

---

# Системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 Touch™ и CFX384 Touch™

Инструкция по эксплуатации

Номера по каталогу 184-5384

Номера по каталогу 185-5484

Номера по каталогу 184-5096

Номера по каталогу 185-5196



**BIO-RAD**

Copyright ©2011 Bio-Rad Laboratories, Inc. Запрещается воспроизведение в любой форме, печатной или электронной, без письменного согласия компании Bio-Rad Laboratories, Inc.

Adobe Acrobat и Reader являются торговыми марками компании Adobe Systems Incorporated. Су является торговой маркой группы компаний GE Healthcare. CAL Fluor и Quasar являются торговыми марками компании Biosearch Technologies, Inc. SYBR® и Texas Red являются торговыми марками компании Invitrogen Corporation. Excel, Microsoft, PowerPoint, Windows и Windows Vista являются торговыми марками корпорации Microsoft. EvaGreen является торговой маркой компании Biotium, Inc. Компания Bio-Rad Laboratories, Inc. обладает лицензией компании Biotium, Inc. на продажу реагентов, содержащих краситель EvaGreen для использования в ПЦР в реальном времени исключительно в целях исследования. FAM, HEX, ROX и VIC являются торговыми марками компании Applied Biosystems Corporation. qbasePLUS является торговой маркой компании Biogazelle. Компания Bio-Rad Laboratories, Inc. обладает лицензией компании Invitrogen Corporation на продажу реагентов, содержащих SYBR® Green I для использования в ПЦР в реальном времени исключительно в целях исследования.

## **ЛИЦЕНЗИОННОЕ СОГЛАШЕНИЕ**

Термоциклеры в реальном времени CFX96 Touch™ или CFX384 Touch™ компании Bio-Rad являются лицензированными термоциклерами в реальном времени, защищенными патентом США компании Applied Biosystems № 6 814 934 B1 для использования в исследованиях, диагностике человека *in vitro* и других областях, кроме диагностики животных.

Модуль детекции CFX96 или CFX384 вместе с термоциклером C1000™ или C1000 Touch™, для которого внесен соответствующий лицензионный платеж, представляет собой термоциклер в реальном времени, лицензированный в соответствии с патентом США № 6 814 934 и определенными пунктами всех патентов контрагентов в Канаде, которыми владеет компания Applied Biosystems Corporation, для использования исключительно в целях исследования диагностики человека *in vitro* и всех применимых областях, кроме диагностики животных *in vitro*. Лицензионные права действительны только при использовании модуля детекции вместе с термоциклером компании Bio-Rad при внесении соответствующего лицензионного платежа для термоциклера в реальном времени и не действуют ни с одним другим термоциклером. Никакие права не передаются явным образом, косвенно или в силу конклюдентных действий по другим патентам на методы в реальном времени, включая, кроме прочего, анализ нуклеазы 5', и патенты, касающиеся реагентов или наборов. Дополнительную информацию по приобретению прав на лицензии можно получить у директора по лицензированию Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

Этот продукт подпадает под действие одного или нескольких патентов США, их контрагентов и других зарубежных патентов, на которые подана заявка и которыми обладает компания Eppendorf AG: Патенты США №6 767 512 и 7 074 367.

Плашки Hard-Shell® подпадают под действие одного или нескольких патентов США, их контрагентов и других зарубежных патентов, которыми обладает компания Eppendorf AG: Патенты США № 7 347 977, 6 340 589 и 6 528 302.

## Ресурсы компании Bio-Rad

В Табл. 1 перечислены ресурсы компании Bio-Rad и способы поиска нужной информации.

Табл. 1. Ресурсы компании Bio-Rad

Ресурс	Контактная информация
Региональные представители компании Bio-Rad Laboratories	Чтобы отобразить региональную информацию и контакты на веб-сайте Bio-Rad, выберите свою страну на главной странице ( <a href="http://www.bio-rad.com">www.bio-rad.com</a> ). В списке на обратной стороне данного руководства найдите ближайший международный офис.
Технические статьи и литература	Перейдите на веб-сайт компании Bio-Rad ( <a href="http://www.bio-rad.com">www.bio-rad.com</a> ). Введите поисковый запрос в окно Search (Поиск) и выберите <b>Documents (Документы)</b> , чтобы найти ссылки на технические статьи, руководства и другую литературу.
Технические специалисты	Команда технической поддержки компании Bio-Rad состоит из опытных ученых, которые предоставляют клиентам практические и продуманные решения. Чтобы получить техническую поддержку по телефону, свяжитесь с ближайшим офисом компании Bio-Rad. Чтобы получить техническую поддержку в США и Канаде, позвоните 800-424-6723 (бесплатный телефон) и выберите возможность технической поддержки.

## Условные обозначения, используемые в этом руководстве

В этом руководстве используются условные обозначения, перечисленные в Табл. 2.

Табл. 2. Условные обозначения, используемые в этом руководстве

Обозначение	Значение
Пояснение.	Предоставляет полезные инструкции, в том числе информацию, которая подробно объяснена в другом разделе руководства
ПРИМЕЧАНИЕ.	Предоставляет полезную информацию, в том числе ту, которая подробно объяснена в другом разделе руководства
<b>ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!</b>	Предоставляет очень важную информацию о действиях, которые могут нанести вред исследователю, повредить прибор или привести к утере данных
<b>X &gt; Y</b>	Выберите X, затем Y на панели управления, в меню или окне программы

Для получения информации о предупредительных символах, используемых в этом руководстве и на системе Система CFX96 Touch или CFX384 Touch, см. "Соблюдение установленных норм и требований безопасности" на стр. iii.

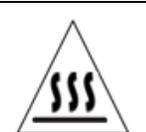
## Соблюдение установленных норм и требований безопасности

Для безопасной эксплуатации систем CFX96 Touch или CFX384 Touch настоятельно рекомендуется соблюдать требования безопасности, приведенные в этом и других разделах руководства.

### Предупредительные символы

Предупредительные символы, размещенные на приборе и в этом руководстве, предупреждают об источниках телесных повреждений и нанесения вреда здоровью. Значения всех предупредительных символов можно найти в Табл. 3.

**Табл. 3. Значение предупредительных символов**

	<p><b>ОСТОРОЖНО. Биологическая опасность!</b> Этот символ обозначает компоненты, которые могут быть загрязнены биологически опасным материалом.</p>
	<p><b>ОСТОРОЖНО. Вероятность опасности!</b> Этот символ обозначает компоненты, которые при неправильном обращении могут привести к телесным повреждениям или повреждению прибору. При появлении этого символа перед продолжением работы обязательно посмотрите дополнительную информацию в руководстве.</p>
	<p><b>ОСТОРОЖНО. Горячая поверхность!</b> Этот символ обозначает компоненты, которые при неправильном обращении могут привести к телесным повреждениям вследствие чрезмерного нагрева.</p>

## Предупреждения о соблюдении техники безопасности при работе с прибором

Предупредительные символы, перечисленные в Табл. 4, также отображаются на экране прибора. Они относятся непосредственно к безопасной эксплуатации систем CFX96 Touch или CFX384 Touch.

**Табл. 4. Предупредительные символы для безопасной эксплуатации прибора**

Значок	Значение
	<b>Предупреждение о вероятности телесных повреждений и повреждения прибора.</b> Работа с системой детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 Touch или CFX384 Touch до изучения этого руководства может быть небезопасной для здоровья. Для безопасной эксплуатации прибора производите только действия, указанные в этом руководстве. Только квалифицированный персонал лабораторий, который знает технику безопасности работы с электронным оборудованием, может использовать этот прибор. Всегда аккуратно обращайтесь с компонентам системы. Руки при работе должны быть чистыми и сухими.
	<b>Предупреждение о работе с биологически опасными материалами.</b> При работе с биологически опасными материалами следуйте рекомендуемым мерам предосторожности и руководствам и соблюдайте местные руководства, специфические для вашей лаборатории и страны.
	<b>Предупреждение о вероятности ожога.</b> Термоциклер генерирует достаточное количество тепла, которое может привести к ожогам. Во время работы с прибором всегда одевайте защитные очки или используйте другую защиту для глаз. Перед открытием крышки и выниманием проб всегда подождите, пока температура блока с пробамы станет равной температуре покоя. Всегда оставляйте максимальный зазор, чтобы избежать случайных ожогов кожи
	<b>Предупреждение о вероятности взрыва.</b> Блоки с пробамы во время обычной работы значительно нагреваются, что может привести к закипанию и взрыву жидкости

ПРИМЕЧАНИЕ. Информацию о термоциклере C1000™ см. в руководстве по его эксплуатации.

## Соблюдение спецификаций безопасного использования

В Табл. 5 перечислены спецификации безопасного использования систем CFX96 Touch и CFX384 Touch. С этим устройством необходимо использовать только экранированные кабели (в комплекте) в соответствии с ограничениями FCC для устройств Класса А.

**Табл. 5. Спецификации безопасного использования**

Требования по безопасности использования		Спецификации
Температура	Стационарное использование	Температура окружающей среды: 15 - 31°C. Максимальная относительная влажность воздуха 80% (без конденсата)
Высота над уровнем моря		До 2000 метров над уровнем моря

## **СОБЛЮДЕНИЕ УСТАНОВЛЕННЫХ НОРМ**

Прибор прошел испытания и признан соответствующим всем действующим требованиям следующих электромагнитных стандартов и стандартов безопасности.

- IEC 61010-1:2001 (2-е издание), EN61010-1:2001 (2-е издание). Электрооборудование для проведения измерений, управления и лабораторного использования. Часть 1. Общие требования
- IEC 61010-2-010:2005, EN61010-2-010:2003. Требования к безопасности электрооборудования для проведения измерений, управления и лабораторного использования. Часть 2-010. Частные требования к лабораторному оборудованию по нагреву материалов
- IEC 61010-2-081:2001+A1, EN61010-2-081:2002+A1. Требования к безопасности электрооборудования для проведения измерений, управления и лабораторного использования. Часть 2-081. Частные требования для автоматического и полуавтоматического лабораторного оборудования для анализа и других целей (включает Приложение 1)
- EN 61326-1:2006 (Класс А). Электрооборудование для проведения измерений, управления и лабораторного использования. Требования электромагнитной совместимости. Часть 1. Общие требования

Если данное оборудование установлено и эксплуатируется с нарушением инструкций, оно генерирует, использует и может излучать энергию в радиочастотном диапазоне, способную вызвать помехи радиосвязи. Эксплуатация данного оборудования в жилых зонах может стать причиной недопустимых помех, которые должны быть устранены пользователем за свой счет.

## **Опасности**

Системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 Touch и CFX384 Touch разработаны для безопасной работы, если использовать их тем образом, как указано производителем. Если система CFX96 Touch или CFX384 Touch, или любой из связанных с ними компонентов используется иным образом, отличным от указанного производителем, может быть нарушена встроенная защита прибора. Bio-Rad Laboratories, Inc. не несет ответственность за травмы и повреждения, вызванные использованием этого оборудования не оговоренным способом, или модификациями прибора, выполненными не компанией Bio-Rad или лицензированным агентом. Обслуживание систем CFX96 Touch и CFX384 Touch производится только персоналом Bio-Rad.

## **Биологическая опасность**

Системы CFX96 Touch и CFX384 Touch являются лабораторными продуктами. Однако в случае присутствия биологически опасных проб следуйте приведенным ниже руководствам и соблюдайте местные руководства, специфические для вашей лаборатории и страны.

## **ОБЩИЕ МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

- Всегда используйте лабораторные перчатки, халаты и защитные очки
- Не касайтесь руками рта, носа и глаз
- Полностью закройте любой порез или ссадину перед работой с потенциально инфекционным материалом
- Тщательно мойте руки водой с мылом после работы с любым потенциально инфекционным материалом перед выходом из лаборатории
- Снимайте часы и украшения перед работой на рабочем месте
- Храните весь инфекционный или потенциально инфекционный материал в небьющихся защищенных от утечек сосудах
- Перед выходом из лаборатории снимайте защитную одежду

- Не пользуйтесь рукой в перчатке для совершения записей, ответа на звонок телефона, включения света, не касайтесь ничего, чего могут касаться другие люди без перчаток
- Часто меняйте перчатки. Сразу снимайте перчатки после визуального определения, что они загрязнены
- Не допускайте соприкосновения материалов, надлежащее обеззараживание которых невозможно, с потенциально инфекционным материалом
- По завершении работы с биологическим опасным материалом обеззараживайте рабочую область соответствующим дезинфицирующим средством (например, раствор хозяйственного отбеливателя 1:10)
- При нормальной работе прибора не выделяются никакие биологически опасные субстанции

## **ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ**

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Чтобы избежать поражения электрическим током, перед выполнением процедур по обеззараживанию всегда выключайте прибор и отключайте его от сети.

Следующие области можно чистить любыми бактерицидными, вируцидными или фунгицидными дезинфицирующими средствами для медицинского использования:

- Внешняя крышка и шасси
- Внутренняя поверхность реакционного блока и лунки реакционного блока
- Панель управления и дисплей

Как готовить и наносить дезинфицирующие средства, см. в инструкциях, предоставленных производителем продукта. Всегда ополаскивайте реакционный блок и лунки реакционного блока водой несколько раз после нанесения дезинфицирующего средства. Тщательно высушивайте реакционный блок и лунки реакционного блока после ополаскивания водой.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Не используйте абразивные и коррозионные детергенты или сильные щелочные средства. Эти агенты могут поцарапать поверхности и повредить реакционный блок, что приведет к потере точности термоуправления.

## **УТИЛИЗАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ ОПАСНОГО МАТЕРИАЛА**

Система CFX96 Touch или CFX384 Touch не содержит потенциально опасных химических материалов. Производите утилизацию следующих потенциально зараженных материалов в соответствии с лабораторными местными, региональными и национальными положениями:

- клинические пробы;
- реагенты;
- использованные сосуды из-под реагентов или других расходных материалов, которые могут быть загрязнены.

## **Химическая опасность**

Система CFX96 Touch или CFX384 Touch не содержит потенциально опасных химических материалов.

## **Опасность взрыва или возгорания**

Система CFX96 Touch или CFX384 Touch не представляет особой опасности, связанной с возможностью взрыва или возгорания, при использовании надлежащим образом, как указано Bio-Rad Laboratories.

## **Опасность поражения электрическим током**

Система CFX96 Touch и CFX384 Touch не обладают особой опасностью, связанной с поражением электрическим током, если была установлена и используется надлежащим образом, без физических модификаций, и в случае подключения к источнику питания соответствующей спецификации.

## **Транспортировка**

Перед перемещением или перевозкой термоциклера C1000 Touch™, или оптического реакционного модуля CFX96 или CFX384, требуется провести обеззараживание. Всегда перемещайте и перевозите шасси термоциклера C1000 и оптический реакционный модуль CFX96 и CFX384 в отдельных контейнерах с упаковочными материалами, в которых они поставлялись, для защиты прибора от повреждения. Если соответствующие контейнеры утеряны, свяжитесь с локальным представительством компании Bio-Rad.

## **Хранение**

Систему CFX96 Touch или CFX384 Touch можно хранить в следующих условиях:

- Диапазон температуры: от –20 до 60°C
- Относительная влажность: максимум 80%

## **Утилизация**

Система детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 Touch или CFX384 Touch содержит электроматериалы; утилизацию ее следует производить как утилизацию несортированных отходов и отдельно, согласно Директиве Европейского Содружества 2002/96/CE по отходам и электрооборудованию — Директива WEEE. Перед утилизацией свяжитесь с локальным представительством компании Bio-Rad для получения специфических для страны инструкций.



# Содержание

---

Ресурсы компании Bio-Rad.....	ii
Условные обозначения, используемые в этом руководстве .....	ii
Соблюдение установленных норм и требований безопасности .....	iii
Опасности .....	v
<b>Содержание .....</b>	<b>ix</b>
<b>Глава 1. Установка системы .....</b>	<b>1</b>
Распаковка оптического реакционного модуля .....	1
Системные требования .....	1
Обзор системы .....	2
Настройка системы .....	4
Установка программного обеспечения CFX Manager .....	7
Программные файлы .....	9
Проведение экспериментов .....	9
<b>Глава 2. Программное обеспечение CFX Manager™ .....</b>	<b>11</b>
Основное окно программы .....	12
Мастер запуска .....	15
Панель Обнаруженные приборы .....	16
Строка состояния .....	17
Окно Свойства прибора .....	17
Калькулятор основной смеси .....	20
Планировщик .....	21
<b>Глава 3. Выполнение прогонов .....</b>	<b>25</b>
Окно Создать прогон .....	25
Вкладка Протокол .....	26
Вкладка Плашка .....	27
Вкладка Начать прогон .....	28
Окно Детали прогона .....	29
Окно Приборы .....	32
<b>Глава 4. Протоколы .....</b>	<b>35</b>
Окно Редактор протокола .....	35
Элементы управления Редактора протокола .....	37
Режим управления температурой .....	41
Мастер создания протокола .....	41

<b>Глава 5. Плашки</b> .....	<b>43</b>
Окно Редактор плашки .....	43
Окно Выбрать флуорофоры .....	47
Элементы управления загрузкой лунок.....	48
Окно Настройки прогона .....	51
Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши на селекторах лунок .....	53
Окно Диспетчер групп лунок .....	53
Окно Просмотр таблицы плашки .....	55
<b>Глава 6. Функционирование в автономном режиме</b> .....	<b>57</b>
Начальный экран .....	57
Создание прогона .....	58
Экспорт данных для анализа.....	63
Создание файла данных .....	64
Настройка электронной почты .....	65
<b>Глава 7. Обзор окна Анализ данных</b> .....	<b>69</b>
Окно Анализ данных.....	69
Вкладка Расчет.....	72
Настройки анализа данных .....	73
Селекторы лунок .....	76
Диаграммы .....	79
Электронные таблицы .....	80
Экспорт.....	81
<b>Глава 8. Вкладка окна Анализ данных</b> .....	<b>83</b>
Вкладка Расчет.....	83
Вкладка Данные расчета .....	87
Вкладка Кривая плавления .....	90
Вкладка Данные кривой плавления.....	91
Вкладка Конечная точка .....	94
Вкладка Аллельная дискриминация .....	97
Вкладка Пользовательский просмотр данных .....	100
Вкладка Контроль качества .....	101
Вкладка Информация о прогоне .....	101
Отчеты по файлам данных .....	102
Отчеты по группам лунок.....	106
<b>Глава 9. Анализ экспрессии гена</b> .....	<b>107</b>
Экспрессия гена .....	107
Схема плашки для анализа экспрессии гена .....	108
Вкладка Экспрессия гена .....	108
Окно Настройки прогона .....	114
Исследование гена .....	116
Окно Отчет исследования гена .....	121
Расчеты Экспрессии гена .....	123

<b>Глава 10. Пользователи и настройки</b> .....	<b>129</b>
Выполнение входа или выбор пользователя .....	129
Окно Пользовательские настройки.....	130
Вкладка Электронная почта .....	131
Вкладка Файлы .....	132
Вкладка Протокол .....	133
Вкладка Плашка.....	133
Вкладка Анализ данных.....	134
Вкладка Экспрессия гена .....	136
Вкладка Контроль качества.....	137
Вкладка Выборочный экспорт .....	137
Администрирование пользователей .....	138
<b>Глава 11. Ресурсы</b> .....	<b>141</b>
Обновления для программного обеспечения и приборов.....	141
Извлечение файлов данных из базы термоциклера .....	142
Интеграция LIMS.....	142
Мастер калибровки.....	148
Обслуживание прибора .....	149
Журнал приложения.....	152
Устранение проблем.....	153
Список литературы .....	156
<b>Указатель</b> .....	<b>159</b>



# 1 Установка системы

---

В этой главе описывается установка системы CFX96 Touch™ или CFX384 Touch™:

- Распаковка оптического реакционного модуля (стр. 1)
- Системные требования (стр. 1)
- Обзор системы (стр. 2)
- Настройка системы (стр. 4)
- Установка программного обеспечения CFX Manager™ (стр. 7)
- Программные файлы (стр. 9)
- Проведение экспериментов (стр. 9)

## Распаковка оптического реакционного модуля

В комплект поставки оптического реакционного модуля CFX96™ или CFX384™ входят следующие компоненты:

- Оптический реакционный модуль
- Кабель USB
- Установочный компакт-диск с программным обеспечением CFX Manager
- Инструкция по эксплуатации
- Краткие руководства CFX Manager по установке системы, протоколам, плашкам, анализу данных и экспрессии гена, а также установке программного обеспечения qbase<sup>PLUS</sup>
- Видеоурок для обучения работе с программным обеспечением CFX Manager

Снимите все упаковочные материалы и сохраните их для дальнейшего использования.

При отсутствии или повреждении любого элемента свяжитесь с локальным представительством компании Bio-Rad.

## Системные требования

При эксплуатации системы CFX96 Touch или CFX384 Touch используйте следующие источники питания и кабели:

- **Входящая мощность.** 100–240 В переменного тока, 50–60 Гц
- **Стационарное использование.** Температура окружающей среды: 15 - 31°C. Максимальная относительная влажность воздуха 80% (без конденсата).

- **Кабель USB.** При управлении системой с помощью компьютера через кабель USB будет достаточно поставляемого экранированного кабеля от компании Bio-Rad.  
ПРИМЕЧАНИЕ. Полный список нормативных требований и требований по безопасности для этого прибора, см. в “Соблюдение установленных норм и требований безопасности” на стр. iii.

## Обзор системы

Система CFX96 Touch или CFX384 Touch содержит два компонента:

- **Оптический реакционный модуль.** Этот модуль содержит оптическую систему для сбора данных флуоресценции и блок термоциклера  
ПРИМЕЧАНИЕ. На задней панели оптического реакционного модуля CFX96 или CFX384 указан серийный номер.
- **База термоциклера C1000™.** база C1000 Touch предоставляет пользовательский интерфейс, необходимый для управления системой при работе в автономном режиме, кнопку питания и порты (на задней панели) для подключения к компьютеру



**Рис. 1. Вид системы CFX96 Touch спереди.**

При открытии системы CFX96 Touch или CFX384 Touch видны следующие компоненты, показанные на Рис. 2.



**Рис. 2. Вид Система CFX96 Touch изнутри.**



**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Не касайтесь внутренней крышки или блока. Эти поверхности могут быть горячими.

- **Внутренняя крышка с пластиной нагревателя.** Нагревающаяся крышка поддерживает температуру над пробями, чтобы избежать испарения. Никогда не касайтесь пластины нагревателя. Никогда ничего не просовывайте в отверстия, поскольку это может повредить оптическую систему челнока
- **Блок.** Перед прогоном загрузите пробы в этот блок
- **Кнопка закрытия.** Нажмите эту кнопку внутри крышки, чтобы закрыть моторизированную крышку

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Не проливайте жидкости на прибор и никогда не проводите реакции при открытой или неплотно закрытой крышке для проб. Дополнительную информацию об общей чистке и обслуживанию прибора см. в разделе "Обслуживание прибора" (стр. 149).

На задней панели базы S1000 находятся следующие компоненты (Рис. 3):

- **Выключатель питания.** Чтобы включить систему, нажмите выключатель питания
- **Гнездо электропитания.** Вставьте сюда кабель питания
- **Порт Ethernet.** Подсоедините кабель Ethernet, чтобы отправлять по электронной почте журналы прогонов и файлы данных, полученных в результате автономного прогона
- **Соединения USB.** Используйте эти порты, чтобы подсоединить систему CFX96 Touch или CFX384 Touch к компьютеру или термоциклеру S1000™

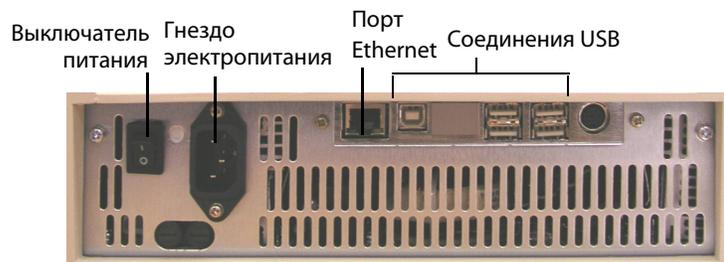


Рис. 3. Задняя панель термоциклера C1000 Touch.



**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Не прикасайтесь к задней панели термоциклера C1000 Touch во время работы.

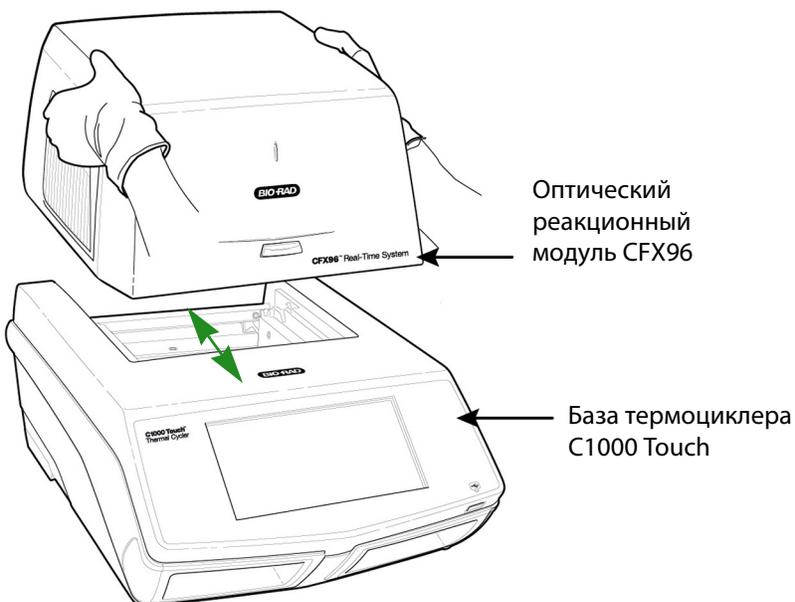
## Настройка системы

Систему детекции ПЦР в реальном времени CFX96 Touch или CFX384 Touch нужно устанавливать на чистую, сухую, ровную поверхность с воздушным потоком, достаточным для правильного функционирования прибора. Система CFX96 Touch или CFX384 Touch может работать в двух режимах: автономном или управляемом программным обеспечением. При запуске системы под управлением программным обеспечением убедитесь, что на компьютере достаточно места для установки.

**Чтобы вставить оптический реакционный модуль в отсек для реакционного модуля базу термоциклера C1000 Touch, выполните следующие действия:**

1. Разместите базу термоциклера C1000 Touch в подходящем месте и переместите фиксатор вниз. Извлеките ранее установленные реакционные модули.

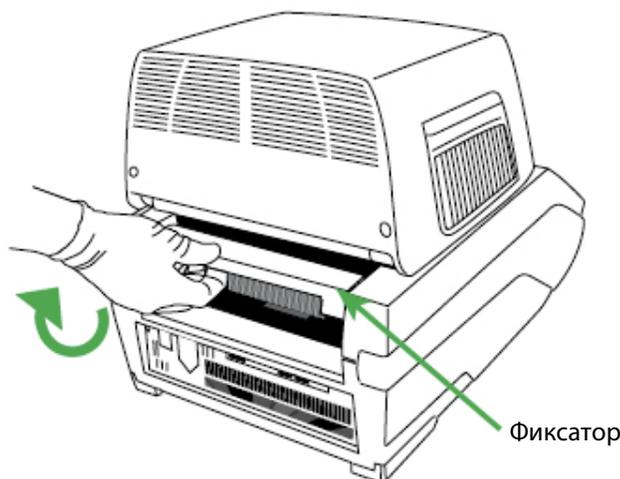
2. Поднимите оптический реакционный модуль с помощью ручек над боковыми вентиляционными отверстиями (Рис. 4).



**Рис. 4. Помещение оптического реакционного модуля на базу C1000 Touch.**

3. Расположите модуль в отсеке для реакционного модуля базы термоциклера C1000 Touch таким образом, чтобы перед ним осталось 2 см пространства. Находясь в отсеке базы, оптический модуль должен закрывать логотип компании Bio-Rad, наклеенный перед отсеком базы C1000 Touch.

4. Найдите и потяните на себя фиксатор C1000 Touch до тех пор, пока он не поравняется с краями отсека для модуля. При этом происходит перемещение и блокировка модуля на месте (Рис. 5).



**Рис. 5. Блокировка оптического модуля на месте.**

5. Убедитесь, что модуль установлен полностью и ровно в базе C1000 Touch. Проверьте пространство под нижней частью модуля. Между модулем и базой не должно быть дополнительного пространства, расстояние между ними должно быть одинаковым.
6. Вставьте кабель питания сзади в базу C1000 Touch (Рис. 3) и в соответствующую трехконтактную розетку.
7. Нажмите выключатель питания на задней панели термоциклера C1000 Touch для запуска системы.
8. Чтобы извлечь красный транспортировочный винт из внутренней нагревающейся крышки, выполните следующие действия на передней панели C1000 Touch.
  - Откройте крышку оптического модуля, нажав кнопку под логотипом Bio-Rad.
  - Поверните винт против часовой стрелки, чтобы вынуть его из отверстия во внутренней нагревающейся крышке, соответствующего лунке A1 для CFX96 или лунке, смежной с левой стороной B1 для CFX384.
9. Извлеките транспортировочную пластину из блока термоциклера.
10. Закройте крышку оптического модуля, нажав кнопку перед блоком.
11. Нажмите кнопку Винт удален для подтверждения извлечения транспортировочного винта.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если транспортировочный винт не удален на этом шаге, это определит программное обеспечение CFX Manager. Выполните инструкции по извлечению винта (стр. 18).

Пояснение. Транспортировочный винт должен быть установлен при транспортировке. Храните винт в надежном месте для будущей транспортировки.

## Установка программного обеспечения CFX Manager

Программное обеспечение CFX Manager устанавливается на ПК с операционной системой Windows XP, Windows Vista или Windows 7. Оно необходимо для анализа данных ПЦР в реальном времени, полученных из системы CFX96 Touch или система CFX384 Touch. Программное обеспечение можно также использовать для управления системой CFX96 или CFX384 в режиме, управляемом программным обеспечением. В Табл. 6 перечислены системные требования для программного обеспечения.

**Табл. 6. Системные требования для Программное CFX Manager**

Системные	Минимальные	Рекомендованные
Операционная система	Windows XP Professional с пакетом обновления 2 (SP2) или более новым, Windows Vista Home Premium или Windows 7 Home Premium и последующие версии	Windows XP Professional SP2 и последующие версии или Windows 7.
Дисковод	Устройство чтения компакт-дисков (CD-ROM)	Устройство чтения и записи компакт-дисков (CD-RW)
Жесткий диск	10 Гб	20 Гб
Тактовая частота	2,0 ГГц	2,0 ГГц
ОЗУ	1 Гб ОЗУ (2 Гб для Vista)	2 Гб ОЗУ
Разрешение экрана	1024 x 768 с режимом True Color	1280 x 1024 с режимом True Color
USB	Высокоскоростной порт USB 2.0	Высокоскоростной порт USB 2.0

### Чтобы установить программное обеспечение CFX Manager:

1. Программное обеспечение должен устанавливать пользователь с правами администратора. Убедитесь, что вы выполнили вход в качестве администратора.
2. Поместите компакт-диск с программным обеспечением CFX Manager в устройство чтения компакт-дисков компьютера.
3. Автоматически откроется страница запуска программного обеспечения. На ней дважды щелкните **Установить программное обеспечение** (Рис. 6).

Пояснение. Нажмите кнопку **Documentation (Документация)** для доступа к копиям инструкций по приборам в формате PDF и другой документации.

4. Выполните действия, указанные на экране, чтобы завершить процесс установки. После завершения на рабочем столе компьютера появятся значок программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager.
5. Если страница запуска не появится автоматически, дважды щелкните (**устройство чтения компакт-дисков**):\Bio-Rad CFX, затем откройте файл Readme.txt и следуйте указанным инструкциям. См. "Установка программного обеспечения вручную" на стр. 153.



Рис. 6. Экран установки программного обеспечения.

## Установка драйверов

Если системе CFX96 Touch или CFX384 Touch будет работать в **режиме управления программного обеспечения**, на компьютере должны быть установлены драйверы. Используйте только кабель USB, поставляемый с прибором. Он достаточно экранирован, что позволяет избежать потери данных.

### Чтобы установить системные драйверы:

1. Подсоедините базу термоциклера C1000 Touch к компьютеру, для чего вставьте кабель USB в порт USB 2.0, расположенный на задней панели базы (Рис. 3), и подсоедините его к компьютеру через порт USB 2.0 В.
2. Если прибор не включен, включите его с помощью выключателя, расположенного на задней панели базы термоциклера C1000 Touch. Следуйте инструкциям **Мастера нового оборудования**, который запускается при первом определении прибора компьютером.
3. На первом экране выберите **Да, только в этот раз**, чтобы операционная система Microsoft Windows выполнила подключение к Центру обновления Windows для поиска программного обеспечения. Нажмите **Далее**.
4. Укажите мастеру, что требуется **“Автоматическая установка”**. Нажмите **Далее**, чтобы продолжить установку драйверов.
5. Нажмите **Готово** на экране завершения установки программного обеспечения после установки драйверов.

## Программные файлы

Программное CFX Manager хранит информацию о прогонах в специальных файлах (Табл. 7):

**Табл. 7. Открывайте файлы следующих типов с помощью программы CFX Manager**

Тип файла	Расширение	Способ просмотра и редактирования файла
Протокол	.prcl	Выберите в окне Создать прогон и отредактируйте в окне Редактор протокола
Плашка	.pltd	Выберите в окне Создать прогон и отредактируйте в окне Редактор плашки
Данные	.pcrd	Просмотрите и проанализируйте в окне Анализ данных
Исследование гена	.mgxd	Просмотрите и проанализируйте в окне Исследование гена
Файл отдельного прогона	.zpcr	Содержит чтения флуоресценции, полученные в ходе автономного прогона и преобразованные в файл данных
LIMS	.plrn	Содержит схему плашки и информацию протокола, требующиеся для выполнения прогона, совместимого с LIMS

## Проведение экспериментов

### Рекомендованные расходные материалы из пластика

Для оптимальных результатов компания Bio-Rad рекомендует использовать следующие расходные материалы для системы CFX384 Touch (номера по каталогу указаны полужирным шрифтом):

- **HSP-3805.** Низкопрофильные 384-луночные плашки Hard-Shell® с прозрачными стенками и белыми лунками
- **HSP-3866.** Низкопрофильные 384-луночные плашки Hard-Shell с черными стенками и белыми лунками
- **MSB-1001.** Клейкие пленки для герметизации Microseal “B”, оптически прозрачные

В системе CFX96 Touch используются низкопрофильные плашки и пробирки по 0,2 мл. Для оптимальных результатов компания Bio-Rad рекомендует использовать следующие расходные материалы:

- **MLL-9601.** Низкопрофильные 96-луночные плашки “без юбки” с прозрачными лунками
- **MLL-9651.** Низкопрофильные 96-луночные плашки “без юбки” с белыми лунками
- **HSP-9601.** 96-луночные плашки “с юбкой” Hard-Shell с прозрачными стенками и белыми лунками
- **HSP-9655.** 96-луночные плашки “с юбкой” Hard-Shell с белыми стенками и лунками
- **TLS-0801.** Низкопрофильные стрипы для 8 пробирок по 0,2 мл с прозрачными лунками, без колпачков
- **TLS-0851.** Низкопрофильные стрипы для 8 пробирок по 0,2 мл с белыми лунками, без колпачков
- **TCS-0803.** Оптически плоские стрипы для 8 пробирок по 0,2 мл и плашек, с колпачками
- **MSB-1001.** Клейкие пленки для герметизации Microseal “B”, оптически прозрачные

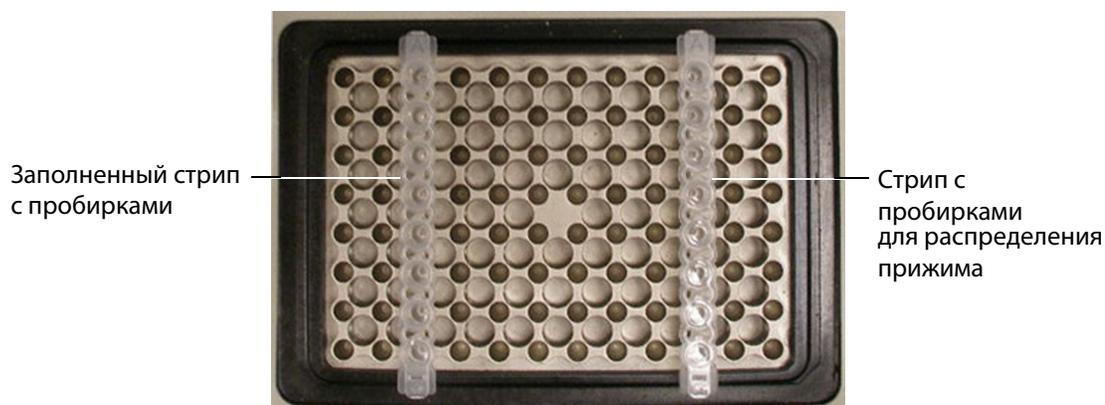
## Загрузка блока

Чтобы загрузить реакции в блок, выполните следующие действия:

- Нажмите кнопку **Открыть крышку**, расположенную на вкладке Начать прогон (см. “Вкладка Начать прогон” на стр. 28), или нажмите кнопку открытия крышки на передней панели системы (Рис. 1), чтобы открыть моторизованную крышку.
- Поместите в блок плашку с лунками по 0,2 мл или стрипованные герметично закрытые пробирки. Убедитесь, что пробирки герметично закрыты и не произойдет протекания. Для оптимальных результатов используйте пробы объемом 10–15 мкл для системы CFX96 Touch и 5–20 мкл для системы CFX384 Touch.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Для точного анализа данных проверьте соответствие ориентаций проб в блоке и содержимого лунок на вкладке программы Плашка (см. “Вкладка Плашка” на стр. 27). При необходимости отредактируйте содержимое лунок до, во время и после прогона.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** При использовании системы CFX96 Touch всегда уравнивайте стрипы с пробирками или неполные микропланшеты в лунках (Рис. 7). Например, при использовании одного стрипа с пробирками в левой части блока поместите пустой стрип с пробирками (с колпачками) в правую часть блока, чтобы уравновесить давление, создаваемое нагревающейся крышкой.



**Рис. 7. Уравновесить в блоке стрипы с пробирками или неполные микропланшеты.**

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Убедитесь, что ничто не препятствует закрытию крышки. Хотя в системе предусмотрен механизм безопасности, который останавливает крышку при встрече с препятствием, следите, чтобы ничто не препятствовало ее закрытию.

## Выключение системы

Чтобы выключить систему CFX96 Touch, выполните следующие шаги:

- После прогона нажмите кнопку открытия крышки на передней части системы CFX96 Touch для доступа к пробам, загруженным в блок термоциклера.
- Извлеките пробы из блока и нажмите кнопку закрытия крышки, чтобы закрыть крышку CFX96 Touch.

Нажмите выключатель питания на задней панели термоциклера C1000 Touch для выключения системы.

## 2 Программное обеспечение CFX Manager™

---

В этой главе описывается начало работы с программным обеспечением CFX Manager.

- Основное окно программы (стр. 12)
- Мастер запуска (стр. 15)
- Панель Обнаруженные приборы (стр. 16)
- Строка состояния (стр. 17)
- Окно Свойства прибора (стр. 17)
- Калькулятор основной смеси (стр. 20)
- Планировщик (стр. 21)
- Пояснения и советы (стр. 24)

## Основное окно программы

Функции, доступные в основном окне программы, указаны на Рис. 8

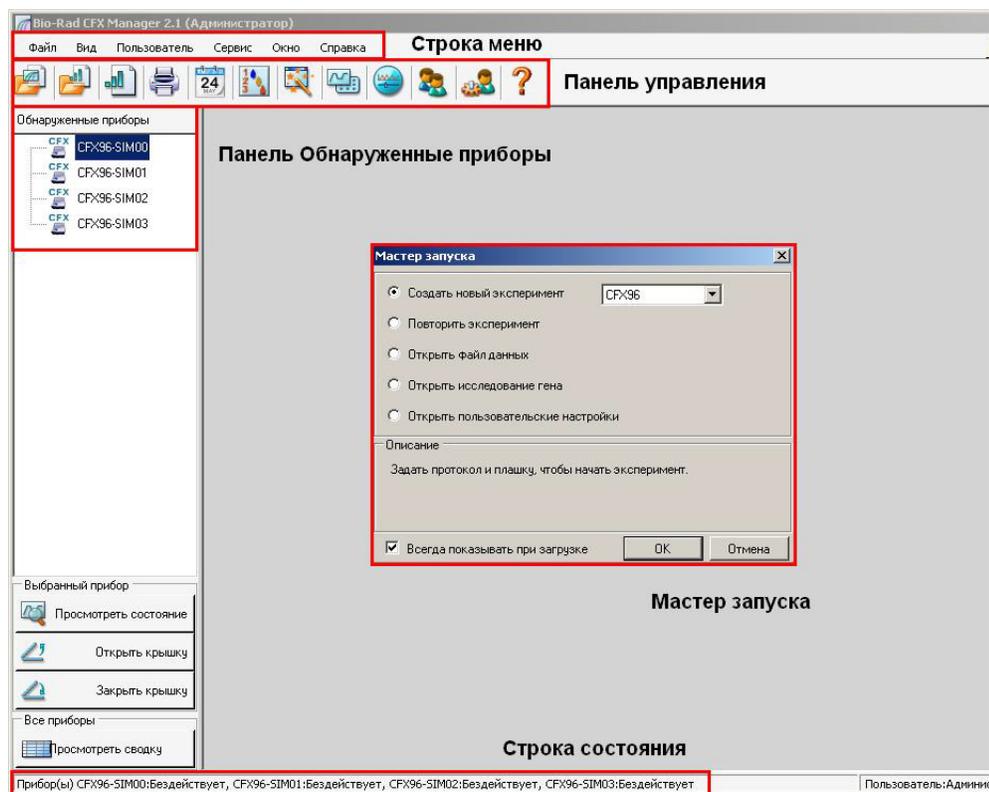


Рис. 8. Основное окно программы.

## Строка меню

Строка меню основного окна программы содержит элементы, перечисленные в Табл. 8.

Табл. 8. Пункты строки меню в основном окне программы.

Пункт меню	Команда	Функция
Файл	Создать	Создает новые протокол, плашку, прогон или исследование гена.
	Открыть	Открывает существующие файлы, включая файлы протоколов (.prcl), плашек (.pltd), данных (.pcrd), исследований гена (.mgxd) и автономных прогонов (.zpcr).
	Последние файлы данных	Отображает список из десяти последних файлов, из которых можно выбрать файл для открытия в окне Анализ данных.
	Повторить прогон	Открывает окно Создать прогон с протоколом и плашкой из завершеного прогона, что позволяет быстро повторить прогон.
	Выход	Выход из программы.

**Табл. 8. Пункты строки меню в основном окне программы. (продолжение)**

<b>Пункт меню</b>	<b>Команда</b>	<b>Функция</b>
Вид	Журнал приложения	Отображает журнал приложения для программы.
	Отчеты о прогонах	Отображает выбранный из списка отчет о прогонах.
	Мастер запуска	Открывает Мастер запуска.
	Создать прогон	Открывает окно Создать прогон.
	Приборы	Открывает окно Приборы.
	Обнаруженные приборы	Отображает или скрывает панель Обнаруженные приборы.
	Панель управления	Отображает или скрывает панель управления в основном окне программы.
	Строка состояния	Отображает или скрывает строку состояния в основном окне программы.
Пользователь	Выбрать пользователя	Открывает окно Выбрать пользователя для смены пользователей программы.
	Изменить пароль	Позволяет изменить пароль пользователя.
	Пользовательские настройки	Открывает окно Пользовательские настройки.
	Администрирование пользователей	Открывает окно Администрирование пользователей для управления пользователями.
Сервис	Мастер калибровки красителей	Открывает окно Калибровка красителя для калибровки прибора для нового флуорофора.
	Мастер создания протокола	Открывает окно Мастер создания протокола для создания нового протокола.
	Калькулятор температуры отжига	Открывает окно Калькулятор температуры отжига для расчета температуры отжига праймеров.
	Планировщик	Открывает Планировщик для распределения времени использования прибора.
	Калькулятор основной смеси	Открывает калькулятор Препарата основной смеси.
	Просмотр журнала состояний блока	Отображает журнал блока термоциклера.
	Папка данных приложения	Открывает папку данных приложения для просмотра файлов программы.
	Папка данных пользователя	Открывает папку данных для просмотра файлов протоколов, плашек или данных.
	Папка файла LIMS	Открывает папку LIMS.
	Журнал прогона	Показывает все файлы данных в папке Журнал прогона.
	Свойства всех приборов	Отображает свойства всех обнаруженных приборов, в том числе их серийные номера.
	Архивы данных и файлы журналов	Позволяет выбрать и добавить файлы в архив для хранения или отправки по электронной почте.
	Параметры	Позволяет сконфигурировать настройки электронной почты и LIMS в программе.

**Табл. 8. Пункты строки меню в основном окне программы. (продолжение)**

Пункт меню	Команда	Функция
Окно	Каскад	Располагает все окна программы одно на другом.
	Сверху вниз	Располагает все окна программы сверху вниз.
	Справа налево	Располагает все окна программы справа налево.
	Заккрыть все	Закрывает все открытые окна программы.
Справка	Содержимое	Открывает справку по программе, в которой можно получить подробную информацию по проведению ПЦР, в том числе в реальном времени.
	Указатель	Отображает указатель в справке по программе.
	Поиск	Позволяет провести поиск справки по программе.
	Веб-сайт – введение в экспрессию гена	Открывает веб-сайт, на котором можно найти информацию по проведению прогонов ПЦР, в том числе в реальном времени.
	Веб-сайт реагентов ПЦР	Открывает веб-сайт, на котором перечислены реагенты Bio-Rad ПЦР, в том числе ПЦР в реальном времени.
	Веб-сайт расходных материалов ПЦР из пластика	Открывает веб-сайт, на котором перечислены расходные материалы компании Bio-Rad для прогонов ПЦР, в том числе ПЦР в реальном времени.
	Веб-сайт программного обеспечения	Открывает веб-сайт, на котором перечислено программное обеспечение для амплификации Bio-Rad ПЦР, в том числе ПЦР в реальном времени.
	Проверка обновлений	Осуществляет проверку обновлений программного обеспечения или прибора.
О программе	Открывает окно, в котором указана версия программы.	

## Кнопки панели управления

Для быстрого доступа к основным командам программы используйте кнопки на панели управления в основном окне программы (Табл. 9).

**Табл. 9. Кнопки панели управления в основном окне программы.**

Кнопка	Название кнопки	Функция
	Открыть файл данных	Открывает окно проводника, в котором можно выбрать файл данных (с расширением *.pcrd) и открыть его в окне Анализ данных.
	Открыть исследование гена	Открывает окно проводника, в котором можно выбрать файл исследования гена (с расширением *.mgxd) и открыть его в окне Исследование гена.
	Создать новое исследование гена	Открывает окно Исследование гена, в котором можно добавить файлы и создать новое исследование гена.

Табл. 9. Кнопки панели управления в основном окне программы. (продолжение)

Кнопка	Название кнопки	Функция
	Печать	Выводит на печать текущее окно программы.
	Планировщик	Открывает Планировщик для распределения времени работы прибора ПЦР.
	Калькулятор основной смеси	Открывает окно Калькулятор основной смеси для определения реакционных смесей.
	Мастер запуска	Открывает Мастер запуска, обеспечивающий быстрый доступ к часто используемым функциям программы.
	Создать прогон	Открывает окно Создать прогон для создания прогона.
	Мастер создания протокола	Открывает окно Мастер создания протокола для создания нового протокола.
	Выбрать пользователя	Открывает окно Выбрать пользователя для смены пользователей программы.
	Пользовательские настройки	Открывает окно Пользовательские настройки.
	Справка	Открывает окно справки к программе, в которой можно получить подробную информацию по проведению ПЦР, в том числе в реальном времени.

## Мастер запуска

При первом запуске программного обеспечения CFX Manager автоматически открывается Мастер запуска. Если он не появляется, нажмите кнопку **Мастер запуска** на панели управления в основном окне программы.

Мастер запуска позволяет выполнить следующие действия:

- **Создать новый прогон (стр. 25).** Задать протокол и плашку, чтобы начать новый прогон  
 ПРИМЕЧАНИЕ. Необходимо выбрать нужный прибор из раскрывающегося списка, чтобы убедиться, что настройки плашки по умолчанию совпадают с настройками, необходимыми для прогона.

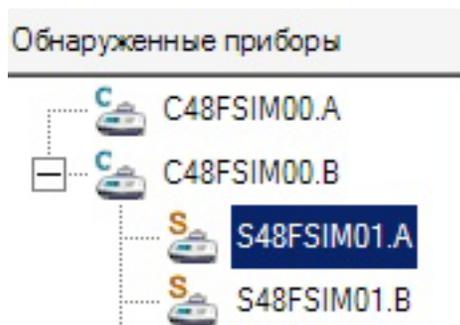
- **Повторить прогон.** Создает прогон с протоколом и плашкой из завершеного прогона. При необходимости можно отредактировать прогон перед началом
- **Открыть файл данных (стр. 69).** Открывает файл данных для анализа результатов
- **Открыть исследование гена (стр. 116).** Открывает исследование экспрессии гена из нескольких файлов для анализа результатов нескольких прогонов экспрессии гена
- **Открыть пользовательские настройки (стр. 130).** Открывает окно Пользовательские настройки для изменения настроек программы

## Панель Обнаруженные приборы

Подсоединенные приборы отображаются в панели Обнаруженные приборы (Рис. 9). Этот список содержит все приборы, представленные значками, имена которых являются серийными номерами (по умолчанию). Список приборов также содержит отдельные блоки (блок А и блок В) каждого двойного реакционного модуля, установленного на термоциклер C1000™ или S1000™.

На Рис. 9 показано четыре обнаруженных прибора:

- один термоциклер C1000 (C48FSIM00) с двойным реакционным модулем 48/48;
- один термоциклер S1000 (S96FSIM01) с 96-луночным блоком, который подсоединен к термоциклеру C1000 C48FSIM00;
- одна система CFX384 (CFX384SIM03);
- одна система CFX96 (CFX96SIM02).

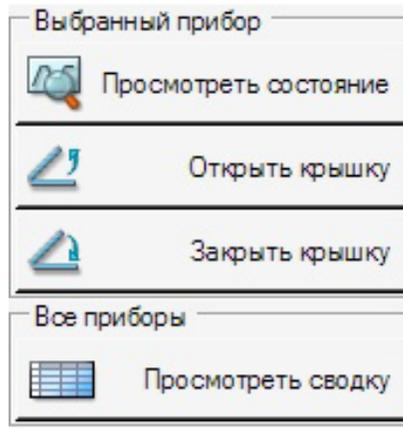


**Рис. 9. Приборы, перечисленные на панели Обнаруженные приборы.**

Щелкните правой клавишей мыши значок прибора или блок и выберите одно из следующих действий:

- **Просмотреть состояние.** Открывает окно Детали прогона для проверки состояния выбранного блока прибора
- **Зажечь индикатор блока.** Зажигает индикатор на приборе
- **Открыть крышку.** Открывает моторизованную крышку выбранного блока прибора
- **Закрыть крышку.** Закрывает моторизованную крышку выбранного блока прибора
- **Переименовать.** Позволяет изменить имя прибора
- **Свойства.** Открывает окно Свойства прибора
- **Свернуть все.** Сворачивает список приборов в панели Обнаруженные приборы
- **Развернуть все.** Разворачивает список приборов в панели Обнаруженные приборы

Чтобы выполнить действия с блоком, щелкните значок блока прибора в панели Обнаруженные приборы и нажмите кнопку на панели Выбранный прибор (Рис. 10).



**Рис. 10. Кнопки в нижней части панели Обнаруженные приборы.**

- Чтобы открыть окно Детали прогона для проверки состояния выбранного блока прибора, нажмите **Просмотреть состояние**
- Чтобы открыть моторизированную крышку на выбранном приборе, нажмите **Открыть крышку**
- Чтобы закрыть моторизированную крышку на выбранном приборе, нажмите **Заккрыть крышку**
- Чтобы открыть окно Свойства прибора, нажмите **Просмотреть сводку**

Если обнаружен только один прибор, кнопка **Просмотреть сводку** недоступна. Чтобы открыть окно Приборы для одного инструмента, выберите **Вид > Приборы**.

## Строка состояния

В левой части строки состояния внизу основного окна программы указывается текущее состояние приборов. В правой части строки состояния указываются имя текущего пользователя, дата и время. Нажмите и перетаскивайте нижний правый угол строки состояния, чтобы изменить размер основного окна.

## Окно Свойства прибора

Чтобы открыть окно Свойства прибора и просмотреть информацию о нем, щелкните правой кнопкой мыши значок прибора в панели Обнаруженные приборы (Рис. 9). Окно содержит три вкладки (Рис. 11):

- **Свойства.** Просмотреть серийные номера и имя термоциклера C1000 Touch
- **Транспортировочный винт.** Позволяет вынуть транспортировочный винт при работе с прибором или установить его при необходимости транспортировки прибора

- **Калиброванные красители.** Отображает список калиброванных флуорофоров

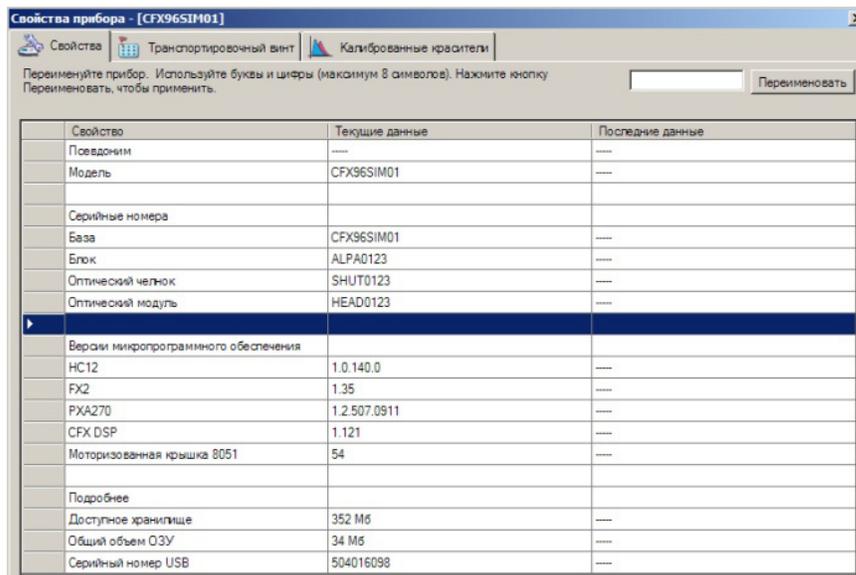


Рис. 11. Окно Свойства прибора.

## Вкладка Свойства

По умолчанию в качестве имени термоциклера C1000 Touch используется его серийный номер, который отображается в программе, в том числе и в панели Обнаруженные приборы (Рис. 9).

Чтобы переименовать прибор для упрощения идентификации, выполните следующие действия:

- В верхней части вкладки Свойства прибора введите имя в поле **Переименовать** и нажмите кнопку **Переименовать**, чтобы сохранить новое имя

На вкладке Свойства отображаются важные серийные номера подсоединенного прибора, в том числе термоциклера и реакционного модуля. Также указаны версии микропрограммного обеспечения.

## Вкладка Транспортировочный винт

Вкладка Транспортировочный винт содержит инструкции по установке или извлечению красного транспортировочного винта. Чтобы предотвратить повреждение оптических реакционных модулей, необходимо устанавливать транспортировочный винт перед каждой транспортировкой систем CFX96 Touch и CFX384 Touch.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Если программой обнаружен транспортировочный винт, при открытии окна Свойства прибора в качестве первой вкладки будет отображена вкладка Транспортировочный винт. Выполните инструкции по извлечению винта.

Информация на вкладке изменяется в зависимости от положения транспортировочного винта – установлен он или нет. Например, чтобы установить транспортировочный винт, нажмите кнопку **Установить транспортировочный винт** и выполните инструкции (Рис. 12).

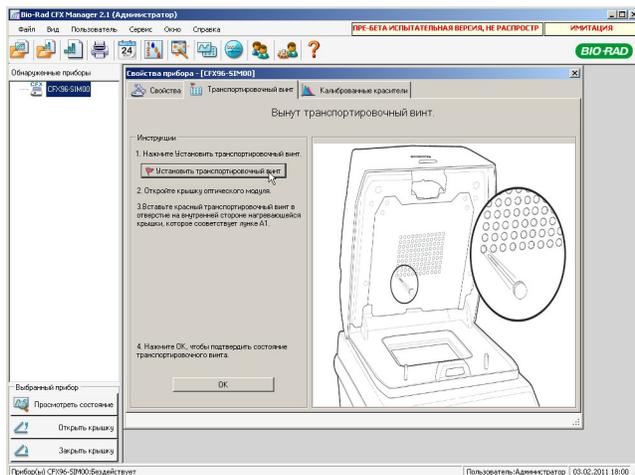


Рис. 12. Инструкции по установке транспортировочного винта.

## Вкладка Калиброванные красители

Откройте вкладку Калиброванные красители (Рис. 13), чтобы просмотреть калиброванные флуорофоры и плашки для выбранного прибора. Чтобы просмотреть подробную информацию о калибровке, нажмите кнопку **Информация**.

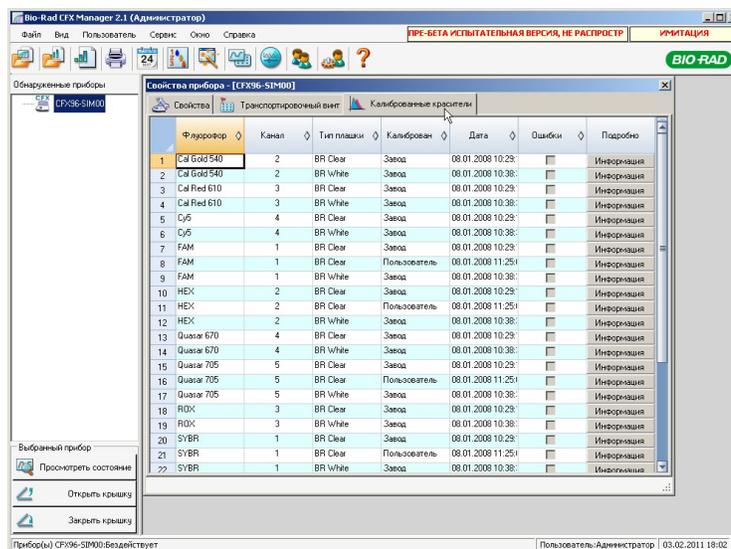


Рис. 13. Вкладка Калиброванные красители в окне Свойства прибора.

## Калькулятор основной смеси

Чтобы открыть калькулятор основной смеси, нажмите кнопку Калькулятор основной смеси на панели управления (Табл. 9) или выберите **Сервис > Калькулятор основной смеси** из основного окна.

**Калькулятор основной смеси**

Реакция  
Метод определения:  SYBR Green/EvaGreen  Зонды

Мишень  
Создать SYBR\_target\_1 Удалить Удалить все

Начальная концентрация  
Прямой праймер : 10 пмоль/мкл (м)  
Обратный праймер : 10 пмоль/мкл (м)  
Зонд : 10 пмоль/мкл (м)

Окончательная концентрация  
200 нМ  
200 нМ  
200 нМ

Создание основной смеси  
Число реакций: 96  
Объем реакции на лунку: 20 мкл  
Объем шаблона: 1,0 мкл  
Концентрация суперсмеси: 2,0 X  
Избыток объема реакции: 5 %

Выберите мишень для расчета  
 SYBR\_target\_1

Компонент	Объем на реакцию (мкл)	Общий объем для 96 реакций + (5)%
▶ Суперсмесь (2 x)	10,000	1008,0
10 мкмоль/л Прямой праймер...	0,400	40,3
10 мкмоль/л Обратный прайм...	0,400	40,3
Шаблон	(1,00)	(100,8)
Вода	8,200	826,6
Общий объем (исключая шабл...	19,000	1915,2
*		

Печать Задать как Восстановить значения OK Отмена

**Рис. 14. Окно Калькулятор основной смеси.**

Чтобы задать реакционную основную смесь:

1. Выберите метод определения SYBR® Green/EvaGreen или Зонды.
2. Измените имя мишени по умолчанию, выделив имя мишени в раскрывающемся списке мишеней, введя новое имя мишени в поле **Мишень**, затем нажав клавишу Enter на клавиатуре.
3. Введите начальную и конечную концентрации для прямого и обратного праймеров и зондов.

4. Можно добавить дополнительные мишени, нажав кнопку **Создать**. Чтобы удалить мишени, выберите мишень с помощью раскрывающегося списка мишеней и щелкните **Удалить**.  
**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** При удалении мишени из списка мишеней она автоматически удаляется из всех расчетов основных смесей, в которых используется.
5. Скорректируйте концентрацию суперсмеси, объем реакции на лунку, избыток объема реакции, объем шаблона, который будет добавлен в каждую ячейку и число реакций, прогон которых будет осуществлен.
6. Установите флажок рядом с мишенью (только одна может быть выбрана для основной смеси SYBR<sup>®</sup> Green/EvaGreen) или мишенями (для мультиплексных реакций зонда). Перечислены вычисленные объемы соединений, требуемых для основной смеси.
7. Для печати таблицы расчетов основной смеси щелкните **Печать**.
8. Нажмите кнопку **Задать как значение по умолчанию** для установки количеств ввода в разделах Мишень и Создание основной смеси как новых значений по умолчанию.
9. Для сохранения содержимого окна Калькулятор основной смеси щелкните **ОК**.

## Планировщик

Используйте Планировщик для резервирования доступа к прибору(ам). Для доступа к Планировщику щелкните кнопку Планировщика на панели управления (Табл. 9) или выберите **Сервис > Планировщик** из основного окна.

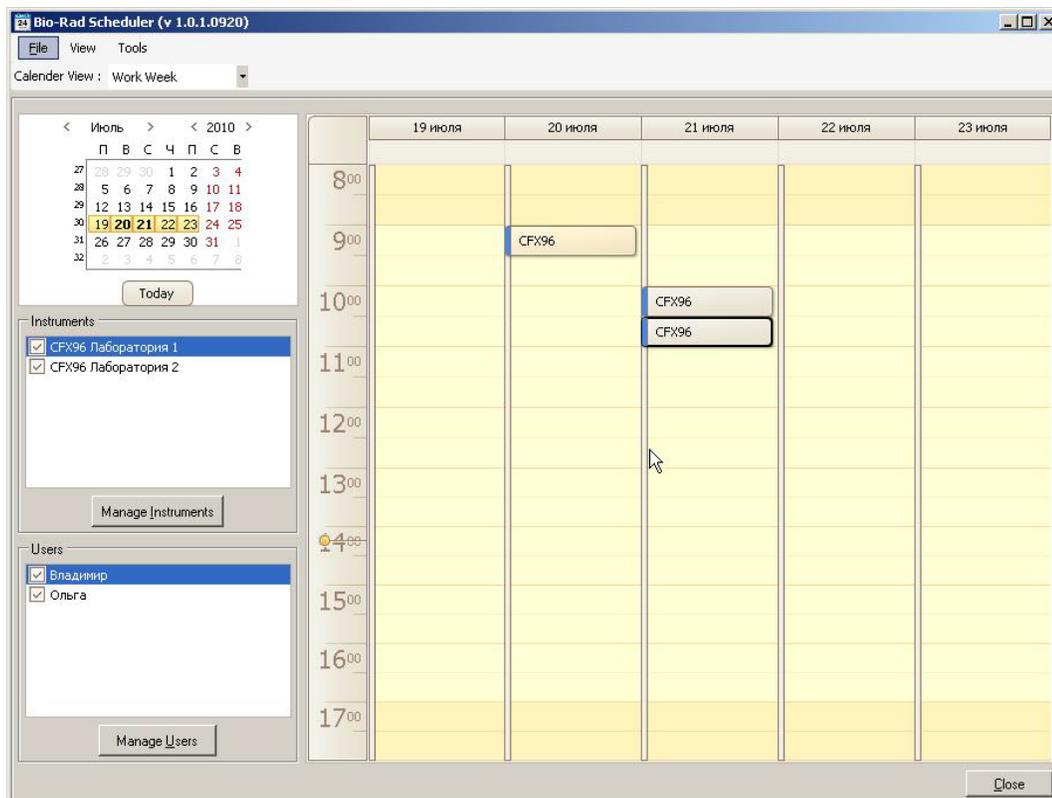
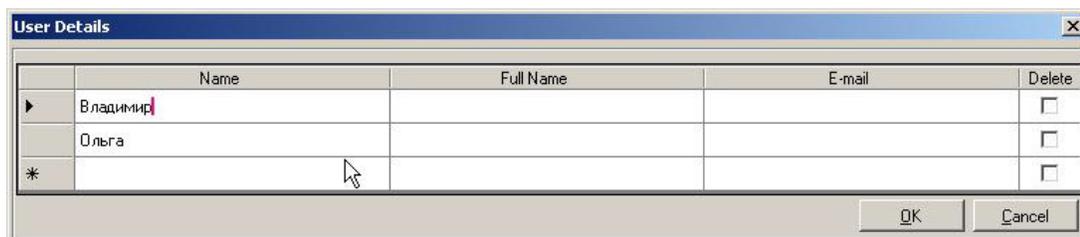


Рис. 15. Основное окно Планировщика

## Настройка Планировщика

1. При первом открытии Планировщика все пользователи, приборы и настройки электронной почты SMTP будут импортированы из программы CFX Manager.
2. Чтобы добавить новый инструмент, выберите **Вид > Сведения о приборе** или нажмите кнопку **Управление приборами** под списком приборов (Рис. 15) в основном окне планировщика. В окне Сведения о приборе введите имя прибора в столбец Имя. Выберите модель из раскрывающегося меню или оставьте поле пустым, чтобы запланировать не перечисленные в списке типы приборов. Можно ввести серийные номера базы и оптической головки.
3. Чтобы добавить нового пользователя, выберите **Вид > Сведения о пользователе** или нажмите кнопку **Управление пользователями** под списком пользователей. В окне Сведения о пользователе (Рис. 16) введите имя нового пользователя в столбец Имя. Можно ввести адрес электронной почты, чтобы использовать возможность отправки электронных уведомлений.  
**ПРИМЕЧАНИЕ.** Требуется настроить сервер SMTP, чтобы включить электронные уведомления.



**Рис. 16. Окно Планировщика Сведения о пользователе**

4. Чтобы удалить прибор или пользователя, откройте соответствующее окно сведений и установите соответствующий флажок в столбце Удалить.  
**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Все события, связанное с этим прибором или пользователем, будут удалены из календаря.

## Строка меню Планировщика

Содержимое строки меню Планировщика приведено в Табл. 10.

Табл. 10. Пункты строки меню в окне Планировщик.

Пункт меню	Команда	Функция
Файл	Print Preview	Открывает окно предварительного просмотра для корректировки настроек печати.
	Print	Печатает календарь, как он выглядит на экране.
	Exit	Закрывает Планировщик.
Вид	Instrument Details	Открывает окно сведений о приборе для просмотра, изменения, добавления или удаления имени, модиле или серийных номерах базы или оптической головки.
	User Details	Открывает окно сведений о пользователе для просмотра, изменения, добавления или удаления пользователей Планировщика.
	Log File	Позволяет просмотреть журнал действий Планировщика.
Сервис	Import from CFX Manager	Импорт приборов, пользователей или настроек электронной почты SMTP из программы CFX Manager.
	Cleanup Events	Удаляет из календаря события, устаревшие более чем на период времени, указанный в окне параметров.
	Options	Открывает окно для указания настроек календаря по умолчанию, создает значок на рабочем столе, позволяет выбрать выполнение Планировщика при запуске программы и определяет параметры очистки.

## Вход в события Планировщика

Чтобы запланировать событие:

1. Дважды щелкните соответствующую ячейку в календаре или нажмите правую клавишу и выберите **New Event (Новое событие)**.
2. Выберите прибор и пользователя из раскрывающегося списка (Рис. 17).
3. Скорректируйте время начала и завершения. После появления события в календарном виде его можно переместить в другой временной период, нажав и перетаскивая запись на новую позицию в календаре.
4. Назначьте цвет этому событию (на выбор).
5. Чтобы включить электронное письмо или всплывающее напоминание, которое будет появляться в заданное время перед началом события, установите флажок **Reminder (Напоминание)** и выберите из раскрывающегося списка, за какой период времени до события должно появляться напоминание.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Чтобы напоминание активировалось, должен быть запущен Планировщик. При свернутом окне Планировщика всплывающие напоминания и напоминания по электронной почте смогут появляться в запланированное время. Выберите **Close (Закреть)**, чтобы выйти из Планировщика.

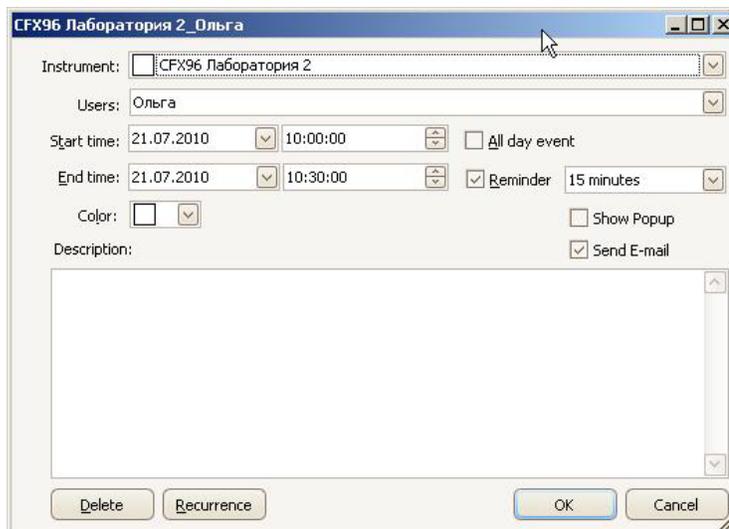


Рис. 17. Окно Планировщика Новое событие

## Очистка событий

Выберите **Tools (Сервис) > Cleanup Events (Очистка событий)** для удаления из календаря событий, устаревших более чем на период времени, указанный в окне параметров.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Будет удалены все события, созданные ранее указанного периода.

## Параметры планировщика

Выберите **Tools (Сервис) > Options (Параметры)** для определения настроек отображения, очистки и запуска Планировщика. Щелкните **Restore Defaults (Восстановить)**, чтобы восстановить настройки Планировщика по умолчанию.

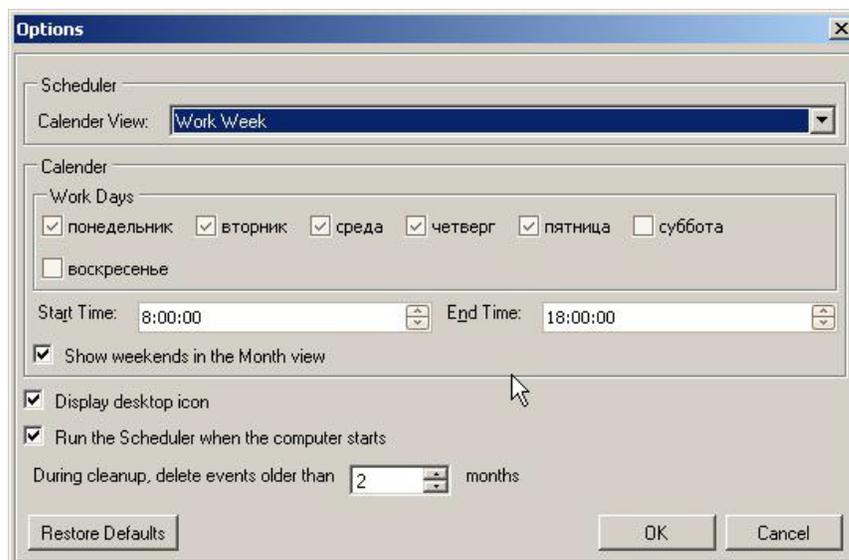


Рис. 18. Окно Параметры Планировщика.

## 3 Выполнение прогонов

---

Прочитайте эту главу для получения информации о выполнении прогонов с использованием программного обеспечения CFX Manager:

- Окно Создать прогон (стр. 25)
- Вкладка Протокол (стр. 26)
- Прогон только в конечной точке (стр. 27)
- Вкладка Плашка (стр. 27)
- Вкладка Начать прогон (стр. 28)
- Окно Детали прогона (стр. 29)
- Окно Приборы (стр. 32)

### Окно Создать прогон

Окно Создать прогон обеспечивает быстрый доступ к файлам и настройкам, необходимым для создания и запуска прогона. Чтобы открыть окно Создать прогон, выберите один из следующих вариантов:

- Выберите вариант **Создать новый прогон** в Мастере запуска (стр. 16)
- Нажмите кнопку **Создать прогон** на панели управления основного окна программы (стр. 14)
- Выберите **Файл > Создать > Прогон** в строке меню основного окна программы (стр. 12)

Окно Создать прогон содержит три вкладки:

- **Протокол.** Щелкните вкладку Протокол, чтобы выбрать существующий протокол для запуска или редактирования, или чтобы создать новый протокол в окне Редактор протокола (стр. 35)
- **Плашка.** Щелкните вкладку Плашка, чтобы выбрать существующую плашку для запуска или редактирования, или чтобы создать новую плашку в окне Редактор плашки (стр. 43)
- **Начать прогон.** Щелкните вкладку Начать прогон (стр. 28), чтобы проверить настройки прогона, выбрать один или несколько блоков приборов и начать прогон

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Если протокол, выбранный в настоящий момент на вкладке Протокол, не содержит шаг с чтением плашки для анализа ПЦР в реальном времени, тогда вкладка Плашка скрыта. Чтобы отобразить вкладку Плашка, вставьте “Чтение плашки” (стр. 38) по крайней мере в один шаг протокола.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Запустите новый прогон из предыдущего прогона, выбрав **Файл > Повторить прогон** в строке меню основного окна программы. Затем выберите файл данных (.pcrd) для прогона, который требуется повторить.

При открытии окна Создать прогон отображается вкладка Протокол (Рис. 19). Чтобы открыть другую вкладку, можно щелкнуть ее, а также нажатием кнопок **Назад** и **Далее** в нижней части окна можно открывать предыдущую или следующую вкладку.

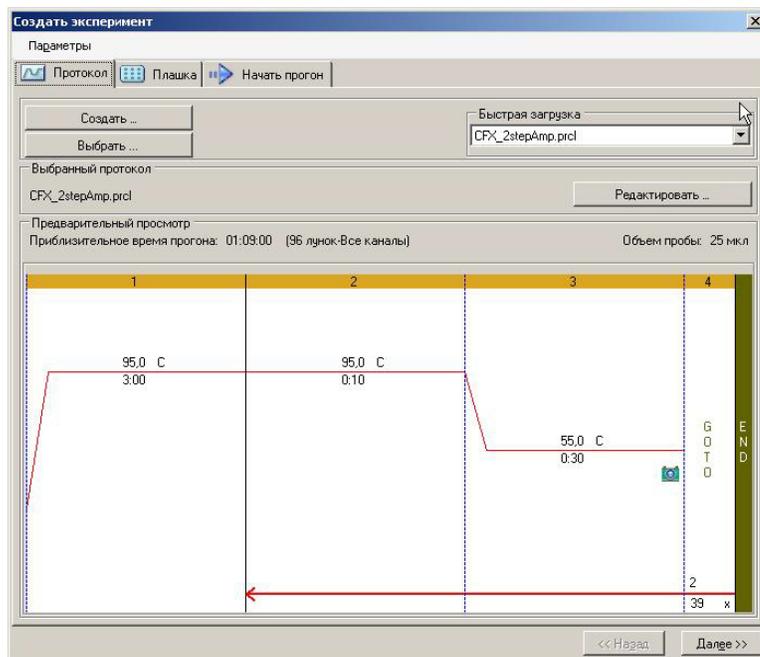


Рис. 19. Окно Создать прогон, включая вкладки Протокол, Плашка и Начать прогон.

## Вкладка Протокол

Вкладка Протокол предлагает предварительный просмотр выбранного файла протокола, загруженного в окно Создать прогон (Рис. 19). Файл протокола содержит инструкции по температурным шагам прибора, а также параметры, управляющие температурой крышки прибора и скоростью нагрева/охлаждения.

Выберите один из следующих вариантов, чтобы создать протокол, выбрать существующий протокол или редактировать выбранный протокол:

- **Кнопка Создать.** Открывает Редактор протокола для создания нового протокола
- **Кнопка Выбрать.** Открывает окно проводника, чтобы выбрать и загрузить существующий файл протокола (с расширением .prcl) на вкладку Протокол
- **Раскрывающееся меню Быстрая загрузка.** Позволяет быстро выбрать протокол для загрузки на вкладку Протокол

Пояснение. Чтобы добавить или удалить протоколы в меню **Быстрая загрузка**, добавьте или удалите файлы плашки (с расширением .prcl) в папку или из папки **ExpressLoad**. Чтобы найти эту папку, выберите **Сервис > Папка данных пользователя** в строке меню основного окна программы

- **Кнопка Редактировать.** Открывает выбранный в текущий момент протокол в окне Редактор протокола

## Прогон только в конечной точке

Для выполнения протокола, который содержит только шаг сбора данных на конечной точке, выберите **Параметры > Прогон только в конечной точке** из Параметров в строке меню окна Создать прогон. Протокол конечной точки по умолчанию, содержащий два цикла 60,0°C в течение 30 секунд, загружается на вкладку Протокол.

Чтобы изменить шаг температуры или объем пробы для прогона только в конечной точке, щелкните вкладку **Начать прогон** и отредактируйте **Температуру шага** или **Объем пробы**.

## Вкладка Плашка

Вкладка Плашка предлагает предварительный просмотр выбранного файла плашки, загруженного в окно Создать прогон (Рис. 20). В прогоне ПЦР в реальном времени файл плашки содержит описание содержимого каждой лунки, режим сканирования и тип плашки. Программное обеспечение CFX Manager использует эти описания для сбора и анализа данных.

Выберите один из следующих вариантов, чтобы создать плашку, выбрать существующую плашку или редактировать выбранную в настоящий момент плашку:

- **Кнопка Создать.** Открывает Редактор плашки для создания новой плашки
- **Кнопка Выбрать.** Открывает окно проводника, чтобы выбрать и загрузить существующий файл плашки (с расширением .pltd) на вкладку Плашка
- **Раскрывающееся меню Быстрая загрузка.** Позволяет быстро выбрать плашку для загрузки на вкладку Плашка

Пояснение. Чтобы добавить или удалить плашки в меню **Быстрая загрузка**, добавьте или удалите файлы плашки (с расширением .pltd) в папку или из папки **ExpressLoad**. Чтобы найти эту папку, выберите **Сервис > Папка данных пользователя** в строке меню основного окна программы

- **Кнопка Редактировать.** Открывает выбранную в настоящий момент плашку в окне Редактор плашки

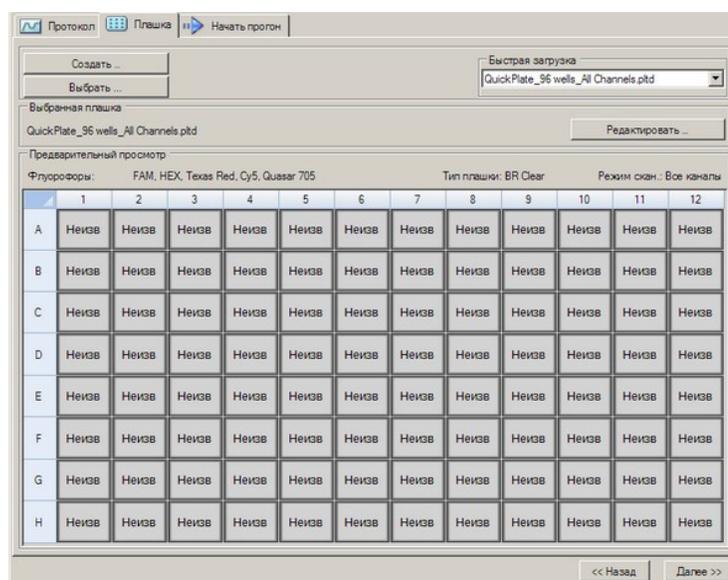


Рис. 20. Окно вкладки Плашка.

## Вкладка Начать прогон

Вкладка Начать прогон (Рис. 21) содержит раздел для проверки информации о прогоне, который требуется выполнить, включая выбранные файлы протокола и плашки, а также раздел для выбора блока прибора.

- **Панель Информация о прогоне.** Просмотр выбранного файла протокола, файла плашки и настройки режима сканирования при сборе данных. При желании можно добавить примечания по прогону в текстовое поле **Примечания**
- **Панель Начать прогон на выбранных блоках.** Выберите один или несколько блоков, отредактируйте параметры прогона (если требуется), затем нажмите кнопку **Начать прогон**, чтобы запустить прогон

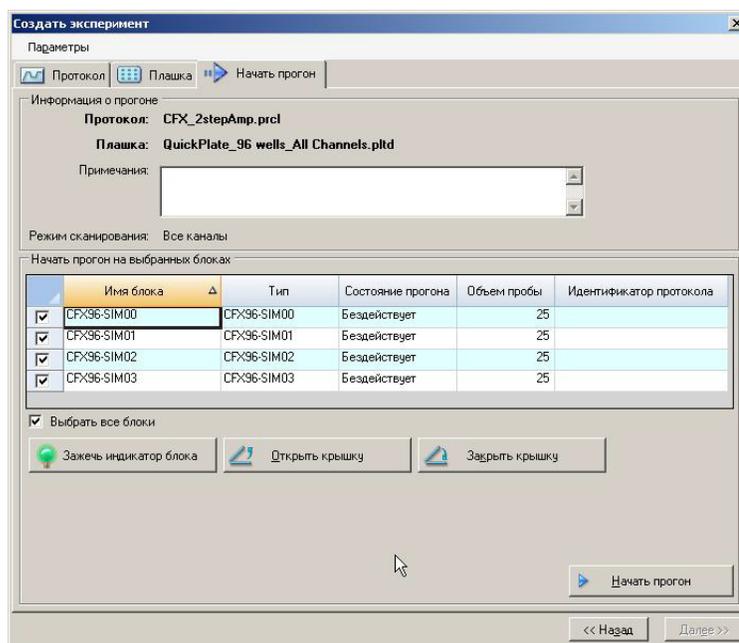


Рис. 21. Вкладка Начать прогон.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Можно перезаписать объем пробы, загруженный в файл протокола, выбрав объем в ячейке электронной таблицы и введя новый объем.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Для каждого блока можно ввести идентификатор прогона, выбрав ячейку и введя идентификатор, или выбрав ячейку и отсканировав идентификатор с помощью считывателя штрих-кода.

Чтобы добавить или удалить параметры из электронной таблицы на панели **Начать прогон на выбранных блоках**, щелкните правой клавишей мыши по списку и выберите параметр в меню для отображения. Выберите значение, которое требуется изменить, щелкнув текст в ячейке, чтобы выбрать его, и введя новое значение в ячейку, или выбрав новый параметр из раскрывающегося меню. Доступные для редактирования параметры:

- **Температура крышки.** Просмотр температуры крышки. Измените температуру крышки, выделив текст и введя новое значение температуры

## Кнопки управления прибором

Используйте следующие кнопки на вкладке Начать прогон для удаленного управления выбранными приборами:

- **Начать прогон.** Запускает прогон на выбранных блоках прибора

- **Зажечь индикатор блока.** Включает индикатор на выбранных блоках приборов
- **Открыть крышку.** Открывает моторизованную крышку на выбранных блоках приборов
- **Закрыть крышку.** Закрывает моторизованную крышку на выбранных блоках приборов

## Окно Детали прогона

При нажатии кнопки **Начать прогон** программное обеспечение CFX Manager предлагает сохранить имя файла данных, а затем открывает окно Детали прогона. Просмотрите информацию в этом окне, чтобы узнать состояние прогона.

- **Вкладка Состояние прогона.** Проверьте текущее состояние протокола, откройте крышку, приостановите прогон, добавьте повторения, пропустите шаги или остановите прогон
- **Вкладка Состояние в реальном времени.** Просматривайте данные флуоресценции ПЦР в реальном времени по мере их сбора
- **Вкладка Время.** Полноэкранный таймер с обратным отсчетом для протокола

На Рис. 22 показаны возможности окна Детали прогона.

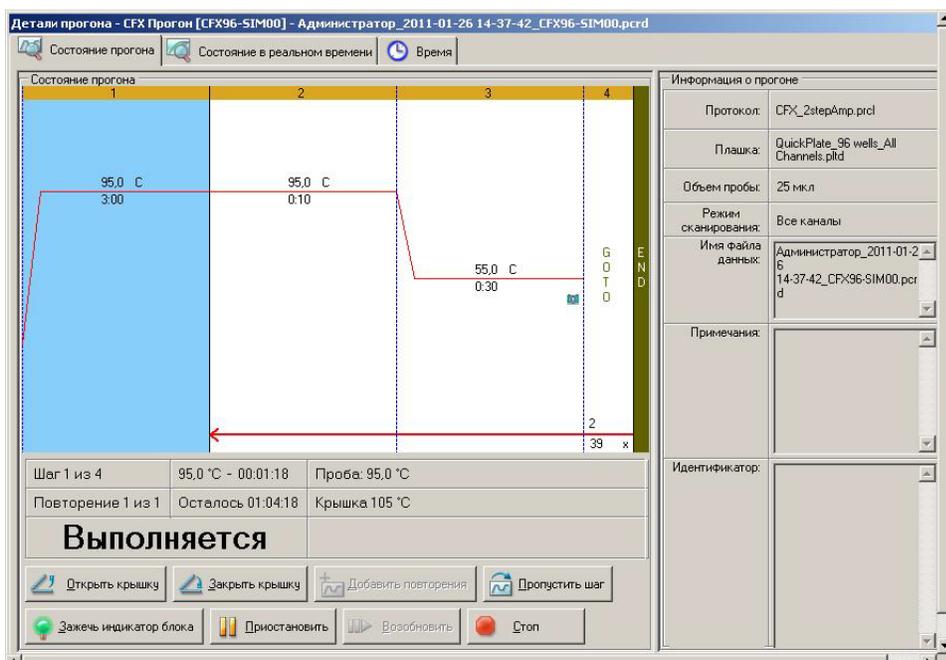


Рис. 22. Окно Детали прогона с открытой вкладкой Состояние прогона.

### Вкладка Состояние прогона

На вкладке Состояние прогона (Рис. 22) показывается текущее состояние выполняемого прогона в окне Детали прогона и содержатся кнопки (ниже) для управления крышкой и изменения выполняемого прогона.

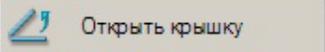
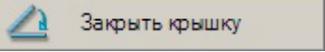
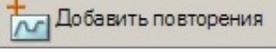
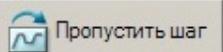
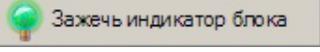
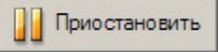
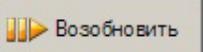
- **Панель Состояние прогона.** Отображает текущий этап выполнения протокола
- **Кнопки на вкладке Состояние прогона.** Используйте эти кнопки для удаленного управления прибором или для прерывания текущего протокола
- **Панель Информация о прогоне.** Отображает подробные сведения о прогоне

## Кнопки на вкладке Состояние прогона

Используйте кнопки, перечисленные в Табл. 11, для управления прибором из программного обеспечения или для изменения выполняемого прогона.

ПРИМЕЧАНИЕ. Изменение протокола по время прогона, например, добавление повторений, не меняет файл протокола, связанный с прогоном. Эти действия записываются в Журнал прогона.

**Табл. 11. Кнопки на вкладке Состояние прогона и их функции.**

Кнопка	Функция
 Открыть крышку	Открывает моторизованную крышку на выбранных приборах. <b>ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!</b> Открытие крышки во время прогона приводит к приостановке прогона на текущем шаге и может оказать влияние на данные.
 Закреть крышку	Закрывает моторизованную крышку на выбранных приборах.
 Добавить повторения	Добавляет повторения к текущему шагу перехода протокола. Кнопка активна только во время выполнения шага перехода.
 Пропустить шаг	Пропускает текущий шаг в протоколе. Если вы пропускаете шаг перехода, программа запрашивает подтверждение, что требуется пропустить всю петлю перехода и перейти к следующему шагу протокола.
 Зажечь индикатор блока	Включает светодиод на выбранном приборе для определения выбранных блоков.
 Приостановить	Приостановка протокола. ПРИМЕЧАНИЕ. Это действие записывается в Журнал прогона.
 Возобновить	Возобновление выполнения приостановленного протокола.
 Стоп	Останавливает прогон до завершения протокола, что может оказать влияние на данные.

## Вкладка Состояние в реальном времени

На вкладке Состояние в реальном времени (Рис. 23) отображаются данные ПЦР в реальном времени, собранные на каждом цикле во время выполнения протокола после двух первых чтений плашки.

Пояснение. Нажмите кнопку **Просмотр/редактирование плашки**, чтобы открыть окно Редактор плашки. Во время прогона можно ввести дополнительную информацию о содержимом каждой лунки на плашке.

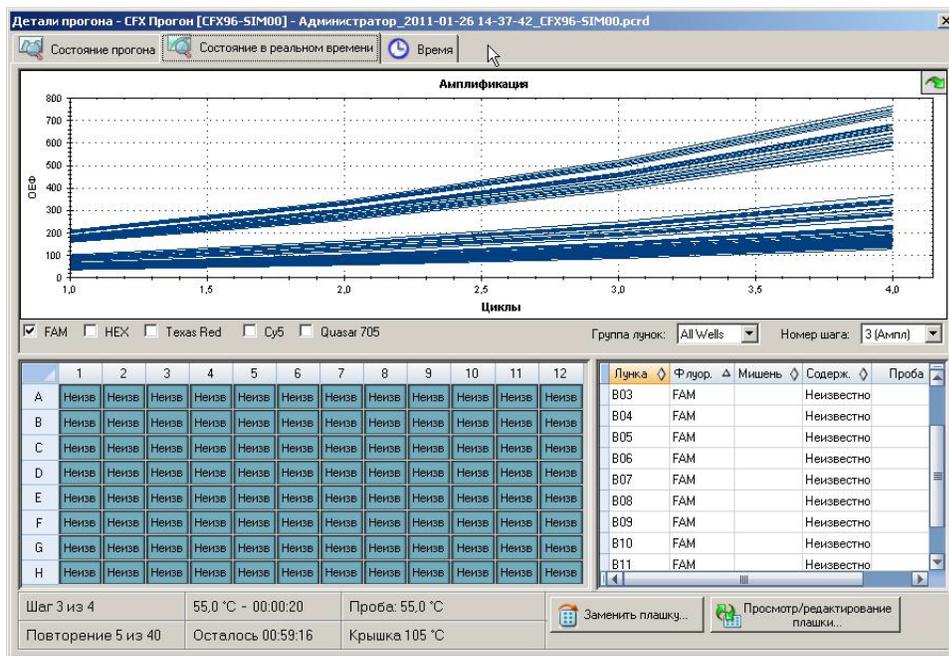


Рис. 23. Вкладка **Состояние в реальном времени** показывает данные во время прогона.

## Замена файла плашки

Во время прогона можно заменить файл плашки, нажав кнопку **Заменить плашку** (Рис. 23) на вкладке **Состояние в реальном времени**. Выберите новый файл плашки (с расширением .pltd) из списка в окне проводника Windows.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Программа CFX Manager проверяет режим сканирования и размер плашки, которые должны соответствовать настройкам прогона, с которыми был начат прогон.

Пояснение. Замена файла плашки особенно полезна, если прогон начат с использованием файла заготовки плашки (Quick Plate) из папки ExpressLoad.

## Редактирование схемы плашки

Схемы плашки можно просмотреть и отредактировать при выполнении прогона, нажав кнопку **Просмотр/Редактирование плашки** на вкладке **Состояние в реальном времени**. Появится окно Редактор плашки, и можно будет совершить изменения, как описано в Главе 5 (Плашки).

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Стили кривых тоже можно изменить из окна Редактор плашки, и все выполненные изменения будут видимыми на графике кривых амплификации на вкладке **Состояние в реальном времени**.

## Вкладка **Время**

На вкладке **Время** отображается таймер с обратным отсчетом для текущего прогона.

## Окно Приборы

Окно Приборы отображает список обнаруженных приборов и их состояние. Откройте окно Приборы, нажав кнопку **Просмотреть сводку** (Рис. 10 на стр. 17) на панели Обнаруженные приборы. Щелкните правой клавишей мыши в окне Приборы для изменения списка отображаемых параметров.

На Рис. 24 показано окно Приборы, включая список имен блоков и текущее состояние всех обнаруженных приборов. Выберите один или несколько блоков и используйте кнопки на панели управления, чтобы изменить состояние каждого прибора.

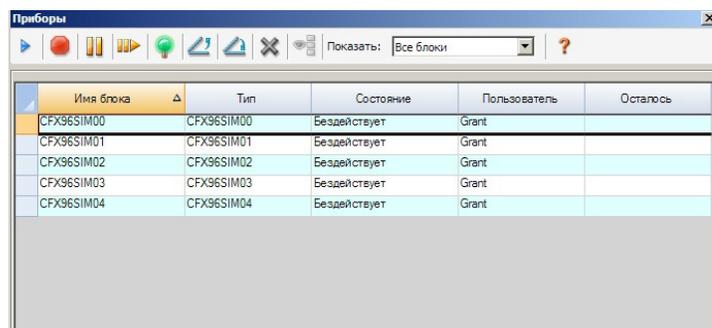


Рис. 24. Окно Приборы.

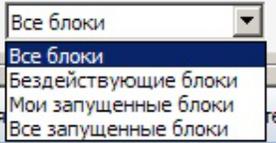
## Панель управления окна Приборы

Панель управления окна Приборы содержит кнопки и функции, перечисленные в Табл. 12.

Табл. 12. Кнопки панели управления в окне Приборы.

Кнопка	Название кнопки	Функция
	Создать прогон	Позволяет создать прогон на выбранном блоке, открывая окно Создать прогон.
	Стоп	Останавливает текущий прогон на выбранных блоках.
	Приостановить	Приостанавливает текущий прогон на выбранных блоках.
	Возобновить	Возобновляет прогон на выбранных блоках.
	Зажечь индикатор блока	Зажигает светодиодный индикатор на крышке выбранных блоков.
	Открыть крышку	Открывает моторизованную крышку выбранного блока.
	Закрыть крышку	Закрывает моторизованную крышку выбранного блока.

**Табл. 12. Кнопки панели управления в окне Приборы. (продолжение)**

Кнопка	Название кнопки	Функция
	Скрыть выбранные блоки	Скрывает выбранные блоки в списке приборов.
	Отобразить все блоки	Отображает выбранные блоки в списке приборов.
	Показать	Позволяет выбрать, какие блоки отображать в списке. Можно выбрать отображение всех обнаруженных блоков, всех бездействующих блоков, всех блоков, запущенных текущим пользователем, или всех запущенных блоков.



## 4 Протоколы

---

Прочитайте эту главу для получения информации по созданию и редактированию файлов протокола.

- Окно Редактор протокола (стр. 35)
- Элементы управления окна Редактор протокола (стр. 37)
- Режим управления температурой (стр. 41)
- Мастер создания протокола (стр. 41)

### Окно Редактор протокола

Протокол содержит инструкции прибору по управлению шагами температуры, температурой крышки и другими параметрами прибора. Откройте окно Редактор протокола для создания нового протокола или для редактирования протокола, в настоящий момент выбранного на вкладке Протокол. После создания или редактирования протокола в Редакторе протокола нажмите **ОК**, чтобы загрузить файл протокола в окно Создать прогон и запустить его.

### Запуск Редактора протокола

Чтобы открыть Редактор протокола, выберите один из перечисленных ниже вариантов:

- Чтобы создать новый протокол, выберите **Файл > Создать > Протокол** или нажмите кнопку **Создать** на вкладке Протокол (стр. 26)
- Чтобы открыть существующий файл протокола, выберите **Файл > Открыть > Протокол** или нажмите кнопку **Выбрать** на вкладке Протокол (стр. 26)
- Чтобы редактировать текущий протокол на вкладке Протокол, нажмите кнопку **Редактировать** на вкладке Протокол (стр. 26)

Пояснение. Для изменения настроек по умолчанию в окне Редактор протокола введите изменения на вкладке Протокол окна Пользовательские настройки (стр. 133).

### Окно Редактор протокола

В окне Редактор протокола (Рис. 25) содержатся следующие элементы:

- **Строка меню.** Позволяет выбрать настройки протокола
- **Панель управления.** Позволяет выбрать параметры для редактирования протокола

- **Протокол.** Позволяет просматривать выбранный протокол в графическом (вверху) и текстовом (внизу) представлении. Щелкните температуру или время выдержки в графическом или текстовом представлении любого шага, чтобы ввести новое значение
- **Кнопки Редактора протокола.** Редактируйте протокол, нажимая кнопки слева от текстового представления

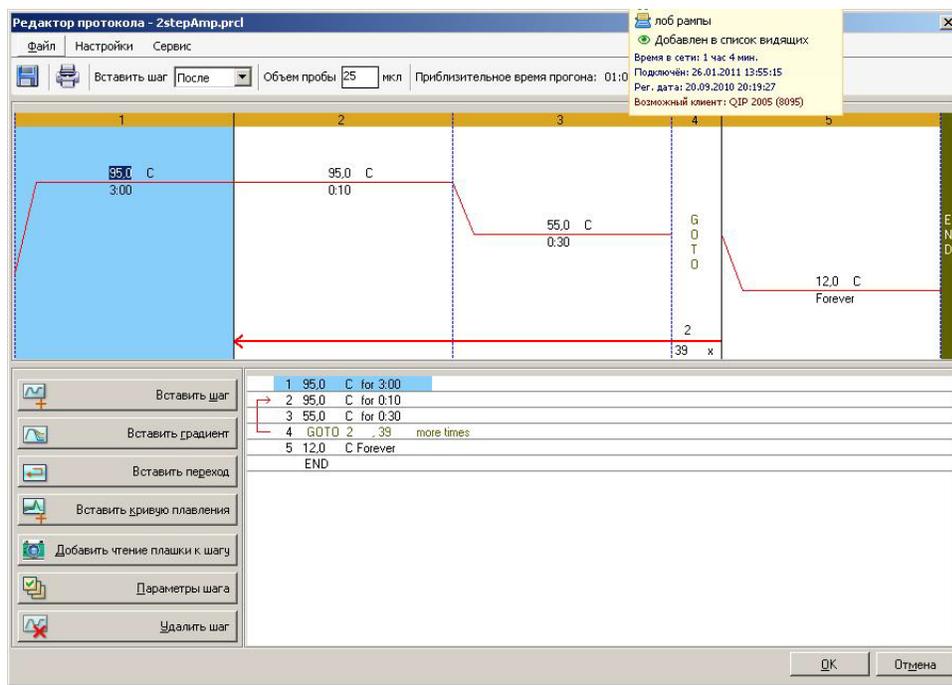


Рис. 25. Окно Редактор протокола с кнопками для редактирования протоколов.

## Строка меню окна Редактор протокола

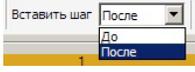
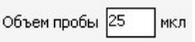
Строка меню окна Редактор протокола содержит пункты меню, перечисленные в Табл. 13.

Табл. 13. Строка меню окна Редактор протокола.

Пункт меню	Команда	Функция
Файл	Сохранить	Сохраняет текущий протокол.
	Сохранить как	Сохраняет текущий протокол с другим именем или в другое местоположение.
	Заккрыть	Закрывает окно Редактор протокола.
Настройки	Настройки крышки	Открывает окно Настройки крышки для изменения или задания температуры крышки.
Сервис	Калькулятор градиента	Позволяет выбрать тип блока для шага градиента. Выберите 96 лунок или 384 лунки.
	Калькулятор времени прогона	Позволяет выбрать прибор и режим сканирования, которые будут использоваться для вычисления ориентировочного времени прогона в окне Создать прогон.

В Табл. 14 приведены функции кнопок на панели управления окна Редактор протокола.

**Табл. 14. Кнопки на панели управления окна Редактор протокола.**

Кнопка и меню на панели управления	Имя	Функция
	Сохранить	Сохраняет текущий файл протокола.
	Печать	Выводит на печать выбранное окно.
	Вставить шаг	Позволяет выбрать, куда вставить шаги относительно выбранного в текущий момент шага: <b>После</b> или <b>До</b> .
	Объем пробы	Укажите объем пробы в мкл от 0 до 50 (для 96-луночного блока) или от 0 до 30 (для 384-луночного блока). Объем пробы определяет режим управления температурой (стр. 41). Введите ноль (0), чтобы выбрать режим блока.
	Время прогона	Отображает ориентировочное время прогона на основании шагов протокола и скорости нагрева/охлаждения.
	Справка	Открывает справку по программе для поиска дополнительной информации о протоколах.

## Элементы управления Редактора протокола

Окно Редактор протокола содержит кнопки для редактирования протокола. В первую очередь выберите и выделите шаг в протоколе, щелкнув по нему левой клавишей мыши. Затем нажмите одну из кнопок Редактора протокола в левой нижней части окна Редактор протокола, чтобы изменить протокол. Местоположение для вставки нового шага, “До” или “После” выбранного в текущий момент шага определяется состоянием поля Вставить шаг, расположенного на панели управления.

### Кнопка Вставить шаг

Чтобы вставить шаг температуры до или после выбранного в настоящий момент шага:

1. Нажмите кнопку **Вставить шаг**.
2. Измените температуру или время задержки, щелкнув температуру по умолчанию в графическом или текстовом представлении и введя новое значение температуры.
3. (Необязательно) Нажмите кнопку **Параметры шага**, чтобы ввести параметр инкремента или удлинения в шаг (стр. 40).

## Добавление или удаление чтения плашки

Чтобы добавить чтение плашки к шагу или удалить чтение плашки из шага:

1. Выберите шаг, щелкнув по нему в графическом или текстовом представлении.
2. Нажмите кнопку **Добавить чтение плашки к шагу**, чтобы добавить чтение плашки к выбранному шагу. Если шаг уже содержит чтение плашки, текст кнопки меняется, и на той же кнопке написано: **Удалить чтение плашки**. Нажмите, чтобы удалить чтение плашки из выбранного шага.

## Кнопка Вставить градиент

Чтобы вставить шаг градиента до или после выбранного в настоящий момент шага:

1. Вставьте шаг градиента, нажав кнопку **Вставить градиент**.
2. Убедитесь, что размер плашки для градиента соответствует типу блока прибора, 96 лунок или 384 лунки. Выберите размер плашки для градиента, выбрав **Сервис > Калькулятор градиента** в строке меню Редактора протокола.
3. Измените диапазон градиента температуры, щелкнув температуру по умолчанию в графическом или текстовом представлении и введя новое значение температуры. Также можно нажать кнопку **Параметры шага**, чтобы ввести диапазон градиента в окне Параметры шага (стр. 40).
4. Измените время задержки, щелкнув время по умолчанию в графическом или текстовом представлении и введя новое значение времени.

На Рис. 26 показан вставленный шаг градиента. Температуры каждой строки градиента приведены в ячейках с правой стороны окна.

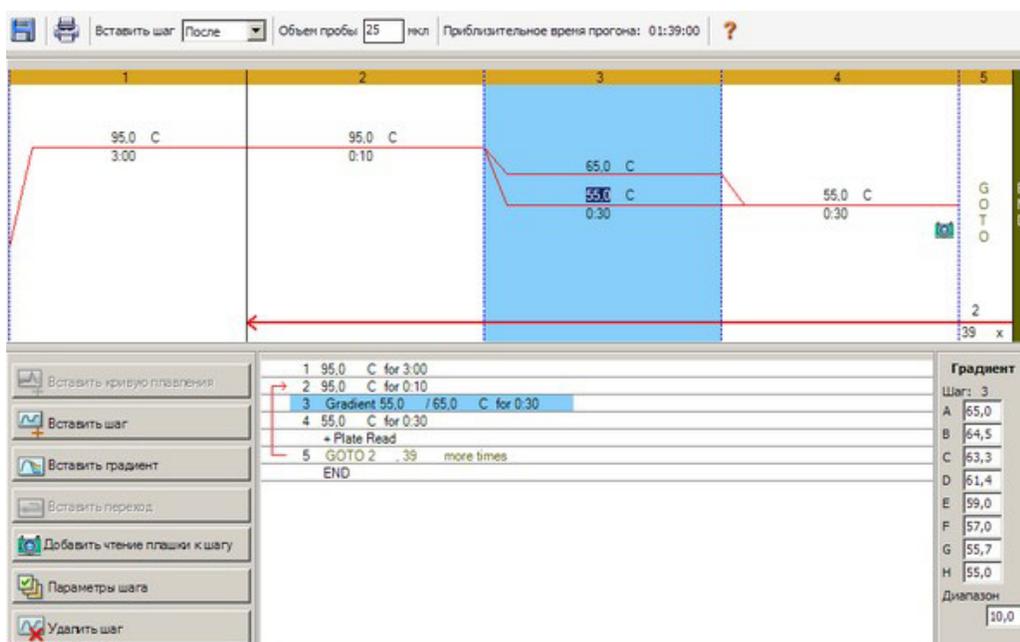


Рис. 26. Протокол со вставленным шагом градиента.

## Кнопка Вставить переход

Для вставки шага перехода до или после выбранного шага:

1. Нажмите кнопку **Вставить переход**.
2. Измените шаг перехода или количество повторений перехода, щелкнув количество по умолчанию в графическом или текстовом представлении и введя новое значение.

На Рис. 26 показан вставленный шаг перехода в конце протокола. Обратите внимание, что петля перехода содержит шаги 2-4.

## Кнопка Вставить кривую плавления

Для вставки шага кривой плавления до или после выбранного шага:

1. Нажмите кнопку **Вставить кривую плавления**.
2. Измените диапазон температуры плавления или инкремент времени, щелкнув число по умолчанию в графическом или текстовом представлении и введя новое значение. Также можно нажать кнопку **Параметры шага**, чтобы ввести диапазон градиента в окне Параметры шага (стр. 40).

ПРИМЕЧАНИЕ. Невозможно вставить шаг кривой плавления в петлю перехода.

ПРИМЕЧАНИЕ. Шаг кривой плавления включает 30-секундную задержку в начале шага, не отображаемую в протоколе.

Рис. 27 показывает шаг кривой плавления, добавленный после шага 6:

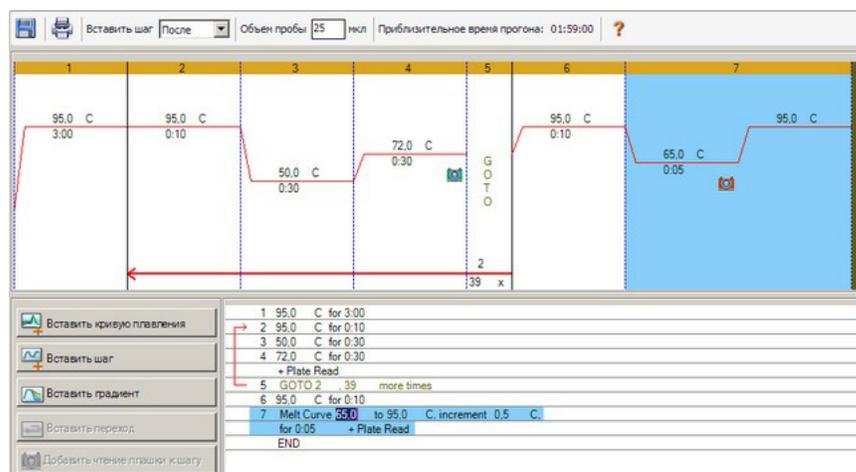


Рис. 27. Протокол со вставленным шагом кривой плавления.

## Параметры шага

Чтобы изменить параметр шага для выбранного шага:

1. Выберите шаг, щелкнув по нему в графическом или текстовом представлении.
2. Нажмите кнопку **Параметры шага**, чтобы открыть окно Параметры шага.

3. Добавьте или удалите параметры путем ввода значения, редактирования значения или установки флажка.

Пояснение. Для задержки шага бесконечно (бесконечное удерживание) введите нуль (0,00) в настройке времени.

На Рис. 28 показан выбранный шаг с градиентом 10°C. Обратите внимание, что некоторые параметры недоступны в шаге градиента. Шаг градиента не может включать инкремент или изменение скорости нагрева/охлаждения.

Шаг 2		Градиент	
Температура	55,0 °C	A	65,0
Диапазон	10,0 °C	B	64,5
Инкремент	°C/цикл	C	63,3
Скорость	°C/с	D	61,4
Время	0:30 с/цикл	E	59,0
Удлине	с/цикл	F	57,0
		G	55,7
		H	55,0

**Рис. 28. Параметр шага для градиента.**

ПРИМЕЧАНИЕ. Градиент выполняется с наименьшей температурой в передней части блока (строка H) и наибольшей температурой в задней части блока (строка A).

В окне **Параметры шага** перечислены следующие параметры, которые можно добавлять в шаги и удалять из шагов:

- **Чтение.** Установите флажок, чтобы включить чтение плашки
- **Температура.** Укажите температуру-мишень для выбранного шага
- **Градиент.** Укажите диапазон градиента для шага
- **Инкремент.** Укажите температуру инкремента для выбранного шага; инкремент добавляется к температуре-мишени с каждым циклом
- **Скорость.** Укажите скорость нагрева/охлаждения для выбранного шага; диапазон зависит от размера блока
- **Время.** Укажите время задержки для выбранного шага
- **Удлинение.** Укажите время удлинения для выбранного шага. Это время добавляется к времени задержки с каждым циклом
- **Звук.** Установите флажок, чтобы включить звуковой сигнал по окончании шага

Пояснение. При вводе значения, лежащего вне доступного для параметра диапазона, программа заменяет введенное число ближайшим по значению числом, принадлежащим диапазону.

## Кнопка Удалить шаг

Чтобы удалить шаг в протоколе:

1. Выберите шаг в графическом или текстовом представлении.
2. Нажмите кнопку **Удалить шаг**, чтобы удалить выбранный шаг.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Это действие нельзя отменить.

## Режим управления температурой

Прибор использует один из двух режимов управления температурой для определения момента, когда проба достигает температуры-мишени, заданной протоколом.

Пояснение. Объем пробы можно изменить до прогона, отредактировав параметр Объем пробы на вкладке Начать прогон (см. "Вкладка Начать прогон" на стр. 28).

Введите объем пробы в редактор протокола, чтобы выбрать режим управления температурой:

- **Рассчитанный режим.** При вводе объема пробы от 1 до 50 мкл (для 96-луночного блока) или от 1 до 30 мкл (для 384-луночного блока), термоциклер вычисляет температуру пробы на основании объема пробы. Это стандартный режим
- **Режим блока.** При вводе объема пробы, равного нулю (0) мкл, термоциклер записывает температуру пробы равной измеренной температуре блока

## Мастер создания протокола

Откройте Мастер создания протокола, чтобы быстро написать протоколы для прогонов ПЦР и ПЦР в реальном времени. Чтобы открыть Мастер создания протокола, выберите один из перечисленных ниже вариантов:

- Нажмите кнопку **Мастер создания протокола** на панели управления основного окна программы
- Выберите **Сервис > Мастер создания протокола** в строке меню основного окна программы

Рис. 29 приводит протокол (в нижней части окна), написанный Мастером создания протокола.

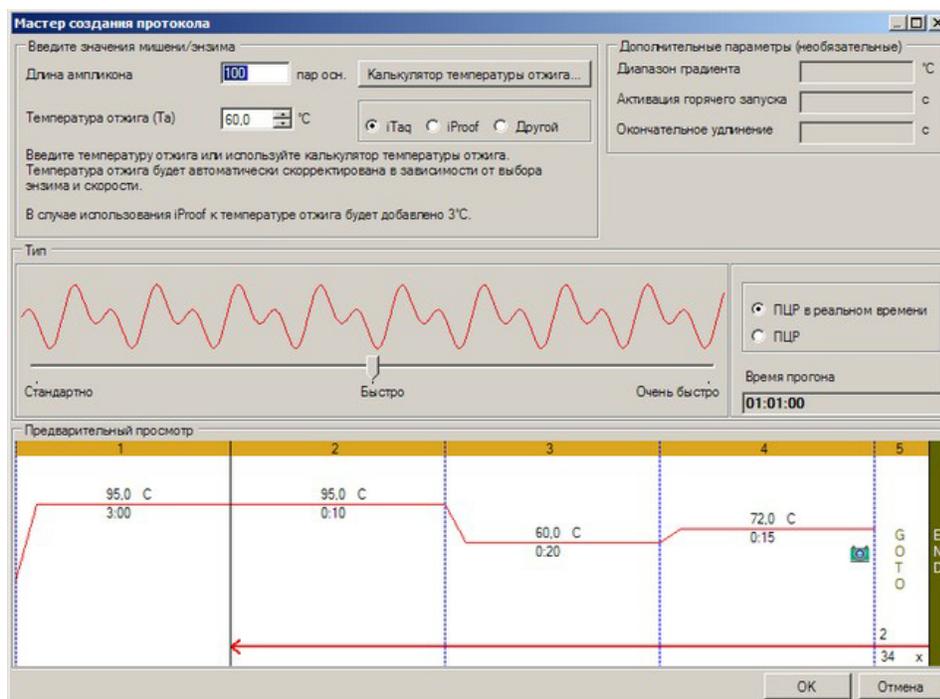


Рис. 29. Окно Мастера создания протокола с новым протоколом.

## Создание протокола с помощью Мастера создания протокола

Выполните следующие шаги, чтобы использовать Мастер создания протокола для создания нового протокола:

1. Нажмите кнопку **Мастер создания протокола** на панели управления, чтобы открыть окно Мастер создания протокола.
2. Введите **Температуру отжига (Ta)** и **Длину ампликона** в текстовые поля панели **Введите значения мишени/энзима**. Если температура отжига праймеров неизвестна, нажмите кнопку **Калькулятор температуры отжига**, чтобы ввести последовательности праймеров и вычислить температуру отжига. Сведения о расчетах, используемых калькулятором температуры отжига, см. в работе Breslauer et al. 1986.
3. Выберите тип энзима из списка возможных вариантов (iTaQ™, iProof™ или другой).
4. Добавьте параметры на панели **Дополнительные параметры (необязательные)**, если хотите добавить в протокол диапазон градиента, температуру активации горячего запуска или время окончательного удлинения.
5. Выберите скорость протокола (Стандартно, Быстро или Очень быстро), перемещая ползунок на панели Тип. При перемещении ползунка программное обеспечение корректирует общее время прогона. Выберите **ПЦР в реальном времени**, чтобы программа осуществляла сбор данных флуоресценции.
6. Просмотрите протокол на панели предварительного просмотра и общее время прогона. Внесите изменения, если необходимо.  
Пояснение. Укажите температуру крышки и объем пробы до каждого прогона путем редактирования параметров на вкладке Начать прогон (см. "Вкладка Начать прогон" на стр. 28).
7. Нажмите **ОК** для сохранения нового протокола или **Отмена**, чтобы закрыть окно без сохранения протокола.  
Пояснение. Чтобы редактировать протокол, написанный с помощью Мастера создания протокола, откройте файл протокола (с расширением .prcl) в окне Редактор протокола (стр. 35).  
ПРИМЕЧАНИЕ. Компания Bio-Rad Laboratories не гарантирует, что выполнение протокола, написанного в окне Мастер создания протокола, всегда будет приводить к образованию продукта ПЦР.

## 5 Плашки

---

Прочитайте эту главу для получения информации по созданию и редактированию файлов плашки.

- Окно Редактор плашки (стр. 43)
- Размер и тип плашки (стр. 46)
- Режим сканирования (стр. 47)
- Окно Выбрать флуорофоры (стр. 47)
- Элементы управления загрузкой лунок (стр. 48)
- Окно Диспетчер групп лунок (стр. 53)
- Окно Просмотр таблицы плашки (стр. 55)

### Окно Редактор плашки

Файл плашки содержит параметры прогона, такие как режим сканирования, флуорофоры и содержимое лунок, и дает инструкции прибору, как анализировать данные. Откройте окно Редактор плашки для создания новой плашки или для редактирования плашки, в настоящий момент выбранной на вкладке Плашка. После создания или редактирования файла в Редакторе плашки, нажмите **ОК**, чтобы загрузить файл плашки в окно Создать прогон и запустить его.

Чтобы провести прогон ПЦР в реальном времени, необходимо загрузить минимальную необходимую информацию в Редакторе плашки: по крайней мере одна лунка должна содержать загруженный тип пробы и флуорофор.

Пояснение. Содержимое лунок можно менять до, во время и после выполнения прогона. Однако режим сканирования и размер плашки необходимо указать до прогона.

### Открытие окна Редактор плашки

Чтобы открыть окно Редактор плашки (Рис. 30), выберите один из перечисленных ниже вариантов:

- Чтобы создать новую плашку, выберите **Файл > Создать > Плашку** или нажмите кнопку **Создать** на вкладке Плашка (стр. 27)
- Чтобы открыть существующий файл плашки, выберите **Файл > Открыть > Плашку** или нажмите кнопку **Выбрать** на вкладке Плашка (стр. 27)

- Чтобы редактировать текущую плашку на вкладке Плашка, нажмите кнопку **Редактировать** на вкладке Плашка (стр. 27)
- Чтобы открыть плашку, ассоциированную с файлом данных, нажмите **Просмотр/редактирование плашки** на панели управления в окне Анализ данных (стр. 69)

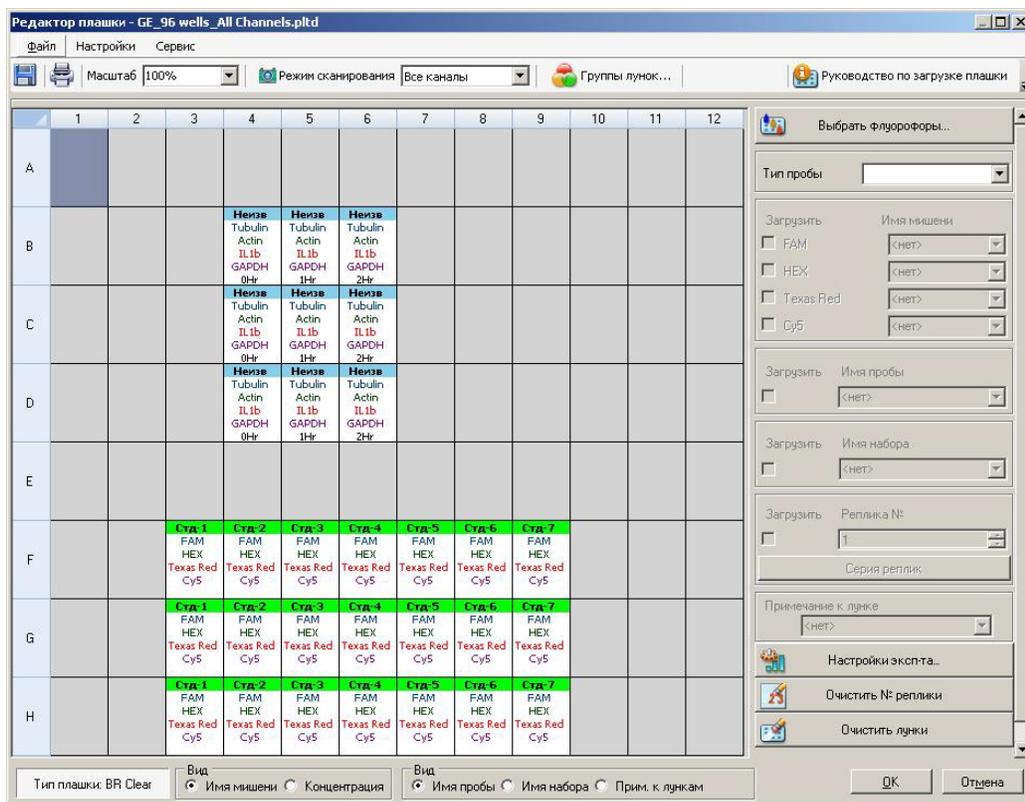


Рис. 30. Окно Редактор плашки.

## Строка меню окна Редактор плашки

Строка меню окна Редактор плашки содержит пункты меню, перечисленные в Табл. 15.

Табл. 15. Строка меню окна Редактор плашки.

Пункт меню	Команда	Функция
Файл	Сохранить	Сохраняет файлы плашки.
	Сохранить как	Сохраняет файл плашки с новым именем файла.
	Закреть	Закрывает окно Редактор плашки.
Настройки	Размер плашки	Позволяет выбрать размер плашки, отражающий количество лунок в блоке прибора. Выберите <b>384-луночную</b> плашку для прибора CFX384, <b>96-луночную</b> плашку для прибора CFX96. ПРИМЕЧАНИЕ. Размер плашки должен соответствовать размеру блока прибора, на котором будет проводиться прогон.

**Табл. 15. Строка меню окна Редактор плашки. (продолжение)**

Пункт меню	Команда	Функция
	Тип плашки	Позволяет выбрать тип лунок на плашке с пробамми, включая BR White (с белыми лунками) и BR Clear (с прозрачными лунками). Для точного анализа данных необходимо, чтобы тип плашки соответствовал типу плашки, используемой в прогоне. ПРИМЕЧАНИЕ. Необходимо производить калибровку новых типов плашки (стр. 148).
	Числовое представление	Позволяет выбрать или отменить выбор экспоненциального представления
	Единицы	Позволяет выбрать единицы измерения для отображения в электронных таблицах при выполнении количественного анализа неизвестных проб по стандартной кривой.
Сервис	Показать электронную таблицу	Отображает информацию о плашке в виде электронной таблицы для экспорта или печати.
	Руководство по загрузке плашки	Показывает краткое руководство по настройке плашки и загрузке лунок.
	Показать примечания к лункам	Позволяет выбрать отображение этой панели в элементах управления загрузкой лунок. Можно ввести примечания к одной или нескольким лункам.
	Показать имя биологического набора	Позволяет выбрать отображение этой панели в элементах управления загрузкой лунок. Можно ввести имена биологического набора для одной или нескольких лунок.
	Повернуть плашку	Поворачивает содержимое плашки на 180°.

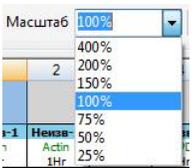
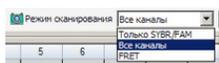
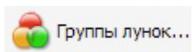
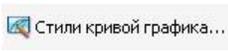
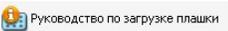
## Панель управления Редактора плашки

Панель управления в окне Редактор плашки обеспечивает быстрый доступ к важным функциям загрузки плашки. В Табл. 16 перечислены функции, доступные на панели управления окна Редактор плашки.

**Табл. 16. Кнопки на панели управления окна Редактор плашки.**

Кнопка и меню на панели управления	Название	Функция
	Сохранить	Сохраняет текущий файл плашки.
	Печать	Выводит на печать выбранное окно.

Табл. 16. Кнопки на панели управления окна Редактор плшки. (продолжение)

Кнопка и меню на панели управления	Название	Функция
	Масштаб	Меняет используемое увеличение при просмотре плшки.
	Режим сканирования	Позволяет выбрать режим сканирования для указания прибору, по каким каналам собирать данные флуоресценции во время прогона. Можно выбрать <b>Все каналы</b> (по умолчанию), <b>только SYBR/FAM</b> или <b>FRET</b> .
	Группы лунок	Открывает Диспетчер групп лунок и позволяет задать группы лунок для текущей плшки.
	Стили кривой	Позволяет выбрать цвета и символы, используемые для кривых амплификации.
	Справка	Открывает справку по программе для поиска информации о плшках.
	Руководство по загрузке плшки	Показывает краткое руководство по настройке плшки и загрузке лунок.

## Размер и тип плшки

Программное обеспечение применяет следующие настройки плшки ко всем лункам во время прогона:

- **Размер плшки.** Выберите размер плшки, который представляет размер блока реакционного модуля используемого прибора. Выбор типа прибора, CFX96 или CFX384, из раскрывающегося меню в Мастере запуска приведет к изменению размера плшки по умолчанию, загружаемого на вкладку Плшка окна Создать прогон. В окне Редактор плшки размер плшки можно выбрать в меню Настройки (Табл. 15). Размер плшки нельзя изменить во время или после проведения прогона
- **Тип плшки.** Выберите прозрачные или белые лунки в меню Настройки. Убедитесь, что используемый в прогоне флуорофор калиброван для выбранного типа плшки  
**ПРИМЕЧАНИЕ.** Приборы CFX96 и CFX384 имеют заводскую калибровку для многих сочетаний флуоресцентных красителей и плшек. Калибровка является специфичной для прибора, красителя и типа плшки. Чтобы калибровать новое сочетание красителя и типа плшки на приборе, выберите **Сервис > Мастер калибровки** (см. Мастер калибровки на стр. 148)

## Режим сканирования

системе CFX96 Touch производит возбуждение и детекцию флуорофоров по шести каналам. системе CFX384 Touch производит возбуждение и детекцию флуорофоров по пяти каналам. Обе системы используют несколько режимов сбора данных для сбора данных флуоресценции во время прогона.

Выберите один из режимов сканирования на панели управления окна Редактор плашки:

- **Все каналы.** Включает каналы с 1 по 5 на системе CFX96 Touch или каналы с 1 по 4 на системе CFX384 Touch
- **Только SYBR/FAM.** Включает только канал 1 и обеспечивает быстрое сканирование
- **FRET.** Включает только канал FRET и обеспечивает быстрое сканирование

## Стили кривой

При создании схемы плашки и во время выполнения прогона можно изменить цвет кривых амплификации. Эти цвета будут отображаться по мере сбора данных, и кривые можно будет просмотреть в окне Состояние в реальном времени. Чтобы получить дополнительную информацию по стилям кривых, см. стр. 84.

## Окно Выбрать флуорофоры

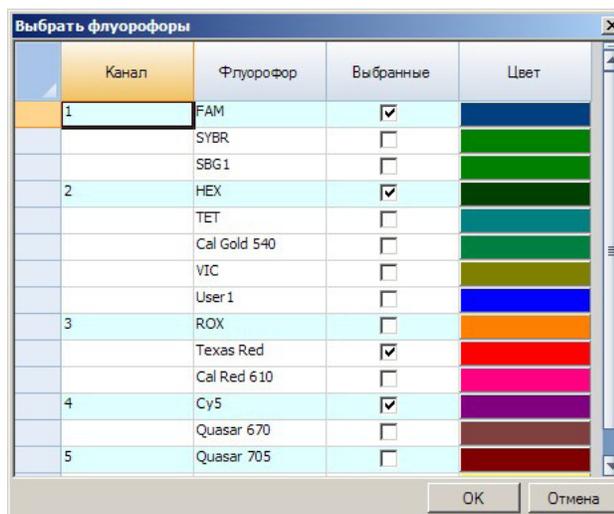
В окне Выбрать флуорофоры перечислены флуорофоры, которые можно выбрать для загрузки при помощи элементов управления загрузкой в окне Редактор плашки. Чтобы открыть окно Выбрать флуорофоры, нажмите кнопку **Выбрать флуорофоры** на правой стороне окна Редактор плашки.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Выводимый список флуорофоров зависит от выбранного режима сканирования; если выбран вариант Только SYBR/FAM, в окне Выбрать флуорофоры отображаются только флуорофоры канала 1.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** В этом списке нельзя производить добавление или удаление флуорофоров; необходимо калибровать новые флуорофоры на приборе в окне Мастер калибровки (стр. 148). После калибровки новый флуорофор добавляется в окно Выбрать флуорофоры.

Установите флажок **Выбранные** рядом с именем флуорофора для добавления флуорофоров в список с правой стороны окна Редактор плашки. Для удаления флуорофоров из этого списка снимите флажок.

В этом примере из списка доступных флуорофоров выбран флуорофор SYBR® (Рис. 31).



**Рис. 31. Окно Выбрать флуорофоры.**

- Щелкните цветной прямоугольник в столбце **Цвет** рядом с именем флуорофора и выберите новый цвет, которым будет обозначаться этот флуорофор в окне Редактор плашки и на диаграммах окна Анализ данных.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** До начала прогона программа проверяет, были ли флуорофоры, указанные для плашки, калиброваны на данном приборе. Нельзя выполнить прогон на плашке, если она содержит флуорофоры, которые не были калиброваны на данном приборе.

## Элементы управления загрузкой лунок

Файл плашки содержит информацию о содержимом каждой лунки, загруженной пробой для прогона. После прогона программа связывает содержимое лунок с данными флуоресценции, собранными во время протокола, и применяет соответствующий анализ в окне Анализ данных. Например, лунки, загруженные типом пробы Стандарт, используются для создания стандартной кривой.

При создании прогона с определением экспрессии гена, соблюдайте следующие правила для содержимого лунок:

- Имя мишени.** Одна или несколько интересующих мишеней (генов или последовательностей) в каждой загруженной лунке. Для каждой мишени задан один флуорофор
- Имя пробы.** Один идентификатор или условие, соответствующее пробе в каждой загруженной лунке, например "0 ч", "1 ч" или "2 ч"

Пояснение. Имена мишеней и имена проб должны совпадать между лунками для сравнения данных на вкладке Экспрессия гена окна Анализ данных. Имена должны иметь одинаковую пунктуацию и количество пробелов. Например "Actin" отличается от "actin", а "2ч" отличается от "2 ч". Для облегчения соблюдения последовательности именования вводите имена в библиотеки имен мишеней и проб на вкладке Плашка окна Пользовательские настройки (стр. 133)

- Имя биологического набора.** Выберите **Сервис > Показать имя биологического набора**, чтобы отобразить эту панель в элементах управления загрузкой лунок, а затем ввести имена биологического набора для одной или нескольких лунок

Выберите лунку для загрузки содержимого, щелкнув по ней левой клавишей мыши на виде плашки. Удерживайте клавишу мыши нажатой и двигайте мышью для выбора нескольких лунок. Кнопки и списки справа от вида плашки содержат все параметры, необходимые для загрузки лунок (Табл. 17).

**Табл. 17. Параметры для загрузки плашки и лунок в окне Редактор плашки.**

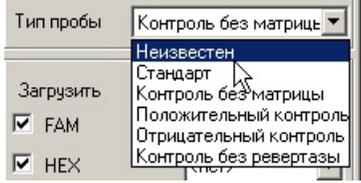
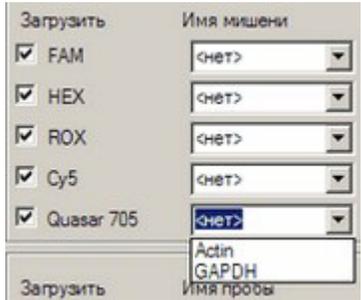
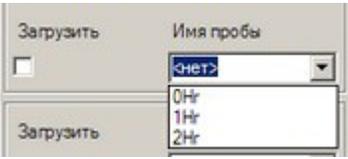
Параметр	Функция
	<p>После выбора лунки в первую очередь необходимо загрузить Тип пробы. Выберите <b>Тип пробы</b> из раскрывающегося меню, чтобы загрузить его в выбранные лунки. Можно выбрать один из следующих типов пробы: Неизвестен, Стандарт, Контроль без матрицы, Положительный контроль, Отрицательный контроль и Контроль без ревертазы</p>
	<p>Установите флажок <b>Загрузить</b>, чтобы добавить флуорофор в выбранные лунки; каждый флуорофор соответствует имени мишени. Чтобы добавить флуорофоры в список Загрузить, выберите их в окне <b>Выбрать флуорофоры</b>.</p> <p>Для анализа экспрессии гена или для проведения различия между несколькими мишенями выберите имя в раскрывающемся меню <b>Имя мишени</b> и нажмите клавишу <b>Enter (Ввод)</b> для загрузки имени мишени в лунку. Чтобы удалить имя мишени, выберите его, нажмите клавишу <b>Delete</b>, а затем нажмите клавишу <b>Enter</b> на клавиатуре.</p> <p>Пояснение. Чтобы добавить новое имя мишени к раскрывающемуся меню только на текущей плашке, введите имя в раскрывающемся меню и нажмите клавишу <b>Enter (Ввод)</b> на клавиатуре.</p>
	<p>Для анализа экспрессии гена или для проведения различия между несколькими пробами выберите <b>Имя пробы</b> в раскрывающемся меню, чтобы загрузить это имя пробы в выбранные лунки. Чтобы удалить имя пробы, выберите его в меню, нажмите клавишу <b>Delete</b>, а затем нажмите клавишу <b>Enter</b>.</p> <p>Пояснение. Чтобы добавить новое имя пробы к раскрывающемуся меню только на текущей плашке, введите имя в раскрывающемся меню и нажмите клавишу <b>Enter (Ввод)</b>.</p>

Табл. 17. Параметры для загрузки плашки и лунок в окне Редактор плашки.

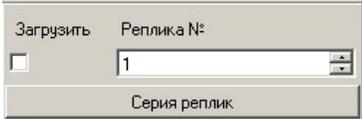
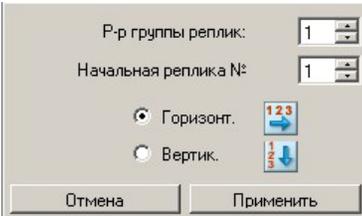
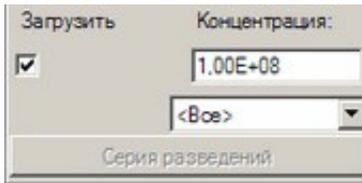
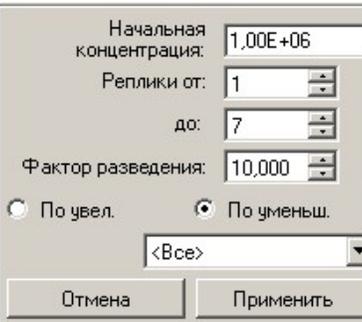
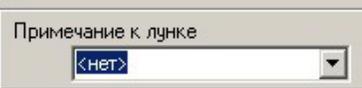
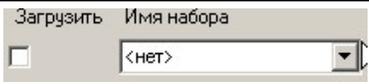
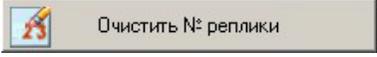
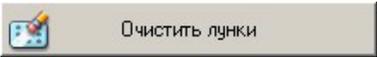
Параметр	Функция
	<p>Для загрузки номеров реплик выбранные лунки должны иметь одинаковое содержимое. Если содержимое лунок различается, программное обеспечение отключает этот элемент управления загрузкой.</p> <p>Установите флажок <b>Загрузить</b>, чтобы добавить номер реплики в выбранные лунки. Нажмите кнопку <b>Очистить номер реплики</b>, чтобы убрать номер реплики из выбранных ячеек.</p> <p>Пояснение. Чтобы загрузить несколько номеров реплик в серию лунок, нажмите кнопку <b>Серия реплик</b>.</p>
	<p>На панели <b>Серия реплик</b> можно применить серию реплик к набору выбранных лунок. Введите <b>Размер группы реплик</b>, выбрав число, представляющее число проб (лунок) в каждой группе реплик. Выберите <b>Номер начальной реплики</b>, чтобы добавить реплики.</p> <p>ПРИМЕЧАНИЕ. Можно добавить группы реплик с увеличением номеров реплик слева направо (<b>Горизонт.</b>) или сверху вниз (<b>Вертик.</b>).</p>
	<p>Укажите концентрацию для выбранных лунок с типом пробы Стандарт, введя число в поле <b>Концентрация</b>. Чтобы применить концентрацию к одному флуорофору в лунке, выберите один флуорофор из раскрывающегося меню (<b>&lt;Все&gt;</b>) под полем концентрации. Чтобы удалить концентрацию, выберите ее, нажмите клавишу <b>Back Space</b>, а затем нажмите клавишу <b>Enter</b> на клавиатуре.</p> <p>Выберите несколько лунок с типом пробы Стандарт, чтобы активировать кнопку <b>Серия разведений</b>.</p>
	<p>Нажмите кнопку <b>Серия разведений</b>, чтобы ввести серию разведений для концентрации проб типа Стандарт и загрузить стандартную кривую.</p> <p>Укажите <b>Начальную концентрацию</b> для серии разведений, <b>Реплики от</b> (номер начальной реплики) и до (номер конечной реплики), <b>Фактор разведения</b> (количественное изменение концентрации для каждой группы реплик). Выберите <b>По увеличению</b> для серии разведений с увеличением или <b>По уменьшению</b> для серии разведений с уменьшением. Затем выберите из раскрывающегося списка флуорофор, используемый для серии разведений, и нажмите <b>Применить</b>.</p>
	<p>Выберите <b>Сервис &gt; Показать примечания к лункам</b> для отображения этой панели. Введите примечания к одной или нескольким лункам, выбирая лунки и вводя примечания в раскрывающееся меню. Все добавленные примечания будут отображаться в электронной таблице на вкладке Данные количественного анализа.</p>

Табл. 17. Параметры для загрузки плашки и лунок в окне Редактор плашки.

Параметр	Функция
	Выберите <b>Сервис &gt; Показать имя биологического набора</b> для отображения этой панели. Введите информацию о биологическом наборе для одной или нескольких лунок, выбирая лунки и вводя имя биологического набора в раскрывающееся меню. Введение информации <b>Имя биологического набора</b> позволяет проводить анализ проб в одной из четырех конфигураций, определенных параметрами <b>анализа биологического набора</b> .
	Нажмите кнопку <b>Настройки прогона</b> , чтобы открыть окно Настройки прогона для управления списками мишеней и проб, а также для настройки прогона экспрессии гена.
	Нажмите кнопку <b>Очистить номер реплики</b> , чтобы удалить номера реплик в выбранных лунках.
	Нажмите кнопку <b>Очистить лунки</b> , чтобы окончательно удалить все содержимое выбранных лунок.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Содержимое лунок также можно копировать и вставить в другие лунки. Для этого выделите лунку, которую надо копировать (за один раз можно скопировать только одну лунку), щелкните правой клавишей мыши и выберите **Копировать лунку**. Выделите лунки, в которые требуется вставить содержимое, и выберите **Вставить лунку**. Нажмите и удерживайте клавишу Ctrl для выбора несмежных лунок, в которые требуется вставить содержимое.

## Окно Настройки прогона

Чтобы открыть окно Настройки прогона, выполните один из следующих вариантов действий:

- В окне Редактор плашки нажмите кнопку **Настройки прогона**
- При анализе данных в окне Анализ данных нажмите кнопку **Настройки прогона** на вкладке **Экспрессия гена**

Откройте окно Настройки прогона для просмотра или изменения списка мишеней и проб (Рис. 32) или для настройки группы проб для анализа экспрессии гена, если в лунки были добавлены **Имена биологического набора**.

- **Мишени.** Список имен мишеней для каждой реакции ПЦР, таких как интересующие гены или последовательности. Установите флажок в столбце Ссылка для всех мишеней, являющихся генами-ссылками в прогоне
- **Пробы.** Список имен проб, указывающих источник мишени, например проба, взятая через 1 час (1 ч), или взятая у конкретной особи ("mouse1"). Установите флажок в столбце **Контроль**, чтобы задать контрольное условие для прогона

Рис. 32 содержит вкладку Мишени с показанными настройками анализа.

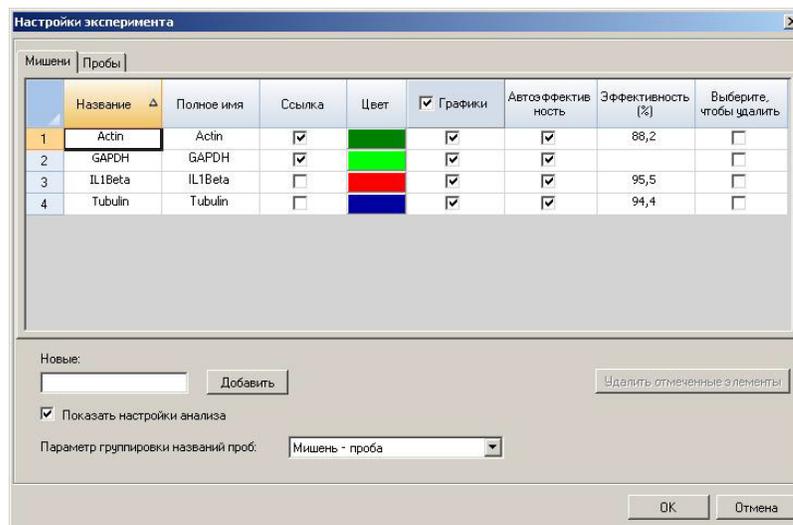


Рис. 32. Вкладка Мишени окна Настройки прогона.

На Рис. 33 приведена вкладка Пробы с показанными настройками анализа.

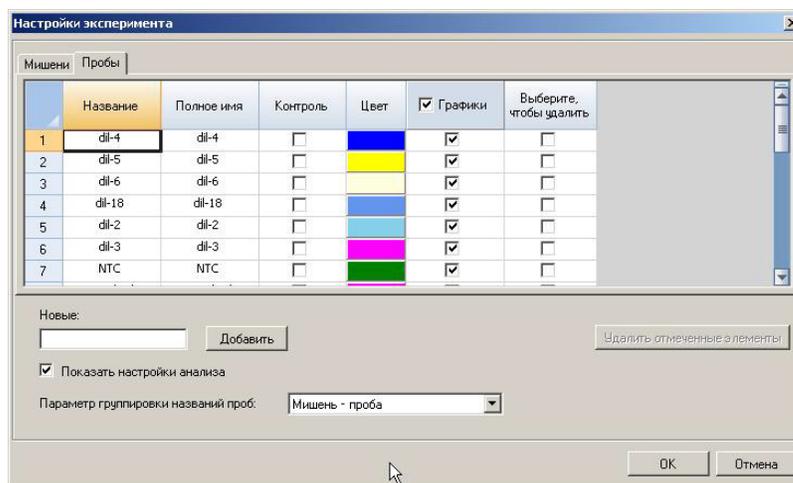


Рис. 33. Вкладка Пробы окна Настройки прогона.

Чтобы скорректировать списки на этих вкладках, используйте следующие функции:

- Добавьте имя мишени или пробы, введя имя в поле **Новые** и нажав **Добавить**
- Удалите имя мишени или пробы из списка, установив флажок **Выберите, чтобы удалить** для этой строки, а затем нажав кнопку **Удалить отмеченные элементы**
- Выберите мишень как ссылку для анализа данных экспрессии гена, установив флажок в столбце **Ссылка** рядом с именем мишени
- Выберите пробу как контрольную пробу для анализа данных экспрессии гена, установив флажок в столбце **Контроль** рядом с именем пробы

Установите флажок **Показать настройки анализа** в окне Настройки прогона для просмотра или изменения параметров анализа, применяемых на вкладке Экспрессия гена.

Для корректировки параметров мишени:

- Щелкните ячейку в столбце **Цвет**, чтобы изменить цвет линии мишени на графике Экспрессия гена

- Укажите значение эффективности мишени. Программа вычислит относительную эффективность для мишени с помощью **Автоэффективности**, если данные для мишени содержат стандартную кривую. В противном случае укажите заранее определенную эффективность

Чтобы скорректировать настройки для пробы на вкладке Пробы:

- Щелкните цветной прямоугольник в столбце **Цвет**, чтобы изменить цвет линии пробы на графике Экспрессия гена
- Установите флажок в столбце **Показать график** для отображения пробы на графике Экспрессия гена тем цветом, который выбран в столбце **Цвет**

## Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши на селекторах лунок

Щелкните правой клавишей мыши любую ячейку, чтобы выбрать нужный пункт из приведенных в таблице ниже.

**Табл. 18. Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши в окне Селектор лунок Редактора плашки**

Пункт	Функция
Копировать лунку	Копирует содержимое лунки, которое затем можно вставить в другую лунку или лунки
Вставить лунку	Вставляет содержимое из скопированной лунки в другую лунку или лунки
Копировать в буфер	Копирует текст из лунки в буфер обмена, откуда впоследствии его можно вставить в документ
Копировать как изображение	Копирует вид селектора лунок как изображение
Печать...	Печатает вид селектора лунок
Печать выделенного...	Печатает текущее выделение
Экспорт в Excel...	Экспортирует данные в электронную таблицу Excel
Экспорт в текст...	Экспортирует данные в виде текстового документа
Экспорт в XML...	Экспортирует данные в виде документа XML
Экспорт в HTML...	Экспортирует данные в виде документа HTML
Найти	Осуществляет поиск определенного текста
Экспорт информации о лунках в Excel	Экспортирует текстовую информацию лунки в виде документа XML

## Окно Диспетчер групп лунок

Группы лунок разделяют одну плашку на подмножества лунок, анализ которых может проводиться независимо в окне Анализ данных. Если заданы группы лунок, выберите одну из них в окне Анализ данных, чтобы провести анализ данных отдельно по этой группе. Например задайте группы лунок для проведения анализа нескольких прогонов, выполнявшихся на одной плашке, или для анализа каждой группы лунок с разными стандартными кривыми.

ПРИМЕЧАНИЕ. Группой лунок по умолчанию является **Все лунки**.

## Создание групп лунок

Чтобы создать группы лунок в окне Диспетчер групп лунок, выполните следующие инструкции:

1. Нажмите кнопку **Группы лунок** на панели управления Редактор плашки или нажмите кнопку **Управление группами лунок** на панели управления окна Анализ данных.
2. Нажмите **Добавить**, чтобы создать новую группу. В раскрывающемся меню отобразится имя группы **Группа 1** для первой группы.
3. Выберите лунки, которые составят группу лунок, на виде плашки, нажав клавишу мыши и проведя мышью по виду плашки для выделения группы лунок. Выбранные лунки становятся синего цвета (Рис. 34).
4. (Необязательно) Измените имя группы, выбрав имя группы в раскрывающемся меню и введя новое имя.
5. (Необязательно) Создайте новые группы лунок, повторив шаги 1 и 2.
6. (Необязательно) Удалите группы лунок, выбрав имя группы в раскрывающемся списке и нажав кнопку **Удалить**.
7. Нажмите **ОК**, чтобы завершить действия и закрыть окно, или нажмите **Отмена**, чтобы закрыть окно без сохранения изменений.

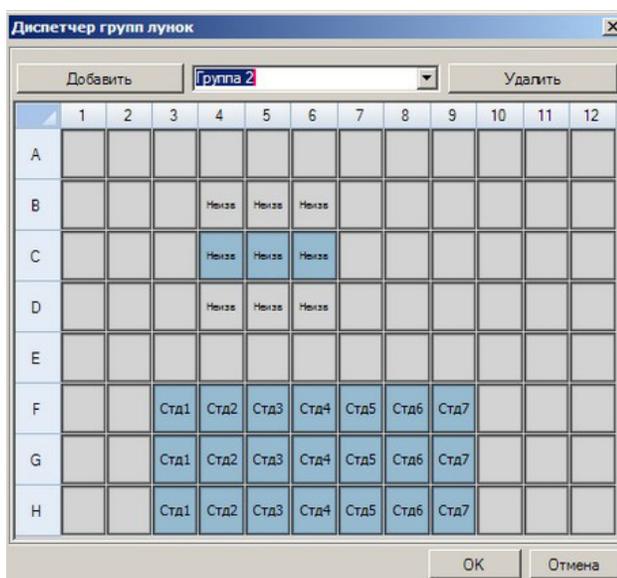


Рис. 34. Цвета лунок в окне Диспетчер групп лунок.

## Окно Просмотр таблицы плашки

Окно Просмотр таблицы плашки отображает содержимое плашки в Редакторе плашки. Откройте окно Просмотр таблицы плашки (Рис. 35), выбрав **Сервис > Показать электронную таблицу** в строке меню окна Редактор плашки.

Строка	Столбец	Тип пробы	Номер реплики	Имя мишени	Имя пробы	Количество	Единицы измерения
B	4	Неизвестно		Tubulin	0H	N/O	число копий
B	5	Неизвестно		Tubulin	1H	N/O	число копий
B	6	Неизвестно		Tubulin	2H	N/O	число копий
C	4	Неизвестно		Tubulin	0H	N/O	число копий
C	5	Неизвестно		Tubulin	1H	N/O	число копий
C	6	Неизвестно		Tubulin	2H	N/O	число копий
D	4	Неизвестно		Tubulin	0H	N/O	число копий
D	5	Неизвестно		Tubulin	1H	N/O	число копий
D	6	Неизвестно		Tubulin	2H	N/O	число копий
F	3	Стандарт	1			1,000E+008	число копий
F	4	Стандарт	2			1,000E+007	число копий
F	5	Стандарт	3			1,000E+006	число копий
F	6	Стандарт	4			1,000E+005	число копий
F	7	Стандарт	5			1,000E+004	число копий
F	8	Стандарт	6			1,000E+003	число копий
F	9	Стандарт	7			1,000E+002	число копий
G	3	Стандарт	1			1,000E+008	число копий
G	4	Стандарт	2			1,000E+007	число копий
G	5	Стандарт	3			1,000E+006	число копий
G	6	Стандарт	4			1,000E+005	число копий
G	7	Стандарт	5			1,000E+004	число копий
G	8	Стандарт	6			1,000E+003	число копий

Рис. 35. Окно Просмотр таблицы плашки.

Откройте электронную таблицу для импорта или экспорта содержимого лунок в Excel или в иной формат с разделителями табуляции.

- Нажмите **Импорт**, чтобы импортировать содержимое лунок из файла с разделителями-запятыми
- Нажмите **Экспорт**, чтобы экспортировать содержимое лунок в файл Excel (формат .csv) Этот шаблон можно редактировать и использовать для импорта информации о содержимом лунок
- Можно использовать сортировку или редактировать столбцы следующими способами:
  - Сортируйте таблицу по данным, содержащимся в одном столбце, нажав треугольник рядом с названием столбца;
  - Редактируйте содержимое столбца, имеющего звездочку (\*) в названии, выбирая ячейку и вводя в нее текст.

ПРИМЕЧАНИЕ. Выберите единицы для данных стандартной кривой в столбце Количество, открыв Редактор плашки и выбрав **Настройки > Единицы** в строке меню. После прогона плашки данные по этим стандартам отображаются на графике стандартной кривой вкладки Количественный анализ (окно Анализ данных) с выбранными единицами измерения.

Щелкните правой клавишей мыши по электронной таблице, чтобы выбрать один из следующих пунктов меню:

- **Копировать.** Копирует всю таблицу
- **Копировать как изображение.** Копирует таблицу как графический файл
- **Печать.** Печатает электронную таблицу
- **Печать выделенного.** Печатает только выбранные ячейки
- **Экспорт в Excel.** Экспортирует файл в электронную таблицу Excel
- **Экспорт в текст.** Экспортирует файл как текстовый файл
- **Экспорт в XML.** Экспортирует файл как файл XML

- **Экспорт в HTML.** Экспортирует файл как файл HTML
- **Найти.** Производит поиск текста в электронной таблице
- **Сортировка.** Сортирует таблицу путем выбора до трех столбцов данных в окне Сортировка

## 6 Функционирование в автономном режиме

В этой главе описывается работа системы CFX96 Touch™ или CFX96 Touch™ в автономном режиме:

- Начальный экран (стр. 57)
- Настройки прогона (стр. 58)
- Экспорт данных для анализа (стр. 63)
- Создание файла данных (стр. 64)
- Настройка электронной почты (стр. 65)

ПРИМЕЧАНИЕ. Если вы используете базу C1000, свяжитесь со службой технической поддержки, чтобы получить версию руководства для вашей системы в формате PDF.

### Начальный экран

При запуске системы CFX96 Touch или CFX384 Touch стартует процесс самотестирования для проверки правильности работы функций, а затем появляется начальный экран. Используйте начальный экран, чтобы начать работу с прибором. На начальном экране перечислены все операции системы, указаны дата и время, имя пользователя, выполнившего вход, состояние системы, тип реакционного модуля и имя термоциклера (по умолчанию соответствующее серийному номеру), а также все подсоединенные термоциклеры S1000™ (Рис. 36).

ПРИМЕЧАНИЕ. Чтобы переименовать термоциклер, нажмите **Tools > About > Rename "Serial Number"**.



Рис. 36. Начальный экран C1000 Touch™.

Для запуска функций на начальном экране, коснитесь ассоциированных кнопок:

- **New Protocol.** Создание нового протокола.
- **Protocol AutoWriter.** Создание протокола с использованием средства Мастер создания протокола и калькулятора Та.
- **Saved Files.** Копировать, переименовать, редактировать или экспортировать файлы.
- **Incubate.** Инкубировать пробы при установленной температуре.
- **Tools.** В число функций входит доступ к системной информации, настройки электронной почты и обновление микропрограммного обеспечения. Будут доступны разные средства в зависимости от статуса входа.

ПРИМЕЧАНИЕ. Сенсорный экран можно использовать в перчатках и без перчаток, стилос не требуется. Списки, которые содержат больше элементов, чем помещается в окне, можно пролистывать нажатием и перемещением вверх или вниз в пределах столбца или путем касания кнопок-стрелок.

## Создание прогона

На системах CFX96 Touch или CFX384 Touch можно проводить прогоны ПЦР в реальном времени без компьютера. Данные флуоресценции, полученные во время прогона, можно экспортировать с помощью носителя USB или выбрать пересылку данных на адрес электронной почты, если база C1000 Touch™ подключена к интернету (см. Экспорт данных по электронной почте на стр. 64). Для анализа данных необходимо программное обеспечение CFX Manager™.

### Чтобы создать новый протокол:

1. Выберите **New Protocol (Создать протокол)** на начальном экране, чтобы открыть шаблон нового протокола (Рис. 37).

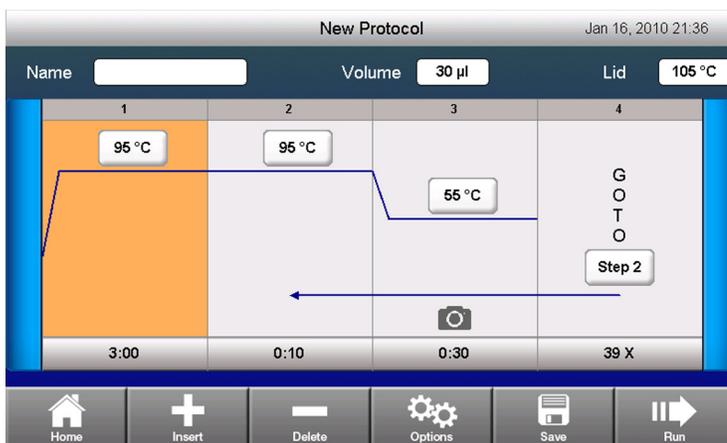
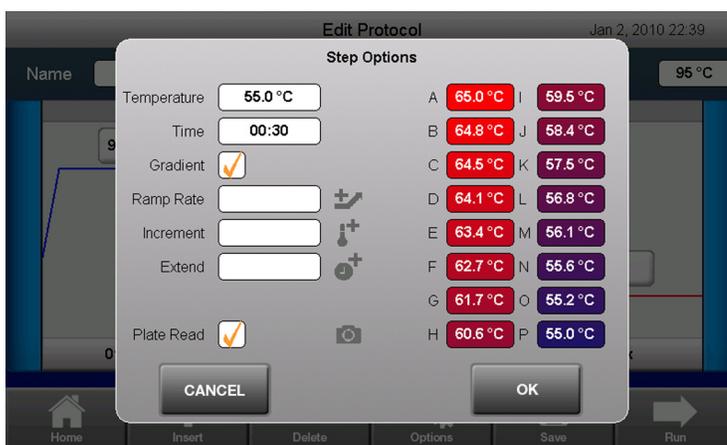


Рис. 37. Протокол ПЦР в реальном времени по умолчанию.

ПРИМЕЧАНИЕ. По умолчанию шаблон протокола содержит шаг чтения плашки при вставке оптического реакционного модуля CFX96 или CFX384 в базу термоциклера C1000 Touch.

2. Чтобы изменить температуру-мишень и время задержки в шаге температуры, коснитесь соответствующей кнопки. Введите новое значение, используя появившуюся клавиатуру. Нажмите **ОК**, чтобы принять введенное значение.  
Пояснение. В качестве альтернативного способа навигации можно подключить мышь через порт USB на базе термоциклера C1000 Touch.
3. (Необязательно) Чтобы вставить новый шаг, выберите предыдущий шаг перед тем шагом, который нужно вставить, и нажмите кнопку **Insert (Вставить)**. Можно ввести следующие шаги: температура, градиент, переход, чтение плашки и кривая плавления. Чтобы удалить шаг, нажмите кнопку **Delete (Удалить)** (Рис. 37).
4. (Необязательно) Чтобы изменить параметры шага, выберите шаг и нажмите кнопку **Options (Параметры)** (Рис. 37). В окне **Step Options (Параметры шага)** можно изменить следующие параметры шага: температура, время, градиент, скорость нагрева/охлаждения, инкремент, удлинение и добавление/удаление чтения плашки (Рис. 38).



**Рис. 38. Окно Параметры шага.**

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Можно ввести градиент от 1 до 24°C. После задания градиента для шага можно редактировать температуру градиента, нажимая кнопки увеличения или уменьшения температуры в графическом виде, не переходя на экран Параметры шага.

5. Шаг **GOTO (Переход)** указывает, что термоциклеру нужно повторить набор шагов, что, в свою очередь, позволяет создать циклы в прогоне ПЦР. Выберите шаг **GOTO (Переход)** и коснитесь соответствующей кнопки для изменения шага или числа повторений.

## Изменение параметров прогона

- Чтобы изменить объем пробы, коснитесь поля **Volume** (Рис. 37). Введите новый объем в микролитрах. Введенный объем пробы определяет режим управления температурой, который будет использоваться во время прогона.  
Пояснение. При объеме пробы от 1 до 50 (30 для CFX384) мкл будет использоваться режим управления температурой, который является стандартным. При вводе нуля (0) используется режим блока. Рекомендуется использовать режим температуры, поскольку он максимально точно определяет действительную температуру пробы.
- Чтобы изменить температуру крышки, коснитесь поля **Lid (Крышка)** и введите новую температуру (Рис. 37). Температура крышки по умолчанию для CFX96 и CFX384 составляет 105°C и 95°C соответственно.

## Сохранение протокола

- После создания протокола можно его сохранить. При касании кнопки **Save (Сохранить)** будет выведено окно **Save as (Сохранить как)**, в которое можно ввести имя (Name), и указанные местоположение (Location) и папку (Folder) (Рис. 39). Выберите **OK**, чтобы сохранить протокол.

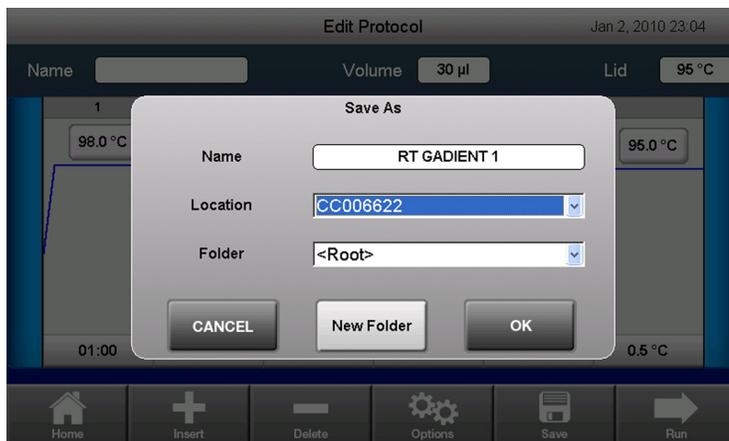


Рис. 39. Окно Сохранить как.

## Выполнение протокола

1. Чтобы выполнить протокол, коснитесь кнопки **Run (Прогон)** в окне Редактировать протокол (Рис. 37).
2. Проверьте температуру крышки (**Lid Temp**), объем пробы (**Volume**) и имя файла (**File Name**), которые будут использоваться для прогона (Рис. 40). Перед прогоном по умолчанию создается отдельное имя файла данных.



Рис. 40. Экран подтверждения прогона.

3. Выберите **Scan Mode (Режим сканирования)**, чтобы указать прибору каналы, в которых нужно собирать данные флуоресценции во время прогона. Режимы сканирования позволяют обнаружить калиброванные флуорофоры в следующих каналах:
  - **SYBR/FAM.** Собирает данные только по каналу 1 и обеспечивает быстрое сканирование
  - **All Channels.** Собирает данные по каналам с 1 по 5 на системе CFX96 Touch или по каналам с 1 по 4 на системе CFX384 Touch
  - **FRET.** Собирает данные только по каналу FRET и обеспечивает быстрое сканирование

4. (Необязательно) Окно **Additional Settings (Дополнительные настройки)** позволяет вводить **имя пользователя (User Name)**, **адрес электронной почты (Email Address)**, **идентификатор пробы (Sample ID)**, **скорость нагрева/охлаждения (Ramp Rate)** и представляет возможность выполнения прогона со скоростью нагрева/охлаждения термоциклера **DNA Engine**.
5. Выберите **ОК**, чтобы начать прогон.

## Выполнение ранее сохраненного протокола

- Чтобы выполнить существующий протокол, выберите **Saved Files (Сохраненные файлы)** на начальном экране. После выбора местоположения, папки и файла коснитесь кнопки **Run (Выполнить)** (Рис. 41).



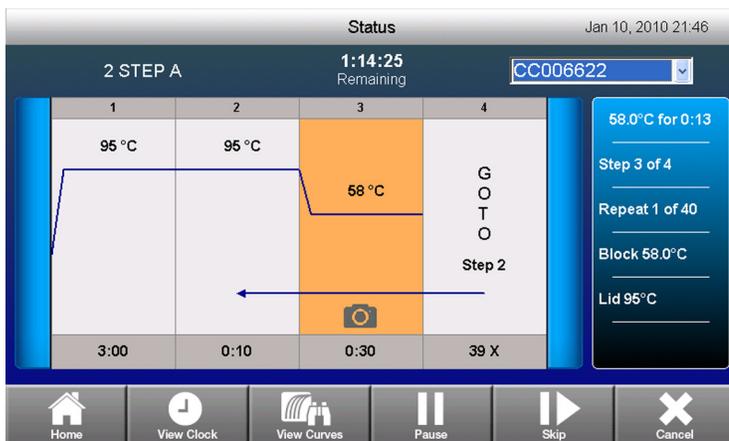
**Рис. 41. Выберите сохраненный протокол для запуска.**

- Чтобы изменить параметры термоциклирования для существующего протокола, выберите его, а затем коснитесь кнопки **Edit (Редактировать)**. Протокол можно выполнить сразу же, не сохраняя изменения, коснувшись кнопки **Run (Выполнить)**, или его можно сохранить, коснувшись кнопки **Save (Сохранить)**.

## Мониторинг прогона

После начала прогона появляется окно **Status (Состояние)**. Просмотрите информацию в этом окне, чтобы узнать состояние прогона.

- **Status (Состояние).** Окно Состояние отображает выполняемый прогон и представляет возможность просмотра часов, просмотра кривых, поставить на паузу, пропустить или отменить прогон. (Рис. 42)



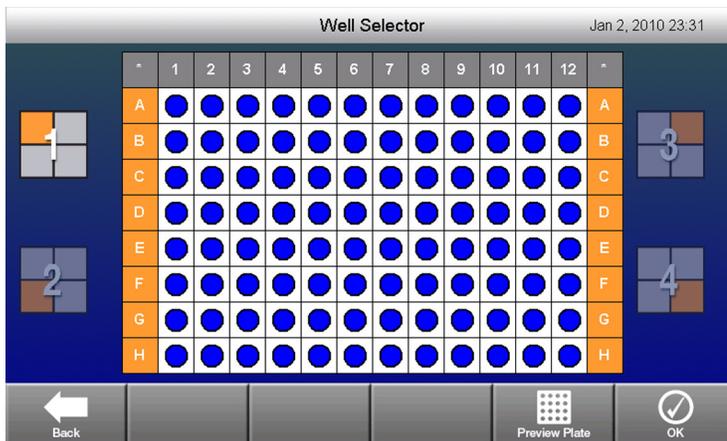
**Рис. 42. Мониторинг прогона в окне Состояние.**

- **View Clock (Посмотреть часы).** Нажмите кнопку **Посмотреть часы**, чтобы вывести на весь экран таймер обратного отсчета для протокола. Нажмите **View Status (Посмотреть состояние)** для возвращения к экрану Состояние или Посмотреть кривые, чтобы просмотреть экран кривых амплификации.
- **View Curves (Посмотреть кривые).** Нажмите кнопку **Посмотреть кривые** для вывода кривых данных в реальном времени (Рис. 43). Если сбор данных производится по нескольким каналам, выберите канал для отображения с помощью кнопок **Channel (Канал)**. На экране могут отображаться только данные для одного канала за раз. Если протокол содержит несколько шагов сбора данных, данные отдельного шага могут отображаться при выборе его из раскрывающегося меню **Step (Шаг)**.



**Рис. 43. Просмотреть данные кривых в реальном времени на экране Кривые.**

Для отображения кривых для определенных интересующих лунок, коснитесь кнопки **Select Wells (Выбрать лунки)**. Выбранные лунки показаны сплошными кругами. По умолчанию выбраны все лунки. Чтобы отменить выбор лунки или выбрать лунку, коснитесь соответствующей лунки на сетке Селектор лунок (Рис. 44). Чтобы отменить выбор строк или столбцов целиком или выбрать строки или столбцы целиком, нажмите названия строки или столбца. Все лунки на плашке можно выбрать или отменить их выбор, коснувшись звездочки (\*) в любом углу сетки Селектора лунок.



**Рис. 44. Окно Селектор лунок.**

При использовании CFX96 Touch отображается одна сетка 96 лунок Селектора лунок. При использовании CFX384 Touch плашка представляет один 96-луночный квадрант плашки за раз (Рис. 44). Можно выбрать отдельные квадранты, касаясь соответствующим образом нумерованных полей на любой стороне сетки Селектор лунки. Можно просмотреть вид всей 384-луночной плашки, содержащей все четыре квадранта, коснувшись кнопки **Preview Plate (Предварительный просмотр плашки)**.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Шкала относительной флуоресценции по оси y будет первоначально масштабирована от 0 до 1500. Как только интенсивность флуоресценции превысит верхний предел, данные будут автоматически масштабированы на остальную часть прогона.

## Экспорт данных для анализа

После завершения прогона необходимо передать данные флуоресценции на компьютер, где установлено программное обеспечение CFX Manager, чтобы провести анализ. Файл данных автономного прогона (.zpcrd) автоматически сохраняется в папку Данных реального времени, который может быть обнаружен в столбце Местоположение окна Сохраненные файлы.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** термоциклера C1000 Touch позволяет хранить до 100 прогонов ПЦР в реальном времени.

## Экспорт данных с помощью флеш-накопителя USB

Если флеш-накопитель USB вставлен в порт флеш-накопителя USB термоциклера термоциклера C1000 Touch, данные (.zpcr) будут автоматически сохранены в корневом каталоге флеш-накопителя USB.

Если флеш-накопитель USB не вставлен в термоциклер в конце прогона, выполните следующие действия:

1. Коснитесь **Сохраненные файлы** на начальном экране для доступа к папкам файлов (Рис. 45).

2. Из столбца **Местоположение** выберите **Данные в реальном времени**.
3. Выберите файл для экспорта в столбце **Файл**. Информация о выбранном файле будет отображаться на панели Предварительный просмотр.
4. Для экспорта коснитесь кнопки **Параметры файла**.
5. Нажмите кнопку **ОК** для сохранения файла на подсоединенный флеш-накопитель USB.



Рис. 45. Выбор файла данных в реальном времени для экспорта на флеш-накопитель USB.

## Экспорт данных по электронной почте

Задав параметры электронной почты, можно отправлять данные по электронной почте напрямую с термоциклера C1000 Touch после завершения прогона (см. Настройка электронной почты на стр. 65).

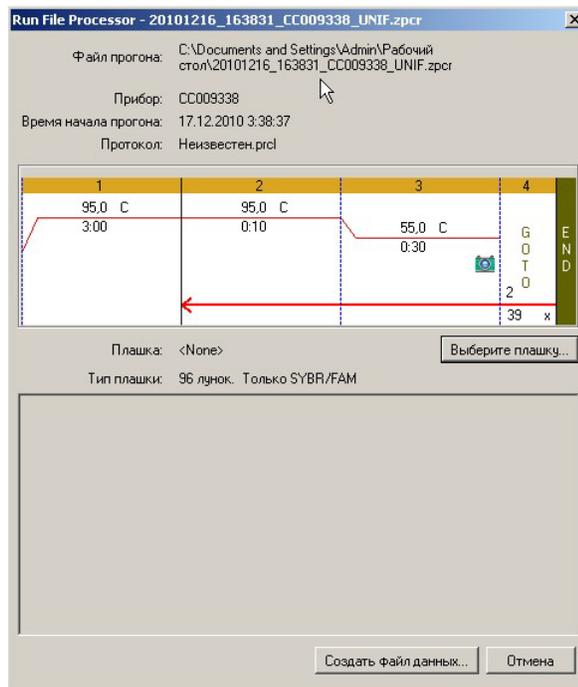
Чтобы отправить электронное письмо с прикрепленными данными (.zpcr) в конце прогона, введите адрес электронной почты в окне Дополнительные настройки перед запуском прогона.

## Создание файла данных

Для анализа данные автономного прогона (.zpcr) необходимо преобразовать в файл данных (.pcrd) с помощью программного обеспечения CFX Manager. Чтобы создать файл данных из данных автономного прогона, выполните следующие действия:

1. Щелкните и перетащите файл .zpcr из каталога флеш-накопителя USB в основное окно программы или выберите **Файл > Открыть > Отдельный прогон** в меню основного окна программы, чтобы выбрать имя файла.

2. В окне **Процессор запуска файла** нажмите кнопку **Выбрать плашку**, чтобы импортировать имя файла плашки, которое будет использовано программой при создании файла данных (Рис. 46).



**Рис. 46. Назначение файла плашки.**

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Программное обеспечение CFX Manager проверяет соответствие режима сканирования и размера плашки для файла плашки параметрам прогона, указанным во время прогона.

**Пояснение.** Загрузите заготовку плашки (Quick Plate) для быстрого доступа к данным всех лунок.

## Настройка электронной почты

После завершения прогона подтверждение, отчет по журналу прогона и (или) файл данных (.zprc) могут быть отправлены по электронной почте, чтобы к ним можно было получить доступ с любого компьютера, имеющего подключение к интернету. Чтобы настроить исходящую электронную почту из прибора C1000 Touch, выполните следующие действия:

1. Подсоедините кабель Ethernet к порту на задней панели базы термоциклера C1000 Touch.
2. Коснитесь кнопки **Log In (Войти)** на начальном экране, чтобы войти в программу термоциклера как администратор.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Имя пользователя, выполнившего вход, появляется слева от кнопки входа при переходе на начальный экран.

3. Коснитесь кнопки **Tools (Сервис)** на начальном экране, чтобы запустить меню Сервис.
4. Коснитесь **Email Settings (Настройки электронной почты)** в меню администрирования.

## Настройка сервера Gmail

ПРИМЕЧАНИЕ. Требуется настроить учетную запись Gmail с использованием имени пользователя и пароля, прежде чем настраивать сервер Gmail.

1. Выберите сервер Gmail из раскрывающегося списка **Mail Servers**.
2. Введите имя пользователя и пароль для учетной записи Gmail.
3. Установите флажок **Set As Default** (Рис. 47).



**Рис. 47. Выбран сервер Gmail, введены имя пользователя и пароль, и этот сервер выбран как сервер, используемый по умолчанию для связи по электронной почте.**

4. Коснитесь кнопки **Save** для сохранения текущих настроек сервера.
5. Коснитесь кнопки **Test Email**.
6. Коснитесь поля **Test Email Address** и введите адрес электронной почты с помощью всплывающей на экране буквенно-цифровой клавиатуры.
7. Коснитесь поля **Attachment Size in MB** и введите тестовый размер вложения.  
ПРИМЕЧАНИЕ. Допустимый предельный размер вложения устанавливается сервером вашего учреждения. Нами рекомендуется проверка размера вложения от 0,5 до 5 Мб.
8. Коснитесь кнопки **Send Email**. Тестовое сообщение электронной почты будет отправлено на тестовый адрес электронной почты.
9. Коснитесь кнопки **Cancel** для перехода на экран настроек сервера.
10. Коснитесь кнопки **Back** для перехода в меню Сервис.

## Настройка пользовательского сервера

1. Коснитесь кнопки **New Server (Новый сервер)** (Рис. 47).
2. Коснитесь кнопки **Mail Server Address (Адрес почтового сервера)** и введите адрес с помощью всплывающей на экране буквенно-цифровой клавиатуры.
3. Коснитесь кнопки **Mail Server Port (Порт почтового сервера)** и введите значение с помощью всплывающей на экране буквенно-цифровой клавиатуры.
4. Установите флажок **Set As Default (Использовать по умолчанию)**.

5. Введите дополнительную информацию (Требуется проверка подлинности, Использовать SSL, Имя пользователя и Пароль), если это требуется вашим сервером.  
Пояснение. Чтобы узнать требования сервера, обратитесь к своему сетевому администратору.
6. Коснитесь кнопки **Save**. Новый сервер появится в раскрывающемся списке **Mail Servers (Почтовые серверы)**.
7. Повторите шаги 5-10 в "Настройка сервера Gmail" (стр. 66).

## **Удаление сервера**

1. Выберите сервер, который требуется удалить, из раскрывающегося списка **Почтовые серверы**.
2. Коснитесь кнопки **Remove Server (Удалить сервер)**.
3. Коснитесь кнопки **Yes (Да)**, чтобы подтвердить удаление выбранного сервера.



## 7 Обзор окна Анализ данных

---

Прочитайте эту главу для получения информации об анализе данных:

- Окно Анализ данных (стр. 69)
- Вкладка Расчет (стр. 72)
- Группы лунок (стр. 73).
- Настройки анализа данных (стр. 73)
- Селекторы лунок (стр. 76).
- Графики (стр. 79)
- Электронные таблицы (стр. 80)
- Экспорт (стр. 81)

### Окно Анализ данных

Во время анализа данных изменение способа отображения данных путем изменения содержания лунок в Редакторе плашки никогда не меняет данные флуоресценции, собранные по каждой лунке во время прогона. После того как модуль соберет данные флуоресценции, вы не сможете полностью удалить эти данные, но можете удалить их из вида и из анализа.

Чтобы изменить содержимое лунок после прогона, откройте Редактор плашки, нажав кнопку **Просмотр/редактирование плашки** в верхней части окна Анализ данных.

Пояснение. Можно добавить или отредактировать информацию о содержимом лунок до, во время или после завершения прогона ПЦР в реальном времени. Необходимо назначить режим сканирования и размер плашки до прогона, эти параметры нельзя менять впоследствии.

Программное обеспечение CFX Manager™ обрабатывает данные ПЦР в реальном времени автоматически по завершении каждого прогона и открывает окно Анализ данных для отображения этих данных. Выберите один из способов открытия существующих файлов данных в окне Анализ данных:

- Перетащите файл данных (с расширением .pcrd) на основное окно программы и отпустите
- Выберите **Файл > Открыть > Файл данных** в основном окне программы, чтобы выбрать файл в проводнике Windows
- Выберите кнопку **Анализ данных** на панели управления в основном окне программы, чтобы выбрать файл в проводнике Windows
- Выберите **Файл > Последние файлы данных**, чтобы выбрать из списка десяти недавно открывавшихся файлов данных

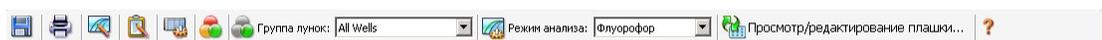
В окне Анализ данных отображается несколько вкладок (Рис. 48), каждая вкладка содержит проанализированные данные для определенного метода анализа или информацию по прогону. Вкладки отображаются только в том случае, если данные, полученные во время прогона, доступны для этого типа анализа.



**Рис. 48. Вкладки окна Анализ данных**

## Панель управления окна Анализ данных

Панель управления окна Анализ данных (Рис. 49) обеспечивает быстрый доступ к важным функциям анализа данных.



**Рис. 49. Панель управления окна Анализ данных.**

В Табл. 19 приведены функции кнопок на панели управления. Строка меню окна Анализ данных

**Табл. 19. Панель управления окна Анализ данных.**

Кнопка	Имя	Функция
	Сохранить	Сохраняет текущий файл данных.
	Печать	Выводит на печать выбранное окно.
	Стиль кривой графика	Открывает окно Стили кривой графика.
	Отчет	Открывает отчет для текущего файла данных.
	Выборочный экспорт	Открывает окно Выборочный экспорт для указания настроек экспорта данных.
	Управление группами лунок	Открывает окно Диспетчер групп лунок для создания, изменения и удаления групп лунок.
 Группа лунок:	Группа лунок	Позволяет выбрать имя существующей группы лунок из раскрывающегося меню. По умолчанию выбран вариант Все лунки.
 Режим анализа:	Режим анализа	Позволяет выбрать режим Флуорофор или режим Мишень для анализа данных.
 Просмотр/редактирование плашки	Просмотр/редактирование плашки	Открывает Редактор плашки для просмотра и редактирования содержимого лунок.

**Табл. 19. Панель управления окна Анализ данных. (продолжение)**

Кнопка	Имя	Функция
	Справка	Открывает справку по программе для поиска информации об анализе данных.

## Строка меню окна Анализ данных

Строка меню в окне Анализ данных содержит перечисленные ниже пункты меню.

В Табл. 20 приведены функции пунктов строки меню.

**Табл. 20. Пункты строки меню в окне Анализ данных.**

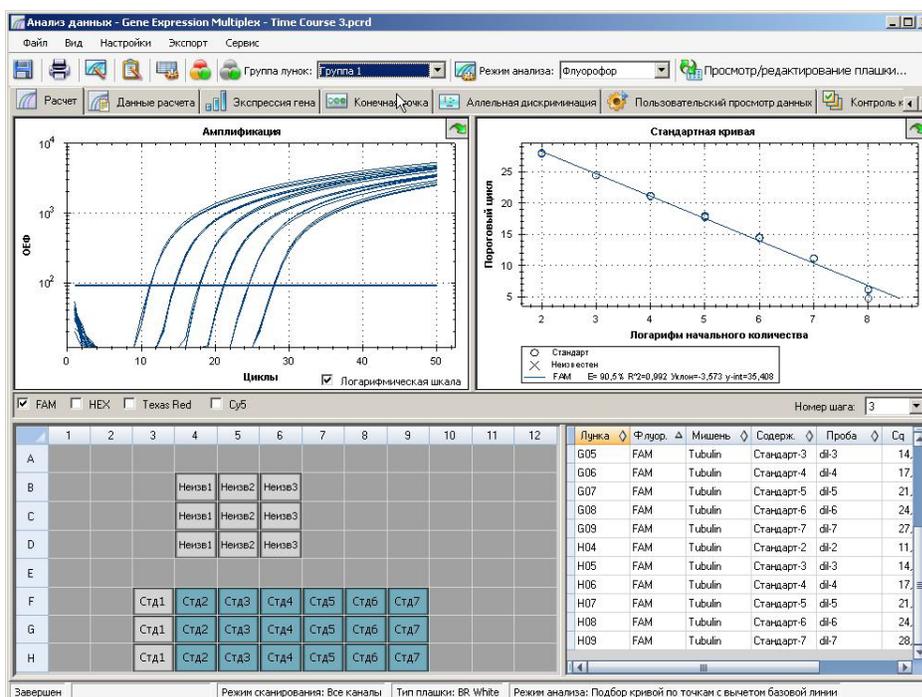
Пункт меню	Команда	Функция
Файл	Сохранить	Сохраняет файл.
	Сохранить как	Сохраняет файл с новым именем.
	Повторить прогон	Извлекает протокол и файл плашки из текущего прогона для повторного выполнения прогона.
	Выход	Закрывает окно Анализ данных.
Вид	Журнал прогона	Открывает окно Журнал прогона для просмотра журнала прогона текущего файла данных.
Настройки	Режим определения $S_q$	Позволяет выбрать режим Регрессия или Единый пороговый уровень для определения, как будут вычисляться значения $S_q$ для каждой кривой.
	Настройка базовой линии	Позволяет выбрать способ вычета базовой линии для выбранных групп лунок.
	Режим анализа	Позволяет выбрать режим анализа данных по флуорофорам или по мишеням.
	Циклы для анализа	Позволяет выбрать циклы, которые требуется анализировать.
	Пороговые уровни базовой линии	Открывает окно Пороговые уровни базовой линии для корректировки базовой линии или пороговых уровней.
	Стили кривой	Открывает окно Стили кривой графика.
	Просмотр/редактирование плашки	Открывает Редактор плашки для просмотра и редактирования плашки.
	Включить все исключенные лунки	Все исключенные лунки будут включены в анализ.
	Выделение мышью	Включает или выключает одновременное выделение данных при движении курсора мыши.  Пояснение. Если выделение мышью отключено, нажатие и удерживание клавиши Ctrl временно включает выделение.
	Восстановить структуру окна по умолчанию	Восстанавливает для расположения окон настройки по умолчанию.

**Табл. 20. Пункты строки меню в окне Анализ данных. (продолжение)**

Пункт меню	Команда	Функция
Экспорт	Экспорт всех листов данных в Excel	Экспорт всех листов данных с каждой вкладки в отдельный файл Excel.
	Экспорт файла RDML	Открывает окно Сохранить как для указания имени файла RDML и его расположения.
	Выборочный экспорт...	Открывает окно Выборочный экспорт, в котором можно задать поля для экспорта и формат файла.
	Экспорт в папку LIMS...	Открывает окно для сохранения данных в заранее определенном формате в папку LIMS.
Сервис	Отчеты...	Открывает отчет для этого файла данных.
	Отчеты по группам лунок...	Открывает окно Отчет по группам лунок для создания отчетов по указанным группам лунок.
	Импорт калибровки флуорофора...	Позволяет выбрать калибровочный файл для применения к текущему файлу данных.
	Заменить плашку...	Заменяет текущий файл плашки в анализе данных.

## Вкладка Расчет

Каждая вкладка в окне Анализ данных отображает данные в графиках и таблицах для определенного метода анализа и содержит селектор лунок для выбора данных, которые требуется показать. Окно Анализ данных открывается на вкладке Расчет (Рис. 50). Данные графика **Амплификация** на этой вкладке используются для определения подходящих настроек анализа для прогона.



**Рис. 50. Вкладка Расчет в окне Анализ данных с выбранной Группой 1.**

ПРИМЕЧАНИЕ. Программа связывает данные на панелях каждой вкладки окна Анализ данных. Например, при выделении лунки путем размещения над ней курсора мыши на селекторе лунки выделяются данные на всех других панелях.

## Селектор номера шага

Система CFX96™ и система CFX384™ могут осуществлять сбор данных флуоресценции на нескольких шагах протокола; программа хранит данные, полученные на каждом шаге, отдельно. Программное обеспечение отображает селектор **Номер шага** под графиком Стандартная кривая на вкладке Расчет всякий раз, когда протокол содержит более одного шага сбора данных. При выборе шага программное обеспечение применяет этот выбор ко всем данным, отображаемым в окне Анализ данных. На Рис. 51 показан шаг сбора данных под номером **3** для всех данных.

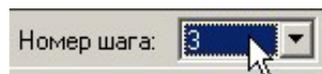


Рис. 51. Выбор номера шага в окне Анализ данных.

## Просмотр групп лунок в окне Анализ данных

Лунки на плашке могут быть сгруппированы в подмножества для независимого анализа по группам лунок. При создании групп лунок в окне **Диспетчер групп лунок** (стр. 54) имена групп появляются в окне Анализ данных в раскрывающемся списке Группы лунок на панели управления.

Пояснение. Для изменения, создания или удаления групп лунок нажмите кнопку **Управление группами лунок** на панели управления.

По умолчанию при первом открытии окна Анализ данных выбрана группа лунок **Все лунки**, при этом на графиках и в таблицах показываются данные по всем лункам с содержимым.

На Рис. 50 показано, что в меню Группы лунок выбрана Группа 1. Только лунки этой группы появляются с загруженным содержимым в селекторе лунок, и данные только по этим лункам включаются в вычисления при анализе данных.

## Настройки анализа данных

Данные графика **Амплификация** на вкладке Расчет отображают относительную флуоресценцию (ОЕФ) для каждой лунки на каждом цикле. Каждая кривая на графике представляет данные, полученные от одного флуорофора в одной лунке. Эти данные используются для определения значений  $C_q$  для каждой лунки по каждому флуорофору. Программа использует один из следующих двух режимов определения значений  $C_q$ :

- **Регрессия.** Этот режим применяет модель нелинейной регрессии с несколькими переменными к отдельным кривым лунок, а затем использует эту модель для вычисления оптимального значения  $C_q$
- **Единый пороговый уровень.** Этот режим использует значение единого порогового уровня для вычисления значения  $C_q$  на основании точки пересечения порогового уровня отдельными кривыми флуоресценции

Выберите **Настройки > Режим определения  $C_q$**  для выбора режима определения  $C_q$ .

## Корректировка порогового уровня

В режиме Единый пороговый уровень скорректируйте пороговый уровень для флуорофора, щелкнув на линии порогового уровня на графике Амплификация и передвигая курсор мыши в вертикальном направлении. Или укажите точное пересечение порогового уровня для выбранного флуорофора, выполнив следующие инструкции:

1. Выберите один флуорофор с помощью селектора флуорофоров на вкладке Расчет (Рис. 50), установив флажок рядом с именем нужного флуорофора под графиком Амплификация.
2. Выберите **Настройки > Пороговый уровень базовой линии** в строке меню, чтобы открыть окно Пороговый уровень базовой линии.
3. Скорректируйте пересечение порогового уровня (Рис. 52) для флуорофора, щелкнув **Определен пользователем** и введя число порогового уровня.

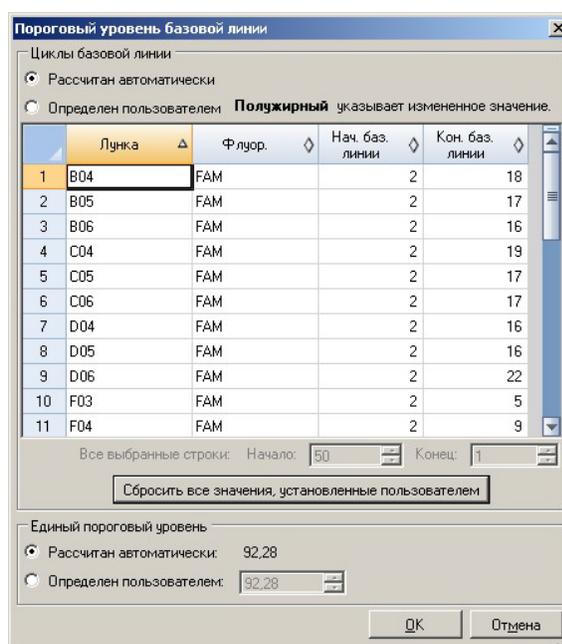


Рис. 52. Окно Пороговый уровень базовой линии.

4. Нажмите **ОК**, чтобы подтвердить изменения и закрыть окно.

## Настройки базовой линии

Программа автоматически устанавливает базовую линию отдельно для каждой лунки. Выберите Настройки базовой линии для определения способа вычета базовой линии для всех кривых флуоресценции. Выберите **Настройки > Настройка базовой линии**, чтобы выбрать один из трех вариантов:

- **Без вычета базовой линии.** Программа отображает данные как кривые относительной флуоресценции. Некоторые способы анализа невозможны в этом режиме анализа, поэтому программа не отображает вкладки Экспрессия гена, Конечная точка и Аллельная дискриминация

- **С вычетом базовой линии.** Программа отображает данные как кривые с вычетом базовой линии для каждого флуорофора в лунке. Программа должна вычесть базовую линию для определения циклов количественного анализа, построить стандартные кривые и определить концентрацию неизвестных проб. Чтобы создать кривую с вычетом базовой линии, программа прокладывает насколько возможно прямую линию через записанную флуоресценцию каждой лунки во время циклов базовой линии, а затем вычитает наиболее подошедшие данные из данных с вычетом фона на каждом цикле
- **Подбор кривой по точкам с вычетом базовой линии.** Программа отображает данные как кривые с вычетом базовой линии и сглаживает кривую с вычетом базовой линии с использованием фильтра центрированного среднего. Процесс происходит таким образом, что каждое значение  $C_q$  остается без изменений

При выборе любого из двух последних вариантов, также можно выбрать следующее:

- **Применить коррекцию смещения флуоресценции.** Для лунок, значения ОЕФ которых аномально смещаются в течение первых нескольких циклов прогона, программное обеспечение извлекает ориентировочную базовую линию из смежных лунок, для которых была успешно создана горизонтальная базовая линия

## Корректировка базовой линии

После выбора лунок для анализа проверьте настройки базовой линии в этих лунках. Откройте окно Пороговые уровни базовой линии (Рис. 52), чтобы изменить базовую линию по умолчанию для выбранных лунок. Чтобы открыть это окно:

1. Выберите один флуорофор на вкладке Количественный анализ (Рис. 50), установив флажок рядом с именем нужного флуорофора под графиком Амплификация.
2. Выберите **Настройки > Пороговый уровень базовой линии**, чтобы открыть окно Пороговый уровень базовой линии.

Чтобы скорректировать начало и конец цикла базовой линии для каждой лунки:

1. На панели Циклы базовой линии выберите одну или несколько лунок, щелкнув номер строки, щелкнув верхний левый угол, чтобы выбрать все лунки, удерживая клавишу Ctrl, чтобы выбрать несколько отдельных лунок, или удерживая клавишу Shift, чтобы выбрать несколько лунок в строке.
2. Скорректируйте цикл **Начало базовой линии** и цикл **Конец базовой линии** для всех выбранных лунок или измените номер цикла **Начала** и **Конца** в нижней части электронной таблицы (Рис. 52).
3. Чтобы вернуть настройки к последним сохраненным значениям, щелкните **Сбросить все значения, определенные пользователем**.
4. Нажмите **ОК**, чтобы подтвердить изменения и закрыть окно.

## Режим анализа

Данные можно анализировать и отображать, сгруппировав по имени флуорофора или по имени мишени. Чтобы выбрать режим анализа данных, выберите **Настройки > Режим анализа** или совершите выбор из раскрывающегося меню **Режим анализа** на панели управления.

Когда выбран режим **По флуорофорам**, кривые данных отображаются по флуорофорам, как указано на схеме плашки для этого прогона. Данные по отдельным флуорофорам отображаются на графике амплификации и на графике стандартной кривой (если доступен) при установке соответствующих флажков на селекторе флуорофоров под графиком амплификации.

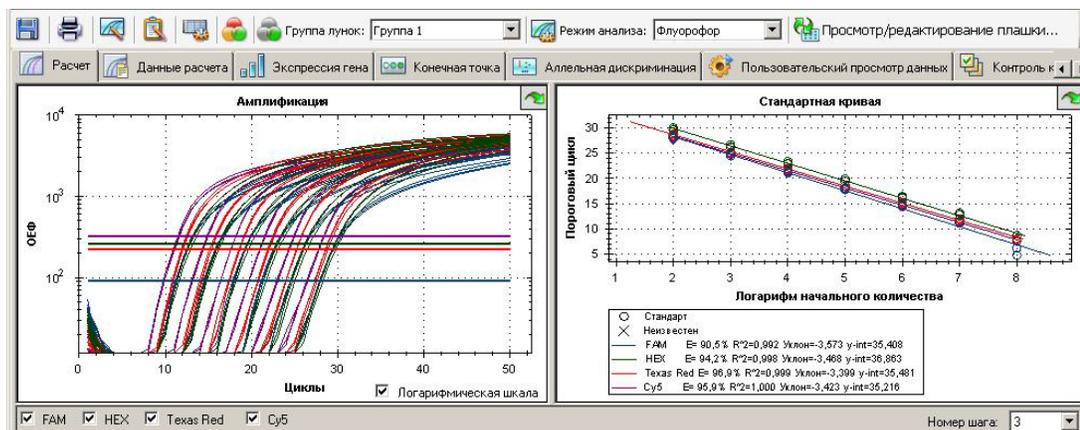


Рис. 53. Выбран режим анализа по флуорофорам.

Когда выбран вариант **По мишеням**, кривые данных отображаются по имени мишени, как указано на схеме плашки.

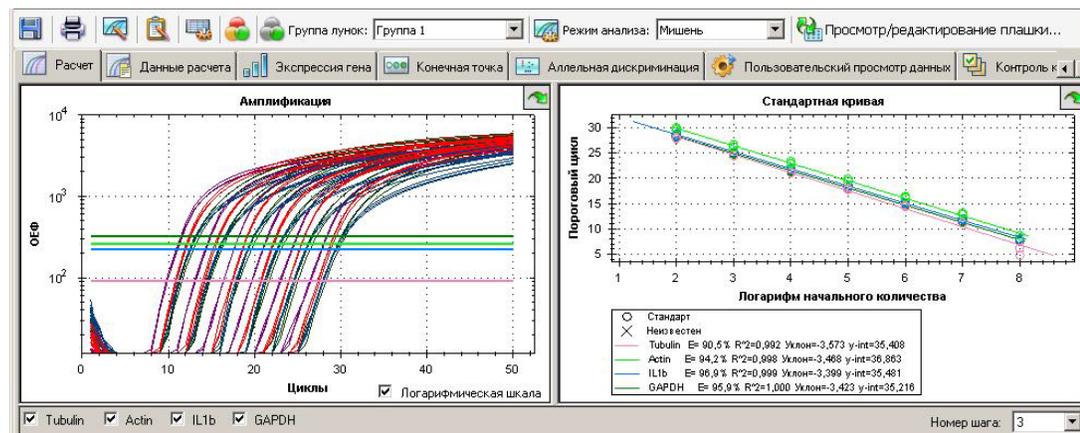


Рис. 54. Выбран режим анализа по мишеням.

## Циклы для анализа

Для ограничения анализа данных определенным диапазоном циклов, выберите **Настройки > Циклы для анализа**. Выберите начальный цикл и конечный цикл, используя кнопки со стрелками или введя нужные значения и нажав клавишу Enter. Нажмите кнопку **Восстановить значения по умолчанию** для возвращения к циклам, исходно используемым для анализа.

ПРИМЕЧАНИЕ. Удаление циклов из начала прогона может оказать значительное влияние на определение базовой линии.

## Селекторы лунок

Щелкайте лунки на селекторе лунок, чтобы отобразить или скрыть данные на графиках или в электронных таблицах во всем окне Анализ данных:

- Чтобы скрыть одну лунку, выделите и щелкните ее. Чтобы отобразить ее, выделите и щелкните снова.

- Чтобы скрыть несколько лунок, нажмите клавишу мыши, выделите лунки и отпустите клавишу. Чтобы отобразить эти лунки, снова нажмите клавишу мыши, выделите лунки и отпустите клавишу
- Щелкните верхний левый угол плашки, чтобы скрыть все лунки. Щелкните верхний левый угол плашки снова, чтобы отобразить все лунки
- Щелкните начало столбца или строки, чтобы скрыть содержащиеся в них лунки. Щелкните повторно начало столбца или строки, чтобы отобразить содержащиеся в них лунки

Только лунки с загруженным содержимым (введенным в окне Редактор плашки) могут быть выбраны в селекторе лунок, а их цвет показывает, выбраны ли они. Как показано на Рис. 55, селектор лунок отображает следующие три типа лунок:

- **Выбранные загруженные лунки (синие).** Они содержат загруженный тип пробы **Неизв.** (неизвестен). Данные из этих лунок появятся в окне Анализ данных
- **Невыбранные загруженные лунки (светло-серые).** Эти лунки содержат загруженные типы проб **Стд** и **К+**. Данные из этих невыбранных лунок не появятся в окне Анализ данных
- **Пустые лунки (темно-серые).** Эти лунки не были загружены в окне Редактор плашки

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B				Неизв1	Неизв2	Неизв3						
C				Неизв1	Неизв2	Неизв3						
D				Неизв1	Неизв2	Неизв3						
E												
F			Стд1	Стд2	Стд3	Стд4	Стд5	Стд6	Стд7			
G			Стд1	Стд2	Стд3	Стд4	Стд5	Стд6	Стд7			
H			Стд1	Стд2	Стд3	Стд4	Стд5	Стд6	Стд7			

Рис. 55. На селекторе лунок отображаются лунки трех цветов.

## Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши на селекторах лунок

Щелкните правой клавишей мыши по лунке(ам) на селекторе лунок, чтобы выбрать нужный пункт из приведенных в Табл. 21.

Табл. 21. Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши на селекторах лунок.

Пункт	Функция
Лунка XX	Просмотреть только эту лунку, удалить эту лунку из вида, задать цвет для этой лунки или исключить эту лунку из анализа
Выбранные лунки (нажать правую клавишу мыши и выделить перетаскиванием мыши)	Просмотреть только эти лунки, удалить эти лунки из вида, задать цвет для этих лунок или исключить эти лунки из анализа
Копировать	Копирует содержимое лунки в буфер обмена, включая тип пробы и (необязательно) номер реплики
Копировать как изображение	Копирует вид селектора лунок как изображение
Печать...	Печатает вид селектора лунок

**Табл. 21. Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши на селекторах лунок. (продолжение)**

Пункт	Функция
Печать выделенного...	Печатает текущее выделение
Экспорт в Excel...	Экспортирует данные в электронную таблицу Excel
Экспорт в текст...	Экспортирует данные в виде текстового документа
Экспорт в XML...	Экспортирует данные в виде документа XML
Метки лунок	Изменить метки лунок на Тип пробы, Имя мишени или Имя пробы

## Временно исключить лунки из анализа

Чтобы временно исключить какие-либо лунки из анализа данных:

### НАЖАТИЕМ ПРАВОЙ КЛАВИШИ МЫШИ

1. Щелкните правой клавишей мыши селектор лунок, кривую флуоресценции или точку на стандартной кривой. Чтобы исключить несколько лунок, нажмите правую клавишу мыши и перетаскивайте мышью для выделения нескольких лунок, кривых или точек.
2. В меню, раскрывающемся при нажатии правой клавиши мыши, выберите соответствующий параметр:

**Лунка > Исключить лунку**

**Выбранные лунки > Исключить из анализа**

**Выбранные кривые > Исключить эти лунки из анализа**



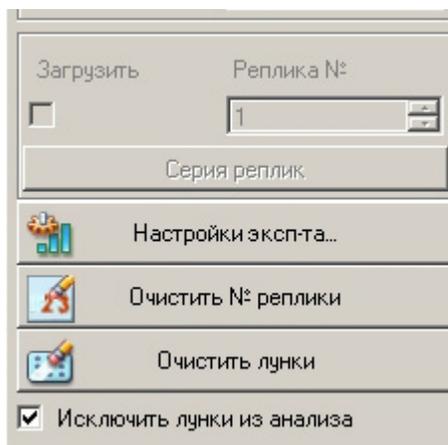
**Рис. 56. Щелкните правой клавишей мыши, чтобы исключить лунку из анализа.**

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Чтобы повторно включить в анализ исключенную лунку, щелкните соответствующую лунку в селекторе лунок и выберите **Включить лунку XX в анализ**.

### С ПОМОЩЬЮ РЕДАКТОРА ПЛАШКИ

1. Нажмите кнопку **Просмотр/редактирование плашки** на панели управления в окне Анализ данных.
2. Выберите одну или несколько лунок в селекторе лунок.

3. Установите флажок **Исключить лунки из анализа** (Рис. 57), чтобы исключить выбранные лунки. Установить флажок можно в нижней части элементов управления Редактора плашки с правой стороны окна.



**Рис. 57. Флажок Исключить лунки из анализа в нижней части панели.**

4. Исключенные лунки маркированы звездочкой (\*) в окне Редактор плашки.

Для того, чтобы окончательно удалить лунки из анализа, очистите содержимое лунок в окне Редактор плашки, нажав кнопку **Очистить лунки**.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Если содержимое лунки было очищено, для включения в анализ его придется вводить повторно.

## Диаграммы

Каждая диаграмма в окне Анализ данных отображает данные на различных графиках и содержит параметры для корректировки данных. Чтобы увеличить область диаграммы, нажмите клавишу мыши, перемещением мыши выберите область диаграммы и отпустите клавишу. Программа меняет масштаб диаграммы и центрирует ее по выбранной области.

Пояснение. Чтобы вернуться к просмотру всей диаграммы, щелкните правой клавишей мыши и выберите **Установить масштаб по умолчанию** из меню.

## Общие для диаграмм пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши

Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши, доступны на всех диаграммах. Некоторые пункты присутствуют для всех диаграмм, и эти пункты могут использоваться для изменения отображения данных или для удобного экспорта данных диаграммы (Табл. 22).

**Табл. 22. Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши на диаграммах.**

Пункт	Функция
Копировать	Копирует диаграмму в буфер обмена
Сохранить изображение как...	Сохраняет изображение диаграммы в графическом файле выбранного типа. Доступны следующие форматы: <b>PNG</b> (по умолчанию), <b>GIF, JPG, TIF</b> или <b>BMP</b>
Параметры страницы...	Обеспечивает предварительный просмотр и выбор параметров страницы для печати
Печать...	Печатает диаграмму
Показать значения точек	Показывает значения точек при перемещении курсора мыши над точками диаграммы.
Установить масштаб по умолчанию	Возвращает к виду диаграммы по умолчанию после увеличения диаграммы
Параметры диаграммы...	Открывает окно Параметры диаграммы для изменения диаграммы, включая изменение названия, выбор ограничений для осей X и Y, отображение линий сетки и отображение вспомогательных меток на осях

ПРИМЕЧАНИЕ. Пункты меню, которые применяются к определенным диаграммам, описаны в следующей главе, Вкладка окна Анализ данных (стр. 83).

## Электронные таблицы

Электронные таблицы, показываемые в окне Анализ данных, содержат параметры для сортировки и передачи данных. Сортируйте столбцы одним из следующих способов:

- Щелкните и перетащите столбец на новое место в выбранной таблице
- Щелкните название столбца, чтобы сортировать данные по возрастанию или по убыванию

Чтобы сортировать данные по трем столбцам в окне Сортировка, выполните следующие шаги:

1. Щелкните правой клавишей мыши на таблице, чтобы открыть меню и выбрать **Сортировка**.
2. В окне Сортировка выберите название первого столбца для сортировки. Сортируйте данные по возрастанию или по убыванию.
3. Выберите более одного названия столбца, выбрав название в раскрывающемся меню. Выберите **По возрастанию** или **По убыванию** для сортировки столбца в таком порядке.
4. Нажмите **ОК** для сортировки данных или нажмите **Отмена** для прекращения сортировки.

Выделите данные на связанных с таблицей графике и селекторе лунок, удерживая курсор мыши над ячейкой. Если щелкнуть ячейку, можно скопировать ее содержимое в другую программу.

## Общие для электронных таблиц пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши

Щелкните правой клавишей мыши по таблице, чтобы выбрать нужный пункт из перечисленных в Табл. 23:

**Табл. 23. Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши на электронных таблицах.**

Пункт	Функция
Копировать	Позволяет копировать содержимое выбранных лунок в буфер обмена, затем вставить содержимое в электронную таблицу, например Excel
Копировать как изображение	Копирует электронную таблицу как графический файл и позволяет вставить ее в файл, принимающий графический файл, например, текстовый файл, графический файл или электронную таблицу
Печать...	Печатает текущий вид таблицы
Печать выделенного...	Печатает текущее выделение
Экспорт в Excel...	Экспортирует данные в электронную таблицу Excel
Экспорт в текст...	Экспортирует данные в текстовый редактор
Экспорт в XML...	Экспортирует данные в файл XML
Экспорт в HTML...	Экспортирует данные в файл HTML
Найти...	Осуществляет поиск текста
Сортировка...	Сортирует данные максимум по трем столбцам
Выбрать столбцы...	Позволяет выбрать столбцы для отображения в электронной таблице

## Экспорт

Четыре варианта экспорта доступны в раскрывающемся меню **Экспорт**.

### Экспорт всех листов данных в Excel

Выберите **Экспорт > Экспорт всех листов данных в Excel** для экспорта видов электронных таблиц со всех вкладок программного обеспечения CFX Manager в отдельные файлы Excel.

### Экспорт файлов RDML

Выберите **Экспорт > Экспорт файлов RDML**, чтобы открыть окно Сохранить как и указать имя и местоположение файла для файла в формате RDML (Real-Time PCR Data Markup Language). RDML представляет собой структурированный и универсальный стандарт данных для обмена данными количественного ПЦР (кПЦР). Этот стандарт данных является текстовым файлом в формате XML (Extensible Markup Language). Для получения дополнительной информации о формате обмена данными RDML см. веб-сайт Международного консорциума RDML ([www.rdml.org](http://www.rdml.org)).

## Выборочный экспорт

Выберите **Экспорт > Выборочный экспорт**, чтобы открыть окно, в котором можно задать поля для экспорта и формат файла (Рис. 58).

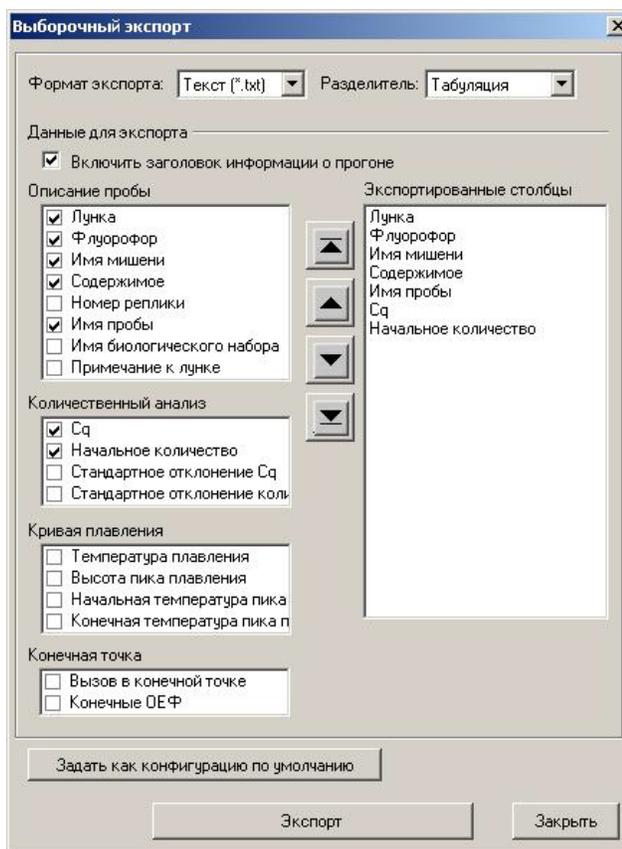


Рис. 58. Окно Выборочный экспорт.

1. Выберите формат экспорта из следующих форматов экспорта файла (текст \*.txt, CSV \*.csv, Excel 2007 \*.xlsx, Excel 2003 \*.xls, XML \*.xml и HTML \*.html).
2. Выберите элементы для экспорта, установив соответствующие флажки.
3. Нажмите кнопку Экспорт, чтобы открыть окно Сохранить как и указать имя файла и местоположение для экспортированного файла.

## Экспорт в папку LIMS

Выберите **Экспорт > Экспорт в папку LIMS**, чтобы открыть окно Сохранить как и указать имя файла для LIMS-совместимого формата файла, который будет сохранен в предварительно заданном местоположении **папки LIMS**. Для получения дополнительной информации о создании файлов LIMS, об управлении этими файлами и о том, как их использовать, см. Интеграция LIMS (стр. 142).

## 8 Вкладка окна Анализ данных

---

Прочитайте эту главу для получения дополнительной информации о вкладках окна Анализ данных:

- Вкладка Расчет (стр. 83)
- Вкладка Данные расчета (стр. 87)
- Вкладка Кривая плавления (стр. 90)
- Вкладка Данные кривой плавления (стр. 91)
- Вкладка Конечная точка (стр. 94)
- Вкладка Аллельная дискриминация (стр. 97)
- Вкладка Просмотр пользовательских данных (стр. 100)
- Вкладка Контроль качества (стр. 101)
- Вкладка Информация о прогоне (стр. 101)
- Отчеты по файлам данных (стр. 102)
- Отчеты по группам лунок (стр. 106)

### Вкладка Расчет

Используйте данные на вкладке Расчет (Рис. 59) для задания условий анализа, включая настройки базовой линии для отдельных лунок и настройки пороговых уровней. Вкладка Расчет показывает данные в следующих четырех представлениях:

- **График Амплификация.** Отображает относительные единицы флуоресценции (ОЕФ) для каждой лунки на каждом цикле. Каждая кривая на графике представляет данные, полученные от одного флуорофора в одной лунке
- **Стандартная кривая.** Этот график показывается только в том случае, если прогон содержит лунки, для которых определен тип пробы Стандарт. Он отображает стандартную кривую с пороговым циклом против логарифма начального количества. Легенда отображает Эффективность реакции (E) для каждого флуорофора в лункам с типом пробы Стандарт
- **Селектор лунок.** Выбирает лунки с данными флуоресценции, которые требуется показать

- **Таблица.** Отображает таблицу с данными, собранными на выбранных лунках

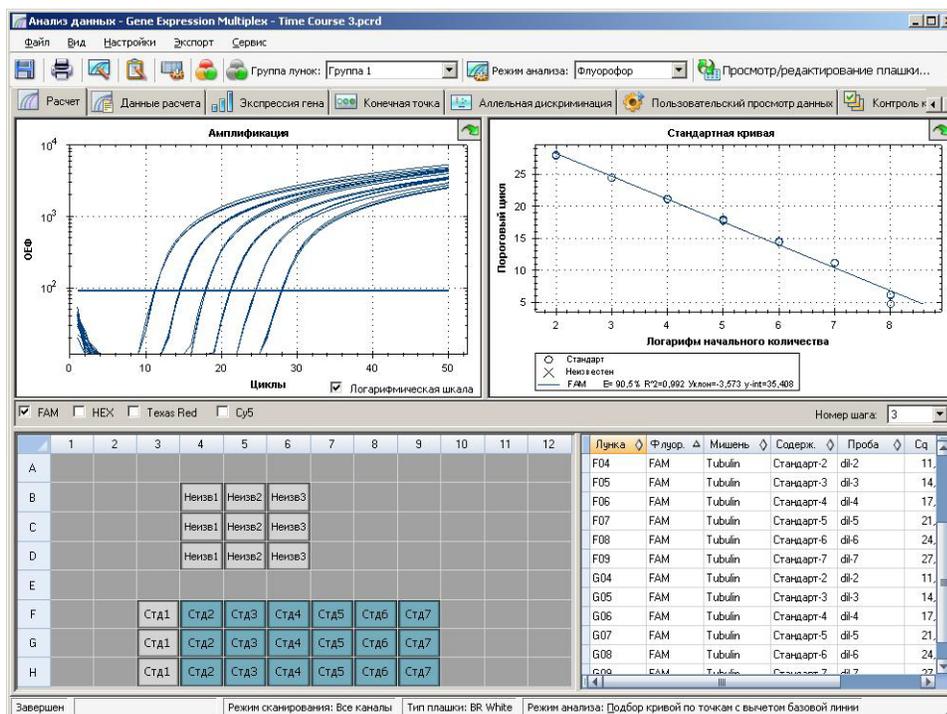


Рис. 59. Структура вкладки Расчет в окне Анализ данных.

## Селектор флуорофоров

Чтобы выбрать данные флуорофора для отображения на диаграммах и в таблицах вкладки Расчет, используйте селектор флуорофоров под графиком Амплификация. Установите флажок рядом с именем флуорофора, чтобы отобразить или скрыть данные флуорофора по всему окну анализа данных.

## Окно Стили кривой графика

Откройте окно Стили кривой графика (Рис. 60) для корректировки внешнего вида кривых на графиках амплификации и кривой плавления на вкладках Количественный анализ и Кривая плавления.

Чтобы открыть диалоговое окно, выполните следующие шаги:

1. Выберите один флуорофор в селекторе флуорофоров (Рис. 53 на стр. 76) под графиком Амплификация.
2. Нажмите кнопку **Стили кривой** на панели управления окна Анализ данных или выберите **Настройки > Стили кривой графика** в строке меню окна Анализ данных, или щелкните кривую правой клавишей мыши и выберите **Стили кривой графика**.

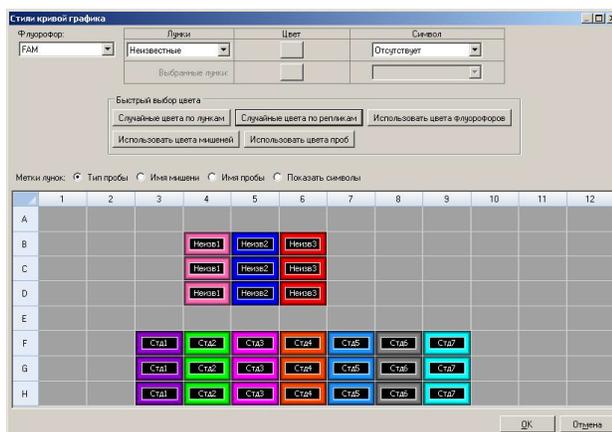


Рис. 60. Окно Стили кривой графика.

Используйте средства окна Стили кривой графика для изменения внешнего вида кривых, а также для предварительного просмотра изменений в селекторе лунок в нижней части окна.

- Выберите определенный набор лунок, используя селектор лунок. Или можно выбрать лунки, которые содержат один тип пробы, в раскрывающемся меню в столбце **Лунки**
- Щелкните прямоугольник в столбце Цвет, чтобы выбрать цвет для лунок
- Выберите символ из раскрывающегося меню в столбце Символ
- Можно выбрать **Быстрый набор цветов** для раскрашивания лунок тем образом, который указан меткой кнопки: Случайные по лункам, Случайные по репликам, Использовать цвета флуорофоров, Использовать цвета мишеней или Использовать цвета проб
- Выберите **Метки лунок**, нажав Тип пробы, Имя мишени, Имя пробы или Символ

## Выбор логарифмической шкалы

Установите флажок **Логарифмическая шкала** под графиком Амплификация для просмотра кривых флуоресценции на полулогарифмической шкале, как показано на Рис. 61.

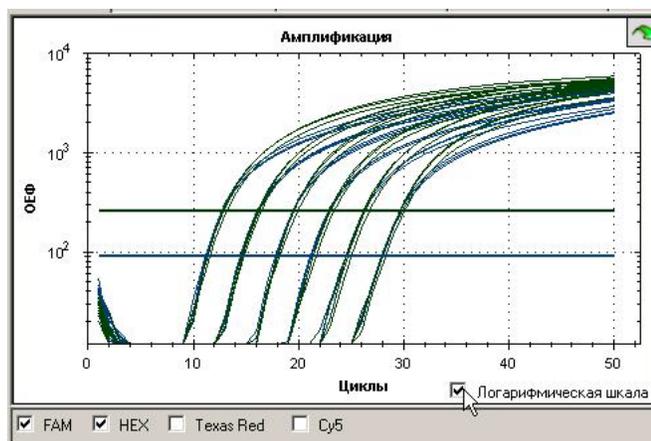


Рис. 61. Для графика Амплификация установлен флажок Логарифмическая шкала.

Пояснение. Чтобы увеличить любую область графика, нажмите клавишу мыши, выделите область графика, и отпустите клавишу. Чтобы вернуться к просмотру всего графика, щелкните правой клавишей мыши и выберите **Установить масштаб по умолчанию** из меню.

## График Стандартная кривая

Программа создает график стандартной кривой (Рис. 62) на вкладке Количественный анализ, если данные содержат типы проб, определенные как стандарт (Стд) для одного флуорофора в прогоне.

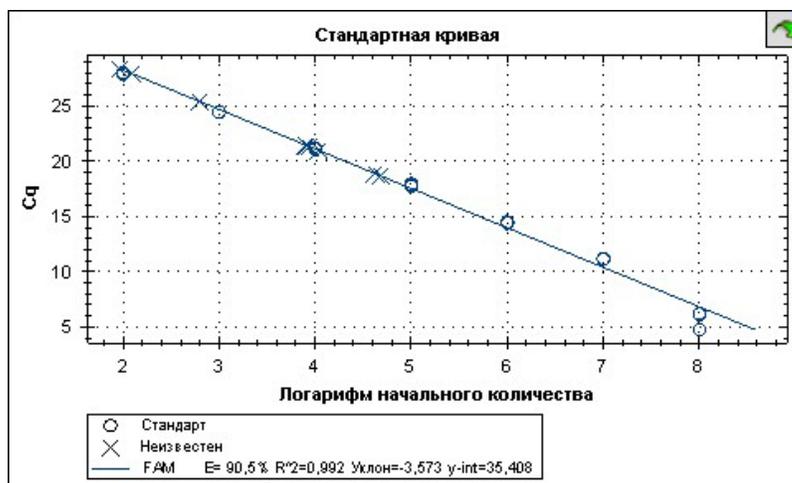


Рис. 62. График Стандартная кривая.

График Стандартная кривая отображает следующую информацию:

- Имя каждой кривой (флуорофор или мишень)
- Цвет каждого флуорофора или мишени
- Эффективность реакции (E). Используйте эту статистику для оптимизации мультиплексной реакции и выравнивания данных для стандартной кривой  
 ПРИМЕЧАНИЕ. Эффективность реакции (E) описывает количество мишени, производимое с каждым циклом протокола. Эффективность 100% означает, что с каждым циклом мишень удваивается
- Коэффициент определения, R<sup>2</sup> (записывается как R<sup>2</sup>). Используйте эту статистику для определения, насколько точно линия описывает данные (критерий согласия)
- Уклон
- у-отрезок

## Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши на диаграмме

В дополнение к общим пунктам меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши, которые предназначены для копирования, печати и экспорта диаграмм, в Табл. 24 перечислены пункты меню, доступные только для графика Амплификация.

**Табл. 24. Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши только на графике Амплификация**

Пункт меню	Функция
Лунка XX, Флуорофор/ Мишень	Просмотреть только эту лунку, удалить эту лунку из вида, задать цвет для этой кривой или исключить эту лунку из анализа
Выбранные кривые	Просмотреть только эти лунки, удалить эти лунки из вида, задать цвет для этих кривых или исключить эти лунки из анализа
Показать значения порогового уровня	Отображает значение порогового уровня для каждой кривой амплификации на графике
Стили кривой...	Открывает окно Стили кривой графика для изменения стилей кривой графика, отображаемой на вкладках Количественный анализ и Кривая плавления
Пороговый уровень базовой линии...	Открывает окно Пороговый уровень базовой линии, чтобы изменить базовую линию или пороговый уровень каждого флуорофора (изменения появляются на графике Амплификация на вкладке Количественный анализ)

## Электронная таблица на вкладке Количественный анализ

В Табл. 25 приведены типы данных, отображаемых в электронной таблице внизу справа на вкладке Количественный анализ:

**Табл. 25. Содержание электронной таблицы на вкладке Количественный анализ.**

Информация	Описание
Лунка	Положение лунки на плашке
Флуорофор	Обнаруженный флуорофор
Мишень	Имя мишени, загруженное в лунки Редактора плашки
Содержимое	Сочетание типа пробы (обязательно) и номера реплики (необязательно), загруженное в Редактор плашки
Проба	Имя пробы, загруженное в лунки Редактора плашки
C <sub>q</sub>	Цикл количественного анализа для каждой кривой

Пояснение. Чтобы внести изменения содержимого, мишени и пробы, откройте Редактор плашки, нажав кнопку **Просмотр/редактирование плашки**.

## Вкладка Данные расчета

Вкладка Данные количественного анализа отображает электронную таблицу, описывающую данные количественного анализа, собранные в каждой лунке. Выберите один из четырех вариантов для отображения данных в различных форматах:

- **Результаты.** Отображает данные в представлении электронной таблицы
- **Результаты стандартной кривой.** Отображает данные стандартной кривой в представлении электронной таблицы
- **Плашка.** Отображает представление данных в каждой лунке как карта плашки

- **ОЕФ.** Выберите эту таблицу для отображения количества ОЕФ в каждой лунке на каждом цикле  
 Пояснение. При нажатии правой клавиши мыши на любой таблице появится меню, помимо прочего содержащее функцию сортировки.

## Таблица Результаты

Выберите таблицу **Результаты** (Рис. 63), чтобы просмотреть данные по всем лункам на плашке.

Лунка	Флуор.	Мишень	Содерж.	Проба	Пороговый цикл (Cq)	Среднее Cq	Стандартное отклонение Cq	Нач. кол-во	Логарифм начального количества	Среднее начального количества
B04	Суб	GAPDH	Неизвестно-1	6Нг	17,14	17,13	0,003	1,911E+05	5,281	1,91E+05
B05	Суб	GAPDH	Неизвестно-2	7Нг	17,07	17,09	0,024	1,993E+05	5,300	1,97E+05
B06	Суб	GAPDH	Неизвестно-3	8Нг	17,08	17,08	0,035	1,980E+05	5,297	1,98E+05
C04	Суб	GAPDH	Неизвестно-1	6Нг	17,13	17,13	0,003	1,917E+05	5,283	1,91E+05
C05	Суб	GAPDH	Неизвестно-2	7Нг	17,12	17,09	0,024	1,937E+05	5,287	1,97E+05

**Рис. 63. Вкладка Данные расчета с выбранной таблицей Результаты.**

ПРИМЕЧАНИЕ. Все вычисления стандартного отклонения (SD) применяются к группам реплик, назначенным лункам в окне Редактор плашки. Вычисления усредняют значение  $C_q$  для каждой лунки в группе реплик.

Таблица Результаты содержит информацию, указанную в Табл. 26.

**Табл. 26. Содержание таблицы Результаты.**

Информация	Описание
Лунка	Положение лунки на плашке
Флуорофор	Обнаруженный флуорофор
Мишень	Имя мишени амплификации (ген)
Содержимое	Тип пробы и номер реплики
Проба	Описание пробы
Имя биологического набора	Имя биологического набора
$C_q$	Цикл количественного анализа
Среднее $C_q$	Среднее значение цикла количественного анализа для группы реплик
Станд. откл. $C_q$ C(t)	Стандартное отклонение цикла количественного анализа для группы реплик
Начальное кол-во (SQ)	Оценка начального количества мишени
Логарифм нач. кол-ва	Логарифм начального количества
Среднее нач. кол-ва	Среднее начального количества
Стандартное отклонение начального C(t)	Стандартное отклонение начального количества
Уставка	Температура пробы в лунке для шага градиента
Примечания к лункам	Один круг денатурации, отжига и удлинения или один круг шагов отжига и удлинения в протоколе

## Стандартная кривая – таблица результатов

Выберите таблицу результатов стандартной кривой (Рис. 64) для просмотра вычисленных параметров стандартной кривой.

Флуор.	Эффективность %	Уклон	У-отрезок	R^2
Cy5	95,93	-3,423	35,216	1,000
FAM	90,49	-3,573	35,408	0,992
HEX	94,24	-3,468	36,863	0,998
Texas Red	96,86	-3,399	35,481	0,999

Рис. 64. Стандартная кривая – таблица результатов на вкладке Данные расчета.

Эти значения можно скопировать и вставить в документ, выполнив нажатие правой клавишей мыши и выбрав **Копировать**, или можно создать файл путем выбора одного из параметров **Экспорт**.

Табл. 27. Содержимое таблицы результатов стандартной кривой.

Информация	Описание
Флуорофор (или Мишень)	Обнаруженный флуорофор (или мишень)
Эффективность %	Эффективность реакции
Уклон	Уклон стандартной кривой
у-отрезок	Точка, на которой отрезок кривая пересекает ось у
R^2	Коэффициент определения

## Таблица Плашка

Выберите таблицу **Плашка** для просмотра карты плашки по данным для одного флуорофора за раз. Выберите флуорофор, щелкнув вкладку в нижней части электронной таблицы. На Рис. 65 показана таблица Плашка как карта плашки.

		1	2	3	4	5	6
A	Содерж.						
	Проба						
	Cq						
	сору number						
B	Содерж.				Неизвестно-1	Неизвестно-2	Неизвестно-3
	Проба				6Hr	7Hr	8Hr
	Cq				25,43	21,33	18,67
	сору number				6,21e+02	8,73e+03	4,83e+04
C	Содерж.				Неизвестно-1	Неизвестно-2	Неизвестно-3
	Проба				6Hr	7Hr	8Hr
	Cq				27,92	21,41	18,89
	сору number				1,24e+02	8,26e+03	4,19e+04

Рис. 65. Таблица Плашка на вкладке Данные расчета.

## Таблица ОЕФ

Выберите таблицу **ОЕФ** для просмотра считываний относительных единиц флуоресценции ОЕФ для каждой лунки, собранных на каждом цикле прогона. Выберите отдельные флуорофоры, щелкнув вкладку в нижней части таблицы. Номера лунок отображаются вверху каждого столбца, а номер цикла отображается в левой части каждой строки (Рис. 66).

Цикл	B4	B5	B6	C4	C5	C6	D4	D5	D6	F3	F4	F
1	45,6	11,6	15,0	5,48	7,14	23,6	1,35	-17,5	192	39,9	30,6	
2	29,9	5,01	5,65	0,0416	-0,989	12,4	-0,689	-17,2	157	39,4	20,4	
3	15,0	0,773	6,65	-2,41	-0,154	9,63	-3,27	-6,84	133	44,9	13,8	
4	6,29	3,24	5,62	-0,119	-1,37	7,70	2,58	-3,87	112	47,9	6,28	
5	5,02	2,66	3,65	1,75	3,86	4,31	-3,29	0,0588	92,1	63,4	1,48	
6	-2,71	2,83	0,862	3,84	3,17	7,76	2,50	8,79	65,9	84,3	-4,18	

Рис. 66. Таблица ОЕФ на вкладке Данные количественного анализа.

## Вкладка Кривая плавления

Что касается ДНК-связывающих красителей и нераскалываемых зондов гибридизации, их флуоресценция ярче, чем двух нитей при отжиге ДНК. Соответственно, при подъеме температуры до температуры плавления ( $T_m$ ) флуоресценция красителя снижается с постоянной скоростью (постоянный уклон). На температуре плавления наблюдается резкое падение флуоресценции с заметным изменением уклона. Скорость изменения определяется вычерчиванием отрицательной первой регрессии флуоресценции относительно температуры ( $-dOEF/dT$ ). Наибольшая скорость изменения флуоресценции приводит к видимым пикам, и представляет  $T_m$  двухспиральных комплексов ДНК.

Программа чертит данные ОЕФ, собранные во время кривой плавления, как функцию температуры. Для анализа данных пика плавления программа назначает начальную и конечную температуру каждому пику, передвигая линию порогового уровня. Основа площади пика определяется положением линии порогового уровня плавления. Валидный пик должен иметь минимальную высоту относительно расстояния между пороговой линией и высотой наибольшего пика.

Откройте вкладку Кривая плавления (Рис. 67) для определения температуры плавления ( $T_m$ ) амплифицированных продуктов ПЦР. Эта вкладка отображает данные кривой плавления в следующих четырех представлениях:

- **Кривая плавления.** Просмотр данных реального времени для каждого флуорофора как относительные единицы флуоресценции (ОЕФ) на температуру каждой лунки
  - **Пик плавления.** Просмотр отрицательной регрессии данных ОЕФ относительно температуры для каждой лунки
  - **Селектор лунок.** Выбор лунок для отображения или скрытия данных
  - **Таблица пика.** Просмотрите таблицу данных, собранных в выбранной лунке
- ПРИМЕЧАНИЕ. Эта таблица отображает только два пика на каждую кривую. Чтобы просмотреть больше пиков, щелкните вкладку **Данные кривой плавления** (стр. 91).

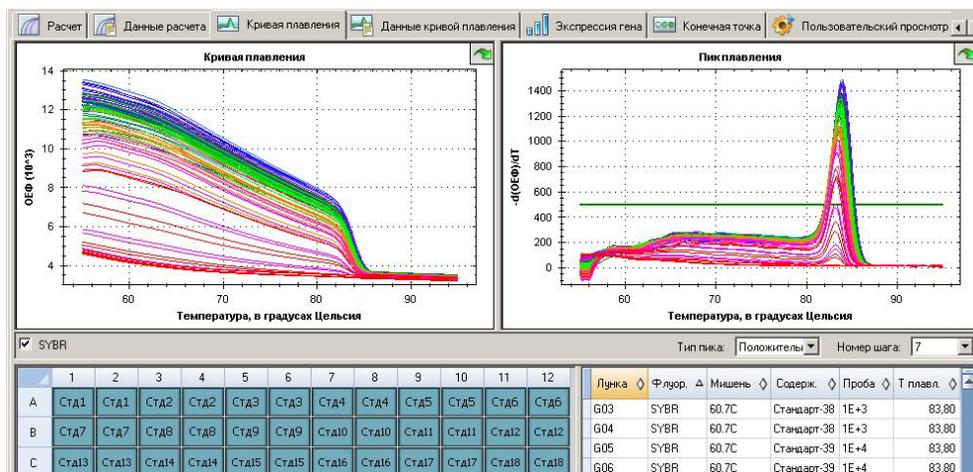


Рис. 67. Структура вкладки Кривая плавления в окне Анализ данных.

Скорректируйте данные кривой плавления одним из следующих способов:

- Щелкните и перетаскивайте линии порогового уровня на графике Кривая плавления для включения пиков в анализ данных и исключения их из анализа
- Выберите **Положительный** в раскрывающемся меню Пики для отображения данных таблицы для пиков над линией порога плавления, или выберите **Отрицательный** для отображения данных таблицы для пиков под линией порога плавления
- Откройте окно Стили кривой графика для изменения цвета кривых на графиках Кривая плавления и Пик плавления
- Выберите номер в селекторе Номер шага (стр. 73) для просмотра данных кривой плавления, собранных на другом шаге протокола. Список содержит более одного шага, если протокол включает чтение плашки (значок фотоаппарата) на двух или более шагах кривой плавления
- Выберите лунки в селекторе лунок, чтобы сосредоточить внимание на подмножестве данных
- Выберите группу лунок (стр. 73) для просмотра и анализа подмножества лунок на плашке. Выберите имя группы лунок в раскрывающемся меню Группа лунок в панели управления

## Вкладка Данные кривой плавления

Вкладка Данные кривой плавления показывает данные с вкладки Кривая плавления в нескольких электронных таблицах, которые содержат все пики плавления для каждой кривой. Выберите один из четырех вариантов для отображения данных кривой плавления в различных электронных таблицах:

- Пики плавления.** Перечисляет все данные, включая все пики плавления, для каждой кривой
- Плашка.** Позволяет просмотреть все данные и содержание каждой лунки на плашке
- ОЕФ.** Перечисляет количество ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) при каждой температуре для каждой лунки
- d(ОЕФ)/dT.** Перечисляет отрицательную скорость изменения ОЕФ при изменении температуры (Т). Это график первой регрессии для каждой лунки на плашке

## Таблица Пики плавления

Выберите таблицу **Пики плавления** (Рис. 68) для просмотра данных кривой плавления.

Лунка	Флуор.	Мишень	Содерж.	Проба	Т плав.	Высота пика	Начальная температура	Конечная температура
A01	SYBR	70.0C	Стандарт-01	1E+2	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
A02	SYBR	70.0C	Стандарт-01	1E+2	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
A03	SYBR	70.0C	Стандарт-02	1E+3	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
A04	SYBR	70.0C	Стандарт-02	1E+3	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
A05	SYBR	70.0C	Стандарт-03	1E+4	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
A06	SYBR	70.0C	Стандарт-03	1E+4	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
A07	SYBR	70.0C	Стандарт-04	1E+5	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует

**Рис. 68. Электронная таблица Пики плавления на вкладке Данные кривой плавления.**

Электронная таблица Пики плавления (Рис. 68) содержит информацию, указанную в Табл. 28.

**Табл. 28. Содержание таблицы Пики плавления.**

Информация	Описание
Лунка	Положение лунки на плашке
Флуорофор	Обнаруженный флуорофор
Содержимое	Тип пробы, указанный в окне Редактор плашки
Мишень	Мишень амплификации (ген)
Проба	Имя пробы, указанное в окне Редактор плашки
Температура плавления	Температура плавления каждого продукта, перечисленная как один пик (наибольший) на строчку таблицы
Высота пика	Высота пика
Начальная температура	Температура в начале пика
Конечная температура	Температура в конце пика

## Таблица Плашка

Выберите электронную таблицу **Плашка** (Рис. 69) для просмотра данных кривой плавления в формате плашки:

		1	2	3	4	5	6	Станд
А	Содерж.	Стандарт-1	Стандарт-1	Стандарт-2	Стандарт-2	Стандарт-3	Стандарт-3	Станд
	Проба	1E+2	1E+2	1E+3	1E+3	1E+4	1E+4	1E
	Пик 1	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсут
	Пик 2	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсут
В	Содерж.	Стандарт-7	Стандарт-7	Стандарт-8	Стандарт-8	Стандарт-9	Стандарт-9	Станд
	Проба	1E+2	1E+2	1E+3	1E+3	1E+4	1E+4	1E
	Пик 1	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	83,20	Отсутствует	83
	Пик 2	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсут
С	Содерж.	Стандарт-13	Стандарт-13	Стандарт-14	Стандарт-14	Стандарт-15	Стандарт-15	Станд
	Проба	1E+2	1E+2	1E+3	1E+3	1E+4	1E+4	1E

Рис. 69. Электронная таблица Плашка на вкладке Данные кривой плавления.

ПРИМЕЧАНИЕ. Чтобы скорректировать пик, вызываемый программой, скорректируйте пороговую линию на графике Пик плавления на вкладке Кривая плавления.

Таблица Плашка содержит информацию, указанную в Табл. 29.

Табл. 29. Содержание таблицы Плашка.

Информация	Описание
Содержимое	Сочетание типа пробы (обязательно) и номера реплики (необязательно)
Проба	Описание пробы
Пик 1	Первый пик плавления (наивысший)
Пик 2	Второй пик плавления (меньший)

## Таблица ОЕФ

Выберите электронную таблицу **ОЕФ** для просмотра данных флуоресценции для каждой лунки на каждом цикле, собранных на кривой плавления (Рис. 70).

Температура	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
55,00	4812	4653	4641	4600	4688	4727	5197	5045	6719
55,20	4791	4633	4622	4580	4668	4707	5179	5026	6699
55,40	4770	4614	4602	4561	4648	4686	5160	5008	6679
55,60	4749	4594	4582	4541	4627	4666	5141	4989	6659
55,80	4728	4574	4563	4521	4607	4645	5123	4971	6639
56,00	4707	4555	4543	4501	4587	4625	5104	4953	6619
56,20	4686	4535	4524	4482	4567	4605	5085	4934	6598

Рис. 70. Электронная таблица ОЕФ на вкладке Данные кривой плавления.

В Табл. 30 приводится информация, отображаемая в электронной таблице ОЕФ.

**Табл. 30. Содержание таблицы ОЕФ**

Информация	Описание
Номер лунки (A1, A2, A3, A4, A5...)	Положение лунки на плашке для загруженных лунок
Температура	Температура плавления амплифицированной мишени. По лунке на строку, несколько лунок для нескольких продуктов в одной лунке

## Таблица $-d(\text{ОЕФ})/dT$

Выберите таблицу  $-d(\text{ОЕФ})/dT$  для просмотра данных, перечисленных на Рис. 71.

Температура	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
55,00	52,5	49,1	48,9	49,3	50,2	51,0	46,7	46,1	50,3	46,7
55,20	114	106	106	107	109	111	101	99,9	109	101
55,40	105	98,3	97,9	98,7	100	102	93,4	92,2	101	93,5
55,60	105	98,3	97,9	98,7	100	102	93,4	92,2	101	93,5
55,80	105	98,3	97,9	98,7	100	102	93,4	92,2	101	93,5
56,00	105	98,3	98,0	98,6	100	102	93,3	92,1	101	93,2
56,20	104	98,2	97,0	99,1	101	103	93,9	93,0	100	94,9

**Рис. 71. Электронная таблица  $-d(\text{ОЕФ})/dT$  на вкладке Данные кривой плавления.**

В Табл. 31 приводится информация, отображаемая в электронной таблице  $-d(\text{ОЕФ})/dT$ .

**Табл. 31. Содержание таблицы  $-d(\text{ОЕФ})/dT$ .**

Информация	Описание
Номер лунки (A1, A2, A3, A4, A5...)	Положение лунки на плашке для загруженных лунок
$-d(\text{ОЕФ})/dT$	Отрицательная скорость изменения ОЕФ при изменении температуры (Т)

## Вкладка Конечная точка

Откройте вкладку Конечная точка для анализа окончательных относительных единиц флуоресценции (ОЕФ) для лунок проб. Программа сравнивает уровни ОЕФ для лунок с неизвестными пробами с уровнями ОЕФ для лунок с отрицательными контролями, и “называет” неизвестные пробы положительными или отрицательными. Положительные пробы имеют значение ОЕФ больше среднего значения ОЕФ отрицательного контроля плюс значение отсека.

Для анализа данных конечной точки плашка должна содержать отрицательный контроль, или программа не сможет сделать вызов. Выполните один из следующих двух типов протоколов:

- **Выполните протокол количественного анализа.** Создайте стандартный протокол. После выполнения прогона откройте окно Анализ данных, скорректируйте настройки анализа на вкладке Расчет, затем щелкните вкладку Конечная точка, чтобы взять цикл конечной точки

- **Выполните протокол с прогоном только в конечной точке.** Загрузите протокол с прогоном только в конечной точке на вкладку Плашка окна Создать прогон, выберите или создайте плашку и выполните прогон

На вкладке Конечная точка приводятся средние значения ОЕФ для определения, производилась ли амплификация мишени в последнем (конечном) цикле. Используйте эти данные для определения, присутствует ли в пробе определенная последовательность-мишень (положительная). Положительные мишени имеют большие значения ОЕФ, чем заданный уровень отсеечения.

Пояснение. Чтобы создать протокол конечной точки, откройте вкладку Протокол (окно Создать прогон) и выберите **Параметры > Прогон только в конечной точке.**

На вкладке Конечная точка программа отображает следующие данные:

- **Настройки.** Корректировка настроек анализа данных
- **Результаты.** Отображает результаты непосредственно после корректировки настроек
- **Селектор лунок.** Позволяет выбрать лунки с данными конечной точки, которые требуется показать
- **Таблица лунок.** Отображает таблицу с конечными ОЕФ, собранными на выбранных лунках

Лунка	Флуор	Содерж	Проба	Конечные ОЕФ	Вызов
C03	HEX	Стандарт-1		15271	(+) Положительный
C04	HEX	Стандарт-2		10788	(+) Положительный
C05	HEX	Стандарт-3		6245	(+) Положительный
C06	HEX	Стандарт-4		4035	(+) Положительный
C07	HEX	Отрицательный		1887	
D03	HEX	Стандарт-1		15193	(+) Положительный
D04	HEX	Стандарт-2		10781	(+) Положительный
D05	HEX	Стандарт-3		6294	(+) Положительный
D06	HEX	Стандарт-4		4013	(+) Положительный
D07	HEX	Отрицательный		1882	
E03	HEX	Стандарт-1		14530	(+) Положительный
E04	HEX	Стандарт-2		10240	(+) Положительный
E05	HEX	Стандарт-3		5838	(+) Положительный
E06	HEX	Стандарт-4		3896	(+) Положительный
E07	HEX	Отрицательный		1882	
F03	HEX	Стандарт-1		14055	(+) Положительный
F04	HEX	Стандарт-2		9932	(+) Положительный
F05	HEX	Стандарт-3		5826	(+) Положительный
F06	HEX	Стандарт-4		3964	(+) Положительный
F07	HEX	Отрицательный		1883	

**Рис. 72. Структура вкладки Анализ в конечной точке.**

Список Результаты содержит следующую информацию:

- **Наименьшее значение ОЕФ.** Наименьшее значение ОЕФ в данных
- **Наибольшее значение ОЕФ.** Наибольшее значение ОЕФ в данных
- **Среднее отрицательного контроля.** Среднее значение ОЕФ для лунок, содержащий отрицательных контроль
- **Значение отсеечения.** Вычисляется добавлением устойчивости (ОЕФ или процента диапазона, приведенных в настройках) и среднего отрицательных контролей. Пробы с ОЕФ более значения отсеечения будут называться "Положительными". Для корректировки значения отсеечения измените ОЕФ или процент диапазона

Значение отсеечения вычисляется по формуле:

$$\text{Cut Off Value} = \text{Negative Control Average} + \text{Tolerance}$$

Выберите устойчивость одним из следующих способов:

- **ОЕФ (по умолчанию).** Выберите этот способ для использования абсолютного значения ОЕФ для устойчивости. Минимальное значение устойчивости ОЕФ – 2. Максимальным является абсолютное значение наибольшего значения ОЕФ минус абсолютное значение наименьшего значения ОЕФ. Значение устойчивости ОЕФ по умолчанию равно 10% от всего диапазона ОЕФ
- **Процент диапазона.** Выберите этот способ для использования процентного значения диапазона ОЕФ для устойчивости. Минимальный процент диапазона – 1 процент. Максимальный процент диапазона – 99 процентов. Процент диапазона по умолчанию – 10 процентов

## Корректировка анализа данных в конечной точке

Скорректируйте информацию, отображаемую на вкладке Конечная точка, используя следующие способы:

- Выберите **Флуорофор** из раскрывающегося списка для просмотра данных
- Выберите значение **Усреднить конечные циклы**, чтобы задать количество циклов, используемое программой для вычисления среднего значения ОЕФ конечной точки
- Выберите **ОЕФ** для просмотра данных в относительных единицах флуоресценции
- Выберите **Процент диапазона** для просмотра данных в процентах от диапазона ОЕФ
- Выберите лунки в селекторе лунок, чтобы сосредоточить внимание на подмножестве данных
- Выберите группу лунок (стр. 73) для просмотра и анализа подмножества лунок на плашке. Выберите имя группы лунок в раскрывающемся меню Группа лунок в панели управления

## Описание данных для анализа в конечной точке

В Табл. 32 перечислена информация, отображаемая в электронной таблице на вкладке Конечная точка.

**Табл. 32. Содержание электронной таблицы Конечная точка.**

Информация	Описание
Лунка	Положение лунки на плашке
Флуорофор	Обнаруженный флуорофор
Содержимое	Сочетание типа пробы и номера реплики
Конечные ОЕФ	ОЕФ на цикле конечной точки
Вызов	Положительная или отрицательная, где положительные пробы имеют значение ОЕФ больше среднего значения ОЕФ отрицательного контроля плюс значение отсечения.
Проба	Имя пробы, загруженное в Редактор плашки

## Вкладка Аллельная дискриминация

Вкладка Аллельная дискриминация назначает генотипы лункам с неизвестными пробыми, используя ОЕФ или Cq проб положительного контроля. Используйте эти данные для идентификации проб с различными генотипами, включая Аллель 1, Аллель 2, Гетерозиготу, Неизвестную пробу, Контроль 1 или Контроль 2.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Данные для аллельной дискриминации должны быть получены в ходе мультиплексных прогонов с минимум двумя флуорофорами. Каждый флуорофор идентифицирует один аллель во всех пробах.

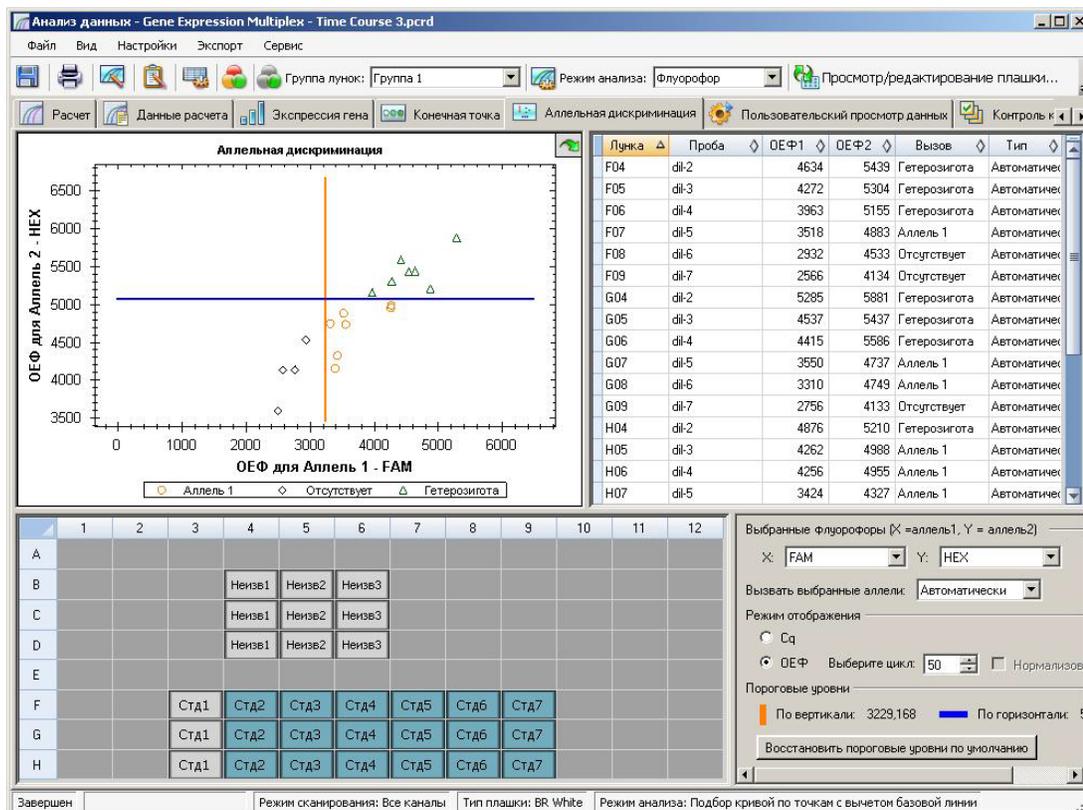
Анализ аллельной дискриминации требует следующего минимального содержания лунок:

- Два флуорофора в каждой лунке, за исключением лунок, содержащих положительный контроль (в них может содержаться всего один флуорофор)
- Один флуорофор, общий для всех лунок в группе лунок
- Пробы Контроль без матрицы, если требуется нормализовать данные

Программа отображает данные аллельной дискриминации в следующих структурах:

- **График ОЕФ или Cq.** Просмотрите данные на графике RFU или Cq для Аллеля 1/Аллеля 2. Каждая точка на графике представляет данные от одного флуорофора в одной лунке
- **Таблица лунок.** Отображает таблицу с данными аллельной дискриминации, полученными на каждой лунке на плашке
- **Селектор лунок.** Позволяет выбрать лунки с данными конечной точки, которые требуется показать

- **Таблица лунок.** Отображает таблицу с данными аллельной дискриминации, полученными на выбранных лунках



**Рис. 73. Структура вкладки Аллельная дискриминация в окне Анализ данных.**

## Корректировка данных для Аллельной дискриминации

Программа автоматически назначает генотип лункам с неизвестными пробами на основании положения вертикальной и горизонтальной пороговых полос, а затем перечисляет вызовы генотипа в электронной таблице. Чтобы автоматически вызвать генотипы, программа использует положительные контроли (если доступны) и оценивает пороговые уровни. Программа берет среднее значение  $C_q$  или ОЕФ для положительных контролей, чтобы автоматически задать линии пороговых уровней для дискриминации аллелей.

Скорректируйте положение полос пороговых уровней, щелкнув и перетаскив их, и программа автоматически скорректирует вычисления для новых назначений генотипа:

- Если прогон содержит три контроля на плашке, тогда положение полос пороговых уровней основывается на среднем и стандартном отклонении значений ОЕФ или  $C_q$  контролей
- Если количество контролей меньше трех, тогда положение полос пороговых уровней определяется диапазоном ОЕФ или значениями порогового цикла для выбранного флуорофора

Скорректируйте данные аллельной дискриминации одним из следующих способов:

- Щелкните и перетащите полосы порогового уровня на графике Аллельная дискриминация, чтобы скорректировать вызовы в таблице

- Выберите флуорофор для каждой оси на графике (**X:** и **Y:**) с помощью настроек в правой нижней части окна
- Измените вызов вручную, выделив строку таблицы и затем выбрав параметр в списке Вызвать выбранные аллели (включающем Аллель 1, Аллель 2, Гетерозиготу, Отсутствует, Неизвестен, Контроль 1 или Контроль 2)
- Нажмите **Восстановить пороговые уровни по умолчанию**, чтобы вернуть вертикальные и горизонтальные полосы в исходное положение, указанное цифрами рядом с полосами
- Выберите **Режим отображения C<sub>q</sub>**, чтобы просмотреть данные как пороговые уровни. Выберите **Режим отображения ОЕФ**, чтобы просмотреть данные в относительных единицах флуоресценции на выбранном цикле
- Выберите **Нормализовать данные**, чтобы нормализовать данные ОЕФ, отображаемые на графике и в таблице

Нормализация приводит данные на графике в диапазон от 0 до 1 по обеим осям. Для нормализации данных плашка должна содержать лунки с типом проб контроль без матрицы (NTC) для Аллеля 1 и Аллеля 2. Для этого графика данные ОЕФ нормализованы по значениям контроля без матрицы как линейное сочетание ОЕФ, специфичных для Аллеля 1 и Аллеля 2. Этот график является эффективным способом представления данных ОЕФ.

Вычисление нормализованных ОЕФ производится по формулам, представленным Livak и соавт. (1995).

$$\text{Normalized } A_1 = \frac{A_1}{A_1 + A_2 + \bar{x}(NTC_{A1 + A2})}$$

где:

- A<sub>1</sub> представляет ОЕФ для Аллеля 1
- A<sub>2</sub> представляет ОЕФ для Аллеля 2
- $\bar{x}$  представляет среднее значение ОЕФ

NTC<sub>A1 + A2</sub> представляет сумму ОЕФ для пробы Контроль без матрицы Аллеля 1 и Аллеля 2

## Электронная таблица Аллельная дискриминация

Таблица Аллельная дискриминация справа сверху на вкладке Аллельная дискриминация отображает информацию, указанную в Табл. 33.

**Табл. 33. Содержание электронной таблицы Аллельная дискриминация.**

Информация	Описание
Лунка	Положение лунки на плашке
ОЕФ1 или C <sub>q</sub> 1	ОЕФ или C <sub>q</sub> для Аллеля1
ОЕФ2 или C <sub>q</sub> 2	ОЕФ или C <sub>q</sub> для Аллеля2
Вызов	Определение аллеля, включая автоматические Аллель 1, Аллель 2, Гетерозиготу, Отсутствует, Неизвестен, Контроль 1, Контроль 2
Тип	Авто (Автоматически) или Вручную. Описывает способ, которым был сделан вызов. Автоматически означает, что программа выбрала вызов. Вручную означает, что вызов был выбран пользователем.

## Вкладка Пользовательский просмотр данных

Вкладка Просмотр пользовательских данных одновременно отображает несколько панелей в настраиваемом формате (Рис. 74).

Раскрывающийся список **Загрузить предустановленный вид** предлагает выбор шаблонов формата отображения. Отображаемое представление по умолчанию зависит от анализируемого файла. Например, если присутствуют данные кривой плавления, отображается представление по умолчанию Ампл.+Плавление.

Представление данных можно дополнительно настраивать, используя следующие способы:

- Выбрав другой предустановленный вид из раскрывающегося списка
- Используя раскрывающееся меню, расположенное в верхней части отдельной панели
- Используя варианты раскрывающихся списков Строки и Столбцы
- Изменяя размеры отдельной панели путем нажатия и перетаскивания ползунков на границах каждой панели

Пользовательские представления можно сохранить как новые предустановленные шаблоны, нажав **Сохранить как предустановленный**. Существующие предустановленные шаблоны можно удалить или переименовать, а также можно восстановить предустановленные представления по умолчанию, нажав **Управление предустановками**.

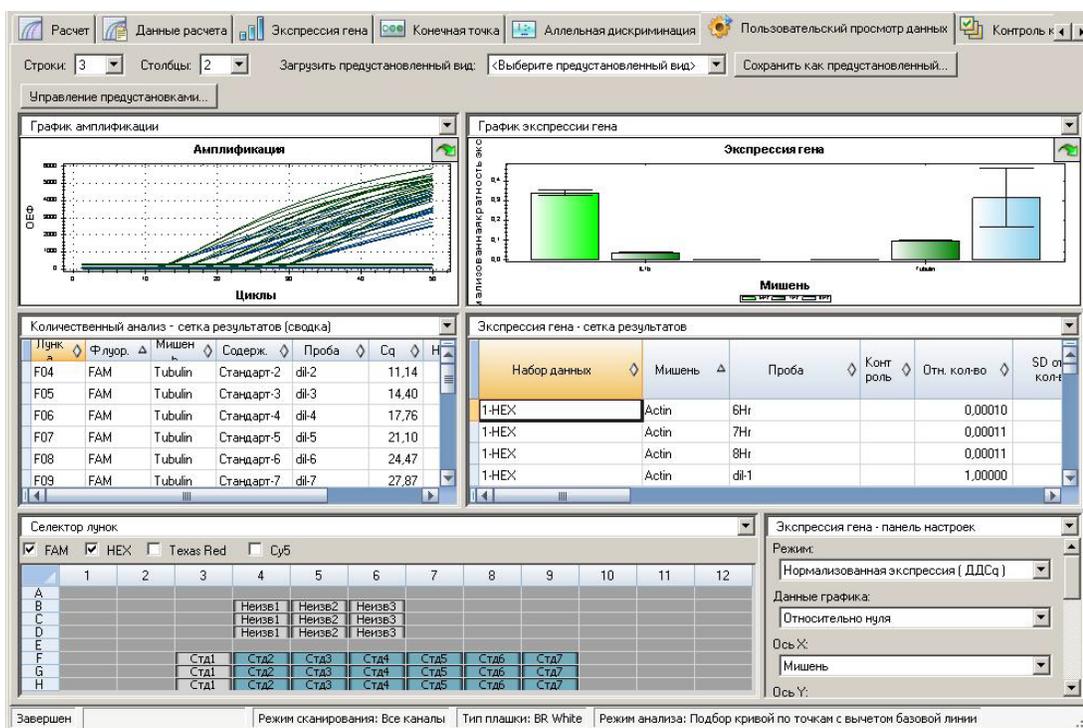


Рис. 74. Вкладка Пользовательский просмотр данных

## Вкладка Контроль качества

Откройте вкладку Контроль качества чтобы быстро оценить качество данных прогона на основании правил, определенных на вкладке Контроль качества окна Пользовательские настройки (для получения дополнительной информации см. Вкладка Контроль качества на стр. 137).

Вкладка Контроль качества содержит четыре области (Рис. 75):

- **График Амплификация.** Отображает относительную флуоресценцию (ОЕФ) для каждой лунки на каждом цикле. Каждая кривая на графике представляет данные, полученные от одного флуорофора в одной лунке
- **Таблица правил контроля качества.** Показывает доступные правила контроля качества и настройки, определяющие каждое правило. Применяемые правила контроля качества обозначены галочкой. Правило контроля качества можно убрать, сняв флажок “Использовать”
- **Селектор лунок.** Выбирает лунки с данными флуоресценции, которые требуется показать
- **Сводка правил контроля качества.** Показывает выбранное правило контроля качества и выделяет лунки, которые не соответствуют правилу

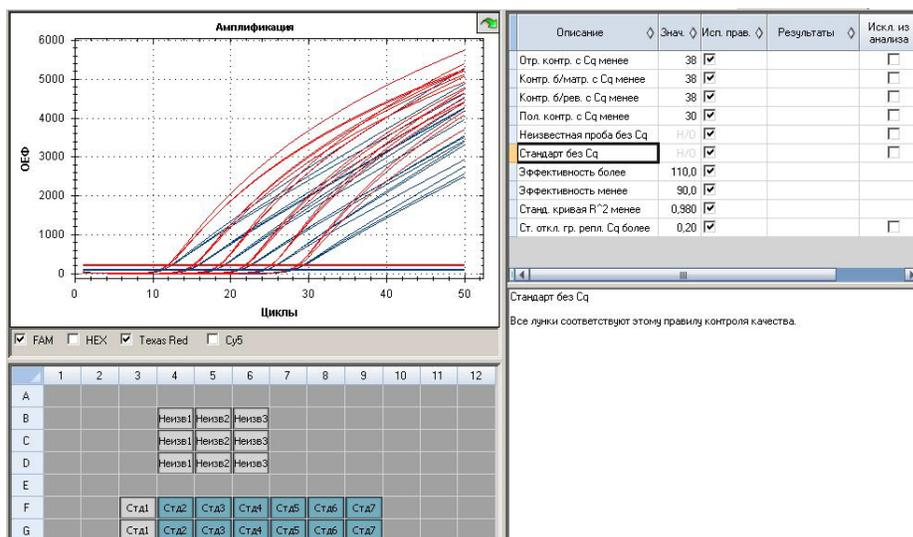


Рис. 75. Структура вкладки Контроль качества.

### Исключение лунок, которые не соответствуют контролю качества

Лунки, не соответствующие критериям контроля качества, перечислены в столбце результатов таблицы правил контроля качества и в сводной панели. Эти лунки можно исключить из анализа или включить в анализ путем установки или снятия соответствующего флажка Исключить лунки.

## Вкладка Информация о прогоне

Вкладка Информация о прогоне (Рис. 76) отображает протокол и другую информацию о каждом прогоне. Откройте эту вкладку для выполнения следующих действий:

- Просмотр протокола

- Ввод и редактирование примечаний. Введите или измените примечания к прогону в текстовом поле Примечания
- Введите или отредактируйте идентификатор данных для прогона в поле Идентификатор
- Просмотрите раздел **Другое** для обнаружения событий, таких как сообщения об ошибках, которые могли появиться в ходе прогона. Просмотр этих сообщений может помочь в поиске и устранении неисправностей в ходе прогона

Пояснение. Щелчок правой клавиши мыши на протоколе позволяет скопировать, экспортировать или распечатать его. Щелчок правой клавиши мыши по панелям Примечания, Идентификатор и Другое позволяет отменить действие, вырезать, копировать, вставить, удалить или выбрать текст.

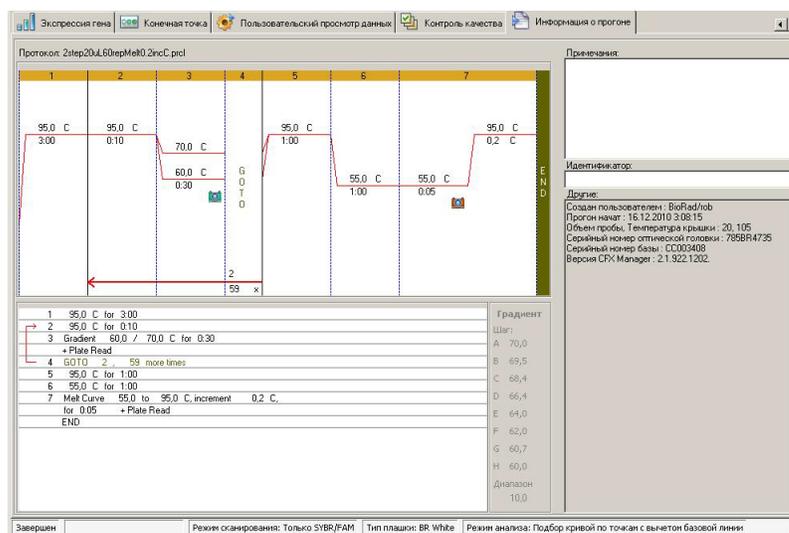


Рис. 76. Структура вкладки Информация о прогоне.

## Отчеты по файлам данных

Окно Отчет (Рис. 77) показывает информацию о текущем файле данных в окне Анализ данных. Чтобы открыть отчет, выберите **Сервис > Отчеты** или нажмите кнопку **Отчеты** на панели управления окна Анализ данных.

Окно Отчет отображает следующие три раздела:

- **Меню и панель управления.** Выберите параметры для форматирования, сохранения и печати отчета или шаблона
- **Список параметров отчета (вверху, с левой стороны окна).** Выберите параметры для отображения в отчете
- **Панель параметров отчета (внизу, с левой стороны окна).** Введите информацию о выбранном параметре
- **Панель предварительного просмотра отчета (с правой стороны окна).** Воспользуйтесь предварительным просмотром текущего отчета



**Рис. 77. Пример окна Отчет для файла данных.**

Пояснение. Структура отчета может определять тип информации, которая появляется в отчете, если сохранить отчет как шаблон. Выберите **Шаблон > Сохранить** или **Сохранить как**, чтобы сохранить структуру текущего отчета как шаблон.

## Создайте отчет анализа данных

Чтобы создать отчет в окне Анализ данных, выполните следующие шаги:

1. Выполните окончательные корректировки содержимого лунок, выбранных лунок, графиков и таблиц в окне Анализ данных до создания отчета.
2. Нажмите кнопку **Отчет** на панели управления окна Анализ данных, чтобы открыть окно Отчет.
3. Измените параметры, которые требуется включить в отчет. Отчет открывается с выбранными параметрами по умолчанию. Установите флажки в списке параметров отчета для изменения всех категорий или отдельных параметров в категории.  
ПРИМЕЧАНИЕ. Данные, отображаемые в отчете, зависят от текущего выбора на вкладках окна Анализ данных. Например, количественный прогон не может содержать стандартную кривую, поэтому эти данные не отображаются в окне Анализ данных или в отчете по данным.
4. Порядок категорий и пунктов в отчете можно изменить, щелкнув и перетаскив их на нужные относительные позиции. Изменить порядок пунктов можно только в пределах категорий, к которым они принадлежат.
5. Нажмите кнопку **Обновить отчет**, чтобы обновить панель предварительного просмотра отчета со всеми изменениями.

6. Распечатайте или сохраните отчет. Нажмите кнопку **Печать отчета** на панели управления, чтобы вывести на печать текущий отчет. Выберите **Файл > Сохранить**, чтобы сохранить отчет как файл в формате PDF (файл Acrobat Reader), МНТ- (документ Microsoft) или МНТМЛ- (документ Microsoft) и выбрать местоположение для хранения файла. Выберите **Файл > Сохранить как**, чтобы сохранить отчет с новым именем или в новое местоположение.
7. (Необязательно) Создайте шаблон отчета с нужной вам информацией. Чтобы сохранить текущие настройки отчета в шаблоне, выберите **Шаблон > Сохранить** или **Сохранить как**. Теперь можно загрузить шаблон отчета в следующий раз, когда потребуется создать новый отчет.

## Категории отчета анализа данных

Отчет может содержать любые параметры во всех категориях, описанных в Табл. 34, в зависимости от типа данных в окне Анализ данных.

**Табл. 34. Категории отчета анализа данных в списке параметров.**

Категория	Параметр	Описание
<b>Заголовок</b>		
		Название, подзаголовок и логотип для отчета
	Информация об отчете	Дата прогона, имя пользователя, имя файла данных, путь к файлу данных и выбранная группа лунок
	Сведения аудита	Дополнительная информация, необходимая для аудита, включая подписи
	Примечания	Примечания к отчету
<b>Создание прогона</b>		
	Информация о прогоне	Содержит дату прогона, имя пользователя, имя файла данных, путь к файлу данных и выбранную группу лунок
	Протокол	Текстовое представление шагов и параметров протокола
	Отображение плашки	Показывает плашку с информацией по каждой лунке плашки
<b>Расчет</b>		
	Настройки анализа	Содержит номер шага, на котором были собраны данные, режим анализа и способ вычета базовой линии
	График амплификации	Копия графика амплификации для прогона, содержащего количественные данные
	График Стандартная кривая	Копия графика стандартной кривой
	Данные	Электронная таблица с перечислением данных по каждой лунке
<b>Экспрессия гена</b>		
	Настройки анализа	Включает режим анализа, данные графика, параметр масштабирования и ошибку графика
	Диаграмма	Копия графика экспрессии гена

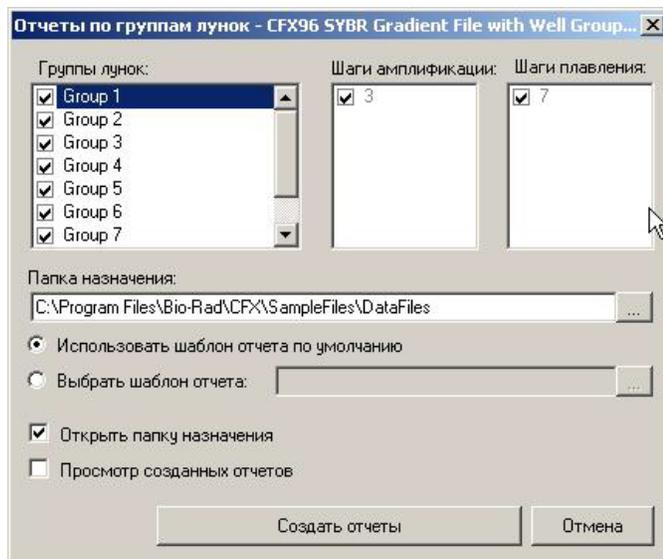
Табл. 34. Категории отчета анализа данных в списке параметров. (продолжение)

Категория	Параметр	Описание
	Имена мишеней	Таблица имен
	Имена проб	Таблица имен
	Данные	Электронная таблица с перечислением данных по каждой лунке
	Стабильность мишени	График значений стабильности мишени
<b>Кривая плавления</b>		
	Настройки анализа	Включает номер шага кривой плавления и настройки линии порогового уровня
	Кривая плавления – график	Копия графика кривой плавления
	График пиков плавления	Копия графика пиков плавления
	Данные	Электронная таблица с перечислением данных по каждой лунке
<b>Аллельная дискриминация</b>		
	Настройки анализа	Содержит режим изображения, флуорофоры, пороговые уровни и нормализованные данные
	Аллельная дискриминация – график	Копия графика аллельной дискриминации
	Данные	Электронная таблица с перечислением данных по каждой лунке
<b>Конечная точка</b>		
	Настройки анализа	Содержат флуорофор, усреднение конечных циклов, режим, наименьшее значение ОЕФ, наибольшее значение ОЕФ и значение отсечения
	Данные	Электронная таблица с перечислением данных по каждой лунке
<b>Параметры контроля качества</b>		
	Данные	Таблица с перечислением параметров для каждого правила контроля качества

## Отчеты по группам лунок

Для создания отчетов по определенным группам лунок:

1. Выберите **Сервис > Отчеты по группам лунок** в окне анализа данных.



**Рис. 78. Окно Отчеты по группам лунок.**

2. В окне **Отчеты по группам лунок** (Рис. 78) можно указать группы лунок, шаги амплификации и шаги плавления, которые следует включить в отчеты, поставив соответствующий флажок.
3. Папку назначения можно заменить на другое местоположение, нажав кнопку ... .
4. Выберите **Выбрать шаблон отчета**, чтобы выбрать другой шаблон вместо шаблона по умолчанию. Щелкните кнопку ... для поиска файла шаблона.
5. После создания отчетов можно открыть папку назначения и просмотреть отчеты, установив соответствующий флажок.
6. Щелкните **Создать отчеты**, чтобы создать отчеты, как указано.

## 9 Анализ экспрессии гена

---

Прочитайте эту главу для получения информации о проведении анализа экспрессии гена:

- Экспрессия гена (стр. 107)
- Схема плашки для анализа экспрессии гена (стр. 108)
- Вкладка Экспрессия гена (стр. 108)
- Окно Настройки прогона (стр. 114)
- Исследование гена (стр. 116)
- Окно Отчет исследования гена (стр. 121)
- Расчеты экспрессии гена (стр. 123)

### Экспрессия гена

При использовании точно оцененных контрольных проб в реакциях можно проводить прогон экспрессии гена для нормализации относительных различий концентрации-мишени в пробах. Обычно уровни сообщений для одного или нескольких генов-ссылок используются для нормализации уровней экспрессии интересующего гена. Гены-ссылки учитывают различия загрузки и другие вариации, представленные в каждой пробе, и они не должны регулироваться изучаемой биологической системой.

Откройте вкладку Экспрессия гена для оценки относительных различий между реакциями ПЦР в двух или более лунках на плашке. Например, можно оценить относительное число вирусных геномов или относительное число трансфицированных последовательностей в реакции ПЦР. Наиболее частым применением исследования экспрессии гена является сравнение концентраций кДНК в более чем одной реакции для оценки уровня стабильности мРНК.

Программа вычисляет относительный уровень экспрессии мишени, используя один из следующих сценариев:

- Относительный уровень экспрессии последовательности-мишени (Мишень 1) относительно другой мишени (Мишень 2). Например, количество одного гена относительно другого гена в одних условиях обработки пробы
- Относительный уровень экспрессии одной последовательности-мишени в одной пробе при сравнении с той же мишенью при другой обработке. Например, относительное количество одного гена относительно себя же при разных временных, географических условиях или условиях развития

## Схема плашки для анализа экспрессии гена

Для проведения анализа экспрессии гена содержимое лунок на плашке должно содержать следующую информацию:

- **Две или более мишеней.** Эти две мишени представляют собой разные амплифицированные гены или последовательности в ваших пробах
- **Одна или несколько ссылок-мишеней.** По крайней мере одна мишень должна являться мишенью-ссылкой для нормализованной экспрессии. Назначьте все мишени-ссылки в окне Настройки прогона (стр. 51) для анализа данных в режиме Нормализованная экспрессия ( $\Delta\Delta C_q$ ). Прогоны, не содержащие ссылки, должны анализироваться с использованием режима Относительное количество ( $\Delta C_q$ )
- **Общие пробы.** Для просмотра графических данных на вкладке Экспрессия гена реакции должны содержать общие пробы (не менее двух). Эти пробы представляют различную обработку или различные условия для каждой из используемых последовательностей (мишеней). Задайте контрольную пробу (необязательно) в окне Настройки прогона (стр. 51)

Требования к схеме плашки для экспрессии гена в Редакторе плашки зависят от того, являются ли содержимое реакций **ПЦР для определения экспрессии одного гена** с одним флуорофором в реакциях или **мультиплексной ПЦР** с несколькими флуорофорами в реакциях.

На Рис. 79 приведен пример минимального содержания лунок для прогона с определением экспрессии одного гена.

Неизв Mishen1	Неизв Mishen1
Proba1	Proba2
Неизв Mishen2	Неизв Mishen2
Proba1	Proba2

**Рис. 79. Пример минимального содержания лунок для прогона с определением экспрессии одного гена.**

На Рис. 80 приведен пример минимального содержания лунок для прогона с определением мультиплексной экспрессии.

Неизв Mishen1 Mishen2	Неизв Mishen1 Mishen2
Proba1	Proba2

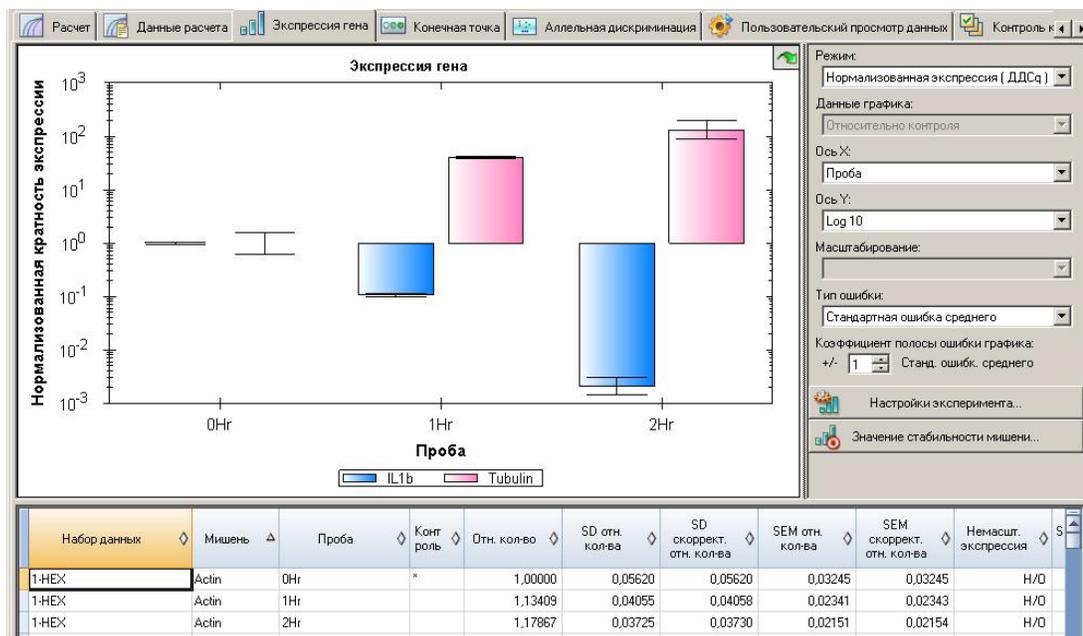
**Рис. 80. Пример минимального содержания лунок для прогона с определением мультиплексной экспрессии.**

## Вкладка Экспрессия гена

Структура вкладки Экспрессия гена (Рис. 81) в окне Анализ данных отображает относительную экспрессию мишеней в следующих представлениях:

- **График экспрессии гена.** Показывает данные прогона в реальном времени как нормализованную экспрессию ( $\Delta\Delta C_q$ ) или относительное количество ( $\Delta C_q$ )

- **Электронная таблица.** Показывает электронную таблицу данных экспрессии гена  
Пояснение. Щелкните правой клавишей мыши на графике или таблице для выбора дополнительных параметров. Нажмите **Просмотр/редактирование плашки**, чтобы открыть Редактор плашки и изменить содержимое лунок на плашке.



**Рис. 81. Структура вкладки Экспрессия гена в окне Анализ данных.**

Пояснение. Щелкните правой клавишей мыши на графике, чтобы выбрать пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши. Выберите **Сортировка** из этого меню для изменения порядка имен мишени и пробы на графике.

## Нормализованная экспрессия гена

Для нормализации данных используйте измеренный уровень экспрессии одного или нескольких генов-ссылок (мишеней) как коэффициент нормализации. Гены-ссылки являются мишенями, не регулируемые в изучаемой биологической системе, например, актин, GAPDH или Histone H3.

Для настройки анализа нормализованной экспрессии гена ( $\Delta\Delta C_q$ ) выполните следующие шаги:

1. Откройте файл данных (с расширением .pcrd).
2. Просмотрите данные на вкладке Количественный анализ окна Анализ данных. Скорректируйте данные, изменив пороговый уровень и Режим анализа.
3. Щелкните вкладку **Экспрессия гена**.
4. Выберите контрольную пробу на вкладке **Пробы** окна Настройки прогона. Если назначена контрольная проба, программа нормализует относительные количества для всех генов по контрольному количеству, для которого задан уровень 1.
5. Выберите гены-ссылки для прогона на вкладке **Мишень** окна Настройки прогона. Анализ экспрессии гена требует наличия одной ссылки среди мишеней в пробах.
6. Выберите вариант **Нормализованная экспрессия ( $\Delta\Delta C_q$ )**, если он еще не выбран, и просмотрите уровни экспрессии на вкладке Экспрессия гена.

## Относительное количество

По определению данные относительного количества ( $\Delta C_q$ ) не нормализованы. Этот метод используется для подсчета проб, не содержащих гены-ссылки (мишени). Обычно исследователи уверены в одном из следующих соображений при настройке прогона:

- Каждая проба представляет одинаковое количество матрицы в каждой из биологических проб, возможно, одинаковую массу РНК или кДНК в каждой лунке
- Любые расхождения в количестве загруженной биологической пробы будут нормализованы после прогона определенным методом анализа данных вне программы. Например, исследователь может предпочесть попросту разделить значение относительного количества на фактор нормализации, такой как масса нуклеиновых кислот, загруженных для каждой пробы, или количество клеток, из которых была выделена нуклеиновая кислота

Выберите **Относительное количество ( $\Delta C_q$ )** из раскрывающегося меню в элементах управления графиком на вкладке Экспрессия гена, чтобы провести анализ относительного количества ( $\Delta C_q$ ).

Пояснение. Для сравнения результатов с данными из других прогонов экспрессии гена, откройте новое Исследование гена (стр. 119) или добавьте файл данных к существующему Исследованию гена.

## Корректировка данных экспрессии гена

Выбрав метод анализа, скорректируйте данные, доступные для просмотра на вкладке Экспрессия гена, путем изменения настроек параметров справа от графика.

### ДАННЫЕ ГРАФИКА

Параметры данных графика позволяют представлять данные на графике, используя один из следующих вариантов:

- **Относительно контроля.** Постройте график с масштабом осей от 0 до 1. Если в вашем прогоне назначена контрольная проба, выберите этот вариант для быстрой визуализации повышающей и понижающей регуляции мишени
- **Относительно нуля.** Постройте график по данным с началом в нулевой точке

### ПАРАМЕТРЫ ОСИ X.

Параметры оси X позволяют выбрать данные оси X графика Экспрессия гена:

- **Мишень.** Выберите для отображения имени мишени
- **Проба.** Выберите для отображения имени пробы

### ПАРАМЕТРЫ ОСИ Y

Параметры оси Y позволяют использовать одну из трех шкал для графика экспрессии гена:

- **Линейная.** Выберите этот вариант для отображения линейной шкалы
- **Log 2.** Выберите этот вариант для оценки проб по большому динамическому диапазону
- **Log 10.** Выберите этот вариант для оценки проб по очень большому динамическому диапазону

## ПАРАМЕТРЫ МАСШТАБИРОВАНИЯ

Выберите **Нормализованная экспрессия гена** ( $\Delta\Delta C_q$ ), чтобы активировать параметры масштабирования на графике Экспрессия гена. Выберите один из этих параметров масштабирования для вычисления и представления данных таким образом, который наиболее подходит вашей схеме прогона:

- **Немасштабированная экспрессия.** Этот параметр представляет немасштабированную нормализованную экспрессию гена
- **Наибольшее.** Масштабируйте нормализованную экспрессию гена до наибольшего значения для каждой мишени, разделив уровень экспрессии каждой пробы на наибольший уровень экспрессии во всех пробах. Этот параметр масштабирования использует формулу масштабирования до наибольшего
- **Наименьшее.** Пересчитайте нормализованную экспрессию гена для каждой мишени, разделив уровень экспрессии каждой пробы на наименьшее значение экспрессии во всех пробах. Этот параметр масштабирования использует формулу масштабирования до наименьшего

## Тип ошибки

Выберите параметр для типа вычислений ошибки (полос ошибки) на графике Экспрессия гена:

- Стандартная ошибка среднего (по умолчанию, SEM)
- Стандартное отклонение (SD)

## КОЭФФИЦИЕНТ ПОЛОСЫ ОШИБКИ ГРАФИКА

Выберите коэффициент для полос ошибки на графике Экспрессия гена. Выберите одно из следующих целых чисел: +/- 1 (по умолчанию), 2 или 3. Тип коэффициента меняется при выборе Типа ошибки:

- Станд. ошибк. среднего для стандартной ошибки среднего
- Станд. откл. для стандартного отклонения

## ЗНАЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ МИШЕНИ

Значения стабильности мишени можно вычислить всякий раз, если используется более одного гена-ссылки. Программа рассчитывает два параметра качества для генов-ссылок:

- **Коэффициент вариации (CV)** нормализованных относительных количеств гена-ссылки. Более низкое значение CV свидетельствует о большей стабильности
- **M-значение.** Мера стабильности экспрессии гена-ссылки:

**Табл. 35. Приемлемые значения для стабильно экспрессируемых генов-ссылок.** (Hellemans и соавт. 2007)

Пробы	Коэффициент вариации	M
Однородный	< 0,25	< 0,5
Неоднородный	< 0,5	< 1

## Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши, для графика Экспрессия гена

Щелкните правой клавишей мыши по графику Экспрессия гена, чтобы выбрать элементы, которые приведены в Табл. 36.

**Табл. 36. Пункты меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши.**

Пункт	Функция
Копировать	Копирует график в буфер обмена
Сохранить как изображение	Сохраняет график на диаграмме в виде графического файла. Тип изображения по умолчанию – PNG. В числе других типов файлов GIF, JPG, TIF и BMP
Параметры страницы...	Позволяет выбрать параметры страницы для печати
Печать...	Печатает график
Показать значения точек	Отображает относительное количество для каждой точки на графике при размещении курсора над этой точкой
Установить масштаб по умолчанию	Возвращает масштаб по умолчанию после увеличения графика
Параметры диаграммы...	Открывает окно Параметры графика для корректировки графика
Сортировка	Сортирует порядок отображения проб или мишеней на оси X графика
Использовать скорректированные стандартные отклонения	Вычисляет полосы ошибки с использованием формулы скорректированного стандартного отклонения
Использовать сплошные цвета для столбцов	Отображает столбцы сплошным цветом на графике
Метки оси X	Позволяет выбрать отображения меток оси X горизонтально или под углом

## Электронная таблица Экспрессия гена

В таблице Табл. 37 описывается информация, содержащаяся в электронной таблице Экспрессия гена.

**Табл. 37. Описание информации, представленной в электронной таблице на вкладке Экспрессия гена.**

Информация	Описание
Мишень	Имя мишени (амплифицированного гена), выбранное в окне Настройки прогона
Проба	Имя пробы, выбранное в окне Настройки прогона
Контроль	Контрольная проба, когда имя пробы выбрано как контроль в окне Настройки прогона
Экспрессия	Нормализованная экспрессия ( $\Delta\Delta C_q$ ) или Относительное количество ( $\Delta C_q$ ), в зависимости от выбранного режима
SEM отн. кол-ва (или SD)	Стандартная ошибка среднего или стандартное отклонение, в зависимости от выбранного варианта

**Табл. 37. Описание информации, представленной в электронной таблице на вкладке Экспрессия гена. (продолжение)**

Информация	Описание
SEM скоррект. экспр. (или SD)	Скорректированное значение вычисления для стандартной ошибки среднего (SEM) или стандартного отклонения (SD) относительной экспрессии, в зависимости от выбранного варианта
Среднее $C_q$	Среднее цикла количественного анализа
$C_q$ SEM (или SD)	Стандартная ошибка среднего или стандартное отклонение цикла количественного анализа, в зависимости от выбранного варианта

## Флажок Подробнее

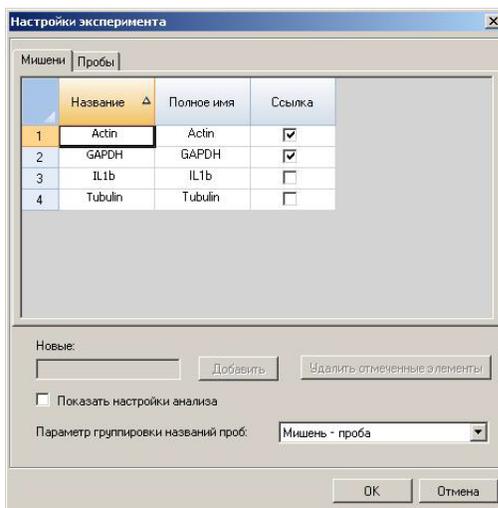
Когда Подробнее выбрано из меню, открывающегося при нажатии правой клавиши мыши, таблицы экспрессии гена, электронная таблица показывает информацию, перечисленную в Табл. 38.

**Табл. 38. Информация в электронной таблице Экспрессия гена при установленном флажке Подробнее.**

Информация	Описание
Набор данных	Данные флуоресценции одного флуорофора в файле данных
Отн. кол-во	Вычисленное относительное количество проб
SD отн. кол-ва	Расчет стандартного отклонения относительного количества
SD скоррект. отн. кол-ва	Вычисленное стандартное отклонение скорректированного относительного количества
SEM отн. кол-ва	Стандартная ошибка среднего вычисления относительного количества
SEM скоррект. отн. кол-ва	Вычисленная стандартная ошибка среднего скорректированного количества
Немасшт. экспрессия	Вычисленная немасштабированная экспрессия
SD немасшт. экспр.	Вычисленное стандартное отклонение немасштабированной экспрессии
SD скоррект. немасшт. экспр.	Вычисленное стандартное отклонение немасштабированной экспрессии
SEM немасшт. экспрессии	Вычисленная стандартная ошибка немасштабированной экспрессии
SEM скоррект. немасшт. экспрессии	Вычисленная стандартная ошибка немасштабированной экспрессии
Экспрессия	Относительный уровень экспрессии
Лунки	Количество лунок на плашке

## Окно Настройки прогона

Откройте окно Настройки эксперимента, нажав кнопку **Настройки прогона** на вкладке Экспрессия гена. В этом окне просмотрите или измените список мишеней и проб, выберите гены-ссылки, выберите контрольные пробы или задайте группу проб для анализа экспрессии гена, если к лункам были добавлены имена биологических наборов (Рис. 82).



**Рис. 82. Окно Настройки прогона с выбранной вкладкой Мишени.**

Чтобы скорректировать списки на этих вкладках, используйте следующие функции:

- Добавьте имя мишени или пробы, введя имя в поле **Новые** и нажав **Добавить**
- Удалите имя мишени или пробы из списка, установив флажок **Удалить имя** для этой строки, а затем нажав кнопку **Удалить отмеченные элементы**
- Выберите мишень как ссылку для анализа данных экспрессии гена, установив флажок в столбце **Ссылка** рядом с именем мишени
- Выберите пробу как контрольную пробу для анализа данных экспрессии гена, установив флажок в столбце **Контроль** рядом с именем пробы

## Параметры анализа биологического набора

Загрузка **имени биологического набора** в лунки позволяет анализировать пробы в одной из четырех конфигураций. Для доступа к этим вариантам со вкладки Экспрессия гена, нажмите кнопку **Настройки прогона** и выберите конфигурацию анализа из раскрывающегося списка Параметров анализа биологического набора.

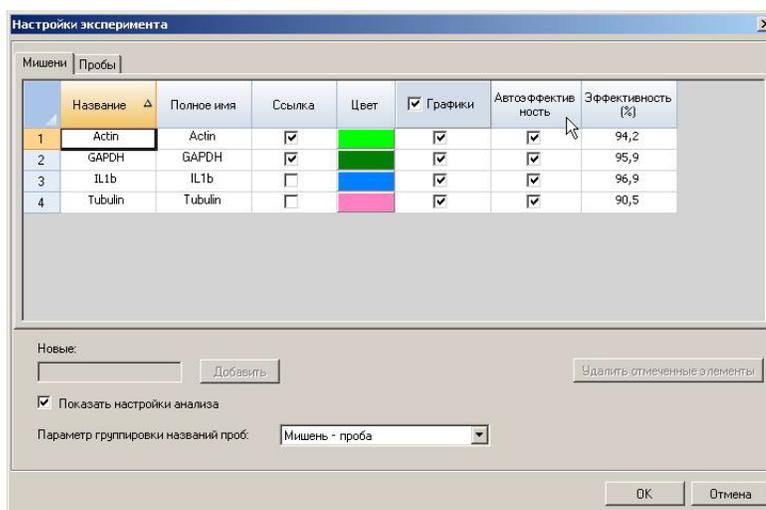
- **Мишень – проба.** Только имя пробы лунки используется для расчета экспрессии гена
- **Мишень – биологический набор.** Только имя биологического набора используется для расчета экспрессии гена
- **Мишень – проба\_биологический набор.** Имя пробы и имя биологического набора объединены, составляя единое имя, используемое в расчетах
- **Мишень – биологический набор\_проба.** Имя биологического набора и имя пробы объединены, составляя единое имя, используемое в расчетах

## Показать настройки анализа в Настройках прогона

Установите флажок **Показать настройки анализа** в окне Настройки прогона для просмотра или изменения параметров анализа, применяемых на вкладке Экспрессия гена:

- Щелкните ячейку в столбце **Цвет**, чтобы изменить цвет линии мишени на графике Экспрессия гена
- Укажите значение эффективности мишени. Программа вычислит относительную эффективность для мишени с помощью **Автоэффективности**, если данные для мишени содержат стандартную кривую. В противном случае укажите заранее определенную эффективность

На Рис. 83 показана эффективность всех мишеней, которая появляется при установке флажка **Автоэффективность**.

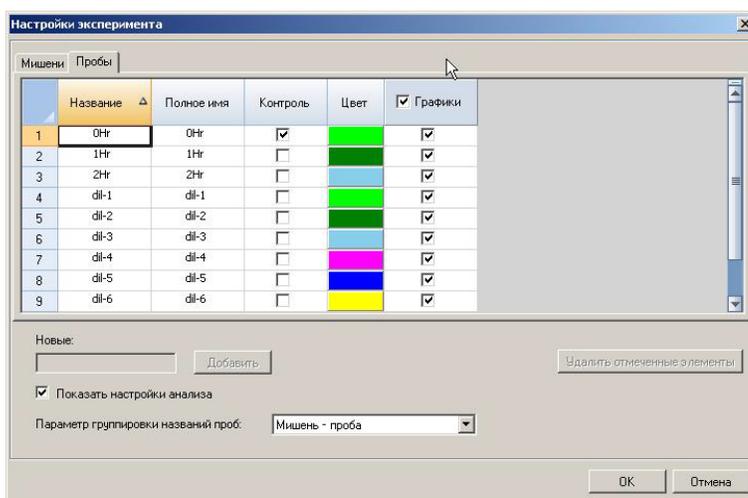


**Рис. 83. Вкладка Мишени в окне Настройки прогона при установленном флажке Показывать настройки анализа.**

Чтобы скорректировать настройки для пробы на вкладке Пробы:

- Щелкните цветной прямоугольник в столбце **Цвет**, чтобы изменить цвет линии пробы на графике Экспрессия гена
- Установите флажок в столбце **Показывать диаграмму** для отображения пробы на диаграмме Экспрессия гена тем цветом, который выбран в столбце Цвет

На Рис. 84 показаны пробы с установленным флажком **Показать диаграмму**.



**Рис. 84. Вкладка Пробы в окне Настройки прогона при установленном флажке Показать настройки анализа.**

## Исследование гена

Создайте исследование гена для сравнения данных экспрессии гена одного или нескольких прогонов ПЦР в реальном времени с помощью калибратора между прогонами для нормализации данных между прогонами. Создайте исследование гена путем добавления данных из одного или нескольких файлов данных (с расширением .pcrd) в исследование гена. Программное обеспечение объединяет эти файлы в единый файл (с расширением .mgxd).

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Максимальное количество проб, которое можно проанализировать в исследовании гена, ограничено объемом ОЗУ и виртуальной памяти компьютера.

## Калибровка между прогонами исследования гена

Попытка калибровки между прогонами автоматически проводится в каждом исследовании гена для каждой мишени для нормализации колебаний между прогонами между мишенями, анализ которых проводится в отдельных прогонах ПЦР (то есть, в других файлах .pcrd).

Чтобы программное обеспечение распознавало пробу как калибратор между плашками, у нее должно быть одинаковое имя мишени, имя пробы и, если используется, имя биологического набора для всех сравниваемых плашек.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** По крайней мере одна проба-калибратор между прогонами должна присутствовать в исследовании гена, чтобы была произведена калибровка между прогонами. Мишени без соответствующих проб калибратора между прогонами будут обрабатываться без коррекции в исследовании гена (не рекомендуется).

Во время калибровки между прогонами используется алгоритм расчета попарных различий между значениями  $C_q$  ( $\Delta C_q$ ) для всех проб, которые квалифицируются как калибраторы между прогонами. Все данные в исследовании гена нормализуются калибратором между прогонами для вычисления наименьшего среднего значения  $\Delta C_q$ . Если файлы данных в исследовании гена содержат более одного калибратора между прогонами, тогда доминирующим калибратором между прогонами становится калибратор с наименьшим средним значением  $\Delta C_q$ . Доминирующий калибратор затем используется для корректировки всех значений  $C_q$  в исследовании гена.

Для нахождения доминирующего калибратора между прогонами программное обеспечение вычисляет среднее значений  $\Delta C_q$  для всех калибраторов между прогонами данной мишени, а затем использует многоуровневый алгоритм для определения доминирующего калибратора между прогонами для всех данных. Алгоритм определения доминирующего калибратора между прогонами включает следующую иерархию:

1. Задание доминирующего калибратора мишени с наибольшим числом общих групп реплик в данном парном сравнении.
2. Если какие-либо мишени имеют одинаковое число общих групп реплик, тогда применяется задание доминирующего калибратора мишени с наименьшим диапазоном значений  $\Delta C_q$  в парных сравнениях. Этот диапазон проверяется сравнением абсолютного значения разницы между максимальным и минимальным  $\Delta C_q$  для калибраторов между прогонами данной мишени.
3. Если какие-либо мишени имеют одинаковый диапазон значений  $\Delta C_q$ , тогда используется задание доминирующего калибратора мишени с наименьшим абсолютным значением среднего  $\Delta C_q$  для соответствующих проб калибратора между прогонами.
4. Если какие-либо мишени имеют одинаковые значения среднего  $\Delta C_q$ , тогда используется задание доминирующего калибратора группе реплик с наименьшим  $\Delta C_q$ .

ПРИМЕЧАНИЕ. Первый файл данных, импортированный в исследование гена, всегда будет служить "центральным" файлом для парного сравнения во время калибровки между прогонами.

## Окно Исследование гена

Окно Исследование гена содержит две вкладки:

- **Вкладка Создать исследование.** Щелкните эту вкладку, чтобы управлять прогонами в исследовании гена. Добавление файлов данных в исследование гена или удаление их из него не приводит к изменению исходных данных в этом файле
- **Вкладка Анализ исследования.** Щелкните эту вкладку, чтобы просмотреть данные экспрессии гена в сочетании прогонов

Рис. 85 отображает окно Исследование гена, содержащее вкладки Создать исследование и Анализ исследования.

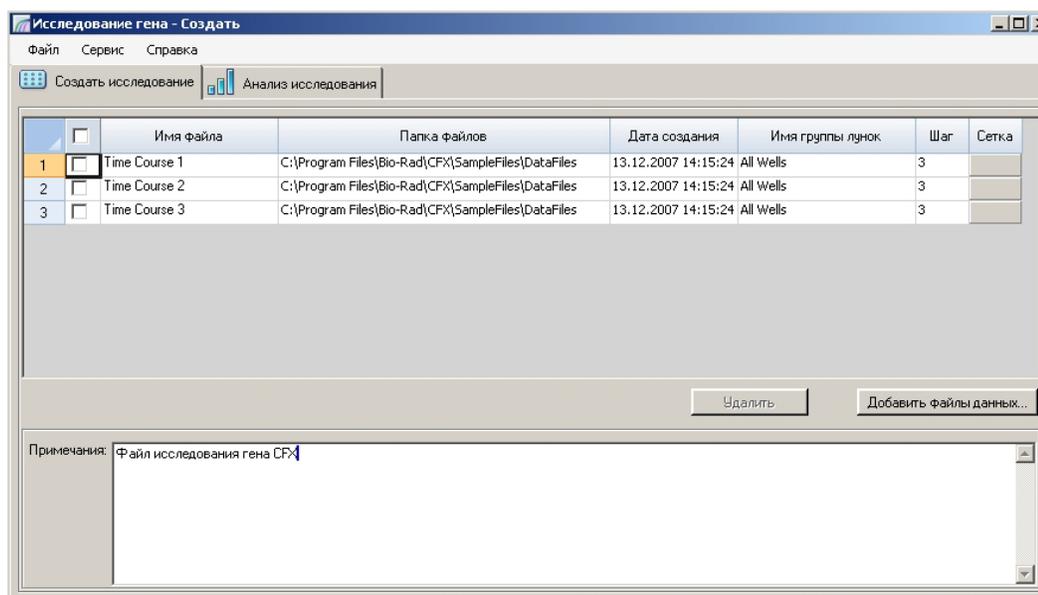


Рис. 85. Вкладка Создать исследование в окне Исследование гена.

## Вкладка Создать исследование

Перед тем, как импортировать данные в исследование гена, выполните следующие действия в окне Анализ данных:

- Проверьте, что пробы с одинаковым содержанием имеют одинаковые имена. В исследовании гена программа предполагает, что лунки с одним именем мишени или пробы содержат одинаковые пробы
- Скорректируйте базовую линию и пороговый уровень ( $C_q$ ) на вкладке Расчет для оптимизации данных каждого прогона, прежде чем добавлять их в исследование гена
- Выберите группу лунок, которую требуется включить в исследование гена

Вкладка Создать исследование (Рис. 85) отображает список прогонов в исследовании гена.

- **Добавление прогонов.** Нажмите кнопку **Добавить файлы данных**, чтобы выбрать файл в окне проводника. Чтобы быстро добавить прогоны в исследование гена, перетащите файлы данных (с расширением .pcrd) в окно Исследование гена  
Пояснение. Чтобы в исследовании гена отображались данные одной группы лунок, эта группа должна быть выбрана перед импортом файла данных
- **Удаление прогонов из исследования гена.** Выберите один или несколько файлов в списке и нажмите **Удалить**
- **Добавление примечаний к исследованию гена.** Введите текст в окно Примечания, чтобы добавить комментарии к файлам и анализу в данном исследовании гена

На вкладке Создать исследование перечислены файлы данных в исследовании гена, как описано в Табл. 39.

**Табл. 39. Вкладка Создать исследование в окне Исследование гена.**

Название столбца	Описание
Имя файла	Имя файла данных прогона (с расширением .pcrd)
Папка файлов	Каталог, в котором хранится файл данных для каждого прогона в исследовании гена
Дата создания	Дата сбора данных прогона
Имя группы лунок	Имя группы лунок, выбранное при добавлении файла в исследование гена  Пояснение. Чтобы в исследовании гена были проанализированы данные одной группы лунок, эта группа лунок должна быть выбрана в окне Анализ данных перед импортом файла данных в исследование гена.
Шаг	Шаг протокола, содержащий чтение плашки для сбора данных в реальном времени
Сетка	Открывает карту плашки с данными в каждом из прогонов, включенных в исследование гена

## Вкладка Анализ исследования

На вкладке Анализ исследования отображены данные всех прогонов, которые добавлены в Исследование гена. Откройте эту вкладку для анализа данных и определите перечисленные ниже параметры для графика экспрессии гена:

- **Режим.** Выберите **Нормализованная экспрессия ( $\Delta\Delta C_q$ )** или **Относительное количество ( $\Delta C_q$ )**
- **Данные графика.** Выберите **Относительно нормы** или **Относительно контроля** на графике
- **Параметры оси X.** Выберите подписи оси X графика: Проба или Мишень
- **Параметры оси Y.** Измените подписи оси Y графика: Линейный, Log 2 или Log 10
- **Параметры масштабирования.** Выберите **Наибольшее** значение, **Наименьшее** значение или оставьте данные **Без масштабирования**. Этот параметр доступен только в случае отсутствия контрольных проб
- **Ошибка графика.** Выберите коэффициент для полос стандартного отклонения на графике, включая  $\pm 1$ , 2 или 3
- **Кнопка Настройки прогона.** Выберите варианты отображения мишеней и проб в окне Настройки прогона
- **Флажок Подробнее.** Нажмите **Подробнее**, чтобы добавить больше столбцов с данными к графику

При выделении пробы на графике Экспрессия гена выделяется соответствующая ячейка таблицы под графиком (Рис. 86).

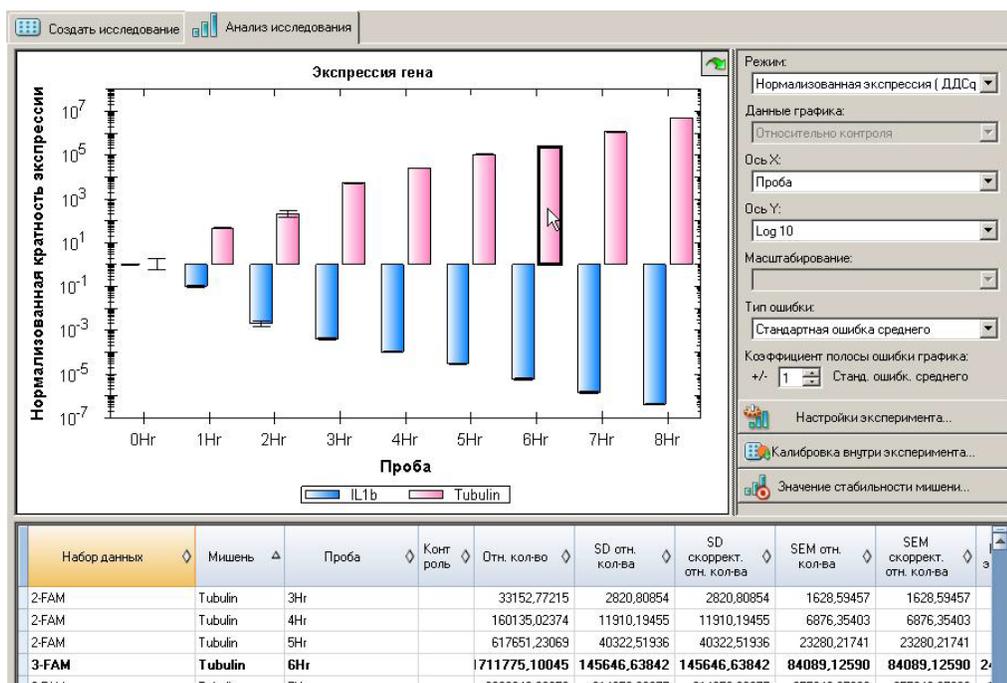


Рис. 86. Вкладка Анализ исследования в окне Исследование гена.

### Таблица данных исследования гена

Электронная таблица данных в окне Исследование гена приводит информацию о каждой мишени и пробе в исследовании гена (Рис. 86).

В Табл. 40 описывается информация, содержащаяся в электронной таблице Исследование гена.

Табл. 40. Информация, содержащаяся в электронной таблице на вкладке Анализ исследования.

Информация	Описание
Мишень	Имя мишени (амплифицированного гена), выбранное в окне Настройки прогона
Проба	Имя пробы, выбранное в окне Настройки прогона
Контроль	Контрольная проба, когда имя пробы выбрано как контроль в окне Настройки прогона
Экспрессия	Нормализованная экспрессия ( $\Delta\Delta C_q$ ) или Относительное количество ( $\Delta C_q$ ), в зависимости от выбранного режима
SEM отн. кол-ва (или SD)	Стандартная ошибка среднего или стандартное отклонение, в зависимости от выбранного варианта
SEM скоррект. экспр. (или SD)	Скорректированное значение вычисления для стандартной ошибки среднего (SEM) или стандартного отклонения (SD) относительной экспрессии, в зависимости от выбранного варианта
Среднее $C_q$	Среднее цикла количественного анализа

**Табл. 40. Информация, содержащаяся в электронной таблице на вкладке Анализ исследования. (продолжение)**

Информация	Описание
C <sub>q</sub> SEM (или SD)	Стандартная ошибка среднего или стандартное отклонение цикла количественного анализа, в зависимости от выбранного варианта

## Подробное отображение данных

Установите флажок Подробнее, чтобы вывести дополнительную информацию (Рис. 87).

Набор данных	Мишень	Проба	Конт роль	Отн. кол-во	SD отн. кол-ва	SD скоррект. отн. кол-ва	SEM отн. кол-ва	SEM скоррект. отн. кол-ва	Немасшт. экспрессия	SD немасшт. экспр.	SD скоррект. немасшт. экспр.	SEM немасшт. экспр.
2-HEX	Actin	5Hr		12.73987	0.66083	0.66083	0.38153	0.38153	N/D	N/D	N/D	N/D
2-Texas Red	IL1b	5Hr		0.00017	0.00002	0.00002	0.00001	0.00001	0.00003	0.00000	0.00000	0.00000
3-Cy5	GAPDH	6Hr		8.08449	0.16589	0.16589	0.09635	0.09635	N/D	N/D	N/D	N/D
3-FAM	Tubulin	6Hr		1711775.10045	145646.63842	145646.63842	84089.12590	84089.12590	246959.82201	21820.45527	21820.45527	12598.04572

**Рис. 87. Подробное отображение на вкладке Исследование гена.**

Электронная таблица добавляет информацию в столбцы, перечисленные в Табл. 41.

**Табл. 41. Информация, добавляемая в таблицу при установке флажка Подробнее.**

Информация	Описание
Набор данных	Данные флуоресценции одного флуорофора в одном файле данных
Отн. кол-во	Вычисленное относительное количество проб
SD отн. кол-ва	Расчет стандартного отклонения относительного количества
SD скоррект. отн. кол-ва	Вычисленное стандартное отклонение скорректированного относительного количества
Немасшт. экспрессия	Вычисленная немасштабированная экспрессия
SD немасшт. экспр.	Вычисленное стандартное отклонение немасштабированной экспрессии
SD скоррект. немасшт. экспр.	Скорректированное стандартное отклонение немасштабированной экспрессии
Экспрессия	Относительная экспрессия
Лунки	Количество лунок на плашке

## Окно Отчет исследования гена

Откройте окно Отчет исследования гена, чтобы собрать в отчет данные исследования гена. Чтобы создать отчет исследования гена, выполните следующие шаги:

1. При необходимости скорректируйте данные и графики исследования гена до создания отчета.
2. Выберите **Сервис > Отчеты**, чтобы открыть окно Отчет исследования гена.

- Установите или снимите флажки в списке параметров отчета, чтобы выбрать или удалить данные для отображения. Выберите параметры, перечисленные в Табл. 42.

**Табл. 42. Категории для отчета исследования гена.**

Категория	Параметр	Описание
<b>Заголовок</b>		Название, подзаголовок и логотип для отчета
	Информация об отчете	Дата, имя пользователя, имя файла данных, путь к файлу данных и выбранная группа лунок
	Список файлов исследования гена	Список всех файлов данных в исследовании гена
	Примечания	Примечания к отчету
<b>Параметры анализа</b>		Список выбранных параметров анализа
<b>Диаграмма</b>		График Экспрессия гена с данными
<b>Имена мишеней</b>		Список мишеней в исследовании гена
<b>Имена проб</b>		Список проб в исследовании гена
<b>Данные</b>		Таблица с данными
<b>Калибровка между прогонами</b>		Данные калибровки между прогонами

- Заполните текст отчета путем ввода текста и изображений на панелях параметров (Рис. 88).

**Рис. 88. Пример параметров Заголовок и Логотип в отчете исследования гена.**

- Нажмите кнопку **Обновить отчет**, чтобы обновить панель предварительного просмотра отчета. Панель предварительного просмотра отображает вид отчета.
- Распечатайте или сохраните отчет. Нажмите кнопку **Печать** на панели управления, чтобы вывести на печать текущий отчет. Выберите **Файл > Сохранить**, чтобы сохранить отчет как файл в формате PDF (файл Acrobat Reader), МНТ- (документ Microsoft) или МНТМЛ- (документ Microsoft) и выбрать местоположение для хранения файла. Выберите **Файл > Сохранить как**, чтобы сохранить отчет с новым именем или в новое местоположение.

- Создайте шаблон отчета, если создан отчет с содержанием, которое требуется включить во все отчеты. Чтобы создать шаблон, выберите **Шаблоны > Сохранить** или **Сохранить** как для сохранения текущего отчета в виде шаблона.

## Расчеты Экспрессии гена

Программное обеспечение CFX Manager™ автоматически вычисляет формулы и отображает полученную информацию на вкладках окна Анализ данных.

### Эффективность реакции

Имеющиеся доказательства позволяют предположить, что использование точного измерения эффективности для каждого набора праймер и зонд даст более точные результаты при анализе данных экспрессии гена. По умолчанию для расчета экспрессии гена используется значение эффективности 100%. Чтобы оценить эффективность реакции, создайте стандартную кривую с использованием серии разведений репрезентативной пробы в соответствующем динамическом диапазоне, затем запишите эффективность для последующего анализа экспрессии гена. Если прогон содержит стандартную кривую, программное обеспечение автоматически производит расчет эффективности и отображает ее под стандартной кривой на вкладке Расчет, если установлен флажок Автоэффективность на вкладке Мишени окна Настройки прогона.

Эффективность (E) в формулах эффективности относится к “эффективностям”, описанным Pfaffl (2001) и Vandesompele и соавт. (2002). В этих работах эффективность, равная 2 (точное удваивание каждый цикл), равнозначна эффективности 100% в данной программе. Можно преобразовать свои вычисления эффективности в вычисления, используемые программой, используя следующую математическую взаимосвязь:

- $E = (\% \text{ эффективности} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ эффективности} = (E - 1) * 100$

### Относительное количество

Относительное количество ( $\Delta C_q$ ) для любой пробы (интересующего гена) вычисляется по формуле:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{MIN})} - C_{q(\text{sample})})}$$

где:

- E = Эффективность набора праймера и зонда. Эта эффективность вычисляется по формуле  $(\% \text{ эффективности} * 0,01) + 1$ , где 100% эффективности = 2
- $C_q(\text{МИН})$  = Среднее значение  $C_q$  для пробы с наименьшим средним  $C_q$  для интересующего гена
- $C_q(\text{проба})$  = Среднее значение  $C_q$  для пробы
- GOI = Интересующий ген (одна мишень)

## Относительное количество, когда выбран контроль

Когда назначена контрольная проба (контроль), относительное количество (RQ) для любой пробы (GOI) с интересующим геном вычисляется по формуле:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})})}$$

где:

- E = Эффективность набора праймера и зонда. Эта эффективность вычисляется по формуле (% эффективности \* 0,01) + 1, где 100% эффективности = 2
- $C_{q(\text{контроль})}$  = Среднее значение  $C_q$  для контрольной пробы
- $C_{q(\text{проба})}$  = Среднее значение  $C_q$  для всех проб пробы с интересующим геном
- GOI = Интересующий ген (одна мишень)

## Стандартное отклонение относительного количества

Стандартное отклонение относительного количества вычисляется по формуле:

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{Sample } X} \times \text{Ln}(E_{\text{GOI}})$$

где:

- SD относительного количества = Стандартное отклонение относительного количества
- SD  $C_q$  проба = Стандартное отклонение  $C_q$  для пробы (интересующего гена)
- Относительное количество = Относительное количество пробы
- E = Эффективность набора праймера и зонда. Эта эффективность вычисляется по формуле (% эффективности \* 0,01) + 1, где 100% эффективности = 2
- GOI = Интересующий ген (одна мишень)

## Коэффициент нормализации

Знаменатель формулы нормализованной экспрессии называется коэффициентом нормализации. Этот коэффициент нормализации является геометрическим средним относительных количеств всех мишеней-ссылок (генов) для данной пробы, как описано формулой:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

где:

- RQ = Относительное количество
- n = Количество ссылок-мишеней
- GOI = Интересующий ген (одна мишень)

## Нормализованная экспрессия

Нормализованная экспрессия ( $\Delta\Delta C_q$ ) является относительным количеством мишени (гена), нормализованным по количествам ссылок-мишеней (генов или последовательностей) в вашей биологической системе. Чтобы выбрать ссылки-мишени, откройте окно Настройки прогона и установите флажок для каждой мишени, которая служит геном-ссылкой.

Вычисление нормализованной экспрессии описывается следующей формулой, которая использует вычисленное значение относительного количества (RQ):

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{\left( \text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}} \right)^{\frac{1}{n}}}$$

где:

- RQ = Относительное количество пробы
- Ссылка = Ссылка-мишень в прогоне, которая содержит одну или несколько ссылок-мишеней в каждой пробе
- GOI = Интересующий ген (одна мишень)

Учитывая, что ссылки-мишени не меняют свой уровень экспрессии в вашей биологической системе, вычисление нормализованной экспрессии происходит за счет различия загрузки или различий количества клеток, представленных в каждой из ваших проб.

## Нормализованная экспрессия, когда выбран контроль

Если в окне Настройки прогона выбрана контрольная проба, программа задает уровень экспрессии контрольной пробы, равный 1. В этой ситуации программа нормализует относительные количества всей экспрессии мишени (гена) к контрольному количеству (значение = 1). Эта нормализованная экспрессия равнозначна анализу немасштабированной нормализованной экспрессии, если выбран контроль.

## Стандартное отклонение для нормализованной экспрессии

Перемасштабирование значения нормализованной экспрессии завершается делением стандартного отклонения нормализованной экспрессии на значение нормализованной экспрессии для наибольшего или наименьшего отдельного уровня экспрессии, в зависимости от выбранного масштабирования. Стандартное отклонение (SD) коэффициента нормализации вычисляется по формуле:

$$\text{SD NF}_n = \text{NF}_n \times \sqrt{\left( \frac{\text{SD RQ}_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}}} \right)^2 + \left( \frac{\text{SD RQ}_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}}} \right)^2 + \dots + \left( \frac{\text{SD RQ}_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}}} \right)^2}$$

где:

- RQ = Относительное количество пробы
- SD = Стандартное отклонение
- NF = Коэффициент нормализации
- Ссылка = Ссылка-мишень
- n = Количество ссылок-мишеней

Если назначена контрольная проба, нет необходимости производить перемасштабирование по стандартному отклонению, как показано следующей формулой:

$$\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}} = \text{NE}_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left( \frac{\text{SD NF}_{\text{sample}}}{\text{NF}_{\text{sample}}} \right)^2 + \left( \frac{\text{SD RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}} \right)^2}$$

где:

- NE = Нормализованная экспрессия
- RQ = Относительное количество пробы
- SD = Стандартное отклонение

- GOI = Интересующий ген (одна мишень)

### Нормализованная экспрессия, масштабированная по наибольшему уровню экспрессии

Когда прогон не содержит контрольных проб, масштабируйте нормализованную экспрессию (NE) для каждой мишени (гена) путем деления уровня экспрессии каждой пробы на наибольший уровень экспрессии во всех пробах. Программа задает для наибольшего уровня экспрессии значение 1 и перемасштабирует все уровни экспрессии проб. Масштабирование по наибольшему вычисляется по следующей формуле:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

где:

- GOI = Интересующий ген (мишень)

### Нормализованная экспрессия, масштабированная по наименьшему уровню экспрессии

Когда прогон не содержит контрольных проб, масштабируйте нормализованную экспрессию (NE) для каждой мишени (гена) путем деления уровня экспрессии каждой пробы на наименьший уровень экспрессии во всех пробах. Программа задает для наименьшего уровня экспрессии значение 1 и перемасштабирует все уровни экспрессии проб. Масштабирование по наименьшему вычисляется по следующей формуле:

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

где:

- GOI = Интересующий ген (мишень)

### Стандартное отклонение для масштабированной нормализованной экспрессии

Перемасштабирование масштабированного значения нормализованной экспрессии (NE) завершается делением стандартного отклонения (SD) нормализованной экспрессии на значение нормализованной экспрессии для наибольшего (МАКС) или наименьшего (МИН) уровня экспрессии, в зависимости от выбранного параметра масштабирования.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если назначена контрольная проба, нет необходимости производить перемасштабирование по стандартному отклонению.

Формула расчета приведена здесь:

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}}}$$

где:

- NE = Нормализованная экспрессия
- SD = Стандартное отклонение
- GOI = Интересующий ген (мишень)
- МАКС = Наибольший уровень экспрессии

- МИН = Наименьший уровень экспрессии

## Формулы скорректированных значений

Разница между скорректированными значениями и нескорректированными значениями заметна только в том случае, если стандартная кривая создана как часть прогона ПЦР в реальном времени. Программа использует три формулы для определения распространения ошибки:

- Стандартная ошибка
- Стандартная ошибка для нормализованной экспрессии
- Стандартная ошибка для нормализованного интересующего гена (мишени)

Формула расчета стандартной ошибки приведена здесь:

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

где

- n = Количество ссылок-мишеней (генов)
- SD = Стандартное отклонение

Формула стандартной ошибки для коэффициента нормализации в нормализованной экспрессии приведена здесь:

$$SE_{NF_n} = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE_{RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}}{n \times SE_{RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}}\right)^2 + \left(\frac{SE_{RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}}{n \times SE_{RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE_{RQ_{\text{sample (Ref n)}}}}{n \times SE_{RQ_{\text{sample (Ref n)}}}}\right)^2}$$

где:

- n = Количество ссылок-мишеней
- SE = Стандартная ошибка
- NE = Нормализованная экспрессия
- RQ = Относительное количество

Формула стандартной ошибки для нормализованного интересующего гена приведена здесь:

$$SE_{GOI_n} = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE_{NF_n}}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE_{GOI}}{GOI}\right)^2}$$

где:

- SE = Стандартная ошибка
- GOI = Интересующий ген (одна мишень)
- NF = Коэффициент нормализации
- n = Количество ссылок-мишеней



## 10 Пользователи и настройки

---

В этой главе описывается управление пользователями программного обеспечения и их настройками:

- Выполнение входа или выбор пользователя (стр. 129)
- Окно Пользовательские настройки (стр. 130)
- Настройка уведомлений по электронной почте (стр. 131)
- Администрирование пользователей (стр. 138)

### Выполнение входа или выбор пользователя

Программное обеспечение CFX Manager™ позволяет управлять пользователями и их настройками. Имя текущего пользователя, выполнившего вход в программу, указывается в верхней части основного окна программы.

Программное обеспечение CFX Manager определяет пользователей, которые могут войти в программу, через диалоговое окно Вход (Рис. 89). При запуске программы автоматически открывается диалоговое окно Вход, если два или более пользователей указаны в окне Администрирование пользователей.



Рис. 89. Диалоговое окно Вход.

Чтобы войти в программу или изменить пользователей, выполните следующие действия:

1. Откройте диалоговое окно Вход, если оно не открыто, нажав кнопку **Выбрать пользователя** на панели управления или выбрав в меню **Пользователь > Выбрать пользователя**.
2. Выберите имя в раскрывающемся списке **Имя пользователя**. По умолчанию выбран пользователь "Администратор".
3. Введите пароль в поле **Пароль**.
4. Нажмите **ОК**, чтобы закрыть диалоговое окно Вход и открыть программу.
5. Чтобы добавить новое имя пользователя и пароль, свяжитесь с администратором программы.

## Изменение пароля

Чтобы изменить пароль, выполните следующие действия:

1. В меню основного окна программы выберите **Пользователь > Изменить Пароль**, чтобы открыть диалоговое окно Изменить пароль (Рис. 90).
2. Введите старый пароль в поле Старый пароль.
3. Введите новый пароль в поля Новый пароль и Подтвердите новый пароль соответственно.
4. Для подтверждения изменения нажмите **ОК**.

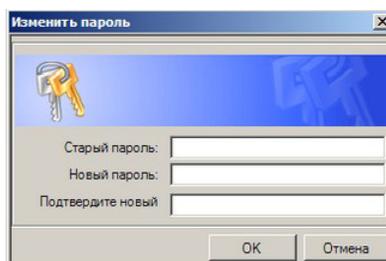


Рис. 90. Диалоговое окно Изменить пароль.

## Окно Пользовательские настройки

Программное обеспечение CFX Manager отслеживает настройки всех зарегистрированных пользователей. Чтобы изменить пользовательские настройки, откройте окно Пользовательские настройки одним из следующих способов:

- На панели управления основного окна программы нажмите кнопку **Пользовательские настройки**
- В меню основного окна программы выберите **Пользователь > Пользовательские настройки**
- Для просмотра или изменения настроек перейдите на соответствующую вкладку (Рис. 91)

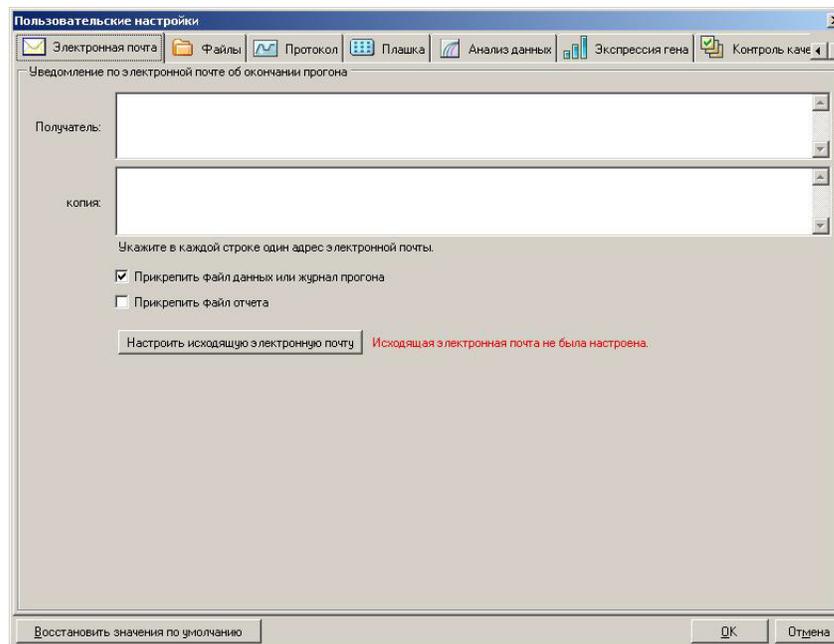


Рис. 91. Вкладки окна Пользовательские настройки.

Пояснение. Чтобы восстановить настройки по умолчанию, указанные на рисунке, нажмите кнопку **Восстановить значения по умолчанию**. Затем для сохранения настроек нажмите **ОК** и закройте окно.

## Вкладка Электронная почта

Перейдите на вкладку **Электронная почта** (Рис. 91), чтобы ввести адреса электронной почты, на которые нужно отправлять уведомления о завершении прогонов. Программное обеспечение может отправить электронное сообщение с вложенным файлом данных или отчетом при задании соответствующих параметров.

### Настройка уведомлений по электронной почте

Нажмите кнопку **Настроить исходящую электронную почту**, чтобы в окне Параметры (Рис. 92) задать параметры сервера SMTP и отправить тестовое электронное сообщение с компьютера. Укажите следующие данные:

- **Имя сервера SMTP.** Имя сервера SMTP предоставляется провайдером услуг
- **Порт.** Номер порта сервера SMTP, предоставленный провайдером услуг. Обычно 25
- **Использовать SSL.** Следует ли использовать протокол SSL (Secure Sockets Layer). Некоторые серверы SMTP требуют, чтобы он использовался; другие требуют, чтобы он не использовался
- **Использовать адрес “Отправитель”, заданный по умолчанию.** Как правило, можно оставить установленный по умолчанию флажок. Однако для некоторых SMTP-серверов требуется, чтобы вся отправленная электронная почта имела адрес “Отправитель” определенного домена, например, <имя>@moyakompaniya.ru. В этом случае необходимо снять этот флажок и указать действительный адрес электронной почты отправителя в поле Адрес “Отправитель”
- **Требуется проверка подлинности.** Многие серверы SMTP требуют использовать проверку подлинности. В этом случае нужно установить флажок и ввести Имя пользователя и Пароль
- **Проверить электронную почту.** Чтобы проверить настройки электронной почты, введите один или несколько адресов в текстовое поле **Проверить адрес электронной почты**. При вводе нескольких адресов в качестве разделителя нужно использовать запятую. Затем нажмите кнопку **Проверить электронную почту**

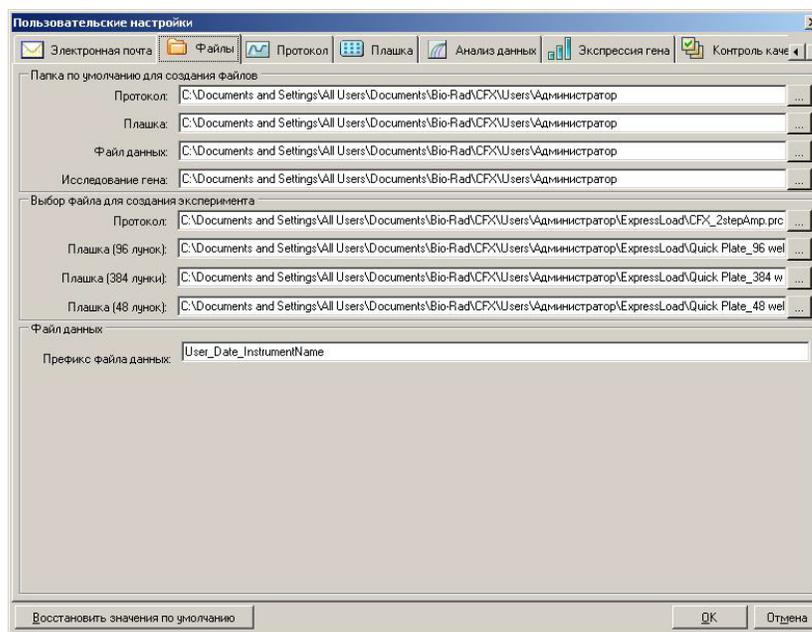
Рис. 92. Параметры для настройки электронной почты.

ПРИМЕЧАНИЕ. Ряд серверов SMTP не поддерживает вложения, другие вводят ограничения на размер файлов. При использовании программного обеспечения CFX Manager или базы C1000 для отправки файлов данных и/или отчетов по электронной почте можно проверить отправку вложенных файлов, установив флажок Проверить вложения и задав размер вложений в мегабайтах (Мб), например, до 5 Мб или более.

## Вкладка Файлы

Перейдите на вкладку **Файлы** (Рис. 93), чтобы просмотреть местоположения для открытия и сохранения файлов, заданные по умолчанию.

- **Папка по умолчанию для создания файлов.** В качестве папки по умолчанию выберите папку, в которой нужно сохранять новые файлы. Выберите местоположения для каждого типа файлов (файлов протоколов, плашек, данных или исследований гена)
- **Выбор файла для создания прогона.** Выберите файлы протокола и плашки по умолчанию, которые появятся в окне Создать прогон
- **Префикс файла данных.** Определите текст начала имени для файлов данных. По умолчанию программное обеспечение присваивает файлу имя, которое начинается с имени пользователя, выполнившего вход программу, даты создания файла и имени прибора (серийного номера или заданного имени)



**Рис. 93. Вкладка Файлы в окне Пользовательские настройки.**

Пояснение. Нажмите кнопку "... " справа от поля, чтобы открыть окно проводника и выбрать папку.

## Вкладка Протокол

Перейдите на вкладку **Протокол** (Рис. 94) в окне Пользовательские настройки, чтобы задать параметры по умолчанию для файла протокола в окне Редактор протокола:

- **Редактор протокола.** Задайте параметры по умолчанию для Редактора протокола. Укажите объем пробы по умолчанию, т.е. объем каждой пробы в лунках (в мкл), и определите температуру выключения крышки, при которой выключится нагреватель крышки во время прогона
- **Мастер создания протокола.** Задайте параметры по умолчанию для Мастера создания протокола, в том числе температуру отжига для прогонов с использованием полимераз iProof™, iTaq™ и других и длину ампликона по умолчанию

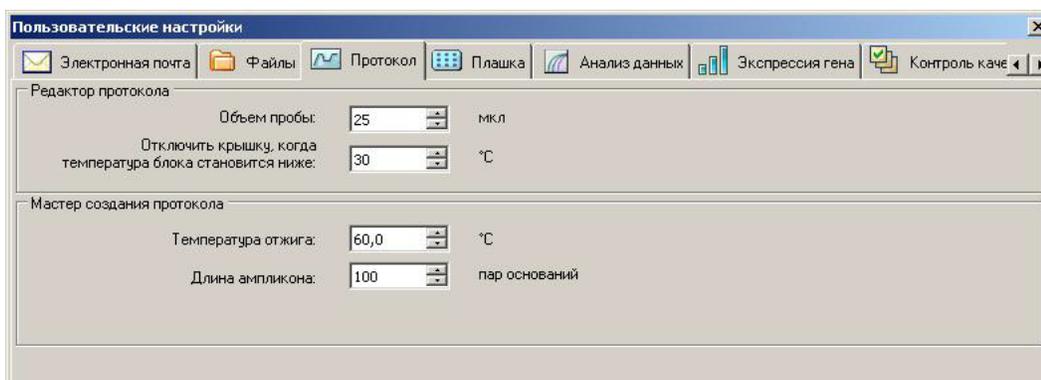


Рис. 94. Вкладка Протокол в окне Пользовательские настройки.

## Вкладка Плашка

Перейдите на вкладку **Плашка** в окне Пользовательские настройки (Рис. 95), чтобы задать параметры по умолчанию для файла плашки в окне Редактор плашки:

- **Тип плашки.** Выберите в списке тип лунок плашки по умолчанию
- **Размер плашки.** Выберите в списке размер плашки по умолчанию
- **Единицы измерения.** Укажите единицы измерения концентрации начальной матрицы для лунок, содержащих стандарты. Программное обеспечение использует эти единицы измерения при создании стандартной кривой на вкладке Расчет окна Анализ данных
- **Экспоненциальное представление.** Выберите экспоненциальное представление для просмотра единиц измерения концентрации в этом представлении
- **Режим сканирования.** Определите режим сканирования по умолчанию, чтобы задать количество каналов, сканируемых во время прогона
- **Флуорофоры.** Установите флажки рядом с флуорофорами по умолчанию, которые будут отображены в Редакторе плашке в разделе загрузки контролей в лунки
- **Библиотеки.** Введите имена мишеней и проб, которые обычно используете в прогонах. Задайте имена мишеней для генов и последовательностей и имена проб для проб в прогонах. Эти имена будут перечислены в списках на вкладках Мишени и Пробы в окне Настройки прогона

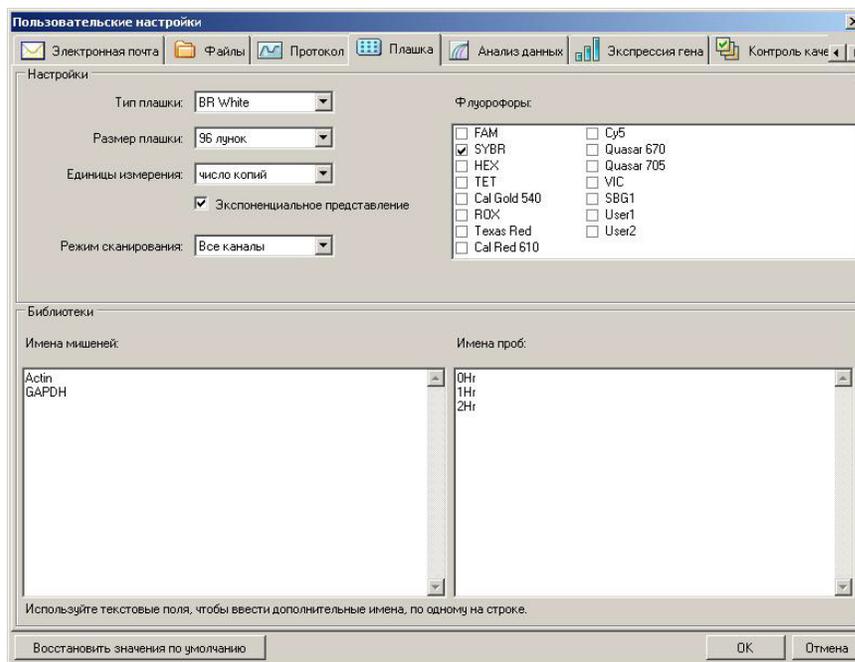


Рис. 95. Вкладка Плашка в окне Пользовательские настройки.

## Вкладка Анализ данных

Перейдите на вкладку **Анализ данных** в окне Пользовательские настройки (Рис. 96), чтобы изменить параметры по умолчанию в окне Анализ данных.

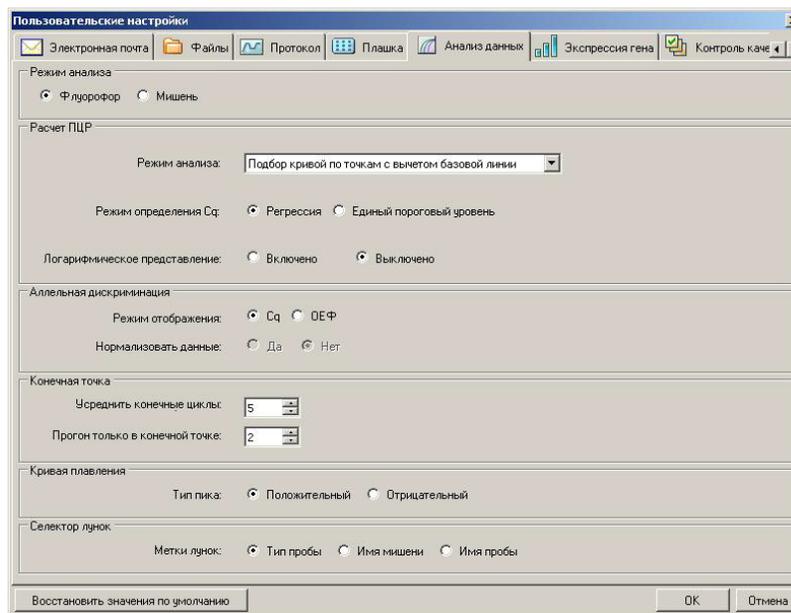


Рис. 96. Вкладка Анализ данных в окне Пользовательские настройки.

Для анализа данных выберите анализ по флуорофорам или по мишеням.

Для данных количественного анализа задайте следующие параметры:

- **Настройка базовой линии.** Выберите способ определения базовой линии по умолчанию для режима анализа. Выберите Подбор кривой по точкам с вычетом базовой линии, Без вычета базовой линии или С вычетом базовой линии
- **Режим определения  $C_q$ .** Определите способ расчета значений  $C_q$  для каждой кривой флуоресценции – режим Регрессия или Единый пороговый уровень
- **Логарифмическое представление.** Выберите **Вкл** для вывода полулогарифмического графика данных амплификации. Выберите **Вык** для вывода линейного графика

Для данных аллельной дискриминации задайте следующие параметры:

- **Режим отображения.** Выберите **ОЕФ** для вывода данных в виде графика ОЕФ или  **$C_q$**  для вывода графика циклов количественного анализа
- **Нормализовать данные.** Этот параметр доступен только при выборе ОЕФ. Выберите **Нет** для вывода ненормализованных данных. Выберите **Да** для нормализации данных в контрольной пробе

Для данных в конечной точке задайте следующие параметры: Укажите количество конечных циклов для усреднения при расчете данных в конечной точке:

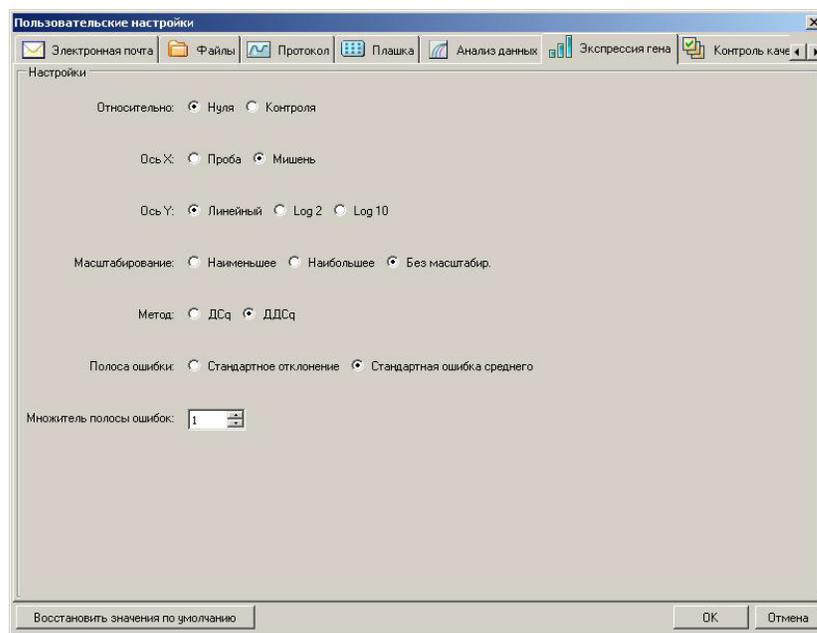
- **ПЦР.** Введите количество циклов ПЦР для усреднения конечных циклов для данных количественного анализа (по умолчанию – 5)
- **Прогон только в конечной точке.** Введите количество циклов прогона в конечной точке для усреднения конечных циклов для данных в конечной точке (по умолчанию – 2)

Для данных кривой плавления выберите обнаружение положительных или отрицательных пиков.

Для панелей селектора лунок выберите маркировку лунок типом пробы, именем мишени или именем пробы.

## Вкладка Экспрессия гена

Перейдите на вкладку **Экспрессия гена** в окне Пользовательские настройки (Рис. 97), чтобы задать параметры по умолчанию для файла данных экспрессии гена.



**Рис. 97. Вкладка Экспрессия гена в окне Пользовательские настройки.**

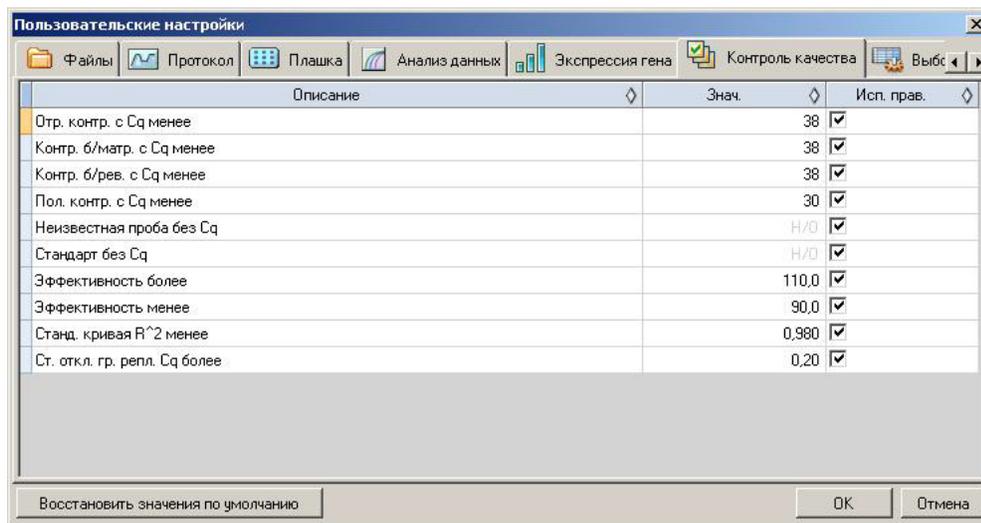
Задайте параметры по умолчанию для нового файла данных экспрессии гена:

- **Относительно.** Выберите относительно контроля или нуля. Для отображения данных экспрессии гена, начиная с 1 (относительно контроля), выберите **Контроль**. При указании контрольной пробы в окне Создать прогон программа будет автоматически рассчитывать данные относительно нее. Выберите **Относительно нуля**, чтобы программа проигнорировала контроль. Это значение задано по умолчанию, если в окне Создать прогон не выбрана контрольная проба
- **Ось X.** Постройте график мишени или пробы по оси X
- **Ось Y.** Постройте линейный, Log 2 или Log 10 график по оси Y
- **Масштабирование.** Задайте параметры масштабирования для графика. Не масштабируйте график или задайте масштаб по наибольшему или наименьшему значению
- **Метод.** Определите режим анализа по умолчанию, в том числе нормализованную экспрессию ( $\Delta\Delta C_q$ ) или относительную экспрессию ( $\Delta C_q$ )
- **Полоса ошибки.** Выберите стандартное отклонение или стандартную ошибку среднего
- **Коэффициент полосы ошибки.** Определите коэффициент стандартного отклонения для построения полос ошибки. По умолчанию равен 1. Измените его на 2 или 3

## Вкладка Контроль качества

Перейдите на вкладку **Контроль качества** в окне Пользовательские настройки (Рис. 98), чтобы определить правила контроля качества для данных в модуле анализа данных. Программа производит валидацию данных по включенным тестам и заданным значениям.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Лунки, которые не удовлетворяют параметру контроля качества, можно с легкостью исключить из анализа в модуле контроля качества в окне Анализ данных с помощью контекстного меню.



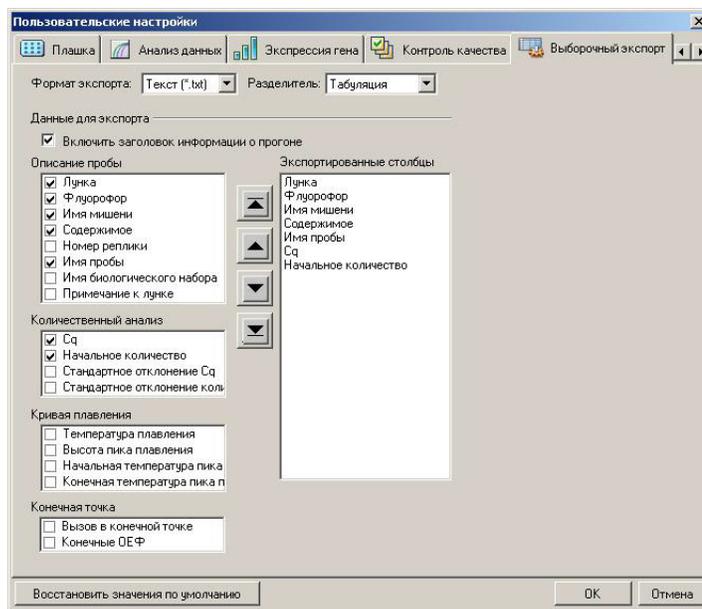
**Рис. 98. Вкладка Контроль качества в окне Пользовательские настройки.**

Укажите, чтобы задать значения отсеечения или включить следующие правила контроля качества:

- Отрицательный контроль с  $C_q$  менее хх. Введите значение отсеечения  $C_q$
- Контроль без матрицы с  $C_q$  менее хх. Введите значение отсеечения  $C_q$
- Контроль без ревертазы с  $C_q$  менее хх. Введите значение отсеечения  $C_q$
- Положительный контроль с  $C_q$  более хх. Введите значение отсеечения  $C_q$
- Неизвестная без  $C_q$
- Стандарт без  $C_q$
- Эффективность более хх. Введите значение отсеечения эффективности реакции, рассчитанное для стандартной кривой
- Эффективность менее хх. Введите значение отсеечения эффективности реакции, рассчитанное для стандартной кривой
- Стандартная кривая  $R^2$  менее хх. Введите значение отсеечения  $R^2$  для стандартной кривой
- Стандартное отклонение группы реплик  $C_q$  более хх. Введите стандартное отклонение отсеечения, рассчитанное для каждой группы реплик

## Вкладка Выборочный экспорт

Выберите вкладку **Выборочный экспорт** (Рис. 99), чтобы определить настройки по умолчанию для полей, которые требуется экспортировать и их формат экспорта при выборе параметра Выборочный экспорт.



**Рис. 99. Вкладка Выборочный экспорт в окне Пользовательские настройки.**

Доступны следующие форматы экспорта файла: текст (\*.txt), CSV (\*.csv), Excel 2007 (\*.xlsx), Excel 2003 (\*.xls), XML (\*.xml) и HTML (\*.html).

Для экспорта можно выбрать следующие пункты:

- **Описание пробы.** Лунка, Флуорофор, Имя мишени, Содержимое, Номер реплики, Имя пробы, Имя биологического набора и Примечание к лунке
- **Количественный анализ.**  $C_q$ , Начальное количество, Стандартное отклонение  $C_q$  и стандартное отклонение количества
- **Кривая плавления.** Температура плавления, Высота пика, Начальная температура плавления пика и Конечная температура
- **Конечная точка.** Вызов конечной точки и Конечные ОЕФ

Порядок выбранных элементов можно изменить, выделив элемент и передвинув его вверх или вниз с помощью кнопок со стрелками слева от списка Экспортируемые столбцы.

ПРИМЕЧАНИЕ. При выборе Восстановить значения по умолчанию на любой из вкладок окна Пользовательские настройки восстанавливаются заводские настройки по умолчанию для всех параметров пользовательских настроек.

## Администрирование пользователей

Откройте окно Администрирование пользователей в основном окне программы одним из следующих способов:

- Выберите **Пользователи > Администрирование пользователей**
- В меню нажмите кнопку **Администрирование пользователей**

Если вход выполнен администратором, откройте окно Администрирование пользователей для управления пользователями и их правами:

- **Управление пользователями.** Добавление и удаление пользователей, назначение роли каждому пользователю

- **Управление правами.** Изменение прав для ролей пользователей (исследователь, оператор или гость)

ПРИМЕЧАНИЕ. Только администраторы могут вносить изменения в этом окне. Другие пользователи могут только просматривать его.

Чтобы присвоить роль пользователю, выберите роль в списке в окне Администрирование пользователей (Рис. 100). В этом примере пользователю гость было дано право на сохранение файлов.

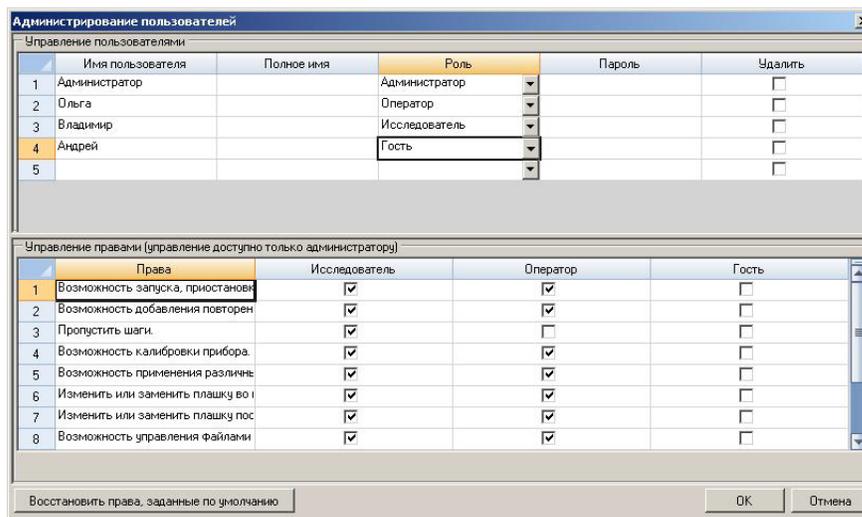


Рис. 100. Окно Администрирование пользователей с тремя пользователями.

## Добавление и удаление пользователей программы

Только администратор программы может добавлять или удалять пользователей. Чтобы добавить пользователей в панели Управление пользователями, выполните следующие действия:

1. Введите имя пользователя для нового пользователя программы.
2. Выберите роль для пользователя. Роли ограничивают права пользователей. По умолчанию используется роль исследователь.
3. (Необязательно) Введите полное имя и пароль для нового пользователя программы.
4. Нажмите **ОК**, чтобы открыть диалоговое окно и подтвердить намерение закрыть окно Администрирование пользователей.
5. Нажмите **Да**, чтобы закрыть диалоговое окно и окно Администрирование пользователей.

Чтобы удалить пользователя программы, выполните следующие действия:

1. В панели Управление пользователями установите флажки в столбце Удалить рядом с каждым пользователем, которого нужно удалить.
  2. Нажмите **ОК**, чтобы открыть диалоговое окно и подтвердить намерение закрыть окно Администрирование пользователей.
  3. Нажмите **Да**, чтобы закрыть диалоговое окно и окно Администрирование пользователей.
- ПРИМЕЧАНИЕ. Список пользователей программы всегда должен содержать одного администратора.

## Присвоение прав ролям пользователей

В окне Администрирование пользователей можно управлять ролями и правами пользователей. Программное обеспечение содержит четыре роли:

- **Администратор (обязателен).** Администратор обладает всеми правами. Это нельзя изменить. Администратор может добавить и удалить пользователей программы и изменить права для каждой роли
- **Исследователь.** По умолчанию исследователь обладает всеми правами
- **Оператор.** По умолчанию оператор обладает всеми правами за исключением пропуска циклов и создания исследования гена
- **Гость.** По умолчанию гость может только просматривать файлы, у него нет иных прав

Чтобы задать права для роли, выполните следующие действия: Только администратор программы может изменить права роли:

1. В панели Управления правами установите флажки в столбце с именем роли для добавления или удаления права. Укажите одно или несколько прав в списке. Чтобы восстановить права по умолчанию для всех ролей, нажмите кнопку **Восстановить права, заданные по умолчанию**.
2. Нажмите **ОК**, чтобы открыть диалоговое окно и подтвердить намерение закрыть окно Администрирование пользователей.
3. Нажмите **Да**, чтобы закрыть диалоговое окно и окно Администрирование пользователей.

Чтобы просмотреть роль и права текущего пользователя, выберите **Пользователь > Администрирование пользователей**. Свяжитесь с администратором программы, чтобы изменить настройки, права и роли пользователей, перечисленные в окне Администрирование пользователей. Исследователи, операторы и гости могут только просматривать свои настройки пользователя, права и роли.

# 11 Ресурсы

---

В этой главе подробно описываются ресурсы по системе CFX96 Touch™ и CFX384 Touch™:

- Автоматические обновления для программного обеспечения и приборов (стр. 141)
- Интеграция LIMS (стр. 142)
- Мастер калибровки (стр. 148)
- Обслуживание прибора (стр. 149)
- Журнал приложения (стр. 152)
- Устранение проблем (стр. 153)
- Список литературы (стр. 156)

## Обновления для программного обеспечения и приборов

Можно произвести автоматическое обновление программного обеспечения и приборов с помощью программы CFX Manager.

Доступность обновлений проверяется тремя способами:

1. Программа автоматически проверяет наличие обновлений при каждом запуске CFX Manager и при каждом подключении нового прибора к компьютеру при работающей программе.
2. Сообщение, указывающее, что доступны новые обновления, отображается в нижней части основного окна программы CFX Manager. При нажатии на сообщение появляется окно Обновления.
3. Выбор **Справка > Проверка обновлений**.

Когда доступно обновление, окно Обновления предоставляет три варианта выбора:

- Если доступно только обновление программного обеспечения, выберите Обновить
- Если доступны обновления для программного обеспечения и приборов, по умолчанию будут выбраны оба типа обновлений. Для обновления программного обеспечения требуется обновление приборов для всех подключенных приборов, чтобы обеспечить надлежащую связь
- Обновление приборов можно производить без обновления программного обеспечения, убрав флажок обновления программного обеспечения

Если выбрано обновление программного обеспечения и обновление приборов, программа произведет обновление, выполнит повторный запуск, а затем начнется обновление приборов. После завершения обновления приборов их потребуется перезапустить.

Для загрузки последних обновлений требуется подключение к интернету компьютера, на котором работает программа CFX Manager. Чтобы обновить программное обеспечение необходимо, чтобы все окна анализа данных были закрыты и все приборы бездействовали.

Когда прибор подключен к компьютеру, программа CFX Manager проверяет его на совместимость с установленной версией программы CFX Manager. Если программное обеспечение прибора не является совместимым, оно будет обновлено автоматически. Для этой операции не требуется подключение к интернету.

Чтобы окно обновлений не появлялось каждый раз, когда доступны новые обновления, снимите флажок **Уведомить при наличии обновлений** в окне Обновления. Чтобы включить всплывающее окно Обновления, выберите **Справка > Проверка обновлений** из основной строки меню программы, и установите флажок **Уведомить при наличии обновлений**.

ПРИМЕЧАНИЕ. Приборы MiniOpticon нельзя обновить с помощью программного обеспечения CFX Manager

## Извлечение файлов данных из базы термоциклера

Файлы данных, расположенные на базе термоциклера, можно извлечь на жесткий диск подсоединенного компьютера. Чтобы извлечь файлы, выполните следующие действия:

1. В основном окне программы выберите прибор на панели Обнаруженные приборы.
2. Щелкните правой клавишей мыши и выберите **Извлечь файлы данных...**
3. Выберите местоположение папки для сохранения извлеченных файлов.
4. Нажмите кнопку **ОК**.

ПРИМЕЧАНИЕ. Все файлы, находящиеся в папке данных реального времени на базе термоциклера, будут извлечены на компьютер.

## Интеграция LIMS

Программу CFX Manager можно настроить на использование с Лабораторной системой управления информацией (LIMS). Для интеграции LIMS программному обеспечению CFX Manager требуется информация о схеме плашки, созданная платформой LIMS (файл LIMS, \*.plrn), файл протокола, созданный с использованием программного обеспечения CFX Manager (\*.prcl), установленное местоположение экспорта данных и установленный формат экспорта.

### Настройка папки LIMS и параметров экспорта данных

1. Выберите **Сервис > Параметры** из основной строки меню программы, затем выберите вкладку **LIMS** (Рис. 101), чтобы определить местоположение папки, которая будет содержать протокол LIMS (\*.prcl), файл LIMS (\*.plrn) и экспортированные данные.

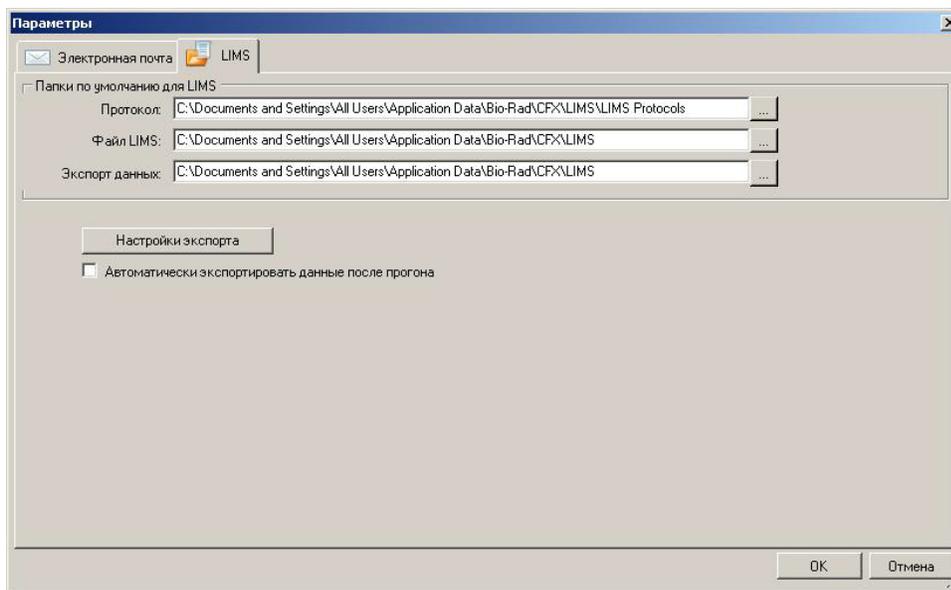


Рис. 101. Окно параметров, отображающее вкладку настроек LIMS.

- По завершении прогона файл экспорта данных LIMS может быть создан автоматически в дополнение к файлу данных программы CFX Manager \*.pcrd. Установите флажок **Автоматически экспортировать данные после прогона** (Рис. 101), чтобы данные экспортировались автоматически после завершения прогона.
- Нажмите кнопку **Настройки экспорта данных**, чтобы указать, какой формат файлов использовать для экспортированных данных, и какие поля информации экспортировать (Рис. 102).

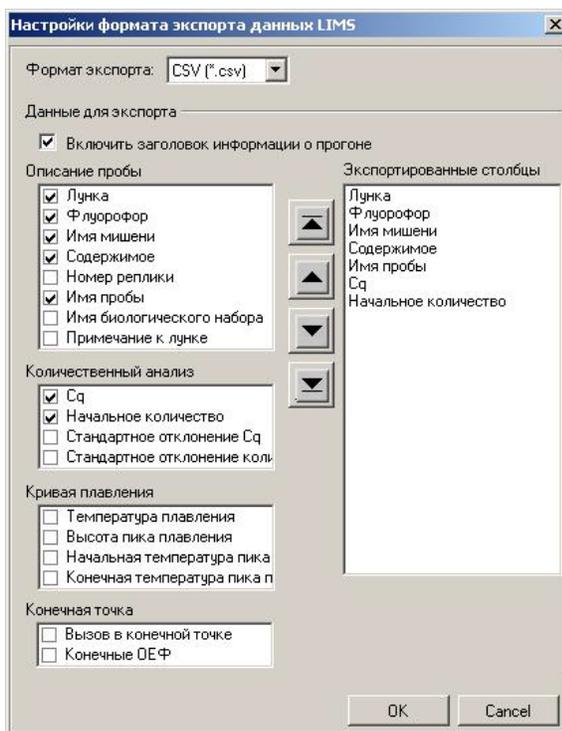


Рис. 102. Окно Настройки формата экспорта данных LIMS.

## Создание протокола LIMS

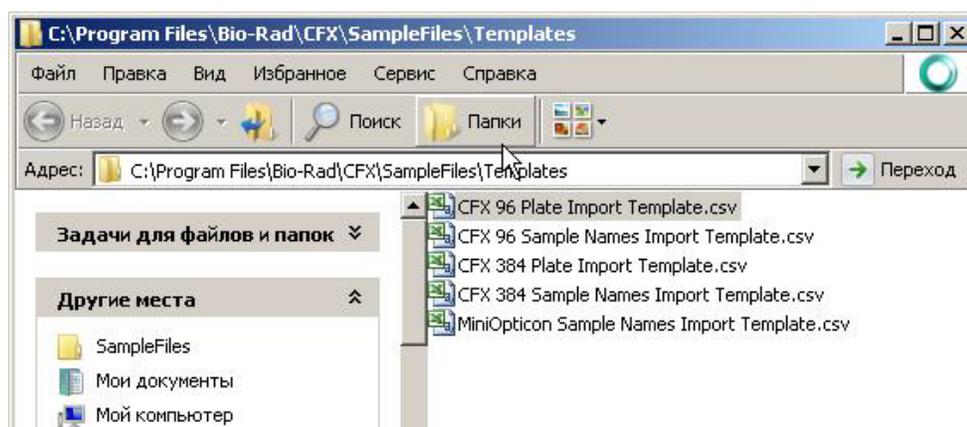
Для выполнения прогона LIMS должен быть создан файл протокола (\*.prcl) программы CFX Manager и сохранен в назначенном местоположении папки протоколов LIMS, указанном на вкладке LIMS окна Параметры.

## Создание файла LIMS

Файл LIMS (\*.plrn) содержит сведения о схеме плашки и имя файла протокола. Этот файл создан вашим внутренним LIMS. Программа CFX Manager будет использовать файл LIMS для создания файла плашки, который будет использоваться совместно с названным файлом протокола для выполнения прогона и создания данных.

Следующие шаги должны выполняться специалистом LIMS.

1. Выберите **Сервис > Папка данных пользователя > Образцы файлов > Шаблоны** из основной строки меню программы.
2. Выберите **CFX96 Plate Import Template.csv** или **CFX384 Plate Import Template.csv** и импортируйте в свою внутреннюю LIMS (Рис. 103).



**Рис. 103. Открытие шаблона импорта плашки LIMS CFX96**

3. Используя LIMS, завершите шаблон, заполнив требуемые поля, как указано в Табл. 43.
4. Сохраните шаблон с расширением имени файла .plrn непосредственно в назначенное местоположение папки файлов LIMS.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Требуется изменение расширения файла .csv на .plrn, чтобы программа CFX Manager узнала файл и начала прогон LIMS.

Пояснение. Чтобы быстро просмотреть местоположение назначенного местоположения папки файлов LIMS, выберите **Сервис > Папка файлов LIMS** из строки меню основного окна программы.

Табл. 43. Определение содержимого файла LIMS .csv.

Столбец	Строка	Описание	Содержимое	Назначение
A	1	Заголовок плашки	Не редактировать.	Предустановлен.
A,B,C	2	Поле/Данные/ Инструкция	Не редактировать.	Предустановлен.
B	3	Версия	Не редактировать.	Предустановлен.
B	4	Размер плашки	Не редактировать.	Предустановлен.
B	5	Тип плашки	Введите "BR White", "BR Clear" или другой калиброванный тип плашки.	Требуется.
B	6	Режим сканирования	Введите "Только SYBR/FAM", "Все каналы" или "FRET".	Требуется.
B	7	Единицы	Введите один из следующих вариантов: "число копий", "крат разведения", "микромולי", "наномили", "пикомоли", "фемтомоли", "аттомоли", "миллиграммы", "микрограммы", "нанограммы", "пикограммы", "фемтограммы", "аттограммы" или "проценты"	Требуется.
B	8	Идентификатор прогона	Введите краткое описание или штрих-код, определяющий этот прогон.	На выбор.
B	9	Примечание к прогону	Введите описание прогона.	На выбор.
B	10	Выполнение протокола	Введите имя протокола, в точности совпадающее с именем в списке.	Требуется.
A	11-15	TBD/Пустой	Не редактировать.	Предустановлен.
A	16	Данные плашки	Не редактировать.	Предустановлен.

Табл. 43. Определение содержимого файла LIMS .csv.

Столбец	Строка	Описание	Содержимое	Назначение
A	14-110	Позиция лунки	Не редактировать.	Предустановлен.
B-G		Краситель канала 1, Краситель канала 2, Краситель канала 3, Краситель канала 4, Краситель канала 5, FRET	Введите одно имя калиброванного красителя (например, "FAM") для каждого используемого канала.	Требуется.
H		Тип пробы	Введите один из следующих типов пробы "Неизвестная", "Стандарт", "Положительный контроль", "Отрицательный контроль", "Контроль без матрицы" или "Контроль без ревертазы".	Требуется.
I		Имя пробы	Введите имя пробы.	На выбор.
J-O		Мишень канала 1, Мишень канала 2, Мишень канала 3, Мишень канала 4, Мишень канала 5, Мишень FRET	Введите имя мишени для каждого используемого канала.	На выбор.
P		Имя набора	Введите имя набора.	На выбор.
Q		Реплика	Введите положительное целое число для каждого набора реплик. Значение не может быть равным нулю.	На выбор.
R-W		Количество канала 1, Количество канала 2, Количество канала 3, Количество канала 4, Количество канала 5, Количество FRET	Введите значения количества для всех стандартов. Введите концентрацию в десятичной форме.	Требуется для всех стандартов.
X		Примечание к лунке	Введите примечание к лунке.	На выбор.
Y-AD	14-110	Цвет лунки канала 1, Цвет лунки канала 2, Цвет лунки канала 3, Цвет лунки канала 4, Цвет лунки канала 5, Цвет лунки канала FRET	Введите все установленные пользователем цвета стиля кривых в 32-битном формате целых и десятичных чисел (argb).	На выбор.

## Запуск прогона LIMS

Для запуска прогона LIMS:

- Откройте файл LIMS, используя один из следующих способов:
  - Перетащите файл .plrн в окно программного обеспечения CFX Manager или на значок рабочего стола
  - Выберите **Сервис > Папка файлов LIMS** из строки меню основного окна программы. Дважды щелкните нужный файл .plrн, чтобы открыть прогон
  - Выберите **Сервис > Открыть > файл LIMS** из строки меню основного окна программы. Выберите файл .plrн из папки LIMS и щелкните **Открыть**
- Чтобы запустить прогон для выбранного файла LIMS, выберите прибор и щелкните **Начать прогон** (Рис. 104). Содержимое файла LIMS и связанный файл протокола используются для завершения вкладок протокола и плашки.

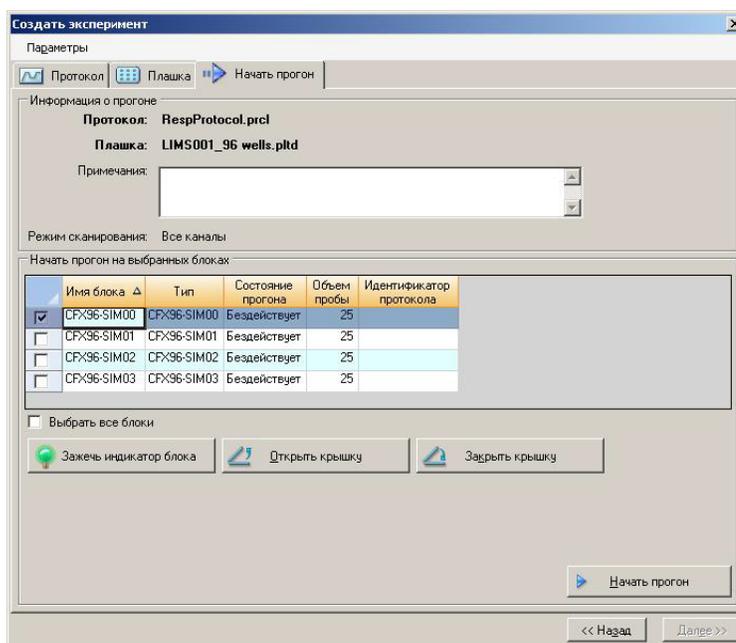


Рис. 104. Окно Создать прогон с прогоном LIMS готово к запуску.

## Экспорт данных в LIMS

По завершении прогона файл данных программы CFX Manager (.pcrd) создается и сохраняется в установленное местоположение папки экспорта данных (Рис. 101).

При выборе **Автоматически экспортировать данные после прогона** в параметрах LIMS, в то же местоположение будет сохранен второй файл данных, совместимый с извлечением данных LIMS. Содержимое и формат файла определяются с использованием настроек формата экспорта данных LIMS. Чтобы экспортировать данные вручную, выберите **Экспорт > Экспорт в папку LIMS** из основной строки меню программы.

## Мастер калибровки

Система CFX96 Touch откалибрована на заводе для распространенных флуорофоров в плашках с белыми и прозрачными лунками, в то время как Система CFX384 Touch – только для флуорофоров в плашках с белыми лунками (Табл. 44).

**Табл. 44. Флуорофоры, откалиброванные на заводе, каналы и приборы.**

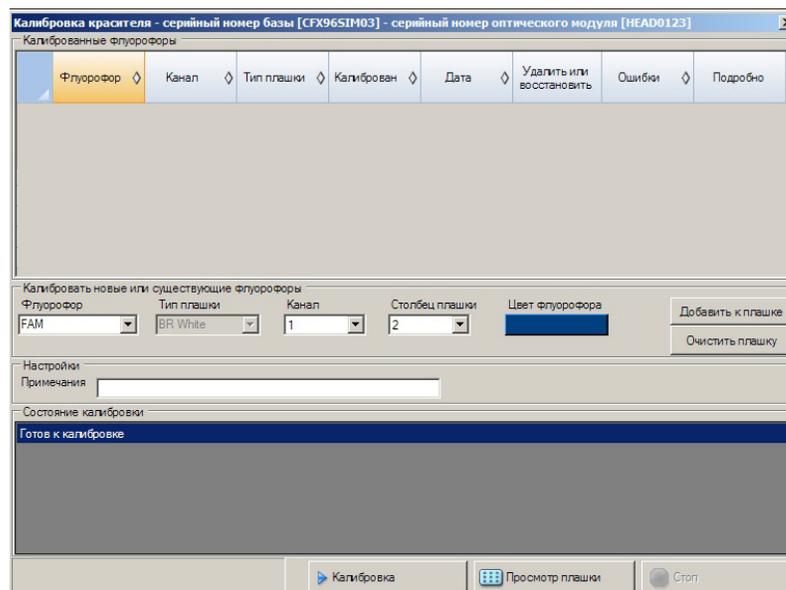
Флуорофоры	Канал	Прибор
FAM, SYBR® Green I	1	CFX96 и CFX384
VIC, HEX, TET, CAL Fluor Gold 540	2	CFX96 и CFX384
ROX, Texas Red, CAL Fluor Red 610	3	CFX96 и CFX384
CY5, Quasar 670	4	CFX96 и CFX384
Quasar 705	5	только CFX96

Система CFX96 Touch и Система CFX384 Touch также содержат канал исключительно для FRET. Для этого канала не требуется калибровка определенных красителей.

Чтобы открыть Мастер калибровки для калибровки системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 Touch или CFX384 Touch:

1. Выберите прибор в панели Обнаруженные приборы.
2. Выберите **Сервис > Мастер калибровки**, чтобы открыть окно и провести калибровку новых сочетаний красителя и плашки (Рис. 105).

Рис. 105 показывает пример окна Калибровка красителя.



**Рис. 105. Окно Калибровка красителя.**

## Калибровка системы CFX96 Touch или CFX384 Touch

Чтобы провести калибровку системы Система CFX96 Touch или Система CFX384 Touch в окне Калибровка красителя:

1. В панели Калибровать новые или Существующие флуорофоры в раскрывающемся списке выберите флуорофор, калибровку которого нужно провести. Если в списке нет имени флуорофора, введите имя в поле для добавления в список.

2. Выберите тип плашки. Если в списке нет типа плашки, введите его в поле для добавления в список.
3. Выберите канал для флуорофора.
4. Для добавления флуорофора нажмите кнопку **Добавить в список**. Для удаления всех флуорофоров нажмите кнопку **Очистить список**.
5. (Необязательно) Повторите шаги 1-6, чтобы добавить все флуорофоры, которые нужно калибровать для плашки.
6. После добавления флуорофоров нажмите **Просмотр плашки**, чтобы открыть Отображение плашки с чистым красителем. Используйте это окно как руководство по загрузке красителей на плашку.
7. Начните подготовку 96- или 384-луночной плашки для калибровки красителя с пипетирования раствора красителя в каждую лунку, следуя образцу, представленному на экране Отображение плашки с чистым красителем. Для каждого флуорофора заполните 4 лунки по 50 мкл (для 96-луночной плашки) или 30 мкл (для 384-луночной плашки) раствора 300 наномоль/л красителя. Обратите внимание, что хотя бы половина плашки должна содержать пустые лунки.
8. Герметизируйте плашку тем способом, который будете использовать в прогоне.
9. Поместите калибровочную плашку в блок и закройте крышку. Затем нажмите **Калибровать** и **ОК**, чтобы подтвердить нахождение плашки в блоке.
10. После завершения калибровочного прогона программным обеспечением CFX Manager появится диалоговое окно. Нажмите **Да**, чтобы завершить калибровку и открыть окно Просмотр калибровки красителя.
11. Для закрытия окна нажмите **ОК**.

## Обслуживание прибора

Система Система CFX96 Touch или Система CFX384 Touch включает чувствительную оптическую систему челнока, которая быстро перемещается во время сбора данных, и блок для проб, который должен быстро нагреваться и охлаждаться. Загрязнение этих компонентов может повлиять на процессы термоциклера и сбора данных.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Никогда не проводите реакцию с открытой или неплотно закрытой крышкой проб. Реагенты могут вытечь и попасть на блок, внутреннюю крышку и оптическую головку системы челнока. Чрезмерная грязь может погасить сигнал, а загрязнения флуоресценцией могут создать значительные фоновые сигналы. Систему челнока могут очистить только обученные инженеры по обслуживанию компании Bio-Rad.

Избегайте загрязнения системы CFX96 Touch или Система CFX384 Touch, выполняя несложные действия:

- Всегда очищайте внешнюю поверхность контейнеров перед их помещением в блок
- Никогда не проводите реакцию, если нет пленки, она неплотно прилегает, проколота или повреждена другим способом, поскольку это может привести к загрязнению блока, внутренней крышки и оптической системы
- Никогда не проводите реакцию ПЦР, в том числе в реальном времени, с летучими реагентами, которые могут взорваться и загрязнить блок, внутреннюю крышку и оптическую систему

- Регулярно проводите чистку блока и внутренней крышки, чтобы избежать скопления грязи, материала, представляющего биологическую опасность, или флуоресцентных растворов (см. Чистка оптического реакционного модуля на стр. 150)
- Никогда не производите чистку и не касайтесь оптической системы, расположенной под отверстиями пластины нагревателя внутренней крышки (Рис. 106)
- Внешняя крышка и база C1000 должны очищаться регулярно (дополнительную информацию см. в инструкции по эксплуатации термоциклера C1000)

## Чистка оптического реакционного модуля

Следует регулярно чистить блок оптического реакционного модуля и базу термоциклера C1000™, чтобы удалить весь мусор и грязь, которые могут препятствовать правильной работе. Сразу же удаляйте грязь и пролитую жидкость с помощью мягкой безворсовой ткани, смоченной в воде. Чистка прибора обязательна для точного функционирования. Подробную информацию о чистке база C1000 см. в инструкции по эксплуатации термоциклера C1000.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Никогда не используйте чистящие средства, которые вызывают коррозию алюминия. Избегайте царапин на поверхности отсека для реакционного модуля C1000. Царапины и другие повреждения этой поверхности влияют на точность управления температурой.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Никогда не проливайте воду или другие жидкости в отсек для реакционного модуля C1000. Влажные компоненты могут привести к поражению электрическим током, если термоциклер подключен к сети.

Сразу же очищайте оптический реакционный модуль CFX96 или CFX384 от мусора, грязи и других загрязнений блока и внутренней крышки. Любые загрязнения могут повлиять на скорость изменения температуры блока и точность сбора данных флуоресценции. Чтобы очистить реакционный модуль, следуйте этим рекомендациям. Следуйте предложениям по очистке на стр. 145.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Чтобы избежать поражения электрическим током, перед чисткой всегда вынимайте реакционный модуль из базы термоциклера или отключайте его от нее.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Никогда не прикасайтесь к оптической системе, расположенной под отверстиями пластины нагревателя внутренней крышки, и избегайте попадания растворов в нее (Рис. 106)



**Рис. 106. Отверстия пластины нагревателя внутренней крышки.**

Пояснение. Инструкции по обращению с радиоактивными материалами и материалами, представляющими биологическую опасность, включая чистку, см. в правилах техники радиационной и биологической безопасности своего учреждения. Эти правила включают методы чистки, мониторинга и устранения опасных материалов.

- **Очистите внешнюю поверхность.** Используйте влажную ткань или материю, чтобы удалить пролитую жидкость с внешней поверхности. При необходимости используйте мягкое чистящее средство и очистите поверхность с помощью влажной ткани. Чистка корпуса позволяет предотвратить коррозию
- **Очистите радиатор.** Удалите пыль с помощью мягкой щетки или влажной ткани. Удалите значительные загрязнения, скопившиеся в глубине отверстий, с помощью пылесоса. Используйте воду и мягкую ткань, чтобы удалить грязь, застрявшую в пластинах. Не царапайте поверхность. При необходимости используйте мягкое чистящее средство и тщательное ополаскивание, чтобы полностью удалить остатки. Чистка радиатора позволяет повысить точность нагрева и охлаждения проб

ПРИМЕЧАНИЕ. Никогда не используйте чистящие средства, которые вызывают коррозию алюминия, например отбеливатели или абразивные средства.

- **Не рекомендуется использовать масло в лунках.** При использовании масла необходимо проводить частую и тщательную чистку лунок. Удалите масло, если оно обесцвечено или содержит грязь. Для удаления масла используйте средство, содержащее 95% этанола. Не допускайте скопления масла в блоке
- **Очистите лунки блока.** Сразу же удаляйте пролитую жидкость, чтобы избежать ее высыхания в лунках. Используйте одноразовые пластиковые пипетки с водой (рекомендуется), этанолом 95% или 1:100 раствором отбеливателя в воде. Для чистки блока используйте мягкую безворсовую ткань или бумажное полотенце и воду. Всегда несколько раз тщательно ополаскивайте лунки водой, чтобы удалить все следы чистящих средств

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Никогда не чистите блок с помощью сильных щелочных средств (концентрированных моющих средств, аммиака или высококонцентрированного отбеливателя). Никогда не используйте абразивные чистящие средства или средства, вызывающие коррозию. Они могут повредить блок и повлиять на точность управления температурой.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Отбеливатель, этанол или мыло, оставшиеся в блоке, могут привести к его коррозии и разрушению пластика во время прогона. После чистки обязательно тщательно ополосните лунки водой для удаления всех следов чистящих средств.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!** Никогда не нагревайте блок с чистящим средством. Нагрев блока с чистящим средством приводит к повреждению блока, реакционного модуля и базы термоциклера.

- **Очистите внутреннюю крышку.** Используйте мягкую безворсовую ткань и воду, чтобы удалить грязь и чистящие средства с внутренней поверхности крышки. Никогда не используйте абразивные чистящие средства или грубый материал, который может поцарапать поверхность. Чистка внутренней крышки позволяет повысить точность нагрева и охлаждения

## Журнал приложения

Перед началом нового прогона прибор CFX96 или CFX384 проводит самодиагностику, чтобы проверить соответствие спецификациям. Программное обеспечение записывает результаты этого теста в файлы журнала прогона и приложения. При обнаружении проблемы в одном или нескольких прогонах откройте журналы прогона и приложения, чтобы определить момент возникновения проблемы.

Программное обеспечение CFX Manager отслеживает состояние прибора во время прогона и записывает данные в **Журнал приложения** (Рис. 107). Используйте эти журналы для отслеживания событий приборов и программы, а также для устранения проблем.

Чтобы открыть журнал приложения в основном окне программы, выберите **Вид > Журнал приложения**

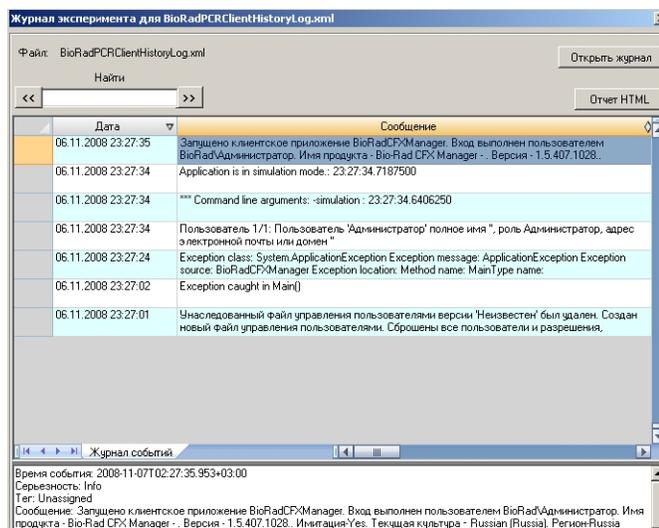


Рис. 107. Пример файла журнала событий.

## Устранение проблем

### Восстановление файла данных

Файлы данных, полученные при автономных прогонах, можно восстановить следующим образом:

1. Вставьте флеш-носитель USB в порт USB на базе термоциклера.
2. Коснитесь кнопки **Tools (Сервис)**.
3. Выберите **Run Reports (Отчеты о прогонах)**.
4. Выберите из списка файл, который требуется восстановить.
5. Коснитесь кнопки **Recover Data (Восстановить данные)**. Новый файл данных (.zpcr) будет создан и экспортирован на флеш-носитель USB.

ПРИМЕЧАНИЕ. Можно восстановить только файлы последних 5 прогонов.

Обычно проблемы связи программного обеспечения и прибора можно решить путем перезапуска компьютера и системы. Перед перезапуском убедитесь, что сохранены все нужные данные.

ПРИМЕЧАНИЕ. Проверьте, что на компьютере достаточно оперативной памяти и свободного места на жестком диске. Минимальный размер ОЗУ составляет 2 Гб, а минимальное место на жестком диске – 20 Гб.

### Установка программного обеспечения вручную

При необходимости установите программное обеспечение вручную, выполнив следующие действия:

1. Вставьте компакт-диск с программным обеспечением.
2. Щелкните правой клавишей мыши значок этого компакт-диска и выберите **Проводник**, чтобы открыть окно компакт-диска.
3. Дважды щелкните папку **CFX\_Manager**, в которой дважды щелкните файл **setup.exe**, чтобы запустить мастер установки программного обеспечения.
4. Выполните указания мастера установки программного обеспечения и нажмите **Готово**.

### Установка драйверов вручную

При необходимости установите драйверы вручную, выполнив следующие действия:

1. Вставьте компакт-диск с программным обеспечением. Если компакт-диск недоступен, найдите папку драйверов по пути C:\Program Files\Bio-Rad\Drivers на своем жестком диске.
2. Нажмите кнопку **Драйверы** на экране установки программного обеспечения (Рис. 109).
3. Откройте папку **BaseUnit**, щелкнув ее.

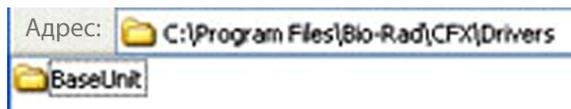
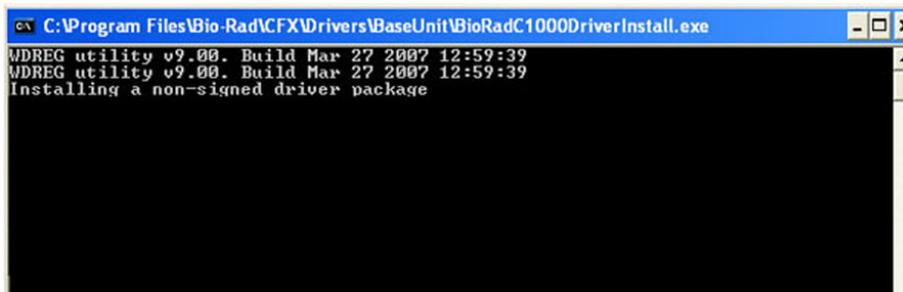


Рис. 108. Папка BaseUnit.

4. Для компьютеров с операционной системой Windows XP дважды щелкните **BioRadC1000DriverInstall.exe**, чтобы открыть окно установки. Для компьютеров

с операционной системой Windows Vista щелкните правой клавишей мыши **BioRadC1000DriverInstall.exe** и выберите **Выполнить как администратор**, чтобы открыть окно установки.



**Рис. 109. Окно установки драйверов.**

После завершения установки окно установки закроется.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Если не удастся установить драйверы вручную, свяжитесь с технической поддержкой местного офиса компании Bio-Rad.

## **Действия при сбое питания**

При сбое электропитания прибор и компьютер отключаются. При кратковременном сбое питания прибор возобновит выполнение протокола, но в журнале приложения будет записана информация о сбое. В зависимости от настроек компьютера и периода отключения питания прибор и программное обеспечение попытаются возобновить прогон в зависимости от шага протокола:

- Если выполняется шаг протокола, на котором не происходит чтение плашки, прибор возобновляет выполнение протокола сразу же после подачи электропитания
- Если выполняется шаг протокола, на котором происходит чтение плашки, прибор подождет перезапуска программы и восстановления связи для сбора данных. В этом случае выполнение протокола продолжится, только если программное обеспечение не будет выключено компьютером. После запуска компьютера и программного обеспечения продолжится выполнение протокола

Чтобы открыть заблокированную моторизированную крышку реакционного модуля для вынимания проб во время сбоя питания, выполните следующие действия:

1. Выньте реакционный модуль из базы C1000, переместив фиксатор C1000 вниз.

2. Поставьте модуль на подставку таким образом, чтобы передний край модуля выходил за ее края на 5 см, как показано на Рис. 110.



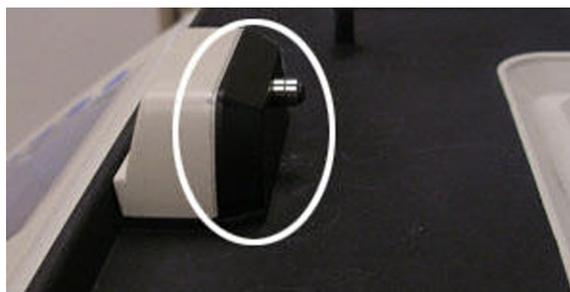
**Рис. 110. Установка оптического модуля для удаления пластины фиксатора.**

3. С помощью торцового ключа открутите два больших винта под передним краем реакционного модуля (под кнопкой открытия крышки). Не удаляйте маленькие винты, расположенные на передней стороне модуля. Изнутри модуля раздастся звук освобождения блокирующей защелки. На Рис. 111 показаны две большие гайки.



**Рис. 111. Открутите две гайки, чтобы разблокировать оптический модуль.**

4. Попробуйте открыть крышку реакционного модуля. Обратите внимание, что защелка (темная пластмасса) больше не закреплена. Выньте пробы из блока.
5. Соберите реакционный модуль с крышкой, установив блокирующую защелку и зафиксировав ее с помощью больших гаек. На Рис. 112 показано возвращение блокирующей защелки.



**Рис. 112. Блокирующая защелка оптического модуля.**

## Список литературы

Breslauer KJ, и соавт. (1986). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3746–50.

Hellemans J, и соавт. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data, *Genome Biol*, 8, R19.

Livak JL, и соавт. (1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. *Nature Genetics* 9, 341–342.

Pfaffl MW. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29(9), 2002–2007.

Vandesompele J, и соавт. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 3(7), 1–12.

**Уведомление об авторских правах Minpack (1999). Чикагский университет. Все права сохранены**

Распространение и использование в исходной и бинарной формах с изменениями или без них разрешено при выполнении следующих условий:

1. При дальнейшем распространении исходных кодов должно сохраняться уведомление об авторском праве, этот список условий и приведенный ниже отказ от права
2. При дальнейшем распространении двоичных кодов должно сохраняться уведомление об авторском праве, этот список условий и приведенный ниже отказ от права
3. Распространяемая документация для конечных пользователей при наличии таковой должна воспроизводить следующее заявление

“Этот продукт содержит программное обеспечение, разработанное в Чикагском университете (University of Chicago) в рамках деятельности Argonne National Laboratory.”



# Указатель

---

## А

Автоэффективность, 53, 115  
 Аллельная дискриминация, 97  
   Корректировка данных, 98  
   ОЕФ, 97, 101  
   Таблица, 99  
 Анализ данных  
   Анализ данных, 97  
   Группы лунок, 53  
   Диаграммы, корректировка, 79  
   Исключение лунок, 78  
   Конечная точка, 94  
   Корректировка, 69  
   Кривая плавления, 90  
   О программе, 69  
   Очистка лунок, 79  
   Панель управления, 70  
   Селектор лунок, 76  
   Содержимое лунки, 69  
   Содержимое плашки, 69  
   Строка меню, 71  
   Формула, 123  
   Экспрессия гена, 107

## Б

Базовая линия  
   Окно, 75  
 Безопасность  
   Предупредительные символы, iii  
   Предупреждения, ii, iv, vi  
   Приборы, iv  
 Библиотека, 48  
 Блок, 3  
   Режим, 41  
 Быстрая загрузка  
   Протокол, 26, 27

## В

Вид спереди, 2  
 Вкладка  
   Анализ исследования в исследовании гена, 117, 119  
   Время, 31

Информация о прогоне, 101  
 Конечная точка, 95  
 Кривая плавления - данные, 91  
 Расчет, 70, 72  
 Создать исследование в исследовании гена, 118  
 Состояние в реальном времени, 30  
 Экспрессия гена, 108  
 Вкладка Анализ исследования, 117, 119  
 Вкладка Время, 31  
 Вкладка Контроль качества, 101  
 Вкладка Создать исследование, 117, 118  
 Вкладка Электронная почта, 131  
 Внутренняя крышка, 3  
 Возобновление прогона, 30  
 Все каналы, режим сканирования, 47, 60  
 Выбор  
   Флуорофоров на плашке, 47  
 Выборочный экспорт, 82  
 Выбрать флуорофоры  
   Флажок Выбранные, 47  
   Цвет, 48

## Г

Градиент  
   Вставка, 38  
   Шаг, 38  
 Группа реплик, 50  
 Группы лунок, 53  
   Анализ данных, 53  
   Создание, 54  
   Стандартная кривая, 53

## Д

Данные  
   Файлы, 9  
 Детали прогона  
   Вкладка Время, 31  
   Вкладка Состояние в реальном времени, 30  
   Окно, 29  
   Состояние прогона, 29  
 Диаграмма  
   Анализ данных, 79  
 Диспетчер групп лунок, 46

Длина ампликона, 42  
Добавить повторения, 30  
Добавление  
    Звуковой сигнал, 40  
    Инкремент, 40  
    Повторений в прогон, 30  
    Скорость нагрева/охлаждения., 40  
    Удлинение, 40

## Е

Единицы, 45

## З

Задняя панель, 3  
Закрытие крышки, 30  
Заменить файл плашки, 31  
Запуск прогона с использованием LIMS, 147  
Звуковой сигнал, 40

## И

Изменение  
    Базовая линия, 75  
    Объем пробы, 27, 37  
    Пороговые уровни, 75  
Импорт шаблона, 55  
Имя мишени, 48, 49  
Индикатор на крышке, 2  
Инкремент, 40  
Интеграция LIMS, 142  
Интересующий ген  
    Коэффициент нормализации, 124  
    Нормализованная экспрессия, 124, 126  
    Относительное количество, 124  
    SD нормализованной экспрессии, 126  
Информация о прогоне  
    Вкладка, 101  
Исключение лунок  
    Редактор плашки, 78  
Исследование гена, 116  
    Вкладка Анализ исследования, 117, 119  
    Вкладка Создать исследование, 118  
    Калибровка между прогонами, 116  
    Отчет, 121  
    Подготовка данных, 118  
    Подробнее, 121  
    Файлы, 9

## К

Калибровка  
    Между прогонами в исследовании гена, 116  
Калибровка между прогонами, 116  
Калькулятор градиента, 36  
Калькулятор основной смеси, 20  
Кнопка, 30  
    Возобновить, 30  
    Зажечь индикатор блока, 30  
    Закрытия крышки, 3, 30  
    Мастер создания протокола, 41  
    Настройки прогона, 51  
    Открыть крышку, 30  
    Очистить лунки, 51  
    Очистить номер реплики, 51  
    Показать настройки анализа, 52, 115  
    Приостановить, 30  
    Пропустить шаг, 30  
    Редактор протокола, 37  
    Удалить шаг, 40  
Кнопка Возобновить, 30  
Кнопка Зажечь индикатор блока, 30  
Кнопка Закрыть крышку, 30  
Кнопка Открыть крышку, 30  
Кнопка Пропустить шаг, 30  
Кнопка Стоп, 30  
Кнопка Удалить шаг, 40  
Компоненты комплекта поставки, 1  
Конечная точка  
    Анализ данных ОЕФ, 94  
    Вкладка, 95  
    Изменение объема пробы в протоколе, 27  
    Корректировка данных, 96  
    Таблица, 96  
Контакты компании Bio-Rad Laboratories, ii  
Контроль  
    Относительное количество с контролем, 124  
Концентрация, 49, 50  
Корректировка  
    Данные аллельной дискриминации, 98  
    Данные экспрессии гена, 110  
    Данных в конечной точке, 96  
    Диаграммы анализа данных, 79  
    Кривая плавления - данные, 91  
    Пороговый уровень, 74  
    Стиль кривой графика, 84  
    Цвет кривой, 84  
Корректировка порогового уровня, 76  
Коэффициент вариации, 111  
Коэффициент нормализации  
    Относительное количество, 124  
Кривая графика  
    Корректировка, 84

Стиль, 84  
 Цвет, 84  
 Кривая плавления  
   Анализ данных, 90  
   Вставка, 39  
   Данные ОЕФ, 90  
   Корректировка данных, 91  
   Открытие вкладки, 90  
 Кривая плавления - данные, 93  
   Вкладка, 91  
   Данные амплификации (ОЕФ), 93  
   Плашка, 93  
 Крышка  
   Зеленый индикатор, 2  
   Зеленый светодиод, 2  
   Открытие, 30

## Л

Лунка  
   Группы, 46  
   Имя мишени, 48  
   Имя пробы, 48  
   Концентрация, 49  
   Примечания, 49, 50  
   Содержимое, 48  
   Тип пробы, 48  
   Флуорофоры, 48

## М

Мастер запуска, 15  
 Мастер создания протокола, 42  
   Длина ампликона, 42  
   Кнопка, 41  
   Создание протокола, 42  
   Температура отжига, 42  
 М-значение, 111  
 Мишени  
   Настройки прогона, 51, 114  
   Эффективности реакции (E), 86

## Н

Нажмите, чтобы закрыть крышку, 3  
 Настройка интеграции LIMS, 142  
 Настройка электронной почты в CFX Manager, 131  
 Настройка электронной почты на C1000 Touch, 65  
 Настройки базовой линии, 74  
 Настройки прогона, 51

Автоэффективность, 53, 115  
 Вкладка Мишени, 51, 114  
 Кнопка, 51  
 Показать график, 53, 115  
 Флажок Показать настройки анализа, 52, 115  
 Цвет, 53, 115  
 Настройки формата экспорта данных LIMS, 143  
 Несколько приборов  
   Просмотр, 17  
 Номер реплики, 50  
 Нормализация  
   Экспрессия гена, 109  
 Нормализованная экспрессия  
   Масштабирование по наибольшему, 126  
   Масштабирование по наименьшему, 126  
   Стандартного отклонения формула, 125  
   Стандартное отклонение (SD), 126  
   Формула, 124, 125  
   Формула для интересующего гена, 127  
 Нормализованного интересующего гена  
   формула, 127

## О

Обзор системы CFX96, 2  
 Обнаруженные приборы, 12  
 Объем пробы  
   Изменение, 37  
   Изменение на конечной точке, 27  
 ОЕФ  
   Аллельная дискриминация, 97, 101  
   Вкладка Конечная точка, 94, 95  
   Вкладка Кривая плавления, 90  
 Окно  
   Базовая линия, 75  
   Детали прогона, 29  
   Диспетчер групп лунок, 46  
   Исследование гена, 116  
   Мастер создания протокола, 41  
   Пороговый уровень, 75  
   Редактор протокола, 35  
 Окно Пороговый уровень базовой линии, 75  
 Остановка прогона, 30  
 Открытие  
   Вкладка Кривая плавления, 90  
   Крышка, 30  
   Мастер создания протокола, 41  
   Редактор протокола, 35  
 Отмена прогона, 30  
 Относительное количество  
   Интересующий ген, 124  
   Контрольная проба выбрана, 124  
   Коэффициент нормализации, 124

- Нормализованная экспрессия, 125
- Описание, 110
- Стандартного отклонения формула, 124
- Формула, 123
- Отчет
  - Исследование гена, 121
  - Файл данных, 102
- Отчет по данным
  - Создание, 103
- Отчеты по группам лунок, 106
- Очистить лунки, кнопка, 51
- Очистить номер реплики, 51
- Очистка лунок в окне Редактор плашки, 79
- Очистка событий, 24

## П

- Панель управления
  - Анализ данных, 70
  - Основная программы, 14
  - Редактор плашки, 45
- Параметры масштабирования при экспрессии гена, 111
- Переход
  - Вставка, 39
  - Добавление повторений, 30
- Пики плавления
  - Таблица, 92
- Планировщик, 21
- Пластина нагревателя, 3
- Плашка
  - Кривая плавления - данные, 93
  - Размер, в окне Редактор плашки, 44
  - Содержимое лунки, 48
  - Содержимое лунок, 48
  - Таблица, 55, 93
  - Тип, 45
  - Файлы, 9
- Поддержка
  - Представители компании Bio-Rad, ii
  - Технические, ii
  - Технические статьи, ii
- Подробнее
  - Исследование гена, 121
- Показать график, 53, 115
- Показать настройки анализа, 52, 115
- Пороговые уровни
  - Окно, 75
- Пороговый уровень
  - Корректировка, 74
- Порт флеш-накопителя USB, 63
- Поставка
  - винт, 6

- Список, 1
  - Предупреждение
    - Безопасность, iii
    - Вероятность взрыва, iv
    - Вероятность ожога, iv
    - Вероятность причинения вреда, iv
  - Приборы, iv
  - Символы, iii
  - Символы, безопасность, iii
  - Список в руководстве, ii, vi
  - Приборы
    - Безопасность, iv
    - Предупредительные символы, iv
  - Применить коррекцию смещения флуоресценции, 75
  - Примечания
    - Лунка, 49
  - Примечания к лункам, 50
  - Приостановить
    - Кнопка, 30
    - Прогон, 30
  - Проба
    - Имя, 48, 49
    - Тип, 48, 49
  - Прогон
    - Добавление повторений, 30
    - Зажечь индикатор блока, 30
    - Остановка, 30
    - Отмена, 30
    - Приостановка, 30
    - Пропуск шага, 30
  - Пропуск шага, 30
  - Просмотр пользовательских данных, 100
  - Протокол
    - Быстрая загрузка, 26, 27
    - Конечная точка, 27
    - Рассчитанный режим, 41
    - Режим блока, 41
    - Файлы, 9
    - Шаги, температура, 35
  - Протокол с прогоном только в конечной точке, 27
- ## Р
- Распаковка прибора, 1
  - Рассчитанный режим, 41
  - Расходные материалы из пластика, 9
  - Расчет
    - Вкладка, 72
    - Описание, 72
    - Структура вкладки, 72, 84
  - Редактор плашки
    - Выбор флуорофоров, 47

- Группа реплик, 50
- Диспетчер групп лунок, 46
- Единицы, 45
- Импорт таблицы плашки, 55
- Имя мишени, 49
- Имя пробы, 49
- Исключение лунок, 78
- Концентрация, 50
- Настройки прогона, 51
- Номер реплики, 50
- Очистить лунки, кнопка, 51
- Очистить номер реплики, 51
- Очистка лунок, 79
- Панель управления, 45
- Примечания к лункам, 50
- Размер плашки, 44
- Режим сканирования, 46, 47
- Серия разведений, 50
- Серия реплик, 50
- Строка меню, 44
- Таблица, 45, 55
- Тип плашки, 45
- Тип пробы, 49
- Увеличение, 46
- Экспоненциальное представление, 45
- Экспорт таблицы плашки, 55
- Редактор протокола
  - Вставка градиента, 38
  - Вставка кривой плавления, 39
  - Вставка перехода, 39
  - Кнопки, 37
  - Окно, 35
  - Строка меню, 36
  - Удалить шаг, 40
- Режим
  - Без вычета базовой линии, 74
  - Подбор кривой по точкам с вычетом базовой линии, 75
  - С вычетом базовой линии, 75
  - Управление температурой, 41
- Режим анализа, 75
- Режим анализа по мишеням, 76
- Режим анализа по флуорофорам, 75
- Режим Без вычета базовой линии, 74
- Режим Единый пороговый уровень, 73
- Режим Регрессия, 73
- Режим С вычетом базовой линии, 75
- Режим сканирования
  - Все каналы, 47, 60
  - Редактор плашки, 46, 47
  - Только SYBR/FAM, 47, 60
  - FRET, 47, 60

## С

- С вычетом базовой линии
  - Режим подбора кривой по точкам, 75
- Светодиод на крышке, 2
- Селектор лунок
  - Анализ данных, 76
- Серия разведений, 50
- Серия реплик, 50
- Система CFX96, 2
  - Обзор, 2
- Скорость нагрева/охлаждения., 40
- Соблюдение установленных норм, v
- Создание
  - Группы лунок, 54
  - Отчет по данным, 103
  - Протокол, 42
- Состояние в реальном времени, 30
- Состояние прогона
  - Вкладка, 29
- Спецификации
  - Безопасное использование, iv
  - Соблюдение установленных норм, v
- Спецификации безопасного использования, iv
- Стандартная кривая
  - Группы лунок, 53
- Стандартная ошибка, 127
  - Нормализованной экспрессии формула, 127
  - Формула, 127
- Стандартное отклонение
  - Нормализованная экспрессия, 125, 126
  - Относительное количество, 124
  - Формула для нормализованной экспрессии, 126
- Строка меню
  - Анализ данных, 71
  - Основная программы, 12
  - Редактор плашки, 44
  - Редактор протокола, 36
- Строка состояния, 17
- Структура
  - Вкладка Расчет, 72, 84

## Т

- Таблица
  - Аллельная дискриминация, 99
  - Данные амплификации для кривой плавления, 93
  - Конечная точка, 96
  - ОЕФ для кривой плавления, 93
  - Пики плавления, 92
  - Плашка на вкладке Данные кривой

## Указатель

- плавления, 93
- Редактор плашки, 45
- Экспрессия гена, 112
- d(OEФ)/dT для кривой плавления, 94
- Таблица Пики плавления, 92
- Температура
  - Шаг, 37
- Температура отжига
  - Мастер создания протокола, 42
- Технические
  - Примечания, ii
  - Специалисты, ii
- Тип энзима, 42
- Только SYBR/FAM, 47, 60
- Требования
  - Эксплуатация, 1
- Требования по эксплуатации, 1

## У

- Увеличение в окне Редактор плашки, 46
- Удаление шага, 40
- Удлинение, 40
- Управление температурой
  - Режим, 41
  - Режим блока, 41
- Уравновесить
  - Неполные микропланшеты, 10
  - Способ, 10
  - Стрипы с пробирками, 10
- Условные обозначения, ii

## Ф

- Файл данных
  - Отчет, 102
- Файл LIMS (\*.plrn), 144
- Файлы
  - Данные, 9
  - Исследование гена, 9
  - Плашка, 9
  - Программное обеспечение, 9
  - Протокол, 9
- Флуорофоры, 48
- Формула, 124
  - Анализ данных, 123
  - Нормализованная экспрессия, 124, 125, 126
  - Нормализованная экспрессия,
    - масштабированная, 126
  - Относительное количество, 123
  - Стандартная ошибка, 127
  - Стандартная ошибка нормализованной

- экспрессии, 127
- Эффективность реакции (E), 86
- E (см. эффективность реакции), 86
- SD нормализованной экспрессии, 126

## Ц

- Цвет, 48, 53, 115
- Циклы для анализа, 76

## Ш

- Шаг
  - Температура, 37

## Щ

- Щелчок правой клавишей мыши
  - График Экспрессия гена, 112

## Э

- Экспоненциальное представление, 45
- Экспорт в папку LIMS, 82
- Экспорт всех листов данных в Excel, 72, 81
- Экспорт данных в LIMS, 147
- Экспорт данных, собранных в автономном режиме, 63
- Экспорт файлов RDML, 81
- Экспорт шаблона, 55
- Экспрессия гена
  - Анализ данных, 107
  - Вкладка, 108
  - Данные графика, 110
  - Корректировка данных, 110
  - Нормализация данных, 109
  - Относительное количество, 110
  - Параметры масштабирования, 111
  - Таблица, 112
  - Щелчок правой клавишей мыши по
    - графику, 112
- Электропитание
  - Выключатель, 3
- Эффективности реакции (E)
  - Мишени, 86
  - Формула, 86

## **B**

Bio-Rad Laboratories  
Контакты, ii

## **C**

CFX Manager  
Файлы, 9

## **D**

-d(ОЕФ)/dT  
Таблица, 94

## **F**

FRET, 47, 60

## **L**

LIMS, 142

## **U**

USB  
Соединения, 3





**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Медико-  
биологическая  
группа

Веб-сайт [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com) США 800 424 6723 Австралия 61 2 9914 2800 Австрия 01 877 89 01 Бельгия 09 385 55 11 Бразилия 55 31 3689 6600  
Канада 905 364 3435 Китай 86 21 6169 8500 Чешская Республика 420 241 430 532 Дания 44 52 10 00 Финляндия 09 804 22 00  
Франция 01 47 95 69 65 Германия 089 31 884 0 Греция 30 210 777 4396 Гонконг 852 2789 3300 Венгрия 36 1 459 6100 Индия 91 124 4029300  
Израиль 03 963 6050 Италия 39 02 216091 Япония 03 6361 7000 Корея 82 2 3473 4460 Малайзия 60 3 2117 5260 Мексика 52 555 488 7670  
Нидерланды 0318 540666 Новая Зеландия 64 9 415 2280 Норвегия 23 38 41 30 Польша 48 22 331 99 99 Португалия 351 21 472 7700  
Россия 7 495 721 14 04 Сингапур 65 6415 3170 Южная Африка 27 861 246 723 Испания 34 91 590 5200 Швеция 08 555 12700  
Швейцария 061 717 95 55 Тайвань 886 2 2578 7189 Таиланд 66 2 6518311 Великобритания 020 8328 2000 Вьетнам 84 8 38131140