

Systemy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx

Návod k obsluze

REF 1845097-IVD
1844095-IVD
1841000-IVD
12007917

Verze návodu: 2022
Verze softwaru: 3.1



ETL LISTED
V SOULADU S NORMAMI
UL Std. 61010-1
UL Std. 61010-2-010
UL Std. 61010-2-101
UL Std. 61010-2-081
CERTIFIKACE PODLE NOREM
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-1-12
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-010
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-101
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-081:2015



BIO-RAD

Systemy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx

Návod k použití

Verze 3.1

BIO-RAD

Technická podpora Bio-Rad

Oddělení technické podpory Bio-Rad je v USA k dispozici od pondělí do pátku od 5:00 do 17:00 hodin (pacifický čas).

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

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

Pro technickou pomoc mimo USA a Kanadu se obraťte na místní technickou podporu, nebo klikněte na odkaz www.bio-rad.com.

Upozornění

Žádnou část této publikace nelze bez písemného souhlasu společnosti Bio-Rad reprodukovat ani převádět, elektronicky ani mechanicky, jakýmkoliv způsobem či jakýmkoliv prostředky, včetně kopírování, záznamu či systémů pro uchovávání či vyhledávání informací.

Společnost Bio-Rad si vyhrazuje právo kdykoli své produkty a služby měnit. Změny této příručky jsou možné bez předchozího upozornění. Ačkoliv jsou tyto informace sestaveny s cílem zajistit přesnost, nepřijímá společnost Bio-Rad odpovědnost za případné chyby nebo opomenutí ani za škody vyplývající z jejich aplikace nebo použití.

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

BIO-RAD, HARD-SHELL a MICROSEAL jsou ochranné známky společnosti Bio-Rad Laboratories, Inc. v určitých jurisdikcích.

SYBR je ochranná známka společnosti Thermo Fisher Scientific Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. je držitelem licence na prodej reagensů obsahujících barvivo SYBR Green I pro použití v PCR systémech pracujících v reálném čase, a to pouze pro výzkumné účely.

EvaGreen je ochranná známka společnosti Biotium, Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. je držitelem licence od společnosti Biotium, Inc. na prodej reagensů obsahujících barvivo EvaGreen pro použití v PCR systémech pracujících v reálném čase, a to pouze pro výzkumné účely.

Všechny ochranné známky použité v této publikaci jsou majetkem příslušných vlastníků.













Copyright © 2022, Bio-Rad Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

Účel použití

Systémy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx se softwarem CFX Manager Dx jsou určeny k provádění fluorescenční PCR pro detekci a kvantifikaci sekvencí nukleové kyseliny. Systémy a software jsou určeny k diagnostickému použití in vitro vyškolenými laboratorními technikami. Systémy by se měly používat s diagnostickými testy nukleové kyseliny třetích stran, vyrobenými a označenými k diagnostickým účelům.

Použité symboly

Důležité: Důležité změny jsou zvýrazněné!

 Výrobce	 Číslo šarže
 Spotřebujte do	 Pro diagnostické použití in vitro
 Teplotní limit	 Katalogové číslo
 Viz návod k použití	 Počet testů
 Pro použití s	 Sériové číslo
 Pouze na předpis	 Obsahuje latex



Označení CE – nařízení (EU) 2017/746 o
diagnostických zdravotnických
prostředcích in vitro

Překlady

Dokumenty k produktu mohou být k dispozici v jiných jazykových mutacích na elektronických médiích.

Obsah

Účel použití	iii
Použité symboly	iii
Překlady	iv
Bezpečnost a shoda s předpisy	15
Bezpečnostní výstražné štítky	15
Specifikace pro bezpečné používání a shoda s předpisy	16
Shoda s předpisy	16
Rizika	17
Biologická rizika	17
Chemická rizika	19
Rizika spojená s výbušností nebo hořlavostí	19
Rizika spojená s elektrickým proudem	19
Doprava	20
Baterie	20
Likvidace	20
Záruka	20
Kapitola 1 Úvod	21
Systémy detekce PCR CFX Dx	21
Určené použití	22
Kde najít více informací	22
Kapitola 2 Nastavení termocykleru C1000 Dx	23
Požadavky na pracoviště	23
Požadavky na stolní prostor	23
Požadavky na prostředí	24
Požadavky na elektrické napájení	24
Přehled systému	25
Čelní pohled	25
Zadní pohled	26

Optické reakční moduly	27
Doporučené objemy vzorků	27
Instalace termocykleru C1000 Dx	28
Rozbalení a usazení termocykleru C1000 Dx	28
Připojení optického reakčního modulu	29
Odstranění zajišťovacího šroubu	30
Zakládání destiček se vzorky	31
Detekce připojených přístrojů	33
Odpojení reakčního modulu Systém CFX Dx	34
Vypnutí termocykleru C1000 Dx	34
Kapitola 3 Instalace softwaru CFX Manager Dx	35
Požadavky na systém	36
Instalace softwaru CFX Manager Dx	37
Detekce připojených přístrojů	37
Softwarové soubory	38
Doporučená opatření pro síťové zabezpečení	39
Kapitola 4 Pracovní plocha	41
Okno Home (Domů)	42
Startup Wizard (Průvodce spuštěním)	43
Okno Protocol Editor (Editor protokolu)	44
Okno Plate Editor (Editor destiček)	45
Okno Data Analysis (Analýza dat)	46
Kapitola 5 Okno Home (Domů)	47
Okno Home (Domů)	48
Příkazy nabídky File (Soubor)	49
Příkazy nabídky View (Zobrazit)	49
Příkazy nabídky User (Uživatel)	50
Příkazy nabídky Run (Cyklus)	51
Příkazy nabídky Tools (Nástroje)	51
Příkazy nabídky Help (Nápověda)	52
Příkazy panelu nástrojů	52
Startup Wizard (Průvodce spuštěním)	53
Stavový řádek	53

Panel Detected Instruments (Detekované nástroje)	54
Zobrazení vlastností nástroje	59
Než začnete	62
Nastavení uživatelských předvoleb	62
Vytvoření reakčního Master Mix	78
Kalibrace nových barviv	81
Kapitola 6 Vytváření protokolů	85
Okno Protocol Editor (Editor protokolu)	86
Příkazy nabídky File (Soubor)	87
Příkaz nabídky Settings (Nastavení)	87
Příkazy nabídky Tools (Nástroje)	87
Příkazy panelu nástrojů	87
Ovládací prvky pro úpravu protokolu	88
Tvorba protokolu v nástroji Protocol Editor (Editor protokolu)	91
Otevření nového souboru protokolu v nástroji Protocol Editor (Editor protokolu)	91
Otevření stávajícího protokolu v nástroji Protocol Editor (Editor protokolu)	93
Nastavení nového protokolu	94
Přidání kroků do protokolu	96
Vložení kroku Gradient	97
Vložení kroku GOTO	98
Vložení kroku Křivka táhání	98
Přidání nebo odstranění čtení destičky	100
Změna možností kroku	100
Výmaz kroku	101
Kopírování, export nebo tisk protokolu	101
Vytvoření protokolu pomocí nástroje Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu)	102
Použití nástroje Ta Calculator (Kalkulačka Ta)	104
O nástroji Ta Calculator (Kalkulačka Ta)	104
Kapitola 7 Příprava destiček	109
Okno Plate Editor (Editor destiček)	110
Příkazy nabídky File (Soubor)	111
Příkazy karty Settings (Nastavení)	111
Příkazy nabídky Editing Tools (Nástroje pro úpravy)	111

Příkazy panelu nástrojů	112
Vytvoření souboru destičky pomocí Plate Editor (Editor destiček)	113
Otevření nového souboru destičky v nástroji Plate Editor (Editor destiček)	113
Otevření stávajícího souboru destičky v nástroji Plate Editor (Editor destiček)	115
Nastavení nového souboru destičky	116
Přiřazení volitelných parametrů k souboru destičky	122
Přiřazení cíle jamkám	122
Přiřazení názvu vzorku jamkám	125
Přiřazení biologických souborů jamkám	126
Přiřazení čísel replikátů jamkám	128
Přiřazení série ředění standardním typům vzorků	129
Kopírování obsahu jamky do jiné jamky	131
Přidání poznámky k jamce	131
Výmaz veškerého obsahu jamky	132
Změna nastavení experimentu	133
Vytvoření skupin jamek	136
Změna stylů trasování	139
Zobrazení destičky ve formátu tabulky	140
Vytvoření rozložení destičky pomocí nástroje Plate Setup Wizard (Průvodce nastavením destičky)	142
Použití Setup Wizard (Průvodce nastavením) pro destičku	142
Kapitola 8 Provádění experimentů	145
Otevření okna Run Setup (Nastavení cyklu)	145
Okno Run Setup (Nastavení cyklu)	146
Karta Protocol (Protokol)	147
Karta Plate (Destička)	150
Karta Start Run (Spustit cyklus)	153
Provedení experimentu	154
Dialogové okno Run Details (Podrobnosti o cyklu)	156
Karta Run Status (Stav cyklu)	156
Karta Real-time Status (Stav v reálném čase)	158
Karta Time Status (Časový stav)	161
Provádění experimentů PrimePCR	162

Kapitola 9 Přehled analýzy dat	165
Okno Data Analysis (Analýza dat)	165
Panel nástrojů pro analýzu dat	166
Panel nabídek pro analýzu dat	167
Karta Details (Podrobnosti)	170
Nástroj pro výběr Step Number (Číslo kroku)	170
Zobrazení skupin jamek v analýze dat	171
Změna obsahu jamky po cyklu	171
Nastavení analýzy dat	172
Úprava prahu	172
Základní nastavení	172
Režim analýzy	173
Cykly pro analýzu	174
Nástroj pro výběr jamky	175
Položky nabídky nástroje pro výběr jamek po kliknutí pravým tlačítkem myši	176
Dočasné vyloučení jamek z analýzy	177
Grafy	178
Společné položky nabídky pro grafy po kliknutí pravým tlačítkem myši	178
Kopírování dat z grafů do schránky	179
Úprava základního nastavení prahů	179
Řazení cílových hodnot a dat vzorků	181
Zvětšení oblasti v grafu	182
Kopírování grafů do souboru Microsoft	182
Tabulky	183
Běžné položky nabídky pro tabulky po kliknutí pravým tlačítkem myši	183
Export	185
Export všech tabulek	185
Tvorba vlastního souboru pro export	186
Export do složky LIMS	187
Export dat ve formátu Seegene	187
Kapitola 10 Podrobnosti o analýze dat	189
Karta Quantification (Kvantifikace)	190
Možnosti pro fluorofor	190
Dialogové okno Trace Styles (Styly trasování)	191

Možnost Log Scale (Logaritmické měřítko)	192
Graf Standard Curve (Graf standardních křivek)	193
Možnosti nabídky grafu Amplification (Amplifikace)	194
Tabulka na kartě Quantification (Kvantifikace)	194
Karta Quantification Data (Kvantifikační data)	196
Tabulka Results (Výsledky)	196
Tabulka Standard Curve Results (Výsledky standardních křivek)	198
Tabulka Plate (Destička)	199
Tabulka RFU	199
Karta Melt Curve (Křivka tání)	200
Úprava dat Melt Curve (Křivka tání)	202
Karta Melt Curve Data (Data křivky tání)	203
Tabulka Melt Peaks (Vrcholy tání)	203
Tabulka Plate (Destička)	204
Tabulka RFU	205
Tabulka -d(RFU)/dT	206
Karta End Point (Koncový bod)	207
Data výsledků	208
Úprava analýzy dat koncových bodů	209
Tabulka RFU pro analýzu koncových bodů	209
Karta Allelic Discrimination (Alelická diskriminace)	210
Úprava dat pro alelickou diskriminaci	211
Možnosti nabídky grafu	212
Tabulka Allelic Discrimination (Alelická diskriminace)	212
Karta Custom Data View (Vlastní zobrazení dat)	214
Vytvoření vlastního zobrazení dat	215
Karta QC (Kontrola kvality)	216
Změna kritérií QC (Kontrola kvality)	216
Vyloučení jamek, které neprojdou testem QC (Kontrola kvality)	217
Karta Run Information (Informace o cyklu)	218
Hlášení z analýzy dat	219
Kategorie hlášení z analýzy dat	220
Vytvoření hlášení z analýzy dat	223
Vytvoření hlášení o skupinách jamek	224

Kapitola 11 Analýza exprese genu	225
Nastavení destičky pro analýzu exprese genu	225
Průvodce nastavením destičky	226
Grafy exprese genu	227
Sloupcový graf	228
Řazení cílových hodnot a dat vzorků	230
Úprava dat exprese genu	231
Nastavení experimentu	233
Hodnota stability cíle	235
Možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši	236
Tabulka dat	237
Možnost Show Details (Zobrazit podrobnosti)	238
Graf „clustergram“	240
Settings (Nastavení)	240
Možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši	240
Tabulka dat	241
Rozptylový graf	242
Nastavení	242
Možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši	242
Tabulka dat	243
Výsledků	244
Genová studie	245
Kalibrace mezi cykly	245
Dialogové okno Gene Study (Genová studie)	245
Karta Study Setup (Nastavení studie)	245
Příprava genové studie	246
Karta Study Analysis (Analýza studie)	247
Vytvoření hlášení o genové studii	248
Kategorie hlášení o genové studii	249
Příloha A Výpočty pro analýzu dat	251
Účinnost reakce	251
Relativní množství	251
Relativní množství při výběru kontroly	252
Směrodatná odchylka relativního množství	252

Korigovaná účinnost Cq (CqE)	253
Průměrná korigovaná účinnost Cq (MCqE)	253
Faktor normalizace	253
Normalizovaná exprese	254
Normalizovaná exprese při výběru kontroly	254
Směrodatná odchylka pro normalizovanou expresi	255
Normalizovaná exprese upravená podle nejvyšší úroveň exprese	256
Normalizovaná exprese upravená podle nejnižší úrovně exprese	256
Normalizovaná exprese upravená podle průměrné úrovně exprese	257
Směrodatná odchylka pro normalizovanou expresi s upraveným rozsahem	257
Regulace	258
Vzorce pro korigované hodnoty	259
Příloha B Správa uživatelů a rolí CFX Manager Dx	261
Správa uživatelů	261
Přidávání a odstraňování uživatelů	261
Správa práv rolí	263
Přihlášení do softwaru CFX Manager Dx	264
Změna uživatelů	264
Změna hesla uživatele	265
Zobrazení role a práv uživatele	265
Příloha C Integrace LIMS	267
Vytvoření datových souborů kompatibilních s LIMS	267
Nastavení možností složky LIMS a exportu dat	267
Tvorba protokolu LIMS	268
Vytvoření souboru LIMS	269
Spuštění cyklu LIMS	275
Export dat do LIMS	276
Příloha D Poradce při potížích s připojením k softwaru CFX Manager Dx	277
Protokol aplikací	277
Poradce při potížích	278
Výpadek napájení	278
Načtení souborů do počítače se softwarem CFX Manager Dx	280
Manuální instalace softwaru CFX Manager Dx	280

Přinstalování ovladačů	281
Příloha E Literatura	283

Obsah

Bezpečnost a shoda s předpisy




Pro bezpečný provoz systému CFX96 Dx nebo CFX96 Deep Well Dx se softwarem CFX Manager Dx, označovaného v tomto dokumentu jako systém Systém CFX Dx, společnost Bio-Rad důrazně doporučuje dodržovat bezpečnostní specifikace uvedené v této kapitole a v celém tomto návodu.


Důležité: Systémy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx jsou schváleny pro použití jako in vitro diagnostické (IVD) zdravotnické prostředky.

Bezpečnostní výstražné štítky

Výstražné štítky umístěné na přístroji a v této příručce vás upozorňují na možné zdroje zranění nebo poškození. [Tabulka 1](#) popisuje každý bezpečnostní výstražný štítek.

Tabulka 1. Význam bezpečnostních výstražných štítků

Ikona	Význam
	Výstražné upozornění na nebezpečí poškození těla nebo zařízení Provozování systému CFX Dx bez seznámení se s touto příručkou může představovat nebezpečí úrazu. Z bezpečnostních důvodů tento přístroj nepoužívejte způsobem, který není uveden v této příručce. Toto zařízení smí obsluhovat pouze kvalifikovaný laboratorní personál vyškolený k bezpečnému používání elektrických zařízení. Se všemi částmi systému manipulujte vždy opatrně a vždy mějte čisté, suché ruce.
	Výstražné upozornění na zacházení s biologicky nebezpečnými materiály Při manipulaci s biologicky nebezpečnými vzorky dodržujte doporučená bezpečnostní opatření a pokyny a dodržujte místní předpisy specifické pro vaši laboratoř a pracoviště.
	Výstražné upozornění na nebezpečí popálení Termocykler vytváří dostatek tepla, aby způsobil vážné popáleniny. Během provozu vždy používejte ochranné brýle nebo jinou ochranu očí. Před otevřením víka a vyjmutím vzorků vždy nechte blok vzorku vychladnout. Vždy zachovávejte maximální vzdálenost, aby nedošlo k náhodnému popálení kůže.

Ikona	Význam
	<p>Výstražné upozornění na nebezpečí výbuchu</p> <p>Bloky se vzorky mohou být za normálního provozu tak horké, že se kapaliny začnou vařit a mohou explodovat.</p>

Specifikace pro bezpečné používání a shoda s předpisy

Tabulka 2 obsahuje specifikace pro bezpečné používání systému Bio-Rad CFX Dx pro detekci PCR v reálném čase. Aby se zajistila shoda s limity FCC pro třídu A, musejí se s těmito přístroji používat dodávané stíněné kabely.

Tabulka 2. Podmínky bezpečného použití

Aspekty použití	Podmínky bezpečného použití
Jmenovitý příkon	100–240 V AC, 50–60 Hz, 850 W max.
Kategorie přepětí	II
Pojistky	10 A, 250 V, 5 × 20 mm, rychlý typ (počet: 2)
Prostředí	Pouze pro použití v krytých prostorech
Teplota pro použití	15–31 °C
Skladovací teplota	–20 až 60 °C
Relativní vlhkost	Až 80 % (nekondenzující)
Nadmořská výška	Až 2000 m n. m.
Stupeň znečištění	2

Shoda s předpisy

Systém detekce PCR v reálném čase CFX Dx byl testován a shledán v souladu se všemi příslušnými požadavky následujících bezpečnostních a elektromagnetických norem:

- IEC 61010-1:2010 (3. vyd.), EN61010-1:2010 (3. vyd.). Elektrické zařízení pro měření, kontrolu a laboratorní použití – Část 1: Všeobecné požadavky
- IEC 61010-2-010:2014, EN 61010-2-010:2014. Bezpečnostní požadavky na elektrická zařízení pro měření, regulaci a laboratorní použití. Část 2-010: Zvláštní požadavky na laboratorní vybavení pro ohřev materiálů

- IEC 61010-2-081:2015, EN 61010-2-081:2015. Bezpečnostní požadavky na elektrická zařízení pro měření, regulaci a laboratorní použití. Část 2-081: Zvláštní požadavky na automatické a poloautomatické laboratorní vybavení pro účely analýzy a jiné účely (včetně Dodatku 1)
- IEC 61010-2-101:2015 (2. vyd.). Bezpečnostní požadavky na elektrická zařízení pro měření, regulaci a laboratorní použití. Zvláštní požadavky na in vitro diagnostické (IVD) zdravotnické vybavení
- IEC 61326-1:2012 (třída A), EN 61326-1:2013 (třída A). Elektrická zařízení pro měření, kontrolu a laboratorní použití. Požadavky na EMC, Část 1: Všeobecné požadavky
- IEC 61326-2-6:2012, EN 61326-2-6:2013 (třída A). Elektrická zařízení pro měření, kontrolu a laboratorní použití. Požadavky EMC. Zvláštní požadavky na in vitro diagnostické (IVD) zdravotnické vybavení

Důležité: Toto zařízení generuje, používá a může vyzařovat vysokofrekvenční energii, a pokud není instalováno a používáno v souladu s poskytnutou instruktážní dokumentací, může způsobit škodlivé rušení rádiové komunikace. Provoz systémů v obytných zónách pravděpodobně způsobí škodlivé rušení, v takovém případě bude uživatel muset toto rušení na vlastní náklady odstranit.

Rizika

Systém detekce PCR v reálném čase CFX Dx je zkonstruován tak, aby fungoval bezpečně a efektivně, pokud je používán způsobem předepsaným výrobcem. Pokud se systém detekce PCR v reálném čase CFX Dx nebo kterékoli z jeho součástí používají jiným způsobem než určeným výrobcem, jeho ochranné mechanismy nemusí fungovat. Společnost Bio-Rad Laboratories, Inc., neodpovídá za žádné zranění ani poškození majetku způsobené použitím tohoto zařízení nespécifikovaným způsobem nebo úpravou přístroje neprovedenou společností Bio-Rad nebo jejím zplnomocněným zástupcem. Servis systému detekce PCR v reálném čase CFX Dx smí provádět pouze kvalifikovaný personál společnosti Bio-Rad.

Biologická rizika

Systém CFX Dx pro detekci PCR v reálném čase je laboratorní výrobek. Pokud se však vyskytnou biologicky nebezpečné vzorky, dodržujte následující pokyny a postupujte podle místních směrnic platných pro vaši laboratoř a pracoviště.

Poznámka: Během normálního provozu tohoto přístroje se neuvolňují žádné biologicky nebezpečné látky.

Všeobecná bezpečnostní opatření

- Vždy používejte laboratorní rukavice, plášť a bezpečnostní brýle s bočními kryty nebo ochranné brýle.
- Nedotýkejte se rukama úst, nosu a očí.
- Všechny řezné rány a odřeniny zcela zakryjte ještě před zahájením práce s potenciálně infekčními materiály.
- Po práci s potenciálně infekčními materiály si ještě před odchodem z laboratoře pečlivě umyjte ruce mýdlem a vodou.
- Před zahájením práce na pracovním stole si sundejte náramkové hodinky a šperky.
- Uchovávejte všechny infekční nebo potenciálně infekční materiály v nerozbitných nepropustných nádobách.
- Před opuštěním laboratoře si sundejte ochranný oděv.
- V rukavicích nepište, neberte telefony, nerozsvěcujte světla a nedotýkejte se předmětů, kterých se ostatní lidé mohou dotýkat bez rukavic.
- Rukavice často měňte. Sejměte je okamžitě, pokud jsou viditelně kontaminovány.
- Nevystavujte látky, u kterých nelze provést řádnou dekontaminaci, potenciálně infekčním látkám.
- Po dokončení práce s biologicky nebezpečným materiálem dekontaminujte pracovní plochu vhodným dezinfekčním prostředkem (např. v domácnosti používaným dezinfekčním přípravkem naředěným v poměru 1:10).

Specifická bezpečnostní opatření pro IVD

- Všechny pacientské vzorky jsou potenciálním biologickým rizikem a podle toho se s nimi musí zacházet při dodržování všeobecných bezpečnostních opatření.
- Během normálního provozu tohoto přístroje se neuvolňují žádné biologicky nebezpečné látky.

Povrchová dekontaminace



VÝSTRAHA! Před prováděním postupů dekontaminace přístroj vždy vypněte a odpojte od elektrické sítě, aby nedošlo k úrazu elektrickým proudem.

Následující oblasti lze čistit jakýmkoli baktericidním, virucidním nebo fungicidním dezinfekčním prostředkem nemocniční kvality:

- Vnější kryt a podvozek

- Vnitřní povrch reakčního bloku a jamky reakčního bloku
- Ovládací panel a displej

Při přípravě a aplikaci dezinfekčního prostředku postupujte podle pokynů poskytnutých výrobcem produktu. Po použití dezinfekčního prostředku několikrát opláchněte reakční blok a jamky reakčního bloku vodou. Po opláchnutí vodou důkladně reakční blok a jamky reakčního bloku vysušte.

Důležité: Nepoužívejte abrazivní nebo korozivní čisticí prostředky nebo silné alkalické roztoky. Tyto prostředky mohou poškrábat povrchy a poškodit reakční blok, což by vedlo ke ztrátě přesného tepelného řízení.

Likvidace biologicky nebezpečného materiálu

Následující potenciálně kontaminované materiály likvidujte v souladu s místními a státními předpisy platnými pro laboratoř:

- klinické vzorky;
- reagentie;
- použité reagenční nádoby nebo jiné spotřební materiály, které mohou být kontaminované.

Chemická rizika

Systém CFX Dx detekce PCR v reálném čase neobsahuje žádné potenciálně nebezpečné chemické materiály.

Rizika spojená s výbušností nebo hořlavostí

Systém CFX Dx pro detekci PCR v reálném čase nepředstavuje žádná neobvyklá nebezpečí z hlediska hořlavosti nebo výbuchu, pokud je správně používán tak, jak je stanoveno společností Bio-Rad Laboratories.

Rizika spojená s elektrickým proudem

Při práci se systémem CFX Dx pro detekci PCR v reálném čase nehrozí obsluze žádná mimořádná rizika spojená s elektrickým proudem, pokud se systém nainstaluje a obsluhuje správně bez provedení fyzické úpravy a pokud se připojí ke zdroji elektrického proudu o náležitě specifikaci.

Doprava

Před přesunutím nebo přepravou systému CFX Dx pro detekci PCR v reálném čase nebo jeho optického reakčního modulu či základny pro termocykler je nutné provést postupy dekontaminace. Systém CFX Dx pro detekci PCR v reálném čase a optické reakční moduly vždy přesouvejte nebo přepravujte v samostatných kontejnerech s dodaným obalovým materiálem, který přístroj ochrání před poškozením. Pokud nemáte vhodné kontejnery k dispozici, obraťte se na místní pobočku společnosti Bio-Rad.

Baterie

Termocykler Systém CFX Dx používá lithium kovovou knoflíkovou baterii 3 V a nikl metalový hydridový akumulátor 4,8 V pro zachování nastavení času a provozních dat v případě výpadku střídavého proudu. Pokud po vypnutí jednotky nezůstane nastaven čas nebo provozní data, může to znamenat, že baterie jsou již slabé. Pokud k tomu dojde, kontaktujte technickou podporu společnosti Bio-Rad pro pomoc.

Nepokoušejte se baterie sami vyměnit. Kontaktujte technickou podporu společnosti Bio-Rad.

Likvidace

Systém detekce PCR v reálném čase CFX Dx obsahuje elektrické materiály; ty nesmí být zlikvidovány jako netříděný odpad a musí být shromažďovány odděleně podle směrnice Evropské unie 2012/19/EU o odpadních elektrických a elektronických zařízeních – směrnice OEEZ. Před likvidací se obraťte na místního zástupce společnosti Bio-Rad a požádejte o informace o pokynech pro vaši zemi.

Záruka

Na systém detekce PCR v reálném čase CFX Dx a jeho příslušenství se vztahuje standardní záruka Bio-Rad. Podrobnosti o záruce získáte v místní pobočce společnosti Bio-Rad.

Kapitola 1 Úvod

Systémy pro amplifikaci PCR v reálném čase CFX Dx společnosti Bio-Rad určené k in vitro diagnostice (IVD) odpovídají nejnovějšímu technickému pokroku a umožňují kvantifikaci PCR se standardní křivkou, analýzou exprese genu, alelickou diskriminací a analýzou koncových bodů.

Systémy CFX Dx jsou tvořeny dvěma hardwarovými moduly a softwarem:

- Modul optické reakce CFX96 Dx nebo CFX96 Deep Well Dx (ORM)
- Termocykler C1000 Dx
- Software CFX Manager Dx

Při použití se softwarem CFX Manager Dx můžete

- ihned generovat výsledky pomocí Startup Wizard (Průvodce spuštěním);
- zadávat nebo upravovat informace o jamkách před cyklem, během něj i po něm;
- interpretovat komplexní data a udělat si dokonalý obrázek o své studii exprese genu díky nástrojům, jako například analýza kontrol PrimePCR a nástroj pro výběr referenčního genu;
- sestavovat komplexní hlášení obsahující data PCR v reálném čase.

Systémy detekce PCR CFX Dx

[Tabulka 3](#) obsahuje seznam výrobků pro IVD detekci PCR společnosti Bio-Rad dodávaných s přístrojem Systém CFX Dx.

Poznámka: Systém CFX Dx je dodáván se softwarem CFX Manager Dx, termocyklem C1000 Dx a modulem optické reakce CFX96 Dx nebo CFX96 Deep Well Dx.

Tabulka 3. Systémy IVD detekce PCR CFX

Katalogové číslo	Popis
1845097-IVD	CFX96 Dx ORM *
1844095-IVD	CFX96 Deep Well Dx ORM
1841000-IVD	Termocykler C1000 Dx
12007917	Software CFX Manager Dx v3.1

* Optický reakční modul

Určené použití

Systémy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx se softwarem CFX Manager Dx jsou určeny k provádění fluorescenční PCR pro detekci a kvantifikaci sekvencí nukleové kyseliny. Systémy a software jsou určeny k diagnostickému použití in vitro vyškolenými laboratorními techniky. Systémy by se měly používat s diagnostickými testy nukleové kyseliny třetích stran, vyrobenými a označenými k diagnostickým účelům.

Kde najít více informací

Tento dokument vysvětluje, jak bezpečně nastavit a používat systémy CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx pro detekci PCR v reálném čase, které jsou označeny značkou CE-IVD. Tyto systémy jsou v tomto dokumentu označovány jako Systém CFX Dx. Vedle toho tento dokument vysvětluje, jak se systémem Systém CFX Dx používat software Software CFX Manager Dx.

Tip: Pro otevření internetových stránek společnosti Bio-Rad klikněte na logo Bio-Rad v pravém horním rohu libovolného okna Software CFX Manager Dx. Tyto stránky obsahují odkazy na technické poznámky, návody, informace o výrobcích a technickou podporu. Na stránkách rovněž najdete mnoho technických zdrojů týkajících se různých metod a aplikací souvisejících s PCR, PCR v reálném čase a expresí genu.

Kapitola 2 Nastavení termocykleru C1000 Dx

Tato kapitola vysvětluje, jak nastavit termocykler systémů Systém CFX Dx C1000 Dx na vašem pracovišti.

Tip: Než budete termocykler nastavovat, se seznámte s termocyklerem a jeho optickým reakčním modulem, porty a příslušenstvím.

Požadavky na pracoviště

Tabulky v této kapitole obsahují seznam požadavků na místnost, prostředí a napájení nezbytných pro úspěšnou instalaci a používání termocykleru Systém CFX Dx.

Poznámka: Umístěte svůj termocykler Systém CFX Dx na rovný, suchý povrch s dostatečným prouděním chladného vzduchu, abyste zajistili jeho správný provoz.

Požadavky na stolní prostor

Tabulka 4. Požadavky na stolní prostor pro termocykler Systém CFX Dx

Položka	Specifikace
Příkon	Maximálně až 850 W
Frekvence	50–60 Hz, jedna fáze
USB porty	5 A, 1 B
Rozměry	Š: 13"; 33 cm H: 18"; 46 cm V: 14"; 36 cm
Hmotnost	47 lb; 21 kg

Požadavky na prostředí

Tabulka 5. Požadavky na prostředí pro termocykler Systém CFX Dx

Parametr	Rozsah	Rozsah vlhkosti
Provozní podmínky	15–31 °C 59–87,8 °F	Relativní vlhkost 0–80 %, nekondenzující
Skladovací podmínky	15–31 °C 59–87,8 °F	Relativní vlhkost 0–80 %, nekondenzující

Požadavky na elektrické napájení

Napájení termocykleru Systém CFX Dx musí být stabilní a musí odpovídat specifikacím, aby byl zajištěn řádný provoz. Napájecí kabel připojený do napájecího přívodu musí mít jmenovitou hodnotu 7 A nebo více.

Tabulka 6. Požadavky na elektrické napájení Systém CFX Dx

Položka	Specifikace
Síťové vstupní napětí	100–240 V AC; 50–60 Hz, jedna fáze
Maximální spotřeba energie	<850 W
Počet napájecích zásuvek	Minimálně 2 zásuvky: <ul style="list-style-type: none"> ■ 1 zásuvka pro termocykler ■ 1 zásuvka pro počítač se softwarem CFX Manager Dx

Přehled systému

Obrázky v této části zobrazují hlavní komponenty základny termocykleru C1000 Dx.

Čelní pohled



LEGENDA

1. **Optický reakční modul** – obsahuje optický systém pro sběr fluorescenčních dat a bloku termocykleru. Systémy detekce PCR v reálném čase CFX Dx podporují modul CFX96 Dx nebo CFX96 Deep Well Dx.

2. **Stavová LED kontrolka** – signalizuje, že se blok právě používá.

3. **Tlačítko víka** – otevírá nebo zavírá víko optického reakčního modulu a uzavírá reakční komoru.

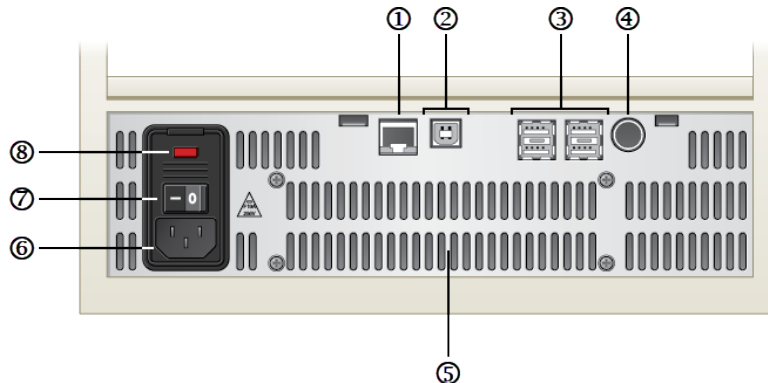
4. Základna termocykleru **C1000 Dx** – poskytuje systémový výkon a komunikaci a obsahuje optické reakční moduly CFX96 Dx a CFX96 Deep Well.

5. **Displej a tlačítka na předním panelu** – umožňuje ovládání systému v samostatném režimu.
Důležité: Aby byla zajištěna integrita dat studie genů IVD, software CFX Manager Dx nepodporuje data vygenerovaná termocyklerem v samostatném režimu.

6. **Vyhřívané vnitřní víko** – udržuje teplotu víka, aby nedocházelo ke kondenzaci a vypařování.

7. **Blok na vzorky/reakční blok** – umísťují se do něj reakční nádoby, včetně zkumavek a mikrodestiček.

Zadní pohled



LEGENDA

1. **Eternetový port** – připojuje termocykler C1000 Dx k vaší síti.
2. **Port USB typu B** – připojuje termocykler C1000 Dx k počítači se softwarem CFX Manager Dx.
3. **Porty USB typu A** – k přenosu dat na jednotku USB flash a z této jednotky.
Důležité: Aby byla zajištěna integrita dat studie genů IVD, software CFX Manager Dx nepodporuje data vygenerovaná termocyklerem v samostatném režimu.
4. **Sériový testovací port** – pouze pro servisní testování.
5. **Chladicí otvory** – chladí termocykler.
Důležité: Nezakrývejte chladicí otvory. Pro optimální provoz zajistěte, aby za základnou termocykleru mohl cirkulovat vzduch.
6. **Vstup napájení** – střídavý proud; použijte dodaný napájecí kabel.
7. **Vypínač** – kolébkový spínač pro zapnutí a vypnutí termocykleru.
8. **Pojistky** – technické údaje o pojistkách naleznete v části [Specifikace pro bezpečné používání a shoda s předpisy na straně 16](#).

Optické reakční moduly

Termocykler C1000 Dx je kompatibilní s následujícími optickými reakčními moduly společnosti Bio-Rad pro detekci PCR v reálném čase.

- Optický reakční modul CFX96 Dx
- Optický reakční modul CFX96 Deep Well Dx

Vybraný optický reakční modul CFX Dx a termocykler jsou dodávány v samostatných baleních. S optickým reakčním modulem je dodáván i software CFX Manager Dx.

Důležité: Optický reakční modul je kalibrován pro základnu termocykleru, se kterou je dodáván. Proto nepoužívejte optický reakční modul s jinou základnou termocykleru a naopak základnu termocykleru s jiným optickým reakčním modulem.

Součástí obou optických reakčních modulů je plně nastavitelné vyhřívané víko, které lze spolehlivě použít s širokým spektrem reakčních nádobek. Každý optický reakční modul má v sobě chladicí ventilátory pro rychlý ohřev a chlazení.

Každý optický reakční modul CFX Dx je tvořen těmito komponenty:

- **Vyhřívané vnitřní víko** – udržuje teplotu víka, aby nedocházelo ke kondenzaci a vypařování.
- **Blok na vzorky / reakční blok** – umísťují se do něj reakční nádoby, včetně zkumavek a mikrodestiček.
- **Tlačítko víka** – otevírá a zavírá víko a utěsňuje reakci.
- **Stavová LED kontrolka** – pokud svítí, signalizuje, že se blok právě používá.

Doporučené objemy vzorků

Když používáte termocykler C1000 Dx, je maximální objem vzorku určen typem použitého reakčního modulu. [Tabulka 7](#) uvádí doporučené objemy pro každý reakční modul.

Tabulka 7. Limit velikosti a objemu reakčních modulů

Počet jamek	Počet bloků	Doporučené objemy vzorků, μ l (Horní limit)
96jamkový	1	10–50
96jamkový, hluboké	1	10–125

Instalace termocyklieru C1000 Dx

Základna termocyklieru C1000 Dx se dodává v samostatné krabici oddělené od optického reakčního modulu. Balení obsahuje:

- Termocyklier C1000 Dx se základnou
- Přívodní šňůra
- 1 kabel USB

Instalace termocyklieru C1000 Dx:

1. Rozbalte a nastavte termocyklier C1000 Dx se základnou.
2. Připojte reakční modul k základně.
3. Odstraňte zajišťovací šroub.

Tato část podrobně vysvětluje tyto úkoly.

Rozbalení a usazení termocyklieru C1000 Dx

Důležité: Před použitím termocyklieru si přečtěte informace v [Bezpečnost a shoda s předpisy na straně 15](#) a [Bezpečnostní výstražné štítky na straně 15](#).

Tip: Při usazování se ujistěte, že máte okolo termocyklieru dostatek prostoru na počítač, na kterém poběží software CFX Manager Dx.

Jak rozbalit a usadit termocyklier se základnou

1. Najděte krabici se základnou termocyklieru.
2. Vyjměte základnu z obalu.

Tip: Uchovejte obal pro budoucí použití. Pokud vám nějaká položka chybí nebo je poškozena, obraťte se na místní pobočku společnosti Bio-Rad.

3. Umístěte základnu termocyklieru na rovný, suchý povrch s dostatečným prouděním chladného vzduchu, abyste zajistili její správný provoz.
4. Najděte v obalu napájecí šňůru a připojte jeden její konec do napájecí zdířky na zadní straně termocyklieru.

Důležité: V tuto chvíli ještě přístroj nezapínejte.

5. Připojte k základně IVD modul reakce. Přejděte na [Připojení optického reakčního modulu na straně 29](#).

Připojení optického reakčního modulu

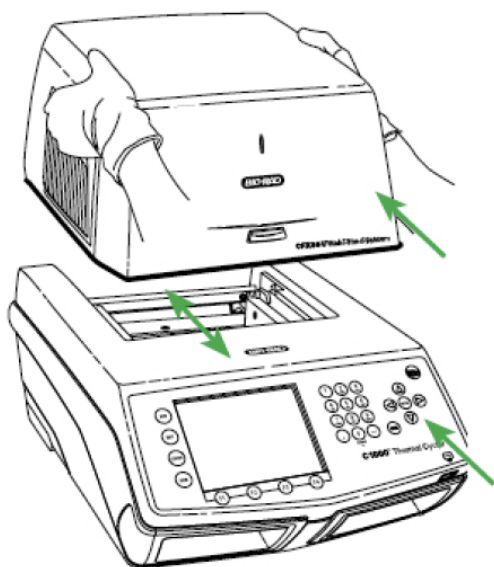
Společnost Bio-Rad dodává optický reakční modul CFX96 Dx nebo CFX96 Deep Well se základnou termocyklieru C1000 Dx (dodává se ve zvláštní bedně). Opatrně rozbalte optický reakční modul a ověřte, že se napájecí a USB kabely nacházejí uvnitř přepravního kontejneru.

Důležité: Každý optický reakční modul je kalibrován pro základnu termocyklieru, se kterou je dodáván. Proto nepoužívejte optický reakční modul s jinou základnou termocyklieru.

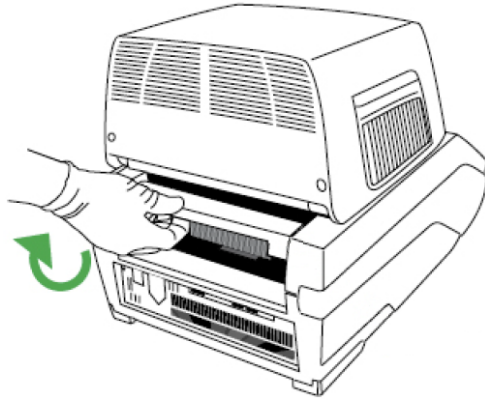
Zajistěte, aby základna termocyklieru C1000 Dx spočívala na rovném, suchém povrchu s dostatečným proudem chladného vzduchu, aby mohla správně fungovat.

Připojení reakčního modulu k základně termocyklieru

1. Umístěte termocyklier C1000 Dx na vhodné místo s aretační lištou dolů.
2. Zvednutím optického reakčního modulu pomocí výřezů po stranách nad boční ventilační otvory a umístěte modul do oddílu pro reakční modul C1000 Dx a ponechte v prostoru asi 2 cm volného místa. Po umístění by měl optický modul zakrývat logo Bio-Rad na přední straně oddílu.



3. Táhněte za aretační tyč nahoru, dokud není v jedné rovině se stranami oddílu pro modul. Tato akce přesune modul dopředu a zamkne jej na místě.



4. Zkontrolujte, zda je modul zcela a v rovné poloze usazen v základně termocykleru C1000 Dx. Mezi modulem a základnou by neměl být žádný další prostor.
5. Zapojte napájecí šňůru do zadní části základny termocykleru C1000 Dx a do příslušné elektrické zásuvky a poté stiskněte spínač napájení na zadním panelu termocykleru C1000 Dx a spusťte systém.

Odstranění zajišťovacího šroubu

Důležité: Optické reakční moduly společnosti Bio-Rad jsou dodávány s červeným zajišťovacím šroubem ve vnitřním víku, který stabilizuje optický reakční modul během přepravy. Před použitím optického reakčního modulu je nutné zajišťovací šroub vyjmout.

Jak odstranit zajišťovací šroub

1. Termocykler C1000 Dx rozpozná přítomnost zajišťovacího šroubu v optickém reakčním modulu a zobrazí hlášení s pokynem k odstranění tohoto šroubu.

Shipping Screw Status

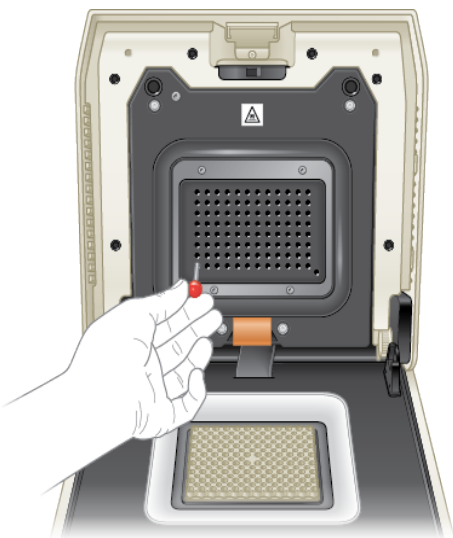
Shipping Screw is inserted.

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. Při odstraňování zajišťovacího šroubu postupujte podle pokynů. Následující obrázek ukazuje polohu zajišťovacího šroubu.



Poznámka: Pokud budete muset z libovolného důvodu reakční modul vrátit, musíte zajišťovací šroub znovu upevnit na toto místo. Uchovávejte šroub na bezpečném a přístupném místě.

Zakládání destiček se vzorky

Pro zajištění rovnoměrného ohřevu a chlazení vzorků musí být destičky v plném kontaktu s reakčním blokem. Chcete-li zajistit odpovídající kontakt, postupujte následovně:

- Před vložením vzorků zkontrolujte, zda je blok čistý.
- Jednotlivé zkumavky, proužky se zkumavkami nebo mikrodestičky pevně zatlačte do jamek bloku.
- Při použití jedné nebo několika zkumavek použijte rám na zkumavky (katalogové č. 1849000 nebo č. 1849001) nebo nasadte alespoň jednu prázdnou zkumavku do každého rohu bloku, abyste zajistili rovnoměrný tlak na jednotlivé zkumavky.

Zakládání destiček do optického reakčního modulu

Důležité: Při spuštění Systém CFX Dx vždy vyvažujte proužky se zkumavkami nebo přídávejte uzávěry zkumavek do rohových jamek, abyste zajistili rovnoměrný tlak vyhřívaného víka po celém bloku.

Jak zakládat destičky do optického reakčního modulu

1. Otevřete motorizované víko jedním z následujících způsobů:
 - V podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) softwaru CFX Manager Dx klikněte na položku Open Lid (Otevřít víko).
 - Na kartě Start Run (Spustit cyklus) softwaru klikněte na položku Open Lid (Otevřít víko).
 - Stiskněte tlačítko víka na přední straně přístroje.
2. Umístěte mikrodestičku, jednotlivé zkumavky nebo proužky se zkumavkami s utěsněnými víky do bloku.

Důležité: Ujistěte se, že jsou zkumavky zcela utěsněné, aby nedošlo k úniku materiálu.

Tip: Pro optimální výsledky založte vzorky o objemu 10–25 µl pro Systém CFX Dx.

3. Pro přesnou analýzu dat ověřte, že orientace reakcí v bloku přesně odpovídá orientaci obsahu jamek na kartě Plate (Destička) softwaru CFX Manager Dx.

Tip: Obsah jamek můžete upravovat pomocí softwaru CFX Manager Dx před cyklem, během něho i po něm.

4. Uzavřete motorizované víko jedním z následujících způsobů:
 - Stiskněte tlačítko víka na přístroji.
 - V podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) softwaru klikněte na položku Close Lid (Zavřít víko).
 - Na kartě Start Run (Spustit cyklus) softwaru klikněte na položku Close Lid (Zavřít víko).

Důležité: Dbejte na to, aby při zavírání nebylo víko ničím blokováno. Ačkoliv je začleněn bezpečnostní mechanismus, který při zjištění překážky zabrání zavření víka, nenechávejte na trase víka před uzavřením žádné předměty.

Spotřební materiál pro PCR – plastové díly a reagensie

Pokud chcete najít a objednat doporučené plastové díly a spotřební materiály pro systém CFX Dx, jděte na [internetové stránky společnosti Bio-Rad](#). Na tyto stránky se dostanete z položek nabídky Help > PCR Plastic Consumables Web Site (Nápověda > Internetové stránky s plasty a spotřebními materiály pro PCR) v softwaru CFX Manager Dx. Dále vám se snadným výběrem a objednááním spotřebního materiálu a reagensií pro vaše konkrétní zařízení a potřeby PCR pomůže [nástroj pro výběr plastových dílů](#) a [nástroj pro výběr reagensií](#).

Detekce připojených přístrojů

Při instalaci instalátor softwaru Software CFX Manager Dx automaticky nainstaluje do počítače se softwarem Software CFX Manager Dx ovladače přístroje. CFX Manager Dx po spuštění softwaru rozpozná připojené přístroje.

Důležité: Před instalací softwaru musíte od počítače se softwarem CFX Manager Dx odpojit termocykler C1000 Dx. Při instalaci softwaru není nutné vypínat termocykler.

Jak detekovat připojené přístroje

1. Pokud jste tak doposud neučinili, zapojte hranatý (male) konec dodaného kabelu USB typu B do portu USB typu B na zadní straně základny .
2. Druhý konec zapojte do USB portu počítače se softwarem CFX Manager Dx.
3. Pokud ještě není termocykler v provozu, zapněte jej stisknutím vypínače napájení na zadní straně přístroje.
4. Spusťte software Software CFX Manager Dx.

Software automaticky rozpozná připojený přístroj a zobrazí v podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) okna Home (Domů) jeho název.

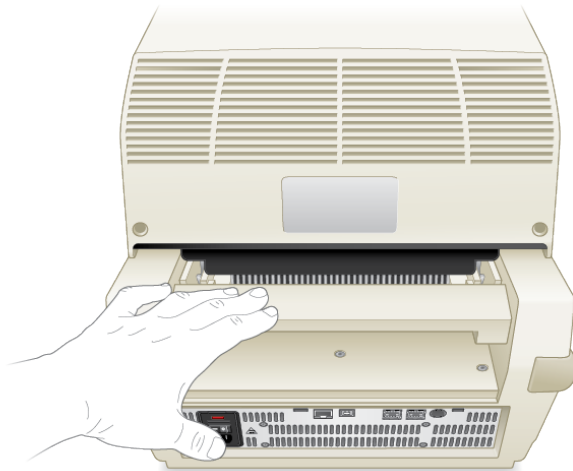
Poznámka: Pokud se přístroj v podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) neobjeví, ujistěte se, že je USB kabel správně připojen. Pro opětovnou instalaci ovladačů vyberte v okně Home (Domů) softwaru Software CFX Manager Dx možnost Tools > Reinstall Instrument Drivers (Nástroje > Znovu instalovat ovladače přístroje).

Odpojení reakčního modulu Systém CFX Dx

Důležité: Před odpojením reakčního modulu vypněte termocykler C1000 Dx (viz [Vypnutí termocykleru C1000 Dx na straně 34](#)). Chladicí žebra v reakčním modulu mohou být bezprostředně po provedení protokolu nebo inkubace horká. Před odpojením reakčního modulu se ujistěte, že jsou žebra chladná.

Jak odpojit optický reakční modul od základny termocykleru

1. Na zadní straně základny termocykleru zatlačte na pojistnou tyč, abyste odjistili a uvolnili optický reakční modul.



2. Opatrně vytáhněte optický reakční modul z vyhrazeného prostoru s využitím výřezů po stranách.
3. Položte optický reakční modul na čistý, rovný povrch, kde bude chráněn před nárazy, poškrábáním a pádem.

Vypnutí termocykleru C1000 Dx

Jak vypnout termocykler

1. Po cyklu stiskněte tlačítko pro otevření víka na přední straně optického reakčního modulu CFX, abyste získali přístup k vzorkům založeným v bloku.
2. Vyjměte vzorky z bloku a stiskněte tlačítko pro uzavření víka.
3. Pro vypnutí systému stiskněte vypínač napájení na zadním panelu termocykleru C1000 Dx .

Kapitola 3 Instalace softwaru CFX Manager Dx

Tato kapitola vysvětluje, jak nainstalovat software CFX Manager Dx.

Software CFX Manager Dx je nezbytný pro analýzu PCR dat ze systémů CFX96 Dx a CFX96 Deep Well Dx v reálném čase. Tímto softwarem můžete uvedené systémy rovněž ovládat v režimu softwarového ovládání.

Informace o instalaci termocykleru Systém CFX Dx a modulu optické reakce jsou uvedeny v kapitole [Nastavení termocykleru C1000 Dx na straně 23](#).

Požadavky na systém

Tabulka 8 uvádí minimální a doporučené systémové požadavky pro počítač se softwarem Software CFX Manager Dx (označovaný jako počítač CFX Manager Dx).

Tabulka 8. Požadavky na počítač pro software Software CFX Manager Dx

Systém	Minimální	Doporučené
Operační systém	Microsoft Windows 7 SP1 Pro	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> ■ Microsoft Windows 7 SP2 Pro (32- a 64bitový) ■ Microsoft Windows 10 Pro (pouze 64bitový) ■ Microsoft Windows 10 Enterprise (pouze 64bitový)
Důležité: Zabezpečené spuštění musí být na systémech Microsoft Windows 10 Pro i Enterprise neaktivní.		
Porty	2 vysokorychlostní porty USB 2.0	2 vysokorychlostní porty USB 2.0
Místo na pevném disku	128 GB	128 GB
Rychlost procesoru	2,4 GHz, Dual Core	2,4 GHz, Quad Core
RAM	4 GB RAM	8 GB RAM
Rozlišení obrazovky	1024 × 768 s režimem true color	1280 × 1024 s režimem true color
Čtečka PDF		Čtečka PDF Adobe nebo čtečka PDF Windows z některé z podporovaných sad Microsoft Office: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2007 ■ 2010 ■ 2013

Instalace softwaru CFX Manager Dx

Důležité: Před instalací nebo upgradem softwaru musíte od počítače CFX Manager Dx odpojit všechny připojené přístroje. Při instalaci softwaru není nutné vypínat termocykler. Ujistěte se, že jste uložili všechny cykly a že neprobíhají žádné experimenty.

Poznámka: Pokud instalujete software Software CFX Manager Dx na systému Windows 10, před zahájením instalace se ujistěte, že je deaktivováno zabezpečené spouštění.

Instalace Software CFX Manager Dx

1. V případě potřeby odpojte od počítače všechny připojené přístroje.
Najděte a odpojte USB kabel přístroje z počítače se softwarem CFX Manager Dx. Konec zapojený do přístroje můžete ponechat na místě.
2. Přihlaste se k počítači se softwarem CFX Manager Dx s oprávněními administrátora.
3. Dejte CD softwaru CFX Manager Dx do CD jednotky počítače.
4. Automaticky by se měla objevit spouštěcí stránka softwaru. Na spouštěcí stránce dvakrát klikněte na možnost Install Software (Instalovat software).

Poznámka: Pokud se spouštěcí stránka neotevře automaticky, přejděte na CD jednotku, otevřete složku CFX_Manager a dvakrát klikněte na soubor setup.exe pro spuštění průvodce instalací softwaru.

Tip: V průvodci instalací klikněte na tlačítko Documentation (Dokumentace) pro vyhledání dohledatelných kopií poznámek k vydání, návodů pro přístroje a další dokumentace.

5. Pro dokončení instalace postupujte podle pokynů na obrazovce. Po dokončení se na pracovní ploše počítače objeví ikona softwaru CFX Manager.
6. Po dokončení instalace můžete CD disk bezpečně vysunout.

Detekce připojených přístrojů

Během instalace instalátor softwaru CFX Manager Dx automaticky nainstaluje ovladače nástroje do počítače se softwarem CFX Manager Dx. CFX Manager Dx po spuštění softwaru rozpozná připojené přístroje.

Jak detekovat připojené přístroje

1. Pokud jste tak doposud neučinili, zapojte hranatý (male) konec dodaného kabelu USB typu B do portu USB typu B na zadní straně základny přístroje.
2. Druhý konec (port) zapojte do USB portu počítače se softwarem CFX Manager Dx.

3. Pokud ještě není přístroj v provozu, zapněte jej stiskem vypínače napájení na zadní straně přístroje.
4. Spustíte software CFX Manager Dx.

Software automaticky rozpozná připojený přístroj a zobrazí v podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) okna Home (Domů) jeho název.

Poznámka: Pokud se přístroj v podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) neobjeví, ujistěte se, že je USB kabel správně připojen. Pro přeinstalování ovladačů vyberte v okně Home (Domů) softwaru CFX Manager Dx položky Tools > Reinstall Instrument Drivers (Nástroje > Znovu instalovat ovladače přístroje).

Softwarové soubory

Tabulka 9 uvádí typy souborů softwaru Software CFX Manager Dx.

Tabulka 9. Typy souborů softwaru Software CFX Manager Dx

Typ souboru	Koncovka	Podrobnosti
Protokol	.prcl	Obsahuje podrobnosti o nastavení protokolu pro provedení cyklu PCR.
Destička	.pltd	Obsahuje podrobnosti o nastavení destičky pro provedení cyklu PCR.
Data	.pcrd	Obsahuje výsledky experimentu a analýzy PCR.
Cyklus PrimePCR	.csv	Obsahuje protokol a uspořádání destičky pro destičky PrimePCR.
Genová studie	.mgxd	Obsahuje výsledky více cyklů PCR a analýzy exprese genu.
LIMS	.plrn	Obsahuje informace o nastavení destičky a protokolu, které jsou nezbytné pro provedení LIMS kompatibilního cyklu.

Doporučená opatření pro síťové zabezpečení

Společnost Bio-Rad doporučuje, abyste při realizaci opatření v rámci síťového zabezpečení počítače používaného se systémem CFX96 Dx spolupracovali s vlastním oddělením IT. Například:

- Nainstalujte a nakonfigurujte vhodné aplikace pro antivirovou ochranu a firewall.
Důležité: Nakonfigurujte antivirový program tak, aby skenování počítače probíhalo mimo pracovní dobu nebo ve chvíli, kdy přístroj není v aktivním provozu. Pokud se skenování antivirového programu spustí, zatímco software CFX Manager Dx pracuje na experimentu, může dojít k zrušení pracovního cyklu a ke ztrátě dat.
- Software CFX Manager Dx nemá funkci přerušení relace uživatele v případě neaktivity. Využijte opatření pro zabezpečení přístupu, které obsahuje systém Windows nebo aplikace třetích stran (například dle potřeby využijte spořič obrazovky s nutností přihlášení).
- Zabezpečení přenosných médií:
 - Na ochranu dat používejte na svém USB zařízení hesla a šifrování.
 - Pro všechna přenosná média deaktivujte funkce automatického spuštění a přehrávání.
 - Při každém připojení USB paměti aktivujte USB skenování.
- Používejte zálohovací nástroj, který usnadní obnovu dat.

Kapitola 4 Pracovní plocha

CFX Manager Dx poskytuje rozhraní pro nastavení destiček, přípravu protokolů PCR, jejich spuštění na přístrojích CFX Dx a analýzu dat z cyklů PCR.

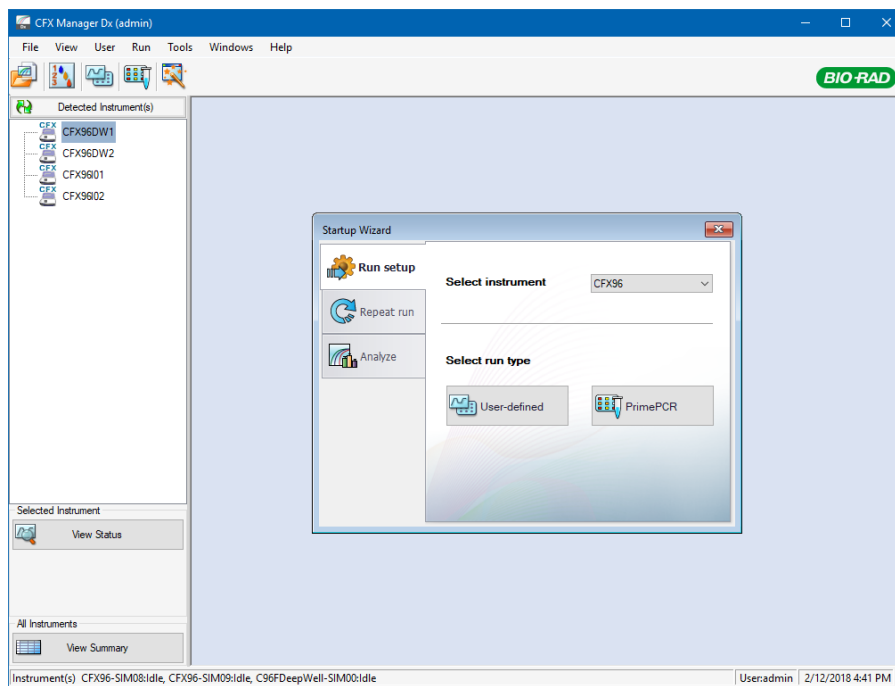
Software CFX Manager Dx obsahuje pět primárních pracovních ploch:

- Okno Home (Domů)
- Startup Wizard (Průvodce spuštěním)
- Okno Protocol Editor (Editor protokolu)
- Okno Plate Editor (Editor destiček)
- Okno Data Analysis (Analýza dat)

Každá pracovní plocha je zobrazena a stručně popsána v této kapitole.

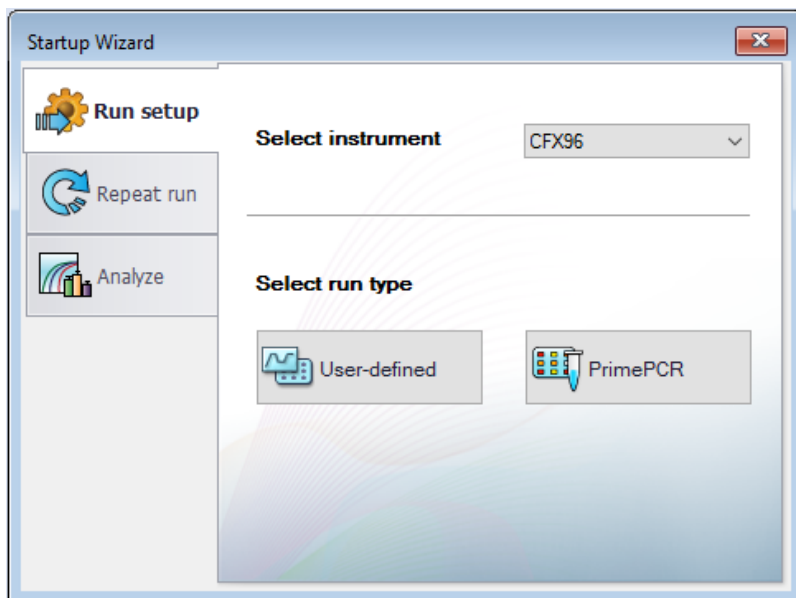
Okno Home (Domů)

Software CFX Manager Dx se otevře v okně Home (Domů) a zobrazí se nástroj Startup Wizard (Průvodce spuštěním), ze kterého můžete nastavit experiment, provést nebo zopakovat cyklus nebo analyzovat stávající cyklus. Z okna Home (Domů) můžete také prohlížet protokoly aplikací a přístrojů, vytvářet a spravovat uživatele a získat přístup k různým užitečným nástrojům. Více informací naleznete v [Kapitola 5, Okno Home \(Domů\)](#).



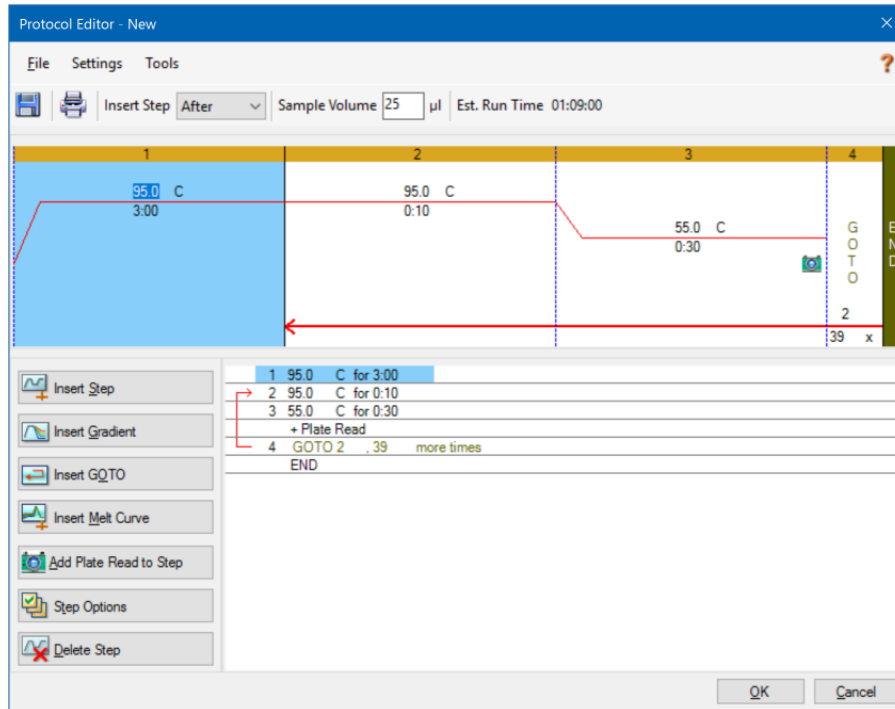
Startup Wizard (Průvodce spuštěním)

Pomocí nástroje Startup Wizard (Průvodce spuštěním) můžete rychle nastavit a provádět uživatelem definované experimenty nebo vybrat a provést experiment PrimePCR. Rovněž je možné přes tohoto průvodce zopakovat cyklus nebo analyzovat data cyklu.



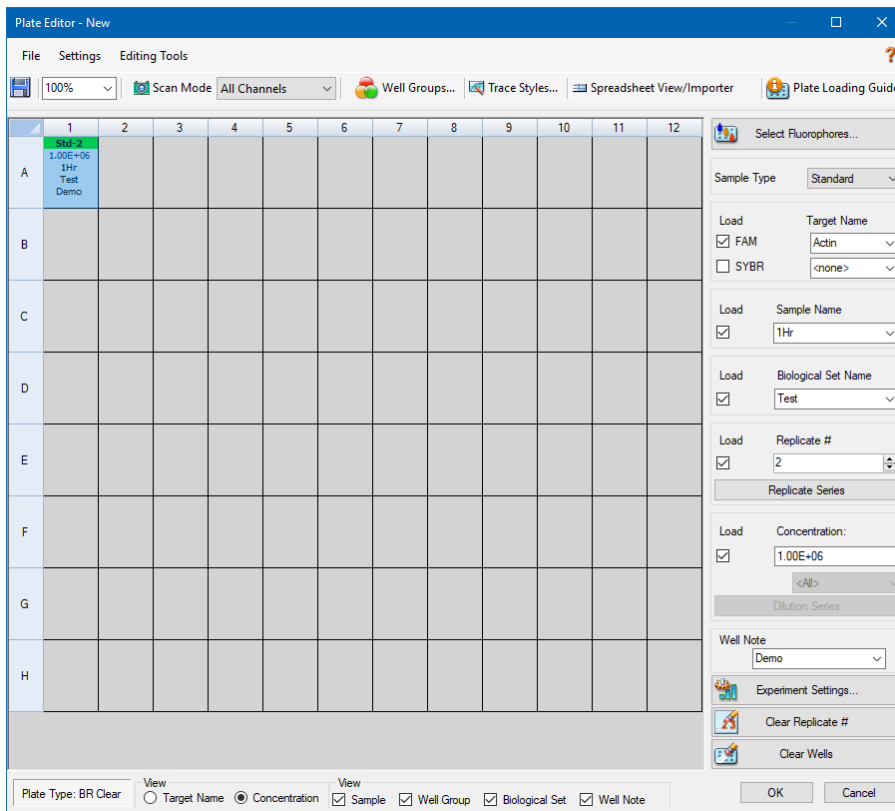
Okno Protocol Editor (Editor protokolu)

V nástroji Protocol Editor (Editor protokolu) můžete vytvářet, otevírat, kontrolovat a upravovat protokol. Můžete také změnit teplotu víka pro otevřený protokol. Funkce Protocol Editor (Editor protokol) je podrobně popsána v [Kapitola 6, Vytváření protokolů](#).



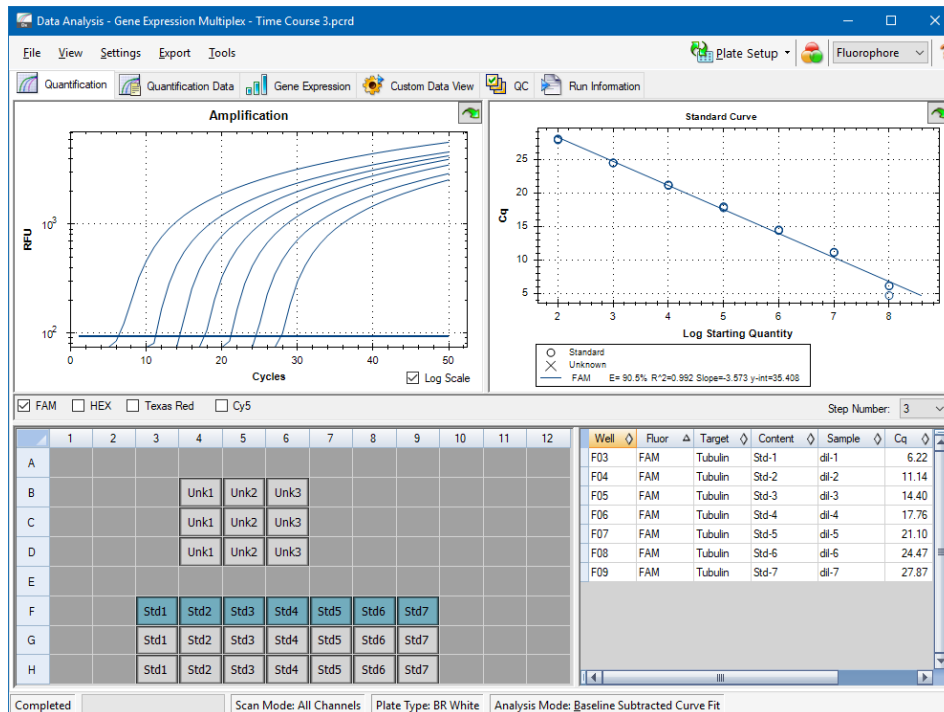
Okno Plate Editor (Editor destiček)

V nástroji Plate Editor (Editor destiček) můžete vytvářet, otevírat, kontrolovat a upravovat destičky. Funkce nástroje Plate Editor (Editor destiček) jsou podrobně popsány v [Kapitola 7, Příprava destiček](#).



Okno Data Analysis (Analýza dat)

V okně Data Analysis (Analýza dat) můžete prohlížet a porovnávat data cyklu, provádět statistické analýzy, exportovat data a vytvářet hlášení připravená k publikování. Podrobné informace k položce Data Analysis (Analýza dat) naleznete v [Kapitola 9, Přehled analýzy dat](#). A také v [Kapitola 10, Podrobnosti o analýze dat](#).



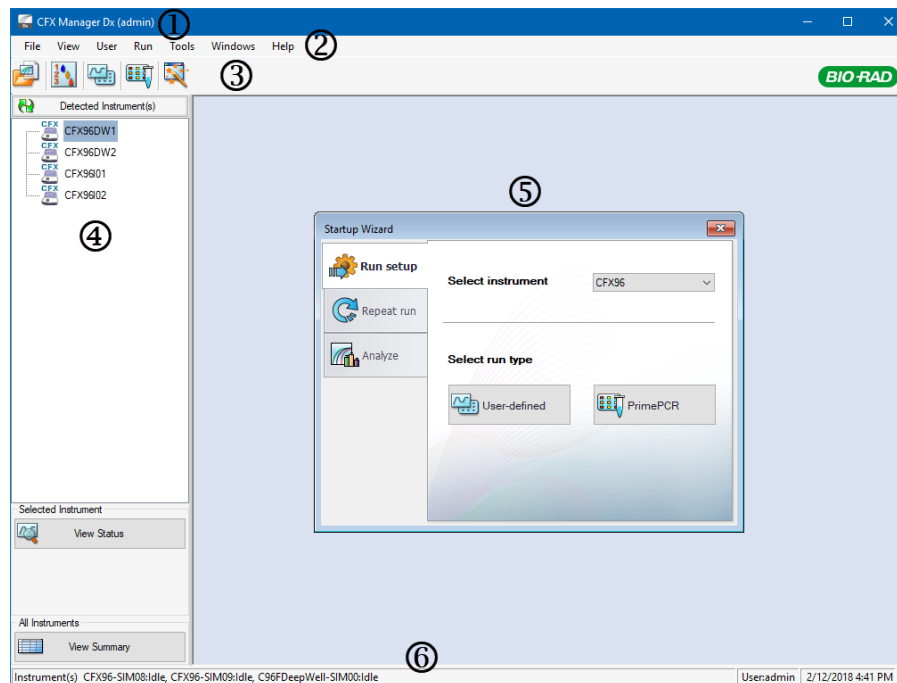
Kapitola 5 Okno Home (Domů)

Software CFX Manager Dx poskytuje rozhraní pro vytváření protokolů PCR, jejich provádění na systémech CFX Dx a analýzu dat cyklu PCR.

Tato kapitola představuje software Software CFX Manager Dx a popisuje funkce přístupné z okna Home (Domů).

Okno Home (Domů)

Software CFX Manager Dx se otevře v okně Home (Domů) a zobrazí se nástroj Startup Wizard (Průvodce spuštěním), ze kterého můžete nastavit, provést nebo zopakovat cyklus nebo analyzovat stávající cyklus. Z okna Home (Domů) můžete také prohlížet protokoly aplikací a přístrojů, vytvářet a spravovat uživatele a získat přístup k různým užitečným nástrojům.



LEGENDA

1. Záhloví softwaru obsahuje název softwaru a přihlášeného uživatele.
2. Panel nabídek umožňuje rychlý přístup k příkazům nabídek File (Soubor), View (Zobrazit), Users (Uživatelé), Run (Cyklus), Tools (Nástroje), Window (Okno) a Help (Nápověda).
3. Příkazy na panelu nástrojů umožňují rychlý přístup k možnostem nabídek.
4. Levý panel ukazuje přístroje připojené k počítači se softwarem CFX Manager Dx a obsahuje tlačítka, kterými můžete ovládat víko a zobrazovat stav přístrojů.
5. Hlavní panel obsahuje pracovní okno. Výchozím pracovním oknem na obrazovce Home (Domů) je Startup Wizard (Průvodce spuštěním).
6. Na stavovém řádku jsou uvedeny názvy připojených přístrojů a přihlášený uživatel.

Příkazy nabídky File (Soubor)

New (Nový) – otevře dialogové okno, ze kterého můžete zvolit vytvoření nového protokolu, tabulky nebo genové studie.

Open (Otevřít) – otevře dialogové okno, ze kterého můžete zvolit navigaci a otevření existujícího protokolu, destičky, datového souboru, genové studie, souboru LIMS, nebo soubor cyklu PrimePCR.

Recent Data Files (Poslední datové soubory) – zobrazí seznam naposledy otevřených souborů PCR.

Repeat a Run (Opakovat cyklus) – otevře Průzkumníka Windows do umístění uložených souborů PCR, ve kterém můžete vyhledat cyklus, který se má opakovat.

Exit (Odejít) – zavře CFX Manager Dx.

Příkazy nabídky View (Zobrazit)

Application Log (Protokol aplikací) – zobrazuje protokol o použití softwaru od počáteční instalace až po aktuální den.

Run Reports (Hlášení o cyklu) – zobrazí seznam hlášení o cyklu.

Startup Wizard (Průvodce spuštěním) – zobrazí v hlavním panelu Startup Wizard (Průvodce spuštěním).

Run Setup (Nastavení cyklu) – zobrazí v hlavním panelu okno Run Setup (Nastavení cyklu).

Instrument Summary (Souhrn nástrojů) – zobrazí v hlavním panelu okno Instrument Summary (Souhrn nástrojů).

Detected Instruments (Detekované nástroje) – přepíná mezi zobrazením a nezobrazováním připojených nástrojů v levém podokně. Ve výchozím nastavení software zobrazuje v levém podokně připojené nástroje.

Toolbar (Panel nástrojů) – přepíná mezi zobrazením a nezobrazováním panelu nástrojů v horní části obrazovky. Ve výchozím nastavení software zobrazuje panel nástrojů.

Status Bar (Stavový řádek) – přepíná mezi zobrazením a nezobrazením stavového řádku ve spodní části obrazovky. Ve výchozím nastavení software zobrazuje stavový řádek.

Show (Zobrazit) – otevře dialogové okno, ze kterého můžete

- Zobrazit nebo blokovat zobrazení protokolu Status (Stav).
- Otevřít a zobrazit datovou složku CFX Manager Dx.
- Otevřít a zobrazit datovou složku uživatele.
- Otevřít a zobrazit složku se soubory LIMS.

- Otevřít a zobrazit složku PrimePCR.
- Zobrazit historii cyklu.
- Zobrazit vlastnosti všech připojených nástrojů.

Příkazy nabídky User (Uživatel)

Select User (Vybrat uživatele) – otevře obrazovku Login (Přihlášení), na které můžete vybrat uživatele z rozevíracího seznamu User Name (Uživatelské jméno) a přihlásit se do aplikace.

Change Password (Změnit heslo) – otevře dialogové okno Change Password (Změnit heslo), ve kterém mohou uživatelé své heslo do softwaru Software CFX Manager Dx.

User Preferences (Uživatelské předvolby) – otevře dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby), ve kterém mohou uživatelé měnit výchozí nastavení pro

- odesílání a příjem e-mailových oznámení při dokončení cyklu,
- ukládání datových souborů,
- vytváření protokolů pomocí nástroje Protocol Editor (Editor protokolu) nebo Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu),
- vytváření destiček,
- analýzu dat,
- provádění analýzy exprese genu,
- stanovení kvality dat,
- export dat pro přístroj CFX Dx.

User Administration (Správa uživatelů) – otevře dialogové okno User Administration (Správa uživatelů), ve kterém mohou administrátoři vytvářet uživatele, měnit povolení rolí a přiřazovat role uživatelům.

Bio-Rad Service Login (Servisní přihlášení Bio-Rad) – pouze pro použití pracovníky technického servisu Bio-Rad. Tento příkaz nepoužívejte.

Příkazy nabídky Run (Cyklus)

User-defined Run (Cyklus definovaný uživatelem) – otevře okno Run Setup (Nastavení cyklu), ve kterém můžete nastavit uživatelem definovaný protokol a destičku a následně provést experiment s PCR na vybraných přístrojích.

PrimePCR Run (Cyklus PrimePCR) – otevře kartu Start Run (Spustit cyklus) v okně Run Setup (Nastavení cyklu) s načteným výchozím protokolem PrimePCR a rozložením destičky na základě vybraného přístroje.

End-Point Only Run (Cyklus pouze s koncovými body) – otevře kartu Start Run (Spustit cyklus) v okně Run Setup (Nastavení cyklu) s načteným výchozím protokolem koncových bodů a rozložením destičky na základě vybraného přístroje.

Qualification Run (Cyklus kvalifikace) – otevře kartu Start Run (Spustit cyklus) v okně Run Setup (Nastavení cyklu) s načteným výchozím protokolem kvalifikace Bio-Rad a rozložením destičky pro vybraný přístroj.

Příkazy nabídky Tools (Nástroje)

Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix) – otevře Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix), ve které můžete vytvořit reakční směs a tisknout výpočty.

Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) – otevře dialogové okno Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu), ve kterém můžete snadno vytvořit nový protokol.

T_a Calculator (Kalkulačka T_a) – otevře nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a), ve kterém můžete snadno spočítat teplotu hybridizace primerů.

Dye Calibration Wizard (Průvodce kalibrací barviva) – otevře nástroj Dye Calibration (Průvodce kalibrací barviva), ve kterém můžete kalibrovat přístroj pro nový fluorofor.

Reinstall Instrument Drivers (Přeinstalovat ovladače přístroje) – přeinstaluje ovladače, které řídí komunikaci se systémy Bio-Rad PCR v reálném čase.

Zip Data and Log Files (Zip Data a soubory protokolu) – otevře dialogové okno, ve kterém můžete vybrat soubory, které chcete komprimovat a uložit do zazipovaného souboru pro uložení nebo odeslání e-mailem.

Batch Analysis (Analýza dávek) – otevře dialogové okno Batch Analysis (Analýza dávek), ve kterém můžete nastavit parametry pro analýzu více než jednoho datového souboru najednou.

Options (Možnosti) – otevře dialogové okno, ve kterém můžete

- Konfigurovat nastavení e-mailového serveru.
- Konfigurovat nastavení exportu pro LIMS a další datové soubory.

Příkazy nabídky Help (Nápověda)

Tip: Nabídka Help (Nápověda) je k dispozici na panelu nástrojů ve všech oknech Software CFX Manager Dx.

Open Operation Manual (Otevřít návod k použití) – otevře PDF soubor tohoto návodu.

Gene Expression Gateway Web Site (Výchozí internetové stránky pro expresi genu) – otevře domovské stránky společnosti Bio-Rad pro Systém CFX Dx.

PCR Reagents Web Site (Internetové stránky pro PCR reagentie) – otevře internetové stránky společnosti Bio-Rad pro PCR reagentie, na kterých si můžete objednat PCR reagentie, supermixy, barviva a soupravy.

PCR Plastic Consumables Web Site (Internetové stránky s plasty a spotřebními materiály pro PCR) – otevře internetové stránky společnosti Bio-Rad s plastovými díly a spotřebními materiály pro PCR, na kterých si můžete objednat destičky, těsnění destiček, zkumavky, uzávěry a další plastové příslušenství pro PCR.

Software Web Site (Internetové stránky softwaru) – otevře internetové stránky společnosti Bio-Rad pro software pro analýzu PCR, na kterých si můžete objednat aktualizované verze softwaru Software CFX Manager Dx této společnosti.

About (O softwaru) – zobrazí informace o autorských právech a verzi softwaru CFX Manager Dx.

Příkazy panelu nástrojů



– otevře Průzkumníka Windows, ve kterém můžete procházet a otevírat datový soubor nebo soubor studovaného genu.



– otevře Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix).



– otevře okno Run Setup (Nastavení cyklu).



– otevře okno Run Setup (Nastavení cyklu) s výchozím protokolem PrimePCR a rozložením destičky na základě vybraného přístroje.

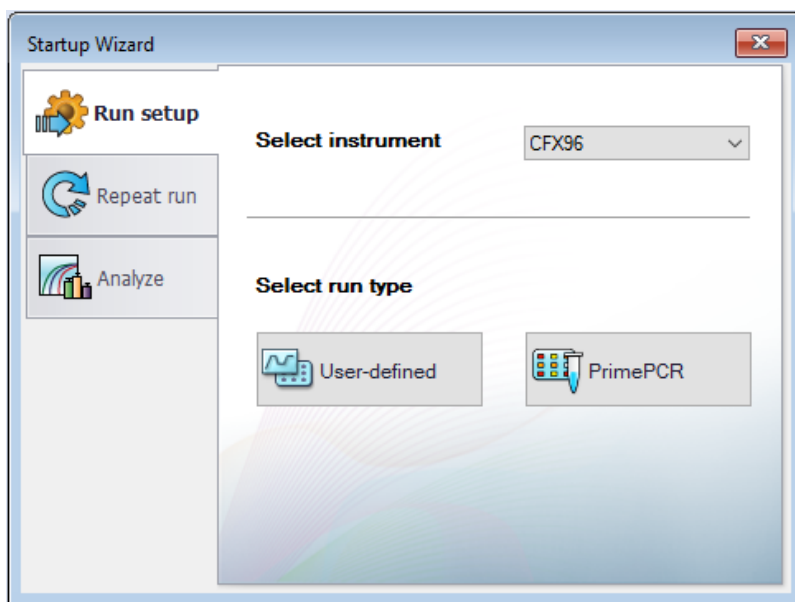


– otevře Startup Wizard (Průvodce spuštěním).

Startup Wizard (Průvodce spuštěním)

Když se spustí software CFX Manager Dx, pracovní podokno zobrazí průvodce Startup Wizard (Průvodce spuštěním). Z dialogového okna Startup Wizard (Průvodce spuštěním) můžete

- Vybrat nástroj z detekovaných přístrojů a nastavit uživatelem definovaný cyklus nebo cyklus PrimePCR.
- Otevřít a opakovat cyklus.
- Otevřít soubor s daty pro analyzování výsledků z jednoho cyklu nebo souboru studovaného genu pro získání výsledků z několika cyklů exprese genu.



Tyto úkoly jsou podrobně vysvětleny v dalších kapitolách.

Stavový řádek

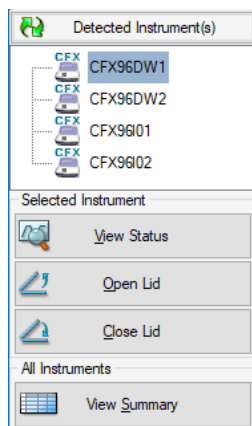
V levé části stavového řádku ve spodní části hlavního okna softwaru je zobrazen aktuální stav detekovaných přístrojů. Na pravé straně stavového řádku je vidět jméno aktuálního uživatele a datum a čas.

Panel Detected Instruments (Detekované nástroje)

Podokno Detected Instruments (Detekované nástroje) zobrazuje každý přístroj, který je připojen k počítači CFX Manager Dx. Ve výchozím nastavení se každý nástroj zobrazí jako ikona a jeho sériové číslo se zobrazí jako jeho název.

Následující obrázek například zobrazuje čtyři detekované nástroje:

- Dva termocyklery C1000 s reakčními moduly CFX96 Deep Well (CFX96DW1 a CFX96DW2)
- Dva termocyklery C1000 s reakčními moduly CFX96 (CFX96I01 a CFX96I02)



V tomto podokně můžete provádět následující akce:

- Zobrazit vlastnosti a kalibrovaná barviva pro vybraný přístroj.

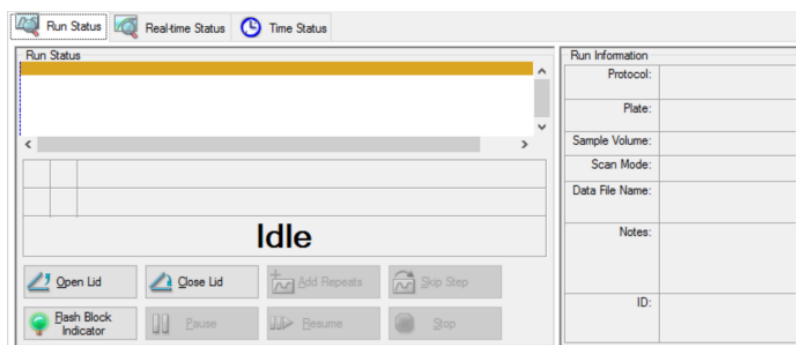
Další informace o vlastnostech přístroje naleznete v části [Zobrazení vlastností nástroje na straně 59](#).

- Zobrazit stav připojeného přístroje.
- Otevřít motorizované víko na vybraném přístroji.
- Zavřít motorizované víko na vybraném přístroji.
- Zobrazit stav všech připojených přístrojů.

Zobrazení stavu připojeného přístroje

- ▶ V podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) vyberte cílový nástroj a postupujte následovně:
 - Klikněte na položku View Status (Zobrazit stav) v části Selected Instrument (Vybrané přístroje).
 - Klikněte pravým tlačítkem myši a v zobrazené nabídce vyberte příkaz View Status (Zobrazit stav).

Objeví se dialogové okno Run Details (Podrobnosti o cyklu) zobrazující kartu Run Status (Stav cyklu). Stav vybraného přístroje se zobrazí pod podoknem stavu spuštění, například:



Otevření nebo uzavření víka přístroje

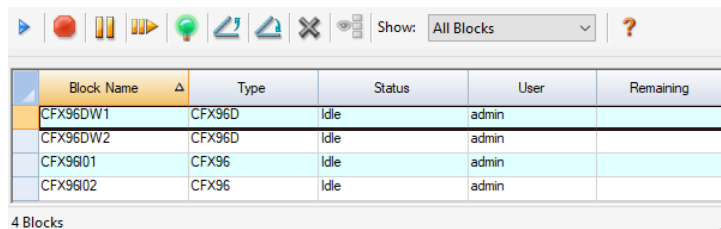
- ▶ V podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) vyberte cílový přístroj a postupujte následovně:
 - Klikněte na položku Open Lid (Otevřít víko) nebo Close Lid (Zavřít víko) v části Selected Instrument (Vybrané přístroje).
 - Klikněte pravým tlačítkem myši a vyberte příslušnou akci v zobrazené nabídce.
 - Otevřete dialogové okno Run Details (Podrobnosti o cyklu) a vyberte kartu Run Status (Stav cyklu) a klikněte na Open Lid (Otevřít víko) nebo Close Lid (Zavřít víko).

Zobrazení stavu všech připojených přístrojů

► Postupujte následovně:

- V části All Instruments (Všechny nástroje) v podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) klikněte na položku View Summary (Zobrazit souhrn).
- V panelu nabídky vyberte položky View > Instrument Summary (Zobrazit > Souhrn nástrojů).

Zobrazí se dialogové okno Instrument Summary (Souhrn nástrojů):



The screenshot shows a software interface with a toolbar at the top containing icons for play, stop, refresh, and other functions. Below the toolbar is a dropdown menu labeled 'Show: All Blocks' with a question mark icon. The main area contains 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 left of the dialog, it says '4 Blocks'.


Tip: Pokud systém detekuje pouze jeden připojený přístroj, část All Instruments (Všechny nástroje) se na panelu Detected Instruments (Detekované nástroje) neobjeví. Chcete-li zobrazit souhrn nástroje pro jeden nástroj, vyberte položky View > Instrument Summary (Zobrazit > Souhrn nástrojů).

Ovládací prvky panelu nástrojů Instrument Summary (Souhrn nástrojů)

Tabulka 10 uvádí seznam ovládacích prvků a funkcí na panelu nástrojů Instrument Summary (Souhrn nástrojů).

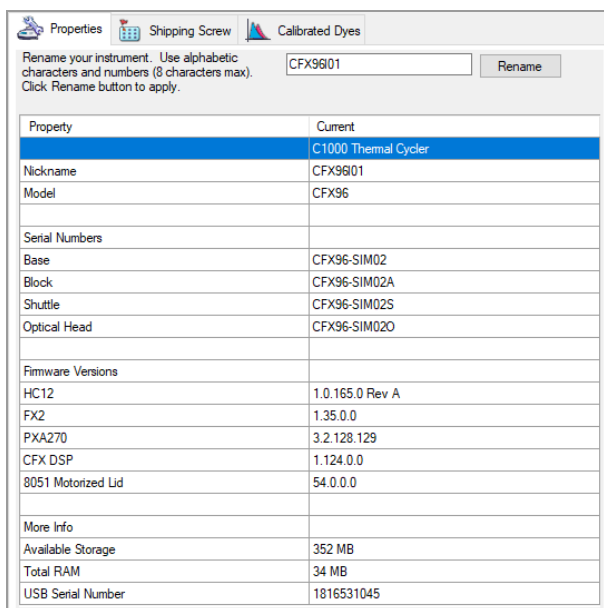
Tabulka 10. Ovládací prvky panelu nástrojů Instrument Summary (Souhrn nástrojů)

Tlačítko	Název tlačítka	Funkce
	Vytvořit nový cyklus	Vytvoří cyklus na vybraném bloku otevřením okna Run Setup (Nastavení cyklu).
	Zastavit	Zastaví aktuální cyklus na vybraných blocích.
	Pozastavit	Pozastaví aktuální cyklus na vybraných blocích.
	Pokračovat	Obnoví aktuální cyklus na vybraných blocích.
	Indikátor Flash Block	Bliká indikátor LED na víku vybraných bloků.
	Otevřít víko	Otevře motorizované víko na vybraném přístroji.
	Zavřít víko	Zavře motorizované víko na vybraném přístroji.
	Skrýt vybrané bloky	Skryje vybrané bloky v seznamu Instrument Summary (Souhrn nástrojů).
	Zobrazit všechny bloky	Zobrazí vybrané bloky v seznamu Instrument Summary (Souhrn nástrojů).

Tlačítko	Název tlačítka	Funkce
	Zobrazit	Vyberte bloky, které chcete zobrazit v seznamu. Vyberte jednu z možností pro zobrazení všech zjištěných bloků, všech nečinných bloků, všech bloků, které jsou spuštěny aktuálním uživatelem, nebo všech běžících bloků.

Zobrazení vlastností nástroje

Na panelu Detected Instruments (Detekované nástroje) můžete zobrazit podrobnosti o vybraném nástroji, včetně jeho vlastností, stavu jeho přepravního šroubu a seznamu jeho kalibrovaných barviv (fluoroforů).



Zobrazení vlastností nástroje

- V podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) klikněte pravým tlačítkem myši na cílový přístroj a v zobrazené nabídce vyberte položku Properties (Vlastnosti).

Karta Properties (Vlastnosti)

Karta Properties (Vlastnosti) obsahuje technické podrobnosti o vybraném nástroji včetně modelu, sériových čísel jeho součástí a verzí firmwaru. Výchozí název nástroje (jeho sériové číslo) se objeví na mnoha místech, včetně podokna Detected Instruments (Detekované nástroje) a v záhlaví dialogového okna Instrument Properties (Vlastnosti nástroje). Nástroj můžete přejmenovat, abyste ho mohli snadněji identifikovat.

Přejmenování nástroje

- ▶ Na kartě Instrument Properties (Vlastnosti nástroje) zadejte název do pole Rename (Přejmenovat) v horní části karty Properties (Vlastnosti) a klikněte na Rename (Přejmenovat).

Nový název se objeví v řádku Nickname (Přezdívka) na kartě Properties (Vlastnosti) stejně jako v záhlaví panelu Instrument Properties (Vlastnosti nástroje) a v podokně Detected Instruments (Detekované nástroje).

Karta Shipping Screw (Šroub pro přepravu)

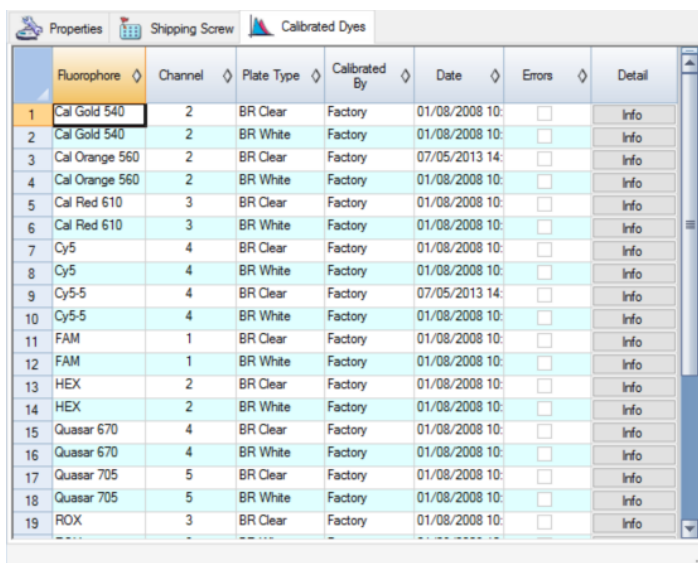
Karta Shipping Screw (Šroub pro přepravu) zobrazuje aktuální stav přepravního šroubu pro vybraný nástroj (odstraněný nebo instalovaný). Karta obsahuje také pokyny pro instalaci nebo demontáž červeného šroubu pro přepravu.

Tip: Pokud software detekuje šroub pro přepravu, zobrazí se v dialogovém okně Instrument Properties (Vlastnosti nástroje) automaticky karta Shipping Screw (Šroub pro přepravu). Při odstraňování šroubu pro přepravu postupujte podle pokynů.

Poznámka: Před použitím nástroje je nutné šroub pro přepravu odstranit. Další informace naleznete v části [Odstranění zajišťovacího šroubu na straně 30](#).

Karta Calibrated Dyes (Kalibrovaná barviva)

Karta Calibrated Dyes (Kalibrovaná barviva) zobrazuje kalibrované fluorofory a destičky pro vybraný nástroj.



	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

Chcete-li zobrazit podrobné informace o kalibraci, klepněte na tlačítko Informace ve sloupci Detail (Podrobnosti).

Než začnete

Nastavení uživatelských předvoleb

Tip: Pro použití softwaru Software CFX Manager Dx není nutné tyto úkony provádět. Tuto část můžete klidně přeskočit nebo tyto úkony provést kdykoliv jindy.

V softwaru CFX Manager Dx můžete přizpůsobit své pracovní prostředí. Pokud váš správce vytvořil uživatele softwaru, může si každý uživatel přizpůsobit své vlastní pracovní prostředí. Jestliže váš administrátor žádné uživatele nevytvořil, platí změny předvoleb pro každého, kdo se přihlásí do softwaru CFX Manager Dx. (Informace o tvorbě uživatelů CFX Manager Dx jsou uvedeny v [Příloha B, Správa uživatelů a rolí CFX Manager Dx.](#))

Například v nabídce Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby) můžete provádět následující:

- Nastavit e-mailové oznámení o dokončení cyklu.
- Změnit výchozí nastavení
 - umístění pro ukládání souborů
 - souborů nastavení cyklu
 - předpony názvu souboru
- Nastavit výchozí parametry použité při tvorbě nového protokolu a destičky.
- Nastavit výchozí parametry analýzy dat a exprese genu.
- Přizpůsobit výchozí parametry kontroly kvality.
- Přizpůsobit parametry dat pro export dat.

V nabídce Tools (Nástroje) můžete provádět následující:

- Vytvořit Master Mix.
- Kalibrovat barviva pro konkrétní přístroj.

Poznámka: Tvorba Master Mixu a kalibrace barviva jsou k dispozici každému, kdo se přihlásí do softwaru CFX Manager Dx.

Tato část podrobně vysvětluje, jak tyto úkony provádět.

Nastavení e-mailových oznámení

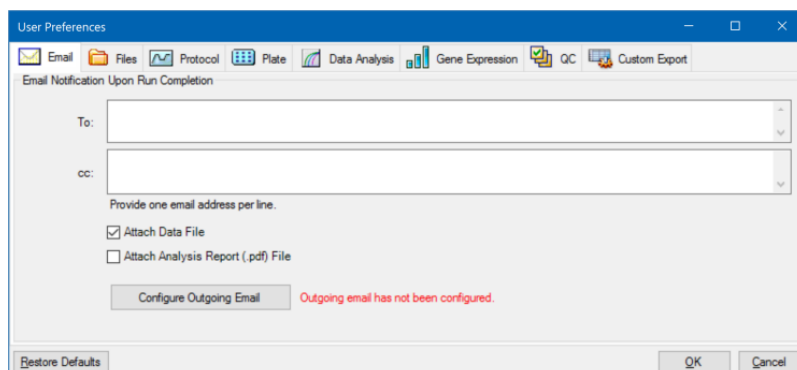
Můžete software CFX Manager Dx připojit ke svému serveru odchozí pošty, aby mohl odesílat e-mailová oznámení o dokončení cyklu na seznam uživatelů. K seznamu uživatelů můžete rovněž připojit datový soubor a hlášení z analýzy. Pokud jde o nastavení připojení mezi softwarem CFX Manager Dx a vaším SMTP serverem, viz část [Připojení CFX Manager Dx na SMTP Server na straně 64](#).

Poznámka: Možnosti přístupu uživatele k funkcím nastavení e-mailu závisejí na uživatelské skupině a povoleních přiřazených správcem. Podrobnosti o správě uživatelů a jejich rolích jsou uvedeny v části [Správa uživatelů na straně 261](#).

Jak nastavit e-mailová oznámení

1. Vyberte možnosti Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby) a otevře se dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).

Otevře se dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby) s kartou Email (E-mail).



Poznámka: Jestliže systém zjistí, že jste nenastavili platný SMTP server pro software CFX Manager Dx, budete o tom informováni. Kliknutím na položku Configure Outgoing Email (Konfigurovat odchozí e-mail) otevřete dialogové okno Options (Možnosti), kde můžete nakonfigurovat e-mailový SMTP server. Více informací je uvedeno v části [Připojení CFX Manager Dx na SMTP Server na straně 64](#).

2. V textovém rámečku To (Komu) zadejte e-mailovou adresu každé osoby, kterou chcete informovat o dokončení cyklu. Všichni příjemci obdrží po dokončení cyklu e-mail.

Poznámka: Každou e-mailovou adresu musíte zadat na samostatném řádku. Za každou e-mailovou adresou stiskněte Enter nebo Return.

3. (Volitelné) V textovém rámečku cc (Kopie) zadejte e-mailovou adresy příjemců, kterým chcete poslat kopii každého e-mailového oznámení.
4. (Volitelné) Ve výchozím nastavení obdrží všichni příjemci kopii datového souboru v příloze. Odznačte toto zaškrtačací políčko, pokud datový soubor nechcete ke kopii přidat.
5. (Volitelné) Vyberte možnost Attach Analysis Report (Připojit hlášení o analýze), abyste k e-mailu připojili PDF soubor hlášení o analýze.
6. Kliknutím na OK uložíte změny a zavřete dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).

Jak upravit e-mailovou adresu příjemce

- Upravte e-mailovou adresu podle potřeby a klikněte na OK.

Jak odstranit příjemce e-mailu

1. Vyberte příjemce e-mailu a stiskněte tlačítko Delete (Odstranit).
2. Kliknutím na OK uložíte změny a zavřete dialogové okno.

Důležité: Kliknutím na možnost Restore Defaults (Obnovit výchozí hodnoty) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) se obnoví všechny předvolby na všech kartách na původní tovární nastavení. Při kliknutí na toto tlačítko postupujte opatrně.

Připojení CFX Manager Dx na SMTP Server

Důležité: Někteří komerční poskytovatelé webmailu (například Yahoo! a Gmail) mají zvýšenou e-mailovou bezpečnost. Pokud použijete tyto účty, musíte povolit nastavení **Allow less secure apps (Povolit méně zabezpečené aplikace)** v nastavení účtu, které umožní CFX Manager Dx odesílat e-maily. Další informace naleznete v informacích o zabezpečení poskytovatele služeb webmailu.

Před odesláním e-mailového oznámení musíte navázat spojení ze softwaru CFX Manager Dx na svůj e-mailový server.

Připojení CFX Manager Dx na e-mailový server

1. Postupujte následovně:
 - Vyberte položku User > User Preferences (Uživatel > Uživatelské předvolby) a klikněte na položku Configure Outgoing Email (Konfigurovat odchozí e-mail) na kartě Email (E-mail).
 - Vyberte Tools > Options (Nástroje > Možnosti).

Otevře se dialogové okno Options (Možnosti) a zobrazí kartu Email (E-mail).

The screenshot shows the 'Options' dialog box with the 'Email' tab selected. The fields are as follows:

- SMTP Server Name: smtp.gmail.com (with a note: e.g. smtp.myCompany.com. Contact your IT Administrator to get the SMTP server name.)
- Port: 587
- Use SSL:
- Use Default "From" Address:
- "From" Address: doNotReply@myCompany.com or userName@myCompany.com
- Authentication Required:
- User Name: your account name@gmail.com
- Password: (empty field)
- Test Email Address: (empty field)
- Test Attachment: Attachment Size in MB: 0.5

Buttons: OK, Cancel, Test Email

2. Zadejte pro vaši společnost následující informace:

- **SMTP Server Name (Název serveru SMTP)** – název odchozího e-mailového serveru vaší společnosti.
- **Port** – číslo portu serveru SMTP. To je obvykle 25.
- **Use SSL (Použití možnost SSL)** – možnost Secure Sockets Layer (SSL). Toto nastavení vyžadují některé servery SMTP. Pokud to ve vaší společnosti není vyžadováno, zrušte zaškrtnutí tohoto políčka.
- **Use Default "From" Address (Použití výchozí adresu „Od“)** – název e-mailového serveru ve vaší společnosti. Servery SMTP vyžadují, aby všechny odeslané e-maily měly adresu „Od“, která je z určité domény, například jméno@VašeSpolečnost.com. V takovém případě zrušte zaškrtnutí tohoto políčka a zadejte platnou e-mailovou adresu.
- **Authentication Required (Požadováno ověření)** – pokud vaše stránky vyžadují ověření účtu, ověřte, zda je toto políčko zaškrtnuto.
- **User Name (Jméno uživatele)** – jméno ověřeného účtu. To je vyžadováno pouze v případě, že je vybrána možnost Authentication Required (Požadováno ověření).
- **Password (Heslo)** – heslo pro ověřený účet. To je vyžadováno pouze v případě, že je vybrána možnost Authentication Required (Požadováno ověření).

3. Chcete-li ověřit, zda jsou nastavení serveru SMTP správná, zadejte do textového pole Test Email Address (Test e-mailové adresy) platnou e-mailovou adresu a klikněte na položku Test Email (Testovat e-mail).

Poznámka: Některé servery SMTP nepovolují přílohy a jiné povolují přílohy pouze do určité velikosti. Pokud plánujete e-mailové datové soubory nebo hlášení pomocí softwaru CFX Manager Dx, vyberte položku Test Attachment (Příloha testu) a nastavte pro položku Attachment Size in MB (Velikost přílohy v MB) hodnotu 5 megabytů (MB) nebo více.

4. Klepnutím na tlačítko OK uložíte změny a zavřete dialogové okno.

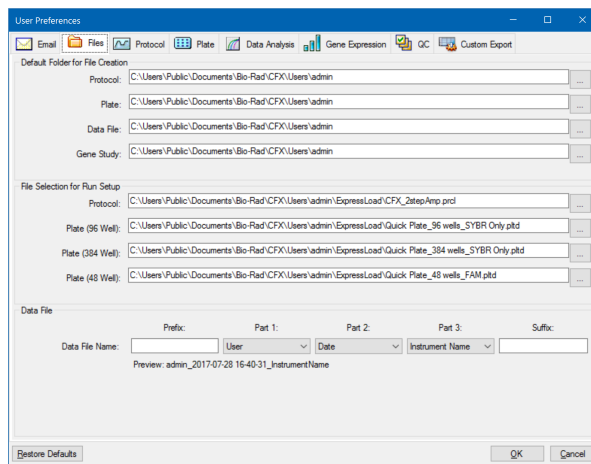
Změna výchozího nastavení souboru

Na kartě Files (Soubor) dialogového okna User Preference (Uživatelské předvolby) můžete měnit následující:

- Výchozí umístění pro ukládání souborů CFX Manager Dx
- Výchozí soubory pro nastavení cyklu
- Výchozí parametry pro názvy souborů

Jak změnit výchozí nastavení souboru

1. Vyberte možnost Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby) a otevře se dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).
2. V dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) vyberte kartu Files (Soubory).



3. V části Default Folder for File Creation (Výchozí složka pro tvorbu souborů) najdete a vyberte výchozí složku, do které chcete ukládat nové soubory. Pro každý typ souboru můžete vybrat jiné umístění:
 - Protokol
 - Destička
 - Datový soubor
 - Genová studie
4. V části File Selection for Run Setup (Výběr souboru pro nastavení cyklu) najdete a vyberte cílové soubory protokolu a destičky, které se mají zobrazit, když otevřete okno Experiment Setup (Nastavení experimentu).
5. V části Data File (Datový soubor) definujte předponu nebo příponu datových souborů. Pro každý díl vyberte z rozevíracího seznamu novou hodnotu. V textových rámečcích Prefix (Předpona) a Suffix (Přípona) můžete také uvést vlastní hodnoty předpony a přípony.

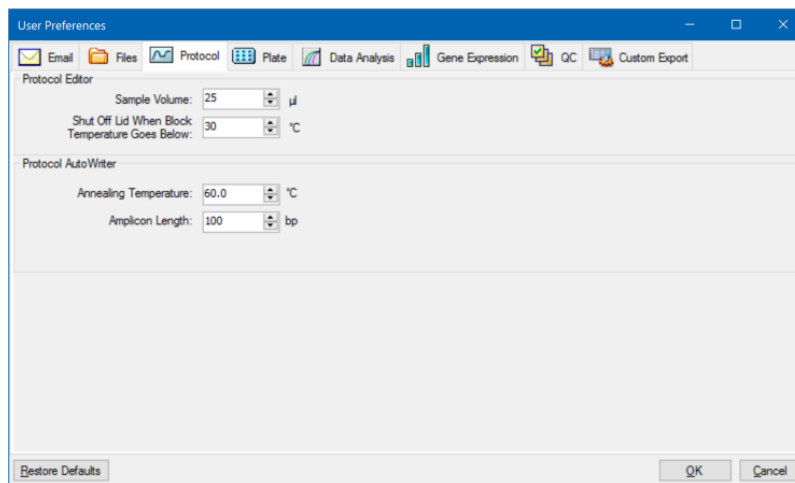
Software CFX Manager Dx zobrazí pod rámečky pro výběr náhled názvu souboru.
6. Kliknutím na OK uložíte změny a zavřete dialogové okno.

Důležité: Kliknutím na možnost Restore Defaults (Obnovit výchozí hodnoty) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) se obnoví všechny předvolby na všech kartách na původní tovární nastavení. Při kliknutí na toto tlačítko postupujte opatrně.

Nastavení výchozích parametrů protokolu

Nastavení výchozích parametrů protokolu pro Protocol Editor (Editor protokolu) a Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu)

1. Vyberte Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby), aby se otevřelo dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).
2. V dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) vyberte kartu Protocol (Protokol).



3. V části Protocol Editor (Editor protokolu) zadejte hodnoty pro následující nastavení, která se zobrazí v editoru Protocol Editor (Editor protokolu):
 - **Sample volume (Objem vzorku)** – objem každého vzorku v jamkách (v µl).
 - **Lid Shutoff temperature (Teplota vypínání víka)** – teplota v °C, při které se ohřívač víka vypne během cyklu.
4. V části Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) zadejte hodnoty pro následující nastavení, která se zobrazí v nástroji Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu):
 - **Annealing temperature (Teplota hybridizace)** – teplota v °C pro experimenty, které používají iProof DNA polymerázu, iTaq DNA polymerázu nebo jiné polymerázy.
 - **Amplicon length (Délka ampliconu)** – délka ampliconu v párech bází (bp).
5. Kliknutím na OK uložíte změny a zavřete dialogové okno.

Důležité: Kliknutím na možnost Restore Defaults (Obnovit výchozí hodnoty) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) se obnoví všechny předvolby na všech kartách na původní tovární nastavení. Dávejte pozor při klepnutí na toto tlačítko.

Nastavení výchozích parametrů destičky

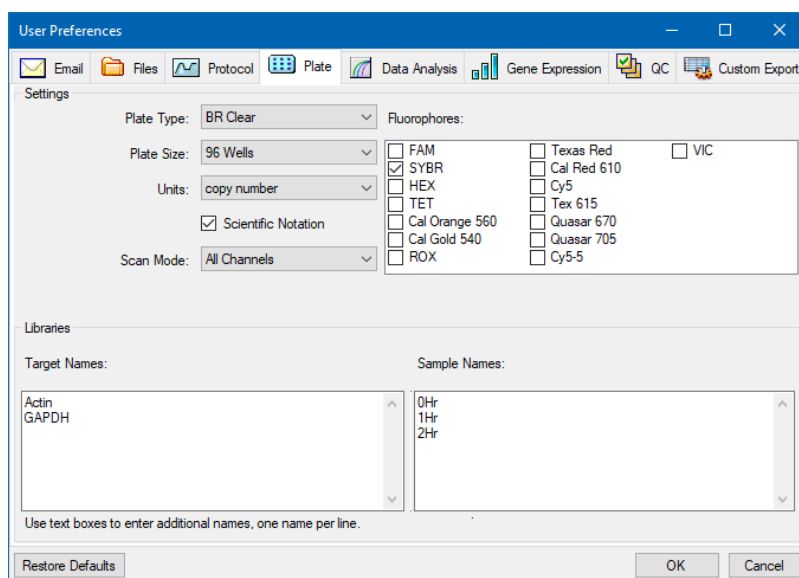
Změny, které provedete na kartě Plate (Destička), jsou dostupné všem uživatelům softwaru. Změny provedené během nastavení destičky jsou uživatelům k dispozici po uložení a zavření souboru destičky.

V dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) můžete provádět následující akce:

- Nastavit výchozí parametry destičky.
- Přidávat nové názvy cílů a vzorků do příslušných knihoven.
- Odstranit nové názvy cílů a vzorků z příslušných knihoven.

Nastavení výchozích parametrů destičky

1. Vyberte Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby), aby se otevřelo dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).
2. V dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) vyberte kartu Plate (Destička).



3. Zadejte hodnoty pro následující nastavení nového souboru destiček. Tyto hodnoty se objevují v okně Plate Editor (Editor destiček):

- **Plate type (Typ destičky)**

- **Plate size (Velikost destičky)**

- **Units (Jednotky)** – koncentrace spouštěcí šablony pro jamky, které obsahují standardy.

CFX Manager Dx používá tyto jednotky k vytvoření standardní křivky na kartě Data Analysis Quantification (Kvantifikace dat analýzy).

- **Scientific notation (Vědecký zápis)** – když je vybrán, software CFX Manager Dx zobrazí jednotky koncentrace ve vědeckém zápisu.

- **Scan mode (Režim skenování)** – počet nebo typ kanálů, které mají být skenovány během cyklu.

- **Fluorophores (Fluorofory)** – výchozí fluorofory, které se objevují v editoru Plate Editor (Editor destiček) načtených kontrol jamek.

- **Libraries (Knihovny)** – názvy cílů a vzorků, které obvykle používáte ve svých experimentech:

- Target names (Názvy cílů)** – názvy cílových genů a sekvencí.

- Sample names (Názvy vzorků)** – názvy experimentálních vzorků nebo identifikační charakteristika vzorků (například Myš1, Myš2, Myš3).

4. Kliknutím na OK uložíte změny a zavřete dialogové okno.

Přidání nového názvu cíle nebo vzorku

- ▶ Do pole příslušné knihovny zadejte název cíle nebo vzorku a klikněte na tlačítko cíle nebo vzorku a klikněte na tlačítko OK.

Odstranění názvu cíle nebo vzorku

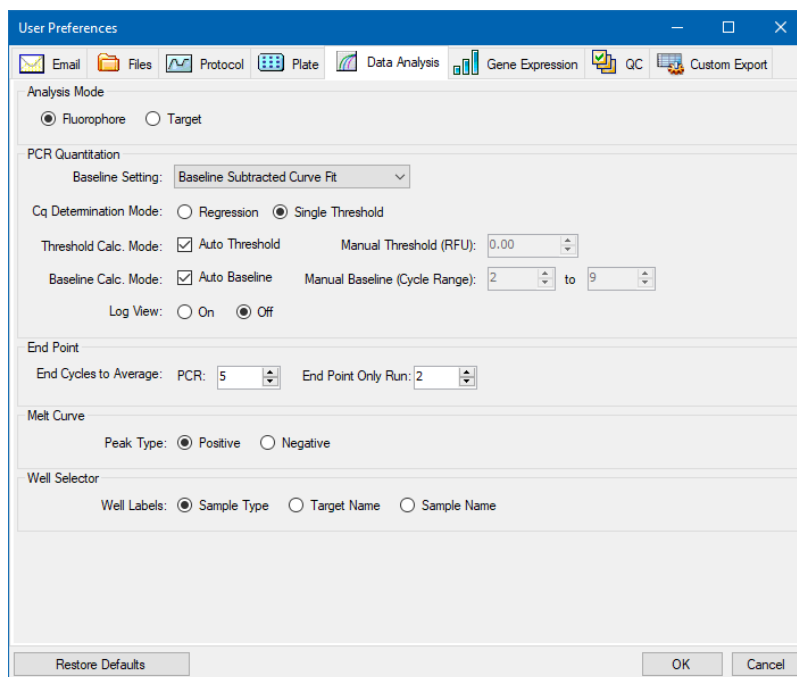
- ▶ V příslušném poli knihovny vyberte název, stiskněte klávesu Delete a klikněte na tlačítko OK.

Důležité: Názvy, které odstraníte z knihovny, jsou ze softwaru trvale odstraněny a uživatelům již nejsou k dispozici. Pro obnovení možností do výchozích názvů CFX Manager Dx, klikněte na Restore Defaults (Obnovit výchozí). Kliknutím na možnost Restore Defaults (Obnovit výchozí hodnoty) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) se obnoví všechny předvolby na všech kartách na původní tovární nastavení. Při odstraňování výchozích názvů CFX Manager Dx a při klepnutí na toto tlačítko buďte opatrní.

Nastavení výchozích parametrů analýzy dat

Nastavení výchozích parametrů analýzy dat

1. Vyberte položky Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby), aby se otevřelo dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).
2. V dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) vyberte kartu Data Analysis (Analýza dat).



3. V části Analysis Mode (Režim analýzy) vyberte režim, ve kterém chcete analyzovat data (buď Fluorophore (Fluorofor), nebo Target (Cíl)).
4. V části PCR Quantitation (Kvantifikace PCR) nastavte výchozí parametry pro následující možnosti:
 - **Baseline Setting (Základní nastavení)** – základní metoda pro režim analýzy.
 - **Cq Determination Mode (Režim stanovení hodnoty Cq)** – režim, ve kterém jsou hodnoty C_q vypočteny pro každou fluorescenční stopu (buď regresní, nebo jednoprahovou).

- **Threshold Calc. Mode (Režim výpoč. prahové hodnoty)** – cílové množství koncového bodu.

Výchozí hodnota je Auto (Automaticky). To znamená, že software automaticky vypočítá cíl koncového bodu. Chcete-li nastavit konkrétní prahovou hodnotu, zrušte zaškrtnutí políčka Auto (Automaticky) a zadejte hodnotu koncového bodu vypočítanou v jednotkách relativní fluorescence (nebo RFU). Maximální hodnota je 65 000,00 RFU. Datové soubory pro následující cykly budou používat toto nastavení prahu.

- **Baseline Calc. Mode (Režim výpoč. základní hodnoty)** – základní hodnota pro všechny trasy.

Výchozí hodnota je Auto (Automaticky). To znamená, že software automaticky vypočítá základní hodnotu pro všechny trasy. Chcete-li nastavit konkrétní základní hodnotu, zrušte zaškrtnutí políčka Auto (Automaticky) a zadejte minimální a maximální hodnoty pro rozsah cyklu (1 až 9999). Datové soubory pro následující cykly budou používat tento rozsah cyklu.

- **Log View (Zobrazení protokolu)** – určuje, jak bude software zobrazovat data amplifikace:

- On (Zapnuto)** – data amplifikace jsou zobrazena v semilogaritmickém grafu.

- Off (Vypnuto)** – (výchozí) data amplifikace jsou zobrazena v lineárním grafu.

5. V části End Point (Koncový bod) vyberte počet koncových cyklů, které se mají při výpočtu koncového bodu průměrovat:

- **PCR** – počet koncových cyklů k průměru pro data kvantifikace (výchozí hodnota je 5).

- **End Point Only run (Cyklus pouze koncový bod)** – počet koncových cyklů k průměru dat koncových bodů (výchozí hodnota je 2).

6. V části Melt Curve (Křivka tání) vyberte typ vrcholu, který chcete detekovat (buď pozitivní, nebo negativní).

7. V části Well Selector (Nástroj pro výběr jamky) vyberte, jak zobrazit popisky jamky (podle typu vzorku, názvu cíle nebo názvu vzorku).

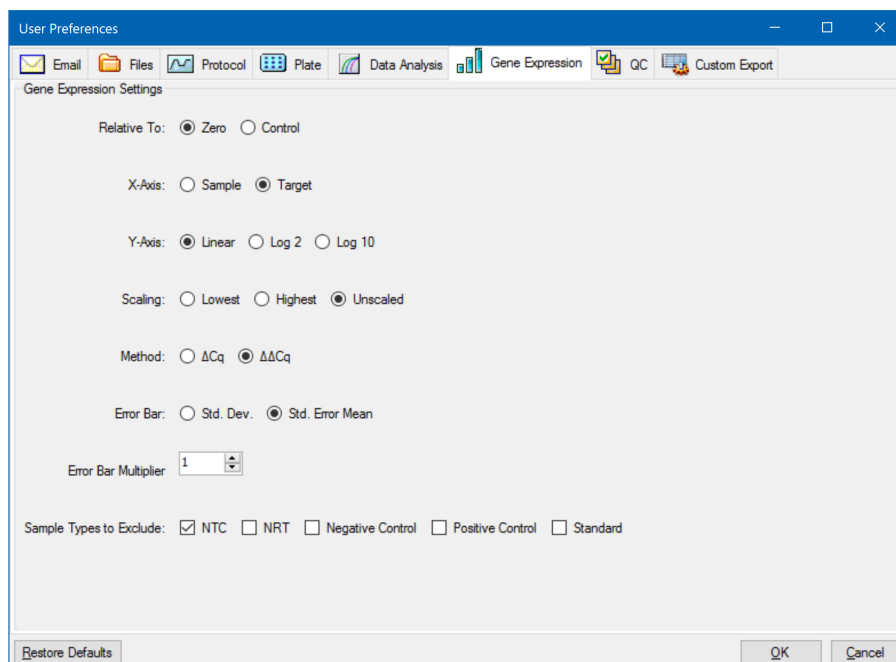
8. Kliknutím na OK uložíte změny a zavřete dialogové okno.

Důležité: Kliknutím na možnost Restore Defaults (Obnovit výchozí hodnoty) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) se obnoví všechny předvolby na všech kartách na původní tovární nastavení. Dávejte pozor při klepnutí na toto tlačítko.

Nastavení výchozích parametrů datového souboru exprese genu

Jak nastavit výchozí parametry nového datového souboru exprese genu

1. Vyberte možnosti Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby) a otevře se dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).
2. V dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) vyberte kartu Gene Expression (Expresce genu).



3. Stanovte hodnoty následujícího nastavení:
 - **Relative to (Vzhledem k)** – sestaví graf z dat exprese genu vzhledem ke kontrole (s počátkem v bodě 1) nebo nule:
 - **Zero (Nula)** – software kontrolu ignoruje. Toto je výchozí hodnota, když není v okně Experiment Settings (Nastavení experimentu) přiřazen žádný kontrolní vzorek.
 - **Control (Kontrola)** – software vypočítá data vzhledem ke kontrolnímu vzorku přiřazenému v okně Experiment Setup (Nastavení experimentu).
 - **X-axis (Osa X)** – sestaví graf vzorku nebo cíle na ose X.
 - **Y-axis (Osa Y)** – sestaví graf v lineárním, log2 nebo log10 měřítku na ose Y.

- **Scaling (Úprava měřítka)** – možnost úpravy měřítka grafu (výchozí možnost je bez úpravy měřítka):
 - Highest (Nejvyšší)** – software upraví měřítko grafu podle nejvyššího datového bodu.
 - Lowest (Nejnižší)** – software upraví měřítko grafu podle nejnižšího datového bodu.
 - Unscaled (Bez úpravy měřítka)** – software prezentuje data v grafu bez úpravy měřítka.
- **Mode (Režim)** – režim analýzy, buď relativní množství (ΔC_q), nebo normalizovaná exprese ($\Delta\Delta C_q$).
- **Error Bar (Chybová úsečka)** – variabilita dat prezentovaná jako směrodatná odchylka (Std. Dev.), nebo jako standardní chyba průměru (Std. Error Mean).
- **Error Bar Multiplier (Násobitel chybové úsečky)** – násobitel směrodatné odchylky použitý k sestavení grafu chybových úseček (výchozí hodnota je 1).

Násobitel můžete zvýšit na 2 nebo 3.
- **Sample Types to Exclude (Vyloučené typy vzorků)** – typy vzorků, které budou vyloučeny z analýzy.

Můžete vybrat jeden nebo několik vzorků, které budou vyloučeny z analýzy. Pokud chcete vyloučit všechny typy vzorků, odznačte zaškrťovací políčka všech vybraných typů vzorků.

4. Kliknutím na OK uložíte změny a zavřete dialogové okno.

Důležité: Kliknutím na možnost Restore Defaults (Obnovit výchozí hodnoty) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) se obnoví všechny předvolby na všech kartách na původní tovární nastavení. Při kliknutí na toto tlačítko postupujte opatrně.

Řízení pravidel pro kontrolu kvality

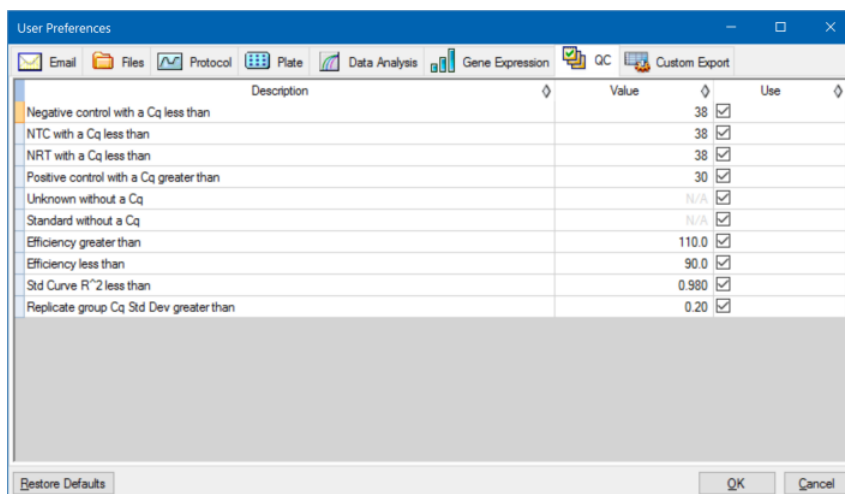
V softwaru CFX Manager Dx můžete nastavit pravidla kontroly kvality, která se použijí na data v okně Data Analysis (Analýza dat). Software validuje data proti nastaveným pravidlům.

Poznámka: Ve výchozím nastavení jsou povolena všechna pravidla kontroly kvality.

Tip: Jamky, které nesplňují parametry QC (Kontrola kvality), můžete snadno vyloučit z analýzy v modulu QC okna Data Analysis (Analýza dat).

Přizpůsobení pravidel pro kontrolu kvality

1. Vyberte položky Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby) a otevře se dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).
2. V dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) vyberte kartu QC (Kontrola kvality).



kde:

- **NTC (Kontrola bez templátu)** – kontrola bez templátu
 - **NRT (Bez reverzní transkriptázy)** – bez reverzní transkriptázy
 - **Efficiency (Účinnost)** – účinnost reakce
 - **Std Curve R² (Std křivka R²)** – R čtvercová hodnota pro standardní křivku
 - **Replicate group Cq Std Dev (Vyp. std. odch. skupiny replikátů)** – směrodatná odchylka vypočtená pro každou skupinu replikátů
3. U každého pravidla QC (Kontrola kvality) postupujte následovně:
 - Chcete-li použít výchozí hodnotu, nedělejte nic.
 - Chcete-li změnit hodnotu, klikněte na textové pole Value (Hodnota), zadejte novou hodnotu a stiskněte klávesu Enter.
 - Chcete-li pravidlo zakázat, zrušte zaškrtnutí políčka Use (Použít).

4. Kliknutím na tlačítko OK uložte změny a zavřete dialogové okno.

Důležité: Kliknutím na tlačítko Restore Defaults (Obnovit výchozí hodnoty) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) se obnoví všechny předvolby na všech kartách na původní tovární nastavení. Před klepnutím na toto tlačítko buďte opatrní.

Přizpůsobení parametrů pro export dat

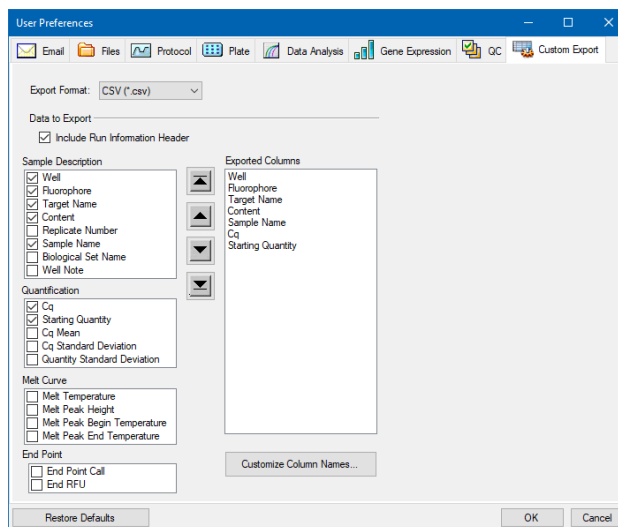
Data CFX Manager Dx můžete exportovat v následujících formátech:

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

Můžete určit typ dat pro export a přizpůsobit výstup exportovaných dat.

Přizpůsobení parametrů pro export dat

1. Vyberte Users > User Preferences (Uživatelé > Uživatelské předvolby) a otevře se dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).
2. V dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) vyberte kartu Custom Export (Vlastní export).



3. V rozevíracím seznamu Export Format (Formát exportu) vyberte formát, do kterého chcete data exportovat.
4. V části Data to Export (Data do exportu) zaškrtněte nebo odznačte zaškrťovací políčka pro typ dat, která mají být exportována. Vybrané položky se zobrazí v seznamu Exported Columns (Exportované sloupce).

Poznámka: Ve výchozím nastavení jsou informace o cyklu zahrnuty do záhlaví. Označte toto zaškrťovací políčko, pokud nechcete zahrnout informace o cyklu.

5. Můžete změnit pořadí zobrazení výstupu vybraných položek.

V seznamu Exported Columns (Exportované sloupce) zvýrazněte položku a potom klikněte pro pohyb nahoru nebo dolů na tlačítka se šipkami vlevo od seznamu.

6. Volitelně můžete změnit názvy sloupců výstupu vybraných položek:

- a. Klikněte na Customize Column Names (Upravit názvy sloupců).

Zobrazí se dialogové okno Column Name Customizer (Vlastní název sloupce).

- b. Pro každý výchozí název sloupce, který chcete změnit, zadejte nový název do pole Custom Name (Vlastní název).

- c. Postupujte následovně:

- Kliknutím na tlačítko OK uložte změny a vraťte se na kartu Custom Export (Vlastní export). Nový název se zobrazí v závorkách vedle výchozího názvu sloupce v seznamu Exported Columns (Exportované sloupce).
- Kliknutím na tlačítko Cancel (Zrušit) zrušte změny a vraťte se na kartu Custom Export (Vlastní export).

7. Kliknutím na tlačítko OK uložte změny a zavřete dialogové okno.

Důležité: Kliknutím na tlačítko Restore Defaults (Obnovit výchozí hodnoty) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) se obnoví všechny předvolby na všech kartách na původní tovární nastavení. Před klepnutím na toto tlačítko buďte opatrní.

Vytvoření reakčního Master Mix

Díky nástroji Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix) softwaru CFX Manager Dx můžete snadno vypočítat požadovaný objem každého komponentu ve vašem Master Mixu. Tabulku s výpočtem Master Mixu můžete vytisknout na své výchozí tiskárně a výpočty pro každý cíl uložit pro pozdější použití.

Jak vytvořit reakční Master Mix pomocí nástroje Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix)

1. Abyste otevřeli nástroj Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix), postupujte následovně:
 - Vyberte možnosti Tools > Master Mix Calculator (Nástroje > Kalkulačka Master Mix).
 - Na panel nástrojů klikněte na možnost Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix).

Objeví se Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix).

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

2. V části Reaction (Reakce) vyberte metodu detekce:
 - SYBR® Green/EvaGreen
 - Probes (Sondy)
3. Abyste vytvořili nový cíl, klikněte v části Target (Cíl) na možnost Create New (Vytvořit nový). V rozevíracím seznamu cílů se objeví nový název cíle.
4. (Volitelné) Jak změnit výchozí název cíle:
 - a. V rozevíracím seznamu cílů zvýrazněte název cíle.
 - b. V kolonce Target (Cíl) zadejte nový název cíle.
 - c. Stiskněte tlačítko Enter.
5. Nastavte počáteční a koncovou koncentraci přímého a zpětného primeru a všechny sondy.
6. V části Master Mix Setup (Nastavení Master Mix) nastavte hodnotu
 - počtu reakcí v cyklu
 - reakčního objemu na jamku
 - objemu templátu na jamku
 - koncentrace supermixu na jamku
 - nadbytečného reakčního objemu na jamku
7. (Volitelné) Proveďte kroky 2–6 pro potřebný počet cílů.
8. V části Choose Target to Calculate (Vybrat cíl k výpočtu) vyberte cíl, který chcete vypočítat.

Tip: Můžete současně vypočítat buď jeden, nebo několik, nebo všechny cíle.

Vypočítané objemy požadovaných komponentů pro každý vybraný cíl se objeví v tabulce Master Mix.
9. Kliknutím na možnost Set as Default (Nastavit jako výchozí) nastavíte množství zadaná v částech Target (Cíl) a Master Mix Setup (Nastavení Master Mix) jako nové výchozí hodnoty.
10. Kliknutím na OK uložíte obsah dialogového okna Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix).

Jak vytisknout tabulku s výpočtem Master Mixu

- ▶ Abyste vytiskli tabulku s výpočtem Master Mixu, klikněte na možnost Print (Tisk).
- Tabulka s výpočtem se vytiskne na vaší výchozí tiskárně.

Jak uložit tabulku s výpočtem Master Mixu jako PDF

- ▶ Změňte svou výchozí tiskárnu na ovladač PDF a klikněte na možnost Print (Tisk) v nástroji Master Mix Calculator (Kalkulačka Master Mix).

Jak odstranit cíle

- ▶ V rozevíracím seznamu cílů vyberte cíl a klikněte na možnost Remove (Odstranit).

Důležité: Odstraněním cíle ze seznamu cílů se tento cíl odstraní i ze všech výpočtů Master Mixu, pro který je použit. Při odstraňování cíle postupujte opatrně.

Kalibrace nových barviv

Systémy CFX96 Dx jsou z výroby kalibrovány pro běžně používané fluorofory v destičkách s bílými a čírymi jamkami. [Tabulka 11](#) uvádí fluorofory a kanály, pro které je každý přístroj kalibrován.

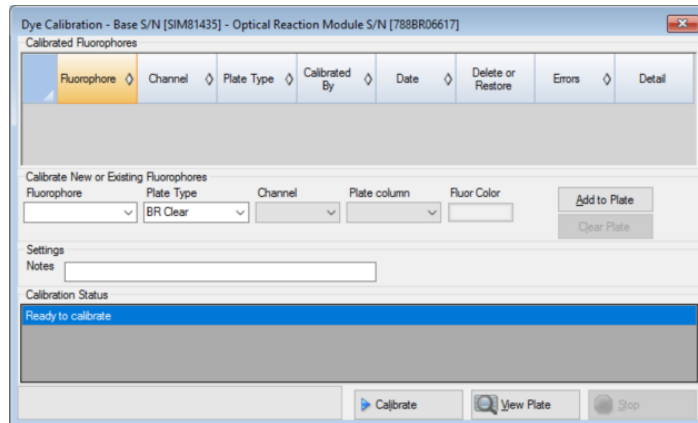
Poznámka: Systémy CFX96 také zahrnují kanál určený pro chemii FRET. Tento kanál nevyžaduje kalibraci pro specifická barviva.

Tabulka 11. Továrně kalibrované fluorofory a kanály

Fluorofory	Kanál	Excitace, nm	Detekce, 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

Kalibrace nových barviv pro systémy CFX

1. V okně Home (Domů) vyberte cílový nástroj v podokně Detected Instruments (Detekované nástroje).
2. Vyberte položku Tools > Calibration Wizard (Nástroje > Průvodce kalibrací), chcete-li otevřít průvodce Dye Calibration (Kalibrace barviva).



Již kalibrované fluorofory pro cílový přístroj se objeví v tabulce Calibrated Fluorophores (Kalibrované fluorofory).

3. V části Calibrate New or Existing Fluorophores (Kalibrace nových nebo existujících fluoroforů) vyberte v rozevíracím seznamu fluorofor, který chcete kalibrovat.

Není-li v seznamu uveden název fluoroforu, zadejte tento název do textového pole a přidejte jej do seznamu.

4. Vyberte typ destičky pro fluorofor.

Není-li v seznamu uveden typ destičky, zadejte jeho název do textového pole a přidejte jej do seznamu.

5. Vyberte kanál pro fluorofor.
6. Vyberte sloupec destičky pro fluorofor.
7. (Volitelné) Zadejte barvu, kterou chcete přiřadit fluoroforu.
8. Pro přidání fluoroforu klikněte na položku Add to Plate (Přidat do destičky).
9. (Volitelné) Opakujte kroky 3–8 pro přidání každého fluoroforu, který chcete kalibrovat pro destičku.

10. Po dokončení přidávání fluoroforů otevřete kliknutím na položku View Plate (Zobrazit destičku) okno Pure Dye Plate Display (Zobrazení destičky pro čisté barvivo).

Toto okno použijte jako vodítko pro vkládání barviv do destičky.
11. Připravte si 96jamkovou destičku pro kalibraci barviva:
 - a. Přidejte pipetou do každé jamky roztok barviva podle vzoru zobrazeného na displeji Pure Dye Plate Display (Zobrazení destičky pro čisté barvivo).
 - b. Pro každý fluorofor naplňte do čtyř jamek 50 μ l (96jamková destička) roztoku barviva 300 nM. Všimněte si, že alespoň polovina destičky obsahuje prázdné jamky.
 - c. Destičku utěsněte těsnící metodou, kterou používáte ve svém experimentu.
12. Umístěte kalibrační destičku do bloku a zavřete víko.
13. V průvodci Dye Calibration (Kalibrace barviva) kliknutím na položku Calibrate (Kalibrovat) a OK potvrďte, že je destička v bloku.
14. Jakmile software Software CFX Manager Dx dokončí cyklus kalibrace, zobrazí se dialogové okno. Kliknutím na tlačítko Yes (Ano) dokončete kalibraci a otevřete prohlížeč Dye Calibration Viewer (Prohlížeč kalibrace barviva).
15. Klepněte na tlačítko OK a okno se zavře.

Kapitola 6 Vytváření protokolů

Protokol je sada kroků, které jsou prováděny v konkrétním pořadí. V softwaru CFX Manager Dx jsou všechny kroky přidružené k možnostem na přístroji. Kroky například instruují přístroj, aby kontroloval teplotu bloku a víka, udržoval teplotní rozdíl bloku, přečetl destičku nebo provedl analýzu křivky tání. Každá možnost je stanovena pro různé typy destiček a cyklů.

CFX Manager Dx nabízí dvě možnosti vytváření protokolů: Protocol Editor (Editor protokolu) a Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu).

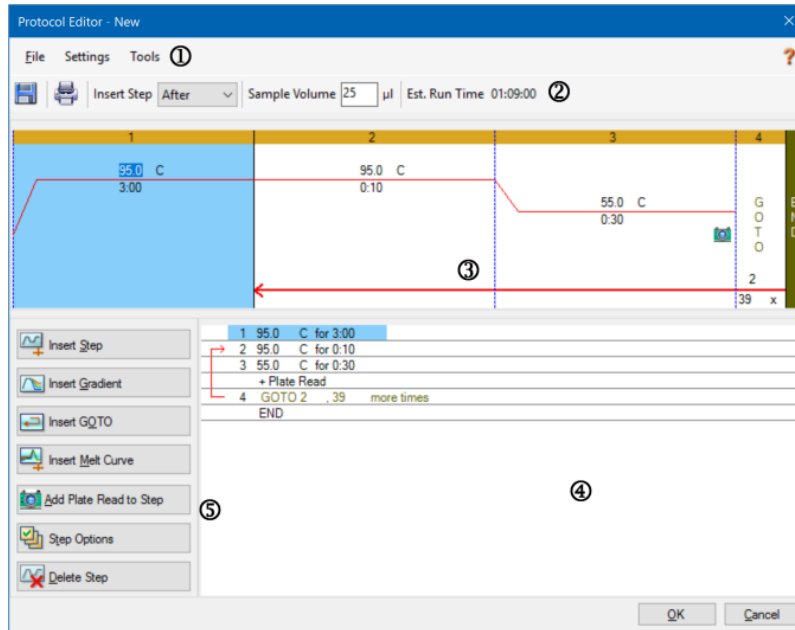
Funkce nástroje Protocol Editor (Editor protokolu) zahrnují následující:

- Standardní ovládací prvky pro rychlé vytváření protokolů
- Schopnost rychle vypočítat gradient pro vybraný počet řádků
- Schopnost rychle vypočítat dobu cyklu pro vybraný typ destičky
- Schopnost upravovat kroky protokolu
- Schopnost ukládat protokoly pro opětovné použití
- Schopnost vytisknout protokol na výchozí tiskárně

Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) automaticky generuje přizpůsobený protokol PCR s kroky horkého startu, počáteční denaturace, hybridizace a prodloužení na základě vámi zadaných parametrů. Následně můžete zobrazit grafické znázornění návrhu protokolu a tento protokol upravit, spustit nebo uložit.

Okno Protocol Editor (Editor protokolu)

Pomocí nástroje Protocol Editor (Editor protokolu) můžete vytvářet, otevírat, kontrolovat a upravovat protokoly. Ve výchozím nastavení se nástroj Protocol Editor (Editor protokolu) otevře s obecným protokolem pro destičku s 96 jamkami pro detekci v reálném čase ve dvou krocích.



LEGENDA

1. Panel nabídek poskytuje rychlý přístup k příkazům nabídek File (Soubor), Settings (Nastavení) a Tools (Nástroje).

2. Panel nástrojů umožňuje rychlý přístup k uložení a tisku protokolu, k vložení kroku, stanovení objemu vzorku a zobrazení předpokládané doby trvání cyklu protokolu.

3. Hlavní podokno obsahuje grafické zobrazení protokolu.

4. V dolním podokně je přehled protokolu.

5. V levém podokně jsou ovládací prvky protokolu, které můžete přidávat, abyste protokol přizpůsobili svým potřebám.

Příkazy nabídky File (Soubor)

Save (Uložit) – uloží aktuální protokol.

Save As (Uložit jako) – uloží aktuální protokol s novým názvem nebo do nového umístění.

Close (Zavřít) – zavře nástroj Protocol Editor (Editor protokolu).

Příkaz nabídky Settings (Nastavení)

Lid Settings (Nastavení víka) – otevře dialogové okno Lid Setting (Nastavení víka), ve kterém můžete měnit nebo nastavovat teplotu víka.

Příkazy nabídky Tools (Nástroje)

Gradient Calculator (Kalkulačka gradientu) – otevře dialogové okno, ze kterého můžete vybrat typ bloku pro krok gradientu. Výchozí hodnota je 96 jamek.

Run time Calculator (Kalkulačka doby trvání cyklu) – otevře dialogové okno, ze kterého můžete vybrat typ destičky a režim skenování, abyste mohli vypočítat odhadovaný čas trvání cyklu v okně Run Setup (Nastavení cyklu). Výchozí hodnota je 96 jamek, všechny kanály.

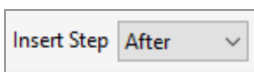
Příkazy panelu nástrojů



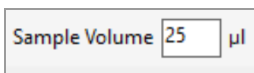
– uloží soubor aktuálního protokolu.



– vytiskne vybrané okno.

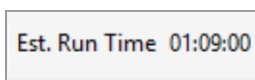


– pomocí tohoto příkazu vyberte, kam mají být vloženy kroky vzhledem k aktuálně vybranému kroku.



– pomocí tohoto příkazu zadáte objem vzorku v µl. Objemy vzorků se liší v závislosti na typu bloku:

- Pro 96jamekový, hluboký blok je rozsah 0–125 µl.
- Pro 96jamekový blok je rozsah 0–50 µl.



– zobrazí odhadovanou dobu cyklu na základě kroků protokolu, rychlosti rampy a typu vybraného bloku.

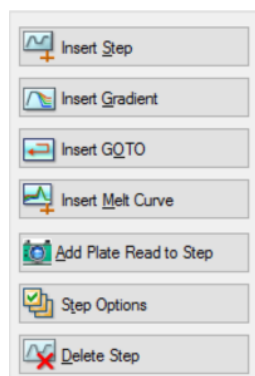


– zobrazí nápovědu k protokolům.

Ovládací prvky pro úpravu protokolu

Levé podokno okna Protocol Editor (Editor protokolu) nabízí ovládací prvky pro vytváření protokolů.

Každý prvek je tvořen sadou parametrů, které představují kroky protokolu. Každý parametr můžete upravit nebo je přidávat či odstraňovat tak, abyste protokol přizpůsobili svým potřebám. Tato kapitola popisuje možnosti těchto ovládacích prvků.



- **Insert Step (Vložit krok)** – vloží krok před nebo za vybraný krok. Teplotu a dobu prodlevy můžete upravit v grafickém znázornění protokolu nebo v přehledu protokolu.
- **Insert Gradient (Vložit gradient)** – vloží krok Gradient na základě typu bloku jamek vybraného v kalkulačce gradientu. Rozsah gradientu můžete upravovat na panelu Gradient, který se otevře po vložení kroku Gradient.
- **Insert GOTO (Vložit GOTO)** – vloží krok cyklování (smyčky), který software upozorní, aby konkrétní kroky v sekvenci opakoval po stanovený počet cyklů. Opakování začne po dokončení prvního cyklu. Můžete například software informovat, aby provedl 39

opakování kroků 2–4. Po posledním opakování provede software kroky 2–4 celkem 40krát. Krok návratu (GOTO) a počet cyklů můžete upravit v grafickém znázornění protokolu nebo v přehledu protokolu.

- **Insert Melt Curve (Vložit křivku tání)** – vloží krok čtení křivky tání.
- **Insert Plate Read to Step (Vložit čtení destičky do kroku)** – přidá povel pro čtení destičky do vybraného kroku. Při čtení destičky se změří množství fluorescence na konci cyklu. Krok čtení destičky je obecně posledním krokem smyčky GOTO.

Tip: Po přidání povelu pro čtení destičky do kroku se tlačítko změní na Remove Plate Read (Odstranit čtení destičky), když tento krok vyberete.

- **Remove Plate Read (Odstranit čtení destičky)** – odstraní povel pro čtení destičky z vybraného kroku.

Tip: Po odstranění povelu pro čtení destičky z kroku se tlačítko změní na Add Plate Read to Step (Přidat čtení destičky do kroku), když tento krok vyberete.

- **Step Options (Možnosti kroku)** – otevře dialogové okno Step Options (Možnosti kroku) a zobrazí dostupné možnosti pro vybraný krok. Podrobné informace o možnostech kroku jsou uvedeny v části [Možnosti kroku na straně 89](#).

Tip: Do nabídky Step Options (Možnosti kroku) se rovněž dostanete kliknutím pravým tlačítkem myši na krok v grafickém zobrazení.

- **Delete Step (Vymazat krok)** – vymaže vybraný krok z protokolu.

Možnosti kroku

Otevřete dialogové okno Step Options (Možnosti kroku), zobrazí se vám možnosti, které můžete přidat, změnit nebo odstranit z kroku.

- **Plate Read (Čist destičku)** – je-li toto políčko zaškrtnuto, přidá se do kroku čtení destičky.
- **Temperature (Teplota)** – stanoví cílovou teplotu pro vybraný krok.
- **Gradient** – stanoví rozsah gradientu pro krok; rozsah je 1–24 °C.

Poznámka: Gradient pracuje s nejnižší teplotou před blokem (na tomto obrázku řádek H) a nejvyšší teplotou za blokem (na tomto obrázku řádek A).

- **Increment (Přírůstek)** – hodnota zvýšení (nebo snížení) teploty vybraného kroku; tato hodnota je v každém cyklu přidána k cílové teplotě. Rozsah je $\pm 0,1-10$ °C.

Poznámka: Pro snížení teploty zadejte před číselnou hodnotu záporné znaménko (–) (například -5 °C).

- **Ramp Rate (Rychlost ohřevu/ochlazování)** – rychlost ohřevu/ochlazování pro vybraný krok; rozsah závisí na velikosti bloku.
- **Time (Doba)** – doba prodlevy pro vybraný krok.
- **Extend (Prodloužení)** – doba, o kterou se vybraný krok prodlouží nebo zkrátí (v sekundách); tato možnost je v každém cyklu přidána k době prodlevy; rozsah je 1–60 s.
- **Beep (Zvukový signál)** – je-li toto políčko zaškrtnuto, zazní na konci kroku zvukový signál.

Tip: Pokud zadáte číslo mimo rozsah možnosti, software tuto hodnotu změní na nejbližší údaj v daném rozsahu.

Tvorba protokolu v nástroji Protocol Editor (Editor protokolu)

Pomocí nástroje Protocol Editor (Editor protokolu) můžete vytvářet vlastní soubory protokolu. Současně můžete upravovat a ukládat již uložené soubory protokolů nebo vzorové soubory protokolů dodané se softwarem Software CFX Manager Dx.

Abyste vytvořili nový soubor protokolu, postupujte následovně:

- Otevřete soubor protokolu v nástroji Protocol Editor (Editor protokolu).
Tip: V nástroji Protocol Editor (Editor protokolu) můžete otevřít nový nebo stávající protokol.
- Nastavte nový protokol.
- Přidejte do protokolu kroky z podokna s ovládacími prvky pro protokoly.
- Upravte vlastnosti kroků.
- Uložte protokol.

Tip: Informace o tvorbě nového protokolu z již uloženého vzorového souboru protokolu jsou uvedeny v části [Otevření stávajícího protokolu v nástroji Protocol Editor \(Editor protokolu\) na straně 93](#).

Otevření nového souboru protokolu v nástroji Protocol Editor (Editor protokolu)

CFX Manager Dx nabízí více možností otevření nového souboru protokolu:

- Z okna Home (Domů)
- Z dialogového okna Startup Wizard (Průvodce spuštěním)
- Z dialogového okna Run Setup (Nastavení cyklu)

Jak otevřít nový soubor protokolu z okna Home (Domů)

- ▶ Vyberte možnost File > New > Protocol (Soubor > Nový > Protokol).

Otevře se okno Protocol Editor (Editor protokolu), které zobrazí výchozí soubor protokolu.

Tip: Informace o nastavení výchozího souboru protokolu jsou uvedeny v části [Změna výchozího nastavení souboru na straně 66](#).

Otevření nového souboru protokolu z nástroje Startup Wizard (Průvodce spuštěním)

1. V okně Home (Domů) postupujte následovně, abyste otevřeli nástroj Startup Wizard (Průvodce spuštěním), pokud ještě není otevřen:

- Vyberte možnosti View > Startup Wizard (Zobrazit > Průvodce spuštěním).
- Na panelu nástrojů klikněte na Startup Wizard (Průvodce spuštěním).

Ve výchozím nastavení nástroj Startup Wizard (Průvodce spuštěním) zobrazí kartu Run Setup (Nastavení cyklu) s vybraným přístrojem CFX96.

2. V případě potřeby vyberte typ přístroje z rozevíracího seznamu.
3. Jako typ cyklu klikněte na User-defined (Definovaný uživatelem).

Otevře se dialogové okno Run Setup (Nastavení cyklu), na kartě Protocol (Protokol) a zobrazí výchozí soubor protokolu.

4. Klikněte na Create New (Vytvořit nový).

Otevře se okno Protocol Editor (Editor protokolu), které zobrazí výchozí protokol v reálném čase.

Jak otevřít nový protokol z dialogového okna Run Setup (Nastavení cyklu)

1. V okně Home (Domů) postupujte následovně, abyste otevřeli dialogové okno Run Setup (Nastavení cyklu):

- Vyberte možnost Run > User-defined Run (Cyklus > Cyklus definovaný uživatelem).
- Na panelu nástrojů klikněte na možnost User-defined Run Setup (Nastavení cyklu definovaného uživatelem).

Otevře se dialogové okno Run Setup (Nastavení cyklu), na kartě Protocol (Protokol) a zobrazí výchozí soubor protokolu.

2. Klikněte na Create New (Vytvořit nový).

Otevře se okno Protocol Editor (Editor protokolu), které zobrazí výchozí protokol v reálném čase.

Otevření stávajícího protokolu v nástroji Protocol Editor (Editor protokolu)

CFX Manager Dx poskytuje soubory protokolu vzorku, které můžete upravovat a ukládat jako vlastní nové protokoly. Můžete také vytvořit nový protokol z existujícího vlastního protokolu.

Otevření souboru protokolu vzorku

1. V okně Home (Domů) vyberte položky File > Open > Protocol (Soubor > Otevřít > Protokol).

Ve výchozím nastavení se Průzkumník Windows otevře do umístění složky souborů vzorku CFX Manager Dx.

2. Otevřete složku Sample files (Soubory vzorku). Zobrazí se následující složky:

- **ConventionalProtocols (Běžné protokoly)** – obsahuje příklady souborů protokolu pro tradiční analýzu PCR.
- **DataFiles (Datové soubory)** – obsahuje příklady datových souborů, které můžete použít k prozkoumání funkcí CFX Manager Dx.
- **MeltCalibration (Kalibrace táni)** – obsahuje ukázkové soubory protokolů pro použití s programem Bio-Rad software pro přesnou melt analýzu.
- **Plates (Destičky)** – obsahuje soubory vzorových destiček.
- **RealTimeProtocols (Protokoly v reálném čase)** – obsahuje příklady souborů protokolu pro analýzu PCR v reálném čase.

3. Otevřete složku protokolu pro typ cyklu, který chcete provést, buď ConventionalProtocols (Běžné protokoly), anebo RealTimeProtocols (Protokoly v reálném čase).

4. Vyberte požadovaný protokol a klikněte na tlačítko Open (Otevřít).

Protokol vzorku se otevře v okně Protocol Editor (Editor protokolu).

5. Vyberte položky File > Save As (Soubor > Uložit jako) a uložte protokol s novým názvem nebo do nové složky.

Otevření stávajícího protokolu

1. V okně Home (Domů) postupujte následovně:
 - Vyberte položky File > Open > Protocol (Soubor > Otevřít > Protokol), přejděte na cílový soubor, vyberte ho a klikněte na položku Open (Otevřít).
 - Otevřete Startup Wizard (Průvodce spuštěním) a postupujte následovně:
 - Chcete-li zobrazený protokol upravit, klikněte na tlačítko Edit Selected (Upravit vybraný).
 - Chcete-li upravit jiný existující protokol, klikněte na tlačítko Select Existing (Vybrat stávající) a přejděte na cílový soubor.

Protokol se otevře v okně Protocol Editor (Editor protokolu).
2. Vyberte položky File > Save As (Soubor > Uložit jako) a uložte protokol s novým názvem nebo do nové složky.

Nastavení nového protokolu

Tip: Pokud váš soubor protokolu obsahuje požadované parametry (například, pokud upravujete stávající soubor destičky), můžete tuto část přeskočit. Přejděte na [Přidání kroků do protokolu na straně 96](#).

Nové soubory protokolu vyžadují následující parametry:

- Typ bloku
- Režim skenování pro zvolený typ bloku
- Teplota víka
- Objem vzorku

Nastavení typu bloku

CFX Manager Dx automaticky vypočítává teplotní přírůstky pro kroky gradientu podle typu bloku.

Poznámka: Typ desky nastavený v editoru Protocol Editor (Editor protokolu) musí být stejný jako destička v reakčním modulu.

Nastavení typu bloku

- ▶ V okně Protocol Editor (Editor protokolu) vyberte Tools > Gradient Calculator (Nástroje > Kalkulačka gradientu) a v rozevřacím seznamu, který se objeví, vyberte příslušný typ destičky.

Výběr režimu skenování pro zvolený typ bloku

Abyste určili dobu cyklu protokolu, vyberte typ cílového bloku a režim skenování.

Jak vybrat typ bloku a režim skenování

- ▶ V okně Protocol Editor (Editor protokolu) vyberte položky Tools > Run time Calculator (Nástroje > Kalkulačka doby cyklu) a v otevřeném rozevíracím seznamu zvolte vhodný typ destičky a režim skenování.

Nastavení teploty víka

Software CFX Manager Dx nastaví výchozí teplotu víka 105,0 °C.

Pokud to protokol vyžaduje, můžete změnit výchozí nastavení nebo vypnout ohřívač víka.

Tip: Výchozí teplotu víka můžete změnit v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby). Viz část [Nastavení výchozích parametrů protokolu na straně 68](#).

Nastavení teploty víka

1. V okně Plate Editor (Editor destiček) vyberte Settings > Lid Settings (Nastavení > Nastavení víka).
Zobrazí se dialogové okno Lid Settings (Nastavení víka).
2. Postupujte následovně:
 - Vyberte User Defined (Uživatelsky definovaná) a do textového pole zadejte hodnotu teploty.
 - Vyberte Turn Off Lid Heater (Vypnout ohřívač víka).
3. Dotykem na tlačítko OK změny potvrďte a zavřete dialogové okno.

Nastavení objemu vzorku

Standardně nastavuje CFX Manager Dx objem vzorku pro každou jamku na 25 µl. Rozsah Systém CFX Dx je však 0–125 µl.

Přístroj používá jeden ze dvou režimů regulace teploty, aby určil, kdy vzorek dosáhne cílové teploty v protokolu:

- **Calculated mode (Vypočítaný režim)** – když je objem vzorku nastaven na objem odpovídající bloku, přístroj vypočítá teplotu vzorku na základě objemu vzorku. Toto je výchozí režim.
- **Block mode (Režim bloku)** – když je objem vzorku nastaven na nulu (0) µl, přístroj zaznamená teplotu vzorku stejně jako naměřenou teplotu bloku.

Nastavení objemu vzorku pro konkrétní blok

- ▶ V okně Plate Editor (Editor destiček) zadejte správnou hodnotu na panelu nástrojů do textového pole Sample Volume (Objem vzorku).

Tip: Výchozí objem vzorku můžete změnit v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby). Více informací naleznete v části [Změna výchozího nastavení souboru na straně 66](#).

Přidání kroků do protokolu

Jak přidat krok do protokolu

1. Otevřete protokol v okně Protocol Editor (Editor protokolu).
2. Určete, kam chcete nový krok vložit. Na panelu nástrojů vyberte v rozevřacím seznamu Step (Krok) možnost Before (Před) nebo After (Za).
3. V grafu vyberte krok, před kterým nebo za který chcete vložit nový krok.
4. V levém podokně klikněte na položku Insert Step (Vložit krok).
5. Chcete-li změnit teplotu nebo dobu prodlevy, klikněte na výchozí hodnotu v grafu nebo v přehledu protokolu a zadejte novou hodnotu.
6. (Volitelné) V levém podokně klikněte na Step Options (Možnosti kroku), otevře se dialogové okno Step Options (Možnosti kroku), ve kterém můžete upravovat dostupné možnosti pro vybraný krok.

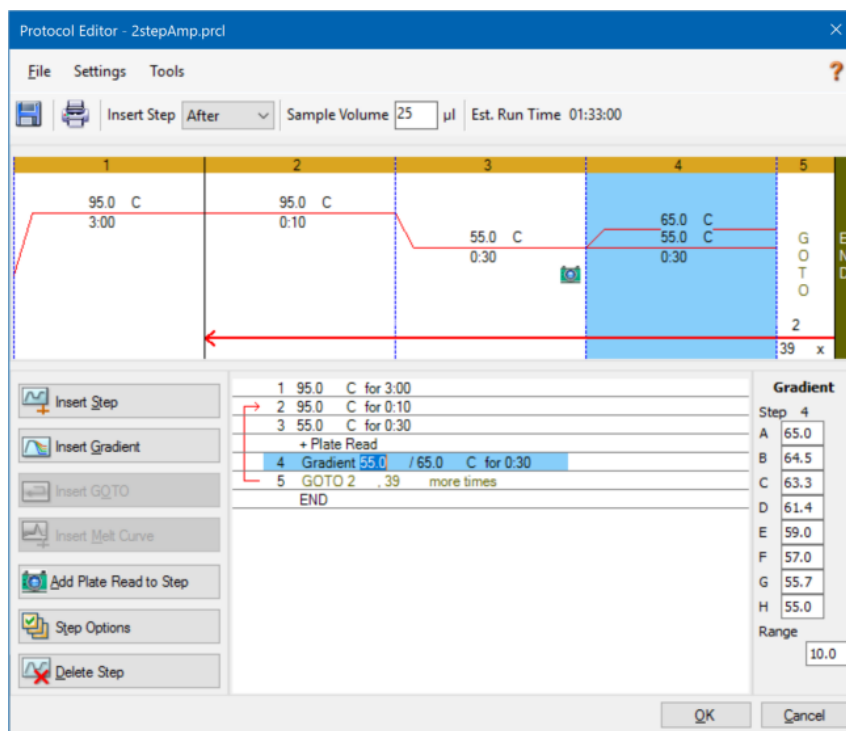
Tip: Dialogové okno Step Options (Možnosti kroku) můžete otevřít přes nabídku po kliknutí pravým tlačítkem myši na podokno grafu nebo podokno přehledu protokolu.

7. Abyste uložili změny v protokolu, klikněte na OK a následně na Yes (Ano).
Otevře se dialogové okno Save As (Uložit jako)
8. V dialogovém okně Save As (Uložit jako) zadejte název nového souboru protokolu a klikněte na položku Save (Uložit).

Vložení kroku Gradient

Jak vložit krok Gradient

1. Ujistěte se, že velikost destičky pro gradient je stejná jako typ bloku přístroje, 96 jamek.
2. Pokud jste tak doposud neučinili, vyberte velikost destičky pro gradient:
Vyberte položky Tools > Gradient Calculator (Nástroje > Kalkulačka gradientu) a zvolte v rozevřacím seznamu odpovídající typ jamky.
3. Na panelu nástrojů vyberte v rozevřacím seznamu Insert Step (Vložit krok) možnost Before (Před) nebo After (Za).
4. V grafu nebo na přehledovém panelu vyberte krok, před kterým nebo za který chcete vložit krok Gradient.
5. Na levém panelu klikněte na Insert Gradient (Vložit gradient). Nový krok Gradient bude v grafu a v přehledovém podokně zvýrazněn, například:



Teplota každého řádku v gradientu se objeví v tabulce Gradient v pravém podokně.

6. Při úpravě rozsahu teploty gradientu postupujte následovně:
 - Klikněte na výchozí teplotu v grafu nebo v přehledovém podokně a zadejte novou teplotu.
 - Klikněte na Step Options (Možnosti kroku) pro zadání rozsahu gradientu v okně Step Options (Možnosti kroku).
 - Změňte hodnotu Range (Rozsah) v tabulce Gradient.
7. Chcete-li upravit dobu prodlevy, klikněte v grafickém nebo textovém zobrazení na výchozí dobu a zadejte novou hodnotu.
8. Kliknutím na OK a poté na Yes (Ano) změny uložíte.

Vložení kroku GOTO

Poznámka: Krok GOTO nelze vložit do souboru GOTO; nelze vytvořit vnořené smyčky GOTO.

Jak vložit krok GOTO

1. Na panelu nástrojů vyberte v rozevíracím seznamu Insert Step (Vložit krok) možnost Before (Před) nebo After (Za).
2. V grafu vyberte krok, před kterým nebo za který chcete vložit krok GOTO.
3. V levém podokně klikněte na Insert GOTO (Vložit GOTO).
4. Chcete-li změnit počet kroků GOTO nebo opakování GOTO, vyberte v grafu nebo na přehledovém panelu výchozí hodnotu a zadejte novou hodnotu.
5. Klepnutím na OK a poté na Yes (Ano) změny uložíte.

Vložení kroku Křivka tání

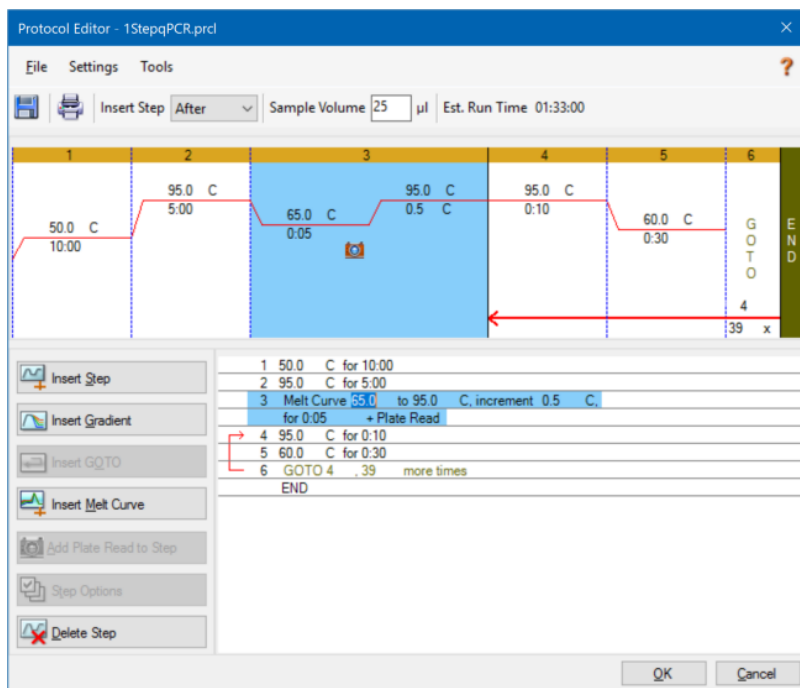
Tip: Není možné vložit krok Křivka tání dovnitř smyčky GOTO.

Poznámka: Krok Křivka tání obsahuje na začátku 30s prodlevu, která není v protokolu zobrazena.

Jak vložit krok Křivka tání

1. Na panelu nástrojů vyberte v rozevíracím seznamu Insert Step (Vložit krok) možnost Before (Před) nebo After (Za).
2. V grafu vyberte krok, před který nebo za který chcete vložit krok Křivka tání.

- Na levém panelu klikněte na Insert Melt Curve (Vložit křivku tání). Nový krok Křivka tání bude v grafu a v přehledovém podokně zvýrazněn, například:



- Chcete-li upravit rozsah teploty tání nebo dobu přírůstku, vyberte v grafu nebo v přehledovém podokně výchozí hodnotu a zadejte novou hodnotu.
- Kliknutím na OK a poté na Yes (Ano) změny uložíte.

Přidání nebo odstranění čtení destičky

Tip: Po přidání povelu pro čtení destičky do kroku se tlačítko změní na Remove Plate Read (Odstranit čtení destičky), když tento krok vyberete.

Jak přidat čtení destičky do kroku

1. Na panelu nástrojů vyberte v rozevřacím seznamu Insert Step (Vložit krok) možnost Before (Před) nebo After (Za).
2. V grafu vyberte krok, před který nebo za který chcete vložit krok čtení destičky.
3. Chcete-li přidat čtení destičky do vybraného kroku, klikněte v levém podokně na možnost Add Plate Read to Step (Přidat čtení destičky do kroku).
4. Kliknutím na OK a poté na Yes (Ano) změny uložíte.

Jak odstranit čtení destičky z kroku

- ▶ V grafu vyberte krok, jenž obsahuje čtení destičky, a v levém podokně klikněte na položku Remove Plate Read (Odstranit čtení destičky).

Změna možností kroku

Změna možností kroku pro vybraný krok

1. V grafu nebo na přehledovém panelu vyberte cílový krok.
2. V levém podokně klikněte na položku Step Options (Možnosti kroku). Otevře se dialogové okno Step Options (Možnosti kroku).

Případně klikněte pravým tlačítkem myši na cílový krok v libovolném podokně a v zobrazené nabídce vyberte položku Step Options (Možnosti kroku).
3. Přidání, úprava nebo odstranění možností:
 - Do příslušného textového pole zadejte hodnotu.
 - Upravte hodnotu v konkrétním textovém poli.
 - Označte nebo odznačte zaškrtačací políčko.
4. Kliknutím na tlačítko OK uložíte změny a zavřete dialogové okno Step Options (Možnosti kroku).
5. Klepnutím na OK a poté na Yes (Ano) protokol uložíte.

Výmaz kroku

Vymazání kroku v protokolu

1. V grafu nebo na přehledovém panelu vyberte krok.
2. Chcete-li odstranit vybraný krok, klikněte na levém panelu na možnost Delete Step (Odstranit krok).
3. Klepnutím na OK a poté na Yes (Ano) protokol uložíte.

Kopírování, export nebo tisk protokolu

Jak kopírovat protokol

- ▶ Klikněte pravým tlačítkem myši na přehled protokolu a vyberte možnost Copy Protocol (Kopírovat protokol).

Přehled můžete vložit do souboru .txt, .xls, .doc nebo .ppt.

Jak exportovat protokol

1. Klikněte pravým tlačítkem myši na přehled protokolu a vyberte možnost Export Protocol (Exportovat protokol).

Otevře se dialogové okno Save As (Uložit jako).

2. (Volitelné) V Průzkumníkovi Windows přejděte do složky, do které chcete soubor protokolu uložit.
3. Do pole File name (Název souboru) zadejte název exportovaného souboru protokolu.
4. Klikněte na Save (Uložit).

Jak vytisknout protokol

- ▶ Klikněte pravým tlačítkem myši na přehled protokolu a vyberte možnost Print (Tisk).

Na své výchozí tiskárně můžete vytisknout přehled protokolu.

Vytvoření protokolu pomocí nástroje Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu)

Důležité: Společnost Bio-Rad neručí za to, že provedení protokolu vytvořeného pomocí nástroje Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) vždy povede k produktu PCR v reálném čase.

Nástroj Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) softwaru CFX Manager Dx automaticky vytváří protokoly cyklů na základě následujících vstupních parametrů:

■ **Amplicon length (Délka amplikonu)** – předpokládaná délka produktu PCR

■ **Annealing temperature (Teplota hybridizace)** – reakční T_a pro použité primery

Pokud je T_a neznámá, můžete pro její automatický výpočet na základě sekvencí primerů použít nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a).

Poznámka: Hodnota T_a je upravena na základě informací o teplotě tání primeru (T_m), která vychází z vybraného enzymu a rychlosti protokolu.

■ **Enzyme type (Typ enzymu)** – enzym polymeráza DNA (polymeráza iTaq, iProof DNA, nebo Other (Jiné))

Pokud použijete jiný enzym než iTaq nebo iProof DNA, můžete zadat další informace, včetně rozsahu gradientu, doby aktivace horkého startu (s) a doby konečného prodloužení (s).

■ **Run speed (Rychlost cyklu)** – rychlost reakce (standardní, rychlá, ultrarychlá)

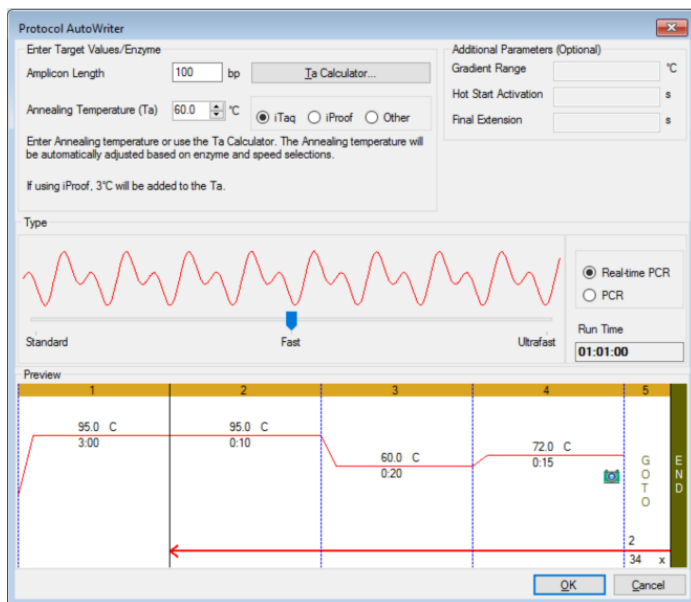
Nástroj Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) optimalizuje protokol podle vybraného nastavení rychlosti. Celková doba cyklu je určena počtem kroků a cyklů, dobou inkubace v každém kroku a dobou dosažení homogenity při cílové teplotě.

Na základě vámi zadaných parametrů a standardních pokynů PCR nástroj Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) automaticky vygeneruje přizpůsobený protokol PCR s kroky horkého startu, počáteční denaturace, hybridizace a prodloužení. Následně můžete zobrazit grafické znázornění návrhu protokolu a tento protokol upravit, provést nebo uložit.

Jak vytvořit nový protokol nástrojem Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) softwaru CFX Manager Dx

1. V okně Home (Domů) vyberte Tools > Protocol AutoWriter (Nástroje > Automatický generátor protokolu).

Objeví se dialogové okno Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu).



2. V části Enter Target Values/Enzyme (Zadat cílové hodnoty/enzym) postupujte následovně:

- Zadejte teplotu hybridizace (T_a) pro primery, pokud ji znáte.

Tip: Více informací naleznete v části [Použití nástroje Ta Calculator \(Kalkulačka Ta\)](#) na straně 104.

Poznámka: Pro informace o výpočtech použitých nástrojem T_a Calculator (Kalkulačka T_a) viz Breslauer a kol. 1986.

- Zadejte délku amplikonu v párech bází (bp).
- Vyberte typ enzymu ze seznamu možností (polymeráza iTaq DNA, polymeráza iProof DNA nebo Other (Jiné)).

Tip: Pokud jako typ enzymu zvolíte Other (Jiné), aktivují se parametry v části Additional Parameters (Optional) (Další parametry (volitelné)).

3. Jestliže jste jako typ enzymu vybrali Other (Jiné), můžete do protokolu přidávat následující parametry:
 - Rozsah gradientu
 - Aktivační teplota horkého startu
 - Doba konečného prodloužení
4. V části Type (Typ) přesuňte posuvnou lištu pro výběr rychlosti protokolu (Standard (Standardní), Fast (Rychlá), Ultrafast (Ultrarychlá)). Software CFX Manager Dx upraví celkovou dobu cyklu.
5. Vyberte prováděný typ PCR (výchozí je Real-time PCR (PCR v reálném čase)).

Při použití PCR v reálném čase přidá software CFX Manager Dx krok čtení destičky pro sběr dat o fluorescenci.
6. V části Preview (Náhled) protokol zkontrolujte. Podle potřeby můžete provádět změny.
7. Postupujte následovně:
 - Kliknutím na OK nový protokol uložíte. Po uložení se protokol otevře v nástroji Startup Wizard (Průvodce spuštěním). Po kliknutí na položku Edit Selected (Editovat vybrané) můžete v protokolu provádět změny. Můžete například změnit teplotu víka a objem vzorku.
 - Kliknutím na Cancel (Zrušit) okno zavřete bez uložení protokolu.

Použití nástroje T_a Calculator (Kalkulačka T_a)

Je-li teplota hybridizace pro primer neznámá, můžete pro výpočet hodnoty použít nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a). Hodnotu můžete použít k vytvoření protokolu v okně Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) nebo Protocol Editor (Editor protokolu).

O nástroji T_a Calculator (Kalkulačka T_a)

Nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a) počítá hodnotu T_m pro každý primer a hodnotu T_a pro protokol při standardní rychlosti.

Hodnota T_a pro protokol vychází z průměrných hodnot T_m primerů s použitím následujících pravidel:

- Pokud je rozdíl mezi hodnotami T_m primerů >4 °C, pak $T_a = (\text{nižší z obou hodnot } T_m \text{ primerů} + 2) - 4$ °C
- Pokud je rozdíl mezi hodnotami $T_m \leq 4$ °C, pak $T_a = (\text{průměr hodnot } T_m \text{ primeru}) - 4$ °C

Metoda počítání párů bází

Pro každý primer používá Ta Calculator (Kalkulačka Ta) metodu počítání párů bází pro sekvence 14 párů bází (bp) nebo méně.

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

kde w, x, y a z jsou čísla bází A, T, G, a C v daném pořadí.

Metoda „nejbližších sousedů“

Pro sekvence delší než 14 párů bází (bp) se používá metoda nejbližšího souseda. V metodě nejbližších sousedů jsou výpočty teploty tání založeny na termodynamickém vztahu mezi entropií (pořadí nebo míra náhodnosti oligonukleotidu), entalpií (teplo uvolněné nebo absorbované oligonukleotidem), volnou energií a teplotou.

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

kde:

- ΔH = hodnota entalpie, cal/mol*K
- T = teplota, Kelvin
- ΔS = hodnota entropie, cal/mol*K
- ΔG = Gibbsova volná energie v cal/mol*K

Změna entropie a entalpie se vypočítá přímo součtem hodnot pro nukleotidové páry uvedené v [Tabulka 12](#) (Breslauer et al. 1986).

Vztah mezi volnou energií a koncentrací reaktantů a produktů v rovnováze je dán vztahem:

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

kde R je plynová konstanta (1,986 cal/mol*K).

Nahrazení G ve dvou rovnicích a řešení pro T dává

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

za předpokladu, že koncentrace komplexu DNA a DNA-primeru je stejná.

Empiricky bylo stanoveno, že během přechodu z jednovláknové DNA na B-formu existuje 5 kcal volné energie (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996). To je pravděpodobně spirálová iniciační energie. Přidání úpravy pro sůl nakonec dává rovnici, kterou kalkulačka Ta používá:

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

Není nutná žádná konstantní hodnota pro koncentraci soli, protože různé parametry byly stanoveny při 1 M NaCl a hodnota \log_{10} z 1 je nula.

Termodynamické výpočty předpokládají, že hybridizace probíhá při pH 7,0. Výpočty T_m předpokládají, že sekvence nejsou symetrické a obsahují alespoň jednu G nebo C.

Oligonukleotidová sekvence by měla být alespoň 14 bází dlouhá, aby poskytla rozumné hodnoty T_m . Méně než 14 bází používá metody párování základních párů (viz [Tabulka 12](#) níže).

Tabulka 12. Breslauerovy interakční konstanty

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

Použití nástroje T_a Calculator (Kalkulačka T_a)

Jak používat nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a)

1. Abyste otevřeli nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a), postupujte následovně:
 - Pokud se aktuálně nacházíte v nástroji Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu), klikněte na T_a Calculator (Kalkulačka T_a).
 - V okně Home (Domů) vyberte položky Tools > T_a Calculator (Nástroje > Kalkulačka Ta).

Otevře se dialogové okno T_a Calculator (Kalkulačka Ta).

2. Do textového rámečku Forward Primer (Přímý primer) zadejte nebo vložte sekvenci přímého primeru.

Tip: Pro zadání sekvence můžete rovněž využít tlačítka A, T, G, C na levé straně dialogového okna.
3. Do textového rámečku Reverse Primer (Zpětný primer) zadejte nebo vložte sekvenci zpětného primeru.
4. Klikněte na Calculate (Vypočítat).

Nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a) vypočítá a zobrazí T_m pro každý primer a průměrné hodnoty T_m a T_a, například:

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

Pokud jsou hodnoty T_m primerů více než 4 °C od sebe, použije nástroj Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu) nižší hodnotu T_m primerů + 2 °C jako základ pro výpočet hodnoty T_a , kterou můžete dále upravit změnou enzymu a rychlosti reakce.

Nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a) vygeneruje teplotu hybridizace pro standardní rychlost s polymerázou iTaq DNA. Při použití jiného enzymu nastavení rychlosti automaticky upraví hodnotu T_a .

5. Postupujte následovně:

- Pokud jste nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a) otevřeli z nástroje Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu), klikněte na OK. Vráťte se do nástroje Protocol AutoWriter (Automatický generátor protokolu). Teplota hybridizace se automaticky upraví.
- Pokud jste nástroj T_a Calculator (Kalkulačka T_a) otevřeli z nabídky Tools (Nástroje), zaznamenejte si výpočty a klikněte na možnost Cancel (Zrušit). Kalkulačka se zavře.

Kapitola 7 Příprava destiček

Soubor destičky obsahuje informace o parametrech cyklu, jako je režim skenování, fluorofory a obsah jamky. Po spuštění software CFX Manager Dx propojí obsah jamky s fluorescenčními daty shromážděnými během cyklu a aplikuje příslušnou analýzu v okně Data Analysis (Analýza dat). Pro vytvoření standardní křivky jsou například použity jamky naplněné standardním typem vzorku.

Software CFX Manager Dx poskytuje dvě možnosti pro vytvoření destiček: Plate Editor (Editor destiček) pro PCR v reálném čase a Setup Wizard (Průvodce nastavením) pro analýzu normalizované exprese genu.

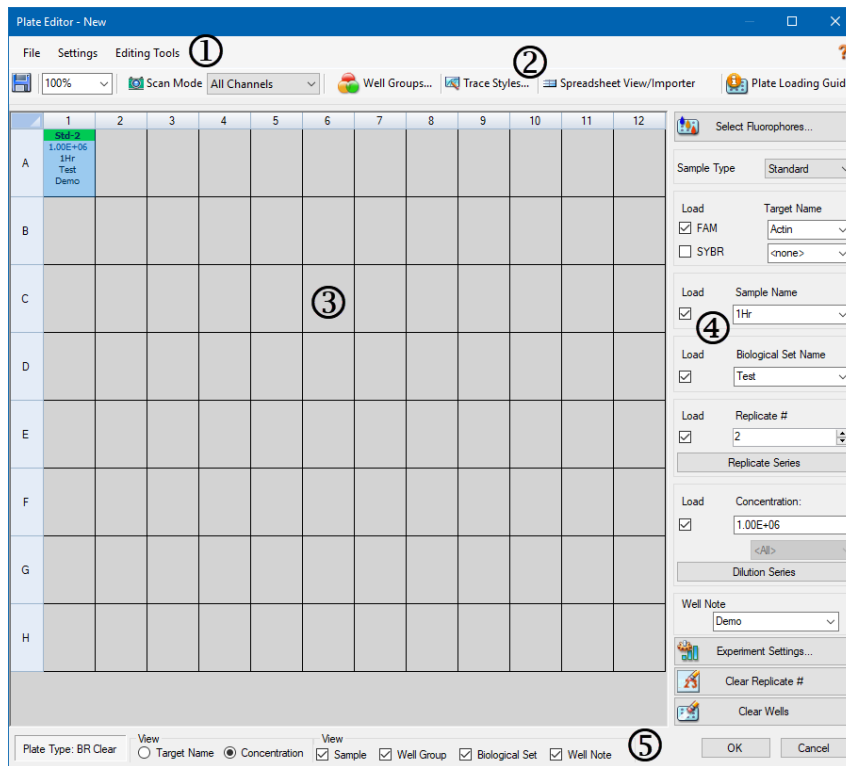
Plate Editor (Editor destiček) obsahuje následující funkce:

- Standardní fluorofory a typy vzorků, které mají být přiřazeny jamkám destiček
- Schopnost nastavit referenční cíl a kontrolní vzorek pro analýzu exprese genu
- Schopnost upravovat nastavení destičky před spuštěním cyklu, během cyklu nebo po dokončení cyklu
- Schopnost ukládat soubory destiček pro opakované použití
- Schopnost vytisknout soubor destičky na výchozí tiskárnu

Setup Wizard (Průvodce nastavením) vás provede vytvořením rozložení destičky pro analýzu normalizované exprese genu. Setup Wizard (Průvodce nastavením) můžete použít před spuštěním cyklu, během cyklu nebo po dokončení cyklu.

Okno Plate Editor (Editor destiček)

Pomocí nástroje Plate Editor (Editor destiček) můžete vytvářet vlastní destičky nebo měnit stávající destičky.



LEGENDA

1. Panel nabídek poskytuje rychlý přístup k příkazům nabídek File (Soubor) a Settings (Nastavení) i k možnostem nástrojů pro úpravu destiček.

2. Panel nástrojů poskytuje rychlý přístup k důležitým funkcím zakládání destiček.

3. Hlavní podokno obsahuje přehled destičky a možnosti pro destičku, které můžete použít.

4. Právě podokno obsahuje možnosti, kterými můžete svou destičku přizpůsobit.

5. Spodní podokno zobrazuje typ destičky a poskytuje rychlý přístup k možnostem zobrazení.

Příkazy nabídky File (Soubor)

Save (Uložit) – uloží datový soubor destičky do umístění stanoveného na kartě File (Soubor) v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby). Více informací naleznete v části [Změna výchozího nastavení souboru na straně 66](#). Tato položka nabídky je dostupná pouze při vytváření nového souboru destičky.

Save As (Uložit jako) – uloží otevřený soubor destičky s novým názvem, který zadáte. Tato položka nabídky je dostupná pouze při vytváření nového souboru destičky.

Extract Plate (Extrahovat destičku) – otevře dialogové okno, ve kterém můžete extrahovat/uložit soubor destičky (.pltd). Tato položka nabídky je dostupná pouze při zobrazení nebo úpravách stávajícího souboru destičky.

Print (Tisk) – vytiskne otevřený datový soubor destičky.

Close (Zavřít) – zavře nástroj Plate Editor (Editor destiček).

Příkazy karty Settings (Nastavení)

Plate Size (Velikost destičky) – poskytuje možnosti, ze kterých můžete vybrat velikost destičky pro daný cyklus.

Poznámka: Systém CFX Dx může používat pouze 96jamkovou destičku.

Plate Type (Typ destičky) – umožňuje vybrat typ jamek na destičce, na které jsou uloženy vzorky, buď jako BR White (BR bílá), nebo BR Clear (BR čirá). Pro přesnou analýzu dat musí být zvolený typ destičky shodný s typem destičky použitým v cyklu.

Number Convention (Konvence čísel) – umožňuje vybrat nebo zrušit výběr možností zobrazení jednotek ve vědeckém zápisu. Výchozí nastavení je zobrazení jednotek ve vědeckém zápisu.

Units (Jednotky) – umožňuje vybrat jednotky, které se mají zobrazovat v tabulkách při kvantifikaci neznámých hodnot oproti standardní křivce.

Příkazy nabídky Editing Tools (Nástroje pro úpravy)

Setup Wizard (Průvodce nastavením) – otevře nástroj Setup Wizard (Průvodce nastavením), ve kterém můžete definovat parametry rozložení a analýzy pro aktuální destičku. Nástroj Setup Wizard (Průvodce nastavením) můžete použít před spuštěním cyklu, během něj i po jeho dokončení.

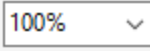
Spreadsheet View/Importer (Zobrazení/import tabulky) – otevře dialogové okno View (Zobrazit), které ukazuje rozložení destičky jako šablonu ve formátu tabulky. V tomto dialogovém okně můžete exportovat nebo importovat data o šabloně destičky ve formátu .csv.

Flip Plate (Otočit destičku) – otočí obsah destičky o 180°.

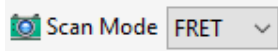
Příkazy panelu nástrojů



Uloží aktuální soubor destičky.



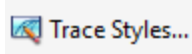
Zobrazí rozevírací seznam, ze kterého můžete zvýšit nebo snížit zvětšení náhledu destičky.



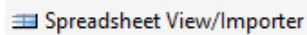
Zobrazí rozevírací seznam, ze kterého můžete vybrat režim skenování, jenž přístroj řekne, ze kterých kanálů má během cyklu shromažďovat data o fluorescenci.



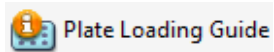
Otevře Well Groups Manager (Správce skupin jamek), ve kterém můžete vytvářet skupiny jamek pro aktuální destičku.



Zobrazí dialogové okno, ve kterém můžete zvolit barvy a symboly pro trasy amplifikace.



Otevře dialogové okno View (Zobrazit), které ukazuje rozložení destičky jako šablonu ve formátu tabulky. V tomto dialogovém okně můžete exportovat nebo importovat data o šabloně destičky ve formátu .csv.



Zobrazí nezbytné kroky pro nastavení destičky a založení jamek.

Vytvoření souboru destičky pomocí Plate Editor (Editor destiček)

Pomocí nástroje Protocol Editor (Editor destiček) můžete vytvářet vlastní soubory destičky. Můžete také upravovat a ukládat již uložené soubory destiček nebo soubory vzorku dodané se softwarem Software CFX Manager Dx.

Abyste vytvořili nový soubor destičky, postupujte následovně:

- Otevřete soubor destičky v nástroji Plate Editor (Editor destiček)

- Vyberte typ destičky.

Poznámka: Typ desky pro soubor destičky musí být stejný jako destička v reakčním modulu.

- Vyberte režim skenování, který má být použit v protokolu.

- Vyberte fluorofory, které se mají použít na destičce.

- Vyberte typy vzorků, cíle a vzorky.

- V případě potřeby vyberte replikáty.

- Uložte uspořádání destičky.

Tip: Chcete-li vytvořit novou destičku z dříve uložených nebo souborů destiček, viz [Otevření stávajícího souboru destičky v nástroji Plate Editor \(Editor destiček\) na straně 115](#).

Otevření nového souboru destičky v nástroji Plate Editor (Editor destiček)

Software CFX Manager Dx nabízí několik možností, jak otevřít nový soubor destičky:

- Z okna Home (Domů)
- Z dialogového okna Startup Wizard (Průvodce spuštěním)
- Z dialogového okna Run Setup (Nastavení cyklu)

Jak otevřít nový soubor destičky z okna Home (Domů)

- ▶ Vyberte možnosti File > New > Plate (Soubor > Nový > Destička).

Otevře se okno Plate Editor (Editor destiček), které zobrazí výchozí soubor destičky pro vybraný přístroj.

Tip: Informace o nastavení vašeho výchozího souboru destičky jsou uvedeny v části [Změna výchozího nastavení souboru na straně 66](#).

Jak otevřít nový soubor destičky z nástroje Startup Wizard (Průvodce spuštěním)

1. V okně Home (Domů) postupujte následovně, abyste otevřeli nástroj Startup Wizard (Průvodce spuštěním), pokud ještě není otevřen:

- Vyberte možnosti View > Startup Wizard (Zobrazit > Průvodce spuštěním).
- Na panelu nástrojů klikněte na položku Startup Wizard (Průvodce spuštěním).

Ve výchozím nastavení nástroj Startup Wizard (Průvodce spuštěním) obsahuje kartu Run Setup (Nastavení cyklu) s vybraným přístrojem CFX96.

2. V případě potřeby vyberte typ přístroje z rozevíracího seznamu.
3. Pro vytvoření nové destičky klikněte na User-defined (Definovaný uživatelem) jako typ cyklu.
Otevře se dialogové okno Run Setup (Nastavení cyklu), které obsahuje kartu Protocol (Protokol).
4. Klikněte na kartu Plate (Destička) a na možnost Create New (Vytvořit novou).
Otevře se okno Plate Editor (Editor destiček), které zobrazí výchozí rozložení destičky pro vybraný přístroj.

Jak otevřít nový soubor destičky z dialogového okna Run Setup (Nastavení cyklu)

1. V okně Home (Domů) postupujte následovně, abyste otevřeli dialogové okno Run Setup (Nastavení cyklu):
 - Vyberte možnosti Run > User-defined Run (Cyklus > Cyklus definovaný uživatelem).
 - Na panelu nástrojů klikněte na možnost User-defined Run Setup (Nastavení cyklu definovaného uživatelem).Otevře se dialogové okno Run Setup (Nastavení cyklu) na kartě Protocol (Protokol).
2. Abyste vytvořili novou destičku, klikněte na kartu Plate (Destička) a na možnost Create New (Vytvořit novou).
Otevře se okno Plate Editor (Editor destiček), které zobrazí výchozí rozložení destičky pro vybraný přístroj.

Otevření stávajícího souboru destičky v nástroji Plate Editor (Editor destiček)

Software CFX Manager Dx poskytuje soubory destičky vzorku, které můžete upravovat a ukládat jako vlastní nové destičky. Můžete také vytvořit nový soubor destičky z dříve uloženého souboru destiček.

Otevření souboru destičky vzorku

1. V okně Home (Domů) vyberte položky File > Open > Plate (Soubor > Otevřít > Destička).
Průzkumník Windows se otevře do umístění složky CFX Manager Dx Sample files (Soubory vzorků).
2. Otevřete složku Sample files (Soubory vzorků) a potom otevře složku Plates (Destičky).
3. Vyberte destičku a klikněte na tlačítko Open (Otevřít).
Otevře se soubor vzorek destičky v okně Plate Editor (Editor destiček).
4. Vyberte položky File > Save As (Soubor > Uložit jako) a uložte soubor destičky s novým názvem nebo do nové složky.

Otevření předchozího uloženého souboru destičky

1. V okně Home (Domů) vyberte položky File > Open > Plate (Soubor > Otevřít > Destička), přejděte na cílovou destičku a klikněte na položku Open (Otevřít).
Otevře se cílová destička v okně Plate Editor (Editor destiček).
2. Vyberte File > Save As (Soubor > Uložit jako) a uložte soubor destičky s novým názvem nebo do nové složky.

Nastavení nového souboru destičky

Tip: Pokud váš soubor destičky obsahuje požadované parametry (například pokud upravujete vzorek nebo stávající soubor destičky), můžete tuto část přeskočit. Přejděte na část [Přiřazení volitelných parametrů k souboru destičky na straně 122](#).

Nové soubory destičky vyžadují následující parametry:

- Velikost destičky
- Typ destičky
- Režim skenování
- Jeden fluorofor (barvivo)
- Jeden typ vzorku

Výběr velikosti a typu destičky

Důležité: Velikost destičky musíte vybrat během nastavení destičky. Během cyklu nebo po něm nemůžete velikost destičky měnit.

Software použije během cyklu velikost a typ destičky pro všechny jamky. Ujistěte se, že vybraná velikost destičky je stejná jako destička, kterou při cyklu použijete.

Přístroje CFX96 a CFX96 Deep Well společnosti Bio-Rad jsou ve výrobním závodě kalibrovány pro mnoho kombinací fluorescenčních barviv a destiček. Kalibrace platí pouze pro daný přístroj, barvivo a typ destičky. Ujistěte se, že fluorofor, který chcete použít, je pro vybraný typ destičky kalibrován.

Výběr režimu skenování

Systémy CFX96 a CFX96 Deep Well excitují a detekují fluorofory v pěti kanálech. Všechny systémy používají více režimů snímání dat pro sběr dat fluorescence během cyklu.

Software CFX Manager Dx poskytuje tři režimy skenování:

- All Channels (Všechny kanály)
 - Skenuje kanály 1 až 5 na systémech CFX96 a CFX96 Deep Well
- SYBR®/FAM
 - Skenuje pouze kanál 1
 - Provádí rychlé skenování
- FRET
 - Skenuje pouze kanál FRET
 - Provádí rychlé skenování

Výběr fluoroforů

Důležité: Před zahájením cyklu software Software CFX Manager Dx ověří, zda jsou vámi uvedené fluorofory na destičce kalibrovány pro daný přístroj. Není možné zpracovat destičku, pokud obsahuje fluorofory, které nebyly pro příslušný přístroj kalibrovány.

Před cyklem musíte založit alespoň jeden fluorofor pro rozložení destičky. V tuto chvíli můžete přidat potřebné množství fluoroforů, přičemž destička musí obsahovat alespoň jeden. V nabídce Target Names (Názvy cílů) se vybrané fluorofory objeví jako možnosti pro cíle.

Pomocí dialogového okna Select Fluorophores (Vybrat fluorofory) načtete fluorofory (nebo barviva destičky) do možností pro založení jamky v nástroji Plate Editor (Editor destiček). Fluorofory, které se objeví v dialogovém okně Select Fluorophores (Vybrat fluorofory), závisí na vámi vybraném režimu skenování:

- Všechny kanály

Jsou zobrazeny všechny dostupné fluorofory.

Tip: Můžete přidat nebytný počet fluoroforů, avšak pouze jeden na jeden kanál v každé jamce.

- SYBR®/FAM

Zobrazí se pouze fluorofory pro kanál 1.

- FRET

Zobrazí se pouze fluorofor pro kanál 6.

Tip: Fluorofor FRET pro kanál 6 bude zobrazen pouze v případě, že je vybraným režimem skenování FRET. Tato možnost není k dispozici pro režim skenování All Channels (Všechny kanály).

Poznámka: Není možné fluorofory přímo přidávat nebo odstraňovat z dialogového okna Select Fluorophore (Vybrat fluorofor). Musíte provést kalibraci nových fluoroforů pro přístroj pomocí nástroje Calibration Wizard (Průvodce kalibrací). Po kalibraci je nový fluorofor automaticky přidán do tohoto seznamu.

Výběr typů vzorků

Důležité: Abyste mohli přiřadit jamky destičky před cyklem, musíte vybrat alespoň jeden typ vzorku.

Software CFX Manager Dx nabízí pět typů vzorků:

- Unknown (Neznámý)
- Standard (Standardní)
- NTC (Kontrola bez templátu)
- Positive Control (Pozitivní kontrola)
- Negative Control (Negativní kontrola)
- NRT (Bez reverzní transkriptázy)

Typy vzorků přiřazujete jamkám destičky.

Nastavení nové destičky

Nastavení nové destičky

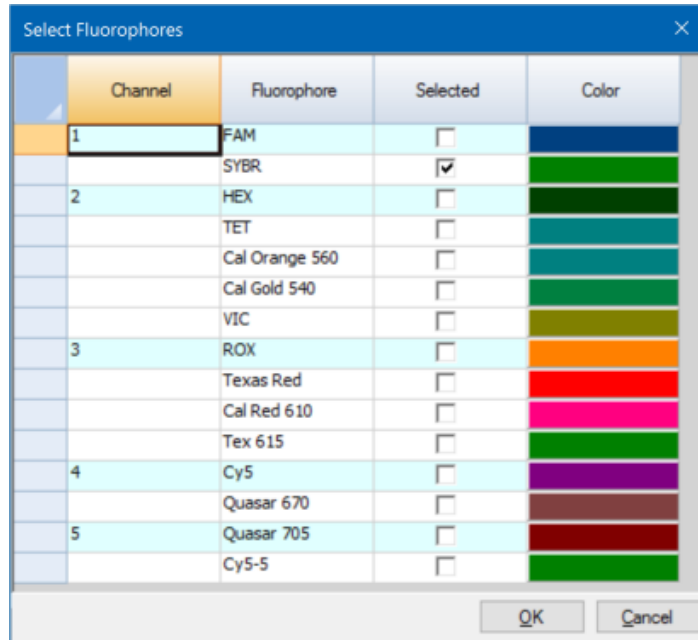
1. Otevřete novou destičku v okně Plate Editor (Editor destiček).
2. Chcete-li nastavit velikost destičky, vyberte Settings > Plate Size (Nastavení > Velikost destičky) a vyberte příslušnou velikost destičky z rozevírací nabídky.
3. Chcete-li nastavit typ desky, vyberte možnost Settings > Plate Type (Nastavení > Typ destičky) a v rozevírací nabídce vyberte možnost buď BR White (BR bílá), nebo BR Clear (BR čirá).
4. Volitelně můžete v nabídce Settings (Nastavení) změnit konvence čísel a jednotky zobrazení:
 - Chcete-li změnit konvenci čísel, vyberte Settings > Number Convention (Nastavení > Konvence o číslech) a vyberte položku Scientific Notation (Vědecký zápis).

Tip: Ve výchozím nastavení je vybrán Scientific Notation (Vědecký zápis). V tomto případě výběr Scientific Notation (Vědecký zápis) zruší výchozí nastavení a nastaví konvenci o číslech do standardní formy.
 - Chcete-li změnit jednotky zobrazení, zvolte Settings > Units (Nastavení > Jednotky) a vyberte novou hodnotu jednotky.
5. Chcete-li nastavit režim skenování, vyberte příslušný režim skenování z rozevíracího seznamu Scan Mode (Režim skenování) na panelu nástrojů okna Plate Editor (Editor destiček).

6. Vyberte potřebné fluorofory pro destičku:

- a. V pravém podokně klikněte na tlačítko Clear Fluorophores (Vymazat fluorofory).

Zobrazí se dialogové okno Select Fluorophores (Vybrat fluorofory). Uvidíte fluorofory dostupné pro zvolený režim skenování v [Krok 5](#), příklad:



- b. Chcete-li vybrat fluorofor, klikněte na zaškrťovací políčko Selected (Vybrané).

Tip: Chcete-li odstranit fluorofor ze seznamu, klikněte na zaškrťovací políčko Selected (Vybrané).

- c. Chcete-li změnit barvu zobrazení fluoroforu, klikněte na pole Color (Barva).

Poznámka: Vybraná barva reprezentuje fluorofor jak v okně Plate Editor (Editor destičce), tak v grafu Data Analysis (Analýza dat).

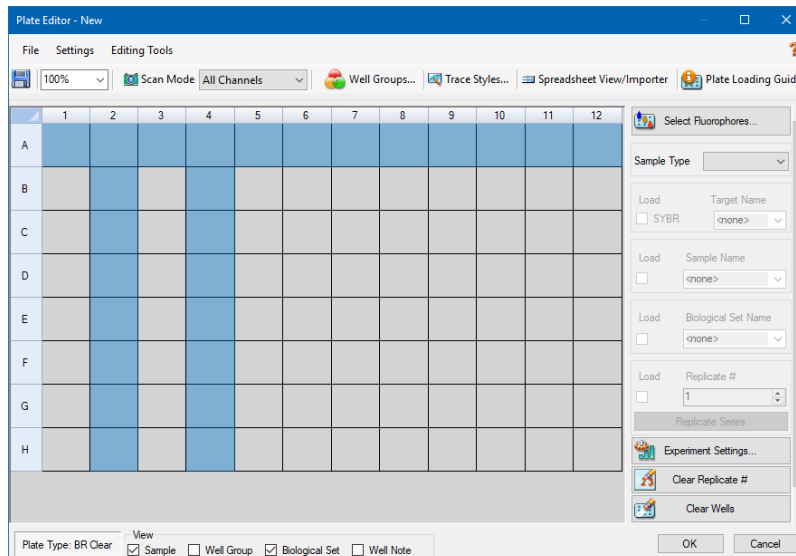
- d. V dialogovém okně Color (Barva) vyberte požadovanou barvu nebo klikněte na tlačítko Define Custom Colors (Definovat vlastní barvy) a vytvořte novou barvu, která bude představovat fluorofor.
- e. Kliknutím na tlačítko OK uložíte změny a ukončíte dialogové okno Select Fluorophores (Vybrat fluorofory).

- Musíte vybrat alespoň jednu jamku, do které chcete načíst typ vzorku. Ve výchozím nastavení je vybrána možnost A1.

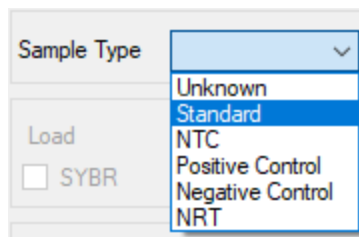
V podobně tabulky postupujte následovně:

- Chcete-li načíst více sousedních jamek, klikněte na jamku a táhněte až k cílové jamce.
- Chcete-li načíst více nesousedících jamek, podržte klávesu Control a klikněte na každou jamku.
- Chcete-li načíst celý sloupec se stejným typem vzorku, klikněte na číslo sloupce.
- Chcete-li načíst celý řádek, klikněte na číslo řádku.
- Chcete-li načíst celou destičku, klikněte na levý horní roh destičky.

Například:



- V rozevřací nabídce Sample Type (Typ vzorku) přiřadte vybrané jamce nebo jamkám typ vzorku.

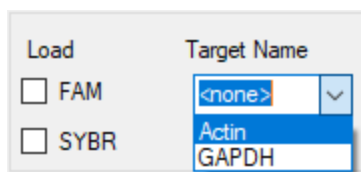


- Přiřadte alespoň jeden fluorofor do všech jamek, které obsahují typ vzorku. Do jamky nebo skupiny jamek můžete přiřadit více než jeden fluorofor.

Poznámka: Na každý kanál můžete přiřadit pouze jeden fluorofor. Nelze přiřadit více než jeden fluorofor ze stejného kanálu do stejné jamky.

Tip: Fluoroforu můžete přiřadit cíl nebo můžete přiřadit do jamky v tomto okamžiku pouze fluorofor a po provedení experimentu přiřadit cíl k fluoroforu.

- Chcete-li vybraným jamkám přiřadit pouze fluorofor, v části Target Names (Názvy cíle) v pravém podokně označte zaškrtnuté políčko Load (Načtení) pro konkrétní fluorofor.
- Chcete-li přiřadit fluoroforu cíl, vyberte v části Target Names (Názvy cíle) z rozevřacího seznamu název cíle pro konkrétní fluorofor. Software automaticky vybere zaškrtnuté políčko Load (Načíst).



10. U jamek, které obsahují typ vzorku Standard (Standardní), musíte načíst koncentraci. Každá jamka může mít jinou hodnotu koncentrace. Standardně software Software CFX Manager Dx načítá koncentraci 1,00E+06 do všech jamek s typem vzorku Standard (Standardní). V případě potřeby můžete hodnotu změnit.

- a. V podokně destičky vyberte jamku nebo skupinu jamek Standard (Standardní).
- b. V části Concentration (Koncentrace) klikněte na Load (Načíst) a načtěte hodnotu do vybrané jamky nebo vybraných jamek.
- c. (Volitelné) Chcete-li načíst jinou koncentraci, zadejte novou hodnotu do textového pole Concentration (Koncentrace) a stiskněte klávesu Enter.
- d. Tento krok proveďte pro všechny jamky se vzorkem typu Standard (Standardní).

Tip: Pro načtení stejné koncentrace do všech jamek Standard (Standardní) se ujistěte, že se zobrazuje v rozevřacím seznamu pod hodnotou Concentration (Koncentrace) možnost <All> (<Všechny>). Pro načtení stejné hodnoty koncentrace do všech jamek se specifickým fluoroforem klikněte na rozevřací seznam a vyberte fluorofor.

11. Klepnutím na OK novou destičku uložte.

Přiřazení volitelných parametrů k souboru destičky

Soubor destičky obsahuje informace o obsahu každé jamky naplněné vzorkem pro cyklus. Po cyklu software Software CFX Manager Dx propojí obsah jamky s daty o fluorescenci shromážděnými během protokolu a v okně Data Analysis (Analýza dat) použije příslušnou analýzu.

Pomocí softwaru CFX Manager Dx můžete přiřazovat parametry každé jamce na destičce před provedením experimentů, během nich nebo i po nich. Parametry můžete přiřadit ke stávajícímu nebo novému souboru destičky. Tyto parametry zahrnují:

- **Target names (Názvy cílů)** – zájmový cíl nebo cíle (geny nebo sekvence) v každé založené jamce.
- **Sample names (Názvy vzorků)** – identifikátor nebo podmínka, která odpovídá vzorku v každé založené jamce, například 0hod, 1hod nebo 2hod.

Tip: Názvy cílů a názvy vzorků musejí být mezi jamkami stejné, aby bylo možné srovnávat data na kartě Gene Expression (Expresce genu) v okně Data Analysis (Analýza dat). Každý název musí obsahovat stejná velká písmena, interpunkci a mezery. Například „Actin“ není totéž jako „actin“, „2Hr“ není totéž jako „2 hr.“ a „Mouse 1“ není totéž jako „mouse1.“ Aby byly zajištěny konzistentní názvy, zadávejte je v části Libraries (Knihovny) v nabídce User > User Preferences > Plate (Uživatel > Uživatelské předvolby > Destička), která je k dispozici v okně Home (Domů).

- **Biological sets (Biologické soubory)** – identifikátor nebo podmínka, která odpovídá souboru jamek.
- **Replicates (Replikace)** – každá jamka použitá k analýze stejné kombinace vzorku a cíle/cílů; tj. reakce qPCR replikace.
- **Dilution series (Série ředění)** – množství nutné pro změnu koncentrace typu vzorku Standard (Standardní) ve skupině replikací, aby se vytvořila data pro standardní křivku k analýze.

Přiřazení cíle jamkám

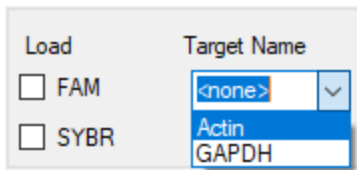
Tip: Jedné nebo několika jamkám můžete přiřadit stejný název cíle. Rovněž můžete přiřadit několik cílů jedné jamce.

Jak přiřadit cíl jamce nebo skupině jamek

1. V nástroji Plate Editor (Editor destiček) se ujistěte, že je jamce nebo skupině jamek přiřazen typ vzorku.

Další informace o přiřazení typů vzorku jamkám jsou uvedeny v části [Výběr typů vzorků na straně 118](#).

2. Na panelu destiček vyberte jamku nebo skupinu jamek:
 - Chcete-li vybrat jednu jamku, klikněte na ni.
 - Chcete-li vybrat více sousedních jamek, klikněte na jamku a táhněte až k cílové jamce.
 - Chcete-li vybrat více nesousedících jamek, podržte klávesu Control a klikněte na každou jamku.
 - Chcete-li vybrat celý sloupec se stejným typem vzorku, klikněte na číslo sloupce.
 - Chcete-li vybrat celý řádek, klikněte na číslo řádku.
3. V pravém podokně vyberte z rozevřacího seznamu Target Name (Název cíle) název pro každý vybraný fluorofor.



4. Opakujte [Krok 3](#) pro každou jamku nebo skupinu jamek, kterým musíte přiřadit cíl.

Tip: Každému vybranému fluoroforu můžete přiřadit stejný nebo odlišný název cíle.
5. Klikněte na OK, abyste potvrdili změny a uložili destičku.

Jak odstranit název cíle

- ▶ Abyste odstranili název cíle z vybrané jamky nebo skupiny jamek, odznačte její zaškrťovací políčko Load (Načíst).

Důležité: Odstraněním názvu cíle z jamky se rovněž odstraní příslušný fluorofor. Při odstraňování názvu cíle z jamky postupujte opatrně.

Jak přidat název cíle do seznamu

- ▶ Chcete-li do rozevíracího seznamu přidat název cíle, postupujte následovně:
 - Do rozevíracího seznamu Target Name (Název cíle) zadejte název a stiskněte Enter.
Tip: Názvy cílů, které přidáte do jednoho seznamu, se objeví ve všech ostatních seznamech cílů.
 - Klikněte na zelený symbol + napravo od rozevíracího seznamu, zadejte název pro cíl a stiskněte Enter.
 - Na panelu nástrojů klikněte na položku User Preferences (Uživatelské předvolby) a přidejte název do knihovny Target Names (Názvy cílů) na kartě Plate (Destička).

Důležité: Názvy cílů, které jste přidali do rozevíracího seznamu, budou dostupné pouze pro aktuální destičku a pouze v případě, že název přiřadíte k jamce a uložíte rozvržení destičky. Pokud název nepřiřadíte k jamce a neuložíte rozvržení destičky, název se neuloží a nebude v budoucnu dostupný. Chcete-li název cíle přidat natrvalo, přidejte jej také do knihovny Target Names (Názvy cílů) pomocí dialogového okna User Preferences (Uživatelské předvolby). Názvy, které přidáte do knihovny, budou k dispozici, když znovu otevřete Plate Editor (Editor destiček). Více informací naleznete v části [Nastavení výchozích parametrů destičky na straně 69](#).

Jak odstranit název cíle ze seznamu

1. Na panelu nástrojů klikněte na položku User Preferences (Uživatelské předvolby).
Dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby) zobrazí kartu Plate (Destička).
2. V knihovně Target Names (Názvy cílů) na kartě Plate (Destička) vyberte název, který chcete odstranit, a stiskněte tlačítko Delete (Odstranit).
3. Klikněte na OK, abyste změny uložili a opustili jste dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).

Důležité: Názvy cílů, které jste uložili se souborem destičky, nelze odstranit. Vlastní názvy, které přidáte do rozevíracího seznamu Target Names (Názvy cílů), nepoužijete je a neuložíte je s destičkou, jsou ze seznamu automaticky odstraněny. Názvy, které odstraníte z knihovny Target Names (Názvy cílů), jsou ze softwaru trvale odstraněny a uživatelům již nejsou k dispozici. Při odstraňování názvů cílů postupujte opatrně.

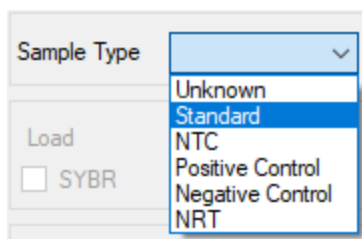
Přiřazení názvu vzorku jamkám

Poznámka: Pro přiřazení názvu vzorku musíte vybraným jamkám přiřadit alespoň jeden fluorofor. Pokud vybraným jamkám není přiřazen fluorofor, rozevírací seznam Sample Names (Název vzorku) bude neaktivní. Další informace o přiřazení fluoroforů naleznete v části [Přiřazení cíle jamkám na straně 122](#).

Tip: Ke každé jamce nebo skupině jamek můžete přiřadit pouze jeden název vzorku.

Přiřazení názvu vzorku k jamce nebo skupině jamek

1. V nástroji Plate Editor (Editor destiček) zkontrolujte, zda byl jamce nebo skupině jamek přiřazen fluorofor.
2. V podokně destiček vyberte jamku nebo skupinu jamek.
3. V pravém podokně vyberte z rozevíracího seznamu název Sample Names (Název vzorku).



4. Opakujte [Krok 3](#) pro každou jamku nebo skupinu jamek, kterým musíte přiřadit název vzorku.
5. Klikněte na tlačítko OK, aby se potvrdily změny a uložila destička.

Odstranění názvu vzorku

- K odstranění názvu vzorku z vybrané jamky nebo skupiny jamek zrušte zaškrtnutí políčka Load (Načíst).

Přidání názvu vzorku do seznamu

- ▶ Chcete-li do rozevíracího seznamu přidat název vzorku, postupujte následovně:
 - Do rozevíracího seznamu Sample Names (Název vzorku) zadejte název a stiskněte Enter.
 - Klikněte na zelený symbol + napravo od rozevíracího seznamu a zadejte název pro vzorek.
 - Na panelu nástrojů klikněte na položku User Preferences (Uživatelské předvolby) a přidejte název do knihovny Sample Names (Název vzorku) na kartě Plate (Destička).

Důležité: Název vzorku, který jste přidali do rozevíracího seznamu, bude dostupný pouze pro aktuální destičku a pouze v případě, že název přiřadíte k jamce a uložíte rozvržení destičky. Pokud název nepřidáte k jamce a neuložíte rozvržení destičky, název se neuloží a nebude v budoucnu dostupný. Chcete-li trvale přidat název vzorku, přidejte ho také do knihovny Sample Names (Název vzorku) pomocí dialogového okna User Preferences (Uživatelské předvolby). Názvy, které přidáte do knihovny, jsou k dispozici poté, co znovu otevřete Plate Editor (Editor destiček). Více informací naleznete v části [Nastavení výchozích parametrů destičky na straně 69](#).

Odstranění názvu vzorku ze seznamu

1. Na panelu nástrojů klikněte na položku User Preferences (Uživatelské předvolby).
Dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby) zobrazí kartu Plate (Destička).
2. V knihovně Sample Names (Název vzorku) na kartě Plate (Destička) vyberte název, který chcete odstranit, a stiskněte tlačítko Delete (Odstranit).
3. Klikněte na OK, aby se změny uložily, a opusťte dialogové okno User Preferences (Uživatelské předvolby).

Důležité: Názvy vzorku, které jste uložili se souborem destičky, nelze odstranit. Vlastní názvy, které přidáte do rozevíracího seznamu Sample Names (Název vzorku) a nepoužíváte a uložíte je s destičkou, jsou automaticky odstraněny ze seznamu. Názvy, které odstraníte z knihovny Sample Names (Název vzorku), jsou ze softwaru trvale odstraněny a uživatelům již nejsou k dispozici. Při odstraňování názvů vzorku buďte opatrní.

Přiřazení biologických souborů jamkám

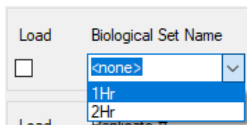
Poznámka: Pro přiřazení biologického souboru musíte vybraným jamkám přiřadit alespoň jeden fluorofor. Přiřazení fluoroforu aktivuje rozevírací seznam Biological Set Name (Název biologického souboru). Další informace o přiřazení fluoroforů naleznete v části [Přiřazení cíle jamkám na straně 122](#).

Tip: Ke každé jamce nebo skupině jamek můžete přiřadit jeden biologický soubor.

Přiřazení biologického souboru k jamce nebo skupině jamek

1. V možnostech View (Zobrazení) ve spodní části okna Plate Editor (Editor destiček) zaškrtněte políčko Biological Set (Biologický soubor).
2. V nástroji Plate Editor (Editor destiček) zkontrolujte, zda byl jamce nebo skupině jamek přiřazen fluorofor.
3. V podokně destiček vyberte jamku nebo skupinu jamek.
4. V pravém podokně proveďte výběr z rozevíracího seznamu Biological Set Name (Název biologického souboru).

Software CFX Manager Dx automaticky zaškrtně políčko Load (Načíst).



5. Opakujte [Krok 4](#) pro každou jamku nebo skupinu jamek, kterým musíte přiřadit biologický soubor.
6. Klikněte na tlačítko OK, aby se potvrdily změny a uložila destička.

Tip: Přiřazení názvů biologických souborů k jamkám povolí možnosti Biological Set Analysis Options (Možnosti nastavení biologického souboru) v dialogovém okně Experiment Settings (Nastavení experimentu), ve kterém můžete provést analýzu vzorků v jedné ze čtyř konfigurací. Více informací naleznete v části [Změna nastavení experimentu na straně 133](#).

Odstranění biologického souboru

- ▶ K odstranění biologického souboru z vybrané jamky, zrušte zaškrtnutí políčka Load (Načíst).

Přidání biologického souboru do seznamu

- ▶ Chcete-li do rozevíracího seznamu přidat biologický soubor, napište název do rozevíracího políčka Biological Set Name (Název biologického souboru) a stiskněte Enter.

Důležité: Názvy biologických souborů, které jste přidali do rozevíracího seznamu, budou dostupné pouze pro aktuální destičku a pouze v případě, že název přiřadíte k jamce a uložíte rozvržení destičky. Pokud název nepřidáte k jamce a neuložíte rozvržení destičky, název se neuloží a nebude v budoucnu dostupný.

Zobrazení všech biologických souborů na destičce

- ▶ Zaškrtněte políčko Biological Set (Biologický soubor) v možnostech View (Zobrazení) ve spodní části okna Editor.



Všechny jamky zobrazují příslušný název biologického souboru, pokud je přiřazen. V pravém podokně se zobrazí ovládací prvek Biological Set Name (Název biologického souboru).

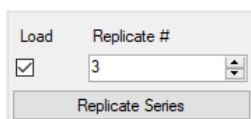
Chcete-li skrýt biologické soubory, zrušte zaškrtnutí políčka Biological Set (Biologický soubor) v možnostech View (Zobrazení).

Přiřazení čísel replikátů jamkám

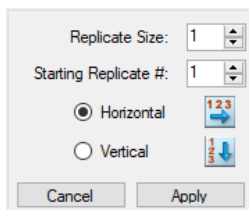
Důležité: Pro přiřazení čísel replikátů musí vybrané jamky mít totožný obsah jamky. To znamená, že vybrané jamky musí mít stejný typ vzorku a fluorofor. Je-li to možné, musí jim být rovněž přiřazeny stejné názvy cíle a vzorku a stejný biologický soubor. Pokud nejsou stejné, software Software CFX Manager Dx tuto možnost nepovolí.

Jak přiřadit čísla replikace skupině jamek

1. V nástroji Plate Editor (Editor destiček) se ujistěte, že je obsah skupiny jamek totožný.
2. V podokně destičky vyberte cílovou skupinu jamek.
3. Abyste přiřadili stejné číslo replikace všem vybraným jamkám, zadejte do rámečku v části Replicate # (Číslo replikace) v pravém podokně číslo replikace a vyberte možnost Load (Načíst).



4. (Volitelné) Jak použít sérii replikací pro soubor vybraných jamek:
 - a. Klikněte na Technical Replicates (Technické replikace) Replicate Series (Série replikací). Část Replicate # (Číslo replikace) se změní a zobrazí následující možnosti:



- **Replicate size (Velikost replikace)** – číslo představující počet jamek v každé skupině replikací
- **Starting replicate # (Počáteční číslo replikace)** – první číslo v sérii replikací pro vybranou skupinu replikací

Poznámka: Ve výchozím nastavení zobrazuje software Software CFX Manager Dx počáteční číslo replikace, které je o jedno větší než poslední číslo replikace přiřazené na destičce. Například jestliže je poslední číslo replikace na destičce pět, příští počáteční číslo bude šest. Počáteční číslo můžete změnit na libovolné číslo, které zatím není přiřazeno.

- Směr založení (vodorovný nebo svislý)
- b. Kliknutím na Apply (Použít) použijete parametry na sérii a vrátíte se na obrazovku Replicate # (Číslo replikace).
5. Klikněte na OK, abyste potvrdili změny a uložili destičku.

Jak odstranit jamku ze série replikací

- ▶ Vyberte jamku nebo skupinu jamek, kterou chcete odstranit, a odznačte zaškrťovací políčko Replicate # Load (Načíst číslo replikace).

Případně můžete kliknout na Clear Replicate # (Vymazat číslo replikace), abyste vymazali číslo replikace z vybrané jamky nebo skupiny jamek.

Přiřazení série ředění standardním typům vzorků

Jak bylo uvedeno výše, musí být všem jamkám se vzorkem typu Standard (Standardní) přiřazena hodnota koncentrace. Série ředění můžete přiřadit více jamkám s typem vzorku Standard (Standardní).

Poznámka: Pro přiřazení série ředění do skupiny jamek musí být jamky zahrnuty v sériích replikací. Další informace o přidávání jamek k sériím replikací naleznete v části [Přiřazení čísel replikátů jamkám na straně 128](#).

Přiřazení série ředění skupině standardních jamek se vzorky

1. V nástroji Plate Editor (Editor destiček) zajistěte splnění následujících požadavků:
 - Typ vzorku pro skupinu jamek je Standard (Standardní).
 - Všem jamkám ve skupině je přiřazen alespoň jeden fluorofor a všechny obsahují stejné fluorofory.
 - Všechny jamky ve skupině jsou zahrnuty ve stejné sérii replikací.

Poznámka: Software CFX Manager Dx aktivuje možnost Dilution Series (Série ředění) pouze, pokud vybrané jamky splňují tato kritéria.
2. V podokně destiček vyberte cílovou skupinu jamek.
3. V části Concentration (Koncentrace) v pravém podokně klikněte na položku Dilution Series (Série ředění). V části Concentration (Koncentrace) se zobrazí následující možnosti:

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

- **Starting concentration (Počáteční koncentrace)** – hodnota koncentrace, ze které série začíná
 - **Replicates from and to (Replikuje se z a do)** – replikace v sérii, na kterou se použije faktor ředění
 - **Dilution factor (Faktor ředění)** – množství, které změní koncentraci v každé skupině replikací
4. Nastavte hodnoty možností, nebo potvrďte výchozí hodnoty.
 5. Ve výchozím nastavení se série ředění snižuje o faktor ředění. Pro zvětšení série ředění vyberte možnost Increasing (Zvětšení).

6. (Nepovinné) Ve výchozím nastavení se faktor ředění vztahuje na všechny fluorofory v sérii replikací. Pokud vaše série obsahují více než jeden fluorofor a chcete ředění aplikovat na jeden fluorofor, vyberte jej z rozevíracího seznamu.
7. Klikněte na Apply (Použít), chcete-li použít série ředění na skupinu jamek a vrátit se na zobrazení Concentration (Koncentrace).
8. Klikněte na tlačítko OK, aby se potvrdily změny a uložila destička.

Kopírování obsahu jamky do jiné jamky

Obsah jamky můžete kopírovat a vložit jej do jedné nebo několika jamek. Můžete ale kopírovat pouze obsah jedné jamky. Není možné vybrat více jamek a kopírovat jejich obsah.

Jak zkopírovat obsah jamky do jiné jamky

1. V podokně destiček vyberte jamku, kterou chcete kopírovat.
2. Klikněte pravým tlačítkem myši na jamku a vyberte možnost Copy Well (Kopírovat jamku).
3. Vyberte jamku nebo jamky, do kterých chcete obsah vložit:
 - Chcete-li vybrat jednu jamku, klikněte na ni.
 - Chcete-li vybrat více sousedních jamek, klikněte na jamku a přetáhněte ji do cílové jamky.
 - Chcete-li vybrat více nesousedících jamek, podržte klávesu Control a klikněte na každou jamku.
4. Když jsou cílové jamky vybrány, klikněte pravým tlačítkem myši a vyberte možnost Paste Well (Vložit jamku).

Software Software CFX Manager Dx vloží obsah první jamky do vybraných jamek.

Přidání poznámky k jamce

Můžete k jamce přidávat popisné poznámky. Poznámky k jamce můžete zobrazit na kartě Quantification (Kvantifikace) v okně Data Analysis (Analýza dat).

Jak přidat poznámku k jamce

1. V podokně destiček vyberte jamku nebo jamky, ke kterým chcete přidat poznámku.
2. V části View (Zobrazit) v dolním podokně vyberte možnost Well Note (Poznámka k jamce).

V pravém podokně se objeví oblast Well Note (Poznámka k jamce).



3. Do textového rámečku zadejte obsah poznámky a stiskněte Enter.

Text se objeví ve spodní části vybraných jamek.

Tip: Pokud jste již poznámku k jamce vytvořili, můžete ji vybrat v rozevřacím seznamu a použít ji pro vybrané jamky.

Výmaz veškerého obsahu jamky

Můžete vymazat individuální jamku, skupinu jamek nebo veškerý obsah destičky. Výmaz jamek neodstraňuje data fluorescence shromážděná během čtení destičky.

Výmaz jamky trvale odstraní obsah z jamky. Při odstraňování jamek buďte opatrní.

Výmaz veškerého nastavení jamky

1. V editoru Plate Editor (Editor destiček) vyberte jamku nebo skupinu jamek v podokně destičky:
 - Chcete-li vybrat jednu jamku, klikněte na jamku.
 - Chcete-li vybrat více sousedních jamek, klikněte na jamku a táhněte až k cílové jamce.
 - Chcete-li vybrat více nesousedících jamek, podržte klávesu Control a klikněte na každou jamku.
 - Chcete-li vybrat celý sloupec se stejným typem vzorku, klikněte na číslo sloupce.
 - Chcete-li vybrat celý řádek, klikněte na číslo řádku.
2. V pravém podokně klikněte na tlačítko Clear Wells (Vymazat jamky).

Software CFX Manager Dx vymaže všechna nastavení vybraných jamek.
3. Klikněte na OK, aby se potvrdily změny a uložila destička.

Změna nastavení experimentu

Pomocí dialogového okna Experiment Settings (Nastavení experimentu) můžete zobrazit nebo měnit seznam cílů nebo vzorků, popř. vybrat skupinu pro analýzu exprese genu a možnost analýzy, pokud jste jamkám na destičce přiřadili biologické soubory.

V dialogovém okně Experiment Settings (Nastavení experimentu) obsahuje karta Targets (Cíle) seznam názvů cílů pro každou reakci PCR, například cílový gen nebo zájmové sekvence genů.

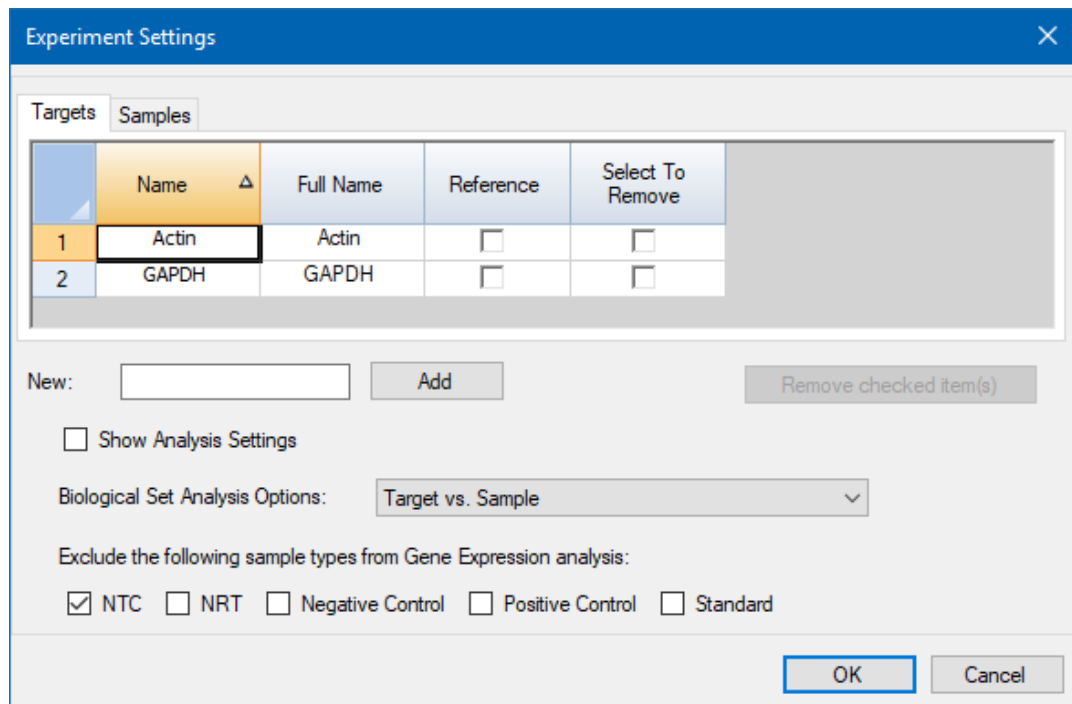
Karta Samples (Vzorky) obsahuje seznam názvů vzorků, který uvádí zdroj cíle, například vzorek odebraný po 1 hodině (1 h) nebo od konkrétní osoby (myš1).

Jak změnit nastavení destiček v dialogovém okně Experiment Settings (Nastavení experimentu)

1. Abyste otevřeli dialogové okno Experiment Settings (Nastavení experimentu), postupujte následovně:

- V pravém podokně nástroje Plate Editor (Editor destiček) klikněte na položku Experiment Settings (Nastavení experimentu).
- Na kartě Gene Expression (Exprese genu) v okně Data Analysis (Analýza dat) klikněte na položku Experiment Settings (Nastavení experimentu).

Otevře se dialogové okno Experiment Settings (Nastavení experimentu) s obsahem karty Targets (Cíle).



2. Abyste přidali nový název cíle nebo vzorku, na příslušné kartě zadejte název do textového rámečku New (Nový) a klikněte na Add (Přidat).
3. Abyste odstranili jeden nebo několik názvů cíle nebo vzorku ze seznamu, na příslušné kartě označte zaškrťovací políčko položky v sloupci Select to Remove (Vybrat k odstranění) a klikněte na položku Remove checked item(s) (Odstranit označené položky).
4. Software CFX Manager Dx vyloučí typ vzorku NTC (kontrola bez templátu) z analýzy exprese genu.

Pro zařazení typu vzorku NTC odznačte jeho zaškrťovací políčko v části Exclude the following sample types (Vyloučit následující typy vzorků). Pomocí příslušných zaškrťovacích políček můžete vyloučit následující typy vzorků:

- NRT (Bez reverzní transkriptázy)
- Negative Control (Negativní kontrola)
- Positive Control (Pozitivní kontrola)
- Standard (Standardní)

5. Na kartě Targets (Cíle):

- a. Pokud chcete vybrat cíl jako referenci pro analýzu dat exprese genu, vyberte jej ve sloupci Reference.
- b. Pokud chcete skrýt nastavení, které bude použito na kartě Gene Expression (Expresce genu) v okně Analysis Settings (Nastavení analýzy), odznačte položku Show Analysis Settings (Zobrazit nastavení analýzy).

Software skryje následující sloupce:

- Color (Barva)
 - Show Chart (Zobrazit graf)
 - Auto Efficiency (Automatická účinnost)
 - Efficiency (%) (Účinnost (%))
- c. Chcete-li změnit barvu cíle zaneseného do grafu Gene Expression (Expresce genu), klikněte na jeho buňku ve sloupci Color (Barva), vyberte v otevřeném dialogovém okně Color (Barva) novou barvu a klikněte na OK.
 - d. Chcete-li zobrazit cíl vybranou barvou v grafu Gene Expression (Expresce genu), označte jeho zaškrťovací políčko v sloupci Show Chart (Zobrazit graf).
 - e. Software CFX Manager Dx ve výchozím nastavení automaticky vypočítá relativní účinnost pro cíl, pokud jeho data obsahují standardní křivku.

Chcete-li použít již stanovenou hodnotu účinnosti, zadejte hodnotu do příslušné buňky v sloupci Efficiency (%) (Účinnost (%)) a stiskněte klávesu Enter. Software CFX Manager Dx odznačí zaškrťovací políčko Auto Efficiency (Automatická účinnost).

6. Na kartě Samples (Vzorky):

- a. Chcete-li vybrat vzorek jako kontrolní vzorek pro analýzu dat exprese genu, označte její zaškrťovací políčko v sloupci Control (Kontrola).
- b. Chcete-li přiřadit kontrolní podmínku k vzorku pro cyklus, klikněte na její zaškrťovací políčko v sloupci Control (Kontrola).
- c. Klikněte na možnost Show Analysis Settings (Zobrazit nastavení analýzy), pokud ještě není vybrána, abyste zobrazili nebo změnili parametry analýzy, které budou použity na kartě Gene Expression (Expresce genu). Software skryje sloupce Color (Barva) a Show Chart (Zobrazit graf).

7. Pokud jste k jamkám na destičce přiřadili jeden nebo více biologických souborů (viz [Přiřazení biologických souborů jamkám na straně 126](#)), vyberte ze seznamu Biological Set Analysis Options (Možnosti analýzy biologických souborů) jednu z následujících možností:
 - **Target vs. Sample (Cíl vs. vzorek)** – ve výpočtech exprese genu se použije pouze název vzorku v jamce.
 - **Target vs. Biological Set (Cíl vs. biologický soubor)** – ve výpočtech se použije pouze název biologického souboru.
 - **Target vs. Sample_Biological Set (Cíl vs. vzorek, biologický soubor)** – ve výpočtech se použije jeden název tvořený kombinací názvu vzorku a názvu biologického souboru.
 - **Target vs. Biological Set_Sample (Cíl vs. biologický soubor, vzorek)** – ve výpočtech se použije jeden název tvořený kombinací názvu biologického souboru a názvu vzorku.
8. Kliknutím na OK uložíte parametry v dialogovém okně Experiment Settings (Nastavení experimentu) a vrátíte se do okna Plate Editor (Editor destiček).

Vytvoření skupin jamek

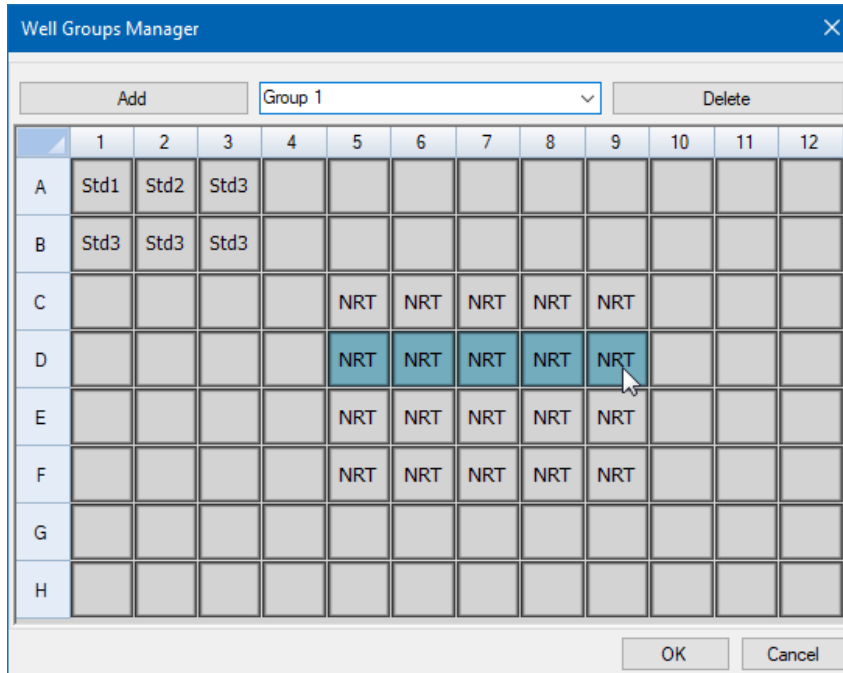
Skupiny jamek rozdělují jednu destičku do podskupin jamek, které lze analyzovat nezávisle v okně Data Analysis (Analýza dat). Po nastavení skupin jamek vyberte v okně Data Analysis (Analýza dat) jednu z nich, abyste mohli data analyzovat jako nezávislou skupinu. Například nastavte skupiny jamek pro analýzu více experimentů prováděných na jedné destičce nebo pro analýzu každé skupiny jamek s jinou standardní křivkou.

Poznámka: Výchozí skupina jamek je All Wells (Všechny jamky).

Vytvoření skupin jamek

1. Chcete-li otevřít sekci Well Groups Manager (Správce skupin jamek), postupujte následovně:
 - V panelu nástrojů Plate Editor (Editor destiček) klikněte na položku Well Groups (Skupiny jamek).
 - V okně Data Analysis (Analýza dat) klikněte na položku Manage Well Groups (Správce skupin jamek).

Zobrazí se dialogové okno Well Groups Manager (Správce skupin jamek).



- Kliknutím na tlačítko Add (Přidat) vytvoříte novou skupinu. Rozevírací nabídka zobrazuje název skupiny jako Group 1 (Skupina 1) pro první vytvořenou skupinu.
- Vyberte jamky pro skupinu jamek v zobrazení destičky kliknutím a přetažením přes skupinu jamek. Vybrané jamky se objeví ve okně Manager (Správce) modře.
- (Volitelné) Chcete-li změnit název skupiny, vyberte její jméno v rozevírací nabídce a zadejte nový název.
- (Volitelné) Chcete-li odstranit skupinu jamek, vyberte její název v rozevíracím seznamu a klikněte na tlačítko Delete (Odstranit).
- Kliknutím na tlačítko OK dokončete a zavřete okno nebo kliknutím na tlačítko Cancel (Zrušit) okno zavřete bez provedení změn.

Důležité: Chcete-li zobrazit skupiny jamek, vyberte Well Groups (Skupiny jamek) v možnosti View (Zobrazit) v dolní části okna Plate Editor (Editor destiček).

Položky nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši pro dialogové okno Well Groups Manager (Správce skupin jamek)

Tabulka 13 obsahuje seznam položek nabídky dostupných v dialogovém okně Well Groups Manager (Správce skupin jamek) poté, když kliknete pravým tlačítkem myši na jakoukoliv jamku.

Tabulka 13. Položky v dialogovém okně Plate Editor Well Selector (Nástroj pro výběr jamek, Editor destiček) po kliknutí pravým tlačítkem myši

Položka	Funkce
Copy (Kopírovat)	Zkopíruje obsah jamky, který pak může být vložen do jiných jamek.
Copy as Image (Kopírovat jako obrázek)	Zkopíruje zobrazení nástroje pro výběr jamek jako obrázek.
Print (Tisk)	Vytiskne zobrazení nástroje pro výběr jamek.
Print Selection (Vytisknout výběr)	Vytiskne pouze vybrané buňky.
Export to Excel (Export do aplikace Excel)	Exportuje data do tabulky Excel.
Export to Csv (Export do souboru CSV)	Exportuje data jako dokument oddělený čárkami.
Export to Xml (Export do souboru XML)	Exportuje data jako dokument ve formátu .xml.
Export to Html (Export do souboru HTML)	Exportuje data jako dokument ve formátu .html.

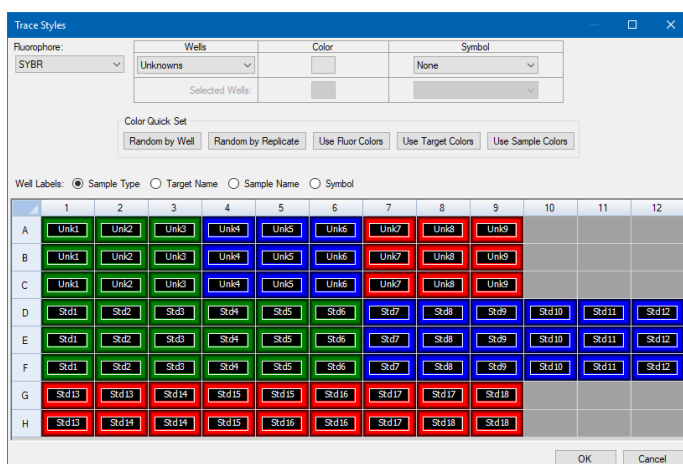
Změna stylů trasování

Během nastavení destičky a během probíhajícího cyklu můžete měnit barvu a styl tras pro amplifikaci. Když jsou data shromažďována, můžete snadno zobrazit trasy v stavovém okně v reálném čase.

Změna stylů trasování

1. Klikněte na Trace Styles (Stylы trasování) v panelu nástrojů Plate Editor (Editor destiček).

Zobrazí se dialogové okno Trace Styles (Stylы trasování) pro otevřenou destičku, například:



2. Chcete-li zobrazit styly trasování konkrétním fluoroforem, vyberte jej z rozevřacího seznamu Fluorophores (Fluorofory).
3. Změna zobrazení trasování:
 - a. Vyberte typ trasování z rozevřacího seznamu Wells (Jamky).
 - b. Klikněte na její barvu ve sloupci Color (Barva).
 - c. V zobrazeném dialogovém okně Color (Barva) vyberte jinou barvu trasování a klikněte na tlačítko OK.
Změna typu jamky se objeví v tabulce níže.
 - d. (Volitelné) V rozevřacím seznamu Symbols (Symboly) vyberte symbol trasování.
4. Chcete-li sadu barev rychle změnit, klikněte na příslušnou volbu v části Color Quick Set (Rychlé nastavení barev).
5. Chcete-li zobrazit štítky v mřížce, vyberte typ štítku v části Well Labels (Štítky jamek).
6. Klepnutím na tlačítko OK uložíte změny nebo zrušíte změny stisknutím tlačítka Cancel (Zrušit).

Zobrazení destičky ve formátu tabulky

Nástroj Spreadsheet View/Importer (Zobrazení/Import tabulky) zobrazuje obsah destičky ve formátu tabulkového procesoru. Nástroj Spreadsheet View/Importer (Zobrazení/Import tabulky) můžete použít k exportu obsahu jamky ve formátu odděleném tabulátory do aplikace, například aplikace Microsoft Excel. Obsah jamky můžete také importovat z aplikace textu odděleného tabulátorem.

Použití nástroje Spreadsheet View/Importer (Zobrazení/Import tabulky)

1. Na panelu nástrojů Plate Editor (Editor destiček) klikněte na Spreadsheet View/Importer (Zobrazení/Import tabulky) a otevřete dialogové okno Plate Spreadsheet View (Zobrazit destičku jako tabulku).

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. Dialogové okno Spreadsheet View (Zobrazit tabulku) zobrazuje obsah destičky pro jeden fluorofor. Chcete-li zobrazit obsah destičky pro jiný fluorofor, vyberte jej z rozevracího seznamu Fluors List (Seznam fluorů).
3. Kliknutím na položku Export Template (Exportovat šablonu) exportujete šablonu tabulky pro destičku do souboru Excel (formát .csv). Tuto šablonu můžete upravit a importovat informace o obsahu jamky.
4. (Volitelné) Kliknutím na tlačítko Import (Importovat) importujete obsah jamky ze souboru s oddělovači.
5. Chcete-li tabulku seřadit podle údajů v konkrétním sloupci, klikněte na trojúhelník vedle názvu sloupce.

Tip: Obsah libovolné buňky můžete upravit ve sloupci, který má vedle názvu sloupce hvězdičku (*) (například *Cílový název).

Poznámka: Ve sloupci Quantity (Množství) vyberte jednotky pro data standardní křivky otevřením editoru Plate Editor (Editor destiček) a v panelu nabídek vyberte položky Settings > Units (Nastavení > Jednotky). Po dokončení cyklu destičky se data z těchto standardů zobrazí v grafu Standard Curve (Standardní křivka) na kartě Quantification (Kvantifikace) v okně Data Analysis (Analýza dat) s vybranými jednotkami.

Položky nabídky Plate Spreadsheet View/Importer (Zobrazení/import tabulky destiček) po kliknutí pravým tlačítkem myši

Tabulka 14 obsahuje seznam položek nabídky dostupných v nástroji Spreadsheet View/Importer (Zobrazení/import tabulky) poté, když v nástroji kliknete pravým tlačítkem myši na jakoukoliv jamku.

Tabulka 14. Položky nabídky nástroje Plate Spreadsheet View/Importer (Zobrazení/import tabulky destiček) po kliknutí pravým tlačítkem myši

Položka	Funkce
Copy (Kopírovat)	Zkopíruje celou tabulku.
Copy as Image (Kopírovat jako obrázek)	Zkopíruje tabulku jako soubor obrázku.
Print (Tisk)	Vytiskne tabulku.
Print Selection (Vytisknout výběr)	Vytiskne pouze vybrané buňky.
Export to Excel (Export do aplikace Excel)	Exportuje soubor do tabulky aplikace Excel.
Export to CSV (Export do souboru CSV)	Exportuje soubor jako soubor .csv.
Export to Xml (Export do souboru XML)	Exportuje soubor jako soubor .xml.
Export to Html (Export do souboru HTML)	Exportuje soubor jako soubor .html.
Find (Najít)	Vyhledá konkrétní text.
Sort (Řazení)	Seřadí tabulku na základě výběru až tří sloupců dat v okně Sort (Řazení).

Vytvoření rozložení destičky pomocí nástroje Plate Setup Wizard (Průvodce nastavením destičky)

Nástroj Setup Wizard (Průvodce nastavením destičky) můžete použít k zadání informací o rozložení destičky, které jsou nutné pro analýzu normalizované exprese genu, a to včetně:

- Názvů cílů
- Názvů vzorků
- Umístění cílů a vzorků na destičce
- Referenčních genů
- Kontrolního vzorku

Nástroj Setup Wizard (Průvodce nastavením) můžete použít před cyklem, během něj i po něm.

Použití Setup Wizard (Průvodce nastavením) pro destičku

Tato část vysvětluje, jak vytvořit rozvržení destičky pomocí nástroje Setup Wizard (Průvodce nastavením) pro destičku. Chcete-li snadněji prohlížet obsah každé jamky na destičce, klikněte na tlačítko Zoom plate (Lupa) v horní části Setup Wizard (Průvodce nastavením).

Důležité: Pokud se vrátíte na kartu Auto layout (Automatické rozvržení) a nacházíte se na jiné kartě v Setup Wizard (Průvodce nastavením), rozložení destičky se resetuje. Při výběru této karty postupujte opatrně.

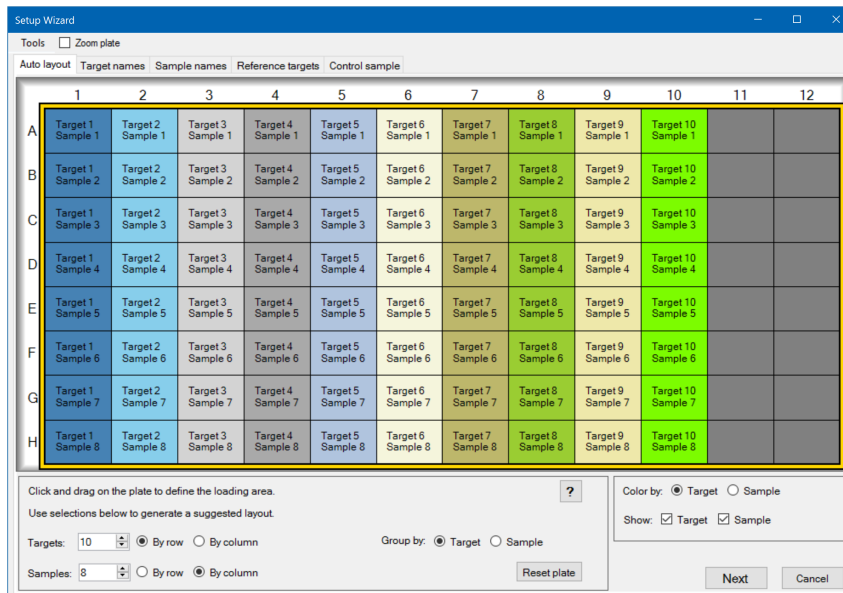
Tip: Rozvržení můžete obnovit výběrem položky Tools > Clear Plate (Nástroje > Vymazat destičku) v Setup Wizard (Průvodce nastavením).

Použití Setup Wizard (Průvodce nastavením) pro destičku

1. Otevře editor Plate Editor (Editor destiček).
2. Chcete-li otevřít Setup Wizard (Průvodce nastavením), postupujte vyberte možnost Editing Tools > Setup Wizard (Úpravy nástrojů > Průvodce nastavením).

Zobrazí se okno Setup Wizard (Průvodce nastavením), které zobrazuje kartu Auto layout (Automatické rozložení).

Vytvoření rozložení destičky pomocí nástroje Plate Setup Wizard (Průvodce nastavením destičky)



3. Na kartě Auto layout (Automatické rozložení) postupujte následovně:

- a. Klikněte na jamku v mřížce a přetáhněte ji napříč a dolů pro specifikování oblasti na destičce, do které chcete načíst vzorek.
- b. Zadejte počet cílů a vzorků, které chcete načíst.
Tip: Počet cílů a vzorků se musí rovnat počtu vybraných buněk. Pokud se zadaná čísla nevejdou do vybrané oblasti, upravte čísla nebo vybranou oblast destičky. Lze určit orientaci položek na destičce a jejich seskupení.
- c. (Volitelné) Změna orientace destičky. Můžete například nastavit cíle ve sloupcích a vzorky v řádcích, nebo provést seskupení podle vzorků.
- d. Klikněte na Next (Další) a pokračujte na kartu Target names (Názvy cílů).

Poznámka: Pokud rozvržení destičky nemá pravidelný vzor, použijte kartu Target names (Názvy cílů) pro ruční umístění vašich cílů nebo kartu Sample names (Názvy vzorků) pro ruční umístění vzorků na destičku. Kliknutím a přetažením vyberete více jamek.

4. Na kartě Target names (Názvy cílů) definujte názvy cílů pro cílové skupiny:
 - a. Postupujte následovně:
 - Chcete-li přejmenovat cíle podle skupiny, nastavte pro parametr Select by (Vybrat podle) položku Target (Cíl).
 - Chcete-li přejmenovat cíle podle jamky, nastavte pro parametr Select by (Vybrat podle) položku Well (Jamka).
 - b. Vyberte cílovou skupinu nebo jamku v mřížce a zadejte název do rozevíracího seznamu Target name (Název cíle).

Tip: Stiskněte klávesu Tab pro výběr další skupiny nebo jamky vpravo nebo Enter pro výběr další skupiny nebo jamky níže. Nebo na kartách Target name (Název cíle) a Sample name (Název vzorku) podržte klávesu Control a klikněte na jamku, abyste vybrali více jamek, které nesousedí.
 - c. Klikněte na položku Next (Další) a pokračujte na kartu Sample names (Názvy vzorků).
5. Na kartě Sample names (Názvy vzorků) definujte názvy vzorků pro cílové skupiny.
6. Klikněte na položku Next (Další) a pokračujte na kartu Reference targets (Referenční cíle).
7. Na kartě Reference targets (Referenční cíle) vyberte jeden nebo více cílů, které se použijí jako reference pro normalizovanou expresi genu, a klikněte na tlačítko Next (Další) a přejděte na kartu Control sample (Kontrolní vzorek).
8. Na kartě Control sample (Kontrolní vzorek) vyberte jeden vzorek, který se použije jako kontrola pro výpočty relativní exprese genu.
9. Kliknutím na tlačítko OK uložíte rozvržení desky a vrátíte se do nástroje Plate Editor (Editor destiček), ve kterém můžete dále definovat parametry destičky. Více informací naleznete v části [Přiřazení volitelných parametrů k souboru destičky na straně 122](#).

Případně klikněte na tlačítko Previous (Předchozí), chcete-li se vrátit na předchozí kartu a provést změny.

Poznámka: Návrat na kartu Auto layout (Automatické rozvržení) automaticky obnoví destičku. Dávejte pozor při klepnutí na tlačítko Previous (Předchozí).

Kapitola 8 Provádění experimentů

Tato kapitola vysvětluje, jak spustit vlastní (uživatelé definované) nebo PrimePCR experimenty pomocí softwaru CFX Manager Dx.

Datový soubor cyklu obsahuje protokol a informace o destičce pro cyklus. Soubor také obsahuje data z analýz, která CFX Manager Dx provádí po dokončení cyklu.

Software CFX Manager Dx umožňuje snadné nastavení a spuštění uživatelsky definovaných nebo PrimePCR experimentů. Okno Run Setup (Nastavení cyklu) vás provede běžnými kroky nastavení experimentu, což vede k dialogovému oknu Start Run (Spustit cyklus), ze kterého spustíte cyklus.

Otevření okna Run Setup (Nastavení cyklu)

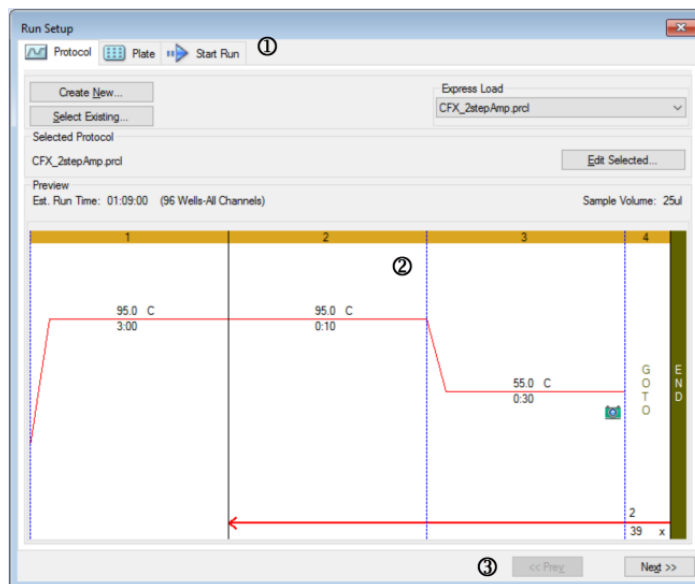
Otevření okna Run Setup (Nastavení cyklu)

- ▶ Postupujte následovně:
 - Na kartě Run Setup (Nastavení cyklu) v nástroji Startup Wizard (Průvodce spuštěním) klikněte buď na položku User-defined (Možnost zadaná uživatelem), nebo PrimePCR.
 - V okně Home (Domů) klikněte na panelu nástrojů buď na položku User-defined Run Setup (Nastavení cyklu zadané uživatelem), nebo PrimePCR Run Setup (Nastavení cyklu PrimePCR).
 - V okně Home (Domů) klepněte buď na položky Run > User-defined Run (Spustit > Cyklus zadaný uživatelem) nebo Run > PrimePCR Run (Spustit > Cyklus PrimePCR).

Okno Run Setup (Nastavení cyklu)

Okno Run Setup (Nastavení cyklu) poskytuje rychlý přístup k souborům a nastavením potřebným pro nastavení a spuštění experimentu. Pokud se rozhodnete spustit experiment definovaný uživatelem, otevře se okno Run Setup (Nastavení cyklu), které zobrazí kartu Protocol (Protokol). Pokud se rozhodnete spustit experiment PrimePCR, otevře se okno Run Setup (Nastavení cyklu), které zobrazí kartu Start run (Spustit cyklus).

Tip: V části [Provádění experimentů PrimePCR na straně 162](#) naleznete informace o PrimePCR; v části [Karta Start Run \(Spustit cyklus\) na straně 153](#) naleznete další informace o kartě Start Run (Spustit cyklus).



LEGENDA

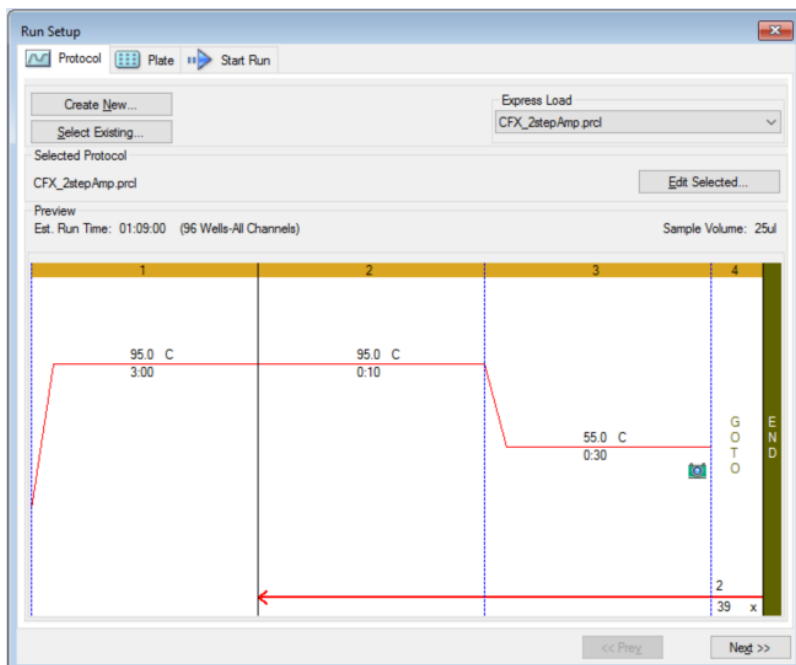
1. Karty vás provedou nastavením a spuštěním experimentu:
 - Na kartě Protocol (Protokol) – vyberte existující protokol, který chcete spustit nebo upravit, nebo vytvořte nový protokol v editoru Protocol Editor (Editor protokolu).
 - Na kartě Plate (Destička) – vyberte existující destičku, kterou chcete spustit nebo upravit, nebo vytvořte novou destičku v nástroji Plate Editor (Editor destičky).
 - Karta Start Run (Spustit cyklus) – zobrazuje nastavení experimentu, vybere jeden nebo více bloků přístrojů a spouští cyklus.

2. Hlavní okno zobrazuje možnosti pro každou kartu, když ji použijete.

3. Navigační tlačítka vedou na kartu Start Run (Spustit cyklus).

Karta Protocol (Protokol)

Karta Protocol (Protokol) obsahuje náhled souboru protokolu, který chcete provést. Soubor protokolu obsahuje pokyny pro kroky teploty přístroje a možnosti přístroje, kterými se řídí rychlost ohřevu/ochlazování, objem vzorku a teplota vika.



Ve výchozím nastavení software zobrazuje protokol definovaný v části File Selection for Run Setup (Výběr souboru pro nastavení cyklu) karty Files (Soubory) v dialogovém okně User > User Preferences (Uživatel > Uživatelské předvolby). Výchozí protokol můžete v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) změnit. Více informací naleznete v části [Změna výchozího nastavení souboru na straně 66](#).

Na kartě Protocol (Protokol) můžete:

- vytvořit nový protokol k provedení;
- vybrat stávající protokol k provedení nebo úpravám.

Více informací o tvorbě a úpravě protokolů je uvedeno v [Kapitola 6, Vytváření protokolů](#).

Jak vytvořit nový protokol

1. Na kartě Protocol (Protokol) klikněte na možnost Create New (Vytvořit nový).
Objeví se okno Protocol Editor (Editor protokolu).
2. Pomocí nástroje Protocol Editor (Editor protokolu) vytvořte nový protokol.
3. Kliknutím na OK protokol uložíte a vrátíte se na kartu Protocol (Protokol) v nabídce Run Setup (Nastavení cyklu).
4. Zobrazte podrobnosti o protokolu a postupujte následovně:
 - Jsou-li podrobnosti správné, kliknutím na položku Next (Další) přejdete na kartu Plate (Destička).
 - Jsou-li podrobnosti nesprávné, kliknutím na položku Edit Selected (Upravit vybrané) se vrátíte do nástroje Protocol Editor (Editor protokolu). Upravte protokol, uložte změny a poté klikněte na položku Next (Další) na kartě Protocol (Protokol). Přejdete tak na kartu Plate (Destička).

Jak vybrat stávající protokol

1. Na kartě Protocol (Protokol) postupujte následovně:
 - Klikněte na položku Select Existing (Vybrat stávající) a přejděte na stávající protokol.
 - Klikněte na položku Express Load (Expresní načtení) a z rozevíracího seznamu protokolů vyberte protokol.

Tip: Z rozevíracího seznamu Express Load (Expresní načtení) můžete přidávat nebo odstraňovat protokoly. Více informací je uvedeno v následující části [Přidání a odstranění protokolů pro expresní načtení](#).
2. Zobrazte podrobnosti o protokolu a postupujte následovně:
 - Jsou-li podrobnosti správné, kliknutím na položku Next (Další) přejdete na kartu Plate (Destička).
 - Jsou-li podrobnosti nesprávné, kliknutím na položku Edit Selected (Upravit vybrané) otevřete okno Protocol Editor (Editor protokolu). Upravte protokol, uložte změny a poté klikněte na položku Next (Další) na kartě Protocol (Protokol). Přejdete tak na kartu Plate (Destička).

Přidání a odstranění protokolů pro expresní načtení

Můžete měnit obsah rozevíracího seznamu Express Load (Expresní načtení), které se zobrazuje v editoru Protocol Editor (Editor protokolu). Protokoly v tomto seznamu jsou uloženy v následující složce:

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

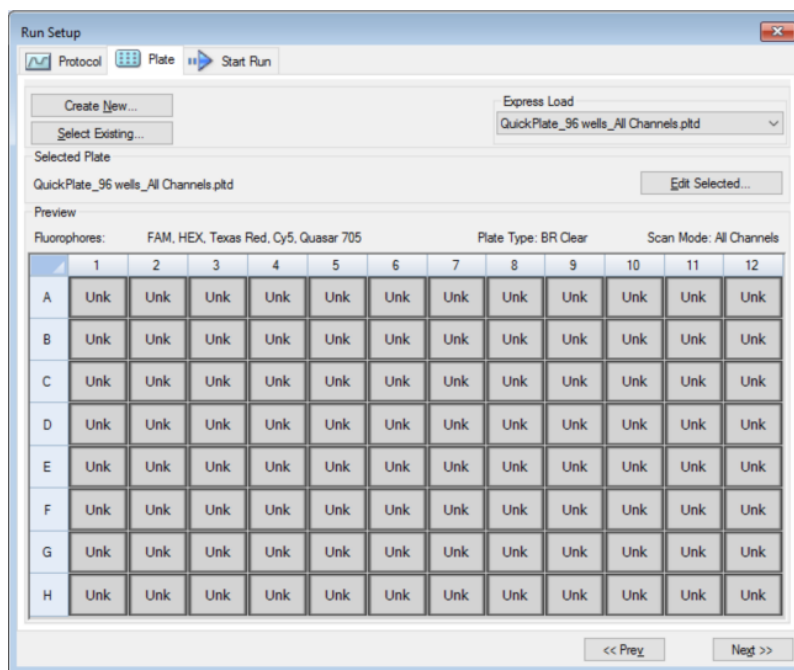
Změna seznamu Express Load (Expresní načtení) protokolů

1. Přejděte do složky ExpressLoad (Expresní načtení) a otevřete ji.
2. Zkontrolujte soubory protokolu (.pcri) ve složce.
3. Postupujte následovně:
 - Vymažte protokoly ze složky a odstraňte je z rozevíracího seznamu.
 - Zkopírujte protokoly do složky a přidejte je do rozevíracího seznamu.

Karta Plate (Destička)

Poznámka: Jestliže protokol vybraný na kartě Protocol (Protokol) nezahrnuje krok čtení destičky pro analýzu PCR v reálném čase, je karta Plate (Destička) skrytá. Abyste zobrazili kartu Plate (Destička), přidejte do protokolu alespoň jedno čtení destičky.

Karta Plate (Destička) obsahuje náhled souboru destičky, který chcete načíst. Při cyklu PCR v reálném čase obsahuje soubor destičky popis obsahu každé jamky, včetně jejích fluoroforů, režimu skenování a typu destičky. Software CFX Manager Dx využívá tyto popisy ke sběru a analýze dat.



Ve výchozím nastavení software zobrazuje destičku definovanou v části File Selection for Run Setup (Výběr souboru pro nastavení cyklu) karty Files (Soubory) v dialogovém okně User > User Preferences (Uživatel > Uživatelské předvolby). Výchozí destičku můžete v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) změnit. Více informací naleznete v části [Změna výchozího nastavení souboru na straně 66](#).

Na kartě Plate (Destička) můžete:

- vytvořit novou destičku k načtení.
- vybrat stávající destičku k načtení nebo úpravám.

Více informací o tvorbě a úpravě destiček je uvedeno v [Kapitola 7, Příprava destiček](#).

Jak vytvořit novou destičku

1. Na kartě Plate (Destička) klikněte na možnost Create New (Vytvořit novou).
Objeví se Plate Editor (Editor destiček).
2. Pomocí nástroje Plate Editor (Editor destiček) vytvořte novou destičku.
3. Kliknutím na OK destičku uložíte a vrátíte se na kartu Plate (Destička) v nabídce Run Setup (Nastavení cyklu).
4. Zobrazte podrobnosti o destičce a postupujte následovně:
 - Jsou-li podrobnosti správné, kliknutím na položku Next (Další) přejdete na kartu Start Run (Spustit cyklus).
 - Jsou-li podrobnosti nesprávné, kliknutím na položku Edit Selected (Upravit vybrané) se vrátíte do nástroje Plate Editor (Editor destiček). Upravte soubor destičky, uložte změny a poté klikněte na položku Next (Další) na kartě Plate (Destička). Přejdete tak na kartu Start Run (Spustit cyklus).

Jak vybrat stávající soubor destičky

1. Na kartě Plate (Destička) postupujte následovně:
 - Klikněte na položku Select Existing (Vybrat stávající) a přejděte na stávající soubor destičky.
 - Klikněte na položku Express Load (Expresní načtení) a z rozevřacího seznamu vyberte soubor destičky.

Tip: Z rozevřacího seznamu Express Load (Expresní načtení) můžete přidávat nebo odstraňovat destičky. Více informací je uvedeno v následující části [Přidání a odstranění souborů destiček pro expresní načtení](#).
2. Zobrazte podrobnosti o destičce a postupujte následovně:
 - Jsou-li podrobnosti správné, kliknutím na položku Next (Další) přejdete na kartu Start Run (Spustit cyklus).
 - Jsou-li podrobnosti nesprávné, kliknutím na položku Edit Selected (Upravit vybrané) otevřete okno Plate Editor (Editor destiček). Upravte soubor destičky, uložte změny a poté klikněte na položku Next (Další). Přejdete tak na kartu Start Run (Spustit cyklus).

Přidání a odstranění souborů destiček pro expresní načtení

Můžete měnit obsah rozevíracího seznamu Express Load (Expresní načtení), který se zobrazuje v editoru Plate Editor (Editor destiček). Destičky, které se objeví v tomto seznamu, jsou uloženy v následující složce:

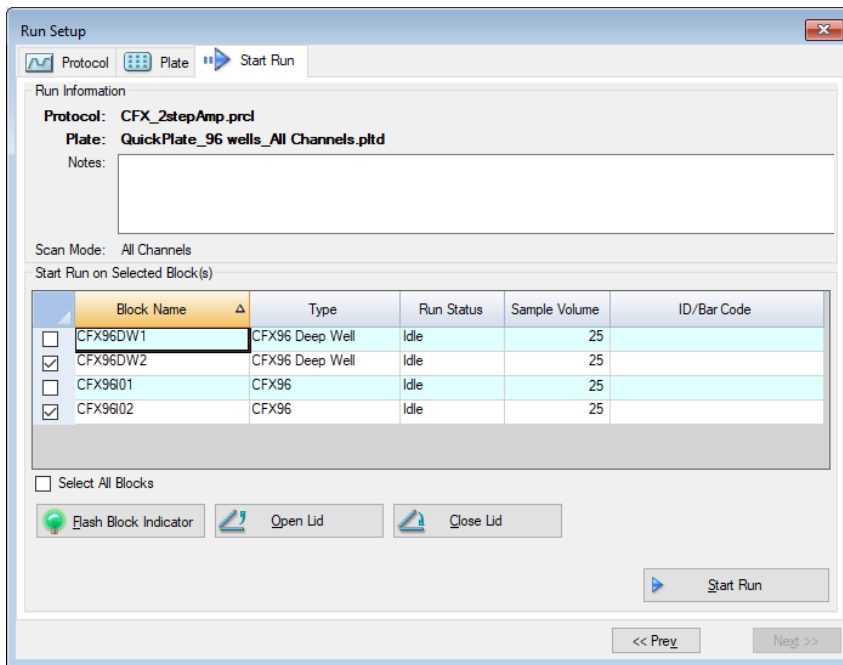
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\

Změna seznamu Express Load (Expresní načtení) souborů destiček

1. Přejděte do složky ExpressLoad (Expresní načtení) a otevřete ji.
2. Zkontrolujte soubory destiček (.pltd) ve složce.
3. Postupujte následovně:
 - Vymažte soubory destičky ze složky, chcete-li je odstranit z rozevíracího seznamu.
 - Zkopírujte soubory destiček do složky, chcete-li je přidat do rozevíracího seznamu.

Karta Start Run (Spustit cyklus)

Na kartě Start Run (Spustit cyklus) se zobrazují informace o experimentu, který se má spustit. Zobrazuje také připojený blok nebo bloky přístroje, na kterých můžete experiment spustit.



Na kartě Start Run (Spustit cyklus) můžete provést následující:

- Zobrazit podrobné informace o cyklu, včetně vybraného souboru protokolu, souboru destičky a režimu skenování.
- Přidávat poznámky o cyklu.
- Zobrazit podrobnosti o všech připojených přístrojích, včetně jejich provozního stavu (v chodu nebo nečinný), objemu vzorku v μl , teploty víka, režimu emulace a ID nebo čárového kódu, pokud je k dispozici.

Poznámka: Můžete upravovat sloupce, které se zobrazují v tabulce Start Run on Selected Blocks (Spustit cyklus s vybranými bloky). Další informace naleznete v části [Změna údajů v tabulce Selected Blocks \(Vybrané bloky\) na straně 154](#).

- Vyberte jeden nebo více bloků, na kterých chcete cyklus provést.
- Otevřete nebo zavřete víko každého vybraného přístroje.
- Spusťte cyklus.

Změna údajů v tabulce Selected Blocks (Vybrané bloky)

Sloupce v tabulce Start Run on Selected Block(s) (Spustit cyklus s vybranými bloky) můžete měnit. Rovněž můžete měnit výchozí objem vzorku a teplotu víka v tabulce. Změny nastavení se použijí na cyklus, který má být proveden.

Jak přidat sloupce do tabulky Start Run on Selected Blocks (Spustit cyklus s vybranými bloky)

- ▶ Klikněte na tabulku pravým tlačítkem myši a označte příslušnou možnost v otevřené nabídce.

Jak odstranit sloupce z tabulky Start Run on Selected Blocks (Spustit cyklus s vybranými bloky)

- ▶ Klikněte na tabulku pravým tlačítkem myši a odznačte příslušnou možnost v otevřené nabídce.

Jak upravit objem vzorku nebo teplotu víka pro blok

- ▶ Vyberte buňku s objemem vzorku nebo teplotou víka pro cílový blok a zadejte do ní novou hodnotu.

Jak přidat ID cyklu nebo čárový kód pro blok

- ▶ Vyberte buňku ID/Bar Code (ID/čárový kód) pro cílový blok a zadejte ID nebo naskenujte blok pomocí čtečky čárových kódů.

Provedení experimentu

Důležité: Před provedením experimentu se ujistěte, že antivirový software vašeho počítače nespustí během cyklu antivirovou kontrolu.

Jak provést experiment

1. Na kartě Start Run (Spustit cyklus) ověřte podrobnosti o destičce a protokolu v části Run Information (Informace o cyklu).
2. (Volitelné) V textovém rámečku Notes (Poznámky) můžete přidávat poznámky k cyklu nebo experimentu.
3. Označte zaškrťovací políčko jednoho nebo několika bloků, na kterých chcete cyklus provést.

Tip: Abyste provedli experiment na všech blocích, vyberte možnost Select All Blocks (Vybrat všechny bloky) pod tabulkou Selected Blocks (Vybrané bloky).

4. (Volitelné) Po kliknutí na možnost Flash Block Indicator (Indikátor Flash Block) začne blikat LED indikátor na vybraných blocích přístroje.

5. Vložte do bloku experimentální destičky:
 - a. Klikněte na možnost Open Lid (Otevřít víko). Otevře se motorizované víko každého vybraného bloku.
 - b. Do každého vybraného bloku vložte experimentální blok.
 - c. Klikněte na možnost Close Lid (Zavřít víko).

Tip: Pro otevření a zavření víka můžete také stisknout tlačítko na přední straně každého bloku.
6. Kliknutím na možnost Open Lid (Otevřít víko) nebo Close Lid (Zavřít víko) otevřete a zavřete motorizované víko každého vybraného bloku přístroje.
7. Zobrazte podrobnosti o cyklu a postupujte následovně:
 - Jsou-li podrobnosti správné, klikněte na Start Run (Spustit cyklus).
 - Jsou-li podrobnosti nesprávné:
 - Opravte podrobnosti v tabulce Selected Blocks (Vybrané bloky) a klikněte na Start Run (Spustit cyklus).
 - Vraťte se na správnou kartu a proveďte příslušné změny, uložte je a poté klikněte na položku Next (Další) pro návrat na kartu Start Run (Spustit cyklus) a spuštění cyklu.

Jak zahájit nový cyklus z předchozího cyklu

- ▶ Postupujte následovně:
 - Vyberte možnost File > Repeat a Run (Soubor > Opakovat cyklus) v hlavní nabídce softwaru, přejděte na datový soubor cyklu, který chcete opakovat, a dvakrát na něj klikněte.
 - Vyberte kartu Repeat Run (Opakovat cyklus) v nástroji Startup Wizard (Průvodce spuštěním) a dvakrát klikněte na datový soubor cyklu, který chcete opakovat.
- Případně můžete na kartě Repeat Run (Opakovat cyklus) kliknout na možnost Browse (Procházet), přejít na datový soubor cyklu, který chcete opakovat, a dvakrát na něj kliknout.

Dialogové okno Run Details (Podrobnosti o cyklu)

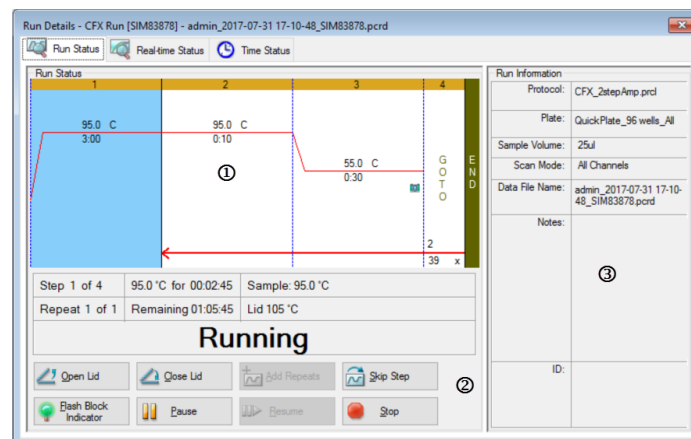
Po kliknutí na tlačítko Start Run (Spustit cyklus) software CFX Manager Dx vyzve k uložení datového souboru (.pcrd), spustí cyklus a otevře dialogové okno Run Details (Podrobnosti o cyklu). Dialogové okno Run Details (Podrobnosti o cyklu) obsahuje tři karty stavu:

- **Run Status (Stav cyklu)** – tato karta slouží k zobrazení aktuálního stavu protokolu, otevření nebo zavření víka, pozastavení cyklu, přidání opakování, přeskočení kroků nebo zastavení cyklu.
- **Real-time Status (Stav v reálném čase)** – tato záložka slouží k zobrazení dat fluorescence PCR v reálném čase při jejich sběru.
- **Time Status (Časový stav)** – tato karta slouží k zobrazení odpočítávací časomíry pro protokol na celé obrazovce.

Tyto karty jsou podrobně vysvětleny v následujících kapitolách.

Karta Run Status (Stav cyklu)

Karta Run Status (Stav cyklu) ukazuje aktuální stav probíhajícího cyklu. V tomto náhledu můžete rovněž ovládat víko a měnit probíhající cyklus.



LEGENDA

1. Panel Run Status (Stav cyklu) – ukazuje aktuální průběh protokolu.
2. Ovládací prvky Run Status (Stav cyklu) – umožňují vám ovládat přístroj nebo přerušit aktuální protokol.
3. Panel Run Information (Informace o cyklu) – ukazuje podrobnosti o cyklu.

Příkazy Run Status (Stav cyklu)

Pomocí příkazů na kartě Run Status (Stav cyklu) můžete buď ovládat přístroj ze softwaru, nebo změnit probíhající cyklus.

Poznámka: Provádění změn protokolu během cyklu, například přidávání opakování, nezmění soubor protokolu spojeného s cyklem. Tyto akce jsou zaznamenány do protokolu Run Log (Protokol cyklu).



– otevře motorizované víko na vybraném přístroji.

Důležité: Otevření víka během cyklu pozastaví cyklus během aktuálního kroku a může změnit data.



– zavře motorizované víko na vybraném přístroji.



– Přidá další opakování k aktuálnímu kroku GOTO v protokolu. Tato volba je k dispozici, pouze když je spuštěn krok GOTO.



– přeskočí aktuální krok v protokolu.

Poznámka: Pokud přeskočíte krok GOTO, software vás vyzve, abyste potvrdili, že chcete přeskočit celou smyčku GOTO a pokračovat dalším krokem protokolu.



– bliká indikátor LED na vybraném přístroji pro identifikaci vybraných bloků.



– pozastaví protokol.

Poznámka: Tato akce je zaznamenána v protokolu Run Log (Protokol cyklu).



– obnoví pozastavený protokol.

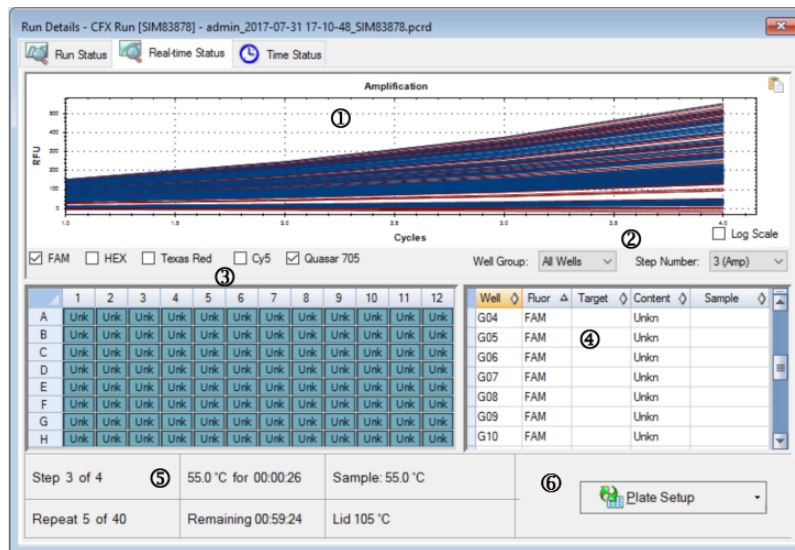


– zastaví cyklus před ukončením protokolů.

Poznámka: Zastavení cyklu před ukončením protokolu může změnit vaše data.

Karta Real-time Status (Stav v reálném čase)

Karta Real-time Status (Stav v reálném čase) zobrazuje data PCR shromážděná v reálném čase v každém cyklu během cyklu po přechzení prvních dvou destiček.



LEGENDA

1. Podokno Amplification trace (Amplifikace tras) – zobrazuje amplifikační data v reálném čase během cyklu.
2. Well group identifier (Identifikátor skupiny jamek) – pokud byly v nastavení destičky identifikovány skupiny jamek, mohou uživatelé vybrat konkrétní skupinu jamek pro zobrazení jejich tras, jamek a tabulkových informací.
Step number identifier (Identifikátor čísla kroku) – pokud protokol shromažďuje data ve více než jednom kroku (například během amplifikace a křivky tání), mohou uživatelé vybrat konkrétní krok a zobrazit trasy shromážděné v tomto kroku.
3. Podokno Well selector (Nástroj pro výběr jamky) – zobrazí aktivní, neaktivní a prázdné jamky na destičce.
4. Podokno Nastavení destičky – zobrazí nastavení destičky v tabulkovém formátu.

5. Podokno Run details (Podrobnosti o cyklu) – zobrazuje stav cyklu v reálném čase včetně těchto položek:
- Current step (Stávající krok)
 - Current repeat (Stávající opakování)
 - Current temperature (Stávající teplota)
 - Time remaining (Zbývajících čas)
 - Sample temperature (Teplota vzorku)
 - Lid temperature (Teplota víka)
-
6. Plate Setup (Nastavení destičky) – otevře dialogové okno Plate Setup (Nastavení destičky), ve kterém mohou uživatelé upravovat aktuální nastavení destičky během cyklu.

Na kartě Real-time Status (Stav v reálném čase) můžete:

- Zobrazit nebo skrýt trasy v reálném čase jejich výběrem v podokně nástroje pro výběr jamky nebo v tabulce nastavení destiček.
- Zobrazit jednotlivé trasy nebo skupiny tras tak, že je vyberete v rozevíracím seznamu skupin.
- Upravit nebo nahradit soubor destičky.
- Použít pro cyklus soubor PrimePCR.

Zobrazení nebo skrytí tras v reálném čase

Standardně jsou všechny naplněné jamky aktivní a zobrazují se v tabulce nastavení destičky. Aktivní jamky se objeví v podokně nástroje pro výběr jamek modře. V podokně nástroje pro výběr jamek se skryté jamky se zobrazují jako světle šedé a nepoužité jamky se zobrazují jako tmavě šedé.

Během cyklu můžete skrýt trasy z aktivních jamek. CFX Manager Dx nadále sbírá data pro všechny jamky; když jamky skryjete, jejich data se neobjeví v tabulce nastavení destičky.

Skrytí tras v reálném čase

- ▶ V podokně nástroje pro výběr jamek klikněte na aktivní (modré) jamky, které chcete skrýt.

Zobrazení tras v reálném čase

- ▶ V podokně nástroje pro výběr jamek klikněte na skryté (světle šedé) jamky, které chcete zobrazit.

Další informace o nástroji pro výběr jamky naleznete v části [Nástroj pro výběr jamky na straně 175](#).

Úprava nastavení destičky

Úprava nastavení destičky

- ▶ Klikněte na možnost Plate Setup (Nastavení destičky) a potom vyberte položku View/Edit Plate (Zobrazit/Upravit destičku).

Objeví se okno Plate Editor (Editor destiček), ve kterém můžete upravovat destičku během probíhajícího cyklu. Další informace o úpravách desek naleznete v [Kapitola 7, Příprava destiček](#).

Poznámka: Styly trasování můžete také upravit v okně Plate Editor (Editor destiček). Změny se objeví v grafu amplifikačního záznamu na kartě Real-time Status (Stav v reálném čase).

Nahrazení souboru destičky

Tip: Náhrada souboru destičky je obzvláště užitečná, když spustíte cyklus se souborem Quick Plate (Rychlá destička) ve složce ExpressLoad (Expresní načtení).

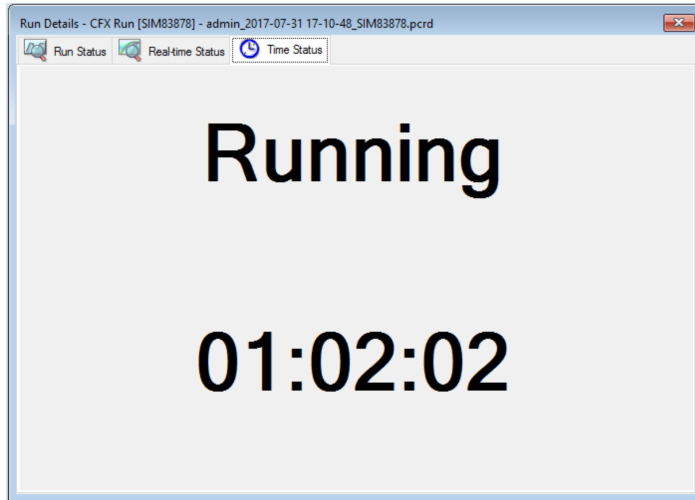
Jak nahradit soubor destičky

- ▶ Klikněte na možnost Plate Setup (Nastavení destičky) a vyberte jednu z následujících možností:
 - Replace Plate file (Nahradit soubor destičky) – vyberte nový soubor destičky ze seznamu v okně prohlížeče
 - Apply PrimePCR file (Použít soubor PrimePCR) – vyhledejte pomocí chytrého vyhledávání soubor cyklu, ze kterého bude získáno rozložení destičky, nebo klikněte na možnost Browse (Procházet), abyste našli soubor stažený z internetových stránek společnosti Bio-Rad, který se nenachází ve složce PrimePCR

Poznámka: Software CFX Manager Dx kontrolujte režim skenování a velikost destičky pro soubor destičky. Ty musejí být stejné jako nastavení cyklu, se kterým byl cyklus zahájen.

Karta Time Status (Časový stav)

Karta Time Status (Časový stav) ukazuje zbývající čas do dokončení aktuálního cyklu.



Provádění experimentů PrimePCR

Experimenty PrimePCR využívají testy specifické pro cesty nebo onemocnění, které Bio-Rad validuje a optimalizuje a jsou k dispozici v následujících formátech:

- Připravené panely – destičky obsahující testy, které jsou specifické pro biologickou dráhu nebo onemocnění; zahrnují kontroly a referenční geny PrimePCR
- Vlastní konfigurované destičky – destičky, které lze nastavit v uživatelsky definovaném rozložení s možností výběru testů pro požadované cíle, kontroly a reference
- Individuální testy – zkumavky, které obsahují jednotlivé sady primerů pro použití v reakcích v reálném čase

Chcete-li zkrátit celkovou dobu cyklu, můžete melt krok v protokolu odstranit. Společnost Bio-Rad důrazně doporučuje, abyste neprováděli žádné další úpravy protokolu cyklu PrimePCR. Výchozí protokol je protokol, který byl použit pro validaci testu. Jakékoliv odchylky od tohoto protokolu mohou mít vliv na výsledky. Změny protokolu jsou zaznamenány na kartě Run Information (Informace o cyklu) výsledného datového souboru a ve všech vytvořených sestavách.

Spuštění cyklu PrimePCR

- ▶ Chcete-li spustit cyklus PrimePCR, postupujte následovně:
 - V nástroji Startup Wizard (Průvodce spuštěním) vyberte PrimePCR na kartě Run Setup (Nastavení cyklu) a poté vyberte příslušnou chemii (SYBER nebo sondu).
 - Vyberte položku PrimePCR, která bude spuštěna ze seznamu Recent Runs (Aktuální cykly) na kartě Repeat Run (Opakovat cyklus) v průvodci Startup Wizard (Průvodce spuštěním).
 - Vyberte položky File > New > PrimePCR Run (Soubor > Nový > Cyklus PrimePCR) v okně Home (Domů).
 - Vyberte položky File > Open > PrimePCR Run (Soubor > Otevřít > Cyklus PrimePCR) v okně Home (Domů).
 - Přetáhněte soubor protokolu cyklu PrimePCR do okna Home (Domů).

Po výběru cyklu PrimePCR se otevře okno Run Setup (Nastavení cyklu) na kartě Start Run (Spustit cyklus) s výchozím rozložením destičky PrimePCR načteným na základě vybraného nástroje.

Chcete-li zkrátit celkovou dobu cyklu, můžete melt krok v protokolu odstranit.

- ▶ Na kartě Protocol (Protokol) zrušte zaškrtnutí políčka vedle Include Melt Step (Zahrnout melt krok).

Import cílových informací pro destičky PrimePCR do rozložení destiček

1. Postupujte následovně:
 - Na kartě Real-time Status (Stav v reálném čase) v dialogovém okně Run Details (Podrobnosti o cyklu) vyberte položky Plate Setup > Apply PrimePCR File (Nastavení destičky > Použít soubor PrimePCR).
 - V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte položky Plate Setup > Apply PrimePCR File (Nastavení destičky > Použít soubor PrimePCR).
2. V dialogovém okně spuštění souboru PrimePCR klikněte na položku Browse (Procházet) a přejděte na příslušný soubor PrimePCR (.csv).
3. Vyberte cílový soubor PrimePCR a klikněte na Open (Otevřít).

CFX Manager Dx importuje cílové informace do rozvržení destičky

Kapitola 9 Přehled analýzy dat

CFX Manager Dx nabízí několik způsobů otevření a zobrazení datových souborů. Můžete:

- Vybrat File > Open > Data File (Soubor > Otevřít > Datový soubor) v okně Home (Domů) a přejít na cílový soubor .pcrd.
- Vybrat File > Recent Data Files (Soubor > Nejnovější datové soubory) v okně Home (Domů), budete tak mít výběr ze seznamu deseti nejnovějších otevřených datových souborů.

Okno Data Analysis (Analýza dat)

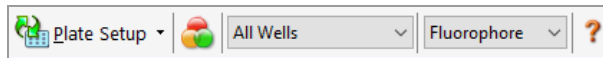
Okno Data Analysis (Analýza dat) zobrazuje více záložek, přičemž každá záložka zobrazuje analyzovaná data pro konkrétní metodu analýzy nebo informace specifické pro cyklus. Záložky se zobrazují pouze tehdy, jsou-li pro tento typ analýzy k dispozici data shromážděná v cyklu.



Tip: Chcete-li vybrat karty, které chcete zobrazit, vyberte je v rozevírací nabídce View (Zobrazit) v okně Data Analysis (Analýza dat). Chcete-li se vrátit k původnímu rozložení karty, vyberte položky Settings > Restore Default Window Layout (Nastavení > Obnovit výchozí rozvržení okna).



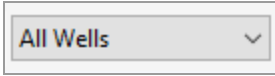


Panel nástrojů pro analýzu dat

Panel nástrojů v okně Data Analysis (Analýza dat) poskytuje rychlý přístup k důležitým funkcím analýzy dat.



Tabulka 15 uvádí seznam funkcí tlačítek na panelu nástrojů.

Tabulka 15. Panel nástrojů v okně Data Analysis (Analýza dat)

Tlačítko	Název	Funkce
	Plate Setup (Nastavení destičky)	View/Edit pane (Zobrazit/upravit destičku): Otevře Plate Editor (Editor destiček) pro zobrazení a úpravy obsahu jamek. Replace Plate file (Nahradit soubor destičky): Vybere soubor destičky, který má nahradit rozložení destičky. Apply PrimePCR file (Použít soubor PrimePCR): Vybere soubor cyklu, který má nahradit rozložení PrimePCR cyklu.
	Manage Well Groups (Spravovat skupiny jamek)	Pro tvorbu, úpravu a výmaz skupin jamek klikněte na okno Well Groups Manager (Správce skupiny jamek).
	Well Group (Skupina jamek)	Vybere existující název skupiny jamek z rozevírací nabídky. Výchozí výběr je All Wells (Všechny jamky). Toto tlačítko se zobrazí pouze tehdy, když jsou vytvořeny skupiny.
	Analysis Mode (Režim analýzy)	Analyzuje data v režimu Fluorophore (Fluorofor) nebo Target (Cíl).
	Help (Nápověda)	Otevře digitální kopii příručky ve formátu Acrobat PDF.

Panel nabídek pro analýzu dat

Tabulka 16 obsahuje seznam položek nabídky v okně Data Analysis (Analýza dat).

Tabulka 16. Seznam položek v okně Data Analysis (Analýza dat)

Položka nabídky	Příkaz	Funkce
File (Soubor)	Save (Uložit)	Uloží soubor.
	Save As (Uložit jako)	Uloží soubor s novým názvem.
	Repeat Run (Opakovat cyklus)	Extrahuje protokol a soubor destičky z aktuálního cyklu pro nové spuštění.
	Close (Zavřít)	Zavře okno Data Analysis (Analýza dat)
View (Zobrazit)	Run Log (Protokol cyklu)	Otevře okno Run Log (Protokol cyklu) a zobrazí protokol cyklu aktuálního datového souboru.
	Quantification (Kvantifikace), Melt Curve (Křivka tání), Gene Expression (Expresse genu), End Point (Koncový bod), Custom Data View (Vlastní zobrazení dat), QC (Kontrola kvality), Run Information (Informace o cyklu)	Zobrazuje analyzovaná data na vybraných kartách v okně Data Analysis (Analýza dat). Musí být vybrána alespoň jedna karta.
Settings (Nastavení)	C _q Determination Mode (Režim určení C _q)	Vyberte možnost Regression (Regrese) nebo Single Threshold (Jeden práh), a určete tak, jak se vypočítávají hodnoty C _q pro každou stopu.
	Baseline Setting (Základní nastavení)	Vyberte metodu Baseline Subtraction (Odečet základní linie) pro vybrané skupiny jamek.
	Analysis Mode (Režim analýzy)	Vyberte, zda chcete analyzovat data s použitím možnosti Fluorophore (Fluorofor), nebo Target (Cíl).

Tabulka 16. Seznam položek v okně Data Analysis (Analýza dat), pokračování

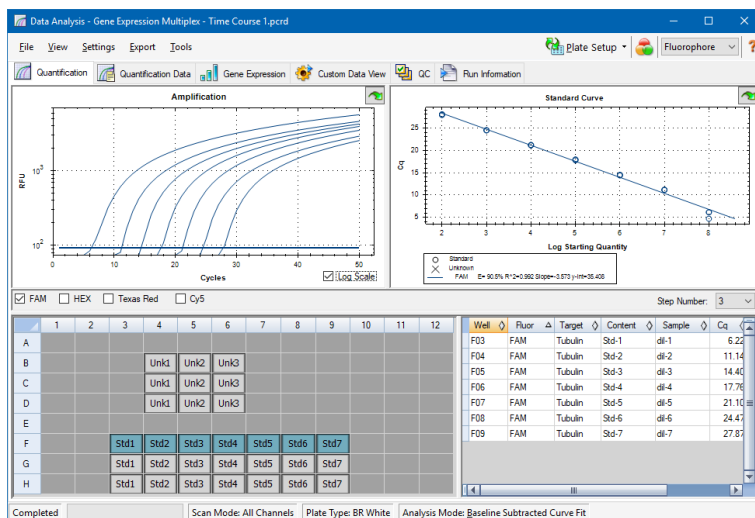
Položka nabídky	Příkaz	Funkce
	Cycles to Analyze (Cykly pro analýzu)	Vyberte cykly, které mají být analyzovány.
	Baseline Thresholds (Výchozí prahy)	Otevřete okno Baseline Threshold (Výchozí prahy) a upravte základní linii nebo prahovou hodnotu.
	Trace Styles (Styly trasování)	Otevře okno Okno Trace Styles (Styly trasování).
	Plate Setup (Nastavení destičky)	Otevře Plate Editor (Editor destiček) pro zobrazení a úpravu destičky; nahraďte aktuální destičku jedním z uživatelsky definovaných souborů destiček nebo souborem cyklu PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Zahrnout všechny vyloučené jamky)	Zahrne všechny vyloučené jamky v analýze.
	Mouse Highlighting (Zvýraznění myši)	Zapíná nebo vypíná současné zvýraznění dat ukazatelem myši. Tip: Pokud je Mouse Highlighting (Zvýraznění myši) vypnuto, stiskněte klávesu Control (Ctrl) pro dočasné zapnutí zvýraznění.
	Restore Default Window Layout (Obnovit výchozí rozvržení okna)	Obnoví uspořádání oken na výchozí nastavení.

Tabulka 16. Seznam položek v okně Data Analysis (Analýza dat), pokračování

Položka nabídky	Příkaz	Funkce
Export (Exportovat)	Export All Data Sheets to Excel (Export všech tabulek do aplikace Excel)	Exportuje všechny pohledy tabulky z každé karty do samostatného souboru aplikace Excel.
	Custom Export (Vlastní export)	Otevře okno Custom Export (Vlastní export), ve kterém je možné určit pole, která mají být exportována, a formát souboru.
	Export to LIMS (Export do složky LIMS)	Otevře okno pro uložení dat do předem určeného formátu do složky LIMS.
	Seegene Export (Export pro Seegene)	Otevře okno pro identifikaci umístění ukládaných dat ze všech zobrazení tabulky v souborech aplikace Excel, speciálně strukturovaných pro použití společností Seegene, Inc.
Tools (Nástroje)	Reports (Hlášení)	Otevře hlášení pro tento datový soubor.
	Well Group Reports (Hlášení o skupinách jamek)	Otevře okno Well Group Report (Hlášení o skupinách jamek) k vytvoření hlášení pro určené skupiny jamek.
	Import Fluorophore Calibration (Import kalibrace fluoroforu)	Vyberte kalibrační soubor, který se použije pro aktuální datový soubor.
	qbase+	Spouští qbase+ v2.5 přímo z aktuálního souboru .pcrd, pokud je nainstalován.

Karta Details (Podrobnosti)

Každá karta v okně Data Analysis (Analýza dat) obsahuje data z grafu a tabulek pro konkrétní metodu analýzy a zahrnuje nástroj pro výběr jamek, s jehož pomocí lze vybírat data, která chcete zobrazit. Když se otevře, zobrazí okno Data Analysis (Analýza dat) ve výchozím nastavení kartu Quantification (Kvantifikace). Data z grafu Amplification (Amplifikace) na kartě Quantification (Kvantifikace) můžete použít ke stanovení příslušného nastavení analýzy pro cyklus.

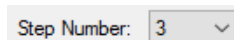


Poznámka: Software propojuje data v podoknech každé karty Data Analysis (Analýza dat). Například při zvýraznění jamky tak, že když na ni v nástroji pro výběr jamky umístíte kurzor, zvýrazní se i data ve všech ostatních podoknech.

Nástroj pro výběr Step Number (Číslo kroku)

Systémy CFX96 a CFX96 Deep Well mohou získávat fluorescenční data ve více krocích protokolu; software uchovává data získaná v jednotlivých krocích odděleně. Software zobrazí přepínač Step Number (Číslo kroku). Pokud protokol obsahuje alespoň jeden krok sběru dat, software Software CFX Manager Dx zobrazí data z prvního kroku sběru.

Pokud protokol obsahuje více než jeden krok sběru, můžete z rozevíracího seznamu vybrat další krok, například:



Když vyberete krok, software použije tento výběr na všechna data, která se zobrazí v okně Data Analysis (Analýza dat).

Zobrazení skupin jamek v analýze dat

Pro účely nezávislé analýzy pomocí skupin jamek lze jamky na destičce sdružovat do dílčích sad. Když vytvoříte skupiny jamek, objeví se názvy skupin v okně Data Analysis (Analýza dat), v rozevíracím seznamu Well Groups (Skupiny jamek) na panelu nástrojů.

Jestliže jste vytvořili skupiny jamek, zobrazí software po otevření okna Data Analysis (Analýza dat) výchozí skupinu jamek All Wells (Všechny jamky), která uvádí data pro všechny jamky obsažené v grafech a tabulkách. V nástroji pro výběr jamek se objeví pouze jamky v načtené skupině s příslušným obsahem a ve výpočtech pro analýzu dat budou zahrnuta pouze data pro tyto jamky.

Poznámka: Pokud jste nevytvořili skupiny jamek, rozevírací seznam Well Groups (Skupiny jamek) se na panelu nástrojů neobjeví.

Změna obsahu jamky po cyklu

Během analýzy dat se změnou způsobu zobrazení dat na základě změny obsahu jamek v nástroji Plate Editor (Editor destiček) nikdy nezmění data o fluorescenci shromážděná z každé jamky během pracovního cyklu. Když modul shromáždí data o fluorescenci, nemůžete tato data vymazat, ale můžete je vyloučit ze zobrazení a z analýzy.

Jak změnit obsah jamek po pracovním cyklu

- ▶ V okně Data Analysis (Analýza dat) klikněte na Plate Setup (Nastavení destičky) a vyberte jednu z následujících možností:
 - **Edit/View Plate (Editovat/upravit destičku)** – otevře nástroj Plate Editor (Editor destiček), ve kterém můžete provádět manuální změny rozložení.
 - **Replace Plate file (Nahradit soubor destičky)** – otevře prohlížeč Select Plate (Vybrat destičku), ve kterém můžete přejít na dříve uložený soubor destičky, jímž chcete nahradit aktuální rozložení destičky.
 - **Apply PrimePCR file (Použít soubor PrimePCR)** – otevře dialogové okno Select PrimePCR file (Vybrat soubor PrimePCR), ve kterém můžete přejít na spouštěcí soubor PrimePCR a použít jej na rozložení destičky.

Tip: Informace o obsahu jamky můžete přidávat nebo upravovat před cyklem PCR, během něj nebo po jeho ukončení. Před cyklem musíte přiřadit režim skenování a velikost destičky. Tyto parametry nelze po cyklu měnit.

Nastavení analýzy dat

Data v grafu Amplification (Amplifikace) na kartě Quantification (Kvantifikace) zobrazují relativní fluorescenci (RFU) pro každou jamku v každém cyklu. Každá trasa v grafu představuje data z jednoho fluoroforu v jedné jamce. Tato data jsou použita pro stanovení hodnot C_q pro každou jamku na základě jednoho fluoroforu. Software používá k určení hodnot C_q jeden ze dvou režimů:

- **Regression (Regrese)** – aplikuje vícerozměrný, nelineární regresní model na jednotlivé trasy jamky a pak tento model používá k výpočtu optimální hodnot C_q .
- **Single Threshold (Jeden práh)** – používá jedinou prahovou hodnotu pro výpočet hodnot C_q na základě prahu průniku jednotlivých stop fluorescence.

Vyberte položky Settings > C_q Determination Mode (Nastavení > Režim určení C_q) a vyberte režim určení hodnot C_q .

Úprava prahu

V režimu Single Threshold (Jeden práh) můžete upravit práh pro fluorofor tak, že kliknete na řádek s prahem v grafu Amplification (Amplifikace) a svisle kurzor posunete. Případně můžete stanovit přesný práh překročení pro vybraný fluorofor.

Základní nastavení

Software automaticky nastaví základní linii individuálně pro každou jamku. Základní nastavení určuje metodu odečtu základní linie pro všechny fluorescenční trasy. Software poskytuje tři možnosti odečítání základní linie:

- **No Baseline Subtraction (Bez odečtu základní linie)** – zobrazí data jako relativní fluorescenční trasy. Některé analýzy v tomto režimu analýzy nejsou možné, a proto software nezobrazuje karty Gene Expression (Expres genu), End Point (Koncový bod) a Allelic Discrimination (Alelická diskriminace).
- **Baseline Subtracted (Základní linie odečtena)** – zobrazí data jako odečtené trasy základních linií pro každý fluorofor v jamce. Software musí odečíst kmenová data pro stanovení cyklů kvantifikace, vytvořit standardní křivky a určit koncentraci neznámých vzorků. Aby se generovala základní odečtená trasa, software upraví nejlepší přímkou procházející zaznamenanou fluorescencí každé jamky během základních cyklů a pak odečte data nejlepšího přizpůsobení z pozadí odečtených dat v každém cyklu.
- **Baseline Subtracted Curve Fit (Úprava odečtené základní linie)** – zobrazí data jako odečtené stopy základní linie a software vyhladí odečtenou základní křivku pomocí středového filtru se středním vážením. Tento proces se provádí tak, že každá hodnota C_q zůstává nezměněna.

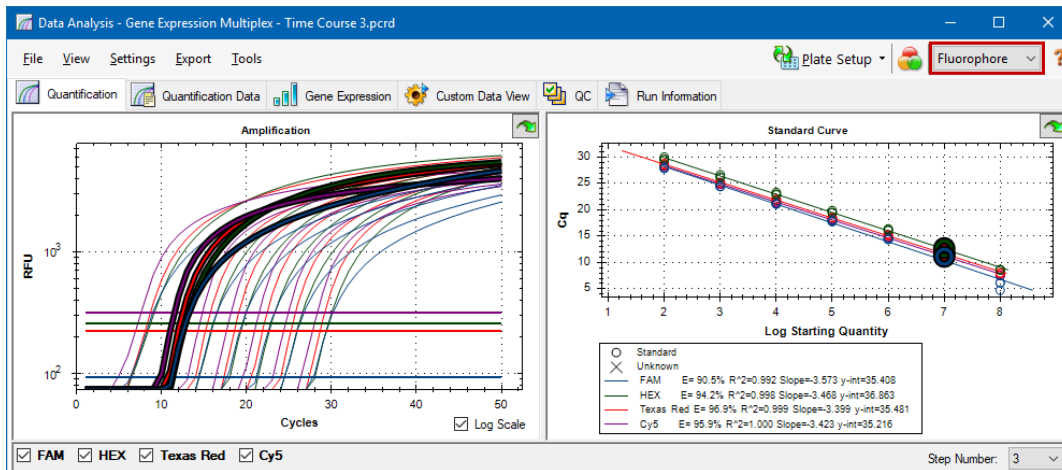
Kromě těchto možností můžete také vybrat možnost Apply Fluorescent Drift Correction (Použití korekci posunu fluorescence). Pro jamky, které mají abnormálně driftující hodnoty RFU během počátečních několika cyklů běhu, software odvodí odhadovanou základní linii ze sousedních jamek, pro které byla úspěšně vytvořena horizontální základní linie.

Změna nastavení odčítání základní linie

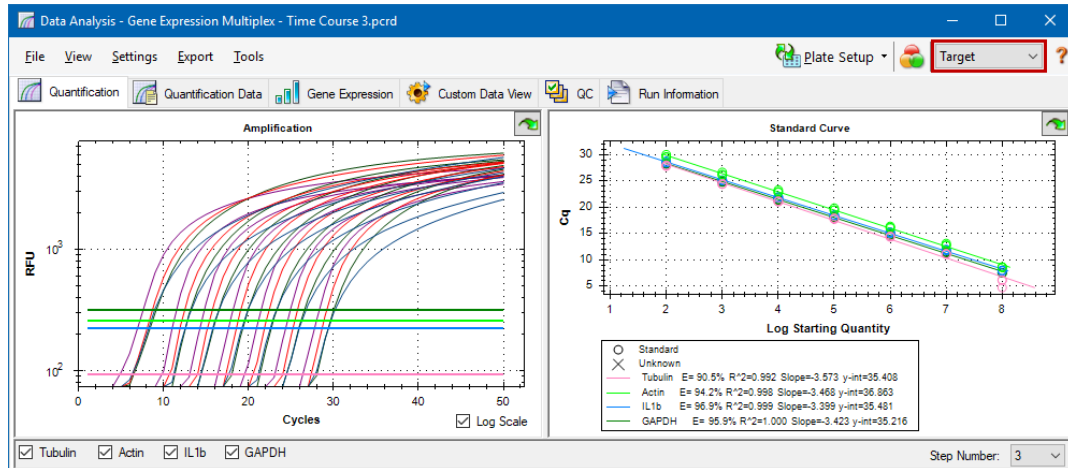
- Vyberte položky Settings > Baseline Setting (Nastavení > Nastavení základní linie).

Režim analýzy

Data mohou být seskupena a analyzována podle fluoroforu nebo podle cílového názvu. Při seskupení podle fluoroforu se zobrazují datové stopy podle fluoroforu, jak je uvedeno v nastavení destičky pro daný cyklus. Údaje o individuálních fluoroforech se objevují v grafu amplifikace a standardní křivky (je-li k dispozici), pokud jsou vybrána příslušná zaškrťovací políčka nástroje pro výběr fluoroforu, nacházející se pod grafem amplifikace.



Při seskupení podle cíle se zobrazují datové stopy podle názvu cíle zadaného v nastavení destičky pro daný cyklus.



Výběr režimu analýzy dat

- ▶ Postupujte následovně:
 - Vyberte Settings > Analysis Mode (Nastavení > Režim analýzy).
 - Vyberte režim z rozbalovací nabídky Analysis Mode (Režim analýzy) na panelu nástrojů.

Cykly pro analýzu

Počet cyklů pro analýzu můžete omezit. Můžete rovněž analyzovat data z konkrétních souborů cyklů. Maximální počet cyklů, které lze analyzovat, je 50.

Poznámka: Odstranění cyklů na začátku pracovního cyklu může mít významný dopad na stanovení základních linií.

Jak omezit analýzu dat na konkrétní rozsah cyklů

1. Vyberte položky Settings > Cycles to Analyze (Nastavení > Cykly pro analýzu).
Otevře se dialogové okno Cycles to Analyze (Cykly pro analýzu).
2. Zadejte počáteční a koncové hodnoty cyklu a klikněte na OK.

Klikněte na možnost Restore Defaults (Obnovit výchozí) v dialogovém okně Cycles to Analyze (Cykly pro analýzu) pro návrat k cyklům, které byly pro analýzu původně použity.

Nástroj pro výběr jamky

Nástroj pro výběr jamky slouží k zobrazení nebo skrytí dat jamky v grafech nebo tabulkách v okně Data Analysis (Analýza dat). V nástroji pro výběr jamky lze vybrat pouze jamky naplněné vzorkem. Software používá pro jamky v nástroji pro výběr jamky barvy:

- **Blue (Modrá)** – označuje vybrané jamky. Data z vybraných jamek se zobrazí v okně Data Analysis (Analýza dat).
- **Light gray (Světle šedá)** – označuje nevybrané jamky. Data z nevybraných jamek se zobrazí v okně Data Analysis (Analýza dat).
- **Dark gray (Tmavě šedá)** – označuje prázdné jamky.

	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			

Zobrazení nebo skrytí dat o jamce

- ▶ V nástroji pro výběr jamky postupujte následovně:
 - Chcete-li skrýt jednu jamku, klikněte na konkrétní jamku. Chcete-li tuto jamku zobrazit, klikněte na ni znovu.
 - Chcete-li skrýt více jamek, přetáhněte kurzor přes jamky, které chcete vybrat. Chcete-li tyto jamky zobrazit, znovu kurzor přetáhněte.

- Kliknutím na levý horní roh destičky skryjete všechny jamky. Pro výběr všech jamek klikněte znovu na levý horní roh.
- Kliknutím na začátek sloupce nebo řádku skryjete příslušné jamky. Klepnutím na sloupec nebo řádek znovu jamky zobrazíte.

Položky nabídky nástroje pro výběr jamek po kliknutí pravým tlačítkem myši

Tabulka 17 obsahuje seznam možností dostupných v zobrazení nástroje pro výběr jamek po kliknutí pravým tlačítkem myši.

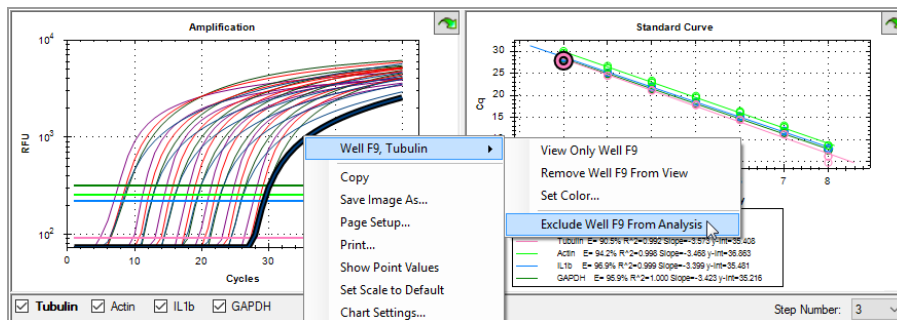
Tabulka 17. Položky nabídky nástroje pro výběr jamek po kliknutí pravým tlačítkem myši

Položka	Funkce
Well XX (Jamka XX)	Zobrazí pouze tuto jamku, odstraní tuto jamku z náhledu, nastaví barvu této jamky nebo vyjme tuto jamku z analýzy.
Selected Wells (Vybrané jamky) (kliknout pravým tlačítkem myši a přetáhnout)	Zobrazí pouze tyto jamky, odstraní tyto jamky z náhledu, nastaví barvu těchto jamek, nebo vyjme tyto jamky z analýzy.
Copy (Kopírovat)	Zkopíruje obsah jamky do schránky, včetně typu vzorku a volitelného čísla replikace.
Copy as Image (Kopírovat jako obrázek)	Zkopíruje zobrazení nástroje pro výběr jamek jako obrázek.
Print (Tisk)	Vytiskne zobrazení nástroje pro výběr jamek.
Print Selection (Vytisknout výběr)	Vytiskne aktuální výběr.
Export to Excel (Export do aplikace Excel)	Exportuje data do tabulky Excel.
Export to Csv (Export do souboru CSV)	Exportuje data jako textový dokument.
Export to Xml (Export do souboru XML)	Exportuje data jako dokument ve formátu .xml.
Well Labels (Štítky jamek)	Změní štítky jamek na Sample Type (Typ vzorku), Target Name (Název cíle), nebo Sample Name (Název vzorku).

Dočasné vyloučení jamek z analýzy

Jak dočasně vyloučit jamky z analýzy dat

1. Klikněte pravým tlačítkem myši na nástroj pro výběr jamky. Pro vyloučení více jamek tyto jamky, trasy nebo body zvýrazněte tak, že na ně kliknete pravým tlačítkem myši a přetáhnete je.
2. Z nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši vyberte příslušnou možnost:
 - Well > Exclude Well (Jamka > Vyloučit jamku)
 - Selected Wells > Exclude from Analysis (Vybrané jamky > Vyloučit z analýzy)
 - Selected Traces > Exclude these wells from Analysis (Vybrané trasy > Vyloučit tyto jamky z analýzy)



Případně pokud chcete trvale odejmout jamky z analýzy, vymažte obsah jamek v nástroji Plate Editor (Editor destiček) tak, že kliknete na tlačítko Clear Wells (Vymazat jamky).

Důležité: Obsah každé vymazané jamky musíte znovu zadat.

Jak zahrnout vyloučenou jamku

- ▶ Klikněte pravým tlačítkem myši na příslušnou jamku v nástroji pro výběr jamek a vyberte položky Well > Include Well in Analysis (Jamka > Zahrnout jamku do analýzy).

Grafy

Každý graf v okně Data Analysis (Analýza dat) zobrazuje data v různých diagramech a zahrnuje možnosti pro úpravu a export dat nebo grafických prvků grafu.

Společné položky nabídky pro grafy po kliknutí pravým tlačítkem myši

[Tabulka 18](#) uvádí položky nabídky pravým tlačítkem myši, které jsou k dispozici v grafech. Některé dostupné položky jsou k dispozici pro všechny grafy a tyto položky lze použít ke změně zobrazení dat nebo k snadnému exportu dat z grafu.

Tabulka 18. Položky nabídky pro grafy po kliknutí pravým tlačítkem myši

Položka	Funkce
Copy (Kopírovat)	Zkopíruje graf do schránky.
Save Image As (Uložit obrázek jako)	Uloží obrázek v určené velikosti, rozlišení a typu souboru. Dostupné formáty obrázků jsou PNG (výchozí), JPG a BMP.
Page Setup (Nastavení stránky)	Náhled a výběr nastavení stránky pro tisk.
Print (Tisk)	Vytiskne graf.
Set Scale to Default (Nastavit měřítko na výchozí)	Po zvětšení grafu vrátí graf do výchozího zobrazení.
Chart Options (Možnosti grafu)	Otevře okno Chart Options (Možnosti grafu) pro změnu grafu, včetně změny názvu, výběru limitů pro osy x a y, zobrazení rastrových čar a menších zaškrtnutí v osách.

Poznámka: Položky nabídky, které se vztahují na konkrétní grafy, jsou popsány v [Kapitola 10, Podrobnosti o analýze dat](#).

Kopírování dat z grafů do schránky

Obsah náhledu grafu můžete kopírovat a vložit jej do jakékoliv aplikace, která umí pracovat s bitmapovými obrazovými soubory.

Jak kopírovat data z grafů do schránky

1. Z nabídky grafu po kliknutí pravým tlačítkem myši vyberte možnost Copy (Kopírovat).
2. Otevřete aplikaci, která umí pracovat s bitmapovými obrázky, například Microsoft Word.
3. Klikněte pravým tlačítkem myši a vyberte možnost Paste (Vložit) pro vložení bitmapového obrázku ze schránky do aplikace.

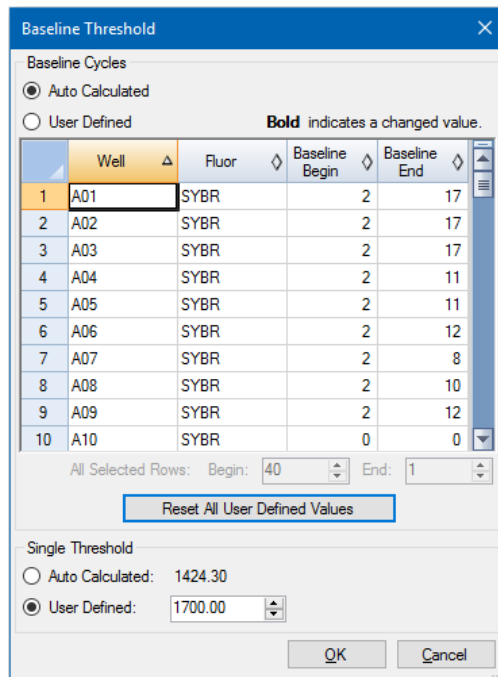
Úprava základního nastavení prahů

V režimu Single Threshold (Jeden práh) můžete upravit práh pro fluorofor tak, že kliknete na řádek s prahem v grafu Amplification (Amplifikace) a svisle kurzor posunete. Případně můžete stanovit přesný práh překročení pro vybraný fluorofor.

Tip: Na kartě Data Analysis (Analýza dat) v nabídce User > User Preferences (Uživatel > Uživatelské předvolby) můžete určit rozsah cyklu, abyste stanovili výchozí úroveň pro všechny datové soubory.

Jak nastavit počáteční a koncový výchozí cyklus pro každou jamku

1. Na kartě Quantification (Kvantifikace) vyberte jeden fluorofor pod grafem Amplification (Amplifikace).
2. Z nabídky grafu po kliknutí pravým tlačítkem myši vyberte Baseline Threshold (Výchozí práh).
Otevře se dialogové okno Baseline Threshold (Výchozí práh).



3. V části Baseline Cycles (Výchozí cykly) postupujte následovně:
 - Pro výběr jedné jamky klikněte na číslo jejího řádku.
 - Pro výběr několika sousedních jamek klikněte na číslo řádku první jamky a táhněte v sloupci dolů až k poslední jamce.
 - Pro výběr několika jamek, které se nenacházejí vedle sebe, stiskněte klávesu Control a klikněte postupně na čísla řádků všech cílových jamek.
 - Pro výběr všech jamek klikněte na levý horní roh tabulky.
4. Upravte výchozí počáteční cyklus a výchozí koncový cyklus pro všechny vybrané jamky, popř. změňte číslo počátečního a koncového cyklu v dolní části tabulky.

Tip: Pro návrat nastavení na poslední uložené hodnoty klikněte na položku Reset All User Defined Values (Resetovat všechny hodnoty definované uživatelem).
5. Pro uložení změn a návrat ke grafu klikněte na OK.

Jak stanovit rozsah cyklu pro všechny datové soubory

- V okně Home (Domů) nebo Plate Editor (Editor destiček) vyberte User > User Preferences (Uživatel > Uživatelské předvolby) a zvolte kartu Data Analysis (Analýza dat).

Řazení cílových hodnot a dat vzorků

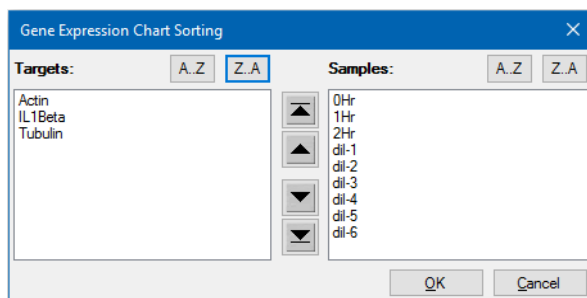
Poznámka: Tato možnost je k dispozici pouze v grafu exprese genu.

Ve výchozím nastavení se seznamy Targets (Cíle) a Samples (Vzorky) zobrazují v abecedním pořadí. Dialogové okno Sort (Řazení) slouží k řazení zobrazení v obráceném abecedním pořadí nebo k ručnímu přesunutí výrazu na jinou pozici v seznamu.

Řazení cílů a vzorků

1. Z nabídky grafu po kliknutí pravým tlačítkem myši klikněte na položku Sort (Řazení).

Zobrazí se dialogové okno Gene Expression Chart Sorting (Řazení dat grafu exprese genu).



2. V dialogovém okně klikněte na položku Z-A a seřadíte seznam v obráceném abecedním pořadí.
3. Chcete-li termín ručně přesunout, vyberte jej a klikněte na příslušné tlačítko mezi grafy:
 - Kliknutím na šipku nahoru nebo dolů přesunete vybraný termín o jednu pozici.
 - Kliknutím na šipku nahoru nebo dolů přesunete vybraný výraz na začátek nebo na konec seznamu.
4. Kliknutím na tlačítko OK a uložte změny a vraťte se na kartu Gene Expression (Expresse genu).

Zvětšení oblasti v grafu

Jak zvětšit oblast v grafu

- ▶ Klikněte a přetáhněte kurzor přes graf a následně klikněte na položku Zoom (Lupa)*. Software změní velikost grafu a vystředí jej na vybranou oblast.

Poznámka: * V případě sloupcového grafu nemusíte na vyskakovací příkaz Zoom (Lupa) klikat.

Jak resetovat graf chart na plný náhled

- ▶ Klikněte pravým tlačítkem myši na graf a vyberte položku Set Scale to Default (Nastavit měřítko na výchozí).

Kopírování grafů do souboru Microsoft

Datové grafy můžete kopírovat do dokumentů pro Microsoft Word, Excel nebo PowerPoint. Rozlišení obrázku odpovídá rozlišení obrazovky, ze které byl obrázek získán.

Jak kopírovat grafy do souboru Microsoft

1. V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte možnost Copy (Kopírovat) z nabídky grafu po kliknutí pravým tlačítkem myši.
2. Otevřete prázdný soubor Microsoft a vložte obsah ze schránky.



Případně: Klikněte na ikonu pro přetažení a přetáhněte graf do souboru Microsoft.

Tabulky

Tabulky zobrazené v náhledu Data Analysis (Analýza dat) obsahují možnosti pro řazení a přenos dat. Můžete sloupce řadit jedním z následujících způsobů:

- Klikněte a přetáhněte sloupec do nové pozice ve vybrané tabulce.
- Pro řazení dat ve vzestupném nebo sestupném pořadí klikněte na záhlaví sloupce.

Jak seřadit až tři sloupce dat v okně Sort (Řazení)

1. Klikněte pravým tlačítkem myši do tabulky a vyberte položku Sort (Řazení).
2. V dialogovém okně Sort (Řazení) vyberte název prvního sloupce, který chcete seřadit. Seřadte data ve vzestupném nebo sestupném pořadí.
3. Vyberte druhý nebo třetí sloupec k řazení a zvolte možnost Ascending (Vzestupně) nebo Descending (Sestupně).
4. Klikněte na OK pro řazení dat nebo na Cancel (Zrušit) pro ukončení řazení.

Zvýrazněte data v příslušných grafech a v nástroji pro výběr jamek tak, že podržíte kurzor nad buňkou. Klikněte do buňky pro zkopírování a vložení jejího obsahu do jiného softwarového programu.

Běžné položky nabídky pro tabulky po kliknutí pravým tlačítkem myši

Tabulka 19 zobrazuje položky nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši dostupné v libovolném zobrazení tabulky.

Tabulka 19. Položky nabídky pro tabulky po kliknutí pravým tlačítkem myši

Položka	Funkce
Copy (Kopírovat)	Zkopíruje obsah vybraných jamek do schránky a vloží obsah do tabulky, jako je Excel.
Copy as Image (Kopírovat jako obrázek)	Zkopíruje zobrazení tabulky jako soubor obrázku a vloží jej do souboru, který akceptuje soubor obrázku. Může jít například o textové, obrázkové nebo tabulkové soubory.
Print (Tisk)	Vytiskne aktuální zobrazení.
Print Selection (Vytisknout výběr)	Vytiskne aktuální výběr.

Tabulka 19. Položky nabídky pro tabulky po kliknutí pravým tlačítkem myši, pokračování

Položka	Funkce
Export to Excel (Export do aplikace Excel)	Exportuje data do tabulky Excel.
Export to CSV (Export do souboru CSV)	Exportuje data oddělené čárkou do souboru (.csv).
Export to Xml (Export do souboru XML)	Exportuje data do souboru Xml.
Export to Html (Export do souboru HTML)	Exportuje data do souboru Html.
Find (Najít)	Vyhledá text.
Sort (Řazení)	Seřadí data až do třech sloupců.
Select Columns (Vybrat sloupce)	Vybere sloupce, které budou zobrazeny v tabulce.

Export

Software CFX Manager Dx obsahuje čtyři možnosti exportu z rozevírací nabídky Export:

- Export All Data Sheets (Export všech tabulek)
- Custom Export (Vlastní export)
- Export to LIMS (Export do LIMS)
- Seegene Export (Export pro Seegene)

Export všech tabulek

Všechny náhledy tabulek z každé karty softwaru Software CFX Manager Dx můžete exportovat do jednotlivých souborů.

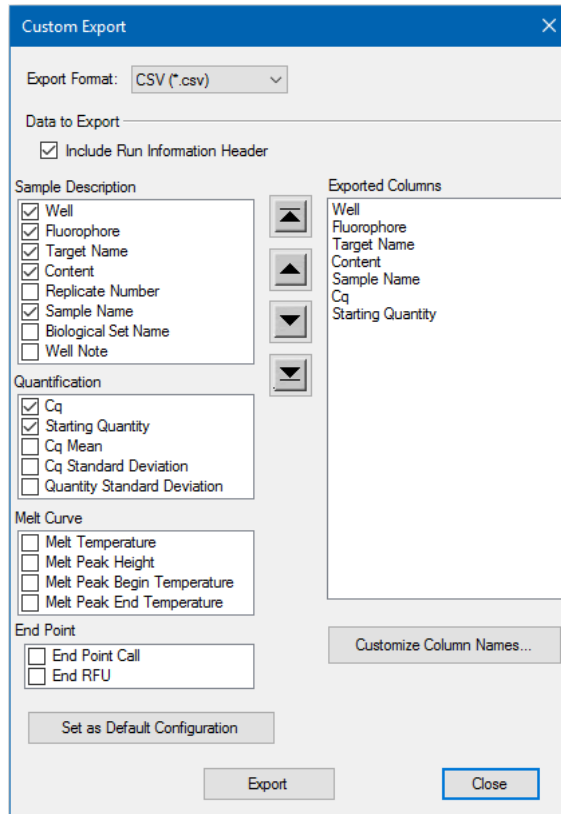
Jak exportovat všechny tabulky

- ▶ Vyberte Export > Export All Data Sheets (Exportovat > Exportovat všechny tabulky) a poté vyberte typ souboru, který chcete:
 - CSV (*.csv)
 - Text (*.txt)
 - Excel 2007 (*.xlsx)
 - Excel 2003 (*.xls)
 - XML (*.xml)

Tvorba vlastního souboru pro export

Vytvoření vlastního souboru pro export

1. Vyberte položky Export > Custom Export (Exportovat > Vlastní export). Zobrazí se dialogové okno Custom Export (Vlastní export).



2. Z rozevřacího seznamu, který se objeví, vyberte formát exportu.
3. Zaškrtněte políčka u položek, které chcete exportovat.
4. (Volitelné) Chcete-li změnit názvy sloupců, klikněte na tlačítko Customize Column Name (Upravit názvy sloupců).
5. Klikněte na položku Export (Exportovat). Otevře se dialogové okno Save As (Uložit jako).
6. V dialogovém okně Save As (Uložit jako) uveďte název souboru a umístění, do kterého se exportovaný soubor uloží.
7. Kliknutím na OK se exportovaný soubor uloží.

Export do složky LIMS

Můžete data exportovat do souborového formátu kompatibilního s LIMS.

Jak exportovat data ve formátu LIMS

1. Vyberte položky Export > Export to LIMS Folder (Exportovat > Export do složky LIMS).
Otevře se dialogové okno Save As (Uložit jako).
2. V dialogovém okně Save As (Uložit jako) uveďte název souboru a umístění, do kterého se exportovaný soubor uloží.
3. Kliknutím na OK se exportovaný soubor uloží.

Export dat ve formátu Seegene

Data ze všech náhledů tabulek můžete exportovat do souborů aplikace Excel, jejichž struktura je upravena konkrétně pro použití společností Seegene, Inc.

Jak exportovat data ve formátu Seegene

1. Vyberte Export > Seegene Export (Exportovat > Export pro Seegene).
Otevře se dialogové okno Save As (Uložit jako).
2. V dialogovém okně Save As (Uložit jako) uveďte umístění složky, do které se exportované soubory aplikace Excel (.xlsx) ve formátu Seegene uloží.
3. Kliknutím na OK se exportované soubory uloží.

Kapitola 10 Podrobnosti o analýze dat

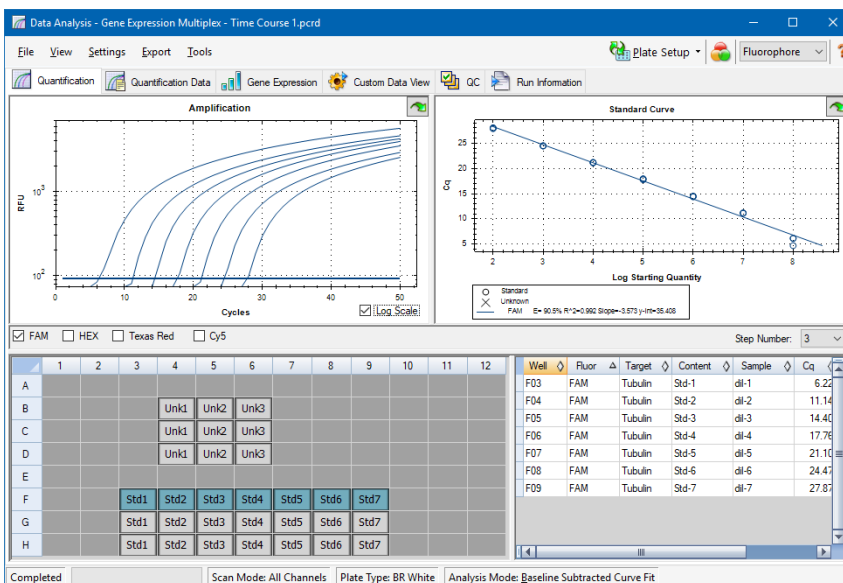
V softwaru CFX Manager Dx v okně Data Analysis (Analýza dat) je několik záložek, z nichž lze prohlížet data. Tato kapitola podrobně vysvětluje tyto záložky.

Tip: V okně Data Analysis (Analýza dat) můžete pomocí nabídky View (Zobrazit) vybrat, které karty se mají zobrazit. Vlastní rozložení se uloží s datovým souborem.

Karta Quantification (Kvantifikace)

Pomocí dat na kartě Quantification (Kvantifikace) nastavíte podmínky analýzy dat, včetně výchozího nastavení pro jednotlivé jamky a nastavení prahů. Karta Quantification (Kvantifikace) zobrazuje data v těchto čtyřech náhledech:

- Graf Amplification (Amplifikace) – zobrazuje relativní jednotky fluorescence (RFU) pro každou jamku při každém cyklu. Každá trasa v grafu představuje data z jednoho fluoroforu v jedné jamce.
- Standard curve (Standardní křivka) – objeví se pouze v případě, že pracovní cyklus obsahuje jamky označené jako standardní typ vzorku (Std (Standardní)). Standardní křivka zobrazuje prahový cyklus zaznamenaný oproti záznamu počátečního množství. Legenda ukazuje účinnost reakce (E) pro každý fluorofor v jamkách se standardním typem vzorku.
- Nástroj pro výběr jamky – vybere jamky s daty o fluorescenci, které chcete zobrazit.
- Tabulka – zobrazí tabulku dat shromážděných ve vybraných jamkách.



Možnosti pro fluorofor

Pro zobrazení dat o fluoroforu v grafech a tabulkách na kartě Quantification (Kvantifikace) vyberte cílové fluorofory pod grafem Amplification (Amplifikace). Pro skrytí dat o fluoroforu v okně analýze dat označte příslušné zaškrtnávací políčko.

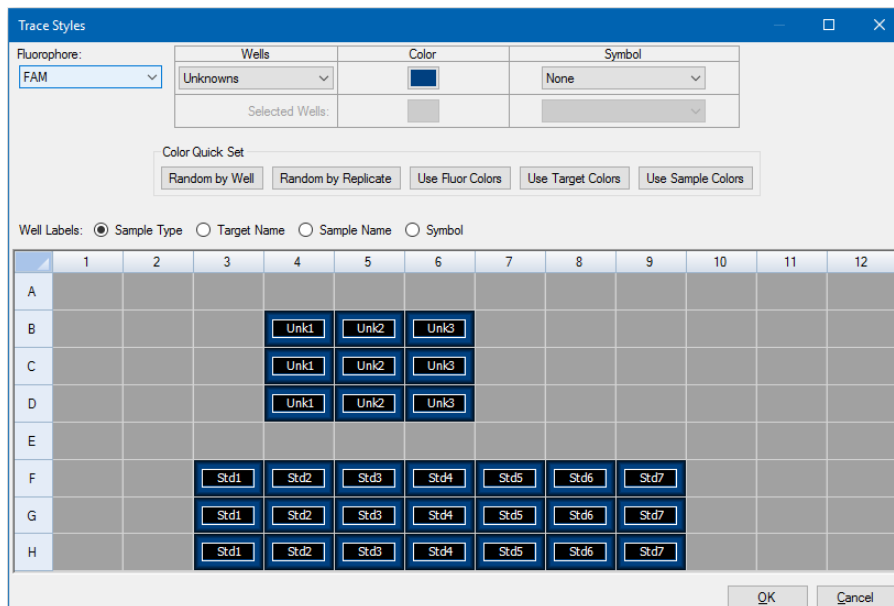
Dialogové okno Trace Styles (Styly trasování)

Pomocí dialogového okna Trace Styles (Styly trasování) můžete upravit vzhled tras při amplifikaci a grafů křivek tání na kartách Quantification (Kvantifikace) a Melt Curve (Křivka tání). Následně můžete zobrazit náhled změn v nástroji pro výběr jamek, který naleznete v dialogovém okně Trace Styles (Styly trasování).

Jak upravit styly trasování

1. Na grafu Amplification (Amplifikace) vyberte pouze jeden fluorofor.
2. Otevřete dialogové okno Trace Styles (Styly trasování) jedním z následujících způsobů:
 - Klikněte na Trace Styles (Styly trasování) v grafu Amplification (Amplifikace).
 - V panelu nabídek Data Analysis (Analýza dat) vyberte položky Settings > Trace Styles (Nastavení > Styly trasování).
 - Klikněte pravým tlačítkem na trasu a vyberte Trace Styles (Styly trasování).

Otevře se dialogové okno Trace Styles (Styly trasování).



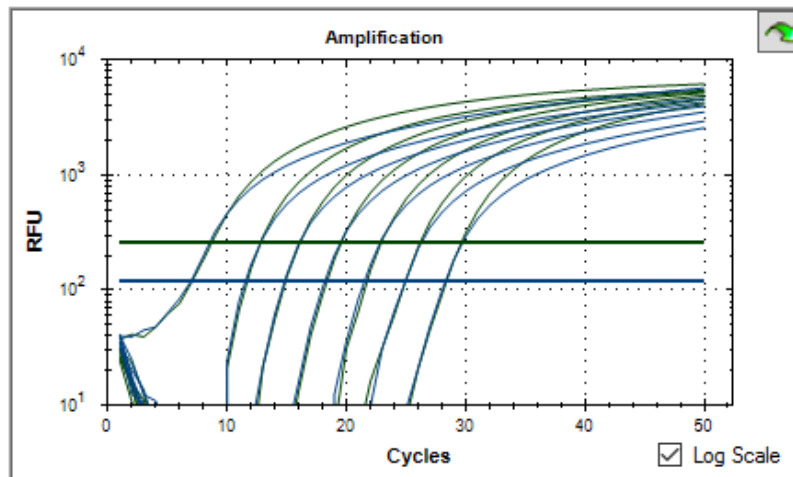
3. V nástroji pro výběr jamek v dolním podokně dialogového okna Trace Styles (Styly trasování) vyberte konkrétní sadu jamek. Případně vyberte jamky obsahující jeden typ vzorku v rozevíracím nabídce ve sloupci Wells (Jamky).

4. Postupujte následovně:

- Pro výběr barvy pro vybrané jamky klikněte na políčko ve sloupci Color (Barva).
- Pro přiřazení symbolu vybraným jamkám vyberte symbol z rozevřacího seznamu Symbol.
- Pro rychlé vybarvení jamek podle štítku tlačítka klikněte na příslušný rychlý výběr:
 - Random by Well (Náhodně podle jamky)
 - Random by Replicate (Náhodně podle replikace)
 - Use Fluor Colors (Použít barvy fluoru)
 - Use Target Colors (Použít barvy cílů)
 - Use Sample Colors (Použít barvy vzorků)
- Pro přiřazení štítků jamek vyberte možnost Sample Type (Typ vzorku), Target Name (Název cíle), Sample Name (Název vzorku) nebo Symbol.

Možnost Log Scale (Logaritmické měřítko)

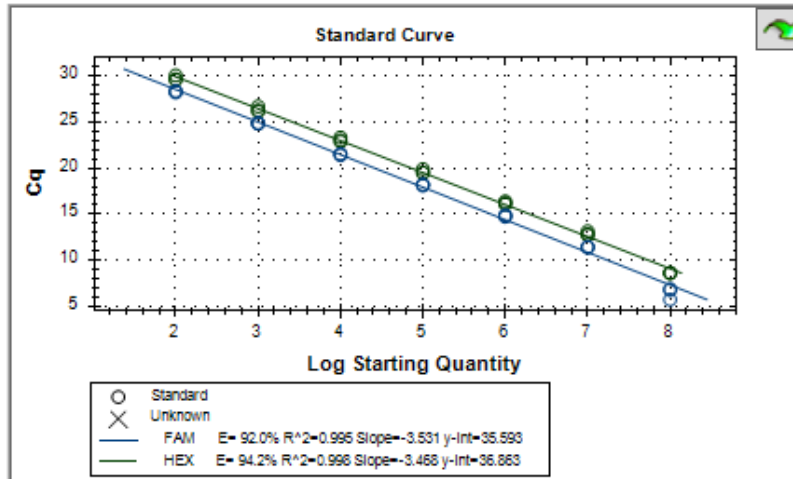
Vyberte Log Scale (Logaritmické měřítko) pod grafem Amplification (Amplifikace) pro zobrazení tras fluorescence v semilogaritmickém měřítku:



Tip: Pro zvětšení jakékoliv oblasti grafu přetáhněte kurzor přes cílovou oblast. Pro návrat na plný náhled klikněte pravým tlačítkem myši na graf a vyberte možnost Set Scale to Default (Nastavit měřítko na výchozí).

Graf Standard Curve (Graf standardních křivek)

Software vytvoří graf Standard Curve (Graf standardních křivek) na kartě Quantification (Kvantifikace), jestliže data zahrnují typy vzorků definovaných jako Std alespoň pro jeden fluorofor v pracovním cyklu.



Graf Standard Curve (Graf standardních křivek) zobrazuje následující informace:

- Název každé křivky (fluorofor nebo cíl).
- Barvu každého fluoroforu nebo cíle.
- Účinnost reakce (E). Pomocí této statistiky můžete optimalizovat multiplexovou reakci a vyvážit data pro standardní křivku.

Poznámka: Účinnost reakce popisuje, jaká část vašeho cíle se produkuje při každém cyklu protokolu. 100% účinnost znamená, že každým cyklem svůj cíl zdvojnásobíte.

- Koeficient stanovení, R^2 (zapsaný jako R^2). Pomocí této statistiky můžete určit, jak přesně křivka popisuje data (její přesnost).
- Směrnice
- Úsek y

Možnosti nabídky grafu Amplification (Amplifikace)

Kromě společných možností nabídky grafů po kliknutí pravým tlačítkem myši (viz [Společné položky nabídky pro grafy po kliknutí pravým tlačítkem myši na straně 178](#)) obsahuje [Tabulka 20](#) seznam možností nabídky dostupných pouze v grafu Amplification (Amplifikace).

Poznámka: Graf Standard Curve (Graf standardních křivek) nabízí pouze společné možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši.

Tabulka 20. Položky nabídky grafu Amplification (Amplifikace) po kliknutí pravým a levým tlačítkem myši

Možnosti nabídky	Funkce
Show Threshold Values (Zobrazit hodnoty prahů)	Zobrazí hodnotu prahu pro každou křivku amplifikace v grafu.
Trace Styles (Styly trasování)	Otevře okno Trace Styles (Styly trasování) pro změny stylů trasování na kartách Quantification (Kvantifikace) a Melt Curve (Křivka tání).
Baseline Thresholds (Výchozí prahy)	Otevře okno Baseline Thresholds (Výchozí prahy) po změnu základní linie nebo prahů pro každý fluorofor (změny se zobrazí v grafu Amplification (Amplifikace) na kartě Quantification (Kvantifikace)).

Tabulka na kartě Quantification (Kvantifikace)

[Tabulka 21](#) definuje data zobrazená v tabulce na kartě Quantification (Kvantifikace).

Tabulka 21. Obsah tabulky na kartě Quantification (Kvantifikace)

Informace	Popis
Well (Jamka)	Pozice jamek na destičce
Fluor (Fluorofor)	Detekovaný fluorofor
Target (Cíl)	Název cíle pro jamky načtené v nástroji Plate Editor (Editor destiček)
Content (Obsah)	Kombinace typu vzorku (povinný) a čísla replikace (volitelné) načtených v nástroji Plate Editor (Editor destiček)

Tabulka 21. Obsah tabulky na kartě Quantification (Kvantifikace), pokračování

Informace	Popis
Sample (Vzorek)	Název vzorku v jamkách načtených v nástroji Plate Editor (Editor destiček)
C_q	Kvantifikační cyklus pro každou trasu

Změna cíle, obsahu nebo dat vzorků

Můžete měnit data ve sloupcích pro cíl, obsah a vzorek tak, že upravíte soubor destičky pomocí nástroje Plate Editor (Editor destiček) i po provedení experimentu.

Jak změnit data ve sloupcích pro cíl, obsah a vzorek

- Pro otevření nástroje Plate Editor (Editor destiček) klikněte na Plate Setup (Nastavení destičky) a vyberte View/Edit Plate (Zobrazit/upravit destičku).

Karta Quantification Data (Kvantifikační data)

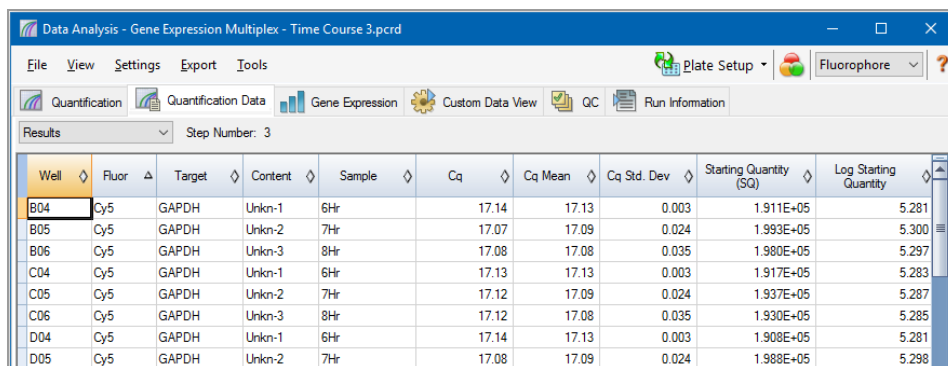
Karta Quantification Data (Kvantifikační data) zobrazuje data kvantifikační data shromážděná v každé jamce. Software CFX Manager Dx zobrazuje data ve čtyřech různých pohledech tabulky:

- Results (Výsledky) – zobrazí tabulku dat. Toto je výchozí zobrazení.
- Standard Curve Results (Výsledky standardních křivek) – zobrazí tabulku dat standardní křivky.
- Plate (Destička) – zobrazí data v každé jamce jako mapu destičky.
- RFU – zobrazuje množství RFU v každé jamce pro každý cyklus.

Vyberte každou tabulku z rozevíracího seznamu, který se zobrazí pod kartou Quantification Data (Kvantifikační data).

Tabulka Results (Výsledky)

Tabulka Results (Výsledky) obsahuje data pro každou jamku na destičce.



Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity
B04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.911E+05	5.281
B05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.07	17.09	0.024	1.993E+05	5.300
B06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.08	17.08	0.035	1.980E+05	5.297
C04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.13	17.13	0.003	1.917E+05	5.283
C05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.12	17.09	0.024	1.937E+05	5.287
C06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.12	17.08	0.035	1.930E+05	5.285
D04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.908E+05	5.281
D05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.08	17.09	0.024	1.988E+05	5.298

Poznámka: Všechny výpočty Std. Dev (Směrodatná odchylka) platí pro skupiny replikací přiřazené jamkám v okně Plate Editor (Editor destiček). Výpočty zprůměrují hodnotu C_q pro každou jamku ve skupině replikací.

Tabulka 22 definuje data, která se objeví v tabulce Results (Výsledky).

Tabulka 22. Obsah tabulky Results (Výsledky)

Informace	Popis
Well (Jamka)	Pozice jamek na destičce
Fluor (Fluorofor)	Detekovaný fluorofor

Tabulka 22. Obsah tabulky Results (Výsledky), pokračování

Informace	Popis
Target (Cíl)	Název cíle amplifikace (genu)
Content (Obsah)	Typ vzorku a číslo replikace
Sample (Vzorek)	Popis vzorku
Biological Set Name (Název biologického souboru)	Název biologického souboru
C_q	Kvantifikační cyklus
C_q Mean (Průměr C_q)	Průměr kvantifikačního cyklu pro skupinu replikací
C_q Std. Dev (Směrodatná odchylka C_q)	Směrodatná odchylka kvantifikačního cyklu pro skupinu replikací
Starting Quantity (SQ) (Počáteční množství (SQ))	Odhad počátečního množství cíle
Log Starting Quantity (Záznam počátečního množství)	Záznam počátečního množství
SQ Mean (Průměr SQ)	Průměr počátečního množství
SQ Std. Dev (Směrodatná odchylka SQ)	Směrodatná odchylka počátečního množství napříč replikacemi

Tabulka Standard Curve Results (Výsledky standardních křivek)

Tabulka Standard Curve Results (Výsledky standardních křivek) zobrazuje vypočítané parametry standardní křivky.

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

Tabulka 23 definuje data, která se zobrazí v tabulce Standard Curve Results (Výsledky standardních křivek).

Tabulka 23. Obsah tabulky Standard Curve Results (Výsledky standardních křivek)

Informace	Popis
Fluor (or Target) (Fluor (nebo cíl))	Byl detekován fluorofor (nebo cíl)
Efficiency % (Účinnost %)	Účinnost reakce
Slope (Sklon)	Sklon standardní křivky
Y-intercept (Úsek y)	Bod, ve kterém křivka protíná osu y
R ²	Koeficient stanovení

Tabulka Plate (Destička)

Tabulka Plate (Destička) obsahuje mapu destiček podle dat vždy pro jeden fluorofor.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	Content								
	Sample								
	Cq								
	copy number								
B	Content				Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3		
	Sample				6Hr	7Hr	8Hr		
	Cq				27.36	22.11	19.07		
	copy number				2.14e+02	6.60e+03	4.78e+04		
C	Content				Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3		
	Sample				6Hr	7Hr	8Hr		
	Cq				30.38	22.11	19.24		
	copy number				3.00e+01	6.58e+03	4.27e+04		

Pro zobrazení dat pro konkrétní fluorofor

- Klikněte na příslušnou kartu ve spodní části tabulky.

Tabulka RFU

Tabulka RFU obsahuje naměřené hodnoty relativních jednotek fluorescence (RFU) pro každou jamku zjištěné při každém cyklu pracovního cyklu. Nahoře se v každém sloupci objeví číslo jamky a vlevo od každého řádku je uvedeno číslo cyklu.

Cycle	B4	B5	B6	C4	C5	C6	D4	D5	D6	F3	F4	F5
1	45.6	11.6	15.0	5.48	7.14	23.6	1.35	-17.5	192	39.9	30.6	35.5
2	29.9	5.01	5.65	0.0416	-0.989	12.4	-0.689	-17.2	157	39.4	20.4	15.2
3	15.0	0.773	6.65	-2.41	-0.154	9.63	-3.27	-6.84	133	44.9	13.8	8.62
4	6.29	3.24	5.62	-0.119	-1.37	7.70	2.58	-3.87	112	47.9	6.28	4.95
5	5.02	2.66	3.65	1.75	3.86	4.31	-3.29	0.0588	92.1	63.4	1.48	3.60
6	-2.71	2.83	0.862	3.84	3.17	7.76	2.50	8.79	65.9	84.3	-4.18	1.53
7	-9.01	-0.350	1.51	-0.970	4.06	3.31	-0.340	5.18	45.7	121	-8.35	-4.28

Karta Melt Curve (Křivka tání)

Prohlášení o vyloučení odpovědnosti: Společnost Bio-Rad neposkytuje žádná práva pro použití analýzy křivky tání při analýze tání s vysokým rozlišením v oblasti humánní nebo veterinární in vitro diagnostiky. Kromě toho je povinností kupujícího získat všechna práva duševního vlastnictví, která mohou být vyžadována pro konkrétní aplikace.

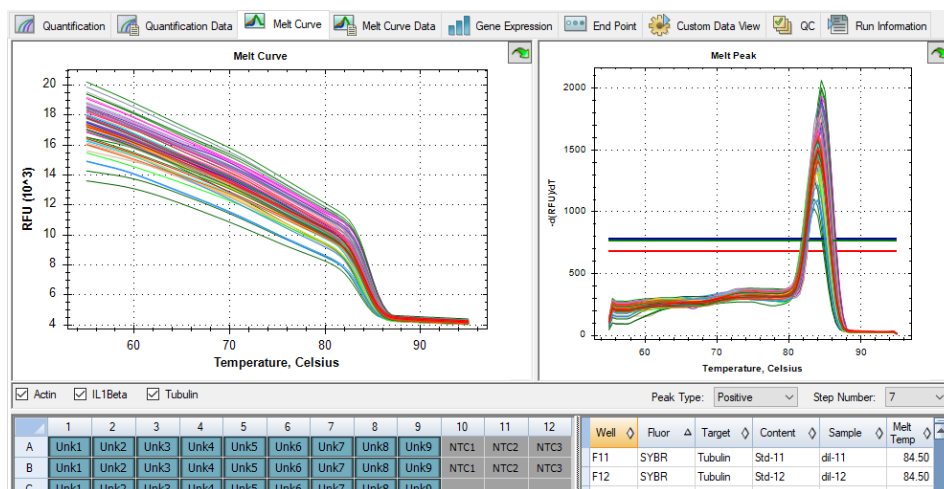
Pro barviva vázající DNA a nečitelné hybridizační sondy je fluorescence nejjasnější, když se dvě vlákna DNA ochlazují. Proto když teplota při tání stoupá (T_m), fluorescence klesá konstantní rychlostí (konstantní sklon). U T_m dochází k dramatickému snížení fluorescence se znatelnou změnou sklonu. Rychlost této změny se stanoví vynesemím negativní první regrese fluorescence oproti teplotě ($-d(RFU)/dT$). Největší rychlost změny fluorescence má za následek viditelné vrcholy a představuje hodnotu T_m komplexů dvouvláknové DNA.

Software CFX Manager Dx vykresluje data RFU shromážděná během křivky tání jako funkci teploty. Aby bylo možné analyzovat data vrcholů tání, přiřazuje software každému vrcholu počáteční a koncovou teplotu pohybem sloupce prahových hodnot. Dno plochy vrcholu je dáno polohou sloupce prahu tání. Platný vrchol musí mít minimální výšku vzhledem ke vzdálenosti mezi sloupcem prahu a výškou nejvyššího vrcholu.

Karta Melt Curve (Křivka tání) zobrazuje hodnotu T_m (teplota tání) amplifikovaných produktů PCR ve čtyřech pohledech:

- Melt Curve (Křivka tání) – zobrazuje data v reálném čase pro každý fluorofor jako hodnoty RFU vždy pro teplotu každé jamky.
- Melt Peak (Vrchol tání) – zobrazuje negativní regresi dat RFU vždy pro teplotu každé jamky.
- Well selector (Nástroj pro výběr jamky) – zobrazí jamky pro zobrazení nebo skrytí dat.
- Peak spreadsheet (Tabulka vrcholu) – zobrazí data shromážděná ve vybrané jamce.

Poznámka: Tabulka zobrazuje až dva vrcholy pro každou trasu. Chcete-li zobrazit více vrcholů, klikněte na tlačítko na kartě Melt Curve Data (Data křivky tání).



Tabulka 24 na straně 201 definuje data, která se objeví v tabulce Melt Curve (Křivka tání).

Tabulka 24. Obsah tabulky křivky tání

Informace	Popis
Well (Jamka)	Pozice jamek na destičce
Fluor	Detekovaný fluorofor
Content (Obsah)	Kombinace typu vzorku a čísla replikátu
Sample (Vzorek)	Název vzorku načtený v nástroji Plate Editor (Editor destiček)
Melt Temp (Teplota tání)	Teplota vrcholu tání pro každou jamku

Poznámka: V tabulce se zobrazují pouze dva nejvyšší vrcholy.

Úprava dat Melt Curve (Křivka tání)

Úprava dat Melt Curve (Křivka tání)

- ▶ Postupujte následovně:
 - Klikněte a přetáhněte práh pruhů v grafu Melt Peak (Vrchol tání) a zahrňte nebo vylučte vrcholy v analýze dat.
 - Vyberte Positive (Pozitivní) v rozevírací nabídce, aby se zobrazila data tabulky Peaks (Vrcholy) nad řádkem Melt Threshold (Práh tání), nebo vyberte Negative (Negativní), chcete-li zobrazit tabulková data vrcholů pod hranicí limitu tání.
 - Otevřete okno Trace Styles (Styly trasování) a změňte barvu tras v grafech Melt Curve (Křivka tání) a Melt Peak (Vrchol tání).
 - Vyberte číslo v nástroji pro výběr Step Number (Číslo kroku) a zobrazte data v křivce Melt Curve (Křivka tání) v dalším kroku protokolu. Seznam obsahuje více než jeden krok, pokud protokol obsahuje čtení destiček ve více než jednom kroku křivky tání.
 - Vyberte jamky v selektoru jamek a zaměřte se na podmnožiny dat.
 - Vyberte skupinu jamek pro zobrazení a analýzu podmnožiny jamek v destičce. V rozevírací nabídce Well Group (Skupina destiček) v panelu nástrojů vyberte jednotlivé skupiny podle názvu.

Karta Melt Curve Data (Data křivky tání)

Karta Melt Curve Data (Data křivky tání) obsahuje data z karty Melt Curve (Křivka tání) v několika tabulkách, které zahrnují všechny vrcholy tání pro každou trasu. Software CFX Manager Dx nabízí čtyři možnosti tabulek pro zobrazení dat křivky tání:

- Melt Peaks (Vrcholy tání) – zobrazí všechna data, včetně všech vrcholů tání, pro každou trasu. Toto je výchozí zobrazení.
- Plate (Destička) – zobrazí náhled dat a obsah každé jamky na destičce.
- RFU – zobrazí množství RFU při každé teplotě pro každou jamku.
- -d(RFU)/dT – zobrazí zápornou rychlost změny RFU během změn teploty (T). Toto je první regresní graf pro každou jamku na destičce.

Vyberte každou tabulku z rozevíracího seznamu pod kartou Melt Curve Data (Data křivky tání).

Tabulka Melt Peaks (Vrcholy tání)

Tabulka Melt Peaks (Vrcholy tání) obsahuje všechna data o křivce tání.

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	di-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

Tabulka 25 na straně 204 definuje data, která se objevují v tabulce Melt Peaks (Vrcholy tání).

Tabulka 25. Obsah tabulky Melt Peaks (Vrcholy tání)

Informace	Popis
Well (Jamka)	Pozice jamek na destičce
Fluor	Detekovaný fluorofor
Content (Obsah)	Typ vzorku uvedený v okně Plate Editor (Editor destiček)
Target (Cíl)	Cíl amplifikace (gen)
Sample (Vzorek)	Název vzorku uvedený v okně Plate Editor (Editor destiček)
Melt Temperature (Teplota tání)	Teplota tání každého produktu, uvedená jako jeden vrchol (nejvyšší) na řádek tabulky
Peak Height (Výška vrcholu)	Výška vrcholu
Begin Temperature (Počáteční teplota)	Teplota na začátku vrcholu
End Temperature (Koncová teplota)	Teplota na konci vrcholu

Tabulka Plate (Destička)

Tabulka Plate (Destička) obsahuje data o křivce tání ve formátu destičky.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							
B	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							
C	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							

Poznámka: Pro úpravu vrcholu vyvolaného softwarem upravte řádek s prahem v grafu Melt Peak (Vrchol tání) na kartě Melt Curve (Křivka tání).

[Tabulka 26 na straně 205](#) definuje data, která se objeví v tabulce Plate (Destička).

Tabulka 26. Obsah tabulky Plate (Destička)

Informace	Popis
Content (Obsah)	Kombinace typu vzorku (povinný) a čísla replikace (volitelné)
Sample (Vzorek)	Popis vzorku
Peak 1 (Vrchol 1)	První vrchol tání (nejvyšší)
Peak 2 (Vrchol 2)	Druhý (nižší) vrchol tání

Tabulka RFU

Tabulka RFU obsahuje fluorescenci pro každou jamku při každém cyklu získanou v rámci křivky tání.

[Tabulka 27](#) definuje data, která se zobrazí v tabulce RFU.

Tabulka 27. Obsah tabulky RFU

Informace	Popis
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (Číslo jamky (A1, A2, A3, A4, A5))	Pozice jamek na destičce pro založené jamky
Temperature (Teplota)	Teplota tání amplifikovaného cíle, zaznamenaná jako jedna jamka na jeden řádek a několik jamek pro několik produktů ve stejné jamce

Tabulka -d(RFU)/dT

Tabulka -d(RFU)/dT obsahuje zápornou rychlost změny RFU během změn teploty (T).

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	105	95.0	101	99.5	119	115	107	125	120	77.8	104	103	121	114
55.50	227	206	219	215	258	249	231	271	260	169	225	224	263	246
56.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
56.50	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.50	209	189	202	198	238	229	213	250	239	154	206	206	242	227
58.00	214	193	204	202	242	232	215	253	243	164	214	210	245	231
58.50	222	200	210	209	247	237	221	260	249	184	228	219	249	237

Tabulka 28 definuje data, která se objeví v tabulce -d(RFU)/dT.

Tabulka 28. Obsah tabulky -d(RFU)/dT

Informace	Popis
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (Číslo jamky (A1, A2, A3, A4, A5))	Pozice jamek na destičce pro založené jamky
Temperature -d(RFU)/dT (Teplota -d (RFU)/dT)	Záporná rychlost změny RFU během změn teploty (T)

Karta End Point (Koncový bod)

Otevřete kartu End Point (Koncový bod) pro analýzu konečných relativních jednotek fluorescence (RFU) pro jamky se vzorkem. Software porovnává úrovně RFU pro jamky s neznámými vzorky s úrovněmi RFU pro jamky s negativními kontrolami a označí neznámý vzorek za pozitivní nebo negativní. Pozitivní vzorky mají hodnotu RFU vyšší než průměrná hodnota RFU negativních kontrol plus cut-off hodnota.

Well	Fluor	Content	Sample	End RFU	Call
C03	HEX	Std-1		15271	(+) Positive
C04	HEX	Std-2		10788	(+) Positive
C05	HEX	Std-3		6245	(+) Positive
C06	HEX	Std-4		4035	(+) Positive
C07	HEX	Neg Ctrl		1887	
D03	HEX	Std-1		15193	(+) Positive
D04	HEX	Std-2		10781	(+) Positive
D05	HEX	Std-3		6294	(+) Positive
D06	HEX	Std-4		4013	(+) Positive
D07	HEX	Neg Ctrl		1882	
E03	HEX	Std-1		14530	(+) Positive
E04	HEX	Std-2		10240	(+) Positive
E05	HEX	Std-3		5838	(+) Positive
E06	HEX	Std-4		3896	(+) Positive
E07	HEX	Neg Ctrl		1882	
F03	HEX	Std-1		14055	(+) Positive
F04	HEX	Std-2		9932	(+) Positive
F05	HEX	Std-3		5826	(+) Positive
F06	HEX	Std-4		3964	(+) Positive
F07	HEX	Neg Ctrl		1883	

Pro analýzu dat koncových bodů musí destička obsahovat negativní kontroly, jinak software nemůže provést označení. Spusťte jeden z těchto dvou typů protokolů:

- Spusťte protokol Quantification (Kvantifikace) – nastavte standardní protokol. Po dokončení cyklu otevřete okno Data Analysis (Analýza dat), upravte nastavení analýzy dat na kartě Quantification (Kvantifikace) a poté klikněte na kartu End Point (Koncový bod) pro výběr cyklu koncových bodů.
- Spusťte protokol End Point Only (Pouze koncový bod) – načtěte protokol End Point Only (Pouze koncový bod) na kartě Plate (Destička) okna Run Setup (Nastavení cyklu), vyberte nebo vytvořte destičku a spusťte cyklus

Karta End Point (Koncový bod) obsahuje průměrné hodnoty RFU, aby bylo možné stanovit, zda byl cíl posledním (koncovým) cyklem amplifikován. Pomocí těchto dat určete, zda se ve vzorku nachází konkrétní cílová sekvence (pozitivní). Pozitivní cíle mají vyšší hodnoty RFU než vámi definovaná cut-off hodnota.

Tip: Abyste vytvořili protokol koncového bodu, otevřete kartu Protocol (Protokol) (okno Run Setup (Nastavení cyklu)) a vyberte možnosti Run > End Point Only Run (Cyklus > Cyklus jen s koncovým bodem).

Po ukončení cyklu se datový soubor otevře na kartě End Point (Koncový bod), která je tvořena těmito částmi:

- Settings (Nastavení) – upraví nastavení analýzy dat.
- Results (Výsledky) – zobrazí výsledky ihned po úpravě nastavení.
- Well Selector (Nástroj pro výběr jamky) – vybere jamky s daty koncových bodů, které chcete zobrazit.
- RFU spreadsheet (Tabulka RFU) – zobrazí koncové RFU shromážděné ve vybraných jamkách.

Data výsledků

Část Results (Výsledky) zobrazuje následující data:

- Lowest RFU value (Nejnižší hodnota RFU) – nejnižší hodnota RFU v datech
- Highest RFU value (Nejvyšší hodnota RFU) – nejvyšší hodnota RFU v datech
- Negative Control Average (Průměr negativních kontrol) – průměrná RFU pro jamky, které obsahují negativní kontroly
- Cut Off Value (Cut Off hodnota) – vypočítá se přidáním tolerance (RFU nebo Percentage (Procenta) rozsahu uvedeného v nastavení) a průměru negativních kontrol. Vzorokly s RFU, které jsou větší než mezní hodnota, se budou nazývat „Pozitivní“. Chcete-li nastavit hodnotu cutoff, změňte RFU nebo Percentage of Range (Procento rozsahu)

Cut Off Value (Cut Off hodnota) se vypočte pomocí tohoto vzorce:

$$\text{Cut Off hodnota} = \text{Průměr negativních kontrol} + \text{tolerance}$$

Vyberte toleranci jednou z těchto metod:

- RFUs (výchozí) – vyberte tuto metodu pro použití absolutní hodnoty RFU pro toleranci. Minimální hodnota tolerance RFU je 2. Maximální hodnota je absolutní hodnota nejvyšší hodnoty RFU minus absolutní hodnota nejnižší hodnoty RFU. Výchozí hodnota tolerance RFU je 10 % celkového rozsahu RFU.
- Percent of Range (Procenta rozsahu) – vyberte tuto metodu pro použití procenta rozsahu RFU pro toleranci. Minimální procento rozsahu je 1 %. Maximální procento rozsahu je 99 %. Výchozí hodnota rozsahu je 10 %.

Úprava analýzy dat koncových bodů

Úprava analýzy dat na kartě End Point (Koncový bod)

- ▶ Postupujte následovně:
 - Z rozevíracího seznamu vyberte fluorofor.
 - Vyberte hodnotu End Cycle to Average (Koncový bod k průměru), abyste nastavili počet cyklů, pomocí kterých se vypočítá průměrný koncový bod RFU.
 - Vyberte RFU pro zobrazení dat v jednotkách relativní fluorescence.
 - Vyberte položku Percentage of Range (Procenta rozsahu) pro zobrazení dat jako procenta rozsahu RFU.
 - Vyberte jamky v selektoru jamek a zaměřte se na podmnožiny dat.
 - Vyberte skupinu jamek pro zobrazení a analýzu podmnožiny jamek v destičce. V rozevírací nabídce Well Group (Skupina destiček) v panelu nástrojů vyberte každou skupinu podle názvu.

Tabulka RFU pro analýzu koncových bodů

Tabulka 29 definuje data, která se objevují v tabulce RFU na kartě End Point (Koncový bod).

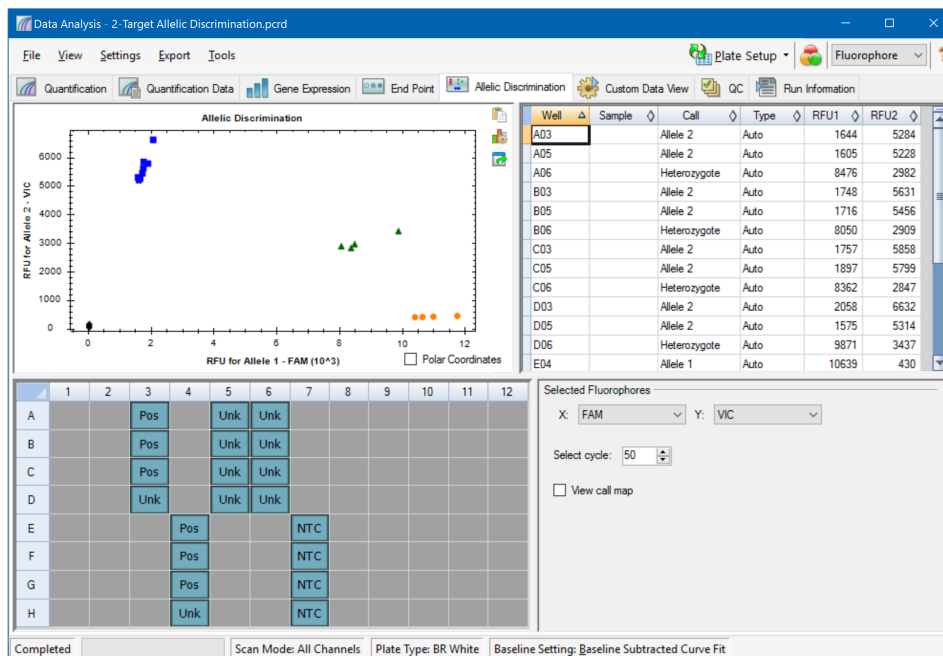
Tabulka 29. Obsah tabulky End Point (Koncový bod)

Informace	Popis
Well (Jamka)	Pozice jamek na destičce
Fluor	Detekovaný fluorofor
Content (Obsah)	Kombinace typu vzorku a čísla replikace
End RFU (Koncové RFU)	RFU v cyklu koncového bodu
Call (Označení)	Pozitivní nebo negativní, kdy pozitivní vzorky mají hodnotu RFU vyšší než průměrná RFU negativních kontrol plus cut-off hodnota
Sample (Vzorek)	Název vzorku načtený v nástroji Plate Editor (Editor destiček)

Karta Allelic Discrimination (Alelická diskriminace)

Karta Allelic Discrimination (Alelická diskriminace) přiřazuje genotypy jamkám s neznámými vzorky. Použijte tyto údaje k identifikaci vzorků s různými genotypy, včetně alely 1, alely 2, heterozygotu, bez signálu (žádná amplifikace) nebo neurčené.

Poznámka: Data pro alelickou diskriminaci musí pocházet z multiplexních cyklů s alespoň dvěma fluorofory. Každý fluorofor identifikuje jednu alelu ve všech vzorcích.



Analýza alelické diskriminace vyžaduje následující minimální obsah jamek:

- Dva fluorofory v každé jamce
- Příklady NTC (no template control; kontrola bez templátu) pro optimalizovanou analýzu dat

Software CFX Manager Dx nabízí čtyři možnosti zobrazení alelických diskriminačních dat:

- Graf Allelic Discrimination (Alelická diskriminace) – zobrazuje data v grafu RFU pro alelu 1 / alelu 2. Každý bod grafu představuje data z obou fluoroforů v jedné jamce. Zaškrtnutím a zrušením zaškrtnutí políčka Polar Coordinates (Polární souřadnice) můžete přepínat mezi kartézskými a polárními souřadnicemi. Kartézské souřadnice představují RFU pro alelu 1 na ose x a RFU pro alelu 2 na ose y. Polární souřadnice představují úhel na ose x a vzdálenost mezi počátkem a RFU na ose y (medián všech NTC).

- Well spreadsheet (Tabulka jamky) – zobrazuje alelická diskriminační data shromážděná v každé jamce destičky.
- Well selector (Nástroj pro výběr jamky) – vybere jamky s alelickými daty, která chcete zobrazit.
- Selected Fluorophores panel (Panel vybraných fluoroforů) – změní popisky os x a y v grafu Allelic Discrimination (Alelická diskriminace), analyzovaný cyklus a zda zobrazovat mapu signálů.

Úprava dat pro alelickou diskriminaci

Software automaticky přiřadí genotyp jamkám s neznámými vzorky na základě pozic NTC a úhlu a vzdálenosti neznámých datových bodů z NTC.

Úprava dat alelické diskriminace

- ▶ Postupujte následovně:
 - Chcete-li zobrazit polární souřadnice, zaškrtněte políčko v grafu Allelic Discrimination (Alelická diskriminace).
 - Chcete-li zobrazit další fluorofor, vyberte ho z rozevíracího seznamu na panelu Selected Fluorophores (Vybrané fluorofory).
 - Chcete-li změnit signál, přetáhněte ho přes datové body v grafu Allelic Discrimination (Alelická diskriminace) a vyberte možnost v seznamu vybraných jamek:
 - Allele 1 (Alela 1)
 - Allele 2 (Alela 2)
 - Heterozygote (Heterozygot)
 - Undetermined (Neurčený)
 - No Call (Bez signálu)
 - Auto Call (Automatický signál)

Tip: Chcete-li se vrátit k výchozímu signálu, vyberte možnost Auto Call (Automatický signál).

Možnosti nabídky grafu

Kromě obecných možností nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši pro grafy (viz část [Společné položky nabídky pro grafy po kliknutí pravým tlačítkem myši na straně 178](#)) uvádí [Tabulka 30](#) možnosti nabídky dostupné v grafu Allelic Discrimination (Alelická diskriminace).

Tabulka 30. Graf Allelic Discrimination (Alelická diskriminace) – možnosti nabídky po kliknutí pravým nebo levým tlačítkem myši

Možnosti nabídky	Funkce
Zoom (Lupa)	Zaměří zobrazení grafu na zvolenou oblast (kliknutím a přetažením kurzoru do grafu). Tip: Pokud chcete obnovit přiblížení na zobrazení všech datových bodů, klikněte pravým tlačítkem myši a vyberte možnost Set Scale to Default (Nastavit měřítko na výchozí nastavení).
Well (Jamka)	Pro vybranou jamku jsou k dispozici následující možnosti: zobrazit pouze tuto jamku, odstranit jamku ze zobrazení, nastavit barvu pro tuto křivku nebo tuto jamku vyloučit z analýzy.
Selected Wells (Vybrané jamky)	Pro vybrané jamky (vybrané kliknutím a přetažením kurzoru v grafu) jsou k dispozici následující možnosti: zobrazit pouze tyto jamky, odstranit jamky ze zobrazení, nastavit barvu pro tyto křivky nebo tyto jamky vyloučit z analýzy.

Tabulka Allelic Discrimination (Alelická diskriminace)

[Tabulka 31](#) definuje data, která se objevují v tabulce Allelic Discrimination (Alelická diskriminace).

Tabulka 31. Obsah tabulky Allelic Discrimination (Alelická diskriminace)

Informace	Popis
Well (Jamka)	Pozice jamek na destičce
Sample (Vzorek)	Popis názvu vzorku
Call (Signál)	Určení alely, včetně automatické alely 1, alely 2, heterozygotů, bez signálu nebo neurčené

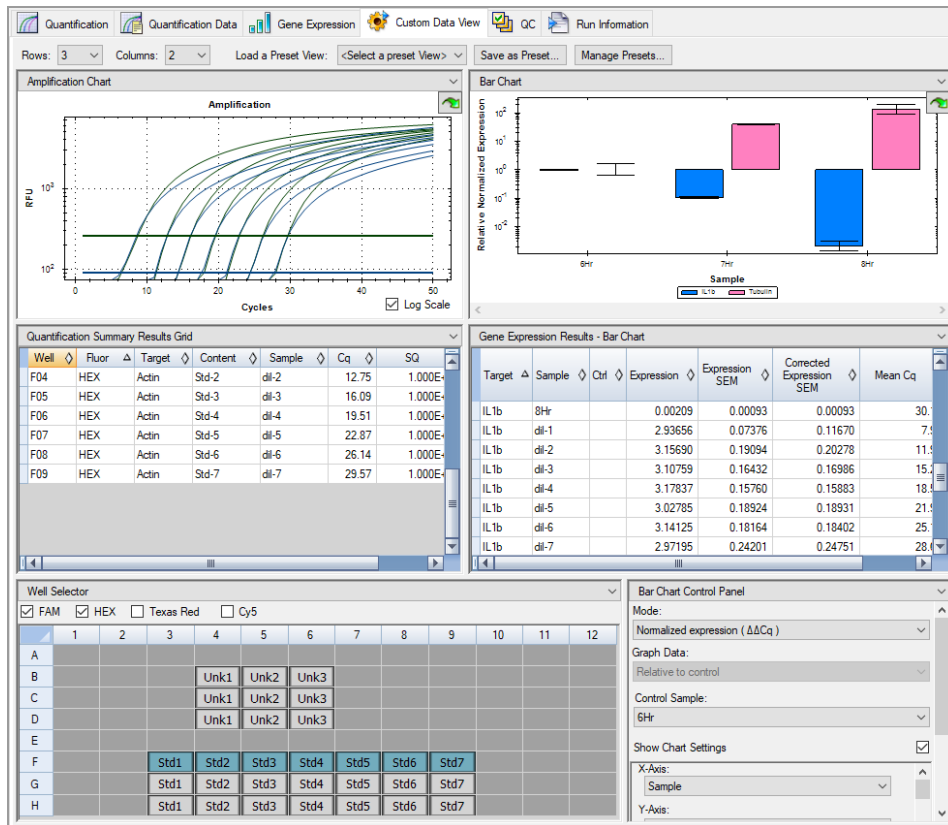
Tabulka 31. Obsah tabulky Allelic Discrimination (Alelická diskriminace), pokračování

Informace	Popis
Type (Typ)	Auto (Automaticky) nebo manuálně, popisuje, jak byl signál získán. Automaticky označuje případ, kdy signál vybral software. Manuálně označuje případ, kdy signál vybral uživatel.
RFU1	RFU pro alelu 1
RFU2	RFU pro alelu 2

Karta Custom Data View (Vlastní zobrazení dat)

Karta Custom Data View (Vlastní zobrazení dat) zobrazuje souběžně několik podoken v přizpůsobitelném formátu.

Rozevírací seznam Load a Preset View (Načíst přednastavené zobrazení) nabízí výběr šablon formátů zobrazení. Výchozí zobrazení nezávisí na analyzovaném souboru. Například pokud jsou přítomna data Melt Curve (Křivka tání), objeví se výchozí zobrazení Amp+Melt (Amplifikace+tání).



Vytvoření vlastního zobrazení dat

Jak vytvořit vlastní zobrazení dat

- ▶ Postupujte následovně:
 - Z rozevíracího seznamu vyberte alternativní přednastavené zobrazení.
 - Vyberte z rozevíracího seznamu nahoře v každém podokně jiný náhled grafu.
 - Změňte počet řádků a sloupců na kartě.
 - Změňte rozměry jednotlivého podokna. Přetáhněte sloupce na okraj každého podokna.

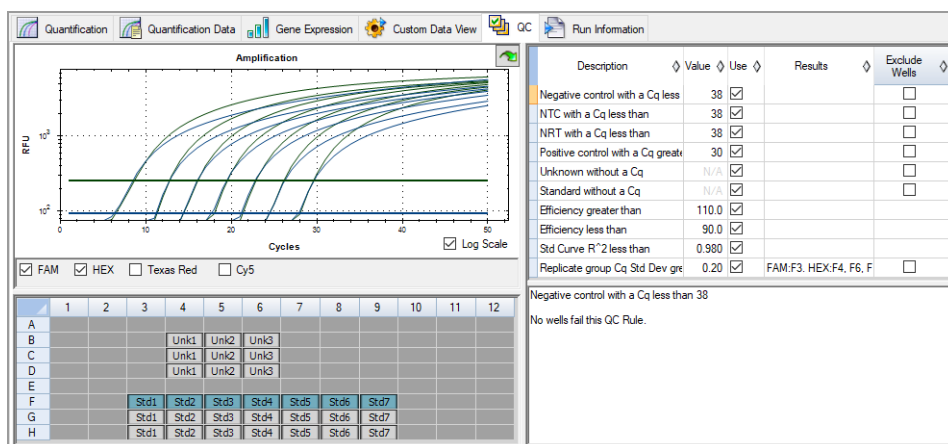
Pro uložení upravených hodnot jako přednastavené šablony klikněte na položku Save as Preset (Uložit jako předvolbu). Pro výmaz, přejmenování nebo obnovu stávajících přednastavených náhledů klikněte na položku Manage Presets (Spravovat předvolby).

Karta QC (Kontrola kvality)

Karta QC (Kontrola kvality) vám umožňuje rychlý přístup ke kvalitě dat pracovního cyklu na základě pravidel definovaných na kartě QC (Kontrola kvality).

Software CFX Manager Dx nabízí čtyři možnosti zobrazení dat QC (Kontrola kvality):

- **Graf Amplification (Amplifikace)** – zobrazí RFU pro každou jamku při každém cyklu. Každá trasa v grafu představuje data z jednoho fluoroforu v jedné jamce.
- **QC rules table (Tabulka pravidel kontroly kvality)** – zobrazí dostupná pravidla QC (Kontrola kvality) a nastavení definující každé pravidlo. Použitá pravidla QC (Kontrola kvality) jsou označena zaškrtnutím.
- **Well selector (Nástroj pro výběr jamky)** – vybere jamky s daty o fluorescenci, které chcete zobrazit.
- **QC rule summary pane (Souhrnný panel pravidel QC)** – zobrazí vybrané pravidlo QC (Kontrola kvality) a zvýrazní jamky, které pravidlo nespĺňují.



Změna kritérií QC (Kontrola kvality)

Jak změnit kritéria QC (Kontrola kvality)

- ▶ Vyberte nebo odznačte zaškrťovací políčko Use (Použit) pro pravidlo, které chcete podle situace zahrnout nebo odejmout z položky QC (Kontrola kvality).

Vyloučení jamek, které neprojdou testem QC (Kontrola kvality)

Software CFX Manager Dx zobrazuje sloupce, které nesplňují kritéria QC (Kontrola kvality), ve sloupci Výsledky v tabulce zásad QC (Kontrola kvality) a v souhrnném podokně.

Vyloučení jamek, které nesplňují kritéria QC (Kontrola kvality)

- ▶ Vyberte možnost Exclude Wells (Vyloučit jamky) pro každou jamku, kterou chcete vyloučit.

Karta Run Information (Informace o cyklu)

Karta Run Information (Informace o cyklu) zobrazuje protokol a další informace o každém cyklu. Tato karta slouží k následujícím akcím:

- Zobrazení protokolu.
- Zadání nebo úprava poznámek o cyklu.
- Zadání nebo úprava ID nebo čárového kódu cyklu.
- Zobrazení událostí, ke kterým mohlo dojít během cyklu. Tyto zprávy mohou pomoci při řešení problému.

Tip: Chcete-li kopírovat, exportovat nebo tisknout protokol, klikněte na něj pravým tlačítkem myši. Klepněte pravým tlačítkem myši do podoken Notes (Poznámky), ID/Bar Code (ID/Čárový kód) nebo Other (Jiné), chcete-li vyjmout, kopírovat, vložit, odstranit nebo vybrat text.

The screenshot displays the 'Run Information' window for a protocol named 'CFX_2stepAmp50 1 min.prcf'. The main area shows a graph of temperature over time, divided into four steps. Below the graph is a table detailing each step.

Step	Temperature (°C)	Duration (min)	Notes
1	95.0	3:00	
2	95.0	0:10	
3	55.0	1:00	
4	GOTO 2, 49 more times		

Additional information on the right side of the window includes:

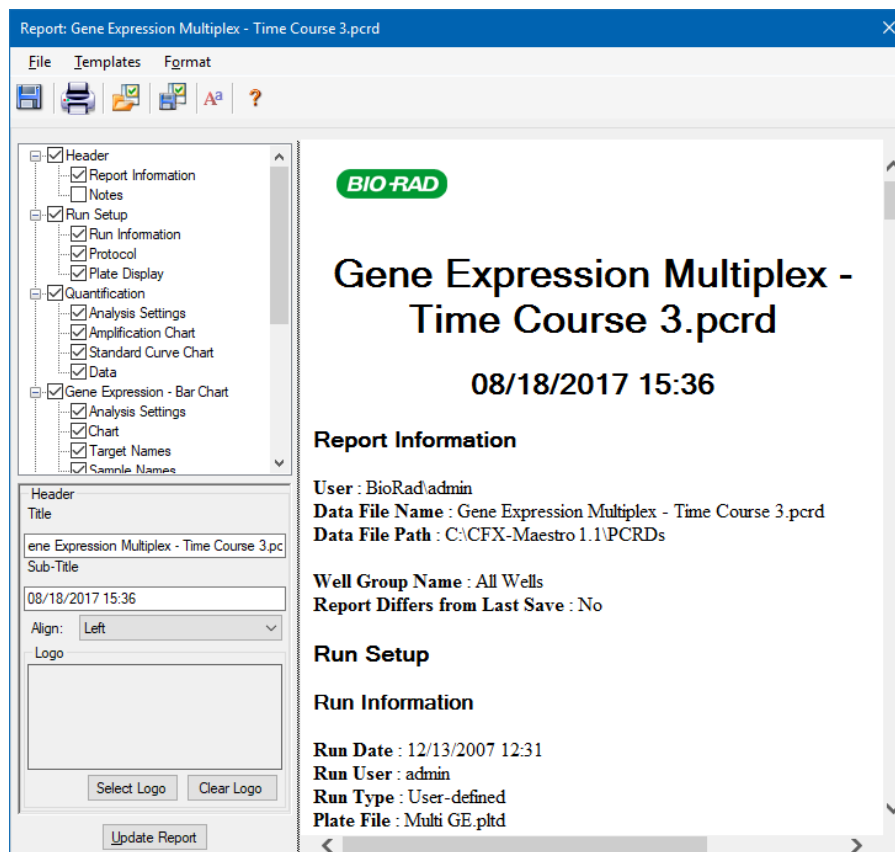
- Notes:** Multiplex Gene Expression Example. Artificial Time course in which Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run, CycB (Gapdh) is constant at ~ 1e6 cps/run, Fam (Tubulin) increases 4 fold with time, Texas Red (H1b) decreases 4 fold with time.
- ID/Bar Code:** 2
- Other:** Run Started: 12/13/2007 12:31:47 PM, User: admin, Run Type: User-defined, Plate File: Multi GE.pltd, Sample Vol.: 25, Lid Temp.: 105, Optical Head Serial Number: CC001095, Base Serial Number: CC001095, CFX Manager Version: 1.0.956.1212.

Hlášení z analýzy dat

Dialogové okno Report (Hlášení) zobrazí informace o aktuálním datovém souboru v okně Data Analysis (Analýza dat). Chcete-li otevřít hlášení, zvolte Tools > Reports (Nástroje > Hlášení).

Okno Report (Hlášení) obsahuje následující části:

- Nabídka a panel nástrojů – poskytuje možnosti formátování, ukládání a tisku hlášení nebo šablony.
- Seznam možností (levá horní strana dialogového okna) – poskytuje možnosti zobrazení v hlášení.
- Podokno možností (vlevo dole v dialogovém okně) – zobrazuje textová pole, do kterých můžete zadat informace o vybrané možnosti.
- Podokno náhledu (pravá strana dialogového okna) – zobrazuje náhled aktuálního hlášení.



Kategorie hlášení z analýzy dat

Tabulka 32 obsahuje všechny dostupné možnosti pro hlášení z analýzy dat podle typu dat v okně Data Analysis (Analýza dat).

Tabulka 32. Kategorie hlášení z analýzy dat v seznamu možností

Kategorie	Možnost	Popis
Header (Záhlaví)		
		Titul, podtitul a logo pro hlášení
	Report Information (Informace o hlášení)	Datum cyklu, uživatelské jméno, název datového souboru, cesta k datovému souboru a vybraná skupina jamek
	Audit Information (Informace pro audit)	Dodatečné informace požadované pro audit, včetně podpisů
	Notes (Poznámky)	Poznámky k datovému hlášení
Run Setup (Nastavení cyklu)		
	Run Information (Informace o cyklu)	Datum cyklu, uživatelské jméno, název datového souboru, cesta k datovému souboru a vybraná skupina jamek
	Protocol (Protokol)	Textové zobrazení kroků a možností protokolu
	Plate Display (Zobrazení destiček)	Zobrazení informací o destičkách pro každou jamku destičky
Quantification (Kvantifikace)		
	Analysis Settings (Nastavení analýzy)	Číslo kroku sběru dat, režim analýzy a výchozí metoda odečítání
	Amplification Chart (Graf amplifikace)	Graf amplifikace pro cykly zahrnující kvantifikační data
	Standard Curve Chart (Graf standardních křivek)	Graf standardních křivek

Tabulka 32. Kategorie hlášení z analýzy dat v seznamu možností, pokračování

Kategorie	Možnost	Popis
	Data	Tabulka se seznamem dat pro každou jamku
Gene Expression – Bar Chart (Expresce genu – sloupcový graf)		
	Analysis Settings (Nastavení analýzy)	Režim analýzy, data grafu, možnost úpravy měřítka a chyba grafu
	Chart (Graf)	Kopie sloupcového grafu
	Target Names (Názvy cílů)	Graf názvů cílů
	Sample Names (Názvy vzorků)	Graf názvů vzorků
	Data	Tabulka se seznamem dat pro každou jamku
	Target Stability (Cílová stabilita)	Graf cílových hodnot stability
Gene Expression (Expresce genu) – clustergram a rozptylový graf		
	Analysis Settings (Nastavení analýzy)	Nastavení pro každý typ grafu
	Chart (Graf)	Kopie grafu
	Data	Tabulka se seznamem dat pro každý cíl
Melt Curve (Křivka tání)		
	Analysis Settings (Nastavení analýzy)	Nastavení čísla kroku tání a sloupce prahu
	Melt Curve Chart (Graf křivky tání)	Graf křivky tání
	Melt Peak Chart (Graf vrcholů tání)	Graf vrcholů tání
	Data	Tabulka se seznamem dat pro každou jamku
Allelic Discrimination (Alelická diskriminace)		

Tabulka 32. Kategorie hlášení z analýzy dat v seznamu možností, pokračování

Kategorie	Možnost	Popis
	Analysis Settings (Nastavení analýzy)	Zobrazí fluorofory, cyklus a mapu jamek podle genotypu
	Allelic Discrimination Chart (Graf alelické diskriminace)	Kopie grafu alelické diskriminace
	Data	Tabulka se seznamem dat pro každou jamku
End Point (Koncový bod)		
	Analysis Settings (Nastavení analýzy)	Fluorofor, koncové cykly do průměru, režim, nejnižší hodnota RFU, nejvyšší hodnota RFU a cut-off hodnota
	Data	Tabulka se seznamem dat pro každou jamku
QC Parameters (Parametry kontroly kvality)		
	Data	Tabulka se seznamem parametrů pro každé pravidlo QC (Kontrola kvality)

Vytvoření hlášení z analýzy dat

Rozvržení sestavy můžete uložit jako šablonu, kterou můžete znovu použít pro podobná hlášení.

Vytvoření hlášení o analýze dat

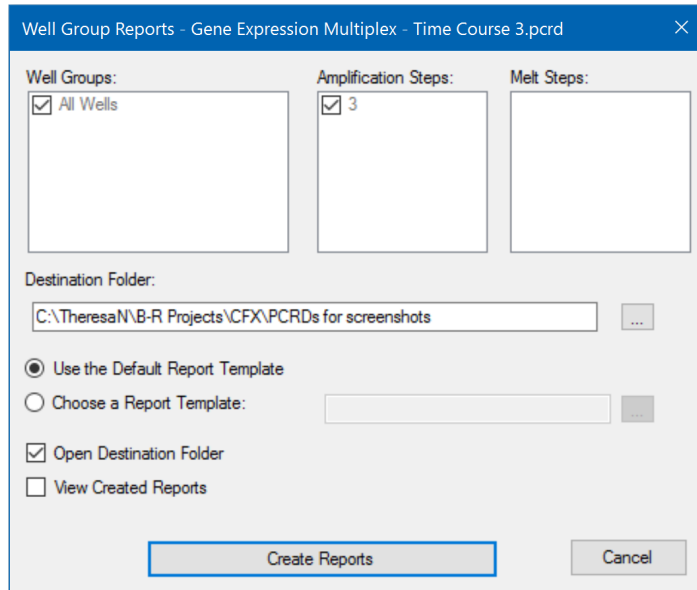
1. Před vytvořením hlášení proveďte konečné úpravy obsahu jamky, vybraných jamek, grafů a tabulek v okně Data Analysis (Analýza dat).
2. Vyberte položky Tools > Reports (Nástroje > Hlášení) na panelu nabídek Data Analysis (Analýza dat) a otevřete dialogové okno Report (Hlášení).
3. Vyberte možnosti, které chcete do hlášení zahrnout. Hlášení se otevře s vybranými výchozími možnostmi. Označte nebo odznačte zaškrtačací políčka pro změnu celých kategorií nebo jednotlivých možností v kategorii.

Poznámka: Data, která se objeví v hlášení, závisí na aktuálních výběrech v záložkách Data Analysis (Analýza dat). Například kvantifikační cyklus nemusí obsahovat standardní křivku, a proto se tato data neobjeví v okně Data Analysis (Analýza dat) nebo v hlášení dat.
4. Změňte pořadí kategorií a položek v hlášení. Přetáhněte možnosti do relativní pozice. Položky lze přeuspořádat pouze v rámci kategorií, do kterých patří.
5. (Volitelné) V podokně Report Options (Možnosti hlášení) zadejte informace relevantní pro vybranou možnost:
 - Vyberte podmnožinu informací, které se mají zobrazit v hlášení.
 - Zvolte konkrétní nastavení pro vybranou možnost.
 - Změňte text, který se má zobrazit pro vybranou možnost.
6. Klikněte na položku Update Report (Aktualizovat hlášení) pro aktualizaci Report Preview (Náhled hlášení) se zohledněním všech změn.
7. Hlášení vytiskněte nebo uložte. Pro tisk aktuálního hlášení klikněte na tlačítko Print Report (Tisk hlášení) na panelu nástrojů. Vyberte položky File > Save (Soubor > Uložit) pro uložení hlášení jako PDF (Adobe Acrobat Reader soubor) a vyberte umístění, do kterého chcete soubor uložit. Uložte hlášení s novým názvem nebo do nového umístění tak, že vyberete položky Select File > Save As (Vybrat soubor > Uložit jako).
8. (Volitelné) Vytvořte šablonu hlášení s požadovanými informacemi. Pro uložení aktuálního nastavení hlášení v šabloně vyberte Template > Save (Šablona > Uložit) nebo Save As (Uložit jako). Poté při příští tvorbě nového hlášení načtete šablonu hlášení.

Vytvoření hlášení o skupinách jamek

Jak vytvořit hlášení o skupinách jamek

1. Vyberte Tools > Well Group Reports (Nástroje > Hlášení o skupinách jamek) v okně Data Analysis (Analýza dat).



2. V dialogovém okně Well Groups Reports (Hlášení o skupinách jamek) vyberte skupiny jamek, kroky amplifikace a kroky tání, které mají být v hlášení uvedeny.
3. Zadejte cestu nebo přejděte do cílové složky, do které má být hlášení uloženo.
4. (Volitelné) Vyberte položku Choose a Report Template (Vybrat šablonu hlášení) a přejděte do složky se souborem šablony.
5. (Volitelné) Vyberte položku Open Destination Folder (Otevřít cílovou složku), otevře se složka a zobrazí vygenerovaná hlášení.
6. Klikněte na položku Create Reports (Vytvořit hlášení).

Kapitola 11 Analýza exprese genu

Při použití přesně kvalifikovaných kontrol ve svých reakcích můžete pomocí softwaru CFX Manager Dx provádět cyklus exprese genu s cílem normalizovat relativní rozdíly cílové koncentrace mezi vzorky. Obvykle se pro normalizaci úrovně exprese zájmového genu používají úrovně exprese pro jeden nebo několik referenčních genů. Referenční geny berou v úvahu rozdíly v založení či jiné odchylky v každém vzorku a jejich úrovně exprese by neměly být ve studovaném biologickém systému ovlivněny.

Vyberte kartu Gene Expression (Expresse genu) v okně Data Analysis (Analýza dat) pro hodnocení relativních rozdílů mezi reakcemi PCR ve dvou nebo více jamkách. Můžete například vyhodnotit relativní počty virových genomů nebo relativní počty převáděných sekvencí v reakci PCR. Nejběžnějším využitím pro studii exprese genu je srovnání koncentrace cDNA ve více než jedné reakci pro odhad úrovně mediátorové RNA ve stabilním stavu.

Software vypočítá úroveň relativní exprese cíle s jedním z těchto scénářů:

- Úroveň relativní exprese cílové sekvence (cíl 1) vzhledem k jinému cíli (cíl 2); například množství jednoho genu vzhledem k jinému genu se stejným zpracováním vzorku.
- Úroveň relativní exprese jedné cílové sekvence v jednom vzorku ve srovnání se stejným cílem s jiným zpracováním vzorku; například relativní množství jednoho genu vzhledem k tomuto samotnému genu za odlišných časových, geografických či vývojových podmínek.

Nastavení destičky pro analýzu exprese genu

Pro provedení analýzy exprese genu musí obsah jamek zahrnovat následující:

- Dva nebo více cílů – dva cíle, které představují různé amplifikované geny nebo sekvence ve vzorcích.
- Jeden nebo více referenčních cílů – alespoň jeden cíl musí být referenčním cílem pro normalizovanou expresi. Přiřaďte všechny referenční cíle v okně Experiment Settings (Nastavení experimentu) pro analyzování dat v režimu normalizované exprese ($\Delta\Delta C_q$). Cykly, které neobsahují referenční hodnotu, musí být analyzovány pomocí režimu relativní exprese (ΔC_q).

- Běžné vzorky – vaše reakce musí obsahovat běžné vzorky (minimálně dva požadované), aby bylo možné zobrazit data zobrazená na kartě Gene Expression (Expresce genu). Tyto vzorky by měly představovat různé způsoby léčby nebo stavů pro každou z vašich cílových sekvencí. V okně Experiment Settings (Nastavení experimentu) přiřaďte kontrolní vzorek (volitelné). Pokud není vybrána žádná kontrola, software použije jako kontrolu nejnižší hodnotu C_q .

Požadavky na nastavení exprese genu v nastavení Gene Expression (Expresce genu) v editoru Plate Editor (Editor destiček) závisí na tom, zda jsou obsahy reakcí jednorázové PCR s jedním fluoroforem v reakcích, nebo multiplexní PCR s více než jedním fluoroforem v reakcích.

Průvodce nastavením destičky

Jestliže nastavení destičky v datovém souboru neobsahuje informace nezbytné pro analýzu a je vybrána karta Gene Expression (Expresce genu), bude prostor, ve kterém je obvykle umístěn sloupcový graf, obsahovat pokyny pro zadávání těchto informací. Pro normalizovanou expresi genu proveďte následující kroky:

1. Definujte názvy Target (Cíl) a Sample (Vzorek) jedním z následujících postupů:
 - Plate Setup (Nastavení destičky) – otevře okno Plate Editor (Editor destiček).
 - Replace Plate File (Nahradit soubor destičky) – otevře prohlížeč Select Plate (Vybrat destičku), ve kterém můžete přejít na dříve uložený soubor destičky, jímž chcete nahradit aktuální rozložení destičky.
 - Replace PrimePCR File (Nahradit soubor PrimePCR) – otevře dialogové okno Select PrimePCR file (Vybrat soubor PrimePCR), ve kterém můžete přejít na spouštěcí soubor PrimePCR a použít jej na rozložení destičky.
2. Vyberte jeden nebo několik referenčních cílů a kontrolní vzorek v dialogovém okně Experiment Settings (Nastavení experimentu).





Pokud rozložení destičky již obsahuje informace o cíli a vzorku, je nutný pouze druhý krok, jenž je zvýrazněn oranžově. Tento krok je nutné provést před analýzou normalizované exprese genu.

Poznámka: Data pro graf „clustergram“ a rozptylový graf jsou zobrazena pouze tehdy, pokud jsou splněny všechny požadavky na normalizovanou expresi genu uvedené v Plate Setup (Nastavení destičky) pro analýzu exprese genu.

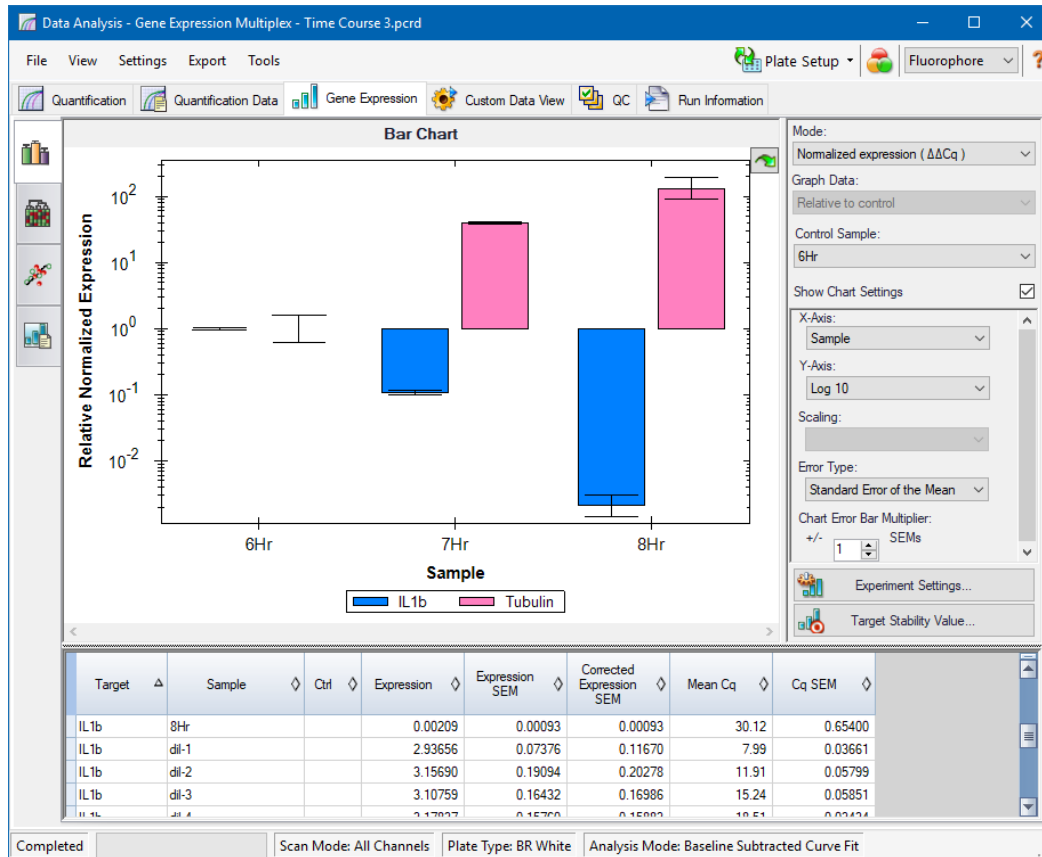
Grafy exprese genu

Software CFX Manager Dx zobrazí data exprese genu v několika zobrazeních. [Tabulka 33](#) obsahuje seznam možností grafu, které jsou v softwaru k dispozici.

Tabulka 33. Možnosti grafu exprese genu

Tlačítko	Název	Funkce
	Sloupcový graf	Zobrazí data o normalizované expresi genu ve formátu sloupcového grafu.
	Graf „clustergram“	Zobrazí data o normalizované expresi v hierarchii podle úrovně podobnosti exprese pro různé cíle a vzorky.
	Rozptylový graf	Zobrazí normalizovanou expresi cílů pro kontrolu ve srovnání s experimentálním vzorkem.
	Výsledky	Obsahuje souhrn dat ze všech grafů.

Sloupcový graf



Relativní exprese cílů je uvedena v těchto dvou zobrazeních:

- Graf exprese genu – zobrazí data PCR v reálném čase jako jednu z následujících možností:
 - $\Delta\Delta C_q$ – relativní normalizovaná exprese vypočtena pomocí kontrolních vzorků a referenčních cílů.
 - ΔC_q – relativní množství cílového genu ve vzorku vzhledem ke kontrolnímu vzorku.
- Tabulka – zobrazí tabulku dat exprese genu.

Tip: Klikněte pravým tlačítkem myši na libovolný graf nebo tabulku možností. Vyberte možnost View/Edit Plate (Zobrazit/Upravit destičku) z rozevrací nabídky Plate Setup (Nastavení destičky), aby se otevřel editor Plate Editor (Editor destiček), a změňte obsah jamky na destičce.

Tip: Pravým tlačítkem myši vyberte položku Sort (Třídít), chcete-li uspořádat pořadí názvů Target (Cíl) a Sample (Vzorek) v grafu.

Normalizovaná exprese genu

Pro normalizaci dat použijte jako normalizační faktor naměřenou úroveň exprese jednoho nebo několika referenčních genů. Referenční geny jsou cíle, které nejsou ve studovaném biologickém systému regulovány, například *aktin*, *GAPDH* nebo *tubulin*.

Jak nastavit analýzu normalizované exprese genu ($\Delta\Delta C_q$)

1. Otevřete datový soubor (koncovka .pcrd).
2. Zkontrolujte data na kartě Quantification (Kvantifikace) okna Data Analysis (Analýza dat). Proveďte úpravy dat, například změnu prahu a režim analýzy.
3. Vyberte kartu Gene Expression (Expresce genu).
4. Na kartě Gene Expression (Expresce genu) klikněte na Experiment Settings (Nastavení experimentu).
5. V dialogovém okně Experiment Settings (Nastavení experimentu) postupujte následovně:
 - a. Vyberte kartu Samples (Vzorky) a zvolte kontrolu. Když je kontrola přiřazena normalizuje software Software CFX Manager Dx relativní množství pro všechny geny na množství kontroly, nastavené na 1.
 - b. Vyberte kartu Target (Cíl) a zvolte referenční geny. Analýza exprese genu vyžaduje jednu referenci mezi cíli ve vašem vzorku.
6. Vyberte možnost Normalized Expression ($\Delta\Delta C_q$ (Normalizovaná exprese ($\Delta\Delta C_q$)), pokud již není vybrána, a následně zobrazte úrovně exprese na kartě Gene Expression (Expresce genu).

Relativní množství

Už ze své povahy nejsou data o relativním množství (ΔC_q) normalizována. Tato metoda se používá ke kvantifikaci vzorků, jež nezahrnují žádné referenční geny (cíle). Když výzkumníci připravují svůj cyklus, obvykle spoléhají na jeden z následujících předpokladů:

- Každý vzorek obsahuje stejné množství RNA nebo cDNA v každé jamce.
- Jakékoliv odchylky v množství založeného biologického vzorku budou normalizovány po cyklu nějakou metodou analýzy dat mimo samotný software. Výzkumník se může například rozhodnout, že hodnotu relativního množství vydělí normalizačním faktorem, případně hmotností nukleové kyseliny založené pro každý vzorek nebo počtem buněk, ze kterých byla nukleová kyselina izolována.

Jak provést analýzu relativního množství (ΔC_q)

- ▶ Na kartě Gene Expression (Expresse genu) vyberte z rozevřacího seznamu Mode (Režim) v pravém podokně možnost Relative Quantity (ΔC_q) (Relativní množství (ΔC_q)).

Tip: Pro porovnání výsledků s daty z jiných cyklů exprese genu otevřete novou genovou studii nebo přidejte datový soubor do stávající genové studie.

Řazení cílových hodnot a dat vzorků

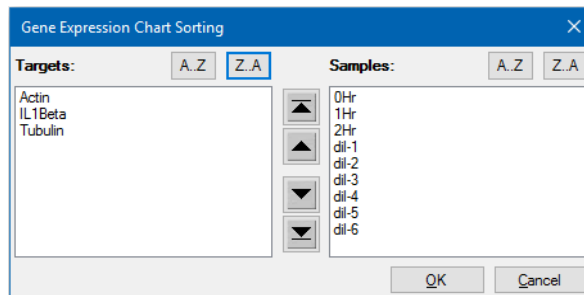
Poznámka: Tato možnost je k dispozici pouze v grafu exprese genu.

Ve výchozím nastavení se seznamy Targets (Cíle) a Samples (Vzorky) zobrazují v abecedním pořadí. Dialogové okno Sort (Řazení) slouží k řazení zobrazení v obráceném abecedním pořadí nebo k ručnímu přesunutí výrazu na jinou pozici v seznamu.

Řazení cílů a vzorků

1. Z nabídky grafu po kliknutí pravým tlačítkem myši klikněte na položku Sort (Řazení).

Zobrazí se dialogové okno Gene Expression Chart Sorting (Řazení dat grafu exprese genu).



2. V dialogovém okně klikněte na položku Z-A a seřadíte seznam v obráceném abecedním pořadí.
3. Chcete-li termín ručně přesunout, vyberte jej a klikněte na příslušné tlačítko mezi grafy:
 - Kliknutím na šipku nahoru nebo dolů přesunete vybraný termín o jednu pozici.
 - Kliknutím na šipku nahoru nebo dolů přesunete vybraný výraz na začátek nebo na konec seznamu.
4. Kliknutím na tlačítko OK a uložíte změny a vraťte se na kartu Gene Expression (Expresse genu).

Úprava dat exprese genu

Po výběru režimu analýzy – normalizovaná exprese ($\Delta\Delta Cq$) nebo relativní množství (ΔCq), upravte data, která vidíte na kartě Gene Expression (Expresse genu) změnou možností nastavení na pravé straně grafu.

Tip: Výchozí možnosti dat Gene Expression (Expresse genu) nastavíte v dialogovém okně User Preferences (Uživatelské předvolby) (viz [Nastavení výchozích parametrů datového souboru exprese genu na straně 73](#)).

Data grafu

Nastavte hodnotu osy y na lineární měřítko, abyste umožnili možnosti dat grafu. Možnosti dat grafu vám umožňují prezentovat data v grafu jednou z těchto možností:

- Relativní ke kontrole – graf dat s osou škálovanou od 0 do 1. Pokud přiřadíte kontrolu do cyklu, vyberte tuto možnost pro rychlou vizualizaci upregulace a downregulace cíle.
- Relativní k nule – graf dat s počátkem na nule.

Kontrolní vzorek

Pomocí rozevírací nabídky kontrolních vzorků vyberte vzorek, který/která bude použit/a k normalizaci relativního množství:

Nastavení grafu

Při označení zaškrtačícího políčka Show Chart Settings (Zobrazit nastavení grafu) se zobrazí následující možnosti (popsané níže): X-Axis (Osa X), Y-Axis (Osa Y), Scaling (Rozsah), Error Type (Typ chyby) a Chart Error Multiplier (Násobitel chyby v grafu).

Možnosti osy X

Volba osy x umožňuje vybrat data osy x grafu Gene Expression (Expresse genu):

- Cíl – zobrazuje názvy cílů na ose x.
- Vzorek – zobrazuje názvy vzorků na ose x.

Možnosti osy Y

Možnosti osy Y vám umožňují zobrazit graf Gene Expression (Expresse genu) v jednom z těchto tří měřítek:

- Linear (Lineární) – vyberte tuto možnost pro zobrazení lineárního měřítka.
Tip: Po nastavení osy Z na Linear (Lineární) je k dispozici rozevírací seznam Graph Data (Data grafu), ze kterého lze vybrat sestavení grafu dat vzhledem ke kontrole nebo vzhledem k nule.
- Log 2 – vyberte tuto možnost pro vyhodnocení vzorků napříč velkým dynamickým rozsahem.
- Log 10 – vyberte tuto možnost pro vyhodnocení vzorků napříč velmi velkým dynamickým rozsahem.

Možnosti rozsahu

Vyberte Normalized Gene Expression (Normalizovaná exprese genu) ($\Delta\Delta C_q$) a nastavte pro položku Control Sample (Kontrolní vzorek) možnost None (Žádná), aby se povolila možnost škálování v grafu exprese genu. Vyberte jednu z těchto možností škálování pro výpočet a prezentaci svých dat způsobem, který nejlépe vyhovuje vašemu návrhu běhu:

- Unscaled (Bez měřítka) – představuje normalizovanou expresi genu bez rozsahů.
- Highest (Nejvyšší) – rozsahy normalizované exprese genu pro každý cíl vydělením úrovně exprese každého vzorku nejvyšší úrovně exprese ve všech vzorcích.
Tato volba škálování používá vzorec rozsahu na nejvyšší hodnotu.
- Lowest (Nejnižší) – rozsahy normalizované exprese genu pro každý cíl vydělením úrovně exprese každého vzorku nejnižší úrovně exprese ve všech vzorcích.
Tato volba škálování používá vzorec rozsahu na nejnižší hodnotu.
- Average (Průměrná) – rozsahy normalizované exprese genu pro každý cíl vydělením úrovně exprese každého vzorku geometrickým průměrem hladin exprese pro všechny vzorky.
Tato volba škálování používá vzorec rozsahu na průměrnou hodnotu.

Typ chyby

V grafu Gene Expression (Expresse genu) vyberte možnost výpočtu typu chyby (chybové úsečky):

- Standard error of the mean (Standardní chyba průměru) (výchozí)
- Standard deviation (Směrodatná odchylka)

Násobitel chybové úsečky v grafu

V grafu Gene Expression (Expresse genu) vyberte násobitel chybových úseček. Vyberte jedno z těchto celých čísel:

+/- 1 (výchozí), 2, nebo 3. Typ násobitele se změní, když vyberete typ chyby:

- SEMs (Hodnoty SEM) pro standardní chybu průměru
- Std Devs (Směrodatné odchylky) pro směrodatné odchylky

Nastavení experimentu

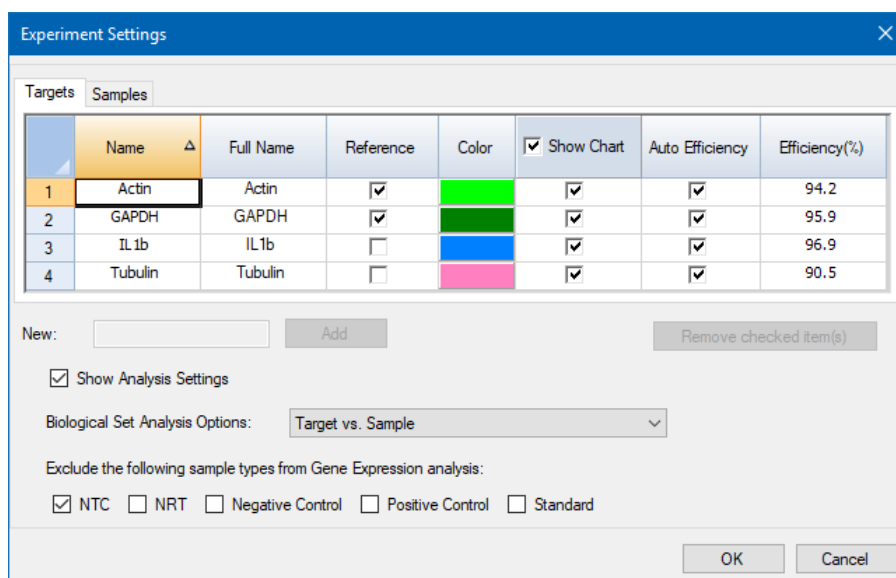
Tip: Toto dialogové okno je také dostupné v nástroji Plate Editor (Editor destiček). Více informací naleznete v části [Změna nastavení experimentu na straně 133](#).

V dialogovém okně Experiment Settings (Nastavení experimentu) můžete zobrazit nebo změnit seznam cílů nebo vzorků, vybrat referenční geny, vybrat kontroly nebo nastavit analýzu Gene Expression Analysis (Analýza exprese genu) skupiny, kterou chcete analyzovat, pokud do jamek byly přidány názvy biologického souboru.

Otevření dialogového okna Experiment Settings (Nastavení experimentu)

- ▶ Na kartě Bar Chart (Sloupcový graf) klikněte v dolní části pravého podokna na položku Experiment Settings (Nastavení experimentu).

Zobrazí se dialogové okno Experiment Settings (Nastavení experimentu), které zobrazuje kartu Targets (Cíle).



Úprava nastavení Targets (Cíle)

- ▶ Na kartě Targets (Cíle) postupujte následovně:
 - Chcete-li vybrat cíl jako referenční cíl pro analýzu dat exprese genu, vyberte jeho název ve sloupci Reference.
 - Chcete-li změnit barvu cíle, klikněte na jeho buňku ve sloupci Color (Barva) a změňte barvu v zobrazeném dialogovém okně Color (Barva).

Změna barvy se objeví v grafech Gene Expression (Expresse genu).
 - Chcete-li použít dříve určenou hodnotu účinnosti, zrušte zaškrtnutí políčka cíle ve sloupci Auto Efficiency (Automatická účinnost) a zadejte číslo pro procento účinnosti cíle.

Software vypočítá relativní účinnost pro cíl pomocí funkce Auto Efficiency (Automatická účinnost), pokud data pro cíl obsahují standardní křivku.

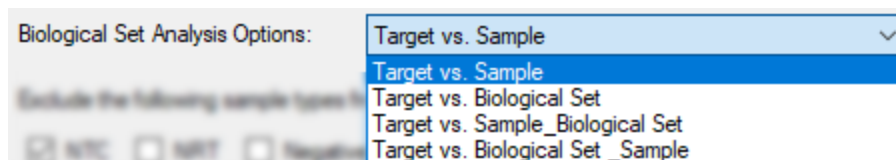
Úprava nastavení položky Sample (Vzorek)

- ▶ Na kartě Samples (Vzorky) postupujte následovně:
 - Chcete-li vybrat vzorek jako kontrolu analýzy dat exprese genu, vyberte jeho název ve sloupci Control (Kontrola).
 - Chcete-li změnit barvu vzorku skupiny, klikněte na její buňku ve sloupci Color (Barva) a změňte barvu v zobrazeném dialogovém okně Color (Barva).

Změna barvy se projeví v grafech Gene Expression (Expresse genu).
 - Chcete-li zobrazit vzorek v grafech Gene Expression (Expresse genu), vyberte příslušnou položku ve sloupci Show Chart (Zobrazit graf).
 - Chcete-li odstranit vzorek z grafů Gene Expression (Expresse genu), odstraňte příslušnou položku ve sloupci Show Chart (Zobrazit graf).
- Tip:** Data vzorku skupiny zůstanou v tabulce Results (Výsledky).

Změna výběru Biological Set Analysis Options (Možnosti analýzy biologických souborů)

- Pokud jste přiřadili jednu nebo více biologických souborů do jamek na destičce (viz [Přiřazení biologických souborů jamkám na straně 126](#)), zobrazí se seznam možností Biological Set Analysis Options (Možnosti analýzy biologických souborů) v dialogovém okně Experiment Settings (Nastavení experimentu), což vám umožní podle potřeby změnit nastavení.



- **Target vs. Sample (Cíl oproti vzorku)** – ve výpočtech exprese genu se používá pouze název vzorku v jamce.
- **Target vs. Biological Set (Cíl oproti biologickému souboru)** – ve výpočtech se používá pouze název biologického souboru.
- **Target vs. Sample_Biological Set (Cíl oproti vzorku_biolgickému souboru)** – název vzorku a název biologického souboru jsou kombinovány, aby se ve výpočtech použil jediný název.
- **Target vs. Biological Set_Sample (Cíl oproti biologickému souboru_vzorku)** – název biologického souboru a název vzorku jsou kombinovány, aby se ve výpočtech použil jediný název.

Vyloučení typu vzorku z výpočtů analýzy

- Zaškrtněte políčko v dolní části dialogového okna Experiment Settings (Nastavení experimentu).

Poznámka: To vylučuje kontroly nebo standardy z analýzy exprese genu.

Hodnota stability cíle

Hodnoty stability cíle jsou vypočteny vždy, když je použit více než jeden referenční gen. Software CFX Manager Dx vypočítává dva parametry kvality pro referenční geny:

- **Coefficient Variance (Rozptyl koeficientu) (CV)** relativních množství normalizovaného referenčního genu. Nižší hodnota CV znamená větší stabilitu.
- **M Value (M hodnota) (M)**, což je míra stability exprese referenčního genu.

Doporučené hodnoty CV a M jsou zobrazeny v dolní části dialogového okna Stability Value (Hodnota stability).

Zobrazení hodnoty stability cíle

- ▶ Na kartě Gene Expression Bar Chart (Sloupcový graf exprese genu) klikněte v dolní části pravého podokna na položku Target Stability Value (Hodnota stability cíle).

Otevře se dialogové okno Stability Value (Hodnota stability).

Možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši

Klikněte pravým tlačítkem myši na graf exprese genu v [Tabulka 34](#).

Tabulka 34. Položky nabídky exprese genu po kliknutí pravým tlačítkem myši

Položka	Funkce
Copy (Kopírovat)	Zkopíruje graf do schránky.
Save Image As (Uložit obrázek jako)	Uloží graf jako soubor obrázku. Nastavte rozlišení a rozměry obrázku a potom vyberte typ souboru (PNG, GIF, JPG, TIF nebo BMP).
Page Setup (Nastavení stránky)	Vybere nastavení stránky pro tisk.
Print (Tisk)	Vytiskne graf.
Set Scale to Default (Nastavit měřítko na výchozí)	Show All (Zobrazit vše) zobrazí všechna data v sloupcovém grafu. Scroll Bar (Posuvník) zobrazí posuvník, pokud je v rámečku grafu zobrazeno příliš mnoho vzorků a zároveň je zachována minimální šířka pruhu.
Chart Options (Možnosti grafu)	Otevře okno Chart Options (Možnosti grafu) pro úpravu grafu.
Sort (Řazení)	Seřadí vzorky nebo cíle, které se objeví na ose x grafu.
Use Corrected Std Devs (Použít korigovanou std. odch.)	Vypočítá chybové pruhy pomocí vzorce korigované standardní odchylky.
Use Solid Bar Colors (Použít barvou vyplněné pruhy)	Zobrazuje v grafu vyplněné pruhy.
X-Axis Labels (Popisky osy x)	Zobrazí popisky na ose x vodorovně nebo šikmo.

Tabulka dat

Tabulka 35 definuje data zobrazená v datové tabulce Gene Expression (Expresse genu).

Poznámka: Hodnoty v tabulce se počítají na základě typu grafu a předvoleb vybraných v panelu napravo.

Tabulka 35. Popis informací v tabulce na kartě Graphing (Grafy) Bar Chart (Sloupcový graf)

Informace	Popis
Target (Cíl)	Název cíle (amplifikovaného genu) vybraného v okně Experiment Settings (Nastavení experimentu).
Sample (Vzorek)	Název vzorku v okně Experiment Settings (Nastavení experimentu).
Ctrl	Název kontroly v okně Experiment Settings (Nastavení experimentu).
Relativní množství nebo Expresse	Relativní množství (ΔC_q) nebo normalizovaná exprese genu ($\Delta\Delta C_q$), v závislosti na vybraném režimu.
SEM (nebo SD) relativního množství nebo exprese	Standardní chyba průměru (SEM) nebo směrodatná odchylka (SD) relativního množství nebo normalizované exprese v závislosti na zvolené možnosti.
SEM (nebo SD) opraveného relativního množství nebo exprese	Výpočet opravené hodnoty SEM nebo SD relativního množství nebo normalizované exprese v závislosti na zvolené možnosti.
Průměr C_q	Průměr kvantifikačního cyklu.
SEM (nebo SD) C_q	SEM nebo SD kvantifikačního cyklu v závislosti na zvolené možnosti.

Možnost Show Details (Zobrazit podrobnosti)

Tabulka 36 definuje data zobrazená při výběru možnosti Show Details (Zobrazit podrobnosti) z nabídky pravého tlačítka tabulky sloupcového grafu.

Tabulka 36. Informace v tabulce sloupcového grafu s vybranými údaji Show Details (Zobrazit podrobnosti)

Informace	Popis
Datový soubor	Údaje o fluorescenci jednoho fluoroforu v datovém souboru
Relativní množství	Vypočtené relativní množství vzorků
SD relativního množství	Výpočet směrodatné odchylky relativního množství
SD korigovaného relativního množství	Výpočet směrodatné odchylky korigovaného relativního množství
SEM relativního množství	Standardní chyba průměru výpočtu relativního množství
SEM korigovaného relativního množství	Vypočtená standardní chyba průměru korigovaného relativního množství
Relativní množství (lg)	Log ₂ relativní veličiny, která se používá pro statistickou analýzu
SD RQ(lg)	Směrodatná odchylka relativního množství (log ₂)
SEM exprese (lg)	Standardní chyba průměru exprese (log ₂)
Expres bez měřítka	Vypočtená exprese bez měřítka
SD exprese bez měřítka	Vypočtená směrodatná odchylka exprese bez měřítka
SD korigované exprese bez měřítka	Výpočet směrodatné odchylky korigované exprese bez měřítka
SEM exprese bez měřítka	Vypočtená standardní chyba průměru exprese bez měřítka
SEM korigované exprese bez měřítka	Vypočtená standardní chyba průměru korigované exprese bez měřítka
Expres bez měřítka (lg)	Log ₂ exprese bez měřítka
SD exprese bez měřítka (lg)	Směrodatná odchylka exprese bez měřítka (log ₂)
SEM exprese bez měřítka (lg)	Standardní chyba průměru exprese bez měřítka (log ₂)

Tabulka 36. Informace v tabulce sloupcového grafu s vybranými údaji Show Details (Zobrazit podrobnosti), pokračování

Informace	Popis
Expresse	Normalizovaná expresse genu
SD korigované expresse	Vypočtená směrodatná odchylka
SEM expresse	Standardní chyba průměru
SEM korigované expresse	Vypočtená standardní chyba průměru
Expresse (lg)	Log ₂ expresse (normalizované expresse), která se používá pro statistickou analýzu
SD expresse (lg)	Směrodatná odchylka expresse (log ₂)
SEM expresse (lg)	Standardní chyba průměru expresse (log ₂)
Průměr C _q	Průměr kvantifikačního cyklu
C _q SD	Směrodatná odchylka kvantifikačního cyklu
C _q SEM	Standardní chyba průměru kvantifikačního cyklu

Graf „clustergram“

Graf „clustergram“ zobrazuje data v hierarchii vycházející ze stupně podobnosti exprese pro různé cíle a vzorky.

Poznámka: Chcete-li zobrazit jiný datový graf než relativní expresi pro sloupcový graf, musíte zvolit referenční cíl.

Obraz grafu „clustergram“ ukazuje relativní expresi vzorku nebo cíle takto:

- Upregulace (červeně) – vyšší exprese
- Downregulace (zeleně nebo modře) – nižší exprese
- Bez regulace (černě)
- Není vypočítána žádná hodnota (černě s bílým X)

Čím je barevný odstín světlejší, tím je rozdíl relativní exprese větší. Pokud nelze vypočítat žádnou normalizovanou hodnotu C_q , bude čtverec černý s bílým X.

Na vnějších okrajích datového grafu je dendrogram, který znázorňuje shlukovou hierarchii. Cíle nebo vzorky s podobnými vzory exprese budou mít napojené linky, zatímco odlišné vzory budou dále od sebe.

Settings (Nastavení)

Můžete nastavit následující možnosti:

- Cluster By (Shluk) – vyberte z Targets (Cíle), Samples (Vzorky), Both (Oba) nebo None (Žádný).
- Size (Velikost) – upraví velikost obrazu a změní stupeň zvětšení grafu.
- Split Out Replicates (Rozdělit replikáty) – zobrazí hodnoty jednotlivých replikátů.

Tip: Můžete změnit barevné schéma pro clustergram a rozptýlený graf z výchozí červené/zelené na červenou/modrou výběrem této možnosti z nabídky pod pravým tlačítkem myši v kterémkoliv z těchto grafů.

Možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši

Možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši pro graf „clustergram“ jsou stejné jako v případě sloupcového grafu. Pro dostupné možnosti viz [Tabulka 34 na straně 236](#). Kromě toho vyberte Color Scheme (Barevné schéma), pokud chcete změnit expresi downregulace v grafu z výchozí červené/zelené na červenou/modrou.

Tabulka dat

Tabulka zobrazuje hodnoty cílové, vzorové a normalizované exprese. Pro zahrnutí do grafu nebo vyloučení z grafu klikněte na zaškrťovací políčko vedle cíle.

Rozptylový graf

Rozptylový graf zobrazí normalizovanou expresi cílů pro kontrolu ve srovnání s experimentálním vzorkem. Křivky grafu označují práh regulace. Datové body mezi křivkami ukazují, že rozdíl v expresi pro daný cíl (gen) je mezi vzorky zanedbatelný. Datové body mimo křivky překračují práh regulace a mohly by být předmětem zájmu.

Obrázek grafu ukazuje následující změny v expresi cíle na základě prahu regulace:

- Upregulace (červený kroužek) – relativně vyšší exprese
- Downregulace (zelený nebo modrý kroužek) – relativně nižší exprese
- Bez změny (černý kroužek)

Klikněte a přetáhněte libovolnou křivku prahu pro úpravu prahu regulace.

Nastavení

Můžete nastavit následující možnosti:

- Kontrolní vzorek
- Experimentální vzorek
- Práh regulace. Když budete zvyšovat nebo snižovat hodnotu regulace, budou se podle toho pohybovat prahové křivky v grafu.

Možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši

Možnosti nabídky po kliknutí pravým tlačítkem myši pro rozptylový graf jsou stejné jako v případě sloupcového grafu. Pro dostupné možnosti viz [Tabulka 34 na straně 236](#). Vedle toho vyberte možnost Symbol, pokud chcete změnit symbol používaný v grafu z výchozího kroužku na jeden z následujících:

- Trojúhelník
- Kříž
- Čtverec
- Kosočtverec

Tabulka dat

Tabulka zobrazuje hodnoty pro cíl a normalizovanou expresi pro kontrolní a experimentální vzorky. Současně ukazuje, zda jsou cíle regulovány nahoru nebo dolů ve srovnání s prahem regulace. Klikněte na zaškrťovací políčko vedle cíle, abyste jej zahrnuli nebo vyloučili z grafu.

Výsledků

Karta Results (Výsledky) obsahuje tabulku, která sumarizuje data ze všech grafů. [Tabulka 37](#) definuje data, která se zobrazí v tabulce Results (Výsledky).

Tabulka 37. Informace na kartě Results (Výsledky)

Informace	Popis
Target (Cíl)	Název cíle (amplifikovaného genu)
Sample (Vzorek)	Název vzorku
Mean C _q (Průměr C _q)	Průměr kvantifikačního cyklu
Mean Efficiency Corrected C _q (Průměr korigované účinnosti C _q)	Průměr kvantifikačního cyklu po úpravě účinnosti reakce
Normalized Expression (Normalizovaná exprese)	Cílová exprese normalizovaná na referenční cíl ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Relativní normalizovaná exprese)	Normalizovaná exprese ve vztahu ke kontrolnímu vzorku; nazývá se také Fold Change (Násobek exprese)
Regulation (Regulace)	Změna exprese ve vztahu k kontrolnímu vzorku
Compared to Regulation Threshold (Porovnání s prahem regulace)	Up nebo downregulace experimentálního vzorku na základě nastavení prahu

Poznámka: Data pro replikáty se nacházejí pouze v tabulkách s kartami analýzy dat, ve kterých byly vybrány rozdělené replikáty Split Out Replicates (Rozdělit replikáty) (tj. Clustergram (Graf „clustergram“)). Může existovat nesoulad mezi daty exprese genu v tabulkách analýzy genové exprese, pokud vyberete jako kontrolní vzorek v sloupcovém grafu „none (žádný)“.

Genová studie

Vytvořte genovou studii pro porovnání dat exprese genu z jednoho nebo několika PCR experimentů v reálném čase pomocí kalibrátoru mezi cykly s cílem provést normalizaci mezi experimenty. Genovou studii vytvoříte tak, že do genové studie přidáte data z jednoho nebo několika datových souborů (koncovka .pcrd). Software je sdruží do jednoho souboru (koncovka .mgxd).

Poznámka: Maximální počet vzorků, které můžete v genové studii analyzovat, je omezen velikostí RAM paměti a virtuální paměti počítače.

Kalibrace mezi cykly

V každé genové studii se automaticky provádí kalibrace mezi cykly pro každý cíl, aby se normalizovaly nesrovnalosti mezi cíli testovanými v oddělených cyklech PCR v reálném čase (tj. různé .pcrd soubory PCR generované různými destičkami).

Aby software rozpoznal vzorek jako kalibrátor mezi cykly, musí sdílet stejný název cíle, název vzorku a, je-li použit, název biologického souboru napříč všemi porovnávanými destičkami.

Poznámka: V genové studii musí být přítomen alespoň jeden vzorek kalibrátoru mezi cykly pro provedení kalibrace mezi cykly. Cíle bez vhodných vzorků kalibrátoru mezi cykly budou zpracovány bez korekce v genové studii (nedoporučeno).

Kalibrátory mezi cykly lze aplikovat dvěma způsoby:

- Na každý cíl – různé PCR primery mohou mít různé účinnosti. Ve výchozím nastavení je kalibrátor mezi cykly aplikován na všechny jamky na stejné destičce, které mají stejný cílový název, například C_q vytvořený stejným testem.
- Celá studie – jeden kalibrátor mezi cykly je vybrán uživatelem a aplikován na celou genovou studii.

Dialogové okno Gene Study (Genová studie)

Dialogové okno Gene Study (Genová studie) obsahuje dvě karty:

- Karta Study Setup (Nastavení studie) – spravuje cykly v genové studii.
 - **Důležité:** Přidáním nebo odstraněním datových souborů z genové studie se nemění data v původním souboru.
- Karta Study Analysis (Analýza studie) – zobrazí data exprese genu pro kombinované cykly.

Karta Study Setup (Nastavení studie)

Tabulka 38 definuje data, která se objeví na kartě Study Setup (Nastavení studie).

Tabulka 38. Karta Study Setup (Nastavení studie) v dialogovém okně Gene Study (Genová studie)

Název sloupce	Popis
File Name (Název souboru)	Název spouštěcího datového souboru (koncovka .pcrd)
File Folder (Složka souboru)	Adresář, ve kterém je uložen datový soubor pro každý cyklus genové studie
Date Created (Datum vytvoření)	Datum shromáždění dat cyklu
Well Group Name (Název skupiny jamek)	Název skupiny jamek vybrané při přidání souboru do genové studie Tip: Pro analýzu jedné skupiny jamek v genové studii musíte vybrat příslušnou skupinu jamek v okně Data Analysis (Analýza dat) ještě před importem datového souboru do genové studie.
Step (Krok)	Krok protokolu, jenž zahrnuje čtení destičky s cílem shromáždit data PCR v reálném čase
Run Type (Typ cyklu)	Cyklus definovaný uživatelem nebo PrimePCR
Protocol Edited (Editovaný protokol)	Je-li zvolena tato možnost, znamená to, že protokol použitý pro cyklus PrimePCR byl upraven
View Plate (Zobrazit destičku)	Otevře mapu destiček s destičkou s daty v každém cyklu zařazeném do genové studie

Příprava genové studie

Jak připravit genovou studii

- Před importem dat do genové studie postupujte v okně Data Analysis (Analýza dat) následovně:
 - Ujistěte se, že vzorky se stejným obsahem mají stejný název. V genové studii software předpokládá, že jamky se stejným názvem cíle nebo vzorku obsahují stejné vzorky.
 - Upravte základní linii a práh (C_q) na kartě Quantification (Kvantifikace) pro optimalizaci dat v každém cyklu.
 - Vyberte skupinu jamek, kterou chcete zařadit do genové studie.

Aby bylo možné v genové studii zobrazit data z jedné skupiny jamek, musí být tato skupina vybrána před importem datového souboru.

Karta Study Setup (Nastavení studie) obsahuje seznam všech cyklů v genové studii.
- V dialogovém okně Gene Study (Genová studie) vyberte kartu Study Setup (Nastavení studie).

3. Klikněte na položku Add Data Files (Přidat datové soubory) pro výběr souboru z okna prohlížeče.

Tip: Pro rychlé přidání cyklů do genové studie přetáhněte datové soubory (koncovka .pcrd) do dialogového okna Study Setup (Nastavení studie).

4. Software CFX Manager Dx automaticky provádí analýzu genové studie v průběhu přidávání datových souborů. Vyberte kartu Study Analysis (Analýza studie) pro zobrazení výsledků.

Jak odstranit cykly z genové studie

- ▶ Vyberte v seznamu jeden nebo více souborů a klikněte na položku Remove (Odstranit).

Jak přidat poznámky do genové studie

- ▶ Zadejte poznámky k souborům a analýze do textového rámečku Notes (Poznámky).

Karta Study Analysis (Analýza studie)

Karta Study Analysis (Analýza studie) obsahuje data ze všech cyklů genové studie. Možnosti analýzy dat exprese genu jsou stejné jako možnosti pro jeden datový soubor, s následující výjimkou:

- V případě sloupcových grafů se po kliknutí na možnost Inter-run Calibration (Kalibrace mezi cykly) objeví hodnoty kalibrace mezi cykly (jsou-li vypočítány).

Poznámka: Jako kalibrátor mezi cykly lze použít pouze následující typy vzorků:

- Neznámý
- Standardní
- Pozitivní kontrola

Jako kalibrátor mezi cykly nelze použít tyto typy vzorků: negativní kontrola, kontrola bez templátu (NTC) a kontrola bez reverzní transkriptázy (NRT).

Vytvoření hlášení o genové studii

Jak vytvořit hlášení o genové studii

1. Před tvorbou hlášení upravte podle potřeby data a grafy hlášení o genové studii.
2. Otevřete dialogové okno Report (Hlášení) zvolením položek Tools > Reports (Nástroje > Hlášení) v nabídce Gene Study (Genová studie).
3. Vyberte možnosti, které chcete do hlášení zahrnout. Hlášení se otevře s vybranými výchozími možnostmi. Vyberte nebo odznačte zaškrtačací políčka pro změnu celých kategorií nebo jednotlivých možností v kategorii.

[Kategorie hlášení o genové studii na straně 249](#) obsahuje seznam dostupných možností zobrazení.

4. Změňte pořadí kategorií a položek v hlášení. Přetáhněte možnosti do požadované pozice. Položky lze přeuspořádat pouze v rámci kategorií, do kterých patří.
5. Klikněte na položku Update Report (Aktualizovat hlášení) pro aktualizaci Report Preview (Náhled hlášení) se zohledněním všech změn.
6. Hlášení vytiskněte nebo uložte. Pro tisk aktuálního hlášení klikněte na tlačítko Print Report (Tisk hlášení) na panelu nástrojů. Vyberte položky File > Save (Soubor > Uložit) pro uložení hlášení jako PDF (Adobe Acrobat Reader file) (PDF (soubor Adobe Acrobat Reader)) a vyberte umístění, do kterého se soubor uloží. Uložte hlášení s novým názvem nebo do nového umístění zvolením položek File > Save As (Soubor > Uložit jako).
7. (Volitelné) Vytvořte šablonu hlášení s požadovanými informacemi. Pro uložení aktuálního nastavení hlášení v šabloně vyberte Template > Save (Šablona > Uložit) nebo Save As (Uložit jako). Když pak chcete vytvořit nové hlášení, načtete šablonu hlášení.

Kategorie hlášení o genové studii

Dialogové okno Gene Study Report (Hlášení o genové studii) slouží k uspořádání údajů o genové studii do sestavy. [Tabulka 39](#) obsahuje všechny dostupné možnosti pro hlášení z genové studie.

Tabulka 39. Kategorie hlášení pro genovou studii

Kategorie	Možnost	Popis
Záhlaví		
		Titul, podtitul a logo pro hlášení
	Report Information (Informace o hlášení)	Datum, jméno uživatele, název datového souboru, cesta k datovému souboru a vybraná skupina jamek
	Gene Study File List (Seznam souborů genové studie)	Seznam všech datových souborů v genové studii.
	Notes (Poznámky)	Poznámky k datovému hlášení
Study Analysis: Bar Chart (Analýza studie: Sloupcový graf)		
	Analysis Settings (Nastavení analýzy)	Seznam vybraných parametrů analýzy
	Chart (Graf)	Sloupcový graf exprese genu zobrazující data
	Target Names (Názvy cílů)	Seznam cílů v genové studii.
	Sample Names (Názvy vzorků)	Seznam vzorků v genové studii.
	Data	Tabulka, která zobrazuje data
	Target Stability (Cílová stabilita)	Data o cílové stabilitě
	Inter-run Calibration (Kalibrace mezi cykly)	Data z kalibrace mezi cykly
Study Analysis: Clustergram and Scatter Plot (Analýza studie: Clustergram, rozptylový graf, vulkánový graf, clustergram a rozptylový graf teplotní mapy)		
	Analysis Settings (Nastavení analýzy)	Nastavení pro každý typ grafu
	Chart (Graf)	Graf exprese genu zobrazující data
	Data	Tabulka se seznamem dat pro každý cíl

Příloha A Výpočty pro analýzu dat

CFX Manager Dx automaticky vypočítá vzorce a zobrazí výsledky na kartách Data Analysis (Analýza dat). Příloha podrobně vysvětluje, jak software CFX Manager Dx vzorce počítá.

Účinnost reakce

Důkazy prokazují, že použití přesného měřítka účinnosti pro každou sadu primeru a sondy vám dá při analýze dat exprese genu přesnější výsledky. Výchozí hodnota účinnosti použitá ve výpočtech exprese genu je 100 %. Pro hodnocení účinnosti reakce vygenerujte standardní křivku pomocí série ředění reprezentativního vzorku napříč příslušným dynamickým rozsahem a poté zaznamenejte účinnost pro následnou analýzu exprese genu. Jestliže váš cyklus zahrnuje standardní křivku, pak software automaticky vypočítá účinnost a zobrazí ji pod možností Standard Curve (Standardní křivka) na kartě Quantification (Kvantifikace), když je zaškrtnuta možnost Auto Efficiency (Automatická účinnost) na kartě Targets (Cíle) v okně Experiment Settings (Nastavení experimentu).

Účinnost (E) ve vzorcích účinnosti odkazuje na „účinnost“ popsanou Pfafflem (2001) a Vandesompelem a kol. (2002). V těchto publikacích odpovídá hodnota účinnosti 2 (dokonalé zdvojení při každém cyklu) v tomto softwaru 100% účinnosti. Máte možnost přeměnit své výpočty účinnosti na výpočty použité softwarem, a to na základě následujících matematických vztahů:

- $E = (\% \text{ účinnosti} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ účinnosti} = (E - 1) * 100$

Relativní množství

Vzorec pro relativní množství (ΔC_q) pro každý vzorek (GOI) je:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Poznámka: Tento vzorec se používá pro výpočet relativního množství, pokud není definován žádný kontrolní vzorek.

Kde:

- E = účinnost sady primeru a sondy. Účinnost se vypočítá podle vzorce (% účinnost * 0,01) + 1, kde 100% účinnost = 2
- $C_{q(\text{min})}$ = průměr C_q pro vzorek s nejnižší průměrnou hodnotou C_q pro GOI
- $C_{q(\text{vzorek})}$ = průměr C_q pro vzorek
- GOI = zájmový gen (jeden cíl)

Relativní množství při výběru kontroly

Je-li přiřazen kontrolní vzorek, vypočítá se relativní množství (RQ) pro libovolný vzorek se zájmovým genem (GOI) tímto vzorcem:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})} \right)$$

Kde:

- E = účinnost sady primeru a sondy. Účinnost se vypočítá podle vzorce (% účinnost * 0,01) + 1, kde 100% účinnost = 2
- $C_{q(\text{kontrola})}$ = průměr C_q pro kontrolní vzorek
- $C_{q(\text{vzorek})}$ = průměr C_q pro všechny vzorky s GOI
- GOI = zájmový gen (jeden cíl)

Směrodatná odchylka relativního množství

Výpočet směrodatné odchylky relativního množství je

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q\text{GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Kde:

- SD relativního množství = směrodatná odchylka relativního množství
- $\text{SD } C_{q\text{GOI}}$ vzorek = směrodatná odchylka C_q pro vzorek(GOI)
- Relativní množství = relativní množství vzorku
- E = účinnost sady primeru a sondy. Účinnost se vypočítá podle vzorce (% účinnost * 0,01) + 1, kde 100% účinnost = 2
- GOI = zájmový gen (jeden cíl)

Korigovaná účinnost C_q (C_{qE})

Vzorec pro korigovanou účinnost C_q je

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Kde:

- E = účinnost

Průměrná korigovaná účinnost C_q (MC_{qE})

Vzorec pro průměrnou korigovanou účinnost C_q je

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE} (\text{Rep 1}) + C_{qE} (\text{Rep 2}) + \dots + C_{qE} (\text{Rep n})}{n}$$

Kde:

- C_{qE} = korigovaná účinnost C_q
- n = počet replikátů

Faktor normalizace

Jmenovatel rovnice normalizované exprese je definován jako normalizační faktor. Faktor normalizace je geometrický průměr relativních množství všech referenčních cílů (genů) pro daný vzorek, jak je popsáno v tomto vzorci:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

Kde:

- RQ = relativní množství
- n = počet referenčních cílů
- GOI = zájmový gen (jeden cíl)

Normalizovaná exprese

Normalizovaná exprese ($\Delta\Delta C_q$) je relativní množství vašeho cíle (genu) normalizovaného na množství referenčních cílů (genů nebo sekvencí) ve vašem biologickém systému. Chcete-li vybrat referenční cíle, otevřete okno Experiment Settings (Nastavení experimentu) a klikněte na referenční sloupec pro každý cíl, který slouží jako referenční gen.

Vzorec pro normalizovanou expresi, který používá výpočet relativního množství (RQ), je

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{sample (GOI)}}}{(RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Kde:

- RQ = relativní množství vzorku
- Ref = referenční cíl v cyklu, který obsahuje jeden nebo více referenčních cílů v každém vzorku
- GOI = zájmový gen (jeden cíl)

Za předpokladu, že referenční cíle v biologickém systému nemění hladinu exprese, bude výpočet normalizované exprese zohledňovat rozdíly v zátěži nebo změny počtu buněk, které jsou reprezentovány v každém vzorku.

Normalizovaná exprese při výběru kontroly

Když vyberete kontrolní vzorek v okně Experiment Settings (Nastavení experimentu), software nastaví úroveň exprese kontrolního vzorku na 1. V tomto případě software normalizuje relativní množství veškeré exprese cíle (genu) podle množství kontroly (hodnota 1). Pokud je zvolena kontrola, odpovídá tato normalizovaná exprese analýze normalizované exprese bez úpravy měřítka.

Poznámka: Tomu se také říká relativní normalizovaná exprese (RNE) nebo násobek exprese.

Směrodatná odchylka pro normalizovanou expresi

Úprava rozsahu hodnoty normalizované exprese se provádí tak, že se směrodatná odchylka normalizované exprese vydělí hodnotou normalizované exprese pro nejvyšší nebo nejnižší úroveň exprese podle toho, kterou možnost úpravy rozsahu si zvolíte. Vzorec pro směrodatnou odchylku (SD) normalizačního faktoru je

$$SD NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

Kde:

- RQ = relativní množství vzorku
- SD = směrodatná odchylka
- NF = faktor normalizace
- Ref = referenční cíl
- n = počet referenčních cílů

Když je přiřazen kontrolní vzorek, nemusíte tuto funkci úpravy rozsahu směrodatné odchylky provádět, jak je znázorněno v následujícím vzorci:

$$SD NE_{\text{sample (GOI)}} = NE_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD NF_{\text{sample}}}{NF_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (GOI)}}}{RQ_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

Kde:

- NE = normalizovaná exprese
- RQ = relativní množství vzorku
- SD = směrodatná odchylka
- GOI = zájmový gen (jeden cíl)

Normalizovaná exprese upravená podle nejvyšší úroveň exprese

Když cyklus nezahrnuje kontroly, stanovte rozsah normalizované exprese (NE) pro každý cíl (gen) tak, že vydělíte úroveň exprese každého vzorku nejvyšší úrovní exprese ve všech vzorcích. Software stanoví nejvyšší úroveň exprese na hodnotu 1 a upraví rozsah všech úrovní exprese vzorku. Vzorec pro nejvyšší rozsah je

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

Kde:

- GOI = zájmový gen (cíl)

Normalizovaná exprese upravená podle nejnižší úrovně exprese

Když cyklus nezahrnuje kontroly, stanovte rozsah normalizované exprese (NE) pro každý cíl (gen) tak, že vydělíte úroveň exprese každého vzorku nejnižší úrovní exprese ve všech vzorcích. Software stanoví nejnižší úroveň exprese na hodnotu 1 a upraví rozsah všech úrovní exprese vzorku. Vzorec pro nejnižší rozsah je

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

Kde:

- GOI = zájmový gen (cíl)

Normalizovaná exprese upravená podle průměrné úrovně exprese

Když cyklus nezahrnuje kontroly, stanovte rozsah normalizované exprese (NE) pro každý cíl (gen) tak, že vydělíte úroveň exprese každého vzorku geometrickým průměrem úrovní exprese ve všech vzorcích. Software stanoví průměrnou úroveň exprese na hodnotu 1 a upraví rozsah všech úrovní exprese vzorku. Vzorec pro průměrný rozsah je

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Kde:

- GOI = zájmový gen (cíl)
- GM = geometrický průměr normalizované exprese všech vzorků

Směrodatná odchylka pro normalizovanou expresi s upraveným rozsahem

Opětovná úprava měřítka hodnoty normalizované exprese (NE), jejíž měřítko již bylo upraveno, se provádí tak, že se směrodatná odchylka (SD) normalizované exprese vydělí hodnotou normalizované exprese pro nejvyšší (MAX) nebo nejnižší (MIN) úroveň exprese, podle toho, kterou možnost úpravy měřítka si zvolíte.

Poznámka: Když je přiřazen kontrolní vzorek, nemusíte tuto funkci opětovné úpravy měřítka podle směrodatné odchylky provádět.

Výpočet podle tohoto vzorce je

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

Kde:

- NE = normalizovaná exprese
- SD = směrodatná odchylka
- GOI = zájmový gen (cíl)
- MAX = nejvyšší úroveň exprese
- MIN = nejnižší úroveň exprese

Regulace

Regulace je měřítkem zvýšení nebo snížení exprese cíle pro experimentální vs. kontrolní vzorek a stanoví se následovně:

Pokud platí, že exprese (experimentální) > exprese (kontrolní):

$$\mathbf{Regulation} = \frac{\mathbf{Expression (experimental)}}{\mathbf{Expression (control)}}$$

Pokud platí, že exprese (experimentální) < exprese (kontrolní):

$$\mathbf{Regulation} = -1 / \left(\frac{\mathbf{Expression (experimental)}}{\mathbf{Expression (control)}} \right)$$

Poznámka: Pro sloupcový graf vychází *exprese* buď z relativního množství, nebo z normalizované exprese v závislosti na vybraném režimu (viz [Sloupcový graf na straně 228](#)). Pro rozptylový graf a graf „clustergram“ se regulace vždy vypočítá z normalizované exprese.

Vzorce pro korigované hodnoty

Rozdíl mezi korigovanými a nekorigovanými hodnotami je vidět pouze tehdy, pokud je v rámci cyklu PCR v reálném čase vytvořena standardní křivka. Software používá k určení šíření chyb tři rovnice:

- Standardní chyba
- Standardní chyba normalizované exprese
- Standardní chyba pro normalizovaný sledovaný gen (cíl)

Vzorec pro standardní chybu je

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Kde:

- n = počet referenčních cílů (genů)
- SD = směrodatná odchylka

Standardní chyba pro faktor normalizace ve vzorci normalizované exprese je

$$SE NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times SE RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times SE RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times SE RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

Kde:

- n = počet referenčních cílů
- SE = standardní chyba
- NF = faktor normalizace
- RQ = relativní množství

Standardní chyba pro vzorec normalizovaného sledovaného genu (GOI) je

$$SE GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE GOI}{GOI}\right)^2}$$

Kde:

- SE = standardní chyba
- GOI = zájmový gen (jeden cíl)
- NF = faktor normalizace
- n = počet referenčních cílů

Příloha B Správa uživatelů a rolí CFX Manager Dx

V softwaru CFX Manager Dx můžete vytvářet uživatele a přiřazovat jim role. Role omezují přístup k funkcím softwaru CFX Manager Dx. Uživateli lze přiřadit vždy jen jednu roli. Správce softwaru CFX Manager Dx ale může roli uživatele kdykoliv změnit.

Tip: Pro použití softwaru CFX Manager Dx není nutné vytvářet uživatele. Pokud uživatele nevytvoříte, budou veškeré činnosti vykonávány přes výchozí uživatelský účet *admin*.

Důležité: Uživatel *admin* je výchozí účet správce, přes který se zpočátku přihlašujete do softwaru CFX Manager Dx. Doporučujeme vám pro správu softwaru CFX Manager Dx vytvořit samostatného uživatele. Tomuto uživateli přiřadte roli správce a provádějte přes něj všechny správcovské úkony.

Důležité: Software CFX Manager Dx nemá funkci přerušení relace uživatele v případě neaktivity. Proto vám doporučujeme, abyste provedli zabezpečovací opatření, která vám nabízí systém Windows, nebo řešení třetích stran (například použijte spořič obrazovky s požadovaným přihlášením).

Správa uživatelů

Ve standardním vydání softwaru Software CFX Manager Dx mohou mít uživatelské účty jakékoli jméno nebo heslo.

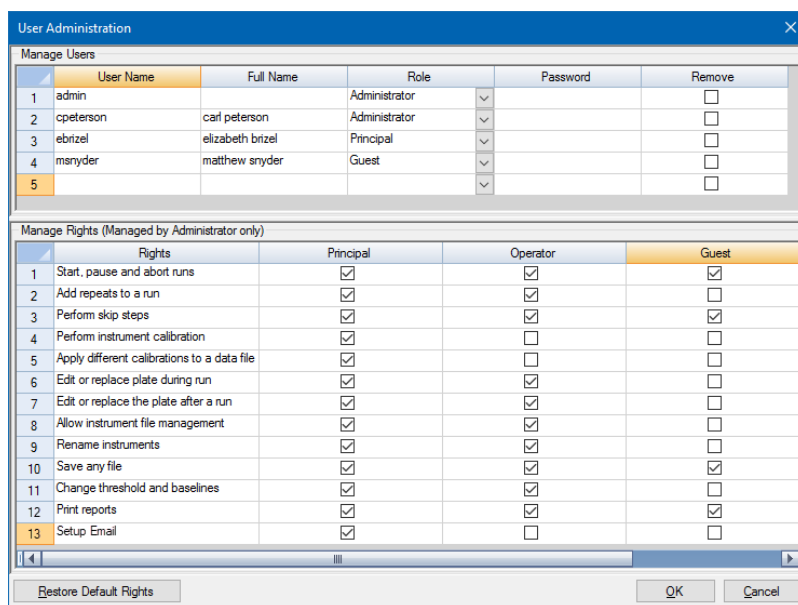
Každému uživateli přiřadte roli tím, že ji vyberete ze seznamu rolí v okně User Administration (Správa uživatelů). V tomto příkladu má uživatel Host přidáno právo ukládat soubory.

Přidávání a odstraňování uživatelů

Poznámka: Přidávat a odstraňovat uživatele může pouze správce CFX Manager Dx.

Jak přidat uživatelský účet do softwaru CFX Manager Dx

1. V okně Home (Domů) vyberte možnost User > User Administration (Uživatel > Správa uživatelů).
Otevře se dialogové okno User Administration (Správa uživatelů).



2. Na panelu Manage Users (Spravovat uživatele) zadejte uživatelské jméno uživatele.
3. V možnosti Role (Role) vyberte roli uživatele.

Role omezují práva uživatele. Výchozí nastavení je Principal (Vedoucí).

Tip: Práva pro každou roli můžete měnit. Změna práv role ovlivní všechny uživatele, kterým je daná role přiřazena. Více informací naleznete v části [Správa práv rolí na straně 263](#).

4. (Volitelné) Zadejte Full Name (Celé jméno) a Password (Heslo) uživatele.
5. Kliknutím na OK otevřete dialogové okno a potvrdíte, že chcete obecné okno zavřít.
6. Kliknutím na Yes (Ano) dialogové okno i obecné okno zavřete.

Jak odstranit uživatele

1. V podokně Manage Users (Spravovat uživatele) vyberte možnost Remove (Odstranit) pro každého uživatele, kterého chcete odstranit.
2. Kliknutím na OK otevřete dialogové okno a potvrdíte, že chcete obecné okno zavřít.
3. Kliknutím na Yes (Ano) dialogové okno i obecné okno zavřete.

Poznámka: Seznam uživatelů softwaru musí vždy obsahovat jednoho správce.

Správa práv rolí

Software CFX Manager Dx obsahuje tyto čtyři role:

- Administrator (Správce – vyžadováno) – správci mají všechna práva a tato práva nemůžete měnit. Správci mohou také přidávat a odstraňovat uživatele a měnit práva pro každou roli.

Poznámka: Práva pro jednotlivé role mohou měnit právě jen správci.

- Principal (Vedoucí) – ve výchozím nastavení má vedoucí všechna práva
- Operator (Operátor) – ve výchozím nastavení využívá operátor všechna práva kromě přeskokování cyklů
- Guest (Host) – ve výchozím nastavení může host pouze číst soubory

Důležité: Změna práv pro konkrétní roli má vliv na všechny uživatele, kterým je tato role přiřazena. Není možné přizpůsobit roli pro konkrétního uživatele. Při změně práv jednotlivých rolí postupujte opatrně.

Jak stanovit práva pro každou roli

1. V okně Home (Domů) vyberte možnost User > User Administration (Uživatel > Správa uživatelů).
2. V podokně Manage Rights (Spravovat práva) postupujte následovně:
 - Chcete-li odstranit právo z role, odznačte příslušné zaškrtačací políčko.
 - Chcete-li přidat právo do role, označte příslušné zaškrtačací políčko.
3. Kliknutím na OK otevřete dialogové okno a potvrdíte, že chcete obecné okno zavřít.
4. Kliknutím na Yes (Ano) dialogové okno i obecné okno zavřete.

Jak resetovat všechna práva pro všechny role

- ▶ V dialogovém okně User Administration (Správa uživatelů) klikněte na Restore Default Rights (Obnovit výchozí práva).

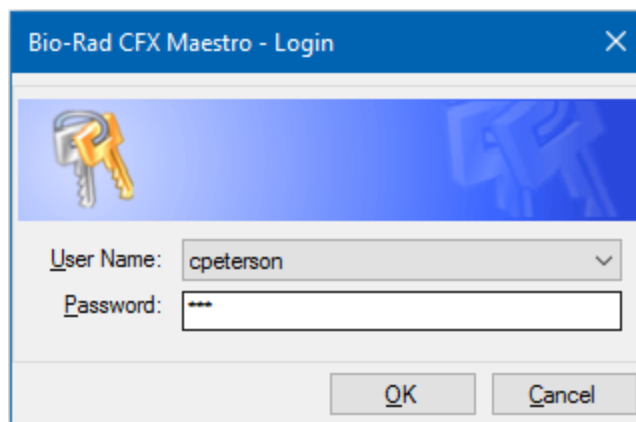
Přihlášení do softwaru CFX Manager Dx

Software CFX Manager Dx spravuje, kdo se přihlásí do softwaru pomocí dialogového okna Login (Přihlášení). Když spustíte software, CFX Manager Dx automaticky zobrazí dialogové okno Login (Přihlášení), když jsou v okně User Administration (Správa uživatelů) uvedeni dva nebo více uživatelů.

CFX Manager Dx zobrazuje jméno přihlášeného uživatele v horní části okna Home (Domů).

Přihlášení do CFX Manager Dx

1. V dialogovém okně Login (Přihlášení) vyberte své jméno z rozevřacího seznamu User Name (Uživatelské jméno).
2. Zadejte své heslo.
3. Klepnutím na tlačítko OK zavřete dialogové okno Login (Přihlášení) a otevřete software.



Změna uživatelů

Můžete změnit uživatele, když je spuštěn software.

Přepínání uživatelů

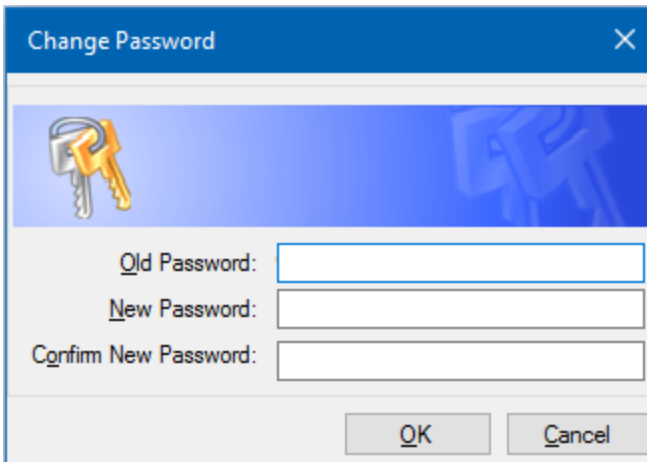
1. V okně Home (Domů) vyberte možnosti User > Select User (Uživatel > Vybrat uživatele) a otevřete tak dialogové okno Login (Přihlášení).
2. V rozevřacím seznamu vyberte položku User Name (Uživatelské jméno).
3. Zadejte heslo nového uživatele.
4. Klepnutím na tlačítko OK zavřete dialogové okno Login (Přihlášení) a otevřete software.

Změna hesla uživatele

Uživatelé CFX Manager Dx mohou kdykoliv své heslo změnit.

Jak změnit heslo uživatele

1. V okně Home (Domů) vyberte možnosti User > Change Password (Uživatel > Změnit heslo). Otevře se dialogové okno Change Password (Změnit heslo).



2. Do pole Old Password (Staré heslo) zadejte své současné heslo.
3. Do pole New Password (Nové heslo) zadejte nové heslo a zopakujte jej v kolonce Confirm New Password (Potvrdit nové heslo).
4. Změnu potvrdíte kliknutím na OK.

Zobrazení role a práv uživatele

Tip: Uživatelé, kterým byla přiřazena role Principal (Vedoucí), Operator (Operátor) nebo Guest (Host), mohou zobrazit pouze své uživatelské předvolby, práva a role.

Zobrazení aktuální role a práv uživatele

- V okně Home (Domů) vyberte možnost User > User Administration (Uživatel > Správa uživatelů).

Chcete-li upravit uživatelská nastavení, práva a role uvedené v okně User Administration (Správa uživatelů), obraťte se na správce CFX Manager Dx.

Příloha C Integrace LIMS

Můžete konfigurovat software CFX Manager Dx pro použití se systémem pro správu laboratorních informací (LIMS). Pro integraci LIMS vyžaduje software CFX Manager Dx informace o nastavení destičky generované platformou LIMS (a soubor LIMS *.plrn), soubor protokolu vytvořený pomocí Software CFX Manager Dx (*.prcl), definované umístění exportu dat a definovaný formát exportu.

Po dokončení cyklu vygeneruje CFX Manager Dx soubor dat (.pcrd) a uloží jej do definované složky pro export dat. CFX Manager Dx může také vytvořit datový soubor kompatibilní s LIMS ve formátu .csv a uložit jej na stejné místo.

Vytvoření datových souborů kompatibilních s LIMS

Tato příloha vysvětluje, jak nastavit software CFX Manager Dx pro vytvoření, uložení a export datových souborů kompatibilních s LIMS.

Nastavení možností složky LIMS a exportu dat

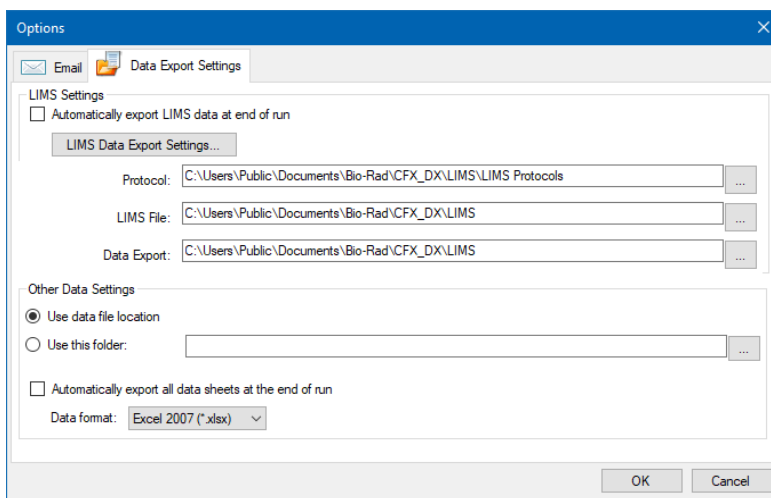
Ve výchozím nastavení software CFX Manager Dx uloží protokoly, soubory a soubory exportu dat LIMS do této složky:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

Můžete CFX Manager Dx nakonfigurovat tak, že uloží soubory do jiné složky, a současně můžete měnit možnosti exportu pro data LIMS.

Jak nastavit možnosti složky LIMS a exportu dat

1. V okně Home (Domů) vyberte položky Tools > Options (Nástroje > Možnosti).
2. V dialogovém okně Options (Možnosti) vyberte položku Data Export Settings (Nastavení exportu dat).



3. (Volitelné) Vyberte možnost **Automatically export LIMS data at end of run** (Automaticky exportovat data LIMS na konci cyklu).

Software automaticky provede export dat LIMS po každém cyklu a uloží je do stanoveného umístění.
4. Chcete-li změnit výchozí možnosti exportu dat LIMS, klikněte na položku **LIMS Data Export Settings** (Nastavení exportu dat LIMS).

Důležité: Zpět do softwaru CFX Manager Dx lze importovat pouze data LIMS exportovaná jako soubor .csv.
5. V dialogovém okně **LIMS Data Export Format Settings** (Nastavení formátu pro export dat LIMS) vyberte požadované možnosti exportu a klikněte na OK.
6. V dialogovém okně **Options** (Možnosti) najdete a vyberte výchozí složku, do které chcete uložit datové soubory LIMS. Pro každý typ souboru můžete vybrat jiné umístění:
 - Protokol
 - Soubor LIMS
 - Export dat
7. Kliknutím na OK uložíte změny a zavřete dialogové okno **Options** (Možnosti).

Tvorba protokolu LIMS

Chcete-li spustit cyklus LIMS, vytvořte soubor protokolu file CFX Manager Dx (*.prcl) a uložte jej do určeného umístění složky protokolu LIMS.

Další informace naleznete v [Kapitola 6, Vytváření protokolů](#).

Vytvoření souboru LIMS

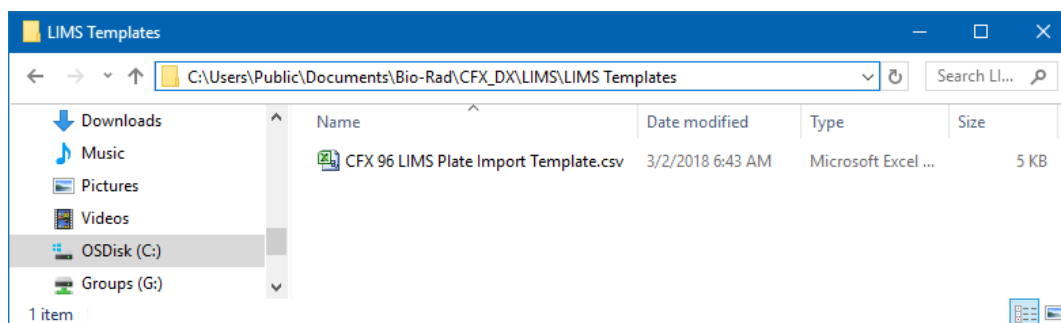
Soubor LIMS (*.plrn) obsahuje podrobnosti o nastavení destičky a název souboru protokolu. Soubor je vygenerován vaším interním LIMS. Software CFX Manager Dx používá soubor LIMS k tvorbě souboru destičky, který bude použit se souborem protokolu.

Software CFX Manager Dx obsahuje soubory šablony pro import destiček, které můžete upravovat, abyste vytvořili vlastní soubory destiček LIMS.

Tip: Tento úkol by měl vykonávat specialista na LIMS.

Jak vytvořit soubor LIMS

1. V okně Home (Domů) vyberte položky View > Show > LIMS File Folder (Náhled > Zobrazit > Složka souboru LIMS).
2. Otevřete složku LIMS Templates (Šablony LIMS) a vyberte soubor .csv pro import do vašeho interního LIMS.



3. Pomocí LIMS upravte šablonu tak, že vyplníte požadovaná pole uvedená v [Tabulka 40](#).
4. Uložte šablonu se souborovou koncovkou .plrn do složky pro soubory LIMS.

Důležité: Software CFX Manager Dx otevírá pouze soubory .plrn. Abyste mohli provést cyklus LIMS, musíte soubor .csv uložit jako .plrn.

Tabulka 40. Definice obsahu LIMS souboru .csv

Sloupec	Řádek	Popis	Obsah	Účel
A	1	Záhlaví destičky	Neupravovat	Předdefinováno
A,B,C	2	Pole/data/pokyn	Neupravovat	Předdefinováno
B	3	Verze	Neupravovat	Předdefinováno

Tabulka 40. Definice obsahu LIMS souboru .csv, pokračování

Sloupec	Řádek	Popis	Obsah	Účel
B	4	Velikost destičky	Neupravovat	Předdefinováno
B	5	Typ destičky	Zadejte „BR White“ („BR bílá“), „BR Clear“ („BR čirá“) nebo jiný kalibrováný typ destičky	Vyžadováno
B	6	Režim skenování	Zadejte „SYBR/FAM Only:“ („Pouze SYBR/FAM“), „All Channels“ („Všechny kanály“) nebo „FRET“	Vyžadováno

Tabulka 40. Definice obsahu LIMS souboru .csv, pokračování

Sloupec	Řádek	Popis	Obsah	Účel
B	7	Jednotky	Zadejte jedno z následujících: „copy number“ („číslo kopie“), „fold dilution“ („ředění násobku“), „micromoles“ („mikromoly“), „nanomoles“ („nanomoly“), „picomoles“ („pikomoly“), „femtomoles“ („femtomoly“), „attomoles“ („attomoly“), „milligrams“ („miligramy“), „micrograms“ („mikrogramy“), „nanograms“ („nanogramy“), „picograms“ („pikogramy“), „femtograms“ („femtogramy“), „attograms“ („attogramy“) nebo „percent“ („procenta“)	Vyžadováno
B	8	ID cyklu	Zadejte krátký popis nebo čárový kód s identifikací tohoto cyklu (maximálně 30 znaků, čárky nejsou povoleny)	Volitelné

Tabulka 40. Definice obsahu LIMS souboru .csv, pokračování

Sloupec	Řádek	Popis	Obsah	Účel
B	9	Poznámka k cyklu	Zadejte popis cyklu	Volitelné
B	10	Protokol cyklu	Zadejte přesný název souboru protokolu.	Vyžadováno
A	11	Datový soubor	Zadejte název datového souboru	Volitelné
A	12–15	TBD/prázdné	Neupravovat	Předdefinováno
A	16	Data destičky	Neupravovat	Předdefinováno

Tabulka 40. Definice obsahu LIMS souboru .csv, pokračování

Sloupec	Řádek	Popis	Obsah	Účel
A	17–113	Pozice jamky	Neupravovat	Předdefinováno
B–G		Barv. kanál1, barv. kanál2, barv. kanál3, barv. kanál4, barv. kanál5, FRET	Pro každý použitý kanál zadejte název jednoho kalibrovaného barvíva (například „FAM“)	Vyžadováno
H		Typ vzorku	Zadejte jeden z následujících typů vzorku: „Unknown“ („Neznámý“), „Standard“ („Standardní“), „Positive Control“ („Pozitivní kontrola“), „Negative Control“ („Negativní kontrola“), „NTC“ nebo „NRT“	Vyžadováno
I		Název vzorku	Zadejte název vzorku	Volitelné
J–O		Cíl kanál1, cíl kanál2, cíl kanál3, cíl kanál4, cíl kanál5, cíl FRET,	Zadejte název cíle pro každý použitý kanál	Volitelné

Tabulka 40. Definice obsahu LIMS souboru .csv, pokračování

Sloupec	Řádek	Popis	Obsah	Účel
P		Název biologického souboru	Zadejte název biologického souboru	Volitelné
Q		Replikace	Zadejte kladné celé číslo pro každý soubor replikace. Hodnota nesmí být nulová.	Volitelné
R–W		Množství kanál1, množství kanál2, množství kanál3, množství kanál4, množství kanál5, množství FRET	Zadejte hodnoty množství pro každý standard. Zadejte koncentraci v decimální podobě.	Vyžadováno pro všechny standardy
X		Poznámka k jamce	Zadejte poznámku k jamce (maximálně 20 znaků)	Volitelné
Y–AD		Barva jamky kanál1, barva jamky kanál2, barva jamky kanál3, barva jamky kanál4, barva jamky kanál5, barva jamky FRET	Zadejte uživatelem definovanou barvu stylu trasování v decimálním formátu 32bitového celého čísla (argb)	Volitelné

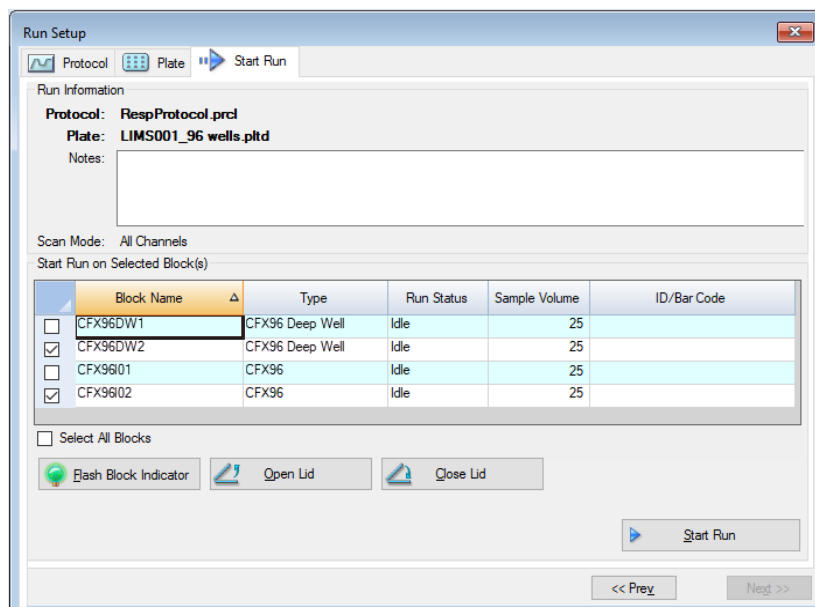
Spuštění cyklu LIMS

Spuštění cyklu LIMS

- Chcete-li otevřít soubor LIMS .plrn, postupujte následovně:
 - V okně Home (Domů) vyberte položky View > Show > LIMS File Folder (Náhled > Zobrazit > Složka souboru LIMS) a otevřete cílový soubor .plrn.
 - V okně Home (Domů) vyberte položky File > Open > LIMS File (Soubor > Otevřít > Soubor LIMS) a otevřete cílový soubor .plrn.

Soubor se otevře na kartě Start Run (Spustit cyklus) v průvodci Run Setup (Nastavení cyklu). Na kartě Start Run (Spustit cyklus) se zobrazují informace o experimentu, který se má spustit. Zobrazuje také připojený blok nebo bloky přístroje, na kterých můžete experiment spustit.

- Na kartě Start Run (Spustit cyklus) vyberte přístroj a klepněte na položku Start Run (Spustit cyklus).



Export dat do LIMS

Po ukončení cyklu software CFX Manager Dx vygeneruje datový soubor (.pcrd) a uloží jej do definované složky pro export dat.

Jak exportovat datový soubor do LIMS

- ▶ Otevřete soubor .pcrd a vyberte Export > Export to LIMS Folder (Exportovat > Export do složky LIMS).

Tip: Pokud v okně LIMS Options (Možnosti LIMS) vyberete možnost Automatically Export Data after Run (Automaticky exportovat data po cyklu), vytvoří software CFX Manager Dx datový soubor kompatibilní s LIMS ve formátu .csv a uloží jej do stejné složky.

Příloha D Poradce při potížích s připojením k softwaru CFX Manager Dx

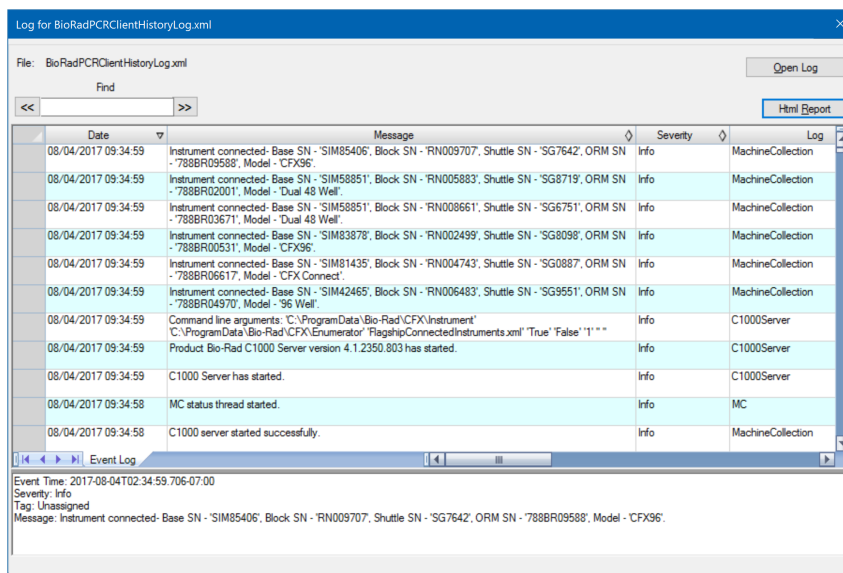
Protokol aplikací

Před spuštěním nového cyklu zahájí systémy CFX96 a CFX96 Deep Well vlastní diagnostický test, aby se ověřilo, zda pracují v rámci specifikací. Software zaznamenává výsledky tohoto testu do souboru Run Log (Protokol o cyklu) a Application Log (Protokol aplikací). Pokud zaznamenáte problém pro jeden nebo více experimentů, otevřete protokoly cyklu a aplikací, abyste zjistili, kdy problém začal.

Software CFX Manager Dx sleduje informace o stavu přístroje během cyklu v protokolu aplikací. Tyto protokoly použijte ke sledování událostí, které se vyskytují na přístrojích a v softwaru a při řešení problémů.

Otevření protokolu aplikací

- V okně Home (Domů) vyberte View > Application Log (Zobrazit > Protokol aplikací).



Poradce při potížích

Problémy s komunikací softwaru a přístrojů lze obvykle vyřešit restartováním počítače a systému. Před restartováním nezapomeňte uložit všechny probíhající práce.

Poznámka: Ověřte, zda má počítač dostatek paměti RAM a volné místo na disku. Minimální velikost paměti RAM je 4 GB a minimální místo na pevném disku je 128 GB.

Výpadek napájení

Při výpadku napájení se přístroj a počítač vypnou. Pokud je výpadek napájení krátký, přístroj obnoví provoz protokolu, ale protokol aplikací zaznamená výpadek napájení. V závislosti na nastavení počítače a době, kdy je napájení přerušeno, se přístroj a software pokusí pokračovat v provozu v závislosti na kroku protokolu:

- Pokud je protokol v kroku bez čtení destičky, protokol pokračuje v provozu, jakmile se znovu obnoví napájení přístroje.
- Pokud je protokol v kroku s načtením destičky, přístroj čeká, až software restartuje a obnoví komunikaci, aby shromáždil data. V této situaci protokol pokračuje pouze v případě, že počítač není vypnut. Při opětovném spuštění počítače a softwaru protokol pokračuje.

Vyjmutí vzorků z reakčního modulu během výpadku napájení

Uzamčené motorizované víko můžete otevřít v reakčním modulu, abyste odebrali vzorky během výpadku napájení.

Vyjmutí uzamčené destičky

1. Zatlačte na aretační lištu, abyste odstranili reakční modul z termocyklieru C1000 Dx.
2. Opatrně postavte reakční modul na stůl nebo laboratorní stůl.

- Umístěte modul tak, aby přední část modulu přesahovala 5 centimetrů (2 palce) nad okraj.



- Imbusovým klíčem odstraňte dva velké šrouby pod přední hranou reakčního modulu (pod tlačítkem pro otevření víka).

Měli byste slyšet uvolnění zajišťovací západky z modulu.

Důležité: Neodstraňujte dva malé šrouby na předním hraně modulu.



- Otevřete víko reakčního modulu. Všimněte si, že západka (tmavý plast) již není připojena. Vyjměte vzorky z bloku.

6. Vraťte zpět zajišťovací západku a zajistěte ji velkými šrouby a znovu sestavte reakční modul s otevřeným víkem.



Načtení souborů do počítače se softwarem CFX Manager Dx

Můžete najít data a soubory protokolů umístěné v přístroji a přenést je na pevný disk připojeného počítače.

Poznámka: Všechny soubory ve složce s daty shromážděnými v reálném čase v základně přístroje se načtou do počítače.

Jak načíst soubory z přístroje

1. V podokně Detected Instruments (Detekované nástroje) v okně Home (Domů) klikněte pravým tlačítkem myši na cílový přístroj a vyberte jednu z následujících možností:
 - Retrieve Log Files (Načíst soubory protokolů)
 - Retrieve Data Files (Načíst datové soubory)
2. Vyberte umístění složky pro uložení načtených souborů.
3. Klikněte na OK.

Manuální instalace softwaru CFX Manager Dx

Jak manuálně nainstalovat software Software CFX Manager Dx

1. V případě potřeby odpojte od počítače všechny připojené přístroje.

Najděte a odpojte USB kabel přístroje z počítače se softwarem CFX Manager Dx. Konec zapojený do přístroje můžete ponechat na místě.
2. Přihlaste se k počítači se softwarem CFX Manager Dx s oprávněními administrátora.
3. Vložte CD se softwarem.

4. V Průzkumníkoví Windows přejděte na CD, klikněte pravým tlačítkem myši na ikonu CD se softwarem a vyberte položku Explore (Prozkoumat). Otevře se okno s CD.
5. Dvakrát klikněte na složku CFX_Manager, aby se otevřela, a následně dvakrát klikněte na soubor setup.exe pro spuštění průvodce instalací softwaru.
6. Postupujte podle pokynů průvodce, nainstalujte software a klikněte na Finish (Dokončit).

Přeinštalování ovladačů

Přeinštalování ovladačů přístroje

- ▶ Pro přeinštalování ovladačů vyberte v položky Tools > Reinstall Instrument Drivers (Nástroje > Znovu instalovat ovladače přístroje).

Poznámka: Pokud máte po přeinštalování ovladačů a kontrole připojení USB problémy se softwarem komunikujícím se systémem v reálném čase, obraťte se na technickou podporu společnosti Bio-Rad.

Příloha E Literatura

1. Sugimoto et al. (1996). Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes. *Nucleic Acids Research* 24, 4501–4505.
2. Breslauer KJ et al. (1986). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3746–3750.
3. Hellemans J et al. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biol* 8, R19.
4. Livak JL et al. (1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. *Nature Genetics* 9, 341–342.
5. Pfaffl MW (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29, 2002–2007.
6. Vandesompele J et al. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 3, 1–12.
7. Fox J (2008). *Applied Regression Analysis and Generalized Linear Models*. 2nd ed (New York: SAGE Publications, Inc.).

Informace o autorských právech Minpack (1999), University of Chicago. Veškerá práva vyhrazena

Další distribuce a použití ve zdrojové a binární podobě, s úpravami nebo bez úprav, jsou povoleny za předpokladu, že jsou splněny následující podmínky:

1. Součástí dále distribuovaného zdrojového kódu musí být výše uvedené informace o autorských právech, tento seznam podmínek a následující upozornění.
2. Součástí dále distribuované binární formy musí být výše uvedené informace o autorských právech, tento seznam podmínek a následující upozornění v dokumentaci a/nebo jiných materiálech poskytovaných současně s distribucí.
3. Dokumentace pro koncového uživatele, která součástí případné distribuce, musí obsahovat následující informaci:

„Tento produkt obsahuje software vyvinutý University of Chicago, provozovatelem národní laboratoře v Argonne.“



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