



CFX Maestro Dx SE programvara

Användarhandbok
Version 2.3

REF

12014330
12014334
12014335
12014348
12014349
12016659
12016687

Revidering av handbok: Maj 2022

Revidering av programvara: 2.3



IVD

BIO-RAD

CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

Användarhandbok

Version 2.3



Bio-Rad™ s tekniska support

Bio-Rad-avdelningen för teknisk support i USA är öppen måndag till fredag kl. 5.00–17.00 PT (Pacific Time).

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

E-post: Support@bio-rad.com (endast USA och Kanada)

För teknisk assistans utanför USA och Kanada kontaktar du det lokala kontoret för teknisk support eller klickar på länken Contact us (Kontakta oss) på [bio-rad.com](https://www.bio-rad.com).

Meddelande

Ingen del av denna publikation får reproduceras eller överföras i någon form eller på något sätt, vare sig elektroniskt eller mekaniskt, inklusive fotokopiering, inspelning eller i något informationslager eller söksystem, utan skriftligt tillstånd från Bio-Rad Laboratories, Inc.

Bio-Rad förbehåller sig rätten att när som helst ändra sina produkter och tjänster. Denna handbok kan ändras utan föregående meddelande. Även om företaget arbetar för att garantera noggrannhet, tar Bio-Rad inget ansvar för fel eller utelämnanden eller för skada som uppstår på grund av hur den här informationen tillämpas och används.

BIO-RAD är ett varumärke som tillhör Bio-Rad Laboratories, Inc.

SYBR är ett varumärke som tillhör Thermo Fisher Scientific Inc.

EvaGreen är ett varumärke som tillhör Biotium, Inc.












Alla varumärken som används häri tillhör respektive ägare.

Copyright © 2022 av Bio-Rad Laboratories, Inc. Med ensamrätt.

Avsedd användning

CFX Opus Dx realtids-PCR-system™ med CFX Maestro Dx programvara, Security Edition™ är avsett att utföra fluorescensbaserad PCR för att detektera och kvantifiera nukleinsyrasekvenser. System och programvara är avsedda för in vitro-diagnostiskt bruk av utbildade laboratorietechniker. Systemen är avsedda att användas med tredje parts diagnostiska nukleinsyratestester vilka har tillverkats och märkts för diagnostiska syften.

Symbollexikon

 <p>Tillverkare</p>	 <p>Partnummer</p>
 <p>Används före</p>	 <p>För in vitro-diagnostik</p>
 <p>Temperaturgräns</p>	 <p>Katalognummer</p>
 <p>Se bruksanvisningen</p>	 <p>Antal tester</p>
 <p>För användning med</p>	 <p>Serienummer</p>
<p>Rx Only</p> <p>Endast receptbelagd användning</p>	 <p>Innehåller latex</p>

 CE-märkning – Förordning (EU) 2017/746 IVDR	
---	--

Översättningar

Produktdokument kan tillhandahållas på ytterligare språk på elektroniska medier.

Revisionshistorik

Dokument	Datum	Beskrivning av förändring
Användarhandbok för CFX Maestro Dx programvara, Security Edition, 2.0 (Dokument-ID #10000135647)	December 2020	Ver A, första utgåvan
Användarhandbok för CFX Maestro Dx programvara, Security Edition, 2.3 (Dokument-ID #10000135647)	Maj 2022	<ul style="list-style-type: none">■ Uppdaterad för att stödja CFX Opus Deepwell Dx■ Uppdaterad symboltabell■ Lade till cybersäkerhetsnotis i Introduktion

Innehållsförteckning

Avsedd användning	iii
Symbollexikon	iii
Översättningar	iv
Revisionshistorik	v
Säkerhet och efterlevnad av föreskrifter	17
Säkerhetsvarningsetiketter	17
Säkerhet och efterlevnad av föreskrifter	19
Säkerhetsöverensstämmelse	19
Elektromagnetisk kompatibilitet (EMC)	20
Varningar och anmärkningar om EMC	21
Miljökrav	22
Faror	23
Biologiska risker	23
Kemiska faror	24
Explosions- eller brandfaror	24
Elektriska faror	24
Transport	25
Batteri	25
Kassering	25
Garanti	25
Kapitel 1 Inledning	27
Viktiga funktioner i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	29
Ytterligare information	29
Kapitel 2 Installera CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	31
Systemkrav	32
Installera CFX Maestro Dx SE-programvaran	33
Detektera anslutna instrument	34
Programvarufiler	35

Kapitel 3 Hantera användarkonton i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	37
Starta CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	38
Lägga till Microsoft Windows-användare på datorn med CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	40
Lägga till och ta bort användare i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	42
Hantera användarroller i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	43
Visa din roll och behörighet	44
Kapitel 4 Använda CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	45
Säkra filer	45
Kapitel 5 Arbetsytan	55
Hemfönstret	56
Startup Wizard (Startguide)	57
Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare)	58
Fönstret Plate Editor (Plattredigerare)	59
Fönstret Data Analysis (Dataanalys)	60
Kapitel 6 Hemfönstret	61
Hemfönstret	62
Kommandon på menyn File (Arkiv)	63
Kommandon på menyn View (Visa)	63
Kommandon på menyn User (Användare)	64
Kommandon på menyn Run (Körning)	64
Kommandon på menyn Tools (Verktyg)	65
Kommandon på menyn Help (Hjälp)	66
Kommandon i verktygsraden	66
Startup Wizard (Startguide)	68
Statusfält	68
Rutan Detected Instruments (Hittade instrument)	69
Visa egenskaper för ett instrument	72
Innan du börjar	73
Skapa en reaktionsmasterblandning	73
Kalibrera nya färger	75
Ställa in User Preferences (Användarinställningar)	78

Kapitel 7 Skapa protokoll	95
Parametrar och intervall för protokollsteg	96
Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare)	98
Kommandon på menyn File (Arkiv)	98
Kommando på menyn Settings (Inställningar)	99
Kommandon på menyn Tools (Verktyg)	99
Kommandon i verktygsraden	99
Protokollredigeringskontroller	100
Skapa ett protokoll i Protocol Editor (Protokollredigerare)	104
Öppna en ny protokollfil i Protocol Editor (Protokollredigerare)	104
Öppna ett befintligt protokoll i Protocol Editor (Protokollredigerare)	105
Konfigurera ett nytt protokoll	107
Lägga till steg till ett protokoll	109
Infoga ett gradientsteg	110
Infoga ett GOTO-steg	111
Infoga ett smältkurvsteg	111
Lägga till eller ta bort ett plattavläsningssteg	113
Ändra stegalternativ	113
Ta bort ett steg	114
Kopiera, exportera eller skriva ut ett protokoll	114
Skapa ett protokoll med Protocol AutoWriter (Protokollförslag)	115
Använda Ta-kalkylatorn	117
Om Ta Calculator (Ta-kalkylatorn)	117
Kapitel 8 Förbereda plattor	123
Fönstret Plate Editor (Plattredigerare)	124
Kommandon på menyn File (Arkiv)	124
Kommandon på menyn Edit (Redigera)	125
Kommandon på menyn Settings (Inställningar)	125
Kommandon på menyn Editing Tools (Redigeringsverktyg)	126
Kommandon i verktygsraden	126
Skapa en plattfil med Plate Editor (Plattredigerare)	128
Öppna en ny plattfil i Plate Editor (Plattredigerare)	128
Öppna en befintlig plattfil i Plate Editor (Plattredigerare)	130
Ställa in en ny plattfil	131

Tilldela valfria parametrar till plattfilen	138
Tilldela ett mål till brunnar	138
Tilldela ett provnamn till brunnar	140
Tilldela biologiska grupper till brunnar	142
Tilldela tekniska replikatnummer till brunnar	144
Tilldela en spädningsserie till standardprovtyper	146
Kopiera innehåll i en brunn till en annan brunn	147
Lägga till en kommentar till en brunn	147
Rensa brunnar på allt innehåll	148
Ändra Experiment Settings (Experimentinställningar)	149
Skapa brunnsgrupper	152
Ändra kurvutseenden	154
Visa, exportera och importera plattan i kalkylbladsformat	155
Skapa en plattlayout med användning av Setup Wizard (Inställningsguide) för plattor	157
Använda Setup Wizard (Inställningsguide) för plattor	157
Kapitel 9 Köra experiment	161
Fönstret Run Setup (Körningsinställning)	162
Öppna fönstret Run Setup (Körningsinställning)	163
Fliken Protocol (Protokoll)	164
Fliken Plate (Platta)	166
Fliken Start Run (Starta körning)	169
Köra ett experiment	170
Dialogrutan Run Details (Körningsdetaljer)	172
Fliken Run Status (Körningsstatus)	172
Fliken Real-time Status (Realtidsstatus)	175
Fliken Time Status (Tidsstatus)	178
Utföra PrimePCR-experiment	179
Överföra fristående data för analys	181
Överföra data via e-post	181
Överföra data från CFX Opus Dx realtids-PCR-system	181
Överföra data via CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	183
Överföra data med hjälp av en USB-enhet	183
Överföra data via en delad nätverksenhet med hjälp av CFX Opus Dx realtids-PCR-system	184
Skapa en datafil	184

Kapitel 10 Översikt över dataanalyser	185
Fönstret Data Analysis (Dataanalys)	185
Verktysraden för Data Analysis (Dataanalys)	186
Menyraden Data Analysis (Dataanalys)	187
Flikinformation	191
Stegnummerväljare	191
Visa Well Groups (Brunnsgrupper) i Data Analysis (Dataanalys)	192
Ändra brunnsinnehåll efter en körning	192
Dataanalysinställningar	193
Justera tröskeln	193
Baslinjeinställningar	193
Analysläge	194
Cykler att analysera	195
Brunnsväljare	196
Alternativ på högerklicksmenyn för brunnsväljare	197
Tillfälligt utesluta brunnar från analys	198
Diagram	199
Diagramverktyg	199
Förstora ett område i diagrammet	207
Kopiera diagram till en Microsoft-fil	207
Gemensamma alternativ på högerklicksmenyer för diagram	207
Kalkylblad	209
Gemensamma alternativ på högerklicksmenyer för kalkylblad	209
Export	211
Exportera alla datablad	211
Exportera RDML-filer	212
Skapa en anpassad exportfil	213
Exportera till en LIMS-mapp	215
Exportera Seegene-formaterade data	215
Kapitel 11 Dataanalysinformation	217
Fliken Quantification (Kvantifiering)	218
Fluoroforalternativ	218
Dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden)	219
Alternativet Log Scale (Logaritmisk skala)	220

Standardkurvdiagram	221
Menyalternativ i Amplification Chart (Amplifieringsdiagram)	222
Kalkylbladet Quantification (Kvantifiering)	222
Fliken Quantification Data (Kvantifieringsdata)	224
Kalkylbladet Results (Resultat)	224
Kalkylbladet Standard Curve Results (Standardkurvresultat)	226
Kalkylbladet Plate (Platta)	227
Kalkylbladet RFU	228
Fliken Melt Curve (Smältkurva)	229
Justera smältkurvsdata	231
Fliken Melt Curve Data (Smältkurvsdata)	232
Kalkylbladet Melt Peaks (Smälttoppar)	232
Kalkylbladet Plate (Platta)	233
Kalkylbladet RFU	234
Kalkylbladet -d(RFU)/dT	235
Fliken End Point (Slutpunkt)	236
Resultatdata	237
Justera slutpunktsdataanalys	239
RFU-kalkylblad för analys av End Point (Slutpunkt)	239
Fliken Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering)	240
Justera data för allelisk diskriminering	241
Alternativ på diagrammenyn	242
Kalkylbladet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering)	242
Fliken Custom Data View (Anpassad datavisning)	244
Skapa en anpassad datavisning	245
Fliken QC (Kvalitetskontroll)	246
Ändra kvalitetskontrollkriterier	246
Utesluta brunnar som inte klarar kvalitetskontrollen	247
Fliken Run Information (Körningsinformation)	248
Dataanalysrapporter	249
Kategorier för dataanalysrapporter	250
Skapa en dataanalysrapport	254
Skapa Well Group Reports (Brunnsgrupprapporter)	256

Kapitel 12 Genuttrycksanalys	257
Plattinställning för genuttrycksanalys	257
Guidad plattinställning	258
Genuttrycksdiagram	259
Graphing (Diagram)	260
Ändra och kommentera diagramvyn	262
Justera data för Gene Expression (Genuttryck)	268
Experiment Settings (Experimentinställningar)	270
Alternativ på högerklicksmenyn	271
Datakalkylblad	272
Alternativet Show Details (Visa detaljer)	274
Clustergram	276
Inställningar	276
Alternativ på högerklicksmeny	276
Datakalkylblad	276
Scatter Plot (Spridningsdiagram)	277
Inställningar	277
Alternativ på högerklicksmeny	277
Datakalkylblad	277
Kalkylbladet Results (Resultat)	278
Genstudie	279
Inter-run Calibration (Kalibrering mellan körningar)	279
Dialogrutan Gene Study (Genstudie)	280
Fliken Study Setup (Studieinställning)	280
Förbereda en genstudie	281
Fliken Study Analysis (Studieanalys)	282
Kategorier i genstudierapport	283
Skapa en genstudierapport	286
Bilaga A Dataanalysberäkningar	287
Reaktionseffektivitet	287
Relative Quantity (Relativ kvantitet)	287
Relativ kvantitet när en kontroll väljs	288
Standardavvikelse för relativ kvantitet	288
Effektivitetskorrigerad Cq (CqE)	289

Medelvärde av effektivitetskorrigerad Cq (MCqE)	289
Normaliserat uttryck	290
Expression (Uttryck) och Relative Quantity (Relativ kvantitet) för biologiska grupper	291
Normaliserat uttryck när en kontroll är vald	291
Standardavvikelse för det normaliserade uttrycket	292
Normaliserat uttryck skalat till högsta uttrycksnivå	293
Normaliserat uttryck skalat till lägsta uttrycksnivå	293
Normaliserat uttryck skalat till medelhög uttrycksnivå	293
Standardavvikelse för det skalade normaliserade uttrycket	294
Felstaplar för standardavvikelse (lg) och medelvärdets standardfel (lg)	295
X-faldig förändring	296
Formler för korrigerade värden	297
Beräkning av konfidensintervall för analys av biologiska grupper	298
Beräkningar med Box and Whisker chart (Låddiagram)	298
Bilaga B Revisionsloggar	301
Visa revisionsloggar	301
Revideringsbara händelser	303
Bilaga C LIMS-integrering	307
Skapa LIMS-kompatibla datafiler	307
Ställa in LIMS-mapp och dataexportalternativ	307
Skapa ett LIMS-protokoll	309
Skapa en LIMS-fil	309
Starta en LIMS-körning	312
Exportera data till ett LIMS	313
Bilaga D Felsöka CFX Maestro Dx programvara, Security Edition	315
Vitlista CFX Maestro Dx programvara, Security Edition-filer och -mappar	315
Application Log (Applikationslogg)	316
Hämta loggfiler för program och firmware	317
Felsökning	317
Strömavbrott	317
Överföra filer till CFX Maestro Dx SE-datorn	318
Installera CFX Maestro Dx programvara, Security Edition manuellt	318
Ominstallera drivrutinerna	319

Bilaga E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products	321
Software Notices	322
ZedGraph	322
Standard Open License Text	322
LGPL-2.1	322
Bilaga F Referenser	335

Innehållsförteckning





Säkerhet och efterlevnad av föreskrifter

CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx och CFX Opus Deepwell Dx realtids-PCR-system (kallas i den här guiden CFX Opus Dx-system) hettas upp och svalnar mycket snabbt under drift. För säker drift av realtids-PCR-systemet rekommenderar Bio-Rad starkt att du följer de säkerhetsspecifikationer som anges i det här avsnittet och i den här handboken.




Säkerhetsvarningsetiketter

Varningsetiketter uppsatta på CFX Opus Dx-system och i denna handbok varnar dig för källor till skada. I [Tabell 1](#) definieras alla säkerhetsvarningsetiketter.

Tabell 1. Allmänna säkerhetsvarningar

Ikon	Betydelse
	Om du använder CFX Opus Dx-system innan du har läst den här handboken finns risk för personskada. Användningen av detta instrument på ett sätt som inte specificeras i denna handbok eller av Bio-Rad kan leda till att instrumentets skyddsfunktioner försämras eller inaktiveras.
	Det finns inga biologiska risker eller radioaktiva risker förknippade med CFX Opus Dx-system i sig. Dessa risker blir bara ett problem när de införs i systemet via de prover som testas. Följ de rekommenderade försiktighetsåtgärderna och riktlinjerna för ditt laboratorium och din arbetsplats när du hanterar biofarliga eller radioaktiva prover. Dessa riktlinjer bör omfatta rengörings-, övervaknings- och bortskaffningsmetoder för de farliga ämnen du använder.
	
	Dessutom finns det en liten risk för explosion eller för utdrivning av vätskor eller ångor från provbehållarna, enligt ovan identifierad risk. När du arbetar med farligt material förenas risken för skada från utdrivet material med risken att det farliga materialet i sig kan spridas i och runt instrumentet. Användare bör vidta lämpliga försiktighetsåtgärder för en sådan situation.

Tabell 1. Allmänna säkerhetsvarningar, forts.

Ikon	Betydelse
	<p>CFX Opus Dx-system verkar på temperaturer som är tillräckligt höga för att orsaka allvarliga brännskador. Låt alltid provblocket återgå till rumstemperatur innan du öppnar locket och tar ut proverna. Även när provblocket har svalnat kan de omgivande områdena såväl som värmeplattan förbli heta under en längre tid. I situationer där det inte finns tillräckligt med tid för att låta instrumentet svalna rekommenderas användning av skyddsutrustning som värmeskyddande handskar.</p>
	<p>Ansvaret för säkerheten och prestandan hos alla system som innehåller ett CFX Opus Dx-system åligger enbart den som monterar systemet.</p>
	<p>CFX Opus Dx-system kan bli tillräckligt varmt under normal drift för att få vätskor i proverna att koka eller förångas, vilket gör att provbehållarna trycksätts. Det finns en risk att provbehållarna kan gå sönder, vilket kan leda till läckage, vätskespray eller explosiv bristning och utdrivning av ångor eller vätskor i och runt instrumentet.</p> <p>Användare ska alltid använda instrumentet med locket stängt eller bära skyddsglasögon, värmeskyddande handskar och annan personlig skyddsutrustning under drift för att undvika skador. Om du öppnar instrumentet medan proverna fortfarande är heta, till exempel efter att en körning har avbrutits, kan behållare under tryck läcka, spraya eller spruta vätska. Låt alltid proverna svalna innan du öppnar locket.</p> <p>Användare ska aldrig köra en reaktion med lock eller tätning som är öppen, lös, punkterad eller på annat sätt skadad eftersom det ökar sannolikheten för en farlig bristning eller explosion.</p> <p>Användare ska aldrig köra en reaktion med flyktiga reagenser som kan öka sannolikheten för en farlig bristning eller explosion.</p>

Säkerhet och efterlevnad av föreskrifter

Säkerhetsöverensstämmelse

CFX Opus Dx-system har testats och befunnits vara i överensstämmelse med alla tillämpliga krav i följande säkerhets- och elektromagnetiska standarder:

- IEC 61010-1:2010 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use, Part 1: General requirements
- IEC 61010-2-010:2019 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-010: Particular requirements for laboratory equipment for the heating of materials
- IEC 61010-2-081:2019 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-081: Particular requirements for automatic and semi-automatic laboratory equipment for analysis and other purposes
- IEC 61010-2-101:2018 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-101: Particular requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment

- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-1-12:2018 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use, Part 1: General Requirements
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-010:19 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use, Part 2-010: Particular requirements for laboratory equipment for the heating of materials
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-081:19 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use, Part 2-081: Particular requirements for automatic and semi-automatic laboratory equipment for analysis and other purposes
- CSA-C22.2 NO. 61010-2-101:19 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-101: Particular requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment

- EN 61010-1:2010 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use, Part 1: General requirements
- EN 61010-2-010:2014 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-010: Particular requirements for laboratory equipment for the heating of materials

- EN 61010-2-081:2015 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-081: Particular requirements for automatic and semi-automatic laboratory equipment for analysis and other purposes
- EN 61010-2-101:2017 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-101: Particular requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment
- UL 61010-1:2012 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 1: General Requirements
- UL 61010-2-010:2019 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-010: Particular requirements for laboratory equipment for the heating of materials
- UL 61010-2-081:2019 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-081: Particular requirements for automatic and semi-automatic laboratory equipment for analysis and other purposes
- UL 61010-2-101:19 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use — Part 2-101: Particular requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment

Elektromagnetisk kompatibilitet (EMC)

CFX Opus Dx-system har testats och befunnits vara i överensstämmelse med alla tillämpliga krav i följande elektromagnetiska kompatibilitetsstandarder:

- IEC 61326-1:2012 Electrical equipment for measurement, control and laboratory use — EMC requirements — Part 1: General requirements. Testad som en enhet av klass A
- IEC 61326-2-6:2012 Electrical equipment for measurement, control and laboratory use — EMC requirements — Part 2-6: Particular requirements – In vitro diagnostic (IVD) medical equipment
- EN 61326-1:2013 Electrical equipment for measurement, control and laboratory use — EMC requirements — Part 1: General requirements. Testad som en enhet av klass A
- EN 61326-2-6:2013 Electrical equipment for measurement, control and laboratory use — EMC requirements — Part 2-6: Particular requirements – In vitro diagnostic (IVD) medical equipment
- FCC del 15, kapitel B, avsnitt 15.107 och 15.109. Testad som en digital enhet av klass A
- CAN ICES-003v6:2019 Interference-causing equipment standard, information technology equipment (including digital apparatus) — Limits and methods of measurement. Testad enligt gränser för klass A

Varningar och anmärkningar om EMC

- **Varning!** Ändringar av den här enheten som inte uttryckligen har godkänts av Bio-Rad kan upphäva användarens behörighet att använda utrustningen.
- **Obs!** Den här utrustningen har testats och befunnits uppfylla gränsvärdena för en digital enhet av klass A i enlighet med del 15 i FCC:s regler. Dessa gränsvärden är utformade för att ge ett rimligt skydd mot skadlig interferens när utrustningen används i kommersiella miljöer. Denna utrustning genererar, använder och kan utstråla radiofrekvensenergi. Om den inte installeras och används i enlighet med bruksanvisningen kan den orsaka skadlig interferens på radiokommunikation. Användning av den här utrustningen i bostadsområden kan orsaka skadlig interferens, i vilket fall användaren måste korrigera interferensen på egen bekostnad.
- **Anmärkning avseende överensstämmelse med FCC:s regler:** Det här instrumentet har testats och befunnits uppfylla del 15, kapitel B i FCC:s regler för en digital enhet av klass A, men denna överensstämmelse är frivillig eftersom instrumentet kvalificeras som en "undantagen enhet" enligt 47 CFR 15.103(c) med avseende på de nämnda FCC-förordningarna som gällde vid tillverkningstillfället.
- **Anmärkning avseende kablar:** Detta instrument testades för EMC-överensstämmelse med specialdesignade USB-kablar som levereras med instrumentet. Dessa kablar, eller av Bio-Rad godkända ersättningar, måste användas med detta instrument för att säkerställa fortsatt överensstämmelse med EMC-gränsvärdena.

Miljökrav

CFX Opus Dx-system har utformats för att användas säkert under de miljöförhållanden som anges i följande tabell.

Tabell 2. Miljökrav för CFX Opus Dx realtids-PCR-system

Parameter	Specifikation
Miljö	Endast inomhusbruk
Arbets höjd	Upp till 2 000 meter över havet
Omgivande rumstemperatur	15–31 °C
Transport- och lagringstemperatur	–20° till 60 °C** –4 till 140 °F
Relativ luftfuktighet	20 % till 80 % (icke-kondenserande)***
Driftskraft	100 till 240 V AC ±10 %, 50/60 Hz, 850 W max
Nätspänningsfluktuationer	±10%
Högsta effektförbrukning	<850 watt
Säkringar	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, glas (antal: 2)
Överspänningskategori	II
Föroreningsgrad	2

*Om instrumentet används utanför detta temperaturområde kanske prestandaspecifikationerna inte uppfylls. En rumstemperatur på 5–40 °C anses vara säker.

**Förvara och transportera instrumentet i dess transportbehållare för att uppfylla dessa temperaturförhållanden.

***Användning av instrumentet vid 4 °C bör begränsas till 18 timmar vid dessa förhållanden. Hållning vid 4 °C kan utföras i upp till 72 timmar om luftfuktigheten är mindre än 60 % (icke-kondenserande).

Faror

CFX Opus Dx-system har utformats för att fungera säkert vid användning enligt tillverkaren instruktioner. Om systemet eller någon av de tillhörande komponenterna används på ett sätt annat sätt än vad som specificerats av tillverkaren kan instrumentets inbyggda skydd försämrats. Bio-Rad är inte ansvarig för personskada eller skada som orsakas av användningen av denna utrustning på annat sätt än vad som specificerats, eller genom modifieringar av instrumentet som inte utförs av Bio-Rad eller ett auktoriserat ombud. Service av CFX Opus Dx-system bör endast utföras av utbildad Bio-Rad-personal.

Biologiska risker

CFX Opus Dx-system är en laboratorieprodukt. Om prover som utgör biologiska risker förekommer, följ nedanstående riktlinjer samt alla lokala riktlinjer som är specifika för ditt laboratorium och din arbetsplats.

Obs! Inga biologiskt farliga ämnen avges under normal användning av det här instrumentet.

Allmänna försiktighetsåtgärder

- Bär alltid laboratorierock, laboratoriehandskar och tättslutande skyddsglasögon med sidoskydd.
- Håll händerna borta från mun, näsa och ögon.
- Skydda eventuella skär- eller skrubbsår fullständigt innan du arbetar med potentiellt smittförande material.
- Tvätta händerna noga med tvål och vatten innan du lämnar laboratoriet efter att du har arbetat med potentiellt smittförande material.
- Ta av dig armbandsur och smycken innan du arbetar vid bänken.
- Förvara allt smittsamt eller potentiellt smittsamt material i okrossbara, läckagesäkra behållare.
- Ta av skyddskläderna innan du lämnar laboratoriet.
- Använd inte din behandskade hand för att skriva, svara i telefon, trycka på en strömbrytare eller vidröra något som andra personer kan komma att vidröra utan handskar.
- Byt handskar ofta. Ta omedelbart av handskarna när de är märkbart kontaminerade.
- Material som inte kan saneras ordentligt ska inte exponeras för potentiellt smittsamt material.
- När ett arbete som involverar biologiskt riskavfall avslutats ska arbetsområdet saneras med lämpligt desinfektionsmedel (t.ex. hushållsblekmedel som utspätts 1:10).

Ytdekontaminering



VARNING! Förhindra elektriska stötar genom att alltid stänga av och koppla ur instrumentet innan du utför dekontamineringsprocedurer.

Följande områden kan rengöras med valfritt desinfektionsmedel av sjukhuskvalitet med baktericid, virucid eller fungicid effekt:

- Yttre lock och hölje
- Inre provblocksyta och provblocksbrunnar
- Kontrollpanel och skärm

Se anvisningarna från produkttillverkaren när du ska bereda och applicera desinfektionsmedlet. Skölj alltid provblocket och provblockbrunnarna flera gånger med vatten efter applicering av desinfektionsmedel. Torka provblocket och provblockbrunnarna noggrant efter sköljning med vatten.

Viktigt! Använd inte slipande eller frätande rengöringsmedel eller starka alkaliska lösningar. Dessa medel kan repa ytor och skada provblocket, med förlust av exakt termisk kontroll som följd.

Kassering av smittförande material

Kassera följande potentiellt kontaminerade material i enlighet med gällande bestämmelser:

- Kliniska prover
- Reagenser
- Förbrukade reaktionskärl eller andra förbrukningsartiklar som kan vara kontaminerade

Kemiska faror

CFX Opus Dx-system innehåller inga potentiellt farliga kemiska material.

Explosions- eller brandfaror

CFX Opus Dx-system medför ingen ovanlig fara relaterad till brandfarlighet eller explosion när det används på ett korrekt sätt enligt specifikationen av Bio-Rad Laboratories.

Elektriska faror

CFX Opus Dx-system utgör ingen ovanlig elektrisk fara för operatörer om det installeras och används på rätt sätt utan fysiska modifieringar och ansluts till en strömkälla med korrekt specifikation.

Transport

Innan du flyttar eller skickar CFX Opus Dx-system måste dekontamineringsprocedurer utföras. Flytta eller transportera alltid systemet i en separat behållare i av Bio-Rad levererat förpackningsmaterial som skyddar systemet från skador.

Kontakta ditt lokala Bio-Rad-kontor för information om transport av systemet och för att beställa lämpligt förpackningsmaterial.

Batteri

CFX Opus Dx-system använder ett 3 V litiummetall-knappcells batteri för att bevara tidsinställningar vid ett strömbrott. Om tidsinställningen inte finns kvar när enheten har stängts av kan det tyda på att batterierna börjar laddas ur.



WARNING! Försök inte byta batterierna. De kan inte bytas av användare. Kontakta i stället Bio-Rads tekniska support för hjälp.

Gäller endast i delstaten Kalifornien i USA

- Perkloratmaterial – litiumbatterier innehåller perkloratmaterial, varför speciell hantering kan gälla. Se www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate.

Kassering

CFX Opus Dx-system innehåller elektrisk utrustning som inte får kasseras som osorterat avfall och måste insamlas separat enligt EU-direktiv 2012/19/EU om elektriskt och elektroniskt avfall – WEEE-direktivet. Före kassering ska du kontakta den lokala Bio-Rad-representanten och få landsspecifika instruktioner.

Garanti

CFX Opus Dx-system och dess tillbehör omfattas av en standardgaranti från Bio-Rad. Kontakta ditt lokala Bio-Rad-kontor för utförlig information om garantin.

Säkerhet och efterlevnad av föreskrifter

Kapitel 1 Inledning

Bio-Rads avancerade PCR-amplifieringssystem är utformade med de senaste tekniska framstegen och ger högre noggrannhet och reproducerbarhet vid nukleinsyreamplicering för genomiska experiment.

Bio-Rads CFX Maestro Dx programvara, Security Edition är kompatibel med följande instrument och har optimerade körfiler för Bio-Rads PrimePCR primer- och probanalyser:

- CFX Opus 96 Dx realtids-PCR-system (kallas CFX Opus 96 Dx i den här guiden)
- CFX Opus 384 Dx realtids-PCR-system (kallas CFX Opus 384 Dx i den här guiden)
- CFX Opus Deepwell Dx realtids-PCR-system (kallas CFX Opus Deepwell Dx i den här guiden)

Med hjälp av CFX Maestro Dx programvara, Security Edition (kallas CFX Maestro Dx SE i den här vägledningen) kan du tolka komplexa data och utforma kraftfulla studier för genetisk analys. Med några få klick kan du konfigurera studier och förstå genuttrycksstudien med hjälp av verktyg som t-test, envägsanalyser av ANOVA, PrimePCR-kontroller samt utvärderingsverktyg för referensgener. Sedan kan du förbereda dina resultat för publicering och presentationer med de mycket flexibla verktygen för visning och annotation av data i CFX Maestro Dx SE.

Obs! Visningen av vissa skärmar i CFX Maestro kan se annorlunda ut än de som visas i den här användarhandboken. Visningen i programvaran är korrekt och funktionen är densamma.

Viktigt! Cybersäkerhet innebär att skydda tillgångar i cyberrymden från cyberattacker.

Cybersäkerhet är Bio-Rads förmåga att skydda personer, information, system och sitt rykte i cyberrymden. Cyberrymden är en tekniskt sammankopplad värld som alltid är igång. Den består av personer, organisationer, information och teknik.

När det kommer till cybersäkerhetsproblem är det viktigt att reagera snabbt! Om du misstänker ett cybersäkerhetsproblem rörande ditt instrument eller ett cybersäkerhetsintrång på din webbplats kontaktar du omedelbart din Bio-Rad-representant för teknisk support.

Viktiga funktioner i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

Med CFX Maestro Dx SE kan du göra följande:

- Analysera data med hjälp av stapeldiagram, clustergram eller spridningsdiagram för att snabbt tolka och förstå dina resultat.
- Anpassa din datarepresentation och exportera grafik med hög upplösning för publicering och rapportgenerering.
- Bestämma RNA-kvalitet och felsöka experiment med PrimePCR-analysreglagen.
- Välja lämplig referensgen och analysera dess stabilitet med verktyget Reference Gene selection (Referensgensval).
- Utföra statistisk analys, bl.a. envägs-ANOVA, i genuttrycksanalysen.

I den här användarhandboken förklaras dessa funktioner och hur de används.

Ytterligare information

När du har installerat CFX Maestro Dx SE och konfigurerat tillhörande Bio-Rad PCR-instrument har du åtkomst till den här guiden och detaljerad hjälp för CFX Maestro Dx SE på menyn Help (Hjälp) i alla vyer.

Tips: Klicka på Bio-Rad-logotypen i det övre högra hörnet av ett CFX Maestro Dx SE-fönster för att gå till Bio-Rads webbplats. På webbplatsen finns länkar till tekniska anteckningar, handböcker, videor, produktinformation och teknisk support. Den här webbplatsen erbjuder även många tekniska resurser för ett flertal metoder och applikationer relaterade till PCR, realtids-PCR och genuttryck.

Kapitel 1 Inledning

Kapitel 2 Installera CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

I det här kapitlet beskrivs hur du installerar CFX Maestro Dx programvara, Security Edition. Information om konfiguration av realtids-PCR-instrument som stöds av Bio-Rad finns i motsvarande handbok.

CFX Maestro Dx SE krävs för att analysera realtids-PCR-data från realtids-PCR-systemen CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx och CFX Opus Deepwell Dx. Du kan också använda den här programvaran för att kontrollera dessa system i ett programvarukontrollerat läge.

CFX Opus Dx-system levereras med en USB-kabel i tillbehörsväska. Använd USB-kabeln för att ansluta datorn som kör CFX Maestro Dx SE till CFX Opus Dx-system.

Ta bort förpackningsmaterialet och spara det för framtida användning. Om en artikel saknas eller är skadad kontaktar du det lokala Bio-Rad-kontoret.

Systemkrav

I [Tabell 3](#) listas minimisystemkraven och de rekommenderade systemkraven för datorn som kör CFX Maestro Dx SE.

Tabell 3. Datorkrav för CFX Maestro Dx SE

System	Minimikrav	Rekommenderat krav
Operativsystem	Microsoft Windows 10 (endast 64-bitars), build 1511 eller senare, med de senaste säkerhetsuppdateringarna.	Microsoft Windows 10 (endast 64-bitars), build 1511 eller senare, med de senaste säkerhetsuppdateringarna.
Obs! Windows 11 stöder också CFX Maestro Dx programvara, Security Edition.		
Viktigt! Säker start måste inaktiveras på datorer som kör CFX Maestro Dx SE. Datorer som kör CFX Maestro Dx SE ska konfigureras så att de inte startar om automatiskt efter en system- eller säkerhetsuppdatering om en körning pågår. Kontakta systemadministratören om du behöver hjälp.		
Portar	2 USB 2.0-höghastighetsportar	2 USB 2.0-höghastighetsportar
Hårddiskutrymme	128 GB	128 GB
Processorhastighet	2,4 GHz, Dual Core	2,4 GHz, Quad Core
RAM	4 GB RAM	8 GB RAM
Skärmapplösning	1 024 x 768 med True Color-läge	1 280 x 1 024 med True Color-läge
PDF-läsare		Adobe PDF Reader eller Windows PDF Reader från en av Microsoft Office-programsviterna som stöds: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2016 ■ 2019
Lokalisering	Microsoft Windows 64-bitars operativsystem som stöds på engelska, kinesiska och ryska	Microsoft Windows 64-bitars operativsystem som stöds på engelska, kinesiska och ryska

Obs! Om du planerar att köra CFX Automation Control-programvaran på samma dator som CFX Maestro Dx SE ska du ställa in skärmapplösningen på 1 280 x 1 024 med True Color-läge.

Installera CFX Maestro Dx SE-programvaran

Viktigt! Du måste koppla bort alla anslutna instrument från CFX Maestro Dx SE-datorn innan du installerar eller uppgraderar programvaran. Du behöver inte stänga av instrumentet under programvaruinstallationen. Säkerställ att du har sparat alla körningar och att inga experiment körs.

Obs! Kontrollera att Säker start är inaktiverat innan du påbörjar installationen. Kontrollera att datorn är konfigurerad så att den inte startar om automatiskt efter en system- eller säkerhetsuppdatering om en körning pågår. Kontakta systemadministratören om du behöver hjälp.

Så här installerar du programvaran CFX Maestro Dx SE

1. Koppla bort eventuella anslutna instrument från datorn.

Sök upp och koppla bort instrumentets USB-kabel på CFX Maestro Dx SE-datorn. Änden som är inkopplad i CFX Opus Dx-system kan sitta kvar.

2. Logga in på CFX Maestro Dx SE-datorn med administratörsbehörighet.
3. Sätt in USB-enheten med CFX Maestro Dx SE-programvaran i datorns USB-port.
4. Gå till och öppna USB-enheten CFX Maestro Dx SE i Utforskaren.

På USB-enheten finns Release Notes (Versionsinformation) och följande mappar:

- CFX
- Drivers (Drivrutiner)
- Firmware (Fasta program)
- Quick Start (Snabbstart)

Utöver andra filer innehåller mappen CFX installationsprogrammet för CFX Maestro Dx SE (CFXMaestroDxSetup.exe).

5. Öppna mappen CFX och dubbelklicka på CFXMaestroDxSetup.exe för att starta installationsprogrammet.
6. Följ installationsanvisningarna på skärmen.

När det är klart visas ikonen Bio-RadCFX Maestro Dx programvara, Security Edition på datorns skrivbord.

Tips: CFX Maestro-installationsprogrammet installerar automatiskt användarhandboken för CFX Maestro Dx programvara, Security Edition. Du hittar dessa guider genom att gå till menyn Help (Hjälp) och välja Open User Guides (Öppna användarhandböcker).

7. När installationen är slutförd är det säkert att mata ut programvarans USB-enhet.

Detektera anslutna instrument

Installationsprogrammet för CFX Maestro Dx SE installerar automatiskt instrumentets drivrutiner på CFX Maestro Dx SE-datorn. CFX Maestro Dx SE detekterar anslutna instrument när du startar programvaran.

Så här detekterar du anslutna instrument

1. Om du inte har gjort det ännu sätter du in den fyrkantiga (han-)änden av den medföljande USB Type B-kabeln i USB Type B-porten på baksidan av instrumentets bas.
2. Sätt in den andra (port-)änden i en USB-port på CFX Maestro Dx SE-datorn.
3. Om instrumentet inte är igång trycker du på strömbrytaren på instrumentet för att starta det.
4. Starta CFX Maestro Dx SE.

Programvaran detekterar automatiskt det anslutna instrumentet och visar dess namn i rutan Detected Instruments (Hittade instrument) i hemfönstret.

Obs! Om inte instrumentet visas i rutan Detected Instruments (Hittade instrument) kontrollerar du att USB-kabeln sitter fast ordentligt. Du installerar om drivrutinerna genom att välja Tools > Reinstall Instrument Drivers (Verktyg > Installera om instrumentdrivrutiner) i hemfönstret i CFX Maestro Dx SE.

Programvarufiler

I [Tabell 4](#) listas filtyperna i CFX Maestro Dx SE.

Tabell 4. CFX Maestro Dx SE filtyper

Filtyp	Tillägg	Information
Protokoll	.prcl	Innehåller information om protokollinställning för att utföra en PCR-körning.
Platta	.pltd	Innehåller information om plattinställning för att utföra en PCR-körning.
Data	.pcrd	Innehåller resultaten av en experimentkörning och PCR-analys.
PrimePCR-körning	.csv	Innehåller protokollet och plattlayouten för PrimePCR-plattor.
Genstudie	.mgxd	Innehåller resultaten av flera PCR-körningar och genuttrycksanalyser.
Fristående fördatafil	.zpcr	Innehåller fluorescensavläsningar från fristående drift som har konverterats till en datafil.
LIMS	.plrn	Innehåller information om plattinställning och -protokoll som krävs för att utföra en LIMS-kompatibel körning.
JSON	.json	En skrivskyddad fil som endast genereras av CFX Opus Dx-system. Den här filen innehåller körningsfilsdata som visas i informationsfönstret i filläsaren när en körningsfil väljs. Den här filen genereras när en körning har slutförts. Den exporteras med .zpcr-filen och sparas med datafilerna när Save Location (Plats för att spara) är antingen en USB-enhet eller en delad nätverksmapp.

Kapitel 3 Hantera användarkonton i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

I CFX Maestro Dx programvara, Security Edition loggar användare in med sitt Windows-användarnamn och lösenord. Personen som installerade CFX Maestro Dx SE tilldelas automatiskt rollen som administratör och kan skapa och hantera användarkonton och roller. Alla andra användare måste tilldelas ett användarkonto för att kunna logga in och använda programvaran.

Viktigt! Varje användare måste ha ett Windows-konto och ett lösenord på CFX Maestro Dx SE-datorn innan du kan tilldela ett användarkonto och roll. Användare kan vara medlemmar antingen i gruppen Windows-användare eller Windows-administratörer. Medlemmar i gruppen Windows-användare har endast tillgång till sina egna CFX Maestro Dx SE-filer och mappar. Medlemmar i gruppen Windows-administratörer har åtkomst till alla användares filer och mappar på datorn.

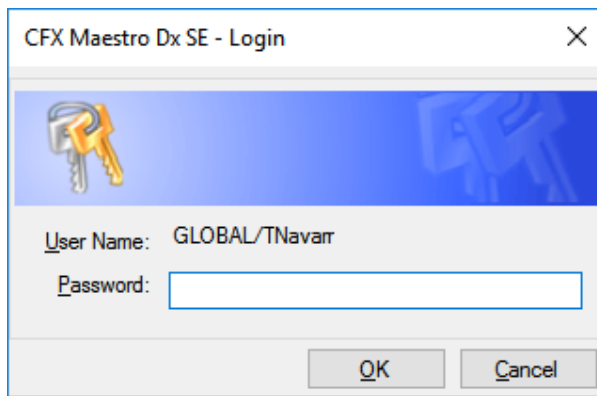
Det här kapitlet förklarar hur du skapar Microsoft Windows-användare för att lägga till dessa användare i CFX Maestro Dx SE. Det här avsnittet förklarar också hur du lägger till CFX Maestro Dx SE-användare och hanterar användarroller och behörigheter.

Starta CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

Obs! Varje användare måste logga in med sitt Windows-användarnamn och -lösenord.

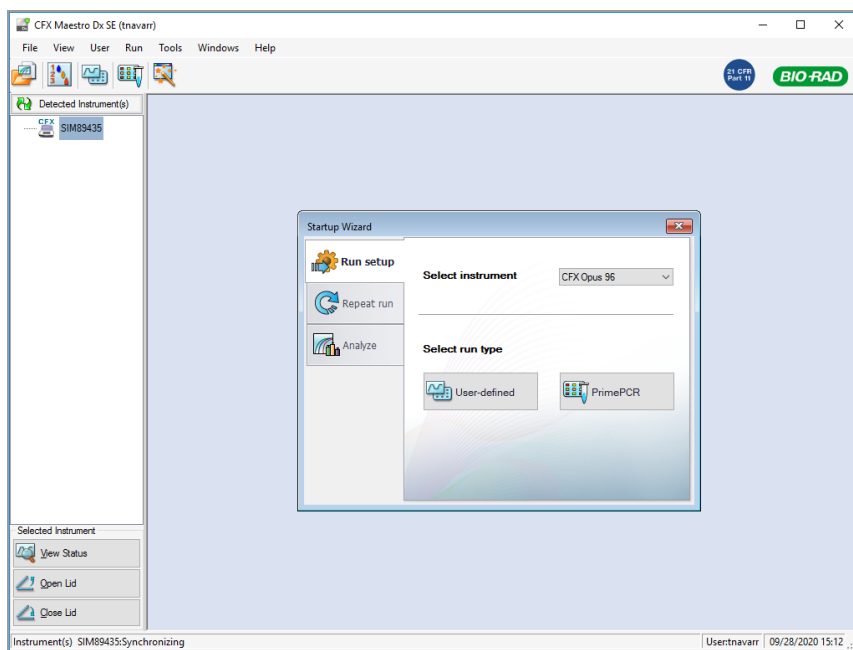
Så här startar du CFX Maestro Dx SE

1. På skrivbordet på CFX Maestro Dx SE-datorn, dubbelklicka på genvägsikonen för CFX Maestro Dx SE för att starta programmet.
2. Skriv ditt Windows-lösenord i dialogrutan Login (Inloggning) och klicka på OK.



CFX Maestro Dx SE öppnas i hemfönstret. Titelfältet visar Windows-användarnamnet för den inloggade användaren och menyraden visar ett blått märke som indikerar att programvaran är 21 CFR Part 11-kompatibel, till exempel:

Starta CFX Maestro Dx programvara, Security Edition



Lägga till Microsoft Windows-användare på datorn med CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

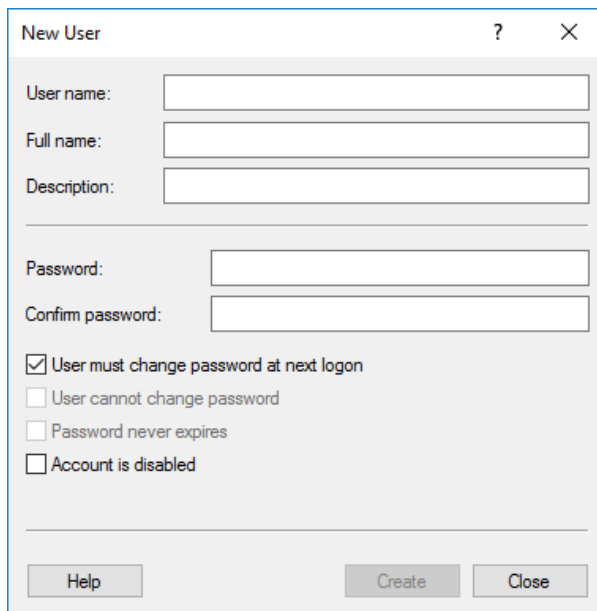
Alla användare måste logga in på CFX Maestro Dx SE-datorn med sitt Windows-användarnamn och lösenord. För korrekt revisionsloggning kan Windows-användarkonton inte läggas till via dialogrutan Start > Inställningar > Konton. Windows-användarkonton **måste** läggas till via konsolen Datorhantering.

Viktigt! Om Windows-användares egenskaper ändras (inklusive användarnamn och fullständigt namn) efter att du har skapat den tillhörande CFX Maestro Dx SE-användaren, blir CFX Maestro Dx SE-användaren ogiltig. Se till att informationen är korrekt innan du sparar Windows-användaren och skapar motsvarande CFX Maestro Dx SE-användare.

Tips: Läs Microsofts dokumentation om Windows-administration och kontakta Windows-systemadministratören för mer information innan du skapar Windows-konton.

Så här lägger du till Windows-användarkonton på CFX Maestro Dx SE-datorn

1. Logga in på CFX Maestro Dx SE-datorn som medlem i gruppen Windows-administratör.
2. På skrivbordet högerklickar du på Den här datorn och väljer Hantera för att öppna konsolen Datorhantering.
3. Expandera Lokala användare och grupper på datorhanteringskonsolen.
4. Högerklicka på mappen Användare och välj Ny användare för att öppna dialogrutan Ny användare.



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

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

Buttons at the bottom: Help, Create, Close.

5. I dialogrutan Ny användare måste du fylla i följande fält:

- Användarnamn
- Fullständigt namn
- Lösenord
- Bekräfta lösenord

6. Klicka på Skapa.

Lägga till och ta bort användare i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

Tips: Endast användare med rollen CFX Maestro Dx SE-administratör kan skapa och ta bort CFX Maestro Dx SE-användarkonton. Den person som installerade CFX Maestro Dx SE tilldelas automatiskt administratörsrollen. Den personen kan tilldela administratörsrollen till andra användare.

Obs! I CFX Maestro Dx SE måste minst en användare ha tilldelats administratörsrollen.

Så här lägger du till CFX Maestro Dx SE-användarkonton

1. Kontrollera att varje avsedd användare antingen är medlem i gruppen Windows-användare eller Windows-administratörer och har ett Windows-lösenord på CFX Maestro Dx SE-datorn.
2. Starta CFX Maestro Dx SE och logga in som administratör.
3. Välj User > User Administration (Användare > Användarhantering) i hemfönstret.

Dialogrutan User Administration (Användarhantering) visas.

User Administration

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

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

Restore Default Rights OK Cancel

- I avsnittet Manage Users (Hantera användare) anger du följande information för varje användare:
 - **User name** (Användarnamn) – i CFX Maestro Dx SE **måste** det här vara användarens Windows-användarnamn för inloggning.
 - **Full name** (Fullständigt namn) – användarens fullständiga namn.

Det här namnet visas i fältet Full User (Fullständig användare) i revisionsloggen. Det här namnet måste vara samma namn som angetts i fältet Fullständigt namn när Windows-användaren skapades.
 - **Role** (Roll) – den roll som användaren ska tilldelas.

Obs! Du kan bara välja en roll från listrutan. Se [Hantera användarroller i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition](#) för mer information.
 - **Domain** (Domän) – Windows-domänen varifrån användaren använder programvaran.

Kontakta Windows-systemadministratören för mer information.
- Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara ändringar och stänga dialogrutan User Administration (Användaradministration).

Så här tar du bort ett CFX Maestro Dx SE-användarkonto

- Starta CFX Maestro Dx SE och logga in som administratör.
- I hemfönstret väljer du User (Användare) > User Administration (Användaradministration) för att öppna dialogrutan User Administration (Användaradministration).
- Välj Remove (Ta bort) för varje användare som du vill ta bort i rutan Manage Users (Hantera användare).
- Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara ändringar och stänga dialogrutan User Administration (Användaradministration).

Hantera användarroller i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

Viktigt! CFX Maestro Dx SE kräver att minst en användare tilldelas rollen Administratör. Du kan tilldela den här rollen till mer än en användare.

CFX Maestro Dx SE har fyra användarroller. Varje användare måste tilldelas en roll för att få åtkomst till programvaran. En användare kan bara tilldelas en roll, men du kan när som helst ändra en användares roll.

Förutom för rollen Administratör kan du ändra vilken behörighet som är tilldelad varje roll. Alla användare som tilldelats en roll ärver bara behörigheterna för den rollen.

Som standard är rättigheterna för varje roll följande:

- Administrator (Administratör) – den här rollen har alla behörigheter, du kan inte ändra dessa behörigheter.
- Principal (Huvudansvarig) – den här rollen har alla behörigheter utom att konfigurera e-post.
- Operator (Operatör) – den här rollen har alla behörigheter utom att hoppa över cykler och konfigurera e-post.
- Guest (Gäst) – den här rollen kan endast läsa filer.

Fastställ noggrant kraven för varje användare när du tilldelar roller i CFX Maestro Dx SE. Utan behörighet att spara kommer till exempel användare som tilldelats gästrollen inte att kunna signera en fil. Utan behörighet att konfigurera ett e-postkonto får ingen av rollerna e-post när en körning är klar.

Så här ändrar du behörigheterna för en roll

1. Starta CFX Maestro Dx SE och logga in som administratör.
2. I hemfönstret väljer du User (Användare) > User Administration (Användaradministration) för att öppna dialogrutan User Administration (Användaradministration).
3. I avsnittet Manage Rights (Hantera rättigheter) väljer du att för varje roll markera eller avmarkera kryssrutan för specifika behörigheter, allt efter behov.
4. Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara ändringar och stänga dialogrutan User Administration (Användaradministration).

Visa din roll och behörighet

Tips: Användare som är tilldelade rollerna Principal (Huvudanvändare), Operator (Operatör) eller Guest (Gäst) kan bara se sina egna användarinställningar, behörigheter och roller. Användare som tilldelats rollen Administrator (Administratör) kan visa alla användarbehörigheter och roller.

Så här visar du din aktuella användarroll och behörighet

- ▶ Välj User > User Administration (Användare > Användarhantering) i hemfönstret.

Kontakta CFX Maestro Dx SE-administratören för att ändra användarinställningar, behörigheter och roller som listas i fönstret User Administration (Användarhantering).

Kapitel 4 Använda CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

Viktigt! CFX Maestro Dx programvara, Security Edition använder Microsoft Windows-användarautentisering för att verifiera åtkomst till säkra CFX-datafiler. Kontakta Windows-administratören för att skapa en miljö som uppfyller 21 CFR Part 11-krav.

Med CFX Maestro Dx SE kan användare

- signera data- och genstudiefiler
- lösenordsskydda datafiler
- visa och skriv ut revisionsloggar.

Det här avsnittet förklarar dessa funktioner i detalj.

Säkra filer

Som standard sparar CFX Maestro Dx SE säkra filer i den inloggade användarens personliga mapp, som finns på

C:\Users\<<användarnamn>\Documents\Bio-Rad\CFX_MDX\My qPCR

Du kan spara och redigera .pcrd-filer i den mappen. Den här mappen innehåller länkar till andra mappar (till exempel mappen Sample Files) som innehåller filer som är skrivskyddade. En administratör kan dock ta bort innehållet i den mappen.

Tips: Alternativt kan Windows-systemadministratören skapa en delad mapp och CFX Maestro Dx SE-administratören kan programmera programvaran att spara alla filer i den mappen.

I CFX Maestro Dx SE markeras platt-, protokoll-, data- och genstudiefiler som säkra när de sparas. Du kan skapa dessa filer i CFX Maestro-programvaran eller i CFX Maestro Dx SE. När de har sparats i CFX Maestro Dx SE kan du bara öppna dessa filer i CFX Maestro Dx SE.

CFX Maestro Dx SE skapar en revisionslogg för alla säkra data- och genstudiefiler (.pcrd- och .mgxd-filer). Programvaran registrerar all revideringsbar aktivitet i filens revisionslogg. Mer information finns i [Revisionsloggar på sidan 301](#).

Signera säkra filer

När en fil har sparats i CFX Maestro Dx SE kan användare lägga till en elektronisk signatur. För att signera en fil måste användarens roll ha behörighet att spara en fil. Till exempel har gästrollen som standard inte behörighet att spara en fil och därför kan användare som tilldelats denna roll inte signera en fil.

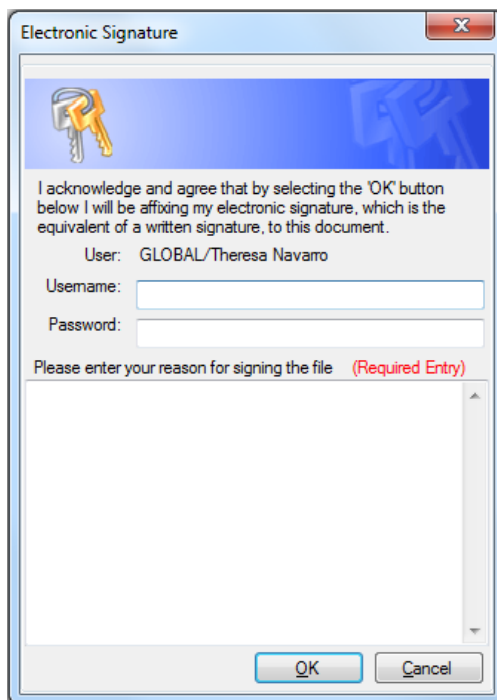
I CFX Maestro Dx SE är signerade filer inte inställda som skrivskyddade. De kan granskas, modifieras och signeras flera gånger. Alla ändringar och signaturer spåras i filens revisionslogg. Du kan signera följande filtyper:

- Datafiler (.pcrd)
- Genstudiefiler (.mgxd)

Obs! Filer måste sparas innan de kan signeras. Om du nyligen har genomfört en körning i CFX Maestro Dx SE måste du först spara den resulterande datafilen.

Så här signerar du en fil

1. Logga in i CFX Maestro Dx SE med dina Windows-inloggningsuppgifter.
2. Öppna den säkra datafilen eller genstudiefilen för att signera den.
3. Välj File > Sign (Arkiv > Signera). Dialogrutan Electronic Signature (Elektronisk signatur) visas.



4. Ange ditt Windows-användarnamn och -lösenord och anledningen till att signera filen.

Användarnamnet och anledningen till signering registreras i revisionsloggen (för mer information se [Revisionsloggar på sidan 301](#)).

5. Klicka på OK för att skicka signaturen och stänga dialogrutan.

Modifiera säkra filer

I CFX Maestro Dx SE kan användare modifiera säkra filer, inklusive signerade och osignerade data- och genstudiefiler. Programvaran uppmanar dig att ange en anledning till ändringen när du sparar en modifierad, säker data- eller genstudiefil. Ändringarna spåras i filens revisionslogg.

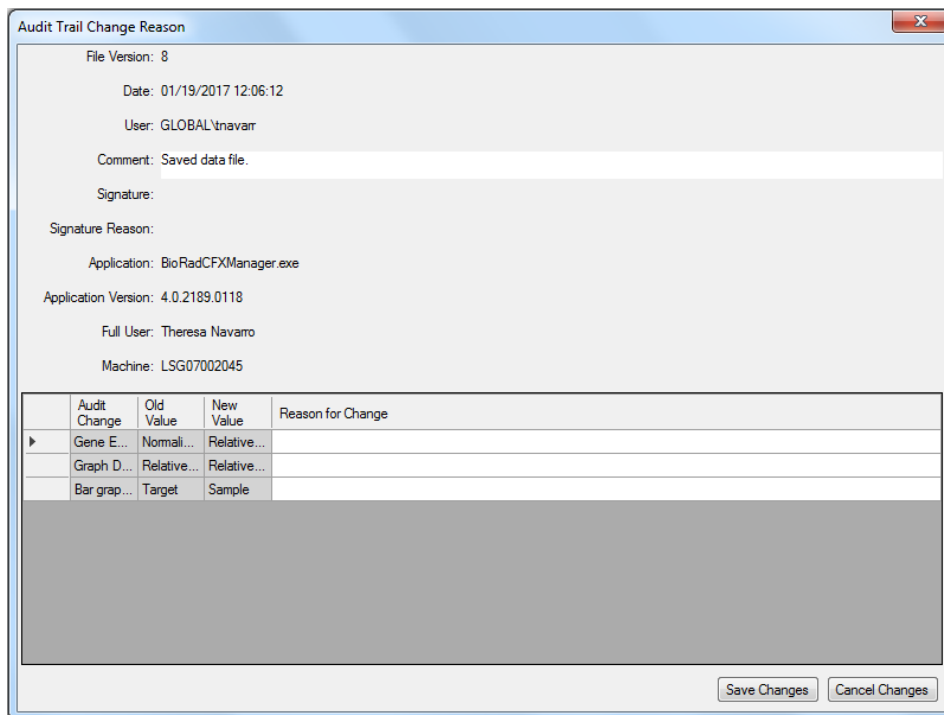
Tips: Eftersom programvaran inte skapar revisionsloggar för platt- eller protokollfiler uppmanas du inte att ange en anledning när du sparar ändringar i dessa filer.

Så här sparar du en modifierad data- eller genstudiefil

1. Logga in i CFX Maestro Dx SE med dina Windows-inloggningsuppgifter.
2. Öppna och modifiera en säker datafil eller genstudiefil.

Tips: För en lista över revideringsbara aktiviteter, se [Revideringsbara händelser på sidan 303](#).

3. Välj File > Save (Arkiv > Spara). Dialogrutan Audit Trail Change Reason (Orsak till ändring i revisionslogg) visas.



Den här dialogrutan visar följande information, som registreras i filens revisionslogg för varje ändringshändelse:

- **Date** (Datum) – datumet då ändringen inträffade.
- **User** (Användare) – Windows-domänen och användarnamnet för den inloggade användaren.
- **Comment** (Kommentar) – den senast sparade kommentaren.
- **Signature** (Signatur) – den elektroniska signaturen för den sista personen som signerade filen.
- **Signature reason** (Signaturskäl) – anledningen till signaturen.
- **Application** (Program) – CFX Maestro Dx SE (visas som BioRadCFXManager.exe, vilket är korrekt).
- **Application version** (Programversion) – den aktuella versionen av CFX Maestro Dx SE.
- **Full user** (Fullständig användare) – den inloggade användarens fullständiga namn.
Obs! Det här namnet visas i revisionsloggen.
- **Machine** (Maskin) – den dator där programvaran är installerad.

Ändringstabellen visar de revideringsbara ändringarna som inträffat till följd av modifieringen. En kort beskrivning av orsaken till ändringen kan också visas.

Tips: Du kan lägga till eller redigera beskrivningar i kolumnen Reason for Change (Orsak till ändring).

4. Granska listan över ändringar. Ange detaljerade skäl vid behov.
5. Gör något av följande:
 - Klicka på Save Changes (Spara ändringar) för att spara ändringarna i filen och eventuella ändringar du gjort i tabellen och stänga dialogrutan.
Ändringarna i filen och orsakerna till ändringarna visas i filens revisionslogg.
 - Klicka på Cancel Changes (Avbryt ändringar) för att återställa filen till dess tidigare tillstånd och stänga dialogrutan.
Ändringarna sparas inte i filen och revisionsloggen uppdateras inte.

Lösenordsskydda filer

Som en extra säkerhetsnivå kan användare ange lösenord på alla säkra filer i CFX Maestro Dx SE. Tänk på följande villkor när du ställer in lösenord på en säker fil:

Villkor	Åtgärd
Inget lösenord krävs.	Alla användare kan öppna, ändra och spara den säkra filen, baserat på deras behörigheter.
Filen kräver lösenord för att spara.	Alla användare kan öppna den säkra filen och användare som känner till lösenordet för att spara kan ändra och spara den säkra filen.
Filen kräver lösenord för att öppnas.	Endast användare som känner till lösenordet för att öppna kan öppna, ändra och spara den säkra filen.
Filen kräver både lösenord för att öppna och spara.	Vissa användare kan öppna den säkra filen och en delgrupp av dessa användare kan ändra och spara filen.

Beroende på användarens roll kan alla användare utföra Save As (Spara som) för att skapa en ny säker fil med ett annat namn eller spara en fil med samma namn på en annan plats så länge något av följande är sant:

- Den säkra filen är inte lösenordsskyddad.
- Användaren har lösenordet för att öppna filen.

Tips: Den nya filen sparas utan lösenordsskydd. Originalfilen behåller sina lösenord.

Beroende på roll kan en användare ändra och spara originalfilen så länge något av följande är sant:

- Filen är inte lösenordsskyddad.
- Användaren har lösenordet för att öppna filen och lösenordet för att spara filen.

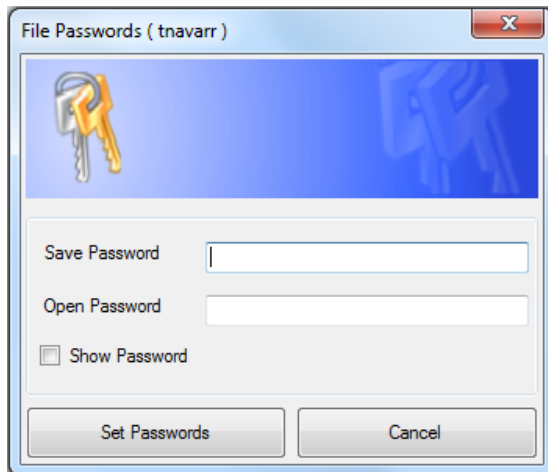
Obs! Användarens roll måste omfatta behörighet att spara filer för att kunna ange lösenord.

Användare med rollen Gäst kan till exempel inte spara filer och kan därför inte ange lösenord för en fil.

Viktigt! Endast CFX Maestro Dx SE-administratörer kan återställa eller ta bort lösenord.

Så här lösenordsskyddar du en fil

1. Logga in i CFX Maestro Dx SE med dina Windows-användaruppgifter.
2. Öppna den säkra filen.
3. Välj File > File Passwords (Arkiv > Fillösenord). Dialogrutan File Passwords (Fillösenord) visas.



4. Ange lösenord i rutorna Save Password (Lösenord för att spara) och Open Password (Lösenord för att öppna).

Tips: Som standard visas lösenord som asteriskecken när de skrivs. Välj Show Password (Visa lösenord) för att visa lösenordet när du skriver det.

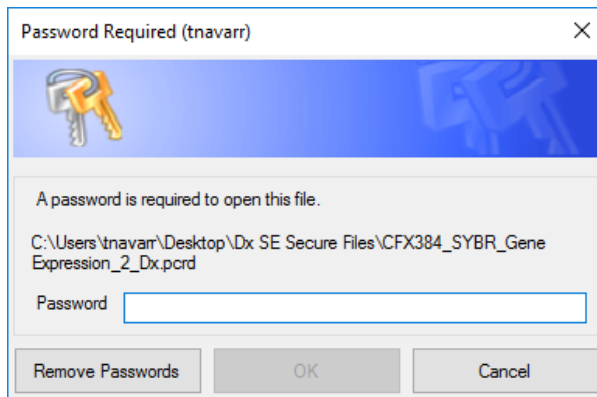
Viktigt! Lösenord är skiftlägeskänsliga. CFX Maestro Dx SE anger inga begränsningar för lösenord. Kontakta din systemadministratör för lösenordskrav på din arbetsplats för information om bästa praxis.

5. Klicka på Set Passwords (Ange lösenord) för att ange lösenorden och stänga dialogrutan.
6. Välj File > Save (Arkiv > Spara) för att spara ändringarna i filen.

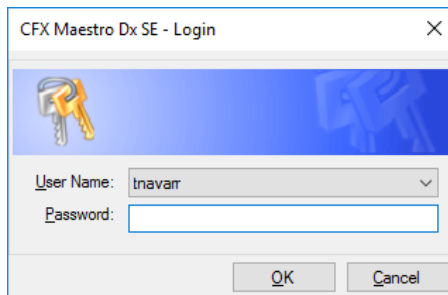
Så här tar du bort lösenord

Viktigt! Du måste vara CFX Maestro Dx SE-administratör för att ta bort lösenord.

1. Klicka på Remove Passwords (Ta bort lösenord) i dialogrutan Password Required (Lösenord krävs).



Dialogrutan CFX Maestro Dx SE Login (Inloggning i CFX Maestro Dx SE) visas.



2. Ange Windows-användarnamnet och lösenordet för CFX Maestro Dx SE-administratören och klicka på OK.

Den ursprungliga datafilen visas.

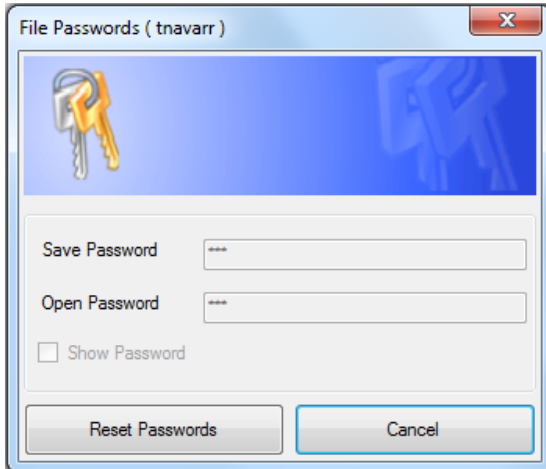
Viktigt! Du måste spara filen för att ta bort lösenorden.

3. Välj File > Save (Arkiv > Spara) för att spara ändringarna i filen.

Så här ändrar du lösenord

Viktigt! Endast CFX Maestro Dx SE-administratörer kan ändra lösenord.

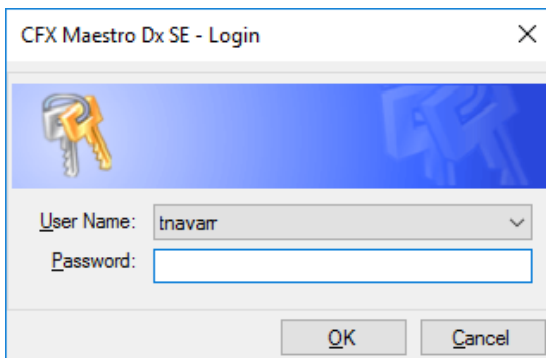
1. Öppna den säkra filen.
2. Välj File > File Passwords (Arkiv > Fillösenord). Dialogrutan File Passwords (Fillösenord) visas.



Tips: Save Password (Lösenord för att spara), Open Password (Lösenord för att öppna) och Show Password (Visa lösenord) är inaktiverade.

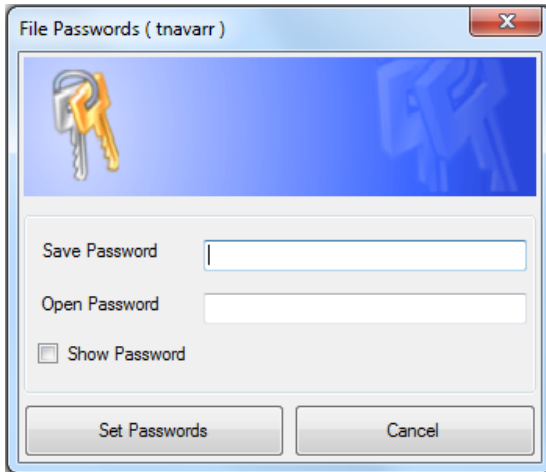
3. Klicka på Reset Passwords (Återställ lösenord).

Dialogrutan CFX Maestro Dx SE Login (Inloggning i CFX Maestro Dx SE) visas.



4. Ange Windows-användarnamnet och lösenordet för CFX Maestro Dx SE-administratören och klicka på OK.

Dialogrutan File Passwords (Fillösenord) visas.



5. Gör något av följande:
 - Om du vill återställa lösenordsskyddet, skriv ett nytt lösenord i motsvarande lösenordsruta.
 - Om du vill ta bort lösenordsskyddet, avmarkera rutorna för lösenorden.
6. Klicka på Set Passwords (Ange lösenord) för att spara lösenordsändringarna och stänga dialogrutan.

Kapitel 5 Arbetsytan

CFX Maestro Dx programvara, Security Edition tillhandahåller ett gränssnitt för att ställa in plattor, utveckla PCR-protokoll, köra dem på CFX Opus Dx Deepwell Dx-instrument och analysera data från PCR-körningar.

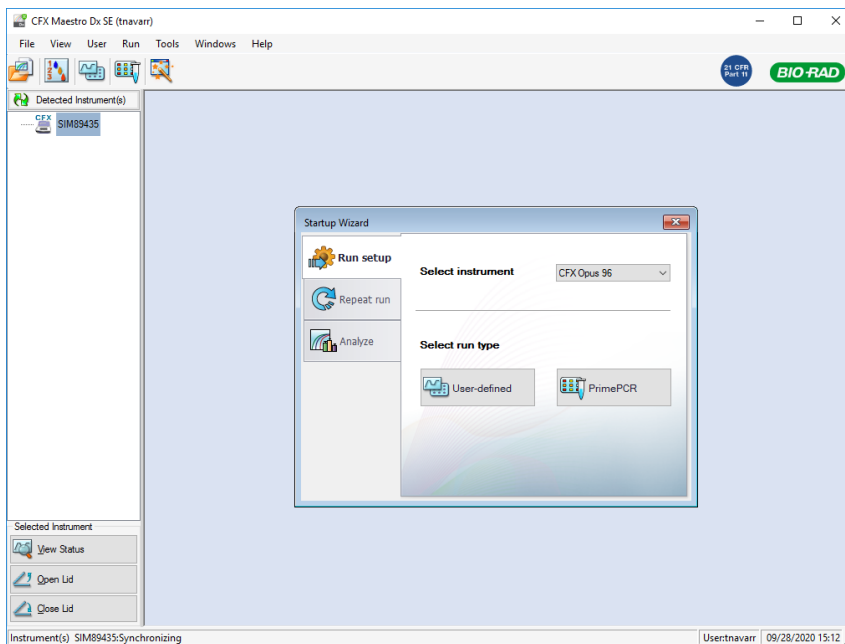
CFX Maestro Dx SE har fem primära arbetsytor:

- Hemfönstret
- Startup Wizard (Startguide)
- Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare)
- Fönstret Plate Editor (Plattredigerare)
- Fönstret Data Analysis (Dataanalys)

I det här kapitlet visas och beskrivs alla dessa arbetsytor.

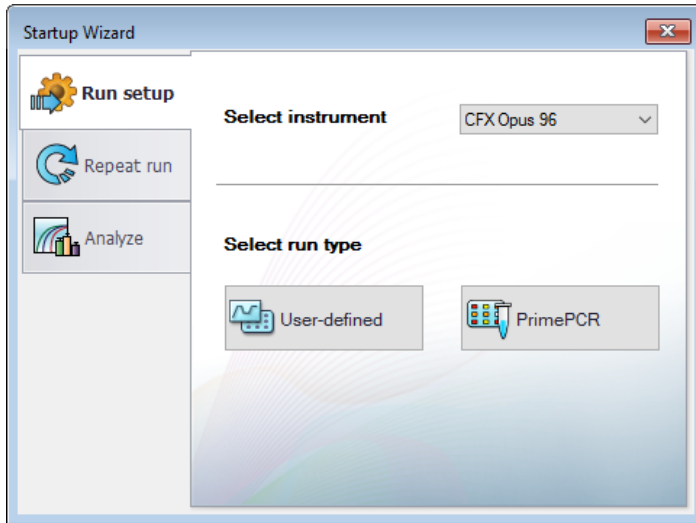
Hemfönstret

CFX Maestro Dx SE öppnas i hemfönstret och visar Startup Wizard (Startguide) där du kan ställa in ett experiment, utföra eller upprepa en körning eller analysera en befintlig körning. Från hemfönstret kan du även visa program- och instrumentloggar, skapa och hantera användare och få åtkomst till flera användbara verktyg. För mer information, se [Kapitel 6, Hemfönstret](#).



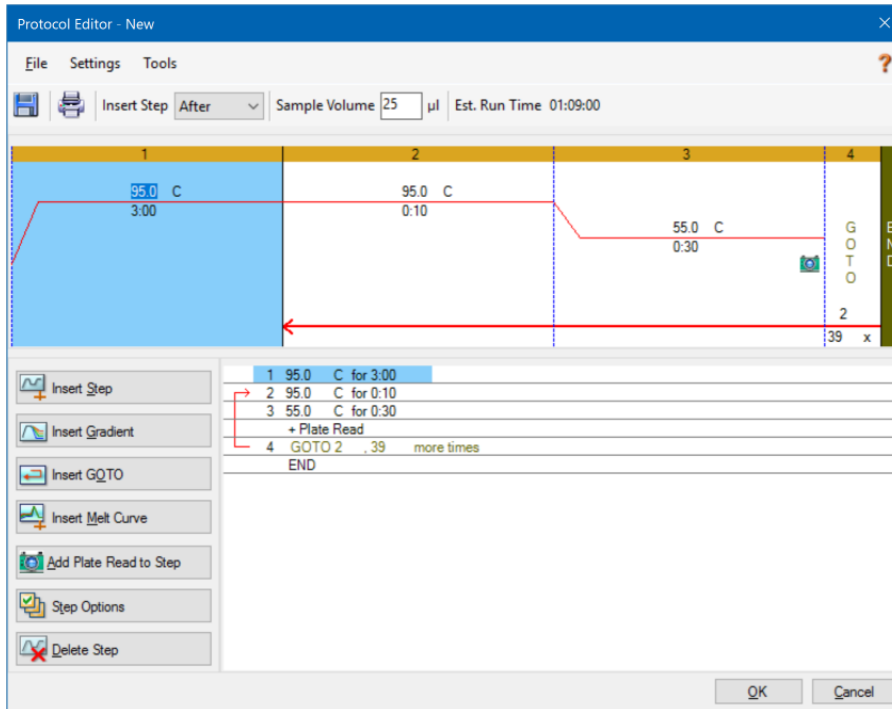
Startup Wizard (Startguide)

Med Startup Wizard (Startguide) konfigurerar och kör du snabbt användardefinierade experiment eller väljer och kör ett PrimePCR-experiment. Med guiden kan du även upprepa en körning och analysera kördata.



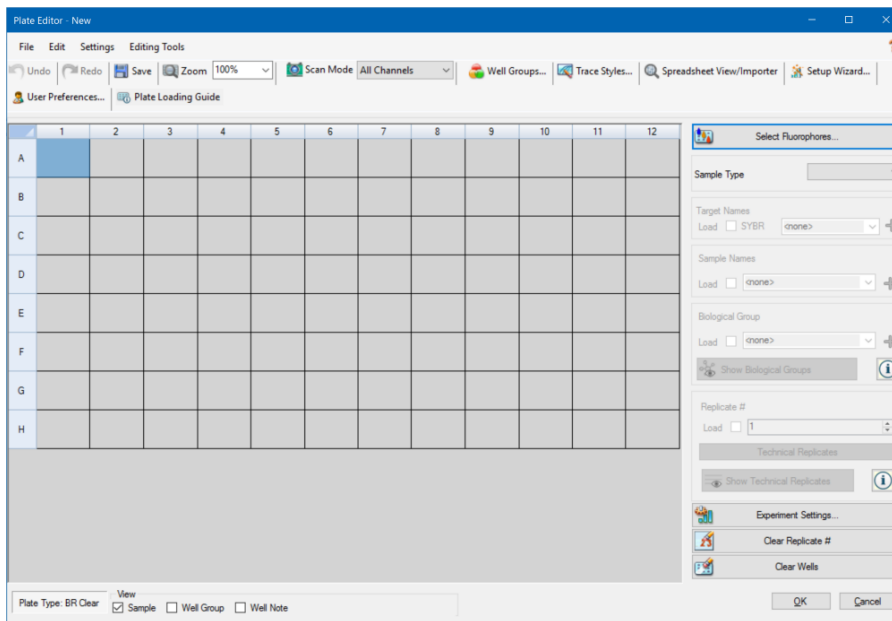
Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare)

I Protocol Editor (Protokollredigerare) kan du skapa, öppna, granska och redigera ett protokoll. Du kan också modifiera locktemperaturen för det öppna protokollet. Funktionerna för Protocol Editor (Protokollredigerare) beskrivs i [Kapitel 7, Skapa protokoll](#).



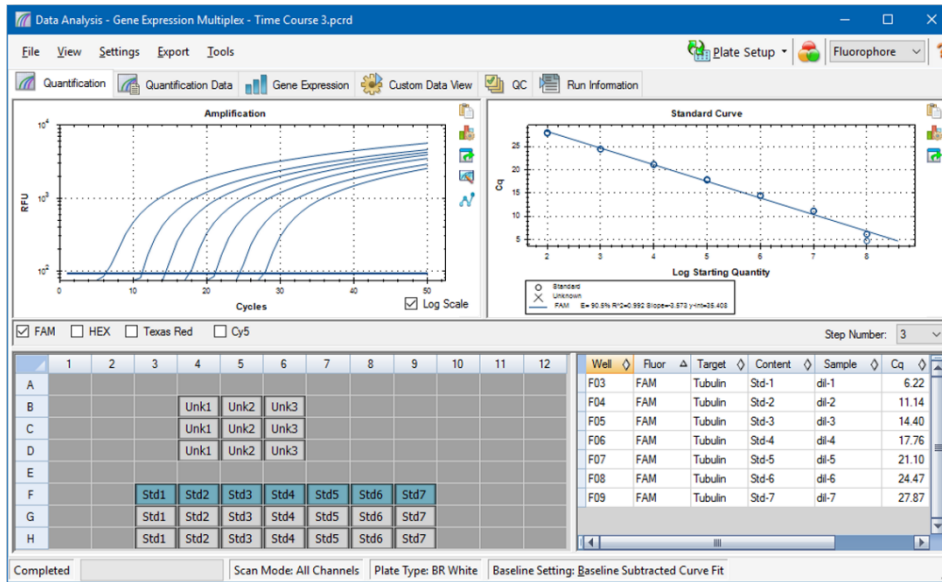
Fönstret Plate Editor (Plattredigerare)

Du kan skapa, öppna, granska och redigera plattor i Plate Editor (Plattredigerare). Plattredigerarens funktioner beskrivs i [Kapitel 8, Förbereda plattor](#).



Fönstret Data Analysis (Dataanalys)

I fönstret Data Analysis (Dataanalys) kan du visa och jämföra körningsdata, göra statistiska analyser, exportera data och skapa publiceringsfärdiga rapporter. Funktionen för dataanalys beskrivs i [Kapitel 10, Översikt över dataanalyser](#) och [Kapitel 11, Dataanalysinformation](#).



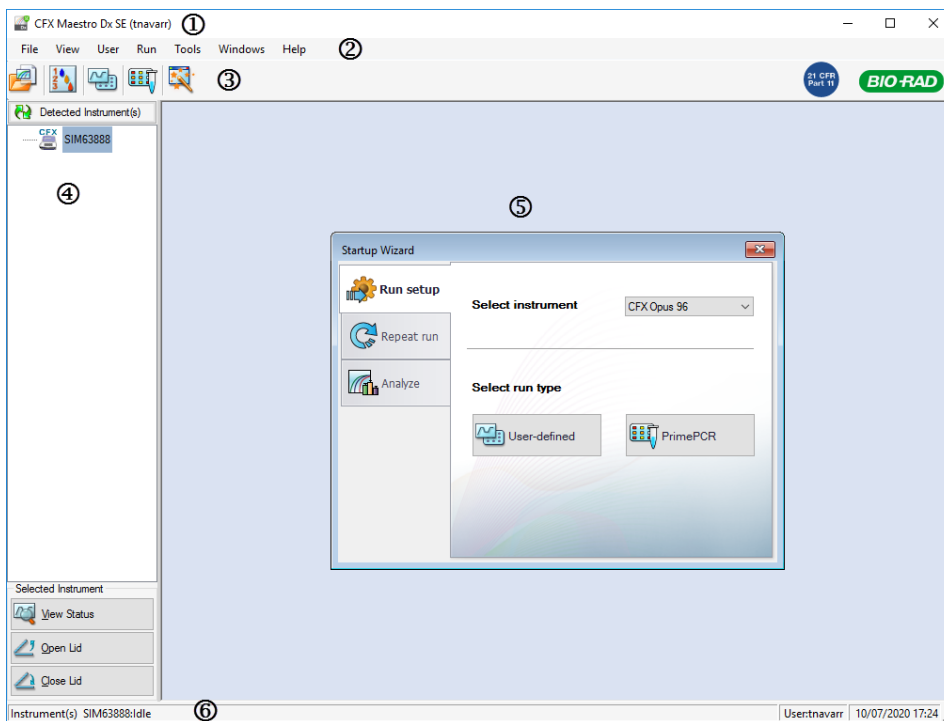
Kapitel 6 Hemfönstret

CFX Maestro Dx programvara, Security Edition tillhandahåller ett gränssnitt för att utveckla PCR-protokoll, köra dem på CFX Dx-system och analysera PCR-körningsdata.

I det här kapitlet presenteras CFX Maestro Dx SE och förklaras funktionerna som är tillgängliga i hemfönstret.

Hemfönstret

CFX Maestro Dx SE öppnas i hemfönstret och visar Startup Wizard (Startguide) där du kan konfigurera en körning, utföra eller upprepa en körning eller analysera en befintlig körning. Från hemfönstret kan du även visa program- och instrumentloggar, skapa och hantera användare och få åtkomst till flera användbara verktyg.



FÖRKLARING

1. Programvarans titelfält visar namnet på programvaran och inloggad användare.
2. Menyraden ger snabb åtkomst till menykommandon för File (Arkiv), View (Visa), Run (Körning), Window (Fönster) och Help (Hjälp).
3. Kommandon på verktygsraden ger snabb åtkomst till menyalternativ.
4. Den vänstra rutan visar instrument som är anslutna till CFX Maestro Dx SE-datorn och har knappar som du kan använda för att styra locket och visa instrumentens status.
5. Huvudrutan visar arbetsfönstret. Standardarbetsfönstret på startskärmen är Startup Wizard (Startguide).

6. Statusfältet visar namnen på de anslutna instrumenten och den inloggade användaren.

Kommandon på menyn File (Arkiv)

New (Ny) – öppnar en dialogruta där du kan välja att skapa ett nytt protokoll, en ny platta eller en ny genstudie.

Open (Öppna) – öppnar en dialogruta där du kan välja att gå till och öppna ett befintligt protokoll, en befintlig platta, en befintlig datafil, en befintlig genstudie, en befintlig LIMS-fil, en befintlig körning på ett fristående instrument (fristående körning) eller en befintlig PrimePCR-körningsfil.

Recent Data Files (Senaste datafiler) – visar en lista över nyligen öppnade PCR-filer.

Repeat a Run (Upprepa en körning) – öppnar Utforskaren på platsen för de sparade PCR-filerna där du kan hitta en körning som ska upprepas.

Exit (Avsluta) – stänger CFX Maestro Dx SE.

Kommandon på menyn View (Visa)

Application Log (Applikationslogg) – visar en programanvändningslogg från installation till dagens datum.

Run Reports (Körningsrapporter) – visar en lista med körningsrapporter.

Start Wizard (Startguide) – visar Start Wizard (Startguiden) i huvudrutan.

Run Setup (Körningsinställning) – visar fönstret Run Setup (Körningsinställning) i huvudrutan.

Instrument Summary (Instrumentsammanfattning) – visar fönstret Instrument Summary (Instrumentsammanfattning) i huvudrutan.

Detected Instruments (Hittade instrument) – växlar mellan att visa och att inte visa anslutna instrument i den vänstra rutan. Som standard visar programmet anslutna instrument i den vänstra rutan.

Toolbar (Verktygsrad) – växlar mellan att visa och att inte visa verktygsraden högst upp på skärmen. Som standard visar programmet verktygsraden.

Status Bar (Statusfält) – växlar mellan att visa och att inte visa statusfältet längst ned på skärmen. Som standard visar programmet statusfältet.

Show (Visa) – öppnar en dialogruta från vilken du kan göra följande:

- Visa eller blockera statusloggen.
- Öppna och visa CFX Maestro Dx SE-datamappen.
- Öppna och visa användarens datamapp.

- Öppna och visa LIMS-filmappen.
- Öppna och visa PrimePCR-mappen.
- Visa körningshistoriken.
- Visa egenskaperna för alla anslutna instrument.

Kommandon på menyn User (Användare)

Select User (Välj användare) – öppnar inloggningsskärmen där du kan välja en användare i listrutan User Name (Användarnamn) och logga in i programmet.

Change Password (Ändra lösenord) – öppnar dialogrutan Change Password (Ändra lösenord) där användare kan ändra sitt lösenord för .

Obs! Det här alternativet är inaktiverat för CFX Maestro Dx SE. Användare måste ändra sitt Windows-lösenord för att kunna ändra sitt CFX Maestro Dx SE-lösenord.

User Preferences (Användarinställningar) – öppnar dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) där användare kan ändra standardinställningarna för

- sändning och mottagande av e-postaviseringar vid avslutad körning
- lagring av datafiler
- generering av protokoll med Protocol Editor (Protokollredigerare) eller Protocol AutoWriter (Protokollförslag)
- generering av plattor
- dataanalys
- genuttrycksanalys
- fastställande av datakvalitet
- export av CFX-instrumentdata.

User Administration (Användarhantering) – öppnar dialogrutan (Användarhantering) där administratörer kan skapa användare, modifiera rollbehörigheter och tilldela roller till användare.

Bio-Rad Service Login (Bio-Rad-serviceinloggning) – endast Bio-Rad teknisk servicepersonal. Välj inte det här kommandot.

Kommandon på menyn Run (Körning)

User-defined Run (Användardefinierad körning) – öppnar fönstret Run Setup (Körningsinställning) där du kan konfigurera användardefinierade protokoll och plattor och sedan köra ett PCR-experiment på

valda instrument.

PrimePCR Run (PrimePCR-körning) – öppnar fliken Start Run (Starta körning) i fönstret Run Setup (Körningsinställning), och PrimePCR-standardprotokollet och plattlayouten som blir inläst beror på vilket instrument som väljs.

End-Point Only Run (Körning endast med slutpunkt) – öppnar fliken Start Run (Starta körning) i fönstret Run Setup (Körningsinställning), och standardslutpunktsprotokollet och plattlayouten som blir inläst beror på vilket instrument som väljs.

Qualification Run (Körning med kvalificering) – öppnar fliken Start Run (Starta körning) i fönstret Run Setup (Körningsinställning), med Bio-Rad-standardprotokollet för kvalificering och plattlayouten läses in för det valda instrumentet.

Kommandon på menyn Tools (Verktyg)

Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator) – öppnar mastermixkalkylatorn där du kan skapa en reaktionsblandning och skriva ut beräkningarna.

Protocol AutoWriter (Protokollförslag) – öppnar dialogrutan Protocol AutoWriter (Protokollförslag) där du enkelt kan skapa ett nytt protokoll.

T_a Calculator (T_a-kalkylator) – öppnar T_a-kalkylatorn där du enkelt kan beräkna hybridiseringstemperaturen för primrar.

Dye Calibration Wizard (Fluoroforkalibrering) – öppnar guiden Dye Calibration (Fluoroforkalibrering) där du kan kalibrera ett instrument för en ny fluorofor.

Reinstall Instrument Drivers (Ominstallera instrumentdrivrutiner) – ominstallerar drivrutinerna som styr kommunikation med Bio-Rads realtids-PCR-system.

Zip Data and Log Files (Zip-data och loggfiler) – öppnar en dialogruta där du kan välja filer som ska komprimeras och sparas i en zip-fil för lagring eller för att skickas med e-post.

Batch Analysis (Batch-analys) – öppnar dialogrutan Batch Analysis (Batch-analys) där du kan ställa in parametrar för analys av fler än en datafil åt gången.

Options (Alternativ) – öppnar en dialogruta där du kan göra följande:

- Konfigurera inställningarna för din e-postserver.
- Konfigurera exportinställningar för LIMS, Seegene och andra datafiler.

Tips: Du kan också välja alternativet att automatiskt starta Seegene Viewer vid export om du väljer att exportera dina data i Seegene-format.

- Ändra språket som användargränssnittet visar (engelska, kinesiska, ryska)

Viktigt! Du måste starta om CFX Maestro Dx SE för att visa det valda språket.

Viktigt! Ditt operativsystems språk måste motsvara det språk du vill visa i CFX Maestro Dx SE-gränssnittet.

Kommandon på menyn Help (Hjälp)

Tips: Hjälpmenyn är tillgänglig i menyraden i alla CFX Maestro Dx SE-fönster.

Contents (Innehåll) – visar fliken Contents (Innehåll) i hjälpsystemet i CFX Maestro Dx SE.

Index – visar fliken Index i hjälpsystemet i CFX Maestro Dx SE.

Search (Sök) – visar fliken Search (Innehåll) i hjälpsystemet i CFX Maestro Dx SE.

Open User Guide (Öppna användarhandbok) – öppnar en PDF av den här guiden.

Additional Documentation (Ytterligare dokumentation) – ger åtkomst till bruksanvisningen för CFX Opus Dx realtids-PCR-system.

Release Notes (Versionsinformation) – öppnar dokumentet Release Notes (Versionsinformation) för den installerade version av CFX Maestro Dx SE.

Video Resources (Videoresurser) – öppnar en webbplats med Bio-Rads videoresurser, t.ex. instruktionsvideor.

qPCR Applications and Technologies Web Site (Webbplats för qPCR-användning och teknik) – öppnar Bio-Rads webbplats qPCR Applications & Technologies, där du kan få mer information om realtids-PCR (qPCR).

PCR Reagents Web Site (Webbplats för PCR-reagenser) – öppnar Bio-Rads webbplats för PCR och qPCR -reagenser, där du kan beställa PCR-reagenser, supermixer, färger och kit.

PCR Plastic Consumables Web Site (Webbplats för PCR-förbrukningsartiklar av plast) – öppnar Bio-Rads webbplats för PCR-plast- och förbrukningsartiklar, där du kan beställa PCR-plattor, plattförselningar, rör och lock, och andra tillbehör av plast.

Software Web Site (Webbplats för program) – öppnar Bio-Rads webbplats för PCR-analysprogram, där du kan beställa uppdaterade versioner av Bio-Rads CFX Maestro Dx SE.

About (Om) – visar CFX Maestro Dx SE copyright- och versionsinformation.

Kommandon i verktygsraden



– öppnar Utforskaren i Windows där du kan navigera till och öppna en datafil eller en genstudiefil.



– öppnar Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator).



– öppnar fönstret Run Setup (Körningsinställning).



– öppnar fönstret Run Setup (Körningsinställning), och PrimePCR-standardprotokollet och plattlayouten som blir inläst beror på vilket instrument som väljs.

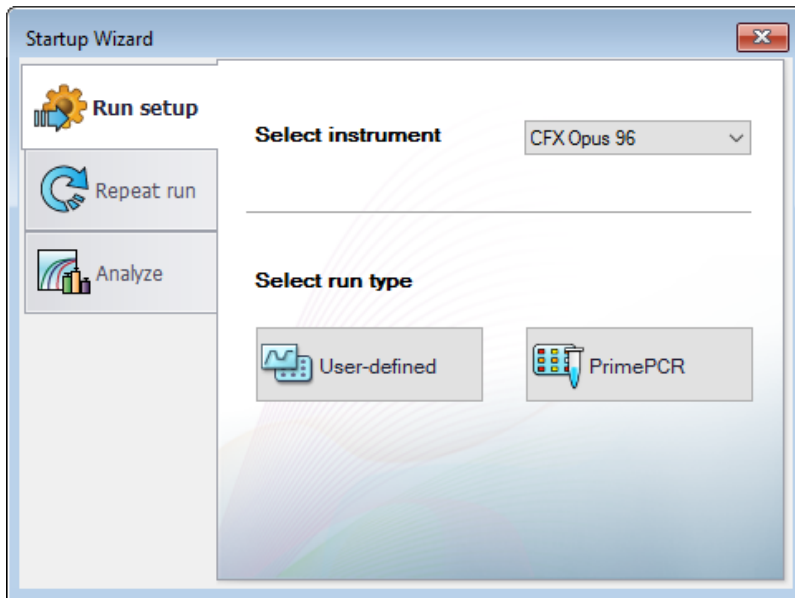


– öppnar startguiden.

Startup Wizard (Startguide)

När CFX Maestro Dx SE startar visas arbetsytan Startup Wizard (Startguide). Från Startup Wizard (Startguide) kan du göra följande:

- Välja ett instrument från de hittade instrumenten och konfigurera en användardefinierad körning eller en PrimePCR-körning.
- Öppna och upprepa en körning.
- Öppna en datafil för att analysera resultat från en enskild körning eller en genstudiefil för resultat från flera genuttryckskörningar.



Dessa moment förklaras utförligt i kapitlen nedan.

Statusfält

På den vänstra sidan av statusfältet längst ned i huvudfönstret i programmet visas aktuell status för de hittade instrumenten. På den högra sidan av statusfältet visas namnet på aktuell användare samt datum och tid.

Rutan Detected Instruments (Hittade instrument)

I rutan Detected Instruments (Hittade instrument) visas alla instrument som är anslutna till CFX Maestro Dx SE-datorn. Som standard visas varje instrument som en ikon med serienumret som namn.

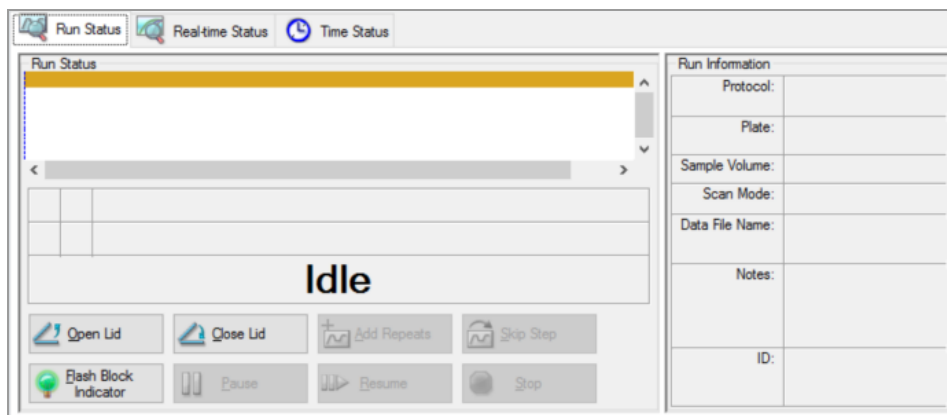
Från den här rutan kan du göra följande:

- Visa det valda instrumentets egenskaper och kalibrerade fluoroforer.
För information om instrumentegenskaper, se [Visa egenskaper för ett instrument på sidan 72](#).
- Visa ett anslutet instruments status.
- Öppna det valda instrumentets motoriserade lock.
- Stänga det valda instrumentets motoriserade lock.
- Se statusen för alla anslutna instrument.

Så här visar du ett anslutet instruments status

- ▶ I rutan Detected Instruments (Hittade instrument) väljer du målinstrumentet och gör något av följande:
 - Klicka på View Status (Visa status) i avsnittet Selected Instrument (Valt instrument).
 - Högerklicka och välj View Status (Visa status) på menyn som öppnas.

Dialogrutan Run Details (Körningsdetaljer) visas med fliken Run Status (Körningsstatus). Det valda instrumentets status visas under körningsstatusrutan, till exempel:



Så här öppnar och stänger du locket på ett instrument

- ▶ I rutan Detected Instruments (Hittade instrument) väljer du målinstrumentet och gör något av följande:

- Klicka på Open Lid (Öppna lock) eller Close Lid (Stäng lock) i avsnittet Selected Instrument (Valt instrument).
- Högerklicka och välj lämplig åtgärd på menyn som öppnas.
- Öppna dialogrutan Run Details (Körningsdetaljer), välj fliken Run Status (Körningsstatus) och klicka på Open Lid (Öppna lock) eller Close Lid (Stäng lock).

Så här visar du statusen för alla hittade instrument

► Gör något av följande:

- I avsnittet All Instruments (Alla instrument) i rutan Detected Instruments (Hittade instrument) klickar du på View Summary (Visa sammanfattning).
- På menyraden väljer du View > Instrument Summary (Visa > Instrumentsammanfattning).









Dialogrutan Instrument Summary (Instrumentsammanfattning) öppnas.

Tips: Om systemet endast hittar ett instrument visas inte avsnittet All Instruments (Alla instrument) i rutan Detected Instruments (Hittade instrument). Du visar instrumentsammanfattningen för ett enskilt instrument genom att välja View > Instrument Summary (Visa > Instrumentsammanfattning).

Reglage i verktygsraden Instrument Summary (Instrumentsammanfattning)

I [Tabell 5](#) listas reglagen och funktionerna i verktygsraden Instrument Summary (Instrumentsammanfattning).

Tabell 5. Reglage i verktygsraden Instrument Summary (Instrumentsammanfattning)

Knapp	Knappnamn	Funktion
	Create a new Run (Skapa en ny körning)	Skapar en körning på valt block genom att öppna fönstret Run Setup (Körningsinställning).
	Stop (Stoppa)	Stoppar den aktuella körningen på valda block.
	Pause (Pausa)	Pausar den aktuella körningen på valda block.
	Resume (Återuppta)	Återupptar körningen på valda block.
	Flash Block Indicator (Blockets indikatorlampa)	Gör att indikatorlampan på locket till valda block börjar blinka.
	Open Lid (Öppna lock)	Öppnar det valda blockets motoriserade lock.
	Close Lid (Stäng lock)	Stänger det valda blockets motoriserade lock.
	Hide Selected Blocks (Dölj valda block)	Döljer de valda blocken i listan Instrument Summary (Instrumentsammanfattning)
	Show All Blocks (Visa alla block)	Visar de valda blocken i listan Instrument Summary (Instrumentsammanfattning)
Show: <input type="text" value="All Blocks"/>	Show (Visa)	Välj vilka block som ska visas i listan. Välj ett av alternativen för att visa alla detekterade block, alla inaktiva block, alla block som körs med den aktuella användaren eller alla block som körs.

Visa egenskaper för ett instrument

I rutan Detected Instruments (Hittade instrument) kan du visa information om ett valt instrument, inklusive dess egenskaper, status för låsskruven (endast CFX Connect- och CFX Touch-instrumenten) och en lista med kalibrerade färger (fluoroforer).

Så här visar du instrumentegenskaper

- I rutan Detected Instruments (Hittade instrument) högerklickar du på målinstrumentet och väljer Properties (Egenskaper) på menyn som visas.

Fliken Properties (Egenskaper)

Fliken Properties (Egenskaper) visar teknisk information om det valda instrumentet, inklusive modell, komponenternas serienummer och versioner av fast programvara. Instrumentets standardnamn (dess serienummer) visas på flera platser, inklusive rutan Detected Instruments (Hittade instrument) och i rubrikfältet för dialogrutan Instrument Properties (Instrumentegenskaper). Du kan ändra namn på ett instrument så att det blir enklare att identifiera.

Obs! Du kan inte ändra namnet på CFX Opus-instrumentet med CFX Maestro.

Fliken Calibrated Dyes (Kalibrerade fluoroforer)

Fliken Calibrated Dyes (Kalibrerade fluoroforer) visar kalibrerade fluoroforer och plattor för det valda instrumentet.

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

För att se detaljerad information om en kalibrering klickar du på motsvarande Info-knapp i kolumnen Detail (Information).

Innan du börjar

Det här avsnittet förklarar uppgifter som du kan behöva utföra innan du använder CFX Maestro Dx SE. Detta omfattar att

- skapa en reaktionsmasterblandning
- kalibrera nya färger.

Skapa en reaktionsmasterblandning

Med CFX Maestro Dx SEs Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator) kan du enkelt beräkna den nödvändiga volymen av varje komponent i huvudblandningen. Du kan skriva ut tabellen för masterblandningsberäkningar på standardskrivaren och spara beräkningarna för varje mål för senare användning.

Så här skapar du en reaktionsmasterblandning i Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator)

1. Gör något av följande för att öppna Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator):
 - Välj Tools > Master Mix Calculator (Verktyg > Master Mix-kalkylator).
 - Klicka på Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator) i verktygsraden.

Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator) öppnas.

Master Mix Calculator

Reaction
 Detection Method: SYBR Green/EvaGreen Probes

Target
 Create New SYBR_target_1 Remove Remove All

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

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

Choose SYBR Green Target to Calculate
 SYBR_target_1

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

Print Set as Default Restore Defaults OK Cancel

2. Välj en detektionsmetod i avsnittet Reaction (Reaktion):
 - SYBR® Green/EvaGreen®
 - Probes (Prober)
3. Klicka på Create New (Skapa ny) i avsnittet Target (Mål) för att välja ett nytt mål. Ett nytt målnamn visas i mållistrutan.
4. (Valfritt:) Så här ändrar du standardmålnamnet:
 - a. Markera målets namn i mållistrutan.
 - b. Skriv in ett nytt målnamn i rutan Target (Mål).
 - c. Tryck på Retur-tangenten.
5. Justera start- och slutkoncentrationerna för de framåtriktade och bakåtriktade primrarna samt eventuella prober.

6. I avsnittet Master Mix Setup (Huvudblandningsinställning) justerar du värdena för
 - Number of reactions (Antal reaktioner) som ska köras
 - Reaction volume (Reaktionsvolym) per brunn
 - Template volume (Mallvolym) per brunn
 - Supermix concentration (Supermix-koncentration) per brunn
 - Excess reaction volume (Reaktionsvolymsöverskott) per brunn
7. (Valfritt:) Utför stegen 2–6 för så många mål som behövs.
8. I avsnittet Choose Target to Calculate (Välj mål som ska kalibreras) väljer du målet som ska kalibreras.

Tips: Du kan beräkna ett eller flera eller alla mål samtidigt.

De beräknade volymerna av komponenterna som krävs för varje valt mål visas i tabellen för masterblandning.

9. Klicka på Set as Default (Ställ in som standard) för att ställa in de inmatade kvantiteterna i avsnitten Target (Mål) och Master Mix Setup (Masterblandningsinställning) som nya standardvärden.
10. Klicka på OK för att spara innehållet i dialogrutan Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator).

Så här skriver du ut tabellen för masterblandningsberäkningar

- ▶ Du skriver ut en tabell för masterblandningsberäkningar genom att klicka på Print (Skriv ut).
Tabellen med beräkningar skrivs ut på standardskrivaren.

Så här sparar du tabellen för masterblandningsberäkningar som en PDF-fil

- ▶ Ändra standardskrivaren till en PDF-drivrutin och klicka på Print (Skriv ut) i Master Mix Calculator (Master Mix-kalkylator).

Så här tar du bort mål

- ▶ Välj målet i mållistrutan och klicka på Remove (Ta bort).

Viktigt! När du tar bort ett mål från mållistan tas det även bort från masterblandningsberäkningar som det används i. Var försiktig när du tar bort ett mål.

Kalibrera nya färger

CFX Opus 96 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx-systemen är fabrikskalibrerade för vanliga fluorofores i plattor med vita brunnar och klara brunnar. CFX Opus 384 Dx-systemen är fabrikskalibrerade för vanliga

fluoroforer i plattor med endast vita brunnar. I [Tabell 6](#) listas fluoroforena och kanalen för vilka varje instrument kalibreras.

Obs! CFX Opus 96 Dx-, CFX Opus 384 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx- systemen inkluderar också en kanal dedikerad till FRET-kemi. Den här kanalen kräver inte kalibrering för specifika färgämnen.

Viktigt! Om du utför en användardefinierad kalibrering av en fluorofor som fabrikskalibrerats använder instrumentet den användardefinierade kalibreringen i stället för fabrikskalibreringen.

Tabell 6. Fabrikskalibrerade fluoroforer, kanaler och instrument

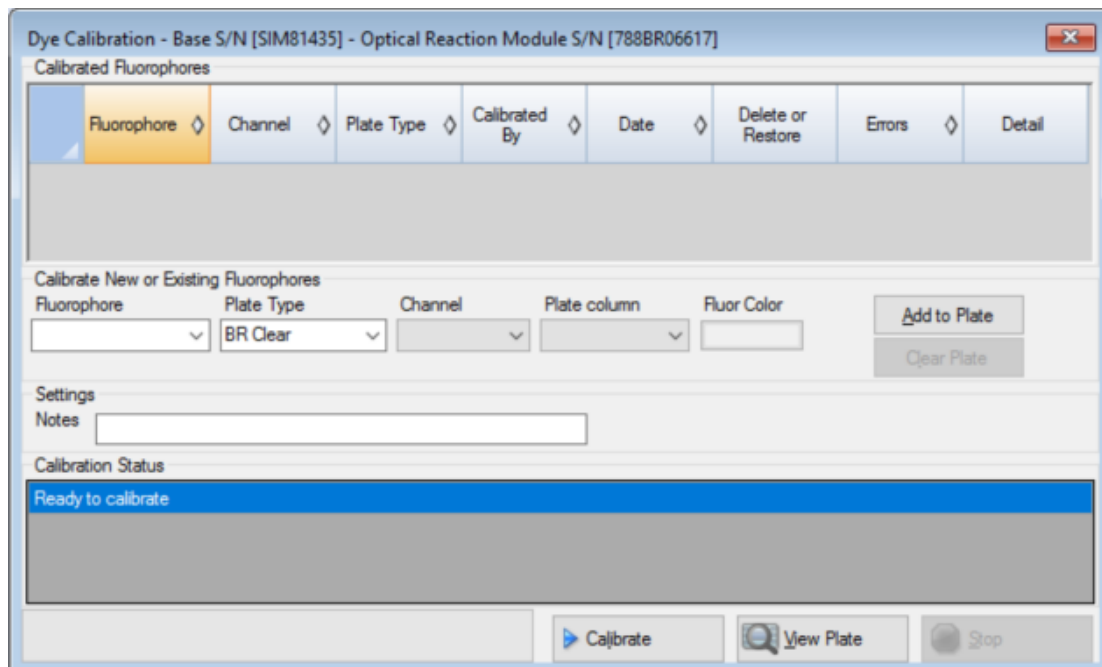
Fluoroforer	Kanal	Excitation, nm	Detektion, nm	Instrument
FAM, SYBR® Green I	1	450–490	515–530	CFX Opus 96 Dx-, CFX Opus 384 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx-system
VIC, HEX, CAL Fluor Gold 540, Cal Fluor Orange 560	2	515–535	560–580	CFX Opus 96 Dx-, CFX Opus 384 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx-system
ROX, Texas Red, CAL Fluor Red 610, TEX 615	3	560–590	610–650	CFX Opus 96 Dx-, CFX Opus 384 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx-system
CY5, Quasar 670	4	620–650	675–690	CFX Opus 96 Dx-, CFX Opus 384 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx-system
Quasar 705, Cy5.5	5	672–684	705–730	Endast CFX Opus 96 Dx

FRET Chemistry (ej fabrikskalibrerad)

Fluoroforer	Kanal	Excitation, nm	Detektion, nm	Instrument
Icke fabrikskalibrerad färg	FRET	450–490	560–580	CFX Opus 96 Dx-, CFX Opus 384 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx-system

Så här kalibrerar du nya fluoroforer för CFX-system

1. Välj målinstrumentet i rutan Detected Instruments (Hittade instrument) i hemfönstret.
2. Välj Tools > Calibration Wizard (Verktyg > Kalibreringsguide) för att öppna guiden Dye Calibration (Fluoroforkalibrering).



Fluoroforer som redan har kalibrerats för målinstrumentet visas i tabellen Calibrated Fluorophores (Kalibrerade fluoroforer).

3. Välj fluoroforen som ska kalibreras i listrutan i avsnittet Calibrate New or Existing Fluorophores (Kalibrera nya eller befintliga fluoroforer).

Om inte fluoroforen finns i listan skriver du in dess namn i textrutan för att lägga till det i listan.

Viktigt! Var försiktig när du namnger anpassade kalibrerade fluoroforer. Om du skapar en anpassad färgkalibrering för en fluorofor med samma namn som en fabrikskalibrerad fluorofor, är det den anpassade fluoroforen (inte den fabrikskalibrerade fluoroforen) som används av instrumentet under körningarna.

4. Välj plattyp för fluoroforen.
Om inte plattypen finns i listan skriver du in dess namn i textrutan för att lägga till det i listan.
5. Välj en kanal för fluoroforen.
6. Välj en plattkolumn för fluoroforen.
7. (Valfritt:) Ange en färg som ska associeras med fluoroforen.
8. Klicka på Add to Plate (Lägg till i platta) för att lägga till fluoroforen.
9. (Valfritt:) Upprepa stegen 3–8 och lägg till alla fluoroforer som du planerar att kalibrera för plattan.
10. När du har lagt till alla fluoroforer klickar du på View Plate (Visa platta) för att öppna fönstret Pure Dye Plate Display (Visning av rena plattfluoroforer).
Använd det här fönstret som vägledning för att ladda fluoroforer i plattan.
11. Bered en 96-, 384- eller djupbrunnsplatta för fluoroforkalibreringen:
 - a. Pipettera fluoroforlösning i varje brunn enligt mönstret som visas i Pure Dye Plate Display (Visning av rena plattfluoroforer).
 - b. För varje fluorofor fyller du fyra brunnar med 50 µl (96-brunns- eller djupbrunnsplatta) eller 30 µl (384-brunnsplatta) av 300 nM färgämneslösning. Observera att minst hälften av plattan innehåller tomma brunnar.
 - c. Försegla plattan med förseglingsmetoden som ska användas i experimentet.
12. Placera kalibreringsplattan i blocket och stäng locket.
13. I guiden Dye Calibration (Fluoroforkalibrering) klickar du på Calibrate (Kalibrera) följt av OK för att bekräfta att plattan är i blocket.
14. När CFX Maestro Dx programvara, Security Edition slutför kalibreringskörningen öppnas en dialogruta. Klicka på Yes (Ja) för att slutföra kalibreringen och öppna Dye Calibration Viewer (Visningsprogram för fluoroforkalibrering).
15. Klicka på OK för att stänga fönstret.

Ställa in User Preferences (Användarinställningar)

Tips: Det är inte nödvändigt att utföra dessa åtgärder för att kunna använda CFX Maestro Dx SE. Du kan utan risk hoppa över detta avsnitt eller utföra dessa åtgärder när som helst.

I CFX Maestro Dx SE kan varje användare anpassa sin arbetsmiljö. På menyn Users > User Preferences (Användare > Användarinställningar) kan du till exempel göra följande:

- Ställa in e-postavisering om avslutad körning.
 - Obs!** Den här funktionen är endast tillgänglig för användare vars roll har tilldelats denna behörighet. Se [Hantera användarroller i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition på sidan 43](#) för mer information.
- Ändra standardinställningarna för
 - platsen för att spara filer
 - filerna för körningsinställning
 - filnamnsprefix.
- Ställa in standardparametrar som ska användas vid skapandet av ett nytt protokoll och en ny platta.
- Ställa in standardparametrar för dataanalys och genuttryck.
- Anpassa standardparametrarna för kvalitetskontroll.
- Anpassa dataexportparametrar.

På menyn Tools (Verktyg) kan du göra följande:

- Skapa en masterblandning.
- Kalibrera färger för ett specifikt instrument.

Obs! Masterblandningen och färgkalibreringen är tillgängliga för alla som loggar in i programvaran.

I det här avsnittet förklaras hur dessa åtgärder utförs.

Ställa in e-postaviseringar

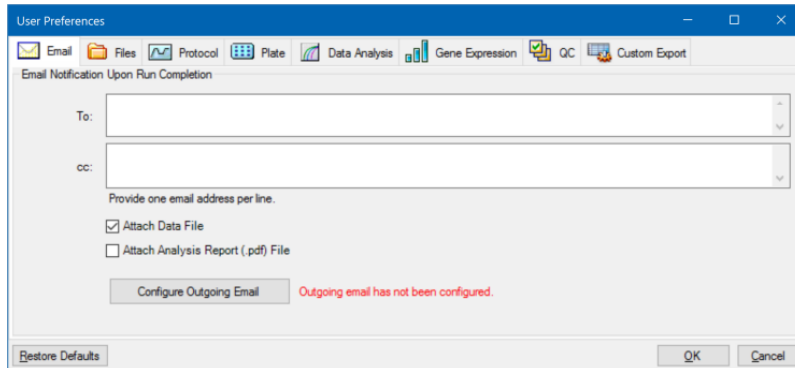
Du kan ansluta CFX Maestro Dx SE till den utgående e-postservern och skicka e-postaviseringar om slutförda körningar till en lista av användare. Du kan också välja att bifoga en datafil och en analysrapport till användarlistan. Information om hur du konfigurerar anslutningen mellan CFX Maestro Dx SE och SMTP-servern finns i [Ansluta Security Edition till en SMTP-server på sidan 81](#).

Obs! En användares möjlighet att få tillgång till konfigurationsfunktioner för e-post beror på användarens roll och behörigheter som tilldelats av administratören. Mer information om hur du hanterar användare och deras roller finns i [Hantera användarroller i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition på sidan 43](#).

Så här ställer du in e-postaviseringar

1. Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) för att öppna dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).

Dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) öppnas med fliken Email (E-post).



Obs! Du meddelas ifall systemet detekterar att du inte ställt in en giltig SMTP-server för CFX Maestro Dx SE. Klicka på Configure Outgoing Email (Konfigurera utgående e-post) för att öppna dialogrutan Options (Alternativ) och konfigurera e-postens SMTP-server. Mer information finns i [Ansluta Security Edition till en SMTP-server på sidan 81](#).

2. Skriv in e-postadresserna till alla personer som du planerar att informera om slutförda körningar i rutan To (Till). Alla mottagare får ett e-postmeddelande när körningen har slutförts.

Obs! Du måste ange varje e-postadress på en separat rad. Tryck på Enter eller Retur efter varje adress.

3. (Valfritt:) Ange e-postadressen till mottagare som du planerar att skicka en kopia av varje e-postavisering till i cc-textrutan.
4. (Valfritt:) Som standard får alla mottagare en kopia av datafilen som bilaga. Avmarkera den här kryssrutan om du inte vill bifoga en kopia av datafilen.
5. (Valfritt:) Välj Attach Analysis Report (Bifoga analysrapport) för att bifoga en PDF-fil med analysrapporten i e-postmeddelandet.
6. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).

Obs! Du kanske kan konfigurera systemet för att skicka ett e-postmeddelande till din mobiltelefon, beroende på din tjänsteleverantör. Kontakta din mobiltelefonleverantör för specifik information om e-postadressen till din mobiltelefon. Ange telefonens e-postadress (till exempel 5552221234@din_

tjänsteleverantör_EmailDomain.net) i textrutan To (Till) på skärmen User Preferences (Användarinställningar).

Så här redigerar du en mottagares e-postadress

- ▶ Ändra e-postadressen efter behov och klicka på OK.

Så här tar du bort en e-postmottagare

1. Välj e-postmottagaren och tryck på Delete-tangenten.
2. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Viktigt! Om du klickar på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) återställs alla inställningar på alla flikar till de ursprungliga fabriksinställningarna. Var försiktig när du klickar på den här knappen.

Ansluta Security Edition till en SMTP-server

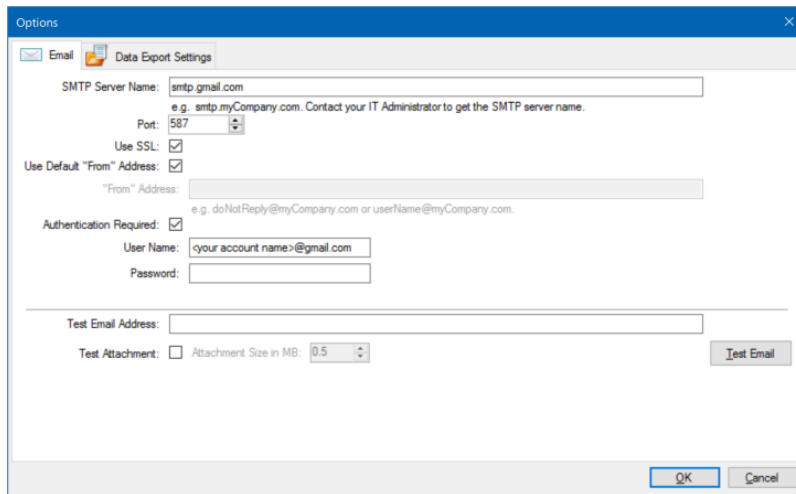
Viktigt! Vissa kommersiella leverantörer av webbmejlstjänster har höjt e-postsäkerheten. Om du använder dessa konton måste du aktivera inställningen **Tillåt mindre säkra appar** i deras kontoinställningar för att CFX Maestro Dx SE ska kunna skicka e-post. Se säkerhetsinformationen för din leverantör av webbmejlstjänster för mer information.

Om du använder Google Gmail eller Microsoft Office 365 SMTP-server för att skicka e-post måste du aktivera tvåfaktorsautentisering och skapa ett applösenord i dina Gmail- eller Office 365-kontoinställningar. För autentisering i Maestro-dialogrutan Email Setup (E-postkonfiguration) kopierar du och klistrar in applösenordet i fältet Password (Lösenord) istället för ett vanligt e-postlösenord.

Du måste etablera en anslutning från CFX Maestro Dx SE till din e-post innan programmet kan skicka e-postmeddelanden.

Så här ansluter du CFX Maestro Dx SE till en e-postserver

1. Gör något av följande:
 - Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) och klicka på Configure Outgoing Email (Konfigurera utgående e-post) på fliken Email (E-post).
 - Välj Tools > Options (Verktyg > Alternativ).
- Dialogrutan Options (Alternativ) visas med fliken Email (E-post).



2. Ange följande information för ditt företag:

- **SMTP Server Name** (Namn på SMTP-server) – namnet på den utgående e-postservern för ditt företag.
- **Port** – portnumret för SMTP-servern. Detta är vanligtvis 25.
- **Use SSL** (Använd SSL) – alternativet Secure Sockets Layer (SSL). Vissa SMTP-serverar kräver denna inställning. Om det inte krävs på ditt företag kan du avmarkera den här kryssrutan.
- **Use Default “From” Address** (Använd standardadress för avsändare) – namnet på e-postservern på ditt företag. Vissa SMTP-serverar kräver att all skickad e-post ska ha en avsändaradress som kommer från en viss domän, t.ex. namn@DittFöretag.com. Om så är fallet avmarkerar du denna kryssruta och anger en giltig e-postadress.
- **Authentication Required** (Autentisering krävs) – om din plats kräver kontoautentisering ska du verifiera att denna kryssruta är ifylld.
- **User Name** (Användarnamn) – namnet på det autentiserade kontot. Detta krävs endast om Authentication Required (Autentisering krävs) har valts.

- **Password** (Lösenord) – lösenordet för det autentiserade kontot. Detta krävs endast om Authentication Required (Autentisering krävs) har valts.

Viktigt! Om du använder Google Gmail eller Microsoft Office 365 SMTP-server för att skicka e-post måste du aktivera tvåfaktorsautentisering och sedan skapa ett applösenord i dina Gmail- eller Office 365-kontoinställningar. För autentisering i Maestro-dialogrutan Email Setup (E-postkonfiguration) kopierar du och klistrar in applösenordet i fältet Password (Lösenord) i CFX Maestro Dx SE istället för ett vanligt e-postlösenord.

För att verifiera att SMTP-serverinställningarna är korrekta anger du en giltig e-postadress i textrutan Test Email Address (Testa e-postadress) och klickar på Test Email (Testa e-post).

Obs! Vissa SMTP-serverar tillåter inte bilagor och andra tillåter bilagor endast upp till en viss storlek. Om du planerar att skicka datafiler och/eller rapporter via e-post med CFX Maestro Dx SE, välj Test Attachment (Testa bilaga) och ställ in Attachment Size in MB (Bilagans storlek i MB) på 5 megabyte (MB) eller mer.

3. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Ändra standardfilinställningarna

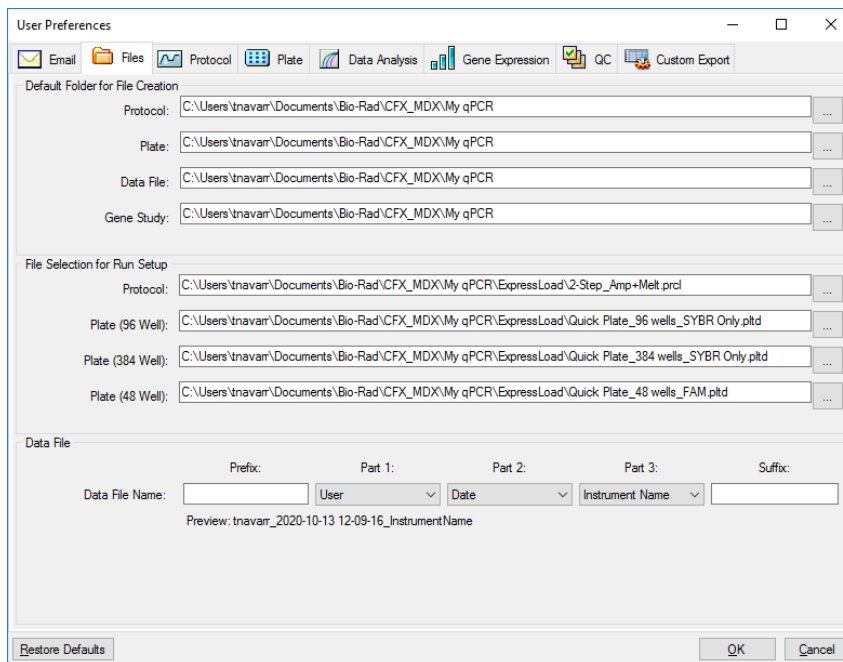
På fliken Files (Filer) i dialogrutan User Preference (Användarpreferens) kan du ändra följande:

- standardplatsen för att spara CFX Maestro Dx SE-filer
- standardfilerna för körningsinställning
- standardparametrar för filnamn.

Så här ändrar du standardfilinställningarna

1. Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) för att öppna dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).
2. I dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) väljer du fliken Files (Filer).

Kapitel 6 Hemfönstret



- I sektionen Default Folder for File Creation (Standardmapp för nya filer) går du till och väljer en standardmapp där du vill spara nya filer. Du kan välja olika platser för varje filtyp:
 - Protocol (Protokoll)
 - Plate (Platta)
 - Data File (Datafil)
 - Gene Study (Genstudie)
- I sektionen File Selection for Run Setup (Filval för körningsinställning) går du till och väljer målprotokollet och plattfilerna som ska visas när du öppnar fönstret Experiment Setup (Experimentinställning).
- I sektionen Data File (Datafil) definierar du prefix och/eller suffix för datafiler. För varje del väljer du ett nytt värde från motsvarande listruta. Du kan även ange anpassade prefix- och suffixvärden i textrutorna Prefix och Suffix.

CFX Maestro Dx SE förhandsvisar filnamnet nedanför valrutorna.

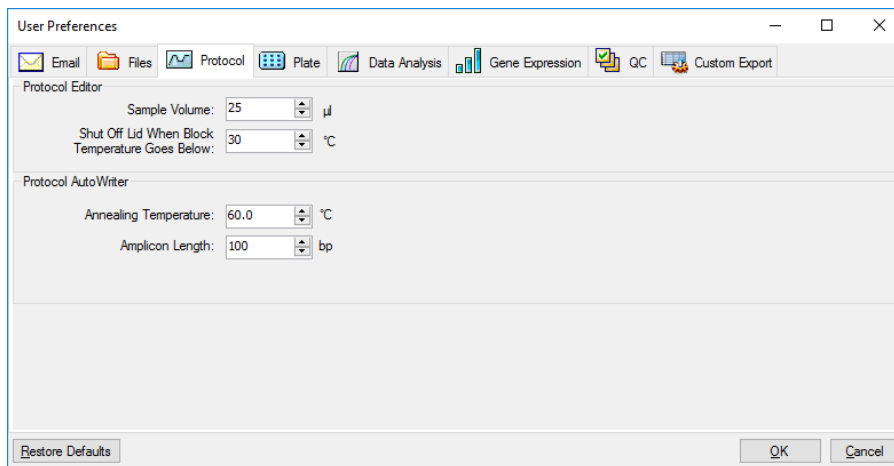
- Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Viktigt! Om du klickar på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) återställs alla inställningar på alla flikar till de ursprungliga fabriksinställningarna. Var försiktig när du klickar på den här knappen.

Ställa in standardprotokollparametrar

Så här ställer du in standardprotokollparametrar för Protocol Editor (Protokollredigerare) och Protocol AutoWriter (Automatisk protokollskrivare)

1. Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) för att öppna dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).
2. Välj fliken Protocol (Protokoll) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).



3. I avsnittet Protocol Editor (Protokollredigerare) anger du värden för följande inställningar som visas i Protocol Editor (Protokollredigerare):
 - **Sample volume** (Provvoly) – volymen av varje prov i brunnarna (i µl).
 - **Lid Shutoff temperature** (Lockavstängningstemperatur) – den temperatur i °C vid vilken lockvärmaren stängs av under en körning.
4. I avsnittet Protocol AutoWriter (Automatisk protokollskrivare) anger du värdena för följande inställningar som visas i Protocol AutoWriter (Automatisk protokollskrivare):
 - **Annealing temperature** (Hybridiseringstemperatur) – temperatur i °C för experiment som använder iProof DNA-polymeras, iTaq DNA-polymeras eller andra polymeraser.
 - **Amplicon length** (Amplikonlängd) – längden på amplikonen i bp.
5. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Viktigt! Om du klickar på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) återställs alla inställningar på alla flikar till de ursprungliga fabriksinställningarna. Var försiktig när du klickar på den här knappen.

Ställa in standardplattparametrar

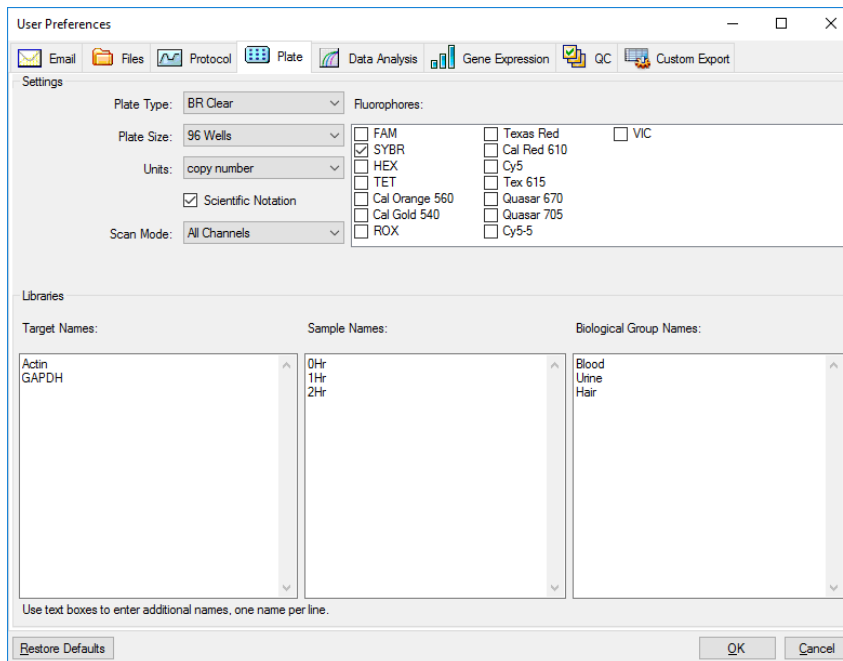
Ändringar som görs på fliken Plate (Platta) är tillgängliga för alla användare av programvaran. Ändringar som görs under plattinställningen är tillgängliga för användare när du har sparat och stängt plattfilen.

I dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) kan du göra följande:

- Ställa in standardplattparametrarna.
- Lägg till nya namn på mål, prover och biologiska grupper i respektive bibliotek.
- Ta bort namn på mål, prover och biologiska grupper i respektive bibliotek.

Så här ställer du in standardplattparametrar

1. Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) för att öppna dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).
2. Välj fliken Plate (Platta) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).



3. Ange värdena för följande inställningar för en ny plattfil. Följande värden visas i fönstret Plate Editor (Plattredigerare):

- **Plate type (Platttyp)**
- **Plate Size (Plattstorlek)**
- **Units (Enheter)** – koncentrationen av startmallen för brunnar som innehåller standarder.
CFX Maestro Dx SE använder dessa enheter för att skapa en standardkurva på fliken Data Analysis Quantification (Dataanalytisk kvantifiering).
- **Scientific notation (Grundpotensform)** – när detta väljs visar CFX Maestro Dx SE koncentrationenheterna i grundpotensform.
- **Scan mode (Skanningsläge)** – antalet eller typen av kanaler som ska skannas under en körning.
- **Fluorophores (Fluoroforer)** – standardfluoroforererna som visas i reglagen för brunnspladdning i Plate Editor (Plattredigerare).
- **Libraries (Bibliotek)** – namn på mål, prover och biologiska grupper som du normalt använder i experiment:
 - Target names (Målnamn)** – namnen på målgener och -sekvenser.
 - Sample names (Provnamn)** – namnen på experimentprover eller en identifierande egenskap för proverna (t.ex. Mouse1, Mouse2, Mouse3 (Mus 1, 2, 3)).
 - Biological group names (Namn på biologiska grupper)** – namnen på grupper av liknande prover som har samma behandlingsstatus eller villkor (t.ex. 0Hr, 1Hr, 2Hr (0, 1, 2 timmar)).

4. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Så här lägger du till ett nytt namn på mål, prov eller biologisk grupp

- ▶ I tillämplig biblioteksruta anger du namnet på målet, provet eller den biologiska gruppen och klickar på OK.

Så här raderar du ett namn på mål, prov eller biologisk grupp

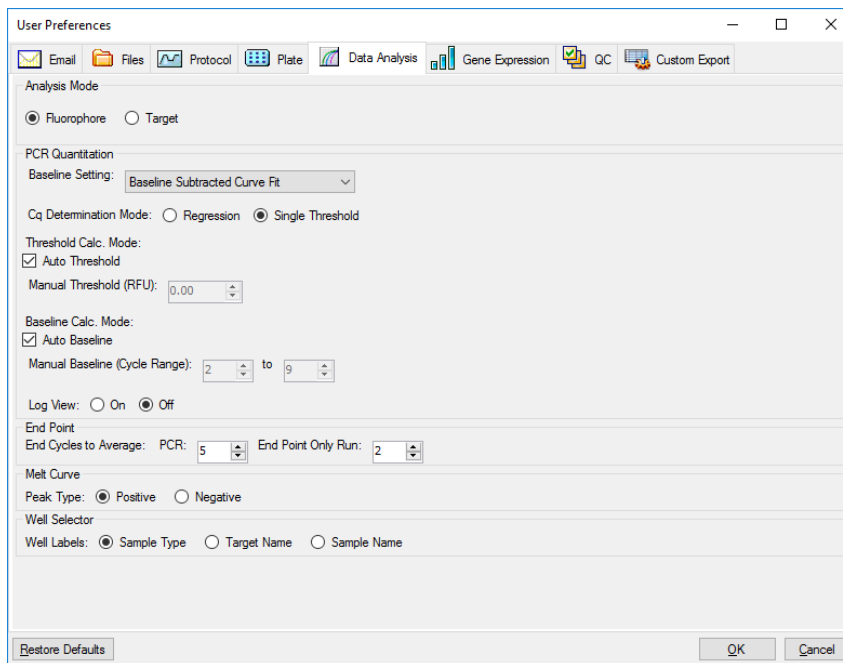
- ▶ Välj namnet i tillämplig biblioteksruta, tryck på Delete-tangenten och klicka på OK.

Viktigt! Namn som du tar bort från biblioteket tas bort från programvaran och är inte längre tillgängliga för användare. Klicka på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) för att återställa CFX Maestro Dx SE-standardnamnen. Om du klickar på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) återställs alla inställningar på alla flikar till de ursprungliga fabriksinställningarna. Var försiktig när du tar bort CFX Maestro Dx SE-standardnamn och klickar på den här knappen.

Ställa in standardparametrar för dataanalys

Så här ställer du in standardparametrar för dataanalys

1. Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) för att öppna dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).
2. I dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) väljer du fliken Data Analysis (Dataanalys).



3. I avsnittet Analysis Mode (Analysläge) väljer du läget som data ska analyseras i (Fluorophore (Fluorofor) eller Target (Mål)).
4. I avsnittet PCR Quantitation (PCR-kvantifiering) ställer du in standardparametrarna för följande alternativ:

- **Baseline Setting** (Baslinjeinställning) – baslinjemetoden för analysläget.
- **Cq Determination Mode** (Cq-bestämningsläge) – läget i vilket C_q-värdena beräknas för varje fluorescenskurva (antingen regression eller enkelt tröskelvärde).
- **Threshold Calc. Mode** (Läge för tröskelvärdesberäkning) – slutpunktsmålmängden.

Standard är Auto. Med andra ord beräknar programvaran slutpunktsmålet automatiskt. För att ställa in ett specifikt tröskelvärde avmarkerar du kryssrutan Auto och anger ett slutpunktsvärde beräknat i RFU (Relative Fluorescence Units). Det högsta värdet är 65 000,00 RFU. Datafiler för efterföljande körningar använder denna tröskelvärdesinställning.

- **Baseline Calc. Mode** (Läge för baslinjeberäkning) – baslinjevärde för alla kurvor.

Standard är Auto. Med andra ord beräknar programvaran baslinjen för alla kurvor automatiskt. Du ställer in ett specifikt baslinjevärde genom att avmarkera kryssrutan Auto och ange minimi- och maximivärden för cykelintervallet (1 till 9 999). Datafiler för efterföljande körningar använder detta cykelintervall.

- **Log View** (Logaritmisk visning) – avgör hur programvaran visar amplifieringsdata:

- On** (På) – amplifieringsdata visas i ett semilogaritmiskt diagram.

- Off** (Av) – (standard) amplifieringsdata visas i ett linjärt diagram.

5. I avsnittet End Point (Slutpunkt) väljer du antalet slutcykler som ska beräknas medeltalet av när slutpunktsberäkningar utförs:

- **PCR** – antalet slutcykler för vilka ska beräknas medeltalet för kvantifieringsdata (standard är 5).

- **End Point Only run** (Körning av endast slutpunkter) – antalet slutcykler som ska beräknas medeltalet av för slutpunktsdata (standard är 2).

6. I avsnittet Melt Curve (Smältkurva) väljer du topptypen som ska detekteras (positiv eller negativ).

7. I avsnittet Well Selector (Brunnsväljare) väljer du hur brunnsetiketter ska visas (efter provtyp, målnamn eller provnamn).

8. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Viktigt! Om du klickar på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) återställs alla inställningar på alla flikar till de ursprungliga fabriksinställningarna. Var försiktig när du klickar på den här knappen.

Ställa in standardparametrar för genuttrycksdatafil

Så här ställer du in standardparametrar för en ny genuttrycksdatafil

1. Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) för att öppna dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).
2. Välj fliken Gene Expression (Genuttryck) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).
3. Specificera värdena för följande inställningar:
 - **Relative to** (I relation till) – graf för genuttrycksdata i relation till antingen en kontroll (med början vid 1) eller till noll:
 - **Zero** (Noll) – programmet ignorerar kontrollen. Detta är standarden när inget kontrollprov är tilldelat i fönstret Experiment Settings (Experimentinställning).
 - **Control** (Kontroll) – programmet beräknar data i relation till kontrollprovet som är tilldelat i fönstret Experiment Setup (Experimentinställning).
 - **X-axis** (X-axel) – graf för provet eller målet på x-axeln.
 - **Y-axis** (Y-axel) – graf för linjär, log2 eller log10-skala på y-axeln.
 - **Scaling** (Skalning) – skalningsalternativet för grafen (standardalternativet är utan skalning):
 - **Highest** (Högst) – programmet skalar grafen enligt den högsta datapunkten.
 - **Lowest** (Lägst) – programmet skalar grafen enligt den lägsta datapunkten.
 - **Unscaled** (Utan skalning) – programmet visar data utan skalning i grafen.
 - **Mode** (Läge) – analysläget, antingen relativ kvantitet (ΔC_q) eller normaliserat uttryck ($\Delta\Delta C_q$).
 - **Error Bar** (Felstapel) – datavariationen visas som antingen standardavvikelse (Std. Dev.) (SD) eller medelvärdets standardfel (Std. Error Mean) (SEM).
 - **Error Bar Multiplier** (Felstapelmultiplikator) – standardavvikelsemultiplikator som används för att rita en graf av felstaplarna (standarden är 1).

Du kan öka multiplikatorn till antingen 2 eller 3.
 - **Sample Types to Exclude** (Provtyper att exkludera) – provtyper som ska exkluderas från analysen.

Du kan välja ett eller flera prover som ska exkluderas från analysen. För att exkludera alla provtyper rensar du kryssrutorna för valda provtyper.
4. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Viktigt! Om du klickar på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) återställs alla inställningar på alla flikar till de ursprungliga fabriksinställningarna. Var försiktig när du klickar på den här knappen.

Anpassa kvalitetskontrollregler

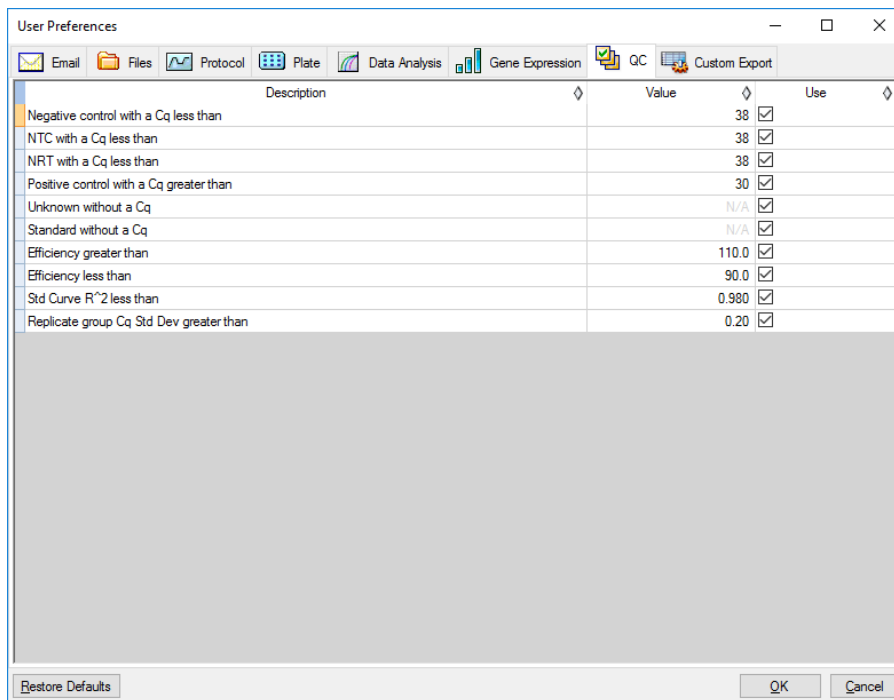
I CFX Maestro Dx SE kan du ange kvalitetskontrollregler som tillämpas på data i fönstret Data Analysis (Dataanalys). Programvaran validerar data i förhållande till reglerna som du anger.

Obs! Alla kvalitetskontrollregler är aktiverade som standard.

Tips: Du kan enkelt utesluta brunnar som inte klarar en kvalitetskontrollparameter från analys i kvalitetskontrollmodulen för fönstret Data Analysis (Dataanalys).

Så här anpassar du kvalitetskontrollregler

1. Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) för att öppna dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).
2. I dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) väljer du fliken QC (Kvalitetskontroll).



Där:

- **NTC** – ingen templatkontroll

- **NRT** – inget omvänt transkriptas
 - **Efficiency** (Effektivitet) – reaktionseffektivitet
 - **Std Curve R²** – R-kvadratvärde för standardkurva
 - **Replicate group Cq Std Dev** (Beräkning av standardavvikelse för replikatgrupp) – standardavvikelse beräknad för varje replikatgrupp
3. Gör något av följande för varje kvalitetskontrollregel:
 - Om du vill använda standardvärdet gör du ingenting.
 - För att ändra värdet klickar du på textrutan Value (Värde) och trycker på Retur.
 - Avmarkera relevant kryssruta för Use (Använd) för att inaktivera regeln.
 4. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Viktigt! Om du klickar på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) återställs alla inställningar på alla flikar till de ursprungliga fabriksinställningarna. Var försiktig när du klickar på den här knappen.

Anpassa parametrarna för dataexport

Det går att exportera CFX Maestro Dx SE-data i följande format:

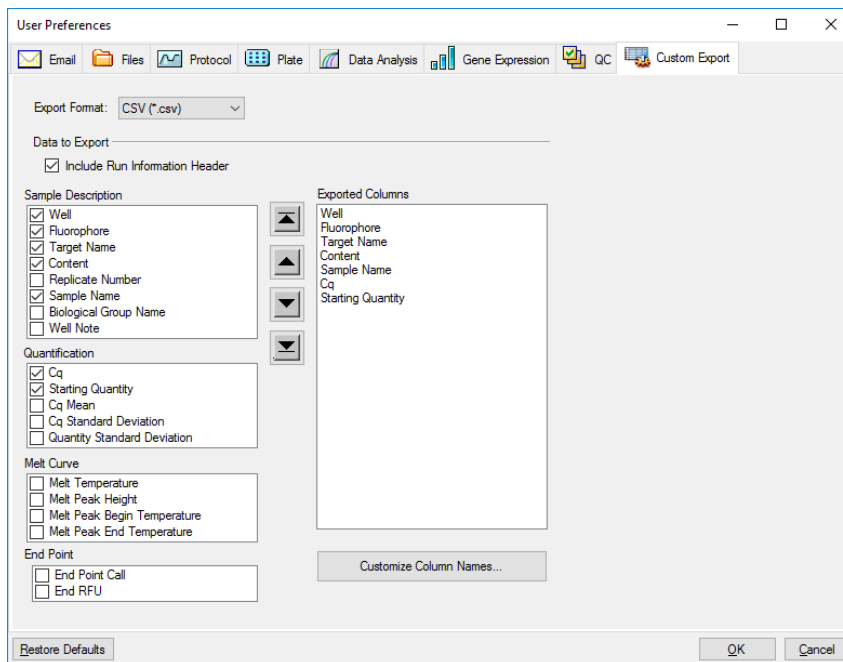
- Text (.txt)
- CSV (.csv)
- Excel (.xls, .xlsx)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

Viktigt! Din dator måste ha Microsoft Excel installerat för att du ska kunna exportera data till ett Microsoft Excel-kalkylblad.

Du kan ange typen av data som ska exporteras och anpassa utmatningen av exporterade data.

Så här anpassar du dataexportparametrar

1. Välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) för att öppna dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).
2. Välj fliken Custom Export (Anpassad export) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).



3. I listrutan Export Format (Exportformat) väljer du formatet som data ska exporteras i.
4. I avsnittet Data to Export (Data som ska exporteras) markerar eller avmarkerar du kryssrutorna för typen av data som ska exporteras. De valda objekten visas i listrutan Exported Columns (Exporterade kolumner).

Obs! Som standard ingår körningsinformation i rubriken. Avmarkera den här kryssrutan om du inte vill att körningsinformation ingår.

5. Du kan ändra den utmatade visningsordningen för de valda objekten.

I listrutan Exported Columns (Exporterade kolumner) markerar du objektet och klickar på pilknapparna till vänster om listan för att flytta det uppåt eller nedåt.

6. Det går att ändra de utmatade kolumnnamnen för de valda objekten:
 - a. Klicka på Customize Column Names (Anpassa kolumnnamn).
Dialogrutan Column Name Customizer (Anpassare av kolumnnamn) öppnas.
 - b. För varje standardkolumnnamn som du vill ändra skriver du in det nya namnet i dess fält Custom Name (Anpassat namn).

c. Gör något av följande:

- Klicka på OK för att spara ändringarna och återgå till fliken Custom Export (Anpassad export). Det nya namnet visas i parentes bredvid standardkolumnnamnet i listrutan Exported Columns (Exporterade kolumner).
- Klicka på Cancel (Avbryt) för att rensa ändringarna och återgå till fliken Custom Export (Anpassad export).

7. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan.

Viktigt! Om du klickar på Restore Defaults (Återställ standardinställningar) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) återställs alla inställningar på alla flikar till de ursprungliga fabriksinställningarna. Var försiktig när du klickar på den här knappen.

Kapitel 7 Skapa protokoll

Ett protokoll är en uppsättning steg som exekveras i en specifik sekvens. I CFX Maestro Dx programvara, Security Edition är alla steg associerade med alternativ på instrumentet. Till exempel instruerar stegen instrumentet att styra block- och locktemperaturen, använda en temperaturskillnad i hela blocket, göra en plattavläsning eller utföra en smältkurvsanalys. Varje alternativ specificeras för olika platt- och körningstyper.

CFX Maestro Dx SE erbjuder två alternativ för att skapa protokoll: Protocol Editor (Protokollredigerare) och Protocol AutoWriter (Protokollförslag).

I Protocol Editor (Protokollredigerare) finns följande funktioner:

- standardprotokollsreglage för att snabbt skapa protokoll
- möjlighet att snabbt beräkna en gradient för det valda antalet rader
- möjlighet att snabbt beräkna körtiden för den valda plattypen
- möjlighet att redigera protokollsteg
- möjlighet att spara protokoll för återanvändning
- möjlighet att skriva ut protokollet på en standardskrivare.

Protocol AutoWriter (Protokollförslag) genererar automatiskt ett anpassat PCR-protokoll med stegen "hot start", initial denaturering, hybridisering och extension utifrån dina angivna parametrar. Du kan sedan visa en grafisk representation av det föreslagna protokollet och redigera, köra eller spara protokollet.

Parametrar och intervall för protokollsteg

Använd informationen i [Tabell 7](#) för att ändra standardinställningarna för stegen i ditt protokoll.

Temperatursteg

Måltemperaturen är ett värde mellan 4,0 och 100,0 °C, angett i tiondelar av en grad. Systemet går upp till denna temperatur och håller värdet under en viss tid (hålltiden).

Gradientsteg

Gradientintervallet är skillnaden mellan den lägsta och den högsta temperaturen i ett gradientsteg. Största tillåtna intervall är 24 °C. Den lägre temperaturen är ett värde mellan 30,0 och 99,0 °C, angett i tiondelar av en grad. Den högsta övre temperaturen är 100 °C. Instrumentet går upp till den önskade temperaturgradienten över blocket och håller den temperaturen under en viss hålltid.

Viktigt! Instrumentet beräknar gradientvärdet. När du anger ett värde i gradientkalkylatorns övre och nedre fält beräknar och tilldelar programvaran automatiskt temperaturerna för de återstående fälten. När du anger en temperatur i något fält mellan det övre och det nedre fältet beräknar instrumentet automatiskt de återstående fälten. Du kan inte ange temperaturvärden manuellt i alla fält.

Tabell 7. Parametrar och intervall för protokollsteg

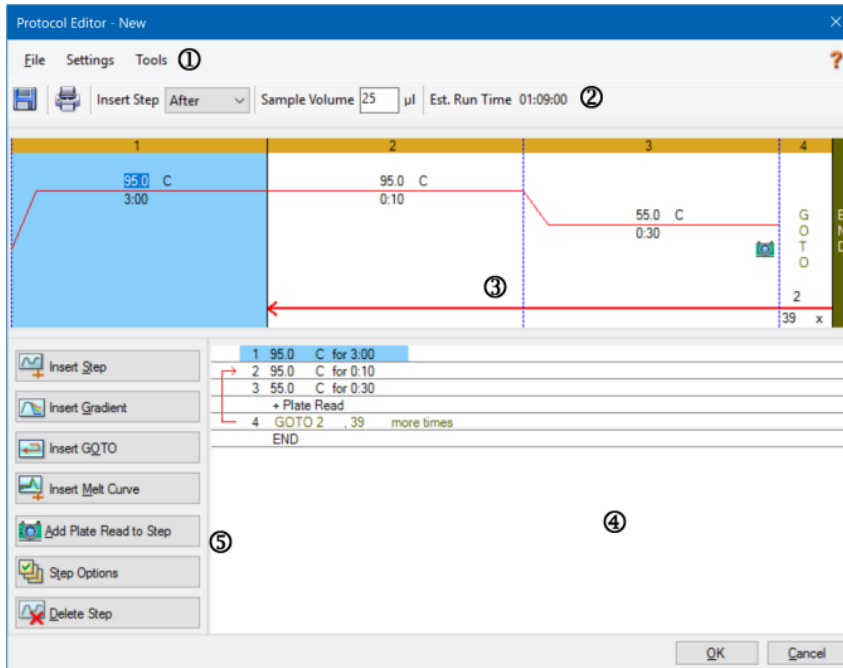
Parameter	Intervall	Beskrivning
Ramp rate (Ramphastighet)	<ul style="list-style-type: none"> ■ För systemen CFX Opus 96 Dx: 0,1–5 °C per sekund ■ För systemen CFX Opus 384 Dx: 0,1–2,5 °C per sekund ■ För systemen CFX Opus Deepwell Dx: 0,1–2,5 °C per sekund 	Instruerar instrumentet att rampa till måltemperaturen vid den angivna hastigheten i det steget. Endast tillgängligt för temperatursteg.
Increment (Temperatursteg)	Ett tal från -10,0 till 10,0 °C per cykel i tiondels grad	Instruerar instrumentet att ändra måltemperaturen för ett steg i varje cykel, där ett positivt tal ökar temperaturen och ett negativt tal minskar temperaturen. Endast tillgängligt för temperatursteg.

Tabell 7. Parametrar och intervall för protokollsteg, forts.

Parameter	Intervall	Beskrivning
Extend (Förläng)	En tid från -60 till 60 sekunder per cykel	Instruerar instrumentet att förlänga hålltiden i varje cykel. Ett positivt tal ökar hålltiden och ett negativt tal minskar hålltiden. Tillgängligt för både temperatur- och gradientsteg.
Beep (Pip)	(Inga parametrar)	Instruerar instrumentet att pipa för att signalera att instrumentet har nått måltemperaturen för det steget. Endast tillgängligt för temperatursteg.
Plate read (Plattläsning)	(Inga parametrar)	Instruerar instrumentet att lägga till en plattläsning i det valda steget. Tillgängligt för både temperatur- och gradientsteg.

Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare)

Använd Protocol Editor (Protokollredigerare) för att skapa, öppna, granska och redigera ett protokoll. Som standard öppnas Protocol Editor (Protokollredigerare) och visar ett realtidsprotokoll med två steg för en platta med 96 brunnar.



FÖRKLARING

1. Menyraden ger snabb åtkomst till kommandon på menyerna File (Arkiv), Settings (Inställningar) och Tools (Verktyg).
2. Med verktygsraden kan du snabbt spara och skriva ut protokollet, fastställa var ett steg ska infogas, ange provvolym samt visa beräknad protokollkörningstid.
3. Huvudrutan visar en grafisk representation av protokollet.
4. Den nedre rutan visar protokollskissen.
5. Den vänstra rutan visar protokollkontroller som du kan lägga till för att anpassa protokollet.

Kommandon på menyn File (Arkiv)

Save (Spara) – sparar det aktuella protokollet.

Save As (Spara som) – sparar det aktuella protokollet med ett nytt namn eller på en ny plats.

File Passwords (Fillösenord) – gör det möjligt för användare att ställa in lösenord för att spara och öppna filer.

Tips: För mer information, se [Lösenordsskyddade filer på sidan 50](#).

Close (Stäng) – stänger Protocol Editor (Protokollredigerare).

Kommando på menyn Settings (Inställningar)

Lid Settings (Lockinställningar) – öppnar dialogrutan Lid Setting (Lockinställning) i vilken du kan ändra eller ställa in locktemperaturen.

Kommandon på menyn Tools (Verktyg)

Gradient Calculator (Gradientkalkylator) – öppnar en dialogruta där du kan välja blocktyp för ett gradientsteg. Standard är 96 brunnar.

Run time Calculator (Kalkylator för körningstid) – öppnar en dialogruta där du kan välja plattyp och skanningsläge för att beräkna uppskattad körningstid i fönstret Run Setup (Körningsinställning). Standard är 96 brunnar, alla kanaler.

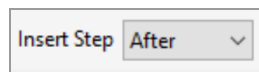
Kommandon i verktygsraden



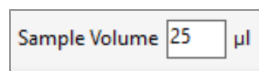
– sparar den aktuella protokollfilen.



– skriver ut det valda fönstret.

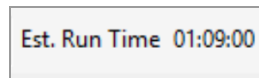


– använd det här kommandot för att välja var steg ska infogas i relation till det aktuella valda steget.



– använd det här kommandot för att ange en provvolym i µl. Provvolymer skiljer sig åt beroende på typen av block:

- För ett block med 96 brunnar är intervallet 0–50 µl.
- För ett block med 384 brunnar är intervallet 0–30 µl.
- För ett block med 96 djupa brunnar är intervallet 0–125 µl.



– visar beräknad körningstid baserat på protokollsteg, stigningshastighet och den valda typen av block.

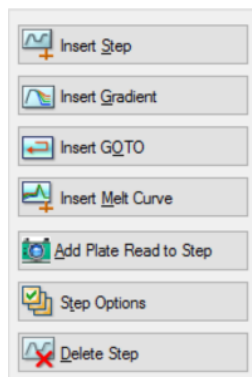


– visar hjälpinformation om protokoll.

Protokollredigeringskontroller

Den vänstra rutan i fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare) har kontroller med vilka du kan skapa protokoll.

Varje kontroll består av en uppsättning parametrar som representerar ett steg i protokollet. Du kan ändra varje parameter och lägga till eller ta bort dem för att anpassa protokollet. Den här sektionen beskriver alternativen i varje kontroll.



- **Insert Step** (Infoga steg) – infogar ett steg före eller efter det valda steget. Du kan redigera temperatur- och hålltidsvärden i protokollets grafiska visning eller i protokollöversikten.
- **Insert Gradient** (Infoga gradient) – infogar ett gradientsteg baserat på typ av brunnsblock som har valts i gradientkalkylatorn. Du kan redigera gradientintervallet i rutan Gradient som visas när ett gradientsteg infogas.
- **Insert GOTO** (Infoga GOTO) – infogar ett cykliskt (loop)steg som instruerar programvaran att upprepa specifika steg i sekvens för ett visst antal cykler. Repetitionerna inleds när den första cykeln är avslutad. Du kan till exempel instruera programvaran att utföra 39 repetitioner av steg 2–4. Efter den slutliga repetitionen kommer programvaran att ha utfört steg 2–4 totalt 40 gånger. Du kan redigera återgå-till-steget (GOTO) och antalet cykler antingen i den grafiska visningen eller i protokollöversikten.
- **Insert Melt Curve** (Infoga smältkurva) – infogar ett avläsningssteg för smältkurvan.
- **Insert Plate Read to Step** (Infoga plattavläsning i steg) – lägger till ett plattavläsningskommando i det valda steget. En plattavläsning mäter fluorescensmängden i slutet av en cykel. Plattavläsningsteget är vanligen det sista steget i en GOTO-loop.

Tips: När du har lagt till ett plattavläsningskommando i ett steg ändras knappen till Remove Plate Read (Ta bort plattavläsning) när du väljer ett steg.

- **Remove Plate Read** (Ta bort plattavläsning) – tar bort ett plattavläsningskommando från det valda steget.

Tips: När du har tagit bort ett plattavläsningskommando från ett steg ändras knappen till Add Plate Read to Step (Lägg till plattavläsning till steg) när du väljer steget.

- **Step Options** (Stegalternativ) – öppnar dialogrutan Step Options (Stegalternativ) och visar tillgängliga alternativ för det valda steget. Se [Step Options \(Stegalternativ\) på sidan 102](#) för ingående information om stegalternativen.

Tips: Du kan också använda Step Options (Stegalternativ) genom att högerklicka på steget i den grafiska visningen.

- **Delete Step** (Ta bort steg) – tar bort det valda steget från protokollet.

Step Options (Stegalternativ)

Öppna dialogrutan Step Options (Stegalternativ) för att visa alternativ som du kan lägga till, ändra eller ta bort från ett steg.

Step Options

Step 1

Plate Read

Temperature 95.0 °C

Gradient °C

Increment °C/cycle

Ramp Rate °C/sec

Time 3:00 sec/cycle

Extend sec/cycle

Beep

Gradient

A

B

C

D

E

F

G

H

OK Cancel

- **Plate Read** (Plattläsning) – genom att välja det här alternativet lägger du till en plattläsning i steget.
- **Temperature** (Temperatur) – anger måltemperaturen för det valda steget.
- **Gradient** – anger gradientintervallet för steget. Intervallet är 1–24 °C.

Obs! En gradient körs med den lägsta temperaturen framtill i blocket (rad H i den här bilden) och den högsta temperaturen baktill på blocket (rad A i den här bilden).

- **Increment** (Temperatursteg) – storleken på ökningen (eller minskningen) av temperaturen för det valda steget. Det här värdet adderas till måltemperaturen med varje cykel. Området är ± 0,1–10 °C.

Obs! För att minska temperaturen skriver du ett minustecken (–) före det numeriska värdet (till exempel –5 °C).

- **Ramp Rate** (Ramphastighet) – ramphastigheten för det valda steget. Intervallet beror på blockstorleken.
- **Time** (Tid) – hålltiden för det valda steget.

- **Extend** (Förläng) – den tid (i sekunder) med vilken du vill förlänga eller förkorta det valda steget. Det här alternativet läggs till hålltiden i varje cykel. Intervallet är $\pm 1-60$ sekunder.
- **Beep** (Pip) – när alternativet är valt hörs ett pip under steget.

Tips: När du anger ett nummer utanför alternativintervallet ändrar programvaran numret till det närmaste värdet inom intervallet.

Skapa ett protokoll i Protocol Editor (Protokollredigerare)

I Protocol Editor (Protokollredigerare) kan du skapa anpassade protokollfiler. Det går även att redigera och spara tidigare sparade protokollfiler eller provprotokollfiler som levererats med CFX Maestro Dx SE.

Gör följande för att skapa en ny protokollfil:

- Öppna en protokollfil i Protocol Editor (Protokollredigerare).
Tips: Du kan öppna ett nytt eller befintligt protokoll i Protocol Editor (Protokollredigerare).
- Ställ in det nya protokollet.
- Lägg till protokollsteg i protokollkontrollsrutan.
- Redigera stegens egenskaper.
- Spara protokollet.

Tips: Information om hur du skapar ett nytt protokoll av en tidigare sparad eller provprotokollfil finns i [Öppna ett befintligt protokoll i Protocol Editor \(Protokollredigerare\) på sidan 105](#).

Öppna en ny protokollfil i Protocol Editor (Protokollredigerare)

CFX Maestro Dx SE har flera alternativ för att öppna en ny protokollfil:

- Från menyn File (Arkiv) i hemfönstret
- Från dialogrutan Run Setup (Körningsinställning) i hemfönstret
- Från dialogrutan Startup Wizard (Startguide) i hemfönstret

Så här öppnar du en ny protokollfil från menyn File (Arkiv)

- ▶ Välj File > New > Protocol (Arkiv > Nytt > Protokoll) i hemfönstret.

Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare) öppnas och visar standardprotokollfilen.

Tips: Information om hur du ställer in standardprotokollet finns i [Ändra standardfilinställningarna på sidan 83](#).

Så här öppnar du ett nytt protokoll i dialogrutan Run Setup (Körningsinställning)

1. Gör något av följande i hemfönstret för att öppna dialogrutan Run Setup (Körningsinställning):
 - Välj Run > User-defined Run (Körning > Användardefinierad körning).
 - Klicka på User-defined Run Setup (Användardefinierad körningsinställning) på verktygsraden.

Dialogrutan Run Setup (Körningsinställning) öppnas med fliken Protocol (Protokoll) och visar standardprotokollfilen.

2. Klicka på Create New (Skapa ny).

Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare) öppnas och visar standardrealtidsprotokollet.

Så här öppnar du en ny protokollfil i Startup Wizard (Startguide)

1. Gör något av följande i hemfönstret för att öppna Startup Wizard (Startguide) om den inte är i vyn:

- Välj View > Startup Wizard (Visa > Startguide).
- Klicka på Startup Wizard (Startguide) i verktygsraden.

2. Välj vid behov instrumenttyp från listrutan.

3. Klicka på User-defined (Användardefinierad) som Run type (Körningstyp).

Dialogrutan Run Setup (Körningsinställning) öppnas med fliken Protocol (Protokoll) och visar standardprotokollfilen.

4. Klicka på Create New (Skapa ny).

Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare) öppnas och visar standardrealtidsprotokollet.

Så här öppnar du ett nytt protokoll från menyn Run (Körning)

1. Gör något av följande i hemfönstret för att öppna dialogrutan Run Setup (Körningsinställning):

- Välj Run > User-defined Run (Körning > Användardefinierad körning).
- Klicka på User-defined Run Setup (Användardefinierad körningsinställning) på verktygsraden.

Dialogrutan Run Setup (Körningsinställning) öppnas med fliken Protocol (Protokoll) och visar standardprotokollfilen.

2. Klicka på Create New (Skapa ny).

Fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare) öppnas och visar standardrealtidsprotokollet.

Öppna ett befintligt protokoll i Protocol Editor (Protokollredigerare)

CFX Maestro Dx SE tillhandahåller provprotokollfiler som du kan redigera och spara som anpassade nya protokoll. Du kan också skapa ett nytt protokoll utifrån ett befintligt anpassat protokoll.

Så här öppnar du en provprotokollfil

1. Välj File > Open (Arkiv > Öppna) i hemfönstret.
Utforskaren i Windows öppnas som standard på platsen för mappen Sample Files (Provfiler) för CFX Maestro Dx SE.
2. Öppna mappen Sample files (Provfiler). Följande mappar visas:
 - **ConventionalProtocols** (Konventionella protokoll) – innehåller exempelprotokollfiler för traditionell PCR-analys.
 - **DataFiles** (Datafiler) – innehåller exempeldatafiler som du kan använda för att utforska funktionerna i CFX Maestro Dx SE.
 - **MeltCalibration** (Smältkalibrering) – innehåller exempelprotokollfiler för användning med Bio-Rads programvara för precisionssmältanalys.
 - **Plates** (Plattor) – innehåller exempelplattfiler.
 - **RealTimeProtocols** (Realtidsprotokoll) – innehåller exempelprotokollfiler för PCR-analys i realtid.
3. Öppna protokollmappen för typen av körning som du vill genomföra, antingen ConventionalProtocols (Konventionella protokoll) eller RealTimeProtocols (Realtidsprotokoll).
4. Välj önskat protokoll och klicka på Open (Öppna).
Protokollet öppnas i fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare).
5. Välj File > Save As (Arkiv > Spara som) och spara protokollet med ett nytt namn eller i en ny mapp.

Så här öppnar du ett befintligt protokoll

1. Gör något av följande i fönstret Home (Hem):
 - Välj File > Open > Protocol (Arkiv > Öppna > Protokoll). Gå till och välj målprotokoll och klicka på Open (Öppna).
 - Öppna Startup Wizard (Startguide) och gör något av följande:
 - Klicka på Edit Selected (Redigera valt) för att redigera protokollet som visas.
 - Klicka på Select Existing (Välj befintligt) och gå till målfilen för att redigera ett annat befintligt protokoll.

Protokollet öppnas i fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare).
2. Välj File > Save As (Arkiv > Spara som) och spara protokollet med ett nytt namn eller i en ny mapp.

Konfigurera ett nytt protokoll

Tips: Om protokollfilen innehåller de nödvändiga parametrarna (t.ex. om du redigerar en befintlig plattfil) kan du hoppa över det här avsnittet. Gå till [Lägga till steg till ett protokoll på sidan 109](#).

Följande parametrar krävs för nya protokollfiler:

- Block type (Blocktyp)
- Scan mode (Skanningsläge) för vald blocktyp
- Lid temperature (Locktemperatur)
- Sample volume (Provolym)

Ställa in blocktypen

CFX Maestro Dx SE beräknar automatiskt temperatursteg för gradientsteg baserat på blocktypen.

Obs! Platttypen som är inställd i Protocol Editor (Protokollredigerare) måste vara densamma som plattan i reaktionsmodulen.

Så här ställer du in blocktypen

- ▶ I fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare) väljer du Tools > Gradient Calculator (Verktyg > Gradientkalkylator) och väljer lämplig platttyp i listrutan som visas.

Välja Scan Mode (Skanningsläge) för vald Block Type (Blocktyp)

Välj målets blocktyp och skanningsläge för att bestämma protokollets körtid.

Så här väljer du blocktyp och skanningsläge

- ▶ I fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare) väljer du Tools > Run time Calculator (Verktyg > Körtidskalkylator) och väljer lämplig platttyp och skanningsläge i listrutan som visas.

Justera locktemperaturen

CFX Maestro Dx SE ställer in standardlocktemperaturer enligt följande:

- Instrument med 96 brunnar och djupa brunnar – 105,0 °C
- Instrument med 384 brunnar – 95,0 °C

Du kan ändra standardinställningarna eller stänga av lockvärmaren enligt vad som krävs för protokollet.

Så här justerar du locktemperaturen

1. I fönstret Plate Editor (Plattredigerare) väljer du Settings > Lid Settings (Inställningar > Lockinställningar).
Dialogrutan Lid Settings (Lockinställningar) visas.
2. Gör något av följande:
 - Välj User Defined (Användardefinierad) och skriv in ett temperaturvärde i textrutan.
 - Välj Turn Off Lid Heater (Stäng av lockvärmare).
3. Klicka på OK för att acceptera ändringarna och stänga dialogrutan

Ställa in provvolymen

Som standard ställer CFX Maestro Dx SE in provvolymen för varje brunn på 25 µl. Provvolymer skiljer sig åt beroende på typen av block, till exempel:

- 0–50 µl för ett block med 96 brunnar
- 0–30 µl för ett block med 384 brunnar

Instrumentet använder ett av två kontrollägen för att bestämma när provet når måltemperaturen i ett protokoll:

- **Calculated mode** (Beräknat läge) – när provvolymen är inställd på en volym som inte är noll och som är lämplig för blocket, beräknar instrumentet provtemperaturen baserat på provvolymen. Detta är standardläget.
- **Block mode** (Blockläge) – när provvolymen är inställd på noll (0) µl, registrerar instrumentet provtemperaturen som identisk med den uppmätta blocktemperaturen.

Så här ställer du in provvolymen för ett specifikt block

- ▶ I fönstret Plate Editor (Plattredigerare) ställer du in rätt värde i textrutan Sample Volume (Provvolum) i verktygsraden.

Tips: Du kan ändra standardprovvolymer i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar). Se [Ändra standardfilinställningarna på sidan 83](#).

Lägga till steg till ett protokoll

För att lägga till ett steg till ett protokoll

1. Öppna protokollet i fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare).
2. Bestäm var det nya steget ska infogas. I verktygsraden väljer du Before (Före) eller After (Efter) i listrutan Step (Steg).
3. I diagrammet väljer du steget före eller efter vilket du tänker infoga det nya steget.
4. Klicka på Insert Step (Infoga steg) i den vänstra rutan.
5. För att ändra temperaturen eller hålltiden klickar du på standardvärdet i diagrammet eller på protokollramen och skriver ett nytt värde.
6. (Valfritt) Klicka på Step Options (Stegalternativ) i den vänstra rutan för att visa dialogrutan Step Options (Stegalternativ) och ändra de tillgängliga alternativen för det valda steget.

Tips: Du kan öppna dialogrutan Step Options (Stegalternativ) från högerklicksmenyn antingen i diagramrutan eller protokollramsrumen.

7. Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara ändringar i protokollet.

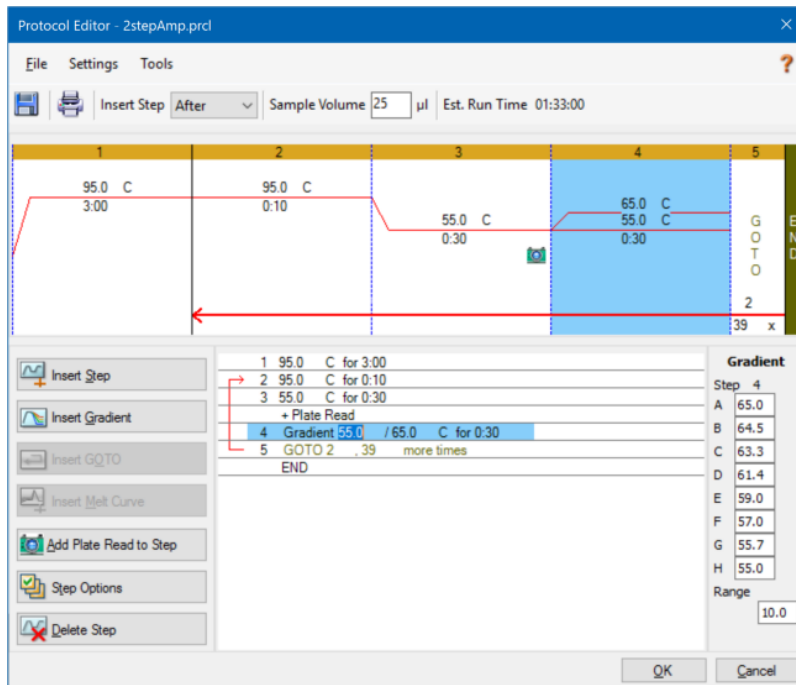
Dialogrutan Save As (Spara som) visas.

8. Skriv in ett nytt namn för den nya protokollfilen i dialogrutan Save As (Spara som) och klicka på Save (Spara).

Infoga ett gradientsteg

Så här infogar du ett gradientsteg

1. Kontrollera att plattstorleken för gradienten är densamma som blocktypen för instrumentet, 96 brunnar, 384 brunnar eller djupa brunnar.
2. Om inte det har gjorts väljer du plattstorlek för gradienten:
Välj Tools > Gradient Calculator (Verktyg > Gradientkalkylator) och välj lämplig brunnstyp i listrutan.
3. Välj Before (Före) eller After (Efter) i listrutan Insert Step (Infoga steg) i verktygsraden.
4. Välj steget före eller efter vilket du planerar att infoga gradientsteget i diagram- eller dispositionsfönstret.
5. Klicka på Insert Gradient (Infoga gradient) i den vänstra rutan. Det nya gradientsteget markeras i diagram- eller dispositionsfönstret, exempelvis:



Temperaturen för varje rad i gradienten visas i tabellen Gradient i den högra rutan.

6. Du redigerar gradienttemperatursintervallet genom att göra något av följande:
 - Klicka på standardtemperaturen i diagram- eller dispositionsfönstret och ange en ny temperatur.
 - Klicka på Step Options (Stegalternativ) för att komma till gradientintervallet i fönstret Step Options (Stegalternativ).
 - Ändra värdet Range (Område) i tabellen Gradient.
7. Du redigerar hålltiden genom att klicka på standardtiden i grafik- eller textvyn och ange en ny tid.
8. Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara ändringarna.

Infoga ett GOTO-steg

Obs! Du kan inte infoga ett GOTO-steg inom en GOTO-uppsättning. Du kan inte skapa inbäddade GOTO-loopar.

Så här infogar du ett GOTO-steg

1. I verktygsraden väljer du Before (Före) eller After (Efter) i listrutan Insert Step (Infoga steg).
2. I diagrammet väljer du steget före eller efter vilket du tänker infoga det nya GOTO-steget.
3. Klicka på Insert GOTO (Infoga GOTO) i den vänstra rutan.
4. För att redigera GOTO-stegnumret eller antalet GOTO-upprepningar väljer du standardnumret i grafen eller översiktsrutan och anger ett nytt värde.
5. Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara ändringarna.

Infoga ett smältkurvsteg

Tips: Du kan inte infoga ett smältkurvsteg i en GOTO-loop.

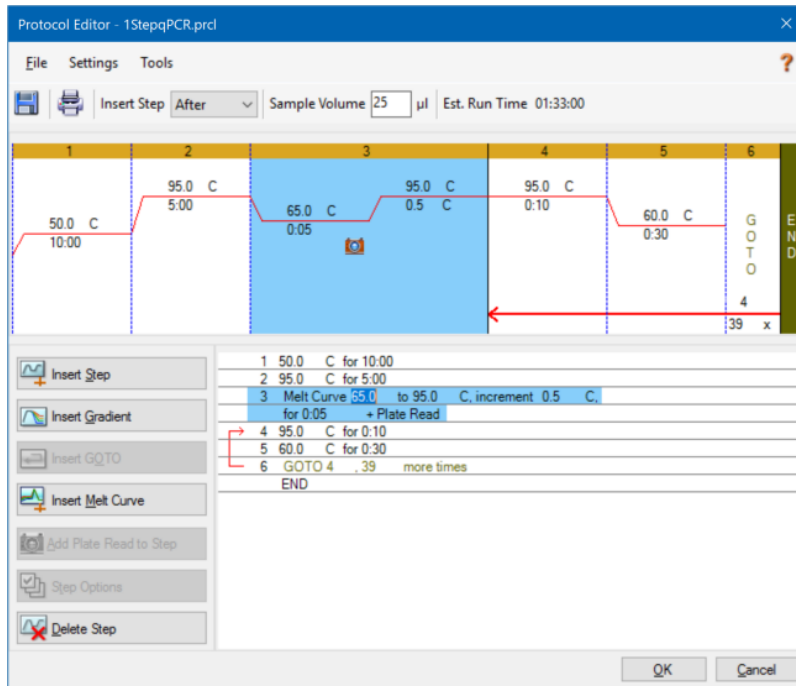
Obs! Smältkurvsteget inkluderar ett uppehåll på 30 sek. i början av steget som inte visas i protokollet.

Så här infogar du ett smältkurvsteg

1. I verktygsraden väljer du Before (Före) eller After (Efter) i listrutan Insert Step (Infoga steg).
2. Välj steget före eller efter där du vill infoga smältkurvsteget i diagrammet.

Kapitel 7 Skapa protokoll

3. Klicka på Insert Melt Curve (Infoga smältkurva) i den vänstra rutan. Det nya smältkurvsteget markeras i grafen och översiktsrutan, till exempel:



4. För att ändra smälttemperaturområdet eller ökningstiden väljer du standardnumret i grafen eller översiktsrutan och anger ett nytt värde.
5. Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara ändringarna.

Lägga till eller ta bort ett plattavläsningssteg

Tips: När du har lagt till ett plattavläsningskommando i ett steg ändras knappen till Remove Plate Read (Ta bort plattavläsning) när du väljer ett steg.

Så här lägger du till en plattavläsning i ett steg

1. I verktygsraden väljer du Before (Före) eller After (Efter) i listrutan Insert Step (Infoga steg).
2. I diagrammet väljer du steget före eller efter vilket du tänker infoga plattavläsningssteget.
3. Klicka på Add Plate Read to Step (Lägg till plattavläsning till steg) i den vänstra rutan för att lägga till en plattavläsning för det valda steget.
4. Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara ändringarna.

Så här tar du bort en plattavläsning från ett steg

- ▶ I diagrammet, välj det steg som innehåller plattavläsningen och klicka på Remove Plate Read (Ta bort plattavläsning) i den vänstra rutan.

Ändra stegalternativ

Så här ändrar du stegalternativen för ett valt steg

1. Välj målsteget i diagram- eller dispositionsfönstret.
2. Klicka på Step Options (Stegalternativ) i den vänstra rutan för att öppna dialogrutan Step Options (Stegalternativ).

Eller högerklicka på målsteget i endera ruta och välj Step Options (Stegalternativ) på menyn som öppnas.
3. Så här lägger du till, ändrar och tar bort alternativ:
 - Ange ett värde i lämplig textruta.
 - Redigera ett värde i den specifika textrutan.
 - Markera eller avmarkera en kryssruta.
4. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan Step Options (Stegalternativ).
5. Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara protokollet.

Ta bort ett steg

Viktigt! Du kan inte ångra den här funktionen. Var försiktig när du tar bort steg.

Så här tar du bort ett steg i protokollet

1. Välj steget i grafen eller översiktsrutan.
2. Klicka på Delete Step (Ta bort steg) i den vänstra rutan för att ta bort det valda steget.
3. Klicka på OK och sedan på Yes (Ja) för att spara protokollet.

Kopiera, exportera eller skriva ut ett protokoll

Så här kopierar du ett protokoll

- ▶ Högerklicka på protokolldispositionen och välj Copy Protocol (Kopiera protokoll).
Du kan klistra in dispositionen i en .txt-, .xls-, .doc- eller .ppt-fil.

Så här exporterar du ett protokoll

1. Högerklicka på protokolldispositionen och välj Export Protocol (Exportera protokoll).
Dialogrutan Save As (Spara som) visas.
2. (Valfritt:) Gå till mappen i Utforskaren där du vill spara protokollfilen.
3. I File name (Filnamn) skriver du ett namn på den exporterade protokollfilen.
4. Klicka på Save (Spara).

Så här skriver du ut ett protokoll

- ▶ Högerklicka på protokolldispositionen och välj Print (Skriv ut).
Du kan skriva ut protokolldispositionen på din standardskrivare.

Skapa ett protokoll med Protocol AutoWriter (Protokollförslag)

Viktigt! Bio-Rad garanterar inte att körning av ett protokoll som skapats med Protocol AutoWriter (Protokollförslag) alltid resulterar i en PCR-produkt.

Protocol AutoWriter (Protokollförslag) i CFX Maestro Dx SE skapar automatiskt cykelprotokoll baserat på följande inmatningsparametrar:

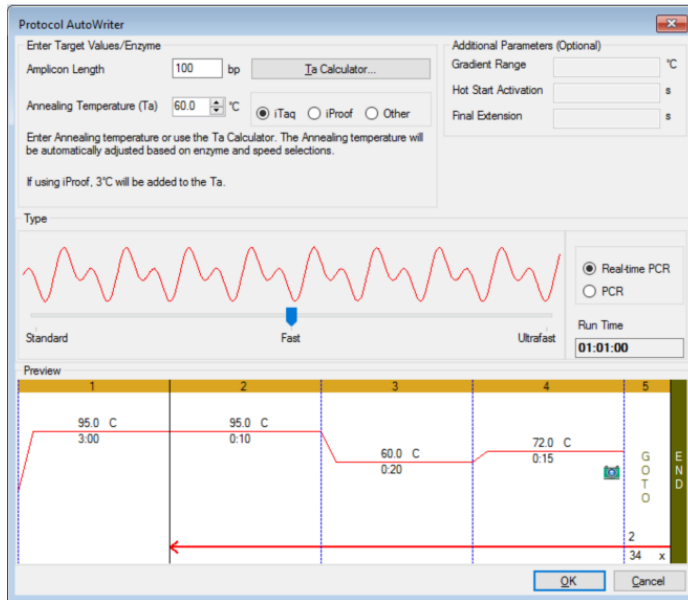
- **Amplicon length** (Amplikonlängd) – förväntad längd på PCR-produkten
- **Annealing temperature** (Hybridiseringstemperatur) – reaktions- T_a för de primrar som används
Om T_a är okänd, kan du använda T_a -kalkylatorn för att beräkna den automatiskt baserat på dina primersekvenser.
Obs! T_a justeras från informationen om primerns smälttemperatur (T_m) som baseras på det valda enzymet och protokollhastigheten.
- **Enzyme type** (Enzymtyp) – DNA-polymerasenzymet (i^{Taq}TM, i^{Proof}TM DNA-polymeras eller annat)
Om du använder ett annat enzym än i^{Taq} eller i^{Proof} DNA-polymeras, kan du ange ytterligare information, inklusive gradientintervall, aktiveringstid för hot start (i sek) och slutlig förlängningstid (i sek).
- **Run speed** (Körningshastighet) – reaktionshastigheten (standard, snabb eller ultrasnabb)
Protocol AutoWriter (Protokollförslag) optimerar protokollet beroende på den valda hastighetsinställningen. Den totala körningstiden bestäms av antalet steg och cykler, inkubationstid vid varje steg, och tiden det tar att nå enhetlighet vid måltemperaturen.

Med användning av parametrar som du anger och standardriktlinjer för PCR, skapar Protocol AutoWriter (Protokollförslag) automatiskt ett anpassat PCR-protokoll med steg för hot start, initial denaturering, hybridisering och förlängning. Du kan sedan visa en grafisk representation av det föreslagna protokollet och redigera, köra eller spara protokollet.

Så här skapar du ett nytt protokoll med Protocol AutoWriter (Protokollförslag) i CFX Maestro Dx SE

1. I hemfönstret väljer du Tools > Protocol AutoWriter (Verktyg > Protokollförslag).

Dialogrutan Protocol AutoWriter (Protokollförslag) visas.



2. Gör följande i sektionen Enter Target Values/Enzyme (Ange målvärden/enzym):

- Ange Annealing Temperature (T_a) (hybridiseringstemperatur) för primrar, om den är känd.

Tips: Se [Använda Ta-kalkylatorn på sidan 117](#) för mer information.

Obs! För information om beräkningarna som används i T_a Calculator (Ta-kalkylator), se Breslauer et al. 1986.

- Ange amplicon length (amplikonlängd) i baspar (bp).
- Välj en enzymtyp från listan med alternativ (iTaq DNA polymerase (DNA-polymeras), iProof DNA polymerase (DNA-polymeras), eller Other (Annan)).

Tips: Om du väljer Other (Annan) som enzymtypen, blir parametrarna i sektionen Additional Parameters (Optional) (Ytterligare parametrar) (valfritt) aktiva.

3. Om du valde Other (Annan) som enzymtypen kan du lägga till en eller alla av följande parametrar till protokollet:
 - Gradient range (Gradientintervall)
 - Hot start activation temperature (Aktiveringstemperatur för hot start)
 - Final extension time (Slutlig förlängningstid)
4. I sektionen Type (Typ), flytta glidreglaget för att välja protokollhastighet (Standard, Fast (Snabb) eller Ultrafast (Ultrasnabb)). CFX Maestro Dx SE justerar den totala körningstiden.
5. Välj vilken typ av PCR som ska utföras (standard är Real-time PCR (Realtids-PCR)).
Vid real-time PCR (realtids-PCR) lägger CFX Maestro Dx SE till ett plattavläsningssteg för att samla in fluorescensdata.
6. Granska protokollet i sektionen Preview (Förhandsgranskning). Du kan göra ändringar om det behövs.
7. Gör något av följande:
 - Klicka på OK för att spara det nya protokollet. När protokollet är sparad öppnas det i Startup Wizard (Startguide). Klicka på Edit Selected (Redigera valt) för att göra eventuella ändringar i protokollet. Du kan till exempel behöva ändra locktemperaturen och provvolymen.
 - Klicka på Cancel (Avbryt) för att stänga fönstret utan att spara protokollet.

Använda T_a -kalkylatorn

Om hybridiseringstemperaturen för primern är okänd kan du beräkna värdet med hjälp av T_a -kalkylatorn. Med det värdet kan du skapa protokollet i Protocol AutoWriter (Protokollförslag) eller Protocol Editor (Protokollredigerare).

Om T_a Calculator (T_a -kalkylatorn)

T_a -kalkylatorn beräknar T_m -värdet för varje primer och T_a -värdet för protokollet i standardhastighet.

T_a för protokollet baseras på de genomsnittliga T_m -primervärdena med följande regler tillämpade:

- Om skillnaden mellan T_m -primervärdena är > 4 °C gäller att $T_a = (\text{det lägre av } T_m\text{-primervärdena} + 2) - 4$ °C
- Om skillnaden mellan T_m -värdena är ≤ 4 °C gäller att $T_a = (\text{genomsnittet av } T_m\text{-primervärdena}) - 4$ °C

Räkningsmetod för baspar

För varje primer använder T_a -kalkylatorn räkningsmetoden för baspar för sekvenser av 14 baspar (bp) eller färre.

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

där w, x, y och z är numren för baserna A, T, G respektive C i sekvensen.

Metoden Nearest Neighbor

För sekvenser som är längre än 14 bp används metoden nearest neighbor (närmsta granne). I metoden nearest neighbor (närmsta granne), baseras beräkningarna av smälttemperatur på det termodynamiska förhållandet mellan entropi (ordning eller ett mått på oligonukleotidens slumpmässighet), entalpi (värme som frigörs eller absorberas av oligonukleotiden), fri energi och temperatur.

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

där:

- ΔH = Entalpivärde, kal/mol*K
- T = temperatur, Kelvin
- ΔS = Entropivärde, kal/mol*K
- ΔG = Gibbs fria energi i kal/mol*K

Förändringen av entropi och entalpi beräknas direkt genom summering av värdena för nukleotidparen som visas i [Tabell 8](#) (Breslauer et al. 1986).

Förhållandet mellan den fria energin och koncentrationen av reaktanter och produkter vid ekvilibrium räknas ut med:

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

där R är gaskonstanten (1,986 kal/mol*K).

Om du ersätter G i de två ekvationerna och lösningen med T får du

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

förutsatt att koncentrationen av DNA och DNA-primerkomplex är likvärdig.

Det har fastställts empiriskt att det sker en förändring på 5 kcal fri energi (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996) under övergången från ensträngat DNA till B-forms-DNA. Detta är förmodligen spiralens initieringsenergi. Slutligen, om du lägger till en justering för salt får du ekvationen som används av T_a -kalkylatorn:

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

Det behövs ingen justeringskonstant för saltkoncentration, eftersom de olika parametrarna bestämdes vid 1 M NaCl, och \log_{10} för 1 är noll.

De termodynamiska beräkningarna förutsätter att hybridisering sker vid pH 7,0. T_m -beräkningarna förutsätter att sekvenserna inte är symmetriska och innehåller minst ett G eller C.

Oligonukleotidsekvensen ska vara minst 14 baser lång för att ge rimliga T_m -värden. Mindre än 14 baser använder basparsräkningsmetoden (se [Tabell 8](#) nedan).

Tabell 8. Breslaunders interaktionskonstanter

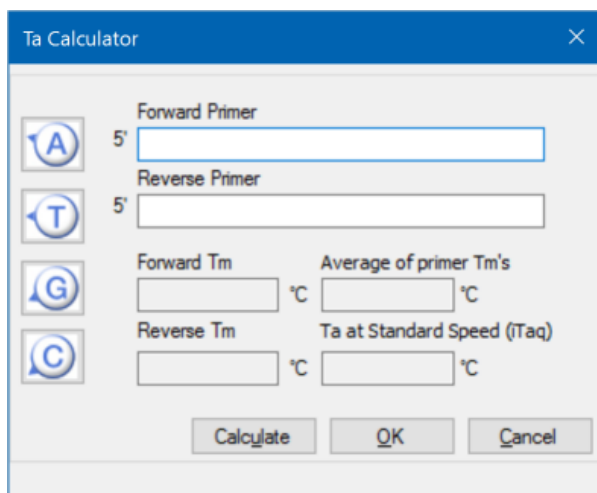
Interaktion		ΔH	ΔS	ΔG
AA	TT	9,1	24	1,5
AT	TA	8,6	23,9	1,5
AC	TG	6,5	17,3	1,3
AG	TC	7,8	20,8	1,6
TA	AT	6	16,9	0,9
TT	AA	9,1	24	1,9
TC	AG	5,6	13,5	1,6
TG	AC	5,8	12,9	1,9
CA	GT	5,8	12,9	1,9
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3
GC	CG	11,1	26,7	3,1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

Använda T_a -kalkylatorn

Så här använder du T_a -kalkylatorn

1. Gör något av följande för att öppna T_a Calculator (T_a -kalkylatorn):
 - Klicka på T_a Calculator (T_a -kalkylatorn) om du befinner dig i Protocol AutoWriter (Protokollförslag).
 - Välj Tools > T_a Calculator (Verktyg > T_a -kalkylator) i hemfönstret.

Dialogrutan T_a Calculator (T_a -kalkylator) öppnas.



2. Skriv eller klistra in framåtprimersekvensen i textrutan Forward Primer (Framåtprimer).

Tips: Du kan också använda knapparna A, T, G, C till vänster i dialogrutan för att ange sekvensen.
3. Skriv eller klistra in den omvända primersekvensen i textrutan Reverse Primer (Omvänd primer)
4. Klicka på Calculate (Beräkna).

T_a Calculator (T_a-kalkylatorn) beräknar och visar T_m för varje primer samt genomsnittliga värden för T_m och T_a, till exempel:

Parameter	Value (°C)
Forward T _m	59.7
Reverse T _m	56.9
Average of primer T _m 's	58.3
T _a at Standard Speed (iTaQ)	54.3

Om det skiljer mer än 4 °C mellan primer-T_m-värden använder Protocol AutoWriter det lägre primer-T_m-värdet + 2 °C som bas för beräkning av T_a-värdet, som du kan modifiera ytterligare genom att ändra enzym- och reaktionshastigheten.

T_a Calculator (T_a-kalkylatorn) genererar en hybridiseringstemperatur för standardhastighet med iTaq DNA-polymeras. När du använder en annan enzym justerar hastighetsinställningarna automatiskt T_a.

5. Gör något av följande:

- Klicka på OK om du öppnade T_a Calculator (T_a-kalkylatorn) från Protocol AutoWriter (Protokollförslag). Du återgår till Protocol AutoWriter (Protokollförslag). Hybridiseringstemperaturen ändras automatiskt.
- Om du öppnade T_a Calculator (T_a-kalkylatorn) från menyn Tools (Verktyg), registrera beräkningarna och klicka på Cancel (Avbryt) för att stänga kalkylatorn.

Kapitel 8 Förbereda plattor

En plattfil innehåller information om körningsparametrar, t.ex. skanningsläge, fluoroforer och brunnsinnehåll. Efter körningen länkar CFX Maestro Dx programvara, Security Edition brunnsinnehållet till de fluorescensdata som samlats in under körningen och tillämpar lämplig analys i fönstret Data Analysis (Dataanalys). Exempelvis används brunnar som är laddade med standardprovtyp för att generera en standardkurva.

CFX Maestro Dx SE erbjuder två alternativ för att skapa plattor: Plate Editor (Plattredigeraren) för realtids-PCR-körningar och Setup Wizard (Inställningsguiden) för normaliserad genuttrycksanalys.

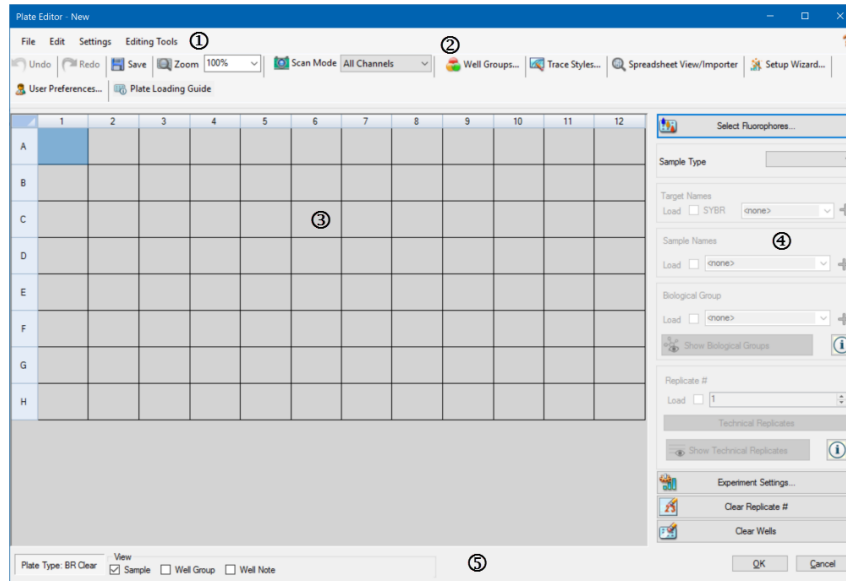
I Plate Editor (Plattredigerare) ingår följande funktioner:

- standardfluoroforer och provtyper att tilldela till plattbrunnar
- möjlighet att ställa in referensmål och kontrollprov för genuttrycksanalys
- möjlighet att redigera plattinställning före, under eller efter en körning
- möjlighet att spara plattfiler för återanvändning
- möjlighet att skriva ut plattfilen på en standardskrivare.

Setup Wizard (Inställningsguide) vägleder dig genom skapandet av en plattlayout för analys av normaliserat genuttryck. Setup Wizard (Inställningsguide) kan användas före, under och efter en körning.

Fönstret Plate Editor (Plattredigerare)

Du använder Plate Editor (Plattredigerare) för att skapa anpassade plattor eller ändra befintliga plattor.



FÖRKLARING

1. Menyraden ger snabb åtkomst till kommandona i File (Arkiv) och Settings (Inställningar) liksom alternativ för plattredigeringsverktyg.
2. Verktygsraden ger snabb åtkomst till viktiga plattladdningsfunktioner.
3. I huvudrutan visas plattans kontur och plattalternativen efterhand som du lägger till dem.
4. I den högra rutan visas alternativ som du använder för att anpassa din platta.
5. I den nedre rutan visas platttypen och du får snabb åtkomst till visningsalternativ.

Kommandon på menyn File (Arkiv)

Save (Spara) – sparar plattdatafilen i den plats som anges på fliken File (Arkiv) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) Se [Ändra standardfilinställningarna på sidan 83](#) för mer information. Det här menyalternativet är endast tillgängligt när en ny plattfil skapas.

Save As (Spara som) – sparar den öppna plattdatafilen med valfritt nytt namn. Det här menyalternativet är endast tillgängligt när en ny plattfil skapas.

File Passwords (Fillösenord) – gör det möjligt för användare att ställa in lösenord för att spara och öppna filer.

Extract Plate (Extrahera platta) – öppnar en dialogruta där du kan extrahera eller spara plattfilen (.pltd). Det här menyalternativet är endast tillgängligt när du visar eller redigerar en befintlig plattfil.

Print (Skriv ut) – skriver ut den öppna plattdatafilen.

Close (Stäng) – stänger Plate Editor (Plattredigerare).

Kommandon på menyn Edit (Redigera)

Undo (Ångra) – återställer en ändring av en plattfil tills plattfilen sparas.

Redo (Gör om) – återför den senaste Undo-åtgärden (Ångra) såvida inte plattfilen har sparats.

Kommandon på menyn Settings (Inställningar)

Plate Size (Plattstorlek) – öppnar en dialogruta där du kan välja plattstorlek för körningen.

Obs! Plattstorleken måste vara samma som blockstorleken på det instrument där körningen utförs.

Välj 96 brunnar för:

- CFX Opus 96 Dx
- CFX Opus Deepwell Dx

Välj 384 brunnar för:

- CFX Opus 384Dx

Plate Type (Platttyp) – låter dig välja typ av brunn i plattan som håller proverna – antingen BR White eller BR Clear. För korrekt dataanalys måste platttypen som väljs överensstämma med platttypen som används i körningen.

Obs! Du måste kalibrera nya platttyper. Se [Kalibrera nya färger på sidan 75](#) för mer information.

Number Convention (Nummerkonvention) – låter dig markera eller avmarkera alternativet att visa enheter i vetenskaplig notation. Enheter visas som standard med vetenskaplig notation.

Units (Enheter) – låter dig välja enheter att visa i kalkylbladen när du utför kvantifiering av okända värden kontra en standardkurva.

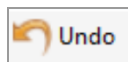
Kommandon på menyn Editing Tools (Redigeringsverktyg)

Setup Wizard (Inställningsguide) – öppnar inställningsguiden där du kan definiera layout- och analysparametrar för den aktuella plattan. Du kan använda Setup Wizard (Inställningsguide) före, under eller efter en körning.

Spreadsheet View/Importer (Kalkylbladsvy/Importerare) – öppnar dialogrutan View (Visa) där plattlayouten visas som mall i kalkylbladsformat. I den här dialogrutan kan du exportera och importera plattmalldata i .csv-format.

Flip Plate (Vända platta) – vänder plattans innehåll 180°.

Kommandon i verktygsraden



Undo

Återställer en ändring av en platta. I CFX Maestro Dx SE kan upp till tio åtgärder ångras.



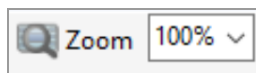
Redo

Ångrar den senaste Ångra-åtgärden. I CFX Maestro Dx SE kan upp till tio åtgärder göras om efter att ha ångrats.



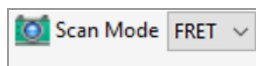
Save

Sparar den aktuella plattfilen.



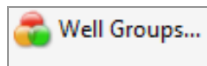
Zoom 100% ▾

Visar en listruta i vilken du kan öka och minska förstoringen av plattvyn.



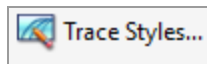
Scan Mode FRET ▾

Visar en listruta i vilken du kan välja ett skanningsläge som instruerar instrumentet från vilka kanaler det ska samla in fluorescensdata under en körning.



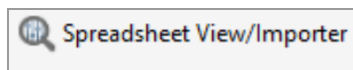
Well Groups...

Öppnar Well Groups Manager (Brunnsgruppshanterare) där du kan skapa brunnsgupper för den aktuella plattan.



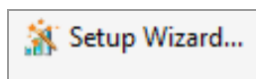
Trace Styles...

Öppnar en dialogruta där du kan välja alla färger och symboler för amplifieringskurvorna.



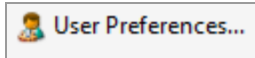
Spreadsheet View/Importer

Öppnar dialogrutan View (Visa) som visar plattlayouten som en mall i kalkylbladsformat. I den här dialogrutan kan du exportera och importera plattmalldata i .csv-format.

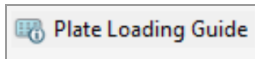


Setup Wizard...

Öppnar Setup Wizard (Inställningsguide) där du kan ange den aktuella plattans layout- och analysparametrar. Setup Wizard (Inställningsguide) kan användas före, under och efter en körning.



Öppnar fliken Plate (Platta) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) där du kan ange plattans layoutparametrar och skapa samt ta bort namn på mål, prover och biologiska grupper. Ändringar som görs på fliken Plate (Platta) är tillgängliga nästa gång Plate Editor (Plattredigerare) öppnas.



Visar de nödvändiga stegen för att konfigurera en platta och ladda brunnarna.

Skapa en plattfil med Plate Editor (Plattredigerare)

Du kan skapa anpassade plattfiler i Plate Editor (Plattredigerare). Du kan även redigera och spara tidigare sparade plattfiler eller provplattfiler som levererats med CFX Opus Dx-system.

Gör följande för att skapa en ny plattfil:

- Öppna en plattfil i Plate Editor (Plattredigerare).
- Välj platttyp.
Obs! Plattfilens platttyp måste vara densamma som plattan i reaktionsmodulen.
- Välj skanningsläget som ska användas i protokollet.
- Välj fluoroforerna som ska användas i plattan.
- Välj provtyp, mål och prover.
- Välj om lämpligt tekniska replikat.
- Spara plattlayouten.

Tips: Information om hur du skapar en ny platta av tidigare sparade eller provplattfiler finns i [Öppna en befintlig plattfil i Plate Editor \(Plattredigerare\) på sidan 130](#).

Öppna en ny plattfil i Plate Editor (Plattredigerare)

CFX Maestro Dx SE erbjuder olika alternativ för att öppna en ny plattfil:

- från hemfönstret
- från dialogrutan Startup Wizard (Startguide)
- från dialogrutan Run Setup (Körningsinställning).

Så här öppnar du en ny plattfil från hemfönstret

- ▶ Välj File > New > Plate (Arkiv > Ny >Platta).

Fönstret Plate Editor (Plattredigerare) öppnas och visar standardplattfil för det valda instrumentet.

Tips: Se [Ändra standardfilinställningarna på sidan 83](#) för mer information om hur du ställer in standardfil för platta.

Så här öppnar du en ny plattfil från Startup Wizard (Startguide)

1. Gör något av följande i hemfönstret för att öppna Startup Wizard (Startguide) om den inte är i vyn:
 - Välj View > Startup Wizard (Visa > Startguide).
 - Klicka på Startup Wizard (Startguide) i verktygsraden.
2. Välj vid behov instrumenttyp från listrutan.
3. Klicka på User-defined (Användardefinierad) som körningstyp för att skapa en ny platta.
Dialogrutan Run Setup (Inställning av körning) öppnas och visar fliken Protocol (Protokoll).
4. Klicka på fliken Plate (Platta) och sedan på Create New (Skapa ny).
Fönstret Plate Editor (Plattredigerare) öppnas och visar standardplattlayout för det valda instrumentet.

Så här öppnar du en ny plattfil från dialogrutan Run Setup (Inställning av körning)

1. Gör något av följande i hemfönstret för att öppna dialogrutan Run Setup (Körningsinställning):
 - Välj Run > User-defined Run (Körning > Användardefinierad körning).
 - Klicka på User-defined Run Setup (Användardefinierad körningsinställning) på verktygsraden.Dialogrutan Run Setup (Inställning av körning) öppnas och visar fliken Protocol (Protokoll).
2. Klicka på fliken Plate (Platta) och sedan på Create New (Skapa ny) för att skapa en ny platta.
Fönstret Plate Editor (Plattredigerare) öppnas och visar standardplattlayout för det valda instrumentet.

Öppna en befintlig plattfil i Plate Editor (Plattredigerare)

CFX Maestro Dx SE tillhandahåller provplattfiler som du kan redigera och spara som en ny platta. Du kan även skapa en ny plattfil från en tidigare sparad plattfil.

Så här öppnar du en provplattfil

1. Välj File > Open > Plate (Arkiv > Öppna > Platta) i hemfönstret.
Utforskaren öppnas på platsen för mappen Sample Files (Provfiler) i CFX Opus Dx-system.
2. Öppna mappen Sample files (Provfiler) och öppna sedan mappen Plates (Plattor).
3. Välj en plattfil och klicka på Open (Öppna).
Provplattfilen öppnas i fönstret Plate Editor (Plattredigerare).
4. Välj File > Save As (Arkiv > Spara som) och spara plattfilen med ett nytt namn eller i en ny mapp.

Så här öppnar du en tidigare sparad plattfil

1. Gör något av följande i fönstret Home (Hem):
 - Välj File > Open > Plate (Arkiv > Öppna > Platta), gå till och välj målpattan och klicka på Open (Öppna).
 - Öppna Startup Wizard (Startguide) och gör något av följande:
 - För att redigera en befintlig plattfil, klicka på Select Existing (Välj befintlig) och gå till målfilen.
 - För att redigera den visade plattfilen, klicka på Edit Selected (Redigera vald).Målpattan öppnas i fönstret Plate Editor (Plattredigerare).
2. Välj File > Save As (Fil > Spara som) och spara plattfilen med ett nytt namn eller i en ny mapp.

Ställa in en ny plattfil

Tips: Om plattfilen innehåller de nödvändiga parametrarna (t.ex. om du redigerar ett prov eller en befintlig plattfil) kan du hoppa över det här avsnittet. Gå till [Tilldela valfria parametrar till plattfilen på sidan 138](#).

Följande parametrar krävs för nya plattfiler:

- Plate Size (Plattstorlek)
- Plate type (Platttyp)
- Scan mode (Skanningsläge)
- En Fluorophore (fluorofor)
- En Sample type (Provtyp)

Välja typ och storlek för platta

Viktigt! Du måste välja en plattstorlek under plattinställning. Du kan inte ändra plattstorlek under eller efter en körning.

Programvaran tillämpar plattstorleken och -typen på alla brunnar under körningen. Kontrollera att den valda plattstorleken överensstämmer med plattan som du kommer att använda i körningen.

Bio-Rads CFX Opus Dx-systemen är fabrikskalibrerade för många kombinationer av fluorescerande färgämnen och plattor. Kalibreringen är specifik för instrumentet, färg, och typ av platta. Säkerställ att fluoroforen som du vill använda är kalibrerad för den platttyp du väljer.

Tips: Välj Tools > Dye Calibration Wizard (Verktyg > Färgkalibreringsguide) för att kalibrera en ny kombination av färg och platttyp. Se [Kalibrera nya färger på sidan 75](#) för information om hur du kalibrerar färger och typer av plattor.

Välja skanningsläge

CFX Opus 96 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx-systemen exciterar och detekterar fluoroforer i fem kanaler (plus FRET). CFX Opus 384 Dx-systemet exciterar och detekterar fluoroforer i fyra kanaler (plus FRET). Alla system använder flera skanningslägen för datainsamling för att samla in fluorescensdata under en körning.

CFX Maestro Dx SE har tre skanningslägen:

- All Channels (Alla kanaler)
 - Skannar kanal 1 till 5 på CFX Opus 96 Dx- och CFX Opus Deepwell Dx-systemen
 - Skannar kanal 1 till 4 på CFX Opus 384 Dx-system

- SYBR®/FAM
 - Skannar endast kanal 1
 - Ger snabb skanning
- FRET
 - Skannar endast FRET-kanalen
 - Ger snabb skanning

Välja fluoroforer

Viktigt! Innan körningen startas verifierar CFX-systemen att fluoroforer som du har angett i plattan är kalibrerade på det instrumentet. Det går inte att köra en platta om den innehåller fluoroforer som inte har kalibrerats på det instrumentet.

Du måste ladda minst en fluorofor i plattlayouten före körningen. Du kan lägga till så många fluoroforer som behövs vid denna tidpunkt, men plattan måste innehålla minst en fluorofor. De valda fluoroforer som visas som alternativ för mål i Target Names (Målnamn).

I dialogrutan Select Fluorophores (Välj fluoroforer) kan du ladda fluoroforer till reglagen för brunnsledning i Plate Editor (Plattredigerare). Fluoroforer som visas i dialogrutan Select Fluorophores (Välj fluoroforer) beror på vilket skanningsläge som väljs:

- All Channels (Alla kanaler)

Alla tillgängliga fluoroforer visas.

Tips: Du kan lägga till så många fluoroforer som behövs, men det går bara att ladda en fluorofor per kanal i varje brunn.

- SYBR®/FAM

Endast kanal 1-fluoroforer visas.

- FRET

Endast kanal 6-fluoroforen visas.

Tips: Kanal 6 FRET-fluoroforen visas bara när FRET är det valda skanningsläget. Den är inte tillgänglig för skanningsläget All Channels (Alla kanaler).

Obs! Det går inte att lägga till eller ta bort fluoroforer direkt i dialogrutan Select Fluorophore (Välj fluorofor). Du måste kalibrera nya fluoroforer på ett instrument med hjälp av Calibration Wizard (Kalibreringsguide). Efter kalibreringen läggs den nya fluoroforen automatiskt till i listan. Mer information finns i [Kalibrera nya färger på sidan 75](#).

Välja provtyper

Viktigt! Du måste välja minst en provtyp att tilldela till plattbrunnarna före körningen.

I CFX Maestro Dx SE finns fem provtyper:

- Unknown (Okänd)
- Standard
- NTC (no template control, ingen templatkontroll)
- Positive Control (Positiv kontroll)
- Negative Control (Negativ kontroll)
- NRT (no reverse transcriptase, inget omvänt transkriptas)

Du tilldelar provtyperna till plattbrunnarna.

Konfigurera en ny platta

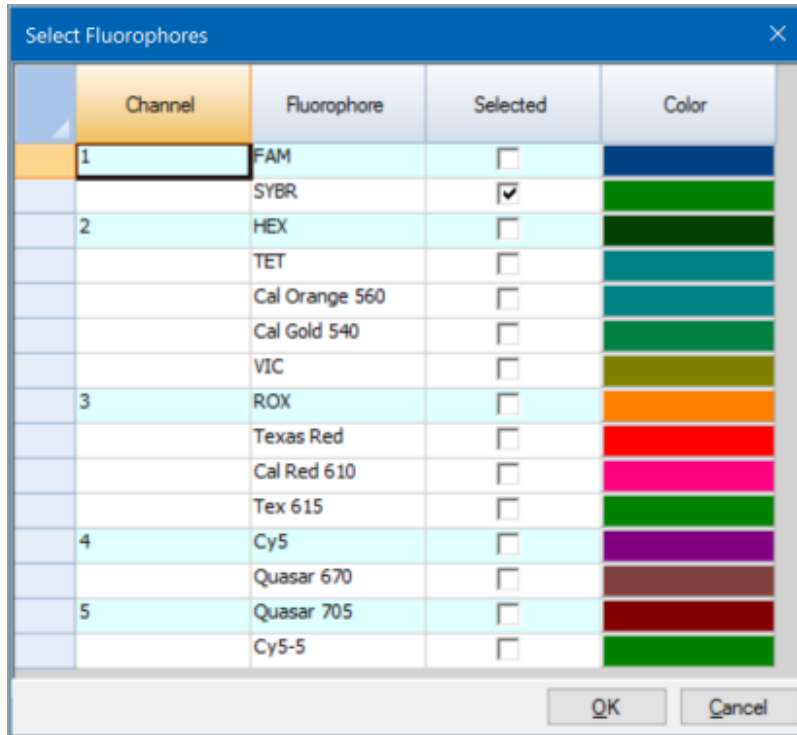
Så här ställer du in en ny platta

1. Öppna en ny platta i fönstret Plate Editor (Plattredigerare).
2. Du ställer in plattstorlek genom att välja Settings > Plate Size (Inställningar > Plattstorlek) och välja lämplig plattstorlek på den nedrullningsbara menyn.
3. Du ställer in platttyp genom att välja Settings > Plate Type (Inställningar > Platttyp) och välja BR White (BR vit) eller BR Clear (BR transparent) på den nedrullningsbara menyn.
4. På menyn Settings (Inställningar) kan du ändra siffersystem och visningsenheter:
 - Du ändrar siffersystem genom att välja Settings > Number Convention (Inställningar > Siffersystem) och välja Scientific Notation (Grundpotensform).
 - Tips:** Scientific Notation (Grundpotensform) är valt som standard. Om du väljer Scientific Notation (Grundpotensform) i det här fallet rensas standardvärdet och siffersystemet ställs in på standardformen.
 - Du ändrar visningsenheter genom att välja Settings > Units (Inställningar > Enheter) och välja ett nytt enhetsvärde.
5. Du ställer in skanningsläget genom att välja lämpligt skanningsläge i listrutan Scan Mode (Skanningsläge) i verktygsraden i fönstret Plate Editor (Plattredigerare).

6. Välj nödvändiga fluoroforer för plattan:

- a. Klicka på Select Fluorophores (Välj fluoroforer) i den högra rutan.

Dialogrutan Select Fluorophores (Välj fluoroforer) öppnas. Du ser fluoroforena som är tillgängliga för typen av skanningsläge som du har valt i [Steg 5](#), till exempel:



- b. Du väljer en fluorofor genom att markera dess kryssruta Selected (Vald).

Tips: Avmarkera kryssrutan Selected (Vald) för en fluorofor som du vill ta bort från listan.

- c. Du ändrar visningsfärgen för fluoroforen genom att klicka i dess ruta Color (Färg).

Obs! Färgen som du väljer representerar fluoroforen i fönstret Plate Editor (Plattredigerare) och i diagram av typen Data Analysis (Dataanalys).

- d. I dialogrutan Color (Färg) väljer du önskad färg eller klickar på Define Custom Colors (Definiera anpassade färger) och skapar en ny färg som ska representera fluoroforen.

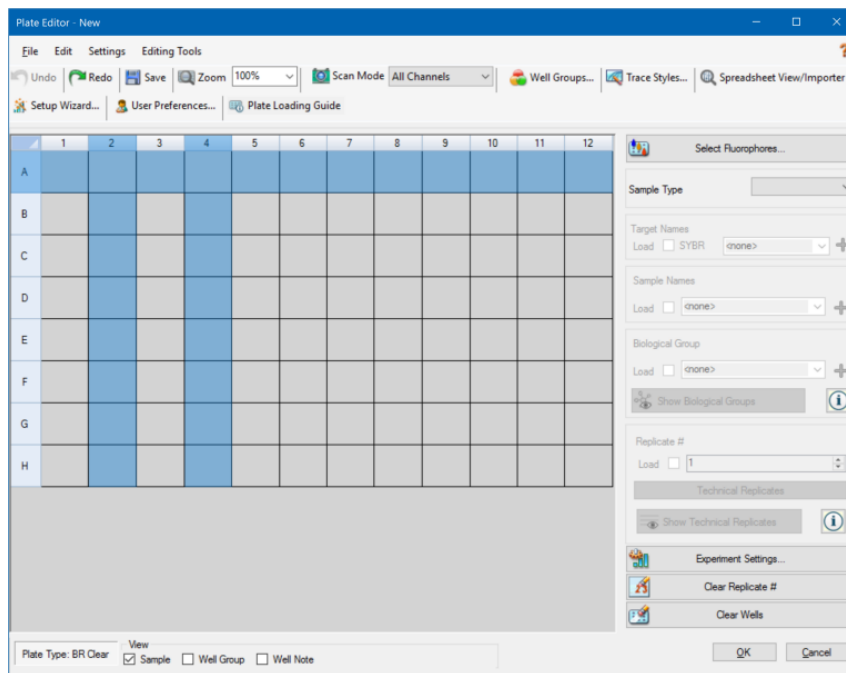
- e. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan Select Fluorophores (Välj fluoroforer).

7. Du måste välja minst en brunn i vilken en provtyp ska laddas. Som standard är brunnen A1 vald.

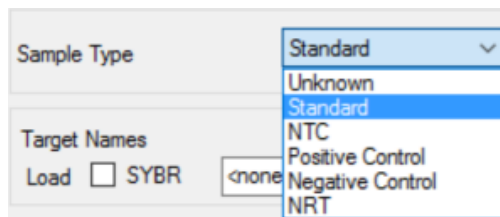
Gör följande i platttrutan:

- Ladda flera närliggande brunnar genom att klicka på en brunn och dra den till målbrunnen.
- Ladda flera brunnar som inte ligger intill varandra genom att hålla ned Ctrl-tangenten och klicka på varje brunn.
- Ladda en hel kolumn med samma provtyp genom att klicka på kolumnnumret.
- Ladda en hel rad genom att klicka på radens nummer.
- Ladda hela plattan genom att klicka i det övre vänstra hörnet av plattan.

Exempel:



8. Tilldela en provtyp till vald brunn eller valda brunnar i den nedrullningsbara menyn Sample Type (Provtyp).

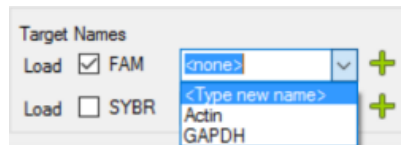


9. Tilldela minst en fluorofor till alla brunnar som innehåller en provtyp. Det går att tilldela fler än en fluorofor till en brunn eller grupp av brunnar.

Obs! Det går bara att tilldela en fluorofor per kanal. Det går inte att tilldela fler än en fluorofor från samma kanal till samma brunn.

Tips: Du kan associera ett mål med fluoroforen eller tilldela endast fluoroforen till brunnen vid denna tidpunkt och associera ett mål till fluoroforen efter att du har kört experimentet.

- Om du vill tilldela endast en fluorofor till valda brunnar markerar du kryssrutan Load (Ladda) för den specifika fluoroforen i avsnittet Target Names (Målnamn) i den högra rutan.
- Du associerar ett mål med en fluorofor genom att välja ett mål i listrutan för den specifika fluoroforen i avsnittet Target Names (Målnamn). Programvaran väljer automatiskt dess kryssruta Load (Ladda).



10. För brunnar som innehåller provtypen Standard måste du ladda en koncentration. Alla brunnar kan ha olika koncentrationvärden. Som standard laddar CFX Maestro Dx SE en koncentration på 1,00 E + 06 i alla brunnar med provtypen Standard. Du kan ändra värdet vid behov.
- Välj en Standard-brunn eller -grupp av brunnar i plattrutan.
 - Klicka på Load (Ladda) i avsnittet Concentration (Koncentration) för att ladda värdet i vald brunn eller valda brunnar.
 - (Valfritt:) Ladda en annan koncentration genom att ange det nya värdet i textrutan Concentration (Koncentration) och trycka på Retur-tangenten.
 - Utför det här steget för alla brunnar med provtypen Standard.

Tips: Du laddar samma koncentration i alla Standard-brunnar genom att se till att <All> (Alla) visas i listrutan under värdet för Concentration (Koncentration). Du laddar samma koncentrationvärde i alla brunnar med en viss fluorofor genom att klicka på listrutan och välja fluoroforen.

11. Klicka på OK för att spara den nya plattan.

Alternativ på högerklicksmenyn för verktyget Plate Editor (Plattredigerare)

I [Tabell 9](#) listas menyalternativen som är tillgängliga i verktyget Plate Editor (Plattredigerare) när du högerklickar på en brunn i verktyget. Den här menyn visas också i Spreadsheet View/Importer (Kalkylbladsvy/importerare).

Tabell 9. Alternativ på högerklicksmenyn för verktyget Spreadsheet View/Importer (Kalkylbladsvy/importerare) för plattor

Alternativ	Funktion
Copy (Kopiera)	Hela kalkylbladet kopieras.
Copy as Image (Kopiera som bild)	Kalkylbladet kopieras som en bildfil.
Print (Skriv ut)	Kalkylbladet skrivs ut.
Print Selection (Skriv ut markering)	Endast valda celler skrivs ut.
Export to Excel (Exportera till Excel)	Filen exporteras till ett Excel-kalkylblad.
Export to CSV (Exportera till CSV)	Filen exporteras som en .csv-fil.
Export to Xml (Exportera till Xml)	Filen exporteras som en .xml-fil.
Export to Html (Exportera till Html)	Filen exporteras som en .html-fil.
Find (Sök)	Den specifika texten söks.
Sort (Sortera)	Kalkylbladet sorteras genom att du väljer upp till tre kolumner i fönstret Sort (Sortera).

Tilldela valfria parametrar till plattfilen

En plattfil innehåller information om innehållet i varje brunn som är laddad med prov för en körning. Efter körningen länkar CFX Maestro Dx SE brunnsinnehållet till de fluorescensdata som samlats in under protokollet och tillämpar lämplig analys i fönstret Data Analysis (Dataanalys).

I CFX Maestro Dx SE kan du tilldela parametrar till varje brunn i din platta före, under eller till och med efter det att du kör experiment. Du kan tilldela parametrarna till en befintlig plattfil eller till en ny plattfil. Dessa parametrar omfattar:

- **Target names** (Målnamn) – målet eller målen som är av intresse (gener eller sekvenser) i varje laddad brunn.
- **Sample names** (Provnamn) – identifieraren eller villkoret som motsvarar provet i varje laddad brunn, till exempel mouse1, mouse2 eller mouse3.
- **Biological groups** (Biologiska grupper) – identifieraren eller villkoret som motsvarar en grupp brunnar, till exempel 0Hr, 1Hr eller 2Hr.

Tips: Namn på mål, provnamn och biologiska grupper måste vara desamma mellan brunnar för att man ska kunna jämföra data på fliken Gene Expression (Gentuttryck) i fönstret Data Analysis (Dataanalys). Varje namn måste överensstämja när det gäller inledande stor bokstav, interpunktion och mellanslag. Exempelvis är "Actin" inte samma som "actin", "2Hr" är inte detsamma som "2 hr" och "Mouse 1" är inte samma sak som "mouse1". För att säkerställa överensstämmelse mellan namnen, ange dem i avsnittet Libraries (Bibliotek) i User > User Preferences > Plate (Användare > Användarinställningar > Platta), tillgängligt i hemfönstret.

- **Technical replicates** (Tekniska replikat) – varje brunn som används för att analysera samma kombination av prov och mål; dvs. replikera qPCR-reaktioner.
- **Dilution series** (Spädningsserie) – mängden som krävs för att ändra koncentrationen av provtypen Standard inom en replikatgrupp för att skapa standardkurvdata att analysera.

Tilldela ett mål till brunnar

Tips: Du kan tilldela samma målnamn till en eller flera brunnar. Du kan även tilldela flera mål till samma brunn.

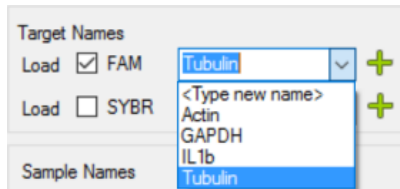
Viktigt! Om du klickar på OK när du har tilldelat ett mål sparas ändringarna och Undo (Ångra) avaktiveras i verktygsraden i Plate Editor (Plattredigerare). Var försiktig när du klickar på OK.

Så här tilldelar du ett mål till en brunn eller en grupp av brunnar

1. I Plate Editor (Plattredigerare), se till att brunnen eller gruppen av brunnar har tilldelats en provtyp.

Se [Välja provtyper på sidan 133](#) för information om tilldelning av provtyper till brunnar.

2. I plattrutan, välj brunnen eller gruppen av brunnar:
 - För att välja en enstaka brunn, klicka på brunnen.
 - För att välja flera angränsande brunnar, klicka på en brunn och dra till målbrunnen.
 - För att välja flera ej angränsande brunnar, håll tangenten Ctrl nedtryckt och klicka på respektive brunn.
 - För att välja en hel kolumn med samma provtyp, klicka på kolumnnumret.
 - Klicka på radnumret för att välja en hel rad.
3. I den högra rutan, välj ett namn i listrutan Target Name (Målnamn) för varje vald fluorofor.



4. Upprepa [Steg 3](#) för varje brunn eller grupp av brunnar som du måste tilldela ett mål.

Tips: Du kan tilldela samma eller ett annat målnamn för varje vald fluorofor.
5. Klicka på OK för att acceptera ändringarna och spara plattan.

Obs! Om du ändrade plattan av misstag klickar du på Undo (Ångra) på verktygsraden i Plate Editor (Plattredigerare) innan du klickar på OK för att acceptera ändringarna.

Så här tar du bort ett målnamn

- ▶ För att ta bort ett målnamn från den valda brunnen eller gruppen av brunnar, avmarkerar du dess kryssruta Load (Ladda).

Viktigt! Om du tar bort ett målnamn från en brunn tas även den associerade fluoroforen bort. Var försiktig när du tar bort ett målnamn från en brunn.

Så här lägger du till ett målnamn i listan

- ▶ För att lägga till ett målnamn i listrutan gör du något av följande:
 - Skriv in ett namn i listrutan Target Name (Målnamn) och tryck på Retur.

Tips: Målnamn som du lägger till i en lista visas i alla andra mållistor.
 - Klicka på den gröna symbolen + till höger om listrutan, skriv in ett namn för målet och tryck på Retur.

- Klicka på User Preferences (Användarinställningar) i verktygsraden och lägg till namnet i biblioteket Target Names (Målnamn) på fliken Plate (Platta).

Viktigt! Målnamn som du lägger till i listrutan är endast tillgängliga för den aktuella plattan, och endast om du tilldelar namnet till en brunn och sparar plattlayouten. Om du inte tilldelar namnet till en brunn och sparar plattlayouten kommer namnet inte att sparas och det är inte tillgängligt för framtida användning. För att lägga till ett målnamn permanent ska du även lägga till det i biblioteket Target Names (Målnamn) med hjälp av dialogrutan User Preferences (Användarinställningar). Namn som du lägger till i biblioteket är tillgängliga när du har öppnat Plate Editor (Plattredigerare) igen. Se [Ställa in standardplattparametrar på sidan 86](#) för mer information.

Så här tar du bort ett målnamn från listan

1. Klicka på User Preferences (Användarinställningar) i verktygsraden.
Dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) öppnas och visar fliken Plate (Platta).
2. Välj namnet du vill ta bort i biblioteket Target Names (Målnamn) på fliken Plate (Platta) och tryck på tangenten Delete.
3. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).

Viktigt! Du kan inte ta bort målnamn som du har sparat med en plattfil. Anpassade namn som du lägger till i listrutan Target Names (Målnamn) och inte använder och sparar med plattan tas automatiskt bort från listan. Namn som du tar bort från biblioteket Target Names (Målnamn) tas bort permanent från programmet och är inte längre tillgängliga för användare. Var försiktig när du tar bort målnamn.

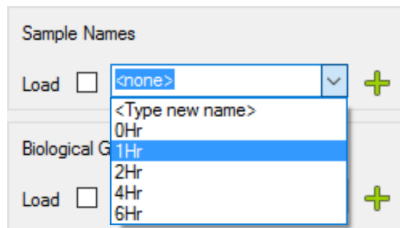
Tilldela ett provnamn till brunnar

Obs! För att tilldela ett provnamn måste du tilldela de valda brunnarna minst en fluorofor. Om de valda brunnarna inte tilldelats någon fluorofor, avaktiveras listrutan Sample Names (Provnamn). Se [Tilldela ett mål till brunnar på sidan 138](#) för information om tilldelning av fluoroforer.

Tips: Du kan endast tilldela ett provnamn till varje brunn eller grupp av brunnar.

Så här tilldelar du ett provnamn till en brunn eller en grupp av brunnar

1. I Plate Editor (Plattredigerare) säkerställer du att brunnen eller gruppen av brunnar har tilldelats en fluorofor.
2. I plattrutan väljer du brunnen eller gruppen av brunnar.
3. I den högra rutan, välj ett namn i listrutan Sample Names (Provnamn).
Programvaran markerar automatiskt dess kryssruta Load (Ladda).



4. Upprepa [Steg 3](#) för varje brunn eller grupp av brunnar som du måste tilldela ett provnamn.
5. Klicka på OK för att acceptera ändringarna och spara plattan.

Obs! Om du ändrade plattan av misstag klickar du på Undo (Ångra) på verktygsraden i Plate Editor (Plattredigerare) innan du klickar på OK för att acceptera ändringarna.

Så här tar du bort ett provnamn

- ▶ För att ta bort ett provnamn från en vald brunn eller grupp av brunnar avmarkerar du dess kryssruta Load (Ladda).

Så här lägger du till ett provnamn i listan

- ▶ För att lägga till ett provnamn i listrutan gör du något av följande:
 - Skriv in ett namn i listrutan Sample Names (Provnamn) och tryck på Retur.
 - Klicka på den gröna symbolen + till höger om listrutan och skriv in ett namn för provet.
 - Klicka på User Preferences (Användarinställningar) i verktygsraden och lägg till namnet i biblioteket Sample Names (Provnamn) på fliken Plate (Platta).

Viktigt! Provnamn som du lägger till i listrutan är endast tillgängliga för den aktuella plattan, och endast om du tilldelar namnet till en brunn och sparar plattlayouten. Om du inte tilldelar namnet till en brunn och sparar plattlayouten kommer namnet inte att sparas och det är inte tillgängligt för framtida användning. För att lägga till ett provnamn permanent ska du även lägga till det i biblioteket Sample Names (Provnamn) med hjälp av dialogrutan User Preferences (Användarinställningar). Namn som du lägger till i biblioteket är tillgängliga när du har öppnat Plate Editor (Plattredigerare) igen. Se [Ställa in standardplattparametrar på sidan 86](#) för mer information.

Så här tar du bort ett provnamn från listan

1. Klicka på User Preferences (Användarinställningar) i verktygsraden.
Dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) öppnas och visar fliken Plate (Platta)
2. Välj namnet du vill ta bort i biblioteket Sample Names (Provnamn) på fliken Plate (Platta) och tryck på tangenten Delete.

3. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).

Viktigt! Du kan inte ta bort provnamn som du har sparat med en plattform. Anpassade namn som du lägger till i listan Sample Names (Provnamn) och inte använder och sparar med plattan tas automatiskt bort från listrutan. Namn som du tar bort från biblioteket Sample Names (Provnamn) tas bort från programmet och är inte längre tillgängliga för användare. Var försiktig när du tar bort provnamn.

Tilldela biologiska grupper till brunnar

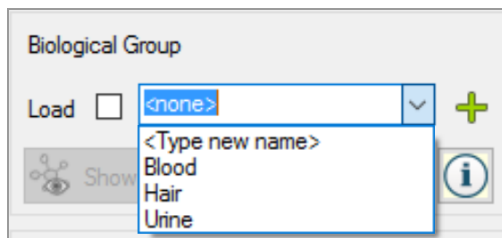
Obs! För att tilldela en biologisk grupp måste du tilldela minst en fluorofor till de valda brunnarna. När du tilldelar en fluorofor aktiveras listrutan Biological Groups (Biologiska grupper). Se [Tilldela ett mål till brunnar på sidan 138](#) för information om tilldelning av fluoroforer.

Tips: Du kan tilldela en biologisk grupp till varje brunn eller grupp av brunnar.

Så här tilldelar du en biologisk grupp till en brunn eller grupp av brunnar

1. I Plate Editor (Plattredigerare) säkerställer du att brunnen eller gruppen av brunnar har tilldelats en fluorofor.
2. I plattrutan väljer du brunnen eller gruppen av brunnar.
3. I den högra rutan gör du ett val i listrutan Biological Group (Biologisk grupp).

CFX Maestro Dx SE markerar automatiskt kryssrutan Load (Ladda).



4. Upprepa [Steg 3](#) för varje brunn eller grupp av brunnar till vilken du måste tilldela en biologisk grupp.
5. Klicka på OK för att acceptera ändringarna och spara plattan.

Obs! Om du ändrade plattan av misstag klickar du på Undo (Ångra) på verktygsraden i Plate Editor (Plattredigerare) innan du klickar på OK för att acceptera ändringarna.

Så här tar du bort en biologisk grupp

- Du tar bort en biologisk grupp från den valda brunnen eller gruppen av brunnar genom att avmarkera dess kryssruta Load (Ladda).

Så här lägger du till en biologisk grupp i listan

- ▶ Gör något av följande om du vill lägga till en biologisk grupp i listrutan:
 - Skriv in ett namn i den nedrullningsbara listrutan Biological Group (Biologisk grupp) och tryck på Retur.
 - Klicka på den gröna +-symbolen till höger om listrutan och skriv in ett namn på den biologiska gruppen.
 - Klicka på User Preferences (Användarinställningar) i verktygsraden och lägg till namnet i biblioteket för Biological Group Names (Namn på biologiska grupper) på fliken Plate (Platta).

Viktigt! Namn på biologiska grupper som läggs till i listrutan är endast tillgängliga för den aktuella plattan, och endast om du tilldelar namnet till en brunn och sparar plattlayouten. Om du inte tilldelar namnet till en brunn och sparar plattlayouten kommer namnet inte att sparas och det är inte tillgängligt för framtida användning. För att lägga till namnet på en biologisk grupp permanent ska det även läggas till i biblioteket för Biological Group Names (Namn på biologiska grupper) via dialogrutan User Preferences (Användarinställningar). Namn som du lägger till i biblioteket är tillgängliga när du har öppnat Plate Editor (Plattredigerare) igen. Se [Ställa in standardplattparametrar på sidan 86](#) för mer information.

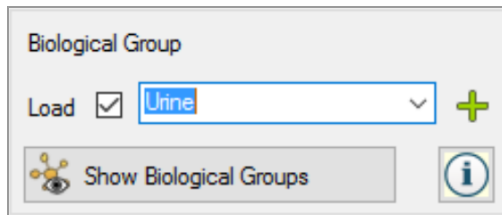
Så här tar du bort namnet på en biologisk grupp från listan

1. Klicka på User Preferences (Användarinställningar) i verktygsraden.
Dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) öppnas och visar fliken Plate (Platta)
2. I biblioteket för Biological Group Names (Namn på biologiska grupper) på fliken Plate (Platta) väljer du namnet som ska tas bort och trycker på Delete-tangenten.
3. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan User Preferences (Användarinställningar).

Viktigt! Det går inte att ta bort namnen på biologiska grupper som du har sparat med en plattfil. Anpassade namn som läggs till i listrutan Biological Group Names (Namn på biologiska grupper), men som inte används och sparas med plattan tas automatiskt bort från listan. Namn som tas bort från biblioteket för Biological Group Names (Namn på biologiska grupper) tas bort permanent från programvaran och är inte längre tillgängliga för användare. Var försiktig när du tar bort biologiska namn.

Så här visar du alla biologiska grupper på plattan

- ▶ Klicka på Show Biological Groups (Visa biologiska grupper) för att visa alla biologiska grupper på plattan.



Alla grupper identifieras av en specifik färg och knappen Show Biological Groups (Visa biologiska grupper) ändras till Hide Biological Groups (Dölj biologiska grupper).

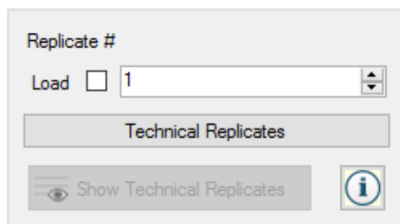
Klicka på Hide Biological Groups (Dölj biologiska grupper) för att rensa färgen i brunnarna. Eller klicka på valfri brunn i plattan för att dölja de biologiska grupperna.

Tilldela tekniska replikatnummer till brunnar

Viktigt! För att tilldela tekniska replikatnummer måste de valda brunnarna ha ett identiskt innehåll. Det vill säga att de valda brunnarna måste ha samma provtyp och fluorofor. Om det är tillämpligt måste de även vara tilldelade samma mål- och provnamn och samma biologiska grupp. Om de inte är identiska aktiverar inte CFX Maestro Dx SE detta alternativ.

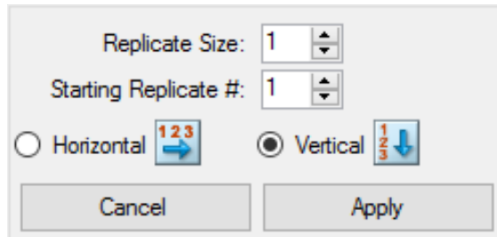
Så här tilldelar du tekniska replikatnummer till en grupp brunnar

1. I Plate Editor (Plattredigerare), se till att innehållet i gruppen av brunnar är identiskt.
2. Välj målgruppen av brunnar i plattrutan.
3. För att tilldela samma replikatnummer till alla valda brunnar skriver du in replikatnumret i rutan i sektionen Replicate # (Repliknummer) till höger och väljer Load (Ladda).



4. (Valfritt) Så här tillämpar du en replikatserie på en uppsättning valda brunnar:

- a. Klicka på Technical Replicates (Tekniska repliker). Sektionen Replicate # (Replikatnummer) ändras så att den visar följande alternativ:



- **Replicate size** (Replikatstorlek) – ett nummer som representerar antalet brunnar i varje grupp av replikat
- **Starting replicate #** (Startreplikatnummer) – det första numret i replikatserien för den valda gruppen av replikat

Obs! Som standard visar CFX Maestro Dx SE startreplikatnumret som ett nummer större än det sista tekniska replikatnumret som tilldelats i plattan. Om till exempel det sista tekniska replikatnumret i plattan är fem, så är nästa startnummer sex. Du kan ändra startnumret till vilket nummer som helst som inte redan är tilldelat.

- Laddningsriktning (Horizontal (Horisontell) eller Vertical (Vertikal))

- b. Klicka på Apply (Använd) för att tillämpa parametrarna på serien och återgå till visningen av Replicate # (Replikatnummer).
5. Klicka på OK för att acceptera ändringarna och spara plattan.

Obs! Om du ändrade plattan av misstag klickar du på Undo (Ångra) på verktygsraden i Plate Editor (Plattredigerare) innan du klickar på OK för att acceptera ändringarna.

Så här tar du bort en brunn från en replikatserie

- ▶ Välj brunnen eller gruppen av brunnar som ska tas bort och avmarkera kryssrutan Replicate # Load (Replikatnummerladdning).

Alternativt kan du klicka på Clear Replicate # (Rensa replikatnummer) för att rensa replikatnumret från en vald brunn eller grupp av brunnar.

Så här visar du alla tekniska replikat på plattan

- ▶ Klicka på Show Technical Replicates (Visa tekniska replikat) för att visa alla tekniska replikat på plattan.

Varje grupp identifieras med en specifik färg och knappen Show Technical Replicates (Visa tekniska replikat) ändras till Hide Technical Replicates (Dölj tekniska replikat).

Klicka på Hide Technical Replicates (Dölj tekniska replikat) för att rensa färgen i brunnarna. Alternativt kan du klicka på valfri brunn i plattan för att dölja tekniska replikat.

Tilldela en spädningsserie till standardprovtyper

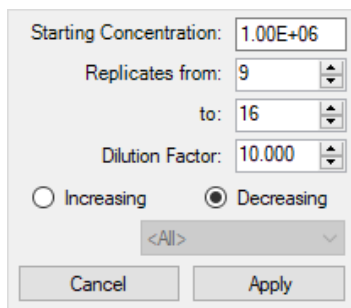
Som tidigare nämnts måste alla brunnar med provtypen Standard tilldelas ett koncentrationvärde. Du kan tilldela en spädningsserie till flera brunnar med provtypen Standard.

Obs! För att tilldela en spädningsserie till en grupp av brunnar måste brunnarna vara inkluderade i en teknisk replikatserie. Se [Tilldela tekniska replikatnummer till brunnar på sidan 144](#) för information om tilldelning av brunnar i replikatserier.

Så här tilldelar du en spädningsserie till en grupp provbrunnar av typen Standard

1. Kontrollera att följande villkor är uppfyllda i Plate Editor (Plattredigerare):
 - Provtypen för brunngruppen är Standard.
 - Alla brunnar i gruppen tilldelas minst en fluorofor och alla brunnar innehåller samma fluoroforer.
 - Alla brunnar i gruppen inkluderas i samma tekniska replikatserie.

Obs! CFX Maestro Dx SE aktiverar alternativet Dilution Series (Spädningsserie) först när alla valda brunnar uppfyller dessa kriterier.
2. Välj målgruppen av brunnar i plattrutan.
3. Klicka på Dilution Series i sektionen Concentration (Koncentration) i den högra rutan. Sektionen Concentration (Koncentration) ändras så att den visar följande alternativ:



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

- **Starting concentration** (Startkoncentration) – koncentrationvärdet från vilket serien utgår
- **Replicates from and to** (Replikat från och till) – replikat i serien på vilka spädningsserier kommer att tillämpas
- **Dilution factor** (Spädningsserier) – mängden för ändring av koncentrationen inom varje replikatgrupp

4. Ange värden för alternativen eller använd standardvärden.
5. Spädningsserien minskar som standard med spädningsfaktorn. Välj Increasing (Ökande) för att öka spädningsserien.
6. (Tillval) Spädningsfaktorn tillämpas som standard på alla fluorofoer i replikatserien. Om serien innehåller fler än en fluorofoer och du vill använda spädningsserien på en enskild fluorofoer väljer du den i listrutan.
7. Klicka på Apply (Använd) för att tillämpa spädningsserien på brunnsgruppen och återgå till vyn Concentration (Koncentration).
8. Klicka på OK för att acceptera ändringarna och spara plattan.

Kopiera innehåll i en brunn till en annan brunn

Du kan kopiera innehållet i en brunn och klistra in det i en eller flera brunnar. Du kan dock kopiera innehållet i endast en brunn. Du kan inte välja flera brunnar och kopiera deras innehåll.

Så här kopierar du innehåll i en brunn till en annan brunn

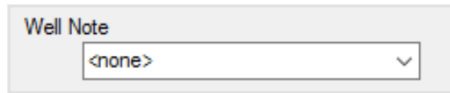
1. Välj brunnen som ska kopieras i plattrutan.
2. Högerklicka på brunnen och välj Copy Well (Kopiera brunn).
3. Välj brunnen eller brunnarna där innehållet ska klistras in:
 - För att välja en enstaka brunn, klicka på brunnen.
 - För att välja flera angränsande brunnar, klicka på en brunn och dra till målbrunnen.
 - För att välja flera ej angränsande brunnar, håll tangenten Ctrl nedtryckt och klicka på respektive brunn.
4. Se till att målbrunnarna är markerade, högerklicka och välj Paste Well (Klistra in brunn).
CFX Maestro Dx SE klistrar in den första brunnens innehåll i de markerade brunnarna.

Lägga till en kommentar till en brunn

Du kan lägga till en beskrivande kommentar till en brunn. Du kan se anteckningarna för brunnar på fliken Quantification (Kvantifiering) i fönstret Data Analysis (Dataanalys).

Så här lägger du till en kommentar till en brunn

1. Gå till plattrutan och välj brunnen eller brunnarna där en kommentar ska läggas till.
2. Välj Well Note (Brunnskommentar) i sektionen View (Visa) i den undre rutan.
Området Well Note (Brunnskommentar) visas i den högra rutan.



3. Skriv in innehållet för kommentar i textrutan och tryck på Retur.

Texten visas längst ned i de valda brunnarna.

Tips: Om du tidigare skapade en kommentar för en brunn kan du välja den i listrutan och använda den för valda brunnar.

Rensa brunnar på allt innehåll

Du kan rensa en enskild brunn, en grupp av brunnar eller allt innehåll från en platta. Rensning av brunnar innebär inte att fluorecensdata som har samlats in under plattläsningen tas bort.

Viktigt! Om du rensar en brunn försvinner dess innehåll permanent. Om du klickar på OK och sparar plattan efter att ha rensat en brunn kan du inte ångra rensningen. Var försiktig när du rensar brunnar.

Så här rensar du alla brunnsinställningar

1. I Plate Editor (Plattredigerare) väljer du brunnen eller gruppen av brunnar i plattrutan:
 - För att välja en enskild brunn, klicka på brunnen.
 - För att välja flera angränsande brunnar, klicka på en brunn och dra till målbrunnen.
 - För att välja flera ej angränsande brunnar, håll tangenten Ctrl nedtryckt och klicka på respektive brunn.
 - För att välja en hel kolumn med samma provtyp, klicka på kolumnnumret.
 - Klicka på radnumret för att välja en hel rad.
2. Klicka på Clear Wells (Rensa brunnar) i den högra rutan.

CFX Maestro Dx SE rensar alla inställningar för valda brunnar.
3. Gör något av följande:
 - Om du tog bort brunnarna av misstag klickar du på Undo (Ångra) på verktygsraden i Plate Editor (Plattredigerare) innan du klickar på OK för att acceptera ändringarna.

Viktigt! Om du klickar på OK innan du klickar på Undo (Ångra) sparas ändringarna och Undo (Ångra) avaktiveras i verktygsraden i Plate Editor (Plattredigerare).
 - Klicka på OK för att acceptera ändringarna och spara plattan.

Ändra Experiment Settings (Experimentinställningar)

Använd dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar) för att visa eller ändra listan över mål, prover eller biologiska grupper, eller för att ange provgrupp för genuttrycksanalys att analysera om du har tilldelat biologiska grupper till brunnar i plattan.

I dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar) visar fliken Targets (Mål) en lista med målnamn för varje PCR-reaktion, till exempel målgenen eller gensekvenser av intresse.

På fliken Samples and Biological Groups (Prover och biologiska grupper) visas en lista med namn på prover och biologiska grupper som anger målets källa, till exempel ett prov som tagits efter en timme (1Hr) eller från en specifik individ (mouse1).

Så här ändrar du plattinställningar med dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar)

- Gör något av följande för att öppna dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar):
 - Klicka på Experiment Settings (Experimentinställningar) i den högra rutan i Plate Editor (Plattredigerare).
 - Klicka på Experiment Settings (Experimentinställningar) på fliken Gene Expression (Genuttryck) i fönstret Data Analysis (Dataanalys).

Dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar) visas med fliken Targets (Mål).

	Name	Full Name	Reference	Select To Remove
1	Actin	Actin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	GAPDH	GAPDH	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	IL1-b	IL1-b	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	Tubulin	Tubulin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

New:

Show Analysis Settings

Exclude the following sample types from Gene Expression analysis:

NTC NRT Negative Control Positive Control Standard

- För att lägga till ett nytt mål, prov eller en biologisk grupp går du till respektive flik och skriver ett namn i textrutan New (Ny) och klickar på Add (Lägg till).

3. För att ta bort ett eller flera namn för mål, prov eller biologisk grupp från listan går du till respektive flik och markerar objektets kryssruta i kolumnen Select to Remove (Markera för att ta bort) och klickar på Remove checked item(s) (Ta bort markerade objekt).
4. CFX Maestro Dx SE exkluderar provtypen NTC (no template control, ingen templatkontroll) från analys av genuttryck.

För att inkludera NTC-provtyper avmarkerar du motsvarande kryssruta i sektionen Exclude the following sample types (Uteslut följande provtyper). Du kan utesluta följande provtyper genom att markera motsvarande kryssruta:

- NRT (no reverse transcriptase, inget omvänt transkriptas)
- Negative Control (Negativ kontroll)
- Positive Control (Positiv kontroll)
- Standard

5. På fliken Targets (Mål):
 - a. För att välja ett mål som referens för dataanalys av genuttryck väljer du det i kolumnen Reference (Referens).
 - b. Rensa Show Analysis Settings (Visa analysinställningar) om du vill dölja analysinställningar som ska tillämpas på fliken Gene Expression (Genuttryck) i fönstret Analysis Settings (Analysinställningar).

Programvaran döljer följande kolumner:

- Color (Färg)
 - Show Chart (Visa tabell)
 - Auto Efficiency (Automatisk effektivitet)
 - Effektivitet (%)
- c. För att ändra färgen på målet så som det visas i diagrammet Gene Expression (Genuttryck) väljer du en ny färg i dialogrutan Color (Färg) som visas och klickar på OK.
 - d. För att visa målet i vald färg i diagrammet Gene Expression (Genuttryck) markerar du motsvarande kryssruta i kolumnen Show Chart (Visa diagram).
 - e. Som standard beräknar CFX Maestro Dx SE automatiskt den relativa effektiviteten för ett mål om dess data inkluderar en standardkurva.

För att använda ett tidigare fastställt effektivitetsvärde skriver du in värdet i motsvarande cell i kolumnen Efficiency (%) (Effektivitet) och trycker på Retur. CFX Maestro Dx SE avmarkerar

- kryssrutan Auto Efficiency (Automatisk effektivitet).
6. På fliken Samples and Biological Groups (Prover och biologiska grupper):
 - a. För att välja ett prov eller en biologisk grupp som kontrollprov för dataanalys av genuttryck markerar du motsvarande kryssruta i kolumnen Control (Kontroll).
 - b. För att tilldela kontrollvillkoret till ett prov eller en biologisk grupp för en körning markerar du motsvarande kryssruta i kolumnen Control (Kontroll).
 - c. Om det här alternativet inte redan är valt klickar du på Show Analysis Settings (Visa analysinställningar) för att visa eller ändra analysparametrar som ska tillämpas på fliken Gene Expression (Genuttryck). Programvaran döljer kolumnerna Color (Färg) och Show Chart (Visa diagram).
 7. Klicka på OK för att spara parametrarna i dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar) och återgå till fönstret Plate Editor (Plattredigerare).

Skapa brunnsgrupper

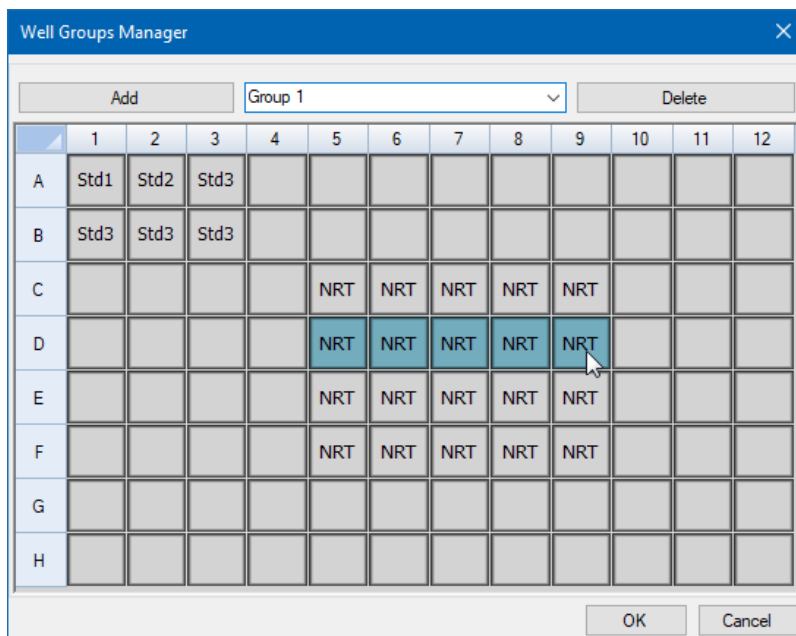
Brunnsgrupper delar upp en enskild platta i undergrupper av brunnar som kan analyseras separat i fönstret Data Analysis (Dataanalys). När du har konfigurerat brunnsgrupper, välj en av dem i fönstret Data Analysis (Dataanalys) för att analysera uppgifterna som fristående grupp. Du kan till exempel konfigurera brunnsgrupper för att analysera flera experimentkörningar i en platta eller analysera varje brunnsgrupp med en egen standardkurva.

Obs! Standardbrunngruppen är All Wells (Alla brunnar).

Så här skapar du brunnsgrupper

- Gör något av följande för att öppna Well Groups Manager (Brunnsgruppshanterare):
 - Klicka på Well Groups (Brunnsgrupper) i verktygsraden Plate Editor (Plattredigerare).
 - Klicka på Manage Well Groups (Hantera brunnsgrupper) i fönstret Data Analysis (Dataanalys).

Dialogrutan Well Groups Manager (Brunnsgruppshanterare) visas.



- Klicka på Add (Lägg till) för att skapa en ny grupp. Den nedrullningsbara menyn visar gruppnamnet som Group 1 (Grupp 1) för den första gruppen.
- Välj brunnar för brunnsgruppen i plattvyn genom att klicka dra över brunnsgruppen. Valda brunnar visas i blått i Hanteraren.

4. (Valfritt) För att ändra namnet på gruppen väljer du dess namn i den nedrullningsbara menyn och skriver in ett nytt namn.
5. (Valfritt) För att ta bort en brunnsgrupp väljer du dess namn i listrutan och klickar på Delete (Ta bort).
6. Klicka på OK för att avsluta och stänga fönstret, eller klicka på Cancel (Avbryt) för att stänga fönstret utan ändringar.

Alternativ på högerklicksmenyn i dialogrutan Well Groups Manager (Brunnsgruppshanterare)

I [Tabell 10](#) listas menyalternativen som är tillgängliga i dialogrutan Well Groups Manager (Brunnsgruppshanterare) när du högerklickar på en brunn.

Tabell 10. Alternativ på högerklicksmenyn i dialogrutan Plate Editor Well Groups Manager (Brunnsgruppshanterare för plattredigerare)

Alternativ	Funktion
Copy (Kopiera)	Brunnsinnehållen kopieras och sedan kan de klistras in i en annan brunn eller brunnar.
Copy as Image (Kopiera som bild)	Kopierar vyn för brunnsväljare som en bild.
Print (Skriv ut)	Skriver ut vyn för brunnsväljare.
Print Selection (Skriv ut markering)	Endast valda celler skrivs ut.
Export to Excel (Exportera till Excel)	Exporterar data till ett Excel-kalkylblad.
Export to CSV (Exportera till CSV)	Exporterar data som ett kommaseparerat dokument.
Export to Xml (Exportera till Xml)	Exporterar data som ett .xml-dokument.
Export to Html (Exportera till Html)	Exporterar datan som ett .html-dokument.

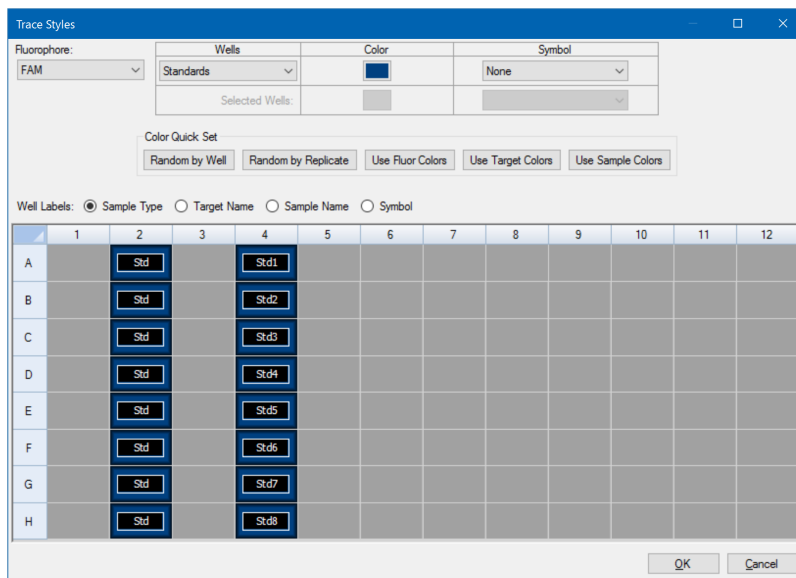
Ändra kurvutseenden

Du kan ändra färg och utseende på amplifieringskurvorna under plattinställning och under en körning. Du kan sedan enkelt se kurvorna i realtidsstatusfönstret när data hämtas in.

Så här ändrar du kurvutseenden

1. Klicka på Trace Styles (Kurvutseenden) i verktygsraden Plate Editor (Plattredigerare).

Dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden) för den öppna plattan visas, till exempel:



2. För att visa kurvutseenden per specifik fluorofoer väljer du den i listrutan Fluorophores (Fluoroforer).
3. Så här ändrar du kurvvisningen:
 - a. Välj kurvtyp i listrutan Wells (Brunner).
 - b. Klicka på dess färg i kolumnen Color (Färg).
 - c. Välj en annan färg för kurvan i dialogrutan Color (Färg) som visas och klicka på OK.
CFX Maestro Dx SE visar färgförändringen för brunnstypen i rutnätet.
 - d. (Valfritt) Välj en symbol för kurvan i listrutan Symbols (Symboler).
4. För att snabbt ändra färguppsättning klickar du på önskat alternativ i sektionen Color Quick Set (Snabbfärginställning).
5. Välj önskad etiketttyp i sektionen Well Labels (Brunnsetiketter) för att visa brunnsetiketter i rutnätet.
6. Klicka på OK för att spara ändringarna eller på Cancel (Avbryt) om du inte vill spara ändringarna.

Visa, exportera och importera plattan i kalkylbladsformat

Verktyget Spreadsheet View/Importer (Kalkylbladsvy/Importerare) visar innehållet i en platta i kalkylbladsformat. Visningsverktyget ger möjlighet att visa, importera och exportera brunnnsdata enligt beskrivningen nedan.

Använda kalkylblads vyn för att exportera och importera plattdata

Från kalkylblads vyn kan du exportera Target Name (målnamn), Sample Name (provnamn), Biological Group Name (namn på biologisk grupp) och Well Notes (anteckningar om brunnar) som en mall i ett tabbavgränsat format till ett program som Microsoft Excel. Du kan också importera dessa data från en tabbavgränsad applikation till en fördefinierad platta från en experimentinformationsfil.

Så här använder du verktyget Spreadsheet View/Importer (Kalkylbladsvy/Importerare)

1. Skapa och spara en plattfil (se [Skapa en plattfil med Plate Editor \(Plattredigerare\)](#)).
2. I verktygsfältet i Plate Editor (Plattredigerare) klickar du på Spreadsheet View/Importer (Kalkylbladsvy/Importerare) för att öppna dialogrutan Plate Spreadsheet View (Kalkylbladsvy för platta).

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

3. (Valfritt) Klicka på rutorna Show Biological Set Name (Visa namn på biologisk uppsättning) och Show Well Note (Visa brunnanteckning) för att visa dessa kolumner i kalkylblads vyn och i den exporterade filen.
4. Klicka på knappen Export Template (Exportera mall) för att skapa en tom mall i en Excel-fil (.csv-format). Den exporterade filen visar samma layout som din platta.

Tips: Använd plattfilens namn när du sparar dina plattfiler för att enkelt identifiera filen.

5. Fyll Excel-filens celler med ditt brunnsinnehåll.

Obs! Du kan bara redigera innehållet i en cell i en kolumn som har en asterisk (*) bredvid kolumnnamnet (*Target Name (Målnamn), *Sample Name (Provnamn), *Biological Group Name (Namn på biologisk grupp), *Well Note (Brunnsanteckning)).

Obs! Du kan inte lägga till värden i kolumnerna Standard Curve (Standardkurva) och Quantity Curve (Kvantitetskurva) i den exporterade Excel-filen. För att ändra dessa data kan du gå tillbaka till Plate Editor (Plattredigeraren) och välja Settings > Units (Inställningar > Enheter) i menyraden. När plattkörningen är klar visas data från dessa standarder i diagrammet Standard Curve (Standardkurva) på fliken Quantification (Kvantifiering) i fönstret Data Analysis (Dataanalys) med enheterna du väljer.

6. Importera den ifyllda Excel-filen till Plate Editor (Plattredigeraren) genom att klicka på knappen Import (Importera). Importerade plattdata visas i fönstret Plate Spreadsheet View (Kalkylbladsvy över platta).

Viktigt! Om du har flera fluoroforer måste du utföra steg 3–5 för varje fluorofor med hjälp av rullgardinsmenyn Flours List (Fluoroforlista) i Plate Spreadsheet View (Kalkylbladsvy över platta).

7. Klicka på OK. De nya plattdata visas nu i fönstret Plate Editor (Plattredigerare).

Tips: Du ser de tillgängliga menyalternativen i verktyget Spreadsheet View/Importer (Kalkylbladsvy/Importerare) när du högerklickar på en brunn i verktyget eller på något tabellhuvud i kalkylbladsvyn över plattan.

Skapa en plattlayout med användning av Setup Wizard (Inställningsguide) för plattor

Du kan använda Setup Wizard (Inställningsguide) för att ange plattlayoutinformationen som behövs för analys av normaliserat genuttryck, inklusive:

- Målnamn
- Provnamn
- Placering av mål och prover på plattan
- Referensgen(er)
- Kontrollprov

Setup Wizard (Inställningsguide) kan användas före, under och efter en körning.

Använda Setup Wizard (Inställningsguide) för plattor

I det här avsnittet beskrivs hur du skapar en plattlayout i Setup Wizard (Inställningsguide). För att lättare se innehållet i varje brunn i plattan klickar du på Zoom plate (Zooma in platta) högst upp i Setup Wizard (Inställningsguide).

Viktigt! Om du återgår till fliken Auto layout (Automatisk layout) från en annan flik i Setup Wizard (Inställningsguide) återställs plattlayouten. Var försiktig när du väljer den fliken.

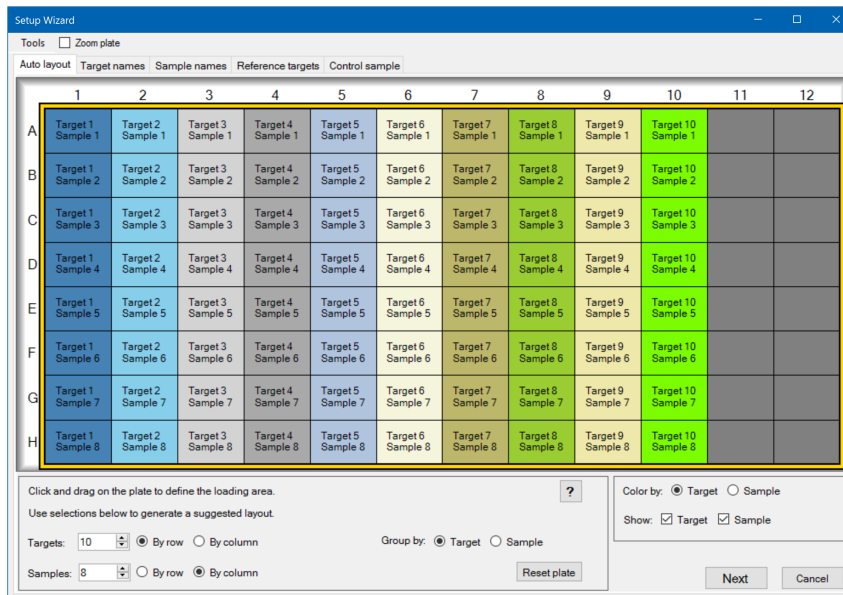
Tips: Du återställer layouten genom att välja Tools > Clear Plate (Verktyg > Rensa platta) i Setup Wizard (Inställningsguide).

Så här använder du Setup Wizard (Inställningsguide) för plattor

1. Öppna Plate Editor (Plattredigerare).
2. Gör något av följande för att öppna inställningsguiden:
 - Välj Editing Tools > Setup Wizard (Redigeringsverktyg > Inställningsguide).
 - Klicka på Setup Wizard (Inställningsguide) i verktygsraden för Plate Editor (Plattredigerare).

Setup Wizard (Inställningsguide) visas med fliken Auto layout (Automatisk layout).

Kapitel 8 Förbereda plattor



3. Gör följande på fliken Auto layout (Automatisk layout):

- Klicka på en brunn i rutnätet och dra den över och ned för att ange området på plattan där du planerar att ladda provet.
- Ange antalet mål och prover som ska laddas.
Tips: Antalet mål och prover måste motsvara antalet valda celler. Om inte de angivna antalen passar i det valda området ändrar du antalen eller plattvalsområdet. Orienteringen av objekten på plattan och deras gruppering kan specificeras.
- (Valfritt:) Ändra plattorienteringen. Du kan till exempel ställa in mål i kolumner och prover i rader, eller gruppera efter prover.
- Klicka på Next (Nästa) för att gå vidare till fliken Target names (Målnamn).

Obs! Om inte plattlayouten har ett vanligt mönster placerar du målen manuellt på fliken Target names (Målnamn) eller placerar proverna manuellt på fliken Sample names (Provnamn) på plattan. Klicka och dra för att välja flera brunnar.

4. På fliken Target names (Målnamn) anger du namnen på målgrupperna:

- Gör något av följande:
 - Ställ in Select by (Välj efter) på Target (Mål) för att byta namn på målen efter grupp.
 - Ställ in Select by (Välj efter) på Well (Brunn) för att byta namn på målen efter brunn.
- Välj en målgrupp eller -brunn i rutnätet och ange ett namn i listrutan Target name (Målnamn).

Tips: Tryck på Tabb för att välja nästa grupp eller brunn till höger, eller på Retur för att välja nästa grupp eller brunn nedanför. Eller håll ned Ctrl-tangenten (på flikarna Target name (Målnamn) och Sample name (Provnamn)) och klicka på en brunn i taget för att välja flera brunnar som inte ligger intill varandra.

- c. Klicka på Next (Nästa) för att gå vidare till fliken Sample names (Provnamn).
5. Definiera provnamnen för provgrupperna på fliken Sample names (Provnamn).
6. Klicka på Next (Nästa) för att gå vidare till fliken Reference targets (Referensmål).
7. På fliken Reference targets (Referensmål) väljer du ett eller flera mål som ska användas som referenser för normaliserat genuttryck och klickar på Next (Nästa) för att gå vidare till fliken Control sample (Kontrollprov).
8. På fliken Control sample (Kontrollprov) väljer du ett prov som ska användas som en kontroll för beräkningar av relativa genuttryck.
9. Klicka på OK för att spara plattlayouten och återgå till Plate Editor (Plattredigerare) där du kan definiera plattparametrarna ytterligare. Mer information finns i [Tilldela valfria parametrar till plattfilen på sidan 138](#).

Eller klicka på Previous (Föregående) för att återgå till en föregående flik och göra ändringar.

Obs! Om du återgår till fliken Auto layout (Automatisk layout) återställs plattlayouten automatiskt. Var försiktig när du klickar på Previous (Föregående).

Kapitel 9 Köra experiment

Det här kapitlet förklarar hur du kör anpassade (användardefinierade) eller PrimePCR-analysexperiment med CFX Maestro Dx programvara, Security Edition.

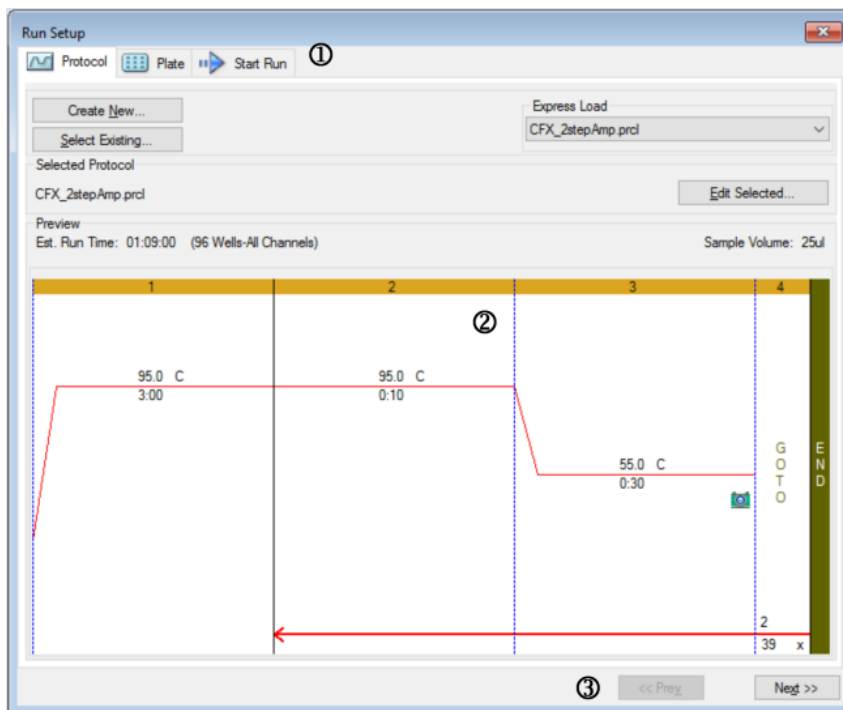
En körningsdatafil innehåller protokoll- och plattinformation för körningen. Filen innehåller också data från analyserna som CFX Maestro Dx SE utför efter avslutad körning.

Med CFX Maestro Dx SE är det enkelt att konfigurera och köra användardefinierade eller PrimePCR-baserade experiment. Fönstret Run Setup (Inställning av körning) vägleder dig genom gemensamma steg för konfiguration av experiment och vidarebefordrar dig till dialogrutan Start Run (Starta körning) där du påbörjar körningen.

Fönstret Run Setup (Körningsinställning)

Fönstret Run Setup (Körningsinställning) ger snabb åtkomst till filerna och inställningarna som behövs för att konfigurera och köra ett experiment. När du väljer att köra ett användardefinierat experiment öppnas fönstret Run Setup (Körningsinställning) med fliken Protocol (Protokoll). När du väljer att köra ett PrimePCR-experiment öppnas fönstret Run Setup (Körningsinställning) med fliken Start run (Starta körning).

Tips: Information om PrimePCR finns i [Utföra PrimePCR-experiment på sidan 179](#) och information om fliken Start Run (Starta körning) finns i [Fliken Start Run \(Starta körning\) på sidan 169](#).



FÖRKLARING

1. Följande flikar vägleder dig genom configurationen och körningen av ett experiment:
 - Fliken Protocol (Protokoll) – välj ett befintligt protokoll att köra eller redigera, eller skapa ett nytt protokoll i Protocol Editor (Protokollredigerare).
 - Fliken Plate (Platta) – välj en befintlig platta att köra eller redigera, eller skapa en ny platta i Plate Editor (Plattredigerare).
 - Fliken Start Run (Starta körning) – visa experimentinställningarna, välj ett eller fler instrumentblock och starta körningen.

2. Huvudfönstret visar alternativen för varje flik när du använder dem.

3. Navigeringsknappar som leder till fliken Start Run (Starta körning).

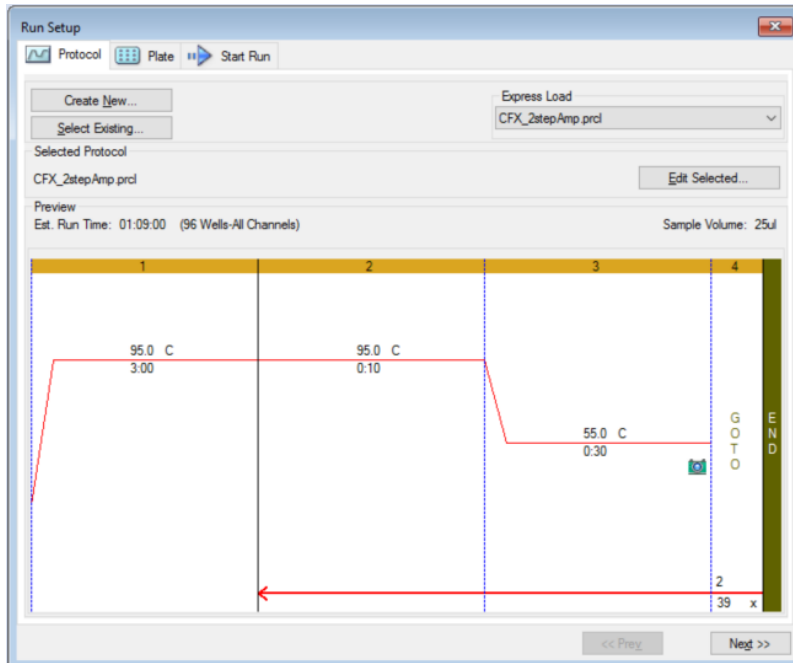
Öppna fönstret Run Setup (Körningsinställning)

Så här öppnar du fönstret Run Setup (Körningsinställning)

- ▶ Gör något av följande:
 - På fliken Run Setup (Körningsinställning) i Startup Wizard (Startguide) klickar du antingen på User-defined (Användardefinierad) eller PrimePCR.
 - I hemfönstret klickar du antingen på User-defined Run Setup (Användardefinierad körningsinställning) eller PrimePCR Run Setup (PrimePCR-körningsinställning) i verktygsraden.
 - I hemfönstret väljer du antingen Run > User-defined Run (Körning > Användardefinierad körning) eller Run > PrimePCR Run (Körning > PrimePCR-körning).

Fliken Protocol (Protokoll)

På fliken Protocol (Protokoll) visas en förhandsgranskning av protokollfilen som du planerar att köra. En protokollfil innehåller instruktioner för instrumentets temperatursteg och instrumentalternativ som styr ramphastigheten, provvolymen och lockets temperatur.



Som standard visar programvaran det protokoll som har definierats i avsnittet File Selection for Run Setup (Filval för körningsinställningar) på fliken Files i dialogrutan User > User Preferences (Användare > Användarinställningar). Du ändrar standardprotokollet i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar). Se [Ändra standardfilinställningarna på sidan 83](#) för mer information.

På fliken Protocol (Protokoll) kan du

- skapa ett nytt protokoll att köra
- välja ett befintligt protokoll att köra eller redigera.

Mer information om att skapa och ändra protokoll finns i [Kapitel 7, Skapa protokoll](#).

Så här skapar du ett nytt protokoll

1. Klicka på Create New (Skapa ny) på fliken Protocol (Protokoll).
Protocol Editor (Protokollredigerare) öppnas.
2. Skapa ett nytt protokoll i Protocol Editor (Protokollredigerare).

3. Klicka på OK för att spara protokollet och återgå till fliken Protocol (Protokoll) i Run Setup (Körningsinställning).
4. Visa information om protokollet och gör något av följande:
 - Om informationen är korrekt klickar du på Next (Nästa) för att gå vidare till fliken Plate (Platta).
 - Om informationen är felaktig klickar du på Edit Selected (Redigera valda) för att återgå till fönstret Protocol Editor (Protokollredigerare). Revidera protokollet, spara ändringarna och klicka på Next (Nästa) på fliken Protocol (Protokoll) för att gå vidare till fliken Plate (Platta).

Så här väljer du ett befintligt protokoll

1. Gör något av följande på fliken Protocol (Protokoll):
 - Klicka på Select Existing (Välj befintlig) och gå till ett befintligt protokoll.
 - Klicka på Express Load (Expressladdning) och välj ett protokoll i listrutan för protokoll.

Tips: Du kan lägga till protokoll i och ta bort dem från listrutan Express Load (Expressladdning). Mer information finns i [Lägga till och ta bort protokoll för expressladdning](#) som följer.
2. Visa information om protokollet och gör något av följande:
 - Om informationen är korrekt klickar du på Next (Nästa) för att gå vidare till fliken Plate (Platta).
 - Om informationen är felaktig klickar du på Edit Selected (Redigera valda) för att öppna Protocol Editor (Protokollredigerare). Revidera protokollet, spara ändringarna och klicka på Next (Nästa) på fliken Protocol (Protokoll) för att gå vidare till fliken Plate (Platta).

Lägga till och ta bort protokoll för expressladdning

Du kan ändra innehållet i listrutan Express Load (Expressladdning) som finns i Protocol Editor (Protokollredigerare). Protokollen i den här listan sparas i följande mapp:

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX_MDx\Users\<användarnamn>\ExpressLoad\

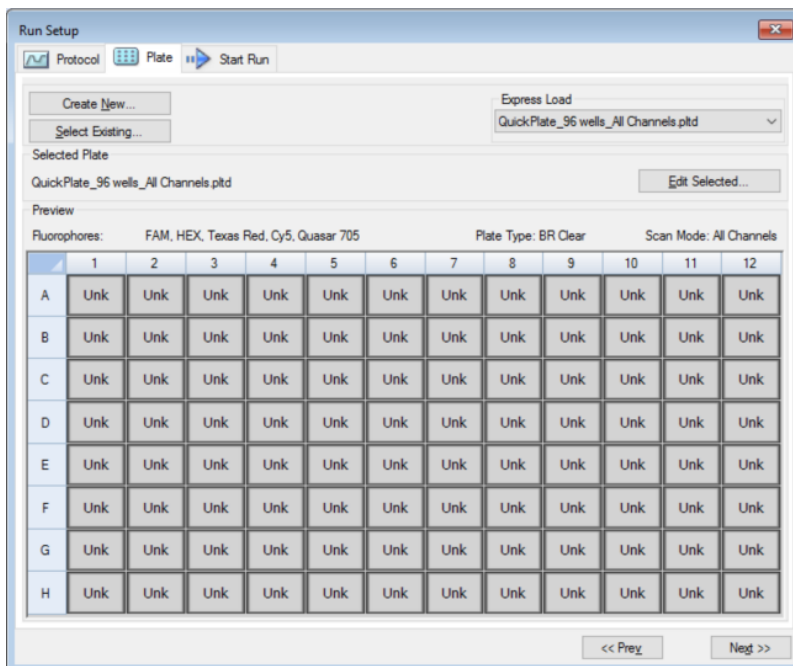
Så här ändrar du listan Express Load (Expressladdning) med protokoll

1. Gå till och öppna mappen Express Load (Expressladdning).
2. Granska protokollfilerna (.pctl) i mappen.
3. Gör något av följande:
 - Radera protokoll från mappen för att ta bort dem från listrutan.
 - Kopiera protokoll till mappen för att lägga till dem i listrutan.

Fliken Plate (Platta)

Obs! Om protokollet som väljs på fliken Protocol (Protokoll) inte har ett plattläsningssteg för realtids-PCR-analys är fliken Plate (Platta) dold. Lägg till minst en plattläsning i protokollet för att visa fliken Plate (Platta).

Fliken Plate (Platta) ger en förhandsvisning av plattfilen som du planerar att läsa in. I en PCR-körning i realtid innehåller plattfilen en beskrivning av innehållet i varje brunn inklusive dess fluoroforer, skanningsläge och platttyp. CFX Maestro Dx SE använder dessa beskrivningar för datainsamling och analys.



Som standard visar programvaran plattan som är definierad i sektionen File Selection för Run Setup (Filval för analysinställning) på fliken Files (Filer) i dialogrutan User > User Preferences (Användare > Användarinställningar). Du kan ändra standardplatta i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar). Se [Ändra standardfilinställningarna på sidan 83](#) för mer information.

På fliken Plate (Platta) kan du

- skapa en ny platta att ladda
- välja en befintlig platta att ladda eller redigera.

Se [Kapitel 8, Förbereda plattor](#) för mer information om hur du skapar och ändrar plattor.

Så här skapar du en ny platta

1. Klicka på Create New (Skapa ny) på fliken Plate (Platta).
Plate Editor (Plattredigeraren) visas.
2. Använd Plate Editor (Plattredigerare) för att skapa en ny platta
3. Klicka på OK för att spara plattan och återgå till fliken Plate (Platta) i Run Setup (Körinställning).
4. Visa information för plattan och gör något av följande:
 - Om informationen är korrekt klickar du på Next (Nästa) för att fortsätta till fliken Start Run (Starta körning).
 - Om informationen är felaktig klickar du på Edit Selected (Redigera valt) för att återgå till Plate Editor (Plattredigerare). Granska plattfilen, spara ändringarna och klicka sedan på Next (Nästa) på fliken Plate (Platta) för att fortsätta till fliken Start Run (Starta körning).

Så här väljer du en befintlig plattfil

1. Gör något av följande på fliken Plate (Platta):
 - Klicka på Select Existing (Välj befintlig) och gå till en befintlig plattfil.
 - Klicka på Express Load (Expressladdning) och välj en plattfil i listrutan.

Tips: Du kan lägga till plattor till eller ta bort dem från listrutan Express Load (Expressladdning). Se [Lägga till och ta bort plattfiler för expressladdning](#) nedan för mer information.
2. Visa information för plattan och gör något av följande:
 - Om informationen är korrekt klickar du på Next (Nästa) för att fortsätta till fliken Start Run (Starta körning).
 - Om informationen är felaktig klickar du på Edit Selected (Redigera valt) för att öppna fönstret Plate Editor (Plattredigerare). Granska plattfilen, spara ändringarna och klicka sedan på Next (Nästa) för att fortsätta till fliken Start Run (Starta körning).

Lägga till och ta bort plattfiler för expressladdning

Du kan ändra innehållet i listrutan Express Load (Expressladdning) som finns i Plate Editor (Plattredigerare). Plattorna som finns i den här listan sparas i följande mapp:

c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx\Users\<>användarnamn>\ExpressLoad\

Så här ändrar du listan Express Load (Expressladdning) med plattfiler

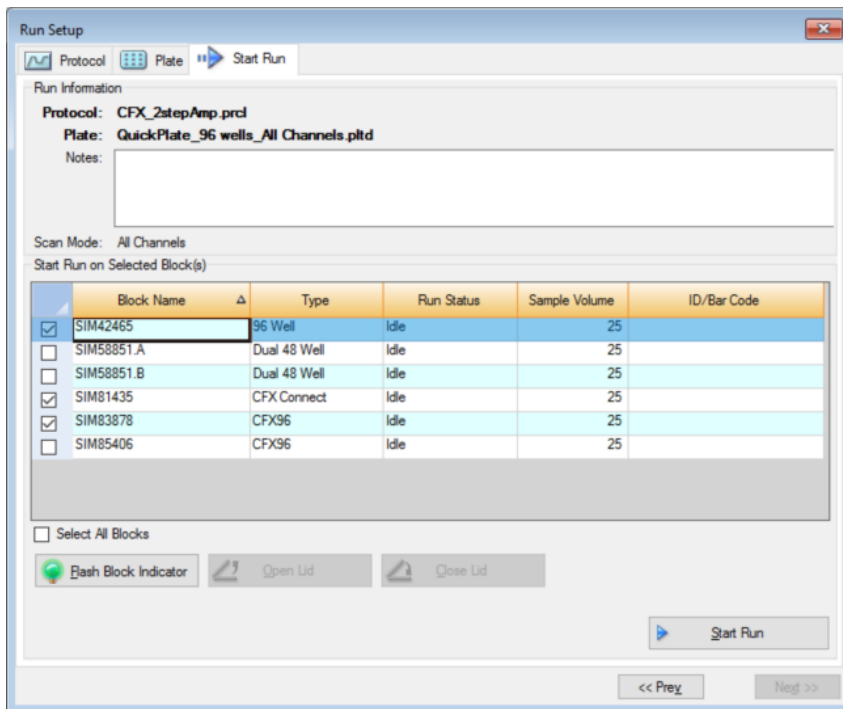
1. Gå till och öppna mappen Express Load (Expressladdning).
2. Granska plattfilerna (.pltd) i mappen.

3. Gör något av följande:

- Radera plattfiler från mappen för att ta bort dem från listrutan.
- Kopiera plattfiler till mappen för att lägga till dem i listrutan.

Fliken Start Run (Starta körning)

På fliken Start Run (Starta körning) visas information om experimentet som ska köras. Där visas också det eller de anslutna instrumentblocken som du kan köra experimentet på.



På fliken Start Run (Starta körning) kan du göra följande:

- Visa utförlig körningsinformation, inklusive den valda protokollfilen, plattfilen och skanningsläget.
- Lägga till anteckningar om körningen.
- Visa information om alla anslutna instrument, inklusive deras körningsstatus (igång eller inaktiva), provvolym i μ l, locktemperatur, emuleringsläge samt ID eller streckkod om tillgängligt.

Obs! Du kan ändra kolumnerna som visas i tabellen Start Run on Selected Blocks (Starta körning på valda block). Se [Ändra information i tabellen Selected Blocks \(Valda block\) på sidan 170](#) för information.
- Välja ett eller flera block där du ska utföra körningen.
- Fjärröppna eller fjärrstänga locket på varje valt instrument.
- Starta körningen.

Ändra information i tabellen Selected Blocks (Valda block)

Du kan ändra kolumnerna som visas i Start Run (Startkörning) i tabellen Selected Block(s) (Valda block). Du kan också ändra standardprovolymen och locktemperaturvärden i tabellen. Inställningsändringarna tillämpas på körningen som ska utföras.

Så här lägger du till kolumner i tabellen Start Run on Selected Blocks (Starta körning på valda block).

- ▶ Högerklicka på tabellen och välj ett alternativ på menyn som visas.

Så här tar du bort kolumner i tabellen Start Run on Selected Blocks (Starta körning på valda block)

- ▶ Högerklicka på tabellen och ta bort alternativet på menyn som visas.

Så här ändrar du provvolymen eller locktemperatur för ett block

- ▶ Välj provvolym eller locktemperaturcell för målblocket och skriv in ett nytt värde i cellen.

Så här lägger du till ett körnings-ID eller en streckkod för ett block

- ▶ Välj cellen ID/Bar Code (ID/Streckkod) för målblocket och skriv in ett ID eller skanna blocket med en streckodsläsare.

Köra ett experiment

Viktigt! Innan du kör ett experiment måste du se till att din dators antivirusprogram inte startar en skanning under körningen. Se [Installera CFX Maestro Dx SE-programvaran på sidan 33](#) och din systemadministratör för mer information.

Så här kör du ett experiment

1. På fliken Start Run (Starta körning) kontrollerar du informationen för platta och protokoll i sektionen Run Information (Körningsinformation).
2. (Valfritt) Skriv in anteckningar om körningen eller experimentet i textrutan Notes (Anteckningar).
3. Markera kryssrutan för ett eller flera block där du ska utföra körningen.

Tips: För att köra experimentet på alla block väljer du Select All Blocks (Välj alla block) nedanför tabellen Selected Blocks (Valda block).

4. (Valfritt) Klicka på Flash Block Indicator (Blockets indikatorlampa) för att tända indikatorlampan för de valda instrumentblocken.
5. Sätt in experimentplattorna i blocket:

- a. Klicka på Open Lid (Öppna lock). Det motoriserade locket till varje valt block öppnas.
- b. Sätt in en experimentplatta i varje valt block.
- c. Klicka på Close Lid (Stäng lock).

Tips: Tryck på Open Lid (Öppna lock) eller Close Lid (Stäng lock) på startskärmen på CFX Opus Dx-system.

6. Klicka på Open Lid (Öppna lock) och Close Lid (Stäng lock) för att öppna och stänga det motoriserade locket till varje valt instrumentblock.
7. Visa informationen för körningen och gör något av följande:
 - Om informationen är korrekt klickar du på Start Run (Starta körning).
 - Om informationen är felaktig:
 - Korrigera informationen i tabellen Selected Blocks (Valda block) och klicka på Start Run (Starta körning).
 - Gå tillbaka till rätt flik och gör erforderliga ändringar, spara ändringarna och klicka sedan på Next (Nästa) för att återgå till fliken Start Run (Starta körning) och starta körningen.

Så här startar du en ny körning från en föregående körning

► Gör något av följande:

- Välj File > Repeat a Run (Arkiv > Upprepa en körning) i huvudmenyraden. Gå till och dubbelklicka på körningsdatafilen som du vill upprepa.
- Välj fliken Repeat Run (Upprepa körning) i Startup Wizard (Startguide) och dubbelklicka på körningsdatafilen för körningen du vill upprepa.

Alternativt kan du klicka på Browse (Bläddra) på fliken Repeat Run (Upprepa körning) och gå till och dubbelklicka på körningsdatafilen för körningen du vill upprepa.

Dialogrutan Run Details (Körningsdetaljer)

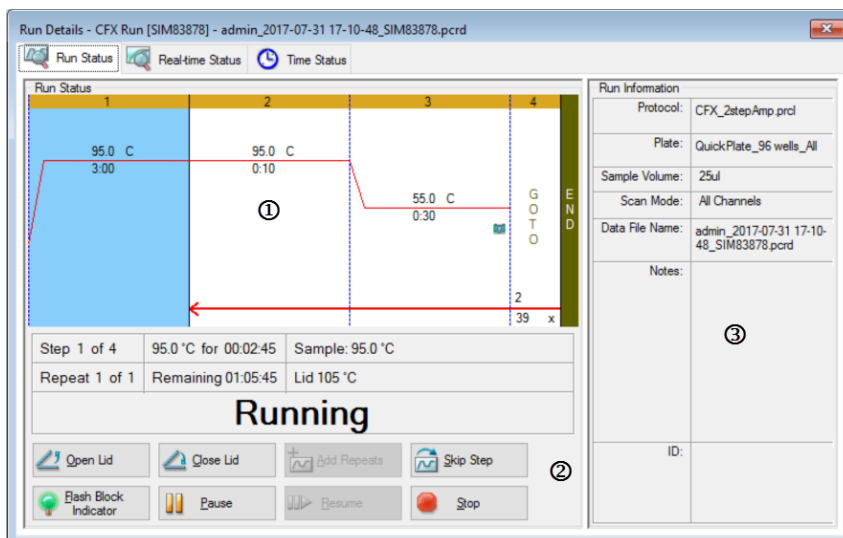
När du klickar på Start Run (Starta körning) uppmanas du av CFX Maestro Dx SE att spara datafilen (.pcrd). Sedan startas körningen och dialogrutan Run Details (Körningsdetaljer) öppnas. Dialogrutan Run Details (Körningsdetaljer) har tre statusflikar:

- **Run Status** (Körningsstatus) – använd den här fliken för att visa protokollets aktuella status, öppna eller stänga locket, pausa en körning, lägga till repetitioner, hoppa över steg eller stoppa körningen.
- **Real-time Status** (Realtidsstatus) – använd den här fliken för att visa fluorescensdata för realtids-PCR efterhand som de samlas in.
- **Time Status** (Tidsstatus) – använd den här fliken för att visa ett nedräkningstidur i helskärm för protokollet.

Dessa flikar förklaras utförligt i kommande avsnitt.

Fliken Run Status (Körningsstatus)

På fliken Run Status (Körningsstatus) visas aktuellt status för en pågående körning. I den här vyn kan du även kontrollera locket och ändra den pågående körningen.



FÖRKLARING

1. Rutan Run Status (Körningsstatus) – visar protokollets aktuella förlopp.

2. Kontroller för Run Status (Körningsstatus) – gör att du kan styra instrumentet eller avbryta det aktuella protokollet.

3. Rutan Run Information (Körningsinformation) – visar körningsinformation.

Kommandon för Run Status (Körningsstatus)

Använd kommandona på fliken Run Status (Körningsstatus) för att antingen styra instrumentet från programmet eller ändra en pågående körning.

Obs! Även om du gör ändringar i protokollet under körningen, t.ex. lägger till repetitioner, ändras ingenting i den protokollfil som är associerad med körningen. Dessa åtgärder registreras i Run Log (Körningslogg).



– öppnar det motoriserade locket på vissa instrument.

Viktigt! Om du öppnar locket under en körning pausas körningen under det aktuella steget och data kan förändras. [Kommandon för Run Status \(Körningsstatus\) på sidan 173.](#)



– stänger det motoriserade locket på vissa instrument.



– lägger till fler repetitioner till det aktuella GOTO-steget i protokollet. Detta alternativ är endast tillgängligt när ett GOTO-steg pågår.

Obs! Du kan lägga till ytterligare upprepningar under en GOTO-cykel när protokollet körs. Men CFX Maestro Dx SE utgår från den senaste ändringen av antalet upprepningar. Om du till exempel lägger till ytterligare 10 upprepningar i en pågående GOTO-cykel, ändrar programvaran det totala antalet till $n + 10$. Om du sedan lägger till ytterligare 5 upprepningar i samma cykel, ändrar CFX Maestro det totala antalet upprepningar till $n + 5$. Den första ändringen (10 upprepningar) ignoreras. För att säkerställa att programvaran utför önskat antalet upprepningar ska du ange det totala antalet (i det här fallet 15 upprepningar).



– hoppar över det aktuella steget i protokollet.

Obs! Om du initierar ett hopp under ett GOTO-steg hoppar systemet till nästa cykel i GOTO-slingan. Om GOTO-stegets sista cykel pågick vid tidpunkten för hoppet, hoppar systemet till nästa steg.



– tänds lampan på det valda instrumentet för att identifiera de valda blocken.



– pausar protokollet.

Obs! Denna åtgärd registreras i Run Log (Körningslogg).



– återupptar ett pausat protokoll.

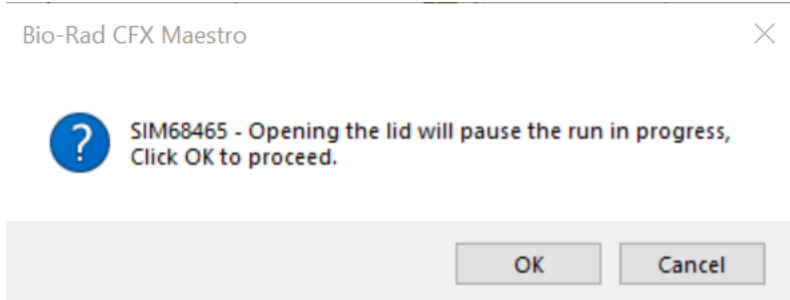


– stoppar körningen innan protokollet är slut.

Obs! Om du stoppar en körning innan protokollet är slut kan data förändras.

Öppna instrumentlocket under en PCR-körning

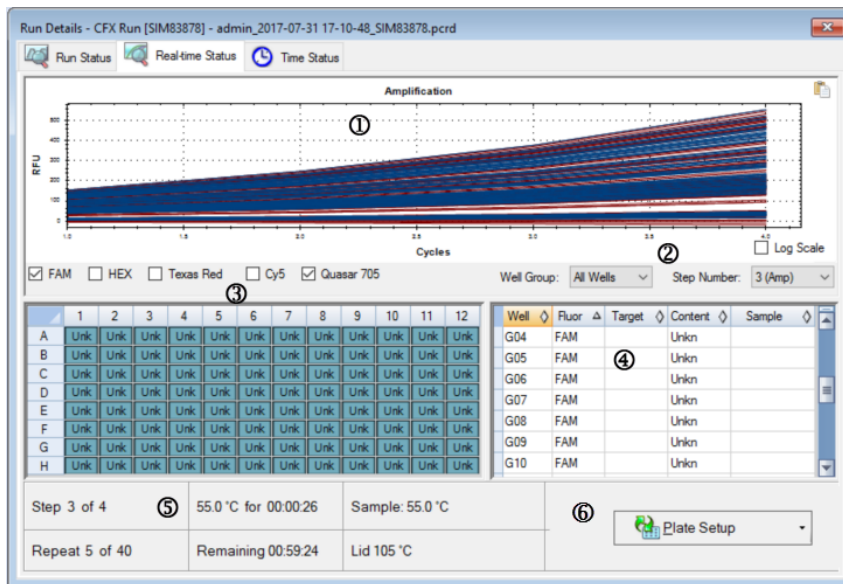
Om locket på något instrument öppnas under en PCR-körning visar CFX Maestro Dx SE följande bekräftelsesdialogruta:



Medan dialogrutan visas fortsätter instrumenten att köra protokollet. Om du trycker på knappen OK pausas körningen och instrumentlocket lossnar och öppnas. Om du trycker på knappen Cancel (Avbryt) stängs dialogrutan och körningen återupptas.

Fliken Real-time Status (Realtidsstatus)

På fliken Real-time Status (Realtidsstatus) visas realtids-PCR-data som samlats in vid varje cykel under körningen efter de två första plattavläsningarna.



FÖRKLARING

1. Ruta för amplifieringskurva – visar realtidsamplifieringsdata under körningen.

2. Identifierare för brunnsgupper – om brunnsgupper identifierades under plattinställningen, kan användare välja en specifik brunnsgupp för att visa dess kurvor, brunnar och tabellinformation.
Identifierare för stegnummer – om protokollet samlar in data vid fler än ett steg (till exempel under amplifiering och smältkurva), kan användare välja ett specifikt steg och visa kurvorna som samlats in under det steget.

3. Ruta för brunnsväljare – visar de aktiva, inaktiva och tomma brunnarna i plattan.

4. Ruta för plattinställningstabell – visar plattinställningen i tabellformat.

5. Ruta för körningsdetaljer – visar realtidsstatus för körningen inklusive följande:

- Aktuellt steg
- Aktuell repetition
- Aktuell temperatur
- Återstående tid
- Provtemperatur
- Locktemperatur

6. Plate Setup (Plattinställning) – öppnar dialogrutan Plate Setup (Plattinställning), i vilken användare kan ändra den aktuella plattinställningen under en körning.

På fliken Real-time Status (Realtidsstatus) kan du göra följande:

- Visa eller dölja realtidskurvor genom att markera dem i brunnsväljarrutan eller plattinställningstabellen.
- Visa enstaka kurvor eller grupper av kurvor genom att markera dem i listrutan för brunnsgrupper.
- Redigera plattan eller byta ut plattfilen.
- Tillämpa en PrimePCR-fil på körningen.

Visa och dölja realtidskurvor

Som standard är alla fyllda brunnar aktiva och visas i tabellen för plattinställning. Aktiva brunnar är blå i brunnsväljarrutan. Dolda brunnar är ljusgrå och oanvända brunnar är mörkgrå i brunnsväljarrutan.

Du kan dölja kurvor från aktiva brunnar under körningen. CFX Maestro Dx SE fortsätter att samla in data för alla brunnar, men när du döljer brunnar visas deras data inte i tabellen för plattinställning.

Så här döljer du realtidskurvor

- ▶ I brunnsväljarrutan klickar du på de aktiva (blå) brunnar som du vill dölja.

Så här visar du realtidskurvor

- ▶ I brunnsväljarrutan klickar du på de dolda (ljusgrå) brunnar som du vill visa.

Mer information om brunnsväljaren finns i [Brunnsväljare på sidan 196](#).

Redigera en Plate Setup (Plattinställning)

Så här redigerar du en plattinställning

- ▶ Klicka på Plate Setup (Plattinställning) och välj sedan View/Edit Plate (Visa/redigera platta).
Fönstret Plate Editor (Plattredigerare) visas, i vilket du kan redigera plattan medan körningen pågår.
För mer information om att redigera plattor, se [Kapitel 8, Förbereda plattor](#).
Obs! Du kan även redigera kurvutseendena från fönstret Plate Editor (Plattredigerare).
Ändringar visas i amplifieringskurvplotten på fliken Real-time Status (Realtidsstatus).

Byta ut en plattfil

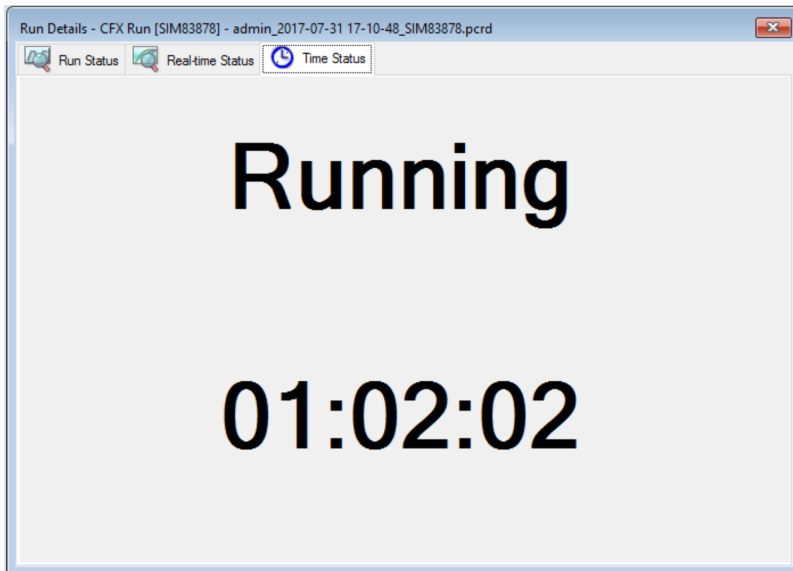
Tips: Det är särskilt lämpligt att byta ut en plattfil om du startar en körning med en Quick Plate-fil i mappen ExpressLoad.

Så här byter du ut en plattfil

- ▶ Klicka på Plate Setup (Plattinställning) och välj sedan ett av följande alternativ:
 - Replace Plate file (Byt ut plattfil) – välj den nya plattfilen från listan i webbläsarfönstret
 - Apply PrimePCR file (Använd PrimePCR-fil) – sök efter en körningsfil från vilken plattlayouten kommer att erhållas med hjälp av Smart search (Smart sökning), eller klicka på Browse (Bläddra) för att hitta en fil som hämtades från Bio-Rad-webbplatsen och som inte finns i PrimePCR-mappen.
- Obs!** CFX Maestro Dx SE kontrollerar skanningsläge och plattstorlek för plattfilen. Dessa måste överensstämma med körningsinställningarna med vilka körningen påbörjades.

Fliken Time Status (Tidsstatus)

På fliken Time Status (Tidsstatus) visas tiden som återstår tills den aktuella körningen är slutförd.



Utföra PrimePCR-experiment

PrimePCR-experiment använder den reaktionsväg eller de sjukdomsspecifika analyser som Bio-Rad har validerat och optimerat i våtlaboratorium och som finns i följande format:

- Beredda paneler – plattor innehållande analyser som är specifika för en biologisk reaktionsväg eller sjukdom, dessa omfattar PrimePCR-kontroller och -referensgener.
- Plattor med anpassad konfiguration – plattor som kan konfigureras i en användardefinierad layout med möjlighet att välja analyser för intresseområden, kontroller och referenser.
- Individuella analyser – rör som innehåller individuella primeruppsättningar för användning i realtidsreaktioner.

För att minska den totala körtiden kan du ta bort smältsteget i protokollet. Bio-Rad rekommenderar starkt att du inte gör några andra ändringar av ett PrimePCR-körningsprotokoll. Standardprotokollet är det som har använts för analysvalidering. Avvikelse från det kan påverka resultatet. Protokolländringar noteras på fliken Run Information (Körningsinformation) i den resulterande datafilen och i rapporter som skapas.

Så här startar du en PrimePCR-körning

- ▶ Gör något av följande för att starta PrimePCR-körning:
 - Välj PrimePCR på fliken Run setup (Körningsinställning) i Startup Wizard (Startguide) och välj lämplig kemi (SYBR[®] eller prob).
 - Välj en PrimePCR-körning i listan Recent Runs (Senaste körningar) på fliken Repeat run (Upprepa körning) i Startup Wizard (Startguide).
 - Välj File > Open > PrimePCR Run File (Arkiv > Öppna > PrimePCR-körfil) i hemfönstret.
 - Dra och släpp en PrimePCR-körfil i hemfönstret.

När du har valt en PrimePCR-körning öppnas fönstret Run Setup (Körningsinställning) på fliken Start Run (Starta körning) med den PrimePCR-standardplattlayout som har lästs in baserat på det valda instrumentet.

Så här tar du bort protokollets smältsteg

- ▶ Avmarkera rutan intill Include Melt Step (Inkludera smältsteg) på fliken Protocol (Protokoll).

Så här importerar du målinformation för PrimePCR-plattor till en plattlayout

1. Gör något av följande:
 - Välj Plate Setup > Apply PrimePCR File (Plattinställning > Använd PrimePCR-fil) på fliken Real-time Status (Realtidsstatus) i dialogrutan Run Details (Körningsinformation).
 - Välj Plate Setup > Apply PrimePCR File (Plattinställning > Använd PrimePCR-fil) i fönstret Data Analysis (Dataanalys).
2. I dialogrutan PrimePCR run file (PrimePCR-körningsfil) klickar du på Browse (Bläddra) och går till lämplig PrimePCR-fil (.csv).
3. Välj PrimePCR-målfilen och klicka på Open (Öppna).

CFX Opus Dx-system importerar målinformationen till plattlayouten.

Överföra fristående data för analys

Viktigt! När du överför datafiler från CFX Opus Dx-system till CFX Maestro Dx SE överförs alla filer som sparats i systemet. Kontrollera att du har tillräckligt diskutrymme för säker dataöverföring.

När körningen är slutförd analyserar CFX Maestro Dx SE fluorescensdata. Om körningen utförs i fristående läge och sparas på själva CFX Opus Dx-system måste data överföras till CFX Maestro Dx SE-datorn för analys.

CFX Opus Dx-system kan lagra upp till 100 realtids-PCR-körningar. När körningen är slutförd kan du överföra fristående datafiler till CFX Maestro Dx SE-datorn via e-post, USB-enhet eller via själva programvaran.

I det här avsnittet förklaras hur du överför fristående datafiler till CFX Maestro Dx SE-datorn.

Överföra data via e-post

Så här skickar du en datafil via e-post när körningen är avslutad

1. Ställ in e-postaviseringar för instrumentet.

Se [Ställa in e-postaviseringar på sidan 79](#) eller bruksanvisningen för CFX Opus Dx realtids-PCR-system.

2. När du ställer in e-postaviseringar måste du se till att Attach Data File (Bifoga datafil) är markerat.

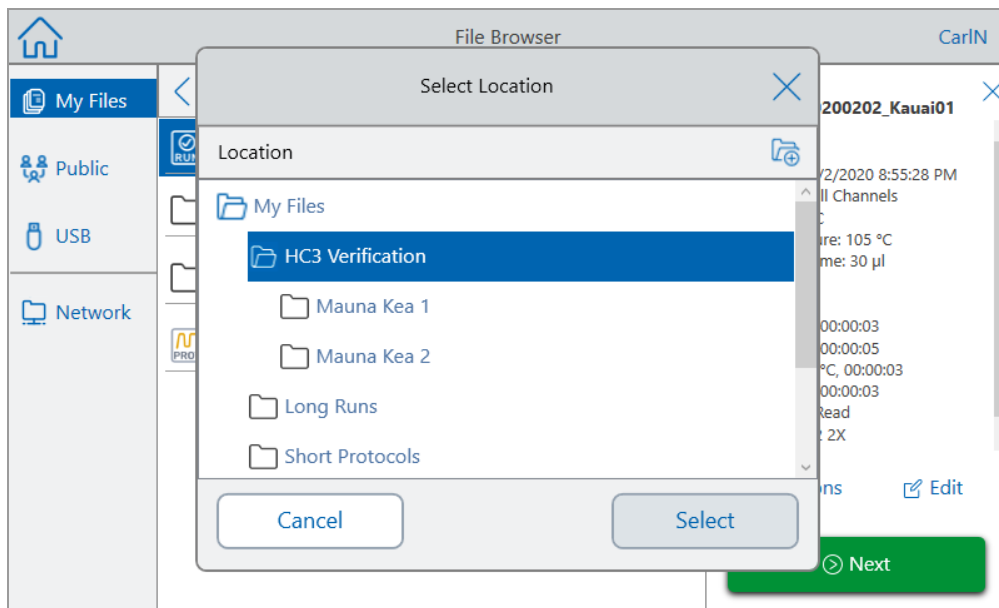
Körningsdata skickas via e-post som en fil i formatet .pcrd.

Överföra data från CFX Opus Dx realtids-PCR-system

Med funktionen File Browser (Filläsare) på CFX Opus Dx-system kan du överföra datafiler till en ansluten USB-enhet eller till en delad nätverksmapp. Du kan också överföra CFX Maestro Dx SE-protokollfiler från en USB-enhet eller delad nätverksenhet till din mapp eller den offentliga mappen på CFX Opus Dx-system och köra dem på CFX Opus Dx-system.

Tips: Det här avsnittet förklarar hur du överför data. Mer information om att konfigurera Ethernet finns i CFX Opus Dx realtids-PCR-system Bruksanvisning som du hittar på CFX Maestro Dx SE menyn Help (Hjälp).

1. Gå till skärmen Home (Start) på CFX Opus Dx-system och tryck på Files (Filer) så visas skärmen File Browser (Filläsare).
2. På skärmen File Browser (Filläsare) navigerar du till den fil du vill kopiera och trycker sedan på filen för att visa rutan med filinformation.
3. I rutan med filinformation trycker du på Options (Alternativ) och sedan på Copy (Kopiera).



Dialogrutan Select Location (Välj plats) visas.

4. Gör något av följande i dialogrutan Select Location (Välj plats):

- Navigera till en befintlig mapp.
- Navigera till platsen där du vill skapa en mapp att spara filen i och tryck sedan på Create Folder (Skapa mapp)
📁 för att skapa en ny mapp på den platsen.

5. Tryck på Select (Välj) för att kopiera filen till den valda platsen eller Cancel (Avbryt) för att återgå till skärmen File Browser (Fyllsare).

Obs! Om det finns en fil med samma namn på den valda platsen visas en meddelanderuta. Tryck på Yes (Ja) för att skriva över den befintliga filen eller No (Nej) för att återgå till skärmen File Browser (Fyllsare).

CFX Opus Dx-system visar ett bekräftelsemeddelande när filen har kopierats.

Överföra data via CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

Så här överför du data via CFX Maestro Dx SE

1. I rutan Detected Instruments (Hittade instrument) i hemfönstret högerklickar du på målinstrumentet och väljer Retrieve Data Files (Hämta datafiler).

CFX Maestro Dx SE visar dialogrutan Browse For Folder (Sök efter mapp).

2. Gå till den plats där du vill spara datafilerna i dialogrutan Browse For Folder (Sök efter mapp) och klicka på OK.

Överföringsprocessen skapar en mapp med namnet Real-Time Data (Realtidsdata) på den valda platsen. Köringsdata sparas i mappen Real-Time Data (Realtidsdata) som separata .zpcr-filer.

Överföra data med hjälp av en USB-enhet

Om du sätter en USB-enhet i USB-porten på instrumentet sparas datafilen automatiskt till rotkatalogen för USB-enheten när körningen har avslutats. Du kan också lokalisera tidigare sparade datafiler och spara dem på en ansluten USB-enhet.

Så här överför du datafiler till en USB-enhet på CFX Opus Dx-system

- I dialogrutan Select Location (Välj plats) trycker du på USB och navigerar till målmappen dit du vill kopiera filen, eller på Cancel (Avbryt) för att återgå till skärmen File Browser (Filläsare).

Obs! Om det finns en fil med samma namn på den valda platsen visas en dialogruta. Tryck på Yes (Ja) för att skriva över den befintliga filen eller No (Nej) för att återgå till skärmen File Browser (Filläsare).

CFX Opus Dx-system visar ett bekräftelsemeddelande när filen har kopierats.

Överföra data via en delad nätverksenhet med hjälp av CFX Opus Dx realtids-PCR-system

Tips: Du kan bara överföra data till och från en delad nätverksenhet via CFX Opus Dx-system.

CFX Opus Dx-system gör att du kan ansluta till en delad nätverksenhet med Ethernet. Efter anslutning kan du överföra datafiler till och från en mapp på den delade nätverksenheten.

Så här överför du data till och från en delad nätverksenhet

- ▶ I dialogrutan Select Location (Välj plats) trycker du på Network (Nätverk) och navigerar till målmappen dit du vill kopiera filen, eller på Cancel (Avbryt) för att återgå till skärmen File Browser (Filläsare).

Obs! Om det finns en fil med samma namn på den valda platsen visas en dialogruta. Tryck på Yes (Ja) för att skriva över den befintliga filen eller No (Nej) för att återgå till skärmen File Browser (Filläsare).

CFX Opus Dx-system visar ett bekräftelsemeddelande när filen har kopierats.

Skapa en datafil

För att analysera data som överförs från instrumentet till CFX Maestro Dx SE-datorn måste den komprimerade datafilen (.zpcr-filen) konverteras till en datafil (.pcrd-fil). CFX Maestro Dx SE konverterar .zpcr-filen till en .pcrd-fil och väljer sedan en plattform som har samma skanningsläge och plattformstorlek och tillämpar den på .pcrd-filen.

Så här skapar du en datafil från en fristående datafil

1. Gör något av följande i CFX Maestro Dx SE:
 - Sök upp målfilen med formatet .zpcr och dra den till CFX Maestro Dx SE-hemfönstret.
 - Välj File > Open > Stand-alone Run (Arkiv > Öppna > Fristående körning), gå till målfilen och välj den.

CFX Maestro Dx SE visar dialogrutan Save As (Spara som).

2. Gå till mappen där du tänker spara .pcrd-filen och klicka på Save (Spara).

När du har sparat .pcrd-filen öppnar CFX Maestro Dx SE fönstret Data Analysis (Dataanalys) och visar resulterande data.

Kapitel 10 Översikt över dataanalyser

CFX Maestro Dx programvara, Security Edition bearbetar automatiskt realtids-PCR-data i slutet av varje körning och öppnar fönstret Data Analysis (Dataanalys) där dessa data visas (.pcrd-filen).

- Dra en datafil (.pcrd-tillägg) till hemfönstret och släpp den.
- Välj File > Open > Data File (Arkiv > Öppna > Datafil) i hemfönstret och bläddra till .pcrd-målfilen.
- Välj File > Recent Data Files (Arkiv > Senaste datafiler) i hemfönstret och välj en av de tio senast öppnade datafilerna i en lista.
- Välj fliken Analyze (Analysera) i Startup Wizard (Startguide) och välj bland Recent Files (Senast använda filer) eller klicka på Browse (Bläddra) och leta upp datafilen.

Fönstret Data Analysis (Dataanalys)

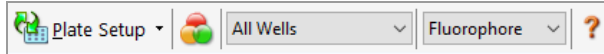
Fönstret Data Analysis (Dataanalys) visar flera flikar som vardera visar analyserade data för en specifik analysmetod eller körningsspecifik information. Flikar visas endast om data som har samlats in under körningen är tillgängliga för analystypen i fråga.



Tips: Välj flikar som du vill visa på den nedrullningsbara menyn View (Visa) i fönstret Data Analysis (Dataanalys). Välj Settings (Inställningar) > Restore Default Window Layout (Återställ standardfönsterlayout) för att återgå till den ursprungliga fliklayouten.

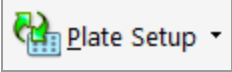

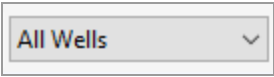
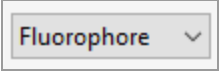

Verktogsraden för Data Analysis (Dataanalys)

Verktogsraden i fönstret Data Analysis (Dataanalys) ger snabb åtkomst till viktiga dataanalysfunktioner.



I [Tabell 11](#) listas funktionerna för knapparna i verktogsraden.

Tabell 11. Verktogsraden i fönstret Data Analysis (Dataanalys)

Knapp	Namn	Funktion
	Plate Setup (Plattinställning)	View/Edit plate (Visa/redigera platta) – öppnar Plate Editor (Plattredigerare) där du kan visa och redigera brunnars innehåll. Replace Plate (Ersätt platta): Väljer en plattfil som ska ersätta plattlayouten. Apply PrimePCR file (Använd PrimePCR-fil): Väljer en körfil som ska ersätta plattlayouten för en PrimePCR-körning.
	Manage Well Groups (Hantera brunnsgupper)	Öppnar fönstret Well Groups Manager (Brunnsgruppshanterare) där du kan skapa, redigera och ta bort brunnsgupper.
	Well Group (Brunnsgrupp)	Väljer ett befintligt brunnsgruppsnamn i den nedrullningsbara menyn. Standardvalet är All Wells (Alla brunnar). Knappen visas endast när brunnsgupper skapas.
	Analysis Mode (Analysläge)	Analyserar data i läget Fluorophore (Fluorofor) eller Target (Mål).
	Help (Hjälp)	Öppnar programvaruhjälpen där du kan hitta onlinehjälp och en digital kopia av denna handbok i Acrobat PDF-format.

Menyraden Data Analysis (Dataanalys)

I [Tabell 12](#) listas alternativen på menyraden i fönstret Data Analysis (Dataanalys).

Tabell 12. Menyradsalternativ i fönstret Data Analysis (Dataanalys)

Menyalternativ	Kommando	Funktion
File (Arkiv)	Save (Spara)	Sparar filen.
	Save As (Spara som)	Sparar filen med ett nytt namn.
	File Passwords (Fillösenord)	Gör det möjligt för användare att ange lösenord för att spara och öppna filen.
	Sign (Signera)	Gör det möjligt för användare att signera datafilen.
	Repeat Run (Upprepa körning)	Extraherar protokollet och plattfilen från den aktuella körningen för att köra den igen.
	Close (Stäng)	Stänger fönstret Data Analysis (Dataanalys).
View (Visa)	Run Log (Körningslogg)	Öppnar fönstret Run Log (Körningslogg) och visar den aktuella datafilens körningslogg.
	Audit Trail (Revisionslogg)	Öppnar revisionsloggen för filen.
	Quantification (Kvantifiering), Melt Curve (Smältkurva), Gene Expression (Gentryck), End Point (Ändpunkt), Custom Data View (Anpassad datavy), QC (Kvalitetskontroll), Run Information (Körningsinformation)	Visar analyserade data på valda flikar i fönstret Data Analysis (Dataanalys). Minst en flik måste väljas.

Tabell 12. Menyradsalternativ i fönstret Data Analysis (Dataanalys), forts.

Menyalternativ	Kommando	Funktion
Inställningar	C _q Determination Mode (C _q -bestämningssläge)	Välj läget Regression eller Single Threshold (Enkelt tröskelvärde) för att bestämma hur C _q -värdena beräknas för varje kurva.

Tabell 12. Menyradsalternativ i fönstret Data Analysis (Dataanalys), forts.

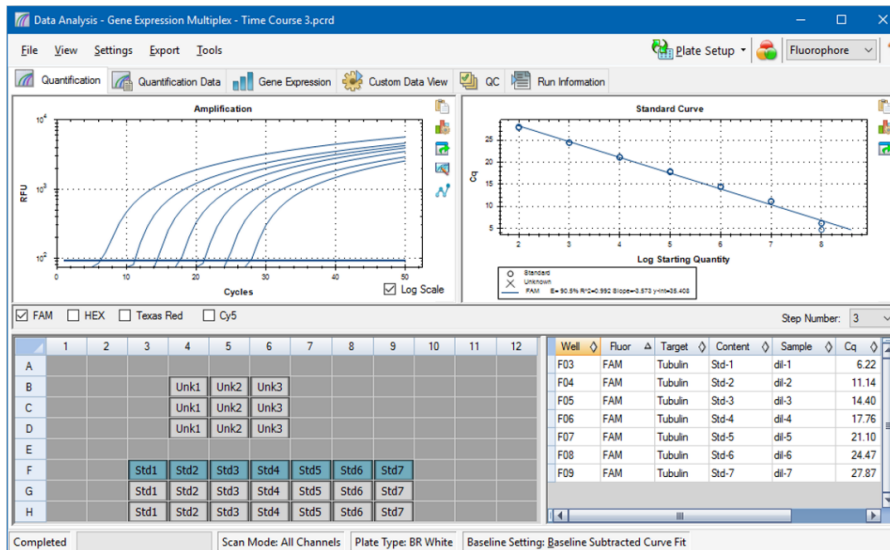
Menyalternativ	Kommando	Funktion
	Baseline Setting (Baslinjeinställning)	Gör att du kan välja baslinjesubtraktionsmetod för de valda brunnsgруппerna.
	Analysis Mode (Analysläge)	Välj och analysera data efter Fluorophore (Fluorofor) eller efter Target (Mål).
	Cycles to Analyze (Cykler att analysera)	Gör att du kan välja vilka cykler som ska analyseras.
	Baseline Threshold (Baslinjetröskel)	Öppnar fönstret Baseline Threshold (Baslinjetröskel) där du kan justera baslinjen eller tröskelvärdet.
	Trace Styles (Kurvutseenden)	Öppnar fönstret Trace Styles (Kurvutseenden).
	Plate Setup (Plattinställning)	Öppnar Plate Editor (Plattredigerare) där du kan visa och redigera plattan samt ersätta den aktuella plattan med en från en användardefinierad plattfil eller en PrimePCR-körfil.
	Include All Excluded Wells (Inkludera alla exkluderade brunnar)	Inkluderar alla exkluderade brunnar i analysen.
	Mouse Highlighting (Musmarkering)	Aktiverar och avaktiverar simultan markering av data med muspekaren. Tips: Om Mouse Highlighting (Musmarkering) är avaktiverat kan du tillfälligt aktivera markering genom att trycka på Ctrl-tangenten.
	Restore Default Window Layout (Återställ standardfönsterlayout)	Återställer ordningen av fönster till standardinställningen.

Tabell 12. Menyradsalternativ i fönstret Data Analysis (Dataanalys), forts.

Menyalternativ	Kommando	Funktion
Export	Export All Data Sheets (Exportera alla datablad)	Låter dig välja om du vill exportera alla kalkylbladsvyer från varje flik till en .csv-, .txt-, Excel- eller .xml-fil.
	Export RDML File (Exportera RDML-fil)	Låter dig välja antingen version 1.1 eller 1.0 av RDML som filen ska exporteras till.
	Custom Export (Anpassad export)	Öppnar fönstret Custom Export (Anpassad export) där du kan ange vilka fält som ska exporteras och filformatet.
	Export to LIMS Folder (Exportera till LIMS-mapp)	Öppnar ett fönster där du kan spara data i ett förutbestämt format i LIMS-mappen.
	Manual Export (Manuell export)	Öppnar ett fönster för definition av platsen där data ska sparas från alla kalkylbladsvyer till Excel-filer som är strukturerade särskilt för användning av Seegene, Inc och Bio-Rad Laboratories. Tips: Du kan också starta Seegene Viewer automatiskt vid export. Se Kommandon på menyn Tools (Verktyg) på sidan 65 för mer information.
Tools (Verktyg)	Reports (Rapporter)	Öppnar datafilens Report (Rapport).
	Well Group Reports (Brunnsgruppsrapporter)	Öppnar fönstret Well Group Report (Brunnsgruppsrapport) för generering av rapporter för angivna brunngrupper.
	Import Fluorophore Calibration (Importera fluoroforkalibrering)	Välj en kalibreringsfil som ska tillämpas för den aktuella datafilen.
	qbase+	Startar qbase+ v2.5 direkt från den aktuella .pcrd-filen om det är installerat.
	Generate LIMS PLRN file (Skapa LIMS PLRN-fil)	Sparar datafilen som en LIMS-formaterad .plrn-fil.

Flikinformation

Varje flik i fönstret Data Analysis (Dataanalys) visar data i diagram och kalkylblad för en specifik analysmetod och har en brunsväljare för val av data som du vill visa. När den öppnas visar Data Analysis (Dataanalys) fliken Quantification (Kvantifiering) som standard. Du kan använda data i diagrammet Amplification (Amplifiering) på fliken Quantification (Kvantifiering) för att ange lämpliga analysinställningar för körningen.



Obs! Programvaran länkar data i rutorna för varje Data Analysis-flik (Dataanalys). Om du till exempel markerar en brunn genom att placera muspekaren över den i brunsväljarvyn kommer motsvarande data att markeras i alla andra rutor.

Stegnummerväljare

Systemen CFX Opus Dx kan samla in fluorescensdata i flera protokollsteg; programvaran bevarar data från varje steg fristående. CFX Maestro Dx SE visar stegnummerväljaren under diagrammet Standard Curve (Standardkurva) på fliken Quantification (Kvantifiering). Om ett protokoll innehåller minst ett datainsamlingssteg visar CFX Maestro Dx SE data från det första insamlingssteget.

Om protokollet innehåller fler än ett insamlingssteg kan du välja ett annat steg i listrutan. Exempel:

Step Number:

När du väljer ett steg tillämpar programvaran valet på alla data som visas i fönstret Data Analysis (Dataanalys).

Visa Well Groups (Brunnsgrupper) i Data Analysis (Dataanalys)

Brunnar i plattan kan grupperas i undergrupper för oberoende analys med användning av brunnsgupper. När du skapar brunnsgupper visas deras gruppnamn i listrutan Well Groups (Brunnsgrupper) i verktygsraden i fönstret Data Analysis (Dataanalys).

Om du skapade brunnsgupper visar programmet standardbrunnsgruppen All Wells (Alla brunnar) när du öppnar fönstret Data Analysis (Dataanalys), och visar data för alla brunnar med innehåll i diagrammen och kalkylbladen. Endast brunnarna som laddats med innehåll visas i brunnsväljaren, och endast data för dessa brunnar ingår i dataanalysberäkningarna.

Tips: För att skapa, redigera och radera brunnsgupper, klicka på Manage Well Groups (Hantera brunnsgupper) i verktygsraden.

Obs! Om du inte skapade brunnsgupper visas inte listrutan Well Groups (Brunnsgrupper) i verktygsraden.

Ändra brunnsinnehåll efter en körning

Under dataanalys, om du ändrar sättet på vilket data visas genom att ändra innehållet i brunnarna i Plate Editor (Plattredigerare), så ändras aldrig de fluorescensdata som samlats in från respektive brunn under körningen. Efter det att modulen samlat in fluorescensdata, kan du inte radera dessa data men du kan välja att ta bort data från vy och analys.

Så här ändrar du innehållet i brunnar efter en körning

- ▶ I fönstret Data Analysis (Dataanalys) klickar du på Plate Setup (Plattinställning) och väljer ett av följande alternativ:
 - **Edit/View Plate** (Redigera/Visa platta) – öppnar Plate Editor (Plattredigerare) i vilken du kan göra manuella förändringar av layouten.
 - **Replace Plate file** (Ersätt plattfil) – öppnar läsaren Select Plate (Välj platta), i vilken du kan navigera till en tidigare sparad plattfil med vilken du kan ersätta den aktuella plattlayouten.
 - **Apply PrimePCR file** (Använd PrimePCR-file) – öppnar dialogrutan Select PrimePCR file (Välj PrimePCR-file) i vilken du kan gå till en PrimePCR-körningsfil och använda den på plattlayouten.

Tips: Du kan lägga till eller redigera information om innehållet i brunnen före en körning, under en körning eller efter en slutförd PCR-körning. Du måste tilldela skanningsläge och plattstorlek före körningen. Dessa parametrar går inte att ändra efter körningen.

Dataanalysinställningar

Data i diagrammet Amplification (Amplifiering) på fliken Quantification (Kvantifiering) visar den relativa fluorescensenheten (RFU) för varje brunn vid varje cykel. Varje kurva i diagrammet representerar data från en enskild fluorofor i en brunn. Dessa data används för att bestämma C_q -värden för varje brunn per fluorofor. Programmet använder ett av två lägen för att bestämma C_q -värden:

- **Regression** – använder en multivariabel, icke-linjär regressionsmodell på enskilda brunnskurvor och använder sedan denna modell för att beräkna ett optimalt C_q -värde.
- **Single Threshold** (Enstaka tröskel) – använder värdet för en enstaka tröskel för att beräkna C_q -värdet baserat på tröskelskärningspunkten för enskilda fluorescenskurvor.

Välj Settings > C_q Determination Mode (Inställningar > C_q -bestämningssläge) för att välja C_q -bestämningssläget.

Justera tröskeln

I läget Single Threshold (Enkelt tröskelvärde) kan du justera tröskelvärdet för en fluorofor genom att klicka på tröskelvärdelinjen i diagrammet Amplification (Amplifiering) och flytta muspekaren vertikalt. Alternativt kan du specificera en exakt korsande tröskel för den valda fluoroforen.

Baslinjeinställningar

Den här programvaran fastställer automatiskt baslinjen separat för varje brunn. Baslinjeinställningen fastställer metoden för baslinjesubtraktion för alla fluorescenskurvor. Programvaran erbjuder tre alternativ för baslinjesubtraktion:

- **No Baseline Subtraction** (Ingen baslinjesubtraktion) – visar data som relativa fluorescenskurvor. Vissa analyser är inte möjliga i det här analysläget, och därför visar inte programvaran flikarna Gene Expression (Genuttryck), End Point (Slutpunkt) och Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering).
- **Baseline Subtracted** (Baslinje subtraherad) – visar data som baslinjesubtraherade kurvor för varje fluorofor i en brunn. Programvaran måste baslinjesubtrahera uppgifterna för att fastställa kvantifieringscykler, generera standardkurvor och fastställa koncentrationen av okända prover. För generering av en baslinjesubtraherad kurva passar mjukvaran under baslinjecyklerna den bästa raka linjen genom den registrerade fluorescensen för varje brunn och subtraherar sedan de data som passar bäst från bakgrundssubtraherade data vid varje cykel.
- **Baseline Subtracted Curve Fit** (Baslinjesubtraherad anpassning av kurva) – visar data som baslinjesubtraherade kurvor och programvaran slätar ut den baslinjesubtraherade kurvan med hjälp av ett centrerat medelvärdesfilter. Den här processen utförs så att varje C_q lämnas invariant.

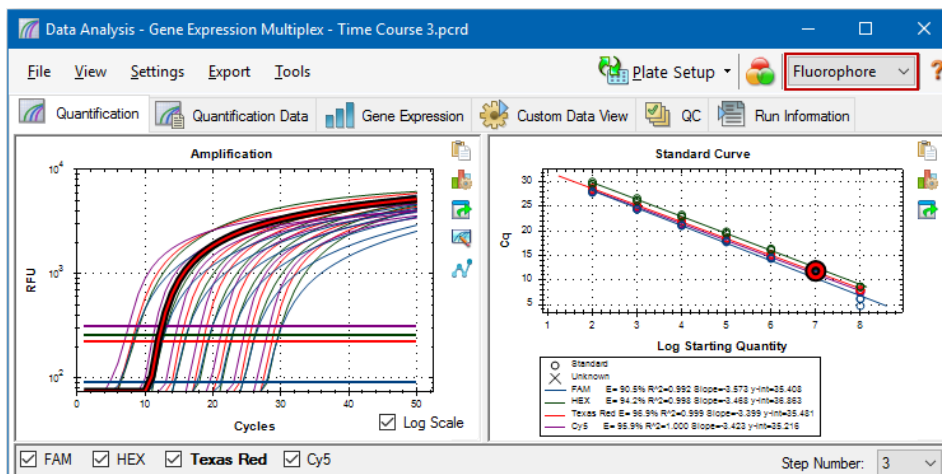
Utöver dessa alternativ kan du också välja Apply Fluorescent Drift Correction (Använd korrigerig av fluorescensförflyttning). För brunnar som har onormalt avvikande RFU-värden under de första få cyklerna av en körning härleder programvaran en beräknad baslinje från intilliggande brunnar för vilka en horisontell baslinje har genererats.

Så här ändrar du inställningen av baslinjesubtraktion

- Välj Settings (Inställningar) > Baseline Setting (Baslinjeinställning).

Analysläge

Data kan grupperas och analyseras antingen enligt fluorofor eller målnamn. När de grupperas enligt fluorofor, visas datakurvor enligt fluorofor så som indikeras i plattinställningen för den körningen. Enskilda fluorofordata visas i diagrammet för amplifiering och standardkurva (om det är tillgängligt) när de lämpliga kryssrutorna för fluoroforväljare, placerade under amplifieringsdiagrammet, är markerade.



När de grupperas enligt mål visas datakurvor enligt målnamn så som det angivits i plattinställningen för den körningen.

Så här väljer du dataanalysläge

- Gör något av följande:
 - Välj Settings > Analysis Mode (Inställningar > Analysläge).
 - Välj ett läge från den nedrullningsbara menyn Analysis Mode (Analysläge) i verktygsraden.

Cykler att analysera

Du kan begränsa antalet cykler att analysera. Du kan också analysera data från en specifik uppsättning cykler. Du kan högst analysera 50 cykler.

Obs! Borttagning av cykler från början av en körning kan ha en betydande inverkan på baslinjen.

Så här begränsar du dataanalysen till ett specifikt intervall av cykler

1. Välj Settings > Cycles to Analyze (Inställningar > Cykler att analysera).

Dialogrutan Cycles to Analyze (Cykler att analysera) visas.

2. Ange värden för start- och slutcykel och klicka på OK.

Klicka på Restore Defaults (Återställ standardvärden) i dialogrutan Cycles to Analyze (Cykler att analysera) för att återgå till cykler som ursprungligen användes för analysen.

Brunnsväljare

Använd Well Selector (Brunnsväljaren) för att visa eller dölja brunnensdata i diagrammen eller kalkylbladen i fönstret Data Analysis (Dataanalys). Endast brunnar som har lästs in med provet kan väljas i brunnsväljaren. Programvaran färgar brunnarna i Well Selector (Brunnsväljare):

- **Blå** – anger valda brunnar. Data från brunnar som har valts visas i fönstret Data Analysis (Dataanalys).
- **Ljusgrå** – anger icke-valda brunnar. Data från brunnar som inte har valts visas inte i fönstret Data Analysis (Dataanalys).
- **Mörkgrå** – anger tomma brunnar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B				Unk1	Unk2	Unk3						
C				Unk1	Unk2	Unk3						
D				Unk1	Unk2	Unk3						
E												
F			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			
G			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			
H			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			

Så här visar eller döljer du brunnensdata

- ▶ Gör något av följande i brunnsväljaren:
 - Klicka på en brunn om du vill dölja den. Klicka på brunnen igen för att visa den.
 - För att dölja flera brunnar drar du över brunnarna som du vill markera. För att visa dessa brunnar, dra över dem igen.
 - Klicka i det övre vänstra hörnet av plattan för att dölja alla brunnar. Klicka i det övre vänstra hörnet igen för att visa alla brunnar.
 - Klicka i början av en kolumn eller rad för att dölja brunnarna. Klicka på kolumnen eller raden igen för att visa brunnarna.

Alternativ på högerklicksmenyn för brunnsväljare

I [Tabell 13](#) visas högerklicksalternativ som är tillgängliga i brunnsväljarvyn.

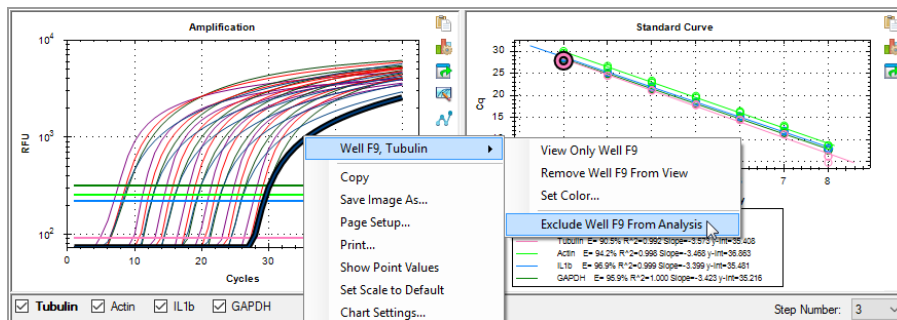
Tabell 13. Alternativ på högerklicksmenyn för brunnsväljare

Alternativ	Funktion
Well XX (Brunn XX)	Visar endast denna brunn, tar bort denna brunn från vyn, ställer in färg för brunnen eller utesluter brunnen från analys.
Valda brunnar (högerklicka och dra)	Visar endast dessa brunnar, tar bort dessa brunnar från vyn, ställer in färg på dessa brunnar eller utesluter dessa brunnar från analysen.
Copy (Kopiera)	Kopierar innehållet i en brunn till urklipp, inklusive Sample Type (Provtyp) och Replicate # (Replikatnummer) som tillval.
Copy as Image (Kopiera som bild)	Kopierar vyn för brunnsväljare som en bild.
Print (Skriv ut)	Skriver ut vyn för brunnsväljare.
Print Selection (Skriv ut markering)	Skriver ut aktuell markering.
Export to Excel (Exportera till Excel)	Exporterar data till ett Excel-kalkylblad.
Export to CSV (Exportera till CSV)	Exporterar data som ett .csv-dokument.
Export to Xml (Exportera till Xml)	Exporterar data som ett .xml-dokument.
Well Labels (Brunnsetiketter)	Ändrar brunnsetiketterna till Sample Type (Provtyp), Target Name (Målnamn) eller Sample Name (Provnamn).

Tillfälligt utesluta brunnar från analys

Så här utesluter du tillfälligt brunnar från dataanalys

1. Högerklicka på brunnen i brunnsväljaren, på en fluorescenskurva eller på en punkt som plottats på standardkurvan. Uteslut flera brunnar genom att högerklicka och för att markera flera brunnar, kurvor eller punkter.
2. Välj lämpligt alternativ på högerklicksmenyn:
 - Well > Exclude Well (Brunn > Uteslut brunn)
 - Selected Wells > Exclude from Analysis (Valda brunnar > Uteslut från analys)
 - Selected Traces > Exclude these wells from Analysis (Valda kurvor > Uteslut dessa brunnar från analys)



Alternativt kan du ta bort dessa brunnar permanent från analys genom att rensa innehållet i brunnar i Plate Editor (Plattredigerare) genom att klicka på knappen Clear Wells (Rensa brunnar).

Viktigt! Du måste ange eventuellt rensat brunnsinnehåll igen.

Så här inkluderar du en utesluten brunn

- ▶ Högerklicka på lämplig brunn i brunnsväljaren och välj Well > Include Well in Analysis (Brunn > Inkludera brunn i analys).

Diagram

Varje diagram i fönstret Data Analysis (Dataanalys) visar uppgifterna i en separat graf och har alternativ med vilka du kan justera och exportera data eller diagramgrafik.

Diagramverktyg

I [Tabell 14](#) visas högerklickalternativ som är tillgängliga i de flesta tabeller.

Tabell 14. Alternativ på högerklicksmenyn som är gemensamma för de flesta tabeller

Alternativ	Funktion
Copy (Kopiera)	Kopierar diagrammet till ett urklipp.
Save Image As... (Spara bild som...)	Sparar tabellen som en bildfil. Ange upplösning och mått för bilden och välj sedan filtyp (PNG, GIF, JPG, TIF eller BMP).
Page Setup... (Utskriftsformat...)	Väljer ett utskriftsformat för utskrift.
Print... (Skriv ut...)	Skriver ut tabellen.
Set Scale to Default (Ange skala som standard)	Visar alla data i stapeldiagrammet. Rullningslistor visas om antalet datapunkter/prover är för stort för att visa inom diagrammets ram.
Chart Settings (Diagraminställningar)	Öppnar dialogrutan Chart Settings (Diagraminställningar) där du kan ändra diagrammets visningsalternativ, inklusive: <ul style="list-style-type: none"> ■ Diagram- och axelrubriker ■ Teckensnitt och storlek för diagram och axel ■ Skala för axel ■ Position för förklaring

Diagramverktyg visas också i varje diagram i fönstret Data Analysis (Dataanalys). Alla diagram visar dessa verktyg:

Copy to Clipboard (Kopiera till urklipp) – kopierar innehållet i diagramvyn till urklipp.

Chart Settings (Diagraminställningar) – öppnar dialogrutan Chart Settings (Diagraminställningar) där du kan ändra diagrammets visningsalternativ.

Export – öppnar dialogrutan Export Options (Exportalternativ) där du kan ändra upplösningen och storleken på grafen och spara den till en specifik plats som en av följande filtyper:

- .bmp
- .jpg

■ .png

Stapeldiagramsverktyg

Utöver diagramverktygen har stapeldiagram följande verktyg:

Sort (Sortera) – sorterar målen och proverna alfabetiskt eller i omvänd alfabetisk ordning.

Color Settings (Färginställningar) – öppnar dialogrutan Color Settings (Färginställningar) där du kan ändra färgen på mål och prover.

Mer information om dessa verktyg finns i [Ändra och kommentera diagramvyn på sidan 262](#).

Amplifieringstabellverktyg

Utöver de verktyg som anges ovan visar amplifieringsdiagram följande verktyg:

Trace Styles (Kurvutseenden) – öppnar dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden) där du kan justera utseendet på kurvorna i amplifieringsdiagrammet.

Baseline Threshold (Baslinjeträskel) – öppnar dialogrutan Baseline Threshold (Baslinjeträskel) där du kan ändra standardbaslinjen för valda brunnar eller ändra tröskeln för varje fluorescenskurva i amplifieringsdiagrammet.

Kopiera diagramdata till urklipp

Du kan kopiera innehållet i diagramvyn och klistra in det i ett program som accepterar bitmappbildfiler.

Så här kopierar du diagramdata till urklipp

1. Välj ikonen Copy to Clipboard (Kopiera till Urklipp) från diagramverktygen.
2. Öppna ett program som accepterar bitmappbilder, till exempel Microsoft Word.
3. Högerklicka och välj Paste (Klistra in) för att klistra in bitmappbilden från urklipp i programmet.

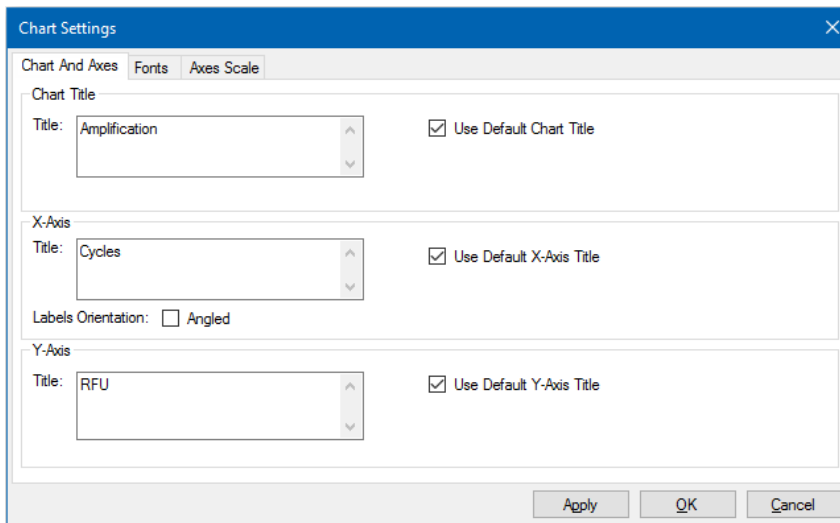
Ändra inställningarna för diagramvisning

I dialogrutan Chart Settings (Diagraminställningar) kan du ändra titlar, teckensnitt och teckenstorlekar, axelskala och förklaringsplats för det visade diagrammet. Ändringar som görs gäller endast det visade diagrammet och sparas med diagrammet.

Så här ändrar du inställningarna för diagramvisning

1. Klicka på Chart Settings (Diagraminställningar) i diagramverktygen.

Dialogrutan Chart Settings (Diagraminställningar) öppnas.



2. Välj fliken Chart And Axes (Diagram och axlar) för att göra följande:

- Skriva in en rubrik på diagrammet.
- Skriva in en ny rubrik på x-axeln och vinkla etiketterna.
- Skriva in en ny rubrik på y-axeln.

3. Välj fliken Fonts (Teckensnitt) för att ändra diagrammets teckensnitt och teckensnittsstorlek.

Tips: Som standard skalas teckensnittsstorleken automatiskt när diagrammets storlek ändras. Välj Change Font Size (Ändra teckensnittsstorlek) för att ställa in en statisk teckensnittsstorlek för varje etiketttyp.

4. Välj fliken Axes Scale (Axelskala) om du vill göra följande:

- Rensa x- och y-axelautoskalningen och ange lägsta och högsta skalningsvärden.
- Välja att visa stödlinjer eller skalstreck i diagrammet.

5. Välj fliken Legend (Förklaring) om du vill göra följande:

- Välja att dölja diagramförklaringen.
- Ändra diagramförklaringens standardposition.

Obs! När förklaringen finns till vänster eller höger om diagrammet visar den endast de första tio fluoroforena i diagrammet.

6. Klicka på Apply (Använd) när som helst för att visa diagraminställningsändringar utan att spara ändringarna.

7. Klicka på OK för att spara ändringarna och återgå till diagrammet.

Exportera diagrammet

Använd den här dialogrutan för att ändra grafens bredd, höjd och upplösning och exportera den i ett av följande filformat:

- .bmp
- .jpg
- .png

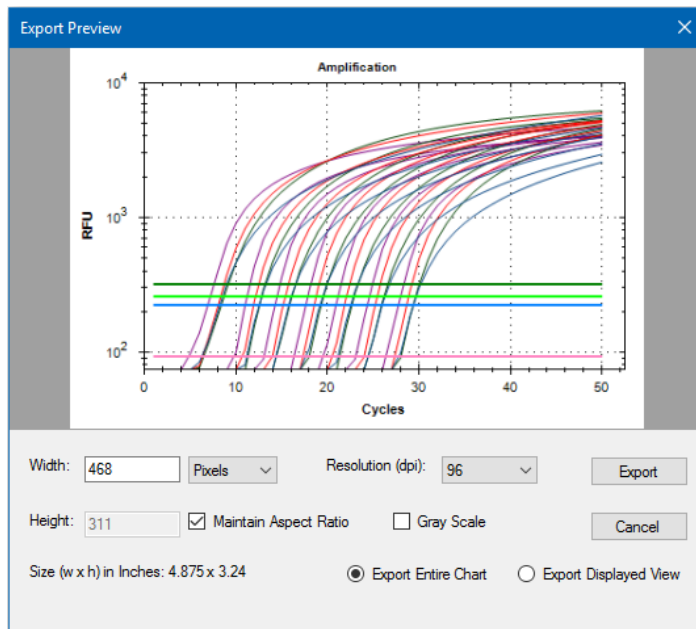
Du kan sedan använda den exporterade grafen för att visa resultaten i poster-sessioner, Microsoft PowerPoint-presentationer och facktidsskrifter.

Obs! Ta hänsyn till följande när du ändrar inställningarna:

- Max- och minimivärden för bredd och höjd
 - Vid 72 dpi: 0,1–83 tum
 - Vid 96 dpi: 0,1–62 tum
 - Vid 150 dpi: 0,1–40 tum
 - Vid 300 dpi: 0,1–20 tum
 - Vid 600 dpi: 0,1–10 tum
 - I alla resolutioner: 2–6 000 pixlar
- Bredd–höjd-förhållandet baseras på bredden.

Så här exporterar du diagrammet

1. Klicka på Export i diagramverktygen.
Dialogrutan Export Preview (Förhandsvisning av export) visas.



2. Ändra inställningarna för visningen efter behov.
3. Klicka på Export (Exportera).
4. Gör följande i dialogrutan Export:
 - a. (Valfritt) Gå till mappen där du vill spara diagramfilen.
 - b. Skriv ett namn för filen och välj en filtyp i listrutan.
5. Klicka på Save (Spara) för att spara tabellfilen.

Ändra inställningarna för baslinjeträskel

I läget Single Threshold (Enkelt tröskelvärde) kan du justera tröskelvärdet för en fluorofor genom att klicka på tröskelvärdelinjen i diagrammet Amplification (Amplifiering) och flytta muspekaren vertikalt.

Alternativt kan du specificera en exakt korsande tröskel för den valda fluoroforen.

Tips: Du kan specificera ett cykelintervall för att bestämma baslinjen för alla datafiler på fliken Data Analysis (Dataanalys) i User > User Preferences (Användare > Användarinställningar).

Så här justerar du baslinjecykels början och slut för varje brunn

1. På fliken Quantification (Kvantifiering), välj en enstaka fluorofor under amplifieringsdiagrammet.
2. Välj baslinjeträskel från diagramverktygen.

Dialogrutan Baseline Threshold (Baslinjeträskel) visas.

3. Gör något av följande i avsnittet Baseline Cycles (Baslinjecykler):
 - För att välja en brunn, klicka på dess radnummer.
 - För att välja flera angränsande brunnar, klicka på radnumret för den första brunnen och dra nedåt längs kolumnen till den avslutande brunnen.
 - För att välja flera ej angränsande brunnar, håll tangenten Ctrl nedtryckt och klicka på radnumret för respektive målbrunn.
 - För att välja alla brunnar, klicka i tabellens övre vänstra hörn.
4. Justera cykeln för Baseline Begin (Baslinje börjar) och Baseline End (Baslinje slutar) för alla valda brunnar, eller ändra cykelnumret för Begin (Börja) och End (Sluta) längst ned i kalkylbladet.

Tips: För att återställa inställningarna till de senast sparade värdena, klicka på Reset All User Defined Values (Återställ alla användardefinierade värden).
5. Klicka på OK för att spara ändringarna och återgå till diagrammet.

Så här specificerar du ett cykelintervall för alla datafiler

- ▶ I fönstret Home (Hem) eller Plate Editor (Plattredigerare), välj User > User Preferences (Användare > Användarinställningar) och sedan fliken Data Analysis (Dataanalys).

Sortera data för mål, prover och biologiska grupper

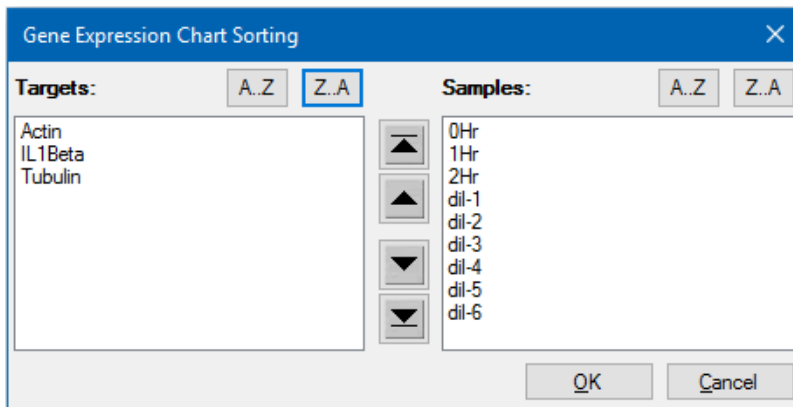
Obs! Det här alternativet är endast tillgängligt för genuttrycksdiagram.

Som standard visas listorna Targets (Mål), Samples (Prover) och Biological Groups (Biologiska grupper) i alfabetisk ordning. I dialogrutan Sort (Sortera) kan du sortera visningen i omvänd alfabetisk ordning eller manuellt flytta ett villkor till en annan plats i listan.

Så här sorterar du data för mål, prover och biologiska grupper

1. Klicka på Sort (Sortera) i diagramverktygen.

Dialogrutan Gene Expression Chart Sorting (Sortering i genuttrycksdiagram) öppnas.



2. I dialogrutan klickar du på Z-A för att sortera listan i omvänd alfabetisk ordning.
3. Du flyttar ett villkor manuellt genom att välja det och klicka på lämplig knapp mellan diagrammen:
 - Klicka på uppåt- eller nedåtpilen för att flytta det valda villkoret en position.
 - Klicka på uppåt- eller nedåttreckpilen för att flytta det valda villkoret högst upp eller längst ned på listan.
4. Klicka på OK för att spara ändringarna och återgå till fliken Gene Expression (Genuttryck).

Ändra färginställningarna för Target (Mål) och Sample (Prov)

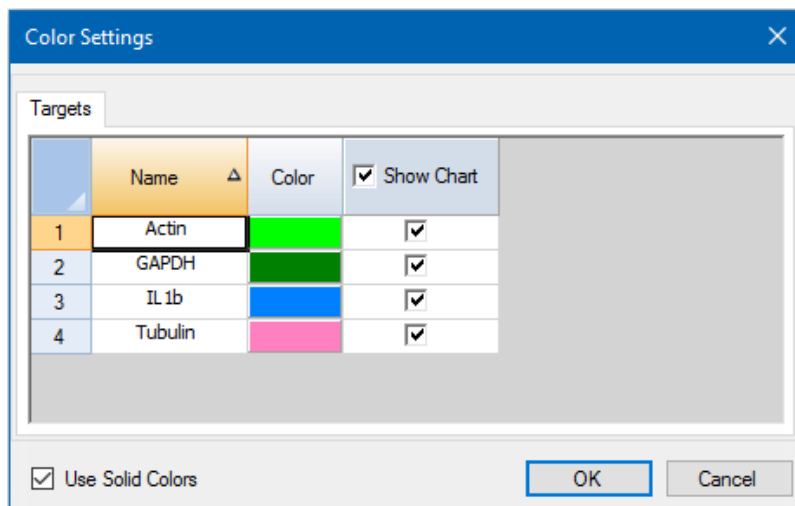
Obs! Det här alternativet är endast tillgängligt för genuttrycksdiagram.

Använd dialogrutan Color Settings (Färginställningar) för att ändra färg för ett mål eller prov, eller för att ta bort objektet från diagrammet.

Så här ändrar du färginställningar

1. Välj Color Settings (Färginställningar) i diagramverktygen.

Dialogrutan Color Settings (Färginställningar) visas.



2. För att ändra visningsfärgen för ett mål eller prov klickar du på dess färg i kolumnen Color (Färg).
3. Välj en ny färg i dialogrutan Color (Färg) som visas och klicka på OK.
4. Du kan ta bort objektet från genuttrycksdiagrammet genom att avmarkera dess kryssruta i kolumnen Show Chart (Visa diagram).

Tips: Du kan ta bort alla objekt från genuttrycksdiagrammet genom att avmarkera kryssrutan Show Chart (Visa diagram) i kolumnrubriken.

5. (Valfritt) Som standard visas stapeldiagramsfärgen i gradientform. För att visa färgen som enfärgad väljer du Use Solid Colors (Använd enfärgat).
6. Klicka på OK för att spara ändringarna och återgå till fliken Gene Expression (Genuttryck).

Förstora ett område i diagrammet

Så här förstorar du ett område i diagrammet

- Klicka på och dra över diagrammet och klicka sedan på Zoom (Zooma in)*. Programvaran ändrar storleken på diagrammet och centrerar det på det valda området.

Obs! *I Bar Chart (Stapeldiagram) behöver du inte klicka på popup-kommandot Zoom (Zooma in).

Så här återställer du diagrammet till fullständig vy

- Högerklicka i diagrammet och välj Set Scale to Default (Ställ in standardskala).

Kopiera diagram till en Microsoft-fil

Du kan kopiera datadiagram till Microsoft Word-, Excel- eller PowerPoint-dokument. Bildupplösningen är densamma som på skärmen som bilden hämtades från.

Så här kopierar du diagram till en Microsoft-fil

1. I fönstret Data Analysis (Dataanalys), klicka på Copy To Clipboard (Kopiera till urklipp) i övre högra hörnet i diagramrutan.
2. Öppna en tom Microsoft-fil och klistra in innehållet från urklipp.

Gemensamma alternativ på högerklicksmenyer för diagram

I [Tabell 15](#) visas menyalternativ som du kan högerklicka på och som är tillgängliga i tabeller. Några av posterna visas för alla diagram, inklusive poster för att ändra hur data visas eller för enkel export av data från ett diagram.

Tabell 15. Alternativ på högerklicksmenyn för diagram

Alternativ	Funktion
Copy (Kopiera)	Kopierar diagrammet till urklipp.
Save Image As (Spara bild som)	Sparar bilden i en viss storlek, upplösning och filtyp, inklusive PNG (standard), JPG och BMP.
Page Setup (Utskriftsformat)	Visar alternativ för utskriftsinställningar.
Print (Skriv ut)	Skriver ut tabellen.

Alternativ	Funktion
Set Scale to Default (Ange skala som standard)	Återställer diagrammets standardvy efter förstoring av diagrammet.
Chart Options (Diagramalternativ)	Öppnar fönstret Chart Options (Diagramalternativ) för att ändra tabellen, inklusive namnet, val av gränser för x- och y-axeln samt visning av rutnätslinjer och mindre hjälpstreck på axlarna.

Obs! Menyalternativ som gäller för specifika diagram beskrivs i [Kapitel 11, Dataanalysinformation](#).

Kalkylblad

Kalkylbladen som visas i Data Analysis (Dataanalys) har alternativ för sortering och överföring av data. Sorterar kolumnerna genom en av följande metoder:

- Klicka och dra en kolumn till en ny plats i den valda tabellen.
- Klicka på kolumnrubriken för att sortera data i stigande eller fallande ordning.

Så här sorterar du upp till tre datakolumner i fönstret Sort (Sortera)

1. Högerklicka i kalkylbladet och välj Sort (Sortera).
2. Välj det första kolumnnamnet för att sortera i dialogrutan Sort (Sortera). Sorterar data i stigande eller fallande ordning.
3. Välj en andra och tredje kolumn för att sortera och välj Ascending (Stigande) eller Descending (Fallande).
4. Klicka på OK för att sortera uppgifterna eller klicka på Cancel (Avbryt) för att stoppa sorteringen.

Tips: Markera data på associerade diagram och brunnsväljaren genom att hålla muspekaren över en cell. Klicka i en cell för att kopiera och klistra in dess innehåll till ett annat program.

Gemensamma alternativ på högerklicksmenyer för kalkylblad

I [Tabell 16](#) visas alternativ på högerklicksmenyn som är tillgängliga i alla kalkylbladsvyer.

Tabell 16. Alternativ på högerklicksmenyn för kalkylblad

Alternativ	Funktion
Copy (Kopiera)	Kopierar innehållet för de valda brunnarna till urklipp klistrar du in innehållet i ett kalkylblad som Excel.
Copy as Image (Kopiera som bild)	Kopierar kalkylblads vyn som en bildfil och klistrar in den i en fil som accepterar bildfiler, till exempel text-, bild- eller kalkylbladsfiler.
Print (Skriv ut)	Skriver ut aktuell vy.
Print Selection (Skriv ut markering)	Skriver ut aktuell markering.
Export to Excel (Exportera till Excel)	Exporterar data till ett Excel-kalkylblad.
Export to Text (Exportera till text)	Exporterar uppgifterna till en textredigerare.

Tabell 16. Alternativ på högerklicksmenyn för kalkylblad, forts.

Alternativ	Funktion
Export to CSV (Exportera till CSV)	Exporterar data till en .csv-fil.
Export to Xml (Exportera till Xml)	Exporterar data till en .xml-fil.
Export to Html (Exportera till Html)	Exporterar data till en .html-fil.
Find (Sök)	Söker efter text.
Sort (Sortera)	Sorterar data i upp till tre kolumner.
Select Columns (Välj kolumner)	Välj kolumner som ska visas på kalkylbladet.

Export

I CFX Maestro Dx SE finns flera exportalternativ tillgängliga på den nedrullningsbara menyn Export:

- Export All Data Sheets (Exportera alla datablad)
- Export RDML Files (Exportera RDML-filer)
- Custom Export (Anpassad export)
- Export to LIMS Folder (Exportera till LIMS-mapp)
- Manual Export (Manuell export)

Exportera alla datablad

Du kan exportera alla kalkylbladsvyerna från alla flikar i CFX Maestro Dx SE till enskilda filer.

Så här exporterar du alla datablad

► Välj Export > Export All Data Sheets (Exportera > Exportera alla datablad) och välj önskad filtyp:

- CSV (*.csv)
- Text (*.txt)
- Excel Workbook (*.xlsx) (Excel-arbetsbok)

Exporterade analyser sparas i flera Excel-arbetsböcker med en kalkylflik med analysdata per fil. När en analys innehåller flera fluoroforer exporteras data från varje fluorofor till ett separat kalkylblad.

- Excel Workbook - combined (*.xlsx) (Excel-arbetsbok – kombinerad)

Exporterade analyser sparas i en enda Excel-arbetsbok som innehåller flera kalkylblad, ett för varje analysdatauppsättning.

- Excel 97 - 2003 (*.xls)

Viktigt! Din dator måste ha Microsoft Excel installerat för att du ska kunna exportera data till ett Microsoft Excel-kalkylblad.

- Xml (*.xml)

Exportera RDML-filer

RDML är en strukturerad och universell datastandard för utbyte av kvantitativa PCR (qPCR)-data. Datastandarden är en textfil i formatet Extensible Markup Language (.xml). Gå till webbplatsen International RDML Consortium (www.rdml.org) för ytterligare information om RDML-formatet för datautbyte.

Viktigt! Exporterade RDML-filer inkluderar analysdata med de baslinjeinställningar som du använder i fönstret Data Analysis (Dataanalys). För mer information om baslinjeinställningar, se [Baslinjeinställningar på sidan 193](#).

Obs! Spara RDML-filen som version 1.1 om du använder version 2.3 eller senare av programvaran qbase+.

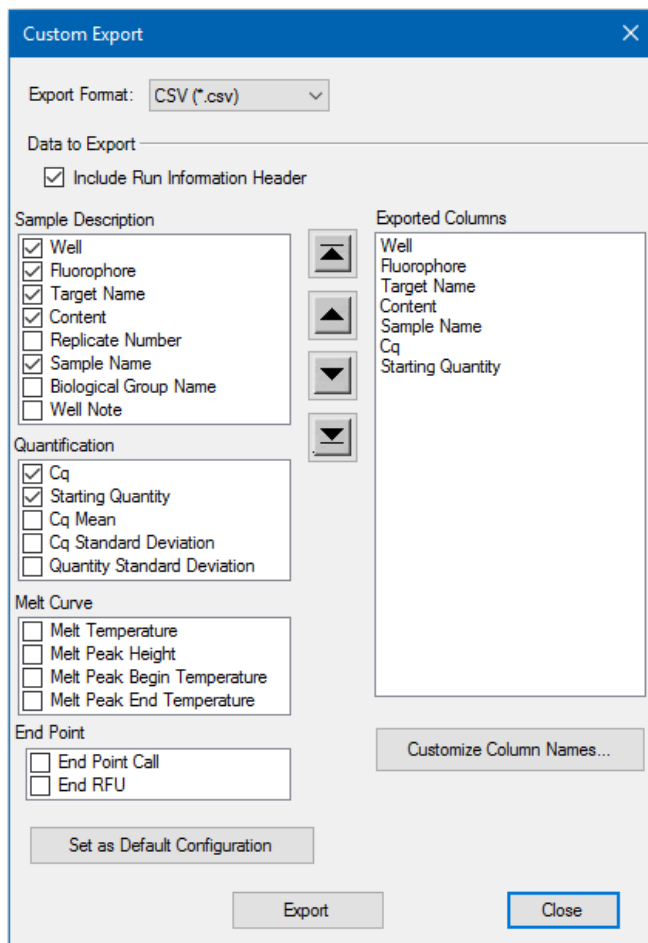
Så här exporterar du en RDML-fil

1. Välj Export > Export RDML Files (Exportera > Exportera RDML-fil) och välj RDML v1.1 eller RDML v1.0 från listan som visas.
Dialogrutan Save As (Spara som) visas.
2. I dialogrutan Save As (Spara som) anger du ett filnamn och en plats där RDML-filen ska sparas.
3. Klicka på OK för att spara exportfilen.

Skapa en anpassad exportfil

Så här skapar du en anpassad exportfil

1. Välj Export > Custom Export (Exportera > Anpassad export). Dialogrutan Custom Export (Anpassad export) öppnas.



2. Välj exportformat i listrutan som visas.
3. Markera kryssrutorna för objekten som ska exporteras.
4. (Valfritt:) Klicka på Customize Column Names (Anpassa kolumnnamn) för att ändra kolumnnamnen.
5. Klicka på Export (Exportera). Dialogrutan Save As (Spara som) visas.
6. I dialogrutan Save As (Spara som) anger du ett filnamn och en plats där den exporterade filen ska sparas.

7. Klicka på OK för att spara exportfilen.

Exportera till en LIMS-mapp

Du kan exportera data till ett LIMS-kompatibelt filformat. Se [Bilaga C, LIMS-integrering](#) för mer information om hur du skapar, hanterar och använder LIMS-filer.

Så här exporterar du data i LIMS-format

1. Välj Export > Export to LIMS Folder (Exportera > Exportera till LIMS-mapp).
Dialogrutan Save As (Spara som) visas.
2. I dialogrutan Save As (Spara som) anger du ett filnamn och en plats där den exporterade filen ska sparas.
3. Klicka på OK för att spara exportfilen.

Exportera Seegene-formaterade data

Du kan exportera data från alla kalkylbladsvyer till Excel-filer som är strukturerade särskilt för användning av Seegene, Inc.

Tips: Du kan också starta Seegene Viewer automatiskt när exporten är klar. Se [Kommandon på menyn Tools \(Verktyg\) på sidan 65](#) för mer information.

Så här exporterar du data i ett Seegene-specifikt format

1. Välj Export > Manual Export (Exportera > Manuell export).
Dialogrutan Browse For Folder (Sök efter mapp) visas.
2. I dialogrutan Browse For Folder (Sök efter mapp) anger du en plats där de exporterade Seegene-formaterade Excel-filerna ska sparas (.xlsx).
Analyserna exporteras till flera Excel-arbetsböcker med ett kalkylblad per fil.
3. Klicka på OK för att spara exportfilerna.

Kapitel 11 Dataanalysinformation

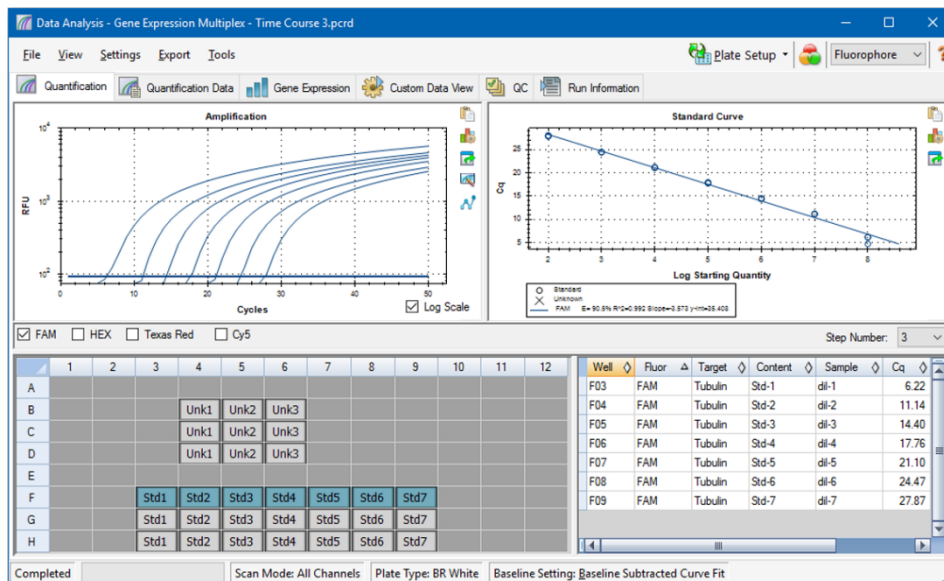
Fönstret Data Analysis (Dataanalys) i CFX Maestro Dx programvara, Security Edition innehåller flera flikar som du kan visa data från. I det här kapitlet ges en detaljerad beskrivning av de flikarna.

Tips: Du kan välja vilka flikar som ska visas i fönstret Data Analysis (Dataanalys) på menyn View (Visa). Den anpassade layouten sparas med datafilen.

Fliken Quantification (Kvantifiering)

Använd data på fliken Quantification (Kvantifiering) för att ange dataanalysvillkor, inklusive baslinjeställningar för individuella brunnar och tröskelinställningar. Fliken Quantification (Kvantifiering) visar data i dessa fyra vyer:

- Amplification chart (Amplifieringsdiagram) – visar de relativa fluorescenserna (RFU) för varje brunn vid varje cykel. Varje kurva i diagrammet representerar data från en enskild fluorofor i en brunn.
- Standard Curve (Standardkurva) – visas endast om körningen inkluderar brunnar som har utsetts till provtypsstandard (Std). Standardkurvan visar tröskelcykeln plottad mot loggen för den inledande mängden. Förklaringen visar Reaction Efficiency (E) (Reaktionseffektivitet (E)) för varje fluorofor i brunnarna med ett prov av typen Standard.
- Brunnsväljare – väljer brunnarna med fluorescensdata som du vill visa.
- Kalkylblad – visar ett kalkylblad för data som har samlats in för valda brunnar.



Fluoroforalternativ

För att visa fluorofordata i diagram och kalkylblad på fliken Quantification (Kvantifiering) väljer du målfluoroforer under diagrammet Amplification (Amplifiering). För att dölja fluoroforinformation i dataanalysfönstret avmarkerar du motsvarande kryssruta.

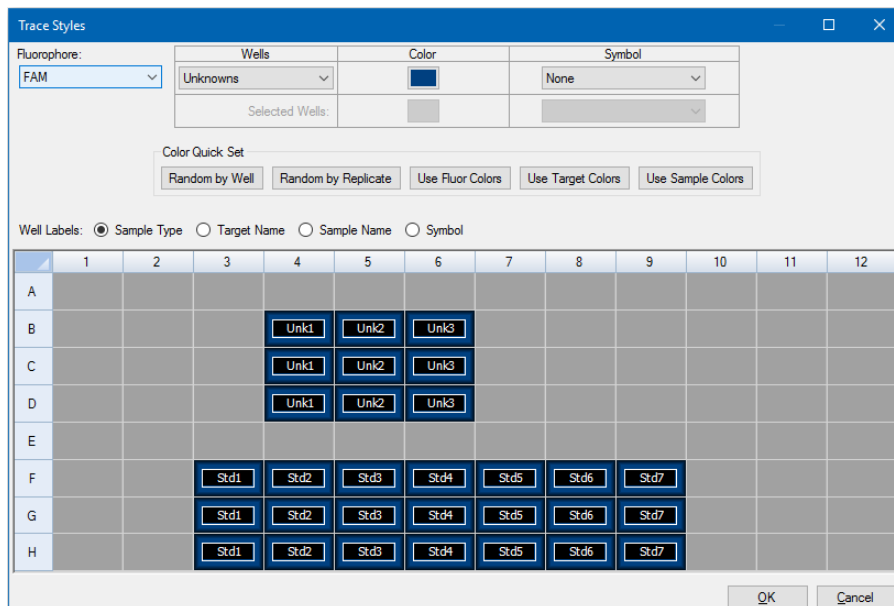
Dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden)

I dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden) kan du justera utseendet på kurvorna i diagrammen Amplification (Amplifiering) och Melt Curve (Smältkurva) på flikarna Quantification (Kvantifiering) och Melt Curve (Smältkurva). Sedan kan du förhandsgranska ändringarna i brunnväljaren som visas i dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden).

Så här justerar du kurvutseenden

1. Välj bara en fluorofor under diagrammet Amplification (Amplifiering).
2. Gör något av följande för att öppna dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden):
 - Klicka på Trace Styles (Kurvutseenden) i diagrammet Amplification (Amplifiering).
 - Välj Settings > Trace Styles (Inställningar > Kurvutseenden) på menyraden Data Analysis (Dataanalys).
 - Högerklicka på en kurva och välj Trace Styles (Kurvutseenden).

Dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden) öppnas.

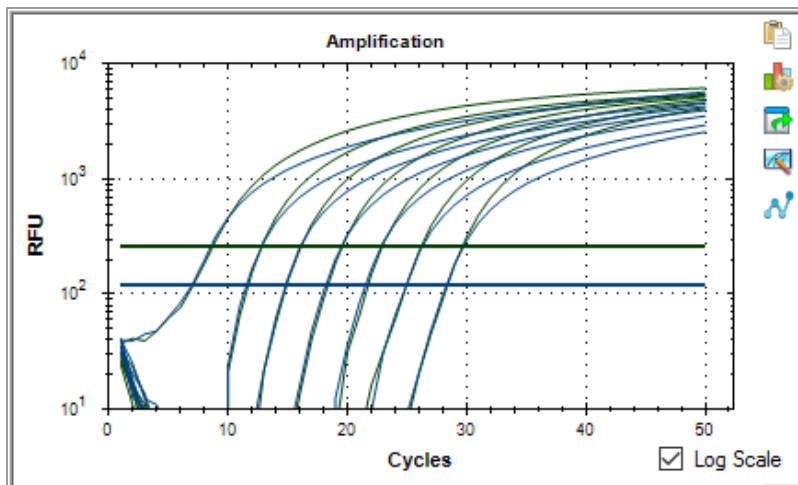


3. I dialogrutan Trace Styles (Kurvutseenden) väljer du en specifik uppsättning brunnar i brunnväljaren i nedre delen av fönstret. Eller välj brunnar som innehåller en provtyp i den nedrullningsbara menyn i kolumnen Wells (Brunnar).
4. Gör något av följande:

- Välj en färg på de valda brunnarna genom att klicka i rutan i kolumnen Color (Färg).
- Tilldela en symbol till de valda brunnarna genom att välja en symbol i listrutan Symbol.
- Välj snabbt en färg på brunnarna efter knappetikett genom att klicka på lämplig snabbinställning:
 - Random by Well (Slumpmässig efter brunn)
 - Random by Replicate (Slumpmässig efter replikat)
 - Use Fluor Colors (Använd fluorfärger)
 - Use Target Colors (Använd målfärger)
 - Use Sample Colors (Använd provfärger)
- Tilldela brunnsetiketter genom att välja Sample Type (Provtyp), Target Name (Målnamn), Sample Name (Provnamn) eller Symbol.

Alternativet Log Scale (Logaritmisk skala)

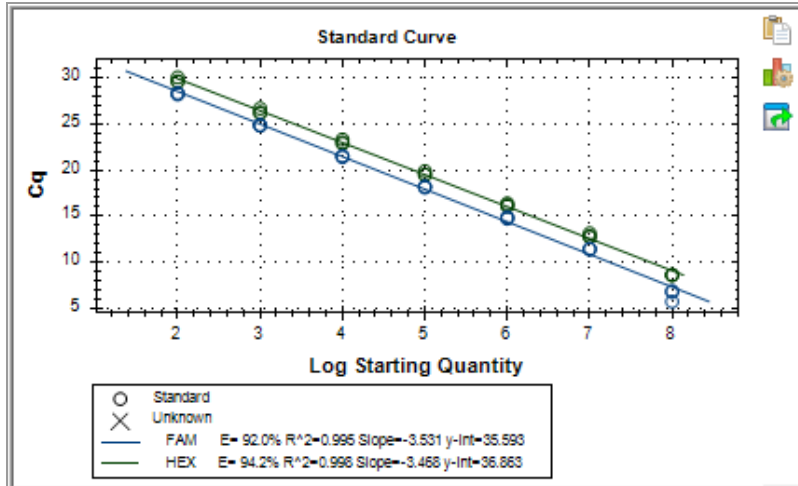
Välj Log Scale (Logaritmisk skala) under diagrammet Amplification (Amplifiering) för att visa fluorescenskurvorna i en semilogaritmisk skala:



Tips: För att förstora en del av diagrammet drar du över målområdet. För att återgå till fullständig vy högerklickar du i diagrammet och väljer Set Scale to Default (Ange skala som standard).

Standardkurvdiagram

Programmet skapar ett diagram för Standard Curve (Standardkurva) på fliken Quantification (Kvantifiering) om data inkluderar provtyper som definieras som Std (Standard) för minst en fluorofor i körningen.



I diagrammet Standard Curve (Standardkurva) visas följande information:

- Namn på varje kurva (fluoroforen eller målet).
- Färg på varje fluorofor eller mål.
- Reaktionseffektivitet (E). Använd denna statistik för att optimera en multiplexreaktion och för att utjämna data för en standardkurva.

Obs! Reaktionseffektiviteten beskriver hur stor del av ditt mål som produceras vid varje cykel i protokollet. En effektivitet på 100 % indikerar att du fördubblar ditt mål vid varje cykel.

- Bestämningkoefficient, R^2 (skrivs som R^2). Använd denna statistik för att bestämma hur korrekt linjen beskriver data (hur god passformen är).
- Slope (Lutning)
- y-skärning

Menyalternativ i Amplification Chart (Amplifieringsdiagram)

Förutom de gemensamma alternativen på högerklicksmeny för diagram (se [Gemensamma alternativ på högerklicksmenyer för diagram på sidan 207](#)) finns det tillgängliga menyalternativ på diagrammet Amplification (Amplifiering), dessa anges i [Tabell 17](#).

Tabell 17. Alternativ på höger- och vänsterklicksmenyn i diagrammet Amplification (Amplifiering)

Menyalternativ	Funktion
Well XX, Fluor Target (Brunn XX, Fluormål)	Visar endast denna brunn, tar bort denna brunn från vyn, ställer in färg på denna kurva, eller utesluter denna brunn från analys.
Selected Traces (Valda kurvor)	Visar endast dessa brunnar, tar bort dessa brunnar från vyn, ställer in färg på dessa kurvor, eller utesluter dessa brunnar från analys.
Show Threshold Values (Visa tröskelvärden)	Visar tröskelvärdet för varje amplifieringskurva i diagrammet.
Trace Styles (Kurvutseenden)	Öppnar fönstret Trace Styles (Kurvutseenden) för att ändra kurvutseenden som visas på flikarna Quantification (Kvantifiering) och Melt Curve (Smältkurva).
Baseline Thresholds (Baslinjeträsklar)	Öppnar fönstret Baseline Thresholds (Baslinjeträsklar) för att ändra baslinjen eller träsklar för respektive fluorofor (ändringar visas i diagrammet Amplification (Amplifiering) på fliken Quantification (Kvantifiering)).

Kalkylbladet Quantification (Kvantifiering)

I [Tabell 18](#) definieras data som visas i kalkylbladet på fliken Quantification (Kvantifiering).

Tabell 18. Innehåll i kalkylbladet på fliken Quantification (Kvantifiering)

Information	Beskrivning
Well (brunn)	Brunnsposition i plattan
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detekterad
Target (Mål)	Målnamn som laddats i brunnarna i Plate Editor (Plattredigerare)
Content (Innehåll)	En kombination av Sample Type (Provtyp) (obligatoriskt) och Replicate # (Replikatnummer) (valfritt) som laddas i Plate Editor (Plattredigerare)

Information	Beskrivning
Sample (Prov)	Provnamn som laddats i brunnarna i Plate Editor (Plattredigerare)
C_q	Kvantifieringscykel för varje kurva

Ändra mål-, innehåll- eller provdata

Du kan ändra data i kolumnerna Target (Mål), Content (Innehåll) och Sample (Prov) genom att redigera plattfilen med hjälp av Plate Editor (Plattredigeraren) även efter att du har avslutat experimentet.

Så här ändrar du data i kolumnerna Content (Innehåll), Target (Mål) och Sample (Prov)

- Klicka på Plate Setup (Plattinställning) och välj sedan View/Edit Plate (Visa/redigera platta) för att öppna Plate Editor (Plattredigerare).

Fliken Quantification Data (Kvantifieringsdata)

Fliken Quantification Data (Kvantifieringsdata) visar kvantifieringsdata som samlats in i varje brunn. CFX Maestro Dx SE visar data i fyra olika kalkylbladsvyer:

- Results (Resultat) – visar ett kalkylblad med uppgifterna. Det här är standardvyn.
- Standard Curve Results (Standardkurvresultat) – visar ett kalkylblad för standardkurvan.
- Plate (Platta) – visar data i varje i brunn som plattkarta.
- RFU – visar RFU-mängder i varje brunn för varje cykel.

Välj enskilda kalkylblad från listrutan som visas under fliken Quantification Data (Kvantifieringsdata).

Kalkylbladet Results (Resultat)

Kalkylbladet Results (Resultat) visar data för varje brunn i plattan.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity
B04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.911E+05	5.281
B05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.07	17.09	0.024	1.993E+05	5.300
B06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.08	17.08	0.035	1.980E+05	5.297
C04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.13	17.13	0.003	1.917E+05	5.283
C05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.12	17.09	0.024	1.937E+05	5.287
C06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.12	17.08	0.035	1.930E+05	5.285
D04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.908E+05	5.281
D05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.08	17.09	0.024	1.988E+05	5.298

Obs! Alla beräkningar av Std. Dev (Standardavvikelse) tillämpas på replikatgrupper som har tilldelas i brunnarna i fönstret Plate Editor (Plattredigerare). Beräkningarna ger C_q-medelvärde för varje brunn i replikatgruppen.

I [Tabell 19](#) definieras data som visas i kalkylbladet Results (Resultat).

Tabell 19. Innehåll i kalkylbladet Results (Resultat)

Information	Beskrivning
Well (brunn)	Brunnsposition i plattan
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detekterad

Tabell 19. Innehåll i kalkylbladet Results (Resultat), forts.

Information	Beskrivning
Target (Mål)	Namn på amplifieringsmål (gen)
Content (Innehåll)	Provtyp och replikatnummer
Sample (Prov)	Provbeskrivning
Biological Set Name (Namn på biologisk uppsättning)	Namn på biologisk uppsättning
C_q	Kvantifieringscykel
C_q Mean (C_q -medelvärde)	Medelvärde för replikatgruppens kvantifieringscykel
C_q Std. Dev (C_q -standardavvikelse)	Standardavvikelse för replikatgruppens kvantifieringscykel
Starting Quantity (SQ) (Startkvantitet)	Uppskattning av målets startkvantitet
Log Starting Quantity (Logg för startkvantitet)	Logg för startkvantitet
SQ Mean (Medelvärde för startkvantitet)	Medelvärde för startkvantitet
SQ Std. Dev (C_q -standardavvikelse för startkvantitet)	Standardavvikelse för startkvantiteten för flera replikat

Kalkylbladet Standard Curve Results (Standardkurvresultat)

I kalkylbladet Standard Curve Results (Standardkurvresultat) visas den beräknade standardkurvans parametrar.

Fluor	Efficiency %	Slope	Y-Intercept	R ²
Cy5	95.93	-3.423	35.216	1.000
FAM	91.97	-3.531	35.593	0.995
HEX	94.24	-3.468	36.863	0.998
Texas Red	96.86	-3.399	35.481	0.999

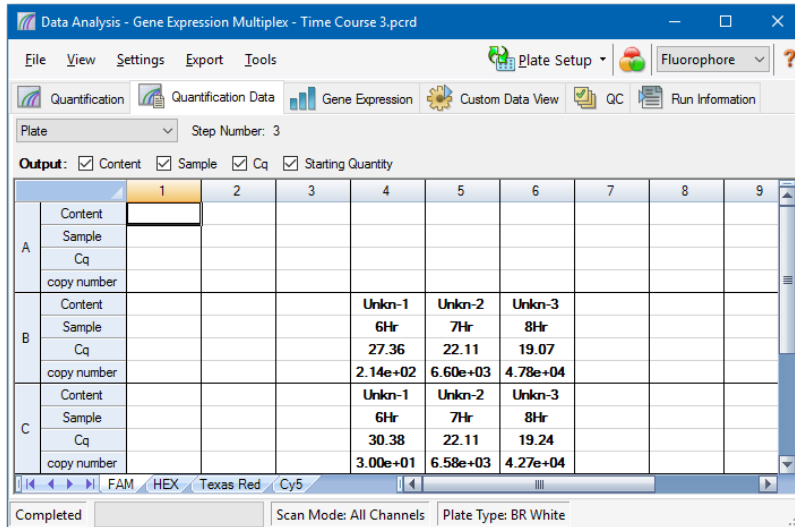
I [Tabell 20](#) definieras data som visas i kalkylbladet Standard Curve Results (Standardkurvresultat).

Tabell 20. Innehåll i kalkylbladet Standard Curve Results (Standardkurvresultat)

Information	Beskrivning
Fluor (or Target) (Fluor eller Mål)	Fluorofor (eller Mål) detekterat
Efficiency (Effektivitet) %	Reaktionseffektivitet
Slope (Lutning)	Standardkurvans lutning
Y-intercept (Y-skärningspunkt)	Punkt där kurvan skär y-axeln
R ²	Bestämningkoefficient

Kalkylbladet Plate (Platta)

I kalkylbladet Plate (Platta) visas en plattkarta över data för en fluorofor i taget.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	Content								
	Sample								
	Cq								
	copy number								
B	Content			Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3			
	Sample			6Hr	7Hr	8Hr			
	Cq			27.36	22.11	19.07			
	copy number			2.14e+02	6.60e+03	4.78e+04			
C	Content			Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3			
	Sample			6Hr	7Hr	8Hr			
	Cq			30.38	22.11	19.24			
	copy number			3.00e+01	6.58e+03	4.27e+04			

Så här visar du data för en specifik fluorofor

- Klicka på dess flik längst ned i kalkylbladet.

Kalkylbladet RFU

I kalkylbladet RFU visas avläsningarna av de relativa fluorescensenheterna (RFU) för varje brunn som erhållits under varje cykel i körningen. Brunnsnumret visas högst upp i varje kolumn och cykelnumret visas till vänster om varje rad.

Cycle	B4	B5	B6	C4	C5	C6	D4	D5	D6	F3	F4	F5
1	45.6	11.6	15.0	5.48	7.14	23.6	1.35	-17.5	192	39.9	30.6	35.5
2	29.9	5.01	5.65	0.0416	-0.989	12.4	-0.689	-17.2	157	39.4	20.4	15.2
3	15.0	0.773	6.65	-2.41	-0.154	9.63	-3.27	-6.84	133	44.9	13.8	8.62
4	6.29	3.24	5.62	-0.119	-1.37	7.70	2.58	-3.87	112	47.9	6.28	4.95
5	5.02	2.66	3.65	1.75	3.86	4.31	-3.29	0.0588	92.1	63.4	1.48	3.60
6	-2.71	2.83	0.862	3.84	3.17	7.76	2.50	8.79	65.9	84.3	-4.18	1.53
7	-9.01	-0.350	1.51	-0.970	4.06	3.31	-0.340	5.18	45.7	121	-8.35	-4.28

Fliken Melt Curve (Smältkurva)

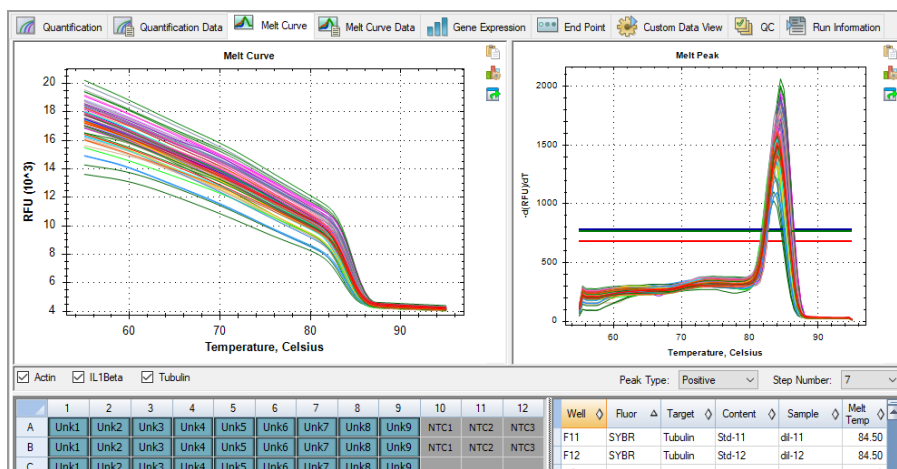
När det gäller DNA-bindande färger och ej klyvbara hybridiseringsprober är fluorescensen starkast när de två DNA-strängarna hybridiseras. Efterhand som temperaturen stiger mot smälttemperaturen (T_m), sjunker därför fluorescensen med en konstant hastighet (konstant lutning). Vid T_m sker en dramatisk reduktion av fluorescensen med en märkbar förändring av lutning. Hastigheten för denna förändring bestäms genom plottning av den negativa första regressionen av fluorescens jämfört med temperatur ($-d(RFU)/dT$). Den största förändringshastigheten av fluorescens leder till synbara toppar och representerar T_m av de dubbelsträngade DNA-komplexen.

CFX Maestro Dx SE plottar RFU-data som samlats in under en smältkurva som en funktion av temperatur. För att analysera smälttoppsdata tilldelar programmet en inledande och avslutande temperatur till varje topp genom att flytta tröskeln. Botten i toppområdet specificeras av positionen för smälttröskeln. En giltig topp måste ha en minimihöjd i relation till avståndet mellan tröskeln och höjden på den högsta toppen.

På fliken Melt Curve (Smältkurva) visas T_m (smälttemperatur) för amplifierade PCR-produkter i fyra vyer:

- Melt Curve (Smältkurva) – visar realtidsdata för varje fluorofor som RFU:er per temperatur för varje brunn.
- Melt Peak (Smälttopp) – visar den negativa regressionen för RFU-data per temperatur för varje brunn.
- Well selector (Brunnsväljare) – visar brunnar för att visa och dölja data.
- Peak spreadsheet (Kalkylbladet Topp) – visar data som samlats in i den valda brunnen.

Obs! I detta kalkylblad visas upp till två toppar för varje kurva. Om du vill se fler toppar klickar du på fliken Melt Curve Data (Smältkurvsdata).



I [Tabell 21](#) definieras data som visas i kalkylbladet Melt Curve (Smältkurva).

Tabell 21. Innehåll i kalkylbladet Melt Curve (Smältkurva)

Information	Beskrivning
Well (brunn)	Brunnsposition i plattan
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detekterad
Content (Innehåll)	En kombination av provtyp och replikatantal
Sample (Prov)	Namn på prov som laddats i Plate Editor (Plattredigerare)
Melt Temp (Smälttemp)	Temperaturen för smälttoppen för varje brunn Obs! Endast de två högsta topparna visas i detta kalkylblad.

Justera smältkurvsdata

Så här justerar du smältkurvsdata

- ▶ Gör något av följande:
 - Klicka på och dra tröskelvärdesstaplarna i diagrammet Melt Peak (Smälttopp) för att inkludera eller exkludera toppar i dataanalysen.
 - Välj Positive (Positiva) på den nedrullningsbara menyn Peaks (Toppar) för att visa kalkylbladsdata för toppar över smälttröskelvärdeslinjen, eller välj Negative (Negativa) för att visa kalkylbladsdata för toppar under smälttröskelvärdeslinjen.
 - Öppna fönstret Trace Styles (Kurvutseenden) där du kan ändra färgen på kurvorna i diagrammen Melt Curve (Smältkurva) och Melt Peak (Smälttopp).
 - Välj ett nummer i väljaren Step Number (Stegnummer) för att visa data för Melt Curve (Smältkurva) i ett annat steg i protokollet. Listan visar fler än ett steg om protokollet innehåller plattavläsningar i fler än ett smältkurvsteg.
 - Välj brunnar i brunnsväljaren för att fokusera på delmängder av data.
 - Välj en brunnsgrupp för att visa och analysera en delmängd av brunnarna i plattan. Välj varje brunnsgrupp efter namn i den nedrullningsbara menyn Well Group (Brunnsgrupp) i verktygsraden.

Fliken Melt Curve Data (Smältkurvsdata)

På fliken Melt Curve Data (Smältkurvsdata) visas data från fliken Melt Curve (Smältkurva) i flera kalkylblad, som innehåller alla smältpunkter för varje kurva. CFX Maestro Dx SE erbjuder fyra kalkylbladsalternativ för att visa smältkurvsdata:

- Melt Peaks (Smälttoppar) – visar alla data, däribland alla smälttoppar, för varje kurva. Det här är standardvyn.
- Plate (Platta) – visar en vy av data och innehåll för varje brunn i plattan.
- RFU – visar RFU-kvantiteterna vid varje temperatur för varje brunn.
- $-d(\text{RFU})/dT$ – visar den negativa förändringshastigheten i RFU när temperaturen (T) ändras. Det här är det första regressionsdiagrammet för varje brunn i plattan.

Välj varje kalkylblad i listrutan som visas under fliken Melt Curve Data (Smältkurvsdata).

Kalkylbladet Melt Peaks (Smälttoppar)

Kalkylbladet Melt Peaks (Smälttoppar) visar alla smältkurvsdata.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Melt Temperature	Peak Height	Begin Temperature	End Temperature
A01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1497.19	78.00	88.50
A02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1426.57	78.50	94.00
A03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1492.53	78.50	91.00
B01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1408.73	78.50	92.50
B02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1510.77	78.00	89.00
B03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1493.25	78.00	88.50
C01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1521.98	78.50	91.50
C02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1618.79	78.00	90.00
C03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1581.56	78.00	89.00
D01	SYBR	Actin	Std-1	dil-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

I [Tabell 22 på sidan 233](#) definieras de data som visas i kalkylbladet Melt Peaks (Smälttoppar).

Tabell 22. Innehåll i kalkylbladet Melt Peaks (Smälttoppar)

Information	Beskrivning
Well (brunn)	Brunnsposition i plattan
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detekterad
Content (Innehåll)	Provtyper listade i fönstret Plate Editor (Plattredigerare)
Target (Mål)	Amplifieringsmål (gen)
Sample (Prov)	Provnamn listat i fönstret Plate Editor (Plattredigerare)
Melt Temperature (Smälttemperatur)	Smälttemperatur för varje produkt, listad som en topp (högsta) per rad i kalkylbladet
Peak Height (Topphöjd)	Toppens höjd
Begin Temperature (Starttemperatur)	Temperatur vid början av toppen
End Temperature (Sluttemperatur)	Temperatur vid slutet av toppen

Kalkylbladet Plate (Platta)

Kalkylbladet Plate (Platta) visar smältkurvsdata i ett plattformat.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3								
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr								
	Peak 1	84.00	84.00	84.00								
	Peak 2	None	None	None								
B	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3								
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr								
	Peak 1	84.00	84.00	84.00								
	Peak 2	None	None	None								
C	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3								
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr								
	Peak 1	84.00	84.00	84.00								
	Peak 2	None	None	None								

Obs! För att justera vilken topp programvaran anropar justerar du tröskellinjen i diagrammet Melt Peak (Smälttopp) på fliken Melt Curve (Smältkurva).

I [Tabell 23 på sidan 234](#) definieras data som visas i kalkylbladet Plate (Platta).

Tabell 23. Innehåll i kalkylbladet Plate (Platta)

Information	Beskrivning
Content (Innehåll)	Kombination av Sample Type (Provtyp) och Replicate # (Replikatnummer). Provtyp är obligatoriskt medan replikat är valfritt.
Sample (Prov)	Provbeskrivning
Peak 1 (Topp 1)	Första smälttopp (högsta)
Peak 2 (Topp 2)	Andra smälttopp (lägre)

Kalkylbladet RFU

I kalkylbladet RFU visas fluorescensen för varje brunn vid varje cykel som erhållits under smältkurvan.

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	17243	16043	16541	16440	17362	17038	17387	18303	17813	14914	16441	16356	17906	17758
55.50	17138	15948	16440	16340	17243	16923	17280	18178	17693	14836	16337	16252	17784	17644
56.00	17033	15853	16339	16241	17124	16808	17173	18053	17574	14758	16233	16149	17663	17530
56.50	16929	15758	16238	16141	17005	16693	17067	17928	17454	14681	16130	16046	17542	17417
57.00	16824	15663	16136	16042	16885	16579	16960	17802	17334	14603	16026	15942	17420	17303
57.50	16719	15568	16035	15942	16766	16464	16853	17677	17214	14525	15922	15839	17299	17189
58.00	16614	15473	15934	15843	16647	16349	16746	17552	17094	14447	15819	15736	17178	17075
58.50	16505	15375	15831	15740	16524	16232	16637	17423	16971	14360	15707	15628	17054	16958
59.00	16393	15273	15724	15634	16400	16112	16525	17292	16845	14264	15591	15517	16928	16839

I [Tabell 24](#) definieras data som visas i RFU-kalkylbladet.

Tabell 24. Innehåll i kalkylbladet RFU

Information	Beskrivning
Well Number (Brunnsnummer) (A1, A2, A3, A4, A5)	Brunnsposition i plattan för de laddade brunnarna
Temperature (Temperatur)	Smältpunkten för det amplifierade målet, plottad som en brunn per rad och flera brunnar för flera produkter i samma brunn

Kalkylbladet -d(RFU)/dT

Kalkylbladet -d(RFU)/dT visar det negativa förändringsvärdet i RFU när temperaturen (T) ändras.

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	105	95.0	101	99.5	119	115	107	125	120	77.8	104	103	121	114
55.50	227	206	219	215	258	249	231	271	260	169	225	224	263	246
56.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
56.50	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.50	209	189	202	198	238	229	213	250	239	154	206	206	242	227
58.00	214	193	204	202	242	232	215	253	243	164	214	210	245	231
58.50	222	200	210	209	247	237	221	260	249	184	228	219	249	237

I [Tabell 25](#) definieras data som visas i kalkylbladet -d(RFU)/dT.

Tabell 25. Innehåll i kalkylbladet -d(RFU)/dT

Information	Beskrivning
Well Number (Brunnsnummer) (A1, A2, A3, A4, A5)	Brunnsposition i plattan för de laddade brunnarna
Temperatur -d(RFU)/dT	Negativt förändringsvärde i RFU när temperaturen (T) ändras

Fliken End Point (Slutpunkt)

Öppnar fliken End Point (Slutpunkt) för analys av slutliga RFU (Relative Fluorescence Units) för provbrunnarna. Programvaran jämför RFU-nivåerna för brunnar med okända prover med RFU-nivåerna för brunnar med negativa kontroller och "benämner" de okända som positiva eller negativa. Positiva prover har ett RFU-värde som är större än det genomsnittliga RFU-värdet för de negativa kontrollerna plus gränsvärdet (cutoff-värdet).

The screenshot shows the 'Data Analysis - CFX96_5 Color End Point.pcrd' window. The 'Settings' panel on the left is configured with 'FAM' as the fluorophore, 'End Cycles To Average' set to 2, and 'Percent of Range' selected as the analysis method with a value of 10.0. The 'Results' section shows a lowest RFU value of 2663, a highest RFU value of 18293, a negative control average of 2682, and a cut off value of 4243.

The main results table lists wells from C03 to F07, showing their respective fluorophores (HEX), contents (Std-1 to Std-4 or Neg Ctrl), and end RFU values. All wells are called as 'Positive'.

Well	Fluor	Content	Sample	End RFU	Call
C03	HEX	Std-1		15271	(+) Positive
C04	HEX	Std-2		10788	(+) Positive
C05	HEX	Std-3		6245	(+) Positive
C06	HEX	Std-4		4035	(+) Positive
C07	HEX	Neg Ctrl		1887	
D03	HEX	Std-1		15193	(+) Positive
D04	HEX	Std-2		10781	(+) Positive
D05	HEX	Std-3		6294	(+) Positive
D06	HEX	Std-4		4013	(+) Positive
D07	HEX	Neg Ctrl		1882	
E03	HEX	Std-1		14530	(+) Positive
E04	HEX	Std-2		10240	(+) Positive
E05	HEX	Std-3		5838	(+) Positive
E06	HEX	Std-4		3896	(+) Positive
E07	HEX	Neg Ctrl		1882	
F03	HEX	Std-1		14055	(+) Positive
F04	HEX	Std-2		9932	(+) Positive
F05	HEX	Std-3		5826	(+) Positive
F06	HEX	Std-4		3964	(+) Positive
F07	HEX	Neg Ctrl		1883	

At the bottom left, a well plate grid shows the layout of standards (Std1-4) and negative controls (Neg) in wells C3-F6.

För att analysera slutpunktsdata måste plattan innehålla negativa kontroller, annars kan inte programvaran göra bestämningen.

- Kör ett protokoll av typen Quantification (Kvantifiering) – ställ in ett standardprotokoll. När körningen är klar öppnar du fönstret Data Analysis (Dataanalys), justerar dataanalysinställningarna på fliken Quantification (Kvantifiering) och klickar på fliken End Point (Slutpunkt) för att välja en slutpunktscykel.
- Protokollet End Point Only (Endast slutpunkter) – läs in protokollet End Point Only (Endast slutpunkter) på fliken Plate (Platta) i fönstret Run Setup (Körningsinställning), välj eller skapa en platta och starta körningen.

På fliken End Point (Slutpunkt) visas de genomsnittliga RFU-värdena för bestämning av huruvida målet har amplifierats av den senaste (slut-) cykeln. Bestäm med hjälp av dessa data huruvida en specifik målsekvens förekommer (positiv) i ett prov. Positiva mål har högre RFU-värden än det gränsvärde (cutoff-värdet) du definierar.

Tips: Du skapar ett slutpunktsprotokoll genom att öppna fliken Protocol (Protokoll) (i fönstret Run Setup (Körningsinställning)) och välja Run > End Point Only Run (Kör > Körning av endast slutpunkter).

När körningen är klar öppnas datafilen på fliken End Point (Slutpunkt), som består av följande avsnitt:

- Settings (Inställningar) – justerar dataanalysinställningarna.
- Results (Resultat) – visar resultaten omedelbart efter att du har justerat inställningarna.
- Well Selector (Brunnsväljare) – väljer brunnarna med de slutpunktsdata som du vill visa.
- RFU spreadsheet (RFU-kalkylblad) – visar slut-RFU som samlats in i de valda brunnarna.

Resultatdata

Avsnittet Results (Resultat) visar följande data:

- Lowest RFU value (Lägsta RFU-värde) – lägsta RFU-värde i data
- Highest RFU value (Högsta RFU-värde) – högsta RFU-värde från data
- Negative Control Average (Genomsnitt för negativ kontroll) – genomsnittligt RFU för brunnar som innehåller negativa kontroller
- Cut Off Value (Gränsvärde) – beräknas genom att toleransen (RFU eller andel av intervall som anges i inställningarna) och medelvärdet för de negativa kontrollerna läggs till. Prover med RFU:er som är större än gränsvärdet kallas "Positiv". Så här justerar du gränsvärdet, ändrar RFU eller andel av intervall

Gränsvärdet beräknas med följande formel:

$$\text{Gränsvärde} = \text{Genomsnitt för negativ kontroll} + \text{tolerans}$$

Välj en tolerans med någon av följande metoder:

- RFUs (default) (RFU:er, standard) – välj den här metoden för att använda ett absolut RFU-värde för toleransen. Det lägsta RFU-toleransvärdet är 2. Max är det absoluta värdet för det högsta RFU-värdet minus det absoluta värdet för det lägsta RFU-värdet. RFU-standardtoleransvärdet är 10 % av det totala RFU-intervallet.

- Percent of Range (Andel av intervall) – välj den här metoden för att använda en andel av RFU-intervallet för toleransen. Den lägsta andelen av intervallet är 1 %. Den högsta andelen av intervallet är 99 %. Standardandelen av intervallet är 10 %.

Justera slutpunktsdataanalys

Så här justerar du data på fliken End Point (Slutpunkt)

- ▶ Gör något av följande:
 - Välj en fluorofor i listrutan.
 - Välj ett värde för End Cycle Average (Slutcykel för beräkning av medeltal) för att ställa in antalet cykler som ska användas för att beräkna medeltalet av slutpunkts-RFU.
 - Välj RFUs för att visa data i Relative Fluorescence Units.
 - Välj Percentage of Range (Andel av intervall) för att visa data som en andel av RFU-intervallet.
 - Välj brunnar i brunnsväljaren för att fokusera på delmängder av data.
 - Välj en brunnsgrupp för att visa och analysera en delmängd av brunnarna i plattan. Välj varje brunnsgrupp efter namn i den nedrullningsbara menyn Well Group (Brunnsgrupp) i verktygsraden.

RFU-kalkylblad för analys av End Point (Slutpunkt)

Tabell 26 definierar data som visas i RFU-kalkylbladet på fliken End Point (Slutpunkt).

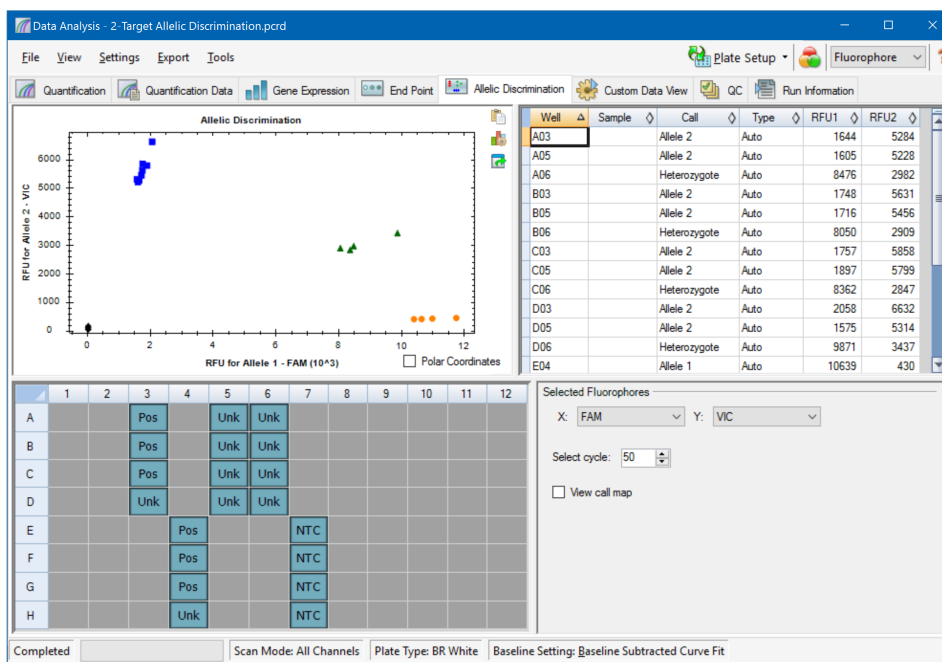
Tabell 26. Innehåll i kalkylbladet RFU End Point (Slutpunkt)

Information	Beskrivning
Well (brunn)	Brunnsposition i plattan
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detekterad
Content (Innehåll)	Kombination av Sample Type (Provtyp) och Replicate # (Replikatnummer)
End RFU (Slut-RFU)	RFU vid slutpunktscykeln
Call (Bestämning)	Positive (Positiv) eller Negative (Negativ), där positiva prover har ett RFU-värde som är större än genomsnitts-RFU för de negativa kontrollerna plus Cut Off Value (Gränsvärde)
Sample (Prov)	Sample Name (Provnamn) laddat i Plate Editor (Plattredigerare)

Fliken Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering)

Fliken Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering) tilldelar genotyper till brunnar med okända prover. Använd dessa data för att identifiera prover med olika genotyper, inklusive Allele 1 (Allel 1), Allele 2 (Allel 2), Heterozygote (Heterozygot), No Call (Ingen bestämning) (ingen amplifiering) eller Undetermined (Obestämd).

Obs! Data för allelisk diskriminering måste komma från multiplexkörningar med minst två fluoroforer. Varje fluorofor identifierar en allel i alla prover.



Allelisk diskrimineringsanalys kräver minst följande brunnsinnehåll:

- Två fluoroforer i varje brunn
- NTC-prover (no template control) för optimerad dataanalys

CFX Maestro Dx SE erbjuder fyra alternativ för att visa allelisk diskrimineringsdata:

- Diagrammet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering) – visar data i ett RFU-diagram för Allel 1/Allel 2. Varje punkt i diagrammet representerar data från båda fluoroforer i en brunn. Du kan växla mellan kartesianska och polära koordinater genom att markera och avmarkera kryssrutan Polar Coordinates (Polära koordinater). Kartesianska koordinater representerar RFU för Allel 1 på x-axeln och RFU för Allel 2 på y-axeln. Polära koordinater representerar vinkeln på x-axeln och avståndet på y-axeln mellan RFU och ursprunget (median för alla NTC).

- Brunnskalkylblad – visar allelisk diskrimineringsdata som samlats in i varje brunn i plattan.
- Brunnsväljare – väljer brunnarna med alleliska data som du vill visa.
- Panelen Selected Fluorophores (Utvalda fluoroforer) – ändrar x- och y-axeetiketterna i diagrammet för Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering), cykeln som ska analyseras, och om bestämningskartan ska visas.

Justera data för allelisk diskriminering

Programvaran tilldelar automatiskt en genotyp till brunnar med okända prover baserat på NTC-positionerna och vinkeln samt avståndet för de okända datapunkterna från NTC.

Så här justerar du data för allelisk diskriminering

- ▶ Gör något av följande:
 - Visa polära koordinater genom att markera kryssrutan i diagrammet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering).
 - Visa en annan fluorofor genom att välja den i listrutan i panelen Selected Fluorophores (Valda fluoroforer).
 - Ändra en bestämning genom att dra datapunkterna över diagrammet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering) och välja ett alternativ i listan Selected Wells (Valda brunnar):
 - Allele 1 (Allel 1)
 - Allele 2 (Allel 2)
 - Heterozygote (Heterozygot)
 - Undetermined (Obestämd)
 - No Call (Ingen bestämning)
 - Auto Call (Automatisk bestämning)

Tips: Välj Auto Call (Automatisk benämning) för att återgå till standardbenämningen.

Alternativ på diagrammenyn

Förutom de gemensamma alternativen på högerklicksmeny för diagram (se [Gemensamma alternativ på högerklicksmenyer för diagram på sidan 207](#)) finns det tillgängliga menyalternativ på diagrammet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering), dessa anges i [Tabell 27](#).

Tabell 27. Alternativ på höger- och vänstermenyerna för diagrammet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering)

Menyalternativ	Funktion
Zoom (Zooma in)	Fokuserar diagramvyn till det valda området (genom att du klickar på och drar markören i diagrammet). Tips: Du återställer zoomningen och visar alla datapunkter genom att högerklicka och välja Set Scale to Default (Ställ in standardskala).
Well (Brunn)	För den valda brunnen är alternativen: visa endast denna brunn, ta bort denna brunn från vyn, ställ in färgen på denna kurva och uteslut denna brunn från analysen.
Selected Wells (Valda brunnar)	För de valda brunnarna (väljs genom att du klickar på och drar markören i diagrammet) är alternativen: visa endast dessa brunnar, ta bort dessa brunnar från vyn, ställ in färgen på dessa kurvor och uteslut dessa brunnar från analysen.

Kalkylbladet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering)

I [Tabell 28](#) definieras de data som visas i kalkylbladet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering).

Tabell 28. Innehåll i kalkylbladet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering)

Information	Beskrivning
Well (brunn)	Brunnsposition i plattan
Sample (Prov)	Provnamsbeskrivning
Call (Bestämning)	Allelens identitet, inklusive automatisk Allele 1 (Allel 1), Allele 2 (Allel 2), Heterozygote (Heterozygot), No Call (Ingen bestämning) eller Undetermined (Obestämd)

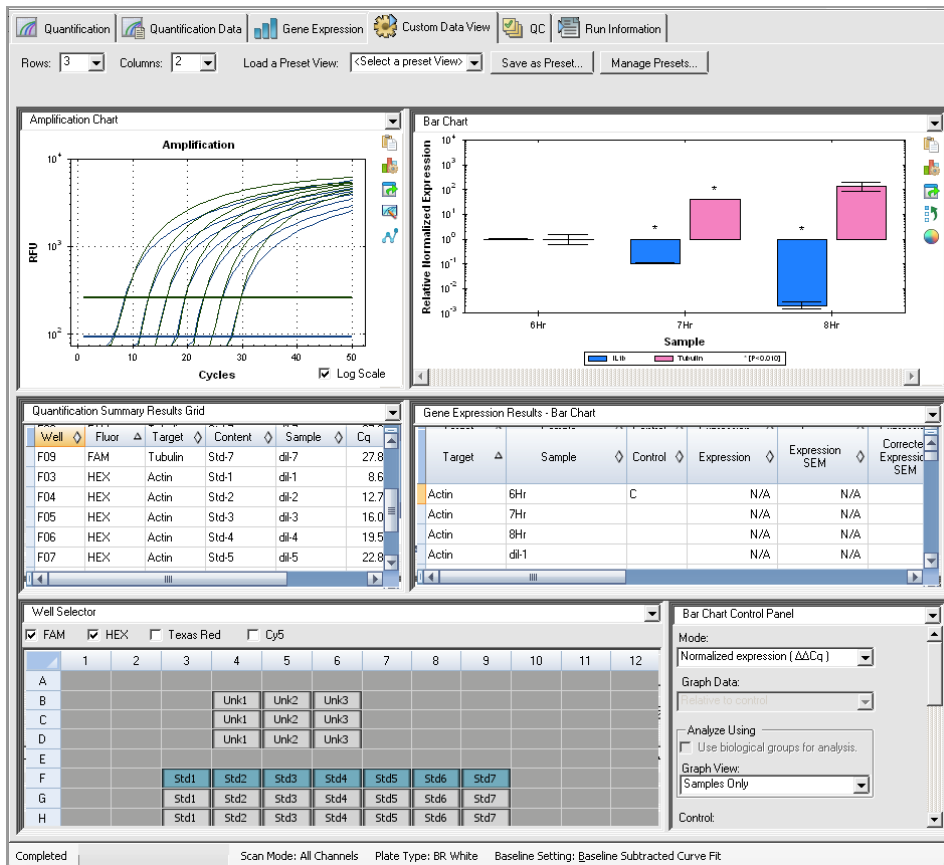
Tabell 28. Innehåll i kalkylbladet Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering), forts.

Information	Beskrivning
Type (Typ)	Auto (Automatisk) eller Manual (Manuell), beskriver hur bestämningen gjordes. Automatisk indikerar att programvaran valde bestämningen. Manuell indikerar att användaren valde bestämningen
RFU1	RFU för Allel1
RFU2	RFU för Allel2

Fliken Custom Data View (Anpassad datavisning)

På fliken Custom Data View (Anpassad datavisning) visas flera paneler i ett anpassningsbart format samtidigt.

Listrutan Load a Preset View (Läs in förinställningsvy) har ett urval av visningsformatmallar. Standardvyn som visas beror på vilken fil som analyseras. Om det till exempel finns smältkurvsinformation visas standardvyn Amp+Melt.



Skapa en anpassad datavisning

Så här skapar du en anpassad datavisning

- ▶ Gör något av följande:
 - Välj en alternativ förinställningsvy från listrutan.
 - Välj en annan diagramvy från listrutan överst i varje enskild ruta.
 - Ändra antalet rader och kolumner på fliken.
 - Ändra mått för enskild panel. Dra staplarna i kanten av varje panel.

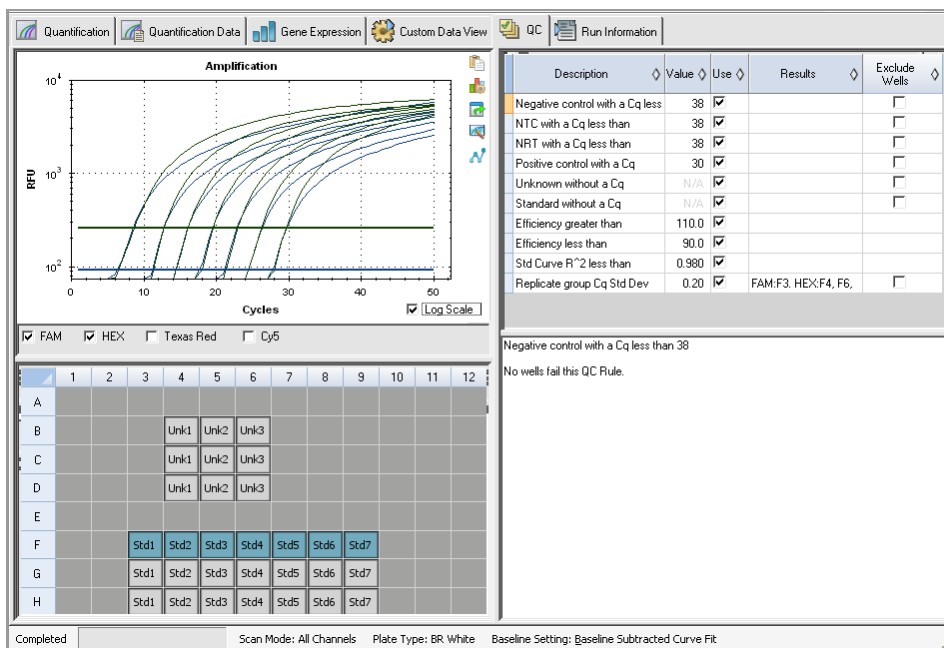
Klicka på Save as Preset (Spara som förinställning) för att spara den anpassade datavyn som en förinställd mall. Klicka på Manage Presets (Hantera förinställningar) för att ta bort, byta namn på eller återställa befintliga förinställningar.

Fliken QC (Kvalitetskontroll)

Använd fliken QC (Kvalitetskontroll) för att snabbt bedöma kvaliteten på körningsdata baserat på reglerna som definieras på fliken QC i fönstret User Preferences (Användarinställningar).

CFX Maestro Dx SE erbjuder fyra alternativ för visning av kvalitetskontrolldata:

- **Amplification chart** (Amplifieringsdiagram) – visar RFU för varje brunn vid varje cykel. Varje kurva i diagrammet representerar data från en enskild fluorofor i en brunn.
- **QC rules table** (Tabell för kvalitetskontrollregler) – visar tillgängliga kvalitetskontrollregler och inställningar som definierar enskilda regler. Tillämpade kvalitetskontrollregler anges med en bock.
- **Well selector** (Brunnsväljare) – väljer brunnarna med fluorescensdata som du vill visa.
- **Sammanfattningsruta för kvalitetskontrollregel** – visar den valda kvalitetskontrollregeln och markerar brunnar som inte klarar regeln.



Ändra kvalitetskontrollkriterier

Så här ändrar du kvalitetskontrollkriterier

- Markera eller avmarkera kryssrutan Use (Använd) för att inkludera eller exkludera regeln från kvalitetskontroll.

Utesluta brunnar som inte klarar kvalitetskontrollen

CFX Maestro Dx SE visar brunnar som inte klarar kvalitetskontrollkriterier i kolumnen Results (Resultat) i tabellen QC rules (Kvalitetskontrollregler) och i sammanfattningspanelen.

Så här utesluter du brunnar som inte uppfyller kvalitetskontrollkriterier

- ▶ Välj Exclude Wells (Uteslut brunnar) för varje brunn som ska uteslutas.

Fliken Run Information (Körningsinformation)

På fliken Run Information (Körningsinformation) visas protokollet och annan information om varje körning. Använd den här fliken för att göra följande:

- Visa protokollet.
- Ange eller redigera anteckningar om körningen.
- Ange eller redigera ID eller streckkod för körningen.
- Visa händelser som kan ha inträffat under körningen. Använd dessa meddelanden som hjälp vid felsökning av en körning.

Tips: Högerklicka på protokollet för att kopiera, exportera eller skriva ut det. Högerklicka i rutorna Notes (Anteckningar), ID/Bar Code (ID/Streckkod) eller Other (Övrigt) för att ångra, klippa ut, kopiera, klistra in, radera eller markera texten.

The screenshot shows the 'Run Information' tab in a software interface. At the top, there are navigation icons for Quantification, Quantification Data, Gene Expression, Custom Data View, QC, and Run Information. The main area displays a protocol graph for 'Protocol: CFX_2stepAmp50 1 min.prl'. The graph has four steps: Step 1 (95.0 C for 3:00), Step 2 (95.0 C for 0:10), Step 3 (55.0 C for 1:00), and Step 4 (GOTO 2, 49 more times). A red arrow points from the graph to the table below. The table lists the steps with their parameters and a 'Plate Read' section. On the right, there are sections for 'Notes' (containing a 'Multiplex Gene Expression Example' text), 'ID/Bar Code', and 'Other' (containing run details like 'Run Started: 12/13/2007 12:31:47 PM'). At the bottom, a status bar shows 'Completed', 'Scan Mode: All Channels', 'Plate Type: BR White', and 'Baseline Setting: Baseline Subtracted Curve Fit'.

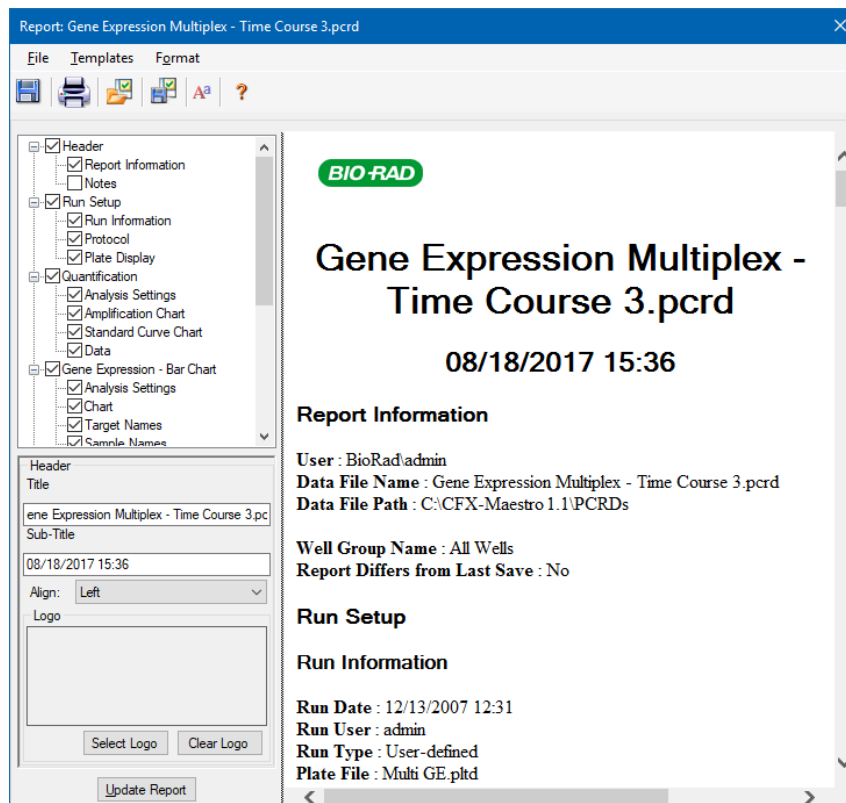
Step	Temperature	Mode	Duration
1	95.0	C	for 3:00
2	95.0	C	for 0:10
3	55.0	C	for 1:00
+ Plate Read			
4	GOTO 2, 49 more times		
END			

Dataanalyserapporter

I dialogrutan Report (Rapport) visas information om den aktuella datafilen i fönstret Data Analysis (Dataanalys). För att öppna en rapport väljer du Tools > Reports (Verktyg > Rapporter) eller klickar på Reports (Rapporter) i verktygsraden.

Dialogrutan Report (Rapport) innehåller följande avsnitt:

- Meny och verktygsrad – innehåller alternativ för att formatera, spara och skriva ut rapporten eller mallen.
- Alternativlista (längst upp till vänster i dialogrutan) – innehåller alternativ att visa i rapporten.
- Alternativruta (längst ned till vänster i dialogrutan) – visar textrutor i vilka du kan skriva in information om ett visst alternativ.
- Förhandsgranskningsruta (till höger i dialogrutan) – visar en förhandsgranskning av den aktuella rapporten.



Kategorier för dataanalysrapporter

I [Tabell 29](#) visas alla alternativ som är tillgängliga för en dataanalysrapport beroende på typ av data som används i fönstret Data Analysis (Dataanalys).

Tabell 29. Kategorier för dataanalysrapporter i alternativlistan

Kategori	Alternativ	Beskrivning
Header (Rubrik)		
		Titel, undertitel och logotyp för rapporten
	Report Information (Rapportinformation)	Körningsdatum, användarnamn, datafilnamn, datafilsökväg och vald brunnsgroup
	Audit Information (Revisionsinformation)	Ytterligare information som krävs för revision, inklusive signaturer
	Notes (Anteckningar)	Anteckningar om datarapporten
Run Setup (Körningsinställning)		
	Run Information (Körningsinformation)	Körningsdatum, användarnamn, datafilnamn, datafilsökväg och vald brunnsgroup
	Protocol (Protokoll)	Textvy av protokollsteg och alternativ
	Plate Display (Plattvy)	Plattvy av informationen i varje brunn för plattan
Quantification (Kvantifiering)		
	Analysis Settings (Analysinställningar)	Stegnummer för datainsamling, analysläge och metod för baslinjesubtraktion
	Amplifiering (Amplifieringstabell)	Amplifieringstabell för körningar som inkluderar kvantifieringsinformation

Tabell 29. Kategorier för dataanalyserapporter i alternativlistan, forts.

Kategori	Alternativ	Beskrivning
	Standard Curve Chart (Standardkurvdiagram)	Standardkurvdiagram
	Data	Kalkylblad som listar data för varje brunn
Gene Expression (Genuttryck) – Bar Chart (Stapeldiagram)		
	Analysis Settings (Analysinställningar)	Analysläge, diagramdata, skalalternativ och diagramfel
	Chart (Diagram)	Kopia av stapeldiagrammet
	Target Names (Målnamn)	Diagram med målnamn
	Sample Names (Provnamn)	Diagram med provnamn
	Data	Kalkylblad som listar data för varje brunn
	Target Stability (Målstabilitet)	Diagram för målstabilitetsvärden
	Box-and-whisker chart (Låddiagram)	Låddiagram
	Dot Plot chart (Punktdiagram)	Dot plot chart (Punktdiagram)
Gene Expression (Genuttryck) – Clustergram och Scatter Plot (Spridningsdiagram)		
	Analysis Settings (Analysinställningar)	Inställningar för respektive typ av diagram
	Chart (Diagram)	Kopia av diagrammet
	Data	Kalkylblad som listar data i varje mål
Gene Expression (Genuttryck) – ANOVA-data		
	ANOVA Settings (ANOVA- inställningar)	P-värdeströskel som används i analysen

Tabell 29. Kategorier för dataanalyserapporter i alternativlistan, forts.

Kategori	Alternativ	Beskrivning
	ANOVA Results (ANOVA-resultat)	Tabell med resultat från ANOVA och Tukeys HSD (Honestly Significant Difference) post-hoc-analys
Melt Curve (Smältkurva)		
	Analysis Settings (Analysinställningar)	Inställning för smältstegnummer och tröskelvärde
	Melt Curve Chart (Diagram för smältkurva)	Diagram för smältkurva
	Melt Peak Chart (Diagram för smälttopp)	Diagram för smälttopp
	Data	Kalkylblad som listar data för varje brunn
Allelic Discrimination (Allelisk diskriminering)		
	Analysis Settings (Analysinställningar)	Fluoroforer, cykel och visning av anropskarta
	Allelic Discrimination Chart (Tabell för allelisk diskriminering)	Kopia av diagrammet för allelisk diskriminering
	Data	Kalkylblad som listar data för varje brunn
End Point (Slutpunkt)		
	Analysis Settings (Analysinställningar)	Fluorofor, avslutande cykler vars medelvärde ska beräknas, läge, lägsta RFU-värde, högsta RFU-värde och gränsvärde
	Data	Kalkylblad som listar data för varje brunn

Tabell 29. Kategorier för dataanalyser i alternativlistan, forts.

Kategori	Alternativ	Beskrivning
QC Parameters (Kvalitetskontrollparametrar)		
	Data	Kalkylblad som anger parametrar för varje kvalitetskontrollregel

Skapa en dataanalysrapport

Du kan spara rapportlayouten som en mall och använda den igen för liknande rapporter.

Så här skapar du en dataanalysrapport

1. Gör slutliga justeringar av innehållet i brunnen, valda brunnar, diagram och kalkylblad i fönstret Data Analysis (Dataanalys) innan du genererar rapporten.
2. Välj Tools > Reports (Verktyg > Rapporter) på menyraden Data Analysis (Dataanalys) för att öppna dialogrutan Report (Rapport).
3. Välj alternativen du vill inkludera i rapporten. Rapporten öppnas med standardalternativ valda. Markera eller avmarkera kryssrutorna för att ändra hela kategorier eller enskilda alternativ inom en kategori.

Se [Tabell 29 på sidan 250](#) för tillgängliga alternativ.

Obs! Data som visas i rapporten beror på aktuella val på flikarna för fönstret Data Analysis (Dataanalys). En kvantifieringskörning innehåller till exempel inte en standardkurva, och därför visas dessa data i fönstret Data Analysis (Dataanalys) eller i datarapporten.

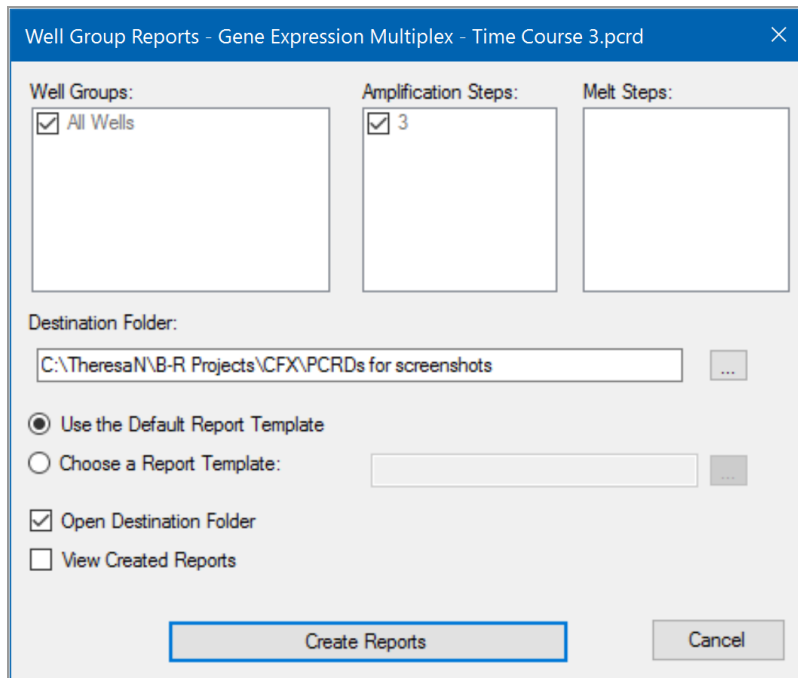
4. Ändra ordningsföljden på kategorier och objekt i en rapport. Dra alternativen till motsvarande plats. Objekt kan bara flyttas inom kategorierna de tillhör.
5. (Valfritt) Ange information som är relevant för det valda alternativet i rutan Report Options (Rapportalternativ):
 - Välj en informationsundergrupp att visa i rapporten.
 - Välj specifika inställningar för det valda alternativet.
 - Välj text som ska visas för det valda alternativet.
6. Klicka på Update Report (Uppdatera rapport) för att uppdatera Report Preview (Rapportförhandsgranskning) med eventuella ändringar.
7. Skriv ut eller spara rapporten:
 - a. Klicka på knappen Print Report (Skriv ut rapport) i verktygsraden för att skriva ut den aktuella rapporten.
 - b. Välj File > Save (Arkiv > Spara) för att spara rapporten i filformatet PDF (Adobe Acrobat Reader-fil), MHT (Microsoft-dokument) eller MHTML (Microsoft-dokument).
 - c. Välj en plats där filen ska sparas.
 - d. Välj File > Save As (Arkiv > Spara som) för att spara rapporten med ett nytt namn eller på en ny plats.

8. (Valfritt) Skapa en rapportmall med den information du vill ha. För att spara de aktuella rapportinställningarna i en mall väljer du **Template > Save (Mall > Spara)** eller **Save As (Spara som)**. Hämta sedan rapportmallen nästa gång du vill skapa en ny rapport.

Skapa Well Group Reports (Brunnsgrupprapporter)

Så här skapar du en brunnsgrupprapport

1. Välj Tools > Well Group Reports (Verktyg > Brunnsgruppsrapporter) i fönstret Data Analysis (Dataanalys).



2. I dialogrutan Well Groups Reports (Brunnsgrupprapporter) väljer du de brunnsgrupper, amplifieringssteg och smältsteg som ska ingå i rapporten.
3. Ange sökvägen eller gå till destinationsmappen där rapporten ska sparas.
4. (Valfritt) Välj Choose a Report Template (Välj en rapportmall) och gå till mallfilmappen.
5. (Valfritt) Välj Open Destination Folder (Öppna destinationsmapp) för att öppna mappen och visa rapporterna när de har skapats.
6. Klicka på Create Reports (Skapa rapporter).

Kapitel 12 Genuttrycksanalys

Med användning av strikt kvalificerade kontroller i dina reaktioner kan du använda CFX Maestro Dx programvara, Security Edition för att utföra en genuttryckskörning för att normalisera de relativa skillnaderna i en målkoncentration bland prover. Vanligtvis används uttrycksnivåer för en eller flera referensgener för att normalisera uttrycksnivåerna för en intressant gen. Referensgener tar hänsyn till laddningsskillnader eller andra variationer som representeras i respektive prov och deras uttrycksnivåer bör inte påverkas i det biologiska systemet som studeras.

Välj fliken Gene Expression (Genuttryck) i fönstret Data Analysis (Dataanalys) för att utvärdera relativa skillnader mellan PCR-reaktioner i två eller flera brunnar. Du kan till exempel utvärdera relativt antal virusgenom eller relativt antal transfekterade sekvenser i en PCR-reaktion. Det vanligaste användningsområdet för genuttrycksstudier är jämförelsen av cDNA-koncentration i fler än en reaktion för att uppskatta nivåerna av budbärar-RNA i steady state.

Programvaran beräknar den relativa uttrycksnivån för ett mål med ett av dessa scenarier:

- Relativ uttrycksnivå för en målsekvens (Mål 1) i relation till ett annat mål (Mål 2); till exempel mängden av en gen i relation till en annan gen under samma provbehandling.
- Relativ uttrycksnivå för en målsekvens i ett prov jämfört med samma mål under olika provbehandling; till exempel den relativa mängden av en gen i relation till sig själv under olika tidsmässiga, geografiska eller utvecklingsvillkor.

Plattinställning för genuttrycksanalys

För att utföra en genuttrycksanalys måste innehållet i brunnarna innefatta följande:

- Två eller fler mål – de två målen som representerar olika amplifierade gener eller sekvenser i proverna.
- Ett eller flera referensmål – minst ett mål måste vara ett referensmål för normaliserat uttryck. Tilldela alla referensmål i fönstret Experiment Settings (Experimentinställning) och analysera data i läget Normalized Expression (Normaliserat uttryck) ($\Delta\Delta C_q$). Körningar som inte innehåller en referens måste analyseras i läget Relative Expression (Relativt uttryck) (ΔC_q).
- Gemensamma prover – reaktionerna måste innehålla gemensamma prover (minst två krävs) för att visa data som plottas på fliken Gene Expression (Genuttryck). Dessa prover ska representera olika behandlingar eller villkor för var och en av målsekvenserna. Tilldela ett kontrollprov (valfritt) i fönstret

Experiment Settings (Experimentinställningar). Om ingen kontroll har valts använder programvaran lägsta C_q som kontroll.

Kraven för inställning av Gene Expression (Genuttryck) i Plate Editor (Plattredigerare) beror på huruvida reaktionsinnehållen är singleplex-PCR med en fluorofor i reaktionerna, eller multiplex-PCR med fler än en fluorofor i reaktionerna.

Guidad plattinställning

Om plattinställningen för en datafil inte innehåller informationen som krävs för analys och fliken Gene Expression (Genuttryck) är vald visas i utrymmet som normalt är reserverat för stapeldiagrammet anvisningar för hur du anger den här informationen. Följ stegen nedan för normaliserat genuttryck:

1. Definiera mål- och provnamn med något av följande:
 - Plate Setup (Plattinställning) – öppnar fönstret Plate Editor (Plattredigerare)
 - Replace Plate file (Ersätt plattfil) – öppnar läsaren Select Plate (Välj platta), i vilken du kan navigera till en tidigare sparad plattfil med vilken du kan ersätta den aktuella plattlayouten.
 - Replace PrimePCR file (Ersätt PrimePCR-fil) – öppnar dialogrutan Select PrimePCR file (Välj PrimePCR-fil) i vilken du kan navigera till en PrimePCR™-körningsfil och använda den på plattlayouten.
2. Välj ett eller flera referensmål samt ett kontrollprov med hjälp av dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställning).







Om plattlayouten redan innehåller mål- och provinformation krävs endast det andra steget, som markeras med orange färg. Det här steget måste utföras före analys av normaliserat genuttryck.

Obs! Data för spridningsdiagram och clustergram visas endast om alla villkor för normaliserat genuttryck som anges under Plate Setup for Gene Expression Analysis (Plattinställning för genuttrycksanalys) har uppfyllts.

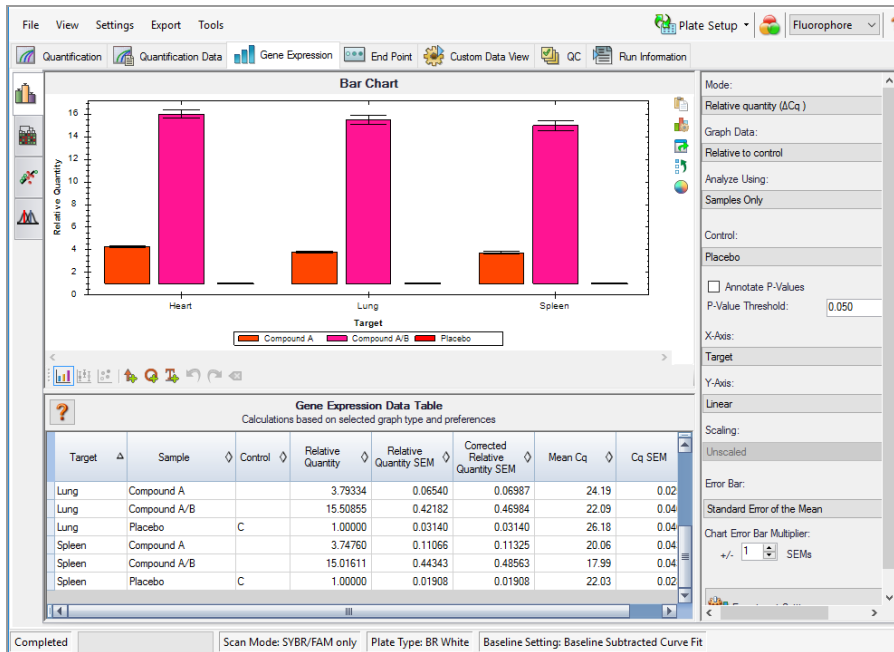
Genuttrycksdiagram

CFX Maestro Dx SE visar genuttrycksdata i flera vyer. I [Tabell 30](#) listas diagramalternativen som är tillgängliga i programvaran.

Tabell 30. Alternativ för genuttrycksdiagram

Knapp	Namn	Funktion
	Graphing (Diagram)	Visar data för normaliserat genuttryck i någon av följande vyer: <ul style="list-style-type: none"> ■ Bar chart (Stapeldiagram) (standardinställning) ■ Box and whisker chart (Låddiagram) ■ Dot plot chart (Punktdiagram)
	Clustergram	Visar data för normaliserat genuttryck i en hierarki baserat på graden av likhet av uttryck för olika mål och prover.
	Scatter Plot (Spridningsdiagram)	Visar det normaliserade uttrycket av mål för en kontroll jämfört med ett experimentellt prov.
	ANOVA	Visar resultatet av envägs-ANOVA på genuttrycksdata med hjälp av följande R-paket för att utföra ANOVA och bestämma Tukey-resultat: <ul style="list-style-type: none"> ■ Companion to Applied Regression (car) (Tillsammans med tillämpad regression) ■ Least-square means (Minstakvadratmetoden, lsmeans)
	Verktuget Reference Gene Selection (Val av referensgen)	(Tillgängligt på fliken Study Analysis (Studieanalys) i fönstret Gene Study (Genstudie)) Identifierar de testade referensgenerna och kategoriserar dem som Ideal (Idealisk), Acceptable (Acceptabel) eller Unstable (Instabil) baserat på deras stabilitet.
	PrimePCR Controls Analysis (PrimePCR-kontrollsanalys)	(Tillgänglig på fliken Study Analysis (Studieanalys) i fönstret Gene Study (Genstudie)) Visar resultaten för de testade proverna.

Graphing (Diagram)



Det relativa uttrycket av mål visas i dessa två vyer:

- Diagram för Gene Expression (Genuttryck) – visar PCR-realtidsdata som något av följande:
 - $\Delta\Delta Cq$ – relativt normaliserat uttryck beräknat med användning av kontrollprover och referensmål.
 - ΔCq – relativ kvantitet av målgenen i ett prov i relation till ett kontrollprov.

Se [Ändra och kommentera diagramvyn på sidan 262](#) för mer information om att visa data.

- Kalkylblad – visar ett kalkylblad för genuttrycksdata.

Tips: Högerklicka på valfritt diagram eller kalkylblad för alternativ. Välj View/Edit Plate (Visa/redigera platta) från den nedrullningsbara menyn Plate Setup (Plattinställning) för att öppna Plate Editor (Plattredigerare) och ändra brunnsinnehållet i plattan.

Tips: Välj Sort (Sortera) från högerklicksmenyn för att ändra ordningen på namnen på Target (Mål) och Sample (Prov) i diagrammet.

Normaliserat genuttryck

Använd den uppmätta uttrycksnivån för en eller flera referensgener som normaliseringsfaktor för att normalisera data. Referensgener är mål som inte regleras i det biologiska systemet som studeras, till exempel *actin*, *GAPDH* eller *tubulin*.

Så här konfigurerar du en analys av normaliserat genuttryck ($\Delta\Delta C_q$)

1. Öppna en datafil (.pcrd-tillägg)
2. Granska uppgifterna på fliken Quantification (Kvantifiering) i fönstret Data Analysis (Dataanalys). Justera data, till exempel ändring av tröskel och analysläge.
3. Välj fliken Gene Expression (Genuttryck).
4. Klicka på Experiment Settings (Experimentinställningar) på fliken Gene Expression (Genuttryck)
5. Gör följande i dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar):
 - a. Välj fliken Samples (Prover) och välj en kontroll. När en kontroll tilldelas normaliserar CFX Maestro Dx SE de relativa kvantiteterna för alla gener med kontrollkvantiteten, som anges till 1.
 - b. Välj fliken Target (Mål) och välj referensgener. Analys av genuttryck kräver en referens bland målen i dina prover.
6. Välj Normalized Expression (Normaliserat uttryck) ($\Delta\Delta C_q$) om det inte redan är valt och visa sedan uttrycksnivåerna på fliken Gene Expression (Genuttryck).

Obs! Du kan också använda Setup Wizard (Inställningsguide) för att ange plattlayouten för analys av normaliserat genuttryck.

Relativ kvantitet

Per definition är data för relativ kvantitet (ΔC_q) inte normaliserade. Denna metod används för att kvantifiera prover som inte innehåller några referensgener (mål). Forskare brukar förlita sig på ett av följande beaktanden när de förbereder sin körning:

- Varje prov innehåller samma mängd massa av RNA eller cDNA i varje brunn.
- Alla variationer i mängden laddat biologiskt prov normaliseras efter körningen med någon metod i dataanalysen utanför programvaran. Exempelvis kan en forskare välja att dividera det relativa kvantitetsvärdet med den normaliserande faktorn, eventuellt massan av laddad nukleinsyra för varje prov, eller antalet celler från vilka nukleinsyran har isolerats.

Så här kör du en analys av Relative Quantity (Relativ kvantitet) (ΔC_q)

- ▶ På fliken Gene Expression (Genuttryck), välj Relative Quantity (Relativ kvantitet) (ΔC_q) från listrutan Mode (Läge) i höger ruta.

Tips: Du kan jämföra resultat med data från andra genuttryckskörningar genom att öppna en ny genstudie eller lägga till en datafil till en befintlig genstudie.

Ändra och kommentera diagramvyn

Med menykommandona på diagrammets verktygsfält och diagramverktygen för dataanalys kan du ändra diagramvyn, kommentera varje diagram och ändra diagramvisningen. Diagramverktygsraden visas mellan diagrammet och dataanalystkalkylbladet längst ned på skärmen.

Verktyg i diagramverktygsraden



Tips: Information om diagramverktygen som visas på höger sida av dataanalysdiagram finns i [Diagram på sidan 199](#).

Verktygsraden under diagrammen ger snabb åtkomst till anteckningsverktyg.








I [Tabell 31](#) listas funktionerna för knapparna i diagramverktygsraden.

Tabell 31. Diagramverktygsrad

Knapp	Namn	Funktion
	Bar Chart (Stapeldiagram)	Visar målens relativa uttryck.
	Box and Whisker chart (Låddiagram)	Visar data som kvartilintervall (beräkningsinformation finns i Beräkningar med Box and Whisker chart (Låddiagram) på sidan 298). Obs! Endast tillgängligt om Analyze Using (Analysera med) är inställd på Biological Groups Only (Endast biologiska grupper).
	Dot Plot chart (Punktdiagram)	Visar de enskilda provdatapunkterna för varje mål. Obs! Endast tillgängligt om Analyze Using (Analysera med) är inställd på Biological Groups Only (Endast biologiska grupper).
	Add Arrow (Lägg till pil)	Ritar en pil på det aktiva diagrammet.

Tabell 31. Diagramverktygsrad, forts.

Knapp	Namn	Funktion
	Add Circle (Lägg till cirkel)	Ritar en cirkel på det aktiva diagrammet.
	Add Text (Lägg till text)	Infogar en textruta i det aktiva diagrammet där du kan lägga till text för att identifiera intresseobjekt i diagrammet.
	Undo (Ångra)	Tar bort eller återställer den senaste anteckningen på det aktiva diagrammet.
	Redo (Gör om)	Återställer den senaste åtgärden av typen Undo (Ångra) på det aktiva diagrammet.
	Clear All (Rensa alla)	Rensar alla anteckningar på det aktiva diagrammet.

Sortera data för mål, prover och biologiska grupper

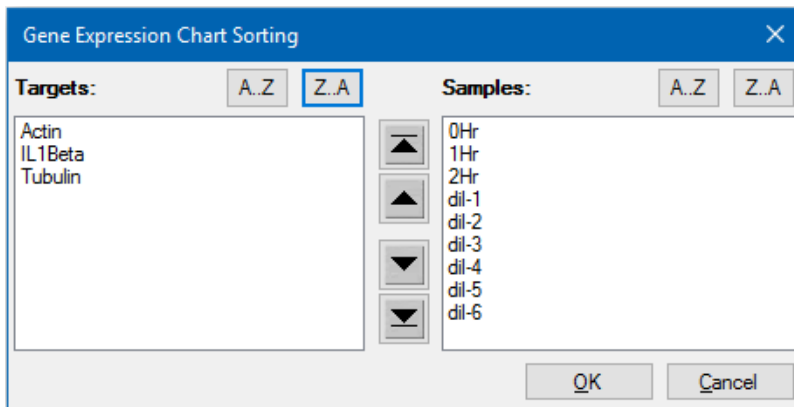
Obs! Det här alternativet är endast tillgängligt för genuttrycksdiagram.

Som standard visas listorna Targets (Mål), Samples (Prover) och Biological Groups (Biologiska grupper) i alfabetisk ordning. I dialogrutan Sort (Sortera) kan du sortera visningen i omvänd alfabetisk ordning eller manuellt flytta ett villkor till en annan plats i listan.

Så här sorterar du data för mål, prover och biologiska grupper

1. Klicka på Sort (Sortera) i diagramverktygen.

Dialogrutan Gene Expression Chart Sorting (Sortering i genuttrycksdiagram) öppnas.



2. I dialogrutan klickar du på Z-A för att sortera listan i omvänd alfabetisk ordning.
3. Du flyttar ett villkor manuellt genom att välja det och klicka på lämplig knapp mellan diagrammen:
 - Klicka på uppåt- eller nedåtpilen för att flytta det valda villkoret en position.
 - Klicka på uppåt- eller nedåttreckpilen för att flytta det valda villkoret högst upp eller längst ned på listan.
4. Klicka på OK för att spara ändringarna och återgå till fliken Gene Expression (Genuttryck).

Ändra färginställningarna för Target (Mål), Sample (Prov) och Biological Group (Biologisk grupp)

Använd dialogrutan för Color Settings (Färginställningar) för att ändra färg för ett mål, prov eller en biologisk grupp, eller ta bort objektet från diagrammet.

Så här ändrar du målfärginställningarna

1. Verifiera i den högra rutan i dialogrutan Gene Expression (Genuttryck) att Sample (Prov) visas i listrutan X-Axis (X-axel).
2. I Chart Tools (Diagramverktyg) väljer du Color Settings (Färginställningar).
Dialogrutan Color Settings (Färginställningar) visas.
3. För att ändra visningsfärgen för ett mål klickar du på dess färg i kolumnen Color (Färg).
4. Välj en ny färg i dialogrutan Color (Färg) som visas och klicka på OK.
5. För att ta bort ett mål från genuttrycksdiagrammet avmarkerar du motsvarande kryssruta i kolumnen Show Chart (Visa diagram).

Tips: För att rensa alla mål avmarkerar du Show Chart (Visa diagram) i kolumnrubriken.

6. (Valfritt) Som standard visas staplarna som enfärgade. För att visa staplarna i gradientfärger rensar du Use Solid Colors (Använd enfärgat).
7. Klicka på OK för att spara ändringarna och återgå till fliken Gene Expression (Genuttryck).

Så här ändrar du färginställningarna för prov eller biologisk grupp

1. Verifiera i den högra rutan i dialogrutan Gene Expression (Genuttryck) att Target (Mål) visas i listrutan X-Axis (X-axel).
2. Utför stegen i [Så här ändrar du målfärginställningarna på sidan 265](#).

Ändra tabellvisning

Så här växlar du den aktuella diagramvyn

- Välj verktygsradkommandot för målvyn.

Obs! Fliken Gene Expression (Genuttryck) öppnas alltid och visar data i standardvyn Bar Chart (Stapeldiagram).

Utesluta avvikande datapunkter

I diagrammet Dot Plot (Punktdiagram) kan du enkelt visa och utesluta avvikelser från din analys.

Så här utesluter du avvikande datapunkter

- ▶ Högerklicka på målavvikelsen i diagrammet Dot Plot (Punktdiagram) och välj Exclude Well from Analysis (Uteslut brunn från analys).

Datapunkten tas bort från diagrammet Dot Plot (Punktdiagram) och brunnen byter färg till grått i Well Selector (Brunnsväljare) på fliken Quantification (Kvantifiering).

Så här inkluderar du en utesluten avvikande datapunkt

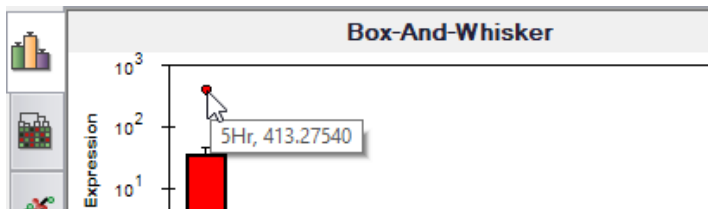
- ▶ På fliken Quantification (Kvantifiering) högerklickar du på brunnen i Well Selector (Brunnsväljare) och väljer Well > Include in Analysis (Brunn > Inkludera i analys).

Visa datapunktsinformation

Så här visar du information om datapunkter

- ▶ Placera markören på en enskild datapunkt i låddiagrammet eller punktdiagrammet.

Ett verktygstips visas med provnamnet och dess uttryck (relativ kvantitet eller normaliserat uttryck beroende på det valda läget).



Kommentera diagram

Du kan lägga till pilar, cirklar och text i varje stapeldiagramvy för att tydligt kommunicera data. Anteckningarna sparas med stapeldiagrammet och visas i den exporterade och utskrivna filen. Anmärkningar som görs i en diagramvy läggs emellertid inte till i de andra diagramvyerna.

Så här ritar du en pil eller cirkel på diagrammet

1. Klicka på det specifika verktyget i stapeldiagrammets verktygsrad.
2. Klicka i stapeldiagrammet och dra markören över diagrammet efter behov.

Så här lägger du till text i diagrammet

1. Klicka på Add Text (Lägg till text) i stapeldiagrammets verktygsrad.
2. Klicka i stapeldiagrammet. En textruta visas på den platsen.
3. Lägg till text i textrutan.
4. Klicka någonstans i diagrammet för att lämna textrutan.

Tips: Tryck på Retur för att lägga till flera rader i textrutan.

Så här flyttar du en anteckning

1. Håll markören på anteckningen. Ikonen ändras till ett pekfinger och anteckningskanten markeras.
2. Klicka på anteckningen och dra den till en annan plats.
3. Släpp anteckningen för att låsa fast den på platsen.

Så här ångrar du en anteckning

- ▶ Klicka på Undo (Ångra).

Den senast tillagda anteckningen tas bort.

Tips: Du kan ångra de tio senaste anteckningarna, en i taget.

Så här gör du om en anteckning

- ▶ Klicka på Redo (Gör om).

Den senast borttagna anteckningen återställs.

Tips: Du kan göra om de tio senaste anteckningarna, en i taget.

Så här tar du bort en anteckning

- ▶ Högerklicka på anteckningen och välj Delete (Ta bort).

Justera data för Gene Expression (Genutryck)

När du har valt analysläge, normaliserat uttryck ($\Delta\Delta Cq$) eller relativ kvantitet (ΔCq), justerar du de data du ser på fliken Gene Expression (Genutryck) genom att ändra inställningsalternativen till höger om diagrammet.

Tips: Du ställer in standardalternativen för data för Gene Expression (Genutryck) i dialogrutan User Preferences (Användarinställningar) (se [Ställa in standardparametrar för genutrycksdatafil på sidan 90](#)).

Diagramdata

Ställ in y-axelvärdet på Linear (Linjär) skala för att aktivera alternativen för diagramdata. Med alternativen för diagramdata kan du presentera data i diagrammet med ett av följande alternativ:

- Relative to control (1 förhållande till kontroll) – rita data med axeln skalad från 0 till 1. Om du tilldelar en kontroll i körningen väljer du det här alternativet för att snabbt visualisera målets uppreglering och nedreglering.
- Relative to zero (1 förhållande till noll) – rita data med origo på noll.

Analyze Using (Analysera med)

Använd den nedrullningsbara menyn för att välja hur data ska analyseras och plottas. Alternativen är följande:

- Samples Only (Endast prover) – data analyseras och plottas per prov.
- Biological Groups Only (Endast biologiska grupper) – data analyseras och plottas för biologiska grupper. Uttrycket som visas för den biologiska gruppen är det geometriska medelvärdet för proverna i den gruppen.
- Sample Biological Group (Prov från biologisk grupp) – data analyseras och plottas per prov och den biologiska gruppen anges efter provnamnet. P-värden som visas beräknas baserat på biologisk grupp.
- Biological Group Sample (Biologisk grupp för provet) – data analyseras och plottas per prov och den biologiska gruppen anges före provnamnet. P-värden som visas beräknas baserat på biologisk grupp.

Använd den nedrullningsbara menyn och välj ett prov som ska användas för att normalisera Relative Quantity (Relativ kvantitet):

Kommentera P-värden och P-värdeströskel

När Annotate P-Values (Kommentera P-värden) är valt, visar programmet en asterisk (*) i stapeldiagrammet ovanför ett mål om dess P-värde ligger under den valda tröskeln. Programmet

beräknar P-värdet automatiskt genom att jämföra provets uttrycksnivå med det valda kontrollprovets uttrycksnivå med användning av ett vanligt t-test. P-värdeströskelns intervall är 0,000–1,000.

X-axelalternativ

X-axis option (x-axelalternativet) gör det möjligt att välja x-axeldata för diagrammet Gene Expression (Genuttryck):

- Target (Mål) – ritar målnamnen på x-axeln.
- Sample (Prov) – ritar provnamnen på x-axeln.

Y-axelalternativ

Y-axis option (y-axelalternativet) gör det möjligt att visa diagrammet Gene Expression (Genuttryck) i en av följande tre skalor:

- Linear (Linjär) – välj om du vill visa en linjär skala.

Tips: När y-axeln ställs in på Linear (Linjär) aktiveras listrutan Graph Data (Diagramdata) där du kan välja att rita data i förhållande till kontrollen eller i förhållande till noll.
- Log 2 (Logaritm 2) – välj om du vill utvärdera prover över ett stort dynamiskt intervall.
- Log 10 (Logaritm 10) – välj om du vill utvärdera prover över ett mycket stort dynamiskt intervall.

Skalningsalternativ

Välj Normalized Gene Expression (Normaliserat genuttryck) ($\Delta\Delta C_q$) och ställ in på None (Inget) för att aktivera skalningsalternativen i diagrammet Gene Expression (Genuttryck). Välj ett av följande skalningsalternativ för att beräkna och presentera data på det sätt som bäst passar körningsutformningen:

- Unscaled (Oskalad) – presenterar det oskalade, normaliserade genuttrycket.
- Highest (Högsta) – skalar det normaliserade genuttrycket för varje mål genom att dividera uttrycksnivån för varje prov med den högsta nivån av uttryck i alla prover.

Det här skalningsalternativet använder skala-till-högsta-formeln.
- Lowest (Lägsta) – skalar det normaliserade genuttrycket för varje mål genom att dividera uttrycksnivån för varje prov med den lägsta nivån av uttryck i alla prover.

Det här skalningsalternativet använder skala-till-lägsta-formeln.
- Average (Medelvärde) – skalar det normaliserade genuttrycket för varje mål genom att dividera uttrycksnivån för varje prov med det geometriska medelvärdet av uttrycksnivåerna för alla prover.

Det här skalningsalternativet använder skala-till-medel-formeln.

Välj ett alternativ för typen av felberäkningar (felstaplar) i diagrammet Gene Expression (Genuttryck):

Diagrammultiplikator för felstaplar

Välj en multiplikator för felstaplarna i diagrammet Gene Expression (Genuttryck). Välj ett av dessa heftal:

- +/- 1 (standard)
- 2
- 3

Typen av multiplikator ändras när du väljer felstapeln:

- SEMs for standard error of the mean (SEM för medelvärdets standardfel)
- Std Devs for standard deviations (SD för standardavvikelser)

Experiment Settings (Experimentinställningar)

Tips: Den här dialogrutan är också tillgänglig i Plate Editor (Plattredigerare). Se [Ändra Experiment Settings \(Experimentinställningar\) på sidan 149](#) för mer information.

I dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar) kan du visa eller ändra listan med mål, prover eller biologiska grupper, välja referensgener, välja kontroller eller ange att gruppen Gene Expression Analysis (Genuttrycksanalys) ska analyseras om biologiska grupper har lagts till i brunnarna.

Så här öppnar du dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar)

- ▶ På fliken Graphing (Diagram) klickar du på Experiment Settings (Experimentinställningar) längst ned i den högra rutan.

Dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar) visas med fliken Targets (Mål).

Så här justerar du målinställningar

- ▶ Gör något av följande på fliken Targets (Mål):
 - För att välja ett mål som referens för dataanalys av genuttryck väljer du namnet i kolumnen Reference (Referens).
 - För att ändra färgen på målet klickar du på dess cell i kolumnen Color (Färg) och ändrar färgen i dialogrutan Color (Färg) som visas.

Färgförändringen visas i tabellerna Gene Expression (Genuttryck).
 - För att använda ett tidigare definierat effektivitetsvärde ska du avmarkera målets kryssruta i kolumnen Auto Efficiency (Automatisk effektivitet) och ange ett nummer för målets effektivitetsandel.

Programvaran beräknar den relativa effektiviteten för ett mål med Auto Efficiency (Automatisk effektivitet) om data för ett mål inkluderar en standardkurva.

Så här ändrar du inställningarna för prov

- ▶ Gör något av följande på fliken (Prover och biologiska grupper):
 - För att välja ett prov som kontroll för dataanalys av genuttryck väljer du det i kolumnen Control (Kontroll).
 - För att ändra färgen på provet klickar du på dess cell i kolumnen Color (Färg) och ändrar färgen i dialogrutan Color (Färg) som visas.

Färgförändringen visas i tabellerna Gene Expression (Genuttryck).
 - För att visa provet i Gene Expression-diagrammen (Genuttryck) väljer du det i kolumnen Show Chart (Visa diagram).
 - För att ta bort provet från Gene Expression-diagrammen (Genuttryck) tar du bort det i kolumnen Show Chart (Visa diagram).

Tips: Provets gruppens data blir kvar i tabellen Results (Resultat).

Så här exkluderar du en provtyp från analysberäkningar

- ▶ Markera motsvarande kryssruta längst ned i dialogrutan Experiment Settings (Experimentinställningar)
- Obs!** Det här utesluter kontroller och/eller standarder från analys av genuttryck.

Alternativ på högerklicksmenyn

Högerklicka på genuttrycksdiagrammet för att välja alternativen som visas i [Tabell 32](#).

Tabell 32. Alternativ på högerklicksmenyn för genuttryck

Alternativ	Funktion
Copy (Kopiera)	Kopierar diagrammet till ett urklipp.
Save Image As (Spara bild som)	Sparar tabellen som en bildfil. Ange upplösning och mått för bilden och välj sedan filtyp (PNG, JPG, eller BMP).
Page Setup (Utskriftsformat)	Väljer ett utskriftsformat för utskrift.
Print (Skriv ut)	Skriver ut tabellen.

Tabell 32. Alternativ på högerklicksmenyn för genuttryck, forts.

Alternativ	Funktion
Set Scale to Default (Ange skala som standard)	Show All (Visa alla) visar alla data i stapeldiagrammet. Scroll Bar (Rullningslist) visar en rullningslist om antalet prover inte kan visas i diagrammets ram samtidigt som minimibredden på listan upprätthålls.
Chart Settings (Diagraminställningar)	Öppnar fönstret Chart Settings (Diagraminställningar) för att justera grafen.
Sort (Sortera)	Sorterar ordningen av prover eller mål som visas på tabellens x-axel.
Use Corrected Std Devs (Använd korrigerade standardavvikelser)	Beräknar felstaplarna med hjälp av formeln för korrigerad standardavvikelse.
Use Solid Bar Colors (Använd solida stapelfärger)	Visar solida staplar i diagrammet.
X–Axis Labels (Etiketter för x-axeln)	Visar x-axelns etiketter vågrätt eller vinklade.

Datakalkylblad

I [Tabell 33](#) definieras de data som visas i datatabellen Gene Expression (Genuttryck).

Obs! Värderna i tabellen beräknas baserat på typ av graf och inställningar som har valts i den högra rutan.

Tabell 33. Beskrivning av informationen i kalkylbladet på fliken

Information	Beskrivning
Target (Mål)	Valt målnamn (amplifierad gen) i fönstret Experiment Settings (Experimentinställningar).
Biological Group (Biologisk grupp)	Valt namn på prov och/eller biologisk grupp i fönstret Experiment Settings (Experimentinställningar).
Sample Biological Group (Prov från biologisk grupp)	
Biological Group Sample (Biologisk grupp för provet)	

Information	Beskrivning
Control (Kontroll)	Kontrollnamn som valts i fönstret Experiment Settings (Experimentinställningar). Om Analyze Using (Analysera med) är inställt på Samples Only (Endast prover) väljs provet Control (Kontroll) i fönstret Experiment Settings (Experimentinställningar). Om antingen Biological Groups Only (Endast biologiska grupper), Sample Biological Group (Prov från biologisk grupp) eller Biological Group Sample (Biologisk grupp för provet) väljs är kontrollen den biologiska grupp som väljs i fönstret Experiment Settings (Experimentinställningar).
Relative Quantity or Expression (Relativ kvantitet eller Uttryck)	Relativ kvantitet (ΔC_q) eller normaliserat genuttryck ($\Delta\Delta C_q$), beroende på valt läge.
Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (SEM (eller SD) för relativ kvantitet eller uttryck)	Medelvärdeets standardfel (SEM) eller standardavvikelse (SD) för relativ kvantitet eller normaliserat uttryck, beroende på vilket alternativ som är valt. Endast tillgängligt om Analyze Using (Analysera med) är inställd på Samples Only (Endast prover), Sample Biological Group (Prov från biologisk grupp) eller Biological Group Sample (Biologisk grupp för provet).
Corrected Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (Korrigerad SEM (eller SD) för relativ kvantitet eller uttryck)	Korrigerad värdeberäkning för SEM eller SD för relativ kvantitet eller normaliserat uttryck, beroende på vilket alternativ som är valt. Endast tillgängligt om Analyze Using (Analysera med) är inställd på Samples Only (Endast prover), Sample Biological Group (Prov från biologisk grupp) eller Biological Group Sample (Biologisk grupp för provet).
Mean C_q (Medelvärde för C_q)	Medelvärde för kvantifieringscykeln (visas inte om Analyze Using (Analysanvändning) är inställd på Biological Groups Only (Endast biologiska grupper)).
C_q SEM (eller SD)	SEM eller SD för kvantifieringscykeln, beroende på valt alternativ (visas inte om Analyze Using (Analysanvändning) är inställd på Biological Groups Only (Endast biologiska grupper)).

Alternativet Show Details (Visa detaljer)

Tabell 34 definierar de data som visas när Show Details (Visa detaljer) väljs på högerklicksmenyn i kalkylbladet för stapeldiagrammet.

Tabell 34. Information i kalkylbladet för stapeldiagrammet med Show Details (Visa detaljer) valt

Information	Beskrivning
Data Set (Datauppsättning)	Fluorescensdata från en fluorofor i datafilen
Relative Quantity (Relativ kvantitet)	Beräknad relativ kvantitet av prover
Relative Quantity SD (SD för relativ kvantitet)	Standardavvikelse för beräkningen av relativ kvantitet
Corrected Relative Quantity SD (SD för korrigerad relativ kvantitet)	Beräknad standardavvikelse för den korrigerade relativa kvantiteten
Relative Quantity SEM (SEM för relativ kvantitet)	Medelvärdes standardfel för beräkningen av relativ kvantitet
Corrected Relative Quantity SEM (SEM för korrigerad relativ kvantitet)	Beräknat medelvärdesstandardfel för den korrigerade relativa kvantiteten
Relative Quantity(lg) (Relativ kvantitet(lg))	Log ₂ för den relativa kvantitet som används för statistisk analys
SD RQ(lg)	Standardavvikelse för den relativa kvantiteten (log ₂)
SEM Expression(lg) (SEM för uttryck(lg))	Medelvärdes standardfel för uttrycket (log ₂)
Unscaled Expression (Ej skalat uttryck)	Beräknat ej skalat uttryck
Unscaled Expression SD (SD för ej skalat uttryck)	Beräknad standardavvikelse för det ej skalade uttrycket
Corrected Unscaled Expression SD (SD för korrigerat ej skalat uttryck)	Beräknad standardavvikelse för det korrigerade ej skalade uttrycket

Tabell 34. Information i kalkylbladet för stapeldiagrammet med Show Details (Visa detaljer) valt, forts.

Information	Beskrivning
Unscaled Expression SEM (SEM för ej skalat uttryck)	Beräknat medelvärdesstandardfel för det ej skalade uttrycket
Corrected Unscaled Expression SEM (SEM för korrigerat ej skalat uttryck)	Beräknat medelvärdesstandardfel för det korrigerade ej skalade uttrycket
Unscaled Expression(lg) (Ej skalat uttryck(lg))	Log ₂ för det ej skalade uttrycket
SD Unscaled Expression(lg) (SD ej skalat uttryck(lg))	Standardavvikelse för det ej skalade uttrycket (log ₂)
SEM Unscaled Expression(lg) (SEM för ej skalat uttryck(lg))	Medelvärdesstandardfel för det ej skalade uttrycket (log ₂)
Expression (Uttryck)	Normaliserat genuttryck
Corrected Expression SD (SD för korrigerat uttryck)	Beräknad standardavvikelse (SD) för det korrigerade uttrycket
Expression SEM (SEM för uttryck)	Medelvärdesstandardfel (SEM) för uttrycket
Corrected Expression SEM (SEM för korrigerat uttryck)	Beräknat medelvärdesstandardfel för det korrigerade uttrycket
Expression(lg) (Uttryck(lg))	Log ₂ för uttrycket (normaliserat uttryck) som används för statistisk analys
SD Expression(lg) (SD för uttryck(lg))	Standardavvikelse för uttrycket (log ₂)
SEM Expression(lg) (SEM för uttryck(lg))	Medelvärdesstandardfel för uttrycket (log ₂)
Mean C _q (Medelvärde för C _q)	Medelvärde för kvantifieringscykeln
C _q SD (SD för C _q)	Standardavvikelse för kvantifieringscykeln
C _q SEM (SEM för C _q)	Medelvärdesstandardfel för kvantifieringscykeln

Clustergram

Clustergrammet visar data i en hierarki baserad på graden av likhet i uttryck för olika mål och prover.

Obs! Du måste välja ett referensmål för att visa någon annan dataplott än relativt uttryck för stapeldiagram.

Clustergrammbilden avbildar relativt uttryck för ett prov eller mål på följande sätt:

- Uppreglering (röd) – högre uttryck
- Nedreglering (grön eller blå färg) – lägre uttryck
- Ingen reglering (svart)
- Inget värde beräknat (svart med ett vitt X)

Ju ljusare färgnyans, desto större skillnad i relativt uttryck. Om inget värde för normaliserad C_q kan beräknas, är rutan svart med ett vitt X.

I ytterkanterna av dataplotten finns ett dendrogram, vilket indikerar klusterhierarkin. Mål eller prover med likartade uttrycksmönster kommer att ha angränsande grenar medan de med olikartade mönster kommer att ha ett större avstånd.

Inställningar

Det går att ställa in följande alternativ:

- Cluster By (Klusterindela efter) – välj Targets (Mål), Samples (Prover), Both (Båda) eller None (Ingen).
- Size (Storlek) – justerar bildstorleken och ändrar graden av diagramförstoring.
- Split Out Replicates (Dela upp replikat) – visar värdena för enskilda replikat.

Tips: Det går att ändra färgschemat för från röd/grön (standard) till röd/blå genom att välja det alternativet på högerklicksmenyn i dessa diagram.

Alternativ på högerklicksmeny

Alternativen på högerklicksmenyn för clustergrammet är identiska med alternativen för stapeldiagrammet. Se [Tabell 32 på sidan 271](#) för tillgängliga alternativ. Välj dessutom Color Scheme (Färgschema) för att ändra nedregleringsuttrycket från standardinställningen Röd/Grön till Röd/Blå i diagrammet.

Datakalkylblad

I kalkylbladet visas värden för målet, provet och normaliserat uttryck.

Scatter Plot (Spridningsdiagram)

Spridningsdiagrammet visar det normaliserade uttrycket av mål för en kontroll jämfört med ett experimentprov. Linjerna i diagrammet anger tröskelvärdet för x-faldig förändring. Datapunkter mellan linjerna indikerar att skillnaden i uttryck för det målet (genen) är försumbar mellan proverna. Datapunkter utanför linjerna överskrider tröskelvärdet för x-faldig förändring och kan vara av intresse.

Diagrambilden visar följande förändringar i måluttryck baserat på tröskelvärdet för x-faldig förändring:

- Uppreglering (röd cirkel) – relativt högre uttryck
- Nedreglering (grön eller blå cirkel) – relativt lägre uttryck
- Ingen förändring (svart cirkel)

Klicka på och dra endera tröskelvärdelinje för att justera den x-faldiga förändringens tröskelvärde.

Inställningar

Det går att ställa in följande alternativ:

- Control Sample (Kontrollprov)
- Experimental Sample (Experimentprov)
- Fold Change Threshold (Tröskel för X-faldig förändring). När du ökar eller minskar värdet för x-faldig förändring flyttas tröskelvärdelinjerna i diagrammet i enlighet därmed.

Alternativ på högerklicksmeny

Alternativen på högerklicksmenyn för spridningsdiagrammet är identiska med alternativen för stapeldiagrammet. Se [Tabell 32 på sidan 271](#) för tillgängliga alternativ. Välj dessutom Symbol för att ändra symbolen som används i plotten från standardcirkeln till en av följande:

- Triangle (Triangel)
- Cross (Kors)
- Square (Fyrkant)
- Diamond (Romb)

Datakalkylblad

I kalkylbladet visas värden för målet och normaliserat uttryck för kontroll- och experimentprover. Här visas också om mål är upp- eller nedreglerade jämfört med målregleringen.

Kalkylbladet Results (Resultat)

Kalkylbladet Results (Resultat) sammanfattar data från alla diagram. I [Tabell 35](#) definieras data som visas i kalkylbladet Results (Resultat).

Tabell 35. Information på fliken Results (Resultat)

Information	Beskrivning
Target (Mål)	Målnamn (amplifierad gen)
Sample (Prov)	Provnamn
Mean (Medelvärde för) C_q	Medelvärde för kvantifieringscykeln
Mean Efficiency Corrected (Medelvärde av effektivitetskorrigerad) C_q	Medelvärde för kvantifieringscykeln efter justering för reaktionseffektiviteten
Normalized Expression (Normaliserat uttryck)	Måluttryck normaliserat till ett referensmål ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Relativt normaliserat uttryck)	Normaliserat uttryck i förhållande till ett kontrollprov, kallas även Fold Change (X-faldig förändring)
Regulation (Reglering)	Förändring i uttryck i förhållande till ett kontrollprov
Compared to Regulation Threshold (Jämfört med regleringströskelvärdet)	Upp- eller nedreglering av ett experimentellt prov baserat på tröskelvärdesinställningen

Obs! Data för replikat finns bara i kalkylbladen på dataanalysflikar där Split Out Replicates (Dela upp replikat) har valts (alltså Clustergram (clustergram)). Det kan bli en diskrepans mellan uttrycksdata i genutrycksanalysens kalkylblad om du väljer "none" (inget) som kontrollprov på stapeldiagrammet.

Genstudie

Skapa en genstudie för att jämföra genuttrycksdata från ett eller flera realtids-PCR-experiment med hjälp av en kalibrator mellan körningar som normaliserar mellan experimenten. Skapa en genstudie genom att lägga till data från en eller flera datafiler (.pcrd-tillägg) i genstudien. Programvaran grupperar dem till en fil (.mgxd-tillägg).

Obs! Det högsta antalet prover som går att analysera i en genstudie begränsas av storleken på datorns RAM-minne och virtuella minne.

Inter-run Calibration (Kalibrering mellan körningar)

Försök till kalibrering mellan körningar påbörjas automatiskt i varje genstudie för varje mål för normalisering av variationer mellan körningar mellan mål som har analyserats i separata realtids-PCR-körningar (det vill säga olika .pcrd-filer genererade från olika plattor).

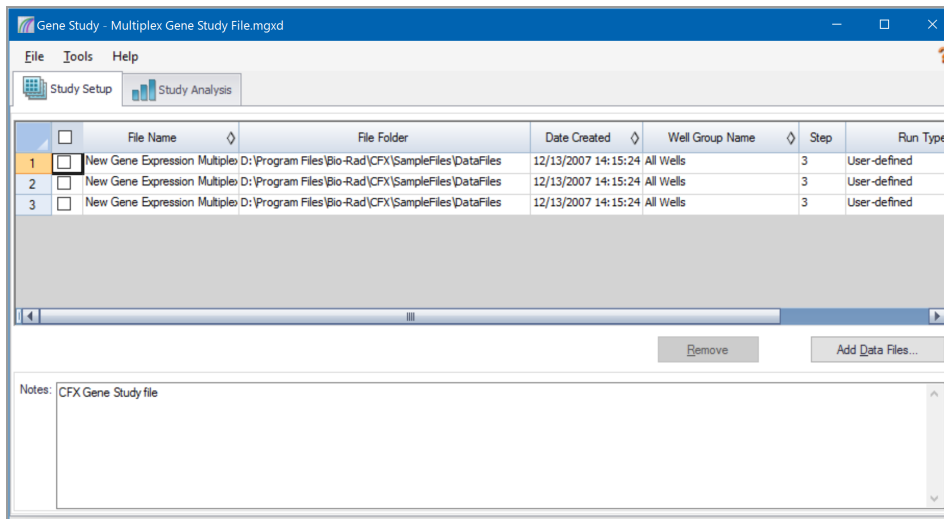
För att programvaran ska känna igen ett prov som en kalibrator inom körning måste den ha samma målnamn, provnamn, och, i förekommande fall, samma namn på biologisk uppsättning för varje platta som jämförs.

Obs! Det måste finnas minst ett kalibratorprov mellan körningar i genstudien för att kalibrering mellan körningar ska fungera. Mål utan lämpliga kalibratorprover mellan körningar behandlas utan korrigering i genstudien (rekommenderas inte).

Kalibratörer mellan körningar kan tillämpas på två sätt:

- Per target (Per mål) – olika PCR-primrar kan ha olika effektiviteter. Kalibratören mellan körningar tillämpas som standard till alla brunnar på samma platta som har samma målnamn, till exempel C_q som genereras med samma analys.
- Entire study (Hela studien) – användaren väljer en kalibrator mellan körningen som tillämpas på hela genstudien.

Dialogrutan Gene Study (Genstudie)



Dialogrutan Gene Study (Genstudie) har två flikar:

- Fliken Study Setup (Studieinställning) – hanterar körningarna i genstudien.
 - **Viktigt!** Data i den ursprungliga filen förändras inte om du lägger till eller tar bort datafiler i en genstudie.
- Fliken Study Analysis (Studieanalys) – visar genutrycksdata för kombinerade körningar.

Fliken Study Setup (Studieinställning)

I [Tabell 36](#) definieras data som visas på fliken Study Setup (Studieinställning).

Tabell 36. Fliken Study Setup (Studieinställning) i dialogrutan Gene Study (Genstudie)

Kolumnnamn	Beskrivning
File Name (Filnamn)	Namn på körningsdatafil (.pcrd-tillägg)
File Folder (Filmap)	Katalog som lagrar datafilen för varje körning i genstudien
Date Created (Skapades den)	Den dag då körningsdata samlades in

Tabell 36. Fliken Study Setup (Studieinställning) i dialogrutan Gene Study (Genstudie), forts.

Kolumnnamn	Beskrivning
Well Group Name (Namn på brunnsgroup)	Namnet på brunnsgroupen som valdes när filen lades till i genstudien. Tips: För att kunna analysera en brunnsgroup i genstudien måste du välja brunnsgroupen i fråga i fönstret Data Analysis (Dataanalys) innan du importerar datafilen i genstudien.
Step (Steg)	Protokollsteg som inkluderar plattavläsning för insamling av realtids-PCR-data
Run Type (Körningstyp)	Antingen användardefinierad eller PrimePCR-körning
Protocol Edited (Protokoll redigerat)	Om det här alternativet är markerat anger det att protokollet som användes för en PrimePCR-körning har redigerats
View Plate (Visa platta)	Öppnar en karta av plattan med data från var och en av körningarna som ingår i genstudien

Förbereda en genstudie

Så här förbereder du en genstudie

- Innan du importerar data till en genstudie måste följande utföras i fönstret Data Analysis (Dataanalys):
 - Verifiera att prover med samma innehåll har samma namn. I en genstudie förutsätter programmet att brunnar med samma Target name (Målnamn) eller Sample name (Provnamn) innehåller samma prover.
 - Justera baslinjen och tröskeln (C_q) på fliken Quantification (Kvantifiering) för att optimera data i varje körning.
 - Välj brunnsgroupen du vill inkludera i genstudien.

För att du ska kunna visa data från en brunnsgroup i genstudien, måste den gruppen väljas innan du importerar datafilen.

På fliken Study Setup (Studieinställning) visas en lista över alla körningar i genstudien.

- I dialogrutan Gene Study (Genstudie) väljer du fliken Study Setup (Studieinställning).
- Klicka på Add Data Files (Lägg till datafiler) för att välja en fil i ett webbläsarfönster.

Tips: För att snabbt lägga till körningar till en genstudie kan du dra datafilerna (med filnamnstillägget .pcrd) till dialogrutan Study Setup (Studieinställning).

4. CFX Maestro Dx SE utför automatiskt genstudieanalysen efterhand som du lägger till datafiler. Välj fliken Study Analysis (Studieanalys) för att visa resultaten.

Så här tar du bort körningar från genstudien

- ▶ Välj en eller flera filer i listan och klicka på Remove (Ta bort).

Så här lägger du till anteckningar om genstudien

- ▶ Skriv in anteckningar om filerna och analysen i textrutan Notes (Anteckningar).

Fliken Study Analysis (Studieanalys)

På fliken Study Analysis (Studieanalys) visas data från alla körningar i genstudien. Alternativen för genuttrycksdataanalysen är desamma som för en enstaka datafil med följande undantag:

- För stapeldiagram visas kalibreringsvärden mellan körningar (om sådana beräknats) när du klickar på Inter-run Calibration (Kalibrering mellan körningar).

Obs! Endast följande provtyper kan användas som en kalibrator mellan körningar:

- Unknown (Okänd)
- Standard
- Positive Control (Positiv kontroll)

Provtyperna Negative Control (Negativ kontroll), No Template Control (NTC, kontroll utan templat) och No Reverse Transcriptase Control (NRT, kontroll utan reverserat transkriptas) kan inte användas som en kalibrator mellan körningar.

- Verktöget Reference Gene Selection (Val av referensgen) identifierar de testade referensgenerna och kategoriserar dem som Ideal (Idealisk), Acceptable (Acceptabel) eller Unstable (Instabil) baserat på deras stabilitet:
 - Idealiska referensgener är stabila och representerar minimala variationer i alla de testade proverna.
 - Acceptabla referensgener är inte idealiskt stabila och representerar måttliga variationer bland de testade proverna. Använd dessa referensgener i analys om det inte finns några idealiska referensgener.
 - Instabila referensgener representerar mycket stor variation bland de testade proverna. Det rekommenderas att dessa gener utesluts från analyser.
- Verktöget PrimePCR Analysis Controls (Prime-PCR-analyskontroller) visar resultaten av de testade proverna i en tabell:

- ❑ Fliken Summary (Sammanfattning) visar en sammanfattning av alla testade prover. Prover som godkänts i alla kontrollanalyser visas i grönt. Prover som inte godkänts i en eller flera kontrollanalyser visas i gult.
- ❑ Fliken PCR visar resultaten av den positiva PCR-kontrollanalysen. Denna analys detekterar hämning eller experimentella problem som påverkar genuttryck.
- ❑ Fliken RT visar resultaten av den omvända transkriptionskontrollanalysen. Denna analys utvärderar kvalitativt RT-prestanda och identifierar prover där RT-prestanda sannolikt försämrar genuttryck.
- ❑ Fliken gDNA visar resultaten av DNA-kontaminationskontrollanalysen. Denna analys bestämmer om genomiskt DNA (gDNA) förekommer i ett prov vid en nivå som kan påverka qPCR-resultat.
- ❑ Fliken RQ visar resultaten av RNA-kvalitetsanalyserna (RQ1 och RQ2). Dessa analyser bedömer kvalitativt om RNA-integritet skulle kunna ha en negativ påverkan på genuttryck.

Kategorier i genstudierapport

Använd dialogrutan Gene Study Report (Genstudierapport) för att ordna genstudiedata i en rapport. I [Tabell 37](#) listas alla tillgängliga alternativ för en genstudierapport.

Tabell 37. Kategorier för en genstudierapport

Kategori	Alternativ	Beskrivning
Header (Rubrik)		
		Titel, undertitel och logotyp för rapporten
	Report Information (Rapportinformation)	Data, användarnamn, datafilnamn, datafilsökväg och den valda brunngruppen
	Gene Study File List (Lista med genstudiefiler)	Lista med alla datafiler i genstudien
	Notes (Anteckningar)	Anteckningar om datarapporten
Study Analysis (Studieanalys): Bar Chart (Stapeldiagram)		
	Analysis Settings (Analysinställningar)	Lista med valda analysparametrar
	Chart (Diagram)	Stapeldiagram för genuttryck som visar data

Tabell 37. Kategorier för en genstudierapport, forts.

Kategori	Alternativ	Beskrivning
	Target Names (Målnamn)	Lista med mål i genstudien
	Sample Names (Provnamn)	Lista med prover i genstudien
	Data	Kalkylblad som visar data
	Target Stability (Målstabilitet)	Målstabilitetsdata
	Inter-run Calibration (Kalibrering mellan körningar)	Data från kalibrering mellan körningar
	Box-and-Whisker chart (Låddiagram)	Låddiagram för genuttryck
	Dot-Plot Chart (Punktplottdiagram)	Punktplottdiagram för genuttryck
Study Analysis (Studieanalys): Clustergram och Scatter Plot (Spridningsdiagram)		
	Analysis Settings (Analysinställningar)	Inställningar för respektive typ av diagram
	Chart (Diagram)	Diagram för genuttryck som visar data
	Data	Kalkylblad som listar data i varje mål
Study Analysis (Studieanalys): ANOVA Data (ANOVA-data)		
	ANOVA Settings (ANOVA- inställningar)	P-värdeströskel som används i analysen
	ANOVA Results (ANOVA- resultat)	Tabell med resultat från ANOVA och Tukeys HSD (Honestly Significant Difference) post-hoc- analys
	Shapiro-Wilk Normality Test (Shapiro-Wilk- normalitetstest)	Biologisk grupp, antal, P-värde, och eventuella fel som uppkommer för respektive mål i analysen

Tabell 37. Kategorier för en genstudierapport, forts.

Kategori	Alternativ	Beskrivning
	ANOVA Errors (ANOVA-fel)	Fel som identifieras under ANOVA-beräkningar

Skapa en genstudierapport

Så här skapar du en genstudierapport

1. Justera data och diagram i genstudierapporten efter behov innan du skapar en rapport.
2. Välj Tools > Reports (Verktyg > Rapporter) i menyn Gene Study (Genstudie) för att öppna dialogrutan Report (Rapport).
3. Välj alternativen du vill inkludera i rapporten. Rapporten öppnas med standardalternativ valda. Markera eller avmarkera kryssrutorna för att ändra hela kategorier eller enskilda alternativ inom en kategori.
[Kategorier i genstudierapport på sidan 283](#) listar tillgängliga alternativ som kan visas.
4. Ändra ordningsföljden på kategorier och objekt i en rapport. Dra alternativen till önskad plats. Objekt kan bara flyttas inom kategorierna de tillhör.
5. Klicka på Update Report (Uppdatera rapport) för att uppdatera Report Preview (Rapportförhandsgranskning) med eventuella ändringar.
6. Skriv ut eller spara rapporten. Klicka på knappen Print Report (Skriv ut rapport) i verktygsraden för att skriva ut den aktuella rapporten. Välj File > Save (Arkiv > Spara) för att spara rapporten i filformatet PDF (Adobe Acrobat Reader-fil) och välj en plats där filen ska sparas. Välj File > Save As (Arkiv > Spara som) för att spara rapporten med ett nytt namn eller på en ny plats.
7. (Valfritt) Skapa en rapportmall med den information du vill ha. För att spara de aktuella rapportinställningarna i en mall väljer du Template > Save (Mall > Spara) eller Save As (Spara som). Hämta sedan rapportmallen nästa gång du vill skapa en ny rapport.

Bilaga A Dataanalysberäkningar

CFX Maestro Dx programvara, Security Edition beräknar formler automatiskt och visar resultaten i flikarna Data Analysis (Dataanalys). I den här bilagan förklaras ingående hur CFX Maestro Dx SE beräknar formler.

Reaktionseffektivitet

Evidens tyder på att användning av ett noggrant mått på effektivitet för varje primer- och probe-uppsättning ger noggrannare resultat vid analys av genuttrycksdata. Standardvärdet för effektivitet som används i beräkningarna av genuttryck är 100 %. För att utvärdera reaktionseffektiviteten skapar du en standardkurva med användning av seriespädningar av ett representativt prov genom ett relevant dynamiskt intervall och registrerar sedan effektiviteten för påföljande genuttrycksanalys. Om din körning innefattar en standardkurva så beräknar programmet effektiviteten automatiskt och visar den under Standard Curve (Standardkurva) på fliken Quantification (Kvantifiering) när Auto Efficiency (Automatisk effektivitet) är markerat på fliken Targets (Mål) i fönstret Experiment Settings (Experimentinställning).

Effektiviteten (E) i effektivitetsformlerna avser de "effektiviteter" som beskrivs av Pfaffl (2001) and Vandesompele et al. (2002). I dessa publikationer är en effektivitet på 2 (perfekt dubbling med varje cykel) ekvivalent med 100 % effektivitet i detta program. Du har möjligheten att konvertera dina effektivitetsberäkningar till de som används i programvaran genom att använda följande matematiska relationer:

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

Relative Quantity (Relativ kvantitet)

Formeln för relativ kvantitet (ΔC_q) för alla prover (GOI) är:

$$\text{Relativ kvantitet}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_q(\text{min}) - C_q(\text{prov}))}$$

Obs! Den här formeln används för att beräkna relativ kvantitet om inget kontrollprov har definierats.

Där:

- E = Effektivitet för primer- och probsats. Denna effektivitet beräknas med formeln (% effektivitet * 0,01) + 1, där 100 % effektivitet = 2
- $C_{q(\text{min})}$ = Genomsnittligt C_q för provet med lägsta genomsnittliga C_q för GOI
- $C_{q(\text{prov})}$ = Genomsnittligt C_q för provet
- GOI = Gen av intresse (ett mål)

Relativ kvantitet när en kontroll väljs

När ett kontrollprov eller en biologisk grupp tilldelas beräknas den relativa kvantiteten (RQ) för ett prov med en gen av intresse (GOI) med den här formeln:

$$\text{Relativ kvantitet}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} (C_{q(\text{kontroll})} - C_{q(\text{prov})})$$

Där:

- E = Effektivitet för primer- och probsats. Denna effektivitet beräknas med formeln (% effektivitet * 0,01) + 1, där 100 % effektivitet = 2
- $C_{q(\text{kontroll})}$ = Genomsnittligt C_q för kontrollprovet
- $C_{q(\text{prov})}$ = Genomsnittligt C_q för alla prover med GOI
- GOI = Gen av intresse (ett mål)

Standardavvikelse för relativ kvantitet

Viktigt! Den här beräkningen gäller endast om Analyze Using (Analysanvändning) är inställd på Samples Only (Endast prover), Sample Biological Group (Prov från biologisk grupp) eller Biological Group Sample (Biologisk grupp för provet).

Formeln för den relativa kvantitetens standardavvikelse är

$$\text{SD Relativ kvantitet} = \text{SD } C_{q\text{GOI}} \times \text{Relativ kvantitet}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Där:

- SD relativ kvantitet = standardavvikelse för relativ kvantitet
- $\text{SD } C_{q\text{GOI}}\text{-prov}$ = Standardavvikelse för C_q för provet (GOI)
- Relativ kvantitet = Relativ kvantitet för provet
- E = Effektivitet för primer- och probsats. Denna effektivitet beräknas med formeln (% effektivitet * 0,01) + 1, där 100 % effektivitet = 2

- GOI = Gen av intresse (ett mål)

Effektivitetskorrigerad C_q (C_{qE})

Formeln för effektivitetskorrigerad C_q är

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Där:

- E = effektivitet

Medelvärde av effektivitetskorrigerad C_q (MC_{qE})

Formeln för medelvärde av effektivitetskorrigerad C_q är

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE}(\text{Rep 1}) + C_{qE}(\text{Rep 2}) + \dots + C_{qE}(\text{Rep n})}{n}$$

Där:

- C_{qE} = effektivitetskorrigerad C_q
- n = antal replikat

Normaliserat uttryck

Normaliserat uttryck ($\Delta\Delta C_q$) är den relativa kvantiteten av målet (genen) normaliserat till kvantiteterna av referensmålen (gener eller sekvenser) i det biologiska systemet. Du väljer referensmål genom att öppna fönstret Experiment Settings (Experimentinställning) och klicka på referenskolumnen för varje mål som tjänar som en referensgen.

Formeln för normaliserat uttryck som använder beräkningen för beräknad relativ kvantitet (RQ) är

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

Där:

- RQ = Relativ kvantitet för ett prov
- Ref = referensmålet i en körning med ett eller flera referensmål i varje prov
- GOI = Gen av intresse (ett mål)

Förutsatt att referensmålen inte ändrar uttrycksnivå i det biologiska systemet tar beräkningen av normaliserat uttryck hänsyn till laddningsskillnader och -variationer i cellnummer som representeras i vart och ett av proverna.

Expression (Uttryck) och Relative Quantity (Relativ kvantitet) för biologiska grupper

När Analyze Using (Analysera med användning av) är inställt på Biological Groups Only (Endast biologiska grupper), visar programmet det genomsnittliga uttrycket (normaliserat uttryck eller relativ kvantitet, beroende på valet av läge) för proverna inom den biologiska gruppen. Eftersom uttryck brukar vara log-normalt distribuerat räknas genomsnittet för uttrycket ut med användning av det geometriska medelvärdet:

$$\text{Expression biological group} = \sqrt[n]{\text{Exp}_1 \cdot \text{Exp}_2 \cdot \dots \cdot \text{Exp}_n}$$

Där:

- $\text{Exp}_1, \text{Exp}_2, \text{Exp}_n$ = Relativ kvantitet eller normaliserat uttryck av proverna i den biologiska gruppen
- n = antal prover i den biologiska gruppen

Normaliserat uttryck när en kontroll är vald

När du väljer ett kontrollprov i fönstret Experiment Settings (Experimentinställning) ställer programmet in uttrycksnivån för kontrollprovet på 1. I denna situation normaliserar programmet de relativa kvantiteterna för allt mål(gen)uttryck till kontrollkvantiteten (värdet 1). Detta normaliserade uttryck är ekvivalent med analysen av det ej skalade normaliserade uttrycket när en kontroll är vald.

Obs! Detta kallas även relativt normaliserat uttryck (RNE) och X-faldig förändring.

Standardavvikelse för det normaliserade uttrycket

Omskalning av det normaliserade uttrycksvärdet uppnås genom att standardavvikelsen för det normaliserade uttrycket divideras med det normaliserade uttrycksvärdet för de högsta eller lägsta enskilda uttrycksnivåerna, beroende på det skalningsalternativ som du väljer. Formeln för normaliseringsfaktorns standardavvikelse (SD) är

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

Där:

- RQ = Relativ kvantitet för ett prov
- SD = standardavvikelse
- NF = Normaliseringsfaktor
- Ref = Referensmål
- n = Antal referensmål

När ett kontrollprov tilldelas behöver du inte utföra den här omskalningsfunktionen på standardavvikelsen, som visas i följande formel:

$$SD NE_{\text{sample (GOI)}} = NE_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD NF_{\text{sample}}}{NF_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (GOI)}}}{RQ_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

Där:

- NE = Normaliserat uttryck
- RQ = Relativ kvantitet för ett prov
- SD = standardavvikelse
- GOI = Gen av intresse (ett mål)

Normaliserat uttryck skalat till högsta uttrycksnivå

När körningen inte innehåller kontroller kan du skala det normaliserade uttrycket (NE) för varje mål (gen) genom att dividera uttrycksnivån för varje prov med den högsta uttrycksnivån i alla prover. Programmet ställer in den högsta uttrycksnivån till ett värde på 1 och skalar om alla provuttrycksnivåer. Formeln för den högsta skalningen är

$$\text{Skalat normaliserat uttryck}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normaliserat uttryck}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normaliserat uttryck}_{\text{högsta sample (GOI)}}}$$

Där:

- GOI = Gen av intresse (mål)

Normaliserat uttryck skalat till lägsta uttrycksnivå

När körningen inte innehåller kontroller kan du skala det normaliserade uttrycket (NE) för varje mål (gen) genom att dividera uttrycksnivån för varje prov med den lägsta uttrycksnivån i alla prover. Programmet ställer in den lägsta uttrycksnivån till ett värde på 1 och skalar om alla provuttrycksnivåer. Formeln för lägsta skalning är

$$\text{Skalat normaliserat uttryck}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normaliserat uttryck}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normaliserat uttryck}_{\text{lägst sample (GOI)}}}$$

Där:

- GOI = Gen av intresse (mål)

Normaliserat uttryck skalat till medelhög uttrycksnivå

Om körningen inte innehåller kontroller kan du skala det normaliserade uttrycket (NE) för varje mål (gen) genom att dividera uttrycksnivån för varje prov med det geometriska medelvärdet för uttrycksnivån hos alla prover. Programmet ställer in genomsnittlig uttrycksnivå till ett värde på 1 och skalar om alla provuttrycksnivåer. Formeln för genomsnittlig skalning är

$$\text{Skalat normaliserat uttryck}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normaliserat uttryck}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normaliserat uttryck}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Där:

- GOI = Gen av intresse (mål)
- GM = Geometriskt medelvärde för normaliserat uttryck för alla prover

Standardavvikelse för det skalade normaliserade uttrycket

Omskalning av det skalade värdet för normaliserat uttryck (NE) uppnås genom att det normaliserade uttryckets standardavvikelse (SD) divideras med värdet för normaliserat uttryck för den högsta (MAX) eller lägsta (MIN) uttrycksnivån beroende på valt skalningsalternativ.

Obs! När ett kontrollprov tilldelas behöver du inte utföra den här omskalningsfunktionen på standardavvikelsen.

Beräkningen för den här formeln är

$$SD \text{ Skalat } NE_{\text{sample (GOI)}} = \frac{SD \text{ } NE_{\text{sample (GOI)}}}{NE_{\text{MAX eller MIN (GOI)}}$$

Där:

- NE = Normaliserat uttryck
- SD = standardavvikelse
- GOI = Gen av intresse (mål)
- MAX = högsta uttrycksnivå
- MIN = lägsta uttrycksnivå

Felstaplar för standardavvikelse (lg) och medelvärdeets standardfel (lg)

Förutom användningen av konfidensintervall kan felstaplar visas för biologiska grupper baserat på standardavvikelsen eller medelvärdeets standardfel för \log_2 av uttrycket. Felstaplarna beräknas på följande sätt:

$$\text{RQ nedre felstapel} = 2^{\text{RQ}(\text{lg}) - \text{SD RQ}(\text{lg})} \text{ eller } 2^{\text{RQ}(\text{lg}) - \text{SEM RQ}(\text{lg})}$$

$$\text{RQ övre felstapel} = 2^{\text{RQ}(\text{lg}) + \text{SD RQ}(\text{lg})} \text{ eller } 2^{\text{RQ}(\text{lg}) + \text{SEM RQ}(\text{lg})}$$

Där:

- $\text{RQ}(\text{lg}) = \log_2$ för den relativa kvantiteten för den biologiska gruppen
- $\text{SD RQ}(\text{lg}) =$ standardavvikelse för den relativa kvantiteten (\log_2)
- $\text{SEM RQ}(\text{lg}) =$ medelvärdeets standardfel för den relativa kvantiteten (\log_2)

$$\text{Uttryckets nedre felstapel} = 2^{\text{Exp.}(\text{lg}) - \text{SD Exp.}(\text{lg})} \text{ eller } 2^{\text{Exp.}(\text{lg}) - \text{SEM Exp.}(\text{lg})}$$

$$\text{Uttryckets övre felstapel} = 2^{\text{Exp.}(\text{lg}) + \text{SD Exp.}(\text{lg})} \text{ eller } 2^{\text{Exp.}(\text{lg}) + \text{SEM Exp.}(\text{lg})}$$

Där:

- $\text{Exp.}(\text{lg}) = \log_2$ av uttrycket (normaliserat uttryck) för den biologiska gruppen
- $\text{SD RQ}(\text{lg}) =$ standardavvikelse för uttrycket (\log_2)
- $\text{SEM RQ}(\text{lg}) =$ medelvärdeets standardfel för uttrycket (\log_2)

X-faldig förändring

Fold change (X-faldig förändring) är ett mått på ökningen eller minskningen i uttrycket av ett mål för ett experimentellt jämfört med ett kontrollprov eller biologisk grupp och bestäms på följande sätt:

Om Expression (experimental) > Expression (control) (Uttryck (experimentell) > Uttryck (kontroll)):

$$\mathbf{X-faldig\ förändring} = \frac{\mathbf{Expression\ (Uttryck)\ (experimentell)}}{\mathbf{Expression\ (Uttryck)\ (kontroll)}}$$

Om Expression (experimental) < Expression (control) (Uttryck (experimentell) < Uttryck (kontroll)):

$$\mathbf{X-faldig\ förändring} = -1 / \left(\frac{\mathbf{Expression\ (Uttryck)\ (experimentell)}}{\mathbf{Expression\ (Uttryck)\ (kontroll)}} \right)$$

Obs! För Graphing (Diagram), baseras *Expression* (Uttryck) antingen på den relativa kvantiteten eller det normaliserade uttrycket, beroende på vilket läge som valts (se [Graphing \(Diagram\) på sidan 260](#)). För Scatter Plot (Spridningsdiagram) och Clustergram beräknas dock alltid x-faldig förändring från det normaliserade uttrycket.

Formler för korrigerade värden

Viktigt! Dessa beräkningar gäller endast när Analyze Using (Analysanvändning) är inställd på Samples Only (Endast prover), Sample Biological Group (Prov från biologisk grupp) eller Biological Group Sample (Biologiskt grupprov).

En skillnad mellan korrigerade värden och ej korrigerade värden ses endast om en standardkurva skapas som del av realtids-PCR-körningen. Programvaran använder tre ekvationer för att bestämma felspridning:

- Standardfel
- Standardfel för normaliserat uttryck
- Standardfel för den normaliserade genen av intresse (mål)

Formeln för standardfel är

$$\text{Standard-fel} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Där:

- n = Antal referensmål (gener)
- SD = standardavvikelse

Standardfelet för normaliseringsfaktorn i formeln för normaliserade uttryck är

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

Där:

- n = Antal referensmål
- SE = Standardfel
- NF = Normaliseringsfaktor
- RQ = Relativ kvantitet

Formeln för standardfel för normaliserad gen av intresse (GOI) är

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

Där:

- SE = Standardfel
- GOI = Gen av intresse (ett mål)

- NF = Normaliseringsfaktor
- n = Antal referensmål

Beräkning av konfidensintervall för analys av biologiska grupper

När analyser utförs av biologiska grupper Analyze Using (Analysanvändning) har ställts in på Biological Groups Only (Endast biologiska grupper)) beräknas konfidensintervallen för relativ kvantitet och relativt normaliserat uttryck.

Konfidensintervallen beräknas i logaritmisk skala baserat på t-fördelningen med följande formel:

$$CI = \bar{X} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Där:

- \bar{X} = medeluttryck för uttrycksnivåerna i logaritmisk skala för proverna i den biologiska gruppen
- SD = standardavvikelse för uttrycksnivåerna i logaritmisk skala för proverna i den biologiska gruppen
- n = antal prover i den biologiska gruppen
- t = erhålls från t-fördelningen baserat på graderna av frihet och alfanivån

Obs! Alfanivån kan ställas i fältet för P-tröskelvärde på fliken Graphing (Diagram).

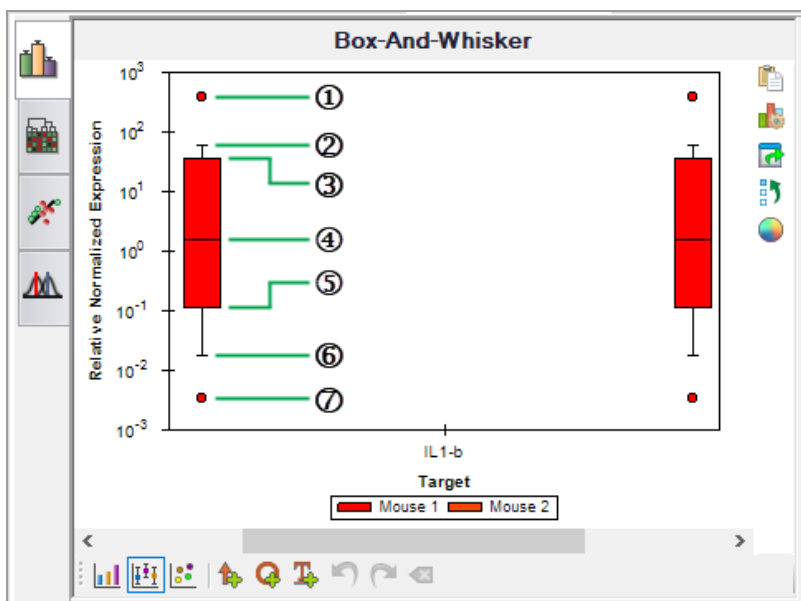
När konfidensintervallen har beräknats omvandlas de till linjär skala och presenteras i tabellen Gene Expression Data (Genuttrycksdata) och stapeldiagrammet på fliken Graphing (Diagram).

Beräkningar med Box and Whisker chart (Låddiagram)

Box and Whisker chart (låddiagrammet) visar distributionen av uttrycksvärdena inom en biologisk grupp genom att plotta data som kvartiler. Kvartil 1 och 3 representeras av rutans nedre respektive övre gränser. Medianen visas som en heldragen linje tvärsigenom rutan. "Whiskers" (morrhårsvärdena) representerar de minimi- och maximivärden som inte är avvikande i datauppsättningen. Avvikande värden är värden som överskrider kvartil 1 och 3 med 1,5 gånger intervallet mellan kvartilerna.

Obs! Om det bara finns ett prov i den biologiska gruppen visas det som en enstaka cirkel, vilket indikerar en enstaka datapunkt.

I nedanstående Box and Whisker chart (låddiagram) demonstreras hur dessa data återges.



FÖRKLARING

1. Avvikande värde. Detta avvikande värde är $> Q3 + (1,5 \times [Q3 - Q1])$.
Obs! Placera muspekaren över cirkeln för att visa ett verktygstips som visar provnamnet och informationen om relativ kvantitet eller normaliserat uttryck beroende på vilket läge som valts.

2. Maximiavgränsning för ej avvikande värden

3. Övre/3:e kvartilen (Q3). 75 % av uttrycksvärdena är lägre än Q3.

4. Median, eller värdet närmast mitten, för de rangordnade uttrycksvärdena

5. Nedre/1:a kvartilen (Q1). 25 % av uttrycksvärdena är lägre än Q1.

6. Minimiavgränsning för ej avvikande värden

7. Avvikande värde. Detta avvikande värde är $< Q1 - (1,5 \times [Q3 - Q1])$.

Bilaga A Dataanalysberäkningar

Bilaga B Revisionsloggar

CFX Maestro Dx programvara, Security Edition skapar revisionsloggar för data- och genstudiefiler (.prcd- och .mgxd-filer). Alla ändringar som görs i eller åtgärder som utförs på säkra data- och genstudiefiler registreras i filens revisionslogg när filen sparas. CFX Maestro Dx SE skapar en separat revisionslogg för varje fil.

Du kan välja File > Save As (Arkiv > Spara som) och spara säkra signerade eller osignerade data- och genstudiefiler i en annan mapp eller med ett annat namn. Den nya filen ärver revisionsloggen från originalfilen. Revisionsloggen för den nya filen inkluderar även Spara som-aktiviteten. Ändringar av eller åtgärder som utförts på den nya filen registreras i dess egna revisionslogg. Originalfilen behåller sin revisionslogg, där ytterligare aktivitet registreras.

[Revideringsbara händelser på sidan 303](#) listar de händelser som programvaran registrerar.

Visa revisionsloggar

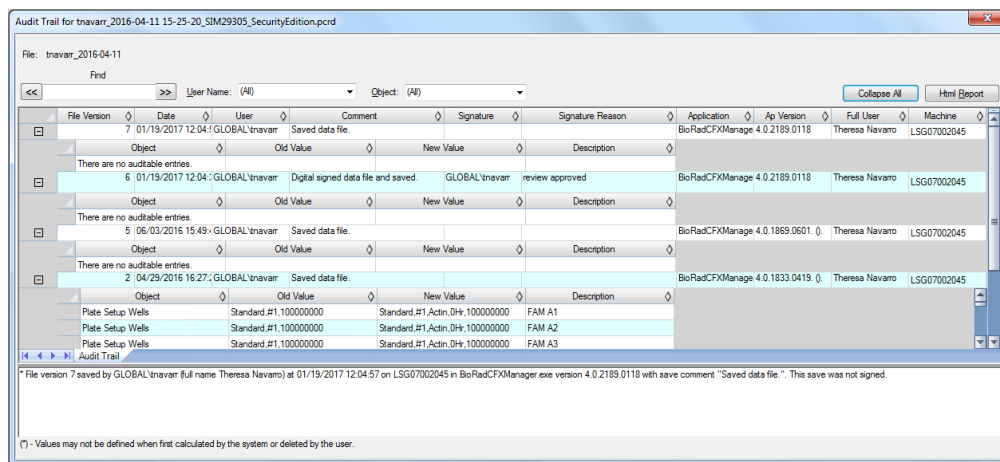
Varje revisionslogg visar följande information:

- Revisionsrubrik
 - File version (Filversion) – den sparade versionen av filen
 - Date (Datum) – datumet för den aktuella revideringsbara händelsen
 - User (Användare) – Windows-domänen och -användarnamnet för den inloggade användaren
 - Comment (Kommentar) – den senast sparade kommentaren
 - Signature (Signatur) – den elektroniska signaturen för den sista personen som undertecknade filen
 - Signature reason (Signaturskäl) – anledningen till signaturen
 - Application (Program) – CFX Maestro Dx SE
 - Application version (Programversion) – den aktuella versionen av CFX Maestro Dx SE
 - Full user (Fullständig användare) – den inloggade användarens fullständiga namn
 - Machine (Maskin) – den dator där CFX Maestro Dx SE är installerad.
- Revisionsändring

- Object (Objekt) – objektet som ändrades (det reviderade objektet)
- Old value (Tidigare värde) – det tidigare värdet
- New value (Nytt värde) – det nya värdet
- Description (Beskrivning) – beskrivningen av ändringen

Så här visar du revisionsloggen

- ▶ Välj View > Audit Trail (Visa > Revisionslogg) i den öppna data- eller genstudiefilen. Filens revisionslogg visas.



Som standard sorteras data efter datum och tid och alla händelser visas i den utvidgade vyn. Du kan filtrera vyn efter användarnamn och objekt, och du kan dölja den utvidgade vyn för att enkelt sortera efter rubrikfält. Du kan också visa revisionsloggen som en HTML-rapport.

Så här sorterar du efter användarnamn

- ▶ Välj målanvändaren i listrutan User Name (Användarnamn).

Så sorterar du efter objekt

- ▶ Välj målet i listrutan Object (Objekt).

Så här döljer du den fullständiga beskrivningen av händelser

- ▶ Klicka på Collapse All (Dölj alla).

Så här sorterar du data i ändringstabellen

- ▶ Klicka på diamantsymbolen i datakolumnsrubriken för att sortera i stigande ordning (A till Ö, minsta antal till största eller tidigast till senaste).

Så här skriver du ut revisionsloggen

1. Klicka på HTML Report (HTML-rapport) för att visa revisionsloggen i en webbläsare.
2. Gör något av följande i webbläsarfönstret:
 - Välj Arkiv > Skriv ut.
 - Högerklicka på rapporten och välj Skriv ut.

Revideringsbara händelser

CFX Maestro Dx SE registrerar följande revideringsbara händelser i data- och genstudiefiler.

Revideringsbara händelser under körning

- Run Start Time (Starttid för körning)
- Run Time Plate edits (Plattredigeringar under körning)
- Run Time Protocol edits (Protokollredigeringar under körning)
- Run End Time (Sluttid för körning)

Revideringsbara händelser när en datafil skapas

- Data file created (Datafil skapad)
- Interpolated Plate Reads added by the system (Interpolerade plattavläsningar läggs till av systemet)

Revideringsbara händelser när en datafil sparas

- General (Allmänt)
 - Name (Namn)
 - Signing (Signering)
 - Plate Setup (Plattinställning)
 - Display Wells (Visa brunnar)
 - Analyzed fluorophores (Analyserade fluoroferer)
 - Plate edits (Plattredigeringar)
 - Analysis mode (Analysläge)
 - PCR Active Well Group (PCR, aktiv brunnsgupp)

- Quantification tab (Fliken Kvantifiering)
 - Active step (Aktivt steg)
 - Settings – C_q Determination mode (Inställningar – C_q Bestämningsläge)
 - Settings – Baseline Setting (Inställningar – Baslinjeinställning)
 - Drift correction applied (Förflyttningskorrigerig tillämpad)
 - Settings – Cycles to Analyze (Inställningar – Cykler att analysera)
 - Settings – Analysis Mode (Inställningar – Analysläge)
 - Settings — Baseline Threshold (Inställningar – Baslinjetröskel)
- Melt Curve tab (Fliken Smältkurva)
 - Active step (Aktivt steg)
 - Peak type displayed (Topptyp visas)
 - Peak analysis threshold (Toppanalysröskel)
- End Point tab (Fliken Slutpunkt)
 - Active fluorophore/target (Aktivt fluorofor/mål)
 - End cycles to average (Slutcykler till medeltal)
 - Tolerance calculation method (Toleransberäkningsmetod)
 - Percentage of range (Procent av intervall)
- Allelic Discrimination tab (Fliken Allelisk diskriminering)
 - X- and Y-axis fluorophore (X- och Y-axelns fluorofor)
 - Select cycle number (Välj cykelnummer)
 - View call map (Visa anropskarta)
- Gene Expression tab – All plots (Fliken Genuttryck – alla plottningar)
 - Experiment Settings – Target reference (Experimentinställningar – Målreferens)
 - Experiment Settings – Sample control (Experimentinställningar – Provkontroll)
 - Experiment Settings – Auto efficiency (Experimentinställningar – Automatisk effektivitet)
 - Experiment Settings – Efficiency (Experimentinställningar – Effektivitet)

- Gene Expression tab – Graphing (Fliken Genuttryck – Diagram)
 - Analysis mode (Analysläge)
 - Graph data (Diagramdata)
 - X-axis (X-axel)
 - Y-axis (Y-axel)
 - Scaling option (Skalningsalternativ)
 - Error bar (Felstapel)
 - Error bar multiplier (Multiplikator för felstaplar)
 - P-value threshold (Tröskel för P-värde)
- Gene Expression tab – Clustergram (Fliken Genuttryck – Clustergram)
 - Cluster By (Kluster efter)
 - Split out replicates (Dela upp replikat)
- Gene Expression tab — Scatter Plot (Fliken Genuttryck – Spridningsdiagram)
 - Control biological group (Biologisk kontrollgrupp)
 - Experimental Biological Group (Biologisk experimentgrupp)
 - Fold change threshold (Tröskel för X-faldig)
- Gene Expression tab — ANOVA (Fliken Genuttryck – ANOVA)
 - P-value threshold (Tröskel för P-värde)
- Plate Setup – View/Edit Plate (Plattinställning – Visa/redigera platta)
 - Settings – PlateType (Inställningar – Platttyp)
 - Settings – Units (Inställningar – Enheter)
 - Editing Tools – Flip Plate (Redigeringsverktyg – Vänd platta)
 - Well groups (Brunnsgrupper)
 - Plate fluorophores (Plattfluoroforer)
- Plate Setup — Replace Plate and Apply PrimePCR File (Plattinställning – Ersätt platta och använd PrimePCR-fil)
 - Plate Setup Import (Import av plattinställning)

Revideringsbara ändringar för genstudiefiler

General (Allmänt)

- Name (Namn)
- Study Setup tab (Fliken Studieinställning)
 - Add/Remove data files (Lägg till/ta bort datafiler)
- Study Analysis tab (Fliken Studieanalys)

Bilaga C LIMS-integrering

Du kan konfigurera CFX Maestro Dx programvara, Security Edition för användning med ett LIMS (Laboratory Information Management System). För LIMS-integration kräver CFX Maestro Dx SE plattinställningsinformation som genererats av LIMS-plattformen (en LIMS-fil, *.plrn), en protokollfil som skapats med hjälp av CFX Maestro Dx SE (*.prcl), en definierad dataexportplats och ett definierat exportformat.

När körningen är klar genererar CFX Maestro Dx SE en datafil (.pcrd) och sparar den till en definierad mapp för dataexporter. CFX Maestro Dx SE kan också skapa en LIMS-kompatibel datafil i .csv-format och spara den på samma plats.

Skapa LIMS-kompatibla datafiler

I den här bilagan förklaras hur du ställer in CFX Maestro Dx SE för att skapa, spara och exportera LIMS-kompatibla datafiler.

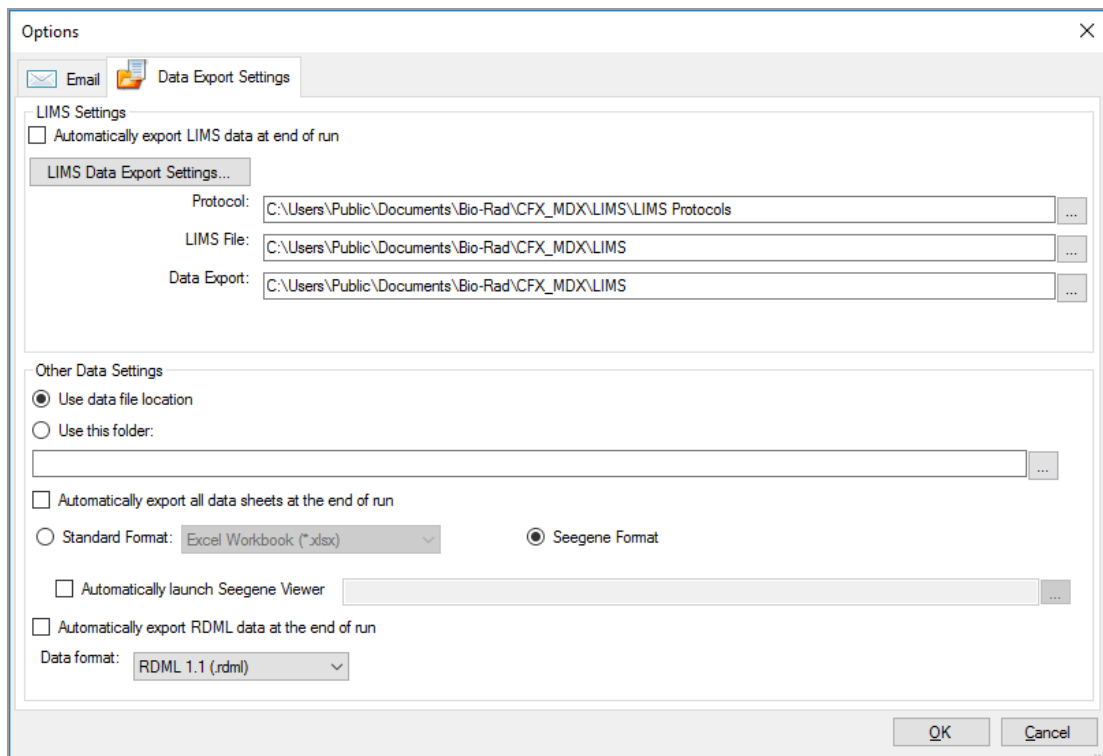
Ställa in LIMS-mapp och dataexportalternativ

Som standard sparar CFX Maestro Dx SE LIMS-protokoll, filer och dataexportfiler i den här mappen:
C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

Det går att konfigurera CFX Maestro Dx SE så att filerna sparas i en annan mapp och ändra exportalternativen för LIMS-data.

Så här konfigurerar du en LIMS-mapp och dataexportalternativ

1. Välj Tools > Options (Verktyg > Alternativ) i hemfönstret.
2. Välj Data Export Settings (Dataexportinställningar) i dialogrutan Options (Alternativ).



3. (Valfritt:) Välj **Automatically export LIMS data at end of run** (Exportera LIMS-data automatiskt efter körningen).

Programvaran exporterar automatiskt LIMS-data efter varje körning och sparar den på den angivna platsen.

4. Klicka på **LIMS Data Export Settings** (LIMS-dataexportinställningar) om du vill ändra standardexportalternativen för LIMS-data.

Viktigt! Endast LIMS-data som har exporterats som en .csv-fil kan importeras tillbaka i CFX Maestro Dx SE.

5. I dialogrutan **LIMS Data Export Format Settings** (Inställningar av LIMS-dataexportformat) väljer du nödvändiga exportalternativ och klickar på **OK**.
6. I dialogrutan **Options** (Alternativ) går du till och väljer en standardmapp i vilken du vill spara LIMS-datafilerna. Du kan välja olika platser för varje filtyp:

- Protocol (Protokoll)
- LIMS file (LIMS-fil)
- Data export (Dataexport)

7. Klicka på OK för att spara ändringarna och stänga dialogrutan Options (Alternativ).

Skapa ett LIMS-protokoll

Du startar en LIMS-körning genom att skapa en CFX Maestro Dx SE-protokollfil (*.prcl) och spara den på den angivna platsen för LIMS-protokollmappen.

Mer information finns i [Kapitel 7, Skapa protokoll](#).

Skapa en LIMS-fil

En LIMS-fil (*.plrn) innehåller plattinställningsinformation och protokollets filnamn. Den här filen genereras av ditt interna LIMS. CFX Maestro Dx SE använder LIMS-filen för att skapa en plattfil för användning med en protokollfil.

CFX Maestro Dx SE tillhandahåller plattimportmallar som du kan redigera för att skapa anpassade LIMS-plattfiler.

Tips: Den här åtgärden bör utföras av en LIMS-specialist.

Så här skapar du en LIMS-fil

1. Välj View > Show > LIMS File Folder (Visa > Visa > LIMS-filmapp) i hemfönstret.
2. Öppna mappen LIMS Templates (LIMS-mallar) och välj en .csv-fil att importera till din interna LIMS.
3. Redigera mallfilen genom att fylla i de fält som visas i [Tabell 38](#).
4. Gör något av följande:
 - För att spara dina ändringar för framtida bruk, spara filen som en .csv-fil.
 - För att spara dina ändringar och använda filen omedelbart, spara filen med .plrn-tillägget.
 - Spara mallen med filnamnstillägget .plrn i mappen LIMS File (LIMS-fil).

Viktigt! CFX Maestro Dx SE kan endast öppna .plrn-filen. Du måste spara .csv-filen som .plrn för att starta LIMS-körningen.

Tabell 38. Beskrivning av LIMS .csv-filinnehållet

Kolumn	Rad	Beskrivning	Innehåll	Syfte
A	1	Plate Header (Platrubrik)	Redigera inte	Fördefinierat
A, B, C	2	Field/Data/Instruction (Fält/Data/Instruktion)	Redigera inte	Fördefinierat

Tabell 38. Beskrivning av LIMS .csv-filnehåll, forts.

Kolumn	Rad	Beskrivning	Innehåll	Syfte
B	3	Version	Redigera inte	Fördefinierat
B	4	Plattstorlek	Redigera inte	Fördefinierat
B	5	Plate Type (Platttyp)	Ange "BR White", "BR Clear" eller annan kalibrerad platttyp	Krävs
B	6	Skanningsläge	Ange "SYBR/FAM Only:", "All Channels" eller "FRET"	Krävs
B	7	Enheter	Ange något av följande: "copy number", "fold dilution", "micromoles", "nanomoles", "picomoles", "femtomoles", "attomoles", "milligrams", "micrograms", "nanograms", "picograms", "femtograms", "attograms" eller "percent"	Krävs
B	8	Run Log (Körnings-ID)	Ge en kort beskrivning eller ange en streckkod som identifierar den här körningen (minst 30 tecken, komman får ej användas)	Tillval
B	9	Run Notes (Körningskommentarer)	Ange en beskrivning av körningen	Tillval
B	10	Run Protocol (Körningsprotokoll)	Ange protokollfilnamnet exakt som det är skrivet.	Krävs
A	11	Data File (Datafil)	Ange datafilnamn	Tillval
A	12–15	TBD/tom	Redigera inte	Fördefinierat
A	16	Plate Data (Plattdata)	Redigera inte	Fördefinierat
A	17–113	Well Position (Brunnsposition)	Redigera inte	Fördefinierat

Tabell 38. Beskrivning av LIMS .csv-fil innehåll, forts.

Kolumn	Rad	Beskrivning	Innehåll	Syfte
B-G		Ch1 Dye, Ch2 Dye, Ch3 Dye, Ch4 Dye, Ch5 Dye, FRET	Ange namnet på en kalibrerad fluorofor (till exempel FAM) för varje kanal som används	Krävs
H		Provtyp	Ange en av följande provtyper: "Unknown", (Okänd), "Standard", "Positive Control", (Positiv kontroll) "Negative Control", (Negativ kontroll) "NTC" eller "NRT"	Krävs
F		Sample Name (Provnamn)	Ange provnamn	Tillval
J-O		CH1 Target, CH2 Target, CH3 Target, CH4 Target, CH5 Target, FRET Target	Ange målnamnet för varje kanal som används	Tillval
P		Collection Name (Samlingsnamn)	Ange namn på biologisk uppsättning	Tillval
Q		Replikat	Ange ett positivt heltal för varje uppsättning replikat. Värdet får inte vara noll.	Tillval
R-W		CH1 Quantity, CH2 Quantity, CH3 Quantity, CH4 Quantity, CH5 Quantity, FRET Quantity	Ange kvantitetsvärden för eventuella standarder. Ange koncentrationen i decimalform.	Krävs för alla standarder

Tabell 38. Beskrivning av LIMS .csv-fil innehåll, forts.

Kolumn	Rad	Beskrivning	Innehåll	Syfte
X		Well Note (Brunnskommentar)	Ange en brunnskommentar (högst 20 tecken) Obs! Även om CFX Maestro Dx SE har en gräns på 20 tecken när du skriver brunnskommentarer via programvaran, kan fältet Well Note (Brunnskommentar) innehålla upp till 500 tecken om det ingår i en importerad .plrn-fil. Men CFX Maestro Dx SE visar endast de första 20 tecknen. Den exporterade .pcrd-filen innehåller alla tecken i fältet Well Note (Brunnskommentar), inga data går förlorade.	Tillval
Y-AD		Ch1 Well Color, Ch2 Well Color, Ch3 Well Color, Ch4 Well Color, Ch5 Well Color, FRET Well Color	Ange eventuell användardefinierad kurvfärg i ett 32-bitars decimalformat med heltal (argb)	Tillval

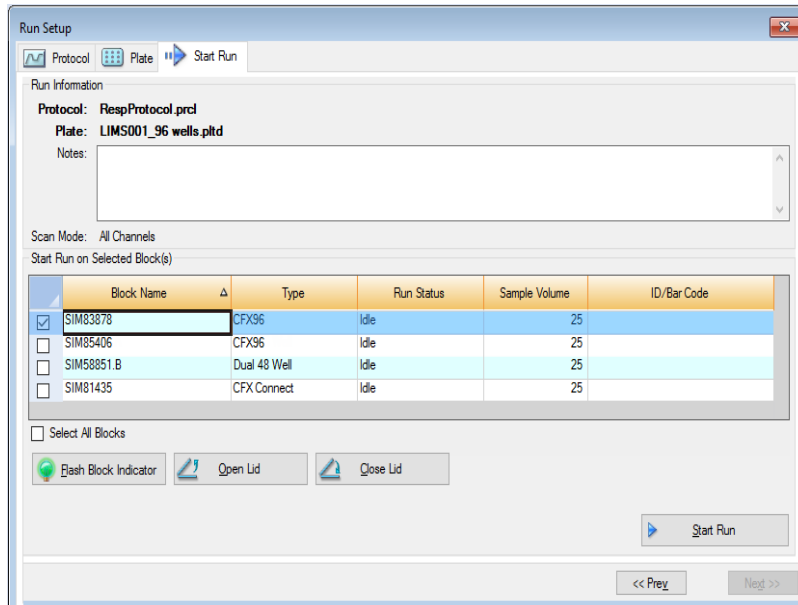
Starta en LIMS-körning

Så här startar du en LIMS-körning

- Gör något av följande för att öppna en LIMS-fil i .plrn-format:
 - I hemfönstret väljer du View > Show > LIMS File Folder (Visa > Visa > LIMS-filmapp) och öppnar målfilen (.plrn).
 - I hemfönstret väljer du File > Open > LIMS File (Arkiv > Öppna > LIMS-fil) och öppnar målfilen (.plrn).

Filen öppnas på fliken Start Run (Starta körning) i guiden Run Setup (Körningsinställning). På fliken Start Run (Starta körning) visas information om experimentet som ska köras. Där visas också det eller de anslutna instrumentblocken som du kan köra experimentet på.

2. Välj ett instrument på fliken Start Run (Starta körning) och klicka på Start Run (Starta körning).



Exportera data till ett LIMS

När körningen slutförs, genererar CFX Maestro Dx SE en datafil (.pcrd) och sparar den på platsen för den definierade dataexportmappen.

Så här exporterar du datafilen till ett LIMS

- Öppna .pcrd-filen och välj Export > Export to LIMS Folder (Exportera > Exportera till LIMS-mapp).

Tips: Om du väljer Automatically Export Data after Run (Exportera data automatiskt efter körning) i LIMS Options (LIMS-alternativ), skapar CFX Maestro Dx SE en LIMS-kompatibel datafil i .csv-format och sparar den i samma mapp.

Bilaga D Felsöka CFX Maestro Dx programvara, Security Edition

Den här bilagan innehåller förslag på hur du kan felsöka problem som kan uppstå när du uppgraderar eller kör CFX Maestro Dx programvara, Security Edition.

Vitlista CFX Maestro Dx programvara, Security Edition-filer och -mappar

Din IT-avdelning kan ha vidtagit hårda säkerhetsåtgärder för programvara som skydd mot virus och skadlig kod. Dessa åtgärder kan påverka tiden som krävs för att uppgradera eller köra CFX Maestro Dx SE.

För att förbättra prestanda för CFX Maestro Dx SE rekommenderar Bio-Rad att IT-avdelningen vitlistar följande filer och mappar i brandväggsinställningarna i antivirusprogrammet som är installerat på CFX Maestro Dx SE-datorn:

Mappar

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\ProgramData\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx

Filer

- Alla .exe-filer i mappen C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- R.exe och Rscript.exe (finns i mappen C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx\R\R-3.3.1\bin)

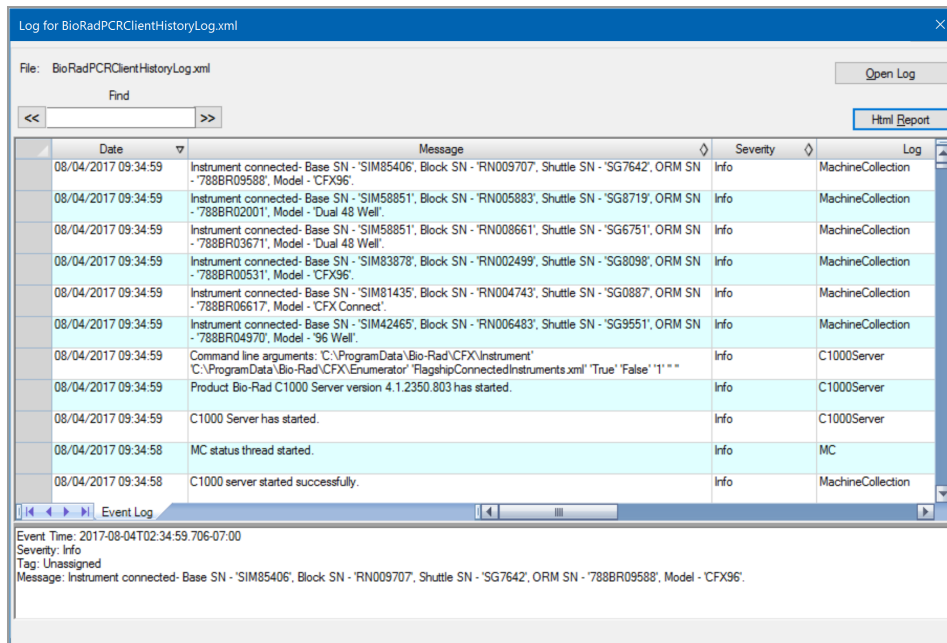
Application Log (Applikationslogg)

Innan en ny körning startas utför CFX Opus Dx-systemet ett självdiagnostiktest för att bekräfta att det körs inom specifikationerna. Programvaran registrerar resultaten av detta test i filen Run Log (Körningslogg) och filen Application Log (Applikationslogg). Om du lägger märke till ett problem i ett eller flera experiment öppnar du körnings- och applikationsloggarna för att ta reda på när problemet uppstod.

CFX Maestro Dx SE Dx spårar information om tillståndet för ett instrument under en körning i Application Log (Applikationslogg). Använd dessa loggar för att spåra händelser som uppstår på instrument och i programvaran samt för felsökning.

Så här öppnar du applikationsloggen

- I hemfönstret väljer du View > Application Log (Visa > Applikationslogg).



Klicka på knappen HTML Report (HTML-rapport) för att visa applikationsloggen som en HTML-fil.

Hämta loggfiler för program och firmware

Program- och firmwareloggarna innehåller information som beskriver åtgärder som utförts under användningen av programvaran och prestanda för körningar. Dessa loggar registrerar även eventuella program- eller firmwarefel som uppstår vid användning av programvaran eller instrumentet.

Så här kommer du åt loggfilerna för programmet och firmware:

1. Högerklicka på instrumentet i rutan Detected Instruments (Hittade instrument).
2. Välj Retrieve Log Files (Hämta loggfiler).
3. I dialogrutan Browse for Folder (Bläddra till mapp) väljer du målmappen på den nätverksenhet eller lokala enhet där du vill spara loggfilerna.

Obs! Mappen heter "Logs" (Loggar).

4. Klicka på OK för att spara filerna.

Viktigt! Om du sparar en loggfil med samma filnamn som en befintlig loggfil kommer den befintliga loggfilen att skrivas över.

Felsökning

Normalt kan problem med program- och instrumentkommunikation lösas genom omstart av datorn och systemet. Glöm inte att spara eventuella pågående arbeten innan du startar om.

Obs! Kontrollera att datorn har tillräckligt RAM-minne och ledigt hårddiskutrymme. Minimikravet för RAM är 4 GB och minimikravet för hårddiskutrymme är 128 GB.

Strömavbrott

Vid ett strömavbrott stängs instrumentet och datorn av. Om strömavbrottet är kortvarigt återupptar instrumentet körningen av ett protokoll, men strömavbrottet noteras i Application Log (Applikationslogg). Beroende på datorinställningarna och längden på strömavbrottet försöker instrumentet och programvaran att återuppta körningen beroende på protokollsteget:

- Om protokollet är i ett steg utan någon plattläsning fortsätter protokollet att köras så snart instrumentet återfår ström.
- Om protokollet är i ett steg med en plattläsning väntar instrumentet på att programvaran ska startas om och återuppta kommunikationen för att samla in data. I en sådan situation fortsätter protokollet endast om datorn inte stänger av programvaran. När datorn och programvaran startats igen fortsätter protokollet.

Överföra filer till CFX Maestro Dx SE-datorn

Du kan överföra data och loggfiler som finns på instrumentet till hårddisken på en ansluten CFX Maestro Dx SE-dator.

Tips: Alla filer i instrumentbasens realtidsdatamapp överförs till datorn.

Obs! Från CFX Opus Dx-instrument kan du bara överföra loggfiler. Alla loggfiler på instrumentet överförs till datorn.

Så här hämtar du filer från instrumentet

1. I rutan Detected Instruments (Hittade instrument) i hemfönstret högerklickar du på målinstrumentet och väljer Retrieve Log Files (Hämta loggfiler).
2. Välj en mapp där du vill spara de hämtade filerna.
3. Klicka på OK.

Installera CFX Maestro Dx programvara, Security Edition manuellt

Så här installerar du CFX Maestro Dx SE manuellt

1. Koppla bort eventuella anslutna instrument från datorn.
Sök upp och koppla bort instrumentets USB-kabel på CFX Maestro Dx SE-datorn. Den ände som är ansluten till instrumentet kan sitta kvar på plats.
2. Logga in på CFX Maestro Dx SE-datorn med administratörsbehörighet.
3. Sätt in USB-enheten med CFX Maestro Dx SE i datorns USB-port.
4. Gå till och öppna USB-enheten CFX Maestro Dx SE i Utforskaren.
5. Öppna mappen CFX och dubbelklicka på CFXMaestroDxSetup.exe för att installera CFX Maestro Dx SE.
6. Följ anvisningarna på skärmen för att installera programvaran.
När detta är klart visas välkomstskärmen för Bio-Rad CFX Maestro Dx programvara, Security Edition på datorskärmen och ikonen Bio-Rad CFX Maestro Dx programvara, Security Edition visas på skrivbordet.
7. Nu kan du mata ut programvarans USB-enhet på ett säkert sätt och starta CFX Maestro Dx SE.

Ominstallera drivrutinerna

Så här ominstallrar du instrumentdrivrutinerna

- ▶ I hemfönstret väljer du Tools > Reinstall Instrument Drivers (Verktyg > Ominstallera instrumentdrivrutiner).

Obs! Om du har problem med programvarans kommunikation med ett realtidssystem när du har ominstallrat drivrutinerna och kontrollerat USB-anslutningen, bör du kontakta Bio-Rads tekniska support.

Bilaga E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products

This document includes licensing information relating to free, open-source, and public-source software and data (together, the "MATERIALS") included with or used to develop Bio-Rad products and services. The terms of the applicable free, open-source, and public-source licenses (each an "OPEN LICENSE") govern Bio-Rad's distribution and your use of the MATERIALS. Bio-Rad and the third-party authors, licensors, and distributors of the MATERIALS disclaim all warranties and liability arising from all use and distribution of the MATERIALS. To the extent the OSS is provided under an agreement with Bio-Rad that differs from the applicable OSS LICENSE, those terms are offered by Bio-Rad alone.

Bio-Rad has reproduced below copyright and other licensing notices appearing within the MATERIALS. While Bio-Rad seeks to provide complete and accurate copyright and licensing information for all MATERIALS, Bio-Rad does not represent or warrant that the following information is complete, correct, or error-free. MATERIALS recipients are encouraged to (a) investigate the identified MATERIALS to confirm the accuracy of the licensing information provided and (b) notify Bio-Rad of any inaccuracies or errors found in this document so that Bio-Rad may update this document accordingly.

Certain OPEN LICENSES (such as the Affero General Public Licenses, Common Development and Distribution Licenses, Common Public License, Creative Commons Share-Alike License, Eclipse Public License, Mozilla Public Licenses, GNU General Public Licenses, GNU Library/Lesser General Public Licenses, and Open Data Commons Open Database License) require that the source materials be made available to recipients or other requestors under the terms of the same OPEN LICENSE.

The corresponding open source software is available for download from the links in the section that follows.

Software Notices

ZedGraph

Project homepage/download site:

<https://sourceforge.net/projects/zedgraph/>

Bio-Rad source code site:

<https://github.com/bio-rad-lsg-open-source/ZedGraph-5.0.1>

External source code site:

<https://github.com/ZedGraph/ZedGraph>

Project licensing notices:

/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

/sources/ZedGraph/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

Standard Open License Text

LGPL-2.1

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

Version 2.1, February 1999

Copyright (C) 1991, 1999 Free Software Foundation, Inc. 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

[This is the first released version of the Lesser GPL. It also counts as the successor of the GNU Library Public License, version 2, hence the version number 2.1.]

Preamble

The licenses for most software are designed to take away your freedom to share and change it. By contrast, the GNU General Public Licenses are intended to guarantee your freedom to share and change free software--to make sure the software is free for all its users.

This license, the Lesser General Public License, applies to some specially designated software packages--typically libraries--of the Free Software Foundation and other authors who decide to use it. You can use it too, but we suggest you first think carefully about whether this license or the ordinary General Public License is the better strategy to use in any particular case, based on the explanations below.

When we speak of free software, we are referring to freedom of use, not price. Our General Public Licenses are designed to make sure that you have the freedom to distribute copies of free software (and charge for this service if you wish); that you receive source code or can get it if you want it; that you can change the software and use pieces of it in new free programs; and that you are informed that you can do these things.

To protect your rights, we need to make restrictions that forbid distributors to deny you these rights or to ask you to surrender these rights. These restrictions translate to certain responsibilities for you if you distribute copies of the library or if you modify it.

For example, if you distribute copies of the library, whether gratis or for a fee, you must give the recipients all the rights that we gave you. You must make sure that they, too, receive or can get the source code. If you link other code with the library, you must provide complete object files to the recipients, so that they can relink them with the library after making changes to the library and recompiling it. And you must show them these terms so they know their rights.

We protect your rights with a two-step method: (1) we copyright the library, and (2) we offer you this license, which gives you legal permission to copy, distribute and/or modify the library.

To protect each distributor, we want to make it very clear that there is no warranty for the free library. Also, if the library is modified by someone else and passed on, the recipients should know that what they have is not the original version, so that the original author's

reputation will not be affected by problems that might be introduced by others.

Finally, software patents pose a constant threat to the existence of any free program. We wish to make sure that a company cannot effectively restrict the users of a free program by obtaining a restrictive license from a patent holder. Therefore, we insist that any patent license obtained for a version of the library must be consistent with the full freedom of use specified in this license.

Most GNU software, including some libraries, is covered by the ordinary GNU General Public License. This license, the GNU Lesser General Public License, applies to certain designated libraries, and is quite different from the ordinary General Public License. We use this license for certain libraries in order to permit linking those libraries into non-free programs.

When a program is linked with a library, whether statically or using a shared library, the combination of the two is legally speaking a combined work, a derivative of the original library. The ordinary General Public License therefore permits such linking only if the entire combination fits its criteria of freedom. The Lesser General Public License permits more lax criteria for linking other code with the library.

We call this license the "Lesser" General Public License because it does Less to protect the user's freedom than the ordinary General Public License. It also provides other free software developers Less of an advantage over competing non-free programs. These disadvantages are the reason we use the ordinary General Public License for many libraries. However, the Lesser license provides advantages in certain special circumstances.

For example, on rare occasions, there may be a special need to encourage the widest possible use of a certain library, so that it becomes a de-facto standard. To achieve this, non-free programs must be allowed to use the library. A more frequent case is that a free library does the same job as widely used non-free libraries. In this case, there is little to gain by limiting the free library to free software only, so we use the Lesser General Public License.

In other cases, permission to use a particular library in non-free programs enables a greater number of people to use a large body of free software. For example, permission to use the GNU C Library in non-free programs enables many more people to use the whole GNU

operating system, as well as its variant, the GNU/Linux operating system.

Although the Lesser General Public License is Less protective of the users' freedom, it does ensure that the user of a program that is linked with the Library has the freedom and the wherewithal to run that program using a modified version of the Library.

The precise terms and conditions for copying, distribution and modification follow. Pay close attention to the difference between a "work based on the library" and a "work that uses the library". The former contains code derived from the library, whereas the latter must be combined with the library in order to run.

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

TERMS AND CONDITIONS FOR COPYING, DISTRIBUTION AND MODIFICATION

0. This License Agreement applies to any software library or other program which contains a notice placed by the copyright holder or other authorized party saying it may be distributed under the terms of this Lesser General Public License (also called "this License"). Each licensee is addressed as "you".

A "library" means a collection of software functions and/or data prepared so as to be conveniently linked with application programs (which use some of those functions and data) to form executables.

The "Library", below, refers to any such software library or work which has been distributed under these terms. A "work based on the Library" means either the Library or any derivative work under copyright law: that is to say, a work containing the Library or a portion of it, either verbatim or with modifications and/or translated straightforwardly into another language. (Hereinafter, translation is included without limitation in the term "modification".)

"Source code" for a work means the preferred form of the work for making modifications to it. For a library, complete source code means all the source code for all modules it contains, plus any associated interface definition files, plus the scripts used to control compilation and installation of the library.

Activities other than copying, distribution and modification are not covered by this License; they are outside its scope. The act of running a program using the Library is not restricted, and output

from such a program is covered only if its contents constitute a work based on the Library (independent of the use of the Library in a tool for writing it). Whether that is true depends on what the Library does and what the program that uses the Library does.

1. You may copy and distribute verbatim copies of the Library's complete source code as you receive it, in any medium, provided that you conspicuously and appropriately publish on each copy an appropriate copyright notice and disclaimer of warranty; keep intact all the notices that refer to this License and to the absence of any warranty; and distribute a copy of this License along with the Library. You may charge a fee for the physical act of transferring a copy, and you may at your option offer warranty protection in exchange for a fee.

2. You may modify your copy or copies of the Library or any portion of it, thus forming a work based on the Library, and copy and distribute such modifications or work under the terms of Section 1 above, provided that you also meet all of these conditions:

a) The modified work must itself be a software library.

b) You must cause the files modified to carry prominent notices stating that you changed the files and the date of any change.

c) You must cause the whole of the work to be licensed at no charge to all third parties under the terms of this License.

d) If a facility in the modified Library refers to a function or a table of data to be supplied by an application program that uses the facility, other than as an argument passed when the facility is invoked, then you must make a good faith effort to ensure that, in the event an application does not supply such function or table, the facility still operates, and performs whatever part of its purpose remains meaningful. (For example, a function in a library to compute square roots has a purpose that is entirely well-defined independent of the application. Therefore, Subsection 2d requires that any application-supplied function or table used by this function must be optional: if the application does not supply it, the squareroot function must still compute square roots.)

These requirements apply to the modified work as a whole. If identifiable sections of that work are not derived from the Library, and can be reasonably considered independent and separate works in themselves, then this License, and its terms, do not apply to those sections when you distribute them as separate works. But when you

distribute the same sections as part of a whole which is a work based on the Library, the distribution of the whole must be on the terms of this License, whose permissions for other licensees extend to the entire whole, and thus to each and every part regardless of who wrote it.

Thus, it is not the intent of this section to claim rights or contest your rights to work written entirely by you; rather, the intent is to exercise the right to control the distribution of derivative or collective works based on the Library.

In addition, mere aggregation of another work not based on the Library with the Library (or with a work based on the Library) on a volume of a storage or distribution medium does not bring the other work under the scope of this License.

3. You may opt to apply the terms of the ordinary GNU General Public License instead of this License to a given copy of the Library. To do this, you must alter all the notices that refer to this License, so that they refer to the ordinary GNU General Public License, version 2, instead of to this License. (If a newer version than version 2 of the ordinary GNU General Public License has appeared, then you can specify that version instead if you wish.) Do not make any other change in these notices. Once this change is made in a given copy, it is irreversible for that copy, so the ordinary GNU General Public License applies to all subsequent copies and derivative works made from that copy. This option is useful when you wish to copy part of the code of the Library into a program that is not a library.

4. You may copy and distribute the Library (or a portion or derivative of it, under Section 2) in object code or executable form under the terms of Sections 1 and 2 above provided that you accompany it with the complete corresponding machine-readable source code, which must be distributed under the terms of Sections 1 and 2 above on a medium customarily used for software interchange. If distribution of object code is made by offering access to copy from a designated place, then offering equivalent access to copy the source code from the same place satisfies the requirement to distribute the source code, even though third parties are not compelled to copy the source along with the object code.

5. A program that contains no derivative of any portion of the Library, but is designed to work with the Library by being compiled or linked with it, is called a "work that uses the Library". Such a work, in isolation, is not a derivative work of the Library, and

therefore falls outside the scope of this License. However, linking a "work that uses the Library" with the Library creates an executable that is a derivative of the Library (because it contains portions of the Library), rather than a "work that uses the library". The executable is therefore covered by this License. Section 6 states terms for distribution of such executables. When a "work that uses the Library" uses material from a header file that is part of the Library, the object code for the work may be a derivative work of the Library even though the source code is not. Whether this is true is especially significant if the work can be linked without the Library, or if the work is itself a library. The threshold for this to be true is not precisely defined by law. If such an object file uses only numerical parameters, data structure layouts and accessors, and small macros and small inline functions (ten lines or less in length), then the use of the object file is unrestricted, regardless of whether it is legally a derivative work. (Executables containing this object code plus portions of the Library will still fall under Section 6.) Otherwise, if the work is a derivative of the Library, you may distribute the object code for the work under the terms of Section 6. Any executables containing that work also fall under Section 6, whether or not they are linked directly with the Library itself.

6. As an exception to the Sections above, you may also combine or link a "work that uses the Library" with the Library to produce a work containing portions of the Library, and distribute that work under terms of your choice, provided that the terms permit modification of the work for the customer's own use and reverse engineering for debugging such modifications. You must give prominent notice with each copy of the work that the Library is used in it and that the Library and its use are covered by this License. You must supply a copy of this License. If the work during execution displays copyright notices, you must include the copyright notice for the Library among them, as well as a reference directing the user to the copy of this License. Also, you must do one of these things:

a) Accompany the work with the complete corresponding machine-readable source code for the Library including whatever changes were used in the work (which must be distributed under Sections 1 and 2 above); and, if the work is an executable linked with the Library, with the complete machine-readable "work that uses the Library", as object code and/or source code, so that the user can modify the Library and then relink to produce a modified executable containing the modified Library. (It is understood that the user who changes the

contents of definitions files in the Library will not necessarily be able to recompile the application to use the modified definitions.)

b) Use a suitable shared library mechanism for linking with the Library. A suitable mechanism is one that (1) uses at run time a copy of the library already present on the user's computer system, rather than copying library functions into the executable, and (2) will operate properly with a modified version of the library, if the user installs one, as long as the modified version is interface-compatible with the version that the work was made with.

c) Accompany the work with a written offer, valid for at least three years, to give the same user the materials specified in Subsection 6a, above, for a charge no more than the cost of performing this distribution.

d) If distribution of the work is made by offering access to copy from a designated place, offer equivalent access to copy the above specified materials from the same place.

e) Verify that the user has already received a copy of these materials or that you have already sent this user a copy.

For an executable, the required form of the "work that uses the Library" must include any data and utility programs needed for reproducing the executable from it. However, as a special exception, the materials to be distributed need not include anything that is normally distributed (in either source or binary form) with the major components (compiler, kernel, and so on) of the operating system on which the executable runs, unless that component itself accompanies the executable.

It may happen that this requirement contradicts the license restrictions of other proprietary libraries that do not normally accompany the operating system. Such a contradiction means you cannot use both them and the Library together in an executable that you distribute.

7. You may place library facilities that are a work based on the Library side-by-side in a single library together with other library facilities not covered by this License, and distribute such a combined library, provided that the separate distribution of the work based on the Library and of the other library facilities is otherwise permitted, and provided that you do these two things:

a) Accompany the combined library with a copy of the same work based on the Library, uncombined with any other library facilities. This must be distributed under the terms of the Sections above.

b) Give prominent notice with the combined library of the fact that part of it is a work based on the Library, and explaining where to find the accompanying uncombined form of the same work.

8. You may not copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library except as expressly provided under this License. Any attempt otherwise to copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

9. You are not required to accept this License, since you have not signed it. However, nothing else grants you permission to modify or distribute the Library or its derivative works. These actions are

prohibited by law if you do not accept this License. Therefore, by modifying or distributing the Library (or any work based on the Library), you indicate your acceptance of this License to do so, and all its terms and conditions for copying, distributing or modifying the Library or works based on it.

10. Each time you redistribute the Library (or any work based on the Library), the recipient automatically receives a license from the original licensor to copy, distribute, link with or modify the Library subject to these terms and conditions. You may not impose any further restrictions on the recipients' exercise of the rights granted herein. You are not responsible for enforcing compliance by third parties with this License.

11. If, as a consequence of a court judgment or allegation of patent infringement or for any other reason (not limited to patent issues), conditions are imposed on you (whether by court order, agreement or otherwise) that contradict the conditions of this License, they do not excuse you from the conditions of this License. If you cannot distribute so as to satisfy simultaneously your obligations under this License and any other pertinent obligations, then as a consequence you may not distribute the Library at all. For example, if a patent license would not permit royalty-free redistribution of the Library by all those who receive copies directly or indirectly through you, then the only way you could satisfy both it and this

License would be to refrain entirely from distribution of the Library.

If any portion of this section is held invalid or unenforceable under any particular circumstance, the balance of the section is intended to apply, and the section as a whole is intended to apply in other circumstances.

It is not the purpose of this section to induce you to infringe any patents or other property right claims or to contest validity of any such claims; this section has the sole purpose of protecting the integrity of the free software distribution system which is implemented by public license practices. Many people have made generous contributions to the wide range of software distributed through that system in reliance on consistent application of that system; it is up to the author/donor to decide if he or she is willing to distribute software through any other system and a licensee cannot impose that choice. This section is intended to make thoroughly clear what is believed to be a consequence of the rest of this License.

12. If the distribution and/or use of the Library is restricted in certain countries either by patents or by copyrighted interfaces, the original copyright holder who places the Library under this License may add an explicit geographical distribution limitation excluding those countries, so that distribution is permitted only in or among countries not thus excluded. In such case, this License incorporates the limitation as if written in the body of this License.

13. The Free Software Foundation may publish revised and/or new versions of the Lesser General Public License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns.

Each version is given a distinguishing version number. If the Library specifies a version number of this License which applies to it and "any later version", you have the option of following the terms and conditions either of that version or of any later version published by the Free Software Foundation. If the Library does not specify a license version number, you may choose any version ever published by the Free Software Foundation.

14. If you wish to incorporate parts of the Library into other free programs whose distribution conditions are incompatible with these, write to the author to ask for permission. For software which is

copyrighted by the Free Software Foundation, write to the Free Software Foundation; we sometimes make exceptions for this. Our decision will be guided by the two goals of preserving the free status of all derivatives of our free software and of promoting the sharing and reuse of software generally.

NO WARRANTY

15. BECAUSE THE LIBRARY IS LICENSED FREE OF CHARGE, THERE IS NO WARRANTY FOR THE LIBRARY, TO THE EXTENT PERMITTED BY APPLICABLE LAW. EXCEPT WHEN OTHERWISE STATED IN WRITING THE COPYRIGHT HOLDERS AND/OR OTHER PARTIES PROVIDE THE LIBRARY "AS IS" WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. THE ENTIRE RISK AS TO THE QUALITY AND PERFORMANCE OF THE LIBRARY IS WITH YOU. SHOULD THE LIBRARY PROVE DEFECTIVE, YOU ASSUME THE COST OF ALL NECESSARY SERVICING, REPAIR OR CORRECTION.

16. IN NO EVENT UNLESS REQUIRED BY APPLICABLE LAW OR AGREED TO IN WRITING WILL ANY COPYRIGHT HOLDER, OR ANY OTHER PARTY WHO MAY MODIFY AND/OR REDISTRIBUTE THE LIBRARY AS PERMITTED ABOVE, BE LIABLE TO YOU FOR DAMAGES, INCLUDING ANY GENERAL, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE THE LIBRARY (INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOSS OF DATA OR DATA BEING RENDERED INACCURATE OR LOSSES SUSTAINED BY YOU OR THIRD PARTIES OR A FAILURE OF THE LIBRARY TO OPERATE WITH ANY OTHER MATERIALS), EVEN IF SUCH HOLDER OR OTHER PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES.

END OF TERMS AND CONDITIONS

How to Apply These Terms to Your New Libraries

If you develop a new library, and you want it to be of the greatest possible use to the public, we recommend making it free software that everyone can redistribute and change. You can do so by permitting redistribution under these terms (or, alternatively, under the terms of the ordinary General Public License).

To apply these terms, attach the following notices to the library. It is safest to attach them to the start of each source file to most effectively convey the exclusion of warranty; and each file should have at least the "copyright" line and a pointer to where the full notice is found.

<one line to give the library's name and a brief idea of what it does.>

Copyright (C) <year> <name of author>

This library is free software; you can redistribute it and/or modify it under the terms of the GNU Lesser General Public License as published by the Free Software Foundation; either version 2.1 of the License, or (at your option) any later version. This library is distributed in the hope that it will be useful, but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the GNU Lesser General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU Lesser General Public License along with this library; if not, write to the Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Also add information on how to contact you by electronic and paper mail. You should also get your employer (if you work as a programmer) or your school, if any, to sign a "copyright disclaimer" for the library, if necessary. Here is a sample; alter the names:

Yoyodyne, Inc., hereby disclaims all copyright interest in the library `Frob' (a library for tweaking knobs) written by James Random Hacker.

<signature of Ty Coon>, 1 April 1990

Ty Coon, President of Vice

That's all there is to it!

Bilaga F Referenser

1. Sugimoto et al. (1996). Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes. *Nucleic Acids Research* 24, 4 501–4 505.
2. Breslauer KJ et al. (1986). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3,746–3,750.
3. Hellemans J et al. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biol* 8, R19.
4. Livak JL et al. (1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. *Nature Genetics* 9, 341–342.
5. Pfaffl MW (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29, 2 002–2 007.
6. Vandesompele J et al. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 3, 1–12.
7. Fox J (2008). *Applied Regression Analysis and Generalized Linear Models*. 2nd ed (New York: SAGE Publications, Inc.).

Minpack Copyright Notice (1999) University of Chicago. Med ensamrätt

Vidaredistribution och användning i käll- och binärformat, med eller utan ändring, tillåts under förutsättning att följande villkor är uppfyllda:

1. Omdistributioner av källkoden måste innehålla ovanstående copyrightinformation, denna lista med villkor och följande ansvarsfriskrivning.
2. Omdistributioner i binär form måste innehålla ovanstående copyrightinformation, denna lista med villkor och följande ansvarsfriskrivning i dokumentationen och/eller andra material som medföljer distributionen.
3. Eventuell dokumentation för slutanvändare som medföljer omdistributionen måste innehålla följande erkännande:

"Den här produkten inkluderar programvara som har utvecklats av University of Chicago, som Operator of Argonne National Laboratory."

Bilaga F Referenser



Bio-Rad Laboratories, Inc.
4000 Alfred Nobel Drive
Hercules, CA 94547



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette, France
Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00
Fax: +33 (0)1 47 41 91 33
bio-rad.com



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399
Canada 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23
France 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050
Italy 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670
The Netherlands 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23
Switzerland 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

