgang til menuerne File (Fil), Settings (Indstillinger) og Tools (Værktøjer).
2. Værktøjslinjen giver hurtig adgang til at gemme og udskrive protokoller, bestemme hvor et trin skal indsættes, angive prøvevolumen og se estimeret protokolkørselstid.
3. Hovedvinduet viser en grafisk gengivelse af protokollen.
4. Den nederste rude viser protokoloversigten.
5. Den venstre rude viser betjeningselementerne for protokollen, som du kan tilføje for at tilpasse protokollen.

Kommandoer i menuen File (Fil)

Save (Gem) – gemmer den aktuelle protokol.

Save As (Gem som) – gemmer den aktuelle protokol med et nyt navn og i en ny placering.

Close (Luk) – lukker Protocol Editor (Protokoleditor).

Kommandoer i menuen Settings (Indstillinger)

Lid Settings (Lågindstillinger) – åbner dialogboksen Lid Setting (Lågindstillinger), hvor du kan ændre eller indstille lågets temperatur.

Kommandoer i menuen Tools (Værktøjer)

Gradient Calculator (Gradientberegner) – åbner en dialogboks, hvor du kan vælge bloktypen til et gradienttrin. Standard er 96 brønde.

Run time Calculator (Kørselstidsberegner) – åbner en dialogboks, hvor du kan vælge pladetypen og scanningstilstand med henblik på at beregne den estimerede kørselstid i vinduet Run Setup (Kørselsopsætning). Standard er 96 brønde, alle kanaler.

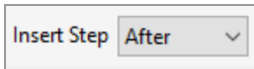
Kommandoer på værktøjslinjen



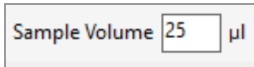
– gemmer den aktuelle protokolfil.



– udskriver det valgte vindue.



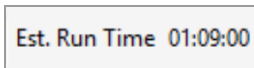
– brug denne kommando til at vælge, hvor du vil indsætte trin i forhold til det aktuelt valgte trin.



– brug denne kommando til at angive et prøvevolumen i µl.

Prøvevolumenerne er forskellige afhængigt af bloktypen:

- For en blok med 96 dybe brønde er området 0-125 µl.
- For en blok med 96 brønde er området 0-50 µl.



– viser den estimerede kørselstid baseret på protokoltrin, rampehastighed og den valgte bloktype.

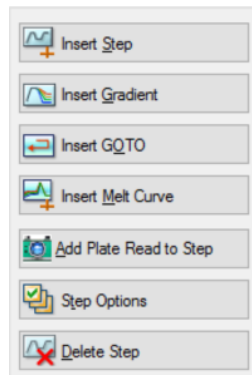


– viser Hjælp-oplysninger om protokoller.

Betjeningselementer for protokolredigering

Venstre rude i vinduet Protocol Editor (Protokoleditor) indeholder betjeningselementer, som du kan bruge til at oprette protokoller.

Hvert af disse betjeningselementer består af et sæt af parametre, som repræsenterer et trin i protokollen. Du kan redigere de enkelte parametre og tilføje eller fjerne dem for at tilpasse protokollen. Dette afsnit beskriver valgmulighederne for de enkelte betjeningselementer.



- **Insert Step** (Indsæt trin) – indsætter et trin før eller efter det valgte trin. Du kan redigere værdierne for temperatur og holdetid enten i den grafiske visning af protokollen eller i protokoloversigten.
- **Insert Gradient** (Indsæt gradient) – indsætter et gradienttrin baseret på typen af den brøndblok, der blev valgt i gradientberegneren. Du kan redigere gradientområdet i ruden Gradient, som vises, når der indsættes et gradienttrin.
- **Insert GOTO** (Indsæt GÅ TIL) – indsætter et cyklustrin (en løkke), som giver besked til softwaren om at gentage specifikke trin i rækkefølge et angivet antal gange. Gentagelserne begynder, så snart den første cyklus er gennemført. For eksempel kan du bede

softwaren om at udføre 39 repetitioner af trin 2-4. Efter den sidste repetition vil softwaren således have gennemført trin 2-4 i alt 40 gange. Du kan redigere retur til-trinnet (GOTO – GÅ TIL) og antallet af cyklusser enten i den grafiske visning eller i protokoloversigten.

- **Insert Melt Curve** (Indsæt smeltekurve) – indsætter et smeltekurveaflysningstrin.
- **Insert Plate Read to Step** (Indsæt pladeaflysning i trinnet) – tilføjer en pladeaflysningskommando til det valgte trin. En pladeaflysning måler mængden af fluorescens ved afslutningen af en cyklus. Pladeaflysningstrinnet er normalt det sidste trin i en GOTO-løkke.

Tip: Når du tilføjer en pladeaflysningskommando til et trin, ændres knappen til Remove Plate Read (Fjern pladeaflysning), når trinnet vælges.

- **Remove Plate Read** (Fjern pladeaflysning) – fjerner en pladeaflysningskommando fra det valgte trin.

Tip: Når der fjernes en pladeaflysningskommando fra et trin, ændres knappen til Add Plate Read (Tilføj pladeaflysning), når trinnet vælges.

- **Step Options** (Valgmuligheder for trin) – åbner dialogboksen Step Options (Valgmuligheder for trin) og viser de tilgængelige valgmuligheder for det valgte trin. Se [Step Options \(Valgmuligheder for trin\)](#) på side 85 for nærmere oplysninger om valgmulighederne for trin.

Tip: Du kan også åbne Step Options (Valgmuligheder for trin) ved at højreklikke på trinnet i den grafiske visning.

- **Delete Step** (Slet trin) – sletter det valgte trin fra protokollen.

Step Options (Valgmuligheder for trin)

Åbn dialogboksen Step Options (Valgmuligheder for trin) for at vise de valgmuligheder, der kan tilføjes, ændres eller slettes fra et trin.

- **Plate Read** (Pladeaflysning) – når feltet er markeret, tilføjes der en pladeaflysning til trinnet.
- **Temperature** (Temperatur) – indstiller måltemperaturen for det valgte trin.
- **Gradient** – indstiller gradientområdet for trinnet. Området er 1-24 °C.
Bemærk: En gradient kører med den laveste temperatur forrest på blokken (række H på billedet) og den højeste temperatur bagest på blokken (række A på billedet).
- **Increment** (Forøgelse) – antallet af grader, som temperaturen på det valgte trin skal øges (eller reduceres) med. Dette gradtal lægges til måltemperaturen med hver cyklus. Området er ±0,1-10 °C.
Bemærk: For at reducere temperaturen skal du sættes et minustegn (-) foran den numeriske værdi (for eksempel -5 °C).
- **Ramp Rate** (Rampehastighed) – rampehastigheden for det valgte trin. Området afhænger af blokkens størrelse.
- **Time** (Tid) – holdetiden for det valgte trin.
- **Extend** (Forlængelse) – den tid (i sekunder), som det valgte trin skal forlænges eller forkortes med. Denne valgmulighed lægges til holdetiden i hver cyklus. Området er 1-60 sek.
- **Beep** (Bip) – når feltet er markeret, lyder der et bip ved afslutningen af trinnet.

Tip: Hvis du indtaster en værdi, der ligger uden for det tilladte område, ændrer softwaren denne værdi til den, der ligger tættest på inden for området.

Oprettelse af en protokol i Protocol Editor (Protokoleditor)

Du kan oprette brugerdefinerede protokolfiler med Protocol Editor (Protokoleditor). Du kan også redigere og gemme tidligere gemte protokolfiler eller eksempler på protokolfiler, der leveres sammen med CFX Manager Dx software.

For at oprette en ny protokolfil skal du gøre følgende:

- Åbn en protokolfil i Protocol Editor (Protokoleditor).

Tip: Du kan åbne en ny eller eksisterende protokol i Protocol Editor (Protokoleditor).

- Opsæt den nye protokol.
- Tilføj trin til protokollen fra ruden med protokollens kontroller.
- Rediger trinnenes egenskaber.
- Gem protokollen.

Tip: For oplysninger om oprettelse af en ny protokol ud fra en tidligere gemt protokolfil eller et eksempel på en protokolfil henvises til [Åbning af en eksisterende protokol i Protocol Editor \(Protokoleditor\) på side 88](#).

Åbning af en ny protokolfil i Protocol Editor (Protokoleditor)

I CFX Manager Dx kan du åbne en ny protokolfil på forskellige måder:

- Fra startvinduet
- Fra dialogboksen Startup Wizard (Guiden Opstart)
- Fra dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning)

Sådan åbnes en ny protokolfil fra startvinduet

- ▶ Vælg File > New > Protocol (Fil > Ny > Protokol).

Vinduet Protocol Editor (Protokoleditor) åbnes med standardprotokolfilen.

Tip: For information om indstilling af standardprotokollen henvises til [Ændring af standardindstillinger for filer på side 63](#).

Sådan åbnes en ny protokolfil fra Startup Wizard (Guiden Opstart)

1. Gør et af følgende i startvinduet for at åbne Startup Wizard (Guiden Opstart), hvis den ikke allerede er åben:

- Vælg View > Startup Wizard (Vis > Guiden Opstart).
- Klik på Startup Wizard (Guiden Opstart) på værktøjslinjen.

Som standard viser Startup Wizard (Guiden Opstart) fanen Run setup (Kørselsopsætning), når instrumenttypen CFX96™ er valgt.

2. Om nødvendigt vælges instrumenttypen på rullelisten.
3. Klik på User-defined (Brugerdefineret) som kørselstype.

Dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning) åbner med fanen Protocol (Protokol) og viser standard-protokolfilen.

4. Klik på Create New (Opret ny).

Vinduet Protocol Editor (Protokoleditor) åbner og viser standard-real-time-protokollen.

Sådan åbnes en ny protokol fra dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning)

1. Gør et af følgende i startvinduet for at åbne dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning):

- Vælg Run > User-defined Run (Kør > Brugerdefineret kørsel).
- Klik på User-defined Run (Brugerdefineret kørsel) på værktøjslinjen.

Dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning) åbner med fanen Protocol (Protokol) og viser standard-protokolfilen.

2. Klik på Create New (Opret ny).

Vinduet Protocol Editor (Protokoleditor) åbner og viser standard-real-time-protokollen.

Åbning af en eksisterende protokol i Protocol Editor (Protokoleditor)

CFX Manager Dx leveres med eksempler på protokolfiler, som du kan redigere og gemme som brugerdefinerede nye protokoller. Du kan også oprette en ny protokol fra en eksisterende brugerdefineret protokol.

Sådan åbnes et eksempel på en protokolfil

1. Vælg File > Open > Protocol (Fil > Åbn > Protokol) i startvinduet.
Windows Stifinder åbner som standard på placeringen for mappen med eksempler på filer i CFX Manager Dx.
2. Åbn mappen med eksempler på filer. Følgende mapper vises:
 - **ConventionalProtocols** (Konventionelle protokoller) – indeholder eksempler på protokolfiler til traditionel PCR-analyse.
 - **DataFiles** (Datafiler) – indeholder eksempler på datafiler, som du kan bruge til at udforske funktionerne i CFX Manager Dx.
 - **MeltCalibration** (Smeltekalibrering) – indeholder eksempler på protokolfiler, som du kan bruge med softwaren til præcisionssmelteanalyse i Bio-Rad.
 - **Plates** (Plader) – indeholder eksempler på pladefiler.
 - **RealTimeProtocols** (Realtidsprotokoller) – indeholder eksempler på protokolfiler til real-time PCR-analyse.
3. Åbn protokolmappen for den type kørsel, du vil udføre, enten ConventionalProtocols (Konventionelle protokoller) eller RealTimeProtocols (Realtidsprotokoller).
4. Vælg den ønskede protokol, og klik på Open (Åbn).
Eksemplet på protokollen åbnes i vinduet Protocol Editor (Protokoleditor).
5. Vælg File > Save As (Fil > Gem som), og gem protokollen med et nyt navn eller i en ny mappe.

Sådan åbnes en eksisterende protokol

1. Gør et af følgende i startvinduet:
 - Vælg File > Open > Protocol (Fil > Åbn > Protokol), naviger til og vælg den ønskede protokol, og klik derefter på Open (Åbn).
 - Åbn Startup Wizard (Guiden Opstart), og gør et af følgende:
 - For at redigere den viste protokol skal du klikke på Edit Selected (Rediger valgte).
 - For at redigere en anden eksisterende protokol skal du klikke på Select Existing (Vælg eksisterende) og navigere til den ønskede fil.

Protokollen åbnes i vinduet Protocol Editor (Protokoleditor).
2. Vælg File > Save As (Fil > Gem som), og gem protokollen med et nyt navn eller i en ny mappe.

Opsætning af en ny protokol

Tip: Hvis protokolfilen allerede indeholder de påkrævede parametre (hvis du for eksempel redigerer en eksisterende pladefil), kan du springe dette afsnit over. Gå videre til [Tilføjelse af trin i en protokol på side 91](#).

Nye protokolfiler skal indeholde følgende parametre:

- Block type (Blokttype)
- Scan mode (Scanningstilstand) for den valgte blokttype
- Lid temperature (Lågets temperatur)
- Sample Volume (Prøvevolumen)

Opsætning af bloktypen

CFX Manager Dx beregner automatisk temperaturstigninger for gradienttrin baseret på bloktypen.

Bemærk: Den pladetype, der er angivet i Protocol Editor (Protokoleditor), skal være den samme som pladen i reaktionsmodulet.

Sådan angives bloktypen

- ▶ Vælg Tools (Værktøjer) > Gradient Calculator (Gradientberegner) i vinduet Protocol Editor (Protokoleditor), og vælg den relevante pladetype på den rulleliste, som vises.

Valg af Scan Mode (Scanningstilstand) for den valgte Block Type (Blokttype)

For at bestemme protokollens kørselstid skal du vælge den ønskede blokttype og scanningstilstand.

Sådan vælges blokttype og scanningstilstand

- ▶ Vælg Tools > Run time Calculator (Værktøjer > Beregner af kørselstid) i vinduet Protocol Editor (Protokoleditor), og vælg den relevante pladetype og scanningstilstand på den viste rulleliste.

Tilpasning af lågets temperatur

CFX Manager Dx indstiller lågets standardtemperatur til 105,0 °C.

Du kan ændre standardindstillingerne eller slukke lågvarmeren, afhængigt af hvad der er behov for til protokollen.

Tip: Lågets standardtemperatur kan ændres i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Se [Indstilling af standardparametre for protokoller på side 65](#).

Sådan tilpasses lågets temperatur

1. Vælg Settings > Lid Settings (Indstillinger > Lågindstillinger) i vinduet Plate Editor (Pladeeditor).
Dialogboksen Lid Settings (Lågindstillinger) åbnes.
2. Gør et af følgende:
 - Vælg User Defined (Brugerdefineret), og indtast en temperaturværdi i tekstfeltet.
 - Vælg Turn Off Lid Heater (Sluk lågvarmer).
3. Klik på OK for at acceptere ændringerne og lukke dialogboksen

Indstilling af Sample Volume (Prøvevolumen)

CFX Manager Dx indstiller som standard prøvevolumen for hver brønd til 25 µl. CFX Dx systemområdet er imidlertid 0-125 µl.

Instrumentet anvender én af to temperaturkontroltilstande til at fastlægge, hvornår prøven når målttemperaturen i en protokol:

- **Calculated mode** (Beregnet tilstand) – når prøvevolumenet er indstillet til et volumen, der er korrekt for blokken, beregner instrumentet prøvetemperaturen baseret på prøvevolumenet. Dette er standardtilstanden.
- **Block mode** (Bloktilstand) – når prøvevolumenet er indstillet til nul (0) µl, registrerer instrumentet prøvetemperaturen som den samme som den målte bloktemperatur.

Sådan indstilles prøvevolumenet for en specifik blok

- ▶ Skriv den korrekte værdi i tekstfeltet Sample Volume (Prøvevolumen) på værktøjslinjen i vinduet Plate Editor (Pladeeditor).

Tip: Standardprøvevolumenet kan ændres i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Se [Ændring af standardindstillinger for filer på side 63](#).

Tilføjelse af trin i en protokol

Sådan tilføjes et trin i en protokol

1. Åbn protokollen i vinduet Protocol Editor (Protokoleditor).
2. Find det sted, hvor det nye trin skal indsættes. Vælg Before (Før) eller After (Efter) på rullelisten Step (Trin) på værktøjslinjen.
3. På grafen skal du vælge det trin, som du vil indsætte det nye trin før eller efter.
4. Klik på Insert Step (Indsæt trin) i venstre rude.

5. Hvis du vil ændre temperaturen eller holdetiden, skal du klikke på standardværdien i grafen eller protokoloversigten og indtaste en ny værdi.
6. (Valgfrit) I venstre rude kan du klikke på Step Options (Valgmuligheder for trin) for at få vist dialogboksen Step Options (Valgmuligheder for trin) og redigere de tilgængelige indstillinger for det valgte trin.

Tip: Du kan åbne dialogboksen Step Options (Valgmuligheder for trin) i genvejsmenuen i enten grafruden eller i ruden med protokoloversigten.

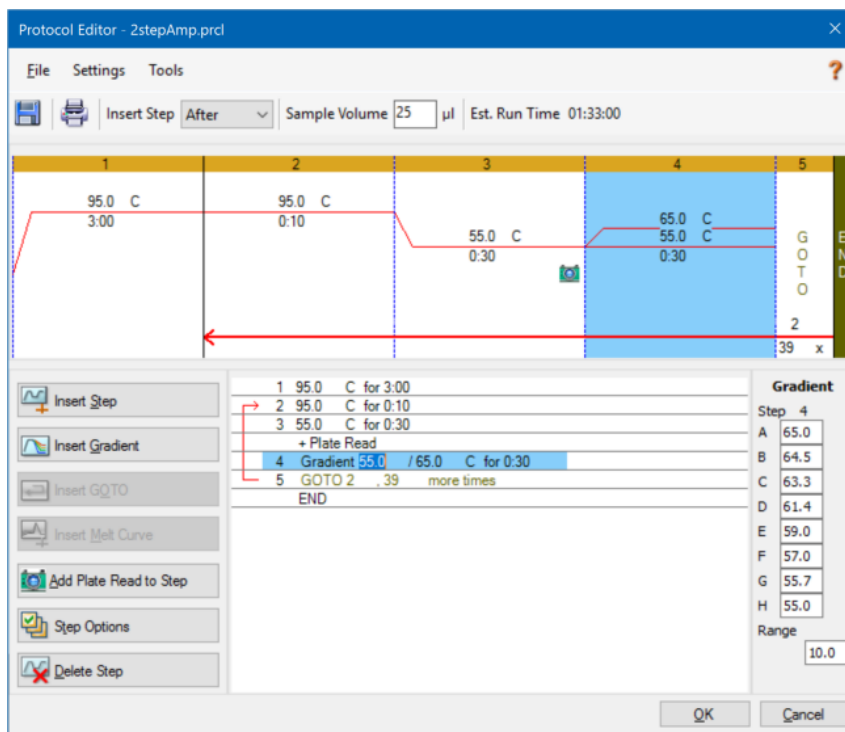
7. Klik på OK, og klik derefter på Yes (Ja) for at gemme protokolændringerne.
Dialogboksen Save As (Gem som) vises
8. Skriv navnet på den nye protokolfil i dialogboksen Save As (Gem som), og klik på Save (Gem).

Indsættelse af et gradienttrin

Sådan indsættes et gradienttrin

1. Kontrollér, at pladestørrelsen for gradienten er den samme som bloktypen for instrumentet, 96-brønds.
2. Vælg pladestørrelsen for gradienten, hvis det ikke allerede er gjort:
Vælg Tools > Gradient Calculator (Værktøjer > Gradientberegner), og vælg den relevante brøndtype på rullelisten.
3. På Værktøjslinjen vælges enten Before (Før) eller After (Efter) på rullelisten Insert Step (Indsæt trin).
4. I grafen eller oversigtsruden skal du vælge det trin, som gradienttrinnet skal indsættes før eller efter.

- Klik på Insert Gradient (Indsæt gradient) i venstre rude. Det nye gradient-trin fremhæves i grafen og oversigtsruden, for eksempel:



Hver rækkes temperatur i gradienten vises i tabellen Gradient i højre rude.

- For at redigere gradientens temperaturområde skal du gøre et af følgende:
 - Klik på standardtemperaturen i grafen eller oversigtsruden, og indtast en ny temperatur.
 - Klik på Step Options (Valgmuligheder for trin) for at indtaste gradientområdet i vinduet Step Options (Valgmuligheder for trin).
 - Ændr værdien Range (Område) i tabellen Gradient.
- For at redigere holdetiden skal du klikke på standardtiden i grafik- eller tekstvisningen og indtaste en ny tid.
- Klik på OK og derefter på Yes (Ja) for at gemme ændringerne.

Indsættelse af en forekomst af trinnet GOTO (GÅ TIL)

Bemærk: Du kan ikke indsætte en forekomst af trinnet GOTO (GÅ TIL) i et GOTO-sæt. Du kan ikke oprette indlejrede GOTO-løkker.

Sådan indsættes en forekomst af trinnet GOTO (GÅ TIL)

1. Vælg Before (Før) eller After (Efter) på rullelisten Insert Step (Indsæt trin) på værktøjslinjen.
2. På grafen skal du vælge det trin, som du vil indsætte det nye trin GOTO (GÅ TIL) før eller efter.
3. Klik på Insert GOTO (Indsæt GÅ TIL) i venstre rude.
4. For at redigere nummeret for trinnet GOTO (GÅ TIL) eller antallet af gentagelse af GOTO (GÅ TIL) skal du vælge standardnummeret i grafen eller oversigtsruden og indtaste en ny værdi.
5. Klik på OK og derefter på Yes (Ja) for at gemme ændringerne.

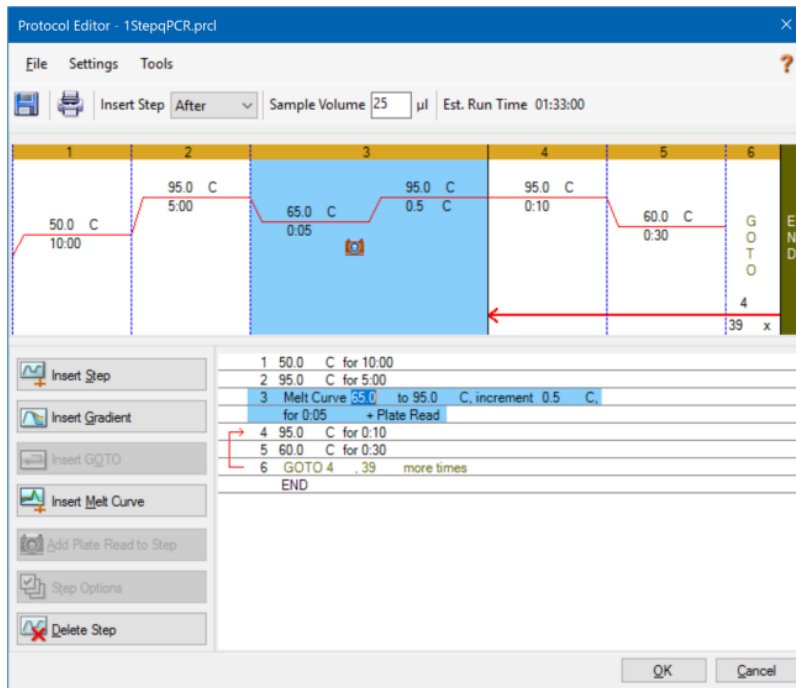
Indsættelse af et smeltekurvetrin

Tip: Du kan ikke indsætte et smeltekurvetrin i en GOTO-løkke.

Bemærk: Smeltekurvetrinnet omfatter en 30-sekunders pause i begyndelsen af trinnet, som ikke er vist i protokollen.

Sådan indsættes et smeltekurvetrin

1. Vælg Before (Før) eller After (Efter) på rullelisten Insert Step (Indsæt trin) på værktøjslinjen.
2. På grafen skal du vælge det trin, som du vil indsætte smeltekurvetrinnet før eller efter.
3. Klik på Insert Melt Curve (Indsæt smeltekurve) i venstre rude. Det nye smeltekurvetrin fremhæves i grafen og oversigtsruden, for eksempel:



4. For at redigere smeltetemperaturområde eller stigningstid skal du vælge standardtallet i grafen eller oversigtsruden og indtaste en ny værdi.
5. Klik på OK og derefter på Yes (Ja) for at gemme ændringerne.

Tilføjelse eller fjernelse af trinnet Plate Read (Pladeaflysning)

Tip: Når du tilføjer en pladeaflysningskommando til et trin, ændres knappen til Remove Plate Read (Fjern pladeaflysning), når trinnet vælges.

Sådan tilføjes en pladeaflysning til et trin

1. Vælg Before (Før) eller After (Efter) på rullelisten Insert Step (Indsæt trin) på værktøjslinjen.
2. På grafen skal du vælge det trin, som pladeaflysningstrinnet skal indsættes før eller efter.
3. Klik på Add Plate Read (Tilføj pladeaflysning) i venstre rude for at tilføje en pladeaflysning til det valgte trin.
4. Klik på OK og derefter på Yes (Ja) for at gemme ændringerne.

Sådan fjernes en pladeaflysning fra et trin

- ▶ På grafen skal du vælge det trin, som indeholder pladeaflysningsen, og klikke på Remove Plate Read (Fjern pladeaflysning) i venstre rude.

Ændring af Step Options (Valgmuligheder for trin)

Sådan ændres valgmuligheder for trin for et valgt trin

1. Vælg det ønskede trin i grafen eller oversigtsruden.
2. I den venstre rude skal du klikke på Step Options (Valgmuligheder for trin) for at åbne dialogboksen Step Options (Valgmuligheder for trin).

Alternativt kan du højreklikke på det ønskede trin i en af ruderne. Vælg derefter Step Options (Valgmuligheder for trin) i den viste menu.
3. Sådan tilføjes, ændres eller fjernes valgmuligheder:
 - Indtast en værdi i det relevante tekstfelt.
 - Rediger en værdi i det specifikke tekstfelt.
 - Markér eller fjern markeringen i et afkrydsningsfelt.
4. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen Step Options (Valgmuligheder for trin).
5. Klik på OK og derefter på Yes (Ja) for at gemme protokollen.

Sletning af et trin

Sådan slettes et trin i protokollen

1. Vælg trinnet i grafen eller oversigtsruden.
2. Klik på Delete Step (Slet trin) i venstre rude for at slette det valgte trin.
3. Klik på OK og derefter på Yes (Ja) for at gemme protokollen.

Kopiering, eksport eller udskrivning af en protokol

Sådan kopieres en protokol

- ▶ Højreklik på protokoloversigten, og vælg Copy Protocol (Kopier protokol).

Protokoloversigten kan indsættes i en .txt-, .xls-, .doc- eller .ppt-fil.

Sådan eksporteres en protokol

1. Højreklik på protokoloversigten, og vælg Export Protocol (Eksporter protokol).
Dialogboksen Save As (Gem som) vises.
2. (Valgfrit) Naviger til en mappe i Windows Stifinder, hvor protokolfilen skal gemmes.
3. Skriv et navn til den eksporterede protokolfil i File Name (Filnavn).
4. Klik på Save (Gem).

Sådan udskrives en protokol

- ▶ Højreklik på protokoloversigten, og vælg Print (Udskriv).

Protokoloversigten kan udskrives på standardprinterens.

Oprettelse af en protokol med Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver)

Vigtigt: Bio-Rad giver ingen garanti for, at kørsel af en protokol, som er oprettet med Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver), altid vil resultere i et real-time PCR-produkt.

Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) i CFX Manager Dx genererer cyklusprotokoller automatisk baseret på følgende inputparametre:

- **Amplicon length** (Amplikonlængde) – PCR-produktets forventede længde
- **Annealing temperature** (Hybridiseringstemperatur) – reaktionens T_a for de anvendte primere

Hvis T_a er ukendt, kan du bruge T_a calculator (T_a -beregner) til at beregne det automatisk baseret på primersekvenserne.

Bemærk: T_a tilpasses fra oplysningerne om primersmeltetemperaturen (T_m), som er baseret på det valgte enzym og protokolhastigheden.
- **Enzyme type** (Enzymtype) – DNA-polymeraseenzymet (iTag™, iProof™ DNA-polymerase eller Other (Andet))

Hvis du bruger et andet enzym end iTag eller iProof DNA-polymerase, kan du angive yderligere oplysninger, herunder gradientområde, hot-start-aktiveringstid (i sek.) og endelig forlængelsestid (i sek.).
- **Run speed** (Kørselshastighed) – reaktionshastigheden (standard, hurtig eller ultrahurtig)

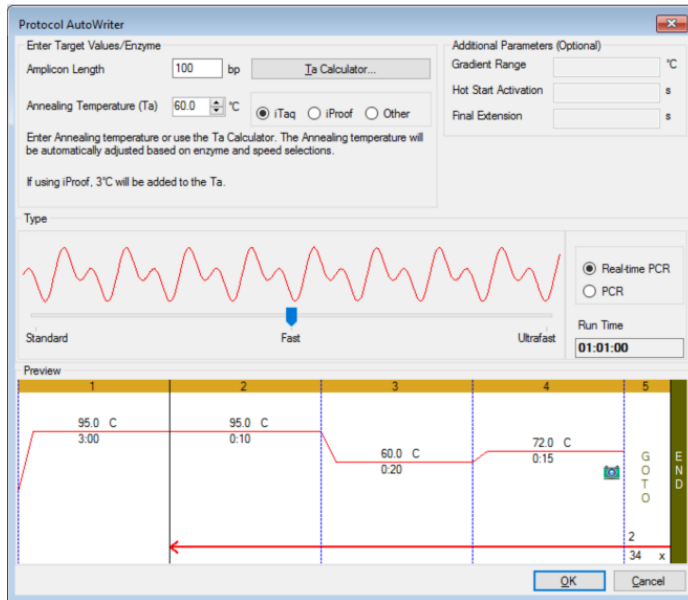
Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) optimerer protokollen afhængigt af den valgte hastighedsindstilling. Den samlede kørselstid bestemmes af antallet af trin og cyklusser, inkubationstiden for hvert trin og den tid, det tager at nå ensartethed ved måltemperaturen.

På baggrund af de indtastede parametre og standard-PCR-retningslinjer genererer Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) automatisk en tilpasset PCR-protokol med hot-start, første denaturering, hybridisering og yderligere trin. Du kan derefter se en grafisk repræsentation af den foreslåede protokol og redigere, køre eller gemme protokollen.

Sådan oprettes en ny protokol med Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) i CFX Manager Dx

1. Vælg Tools > Protocol AutoWriter (Værktøjer > Automatisk protokolskriver) i startvinduet.

Dialogboksen Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) åbnes.



2. Gør følgende i sektionen Enter Target Values/Enzyme (Angiv målværdier/enzym):

- Indtast hybridiseringstemperaturen (T_a) for primerne, hvis den kendes.

Tip: Se [Brug af Ta Calculator \(Ta-beregner\)](#) på side 100 for flere oplysninger.

Bemærk: For oplysninger om de beregninger, der anvendes i T_a calculator (T_a -beregner), henvises til Breslauer et al. 1986.

- Angiv ampliconlængden i basepar (bp).
- Vælg en enzymtype på listen over muligheder (iTaq™ DNA polymerase, iProof™ DNA polymerase eller Other (Andet)).

Tip: Hvis du vælger Other (Andet) som enzymtype, aktiveres parametrene i sektionen Additional Parameters (Optional) (Yderligere parametre (valgfrit)).

3. Hvis du vælger Other (Andet) som enzymtype, kan du tilføje en eller alle af følgende parametre i protokollen:
 - Gradient range (Gradientområde)
 - Hot start activation temperature (Hot-start-aktiveringstemperatur)
 - Final extension time (Endelig forlængelsestid)
4. I sektionen Type kan du flytte skyderen for at vælge en protokolhastighed (Standard, Fast (Hurtig) eller Ultrafast (Ultrahurtig)). CFX Manager Dx tilpasser den totale kørselstid.
5. Vælg den PCR-type, der skal udføres (Real-time PCR (Realtids-PCR) er standard).

Med Real-time PCR (Realtids-PCR) tilføjer CFX Manager Dx et pladeaflysningstrin til indsamling af fluorescensdata.
6. Gennemgå protokollen i sektionen Preview (Forhåndsvisning). Du kan foretage ændringer efter behov.
7. Gør et af følgende:
 - Klik på OK for at gemme den nye protokol. Efter lagring åbnes protokollen i Startup Wizard (Guiden Opstart). Klik på Edit Selected (Rediger valgte) for at foretage ændringer i protokollen. Det kan for eksempel være nødvendigt at ændre lågets temperatur og prøvevolumenet.
 - Klik på Cancel (Annuller) for at lukke vinduet uden at gemme protokollen.

Brug af T_a Calculator (T_a -beregner)

Hvis hybridiseringstemperaturen for primeren er ukendt, kan du bruge T_a Calculator (T_a -beregner) til at beregne værdien. Du kan bruge værdien i Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) eller i Protocol Editor (Protokoleditor) til at oprette din protokol.

Om T_a Calculator (T_a-beregner)

T_a Calculator (T_a-beregner) beregner T_m-værdien for hver primer såvel som T_a-værdien for protokollen ved standardhastighed.

T_a for protokollen er baseret på de gennemsnitlige primer T_m-værdier, hvor følgende regler er anvendt:

- Hvis differencen mellem primer T_m-værdierne er under >4 °C, er T_a = (den mindste af de to primer T_m-værdier + 2) – 4 °C
- Hvis forskellen mellem T_m-værdierne er ≤4 °C, er T_a = (gennemsnit af primer T_m-værdierne) – 4 °C

Basepar-tællemetode

For hver primer bruger T_a-beregneren basepar-tællemetoden for sekvenser på 14 eller færre basepar (bp).

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

hvor w, x, y og z er tallene for disse baser for henholdsvis A, T, G og C i sekvensen.

Nærmeste nabo-metode

For sekvenser, der er længere end 14 bp, bruges nærmeste nabo-metoden. I nærmeste nabo-metoden er beregningerne af smeltetemperaturen baseret på termodynamiske forhold mellem entropi (orden eller et mål for tilfældighed i oligonukleotidet), entalpi (varme afgivet eller absorberet af oligonukleotidet), fri energi og temperatur.

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

hvor:

- ΔH = entalpiværdi, cal/mol*K
- T = temperatur, Kelvin
- ΔS = entropiværdi, cal/mol*K
- ΔG = Gibbs frie energi i cal/mol*K

Ændringen i entropi og entalpi beregnes direkte ved at addere værdierne for nukleotidpar vist i [Tabel 12](#) (Breslauer et al. 1986).

Forholdet mellem den frie energi og koncentrationen af reaktanter og produkter i ligevægt gives af:

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

hvor R er gaskonstanten (1,986 cal/mol*K).

Udskiftning af G i de to ligninger og opløsning for T giver

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

når det antages, at koncentrationen af DNA og DNA-primerkomplekset er lig med hinanden.

Det er blevet bestemt empirisk, at der er en ændring på 5 kcal fri energi (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996) under transitionen fra enkeltstrengt til B-formet DNA. Dette er antageligt helix-initieringsenergi. Endelig giver tilføjelse af en justering for salt den ligning, som bruges af T_m -beregneren:

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

Der er ikke behov for en justeringskonstant for saltkoncentrationen, da de forskellige parametre blev bestemt ved for 1 M NaCl, og \log_{10} på 1 er nul.

De termodynamiske beregninger antager, at hybridisering sker ved pH 7,0. T_m -beregningerne antager, at sekvenserne ikke er symmetriske og indeholder mindst et G eller C.

Den oligonukleotide sekvens skal være mindst 14 baser lang for at kunne give rimelige T_m -værdier. Mindre end 14 baser bruger basepar-tællemetoden (se [Tabel 12](#) nedenfor).

Tabel 12. Breslauer-interaktionskonstanter

Interaktion		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

Tabel 12. Breslauer-interaktionskonstanter, fortsat

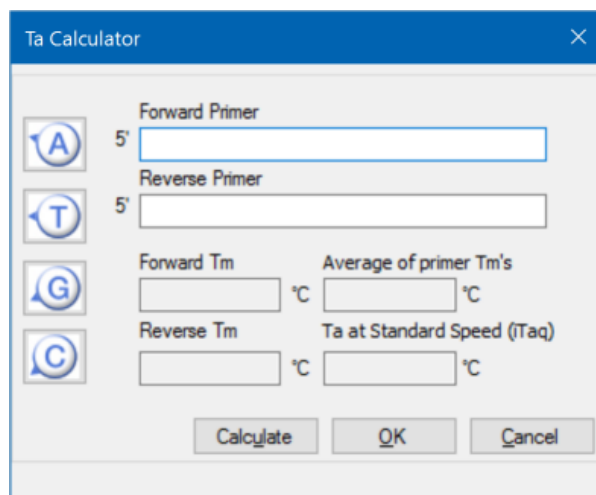
Interaktion		ΔH	ΔS	ΔG
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3
GC	CG	11,1	26,7	3,1
GG	CC	11	26,6	3,1

Brug af T_a Calculator (T_a-beregner)

Sådan anvendes T_a Calculator (T_a-beregner)

1. For at åbne T_a Calculator (T_a-beregner) skal du gøre et af følgende:
 - Klik på T_a Calculator (T_a-beregner) i Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver).
 - Vælg Tools > T_a Calculator (Værktøjer > T_a-beregner) i startvinduet.

Dialogboksen T_a Calculator (T_a-beregner) vises.



2. Skriv eller indsæt forward primer-sekvensen i tekstfeltet Forward Primer.
Tip: Du kan desuden bruge knapperne A, T, G og C i venstre side af dialogboksen til at indtaste sekvensen.
3. Skriv eller indsæt reverse primer-sekvensen i tekstfeltet Reverse Primer.

4. Klik på Calculate (Beregn).

T_a Calculator (T_a-beregner) beregner og viser T_m for hver primer og de gennemsnitlige T_m- og T_a-værdier, for eksempel:

Field	Value	Unit
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

Hvis primer-T_m-værdierne er mere end 4 °C fra hinanden, anvender Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver) den laveste primer-T_m-værdi + 2 °C som udgangspunkt for beregning af T_a-værdien, hvilket kan ændres yderligere ved at modificere enzym- og reaktionshastighed.

T_a Calculator (T_a-beregner) genererer en hybridiseringstemperatur for standardhastighed med iTaq DNA-polymerase. Når der bruges et andet enzym, justerer hastighedsindstillingerne automatisk T_a.

5. Gør et af følgende:
- Klik på OK, hvis T_a Calculator (T_a-beregner) blev åbnet fra Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver). Du vender tilbage til Protocol AutoWriter (Automatisk protokolskriver). Hybridiseringstemperaturen modificeres automatisk.
 - Hvis T_a Calculator (T_a-beregner) blev åbnet fra menuen Tools (Værktøjer), skal du registrere beregningerne og klikke på Cancel (Annuller) for at lukke beregneren.

Kapitel 7 Klargøring af plader

En pladefil indeholder oplysninger om kørselsparametre som for eksempel scanningstilstand, fluoroforer og brøndenes indhold. Efter kørslen linker CFX Manager™ Dx softwaren brøndenes indhold til de fluorescensdata, der blev indsamlet under kørslen, og igangsætter den tilsvarende analyse i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). For eksempel anvendes brønde, der indeholder standardprøvetype, til at generere en standardkurve.

CFX Manager Dx software tilbyder to muligheder til oprettelse af plader: Plate Editor (Pladeeditor) til real-time PCR-kørsler og Setup Wizard (Guiden Opsætning) til normaliseret genekspressionsanalyse.

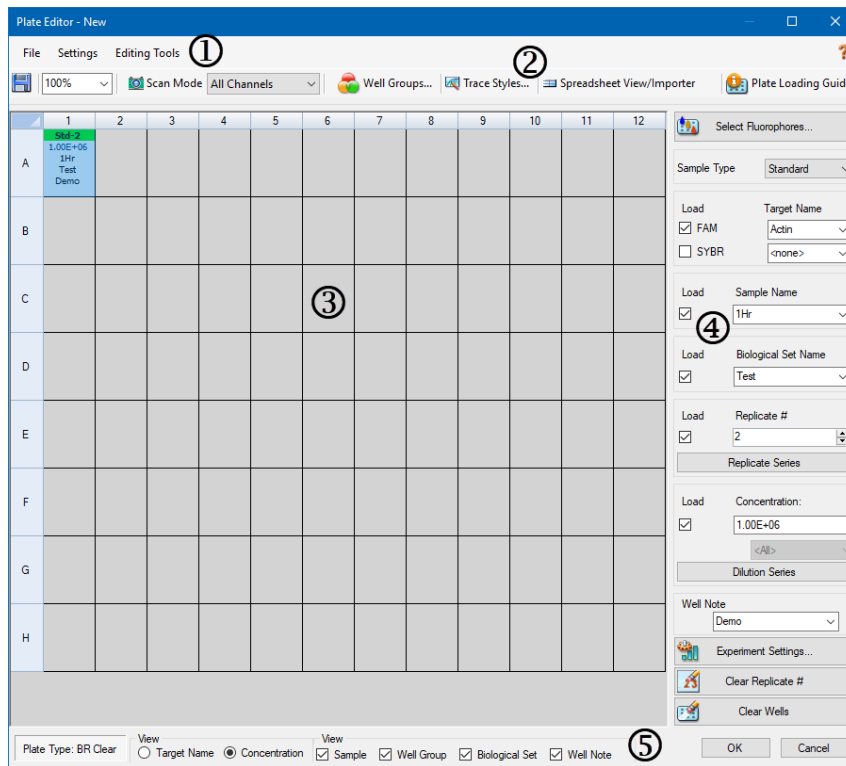
Plate Editor (Pladeeditor) indeholder følgende funktioner:

- Standardfluoroforer og prøvetyper til tildeling til pladebrønde
- Mulighed for at indstille referencemåsekvens (target) og kontrolprøve til genekspressionsanalyse
- Mulighed for at redigere pladens opsætning før, under og efter en kørsel
- Mulighed for at gemme pladefilen til genanvendelse
- Mulighed for at udskrive pladefilen på en standardprinter

Setup Wizard (Guiden Opsætning) fører brugeren gennem de trin, der skal til for at oprette et pladelayout til normaliseret genekspressionsanalyse. Setup Wizard (Guiden Opsætning) kan bruges før, under og efter en kørsel.

Vinduet Plate Editor (Pladeeditor)

Du kan bruge Plate Editor (Pladeeditor) til at oprette brugerdefinerede plader eller til at redigere eksisterende plader.



FORKLARING

1. Menulinjen giver hurtig adgang til menuen File (Fil) og Settings (Indstillinger) samt til valgmuligheder i værktøjerne til pladeredigering.
2. Værktøjslinjen giver hurtig adgang til vigtige pladeisætningsfunktioner.
3. Hovedvinduet viser oversigt og valgmuligheder for plader, efterhånden som de anvendes.
4. Den højre rude viser valgmuligheder, som du kan bruge til at tilpasse pladen.
5. Den nederste rude viser pladetype og giver hurtig adgang til visningsindstillinger.

Kommandoer i menuen File (Fil)

Save (Gem) – gemmer pladedatafilen på den placering, der er angivet på fanen File (Fil) i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Se [Ændring af standardindstillinger for filer på side 63](#) for yderligere oplysninger. Dette menupunkt er kun tilgængeligt, når der oprettes en ny pladefil.

Save As (Gem som) – gemmer den aktuelle pladedatafil med et nyt navn., du angiver. Dette menupunkt er kun tilgængeligt, når der oprettes en ny pladefil.

Extract Plate (Ekstraher plade) – åbner en dialogboks, hvor du kan ekstrahere/gemme pladefilen (.pltd). Dette menupunkt er kun tilgængeligt, når der vises eller redigeres en eksisterende pladefil.

Print (Udskriv) – udskriver den åbne pladedatafil.

Close (Luk) – lukker Plate Editor (Pladeeditor).

Kommandoer i menuen Settings (Indstillinger)

Plate Size (Pladestørrelse) – giver mulighed for at vælge pladestørrelse for kørslen.

Bemærk: CFX Dx system kan kun bruge en plade med 96 brønde.

Plate Type (Pladetype) – giver dig mulighed for at vælge den type af brønde i pladen, som indeholder dine prøver, enten BR White (BR Hvid) eller BR Clear (BR Klar). For at opnå en nøjagtig dataanalyse skal den valgte pladetype være den samme som den pladetype, der anvendes i kørslen.

Number Convention (Nummerkonvention) – giver dig mulighed for at vælge eller fravælge visning af enheder i videnskabelig notation. Standarden er visning af enheder i videnskabelig notation.

Units (Enheder) – giver dig mulighed for at vælge de enheder, der skal vises i regnearkene ved udførelse af kvantifikation af ukendte kontra en standardkurve.

Kommandoer i menuen Editing Tools (Redigeringsværktøjer)

Setup Wizard (Guiden Opsætning) – åbner Setup Wizard (Guiden Opsætning), hvor der kan defineres layout- og analyseparametre for den aktuelle plade. Du kan bruge Setup Wizard (Guiden Opsætning) før, under og efter en kørsel.

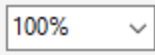
Spreadsheet View/Importer (Visning/import af regneark) – åbner dialogboksen View (Vis), der viser pladens layout som en skabelon i regnearksformat. Du kan bruge denne dialogboks til at eksportere eller importere pladeskabelondata i .csv-format.

Flip Plate (Vend plade) – vender pladens indhold 180°.

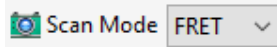
Kommandoer på værktøjslinjen



Gemmer den aktuelle pladefil.



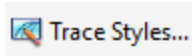
Viser en rulleliste, hvor du kan forøge eller formindske størrelsen af pladevisningen.



Viser en rulleliste, hvor du kan vælge en scanningstilstand, som instruerer instrumentet i, hvilke kanaler det skal indsamle fluorescensdata fra under en kørsel.



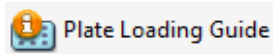
Åbner Well Groups Manager (Brøndgruppeadministrator), som kan bruges til at oprette brøndgrupper for den aktuelle plade.



Viser en dialogboks, hvor du kan vælge farver og symboler for amplifikationskurvelinjerne.



Åbner dialogboksen View (Vis), der viser pladens layout som en skabelon i regnearksformat. Du kan bruge denne dialogboks til at eksportere eller importere pladeskabelondata i .csv-format.



Viser de nødvendige trin til opsætning af en plade og fyldning af brøndene.

Oprettelse af en pladefil med Plate Editor (Pladeeditor)

Der kan oprettes brugerdefinerede pladefiler med Plate Editor (Pladeeditor). Du kan også redigere og gemme tidligere gemte pladefiler eller eksempler på pladefiler, der leveres sammen med CFX Manager Dx software.

For at oprette en ny pladefil skal du gøre følgende:

- Åben en pladefil i Plate Editor (Pladeeditor).
- Vælg pladetypen.

Bemærk: Pladetypen for pladefilen skal være den samme som pladen i reaktionsmodulet.

- Vælg den scanningstilstand, der skal bruges i protokollen.
- Vælg den fluorofor, der skal bruges i pladen.
- Vælg prøvetype, målsekvenser (targets) og prøver.
- Vælg replikater, hvis relevant.
- Gem pladens layout.

Tip: For oplysninger om at oprette en ny plade fra tidligere gemte eller eksempler på pladefiler henvises til [Åbning af en eksisterende pladefil i Plate Editor \(Pladeeditor\) på side 113](#).

Åbning af en ny pladefil i Plate Editor (Pladeeditor)

I CFX Manager Dx software kan du åbne en ny pladefil på forskellige måder:

- Fra startvinduet
- Fra dialogboksen Startup Wizard (Guiden Opstart)
- Fra dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning)

Sådan åbnes en ny pladefil fra startvinduet

- ▶ Vælg File > New > Plate (Fil > Ny > Plade).

Vinduet Plate Editor (Pladeeditor) åbner og viser standardpladefilen for det valgte instrument.

Tip: For information om indstilling af standardpladefilen henvises til [Ændring af standardindstillinger for filer på side 63](#).

Sådan åbnes en ny pladefil fra Startup Wizard (Guiden Opstart)

1. Gør et af følgende i startvinduet for at åbne Startup Wizard (Guiden Opstart), hvis den ikke allerede er åben:

- Vælg View > Startup Wizard (Vis > Guiden Opstart).
- Klik på Startup Wizard (Guiden Opstart) på værktøjslinjen.

Som standard viser Startup Wizard (Guiden Opstart) fanen Run setup (Kørselsopsætning), når instrumentet CFX96™ er valgt.

2. Om nødvendigt vælges instrumenttypen på rullelisten.
3. For at oprette en ny plade skal du klikke på User-defined (Brugerdefineret) som kørselstype.
Dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning) åbner med fanen Protocol (Protokol).
4. Klik på fanen Plate (Plade) og klik på Create New (Opret ny).
Vinduet Plate Editor (Pladeeditor) åbner og viser standardpladelayoutet for det valgte instrument.

Sådan åbnes en ny pladefil fra dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning)

1. Gør et af følgende i startvinduet for at åbne dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning):

- Vælg Run > User-defined Run (Kør > Brugerdefineret kørsel).
- Klik på User-defined Run (Brugerdefineret kørsel) på værktøjslinjen.

Dialogboksen Run Setup (Kørselsopsætning) åbner med fanen Protocol (Protokol).

2. For at oprette en ny plade skal du klikke på fanen Plate (Plade) og klikke på Create New (Opret ny).
Vinduet Plate Editor (Pladeeditor) åbner og viser standardpladelayoutet for det valgte instrument.

Åbning af en eksisterende pladefil i Plate Editor (Pladeeditor)

CFX Manager Dx software leveres med eksempler på pladefiler, som du kan redigere og gemme som en ny plade. Du kan også oprette en ny pladefil fra en tidligere gemt pladefil.

Sådan åbnes et eksempel på en pladefil

1. Vælg File > Open > Plate (Fil > Åbn > Plade).

Windows Stifinder åbner med placeringen af mappen med CFX Manager Dx prøvefiler.

2. Åbn mappen Sample (Prøver) og åbn derefter mappen Plates (Plader).
3. Vælg den ønskede plade, og klik på Open (Åbn).

Eksemplet på pladefilen åbnes i vinduet Plate Editor (Pladeeditor).

4. Vælg File > Save As (Fil > Gem som), og gem pladefilen med et nyt navn eller i en ny mappe.

Sådan åbnes en tidligere gemt pladefil

1. I startvinduet skal du vælge File > Open > Plate (Fil > Åbn > Plade), navigere til og vælge den ønskede plade og klikke på Open (Åbn).

Den ønskede plade åbnes i vinduet Plate Editor (Pladeeditor).

2. Vælg File > Save As (Fil > Gem som), og gem pladefilen med et nyt navn eller i en ny mappe.

Opsætning af en ny pladefil

Tip: Hvis pladefilen allerede indeholder de påkrævede parametre (hvis du for eksempel redigerer en prøve eller en eksisterende pladefil), kan du springe dette afsnit over. Fortsæt til [Tildeling af valgfri parametre til pladefilen på side 120](#).

Nye pladefiler kræver følgende parametre:

- Pladestørrelse
- Pladetype
- Scanningstilstand
- En fluorofor (farve)
- En prøvetype

Valg af pladestørrelse og -type

Vigtigt: Der skal vælges en pladestørrelse under pladeopsætningen. Pladestørrelsen kan ikke ændres under eller efter en kørsel.

Softwaren anvender pladestørrelsen og -typen på alle brønde under kørslen. Kontrollér, at den valgte pladestørrelse er den samme som den plade, der vil blive brugt i kørslen.

Bio-Rads CFX96- og CFX96 Deep Well instrumenter er fabrikskalibrerede til mange fluorescerende farvestof- og pladekombinationer. Kalibreringen er specifik for instrumentet, farvestoffet og pladetyper. Kontrollér, at den fluorofor, som skal anvendes, er kalibreret til den valgte pladetype.

Valg af scanningstilstand

CFX96 og CFX96 Deep Well systemerne exciterer og detekterer fluoroforer i fem kanaler. Alle systemerne bruger flere scanningstilstande for dataoptagelse til at indsamle fluorescensdata under en kørsel.

CFX Manager Dx software har tre scanningstilstande:

- All Channels (Alle kanaler)
 - Scanner kanal 1 til og med 5 på CFX96 og CFX96 Deep Well systemerne

- SYBR®/FAM
 - Scanner kun kanal 1
 - Udfører en hurtig scanning
- FRET
 - Scanner kun FRET-kanalen
 - Udfører en hurtig scanning

Valg af fluoroforer

Vigtigt: Før kørslen påbegyndes, verificerer CFX Manager Dx software, at de fluoroforer, der blev specificeret på pladen, er kalibreret på det pågældende instrument. Du kan ikke køre plader, hvis de indeholder fluoroforer, der ikke er blevet kalibreret på instrumentet.

Du skal indlæse mindst én fluorofor i pladelayoutet før kørslen. Du kan tilføje så mange fluoroforer, som der er behov for på dette tidspunkt, men pladen skal indeholde mindst én fluorofor. De valgte fluoroforer vises som valgmuligheder for målsekvenser (targets) under Target Names (Navne på målsekvenser).

Du kan bruge dialogboksen Select Fluorophores (Vælg fluoroforer) til at indlæse fluoroforer (eller pladefarvestoffer) i betjeningselementerne for brøndisætning i Plate Editor (Pladeeditor). De fluoroforer, der vises i dialogboksen Select Fluorophores (Vælg fluoroforer), afhænger af den valgte scanningstilstand:

- All Channels (Alle kanaler)

Alle tilgængelig fluoroforer vises.

Tip: Du kan tilføje så mange fluoroforer, som der er behov for, men du kan kun anvende én fluorofor pr. kanal i hver brønd.

- SYBR®/FAM

Kun fluoroforerne i kanal 1 vises.

- FRET

Kun fluoroforen i kanal 6 vises.

Tip: FRET-fluoroforen i kanal 6 vises kun, når FRET er den valgte scanningstilstand. Den er ikke tilgængelig i scanningstilstanden All Channels (Alle kanaler).

Bemærk: Du kan ikke tilføje eller fjerne fluoroforer direkte i dialogboksen Select Fluorophore (Vælg fluorofor). Du skal kalibrere nye fluoroforer på instrumentet ved hjælp af Calibration Wizard (Guiden Kalibrering). Efter kalibrering tilføjes den nye fluorofor automatisk til denne liste.

Valg af prøvetyper

Vigtigt: Du skal vælge mindst én prøvetype, der skal tildeles til brøndene på pladen før kørslen.

CFX Manager Dx software giver mulighed for at vælge mellem fem prøvetyper:

- Unknown (Ukendt)
- Standard
- NTC (ingen skabelonkontrol)
- Positive Control (Positiv kontrol)
- Negative Control (Negativ kontrol)
- NRT (ingen revers transkriptase)

Du tildeler prøvetyperne til pladebrøndene.

Opsætning af en ny plade

Sådan opsættes en ny plade

1. Åbn en ny plade i vinduet Plate Editor (Pladeeditor).
2. For at indstille pladestørrelsen skal du vælge Settings > Plate Size (Indstillinger > Pladestørrelse) og vælge den ønskede pladestørrelse i rullemenuen.
3. For at indstille pladetypen skal du vælge Settings > Plate Type (Indstillinger > Pladetype) og vælge enten BR White (BR Hvid) eller BR Clear (BR Klar) i rullemenuen.
4. Du kan også ændre nummerkonventionen og de viste enheder i menuen Settings (Indstillinger):
 - For at ændre talikonventionen skal du vælge Settings > Nummer Convention (Indstillinger > Talkonvention) og vælge Scientific Notation (Videnskabelig notation).

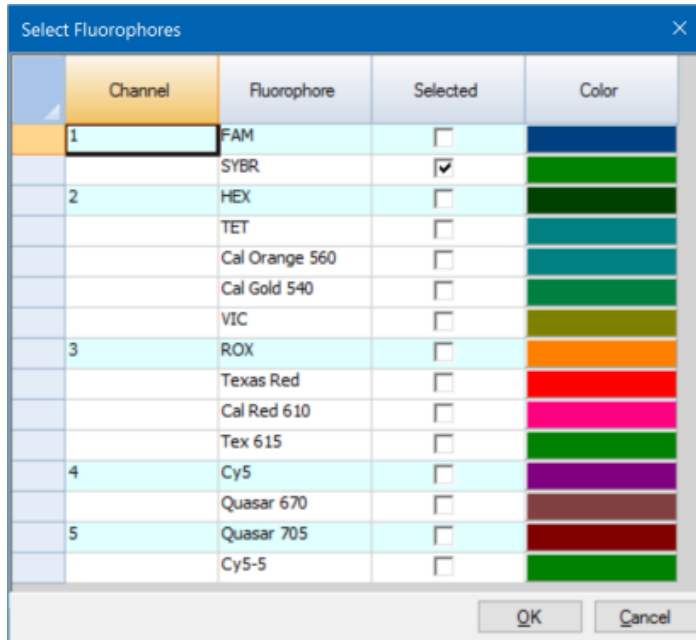
Tip: Scientific Notation (Videnskabelig notation) er valgt som standard. I dette tilfælde vil valg af Scientific Notation (Videnskabelig notation) rydde standarden og indstille nummerkonventionen til standardformat.

 - For at ændre visningsenhederne skal du vælge Settings > Units (Indstillinger > Enheder) og vælge en ny enhedsværdi.
5. For at indstille scanningstilstand skal du vælge den ønskede scanningstilstand på rullelisten Scan Mode (Scanningstilstand) i værktøjslinjen i vinduet Plate Editor (Pladeeditor).

6. Vælg de nødvendige fluoroforer til pladen:

a. I højre rude klikkes på Select Fluorophores (Vælg fluoroforer).

Dialogboksen Select Fluorophores (Vælg fluoroforer) åbnes. Her vises de fluoroforer, der er tilgængelige for den scanningstilstand, du valgte i [Trin 5](#), for eksempel:



b. For at vælge en fluorofor skal du klikke på dens afkrydsningsfelt Selected (Valgt).

Tip: For at fjerne en fluorofor fra listen skal du fjerne markeringen i det relevante afkrydsningsfelt Selected (Valgt).

c. For at ændre visningsfarven for fluoroforen skal du klikke i dens felt Color (Farve).

Bemærk: Den valgte farve repræsenterer fluoroforen i vinduet Plate Editor (Pladeeditor) såvel som i diagrammerne for Data Analysis (Dataanalyse).

d. Vælg den ønskede farve i dialogboksen Color (Farve), eller klik på Define Custom Colors (Definer brugerdefinerede farver) og opret en ny farve, der skal repræsentere fluoroforen.

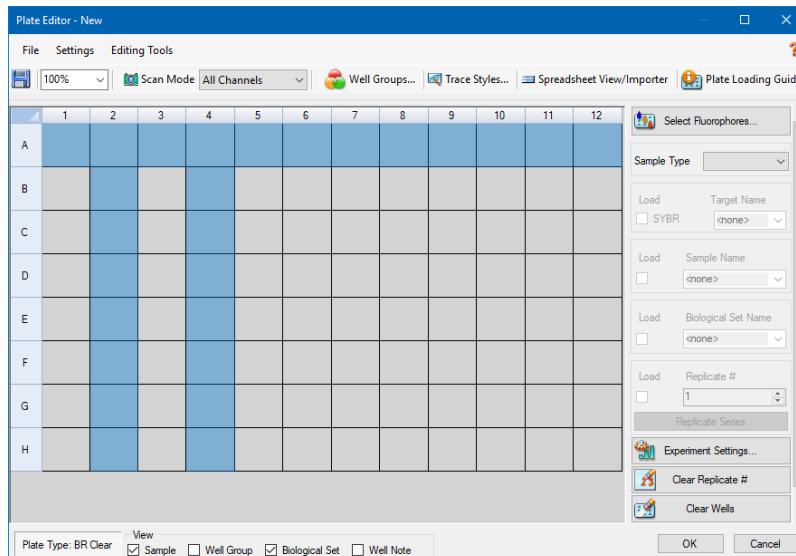
e. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen Select Fluorophores (Vælg fluoroforer).

7. Du skal vælge mindst en brønd, der kan sættes en prøvetype i. Brønd A1 er valgt som standard.

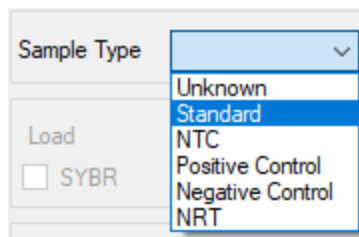
I ruden Plate (Plade) gøres et af følgende:

- For at indlæse flere brønde, der støder op til hinanden, skal du klikke på en brønd og trække til den sidste brønd.
- For at indlæse flere brønde, der ikke støder op til hinanden, skal du holde Ctrl-tasten nede og klikke på de enkelte brønde.
- For at isætte en hel kolonne med samme prøvetype skal du klikke på kolonnens nummer.
- For at isætte en hel række skal du klikke på rækkens nummer.
- For at isætte hele pladen skal du klikke i øverste venstre hjørne af pladen.

For eksempel:



8. Tildel en prøvetype til den eller de valgte brønde i rullemenuen Sample Type (Prøvetype).

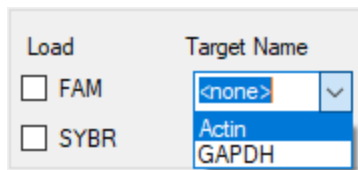


9. Tildel mindst en fluorofor til alle brønde, der indeholder en prøvetype. Du kan tildele mere end én fluorofor til en brønd eller gruppe af brønde.

Bemærk: Du kan kun tildele én fluorofor pr. kanal. Du kan ikke tildele mere end én fluorofor fra samme kanal til den samme brønd.

Tip: Du kan tilknytte en målsekvens (target) til fluoroforen, eller du kan tildele fluoroforen alene til brønden på dette tidspunkt og tilknytte en målsekvens (target) til fluoroforen, når du har kørt eksperimentet.

- Hvis du kun vil tildele en fluorofor til de valgte brønde, skal du markere afkrydsningsfeltet Load (Indlæs) i sektionen Target Names (Navne på målsekvenser) i højre rude for den specifikke fluorofor.
- For at tilknytte en målsekvens (target) til en fluorofor skal du vælge et navn på en målsekvens (target) på rullelisten for den specifikke fluorofor i sektionen Target Names (Navne på målsekvenser). Softwaren markerer automatisk afkrydsningsfeltet Load (Indlæs).



10. For brønde, der indeholder prøvetypen Standard, skal der indlæses en koncentration. Hver brønd kan have forskellige koncentrationsværdier. Som standard indlæser CFX Manager Dx software en koncentration på 1,00E+06 for alle brønde med prøvetypen Standard. Du kan ændre værdien, hvis det er nødvendigt.

- a. I ruden Plate (Plade) vælges en Standard brønd eller gruppe af brønde.
- b. I sektionen Concentration (Koncentration) skal du klikke på Load (Indlæs) for at indlæse værdien i den eller de valgte brønde.
- c. (Valgfrit) Du kan indlæse en anden koncentration ved at indtaste den nye værdi i tekstfeltet Concentration (Koncentration) og trykke på Enter.
- d. Udfør dette trin for alle brønde med prøvetypen Standard.

Tip: For at isætte den samme koncentration i alle standardbrønde skal du sikre, at <All> (Alle) vises på rullelisten under værdien Concentration (Koncentration). For at isætte den samme koncentration i alle brønde med en specifik fluorofor skal du klikke på rullelisten og vælge fluoroforen.

11. Klik på OK for at gemme den nye plade.

Tildeling af valgfri parametre til pladefilen

En pladefil indeholder oplysninger om indholdet i hver af de brønde, der isættes med prøve til en kørsel. Efter kørslen sammenkæder CFX Manager Dx software brøndens indhold med de fluorescensdata, der blev indsamlet under protokollen, og udfører den relevante analyse i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).

I CFX Manager Dx kan du tildele parametre til hver brønd på pladen før, under og selv efter kørslen af eksperimenter. Parametrene kan tildeles til en eksisterende pladefil eller til en ny pladefil. Disse parametre omfatter:

- **Target names** (Navne på målsekvenser) – interessenmålet/-målene (gener eller sekvenser) i hver af de isatte brønde.
- **Sample names** (Prøvenavne) – den identifikator eller betingelse, der svarer til prøven i hver af de isatte brønde, som for eksempel 0Hr, 1Hr eller 2Hr.

Tip: Navne på målsekvenser (targets) og prøvenavne skal være de samme på tværs af brøndene for at kunne sammenligne data på fanen Gene Expression (Genekspression) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). Hvert af disse navne skal skrives med den samme anvendelse af store bogstaver, tegnsætning og mellemrum. For eksempel er "Actin" ikke det samme som "actin", "2Hr" er ikke det samme som "2 hr." og "Mouse 1" er ikke det samme som "mouse1". For at sikre en konsekvent navngivning kan navnene indtastes i sektionen Libraries (Biblioteker) under User > User Preferences > Plate (Bruger > Brugerpræferencer > Plade), der findes i startvinduet.

- **Biological sets** (Biologiske sæt) – den identifikator eller betingelse, der svarer til et sæt af brønde.
- **Replicates** (Replikater) – hver brønd som anvendes til at analysere den samme kombination af prøve og målsekvens (target), med andre ord replikerede qPCR-reaktioner.
- **Dilution series** (Fortyndingsserier) – den mængde der skal til for at ændre koncentrationen af standardprøvetyper i en replikatgruppe for at oprette standardkurve-data til analyse.

Tildeling af en målsekvens (target) til brønde

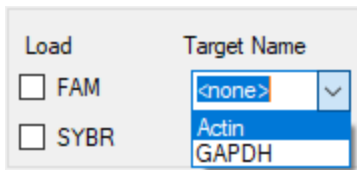
Tip: Du kan tildele det samme målsekvensnavn (target) til en enkelt brønd eller til flere brønde. Du kan også tildele flere målsekvenser (targets) til den samme brønd.

Sådan tildeles en målsekvens (target) til en brønd eller en gruppe brønde

1. Kontroller i Plate Editor (Pladeeditor), at brønden eller gruppen af brønde er tildelt en prøvetype.

Se [Valg af prøvetyper på side 116](#) for oplysninger om tildeling af prøvetyper til brønde.

2. Vælg brønden eller gruppen af brønde i ruden med pladen:
 - Vælg en enkelt brønd ved at klikke på brønden.
 - For at vælge flere brønde, der støder op til hinanden, skal du klikke på en brønd og trække til den sidste brønd.
 - For at vælge flere brønde, der ikke støder op til hinanden, skal du holde Ctrl-tasten nede og klikke på de enkelte brønde.
 - For at vælge en hel kolonne med samme prøvetype skal du klikke på kolonnens nummer.
 - For at vælge en hel række skal du klikke på rækkens nummer.
3. Vælg et navn på rullelisten Target Name (Navn på målsekvens) i højre rude for hver valgt fluorofor.



4. Gentag [Trin 3](#) for hver brønd eller gruppe af brønde, der skal tildeles en målsekvens (target) til.

Tip: Du kan tildele det samme eller et andet navn på en målsekvens (target) til hver valgt fluorofor.
5. Klik på OK for at acceptere ændringerne og gemme pladen.

Sådan fjernes et navn på en målsekvens (target)

- ▶ Et navn på en målsekvens (target) kan fjernes fra den valgte brønd eller gruppe af brønde ved at fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Load (Indlæs).

Vigtigt: Fjernelse af et navn på en målsekvens (target) fra en brønd fjerner også dens tilknyttede fluorofor. Vær forsigtig, når du fjerner et navn på en målsekvens (target) fra en brønd.

Sådan tilføjes et navn på en målsekvens (target) til listen

- ▶ Et navn på en målsekvens (target) kan tilføjes til rullelisten på en af følgende måder:
 - Indtast et navn på rullelisten Target Name (Navn på målsekvens), og tryk på Enter.

Tip: De navne på målsekvenser (targets), du tilføjer på én liste, vises på alle andre lister over målsekvenser (targets).
 - Klik på det grønne +-symbol til højre for rullelisten, indtast et navn på en målsekvens (target), og tryk på Enter.

- Klik på User Preferences (Brugerpræferencer) på værktøjslinjen, og tilføj navnet til biblioteket Target Names (Navne på målsekvenser) på fanen Plate (Plade).

Vigtigt: Navne på målsekvenser (targets), du tilføjer på rullelisten, er kun tilgængelige for den aktuelle plade, og kun hvis du tildeler navnet til en brønd og gemmer pladelayoutet. Hvis du ikke tildeler navnet til en brønd og gemmer pladelayoutet, gemmes navnet ikke og er ikke tilgængeligt til fremtidig brug. For at tilføje et navn på en målsekvens (target) permanent skal det også tilføjes til biblioteket Target Names (Navne på målsekvenser) vha. dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Navne, du tilføjer til biblioteket, er tilgængelige, når Plate Editor (Pladeeditor) åbnes igen. Se [Indstilling af standardparametre for plader på side 66](#) for yderligere oplysninger.

Sådan slettes et navn på en målsekvens (target) fra listen

1. Klik på User Preferences (Brugerpræferencer) på værktøjslinjen.
Dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer) vises med fanen Plate (Plade) åben.
2. Vælg det navn, der skal slettes, i biblioteket Target Names (Navne på målsekvenser) på fanen Plate (Plade), og tryk på tasten Delete.
3. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).

Vigtigt: Du kan ikke slette navne på målsekvenser (targets), du har gemt med en pladefil. Tilpassede navne, du tilføjer på rullelisten Target Names (Navne på målsekvenser), og som du ikke bruger og gemmer med pladen, fjernes automatisk fra listen. Navne, som slettes fra biblioteket Target Names (Navne på målsekvenser), fjernes permanent fra softwaren og er ikke længere tilgængelige for brugerne. Vær forsigtig, når du sletter navne på målsekvenser (targets).

Tildeling af et prøvenavn til brønde

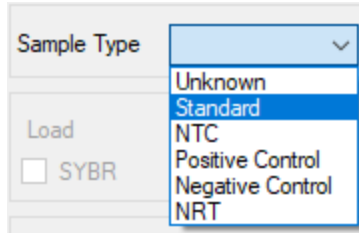
Bemærk: For at kunne tildele prøvenavn skal der tildeles mindst én fluorofor til de valgte brønde. Hvis de valgte brønde ikke har fået tildelt en fluorofor, deaktiveres rullelisten Sample Names (Prøvenavne). Se [Tildeling af en målsekvens \(target\) til brønde på side 120](#) for at få oplysninger om tildeling af fluoroforer.

Tip: Du kan kun tildele ét prøvenavn til hver brønd eller gruppe af brønde.

Sådan tildeles et prøvenavn til en brønd eller en gruppe af brønde

1. Sørg for, at brønden eller gruppen af brønde har fået tildelt en fluorofor i Plate Editor (Pladeeditor).
2. Vælg brønden eller gruppen af brønde i pladeruden.

3. Vælg et navn på rullelisten Sample Names (Prøvenavne) i højre rude.



4. Gentag [Trin 3](#) for hver brønd eller gruppe af brønde, der skal tildeles et prøvenavn til.
5. Klik på OK for at acceptere ændringerne og gemme pladen.

Sådan fjernes et prøvenavn

- For at fjerne et prøvenavn fra en valgt brønd eller gruppe af brønde skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Load (Indlæs).

Sådan tilføjes et prøvenavn til listen

- For at tilføje et prøvenavn på rullelisten skal du gøre et af følgende:
 - Indtast et navn på rullelisten Sample Names (Prøvenavne), og tryk på Enter.
 - Klik på det grønne +-symbol til højre for rullelisten, og indtast et navn til prøven.
 - Klik på User Preferences (Brugerpræferencer) på værktøjslinjen, og tilføj navnet til biblioteket Sample Names (Prøvenavne) på fanen Plate (Plade).

Vigtigt: Prøvenavne, du tilføjer på rullelisten, er kun tilgængelige for den aktuelle plade, og kun hvis du tildeler navnet til en brønd og gemmer pladens layout. Hvis du ikke tildeler navnet til en brønd og gemmer pladelayoutet, gemmes navnet ikke og er ikke tilgængeligt til fremtidig brug. For at tilføje et prøvenavn permanent skal det også tilføjes til biblioteket Sample Names (Prøvenavne) ved hjælp af dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Navne, du tilføjer til biblioteket, er tilgængelige, når Plate Editor (Pladeeditor) åbnes igen. Se [Indstilling af standardparametre for plader på side 66](#) for yderligere oplysninger.

Sådan slettes et prøvenavn fra listen

1. Klik på User Preferences (Brugerpræferencer) på værktøjslinjen.
Dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer) vises med fanen Plate (Plade) åben.
2. Vælg det navn, der skal slettes, i biblioteket Sample Names (Prøvenavne) på fanen Plate (Plade), og tryk på tasten Delete (Slet).

3. Klik på OK for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer).

Vigtigt: Du kan ikke slette prøvenavne, der blev gemt med en pladefil. Brugerdefinerede navne, du tilføjer på rullelisten Sample Names (Prøvenavne) og som du ikke bruger og gemmer med pladen, fjernes automatisk fra rullelisten. Navne, du sletter fra biblioteket Sample Names (Prøvenavne), fjernes fra softwaren og er ikke længere tilgængelige for brugerne. Vær forsigtig, når du sletter prøvenavne.

Tildeling af biologiske sæt til brønde

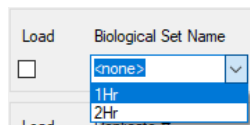
Bemærk: For at kunne tildele et biologisk sæt skal der tildeles mindst én fluorofor til de valgte brønde. Tildeling af en fluorofor aktiverer rullelisten Biological Set Name (Navn på biologisk sæt). Se [Tildeling af en målsekvens \(target\) til brønde på side 120](#) for at få oplysninger om tildeling af fluoroforer.

Tip: Du kan tildele ét biologisk sæt til hver brønd eller gruppe af brønde.

Sådan tildeles et biologisk sæt til en brønd eller gruppe af brønde

1. Markér afkrydsningsfeltet Biological Set (Biologisk sæt) under valgmulighederne for View (Vis) nederst i vinduet Plate Editor (Pladeeditor).
2. Sørg for, at brønden eller gruppen af brønde har fået tildelt en fluorofor i Plate Editor (Pladeeditor).
3. Vælg brønden eller gruppen af brønde i pladeruden.
4. Vælg et navn på rullelisten Biological Set (Biologisk sæt) i højre rude.

CFX Manager Dx software markerer automatisk afkrydsningsfeltet Load (Indlæs).



5. Gentag [Trin 4](#) for hver brønd eller gruppe af brønde, til hvilke der skal tildeles et biologisk sæt.
6. Klik på OK for at acceptere ændringerne og gemme pladen.

Tip: Tildeling af navne til biologiske sæt aktiverer Biological Set Analysis Options (Valgmuligheder for analyse af biologiske sæt) i dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger), i hvilken der kan udføres prøveanalyse i en af fire konfigurationer. Se [Ændring af eksperimentindstillinger på side 131](#) for yderligere oplysninger.

Sådan fjernes et biologisk sæt

- ▶ For at fjerne et biologisk sæt fra den valgte brønd eller gruppe af brønde skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Load (Indlæs).

Sådan tilføjes et biologisk sæt til listen

- ▶ For at tilføje et biologisk sæt til rullelisten skal du indtaste et navn i rullefeltet Biological Set Name (Navn på biologisk sæt) og trykke på Enter.

Vigtigt: Navne på biologiske sæt, som tilføjes på rullelisten, er kun tilgængelige for den aktuelle plade, og kun hvis du tildeler navnet til en brønd og gemmer pladernes layout. Hvis navnet ikke tildeles til en brønd, og pladens layout ikke gemmes, gemmes navnet ikke og vil ikke være tilgængeligt til fremtidig brug.

Sådan vises alle biologiske sæt på pladen

- ▶ Markér afkrydsningsfeltet Biological Set (Biologisk sæt) under valgmulighederne for View (Vis) nederst i vinduet Editor.



Alle brønde viser navnet på deres biologiske sæt, hvis det er tildelt. Betjeningselementet Biological Set Name (Navn på biologisk sæt) vises i højre rude.

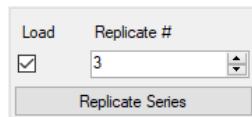
For at skjule biologiske sæt skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Biological Set (Biologisk sæt) under valgmulighederne for View (Vis).

Tildeling af replikatnumre til brønde

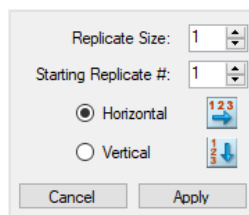
Vigtigt: Hvis der skal tildeles replikatnumre, skal de valgte brønde have identisk brøndindhold. Det vil sige, at de valgte brønde skal have samme prøvetype og fluorofor. Hvis relevant, skal de desuden tildeles samme navne på målsekvenser og prøver og samme biologiske sæt. Hvis de ikke er identiske, aktiveres denne valgmulighed ikke i CFX Manager Dx software.

Sådan tildeles replikatnumre til en gruppe af brønde

1. Kontrollér, at indholdet af gruppen af brønde er identisk i Plate Editor (Pladeeditor).
2. Vælg målgruppen af brønde i pladeruden.
3. For at tildele det samme replikatnummer til alle valgte brønde skal du indtaste replikatnummeret i feltet under Replicate # (Replikatnummer) i højre rude og vælge Load (Indlæs).



4. (Valgfrit) Sådan anvendes en replikatserie på et sæt valgte brønde:
 - a. Klik på Replicate Series (Replikatserie). Sektionen Replicate # (Replikatnummer) ændres til at vise følgende valgmuligheder:



- **Replicate size** (Replikatstørrelse) – et tal, der repræsenterer antallet af brønde i hver gruppe af replikater
- **Starting Replicate #** (Startreplikatnummer) – det første tal i replikatserien for den valgte gruppe af replikater

Bemærk: CFX Manager Dx software viser som standard startreplikatnummeret som et tal, der er større end det sidste replikatnummer, som er tildelt i pladen. Hvis det seneste replikatnummer, der er tildelt i pladen, for eksempel er fem, vil det næste startnummer være seks. Du kan ændre startnummeret til et andet nummer, som ikke allerede er tildelt.

- Isætningsretning (Horizontal (Vandret) eller Vertical (Lodret))
- b. Klik på Apply (Anvend) for at anvende parametrene på serierne og vende tilbage til skærmen Replicate # (Replikatnummer).
5. Klik på OK for at acceptere ændringerne og gemme pladen.

Sådan fjernes en brønd fra en replikatserie

- ▶ Vælg den brønd eller den gruppe af brønde, som skal fjernes, og fjern markeringen i afkrydsningsfeltet Replicate # Load (Indlæs replikatnummer).

Du kan også klikke på Clear Replicate # (Ryd replikatnummer) for at fjerne replikatnummeret fra en valgt brønd eller gruppe af brønde.

Tildeling af en fortyndingsserie til standardprøvetyper

Som tidligere nævnt skal alle brønde med prøvetypen Standard tildeles en koncentrationseværdi. Du kan tildele en fortyndingsserie til flere brønde med prøvetypen Standard.

Bemærk: For at tildele en fortyndingsserie til en gruppe af brønde skal brøndene være medtaget i en replikatserie. Se [Tildeling af replikatnumre til brønde på side 125](#) for at få oplysninger om tilføjelse af brønde til en replikatserie.

Sådan tildeles en fortyndingsserie til en gruppe af standardprøvebrønde

1. Kontrollér i Plate Editor (Pladeeditor), at følgende krav er opfyldt:
 - Prøvetyper for gruppen af brønde er Standard.
 - Alle brønde i gruppen er tildelt mindst én fluorofor, og de indeholder allesammen de samme fluoroforer.
 - Alle brønde i gruppen er medtaget i den samme replikatserie.

Bemærk: CFX Manager Dx software aktiverer først funktionen Dilution Series (Fortyndingsserie), når alle valgte brønde opfylder disse kriterier.
2. Vælg målgruppen af brønde i pladeruden.
3. Klik på Dilution Series (Fortyndingsserie) i sektionen Concentration (Koncentration) i højre rude. Sektionen Concentration (Koncentration) skifter til visning af følgende valgmuligheder:

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

- **Starting concentration** (Startkoncentration) – den koncentrationsværdi, serien starter fra
 - **Replicates from and to** (Replikater fra og til) – de replikater i serien, som fortyndingsfaktoren vil blive anvendt på
 - **Dilution factor** (Fortyndingsfaktor) – den mængde, som koncentrationen skal ændres med inden for hver replikatgruppe
4. Indstil værdierne for valgmulighederne, eller accepter standardindstillingerne.
 5. Fortyndingsserien formindskes som standard med fortyndingsfaktoren. Vælg Increasing (Stigende) for at forøge fortyndingsserien.
 6. (Valgfrit) Fortyndingsfaktoren gælder som standard for alle fluoroforer i replikatserien. Hvis serien indeholder mere end én fluorofor, og du vil anvende fortyndingen på en enkelt fluorofor, skal du vælge den på rullelisten.
 7. Klik på Apply (Anvend) for at anvende fortyndingsserien på gruppen af brønde og vende tilbage til visningen Concentration (Koncentration).
 8. Klik på OK for at acceptere ændringerne og gemme pladen.

Kopiering af brøndindhold til en anden brønd

Du kan kopiere indholdet i en brønd og indsætte det i en enkelt brønd eller flere brønde. Du kan dog kun kopiere indhold fra en enkelt brønd. Du kan ikke vælge flere brønde og kopiere deres indhold.

Sådan kopieres brøndindhold til en anden brønd

1. Vælg den brønd, der skal kopieres, i pladeruden.
 2. Højreklik på brønden, og vælg Copy Well (Kopier brønd).
 3. Vælg den eller de brønde, som indholdet skal indsættes i:
 - For at vælge en enkelt brønd skal du klikke på brønden.
 - For at vælge flere brønde, der støder op til hinanden, skal du klikke på en brønd og trække til den sidste brønd.
 - For at vælge flere brønde, der ikke støder op til hinanden, skal du holde Ctrl-tasten nede og klikke på de enkelte brønde.
 4. Højreklik, når de ønskede brønde er valgt, og vælg Paste Well (Indsæt brønd).
- CFX Manager Dx software indsætter indholdet af den første brønd i de valgte brønde.

Tilføjelse af en bemærkning til en brønd

Du kan tilføje en beskrivende bemærkning til en brønd. Du kan se bemærkningerne for en brønd på fanen Quantification (Kvantifikation) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).

Sådan tilføjes en bemærkning til en brønd

1. Vælg den eller de brønde, der skal tilføjes en bemærkning til, i ruden med pladen.
2. I sektionen View (Vis) nederst i ruden skal du vælge Well Note (Brøndbemærkning).

Well Note (Brøndbemærkning) vises i højre rude.


 A screenshot of a software interface showing a dropdown menu labeled 'Well Note'. The menu is open, and the selected option is '<none>'. The dropdown is located within a larger window or panel.

3. Indtast bemærkningen i tekstfeltet, og tryk på Enter.

Teksten vises nederst i de valgte brønde.

Tip: Hvis du tidligere har oprettet en brøndbemærkning, kan du vælge den på rullelisten og anvende den i de valgte brønde.

Rydning af brønde for alt indhold

Du kan rydde en individuel brønd, en gruppe af brønde eller hele pladen for alt indhold. Rydning af brønde fjerner ikke de fluorescensdata, som blev indsamlet under pladeaflysningen.

Hvis en brønd ryddes, fjernes indholdet permanent fra brønden. Vær forsigtig, når du rydder brønde.

Sådan ryddes brønde for alle indstillinger

1. Vælg brønden eller gruppen af brønde i pladeruden i Plate Editor (Pladeeditor):
 - For at vælge en enkelt brønd skal du klikke på brønden.
 - For at vælge flere brønde, der støder op til hinanden, skal du klikke på en brønd og trække til den sidste brønd.
 - For at vælge flere brønde, der ikke støder op til hinanden, skal du holde Ctrl-tasten nede og klikke på de enkelte brønde.

- For at vælge en hel kolonne med samme prøvetype skal du klikke på kolonnens nummer.
 - For at vælge en hel række skal du klikke på rækkens nummer.
2. Klik på Clear Wells (Ryd brønde) i den højre rude.
CFX Manager Dx software rydder de valgte brønde for alle indstillinger.
 3. Klik på OK for at acceptere ændringerne og gemme pladen.

Ændring af eksperimentindstillinger

Brug dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) til at vise eller ændre listen med målsekvenser (targets) eller prøver, eller til at vælge gruppen til genekspressionsanalyse og valgmuligheder for analyse, hvis du tildelte biologiske sæt til brønde i pladen.

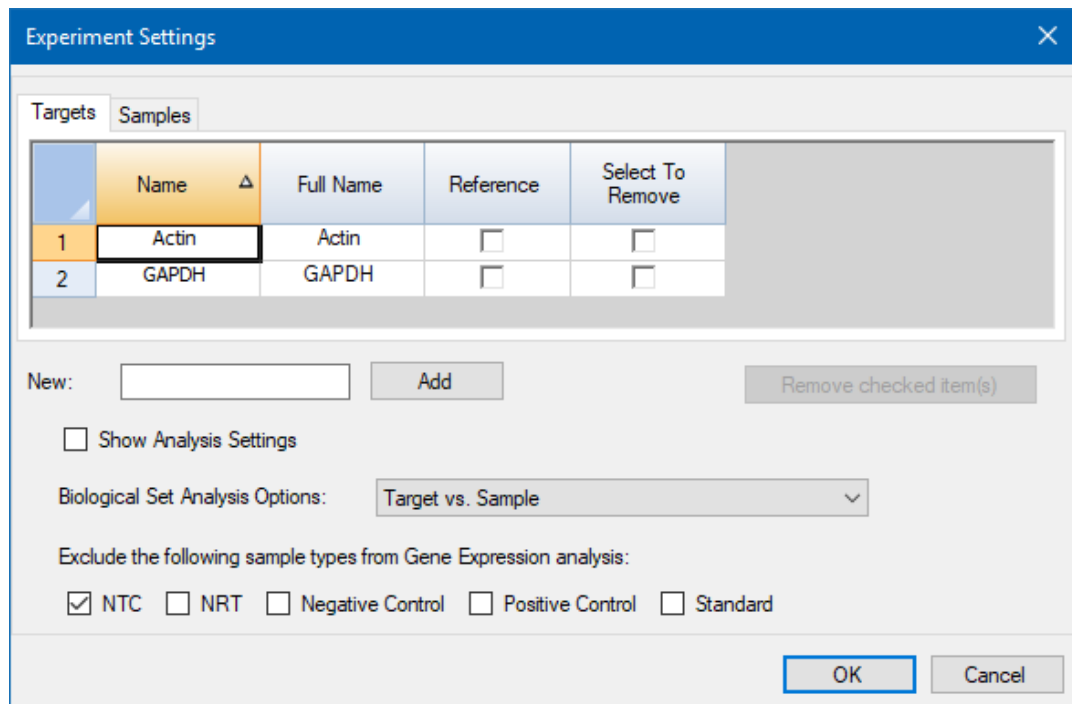
I dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) viser fanen Targets (Målsekvenser) en liste med navne på målsekvenser for hver PCR-reaktion, som f.eks. målsekvensgenet eller interessegenekvenserne.

Fanen Samples (Prøver) viser en liste med navne på prøver, der angiver kilden til målsekvensen (target), som f.eks. en prøve indsamlet efter 1 time (1Hr) eller fra et bestemt individ (mouse1).

Sådan ændres pladeindstillinger vha. dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger)

1. For at åbne dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) skal du gøre et af følgende:
 - Klik på Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) i den højre rude i Plate Editor (Pladeeditor)
 - Klik på Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) på fanen Gene Expression (Genekspression) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).

Dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) vises med indholdet fra fanen Targets (Målsekvenser).



- Et nyt navn på en målsekvens (target) eller en prøve kan tilføjes ved at indtaste navnet i tekstfeltet New (Ny) på den relevante fane og derefter klikke på Ad (Tilføj).
- For at fjerne et eller flere navne på målsekvenser (targets) eller prøver fra listen skal du markere elementets afkrydsningsfelt i kolonnen Select to Remove (Markér til fjernelse) på den relevante fane og klikke på Remove checked item(s) (Fjern valgte elementer).
- CFX Manager Dx software udelader prøvetypen NTC (ingen skabelonkontrol) fra genekspressionsanalyse.

For at medtage NTC-prøvetyper skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Exclude the following sample types (Udelad følgende prøvetyper). Du kan vælge at udelade følgende prøvetyper ved at markere det relevante afkrydsningsfelt:

- NRT (ingen revers transkriptase)
- Negative Control (Negativ kontrol)
- Positive Control (Positiv kontrol)
- Standard

5. På fanen Targets (Målsekvenser):

- a. For at vælge en målsekvens (target) som reference for analyse af genekspressionsdata skal du vælge det i kolonnen Reference.
- b. For at skjule analyseindstillinger, der anvendes på fanen Gene Expression (Genekspression) i vinduet Analysis Settings (Analyseindstillinger), skal du fjerne markeringen i Show Analysis Settings (Vis analyseindstillinger).

Software skjuler følgende kolonner:

- Color (Farve)
 - Show Chart (Vis diagram)
 - Auto Efficiency (Automatisk effektivitet)
 - Efficiency (%) (Effektivitet (%))
- c. For at ændre farven på målsekvensen (target), som den gengives i diagrammet Gene Expression (Genekspression), skal du klikke på dets celle i kolonnen Color (Farve), vælge en ny farve i dialogboksen Color (Farve) og klikke på OK.
 - d. For at vise målsekvensen (target) med den valgte farve i diagrammet Gene Expression (Genekspression) skal du markere afkrydsningsfeltet i kolonnen Show Chart (Vis diagram).
 - e. Som standard beregner CFX Manager Dx automatisk den relative effektivitet for en målsekvens (target), hvis dets data omfatter en standardkurve.

For at bruge en tidligere fastlagt effektivitetsværdi skal du indtaste værdien i cellen i kolonnen Efficiency (%) (Effektivitet (%)) og trykke på tasten Enter. CFX Manager Dx fjerner markeringen i afkrydsningsfeltet Auto Efficiency (Automatisk effektivitet).

6. På fanen Samples (Prøver):

- a. For at vælge en prøve som kontrolprøve for analysen af genekspressionsdata skal du vælge dens afkrydsningsfelt i kolonnen Control (Kontrol).
- b. For at tildele en kontrolbetingelse til en prøve for en kørsel skal du klikke i dens afkrydsningsfelt i kolonnen Control (Kontrol).
- c. Hvis det ikke allerede er valgt, kan du klikke på Show Analysis Settings (Vis analyseindstillinger) for at vise eller ændre de analyseparametre, der bruges på fanen Gene Expression (Genekspression). Software skjuler kolonnerne Color (Farve) og Show Chart (Vis diagram).

7. Hvis du tildelte et eller flere biologiske sæt til brønde i pladen (se [Tildeling af biologiske sæt til brønde på side 124](#)), skal du vælge en af de følgende valgmuligheder fra listen Biological Set Analysis Options (Valgmuligheder for analyse af biologiske sæt):
 - **Target vs. Sample** (Måsekvens kontra prøve) – kun brøndens prøvenavn bruges i beregningerne af genekspression.
 - **Target vs. Biological Set** (Måsekvens kontra biologisk sæt) – kun navnet på det biologiske sæt bruges i beregningerne.
 - **Target vs. Sample_Biological Set** (Måsekvens kontra prøve_biolgisk sæt) – prøvenavnet og navnet på det biologiske sæt kombineres for at oprette et enkelt navn, der bruges i beregningerne.
 - **Target vs. Biological Set_Sample** (Måsekvens kontra biologisk sæt_prøve) – navnet på det biologiske sæt og prøvenavnet kombineres for at oprette et enkelt navn, der bruges i beregningerne.
8. Klik på OK for at gemme parametrene i dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) og vende tilbage til vinduet Plate Editor (Pladeeditor).

Oprettelse af brøndgrupper

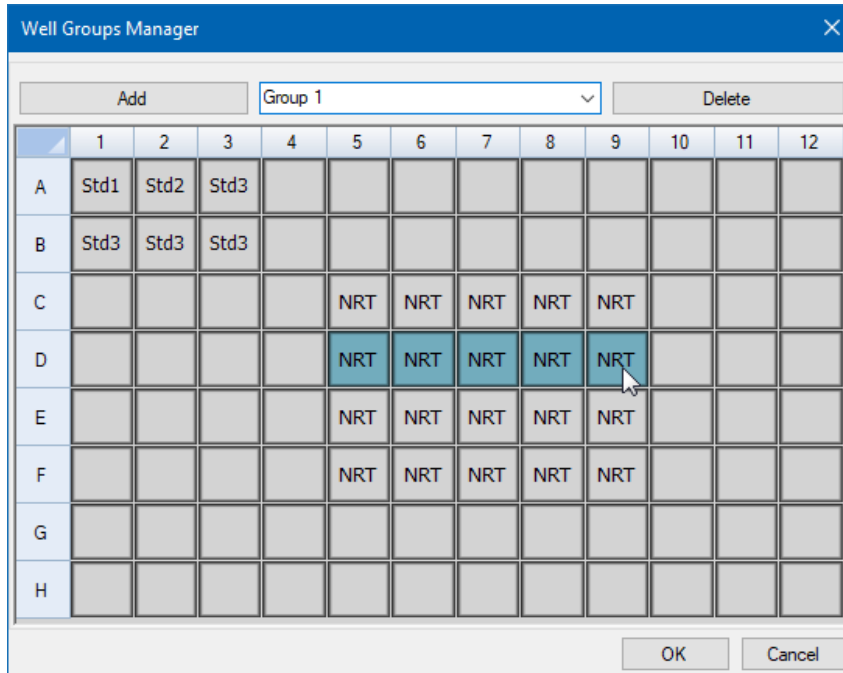
Brøndgrupper opdeler en enkelt plade i undersæt, der kan analyseres hver for sig i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). Når brøndgrupperne er opsat, kan du vælge en i vinduet Data Analysis (Dataanalyse) for at analysere dataene som en uafhængig gruppe. Der kan for eksempel opsættes brøndgrupper for at analysere flere eksperimenter, der køres i én plade, eller for at analysere hver brøndgruppe med en forskellig standardkurve.

Bemærk: Standardbrøndgruppen er All Wells (Alle brønde).

Sådan oprettes brøndgrupper

1. For at åbne Well Groups Manager (Brøndgruppeadministrator) skal du gøre et af følgende:
 - Klik på Well Groups (Brøndgrupper) på værktøjslinjen i Plate Editor (Pladeeditor).
 - I vinduet Data Analysis (Dataanalyse) skal du klikke på Manage Well Groups (Administrer brøndgrupper).

Dialogboksen Well Groups Manager (Brøndgruppeadministrator) åbnes.



2. Klik på Add (Tilføj) for at oprette en ny gruppe. Rullemenuen viser gruppenavnet som Group 1 (Gruppe 1) for den første gruppe.
3. Vælg brøndene til brøndgruppen i pladevisningen ved at klikke og trække på tværs af gruppen af brønde. Valgte brønde vises med blå i administratoren.
4. (Valgfrit) Navnet på en gruppe kan ændres ved at vælge navnet i rullemenuen og indtaste et nyt navn.
5. (Valgfrit) En brøndgruppe kan slettes ved at vælge navnet på rullelisten og klikke på Delete (Slet).
6. Klik på OK for at afslutte og lukke vinduet, eller klik på Cancel (Annuller) for at lukke vinduet uden at gemme ændringerne.

Vigtigt: For at vise brøndgrupperne skal du vælge Well Groups (Brøndgrupper) i valgmulighederne for View (Vis) nederst i vinduet Plate Editor (Pladeeditor).

Genvejsmenupunkter for dialogboksen Well Groups Manager (Brøndgruppeadministrator)

Tabel 13 indeholder en liste over de menupunkter, der er tilgængelige i dialogboksen Well Groups Manager (Brøndgruppeadministrator), når du højreklikker på en vilkårlig brønd.

Tabel 13. Genvejsmenupunkter i dialogboksen Well Selector (Brøndvælger) i Plate Editor (Pladeeditor)

Element	Funktion
Copy (Kopier)	Kopierer brøndindholdet, som derefter kan sættes ind i en anden brønd eller andre brønde.
Copy as Image (Kopier som billede)	Kopierer brøndvælgervisningen som et billede.
Print (Udskriv)	Udskriver brøndvælgervisningen.
Print Selection (Udskriv valgte)	Udskriver kun de valgte celler.
Export to Excel (Eksportér til Excel)	Eksporterer data til et Excel-regneark.
Export to CSV (Eksportér til CSV)	Eksporterer data som et kommasepareret dokument.
Export to Xml (Eksportér til Xml)	Eksporterer data som et .xml-dokument.
Export to Html (Eksportér til Html)	Eksporterer data som et .html-dokument.

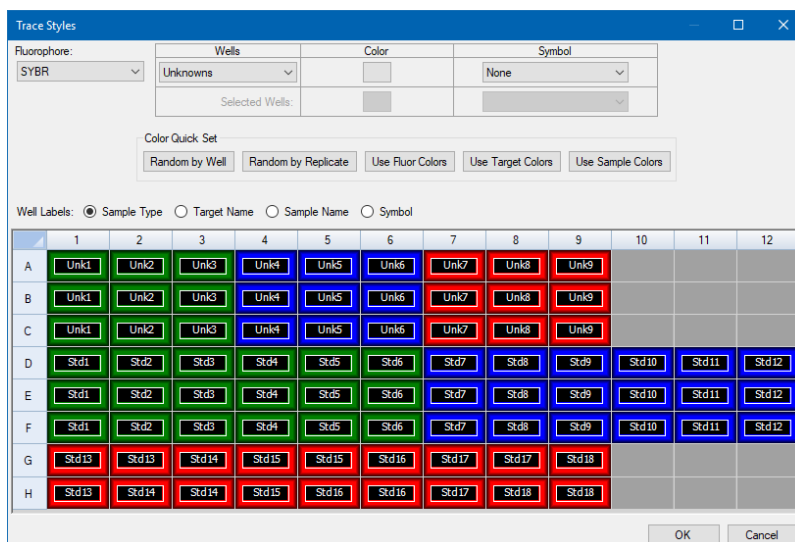
Ændring af kurvelinjelayout

Du kan ændre amplifikationskurvelinjernes farve og layout under pladeopsætning og mens en kørsel er i gang. Derefter er det nemt at se kurvelinjerne i statusvinduet i realtid, efterhånden som dataene indsamles.

Sådan ændres kurvelinjelayout

1. Klik på Trace Styles (Kurvelinjelayout) på værktøjslinjen Plate Editor (Pladeeditor).

Dialogboksen Trace Styles (Kurvelinjelayout) vises for den åbne plade, for eksempel:



2. For at vise kurvelinjelayout efter en specifik fluorofor skal du vælge den i rullemenuen Fluorophores (Fluoroforer).
3. Sådan ændres kurvelinjervisningen:
 - a. Vælg kurvelinjetyper på rullelisten Wells (Brønde).
 - b. Klik på dens farve i kolonnen Color (Farve).
 - c. Vælg en anden farve for kurvelinjen i dialogboksen Color (Farve), der åbnes, og klik på OK. Ændringen for brøndtypen vises i gitteret nedenfor.
 - d. (Valgfrit) Vælg et symbol for kurvelinjen på rullelisten Symbols (Symboler).

4. For at ændre den indstillede farve hurtigt skal du klikke på det relevante valg i sektionen Color Quick Set (Hurtig indstilling af farve).
5. For at se brøndbetegnelserne i gitteret skal du vælge betegnelsestypen i sektionen Well Labels (Brøndbetegnelser).
6. Klik på OK for at gemme ændringerne, eller klik på Cancel (Annuller) for at annullere ændringerne.

Visning af pladen i regnearksformat

Værktøjet Spreadsheet View/Importer (Visning/import af regneark) viser indholdet af en plade i regnearksformat. Værktøjet Spreadsheet View/Importer (Visning/import af regneark) kan bruges til at eksportere brøndindhold i et tabulatorsepareret format til en applikation såsom Microsoft Excel. Du kan også importere brøndindhold fra en tabulatorsepareret applikation.

Sådan bruges værktøjet Spreadsheet View/Importer (Visning/import af regneark)

1. Klik på Spreadsheet View/Importer (Visning/import af regneark) på værktøjslinjen Plate Editor (Pladeeditor) for at åbne dialogboksen Plate Spreadsheet View (Visning af pladeregneark).

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

2. Dialogboksen Spreadsheet View (Regnearkvisning) viser pladens indhold for en enkelt fluorofor. For at se pladens indhold for en anden fluorofor skal du vælge den på rullelisten Fluors List (Fluorliste).
3. Klik på Export Template (Eksporter skabelon) for at eksportere en skabelon af pladeregnearket til en Excel-fil (.csv-format). Du kan redigere denne skabelon med henblik på import af oplysninger om brøndindhold.
4. (Valgfrit) Klik på Import (Importer) for at importere brøndindhold fra en kommasepareret fil.
5. For at sortere regnearket efter dataene i en specifik kolonne skal du klikke på trekanten ved siden af kolonnenavnet.

Tip: Du kan redigere indholdet i en hvilken som helst celle i en kolonne, der har en stjerne (*) ved siden af kolonnenavnet (for eksempel *Target Name (Navn på målsekvens)).

Bemærk: Vælg enheder for standardkurve-data i kolonnen Quantity (Mængde) ved at åbne Plate Editor (Pladeeditor) og vælg Settings > Units (Indstillinger > Enheder) på menulinjen. Når pladekørslen er fuldført, vises data fra disse standarder i diagrammet Standard Curve (Standardkurve) på fanen Quantification (Kvantifikation) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse) med de valgte enheder.

Genvejsmenupunkter i værktøjet Spreadsheet View/Importer (Visning/import af regneark) for plader

Tabel 14 indeholder en liste over de menupunkter, der er tilgængelige i værktøjet Spreadsheet View/Importer (Visning/import af regneark), når du højreklikker på en vilkårlig brønd i værktøjet.

Tabel 14. Genvejsmenupunkter i værktøjet Spreadsheet View/Importer (Visning/import af regneark) for plader

Element	Funktion
Copy (Kopier)	Kopierer hele regnearket.
Copy as Image (Kopier som billede)	Kopierer regnearket som en billedfil.
Print (Udskriv)	Udskriver regnearket.
Print Selection (Udskriv valgte)	Udskriver kun de valgte celler.
Export to Excel (Eksportér til Excel)	Eksporterer filen til et Excel-regneark.
Export to CSV (Eksportér til CSV)	Eksporterer filen som en .csv-fil.
Export to Xml (Eksportér til Xml)	Eksporterer filen som en .xml-fil.
Export to Html (Eksportér til Html)	Eksporterer filen som en .html-fil.
Find	Søger efter den angivne tekst.
Sort (Sortér)	Sorterer regnearket ved at vælge op til tre datakolonner i vinduet Sort (Sortér).

Oprettelse af et pladelayout ved brug af Setup Wizard (Guiden Opsætning) for plader

Du kan bruge Setup Wizard (Guiden Opsætning) til at angive de oplysninger om pladelayout, som er nødvendige for normaliseret genekspressionsanalyse, herunder:

- Navne på målsekvenser (targets)
- Prøvenavne
- Placering af målsekvenser (targets) og prøve på pladen
- Referencegen(er)
- Kontrolprøve

Setup Wizard (Guiden Opsætning) kan bruges før, under og efter en kørsel.

Anvendelse af Setup Wizard (Guiden Opsætning) for plader

Dette afsnit forklarer, hvordan et pladelayout oprettes ved hjælp af Setup Wizard (Guiden Opsætning) for plader. For lettere at kunne se indholdet i de enkelte brønde på pladen skal du klikke på Zoom plate (Zoom ind på pladen) øverst i Setup Wizard (Guiden Opsætning).

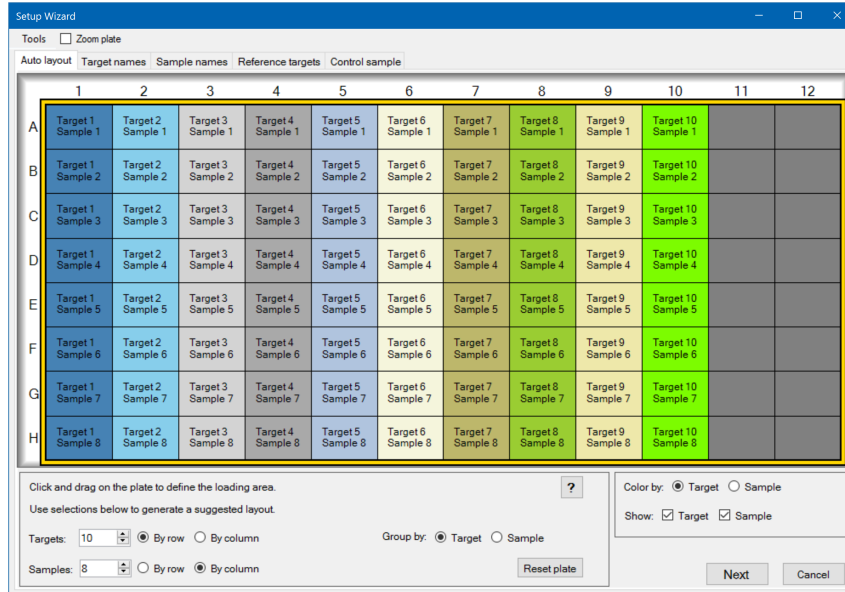
Vigtigt: Hvis du vender tilbage til fanen Auto layout (Automatisk layout) fra en hvilken som helst anden fane i Setup Wizard (Guiden Opsætning), nulstilles pladelayoutet. Vær forsigtig, når du vælger denne fane.

Tip: Du kan nulstille layoutet ved at vælge Tools > Clear Plate (Værktøjer > Ryd plade) i Setup Wizard (Guiden Opsætning).

Sådan anvendes Setup Wizard (Guiden Opsætning) for plader

1. Åbn Plate Editor (Pladeeditor).
2. For at åbne Setup Wizard (Guiden Opsætning) skal du vælge Editing Tools > Setup Wizard (Redigeringsværktøjer > Guiden Opsætning).

Setup Wizard (Guiden Opsætning) åbner og viser fanen Auto layout (Automatisk layout).



3. Gør følgende på fanen Auto layout (Automatisk layout):

- a. Klik på en brønd i gitteret, og træk på tværs og ned for at angive det område på pladen, hvor du planlægger at isætte prøven.
- b. Indtast antallet af målsekvenser (targets) og prøver, der skal isættes.

Tip: Antallet af målsekvenser (targets) og prøver skal være det samme som antallet af valgte celler. Hvis det indtastede antal ikke passer til det valgte område, skal antallet eller det valgte område på pladen ændres. Orienteringen af elementerne på pladen og grupperingen af disse kan specificeres.

- c. (Valgfrit) Rediger pladernes orientering. For eksempel kan du indstille målsekvenser (targets) i kolonner og prøver i rækker eller gruppere efter prøver.
- d. Klik på Next (Næste) for at gå videre til fanen Target names (Navne på målsekvenser).

Bemærk: Hvis pladelayoutet ikke har et regelmæssigt mønster, kan du bruge fanen Target names (Navne på målsekvenser) til manuelt at placere målsekvenserne (targets) eller fanen Sample Names (Prøvenavne) til manuelt at placere prøverne på pladen. Klik og træk for at vælge flere brønde.

4. Definer navnene på målsøkvenserne (targets) for målsøkvensgrupperne på fanen Target Names (Navne på målsøkvenser):
 - a. Gør et af følgende:
 - For at omdøbe målsøkvenser (targets) efter gruppe skal du indstille Select by (Vælg efter) til Target (Målsøkvens).
 - For at omdøbe målsøkvenser (targets) efter brønd skal du indstille Select by (Vælg efter) til Well (Brønd).
 - b. Vælg en målsøkvensgruppe eller -brønd i gitteret, og indtast et navn på rullelisten Target Name (Navn på målsøkvens).

Tip: Tryk på Tab for at vælge den næste gruppe eller brønd til højre, eller tryk på Enter for at vælge den næste brønd eller gruppe nedenfor. Alternativt kan du holde Ctrl-tasten nede og klikke på en brønd på fanerne Target name (Navn på målsøkvens) og Sample name (Prøvenavn) for at vælge flere brønde, der ikke støder op til hinanden.
 - c. Klik på Next (Næste) for at gå videre til fanen Sample Names (Prøvenavne).
5. På fanen Sample Names (Prøvenavne) defineres prøvenavnene for prøvegrupperne.
6. Klik på Next (Næste) for at gå videre til fanen Reference targets (Referencemålsøkvenser).
7. Vælg en eller flere målsøkvenser (targets) på fanen Reference targets (Referencemålsøkvenser) til brug som referencer for normaliseret genekspression, og klik på Next (Næste) for at gå videre til fanen Control sample (Kontrolprøve).
8. Vælg en eller to prøver på fanen Control sample (Kontrolprøve) til brug som kontrol i forbindelse med beregning af genekspression.
9. Klik på OK for at gemme pladelayoutet og gå tilbage til Plate Editor (Pladeeditor), hvor pladeparametrene kan defineres yderligere. Se [Tildeling af valgfri parametre til pladefilen på side 120](#) for yderligere oplysninger.

Du kan også klikke på Previous (Forrige) for at gå tilbage til en foregående fane for at foretage ændringer.

Bemærk: Når du vender tilbage til fanen Auto layout (Automatisk layout), nulstilles pladelayoutet. Vær forsigtig, når du klikker på Previous (Forrige).

Kapitel 8 Kørsel af eksperimenter

Dette kapitel forklarer, hvordan du kører brugerdefinerede eller PrimePCR™ analyseeksperimenter ved brug af CFX Manager™ Dx softwaren.

En kørselsdatafil indeholder protokol- og pladeoplysninger for kørslen. Filen indeholder også dataene fra de analyser, som CFX Manager Dx udfører, efter at kørslen er udført.

CFX Manager Dx softwaren gør det nemt at opsætte og køre brugerdefinerede eksperimenter eller PrimePCR-eksperimenter. Vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) fører dig gennem de almindelige trin til opsætning af et eksperiment og ender i dialogboksen Start Run (Start kørsel), hvor du kan starte kørslen.

Åbning af vinduet Run Setup (Kørselsopsætning)

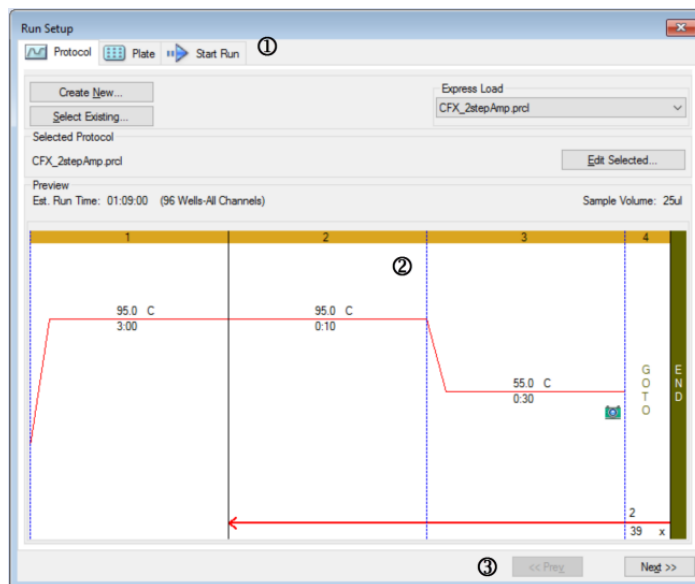
Sådan åbnes vinduet Run Setup (Kørselsopsætning)

- ▶ Gør et af følgende:
 - Klik enten på User-defined (Brugerdefineret) eller PrimePCR på fanen Run Setup (Kørselsopsætning) i Startup Wizard (Guiden Opstart).
 - Klik enten på User-defined Run Setup (Brugerdefineret kørselsopsætning) eller PrimePCR Run Setup (PrimePCR kørselsopsætning) på værktøjslinjen i startvinduet.
 - Vælg enten Run > User-defined Run (Kørsel > Brugerdefineret kørsel) eller Run > PrimePCR Run (Kørsel > PrimePCR-kørsel) i startvinduet.

Vinduet Run Setup (Kørselsopsætning)

Vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) giver hurtig adgang til de filer og indstillinger, der er nødvendige for at kunne sætte et eksperiment op og køre det. Hvis der skal køres et brugerdefineret eksperiment, åbner vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) med fanen Protocol (Protokol). Hvis der skal køres et PrimePCR-eksperiment, åbner vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) med Fanen Start Run (Start kørsel).

Tip: Se [Udførelse af PrimePCR-eksperimenter på side 162](#) for oplysninger om PrimePCR. Se [Fanen Start Run \(Start kørsel\) på side 153](#) for oplysninger om fanen Start Run (Start kørsel).



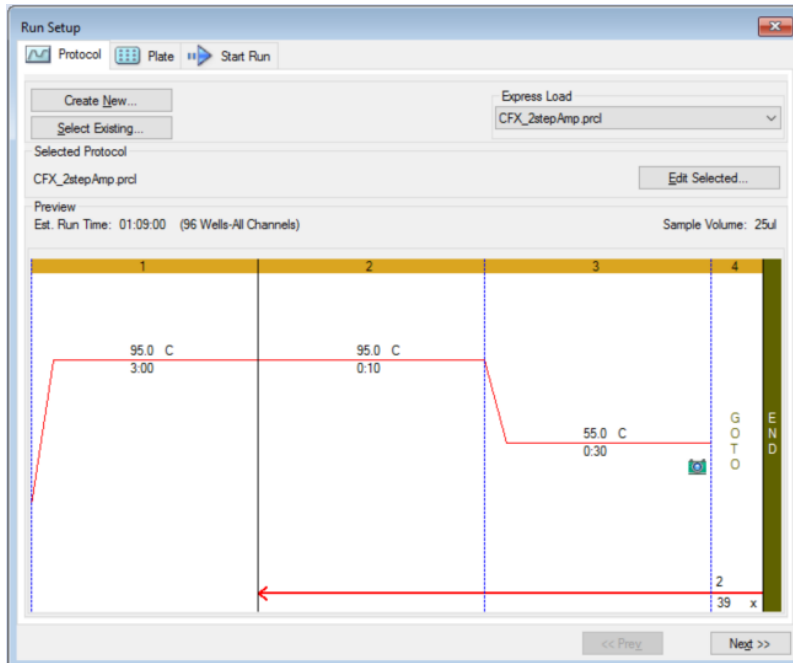
FORKLARING

- Fanerne guider brugeren gennem klargøring og kørsel af et eksperiment:

 - Fanen Protocol (Protokol) – vælg en eksisterende protokol, der skal køres eller redigeres, eller opret en ny protokol i Protocol Editor (Protokoleditor).
 - Fanen Plate (Plade) – vælg en eksisterende plade, der skal køres eller redigeres, eller opret en ny plade i Plate Editor (Pladeeditor).
 - Fanen Start Run (Start kørsel) – vis eksperimentindstillingerne, vælg en eller flere instrumentblokke, og påbegynd kørslen.
- Hovedvinduet viser valgmulighederne for de enkelte faner, efterhånden som de anvendes.
- Navigationstasterne bruges til gå til fanen Start Run (Start kørsel).

Fanen Protocol (Protokol)

Fanen Protocol (Protokol) viser en forhåndsvisning af den protokolfil, du planlægger at køre. En protokolfil indeholder instruktionerne til instrumentets temperaturtrin samt de instrumentindstillinger, der styrer rampehastigheden, prøvevolumenet og lågets temperatur.



Som standard viser softwaren den protokol, der er defineret i sektionen File Selection for Run Setup (Filvalg til kørselsopsætning) på fanen Files (Filer) i dialogboksen User > User Preferences (Bruger > Brugerpræferencer). Du kan ændre standardprotokollen i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Se [Ændring af standardindstillinger for filer på side 63](#) for yderligere oplysninger.

På fanen Protocol (Protokol) kan du:

- Oprette en ny protokol til kørsel
- Vælge en eksisterende protokol for at køre eller redigere den

Se [Kapitel 6, Oprettelse af protokoller](#) for yderligere oplysninger om oprettelse og redigering af protokoller.

Sådan oprettes en ny protokol

1. Klik på Create New (Opret ny) på fanen Protocol (Protokol).
Protocol Editor (Protokoleditor) vises.
2. Brug Protocol Editor (Protokoleditor) til at oprette den nye protokol.
3. Klik på OK for at gemme protokollen og gå tilbage til fanen Protocol (Protokol) under Run Setup (Kørselsopsætning).
4. Gennemse de detaljerede oplysninger om protokollen, og gør et af følgende:
 - Klik på Next (Næste), hvis oplysningerne er korrekte, for at gå videre til fanen Plate (Plade).
 - Klik på Edit Selected (Rediger valgte), hvis de detaljerede oplysninger ikke er korrekte, for at vende tilbage til vinduet Protocol Editor (Protokoleditor). Gennemgå protokollen, gem ændringerne, og klik derefter på Next (Næste) på fanen Protocol (Protokol) for at gå videre til fanen Plate (Plade).

Sådan vælges en eksisterende protokol

1. Gør et af følgende på fanen Protocol (Protokol):
 - Klik på Select Existing (Vælg eksisterende), og naviger til en eksisterende protokol.
 - Klik på Express Load (Hurtig isætning) og vælg en protokol fra rullelisten med protokoller.
Tip: Du kan tilføje eller fjerne protokoller fra rullelisten Express Load (Hurtig isætning). Se [Tilføjelse og fjernelse af protokoller til hurtig isætning](#) nedenfor for yderligere oplysninger.
2. Gennemse de detaljerede oplysninger om protokollen, og gør et af følgende:
 - Klik på Next (Næste), hvis oplysningerne er korrekte, for at gå videre til fanen Plate (Plade).
 - Klik på Edit Selected (Rediger valgte), hvis de detaljerede oplysninger ikke er korrekte, for at åbne Protocol Editor (Protokoleditor). Gennemgå protokollen, gem ændringerne, og klik derefter på Next (Næste) på fanen Protocol (Protokol) for at gå videre til fanen Plate (Plade).

Tilføjelse og fjernelse af protokoller til hurtig isætning

Du kan redigere indholdet af rullelisten Express Load (Hurtig isætning), som vises i Protocol Editor (Protokoleditor). Protokollerne på listen gemmes i følgende mappe:

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

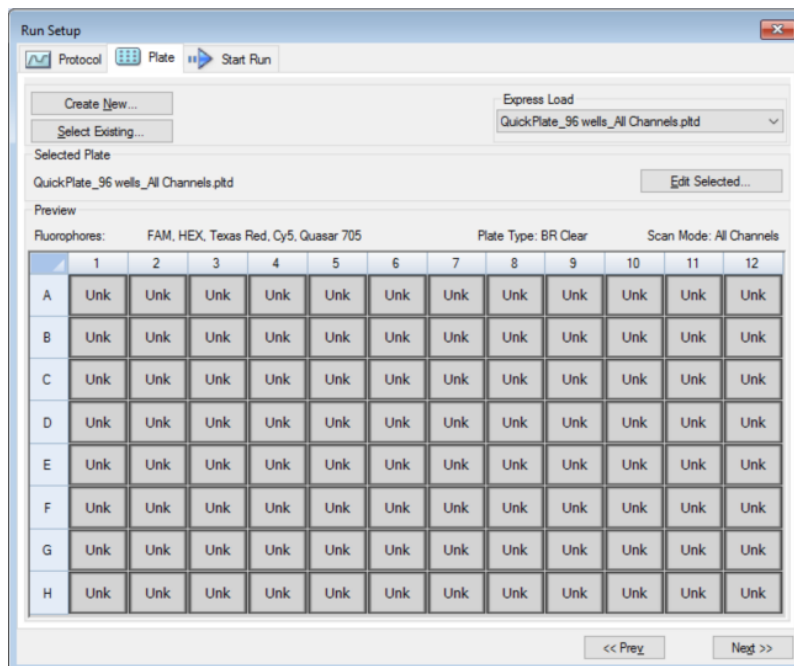
Sådan redigeres listen med protokoller til Express Load (Hurtig isætning)

1. Naviger til og åbn mappen ExpressLoad (Hurtig isætning).
2. Gennemgå protokolfilerne (.pcri) i mappen.
3. Gør et af følgende:
 - Slet protokoller fra mappen for at fjerne dem fra rullelisten.
 - Kopiér protokoller til mappen for at tilføje dem på rullelisten.

Fanen Plate (Plade)

Bemærk: Hvis den protokol, der vælges på fanen Protocol (Protokol), ikke indeholder et pladeaflysningstrin til real-time PCR-analyse, er fanen Plate (Plade) skjult. For at se fanen Plate (Plade) skal du tilføje mindst én pladeaflysning til protokollen.

Fanen Plate (Plade) viser en forhåndsvisning af den pladefil, du planlægger at indlæse. I en real-time PCR-kørsel indeholder pladefilen en beskrivelse af indholdet i hver brønd, herunder dens fluoroforer, scanningstilstanden og pladetypen. CFX Manager Dx softwaren anvender disse beskrivelser til dataindsamling og analyse.



Softwaren viser som standard den plade, der er defineret i sektionen File Selection for Run Setup (Filvalg til kørselsopsætning) på fanen Files (Filer) i dialogboksen User > User Preferences (Bruger > Brugerpræferencer). Standardpladen kan ændres i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer). Se [Ændring af standardindstillinger for filer på side 63](#) for yderligere oplysninger.

På fanen Plate (Plade) kan du:

- Oprette en ny plade, som skal indsættes.
- Vælge en eksisterende plade, som skal indsættes eller redigeres.

Der findes flere oplysninger om oprettelse og ændring af plader i [Kapitel 7, Klargøring af plader](#).

Sådan oprettes en ny plade

1. Klik på Create New (Opret ny) på fanen Plate (Plade).
Plate Editor (Pladeeditor) vises.
2. Brug Plate Editor (Pladeeditor) til at oprette en ny plade.
3. Klik på OK for at gemme pladen og gå tilbage til fanen Plate (Plade) under Run Setup (Kørselsopsætning).
4. Gennemse de detaljerede oplysninger om pladen, og gør et af følgende:
 - Klik på Next (Næste), hvis de detaljerede oplysninger er korrekte, for at gå videre til fanen Start Run (Start kørsel).
 - Klik på Edit Selected (Rediger valgte), hvis de detaljerede oplysninger ikke er korrekte, for at vende tilbage til Plate Editor (Pladeeditor). Gennemgå pladefilen, gem ændringerne, og klik derefter på Next (Næste) på fanen Plate (Plade) for at gå videre til fanen Start Run (Start kørsel).

Sådan vælges en eksisterende pladefil

1. Gør et af følgende på fanen Plate (Plade):
 - Klik på Select Existing (Vælg eksisterende), og naviger til en eksisterende pladefil.
 - Klik på Express Load (Hurtig isætning) og vælg en pladefil på rullelisten.

Tip: Du kan tilføje plader til eller fjerne dem fra rullelisten Express Load (Hurtig isætning). Der findes flere oplysninger i [Tilføjelse og fjernelse af pladefiler til hurtig isætning](#) nedenfor.
2. Gennemse de detaljerede oplysninger om pladen, og gør et af følgende:
 - Klik på Next (Næste), hvis de detaljerede oplysninger er korrekte, for at gå videre til fanen Start Run (Start kørsel).
 - Klik på Edit Selected (Rediger valgte), hvis de detaljerede oplysninger ikke er korrekte, for at åbne vinduet Plate Editor (Pladeeditor). Gennemgå pladefilen, gem ændringerne, og klik derefter på Next (Næste) for at gå videre til fanen Start Run (Start kørsel).

Tilføjelse og fjernelse af pladefiler til hurtig isætning

Du kan redigere indholdet af rullelisten Express Load (Hurtig isætning), som vises i Plate Editor (Pladeeditor). De plader, der vises på listen, er gemt i følgende mappe:

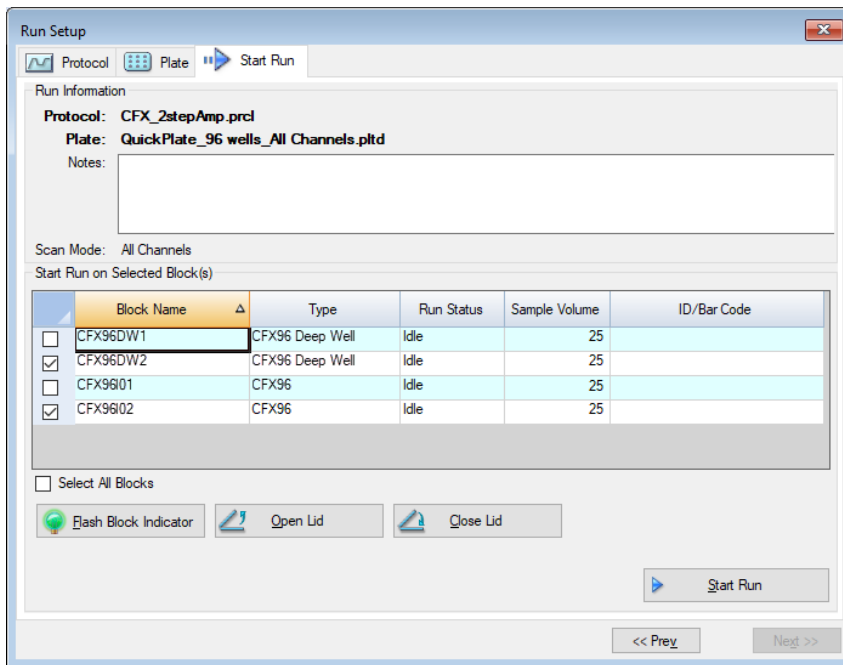
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\

Sådan redigeres listen med pladefiler til Express Load (Hurtig isætning)

1. Naviger til og åbn mappen ExpressLoad (Hurtig isætning).
2. Gennemgå pladefilerne (.pltd) i mappen.
3. Gør et af følgende:
 - Slet pladefiler fra mappen for at fjerne dem fra rullelisten.
 - Kopiér pladefiler til mappen for at tilføje dem på rullelisten.

Fanen Start Run (Start kørsel)

Fanen Start Run (Start kørsel) viser oplysninger om eksperimentet, der skal køres. Den viser også den eller de tilsluttede instrumentblokke, som eksperimentet kan køres på.



Fanen Start Run (Start kørsel) kan bruges til følgende:

- Vise detaljerede kørselsoplysninger, herunder den valgte protokolfil, pladefil og scanningstilstand.
- Tilføje bemærkninger om kørslen.
- Vis detaljerede oplysninger om alle tilsluttede instrumenter, herunder deres kørselsstatus (kører eller inaktiv), prøvevolumen i µl, lågets temperatur, emuleringstilstand og id eller strekcode, hvis de er tilgængelige.

Bemærk: Du kan ændre kolonnerne, der vises i tabellen Start Run on Selected Blocks (Start kørsel på valgte blokke). Se [Redigering af detaljerede oplysninger i tabellen Selected blocks \(Valgte blokke\)](#) på side 154 for yderligere oplysninger.

- Vælg den eller de blokke, som kørslen skal udføres på.
- Åben eller luk låget med fjernbetjening for hvert valgt instrument.
- Start kørslen.

Redigering af detaljerede oplysninger i tabellen Selected blocks (Valgte blokke)

Du kan ændre kolonnerne, der vises i tabellen Start Run on Selected Block(s) (Start kørsel på valgte blokke). Desuden kan du ændre værdierne for standardprøvevolumenet og lågets temperatur i tabellen. Ændringerne af indstillingerne anvendes i den kørsel, der skal udføres.

Sådan tilføjes kolonner i tabellen Start Run on Selected Block(s) (Start kørsel på valgte blokke)

- ▶ Højreklik i tabellen, og markér et element i den menu, der vises.

Sådan fjernes kolonner i tabellen Start Run on Selected Block(s) (Start kørsel på valgte blokke)

- ▶ Højreklik i tabellen, og fjern markeringen for et element i den menu, der vises.

Sådan redigeres værdier for prøvevolumenet eller lågets temperatur for en blok

- ▶ Vælg cellen med prøvevolumenet eller lågets temperatur for den ønskede blok, og skriv en ny værdi i cellen.

Sådan tilføjes et kørsels-ID eller en stregkode for en blok

- ▶ Vælg cellen ID/Bar Code (ID/stregkode) for den ønskede blok, og skriv et ID eller scan blokken med en stregkodelæser.

Kørsel af et eksperiment

Vigtigt: Inden du kører et eksperiment, skal du sikre, at computerens antivirussoftware ikke starter en scanning under kørslen.

Sådan køres et eksperiment

1. Verificer de detaljerede oplysninger om plade og protokol i sektionen Run Information (Kørselsoplysninger) på fanen Start Run (Start kørsel).
2. (Valgfrit) Tilføj bemærkninger om kørslen eller eksperimentet i tekstboksen Notes (Bemærkninger).
3. Markér afkrydsningsfeltet for en eller flere blokke, som kørslen skal udføres på.
Tip: For at køre eksperimentet på alle blikke skal du vælge Select All Blocks (Vælg alle blokke) under tabellen Selected Blocks (Valgte blokke).
4. (Valgfrit) Klik på Flash Block Indicator (Lad blokindikator blinke) for at lade LED-indikatoren blinke på de valgte instrumentblokke.
5. Sæt eksperimentpladerne ind i blokken:

- a. Klik på Open Lid (Åbn låget). Det motoriserede låg på hver valgt blok åbnes.
- b. Sæt en eksperimentblok ind i hver valgt blok.
- c. Klik på Close Lid (Luk låget).

Tip: Du kan også trykke på knappen foran på hver blok for at åbne og lukke låget.

6. Klik på Open Lid (Åbn låget) og Close Lid (Luk låget) for at åbne og lukke det motoriserede låg på hver valgt instrumentblok.
7. Gennemse de detaljerede oplysninger om kørslen, og gør et af følgende:
 - Klik på Start Run (Start kørsel), hvis de detaljerede oplysninger er korrekte.
 - Hvis de detaljerede oplysninger er forkerte:
 - Ret de detaljerede oplysninger i tabellen Selected Blocks (Valgte blokke), og klik på Start Run (Start kørsel).
 - Vend tilbage til den relevante fane og foretag de relevante ændringer, gem ændringerne, og klik derefter på Next (Næste) for at vende tilbage til fanen Start Run (Start kørsel) og starte kørslen.

Sådan startes en kørsel fra en tidligere kørsel

- ▶ Gør et af følgende:
 - Vælg File > Repeat a Run (Fil > Gentag en kørsel) i softwarens hovedmenulinje. Naviger til og dobbeltklik på den kørselsdatafil, som skal gentages.
 - Vælg fanen Repeat Run (Gentag kørslen) i Startup Wizard (Guiden Opstart), og dobbeltklik på datafilen for den kørsel, som skal gentages.

Du kan også klikke på Browse (Gennemse) på fanen Repeat Run (Gentag kørslen) for at navigere til og dobbeltklikke på den kørselsdatafil, som skal gentages.

Dialogboksen Run Details (Kørselsdetaljer)

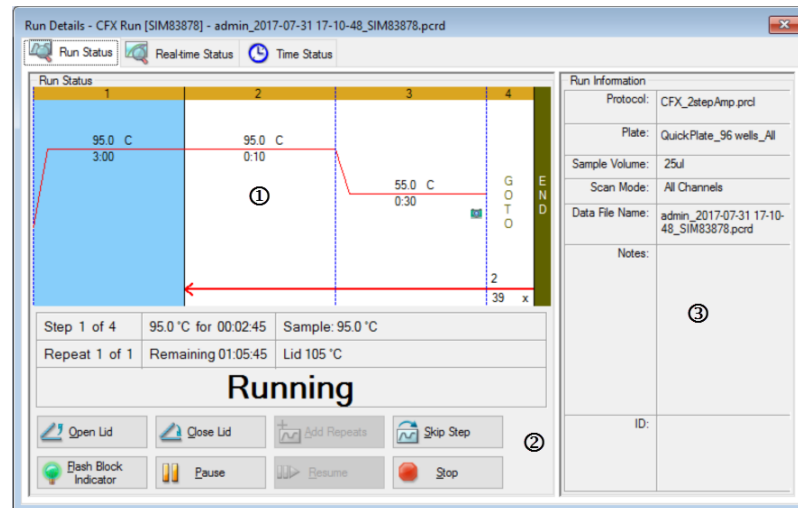
Når du klikker på Start Run (Start kørsel), beder CFX Manager Dx softwaren dig om at gemme datafilen (.pcrd), starter kørslen og åbner dialogboksen Run Details (Kørselsdetaljer). Dialogboksen Run Details (Kørselsdetaljer) består af tre statusfaner:

- **Run Status** (Kørselsstatus) – brug denne fane til at se protokollens aktuelle status, åbne eller lukke låget, sætte en kørsel pause, tilføje gentagelser, springe over trin eller stoppe kørslen.
- **Real-time Status** (Realtidsstatus) – brug denne fane til at se PCR-fluorescensdata i realtid, mens de indsamles.
- **Time Status** (Tidsstatus) – brug denne fane til at få vist en fuldskærmsnedtælling for protokollen.

Fanerne er beskrevet i detaljer i de følgende afsnit.

Fanen Run Status (Kørselsstatus)

Fanen Run Status (Kørselsstatus) viser den aktuelle status for en igangværende kørsel. I denne visning er det også muligt at kontrollere låget og ændre den igangværende kørsel.



FORKLARING

1. Ruden Run Status (Kørselsstatus) – viser status for den igangværende protokol.
2. Betjeningselementer for Run Status (Kørselsstatus) – giver mulighed for at betjene instrumentet eller afbryde den igangværende protokol.
3. Ruden Run Information (Kørselsoplysninger) – viser kørselsdetaljer.

Kommandoer for Run Status (Kørselsstatus)

Kommandoerne på fanen Run Status (Kørselsstatus) kan bruges enten til at betjene instrumentet fra softwaren eller til at ændre en igangværende kørsel.

Bemærk: Ændringer, der foretages på protokoller under kørslen, som for eksempel tilføjelsen af repetitioner, ændrer ikke den protokolfil, der er tilknyttet til kørslen. Disse handlinger registreres i Run Log (Kørselsloggen).



– åbner det motoriserede låg på visse instrumenter.

Vigtigt: Hvis låget åbnes under en kørsel, sættes kørslen på pause på det igangværende trin, hvilket kan påvirke data.



– lukker det motoriserede låg på visse instrumenter.



– tilføjer yderligere repetitioner til det igangværende trin af typen GOTO (GÅ TIL) i protokollen.

Denne valgmulighed er kun tilgængelig, når en forekomst af trinnet GOTO (GÅ TIL) kører.



– springer det igangværende trin i protokollen over.

Bemærk: Hvis en forekomst af trinnet GOTO (GÅ TIL) springes over, beder softwaren om bekræftelse på, at GOTO-løkken skal springes over for at fortsætte til det næste trin i protokollen.



– får LED'en på visse instrumenter til at blinke for at identificere de valgte blokke.



– sætter protokollen på pause.

Bemærk: Denne handling registreres i Run Log (Kørselsloggen).



– genoptager en protokol, der er sat på pause.

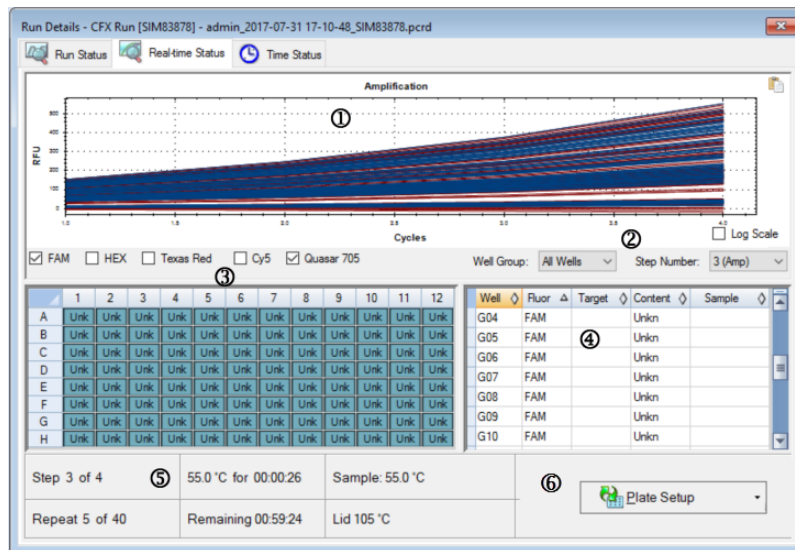


– stopper kørslen før afslutningen af protokollen.

Bemærk: Hvis kørslen stoppes før afslutningen af protokollen, kan data blive påvirket.

Fanen Real-time Status (Realtidsstatus)

Fanen Real-time Status (Realtidsstatus) viser real-time PCR-data indsamlet i hver cyklus under kørslen efter de første to pladeaflysninger.



FORKLARING

1. Kurvelinjeruden Amplification (Amplifikation) – viser amplifikationsdata i realtid under kørslen.

2. Identifikator for Well group (Brøndgruppe) – hvis der blev identificeret brøndgrupper i pladeopsætningen, kan brugeren vælge en specifik brøndgruppe for at se dens kurvelinjer, brønde og tabeloplysninger.
 Identifikator for Step number (Trinnummer) – hvis protokollen indsamler data på mere end ét trin (for eksempel under amplifikation og smeltekurve), kan brugeren vælge et specifikt trin og se de kurvelinjer, der blev indsamlet på det pågældende trin.

3. Ruden Well selector (Brøndvælger) – viser de aktive, inaktive og tomme brønde i pladen.

4. Tabelruden Plate Setup (Pladeopsætning) – viser pladeopsætningen i tabelformat.

5. Rude med kørselsdetaljer – viser realtidsstatus for kørslen, herunder:
 - Nuværende trin
 - Nuværende gentagelse
 - Nuværende temperatur
 - Resterende tid
 - Prøvetemperatur
 - Lågets temperatur
-
6. Plate Setup (Pladeopsætning) – åbner dialogboksen Plate Setup (Pladeopsætning), hvor brugeren kan ændre den aktuelle pladeopsætning under en kørsel.

På fanen Real-time Status (Realtidsstatus) kan du:

- Vise eller skjule kurvelinjer i realtid ved at vælge dem i brøndvælgerruden eller tabellen til pladeopsætning.
- Vise kurvelinjer enkelt- eller gruppevis ved at vælge dem i rullemenuen med brøndgrupper.
- Redigere pladen eller udskifte pladefilen.
- Anvende en PrimePCR-file på kørslen.

Vise eller skjule realtidskurvelinjer

Som standard er alle fyldte brønde aktive og vises i pladeopsætningstabellen. Aktive brønde vises med blå i brøndvælgerruden. Skjulte brønde vises med lysegråt, og eventuelle ubrugte brønde vises med mørkegråt i brøndvælgerruden.

Du kan skjule kurvelinjer fra aktive brønde under kørslen. CFX Manager Dx bliver ved med at indsamle data for alle brønde, men når du skjuler brøndene, vises deres data ikke i pladeopsætningstabellen.

Sådan skjules realtidskurvelinjer

- ▶ Klik på den aktive (blå) brønd, der skal skjules, i brøndvælgerruden.

Sådan vises realtidskurvelinjer

- ▶ Klik på den skjulte (lysegrå) brønd, der skal vises, i brøndvælgerruden.

Se [Brøndvælger på side 176](#) for yderligere oplysninger om brøndvælgeren.

Redigering af en pladeopsætning

Sådan redigeres en pladeopsætning

- ▶ Klik på Plate Setup (Pladeopsætning), og vælg View/Edit Plate (Vis/rediger plade).

Vinduet Plate Editor (Pladeeditor) vises og giver mulighed for at redigere pladen, mens kørslen er i gang. Der står flere oplysninger om redigering af plader i [Kapitel 7, Klargøring af plader](#).

Bemærk: Du kan også redigere kurvelinjelayout i vinduet Plate Editor (Pladeeditor). Ændringer vises i amplifikationskurvelinjeploppet på fanen Real-time Status (Realtidsstatus).

Udskiftning af en pladefil

Tip: Udskiftning af en pladefil er særlig nyttigt, hvis du starter en kørsel med en Quick Plate-fil i ExpressLoad-mappen.

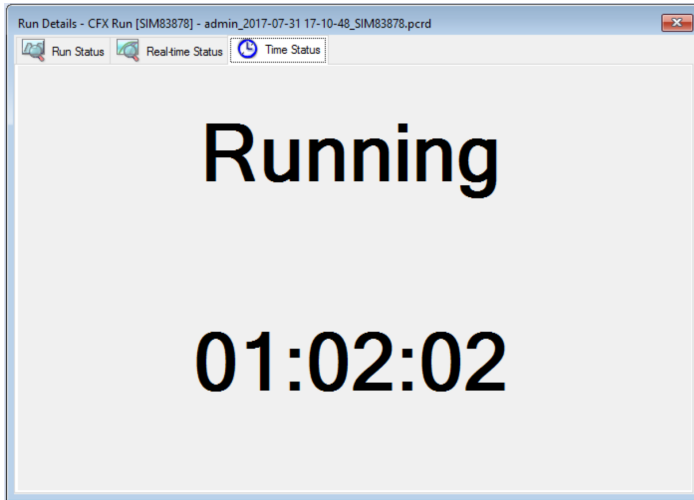
Sådan udskiftes en pladefil

- ▶ Klik på Plate Setup (Pladeopsætning), og vælg et af følgende:
 - Replace Plate file (Udskift pladefil) – vælg den nye pladefil på listen i browservinduet
 - Apply PrimePCR file (Anvend PrimePCR-fil) – søg efter en kørselsfil, som pladelayoutet skal hentes fra, med Smart-søgning eller ved at klikke på Browse (Gennemse) for at finde en fil, der blev downloadet fra Bio-Rads websted, og som ikke findes i PrimePCR-mappen

Bemærk: CFX Manager Dx kontrollerer scanningstilstand og pladestørrelse for pladefilen. Disse skal være de samme som de kørselsindstillinger, kørslen blev startet med.

Fanen Time Status (Tidsstatus)

Fanen Time Status (Tidsstatus) viser, hvor lang tid der er tilbage før den aktuelle kørsel er færdig.



Udførelse af PrimePCR-eksperimenter

PrimePCR-eksperimenter bruger signalvejs- eller sygdomsspecifikke analyser, som Bio-Rad har valideret og optimeret til vådlaboratorier, og som er tilgængelige i følgende formater:

- Paneler med foruddefinerede plader – plader med analyser, der er specifikke for en biologisk signalvej eller sygdom. De omfatter PrimePCR-kontroller og referencegener
- Brugerkonfigurerede plader – plader, der kan opsættes i et brugerdefineret layout, hvor der kan vælges analyser for interesse målsekvenser (targets), kontroller og referencer
- Individuelle analyser – rør, der indeholder individuelle primersæt til brug i real-time-reaktioner

For at reducere den samlede kørselstid kan du fjerne smeltetrinnet i protokollen. Bio-Rad anbefaler på det kraftigste, at der ikke udføres andre ændringer af en PrimePCR kørselsprotokol.

Standardprotokollen er den, der blev brugt til analysevalidering. Enhver afvigelse fra dette kan påvirke resultaterne. Ændringer i protokollen angives på fanen Run Information (Kørselsoplysninger) i den resulterende datafil og i eventuelle rapporter, der oprettes.

Sådan startes en PrimePCR-kørsel

- ▶ For at starte en PrimePCR-kørsel skal du gøre et af følgende:
 - I Startup Wizard (Guiden Opstart) skal du vælge PrimePCR på fanen Run setup (Kørselsopsætning) og derefter vælge den relevante kemi (SYBER eller probe).
 - Vælg en PrimePCR-kørsel på listen Recent Runs (Seneste kørsler) på fanen Repeat run (Gentag kørslen) i Startup Wizard (Guiden Opstart).
 - Vælg File > New > PrimePCR Run (Fil > Ny > PrimePCR-kørsel) i startvinduet.
 - Vælg File > Open > PrimePCR Run File (Fil > Åbn > PrimePCR-kørselsfil) i startvinduet.
 - Træk og slip en PrimePCR-kørselsfil i startvinduet.

Når du har valgt en PrimePCR-kørsel, åbner vinduet Run Setup (Kørselsopsætning) på fanen Start Run (Start kørsel) med standard-PrimePCR-pladelayoutet indlæst, baseret på det valgte instrument.

Sådan fjernes smeltetrinnet i protokollen

- ▶ Fjern markeringen i feltet ved siden af Include Melt Step (Medtag smeltetrin) på fanen Protocol (Protokol).

Sådan importeres oplysninger om målsekvenser (targets) for PrimePCR-plader til et pladelayout

1. Gør et af følgende:
 - På fanen Real-time Status (Realtidsstatus) i dialogboksen Run Details (Kørselsdetaljer) vælges Plate Setup > Apply PrimePCR File (Pladeopsætning > Anvend PrimePCR-fil).
 - I vinduet Data Analysis (Dataanalyse) vælges Plate Setup > Apply PrimePCR File (Pladeopsætning > Anvend PrimePCR-fil).
2. Klik på Browse (Gennemse) i dialogboksen PrimePCR run file (PrimePCR-kørselsfil) for at navigere til den relevante PrimePCR-fil (.csv).
3. Vælg den ønskede PrimePCR-filen og klik på Open (Åbn).

CFX Manager Dx importerer de ønskede oplysningerne til pladelayoutet.

Kapitel 9 Oversigt over dataanalyse

CFX Manager™ Dx har flere metoder til åbning og visning af datafiler. Du kan:

- Vælg File > Open > Data File (Fil > Åbn > Datafil) i startvinduet og navigere til den ønskede .pcrd-fil.
- Vælg File > Recent Data Files (Fil > Seneste datafiler) i startvinduet for at vælge fra en liste over de ti senest åbnede datafiler.

Vinduet Data Analysis (Dataanalyse)

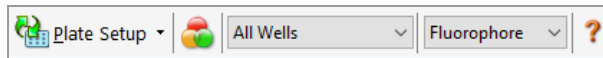
Vinduet Data Analysis (Dataanalyse) indeholder flere faner, som hver viser de analyserede data for en specifik analysemetode eller kørselsspecifikke oplysninger. Fanerne vises kun, hvis de data, som blev indsamlet i kørslen, er tilgængelige til den pågældende type analyse.



Tip: For at vælge de faner, som skal vises, skal de vælges i rullemenuen View (Vis) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). For at vende tilbage til det oprindelige fanelayout skal du vælge Settings (Indstillinger) > Restore Default Window Layout (Gendan standard-vindueslayout).



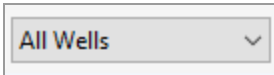
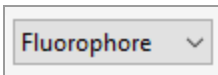

Værktøjslinjen Data Analysis (Dataanalyse)

Værktøjslinjen i vinduet Data Analysis (Dataanalyse) giver hurtig adgang til vigtige dataanalysefunktioner.



Tabel 15 viser funktionerne af knapperne på værktøjslinjen.

Tabel 15. Værktøjslinjen i vinduet Data Analysis (Dataanalyse)

Knap	Navn	Funktion
	Plate Setup (Pladeopsætning)	View/Edit Plate (Vis/rediger plade): Åbner Plate Editor (Pladeeditor) med henblik på visning og redigering af indholdet af brønde. Replace Plate File (Udskift pladefil): Vælger en pladefil, som skal erstatte pladelayoutet. Apply PrimePCR file (Anvend PrimePCR-fil): vælger en kørselsfil, der skal erstatte pladelayoutet for en PrimePCR™ kørsel.
	Manage Well Groups (Administrer brøndgrupper)	Åbner vinduet Well Groups Manager (Brøndgruppeadministrator) med henblik på oprettelse, redigering og sletning af brøndgrupper.
	Well Group (Brøndgruppe)	Vælg navnet på en eksisterende brøndgruppe på rullelisten. Standardvalget er All Wells (Alle brønde). Denne knap vises kun, hvis der er oprettet brøndgrupper.
	Analysetilstand	Analyserer dataene i enten fluorofor-tilstand eller målsekvenstilstand (target).
	Help (Hjælp)	Åbner en digital kopi af denne betjeningsvejledning i Acrobat PDF-format.

Menulinjen Data Analysis (Dataanalyse)

Tabel 16 viser menulinjepunkter i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).

Tabel 16. Punkter på menulinjen i vinduet Data Analysis (Dataanalyse)

Menupunkt	Kommando	Funktion
File (Fil)	Save (Gem)	Gemmer filen.
	Save As (Gem som)	Gemmer filen under et nyt navn.
	Repeat Run (Gentag kørsel)	Ekstraherer protokollen og pladefilen fra den aktuelle kørsel med henblik på genkørsel.
	Close (Luk)	Lukker vinduet Data Analysis (Dataanalyse).
View (Vis)	Run Log (Kørselslog)	Åbner vinduet Run Log (Kørselslog) for at vise kørselsloggen for den aktuelle datafil.
	Quantification (Kvantifikation), Melt Curve (Smeltekurve), Gene Expression (Genekspression), End Point (Endepunkt), Custom Data View (Tilpasset datavisning), QC (Kvalitetskontrol), Run Information (Kørselsoplysninger)	Viser de analyserede data på de valgte faner i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). Mindst én fane skal vælges.
Settings (Indstillinger)	C _q Determination Mode (C _q -bestemmelsestilstand)	Vælg tilstanden Regression eller Single Threshold (Enkelt tærskel) for at bestemme, hvordan C _q -værdier beregnes for hver kurvelinje.
	Baseline Setting (Baselineindstilling)	Vælg baseline-subtraktionsmetoden for de valgte brøndgrupper.
	Analyselstilstand	Vælg at analysere data efter Fluorophore (Fluorofor) eller efter Target (Måsekvens).

Tabel 16. Punkter på menulinjen i vinduet Data Analysis (Dataanalyse), fortsat

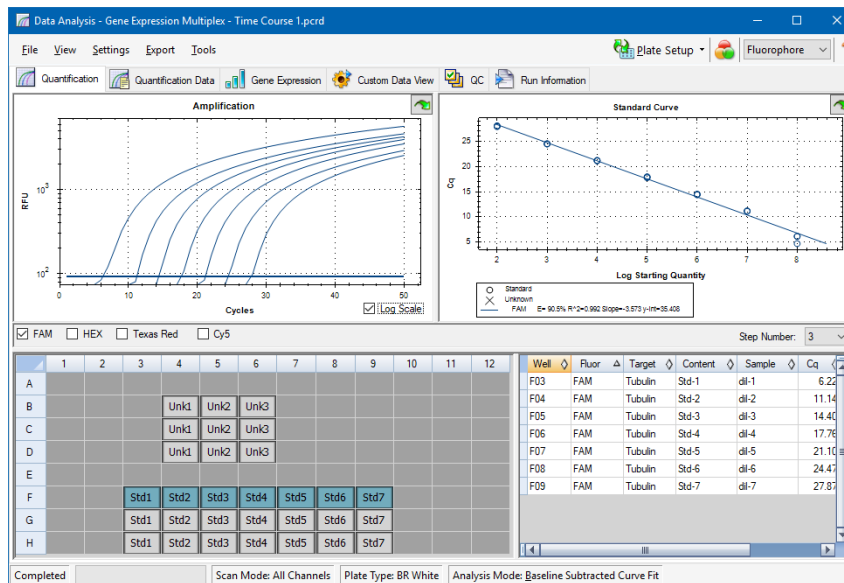
Menupunkt	Kommando	Funktion
	Cycles to Analyze (Cyklusser, der skal analyseres)	Vælg de cyklusser, der skal analyseres.
	Baseline Threshold (Baselinetærskler)	Åbner vinduet Baseline Threshold (Baselinetærskler) for at justere baseline eller tærskel.
	Trace Styles (Kurvelinjelayout)	Åbner vinduet Trace Styles (Kurvelinjelayout).
	Plate Setup (Pladeopsætning)	Åbner Plate Editor (Pladeeditor) for at vise og redigere pladen eller udskifte den aktuelle plade med en fra en brugerdefineret pladefil eller en PrimePCR-kørselsfil.
	Include All Excluded Wells (Medtag alle udeladte brønde)	Medtager alle udeladte brønde i analysen.
	Mouse Highlighting (Musefremhævning)	Aktiverer eller deaktiverer den samtidige fremhævning af data med musemarkøren. Tip: Hvis Mouse Highlighting (Musefremhævning) er slået fra, kan du trykke på tasten Control for at slå fremhævning midlertidigt til.
	Restore Default Window Layout (Gendan standard-vindueslayout)	Gendanner opstillingen af vinduer til standardindstillingen.

Table 16. Punkter på menulinjen i vinduet Data Analysis (Dataanalyse), fortsat

Menupunkt	Kommando	Funktion
Export (Eksportér)	Export All Data Sheets to Excel (Eksportér alle dataark til Excel)	Eksporterer alle regnearksvisninger fra alle faner til en separat Excel-fil.
	Custom Export (Tilpasset eksport)	Åbner vinduet Custom Export (Tilpasset eksport), hvor du kan angive de felter, der skal eksporteres, samt filformatet.
	Export to LIMS Folder (Eksportér til LIMS-mappe)	Åbner et vindue til lagring af data i et forudangivet format i LIMS-mappen.
	Seegene Export (Seegene-eksport)	Åbner et vinduet til identifikation af placeringen til lagring af data fra alle regnearksvisninger til Excel-filer, struktureret specifikt til brug af Seegene, Inc.
Tools (Værktøjer)	Reports (Rapporter)	Åbner vinduet Report (Rapport) for denne datafil.
	Well Group Reports (Rapporter for brøndgruppe)	Åbner vinduet Well Group Report (Rapport for brøndgruppe) til oprettelse af rapporter for angivne brøndgrupper.
	Import Fluorophore Calibration (Importér fluoroforkalibrering)	Vælg en kalibreringsfil, der skal anvendes på den aktuelle datafil.
	qbase+	Starter qbase+ version 2.5 direkte fra den aktuelle .pcrd-fil, hvis installeret.

Fanen Details (Detaljerede oplysninger)

Hver fane i vinduet Data Analysis (Dataanalyse) viser data i diagrammer og regneark for en specifik analysemetode og indeholder en brøndvælger, der bruges til at vælge de data, der skal vises. Når Data Analysis (Dataanalyse) åbnes, vises fanen Quantification (Kvantifikation) som standard. Du kan bruge amplifikationsdiagramdataene på fanen Quantification (Kvantifikation) til at bestemme de optimale analyseindstillinger for kørslen.

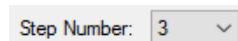


Bemærk: Softwaren linker dataene i ruderne i hver af fanerne i Data Analysis (Dataanalyse). For eksempel vil fremhævelse af en brønd ved at placere musemarkøren over brønden i brøndvælgervisningen fremhæve dataene i alle de andre ruder.

Vælgeren Step Number (Trinnummer)

Systemerne CFX96 og CFX96 Deep Well kan indhente fluorescensdata ved flere forskellige protokoltrin. Softwaren gemmer dataene, som er optaget i hvert enkelt trin, separat. I softwaren vises vælgeren Step Number (Trinnummer). Hvis en protokol indeholder mindst ét dataindsamlingstrin, viser CFX Manager Dx software data fra det første indsamlingstrin.

Hvis protokollen indeholder mere end ét indsamlingstrin, kan du vælge et andet trin fra rullelisten, for eksempel:



Hvis du vælger et trin, anvender softwaren valget på alle data, som vises i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).

Visning af Well Groups (Brøndgrupper) i Data Analysis (Dataanalyse)

Brøndene på en plade kan grupperes i undersæt med henblik på individuel analyse ved hjælp af brøndgrupper. Når der oprettes brøndgrupper, vises navnene på disse i rullelisten Well Groups (Brøndgrupper) på værktøjslinjen i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).

Hvis der er oprettet brøndgrupper, viser softwaren standardbrøndgruppen All Wells (Alle brønde), når vinduet Data Analysis (Dataanalyse) åbnes, med data for samtlige brønde med indhold vist i diagrammer og regneark. Det er kun de brønde i brøndgruppen, som har indhold, der vises i brøndvælgeren, og det er kun data for disse brønde, der medtages i dataanalyseberegningerne.

Bemærk: Hvis der ikke er oprettet nogen brøndgrupper, vises rullelisten Well Groups (Brøndgrupper) ikke på værktøjslinjen.

Ændring af brøndindhold efter en kørsel

Under dataanalyse vil en ændring af den måde, som data vises på via ændring af indholdet af brønde i Plate Editor (Pladeeditor) aldrig ændre de fluorescensdata, som blev indsamlet fra hver brønd i løbet af kørslen. Efter at modulet har indsamlet fluorescensdata, kan disse data ikke slettes, men du kan vælge at fjerne dem fra visning og analyser.

Sådan ændres indholdet af brønde efter en kørsel

- ▶ Klik på Plate Setup (Pladeopsætning) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse), og vælg én af følgende valgmuligheder:
 - **Edit/View Plate** (Rediger/vis plade) – åbner Plate Editor (Pladeeditor), hvor du kan foretage manuelle ændringer i layoutet.

- **Replace Plate file** (Udskift pladefil) – åbner browseren Select Plate (Vælg plade), hvor du kan navigere til en tidligere gemt pladefil, som det aktuelle pladelayout skal erstattes med.
- **Apply PrimePCR file** (Anvend PrimePCR-fil) – åbner dialogboksen Select PrimePCR file (Vælg PrimePCR-fil), hvor du kan navigere til en PrimePCR™ kørselsfil og anvende den på pladelayoutet.

Tip: Du kan tilføje eller redigere oplysninger om brøndens indhold før en kørsel, under en kørsel eller efter fuldførelse af en PCR-kørsel. Du skal tildele scanningstilstand og pladestørrelse før kørslen. Disse parametre kan ikke ændres efter kørslen.

Indstillinger for dataanalyse

Data i diagrammet Amplification (Amplifikation) på fanen Quantification (Kvantifikation) viser den relative fluorescens (RFU) for hver af brøndene i hver cyklus. Hver kurvelinje på diagrammet repræsenterer data fra en enkelt fluorofor i én brønd. Disse data bruges til at bestemme C_q -værdierne for hver enkelt brønd på basis af hver enkelt fluorofor. Softwaren anvender én af to måder til at bestemme C_q -værdierne:

- **Regression** – anvender en nonlinear regressionsmodel med flere variabler på de individuelle brøndkurvelinjer og bruger derefter denne model til at beregne en optimal C_q -værdi.
- **Single Threshold** (Enkelt tærskel) – anvender en enkelt tærskelværdi til at beregne C_q -værdien baseret på det punkt, hvor tærsklerne for de individuelle fluorescenskurvelinjer krydser hinanden.

Vælg Settings > C_q Determination Mode (Indstillinger > C_q -bestemmelsestilstand) for at vælge C_q -bestemmelsesmåde.

Justering af tærsklen

I tilstanden Single Threshold (Enkelt tærskel) kan du justere tærsklen for en fluorofor ved at klikke på tærskellinjen i diagrammet Amplification (Amplifikation) og bevæge musemarkøren lodret. Alternativt kan du specificere en præcis krydstærskel for den valgte fluorofor.

Baselineindstillinger

Softwaren indstiller automatisk baseline individuelt for hver brønd. Baselineindstillingen fastlægger metoden til subtraktion af baseline for alle fluorescenskurvelinjer. Softwaren indeholder tre muligheder for subtraktion af baseline:

- **No Baseline Subtraction** (Ingen subtraktion af baseline) – viser data som relative fluorescenskurvelinjer. Visse analyser er ikke mulige i denne analysetilstand og softwaren viser derfor ikke fanerne Gene Expression (Genekspression), End Point (Endepunkt) og Allelic Discrimination (Alleldiskrimination).
- **Baseline Subtracted** (Baseline subtraheret) – viser data som kurvelinjer med subtraheret baseline for hver fluorofor i en brønd. Softwaren skal subtrahere baseline fra dataene for at fastlægge kvantifikationscyklusser, konstruere standardkurver og fastlægge koncentrationen af ukendte prøver. For at generere en baseline-subtraheret kurvelinje indpasser softwaren den bedste lige linje gennem den registrerede fluorescens for hver brønd under baseline-cyklusserne og subtraherer derefter de bedst tilpassede data fra de baggrunds-subtraherede data i hver cyklus.
- **Baseline Subtracted Curve Fit** (Baseline-subtraheret kurvetilpasning) – viser data som baseline-subtraherede kurvelinjer, og softwaren udjævner den baseline-subtraherede kurve ved

brug af et centreret middelværdifilter. Denne proces udføres således, at hver C_q forbliver invariant.

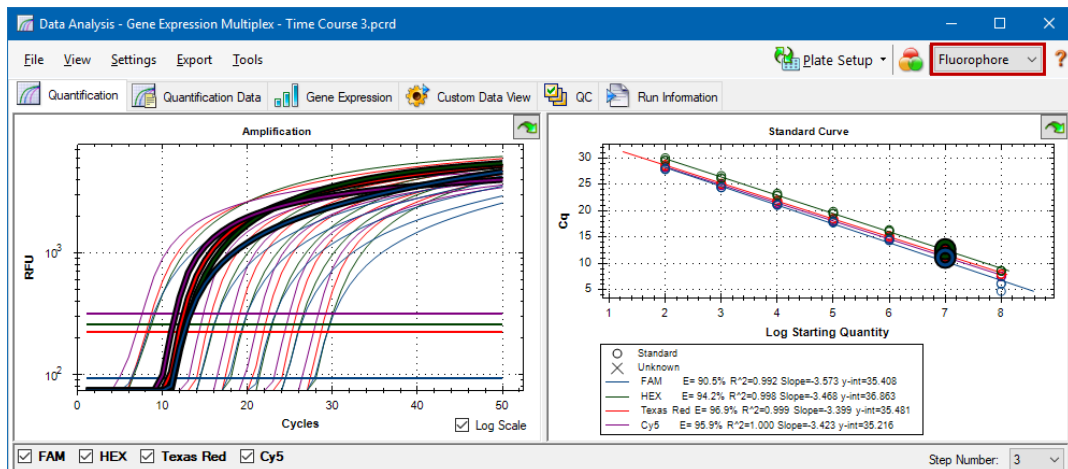
Foruden disse muligheder kan du også vælge Apply Fluorescent Drift Correction (Anvend korrektion for fluorescensafvigelse). For brønde, som har unormalt afvigende RFU-værdier under de første få cyklusser af en kørsel, udleder softwaren en anslået baseline fra tilstødende brønde, der blev genereret en horisontal baseline for uden fejl.

Sådan ændres indstillingen for baseline-subtraktion

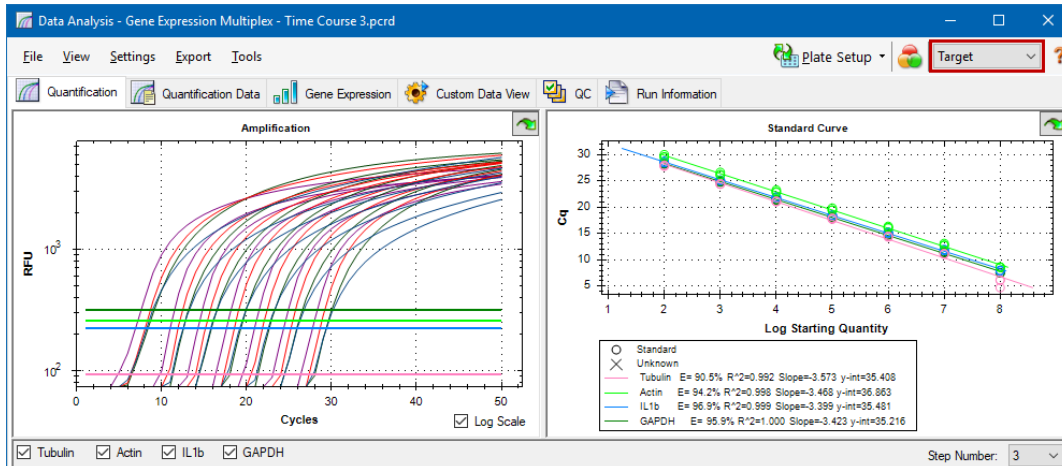
- ▶ Vælg Settings (Indstillinger) > Baseline Setting (Baselineindstilling).

Analysetilstand

Data kan grupperes og analyseres enten efter fluorofor eller navn på målsekvens (target). Ved gruppering efter fluorofor vises datakurvelinjerne efter fluorofor som angivet i pladeopsætningen for den pågældende kørsel. Data for de individuelle fluoroforer vises i amplifikations- og standardkurve-diagrammerne (hvis tilgængelige), når afkrydsningsfelterne for de relevante fluoroforer er markeret.



Ved gruppering efter målsekvens (target) vises datakurvelinjerne efter navn på målsekvens som angivet i pladeopsætningen for den pågældende kørsel.



Sådan vælges en dataanalysetilstand

- ▶ Gør et af følgende:
 - Vælg Settings > Analysis Mode (Indstillinger > Analysetilstand).
 - Vælg en tilstand i rullemenuen Analysis Mode (Analysetilstand) på værktøjslinjen.

Cykluser, der skal analyseres

Du kan begrænse antallet af cykluser, som skal analyseres. Du kan desuden analysere data fra et specifikt sæt cykluser. Det maksimale antal cykluser, som kan analyseres, er 50.

Bemærk: Hvis cykluser fjernes fra begyndelsen af en kørsel, kan det have en væsentlig indflydelse på beregning af baseline.

Sådan begrænses dataanalyse til et specifikt cyklusområde

1. Vælg Settings > Cycles to Analyze (Indstillinger > Cykluser, der skal analyseres).

Dialogboksen Cycles to Analyze (Cykluser, der skal analyseres) vises.

2. Indtast værdier for start- og slutcyklus, og klik på OK.

Klik på Restore Defaults (Gendan standarder) i dialogboksen Cycles to Analyze (Cykluser, der skal analyseres) for at vende tilbage til de cykluser, som oprindeligt blev anvendt til analyse.

Brøndvælger

Brug Well Selector (Brøndvælger) til at vise eller skjule data i diagrammerne eller regnearkene overalt i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). Der kan kun vælges brønde med prøve i brøndvælgeren. Softwaren farver brøndene i Well Selector (Brøndvælger):

- **Blå** – angiver valgte brønde. Dataene fra de valgte brønde vises i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).
- **Lysegrå** – angiver ikke-valgte brønde. Data fra ikke-valgte brønde vises i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).
- **Mørkegrå** – angiver tomme brønde.

	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			

Sådan vises eller skjules brøndata

- ▶ I brøndvælgeren skal du gøre et af følgende:
 - For at skjule en enkelt brønd skal du klikke på den. For at vise den pågældende brønd skal du klikke på den igen.
 - For at skjule flere brønde skal du trække på tværs af de brønde, der skal skjules. For at vise disse brønde skal du trække musen på tværs af brøndene igen.
 - Klik i øverste venstre hjørne af pladen for at skjule alle brønde. Klik i øverste venstre hjørne igen for at vise alle brøndene.
 - Klik på begyndelsen af en kolonne eller række for at skjule disse brønde. Klik på kolonnen eller række igen for at vise brøndene.

Genvejsmenupunkter for brøndvælger

Tabel 17 indeholder en liste over de genvejsmenupunkter, der er tilgængelige i brøndvælgervisningen.

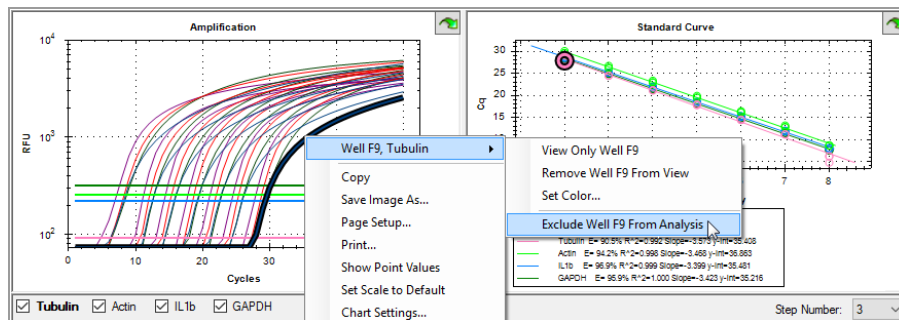
Tabel 17. Genvejsmenupunkter for brøndvælger

Element	Funktion
Well XX (Brønd XX)	Viser kun denne brønd, fjerner denne brønd fra visningen, indstiller farve for denne brønd eller udelader denne brønd fra analyse.
Selected Wells (Valgte brønde) (højreklik og træk)	Viser kun disse brønde, fjerner disse brønde fra visningen, indstiller farve for disse brønde eller udelader disse brønde fra analyse.
Copy (Kopier)	Kopierer indholdet af brønden til udklipsholderen, herunder Sample Type (Prøvetype) og valgfrit Replicate # (Replikatnummer).
Copy as Image (Kopier som billede)	Kopierer brøndvælgervisningen som et billede.
Print (Udskriv)	Udskriver brøndvælgervisningen.
Print Selection (Udskriv valgte)	Udskriver det aktuelt markerede.
Export to Excel (Eksportér til Excel)	Eksporterer data til et Excel-regneark.
Export to CSV (Eksportér til CSV)	Eksporterer data som et tekstdokument.
Export to Xml (Eksportér til Xml)	Eksporterer data som et .xml-dokument.
Well Labels (Brøndbetegnelser)	Ændrer brøndbetegnelser til Sample Type (Prøvetype), Target Name (Navn på målsekvens) eller Sample Name (Prøvenavn).

Midlertidig udeladelse af brønde fra analyse

Sådan udelades brønde midlertidigt fra dataanalyse

1. Højreklik på brønden i brøndvælgeren. For at udelade flere brønde skal du højreklikke og trække for at fremhæve flere brønde, kurvelinjer eller punkter.
2. Vælg det relevante genvejsmenupunkt:
 - Well > Exclude Well (Brønd > Udelad brønd)
 - Selected Wells > Exclude from Analysis (Valgte brønde > Udelad fra analyse)
 - Selected Traces > Exclude these wells from Analysis (Valgte kurvelinjer > Udelad disse brønde fra analyse)



Alternativt kan du rydde indholdet fra brøndene i Plate Editor (Pladeeditor) ved at klikke på knappen Clear Wells (Ryd brønde) for at fjerne brønde permanent fra analyse.

Vigtigt: Du skal indtaste alt brøndindhold igen, hvis det ryddes.

Sådan medtages en udeladt brønd

- ▶ Højreklik på den relevante brønd i brøndvælgeren, og vælg Well (Brønd) > Include Well in Analysis (Medtag brønd i analyse).

Diagrammer

Hvert diagram i vinduet Data Analysis (Dataanalyse) viser dataene i en forskellig graf og indeholder valgmuligheder til justering og eksport af dataene og diagrammets grafik.

Fælles genvejsmenupunkter for diagrammer

[Tabel 18](#) indeholder en liste over de genvejsmenupunkter, der er tilgængelige for diagrammer. Visse af de tilgængelige menupunkter findes for alle diagrammer, og disse kan anvendes til at ændre, hvordan data vises, eller til nemt at eksportere data fra et diagram.

Tabel 18. Genvejsmenupunkter for diagrammer

Element	Funktion
Copy (Kopier)	Kopierer diagrammet til udklipsholderen.
Save Image As (Gem billede som)	Gemmer billedet i den specificerede størrelse, opløsning og filtype. De tilgængelige billedformater er PNG (standard), JPG og BMP.
Page Setup (Sideopsætning)	Vis og vælg sideopsætning til udskrift.
Print (Udskriv)	Udskriver diagrammet.
Set Scale to Default (Indstil skala til standard)	Stiller diagrammet tilbage til dets standardvisning efter at have forstørret det.
Chart Options (Valgmuligheder for diagrammer)	Åbner vinduet Chart Options (Valgmuligheder for diagrammer), hvor det er muligt at ændre diagrammet, herunder at ændre titlen, vælge grænser for x- og y-akserne, vise gitterlinjer og vise underinddelinger på akserne.

Bemærk: Menupunkter, som kun gælder for specifikke diagrammer, er beskrevet i [Kapitel 10, Detaljerede oplysninger om dataanalyse](#).

Kopiering af diagramdata til udklipsholderen

Du kan kopiere indholdet af diagramvisningen og indsætte det i en hvilken som helst applikation, der kan bruge bitmap-billedfiler.

Sådan kopieres diagramdata til udklipsholderen

1. Fra diagrammets genvejsmenu skal du vælge Copy (Kopier).
2. Åbn en applikation, der kan bruge bitmap-billeder, f.eks. Microsoft Word.
3. Højreklik og vælg Paste (Sæt ind) for at indsætte bitmap-billedet fra udklipsholderen i applikationen.

Ændring af indstillingerne for Baseline Threshold (Baselinetærskel)

I tilstanden Single Threshold (Enkelt tærskel) kan du justere tærsklen for en fluorofor ved at klikke på tærskellinjen i amplifikationsdiagrammet og bevæge musemarkøren lodret. Alternativt kan du specificere en præcis krydstærskel for den valgte fluorofor.

Tip: Du kan angive et cyklusområde for at fastlægge baseline for alle datafiler på fanen Data Analysis (Dataanalyse) i User > User Preferences (Bruger > Brugerpræferencer).

Sådan justeres start og slut for en baselinecyklus for hver brønd

1. Vælg en enkelt fluorofor på fanen Quantification (Kvantifikation) under amplifikationsdiagrammet.
2. Vælg Baseline Threshold (Baselinetærskel) i diagrammets genvejsmenu.

Dialogboksen Baseline Threshold (Baselinetærskel) vises.

	Well	Fluor	Baseline Begin	Baseline End
1	A01	SYBR	2	17
2	A02	SYBR	2	17
3	A03	SYBR	2	17
4	A04	SYBR	2	11
5	A05	SYBR	2	11
6	A06	SYBR	2	12
7	A07	SYBR	2	8
8	A08	SYBR	2	10
9	A09	SYBR	2	12
10	A10	SYBR	0	0

3. Gør et af følgende i sektionen Baseline Cycles (Baselinecyklusser):
 - For at vælge en brønd skal du klikke på dens række nummer.
 - For at vælge flere brønde, der støder op til hinanden, skal du klikke på række nummeret for den første brønd og trække ned over kolonnen til den sidste brønd.
 - For at vælge flere brønde, der ikke støder op til hinanden, skal du holde Ctrl-tasten nede og klikke på række nummeret for de enkelte brønde, der skal medtages.
 - For at vælge alle brønde skal du klikke i øverste venstre hjørne af tabellen.
4. Juster cyklus for Baseline Begin (Baseline start) og Baseline End (Baseline slut) for alle valgte brønde, eller rediger cyklustallet under Begin (Start) og End (Slut) nederst på regnearket.

Tip: For at vende tilbage til de sidst gemte værdier skal du klikke på Reset All User Defined Values (Nulstil alle brugerdefinerede værdier).
5. Klik på OK for at gemme ændringerne og vende tilbage til diagrammet.

Sådan specificeres et cyklusområde for alle datafiler

- ▶ Vælg User > User Preferences (Bruger > Brugerpræferencer) i startvinduet eller vinduet Plate Editor (Pladeeditor), og vælg fanen Data Analysis (Dataanalyse).

Sortering af data for målsøkvens (target) og prøve

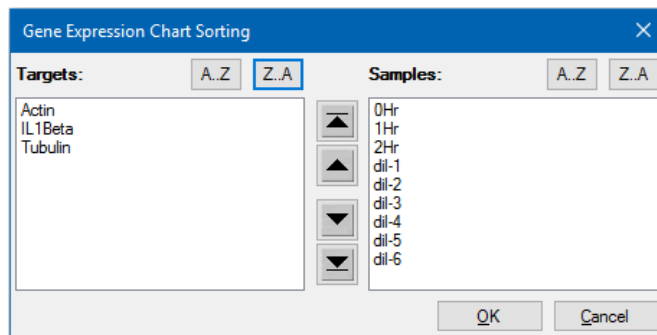
Bemærk: Denne valgmulighed er kun tilgængelig på diagrammer for genekspression.

Som standard vises listerne Targets (Målsøkvenser) og Samples (Prøver) i alfabetisk rækkefølge. Brug dialogboksen Sort (Sortér) til at sortere visningen i omvendt alfabetisk rækkefølge eller til manuelt at flytte en term til en anden placering på listen.

Sådan sorteres data vedrørende målsøkvens (target) og prøve

1. Klik på Sort (Sortér) i diagrammets genvejsmenu.

Dialogboksen Gene Expression Chart Sorting (Sortering af diagrammet Genekspression) åbnes.



2. Klik på Z-A i dialogboksen for at sortere listen i omvendt alfabetisk rækkefølge.
3. For at flytte en term manuelt skal du vælge den og klikke på den relevante knap mellem diagrammerne:
 - Klik på pil op eller pil ned for at flytte den valgte term én position.
 - Klik på pil op med slutstreg eller pil ned med slutstreg for at flytte den valgte term til toppen eller bunden af listen.
4. Klik på OK for at gemme ændringerne og gå tilbage til fanen Gene Expression (Genekspression).

Forstørrelse af et område i diagrammet

Sådan forstørres et område i diagrammet

- ▶ Klik og træk på tværs af diagrammet, og klik derefter på Zoom*. Softwaren tilpasser størrelsen på diagrammet og centrerer det på det valgte område.

Bemærk: * Det er ikke nødvendigt at klikke på pop op-kommandoen Zoom i søjlediagrammer.

Sådan nulstilles diagrammet til fuld visning

- ▶ Højreklik i diagrammet, og vælg Set Scale to Default (Indstil skala til standard).

Kopiering af diagrammer til en Microsoft-fil

Du kan kopiere datadiagrammer til Microsoft Word, Excel eller PowerPoint. Billedets opløsning svarer til den, der gælder for den skærm, som billedet blev hentet fra

Sådan kopieres diagrammer til en Microsoft-fil

1. Vælg Copy (Kopier) i diagrammets genvejsmenu i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).
2. Åbn en tom Microsoft-fil, og indsæt indholdet fra udklipsholderen.



Alternativ: Klik på klik-og-træk-ikonet, og træk og slip diagrammet til en Microsoft-fil.

Regneark

De regneark, der vises i Data Analysis (Dataanalyse), indeholder indstillinger til sortering og overførsel af data. Sortér kolonnerne ved at bruge en af disse metoder:

- Klik på og træk en kolonne til en ny placering i den valgte tabel.
- Klik på kolonneoverskriften for at sortere dataene i stigende eller faldende rækkefølge.

Sådan sorteres op til tre kolonner med data i vinduet Sort (Sortér)

1. Højreklik i regnearket, og vælg Sort (Sortér).
2. Vælg den første kolonnetitel, der skal sorteres, i dialogboksen Sort (Sortér). Sortér dataene i stigende eller faldende rækkefølge.
3. Vælg en anden eller tredje kolonne, der skal sorteres, og vælg Ascending (Stigende) eller Descending (Faldende).
4. Klik på OK for at sortere dataene, eller klik på Cancel (Annuller) for at stoppe sorteringen.

Fremhæv dataene i de tilknyttede diagrammer og brøndvælgeren ved at holde musemarkøren hen over en celle. Klik i en celle for at kopiere og indsætte indholdet i et andet softwareprogram.

Fælles genvejsmenuer for regneark

[Tabel 19](#) indeholder en liste over genvejsmenuerne i alle regnearksvisninger.

Tabel 19. Genvejsmenuer for regneark

Element	Funktion
Copy (Kopier)	Kopierer indholdet af de valgte brønde til en udklipsholder. Herfra kan indholdet indsættes i et regneark som for eksempel Excel.
Copy as Image (Kopier som billede)	Kopierer regnearksvisningen som en billedfil, som derefter kan indsættes i en fil, der kan bruge billedfiler, som for eksempel tekst-, billed- eller regnearksfiler.
Print (Udskriv)	Udskriver den aktuelle visning.
Print Selection (Udskriv valgte)	Udskriver det aktuelt markerede.
Export to Excel (Eksportér til Excel)	Eksporterer data til et Excel-regneark.

Tabel 19. Genvejsmenupunkter for regneark, fortsat

Element	Funktion
Export to CSV (Eksportér til CSV)	Eksporterer data til en kommasepareret (.csv) fil.
Export to Xml (Eksportér til Xml)	Eksporterer data til en Xml-fil.
Export to Html (Eksportér til Html)	Eksporterer data til en Html-fil.
Find	Søger efter tekst.
Sort (Sortér)	Sorterer data i op til tre kolonner.
Select Columns (Vælg kolonner)	Vælger de kolonner, der vil blive vist i regnearket.

Eksport

CFX Manager Dx software har fire valgmuligheder for eksport i rullemenuen Export (Eksporter):

- Export All Data Sheets (Eksporter alle dataark)
- Custom Export (Tilpasset eksport)
- Export to LIMS (Eksporter til LIMS)
- Seegene Export (Seegene-eksport)

Eksport af alle dataark

Du kan eksportere alle regnearksvisninger fra samtlige faner på CFX Manager Dx software til individuelle filer.

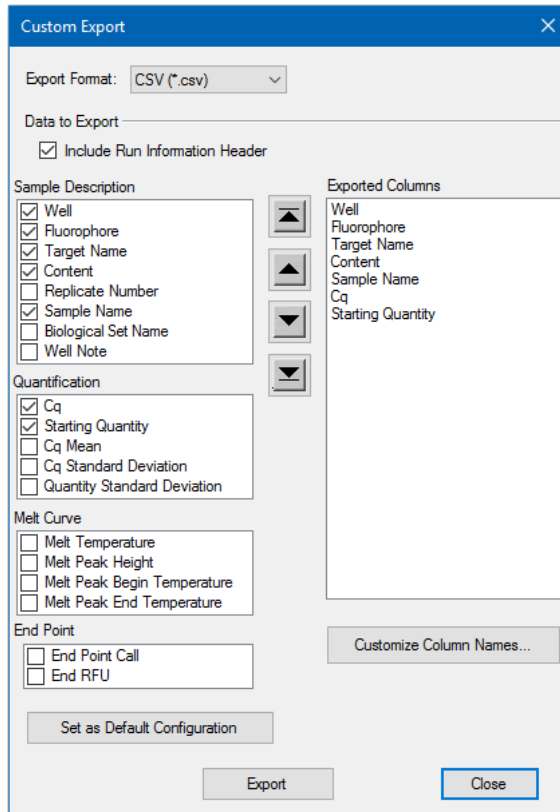
Sådan eksporteres alle dataark

- ▶ Vælg Export > Export All Data Sheets (Eksporter > Eksportér alle dataark), og vælg derefter den ønskede filtype:
 - CSV (*.csv)
 - Tekst (*.txt)
 - Excel 2007 (*.xlsx)
 - Excel 2003 (*.xls)
 - XML (*.xml)

Oprettelse af en tilpasset eksportfil

Sådan oprettes en tilpasset eksportfil

1. Vælg Export > Custom Export (Eksport > Tilpasset eksport). Dialogboksen Custom Export (Tilpasset eksport) vises.



2. Vælg eksportformatet på den rulleliste, der vises.
3. Vælg afkrydsningsfelterne for de elementer, som skal eksporteres.
4. (Valgfrit) Klik på Customize Column Names (Tilpas kolonnenavne) for at ændre kolonnenavne.
5. Klik på Export (Eksportér). Dialogboksen Save As (Gem som) vises.
6. Angiv et filnavn og en placering, hvor den eksporterede fil skal gemmes, i dialogboksen Save As (Gem som).
7. Klik på OK for at gemme den eksporterede fil.

Eksport til en LIMS-mappe

Du kan eksportere data til et LIMS-kompatibelt filformat.

Sådan eksporteres data i LIMS-format

1. Vælg Export > Export to LIMS Folder (Eksportér > Eksportér til LIMS-mappe).
Dialogboksen Save As (Gem som) vises.
2. Angiv et filnavn og en placering, hvor den eksporterede fil skal gemmes, i dialogboksen Save As (Gem som).
3. Klik på OK for at gemme den eksporterede fil.

Eksport af Seegene-formaterede data

Du kan eksportere data alle regnearksvisninger til Excel-filer, struktureret specifikt til brug af Seegene, Inc.

Sådan eksporteres data i et Seegene-specifikt format

1. Vælg Export > Seegene Export (Eksport > Seegene-eksport).
Dialogboksen Save As (Gem som) vises.
2. I dialogboksen Save As (Gem som) specificeres en mappeplacering, hvor de eksporterede Seegene-formaterede Excel (.xlsx)-filer skal gemmes.
3. Klik på OK for at gemme de eksporterede filer.

Kapitel 10 Detaljerede oplysninger om dataanalyse

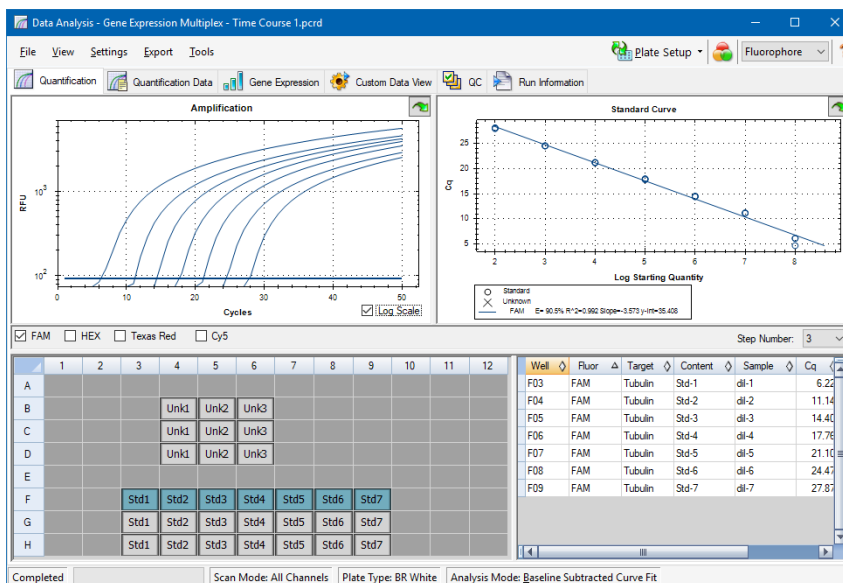
CFX Manager™ Dx softwarens vindue Data Analysis (Dataanalyse) har flere faner til visning af data. Dette kapitel forklarer disse faner i detaljer.

Tip: Du kan vælge, hvilke faner der skal vises i vinduet Data Analysis (Dataanalyse), i menuen View (Vis). Det tilpassede layout gemmes med datafilen.

Fanen Quantification (Kvantifikation)

Brug dataene på fanen Quantification (Kvantifikation) til at indstille betingelserne for dataanalysen, herunder baselineindstillinger for individuelle brønde og tærskelindstillinger. Fanen Quantification (Kvantifikation) viser data i fire visninger:

- Diagrammet Amplification (Amplifikation) – viser relative fluorescensenheder (RFU'er) for hver brønd ved hver cyklus. Hver kurvelinje på diagrammet repræsenterer data fra en enkelt fluorofor i én brønd.
- Standard curve (Standardkurve) – vises kun, hvis kørslen omfatter brønde, der er angivet som prøvetypstandard (Std). Standardkurven viser tærskelcyklussen plottet mod log af startmængden. Beskrivelsen viser reaktionseffektivitet (E) for hver fluorofor i brøndene med en standardprøvetype.
- Well selector (Brøndvælger) – vælger brøndene med de fluorescensdata, der skal vises.
- Regneark – viser et regneark med data, der er indsamlet i de valgte brønde.



Valgmuligheder for fluorofor

For at vise fluorofordata i diagrammer og regneark på fanen Quantification (Kvantifikation) skal du vælge fluoroforen/fluoroforerne under diagrammet Amplification (Amplifikation). For at skjule fluorofordataene i dataanalysevinduet skal du fjerne markeringen i det tilhørende afkrydsningsfelt.

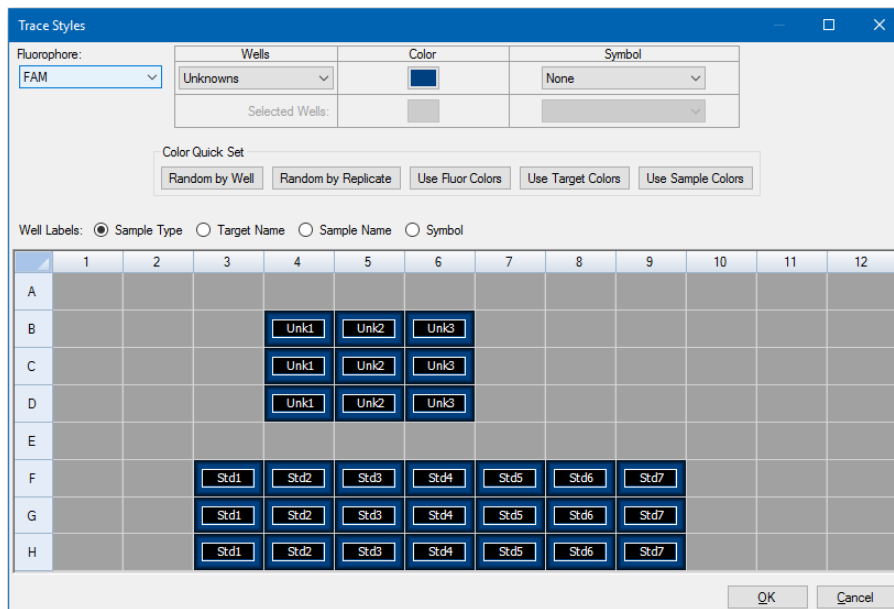
Dialogboksen Trace Styles (Kurvelinjelayout)

Du kan bruge dialogboksen Trace Styles (Kurvelinjelayout) til at tilpasse visningen af kurvelinjer i amplifikations- og smeltekurvedigrammer på fanerne Quantification (Kvantifikation) og Melt Curve (Smeltekurve). Du kan derefter gennemgå ændringerne i brøndvælgeren, som vises i dialogboksen Trace Styles (Kurvelinjelayout).

Sådan justeres kurvelinjelayout

1. Vælg kun én fluorofor under diagrammet Amplification (Amplifikation).
2. For at åbne dialogboksen Trace Styles (Kurvelinjelayout) skal du gøre et af følgende:
 - Klik på Trace Styles (Kurvelinjelayout) i diagrammet Amplification (Amplifikation).
 - Vælg Settings > Trace Styles (Indstillinger > Kurvelinjelayout) på menulinjen Data Analysis (Dataanalyse).
 - Højreklik på en kurvelinje, og vælg Trace Styles (Kurvelinjelayout).

Dialogboksen Trace Styles (Kurvelinjelayout) åbnes.



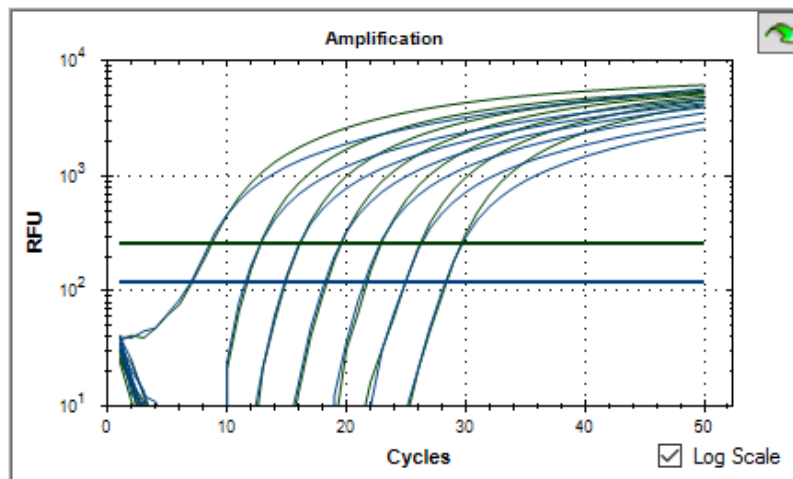
3. I dialogboksen Trace Styles (Kurvelinjelayout) skal du vælge et specifikt sæt brønde i brøndvælgeren i den nederste rude. Alternativt kan du vælge brønde, som indeholder én prøvetype, i rullemenuen i kolonnen Wells (Brønde).

4. Gør et af følgende:

- For at vælge en farve til de valgte brønde skal du klikke på feltet i kolonnen Color (Farve).
- For at tildele et symbol til de valgte brønde skal du vælge et symbol på rullelisten Symbol.
- For at farve brøndene hurtigt efter knapbetegnelsen skal du klikke på den relevante hurtigindstilling:
 - Random by Well (Vilkårlig efter brønd)
 - Random by Replicate (Vilkårlig efter replikat)
 - Use Fluor Colors (Anvend fluorfarver)
 - Use Target Colors (Anvend målsekvensfarver)
 - Use Sample Colors (Anvend prøvefarver)
- For at tildele nye brøndbetegnelser skal du vælge enten Sample Type (Prøvetype), Target Name (Navn på målsekvens), Sample Name (Prøvenavn) eller Symbol.

Funktionen Log Scale (Logaritmisk Skala)

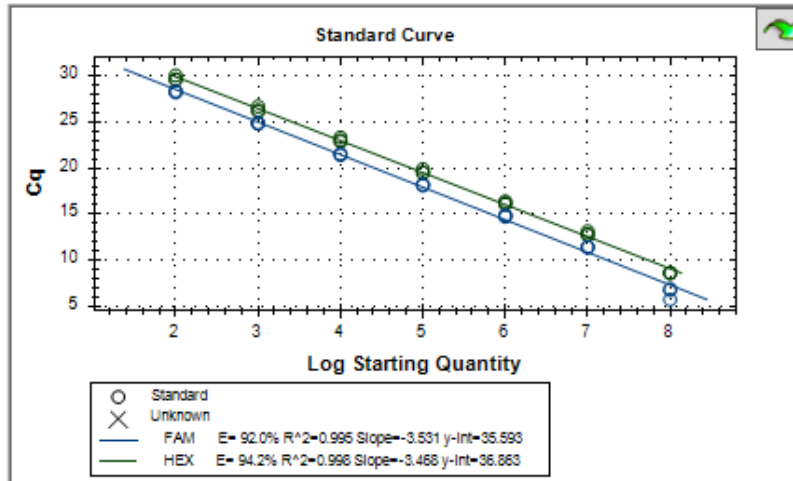
Vælg Log Scale (Logaritmisk skala) under diagrammet Amplification (Amplifikation) for at vise fluorescenskurvelinjerne på en semilogaritmisk skala:



Tip: For at forstørre et vilkårligt område i diagrammet skal du trække på tværs af det ønskede område. For at vende tilbage til fuld visning skal du højreklikke på diagrammet og vælge Set Scale to Default (Indstil skala til standard).

Standardkurve-diagram

Softwaren opretter et Standard Curve-diagram (Standardkurve-diagram) på fanen Quantification (Kvantifikation), hvis dataene omfatter prøvetyper defineret som Std (Standard) for mindst én fluorofor i kørslen.



Diagrammet Standard Curve (Standardkurve) indeholder følgende oplysninger:

- Navnet på hver af kurverne (fluoroforen eller målsekvensen (target)).
- Farven på hver fluorofor eller hver målsekvens (target).
- Reaktionseffektivitet (E). Disse statistiske oplysninger kan anvendes til at optimere en multiplexreaktion og udligne data til standardkurven.

Bemærk: Reaktionseffektiviteten beskriver, hvor meget der bliver produceret af målsekvensen (target) i hver af protokollens cyklusser. En effektivitet på 100 % angiver, at målsekvensen (target) fordobles med hver cyklus.

- Bestemmelseskoefficient, R^2 (anført som R^2). Disse statistiske oplysninger kan anvendes til at bestemme, hvor korrekt linjen beskriver dataene (tilpasningsgrad).
- Slope (Hældning)
- y-skæringspunkt

Menupunkter for Amplification Chart (Amplifikationsdiagram)

Udover de fælles genvejsmenupunkter (se [Fælles genvejsmenupunkter for diagrammer på side 179](#)) er der andre genvejsmenupunkter, der kun er tilgængelige i diagrammet Amplification (Amplifikation). De vises i [Tabel 20](#).

Bemærk: Standard Curve Chart (Standardkurvediagram) har kun de fælles genvejsmenupunkter.

Tabel 20. Menupunkter for Amplification (Amplifikation) ved højre- og venstreklik

Menupunkt	Funktion
Show Threshold Values (Vis tærskelværdier)	Viser tærskelværdien for hver amplifikationskurve på diagrammet.
Trace Styles (Kurvelinjelayout)	Åbner vinduet Trace Styles (Kurvelinjelayout), hvor kurvelinjelayoutet, der vises på fanerne Quantification (Kvantifikation) og Melt Curve (Smeltekurve), kan ændres.
Baseline Thresholds (Baselinetærskler)	Åbner vinduet Baseline Thresholds (Baselinetærskler), hvor du kan ændre baseline eller tærskler for hver fluorofor (ændringerne kan ses i diagrammet Amplification (Amplifikation) på fanen Quantification (Kvantifikation)).

Fanen Quantification (Kvantifikation) i regneark

[Tabel 21](#) definerer de data, der vises i regnearket på fanen Quantification (Kvantifikation).

Tabel 21. Indholdet på fanen Quantification (Kvantifikation) i regnearket

Oplysninger	Beskrivelse
Well (Brønd)	Brøndens position på pladen
Fluor	Detekteret fluorofor
Target (Målsekvens)	Navn på den målsekvens (target), der er indlæst i brøndene i Plate Editor (Pladeeditor)
Content (Indhold)	En kombination af Sample Type (Prøvetyp) (påkrævet) og Replicate # (Replikatnummer) (valgfrit) indlæst i Plate Editor (Pladeeditor)
Sample (Prøve)	Sample Name (Prøvenavn) indlæst i brøndene i Plate Editor (Pladeeditor)
C _q	Kvantifikationscyklus for hver kurvelinje

Ændring af målsekvens- (target), indholds- eller prøvedata

Du kan ændre dataene i kolonnerne Target (Målsekvens), Content (Indhold) og Sample (Prøve) ved at redigere pladefilen med Plate Editor (Pladeeditor) – også selv om eksperimentet er blevet kørt.

Sådan ændres dataene i kolonnerne Target (Målsekvens), Content (Indhold) og Sample (Prøve)

- ▶ Klik på Plate Setup (Pladeopsætning), og vælg View/Edit Plate (Vis/rediger plade) for at åbne Plate Editor (Pladeeditor).

Fanen Quantification Data (Kvantifikationsdata)

Fanen Quantification Data (Kvantifikationsdata) viser de kvantifikationsdata, som indsamles i hver brønd. CFX Manager Dx software viser dataene i fire forskellige regnearksvisninger:

- Results (Resultater) – viser et regneark med dataene. Dette er standardvisningen.
- Standard Curve Results (Standardkurve-resultater) – viser et regneark med standardkurve-dataene.
- Plate (Plade) – viser dataene i hver brønd som et pladekort.
- RFU – viser RFU-mængder i hver brønd for hver cyklus.

Vælg hvert regneark på rullelisten, som vises neden for fanen Quantification Data (Kvantifikationsdata).

Regnearket Results (Resultater)

Regnearket Results (Resultater) viser data for hver brønd i en plade.

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

Bemærk: Alle Std. Dev (standardafvigelse)-beregninger gælder for de replikatgrupper, der er tildelt i brøndene i vinduet Plate Editor (Pladeeditor). Beregningerne udregner gennemsnittet af C_q-værdien for hver brønd i replikatgruppen.

[Tabel 22](#) definerer de data, der vises i regnearket Results (Resultater).

Tabel 22. Indhold i regnearket Results (Resultater)

Oplysninger	Beskrivelse
Well (Brønd)	Brøndens position på pladen
Fluor	Detekteret fluorofor
Target (Målsekvens)	Navn på amplifikationsmålsekvensen (target) (gen)
Content (Indhold)	Prøvetype og replikatnummer
Sample (Prøve)	Beskrivelse af prøven
Biological Set Name (Navn på biologisk sæt)	Navnet på det biologiske sæt
C_q	Kvantifikationscyklus
C_q Mean (C_q -middelværdi)	Middelværdien for kvantifikationscyklussen for replikatgruppen
C_q Std. Dev (C_q -standardafvigelse)	Standardafvigelse for kvantifikationscyklussen for replikatgruppen
Starting Quantity (SQ) (Startmængde (SQ))	Anslået startmængde for målsekvensen (target)
Log Starting Quantity (Log af startmængde)	Log af startmængden
SQ Mean (SQ-middelværdi)	Middelværdi for startmængden
SQ Std. Dev (C_q -standardafvigelse)	Standardafvigelse for startmængden på tværs af replikater

Regnearket Standard Curve Results (Standardkurve-resultater)

Regnearket Standard Curve Results (Standardkurve-resultater) viser de beregnede standardkurve-parametre.

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

Tabel 23 definer de data, der vises i regnearket Standard Curve Results (Standardkurve-resultater).

Tabel 23. Indhold i regnearket Standard Curve Results (Standardkurve-resultater)

Oplysninger	Beskrivelse
Fluor (eller Target (Målsekvens))	Detekteret fluorofor (eller målsekvens (target))
Efficiency % (Effektivitet %)	Reaktionseffektivitet
Slope (Hældning)	Standardkurvens hældning
Y-intercept (Y-skæringspunkt)	Punkt ved hvilket kurven skærer y-aksen
R ²	Bestemmelseskoefficient

Regnearket Plate (Plade)

Regnearket Plate (Plade) viser et pladekort med data for én fluorofor ad gangen.

Plate	Well	Content	Sample	Cq	Starting Quantity
A	1				
	2				
	3				
	4				
B	1				
	2				
	3				
	4	Unkn-1	6Hr	27.36	2.14e+02
C	1				
	2				
	3				
	4	Unkn-1	6Hr	30.38	3.00e+01

Sådan vises data for en specifik fluorofor

- Klik på dens fane nederst i regnearket.

Regnearket RFU

Regnearket RFU viser aflæsningerne af relative fluorescenseenheder (RFU) for hver brønd indhentet under hver af kørsels cyklusser. Brøndens nummer vises øverst i hver kolonne, og cyklusnummeret vises til venstre for hver række.

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

Fanen Melt Curve (Smeltekurve)

Ansvarsfraskrivelse: Bio-Rad tildeler ingen rettigheder til brug af smeltekurveanalyse i forbindelse med højopløsningsmelteanalyser inden for in vitro-diagnosticering af mennesker og dyr. Derudover er køber ansvarlig for at indhente eventuelle immaterielle rettigheder, som måtte være påkrævet i forbindelse med de specifikke anvendelser.

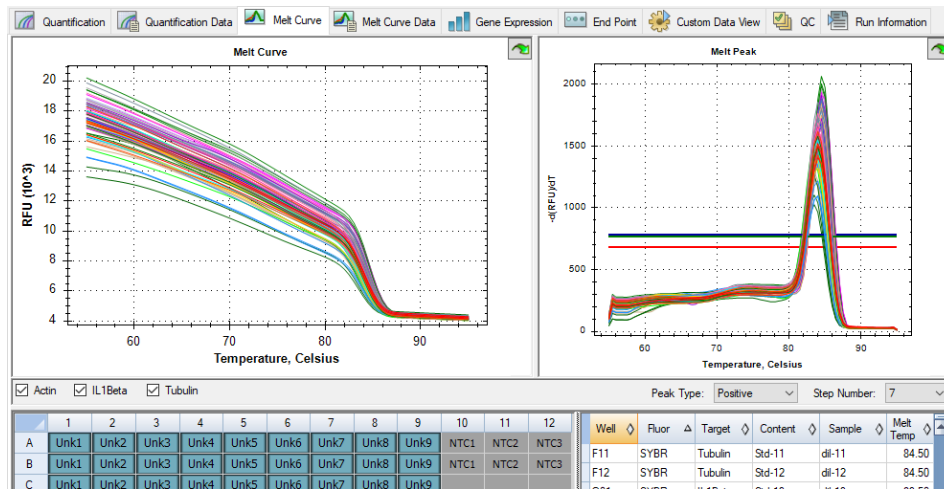
I forbindelse med DNA-bindende farvestoffer og ikke-spaltbare hybridiseringsprober er fluorescensen klarest, når de to DNA-strengene hybridiseres. Derfor vil fluorescensen, når temperaturen stiger mod smeltetemperatur (T_m), falde ved en konstant hastighed (konstant hældning). Ved T_m sker der en dramatisk reduktion i fluorescens med en mærkbar hældningsændring. Hastigheden af denne ændring fastlægges ved at plote negativ først-regression af fluorescens kontra temperatur ($-d(RFU)/dT$). Den største ændringshastighed i fluorescens medfører synlige kurvetoppe og repræsenterer T_m for de dobbeltstrengede DNA-komplekser.

CFX Manager Dx software indtegner de RFU-data, der indsamles under en smeltekurve, som en funktion af temperaturen. Med henblik på analyse af smeltekurvetopdata tildeler softwaren en start- og sluttemperatur til hver kurvetop ved at flytte tærskellinjen. Bunden af kurvetop-området er specificeret af smeltetærskellinjens placering. En valid kurvetop skal have en minimumhøjde i forhold til afstanden mellem tærskellinjen og højden på den højeste kurvetop.

Fanen Melt Curve (Smeltekurve) viser T_m (smeltetemperaturen) for amplificerede PCR-produkter i fire visninger:

- Melt Curve (Smeltekurve) – viser realtidsdata for hver fluorofor som RFU'er pr. temperatur for hver brønd.
- Melt Peak (Smeltekurvetop) – viser den negative regression for RFU-data pr. temperatur for hver brønd.
- Well selector (Brøndvælger) – viser brønde for at vise eller skjule dataene.
- Regneark med kurvetoppe – viser data indsamlet i den valgte brønd.

Bemærk: Dette regneark viser op til to kurvetoppe for hver kurvelinje. For at se flere kurvetoppe skal du klikke på fanen Melt Curve Data (Smeltekurvedata).



Tabel 24 på side 201 definerer de data, der vises i regnearket Melt Curve (Smeltekurve).

Tabel 24. Indhold af regnearket Melt Curve (Smeltekurve)

Oplysninger	Beskrivelse
Well (Brønd)	Brøndens position på pladen
Fluor	Detekteret fluorofor
Content (Indhold)	En kombination af prøvetype og replikatnummer
Sample (Prøve)	Navn på den prøve, der er indlæst i Plate Editor (Pladeeditor)
Melt Temp (Smeltetemperatur)	Temperaturen på smeltekurvetoppen for hver brønd
	Bemærk: Kun de to højeste kurvetoppe vises i regnearket.

Justering af smeltekurvedata

Sådan justeres smeltekurvedata

- ▶ Gør et af følgende:
 - Klik og træk i tærskelbjælken i diagrammet Melt Peak (Smeltekurvetop) for at medtage eller udelade kurvetoppe i dataanalysen.
 - Vælg Positive i rullemenuen Peaks (Kurvetoppe) for at vise regnearksdata for toppene over smeltetærskellinjen, eller vælg Negative for at vise regnearksdata for kurvetoppene under smeltetærskellinjen.
 - Åbn vinduet Trace Styles (Kurvelinjelayout) for at ændre farven på kurvelinjerne i diagrammerne Melt Curve (Smeltekurve) og Melt Peak (Smeltekurvetop).
 - Vælg et nummer i vælgeren Step Number (Trinnummer) for at vise data for Melt Curve (Smeltekurve) i et andet trin i protokollen. Listen viser mere end ét trin, hvis pladen indeholder pladeaflysninger i mere end ét smeltekurvetrin.
 - Vælg brønde i brøndvælgeren for at fokusere på undersæt af dataene.
 - Vælg en brøndgruppe for at vise og analysere et undersæt af brønde på pladen. Vælg hver enkelt brøndgruppe efter navn i rullemenuen Well Group (Brøndgruppe) på værktøjslinjen.

Fanen Melt Curve Data (Smeltekurvedata)

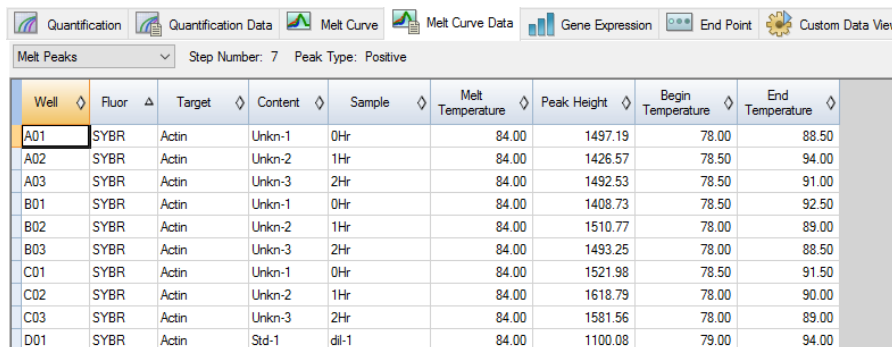
Fanen Melt Curve Data (Smeltekurvedata) viser data fra fanen Melt Curve (Smeltekurve) i flere regneark, der omfatter alle smeltekurvetoppene for hver kurvelinje. har fire valgmuligheder for regneark til visning af smeltekurvedata:

- Melt Peaks (Smeltekurvetoppe) – viser alle dataene, herunder alle smeltekurvetoppene, for hver kurvelinje. Dette er standardvisningen.
- Plate (Plade) – viser en visning af dataene og indholdet af hver brønd i pladen.
- RFU – viser RFU-mængderne ved hver temperatur for hver brønd.
- $-d(\text{RFU})/dT$ – viser den negative ændringshastighed for RFU, efterhånden som temperaturen (T) ændres. Dette er et første regressionsplot for hver brønd i pladen.

Vælg de enkelte regneark på rullelisten, der vises på fanen Melt Curve Data (Smeltekurvedata).

Regnearket Melt Peaks (Smeltekurvetoppe)

Regnearket Melt Peaks (Smeltekurvetoppe) viser alle smeltekurvedata.



Well	Fluor	Target	Content	Sample	Melt Temperature	Peak Height	Begin Temperature	End Temperature
A01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1497.19	78.00	88.50
A02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1426.57	78.50	94.00
A03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1492.53	78.50	91.00
B01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1408.73	78.50	92.50
B02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1510.77	78.00	89.00
B03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1493.25	78.00	88.50
C01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1521.98	78.50	91.50
C02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1618.79	78.00	90.00
C03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1581.56	78.00	89.00
D01	SYBR	Actin	Std-1	dil-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

Tabel 25 på side 204 definerer de data, der vises i regnearket Melt Peaks (Smeltekurvetoppe).

Tabel 25. Indhold i Regnearket Melt Peaks (Smeltekurvetoppe)

Oplysninger	Beskrivelse
Well (Brønd)	Brøndens position på pladen
Fluor	Detekteret fluorofor
Content (Indhold)	Prøvetype angivet i vinduet Plate Editor (Pladeeditor)
Target (Målsekvens)	Amplifikationsmålsekvens (target) (gen)
Sample (Prøve)	Prøvenavn angivet i vinduet Plate Editor (Pladeeditor)
Melt Temperature (Smeltetemperatur)	Smeltetemperaturen for hvert produkt angivet som én kurvetop (højeste) pr. række i regnearket
Peak Height (Kurvetophøjde)	Kurvetoppens højde
Begin Temperature (Begyndelsestemperatur)	Temperatur ved kurvetoppens begyndelse
End Temperature (Sluttemperatur)	Temperatur ved kurvetoppens slutning

Regnearket Plate (Plade)

Regnearket Plate (Plade) viser smeltekurvedata i et pladeformat.

Quantification Quantification Data Melt Curve Melt Curve Data Gene Expression End Point Custom Data View

Plate Step Number: 7 Peak Type: Positive

Output: Content Sample Peak 1 Peak 2

	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							

Bemærk: Den kurvetop, som softwaren bedømmer, kan justeres ved at justere tærskellinjen i diagrammet Melt Peak (Smeltekurvetop) på fanen Melt Curve (Smeltekurve).

[Tabel 26 på side 205](#) definerer de data, der vises i regnearket Plate (Plade).

Tabel 26. Indhold i regnearket Plate (Plade)

Oplysninger	Beskrivelse
Content (Indhold)	En kombination af Sample Type (Prøvetyp) og Replicate # (Replikatnummer) (valgfrit)
Sample (Prøve)	Beskrivelse af prøven
Peak 1 (Kurvetop 1)	Første smeltekurvetop (højeste)
Peak 2 (Kurvetop 2)	Anden (nederste) smeltekurvetop

Regnearket RFU

Regnearket RFU viser fluorescens for hver brønd i hver cyklus indsamlet under smeltekurven.

[Tabel 27](#) definerer de data, der vises i regnearket RFU.

Tabel 27. Indhold i regnearket RFU

Oplysninger	Beskrivelse
Brøndnummer (A1, A2, A3, A4, A5)	Brøndposition i pladen for de isatte brønde
Temperature (Temperatur)	Den amplificerede målsekvens' (target) smeltetemperatur, indtegnet som én brønd pr. række og flere brønde for flere produkter i samme brønd

Regnearket -d(RFU)/dT

Regnearket -d(RFU)/dT viser den negative ændringshastighed i RFU, efterhånden som temperaturen (T) ændres.

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

Tabel 28 definerer de data, der vises i regnearket -d(RFU)/dT.

Tabel 28. Indhold i regnearket -d(RFU)/dT i

Oplysninger	Beskrivelse
Brøndnummer (A1, A2, A3, A4, A5)	Brøndposition i pladen for de isatte brønde
Temperatur -d(RFU)/dT	Negativ ændringshastighed i RFU, efterhånden som temperaturen (T) ændres

Fanen End Point (Endepunkt)

Åbn fanen End Point (Endepunkt) for at analysere endelige relative fluorescenseenheder (RFU'er) for prøvebrønde. Softwaren sammenligner RFU-niveauer i brønde med ukendte prøver med RFU-niveauer i brønde med negative kontroller og bedømmer de ukendte som positive eller negative. Positive prøver har en RFU-værdi, der er større end den gennemsnitlige RFU-værdi i de negative kontroller plus cut-off-værdien.

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	

For at kunne analysere endepunktsdata skal pladen indeholde negative kontroller; ellers kan softwaren ikke foretage en bedømmelse. Kør en af disse to typer protokoller:

- Kør protokollen Quantification (Kvantifikation) – opsæt en standardprotokol. Når kørslen er færdig, skal du åbne vinduet Data Analysis (Dataanalyse), justere indstillingerne for dataanalyse på fanen Quantification (Kvantifikation) og derefter klikke på fanen End Point (Endepunkt) for at vælge en endepunktscyklus.
- Kør protokollen End Point Only (Kun endepunkt) – indlæs protokollen End Point Only (Kun endepunkt) på fanen Plate (Plade) i vinduet Run Setup (Kørselsopsætning), vælg og opret en plade, og start kørslen

Fanen End Point (Endepunkt) viser de gennemsnitlige RFU-værdier for at bestemme, om målsekvensen (target) blev amplificeret af den sidste (ende-) cyklus. Brug dataene til at bestemme, om der er en specifik målsekvens (target) tilstede (positiv) i en prøve. Positive målsekvenser (targets) har højere RFU-værdier end det cut off-niveau, der blev defineret.

Tip: For at oprette en endepunktsprotokol skal du åbne fanen Protocol (Protokol) (vinduet Run Setup (Kørselsopsætning)) og vælge Run > End Point Only Run (Kør > Kør kun endepunkt).

Når kørslen er færdig, åbnes datafilen på fanen End Point (Endepunkt), som har følgende sektioner:

- Settings (Indstillinger) – justerer indstillingerne for dataanalyse.
- Results (Resultater) – viser resultaterne straks efter indstillingerne er justeret.
- Well Selector (Brøndvælger) – vælger brøndene med de endepunktsdata, der skal vises.
- RFU-regneark – Viser ende-RFU indsamlet i de valgte brønde.

Resultatdata

Sektionen Results (Resultater) viser følgende data:

- Lowest RFU value (Laveste RFU-værdi) – laveste RFU-værdi i dataene
- Highest RFU value (Højeste RFU-værdi) – højeste RFU-værdi i dataene
- Negative Control Average (Gennemsnit for negative kontroller) – gennemsnitlig RFU for de brønde, som indeholder negative kontroller
- Cut Off Value (Cut-off-værdi) – beregnes ved at tilføje tolerancen (RFU eller procentdel af område angivet under Settings (Indstillinger)) og gennemsnit for de negative kontroller. Prøver med RFU'er, der er større end cut-off-værdien, kaldes "Positive"; rediger RFU eller Percentage of Range (Procentdel af område) for at justere cut-off-værdien

Cut Off Value (Cut-off-værdi) beregnes ved brug af følgende formel:

$$\text{Cut-off-værdi} = \text{gennemsnit for negative kontroller} + \text{tolerance}$$

Vælg en tolerance ved brug af en af disse metoder:

- RFUs (RFU'er) (standard) – vælg denne metode for at anvende en absolut RFU-værdi for tolerancen. Minimumværdien for RFU-tolerance er 2. Maksimum er den absolutte værdi af den højeste RFU-værdi minus den absolutte værdi af den laveste RFU-værdi. Standardværdien for RFU-tolerance er 10 % af det samlede RFU-område.
- Percent of Range (Procentdel af område) – vælg denne metode for at bruge en procentdel af RFU-området som tolerance. Minimumsprocentdelen af området er 1 %. Maksimumsprocentdelen af området er 99 %. Standardprocentdelen af området er 10 %.

Justering af endepunktsdataanalysen

Sådan justeres data på fanen End Point (Endepunkt)

- ▶ Gør et af følgende:
 - Vælg en fluorofor fra rullelisten.
 - Vælg en værdi for End Cycle to Average (Slutcyklus til gennemsnitsberegning) for at indstille antallet af cyklusser, der skal bruges til at beregne det gennemsnitlige endepunkts-RFU.
 - Vælg RFU'er for at vise data i relative fluorescenseenheder.
 - Vælg Percentage of Range (Procentdel af område) for at vise data som en procentdel af RFU-område.
 - Vælg brønde i brøndvælgeren for at fokusere på undersæt af dataene.
 - Vælg en brøndgruppe for at vise og analysere et undersæt af brønde på pladen. Vælg hver enkelt brøndgruppe efter navn i rullemenuen Well Group (Brøndgruppe) på værktøjslinjen.

RFU-regneark til analyse af endepunkter

Tabel 29 indeholder definitioner af de data, der vises i RFU-regnearket på fanen End Point (Endepunkt).

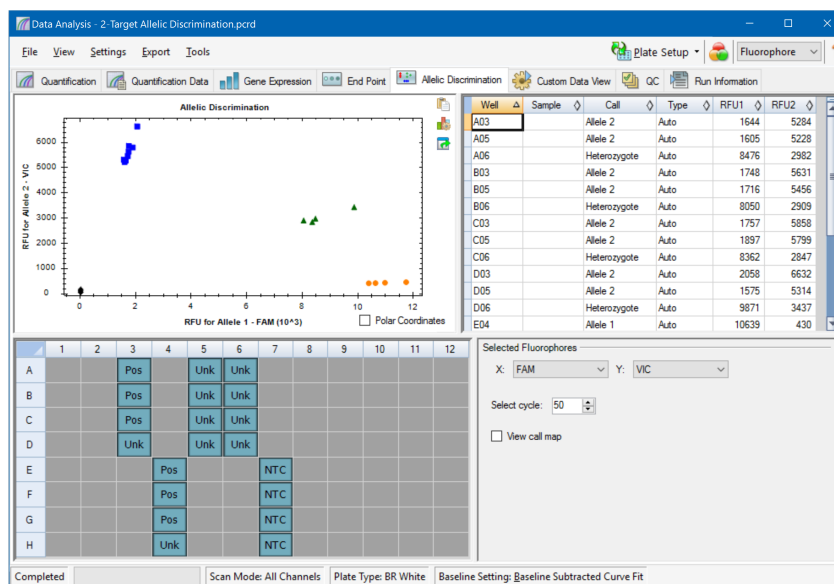
Tabel 29. Indhold af regneark for endepunkt

Oplysninger	Beskrivelse
Well (Brønd)	Brøndens position på pladen
Fluor	Detekteret fluorofor
Content (Indhold)	En kombination af prøvetype og replikatnummer
End RFU (Ende-RFU)	RFU ved endepunktscyklus
Call (Bedømmelse)	Positive (Positiv) eller Negative (Negativ), hvor positive prøver har en RFU-værdi, der er større end den gennemsnitlige RFU-værdi for de negative kontroller plus cut-off-værdien
Sample (Prøve)	Sample Name (Prøvenavn) isat i Plate Editor (Pladeeditor)

Fanen Allelic Discrimination (Alleldiskrimination)

Fanen Allelic Discrimination (Alleldiskrimination) tildeler genotyper til brønde med ukendte prøver. Disse data anvendes til at identificere prøver med forskellige genotyper, herunder Allele 1 (Allel 1), Allele 2 (Allel 2), Heterozygote (Heterozygot), No Call (Ingen bedømmelse) (ingen amplifikation) eller Undetermined (Ikke fastslået).

Bemærk: Dataene for alleldiskrimination skal komme fra multiplexkørsler med mindst to fluoroforer. Hver fluorofor identificerer én allel i hver af prøverne.



Alleldiskriminationsanalysen kræver som minimum følgende indhold i brøndene:

- To fluoroforer i hver brønd
- NTC-prøver (ingen skabelonkontrol) til optimeret dataanalyse

CFX Manager Dx software indeholder fire valgmuligheder for visning af alleldiskriminationsdata:

- Alleldiskriminationsdiagram – viser data på en graf med RFU for allel 1/allel 2. Hvert af punkterne på grafen repræsenterer data fra begge fluoroforer i én brønd. Du kan skifte mellem kartesiske og polære koordinater ved at markere eller fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet Polar Coordinates (Polære koordinater). Cartesian Coordinates (Kartesiske koordinater) repræsenterer RFU for allel 1 på x-aksen og RFU for allel 2 på y-aksen. Polære koordinater repræsenterer vinklen på x-aksen og afstanden mellem den oprindelige og RFU på y-aksen (median for alle NTC).
- Regneark med brønde – viser alleldiskriminationsdata indsamlet fra hver enkelt brønd på pladen.
- Brøndvælger – vælger brøndene med de alleldata, der skal vises.

- Panelet Selected Fluorophores (Valgte fluoroforer) – ændrer betegnelserne for x- og y-aksen i alleldiskriminationsdiagrammet, den cyklus der skal analyseres, og hvorvidt bedømmelseskortet skal vises.

Justering af data til alleldiskrimination

Softwareen tildeler automatisk en genotype til brønde med ukendte prøver baseret på NTC-positioner og de ukendte datapunkters vinkel og afstand fra NTC'erne.

Sådan justeres data til alleldiskrimination

- ▶ Gør et af følgende:
 - Markér afkrydsningsfeltet i diagrammet Allelic Discrimination (Alleldiskrimination) for at få vist polære koordinater.
 - For at se en anden fluorofor skal du vælge den på rullelisten i panelet Selected Fluorophores (Valgte fluoroforer).
 - For at redigere en bedømmelse skal du trække på tværs af datapunkterne i diagrammet Allelic Discrimination (Alleldiskrimination) og vælge en mulighed på listen Selected Wells (Valgte brønde):
 - Allele 1
 - Allele 2
 - Heterozygote (Heterozygot)
 - Undetermined (Ikke fastslået)
 - No Call (Ingen bedømmelse)
 - Auto Call (Automatisk bedømmelse)

Tip: Vælg Auto Call (Automatisk bedømmelse) for at vende tilbage til standardbedømmelsen.

Valgmuligheder i diagrammenuen

Udover de fælles genvejsmenuer (se [Fælles genvejsmenuer for diagrammer på side 179](#)), er der andre genvejsmenuer i diagrammet Allelic Discrimination (Alleldiskrimination). De vises i [Tabel 30](#).

Tabel 30. Valgmuligheder i genvejsmenuerne (højre- og venstreklik) i diagrammet Allelic Discrimination (Alleldiskrimination)

Menupunkt	Funktion
Zoom	Fokuserer diagramvisningen på det valgte område (ved at klikke og trække markøren i diagrammet). Tip: Højreklik og vælg Set Scale to Default (Indstil skala til standard) for at nulstille zoomniveauet, så alle datapunkter vises.
Well (Brønd)	Valgmulighederne for den valgte brønd er: display only this well (vis kun denne brønd), remove this well from view (fjern denne brønd fra visningen), set color for this trace (indstil farve for denne kurvelinje) eller exclude this well from analysis (udelad denne brønd fra analyse).
Selected Wells (Valgte brønde)	Valgmulighederne for de valgte brønde (valgt ved at klikke og trække markøren i diagrammet) er: display only these wells (vis kun disse brønde), remove these wells from view (fjern disse brønde fra visningen), set color for these traces (indstil farve for disse kurvelinjer) eller exclude these wells from analysis (udelad disse brønde fra analyse).

Regnearket Allelic Discrimination (Alleldiskrimination)

[Tabel 31](#) definerer de data, der vises i regnearket Allelic Discrimination (Alleldiskrimination).

Tabel 31. Indhold i regnearket Allelic Discrimination (Alleldiskrimination)

Oplysninger	Beskrivelse
Well (Brønd)	Brøndens position på pladen
Sample (Prøve)	Beskrivelse af prøvens navn

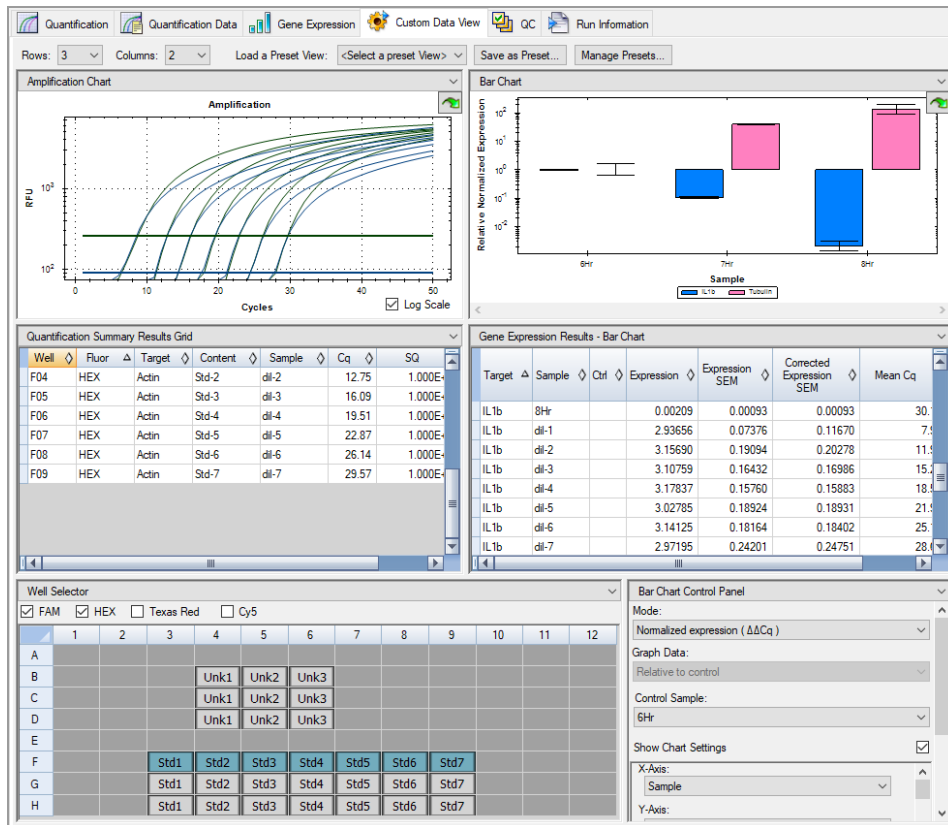
Tabel 31. Indhold i regnearket Allelic Discrimination (Alleldiskrimination), fortsat

Oplysninger	Beskrivelse
Call (Bedømmelse)	Identifikation af allelen, herunder automatisk Allele 1 (allel 1), Allele 2 (Allel 2), Heterozygote (Heterozygot), No Call (Ingen bedømmelse) eller Undetermined (Ikke fastslået)
Type	Auto (Automatisk) eller Manual (Manuel); beskriver, hvordan bedømmelsen blev foretaget. Automatisk betyder, at softwaren foretog bedømmelsen; Manuel betyder, at brugeren foretog bedømmelsen
RFU1	RFU for Allele1 (Allel 1)
RFU2	RFU for Allele2 (Allel 2)

Fanen Custom Data View (Tilpasset datavisning)

Fanen Custom Data View (Tilpasset datavisning) viser flere faner samtidigt i et format, der kan tilpasses.

Rullelisten Load a Preset View (Indlæs en forudindstillet visning) indeholder flere skabeloner for visningsformat. Den visning, der vises som standard, er afhængig af den fil, der analyseres. Hvis dataene for eksempel er for en Melt Curve (Smeltekurve), vises standardvisningen Amp+Melt.



Oprettelse af en tilpasset datavisning

Sådan oprettes en tilpasset datavisning

- ▶ Gør et af følgende:
 - Vælg en alternativ forudindstillet visning på rullelisten.
 - Vælg en anden diagramvisning på rullelisten, der findes øverst i hver individuel rude.
 - Ændr antallet af rækker og kolonner på fanen.
 - Ændr individuelle rudedimensioner. Træk stregerne i yderkanten i hver rude.

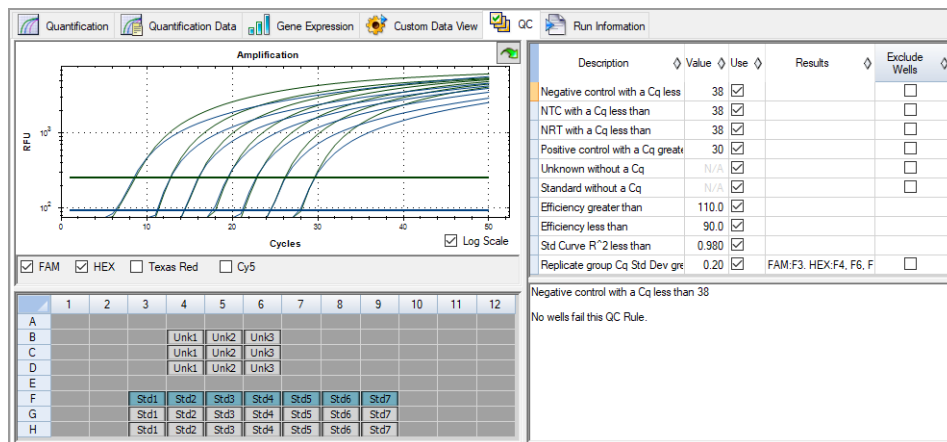
Klik på **Save as Preset** (Gem som forudindstilling) for at gemme tilpasningen som en forudindstillet skabelon. Klik på **Manage Presets** (Administrer forudindstillinger) for at slette, omdøbe eller gendanne eksisterende forudindstillede visninger.

Fanen QC (Kvalitetskontrol)

Brug fanen QC (Kvalitetskontrol) til hurtigt at vurdere kvaliteten af de kørte data baseret på de regler, som er defineret .

CFX Manager Dx software indeholder fire valgmuligheder for visning af kvalitetskontrolldata:

- **Diagrammet Amplification** (Amplifikation) – viser RFU for hver brønd ved hver cyklus. Hver kurvelinje på diagrammet repræsenterer data fra en enkelt fluorofor i én brønd.
- **Tabellen QC rules** (Regler for kvalitetskontrol) – viser de tilgængelige regler for kvalitetskontrol og de indstillinger, der definerer hver regel. Anvendte regler for kvalitetskontrol er indikeret med en markering.
- **Well selector** (Brøndvælger) – vælger brøndene med de fluorescensdata, der skal vises.
- **Oversigtsside for kvalitetskontrolregel** – viser den valgte regel for kvalitetskontrol og fremhæver brønde, der ikke opfylder reglen.



Ændring af kriterier for kvalitetskontrol

Sådan ændres kriterier for QC (Kvalitetskontrol)

- ▶ Markér eller fjern markeringen i afkrydsningsfeltet Use (Brug) for at medtage eller udelade reglen i kvalitetskontrollen.

Udeladelse af brønde, som ikke består QC (Kvalitetskontrol)

CFX Manager Dx software viser brønde, som ikke består kriterierne for QC (Kvalitetskontrol) i kolonnen Results (Resultater) i tabellen med QC-regler og i oversigtsruden.

Sådan udelades brønde, som ikke opfylder kriterierne for QC (Kvalitetskontrol)

- ▶ Vælg Exclude Wells (Udelad brønde) for hver af de brønde, der skal udelades.

Fanen Run Information (Kørselsoplysninger)

Fanen Run Information (Kørselsoplysninger) viser protokollen og andre oplysninger om hver kørsel. Denne fane kan bruges til følgende:

- Vise protokollen.
- Indtaste eller redigere bemærkninger om kørslen.
- Indtaste eller redigere id eller stregkode for kørslen.
- Vise hændelser, der måtte være opstået under kørslen. Brug disse meddelelser til at fejlfinde en kørsel.

Tip: Højreklik på protokollen for at kopiere, eksportere eller udskrive den. Højreklik på Notes (Bemærkninger), ID/Bar Code (Id/stregkode) eller Other panes (Andre ruder) for at klippe, kopiere, indsætte, slette eller vælge teksten.

The screenshot displays the 'Run Information' window for a protocol named 'CFX_2stepAmp50 1 min.prl'. The main area shows a graph of the protocol with four steps. Below the graph is a table of the protocol steps:

Step	Temp	Time	Action
1	95.0	3:00	C
2	95.0	0:10	C
3	55.0	1:00	C
4	+ Plate Read		
	GOTO	2	49 more times
	END		

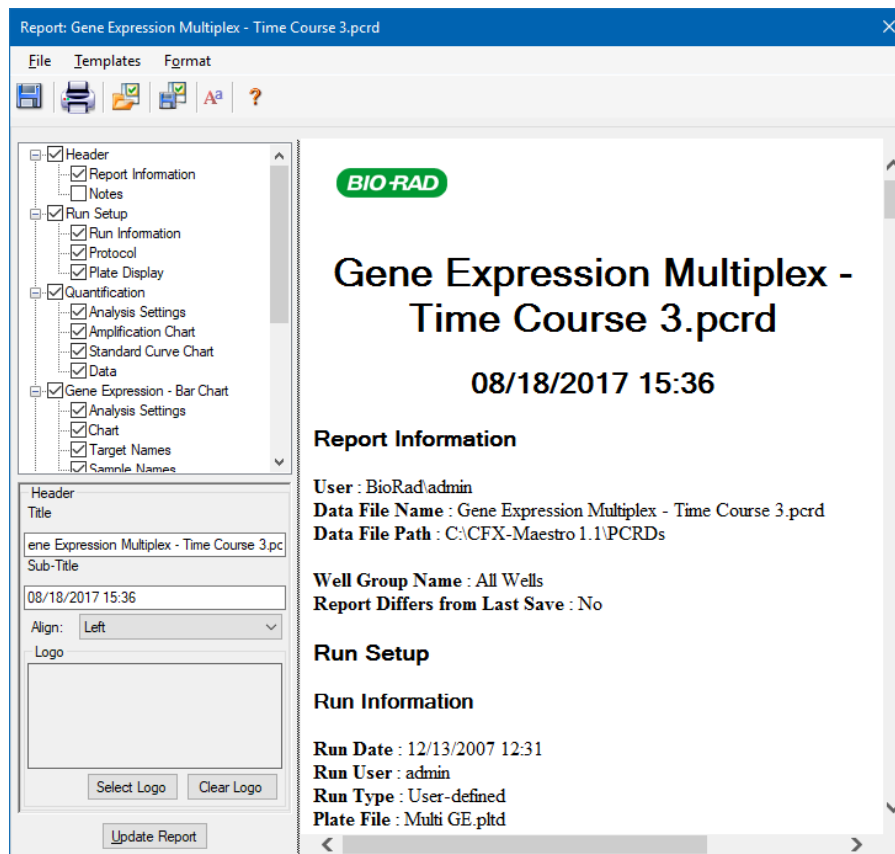
On the right side, there are three panes: 'Notes' containing text about gene expression, 'ID/Bar Code' with a text input field, and 'Other' with a list of run parameters such as 'Run Started: 12/13/2007 12:31:47 PM' and 'User: admin'.

Dataanalyserapporter

Rapportdialogboksen viser oplysninger om den aktuelle datafil i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). For at åbne en rapport skal du vælge Tools > Reports (Værktøjer > Rapporter).

Dialogboksen Report (Rapport) består af følgende sektioner:

- Menu og værktøjslinje – indeholder valgmuligheder til at formatere, gemme og udskrive rapporten eller skabelonen.
- Liste med valgmuligheder (øverst til venstre i dialogboksen) – indeholder valgmuligheder for, hvad der skal vises i rapporten.
- Rude med valgmuligheder (nederst til venstre i dialogboksen) – indeholder tekstfelter, i hvilke der kan angives oplysninger om en given valgmulighed.
- Rude med forhåndsvisning (til højre i dialogboksen) – viser en forhåndsvisning af den aktuelle rapport.



Kategorier for dataanalyserapporter

Tabel 32 indeholder alle de valgmuligheder, der er tilgængelige i forbindelse med en dataanalyserapport, afhængigt af datatypen i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).

Tabel 32. Kategorier for dataanalyserapporter på listen med valgmuligheder

Kategori	Valgmulighed	Beskrivelse
Header (Overskrift)		
		Rapportens titel, undertitel og logo
	Report Information (Rapportoplysninger)	Kørselsdato, brugernavn, datafilens navn, sti til datafilen og den valgte brøndgruppe
	Audit Information (Revisionsoplysninger)	Yderligere oplysninger, som er nødvendige i forbindelse med revision, herunder signaturer
	Notes (Bemærkninger)	Bemærkninger til datarapporten
Run Setup (Kørselsopsætning)		
	Run Information (Kørselsoplysninger)	Kørselsdato, brugernavn, datafilens navn, sti til datafilen og den valgte brøndgruppe
	Protocol (Protokol)	Tekstvisning af protokoltrin og valgmuligheder
	Plate Display (Pladevisning)	Pladevisning af oplysningerne i hver enkelt brønd i pladen
Quantification (Kvantifikation)		
	Analysis Settings (Analyseindstillinger)	Dataindsamlingens trinnummer, analysetilstand og baseline-subtraktionsmetode
	Amplification Chart (Amplifikationsdiagram)	Amplifikationsdiagram til kørsler, der omfatter kvantifikationsdata
	Standard Curve Chart (Standardkurvediagram)	Standardkurve-diagram

Tabel 32. Kategorier for dataanalyserapporter på listen med valgmuligheder, fortsat

Kategori	Valgmulighed	Beskrivelse
	Data	Regneark, der oplister dataene i hver brønd
Gene Expression (Genekspression) – søjlediagram		
	Analysis Settings (Analyseindstillinger)	Analysetilstand, diagramdata, valgmulighed for skalering og diagramfejl
	Chart (Diagram)	Kopi af søjlediagrammet
	Target Names (Navne på målsekvenser)	Diagram over navne på målsekvenser
	Sample Names (Prøvenavne)	Diagram over prøvenavne
	Data	Regneark, der oplister dataene i hver brønd
	Target Stability (Stabilitet af målsekvens)	Diagram over stabilitetsværdier for målsekvensen (target)
Gene Expression (Genekspression) – Clustergram (Klyngeoversigt) og Scatter Plot (Punktdiagram)		
	Analysis Settings (Analyseindstillinger)	Indstillinger for hver diagramtype
	Chart (Diagram)	Kopi af diagrammet
	Data	Regneark, der oplister data i hver målsekvens (target)
Melt Curve (Smeltekurve)		
	Analysis Settings (Analyseindstillinger)	Smeltetrinnummer og tærskellinjeindstilling
	Melt Curve Chart (Smeltekurvediagram)	Smeltekurvediagram

Tabel 32. Kategorier for dataanalyserapporter på listen med valgmuligheder, fortsat

Kategori	Valgmulighed	Beskrivelse
	Melt Peak Chart (Smeltekurvetopdiagram)	Smeltekurvetopdiagram
	Data	Regneark, der oplister dataene i hver brønd
Allelic Discrimination (Alleldiskrimination)		
	Analysis Settings (Analyseindstillinger)	Viser fluoroforer, cyklusser og bedømmelseskort
	Diagrammet Allelic Discrimination (Alleldiskrimination)	Kopi af diagrammet over alleldiskrimination
	Data	Regneark, der oplister dataene i hver brønd
End Point (Endepunkt)		
	Analysis Settings (Analyseindstillinger)	Fluorofor, endecyklusser til gennemsnit, tilstand, laveste RFU-værdi, højeste RFU-værdi og cut-off-værdi
	Data	Regneark, der oplister dataene i hver brønd
QC Parameters (Parametre for kvalitetskontrol)		
	Data	Regneark, der oplister parametrene for hver enkelt QC-regel

Oprettelse af en dataanalyserapport

Du kan gemme rapportens layout som en skabelon, der kan bruges igen til lignende rapporter.

Sådan oprettes en dataanalyserapport

1. Udfør de endelige justeringer af brøndindholdet, valgte brønde, diagrammer og regneark i vinduet Data Analysis (Dataanalyse), inden rapporten oprettes.
2. Vælg Tools > Reports (Værktøjer > Rapporter) i menuen Data Analysis (Dataanalyse) for at åbne dialogboksen Report (Rapport).
3. Vælg, hvad der skal medtages i rapporten. Rapporten åbnes med standardvalgmulighederne valgt. Markér eller fjern markering i afkrydsningsfelterne for at ændre hele kategorier eller individuelle valgmuligheder i en kategori.

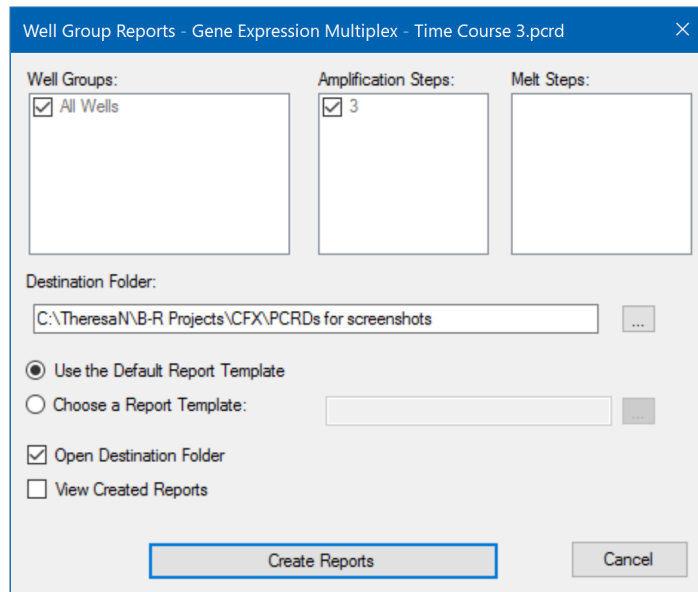
Bemærk: De data, der vises i rapporten, afhænger af de aktuelle valg på fanerne i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). For eksempel indeholder en kvantifikationskørsel muligvis ikke en standardkurve, og disse data vises derfor ikke i vinduet Data Analysis (Dataanalyse) eller i datarapporten.

4. Ændring af rækkefølgen af kategorier og elementer i en rapport. Træk valgmulighederne til den relative position. Elementers rækkefølge kan kun ændres i den kategori, de tilhører.
5. (Valgfrit) I ruden Report Options (Valgmuligheder for rapport) indtastes information, der er relevant for den valgte valgmulighed:
 - Vælg et undersæt af oplysninger, der skal vises i rapporten.
 - Vælg specifikke indstillinger for den valgte valgmulighed.
 - Ændr teksten, der skal vises for den valgte valgmulighed.
6. Klik på Update Report (Opdater rapport) for at opdatere Report Preview (Vis rapport) med eventuelle ændringer.
7. Udskriv eller gem rapporten. Klik på knappen Print Report (Udskriv rapport) i værktøjslinjen for at udskrive den aktuelle rapport. Vælg File > Save (Fil > Gem) for at gemme rapporten i et af formaterne PDF (Adobe Acrobat Reader)-fil og vælg en placering, hvor filen skal gemmes. Vælg File > Save As (Fil > Gem som) for at gemme rapporten med et nyt navn eller på en ny placering.
8. (Valgfrit) Opret en skabelonrapport med den information, du ønsker. For at gemme de aktuelle rapportindstillinger i en skabelon skal du vælge Template > Save (Skabelon > Gem) eller Save As (Gem som). Indlæs rapportskabelonen, næste gang der skal oprettes en ny rapport.

Oprettelse af Well Group Reports (Brøndgrupperapporter)

Sådan oprettes en brøndgrupperapport

1. Vælg Tools > Well Group Reports (Værktøjer > Brøndgrupperapporter) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse).



2. Vælg de brøndgrupper, amplifikationstrin og smeltetrin, som skal medtages i rapporten, i dialogboksen Well Groups Reports (Brøndgrupperapporter).
3. Indtast stien eller naviger til destinationsmappen, hvor rapporten skal gemmes.
4. (Valgfrit) Vælg Choose a Report Template (Vælg en rapportskabelon) og naviger til skabelonfilmappen.
5. (Valgfrit) Vælg Open Destination Folder (Åbn destinationsmappe) for at åbne mappen og se rapporterne, når de er blevet genereret.
6. Klik på Create Reports (Opret rapporter).

Kapitel 11 Genekspressionsanalyse

Ved at bruge strengt kvalificerede kontroller i reaktionerne kan du anvende CFX Manager™ Dx softwaren til at udføre en genekspressionskørsel med henblik på at normalisere de relative differencer i en målkonzentration blandt prøver. Typisk anvendes ekspressionsniveauer for ét eller flere referencegener til normalisering af ekspressionsniveauerne for et interessegen. Referencegener tager højde for isætningsforskelle (loading-forskelle) eller andre variationer i hver enkelt prøve, og deres ekspressionsniveauer bør ikke ændres i det biologiske system, der undersøges.

Vælg fanen Gene Expression (Genekspression) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse) for at evaluere de relative differencer mellem PCR-reaktioner i to eller flere brønde. Du kan for eksempel evaluere det relative antal virale genomer eller det relative antal transfekterede sekvenser i en PCR-reaktion. Den mest almindelige anvendelse af et genekspressionsstudie er til at sammenligne cDNA-konzentrationen i mere end én reaktion for at estimere niveauerne af steady state-mRNA.

Softwaren beregner det relative ekspressionsniveau for en målsekvens (target) med et af følgende scenarier:

- Relativt ekspressionsniveau for en målsekvens (target 1) i forhold til en anden målsekvens (target 2). Det kan for eksempel være mængden af ét gen i forhold til et andet gen i samme prøvebehandling.
- Relativt ekspressionsniveau for én målsekvens (target) i én prøve sammenlignet med den samme målsekvens (target) under en anden prøvebehandling. Det kan for eksempel være den relative mængde af ét gen i forhold til genet selv under andre temporale, geografiske eller udviklingsmæssige betingelser.

Opsætning af plader til genekspressionsanalyse

For at kunne udføre genekspressionsanalyse skal brøndenes indhold omfatte følgende:

- To eller flere målsekvenser (targets) – de to målsekvenser (targets), som repræsenterer forskellige amplificerede gener eller sekvenser i prøverne.
- En eller flere referencemålsekvenser (targets) – mindst én målsekvens (target) skal være en referencemålsekvens (target) for normaliseret ekspression. Tildel alle referencemålsekvenser (targets) i vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) for at analysere data i tilstanden Normalized Expression (Normaliseret ekspression) ($\Delta\Delta C_q$). Kørsler, som ikke indeholder en reference, skal analyseres ved hjælp af tilstanden Relative Expression (Relativ ekspression) (ΔC_q).
- Almindelige prøver – reaktionerne skal omfatte almindelige prøver (der kræves mindst to) for at vise dataene plottet på fanen Gene Expression (Genekspression). Disse prøver skal repræsentere forskellige behandlinger eller tilstande for hver af målsekvenserne (targets). Tildel en kontrolprøve (valgfrit) i vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger). Hvis der ikke vælges en kontrol, anvender softwaren den laveste C_q som kontrol.

Kravene i forbindelse med opsætning af Gene Expression (Genekspression) i Plate Editor (Pladeeditor) afhænger af, hvorvidt reaktionsindholdet er singleplex PCR, med én fluorofor i reaktionerne, eller multiplex PCR, med mere end én fluorofor i reaktionerne.

Vejledt pladeopsætning

Hvis pladeopsætningen af en datafil ikke indeholder informationen, der er nødvendig til analysen, og hvis fanen Gene Expression (Genekspression) er valgt, er det område, der normalt bruges til at vise søjlediagrammet, i stedet for udfyldt med vejledninger i, hvordan denne information udfyldes. For normaliseret genekspression udfyldes følgende trin:

1. Definer navne for Target (Målsekvens) og Sample (Prøve) ved brug af en af følgende:
 - Plate Setup (Pladeopsætning) – åbner vinduet Plate Editor (Pladeeditor).
 - Replace Plate File (Udskift pladefil) – åbner browseren Select Plate (Vælg plade), hvor du kan navigere til en tidligere gemt pladefil, som det aktuelle pladelayout skal erstattes med.
 - Replace PrimePCR File (Erstat PrimePCR-filen) – åbner dialogboksen Select PrimePCR file (Vælg PrimePCR-fil), hvor du kan navigere til en PrimePCR™ kørselsfil, der kan anvendes på pladelayoutet.
2. Vælg en eller flere referencemålsekvenser (targets) og en kontrolprøve i dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger).





Hvis pladelayoutet allerede indeholder information om målsekvens (target) og prøve, er det kun nødvendigt at udføre det andet trin, der vil være fremhævet med orange. Dette trin skal udføres inden der kan udføres normaliseret genekspressionsanalyse.

Bemærk: Data for klyngeoversigt og punktdiagram vises kun hvis alle kravene til normaliseret genekspressionen, der anført under Plate Setup (Pladeopsætning) for Gene Expression Analysis (Genekspressionsanalyse), er opfyldt.

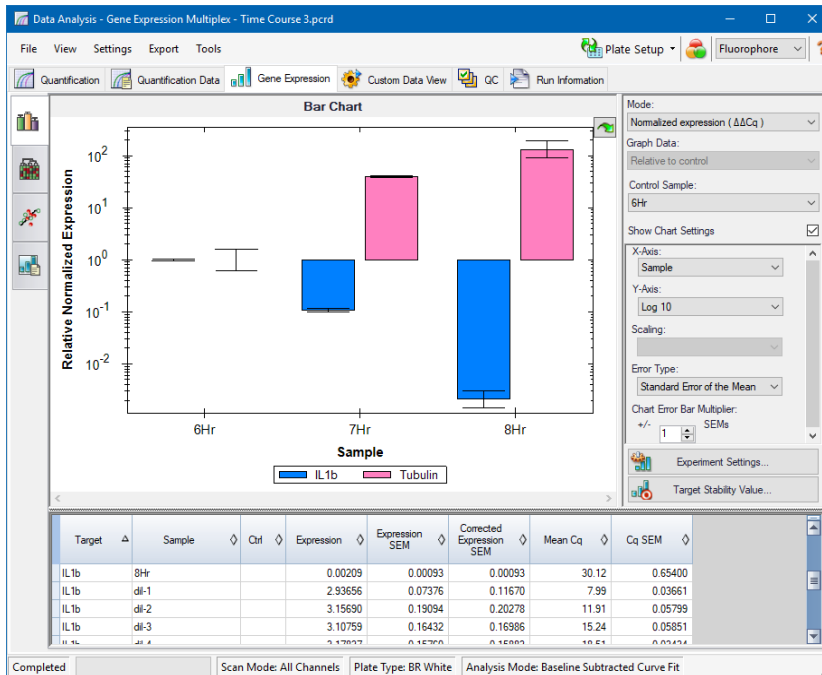
Diagrammer for genekspression

CFX Manager Dx softwaren viser genekspressionsdata i flere forskellige visninger. [Tabel 33](#) indeholder en liste over de diagramvisninger, der kan vælges i softwaren.

Tabel 33. Valgmuligheder for genekspressionsdiagrammer

Knap	Navn	Funktion
	Bar Chart (Søjlediagram)	Viser normaliserede genekspressionsdata i søjlediagramformat.
	Clustergram (Klyngeoversigt)	Viser de normaliserede genekspressionsdata i et hierarki baseret på graden af lighed for ekspressionen af forskellige målskvenser (targets) og prøver.
	Scatter Plot (Punktdiagram)	Viser den normaliserede ekspression af målskvenser (targets) for en kontrol kontra en eksperimentel prøve.
	Results (Resultater)	Indeholder en oversigt over data fra alle diagrammer.

Søjlediagram



Den relative ekspresion af målskvenser (targets) præsenteres i disse to visninger:

- Diagrammet Gene Expression (Genekspression) – viser real-time PCR-data som et af følgende:
 - $\Delta\Delta C_q$ – relativ normaliseret ekspresion beregnet ved brug af kontrolprøver og referencemålskvenser (targets).
 - ΔC_q – relativ mængde af målskvensgenet (targetgenet) i en prøve relativ til en kontrolprøve.
- Regneark – viser et regneark med genekspressionsdata.

Tip: Højreklik på et diagram eller regneark for at se valgmulighederne. Vælg View/Edit Plate (Vis/rediger plade) i rullemenuen Plate Setup (Pladeopsætning) for at åbne Plate Editor (Pladeeditor) og ændre brøndindholdet i pladen.

Tip: Vælg Sort (Sortér) i genvejsmenuen for at ændre rækkefølgen af navnene på målskvenser (targets) og prøver i diagrammet.

Normaliseret genekspression

For at normalisere data skal du bruge det målte ekspressionsniveau for et eller flere referencegener som normaliseringsfaktor. Referencegener er målskvenser (targets), som ikke er reguleret i det biologiske system i studiet, f.eks. *actin*, *GAPDH* eller *tubulin*.

Sådan opsættes normaliseret genekspressionsanalyse ($\Delta\Delta C_q$)

1. Åbn en datafil (med filtypenavn .pcrd).
2. Gennemgå dataene under Quantification (Kvantifikation) i vinduet Data Analysis (Dataanalyse). Juster dataene, f.eks. ved at ændre tærsklen og analysetilstanden.
3. Vælg fanen Gene Expression (Genekspression).
4. Klik på Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) på fanen Gene Expression (Genekspression).
5. Gør følgende i dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger):
 - a. Vælg fanen Samples (Prøver), og vælg en kontrol. Når en kontrol er tildelt, normaliserer CFX Manager Dx software de relative mængder for alle gener efter kontrolmængden, som er indstillet til 1.
 - b. Vælg fanen Target (Målsekvens), og vælg referencegener. Genekspressionsanalyse kræver én reference blandt målsekvenserne (targets) i prøverne.
6. Vælg Normalized Expression (Normaliseret ekspression) ($\Delta\Delta C_q$), hvis det ikke allerede er valgt, og se derefter ekspressionsniveauerne på fanen Gene Expression (Genekspression).

Relativ mængde

Pr. definition er data for relativ mængde (ΔC_q) ikke normaliserede. Denne metode anvendes til kvantifikation af prøver, som ikke indeholder referencegener (målsekvenser (targets)). Normalt vil forskere tage udgangspunkt i følgende ved opsætning af kørsler:

- Hver prøve indeholder den samme mængde RNA eller cDNA i hver brønd.
- Enhver varians i mængden af indlæst biologisk prøve vil blive normaliseret efter kørslen ved hjælp af en metode i dataanalysen, som foregår uden for softwaren. En forsker kan f.eks. vælge at dividere værdien for relativ mængde med normaliseringsfaktoren, muligvis massen af nukleinsyre tilført for hver prøve, eller antallet af celler hvorfra nukleinsyren er isoleret.

Sådan køres en analyse af relativ mængde (ΔC_q)

- ▶ Vælg Relative Quantity (Relativ mængde) (ΔC_q) på rullelisten Mode (Tilstand) i højre rude på fanen Gene Expression (Genekspression).

Tip: For at sammenligne resultaterne fra andre genekspressionskørsler skal du åbne et nyt genstudie eller tilføje en datafil til et eksisterende genstudie.

Sortering af data for målsekvens (target) og prøve

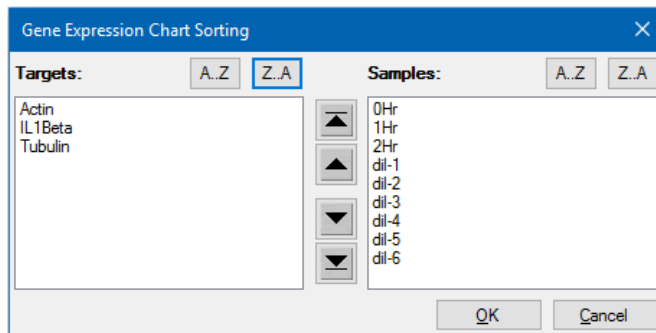
Bemærk: Denne valgmulighed er kun tilgængelig på diagrammer for genekspression.

Som standard vises listerne Targets (Målsekvenser) og Samples (Prøver) i alfabetisk rækkefølge. Brug dialogboksen Sort (Sortér) til at sortere visningen i omvendt alfabetisk rækkefølge eller til manuelt at flytte en term til en anden placering på listen.

Sådan sorteres data vedrørende målsekvens (target) og prøve

1. Klik på Sort (Sortér) i diagrammets genvejsmenu.

Dialogboksen Gene Expression Chart Sorting (Sortering af diagrammet Genekspression) åbnes.



2. Klik på Z-A i dialogboksen for at sortere listen i omvendt alfabetisk rækkefølge.
3. For at flytte en term manuelt skal du vælge den og klikke på den relevante knap mellem diagrammerne:
 - Klik på pil op eller pil ned for at flytte den valgte term én position.
 - Klik på pil op med slutstreg eller pil ned med slutstreg for at flytte den valgte term til toppen eller bunden af listen.
4. Klik på OK for at gemme ændringerne og gå tilbage til fanen Gene Expression (Genekspression).

Tilpasning af genekspressionsdata

Efter at have valgt analysetilstand – normaliseret ekspression ($\Delta\Delta Cq$) eller relativ mængde (ΔCq) – skal du tilpasse de data, der vises på fanen Gene Expression (Genekspression), ved at ændre valgmulighederne til højre for diagrammet.

Tip: Standardindstillingerne for genekspressionsdata i dialogboksen User Preferences (Brugerpræferencer) (se [Indstilling af standardparametre for genekspressionsdatafiler på side 70](#)).

Grafdata

Indstil værdien på y-aksen til skalaen Linear (Lineær) for at aktivere valgmulighederne for grafdata. Valgmulighederne for grafdata gør det muligt at præsentere data i grafen med en af disse valgmuligheder:

- Relative to control (I forhold til kontrol) – grafisk afbildning af data med akserne skaleret fra 0 til 1. Aktivér denne valgmulighed, hvis du tildeler en kontrol i kørslen, for hurtigt at kunne visualisere op- og nedregulering af målsekvensen (target).
- Relative to zero (I forhold til nul) – grafisk afbildning af data med startpunkt ved nul.

Kontrolprøve

Brug rullemenuen Control Sample (Kontrolprøve) til at vælge en prøve, der skal bruges til at normalisere Relative Quantity (Relativ mængde):

Diagramindstillinger

De følgende valgmuligheder (beskrevet nedenfor) vises, når feltet Show Chart Settings (Vis diagramindstillinger) er markeret: X-Axis (X-akse), Y-Axis (Y-akse), Scaling (Skalering), Error Type (Fejltype) og Chart Error Multiplier (Multiplikator for diagramfejl).

Valgmuligheder for x-aksen

Valgmuligheden X-axis (X-akse) giver mulighed for at vælge x-aksedata i diagrammet Gene Expression (Genekspression):

- Target (Målsekvens) – indtegner navnene på målsekvenserne (targets) på x-aksen.
- Sample (Prøve) – indtegner prøvenavnene på x-aksen.

Valgmuligheder for y-aksen

Valgmuligheden Y-axis (Y-akse) giver mulighed for at få vist diagrammet Gene Expression (Genekspression) i en af disse tre skaleringer:

- Linear (Lineær) – vælg denne valgmulighed for at få vist en lineær graf.
Tip: Hvis y-aksen indstilles til Linear (Lineær), aktiveres rullelisten Graph Data (Grafdata), hvor du kan vælge indtegnning af data i forhold til kontrol eller i forhold til nul.
- Log 2 – vælg denne valgmulighed for at evaluere prøver på tværs af et stort dynamisk område.
- Log 10 – vælg denne valgmulighed for at evaluere prøver på tværs af et meget stort dynamisk område.

Valgmuligheder for skalering

Vælg Normalized Gene Expression (Normaliseret genekspression) ($\Delta\Delta C_q$), og indstil Control Sample (Kontrolprøve) til None (Ingen) for at aktivere valgmulighederne for skalering i diagrammet Gene Expression (Genekspression). Vælg en af disse valgmuligheder for skalering for at beregne og præsentere data på den måde, som passer bedst til dit kørselsdesign:

- Unscaled (Ikke-skaleret) – viser ikke-skaleret normaliseret genekspression.
- Highest (Højest) – skalerer den normaliserede genekspression for hver målsekvens (target) ved at dividere ekspressionsniveauet for hver prøve med det højeste ekspressionsniveau i alle prøverne.

Denne valgmulighed for skalering anvender formlen for skaleret-til-højest.

- Lowest (Lavest) – skalerer den normaliserede genekspression for hver målsekvens (target) ved at dividere ekspressionsniveauet for hver prøve med det laveste ekspressionsniveau i alle prøverne.

Denne valgmulighed for skalering anvender formlen for skaleret-til-lavest.

- Average (Gennemsnit) – skalerer den normaliserede genekspression for hver målsekvens (target) ved at dividere ekspressionsniveauet for hver prøve med den geometriske middelværdi for ekspressionsniveauerne for alle prøverne.

Denne valgmulighed for skalering anvender formlen for skaleret-til-gennemsnit.

Error Type (Fejltype)

Vælg en mulighed for typen af fejlberegninger (fejllinjer) i diagrammet Gene Expression (Genekspression):

- Standard error of the mean (Middelfejlen på middelværdien) (standard)
- Standard deviation (Standardafvigelse)

Multiplikator for fejllinjer i diagrammet

Vælg en multiplikator for fejllinjerne i diagrammet Gene Expression (Genekspression). Vælg et af disse heltal:

+/- 1 (standard), 2 eller 3. Typen af multiplikator ændres, når du vælger fejltypen:

- SEMs for middelfejlen på middelværdien
- Std Devs for standardafvigelser

Eksperimentindstillinger

Tip: Denne dialogboks er også tilgængelig i Plate Editor (Pladeeditor). Se [Ændring af eksperimentindstillinger på side 131](#) for yderligere oplysninger.

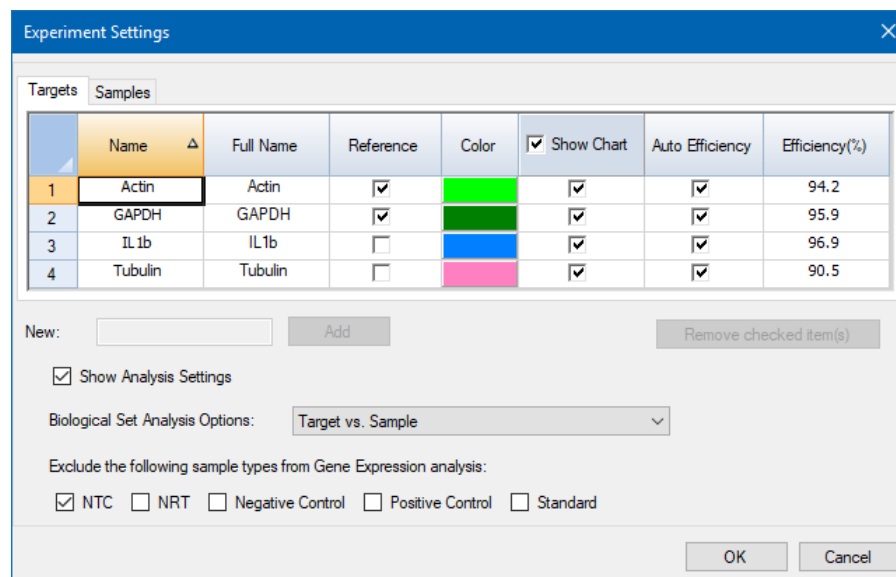
I dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) kan du se eller ændre listen over målsekvenser (targets) eller prøver, vælge referencegener, vælge kontroller eller indstille den

genekspressionsanalysegruppe, der skal analyseres, hvis der er tilføjet navne på biologiske sæt til brøndene.

Sådan åbnes dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger)

- Klik på Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) på fanen Bar Chart (Søjlediagram) nederst i højre rude.

Dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) åbnes og viser fanen Targets (Målskevner).



Sådan justeres indstillinger for Targets (Målskevner)

- På fanen Targets (Målskevner) skal du gøre et af følgende:
 - For at vælge en målskevner (target) som reference for analyse af genekspressionsdata skal du vælge dets navn i kolonnen Reference.
 - For at ændre farven på målskevneren (target) skal du klikke på dets celle i kolonnen Color (Farve) og ændre farven i dialogboksen Color (Farve), der vises.
Farveændringen vises i diagrammerne for Gene Expression (Genekspression).
 - For at bruge en tidligere fastlagt effektivitetsværdi skal du fjerne markeringen i afkrydsningsfeltet for målskevneren (target) i kolonnen Auto Efficiency (Automatisk effektivitet) og indtaste et tal for målskevnerens (target) effektivitetsprocent.

Softwaren beregner den relative effektivitet for en målsekvens (target) ved hjælp af Auto Efficiency (Automatisk effektivitet), hvis dataene for målsekvensen omfatter en standardkurve.

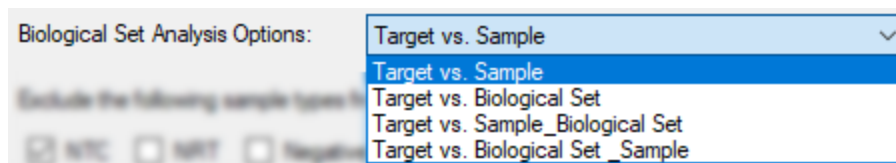
Sådan justeres indstillingerne for Sample (Prøve)

- ▶ På fanen Samples (Prøver) skal du gøre et af følgende:
 - For at vælge en prøve som kontrol for analyse af genekspressionsdata skal du vælge dens navn i kolonnen Control (Kontrol).
 - For at ændre farven på prøven skal du klikke på den relevante celle i kolonnen Color (Farve) og ændre farven i dialogboksen Color (Farve), der vises.
Farveændringen vises i diagrammerne for Gene Expression (Genekspression).
 - For at vise prøven i diagrammerne for Gene Expression (Genekspression) skal du vælge dette i kolonnen Show Chart (Vis diagram).
 - For at fjerne prøven fra diagrammerne for Gene Expression (Genekspression) skal du fjerne markeringen i kolonnen Show Chart (Vis diagram).

Tip: Prøvens data forbliver i tabellen Results (Resultater).

Sådan ændres valget af Biological Set Analysis (Valgmuligheder for analyse af biologisk sæt)

- ▶ Hvis du har tildelt ét eller flere biologiske sæt til brøndene på pladen (se [Tildeling af biologiske sæt til brønde på side 124](#)), vises listen Biological Set Analysis Options (Indstillinger for analyse af biologisk sæt) i dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) og giver dig mulighed for at ændre indstillingerne efter behov.



- **Target vs. Sample** (Målsekvens kontra prøve) – kun brøndens prøvenavn bruges i beregningerne af genekspression.
- **Target vs. Biological Set** (Målsekvens kontra biologisk sæt) – kun navnet på det biologiske sæt bruges i beregningerne.
- **Target vs. Sample_Biological Set** (Målsekvens kontra prøve_biological sæt) – prøvenavnet og navnet på det biologiske sæt kombineres for at oprette et enkelt navn, der bruges i beregningerne.

- **Target vs. Biological Set_Sample** (Måsekvens kontra biologisk sæt_prøve) – navnet på det biologiske sæt og prøvenavnet kombineres for at oprette et enkelt navn, der bruges i beregningerne.

Sådan udelades en prøvetype fra analyseberegninger

- ▶ Markér det relevante afkrydsningsfelt nederst i dialogboksen Experiment Settings (Eksperimentindstillinger).

Bemærk: Dette udelader kontroller og/eller standarder fra genekspressionsanalyse.

Stabilitetsværdi for måsekvens (target)

Der beregnes stabilitetsværdier for måsekvenser (targets), hvis der anvendes mere end ét referencegen. CFX Manager Dx softwaren beregner to kvalitetsparametre for referencegenerne:

- **Coefficient Variance (CV)** (Variationskoefficient (CV)) for normaliserede relative mængder for referencegenet. En lavere CV-værdi angiver højere stabilitet.
- **M Value (M)** (M-værdi (M)), som er en måling af stabiliteten af referencegenets ekspresion.

Anbefalede CV- og M-værdier vises nederst i dialogboksen Stability Value (Stabilitetsværdi).

Sådan vises stabilitetsværdien for måsekvensen (target)

- ▶ Klik på Target Stability Value (Stabilitetsværdi for måsekvens (target)) nederst i højre rude på fanen Gene Expression Bar Chart (Søjlediagram for genekspression).

Dialogboksen Stability Value (Stabilitetsværdi) vises.

Genvejsmenupunkter

Højreklik på genekspressionsdiagrammet for at vælge de elementer, der er vist i [Tabel 34](#).

Tabel 34. Genvejsmenupunkter for genekspression

Element	Funktion
Copy (Kopier)	Kopierer diagrammet til udklipsholderen.
Save Image As (Gem billede som)	Gemmer diagrammet som en billedfil. Indstil billedets opløsning og dimensioner, og vælg derefter filtypen (PNG, GIF, JPG, TIF eller BMP).
Page Setup (Sideopsætning)	Vælger en sideopsætning til udskrift.

Tabel 34. Genvejsmenupunkter for genekspression, fortsat

Element	Funktion
Print (Udskriv)	Udskriver diagrammet.
Set Scale to Default (Indstil skala til standard)	Show All (Vis alle) viser samtlige data i søjlediagrammet. Scroll Bar (Rullepanel) viser et rullepanel, hvis der er for mange prøver til, at de kan vises i rammen med grafen, men opretholder en minimumsbredde for søjlerne.
Chart Options (Valgmuligheder for diagrammer)	Åbner vinduet Chart Options (Valgmuligheder for diagrammer) til justering af grafen.
Sort (Sortér)	Sorterer rækkefølgen af prøver og målsekvenser (targets), som vises på diagrammets x-akse.
Use Corrected Std Devs (Anvend korrigerede standardafvigelser)	Beregner fejllinjerne ved hjælp af formelen for korrigeret standardafvigelse.
Use Solid Bar Colors (Brug dækkende farver)	Viser søjlerne i diagrammet med dækkende farver.
X-Axis Labels (X-aksens betegnelser)	Viser x-aksens betegnelser vandret eller skråt.

Dataregneark

Tabel 35 definerer de data, der vises i tabellen Gene Expression Data (Genekspressionsdata).

Bemærk: Værdierne i tabellen beregnes ud fra graftype og præferencer, som er valgt i højre rude.

Tabel 35. Beskrivelse af oplysninger i regnearket på fanen Bar Chart (Søjlediagram)

Oplysninger	Beskrivelse
Target (Målsekvens)	Navn på målsekvens (target) (amplificeret gen), som er valgt i vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger).
Sample (Prøve)	Navn på prøven, som er valgt i vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger).
Ctrl (Kontrol)	Navn på kontrollen, som er valgt i vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger).

Tabel 35. Beskrivelse af oplysninger i regnearket på fanen Bar Chart (Søjlediagram), fortsat

Oplysninger	Beskrivelse
Relative Quantity (Relativ mængde) eller Expression (Ekspression)	Relativ mængde (ΔC_q) eller normaliseret genekspression ($\Delta\Delta C_q$), afhængigt af den valgte tilstand.
Relative Quantity (Relativ mængde) eller Expression SEM (Ekspression SEM) (eller SD)	Middelfejlen på middeltallet (SEM) eller standardafvigelse (SD) for den relative mængde eller normaliseret ekspression, afhængigt af den valgte valgmulighed.
Corrected Relative Quantity (Korrigeret relativ mængde) eller Expression SEM (Ekspression SEM) (eller SD)	Korrigeret værdiberegning for SEM eller SD af relativ mængde eller normaliseret ekspression, afhængigt af den valgte valgmulighed.
Mean C_q (Middelværdi for C_q)	Middelværdien for kvantifikationscyklussen.
C_q SEM (eller SD)	SEM eller SD af kvantifikationscyklussen afhængigt af den valgte valgmulighed.

Valgmuligheden Show Details (Vis detaljerede oplysninger)

Tabel 36 definerer, hvilke data der vises, når du vælger Show Details (Vis detaljerede oplysninger) fra genvæjsmenuen i søjlediagrammets regneark.

Tabel 36. Information i søjlediagrammets regneark, hvor der er valgt Show Details (Vis detaljerede oplysninger)

Oplysninger	Beskrivelse
Data Set (Datasæt)	Fluorescensdata fra en enkelt fluorofor i datafilen
Relative Quantity (Relativ mængde)	Beregnet relativ mængde af prøver
Relative Quantity SD (SD for relativ mængde)	Standardafvigelse for beregning af relativ mængde
Corrected Relative Quantity SD (SD for korrigeret relativ mængde)	Beregnet standardafvigelse for den korrigerede relative mængde

Tabel 36. Information i søjlediagrammets regneark, hvor der er valgt Show Details (Vis detaljerede oplysninger), fortsat

Oplysninger	Beskrivelse
Relative Quantity SEM (SEM for relativ mængde)	Middelfejlen på middelværdien for beregning af relativ mængde
Corrected Relative Quantity SEM (SEM for korrigeret relativ mængde)	Beregnet middelfejl på middelværdien for den korrigerede relative mængde
Relative Quantity(lg) (Relativ mængde (lg))	\log_2 for den relative mængde, der bruges til statistisk analyse
SD RQ(lg)	Standardafvigelse for den relative mængde (\log_2)
SEM Expression(lg) (SEM for ekspression (lg))	Middelfejlen på middelværdien for ekspressionen (\log_2)
Unscaled Expression (Ikke-skaleret ekspression)	Beregnet ikke-skaleret ekspression
Unscaled Expression SD (SD for ikke-skaleret ekspression)	Beregnet standardafvigelse for den ikke-skalerede ekspression
Corrected Unscaled Expression SD (SD for korrigeret ikke-skaleret ekspression)	Beregnet standardafvigelse for den korrigerede ikke-skalerede ekspression
Unscaled Expression SEM (SEM for ikke-skaleret ekspression)	Beregnet middelfejl på middelværdien for den ikke-skalerede ekspression
Corrected Unscaled Expression SEM (SEM for korrigeret ikke-skaleret ekspression)	Beregnet middelfejl på middelværdien for den korrigerede ikke-skalerede ekspression
Unscaled Expression(lg) (Ikke-skaleret ekspression (lg))	\log_2 for den ikke-skalerede ekspression
SD Unscaled Expression(lg) (SD for ikke-skaleret ekspression (lg))	Standardafvigelse for den ikke-skalerede ekspression (\log_2)

Tabel 36. Information i søjlediagrammets regneark, hvor der er valgt Show Details (Vis detaljerede oplysninger), fortsat

Oplysninger	Beskrivelse
SEM Unscaled Expression(Ig) (SEM for ikke-skaleret ekspression (Ig))	Middelfejlen på middelværdien for den ikke-skalerede ekspression (log ₂)
Expression (Ekspression)	Normaliseret genekspression
Corrected Expression SD (SD for korrigeret ekspression)	Beregnet standardafvigelse
Expression SEM (SEM for ekspression)	Middelfejlen på middelværdien
Corrected Expression SEM (SEM for korrigeret ekspression)	Beregnet middelfejl på middelværdien
Expression(Ig) (Ekspression (Ig))	Log ₂ for ekspressionen (normaliseret ekspression), der bruges til statistisk analyse
SD Expression(Ig) (SD ekspression (Ig))	Standardafvigelse for ekspressionen (log ₂)
SEM Expression(Ig) (SEM for ekspression (Ig))	Middelfejlen på middelværdien for ekspressionen (log ₂)
Mean C _q (Middelværdi for C _q)	Middelværdien for kvantifikationscyklussen
C _q SD	Standardafvigelse for kvantifikationscyklussen
C _q SEM	Middelfejlen på middelværdien for kvantifikationscyklussen

Klyngeoversigt

Klyngeoversigten viser dataene i et hierarki, baseret på graden af lighed i ekspression for forskellige målsekvenser (targets) og prøver.

Bemærk: Du skal vælge en reference målsekvens (target) for at kunne vise andre dataplots end relativ ekspression for søjlediagrammer.

Klyngeoversigtsbilledet viser relativ ekspression for en prøve eller en målsekvens (target) som følger:

- Opregulering (rød) – højere ekspression
- Nedregulering (grøn eller blå) – lavere ekspression
- Ingen regulering (sort)
- Ingen værdi beregnet (sort med et hvidt X)

Jo lysere farven er, desto større er forskellen i relativ ekspression. Hvis der ikke kan beregnes en normaliseret C_q -værdi, vil firkanten være sort med et hvidt X.

Der findes et dendrogram på yderkanten af dataplotningen, der angiver klyngehierarkiet. Målsekvenser (targets) eller prøver, der har ens ekspressionsmønstre, har tilstødende grene, mens dem der har mønstre, der ikke ligner hinanden, har større afstand mellem dem.

Indstillinger

Du kan indstille følgende:

- Cluster By (Saml i klynger) – vælg mellem Targets (Målsekvenser), Samples (Prøver), Both (Begge) eller None (Ingen).
- Size (Størrelse) – justerer billedstørrelsen og ændrer forstørrelsesgraden for diagrammet.
- Split Out Replicates (Opdel replikater) – viser værdier for hvert af de individuelle replikater.

Tip: Du kan ændre farveskemaet for klyngeoversigt og punktdiagram fra standardindstillingen rød/grøn til rød/blå ved at vælge dette genvejsmenupunkt på et af disse diagrammer.

Genvejsmenupunkter

Genvejsmenupunkterne for klyngeoversigten er de samme som for søjlediagrammerne. Se [Tabel 34 på side 236](#) for de tilgængelige valgmuligheder. Desuden er det muligt at vælge Color Scheme (Farveskema) for at ændre den nedregulerede ekspression fra standardindstillingen rød/grøn til rød/blå på diagrammet.

Dataregneark

Regnearket viser værdier for målsekvens (target), prøve og normaliseret ekspression. Klik på afkrydsningsfeltet ud for en målsekvens (target) for at medtage eller udelade det i plottet.

Punktdiagram

Punktdiagrammet viser den normaliserede ekspression af målskvenser (targets) for en kontrol kontra en eksperimentel prøve. Linjerne i plottet indikerer reguleringstærsklen. Datapunkter mellem linjerne indikerer, at differencen i ekspression for målskvensen (target) (genet) er ubetydelig mellem prøverne. Datapunkter uden for linjerne overskrider reguleringstærsklen og kan være interessante.

Plotbilledet viser følgende ændringer i ekspression af målskvensen (target) baseret på reguleringstærsklen:

- Opregulering (rød cirkel) – relativt højere ekspression
- Nedregulering (grøn eller blå cirkel) – relativt lavere ekspression
- Ingen ændring (sort cirkel)

Klik og træk i tærskellinjen for at justere værdien for reguleringstærsklen.

Indstillinger

Du kan indstille følgende:

- Control Sample (Kontrolprøve)
- Experimental Sample (Eksperimentel prøve)
- Regulation Threshold (Reguleringstærskel). Når værdien for regulering forøges eller formindskes, flytter tærskellinjerne i plottet sig tilsvarende.

Genvejsmenupunkter

Genvejsmenupunkterne for punktdiagrammer er de samme som for søjlediagrammet. Se [Tabel 34 på side 236](#) for de tilgængelige valgmuligheder. Vælg desuden Symbol for at ændre det symbol, der anvendes i plottet fra standardcirklen til et af følgende:

- Triangle (Trekant)
- Cross (Kryds)
- Square (Firkant)
- Diamond (Rombe)

Dataregneark

Regnearket viser værdierne for målsekvensen (target) og normaliseret ekspression for kontrol og eksperimentelle prøver. Det angiver også, om målsekvenser (targets) er op- eller nedregulerede, sammenlignet med reguleringstærsklen. Klik på afkrydsningsfeltet ud for en målsekvens (target) for at medtage eller udelade den i plottet.

Resultater

Fanen Results (Resultater) indeholder et regneark, som giver en oversigt over data fra alle diagrammerne. [Tabel 37](#) definerer de data, der vises i regnearket Results (Resultater).

Tabel 37. Oplysninger på fanen Results (Resultater)

Oplysninger	Beskrivelse
Target (Målsekvans)	Navnet på målsekvansen (target) (amplificeret gen)
Sample (Prøve)	Prøvens navn
Mean C_q (Middelværdi for C_q)	Middelværdien for kvantifikationscyklussen
Mean Efficiency Corrected C_q (Middelværdi for effektivitetskorrigeret C_q)	Middelværdien for kvantifikationscyklussen efter justering af reaktionseffektivitet
Normalized Expression (Normaliseret ekspression)	Ekspression af målsekvans (target) normaliseret til en referencemålsekvans (target) ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Relativ normaliseret ekspression)	Normaliseret ekspression i forhold til en kontrolprøve, også kaldet Fold Change (Foldændring)
Regulation (Regulering)	Ændring i ekspressionen i forhold til en kontrolprøve
Compared to Regulation Threshold (Sammenlignet med reguleringstærskel)	Op- eller nedregulering af en eksperimentel prøve baseret på tærskelindstillingen

Bemærk: Data for replikater findes kun i regnearket på dataanalysefanerne, for hvilke Split Out Replicates (Opdel replikater) er markeret (dvs. Clustergram (Klyngeoversigt)). Der kan være uoverensstemmelser i ekspressionsdata i genekspressionsanalyse-regnearkene, hvis "none" (ingen) vælges som kontrolprøve på søjlediagrammet.

Genstudie

Opret et genstudie for at sammenligne genekspressionsdata fra et eller flere real-time PCR-eksperimenter ved brug af en kalibrator mellem kørsler for at normalisere eksperimenterne i forhold til hinanden. Opret et genstudie ved at tilføje data fra en eller flere datafiler (.pcrd-filtypenavn) til genstudiet. Softwaren grupperer dem i en enkelt fil (.mgxd-filtypenavn).

Bemærk: Det maksimale antal prøver, som kan analyseres i et genstudie, er begrænset af computerens RAM-størrelse og virtuelle hukommelse.

Kalibrering mellem kørsler

Kalibreringer mellem kørsler forsøges kørt automatisk i hvert enkelt genstudie for hver enkelt målsekvens (target) med henblik på normalisering af variationer mellem kørsler mellem målsekvenser (targets), der analyseres i separate real-time PCR-kørsler (dvs. forskellige .pcrd-filer, der genereres fra forskellige plader).

For at softwaren skal kunne genkende en prøve som en kalibrator mellem kørsler skal den have samme navn på målsekvens (target), prøvenavn og, hvis det anvendes, navn på biologisk sæt på alle plader, der sammenlignes.

Bemærk: Genstudiet skal indeholde mindst én kalibratorprøve, der kan bruges til at udføre kalibrering mellem kørsler. Målsekvenser (targets) uden relevante kalibratorprøver behandles uden korrektion i genstudiet (anbefales ikke).

Kalibratore mellem kørsler kan anvendes på to måder:

- Per target (Pr. målsekvens) – forskellige PCR-primere kan have forskellige effektiviteter. Som standard anvendes kalibratoren mellem kørsler på alle brønde på samme plade, som har samme navn på målsekvens (target), for eksempel C_q genereret med samme analyse.
- Entire study (Hele studiet) – brugeren vælger én kalibrator mellem kørsler, som anvendes på hele genstudiet.

Dialogboksen Gene Study (Genstudie)

Dialogboksen Gene Study (Genstudie) indeholder to faner:

- Fanen Study Setup (Studieopsætning) – administrerer kørslerne i genstudiet.
Vigtigt: Dataene i den oprindelige fil bliver ikke ændret af, at der tilføjes eller fjernes datafiler fra genstudiet.
- Fanen Study Analysis (Studieanalyse) – viser genekspressionsdataene for de kombinerede kørsler.

Fanen Study Setup (Studieopsætning)

Tabel 38 definerer de data, som vises på fanen Study Setup (Studieopsætning).

Tabel 38. Fanen Study Setup (Studieopsætning) i dialogboksen Gene Study (Genstudie)

Kolonne-titel	Beskrivelse
File Name (Filnavn)	Navn på kørselsdatafilen (.pcrd-filtypenavn)
File Folder (Filmappe)	Mappe som lagrer datafilen for hver kørsel i genstudiet
Date Created (Dato for oprettelse)	Dato hvor kørselsdataene blev indsamlet
Well Group Name (Brøndgruppenavn)	Navn på den brøndgruppe, som blev valgt, da filen blev tilføjet til genstudiet Tip: For at analysere én brøndgruppe i genstudiet skal du vælge den pågældende brøndgruppe i vinduet Data Analysis (Dataanalyse), inden dataene importeres til genstudiet.
Step (Trin)	Protokoltrin som omfatter den plade, der blev læst for at indsamle real-time PCR-data
Run Type (Kørselstype)	Enten brugerdefineret eller PrimePCR™ kørsel
Protocol Edited (Protokol redigeret)	Angiver, hvis det er valgt, at protokollen, der blev brugt til en PrimePCR-kørsel, blev redigeret
View Plate (Vis plade)	Åbner et pladekort over pladen med dataene i hver af de kørsler, som er medtaget i genstudiet

Klargøring af et genstudie

Sådan klargøres et genstudie

- Før du importerer data til et genstudie, skal følgende udføres i vinduet Data Analysis (Dataanalyse):
 - Kontrollér, at prøver med samme indhold har samme navn. I et genstudie forudsætter softwaren, at brønde med samme Target Name (Navn på målsekvens) eller Sample Name (Prøvenavn) indeholder de samme prøver.
 - Tilpas baseline og tærskel (C_q) på fanen Quantification (Kvantifikation) for at optimere dataene i hver kørsel.
 - Vælg den brøndgruppe, der skal medtages i genstudiet.

For at få vist data fra én brøndgruppe i genstudiet, skal den relevante gruppe vælges, før datafilen importeres.

Fanen Study Setup (Studieopsætning) viser en liste over alle kørslerne i genstudiet.

2. Vælg fanen Study Setup (Studieopsætning) i dialogboksen Gene Study (Genstudie).
3. Klik på Add Data Files (Tilføj datafiler) for at vælge en fil fra et browservindue.

Tip: For hurtigt at tilføje kørsler i et genstudie skal du trække datafilerne (med filtypenavnet .pcrd) til dialogboksen Study Setup (Studieopsætning).

4. CFX Manager Dx software udfører automatisk genstudieanalysen, når du tilføjer datafiler. Vælg fanen Study Analysis (Studieanalyse) for at se resultaterne.

Sådan fjernes kørsler fra genstudiet

- ▶ Vælg én eller flere filer på listen, og klik på Remove (Fjern).

Sådan tilføjes bemærkninger om genstudiet

- ▶ Skriv bemærkninger om filer og analyser i tekstboksen Notes (Bemærkninger).

Fanen Study Analysis (Studieanalyse)

Fanen Study Analysis (Studieanalyse) viser data fra alle kørslerne i genstudiet. Valgmulighederne for dataanalyse i forbindelse med genekspression er de samme som dem, der gælder for en enkelt datafil, med følgende undtagelse:

- For søjlediagrammer vises kalibreringsværdierne mellem kørsler (hvis de beregnes), når der klikkes på Inter-run Calibration (Kalibrering mellem kørsler).

Bemærk: Det er kun følgende prøvetyper, der kan anvendes som kalibrator mellem kørsler:

- Unknown (Ukendt)
- Standard
- Positive Control (Positiv kontrol)

Prøvetyperne Negative control (Negativ kontrol), NTC (ingen skabelonkontrol) og NRT (ingen revers transkriptasekontrol) kan ikke anvendes som kalibrator mellem kørsler.

Oprettelse af en genstudierapport

Sådan oprettes en genstudierapport

1. Tilpas genstudierapportens data og diagrammer efter behov, inden rapporten oprettes.
2. Vælg Tools > Reports (Værktøjer > Rapporter) i menuen Gene Study (Genstudie) for at åbne dialogboksen Report (Rapport).
3. Vælg, hvad der skal medtages i rapporten. Rapporten åbnes med standardvalgmulighederne valgt. Markér eller fjern markering i afkrydsningsfelterne for at ændre hele kategorier eller individuelle valgmuligheder i en kategori.

[Kategorier af genstudierapporter på side 249](#) angiver de tilgængelige valgmuligheder for visning.
4. Ændring af rækkefølgen af kategorier og elementer i en rapport. Træk valgmulighederne til den ønskede position. Elementers rækkefølge kan kun ændres i den kategori, de tilhører.
5. Klik på Update Report (Opdater rapport) for at opdatere Report Preview (Vis rapport) med eventuelle ændringer.
6. Udskriv eller gem rapporten. Klik på knappen Print Report (Udskriv rapport) i værktøjslinjen for at udskrive den aktuelle rapport. Vælg File > Save (Fil > Gem) for at gemme rapporten i et af formaterne PDF (Adobe Acrobat Reader)-fil og vælg en placering, hvor filen skal gemmes. Vælg File > Save As (Fil > Gem som) for at gemme rapporten med et nyt navn eller på en ny placering.
7. (Valgfrit) Opret en skabelonrapport med den information, du ønsker. For at gemme de aktuelle rapportindstillinger i en skabelon skal du vælge Template > Save (Skabelon > Gem) eller Save As (Gem som). Indlæs rapportskabelonen, næste gang der skal oprettes en ny rapport.

Kategorier af genstudierapporter

Brug dialogboksen Gene Study Report (Genstudierapport) til at arrangere data fra et genstudie i en rapport. [Tabel 39](#) indeholder en liste over alle de tilgængelige valgmuligheder for en genstudierapport.

Tabel 39. Kategorier til brug i genstudierapporter

Kategori	Valgmulighed	Beskrivelse
Sidehoved		
		Rapportens titel, undertitel og logo
	Report Information (Rapportoplysninger)	Dato, brugernavn, datafilens navn, sti til datafilen og den valgte brøndgruppe

Tabel 39. Kategorier til brug i genstudierapporter, fortsat

Kategori	Valgmulighed	Beskrivelse
	Gene Study File List (Liste over filer til genstudiet)	Liste over alle datafiler i genstudiet
	Notes (Bemærkninger)	Bemærkninger til datarapporten
Study Analysis (Studieanalyse): Bar Chart (Søjlediagram)		
	Analysis Settings (Analyseindstillinger)	Liste over de valgte analyseparametre
	Chart (Diagram)	Genekspressionssøjlediagram, der viser dataene
	Target Names (Navne på målsekvenser)	Liste over målsekvenserne (targets) i genstudiet
	Sample Names (Prøvenavne)	Liste over prøverne i genstudiet
	Data	Regneark, der viser dataene
	Target Stability (Målsekvensens stabilitet)	Stabilitetsdata for målsekvens (target)
	Inter-run Calibration (Kalibrering mellem kørsler)	Data vedr. kalibrering mellem kørsler
Study Analysis (Studieanalyse): Clustergram (Klyngeoversigt) og Scatter Plot (Punktdiagram)		
	Analysis Settings (Analyseindstillinger)	Indstillinger for hver diagramtype
	Chart (Diagram)	Genekspressionsdiagram, der viser dataene
	Data	Regneark, der oplister data i hver målsekvens (target)

Appendiks A Dataanalyseberegninger

CFX Manager™ Dx softwaren beregner formler automatisk og viser resultaterne på fanerne Data Analysis (Dataanalyse). Dette appendiks forklarer i detaljer, hvordan CFX Manager Dx softwaren beregner formlerne.

Reaktionseffektivitet

Evidens tyder på, at brug af en nøjagtig måling af effektivitet for hver primer og probe vil give mere nøjagtige resultater, når genekspressionsdata analyseres. Standardværdien for effektivitet anvendt i beregninger af genekspression er 100 %. For at evaluere reaktionseffektiviteten skal der genereres en standardkurve ved brug af serielle fortyndinger af en repræsentativ prøve over et relevant dynamisk område, hvorefter effektiviteten for efterfølgende genekspressionsanalyse registreres. Hvis kørslen omfatter en standardkurve, beregner softwaren automatisk effektiviteten og viser den under Standard Curve (Standardkurve) på fanen Quantification (Kvantifikation), når Auto Efficiency (Automatisk effektivitet) er markeret på fanen Targets (Måsekvenser) i vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger).

Effektiviteten (E) i effektivitetsformlen henviser til "effektiviteter" som beskrevet af Pfaffl (2001) og Vandesompele et al. (2002). I disse publikationer svarer en effektivitet på 2 (perfekt fordobling for hver cyklus) til 100 % effektivitet i denne software. Du kan vælge at konvertere effektivitetsberegningerne til dem, der anvendes i softwaren, ved at anvende følgende matematiske forhold:

- $E = (\% \text{ effektivitet} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ effektivitet} = (E - 1) * 100$

Relativ mængde

Formlen for relativ mængde (ΔC_q) for enhver prøve (GOI) er:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Bemærk: Denne formel anvendes til at beregne den relative mængde, når der ikke er nogen defineret kontrolprøve .

Hvor:

- E = Effektivitet af primer og probesæt. Denne effektivitet beregnes med formlen (% effektivitet * 0,01) + 1, hvor 100 % effektivitet = 2
- $C_{q(\text{min})}$ = gennemsnitlig C_q for prøven med det laveste gennemsnitlige C_q for GOI
- $C_{q(\text{sample})}$ = gennemsnitligt C_q for prøven
- GOI = Interessesegen (én målsekvens (target))

Relativ mængde når der er valgt en kontrol

Når der tildeles en kontrolprøve, beregnes den relative mængde (RQ) for enhver prøve med et interessesegen (GOI) med denne formel:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})} \right)$$

Hvor:

- E = Effektivitet af primer og probesæt. Denne effektivitet beregnes med formlen (% effektivitet * 0,01) + 1, hvor 100 % effektivitet = 2
- $C_{q(\text{control})}$ = gennemsnitligt C_q for kontrolprøven
- $C_{q(\text{sample})}$ = gennemsnitligt C_q for alle prøver med et GOI
- GOI = Interessesegen (én målsekvens (target))

Standardafvigelse for relativ mængde

Formlen for standardafvigelse for relativ mængde er

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q\text{GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Hvor:

- SD Relative Quantity = Standardafvigelse for relativ mængde
- SD $C_{q\text{GOI}} \text{ prøve}$ = Standardafvigelse for C_q for prøven (GOI)
- Relative Quantity = Relativ mængde af prøven
- E = Effektivitet af primer og probesæt. Denne effektivitet beregnes med formlen (% effektivitet * 0,01) + 1, hvor 100 % effektivitet = 2
- GOI = Interessesegen (én målsekvens (target))

Effektivitetskorrigeret C_q (C_{qE})

Formlen for effektivitetskorrigeret C_q er

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Hvor:

- E = Effektivitet

Middelværdi for effektivitetskorrigeret C_q (MC_{qE})

Formlen for middelværdi for effektivitetskorrigeret C_q er

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE \text{ (Rep 1)}} + C_{qE \text{ (Rep 2)}} + \dots + C_{qE \text{ (Rep n)}}}{n}$$

Hvor:

- C_{qE} = effektivitetskorrigeret C_q
- n = Antallet af replikater

Normaliseringsfaktor

Nævneren i ligningen for normaliseret ekspression omtales som normaliseringsfaktoren.

Normaliseringsfaktoren er den geometriske middelværdi af de relative mængder af alle referencemåsekvenser (targets) (gener) for en given prøve, som beskrevet i denne formel:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

Hvor:

- RQ = Relativ mængde
- n = Antallet af referencemåsekvenser (targets)
- GOI = Interessegen (én måsekvens (target))

Normaliseret ekspression

Normaliseret ekspression ($\Delta\Delta C_q$) er den relative mængde af målsekvensen (target) (genet) normaliseret til mængderne af referencemålsekvenserne (gener eller sekvenser) i det biologiske system. For at vælge referencemålsekvenser (targets) skal du åbne vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger) og klikke på referencekolonnen for hver målsekvens (target), som tjener som et referencegen.

Formlen for normaliseret ekspression, som bruger den beregnede relative mængde (RQ), er

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{sample (GOI)}}}{(RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Hvor:

- RQ = Relativ mængde af en prøve
- Ref = Referencemålsekvens (target) i en kørsel, som omfatter en eller flere referencemålsekvenser i hver prøve
- GOI = Interesseggen (én målsekvens (target))

Under forudsætning af at referencemålsekvenserne (targets) ikke ændrer deres ekspressionsniveauer i det biologiske system, tager beregningen af normaliseret ekspression højde for isætningsforskelle eller variationer i celletal, der måtte forekomme i prøverne.

Normaliseret ekspression når der er valgt en kontrol

Når du vælger en kontrolprøve i vinduet Experiment Settings (Eksperimentindstillinger), indstiller softwaren ekspressionsniveauet for kontrolprøven til 1. I denne situation normaliserer softwaren de relative mængder for al ekspression af målsekvens (target) (gen) til kontrolmængden (en værdi på 1). Denne normaliserede ekspression svarer til den ikke-skalerede normaliserede ekspressionsanalyse, når der er valgt en kontrol.

Bemærk: Dette kaldes også relativ normaliseret ekspression (RNE) og foldændring.

Standardafvigelse for normaliseret ekspresion

Genskalering af værdien for normaliseret ekspresion sker ved at dividere standardafvigelsen for den normaliserede ekspresion med den normaliserede ekspresionsværdi for det højeste eller laveste individuelle ekspresionsniveau, afhængigt af den valgte skalering. Formlen for standardafvigelse (SD) for normaliseringsfaktoren er

$$SD NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

Hvor:

- RQ = Relativ mængde af en prøve
- SD = Standardafvigelse
- NF = Normaliseringsfaktor
- Ref = Referencemåsekvens (target)
- n = Antallet af referencemåsekvenser (targets)

Når en kontrolprøve tildeles, er det ikke nødvendigt at køre denne genskaleringsfunktion på standardafvigelsen, som vist i nedenstående formel:

$$SD NE_{\text{sample (GOI)}} = NE_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD NF_{\text{sample}}}{NF_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (GOI)}}}{RQ_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

Hvor:

- NE = Normaliseret ekspresion
- RQ = Relativ mængde af en prøve
- SD = Standardafvigelse
- GOI = Interessesegen (én målekvens (target))

Normaliseret ekspression skaleret til højeste ekspressionsniveau

Når kørslen ikke omfatter kontroller, skales den normaliserede ekspression (NE) for hver målsekvens (target) (gen) ved at dividere ekspressionsniveauet for hver prøve med det højeste ekspressionsniveau i alle prøverne. Softwaren indstiller det højeste ekspressionsniveau til en værdi på 1 og omskalerer alle prøveekspressionsniveauerne. Formlen for højeste skalering er

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

Hvor:

- GOI = Interesegen (målsekvens (target))

Normaliseret ekspression skaleret til laveste ekspressionsniveau

Når kørslen ikke omfatter kontroller, skales den normaliserede ekspression (NE) for hver målsekvens (target) (gen) ved at dividere ekspressionsniveauet for hver prøve med det laveste ekspressionsniveau i alle prøverne. Softwaren indstiller det laveste ekspressionsniveau til en værdi på 1 og omskalerer alle prøveekspressionsniveauerne. Formlen for den laveste skalering er

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

Hvor:

- GOI = Interesegen (målsekvens (target))

Normaliseret ekspression skaleret til gennemsnitligt ekspressionsniveau

Når kørslen ikke omfatter kontroller, skales den normaliserede ekspression (NE) for hver målsekvens (target) (gen) ved at dividere ekspressionsniveauet for hver prøve med geometriske middelværdi for ekspressionsniveau for alle prøverne. Softwaren indstiller det gennemsnitlige ekspressionsniveau til en værdi på 1 og omskalerer alle prøveekspressionsniveauerne. Formlen for gennemsnitlig skalering er

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Hvor:

- GOI = Interessegen (målsekvens (target))
- GM = Geometrisk middelværdi for normaliseret ekspression i alle prøver

Standardafvigelse for skaleret normaliseret ekspression

Genskalering af værdien for skaleret normaliseret ekspression (NE) sker ved at dividere standardafvigelsen (SD) for den normaliserede ekspression med den normaliserede ekspressionsværdi for det højeste (MAX) eller laveste (MIN) ekspressionsniveau, afhængigt af den valgte skalering.

Bemærk: Når en kontrolprøve tildeles, er det ikke nødvendigt at køre denne genskaleringsfunktion på standardafvigelsen.

Beregningen for denne formel er

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

Hvor:

- NE = Normaliseret ekspression
- SD = Standardafvigelse
- GOI = Interessesegen (målsækvens (target))
- MAX = Højeste ekspressionsniveau
- MIN = Laveste ekspressionsniveau

Regulering

Regulering er et mål af stigning eller fald i ekspressionen af en målsækvens (target) for en eksperimentprøve kontra en kontrolprøve og bestemmes som følger:

Hvis ekspression (eksperimentel) > Ekspression (kontrol):

$$\text{Regulation} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Hvis ekspression (eksperimentel) < Ekspression (kontrol):

$$\text{Regulation} = -1 / \left(\frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

Bemærk: For søjlediagram er *ekspression* baseret på enten den relative mængde eller normaliseret ekspression, afhængigt af den valgte tilstand (se [Søjlediagram på side 229](#)). For Scatter Plot (Punktdiagram) og Clustergram (Klyngeoversigt) beregnes regulering altid fra den normaliserede ekspression.

Formler til korrigerede værdier

Der ses kun en forskel mellem de korrigerede værdier og de ikke-korrigerede værdier, hvis standardkurven oprettes som en del af real-time PCR-kørslen. Softwaren anvender tre ligninger til at bestemme propageringen af fejl:

- Standardfejl
- Standardfejl for normaliseret ekspression
- Standardfejl for normaliseret interessegen (målsekvens (target))

Formlen for standardfejl er

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Hvor:

- n = Antallet af referencemålsekvenser (targets) (gener)
- SD = Standardafvigelse

Formlen for standardfejl for normaliseringsfaktoren i normaliseret ekspression er

$$SE NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref 1)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref 2)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref n)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref n)}}}\right)^2}$$

Hvor:

- n = Antallet af referencemålsekvenser (targets)
- SE = Standardfejl
- NF = Normaliseringsfaktor
- RQ = Relativ mængde

Formlen for standardfejl for normaliseret interessegen (GOI) er

$$SE GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE GOI}{GOI}\right)^2}$$

Hvor:

- SE = Standardfejl
- GOI = Interessegen (en målsekvens (target))
- NF = Normaliseringsfaktor
- n = Antallet af referencemålsekvenser (targets)

Appendiks B Administration af brugere og roller på CFX Manager Dx

I CFX Manager™ Dx softwaren er det muligt at oprette brugere og tildele en rolle til de pågældende brugere. Roller begrænser adgangen til funktionerne i CFX Manager Dx. En bruger kan kun være tildelt én rolle ad gangen. En CFX Manager Dx softwareadministrator kan imidlertid til enhver tid ændre brugerens rolle.

Tip: Det er ikke nødvendigt at oprette brugere for at anvende CFX Manager Dx. Hvis der ikke oprettes brugere, udføres al aktivitet af standardbrugerkontoen *admin*.

Vigtigt: Brugeren *admin* er standard-administratorkontoen, som indledningsvist anvendes til at logge på CFX Manager Dx. Det anbefales, at der oprettes en specifik bruger til administration af CFX Manager Dx. Tildel den pågældende bruger rollen som Administrator, og udfør alle administrationsopgaver med denne bruger.

Vigtigt: CFX Manager Dx softwaren har ikke en timeout-funktion for inaktivitet. Det anbefales derfor, at der implementeres sikkerhedsforanstaltninger fra Windows eller tredjepartssoftware (implementer for eksempel en pauseskærm, der kræver login).

Administration af brugere

I standardudgaven af CFX Manager Dx software kan brugerkonti have et hvilket som helst navn og en hvilken som helst adgangskode.

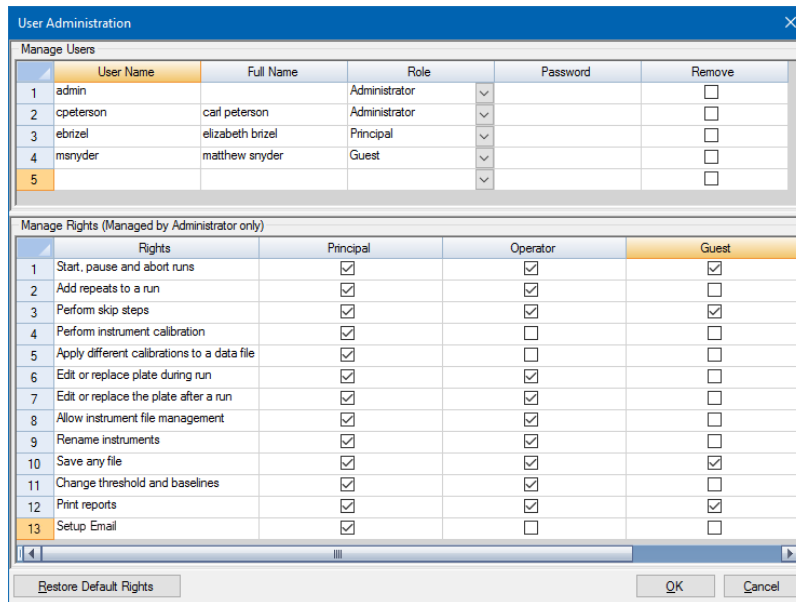
For at tildele en rolle til en bruger skal du vælge den på listen over roller i vinduet User Administration (Brugeradministration). I dette eksempel får brugeren Guest (Gæst) tildelt rettigheden til at gemme filer.

Tilføjelse og fjernelse af brugere

Bemærk: Kun CFX Manager Dx administratoren kan tilføje eller fjerne brugere.

Sådan tilføjes brugerkonti til CFX Manager Dx

1. Vælg User > User Administration (Bruger > Brugeradministration) i startvinduet.
Dialogboksen User Administration (Brugeradministration) åbner.



2. Skriv et User Name (Brugernavn) til brugeren i ruden Manage Users (Administrer brugere).
3. Vælg en Role (Rolle) til brugeren.

Roller begrænser brugerens rettigheder. Standardrollen er Principal (Hovedbruger).

Tip: Rettighederne for hver rolle kan ændres. Når rollens rettigheder ændres, påvirker det alle brugere, som er tildelt den pågældende rolle. Der findes flere oplysninger i [Administration af rettigheder for roller på side 263](#).

4. (Valgfrit) Skriv brugerens fulde navn og adgangskode.
5. Klik på OK for at åbne en dialogboks og bekræfte, at vinduet skal lukkes.
6. Klik på Yes (Ja) for at lukke dialogboksen og vinduet.

Sådan fjernes en bruger

1. Vælg Remove (Fjern) i ruden Manage Users (Administrer brugere) for hver bruger, som skal fjernes.
2. Klik på OK for at åbne en dialogboks og bekræfte, at vinduet skal lukkes.
3. Klik på Yes (Ja) for at lukke dialogboksen og vinduet.

Bemærk: Listen over softwarebrugere skal altid omfatte en Administrator.

Administration af rettigheder for roller

CFX Manager Dx omfatter disse fire roller:

- Administrator (påkrævet) – administratorer har alle rettigheder, og disse rettigheder kan ikke ændres. Administratorer kan desuden tilføje og fjerne brugere og ændre rettighederne for hver rolle.

Bemærk: Kun en administrator kan ændre rettighederne for en rolle.

- Principal (Hovedbruger) – hovedbrugeren har som standard alle rettigheder
- Operator (Operatør) – operatøren har som standard alle rettigheder undtagen overspringning af cyklusser
- Guest (Gæst) – gæstbrugeren kan som standard udelukkende læse filer

Vigtigt: Ændring af rettighederne for en rolle påvirker alle brugere, som er tildelt den pågældende rolle. Du kan ikke tilpasse en rolle til en specifik bruger. Vær forsigtig, når du ændrer rettigheder for roller.

Sådan angives rettighederne for hver rolle

1. Vælg User > User Administration (Bruger > Brugeradministration) i startvinduet.
2. Gør et af følgende i ruden Manage Rights (Administrer rettigheder):
 - For at fjerne en rettighed fra en rolle skal du fjerne markeringen i det tilhørende afkrydsningsfelt.
 - For at tilføje en rettighed til en rolle skal du markere det tilhørende afkrydsningsfelt.
3. Klik på OK for at åbne en dialogboks og bekræfte, at vinduet skal lukkes.
4. Klik på Yes (Ja) for at lukke dialogboksen og vinduet.

Sådan nulstilles alle rettigheder for alle roller

- ▶ Klik på Restore Default Rights (Gendan standardrettigheder) i dialogboksen User Administration (Brugeradministration).

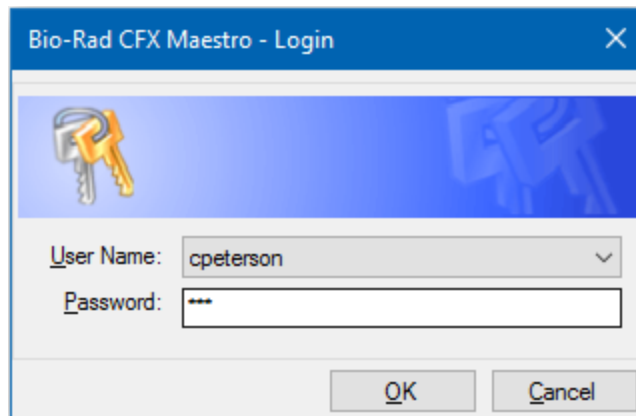
Indlogging på CFX Manager Dx softwaren

CFX Manager Dx softwaren styrer, hvem der kan logge ind på softwaren, ved hjælp af dialogboksen Login. Når softwaren startes, viser CFX Manager Dx automatisk dialogboksen Login, hvis der findes to eller flere brugere på listen i vinduet User Administration (Brugeradministration).

CFX Manager Dx viser navnet på den bruger, der er logget på, øverst i startvinduet.

Sådan logges der på CFX Manager Dx

1. Vælg dit navn på rullelisten User Name (Brugernavn) i dialogboksen Login.
2. Indtast din adgangskode.
3. Klik på OK for at lukke dialogboksen Login og åbne softwaren.



Skift af bruger

Du kan skifte bruger, mens softwaren kører.

Sådan skiftes der bruger

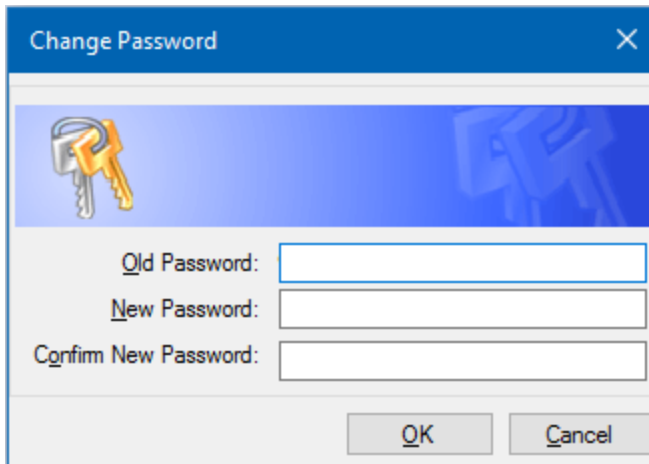
1. Vælg User > Select User (Bruger > Vælg bruger) i startvinduet for at åbne dialogboksen Login.
2. Vælg et navn fra rullelisten User Name (Brugernavn).
3. Indtast den nye brugers adgangskode.
4. Klik på OK for at lukke dialogboksen Login og åbne softwaren.

Ændring af brugeradgangskoder

Brugere af CFX Manager Dx kan når som helst ændre deres egen adgangskode.

Sådan ændres brugeradgangskoder

1. Vælg User > Change Password (Bruger > Skift adgangskode) i startvinduet for at åbne dialogboksen Change Password (Skift adgangskode).



2. Skriv din nuværende adgangskode i feltet Old Password (Gammel adgangskode).
3. Skriv en ny adgangskode i New Password (Ny adgangskode), og indtast den igen i Confirm New Password (Bekræft ny adgangskode).
4. Klik på OK for at bekræfte ændringen.

Visning af roller og rettigheder

Tip: Brugere, som er tildelt brugerrollerne Principal (Hovedbruger), Operator (Operatør) eller Guest (Gæst), kan kun se deres egne brugerindstillinger, rettigheder og roller.

Sådan vises den aktuelle brugerrolle og de aktuelle rettigheder

- Vælg User > User Administration (Bruger > Brugeradministration) i startvinduet.

Kontakt CFX Manager Dx administratoren for at modificere de brugerindstillinger, -rettigheder og -roller, som er angivet i vinduet User Administration (Brugeradministration).

Appendiks C LIMS-integration

CFX Manager™ Dx softwaren kan konfigureres til brug med et laboratorieinformationsstyringsystem (LIMS). LIMS-integration kræver CFX Manager Dx pladeopsætningsoplysninger genereret af LIMS-plattformen (en LIMS-fil, *.plrn), en protokolfil oprettet ved brug af CFX Manager Dx software (*.prcl), en defineret dataeksportdestination samt et defineret eksportformat.

Når kørslen er afsluttet, genererer CFX Manager Dx en datafil (.pcrd) og gemmer den på en defineret mappeplacering til dataeksport. CFX Manager Dx kan desuden oprette en LIMS-kompatibel datafil i .csv-format og gemme den på den samme placering.

Oprettelse af LIMS-kompatible datafiler

Dette appendiks indeholder oplysninger om installation af CFX Manager Dx softwaren til oprettelse, lagring og eksport af LIMS-kompatible datafiler.

Opsætning af valgmuligheder for LIMS-mappen og for dataeksport

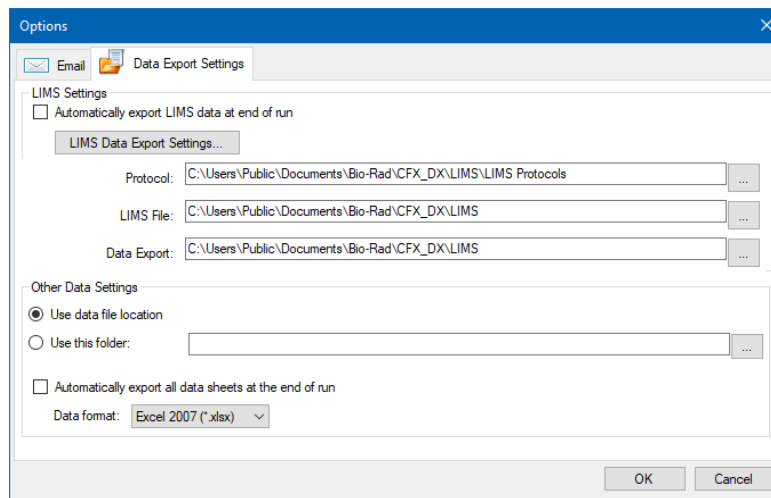
Som standard gemmer CFX Manager Dx LIMS-protokollerne, -filerne og -dataeksportfilerne i denne mappe:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

Du kan konfigurere CFX Manager Dx til at gemme filerne i en anden mappe, og du kan ændre eksportindstillingerne for LIMS-data.

Sådan opsættes en LIMS-mappe og valgmuligheder for dataeksport

1. Vælg Tools > Options (Værktøjer > Valgmuligheder) i startvinduet.
2. I dialogboksen Options (Valgmuligheder) skal du vælge Data Export Settings (Indstillinger for dataeksport).



3. (Valgfrit) Vælg **Automatically export LIMS data at end of run** (Eksporter LIMS-data automatisk ved afslutning af kørslen).

Softwaren eksporterer automatisk LIMS-data efter hver kørsel og gemmer dem på den specificerede placering.

4. For at ændre standardindstillingerne for eksport af LIMS-data skal du klikke på **LIMS Data Export Settings** (Indstillinger for eksport af LIMS-data).

Vigtigt: Det er kun LIMS-data, der er eksporteret som en .csv-fil, der kan importeres tilbage i CFX Manager Dx.

5. I dialogboksen **LIMS Data Export Format Settings** (Indstillinger for eksportformat for LIMS-data) skal du vælge de ønskede eksportindstillinger og klikke på **OK**.
6. I dialogboksen **Options** (Valgmuligheder) skal du navigere til og vælge en standardmappe, hvor LIMS-datafilerne skal gemmes. Du kan vælge en forskellig placering for hver filtype:

- Protocol (Protokol)
- LIMS file (LIMS-fil)
- Data export (Dataeksport)

7. Klik på **OK** for at gemme ændringerne og lukke dialogboksen **Options** (Valgmuligheder).

Oprettelse af en LIMS-protokol

For at starte en LIMS-kørsel skal du oprette en CFX Manager Dx protokolfil (*.prcl) og gemme den i LIMS-protokolmappen.

Se [Kapitel 6, Oprettelse af protokoller](#) for yderligere oplysninger.

Oprettelse af en LIMS-fil

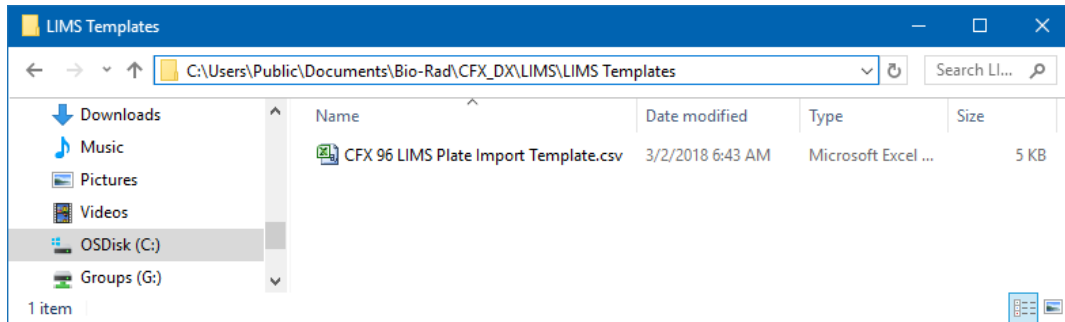
En LIMS-fil (*.plrn) indeholder detaljerede oplysninger om opsætning af pladen og protokollens filnavn. Filen genereres af det interne LIMS. CFX Manager Dx bruger LIMS-filen til at oprette en pladefil til brug med en protokolfil.

CFX Manager Dx har skabelonfiler til pladeimport, der kan redigeres for at oprette tilpassede LIMS-pladefiler.

Tip: Denne opgave skal udføres af en LIMS-specialist.

Sådan oprettes en LIMS-fil

1. I startvinduet skal du vælge View > Show > LIMS File Folder (Vis > Vis > LIMS-filmappe).
2. Åbn LIMS-skabelonmappen, og vælg en .csv-fil, der skal importeres til det interne LIMS.



3. Rediger skabelonfilen i LIMS ved at udfylde de påkrævede felter i [Tabel 40](#).
4. Gem skabelonen med filtypenavnet .plrn i LIMS-filmappen.

Vigtigt: CFX Manager Dx kan kun åbne .plrn-filen. Du skal gemme .csv-filen som .plrn, før du kan starte LIMS-kørslen.

Tabel 40. Definition indholdet i LIMS .csv-filen

Kolonne	Række	Beskrivelse	Indhold	Formål
A	1	Plate Header (Pladetitel)	Må ikke redigeres	Foruddefineret
A,B,C	2	Field/Data/Instruction (Felt/data/instruktion)	Må ikke redigeres	Foruddefineret
B	3	Version	Må ikke redigeres	Foruddefineret

Tabel 40. Definition indholdet i LIMS .csv-filen, fortsat

Kolonne	Række	Beskrivelse	Indhold	Formål
B	4	Plate Size (Pladestørrelse)	Må ikke redigeres	Foruddefineret
B	5	Plate Type (Pladetype)	Indtast "BR White" (BR hvid), "BR Clear" (BR klar) eller anden kalibreret pladetype	Påkrævet
B	6	Scan Mode (Scanningstilstand)	Indtast "SYBR/FAM Only:" (Kun SYBR/FAM:), "All Channels" (Alle kanaler) eller "FRET"	Påkrævet

Tabel 40. Definition indholdet i LIMS .csv-filen, fortsat

Kolonne	Række	Beskrivelse	Indhold	Formål
B	7	Units (Enheder)	Indtast et af følgende: "copy number" (kopinumner), "fold dilution" (foldfortynding), "micromoles" (mikromol), "nanomoles" (nanomol), "picomoles" (pikomol), "femtomoles" (femtomol), "attomoles" (attomol), "milligrams" (milligram), "micrograms" (mikrogram), "nanograms" (nanogram), "picograms" (pikogram), "femtograms" (femtogram), "attograms" (attogram) eller "percent" (procent)	Påkrævet
B	8	Run ID (Kørsels-id)	Indtast en kort beskrivelse, eller indlæs en stregkode, der identificerer denne kørsel (maks. 30 tegn; kommaer er ikke tilladt)	Valgfrit
B	9	Run Note (Kørselsbemærkning)	Indtast beskrivelsen af kørslen	Valgfrit

Tabel 40. Definition indholdet i LIMS .csv-filen, fortsat

Kolonne	Række	Beskrivelse	Indhold	Formål
B	10	Run Protocol (Kørselsprotokol)	Indtast protokollens filnavn, nøjagtigt som angivet.	Påkrævet
A	11	Data File (Datafil)	Indtast datafilens navn	Valgfrit
A	12-15	TBD/Empty (Til fremtidig brug/tom)	Må ikke redigeres	Foruddefineret
A	16	Plate Data (Pladedata)	Må ikke redigeres	Foruddefineret
A	17-113	Well Position (Brøndposition)	Må ikke redigeres	Foruddefineret
B-G		Ch1 Dye (Kanal 1-farve), Ch2 Dye (Kanal 2-farve), Ch3 Dye (Kanal 3-farve), Ch4 Dye (Kanal 4-farve), Ch5 Dye (Kanal 5-farve), FRET	Indtast et kalibreret farvenavn (for eksempel "FAM") for hver kanal, der er i brug	Påkrævet
H		Sample Type (Prøvetype)	Indtast et af de følgende prøvetyper: "Unknown" (Ukendt), "Standard", "Positive Control" (Positiv kontrol), "Negative Control" (Negativ kontrol), "NTC" eller "NRT"	Påkrævet
I		Sample Name (Prøvenavn)	Indtast prøvenavn	Valgfrit

Tabel 40. Definition indholdet i LIMS .csv-filen, fortsat

Kolonne	Række	Beskrivelse	Indhold	Formål
J-O		CH1 Target (Kanal 1-målsekvens), CH2 Target (Kanal 2-målsekvens), CH3 Target (Kanal 3-målsekvens), CH4 Target (Kanal 4-målsekvens), CH5 Target (Kanal 5-målsekvens), FRET Target (FRET-målsekvens)	Indtast navnet på målsekvensen (target) for hver kanal, der er i brug	Valgfrit
P		Biological Set Name (Navn på biologisk sæt)	Indtast navnet på det biologiske sæt	Valgfrit
Q		Replicate (Replikat)	Indtast et positivt heltal for hvert sæt replikater. Værdien må ikke være nul.	Valgfrit
R-W		CH1 Quantity (Kanal 1-mængde), CH2 Quantity (Kanal 2-mængde), CH3 Quantity (Kanal 3-mængde), CH4 Quantity (Kanal 4-mængde), CH5 Quantity (Kanal 5-mængde), FRET Quantity (FRET kvantitet)	Indtast mængdeværdier for eventuelle standarder. Indtast koncentration i decimalformat.	Påkrævet for alle standarder
X		Well Note (Brøndbemærkning)	Indtast en brøndbemærkning (maks. 20 tegn)	Valgfrit

Tabel 40. Definition indholdet i LIMS .csv-filen, fortsat

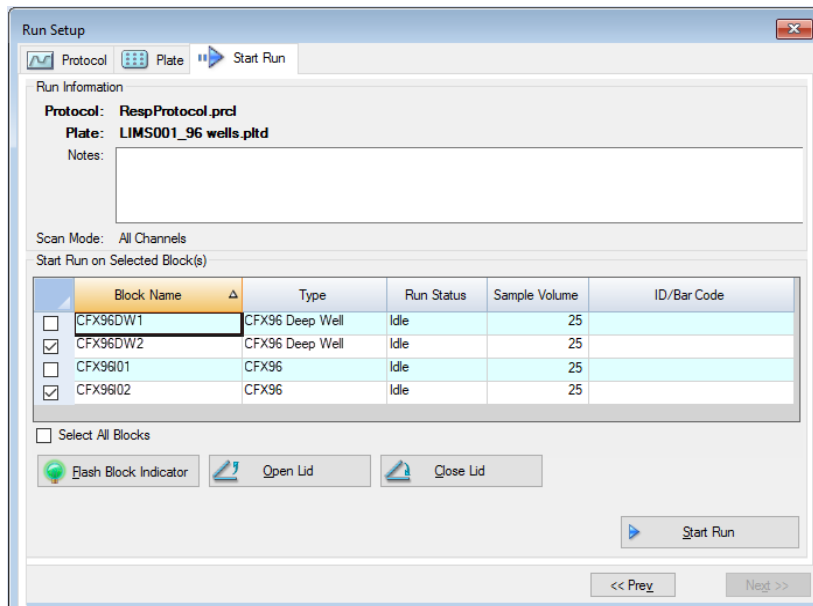
Kolonne	Række	Beskrivelse	Indhold	Formål
Y-AD		Ch1 Well Color (Kanal 1-brøndfarve), Ch2 Well Color (Kanal 2-brøndfarve), Ch3 Well Color (Kanal 3-brøndfarve), Ch4 Well Color (Kanal 4-brøndfarve), Ch5 Well Color (Kanal 5-brøndfarve), FRET Well Color (FRET-brøndfarve)	Indtast en brugerdefineret farve for kurvelinjelayout i et 32 bit (argb) heltalsdecimalformat	Valgfrit

Start af en LIMS-kørsel

Sådan startes en LIMS-kørsel

- Gør et af følgende for at åbne en LIMS .plrn-fil:
 - Vælg View > Show > LIMS File Folder (Vis > Vis > LIMS-filmappe) i startvinduet.
 - Vælg File > Open > LIMS File (Fil > Åbn > LIMS-fil) i startvinduet, og åbn den ønskede .plrn-fil.

Filen åbner på fanen Start Run (Start kørsel) i Run Setup wizard (Guiden Kørselsopsætning). Fanen Start Run (Start kørsel) viser oplysninger om eksperimentet, der skal køres. Den viser også den eller de tilsluttede instrumentblokke, som eksperimentet kan køres på.
- Vælg et instrument på fanen Start Run (Start kørsel), og klik på Start Run (Start kørsel).



Eksport af data til et LIMS

Når kørslen afsluttes, genererer CFX Manager Dx en datafil (.pcrd) og gemmer den på den definerede mappeplacering til dataeksport.

Sådan eksporteres datafilen til et LIMS

- ▶ Åbn .pcrd-filen og vælg Export > Export to LIMS Folder (Eksportér > Eksportér til LIMS-mappe).

Tip: Hvis Automatically Export Data after Run (Eksportér automatisk data efter kørsel) vælges i LIMS-valgmulighederne, genererer CFX Manager Dx en LIMS-kompatibel datafil i .csv-format og gemmer den i den samme mappe.

Fejlfinding

Normalt kan kommunikationsproblemer mellem software og instrument løses ved at genstarte computeren og systemet. Sørg for at gemme igangværende arbejde, før du genstarter.

Bemærk: Kontrollér, at computeren har tilstrækkeligt med RAM og ledig diskplads. Minimum RAM er 4 GB, og minimum harddiskplads er 128 GB.

Strømsvigt

Hvis der opstår strømsvigt, lukker instrumentet og computeren ned. Hvis strømsvigtet er kortvarigt, genoptager instrumentet kørsel af en protokol, men strømsvigtet noteres i applikationslogfilen. Afhængigt af computerens indstillinger og varigheden af strømsvigtet vil instrumentet og softwaren forsøge at fortsætte, afhængigt af protokoltrinnet:

- Hvis protokollen er i et trin uden pladeaflysning, fortsætter protokollen kørslen, så snart instrumentet igen tilføres strøm.
- Hvis protokollen er i et trin med en pladeaflysning, venter instrumentet på, at softwaren genstarter og genoptager kommunikationen for at indsamle dataene. I denne situation fortsætter protokollen kun, hvis softwaren ikke blev lukket ned af computeren. Protokollen starter igen, når computeren og softwaren starter igen.

Fjernelse af prøver fra reaktionsmodulet under strømsvigt

Du kan åbne et låst motoriseret låg på et reaktionsmodul for at fjerne dine prøver under et strømsvigt.

Sådan fjernes låsepladen

1. Skub låsearmen ned for at fjerne reaktionsmodulet fra C1000™ Dx termocykleren.
2. Stil reaktionsmodulet forsigtigt på et bord eller en bænk.
3. Anbring modulet, så modulets forside går 5 cm ud over kanten.



4. Brug en svensknøgle til at fjerne de to store skruer under reaktionsmodulets forreste kant (under knappen til åbning af låget).

Du bør kunne høre låsearmen udløses inde i modulet.

Vigtigt: Undlad at fjerne de to små skruer på modulets forreste kant.



5. Skub låget på reaktionsmodulet op. Bemærk, at låsen (mørk plastik) ikke længere sidder fast. Fjern prøverne fra blokken.
6. Sæt låsearmen på igen, og fastgør den med store skruer for at samle reaktionsmodulet med låget åbent.



Overførsel af filer til CFX Manager Dx computeren

Du kan hente data og logfiler, der findes på instrumentet, og overføre dem til harddisken på en tilsluttet computer.

Bemærk: Alle filer i real-time-datamappen på instrumentbasen hentes over på computeren.

Sådan hentes filer fra instrumentet

1. Højreklik på det ønskede instrument i ruden Detected Instruments (Registrerede instrumenter) i startvinduet, og vælg et af følgende:
 - Retrieve Log Files (Hent logfiler)
 - Retrieve Data Files (Hent datafiler)
2. Vælg en mappeplacering, hvor de hentede filer skal gemmes.
3. Klik på OK.

Manuel installation af CFX Manager Dx softwaren

Sådan installeres CFX Manager Dx software manuelt

1. Om nødvendigt frakobles alle tilsluttede instrumenter fra computeren.
Find og frakobl instrumentets USB-kabel fra CFX Manager Dx computeren. Den ende, der er tilsluttet til instrumentet, behøver ikke at blive frakoblet.
2. Log på CFX Manager Dx computeren med administratorrettigheder.
3. Indsæt installations-cd'en.
4. Naviger til cd'en i Windows Stifinder, højreklik på cd-ikonet, og vælg Explore (Gennemse) for at åbne cd-vinduet.
5. Dobbeltklik på mappen CFX_Manager for at åbne mappen, og dobbeltklik derefter på setup.exe for at starte installationsguiden.
6. Følg instruktionerne i guiden for at installere softwaren, og klik derefter på Finish (Udfør).

Geninstallation af drivere

Sådan geninstalleres instrumentdriverne

- ▶ Vælg Tools > Reinstall Instrument Drivers (Værktøjer > Geninstaller instrumentdriverne) i startvinduet.

Bemærk: Hvis der er problemer med softwarekommunikationen med et real-time-system, når driverne er geninstalleret og USB-forbindelsen kontrolleret, skal du kontakte teknisk support hos Bio-Rad.

Appendiks E Referencer

1. Sugimoto et al. (1996). Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes. *Nucleic Acids Research* 24, 4,501–4,505.
2. Breslauer KJ et al. (1986). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3,746–3,750.
3. Hellemans J et al. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biol* 8, R19.
4. Livak JL et al. (1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. *Nature Genetics* 9, 341–342.
5. Pfaffl MW (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29, 2,002–2,007.
6. Vandesompele J et al. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 3, 1–12.
7. Fox J (2008). *Applied Regression Analysis and Generalized Linear Models*. 2nd ed (New York: SAGE Publications, Inc.).

Meddelelse om Minpack copyright (1999) University of Chicago. Alle rettigheder forbeholdes

Videredistribution og brug i kilde og binære former, med eller uden modifikation, er tilladt, hvis følgende betingelser er opfyldt:

1. Videredistributioner af kildekode skal bevare meddelelsen om copyright, denne liste med betingelser og følgende ansvarsfraskrivelse.
2. Videredistributioner i binær form skal gengive ovenstående meddelelse om copyright, denne liste med betingelser og følgende ansvarsfraskrivelse i dokumentationen og/eller i andet materiale, der måtte være inkluderet i distribueringen.
3. Eventuel slutbrugerdokumentation, der medtages i videredistributionen, skal indeholde følgende anerkendelse:

“Dette produkt omfatter software udviklet af University of Chicago som operatør af Argonne National Laboratory.”

Appendiks E Referencer



Bio-Rad Laboratories, Inc.
5731 W Las Positas Blvd
Pleasanton, CA 94588
USA

EC	REP
----	-----

Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette, France
Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00
Fax: +33 (0)1 47 41 91 33
bio-rad.com



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399
Canada 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23
France 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050
Italy 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670
The Netherlands 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23
Switzerland 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23