

# Sistemy CFX96™ Dx i CFX96 Deep Well Dx

## Instrukcja obsługi

REF 1845097-IVD  
1844095-IVD  
1841000-IVD  
12007917

Aktualizacja instrukcji: Maj 2022  
Wersja oprogramowania: 3.1



SPEŁNIA WYMOGI ETL

**SPEŁNIA WYMOGI:**

UL Std. 61010-1  
UL Std. 61010-2-010  
UL Std. 61010-2-101  
UL Std. 61010-2-081

**CERTYFIKATY:**

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 i CFX96 Deep Well Dx**

**Instrukcja obsługi**

**Wersja 3.1**

**BIO-RAD**

## Pomoc techniczna firmy Bio-Rad

Dział pomocy technicznej firmy Bio-Rad w Stanach Zjednoczonych jest otwarty w dniach od poniedziałku do piątku w godzinach od 5:00 do 17:00 czasu pacyficznego.

**Numer telefonu:** 1-800-424-6723, opcja 2

**E-mail:** Support@bio-rad.com (tylko dla Stanów Zjednoczonych/Kanady)

W celu uzyskania pomocy technicznej klienci spoza Stanów Zjednoczonych i Kanady powinni skontaktować się z lokalnym biurem wsparcia technicznego lub kliknąć link Contact us (Kontakt z nami) na stronie [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com).

## Informacja prawna

Żadna część tej publikacji nie może być powielana ani przekazywana w żadnej postaci ani z wykorzystaniem żadnych środków, czy to elektronicznych czy mechanicznych, włączając fotokopie, nagrania i wszelkie systemy przechowywania lub wyszukiwania informacji, bez pisemnej zgody firmy Bio-Rad.

Firma Bio-Rad zastrzega sobie prawo do modyfikowania swoich produktów i usług w dowolnym czasie. Niniejsza instrukcja może być zmieniona bez powiadomienia. Choć podczas opracowywania niniejszego dokumentu starano się zachować dokładność, firma Bio-Rad nie przyjmuje odpowiedzialności za błędy czy pominięcia ani za żadne szkody wynikające z zastosowania czy wykorzystania tych informacji.

BIO-RAD jest znakiem towarowym firmy Bio-Rad Laboratories, Inc.

BIO-RAD, HARD-SHELL i MICROSEAL są znakami towarowymi firmy Bio-Rad Laboratories, Inc. w niektórych jurysdykcjach.

SYBR to znak towarowy firmy Thermo Fisher Scientific Inc. Firma Bio-Rad Laboratories, Inc. posiada licencję na sprzedaż odczynników zawierających SYBR Green I do użytku w PCR w czasie rzeczywistym wyłącznie dla celów badawczych.

EvaGreen to znak towarowy firmy Biotium, Inc. Firma Bio-Rad Laboratories, Inc. posiada licencję Biotium, Inc. na sprzedaż odczynników zawierających barwnik EvaGreen do użytku w czasie rzeczywistym PCR wyłącznie dla celów badawczych.

Wszystkie użyte w tym dokumencie znaki towarowe są własnością ich odpowiednich właścicieli.











Copyright © 2022 Bio-Rad Laboratories, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.



## Przeznaczenie

System CFX96 Dx oraz system CFX96 Deep Well Dx z oprogramowaniem CFX Manager Dx są przeznaczone do przeprowadzania reakcji PCR w oparciu o techniki fluorescencyjne w celu wykrywania i ilościowego oznaczania sekwencji kwasów nukleinowych. Te systemy i oprogramowanie są przeznaczone do stosowania w diagnostyce in vitro przez przeszkolonych techników laboratoryjnych. Te systemy są przeznaczone do stosowania z diagnostycznymi testami kwasów nukleinowych opracowanymi przez inne firmy, wyprodukowanymi i oznakowanymi dla celów diagnostycznych.

## Leksykon symboli

**Ważne:** Ważne zmiany są zakreślane!

|  |   |
|--|---|
| <br>Producent                               | <br>Numer partii                           |
| <br>Do użycia przez                       | <br>Do zastosowań w diagnostyce in vitro |
| <br>Limit temperatury                     | <br>Numer katalogowy                     |
| <br>Zapoznaj się z instrukcją użytkownika | <br>Liczba testów                        |
| <br>Do użycia z                           | <br>Numer seryjny                        |

|  |   |
|--|---|
| <b>Rx Only</b><br>Tylko na receptę   | <br>Zawiera lateks |
| <br>Oznakowanie CE — Rozporządzenie (UE) nr 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro |   |

## Tłumaczenia

Dokumenty produktów mogą być dostarczane w dodatkowych językach na nośnikach elektronicznych.

# Spis treści

|   |           |
|---|-----------|
| Przeznaczenie .....   | iii       |
| Leksykon symboli .....  | iii       |
| Tłumaczenia .....   | iv        |
| <b>Bezpieczeństwo i zgodność z przepisami .....</b>   | <b>15</b> |
| Etykiety ostrzegawcze .....   | 15        |
| Specyfikacja warunków bezpiecznego użytkowania oraz zachowanie zgodności z przepisami ..... | 16        |
| Zgodność z przepisami .....   | 17        |
| Zagrożenia .....  | 18        |
| Zagrożenia biologiczne .....  | 18        |
| Zagrożenia chemiczne .....  | 20        |
| Zagrożenia związane z wybuchem lub możliwością zapłonu .....                                | 20        |
| Zagrożenia elektryczne .....  | 20        |
| Transport .....   | 20        |
| Akumulator .....  | 21        |
| Utylizacja .....  | 21        |
| Gwarancja .....   | 21        |
| <b>Rozdział 1 Wprowadzenie .....</b>  | <b>23</b> |
| Systemy CFX Dx do detekcji PCR .....  | 23        |
| Więcej informacji .....   | 24        |
| <b>Rozdział 2 Konfigurowanie termocyklera C1000 Dx .....</b>                                | <b>25</b> |
| Wymagania dotyczące miejsca działania sprzętu .....   | 25        |
| Wymagania co do stołu .....   | 25        |
| Wymagania co do warunków otoczenia .....  | 26        |
| Wymagania co do zasilania .....   | 26        |
| Przegląd informacji o systemie .....  | 27        |
| Widok z przodu .....  | 27        |
| Widok z tyłu .....  | 28        |

|  |           |
|--|-----------|
| Optyczne moduły reakcyjne .....                                  | 30        |
| Zalecane objętości próbek .....                                  | 30        |
| Instalowanie termocyklera C1000 Dx .....                         | 31        |
| Rozpakowywanie i ustawianie termocyklera C1000 Dx .....          | 31        |
| Przylączenie optycznego modułu reakcyjnego .....                 | 32        |
| Wyjmowanie śruby transportowej .....                             | 33        |
| Ładowanie płytek z próbkami .....                                | 35        |
| Wykrywanie podłączonych aparatów .....                           | 37        |
| Odłączanie modułu reakcyjnego .....                              | 38        |
| Wyłączanie termocyklera C1000 Dx .....                           | 38        |
| <b>Rozdział 3 Instalacja oprogramowania CFX Manager Dx .....</b> | <b>39</b> |
| Wymagania systemowe .....  | 40        |
| Instalacja oprogramowania CFX Manager Dx .....                   | 41        |
| Wykrywanie podłączonych aparatów .....                           | 41        |
| Pliki w oprogramowaniu .....                                     | 42        |
| Zalecane środki zapewnienia cyberbezpieczeństwa .....            | 43        |
| <b>Rozdział 4 Przestrzeń robocza .....</b>                       | <b>45</b> |
| Okno Home (Strona główna) .....                                  | 46        |
| kreator Startup Wizard (Kreator startowy), .....                 | 47        |
| Okno Protocol Editor (Edytor protokołu) .....                    | 48        |
| Okno Plate Editor (Edytor płytki) .....                          | 49        |
| Okno Data Analysis (Analiza danych) .....                        | 50        |
| <b>Rozdział 5 Okno Home (Strona główna) .....</b>                | <b>51</b> |
| Okno Home (Strona główna) .....                                  | 52        |
| Polecenia menu File (Plik) .....                                 | 53        |
| Polecenia menu View (Widok) .....                                | 53        |
| Polecenia menu User (Użytkownik) .....                           | 54        |
| Polecenia menu Run (Analiza próbek) .....                        | 55        |
| Polecenia menu Tools (Narzędzia) .....                           | 55        |
| Polecenia menu Help (Pomoc) .....                                | 56        |
| Polecenia na pasku narzędzi .....                                | 56        |
| Kreator Startup Wizard (Kreator startowy), .....                 | 58        |
| Pasek stanu .....  | 58        |



|  |            |
|--|------------|
| Panel Detected Instruments (Wykryte aparaty) .....                                       | 59         |
| Przeglądanie właściwości aparatu .....   | 63         |
| Czynności do wykonania przed rozpoczęciem korzystania z produktu .....                   | 66         |
| Ustawianie preferencji użytkownika .....   | 66         |
| Tworzenie Master Mix do reakcji .....  | 82         |
| Kalibrowanie nowych barwników .....  | 85         |
| <b>Rozdział 6 Tworzenie protokołów .....</b>   | <b>87</b>  |
| Okno Protocol Editor (Edytor protokołu) .....  | 88         |
| Polecenia menu File (Plik) .....   | 89         |
| Polecenie menu Settings (Ustawienia) .....   | 89         |
| Polecenia menu Tools (Narzędzia) .....   | 89         |
| Polecenia na pasku narzędzi .....  | 89         |
| Elementy kontroli nad edycją protokołu .....   | 90         |
| Tworzenie protokołu w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) .....                     | 93         |
| Otwieranie nowego pliku protokołu w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) .....       | 93         |
| Otwieranie istniejącego protokołu w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) .....       | 95         |
| Konfigurowanie nowego protokołu .....  | 96         |
| Dodawanie etapów do protokołu .....  | 98         |
| Wprowadzanie etapu gradientu .....   | 98         |
| Wprowadzanie etapu GOTO .....  | 100        |
| Wprowadzanie etapu krzywej topnienia .....   | 100        |
| Dodawanie lub usuwanie etapu odczytu płytki .....  | 102        |
| Zmiana opcji etapu .....   | 102        |
| Usuwanie etapu .....   | 103        |
| Kopiowanie, eksportowanie i drukowanie protokołu .....                                   | 103        |
| Tworzenie protokołu za pomocą Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) ..... | 104        |
| Korzystanie z funkcji Ta Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu Ta) .....     | 106        |
| Informacje o funkcji Ta Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu Ta) .....      | 106        |
| <b>Rozdział 7 Przygotowywanie płytek .....</b>   | <b>113</b> |
| Okno Plate Editor (Edytor płytki) .....  | 114        |
| Polecenia menu File (Plik) .....   | 115        |
| Polecenia menu Settings (Ustawienia) .....   | 115        |
| Polecenia menu Editing Tools (Narzędzia do edycji) .....                                 | 115        |
| Polecenia na pasku narzędzi .....  | 116        |

|   |            |
|---|------------|
| Tworzenie pliku płytki za pomocą Plate Editor (Edytor płytki)                               | 117        |
| Otwieranie nowego pliku płytki w oknie Plate Editor (Edytor płytki)                         | 117        |
| Otwieranie istniejącego pliku płytki w oknie Plate Editor (Edytor płytki)                   | 119        |
| Konfigurowanie nowego pliku płytki  | 120        |
| Przypisywanie parametrów opcjonalnych do pliku płytki                                       | 126        |
| Przypisywanie sekwencji docelowej do studzienek   | 127        |
| Przypisywanie nazwy próbki do studzienek  | 129        |
| Przypisywanie zestawów biologicznych do studzienek  | 130        |
| Przypisywanie numerów replikatów do studzienek  | 132        |
| Przypisywanie serii rozcieńczeń do typów próbek Standard (Wzorzec)                          | 133        |
| Kopiowanie zawartości studzienki do innej studzienki  | 135        |
| Dodawanie uwagi do studzienki   | 135        |
| Usuwanie całej zawartości ze studzienek   | 136        |
| Zmiana ustawień eksperymentu  | 137        |
| Tworzenie grup studzienek   | 140        |
| Zmiana stylów krzywej   | 143        |
| Przeglądanie płytki w formacie arkusza kalkulacyjnego                                       | 145        |
| Tworzenie układu płytki za pomocą kreatora Plate Setup Wizard (Kreator konfiguracji płytki) | 148        |
| Korzystanie z kreatora Setup Wizard (Kreator konfiguracji) dla płytki                       | 148        |
| <b>Rozdział 8 Uruchamianie eksperymentów</b>  | <b>151</b> |
| Przechodzenie do okna Run Setup (Konfiguracja analizy próbek)                               | 151        |
| Okno Run Setup (Konfiguracja analizy próbek)  | 152        |
| Zakładka Protocol (Protokół)  | 154        |
| Zakładka Plate (Płytki)   | 157        |
| Zakładka Start Run (Uruchom analizę próbek)   | 160        |
| Uruchamianie eksperymentu   | 161        |
| Okno dialogowe Run Details (Szczegóły analizy próbek)                                       | 163        |
| Zakładka Run Status (Stan analizy próbek)   | 163        |
| Zakładka Real-time Status (Stan w czasie rzeczywistym)                                      | 166        |
| Zakładka Time Status (Stan czasu)   | 169        |
| Wykonywanie eksperymentów PrimePCR  | 170        |
| <b>Rozdział 9 Przegląd informacji o analizie danych</b>                                     | <b>173</b> |
| Okno Data Analysis (Analiza danych)   | 173        |
| Pasek narzędzi Data Analysis (Analiza danych)   | 174        |

|  |            |
|--|------------|
| Pasek menu Data Analysis (Analiza danych)  | 176        |
| Szczegóły zakładek   | 178        |
| Selektor numeru etapu  | 179        |
| Przeglądanie grup studzienek w oknie Data Analysis (Analiza danych)                                  | 180        |
| Zmiana zawartości studzienek po analizie próbek  | 180        |
| Ustawienia analizy danych  | 182        |
| Dostosowywanie progu   | 182        |
| Ustawienia wartości bazowej  | 182        |
| Tryb analizy   | 183        |
| Cycles to Analyze (Cykle do przeanalizowania)  | 184        |
| Well Selector (Selektor studzienek)  | 185        |
| Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w selektorze studzienek            | 186        |
| Tymczasowe wykluczanie studzienek z analizy  | 187        |
| Wykresy  | 188        |
| Wspólne pozycje w menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na wykresach             | 188        |
| Kopiowanie danych wykresu do schowka   | 189        |
| Modyfikacja ustawień progu bazowego  | 189        |
| Sortowanie danych genów docelowych i próbek  | 191        |
| Powiększanie obszaru na wykresie   | 191        |
| Kopiowanie wykresów do pliku w formacie Microsoft  | 192        |
| Arkusze kalkulacyjne   | 193        |
| Wspólne pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w arkuszach kalkulacyjnych | 193        |
| Eksport  | 195        |
| Eksportowanie wszystkich arkuszy danych  | 195        |
| Tworzenie niestandardowego eksportowanego pliku  | 196        |
| Eksportowanie do folderu LIMS  | 197        |
| Eksportowanie danych w formacie Seegene  | 197        |
| <b>Rozdział 10 Szczegóły okna Data Analysis (Analiza danych)</b>                                     | <b>199</b> |
| Zakładka Quantification (Oznaczenie ilościowe)   | 200        |
| Opcje fluoroforu   | 201        |
| Okno dialogowe Trace Styles (Style krzywej)  | 201        |

|   |     |
|---|-----|
| Opcja Log Scale (Skala logarytmiczna)                                 | 203 |
| Wykres Standard Curve (Krzywa wzorcowa)                               | 204 |
| Opcje menu wykresu Amplification (Amplifikacja)                       | 205 |
| Arkusz kalkulacyjny w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe)  | 205 |
| Zakładka Quantification Data (Dane oznaczenia ilościowego)            | 207 |
| Arkusz kalkulacyjny Results (Wyniki)                                  | 207 |
| Arkusz kalkulacyjny Standard Curve Results (Wyniki krzywej wzorcowej) | 209 |
| Arkusz kalkulacyjny Plate (Płytki)                                    | 210 |
| Arkusz kalkulacyjny RFU   | 210 |
| Zakładka Melt Curve (Krzywa topnienia)                                | 211 |
| Dostosowywanie danych krzywej topnienia                               | 213 |
| Zakładka Melt Curve Data (Dane krzywej topnienia)                     | 214 |
| Arkusz kalkulacyjny Melt Peaks (Piki topnienia)                       | 214 |
| Arkusz kalkulacyjny Plate (Płytki)                                    | 215 |
| Arkusz kalkulacyjny RFU   | 216 |
| Arkusz kalkulacyjny -d(RFU)/dT  | 217 |
| Zakładka End Point (Punkt końcowy)                                    | 218 |
| Dane dotyczące wyników  | 219 |
| Dostosowanie analizy danych punktu końcowego                          | 221 |
| Arkusz kalkulacyjny RFU na potrzeby analizy punktu końcowego          | 221 |
| Zakładka Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna)            | 222 |
| Dostosowywanie danych na potrzeby dyskryminacji allelicznej           | 223 |
| Opcje menu wykresów   | 225 |
| Arkusz kalkulacyjny Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna) | 226 |
| Zakładka Custom Data View (Niestandardowy widok danych)               | 227 |
| Tworzenie niestandardowego widoku danych                              | 228 |
| Zakładka QC (Kontrola jakości)  | 229 |
| Zmiana kryteriów QC (kontroli jakości)                                | 229 |
| Wykluczanie studzienek, które nie przeszły kontroli jakości           | 230 |
| Zakładka Run Information (Informacje o analizie próbek)               | 231 |
| Raporty z analizy danych  | 232 |
| Kategorie raportu z analizy danych                                    | 233 |
| Tworzenie raportu z analizy danych                                    | 236 |
| Tworzenie raportów dotyczących grupy studzienek                       | 237 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Rozdział 11 Analiza ekspresji genu</b> .....                       | 239 |
| Konfiguracja płytki na potrzeby analizy ekspresji genu .....          | 239 |
| Konfigurowanie płytki według instrukcji .....                         | 240 |
| Wykresy Gene Expression (Ekspresja genu) .....                        | 241 |
| Wykres słupkowy .....   | 242 |
| Sortowanie danych genów docelowych i próbek .....                     | 244 |
| Dostosowywanie danych dotyczących ekspresji genu .....                | 245 |
| Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) .....                   | 247 |
| Wartość stabilności sekwencji docelowej .....                         | 250 |
| Opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy ..... | 250 |
| Arkusze kalkulacyjny z danymi .....                                   | 251 |
| Opcja Show Details (Pokaż szczegóły) .....                            | 253 |
| Clustergram .....   | 256 |
| Settings (Ustawienia) .....   | 256 |
| Opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy ..... | 256 |
| Arkusze kalkulacyjny z danymi .....                                   | 257 |
| Wykres rozrzutu .....   | 258 |
| Settings (Ustawienia) .....   | 258 |
| Opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy ..... | 258 |
| Arkusze kalkulacyjny z danymi .....                                   | 259 |
| Results (Wyniki) .....  | 260 |
| Badanie genów .....   | 261 |
| Kalibracja między analizami próbek .....                              | 261 |
| Okno dialogowe Gene Study (badanie genów) .....                       | 261 |
| Zakładka Study Setup (Konfiguracja badania) .....                     | 262 |
| Przygotowanie badania genów .....                                     | 263 |
| Zakładka Study Analysis (Analiza badania) .....                       | 264 |
| Tworzenie raportów z badania genów .....                              | 265 |
| Kategorie raportów Gene Study (Badanie genów) .....                   | 265 |
| <b>Załącznik A Obliczenia w analizie danych</b> .....                 | 267 |
| Wydajność reakcji .....   | 267 |
| Ilość względna .....  | 267 |
| Ilość względna przy wybranej kontroli .....                           | 268 |
| Odchylenie standardowe ilości względnej .....                         | 268 |

|   |     |
|---|-----|
| Wartość Cq skorygowana względem wydajności (CqE) .....                                | 269 |
| Cq po korekcie uwzględniającej wydajność średnią (MCqE) .....                         | 269 |
| Współczynnik normalizacji .....   | 269 |
| Znormalizowana wartość ekspresji .....  | 270 |
| Znormalizowana wartość ekspresji po wybraniu kontroli .....                           | 270 |
| Odchylenie standardowe dla znormalizowanej wartości ekspresji .....                   | 271 |
| Znormalizowana wartość ekspresji przeskalowana do najwyższego poziomu ekspresji ..... | 272 |
| Znormalizowana wartość ekspresji przeskalowana do najniższego poziomu ekspresji ..... | 272 |
| Znormalizowana wartość ekspresji przeskalowana do średniego poziomu ekspresji .....   | 273 |
| Odchylenie standardowe dla przeskalowanej znormalizowanej wartości ekspresji .....    | 274 |
| Regulacja stopnia ekspresji .....   | 275 |
| Wzory na wartości skorygowane .....   | 276 |
| <b>Załącznik B Zarządzanie użytkownikami i rolami w oprogramowaniu CFX</b>            |     |
| <b>Manager Dx</b> .....   | 279 |
| Zarządzanie użytkownikami .....   | 279 |
| Dodawanie i usuwanie użytkowników .....   | 279 |
| Zarządzanie prawami ról .....   | 281 |
| Logowanie do oprogramowania CFX Manager Dx .....                                      | 283 |
| Zmiana użytkowników .....   | 283 |
| Zmiana haseł użytkowników .....   | 284 |
| Przeglądanie swojej roli i uprawnień .....  | 284 |
| <b>Załącznik C Integracja z systemem LIMS</b> .....                                   | 285 |
| Tworzenie plików danych kompatybilnych z LIMS .....                                   | 285 |
| Ustawianie folderu LIMS i opcji eksportu danych .....                                 | 285 |
| Tworzenie protokołu LIMS .....  | 287 |
| Tworzenie pliku LIMS .....  | 287 |
| Uruchamianie analizy LIMS .....   | 293 |
| Eksportowanie danych do systemu LIMS .....  | 294 |
| <b>Załącznik D Rozwiązywanie problemów z podłączeniem oprogramowania CFX</b>          |     |
| <b>Manager Dx</b> .....   | 295 |
| Dziennik aplikacji .....  | 295 |
| Rozwiązywanie problemów .....   | 296 |
| Awaria zasilania .....  | 296 |
| Pobieranie plików na komputer CFX Manager Dx .....                                    | 298 |

|   |            |
|---|------------|
| Ręczna instalacja oprogramowania CFX Manager Dx ..... | 298        |
| Przeinstalowywanie sterowników .....                  | 299        |
| <b>Załącznik E Piśmiennictwo .....</b>                | <b>301</b> |

## Spis treści



# Bezpieczeństwo i zgodność z przepisami



W celu bezpiecznej obsługi systemu CFX96™ Dx lub systemu CFX96 Deep Well Dx z oprogramowaniem CFX Manager™ Dx, który w niniejszym dokumencie jest nazywany systemem System CFX Dx, firma Bio-Rad zdecydowanie zaleca przestrzeganie informacji na temat bezpieczeństwa podanych w niniejszym rozdziale i w całej treści niniejszego podręcznika.

**Ważne:** Systemy CFX96 Dx oraz CFX96 Deep Well Dx są zatwierdzone do stosowania jako urządzenia medyczne do diagnostyki in vitro.



## Etykiety ostrzegawcze

Etykiety ostrzegawcze umieszczone na aparacie i w niniejszej instrukcji ostrzegają przed źródłami urazów lub szkód. W [Tabela 1](#) zdefiniowano wszystkie etykiety ostrzegawcze.

**Tabela 1. Znaczenie etykiet ostrzegawczych**

| Ikona   | Znaczenie   |
|---|---|
|  | <p><b>Ostrzeżenie o ryzyku uszkodzenia ciała lub sprzętu</b></p> <p>Obsługiwanie systemu CFX Dx przed przeczytaniem niniejszej instrukcji może grozić obrażeniami ciała. W celu bezpiecznego użytkowania nie wolno obsługiwać tego aparatu w jakikolwiek sposób niewyszczególniony w niniejszej instrukcji. Ten aparat powinien być obsługiwany wyłącznie przez wykwalifikowany personel laboratoryjny przeszkolony z zakresu bezpiecznego użytkowania sprzętu elektrycznego. Wszystkie podzespoły systemu muszą zawsze być obsługiwane z zachowaniem ostrożności, czystymi i suchymi rękami.</p> |
|  | <p><b>Ostrzeżenie dotyczące obsługi materiałów stwarzających zagrożenie biologiczne</b></p> <p>Podczas obsługi próbek stwarzających zagrożenie biologiczne należy przestrzegać zalecanych środków ostrożności i wytycznych oraz postępować zgodnie z wszelkimi lokalnymi wytycznymi obowiązującymi w danym laboratorium lub ośrodku.</p>  |

**Tabela 1. Znaczenie etykiet ostrzegawczych, ciąg dalszy**

| Ikona   | Znaczenie  |
|---|--|
|  | <p><b>Ostrzeżenie o ryzyku oparzeń</b></p> <p>Termocykler generuje ciepło wystarczające do spowodowania poważnych oparzeń. Przez cały czas podczas obsługi nosić okulary ochronne lub inne środki ochrony oczu. Przed otwarciem pokrywy i wyjęciem próbek zawsze odczekać do czasu, gdy blok próbek powróci do temperatury charakterystycznej dla wyłączzonego urządzenia. Zawsze zachowywać maksymalny odstęp, aby uniknąć przypadkowych oparzeń skóry.</p> |
|  | <p><b>Ostrzeżenie o ryzyku wybuchu</b></p> <p>Bloki próbek w trakcie normalnej pracy mogą stać się wystarczająco gorące, by spowodować wrzenie i eksplozję cieczy.</p>   |

## Specyfikacja warunków bezpiecznego użytkowania oraz zachowanie zgodności z przepisami

Tabela 2 zawiera specyfikacje warunków bezpiecznego użytkowania systemów CFX Dx firmy Bio-Rad przeznaczonych do detekcji PCR w czasie rzeczywistym. Celem zapewnienia zgodności z ograniczeniami komisji FCC dla urządzeń klasy A konieczne jest stosowanie z aparatami kabli ekranowanych, które zostały dostarczone razem z systemem.

**Tabela 2. Warunki bezpiecznego użytkowania**

| Aspekt eksploatacji                | Warunki bezpiecznego użytkowania                           |
|------------------------------------|--|
| Znamionowa moc pobierana           | 100–240 VAC, 50–60 Hz, 850 W maks.                         |
| Klasa ochrony przeciwprzepięciowej | II   |
| Bezpieczniki                       | 10 A, 250 V, 5 x 20 mm, bezpiecznik bezzwłoczny (sztuk: 2) |
| Środowisko pracy                   | Wyłącznie do użytku wewnątrz pomieszczeń                   |
| Temperatura podczas pracy          | 15–31°C  |
| Temperatura przechowywania         | od –20 do 60°C   |
| Wilgotność względna                | Do 80% (bez kondensacji)                                   |

**Tabela 2. Warunki bezpiecznego użytkowania, ciąg dalszy**

| Aspekt eksploatacji                    | Warunki bezpiecznego użytkowania |
|--|----------------------------------|
| Wysokość nad poziomem morza            | Do 2000 m.n.p.m.                 |
| Klasa ochrony przed zanieczyszczeniami | 2                                |

## Zgodność z przepisami

System CFX Dx przeznaczony do detekcji PCR w czasie rzeczywistym został przetestowany i spełnia odpowiednie wymogi następujących norm bezpieczeństwa i zgodności elektromagnetycznej:

- IEC 61010-1:2010 (wyd. 3), EN61010-1:2010 (wyd. 3). Wymagania bezpieczeństwa dotyczące elektrycznych przyrządów pomiarowych, automatyki i urządzeń laboratoryjnych -- Część 1: Wymagania ogólne
- IEC 61010-2-010:2014, EN 61010-2-010:2014. Wymagania bezpieczeństwa dotyczące elektrycznych przyrządów pomiarowych, automatyki i urządzeń laboratoryjnych. Część 2-010: Wymagania szczegółowe dotyczące urządzeń laboratoryjnych przeznaczonych do nagrzewania materiałów
- IEC 61010-2-081:2015, EN 61010-2-081:2015. Wymagania bezpieczeństwa dotyczące elektrycznych przyrządów pomiarowych, automatyki i urządzeń laboratoryjnych. Część 2-081: Wymagania szczegółowe dotyczące automatycznych i półautomatycznych urządzeń laboratoryjnych przeznaczonych do analiz i innych zastosowań (uwzględnia Poprawkę 1)
- IEC 61010-2-101:2015 (wyd. 2). Wymagania bezpieczeństwa dotyczące elektrycznych przyrządów pomiarowych, automatyki i urządzeń laboratoryjnych. Wymagania szczegółowe dotyczące urządzeń medycznych do diagnozy in vitro (IVD)
- IEC 61326-1:2012 (klasa A), EN 61326-1:2013 (klasa A). Elektryczne przyrządy pomiarowe, automatyka i urządzenia laboratoryjne. Wymagania dotyczące kompatybilności elektromagnetycznej, Część 1: Wymagania ogólne
- IEC 61326-2-6:2012, EN 61326-2-6:2013 (klasa A). Elektryczne przyrządy pomiarowe, automatyka i urządzenia laboratoryjne. Wymagania dotyczące kompatybilności elektromagnetycznej. Wymagania szczegółowe dotyczące urządzeń medycznych do diagnozy in vitro (IVD)

**Ważne:** Niniejsze urządzenie wytwarza, wykorzystuje i może emitować energię o częstotliwości radiowej oraz, jeśli nie zostanie zainstalowane poprawnie lub jest użytkowane niezgodnie z udostępnioną dokumentacją instruktażową, może powodować zakłócenia w łączności radiowej. Eksploatacja tego systemu w budynkach mieszkalnych prawdopodobnie będzie powodować

szkodliwe zakłócenia, a w takim przypadku użytkownicy będą musieli wyeliminować te zakłócenia na własny wydatek.

## Zagrożenia

System CFX Dx przeznaczony do detekcji PCR w czasie rzeczywistym został zaprojektowany do bezpiecznej pracy, jeśli jest obsługiwany w sposób określony przez producenta. Jeżeli system CFX Dx przeznaczony do detekcji PCR w czasie rzeczywistym lub jakkolwiek z powiązanych z nim elementów składowych będzie używany w sposób niezgodny ze specyfikacją producenta, może to negatywnie wpłynąć na elementy ochrony, które zapewnia aparat podczas eksploatacji. Firma Bio-Rad Laboratories, Inc. nie przyjmuje odpowiedzialności za jakiegokolwiek obrażenia fizyczne lub straty spowodowane eksploatacją tych urządzeń w sposób niezgodny ze specyfikacją ani za modyfikacje przyrządu, które nie zostały dokonane przez firmę Bio-Rad lub autoryzowanego przedstawiciela. Czynności serwisowe w odniesieniu do systemu CFX Dx przeznaczonego do detekcji PCR w czasie rzeczywistym może prowadzić wyłącznie wykwalifikowany personel firmy Bio-Rad.

### Zagrożenia biologiczne

System CFX Dx przeznaczony do detekcji PCR w czasie rzeczywistym jest produktem laboratoryjnym. Jeśli jednak pojawią się próbki stanowiące zagrożenie biologiczne, należy przestrzegać poniższych wytycznych i postępować zgodnie z wszelkimi lokalnymi procedurami obowiązującymi w danym laboratorium lub ośrodku:

**Uwaga:** Podczas normalnej pracy tego aparatu nie są uwalniane żadne substancje stwarzające zagrożenie biologiczne.

### Ogólne środki ostrożności

- Przed rozpoczęciem pracy z systemem należy zawsze zakładać fartuch laboratoryjny, rękawice laboratoryjne oraz okulary ochronne z osłonami bocznymi albo gogle.
- Ręce należy trzymać z dala od ust, nosa i oczu.
- Przed przystąpieniem do pracy z potencjalnie zakaźnymi materiałami należy w pełni zabezpieczyć wszelkie skaleczenia lub obtarcia.
- Po zakończeniu pracy z potencjalnie zakaźnym materiałem należy dokładnie umyć ręce wodą z mydłem przed opuszczeniem laboratorium.
- Przed rozpoczęciem pracy na stanowisku należy zdjąć zegarki i biżuterię.
- Wszystkie zakaźne lub potencjalnie zakaźne materiały należy przechowywać w odpornych na pęknięcia, szczelnych pojemnikach.
- Przed opuszczeniem laboratorium należy zdjąć odzież ochronną.

- W rękawiczkach nie należy pisać, odbierać telefonu, dotykać włączników światła ani dotykać czegokolwiek, czego mogłyby dotknąć inne osoby bez rękawiczek.
- Należy często zmieniać rękawiczki. Rękawiczki należy natychmiast zmienić w przypadku stwierdzenia ich widocznego zanieczyszczenia.
- Materiałów, których nie można odpowiednio odkazić, nie wolno wystawiać na działanie substancji potencjalnie zakaźnych.
- Po zakończeniu czynności obejmujących materiały stwarzające zagrożenie biologiczne należy odkazić obszar roboczy odpowiednim środkiem odkażającym (np. roztworem wybielacza do użytku domowego w rozcieńczeniu 1:10).

### Szczególne środki ostrożności w zakresie diagnostyki in vitro

- Wszystkie próbki od pacjentów potencjalnie stwarzają zagrożenie biologiczne i należy się z nimi należyście obchodzić, stosując uniwersalne środki ostrożności.
- Podczas normalnej pracy tego aparatu nie są uwalniane żadne substancje stwarzające zagrożenie biologiczne.

### Odkazanie powierzchni



**OSTRZEŻENIE!** Aby uniknąć porażenia prądem elektrycznym, zawsze wyłączać i odłączać aparat przed wykonywaniem procedur odkażania.

Poniższe obszary mogą być czyszczone dowolnym bakterio-, wiruso- lub grzybobójczym środkiem dezynfekcyjnym przeznaczonym do stosowania w szpitalach:

- zewnętrzna pokrywa i obudowa,
- wewnętrzna powierzchnia bloku reakcyjnego i studzienki bloku reakcyjnego,
- panel sterowania i wyświetlacz.

Aby przygotować i nanieść środek dezynfekcyjny, przeczytać instrukcję dostarczoną przez producenta produktu. Po zastosowaniu środka dezynfekcyjnego zawsze kilkakrotnie przepłukać wodą blok reakcyjny i studzienki bloku reakcyjnego. Po płukaniu wodą dokładnie wysuszyć blok reakcyjny i studzienki bloku reakcyjnego.

**Ważne:** Nie stosować środków o właściwościach ściernych, żrących detergentów ani roztworów o mocnym odczynie zasadowym. Takie środki mogą zarysować powierzchnie i uszkodzić blok reakcyjny, skutkując utratą precyzyjnej kontroli temperatur.

## Utylizacja materiału stwarzającego zagrożenie biologiczne

Następujące potencjalnie skażone materiały należy utylizować zgodnie z lokalnymi, regionalnymi i krajowymi przepisami dotyczącymi laboratoriów:

- próbki kliniczne,
- odczynniki,
- zużyte naczynia reakcyjne oraz inne materiały eksploatacyjne, które mogły ulec skażeniu.

## Zagrożenia chemiczne

System detekcji PCR w czasie rzeczywistym CFX Dx nie zawiera żadnych potencjalnie niebezpiecznych materiałów chemicznych.

## Zagrożenia związane z wybuchem lub możliwością zapłonu

System CFX Dx nie stanowi dla operatorów żadnego niestandardowego zagrożenia w zakresie możliwości zapłonu lub wybuchu, pod warunkiem że jest eksploatowany w sposób odpowiedni określony przez firmę Bio-Rad Laboratories.

## Zagrożenia elektryczne

System CFX Dx przeznaczony do detekcji PCR w czasie rzeczywistym nie stanowi dla operatorów żadnego niestandardowego zagrożenia elektrycznego, pod warunkiem że zostanie prawidłowo zainstalowany i będzie poprawnie obsługiwany, co oznacza, że nie można wprowadzać do systemu fizycznych modyfikacji. Ponadto system musi być podłączony do źródła zasilania o odpowiednich parametrach.

## Transport

Przed przemieszczeniem lub wysyłką systemu detekcji PCR w czasie rzeczywistym CFX Dx, jego optycznego modułu reakcyjnego lub podstawy termocyklera trzeba przeprowadzić procedury odkażania. Zawsze przemieszczać lub wysłać system detekcji PCR w czasie rzeczywistym CFX Dx i optyczne moduły reakcyjne w osobnych pojemnikach wraz z dostarczonymi materiałami opakowaniowymi, które zabezpieczają aparat przed uszkodzeniem. Jeśli nie można znaleźć odpowiednich pojemników, skontaktować się z lokalnym biurem firmy Bio-Rad.

## Akumulator

Termocykler System CFX Dx wykorzystuje 3 V baterię litowo-metalową monetową oraz hybrydową baterię akumulatorową 4,8 V niklowo-metalową w celu utrzymywania ustawień czasu oraz danych analiz w przypadku utraty zasilania sieciowego. Jeśli po wyłączeniu urządzenia dane czasu lub dane analiz nie będą zachowane, może to oznaczać, że zmniejszył się poziom naładowania baterii. W takim przypadku należy skontaktować się z działem wsparcia technicznego firmy Bio-Rad w celu uzyskania pomocy.

Nie należy podejmować prób wymiany baterii. Skontaktować się z działem wsparcia technicznego firmy Bio-Rad.

## Utylizacja

System detekcji PCR w czasie rzeczywistym CFX Dx zawiera materiały elektryczne; powinny być one wyrzucane jako odpady niesortowane i muszą być zbierane osobno zgodnie z dyrektywą Unii Europejskiej 2012/19/EU w sprawie zużytego sprzętu elektrotechnicznego i elektronicznego (dyrektywa WEEE). Przed wyrzuceniem skontaktować się z lokalnym przedstawicielem Bio-Rad w celu uzyskania instrukcji odpowiednich w danym kraju.

## Gwarancja

System detekcji PCR w czasie rzeczywistym CFX Dx i powiązane z nim akcesoria są objęte standardową gwarancją firmy Bio-Rad. Szczegóły gwarancji można uzyskać, kontaktując się z lokalnym biurem firmy Bio-Rad.

Bezpieczeństwo i zgodność z przepisami



## Rozdział 1 Wprowadzenie

Systemy CFX Dx firmy Bio-Rad są przeznaczone do amplifikacji PCR w czasie rzeczywistym w diagnostyce in vitro i oferują najnowocześniejsze rozwiązania technologiczne, które pozwalają na ilościową analizę reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, ang. Polymerase Chain Reaction) poprzez stosowanie krzywej wzorcowej, analizę ekspresji genów, dyskryminację alleliczną oraz analizę punktu końcowego.

Systemy CFX Dx do detekcji składają się z dwóch modułów sprzętowych oraz oprogramowania:

- Optycznego modułu reakcyjnego (ORM) CFX96™ Dx lub CFX96 Deep Well Dx
- termocyklera C1000™ Dx
- Oprogramowania CFX Manager™ Dx

Gdy system jest używany z oprogramowaniem CFX Manager Dx, wówczas umożliwia

- Natychmiastowe generowanie wyników za pomocą kreatora Startup Wizard (Kreator startowy)
- Wprowadzanie oraz edytowanie informacji na temat studzienek przed analizą, w trakcie analizy i po jej zakończeniu
- Interpretowanie złożonych danych i lepsze zrozumienie wyników badań ekspresji genów za pomocą narzędzi, takich jak analiza kontroli PrimePCR™ oraz selektor genów referencyjnych
- Przygotowywanie kompleksowych raportów z danych analizy PCR w czasie rzeczywistym

## Systemy CFX Dx do detekcji PCR

W [Tabela 3](#) przedstawiono produkty do analiz PCR w ramach diagnostyki in vitro firmy Bio-Rad, które są dostarczane razem z systemami System CFX Dx.

**Uwaga:** System System CFX Dx jest dostarczany z oprogramowaniem CFX Manager Dx, termocyklerem C1000 Dx oraz z optycznym modułem reakcyjnym CFX96 Dx lub CFX96 Deep Well Dx.

**Tabela 3. Systemy CFX do detekcji PCR w ramach diagnostyki in vitro**

| Nr katalogowy | Opis  |
|---------------|---|
| 1845097-IVD   | Optyczny moduł reakcyjny (ORM) CFX96 Dx*          |
| 1844095-IVD   | Optyczny moduł reakcyjny (ORM) CFX96 Deep Well Dx |
| 1841000-IVD   | Termocykler C1000 Dx                              |
| 12007917      | Oprogramowanie CFX Manager Dx w wersji 3.1        |

\* Optyczny moduł reakcyjny

## Więcej informacji

W tym dokumencie objaśniono, jak bezpiecznie konfigurować i obsługiwać systemy detekcji PCR w czasie rzeczywistym CFX96 Dx i CFX96 Deep Well Dx posiadające znak CE-IVD. W treści dokumentu systemy te są określane nazwą System CFX Dx. Dodatkowo w dokumencie wyjaśniono, jak użytkować Oprogramowanie CFX Manager Dx obsługujące System CFX Dx.

**Wskazówka:** Kliknąć logo Bio-Rad w prawym górnym rogu dowolnego okna Oprogramowanie CFX Manager Dx, aby przejść na stronę internetową firmy Bio-Rad. Na tej stronie zamieszczono odnośniki do uwag technicznych, instrukcji obsługi, informacji o produktach oraz zasobach wsparcia technicznego. Znajdują się tam także liczne zasoby techniczne dotyczące różnorodnych metod i zastosowań powiązanych z PCR, PCR w czasie rzeczywistym i ekspresją genu.

## Rozdział 2 Konfigurowanie termocyklera C1000 Dx

W niniejszym rozdziale wyjaśniono sposób konfigurowania termocyklera System CFX Dx C1000 Dx w placówce, w której używany jest system.

**Wskazówka:** Przed skonfigurowaniem termocyklera należy zapoznać się z budową termocyklera, jego optycznym modulem reakcyjnym, portami oraz akcesoriami.

### Wymagania dotyczące miejsca działania sprzętu

W tabelach w tym rozdziale wymieniono wymagania dotyczące pomieszczenia, warunków otoczenia i zasilania, których spełnienie jest konieczne do właściwego zainstalowania i użytkowania termocyklera System CFX Dx.

**Uwaga:** Termocykler System CFX Dx należy instalować na płaskiej, suchej powierzchni z przepływem chłodnego powietrza wystarczającym do właściwej pracy.

### Wymagania co do stołu

Tabela 4. System CFX Dx Termocykler — wymagania co do stołu

| Pozycja        | Specyfikacja   |
|----------------|--|
| Moc na wejściu | Do 850 W, maksymalnie  |
| Częstotliwość  | 50–60 Hz, jedna faza   |
| Porty USB      | 5 A, 1 B   |
| Wymiary        | Szer.: 13 cali; 33 cm<br>Głęb.: 18 cali; 46 cm<br>Wys.: 14 cali; 36 cm |
| Masa           | 47 funtów; 21 kg   |

## Wymagania co do warunków otoczenia

**Tabela 5. System CFX Dx Termocyklerek — wymagania co do warunków otoczenia**

| Parametr               | Zakres               | Zakres wilgotności       |
|------------------------|----------------------|--------------------------|
| Warunki pracy          | 15–31°C<br>59–87,8°F | 0–80% RH, bez skraplania |
| Warunki przechowywania | 15–31°C<br>59–87,8°F | 0–80% RH, bez skraplania |

## Wymagania co do zasilania

Aby zapewnić poprawną pracę termocyklerek System CFX Dx, dostarczana moc musi być stabilna i mieścić się w granicach określonych w specyfikacji. Przewód zasilający podłączony do wejścia zasilania musi obsługiwać znamionowe natężenie co najmniej 7 A.

**Tabela 6. System CFX Dx — wymagania co do zasilania**

| Pozycja                    | Specyfikacja  |
|----------------------------|---|
| Napięcie sieciowe          | 100–240 V AC, 50–60 Hz, jedna faza  |
| Maksymalne zużycie energii | <850 W  |
| Liczba gniazd zasilania    | Co najmniej 2 gniazda zasilania: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 1 gniazdo na termocyklerek</li> <li>■ 1 gniazdo na komputer z oprogramowaniem CFX Manager Dx</li> </ul> |

## Przegląd informacji o systemie

Ilustracje w tym rozdziale przedstawiają główne podzespoły podstawy termocyklera C1000 Dx.

### Widok z przodu



#### LEGENDA

1. **Optyczny moduł reakcyjny** — zawiera układ optyczny, który gromadzi dane fluorescencji oraz blok termocyklera. Systemy CFX Dx przeznaczone do detekcji PCR w czasie rzeczywistym obsługują moduł CFX96™ Dx lub moduł CFX96 Deep Well Dx.

---

2. **Kontrolka LED stanu** — wskazuje, czy blok jest aktualnie używany.

---

3. **Przycisk pokrywy** — umożliwia otwarcie i zamknięcie pokrywy modułu reakcyjnego oraz uszczelnienie komory reakcyjnej.

---

4. **C1000™ Dx podstawa termocyklera** — zapewnia systemowi zasilanie, a także komunikację oraz zawiera optyczne moduły reakcyjne CFX96 Dx i CFX96 Deep Well.

5. **Wyświetlacz na panelu przednim i przyciski** — umożliwiają sterowanie systemem w trybie niezależnym.  
**Ważne:** W celu zapewnienia spójności danych badań genów w ramach diagnostyki in vitro oprogramowanie CFX Manager Dx nie obsługuje danych wygenerowanych przez termocyklery w trybie niezależnym.

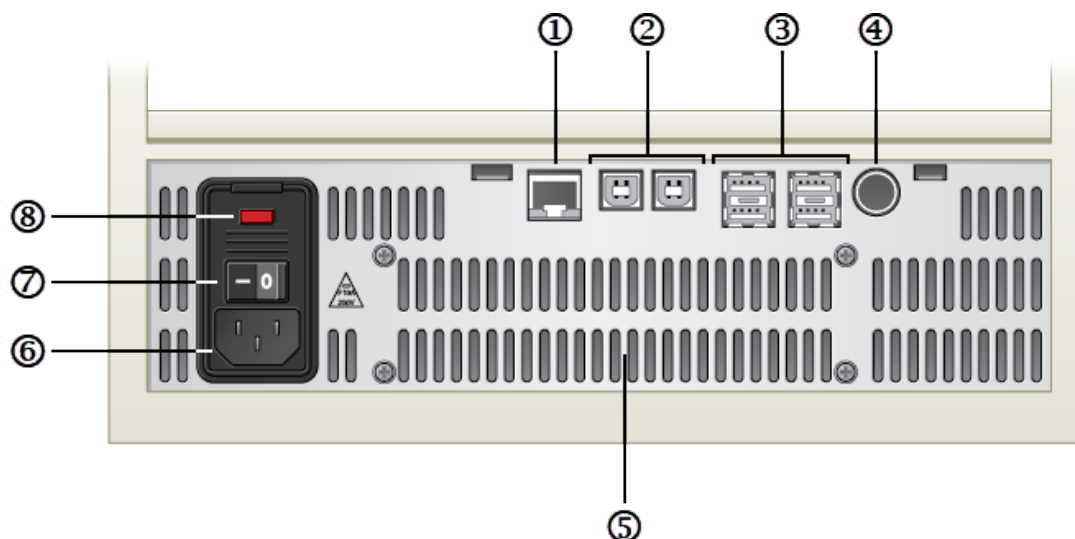
---

6. **Ogrzewana wewnętrzna pokrywa** — utrzymuje temperaturę pokrywy w celu zapobiegania skraplaniu i parowaniu.

---

7. **Blok próbek/reakcyjny** — utrzymuje naczynia reakcyjne, w tym próbówki i mikroptytki.

## Widok z tyłu



### LEGENDA

1. **Port Ethernet** — umożliwia podłączenie termocyklera C1000 Dx do sieci.

---

2. **Porty USB typu B** — służą do podłączania termocyklera C1000 Dx do komputera, na którym uruchomione jest oprogramowanie CFX Manager Dx.

---

3. **Port USB typu A** — umożliwia przesyłanie danych do oraz z pamięci USB.  
**Ważne:** W celu zapewnienia spójności danych badań genów w ramach diagnostyki in vitro oprogramowanie CFX Manager Dx nie obsługuje danych wygenerowanych przez termocyklery w trybie niezależnym.

4. **Szeregowy port testu** — wyłącznie do celów testowych dla działu serwisowego.

---

5. **Szczeliny wentylacyjne** — chłodzą termocykler.  
**Ważne:** Szczelin wentylacyjnych nie należy blokować. W celu zapewnienia optymalnego działania należy upewnić się, że powietrze może swobodnie przepływać za podstawą termocyklera.

---

6. **Wejście zasilania** — zasilanie sieciowe; należy użyć kabla dostarczonego z zestawem.

---

7. **Przełącznik zasilania** — przełącznik dwupozycyjny, który umożliwia włączanie i wyłączanie termocyklera.

---

8. **Bezpieczniki** — specyfikacje bezpieczników zawiera sekcja [Specyfikacja warunków bezpiecznego użytkowania oraz zachowanie zgodności z przepisami na stronie 16](#).

## Optyczne moduły reakcyjne

Termocykler C1000 Dx jest kompatybilny z następującymi optycznymi modułami reakcyjnymi Bio-Rad do PCR w czasie rzeczywistym:

- optyczny moduł reakcyjny CFX96 Dx,
- optyczny moduł reakcyjny CFX96 Deep Well Dx.

Wybrany optyczny moduł reakcyjny CFX Dx i termocykler są dostarczane w osobnych pudełkach. Oprogramowanie CFX Manager Dx jest dostarczane wraz z optycznym modułem reakcyjnym.

**Ważne:** Optyczny moduł reakcyjny jest kalibrowany z podstawą termocyklera, z którą jest dostarczany. Dlatego nie wolno używać optycznego modułu reakcyjnego z żadną inną podstawą termocyklera ani podstawy termocyklera z żadnym innym optycznym modułem reakcyjnym.

Oba optyczne moduły reakcyjne zawierają w pełni regulowaną, ogrzewaną pokrywę, która może pracować niezawodnie z szerokim wyborem naczyń reakcyjnych. Każdy optyczny moduł reakcyjny zawiera chłodzące wentylatory w celu szybkiego ogrzewania i chłodzenia.

Każdy optyczny moduł reakcyjny CFX Dx zawiera następujące podzespoły:

- **Ogrzewana wewnętrzna pokrywa** — utrzymuje temperaturę pokrywy w celu zapobiegania skraplaniu i parowaniu;
- **blok próbek/reakcyjny** — utrzymuje naczynia reakcyjne, w tym probówki i mikroplastyki;
- **przycisk pokrywy** — otwarcie i zamknięcie pokrywy oraz uszczelnienie reakcji;
- **kontrolka LED stanu** — gdy jest włączona, wskazuje, że blok jest aktualnie używany.

## Zalecane objętości próbek

Podczas używania termocyklera C1000 Dx maksymalna objętość próbki zależy od typu zastosowanego modułu reakcyjnego. W [Tabela 7](#) przedstawiono zalecane objętości do użycia z każdym modułem reakcyjnym.

**Tabela 7. Wielkość i graniczna objętość dla modułów reakcyjnych**

| Liczba studzienek       | Liczba bloków | Zalecana objętość próbki, $\mu$ l<br>(górną granicą) |
|-------------------------|---------------|--|
| 96 studzienek           | 1             | 10–50  |
| 96 głębokich studzienek | 1             | 10–125   |



## Instalowanie termocyklera C1000 Dx

Podstawa termocyklera C1000 Dx jest dostarczana w innym pudełku niż optyczny moduł reakcyjny.

Opakowanie zawiera:

- podstawę termocyklera C1000 Dx,
- przewód sieciowy,
- 1 kabel USB.

Instalacja termocyklera C1000 Dx:

1. Odpakować i ustawić podstawę termocyklera C1000 Dx.
2. Przyłączyć moduł reakcyjny do podstawy.
3. Wyjąć śrubę transportową.

W tym rozdziale szczegółowo objaśniono te czynności.

## Rozpakowywanie i ustawianie termocyklera C1000 Dx

**Ważne:** Przed rozpoczęciem obsługi termocyklera przeczytać informacje z rozdziału [Bezpieczeństwo i zgodność z przepisami na stronie 15](#) i [Etykiety ostrzegawcze na stronie 15](#).

**Wskazówka:** Podczas ustawiania upewnić się, że wolna przestrzeń obok termocyklera jest wystarczająca dla komputera, na którym ma działać oprogramowanie CFX Manager Dx.

### Rozpakowanie i ustawienie podstawy termocyklera

1. Zlokalizować opakowanie zawierające podstawę termocyklera.
2. Wyjąć podstawę z materiałów opakowaniowych.

**Wskazówka:** Zachować materiały opakowaniowe na przyszłość. Jeśli brakuje jakiegokolwiek elementu lub jeśli jakikolwiek element jest uszkodzony, skontaktować się z lokalnym biurem firmy Bio-Rad.

3. Umieścić podstawę termocyklera na płaskiej, suchej powierzchni z przepływem chłodnego powietrza wystarczającym do właściwej pracy.
4. Zlokalizować przewód sieciowy w opakowaniu transportowym i wprowadzić jedną jego końcówkę do gniazda zasilania z tyłu termocyklera.

**Ważne:** Na tym etapie nie włączać zasilania aparatu.

5. Przyłączyć moduł reakcyjny IVD do podstawy. Przejść do rozdziału [Przyłączanie optycznego modułu reakcyjnego na stronie 32](#).

## Przyłączanie optycznego modułu reakcyjnego

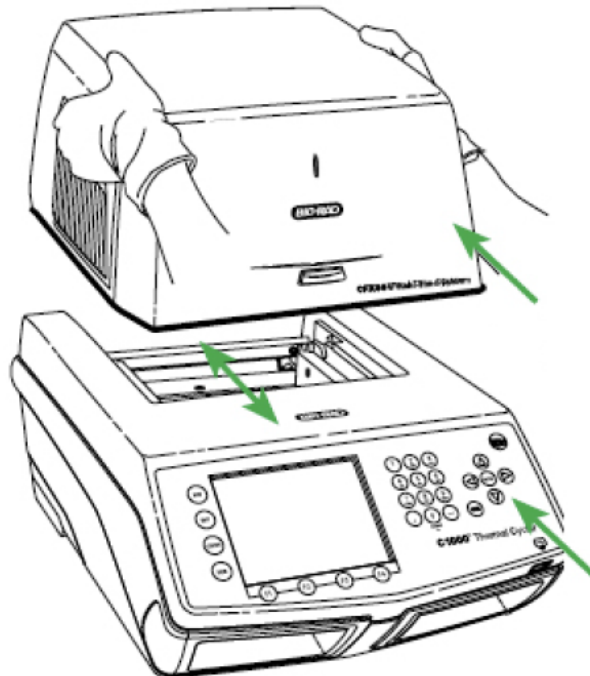
Firma Bio-Rad dostarcza optyczny moduł reakcyjny CFX96 Dx lub CFX96 Deep Well wraz z podstawą termocyklera C1000 Dx (ale w osobnym opakowaniu). Ostrożnie rozpakować optyczny moduł reakcyjny i sprawdzić, czy w pojemniku transportowym znajdują się kabel zasilający i kabel USB.

**Ważne:** Każdy optyczny moduł reakcyjny jest kalibrowany z podstawą termocyklera, z którą jest dostarczany. Dlatego nie wolno używać optycznego modułu reakcyjnego z żadną inną podstawą termocyklera.

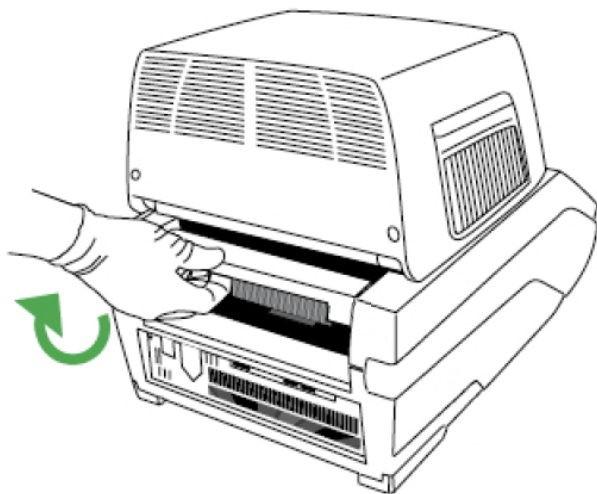
Upewnić się, że podstawa termocyklera C1000 Dx leży na płaskiej, suchej powierzchni z przepływem chłodnego powietrza wystarczającym do właściwej pracy.

### Przyłączanie modułu reakcyjnego do podstawy termocyklera

1. Umieścić termocyklerek C1000 Dx w odpowiednim miejscu, tak aby belka blokująca była skierowana w dół.
2. Podnieść optyczny moduł reakcyjny za pomocą wgłębionych uchwytów nad bocznymi odpowietrznikami i ustawić moduł we wnęce na moduł reakcyjny w C1000 Dx, pozostawiając około 2 cm przestrzeni z przodu. Gdy moduł optyczny znajduje się we wnęce, powinien przykrywać logo Bio-Rad z przodu wnęki.



3. Pociągnąć belkę blokującą do góry, aż zrówna się z płaszczyzną boków wnęki na module. Ta czynność powoduje przesunięcie się modułu do przodu i jego zablokowanie w odpowiedniej pozycji.



4. Sprawdzić, czy moduł jest całkowicie i równomiernie osadzony w podstawie termocyklera C1000 Dx. Między modulem a podstawą nie powinno być żadnej dodatkowej przestrzeni.
5. Podłączyć przewód sieciowy z tyłu podstawy termocyklera C1000 Dx oraz do odpowiedniego gniazda elektrycznego. Następnie nacisnąć przełącznik zasilania na tylnym panelu termocyklera C1000 Dx, aby uruchomić system.

## Wymywanie śruby transportowej

**Ważne:** Optyczne moduły reakcyjne firmy Bio-Rad są dostarczane z czerwoną śrubą transportową wprowadzoną do wewnętrznej pokrywy w celu ustabilizowania optycznego modułu reakcyjnego podczas transportu. Śruba transportowa musi zostać wyjęta przed rozpoczęciem obsługi optycznego modułu reakcyjnego.

### Wyjęcie śruby transportowej

1. Termocykler C1000 Dx rozpoznaje, że śruba transportowa jest wprowadzona do optycznego modułu reakcyjnego, i wyświetla komunikat z instrukcją wyjęcia śruby.

**Shipping Screw Status**

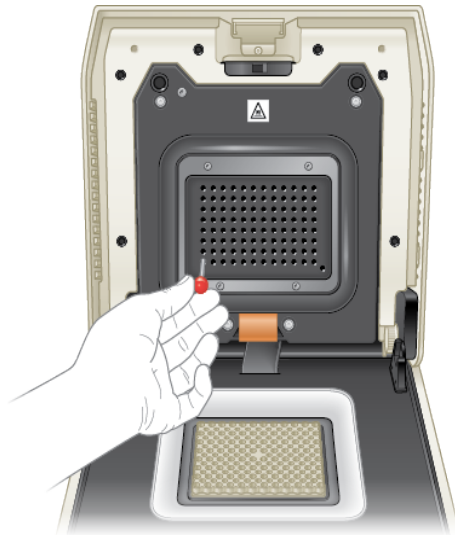
Shipping Screw is inserted.

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. Wyjąć śrubę transportową zgodnie z instrukcjami. Na schemacie poniżej pokazano lokalizację śruby transportowej.



**Uwaga:** Śruba transportowa musi zostać włożona ponownie w razie konieczności zwrotu modułu reakcyjnego z jakiegokolwiek powodu. Zachować śrubę w bezpiecznym, dostępnym miejscu.

## Ładowanie płytek z próbkami

W celu zapewnienia jednakowego ogrzewania i chłodzenia próbek płytki muszą być w pełnym kontakcie z blokiem reakcyjnym. W celu zapewnienia odpowiedniego kontaktu należy:

- Przed załadowaniem próbek upewnić się, że blok jest czysty.
- Mocno wcisnąć pojedyncze probówki, probówki w paskach lub mikro płytki do studzienek bloku.
- Gdy używana jest jedna probówka lub kilka probówek, należy używać ramy na probówki (nr katalogowy: 1849000 lub 1849001) albo załadować co najmniej jedną pustą probówkę do każdego narożnika bloku, dzięki czemu pokrywa będzie równomiernie dociskać pojedyncze probówki.

## Ładowanie płytek optycznego modułu reakcyjnego

**Ważne:** Podczas uruchamiania System CFX Dx zawsze należy równomiernie rozłożyć probówki w paskach i nałożyć zatyczki na studzienki narożne, aby zapewnić równomierne dociśnięcie bloku przez ogrzewaną pokrywę.

### Ładowanie płytek do modułu reakcyjnego

1. Aby otworzyć automatyczną pokrywę, należy wykonać jedną z następujących czynności:
  - W panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) w oprogramowaniu CFX Manager Dx kliknąć opcję Open Lid (Otwórz pokrywę).
  - Na zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) kliknąć opcję Open Lid (Otwórz pokrywę).
  - Nacisnąć przycisk pokrywy na przedniej części aparatu.
2. Umieścić mikropłytkę, pojedyncze probówki lub probówki w paskach w uszczelnionych pokrywach w bloku.

**Ważne:** Upewnić się, że probówki są całkowicie uszczelnione, aby nie dopuścić do wycieków.

**Wskazówka:** W celu zapewnienia optymalnych wyników należy wkładać próbki o objętości 10–25 µl w przypadku systemu System CFX Dx.

3. W celu zapewnienia dokładnej analizy danych należy upewnić się, że orientacja reakcji w bloku jest dokładnie taka sama, jak orientacja zawartości studzienki na zakładce Plate (Płytki) w oprogramowaniu CFX Manager Dx.

**Wskazówka:** Zawartość płytki można edytować za pomocą oprogramowania CFX Manager Dx przed analizą, w jej trakcie oraz po zakończeniu analizy.

4. Aby zamknąć automatyczną pokrywę, należy wykonać jedną z następujących czynności:
  - Nacisnąć przycisk pokrywy na aparacie.
  - W panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) w oprogramowaniu kliknąć opcję Close Lid (Zamknij pokrywę).
  - Na zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) kliknąć opcję Close Lid (Zamknij pokrywę).

**Ważne:** Upewnić się, że nic nie blokuje pokrywy, gdy trwa jej zamykanie. Istnieje mechanizm bezpieczeństwa, który uniemożliwia zamknięcie pokrywy w przypadku wykrycia przeszkody, przed zamknięciem nie należy niczego umieszczać na drodze pokrywy.

## Materiały eksploatacyjne do PCR: plastiki i odczynniki

Zalecane materiały eksploatacyjne z plastiku do systemu CFX Dx można znaleźć i zamówić na [stronie internetowej Bio-Rad](#). Można przejść na tą stronę z menu Help (Pomoc) > PCR Plastic Consumables Web Site (Strona internetowa z materiałami eksploatacyjnymi do PCR z tworzyw sztucznych) w programie CFX Manager Dx. Dodatkowo warto skorzystać z selektorów [Plastics Selector](#) (Selektor plastików) [Reagents Selector](#) (Selektor odczynników) jako pomocy w łatwym znalezieniu i zamówieniu materiałów z plastiku i odczynników dla konkretnego sprzętu i konkretnych potrzeb w zakresie PCR.

## Wykrywanie podłączonych aparatów

Podczas instalacji instalator oprogramowania Oprogramowanie CFX Manager Dx automatycznie instaluje sterowniki aparatów na komputerze, na którym uruchomione jest oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx. Po uruchomieniu oprogramowanie CFX Manager Dx wykrywa aparaty.

**Ważne:** Przed zainstalowaniem oprogramowania należy odłączyć termocykler C1000 Dx od komputera CFX Manager Dx. Podczas instalacji oprogramowania nie trzeba wyłączać termocyklera.

### Aby wykryć podłączone aparaty

1. Jeśli ta czynność nie została jeszcze wykonana, należy wprowadzić kwadratowy (męski) koniec kabla USB typu B z zestawu do portu USB typu B, który znajduje się na tylnej ścianie podstawy.
2. Drugi koniec kabla (port) należy wprowadzić do portu USB na komputerze CFX Manager Dx.
3. Jeśli termocykler nie jest jeszcze uruchomiony, nacisnąć przełącznik zasilania na tylnej ścianie aparatu, aby go uruchomić.
4. Uruchomić oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx.

Oprogramowanie automatycznie wykryje podłączony aparat i wyświetli jego nazwę w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) w oknie Home (Strona główna).

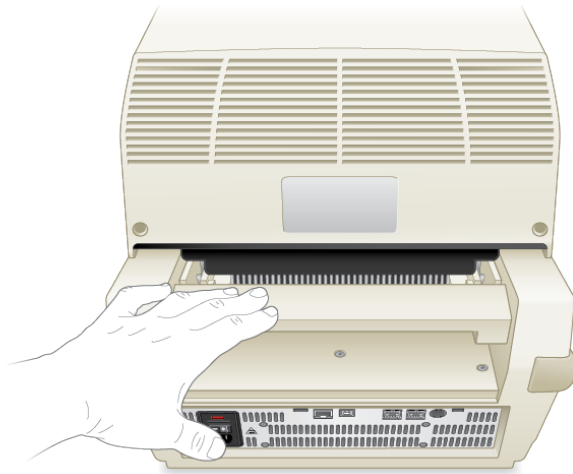
**Uwaga:** Jeśli aparat nie jest widoczny w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty), wówczas należy sprawdzić, czy kabel USB jest poprawnie podłączony. Aby ponownie zainstalować sterowniki, należy wybrać opcje Tools (Narzędzia) > Reinstall Instrument Drivers (Przeinstaluj sterowniki aparatu) w oknie Home (Strona główna) oprogramowania Oprogramowanie CFX Manager Dx.

## Odłączanie modułu reakcyjnego

**Ważne:** Wyłączyć termocyklerek C1000 Dx przed odłączeniem modułu reakcyjnego (zob. rozdział [Wyłączanie termocyklera C1000 Dx na stronie 38](#)). Bezpośrednio po wykonaniu protokołu lub inkubacji żeberka chłodzące wewnątrz modułu reakcyjnego mogą być gorące. Przed odłączeniem modułu reakcyjnego upewnić się, że żeberka są chłodne.

### Odłączanie optycznego modułu reakcyjnego od podstawy termocyklera

1. Z tyłu podstawy termocyklera popchnąć belką blokującą w dół aż do jej odblokowania i zwolnić optyczny moduł reakcyjny.



2. Ostrożnie podnieść optyczny moduł reakcyjny z wnęki za pomocą wgłębionych uchwytów po obu jego stronach.
3. Ustawić optyczny moduł reakcyjny na czystej, płaskiej powierzchni, gdzie nie będzie mógł zostać uderzony, zarysowany czy upuszczony.

## Wyłączanie termocyklera C1000 Dx

### Aby wyłączyć termocyklerek:

1. Po analizie nacisnąć przycisk otwierania pokrywy w przedniej części optycznego modułu reakcyjnego CFX, aby uzyskać dostęp do próbek załadowanych do bloku.
2. Wyjąć próbki z bloku i nacisnąć przycisk zamykania pokrywy, aby zamknąć pokrywę.
3. Nacisnąć przełącznik zasilania na panelu tylnym termocyklera C1000 Dx, aby wyłączyć zasilanie systemu.



## Rozdział 3 Instalacja oprogramowania CFX Manager Dx

W tym rozdziale objaśniono sposób instalowania oprogramowania CFX Manager™ Dx.

Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx jest wymagane w celu analizowania danych analiz PCR w czasie rzeczywistym z systemów CFX96™ Dx i CFX96 Deep Well Dx. Można też wykorzystać to oprogramowanie do kontrolowania tych systemów w trybie sterowanym programowo.

Informacje na temat instalowania termocyklera i optycznego modułu reakcyjnego System CFX Dx zawiera sekcja [Konfigurowanie termocyklera C1000 Dx na stronie 25](#).

## Wymagania systemowe

**Tabela 8** przedstawia minimalne i zalecane wymagania systemowe dla komputera, na którym uruchomione jest oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx (ten komputer jest określany jako „komputer CFX Manager Dx”).

**Tabela 8. Wymagania dotyczące komputera, na którym działa oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx**

| System                        | Minimum                        | Zalecane  |
|-------------------------------|--------------------------------|---|
| System operacyjny             | Microsoft Windows 7 SP1 Pro    | Dowolny z następujących: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Microsoft Windows 7 SP2 Pro (32- i 64-bitowy)</li> <li>■ Microsoft Windows 10 Pro (tylko 64-bitowy)</li> <li>■ Microsoft Windows 10 Enterprise (tylko 64-bitowy)</li> </ul> |
| Porty                         | 2 szybkie porty USB 2.0        | 2 szybkie porty USB 2.0   |
| Ilość miejsca na dysku        | 128 GB                         | 128 GB  |
| Szybkość procesora            | 2,4 GHz, dwurdzeniowy          | 2,4 GHz, czterordzeniowy  |
| Pamięć RAM                    | 4 GB pamięci RAM               | 8 GB pamięci RAM  |
| Rozdzielczość ekranu          | 1024 x 768 z trybem True Color | 1280 x 1024 z trybem True Color   |
| Program do odczytu plików PDF |                                | Adobe PDF Reader lub Windows PDF Reader z jednego z obsługiwanych pakietów Microsoft Office: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 2007</li> <li>■ 2010</li> <li>■ 2013</li> </ul>   |

**Ważne:** W systemach Microsoft Windows 10 Pro i Enterprise należy wyłączyć mechanizm Secure Boot.

## Instalacja oprogramowania CFX Manager Dx

**Ważne:** Przed instalacją lub aktualizacją oprogramowania koniecznie odłączyć od komputera CFX Manager Dx wszelkie podłączone aparaty. Podczas instalacji oprogramowania nie trzeba wyłączać termocyklera. Upewnić się, że wszystkie analizy próbek są zapisane i że nie są uruchomione żadne eksperymenty.

**Uwaga:** Jeśli Oprogramowanie CFX Manager Dx jest instalowane w systemie Windows 10, przed rozpoczęciem procedury instalowania upewnić się, że wyłączona jest opcja Bezpieczny rozruch.

### Jak zainstalować Oprogramowanie CFX Manager Dx

1. W razie konieczności odłączyć od komputera wszelkie podłączone aparaty.  
Zlokalizować i odłączyć kabel USB aparatu od komputera CFX Manager Dx. Końcówka wprowadzona do aparatu może pozostać w gnieździe.
2. Zalogować się do komputera CFX Manager Dx z uprawnieniami administratora.
3. Włożyć płytę CD z oprogramowaniem CFX Manager Dx do napędu CD w komputerze.
4. Automatycznie powinna się wyświetlić strona startowa programu. Dwukrotnie kliknąć Install Software (Zainstaluj oprogramowanie) na stronie startowej programu.

**Uwaga:** Jeśli strona startowa nie jest automatycznie wyświetlana, przejść na płytę CD i otworzyć folder CFX\_Manager. Następnie dwukrotnie kliknąć setup.exe, aby uruchomić kreator instalacji oprogramowania.

**Wskazówka:** W kreatorze instalacji kliknąć przycisk Documentation (Dokumentacja), aby przejść do kopii informacji o wersji, instrukcji obsługi aparatów i innych dokumentów z możliwością przeszukiwania.

5. Postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie w celu zakończenia instalacji. Po zakończeniu na pulpicie komputera pojawi się ikona programu menedżera CFX.
6. Po zakończeniu instalacji można bezpiecznie wysunąć płytę CD.

### Wykrywanie podłączonych aparatów

Podczas instalacji instalator oprogramowania CFX Manager Dx automatycznie instaluje sterowniki aparatów na komputerze CFX Manager Dx. Po uruchomieniu oprogramowanie CFX Manager Dx wykrywa aparaty.

### Aby wykryć podłączone aparaty

1. Jeśli ta czynność nie została jeszcze wykonana, należy wprowadzić kwadratowy (męski) koniec kabla USB typu B z zestawu do portu USB typu B, który znajduje się na tylnej ścianie podstawy aparatu.
2. Drugi koniec kabla (port) należy wprowadzić do portu USB na komputerze CFX Manager Dx.
3. Jeśli aparat nie jest jeszcze uruchomiony, nacisnąć przełącznik zasilania na tylnej ścianie aparatu, aby go uruchomić.
4. Uruchomić oprogramowanie CFX Manager Dx.

Oprogramowanie automatycznie wykryje podłączony aparat i wyświetli jego nazwę w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) w oknie Home (Strona główna).

**Uwaga:** Jeśli aparat nie jest widoczny w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty), wówczas należy sprawdzić, czy kabel USB jest poprawnie podłączony. Aby ponownie zainstalować sterowniki, w oknie Home (Strona główna) oprogramowania CFX Manager Dx należy wybrać opcje Tools (Narzędzia) > Reinstall Instrument Drivers (Przeinstaluj sterowniki aparatu).

## Pliki w oprogramowaniu

W [Tabela 9](#) wyszczególniono typy plików, z jakich korzysta Oprogramowanie CFX Manager Dx.

**Tabela 9. Typy plików, z jakich korzysta Oprogramowanie CFX Manager Dx**

| Typ pliku         | Rozszerzenie | Szczegóły   |
|-------------------|--------------|---|
| Pliku protokołu   | .prcl        | Zawiera szczegóły konfiguracji protokołu potrzebne do wykonania analizy PCR   |
| Pliku płytki      | .pltd        | Zawiera szczegóły konfiguracji płytki potrzebne do wykonania analizy PCR  |
| Dane              | .pcrd        | Zawiera wyniki eksperymentu i analizy PCR   |
| Analiza PrimePCR™ | .csv         | Zawiera protokół i układ płytki na potrzeby płytek PrimePCR   |
| Badanie genów     | .mgxd        | Zawiera wyniki wielu analiz PCR oraz analiz ekspresji genu  |
| LIMS              | .plrn        | Zawiera konfigurację płytki i informacje o protokole wymagane do przeprowadzenia analizy próbek kompatybilnej z systemem LIMS |

## Zalecane środki zapewnienia cyberbezpieczeństwa

Firma Bio-Rad zaleca współpracę z działem IT klienta celem wdrożenia środków zapewniających cyberbezpieczeństwo dla komputera, który będzie używany z systemem CFX96 Dx. Na przykład:

- Należy zainstalować i skonfigurować odpowiednie aplikacje antywirusowe i zapory.  
**Ważne:** Należy skonfigurować skanowanie pod kątem wirusów, aby odbywało się poza godzinami pracy lub w czasie, gdy aparat nie jest aktywnie używany. Jeśli skanowanie pod kątem wirusów zostanie zainicjowane w czasie, gdy oprogramowanie CFX Manager Dx przeprowadza eksperyment, może dojść do anulowania analizy i utraty danych.
- W oprogramowaniu Oprogramowanie CFX Manager Dx nie obowiązuje limit czasu braku aktywności użytkownika dla sesji. Zalecane jest zaimplementowanie zabezpieczeń systemu Windows albo rozwiązań innych firm chroniących przed dostępem niepowołanych użytkowników (na przykład poprzez uruchomienie wygaszacza ekranu, którego wyłączenie będzie możliwe po zalogowaniu się).
- Zabezpieczenia dotyczące nośników wymiennych:
  - W celu ochrony danych zapisanych na urządzeniach USB należy stosować hasła i szyfrowanie.
  - Dla wszystkich nośników wymiennych należy wyłączyć opcje automatycznego uruchamiania i automatycznego odtwarzania.
  - Należy włączyć ustawienie, które spowoduje skanowanie dysku USB każdorazowo po podłączeniu takiego dysku.
- Aby zapewnić możliwość przywracania danych, należy zastosować rozwiązanie do tworzenia kopii zapasowych.



## Rozdział 4 Przestrzeń robocza

Oprogramowanie CFX Manager™ Dx zapewnia interfejs do konfigurowania płytek, opracowywania protokołów PCR, uruchamiania ich w aparatach CFX Dx oraz analizowania danych z analiz PCR.

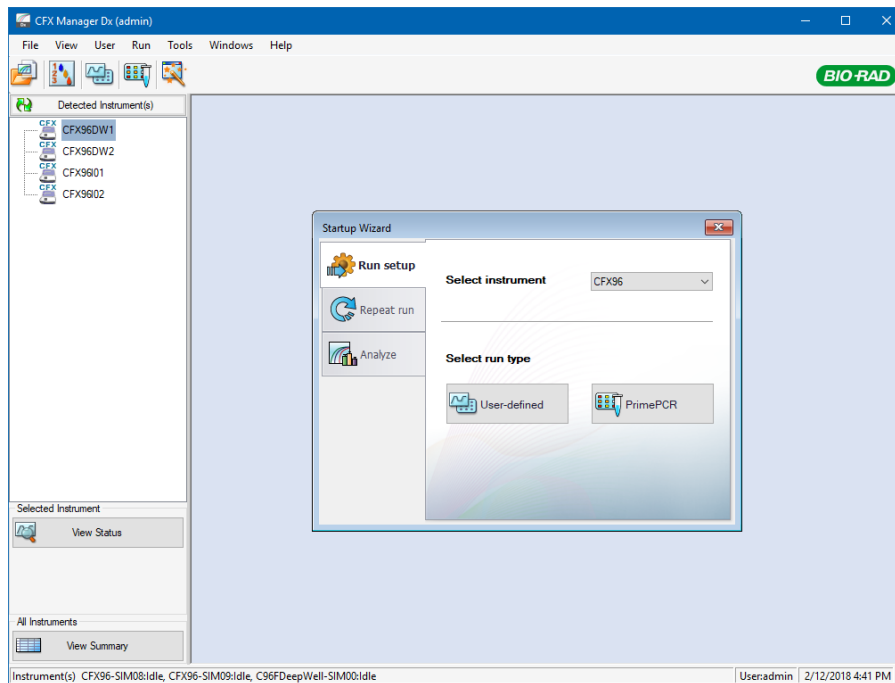
Oprogramowanie CFX Manager Dx zawiera pięć głównych przestrzeni roboczych:

- okno Home (Strona główna),
- kreator Startup Wizard (Kreator startowy),
- okno Protocol Editor (Edytor protokołu),
- okno Plate Editor (Edytor płytki),
- okno Data Analysis (Analiza danych).

W tym rozdziale pokazano i pokrótce opisano każdą z tych przestrzeni roboczych.

## Okno Home (Strona główna)

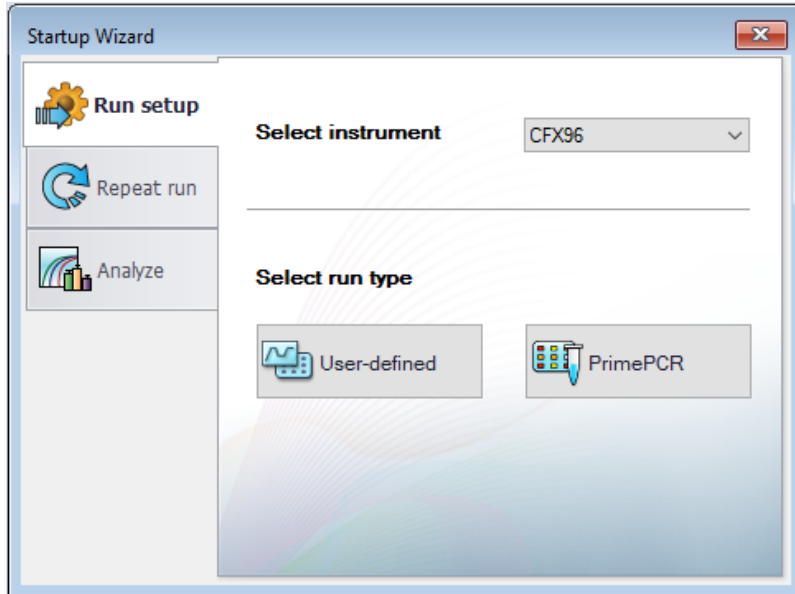
Oprogramowanie CFX Manager Dx otwiera okno Home (Strona główna) i wyświetla okno Startup Wizard (Kreator startowy), w którym można skonfigurować eksperyment, wykonać lub powtórzyć analizę próbek oraz wykonać analizę danych dla istniejącej analizy próbek. W oknie Home (Strona główna) można też przeglądać dzienniki aplikacji i aparatów, tworzyć użytkowników i zarządzać nimi oraz przechodzić do wielu przydatnych narzędzi. Więcej informacji zamieszczono w [Rozdział 5, Okno Home \(Strona główna\)](#).





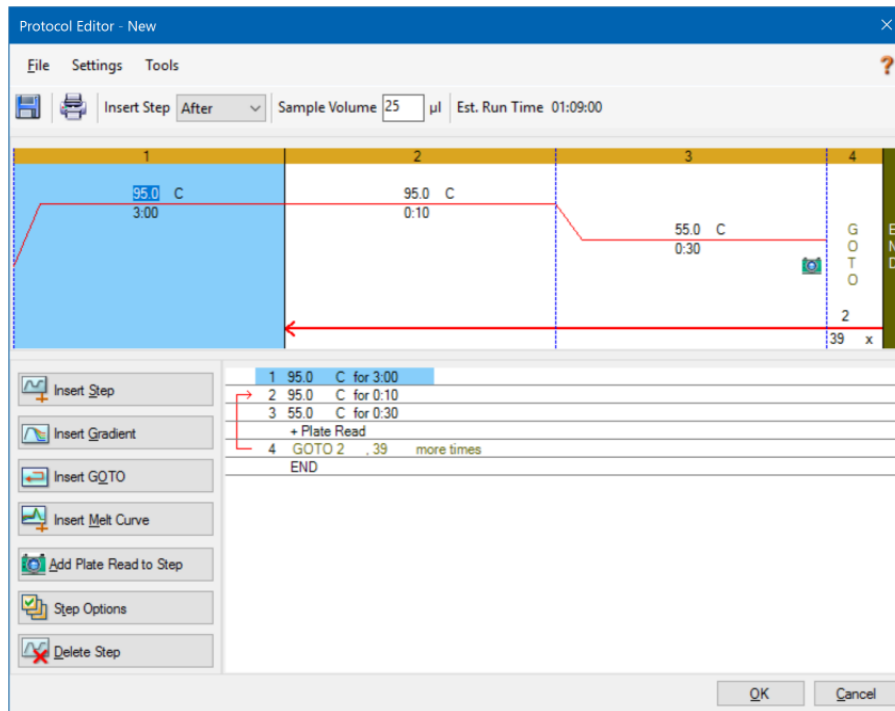
## kreator Startup Wizard (Kreator startowy),

Za pomocą kreator Startup Wizard (Kreator startowy) można szybko skonfigurować i uruchomić eksperymenty zdefiniowane przez użytkownika albo wybrać i uruchomić eksperyment PrimePCR™. Za pomocą tego kreatora można również powtórzyć analizę lub przeanalizować dane z analizy.



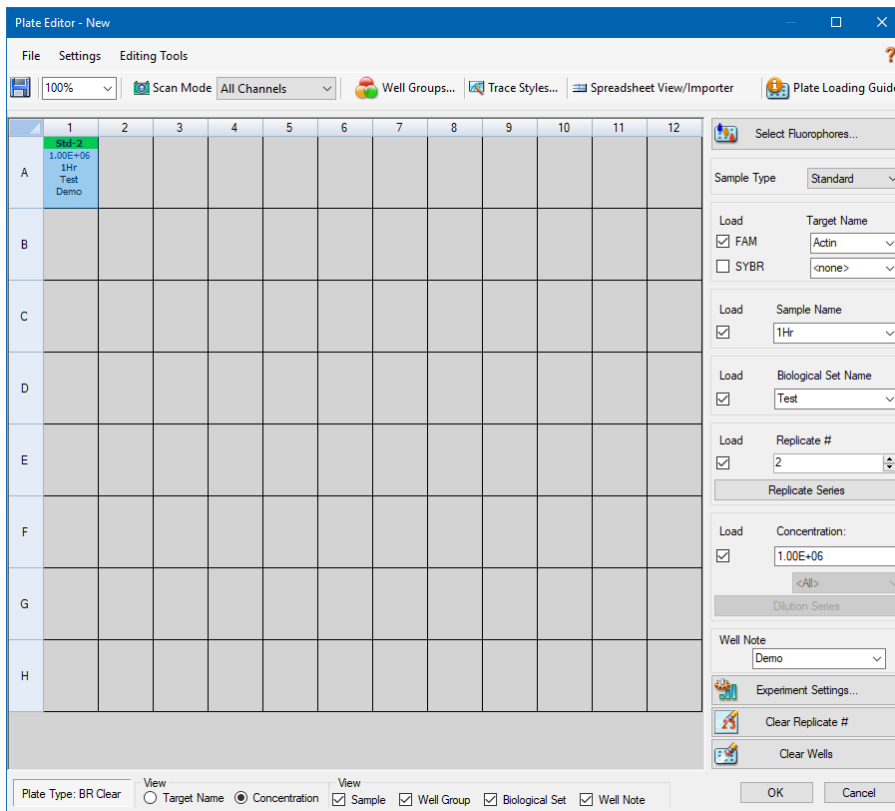
## Okno Protocol Editor (Edytor protokołu)

W oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) można tworzyć, otwierać, przeglądać i edytować protokół. Można też zmodyfikować temperaturę pokrywy dla otwartego protokołu. Funkcja Protocol Editor (Edytor protokołu) jest szczegółowo opisana w [Rozdział 6, Tworzenie protokołów](#).



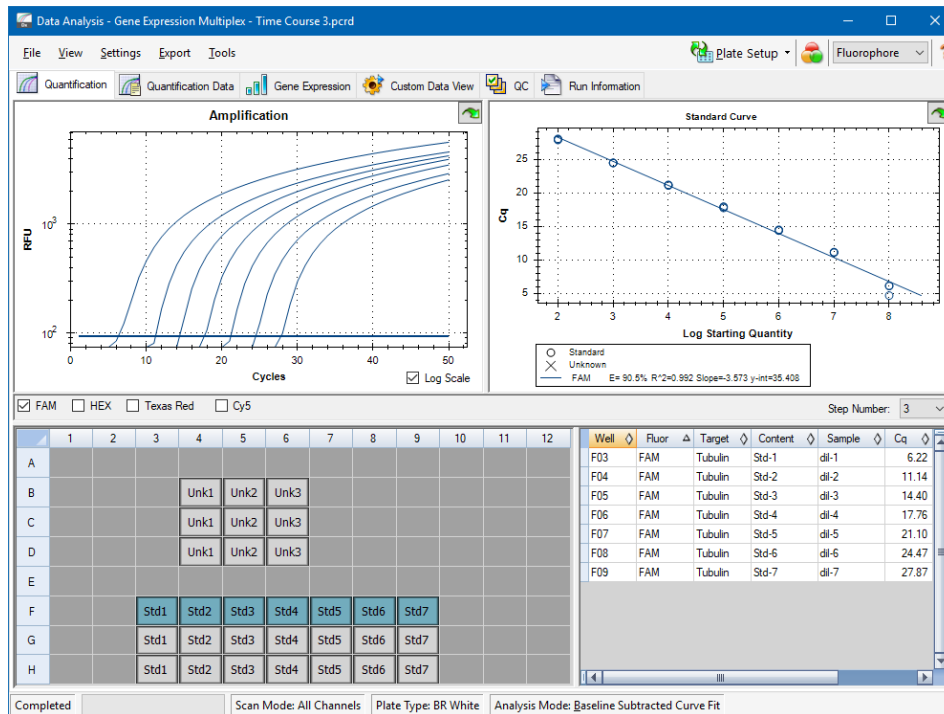
## Okno Plate Editor (Edytor płytki)

W oknie Plate Editor (Edytor płytki) można tworzyć płytki, a także otwierać je, przeglądać i edytować. Funkcja Plate Editor (Edytor płytki) jest szczegółowo opisana w [Rozdział 7, Przygotowywanie płytek](#).



## Okno Data Analysis (Analiza danych)

W oknie Data Analysis (Analiza danych) można wyświetlać i porównywać dane analiz, wykonywać analizy statystyczne, eksportować dane oraz tworzyć raporty gotowe do publikacji. Funkcja Data Analysis (Analiza danych) jest szczegółowo opisana w [Rozdział 9, Przegląd informacji o analizie danych](#). Zob. również [Rozdział 10, Szczegóły okna Data Analysis \(Analiza danych\)](#).



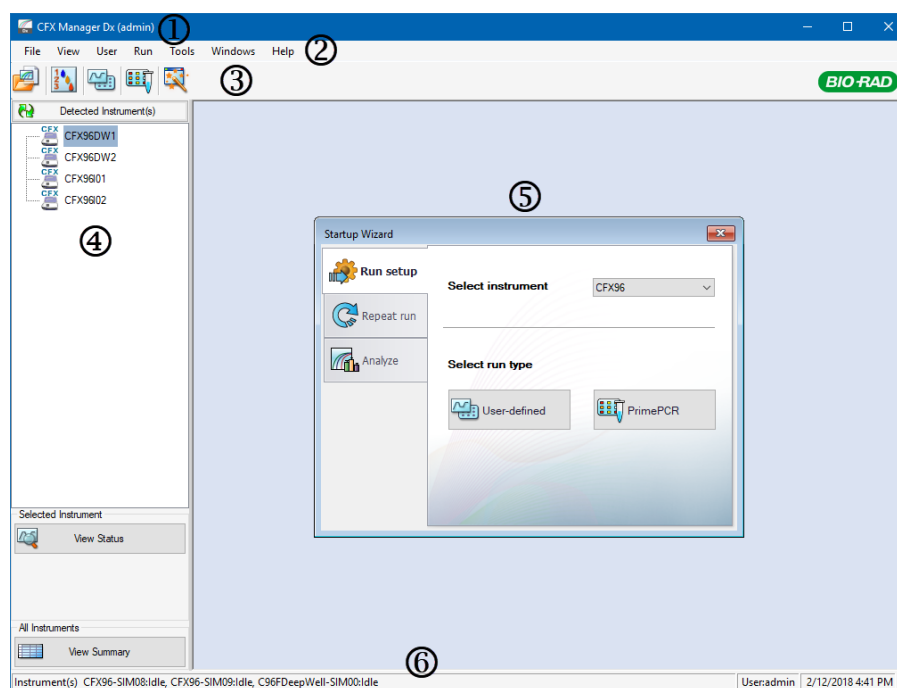
## Rozdział 5 Okno Home (Strona główna)

Oprogramowanie CFX Manager™ Dx zapewnia interfejs do opracowywania protokołów PCR, uruchamiania ich w systemach CFX Dx oraz obróbki danych z analiz PCR.

Niniejszy rozdział zawiera wstęp do oprogramowania Oprogramowanie CFX Manager Dx oraz opisuje funkcje dostępne z okna Home (Strona główna).

## Okno Home (Strona główna)

CFX Manager Dx otwiera okno Home (Strona główna) i wyświetla okno Startup Wizard (Kreator startowy), w którym można skonfigurować analizę próbek, wykonać ją lub powtórzyć oraz wykonać analizę danych dla istniejącej analizy próbek. W oknie Home (Strona główna) można też przeglądać dzienniki aplikacji i aparatów, tworzyć użytkowników i zarządzać nimi oraz przechodzić do wielu przydatnych narzędzi.



### LEGENDA

1. Na pasku tytułu oprogramowania wyświetlana jest nazwa oprogramowania oraz zalogowanego użytkownika.
2. Pasek menu zapewnia szybki dostęp do poleceń menu File (Plik), View (Widok), Users (Użytkownicy), Run (Analiza próbek), Tools (Narzędzia), Window (Okno) i Help (Pomoc).
3. Polecenia na pasku narzędzi zapewniają szybki dostęp do opcji menu.
4. W lewym panelu wyświetlane są aparaty podłączone do komputera CFX Manager Dx oraz przyciski, za pomocą których można obsługiwać pokrywę i przeglądać stan aparatów.

5. W panelu głównym wyświetlane jest okno robocze. Domyślnym oknem roboczym na ekranie Home (Strona główna) jest kreator Startup Wizard (Kreator startowy).
6. Na pasku stanu wyświetlane są nazwy podłączonych aparatów oraz zalogowanego użytkownika.

## Polecenia menu File (Plik)

**New** (Nowy) — otwarcie okna dialogowego, w którym można utworzyć nowy protokół, płytkę lub badanie genów.

**Open** (Otwórz) — otwarcie okna dialogowego, w którym można przejść do istniejącego protokołu, płytki, pliku danych, badania genów, pliku LIMS lub pliku analizy PrimePCR™ oraz otworzyć taki plik.

**Recent Data Files** (Ostatnie pliki danych) — wyświetlanie listy ostatnio otwieranych plików PCR.

**Repeat a Run** (Powtórz analizę próbek) — otwarcie Eksploratora Windows w miejscu zapisanych plików PCR, gdzie można znaleźć analizę próbek do powtórzenia.

**Exit** (Wyjście) — zamknięcie oprogramowania CFX Manager Dx.

## Polecenia menu View (Widok)

**Application Log** (Dziennik aplikacji) — umożliwia wyświetlenie dziennika użycia oprogramowania począwszy od dnia instalacji do dnia bieżącego.

**Run Reports** (Raporty z analiz próbek) — służy do wyświetlania listy raportów dotyczących analiz.

**Startup Wizard** (Kreator startowy) — umożliwia wyświetlenie kreatora Startup Wizard (Kreator startowy) w oknie głównym.

**Run Setup** (Konfiguracja analizy próbek) — umożliwia wyświetlenie okna Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) w panelu głównym.

**Instrument Summary** (Podsumowanie aparatu) — umożliwia wyświetlenie okna Instrument Summary (Podsumowanie aparatu) w panelu głównym.

**Detected Instruments** (Wykryte aparaty) — umożliwia naprzemienne włączanie i wyłączenie wyświetlania podłączonych aparatów w lewym panelu. Domyślnie w oprogramowaniu podłączone aparaty są wyświetlane w lewym panelu.

**Toolbar** (Pasek narzędzi) — umożliwia naprzemienne włączanie i wyłączenie wyświetlania paska narzędzi u góry ekranu. Domyślnie oprogramowanie wyświetla ten pasek narzędzi.

**Status Bar** (Pasek stanu) — umożliwia naprzemienne włączanie i wyłączenie wyświetlania paska stanu u dołu ekranu. Domyślnie oprogramowanie wyświetla ten pasek stanu.

**Show (Pokaż)** — umożliwia otwarcie okna dialogowego, z którego można

- Wyświetlać lub blokować dziennik stanu.
- Otwierać i wyświetlać folder danych CFX Manager Dx.
- Otwierać i wyświetlać folder danych użytkownika.
- Otwierać i wyświetlać folder pliku systemu LIMS.
- Otwierać i wyświetlać folder PrimePCR.
- Wyświetlać historię analiz.
- Wyświetlać właściwości wszystkich podłączonych aparatów.

## Polecenia menu User (Użytkownik)

**Select User** (Wybierz użytkownika) — otwarcie ekranu Login (Logowanie), na którym można wybrać użytkownika z listy rozwijanej User Name (Nazwa użytkownika) i zalogować się do aplikacji.

**Change Password** (Zmień hasło) — otwarcie okna dialogowego Change Password (Zmień hasło), w którym użytkownicy mogą zmienić swoje hasło, z którego korzysta Oprogramowanie CFX Manager Dx.

**User Preferences** (Preferencje użytkownika) — otwarcie okna dialogowego User Preferences (Preferencje użytkownika), w którym użytkownicy mogą zmieniać domyślne ustawienia następujących funkcji:

- wysyłanie i otrzymywanie powiadomień pocztą e-mail po zakończeniu analizy próbek,
- wysyłanie plików danych,
- tworzenie protokołów za pomocą opcji Protocol Editor (Edytor protokołu) i Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu),
- tworzenie płytek,
- analizowanie danych,
- przeprowadzanie analizy ekspresji genu,
- określanie jakości danych,
- eksportowanie danych aparatu CFX Dx.

**User Administration** (Administrowanie użytkownikami) — otwarcie okna dialogowego User Administration (Administrowanie użytkownikami), w którym administratorzy mogą tworzyć użytkowników, modyfikować uprawnienia przypisane do ról i przypisywać role użytkownikom.



**Bio-Rad Service Login** (Logowanie serwisowe) — wyłącznie dla personelu działu wsparcia technicznego firmy Bio-Rad. Nie wybierać tego polecenia.

## Polecenia menu Run (Analiza próbek)

**User-defined Run** (Analiza próbek definiowana przez użytkownika) — otwarcie okna Run Setup (Konfiguracja analizy próbek), w którym można skonfigurować protokół i płytkę definiowane przez użytkownika, a następnie uruchomić eksperyment PCR w wybranych aparatach.

**PrimePCR Run** (Analiza PrimePCR) — otwarcie zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek) w oknie Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z domyślnym protokołem i układem płytki PrimePCR załadowanymi w oparciu o wybrany aparat.

**End-Point Only Run** (Analiza wyłącznie punktu końcowego) — otwarcie zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek) w oknie Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z domyślnym protokołem i układem płytki dla punktu końcowego załadowanymi w oparciu o wybrany aparat.

**Qualification Run** (Analiza kwalifikacyjna) — otwarcie zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek) w oknie Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z domyślnym protokołem kwalifikacji Bio-Rad i układem płytki załadowanym na potrzeby wybranego aparatu.

## Polecenia menu Tools (Narzędzia)

**Master Mix Calculator** (Kalkulator Master Mix) — służy do otwierania kalkulatora mieszanki głównej, w którym można utworzyć mieszaninę reakcyjną oraz wydrukować obliczenia.

**Protocol AutoWriter** (Automatyczny kreator protokołu) — służy do otwierania okna dialogowego Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu), w którym można łatwo utworzyć nowy protokół.

**T<sub>a</sub> Calculator** (Kalkulator T<sub>a</sub>) — służy do otwierania kalkulatora T<sub>a</sub>, w którym można łatwo obliczyć temperaturę annealingu primerów.

**Dye Calibration Wizard** (Kreator kalibracji barwnika) — służy do otwierania kreatora Dye Calibration Wizard (Kreator kalibracji barwnika), w którym można skalibrować aparat dla nowego fluoroforu.

**Reinstall Instrument Drivers** (Przeinstaluj sterowniki aparatu) — umożliwia ponowne zainstalowanie sterowników, które kontrolują komunikację z systemami PCR w czasie rzeczywistym firmy Bio-Rad.

**Zip Data and Log Files** (Pakuj dane i pliki dzienników) — umożliwia otwarcie okna dialogowego, w którym można wybrać pliki do spakowania i zapisania w pliku zip, który następnie można przekazać do archiwizacji albo wysłać pocztą e-mail.

**Batch Analysis** (Analiza wsadowa) — umożliwia otwarcie okna dialogowego Batch Analysis (Analiza wsadowa), w którym można skonfigurować parametry analizowania więcej niż jednego pliku danych jednocześnie.

**Options** (Opcje) — otwiera okno dialogowe, w którym można:

- Konfigurować ustawienia serwera poczty e-mail.
- Konfigurować ustawienia eksportu dla systemu LIMS oraz innych plików danych.

## Polecenia menu Help (Pomoc)

**Wskazówka:** Menu Help (Pomoc) jest dostępne na pasku menu we wszystkich oknach oprogramowania Oprogramowanie CFX Manager Dx.

**Open Operation Manual** (Otwórz instrukcję obsługi) — otwiera PDF z niniejszą instrukcją.

**Gene Expression Gateway Web Site** (Serwis WWW Gene Expression Gateway) — umożliwia otwarcie strony głównej firmy Bio-Rad poświęconej aparatowi System CFX Dx.

**PCR Reagents Web Site** (Serwis internetowy poświęcony odczynnikiem PCR) — umożliwia przejście do serwisu internetowego firmy Bio-Rad poświęconego odczynnikiem PCR, z którego można zamawiać odczynniki PCR, mieszaniny główne, barwniki oraz zestawy.

**PCR Plastic Consumables Web Site** (Serwis internetowy poświęcony materiałom eksploatacyjnym z tworzyw sztucznych do PCR) — umożliwia przejście do serwisu WWW firmy Bio-Rad poświęconego materiałom eksploatacyjnym i elementom z tworzyw sztucznych, z którego można zamawiać płytki PCR, uszczelki płytek, probówki i zatyczki, a także inne akcesoria z tworzyw sztucznych.

**Software Web Site** (Serwis internetowy poświęcony oprogramowaniu) — umożliwia przejście do serwisu internetowego firmy Bio-Rad poświęconego oprogramowaniu do analiz PCR, z którego można zamawiać zaktualizowane wersje oprogramowania Oprogramowanie CFX Manager Dx firmy Bio-Rad.

**About** (Informacje o) — wyświetla informacje o prawach autorskich oraz o wersji oprogramowania CFX Manager Dx.

## Polecenia na pasku narzędzi



— służy do otwierania Eksploratora Windows, w którym można przechodzić do plików danych i otwierać je, a także generować pliki badań.



— służy do otwierania kalkulatora Master Mix Calculator (Kalkulator mieszanki głównej).



— umożliwia otwarcie okna Run Setup (Konfiguracja analizy).



— umożliwia otwarcie okna Run Setup (Konfiguracja analizy) z domyślnym protokołem PrimePCR i układem płytki odpowiednim do wybranego aparatu.

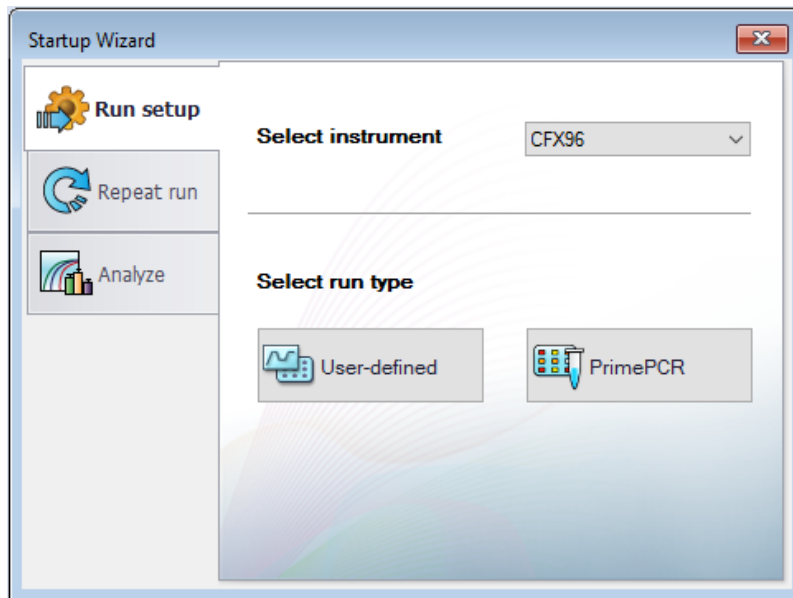


— umożliwia otwarcie kreatora Startup Wizard (Kreator startowy).

## Kreator Startup Wizard (Kreator startowy),

Gdy CFX Manager Dx uruchamia się, w panelu roboczym wyświetlany jest Startup Wizard (Kreator startowy). W oknie Startup Wizard (Kreator startowy) można:

- wybrać aparat z listy wykrytych aparatów i skonfigurować analizę próbek definiowaną przez użytkownika lub analizę PrimePCR;
- otworzyć i powtórzyć analizę próbek;
- otworzyć plik danych, aby przeanalizować wyniki pojedynczej analizy próbek, lub plik badania genów, aby uzyskać wyniki z wielu analiz ekspresji genu.



Te zadania są dokładniej objaśnione w poniższych rozdziałach.

## Pasek stanu

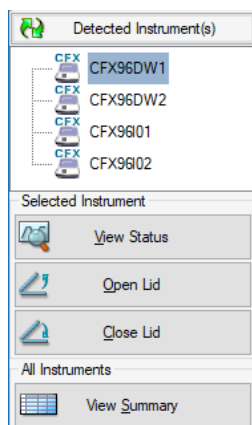
Lewa strona paska stanu u dołu głównego okna oprogramowania przedstawia bieżący status wykrytych aparatów. Po prawej stronie paska stanu wyświetlana jest nazwa bieżącego użytkownika, a także godzina i data.

## Panel Detected Instruments (Wykryte aparaty)

W panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) wyświetlane są poszczególne aparaty podłączone do komputera CFX Manager Dx. Domyślnie każdy aparat jest widoczny jako ikona, a jego numer seryjny jako jego nazwa.

Na przykład poniższa ilustracja przedstawia cztery wykryte aparaty:

- Dwa termocyklery C1000™ z modułami reakcyjnymi CFX96™ Deep Well (CFX96DW1 i CFX96DW2)
- Dwa termocyklery C1000™ z modułami reakcyjnymi CFX96™ (CFX96I01 i CFX96I02)



Z tego panelu można wykonać następujące czynności:

- Wyświetlić właściwości i skalibrowane barwniki dla wybranego aparatu.

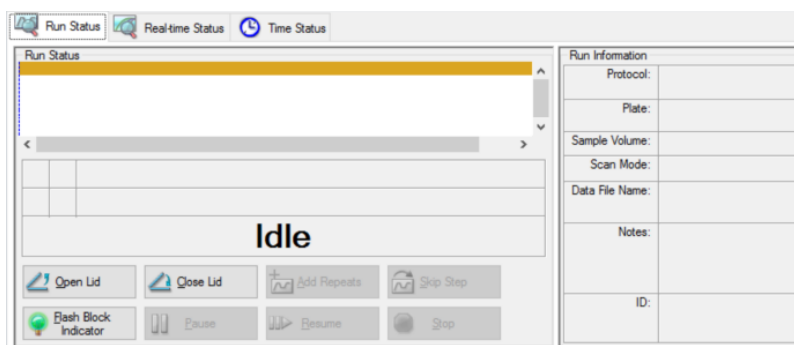
Informacje na temat właściwości aparatu zawiera sekcja [Przeglądanie właściwości aparatu na stronie 63](#).

- Wyświetlić status podłączonego aparatu.
- Otworzyć automatyczną pokrywę w wybranych aparatach.
- Zamknąć automatyczną pokrywę w wybranych aparatach.
- Wyświetlić status wszystkich podłączonych aparatów.

### Aby wyświetlić status podłączonego aparatu

- ▶ W panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) należy wybrać docelowy aparat i wykonać jedną z następujących czynności:
  - Kliknąć opcję View Status (Wyświetl status) w sekcji Selected Instrument (Wybrany aparat).
  - Kliknąć prawym przyciskiem myszy i w menu, które zostanie wyświetlone, wybrać opcję View Status (Wyświetl status).

Pojawi się okno dialogowe Run Details (Szczegóły analizy próbek) z wyświetloną zakładką Run Status (Stan analizy próbek). Status wybranego aparatu będzie widoczny poniżej panelu stanu analizy, na przykład:



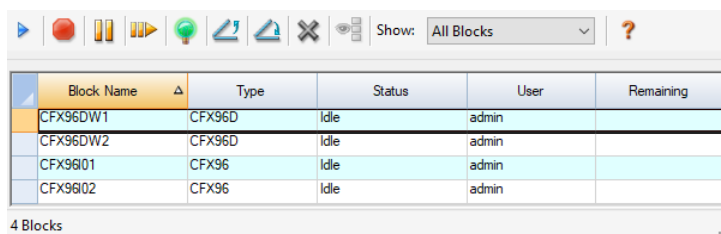
### Aby otworzyć lub zamknąć pokrywę aparatu

- ▶ W panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) należy wybrać docelowy aparat i wykonać jedną z następujących czynności:
  - Kliknąć opcję Open Lid (Otwórz pokrywę) lub Close Lid (Zamknij pokrywę) w sekcji Selected Instrument (Wybrany aparat).
  - Kliknąć prawym przyciskiem myszy i w menu, które zostanie wyświetlone, wybrać odpowiednie działanie.
  - Otworzyć okno dialogowe Run Details (Szczegóły analizy próbek), wybrać zakładkę Run Status (Stan analizy próbek), a następnie kliknąć opcję Open Lid (Otwórz pokrywę) lub Close Lid (Zamknij pokrywę).

**Aby wyświetlić status wszystkich wykrytych aparatów**

- ▶ Wykonać jedną z następujących czynności:
  - W sekcji All Instruments (Wszystkie aparaty) w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) kliknąć opcję View Summary (Podsumowanie widoku).
  - W pasku menu wybrać polecenia View (Widok) > Instrument Summary (Podsumowanie aparatu).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Instrument Summary (Podsumowanie aparatu):



| Block Name | Type   | Status | User  | Remaining |
|------------|--------|--------|-------|-----------|
| CFX96DW1   | CFX96D | Idle   | admin |           |
| CFX96DW2   | CFX96D | Idle   | admin |           |
| CFX96I01   | CFX96  | Idle   | admin |           |
| CFX96I02   | CFX96  | Idle   | admin |           |










4 Blocks

**Wskazówka:** Jeśli system wykryje tylko jeden podłączony aparat, wówczas sekcja All Instruments (Wszystkie aparaty) nie będzie widoczna w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty). Aby wyświetlić podsumowanie jednego aparatu, należy wybrać polecenia View (Widok) > Instrument Summary (Podsumowanie aparatu).

## Elementy sterujące na pasku narzędzi Instrument Summary (Podsumowanie aparatu)

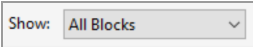
Tabela 10 przedstawia elementy sterujące i funkcje paska narzędzi Instrument Summary (Podsumowanie aparatu).

**Tabela 10. Elementy sterujące na pasku narzędzi Instrument Summary (Podsumowanie aparatu)**

| Przycisk  | Nazwa przycisku                                      | Funkcja  |
|---|--|--|
|    | Create a new Run<br>(Utwórz nową analizę)            | Tworzy analizę w wybranym bloku poprzez otwarcie okna Run Setup (Konfiguracja analizy próbek). |
|    | Stop (Zatrzymaj)                                     | Zatrzymuje bieżącą analizę w wybranych blokach.  |
|    | Pause (Wstrzymaj)                                    | Wstrzymuje bieżącą analizę w wybranych blokach.  |
|  | Resume (Wznów)                                       | Wznawia analizę w wybranych blokach.   |
|  | Flash Block Indicator<br>(Zamigaj wskaźnikiem bloku) | Powoduje mignięcie diody LED na pokrywie wybranych bloków.                                     |
|  | Open Lid (Otwórz pokrywę)                            | Otwiera automatyczną pokrywę wybranych bloków.   |
|  | Close Lid (Zamknij pokrywę)                          | Zamyka automatyczną pokrywę wybranych bloków.  |
|  | Hide Selected Blocks<br>(Ukryj wybrane bloki)        | Ukrywa wybrane bloki na liście Instrument Summary (Podsumowanie aparatu).                      |
|  | Show All Blocks (Pokaż wszystkie bloki)              | Pokazuje wybrane bloki na liście Instrument Summary (Podsumowanie aparatu).                    |

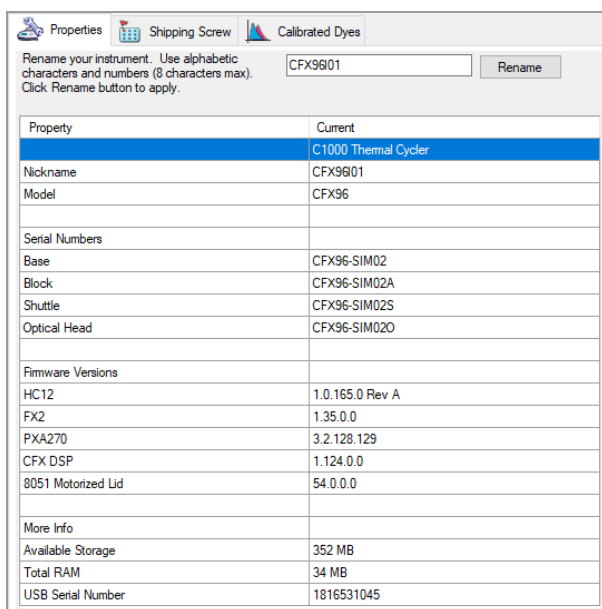


**Tabela 10. Elementy sterujące na pasku narzędzi Instrument Summary (Podsumowanie aparatu), ciąg dalszy**

| Przycisk  | Nazwa przycisku | Funkcja  |
|---|-----------------|--|
|  | Show (Pokaż)    | Należy wybrać bloki, które pojawią się na liście. Należy wybrać jedną z opcji, aby wyświetlić wszystkie wykryte bloki, wszystkie bloki bezczynne, wszystkie bloki wykorzystywane do analizy przez bieżącego użytkownika albo wszystkie bloki, na których trwa analiza. |

## Przeglądanie właściwości aparatu

Za pomocą panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) można przeglądać szczegółowe informacje o wybranym aparacie, w tym jego właściwości, stan śruby transportowej i listę skalibrowanych barwników (fluoroforów).



## Przeglądanie właściwości aparatu

- ▶ W panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) kliknąć prawym przyciskiem myszy docelowy aparat i wybrać opcję Properties (Właściwości) w wyświetlonym wtedy menu.

### Zakładka Properties (Właściwości)

W zakładce Properties (Właściwości) wymienione są szczegóły techniczne wybranego aparatu, w tym jego model, numery seryjne jego podzespołów oraz wersje oprogramowania układowego. Domyślna nazwa aparatu (jego numer seryjny) jest wyświetlana w wielu miejscach, w tym w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) i na pasku nagłówka okna dialogowego Instrument Properties (Właściwości aparatu). Można zmienić nazwę aparatu, aby łatwiej go rozpoznawać.

#### Zmiana nazwy aparatu

- ▶ W zakładce Instrument Properties (Właściwości aparatu) wpisać nazwę w polu Rename (Zmień nazwę) na górze zakładki Properties (Właściwości). Następnie kliknąć Rename (Zmień nazwę).

Nowa nazwa jest wyświetlana w rzędzie Nickname (Nazwa nadana) w zakładce Properties (Właściwości), na pasku nagłówka Instrument Properties (Właściwości aparatu) oraz w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty).

### Zakładka Shipping Screw (Śruba transportowa)

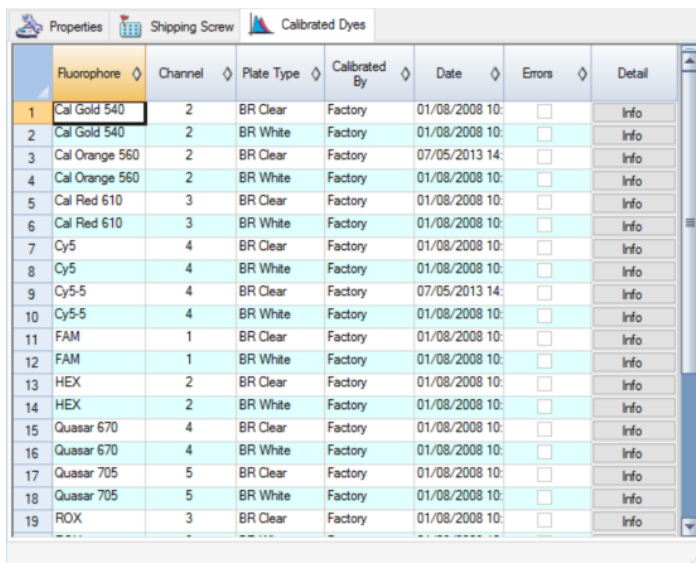
W zakładce Shipping Screw (Śruba transportowa) wyświetlany jest aktualny stan śruby transportowej (Removed (Wyjęta) lub Installed (Zainstalowana)) w wybranym aparacie. Zakładka ta zawiera też instrukcję instalowania lub wyjmowania czerwonej śruby transportowej.

**Wskazówka:** Jeśli oprogramowanie wykryje śrubę transportową, w oknie dialogowym Instrument Properties (Właściwości aparatu) automatycznie wyświetlana jest zakładka Shipping Screw (Śruba transportowa). W celu wyjęcia śruby postępować zgodnie z instrukcjami.

**Uwaga:** Śruba transportowa musi zostać wyjęta przed rozpoczęciem użytkowania aparatu. Więcej informacji zamieszczono w rozdziale [Wyjmowanie śruby transportowej na stronie 33](#).

## Zakładka Calibrated Dyes (Barwniki skalibrowane)

W zakładce Calibrated Dyes (Barwniki skalibrowane) wyświetlane są skalibrowane fluorofory i płytki dla wybranego aparatu.



|    | 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   |

Aby wyświetlić szczegółowe informacje o kalibracji, kliknąć jej przycisk Info w kolumnie Detail (Szczegóły).

## Czynności do wykonania przed rozpoczęciem korzystania z produktu

### Ustawianie preferencji użytkownika

**Wskazówka:** Wykonywanie tych czynności nie jest wymagane w celu korzystania z oprogramowania Oprogramowanie CFX Manager Dx. Tę sekcję można pominąć lub te czynności można wykonać w dowolnym czasie.

W oprogramowaniu CFX Manager Dx można dostosować środowisko robocze. Jeśli administrator utworzył konta użytkowników oprogramowania, wówczas każdy użytkownik może dostosować swoje środowisko robocze. Jeśli administrator nie utworzył kont użytkowników, wówczas zmiany preferencji dotyczą każdego, która zaloguje się do oprogramowania CFX Manager Dx. (Informacje na temat tworzenia kont użytkowników oprogramowania CFX Manager Dx zawiera [Załącznik B, Zarządzanie użytkownikami i rolami w oprogramowaniu CFX Manager Dx](#)).

Na przykład w menu Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika) można wykonać następujące czynności:

- Skonfigurować powiadomienie e-mail z informacją o ukończeniu analizy.
- Zmienić ustawienia domyślne dotyczące
  - Lokalizacji, w której zapisywane są pliki
  - Plików konfiguracji analizy
  - Przedrostka nazw plików
- Skonfigurować parametry domyślne, które będą używane podczas tworzenia nowego protokołu i płytki.
- Skonfigurować domyślne parametry dla analizy danych i ekspresji genów.
- Dostosować domyślne protokoły kontroli jakości.
- Dostosować parametry eksportu danych.

W menu Tools (Narzędzia) można wykonać następujące czynności:

- Utworzyć mieszaninę główną.
- Skalibrować barwniki dla konkretnego aparatu.

**Uwaga:** Kalibracja mieszaniny głównej i barwników są dostępne dla każdego, kto zaloguje się do oprogramowania CFX Manager Dx.

W tym rozdziale szczegółowo objaśniono wykonywanie tych zadań.

## Konfigurowanie powiadomień pocztą e-mail

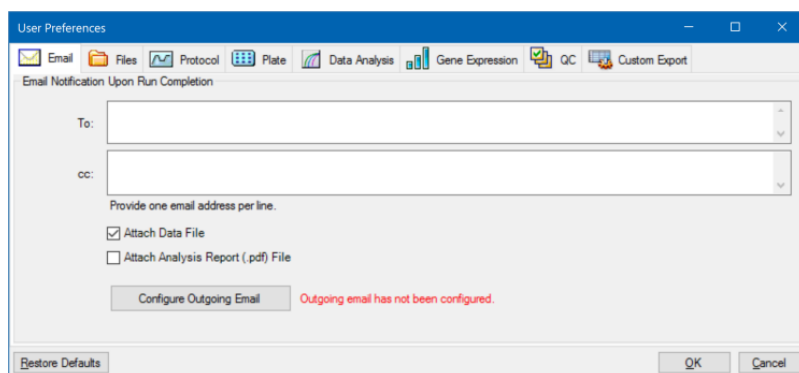
Można podłączyć CFX Manager Dx do serwera poczty wychodzącej, aby wysyłać do użytkowników z listy powiadomienia e-mail o zakończeniu analizy próbek. Można też zdecydować o załączeniu pliku danych i raportu z analizy dla użytkowników z listy. Instrukcję konfiguracji połączenia między oprogramowaniem CFX Manager Dx a serwerem SMTP zamieszczono w rozdziale [Łączenie CFX Manager Dx z serwerem SMTP na stronie 68](#).

**Uwaga:** Możliwość dostępu do funkcji ustawień e-mail przez użytkownika zależy od grupy użytkowników i uprawnień nadanych przez administratora. Szczegóły zarządzania użytkownikami i ich rolami przedstawiono w rozdziale [Zarządzanie użytkownikami na stronie 279](#).

### Ustawienie powiadomień pocztą e-mail

1. Wybrać Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika) z widoczną zakładką Email.



**Uwaga:** Jeśli system wykryje, że nie skonfigurowano właściwego serwera SMTP na potrzeby oprogramowania CFX Manager Dx, zostanie wyświetlona odpowiednia informacja. Kliknąć Configure Outgoing Email (Konfiguruj wychodzącą pocztę e-mail), aby otworzyć okno dialogowe Options (Opcje) i skonfigurować serwer poczty e-mail SMTP. Więcej informacji można znaleźć w rozdziale [Łączenie CFX Manager Dx z serwerem SMTP na stronie 68](#).

2. W polu tekstowym To (Do) wpisać adresy e-mail wszystkich osób, które mają być informowane o zakończeniu analizy próbek. Wszyscy odbiorcy otrzymają wiadomość e-mail po zakończeniu analizy próbek.

**Uwaga:** Każdy adres e-mail musi być wprowadzony w osobnej linii. Po wpisaniu każdego adresu naciśnięć Enter lub Return.

3. (Opcjonalnie) W polu cc (Do wiadomości) wpisać adresy e-mail wszystkich odbiorców, do których ma być wysłana kopia każdego powiadomienia e-mail.
4. (Opcjonalnie) Domyślnie wszyscy odbiorcy otrzymują w załączniku kopię pliku danych. Jeśli kopia pliku danych ma nie być załączana, usunąć zaznaczenie pola wyboru Attach Data File (Załącz plik danych).
5. (Opcjonalnie) Zaznaczyć Attach Analysis Report (Załącz raport z analizy), aby załączyć do wiadomości e-mail plik PDF z raportem z analizy danych.
6. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).

### Edycja adresu e-mail odbiorcy

- ▶ Zmodyfikować adres e-mail zgodnie z potrzebami i kliknąć OK.

### Usunięcie odbiorcy wiadomości e-mail

1. Wybrać odbiorcę wiadomości e-mail i nacisnąć klawisz Delete.
2. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

**Ważne:** Kliknięcie opcji Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) powoduje zresetowanie wszystkich preferencji na wszystkich zakładkach do pierwotnych ustawień fabrycznych. Zachować ostrożność podczas klikania tego przycisku.

### Łączenie CFX Manager Dx z serwerem SMTP

**Ważne:** Niektórzy komercyjni dostawcy usług poczty internetowej (na przykład Yahoo! i Gmail) stosują zwiększone zabezpieczenia poczty e-mail. W przypadku korzystania z takiego konta należy włączyć ustawienie **Allow less secure apps** (Zezwalaj na mniej bezpieczne aplikacje) w ustawieniach konta, aby pozwolić programowi CFX Manager Dx na wysyłanie wiadomości e-mail. Więcej informacji można uzyskać z opisu zabezpieczeń stosowanych przez dostawcę usług poczty internetowej.

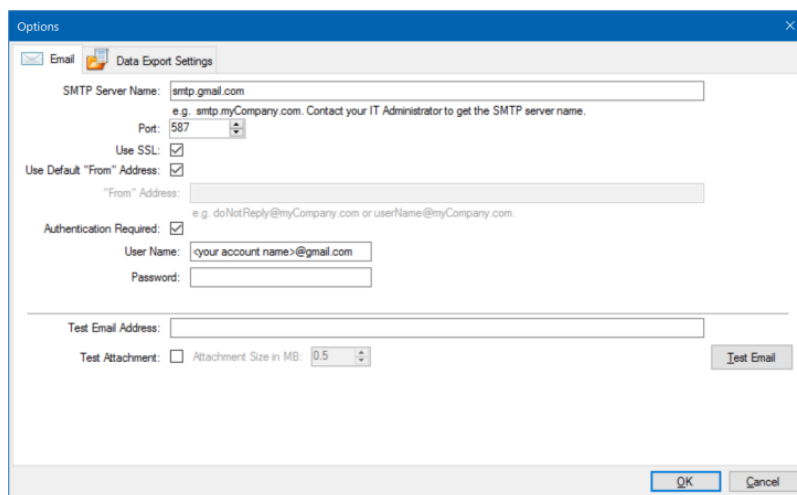
Aby umożliwić programowi CFX Manager Dx wysyłanie powiadomień e-mail, należy nawiązać połączenie z tego programu do serwera poczty e-mail.

### Aby nawiązać połączenie z programu CFX Manager Dx do serwera poczty e-mail

1. Wykonać jedną z następujących czynności:
  - Wybrać opcje User (Użytkownik) > User Preferences (Preferencje użytkownika) i kliknąć opcję Configure Outgoing Email (Konfiguruj wychodzącą pocztę e-mail) na zakładce Email (Poczta e-mail).

- Wybrać Tools (Narzędzia) > Options (Opcje).

Wyświetlone zostanie okno dialogowe Options (Opcje), w którym widoczna będzie zakładka Email (Poczta e-mail).



2. Wprowadzić następujące informacje dotyczące firmy, która jest nabywcą systemu:

- **SMTP Server Name** (Nazwa serwera SMTP) — nazwa serwera poczty wychodzącej w firmie.
- **Port** (Port) — numer portu serwera SMTP. Zwykle jest to 25.
- **Use SSL** (Używaj protokołu SSL) — opcja, która pozwala na stosowanie protokołu Secure Sockets Layer (SSL). Niektóre serwery SMTP wymagają tego ustawienia. Jeśli to ustawienie nie jest w firmie wymagane, wówczas należy usunąć zaznaczenie tego pola wyboru.
- **Use Default "From" Address** (Używaj domyślnego adresu „Od”) — nazwa serwera poczty e-mail w firmie. Niektóre serwery SMTP wymagają, aby wszystkie wysłane wiadomości e-mail miały adres „Od” odpowiadający konkretnej domenie, na przykład nazwa@TwojaFirma.com. Jeżeli tak jest, należy usunąć zaznaczenie tego pola wyboru i podać poprawny adres e-mail.
- **Authentication Required** (Wymagane uwierzytelnianie) — jeśli w konkretnej placówce wymagane jest uwierzytelnianie konta, wówczas należy upewnić się, że to pole wyboru jest zaznaczone.
- **User Name** (Nazwa użytkownika) — nazwa uwierzytelnionego konta. Ta nazwa jest wymagana tylko wtedy, gdy zaznaczone jest pole Authentication Required (Wymagane uwierzytelnianie).
- **Password** (Hasło) — hasło dla uwierzytelnionego konta. Ta nazwa jest wymagana tylko wtedy, gdy zaznaczone jest pole Authentication Required (Wymagane uwierzytelnianie).

3. Aby sprawdzić, czy ustawienia serwera SMTP są poprawne, należy wprowadzić ważny adres e-mail do pola tekstowego Test Email Address (Testuj adres e-mail) i kliknąć opcję Test Email (Testowa wiadomość e-mail).

**Uwaga:** Niektóre serwery SMTP nie zezwalają na przesyłanie załączników, a inne pozwalają na załączniki, których rozmiar nie przekracza konkretnej wartości. Jeśli planowane jest wysyłanie pocztą e-mail plików danych lub raportów za pomocą programu CFX Manager Dx, wówczas należy wybrać opcję Test Attachment (Testuj załącznik) i ustawić dla opcji Attachment Size in MB (Rozmiar załącznika w MB) co najmniej 5 megabajtów (MB).

4. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

### Zmiana domyślnych ustawień pliku

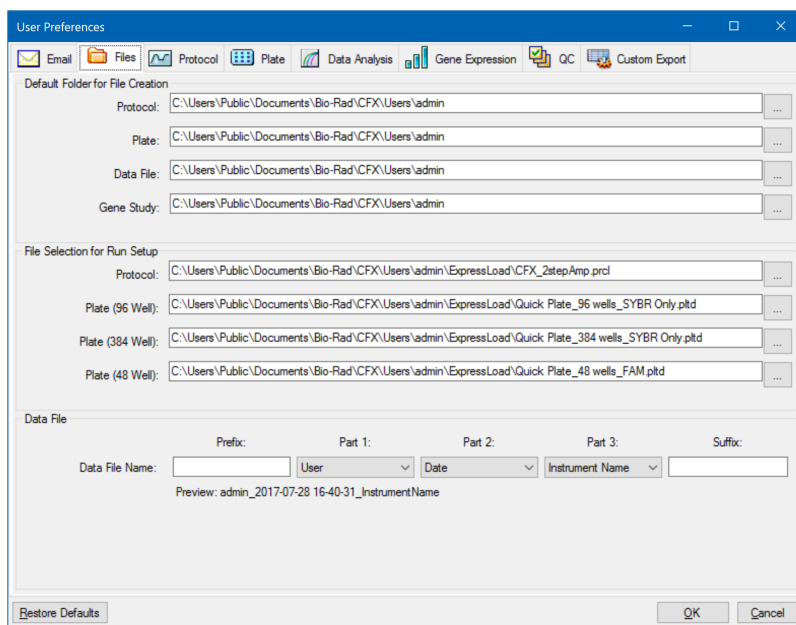
Na zakładce Files (Pliki) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) można zmienić:

- Domyślną lokalizację, w której zapisywane będą pliki oprogramowania CFX Manager Dx
- Domyślne pliki konfiguracji analizy
- Domyślne parametry nazewnictwa plików

### Aby zmienić domyślne ustawienia plików

1. Wybrać Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).
2. W oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) wybrać zakładkę Files (Pliki).





3. W sekcji Default Folder for File Creation (Domyślny folder na tworzone pliki) należy przejść do folderu i wybrać folder domyślny, w którym zapisywane będą nowe pliki. Można wybrać inną lokalizację dla każdego typu pliku:
  - Pliku protokołu
  - Pliku płytki
  - Pliku danych
  - Badanie genów
4. W sekcji File Selection for Run Setup (Wybór pliku dla konfiguracji analizy) przejść do protokołu i wybrać domyślny protokół oraz pliki płytek, które będą wyświetlane po otwarciu okna Experiment Setup (Konfiguracja eksperymentu).
5. W sekcji Data File (Plik danych) zdefiniować prefiks lub sufix dla plików danych. Dla dowolnej części należy wybrać nową wartość z odpowiedniej listy rozwijanej. W polach tekstowych Prefix (Prefiks) i Suffix (Sufiks) można również podać niestandardową wartość prefiksu i sufiksu.

Poniżej pól wyboru w oprogramowaniu CFX Manager Dx pojawi się podgląd nazwy pliku.
6. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

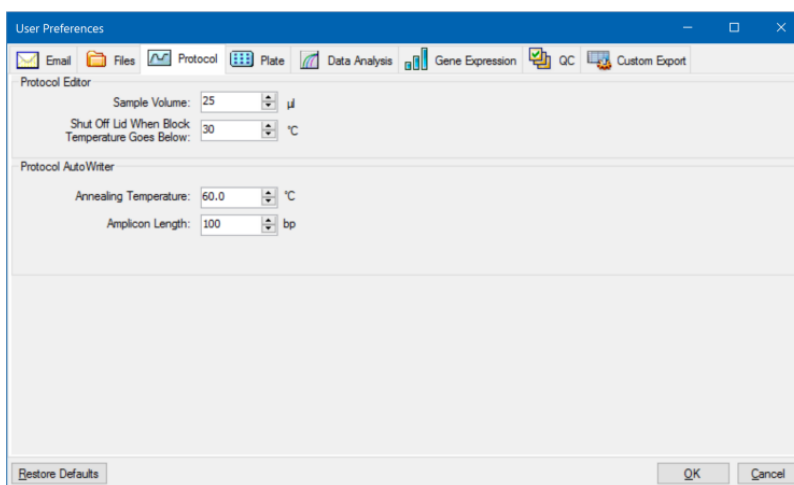
**Ważne:** Kliknięcie opcji Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) powoduje zresetowanie wszystkich preferencji na

wszystkich zakładkach do pierwotnych ustawień fabrycznych. Zachować ostrożność podczas klikania tego przycisku.

## Ustawianie domyślnych parametrów protokołu

### Ustawienie domyślnych parametrów protokołu na potrzeby funkcji Protocol Editor (Edytor protokołu) i Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu)

1. Wybrać Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).
2. W oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) wybrać zakładkę Protocol (Protokół).



3. W części Protocol Editor (Edytor protokołu) podać wartości dla poniższych ustawień, które są wyświetlane w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu):
  - **Sample volume** (Objętość próbki) — objętość każdej próbki w studzienkach (w µl).
  - **Lid Shutoff temperature** (Temperatura odcięcia dla pokrywy) — temperatura (w °C), przy której element grzejny pokrywy wyłącza się podczas analizy próbek.
4. W części Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) podać wartości dla poniższych ustawień, które są wyświetlane w oknie Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu):
  - **Annealing temperature** (Temperatura annealingu) — temperatura (w °C) na potrzeby eksperymentów wykorzystujących polimerazę DNA iProof™, polimerazę DNA iTaq™ lub inne polimerazy.
  - **Amplicon length** (Długość ampliconu) — długość ampliconu (w bp).
5. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

**Ważne:** Kliknięcie opcji Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) powoduje zresetowanie wszystkich preferencji na wszystkich zakładkach do pierwotnych ustawień fabrycznych. Zachować ostrożność podczas klikania tego przycisku.

## Ustawianie domyślnych parametrów płytki

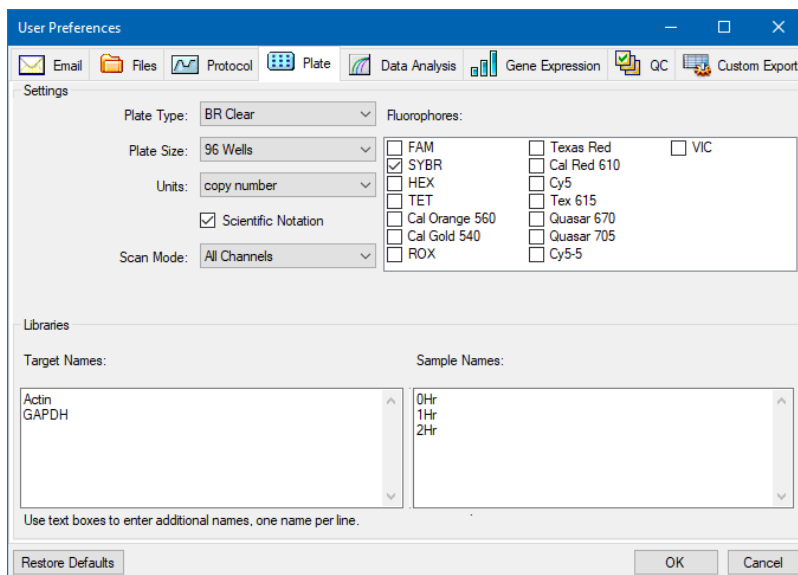
Zmiany wprowadzane w zakładce Plate (Płytki) są dostępne dla wszystkich użytkowników oprogramowania. Zmiany wprowadzane podczas konfigurowania płytki są dostępne dla użytkowników po zapisaniu i zamknięciu pliku płytki.

W oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) można wykonać następujące czynności:

- ustawić domyślne parametry płytki;
- dodać nowe nazwy genów docelowych i próbek do odpowiednich bibliotek;
- usunąć nazwy genów docelowych i próbek z odpowiednich bibliotek.

## Ustawienie domyślnych parametrów płytki

1. Wybrać Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).
2. W oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) wybrać zakładkę Plate (Płytki).



3. Określić wartości dla następujących ustawień w przypadku nowego pliku płytki: Te wartości są wyświetlane w oknie Plate Editor (Edytor płytki):
  - **Plate type (Typ płytki)**
  - **Plate size (Wielkość płytki)**
  - **Units (Jednostki)** — stężenie startowej matrycy dla studzienek zawierających wzorce.  
CFX Manager Dx wykorzystuje te jednostki do tworzenia krzywej wzorcowej w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe) w oknie Data Analysis (Analiza danych).
  - **Scientific notation (Notacja naukowa)** — po wybraniu tej opcji CFX Manager Dx wyświetla jednostki stężenia w notacji naukowej.
  - **Scan mode (Tryb skanu)** — liczba lub typ kanałów do przeskanowania podczas analizy próbek.
  - **Fluorophores (Fluorofory)** — domyślne fluorofory wyświetlane w elementach kontroli ładowania w oknie Plate Editor (Edytor płytki).
  - **Libraries (Biblioteki)** — nazwy genów docelowych i próbek, które są zazwyczaj stosowane w eksperymentach:
    - Target names (Nazwy genów docelowych)** — nazwy docelowych genów i sekwencji.
    - Sample names (Nazwy próbek)** — nazwy próbek eksperymentalnych lub nazwy określające właściwości dla próbek (np. Mysz1, Mysz2, Mysz3).
4. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

#### **Dodanie nowej nazwy genu docelowego lub próbki**

- ▶ W polu odpowiedniej biblioteki wpisać nazwę genu docelowego lub próbki i kliknąć OK.

#### **Usunięcie nazwy genu docelowego lub próbki**

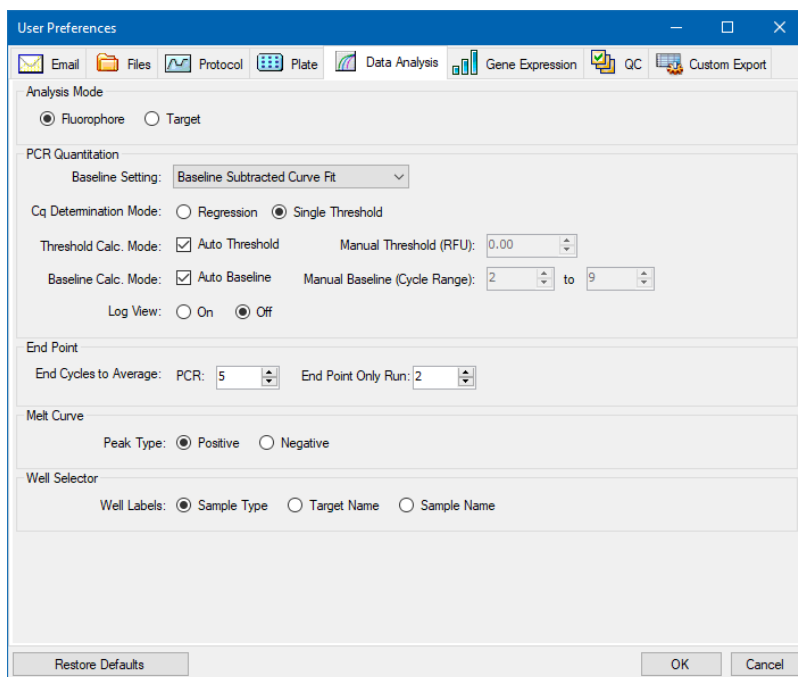
- ▶ W polu odpowiedniej biblioteki wybrać nazwę, nacisnąć klawisz Delete i kliknąć OK.

**Ważne:** Nazwy usunięte z biblioteki, są też usuwane z oprogramowania i nie będą już dostępne dla użytkowników. Aby przywrócić domyślne nazwy CFX Manager Dx, kliknąć Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne). Kliknięcie opcji Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) powoduje zresetowanie wszystkich preferencji na wszystkich zakładkach do pierwotnych ustawień fabrycznych. Zachować ostrożność podczas usuwania domyślnych nazw CFX Manager Dx i klikania tego przycisku.

## Ustawianie domyślnych parametrów analizy danych

### Aby ustawić domyślne parametry analizy danych

1. Wybrać Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).
2. W oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) wybrać zakładkę Data Analysis (Analiza danych).



3. W sekcji Analysis Mode (Tryb analizy) wybrać tryb, w którym dane będą analizowane (Fluorophore (Fluorofor) lub Target (Gen docelowy)).
4. W sekcji PCR Quantitation (Analiza ilościowa PCR) ustawić parametry domyślne dla następujących opcji:

- **Baseline Setting** (Ustawienie wartości bazowej) — metoda bazowa dla trybu analizy.
- **Cq Determination Mode** (Tryb wyznaczania Cq) — tryb, w którym wartości C<sub>q</sub> są wyliczane dla każdej krzywej fluorescencji (krzywa regresji lub z pojedynczą wartością progową).

- **Threshold Calc. Mode** (Tryb obliczania progu) — ilość genu docelowego w punkcie końcowym.

Ustawieniem domyślnym jest Auto (Automatycznie). Oznacza to, że oprogramowanie automatycznie oblicza wartość docelową dla punktu końcowego. W celu ustawienia konkretnej wartości progowej należy usunąć zaznaczenie pola wyboru Auto (Automatycznie) i wprowadzić ilość w punkcie końcowym, która musi być wyliczona we względnych jednostkach fluorescencji (RFU). Wartość maksymalna wynosi 65000,00 RFU. W plikach danych dla kolejnych analiz stosowane będzie to ustawienie wartości progowej.

- **Baseline Calc. Mode** (Tryb obliczenia wartości bazowej) — wartość bazowa dla wszystkich krzywych.

Ustawieniem domyślnym jest Auto (Automatycznie). Oznacza to, że oprogramowanie automatycznie oblicza wartość bazową dla wszystkich krzywych. W celu ustawienia konkretnej wartości bazowej należy usunąć zaznaczenie pola wyboru Auto (Automatycznie) i wprowadzić wartości minimum oraz maksimum dla zakresu cyklu (od 1 do 9999). W plikach danych dla kolejnych analiz stosowany będzie ten zakres cyklu.

- **Log View** (Widok rejestracji) — określa sposób, w jaki oprogramowanie wyświetla dane amplifikacji:

- On** (Wł.) — dane amplifikacji są wyświetlane na wykresie półlogarytmicznym.
- Off** (Wył.) — (ustawienie domyślne) dane amplifikacji są wyświetlane na wykresie liniowym.

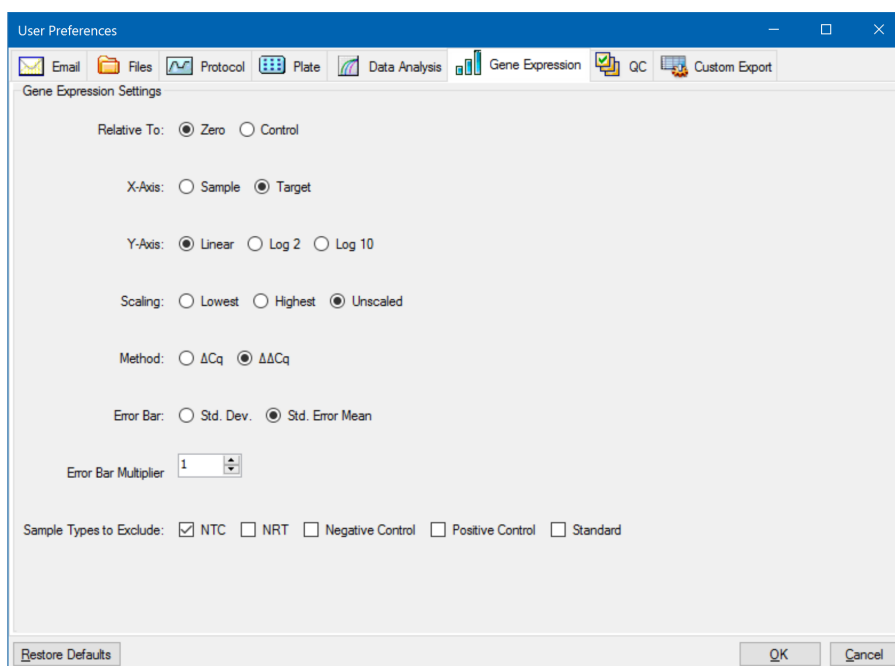
5. W sekcji End Point (Punkt końcowy) wybrać liczbę cykli końcowych do uśrednienia podczas przeprowadzania obliczeń punktu końcowego:
  - **PCR** — liczba cykli końcowych do uśrednienia dla danych analizy ilościowej (domyślnie 5).
  - **End Point Only run** (Analiza wyłącznie punktu końcowego) — liczba cykli końcowych do uśrednienia dla danych punktu końcowego (domyślnie 2).
6. W sekcji Melt Curve (Krzywa topnienia) wybrać typ pików do wykrycia (dodatni lub ujemny).
7. W sekcji Well Selector (Selektor studzienek) wybrać sposób wyświetlania etykiet studzienek (wg typu próbki, nazwy genu docelowego lub nazwy próbki).
8. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

**Ważne:** Kliknięcie opcji Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) powoduje zresetowanie wszystkich preferencji na wszystkich zakładkach do pierwotnych ustawień fabrycznych. Zachować ostrożność podczas klikania tego przycisku.

## Ustawianie domyślnych parametrów pliku danych dotyczących ekspresji genu

### Ustawienie domyślnych parametrów na potrzeby nowego pliku danych dotyczących ekspresji genu

1. Wybrać Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).
2. W oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) wybrać zakładkę Gene Expression (Ekspresja genu).



3. Określić wartości dla następujących ustawień:
  - **Relative to (Względem)** — dane ekspresji genu są przedstawiane na wykresie względem próbki kontrolnej (z początkiem w punkcie 1) lub zera:
    - **Zero** — oprogramowanie ignoruje próbkę kontrolną. Jest to ustawienie domyślne, gdy w oknie Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) nie przypisano żadnej próbki kontrolnej.
    - **Control (Kontrola)** — oprogramowanie oblicza dane względem próbki kontrolnej przypisanej w oknie Experiment Setup (Konfiguracja eksperymentu).
  - **X-axis (Oś X)** — na osi X przedstawiana jest próbka (Sample) lub gen docelowy (Target).
  - **Y-axis (Oś Y)** — na osi Y stosowana jest skala liniowa (Linear), log2 lub log10.

- **Scaling** (Skalowanie) — opcja skalowania wykresu (domyślną opcją jest Unscaled (Bez skalowania)):
  - Highest** (Wartość najwyższa) — program skaluje wykres do najwyższego punktu danych.
  - Lowest** (Wartość najniższa) — program skaluje wykres do najniższego punktu danych.
  - Unscaled** (Bez skalowania) — oprogramowanie prezentuje na wykresie nieprzeskalowane dane.
- **Mode** (Tryb) — tryb analizy danych: albo ilość względna ( $\Delta C_q$ ), albo znormalizowana wartość ekspresji ( $\Delta\Delta C_q$ ).
- **Error Bar** (Słupki błędów) — zmienność danych przedstawiana jako odchylenie standardowe (Std. Dev.) lub błąd standardowy średniej (Std. Error Mean).
- **Error Bar Multiplier** (Mnożnik słupka błędów) — mnożnik odchylenia standardowego stosowany do kreślenia słupków błędów (wartość domyślna: 1).

Można zwiększyć mnożnik do 2 lub 3.
- **Sample Types to Exclude** (Typy próbek do wykluczenia) — typy próbek, jakie mają być wykluczone z analizy.

Można wybrać wykluczenie z analizy jednej lub większej liczby próbek. Aby wykluczyć wszystkie typy próbek, wyczyścić pola wyboru wszelkich wybranych typów próbek.

4. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

**Ważne:** Kliknięcie opcji Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) powoduje zresetowanie wszystkich preferencji na wszystkich zakładkach do pierwotnych ustawień fabrycznych. Zachować ostrożność podczas klikania tego przycisku.

## Dostosowywanie zasad kontroli jakości

W oprogramowaniu CFX Manager Dx można ustawić zasady kontroli jakości stosowane do danych w oknie Data Analysis (Analiza danych). Program sprawdza dane w odniesieniu do skonfigurowanych zasad.

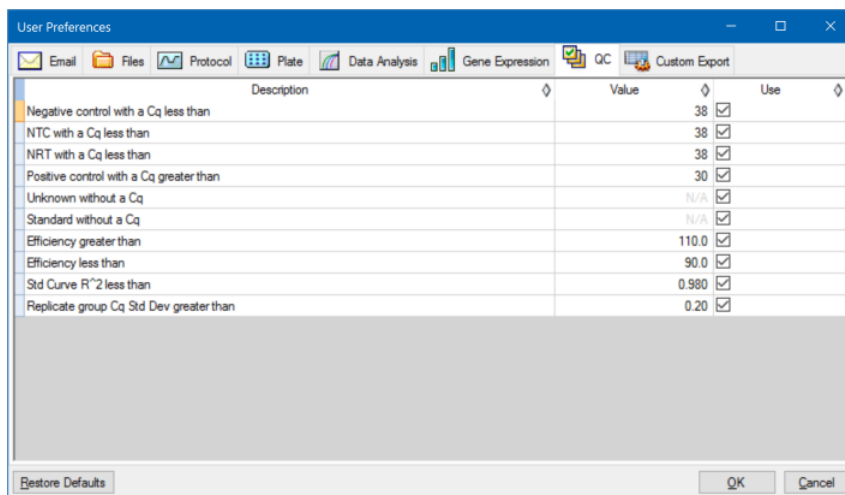
**Uwaga:** Domyślnie włączone są wszystkie zasady kontroli jakości.

**Wskazówka:** Studzienki, które nie zaliczyły danego parametru QC (Kontrola jakości), mogą być wykluczone z analizy w module QC (Kontrola jakości) w oknie Data Analysis (Analiza danych).



## Dostosowanie zasad kontroli jakości

1. Wybrać Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).
2. W oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) wybrać zakładkę QC (Kontrola jakości).



gdzie:

- **NTC** — bez kontroli matrycy;
  - **NRT** — bez kontroli odwrotnej transkryptazy;
  - **Efficiency** (Wydajność) — wydajność reakcji;
  - **Std Curve R<sup>2</sup>** (R<sup>2</sup> dla krzywej wzorc.) — wartość R-kwadrat dla krzywej wzorcowej;
  - **Replicate group Cq Std Dev** (Odch. stand. Cq dla grup replikatów) — odchylenie standardowe obliczane dla każdej grupy replikatów.
3. Dla każdej zasady QC (kontrola jakości) wykonać jedną z następujących czynności:
    - Aby użyć wartości domyślnej, nie trzeba nic robić.
    - Aby zmienić jej wartość, kliknąć pole tekstowe Value (Wartość), wpisać nową wartość i nacisnąć klawisz Enter.
    - Aby wyłączyć zasadę, usunąć zaznaczenie pola wyboru Use (Zastosuj).
  4. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

**Ważne:** Kliknięcie opcji Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) powoduje zresetowanie wszystkich preferencji na wszystkich zakładkach do pierwotnych ustawień fabrycznych. Zachować ostrożność podczas klikania tego przycisku.

### Dostosowywanie parametrów eksportu danych

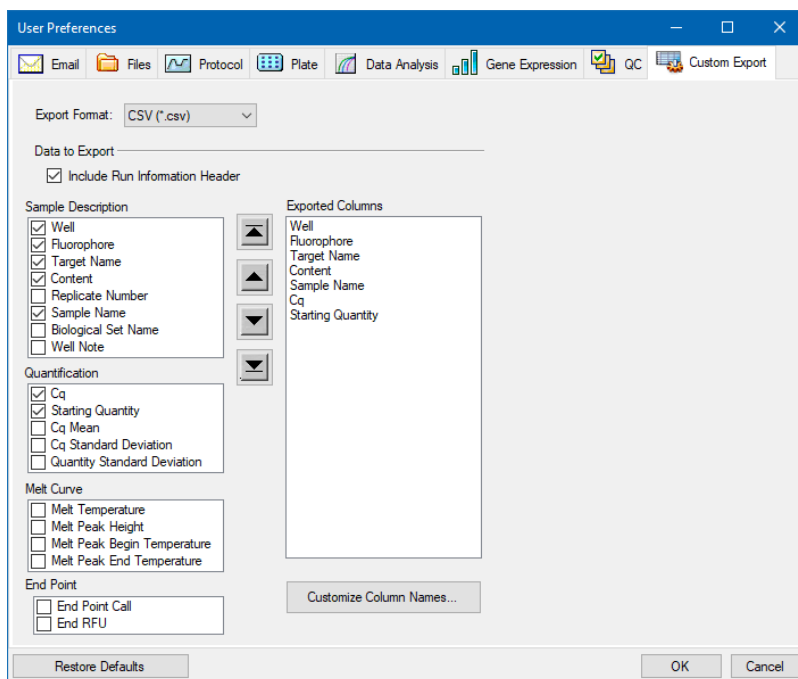
Dane z oprogramowania CFX Manager Dx można eksportować w następujących formatach:

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

Możliwe jest określenie typu danych do wyeksportowania i dostosowanie eksportowanych danych.

#### Aby dostosować parametry eksportu danych

1. Wybrać Users (Użytkownicy) > User Preferences (Preferencje użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika).
2. W oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) wybrać zakładkę Custom Export (Eksport niestandardowy).



3. Z listy rozwijanej Export Format (Format eksportu) wybrać format, w którym dane zostaną wyeksportowane.
4. W sekcji Data to Export (Dane do eksportu) zaznaczyć lub usunąć zaznaczenie pól wyboru dla typu danych przeznaczonych do eksportowania. Wybrane elementy pojawią się w polu listy Exported Columns (Eksportowane kolumny).

**Uwaga:** Domyślnie informacje o analizie są zawarte w nagłówku. Jeśli informacje na temat analizy nie mają być uwzględniane, należy usunąć zaznaczenie odpowiedniego pola wyboru.

5. Kolejność wyświetlania wybranych elementów na wyjściu można zmienić.

W polu listy Exported Columns (Eksportowane kolumny) należy zaznaczyć element, a następnie klikać przyciski ze strzałkami, aby przesuwać elementy w górę lub w dół listy.

6. Opcjonalnie można zmienić na wyjściu nazwy kolumn wybranych elementów:

- a. Kliknąć opcję Customize Column Names (Dostosuj nazwy kolumn).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Column Name Customizer (Narzędzie dostosowywania nazw kolumn).

- b. Dla każdej domyślnej nazwy kolumny, która ma zostać zmieniona, należy wpisać nową nazwę w odpowiednie pole Custom Name (Nazwa niestandardowa).

- c. Wykonać jedną z następujących czynności:
  - Kliknąć przycisk OK, aby zapisać zmiany i powrócić do zakładki Custom Export (Eksport niestandardowy). Nowa nazwa pojawi się w nawiasach obok domyślnej nazwy kolumny w polu listy Exported Columns (Eksportowane kolumny).
  - Aby usunąć zmiany i wrócić do zakładki Custom Export (Eksport niestandardowy), należy kliknąć przycisk Cancel (Anuluj).

7. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe.

**Ważne:** Kliknięcie opcji Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) powoduje zresetowanie wszystkich preferencji na wszystkich zakładkach do pierwotnych ustawień fabrycznych. Zachować ostrożność podczas klikania tego przycisku.

## Tworzenie Master Mix do reakcji

Za pomocą funkcji Master Mix Calculator (Kalkulator dla Master Mix) w CFX Manager Dx można łatwo obliczyć wymaganą objętość każdego składnika w Master Mix. Można wydrukować tabelę obliczeń Master Mix w domyślnej drukarce oraz zapisać obliczenia dla każdego docelowego genu do wykorzystania w przyszłości.

### Utworzenie Master Mix do reakcji za pomocą Master Mix Calculator (Kalkulator dla Master Mix)

1. Aby otworzyć Master Mix Calculator (Kalkulator dla Master Mix), wykonać jedną z następujących czynności:
  - Wybrać Tools (Narzędzia) > Master Mix Calculator (Kalkulator dla Master Mix).
  - Kliknąć Master Mix Calculator (Kalkulator dla Master Mix) na pasku narzędzi.Zostanie wyświetlony Master Mix Calculator (Kalkulator dla Master Mix).

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

2. W części Reaction (Reakcja) wybrać metodę detekcji:
  - SYBR® Green/EvaGreen,
  - Probes (Sondy).
3. Aby utworzyć nowy gen docelowy, kliknąć Create New (Utwórz nowy) w części Target (Gen docelowy). Nowa nazwa genu docelowego pojawi się na liście rozwijanej genów docelowych.
4. (Opcjonalnie) Aby zmienić domyślną nazwę genu docelowego:
  - a. Podświetlić nazwę genu docelowego na liście rozwijanej genów docelowych.
  - b. Wpisać nową nazwę genu docelowego w polu Target (Gen docelowy).
  - c. Nacisnąć klawisz Enter.
5. Dostosować Starting Concentration (Stężenie początkowe) i Final Concentration (Stężenie końcowe) dla primerów wiodących i odwrotnych oraz wszelkich sond.

6. W części Master Mix Setup (Konfiguracja Master Mix) dostosować wartości dla:
  - liczby reakcji do przeprowadzenia,
  - objętości reakcyjnej na studzienkę,
  - objętości matrycy na studzienkę,
  - stężenia Supermix na studzienkę,
  - nadmiaru objętości reakcyjnej na studzienkę.
7. (Opcjonalnie) Wykonać kroki 2–6 dla wszystkich koniecznych genów docelowych.
8. W części Choose Target to Calculate (Wybierz gen docelowy do obliczenia) wybrać gen docelowy do obliczenia.

**Wskazówka:** Można obliczać tylko jeden gen docelowy, kilka genów docelowych lub wszystkie jednocześnie.

Obliczone objętości wymaganych składników dla każdego wybranego genu docelowego są wyświetlane w tabeli Master Mix.

9. Kliknąć Set as Default (Ustaw jako domyślne), aby ustawić ilości wprowadzone w częściach Target (Gen docelowy) i Master Mix Setup (Konfiguracja Master Mix) jako nowe wartości domyślne.
10. Kliknąć OK, aby zapisać zawartość pola dialogowego Master Mix Calculator (Kalkulator dla Master Mix).

#### **Wydruk tabeli obliczeń Master Mix**

- ▶ Aby wydrukować tabelę obliczeń Master Mix, kliknąć Print (Drukuj).

Tabela obliczeń jest drukowana w drukarce domyślnej.

#### **Zapisanie tabeli obliczeń Master Mix w pliku PDF**

- ▶ Zmienić domyślną drukarkę na sterownik PDF i kliknąć Print (Drukuj) w Master Mix Calculator (Kalkulator dla Master Mix)

#### **Usunięcie genów docelowych**

- ▶ Wybrać gen docelowy z listy rozwijanej genów docelowych i kliknąć Remove (Usuń).

**Ważne:** Usunięcie genu docelowego z listy genów docelowych powoduje usunięcie go z wszelkich obliczeń Master Mix, w jakich jest on używany. Należy zachować ostrożność przy usuwaniu genu docelowego.

## Kalibrowanie nowych barwników

Systemy CFX96™ Dx są fabrycznie skalibrowane dla często stosowanych fluoroforów w płytkach z białymi lub przezroczystymi studzienkami. Tabela 11 zawiera listę fluoroforów i kanałów, dla których skalibrowany jest każdy aparat.

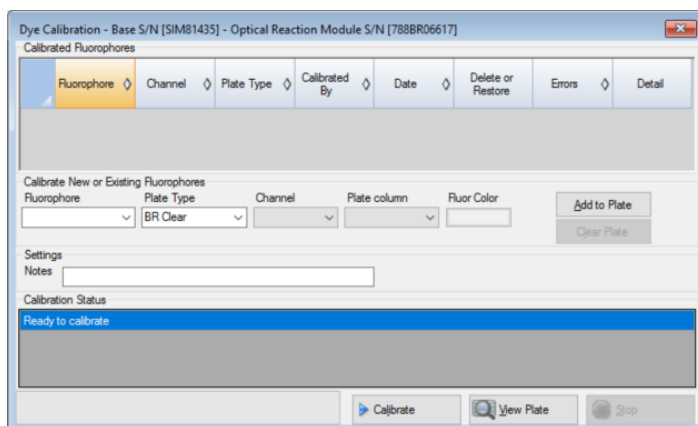
**Uwaga:** Systemy CFX96 zawierają też kanał przeznaczony wyłącznie do metody FRET. Ten kanał nie wymaga kalibrowania na potrzeby konkretnych barwników.

**Tabela 11. Fabrycznie kalibrowane fluorofory i kanały**

| Fluorofory   | Kanał | Wzbudzenie, nm | Detekcja, 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      |

### Kalibracja nowych barwników dla systemów CFX

- Wybrać docelowy aparat w panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) w oknie Home (Strona główna).
- Wybrać opcje Tools (Narzędzia) > Calibration Wizard (Kreator kalibracji), aby otworzyć kreator Dye Calibration wizar (Kreator kalibracji barwników).



Fluorofory wcześniej skalibrowane dla docelowego aparatu są wyświetlane w tabeli Calibrated Fluorophores (Fluorofory skalibrowane).

3. Wybrać fluorofor do kalibracji z listy rozwijanej w części Calibrate New or Existing Fluorophores (Kalibruj nowe lub istniejące fluorofory).

Jeśli na liście nie ma nazwy fluoroforu, wpisać jego nazwę w polu tekstowym i dodać do listy.

4. Wybrać typ płytki (Plate type) dla fluoroforu.

Jeśli na liście nie ma typu płytki, wpisać nazwę w polu tekstowym i dodać do listy.

5. Wybrać kanał (Channel) dla fluoroforu.
6. Wybrać kolumnę płytki (Plate column) dla fluoroforu.
7. (Opcjonalnie) Określić kolor powiązany z fluoroforem.
8. Aby dodać fluorofor, kliknąć Add to Plate (Dodaj do płytki).
9. (Opcjonalnie) Powtórzyć kroki 3–8, aby dodać każdy fluorofor, który ma być skalibrowany dla danej płytki.
10. Po zakończeniu dodawania fluoroforów kliknąć View Plate (Pokaż płytkę), aby otworzyć okno Pure Dye Plate Display (Widok płytki z czystymi barwnikami).

Użyć tego okna jako instrukcji wprowadzania barwników do płytki.

11. Na potrzeby kalibracji barwników przygotować płytkę z 96 studzienkami:
  - a. Przenieść pipetą roztwór barwnika do każdej studzienki zgodnie z wzorcem pokazanym w oknie Pure Dye Plate Display (Widok płytki z czystymi barwnikami).
  - b. W przypadku każdego fluoroforu wypełnić cztery studzienki roztworem barwnika o stężeniu 300 nM w ilości 50  $\mu$ l (płytką 96-studzienkową). Zadbaj, by co najmniej połowa płytki zawierała studzienki stanowiące próbę ślepa.
  - c. Uszczelnić płytkę za pomocą metody uszczelniania, która będzie stosowana podczas eksperymentu.
12. Umieścić płytkę kalibracyjną w bloku i zamknąć pokrywę.
13. W kreatorze Dye Calibration wizard (Kreator kalibracji barwników) kliknąć Calibrate (Kalibruj) a następnie OK, aby potwierdzić, że płytka znajduje się w bloku.
14. Gdy Oprogramowanie CFX Manager Dx zakończy kalibrację, zostanie wyświetlone okno dialogowe. Kliknąć Yes (Tak), aby zakończyć kalibrację i otworzyć Dye Calibration Viewer (Przeglądarka kalibracji barwników).
15. Kliknąć OK, aby zamknąć okno.



## Rozdział 6 Tworzenie protokołów

Protokół jest zestawem etapów wykonywanych w określonej kolejności. W oprogramowaniu CFX Manager™ Dx wszystkie etapy są powiązane z opcjami w aparacie, np. etapy zawierają instrukcje dla aparatu dotyczące kontrolowania temperatury bloku i pokrywy, zastosowania różnicy temperatury na przestrzeni bloku, wykonania odczytu płytki lub wykonania analizy krzywej topnienia. Każda opcja jest określana dla różnych typów płytek i analiz próbek.

CFX Manager Dx zapewnia dwie funkcje do tworzenia protokołów: Protocol Editor (Edytor protokołu) i Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu).

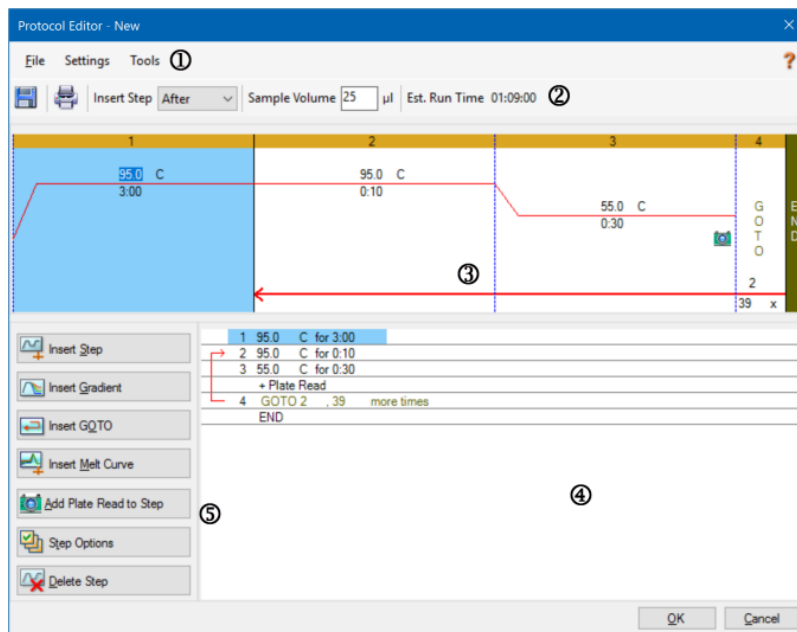
Protocol Editor (Edytor protokołu) udostępnia m.in. następujące funkcje:

- standardowe elementy kontroli nad protokołami w celu szybkiego tworzenia protokołów,
- możliwość szybkiego obliczenia gradientu dla wybranej liczby rzędów,
- możliwość szybkiego obliczenia czasu analizy próbek dla wybranego typu płytki,
- możliwość edytowania etapów protokołu,
- możliwość zapisywania protokołów do ponownego wykorzystania,
- możliwość wydrukowania protokołu w domyślnej drukarce.

Na podstawie parametrów podanych przez użytkownika Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) automatycznie generuje zindywidualizowany protokół PCR z etapami „hot start”, początkowej denaturacji, annealingu i wydłużania. Następnie można przejrzeć graficzną prezentację sugerowanego protokołu i edytować, uruchomić lub zapisać protokół.

## Okno Protocol Editor (Edytor protokołu)

W oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) można tworzyć protokoły, a także otwierać, przeglądać i edytować protokoły. Domyślnie w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) wyświetlany jest ogólny protokół 2-etapowy czasu rzeczywistego przeznaczony dla płytki z 96 studzienkami.



### LEGENDA

1. Pasek menu zapewnia szybki dostęp do poleceń menu File (Plik), Settings (Ustawienia) i Tools (Narzędzia).

---

2. Pasek narzędzi zawiera szybki dostęp do opcji zapisu i drukowania protokołu. Umożliwia wybór miejsca wprowadzenia etapu, konfigurowanie objętości próbki, a także sprawdzanie szacowanego czasu pracy protokołu.

---

3. W panelu głównym wyświetlana jest graficzna reprezentacja protokołu.

---

4. W dolnym panelu widoczny jest konspekt protokołu.

---

5. W lewym panelu wyświetlane są elementy sterowania protokołem, których użytkownik może używać w celu dostosowywania protokołu.

## Polecenia menu File (Plik)

**Save** (Zapisz) — zapisuje bieżący protokół.

**Save As** (Zapisz jako) — zapisuje bieżący protokół z nową nazwą lub w nowej lokalizacji.

**Close** (Zamknij) — zamyka okno Protocol Editor (Edytor protokołu).

## Polecenie menu Settings (Ustawienia)

**Lid Settings** (Ustawienia pokrywy) — służy do otwierania okna dialogowego Lid Settings (Ustawienia pokrywy), w którym można zmienić lub ustawić temperaturę pokrywy.

## Polecenia menu Tools (Narzędzia)

**Gradient Calculator** (Kalkulator gradientu) — umożliwia otwarcie okna dialogowego, w którym można wybrać typ bloku dla etapu gradientu. Domyślnie jest to 96 studzienek.

**Run time Calculator** (Kalkulator czasu analizy) — umożliwia otwarcie okna dialogowego, z którego można wybrać typ płytki i tryb skanowania celem obliczenia szacunkowego czasu analizy w oknie Run Setup (Konfiguracja analizy). Domyślnie jest to 96 studzienek, wszystkie kanały.

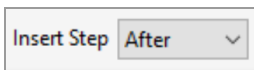
## Polecenia na pasku narzędzi



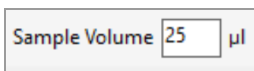
— służy do drukowania pliku bieżącego protokołu.



— służy do drukowania wybranego okna.



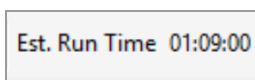
— za pomocą tego polecenia można wybrać miejsce wstawienia etapów względem etapu, który jest wybrany aktualnie.



— za pomocą tego polecenia można wprowadzić objętość próbki w µl.

Objętości próbek różnią się w zależności od typu bloku:

- W przypadku bloku z 96 studzienkami głębokimi dostępny jest zakres 0–125 µl.
- W przypadku bloku z 96 studzienkami dostępny jest zakres 0–50 µl.



— umożliwia wyświetlenie szacowanego czasu analizy na podstawie etapów protokołu, zmian tempa oraz typu wybranego bloku.

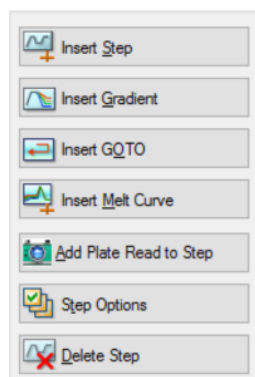


— służy do wyświetlania pomocy dotyczącej protokołów.

## Elementy kontroli nad edycją protokołu

Lewy panel okna Protocol Editor (Edytor protokołu) zawiera elementy sterujące, które służą do tworzenia protokołów.

Każdy element sterujący zawiera zestaw parametrów, które reprezentują etap w protokole. Każdy parametr można modyfikować, a poszczególne parametry można dodawać lub usuwać w celu dostosowania protokołu. W niniejszej sekcji opisano opcje dostępne w każdym elemencie sterującym.



- **Insert Step** (Wstaw etap) — wstawia etap przed wybranym etapem lub za nim. Wartości temperatury i czasu wstrzymania można edytować w wyświetlaczu graficznym protokołu lub w konspekcie protokołu.
- **Insert Gradient** (Wstaw gradient) — umożliwia wstawienie etapu gradientu w oparciu o typ bloku studzienki wybrany w kalkulatorze gradientu. Zakres gradientu można edytować w panelu Gradient (Gradient), który pojawia się po wstawieniu etapu gradientu.
- **Insert GOTO** (Wstaw GOTO) — wstawia etap cyklu (pętli), który informuje oprogramowanie o konieczności powtórzenia konkretnych etapów przez wskazaną liczbę cykli. Powtarzanie rozpoczyna się po zakończeniu pierwszego cyklu. Można na przykład poinformować oprogramowanie, aby wykonało 39 powtórzeń etapów 2–4. Po ostatnim powtórzeniu oprogramowanie wykona etapy 2–4 łącznie 40 razy. Etap docelowy, do którego następuje powrót (GOTO) oraz liczbę cykli można edytować w widoku graficznym lub w konspekcie protokołu.
- **Insert Melt Curve** (Wstaw krzywą topnienia) — wstawia etap odczytu krzywej topnienia.
- **Insert Plate Read to Step** (Wstaw odczyt płytki do etapu) — dodaje polecenie odczytu płytki do wybranego etapu. Odczyt płytki mierzy ilość fluorescencji na koniec cyklu. Etap odczytu płytki jest zwykle ostatnim etapem w pętli GOTO.

**Wskazówka:** Po dodaniu polecenia odczytu płytki do danego etapu i wybraniu tego etapu przycisk zmieni się na Remove Plate Read (Usuń odczyt płytki).

- **Remove Plate Read** (Usuń odczyt płytki) — usuwa polecenie odczytu płytki z wybranego etapu.

**Wskazówka:** Po usunięciu polecenia odczytu płytki z etapu ten przycisk ulega zmianie na przycisk Add Plate Read to Step (Dodaj odczyt płytki do etapu) w przypadku wybrania tego konkretnego etapu.

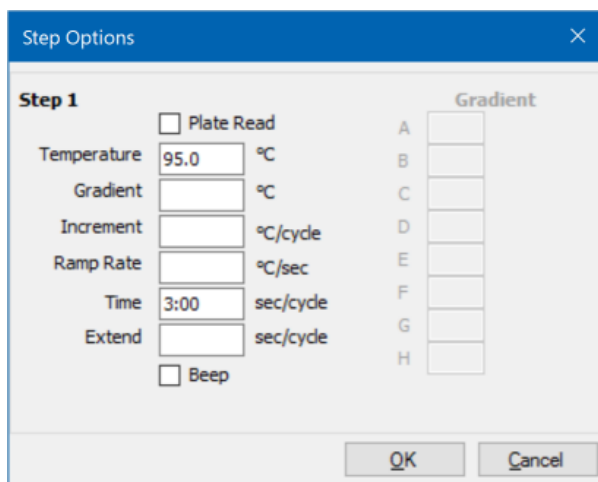
- **Step Options** (Opcje etapu) — powoduje otwarcie okna dialogowego Step Options (Opcje etapu) i wyświetlenie opcji dostępnych dla wybranego etapu. Więcej szczegółowych informacji na temat opcji etapów zawiera sekcja [Step Options \(Opcje etapu\) na stronie 91](#).

**Wskazówka:** Dostęp do opcji Step Options (Opcje etapu) można również uzyskać, klikając prawym przyciskiem myszy etap w widoku graficznym.

- **Delete Step** (Usuń etap) — usuwa wybrany etap z protokołu.

### Step Options (Opcje etapu)

Otworzyć okno dialogowe Step Options (Opcje etapu), aby przejrzeć opcje, które można dodawać do etapu, usuwać z niego lub zmieniać.



- **Plate Read** (Odczyt płytki) — jeśli ta opcja jest zaznaczona, odczyt płytki jest dodawany do etapu.
- **Temperature** (Temperatura) — ustawienie docelowej temperatury dla wybranego etapu.
- **Gradient** — ustawienie zakresu gradientu dla etapu; zakres wartości: 1–24°C.

**Uwaga:** Gradient działa przy najniższej temperaturze z przodu bloku (na tej ilustracji w rzędzie H) i najwyższej temperaturze z tyłu bloku (na tej ilustracji w rzędzie A).

- **Increment** (Przyrost) — wielkość, o jaką temperatura jest zwiększana (lub zmniejszana) w wybranym etapie; ta wielkość jest dodawana do docelowej temperatury przy każdym cyklu. Zakres wynosi  $\pm 0,1-10^{\circ}\text{C}$ .

**Uwaga:** Aby zmniejszać temperaturę, wpisać znak minus (–) przed wartością liczbową (np. -  $5^{\circ}\text{C}$ ).

- **Ramp Rate** (Szybkość zmiany) — szybkość zmiany w wybranym etapie; zakres zależy od wielkości bloku.
- **Time** (Czas) — czas utrzymywania wybranego etapu.
- **Extend** (Wydłużenie) — czas (w sekundach) wydłużenia lub skrócenia wybranego etapu; ta opcja jest dodawana do czasu utrzymywania w każdym cyklu; zakres wynosi 1–60 s.
- **Beep** (Sygnał dźwiękowy) — po zaznaczeniu tej opcji na końcu etapu rozlega się sygnał dźwiękowy.

**Wskazówka:** Jeśli zostanie wprowadzona liczba spoza zakresu dla danej opcji, oprogramowanie zmieni ją na najbliższą wartość mieszczącą się w zakresie.

## Tworzenie protokołu w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu)

Za pomocą funkcji Protocol Editor (Edytor protokołu) można tworzyć niestandardowe pliki protokołów. Można też edytować i zapisywać wcześniej zapisane pliki protokołów oraz przykładowe pliki protokołów, z którymi dostarczane jest Oprogramowanie CFX Manager Dx.

Aby utworzyć nowy plik protokołu, wykonać następujące czynności:

- Otworzyć plik protokołu w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu).

**Wskazówka:** W oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) można otworzyć nowy lub istniejący protokół.

- Skonfigurować nowy protokół.
- Dodać do protokołu etapy z panelu elementów kontroli nad protokołem.
- Edytować właściwości etapów.
- Zapisać protokół.

**Wskazówka:** Informacje o zapisywaniu nowego protokołu na podstawie wcześniej zapisanego lub przykładowego pliku protokołu zamieszczono w rozdziale [Otwieranie istniejącego protokołu w oknie Protocol Editor \(Edytor protokołu\) na stronie 95](#).

## Otwieranie nowego pliku protokołu w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu)

Oprogramowanie CFX Manager Dx zapewnia wiele opcji otwierania nowego pliku protokołu:

- z okna Home (Strona główna),
- z okna dialogowego Startup Wizard (Kreator startowy),
- z okna dialogowego Run Setup (Konfiguracja analizy próbek).

### Aby otworzyć nowy plik płytki z okna Home (Strona główna)

- ▶ Wybrać opcje File (Plik) > New (Nowy) > Protocol (Protokół).

Okno Protocol Editor (Edytor protokołu) zostanie otwarte i pojawi się w nim domyślny plik protokołu.

**Wskazówka:** Informacje o ustawianiu domyślnego protokołu zamieszczono w sekcji [Zmiana domyślnych ustawień pliku na stronie 70](#).

### **Aby otworzyć nowy plik protokołu z okna Home (Strona główna)**

1. W oknie Home (Strona główna) wykonać jedną z następujących czynności w celu otworzenia kreatora Startup Wizard (Kreator startowy), jeśli nie jest on widoczny:

- Wybrać opcje View (Widok) > Startup Wizard (Kreator startowy).
- Kliknąć Startup Wizard (Kreator startowy) na pasku narzędzi.

Domyślnie w oknie Startup Wizard (Kreator startowy) wyświetlana jest zakładka Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z wybranym typem aparatu CFX96™.

2. W razie potrzeby wybrać typ aparatu z listy rozwijanej.
3. Kliknąć User-defined (Zdefiniowany przez użytkownika), aby ustawić typ analizy.

Zostanie otwarte okno dialogowe Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z wyświetlonym plikiem protokołu domyślnego.

4. Kliknąć opcję Create New (Utwórz nowe).

Okno Protocol Editor (Edytor protokołu) zostanie otwarte i pojawi się w nim domyślny protokół czasu rzeczywistego.

### **Aby otworzyć nowy protokół z okna dialogowego Run Setup (Konfiguracja analizy próbek)**

1. W oknie Home (Strona główna) wykonać jedną z następujących czynności w celu otworzenia okna dialogowego Run Setup (Konfiguracja analizy próbek):

- Wybrać opcje Run (Analiza próbek) > User-defined Run (Analiza zdefiniowana przez użytkownika).
- Kliknąć User-Defined Run Setup (Konfiguracja analizy definiowanej przez użytkownika) na pasku narzędzi.

Zostanie otwarte okno dialogowe Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z wyświetlonym plikiem protokołu domyślnego.

2. Kliknąć opcję Create New (Utwórz nowe).

Okno Protocol Editor (Edytor protokołu) zostanie otwarte i pojawi się w nim domyślny protokół czasu rzeczywistego.



## Otwieranie istniejącego protokołu w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu)

CFX Manager Dx zapewnia przykładowe pliki protokołu, które można edytować i zapisywać jako niestandardowe nowe protokoły. Można też utworzyć nowy protokół z istniejącego protokołu niestandardowego.

### Otwarcie przykładowego pliku protokołu

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać File (Plik) > Open (Otwórz) > Protocol (Protokół).  
Domyślnie Eksplorator Windows jest otwierany w lokalizacji folderu plików CFX Manager Dx Sample (Przykład).
2. Otworzyć folder plików Sample (Przykład). Są tam następujące foldery:
  - **ConventionalProtocols** (Protokoły konwencjonalne) — przykładowe pliki protokołu na potrzeby tradycyjnej analizy PCR.
  - **DataFiles** (Pliki danych) — przykładowe pliki danych do wykorzystania w celu poznawania funkcji programu CFX Manager Dx.
  - **MeltCalibration** (Kalibracja topnienia) — przykładowe pliki protokołu do użytku z oprogramowaniem Bio-Rad Precision Melt Analysis.
  - **Plates** (Płytki) — przykładowe pliki płytek.
  - **RealTimeProtocols** (Protokoły czasu rzeczywistego) — przykładowe pliki protokołu na potrzeby analizy PCR w czasie rzeczywistym.
3. Otworzyć folder protokołów odpowiedni do typu analizy próbek, jakie mają być wykonywane — ConventionalProtocols (Protokoły konwencjonalne) lub RealTimeProtocols (Protokoły czasu rzeczywistego).
4. Wybrać potrzebny protokół i kliknąć Open (Otwórz).  
Przykładowy protokół zostanie otwarty w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu).
5. Wybrać File (Plik) > Save As (Zapisz jako) i zapisać protokół z nową nazwą lub w nowym folderze.

### Otwarcie istniejącego protokołu

1. W oknie Home (Strona główna) wykonać jedną z następujących czynności:
  - Wybrać File (Plik) > Open (Otwórz) > Protocol (Protokół), przejść do docelowego protokołu, wybrać go i kliknąć Open (Otwórz).

- Otworzyć kreator Startup Wizard (Kreator startowy) i wykonać jedną z następujących czynności:
  - Aby edytować wyświetlony protokół, kliknąć Edit Selected (Edytuj wybrany).
  - Aby edytować inny istniejący protokół, kliknąć Select Existing (Wybierz istniejący) i przejść do docelowego pliku.

Protokół zostanie otwarty w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu).

2. Wybrać File (Plik) > Save As (Zapisz jako) i zapisać protokół z nową nazwą lub w nowym folderze.

## Konfigurowanie nowego protokołu

**Wskazówka:** Jeśli plik protokołu zawiera wymagane parametry (np. jeśli edytowany jest istniejący plik płytki), można pominąć ten rozdział i przejść do rozdziału [Dodawanie etapów do protokołu na stronie 98](#).

Nowe pliki protokołu wymagają określenia następujących parametrów:

- typ bloku,
- tryb skanowania dla wybranego typu bloku,
- temperatura pokrywy,
- objętość próbki.

### Ustawianie typu bloku

Oprogramowanie CFX Manager Dx automatycznie oblicza przyrosty temperatury dla etapów gradientu na podstawie typu bloku.

**Uwaga:** Typ płytki skonfigurowany w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) musi być taki sam, jak typ płytki w module reakcyjnym.

#### Aby ustawić typ bloku

- ▶ W oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) wybrać opcje Tools (Narzędzia) > Gradient Calculator (Kalkulator gradientu), a następnie wybrać odpowiedni typ płytki na wyświetlonej liście rozwijanej.

### Wybór trybu skanowania dla wybranego typu bloku

W celu określenia czasu analizy dla protokołu należy wybrać typ bloku docelowego i tryb skanowania.

### Aby wybrać typ bloku docelowego i tryb skanowania

- ▶ W oknie Protocol Editor (Edytor protokołu) wybrać opcje Tools (Narzędzia) > Run time Calculator (Kalkulator czasu analizy), a następnie wybrać odpowiedni typ płytki i tryb skanowania na wyświetlonej liście rozwijanej.

### Regulacja temperatury pokrywy

CFX Manager Dx ustawia domyślną temperaturę pokrywy 105,0°C.

Można zmienić domyślne ustawienia lub wyłączyć element grzejny pokrywy w zależności od wymagań protokołu.

**Wskazówka:** Domyślną temperaturę pokrywy można zmienić w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika). Szczegóły zamieszczono w rozdziale [Ustawianie domyślnych parametrów protokołu na stronie 72](#).

### Ustawienie temperatury pokrywy

1. W oknie Plate Editor (Edytor płytki) wybrać Settings (Ustawienia) > Lid Settings (Ustawienia pokrywy).  
Zostanie wyświetlone okno dialogowe Lid Settings (Ustawienia pokrywy).
2. Wykonać jedną z następujących czynności:
  - wybrać opcję User Defined (Zdefiniowane przez użytkownika) i wpisać wartość temperatury w polu tekstowym;
  - wybrać opcję Turn Off Lid Heater (Wyłącz element grzejny pokrywy).
3. Kliknąć OK, aby zaakceptować zmiany i zamknąć okno dialogowe.

### Ustawianie objętości próbki

Oprogramowanie CFX Manager Dx domyślnie ustawia objętość próbki każdej studzienki na 25 µl. Jednak System CFX Dx obsługuje zakres 0–125 µl.

Aparat wykorzystuje jeden z dwóch trybów kontroli temperatury do określenia, czy próbka osiągnęła docelową temperaturę w protokole:

- **Calculated mode** (Tryb obliczony) — gdy objętość próbki jest ustawiona na wartość odpowiednią dla bloku, aparat oblicza temperaturę próbki na podstawie jej objętości. Jest to tryb standardowy.
- **Block mode** (Tryb bloku) — gdy objętość próbki jest ustawiona na zero (0) µl, aparat rejestruje temperaturę próbki jako równą zmierzonej temperaturze bloku.

### Ustawienie objętości próbki dla danego bloku

- ▶ Wpisać poprawną wartość w polu tekstowym Sample Volume (Objętość próbki) na pasku narzędzi w oknie Plate Editor (Edytor płytki).

**Wskazówka:** Można zmienić domyślną objętość próbki w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika). Zob. rozdział [Zmiana domyślnych ustawień pliku na stronie 70](#).

## Dodawanie etapów do protokołu

### Aby dodać etap do protokołu

1. Otworzyć protokół w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu).
2. Ustalić, gdzie wstawić nowy etap. Wybrać opcję Before (Przed) lub After (Po) z listy rozwijanej Step (Etap) na pasku narzędzi.
3. Na wykresie wybrać etap, przed lub po którym ma być wstawiony nowy etap.
4. Kliknąć opcję Insert Step (Wstaw etap) w lewym panelu.
5. Aby zmienić temperaturę lub czas utrzymywania, kliknąć wartość domyślną na wykresie lub w panelu zarysu protokołu i wpisać nową wartość.
6. (Opcjonalnie) Kliknąć Step Options (Opcje etapu) w lewym panelu, aby wyświetlić okno dialogowe Step Options i zmodyfikować dostępne opcje dla wybranego etapu.

**Wskazówka:** Można przejść do okna dialogowego Step Options (Opcje etapu) z poziomu menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w panelu wykresu lub w panelu zarysu protokołu.

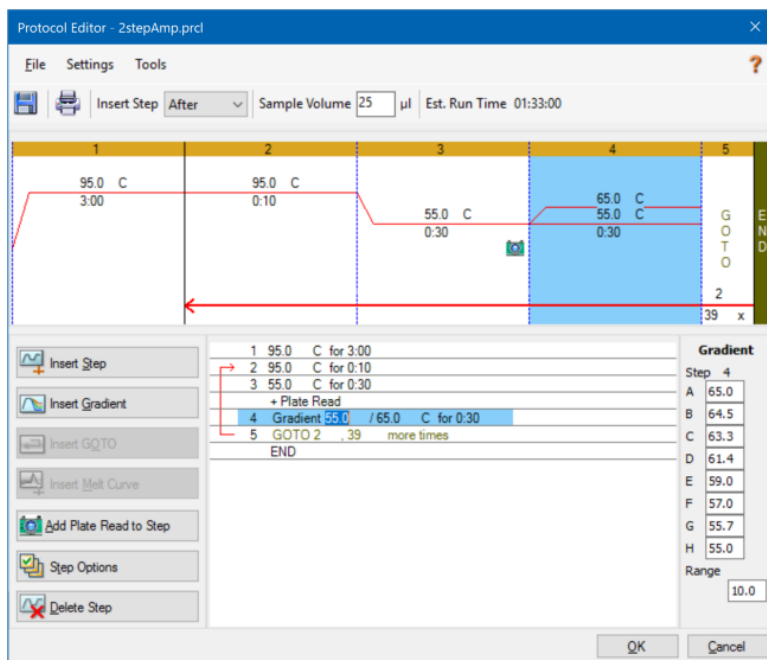
7. Kliknąć OK a następnie Yes (Tak), aby zapisać zmiany protokołu.  
Zostanie wyświetlone okno dialogowe Save As (Zapisz jako).
8. W oknie dialogowym Save As (Zapisz jako) wpisać nazwę pliku z nowym protokołem i kliknąć Save (Zapisz).

## Wprowadzanie etapu gradientu

### Aby wprowadzić etap gradientu

1. Upewnić się, że rozmiar płytki dla gradientu jest taki sam, jak typ bloku aparatu — 96 studzienek.
2. Jeśli jeszcze nie wykonano tej czynności, należy wybrać rozmiar płytki dla gradientu:  
Wybrać opcje Tools (Narzędzia) > Gradient Calculator (Kalkulator gradientu), a następnie wybrać odpowiedni typ płytki z listy rozwijanej.

3. Na pasku narzędzi wybrać opcję Before (Przed) lub After (Po) z listy rozwijanej Insert Step (Wstaw etap).
4. Na panelu wykresu lub konspektu wybrać etap, przed lub po którym ma być wstawiony etap gradientu.
5. W panelu po lewej stronie kliknąć opcję Insert Gradient (Wstaw gradient). Nowy etap gradientu zostanie podświetlony na wykresie i w panelu konspektu — na przykład:



Temperatura każdego wiersza w gradiencie pojawi się w tabeli Gradient (Gradient) w prawym panelu.

6. Aby edytować zakres temperatur gradientu, należy wykonać jedną z następujących czynności:
  - Kliknąć temperaturę domyślną w wykresie lub panelu konspektu i wprowadzić nową temperaturę.
  - Kliknąć polecenie Step Options (Opcje etapu), aby wprowadzić zakres gradientu w oknie Step Options (Opcje etapu).
  - Zmienić wartość Range (Zakres) w tabeli Gradient (Gradient).
7. Aby przeprowadzić edycję czasu wstrzymania, należy kliknąć domyślny czas w widoku graficznym lub tekstowym, a następnie wprowadzić nowy czas.
8. Kliknąć OK a następnie Yes (Tak), aby zapisać zmiany.

## Wprowadzanie etapu GOTO

**Uwaga:** Do zestawu GOTO można wprowadzić etap GOTO; nie można tworzyć zagnieżdżonych pętli GOTO.

### Aby wprowadzić etap GOTO

1. Wybrać opcję Before (Przed) lub After (Po) z listy rozwijanej Insert Step (Wstaw etap) na pasku narzędzi.
2. Na wykresie wybrać etap, przed lub po którym ma być wstawiony etap GOTO.
3. W panelu po lewej stronie kliknąć opcję Insert GOTO (Wstaw GOTO).
4. Aby przeprowadzić edycję numeru etapu GOTO lub numeru powtórzeń GOTO, należy wybrać domyślny numer na wykresie lub w panelu konspektu i wprowadzić nową wartość.
5. Kliknąć OK a następnie Yes (Tak), aby zapisać zmiany.

## Wprowadzanie etapu krzywej topnienia

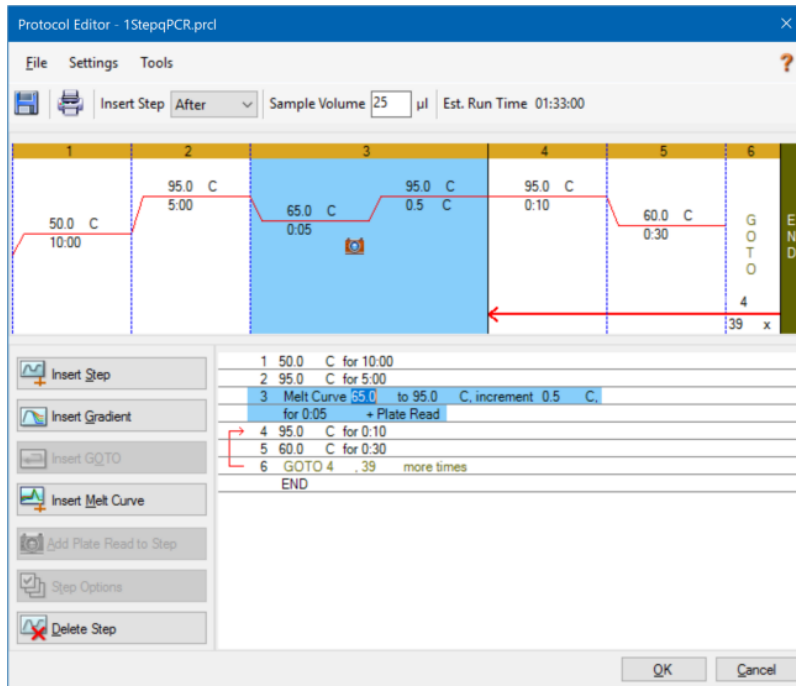
**Wskazówka:** Etapu krzywej topnienia nie można wprowadzić w pętli GOTO.

**Uwaga:** Etap krzywej topnienia obejmuje 30-sekundowe wstrzymanie na początku tego etapu, które nie jest przedstawione w protokole.

### Aby wprowadzić etap krzywej topnienia

1. Wybrać opcję Before (Przed) lub After (Po) z listy rozwijanej Insert Step (Wstaw etap) na pasku narzędzi.
2. Na wykresie wybrać etap, przed lub po którym ma być wstawiony etap krzywej topnienia.

3. W panelu po lewej stronie kliknąć opcję Insert Melt Curve (Wstaw krzywą topnienia). Nowy etap krzywej topnienia zostanie podświetlony na wykresie i w panelu konspektu — na przykład:



4. Aby przeprowadzić edycję zakresu temperatury topnienia lub czasu przyrostu, należy wybrać domyślny numer na wykresie lub w panelu konspektu i wprowadzić nową wartość.
5. Kliknąć OK a następnie Yes (Tak), aby zapisać zmiany.

## Dodawanie lub usuwanie etapu odczytu płytki

**Wskazówka:** Po dodaniu polecenia odczytu płytki do danego etapu i wybraniu tego etapu przycisk zmieni się na Remove Plate Read (Usuń odczyt płytki).

### Dodanie odczytu płytki do etapu

1. Wybrać opcję Before (Przed) lub After (Po) z listy rozwijanej Insert Step (Wstaw etap) na pasku narzędzi.
2. Na wykresie wybrać etap, przed lub po którym ma być wstawiony etap odczytu płytki.
3. Aby dodać odczyt płytki do wybranego etapu, kliknąć opcję Add Plate Read to Step (Dodaj odczyt płytki do etapu) w lewym panelu.
4. Kliknąć OK a następnie Yes (Tak), aby zapisać zmiany.

### Usunięcie odczytu płytki z etapu

- ▶ Na wykresie wybrać etap zawierający odczyt płytki i kliknąć opcję Remove Plate Read (Usuń odczyt płytki) w lewym panelu.

## Zmiana opcji etapu

### Aby zmienić opcje dla wybranego etapu

1. Wybrać etap docelowy w panelu wykresu lub konspektu.
2. W lewym panelu kliknąć pozycję Step Options (Opcje etapu), aby otworzyć okno dialogowe Step Options (Opcje etapu).

Alternatywnie kliknąć prawym przyciskiem myszy etap docelowy w dowolnym panelu i wybrać polecenie Step Options (Opcje etapu) w menu, które się pojawi.

3. Aby dodać, zmodyfikować lub usunąć opcje:
  - Wprowadzić wartość do odpowiedniego pola tekstowego.
  - Przeprowadzić edycję wartości w odpowiednim polu tekstowym.
  - Zaznaczyć pole wyboru lub usunąć jego zaznaczenie.
4. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe Step Options (Opcje etapu).
5. Kliknąć przycisk OK a następnie przycisk Yes (Tak), aby zapisać protokół.



## Usuwanie etapu

### Aby usunąć etap w protokole

1. Wybrać etap w panelu wykresu lub konspektu.
2. W lewym panelu kliknąć opcję Delete Step (Usuń etap), aby usunąć wybrany etap.
3. Kliknąć przycisk OK a następnie przycisk Yes (Tak), aby zapisać protokół.

## Kopiowanie, eksportowanie i drukowanie protokołu

### Kopiowanie protokołu

- ▶ Kliknąć prawym przyciskiem myszy zarys protokołu i wybrać Copy Protocol (Kopiuj protokół).  
Można wkleić zarys do pliku .txt, .xls, .doc lub .ppt.

### Eksport protokołu

1. Kliknąć prawym przyciskiem myszy zarys protokołu i wybrać Export Protocol (Eksportuj protokół).  
Zostanie wyświetlone okno dialogowe Save As (Zapisz jako).
2. (Opcjonalnie) W Eksploratorze Windows przejść do folderu, w którym ma być zapisany plik protokołu.
3. W polu File name (Nazwa pliku) wpisać nazwę eksportowanego pliku protokołu.
4. Kliknąć Save (Zapisz).

### Wydruk protokołu

- ▶ Kliknąć prawym przyciskiem myszy zarys protokołu i wybrać Print (Drukuj).  
Można wydrukować zarys protokołu za pomocą drukarki domyślnej.

## Tworzenie protokołu za pomocą Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu)

**Ważne:** Firma Bio-Rad nie gwarantuje, że uruchomienie protokołu utworzonego w Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) zawsze pozwoli uzyskać produkt PCR w czasie rzeczywistym.

Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) w oprogramowaniu CFX Manager Dx automatycznie generuje protokoły cykli na podstawie następujących parametrów wejściowych:

- **Amplicon length** (Długość amplikonu) — oczekiwana długość produktu PCR.
- **Annealing temperature** (Temperatura annealingu) —  $T_a$  reakcji dla stosowanych primerów.

Jeśli wartość  $T_a$  nie jest znana, można ją obliczyć automatycznie za pomocą kalkulatora  $T_a$  na podstawie sekwencji konkretnych primerów.

**Uwaga:** Wartość  $T_a$  jest korygowana na podstawie informacji o temperaturze topnienia primera ( $T_m$ ) uzyskiwanych w oparciu o wybrany enzym i szybkość protokołu.

- **Enzyme type** (Typ enzymu) — enzym polimeraza DNA (polimeraza DNA iTaq™, iProof™ lub Other (Inny)).

Jeśli stosowany jest enzym inny niż polimeraza DNA iTaq lub iProof, można wprowadzić dodatkowe informacje, w tym zakres gradientu, czas aktywacji w technice „hot start” (w sekundach) i czas końcowego wydłużania (w sekundach).

- **Run speed** (Szybkość analizy próbek) — szybkość reakcji (standardowa, szybka lub ultraszybka).

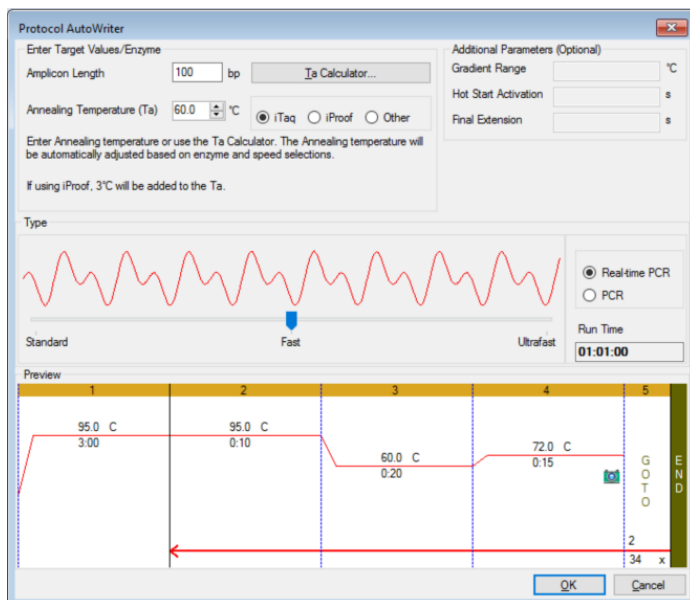
Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) optymalizuje protokół w zależności od wybranego ustawienia szybkości. Całkowity czas analizy próbek jest określany na podstawie liczby etapów i cykli, czasu inkubacji w każdym etapie oraz czasu wymaganego do osiągnięcia jednorodności w temperaturze docelowej.

Na podstawie parametrów wprowadzonych przez użytkownika oraz standardowych wytycznych dotyczących PCR Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) automatycznie generuje zindywidualizowany protokół PCR z etapami „hot start”, początkowej denaturacji, annealingu i wydłużania. Następnie można przejrzeć graficzną prezentację sugerowanego protokołu i edytować, uruchomić lub zapisać protokół.

## Utworzenie nowego protokołu za pomocą Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) w oprogramowaniu CFX Manager Dx

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać Tools (Narzędzia) > Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu).



2. W części Enter Target Values/Enzyme (Wprowadź docelowe wartości / enzym) wykonać następujące czynności:

- Wpisać wartość Annealing Temperature ( $T_a$ ) (Temperatura annealingu) dla primerów, o ile jest znana.

**Wskazówka:** Więcej informacji przedstawiono w rozdziale [Korzystanie z funkcji Ta Calculator \(Kalkulator dla temperatury annealingu Ta\)](#) na stronie 106.

**Uwaga:** Więcej informacji o obliczeniach stosowanych przez  $T_a$  Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu  $T_a$ ) można znaleźć w publikacji Breslauera i wsp. 1986.

- Wpisać wartość Amplicon Length (Długość amplikonu) wyrażoną w parach zasad (bp).
- Wybrać typ enzymu z listy opcji (polimeraza DNA iTaq™, polimeraza DNA iProof™ lub Other (Inny)).

**Wskazówka:** Wybór typu enzymu Other (Inny) spowoduje uaktywnienie parametrów w części Additional Parameters (Optional) (Dodatkowe parametry (Opcjonalne)).

3. Jeśli wybrano typ enzymu Other (Inny), można uzupełnić protokół o dowolne lub wszystkie z następujących parametrów:
  - Gradient Range (Zakres gradientu),
  - temperatura Hot Start Activation (Aktywacja w technice „hot start”),
  - czas Final Extension (Końcowe wydłużanie).
4. W części Type (Typ) przesunąć suwak w celu wybrania szybkości protokołu (Standard, Fast (Szybka) lub Ultrafast (Ultraszybka)). CFX Manager Dx dostosuje całkowity czas analizy próbek.
5. Wybrać typ analizy PCR, jaka ma zostać przeprowadzona (domyślnie zaznaczona jest analiza Real-time PCR (PCR w czasie rzeczywistym)).

W przypadku PCR w czasie rzeczywistym CFX Manager Dx dodaje etap odczytu płytki w celu zebrania danych fluorescencyjnych.
6. Przejrzeć protokół w części Preview (Podgląd). Można wprowadzić potrzebne zmiany.
7. Wykonać jedną z następujących czynności:
  - Kliknąć OK, aby zapisać nowy protokół. Zapisany protokół otwiera się w kreatorze Startup Wizard (Kreator startowy). Kliknąć Edit Selected (Edytuj wybrany), aby wprowadzić wszelkie potrzebne zmiany w protokole. Na przykład może być konieczna zmiana temperatury pokrywy i objętości próbki.
  - Kliknąć Cancel (Anuluj), aby zamknąć okno bez zapisywania protokołu.

## Korzystanie z funkcji $T_a$ Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu $T_a$ )

Jeśli wartość temperatury annealingu dla primera nie jest znana, można użyć funkcji  $T_a$  Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu  $T_a$ ) do obliczenia tej wartości. Można użyć tej wartości w funkcji Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) lub Protocol Editor (Edytor protokołu) w celu utworzenia swojego protokołu.

### Informacje o funkcji $T_a$ Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu $T_a$ )

$T_a$  Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu  $T_a$ ) oblicza wartość  $T_m$  dla każdego primera oraz wartość  $T_a$  dla protokołu przy standardowej szybkości.

Wartość  $T_a$  dla protokołu jest wyznaczana na podstawie średnich wartości  $T_m$  primerów z zastosowaniem następujących zasad:

- Jeżeli różnica między wartościami  $T_m$  primerów wynosi  $> 4^\circ\text{C}$ , to  $T_a = (\text{mniejsza z dwóch wartości } T_m \text{ primerów} + 2) - 4^\circ\text{C}$
- Jeżeli różnica między wartościami  $T_m$  wynosi  $\leq 4^\circ\text{C}$ , to  $T_a = (\text{średnia z wartości } T_m \text{ primerów}) - 4^\circ\text{C}$

### Metoda zliczania par zasad

W przypadku każdego primeru kalkulator  $T_a$  wykorzystuje metodę zliczania par zasad dla sekwencji zawierających 14 par zasad (bp) lub mniej.

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

gdzie w, x, y oraz z są liczbami odpowiednio zasad A, T, G oraz C w sekwencji.

### Metoda najbliższego sąsiada

W przypadku sekwencji, których długość przekracza 14 par zasad, stosowana jest metoda najbliższego sąsiada. W metodzie najbliższego sąsiada obliczenia temperatury topnienia są oparte na relacjach termodynamicznych między entropią (rząd lub miara losowości oligonukleotydów), entalpią (ciepło uwalniane lub pochłaniane przez oligonukleotydy), energią swobodną i temperaturą.

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

gdzie:

- $\Delta H$  = wartość entalpii, cal/mol\*K
- T = temperatura w kelwinach
- $\Delta S$  = wartość entropii, cal/mol\*K
- $\Delta G$  = energia swobodna Gibbsa wyrażona w cal/mol\*K

Zmiana w entropii i entalpii jest obliczana bezpośrednio poprzez sumowanie wartości dla par nukleotydów, które przedstawia [Tabela 12](#) (Breslauer et al. 1986).

Relacja między energią swobodną a stężeniem składników reakcji i produktów w równowadze jest następująca:

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

gdzie R jest stałą gazową (1,986 cal/mol\*K).

Podstawienie G w obu równaniach i obliczenie T daje

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

przy założeniu, że stężenie DNA i kompleksu DNA-primer są równe.

Ustalono empirycznie, że zmiana energii swobodnej podczas przejścia DNA z formy jednoniciowej do formy B wynosi 5 kcal (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996). Zakłada się, że jest to energia wymagana do zainicjowania powstawania helisy. Na koniec korekta z uwzględnieniem soli umożliwia uzyskanie równania, z którego korzysta kalkulator  $T_a$ :

$$T = (\Delta H - 5(\text{kcal/K*mol})) / (\Delta S + (R * \ln(1/(\text{primer})))) + 16.6 \log_{10}(\text{MolalnośćSoli})$$

Nie jest wymagana stała korekcyjna uwzględniająca stężenie soli, ponieważ różne parametry zostały ustalone przy stężeniu 1 M NaCl, a  $\log_{10}$  z 1 wynosi zero.

W obliczeniach termodynamicznych przyjęto założenie, że annealing ma miejsce przy pH 7,0. W obliczeniach  $T_m$  obowiązuje założenie, że sekwencje nie są symetryczne i zawierają co najmniej jedną G lub C.

W celu uzyskiwania rozsądnych wartości  $T_m$  sekwencja oligonukleotydów powinna mieć długość co najmniej 14 zasad. W przypadku sekwencji krótszych niż 14 zasad należy stosować metodę liczenia par zasad (patrz [Tabela 12](#) poniżej).

**Tabela 12. Stałe interakcji Breslauera**

| Interakcja |    | $\Delta H$ | $\Delta S$ | $\Delta G$ |
|------------|----|------------|------------|------------|
| 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        |

**Tabela 12. Stałe interakcji Breslauera, ciąg dalszy**

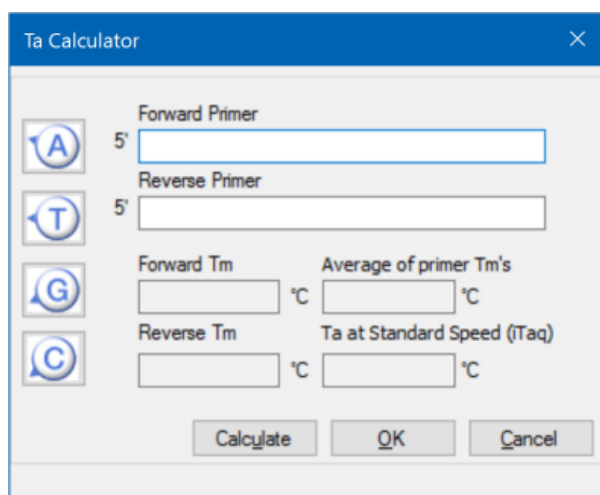
| Interakcja |    | $\Delta H$ | $\Delta S$ | $\Delta G$ |
|------------|----|------------|------------|------------|
| GT         | CA | 6,5        | 17,3       | 1,3        |
| GC         | CG | 11,1       | 26,7       | 3.1        |
| GG         | CC | 11         | 26,6       | 3.1        |

## Korzystanie z funkcji $T_a$ Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu $T_a$ )

### Użycie kalkulatora $T_a$

1. Aby otworzyć  $T_a$  Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu  $T_a$ ), wykonać jedną z następujących czynności:
  - Jeśli aktualnie otwarty jest Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu), kliknąć  $T_a$  Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu  $T_a$ ).
  - W oknie Home (Strona główna) wybrać Tools (Narzędzia) >  $T_a$  Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu  $T_a$ ).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe  $T_a$  Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu  $T_a$ ).



2. W polu tekstowym Forward Primer (Primer wiodący) wpisać lub wkleić sekwencję primera wiodącego.  
**Wskazówka:** Sekwencję można też wprowadzić za pomocą przycisków A, T, G, C po lewej stronie okna dialogowego.
3. Wpisać lub wkleić sekwencję primera odwrotnego w polu tekstowym Reverse Primer (Primer odwrotny).



4. Kliknąć Calculate (Oblicz).

T<sub>a</sub> Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu Ta) oblicza i wyświetla wartość T<sub>m</sub> dla każdego primera oraz średnie wartości T<sub>m</sub> i T<sub>a</sub>, np.:

| Field                                   | Value | Unit |
|---|-------|------|
| Forward T <sub>m</sub>                  | 59.7  | °C   |
| Reverse T <sub>m</sub>                  | 56.9  | °C   |
| Average of primer T <sub>m</sub> 's     | 58.3  | °C   |
| T <sub>a</sub> at Standard Speed (iTaQ) | 54.3  | °C   |

Jeśli wartości T<sub>m</sub> primera różnią się od siebie o więcej niż 4°C, Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu) wykorzystuje niższą wartość T<sub>m</sub> primera + 2°C jako podstawę do obliczenia wartości T<sub>a</sub>, którą można później modyfikować, zmieniając enzym i szybkość reakcji.

T<sub>a</sub> Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu Ta) generuje temperaturę annealingu dla standardowej szybkości z polimerazą DNA iTaq. W przypadku używania innego enzymu ustawienie szybkości powoduje automatyczne dostosowanie T<sub>a</sub>.

5. Wykonać jedną z następujących czynności:

- Jeśli funkcja T<sub>a</sub> Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu Ta) została otwarta z okna Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu), kliknąć OK. Nastąpi powrót do okna Protocol AutoWriter (Automatyczny kreator protokołu). Temperatura annealingu jest modyfikowana automatycznie.
- Jeśli funkcja T<sub>a</sub> Calculator (Kalkulator dla temperatury annealingu Ta) została otwarta w menu Tools (Narzędzia), odnotować obliczenia i kliknąć Cancel, aby zamknąć kalkulator.



## Rozdział 7 Przygotowywanie płytek

Plik płytki zawiera informacje o parametrach analizy, np. o trybie skanowania, fluoroforach i zawartościach studzienek. Po analizie oprogramowanie CFX Manager™ Dx łączy zawartości studzienek z danymi fluorescencji zgromadzonymi podczas analizy, a następnie wykonuje odpowiednie analizy w oknie Data Analysis (Analiza danych). Na przykład studzienki załadowane próbkami typu standard są używane do wygenerowania krzywej wzorcowej.

W oprogramowaniu Oprogramowanie CFX Manager Dx dostępne są dwie opcje tworzenia płytek: edytor Plate Editor (Edytor płytki) przeznaczony do analiz PCR w czasie rzeczywistym oraz kreator Setup Wizard (Kreator konfiguracji) do stosowania w przypadku znormalizowanych analiz ekspresji genów.

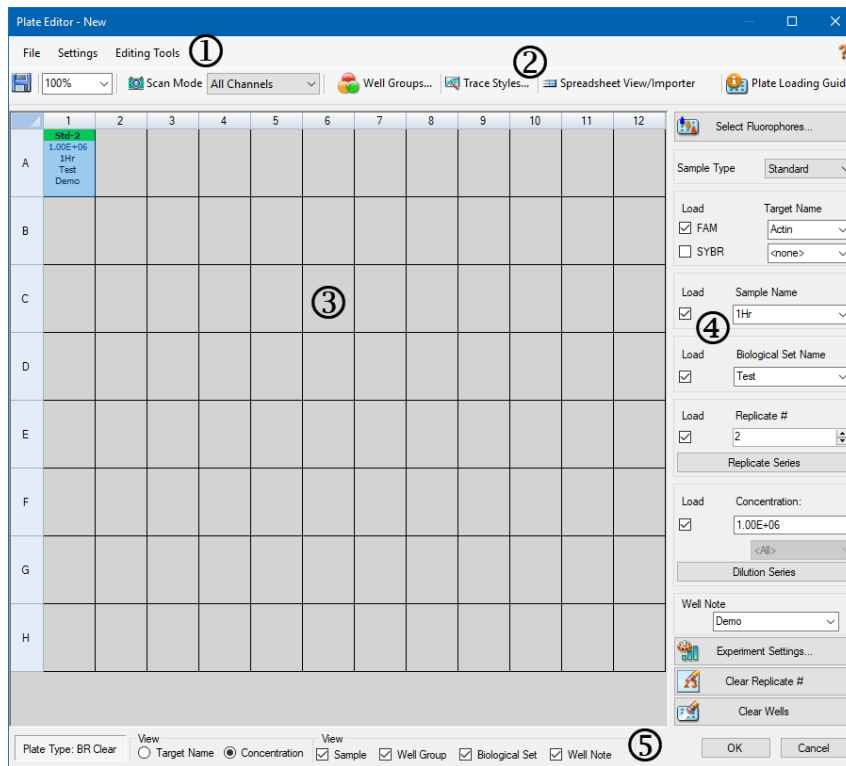
Okno Plate Editor (Edytor płytki):

- Zawiera opcje standardowych fluoroforów i typów próbek do przypisania do studzienek płytek
- Umożliwia ustawienie referencyjnych sekwencji docelowych oraz próbek kontrolnych do analiz ekspresji genów
- Umożliwia edycję konfiguracji płytki przed analizą, w jej trakcie oraz po analizie
- Pozwala na zapisywanie plików płytek do ponownego wykorzystania
- Umożliwia wydrukowanie pliku płytki na domyślnej drukarce

Kreator Setup Wizard (Kreator konfiguracji) prowadzi użytkownika przez proces tworzenia układu płytki dla znormalizowanej analizy ekspresji genów. Z kreatora Setup Wizard (Kreator konfiguracji) można korzystać przed analizą, w jej trakcie, a także po zakończeniu analizy.

## Okno Plate Editor (Edytor płytki)

Obszar Plate Editor (Edytor płytki) służy do tworzenia niestandardowych płytek i modyfikowania istniejących płytek.



### LEGENDA

1. Pasek menu zapewnia szybki dostęp do poleceń menu File (Plik) i Settings (Ustawienia), a także do opcji narzędzi edycji płytek.

---

2. Pasek narzędzi zapewnia szybki dostęp do ważnych funkcji ładowania płytek.

---

3. W panelu głównym wyświetlany jest układ płytki oraz pojawiają się opcje płytki w miarę ich stosowania.

---

4. W prawym panelu wyświetlane są opcje, których można użyć w celu dostosowania płytki.

---

5. W dolnym panelu wyświetlany jest typ płytki oraz możliwy jest szybki dostęp do opcji wyświetlania.

## Polecenia menu File (Plik)

**Save** (Zapisz) — służy do zapisywania pliku danych próbki w lokalizacji określonej na zakładce File (Plik) w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika). Więcej informacji zawiera sekcja [Zmiana domyślnych ustawień pliku na stronie 70](#). Ta pozycja menu jest dostępna tylko podczas tworzenia nowego pliku płytki.

**Save As** (Zapisz jako) — umożliwia zapisanie otwartego pliku danych płytki pod podaną nazwą. Ta pozycja menu jest dostępna tylko podczas tworzenia nowego pliku płytki.

**Extract Plate** (Wyodrębnij płytkę) — otwiera okno dialogowe, w którym można zapisać/wyodrębnić plik płytki (.pltd). Ta pozycja menu jest dostępna tylko podczas wyświetlania lub edycji istniejącego pliku płytki.

**Print** (Drukuj) — umożliwia wydrukowanie otwartego pliku danych płytki.

**Close** (Zamknij) — zamyka obszar Plate Editor (Edytor płytki).

## Polecenia menu Settings (Ustawienia)

**Plate Size** (Wielkość płytki) — opcje, za pomocą których można wybrać wielkość płytki na potrzeby konkretnej analizy próbek.

**Uwaga:** System CFX Dx może korzystać wyłącznie z płytek 96-studzienkowych.

**Plate Type** (Typ płytki) — możliwość wyboru typu studzienek w płytce, które utrzymują próbki: BR White (Białe) lub BR Clear (Przezroczyste). Aby zapewnić dokładność analizy danych, wybrany typ płytki musi być taki sam, jak typ płytki stosowany w danej analizie próbek.

**Number Convention** (Konwencja liczb) — możliwość włączenia lub wyłączenia opcji wyświetlania jednostek w notacji naukowej. Domyślnie jednostki są wyświetlane w notacji naukowej.

**Units** (Jednostki) — możliwość wyboru jednostek prezentowanych w arkuszach kalkulacyjnych podczas wykonywania ilościowego oznaczenia próbek nieznanymi w odniesieniu do krzywej wzorcowej.

## Polecenia menu Editing Tools (Narzędzia do edycji)

**Setup Wizard** (Kreator konfiguracji) — otwiera obszar Setup Wizard (Kreator konfiguracji), w którym można zdefiniować parametry układu i analizy dla bieżącej płytki. Z kreatora Setup Wizard (Kreator konfiguracji) można korzystać przed analizą, w jej trakcie, a także po zakończeniu analizy.

**Spreadsheet View/Importer** (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego) — otwiera okno dialogowe View (Widok), w którym wyświetlany jest układ płytki jako szablon w formacie arkusza kalkulacyjnego.

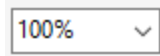
Za pomocą tego okna dialogowego można wyeksportować lub zaimportować dane szablonu płytki w formacie .csv.

**Flip Plate** (Odwróć płytkę) — odwraca zawartość płytki o 180°.

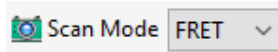
## Polecenia na pasku narzędzi



Zapisuje plik bieżącej płytki.



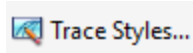
Wyświetla listę rozwijaną, z której można powiększyć lub zmniejszyć widok płytki.



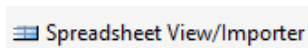
Wyświetla listę rozwijaną, z której można wybrać tryb skanowania stanowiący dla aparatu instrukcję dotyczącą tego, z których kanałów gromadzić dane fluorescencji podczas analizy.



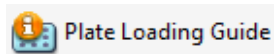
Otwiera obszar Well Groups Manager (Menedżer grup studzienek), w którym można tworzyć grupy studzienek dla bieżącej płytki.



Wyświetla okno dialogowe, w którym można wybrać kolory i symbole dla krzywych amplifikacji.



Otwiera okno dialogowe View (Widok), w którym wyświetlany jest układ płytki jako szablon w formacie arkusza kalkulacyjnego. Za pomocą tego okna dialogowego można wyeksportować lub zaimportować dane szablonu płytki w formacie .csv.



Wyświetla kroki wymagane w celu skonfigurowania płytki i załadowania studzienek.

## Tworzenie pliku płytki za pomocą Plate Editor (Edytor płytki)

Za pomocą funkcji Plate Editor (Edytor płytki) można tworzyć niestandardowe pliki płytek. Można też edytować i zapisywać wcześniej zapisane pliki płytek oraz przykładowe pliki płytek dostarczane w oprogramowaniu Oprogramowanie CFX Manager Dx.

Aby utworzyć nowy plik płytki, należy wykonać następujące czynności:

- Otworzyć okno Plate Editor (Edytor płytki).
- Wybrać typ płytki.

**Uwaga:** Typ płytki dla pliku płytki musi być taki sam, jak typ płytki w module reakcyjnym.

- Wybrać tryb skanowania, który będzie używany w protokole.
- Wybrać fluorofory, który będą używane w płytce.
- Wybrać typ próbki, sekwencje docelowe oraz próbki.
- W razie potrzeby wybrać replikaty.
- Zapisać układ płytki.

**Wskazówka:** Informacje o zapisywaniu nowej płytki na podstawie wcześniej zapisanego lub przykładowego pliku płytki zamieszczono w rozdziale [Otwieranie istniejącego pliku płytki w oknie Plate Editor \(Edytor płytki\) na stronie 119](#).

## Otwieranie nowego pliku płytki w oknie Plate Editor (Edytor płytki)

Oprogramowanie CFX Manager Dx zapewnia wiele opcji otwierania nowego pliku płytki:

- z okna Home (Strona główna),
- z okna dialogowego Startup Wizard (Kreator startowy),
- z okna dialogowego Run Setup (Konfiguracja analizy próbek).

### Otwarcie nowego pliku płytki z okna Home (Strona główna)

- ▶ Wybrać File (Plik) > New (Nowy) > Plate (Płytki).

Zostanie otwarte okno Plate Editor (Edytor płytki) z wyświetlonym domyślnym plikiem płytki dla wybranego aparatu.

**Wskazówka:** Informacje o ustawianiu domyślnego pliku płytki zamieszczono w sekcji [Zmiana domyślnych ustawień pliku na stronie 70](#).

### Otwarcie nowego pliku płytki z okna Startup Wizard (Kreator startowy)

1. W oknie Home (Strona główna) wykonać jedną z następujących czynności w celu otworzenia kreatora Startup Wizard (Kreator startowy), jeśli nie jest on widoczny:

- Wybrać opcje View (Widok) > Startup Wizard (Kreator startowy).
- Kliknąć Startup Wizard (Kreator startowy) na pasku narzędzi.

Domyślnie w oknie Startup Wizard (Kreator startowy) wyświetlana jest zakładka Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z wybranym aparatem CFX96™.

2. W razie potrzeby wybrać typ aparatu z listy rozwijanej.
3. Aby utworzyć nową płytkę, kliknąć typ analizy User-defined (Zdefiniowany przez użytkownika).

Zostanie otwarte okno dialogowe Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z wyświetloną zakładką Protocol (Protokół).

4. Kliknąć zakładkę Plate (Płytki), a następnie opcję Create New (Utwórz nową).

Zostanie otwarte okno Plate Editor (Edytor płytki) z wyświetlonym domyślnym układem płytki dla wybranego aparatu.

### Otwarcie nowego pliku płytki z okna dialogowego Run Setup (Konfiguracja analizy próbek)

1. W oknie Home (Strona główna) wykonać jedną z następujących czynności w celu otworzenia okna dialogowego Run Setup (Konfiguracja analizy próbek):

- Wybrać opcje Run (Analiza próbek) > User-defined Run (Analiza zdefiniowana przez użytkownika).
- Kliknąć User-Defined Run Setup (Konfiguracja analizy definiowanej przez użytkownika) na pasku narzędzi.

Zostanie otwarte okno dialogowe Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) z zakładką Protocol (Protokół).

2. Aby utworzyć nową płytkę, kliknąć zakładkę Plate (Płytki), a następnie opcję Create New (Utwórz nową).

Zostanie otwarte okno Plate Editor (Edytor płytki) z wyświetlonym domyślnym układem płytki dla wybranego aparatu.



## Otwieranie istniejącego pliku płytki w oknie Plate Editor (Edytor płytki)

Oprogramowanie CFX Manager Dx zapewnia przykładowe pliki płytki, które można edytować i zapisywać jako nową płytkę. Można też utworzyć nowy plik płytki z wcześniej zapisanego pliku płytki.

### Otwarcie przykładowego pliku płytki

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać File (Plik) > Open (Otwórz) > Plate (Płytki).  
Program Eksplorator Windows jest otwierany w lokalizacji folderu plików CFX Manager Dx Sample (Przykład).
2. Otworzyć folder plików Sample (Przykład), a następnie folder Plates (Płytki).
3. Wybrać potrzebną płytkę i kliknąć Open (Otwórz).  
Przykładowy plik płytki zostanie otwarty w oknie Plate Editor (Edytor płytki).
4. Wybrać File (Plik) > Save As (Zapisz jako) i zapisać plik płytki z nową nazwą lub w nowym folderze.

### Otwarcie wcześniej zapisanego pliku płytki

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać File (Plik) > Open (Otwórz) > Plate (Płytki), przejść do docelowej płytki, wybrać ją i kliknąć Open (Otwórz).  
Docelowa płytki zostanie otwarta w oknie Plate Editor (Edytor płytki).
2. Wybrać File (Plik) > Save As (Zapisz jako) i zapisać plik płytki z nową nazwą lub w nowym folderze.

## Konfigurowanie nowego pliku płytki

**Wskazówka:** Jeśli plik płytki zawiera wymagane parametry (np. jeśli edytowany jest przykładowy lub istniejący plik płytki), można pominąć ten rozdział i przejść do rozdziału [Przypisywanie parametrów opcjonalnych do pliku płytki na stronie 126](#).

Nowe pliki płytki wymagają określenia następujących parametrów:

- Plate size (Wielkość płytki),
- Plate type (Typ płytki),
- Scan mode (Tryb skanowania),
- Jeden fluorofor (barwnik),
- Jeden typ próbki.

### Wybieranie wielkości i typu płytki

**Ważne:** Wielkość płytki musi zostać wybrana podczas konfigurowania płytki. Nie można zmienić wielkości płytki podczas analizy próbek ani po jej zakończeniu.

Oprogramowanie stosuje wielkość i typ płytki do wszystkich studzienek podczas analizy próbek. Upewnić się, że wybrana wielkość płytki jest taka sama, jak płytki, która będzie stosowana w analizie.

Aparaty Bio-Rad CFX96 i CFX96 Deep Well są fabrycznie skalibrowane dla wielu kombinacji barwników fluorescencyjnych i płytek. Kalibracja jest specyficzna dla aparatu, barwnika i typu płytki. Upewnić się, że fluorofor, który ma być stosowany, jest skalibrowany dla wybranego typu płytki.

### Wybieranie trybu skanowania

Systemy CFX96 oraz CFX96 Deep Well wzbudzają i wykrywają fluorofory w pięciu kanałach. Wszystkie systemy wykorzystują wiele trybów skanowania z akwizycją danych celem gromadzenia danych fluorescencji podczas analizy.

Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx udostępnia trzy tryby skanowania:

- All Channels (Wszystkie kanały)
  - Służy do skanowania kanałów od 1 do 5 w systemach CFX96 oraz CFX96 Deep Well
- SYBR® /FAM
  - Skanuje tylko kanał 1
  - Zapewnia szybkie skanowanie

- FRET
  - Skanuje tylko kanał FRET
  - Zapewnia szybkie skanowanie

### Wybieranie fluoroforów

**Ważne:** Przed rozpoczęciem analizy próbek oprogramowanie CFX Manager Dx sprawdza, czy fluorofory określone w płytce są skalibrowane w danym aparacie. Nie można analizować płytki, jeśli zawiera ona fluorofory nieskalibrowane w tym aparacie.

Przed rozpoczęciem analizy próbek trzeba załadować co najmniej jeden fluorofor na płytkę. Na tym etapie można dodać tyle fluoroforów, ile jest konieczne, ale płytka musi zawierać co najmniej jeden fluorofor. Wybrane fluorofory pojawiają się jako opcje dla genów docelowych w części Target Names (Nazwy genów docelowych).

Za pomocą okna dialogowego Select Fluorophores (Wybierz fluorofory) można załadować fluorofory (lub barwniki płytek) do elementów kontroli ładowania studzienek w oknie Plate Editor (Edytor płytki). Fluorofory wyświetlane w oknie dialogowym Select Fluorophores (Wybierz fluorofory) zależą od wybranego trybu skanowania:

- All Channels (Wszystkie kanały)

Wyświetlane są wszystkie dostępne fluorofory.

**Wskazówka:** Można dodać tyle fluoroforów, ile jest potrzebne, ale można załadować tylko jeden fluorofor na kanał w każdej studzience.

- SYBR®/FAM

Wyświetlane są tylko fluorofory z kanału 1.

- FRET

Wyświetlany jest tylko fluorofor z kanału 6.

**Wskazówka:** Fluorofor FRET z kanału 6 jest wyświetlany jedynie, gdy wybrano tryb skanowania FRET. Nie jest dostępny w trybie skanowania All Channels (Wszystkie kanały).

**Uwaga:** Nie można bezpośrednio dodawać fluoroforów do okna dialogowego Select Fluorophores (Wybierz fluorofory), ani usuwać ich bezpośrednio z tego okna. Nowe fluorofory w danym aparacie trzeba skalibrować przy użyciu kreatora Calibration Wizard (Kreator kalibracji). Po kalibracji nowy fluorofor jest automatycznie dodawany do tej listy.

## Wybieranie typów próbek

**Ważne:** Przed rozpoczęciem analizy próbek trzeba wybrać co najmniej jeden typ próbek, aby przypisać go do studzienek na płytce.

Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx oferuje pięć typów próbek:

- Unknown (Nieznana)
- Standard (Standard)
- NTC (Bez kontroli matrycy)
- Positive Control (Kontrola dodatnia)
- Negative Control (Kontrola ujemna)
- NRT (Bez odwrotnej transkryptazy)

Typy próbek można przypisać do studzienek na płytce.

## Konfigurowanie nowej płytki

### Konfiguracja nowej płytki

1. Otworzyć nową płytkę w oknie Plate Editor (Edytor płytki).
2. Aby ustawić wielkość płytki, wybrać Settings (Ustawienia) > Plate Size (Wielkość płytki) i wybrać odpowiednią wielkość płytki z menu rozwijanego.
3. Aby ustawić typ płytki, wybrać Settings (Ustawienia) > Plate Type (Typ płytki) i wybrać opcję BR White (Biała) lub BR Clear (Przezroczysta) z menu rozwijanego.
4. Opcjonalnie w menu Settings (Ustawienia) można zmienić konwencję prezentowania liczb oraz wyświetlane jednostki:
  - Aby zmienić sposób prezentowania liczb, wybrać Settings (Ustawienia) > Number Convention (Konwencja liczb) i wybrać opcję (Notacja naukowa).

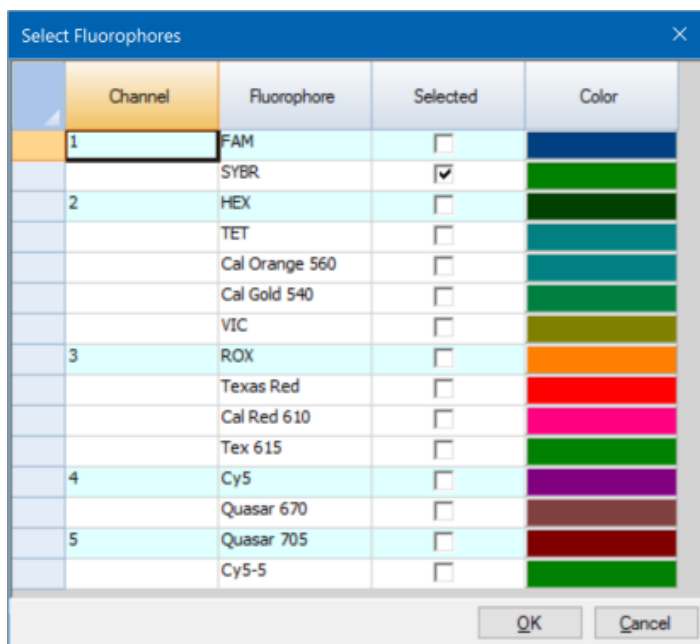
**Wskazówka:** Opcja Scientific Notation (Notacja naukowa) jest wybrana domyślnie. W tym przypadku wybór opcji Scientific Notation (Notacja naukowa) powoduje wyczyszczenie zaznaczenia opcji domyślnej i ustawia konwencję liczb na format standardowy.

  - Aby zmienić wyświetlane jednostki, wybrać Settings (Ustawienia) > Units (Jednostki) i wybrać nową wartość jednostek.
5. Aby ustawić tryb skanowania, wybrać odpowiedni tryb skanowania z listy rozwijanej Scan Mode (Tryb skanowania) na pasku narzędzi w oknie Plate Editor (Edytor płytki).

6. Wybrać wymagane fluorofory dla płytki:

- a. W prawym panelu kliknąć Select Fluorophores (Wybierz fluorofory).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Select Fluorophores (Wybierz fluorofory). Widoczne są fluorofory dostępne dla typu trybu skanowania wybranego w [Krok 5](#), np.:



- b. Aby wybrać fluorofor, kliknąć jego pole wyboru Selected (Wybrany).

**Wskazówka:** Aby usunąć fluorofor z listy, usunąć zaznaczenie jego pola wyboru Selected (Wybrany).

- c. Aby zmienić wyświetlany kolor fluoroforu, kliknąć jego pole Color (Kolor).

**Uwaga:** Wybrany kolor będzie oznaczał dany fluorofor zarówno w oknie Plate Editor (Edytor płytki), jak i na wykresach Data Analysis (Analiza danych).

- d. W oknie dialogowym Color (Kolor) wybrać potrzebny kolor lub kliknąć Define Custom Colors (Definiuj kolory niestandardowe), aby utworzyć nowy kolor oznaczający dany fluorofor.

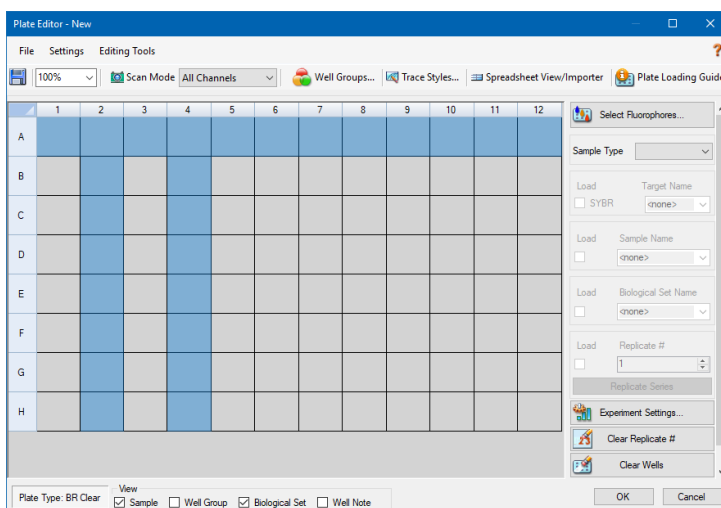
- e. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i wyjść z okna dialogowego Select Fluorophores (Wybierz fluorofory).

7. Konieczne jest wybranie co najmniej jednej studzienki, do której ma być załadowany dany typ próbki. Domyślnie wybrana jest studzienka A1.

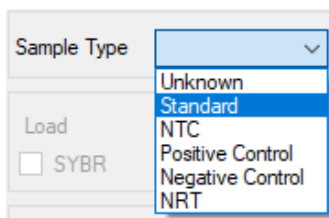
W panelu płytki wykonać jedną z następujących czynności:

- Aby załadować wiele sąsiednich studzienek, kliknąć studzienkę i przeciągnąć ją do studzienki docelowej.
- Aby załadować wiele niesąsiadujących studzienek, nacisnąć klawisz Ctrl i kliknąć każdą studzienkę.
- Aby załadować całą kolumnę tym samym typem próbki, kliknąć numer kolumny.
- Aby załadować cały rząd, kliknąć jego numer.
- Aby załadować całą płytkę, kliknąć jej górny lewy róg.

Na przykład:



8. Do wybranej studzienki (lub studzienek) przypisać typ próbki z menu rozwijanego Sample Type (Typ próbki).

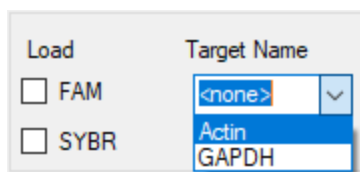


9. Przypisać co najmniej jeden fluorofor do wszystkich studzienek zawierających dany typ próbki. Można przypisać więcej niż jeden fluorofor do studzienki lub grupy studzienek.

**Uwaga:** Można przypisać tylko jeden fluorofor na kanał. Nie można przypisać więcej niż jednego fluoroforu z tego samego kanału do tej samej studzienki.

**Wskazówka:** Można powiązać gen docelowy z fluoroforem lub można w tym momencie jedynie przypisać fluorofor do studzienki, a gen docelowy powiązać z fluoroforem po wykonaniu eksperymentu.

- Aby jedynie przypisać fluorofor do wybranych studzienek, w części Target Names (Nazwy genów docelowych) w prawym panelu zaznaczyć pole wyboru Load (Załaduj) dla określonego fluoroforu.
- Aby powiązać docelowy gen z fluoroforem, w części Target Names (Nazwy genów docelowych) wybrać nazwę genu docelowego z listy rozwijanej dla określonego fluoroforu. Oprogramowanie automatycznie zaznaczy odpowiednie pole wyboru Load (Załaduj).



10. W przypadku studzienek zawierających próbki typu Standard (Wzorzec) musi zostać załadowane stężenie. Każda studzienka może mieć inną wartość stężenia. Domyślnie Oprogramowanie CFX Manager Dx załaduje stężenie 1,00E+06 w przypadku wszystkich studzienek z typem próbki Standard (Wzorzec). W razie potrzeby można zmienić tę wartość.
- a. W panelu płytki wybrać studzienkę lub grupę studzienek Standard (Wzorzec).
  - b. W części Concentration (Stężenie) kliknąć Load (Załaduj), aby załadować wartość do wybranej studzienki (lub studzienek).
  - c. (Opcjonalnie) Aby załadować inne stężenie, wpisać nową wartość w polu tekstowym Concentration (Stężenie) i nacisnąć Enter.
  - d. Wykonać tę czynność dla wszystkich studzienek z typem próbki Standard (Wzorzec).

**Wskazówka:** Aby załadować takie samo stężenie do wszystkich studzienek Standard (Wzorzec), zapewnić, żeby na liście rozwijanej pod wartością Concentration (Stężenie) widoczna była opcja <All> (Wszystko). Aby załadować tę samą wartość stężenia do wszystkich studzienek z danym fluoroforem, kliknąć listę rozwijaną i wybrać fluorofor.

11. Kliknąć OK, aby zapisać nową płytkę.

## Przypisywanie parametrów opcjonalnych do pliku płytki

Plik płytki zawiera informacje dotyczące zawartości każdej studzienki, do której została załadowana próbka przeznaczona do analizy. Po analizie oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx łączy zawartości studzienek z danymi fluorescencji zgromadzonymi podczas protokołu, a następnie wykonuje odpowiednie analizy w oknie Data Analysis (Analiza danych).

W oprogramowaniu CFX Manager Dx można przypisać parametry do poszczególnych studzienek na płytce przed uruchomieniem eksperymentów, w czasie ich trwania, a także po ich wykonaniu.

Parametry można przypisywać do istniejącego pliku próbki lub do nowego pliku próbki. Do tych parametrów należą między innymi następujące:

- **Nazwy sekwencji docelowych** — sekwencja lub sekwencje stanowiące przedmiot zainteresowania (geny lub sekwencje) w każdej studzience, do której została załadowana próbka.
- **Nazwy próbek** — identyfikator lub warunek, który odpowiada próbce w każdej studzience, do której załadowano próbkę, na przykład 0Hr, 1Hr lub 2Hr.

**Wskazówka:** nazwy sekwencji docelowych i próbek muszą być takie same między studzienkami, aby możliwe było porównywanie danych na zakładce Gene Expression (Ekspresja genu) w oknie Data Analysis (Analiza danych). Każda nazwa musi zawierać takie same litery, takie same znaki interpunkcyjne i takie same odstępy. Na przykład „Actin” różni się od „actin”, „2Hr” różni się od „2 hr.”, a „Mouse 1” to nie to samo, co „mouse1”. W celu zapewnienia spójności nazw należy wprowadzić nazwy do sekcji Libraries (Biblioteki) w obszarze dostępnym po wybraniu opcji User (Użytkownik) > User Preferences (Preferencje użytkownika) > Plate (Płytki), która jest dostępna w oknie Home (Strona główna).

- **Zestawy biologiczne** — identyfikator lub warunek, który odpowiada zestawowi studzienek.
- **Replikaty** — każda studzienka używana w celu analizowania tej samej kombinacji próbki i sekwencji docelowych; czyli powtórzenie reakcji qPCR.
- **Seria rozcieńczeń** — stopień zmiany stężenia próbki standardowej w grupie replikatów wymagany w celu utworzenia krzywej standardowej do analizy.



## Przypisywanie sekwencji docelowej do studzienek

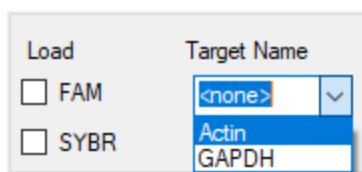
**Wskazówka:** Do jednej lub wielu studzienek można przypisać tę samą nazwę sekwencji docelowej. Do tej samej studzienki można również przypisać wiele sekwencji docelowych.

### Aby przypisać sekwencję docelową do studzienki lub grupy studzienek

1. W oknie Plate Editor (Edytor płytki) upewnić się, że dla studzienki lub grupy studzienek przypisano typ próbki.

Informacje na temat przypisywania typów próbek do studzienek zawiera rozdział [Wybieranie typów próbek na stronie 122](#).

2. W panelu płytki wybrać studzienkę lub grupę studzienek:
  - Aby wybrać pojedynczą studzienkę, należy ją kliknąć.
  - Aby wybrać wiele sąsiednich studzienek, należy kliknąć studzienkę i przeciągnąć kursor do studzienki docelowej.
  - W celu wybrania wielu niesąsiadujących studzienek, nacisnąć klawisz Ctrl i kliknąć każdą studzienkę.
  - Aby wybrać całą kolumnę z tym samym typem próbki, kliknąć numer kolumny.
  - Aby wybrać cały rząd, kliknąć jego numer.
3. W prawym panelu wybrać nazwę z listy rozwijanej Target Name (Nazwa sekwencji docelowej) dla poszczególnych wybranych fluoroforów.



4. Powtórzyć [Krok 3](#) dla każdej studzienki lub grupy studzienek, do których planowane jest przypisanie sekwencji docelowej.

**Wskazówka:** Do każdego wybranego fluoroforu można przypisać tę samą nazwę lub różne nazwy sekwencji docelowych.

5. Kliknąć przycisk OK, aby zaakceptować zmiany i zapisać płytkę.

### Aby usunąć nazwę sekwencji docelowej

- ▶ Aby usunąć nazwę sekwencji docelowej z wybranej studzienki albo grupy studzienek, należy usunąć zaznaczenie pola wyboru Load (Ładuj) dla konkretnej studzienki.

**Ważne:** Usunięcie nazwy sekwencji docelowej ze studzienki powoduje również usunięcie skojarzonego fluoroforu. Należy wziąć to pod uwagę przed usunięciem nazwy sekwencji docelowej ze studzienki.

### Aby dodać nazwę sekwencji docelowej do listy

- ▶ Aby dodać nazwę sekwencji docelowej do listy rozwijanej, należy wykonać jedną z poniższych czynności:
  - Wpisać nazwę do listy rozwijanej Target Name (Nazwa sekwencji docelowej) i nacisnąć klawisz Enter.

**Wskazówka:** Nazwy sekwencji docelowych dodane do jednej listy będą widoczne we wszystkich pozostałych listach sekwencji docelowych.

  - Kliknąć zielony symbol + po prawej stronie listy rozwijanej, wpisać nazwę dla sekwencji docelowej i nacisnąć klawisz Enter.
  - Kliknąć opcję User Preferences (Preferencje użytkownika) na pasku narzędzi, a następnie dodać nazwę do biblioteki Target Names (Nazwy sekwencji docelowych) na zakładce Plate (Płytki).

**Ważne:** Nazwy sekwencji docelowych dodane do listy rozwijanej są dostępne tylko dla bieżącej płytki i tylko po przypisaniu nazwy do studzienki i zapisaniu układu płytki. Jeśli nazwa nie zostanie przypisana do studzienki, a układ płytki nie zostanie zapisany, wówczas nazwa nie zostanie zapisana i nie będzie dostępna w przyszłości. Aby nazwę sekwencji docelowej dodać na stałe, należy ją również dodać do biblioteki Target Names (Nazwy sekwencji docelowych), korzystając z okna dialogowego User Preferences (Preferencje użytkownika). Nazwy dodane do biblioteki będą dostępne po ponownym otwarciu okna Plate Editor (Edytor płytki). Więcej informacji zawiera sekcja [Ustawianie domyślnych parametrów płytki na stronie 73](#).

### Aby usunąć nazwę sekwencji docelowej z listy

1. Kliknąć opcję User Preferences (Preferencje użytkownika) na pasku narzędzi.  
Pojawi się okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika) z wyświetloną zakładką Plate (Płytki).
2. W bibliotece Target Names (Nazwy sekwencji docelowych) należy wybrać nazwę do usunięcia i nacisnąć klawisz Delete.

3. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać zmiany i wyjść z okna dialogowego User Preferences (Preferencje użytkownika).

**Ważne:** Nazwy sekwencji docelowych, które zostały zapisane z plikiem płytki, nie mogą być usuwane. Nazwy niestandardowe dodane do listy rozwijanej Target Names (Nazwy sekwencji docelowych), które nie są używane ani nie zostały zapisane z płytką, są automatycznie usuwane z listy. Nazwy usunięte z biblioteki Target Names (Nazwy sekwencji docelowych), są też trwale usuwane z oprogramowania i nie będą już dostępne dla użytkowników. Należy wziąć to pod uwagę przed usunięciem nazw sekwencji docelowych.

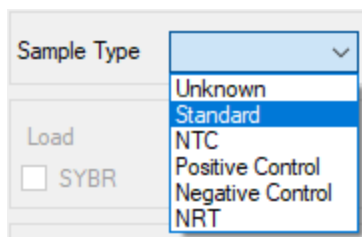
## Przypisywanie nazwy próbki do studzienek

**Uwaga:** W celu przypisania nazwy próbki należy przypisać do wybranych studzienek co najmniej jeden fluorofor. Jeśli do wybranych studzienek nie zostanie przypisany fluorofor, lista rozwijana Sample Names (Nazwy próbek) zostanie wyłączona. Informacje na temat przypisywania fluoroforów zawiera sekcja [Przypisywanie sekwencji docelowej do studzienek na stronie 127](#).

**Wskazówka:** Do każdej studzienki lub grupy studzienek można przypisać tylko jedną nazwę próbki.

### Aby przypisać nazwę próbki do studzienki lub grupy studzienek

1. W oknie Plate Editor (Edytor płytki) upewnić się, że do studzienki lub grupy studzienek przypisano fluorofor.
2. W panelu płytki wybrać studzienkę lub grupę studzienek.
3. W panelu po prawej stronie wybrać nazwę na liście rozwijanej Sample Names (Nazwy próbek).



4. Powtórzyć [Krok 3](#) dla każdej studzienki lub grupy studzienek, do których planowane jest przypisanie nazwy próbki.
5. Kliknąć przycisk OK, aby zaakceptować zmiany i zapisać płytkę.

### Aby usunąć nazwę próbki

- Aby usunąć nazwę próbki z wybranej studzienki albo grupy studzienek, należy usunąć zaznaczenie pola wyboru Load (Ładuj) dla konkretnej studzienki.

### Aby dodać nazwę próbki do listy

- ▶ Aby dodać nazwę próbki do listy rozwijanej, należy wykonać jedną z poniższych czynności:
  - Wpisać nazwę do listy rozwijanej Sample Names (Nazwa próbki) i nacisnąć klawisz Enter.
  - Kliknąć zielony symbol + po prawej stronie listy rozwijanej i wpisać nazwę dla próbki.
  - Kliknąć opcję User Preferences (Preferencje użytkownika) na pasku narzędzi, a następnie dodać nazwę do biblioteki Sample Names (Nazwy próbek) na zakładce Plate (Płytki).

**Ważne:** Nazwy próbek dodane do listy rozwijanej są dostępne tylko dla bieżącej płytki i tylko po przypisaniu nazwy do studzienki i zapisaniu układu płytki. Jeśli nazwa nie zostanie przypisana do studzienki, a układ płytki nie zostanie zapisany, wówczas nazwa nie zostanie zapisana i nie będzie dostępna w przyszłości. Aby nazwę próbki dodać na stałe, należy ją również dodać do biblioteki Sample Names (Nazwy próbek), korzystając z okna dialogowego User Preferences (Preferencje użytkownika). Nazwy dodane do biblioteki będą dostępne po ponownym otwarciu okna Plate Editor (Edytor płytki). Więcej informacji zawiera sekcja [Ustawianie domyślnych parametrów płytki na stronie 73](#).

### Aby usunąć nazwę próbki z listy

1. Kliknąć opcję User Preferences (Preferencje użytkownika) na pasku narzędzi.  
Pojawi się okno dialogowe User Preferences (Preferencje użytkownika) z wyświetloną zakładką Plate (Płytki).
2. W bibliotece Sample Names (Nazwy próbek) należy wybrać nazwę do usunięcia i nacisnąć klawisz Delete.
3. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać zmiany i wyjść z okna dialogowego User Preferences (Preferencje użytkownika).

**Ważne:** Nazwy próbek, które zostały zapisane z plikiem płytki, nie mogą być usuwane. Nazwy niestandardowe dodane do listy Sample Names (Nazwy próbek), które nie są używane ani nie zostały zapisane z płytką, są automatycznie usuwane z listy rozwijanej. Nazwy usunięte z biblioteki Sample Names (Nazwy próbek), są też usuwane z oprogramowania i nie będą już dostępne dla użytkowników. Należy wziąć to pod uwagę przed usunięciem nazw próbek.

## Przypisywanie zestawów biologicznych do studzienek

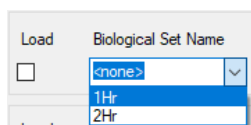
**Uwaga:** W celu przypisania zestawu biologicznego należy przypisać do wybranych studzienek co najmniej jeden fluorofor. Przypisanie fluoroforu powoduje włączenie listy rozwijanej Biological Set Name (Nazwa zestawu biologicznego). Informacje na temat przypisywania fluoroforów zawiera sekcja [Przypisywanie sekwencji docelowej do studzienek na stronie 127](#).

**Wskazówka:** Do każdej studzienki lub grupy studzienek można przypisać jedną zestawu biologicznego.

### Aby przypisać zestaw biologiczny do studzienki lub grupy studzienek

1. W obszarze opcji View (Widok) u dołu okna Plate Editor (Edytor płytki) zaznaczyć pole wyboru Biological Set (Zestaw biologiczny).
2. W oknie Plate Editor (Edytor płytki) upewnić się, że do studzienki lub grupy studzienek przypisano fluorofor.
3. W panelu płytki wybrać studzienkę lub grupę studzienek.
4. W panelu po prawej stronie wybrać nazwę na liście rozwijanej Biological Set Name (Nazwa zestawu biologicznego).

Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx automatycznie zaznaczy odpowiednie pole wyboru Load (Załaduj).



5. Powtórzyć [Krok 4](#) dla każdej studzienki lub grupy studzienek, do których wymagane jest przypisanie zestawu biologicznego.
6. Kliknąć przycisk OK, aby zaakceptować zmiany i zapisać płytkę.

**Wskazówka:** Przypisanie nazw zestawu biologicznego do studzienek powoduje włączenie opcji Biological Set Analysis Options (Opcje analizy zestawu biologicznego) w oknie dialogowym Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu), w którym można wykonywać analizy próbek w co najmniej czterech konfiguracjach. Więcej informacji przedstawiono w sekcji [Zmiana ustawień eksperymentu na stronie 137](#).

### Aby usunąć zestaw biologiczny

- ▶ Aby usunąć zestaw biologiczny z wybranej studzienki lub grupy studzienek, należy usunąć zaznaczenie odpowiedniego pola wyboru Load (Ładuj).

### Aby dodać nazwę zestawu biologicznego do listy

- ▶ Aby dodać nazwę zestawu biologicznego do listy rozwijanej, należy wpisać nazwę do pola rozwijanego Biological Set Name (Nazwa zestawu biologicznego) i nacisnąć klawisz Enter:

**Ważne:** Nazwy zestawów biologicznych dodane do listy rozwijanej są dostępne tylko dla bieżącej płytki i tylko po przypisaniu nazwy do studzienki i zapisaniu układu płytki. Jeśli

nazwa nie zostanie przypisana do studzienki, a układ płytki nie zostanie zapisany, wówczas nazwa nie zostanie zapisana i nie będzie dostępna w przyszłości.

### Aby wyświetlać wszystkie zestawy biologiczne na płytce

- ▶ W obszarze opcji View (Widok) u dołu okna Plate Editor (Edytor płytki) zaznaczyć pole wyboru Biological Set (Zestaw biologiczny).



Dla wszystkich studzienek wyświetlane są odpowiadające im nazwy zestawów biologicznych, jeśli zostały przypisane. Element sterujący Biological Set Name (Nazwa zestawu biologicznego) jest wyświetlany w panelu po prawej stronie.

Aby ukryć zestawy biologiczne, należy usunąć zaznaczenie pola wyboru Biological Set (Zestaw biologiczny) w obszarze opcji View (Widok).

## Przypisywanie numerów replikatów do studzienek

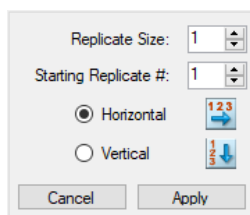
**Ważne:** Aby możliwe było przypisanie numerów replikatów, wybrane studzienki muszą mieć identyczną zawartość. Oznacza to, że wybrane studzienki muszą mieć ten sam typ próbki i ten sam fluorofor. Jeśli ma to zastosowanie, muszą też mieć przypisane takie same nazwy docelowych genów i nazwy próbek oraz taki sam zestaw biologiczny. Jeśli te wartości nie są identyczne, Oprogramowanie CFX Manager Dx nie włączy tej opcji.

### Przypisanie numerów replikatów do grupy studzienek

1. W oknie Plate Editor (Edytor płytki) sprawdzić, czy studzienki w obrębie grupy mają identyczną zawartość.
2. W panelu płytki wybrać docelową grupę studzienek.
3. Aby przypisać ten sam numer replikatu do wszystkich wybranych studzienek, wpisać numer replikatu w polu w części Replicate # (Nr replikatu) w prawym panelu i zaznaczyć pole Load (Załaduj).



4. (Opcjonalnie) Aby zastosować serię replikatów do zestawu wybranych studzienek:
  - a. Kliknąć Replicate Series (Seria replikatów). Część Replicate # (Nr replikatu) zmieni się, wyświetlając następujące opcje:



- **Replicate size** (Wielkość replikatu) — liczba określająca liczbę studzienek w każdej grupie replikatów.
- **Starting replicate #** (Nr replikatu początkowego) — pierwszy numer w serii replikatów dla wybranej grupy replikatów.

**Uwaga:** Domyślnie Oprogramowanie CFX Manager Dx wyświetla numer początkowego replikatu jako numer o jeden większy niż numer ostatniego replikatu przypisanego na płytce. Na przykład jeśli numer ostatniego replikatu na płytce to pięć, to kolejny numer początkowy wynosi sześć. Początkowy numer można zmienić na dowolny numer, który nie jest jeszcze przypisany.

- Kolejność ładowania — Horizontal (W poziomie) lub Vertical (W pionie).
- b. Kliknąć Apply (Zastosuj), aby zastosować parametry do serii i powrócić do okna Replicate # (Nr replikatu).
5. Kliknąć przycisk OK, aby zaakceptować zmiany i zapisać płytkę.

### Usunięcie studzienki z serii replikatów

- ▶ Wybrać studzienkę lub grupę studzienek do usunięcia i odznaczyć pole Load (Załaduj) przy opcji Replicate # (Nr replikatu).

Zamiast tego można kliknąć Clear Replicate # (Usuń nr replikatu), aby usunąć numer replikatu dla wybranej studzienki lub grupy studzienek.

## Przypisywanie serii rozcieńczeń do typów próbek Standard (Wzorzec)

Jak już stwierdzono wyżej, wszystkie studzienki z typem próbki Standard (Wzorzec) muszą mieć przypisaną wartość stężenia. Można przypisać serię rozcieńczeń do wielu studzienek z typem próbki Standard (Wzorzec).

**Uwaga:** W celu przypisania serii rozcieńczeń do grupy studzienek, studzienki muszą być ujęte w serii . Informacje o dodawaniu studzienek do serii replikatów zamieszczono w rozdziale [Przypisywanie numerów replikatów do studzienek na stronie 132](#).

### Przypisanie serii rozcieńczeń do grupy studzienek z próbkami Standard (Wzorzec)

1. W oknie Plate Editor (Edytor płytki) sprawdzić, czy spełnione są następujące wymagania:
  - Typ próbki dla grupy studzienek to Standard (Wzorzec).
  - Wszystkie studzienki w grupie mają przypisany co najmniej jeden fluorofor i wszystkie zawierają te same fluorofory.
  - Wszystkie studzienki w grupie są ujęte w tej samej replikatów technicznych.

**Uwaga:** Oprogramowanie CFX Manager Dx udostępnia opcję Dilution Series (Seria rozcieńczeń), jedynie gdy wszystkie wybrane studzienki spełniają te kryteria.
2. W panelu płytki wybrać docelową grupę studzienek.
3. Kliknąć opcję Dilution Series (Seria rozcieńczeń) w części Concentration (Stężenie) w prawym panelu. Część Concentration (Stężenie) zmieni się, wyświetlając następujące opcje:

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

- **Starting concentration** (Stężenie początkowe) — wartość stężenia, od której rozpoczyna się seria.
  - **Replicates from and to** (Replikaty od i do) — replikaty z serii, do których będzie stosowany współczynnik rozcieńczenia.
  - **Dilution factor** (Współczynnik rozcieńczenia) — wielkość zmiany stężenia w obrębie każdej grupy replikatów.
4. Ustawić wartości w poszczególnych opcjach lub zaakceptować wartości domyślne.
  5. Domyślnie seria rozcieńczeń zmniejsza się stopniowo o współczynnik rozcieńczenia. Wybrać opcję Increasing (Zwiększanie), aby zwiększać serię rozcieńczeń.
  6. (Opcjonalnie) Domyślnie współczynnik rozcieńczenia jest stosowany do wszystkich fluoroforów w serii replikatów. Jeśli seria zawiera więcej niż jeden fluorofor a rozcieńczenie ma być stosowane do pojedynczego fluoroforu, należy wybrać go z listy rozwijanej.



7. Kliknąć Apply (Zastosuj), aby zastosować serię rozcieńczeń do grupy studzienek i powrócić do widoku Concentration (Stężenie).
8. Kliknąć przycisk OK, aby zaakceptować zmiany i zapisać płytkę.

## Kopiowanie zawartości studzienki do innej studzienki

Zawartość studzienki można skopiować i wkleić do innej studzienki albo do wielu studzienek. Jednak kopiowanie jest możliwe tylko z jednej studzienki. Nie można wybierać wielu studzienek, a następnie kopiować ich zawartości.

### Aby skopiować zawartość studzienki do innej studzienki

1. W panelu płytki wybrać studzienkę, której zawartość zostanie skopiowana.
2. Kliknąć prawym przyciskiem myszy studzienkę i wybrać opcję Copy Well (Kopij studzienkę).
3. Wybrać studzienkę lub studzienki, do których zawartość zostanie wklejona:
  - W celu wybrania pojedynczej studzienki kliknąć ją.
  - Aby wybrać wiele sąsiednich studzienek, należy kliknąć studzienkę i przeciągnąć kursor do studzienki docelowej.
  - W celu wybrania wielu niesąsiadujących studzienek, nacisnąć klawisz Ctrl i kliknąć każdą studzienkę.
4. Po wybraniu studzienek docelowych kliknąć prawym przyciskiem myszy i wybrać opcję Paste Well (Wklej studzienkę).

Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx skopiuje zawartość pierwszej studzienki do wybranych studzienek.

## Dodawanie uwagi do studzienki

Do studzienki można dodać uwagę opisową. Uwagi dotyczące studzienki można przejrzeć w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe) w oknie Data Analysis (Analiza danych).

### Aby dodać uwagę do studzienki

1. W panelu płytki wybrać studzienkę lub studzienki, do których ma zostać dodana uwaga.
2. W sekcji View (Widok) panelu dolnego wybrać opcję Well Note (Uwaga do studzienki).

Obszar Well Note (Uwaga do studzienki) zostanie wyświetlony w prawym panelu.



The image shows a small rectangular window titled "Well Note". Inside the window is a dropdown menu with a white background and a grey border. The text "<none>" is displayed in the menu, and a small downward-pointing arrow is visible on the right side of the menu box.

3. Wpisać zawartość uwagi do pola tekstowego i nacisnąć klawisz Enter.

Tekst pojawi się u dołu wybranych studzienek.

**Wskazówka:** Jeśli uwaga dotycząca studzienki została utworzona wcześniej, można ją wybrać z listy rozwijanej i zastosować do wybranych studzienek.

## Usuwanie całej zawartości ze studzienek

Można usunąć całą zawartość pojedynczej studzienki, grupy studzienek lub całej płytki. Takie wyczyszczenie studzienek nie powoduje usunięcia danych fluorescencyjnych zebranych podczas odczytu płytki.

Wyczyszczenie studzienki powoduje trwałe usunięcie zawartości ze studzienki. Zachować ostrożność podczas czyszczenia studzienek.

### Usunięcie wszystkich ustawień ze studzienek

1. W panelu płytki w oknie Plate Editor (Edytor płytki) wybrać studzienkę lub grupę studzienek:
  - W celu wybrania pojedynczej studzienki kliknąć ją.
  - Aby wybrać wiele sąsiednich studzienek, należy kliknąć studzienkę i przeciągnąć kursor do studzienki docelowej.
  - W celu wybrania wielu niesąsiadujących studzienek, nacisnąć klawisz Ctrl i kliknąć każdą studzienkę.
  - Aby wybrać całą kolumnę z tym samym typem próbki, kliknąć numer kolumny.
  - Aby wybrać cały rząd, kliknąć jego numer.
2. W prawym panelu kliknąć Clear Wells (Czyść studzienki).

Oprogramowanie CFX Manager Dx usuwa wszystkie ustawienia z wybranych studzienek.
3. Kliknąć OK, aby zaakceptować zmiany i zapisać płytkę.

## Zmiana ustawień eksperymentu

Za pomocą okna dialogowego Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) można wyświetlać lub zmieniać listę sekwencji docelowych lub próbek, a także wybierać grupę analiz ekspresji genów i opcję analizy, pod warunkiem że zestawy biologiczne zostały przypisane do studzienek w płytce.

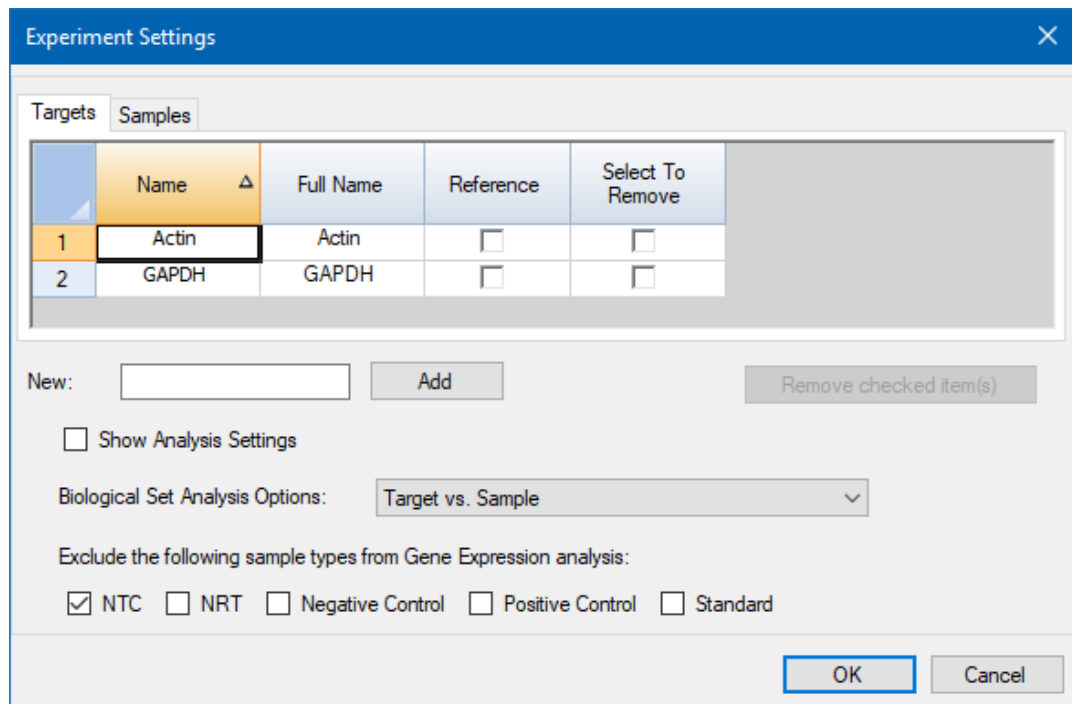
W oknie dialogowym Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) zakładka Targets (Sekwencje docelowe) zawiera listę nazw sekwencji docelowych dla każdej reakcji PCR, na przykład geny docelowe lub sekwencje genów będące przedmiotem zainteresowania.

Zakładka Samples (Próbki) zawiera listę nazw próbek, które wskazują źródło sekwencji docelowej, na przykład próbka pobrana w czasie 1 godziny (1Hr) lub od konkretnego osobnika (mysz1)

### **Aby zmienić ustawienia płytki, korzystając z okna dialogowego Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu)**

1. Aby otworzyć okno dialogowe Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu), należy wykonać jedną z następujących czynności:
  - W okienku po prawej stronie obszaru Plate Editor (Edytor płytki) kliknąć opcję Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu).
  - W zakładce Gene Expression (Ekspresja genu) okna Data Analysis (Analiza danych kliknąć opcję Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu), w którym widoczna będzie zawartość zakładki Targets (Sekwencje docelowe).



2. W celu dodania nowej nazwy dla sekwencji docelowej lub próbki na odpowiedniej zakładce należy wpisać nazwę w polu tekstowym New (Nowe), a następnie kliknąć przycisk Add (Dodaj).
3. Aby z listy usunąć nazwy co najmniej jednej sekwencji docelowej lub próbki, na odpowiedniej zakładce należy zaznaczyć pole wyboru konkretnego elementu w kolumnie Select to Remove (Zaznacz do usunięcia), a następnie kliknąć opcję Remove checked item(s) (Usuń wybrane elementy).
4. Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx wyklucza próbki typu NTC (bez kontroli matrycy) z analizy ekspresji genów.

W celu uwzględnienia typów próbek NTC należy usunąć pole wyboru konkretnego typu w sekcji Exclude the following sample types (Wyklucz następujące typy próbek). Zaznaczając odpowiednie pola wyboru, można wykluczyć następujące typy próbek:

- NRT (Bez odwrotnej transkryptazy)
- Negative Control (Kontrola ujemna)
- Positive Control (Kontrola dodatnia)
- Standard (Standard)

## 5. Na zakładce Targets (Sekwencje docelowe):

- a. W celu wybrania sekwencji docelowej jako referencyjnej na potrzeby analizy danych dotyczących ekspresji genu należy zaznaczyć tę sekwencję w kolumnie Reference (Sekwencja referencyjna).
- b. Aby na zakładce Gene Expression (Ekspresja genu) w oknie Analysis Settings (Ustawienia analizy) ukryć ustawienia analizy, które zostaną zastosowane, należy usunąć zaznaczenie opcji Show Analysis Settings (Pokaż ustawienia analizy).

W oprogramowaniu zostaną ukryte następujące kolumny:

- Color (Kolor)
- Show Chart (Pokaż wykres)
- Auto Efficiency (Automatyczna wydajność)
- Efficiency (%) (Wydajność (%))

- c. W celu zmiany koloru sekwencji docelowej na wykresie Gene Expression (Ekspresja genu) należy kliknąć jej kolor w kolumnie Color (Kolor), wybrać nowy kolor w wyświetlonym oknie dialogowym Color (Kolor) i kliknąć przycisk OK.
- d. Aby wyświetlać sekwencję docelową w wybranym kolorze na wykresie Gene Expression (Ekspresja genu), należy zaznaczyć jej pole wyboru w kolumnie Show Chart (Pokaż wykres).
- e. Domyślnie program CFX Manager Dx automatycznie oblicza wydajność względną dla sekwencji docelowej, jeśli jej dane zawierają krzywą wzorcową.

W celu użycia ustalonej wcześniej wartości wydajności należy wpisać wartość do komórki w kolumnie Efficiency (%) (Wydajność (%)) i nacisnąć klawisz Enter. Oprogramowanie CFX Manager Dx usunie zaznaczenie pola wyboru Auto Efficiency (Automatyczna wydajność).

## 6. W zakładce Samples (Próbki):

- a. W celu wybrania próbki jako próbki kontrolnej do analizy danych ekspresji genu należy zaznaczyć jej pole wyboru w kolumnie Control (Kontrola).
- b. Aby przypisać warunek kontroli do próbki dla analizy należy zaznaczyć jego pole wyboru w kolumnie Control (Kontrola).
- c. Jeśli opcja Show Analysis Settings (Pokaż ustawienia analizy) nie jest jeszcze wybrana, należy ją kliknąć, aby na zakładce Gene Expression (Ekspresja genu) wyświetlić lub zmienić parametry analizy, które zostaną zastosowane. W oprogramowaniu zostaną ukryte kolumny Color (Kolor) i Show Chart (Pokaż wykres).

7. Jeśli do studzienek na płycie przypisano co najmniej jeden zestaw biologiczny (odpowiednie instrukcje zamieszczono w rozdziale [Przypisywanie zestawów biologicznych do studzienek na](#)

stronie 130), wówczas należy wybrać jedną z poniższych opcji z listy Biological Set Analysis Options (Opcje analizy zestawu biologicznego)"

- **Target vs. Sample** (Sekwencja docelowa vs próbka) — w obliczeniach ekspresji genu wykorzystywana jest tylko nazwa próbki ze studzienki.
  - **Target vs. Biological Set** (Sekwencja docelowa vs zestaw biologiczny) — w obliczeniach wykorzystywana jest tylko nazwa zestawu biologicznego.
  - **Target vs. Sample\_Biological Set** (Sekwencja docelowa vs próbka\_zestaw biologiczny) — nazwa próbki i nazwa zestawu biologicznego są łączone w celu uzyskania pojedynczej nazwy wykorzystywanej w obliczeniach.
  - **Target vs. Biological Set\_Sample** (Sekwencja docelowa vs zestaw biologiczny\_próbka) — nazwa zestawu biologicznego i nazwa próbki są łączone w celu uzyskania pojedynczej nazwy wykorzystywanej w obliczeniach.
8. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać parametry w oknie dialogowym Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) i wrócić do okna Plate Editor (Edytor płytki).

## Tworzenie grup studzienek

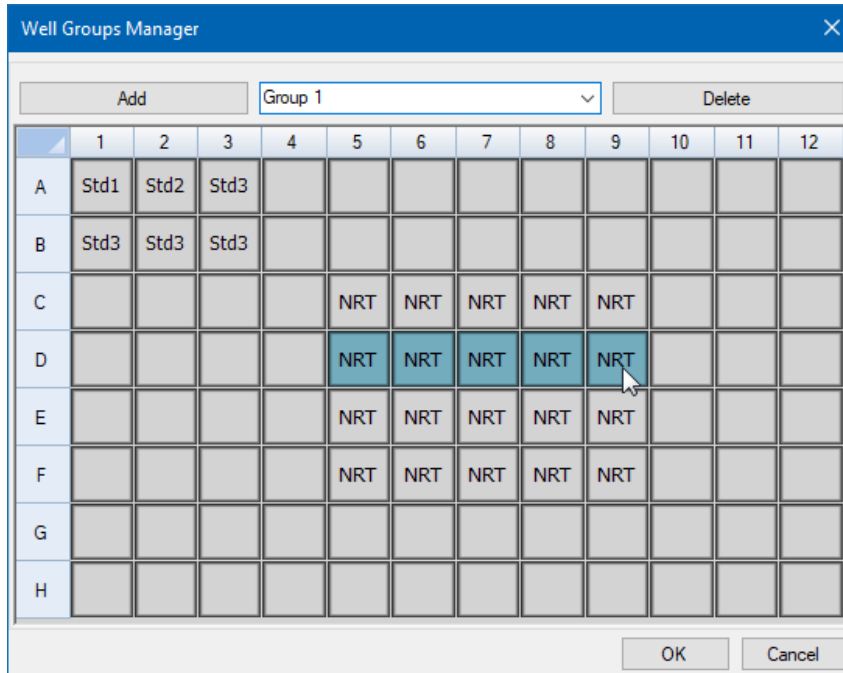
Grupy studzienek dzielą pojedynczą płytkę na podzbiory studzienek, które mogą być analizowane niezależnie w oknie Data Analysis (Analiza danych). Gdy grupy studzienek zostaną skonfigurowane, należy wybrać jedną w oknie Data Analysis (Analiza danych), aby przeanalizować dane jako niezależną grupę. Na przykład należy skonfigurować grupy studzienek, aby przeanalizować wiele eksperymentów wykonywanych na jednej płytce lub przeanalizować poszczególne grupy studzienek z użyciem innej krzywej wzorcowej.

**Uwaga:** Domyślną grupą studzienek jest grupa All Wells (Wszystkie studzienki).

### Aby utworzyć grupy studzienek

1. Aby otworzyć obszar Well Groups Manager (Menedżer grup studzienek), należy wykonać jedną z następujących czynności:
  - Kliknąć opcję Well Groups (Grupy studzienek) na pasku narzędzi Plate Editor (Edytor płytki).
  - W oknie Data Analysis (Analiza danych) kliknąć opcję Well Groups Manager (Menedżer grup studzienek).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Well Groups Manager (Menedżer grup studzienek).



- Klikać opcję Add (Dodaj), aby utworzyć nową grupę. W menu rozwijanym pojawi się nazwa Group 1 (Grupa 1) dla pierwszej grupy.
- Wybrać studzienki dla grupy studzienek w widoku płytki, klikając i przeciągając kursor przez grupę studzienek. Wybrane studzienki pojawią się w menedżerze w kolorze niebieskim.
- (Opcjonalnie) Aby zmienić nazwę grupy, należy wybrać jej nazwę w menu rozwijanym i wpisać nową nazwę.
- (Opcjonalnie) Aby usunąć grupę studzienek, należy wybrać jej nazwę na liście rozwijanej i kliknąć opcję Delete (Usuń).
- Klikać przycisk OK, aby zakończyć i zamknąć okno, albo kliknąć przycisk Cancel (Anuluj), aby zamknąć okno bez wprowadzania zmian.

**Ważne:** Aby wyświetlić grupy studzienek, należy wybrać opcję Well Groups in the View (Grupy studzienek w Widoku) u dołu okna Plate Editor (Edytor płytki).

## Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w oknie dialogowym Well Groups Manager (Menedżer grup studzienek)

W Tabeli 13 wyszczególniono pozycje menu dostępne w oknie dialogowym Well Groups Manager (Menedżer grup studzienek) po kliknięciu prawym przyciskiem myszy dowolnej studzienki.

**Tabela 13. Pozycje w menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w oknie dialogowym Well Selector (Selektor studzienek) w oknie Plate Editor (Edytor płytki)**

| Pozycja                              | Funkcja   |
|--------------------------------------|---|
| Copy (Kopiuj)                        | Kopiowanie zawartości studzienki, którą następnie można wkleić do innej studzienki (lub studzienek) |
| Copy as Image (Kopiuj jako obraz)    | Kopiowanie widoku selektora studzienek jako obrazu  |
| Print (Drukuj)                       | Drukowanie widoku selektora studzienek  |
| Print Selection (Drukuj wybór)       | Drukowanie tylko wybranych studzienek   |
| Export to Excel (Eksportuj do Excel) | Eksport danych do arkusza kalkulacyjnego Excel  |
| Export to Csv (Eksportuj do Csv)     | Eksport danych jako dokumentu rozdzielanego przecinkami   |
| Export to Xml (Eksportuj do Xml)     | Eksport danych jako dokumentu .xml  |
| Export to Html (Eksportuj do Html)   | Eksport danych jako dokumentu .html   |



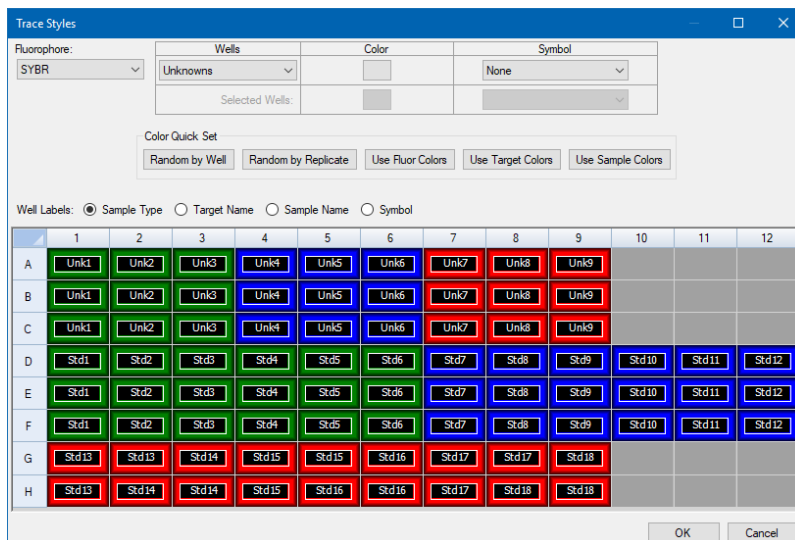
## Zmiana stylów krzywej

Podczas konfigurowania płytki i w trakcie analizy próbek można modyfikować kolor i styl krzywych amplifikacji. Następnie można łatwo przeglądać krzywe w oknie stanu w czasie rzeczywistym w miarę zbierania danych.

### Zmiana stylów krzywej

1. Kliknąć Trace Styles (Style krzywej) na pasku narzędzi Plate Editor (Edytor płytki).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Trace Styles (Style krzywej) dla otwartej płytki, takie jak np.:



2. Aby wyświetlić style krzywej dla konkretnego fluoroforu, wybrać fluorofor z listy rozwijanej Fluorophores (Fluorofory).
3. Aby zmienić sposób wyświetlania krzywej:
  - a. Wybrać typ krzywej z listy rozwijanej Wells (Studzienki).
  - b. Kliknąć jej kolor w kolumnie Color (Kolor).
  - c. W wyświetlonym wtedy oknie dialogowym Color (Kolor) wybrać inny kolor dla krzywej i kliknąć OK.  
Zmiana dla danego typu studzienki jest widoczna w siatce poniżej.
  - d. (Opcjonalnie) Wybrać symbol dla krzywej z listy rozwijanej Symbols (Symbole).

4. Aby szybko zmienić zestaw barw, kliknąć odpowiednią opcję w części Color Quick Set (Szybki zestaw kolorów).
5. Aby przeglądać etykiety studzienek w siatce, wybrać typ etykiety w części Well Labels (Etykiety studzienek).
6. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany, lub Cancel (Anuluj), aby je anulować.

## Przeglądanie płytki w formacie arkusza kalkulacyjnego

Narzędzie Spreadsheet View/Importer (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego) wyświetla zawartość płytki w formacie arkusza kalkulacyjnego. Za pomocą narzędzia Spreadsheet View/Importer (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego) można wyeksportować zawartość płytki w formacie danych rozdzielanych tabulatorami do aplikacji, takiej jak Microsoft Excel. Zawartość studzienki można również zaimportować z aplikacji, która generuje pliki w formacie danych rozdzielanych tabulatorami.

### Aby korzystać z narzędzia Spreadsheet View/Importer (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego)

1. Na pasku narzędzi w oknie Plate Editor (Edytor płytki) kliknąć opcję Spreadsheet View/Importer (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego), aby otworzyć okno dialogowe Plate Spreadsheet View (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego).

| 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. Okno dialogowe Spreadsheet View (Podgląd arkusza kalkulacyjnego) wyświetla zawartość płytki dla jednego fluoroforu. Aby wyświetlić zawartość płytki dla innego fluoroforu, należy ją wybrać z listy rozwijanej Fluors List (Lista fluoroforów).
3. Kliknąć opcję Export Template (Eksportuj szablon), aby wyeksportować szablon arkusza kalkulacyjnego płytki do pliku programu Excel (w formacie .csv). Ten szablon można modyfikować, aby zaimportować informacje o zawartości studzienki.
4. (Opcjonalnie) Kliknąć opcję Import (Importuj), aby zaimportować zawartość płytki do pliku danych rozdzielanych przecinkami.

5. Aby posortować arkusz kalkulacyjny zgodnie z danymi w konkretnej kolumnie, należy kliknąć symbol trójkąta obok nazwy kolumny.

**Wskazówka:** Możliwe jest edytowanie zawartości każdej komórki w każdej kolumnie, która obok nazwy zawiera znak gwiazdki (\*) (na przykład \*Target Name (\*Nazwa sekwencji docelowej)).

**Uwaga:** Jednostki dla danych krzywej wzorcowej można wybrać w kolumnie Quantity (Ilość), otwierając okno Plate Editor (Edytor płytki), a następnie wybierając opcje Settings (Ustawienia) > Units (Jednostki) na pasku menu. Po zakończeniu analizy płytki dane z tych wzorców pojawią się na wykresie krzywej wzorcowej na zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe) w oknie Data Analysis (Analiza danych) z jednostkami wybranymi przez użytkownika.

### Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w narzędziu Plate Spreadsheet View/Importer Tool (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego płytek)

W Tabeli 14 wyszczególniono pozycje menu dostępne w narzędziu widoku/importera arkusza kalkulacyjnego, które pojawiają się po kliknięciu prawym przyciskiem myszy dowolnej studzienki w tym narzędziu.

**Tabela 14. Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w narzędziu Plate Spreadsheet View/Importer Tool (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego płytek)**

| Pozycja                              | Funkcja   |
|--------------------------------------|---|
| Copy (Kopiuj)                        | Służy do kopiowania całego arkusza kalkulacyjnego.                        |
| Copy as Image (Kopiuj jako obraz)    | Umożliwia skopiowanie arkusza kalkulacyjnego w postaci pliku graficznego. |
| Print (Drukuj)                       | Umożliwia wydrukowanie arkusza kalkulacyjnego.                            |
| Print Selection (Drukuj wybór)       | Drukowanie tylko wybranych studzienek                                     |
| Export to Excel (Eksportuj do Excel) | Umożliwia eksport pliku do arkusza kalkulacyjnego Excel.                  |
| Export to CSV (Eksportuj do CSV)     | Umożliwia eksport pliku do pliku .csv.                                    |
| Export to Xml (Eksportuj do Xml)     | Umożliwia eksport pliku do pliku .xml.                                    |

**Tabela 14. Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w narzędziu Plate Spreadsheet View/Importer Tool (Podgląd/importer arkusza kalkulacyjnego płytek), ciąg dalszy**

| Pozycja                               | Funkcja  |
|---------------------------------------|--|
| Export to Html<br>(Eksportuj do Html) | Umożliwia eksport pliku do pliku .html.  |
| Find (Znajdź)                         | Umożliwia wyszukanie konkretnego tekstu.   |
| Sort (Sortuj)                         | Umożliwia sortowanie arkusza kalkulacyjnego poprzez wybranie trzech kolumn danych w oknie Sort (Sortuj). |

## Tworzenie układu płytki za pomocą kreatora Plate Setup Wizard (Kreator konfiguracji płytki)

Za pomocą kreatora Setup Wizard (Kreator konfiguracji) można wprowadzić między innymi następujące informacje dotyczące układu płytki, które są wymagane na potrzeby znormalizowanej analizy ekspresji genów:

- Nazwy sekwencji docelowych
- Nazwy próbek
- Rozmieszczenie sekwencji docelowych i próbek na płytce
- Geny referencyjne
- Próbką kontrolna

Z kreatora Setup Wizard (Kreator konfiguracji) można korzystać przed analizą, w jej trakcie, a także po zakończeniu analizy.

### Korzystanie z kreatora Setup Wizard (Kreator konfiguracji) dla płytki

W tym rozdziale opisano sposób tworzenia układu płytki za pomocą kreatora Setup Wizard (Kreator konfiguracji) dla płytki. Aby łatwiej przeglądać zawartość każdej studzienki w płytce, kliknąć Zoom plate (Przybliż płytkę) na górze okna Setup Wizard (Kreator konfiguracji).

**Ważne:** Powrót do zakładki Auto layout (Automatyczny układ) z jakiegokolwiek innej zakładki w oknie Setup Wizard (Kreator konfiguracji) powoduje zresetowanie układu płytki. Zachować ostrożność podczas wybierania tej zakładki.

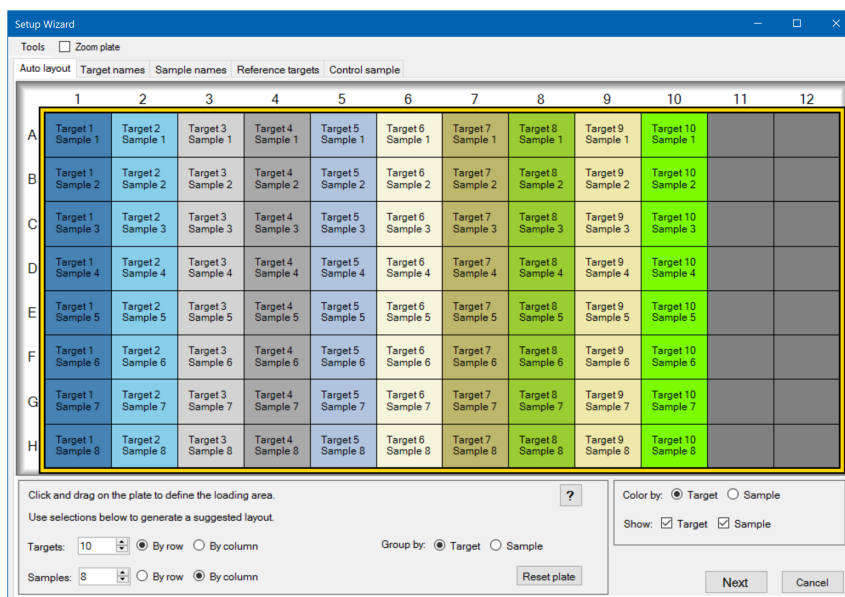
**Wskazówka:** Można zresetować układ, wybierając Tools (Narzędzia) > Clear Plate (Wyczyść płytkę) w oknie Setup Wizard (Kreator konfiguracji).

#### Użycie kreatora Setup Wizard (Kreator konfiguracji) dla płytki

1. Otworzyć Plate Editor (Edytor płytki).
2. Aby otworzyć kreator Setup Wizard (Kreator konfiguracji), wybrać Editing Tools (Narzędzia edycyjne) > Setup Wizard (Kreator konfiguracji).

Zostanie otworzone okno Setup Wizard (Kreator konfiguracji) z wyświetloną zakładką Auto layout (Automatyczny układ).

## Tworzenie układu płytki za pomocą kreatora Plate Setup Wizard (Kreator konfiguracji płytki)



3. W zakładce Auto layout (Automatyczny układ) wykonać następujące czynności:
  - a. Kliknąć studzienkę w siatce i przeciągnąć w poprzek i w dół, aby wyznaczyć obszar na płytce, w którym ma być załadowana próbka.
  - b. Wpisać liczbę genów docelowych (Targets) i próbek (Samples) do załadowania.

**Wskazówka:** Liczba genów docelowych i próbek musi być równa liczbie wybranych komórek. Jeśli wpisane liczby nie mieszczą się w wybranym obszarze, zmodyfikować liczby lub obszar wyboru na płytce. Można określić orientację elementów na płytce i ich grupowanie.
  - c. (Opcjonalnie) Zmienić orientację płytki. Na przykład można ustawić geny docelowe w kolumnach i próbki w rzędach, albo grupować według próbek.
  - d. Kliknąć Next (Dalej), aby przejść do zakładki Target names (Nazwy genów docelowych).

**Uwaga:** Jeśli układ płytki nie ma regularnego wzorca, za pomocą zakładki Target names (Nazwy genów docelowych) można ręcznie ustawić pozycję genów docelowych, a za pomocą zakładki Sample names (Nazwy próbek) ręcznie ustawić pozycję próbek na płytce. Kliknąć i przeciągnąć, aby wybrać wiele studzienek.

4. W zakładce Target names (Nazwy genów docelowych) określić nazwy genów docelowych dla grup genów docelowych:
  - a. Wykonać jedną z następujących czynności:
    - W celu zmiany nazw genów docelowych według grupy, ustawić wartość Target (Gen docelowy) w opcji Select by (Wybierz według).
    - W celu zmiany nazw genów docelowych według studzienki, ustawić wartość Well (Studzienka) w opcji Select by (Wybierz według).
  - b. Wybrać grupę genów docelowych lub studzienkę z siatki i wpisać nazwę na liście rozwijanej Target name (Nazwa genu docelowego).

**Wskazówka:** Nacisnąć klawisz Tab, aby wybrać następną grupę lub studzienkę po prawej stronie, lub klawisz Enter, aby wybrać następną grupę lub studzienkę poniżej. Zamiast tego można w zakładkach Target name (Nazwa genu docelowego) i Sample name (Nazwa próbki) przytrzymać naciśnięty klawisz Ctrl i klikać studzienki, aby zaznaczyć wiele studzienek, które nie sąsiadują ze sobą.
  - c. Kliknąć Next (Dalej), aby przejść do zakładki Sample names (Nazwy próbek).
5. W zakładce Sample names (Nazwy próbek) określić nazwy próbek dla grup próbek.
6. Kliknąć Next (Dalej), aby przejść do zakładki Reference targets (Referencyjne geny docelowe).
7. W zakładce Reference targets (Referencyjne geny docelowe) wybrać jeden lub większą liczbę genów docelowych do użycia jako geny referencyjne na potrzeby znormalizowanej ekspresji genu. Następnie kliknąć Next (Dalej), aby przejść do zakładki Control sample (Próbka kontrolna).
8. W zakładce Control sample (Próbka kontrolna) wybrać jedną próbkę do użycia jako kontroli na potrzeby obliczeń względnej ekspresji genu.
9. Kliknąć OK, aby zapisać układ płytki i powrócić do okna Plate Editor (Edytor płytki), w którym można dalej definiować parametry płytki. Więcej informacji przedstawiono w rozdziale [Przypisywanie parametrów opcjonalnych do pliku płytki na stronie 126](#).

Zamiast tego można kliknąć Previous (Wstecz), aby powrócić do poprzedniej zakładki i wprowadzić tam potrzebne zmiany.

**Uwaga:** Powrót do zakładki Auto layout (Automatyczny układ) powoduje automatyczne zresetowanie płytki. Zachować ostrożność podczas klikania przycisku Previous (Poprzedni).



## Rozdział 8 Uruchamianie eksperymentów

W tym rozdziale objaśniono sposób uruchamiania eksperymentów niestandardowych (zdefiniowanych przez użytkownika) oraz eksperymentów z testem PrimePCR™ z wykorzystaniem oprogramowania CFX Manager™ Dx.

Plik danych analizy próbek zawiera informacje o protokole i płytce dla danej analizy. Ten plik zawiera też dane z analiz danych, które oprogramowanie CFX Manager Dx przeprowadza po zakończeniu analizy próbek.

Oprogramowanie CFX Manager Dx ułatwia konfigurowanie i uruchamianie eksperymentów definiowanych przez użytkownika oraz eksperymentów PrimePCR. Okno Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) prowadzi użytkownika przez często stosowane etapy konfigurowania eksperymentu aż do okna dialogowego Start Run (Uruchom analizę próbek), w którym uruchamiana jest analiza.

### Przechodzenie do okna Run Setup (Konfiguracja analizy próbek)

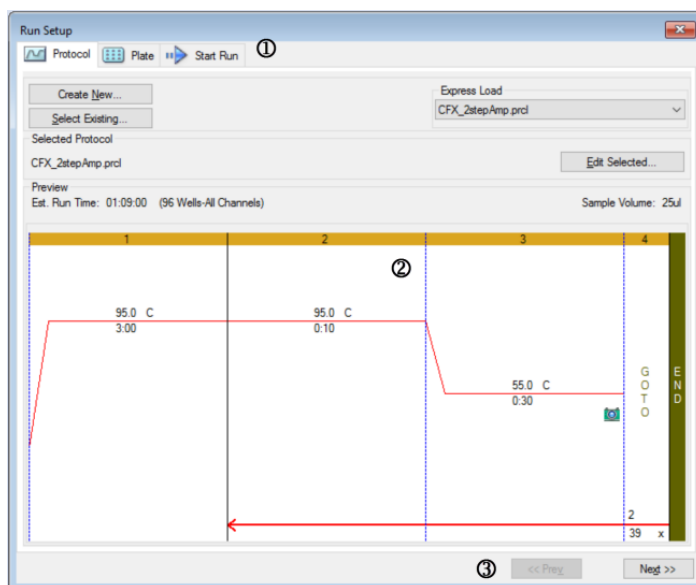
#### Aby przejść do okna Run Setup (Konfiguracja analizy próbek)

- ▶ Wykonać jedną z następujących czynności:
  - W zakładce Run setup (Konfiguracja analizy próbek) w oknie Startup Wizard (Kreator startowy) kliknąć opcję User-defined (Definiowana przez użytkownika) lub PrimePCR.
  - W oknie Home (Strona główna) kliknąć opcję User-Defined Run Setup (Konfiguracja analizy definiowanej przez użytkownika) lub PrimePCR Run Setup (Konfiguracja analizy PrimePCR) na pasku narzędzi.
  - W oknie Home (Strona główna) wybrać opcję Run (Analiza próbek) > User-Defined Run (Analiza definiowana przez użytkownika) lub Run (Analiza próbek) > PrimePCR Run (Analiza PrimePCR).

## Okno Run Setup (Konfiguracja analizy próbek)

Okno Run Setup (Konfiguracja analizy) zapewnia szybki dostęp do plików i ustawień wymaganych do skonfigurowania i uruchomienia eksperymentu. W przypadku uruchomienia eksperymentu zdefiniowanego przez użytkownika pojawia się okno Run Setup (Konfiguracja analizy), w którym wyświetlana jest zakładka Protocol (Protokół). W przypadku uruchomienia eksperymentu PrimePCR pojawia się okno Run Setup (Konfiguracja analizy), w którym wyświetlana jest zakładka Start Run (Uruchom analizę próbek).

**Wskazówka:** Więcej informacji na temat eksperymentów PrimePCR zawiera sekcja [Wykonywanie eksperymentów PrimePCR na stronie 170](#); więcej informacji na temat zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek) zawiera sekcja [Zakładka Start Run \(Uruchom analizę próbek\) na stronie 160](#).



## LEGENDA

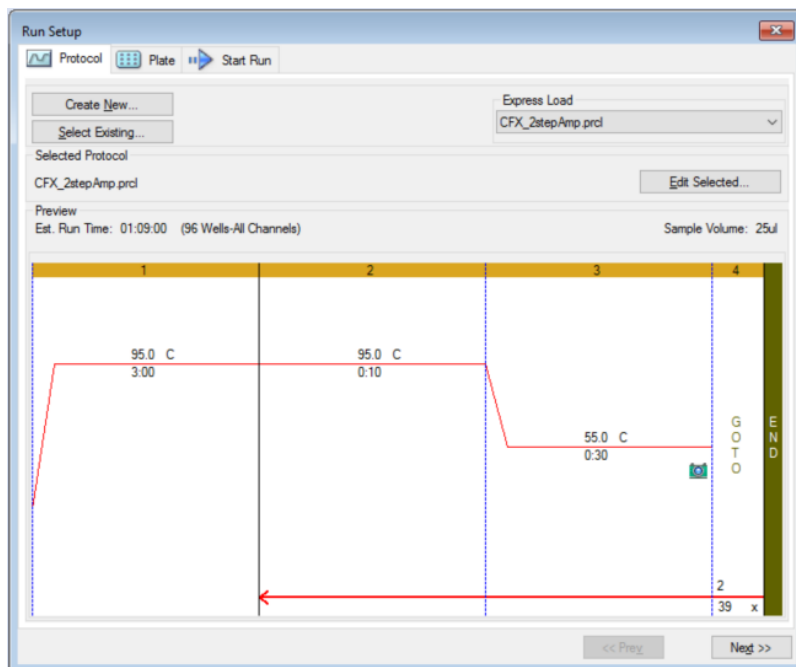
1. Zakładki prowadzą użytkownika przez proces konfigurowania i wykonywania eksperymentu:
  - Zakładka Protocol (Protokół) — umożliwia wybranie istniejącego protokołu do uruchomienia lub edycji albo utworzenie nowego protokołu w obszarze Protocol Editor (Edytor protokołów).
  - Zakładka Plate (Płytki) — umożliwia wybranie istniejącej płytki do przeanalizowania lub edycji albo utworzenie nowej płytki w obszarze Plate Editor (Edytor płytki).
  - Zakładka Start Run (Uruchom analizę próbek) — umożliwia wyświetlanie ustawień eksperymentów, wybór co najmniej jednego bloku aparatu, a także rozpoczęcie analizy.

---
2. W głównym oknie opcje dotyczące poszczególnych zakładek są wyświetlane w miarę ich stosowania.

---
3. Przyciski nawigacyjne prowadzą do zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek).

## Zakładka Protocol (Protokół)

Na zakładce Protocol (Protokół) wyświetlany jest podgląd pliku protokołu, który użytkownik zamierza uruchomić. Plik protokołu zawiera instrukcje dotyczące etapów zmian temperatury w aparacie, a także opcje aparatu, które kontrolują zmiany tempa, objętość próbek i temperaturę pokrywy.



Domyślnie oprogramowanie wyświetla protokół zdefiniowany w sekcji File Selection for Run Setup (Wybór pliku dla konfiguracji analizy) na zakładce Files (Pliki) w oknie dialogowym User (Użytkownik) > User Preferences (Preferencje użytkownika). Domyślny protokół można zmienić w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika). Więcej informacji zawiera sekcja [Zmiana domyślnych ustawień pliku na stronie 70](#).

W zakładce Protocol (Protokół) można:

- Utworzyć nowy protokół do uruchomienia.
- Wybrać istniejący protokół do uruchomienia lub analizy.

Więcej informacji na temat tworzenia i modyfikowania protokołów zawiera [Rozdział 6, Tworzenie protokołów](#).

### Aby utworzyć nowy protokół

1. Na zakładce Protocol (Protokół) kliknąć opcję Create New (Utwórz nowe).  
Zostanie wyświetlone okno Protocol Editor (Edytor protokołu).
2. Utworzyć nowy protokół w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu).
3. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać protokół i wrócić do zakładki Protocol (Protokół) w oknie Run Setup (Konfiguracja analizy próbek).
4. Przejrzeć szczegóły protokołu i wykonać jedną z następujących czynności:
  - Jeśli szczegóły są poprawne, kliknąć przycisk Next (Dalej), aby przejść do zakładki Plate (Płytki).
  - Jeśli szczegóły są niepoprawne, kliknąć opcję Edit Selected (Edytuj wybrany), aby wrócić do okna Protocol Editor (Edytor protokołu). Skorygować protokół, zapisać zmiany, a następnie kliknąć przycisk Next (Dalej) na zakładce Protocol (Protokół), aby przejść do zakładki Plate (Płytki).

### Aby wybrać istniejący protokół

1. Na zakładce Protocol (Protokół) wykonać jedną z następujących czynności:
  - Kliknąć opcję Select Existing (Wybierz istniejący) i przejść do istniejącego protokołu.
  - Kliknąć opcję Express Load (Ekspresowe ładowanie) i wybrać protokół z rozwijanej listy protokołów.  
  
**Wskazówka:** Protokoły można dodawać do listy rozwijanej Express Load (Ekspresowe ładowanie), a także można je z niej usuwać. Więcej informacji zawiera poniższa sekcja [Dodawanie i usuwanie protokołów ekspresowego ładowania](#).
2. Przejrzeć szczegóły protokołu i wykonać jedną z następujących czynności:
  - Jeśli szczegóły są poprawne, kliknąć przycisk Next (Dalej), aby przejść do zakładki Plate (Płytki).
  - Jeśli szczegóły są niepoprawne, kliknąć opcję Edit Selected (Edytuj wybrany), aby otworzyć okno Protocol Editor (Edytor protokołu). Skorygować protokół, zapisać zmiany, a następnie kliknąć przycisk Next (Dalej) na zakładce Protocol (Protokół), aby przejść do zakładki Plate (Płytki).

## Dodawanie i usuwanie protokołów ekspresowego ładowania

Można zmodyfikować zawartość listy rozwijanej Express Load (Ekspresowe ładowanie) wyświetlanej w oknie Protocol Editor (Edytor protokołu). Protokoły z tej listy są zapisane w folderze:

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

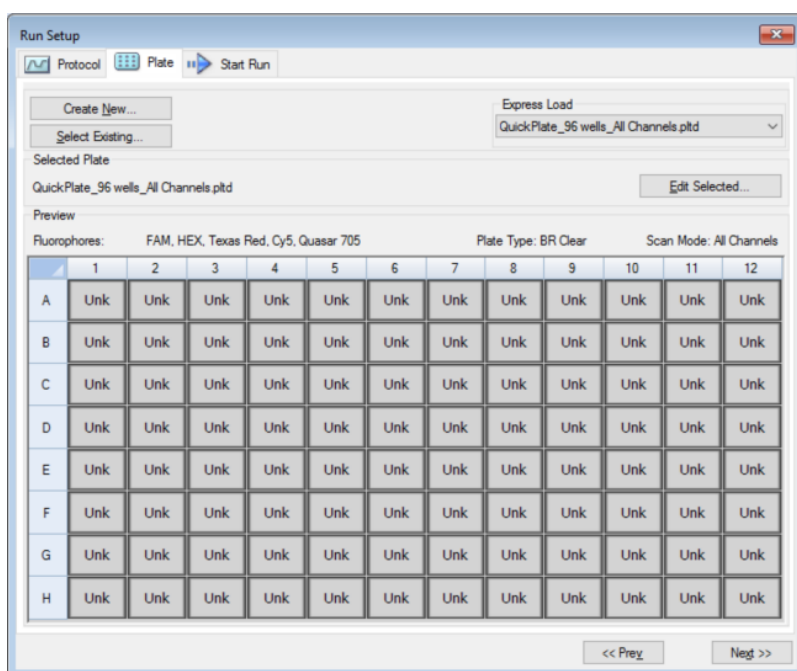
### Modyfikacja listy protokołów Express Load (Ekspresowe ładowanie)

1. Przejdź do folderu ExpressLoad (Ekspresowe ładowanie) i otwórz go.
2. Przejrzyj pliki protokołów (.pctl) w tym folderze.
3. Wykonaj dowolną z następujących czynności:
  - Skasować protokoły z folderu, aby je usunąć z listy rozwijanej.
  - Skopiować protokoły do folderu, aby dodać je do listy rozwijanej.

## Zakładka Plate (Płytki)

**Uwaga:** Jeśli protokół wybrany na zakładce Protocol (Protokół) nie zawiera etapu odczytu płytki dla analizy PCR w czasie rzeczywistym, wówczas zakładka Plate (Płytki) będzie ukryta. Aby wyświetlić zakładkę Plate (Płytki), należy dodać co najmniej jeden odczyt płytki do protokołu.

Na zakładce Plate (Płytki) wyświetlany jest podgląd pliku płytki, który użytkownik zamierza załadować. W trakcie analizy PCR w czasie rzeczywistym plik płytki zawiera opis zawartości każdej studzienki, co obejmuje jej fluorofory, tryb skanowania i typ płytki. Oprogramowanie CFX Manager Dx wykorzystuje te opisy na potrzeby gromadzenia i analizy danych.



Domyślnie oprogramowanie wyświetla płytkę zdefiniowaną w sekcji File Selection for Run Setup (Wybór pliku dla konfiguracji analizy) na zakładce Files (Pliki) w oknie dialogowym User (Użytkownik) > User Preferences (Preferencje użytkownika). Domyślną próbkę można zmienić w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika). Więcej informacji zawiera sekcja [Zmiana domyślnych ustawień pliku na stronie 70](#).

W zakładce Plate (Płytki) można:

- Utworzyć nową płytkę do załadowania.
- Wybrać istniejącą płytkę do załadowania lub edycji.

Więcej informacji na temat tworzenia i modyfikowania płytek zawiera [Rozdział 7, Przygotowywanie płytek](#).

### Aby utworzyć nową płytkę

1. Na zakładce Plate (Płytki) kliknąć opcję Create New (Utwórz nową).  
Zostanie otwarte okno Plate Editor (Edytor płytki).
2. Utworzyć nową płytkę w oknie Plate Editor (Edytor płytki).
3. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać płytkę i wrócić do zakładki Plate (Płytki) w oknie Run Setup (Konfiguracja analizy próbek).
4. Przejrzeć szczegóły płytki i wykonać jedną z następujących czynności:
  - Jeśli szczegóły są poprawne, kliknąć przycisk Next (Dalej), aby przejść do zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek).
  - Jeśli szczegóły są niepoprawne, kliknąć opcję Edit Selected (Edytuj wybrany), aby wrócić do okna Plate Editor (Edytor płytki). Skorygować plik płytki, zapisać zmiany, a następnie kliknąć przycisk Next (Dalej) na zakładce Plate (Płytki), aby przejść do zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek).

### Aby zapisać istniejący plik płytki

1. Na zakładce Plate (Płytki) wykonać jedną z następujących czynności:
  - Kliknąć opcję Select Existing (Wybierz istniejący) i przejść do istniejącego pliku płytki.
  - Kliknąć opcję Express Load (Ekspresowe ładowanie) i wybrać plik płytki z listy rozwijanej.  
**Wskazówka:** Płytki można dodawać do listy rozwijanej Express Load (Ekspresowe ładowanie), a także można je z niej usuwać. Więcej informacji zawiera poniższa sekcja [Dodawanie i usuwanie plików płytek z ekspresowym ładowaniem](#).
2. Przejrzeć szczegóły płytki i wykonać jedną z następujących czynności:
  - Jeśli szczegóły są poprawne, kliknąć przycisk Next (Dalej), aby przejść do zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek).
  - Jeśli szczegóły są niepoprawne, kliknąć opcję Edit Selected (Edytuj wybrany), aby otworzyć okno Plate Editor (Edytor płytki). Skorygować plik płytki, zapisać zmiany, a następnie kliknąć przycisk Next (Dalej), aby przejść do zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek).



## Dodawanie i usuwanie plików płytek z ekspresowym ładowaniem

Można zmodyfikować zawartość listy rozwijanej Express Load (Ekspresowe ładowanie) wyświetlanej w oknie Plate Editor (Edytor płytki). Płytki widoczne na tej liście są zapisane w folderze:

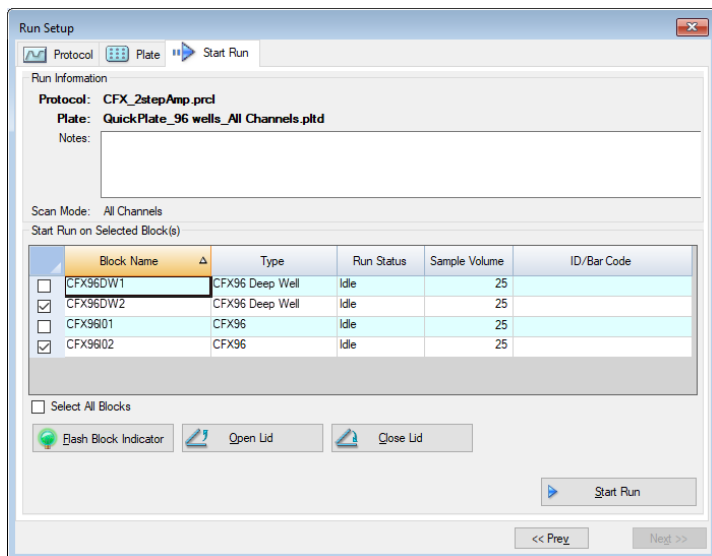
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\

### Aby zmodyfikować listę plików płytek z ekspresowym ładowaniem

1. Przejść do folderu ExpressLoad (Ekspresowe ładowanie) i otworzyć go.
2. Przejrzeć pliki płytek (.pltd) w tym folderze.
3. Wykonać jedną z następujących czynności:
  - Usunąć pliki płytek z folderu, aby je usunąć z listy rozwijanej.
  - Skopiować pliki płytek do folderu, aby dodać je do listy rozwijanej.

## Zakładka Start Run (Uruchom analizę próbek)

W zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) wyświetlane są informacje o eksperymencie, który ma być uruchomiony. W zakładce tej wyświetlany jest także podłączony blok (lub bloki) aparatu, w którym można uruchomić dany eksperyment.



W zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) można wykonać następujące czynności:

- Przeglądać szczegółowe informacje o analizie, w tym wybrany plik protokołu, plik płytki i tryb skanowania.
- Dodawać uwagi dotyczące analizy próbek.
- Przeglądać szczegóły dotyczące wszystkich podłączonych aparatów, w tym ich stan uruchomienia (Running (działa) lub Idle (bezczynność)), objętość próbki w  $\mu\text{l}$ , temperaturę pokrywy, tryb emulacji oraz ID lub kod kreskowy, o ile są dostępne.

**Uwaga:** W tabeli Selected Blocks (Wybrane bloki) można zmodyfikować kolumny wyświetlane w oknie Start Run (Uruchom analizę próbek). Więcej informacji zamieszczono w rozdziale [Modyfikowanie szczegółów w tabeli Selected Blocks \(Wybrane bloki\) na stronie 161](#).

- Wybrać blok lub bloki, w których ma być wykonana analiza próbek.
- Zdalnie otworzyć lub zamknąć pokrywę każdego wybranego aparatu.
- Uruchomić analizę próbek.

## Modyfikowanie szczegółów w tabeli Selected Blocks (Wybrane bloki)

W tabeli Selected Block(s) (Wybrane bloki) można zmodyfikować kolumny wyświetlane w oknie Start Run (Uruchom analizę próbek). Dodatkowo w tabeli można zmodyfikować domyślną objętość próbki oraz temperaturę pokrywy. Zmiany ustawień są stosowane względem analizy przeznaczonej do wykonania.

### Aby dodać kolumny do obszaru Start Run (Uruchom analizę próbek) w tabeli Selected Blocks (Wybrane bloki)

- ▶ Kliknąć prawym przyciskiem tabelę i zaznaczyć opcję w menu, która zostanie wyświetlona.

### Aby usunąć kolumny z obszaru Start Run (Uruchom analizę próbek) w tabeli Selected Blocks (Wybrane bloki)

- ▶ Kliknąć prawym przyciskiem tabelę i usunąć zaznaczenie opcji w menu, które zostanie wyświetlone.

### Aby przeprowadzić edycję objętości próbki lub temperatury pokrywy dla bloku

- ▶ Wybrać komórkę objętości próbki lub temperatury pokrywy dla bloku docelowego, a następnie wprowadzić nową wartość do komórki.

### Aby dodać identyfikator analizy lub kod kreskowy dla bloku

- ▶ Wybrać komórkę ID/Bar Code (Id./kod kreskowy) dla bloku docelowego i wpisać identyfikator lub zeskanować blok za pomocą czytnika kodów kreskowych.

## Uruchamianie eksperymentu

**Ważne:** Przed uruchomieniem eksperymentu upewnić się, że oprogramowanie antywirusowe zainstalowane w komputerze nie rozpocznie skanowania podczas działania eksperymentu.

### Uruchomienie eksperymentu

1. W zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) zweryfikować szczegółowe informacje o płytce i protokole w części Run Information (Informacje o analizie próbek).
2. (Opcjonalnie) W polu tekstowym Notes (Uwagi) dodać uwagi dotyczące analizy próbek lub eksperymentu.
3. Zaznaczyć pole wyboru jednego lub większej liczby bloków, w których ma być wykonywana analiza próbek.

**Wskazówka:** Aby uruchomić eksperyment we wszystkich blokach, wybrać Select All Blocks (Wybierz wszystkie bloki) pod tabelą Selected Blocks (Wybrane bloki).

4. (Opcjonalnie) Kliknąć Flash Block Indicator (Migająca kontrolka bloku), aby zaświecić kontrolkę LED w wybranych blokach aparatu.
5. Wprowadzić do bloku płytki eksperymentalne:
  - a. Kliknąć Open Lid (Otwórz pokrywę). Otwierana jest automatyczna pokrywa każdego wybranego bloku.
  - b. Do każdego wybranego bloku wprowadzić blok eksperymentu.
  - c. Kliknąć Close Lid (Zamknij pokrywę).

**Wskazówka:** Można też nacisnąć przycisk z przodu każdego bloku, aby otworzyć i zamknąć pokrywę.

6. Kliknąć Open Lid (Otwórz pokrywę) i Close Lid (Zamknij pokrywę), aby otworzyć i zamknąć automatyczną pokrywę każdego wybranego bloku aparatu.
7. Przejrzeć szczegóły analizy próbek i wykonać jedną z następujących czynności:
  - Jeśli szczegóły są poprawne, kliknąć Start Run (Uruchom analizę próbek).
  - Jeśli szczegóły nie są poprawne:
    - poprawić szczegóły w tabeli Selected Blocks (Wybrane bloki) i kliknąć Start Run (Uruchom analizę próbek);
    - powrócić do właściwej tabeli i wprowadzić odpowiednie zmiany, zapisać zmiany i kliknąć Next (Dalej), aby powrócić do zakładki Start Run (Uruchom analizę próbek) i uruchomić analizę.

### Rozpoczęcie nowej analizy próbek na podstawie wcześniejszej analizy

- ▶ Wykonać jedną z następujących czynności:
  - Wybrać File (Plik) > Repeat a Run (Powtórz analizę próbek) na pasku głównego menu oprogramowania, przejść do pliku danych analizy, który ma być powtórzony, i dwukrotnie go kliknąć.
  - Wybrać zakładkę Repeat Run (Powtórz analizę próbek) w kreatorze Startup Wizard (Kreator startowy) i dwukrotnie kliknąć plik danych analizy dla analizy próbek, która ma być powtórzona.

Opcjonalnie w zakładce Repeat Run (Powtórz analizę próbek) można kliknąć Browse (Przeglądaj), przejść do pliku danych analizy, który ma być powtórzony, i dwukrotnie go kliknąć.

## Okno dialogowe Run Details (Szczegóły analizy próbek)

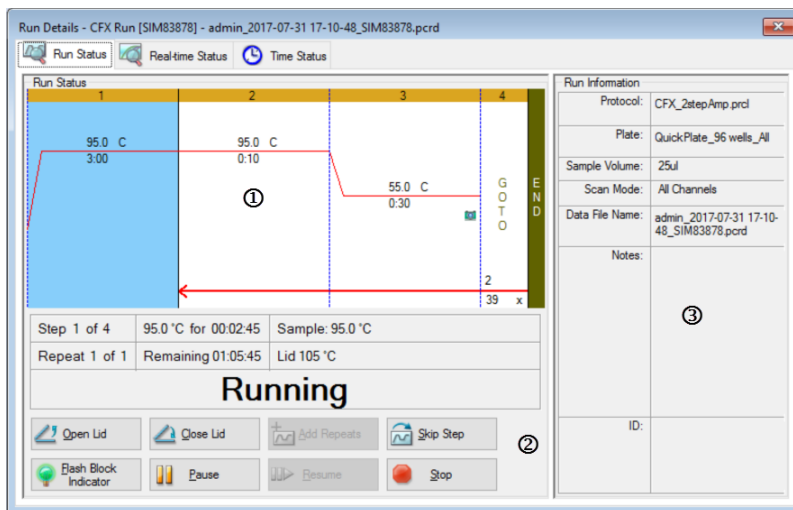
Po kliknięciu Start Run (Uruchom analizę próbek) oprogramowanie CFX Manager Dx przypomni użytkownikowi o zapisaniu pliku danych (.pcrd), uruchomi analizę próbek i otworzy okno dialogowe Run Details (Szczegóły analizy próbek). Okno dialogowe Run Details (Szczegóły analizy próbek) zawiera trzy zakładki stanu:

- **Run Status** (Stan analizy próbek) — w tej zakładce można przejrzeć bieżący stan protokołu, otworzyć lub zamknąć pokrywę, wstrzymać analizę próbek, dodać powtórzenia, pominąć etapy i zatrzymać analizę.
- **Real-time Status** (Stan w czasie rzeczywistym) — w tej zakładce można przeglądać dane fluorescencyjne dotyczące PCR w czasie rzeczywistym w miarę ich zbierania.
- **Time Status** (Stan czasu) — w tej zakładce można obserwować pełnoekranowy zegar odliczający czas do końca protokołu.

Te zakładki są dokładniej objaśnione w poniższych rozdziałach.

### Zakładka Run Status (Stan analizy próbek)

Zakładka Run Status (Stan analizy próbek) przedstawia informacje na temat bieżącego statusu trwającej analizy. W tym widoku można również kontrolować pokrywę i zmieniać trwającą analizę.



#### LEGENDA

1. Panel Run Status (Stan analizy próbek) — przedstawia postęp protokołu.
2. Elementy sterujące w obszarze Run Status (Stan analizy próbek) — umożliwiają obsługę aparatu lub przerwanie bieżącego protokołu.
3. Panel Run Information (Informacje o analizie próbek) — przedstawia szczegóły analizy.

### Polecenia Run Status (Stan analizy próbek)

Za pomocą poleceń z zakładki Run Status (Stan analizy próbek) można obsługiwać aparat albo zmienić trwającą analizę.

**Uwaga:** Wprowadzanie zmian do protokołu w trakcie analizy, na przykład dodawanie powtórzeń, nie zmienia pliku protokołu powiązanego z analizą. Takie działania są rejestrowane w obszarze Run Log (Dziennik analizy próbek).



— otwiera automatyczną pokrywę na zainstalowanych aparatach.

**Ważne:** Otwarcie pokrywy podczas analizy powoduje wstrzymanie analizy w trakcie bieżącego etapu i może spowodować modyfikację danych.



— zamyka automatyczną pokrywę na zainstalowanych aparatach.



— powoduje dodanie większej ilości powtórzeń do bieżącego etapu GOTO w protokole. Ta opcja jest dostępna tylko wtedy, gdy działa etap GOTO.



— powoduje pominięcie bieżącego etapu w protokole.

**Uwaga:** Jeśli użytkownik wybierze pominięcie etapu GOTO, wówczas w oprogramowaniu pojawi się monit z prośbą o potwierdzenie, że wymagane jest pominięcie całej pętli GOTO i przejście do następnego etapu w protokole.



— powoduje, że dioda LED na wybranym aparacie miga w celu zidentyfikowania wybranych bloków.



— powoduje wstrzymanie protokołu.

**Uwaga:** To działanie jest rejestrowane w obszarze Run Log (Dziennik analizy próbek).



— powoduje wznowienie wstrzymanego protokołu.

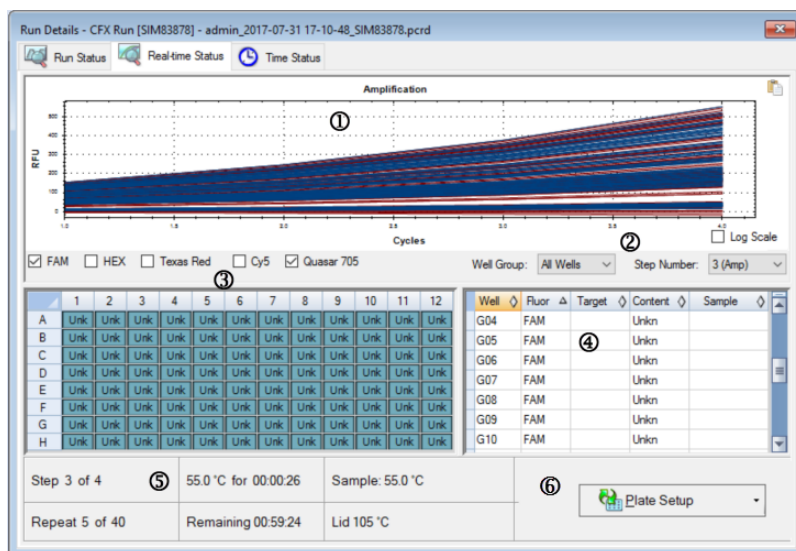


— zatrzymuje analizę zanim zakończy się protokół.

**Uwaga:** Zatrzymanie analizy przed zakończeniem protokołu może spowodować modyfikację danych.

## Zakładka Real-time Status (Stan w czasie rzeczywistym)

W zakładce Real-time Status (Stan w czasie rzeczywistym) wyświetlane są dane PCR w czasie rzeczywistym zebrane w każdym cyklu podczas analizy próbek po pierwszych dwóch odczytach płytki.



### LEGENDA

1. Panel krzywych Amplification (Amplifikacja) — wyświetlanie danych o amplifikacji w czasie rzeczywistym podczas analizy próbek.
2. Identyfikator Well group (Grupa studzienek) — jeśli grupy studzienek zostały określone w konfiguracji płytki, użytkownicy mogą wybrać daną grupę studzienek, aby przeglądać jej krzywe, studzienki i informacje tabelaryczne.  
Identyfikator Step number (Numer etapu) — jeśli w protokole dane są zbierane na więcej niż jednym etapie (np. podczas amplifikacji i krzywej topnienia), użytkownicy mogą wybrać konkretny etap i wyświetlić krzywe uzyskane na tym etapie.
3. Panel selektora studzienek — wyświetlanie aktywnych, nieaktywnych i pustych studzienek w płytce.
4. Panel z tabelą konfiguracji płytki — wyświetlanie konfiguracji płytki w formacie tabelarycznym.



5. Panel szczegółów analizy próbek — wyświetlanie stanu analizy próbek w czasie rzeczywistym, co obejmuje:
  - bieżący etap,
  - bieżące powtórzenie,
  - bieżącą temperaturę,
  - pozostały czas,
  - temperaturę próbki,
  - temperaturę pokrywy.

---

6. Plate Setup (Konfiguracja płytki) — otwarcie okna dialogowego Plate Setup (Konfiguracja płytki), w którym użytkownicy mogą modyfikować bieżącą konfigurację płytki w trakcie trwania analizy próbek.

W zakładce Real-time Status (Stan w czasie rzeczywistym) można:

- wyświetlać lub ukrywać krzywe w czasie rzeczywistym poprzez wybranie ich w panelu selektora studzienek lub w tabeli konfiguracji płytki,
- przeglądać pojedyncze krzywe lub ich grupy poprzez wybranie ich z listy rozwijanej grup studzienek,
- edytować płytkę lub zastąpić plik płytki,
- zastosować plik PrimePCR do danej analizy próbek.

### Wyświetlanie i ukrywanie krzywych kreślonych w czasie rzeczywistym

Domyślnie wszystkie wypełnione studzienki są aktywne i wyświetlane w tabeli konfiguracji płytki. Aktywne studzienki są wyświetlane w kolorze niebieskim w panelu selektora studzienek. W panelu selektora studzienek ukryte studzienki są wyświetlane w kolorze jasnoszarym, a nieużywane — w kolorze ciemnoszarym.

Można ukryć krzywe z aktywnych studzienek podczas analizy próbek. CFX Manager Dx kontynuuje zbieranie danych dla wszystkich studzienek; gdy studzienki zostaną ukryte, ich dane nie są wyświetlane w tabeli konfiguracji płytki.

#### Ukrycie krzywych kreślonych w czasie rzeczywistym

- ▶ W panelu selektora studzienek kliknąć aktywne (niebieskie) studzienki, które mają być ukryte.

#### Wyświetlenie krzywych kreślonych w czasie rzeczywistym

- ▶ W panelu selektora studzienek kliknąć ukryte (jasnoszare) studzienki, które mają być wyświetlone.

Więcej informacji o selektorze studzienek zamieszczono w rozdziale [Well Selector \(Selektor studzienek\)](#) na stronie 185.

## Edytowanie konfiguracji płytki

### Aby edytować konfigurację płytki

- ▶ Kliknąć opcję Plate Setup (Konfiguracja płytki) i wybrać opcję View/Edit Plate (Wyświetl/edytuj płytkę).

Zostanie wyświetlone okno Plate Editor (Edytor płytki), w którym można edytować płytkę w trakcie analizy. Więcej informacji na temat edycji płytek zawiera [Rozdział 7, Przygotowywanie płytek](#).

**Uwaga:** Z okna Plate Editor (Edytor płytki) można również edytować style krzywych. Wprowadzone zmiany będą widoczne na wykresie krzywej amplifikacji na zakładce Real-time Status (Stan w czasie rzeczywistym).

## Zastępowanie pliku płytki

**Wskazówka:** Możliwość zastąpienia pliku płytki jest szczególnie przydatna przy rozpoczynaniu analizy próbek od pliku Quick Plate (Szybka płytka) z folderu ExpressLoad (Ekspresowe ładowanie).

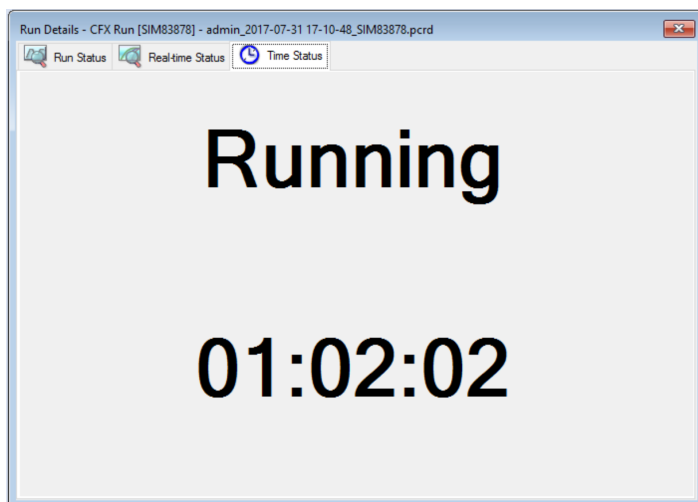
### Zastąpienie pliku płytki

- ▶ Kliknąć Plate Setup (Konfiguracja płytki) i wybrać jedną z następujących opcji:
  - Replace Plate file (Zastąp plik płytki) — wybór nowego pliku płytki z listy w oknie przeglądarki;
  - Apply PrimePCR file (Zastosuj plik PrimePCR) — za pomocą wyszukiwarki Smart search (Inteligentne wyszukiwanie) wyszukać plik analizy próbek, z którego zostanie uzyskany układ płytki, lub kliknąć Browse (Przeglądaj), aby znaleźć plik pobrany z witryny internetowej firmy Bio-Rad, którego nie ma w folderze PrimePCR.

**Uwaga:** CFX Manager Dx sprawdza tryb skanu i wielkość płytki dla pliku płytki. Muszą one być takie same, jak ustawienia analizy próbek, z którymi uruchomiono analizę.

## Zakładka Time Status (Stan czasu)

Zakładka Time Status (Stan czasu) przedstawia czas pozostały do ukończenia bieżącej analizy.



## Wykonywanie eksperymentów PrimePCR

W eksperymentach PrimePCR używane są oznaczenia szlaków przemian lub oznaczenia właściwe dla choroby, które firma Bio-Rad poddała walidacji i zoptymalizowała dla przychodni weterynaryjnych, a które są dostępne w następujących formatach:

- Panele wstępnie nałożone na płytki — płytki zawierające oznaczenia specyficzne dla szlaku przemian biologicznych lub choroby; zawierają kontrole PrimePCR i geny referencyjne
- Płytki konfigurowane niestandardowo — płytki, które można skonfigurować w układzie zdefiniowanym przez użytkownika z opcją wyboru oznaczeń dla sekwencji docelowych stanowiących przedmiot zainteresowania, dla kontroli i referencji
- Pojedyncze oznaczenia — próbki zawierają zestawy pojedynczych primerów do użycia w reakcjach w czasie rzeczywistym

W celu skrócenia łącznego czasu analizy można usunąć z protokołu etap topnienia. Firma Bio-Rad zdecydowanie odradza wprowadzanie jakichkolwiek modyfikacji do protokołu analizy PrimePCR. Protokół domyślny to ten, który był używany na potrzeby walidacji oznaczenia. Jakiegokolwiek odchylenie od parametrów tego protokołu może wpłynąć na wyniki. Zmiany w protokole są rejestrowane na zakładce Run Information (Informacja o analizie) wynikowego pliku danych i we wszelkich tworzonych raportach.

### Aby uruchomić analizę PrimePCR

- ▶ Aby uruchomić analizę PrimePCR, należy wykonać dowolną z poniższych czynności:
  - W kreatorze Startup Wizard (Kreator startowy) wybrać PrimePCR na zakładce Run setup (Konfiguracja analizy próbek), a następnie wybrać odpowiednią technikę (SYBER lub sondę).
  - Wybrać analizę PrimePCR z listy Recent Runs (Ostatnie analizy) na zakładce Repeat run (Powtórz analizę) w kreatorze Startup Wizard (Kreator startowy).
  - W oknie Home (Strona główna) wybrać opcje File (Plik) > New (Nowe) > PrimePCR Run (Analiza PrimePCR).
  - W oknie Home (Strona główna) wybrać opcje File (Plik) > Open (Otwórz) > PrimePCR Run (Analiza PrimePCR).
  - Przeciągnąć i upuścić plik analizy PrimePCR w okno Home (Strona główna).

Po wybraniu analizy PrimePCR zostanie otwarte okno Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) na zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) z załadowanym domyślnym układem płytki PrimePCR odpowiednio do wybranego aparatu.

### **Aby usunąć etap topnienia z protokołu**

- ▶ Na zakładce Protocol (Protokół) usunąć zaznaczenie pola wyboru obok opcji Include Melt Step (Uwzględnij etap topnienia).

### **Aby zaimportować informacje o sekwencjach docelowych dla płytek PrimePCR do układu płytki**

1. Wykonać jedną z następujących czynności:
  - Na zakładce Real-time Status (Stan w czasie rzeczywistym) w oknie dialogowym Run Details (Szczegóły analizy próbek) wybrać opcje Plate Setup (Konfiguracja płytki) > Apply PrimePCR File (Zastosuj plik PrimePCR).
  - W oknie Data Analysis (Analiza danych) wybrać opcje Plate Setup (Konfiguracja płytki) > Apply PrimePCR File (Zastosuj plik PrimePCR).
2. W oknie dialogowym pliku analizy PrimePCR kliknąć przycisk przeglądania, aby przejść do odpowiedniego pliku PrimePCR (.csv).
3. Wybrać docelowy plik PrimePCR i kliknąć opcję Open (Otwórz).

Oprogramowanie CFX Manager Dx zaimportuje wymagane informacje do układu płytki.



## Rozdział 9 Przegląd informacji o analizie danych

Oprogramowanie CFX Manager™ udostępnia wiele sposobów otwierania i przeglądania plików danych. Można:

- Wybrać File (Plik) > Open (Otwórz) > Data File (Plik danych) w oknie Home (Strona główna) i wyszukać docelowy plik .pcrd.
- Wybrać File (Plik) > Recent Data Files (Ostatnie pliki danych) w oknie Home (Strona główna), aby wybrać plik z listy dziesięciu ostatnio otwieranych plików danych.

### Okno Data Analysis (Analiza danych)

W oknie Data Analysis (Analiza danych) wyświetlanych jest wiele zakładek, z których każda przedstawia analizowane dane dla konkretnej metody analizy lub informacje specyficzne dla danej analizy próbek. Zakładki są wyświetlane tylko wtedy, gdy dla danego typu analizy są dostępne dane zebrane w trakcie analizy próbek.



**Wskazówka:** Aby wybrać zakładki do wyświetlenia, wybrać je z menu rozwijanego View (Widok) w oknie Data Analysis (Analiza danych). Aby powrócić do pierwotnego układu zakładek, wybrać Settings (Ustawienia) > Restore Default Window Layout (Przywróć domyślny układ okien).

## Pasek narzędzi Data Analysis (Analiza danych)

Pasek narzędzi w oknie Data Analysis (Analiza danych) zapewnia szybki dostęp do ważnych funkcji analizy danych.

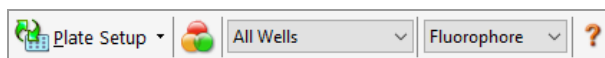


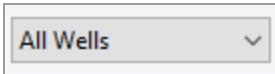
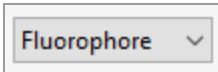



Tabela 15 przedstawia funkcje przycisków, które znajdują się na pasku narzędzi.

**Tabela 15. Pasek narzędzi w oknie Data Analysis (Analiza danych)**

| Przycisk  | Nazwa  | Funkcja  |
|---|--|--|
|    | Plate Setup<br>(Konfiguracja płytki)                   | View/Edit plate (Wyświetl/edytuj płytkę):<br>otwiera obszar Plate Editor (Edytor płytki), w którym można wyświetlać i edytować zawartość studzienek.<br><br>Replace Plate file (Zastąp plik płytki):<br>umożliwia wybranie pliku płytki w celu zastąpienia układu płytki.<br><br>Apply PrimePCR file (Zastosuj plik PrimePCR):<br>umożliwia wybranie pliku analizy w celu zastąpienia układu płytki dla analizy PrimePCR™. |
|  | Manage Well Groups<br>(Zarządzanie grupami studzienek) | Otwiera obszar Manage Well Groups (Zarządzaj grupami studzienek), w którym można tworzyć, edytować i usuwać grupy studzienek.  |
|  | Well Group (Grupa studzienek)                          | Umożliwia wybranie nazwy istniejącej grupy studzienek z menu rozwijanego. Wyborem domyślnym jest grupa All Wells (Wszystkie studzienki). Ten przycisk pojawia się tylko wtedy, gdy utworzone zostały grupy studzienek.   |
|  | Analysis Mode<br>(Tryb analizy)                        | Umożliwia analizowanie danych w trybie Fluorophore (Fluorofor) lub Target (Sekwencja docelowa).  |



| <b>Przycisk</b>   | <b>Nazwa</b> | <b>Funkcja</b>  |
|---|--------------|---|
|  | Help (Pomoc) | Umożliwia otwarcie cyfrowej kopii niniejszego podręcznika w formacie Acrobat PDF. |

## Pasek menu Data Analysis (Analiza danych)

W [Tabela 16](#) wymieniono pozycje w pasku menu w oknie Data Analysis (Analiza danych).

**Tabela 16. Pozycje w pasku menu w oknie Data Analysis (Analiza danych)**

| Pozycja w menu        | Polecenie  | Funkcja   |
|-----------------------|--|---|
| File (Plik)           | Save (Zapisz)  | Zapis pliku   |
|                       | Save As (Zapisz jako)  | Zapis pliku z nową nazwą  |
|                       | Repeat Run (Powtórz analizę próbek)  | Uzyskanie protokołu i pliku płytki z bieżącej analizy próbek w celu jej ponownego wykonania   |
|                       | Close (Zamknij)  | Zamknięcie okna Data Analysis (Analiza danych)  |
| View (Widok)          | Run Log (Dziennik analiz próbek)   | Otwarcie okna Run Log (Dziennik analiz próbek), w którym można przeglądać rejestr analizy próbek dla bieżącego pliku danych                             |
|                       | Quantification (Oznaczenie ilościowe), Melt Curve (Krzywa topnienia), Gene Expression (Ekspresja genu), End Point (Punkt końcowy), Custom Data View (Niestandardowy widok danych), QC (Kontrola jakości), Run Information (Informacje o analizie próbek) | Wyświetlanie analizowanych danych w wybranych zakładkach w oknie Data Analysis (Analiza danych). Musi być wybrana co najmniej jedna zakładka            |
| Settings (Ustawienia) | C <sub>q</sub> Determination Mode (Tryb oznaczania C <sub>q</sub> )  | Wybór trybu Regression (Regresja) lub Single Threshold (Pojedynczy próg) w celu ustalenia sposobu obliczania wartości C <sub>q</sub> dla każdej krzywej |
|                       | Baseline Setting (Ustawienie wartości bazowej)   | Wybór metody Baseline Subtraction (Odejmowanie wartości bazowej) dla wybranej grupy studzienek  |

Tabela 16. Pozycje w pasku menu w oknie Data Analysis (Analiza danych), ciąg dalszy

| Pozycja w menu | Polecenie  | Funkcja   |
|----------------|--|---|
|                | Analysis Mode (Tryb analizy)                                       | Wybór sposobu analizowania danych: by Fluorophore (według fluoroforu) lub by Target (według genu docelowego)  |
|                | Cycles to Analyze (Cykle do przeanalizowania)                      | Wybór cykli do przeanalizowania   |
|                | Baseline Threshold (Progi bazowe)                                  | Otwarcie okna Baseline Threshold (Próg bazowy) w celu dostosowania wartości bazowej lub progów  |
|                | Trace Styles (Style krzywej)                                       | Otwarcie okna Trace Styles (Style krzywej)  |
|                | Plate Setup (Konfiguracja płytki)                                  | Otwarcie okna Plate Editor (Edytor płytki) w celu przeglądania i edycji płytki; zastąpienie bieżącej płytki płytką z pliku płytek zdefiniowanych przez użytkownika lub pliku analizy PrimePCR   |
|                | Include All Excluded Wells (Włącz wszystkie wykluczone studzienki) | Włączenie do analizy wszystkich wykluczonych studzienek   |
|                | Mouse Highlighting (Podświetlanie kursorem myszy)                  | Włączanie/wyłączanie równoczesnego podświetlania danych kursorem myszy.<br><b>Wskazówka:</b> Jeśli opcja Mouse Highlighting (Podświetlanie kursorem myszy) jest wyłączona, można czasowo włączyć podświetlanie, naciskając klawisz Ctrl |
|                | Restore Default Window Layout (Przywróć domyślny układ okien)      | Przywrócenie domyślnego ustawienia układu okien   |

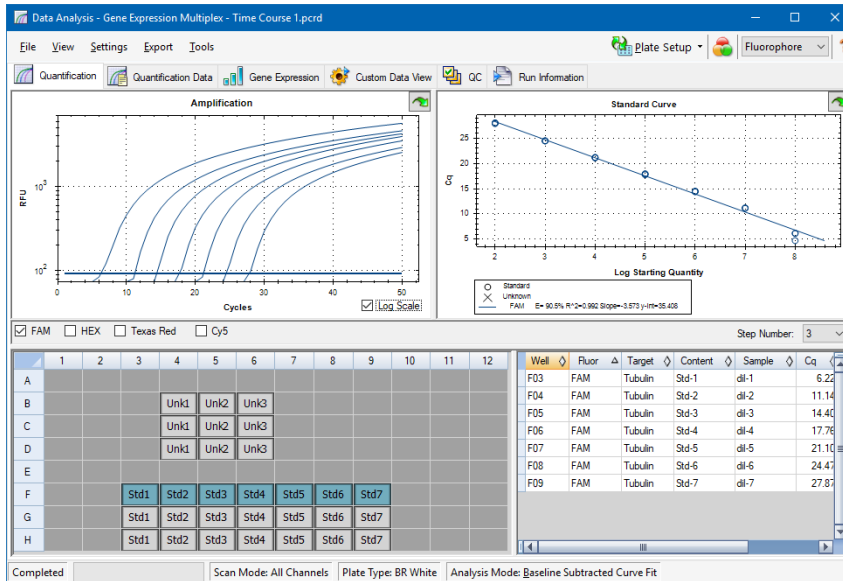
**Tabela 16. Pozycje w pasku menu w oknie Data Analysis (Analiza danych), ciąg dalszy**

| Pozycja w menu    | Polecenie  | Funkcja  |
|-------------------|--|--|
| Export (Eksport)  | Export All Data Sheets to Excel (Eksportuj wszystkie arkusze danych do programu Excel) | Eksport widoków arkusza kalkulacyjnego z każdej zakładki do osobnego pliku Excel   |
|                   | Custom Export (Eksport niestandardowy)   | Otwarcie okna Custom Export (Eksport niestandardowy), w którym można określić pola do wyeksportowania oraz format pliku  |
|                   | Export to LIMS Folder (Eksportuj do folderu LIMS)                                      | Otwarcie okna w celu zapisu danych w folderze LIMS we wstępnie określonym formacie   |
|                   | Seegene Export (Eksport do Seegene)  | Otwarcie okna w celu określenia miejsca zapisu danych ze wszystkich widoków arkuszy kalkulacyjnych do plików Excel ze strukturą specjalnie dostosowaną do użycia przez Seegene, Inc. |
| Tools (Narzędzia) | Reports (Raporty)  | Otwarcie okna Report (Raport) dla bieżącego pliku danych   |
|                   | Well Group Reports (Raporty dotyczące grupy studzienek)                                | Otwarcie okna Well Group Reports (Raporty dotyczące grupy studzienek) w celu generowania raportów dla określonych grup studzienek  |
|                   | Import Fluorophore Calibration (Importuj kalibrację fluoroforu)                        | Wybór pliku kalibracji do zastosowania do bieżącego pliku danych   |
|                   | qbase+   | Uruchomienie programu qbase+ v2.5 (o ile jest zainstalowany) bezpośrednio z poziomu bieżącego pliku .pcrd  |

## Szczegóły zakładek

Na każdej zakładce w oknie Data Analysis (Analiza danych) wyświetlane są dane na wykresach i arkuszach kalkulacyjnych dla konkretnej metody analizy, a ponadto dostępny jest selektor studzienek, który umożliwia wybranie danych do pokazania. Po otwarciu selektora w oknie Data Analysis (Analiza danych) domyślnie pojawia się zakładka Quantification (Oznaczenie ilościowe). Za pomocą danych

na wykresie amplifikacji w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe) można określić odpowiednie ustawienia analizy dla konkretnej analizy próbek.



**Uwaga:** Oprogramowanie łączy dane w panelach każdej zakładki w oknie Data Analysis (Analiza danych). Na przykład wyróżnienie studzienki poprzez umieszczenie wskaźnika myszy nad tą studzienką w selektorze studzienki powoduje wyróżnienie odpowiednich danych we wszystkich panelach.

## Selektor numeru etapu

Systemy CFX96 i CFX96 Deep Well mogą pozyskiwać dane o fluorescencji na wielu etapach protokołu; oprogramowanie osobno przechowuje dane pozyskane na każdym z etapów. Oprogramowanie wyświetla selektor Step Number (Numer etapu). Jeśli protokół zawiera co najmniej jeden etap zbierania danych, Oprogramowanie CFX Manager Dx wyświetla dane z pierwszego etapu pozyskiwania.

Jeśli protokół zawiera więcej niż jeden etap zbierania danych, można wybrać inny etap z listy rozwijanej, np.:

Step Number: 3

Po wybraniu etapu oprogramowanie zastosuje ten wybór do wszystkich danych prezentowanych w oknie Data Analysis (Analiza danych).

## Przeglądanie grup studzienek w oknie Data Analysis (Analiza danych)

Studzienki na płycie można pogrupować na podzbiory na potrzeby niezależnej analizy z wykorzystaniem grup studzienek. Gdy tworzone są grupy studzienek, nazwy grup są wyświetlane na liście rozwijanej Well Groups (Grupy studzienek) na pasku narzędzi w oknie Data Analysis (Analiza danych).

Jeśli utworzono grupy studzienek, oprogramowanie wyświetla domyślną grupę studzienek All Wells (Wszystkie studzienki) podczas otwierania okna Data Analysis (Analiza danych), wyświetlając dane ze wszystkich studzienek z zawartością na wykresach i w arkuszach kalkulacyjnych. W selektorze studzienek są tylko te studzienki z danej grupy studzienek, które mają załadowaną zawartość, a w obliczeniach w analizie danych są ujmowane tylko dane dla takich studzienek.

**Uwaga:** Jeśli nie utworzono żadnych grup studzienek, na pasku narzędzi nie jest wyświetlana lista rozwijana Well Groups (Grupy studzienek).

## Zmiana zawartości studzienek po analizie próbek

Podczas analizy danych zmiana sposobu wyświetlania danych poprzez zmianę zawartości studzienek w oknie Plate Editor (Edytor płytki) nigdy nie powoduje zmiany danych o fluorescencji, które zostały zebrane z każdej studzienki podczas analizy próbek. Po zebraniu danych o fluorescencji przez moduł nie można usunąć tych danych, ale można zdecydować o usunięciu ich z puli danych wyświetlanych i analizowanych.

### Zmiana zawartości studzienek po analizie próbek

- ▶ W oknie Data Analysis (Analiza danych) kliknąć Plate Setup (Konfiguracja płytki) i wybrać jedną z następujących opcji:
  - **Edit/View Plate** (Edytuj/pokaż płytkę) — otwarcie okna Plate Editor (Edytor płytki), w którym można ręcznie zmieniać układ.
  - **Replace Plate file** (Zastąp plik płytki) — otwarcie przeglądarki Select Plate (Wybierz płytkę), w której można przejść do wcześniej zapisanego pliku płytki, który ma zastąpić bieżący układ płytki.

- **Apply PrimePCR file** (Zastosuj plik PrimePCR) — otwarcie okna dialogowego Select PrimePCR file (Wybierz plik PrimePCR), w którym można przejść do pliku analizy PrimePCR™ i zastosować go do układu płytki.

**Wskazówka:** Można dodawać i edytować informacje o zawartości studzienki przed analizą próbek, w jej trakcie oraz po zakończeniu analizy PCR. Przed analizą próbek konieczne trzeba przypisać tryb skanu i wielkość płytki. Tych parametrów nie można zmienić po przeprowadzeniu analizy próbek.

## Ustawienia analizy danych

Dane na wykresie Amplification (Amplifikacja) w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe) przedstawiają względną fluorescencję (RFU) dla każdej studzienki w każdym cyklu. Każda krzywa na wykresie reprezentuje dane z pojedynczego fluoroforu w jednej studzience. Te dane są używane do wyznaczenia wartości  $C_q$  dla każdej studzienki i dla każdego fluoroforu z osobna. Do wyznaczenia wartości  $C_q$  oprogramowanie wykorzystuje jeden z dwóch trybów:

- **Regression** (Regresja) — stosuje model wielowymiarowej regresji nieliniowej do krzywych dla indywidualnych studzienek, a następnie oblicza optymalną wartość  $C_q$  według tego modelu.
- **Single Threshold** (Pojedynczy próg) — stosuje pojedynczą wartość progową do obliczania wartości  $C_q$  na podstawie progowego punktu przecięcia pojedynczych krzywych fluorescencji.

Wybrać Settings (Ustawienia) >  $C_q$  Determination Mode (Tryb oznaczania  $C_q$ ), aby wybrać tryb oznaczania wartości  $C_q$ .

## Dostosowywanie progu

W trybie Single Threshold (Pojedynczy próg) można dostosować próg dla fluoroforu poprzez kliknięcie linii progu na wykresie Amplification (Amplifikacja) i przesunięcie kursora myszy w pionie. Można również określić dokładny progowy punkt przecięcia dla wybranego fluoroforu.

## Ustawienia wartości bazowej

Oprogramowanie automatycznie ustawia wartość bazową osobno dla każdej studzienki. Ustawienie wartości bazowej określa metodę odejmowania wartości bazowej dla wszystkich krzywych fluorescencji. W oprogramowaniu dostępne są trzy opcje odejmowania wartości bazowej:

- **No Baseline Subtraction** (Brak odejmowania wartości bazowej) — dane są wyświetlane jako krzywe fluorescencji względnej. Niektóre analizy są niemożliwe w tym trybie i dlatego oprogramowanie nie wyświetla zakładek Gene Expression (Ekspresja genu), End Point (Punkt końcowy) ani Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna).
- **Baseline Subtracted** (Odejmnowanie wartości bazowej) — dane dla każdego fluoroforu w studzience są wyświetlane jako krzywe, od których odejmowana jest wartość bazowa. Oprogramowanie musi odejmować wartość bazową od danych, aby ustalić cykle oznaczenia ilościowego, utworzyć krzywe wzorcowe oraz określić stężenie nieznanymi próbek. W celu wygenerowania krzywej po odjęciu wartości bazowej oprogramowanie dopasowuje najlepszą linię prostą przez fluorescencję zarejestrowaną w każdej studzience podczas cykli z wartością bazową, a następnie odejmuje dane najlepszego dopasowania od danych, od których odejmowane jest tło w każdym cyklu.



- **Baseline Subtracted Curve Fit** (Dopasowanie krzywej po odjęciu wartości bazowej) — dane są wyświetlane jako krzywe po odjęciu wartości bazowej, a oprogramowanie wygładza tę krzywą, używając filtru uśredniającego. Ten proces jest wykonywany w taki sposób, że każda wielkość  $C_q$  pozostaje niezmienna.

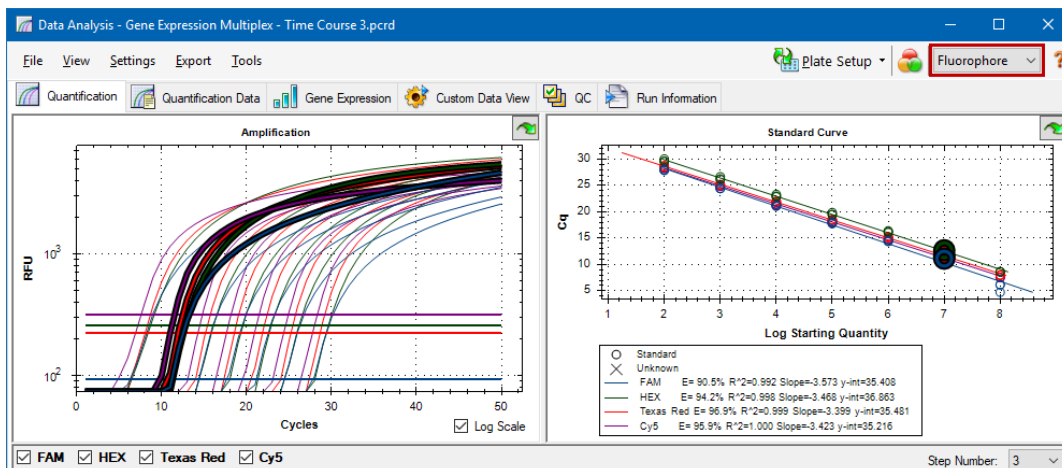
Obok tych opcji można również wybrać opcję Apply Fluorescent Drift Correction (Zastosuj korektę dryfu fluorescencji). W przypadku studzienek, z których wartości RFU wykazują nieprawidłowy dryf podczas początkowych cykli analizy, oprogramowanie wyprowadza szacunkową wartość bazową z sąsiednich studzienek, dla których pomyślnie wygenerowano poziomą wartość bazową.

### Aby zmienić ustawienie odejmowania wartości bazowej

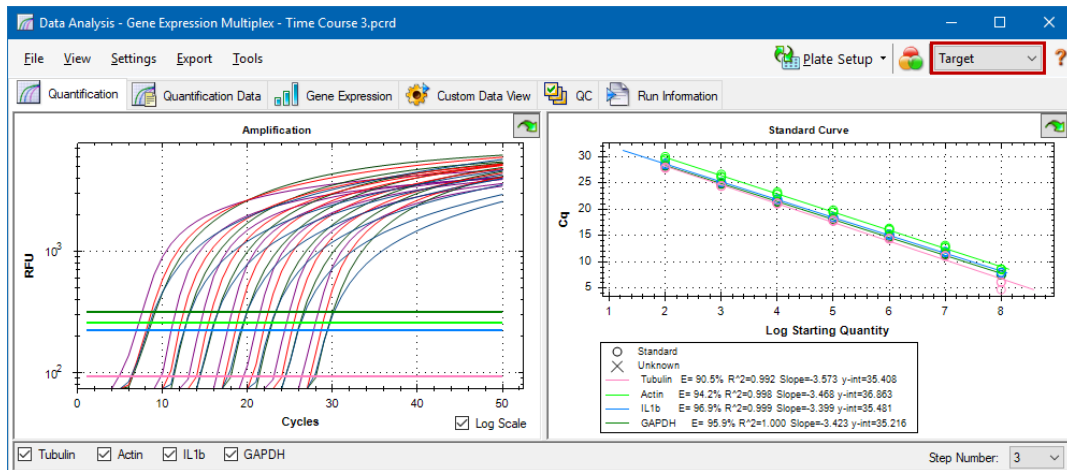
- ▶ Wybrać opcje Settings (Ustawienia) > Baseline Setting (Ustawienie wartości bazowej).

## Tryb analizy

Dane mogą być grupowane i analizowane według fluoroforów lub nazw sekwencji docelowych. Gdy są grupowane według fluoroforów, wówczas krzywe danych są wyświetlane według fluoroforów, co jest wskazane w konfiguracji płytki dla danej analizy. Dane pojedynczych fluoroforów pojawiają się na wykresie amplifikacji i krzywej wzorcowej (jeśli jest dostępna), pod warunkiem że odpowiednie pola wyboru są zaznaczone w selektorze fluoroforów poniżej wykresu amplifikacji.



Gdy są grupowane według sekwencji docelowych, wówczas krzywe danych są wyświetlane według nazw sekwencji docelowych wprowadzonych w konfiguracji płytki dla danej analizy.



### Aby wybrać tryb analizy danych

- ▶ Wykonać jedną z następujących czynności:
  - Wybrać opcje Settings (Ustawienia) > Analysis Mode (Tryb analizy).
  - Wybrać tryb z menu rozwijanego Analysis Mode (Tryb analizy) na pasku narzędzi.

### Cycles to Analyze (Cykle do przeanalizowania)

Można ograniczyć liczbę cykli do przeanalizowania. Można też analizować dane z określonego zestawu cykli. Można przeanalizować maksymalnie 50 cykli.

**Uwaga:** Usuwanie cykli z początku analizy próbek może istotnie wpłynąć na ustalanie wartości bazowych.

#### Ograniczenie analizy danych do konkretnego zakresu cykli

1. Wybrać Settings (Ustawienia) > Cycles to Analyze (Cykle do przeanalizowania)  
Zostanie wyświetlone okno dialogowe Cycles to Analyze (Cykle do przeanalizowania).
2. Wpisać wartości cyklu początkowego i końcowego i kliknąć OK.

Aby powrócić do cykli pierwotnie stosowanych w analizach, kliknąć Restore Defaults (Przywróć wartości domyślne) w oknie dialogowym Cycles to Analyze (Cykle do przeanalizowania).

## Well Selector (Selektor studzienek)

Za pomocą funkcji Well Selector (Selektor studzienek) można wyświetlać lub ukrywać dane studzienek na wykresach i w arkuszach kalkulacyjnych w całym oknie Data Analysis (Analiza danych). W selektorze studzienek można wybierać tylko studzienki, do których załadowano próbki. Oprogramowanie stosuje w oknie Well Selector (Selektor studzienek) następujący kod barwny dla studzienek:

- **Niebieski** oznacza wybrane studzienki. Dane z wybranych studzienek są wyświetlane w oknie Data Analysis (Analiza danych).
- **Jasnoszary** oznacza niewybrane studzienki. Dane z niewybranych studzienek nie są wyświetlane w oknie Data Analysis (Analiza danych).
- **Ciemnoszary** oznacza puste studzienki.

|   | 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 |    |    |    |

### Wyświetlenie lub ukrycie danych studzienek

- ▶ W selektorze studzienek wykonać dowolną z następujących czynności:
  - Aby ukryć jedną studzienkę, kliknąć ją. Aby wyświetlić tę studzienkę, kliknąć ją ponownie.
  - Aby ukryć wiele studzienek, przeciągnąć kursor przez studzienki, które mają być wybrane. Aby wyświetlić te studzienki, ponownie przeciągnąć przez nie kursor.
  - Kliknąć lewy górny róg płytki, aby ukryć wszystkie studzienki. Kliknąć lewy górny róg ponownie, aby wyświetlić wszystkie studzienki.
  - Kliknąć początek kolumny lub rzędu, aby ukryć odpowiednie studzienki. Kliknąć kolumnę lub rząd ponownie, aby wyświetlić te studzienki.

## Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w selektorze studzienek

W [Tabela 17](#) wyszczególniono opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w widoku selektora studzienek.

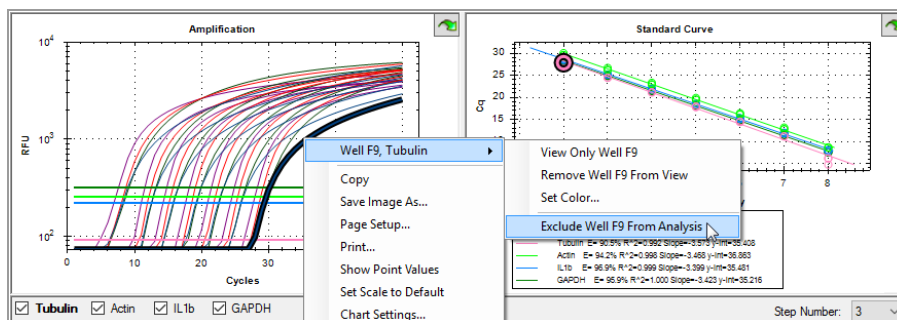
**Tabela 17. Pozycje w menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w selektorach studzienek**

| Pozycja  | Funkcja  |
|--|--|
| Well XX (Studzienka XX)  | Wyświetlenie tylko wybranej studzienki, usunięcie wybranej studzienki z widoku, ustawienie koloru wybranej studzienki lub wykluczenie wybranej studzienki z analizy danych     |
| Selected Wells (Wybrane studzienki) (kliknąć prawym przyciskiem myszy i przeciągnąć) | Wyświetlenie tylko wybranych studzienek, usunięcie wybranych studzienek z widoku, ustawienie koloru wybranych studzienek lub wykluczenie wybranych studzienek z analizy danych |
| Copy (Kopiuj)  | Kopiowanie do schowka zawartości studzienki, w tym parametrów Sample Type (Typ próbki) i opcjonalnie Replicate # (Nr replikatu)  |
| Copy as Image (Kopiuj jako obraz)  | Kopiowanie widoku selektora studzienek jako obrazu   |
| Print (Drukuj)   | Drukowanie widoku selektora studzienek   |
| Print Selection (Drukuj wybór)   | Drukowanie bieżącego wyboru  |
| Export to Excel (Eksportuj do Excel)   | Eksport danych do arkusza kalkulacyjnego Excel   |
| Export to Csv (Eksportuj do Csv)   | Eksport danych jako dokumentu tekstowego   |
| Export to Xml (Eksportuj do Xml)   | Eksport danych jako dokumentu .xml   |
| Well Labels (Etykiety studzienek)  | Zmiana etykiet studzienek na Sample Type (Typ próbki), Target Name (Nazwa genu docelowego) lub Sample Name (Nazwa próbki).   |

## Tymczasowe wykluczanie studzienek z analizy

### Aby tymczasowo wykluczyć studzienki z analizy danych

1. Kliknąć prawym przyciskiem myszy studzienkę w selektorze studzienek. Aby wykluczyć wiele studzienek, należy kliknąć prawym przyciskiem myszy i przeciągnąć kursor w celu wyróżnienia wielu studzienek, krzywych lub punktów.
2. Z menu dostępnego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy wybrać odpowiednią opcję:
  - Well (Studzienka) > Exclude Well (Wyklucz studzienkę)
  - Selected Wells (Wybrane studzienki) > Exclude from Analysis (Wyklucz z analizy)
  - Selected Traces (Wybrane krzywe) > Exclude these wells from Analysis (Wyklucz te studzienki z analizy)



W celu trwałego usunięcia studzienek z analizy należy wyczyścić zawartość tych studzienek w oknie Plate Editor (Edytor płytki), klikając przycisk Clear Wells (Wyczyść studzienki).

**Ważne:** W przypadku studzienki, której zawartość została wyczyszczona, należy ponownie wprowadzić zawartość.

### Aby uwzględnić wykluczoną studzienkę

- ▶ Kliknąć prawym przyciskiem myszy odpowiednią studzienkę w selektorze studzienek, a następnie wybrać opcję Well (Studzienka) > Include in Analysis (Włącz do analizy).

## Wykresy

Każdy wykres w oknie Data Analysis (Analiza danych) prezentuje dane w różnych ujęciach graficznych i zawiera opcje dostosowywania i eksportowania danych lub grafiki z wykresem.

### Wspólne pozycje w menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na wykresach

**Tabela 18** zawiera listę pozycji, które są dostępne w menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na wykresach. Niektóre dostępne pozycje menu występują w przypadku wszystkich wykresów i za ich pomocą można wybrać sposób wyświetlania danych oraz łatwo eksportować dane z wykresów.

**Tabela 18. Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na wykresach**

| Pozycja                                     | Funkcja   |
|---|---|
| Copy (Kopiuj)                               | Służy do kopiowania wykresu do schowka.   |
| Save Image As (Zapisz obraz jako)           | Zapisuje obraz z podanym rozmiarem, podaną rozdzielczością i jako obraz wybranego typu. Dostępne formaty obrazów to PNG (domyślny), JPG oraz BMP.   |
| Page Setup (Konfiguracja strony)            | Umożliwia wyświetlenie podglądu oraz wybór ustawienia strony do drukowania.   |
| Print (Drukuj)                              | Służy do drukowania wykresu.  |
| Set Scale to Default (Ustaw skalę domyślną) | Przywraca domyślny widok wykresu po jego powiększeniu.  |
| Chart Options (Opcje wykresu)               | Służy do otwierania okna Chart Options (Opcje wykresu), w którym można wprowadzić zmiany względem wykresu — między innymi zmienić jego tytuł, ustawić limity dla osi x i y, wyświetlić linie siatki, wyświetlić pomocnicze znaczniki na osiach. |

**Uwaga:** Opcje menu dotyczące konkretnych wykresów zostały opisane w [Rozdział 10, Szczegóły okna Data Analysis \(Analiza danych\)](#).

## Kopiowanie danych wykresu do schowka

Można skopiować zawartość widoku wykresu i wkleić ją do dowolnego programu, który obsługuje bitmapowe pliki graficzne.

### Kopiowanie danych wykresu do schowka

1. W menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w obrębie wykresu wybrać Copy.
2. Otworzyć program obsługujący obrazy bitmapowe, np. Microsoft Word.
3. Kliknąć prawym przyciskiem myszy i wybrać opcję Paste (Wklej), aby wkleić obraz bitmapowy ze schowka do tego programu.

## Modyfikacja ustawień progu bazowego

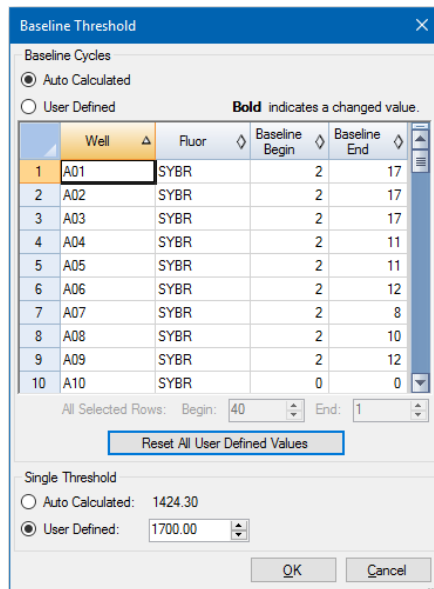
W trybie Single Threshold (Pojedynczy próg) można dostosować próg dla fluoroforu poprzez kliknięcie linii progu na wykresie Amplification (Amplifikacja) i przesunięcie kursora myszy w pionie. Można również określić dokładny progowy punkt przecięcia dla wybranego fluoroforu.

**Wskazówka:** W opcji User (Użytkownik) > User Preferences (Preferencje użytkownika) w zakładce Data Analysis (Analiza danych) można określić zakres cyklu w celu wyznaczenia wartości bazowej dla wszystkich plików danych.

### Dostosowanie początkowego i końcowego bazowego cyklu dla każdej studzienki

1. W zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe) wybrać pojedynczy fluorofor pod wykresem Amplification (Amplifikacja).
2. W , menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w obrębie wykresu, wybrać Baseline Threshold (Próg bazowy).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Baseline Threshold (Próg bazowy).



3. W części Baseline Cycles (Cykle bazowe) wykonać jedną z następujących czynności:
  - Aby wybrać jedną studzienkę, kliknąć numer jej rzędu.
  - Aby wybrać wiele sąsiednich studzienek, kliknąć numer rzędu pierwszej studzienki i przeciągnąć kolumnę w dół do ostatniej studzienki.
  - Aby wybrać wiele niesąsiedzących studzienek, nacisnąć klawisz Ctrl i klikać numery rzędu każdej docelowej studzienki.
  - Aby wybrać wszystkie studzienki, kliknąć lewy górny narożnik tabeli.
4. Dostosować cykl Baseline Begin (Bazowy początkowy) i cykl Baseline End (Bazowy końcowy) dla wszystkich wybranych studzienek lub zmienić numer cyklu Begin (Początek) i End (Koniec) na dole arkusza kalkulacyjnego.
 

**Wskazówka:** Aby przywrócić ostatnie zapisane wartości ustawień, kliknąć Reset All User Defined Values (Resetuj wszystkie wartości definiowane przez użytkownika).
5. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i powrócić do wykresu.

#### Określenie zakresu cyklu dla wszystkich plików danych

- ▶ W oknie Home (Strona główna) lub Plate Editor (Edytor płytki) wybrać User (Użytkownik) > User Preferences (Preferencje użytkownika) i wybrać zakładkę Data Analysis (Analiza danych).



## Sortowanie danych genów docelowych i próbek

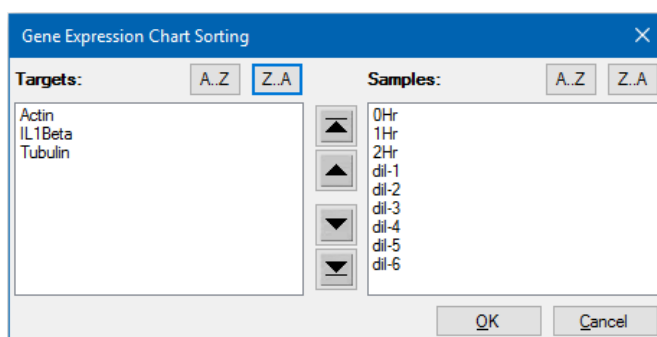
**Uwaga:** Ta opcja jest dostępna tylko na wykresach ekspresji genu.

Domyślnie listy Targets (Geny docelowe) i Samples (Próbki) są wyświetlane w porządku alfabetycznym. W oknie dialogowym Sort (Sortuj) można posortować wyświetlane pozycje w porządku odwrotnym do alfabetycznego lub można ręcznie przesunąć daną pozycję w inne miejsce na liście.

### Sortowanie danych genów docelowych i próbek

1. W menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w obrębie wykresu kliknąć Sort (Sortuj).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Gene Expression Chart Sorting (Sortowanie wykresu ekspresji genu).



2. W oknie dialogowym kliknąć Z-A, aby posortować listę w porządku odwrotnym do alfabetycznego.
3. Aby ręcznie przesunąć daną pozycję, wybrać ją i kliknąć odpowiedni przycisk między wykresami:
  - Kliknąć strzałkę w górę lub w dół, aby przesunąć wybraną pozycję o jedno miejsce.
  - Kliknąć strzałkę z kreską w górę lub w dół, aby przesunąć wybraną pozycję na górę lub na dół listy.
4. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać zmiany i powrócić do zakładki Gene Expression (Ekspresja genu).

## Powiększanie obszaru na wykresie

### Aby powiększyć obszar na wykresie

- ▶ Kliknąć i przeciągnąć kursor na wykresie, a następnie kliknąć opcję Zoom (Powiększenie)\*. Oprogramowanie zmieni rozmiar wykresu i ustawi wybrany obszar na środku.

**Uwaga:** \* W przypadku wykresu słupkowego nie trzeba klikać polecenia podręcznego Zoom (Powiększenie).

#### **Aby przywrócić pełny widok wykresu**

- ▶ Kliknąć wykres prawym przyciskiem myszy i wybrać opcję Set Scale to Default (Ustaw skalę domyślną).

## **Kopiowanie wykresów do pliku w formacie Microsoft**

Można kopiować wykresy z danymi do dokumentów w programach Microsoft Word, Excel i PowerPoint. Rozdzielczość obrazu odpowiada rozdzielczości ekranu, z którego uzyskano ten obraz.

#### **Kopiowanie wykresów do pliku w formacie Microsoft**

1. W oknie Data Analysis (Analiza danych) wybrać opcję Copy (Kopij) z menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w obrębie wykresu.
2. Otworzyć pusty plik Microsoft i wkleić zawartość schowka.



**Alternatywnie:** Kliknąć ikonę klikania i przeciągania, a następnie przeciągnąć wykres i upuścić go w pliku Microsoft.

## Arkusze kalkulacyjne

Arkusze kalkulacyjne widoczne w obszarze Data Analysis (Analiza danych) zawierają opcje przeznaczone do sortowania i przesyłania danych. Kolumny można sortować, korzystając z jednej z następujących metod:

- Kliknąć kolumnę i przeciągnąć ją w nowe miejsce w wybranej tabeli.
- Kliknąć nagłówek kolumny, aby posortować dane w kolejności rosnącej lub malejącej.

### **Aby posortować maksymalnie trzy kolumny danych w oknie Sort (Sortuj)**

1. Kliknąć prawym przyciskiem myszy w arkuszu kalkulacyjnym i wybrać opcję Sort (Sortuj).
2. W oknie dialogowym Sort (Sortuj) wybrać tytuł pierwszej kolumny do sortowania. Posortować dane w kolejności rosnącej lub malejącej.
3. Wybrać drugą lub trzecią kolumnę do posortowania, a następnie wybrać opcję Ascending (Rosnąco) lub Descending (Malejąco).
4. Kliknąć przycisk OK, aby posortować dane, lub kliknąć przycisk Cancel (Anuluj), aby zatrzymać sortowanie.

Następnie należy wyróżnić dane na powiązanych wykresach i w selektorze studzienek, przytrzymując wskaźnik myszy nad komórką. Kliknąć w komórce, aby skopiować jej zawartość i wkleić ją do innego programu.

## Wspólne pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w arkuszach kalkulacyjnych

W [Tabela 19](#) wymieniono pozycje w menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w widoku dowolnego arkusza kalkulacyjnego.

**Tabela 19. Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w arkuszach kalkulacyjnych**

| Pozycja                              | Funkcja  |
|--------------------------------------|--|
| Copy (Kopiuj)                        | Kopiowanie zawartości wybranych studzienek do schowka; następnie można wkleić zawartość do arkusza kalkulacyjnego takiego jak Excel  |
| Copy as Image (Kopiuj jako obraz)    | Kopiowanie widoku arkusza kalkulacyjnego jako pliku graficznego; następnie można wkleić go do pliku obsługującego pliki graficzne, takiego jak plik tekstowy, plik graficzny czy plik arkusza kalkulacyjnego |
| Print (Drukuj)                       | Drukowanie bieżącego widoku  |
| Print Selection (Drukuj wybór)       | Drukowanie bieżącego wyboru  |
| Export to Excel (Eksportuj do Excel) | Eksport danych do arkusza kalkulacyjnego Excel   |
| Export to CSV (Eksportuj do CSV)     | Eksport danych do pliku rozdzielanego przecinkami (.csv)   |
| Export to Xml (Eksportuj do Xml)     | Eksport danych do pliku Xml  |
| Export to Html (Eksportuj do Html)   | Eksport danych do pliku Html   |
| Find (Znajdź)                        | Wyszukiwanie tekstu  |
| Sort (Sortuj)                        | Sortowanie danych w maksymalnie trzech kolumnach   |
| Select Columns (Wybierz kolumny)     | Wybór kolumn do wyświetlania w arkuszu kalkulacyjnym   |

## Eksport

Oprogramowanie CFX Manager Dx zapewnia cztery opcje eksportu dostępne w menu rozwijanym Export (Eksport):

- Export All Data Sheets (Eksportuj wszystkie arkusze danych do programu Excel)
- Custom Export (Eksport niestandardowy)
- Export to LIMS (Eksportuj do systemu LIMS)
- Seegene Export (Eksport do Seegene)

### Eksportowanie wszystkich arkuszy danych

Można wyeksportować wszystkie widoki arkuszy kalkulacyjnych z każdej zakładki Oprogramowanie CFX Manager Dx do osobnych plików.

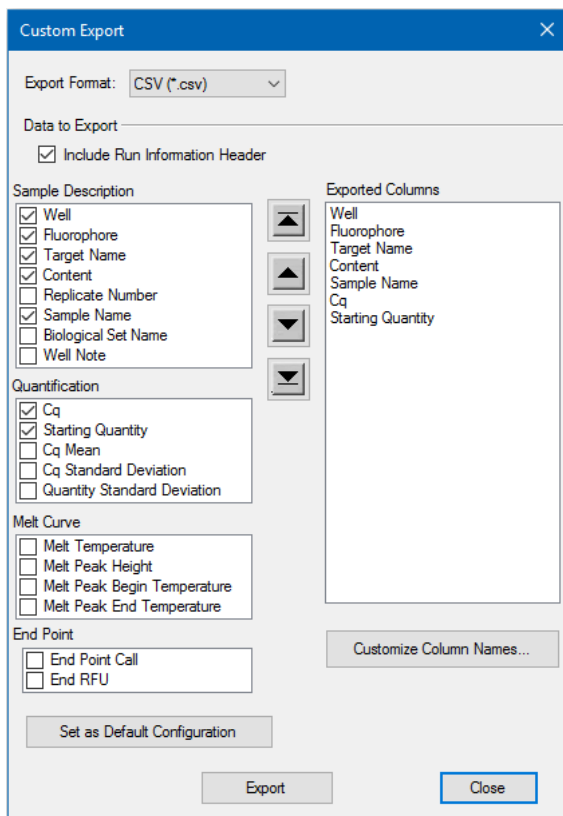
#### **Eksport wszystkich arkuszy danych**

- ▶ Wybrać Export (Eksport) > Export All Data Sheets (Eksportuj wszystkie arkusze danych) i następnie wybrać potrzebny typ pliku:
  - CSV (\*.csv),
  - tekstowy (\*.txt),
  - Excel 2007 (\*.xlsx),
  - Excel 2003 (\*.xls),
  - XML (\*.xml).

## Tworzenie niestandardowego eksportowanego pliku

### Utworzenie niestandardowego eksportowanego pliku

1. Wybrać Export (Eksport) > Custom Export (Eksport niestandardowy) Zostanie wyświetlone okno dialogowe Custom Export (Eksport niestandardowy).



2. Wybrać format eksportu z wyświetlonej listy rozwijanej.
3. Zaznaczyć pola wyboru pozycji do wyeksportowania.
4. (Opcjonalnie) Kliknąć Customize Column Names (Dostosuj nazwy kolumn), aby zmienić nazwy kolumn.
5. Kliknąć Export (Eksportuj). Zostanie wyświetlone okno dialogowe Save As (Zapisz jako).
6. W oknie dialogowym Save As (Zapisz jako) wpisać nazwę pliku i wskazać miejsce, w którym ma być zapisany eksportowany plik.
7. Kliknąć OK, aby zapisać wyeksportowany plik.

## Eksportowanie do folderu LIMS

Dane można wyeksportować do formatu pliku zgodnego z systemem LIMS.

### Aby wyeksportować dane w formacie LIMS

1. Należy wybrać opcje Export (Eksport) > Export to LIMS Folder (Eksportuj do folderu LIMS).  
Zostanie wyświetlone okno dialogowe Save As (Zapisz jako).
2. W oknie dialogowym Save As (Zapisz jako) wpisać nazwę pliku i wskazać miejsce, w którym ma być zapisany eksportowany plik.
3. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać wyeksportowany plik.

## Eksportowanie danych w formacie Seegene

Można wyeksportować dane ze wszystkich widoków arkuszy kalkulacyjnych do plików Excel ze strukturą specjalnie dostosowaną do użycia przez Seegene, Inc.

### Eksport danych w formacie Seegene

1. Wybrać Export (Eksport) > Seegene Export (Eksport do Seegene).  
Zostanie wyświetlone okno dialogowe Save As (Zapisz jako).
2. W oknie dialogowym Save As (Zapisz jako) wskazać folder, w którym mają być zapisane wyeksportowane pliki Excel (.xlsx) w formacie Seegene.
3. Kliknąć OK, aby zapisać wyeksportowane pliki.





## Rozdział 10 Szczegóły okna Data Analysis (Analiza danych)

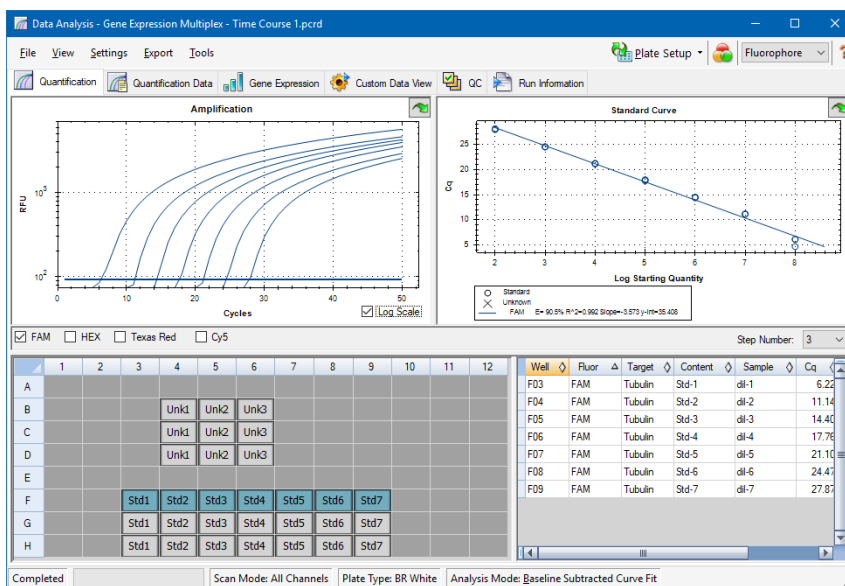
Okno Data Analysis (Analiza danych) w oprogramowaniu CFX Manager™ Dx zawiera liczne zakładki, w których można przeglądać dane. W tym rozdziale szczegółowo opisano te zakładki.

**Wskazówka:** W menu View (Widok) można wybrać zakładki, które będą widoczne w oknie Data Analysis (Analiza danych). Indywidualnie dostosowany układ jest zapisywany wraz z plikiem danych.

## Zakładka Quantification (Oznaczenie ilościowe)

Dane dostępne na zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe) można wykorzystać w celu skonfigurowania warunków analizy danych, co obejmuje ustawienia wartości bazowej dla poszczególnych studzienek oraz ustawienia wartości progowych. Zakładka Quantification (Oznaczenie ilościowe) przedstawia dane w następujących czterech widokach:

- Wykres Amplification (Amplifikacja) — przedstawia wartość RFU dla każdej studzienki z każdego cyklu. Każda krzywa na wykresie reprezentuje dane z pojedynczego fluoroforu w jednej studzience.
- Krzywa wzorcowa — pojawia się tylko wtedy, gdy analiza obejmuje studzienki wyznaczone na wzorec typu próbki (Std.) Krzywa wzorcowa przedstawia cykl wartości progowych w funkcji logarytmu ilości początkowej. Legenda wyświetla wydajność reakcji (E) dla każdego fluoroforu w studzienkach z próbkami standardowymi.
- Well selector (Selektor studzienek) — umożliwia wybranie do wyświetlenia studzienek z danymi fluorescencji.
- Arkusz kalkulacyjny — wyświetla arkusz kalkulacyjny danych zebranych w wybranych studzienkach.



## Opcje fluoroforu

Aby wyświetlić dane fluoroforu w wykresach i arkuszach kalkulacyjnych na zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe), należy wybrać fluorofor docelowy pod wykresem Amplification Chart (Wykres amplifikacji). Aby ukryć dane fluoroforu w oknie analizy danych, należy usunąć zaznaczenie jego pola wyboru.

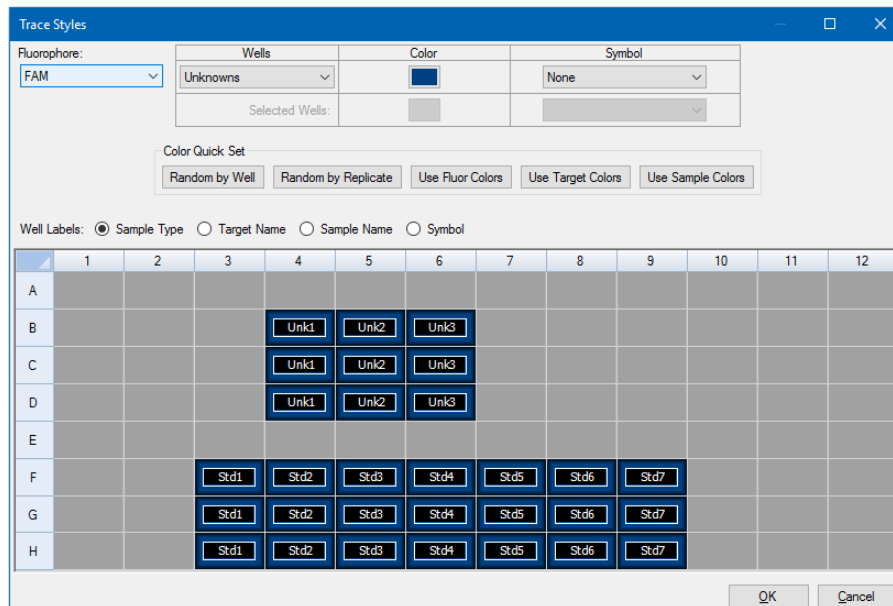
## Okno dialogowe Trace Styles (Style krzywej)

W oknie dialogowym Trace Styles (Style krzywej) można dostosować wygląd krzywych na wykresach amplifikacji i krzywej topnienia w zakładkach Quantification (Oznaczenie ilościowe) i Melt Curve (Krzywa topnienia). Zmiany można przeglądać w selektorze studzienek wyświetlanym w oknie dialogowym Trace Styles (Style krzywej).

### Dostosowanie stylów krzywej

1. Wybrać tylko jeden fluorofor pod wykresem Amplification (Amplifikacja).
2. Aby otworzyć okno dialogowe Trace Styles (Style krzywej), wykonać jedną z następujących czynności:
  - kliknąć Trace Styles (Style krzywej) na wykresie Amplification (Amplifikacja),
  - wybrać Settings (Ustawienia) > Trace Styles (Style krzywej) na pasku menu Data Analysis (Analiza danych),
  - kliknąć krzywą prawym przyciskiem myszy i wybrać Trace Styles (Style krzywej).

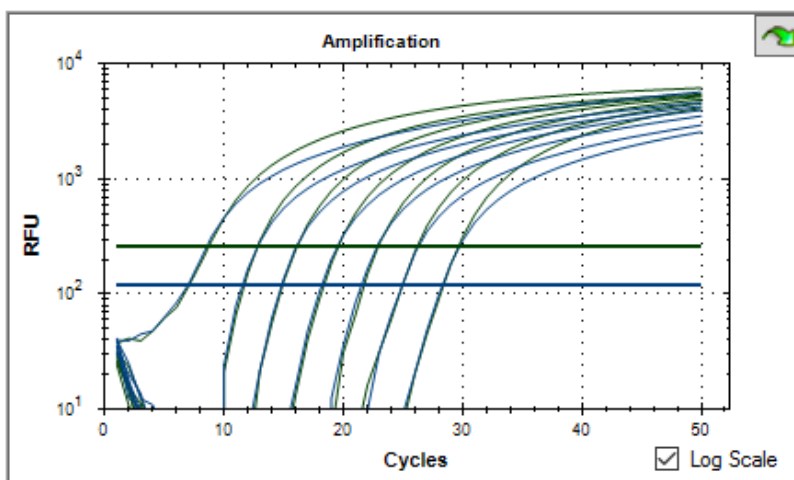
Wyświetlane jest okno dialogowe Trace Styles (Style krzywej).



3. Wybrać konkretny zestaw studzienek w selektorze studzienek w dolnym panelu w oknie dialogowym Trace Styles (Style krzywej). Zamiast tego można wybrać studzienki, które zawierają jeden typ próbki, korzystając z menu rozwijanego w kolumnie Wells (Studzienki).
4. Wykonać dowolne z następujących czynności:
  - Aby wybrać kolor dla wybranych studzienek, kliknąć pole w kolumnie Color (Kolor).
  - Aby przypisać symbol do wybranych studzienek, wybrać symbol z listy rozwijanej Symbols (Symbole).
  - Aby szybko pokolorować studzienki według etykiet przycisków, kliknąć odpowiedni szybki zestaw:
    - Random by Well (Losowo wg studzienki),
    - Random by Replicate (Losowo wg replikatu),
    - Use Fluor Colors (Użyj kolorów fluoroforów),
    - Use Target Colors (Użyj kolorów genów docelowych),
    - Use Sample Colors (Użyj kolorów próbek).
  - Aby przypisać etykiety studzienek, wybrać Sample Type (Typ próbki), Target Name (Nazwa genu docelowego), Sample Name (Nazwa próbki) lub Symbol.

## Opcja Log Scale (Skala logarytmiczna)

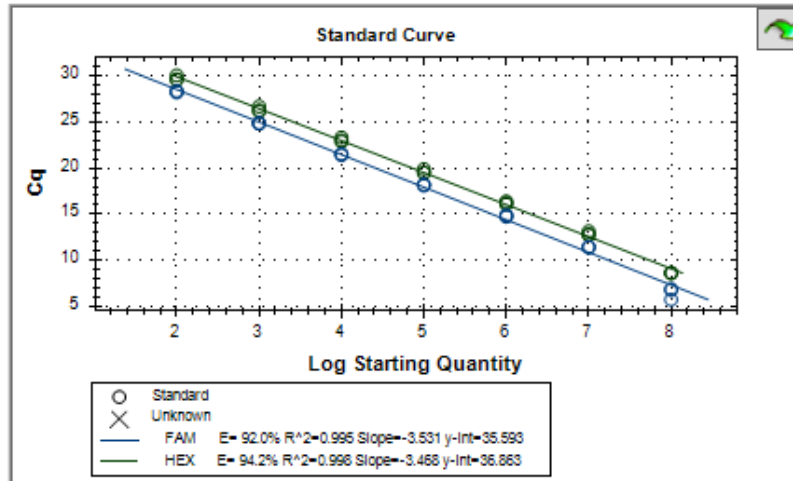
Wybrać Log Scale (Skala logarytmiczna) pod wykresem Amplification (Amplifikacja), aby przeglądać krzywe fluorescencji w skali półlogarytmicznej:



**Wskazówka:** W celu powiększenia dowolnego obszaru na wykresie, przeciągnąć kursor przez obszar docelowy. Aby powrócić do widoku pełnego, kliknąć wykres prawym przyciskiem myszy i wybrać opcję Set Scale to Default (Ustaw skalę domyślną).

## Wykres Standard Curve (Krzywa wzorcowa)

Oprogramowanie tworzy wykres Standard Curve (Krzywa wzorcowa) w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe), jeśli dane obejmują typ próbki zdefiniowany jako Std (Wzorzec) dla co najmniej jednego fluoroforu w danej analizie próbek.



Na wykresie Standard Curve (Krzywa wzorcowa) wyświetlane są następujące informacje:

- Nazwa każdej krzywej (fluoroforu lub genu docelowego).
- Kolor każdego fluoroforu lub genu docelowego.
- Wydajność reakcji (E). Za pomocą tej statystyki można zoptymalizować reakcję multipleksową i wyrównać dane dla krzywej wzorcowej.

**Uwaga:** Wydajność reakcji wskazuje ilość genu docelowego produkowanego w każdym cyklu z protokołu. Wydajność równa 100% oznacza, że każdy cykl powoduje podwojenie ilości genu docelowego.

- Współczynnik determinacji  $R^2$  (pisany jako  $R^2$ ). Za pomocą tej statystyki można określić, na ile poprawnie linia opisuje dane (zgodność dopasowania).
- Nachylenie.
- Przecięcie z osią Y.

## Opcje menu wykresu Amplification (Amplifikacja)

Oprócz wspólnych pozycji menu dla wykresów wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy (zob. rozdział [Wspólne pozycje w menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na wykresach na stronie 188](#)) są też opcje menu dostępne tylko na wykresie Amplification (Amplifikacja). Są one przedstawione w [Tabela 20](#).

**Uwaga:** Na wykresie Standard Curve (Krzywa wzorcowa) dostępne są jedynie wspólne opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy.

**Tabela 20. Pozycje menu dla wykresu Amplification (Amplifikacja) wyświetlanego po kliknięciu prawym i lewym przyciskiem myszy**

| Opcja menu                                     | Funkcja   |
|--|---|
| Show Threshold Values (Pokaż wartości progowe) | Wyświetlenie wartości progowej dla każdej krzywej amplifikacji na wykresie  |
| Trace Styles (Style krzywej)                   | Otwarcie okna Trace Styles (Style krzywej) w celu zmiany stylów krzywej, które są wyświetlane w zakładkach Quantification (Oznaczenie ilościowe) i Melt Curve (Krzywa topnienia)  |
| Baseline Thresholds (Progi bazowe)             | Otwarcie okna Baseline Thresholds (Progi bazowe) w celu zmiany wartości bazowych lub progowych dla każdego fluoroforu (zmiany są wyświetlane na wykresie Amplification (Amplifikacja) w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe)) |

## Arkusze kalkulacyjny w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe)

W [Tabela 21](#) zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym na zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe).

**Tabela 21. Zawartość arkusza kalkulacyjnego w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe)**

| Informacja                   | Opis   |
|------------------------------|--|
| Well (Studzienka)            | Pozycja studzienki w płytce  |
| Fluor (Fluorofor)            | Wykryty fluorofor  |
| Targets (Sekwencje docelowe) | Nazwa sekwencji docelowej podana dla studzienek w oknie Plate Editor (Edytor płytki) |

**Tabela 21. Zawartość arkusza kalkulacyjnego w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe), ciąg dalszy**

| Informacja          | Opis   |
|---------------------|--|
| Content (Zawartość) | Połączenie typu próbki (wymagany) i numeru replikatu (opcjonalnie) podanych w oknie Plate Editor (Edytor płytki) |
| Sample (Próbka)     | Nazwa próbki załadowanej podana dla studzienek w oknie Plate Editor (Edytor płytki)                              |
| $C_q$               | Cykl oznaczenia ilościowego dla poszczególnych krzywych  |

### Zmiana danych sekwencji docelowej, zawartości i próbki

Dane w kolumnach Target (Sekwencja docelowa), Content (Zawartość) i Sample (Próbka) można zmieniać, edytując plik próbki w edytorze Plate Editor (Edytor płytki) nawet po uruchomieniu eksperymentu.

#### Aby zmienić dane w kolumnach Target (Sekwencja docelowa), Content (Zawartość) i Sample (Próbka)

- ▶ Należy kliknąć opcję Plate Setup (Konfiguracja płytki) i wybrać opcję View/Edit Plate (Wyświetl/edytuj płytkę), aby otworzyć obszar Plate Editor (Edytor płytki).



## Zakładka Quantification Data (Dane oznaczenia ilościowego)

W zakładce Quantification Data (Dane oznaczenia ilościowego) wyświetlane są dane oznaczenia ilościowego zebrane dla każdej studzienki. Oprogramowanie CFX Manager Dx wyświetla dane w czterech różnych widokach arkusza kalkulacyjnego:

- Results (Wyniki) — wyświetlanie arkusza kalkulacyjnego z danymi. Ten widok jest domyślny.
- Standard Curve Results (Wyniki krzywej wzorcowej) — wyświetlanie arkusza kalkulacyjnego z danymi krzywej wzorcowej.
- Plate (Płytki) — wyświetlanie danych w każdej studzience w postaci mapy płytki.
- RFU — wyświetlanie wielkości RFU w każdej studzience dla każdego cyklu.

Każdy z arkuszy kalkulacyjnych można wybrać z listy rozwijanej wyświetlonej pod zakładką Quantification Data (Dane oznaczenia ilościowego).

### Arkusz kalkulacyjny Results (Wyniki)

Arkusz kalkulacyjny Results (Wyniki) przedstawia dane dla poszczególnych studzienek w płytce.

| 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                 |

**Uwaga:** Wszystkie obliczenia Std. Dev (Odchylenie standardowe) mają zastosowanie do grup replikacji przypisanych w studzienkach w oknie Plate Editor (Edytor płytki). Te obliczenia powodują uśrednienie wartości C<sub>q</sub> dla każdej studzienki w grupie replikacji.

W Tabeli 22 zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym Results (Wyniki).

**Tabela 22. Zawartość arkusza kalkulacyjnego Results (Wyniki)**

| <b>Informacja</b>  | <b>Opis</b>  |
|--|--|
| Well (Studzienka)  | Pozycja studzienki w płytce  |
| Fluor (Fluorofofor)  | Wykryty fluorofofor  |
| Targets (Sekwencje docelowe)                                     | Nazwy sekwencji docelowych dla amplifikacji (genu)                         |
| Content (Zawartość)  | Typ próbki i numer replikacji  |
| Sample (Próbka)  | Opis próbki  |
| Biological Set Name (Nazwa zestawu biologicznego)                | Nazwa zestawu biologicznego  |
| C <sub>q</sub>   | Cykl oznaczenia ilościowego  |
| C <sub>q</sub> Mean (Średnia z C <sub>q</sub> )                  | Średnia z cyklu oznaczenia ilościowego dla grupy replikacji                |
| C <sub>q</sub> Std. Dev (Odchylenie standardowe C <sub>q</sub> ) | Odchylenie standardowe z cyklu oznaczenia ilościowego dla grupy replikacji |
| Starting Quantity (SQ) (Ilość początkowa)                        | Oszacowanie początkowej ilości sekwencji docelowej                         |
| Log Starting Quantity (Rejestrowana ilość początkowa)            | Rejestr ilości początkowej   |
| SQ Mean (Średnia z ilości początkowej)                           | Średnia z ilości początkowej   |
| SQ Std. Dev (Odchylenie standardowe C <sub>q</sub> )             | Odchylenie standardowe ilości początkowej z replikacji                     |

## Arkusz kalkulacyjny Standard Curve Results (Wyniki krzywej wzorcowej)

W arkuszu kalkulacyjnym Standard Curve Results (Wyniki krzywej wzorcowej) wyświetlane są obliczone parametry krzywej wzorcowej.

| Fluor     | Efficiency % | Slope  | Y-Intercept | R <sup>2</sup> |
|-----------|--------------|--------|-------------|----------------|
| 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          |

W [Tabela 23](#) zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym Standard Curve Results (Wyniki krzywej wzorcowej).

**Tabela 23. Zawartość arkusza kalkulacyjnego Standard Curve Results (Wyniki krzywej wzorcowej)**

| Informacja                        | Opis                                 |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Fluor (lub Target (Gen docelowy)) | Wykryty fluorofor (lub gen docelowy) |
| Efficiency % (% wydajności)       | Wydajność reakcji                    |
| Slope (Nachylenie)                | Nachylenie krzywej wzorcowej         |
| Y-intercept (Przecięcie z Y)      | Punkt, w którym krzywa przecina oś Y |
| R <sup>2</sup>                    | Współczynnik determinacji            |

## Arkuszy kalkulacyjny Plate (Płytki)

W arkuszu kalkulacyjnym Plate (Płytki) wyświetlana jest mapa płytki zawierająca dane dla jednego fluoroforu w danym momencie.

|   | 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 |   |   |   |

### Wyświetlenie danych dla konkretnego fluoroforu

- ▶ Kliknąć jego zakładkę na dole arkusza kalkulacyjnego.

## Arkuszy kalkulacyjny RFU

W arkuszu kalkulacyjnym RFU wyświetlane są odczyty względnych jednostek fluorescencji (RFU) dla poszczególnych studzienek, zarejestrowane w cyklach analizy. Numer studzienki jest widoczny u góry każdej kolumny, a numer cyklu jest widoczny po lewej stronie każdego wiersza.

| 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 |

## Zakładka Melt Curve (Krzywa topnienia)

**Zastrzeżenie:** Firma Bio-Rad nie przyznaje żadnych praw do wykorzystywania analizy krzywej topnienia w analizie topnienia wysokiej rozdzielczości w dziedzinie diagnostyki in vitro u ludzi lub zwierząt. Dodatkowo to nabywca odpowiada za uzyskanie wszelkich praw własności intelektualnej, jakie mogą być wymagane w konkretnych zastosowaniach.

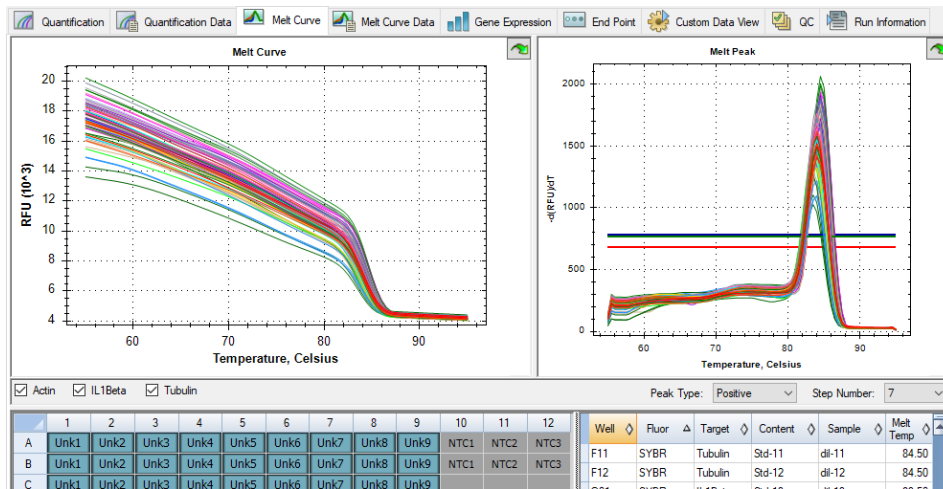
W przypadku barwników wiążących się z DNA i nierozszczepialnych sond hybrydacyjnych fluorescencja jest najjaśniejsza, gdy dwie nici DNA ulegają annealingowi. W związku z tym w miarę wzrostu temperatury w kierunku temperatury topnienia ( $T_m$ ) fluorescencja zmniejsza się w stałym tempie (przy stałym nachyleniu charakterystyki). W punkcie  $T_m$  następuje dramatyczne zmniejszenie fluorescencji przy zauważalnej zmianie nachylenia. Szybkość tej zmiany jest wyznaczana poprzez przedstawienie na wykresie ujemnej pierwszej regresji fluorescencji w funkcji temperatury ( $-d(RFU)/dT$ ). Największa szybkość zmiany fluorescencji powoduje widoczne piki i odpowiada wartości  $T_m$  kompleksów dwuniciowego DNA.

Oprogramowanie CFX Manager Dx przedstawia na wykresie dane RFU zebrane podczas krzywej topnienia w funkcji temperatury. W celu analizowania danych o pikach topnienia oprogramowanie przypisuje każdemu pikowi temperaturę początku i końca, przesuwając słupek progów. Podstawa obszaru piku jest wyznaczana przez pozycję słupka progów topnienia. Ważny pik musi mieć minimalną wysokość w odniesieniu do odległości między słupkiem progów a wysokością najwyższego piku.

W zakładce Melt Curve (Krzywa topnienia) wyświetlana jest wartość  $T_m$  (temperatura topnienia) amplifikowanych produktów PCR w czterech widokach:

- Melt Curve (Krzywa topnienia) — wyświetlanie danych w czasie rzeczywistym dla każdego fluoroforu jako wartości RFU w zależności od temperatury dla każdej studzienki.
- Melt Peak (Pik topnienia) — wyświetlanie ujemnej regresji danych RFU w zależności od temperatury dla każdej studzienki.
- Selektor studzienek — wyświetlanie studzienek w celu pokazywania lub ukrywania danych.
- Arkusz kalkulacyjny pików — wyświetlanie danych zebranych w wybranej studzience.

**Uwaga:** W tym arkuszu kalkulacyjnym wyświetlane są maksymalnie dwa piki dla każdej krzywej. Aby wyświetlić więcej pików, kliknąć zakładkę Melt Curve Data (Dane krzywej topnienia).



W Tabeli 24 na stronie 212 zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym Melt Curve (Krzywa topnienia).

**Tabela 24. Zawartość arkusza kalkulacyjnego Melt Curve (Krzywa topnienia)**

| Informacja                  | Opis   |
|-----------------------------|--|
| Well (Studzienka)           | Pozycja studzienki w płytce  |
| Fluor (Fluorofor)           | Wykryty fluorofor  |
| Content (Zawartość)         | Połączenie typu próbki i numeru replikatu  |
| Sample (Próbka)             | Nazwa próbki załadowanej w oknie Plate Editor (Edytor płytki)  |
| Melt Temp (Temp. topnienia) | Temperatura piku topnienia dla każdej studzienki<br><br><b>Uwaga:</b> W tym arkuszu kalkulacyjnym wyświetlane są tylko dwa najwyższe piki. |

## Dostosowywanie danych krzywej topnienia

### Aby dostosować dane krzywej topnienia

- ▶ Wykonać dowolne z następujących czynności:
  - Kliknąć i przeciągnąć paski wartości progowych na wykresie Melt Peak (Pik topnienia), aby uwzględnić piki w analizie danych lub wykluczyć je z analizy.
  - W menu rozwijanym Peaks (Piki) wybrać opcję Positive (Dodatnie), aby wyświetlić dane arkusza kalkulacyjnego dla pików powyżej linii Melt Threshold (Próg topnienia), albo wybrać opcję Negative (Ujemne), aby wyświetlić dane arkusza kalkulacyjnego dla pików poniżej linii Melt Threshold (Próg topnienia).
  - Otworzyć okno Trace Styles (Style krzywych), aby zmienić kolor krzywych na wykresach Melt Curve (Krzywa topnienia) i Melt Peak (Pik topnienia).
  - Aby wyświetlić dane krzywej topnienia w innym etapie protokołu, należy wybrać liczbę w selektorze Step Number (Numer etapu). Na liście widoczny jest więcej niż jeden etap, jeśli protokół zawiera odczyty płytek w więcej niż jednym etapie krzywej topnienia.
  - Aby skupić się na podzbiorach danych, należy wybrać studzienki w selektorze studzienek.
  - Wybrać grupę studzienek, aby wyświetlić i przeanalizować podzbiór studzienek z płytki. Poszczególne grupy studzienek można wybrać na podstawie nazw w menu rozwijanym Well Group (Grupa studzienek) na pasku narzędzi.

## Zakładka Melt Curve Data (Dane krzywej topnienia)

Zakładka Melt Curve Data (Dane krzywej topnienia) przedstawia dane z zakładki Melt Curve (Krzywa topnienia) na wielu arkuszach kalkulacyjnych, które zawierają wszystkie piki topnienia dla każdej krzywej. Oferuje cztery opcje arkuszy kalkulacyjnych, w których można wyświetlać dane krzywej topnienia:

- Melt Peaks (Piki topnienia) — przedstawiają wszystkie dane, w tym wszystkie piki topnienia, dla każdej krzywej. Ten widok jest domyślny.
- Plate (Płytką) — przedstawia widok danych i zawartości poszczególnych studzienek płytki.
- RFU (Względne jednostki fluorescencji) — przedstawia wartości RFU dla każdej temperatury i każdej studzienki.
- $-d(\text{RFU})/dT$  — przedstawia ujemną szybkość zmiany RFU w miarę zmian temperatury (T). Jest to pierwszy wykres regresji dla każdej studzienki w płytce.

Każdy z arkuszy kalkulacyjnych można wybrać z listy rozwijanej wyświetlonej pod zakładką Melt Curve Data (Dane krzywej topnienia).

## Arkusz kalkulacyjny Melt Peaks (Piki topnienia)

Arkusz kalkulacyjny Melt Peaks (Piki topnienia) przedstawia wszystkie dane krzywych topnienia.

| Well | Fluor | Target | Content | Sample | Melt Temperature | Peak Height | Begin Temperature | End Temperature |
|------|-------|--------|---------|--------|------------------|-------------|-------------------|-----------------|
| A01  | SYBR  | Actin  | Unkn-1  | 0Hr    | 84.00            | 1497.19     | 78.00             | 88.50           |
| A02  | SYBR  | Actin  | Unkn-2  | 1Hr    | 84.00            | 1426.57     | 78.50             | 94.00           |
| A03  | SYBR  | Actin  | Unkn-3  | 2Hr    | 84.00            | 1492.53     | 78.50             | 91.00           |
| B01  | SYBR  | Actin  | Unkn-1  | 0Hr    | 84.00            | 1408.73     | 78.50             | 92.50           |
| B02  | SYBR  | Actin  | Unkn-2  | 1Hr    | 84.00            | 1510.77     | 78.00             | 89.00           |
| B03  | SYBR  | Actin  | Unkn-3  | 2Hr    | 84.00            | 1493.25     | 78.00             | 88.50           |
| C01  | SYBR  | Actin  | Unkn-1  | 0Hr    | 84.00            | 1521.98     | 78.50             | 91.50           |
| C02  | SYBR  | Actin  | Unkn-2  | 1Hr    | 84.00            | 1618.79     | 78.00             | 90.00           |
| C03  | SYBR  | Actin  | Unkn-3  | 2Hr    | 84.00            | 1581.56     | 78.00             | 89.00           |
| D01  | SYBR  | Actin  | Std-1   | dil-1  | 84.00            | 1100.08     | 79.00             | 94.00           |

W [Tabela 25 na stronie 215](#) zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym Melt Peaks (Piki topnienia).



**Tabela 25. Zawartość arkusza kalkulacyjnego Melt Peaks (Piki topnienia)**

| Informacja                                 | Opis   |
|--|--|
| Well (Studzienka)                          | Pozycja studzienki w płytce  |
| Fluor (Fluorofor)                          | Wykryty fluorofor  |
| Content (Zawartość)                        | Typ próbki widoczny w oknie Plate Editor (Edytor płytki)   |
| Targets (Sekwencje docelowe)               | Sekwencja docelowa do amplifikacji (gen)   |
| Sample (Próbka)                            | Nazwa próbki widoczna w oknie Plate Editor (Edytor płytki)   |
| Melt Temperature (Temperatura topnienia)   | Temperatura topnienia każdego produktu podana jako jeden pik (najwyższy) na wiersz w arkuszu kalkulacyjnym |
| Peak Height (Wysokość piku)                | Wysokość piku  |
| Begin Temperature (Temperatura początkowa) | Temperatura na początku piku   |
| End Temperature (Temperatura końcowa)      | Temperatura na końcu piku  |

## Arkusz kalkulacyjny Plate (Płytki)

Arkusz kalkulacyjny Plate (Płytki) wyświetla dane krzywej topnienia w formacie płytki.

Quantification Quantification Data Melt Curve Melt Curve Data Gene Expression End Point Custom Data View

Plate Step Number: 7 Peak Type: Positive

Output:  Content  Sample  Peak 1  Peak 2

|   | 1       | 2      | 3      | 4      | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---|---------|--------|--------|--------|---|---|---|---|---|----|----|
| A | Content | Unkn-1 | Unkn-2 | Unkn-3 |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Sample  | 0Hr    | 1Hr    | 2Hr    |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 1  | 84.00  | 84.00  | 84.00  |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 2  | None   | None   | None   |   |   |   |   |   |    |    |
| B | Content | Unkn-1 | Unkn-2 | Unkn-3 |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Sample  | 0Hr    | 1Hr    | 2Hr    |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 1  | 84.00  | 84.00  | 84.00  |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 2  | None   | None   | None   |   |   |   |   |   |    |    |
| C | Content | Unkn-1 | Unkn-2 | Unkn-3 |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Sample  | 0Hr    | 1Hr    | 2Hr    |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 1  | 84.00  | 84.00  | 84.00  |   |   |   |   |   |    |    |
|   | Peak 2  | None   | None   | None   |   |   |   |   |   |    |    |

**Uwaga:** W celu dostosowania piku wywołwanego przez oprogramowanie należy wyregulować linię progową na wykresie Melt Peak (Pik topnienia) na zakładce Melt Curve (Krzywa topnienia).

W [Tabela 26 na stronie 216](#) zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym Plate (Płytki).

**Tabela 26. Zawartość arkusza kalkulacyjnego Plate (Płytki)**

| Informacja          | Opis   |
|---------------------|--|
| Content (Zawartość) | Połączenie typu próbki (wymagany) i numeru replikatu (opcjonalnie) |
| Sample (Próbka)     | Opis próbki  |
| Peak 1 (Pik 1)      | Pierwszy pik topnienia (najwyższy)                                 |
| Peak 2 (Pik 2)      | Drugi (niższy) pik topnienia                                       |

## Arkusze kalkulacyjne RFU

W arkuszu kalkulacyjnym RFU wyświetlana jest fluorescencja dla każdej studzienki w każdym cyklu pozyskana w trakcie krzywej topnienia.

W [Tabela 27](#) zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym RFU.

**Tabela 27. Zawartość arkusza kalkulacyjnego RFU**

| Informacja                            | Opis   |
|---------------------------------------|--|
| Numer studzienki (A1, A2, A3, A4, A5) | Pozycja studzienki w płytce dla załadowanych studzienek  |
| Temperature (Temperatura)             | Temperatura topnienia amplifikowanego docelowego genu przedstawiona na wykresie w postaci jednej studzienki na rząd i wielu studzienek dla wielu produktów w tej samej studziencie |

## Arkusz kalkulacyjny -d(RFU)/dT

W arkuszu kalkulacyjnym -d(RFU)/dT wyświetlana jest ujemna szybkość zmiany RFU w miarę zmian temperatury (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 |

W Tabeli 28 zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym -d(RFU)/dT.

**Tabela 28. Zawartość arkusza kalkulacyjnego -d(RFU)/dT**

| Informacja                            | Opis   |
|---------------------------------------|--|
| Numer studzienki (A1, A2, A3, A4, A5) | Pozycja studzienki w płytce dla załadowanych studzienek  |
| Temperature -d(RFU)/dT (Temperatura)  | Ujemna szybkość zmiany RFU w miarę zmian temperatury (T) |

## Zakładka End Point (Punkt końcowy)

Otworzyć zakładkę End Point (Punkt końcowy) w celu przeanalizowania końcowych względnych jednostek fluorescencji (RFU) dla studzienek z próbkami. Oprogramowanie porównuje poziomy RFU dla studzienek z nieznanymi próbkami z poziomami RFU dla studzienek z ujemną kontrolą i przypisuje nieznanej próbce wskazanie dodatnie lub ujemne. Dodatkowo próbki mają wartość RFU większą niż średnia wartość RFU kontroli ujemnych plus wartość odcięcia.

| 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    |              |

W celu analizowania danych o punkcie końcowym płytka musi zawierać kontrole ujemne; w przeciwnym razie oprogramowanie nie może przypisać wskazania. Uruchomić jeden z dwóch poniższych typów protokołu:

- Run a Quantification protocol (Uruchom protokół oznaczenia ilościowego) — konfigurowanie protokołu standardowego. Po zakończeniu analizy próbek otworzyć okno Data Analysis (Analiza danych), dostosować ustawienia analizy danych w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe) i kliknąć zakładkę End Point (Punkt końcowy), aby wybrać cykl punktu końcowego.
- Run an End Point Only protocol (Uruchom protokół wyłącznie punktu końcowego) — załadowanie protokołu End Point Only (Tylko punkt końcowy) w zakładce Plate (Płytki) w oknie Run Setup (Konfiguracja analizy próbek); następnie należy wybrać lub utworzyć płytkę i rozpocząć analizę próbek.

W zakładce End Point (Punkt końcowy) wyświetlane są średnie wartości RFU w celu określenia, czy docelowy gen uległ amplifikacji wskutek ostatniego (końcowego) cyklu. Te dane pozwalają określić,

czy konkretna docelowa sekwencja jest obecna (dodatnia) w próbce. Dodatnie geny docelowe mają wyższe wartości RFU niż poziom odcięcia zdefiniowany przez użytkownika.

**Wskazówka:** Aby utworzyć protokół punktu końcowego, otworzyć zakładkę Protocol (Protokół) w oknie Run Setup (Konfiguracja analizy próbek) i wybrać Run (Analiza próbek) > End Point Only Run (Analiza wyłącznie punktu końcowego).

Gdy analiza próbek się zakończy, plik danych jest otwierany w zakładce End Point (Punkt końcowy), która zawiera następujące części:

- Settings (Ustawienia) — zmiana ustawień analizy danych.
- Results (Wyniki) — wyświetlanie wyników bezpośrednio po dostosowaniu ustawień.
- Well Selector (Selektor studzienek) — wybór studzienek z danymi dotyczącymi punktu końcowego, jakie mają być pokazane.
- Arkusz kalkulacyjny RFU — wyświetlanie końcowych wartości RFU zebranych w wybranych studzienkach.

## Dane dotyczące wyników

Sekcja Results (Wyniki) przedstawia następujące dane:

- Lowest RFU value (Najniższa wartość RFU) — najniższa wartość we względnych jednostkach fluorescencji
- Highest RFU value (Najwyższa wartość RFU) — najwyższa wartość we względnych jednostkach fluorescencji
- Negative Control Average (Średnia z kontroli ujemnej) — średnie względne jednostki fluorescencji dla studzienek, które zawierają kontrole ujemne
- Cut Off Value (Wartość odcięcia) — obliczona poprzez dodanie tolerancji (wartość RFU (Względna jednostka fluorescencji) lub Percentage of Range (Procent zakresu) podana w obszarze Settings (Ustawienia)) oraz średnia z kontroli ujemnych. Próbki z wartościami RFU (Względna jednostka fluorescencji), które są wyższe niż wartość odcięcia, są określane jako „Positive” (Dodatnie). W celu dostosowania wartości odcięcia należy zmienić wartość RFU (Względna jednostka fluorescencji) lub Percentage of Range (Procent zakresu).

Wartość Cut Off Value (Wartość odcięcia) jest obliczana za pomocą następującego wzoru:

$$\text{Cut Off Value (Wartość odcięcia)} = \text{Negative Control Average (Średnia z kontroli ujemnej)} + \text{Tolerance (Tolerancja)}$$

Tolerancję należy ustawić, korzystając z jednej z następujących metod:

- RFUs (Względne jednostki fluorescencji) (domyślnie) — tę metodę należy wybrać, aby używać dla tolerancji bezwzględnej wartości RFU. Minimalna wartość tolerancji RFU wynosi 2. Maksimum jest wartością bezwzględną najwyższej wartości RFU minus wartość bezwzględna najniższej wartości RFU. Domyślną wartością tolerancji RFU jest 10% łącznego zakresu RFU.
- Percent of Range (Procent zakresu) — tę metodę należy wybrać, aby dla tolerancji używać procentu zakresu RFU. Minimalny procent zakresu wynosi 1%. Maksymalny procent zakresu wynosi 99%. Domyślny procent zakresu wynosi 10%.

## Dostosowanie analizy danych punktu końcowego

### Aby dostosować analizę danych punktu końcowego

- ▶ Wykonać dowolne z następujących czynności:
  - Z listy rozwijanej wybrać fluorofor.
  - Wybrać wartość End Cycle to Average (Cykl końcowy do uśrednienia), aby ustawić liczbę cykli, z której zostanie obliczona średnia wartość RFU dla punktu końcowego.
  - Wybrać opcję RFU (Względna jednostka fluorescencji), aby wyświetlić dane we względnych jednostkach fluorescencji.
  - Wybrać opcję Percentage of Range (Procent zakresu), aby wyświetlić dane jako procent zakresu RFU.
  - Aby skupić się na podzbiorach danych, należy wybrać studzienki w selektorze studzienek.
  - Wybrać grupę studzienek, aby wyświetlić i przeanalizować podzbiór studzienek z płytki. Poszczególne grupy studzienek można wybrać na podstawie nazw w menu rozwijanym Well Group (Grupa studzienek) na pasku narzędzi.

## Arkusz kalkulacyjny RFU na potrzeby analizy punktu końcowego

W [Tabela 29](#) zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym RFU na zakładce End Point (Punkt końcowy).

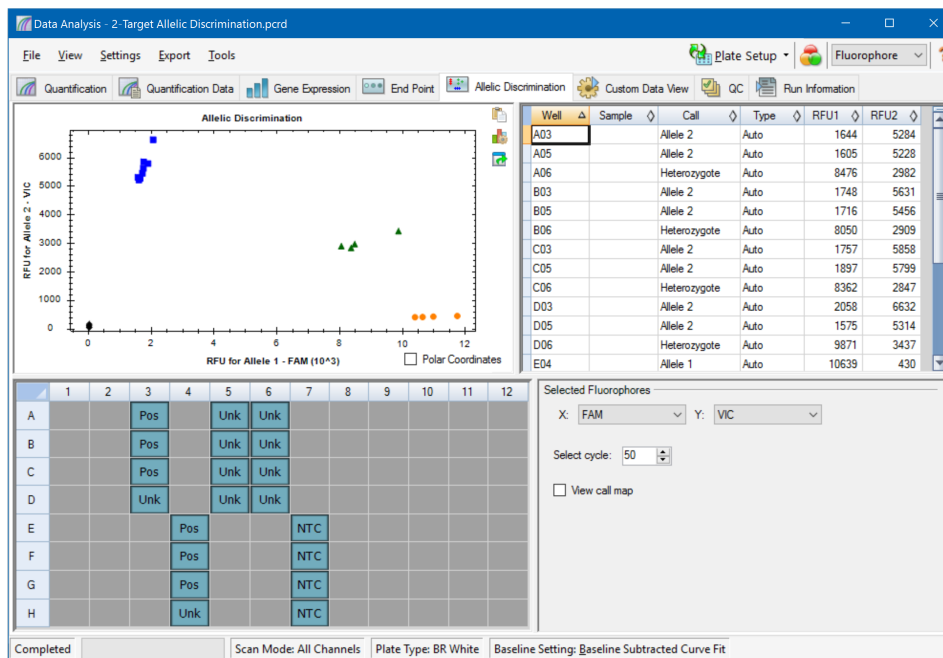
**Tabela 29. Zawartość arkusza kalkulacyjnego End Point (Punkt końcowy)**

| Informacja              | Opis  |
|-------------------------|---|
| Well (Studzienka)       | Pozycja studzienki w płytce   |
| Fluor (Fluorofor)       | Wykryty fluorofor   |
| Content (Zawartość)     | Połączenie typu próbki i numeru replikatu   |
| End RFU (RFU na koniec) | RFU w punkcie końcowym  |
| Call (Wskazanie)        | Dodatnie lub ujemne, przy czym próbki dodatnie mają wartości RFU wyższe niż średnie RFU kontroli ujemnych plus wartość odcięcia |
| Sample (Próbka)         | Nazwa próbki załadowanej w oknie Plate Editor (Edytor płytki)   |

## Zakładka Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna)

Zakładka Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna) służy do przypisywania genotypów do studzienek zawierających nieznaną próbkę. Dane dostępne na tej zakładce można wykorzystać w celu rozpoznawania próbek o różnych genotypach, takich jak Allele 1 (Allel 1), Allele 2 (Allel 2), Heterozygotę (Heterozygota), No Call (Brak wskazania) (brak amplifikacji) lub Undetermined (Nieokreślone).

**Uwaga:** Dane przeznaczone do dyskryminacji allelicznej muszą pochodzić z analiz multiplex z co najmniej dwoma fluoroforami. Każdy fluorofor identyfikuje jeden allel we wszystkich próbkach.



Analiza dyskryminacyjna alleli wymaga, aby studzienki zawierały co najmniej:

- Dwa fluorofory w każdej studzience
- Próbkę NTC (bez kontroli matrycy) dla zoptymalizowanej analizy danych

Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx oferuje cztery opcje, które umożliwiają wyświetlanie danych dyskryminacji allelicznej:

- Wykres Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna) — dane są wyświetlane w postaci jednostek RFU dla allelu Allele 1 (Allel 1)/Allele 2 (Allel 2). Każdy punkt na wykresie reprezentuje dane z obu fluoroforów w jednej studzience. Możliwe jest przełączanie współrzędnych kartezyjskich i biegunowych — w tym celu należy zaznaczyć lub usunąć zaznaczenie pola



wyboru Polar Coordinates (Współrzędne biegunowe). W przypadku współrzędnych biegunowych dane RFU dla allelu 1 są przedstawiane na osi x, a dane RFU dla allelu 2 na osi y. W przypadku współrzędnych biegunowych kąt jest reprezentowany na osi x, a wartość RFU jest reprezentowana jako odległość od początku układu współrzędnych na osi y (mediana wszystkich próbek NTC).

- Arkusz kalkulacyjny Well (Studzienka) — przedstawia dane dyskryminacji allelicznej zgromadzone z każdej studzienki płytki.
- Well Selector (Selektor studzienek) — umożliwia wybieranie studzienek z danymi allelicznymi, jakie mają być pokazane.
- Panel Selected Fluorophores (Wybrane fluorofory) — umożliwia zmianę etykiet x i y na wykresie Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna), zmianę cyklu przeznaczonego do analizy, a także określenie, czy wyświetlana będzie mapa wskazań.

## Dostosowywanie danych na potrzeby dyskryminacji allelicznej

Oprogramowanie automatycznie przypisuje genotyp do studzienek z nieznanymi próbkami na podstawie pozycji próbek NTC oraz kąta i odległości punktów danych nieznanymi od próbek NTC.

### Aby dostosować dane dotyczące dyskryminacji allelicznej

- ▶ Wykonać dowolne z następujących czynności:
  - Aby wyświetlić współrzędne biegunowe, zaznaczyć pole wyboru na wykresie Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna).
  - Aby wyświetlić inny fluorofor, wybrać go z listy rozwijanej w panelu Selected Fluorophores (Wybrane fluorofory).
  - Aby zmienić wskazanie, przeciągnąć kursorem przez punkt (punkty) danych na wykresie Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna) i wybrać opcję z listy Selected Wells (Wybrane studzienki):
    - Allele 1 (Allel 1),
    - Allele 2 (Allel 2),
    - Heterozygotę (Heterozygota),

- Undetermined (Nieokreślone),
- No Call (Brak wskazania),
- Auto Call (Wskazanie automatyczne).

**Wskazówka:** Aby powrócić do wskazania domyślnego, wybrać opcję Auto Call (Wskazanie automatyczne).

## Opcje menu wykresów

Obok opcji menu dla wykresów, które standardowo pojawiają się po kliknięciu prawym przyciskiem myszy (patrz [Wspólne pozycje w menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na wykresach na stronie 188](#)), istnieją również opcje menu dostępne tylko w przypadku wykresu Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna), które przedstawia [Tabela 30](#).

**Tabela 30. Opcje dostępne w menu pojawiającym się w po kliknięciu prawym i lewym przyciskiem myszy na wykresie Allelic Discrimination Chart (Wykres dyskryminacji allelicznej)**

| Opcja menu                          | Funkcja   |
|-------------------------------------|---|
| Zoom (Powiększenie)                 | <p>Powoduje powiększenie wybranego obszaru na wykresie (poprzez kliknięcie i przeciągnięcie kursora na wykresie).</p> <p><b>Wskazówka:</b> W celu przywrócenia poprzedniego powiększenia i wyświetlenia wszystkich punktów danych należy kliknąć prawym przyciskiem myszy i wybrać opcję Set Scale to Default (Ustaw skalę domyślną).</p> |
| Well (Studzienka)                   | <p>Dla wybranej studzienki dostępne są opcje, które umożliwiają: wyświetlenie tylko danej studzienki, usunięcie danej studzienki z widoku, ustawienie koloru dla danej krzywej albo wykluczenie danej studzienki z analizy.</p>   |
| Selected Wells (Wybrane studzienki) | <p>Dla wybranych studzienek (wybranych poprzez kliknięcie i przeciągnięcie kursora na wykresie) dostępne są opcje, które umożliwiają: wyświetlenie tylko danych studzienek, usunięcie danych studzienek z widoku, ustawienie koloru dla danych krzywych albo wykluczenie danych studzienek z analizy.</p>                                 |

## Arkusze kalkulacyjny Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna)

W [Tabela 31](#) zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna).

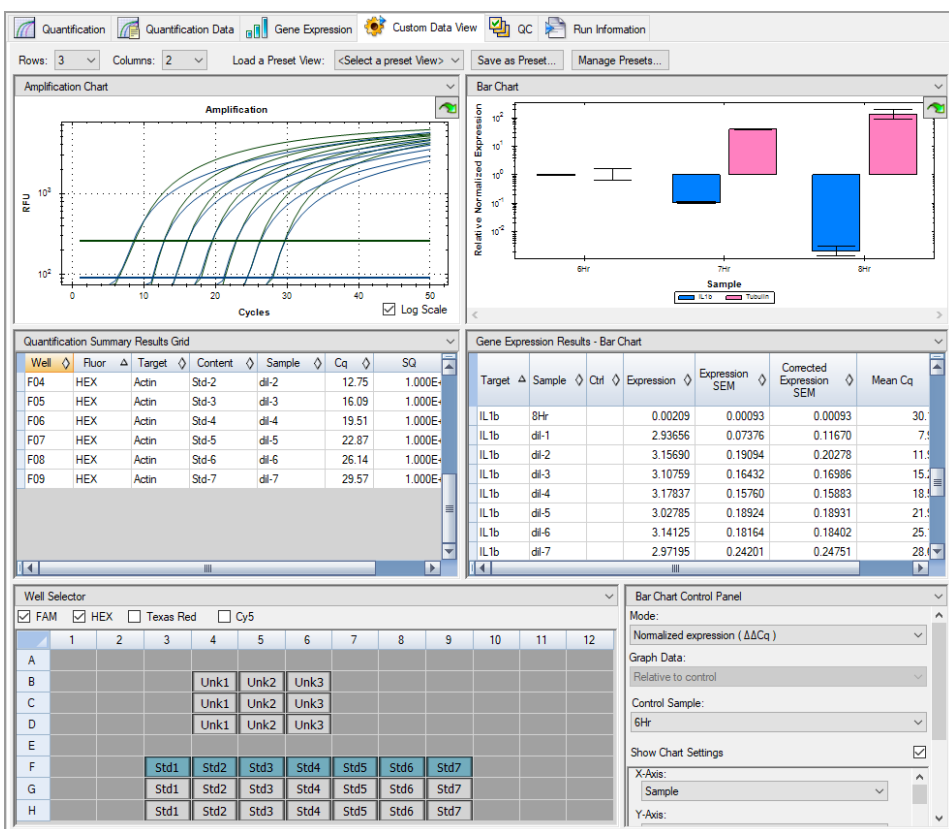
**Tabela 31. Zawartość arkusza kalkulacyjnego Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna)**

| Informacja        | Opis   |
|-------------------|--|
| Well (Studzienka) | Pozycja studzienki w płytce  |
| Sample (Próbka)   | Opis nazwy próbki  |
| Call (Wskazanie)  | Identyfikacja allelu, która obejmuje następujące informacje: Allele 1 (Allele 1), Allele 2 (Allele 2), Heterozygotę (Heterozygota), No Call (Brak wskazania) lub Undetermined (Nieokreślone)                           |
| Type (Typ)        | Auto (Automatyczny) lub Manual (Ręczny) — opisuje sposób wykonania wskazania. Automatyczny oznacza, że wskazanie zostało wybrane przez oprogramowanie. Ręczny oznacza, że wskazanie zostało wybrane przez użytkownika. |
| RFU1              | Liczba jednostek RFU (względna jednostka fluorescencji) dla allelu Allele1   |
| RFU2              | Liczba jednostek RFU (względna jednostka fluorescencji) dla allelu Allele2   |

## Zakładka Custom Data View (Niestandardowy widok danych)

W zakładce Custom Data View (Niestandardowy widok danych) równocześnie wyświetlanych jest wiele paneli z możliwością modyfikowania ich układu.

Lista rozwijana Load a Preset View (Załaduj wstępnie skonfigurowany widok) zawiera wybór szablonów formatu wyświetlania. Domyślny wyświetlany widok zależy od analizowanego pliku. Na przykład gdy dostępne są dane Melt Curve (Krzywa topnienia), prezentowany jest domyślny widok Amp+Melt (Amplifikacja + topnienie).



## Tworzenie niestandardowego widoku danych

### Aby utworzyć niestandardowy widok danych

- ▶ Wykonać dowolne z następujących czynności:
  - Z listy rozwijanej wybrać wstępnie skonfigurowany alternatywny widok.
  - Z listy rozwijanej, która znajduje się u góry każdego pojedynczego okienka, wybrać inny widok wykresu.
  - Zmienić liczbę wierszy i kolumn w zakładce.
  - Zmienić wymiary określonego okienka. Przeciągnąć paski znajdujące się na krawędziach poszczególnych okienek.

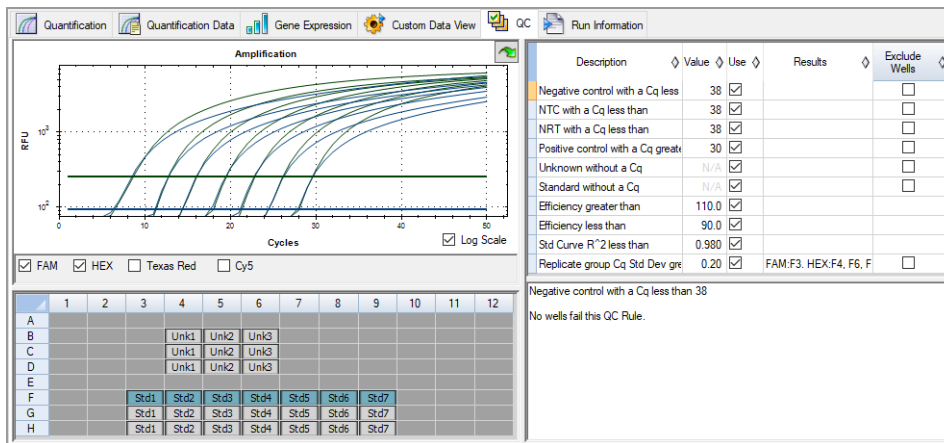
Następnie należy kliknąć opcję Save as Preset (Zapisz jako wstępnie skonfigurowany), co spowoduje zapisanie niestandardowych ustawień w postaci szablonu. W celu usunięcia wstępnie skonfigurowanego widoku, zmiany jego nazwy albo przywrócenia takiego widoku należy kliknąć opcję Manage Presets (Zarządzaj ustawieniami wstępnie skonfigurowanymi).

## Zakładka QC (Kontrola jakości)

Za pomocą zakładki QC (Kontrola jakości) można szybko ocenić jakość danych analizy na podstawie reguł zdefiniowanych.

Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx oferuje cztery opcje, które umożliwiają wyświetlanie danych QC:

- Wykres **Amplification** (Amplifikacja) — przedstawia wartość RFU dla każdej studzienki z każdego cyklu. Każda krzywa na wykresie reprezentuje dane z pojedynczego fluoroforu w jednej studzience.
- **Tabela zasad QC** — wyświetla dostępne reguły QC oraz ustawienia, które definiują poszczególne reguły. Stosowane reguły QC są oznaczone znacznikiem wyboru.
- **Well selector** (Selektor studzienek) — umożliwia wybranie do wyświetlenia studzienek z danymi fluorescencji.
- **Panel podsumowania reguł QC** — wyświetla wybraną regułę QC oraz wyróżnia studzienki, które nie spełniają tej reguły.



## Zmiana kryteriów QC (kontroli jakości)

### Aby zmienić kryteria kontroli jakości

- ▶ Zaznaczyć lub usunąć zaznaczenie pola wyboru Use (Użyj) dla reguły, która ma zostać uwzględniona w kontroli jakości lub z niej wykluczona

## Wykluczanie studzienek, które nie przeszły kontroli jakości

Oprogramowanie CFX Manager Dx wyświetla studzienki, które nie spełniły kryteriów QC (Kontrola jakości), w kolumnie Results (Wyniki) w tabeli zasad QC oraz w panelu podsumowania.

### Wykluczenie studzienek, które nie spełniły kryteriów QC (Kontrola jakości)

- ▶ Zaznaczyć pole Exclude Wells (Wyklucz studzienki) dla każdej studzienki, która ma być wykluczona.



## Zakładka Run Information (Informacje o analizie próbek)

W zakładce Run Information (Informacje o analizie próbek) wyświetlany jest protokół i inne informacje o każdej analizie próbek. Za pomocą tej zakładki można wykonać następujące czynności:

- przejrzeć protokół;
- wpisać lub edytować uwagi o analizie próbek;
- wpisać lub edytować identyfikator lub kod kreskowy dla analizy próbek;
- przeglądać zdarzenia, które mogły wystąpić podczas analizy; te zdarzenia mogą pomóc w rozwiązaniu problemów z analizą próbek.

**Wskazówka:** Kliknąć prawym przyciskiem myszy opcję Protocol (Protokół), aby skopiować, wyeksportować lub wydrukować protokół. Kliknąć prawym przyciskiem myszy w panelach Notes (Uwagi), ID/Bar Code (Identyfikator / kod kreskowy) lub Other (Inne), aby wyciąć, skopiować, wkleić, usunąć lub wybrać tekst.

The screenshot displays the 'Run Information' tab in a software application. The main window is titled 'Protocol: CFX\_2stepAmp50.1 min.pcl'. It features a graph showing a temperature protocol with four steps: Step 1 (95.0 C for 3:00), Step 2 (95.0 C for 0:10), Step 3 (55.0 C for 1:00), and Step 4 (GOTO 2, 49 more times). A table below the graph lists these steps in detail. On the right side, there are three text areas: 'Notes' (containing an example of an artificial time course), 'ID/Bar Code', and 'Other' (containing run metadata like start time, user, and plate file). The status bar at the bottom indicates 'Completed' and provides scan mode, plate type, and baseline setting information.

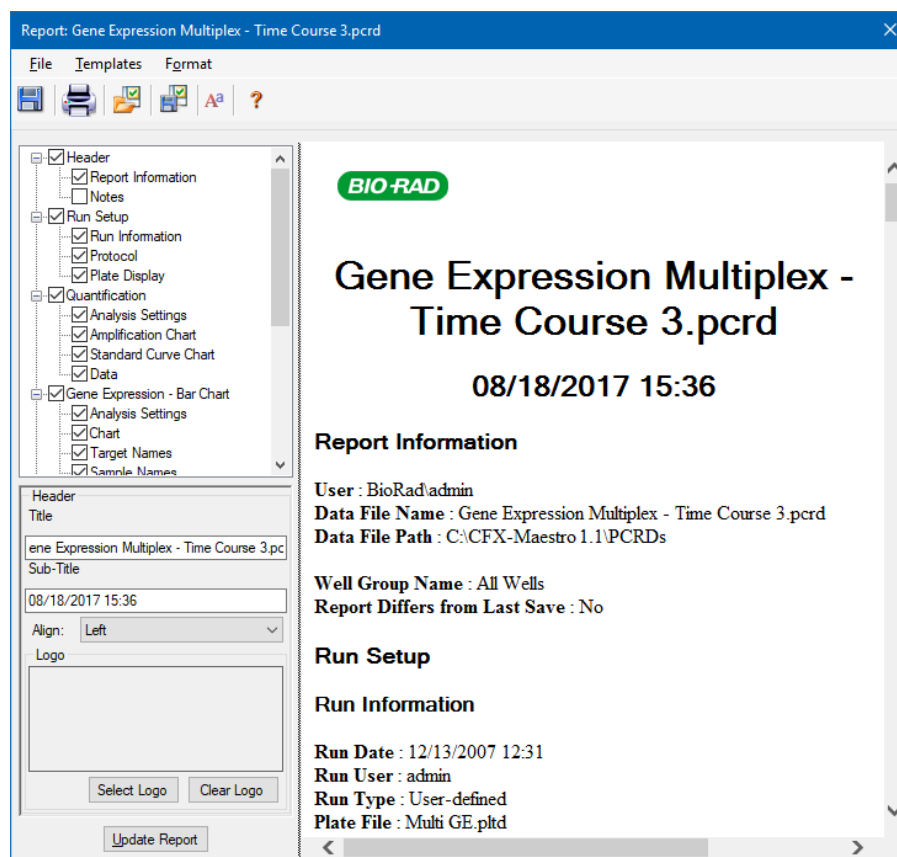
| Step | Temperature (C) | Duration      |
|------|-----------------|---------------|
| 1    | 95.0            | 3:00          |
| 2    | 95.0            | 0:10          |
| 3    | 55.0            | 1:00          |
| 4    | GOTO 2          | 49 more times |

## Raporty z analizy danych

W oknie dialogowym Report (Raport) wyświetlane są informacje o bieżącym pliku danych w oknie Data Analysis (Analiza danych). Aby otworzyć raport, wybrać Tools (Narzędzia) > Reports (Raporty).

Okno dialogowe Report (Raport) zawiera następujące części:

- Menu i pasek narzędzi — opcje pozwalające formatować, zapisywać i drukować raport lub szablon.
- Lista opcji (lewa górna część okna dialogowego) — opcje do wyświetlenia w raporcie.
- Panel opcji (dolna lewa część okna dialogowego) — pola tekstowe, w których można wpisywać informacje o wybranej opcji.
- Panel podglądu (prawa strona okna dialogowego) — podgląd bieżącego raportu.



## Kategorie raportu z analizy danych

W [Tabela 32](#) wymieniono wszystkie opcje dostępne na potrzeby raportu z analizy danych w zależności od typu danych w oknie Data Analysis (Analiza danych).

**Tabela 32. Kategorie raportu z analizy danych na liście opcji**

| Kategoria                                      | Opcja  | Opis  |
|--|--|---|
| <b>Nagłówek</b>                                |  |   |
|  |  | Tytuł, podtytuł i logo dla raportu  |
|  | Report Information (Informacje o raporcie)     | Data analizy próbek, nazwa użytkownika, nazwa pliku danych, ścieżka pliku danych i wybrana grupa studzienek |
|  | Audit Information (Informacje o audycie)       | Dodatkowe informacje wymagane do audytowania, w tym podpisy   |
|  | Notes (Uwagi)                                  | Uwagi dotyczące raportu z danymi  |
| <b>Run Setup (Konfiguracja analizy próbek)</b> |  |   |
|  | Run Information (Informacje o analizie próbek) | Data analizy próbek, nazwa użytkownika, nazwa pliku danych, ścieżka pliku danych i wybrana grupa studzienek |
|  | Pliku protokołu                                | Tekstowa prezentacja etapów i opcji protokołu   |
|  | Plate Display (Wyświetlanie płytki)            | Widok płytki z informacjami w każdej studziencie płytki   |
| <b>Quantification (Oznaczenie ilościowe)</b>   |  |   |
|  | Analysis Settings (Ustawienia analizy)         | Liczba etapów zbierania danych, tryb analizy i sposób odejmowania wartości bazowej                          |
|  | Amplification Chart (Wykres amplifikacji)      | Wykres amplifikacji dla analiz próbek obejmujących dane o oznaczeniach ilościowych                          |

**Tabela 32. Kategorie raportu z analizy danych na liście opcji, ciąg dalszy**

| <b>Kategoria</b>   | <b>Opcja</b>   | <b>Opis</b>   |
|--|--|---|
|  | Wykres Standard Curve<br>(Krzywa wzorcowa)           | Wykres krzywej wzorcowej  |
|  | Data (Dane)  | Arkusze kalkulacyjny<br>z wyszczególnionymi danymi dla każdej<br>studzienki       |
| <b>Gene Expression (Ekspresja genu) — Bar Chart (Wykres słupkowy)</b>                  |  |   |
|  | Analysis Settings (Ustawienia<br>analizy)            | Tryb analizy, dane wykresu, opcja<br>skalowania i błąd wykresu                    |
|  | Chart (Wykres)                                       | Kopia wykresu słupkowego  |
|  | Target Names (Nazwy<br>sekwencji docelowych)         | Tabela nazw genów docelowych  |
|  | Sample Names (Nazwy<br>próbek)                       | Tabela nazw próbek  |
|  | Data (Dane)  | Arkusze kalkulacyjny<br>z wyszczególnionymi danymi dla każdej<br>studzienki       |
|  | Target Stability (Stabilność<br>sekwencji docelowej) | Tabela wartości stabilności genu<br>docelowego                                    |
| <b>Gene Expression (Ekspresja genu) — Clustergram i Scatter Plot (Wykres rozrzutu)</b> |  |   |
|  | Analysis Settings (Ustawienia<br>analizy)            | Ustawienia dla każdego typu wykresu   |
|  | Chart (Wykres)                                       | Kopia wykresu   |
|  | Data (Dane)  | Arkusze kalkulacyjny<br>z wyszczególnionymi danymi dla<br>każdego genu docelowego |
| <b>Melt Curve (Krzywa topnienia)</b>   |  |   |
|  | Analysis Settings (Ustawienia<br>analizy)            | Liczba etapów topnienia i ustawienie<br>słupka prognozy                           |

Tabela 32. Kategorie raportu z analizy danych na liście opcji, ciąg dalszy

| Kategoria  | Opcja   | Opis   |
|--|---|--|
|  | Wykres Melt Curve (Krzywa topnienia)                            | Wykres krzywej topnienia   |
|  | Melt Peak Chart (Wykres piku topnienia)                         | Wykres piku topnienia  |
|  | Data (Dane)   | Arkusze kalkulacyjne z wyszczególnionymi danymi dla każdej studzienki  |
| <b>Allelic Discrimination (Dyskryminacja alleliczna)</b> |   |  |
|  | Analysis Settings (Ustawienia analizy)                          | Wyświetlanie fluoroforów, cyklu i mapy wskazań   |
|  | Allelic Discrimination Chart (Wykres dyskryminacji allelicznej) | Kopia wykresu dyskryminacji allelicznej  |
|  | Data (Dane)   | Arkusze kalkulacyjne z wyszczególnionymi danymi dla każdej studzienki  |
| <b>End Point (Punkt końcowy)</b>                         |   |  |
|  | Analysis Settings (Ustawienia analizy)                          | Fluorofor, cykle końcowe do uśrednienia, tryb, najniższa wartość RFU, najwyższa wartość RFU i wartość odcięcia |
|  | Data (Dane)   | Arkusze kalkulacyjne z wyszczególnionymi danymi dla każdej studzienki  |
| <b>QC Parameters (Parametry kontroli jakości)</b>        |   |  |
|  | Data (Dane)   | Arkusze kalkulacyjne wyszczególniające parametry dla każdej zasady kontroli jakości                            |

## Tworzenie raportu z analizy danych

Można zapisać układ raportu jako szablon, który może być ponownie użyty na potrzeby podobnych raportów.

### Utworzenie raportu z analizy danych

1. Przed utworzeniem raportu ostatecznie dostosować zawartość studzienek, wybrane studzienki, wykresy i arkusze kalkulacyjne w oknie Data Analysis (Analiza danych).
2. Wybrać Tools (Narzędzia) > Reports (Raporty) na pasku menu Data Analysis (Analiza danych), aby otworzyć okno dialogowe Report (Raport).
3. Wybrać opcje, które mają zostać ujęte w raporcie. Raport zostanie otwarty z wybranymi opcjami domyślnymi. Zaznaczyć lub usunąć zaznaczenie pola wyboru, aby zmienić całe kategorie lub pojedyncze opcje w obrębie kategorii.

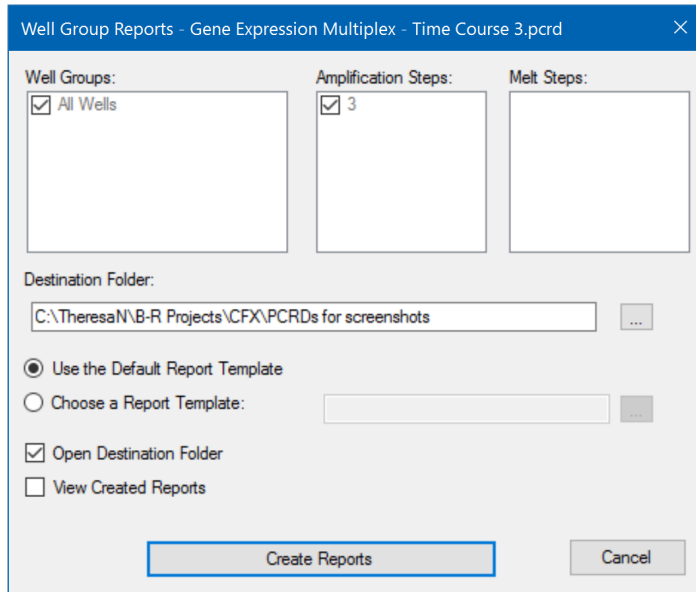
**Uwaga:** Dane prezentowane w raporcie zależą od aktualnych wyborów w zakładkach w oknie Data Analysis (Analiza danych). Na przykład analiza próbek z oznaczeniem ilościowym może nie zawierać krzywej wzorcowej, przez co dane te nie pojawią się w oknie Data Analysis (Analiza danych) ani w raporcie z danymi.

4. Zmienić kolejność kategorii i pozycji w raporcie. Opcje można przeciągać do pozycji względnych. Kolejność pozycji można zmieniać jedynie w obrębie kategorii, do których dane pozycje należą.
5. (Opcjonalnie) W panelu Report Options (Opcje raportu) wpisać informacje właściwe dla wybranej opcji:
  - Wybrać podzbiór informacji do wyświetlenia w raporcie.
  - Wybrać konkretne ustawienia dla wybranej opcji.
  - Zmienić tekst do wyświetlenia dla wybranej opcji.
6. Kliknąć Update Report (Aktualizuj raport), aby zaktualizować Report Preview (Podgląd raportu) o jakiegokolwiek zmiany.
7. Wydrukować lub zapisać raport. Aby wydrukować bieżący raport, kliknąć przycisk Print Report (Drukuj raport) na pasku narzędzi. Wybrać opcje File (Plik) > Save (Zapisz), aby zapisać raport w formacie PDF (plik programu Adobe Acrobat Reader), i wybrać miejsce zapisu pliku. Wybrać opcje File (Plik) > Save As (Zapisz jako), aby zapisać raport z nową nazwą lub w nowym miejscu.
8. (Opcjonalnie) Utworzyć szablon raportu zawierający potrzebne informacje. Aby zapisać bieżące ustawienia raportu w szablonie, wybrać opcje Template (Szablon) > Save (Zapisz) lub Save As (Zapisz jako). Następnie wczytać szablon raportu następnym razem przed utworzeniem nowego raportu.

## Tworzenie raportów dotyczących grupy studzienek

### Utworzenie raportu dotyczącego grupy studzienek

1. Wybrać Tools (Narzędzia) > Well Group Reports (Raporty dotyczące grupy studzienek) w oknie Data Analysis (Analiza danych).



2. W oknie dialogowym Well Group Reports (Raporty dotyczące grupy studzienek) wybrać grupy studzienek, etapy amplifikacji i etapy topnienia do ujęcia w raporcie.
3. Wpisać ścieżkę lub przejść do folderu docelowego, w którym ma być zapisany raport.
4. (Opcjonalnie) Wybrać Choose a Report Template (Wybierz szablon raportu) i przejść do folderu z plikami szablonów.
5. (Opcjonalnie) Zaznaczyć Open Destination Folder (Otwórz folder docelowy), aby otworzyć folder i przeglądać raporty po ich wygenerowaniu.
6. Kliknąć Create Reports (Utwórz raporty).





## Rozdział 11 Analiza ekspresji genu

Dzięki zastosowaniu w reakcjach najbardziej rygorystycznych, kwalifikowanych próbek kontrolnych można wykorzystać oprogramowanie CFX Manager™ Dx do przeprowadzania analizy ekspresji genu w celu normalizacji względnych różnic stężenia docelowego genu między próbkami. Zazwyczaj do normalizacji poziomów ekspresji genu będącego przedmiotem zainteresowania stosowane są poziomy ekspresji jednego lub większej liczby genów referencyjnych. Geny referencyjne uwzględniają różnice w ładowaniu próbek lub inną zmienność obecną w każdej próbce, a ich poziomy ekspresji nie powinny się zmieniać pod wpływem badanego układu biologicznego.

Wybrać zakładkę Gene Expression (Ekspresja genu) w oknie Data Analysis (Analiza danych), aby ocenić względne różnice między reakcjami PCR w dwóch lub większej liczbie studzienek. Na przykład można ocenić względne liczby genomów wirusowych lub względne liczby transfekowanych sekwencji w reakcji PCR. Najczęstszym zastosowaniem badania ekspresji genu jest porównanie stężenia cDNA w więcej niż jednej reakcji w celu oszacowania poziomów informacyjnego RNA w stanie stacjonarnym.

Oprogramowanie oblicza względny poziom ekspresji docelowego genu w jednym z następujących scenariuszy:

- Względny poziom ekspresji docelowej sekwencji (gen docelowy 1) względem innego celu (gen docelowy 2), np. ilość jednego genu względem innego genu przy takim samym przetwarzaniu próbki.
- Względny poziom ekspresji jednej docelowej sekwencji w jednej próbce w porównaniu z tą samą docelową sekwencją poddaną innemu przetwarzaniu próbki; np. względna ilość jednego genu względem tego samego genu w innych warunkach czasowych, geograficznych lub rozwojowych.

## Konfiguracja płytki na potrzeby analizy ekspresji genu

Aby przeprowadzić analizę ekspresji genów, zawartość studzienki musi obejmować:

- Co najmniej dwie sekwencje docelowe — dwie sekwencje docelowe, które reprezentują różne amplifikowane geny lub sekwencje poddane amplifikacji w badanych próbkach.
- Co najmniej jedna referencyjna sekwencja docelowa — co najmniej jedna sekwencja docelowa musi być referencyjną sekwencją docelową dla ekspresji znormalizowanej. Wszystkie referencyjne sekwencje docelowe należy przypisać w oknie Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu), aby przeanalizować dane w trybie ekspresji znormalizowanej ( $\Delta\Delta C_q$ ). Dane z

analiz próbek, które nie obejmują referencji, muszą być analizowane w trybie ekspresji względnej ( $\Delta C_q$ ).

- **Próbki wspólne** — reakcje muszą zawierać próbki wspólne (wymagane są co najmniej dwie), które pozwolą na wyświetlenie danych na zakładce Gene Expression (Ekspresja genu). Te próbki powinny reprezentować różne sposoby lub warunki przetwarzania dla poszczególnych sekwencji docelowych. Przypisać próbkę kontrolną (opcjonalnie) w oknie Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu). Jeśli nie wybrano żadnej kontroli, wówczas oprogramowanie używa najniższej  $C_q$  w postaci kontroli.

Wymagania konfiguracji obszaru Gene Expression (Ekspresja genu) w edytorze Plate Editor (Edytor płytki) są zależne od tego, czy zawartość reakcji jest przeznaczona do oznaczenia PCR singleplex, w którym w reakcjach stosowany jest jeden fluorofor, czy do oznaczenia PCR multiplex, w którym w reakcjach stosowany jest więcej niż jeden fluorofor.

## Konfigurowanie płytki według instrukcji

Jeśli konfiguracja płytki w pliku danych nie zawiera informacji wymaganych w analizie danych i wybrana zostanie zakładka Gene Expression (Ekspresja genu), miejsce, w którym typowo znajduje się wykres słupkowy, będzie zawierać instrukcję wprowadzenia tych informacji. W przypadku znormalizowanej ekspresji genu wykonać następujące czynności:

1. Zdefiniować nazwy genu docelowego i próbki za pomocą dowolnej z następujących funkcji:
  - **Plate Setup (Konfiguracja płytki)** — otwarcie okna Plate Editor (Edytor płytki).
  - **Replace Plate File (Zastąp plik płytki)** — otwarcie przeglądarki Select Plate (Wybierz płytkę), w której można przejść do wcześniej zapisanego pliku płytki, który ma zastąpić bieżący układ płytki.
  - **Replace PrimePCR File (Zastąp plik PrimePCR)** — otwarcie okna dialogowego Select PrimePCR file (Wybierz plik PrimePCR), w którym można przejść do pliku analizy PrimePCR™ i zastosować go do układu płytki.
2. Wybrać co najmniej jeden referencyjny gen docelowy oraz próbkę kontrolną za pomocą okna dialogowego Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu).





Jeśli układ płytki zawiera już informacje o genie docelowym i próbce, wymagany jest tylko ten drugi krok podświetlony wtedy na pomarańczowo. Ten etap musi być ukończony przed przeprowadzeniem analizy znormalizowanej ekspresji genu.

**Uwaga:** Dane dotyczące clustergramu i wykresu rozrzutu są wyświetlane tylko wtedy, gdy spełnione są wszystkie wymagania dotyczące znormalizowanej ekspresji genu wymienione w rozdziale „Konfiguracja płytki na potrzeby analizy ekspresji genu”.

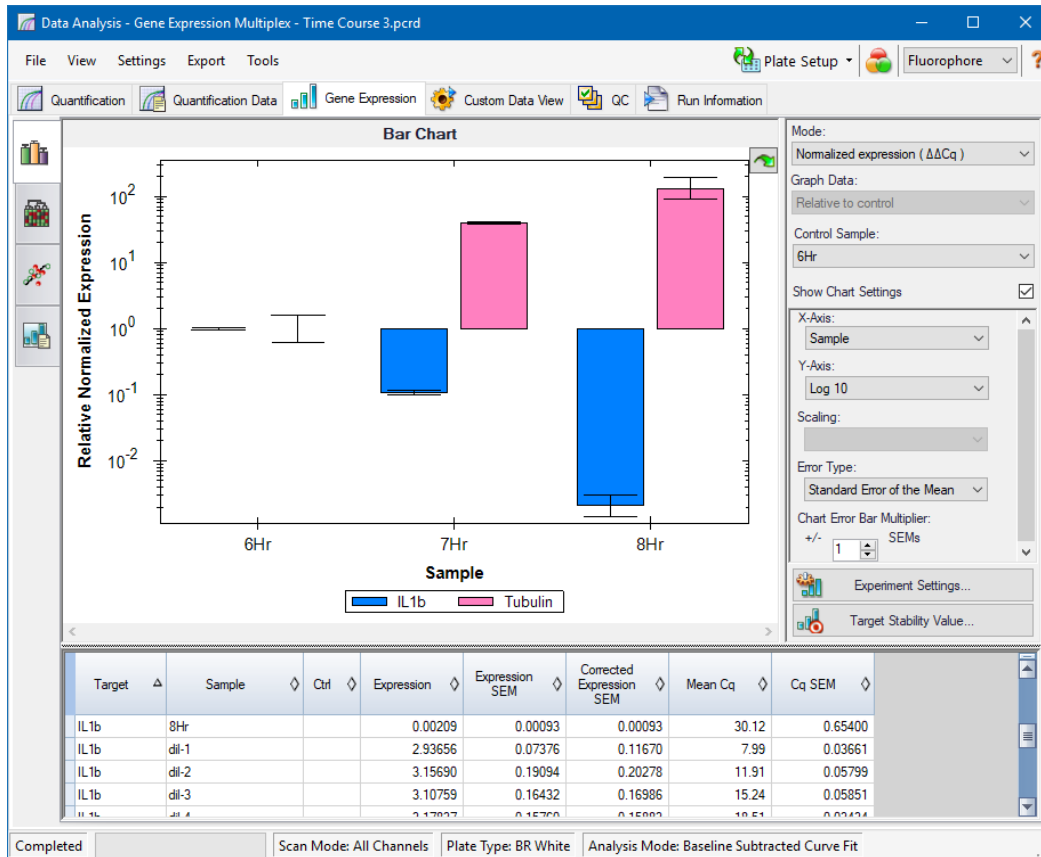
## Wykresy Gene Expression (Ekspresja genu)

Oprogramowanie CFX Manager Dx wyświetla dane ekspresji genów w różnych widokach. W [Tabela 33](#) wyszczególniono opcje wykresów dostępne w oprogramowaniu.

**Tabela 33. Opcje wykresu Gene Expression (Ekspresja genu)**

| Przycisk  | Nazwa            | Funkcja  |
|---|------------------|--|
|    | Wykres słupkowy  | Umożliwia wyświetlenie danych znormalizowanej ekspresji genów w formacie wykresu słupkowego.   |
|    | Clustergram      | Wyświetla dane znormalizowanej ekspresji w hierarchii opartej na stopniu podobieństwa ekspresji różnych sekwencji docelowych i próbek. |
|   | Wykres rozrzutu  | Wyświetla znormalizowaną wartość ekspresji sekwencji docelowych dla próbki kontrolnej w odniesieniu do próbki eksperymentalnej.        |
|  | Results (Wyniki) | Podsumowuje dane z wszystkich wykresów.  |

## Wykres słupkowy



Względna ekspresja genów docelowych jest prezentowana w następujących dwóch widokach:

- Wykres Gene Expression (Ekspresja genu) — przedstawia dane z analizy PCR w czasie rzeczywistym w postaci jednej z następujących wartości:
  - $\Delta\Delta C_q$  — względna znormalizowana wartość ekspresji obliczona z użyciem próbek kontrolnych i referencyjnych genów docelowych.
  - $\Delta C_q$  — względna ilość genu docelowego w próbce w odniesieniu do próbki kontrolnej.
- Spreadsheet (Arkusz kalkulacyjny) — arkusz kalkulacyjny z danymi ekspresji genów.

**Wskazówka:** W celu wyświetlenia opcji należy kliknąć dowolny wykres lub arkusz kalkulacyjny prawym przyciskiem myszy. Aby otworzyć obszar Plate Editor (Edytor płytki) i zmienić zawartość płytki, należy wybrać opcję View/Edit Plate (Wyświetl/edytuj płytkę) z menu rozwijanego Plate Setup (Konfiguracja płytki).

**Wskazówka:** Aby zmienić kolejność nazw próbek i genów docelowych na wykresie, należy wybrać opcję Sort (Sortuj) z menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy.

## Znormalizowana ekspresja genu

W celu normalizacji danych zastosować zmierzony poziom ekspresji jednego lub większej liczby genów referencyjnych jako współczynnik normalizacji. Geny referencyjne są genami docelowymi, które nie podlegają regulacji stopnia ekspresji w badanym układzie biologicznym, takimi jak *aktyna*, *GAPDH* czy *tubulina*.

### Konfigurowanie analizy znormalizowanej ekspresji genu ( $\Delta\Delta C_q$ )

1. Otworzyć plik danych (z rozszerzeniem .pcrd).
2. Przejrzeć dane z zakładki Quantification (Oznaczenie ilościowe) w oknie Data Analysis (Analiza danych). Dostosować dane, np. zmieniając próg i tryb analizy.
3. Wybrać zakładkę Gene Expression (Ekspresja genu).
4. W zakładce Gene Expression (Ekspresja genu) kliknąć Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu).
5. W oknie dialogowym Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) wykonać następujące czynności:
  - a. Otworzyć zakładkę Samples (Próbki) i wybrać kontrolę. Po przypisaniu kontroli Oprogramowanie CFX Manager Dx normalizuje ilości względne dla wszystkich genów względem ilości kontrolnej, która jest ustawiona na wartość 1.
  - b. Otworzyć zakładkę Target (Gen docelowy) i wybrać geny referencyjne. Analiza ekspresji genu wymaga jednego genu referencyjnego spośród genów docelowych w próbkach.
6. Jeśli nie wybrano jeszcze opcji Normalized Expression ( $\Delta\Delta C_q$ ) (Znormalizowana wartość ekspresji), wybrać ją, a następnie przejrzeć poziomy ekspresji w zakładce Gene Expression (Ekspresja genu).

## Ilość względna

Z definicji dane dotyczące ilości względnej ( $\Delta C_q$ ) nie są znormalizowane. Ta metoda jest stosowana do ilościowego oznaczenia próbek, które nie zawierają żadnych genów referencyjnych (docelowych). Zazwyczaj badacze podczas konfigurowania analizy próbek są pewni co do jednej z następujących kwestii:

- Każda próbka zawiera taką samą ilość matrycy, możliwie taką samą masę RNA lub cDNA w każdej studzience.

- Każda wariancja ilości załadowanej próbki biologicznej zostanie znormalizowana po analizie próbek z wykorzystaniem określonej metody analizy danych poza oprogramowaniem. Na przykład badacz może zdecydować się na podzielenie wartości ilości względnej przez współczynnik normalizacji, możliwie masę kwasu nukleinowego załadowanego dla każdej próbki, lub liczbę komórek, z których wyizolowano kwas nukleinowy.

### Uruchomienie analizy Relative Quantity ( $\Delta C_q$ ) (Ilość względna)

- ▶ Wybrać opcję Relative Quantity ( $\Delta C_q$ ) (Ilość względna) z listy rozwijanej Mode (Tryb) na prawym panelu w zakładce Gene Expression (Ekspresja genu).

**Wskazówka:** W celu porównania wyników z danymi z innych analiz ekspresji genu otworzyć nowe badanie genów lub dodać plik danych do istniejącego badania genów.

## Sortowanie danych genów docelowych i próbek

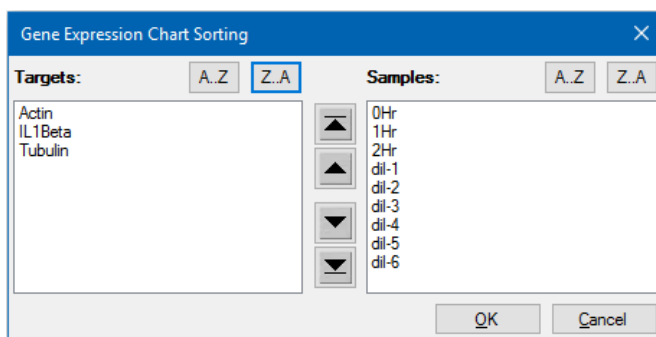
**Uwaga:** Ta opcja jest dostępna tylko na wykresach ekspresji genu.

Domyślnie listy Targets (Geny docelowe) i Samples (Próbki) są wyświetlane w porządku alfabetycznym. W oknie dialogowym Sort (Sortuj) można posortować wyświetlane pozycje w porządku odwrotnym do alfabetycznego lub można ręcznie przesunąć daną pozycję w inne miejsce na liście.

### Sortowanie danych genów docelowych i próbek

1. W menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w obrębie wykresu kliknąć Sort (Sortuj).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Gene Expression Chart Sorting (Sortowanie wykresu ekspresji genu).



2. W oknie dialogowym kliknąć Z-A, aby posortować listę w porządku odwrotnym do alfabetycznego.
3. Aby ręcznie przesunąć daną pozycję, wybrać ją i kliknąć odpowiedni przycisk między wykresami:

- Kliknąć strzałkę w górę lub w dół, aby przesunąć wybraną pozycję o jedno miejsce.
  - Kliknąć strzałkę z kreską w górę lub w dół, aby przesunąć wybraną pozycję na górę lub na dół listy.
4. Kliknąć przycisk OK, aby zapisać zmiany i powrócić do zakładki Gene Expression (Ekspresja genu).

## Dostosowywanie danych dotyczących ekspresji genu

Po wybraniu trybu analizy — znormalizowanej wartości ekspresji ( $\Delta\Delta Cq$ ) lub ilości względnej ( $\Delta Cq$ ) — można dostosować dane wyświetlane w zakładce Gene Expression (Ekspresja genu), zmieniając opcje ustawień na prawo od wykresu.

**Wskazówka:** Domyślne opcje danych dotyczących ekspresji genu są ustawiane w oknie dialogowym User Preferences (Preferencje użytkownika) — dalsze informacje na ten temat przedstawiono w rozdziale [Ustawianie domyślnych parametrów pliku danych dotyczących ekspresji genu na stronie 77](#).

### Dane wykresu

Ustawić skalę liniową dla wartości osi y, aby włączyć opcje danych wykresu. Opcje danych wykresu umożliwiają przedstawianie danych na wykresie z wykorzystaniem jednej z następujących opcji:

- Relative to control (Względem kontroli) — przedstawianie na wykresie danych z osią skalowaną od 0 do 1. Jeśli w danej analizie próbek przypisano kontrolę, wybrać tę opcję w celu szybkiej wizualizacji zwiększenia i zmniejszenia stopnia ekspresji genu docelowego.
- Relative to zero (Względem zera) — przedstawianie na wykresie danych z początkiem w punkcie zero.

### Próbka kontrolna

Za pomocą menu rozwijanego (Próbka kontrolna) można wybrać próbkę która zostanie użyta do normalizacji ilości względnej:

### Ustawienia wykresu

Następujące opcje (opisane poniżej) stają się widoczne po zaznaczeniu pola wyboru Show Chart Settings (Pokaż ustawienia wykresu): X-Axis (Oś X), Y-Axis (Oś Y), Scaling (Skalowanie), Error Type (Typ błędu) oraz Chart Error Multiplier (Mnożnik błędu na wykresie).

### Opcje osi X

Opcje dotyczące osi x pozwalają na wybranie danych wyświetlanych na osi x wykresu Gene Expression (Ekspresja genu):

- Target (Sekwencja docelowa) — umożliwi wyświetlanie nazw sekwencji docelowych na osi x.

- Sample (Próbka) — umożliwia wyświetlanie nazw próbek na osi x.

### Opcje osi Y

Opcje dotyczące osi Y pozwalają na wyświetlanie wykresu Gene Expression (Ekspresja genu) w jednej z trzech skal:

- Linear (Liniowa) — ta opcja umożliwia wyświetlanie skali liniowej.  
**Wskazówka:** Ustawienie skali liniowej dla osi y powoduje włączenie listy rozwijanej Graph Data (Dane wykresu), z której można wybrać dane wykresu względem kontroli lub zera.
- Log 2 (Logarytm o podstawie 2) — ta opcja umożliwia ocenę próbek z dużego zakresu dynamicznego.
- Log 10 (Logarytm dziesiętny) — ta opcja umożliwia ocenę próbek z bardzo dużego zakresu dynamicznego.

### Opcje skalowania

Wybrać Normalized Gene Expression ( $\Delta\Delta C_q$ ) (znormalizowana ekspresja genu) i ustawić (Kontrola)Control Sample (Próbka kontrolna) na wartość None (Brak), aby włączyć opcję skalowania na wykresie Gene Expression (Ekspresja genu). Wybrać jedną z poniższych opcji skalowania, aby obliczać i prezentować dane w sposób najlepiej dopasowany do schematu konkretnej analizy próbek:

- Unscaled (Bez skalowania) — prezentacja nieprzeskalowanej, znormalizowanej ekspresji genu.
- Highest (Wartość najwyższa) — skalowanie znormalizowanej ekspresji genu dla każdego genu docelowego poprzez dzielenie poziomu ekspresji każdej próbki przez najwyższy poziom ekspresji spośród wszystkich próbek.

W tej opcji skalowania wykorzystywany jest wzór skalowania do wartości najwyższej.

- Lowest (Wartość najniższa) — skalowanie znormalizowanej ekspresji genu dla każdego genu docelowego poprzez dzielenie poziomu ekspresji każdej próbki przez najniższy poziom ekspresji spośród wszystkich próbek.

W tej opcji skalowania wykorzystywany jest wzór skalowania do wartości najniższej.

- Average (Średnia) — skalowanie znormalizowanej ekspresji genu dla każdego genu docelowego poprzez dzielenie poziomu ekspresji każdej próbki przez średnią geometryczną z poziomów ekspresji dla wszystkich próbek.

W tej opcji skalowania wykorzystywany jest wzór skalowania do średniej.



## Typ błędu

Należy wybrać opcję typu obliczeń błędów (pasków błędów) na wykresie Gene Expression (Ekspresja genu):

- Błąd standardowy średniej (domyślny)
- Odchylenie standardowe

## Mnożnik słupka błędu na wykresie

Wybrać mnożnik dla słupków błędów na wykresie Gene Expression (Ekspresja genu). Wybrać jedną z następujących liczb całkowitych:

+/- 1 (domyślnie), 2 lub 3. Typ mnożnika ulega zmianie po wybraniu typu błędu:

- SEM — błąd standardowy średniej
- Std Dev — odchylenia standardowe

## Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu)

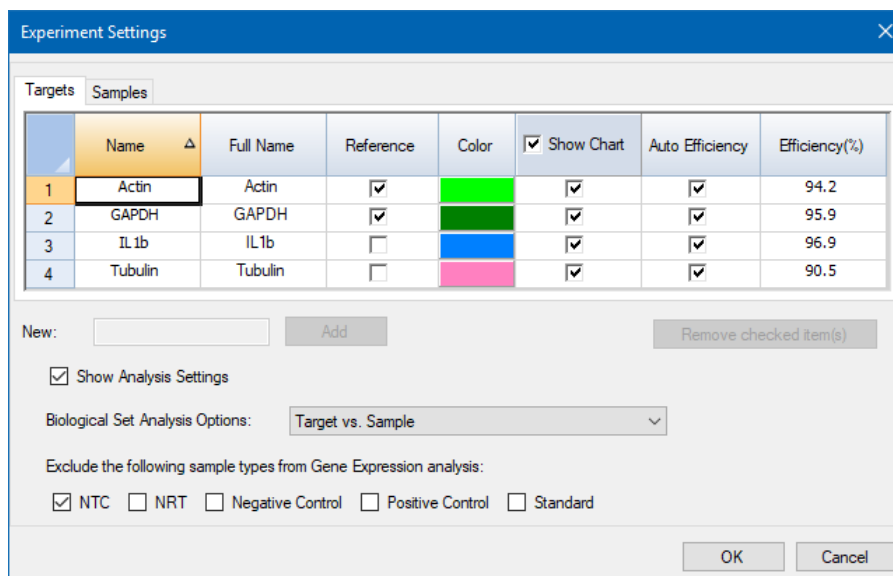
**Wskazówka:** To okno dialogowe jest też dostępne w oknie Plate Editor (Edytor płytki). Więcej informacji przedstawiono w rozdziale [Zmiana ustawień eksperymentu na stronie 137](#).

W oknie dialogowym Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) można przeglądać i zmieniać listę docelowych lub próbek, wybierać geny referencyjne, wybierać kontrole oraz ustawiać grupę Gene Expression Analysis (Analiza ekspresji genu) do analizowania, jeśli do studzienek dodano nazwy zestawów biologicznych.

### Przejdźcie do okna dialogowego Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu)

- ▶ Kliknąć opcję Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) na dole prawego panelu w zakładce Bar Chart (Wykres słupkowy).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) z otwartą zakładką Targets (Geny docelowe).



### Zmiana ustawień Targets (Geny docelowe)

- ▶ W zakładce Targets (Geny docelowe) wykonać dowolne z następujących czynności:
    - Aby wybrać gen docelowy jako referencyjny na potrzeby analizy danych dotyczących ekspresji genu, wybrać jego nazwę w kolumnie Reference (Gen referencyjny).
    - Aby zmienić kolor genu docelowego, kliknąć jego komórkę w kolumnie Color (Kolor) i zmienić kolor w wyświetlonym wtedy oknie dialogowym Color.

Zmiana koloru jest widoczna na wykresach Gene Expression (Ekspresja genu).

  - W celu użycia wcześniej określonej wartości wydajności, usunąć zaznaczenie pola wyboru dla genu docelowego w kolumnie Auto Efficiency (Automatyczna wydajność) i wpisać liczbę oznaczającą odsetek wydajności dla genu docelowego.
- Program oblicza względną wydajność dla genu docelowego z użyciem opcji Auto Efficiency (Automatyczna wydajność), jeśli dane dla genu docelowego zawierają krzywą wzorcową.

### Zmiana ustawień Sample (Próbka)

- ▶ W zakładce Samples (Próbki) wykonać dowolne z następujących czynności:
  - Aby wybrać próbkę jako kontrolę na potrzeby analizy danych dotyczących ekspresji genu, zaznaczyć nazwę tej próbki w kolumnie Control (Kontrola).
  - Aby zmienić kolor grupy próbek, kliknąć jej komórkę w kolumnie Color (Kolor) i zmienić kolor w wyświetlonym wtedy oknie dialogowym Color.

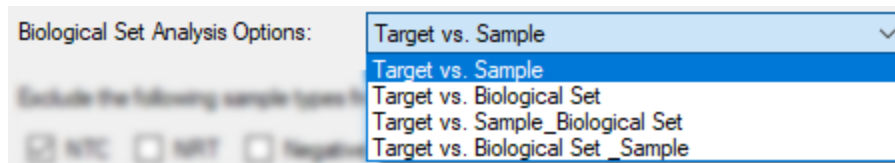
Zmiana koloru jest widoczna na wykresach Gene Expression (Ekspresja genu).

- Aby wyświetlać próbkę na wykresach Gene Expression (Ekspresja genu), wybrać ją w kolumnie Show Chart (Pokaż wykres).
- Aby usunąć próbkę z wykresów Gene Expression (Ekspresja genu), odznaczyć jej wybór w kolumnie Show Chart (Pokaż wykres).

**Wskazówka:** Dane grupy próbek nadal są prezentowane w tabeli Results (Wyniki).

### Zmiana ustawienia Biological Set Analysis Options (Opcje analizy zestawu biologicznego)

- ▶ Jeśli do studzienek na płytce przypisano co najmniej jeden zestaw biologiczny (zob. rozdział [Przypisywanie zestawów biologicznych do studzienek na stronie 130](#)), lista Biological Set Analysis Options (Opcje analizy zestawu biologicznego) jest wyświetlana w oknie dialogowym Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu), pozwalając zmienić wybraną opcję w zależności od potrzeb.



- **Target vs. Sample** (Sekwencja docelowa vs próbka) — w obliczeniach ekspresji genu wykorzystywana jest tylko nazwa próbki ze studzienki.
- **Target vs. Biological Set** (Sekwencja docelowa vs zestaw biologiczny) — w obliczeniach wykorzystywana jest tylko nazwa zestawu biologicznego.
- **Target vs. Sample\_Biological Set** (Sekwencja docelowa vs próbka\_zestaw biologiczny) — nazwa próbki i nazwa zestawu biologicznego są łączone w celu uzyskania pojedynczej nazwy wykorzystywanej w obliczeniach.
- **Target vs. Biological Set\_Sample** (Sekwencja docelowa vs zestaw biologiczny\_próbka) — nazwa zestawu biologicznego i nazwa próbki są łączone w celu uzyskania pojedynczej nazwy wykorzystywanej w obliczeniach.

### Wykluczenie typu próbki z obliczeń analizy

- ▶ Zaznaczyć właściwe pole wyboru na dole okna dialogowego Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu).

**Uwaga:** To wyklucza kontrole lub wzorce z analizy ekspresji genu.

## Wartość stabilności sekwencji docelowej

Wartości stabilności sekwencji docelowej są obliczane za każdym razem, gdy używany jest więcej niż jeden gen referencyjny. Oprogramowanie CFX Manager Dx oblicza dwa parametry jakości dla genów referencyjnych:

- **Zmienność współczynnika (CV)** znormalizowanych ilości genu referencyjnego. Niższa wartość CV wskazuje na wyższą stabilność.
- **Wartość M (M)** — miara stabilności ekspresji genu referencyjnego.

Zalecane wartości CV i M są wyświetlane u dołu okna dialogowego Stability Value (Wartość stabilności).

### Aby wyświetlić wartość stabilności sekwencji docelowej

- ▶ Na zakładce Gene Expression Bar Chart (Wykres słupkowy ekspresji genu) kliknąć opcję Target Stability Value (Wartość stabilności sekwencji docelowej) u dołu prawego panelu.

Na ekranie pojawi się okno dialogowe Stability Value (Wartość stabilności).

## Opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy

W celu wybrania pozycji przedstawionych w [Tabela 34](#) należy kliknąć prawym przyciskiem myszy na wykresie ekspresji genu.

**Tabela 34. Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na wykresie ekspresji genu**

| Pozycja                           | Funkcja  |
|-----------------------------------|--|
| Copy (Kopiuj)                     | Służy do kopiowania wykresu do schowka.  |
| Save Image As (Zapisz obraz jako) | Zapisuje wykres w pliku obrazu. Należy ustawić rozdzielczość i wymiary obrazu, a następnie wybrać typ pliku (PNG, GIF, JPG, TIF, lub BMP). |
| Page Setup (Konfiguracja strony)  | Umożliwia wybór ustawień strony do drukowania.   |
| Print (Drukuj)                    | Służy do drukowania wykresu.   |

**Tabela 34. Pozycje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na wykresie ekspresji genu, ciąg dalszy**

| Pozycja  | Funkcja   |
|--|---|
| Set Scale to Default (Ustaw skalę domyślną)                        | Opcja Show All (Pokaż wszystkie) służy do pokazywania wszystkich danych na wykresie słupkowym. Jeśli ilość próbek jest zbyt duża i nie można wyświetlić wszystkich w ramce wykresu, wówczas wyświetlany jest pasek przewijania o minimalnej szerokości. |
| Opcje wykresu  | Otwiera okno Chart Options (Opcje wykresu), w którym można dostosować wykres.   |
| Sort (Sortuj)  | Sortuje kolejność próbek lub sekwencji docelowych, które pojawiają się na osi x wykresu.  |
| Use Corrected Std Devs (Użyj skorygowanych odchyleń standardowych) | Oblicza słupki błędów za pomocą formuły skorygowanych odchyleń standardowych.   |
| Use Solid Bar Colors (Używaj pełnych kolorów dla słupków)          | Powoduje wyświetlanie pełnych słupków na wykresie.  |
| X–Axis Labels (Etykiety osi X)                                     | Umożliwia wyświetlanie etykiet osi x w poziomie lub pod kątem.  |

## Arkusze kalkulacyjny z danymi

W [Tabela 35](#) zdefiniowano dane wyświetlane w tabeli Gene Expression Data Table (Tabela danych dotyczących ekspresji genu).

**Uwaga:** Wartości w tabeli są obliczane na podstawie typu wykresu oraz preferencji wybranych w panelu po prawej stronie.

**Tabela 35. Opis informacji zawartych w arkuszu kalkulacyjnym zakładki Bar Chart (Wykres słupkowy)**

| Informacja                   | Opis  |
|------------------------------|---|
| Targets (Sekwencje docelowe) | Nazwa sekwencji docelowej (gen poddany amplifikacji) wybrana w oknie Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu). |
| Sample (Próbka)              | Nazwa próbki wybrana w oknie Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu).   |

**Tabela 35. Opis informacji zawartych w arkuszu kalkulacyjnym zakładki Bar Chart (Wykres słupkowy), ciąg dalszy**

| Informacja   | Opis   |
|--|--|
| Ctrl (Kontrola)  | Nazwa kontroli wybranej w oknie Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu).   |
| Relative Quantity or Expression (Ekspresja)  | Ilość względna ( $\Delta C_q$ ) lub znormalizowana ekspresja genów ( $\Delta\Delta C_q$ ) w zależności od wybranego trybu.                       |
| Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (Błąd standardowy średniej (lub odchylenie standardowe) ilości względnej lub ekspresji)                        | Błąd standardowy średniej (SEM) lub odchylenie standardowe (SD) ilości względnej lub ekspresji znormalizowanej — w zależności od wybranej opcji. |
| Corrected Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (Błąd standardowy średniej (lub odchylenie standardowe) skorygowanej ilości względnej lub ekspresji) | Obliczenie wartości skorygowanej dla SEM lub SD ilości względnej lub ekspresji znormalizowanej — w zależności od wybranej opcji.                 |
| Mean $C_q$ (Średnia z cyklu oznaczenia ilościowego)  | Średnia z cyklu oznaczenia ilościowego   |
| $C_q$ SEM (lub SD) (Błąd standardowy średniej cyklu oznaczenia ilościowego (lub odchylenie standardowe))   | SEM lub SD cyklu oznaczenia ilościowego — w zależności od wybranej opcji.  |

## Opcja Show Details (Pokaż szczegóły)

W Tabeli 36 zdefiniowano dane wyświetlane po wybraniu opcji Show Details (Pokaż szczegóły) z menu dostępnego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy na arkuszu kalkulacyjnym wykresu słupkowego.

**Tabela 36. Informacje na arkuszu kalkulacyjnym wykresu słupkowego po wybraniu opcji Show Details (Pokaż szczegóły)**

| Informacja  | Opis   |
|---|--|
| Data Set (Zestaw danych)  | Dane fluorescencji z jednego fluoroforu w pliku danych.                          |
| Ilość względna  | Obliczona ilość względna próbek.   |
| Relative Quantity SD<br>(Odchylenie standardowe ilości względnej)                         | Odchylenie standardowe obliczenia ilości względnej.                              |
| Corrected Relative Quantity SD<br>(Odchylenie standardowe skorygowanej ilości względnej)  | Obliczone odchylenie standardowe skorygowanej ilości względnej.                  |
| Relative Quantity SEM (Błąd standardowy średniej ilości względnej)                        | Obliczony błąd standardowy średniej ilości względnej.                            |
| Corrected Relative Quantity SEM (Błąd standardowy średniej skorygowanej ilości względnej) | Obliczony błąd standardowy średniej skorygowanej ilości względnej.               |
| Relative Quantity(lg) (Logarytm ilości względnej)   | $\log_2$ ilości względnej, który jest używany na potrzeby analiz statystycznych. |
| SD RQ(lg)   | Odchylenie standardowe ilości względnej ( $\log_2$ ).                            |
| SEM Expression(lg) (Logarytm błędu standardowego średniej ekspresji)                      | Błąd standardowy średniej ekspresji ( $\log_2$ )                                 |
| Unscaled Expression<br>(Ekspresja bez skalowania)   | Obliczona ekspresja bez skalowania.  |

**Tabela 36. Informacje na arkuszu kalkulacyjnym wykresu słupkowego po wybraniu opcji Show Details (Pokaż szczegóły), ciąg dalszy**

| Informacja  | Opis   |
|---|--|
| Unscaled Expression SD<br>(Odchylenie standardowe ekspresji bez skalowania)                         | Obliczone odchylenie standardowe ekspresji bez skalowania.                 |
| Corrected Unscaled Expression SD (Odchylenie standardowe skorygowanej ekspresji bez skalowania)     | Obliczone odchylenie standardowe skorygowanej ekspresji bez skalowania.    |
| Unscaled Expression SEM<br>(Błąd standardowy średniej ekspresji bez skalowania)                     | Obliczony błąd standardowy średniej ekspresji bez skalowania.              |
| Corrected Unscaled Expression SEM (Błąd standardowy średniej skorygowanej ekspresji bez skalowania) | Obliczony błąd standardowy średniej skorygowanej ekspresji bez skalowania. |
| Unscaled Expression(lg)<br>(Logarytm ekspresji bez skalowania)                                      | Log <sub>2</sub> ekspresji bez skalowania.                                 |
| SD Unscaled Expression(lg)<br>(Logarytm błędu standardowego ekspresji bez skalowania)               | Odchylenie standardowe ekspresji bez skalowania (log <sub>2</sub> ).       |
| SEM Unscaled Expression(lg)<br>(Logarytm błędu standardowego średniej ekspresji bez skalowania)     | Błąd standardowy średniej ekspresji bez skalowania (log <sub>2</sub> ).    |
| Expression (Ekspresja)  | Znormalizowana ekspresja genu.   |
| Corrected Expression SD<br>(Odchylenie standardowe skorygowanej ekspresji)                          | Obliczone odchylenie standardowe.  |



**Tabela 36. Informacje na arkuszu kalkulacyjnym wykresu słupkowego po wybraniu opcji Show Details (Pokaż szczegóły), ciąg dalszy**

| <b>Informacja</b>   | <b>Opis</b>   |
|---|---|
| Expression SEM (Błąd standardowy średniej ekspresji)                        | Błąd standardowy średniej.  |
| Corrected Expression SEM (Błąd standardowy średniej ekspresji skorygowanej) | Obliczony błąd standardowy średniej.  |
| Expression(lg) (Logarytm ekspresji)   | $\log_2$ ekspresji (znormalizowanej), który jest używany na potrzeby analiz statystycznych. |
| SD Expression(lg) (Logarytm odchylenia standardowego ekspresji)             | Odchylenie standardowe ekspresji ( $\log_2$ ).  |
| SEM Expression(lg) (Logarytm błędu standardowego średniej ekspresji)        | Błąd standardowy średniej ekspresji ( $\log_2$ )  |
| Mean $C_q$ (Średnia z cyklu oznaczenia ilościowego)                         | Średnia z cyklu oznaczenia ilościowego  |
| $C_q$ SD (Odchylenie standardowe cyklu oznaczenia ilościowego)              | Odchylenie standardowe cyklu oznaczenia ilościowego   |
| $C_q$ SEM (Błąd standardowy średniej cyklu oznaczenia ilościowego)          | Błąd standardowy średniej cyklu oznaczenia ilościowego                                      |

## Clustergram

Clustergram wyświetla dane w hierarchii opartej na stopniu podobieństwa ekspresji różnych genów docelowych i próbek.

**Uwaga:** W celu wyświetlenia jakiegokolwiek wykresu danych innego niż ekspresja względna na wykresie słupkowym należy wybrać referencyjny gen docelowy.

Clustergram przedstawia ekspresję względną próbki lub genu docelowego w następujący sposób:

- Upregulation (Zwiększenie stopnia ekspresji) (kolor czerwony) — wyższa ekspresja.
- Downregulation (Zmniejszenie stopnia ekspresji) (kolor zielony lub niebieski) — niższa ekspresja.
- No regulation (Brak zmiany stopnia ekspresji) (kolor czarny).
- No value calculated (Brak wartości obliczonej) (kolor czarny z białym znakiem X).

Im jaśniejszy jest odcień koloru, tym większa jest różnica ekspresji względnej. Jeśli nie można wyliczyć żadnej znormalizowanej wartości  $C_q$ , wówczas kwadrat będzie czarny z białym znakiem X.

Na zewnętrznych krawędziach wykresu danych znajduje się dendrogram, który wskazuje hierarchię klastrow. Geny docelowe i próbki, które mają podobne wzorce ekspresji, będą widoczne na sąsiadujących gałęziach, a takie, których wzorce są niepodobne, będą znajdowały się dalej od siebie.

## Settings (Ustawienia)

Można ustawić następujące opcje:

- Cluster By (Łączenie w klastry wg) — do wyboru następujące opcje: Targets (Sekwencje docelowe), Samples (Próbki), Both (Oba) lub None (Brak).
- Size (Rozmiar) — dostosowuje rozmiar obrazu i zmienia stopień powiększenia wykresu.
- Split Out Replicates (Rozdziel według replikacji) — powoduje wyświetlenie wartości dla poszczególnych replikacji.

**Wskazówka:** Dla clustergramu i wykresu punktowego można zmienić schemat kolorów z domyślnego czerwono-zielonego na czerwono-niebieski, wybierając tę opcję w menu wyświetlanym po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w jednym z tych wykresów.

## Opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy

Opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w obszarze clustergramu są takie same jak dla wykresu słupkowego. Dostępne opcje przedstawiono w [Tabela 34 na stronie 250](#). Dodatkowo należy wybrać opcję Color Scheme (Schemat kolorów), aby zmienić na wykresie schemat

barwny zmniejszania stopnia ekspresji z domyślnego schematu czerwono-zielonego na czerwono-niebieski.

## Arkusz kalkulacyjny z danymi

W arkuszu kalkulacyjnym wyświetlane są wartości dla genu docelowego, próbki i znormalizowanej wartości ekspresji. Kliknąć pole wyboru obok genu docelowego, aby włączyć go do wykresu lub wykluczyć z wykresu.

## Wykres rozrzutu

Na wykresie rozrzutu wyświetlana jest znormalizowana wartość ekspresji genów docelowych dla próbki kontrolnej w odniesieniu do próbki eksperymentalnej. Linie na wykresie wskazują próg regulacji. Punkty danych między liniami wskazują, że różnica ekspresji między próbkami dla danego docelowego genu jest pomijalna. Punkty danych poza liniami przekraczają próg regulacji i mogą stanowić przedmiot zainteresowania.

Obraz na wykresie przedstawia następujące zmiany ekspresji genu docelowego na podstawie progu regulacji:

- Upregulation (Zwiększenie stopnia ekspresji) (czerwone kółko) — względnie większa ekspresja.
- Downregulation (Zmniejszenie stopnia ekspresji) (zielone lub niebieskie kółko) — względnie mniejsza ekspresja.
- No change (Brak zmiany) (czarne kółko).

Kliknąć i przeciągnąć linię progu, aby dostosować wartość progu regulacji.

## Settings (Ustawienia)

Można ustawić następujące opcje:

- Control Sample (Próbka kontrolna),
- Experimental Sample (Próbka eksperymentalna)
- Próg regulacji. Przy zwiększaniu lub zmniejszaniu wartości regulacji linie progowe na wykresie przesuwają się odpowiednio.

## Opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy

Opcje menu wyświetlanego po kliknięciu prawym przyciskiem myszy w przypadku wykresu rozrzutu są takie same jak dla wykresu słupkowego. Dostępne opcje przedstawiono w [Tabela 34 na stronie 250](#). Dodatkowo można wybrać Symbol, aby zmienić symbol stosowany na wykresie z domyślnego kółka na jeden z następujących:

- trójkąt,
- krzyżyk,
- kwadrat,
- romb.

## Arkusz kalkulacyjny z danymi

W arkuszu kalkulacyjnym wyświetlane są wartości dla genu docelowego oraz znormalizowana wartość ekspresji dla próbek kontrolnych i eksperymentalnych. Wskazuje też, czy stopień ekspresji genów docelowych jest zwiększony czy zmniejszony w porównaniu do progu regulacji. Kliknąć pole wyboru obok genu docelowego, aby włączyć go do wykresu lub wykluczyć z wykresu.

## Results (Wyniki)

Zakładka Results (Wyniki) udostępnia arkusz kalkulacyjny, który podsumowuje dane ze wszystkich wykresów. W [Tabela 37](#) zdefiniowano dane wyświetlane w arkuszu kalkulacyjnym Results (Wyniki).

**Tabela 37. Informacje na zakładce Results (Wyniki)**

| Informacja  | Opis   |
|---|--|
| Targets (Sekwencje docelowe)  | Nazwa sekwencji docelowej (gen poddany amplifikacji)   |
| Sample (Próbka)   | Nazwa próbki   |
| Mean C <sub>q</sub> (Średnia z cyklu oznaczenia ilościowego)  | Średnia z cyklu oznaczenia ilościowego   |
| Mean Efficiency Corrected C <sub>q</sub> (C <sub>q</sub> po korekcie uwzględniającej wydajność średnią) | Średnia z cyklu oznaczenia ilościowego po korekcie uwzględniającej wydajność reakcji                     |
| Normalized Expression (Ekspresja znormalizowana)  | Ekspresja sekwencji docelowej znormalizowana do referencyjnej sekwencji docelowej ( $\Delta\Delta C_q$ ) |
| Relative Normalized Expression (Znormalizowana ekspresja względna)                                      | Ekspresja względna znormalizowana do próbki kontrolnej; nazywana również krotnością zmiany               |
| Regulation (Regulacja)  | Zmiana ekspresji względem próbki kontrolnej  |
| Compared to Regulation Threshold (Porównanie do progu regulacji)  | Zwiększenie lub zmniejszenie stopnia ekspresji w próbce badanej w zależności od ustawienia progu         |

**Uwaga:** Dane dla replikatów znajdują się tylko w arkuszach kalkulacyjnych na zakładkach analiz danych, w których wybrana została opcja Split Out Replicates (Rozdziel według replikacji) (czyli Clustergram). W danych ekspresji w arkuszach kalkulacyjnych ekspresji genu może pojawić się rozbieżność, jeśli jako próbka kontrolna na wykresie słupkowym zostanie wybrana opcja „none” (Brak).

## Badanie genów

Badanie genów można utworzyć w celu porównania danych o ekspresji genu z jednego lub większej liczby eksperymentów PCR w czasie rzeczywistym z zastosowaniem kalibratora do kalibracji między analizami próbek w celu normalizacji między eksperymentami. Można utworzyć badanie genów, dodając do badania genów dane z co najmniej jednego pliku danych (z rozszerzeniem .pcrd). Oprogramowanie grupuje je w pojedynczy plik (z rozszerzeniem .mgxd).

**Uwaga:** Maksymalna liczba próbek, jakie można przeanalizować w badaniu genów, jest ograniczona przez wielkość pamięci RAM oraz pamięci wirtualnej komputera.

### Kalibracja między analizami próbek

Próba wykonania kalibracji między analizami próbek jest podejmowana w każdym nowym badaniu genów dla każdej sekwencji docelowej celem normalizacji zmienności między analizami, które mogą dotyczyć sekwencji docelowych testowanych w osobnych analizach PCR w czasie rzeczywistym (oznacza to, że z różnych płytek generowane są różne pliki .pcrd).

Aby oprogramowanie rozpoznało próbkę jako kalibrator zmienności między analizami próbek, taka próbka musi mieć taką samą nazwę sekwencji docelowej, nazwę próbki, a także — jeśli jest wykorzystywana — taką samą nazwę zestawu biologicznego na każdej porównywanej płytce.

**Uwaga:** Jeśli w konkretnym badaniu genów wymagane jest wykonanie kalibracji między analizami próbek, wówczas badanie powinno zawierać co najmniej jeden kalibrator zmienności między analizami próbek. Sekwencje docelowe bez odpowiednich próbek będących kalibratorami zmienności między analizami próbek będą przetwarzane bez korekt w badaniu genów (nie jest to zalecane).

Kalibratory zmienności między analizami próbek mogą być stosowane na dwa sposoby:

- Osobno dla poszczególnych sekwencji docelowych — różne primery PCR mogą mieć różne wydajności. Domyślnie kalibrator zmienności między analizami próbek jest stosowany do wszystkich studzienek na jednej płytce, które mają tę samą nazwę sekwencji docelowej — na przykład  $C_q$  wygenerowane przy użyciu tego samego oznaczenia.
- Dla całego badania — jeden kalibrator zmienności między analizami próbek jest wybierany przez użytkownika i stosowany do całego badania genów.

### Okno dialogowe Gene Study (badanie genów)

Okno dialogowe Gene Study (badanie genów) zawiera dwie zakładki:

- Zakładka Study Setup (Konfiguracja badania) — zarządzanie analizami próbek w badaniu genów.

**Ważne:** Dodanie lub usunięcie plików danych w badaniu genów nie powoduje zmiany danych w oryginalnym pliku.

- Zakładka Study Analysis (Analiza badania) — wyświetlanie danych o ekspresji genu dla połączonych analiz próbek.

## Zakładka Study Setup (Konfiguracja badania)

W [Tabela 38](#) zdefiniowano dane wyświetlane w zakładce Study Setup (Konfiguracja badania).

**Tabela 38. Zakładka Study Setup (Konfiguracja badania) w oknie dialogowym Gene Study (Badanie genów).**

| Tytuł kolumny                            | Opis  |
|--|---|
| File Name (Nazwa pliku)                  | Nazwa pliku danych analizy (rozszerzenie .pcrd)   |
| File Folder (Folder plików)              | Katalog, w którym zapisany jest plik danych dla każdej analizy w badaniu genów  |
| Date Created (Data utworzenia)           | Data utworzenia danych analizy  |
| Well Group Name (Nazwa grupy studzienek) | Nazwa grupy studzienek, która została wybrana, gdy plik został dodany do badania genów<br><b>Wskazówka:</b> Aby przeanalizować jedną grupę studzienek w badaniu genów, należy wybrać tę grupę w oknie Data Analysis (Analiza danych) przed zaimportowaniem pliku danych do badania genów. |
| Step (Etap)                              | Etap protokołu, który zawiera odczyt płytki w celu zgromadzenia danych PCR w czasie rzeczywistym  |
| Run Type (Typ analizy)                   | Typ zdefiniowany przez użytkownika lub analiza PrimePCR™  |
| Protocol Edited (Protokół po edycji)     | Zaznaczenie tej opcji oznacza, że protokół używany na potrzeby analizy PrimePCR został poddany edycji   |
| View Plate (Wyświetl płytkę)             | Umożliwia otwarcie mapy płytki z danymi z poszczególnych analiz uwzględnionych w obszarze Gene Study (Badania genów)  |



## Przygotowanie badania genów

### Aby przygotować badania genów

1. Przed zaimportowaniem danych do badania genów należy wykonać następujące czynności w oknie Data Analysis (Analiza danych):
  - Należy upewnić się, że próbki o takiej samej zawartości mają taką samą nazwę. W badaniu genów oprogramowanie przyjmuje założenie, że studzienki o nazwach Target (Sekwencja docelowa) lub Sample (Próbka) zawierają te same próbki.
  - W celu zoptymalizowania danych w każdej analizie należy dostosować wartość bazową i progową ( $C_q$ ) na zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe).
  - Wybrać grupę studzienek, które mają zostać uwzględnione w badaniu genów.

W celu wyświetlenia danych z jednej grupy studzienek w badaniu genów tę grupę należy wybrać przed zaimportowaniem pliku danych.

Zakładka Study Setup (Konfiguracja badania) przedstawia listę wszystkich analiz w ramach badania genów.

2. W oknie dialogowym Gene Study (Badanie genów) wybrać zakładkę Study Setup (Konfiguracja badania).
3. Kliknąć opcję Add Data Files (Dodaj pliki danych), aby wybrać plik z okna przeglądarki.
 

**Wskazówka:** Aby szybko dodać analizy do badania genów, należy przeciągnąć pliki danych (rozszerzenie .pcrd) do okna dialogowego Study Setup (Konfiguracja badania).
4. Oprogramowanie Oprogramowanie CFX Manager Dx będzie automatycznie wykonywać analizę w ramach badania genów w miarę jak użytkownik będzie dodawał pliki danych. Aby wyświetlić wyniki, należy wybrać zakładkę Study Analysis (Analiza badania).

### Aby usunąć analizy z badania genów

- ▶ Wybrać co najmniej jeden plik na liście i kliknąć opcję Remove (Usuń).

### Aby dodać uwagi dotyczące badania genów

- ▶ Do pola tekstowego Notes (Uwagi) wprowadzić uwagi dotyczące plików i analizy.

## Zakładka Study Analysis (Analiza badania)

Na zakładce Study Analysis (Analiza badania) widoczne są dane z wszystkich analiz wykonanych w ramach badania genów. Opcje analizy ekspresji genu są takie same, jak te dla pojedynczego pliku danych, ale z następującym wyjątkiem:

- W przypadku wykresów słupkowych wartości kalibracji zmienności między analizami próbek pojawiają się (jeśli są obliczane) po kliknięciu opcji Inter-run Calibration (Kalibracja zmienności między analizami próbek).

**Uwaga:** Jako kalibrator do uwzględniania zmienności między analizami próbek mogą być używane tylko następujące typy próbek:

- Unknown (Nieznana)
- Standard (Standard)
- Positive Control (Kontrola dodatnia)

Próbki kontroli ujemnej, próbki bez kontroli matrycy (NTC) i bez kontroli odwrotnej transkryptazy (NRT) nie mogą być używane jako kalibrator do uwzględniania zmienności między analizami próbek.

## Tworzenie raportów z badania genów

### Aby utworzyć raport z badania genów

1. Przed utworzeniem raportu z badania genów należy odpowiednio dostosować dane i wykresy.
2. Wybrać opcje Tools (Narzędzia) > Reports (Raporty) w menu Gene Study (Badanie genów), aby otworzyć okno dialogowe Report (Raport).
3. Wybrać opcje, które mają zostać ujęte w raporcie. Raport zostanie otwarty z wybranymi opcjami domyślnymi. Zaznaczyć lub usunąć zaznaczenie pola wyboru, aby zmienić całe kategorie lub pojedyncze opcje w obrębie kategorii.  
  
Opcje dostępne do wyświetlenia przedstawia sekcja [Kategorie raportów Gene Study \(Badanie genów\) na stronie 265](#).
4. Zmienić kolejność kategorii i pozycji w raporcie. Opcje można przeciągać do pozycji wymaganych. Kolejność pozycji można zmieniać jedynie w obrębie kategorii, do których dane pozycje należą.
5. Kliknąć Update Report (Aktualizuj raport), aby zaktualizować Report Preview (Podgląd raportu) o jakiegokolwiek zmiany.
6. Wydrukować lub zapisać raport. Aby wydrukować bieżący raport, kliknąć przycisk Print Report (Drukuj raport) na pasku narzędzi. Wybrać opcje File (Plik) > Save (Zapisz), aby zapisać raport w formacie PDF (plik programu Adobe Acrobat Reader), i wybrać miejsce zapisu pliku. Wybrać opcje File (Plik) > Save As (Zapisz jako), aby zapisać raport z nową nazwą lub w nowym miejscu.
7. (Opcjonalnie) Utworzyć szablon raportu zawierający potrzebne informacje. Aby zapisać bieżące ustawienia raportu w szablonie, wybrać opcje Template (Szablon) > Save (Zapisz) lub Save As (Zapisz jako). Następnie wczytać szablon raportu następnym razem przed utworzeniem nowego raportu.

## Kategorie raportów Gene Study (Badanie genów)

W oknie dialogowym Gene Study Report (Raport z badania genów) można uporządkować dane badania genów, tworząc z nich raport. W [Tabela 39](#) wymieniono wszystkie opcje dostępne na potrzeby raportu z badania genów.

**Tabela 39. Kategorie dla raportu z badania genów**

| Kategoria       | Opcja | Opis                               |
|-----------------|-------|------------------------------------|
| <b>Nagłówek</b> |       |                                    |
|                 |       | Tytuł, podtytuł i logo dla raportu |

**Tabela 39. Kategorie dla raportu z badania genów, ciąg dalszy**

| Kategoria   | Opcja   | Opis   |
|---|---|--|
|   | Report Information<br>(Informacje o raporcie)                 | Data, nazwa użytkownika, nazwa pliku danych, ścieżka pliku danych i wybrana grupa studzienek |
|   | Gene Study File List (Lista plików do badania genów)          | Lista wszystkich plików danych w badaniu genów   |
|   | Notes (Uwagi)   | Uwagi dotyczące raportu z danymi   |
| <b>Study Analysis (Analiza badania): Bar Chart (Wykres słupkowy)</b>                    |   |  |
|   | Analysis Settings<br>(Ustawienia analizy)                     | Lista wybranych parametrów analizy   |
|   | Chart (Wykres)  | Wykres słupkowy Gene Expression (Ekspresja genu) przedstawiający dane                        |
|   | Target Names (Nazwy sekwencji docelowych)                     | Lista sekwencji docelowych w badaniu genów   |
|   | Sample Names (Nazwy próbek)                                   | Lista próbek w badaniu genów   |
|   | Data (Dane)   | Arkusze kalkulacyjny, który przedstawia dane   |
|   | Target Stability (Stabilność sekwencji docelowej)             | Dane dotyczące stabilności sekwencji docelowej   |
|   | Inter-run Calibration<br>(Kalibracja między analizami próbek) | Dane kalibracji między analizami próbek  |
| <b>Study Analysis (Analiza badania): Clustergram and Scatter Plot (Wykres rozrzutu)</b> |   |  |
|   | Analysis Settings<br>(Ustawienia analizy)                     | Ustawienia dla każdego typu wykresu  |
|   | Chart (Wykres)  | Wykres Gene Expression (Ekspresja genu) przedstawiający dane                                 |
|   | Data (Dane)   | Arkusze kalkulacyjny z wyszczególnionymi danymi dla każdego genu docelowego                  |

## Załącznik A Obliczenia w analizie danych

Oprogramowanie CFX Manager™ Dx automatycznie oblicza wzory i wyświetla wyniki w zakładkach okna Data Analysis (Analiza danych). W tym załączniku szczegółowo objaśniono sposób obliczania wzorów przez oprogramowanie CFX Manager Dx.

### Wydajność reakcji

Jak sugerują dowody, stosowanie odpowiedniej miary wydajności dla każdego zestawu primera i sondy zapewnia dokładniejsze wyniki przy analizowaniu danych o ekspresji genu. Domyślna wartość wydajności stosowana w obliczeniach ekspresji genu to 100%. Aby ocenić wydajność reakcji, należy wygenerować krzywą wzorcową przy użyciu seryjnych rozcieńczeń reprezentatywnej próbki w całym odpowiednim zakresie dynamiki i zarejestrować wydajność dla późniejszej analizy ekspresji genu. Jeśli analiza próbek obejmuje krzywą wzorcową, oprogramowanie automatycznie wylicza wydajność i wyświetla ją w części Standard Curve (Krzywa wzorcowa) w zakładce Quantification (Oznaczenie ilościowe), jeśli w zakładce Targets (Geny docelowe) w oknie Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) jest zaznaczona opcja Auto Efficiency (Automatyczna wydajność).

Wydajność (E) we wzorach na wydajność odnosi się do „wydajności” opisanych przez Pfaffla (2001) oraz Vandesompelega i wsp. (2002). W tych publikacjach wydajność wynosząca 2 (idealne podwojenie przy każdym cyklu) odpowiada 100% wydajności w tym oprogramowaniu. Można przeliczyć obliczenia wydajności na obliczenia stosowane w oprogramowaniu, stosując następującą zależność matematyczną:

- $E = (\% \text{ wydajności} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ wydajności} = (E - 1) * 100$

### Ilość względna

Wzór na ilość względną ( $\Delta C_q$ ) dla dowolnej próbki (GOI):

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

**Uwaga:** Ten wzór jest stosowany do obliczania ilości względnej, gdy nie zdefiniowano żadnej kontrolnej próbki.

Gdzie:

- E = wydajność zestawu primera i sondy. Tę wydajność oblicza się ze wzoru (% wydajności \* 0,01) + 1, gdzie 100% wydajności = 2
- $C_{q(\min)}$  = średnia wartość  $C_q$  dla próbki o najniższej średniej wartości  $C_q$  dla GOI
- $C_{q(\text{sample})}$  = średnia wartość  $C_q$  dla próbki
- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (jedna sekwencja docelowa)

## Ilość względna przy wybranej kontroli

Gdy przypisana jest kontrolna próbka, to ilość względna (RQ) dla dowolnej próbki z genem będącym przedmiotem zainteresowania (GOI) jest obliczana ze wzoru:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left( C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})} \right)$$

Gdzie:

- E = wydajność zestawu primera i sondy. Tę wydajność oblicza się ze wzoru (% wydajności \* 0,01) + 1, gdzie 100% wydajności = 2
- $C_{q(\text{control})}$  = średnia wartość  $C_q$  dla próbki kontrolnej
- $C_{q(\text{sample})}$  = średnia wartość  $C_q$  dla wszelkich próbek z GOI
- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (jedna sekwencja docelowa)

## Odchylenie standardowe ilości względnej

Wzór na odchylenie standardowe obliczenia ilości względnej jest następujący:

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Gdzie:

- SD Relative Quantity = odchylenie standardowe ilości względnej
- SD  $C_{q \text{ GOI sample}}$  = odchylenie standardowe  $C_q$  dla próbki (GOI)
- Relative Quantity = ilość względna próbki
- E = wydajność zestawu primera i sondy. Tę wydajność oblicza się ze wzoru (% wydajności \* 0,01) + 1, gdzie 100% wydajności = 2
- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (jedna sekwencja docelowa)

## Wartość C<sub>q</sub> skorygowana względem wydajności (C<sub>qE</sub>)

Wzór na wartość C<sub>q</sub> (C<sub>qE</sub>) skorygowaną względem wydajności:

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Gdzie:

- E = wydajność

## C<sub>q</sub> po korekcie uwzględniającej wydajność średnią (MC<sub>qE</sub>)

Wzór na C<sub>q</sub> po korekcie z uwzględnieniem wydajności średniej

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE (Rep 1)} + C_{qE (Rep 2)} + \dots + C_{qE (Rep n)}}{n}$$

Gdzie:

- C<sub>qE</sub> = C<sub>q</sub> po korekcie uwzględniającej wydajność
- n = liczba replikatów

## Współczynnik normalizacji

Mianownik równania ekspresji znormalizowanej jest określany jako współczynnik normalizacji.

Współczynnik normalizacji jest średnią geometryczną ilości względnych z wszystkich referencyjnych sekwencji docelowych (genów) dla konkretnej próbki, co opisuje niniejszy wzór:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

Gdzie:

- RQ = ilość względna
- n = liczba referencyjnych sekwencji docelowych
- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (jedna sekwencja docelowa)

## Znormalizowana wartość ekspresji

Znormalizowana wartość ekspresji ( $\Delta\Delta C_q$ ) to względna ilość docelowego genu znormalizowana względem ilości referencyjnych docelowych genów lub sekwencji w danym układzie biologicznym. Aby wybrać referencyjne docelowe geny lub sekwencje, otworzyć okno Experiment Settings (Ustawienia eksperymentu) i kliknąć kolumnę referencyjną dla każdego docelowego genu, który stanowi gen referencyjny.

Wzór na znormalizowaną wartość ekspresji wykorzystujący obliczoną ilość względną (RQ):

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{sample (GOI)}}}{(RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Gdzie:

- RQ = ilość względna w próbce
- Ref = referencyjny gen docelowy w analizie próbek, która obejmuje co najmniej jeden referencyjny gen docelowy w każdej próbce
- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (jedna sekwencja docelowa)

O ile referencyjne geny docelowe nie zmieniają swojego poziomu ekspresji w danym układzie biologicznym, obliczenie znormalizowanej wartości ekspresji pozwoli poznać różnice w ładowaniu próbek lub zróżnicowanie liczby komórek, które są reprezentowane w każdej z próbek.

## Znormalizowana wartość ekspresji po wybraniu kontroli

Gdy w oknie Experiment Settings (Ustawienia ekspresji) zostanie wybrana próbka kontrolna, oprogramowanie ustawi poziom ekspresji próbki kontrolnej na 1. W tej sytuacji oprogramowanie znormalizuje ilości względne ekspresji wszystkich sekwencji docelowych (genów) do ilości kontroli (wartość 1). Znormalizowana ekspresja jest równoważna analizie znormalizowanej ekspresji bez skalowania po wybraniu kontroli.

**Uwaga:** Jest to również określane jako względna znormalizowana ekspresja (RNE) lub krotność zmiany.



## Odchylenie standardowe dla znormalizowanej wartości ekspresji

Znormalizowana wartość ekspresji jest przeskalowywana poprzez podzielenie odchylenia standardowego znormalizowanej wartości ekspresji przez znormalizowaną wartość ekspresji dla najwyższego lub najniższego poziomu ekspresji w zależności od wybranej opcji skalowania. Wzór na odchylenie standardowe (SD) współczynnika normalizacji:

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ n)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ n)}}\right)^2}$$

Gdzie:

- RQ = ilość względna w próbce
- SD = odchylenie standardowe
- NF = współczynnik normalizacji
- Ref = referencyjny gen docelowy
- n = liczba referencyjnych sekwencji docelowych

Gdy przypisana jest próbka kontrolna, nie trzeba przeprowadzać tego przeskalowania dla odchylenia standardowego, jak przedstawia następujący wzór:

$$SD\ NE_{sample\ (GOI)} = NE_{sample\ (GOI)} \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{sample}}{NF_{sample}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (GOI)}}{RQ_{sample\ (GOI)}}\right)^2}$$

Gdzie:

- NE = znormalizowana wartość ekspresji
- RQ = ilość względna w próbce
- SD = odchylenie standardowe
- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (jedna sekwencja docelowa)

## Znormalizowana wartość ekspresji przeskalowana do najwyższego poziomu ekspresji

Jeśli analiza próbek nie zawiera kontroli, należy przeskalować znormalizowaną wartość ekspresji (NE) dla każdego docelowego genu, dzieląc poziom ekspresji każdej próbki przez najwyższy poziom ekspresji spośród wszystkich próbek. Oprogramowanie ustawia wartość 1 dla najwyższego poziomu ekspresji i przeskalowuje wszystkie poziomy ekspresji próbek. Wzór na skalowanie według najwyższego poziomu:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{highest sample (GOI)}}}$$

Gdzie:

- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (sekwencja docelowa)

## Znormalizowana wartość ekspresji przeskalowana do najniższego poziomu ekspresji

Jeśli analiza próbek nie zawiera kontroli, należy przeskalować znormalizowaną wartość ekspresji (NE) dla każdego docelowego genu, dzieląc poziom ekspresji każdej próbki przez najniższy poziom ekspresji spośród wszystkich próbek. Oprogramowanie ustawia wartość 1 dla najniższego poziomu ekspresji i przeskalowuje wszystkie poziomy ekspresji próbek. Wzór na skalowanie według najniższego poziomu:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{lowest sample (GOI)}}}$$

Gdzie:

- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (sekwencja docelowa)

## Znormalizowana wartość ekspresji przeskalowana do średniego poziomu ekspresji

Jeśli analiza próbek nie zawiera kontroli, należy przeskalować znormalizowaną wartość ekspresji (NE) dla każdego docelowego genu, dzieląc poziom ekspresji każdej próbki przez średnią geometryczną z poziomów ekspresji dla wszystkich próbek. Oprogramowanie ustawia wartość 1 dla średniego poziomu ekspresji i przeskalowuje wszystkie poziomy ekspresji próbek. Wzór na skalowanie według średniej:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Gdzie:

- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (sekwencja docelowa)
- GM = średnia geometryczna znormalizowanej wartości ekspresji dla wszystkich próbek

## Odchylenie standardowe dla przeskalowanej znormalizowanej wartości ekspresji

Przeskalowanie znormalizowanej ekspresji (NE) odbywa się poprzez dzielenie odchylenia standardowego (SD) znormalizowanej wartości ekspresji przez znormalizowaną wartość ekspresji dla najwyższego (MAX) lub najniższego (MIN) poziomu ekspresji w zależności od wybranej opcji skalowania.

**Uwaga:** Gdy przypisana jest próbka kontrolna, nie trzeba przeprowadzać tego przeskalowania dla odchylenia standardowego.

Wzór dla tego obliczenia jest następujący:

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

Gdzie:

- NE = znormalizowana wartość ekspresji
- SD = odchylenie standardowe
- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (sekwencja docelowa)
- MAX = najwyższy poziom ekspresji
- MIN = najniższy poziom ekspresji

## Regulacja stopnia ekspresji

Regulacja stopnia ekspresji jest miarą zwiększenia lub zmniejszenia ekspresji genu docelowego dla eksperymentalnej próbki w porównaniu z kontrolą. Miarę tę wyznacza się w następujący sposób:

Jeśli ekspresja (eksperymentalna) > ekspresja (kontrolna):

$$\text{Regulation} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Jeśli ekspresja (eksperymentalna) < ekspresja (kontrolna):

$$\text{Regulation} = -1 / \left( \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

**Uwaga:** W przypadku wykresu słupkowego *ekspresja* bazuje na ilości względnej lub na znormalizowanej wartości ekspresji, w zależności od wybranego trybu (zob. [Wykres słupkowy na stronie 242](#)). Jednak w przypadku wykresu rozrzutu, i clustergramu regulację stopnia ekspresji zawsze wylicza się ze znormalizowanej wartości ekspresji.

## Wzory na wartości skorygowane

Różnica między wartościami skorygowanymi a nieskorygowanymi jest widoczna tylko wtedy, gdy krzywa wzorcowa została utworzona jako część analizy PCR w czasie rzeczywistym. W celu ustalenia propagacji błędu oprogramowanie korzysta z trzech równań:

- Błąd standardowy
- Błąd standardowy dla ekspresji znormalizowanej
- Błąd standardowy dla znormalizowanego genu będącego przedmiotem zainteresowania (sekwencji docelowej)

Wzór na błąd standardowy:

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Gdzie:

- $n$  = liczba referencyjnych sekwencji docelowych (genów)
- SD = odchylenie standardowe

Wzór na błąd standardowy współczynnika normalizacji w ekspresji znormalizowanej:

$$SE NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times SE RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times SE RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times SE RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

Gdzie:

- $n$  = liczba referencyjnych sekwencji docelowych
- SE = Błąd standardowy
- NF = znormalizowana wartość ekspresji
- RQ = Ilość względna

Wzór na błąd standardowy dla znormalizowanego genu będącego przedmiotem zainteresowania (GOI)

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

Gdzie:

- SE = Błąd standardowy
- GOI = gen będący przedmiotem zainteresowania (jedna sekwencja docelowa)
- NF = współczynnik normalizacji
- n = liczba referencyjnych sekwencji docelowych

Załącznik A Obliczenia w analizie danych



## Załącznik B Zarządzanie użytkownikami i rolami w oprogramowaniu CFX Manager Dx

W oprogramowaniu CFX Manager™ Dx można tworzyć konta użytkowników i przypisywać role do tych użytkowników. Role ograniczają dostęp do funkcji oprogramowania CFX Manager Dx. Użytkownikowi można w danym momencie przypisać tylko jedną rolę. Jednak administrator oprogramowania CFX Manager Dx może zmienić rolę użytkownika w dowolnym momencie.

**Wskazówka:** W celu korzystania z oprogramowania CFX Manager Dx nie jest wymagane tworzenie użytkowników. Jeśli użytkownicy nie zostaną utworzeni, wszystkie działania będą wykonywane przy użyciu domyślnego konta użytkownika *admin*.

**Ważne:** Użytkownik *admin* jest domyślnym kontem administratora, którego można użyć w celu początkowego zalogowania się do oprogramowania CFX Manager Dx. Zalecane jest utworzenie konkretnego konta użytkownika na potrzeby administrowania systemem CFX Manager Dx. Do tego konta należy przypisać rolę Administrator i za jego pomocą wykonywać wszystkie zadania administracyjne.

**Ważne:** W oprogramowaniu CFX Manager Dx nie obowiązuje limit czasu braku aktywności użytkownika dla sesji. Dlatego zalecane jest zaimplementowanie zabezpieczeń systemu Windows albo rozwiązań innych firm (na przykład poprzez uruchomienie wygaszacza ekranu, którego wyłączenie będzie możliwe po zalogowaniu się).

### Zarządzanie użytkownikami

Oprogramowanie CFX Manager Dx w standardowej edycji umożliwia nadawanie kontom użytkowników dowolnych nazw i haseł.

Aby przypisać rolę do każdego użytkownika, należy wybrać ją z listy ról w oknie User Administration (Administrowanie użytkownikami). W tym przykładzie użytkownik Guest (Gość) ma nadane dodatkowe prawo do zapisywania plików.

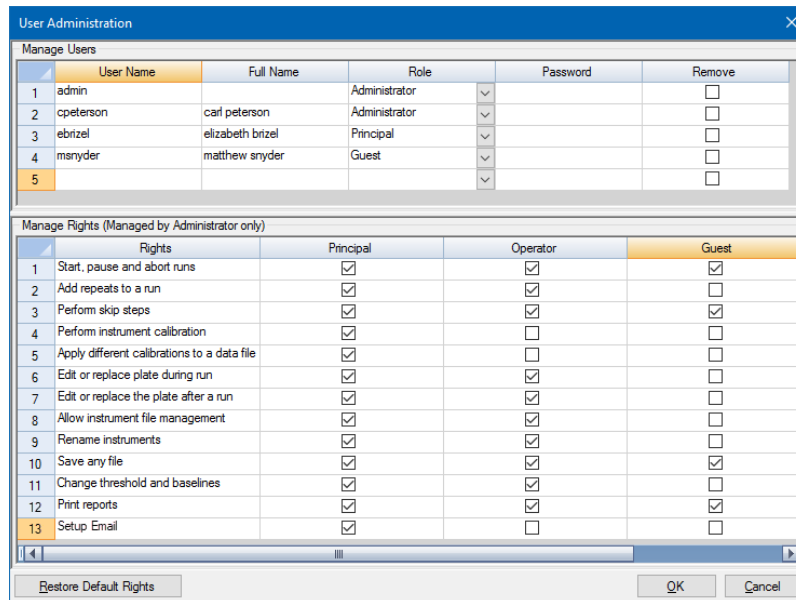
### Dodawanie i usuwanie użytkowników

**Uwaga:** Użytkowników może dodawać i usuwać tylko administrator CFX Manager Dx.

### Aby dodać konta użytkowników do oprogramowania CFX Manager Dx

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać User (Użytkownik) > User Administration (Administrowanie użytkownikami).

Zostanie wyświetlone okno dialogowe User Administration (Administrowanie użytkownikami).



2. W okienku Manage Users (Zarządzanie użytkownikami) wpisać nazwę użytkownika (opcja User Name (Nazwa użytkownika)).
3. Wybrać rolę dla użytkownika (opcja Role (Rola)).

Role służą do ograniczania zakresu praw użytkownika. Rolą domyślną jest Principal (Kierownik).

**Wskazówka:** Możliwa jest zmiana praw dla każdej roli. Zmiana praw konkretnej roli wpływa na wszystkich użytkowników, którzy są aktualnie przypisani do tej roli. Więcej informacji przedstawiono w rozdziale [Zarządzanie prawami ról na stronie 281](#).

4. (Opcjonalnie) Wpisać nazwisko (opcja Full Name (Nazwisko)) oraz hasło (opcja Password (Hasło)) dla użytkownika.
5. Kliknąć przycisk OK, aby zamknąć okno dialogowe, a następnie potwierdzić żądanie zamknięcia okna.
6. Kliknąć przycisk Yes (Tak), aby zamknąć okno dialogowe oraz okno.

### Aby usunąć użytkownika

1. W okienku Manage Users (Zarządzanie użytkownikami) wybrać opcję Remove (Usuń) dla każdego użytkownika, którego konto ma zostać usunięte.
2. Kliknąć przycisk OK, aby zamknąć okno dialogowe, a następnie potwierdzić żądanie zamknięcia okna.
3. Kliknąć przycisk Yes (Tak), aby zamknąć okno dialogowe oraz okno.

**Uwaga:** Lista użytkowników oprogramowania zawsze musi zawierać jednego administratora.

## Zarządzanie prawami ról

W oprogramowaniu CFX Manager Dx dostępne są następujące cztery role:

- Administrator (rola wymagana) — administratorzy mają wszystkie prawa, a użytkownicy nie mogą zmieniać tych praw. Administratorzy mogą również dodawać i usuwać użytkowników oraz zmieniać prawa dla poszczególnych ról.

**Uwaga:** Prawa do każdej roli może zmieniać tylko administrator.

- Principal (Przełożony) — domyślnie przełożony ma wszystkie prawa
- Operator (Operator) — domyślnie operator ma wszystkie prawa oprócz prawa do pomijania cykli
- Guest (Gość) — domyślnie gość może tylko odczytywać pliki

**Ważne:** Zmiana praw konkretnej roli wpływa na wszystkich użytkowników przypisanych do tej roli. Nie ma możliwości dostosowania roli dla jednego użytkownika. W przypadku zmiany praw ról należy zachować ostrożność.

### Aby określić prawa dla każdej roli

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać User (Użytkownik) > User Administration (Administrowanie użytkownikami).
2. W panelu Manage Rights (Zarządzaj prawami) wykonać jedną z następujących czynności:
  - Aby usunąć prawo z roli, należy usunąć zaznaczenie pola wyboru tego prawa.
  - Aby dodać prawo do roli, należy zaznaczyć jego pole wyboru.

3. Kliknąć przycisk OK, aby zamknąć okno dialogowe, a następnie potwierdzić żądanie zamknięcia okna.
4. Kliknąć przycisk Yes (Tak), aby zamknąć okno dialogowe oraz okno.

**Aby przywrócić wszystkie prawa dla wszystkich ról**

- ▶ W oknie dialogowym User Administration (Administrowanie użytkownikami) należy kliknąć opcję Restore Default Rights (Przywróć prawa domyślne).

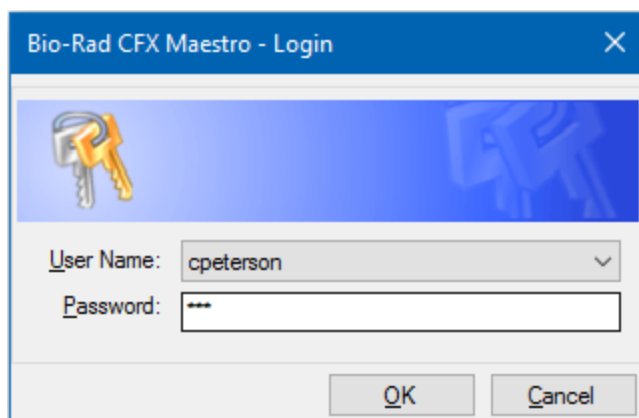
## Logowanie do oprogramowania CFX Manager Dx

W oprogramowaniu CFX Manager Dx kontrola logujących się użytkowników następuje w oknie dialogowym Login (Logowanie). Po uruchomieniu oprogramowanie CFX Manager Dx automatycznie wyświetla okno dialogowe Login (Logowanie), jeśli lista w oknie User Administration (Administrowanie użytkownikami) zawiera co najmniej dwóch użytkowników.

Nazwa użytkownika zalogowanego do oprogramowania CFX Manager Dx jest widoczna u góry okna Home (Strona główna).

### Aby zalogować się do oprogramowania CFX Manager Dx

1. W oknie dialogowym Login (Logowanie) należy wybrać swoją nazwę użytkownika na liście rozwijanej User Name (Nazwa użytkownika).
2. Wpisać swoje hasło.
3. Kliknąć przycisk OK, aby zamknąć okno Login (Logowanie) i otworzyć oprogramowanie.



## Zmiana użytkowników

Użytkownicy mogą być zmieniani w trakcie pracy oprogramowania.

### Aby przełączyć użytkownika

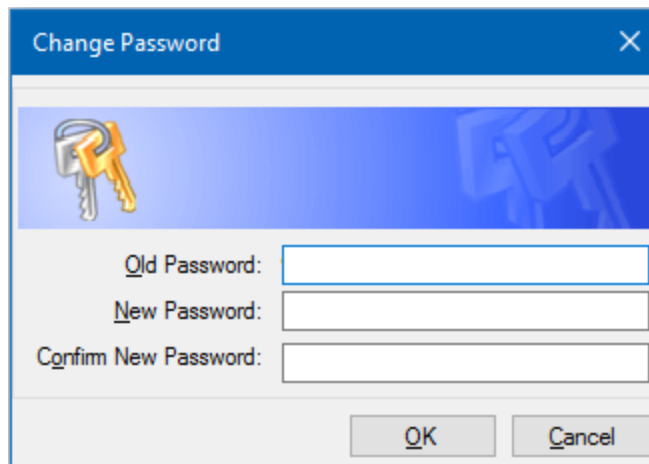
1. W oknie Home (Strona główna) wybrać opcje User (Użytkownik) > Select User (Wybierz użytkownika), aby otworzyć okno dialogowe Login (Logowanie).
2. Wybrać nazwę z listy rozwijanej User Name (Nazwa użytkownika).
3. Wpisać hasło nowego użytkownika.
4. Kliknąć przycisk OK, aby zamknąć okno Login (Logowanie) i otworzyć oprogramowanie.

## Zmiana haseł użytkowników

Użytkownicy oprogramowania CFX Manager Dx mogą zmieniać swoje hasła w dowolnym momencie.

### Aby zmienić hasło użytkownika

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać opcje User (Użytkownik) > Change Password (Zmień hasło), aby otworzyć okno dialogowe Change Password (Zmień hasło).



2. Wpisać bieżące hasło do pola Old Password (Stare hasło).
3. Do pola New Password (Nowe hasło) wpisać nowe hasło, a następnie wpisać je ponownie do pola Confirm New Password (Potwierdź nowe hasło).
4. Kliknąć przycisk OK, aby potwierdzić zmianę.

## Przeglądanie swojej roli i uprawnień

**Wskazówka:** Użytkownicy z przypisanymi rolami użytkowników Principal (Przełożony), Operator lub Guest (Gość) mogą przeglądać tylko swoje ustawienia, prawa i role.

### Wyświetlenie swojej bieżącej roli użytkownika i uprawnień

- ▶ W oknie Home (Strona główna) wybrać User (Użytkownik) > User Administration (Administrowanie użytkownikami).

W celu zmodyfikowania ustawień użytkownika, uprawnień i ról wymienionych w oknie User Administration (Administrowanie użytkownikami) skontaktować się ze swoim administratorem systemu CFX Manager Dx.

## Załącznik C Integracja z systemem LIMS

Oprogramowanie CFX Manager™ Dx można skonfigurować do użytku z systemem zarządzania informacjami laboratoryjnymi (Laboratory Information Management System — LIMS). W celu zintegrowania się z systemem LIMS oprogramowanie CFX Manager Dx wymaga informacji o konfiguracji płytki wygenerowanych przez platformę LIMS (tj. pliku LIMS, \*.pln), pliku protokołu utworzonego przez Oprogramowanie CFX Manager Dx (\*.prcl), zdefiniowanej lokalizacji eksportu danych oraz zdefiniowanego formatu eksportu.

Po zakończeniu analizy próbek CFX Manager Dx generuje plik danych (.pcrd) i zapisuje go w zdefiniowanej lokalizacji folderu eksportu danych. Oprogramowanie CFX Manager Dx może też utworzyć plik danych w formacie .csv kompatybilny z systemem LIMS i zapisać go w tym samym miejscu.

## Tworzenie plików danych kompatybilnych z LIMS

W tym załączniku objaśniono sposób konfigurowania oprogramowania CFX Manager Dx w celu tworzenia, zapisywania i eksportowania plików danych kompatybilnych z LIMS.

### Ustawianie folderu LIMS i opcji eksportu danych

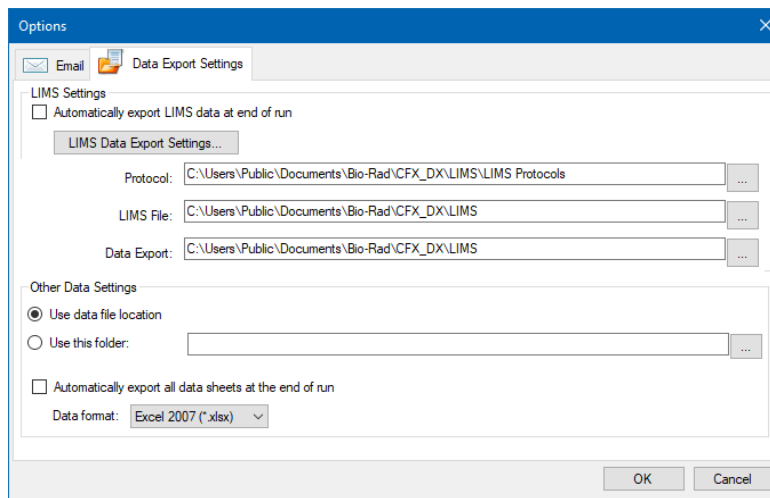
Oprogramowanie CFX Manager Dx domyślnie zapisuje protokoły LIMS, pliki LIMS oraz pliki eksportu danych LIMS w folderze:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_Dx\LIMS

Można skonfigurować CFX Manager Dx do zapisywania plików w innym folderze. Można też zmienić opcje eksportu dotyczące danych LIMS.

#### Ustawienie folderu LIMS i opcji eksportu danych

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać Tools (Narzędzia) > Options (Opcje).
2. W oknie dialogowym Options (Opcje) wybrać Data Export Settings (Ustawienia eksportu danych).



3. (Opcjonalnie) Zaznaczyć Automatically export LIMS data at end of run (Automatycznie eksportuj dane LIMS na koniec analizy próbek).

Oprogramowanie automatycznie wyeksportuje dane LIMS po każdej analizie próbek i zapisze je we wskazanej lokalizacji.

4. Aby zmienić domyślne opcje eksportu danych LIMS, kliknąć LIMS Data Export Settings (Ustawienia eksportu danych LIMS).

**Ważne:** Z powrotem do oprogramowania CFX Manager Dx można zaimportować jedynie dane LIMS wyeksportowane jako plik .csv.

5. W oknie dialogowym LIMS Data Export Format Settings (Ustawienia formatu eksportu danych LIMS) wybrać wymagane opcje eksportu i kliknąć OK.
6. W oknie dialogowym Options (Opcje) przejść do domyślnego folderu, w którym mają być zapisywane pliki danych LIMS, i wybrać go. Można wybrać inną lokalizację dla każdego typu pliku:

- Pliku protokołu
- LIMS file (Plik LIMS),
- Data export (Eksport danych).

7. Kliknąć OK, aby zapisać zmiany i zamknąć okno dialogowe Options (Opcje).



## Tworzenie protokołu LIMS

Aby uruchomić analizę LIMS, utworzyć plik protokołu CFX Manager Dx (\*.prcl) i zapisać go w folderze przeznaczonym na protokoły LIMS.

Więcej informacji zamieszczono w [Rozdział 6, Tworzenie protokołów](#).

## Tworzenie pliku LIMS

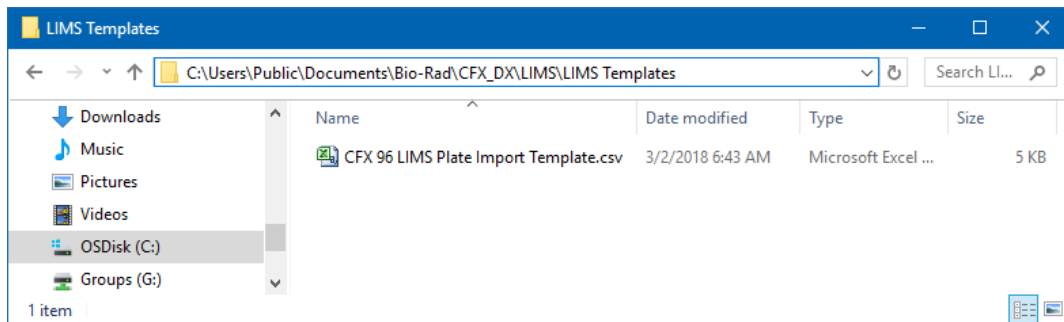
Plik systemu LIMS (\*.plrn) zawiera szczegóły konfiguracji płytki oraz nazwę pliku protokołu. Ten plik jest generowany przez wewnętrzny system LIMS w placówce, w której działa system. Oprogramowanie CFX Manager Dx korzysta z tego pliku LIMS w celu utworzenia pliku płytki, który jest używany z plikiem protokołu.

Program CFX Manager Dx udostępnia pliki szablonu importu płytki, które można edytować celem tworzenia niestandardowych plików płytek LIMS.

**Wskazówka:** To zadanie powinno być wykonywane przez specjalistę z zakresu systemu LIMS.

### Aby utworzyć plik LIMS

1. W oknie Home (Strona główna) wybrać opcje View (Widok) > Show (Pokaż) > LIMS File Folder (Folder plików LIMS).
2. Otworzyć folder LIMS Templates (Szablony LIMS) i wybrać plik .csv, który zostanie zaimportowany do wewnętrznego systemu LIMS w placówce, w której działa system.



3. W systemie LIMS przeprowadzić edycję pliku szablonu, wypełniając wymagane pola, których listę zawiera [Tabela 40](#).
4. Zapisać plik z rozszerzeniem nazwy .plrn w folderze LIMS File Folder (Folder plików LIMS).

**Ważne:** Oprogramowanie CFX Manager Dx może otworzyć tylko ten plik .plrn. W celu uruchomienia analizy z użyciem systemu LIMS należy zapisać plik .csv jako plik .plrn.

**Tabela 40. Definicja zawartości pliku .csv systemu LIMS**

| <b>Kolumna</b> | <b>Wiersz</b> | <b>Opis</b>          | <b>Zawartość</b>   | <b>Przeznaczenie</b>  |
|----------------|---------------|----------------------|--|-----------------------|
| A              | 1             | Nagłówek płytki      | Nie edytować   | Wstępnie zdefiniowane |
| A,B,C          | 2             | Pole/dane/instrukcja | Nie edytować   | Wstępnie zdefiniowane |
| B              | 3             | Wersja               | Nie edytować   | Wstępnie zdefiniowane |
| B              | 4             | Wielkość płytki      | Nie edytować   | Wstępnie zdefiniowane |
| B              | 5             | Typ płytki,          | Wprowadzić „BR White”, „BR Clear” lub inny skalibrowany typ płytki | Wymagane              |
| B              | 6             | Tryb skanowania      | Wprowadzić „SYBR/FAM Only:”, „All Channels” lub „FRET”             | Wymagane              |

Tabela 40. Definicja zawartości pliku .csv systemu LIMS, ciąg dalszy

| Kolumna | Wiersz | Opis      | Zawartość  | Przeznaczenie |
|---------|--------|-----------|--|---------------|
| B       | 7      | Jednostki | Wprowadzić jedną z następujących wartości: „copy number” (liczba kopii), „fold dilution” (krotność rozcieńczenia), „micromoles” (mikromole), „nanomoles” (nanomole), „picomoles” (pikomole), „fentomoles” (fentomole), „attomoles” (attomole), „milligrams” (miligramy), „micrograms” (mikrogramy), „nanograms” (nanogramy), „picograms” (pikogramy), „femtograms” (femtogramy), „attograms” (attogramy) lub „percent” (procent) | Wymagane      |

Tabela 40. Definicja zawartości pliku .csv systemu LIMS, ciąg dalszy

| Kolumna | Wiersz | Opis   | Zawartość   | Przeznaczenie         |
|---------|--------|--|---|-----------------------|
| B       | 8      | Id. analizy  | Wprowadzić krótki opis lub kod kreskowy identyfikujący analizę (maksymalnie 30 znaków, przecinki są niedozwolone) | Opcjonalne            |
| B       | 9      | Uwaga dot. analizy   | Wprowadzić opis analizy   | Opcjonalne            |
| B       | 10     | Protokół analizy   | Wprowadzić nazwę pliku protokołu dokładnie tak, jak jest podana.  | Wymagane              |
| A       | 11     | Pliku danych   | Wprowadzić nazwę pliku danych   | Opcjonalne            |
| A       | 12-15  | TBD/Puste  | Nie edytować  | Wstępnie zdefiniowane |
| A       | 16     | Dane płytki  | Nie edytować  | Wstępnie zdefiniowane |
| A       | 17-113 | Pozycja studzienki   | Nie edytować  | Wstępnie zdefiniowane |
| B-G     |        | Barwnik dla kanału Ch1, barwnik dla kanału Ch2, barwnik dla kanału Ch3, barwnik dla kanału Ch4, barwnik dla kanału Ch5, FRET | Wprowadzić nazwę jednego skalibrowanego barwnika (na przykład „FAM”) dla każdego używanego kanału                 | Wymagane              |

Tabela 40. Definicja zawartości pliku .csv systemu LIMS, ciąg dalszy

| Kolumna | Wiersz | Opis       | Zawartość  | Przeznaczenie |
|---------|--------|------------|--|---------------|
| H       |        | Typ próbki | Wprowadzić jeden z następujących typów próbek:<br>„Unknown”<br>(Nieznana),<br>„Standard”<br>(Standard),<br>„Positive Control”<br>(Kontrola dodatnia),<br>„Negative Control”<br>(Kontrola ujemna),<br>„NTC” lub „NRT” | Wymagane      |

Tabela 40. Definicja zawartości pliku .csv systemu LIMS, ciąg dalszy

| Kolumna | Wiersz | Opis   | Zawartość   | Przeznaczenie                   |
|---------|--------|--|---|---------------------------------|
| I       |        | Nazwa próbki   | Wprowadzić nazwę próbki   | Opcjonalne                      |
| J-O     |        | Sekwencja docelowa dla CH1, sekwencja docelowa dla CH2, sekwencja docelowa dla CH3, sekwencja docelowa dla CH4, sekwencja docelowa dla CH5, sekwencja docelowa dla FRET, | Wprowadzić nazwę sekwencji docelowej dla każdego używanego kanału                                     | Opcjonalne                      |
| P       |        | Nazwa zestawu biologicznego  | Wprowadzić nazwę zestawu biologicznego  | Opcjonalne                      |
| Q       |        | Replikat   | Wprowadzić dodatnią liczbę całkowitą dla każdego zestawu replikatów. Wartość nie może być równa zero. | Opcjonalne                      |
| R-W     |        | Ilość dla CH1, ilość dla CH2, ilość dla CH3, ilość dla CH4, ilość dla CH5, ilość dla FRET  | Wprowadzić wartości ilości dla dowolnych wzorców. Wprowadzić stężenie w postaci dziesiętnej.          | Wymagane dla wszystkich wzorców |

Tabela 40. Definicja zawartości pliku .csv systemu LIMS, ciąg dalszy

| Kolumna | Wiersz | Opis  | Zawartość  | Przeznaczenie |
|---------|--------|---|--|---------------|
| X       |        | Uwaga dotycząca studzienki  | Wprowadzić uwagę dotyczącą studzienki (maksymalnie 20 znaków)  | Opcjonalne    |
| Y-AD    |        | Kolor studzienki dla Ch1, kolor studzienki dla Ch2, kolor studzienki dla Ch3, kolor studzienki dla Ch4, kolor studzienki dla Ch5, kolor studzienki dla FRET | Wprowadzić dowolny kolor stylu krzywej zdefiniowanej przez użytkownika w formacie dziesiętnym (argb) jako 32-bitowa liczba całkowita | Opcjonalne    |

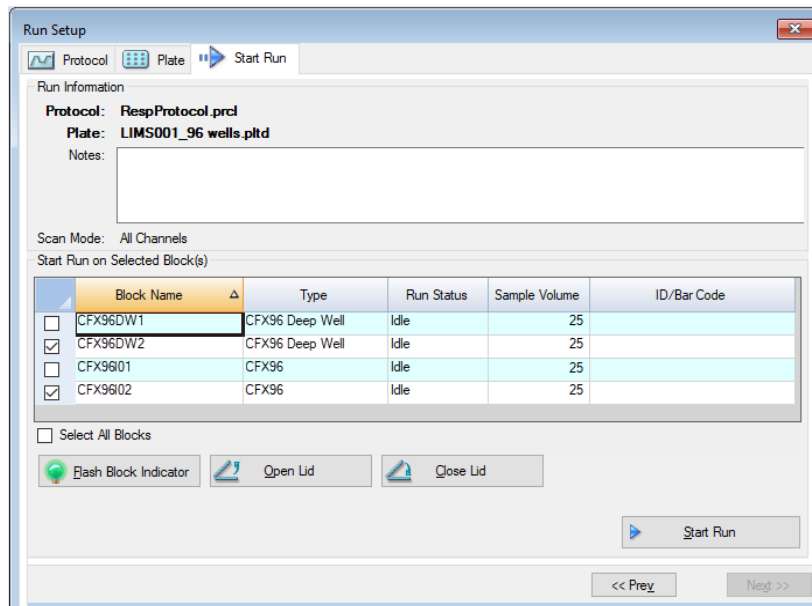
## Uruchamianie analizy LIMS

### Uruchomienie analizy LIMS

- Wykonać jedną z następujących czynności w celu otworzenia pliku LIMS (.plrn):
  - W oknie Home (Strona główna) wybrać View (Widok) > Show (Pokaż) > LIMS File Folder (Folder plików LIMS) i otworzyć docelowy plik .plrn.
  - W oknie Home (Strona główna) wybrać File (Plik) > Open (Otwórz) > LIMS File (Plik LIMS) i otworzyć docelowy plik .plrn.

Plik jest otwierany w zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) w kreatorze Run Setup (Konfiguracja analizy próbek). W zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) wyświetlane są informacje o eksperymencie, który ma być uruchomiony. W zakładce tej wyświetlany jest także podłączony blok (lub bloki) aparatu, w którym można uruchomić dany eksperyment.

- W zakładce Start Run (Uruchom analizę próbek) wybrać aparat i kliknąć Start Run (Uruchom analizę próbek).



## Eksportowanie danych do systemu LIMS

Po zakończeniu analizy próbek CFX Manager Dx generuje plik danych (.pcrd) i zapisuje go w zdefiniowanej lokalizacji folderu eksportu danych.

### Eksport pliku danych do systemu LIMS

- ▶ Otworzyć plik .pcrd i wybrać Export (Eksport) > Export to LIMS Folder (Eksportuj do folderu LIMS).

**Wskazówka:** Jeśli w części LIMS Options (Opcje LIMS) wybrano opcję Automatically Export Data after Run (Automatycznie eksportuj dane po analizie próbek), CFX Manager Dx tworzy plik danych w formacie .csv kompatybilny z systemem LIMS i zapisuje go w tym samym folderze.



# Załącznik D Rozwiązywanie problemów z podłączaniem oprogramowania CFX Manager Dx

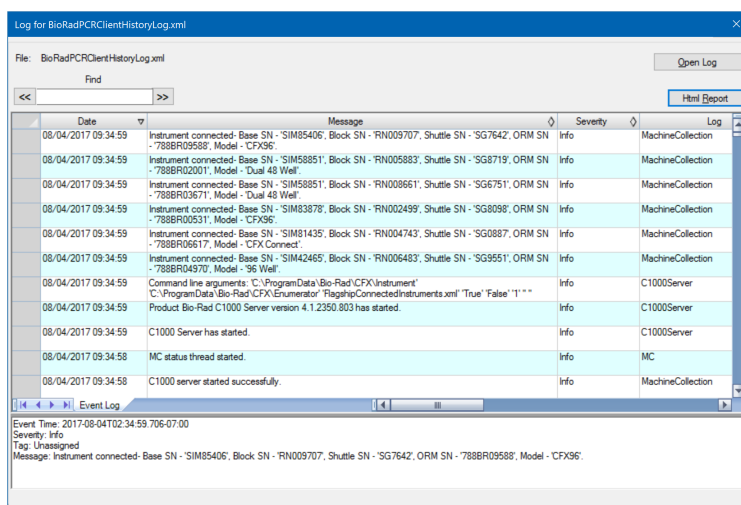
## Dziennik aplikacji

Przed uruchomieniem nowej analizy próbek aparaty CFX96™ i CFX96 Deep Well rozpoczynają test autodiagnostyczny w celu sprawdzenia, czy działają zgodnie ze specyfikacjami. Oprogramowanie rejestruje wyniki tego testu w pliku Run Log (Dziennik analiz próbek) oraz Application Log (Dziennik aplikacji). W razie stwierdzenia problemów w jednym lub większej liczbie eksperymentów, otworzyły dzienniki analiz próbek i aplikacji, aby stwierdzić, kiedy zaczął się problem.

CFX Manager™ Dx na bieżąco rejestruje informacje o stanie aparatu podczas analizy próbek w Application Log (Dziennik aplikacji). Te dzienniki pozwalają śledzić zdarzenia występujące w aparatach i w oprogramowaniu oraz pomagają rozwiązywać problemy.

### Otwarcie dziennika Application Log (Dziennik aplikacji)

- ▶ W oknie Home (Strona główna) wybrać View (Widok) > Application Log (Dziennik aplikacji).



## Rozwiązywanie problemów

Zwykle problemy z komunikacją między oprogramowaniem a aparatem można rozwiązać poprzez restart komputera i systemu. Przed restartem należy upewnić się, że wyniki prac zostały zapisane.

**Uwaga:** Należy upewnić się, że ilość pamięci RAM i miejsca na dysku twardym jest wystarczająca. Minimalna ilość pamięci RAM to 4 GB, a minimalna ilość miejsca na dysku twardym to 128 GB.

### Awaria zasilania

W przypadku awarii zasilania aparat i komputer wyłączą się. Jeśli awaria zasilania jest krótka, aparat powróci do uruchomionego protokołu, ale w Application Log (Dziennik aplikacji) zostanie odnotowana awaria zasilania. W zależności od ustawień komputera i czasu trwania przerwy w zasilaniu aparat i oprogramowanie próbują kontynuować pracę, przy czym zależy to od etapu protokołu:

- Jeśli protokół jest na etapie bez odczytu płytki, protokół jest kontynuowany, gdy tylko zostanie przywrócone zasilanie aparatu.
- Jeśli protokół jest na etapie z odczytem płytki, aparat czeka na ponowne uruchomienie oprogramowania i przywrócenie komunikacji w celu zebrania danych. W takiej sytuacji protokół jest kontynuowany tylko wtedy, gdy oprogramowanie nie jest wyłączone przez komputer. Gdy komputer i oprogramowanie ponownie się uruchomią, protokół będzie kontynuowany.

### Wyjmowanie próbek z modułu reakcyjnego podczas przerw w dostawie prądu

Można otworzyć zablokowaną automatyczną pokrywę modułu reakcyjnego w celu wyjęcia próbek podczas awarii zasilania.

#### Zdjęcie płytki blokującej

1. Nacisnąć w dół belkę blokującą, aby zdjąć moduł reakcyjny z termocyklera C1000™ Dx.
2. Ostrożnie ustawić moduł reakcyjny na biurku lub stole laboratoryjnym.
3. Ustawić moduł tak, by przód modułu wystawał 2 cale nad krawędź.



4. Za pomocą klucza imbusowego wykręcić dwie duże śruby spod przedniej krawędzi modułu reakcyjnego (poniżej przycisku otwierającego pokrywę).

Powinno być słyszalne zwolnienie zaczepu blokującego wewnątrz modułu.

**Ważne:** Nie wyjmować dwóch małych śrub znajdujących się na przedniej krawędzi modułu.



5. Otworzyć pokrywę modułu reakcyjnego. Zaczep (z czarnego tworzywa sztucznego) nie jest już zamocowany. Wyjąć próbki z bloku.
6. Ponownie ustawić zaczep blokujący i zamocować go dużymi śrubami, aby ponownie zmontować moduł reakcyjny z otwartą pokrywą.



## Pobieranie plików na komputer CFX Manager Dx

Można pobrać pliki danych i dziennika znajdujące się w aparacie i przesłać je na twardy dysk przyłączonego komputera.

**Uwaga:** Wszystkie pliki w folderze danych czasu rzeczywistego w podstawie aparatu są pobierane na komputer.

### Pobieranie plików z aparatu

1. W panelu Detected Instruments (Wykryte aparaty) w oknie Home (Strona główna) kliknąć prawym przyciskiem myszy docelowy aparat i wybrać jedną z następujących opcji:
  - Retrieve Log Files (Pobierz pliki dziennika),
  - Retrieve Data Files (Pobierz pliki danych).
2. Wybrać lokalizację folderu w celu zapisania pobranych plików.
3. Kliknąć Okay (OK).

## Ręczna instalacja oprogramowania CFX Manager Dx

### Jak ręcznie zainstalować Oprogramowanie CFX Manager Dx

1. W razie konieczności odłączyć od komputera wszelkie podłączone aparaty.  
Zlokalizować i odłączyć kabel USB aparatu od komputera CFX Manager Dx. Końcówka wprowadzona do aparatu może pozostać w gnieździe.
2. Zalogować się do komputera CFX Manager Dx z uprawnieniami administratora.
3. Włożyć płytę CD z oprogramowaniem.
4. W Eksploratorze Windows przejść do płyty CD, kliknąć prawym przyciskiem myszy ikonę płyty CD z oprogramowaniem i wybrać Explore (Eksploruj), aby otworzyć okno CD.
5. Dwukrotnie kliknąć folder CFX\_Manager, aby go otworzyć. Następnie dwukrotnie kliknąć setup.exe, aby uruchomić kreator instalacji oprogramowania.
6. Postępować zgodnie z instrukcjami przedstawionymi w kreatorze w celu zainstalowania oprogramowania. Następnie kliknąć Finish (Zakończ).

## Przeinstalowywanie sterowników

### Przeinstalowanie sterowników aparatu

- ▶ W oknie Home (Strona główna) wybrać Tools (Narzędzia) > Reinstall Instrument Drivers (Przeinstaluj sterowniki aparatu).

**Uwaga:** W razie problemów z oprogramowaniem komunikującym się z systemem czasu rzeczywistego po przeinstalowaniu sterowników i sprawdzeniu połączenia USB skontaktować się z działem wsparcia technicznego firmy Bio-Rad.



## Załącznik E Piśmiennictwo

1. Sugimoto i wsp. (1996). Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes. *Nucleic Acids Research* 24, 4501–4505.
2. Breslauer KJ i wsp. (1986). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3746–3750.
3. Hellemans J i wsp. (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 i wsp. (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 i wsp. (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*. Wyd. 2 (Nowy Jork: SAGE Publications, Inc.).

### **Informacja o prawach autorskich Minpack (1999) University of Chicago. Wszelkie prawa zastrzeżone**

Redystrybucja i wykorzystanie w postaci źródłowej i binarnej, z modyfikacjami lub bez nich, są dozwolone pod warunkiem spełnienia następujących warunków:

1. Redystrybucje kodów źródłowych muszą zawierać powyższą informację o prawach autorskich, niniejszą listę warunków i poniższe wyłączenie odpowiedzialności.
2. Redystrybucje w postaci binarnej muszą zawierać powyższą informację o prawach autorskich, niniejszą listę warunków i poniższe wyłączenie odpowiedzialności w dokumentacji lub innych materiałach dostarczanych wraz z dystrybucją.
3. Dokumentacja użytkownika końcowego dołączona do redystrybucji, o ile istnieje, musi zawierać następujące stwierdzenie:

„Niniejszy produkt zawiera oprogramowanie opracowane przez University of Chicago jako operatora Argonne National Laboratory”.









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