

Tháng 2 năm 2022

Hướng dẫn Sử dụng Rotor-Gene® Q MDx CE



IVD

CE

REF

9002022, 9002032, 9002042



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ĐỨC

R1

Mục lục

1	Giới thiệu	8
1.1	Về hướng dẫn sử dụng này	8
1.2	Thông tin chung.....	9
1.2.1	Hỗ trợ kỹ thuật.....	9
1.2.2	Tuyên bố về chính sách.....	9
1.2.3	Quản lý phiên bản	10
1.3	Mục đích sử dụng Rotor-Gene Q MDx.....	10
1.3.1	Yêu cầu đối với Rotor-Gene Q MDx	10
1.4	Vật liệu yêu cầu.....	11
1.5	Vật liệu yêu cầu nhưng không được cung cấp.....	11
2	Thông tin An toàn.....	12
2.1	Sử dụng đúng cách	13
2.2	An toàn điện	15
2.3	An toàn sinh học.....	16
2.4	An toàn hóa chất	17
2.5	Xử lý chất thải	18
2.6	Nguy hiểm về cơ học	18
2.7	An toàn bảo trì.....	20
2.8	Các biểu tượng trên Rotor-Gene Q MDx	21
3	Mô tả Chung	22
3.1	Nguyên lý của Rotor-Gene Q MDx.....	22
3.1.1	Hiệu suất nhiệt.....	22
3.1.2	Hệ thống quang học	23
3.1.3	Kênh có sẵn.....	24
3.2	Các tính năng bên ngoài của Rotor-Gene Q MDx.....	25
3.2.1	Lỗ thông khí trên nắp.....	25
3.2.2	Tay cầm nắp	25
3.2.3	Buồng rôto	25
3.2.4	Đèn trạng thái dụng cụ	25

3.3	Các tính năng bên trong của Rotor-Gene Q MDx	26
3.3.1	Ô rôto.....	26
3.3.2	Óng kính	26
	Óng kính là nơi đèn đi-ốt kích thích tập trung trên các óng.....	26
4	Quy trình Lắp đặt	27
4.1	Giao và lắp đặt hệ thống	27
4.1.1	Mở bao bì Rotor-Gene Q MDx	27
4.1.2	Lắp đặt phần cứng	28
4.1.3	Cài đặt phần mềm	29
4.1.4	Phiên bản phần mềm.....	32
4.1.5	Phần mềm bổ sung trên máy tính được kết nối với dụng cụ Rotor-Gene Q MDx	32
4.2	Yêu cầu về vị trí.....	39
4.3	Kết nối nguồn AC	40
4.3.1	Yêu cầu nguồn điện.....	40
4.3.2	Yêu cầu nối đất.....	40
4.3.3	Lắp đặt dây nguồn AC	40
4.4	Cấu hình cho bảo mật Windows.....	40
4.5	Yêu cầu máy trạm	42
4.6	Mở bao gì và lắp đặt Rotor-Gene Q MDx.....	43
4.6.1	Nâng cấp phần mềm	44
4.7	Phụ kiện	44
4.8	Đóng gói lại và vận chuyển Rotor-Gene Q MDx.....	44
4.9	Bắt đầu	44
4.9.1	BẮT Rotor-Gene Q MDx và máy trạm	44
5	Quy trình Vận hành	45
5.1	Sử dụng phần mềm Rotor-Gene Q MDx.....	45
5.1.1	Trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh).....	45
5.1.2	Trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao).....	49
5.2	Sử dụng phần cứng Rotor-Gene Q MDx.....	67
5.2.1	Các loại rôto	67

5.2.2	Thiết lập phản ứng	70
5.2.3	Thiết lập Rotor-Disc	73
6	Giao diện Người dùng Phân tích	77
6.1	Không gian làm việc	77
6.2	Thanh công cụ	77
6.3	Xem các kênh thô	77
6.4	Chuyển đổi mẫu	78
6.5	Tệp	80
6.5.1	Mới	80
6.5.2	Mở và Lưu	81
6.5.3	Báo cáo	82
6.5.4	Thiết lập	83
6.6	Menu phân tích	83
6.6.1	Phân tích	83
6.6.2	Định lượng	85
6.6.3	Hai đường chuẩn	96
6.6.4	Định lượng tương đối delta delta C _T	100
6.6.5	Phân tích đường cong nóng chảy	103
6.6.6	Định lượng so sánh	106
6.6.7	Phân biệt alen	108
6.6.8	Phân tích biểu đồ phân tán	109
6.6.9	Phân tích Điểm cuối	111
6.6.10	Phân tích nồng độ	117
6.6.11	Phân tích Nóng chảy Phân giải Cao	120
6.7	Menu chạy	121
6.7.1	Bắt đầu chạy	121
6.7.2	Tạm dừng Chạy	121
6.7.3	Dừng Chạy	122
6.8	Menu xem	122
6.8.1	Cài đặt lần chạy	122
6.8.2	Biểu đồ Nhiệt độ	125

6.8.3	Tiến độ Chương trình	126
6.8.4	Chỉnh sửa Mẫu	127
6.8.5	Tùy chọn Hiển thị.....	132
6.9	Bảo vệ Quyền truy cập Phần mềm Rotor-Gene Q	133
6.9.1	Cấu hình cho Windows 7	134
6.9.2	Cấu hình cho Windows 10.....	139
6.9.3	Chạy nhiều người dùng trên cùng một máy tính	142
6.9.4	Lịch sử kiểm tra	143
6.9.5	Ký hiệu Lần chạy	145
6.9.6	Khóa mẫu	146
6.9.7	Các mẫu đã khóa	148
6.10	Menu khuếch đại.....	148
6.11	Menu cửa sổ	149
6.12	Chức năng trợ giúp	149
	6.12.1 Gửi Email Hỗ trợ.....	150
7	Chức năng Bổ sung	154
7.1	Mẫu phân tích.....	154
7.2	Mở lần chạy thứ hai	154
7.3	Tùy chọn tỷ lệ	154
7.4	Xuất biểu đồ	155
7.5	Biểu tượng chìa văn/cờ lê	158
7.6	Các tùy chọn vùng đã chọn	159
8	Bảo trì	160
8.1	Làm sạch bề mặt Rotor-Gene Q MDx	160
8.2	Khử nhiễm bề mặt Rotor-Gene Q MDx	161
8.3	Sửa chữa Rotor-Gene Q	161
9	Xác minh Nhiệt độ Quang học	162
9.1	Nguyên tắc OTV.....	162
9.2	Các thành phần của Rotor-Disc OTV Kit.....	162
9.3	Chạy OTV.....	163
10	Phân tích Nóng chảy Phân giải Cao	166

10.1	Dụng cụ đo đặc	167
10.2	Hóa học.....	168
10.3	Ví dụ về xác định kiểu gen SNP.....	168
10.4	Ví dụ về phân tích methyl hóa.....	170
10.5	Hướng dẫn phân tích HRM thành công	171
10.6	Chuẩn bị mẫu.....	173
10.7	Thiết lập phần mềm	173
10.8	Phân tích dữ liệu real-time PCR	179
10.9	Phân tích dữ liệu HRM.....	180
11	Xử lý sự cố	184
11.1	Lưu trữ Nhật ký.....	185
11.2	Lỗi phần cứng và phần mềm	185
	11.2.1 Xử lý sự cố HRM	185
11.3	Thông báo lỗi và cảnh báo	186
	11.3.1 Lỗi dụng cụ chung	186
	11.3.2 Thông báo Phần mềm Rotor-Gene Q	188
12	Bảng chú giải	193
13	Thông số Kỹ thuật	194
13.1	Điều kiện môi trường – điều kiện hoạt động	194
13.2	Điều kiện vận chuyển.....	194
13.3	Điều kiện bảo quản	194
13.4	Dữ liệu cơ học và tính năng phần cứng.....	194
13.5	Thông số kỹ thuật (phần cứng và phần mềm)	195
	13.5.1 Thông số kỹ thuật nhiệt	195
	13.5.2 Thông số kỹ thuật quang học	195
14	Phụ lục A – Pháp lý	196
14.1	Tuyên bố FCC.....	196
14.2	Tuân thủ IEC EN 61326	197
14.3	Tuyên bố về Tuân thủ	198
14.4	Rác thải thiết bị điện và điện tử (Waste Electrical and Electronic Equipment, WEEE)	199

14.5	Điều khoản về Trách nhiệm pháp lý.....	200
14.6	Thỏa thuận Cấp phép Phần mềm	201
15	Phụ lục B – Kỹ thuật Toán học.....	204
15.1	Định lượng	204
15.1.1	Khoảng tin cậy cho các nồng độ được tính toán	204
15.1.2	Khoảng tin cậy cho giá trị CT.....	205
16	Thông tin Đặt hàng	206
16.1	Các sản phẩm, phụ kiện và vật tư tiêu hao của Rotor-Gene Q MDx	206
17	Lịch sử Sửa đổi Tài liệu	209

1 Giới thiệu

Cảm ơn bạn đã chọn Rotor-Gene Q MDx. Chúng tôi tự tin rằng dụng cụ này sẽ trở thành một phần không thể thiếu của phòng thí nghiệm của bạn.

Trước khi sử dụng Rotor-Gene Q MDx, bạn cần đọc kỹ hướng dẫn sử dụng này và đặc biệt chú ý đến thông tin an toàn. Các hướng dẫn và thông tin an toàn trong hướng dẫn sử dụng phải được tuân theo để đảm bảo vận hành dụng cụ an toàn và duy trì dụng cụ ở tình trạng an toàn.

Lưu ý rằng Rotor-Gene Q MDx có nhiều cấu hình. Để biết chi tiết, bao gồm cả thông tin đặt hàng, vui lòng xem Phần 16.

1.1 Về hướng dẫn sử dụng này

Hướng dẫn sử dụng này cung cấp thông tin về Rotor-Gene Q MDx trong các phần sau:

- Giới thiệu
- Thông tin An toàn
- Mô tả Chung
- Quy trình Lắp đặt
- Quy trình Vận hành
- Bảo trì
- Xử lý sự cố
- Thông số Kỹ thuật
- Phụ lục

Các phụ lục có chứa các thông tin sau:

- Phụ lục A – Pháp lý
- Phụ lục B – Kỹ thuật Toán học

1.2 Thông tin chung

1.2.1 Hỗ trợ kỹ thuật

Tại QIAGEN®, chúng tôi tự hào về chất lượng và sự sẵn có của hỗ trợ kỹ thuật. Các Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật của chúng tôi có đội ngũ các nhà khoa học giàu kinh nghiệm với chuyên môn lý thuyết và thực tiễn sâu rộng về sinh học phân tử và sử dụng các sản phẩm QIAGEN. Nếu bạn có bất kỳ câu hỏi hoặc gặp bất kỳ khó khăn nào liên quan đến Rotor-Gene Q MDx hoặc các sản phẩm QIAGEN nói chung, đừng ngần ngại liên hệ với chúng tôi.

Khách hàng của QIAGEN là nguồn thông tin chính về việc sử dụng các sản phẩm tiên tiến hoặc chuyên biệt của chúng tôi. Thông tin này hữu ích cho các nhà khoa học khác cũng như các nhà nghiên cứu tại QIAGEN. Do đó, chúng tôi khuyến khích bạn liên hệ với chúng tôi nếu bạn có bất kỳ đề xuất nào về hiệu suất sản phẩm hoặc các ứng dụng và kỹ thuật mới.

Để được hỗ trợ kỹ thuật, hãy liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

Để biết thông tin cập nhật về Rotor-Gene Q MDx, truy cập <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>.

Trang web: support.qiagen.com

Khi liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN về lỗi, vui lòng chuẩn bị sẵn các thông tin sau:

- Số sê-ri, loại và phiên bản Rotor-Gene Q MDx
- Mã lỗi (nếu có)
- Thời điểm khi lỗi xảy ra lần đầu tiên
- Tần suất xuất hiện lỗi (nghĩa là, lỗi không liên tục hoặc liên tục)
- Bản sao tệp nhật ký

1.2.2 Tuyên bố về chính sách

Chính sách của QIAGEN là cài tiến sản phẩm khi có sẵn các kỹ thuật và thành phần mới. QIAGEN có quyền thay đổi thông số kỹ thuật bất cứ lúc nào. Với nỗ lực cung cấp tài liệu hữu ích và phù hợp, chúng tôi đánh giá cao nhận xét của bạn về hướng dẫn sử dụng này. Vui lòng liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

1.2.3 Quản lý phiên bản

Tài liệu này là bản sửa đổi R1 của *Hướng dẫn Sử dụng Rotor-Gene Q MDx* dành cho các dụng cụ Rotor-Gene Q MDx sử dụng phần mềm Rotor-Gene Q phiên bản 2.3.x (trong đó $x \geq 0$).

1.3 Mục đích sử dụng Rotor-Gene Q MDx

Dụng cụ Rotor-Gene Q MDx được thiết kế để thực hiện luân nhiệt thời gian thực, phát hiện và/hoặc định lượng bằng cách sử dụng phản ứng chuỗi polymerase (Polymerase Chain Reaction, PCR) trong các ứng dụng lâm sàng.

Rotor-Gene Q MDx được thiết kế để chỉ sử dụng kết hợp với bộ dụng cụ QIAGEN được chỉ định dùng chung với các dụng cụ Rotor-Gene Q cho những ứng dụng được mô tả trong cẩm nang cho bộ dụng cụ QIAGEN tương ứng.

Nếu dụng cụ Rotor-Gene Q MDx được sử dụng với các bộ dụng cụ không phải là bộ dụng cụ QIAGEN, trách nhiệm của người dùng là xác thực hiệu suất của việc kết hợp các sản phẩm đó đối với bất kỳ ứng dụng cụ thể nào.

Dụng cụ Rotor-Gene Q MDx được thiết kế để chẩn đoán trong ống nghiệm.

Các dụng cụ Rotor-Gene Q MDx được thiết kế để các chuyên gia sử dụng, chẳng hạn như kỹ thuật viên và bác sĩ được đào tạo về các kỹ thuật sinh học phân tử và vận hành dụng cụ Rotor-Gene Q MDx.

1.3.1 Yêu cầu đối với Rotor-Gene Q MDx

Bảng bên dưới cho biết trình độ năng lực và chuyên môn chung cần thiết để vận chuyển, lắp đặt, sử dụng, bảo trì và bảo dưỡng Rotor-Gene Q MDx.

Nhiệm vụ	Nhân sự	Đào tạo và kinh nghiệm
Giao dụng cụ	Không có yêu cầu đặc biệt	Không có yêu cầu đặc biệt
Lắp đặt	Kỹ thuật viên phòng thí nghiệm hoặc tương đương	Nhân sự được đào tạo và có kinh nghiệm thích hợp, quen thuộc với việc sử dụng máy tính và tự động hóa nói chung
Sử dụng thường quy (chạy các quy trình)	Kỹ thuật viên phòng thí nghiệm hoặc tương đương	Người dùng có chuyên môn, chẳng hạn kỹ thuật viên hoặc bác sĩ, được đào tạo về các kỹ thuật sinh học phân tử
Bảo trì thường quy	Kỹ thuật viên phòng thí nghiệm hoặc tương đương	Người dùng có chuyên môn, chẳng hạn kỹ thuật viên hoặc bác sĩ, được đào tạo về các kỹ thuật sinh học phân tử
Bảo dưỡng và bảo trì thường niên	Chỉ chuyên gia Bảo dưỡng Thực địa QIAGEN	Được QIAGEN đào tạo, cấp chứng nhận và cấp phép định kỳ

1.4 Vật liệu yêu cầu

Lưu ý: Chỉ sử dụng các phụ kiện do QIAGEN cung cấp.

- Rotor-Gene Q MDx 5Plex (số danh mục 9002020)
- Rotor-Gene Q MDx 5Plex HRM (số danh mục 9002030)
- Rotor-Gene Q MDx 6Plex (số danh mục 9002040)
- Laptop (số danh mục 9026760)
- 72-Well Rotor (số danh mục 9018903)
- Locking Ring 72-Well Rotor (số danh mục 9018904)
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (số danh mục 9018901)
- Rotor Holder (số danh mục 9018908)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250) (số danh mục 981103)
- Rotor Gene Q SW (số danh mục 9023241)

1.5 Vật liệu yêu cầu nhưng không được cung cấp

- Kính bảo hộ
- Găng tay
- Áo choàng phòng thí nghiệm

Để sử dụng Rotor-Gene Q MDx, cần có bộ dụng cụ PCR mua riêng; để tìm hiểu về các loại bộ dụng cụ có sẵn, hãy xem **QIAGEN.com**.

2 Thông tin An toàn

Trước khi sử dụng Rotor-Gene Q MDx, bạn cần đọc kỹ hướng dẫn sử dụng này và đặc biệt chú ý đến thông tin an toàn. Các hướng dẫn và thông tin an toàn trong hướng dẫn sử dụng phải được tuân theo để đảm bảo vận hành đúng cách an toàn và duy trì dụng cụ ở tình trạng an toàn.

Các loại thông tin an toàn sau đây xuất hiện trong *Hướng dẫn Sử dụng Rotor-Gene Q MDx*.

CÀNH BÁO 	Thuật ngữ CÀNH BÁO được sử dụng để thông báo cho bạn về các tình huống có thể dẫn đến thương tích cá nhân cho bạn hoặc người khác. Chi tiết về những tình huống này được trình bày trong một ô giống ô này.
THẬN TRỌNG 	Thuật ngữ THẬN TRỌNG được sử dụng để thông báo cho bạn về các tình huống có thể dẫn đến thiệt hại cho dụng cụ hoặc thiết bị khác. Chi tiết về những tình huống này được trình bày trong một ô giống ô này.

Hướng dẫn được cung cấp trong hướng dẫn sử dụng này nhằm bổ sung, chứ không thay thế, các yêu cầu an toàn thông thường hiện hành ở quốc gia người dùng.

Xin lưu ý rằng bạn có thể được yêu cầu tham khảo các quy định tại địa phương về cách báo cáo các sự cố nghiêm trọng đã xảy ra liên quan đến thiết bị cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện được ủy quyền của nhà sản xuất và cơ quan quản lý nơi người dùng và/hoặc bệnh nhân cư trú.

2.1 Sử dụng đúng cách

CÀNH BÁO 	<p>Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Việc sử dụng không đúng cách Rotor-Gene Q MDx có thể gây nên thương tích cá nhân hoặc thiệt hại cho dụng cụ.</p> <p>Chỉ nhân sự đủ tiêu chuẩn đã được đào tạo phù hợp mới được vận hành Rotor-Gene Q MDx.</p> <p>Việc bảo dưỡng dụng cụ Rotor-Gene Q MDx chỉ do Chuyên gia Bảo dưỡng Thực địa QIAGEN thực hiện.</p>
--	--

Hãy thực hiện bảo trì như được mô tả trong Phần 8. QIAGEN sẽ tính phí sửa chữa cần thiết do việc bảo trì không đúng cách.

CÀNH BÁO 	<p>Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Rotor-Gene Q MDx có trọng lượng nặng và một người không thể nâng được. Để tránh thương tích cá nhân hoặc hư hỏng dụng cụ, không được nâng dụng cụ một mình.</p> <p>Liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN để di dời dụng cụ.</p>
--	--

CÀNH BÁO 	<p>Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Không cố gắng di chuyển Rotor-Gene Q MDx trong khi vận hành.</p>
--	---

THẬN TRỌNG 	<p>Thiệt hại cho dụng cụ Tránh làm đổ nước hoặc hóa chất lên Rotor-Gene Q MDx. Thiệt hại do làm đổ nước hoặc hóa chất gây ra sẽ làm vô hiệu bảo hành của bạn.</p>
--	--

Lưu ý: Trong trường hợp khẩn cấp, hãy tắt Rotor-Gene Q MDx ở công tắc nguồn phía sau dụng cụ và rút dây nguồn khỏi ổ cắm điện.

THẬN TRỌNG	Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Không cố mở nắp trong khi thí nghiệm hoặc trong khi Rotor-Gene Q MDx đang quay. Nếu không, nếu bạn mở được khóa nắp và tiếp cận bên trong, bạn có nguy cơ tiếp xúc với các bộ phận đang nóng, có điện hoặc di chuyển ở tốc độ cao; bạn có thể tự gây thương tích và thiệt hại cho dụng cụ.
-------------------	---

THẬN TRỌNG	Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Nếu bạn cần nhanh chóng dừng thí nghiệm, hãy tắt nguồn dụng cụ, sau đó mở nắp. Để buồng lạnh trước khi chạm vào bên trong. Nếu không, bạn có nguy cơ bị thương do chạm vào các bộ phận nóng.
-------------------	---

THẬN TRỌNG	Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Nếu thiết bị được sử dụng theo cách nhà sản xuất không chỉ định, khả năng bảo vệ của thiết bị có thể bị suy yếu.
-------------------	---

THẬN TRỌNG	Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Giấy rời bên dưới Rotor-Gene Q MDx cản trở việc làm lạnh dụng cụ. Vùng bên dưới dụng cụ cần phải thông thoáng và không có đồ lộn xộn.
-------------------	--

THẬN TRỌNG	Thiệt hại cho dụng cụ Luôn sử dụng vòng khóa trên rôto. Điều này ngăn không cho nắp rơi ra khỏi ống trong quá trình thí nghiệm. Nếu nắp rơi ra trong quá trình thí nghiệm, chúng có thể làm hỏng buồng.
-------------------	---

THẬN TRỌNG	Nguy cơ thiệt hại vật chất Kiểm tra bằng mắt và đảm bảo rôto không bị hư hỏng hoặc biến dạng trước mỗi lần chạy.
-------------------	--

Nếu bạn chạm vào Rotor-Gene Q MDx trong khi thí nghiệm, trong khi bạn đang có tĩnh điện, trong trường hợp nghiêm trọng, Rotor-Gene Q MDx có thể cài đặt lại. Tuy nhiên, phần mềm sẽ khởi động lại Rotor-Gene Q MDx và tiếp tục thí nghiệm.

2.2 An toàn điện

Ngắt kết nối dây nguồn khỏi ổ cắm điện trước khi bảo dưỡng.

CÀNH BÁO	Nguy hiểm về điện Bất cứ sự gián đoạn nào của dây dẫn bảo vệ (dây dẫn nối đất) bên trong hay bên ngoài dụng cụ hoặc ngắt kết nối đầu dây dẫn bảo vệ đều có khả năng làm cho dụng cụ trở nên nguy hiểm. Nghiêm cấm việc cố ý gây gián đoạn. Điện áp gây chết người bên trong dụng cụ Khi dụng cụ được kết nối với nguồn điện, các đầu cực có thể mang điện và việc mở nắp hoặc tháo các bộ phận có thể để lộ các bộ phận mang điện ra ngoài.
-----------------	---

Để đảm bảo Rotor-Gene Q MDx hoạt động tốt và an toàn, hãy làm theo lời khuyên dưới đây:

- Dây điện phải được kết nối vào ổ cắm điện có dây dẫn bảo vệ (nối đất).
- Không điều chỉnh hay thay thế những bộ phận bên trong của dụng cụ.
- Không vận hành dụng cụ khi đã tháo bất cứ tấm che hay bộ phận nào.
- Nếu làm đổ chất lỏng bên trong dụng cụ, hãy tắt dụng cụ, ngắt kết nối khỏi ổ cắm điện và liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

Nếu dụng cụ trở nên không an toàn về điện, hãy ngăn nhân viên khác vận hành dụng cụ và liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

Dụng cụ có thể không an toàn về điện khi:

- Dụng cụ hoặc dây điện có vẻ bị hư hại.
- Dụng cụ đã được bảo quản trong những điều kiện xấu trong thời gian dài.
- Dụng cụ phải chịu nhiều lực đè ép trong khi vận chuyển.

CÀNH BÁO 	Nguy hiểm về điện Dụng cụ có nhãn tuân thủ về điện cho biết điện áp và tần số của nguồn điện cũng như định mức cầu chì. Chỉ nên vận hành dụng cụ trong phạm vi các điều kiện này.
--	---

2.3 An toàn sinh học

Bệnh phẩm và thuốc thử có chứa vật liệu từ các nguồn sinh học nên được xem là có khả năng lây nhiễm. Hãy sử dụng những quy trình an toàn trong phòng thí nghiệm được nêu trong những ấn bản như *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (An toàn Sinh học trong Phòng thí nghiệm Vi sinh và Y sinh), HHS (<https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>).

Mẫu

Mẫu có thể chứa tác nhân lây nhiễm. Bạn nên lưu ý về các nguy cơ đối với sức khỏe do các tác nhân đó gây ra và nên sử dụng, bảo quản và thải bỏ các mẫu theo quy định an toàn bắt buộc.

CẢNH BÁO 	<p>Mẫu chứa tác nhân lây nhiễm</p> <p>Một vài mẫu được sử dụng với dụng cụ này có thể chứa tác nhân lây nhiễm. Hãy xử lý những mẫu này cẩn thận nhất có thể và tuân theo những quy định an toàn bắt buộc.</p> <p>Luôn đeo kính bảo hộ, 2 đôi găng tay và mặc áo choàng phòng thí nghiệm. Người chịu trách nhiệm (ví dụ: người quản lý phòng thí nghiệm) phải thực hiện những biện pháp phòng ngừa cần thiết để đảm bảo nơi làm việc xung quanh an toàn và người vận hành dụng cụ được đào tạo phù hợp và không bị phơi nhiễm với mức tác nhân lây nhiễm nguy hiểm như đã được định nghĩa trong Bảng chỉ dẫn An toàn (Safety Data Sheets, SDS) hiện hành hoặc các tài liệu của OSHA*, ACGIH† hay COSHH‡.</p> <p>Thông khí cho khói và việc xử lý chất thải phải tuân theo toàn bộ quy định và luật về sức khỏe và an toàn của quốc gia, tiểu bang và địa phương.</p>
--	--

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (Cục Quản lý An toàn và Sức khỏe Nghề nghiệp) (Hoa Kỳ).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (Hội thảo Các Nhà quản lý Vệ sinh Công nghiệp Chính phủ của Mỹ) (Hoa Kỳ).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (Cục Kiểm soát Chất Nguy hiểm cho Sức khỏe) (Vương quốc Anh).

2.4 An toàn hóa chất

CẢNH BÁO 	<p>Hóa chất nguy hiểm</p> <p>Một vài hóa chất được sử dụng với dụng cụ này có thể nguy hiểm hoặc trở nên nguy hiểm sau khi hoàn tất lần chạy quy trình. Luôn đeo kính bảo hộ, găng tay và mặc áo choàng phòng thí nghiệm. Người chịu trách nhiệm (ví dụ người quản lý phòng thí nghiệm) phải thực hiện những biện pháp phòng ngừa cần thiết để đảm bảo nơi làm việc xung quanh an toàn và người vận hành dụng cụ không bị phơi nhiễm với mức chất độc hại nguy hiểm như đã được định nghĩa trong Bảng chỉ dẫn An toàn (Safety Data Sheets, SDS) hiện hành hoặc các tài liệu của OSHA*, ACGIH† hay COSHH‡.</p> <p>Thông khí cho khói và việc xử lý chất thải phải tuân theo toàn bộ quy định và luật về sức khỏe và an toàn của quốc gia, tiểu bang và địa phương.</p>
--	--

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (Cục Quản lý An toàn và Sức khỏe Nghề nghiệp) (Hoa Kỳ).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (Hội thảo Các Nhà quản lý Vệ sinh Công nghiệp Chính phủ của Mỹ) (Hoa Kỳ).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (Cục Kiểm soát Chất Nguy hiểm cho Sức khỏe) (Vương quốc Anh).

Khói độc

Nếu làm việc với những dung môi dễ bay hơi hoặc chất độc hại, bạn phải có hệ thống thông khí phòng thí nghiệm có hiệu quả để loại bỏ hơi có thể phát sinh.

2.5 Xử lý chất thải

Dụng cụ thí nghiệm đã qua sử dụng có thể chứa các hóa chất nguy hiểm. Những chất thải như thế phải được thu gom và xử lý đúng cách theo quy định an toàn tại địa phương.

Để biết thêm thông tin về cách thải bỏ Rotor-Gene Q MDx, hãy xem “Rác thải thiết bị điện và điện tử (Waste Electrical and Electronic Equipment, WEEE)”, trang 199.

2.6 Nguy hiểm về cơ học

Nắp của Rotor-Gene Q MDx phải được đóng trong suốt quá trình vận hành dụng cụ.

CÀNH BÁO 	Bộ phận chuyển động Để tránh tiếp xúc với những bộ phận chuyển động trong khi vận hành Rotor-Gene Q MDx, phải vận hành dụng cụ khi nắp đã được đóng.
--	--

CÀNH BÁO 	Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Mở và đóng nắp Rotor-Gene Q MDx cẩn thận để tránh kẹt ngón tay hoặc quần áo.
--	---

CÀNH BÁO 	Thiệt hại cho dụng cụ Đảm bảo rằng rôto và vòng khóa được lắp đúng cách. Nếu rôto hoặc vòng khóa có dấu hiệu hư hỏng hoặc ăn mòn cơ học, không sử dụng Rotor-Gene Q MDx; liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.
--	---

CẢNH BÁO 	<p>Thiệt hại cho dụng cụ</p> <p>Khi khởi động Rotor-Gene Q MDx ngay sau khi giao hàng ở vùng có khí hậu lạnh, các bộ phận cơ học có thể bị tắc nghẽn.</p> <p>Để dụng cụ thích nghi với nhiệt độ phòng ít nhất một giờ trước khi bật dụng cụ.</p>
--	---

CẢNH BÁO 	<p>Thiệt hại cho dụng cụ</p> <p>Trong trường hợp tắt máy do mất điện, hãy rút dây nguồn và đợi 10 phút trước khi thử mở nắp bằng tay.</p>
--	--

CẢNH BÁO 	<p>Nguy cơ nóng quá mức</p> <p>Để đảm bảo thông khí đầy đủ, hãy duy trì khoảng trống tối thiểu 10 cm ở hai bên và phía sau Rotor-Gene Q MDx.</p> <p>Không được che những khe hở và lỗ mở để đảm bảo sự thông khí của Rotor-Gene Q MDx.</p>
--	---

Nguy hiểm về nhiệt

CẢNH BÁO 	<p>Bề mặt nóng</p> <p>Buồng Rotor-Gene Q MDx có thể đạt nhiệt độ trên 120 °C. Tránh chạm vào máy khi còn nóng.</p>
--	---

CẢNH BÁO 	<p>Bề mặt nóng</p> <p>Khi tạm dừng chạy, Rotor-Gene Q MDx sẽ không lạnh hoàn toàn về nhiệt độ phòng. Thận trọng trước khi cầm rôto hoặc bất kỳ ống nào trong dụng cụ.</p>
--	--

2.7 An toàn bảo trì

Hãy thực hiện bảo trì như được mô tả trong Phần 8. QIAGEN sẽ tính phí sửa chữa cần thiết do việc bảo trì không đúng cách.

CÀNH BÁO/ THẬN TRỌNG 	Rủi ro thương tích cá nhân và thiệt hại vật chất Chỉ thực hiện quy trình bảo trì được mô tả cụ thể trong hướng dẫn sử dụng này.
--	---

CÀNH BÁO 	Nguy cơ cháy Khi làm sạch Rotor-Gene Q MDx bằng chất khử trùng gốc cồn, hãy để cửa Rotor-Gene Q MDx mở để hơi dễ cháy phân tán.
--	---

CÀNH BÁO/ THẬN TRỌNG 	Nguy cơ điện giật Không tháo rời dụng cụ Rotor-Gene Q MDx.
--	--

THẬN TRỌNG 	Thiệt hại cho vỏ dụng cụ Không bao giờ làm sạch vỏ dụng cụ bằng cồn hoặc dung dịch gốc cồn. Cồn sẽ làm hỏng vỏ. Để làm sạch vỏ, chỉ sử dụng nước cất.
--	--

2.8 Các biểu tượng trên Rotor-Gene Q MDx

Các biểu tượng sau đây có thể xuất hiện trong hướng dẫn sử dụng hoặc trên bao bì và nhãn dán:

Biểu tượng	Vị trí	Mô tả
	Gàn buồng mẫu, có thể nhìn thấy khi nắp mở	Nguy hiểm về nhiệt — nhiệt độ của buồng có thể đạt đến trên 120 °C
	Mặt sau của dụng cụ	Tham khảo hướng dẫn sử dụng
	Bảng thông số ở mặt sau dụng cụ	Dấu CE cho Tuân thủ Châu Âu
	Bảng thông số ở mặt sau dụng cụ	Thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm
	Bảng thông số ở mặt sau dụng cụ	Dấu liệt kê CSA cho Canada và Hoa Kỳ
	Bảng thông số trên bảng điều khiển bên phải	Nhà sản xuất hợp pháp.
	Bảng thông số trên bảng điều khiển bên phải	WEEE về xử lý chất thải thiết bị điện và điện tử cho Châu Âu và các quốc gia còn lại.
	Bảng thông số trên bảng điều khiển bên phải	Dấu FCC của Ủy ban Truyền thông Liên bang Hoa Kỳ
	Bảng thông số trên bảng điều khiển bên phải	RCM (trước đây là dấu chọn chữ C) cho nước Úc (mã nhận dạng nhà cung cấp N17965)
	Bảng thông số trên bảng điều khiển bên phải	Dấu RoHS cho Trung Quốc (hạn chế sử dụng một số chất nguy hiểm trong thiết bị điện và điện tử)

3 Mô tả Chung

Rotor-Gene Q MDx là một dụng cụ cải tiến cho phép real-time PCR có độ chính xác cao và rất thích hợp cho các ứng dụng chẩn đoán trong ống nghiệm kết hợp với bộ dụng cụ được đánh dấu QIAGEN IVD.

Phần mềm mạnh mẽ và thân thiện với người dùng mang lại sự đơn giản cho người mới bắt đầu cũng như một nền tảng thí nghiệm mở cho người dùng nâng cao.

3.1 Nguyên lý của Rotor-Gene Q MDx

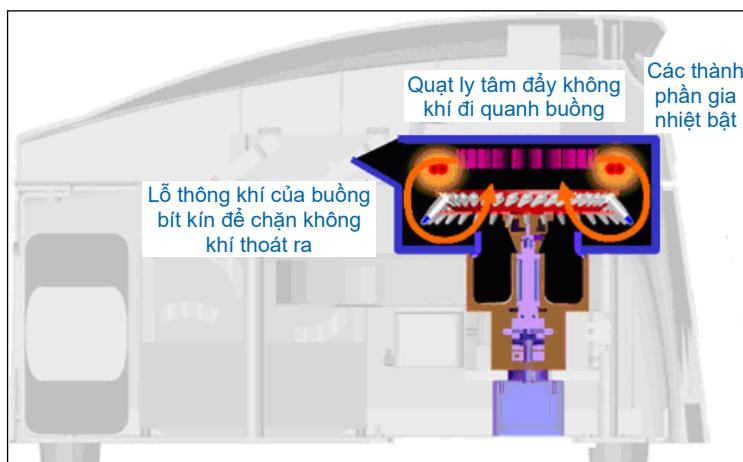
3.1.1 Hiệu suất nhiệt

Rotor-Gene Q MDx sử dụng thiết kế gia nhiệt và làm lạnh tinh vi để đạt được điều kiện phản ứng tối ưu. Định dạng quay độc đáo đảm bảo sự đồng nhất tối ưu về nhiệt và quang học giữa các mẫu, điều này rất quan trọng để có kết quả phân tích chính xác và đáng tin cậy.

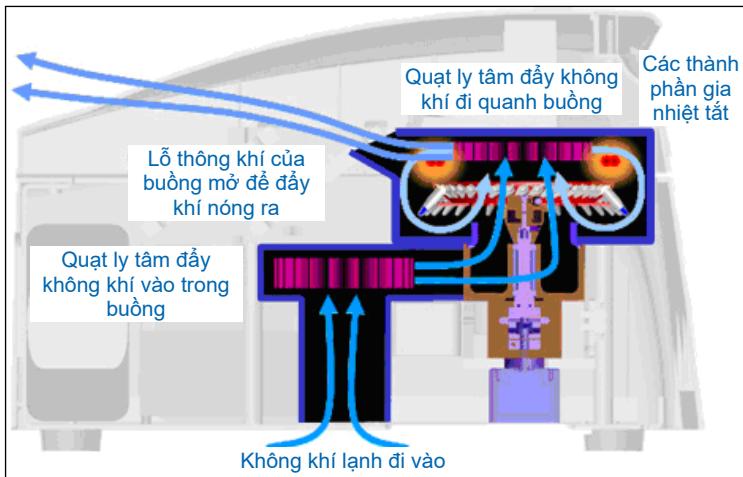
Các mẫu quay liên tục với tốc độ 400 vòng/phút trong một lần chạy. Quá trình ly tâm ngăn ngưng tụ và loại bỏ bọt khí, nhưng không làm đóng viên DNA. Ngoài ra, không cần quay mẫu trước khi chạy.

Các mẫu được gia nhiệt và làm lạnh trong lò không khí khói lượng thấp. Gia nhiệt được thực hiện nhờ thành phần niken crôm trong nắp. Buồng được làm lạnh bằng cách đẩy khí ra ngoài qua phần đỉnh của buồng trong khi không khí xung quanh được thổi lên qua đáy.

Gia nhiệt



Làm lạnh

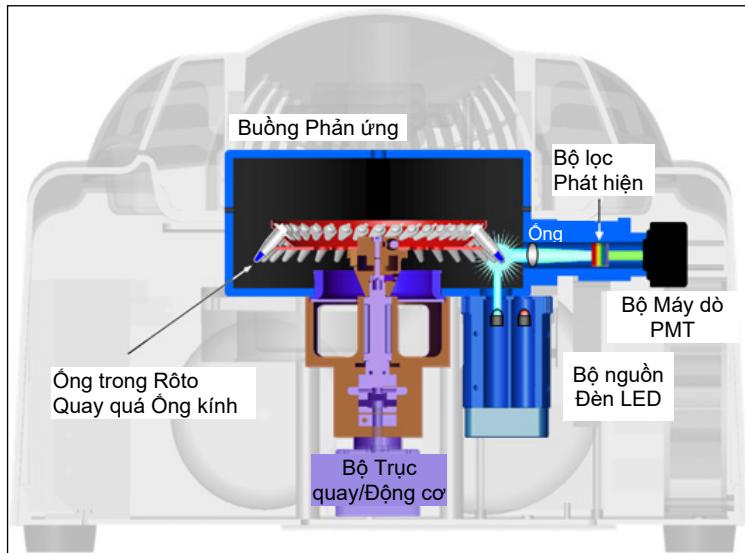


Hình minh họa hệ thống gia nhiệt và làm lạnh.

3.1.2 Hệ thống quang học

Với sự lựa chọn lên đến 6 nguồn kích thích và 6 bộ lọc phát hiện kết hợp với quang trình ngắn, cố định, có thể sử dụng Rotor Gene Q MDx cho các phản ứng đa kênh, đảm bảo độ biến thiên huỳnh quang tối thiểu giữa các mẫu và loại bỏ nhu cầu hiệu chuẩn hoặc bù trừ.

Các mẫu được kích thích từ đáy buồng bằng một đi-ốt phát quang. Năng lượng được truyền qua các thành mỏng ở đáy ống. Huỳnh quang phát ra đi qua các bộ lọc phát xạ ở mặt bên của buồng và sau đó được bộ nhận quang thu lại. Quang trình cố định đảm bảo kích thích nhất quán cho mọi mẫu, có nghĩa là không cần sử dụng chất nhuộm tham chiếu bên trong thụ động như ROX™.



Hình minh họa hệ thống quang học.

3.1.3 Kênh có sẵn

Kênh	Kích thước (nm)	Phát hiện (nm)	Ví dụ về các fluorophore được phát hiện
Blue	365 ± 20	460 ± 20	Marina Blue®, Edans Bothell Blue, Alexa Fluor® 350, AMCA-X, ATTO 390
Green	470 ± 10	510 ± 5	FAM®, SYBR® Green I, Fluorescein, EvaGreen®, Alexa Fluor 488
Yellow	530 ± 5	557 ± 5	JOE™, VIC®, HEX™, TET™, CAL Fluor® Gold 540, Yakima Yellow®
Orange	585 ± 5	610 ± 5	ROX, CAL Fluor Red 610, Cy®3.5, Texas Red®, Alexa Fluor 568
Red	625 ± 10	660 ± 10	Cy5, Quasar® 670, LightCycler® Red640, Alexa Fluor 633
Crimson	680 ± 5	712 thông cao	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
Nóng chảy phân giải cao (High Resolution Melt, HRM)	460 ± 20	510 ± 5	SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen

Lưu ý: Bộ dụng cụ QIAGEN được chỉ định để sử dụng với các dụng cụ Rotor-Gene Q MDx được tối ưu hóa đối với một số kết hợp chất nhuộm. Vui lòng tham khảo cẩm nang bộ dụng cụ tương ứng để biết thêm thông tin.

3.2 Các tính năng bên ngoài của Rotor-Gene Q MDx



- | | |
|-------------------------|--------------------------|
| 1 Lỗ thông khí trên nắp | 3 Buồng rôto |
| 2 Tay cầm nắp | 4 Đèn trạng thái dụng cụ |

3.2.1 Lỗ thông khí trên nắp

Rotor-Gene Q có lỗ thông khí ở phía sau nắp dụng cụ. Các lỗ thông khí này cho phép dụng cụ thoát nhiệt ra khỏi buồng trong quá trình hoạt động. Lỗ thông khí bị tắc nghẽn hoặc không đủ khe hở xung quanh có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của dụng cụ.

3.2.2 Tay cầm nắp

Tay cầm nắp được sử dụng để trượt nắp của dụng cụ trở lại. Tay cầm này không nhằm mục đích đỡ trọng lượng của dụng cụ và không được sử dụng để nhắc dụng cụ.

3.2.3 Buồng rôto

Buồng rôto là nơi rôto được nạp và trải qua các bước gia nhiệt và luân nhiệt được lập trình.

3.2.4 Đèn trạng thái dụng cụ

Có hai đèn trạng thái trên Rotor-Gene Q. Đèn chờ cho biết dụng cụ đang không được sử dụng. Đèn chạy nhấp nháy khi Rotor-Gene Q đang được sử dụng.

3.3 Các tính năng bên trong của Rotor-Gene Q MDx



Mặt trong của Rotor-Gene Q

1 Ô rôto

2 Ống kính

3.3.1 Ô rôto

Ô rôto giữ rôto ở nguyên tại chỗ trong dụng cụ.

3.3.2 Ống kính

Ống kính là nơi đèn đi-ốt kích thích tập trung trên các ống.

4 Quy trình Lắp đặt

4.1 Giao và lắp đặt hệ thống

Cần có một người nắm rõ thiết bị phòng thí nghiệm và máy tính của bạn hiện diện trong quá trình lắp đặt.

Các hạng mục được giao gồm:

- Dụng cụ Rotor-Gene Q MDx
- *Hướng dẫn Sử dụng Rotor-Gene Q MDx*
- Máy trộn
- Phần mềm Rotor-Gene Q MDx (sẽ được Bộ phận Bảo dưỡng Thực địa QIAGEN cài đặt trong quá trình thiết lập ban đầu)

4.1.1 Mở bao bì Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx được giao cùng với tất cả các thành phần cần thiết để thiết lập và chạy dụng cụ. Hộp cũng chứa danh sách tất cả các thành phần được cung cấp.

Lưu ý: Kiểm tra danh sách sau về tính đầy đủ để đảm bảo có tất cả các thành phần.

Lưu ý: Kiểm tra để đảm bảo rằng dụng cụ và các phụ kiện được giao không bị hư hỏng do vận chuyển trước khi lắp đặt.

Hộp phụ kiện nằm trên cùng của bao bì bằng xốp. Hộp phụ kiện chứa:

- Hướng dẫn lắp đặt (tiếng Anh; bản dịch có sẵn trên phương tiện di động kèm theo sách hướng dẫn)
- Phương tiện Di động (phần mềm)
- Phương tiện Di động (hướng dẫn)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (được tháo rời để vận chuyển an toàn)
- 36-Well Rotor (rôto này có màu đỏ)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Các hạng mục sau được gói trên mỗi mặt của bao bì băng xốp:

- Cáp USB và cáp nối tiếp RS-232
- Bộ cáp điện quốc tế
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Khi tất cả các thành phần này đã được lấy ra khỏi hộp, hãy tháo bao bì băng xốp phía trên Rotor-Gene Q MDx ra. Cẩn thận lấy Rotor-Gene Q MDx ra khỏi hộp và mở lớp bọc nhựa. Mở nắp bằng cách trượt về phía sau để tiếp cận buồng phản ứng.

Các hạng mục sau đã được lắp đặt bên trong Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (rôto này có màu xanh dương)
- 72-Well Rotor Locking Ring

Trong bao bì có thể bao gồm một máy tính xách tay, tùy thuộc vào chi tiết đơn đặt hàng của bạn.

4.1.2 Lắp đặt phần cứng

Khi đã mở bao bì Rotor-Gene Q MDx, hãy tiến hành lắp đặt như mô tả bên dưới.

THẬN TRỌNG	Thiệt hại cho dụng cụ
	Khi khởi động Rotor-Gene Q MDx ngay sau khi giao hàng ở vùng có khí hậu lạnh, các bộ phận cơ học có thể bị tắc nghẽn. Để dụng cụ thích nghi với nhiệt độ phòng ít nhất một giờ trước khi bật dụng cụ.

Hãy làm như sau:

1. Đặt Rotor-Gene Q MDx trên bề mặt bằng phẳng.
2. Đảm bảo rằng có đủ không gian phía sau dụng cụ để nắp có thể mở hoàn toàn.
3. Đảm bảo rằng có thể dễ dàng tiếp cận công tắc nguồn ở phía sau dụng cụ.
4. Không che khuất mặt sau của dụng cụ. Đảm bảo rằng dây nguồn có thể dễ dàng tháo rời nếu cần, để ngắt nguồn điện cho dụng cụ.
5. Kết nối cáp USB hoặc cáp nối tiếp RS-232 đi kèm với cổng USB hoặc cổng liên lạc ở mặt sau của máy tính.
6. Kết nối cáp USB hoặc nối tiếp RS-232 vào mặt sau của Rotor-Gene Q MDx.

- Sau đó kết nối Rotor-Gene Q MDx với nguồn điện. Kết nối một đầu của dây nguồn dòng điện xoay chiều (Alternating Current, AC) với ổ cắm ở phía sau Rotor-Gene Q MDx và đầu kia với ổ cắm điện dòng điện xoay chiều (Alternating Current, AC).

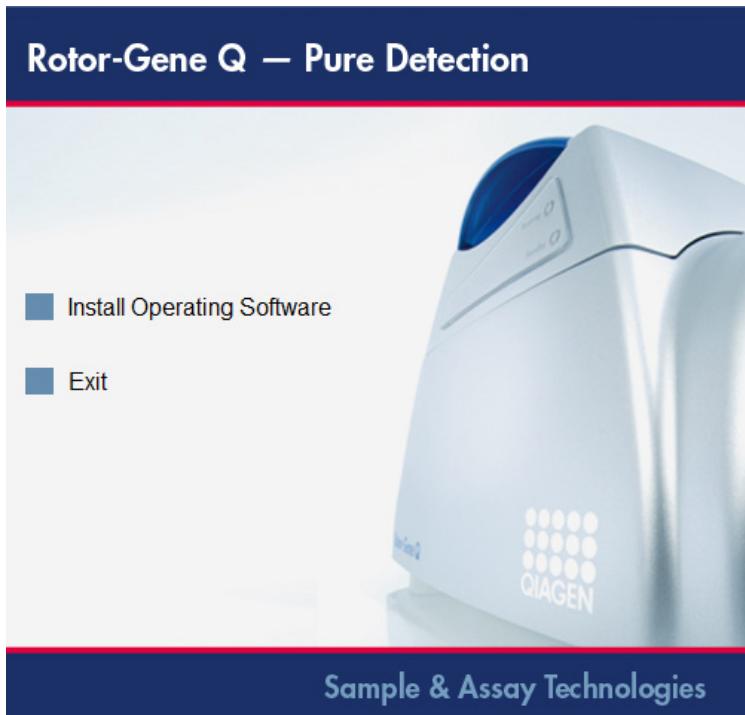


Lưu ý: Chỉ kết nối Rotor-Gene Q MDx với máy tính bằng USB và cáp nối tiếp được giao cùng với dụng cụ. Không sử dụng các loại cáp khác.

4.1.3 Cài đặt phần mềm

- Để cài đặt phần mềm Rotor-Gene Q, hãy tải xuống phần mềm từ **QIAGEN.com** và chuyển vào máy tính trên phương tiện di động không có vi-rút hoặc cấm Phương tiện Di động (phần mềm) được giao cùng với dụng cụ vào máy tính.
- Nếu quá trình cài đặt phần mềm tự động bắt đầu, hãy chọn **Install Operating Software** (Cài đặt Phần mềm Điều hành) trong cửa sổ xuất hiện hoặc điều hướng đến thư mục phần mềm RGQ trên phương tiện di động.

Lưu ý: Vui lòng tham khảo *Hướng dẫn Cài đặt Rotor-Gene Q* đi kèm dụng cụ để cài đặt dễ dàng và được hướng dẫn về các bước cài đặt phần mềm tiếp theo.



3. Khi phần mềm đã được cài đặt, biểu tượng màn hình sẽ được tạo tự động.
4. Bật Rotor-Gene Q MDx bằng cách di chuyển công tắc nằm ở phía sau bên tay trái sang vị trí "I". Đèn "Standby" (Chờ) màu xanh dương ở mặt trước của Rotor-Gene Q MDx cho biết rằng dụng cụ đã sẵn sàng để sử dụng.

Lưu ý: Khi bắt đầu kết nối với máy tính lần đầu tiên, Rotor-Gene Q MDx sẽ được hệ điều hành nhận ra và một số thông báo sẽ xuất hiện. Vui lòng tham khảo *Hướng dẫn Cài đặt Rotor-Gene Q* đi kèm dụng cụ (Phương tiện Di động và ấn bản in) để được hướng dẫn.



5. Nhấp đúp vào biểu tượng màn hình **Rotor-Gene Q Series Software** (Phần mềm Rotor-Gene Q Series) để khởi chạy phần mềm.



6. Cửa sổ **Welcome** (Chào mừng) xuất hiện lần đầu tiên phần mềm được khởi động nhưng không xuất hiện cho các lần nâng cấp phần mềm tiếp theo.



Machine Serial Number Nhập số sê-ri (7 chữ số), có thể tìm thấy ở mặt sau của Rotor-Gene Q MDx.
(Số Sê-ri Máy):

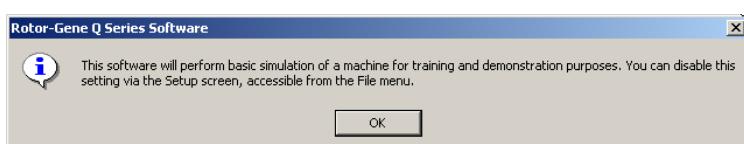
Port (Cổng): Chọn USB hoặc cổng nối tiếp. Chọn cổng liên lạc thích hợp hoặc nhấp vào nút **Auto-Detect** (Tự động Phát hiện).

Auto-Detect (Tự động Phát hiện) Khi sử dụng tùy chọn này, cổng nối tiếp hoặc USB tương ứng sẽ tự động được phát hiện và hiển thị trong danh sách thả xuống **Port** (Cổng).

Run in Virtual Mode (for demonstration) (Chạy ở Chế độ Ảo (để minh họa)) Chọn hộp này sẽ cho phép cài đặt phần mềm Rotor-Gene Q trên máy tính không được kết nối với Rotor-Gene Q MDx. Phần mềm có đầy đủ chức năng và có thể mô phỏng các lần chạy.

Lưu ý: Nếu hộp này được chọn và Rotor-Gene Q MDx được kết nối với máy tính, thông báo sau sẽ xuất hiện trước khi lần chạy bắt đầu: **You are about to run in Virtual mode** (Bạn sắp chạy ở chế độ Ảo). Để thực hiện lần chạy thực, thiết lập phải được thay đổi trong cửa sổ **Setup** (Thiết lập) (xem Phần 6.5.4).

Begin (Bắt đầu): Khi tất cả thông tin đã được nhập, nhấp vào **Begin** (Bắt đầu). Chờ cho đến khi quá trình khởi tạo hoàn tất, quá trình này có thể mất vài giây. Nếu chọn chế độ Ảo, thông báo sau sẽ xuất hiện:

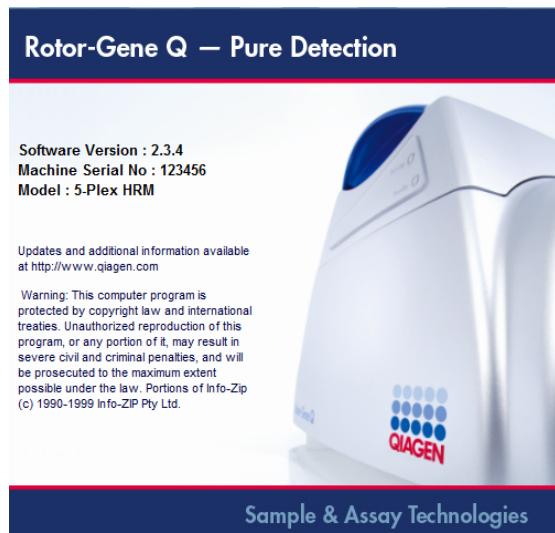


Nếu bỏ chọn hộp **Run in Virtual Mode** (Chạy ở Chế độ Ảo), phần mềm sẽ tự động khởi tạo và mở.

Exit Program (Thoát Chương trình): Nhấp vào nút này sẽ thoát khỏi chương trình.

4.1.4 Phiên bản phần mềm

Để tìm số phiên bản của bạn, nhấp vào **Help** (Trợ giúp), sau đó nhấp vào **About This Software...** (Giới thiệu về Phần mềm này...).



Cửa sổ này hiển thị thông tin chung về phần mềm, bao gồm phiên bản phần mềm, số sê-ri và kiểu mẫu dụng cụ.

Có thể sao chép tự do phần mềm để sử dụng trong tổ chức sở hữu Rotor-Gene Q MDx. Không được sao chép và phân phối phần mềm cho những người khác bên ngoài tổ chức.

4.1.5 Phần mềm bổ sung trên máy tính được kết nối với dụng cụ Rotor-Gene Q MDx

Phần mềm Rotor-Gene Q quản lý các quy trình quan trọng về thời gian trong quá trình chạy PCR và quá trình thu thập dữ liệu. Vì lý do này, điều quan trọng là phải đảm bảo rằng không có quy trình nào khác sử dụng tài nguyên hệ thống đáng kể và do đó làm chậm phần mềm Rotor-Gene Q. Điều đặc biệt quan trọng là phải chú ý đến những điểm được liệt kê dưới đây.

Quản trị viên hệ thống nên xem xét bất kỳ tác động nào mà việc sửa đổi hệ thống có thể có đối với tài nguyên trước khi thực hiện.

Phần mềm diệt vi-rút

QIAGEN nhận thức được mối đe dọa mà vi-rút máy tính gây ra cho bất kỳ máy tính nào trao đổi dữ liệu với máy tính khác. Phần mềm Rotor-Gene AssayManager phiên bản 1.0 hoặc 2.1 dự kiến sẽ được cài đặt chủ yếu trong các môi trường có các chính sách cục bộ để giảm thiểu mối đe dọa này. Tuy nhiên, QIAGEN khuyến nghị sử dụng phần mềm chống vi-rút trong mọi trường hợp.

Việc lựa chọn và cài đặt một công cụ quét vi-rút thích hợp là trách nhiệm của khách hàng. Tuy nhiên, QIAGEN đã xác thực phần mềm Rotor-Gene Q với máy tính xách tay QIAGEN kết hợp với phần mềm chống vi-rút sau để cho thấy khả năng tương thích:

- Phiên bản máy khách Microsoft Defender 4.18.2005.5

Vui lòng tham khảo trang sản phẩm trên QIAGEN.com để biết các phiên bản mới nhất của phần mềm chống vi-rút đã được xác nhận kết hợp với phần mềm Rotor-Gene Q và Rotor-Gene AssayManager phiên bản 1.0 hoặc 2.1.

Nếu một phần mềm chống vi-rút được chọn, hãy đảm bảo rằng phần mềm đó có thể được định cấu hình theo cách mà đường dẫn thư mục cơ sở dữ liệu có thể được loại trừ khỏi lần quét. Nếu không, có nguy cơ xảy ra lỗi kết nối cơ sở dữ liệu. Vì Rotor-Gene AssayManager phiên bản 1.0 và 2.1 tự động tạo các kho lưu trữ cơ sở dữ liệu mới, nên cần phải loại trừ đường dẫn thư mục đến các tệp chứ không phải các tệp đơn lẻ. Chúng tôi không khuyến nghị sử dụng phần mềm chống vi-rút mà chỉ có thể loại trừ các tệp đơn lẻ, ví dụ: McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Nếu máy tính được sử dụng trong môi trường không có mạng, hãy đảm bảo rằng phần mềm chống vi-rút hỗ trợ cập nhật ngoại tuyến.

Do đó, để có được kết quả nhất quán sau khi cài đặt phần mềm chống vi-rút, quản trị viên hệ thống phải đảm bảo những điều sau:

- Như đã giải thích ở trên, đường dẫn thư mục cơ sở dữ liệu của Rotor-Gene AssayManager 1.0 và 2.1 (**C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA**) cần được loại trừ khỏi quá trình quét tệp.
- Cập nhật cơ sở dữ liệu vi-rút không được thực hiện khi Rotor-Gene AssayManager 1.0 hoặc 2.1 đang được sử dụng.
- Vui lòng đảm bảo rằng tính năng quét toàn bộ hoặc một phần ổ cứng bị tắt trong quá trình thu thập dữ liệu real-time PCR. Nếu không, sẽ có nguy cơ ảnh hưởng xấu đến hiệu suất của dụng cụ.

Vui lòng đọc hướng dẫn sử dụng phần mềm chống vi-rút đã chọn của bạn để biết chi tiết cấu hình.

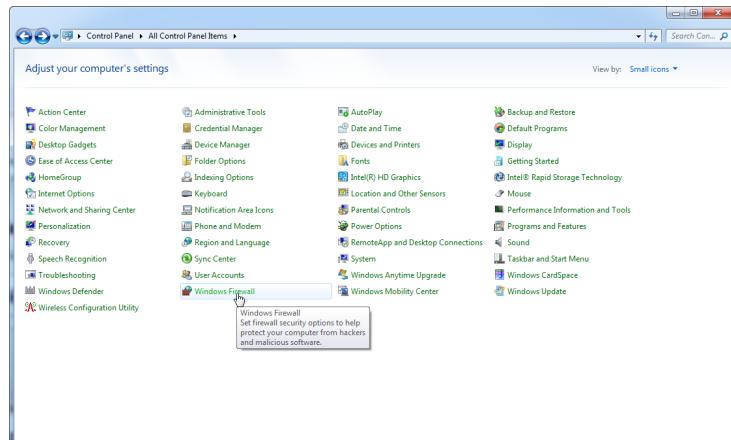
Tường lửa và mạng

Phần mềm Rotor-Gene Q có thể chạy trên các máy tính không có quyền truy cập mạng hoặc trong môi trường mạng, nếu sử dụng máy chủ cơ sở dữ liệu từ xa. Đối với hoạt động được nối mạng, tường lửa trên máy tính xách tay do QIAGEN cung cấp được định cấu hình theo cách chặn lưu lượng vào đối với tất cả các cổng ngoại trừ các cổng được yêu cầu để thiết lập kết nối mạng.

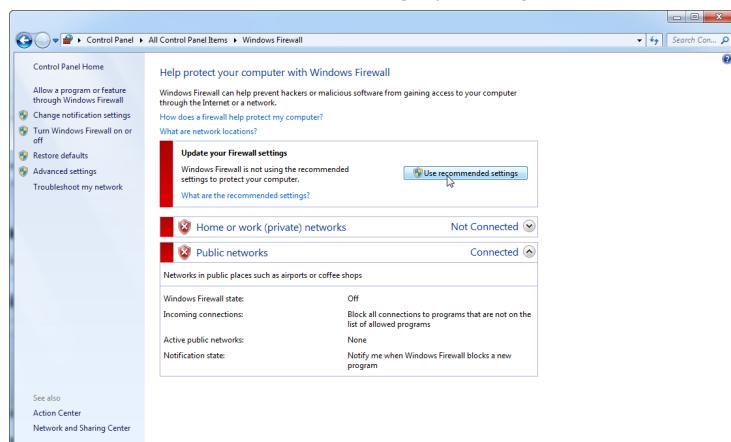
Xin lưu ý rằng việc chặn các kết nối vào không ảnh hưởng đến phản hồi đối với các yêu cầu do người dùng đưa ra. Các kết nối ra được cho phép vì chúng có thể được yêu cầu để truy xuất các bản cập nhật.

Nếu cấu hình của bạn khác, QIAGEN khuyên bạn nên định cấu hình tường lửa theo cách tương tự như đã mô tả ở trên. Để làm được điều này, quản trị viên hệ thống phải đăng nhập và thực hiện các bước sau:

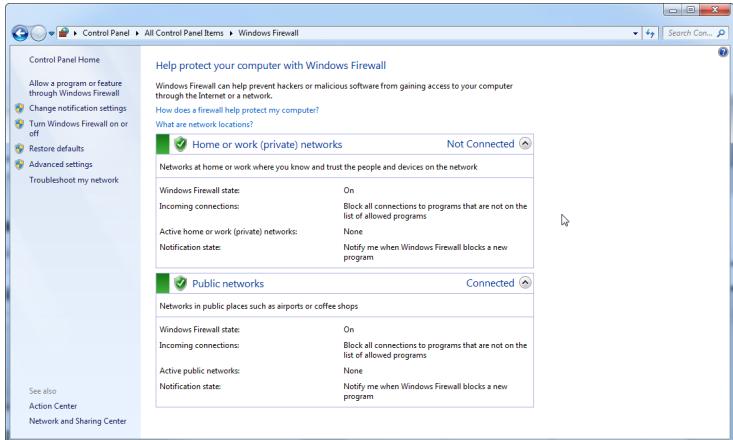
1. Mở Control Panel (Bảng điều khiển) và chọn Windows Firewall (Tường lửa Windows).



2. Chọn Use recommended settings (Sử dụng các cài đặt được đề xuất).

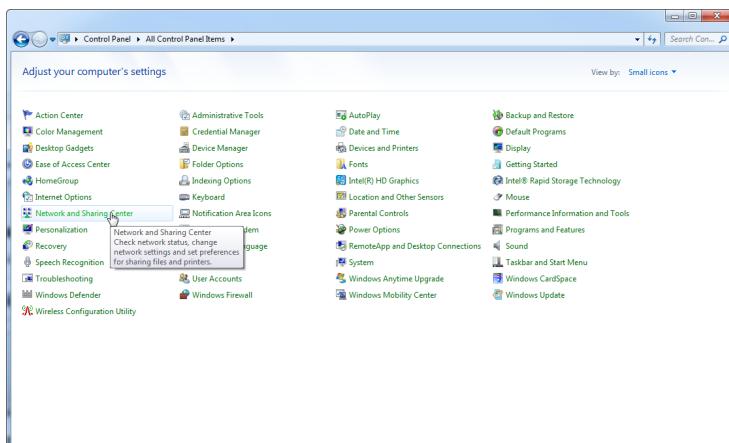


3. Kiểm tra để đảm bảo rằng các cài đặt sau đang hoạt động:

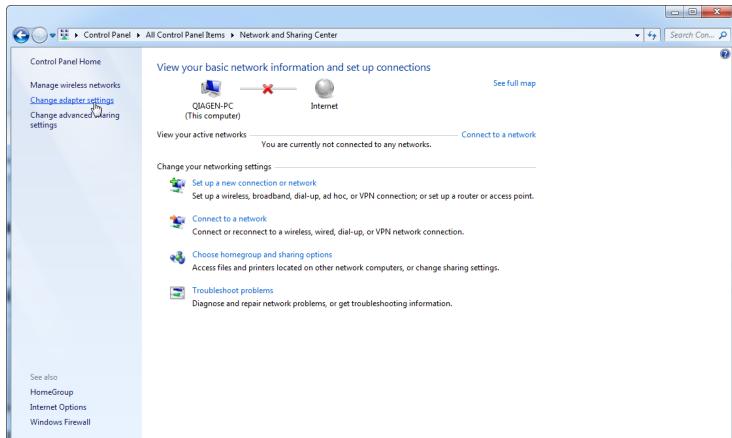


Vì lý do bảo mật và độ tin cậy, truy cập mạng qua cáp sẽ được sử dụng thay cho Wi-Fi. Máy tính xách tay do QIAGEN cung cấp có bộ chuyển đổi Wi-Fi bị tắt. Nếu cấu hình của bạn khác, quản trị viên hệ thống phải tắt bộ chuyển đổi Wi-Fi theo cách thủ công, bằng cách thực hiện các bước sau:

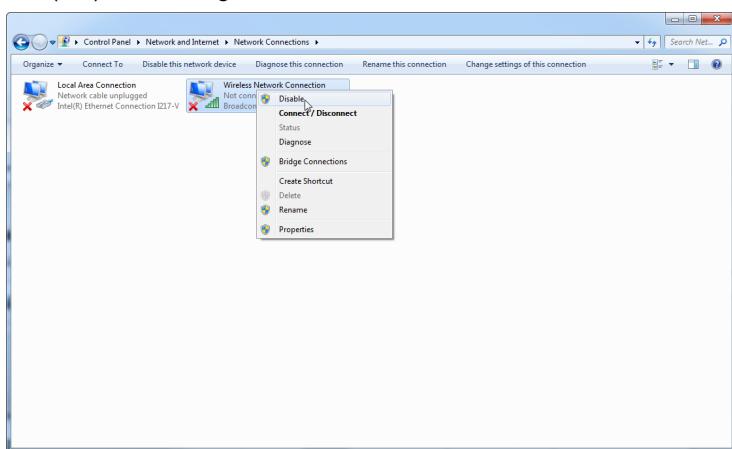
1. Mở Control Panel (Bảng điều khiển) và chọn Network and Sharing Center (Trung tâm Mạng và Chia sẻ).



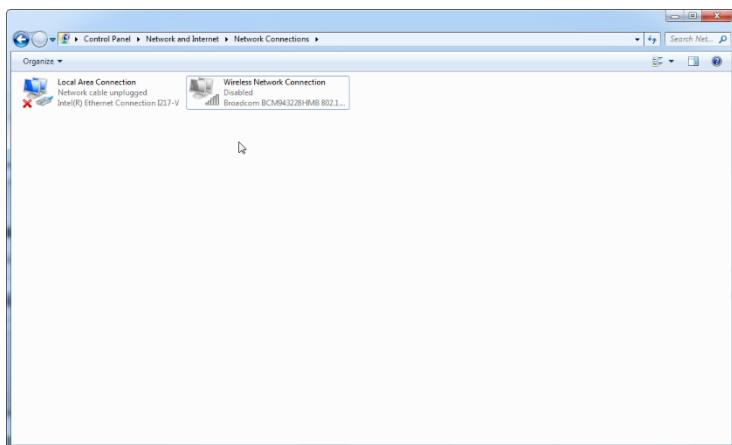
2. Chọn **Change adapter settings** (Thay đổi cài đặt bộ chuyển đổi).



3. Di chuột qua **Wireless Network Connection** (Kết nối Mạng Không dây), nhấp chuột phải và chọn **Disable** (Tắt) từ menu ngữ cảnh.



4. Kiểm tra để đảm bảo rằng **Wireless Network Connection** (Kết nối Mạng Không dây) tắt.



Công cụ hệ thống

Nhiều công cụ hệ thống có thể sử dụng tài nguyên hệ thống đáng kể ngay cả khi không có bất kỳ sự tương tác nào của người dùng. Ví dụ điển hình của các công cụ đó là:

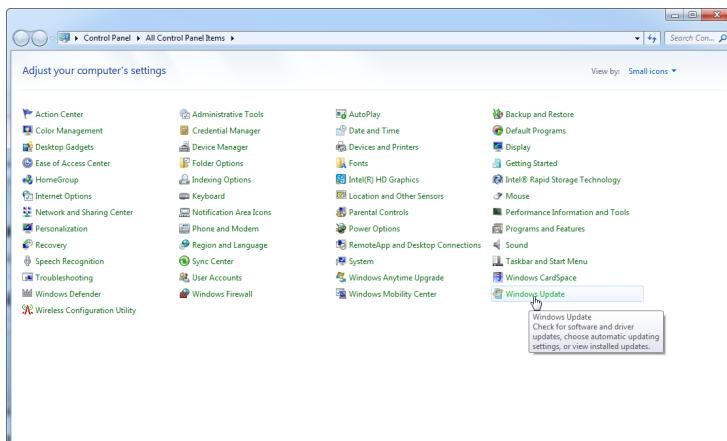
- Lập chỉ mục tệp, được thực hiện như một tác vụ nền bởi nhiều ứng dụng văn phòng hiện đại
- Chống phân mảnh ổ đĩa, công cụ này cũng thường sử dụng tác vụ nền
- Bất kỳ phần mềm nào kiểm tra các bản cập nhật trên internet
- Công cụ quản lý và giám sát từ xa

Xin lưu ý rằng do tính năng động của lĩnh vực CNTT, danh sách này có thể không đầy đủ và các công cụ có thể được phát hành mà chúng tôi chưa biết vào thời điểm viết tài liệu này. Điều quan trọng là quản trị viên hệ thống phải lưu ý rằng công cụ như vậy không hoạt động trong khi chạy PCR.

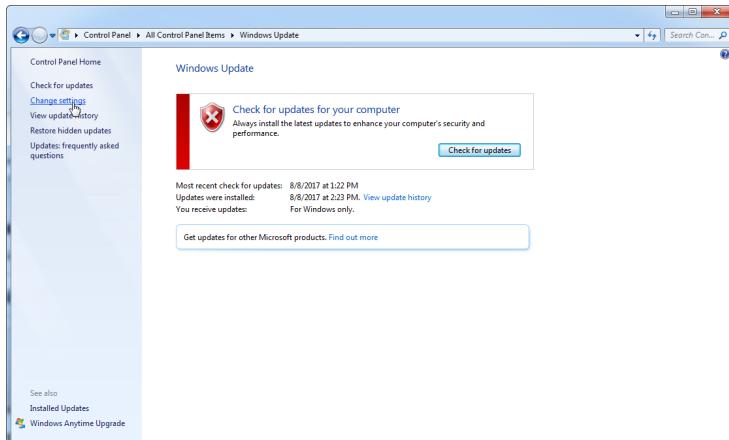
Cập nhật hệ điều hành

Các máy tính xách tay do QIAGEN cung cấp được định cấu hình để tắt các bản cập nhật tự động của hệ điều hành. Nếu cấu hình của bạn khác, quản trị viên hệ thống phải tắt mọi quy trình cập nhật tự động của hệ điều hành, bằng cách thực hiện các bước sau:

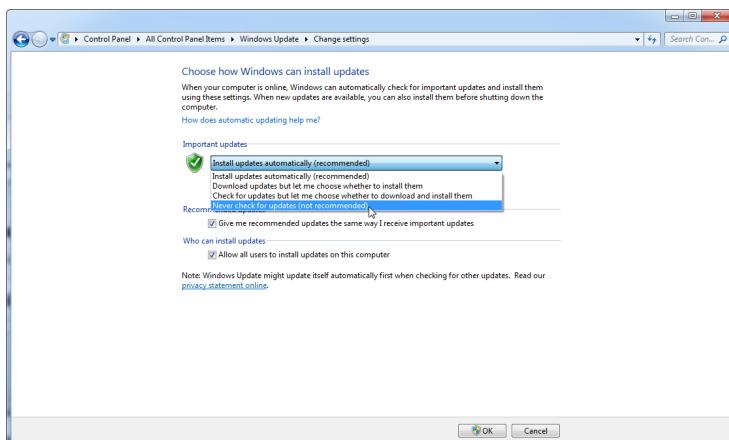
1. Mở Control Panel (Bảng điều khiển) và chọn Windows Update (Cập nhật Windows).



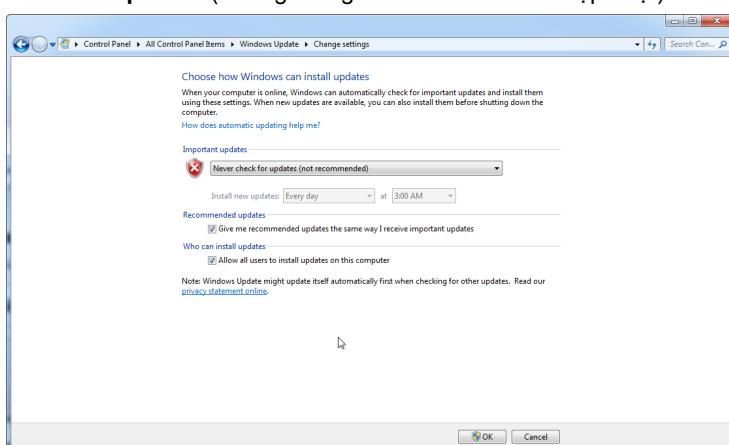
2. Chọn **Change settings** (Thay đổi cài đặt).



3. Chọn **Never check for updates** (Không bao giờ kiểm tra các bản cập nhật).



4. Kiểm tra để đảm bảo rằng tùy chọn hoạt động cho **Important updates** (Cập nhật quan trọng) là **Never check for updates** (Không bao giờ kiểm tra các bản cập nhật).



Trong trường hợp yêu cầu cập nhật do phát hiện lỗ hỏng bảo mật, QIAGEN cung cấp cơ chế cài đặt một tập hợp xác định các bản vá bảo mật Windows đã được xác nhận trực tuyến (nếu máy tính xách tay QIAGEN có kết nối Internet) hoặc dưới dạng gói ngoại tuyến, được chuẩn bị trên một máy tính riêng biệt có kết nối Internet.

Vui lòng truy cập trang sản phẩm trên **QIAGEN.com** để biết thêm thông tin.

4.2 Yêu cầu về vị trí

Dụng cụ Rotor-Gene Q MDx phải được đặt tránh ánh nắng trực tiếp chiếu vào, xa các nguồn nhiệt và xa các nguồn rung và nhiễu điện. Tham khảo Phụ lục A để biết các điều kiện vận hành (nhiệt độ và độ ẩm). Vị trí lắp đặt không nên có quá nhiều gió lùa, độ ẩm quá cao, quá nhiều bụi và không chịu dao động lớn về nhiệt độ.

Tham khảo Phụ lục A để biết trọng lượng và kích thước của dụng cụ Rotor-Gene Q MDx. Đảm bảo bàn làm việc khô ráo, sạch sẽ và có thêm không gian cho các phụ kiện. Để biết thêm thông tin về những thông số kỹ thuật cần thiết cho bàn làm việc, hãy liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

Lưu ý: Điều cực kỳ quan trọng là dụng cụ Rotor-Gene Q MDx phải được đặt trên một bề mặt ổn định, bằng phẳng và không bị rung. Tham khảo điều kiện vận hành — xem Phụ lục A.

Dụng cụ Rotor-Gene Q MDx phải được đặt trong phạm vi khoảng 1,5 m từ ổ cắm điện AC được nối đất (tiếp đất) đúng cách.

CẢNH BÁO 	Môi trường dễ cháy nổ Dụng cụ Rotor-Gene Q MDx không được thiết kế để sử dụng trong môi trường dễ cháy nổ.
--	--

CẢNH BÁO 	Nguy cơ nóng quá mức Để đảm bảo thông khí đầy đủ, hãy duy trì khoảng trống tối thiểu 10 cm ở phía sau dụng cụ Rotor-Gene Q MDx. Không được che những khe hở và lỗ mở để đảm bảo sự thông khí của dụng cụ Rotor-Gene Q MDx.
--	---

4.3 Kết nối nguồn AC

4.3.1 Yêu cầu nguồn điện

Rotor-Gene Q MDx vận hành ở:

- 100 – 240 V AC tại 50 – 60 Hz, 520 VA (cao điểm)

Đảm bảo rằng định mức áp của Rotor-Gene Q MDx tương thích với điện áp AC tại vị trí lắp đặt. Dao động điện áp của nguồn điện chính không được vượt quá 10% điện áp nguồn danh định.

4.3.2 Yêu cầu nối đất

Để bảo vệ nhân viên vận hành, QIAGEN khuyến nghị Rotor-Gene Q MDx được nối đất (tiếp đất) đúng cách. Dụng cụ được trang bị dây nguồn AC 3 dây dẫn, khi được kết nối với ổ cắm điện AC thích hợp sẽ nối đất (tiếp đất) cho dụng cụ. Để duy trì tính năng bảo vệ này, không vận hành dụng cụ từ ổ cắm điện AC không nối đất (tiếp đất).

4.3.3 Lắp đặt dây nguồn AC

Kết nối một đầu của dây nguồn AC với ổ cắm ở phía sau dụng cụ Rotor-Gene Q MDx và đầu kia với ổ cắm điện AC.

4.4 Cấu hình cho bảo mật Windows

Máy tính xách tay do QIAGEN cung cấp để sử dụng với dụng cụ Rotor-Gene Q MDx của bạn có thể được cài đặt sẵn Microsoft Windows 7 hoặc Windows 10 và được định cấu hình với tài khoản người dùng Windows chuẩn (không phải quản trị) và tài khoản quản trị viên. Trong quá trình sử dụng hệ thống thông thường, tài khoản chuẩn sẽ được sử dụng vì phần mềm Rotor-Gene Q và Rotor-Gene AssayManager phiên bản 1.0 hoặc 2.1 được thiết kế để chạy mà không có quyền quản trị viên. Tài khoản quản trị viên – tài khoản có màn hình nền màu đỏ – sẽ chỉ được sử dụng để cài đặt phần mềm Rotor-Gene Q hoặc Rotor-Gene AssayManager phiên bản 1.0 hoặc 2.1 và Phần mềm bổ sung trên máy tính được kết nối với dụng cụ Rotor-Gene Q MDx (xem phần “Phần mềm diệt vi-rút”). Việc sử dụng tài khoản quản trị viên được biểu thị bằng màn hình nền màu đỏ. Hãy đảm bảo rằng bạn luôn đăng nhập với tư cách là người dùng chuẩn để sử dụng thông thường.

Q1a#g3n!A6 là mật khẩu mặc định của tài khoản quản trị viên. Vui lòng thay đổi mật khẩu quản trị viên sau lần đăng nhập đầu tiên. Hãy đảm bảo rằng mật khẩu được bảo mật và không bị mất. Không có mật khẩu cho tài khoản người vận hành.

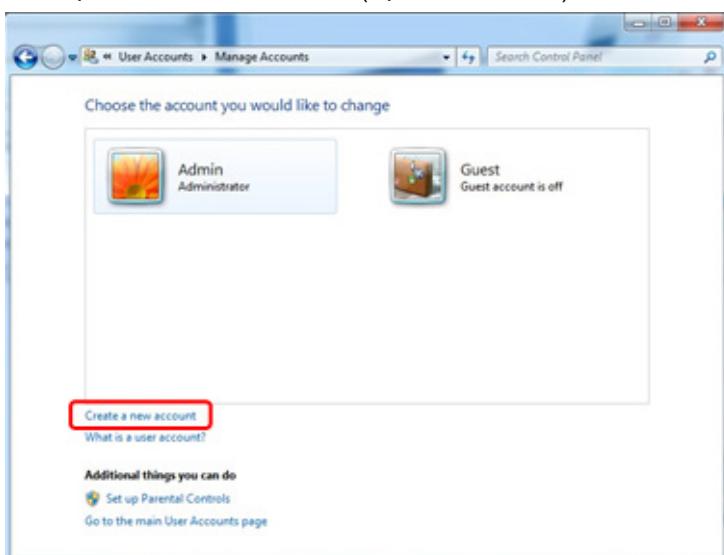
Nếu mật khẩu quản trị viên máy tính xách tay bị mất, chúng tôi khuyên bạn nên liên hệ với Microsoft để được hỗ trợ.

Nếu cấu hình của bạn khác và không chứa tài khoản không quản trị nào, quản trị viên hệ thống phải thiết lập một tài khoản người dùng Windows chuẩn khác để ngăn truy cập vào các vùng hệ thống quan trọng như Tệp Chương trình, thư mục Windows (ví dụ: truy cập vào chức năng cài đặt hoặc gỡ cài đặt, bao gồm các ứng dụng, thành phần hệ điều hành, cài đặt ngày/giờ, cập nhật Windows, tường lửa, quyền và vai trò của người dùng, kích hoạt chống vi-rút) hoặc cài đặt liên quan đến hiệu suất như tiết kiệm năng lượng.

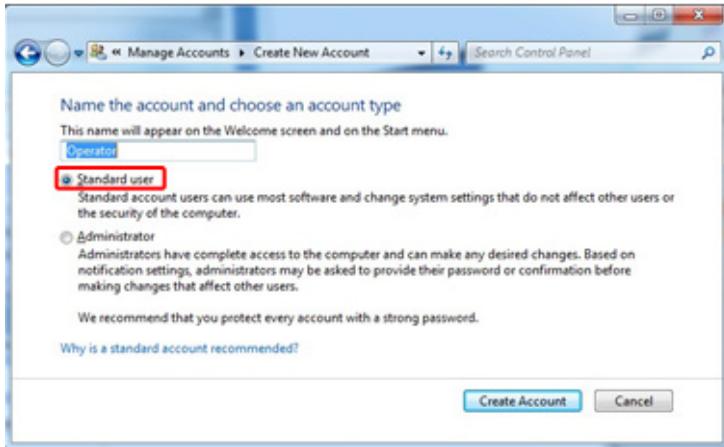
Để tạo tài khoản người dùng chuẩn trong Windows 7, hãy làm theo các bước sau được mô tả trong phần “Tạo tài khoản người dùng mới”:

Mở Bảng điều khiển Windows qua menu **Start** (Bắt đầu) và chọn **User Accounts** (Tài khoản Người dùng) > **Manage Accounts** (Quản lý Tài khoản).

- Chọn **Create a new account** (Tạo tài khoản mới).



- Đặt tên cho tài khoản và chọn **Standard User** (Người dùng Chuẩn) làm loại tài khoản.



3. Nhấp vào **Create Account** (Tạo Tài khoản).

4.5 Yêu cầu máy trạm

Máy tính xách tay, được cung cấp tùy chọn với Rotor Gene Q MDx, đáp ứng các yêu cầu của phần mềm Rotor Gene Q, được trình bày chi tiết trong bảng sau.

Yêu cầu hệ thống máy trạm

Mô tả	Yêu cầu tối thiểu
Hệ điều hành	Microsoft® Windows® 10 Bản Professional (64 bit); Microsoft Windows 7 Bản Professional (32 bit hoặc 64 bit)* (Gói Dịch vụ 1)
Bộ xử lý	Intel® Core™ 2 Duo 1,66 GHz trở lên
Bộ nhớ chính	RAM tối thiểu 1 GB
Dung lượng ổ cứng	Ổ cứng tối thiểu 10 GB
Đồ họa	Bộ chuyển đổi và màn hình ít nhất 1.200 x 800 điểm ảnh
Cổng	Cổng nối tiếp RS-232 hoặc cổng USB
Thiết bị trỏ	Cần có bàn di chuột hoặc chuột hoặc tương đương
Bluetooth	Phải tắt
Trình xem PDF hoặc tương tự	Phải được cài đặt; không phải là một phần của gói cài đặt phần mềm
Tùy chọn nguồn điện	Không bao giờ tắt đĩa cứng, để ở chế độ ngủ đông hoặc chuyển sang chế độ chờ

* Phải có Microsoft Windows 10 hoặc Windows 7 bản Professional để chạy phần mềm Rotor-Gene Q với các tính năng bảo mật (xem Phần 6.9). Các tính năng bảo mật không khả dụng nếu sử dụng Windows 10 hoặc Windows 7 bản Home.

† Khi sử dụng phần mềm Rotor-Gene AssayManager® phiên bản 1.0 hoặc 2.1, các yêu cầu máy tính tối thiểu sau sẽ khác nhau: Cần có bộ xử lý Intel Core i3-380M, bộ nhớ chính RAM 4 GB, ổ cứng 250 GB, cổng USB.

4.6 Mở bao gì và lắp đặt Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx được giao cùng với tất cả các thành phần cần thiết để thiết lập và chạy dụng cụ. Hộp cũng chứa danh sách tất cả các thành phần được cung cấp.

Lưu ý: Kiểm tra danh sách sau về tính đầy đủ để đảm bảo có tất cả các thành phần.

Lưu ý: Kiểm tra để đảm bảo rằng dụng cụ và các phụ kiện được giao không bị hư hỏng do vận chuyển trước khi lắp đặt.

Hộp phụ kiện nằm trên cùng của bao bì bằng xốp. Hộp phụ kiện chứa:

- Hướng dẫn lắp đặt (tiếng Anh; bản dịch có sẵn trên phương tiện di động kèm theo sách hướng dẫn)
- Phương tiện Di động (phần mềm)
- Phương tiện Di động (hướng dẫn)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (được tháo rời để vận chuyển an toàn)
- 36-Well Rotor (rôto này có màu đỏ)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Các hạng mục sau được gói trên mỗi mặt của bao bì bằng xốp:

- Cáp USB và cáp nối tiếp RS-232
- Bộ cáp điện quốc tế
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Khi tất cả các thành phần này đã được lấy ra khỏi hộp, hãy tháo bao bì bằng xốp phía trên Rotor-Gene Q MDx ra. Cẩn thận lấy Rotor-Gene Q MDx ra khỏi hộp và mở lớp bọc nhựa. Mở nắp bằng cách trượt về phía sau để tiếp cận buồng phản ứng.

Các hạng mục sau đã được lắp đặt bên trong Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (rôto này có màu xanh dương)
- 72-Well Rotor Locking Ring

Trong bao bì có thể bao gồm một máy tính xách tay, tùy thuộc vào chi tiết đơn đặt hàng của bạn.

4.6.1 Nâng cấp phần mềm

Các bản cập nhật phần mềm có sẵn trên Trang web QIAGEN tại <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/> và cũng có thể truy cập từ menu **Help** (Trợ giúp) trong phần mềm. Để tải xuống phần mềm, cần phải đăng ký trực tuyến.

4.7 Phụ kiện

Có thể đặt hàng riêng Rotor-Discs và các phụ kiện để sử dụng với Rotor-Gene Q MDx. Để biết thêm chi tiết, hãy xem Phần 16.

4.8 Đóng gói lại và vận chuyển Rotor-Gene Q MDx

Khi đóng gói lại Rotor-Gene Q MDx để vận chuyển, phải sử dụng các vật liệu đóng gói ban đầu. Nếu không có vật liệu đóng gói ban đầu, hãy liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN. Đảm bảo rằng dụng cụ đã được chuẩn bị đúng cách (xem Bảo trì) trước khi đóng gói và không gây nguy hiểm sinh học hoặc hóa học.

4.9 Bắt đầu

4.9.1 BẮT Rotor-Gene Q MDx và máy trạm

Đảm bảo kết nối Rotor-Gene Q với Notebook qua USB hoặc RS-232 và cả Notebook và Rotor-Gene Q đều được cắm điện và cấp nguồn.

5 Quy trình Vận hành

Trước khi tiếp tục, chúng tôi khuyên bạn nên tự làm quen với các tính năng của dụng cụ bằng cách tham khảo Phần 3.

THẬN TRỌNG 	Thiệt hại cho dụng cụ Chỉ sử dụng tấm lưu chất và vật tư tiêu hao của QIAGEN với Rotor-Gene Q MDx. Thiệt hại do sử dụng các loại tấm lưu chất hoặc vật tư tiêu hao khác sẽ làm mất hiệu lực bảo hành của bạn.
--	---

THẬN TRỌNG 	Nguy cơ thiệt hại vật chất Tránh di chuyển bàn làm việc và gây rung động cho Rotor-Gene Q MDx trong quá trình vận hành để tránh làm ảnh hưởng đến các phép đo quang học rất nhạy.
---	---

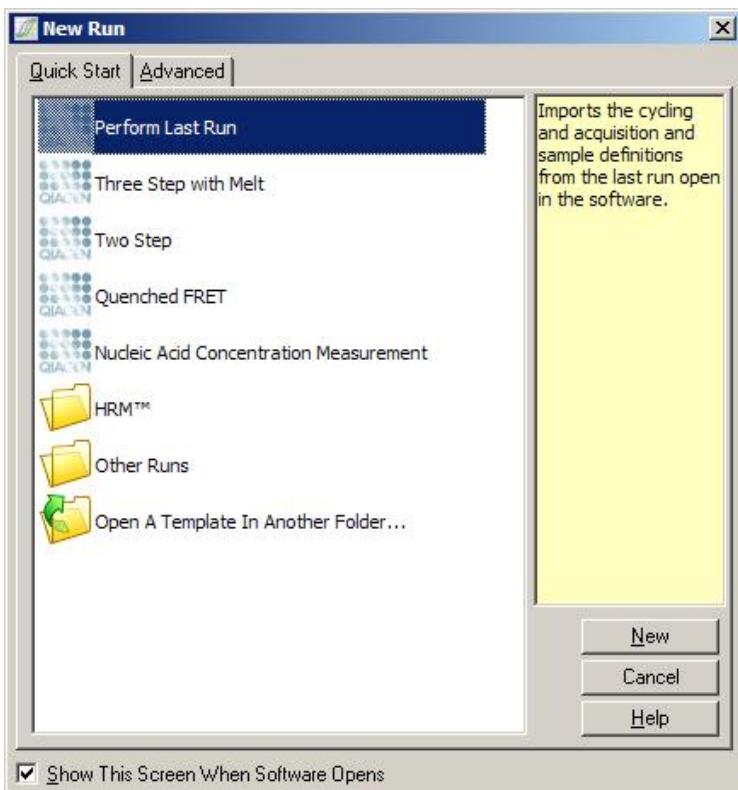
5.1 Sử dụng phần mềm Rotor-Gene Q MDx

Có thể thiết lập các lần chạy mới bằng trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh) hoặc trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao), xuất hiện khi phần mềm được khởi động. Trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh) được thiết kế để cho phép người dùng bắt đầu lần chạy càng nhanh càng tốt. Trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao) cho phép nhiều tùy chọn hơn, chẳng hạn như cấu hình Gain Optimization (Tối ưu hóa Khuếch đại) và cài đặt thẻ tích. Để thuận tiện, trình hướng dẫn có một số mẫu với các điều kiện luân nhiệt và kênh thu nhận mặc định. Để thay đổi loại trình hướng dẫn, hãy chọn tab thích hợp ở đầu cửa sổ **New Run** (Lần chạy Mới).

5.1.1 Trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh)

Trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh) cho phép người dùng bắt đầu lần chạy càng nhanh càng tốt. Người dùng có thể chọn từ một tập hợp các mẫu thường được sử dụng và nhập các thông số tối thiểu để bắt đầu. Trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh) giả định rằng thẻ tích phản ứng là 25 µl. Đối với các thẻ tích phản ứng khác, hãy sử dụng trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao) (xem Phần 5.1.2).

Bước đầu tiên, chọn mẫu mong muốn cho lần chạy bằng cách nhấp đúp vào mẫu từ danh sách trong cửa sổ **New Run** (Lần chạy Mới).



Perform Last Run (Thực hiện Lần chạy Cuối cùng):

Perform Last Run (Thực hiện Lần chạy Cuối cùng) sử dụng các thông tin xác định luân nhiệt, thu nhận và mẫu từ lần chạy cuối cùng được mở trong phần mềm.

Three Step with Melt (Ba bước với Nóng chảy):

Đây là chương trình luân nhiệt ba bước và đường cong nóng chảy với thu nhận dữ liệu trên kênh màu xanh lá.

Two Step (Hai bước):

Đây là chương trình luân nhiệt hai bước với dữ liệu thu được trên các kênh xanh lá, vàng, cam và đỏ.

Quenched FRET (FRET được thu nhận):

Đây là chương trình luân nhiệt ba bước và đường cong nóng chảy. Không giống như Three Step with Melt (Ba bước với Nóng chảy), thu nhận nằm ở cuối bước gần mồi.

Nucleic Acid Concentration Measurement (Đo Nồng độ Axit Nucleic):

Đây là mẫu mặc định để đo nồng độ axit nucleic bằng cách sử dụng chất nhuộm xen kẽ.

HRM:

Thư mục này chứa các chương trình nóng chảy phân giải cao.

Other Runs (Các lần chạy Khác):

Thư mục này chứa các chương trình bổ sung.

Chương trình luân nhiệt và thu nhận cho tất cả các mẫu có thể được thay đổi bằng cách sử dụng trình hướng dẫn.

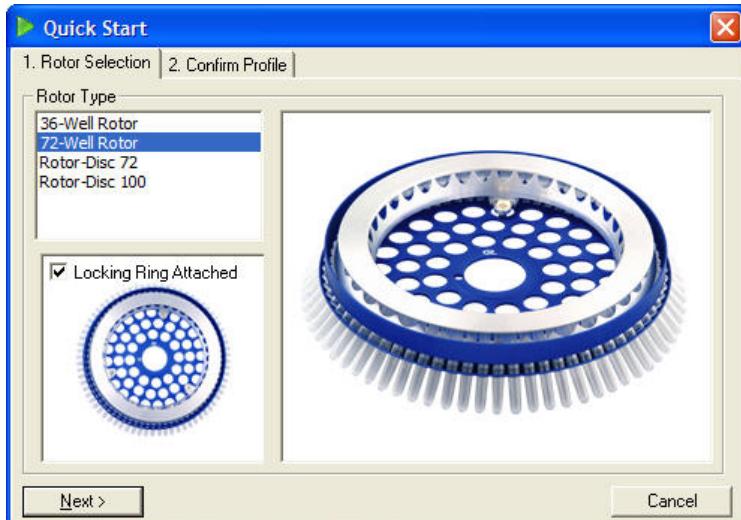
Lưu ý: Có thể thêm các mẫu do người dùng xác định vào danh sách mẫu trong trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh) bằng cách sao chép hoặc lưu tệp *.ret vào **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates**. Sau khi sao chép tệp vào đường dẫn này, mẫu sẽ xuất hiện dưới dạng biểu tượng trong danh sách. Nếu bạn muốn có các biểu tượng tùy chỉnh cho mẫu, hãy tạo ảnh *.ico có cùng tên tệp với mẫu.

Có thể tạo các thư mục con thành các mẫu liên quan đến nhóm. Điều này cho phép sắp xếp thuận tiện các mẫu, ví dụ như trong trường hợp một số người dùng đang sử dụng cùng một dụng cụ.

Lựa chọn rôto

Trong cửa sổ tiếp theo, chọn loại rôto từ danh sách.

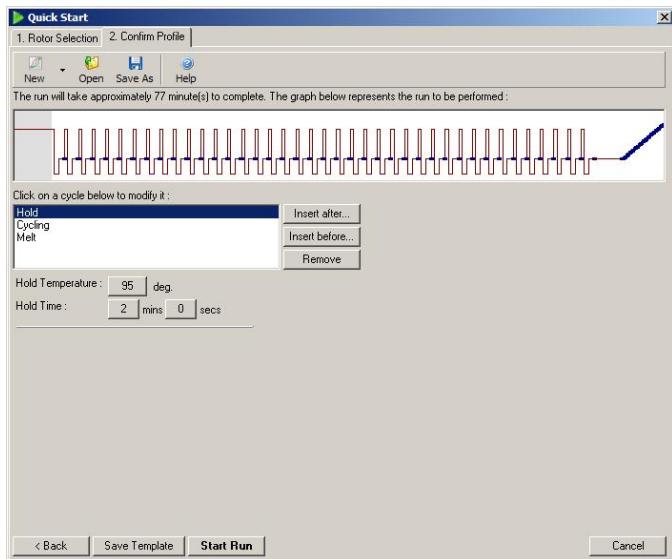
Đánh dấu chọn hộp kiểm **Locking Ring Attached** (Đã gắn Vòng khóa), sau đó nhấp vào **Next** (Tiếp theo).



Xác nhận chương trình

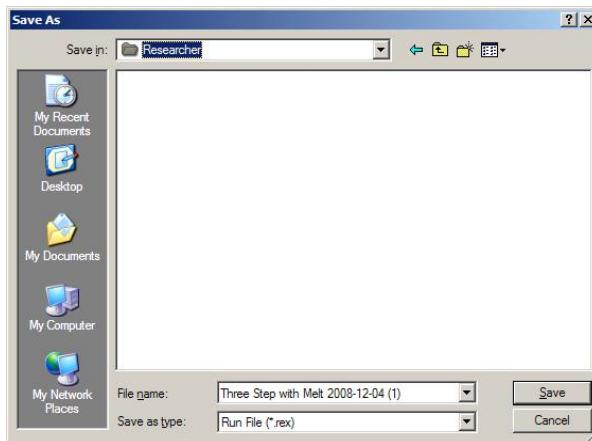
Các điều kiện luân nhiệt và kênh thu nhận của mẫu đã chọn được nhập. Có thể thay đổi các điều kiện này bằng cách sử dụng cửa sổ **Edit Profile** (Chỉnh sửa Chương trình) (xem Phần “Chỉnh sửa Chương trình”).

Để bắt đầu một lần chạy, nhấp vào nút **Start Run** (Bắt đầu Chạy). Cũng có thể lưu mẫu trước khi bắt đầu chạy bằng cách nhấp vào **Save Template** (Lưu mẫu).



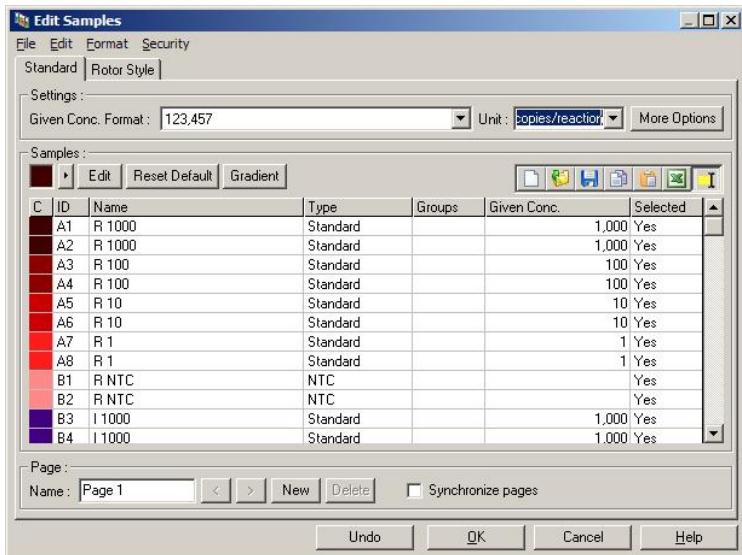
Lưu lần chạy

Sau khi nhập vào nút **Start Run** (Bắt đầu Chạy), cửa sổ **Save As** (Lưu dưới dạng) xuất hiện. Có thẻ lưu lần chạy ở vị trí mong muốn của người dùng. Lần chạy được cung cấp một tên tệp bao gồm mẫu được sử dụng và ngày chạy. Tên tệp cũng bao gồm một số sê-ri (1, 2, v.v.) cho phép tự động đặt tên cho nhiều lần chạy sử dụng cùng một mẫu trong cùng một ngày.



Thiết lập mẫu

Khi lần chạy đã bắt đầu, cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa Mẫu) cho phép xác định và mô tả các mẫu.

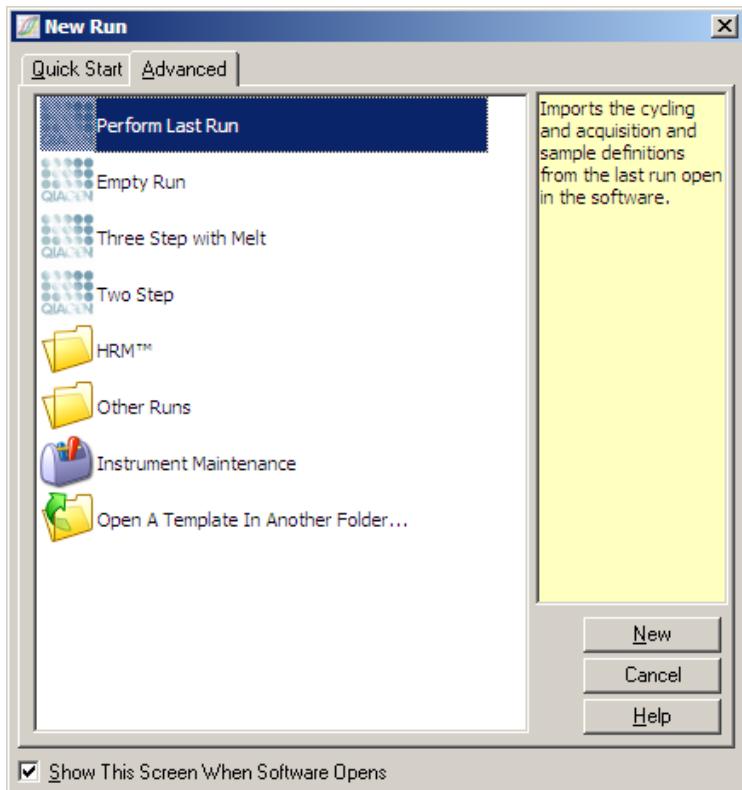


Cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa Mẫu) xuất hiện sau khi lần chạy bắt đầu để người dùng có thể sử dụng thời gian này để nhập tên mẫu. Nếu tên mẫu được nhập quá nhanh trong lần chạy (ví dụ: sử dụng máy quét mã vạch), điều này có thể dẫn đến các chữ cái bị hoán vị trong tên mẫu. Do đó, nên tránh sử dụng máy quét mã vạch và nếu có thể, hãy nhập tên mẫu sau khi lần chạy kết thúc. Để biết thông tin về cách thiết lập thông tin xác định mẫu trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa Mẫu), xem Phần 6.8.4.

5.1.2 Trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao)

Trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao) cho phép các tùy chọn không có sẵn trong trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh), chẳng hạn như cấu hình tối ưu hóa khuếch đại.

Để sử dụng trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao), chọn một mẫu bằng cách nhấp đúp vào tên mẫu từ danh sách trong tab **Advanced** (Nâng cao) của cửa sổ **New Run** (Lần chạy Mới).



Các tùy chọn mẫu được cung cấp trong cửa sổ này tương tự như các tùy chọn được cung cấp khi sử dụng trình hướng dẫn Quick Start (Khởi động Nhanh) (Phần 5.1.1).

Perform Last Run (Thực hiện Lần chạy Cuối cùng):

Perform Last Run (Thực hiện Lần chạy Cuối cùng) nhập các định nghĩa luân nhiệt, thu nhận và mẫu từ lần chạy cuối cùng được mở trong phần mềm.

Empty Run (Lần chạy Trống):

Đây là lần chạy trống cho phép người dùng xác định tất cả các thông số của chương trình.

Three Step with Melt (Ba bước với Nóng chảy):

Đây là chương trình luân nhiệt hai bước chỉ thu nhận dữ liệu trên kênh màu xanh lá, để tăng tốc độ chạy.

HRM:

Thư mục này chứa 2 chương trình nóng chảy phân giải cao.

Other Runs (Các lần chạy Khác):

Thư mục này chứa các chương trình bổ sung.

Instrument Maintenance (Bảo trì Dụng cụ):

Phần này chứa mẫu được sử dụng trong quá trình Xác minh Nhiệt độ Quang học (Optical Temperature Verification, OTV). Để biết thêm thông tin, xem Phần 9. Mẫu này được khóa để đảm bảo chương trình sẽ luôn hoạt động chính xác.

Lưu ý: Có thể thêm các mẫu do người dùng xác định vào danh sách mẫu bằng cách sao chép hoặc lưu tệp *.ret vào **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates**. Sau khi sao chép tệp vào đường dẫn này, mẫu sẽ xuất hiện dưới dạng biểu tượng trong danh sách.

Cửa sổ New Run Wizard (Trình hướng dẫn Lần chạy Mới) 1

Trong cửa sổ tiếp theo, chọn loại rôto từ danh sách.

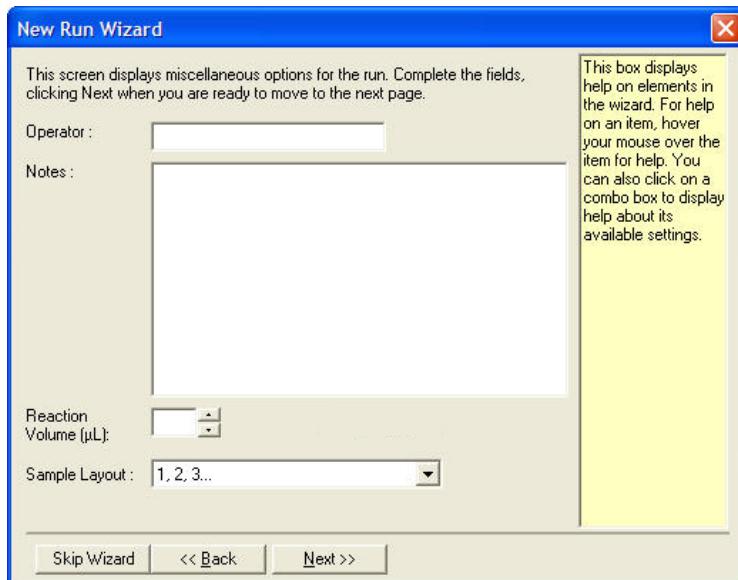
Đánh dấu chọn hộp kiểm **Locking Ring Attached** (Đã gắn Vòng khóa) và nhấp vào **Next** (Tiếp theo) để tiếp tục.



Cửa sổ New Run Wizard (Trình hướng dẫn Lần chạy Mới) 2

Trong cửa sổ tiếp theo, có thể nhập tên người dùng và ghi chú về quá trình chạy. Cũng phải nhập thể tích phản ứng.

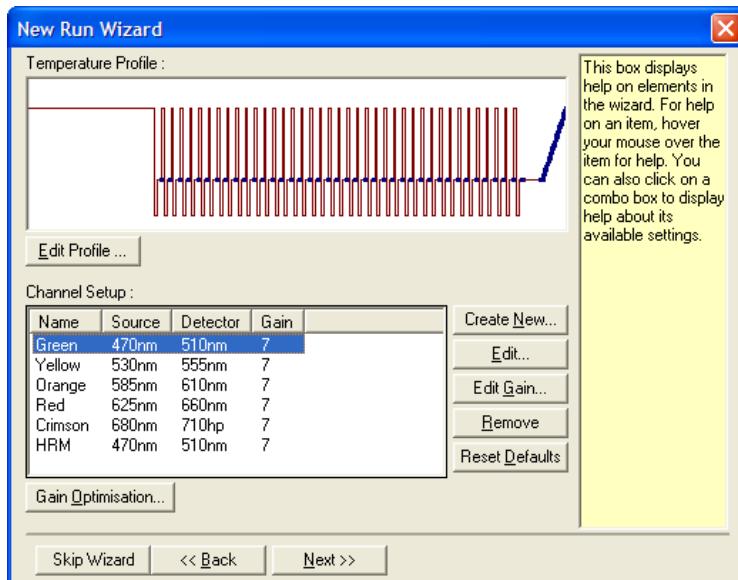
Nếu 72-Well Rotor được chọn trong cửa sổ 1, có sẵn ba tùy chọn **Sample Layout** (Bố cục Mẫu) trong menu thả xuống. “**1, 2, 3...**” là tùy chọn mặc định. Hầu hết người dùng chọn tùy chọn này. Nên chọn “**1A, 1B, 1C...**” khi nạp mẫu vào các 0.1 ml Strip Tubes liền kề bằng cách sử dụng ống pipet đa kênh có 8 kênh. Có thể chọn bố cục “**A1, A2, A3...**” nếu thích hợp.



Cửa sổ New Run Wizard (Trình hướng dẫn Lần chạy Mới) 3

Trong cửa sổ này, có thể sửa đổi **Temperature Profile** (Chương trình Nhiệt độ) và **Channel Setup** (Thiết lập Kênh). Nếu nhấp vào nút **Edit Profile...** (Chỉnh sửa Chương trình...), cửa sổ **Edit Profile** (Chỉnh sửa Chương trình) sẽ xuất hiện, cho phép thay đổi các điều kiện luân nhiệt và lựa chọn các kênh thu nhận (Phần Cảnh chỉnh sửa Chương trình).

Sau khi thiết lập chương trình, nhấp vào nút **Gain Optimisation...** (Tối ưu hóa Khuếch đại...) để hiển thị cửa sổ **Gain Optimisation** (Tối ưu hóa Khuếch đại) (xem trang 61).



Chỉnh sửa Chương trình

Cửa sổ **Edit Profile** (Chỉnh sửa Chương trình) cho phép chỉ định các điều kiện luân nhiệt và các kênh thu nhận. Chương trình ban đầu được hiển thị dựa trên mẫu được chọn khi thiết lập lần chạy (xem trang 45). Chương trình được hiển thị dưới dạng đồ họa. Danh sách các phân đoạn của chương trình xuất hiện bên dưới màn hình đồ họa. Danh sách này có thể bao gồm Hold (Giữ) (trang 53), Cycling (Luân nhiệt) (trang 54), Melt (Nóng chảy) (trang 54) hoặc HRM nếu dụng cụ có kênh HRM (trang 57).

Có thể chỉnh sửa mỗi giai đoạn của chương trình bằng cách nhấp vào vùng thích hợp của màn hình đồ họa hoặc nhấp vào tên trong danh sách, sau đó thay đổi cài đặt xuất hiện.

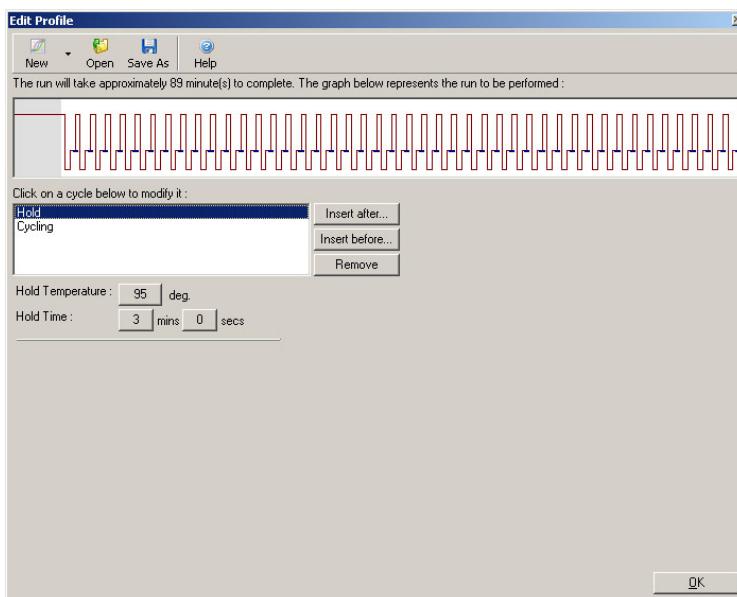
Insert after... (Chèn sau...): Giai đoạn này cho phép thêm một chu kỳ mới sau chu kỳ đã chọn.

Insert before... (Chèn trước...): Giai đoạn này cho phép thêm một chu kỳ mới trước chu kỳ đã chọn.

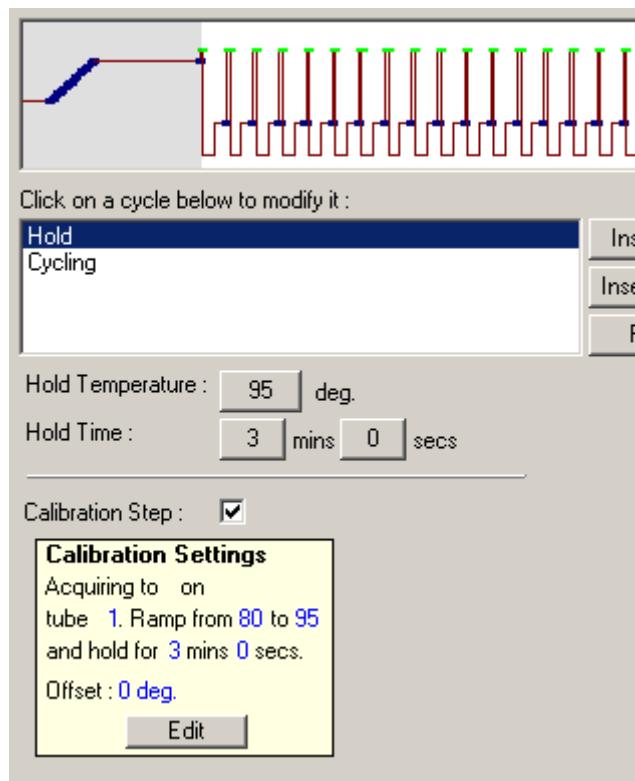
Remove (Xóa): Giai đoạn này sẽ xóa chu kỳ đã chọn khỏi chương trình.

Giữ

Hold (Giữ) hướng dẫn Rotor-Gene Q MDx duy trì ở nhiệt độ được chỉ định trong khoảng thời gian đã đặt. Để thay đổi nhiệt độ, nhấp vào nút **Hold Temperature** (Giữ Nhiệt độ) và nhập hoặc sử dụng thanh trượt để chọn nhiệt độ mong muốn. Để thay đổi khoảng thời gian Hold (Giữ), nhấp vào các nút **Hold Time** (Thời gian Giữ), **mins** (phút) và **secs** (giây).



Nếu thực hiện Luân nhiệt Biến tính Quang học, có thể sử dụng Hold (Giữ) làm bước hiệu chuẩn. Trong trường hợp này, hiệu chuẩn nóng chảy được thực hiện trước khi Hold (Giữ). Theo mặc định, điều này được định cấu hình cho lần Hold (Giữ) đầu tiên trong lần chạy, nhưng có thể được thay đổi nếu cần.



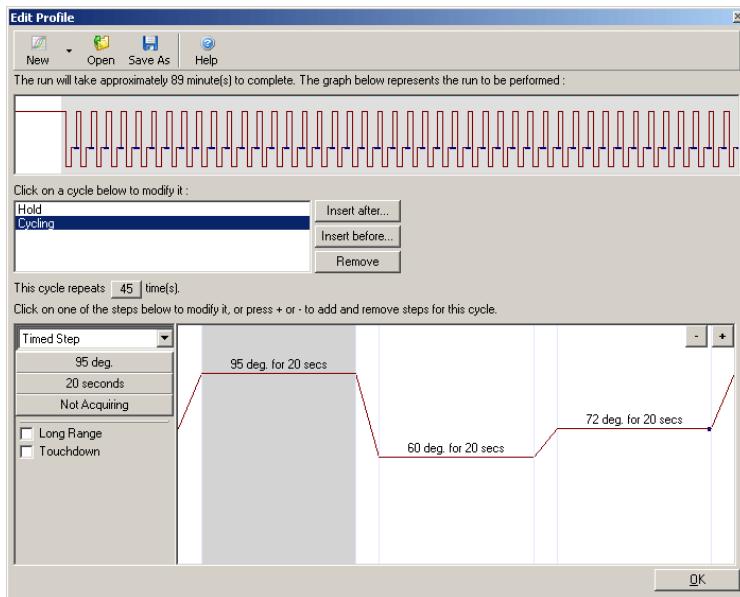
Để biết thêm thông tin về Luân nhiệt Biến tính Quang học, xem trang 57.

Luân nhiệt

Cycling (Luân nhiệt) lặp lại các bước nhiệt độ và thời gian do người dùng xác định một số lần nhất định. Số lần lặp lại được đặt bằng nút **This cycle repeats X time(s)** (Chu kỳ này lặp lại X lần).

Một chu kỳ riêng lẻ được hiển thị dưới dạng đồ họa (như thể hiện trong ảnh chụp màn hình sau đây). Có thể thay đổi mỗi bước của chu kỳ. Có thể thay đổi nhiệt độ bằng cách kéo đường nhiệt độ trong biểu đồ lên hoặc xuống. Có thể thay đổi khoảng thời gian của bước bằng cách kéo đường biên nhiệt độ trong biểu đồ sang trái hoặc phải. Hoặc nhấp vào bước và sử dụng các nút nhiệt độ và thời gian ở bên trái của biểu đồ.

Có thể thêm hoặc xóa các bước khỏi chu kỳ bằng cách sử dụng các nút “-” và “+” ở trên cùng bên phải của biểu đồ.



Long Range (Tăng dần): Chọn hộp này để tăng thời gian giữ của bước đã chọn 1 giây với mỗi chu kỳ mới.

Touchdown (Giảm dần): Chọn hộp này để giảm số độ cụ thể cho nhiệt độ trong một số chu kỳ ban đầu được chỉ định. Sau đó điều này được hiển thị trong màn hình.

Thu nhận

Có thể thu nhận dữ liệu trên bất kỳ kênh nào ở bất kỳ bước luân nhiệt nào. Để đặt kênh thu nhận dữ liệu, nhấp vào nút **Not Acquiring** (Không Thu nhận) (nếu một kênh đã được đặt để thu nhận ở bước này thì các kênh thu nhận được liệt kê ở đây).



Sau khi nhấp vào nút **Not Acquiring** (Không Thu nhận), cửa sổ **Acquisition** (Thu nhận) xuất hiện.



Để đặt kênh thu nhận, chọn kênh và chuyển kênh đó từ danh sách “Available Channels” (Kênh Khả dụng) sang danh sách “Acquiring Channels” (Kênh Thu nhận) bằng nút **>**. Để xóa một kênh đã chọn khỏi danh sách “Acquiring Channels” (Kênh Thu nhận), sử dụng nút **<**. Nút **<<** xóa tất cả các kênh khỏi danh sách “Acquiring Channels” (Kênh Thu nhận). Nhấp vào nút **Don't Acquire** (Không Thu nhận) cũng sẽ xóa tất cả các thu nhận khỏi bước này.

Nếu chương trình bao gồm nhiều trình tự luân nhiệt, dữ liệu thu nhận được có thể được thêm vào dữ liệu thu nhận được từ luân nhiệt trước đó. Sử dụng menu thả xuống **Same as Previous** (Giống như trước) để chọn bước luân nhiệt mà dữ liệu sẽ được thêm vào.

Biểu đồ Dye Channel Selection Chart (Lựa chọn Kênh Chất nhuộm) giúp người dùng xác định kênh nào phù hợp với chất nhuộm mà họ định sử dụng. Chất nhuộm được trình bày trong bảng là những loại được sử dụng phổ biến và không cho biết các giới hạn của dụng cụ.

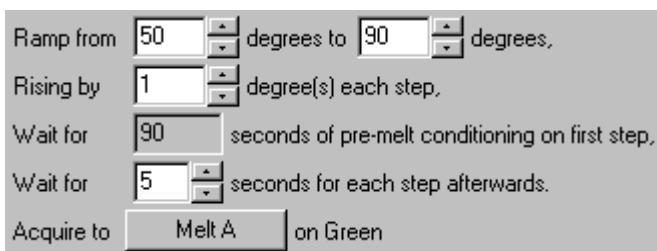
Các tùy chọn thu nhận được mô tả ở trên cũng áp dụng cho các bước “Melt” (Nóng chảy), ngoại trừ việc không thể thêm dữ liệu thu nhận bằng cách sử dụng menu **Same as Previous** (Giống như trước).

Nóng chảy và lai hóa

Melt (Nóng chảy) là dốc lên giữa 2 nhiệt độ, từ nhiệt độ thấp đến nhiệt độ cao. Khoảng nhiệt độ cho phép là 35 – 99 °C.

Để thiết lập Melt (Nóng chảy), hãy chỉ định nhiệt độ bắt đầu, nhiệt độ kết thúc, gia số nhiệt độ, khoảng thời gian giữ ở nhiệt độ thu nhận đầu tiên trước khi bắt đầu dốc lên, thời gian mỗi gia số được giữ và các kênh thu nhận.

Đoạn dốc lên sẽ được tạo ra giữa 2 nhiệt độ. Nếu nhiệt độ bắt đầu cao hơn nhiệt độ kết thúc, tên của bước sẽ thay đổi thành **Hybridisation** (Lai hóa). Có thể thay đổi tùy chọn **Acquiring To** (Thu nhận đến), được đặt thành Melt A (Nóng chảy A) trong ảnh chụp màn hình bên dưới, bằng cách nhấp vào nút này. Cửa sổ **Acquisition** (Thu nhận) sẽ xuất hiện và bạn có thể chọn các kênh.



Khi chạy nóng chảy tiêu chuẩn, nhiệt độ sẽ tăng theo gia số 1 °C, chờ 5 giây trước mỗi lần thu nhận. Có thể định cấu hình Rotor-Gene Q MDx để thực hiện nóng chảy ở gia số 0,02 °C. Thời gian giữ tối thiểu giữa các bước nhiệt độ khác nhau tùy thuộc vào số độ giữa mỗi bước.

Nóng chảy Phân giải Cao

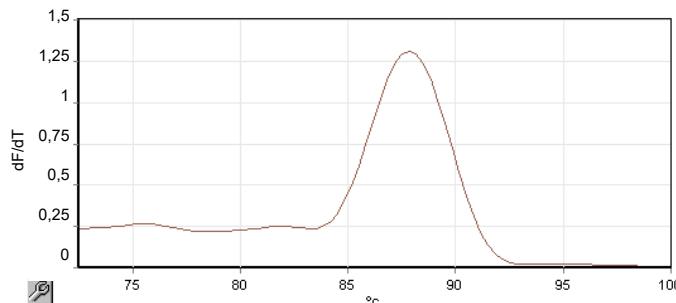
Phân tích nóng chảy phân giải cao (High Resolution Melt, HRM) thể hiện đặc trưng của các mẫu DNA sợi đôi dựa trên hành vi phân ly (nóng chảy) của chúng. Phương pháp này tương tự như phân tích đường cong nóng chảy cổ điển, nhưng cung cấp nhiều thông tin hơn cho nhiều ứng dụng hơn. Các mẫu có thể được phân biệt theo trình tự, độ dài, hàm lượng GC hoặc tính bổ sung sợi, cho đến các thay đổi cặp cơ sở đơn lẻ.

Chỉ có thể thực hiện phân tích HRM trên các dụng cụ đã cài đặt phần cứng và phần mềm HRM. Dữ liệu được thu nhận bằng cách sử dụng các nguồn và đầu dò HRM chuyên dụng. Phân tích HRM cũng bao gồm tùy chọn thực hiện Gain Optimisation (Tối ưu hóa Khuếch đại) ngay trước khi quá trình Melt (Nóng chảy) bắt đầu. Sau khi thực hiện HRM, có thể phân tích dữ liệu bằng phần mềm phân tích HRM (Phần 10).

Luân nhiệt Biến tính Quang học

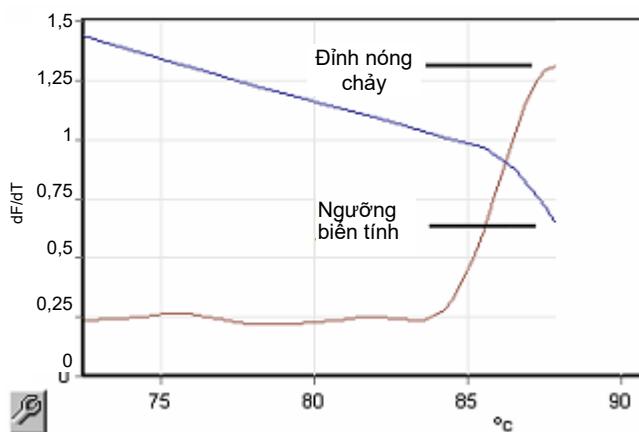
Luân nhiệt Biến tính Quang học là một kỹ thuật thú vị, có sẵn trên Rotor-Gene Q MDx, để thực hiện phân tích nóng chảy trong thời gian thực nhằm xác định đỉnh nóng chảy của mẫu tham chiếu. Điều này cho thấy sự biến tính sản phẩm PCR với độ chính xác cao hơn so với việc đặt nhiệt độ biến tính cụ thể trong khoảng thời gian giữ. Để thực hiện kỹ thuật này, chỉ cần đặt một ống tham chiếu của sản phẩm PCR vào vị trí ống 1 của rôto. Ống tham chiếu cũng phải chứa hóa chất phát hiện cho phép phát hiện sự phân ly sợi.

Khi gia nhiệt đến nhiệt độ biến tính ban đầu, nóng chảy được thực hiện trên kênh màu xanh lá từ 80 đến 95 °C, theo mặc định. Người dùng có thể điều chỉnh các thông số nóng chảy ban đầu này. Từ dữ liệu này, một đường cong nóng chảy được tạo ra và phân tích tự động.



Đỉnh nóng chảy được tham chiếu trở lại dữ liệu thô để thu được ngưỡng biến tính. Sau đó, mỗi bước Chu kỳ Biến tính Quang học, dụng cụ được gia nhiệt nhanh nhất có thể và dữ liệu được thu nhận liên tục. Khi ống tham chiếu đã đạt đến mức phát huỳnh quang ngưỡng biến tính, dụng cụ được làm mát ngay lập tức và chuyển sang bước đã lập trình tiếp theo trong chu kỳ. Một đỉnh không được tính toán trong chu kỳ. Thay vào đó, mức phát huỳnh quang được tham chiếu đến đỉnh nóng chảy và điều này chỉ ra ngưỡng biến tính.

Trong biểu đồ sau, các chỉ số phát huỳnh quang thô và đạo hàm bậc nhất đã được phủ lên. Điều này cho thấy sự tương ứng giữa ngưỡng biến tính và đỉnh nóng chảy thu được trong quá trình hiệu chuẩn.



Để thực hiện Luân nhiệt Biến tính Quang học, bạn sẽ cần:

- Sản phẩm PCR tiền khuếch đại để đặt vào vị trí 1 của rôto. Mẫu này phải chứa sản phẩm PCR giống như các mẫu quan tâm và hóa chất phát hiện để theo dõi sự phân ly sản phẩm PCR.
- Một chương trình biến tính quang học. Có thể tạo chương trình mới hoặc chỉnh sửa chương trình hiện có (xem chi tiết sau đây).

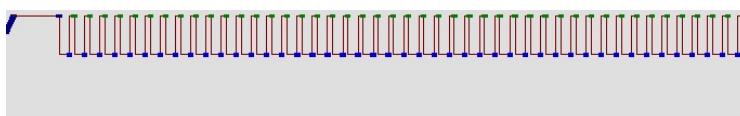
Chu kỳ Biến tính Quang học xuất hiện gần như giống hệt với các chu kỳ khác. Sự khác biệt cơ bản là bước nóng chảy tự động được đưa vào đầu chương trình và chương trình sắc nét của bước biến tính trong luân nhiệt. Chu kỳ Biến tính Quang học không yêu cầu thời gian giữ xác định vì sự phân ly của sản phẩm được theo dõi ở mỗi chu kỳ.

Để thực hiện kỹ thuật này, cần có thông tin sau về lần chạy:

- Nhiệt độ biến tính ban đầu. Nhiệt độ này giống với nhiệt độ trong bước Biến tính trong chương trình luân nhiệt tiêu chuẩn.
- Vị trí ống của mẫu PCR sẽ tạo ra đường cong nóng chảy trên kênh màu xanh lá.
- Phải xác định chương trình Luân nhiệt Biến tính Quang học.

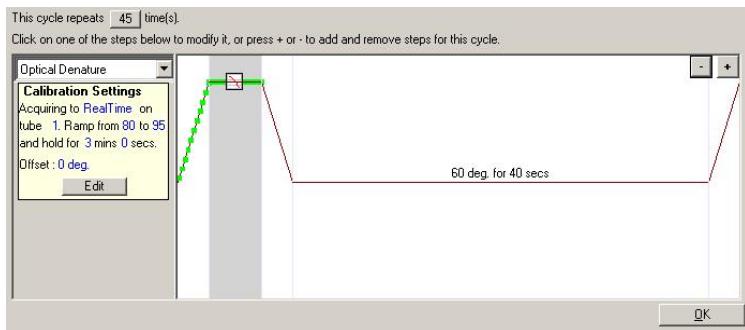
Tạo Chu kỳ Biến tính Quang học mới như sau.

1. Mở cửa sổ **Edit Profile** (Chỉnh sửa Chương trình). Sau đó nhấp vào **New** (Mới). Trong cửa sổ xuất hiện, nhấp vào nút **Insert after** (Chèn sau) và chọn **New Cycling** (Luân nhiệt Mới) từ menu. Chọn một trong các bước nhiệt độ bằng cách nhấp vào biểu đồ. Trong menu thả xuống, thay đổi từ **Timed Step** (Bước được Định giờ) thành **Optical Denature** (Biến tính Quang học). Một chương trình mặc định có chứa bước Biến tính và bước Chu kỳ Biến tính Quang học sẽ xuất hiện.

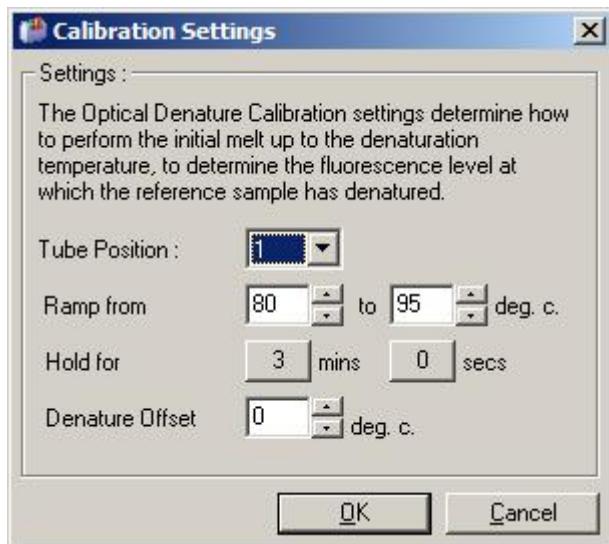


Vùng dốc lên khi bắt đầu lần chạy đại diện cho quy trình hiệu chuẩn. Các chấm màu xanh lá thể hiện sự thu nhận được thực hiện trong mỗi chu kỳ trong quá trình gia nhiệt. Các chấm màu xanh dương thể hiện sự thu nhận ở cuối bước gắn mồi ở 60 °C. Lưu ý rằng trong mặc dù chương trình hiển thị từng bước với cùng một nhiệt độ biến tính, điều này có thể không đúng. Nếu mẫu yêu cầu lâu hơn một chút để nóng chảy vào cuối lần chạy, quy trình biến tính quang học sẽ chờ nóng chảy theo dữ liệu huỳnh quang, chứ không phải theo thời gian. Vì lý do này, dấu nhiệt độ có thể thay đổi theo từng chu kỳ.

2. Nhấp vào nửa đầu của biểu đồ có biểu tượng Biến tính Quang học . Thông tin **Calibration Settings** (Cài đặt Hiệu chuẩn) xuất hiện ở bên trái màn hình.



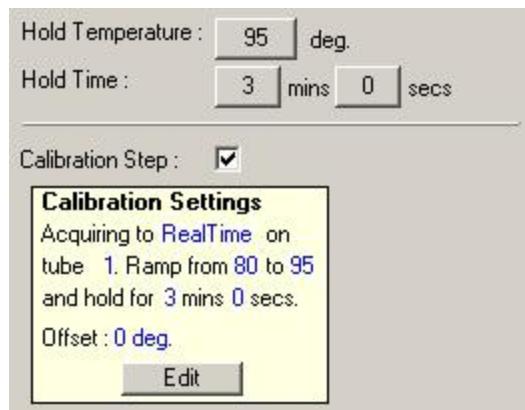
3. Thông tin “Calibration Settings” (Cài đặt Hiệu chuẩn) thường đúng. Nếu cần sửa đổi thông tin, nhấp vào **Edit** (Chỉnh sửa). Cửa sổ **Calibration Settings** (Cài đặt Hiệu chuẩn) xuất hiện.



4. Đảm bảo rằng:

- Ông được chỉ ra trong **Tube Position** (Vị trí Ông) chứa sản phẩm PCR sẽ hiển thị đỉnh nóng chảy trên kênh màu xanh lá.
- Nhiệt độ dốc lên cuối cùng sẽ không đốt cháy mẫu, nhưng sẽ đủ cao để cho phép mẫu nóng chảy.
- Thời gian giữ là đủ để làm biến tính mẫu.
- Độ lệch biến tính được đặt thích hợp. Nhiệt độ mặc định là 0°C là thích hợp cho hầu hết các nóng chảy. Các nóng chảy có sự chuyển đổi đột ngột có thể yêu cầu độ lệch biến tính từ -0.5°C đến -2°C, do người dùng xác định, để đảm bảo phát hiện sự chuyển đổi nóng chảy.

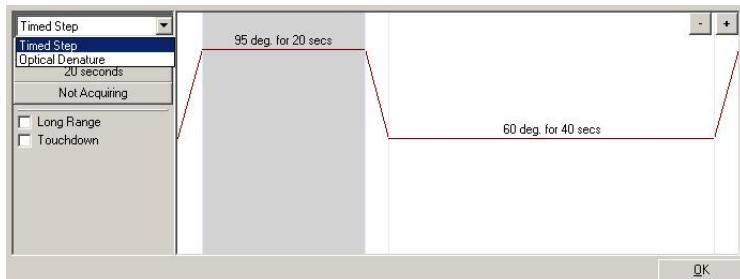
Bạn cũng có thể xác định bước biến tính bằng cách giới thiệu bước Giữ mới. Nhấp vào **Insert before** (Chèn trước) và chọn **New Hold at Temperature** (Nhiệt độ giữ mới). Cài đặt hiệu chuẩn sẽ xuất hiện.



Cài đặt hiệu chuẩn được đồng bộ hóa với cài đặt biến tính, do đó, thay đổi đối với thời gian giữ trong bước biến tính sẽ tự động cập nhật thời gian giữ hiệu chuẩn. Điều này là do quá trình hiệu chuẩn và quá trình biến tính là tương đương trong Luân nhiệt Biến tính Quang học.

Thay đổi một bước hiện có để sử dụng Luân nhiệt Biến tính Quang học

Để thay đổi bước Biến tính hiện có trong một chuỗi chu kỳ, chọn chu kỳ trong danh sách trong cửa sổ **Edit Profile** (Chỉnh sửa Chương trình). Sau đó, chọn bước Biến tính bằng cách nhấp vào nó trên màn hình.



Nhấp vào menu thả xuống và chọn **Optical Denature** (Biến tính quang học). Nhiệt độ và thời gian giữ được xóa và biểu tượng **Optical Denature** (Biến tính Quang học) được hiển thị.

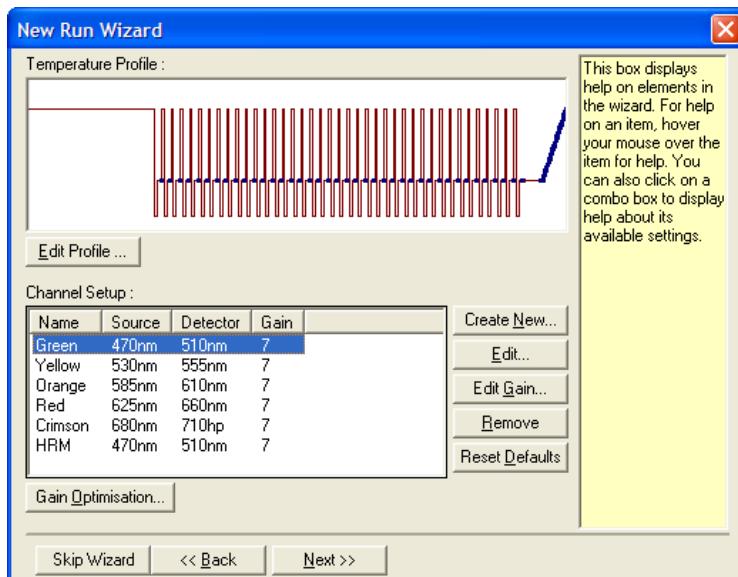
Tối ưu hóa khuếch đại

Khi thiết lập một lần chạy mới, sẽ rất hữu ích khi sử dụng chức năng **Gain Optimisation** (Tối ưu hóa khuếch đại). Điều này cho phép bạn tối ưu hóa khuếch đại theo một cài đặt sẽ cho phạm vi bắt đầu phát huỳnh quang mong muốn ở nhiệt độ đã đặt (thường là nhiệt độ tại đó xảy ra quá trình thu nhận dữ liệu) trong mỗi kênh được thu nhận. Mục đích của Tối ưu hóa khuếch đại là đảm bảo rằng tất cả dữ liệu được thu thập trong phạm vi động của máy dò. Nếu độ khuếch đại quá thấp, tín hiệu sẽ bị mất khi xung quanh có nhiễu. Nếu độ khuếch đại quá cao, tất cả tín hiệu sẽ bị mất trên mô lớn (bão hòa).

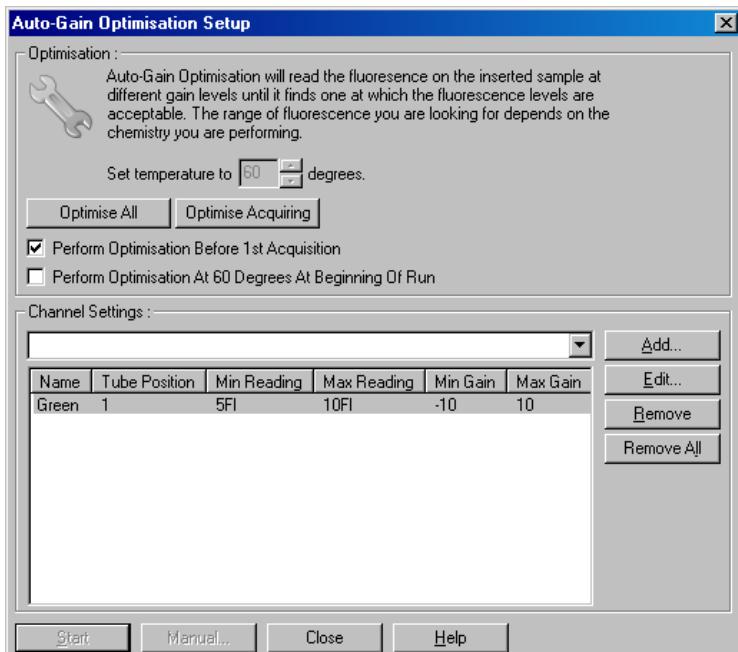
Phạm vi khuếch đại cho mỗi kênh là –10 đến 10, trong đó –10 là ít nhạy cảm nhất và 10 là nhạy nhất.

Khi chạy phản ứng lần đầu tiên, chúng tôi khuyên bạn nên chuẩn bị mẫu xét nghiệm có chứa tất cả các thành phần phản ứng. Đặt mẫu xét nghiệm vào Rotor-Gene Q MDx và sử dụng Tối ưu hóa Khuếch đại để xác định cài đặt khuếch đại tốt nhất. Nếu khuếch đại được chọn bởi Tối ưu hóa Khuếch đại dẫn đến tín hiệu kém, phải tăng **Target Sample Range** (Phạm vi mẫu đích). Nếu nó dẫn đến tín hiệu bão hòa, phải giảm **Target Sample Range** (Phạm vi mẫu đích).

Để thực hiện Tối ưu hóa Khuếch đại, nhấp vào nút **Gain Optimisation...** (Tối ưu hóa Khuếch đại) trong cửa sổ New Run Wizard window 3 (Trình hướng dẫn lần chạy mới) (xem Cửa sổ New Run Wizard (Trình hướng dẫn Lần chạy Mới) 3).



Cửa sổ **Auto-Gain Optimisation Setup** (Thiết lập tối ưu hóa khuếch đại tự động) xuất hiện. Cửa sổ này cho phép tối ưu hóa bằng cách tự động điều chỉnh cài đặt khuếch đại cho đến khi chỉ số cho tất cả các kênh đã chọn nằm trong hoặc dưới một ngưỡng nhất định.



Set temperature to (Đặt nhiệt độ ở):

Trước khi đọc, Rotor-Gene Q MDx sẽ được gia nhiệt hoặc làm mát để phù hợp với nhiệt độ quy định. Theo mặc định, giá trị này được đặt làm nhiệt độ thu nhận.

Optimise All/Optimise Acquiring (Tối ưu hóa Tất cả/Tối ưu hóa Thu nhận):

Optimise All (Tối ưu hóa Tất cả) sẽ cố gắng tối ưu hóa tất cả các kênh mà phần mềm đã biết. **Optimise Acquiring** (Tối ưu hóa Thu nhận) sẽ chỉ tối ưu hóa các kênh được sử dụng trong chương trình nhiệt được xác định trong lần chạy (chu kỳ và nóng chảy).

Perform Optimisation Before First Acquisition (Thực hiện tối ưu hóa trước lần thu nhận đầu tiên):

Chọn hộp này để thực hiện Tối ưu hóa Khuếch đại ở chu kỳ đầu tiên xảy ra quá trình thu nhận dữ liệu. Điều này được khuyến nghị cho Tối ưu hóa Khuếch đại Tự động.

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run (Thực hiện tối ưu hóa ở [x] độ khi bắt đầu lần chạy):

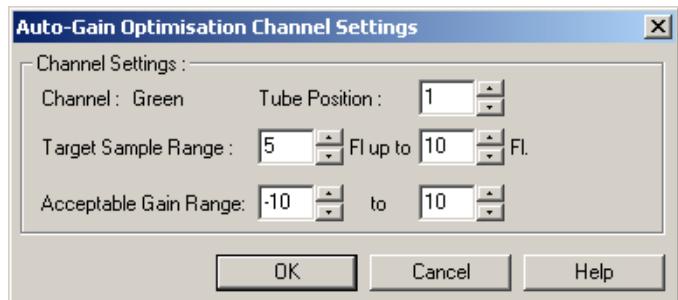
Chọn hộp này để thực hiện Tối ưu hóa Khuếch đại ngay trước khi bắt đầu lần chạy. Rotor-Gene Q MDx được gia nhiệt đến nhiệt độ được chỉ định. Tối ưu hóa Khuếch đại được thực hiện, sau đó bắt đầu chu kỳ ở bước đầu tiên, thường là bước Biến tính. Có thể chọn tùy chọn này nếu Tối ưu hóa Khuếch đại trong lần chạy sẽ dẫn đến việc phải dành quá nhiều thời gian cho bước đầu tiên. **Perform Optimisation Before 1st Acquisition** (Thực hiện tối ưu hóa trước lần thu nhận đầu tiên) thường được ưu tiên vì Tối ưu hóa Khuếch đại được thực hiện càng gần với các điều kiện lần chạy càng tốt.

Channel Settings (Cài đặt kênh):

Menu thả xuống này cho phép thêm các kênh. Chọn kênh quan tâm và nhấp vào **Add** (Thêm).

Edit (Chỉnh sửa):

Tùy chọn này sẽ mở ra một cửa sổ trong đó có thể đặt **Target Sample Range** (Phạm vi mẫu đích). **Target Sample Range** (Phạm vi mẫu đích) là phạm vi phát huỳnh quang ban đầu cần được đặt cho mẫu trong ống được chỉ định. Tối ưu hóa Khuếch đại Tự động đọc từng kênh bằng cách sử dụng cài đặt Khuếch đại trong phạm vi được chỉ định bởi **Acceptable Gain Range** (Phạm vi khuếch đại được chấp nhận). Nó chọn cài đặt khuếch đại đầu tiên dẫn đến chỉ số phát huỳnh quang trong **Target Sample Range** (Phạm vi mẫu đích). Trong ví dụ được hiển thị, Tối ưu hóa Khuếch đại Tự động tìm kiếm cài đặt khuếch đại trong khoảng -10 đến 10 cho chỉ số từ 5 đến 10 FI trong ống 1. Nói chung, đối với thuốc nhuộm xem kê **Target Sample Range** (Phạm vi mẫu đích) từ 1 – 3 FI là thích hợp, trong khi phạm vi từ 5 – 10 FI thích hợp hơn cho các hóa chất đó.



Remove/Remove All
(Xóa/Xóa tất cả):

Remove (Xóa) xóa kênh được đánh dấu. **Remove All** (Xóa tất cả) xóa tất cả các kênh.

Start (Bắt đầu):

Start (Bắt đầu) bắt đầu Tối ưu hóa Khuếch đại. Khuếch đại được chọn dẫn đến mức tín hiệu phát huỳnh quang trong phạm vi được chỉ định. Nếu phát huỳnh quang nằm ngoài phạm vi được chỉ định, khuếch đại được đặt để cho kết quả phù hợp nhất có thể.

Manual (Thủ công):

Cài đặt này mở cửa sổ **Manual Gain Adjustment** (Điều chỉnh khuếch đại thủ công).

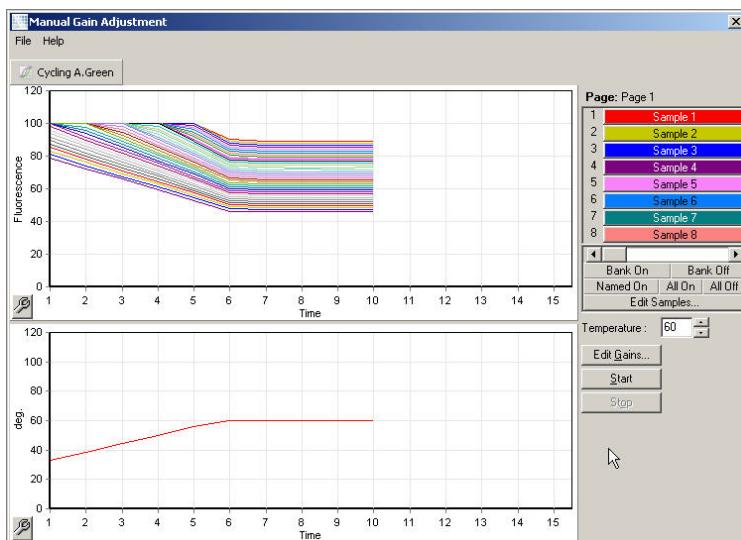
Changing Gain During a Run
(Thay đổi khuếch đại trong một lần chạy):

Nếu độ khuếch đại khi bắt đầu lần chạy quá cao hoặc quá thấp, nó có thể được thay đổi trong vòng mười chu kỳ đầu tiên. Một đường thẳng đứng xuất hiện nơi độ khuếch đại được thay đổi. Các chu kỳ trước khi thay đổi được loại trừ khỏi phân tích.

Lưu ý: Tối ưu hóa Khuếch đại có thể chọn một cài đặt không nằm trong phạm vi được chỉ định. Điều này có thể là do sự thay đổi phát huỳnh quang sau bước Giữ đầu tiên. Tuy nhiên, kết quả của Tối ưu hóa Khuếch đại cung cấp một dấu hiệu tốt về mức phát huỳnh quang tại đó lần chạy sẽ được bắt đầu.

Điều chỉnh Khuếch đại Thủ công

Để thực hiện “Manual Gain Adjustment” (Điều chỉnh khuếch đại thủ công), nhấp vào **Manual...** (Thủ công...) trong cửa sổ **Auto-Gain Optimisation Setup** (Thiết lập Tối ưu hóa Khuếch đại Tự động). Cửa sổ **Manual Gain Adjustment** (Điều chỉnh Khuếch đại Thủ công) hiển thị. Cửa sổ này hiển thị các chỉ số huỳnh quang ở bất kỳ nhiệt độ nhất định nào trong thời gian thực. Nó được sử dụng khi nền của mẫu không xác định và do đó phải xác định độ khuếch đại để đảm bảo tín hiệu mẫu đủ để phát hiện.



Theo mặc định, tất cả các mẫu được hiển thị trong màn hình. Có thể xóa hoặc thêm mẫu vào màn hình bằng cách sử dụng bộ chuyển đổi ở bên phải. Bộ chuyển đổi bao gồm các ô màu, mỗi ô tương ứng với một mẫu trong màn hình.

Các mẫu có ô màu sáng được hiển thị, trong khi các mẫu có ô màu nhạt sẽ không được hiển thị. Có thể bật hoặc tắt mẫu bằng cách nhấp vào ô hoặc bằng cách kéo con trỏ chuột qua nhiều ô cùng lúc.

Chúng tôi khuyên bạn nên thực hiện Điều chỉnh Khuếch đại Thủ công như sau.

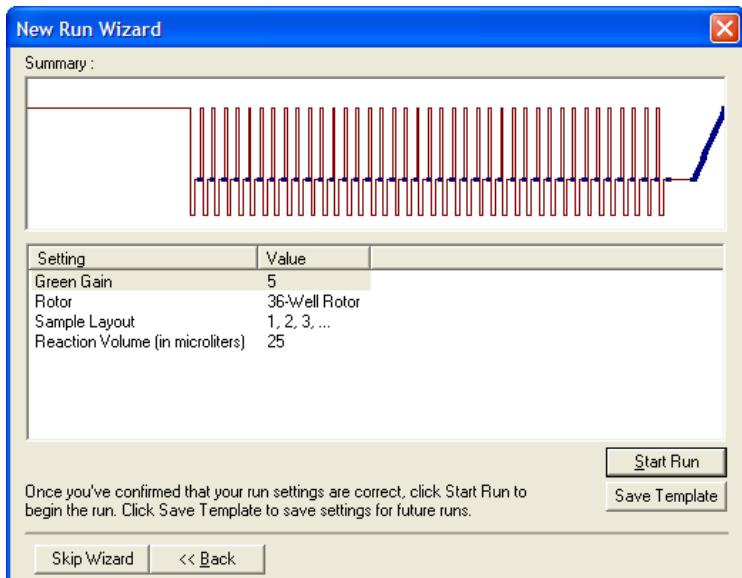
- Điều chỉnh nhiệt độ trong cửa sổ **Manual Gain Adjustment** (Điều chỉnh khuếch đại thủ công) đến nhiệt độ thu nhận cần thiết cho lần chạy.

Lưu ý: Không được điều chỉnh nhiệt độ khi Rotor-Gene Q MDx đang hoạt động. Khởi động lại Rotor-Gene Q MDx để áp dụng các thay đổi về nhiệt độ đã thực hiện.

- Nhấp vào **Start** (Bắt đầu). Lần chạy bắt đầu. Nhiệt độ Rotor-Gene Q MDx được điều chỉnh theo nhiệt độ được chỉ định trong cửa sổ. Các biểu đồ trong cửa sổ bắt đầu hiển thị dữ liệu.
- Chờ nhiệt độ ổn định.
- Lưu ý chỉ số phát huỳnh quang điểm cuối (FI).
- Nếu chỉ số FI không ở mức yêu cầu, nhấp vào **Edit Gains...** (Chỉnh sửa độ khuếch đại...) và chỉnh sửa theo yêu cầu. Quy trình này có thể không diễn ra ngay lập tức, vì Rotor-Gene Q MDx mất khoảng 4 giây để thu được mỗi điểm trong mỗi kênh và trong thời gian này, giao diện người dùng bị vô hiệu hóa.
- Lặp lại quy trình cho đến khi FI ở mức mong muốn.
- Nhấp vào **Stop** (Dừng). Nếu quá trình chạy vẫn thu thập dữ liệu khi nhấp vào nút **Stop** (Dừng), Rotor-Gene Q MDx sẽ kết thúc quy trình thu thập dữ liệu đầu tiên, sau đó dừng lại. Quy trình này có thể mất đến 5 giây cho mỗi kênh thu nhận.

Cửa sổ New Run Wizard (Trình hướng dẫn Lần chạy Mới) 4

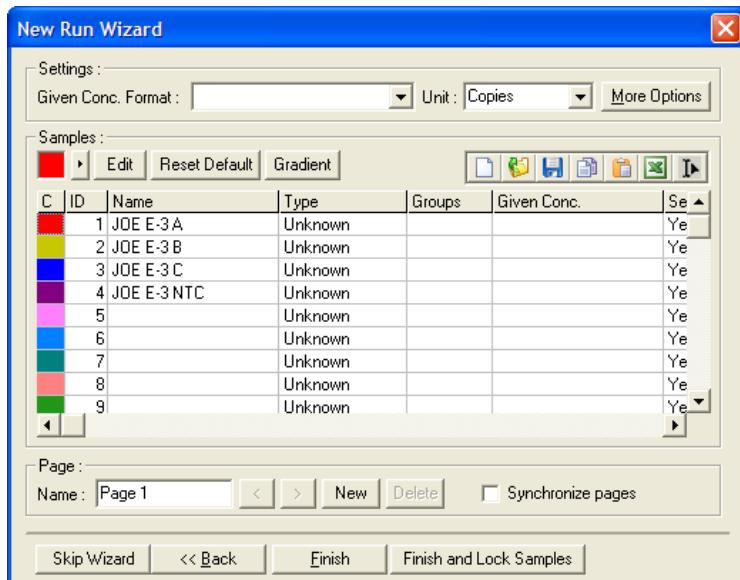
Cửa sổ này tắt lần chạy. Kiểm tra các thông số và nếu chúng chính xác, nhấp vào **Start Run** (Bắt đầu chạy). Bạn sẽ được nhắc nhập tên tệp. Bạn cũng có thể lưu cài đặt lần chạy làm mẫu cho các lần chạy sau bằng cách sử dụng nút **Save Template** (Lưu mẫu).



Cửa sổ New Run Wizard (Trình hướng dẫn Lần chạy Mới) 5

Nhập các loại mẫu và mô tả vào cửa sổ này trong khi lần chạy đang diễn ra. Chức năng của cửa sổ này giống với cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu) (trang 127). Cũng có thể nhập thông tin mẫu sau khi lần chạy kết thúc.

Nút **Finish and Lock Samples** (Kết thúc và khóa mẫu) đóng màn hình và ngăn không cho sửa đổi tên mẫu. Để biết thêm thông tin về tính năng này và các tính năng bảo mật khác, xem “Bảo vệ Quyền truy cập Phần mềm Rotor-Gene Q” (trang 133).



5.2 Sử dụng phần cứng Rotor-Gene Q MDx

5.2.1 Các loại rôto

Đầu tiên, chọn loại ống và rôto để sử dụng. Có sẵn 4 rôto để phù hợp với các loại ống khác nhau.

Lưu ý: 36-Well Rotor và 72-Well Rotor được cung cấp cùng với dụng cụ. Rotor-Disc® Rotor là phụ kiện.

Quan trọng: Sử dụng các ống giống hệt nhau trong một lần chạy. Không trộn lẫn các loại ống hoặc ống khác nhau từ các nhà sản xuất khác nhau, vì điều này sẽ ảnh hưởng đến tính đồng nhất quang học. Chúng tôi khuyên bạn nên sử dụng các ống từ QIAGEN được thiết kế đặc biệt để sử dụng với Rotor-Gene Q MDx (xem Thông tin Đặt hàng). Các ống từ các nhà sản xuất thay thế có thể tự phát huỳnh quang, điều này có thể ảnh hưởng đến độ tin cậy của kết quả. Ngoài ra, các ống từ các nhà sản xuất khác có thể thay đổi chiều dài và độ dày, dẫn đến quang trình của Rotor-Gene Q MDx bị lệch và phản ứng trong ống. QIAGEN có quyền từ chối hỗ trợ kỹ thuật cho các sự cố do vật liệu nhựa không được QIAGEN chứng nhận trên dụng cụ Rotor-Gene Q MDx gây ra.

Quan trọng: Sử dụng bất kỳ vật liệu nhựa nào không được QIAGEN chứng nhận trên Rotor-Gene Q MDx đều có thể làm mất hiệu lực bảo hành dụng cụ của bạn.

THẬN TRỌNG	Thiệt hại cho dụng cụ
	Kiểm tra bằng mắt và đảm bảo rôto không bị hư hỏng hoặc biến dạng trước mỗi lần chạy.

36-Well Rotor

36-Well Rotor có màu đỏ. 36-Well Rotor và 36-Well Rotor Locking Ring cho phép sử dụng các ống 0,2 ml. Các ống này không cần phải có nắp rõ ràng về mặt quang học vì Rotor-Gene Q MDx đọc chỉ số phát huỳnh quang từ dưới đáy ống chứ không phải từ trên cùng. Cũng có thể sử dụng các ống có nắp đậy kín.



72-Well Rotor

72-Well Rotor có màu xanh dương. 72-Well Rotor và 72-Well Rotor Locking Ring được sử dụng với Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, có thể được sử dụng cho thể tích nhỏ đến 20 µl. Các nắp có khả năng bít kín an toàn và đáng tin cậy.



Rotor-Disc 72 Rotor

Rotor-Disc 72 Rotor có màu xám đậm. Rotor-Disc 72 Rotor và Rotor-Disc 72 Locking Ring cho phép sử dụng Rotor-Disc 72. Rotor-Disc 72 là một đĩa có 72 lỗ để sử dụng thông lượng cao. Để bít kín Rotor-Disc 72, một màng polyme trong suốt được phủ lên trên và được bít kín bằng nhiệt. Màng dính nhanh chóng và ngăn ngừa nhiễm bẩn bằng khả năng bít kín chắc chắn, lâu bền và chống giả mạo. Để biết thêm thông tin về Rotor-Disc 72, xem Phần 5.2.3.



Rotor-Disc 100 Rotor

Rotor-Disc 100 Rotor có màu vàng. Rotor-Disc 100 Rotor và Rotor-Disc 100 Locking Ring cho phép sử dụng Rotor-Disc 100. Rotor-Disc 100 là một đĩa có 100 lỗ để sử dụng thông lượng cao. Rotor-Disc 100 là đĩa quay tương đương với đĩa 96 lỗ nhưng có thêm 4 lỗ tham chiếu. Đĩa này cho phép tích hợp Rotor-Gene Q MDx với quy trình trong phòng thí nghiệm với 96 lỗ. Có thể sử dụng các lỗ phụ thuận tiện cho nhiều mẫu hơn, phản ứng mẫu chứng bổ sung hoặc phản ứng định hướng mà không chiếm bất kỳ vị trí 96 lỗ tiêu chuẩn nào. Để có khả năng tương thích với quy trình 96 lỗ liền mạch, các lỗ Rotor-Disc 100 sử dụng các quy ước ghi nhãn đĩa 96 lỗ, tức là A1 – A12 đến H1 – H12. 4 lỗ tham chiếu bổ sung được dán nhãn R1 – R4. Để biết thêm thông tin về Rotor-Disc 100, xem Phần 5.2.3.



Thông số kỹ thuật rôto

Loại rôto	Dung tích lọ (μl)	Số mẫu	Loại ống	Thể tích phản ứng đề xuất (μl)
36-Well Rotor	200	36	PCR Tubes, 0.2 ml	20 – 50
72-Well Rotor	100	72	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml	20 – 50
Rotor-Disc 72 Rotor	100	72	Rotor-Disc, 72	20 – 25
Rotor-Disc 100 Rotor	30	100	Rotor Disc, 100	15 – 20

Lưu ý: Không được sử dụng 36-Well Rotor và 72-Well Rotor cho Rotor-Gene Q MDx trên các dụng cụ Rotor-Gene 3000 do không tương thích về cǎn chỉnh quang học. Vui lòng tiếp tục sử dụng các rôto 36 vị trí và 72 vị trí cũ hơn với các dụng cụ Rotor-Gene 3000.

5.2.2 Thiết lập phản ứng

Quan trọng: Nên sử dụng các mẫu chứng thích hợp trong mỗi lần chạy để đảm bảo kết quả đáng tin cậy.

Có thể chuẩn bị các phản ứng bằng cách sử dụng Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes (đối với PCR Tubes, 0.2 ml), Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (đối với Strip Tubes and Caps, 0.1 ml được thiết lập bằng pipet một kênh), Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel (đối với Strip Tubes and Caps, 0.1 ml được thiết lập bằng pipet đa kênh), Rotor-Disc 72 Loading Block (đối với Rotor-Disc 72) hoặc Rotor-Disc 100 Loading Block (đối với Rotor-Disc 100). Tất cả các khối được làm bằng nhôm và có thể được làm mát trước.

Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (hình) chứa 18 Strip Tubes cũng như lèn đèn tám ống 0,5 ml, có thể được sử dụng để chuẩn bị hỗn hợp chính và lèn đèn mươi sáu ống 0,2 ml có thể được sử dụng để thiết lập các đường chuẩn. Quy trình dưới đây mô tả thiết lập phản ứng bằng 72-Well Rotor. Quy trình tương tự có thể được sử dụng để thiết lập phản ứng bằng 36-Well Rotor và các phụ kiện thích hợp.

1. Đặt các Strip Tubes vào Loading Block và phân chia các thành phần phản ứng.



2. Đặt các Caps chắc chắn trên các Strip Tubes và kiểm tra bằng mắt thường để xác nhận có đầy nắp chặt hay không.



3. Đặt các Strip Tubes vào 72-Well Rotor, đảm bảo rằng mỗi ống được đặt đúng vị trí theo đúng hướng.

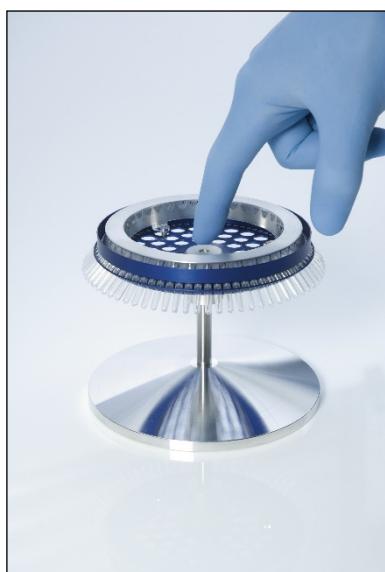
Các mẫu sẽ không được cǎn chỉnh tối ưu trên hệ thống phát hiện nếu không được đặt vào rôto đúng cách. Điều này có thể làm giảm tín hiệu phát huỳnh quang thu được và độ nhạy phát hiện. Một Rotor Holder được cung cấp cho phép nắp ống dễ dàng.



Quan trọng: Để đạt được độ đồng đều nhiệt tối đa, mỗi vị trí trong rôto phải chứa một ống. Nạp đầy tất cả các vị trí trong rôto đảm bảo luồng không khí đồng đều đến mọi ống. Chuẩn bị sẵn một bộ ống có nắp đậy trống để có thể sử dụng và nạp đầy các vị trí không sử dụng.

4. Lắp 72-Well Rotor Locking Ring vào 72-Well Rotor bằng cách đẩy 3 chốt định vị qua các lỗ bên ngoài của rôto.

Locking Ring đảm bảo nắp vẫn còn trên ống trong khi chạy.



- Đưa cụm vào buồng Rotor-Gene Q MDx bằng cách nhấp vào vị trí sử dụng chốt định vị trên trực rôto. Để tháo, chỉ cần ấn vào trực rôto để nhả và kéo ra.



- Đóng nắp và thiết lập chương trình chạy bằng phần mềm Rotor-Gene Q.

5.2.3 Thiết lập Rotor-Disc

Rotor-Disc 72 hoặc Rotor-Disc 100 bao gồm 72 hoặc 100 lọ tương ứng trong một đĩa một chi tiết được thiết kế cho thông lượng cao. Rotor-Disc 72 và Rotor-Disc 100 không sử dụng nắp. Thay vào đó, Rotor-Disc Heat Sealing Film được dán lên trên bằng nhiệt sử dụng Rotor-Disc Heat Sealer. Màng ngăn ngừa nhiễm bẩn bằng khả năng bít kín chắc chắn, lâu bền và chống giả mạo. Dán Rotor-Disc bằng nhiệt được thực hiện như mô tả bên dưới.

Quan trọng: Vui lòng đọc Tờ Sản phẩm được cung cấp cùng với Rotor-Disc Heat Sealer trước khi bắt đầu quy trình này.

- Bật Rotor-Disc Heat Sealer bằng công tắc nằm ở mặt sau ở phía bên tay trái.

Đèn “Power” (Nguồn) màu đỏ sáng. Rotor-Disc Heat Sealer mất khoảng 10 phút để đạt đến nhiệt độ hoạt động, khi đèn “Ready” (Sẵn sàng) màu xanh lá cây sáng.

- Chọn đệm bít kín cố định hoặc có thể tháo rời.

Lưu ý: Sau khi Rotor-Disc Heat Sealer đã sẵn sàng, có thể yên tâm để dụng cụ chạy liên tục.

- Lắp Rotor-Disc vào Rotor-Disc Loading Block bằng cách sử dụng mấu ở vị trí một trên Rotor-Disc và các lỗ dẫn hướng ống trên Rotor-Disc Loading Block.

4. Thiết lập phản ứng trong Rotor-Disc bằng cách dùng pipet thủ công hoặc sử dụng hệ thống xử lý chất lỏng tự động.



5. Lấy phần trung tâm ra khỏi một tờ Rotor-Disc Heat Sealing Film bằng cách hơi gấp đôi màng lại, kẹp chặt phần chính giữa và cẩn thận xé ra.
6. Đặt màng lên Rotor-Disc theo đúng hướng như được hiển thị trong nhãn “SIDE UP” (Mặt bên hướng lên). Đảm bảo rằng nhãn “SIDE UP” (Mặt bên hướng lên) được đặt ở dưới cùng của Rotor-Disc Loading Block.

Lỗ trung tâm trên màng phải dễ dàng trượt qua hình trụ của Rotor-Disc Loading Block và lên phần trên cùng của Rotor-Disc.



7. Trượt cụm vào Rotor-Disc Heat Sealer bằng cách sử dụng các thanh dẫn hướng ở phía bên của Rotor-Disc Loading Block. Đảm bảo rằng Rotor-Disc Loading Block được đẩy vào hết cỡ.



8. Để kích hoạt cơ cầu bít kín, trước tiên nhấn xuống thanh anot hóa màu xanh dương ở phía trên cùng của Heat Sealer, sau đó đẩy chốt khóa màu đen trở lại.



9. Khi cơ cầu bít kín hạ xuống, đèn “Sealing” (Bít kín) màu cam sẽ sáng. Nếu Rotor-Disc Loading Block không ở đúng vị trí, một tiếng bíp cảnh báo sẽ phát ra.

10. Khi quá trình bít kín kết thúc, một tiếng bíp liên tục phát ra và đèn “Sealing” (Bít kín) màu cam bắt đầu nhấp nháy. Nhấn xuống thanh anot hóa màu xanh dương để nâng và nhả cơ cầu bít kín trở lại vị trí ban đầu.

Quan trọng: Không tiếp tục bít kín lâu hơn so với tiếng bíp được chỉ ra, nếu không Rotor-Disc có thể bị biến dạng.

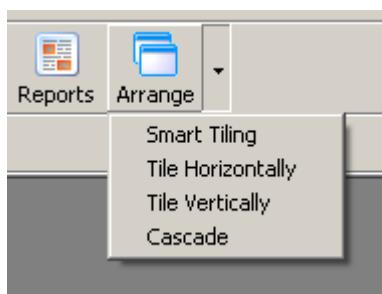
Lưu ý: Để cảnh báo nếu bạn vô tình không nhả cơ cấu khóa, đèn “Sealing” (Bít kín) màu cam nhấp nháy sẽ sáng vĩnh viễn và âm thanh bíp liên tục sẽ chuyển thành âm thanh ngắn quãng.

11. Trượt Rotor-Disc Loading Block ra khỏi Rotor-Disc Heat Sealer. Để màng nguội trong khoảng 10 giây. Loại bỏ màng bít kín thừa bằng cách đẩy nó xuống để tách ra. Không kéo màng thừa lên trên.
12. Tháo Rotor-Disc ra khỏi Rotor-Disc Loading Block.
13. Nạp Rotor-Disc vào rôto bằng cách sử dụng mấu định vị ở vị trí một lần dẫn hướng đến đúng hướng.

6 Giao diện Người dùng Phân tích

6.1 Không gian làm việc

Không gian làm việc là cách bố trí cửa sổ chính. Trong vùng này, các ô dữ liệu thô và kết quả phân tích có thể được mở ra. Nếu một số cửa sổ được mở đồng thời, chúng có thể được sắp xếp bằng cách nhấp vào nút **Arrange** (Sắp xếp) trên thanh công cụ. Có thể chọn một số tùy chọn sắp xếp cửa sổ có sẵn bằng cách nhấp vào mũi tên xuống bên cạnh nút **Arrange** (Sắp xếp).



6.2 Thanh công cụ

Các nút này là phím tắt cho các thao tác thường dùng. Các thao tác này cũng có thể được truy cập từ menu thả xuống.



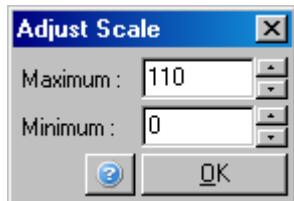
6.3 Xem các kênh thô

Nhấp vào các nút này để xem dữ liệu thô (chưa được phân tích) từ các kênh cụ thể trong lần chạy.



Khi xem dữ liệu này, có sẵn một số tùy chọn để thay đổi cách trình bày dữ liệu. Cũng có thể chuyển đổi dữ liệu thô để tạo thuận lợi cho các loại phân tích khác nhau.

Adjust Scale (Điều chỉnh tỷ lệ): Để chọn **Adjust Scale** (Điều chỉnh tỷ lệ), nhấp vào nút chuột phải trên cửa sổ thích hợp. **Adjust Scale** (Điều chỉnh tỷ lệ) hiển thị một cửa sổ trong đó tỷ lệ có thể được chỉ định.



Autoscale (Tự động chia tỷ lệ): **Autoscale** (Tự động chia tỷ lệ) cố gắng điều chỉnh tỷ lệ với chỉ số tối đa và tối thiểu của dữ liệu.

Default Scale (Tỷ lệ mặc định): **Default Scale** (Tỷ lệ mặc định) đặt lại tỷ lệ để hiển thị từ 0 đến 100 đơn vị phát huỳnh quang.

Biểu tượng chia văn/cờ lê: Xem Phần 7.5 để biết thêm thông tin.



Options (Tùy chọn): Tùy chọn này sẽ hiển thị menu thả xuống được hiển thị ở trên, cung cấp các tùy chọn để chuyển đổi dữ liệu thô.

Normalise to... (Chuẩn hóa thành...): Tùy chọn này cho phép chuẩn hóa dữ liệu khuếch đại thành dữ liệu từ chất nhuộm tham chiếu thụ động, chẳng hạn như ROX, thu được trong một kênh khác.

Crop start cycles(Cắt ngắn chu kỳ bắt đầu): Tùy chọn này tạo ra một tập dữ liệu kênh mới trong đó một số chu kỳ bắt đầu đã bị xóa. Tùy chọn này rất hữu ích nếu các bước nhảy lớn được quan sát thấy trong các chu kỳ ban đầu, có thể xảy ra khi sử dụng một số hóa chất nhất định.

Crop end cycles(Cắt ngắn chu kỳ kết thúc): Tùy chọn này tạo ra một tập dữ liệu kênh mới trong đó một số chu kỳ kết thúc đã bị xóa.

Page 1 (Trang 1): Tùy chọn này cho biết trang hiện đang được chọn để hiển thị các ô dữ liệu thô. Cửa sổ **Edit Sample** (Chỉnh sửa mẫu) cho phép tạo nhiều định nghĩa mẫu. Ví dụ: có thể xem dữ liệu với độ dày đường khác nhau, định nghĩa mẫu và các tùy chọn hiển thị khác. Tùy chọn này đặc biệt hữu ích nếu việc định lượng tương đối được thực hiện trong một kênh duy nhất, vì người dùng có thể dễ dàng chuyển đổi chế độ xem giữa gen quan tâm và mẫu tham chiếu bằng cách xác định 2 trang mẫu.

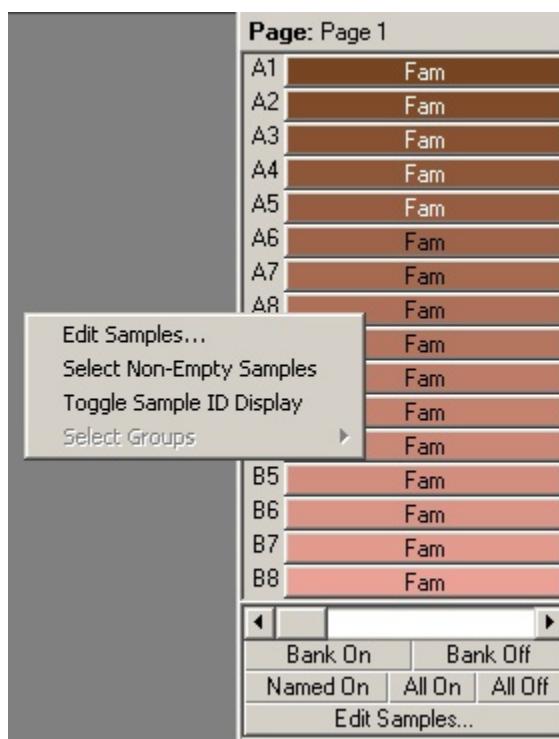
6.4 Chuyển đổi mẫu

Ở phía bên phải của cửa sổ chính là một bộ chuyển đổi, bao gồm một chú giải mẫu. Bộ chuyển đổi này bao gồm các ô màu, mỗi ô tương ứng với một mẫu trong màn hình. Các mẫu có ô màu sáng được hiển thị trong khi các mẫu có ô màu nhạt sẽ không được hiển thị. Có thể bật hoặc tắt mẫu bằng cách nhấp vào ô hoặc bằng cách kéo con trỏ chuột qua nhiều ô cùng lúc. Các nút **Bank On** (Bật Ngân hàng) và **Bank Off** (Tắt Ngân hàng) lùn lượt ẩn hoặc hiển thị tất cả các mẫu hiện đang hiển thị trong danh sách. Có thể được sử dụng thanh cuộn để hiển thị nhóm mẫu tiếp theo.

Lưu ý: Số lượng mẫu được hiển thị không ngừng thay đổi và phụ thuộc vào khung gian có sẵn trong cửa sổ.

Nhấp vào **Named On** (Có tên trên) chỉ hiển thị những mẫu đã được đặt tên. Đây là một cách nhanh chóng để chỉ hiển thị các mẫu có liên quan. Nhấp vào **All On** (Bật tất cả) hoặc **All Off** (Tắt tất cả) hiển thị tất cả mẫu hoặc không hiển thị mẫu nào trong rôto, tương ứng. Nhấn nút **Edit Samples...** (Chỉnh sửa mẫu) sẽ mở cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu) nơi có thể chỉnh sửa tên mẫu, loại và nồng độ tiêu chuẩn (xem Phần 6.8.4).

Bộ chuyển đổi được hiển thị bên dưới. Các tùy chọn bổ sung được hiển thị sẽ xuất hiện sau khi nhấp nút chuột phải trên bộ chuyển đổi.



Page (Trang):

Nhấn này ở trên đầu bộ chuyển đổi cho biết trang mẫu được hiển thị. Trang cho phép các phân tích độc lập khác nhau từ một tập dữ liệu kênh. Ví dụ: bạn có thể chạy hai đường chuẩn trong kênh màu xanh lá và tạo các báo cáo độc lập. Thông tin thêm về thiết lập các trang mẫu có trong Phần 6.8.4.

Toggle Sample ID Display
(Chuyển đổi hiển thị ID mẫu):

Nếu sử dụng 72-Well Rotor, các mẫu được hiển thị ở định dạng A1 đến A8, B1 đến B8, v.v. Tùy chọn **Toggle Sample ID Display** (Chuyển đổi hiển thị ID mẫu) cho phép người dùng chuyển sang thứ tự mẫu dạng số (1 đến 72).

Select Non-Empty Samples
(Chọn mẫu không trống):

Tùy chọn này bỏ chọn bất kỳ mẫu nào có **Type** (Loại) được chỉ định là **None** (Không có) trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu). Tùy chọn này đảm bảo rằng chỉ các mẫu liên quan đến phân tích mới được hiển thị.

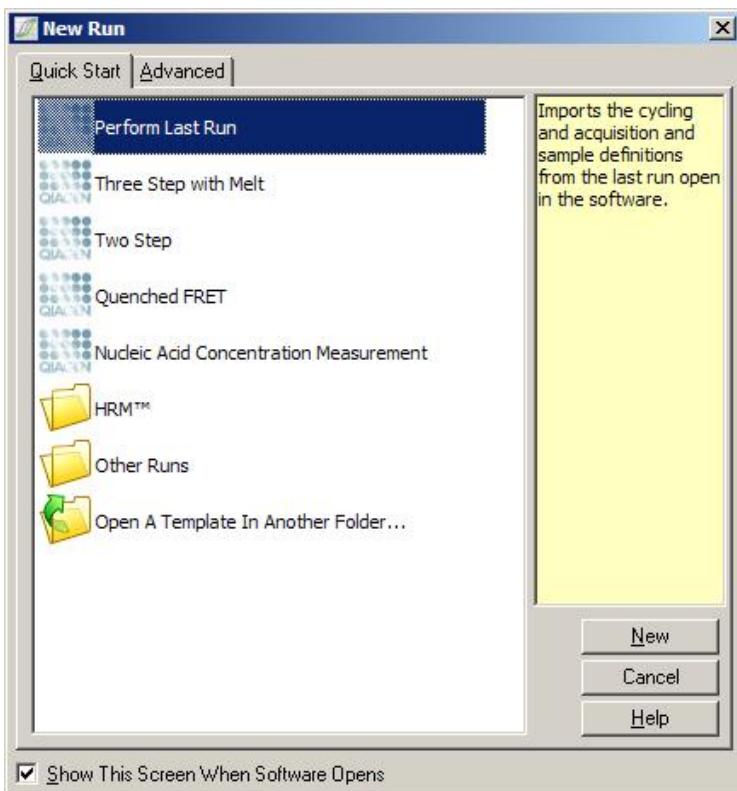
Select Groups (Chọn nhóm):

Nếu bạn đã xác định các nhóm, tính năng này sẽ chuyển đổi (bật/tắt) hiển thi các mẫu trong nhóm. Nhóm là tập hợp các mẫu tùy ý cho phép báo cáo nâng cao các kết quả thống kê. Ví dụ, có thể xác định các nhóm mẫu bệnh nhân được điều trị và không được điều trị. Có thể thiết lập nhóm trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu).

6.5 Tệp

6.5.1 Mới

Sau khi chọn **File** (Tệp) và **New** (Mới), cửa sổ **New Run** (Lần chạy Mới) xuất hiện. Cửa sổ này cung cấp các mẫu thường được sử dụng được tổ chức trong tab **Quick Start** (Khởi động Nhanh) và **Advanced** (Nâng cao). Khi mẫu được chọn, trình hướng dẫn sẽ hướng dẫn bạn thiết lập lần chạy và cho phép sửa đổi cài đặt và chương trình.



Để biết thông tin về các mẫu được cung cấp, xem Phần 5.1.1 và Phần 5.1.2.

Lần chạy mới

New (Mới): Tùy chọn này bắt đầu thiết lập lần chạy bằng cách sử dụng mẫu đã chọn.

Cancel (Hủy): Tùy chọn này đóng cửa sổ này.

Help (Trợ giúp): Tùy chọn này mở trợ giúp trực tuyến.

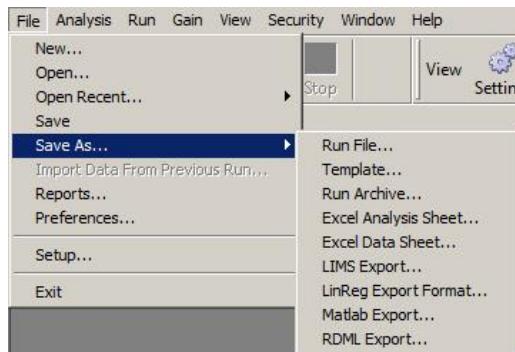
Show This Screen When Software Opens (Hiển thị màn hình này khi phần mềm mở ra): Nếu hộp này được chọn, cửa sổ **New Run** (Lần chạy mới) sẽ hiển thị khi phần mềm được khởi động.

6.5.2 Mở và Lưu

Open... (Mở...): Tùy chọn này sẽ mở tệp lần chạy Rotor-Gene Q (*.rex) đã lưu trước đó hoặc tệp lưu trữ lần chạy (*.rea).

Open Recent... (Mở gần đây): Tùy chọn này hiển thị 4 tệp cuối cùng đã được mở hoặc lưu.

Save (Lưu): Tùy chọn này lưu mọi thay đổi đã được thực hiện đối với một tệp lần chạy.



Save As... (Lưu dưới dạng): Sử dụng chức năng này để lưu tệp lần chạy hoặc dữ liệu ở các định dạng khác nhau. Các tùy chọn được liệt kê bên dưới.

Run File... (Tệp lần chạy): Tùy chọn này sẽ lưu một bản sao của tệp. Người dùng có thể thay đổi tên và vị trí lưu. Đây là định dạng mặc định.

Template... (Mẫu...): Tùy chọn này sẽ lưu thiết lập chương trình và cài đặt liên quan nhưng không lưu dữ liệu lần chạy. Mẫu có thể được sử dụng để bắt đầu các lần chạy sau.

Run Archive... (Lưu trữ lần chạy): Tùy chọn này sẽ lưu ở định dạng tệp nhỏ gọn hơn. Lưu các tệp ở định dạng này trước khi chúng được gửi qua email. Điều này làm giảm thời gian cần thiết để gửi tệp và đảm bảo rằng tệp không bị hỏng bởi máy khách email.

LIMS Export (Xuất LIMS): Tùy chọn này lưu bản phân tích ở các định dạng tương thích với LIMS theo yêu cầu của người dùng. Vui lòng liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN để biết thêm thông tin.

Excel Data Sheet... (Bảng dữ liệu Excel...): Tùy chọn này xuất tất cả các kênh thô sang trang tính Excel®. Chỉ được xuất những mẫu đã chọn.

Excel Analysis Sheet... (Bảng phân tích Excel): Tùy chọn này xuất tất cả các phân tích hiện tại vào một trang tính Excel duy nhất.

LinReg Export Format... (Định dạng xuất LinReg...): Tùy chọn này xuất tất cả dữ liệu kênh thô sang một định dạng có thể được đọc bởi LinReg (một công cụ phân tích hiệu quả). Xem "Xuất sang LinReg" bên dưới để biết thêm chi tiết.

Matlab Export... (Xuất Matlab...): Tùy chọn này xuất dữ liệu sang một định dạng có thể được đọc bởi gói khoa học Matlab (hoặc nguồn mở tương đương của nó, Octave). Điều này có thể hữu ích cho việc nghiên cứu các phương pháp.

RDML Export (Xuất RDML): Tùy chọn này chuẩn bị cho việc xuất tệp tuân thủ RDML v1.1. Tệp xuất RDML được tạo là tệp định dạng XML nén ZIP, với phần mở rộng tệp là *.rdml và tuân thủ tài liệu giản đồ RDML (https://rdml.org/rdml_v_1_1.html) được cung cấp trên trang web: https://rdml.org/rdml_v_1_1.html.

Xuất sang LinReg

LinReg là một công cụ được phát triển bởi C. Ramakers và các đồng nghiệp.* Công cụ LinReg có sẵn trên: <https://medischebiologie.nl/files/>.

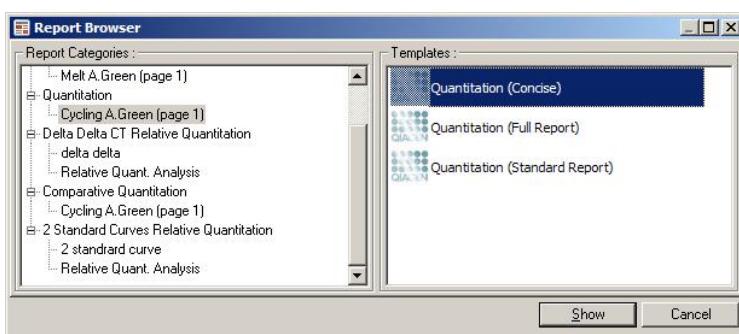
Phần mềm Rotor-Gene Q cho phép người dùng xuất dữ liệu thô ở định dạng mà sau đó có thể được nhập bằng công cụ LinReg để phân tích.

1. Mở tệp lần chạy Rotor-Gene Q có chứa dữ liệu thô.
2. Xuất dữ liệu sang định dạng xuất LinReg bằng cách chọn **Save As...** (Lưu dưới dạng) và **LinReg Export Format...** (Định dạng xuất LinReg...).
3. Microsoft Excel tự động hiển thị dữ liệu thô đã xuất.
4. Khởi động công cụ LinReg.

Công cụ yêu cầu bạn chọn phạm vi ô chứa dữ liệu thô. Công cụ này chỉ có thể phân tích một kênh thô tại một thời điểm, vì vậy nên chọn một vùng thích hợp của trang tính Excel.

6.5.3 Báo cáo

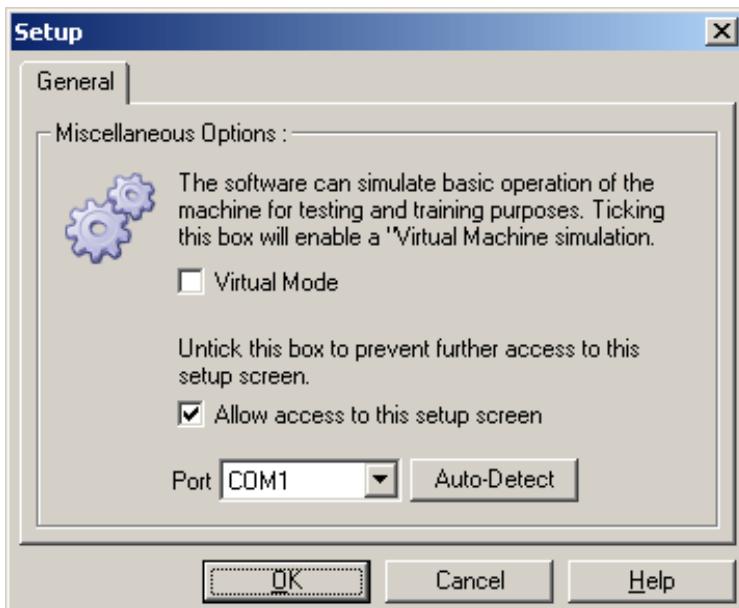
Sau khi chọn **Reports** (Báo cáo), cửa sổ **Report Browser** (Trình duyệt báo cáo). Nếu dữ liệu đã được phân tích, báo cáo của phân tích đó có thể được hiển thị từ cửa sổ **Report Browser** (Trình duyệt báo cáo). Một số loại báo cáo được cung cấp với các mức độ chi tiết khác nhau.



* Ruijter, J.M., Ramakers, C., Hoogaars, W.M., Karlen, Y., Bakker, O., van den Hoff, M.J., và Moorman, A.F. (2009) Hiệu quả khuếch đại: liên kết đường cơ sở và độ chênh trong phân tích dữ liệu PCR định lượng. Nucleic Acids Res. **37**, e45.

6.5.4 Thiết lập

Quy trình thiết lập Rotor-Gene Q MDx ban đầu phải được hoàn tất trong quy trình cài đặt. Tuy nhiên, tùy chọn này cho phép bạn thay đổi thiết lập kết nối Rotor-Gene Q MDx, nếu bạn muốn làm như vậy sau khi cài đặt.



Virtual Mode (Chế độ Ảo):

Chọn tùy chọn này nếu phần mềm sẽ được sử dụng mà không có Rotor-Gene Q MDx được kết nối. Phần mềm giữ lại tất cả các chức năng. Chế độ này hữu ích cho các mục đích trình diễn, phân tích dữ liệu và thiết lập các mẫu.

Allow access to this setup screen (Cho phép truy cập vào màn hình thiết lập này):

Nếu tùy chọn này không được chọn trong khi thiết lập, không thể truy cập cửa sổ này được nữa. Biện pháp bảo mật này ngăn người dùng thay đổi cài đặt. Để thiết lập lại quyền truy cập, hãy liên hệ với nhà phân phối của bạn.

Port (Cổng):

Chọn đúng cổng liên lạc để kích hoạt giao tiếp giữa máy tính và Rotor-Gene Q MDx.

Auto-Detect (Tự động phát hiện):

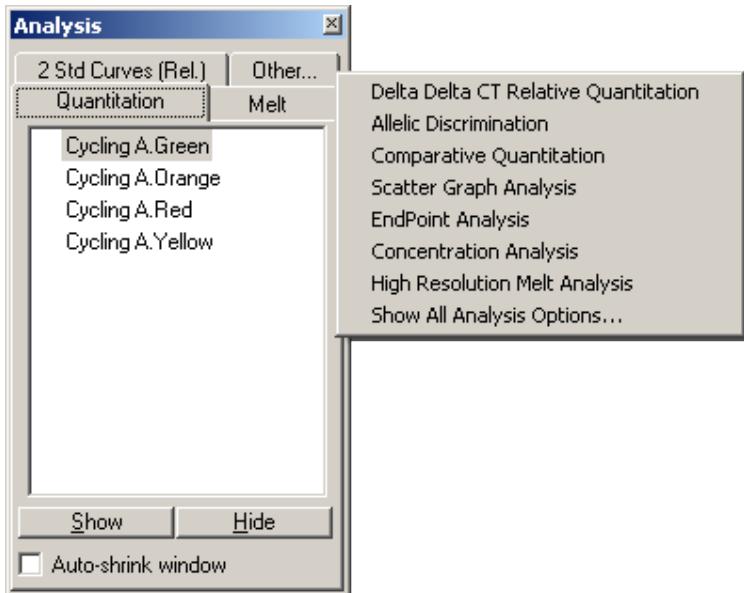
Nếu bạn không chắc chắn chọn cổng nào, nhấp vào Auto-Detect (Tự động phát hiện) để tìm kiếm tất cả các cổng có sẵn.

6.6 Menu phân tích

6.6.1 Phân tích

Sau khi nhấp vào **Analysis** (Phân tích), cửa sổ **Analysis** (Phân tích) xuất hiện. Cửa sổ này cho phép tạo các phân tích mới và hiển thị các phân tích hiện có. Phương pháp phân tích được chọn bằng cách sử dụng các tab. Danh sách các kênh có thể được phân tích bằng phương pháp đã chọn được hiển thị. Có thể phân tích độc lập nhiều xét nghiệm chạy trong cùng một kênh, miễn là chúng đã được thiết lập thành các trang riêng biệt trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu).

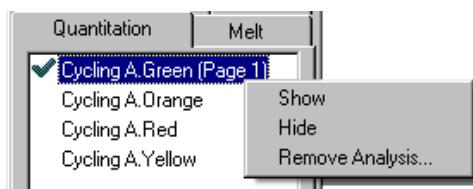
Các trang đã được phân tích có dấu kiểm màu xanh lá bên cạnh. Điều này có nghĩa là cài đặt ngưỡng và chuẩn hóa đã được lưu cho phân tích này. Để xem hoặc phân tích một kênh, nhấp đúp vào kênh đó. Cửa sổ phân tích cụ thể xuất hiện.



Auto-shrink window (Tự động thu nhỏ cửa sổ): Chọn **Auto-shrink window** (Tự động thu nhỏ cửa sổ) sẽ thu nhỏ cửa sổ khi thu nhỏ cửa sổ; không sử dụng. Di chuyển con trỏ qua cửa sổ sẽ phóng to cửa sổ trở lại.

Tổ chức không gian làm việc

Mỗi khi một phân tích mới được bắt đầu, các cửa sổ của nó sẽ được sắp xếp để vừa với những cửa sổ đã có trên màn hình. Nếu nhiều cửa sổ được hiển thị, điều này có thể phức tạp. Đóng các cửa sổ bạn không yêu cầu, sau đó nhấp vào **Arrange** (Sắp xếp) trên thanh công cụ. Các cửa sổ được sắp xếp tự động theo phương pháp **Smart Tiling** (Lát thông minh). Ngoài ra, hãy chọn một phương pháp sắp xếp khác bằng cách nhấp vào mũi tên bên cạnh nút **Arrange** (Sắp xếp). Nhấp chuột phải vào tên của phân tích cũng cung cấp các tùy chọn bổ sung.



Show (Hiển thị): Tùy chọn này hiển thị phân tích đã chọn.

Hide (Ẩn): Tùy chọn này ẩn phân tích đã chọn.

Remove Analysis... (Xóa phân tích): Tùy chọn này xóa hoàn toàn phân tích đã chọn. Điều này có nghĩa là mọi cài đặt chuẩn hóa hoặc thùng nóng chảy được thiết lập trong phân tích sẽ bị mất.

6.6.2 Định lượng

Chọn tab **Quantitation** (Định lượng) trong cửa sổ **Analysis** (Phân tích) rồi nhấp đúp vào tên kênh hoặc chọn kênh rồi nhấn nút **Show** (Hiển thị) để mở kênh quan tâm. Ba cửa sổ xuất hiện: màn hình chính, đường chuẩn và kết quả.

Báo cáo

Reports (Báo cáo):

Reports (Báo cáo) mở cửa sổ **Report Browser** (Trình duyệt Báo cáo) nơi có thể tạo báo cáo về phân tích hiện tại. Có 3 tùy chọn: báo cáo tiêu chuẩn, báo cáo đầy đủ và báo cáo ngắn gọn. Nhấp đúp vào tùy chọn mong muốn để mở báo cáo trong cửa sổ **Preview** (Xem trước).

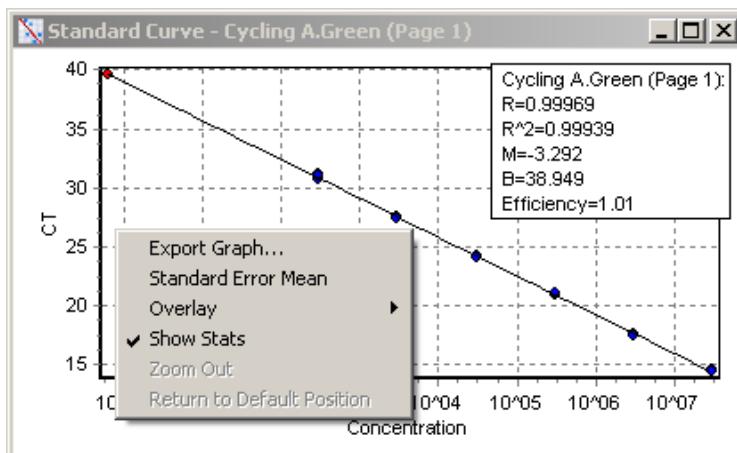
Sau khi báo cáo đã được tạo, có thể được sử dụng các nút trên đầu cửa sổ **Preview** (Xem trước) để in, lưu hoặc gửi báo cáo qua email hoặc xuất báo cáo sang Word



Đường chuẩn

Std. Curve (Đường Chuẩn):

Nút này mở cửa sổ **Standard Curve** (Đường chuẩn). Theo mặc định, cửa sổ này được mở khi một phân tích được mở. Nếu bạn đóng cửa sổ, nó có thể được mở lại bằng lệnh này.



Các giá trị trên đường chuẩn được tính toán lại theo cách động khi mức ngưỡng được thay đổi bằng cách nhấp và kéo đường ngưỡng trong cửa sổ chính.

Các chấm màu xanh dương trên đường cong đại diện cho các mẫu đã được xác định là tiêu chuẩn và các chấm màu đỏ đại diện cho các điểm dữ liệu mẫu chưa biết.

Lưu ý: Nếu xác định lại các tiêu chuẩn để tính toán lại đường chuẩn, tắt chế độ hiển thị mẫu tiêu chuẩn bằng cách sử dụng bộ chuyển đổi ở bên phải màn hình sẽ xóa nó khỏi phép tính đường chuẩn. Loại bỏ các tiêu chuẩn khỏi biểu đồ để tăng giá trị R^2 là không hợp lệ về mặt khoa học. Một tiêu chuẩn không đạt là dấu hiệu cho thấy rằng các mẫu cũng có thể không đạt và do đó cần được đưa vào kết quả.

Efficiency (Hiệu suất):
Đây là hiệu suất phản ứng của lần chạy. Giá trị này được thảo luận chi tiết hơn trên trang 93.

R^2 value (correlation coefficient)
(Giá trị R^2 (hệ số tương quan)):
Giá trị R^2, hoặc giá trị R2 là phần trăm dữ liệu phù hợp với giả thuyết rằng các tiêu chuẩn tạo thành một đường chuẩn. Nếu giá trị R2 thấp, các tiêu chuẩn không dễ dàng phù hợp với dòng phù hợp nhất. Điều này có nghĩa là kết quả (tức là nồng độ được tính toán) có thể không đáng tin cậy. Giá trị R2 phù hợp là khoảng 0,999.

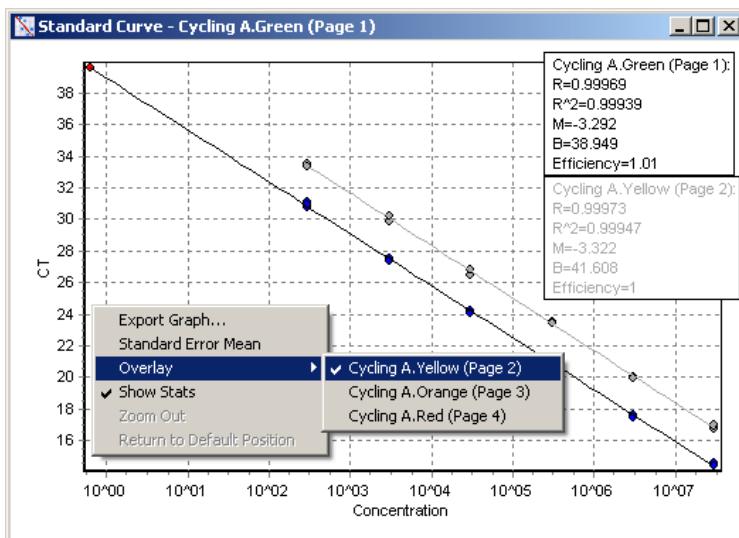
Lưu ý: Có thể đạt được giá trị R^2 cao với đường chuẩn kém nếu chạy không đủ số lượng tiêu chuẩn. Giá trị R^2 được cải thiện khi số lượng tiêu chuẩn giảm. Để có dấu hiệu chính xác hơn về độ tin cậy của các kết quả, hãy sử dụng khoảng tin cậy trên các nồng độ được tính toán làm chỉ dẫn.

R value (square root of correlation coefficient)
(căn bậc hai của hệ số tương quan):
Giá trị R là căn bậc hai của giá trị R^2. Nói chung, giá trị R^2 hữu ích hơn để xác định mối tương quan.

M and B (M và B):
Độ dốc (M) và giao điểm (B) của đường chuẩn được tính toán tự động bằng công thức $y = Mx + B$ và được hiển thị trong cửa sổ Standard Curve (Đường chuẩn).

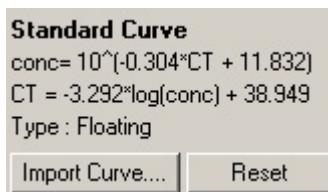
Export Graph... (Xuất biểu đồ...):
Nhấp vào nút chuột phải trên đường chuẩn sẽ hiển thị tùy chọn xuất biểu đồ (xem Phần 7.4).

Overlay (Xếp chồng):
Khi nhiều lần chạy định lượng đã được thực hiện trong cùng một lần chạy, có thể xếp chồng các đường chuẩn trong cùng một cửa sổ. Điều này hữu ích để xem bằng biểu đồ sự khác biệt giữa các ngưỡng khác nhau. Tính năng này được hiển thị trong ảnh chụp màn hình bên dưới.



Tính toán đường chuẩn

“conc = ...*CT + ...” và “CT = ...” là 2 phiên bản của phương trình được sử dụng để liên hệ các giá trị và nồng độ CT. Trong các ấn phẩm, công thức “CT = ...” được sử dụng phổ biến nhất. Đường chuẩn có thể là “Floating” (Di động) hoặc “Fixed” (Cố định). Nếu “Floating” (Di động), một phương trình tối ưu cho đường chuẩn sẽ được tính toán mỗi khi ngưỡng được di chuyển trong cửa sổ chính. Nếu “Fixed” (Cố định), phương trình không thay đổi vì nó đã được nhập từ một lần chạy khác.



Nhập Đường cong

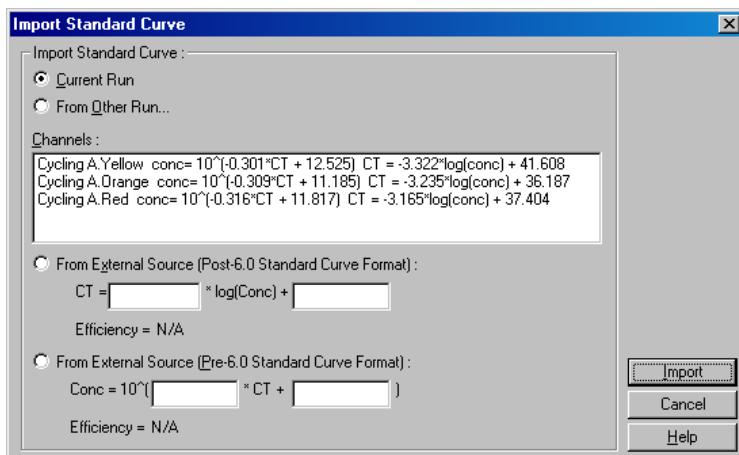
Nhập đường chuẩn cho phép ước tính nồng độ khi không có sẵn đường chuẩn trong một lần chạy cụ thể và hiệu suất phản ứng không thay đổi giữa 2 lần chạy. Các đường cong có thể được nhập từ một kênh khác hoặc từ một lần chạy khác bằng cách nhấp vào **Import Curve** (Nhập Đường cong).

Có thể điều chỉnh đường chuẩn, nếu cần. Điều chỉnh đường chuẩn có nghĩa là chỉ hiệu suất của đường chuẩn nguồn được nhập vào lần chạy hiện tại. Việc điều chỉnh đường chuẩn hay không phụ thuộc vào hóa chất được sử dụng.

Để điều chỉnh đường chuẩn, sử dụng chất tham chiếu trong lần chạy mới với nồng độ đã biết. Xác định tham chiếu bằng cách đặt loại mẫu thành "Standard" (Tiêu chuẩn) và nhập giá trị nồng độ vào cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu). Có thể nhập nhiều bản sao của cùng một chất tham chiếu để cải thiện độ chính xác. Lưu ý rằng không thể xác định nhiều hơn một nồng độ tham chiếu hoặc tiêu chuẩn. Ví dụ, có thể có 3 tham chiếu lặp lại của 1000 bản sao, nhưng không thể có một tham chiếu của 1000 bản sao và một tham chiếu khác có 100 bản sao trong cùng một lần chạy.

Khi đường chuẩn đã được nhập, loại đường chuẩn sẽ thay đổi thành "Fixed" (Cố định). Nhấp vào **Reset** (Đặt lại) để thay đổi loại đường chuẩn thành "Floating" (Di động).

Ảnh chụp màn hình của cửa sổ **Import Standard Curve** (Nhập Đường chuẩn) được hiển thị bên dưới.



Sử dụng cửa sổ này, có thể nhập một đường chuẩn từ một kênh khác được phân tích trong lần chạy hiện tại hoặc từ lần chạy khác.

Current Run (Lần chạy hiện tại):	Khi tùy chọn này được chọn, phân tích định lượng trên các kênh khác từ lần chạy này được liệt kê với các đường chuẩn tương ứng.
From Other Run... (Từ lần chạy khác):	Chọn tùy chọn này sẽ hiển thị một hộp thoại mà từ đó có thể chọn một tệp đang chạy để mở. Nếu bất kỳ phân tích định lượng nào đã được thực hiện trong lần chạy, các đường chuẩn được liệt kê cho mỗi kênh được phân tích.
	Lưu ý: Cài đặt phân tích định lượng phải được lưu trong tệp lần chạy.
Channels (Kênh):	Tùy chọn này liệt kê các kênh được phân tích và công thức đường chuẩn của chúng.
From External Source (Từ nguồn bên ngoài):	Trong vùng này, có thể nhập trực tiếp các giá trị M và B. Điều này hữu ích trong trường hợp các giá trị đến từ nguồn bên ngoài, chẳng hạn như bảng tính Excel.

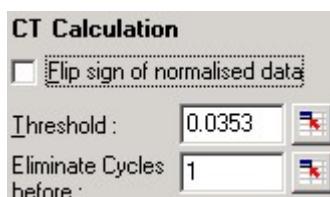
Tính toán CT

Invert Raw Data (Đảo ngược dữ liệu thô):	Một số hóa học tạo ra tín hiệu huỳnh quang giảm theo cấp số nhân thay vì tăng. Có thể phân tích những dữ liệu này bằng cách sử dụng "Quantitation" (Định lượng), nhưng nên chọn hộp kiểm Invert Raw Data (Đảo ngược dữ liệu thô). Đối với tất cả các phân tích định lượng khác, tùy chọn này sẽ không được chọn.
---	---



CT Calculations (Tính toán CT):	Giá trị CT là số chu kỳ tại điểm mà đường cong khuếch đại vượt quá ngưỡng phát hiện. Bằng cách thiết lập đường ngưỡng và tính toán giao điểm với mỗi đường cong, giá trị CT cho mỗi mẫu được thiết lập.
---	---

Threshold (Ngưỡng):	Để đặt ngưỡng, nhấp vào biểu tượng (lưới có mũi tên màu đỏ), sau đó nhấp và giữ vào biểu đồ và kéo đường sang bên phải. Tùy chọn này giúp loại bỏ ngưỡng cho số chu kỳ thấp.
----------------------------	--

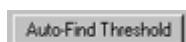


Eliminate Cycles before (Loại bỏ các chu kỳ trước):	Để đặt, nhấp vào biểu tượng (lưới có mũi tên màu đỏ), sau đó nhấp và giữ vào biểu đồ và kéo đường sang bên phải. Tùy chọn này giúp loại bỏ ngưỡng cho số chu kỳ thấp.
--	---

Lưu ý: Điều này rất hữu ích khi có nhiều trong các chu kỳ ban đầu, ví dụ, do hiệu ứng trộn mẫu.

Auto-Find Threshold (Tự động tìm ngưỡng):	Chức năng này quét vùng đã chọn của biểu đồ để tìm cài đặt ngưỡng mang lại ước tính tối ưu về nồng độ nhất định. Có thể thay đổi vùng đã chọn bằng cách nhập các giới hạn trên và giới hạn dưới mới vào các hộp văn bản xuất hiện.
--	--

Đối với hầu hết các phân tích, giới hạn trên và giới hạn dưới mặc định là phù hợp. Phạm vi các mức ngưỡng được quét để có được sự phù hợp nhất của đường chuẩn dựa trên các mẫu đã được xác định là tiêu chuẩn (tức là giá trị R gần nhất với 1,0).



Kết quả

Lệnh này mở cửa sổ **Quantitation Results** (Kết quả định lượng). Theo mặc định, cửa sổ này được mở khi một phân tích được mở. Nếu cửa sổ đã được đóng, có thể mở lại bằng lệnh này.

Quant. Results - Cycling A/Green (Page 1)														
Analysis	No.	Colour	Name	Type	Ct	Cl Comment	Given Conc	Calc Conc [C]	%Var	Rep. Ct	Rep. Ct Std	Rep. Ct (95% CI)	Rep. Calc Conc	Rep. Calc Conc (%)
Cycling A/Green (Page 1) .1	1048	Standard	3.73		1.00E+08	7.19E+07	28.1%	3.73	0.00	[3.73, 3.74]	7.17E+07	[1.17E+07, 4.39E+08]		
Cycling A/Green (Page 1) .2	1048	Standard	3.74		1.00E+08	7.17E+07	28.3%							
Cycling A/Green (Page 1) .3	1048	Standard	3.74		1.00E+08	7.16E+07	28.4%							
Cycling A/Green (Page 1) .4	1047	Standard	6.11		1.00E+07	1.44E+07	44.0%	6.06	0.06	[5.91, 6.21]	1.49E+07	[3.29E+06, 6.73E+07]		
Cycling A/Green (Page 1) .5	1047	Standard	6.08		1.00E+07	1.47E+07	45.6%							
Cycling A/Green (Page 1) .6	1046	Standard	5.89		1.00E+07	1.59E+07	55.3%							
Cycling A/Green (Page 1) .7	1046	Standard	10.43		1.00E+08	7.73E+05	22.8%	10.38	0.09	[10.15, 10.60]	8.00E+05	[2.62E+05, 2.44E+06]		
Cycling A/Green (Page 1) .8	1046	Standard	10.27		1.00E+08	8.98E+05	14.2%							
Cycling A/Green (Page 1) .9	1046	Standard	10.43		1.00E+08	7.71E+05	22.9%							
Cycling A/Green (Page 1) .10	1045	Standard	13.49		1.00E+05	9.68E+04	3.2%	13.65	0.13	[13.31, 13.98]	8.74E+04	[2.96E+04, 2.58E+05]		
Cycling A/Green (Page 1) .11	1045	Standard	13.75		1.00E+05	8.13E+04	18.7%							
Cycling A/Green (Page 1) .12	1045	Standard	13.69		1.00E+05	8.49E+04	15.2%							
Cycling A/Green (Page 1) .13	1044	Standard	15.66		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.46	0.25	[14.84, 16.09]	2.56E+04	[7.82E+03, 8.38E+04]		
Cycling A/Green (Page 1) .14	1044	Standard	15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%							
Cycling A/Green (Page 1) .15	1044	Standard	15.18		1.00E+04	3.08E+04	208.8%							
Cycling A/Green (Page 1) .16	1043	Standard	21.36		1.00E+03	4.71E+02	52.3%	21.09	0.24	[20.49, 21.69]	5.65E+02	[9.13E+01, 3.50E+03]		
Cycling A/Green (Page 1) .17	1043	Standard	20.89		1.00E+03	6.47E+02	35.3%							
Cycling A/Green (Page 1) .18	1043	Standard	21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%							
Cycling A/Green (Page 1) .19	1042	Standard	NEG (Multi Ct)		1.00E+02									
Cycling A/Green (Page 1) .20	1042	Standard	23.98		1.00E+02	7.93E+01	20.1%							
Cycling A/Green (Page 1) .21	1042	Standard	NEG (Multi Ct)		1.00E+02									
Cycling A/Green (Page 1) .22	NTC	NTC	NEG (NTC)											
Cycling A/Green (Page 1) .23	NTC	NTC	NEG (NTC)											
Cycling A/Green (Page 1) .24	NTC	NTC	NEG (NTC)											

Trong cửa sổ **Quantitation Results** (Kết quả định lượng), kết quả từ lần chạy được tóm tắt trong một bảng. Nhấp chuột phải và chọn **Export to Excel** (Xuất sang Excel) sẽ xuất bảng sang Excel. Excel tự động mở. Để sao chép dữ liệu vào bảng tính hiện có, chọn tùy chọn **Copy** (Sao chép), mở bảng tính, sau đó chọn **Paste** (Dán).

Cửa sổ **Quantitation Results** (Kết quả định lượng) bao gồm các cột sau.

Analysis (Phân tích): Tập dữ liệu hiện tại (kênh thu nhận và trang mẫu).

No. (Số): Số mẫu.

Color (Màu sắc): Màu biểu đồ mẫu riêng đã xác định.

Type (Loại): Loại mẫu đã xác định.

C_T: Giá trị C_T đã xác định.

C_T Comment (Chú thích C_T): Một chú thích tự động về xác định C_T, nếu các giá trị C_T bị loại trừ. Có thể có các nhãn sau:

NEG (Đa Ct): Nguồn vượt quá đường cong phát huỳnh quang ít nhất hai lần (cát đôi). Không thể xác định giá trị C_T rõ ràng.

NEG (NTC): Sự gia tăng phát huỳnh quang tổng thể không đáp ứng các điều kiện được xác định trong chức năng "NTC threshold" (Ngưỡng NTC) của menu "**Outlier Removal** (Loại bỏ điểm ngoại lai) (xem bên dưới). Ví dụ: một đường cong phát huỳnh quang giao với ngưỡng đã cho nhưng độ dốc tổng thể tăng ít cho thấy mẫu chung không mẫu và giá trị C_T không được cho.

NEG (R.Eff): Sự gia tăng phát huỳnh quang tổng thể không đáp ứng các điều kiện được xác định trong chức năng "Reaction efficiency threshold" (Ngưỡng hiệu suất phản ứng) của menu "**Outlier Removal** (Loại bỏ điểm ngoại lai) (xem bên dưới). Các mẫu không đạt hiệu suất phản ứng nhất định bị loại và giá trị CT không được cho. Cờ này chỉ được hiển thị nếu chức năng tương ứng được bật.

%Var (% Biến thiên): Phản trác biến thiên giữa nồng độ tính toán và nồng độ đã biết.
%Var=Abs(Tính toán/Đã biết-1)

Rep. Ct (Ngưỡng Chu kỳ Bản sao): CT trung bình của tất cả các mẫu có cùng tên với mẫu này.

Rep. Ct Std. Dev. (Độ lệch chuẩn Nguồng Chu kỳ Bản sao):

Rep. Ct. 95% C.I. (Nguồng Chu kỳ Bản sao cho Khoảng Tin cậy 95%):

Rep. Calc. Conc. (Nồng độ Tính toán Bản sao):

Rep. Calc. Conc. 95% C.I. (Nồng độ Tính toán Bản sao cho Khoảng Tin cậy 95%):

Độ lệch chuẩn trung bình của giá trị Ct của tất cả các mẫu có cùng tên với mẫu này.

Phạm vi Ct theo thống kê, chiếm 95% độ biến thiên trong giá trị Ct. Đây là một thước đo thống kê thận trọng, có thể được sử dụng như một thước đo chất lượng. Có thể thu hẹp phạm vi này bằng cách chạy nhiều bản sao hơn hoặc bằng cách có ít biến động hơn trong các bản sao.

Nồng độ tính toán cho tất cả các mẫu có cùng tên.

Lưu ý: Đây không phải là giá trị trung bình đơn của các nồng độ được tính toán. Đây là giá trị trung bình hình học, là giá trị trung bình thích hợp hơn về mặt toán học do tính chất hàm mũ của khuếch đại thời gian thực.

Một phạm vi nồng độ chiếm 95% độ biến thiên trong từng mẫu riêng lẻ cũng như mô hình hồi quy tuyến tính làm cơ sở. Cách giải thích của biện pháp này là phạm vi nồng độ có thể dự kiến là 95% thời gian nếu lần chạy này được thực hiện lặp đi lặp lại với cùng một lượng biến thiên. Đây là một ước tính thận trọng và phạm vi có thể khá lớn do sự thay đổi có hưu trong bất kỳ phân tích thời gian thực nào. Phạm vi này có thể lớn nếu các chất chuẩn được chạy với nồng độ khác với các mẫu chưa biết, nếu sử dụng một số lượng nhỏ các bản sao hoặc nếu có độ biến thiên đáng kể.

Quan trọng: Độ biến thiên được báo cáo bởi biện pháp này là có hưu của quá trình khuếch đại thời gian thực theo cấp số nhân và không phải do Rotor-Gene Q MDx. Các xét nghiệm tương tự được thực hiện trên máy luân nhiệt dựa trên khối sẽ mang lại độ biến thiên lớn hơn do sự đồng nhất về nhiệt độ thấp hơn của các hệ thống dựa trên khói. Để so sánh các máy luân nhiệt nếu muốn, chúng tôi khuyên bạn nên so sánh độ lệch chuẩn của giá trị Ct.

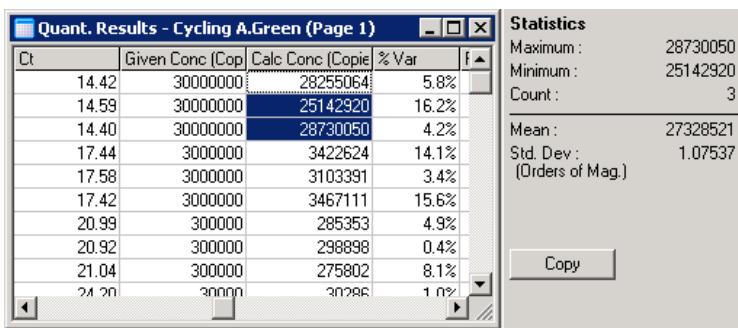
Lưu ý: Thông tin chi tiết hơn về khoảng tin cậy có sẵn trong Phụ lục B.

Lưu ý: Ngoại trừ Màu, Tên, Ct và Chú thích Ct, mỗi cột có thể được hiển thị hoặc ẩn bằng cách nhấp chuột phải vào cửa sổ, sau đó chọn hoặc bỏ chọn tên cột.

No.	Ct	Name	Ct Comment	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var
1	3x10^-8	Analysis		300.000.000,	324.345.068,	8,1%
2	3x10^-8	✓ No.		300.000.000,	301.264.230,	0,4%
3	3x10^-8	✓ Color		300.000.000,	308.453.920,	2,8%
4	3x10^-8	✓ Name		300.000.000,	298.576.301,	0,5%
5	3x10^-7	Type		30.000.000,	27.524.578,	8,3%
6	3x10^-7	✓ Ct		30.000.000,	26.405.444,	12,0%
7	3x10^-7	✓ Ct Comment		30.000.000,	28.701.296,	4,3%
8	3x10^-7	✓ Given Conc (Copies)		30.000.000,	23.847.613,	20,5%
9	3x10^-6	✓ Calc Conc (Copies)		3.000.000,	3.392.142,	13,1%
10	3x10^-6	✓ % Var		3.000.000,	3.170.880,	5,7%
11	3x10^-6	✓ Rep. Ct		3.000.000,	3.130.752,	4,4%
12	3x10^-6	✓ Rep. Ct Std. Dev.		3.000.000,	3.166.396,	5,5%
13	3x10^-5	✓ Rep. Ct (95% CI)		300.000,	321.913,	7,3%
14	3x10^-5	Rep. Calc. Conc.		300.000,	305.744,	1,9%
15	3x10^-5	Rep. Calc. Conc. (95% CI)		300.000,	312.045,	4,0%
16	3x10^-5			300.000,	324.696,	8,2%
17	3x10^-4			30.000,	32.420,	8,1%
18	3x10^-4			30.000,	29.872,	0,4%
19	3x10^-4			30.000,	31.102,	3,7%
20	3x10^-4			30.000,	31.301,	4,3%
21	3x10^-3			3.000,	2.850,	5,0%
22	3x10^-3			3.000,	2.793,	6,9%
23	3x10^-3			3.000,	2.825,	5,8%
24	3x10^-3			3.000,	2.888,	3,7%
25	3x10^-2			300,	322,	7,5%
26	3x10^-2			300,	305,	1,6%
27	3x10^-2			300,	275,	8,5%
28	3x10^-2			300,	291,	3,1%

Để tăng tính tiện lợi, tính năng **AutoStat** tự động tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, giá trị tối thiểu và tối đa của các mẫu quan tâm. Chọn kết quả quan tâm bằng cách kéo chuột trái và các giá trị được hiển thị trong bảng bên phải màn hình.

Trong ảnh chụp màn hình này, nồng độ của một số mẫu được phân tích.



Quan trọng: Tính năng **AutoStat** nhận biết ngữ cảnh. Điều này có nghĩa là, nếu có thể, nó chỉ tạo ra thông tin hữu ích.

Ví dụ:

- Không thể lấy khoảng tin cậy 95% từ một tập hợp các nồng độ tính toán đã chọn vì cũng phải tính đến mô hình hồi quy.
- Độ lệch chuẩn “Orders of Magnitude” (Thứ tự Độ lớn) được báo cáo cho các nồng độ được tính toán thay vì một giá trị tuyệt đối. Đây là một biến thể phần trăm. Ví dụ: giá trị 1,07537 đại diện cho độ lệch chuẩn 7,54% ($278,974 - 322,611 = (300,000 / 1,07537) - 0,000 * 1,07537$). Báo cáo một giá trị tuyệt đối không có ý nghĩa đối với một đường chuẩn. Giá trị có thể được báo cáo ở nồng độ thấp nhất để tạo ra sai số cảm nhận được ở mức thấp (± 3 bản sao) hoặc ở nồng độ cao ($\pm 3.000.000$ bản sao). Vì lý do này, độ lệch chuẩn “Orders of Magnitude” (Thứ tự Độ lớn) được báo cáo.
- Đối với các nồng độ được tính toán, giá trị trung bình hình học được sử dụng thay vì giá trị trung bình số học. Điều này giải thích bản chất hàm mũ của real-time PCR. Ví dụ, trong trường hợp độ pha loãng gấp đôi với 1, 2, 8 và 16 bản sao, giá trị trung bình phải là 4 bản sao, vì nó là phần giữa của chuỗi pha loãng. Tuy nhiên, giá trị trung bình số học là 6,75. Giá trị trung bình hình học là $(1 * 2 * 8 * 16)^{1/4} = 4$ bản sao.

Chuẩn hóa ống động

Tùy chọn **Dynamic Tube** (Ống động) được chọn theo mặc định và được sử dụng để xác định nền trung bình của mỗi mẫu ngay trước khi bắt đầu khuếch đại.

Quá trình chuẩn hóa tiêu chuẩn chỉ cần thực hiện 5 chu kỳ đầu tiên và sử dụng các chu kỳ này như một chỉ báo về mức độ nền của mỗi mẫu. Sau đó, tất cả các điểm dữ liệu cho mẫu được chia cho giá trị này để chuẩn hóa dữ liệu. Giá trị này có thể không chính xác vì đối với một số mẫu, mức nền trong 5 chu kỳ đầu tiên có thể không biểu thị mức nền ngay trước khi khuếch đại. Ngược lại, chuẩn hóa ống động sử dụng đạo hàm bậc hai của mỗi vết mẫu để xác định điểm bắt đầu cho mỗi mẫu. Sau đó mức nền được tính trung bình từ chu kỳ 1 cho đến số chu kỳ bắt đầu này cho mỗi mẫu. Cách này cho kết quả định lượng chính xác nhất.

Lưu ý rằng đối với một số bộ dữ liệu, phát huỳnh quang nền không quan trọng trong các chu kỳ trước khi bắt đầu khuếch đại. Trong những trường hợp này, có thể cần phải bỏ chọn chuẩn hóa ống động bằng cách nhấp vào **Dynamic Tube** (Ông động) vì nó có thể khiến định lượng kém chính xác hơn.

Điều chỉnh độ dốc nhiều

Lý tưởng là phát huỳnh quang nền (FI) của mẫu không đổi trước khi khuếch đại. Tuy nhiên, đôi khi FI cho thấy sự tăng hoặc giảm dần dần trong một số chu kỳ do hóa học được sử dụng. Điều này tạo ra một mức nhiễu lệch. Điều chỉnh độ dốc nhiều sử dụng đường phù hợp nhất để xác định mức nhiễu thay vì mức trung bình và chuẩn hóa thành đường đó. Chọn tùy chọn này bằng cách nhấp vào nút **Slope Correct** (Điều chỉnh độ dốc) có thể cải thiện dữ liệu từ các bẩn sao nếu đường cơ sở mẫu có độ dốc đáng kể. Điều chỉnh độ dốc nhiều cải thiện dữ liệu khi quan sát thấy nền dữ liệu thô dốc lên hoặc xuống trước điểm bắt đầu (CT).

Khi độ dốc không ổn định hoặc các chu kỳ ban đầu của đường cơ sở cho thấy tín hiệu tăng hoặc giảm đáng kể so với phần còn lại của đường cong, Điều chỉnh Độ dốc Nhiều có thể dẫn đến một số tác động không mong muốn, chẳng hạn như các đường cong mẫu chứng âm vượt quá ngưỡng do ước lượng của đường cơ sở như một đường phù hợp nhất và chuẩn hóa dữ liệu thô cho phù hợp. Do đó, chức năng này không phải lúc nào cũng cải thiện chất lượng của dữ liệu và chỉ nên được sử dụng nếu các đường cong dữ liệu thô hiển thị một độ dốc ổn định.

Điều chỉnh điểm bắt đầu

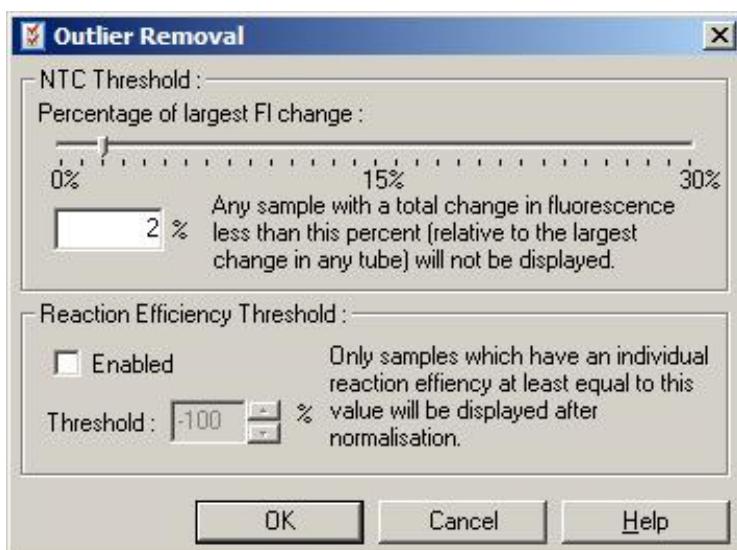
Có thể sử dụng thuật toán điều chỉnh điểm bắt đầu để xác định độ dài tối thiểu của đường cơ sở được sử dụng để chuẩn hóa. Để áp dụng điều chỉnh điểm bắt đầu, hai tham số phải được xác định. Nếu một điểm bắt đầu được tính bởi **Dynamic Tube** (Ông động) thấp hơn tham số đầu tiên, tham số thứ hai sẽ được sử dụng làm điểm bắt đầu. Chỉ có thể sử dụng điều chỉnh điểm bắt đầu cùng với chuẩn hóa **Dynamic Tube** (Ông động).

Bỏ qua đầu tiên

Tín hiệu phát huỳnh quang từ một vài chu kỳ đầu tiên trong một lần chạy có thể không đại diện cho phần còn lại của lần chạy. Vì lý do này, có thể đạt được kết quả tốt hơn nếu bỏ qua vài chu kỳ đầu tiên. Có thể bỏ qua tối đa 10 chu kỳ. Tuy nhiên, nếu các chu kỳ đầu tiên trông giống với các chu kỳ tiếp theo, sẽ đạt được kết quả tốt hơn bằng cách bỏ chọn “**Ignore First**” (Bỏ qua đầu tiên) vì thuật toán chuẩn hóa sẽ có nhiều dữ liệu hơn để làm việc.

Loại bỏ Điểm ngoại lai

Có 2 phương pháp để phân biệt giữa những thay đổi nhỏ trong phản ứng phát huỳnh quang và phản ứng thuần túy trong mẫu chứng không mẫu (No Template Controls, NTC): **NTC Threshold** (Ngưỡng NTC) và **Reaction Efficiency Threshold** (Ngưỡng Hiệu quả Phản ứng). **NTC Threshold** (Ngưỡng NTC) được khuyến nghị cho hầu hết các ứng dụng. Phương pháp được sử dụng nên được xác nhận.



NTC Threshold (Ngưỡng NTC):

Phương pháp này cho phép các mẫu hoặc NTC có độ lệch nhẹ lên trên được loại trừ khỏi phân tích. Tất cả các mẫu có thay đổi dưới “NTC Threshold” (Ngưỡng NTC) sẽ không được báo cáo và cột “NEG (NTC)” sẽ được hiển thị trong cột “CT Comment” (Chú thích CT).

Tỷ lệ phần trăm có liên quan đến sự thay đổi tối đa lớn nhất được tìm thấy trong bất kỳ ống nào. Ví dụ, nếu một mẫu bắt đầu ở nền 2 Fl và tăng lên 47 Fl, thì 45 Fl đại diện cho 100%. “NTC Threshold” (Ngưỡng NTC) 10% sẽ coi bất kỳ mẫu nào nhỏ hơn 4,5 Fl là nhiễu.

Reaction Efficiency Threshold (Ngưỡng Hiệu quả Phản ứng): "Reaction Efficiency Threshold" (Ngưỡng Hiệu quả Phản ứng) là một phương pháp thay thế để loại trừ nhiễu khói phân tích. Thuật toán chuẩn hóa này sử dụng các kỹ thuật ước lượng hiệu suất phản ứng được sử dụng trong định lượng so sánh (xem Phần 6.6.6). Tất cả các mẫu không có hiệu suất phản ứng ít nhất là mức này sẽ bị loại trừ và cờ "NEG (R.Eff)" sẽ được hiển thị trong cột "CT Comment" (Chú thích CT).

Mức 0% cho thấy rằng, trong pha mủ, không có phản ứng nào xảy ra. 100% chỉ ra rằng một phản ứng hoàn toàn có hiệu suất xảy ra trong pha mủ. Tỷ lệ phản trắc âm chỉ ra rằng trong pha mủ, tín hiệu huỳnh quang bị suy giảm.

Nghiên cứu hiện tại chưa có kết luận chính xác về mức độ hiệu suất cần thiết để phân biệt các phản ứng thực sự với nhiễm bẩn và các tác động khác. Vì lý do này, chúng tôi khuyên bạn nên sử dụng tính năng này thận trọng, với giả định rằng bất kỳ mẫu nào có phản ứng chính xác sẽ có một số pha mủ có thể nhìn thấy được có mức tăng phát huỳnh quang. Đặt giá trị này cao hơn 0% sẽ loại trừ một số mẫu có mức tăng phát huỳnh quang không hiệu quả nhưng có thể nhận thấy được, trong khi cài đặt dưới 0% sẽ hiển thị các mẫu giảm phát huỳnh quang trong pha mủ, cần loại trừ rõ ràng.

Lưu ý: Nếu một giá trị bị loại trừ do kích hoạt một trong hai kỹ thuật này, giá trị CT tương ứng trong cửa sổ **Quantitation Results** (Kết quả định lượng) sẽ không được hiển thị. Đồng thời, một cờ cho biết sự loại trừ sẽ được hiển thị trong cột "CT Comment" (Chú thích CT). Do đó, điều quan trọng là phải đảm bảo rằng cột "CT Comment" (Chú thích CT) được hiển thị mọi lúc.

Trong hình ảnh bên dưới, các mẫu 7, 8 và 9 đã bị loại trừ do "Reaction Efficiency Threshold" (Ngưỡng Hiệu quả Phản ứng).

No.	Name	Type	Ct	CT Comment	Given Conc (copies/reaction)
7	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
8	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
9	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
10	10e5	Standard	15,04		1,00E+05
11	10e5	Standard	15,03		1,00E+05
12	10e5	Standard	15,05		1,00E+05

Độ dốc, độ khuếch đại, hiệu suất phản ứng

Có thể sử dụng độ dốc (M) của phản ứng (hiển thị trong cửa sổ **Standard Curve** (Đường chuẩn)) để xác định độ khuếch đại theo hàm mũ và hiệu suất phản ứng bằng cách sử dụng các tính toán sau:

Khuếch đại theo hàm mũ = $10^{(-1/M)}$

Hiệu suất phản ứng = $[10^{(-1/M)}] - 1$

Các giá trị tối ưu của M, độ khuếch đại theo hàm mũ và hiệu suất phản ứng lần lượt là -3,322, 2 và 1. Hiệu suất phản ứng được hiển thị trong báo cáo (trong báo cáo tiêu chuẩn và đầy đủ, xem trang 82) và trong cửa sổ **Standard Curve** (Đường chuẩn).

Độ dốc được tính bằng thay đổi về Ct chia cho thay đổi về đầu vào nhật ký (ví dụ: số bản sao).

Khuếch đại hiệu quả 100% có nghĩa là sản phẩm khuếch đại tăng gấp đôi trong mỗi chu kỳ dẫn đến giá trị M là -3,322, hệ số khuếch đại là 2 và hiệu suất phản ứng là 1.

Với giá trị M là -3,322, các phép tính như sau:

Khuếch đại theo cấp số nhân: $10^{(-1/-3,322)} = 2$

Hiệu suất phản ứng: $[10^{(-1/-3,322)}] - 1 = 1$

Ví dụ khác: giá trị M là 3,8 có nghĩa là phản ứng có độ khuếch đại theo cấp số nhân xấp xỉ 1,83 và hiệu suất phản ứng là 0,83 (hoặc 83%).

Độ lệch

Trong công thức mô tả mối quan hệ giữa 2 biến, độ lệch được biểu thị bằng ký tự B ($y = Mx + B$). Độ lệch đôi khi còn được gọi là giao điểm. B đại diện cho C_T của một nồng độ nhất định là 1 đơn vị. Bằng cách thay 1 vào công thức nồng độ như trình bày dưới đây:

$$C_T = \log(1) * M + B$$

$$C_T = 0 * M + B$$

Kết quả là $C_T = B$

Giao điểm có thể thay đổi từ lần chạy này sang lần chạy khác và là một phép đo kém ổn định hơn so với gradient. Vì lý do này, gradient được phân tích thường xuyên hơn giao điểm.

Cửa sổ chính

Cửa sổ chính hiển thị các sơ đồ khuếch đại trên tỷ lệ log.

Nhấp vào **Linear Scale** (Tỷ lệ tuyến tính) ở cuối cửa sổ sẽ thay đổi tỷ lệ từ tỷ lệ log sang tỷ lệ tuyến tính và ngược lại. Thay đổi giữa các tỷ lệ này chỉ làm thay đổi cách hiển thị của biểu đồ chứ không phải các phép tính. Có thể xác minh điều này bằng cách sử dụng công cụ xác định, nhấp chuột phải vào biểu đồ và chọn **Show pinpointer** (Hiển thị công cụ xác định). Sử dụng tỷ lệ log, các giá trị nhỏ hơn hiển thị rõ hơn trên biểu đồ trong khi tỷ lệ log tạo điều kiện quan sát toàn bộ phản ứng.

Lưu ý: Các sơ đồ khuếch đại cập nhật theo thời gian thực vì Rotor-Gene Q MDx đang tích cực thu thập dữ liệu trong lần chạy. Việc giám sát dữ liệu theo thời gian thực này cho phép người dùng xem kết quả ngay khi các đường cong hiển thị mức tăng trưởng theo cấp số nhân. Có thể rút ra kết luận sơ bộ và đưa ra quyết định cho lần chạy tiếp theo.

Các mẫu phân tích định lượng

Các mẫu phân tích định lượng cho phép người dùng xuất các cài đặt chuẩn hóa và ngưỡng thành một tệp *.qut. Tệp này có thể được nhập và áp dụng lại trong các thí nghiệm khác. Xem Phần 7.1 để biết thêm chi tiết.



6.6.3 Hai đường chuẩn

Có thể thực hiện phân tích biểu hiện gen tương đối bằng cách sử dụng gen chuẩn hóa bằng phương pháp 2 đường chuẩn.

Phương pháp này yêu cầu một đường chuẩn cho mỗi gen. Nồng độ cho mỗi gen được định lượng theo đường chuẩn của nó. Sau đó, biểu hiện của gen quan tâm được chuẩn hóa với gen chuẩn hóa (thường là gen tham chiếu).

Điều quan trọng là các tiêu chuẩn và mẫu lặp lại phải được chỉ định chính xác trong quá trình thiết lập mẫu (xem Phần "Thiết lập mẫu"). Đặc biệt, các mẫu tương ứng phải có cùng tên trong mỗi lần phân tích. Trong phản ứng đa kênh, khi vị trí ống của gen quan tâm và gen chuẩn hóa giống nhau, thì một bộ các định nghĩa mẫu là đủ. Nếu thực hiện phân tích tương đối với gen chuẩn hóa bằng một kênh đơn (tức là các phản ứng được chạy trong các ống riêng biệt sử dụng cùng một fluorophore), thì nên tạo 2 trang mẫu. Đầu tiên phải gắn nhãn các vị trí ống bằng tên mẫu cho gen quan tâm, các vị trí khác không được đặt tên. Đầu tiên phải dán nhãn các vị trí được sử dụng cho gen bình thường hóa. Sau đó, phần mềm sẽ đối sánh các mẫu trong 2 lần phân tích dựa trên tên của chúng.

Phân tích biểu thức bằng phương pháp hai đường chuẩn

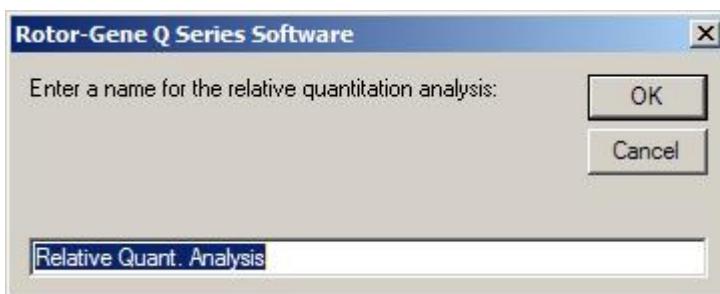
Trước tiên, có thể phân tích dữ liệu cho từng gen bằng phân tích định lượng. Nếu không, kết quả cho từng gen sẽ tự động được xác định bằng cách sử dụng công cụ **Autofind Threshold** (Ngưỡng tự động tìm kiếm).

1. Từ cửa sổ **Analysis** (Phân tích), chọn tab **2 Std Curve (Rel.)** (2 Đường chuẩn (Tương đối)).

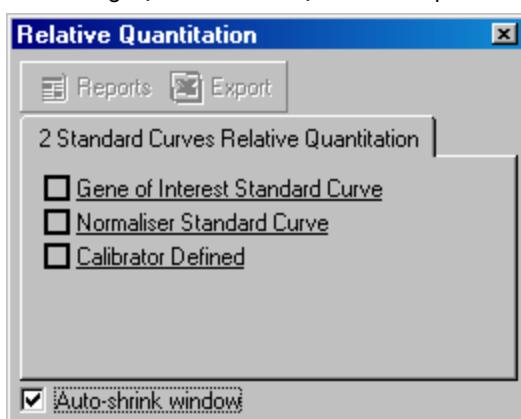
Nhấp vào **New Analysis...** (Phân tích mới...).

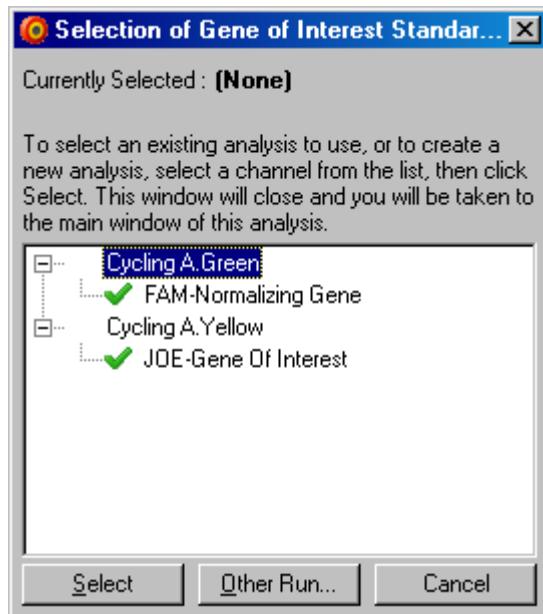


2. Nhập tên cho phân tích.

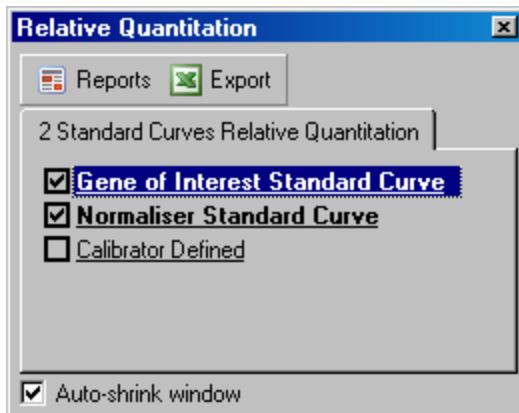


3. Chỉ định các trang được sử dụng để phân tích gen chuẩn hóa và phân tích gen quan tâm. Ví dụ, nhấp vào **Gene of Interest Standard Curve** (Đường chuẩn Gen Quan tâm) sẽ xuất hiện cửa sổ **Selection of Gene of Interest Standard...** (Chọn Tiêu chuẩn Gen Quan tâm...). Chọn trang nơi gen quan tâm đã được định lượng. Lặp lại quy trình cho gen chuẩn hóa. Theo tùy chọn, có thể xác định chất hiệu chuẩn. Nếu tùy chọn này được chọn, chất hiệu chuẩn sẽ được gán giá trị 1 và tất cả các nồng độ mẫu khác được tính liên quan đến mẫu này.

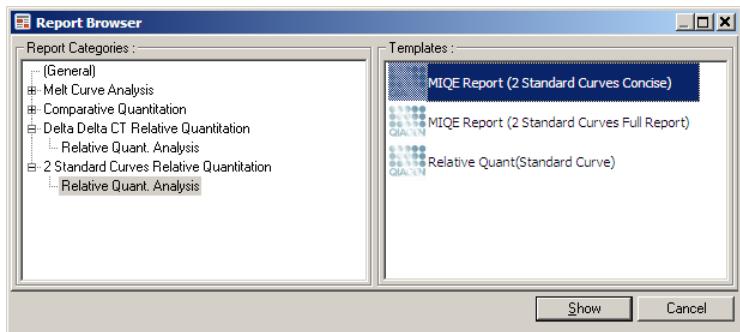




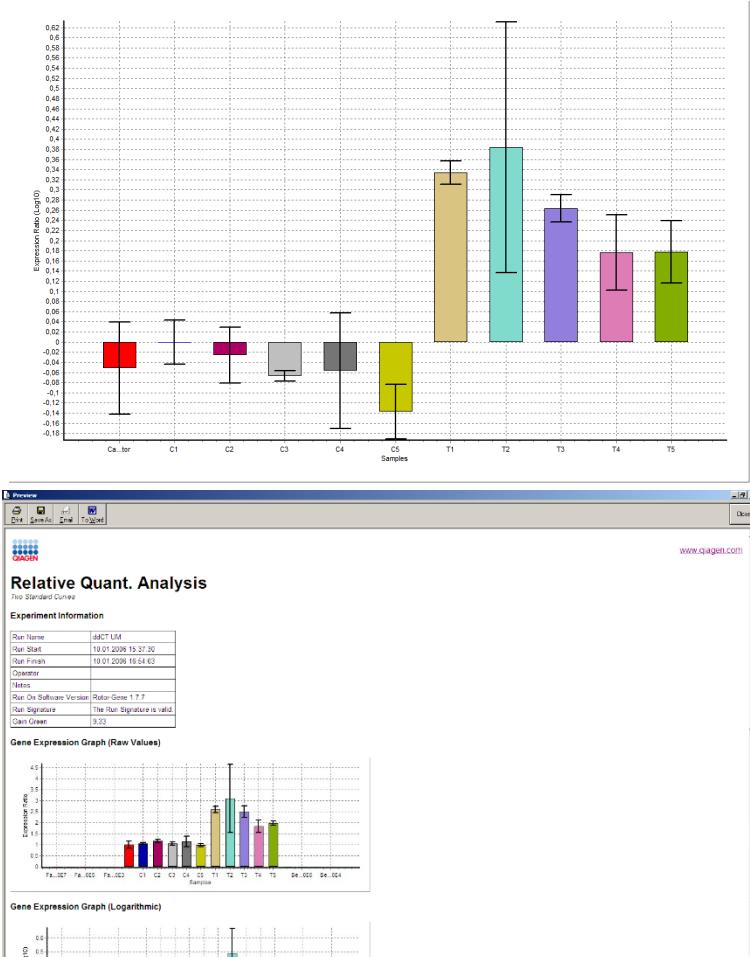
Sau khi hoàn thành các lựa chọn, các tùy chọn sẽ được đánh dấu tích như hình dưới đây.



4. Nhấp vào nút **Reports** (Báo cáo) để hiển thị **Report Browser** (Trình duyệt báo cáo). Chọn phân tích có tên chính xác từ danh sách. Nhấp vào nút **Show** (Hiển thị) để hiển thị báo cáo định lượng tương đối. Tùy chọn **Export** (Xuất) xuất kết quả sang một bảng tính Excel mới. Nếu bao gồm chất hiệu chuẩn, kết quả được tính tương ứng với mẫu hiệu chuẩn, được gán giá trị 1.



5. Nồng độ được đọc từ các đường chuẩn cho gen quan tâm (GOI Conc.) Và gen chuẩn hóa (Norm. Conc.), cũng như nồng độ tương đối (Relative Conc.) được hiển thị. Kết quả có thể được lưu dưới dạng tệp Word.



6. Các giá trị Rel Min và Rel Max được tạo ra bằng cách tính toán độ lệch chuẩn của thương số từ độ lệch chuẩn của GOI và Bộ chuẩn hóa bằng công thức sau:

$$CV_{relconc} = \sqrt{CV_{GOI}^2 + CV_{Norm}^2}$$

trong đó:

$$cv = \frac{s}{\bar{X}} = \frac{stddev}{meanvalue}$$

6.6.4 Định lượng tương đối delta delta CT

Phương pháp delta CT cho phép phân tích biểu hiện gen tương đối. Phương pháp này được mô tả bởi Livak và Schmittgen (2001).*

Phương pháp này không yêu cầu bao gồm các đường chuẩn trong mỗi lần chạy. Mỗi mẫu được chuẩn hóa đầu tiên đối với lượng mẫu được thêm vào bằng cách so sánh với gen chuẩn hóa. Các giá trị chuẩn hóa này được chuẩn hóa hơn nữa so với xử lý chất hiệu chuẩn. Ví dụ, chất hiệu chuẩn có thể là mẫu kiểm tự nhiên, mẫu đối chứng chưa được xử lý hoặc mẫu thời gian bằng không.

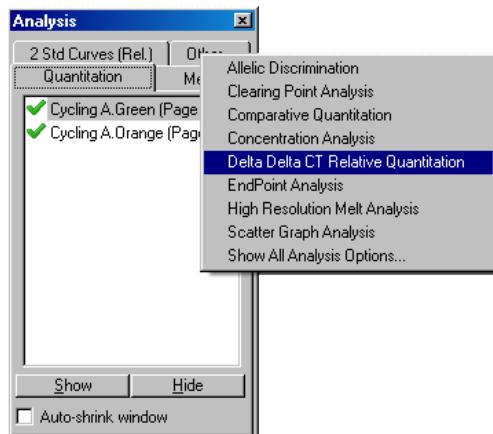
Điều cần thiết là hiệu suất khuếch đại của gen quan tâm và gen chuẩn hóa phải giống hệt nhau và điều này được xác nhận theo hướng dẫn của Livak và Schmittgen.

Điều cần thiết là tên mẫu phải được xác định chính xác trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu), với các mẫu giống nhau được dán nhãn giống nhau trong mỗi phân tích định lượng tổng hợp.

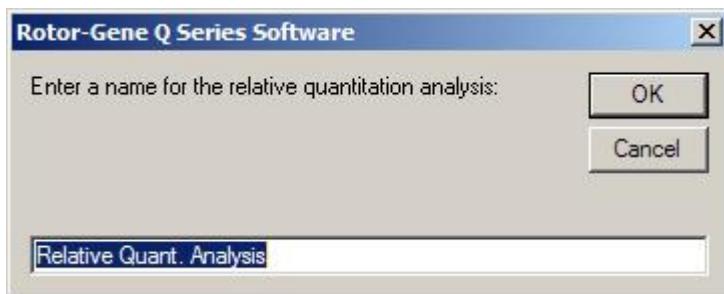
1. Phân tích dữ liệu bằng cách sử dụng “Quantitation” (Định lượng). Không cần thiết phải chạy đường chuẩn sau khi quá trình xác nhận đã được thực hiện.

Từ tab **Other** (Khác) trong cửa sổ **Analysis** (Phân tích), chọn **Delta Delta CT Relative Quantitation** (Định lượng Tương đối Delta Delta CT). Chọn **New Analysis** (Phân tích mới).

* Livak, K.J. và Schmittgen, T.D. (2001) Phân tích dữ liệu biểu hiện gen tương đối bằng cách sử dụng real-time PCR định lượng và phương pháp $2^{-\Delta\Delta C(T)}$. Các phương pháp 25, 402.

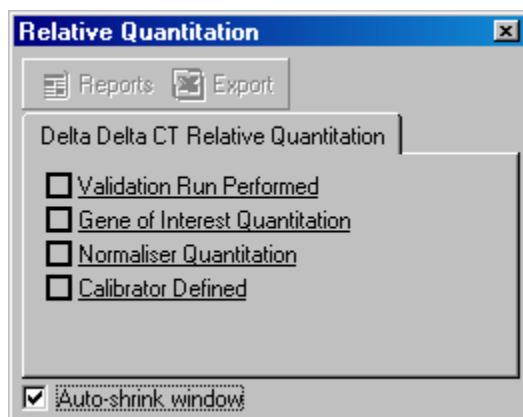


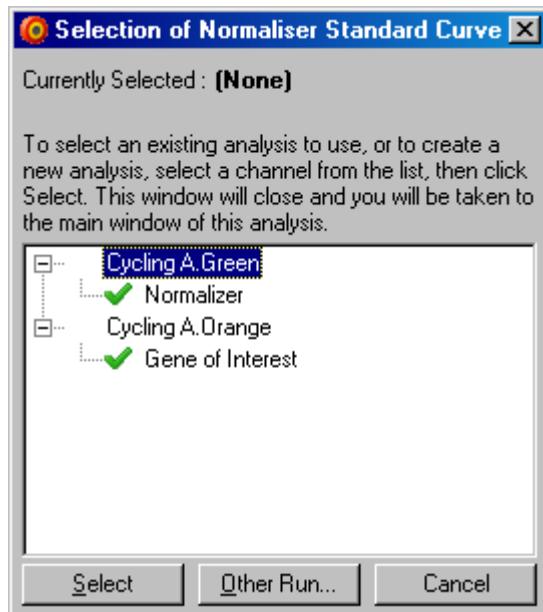
2. Nhập tên cho phân tích.



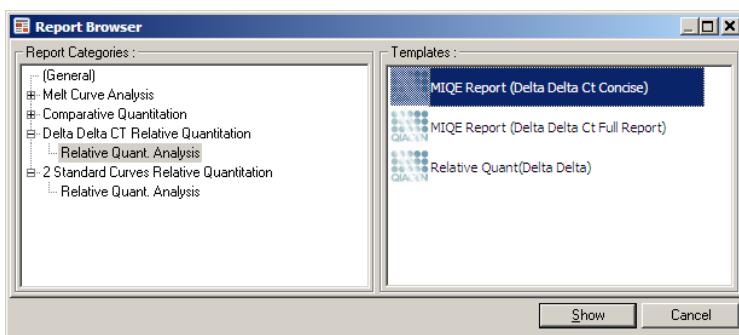
3. Phải chọn **Validation Run Performed** (Đã thực hiện chạy xác thực) để tiến hành phân tích.

Xác định các trang nơi gen quan tâm và gen chuẩn hóa đã được phân tích.





4. Nhấp vào nút **Reports** (Báo cáo) để hiển thị **Report Browser** (Trình duyệt báo cáo). Chọn phân tích có tên chính xác từ danh sách. Nhấp vào nút **Show** (Hiển thị) để hiển thị báo cáo định lượng tương đối. Tùy chọn **Export** (Xuất) xuất kết quả sang một bảng tính Excel mới. Nếu bao gồm chất hiệu chuẩn, kết quả tương ứng với mẫu hiệu chuẩn, có giá trị là 1.



Dưới đây là một ví dụ về kết quả từ phân tích này. Các giá trị C_T cho gen quan tâm (GOI C_T), các giá trị C_T cho gen chuẩn hóa (Norm. C_T), Delta C_T , Delta Delta C_T , và nồng độ tương đối (Relative Conc.) được hiển thị. Biểu thức liên quan đến mẫu hiệu chuẩn, được gán biểu thức tương đối là 1.

Để biết thêm thông tin về cách tính Rel Min và Rel Max, tham khảo Litvak và Schmittgen (2001).*

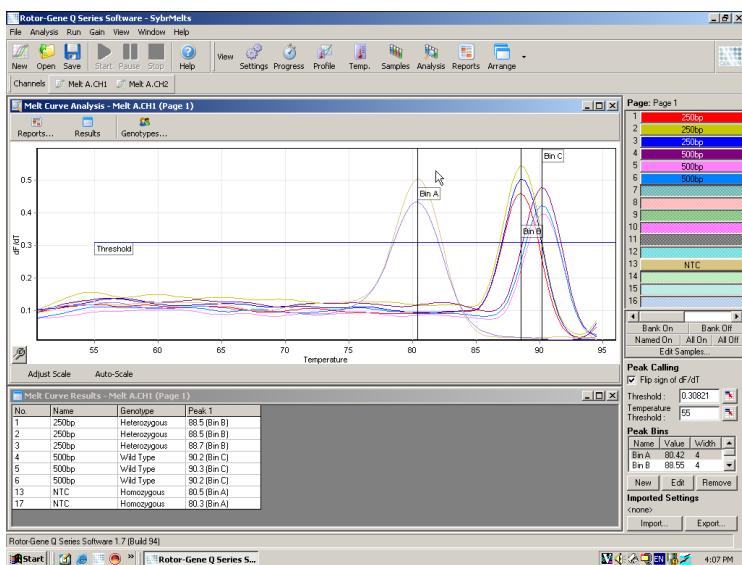
* Livak, K.J. và Schmittgen, T.D. (2001) Phân tích dữ liệu biểu hiện gen tương đối bằng cách sử dụng real-time PCR định lượng và phương pháp $2^{-\Delta\Delta C(T)}$. Các phương pháp 25, 402.

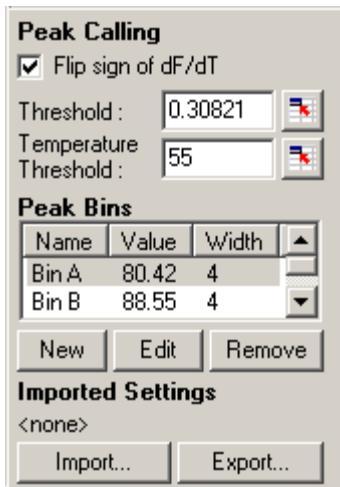
C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	Dilution 4	32.94	28.12	4.82	0.00	1.00000	0.69432	1.44025	Yes
	Dilution 3	31.66	28.23	3.43	-1.38	2.60825	2.16257	3.14579	
	Dilution 2	30.05	28.02	2.03	-2.79	6.92153	6.49040	7.38130	
	Dilution 1	28.61	27.92	0.69	4.12	17.41696	16.47039	18.41322	
	QS 0.1 IU/ μ l		28.11						
	0.316 IU/ μ l	37.62	28.10	9.51	4.70	0.03857	0.03633	0.04094	
	1 IU/ μ l	36.84	28.15	8.69	3.98	0.06805	0.04415	0.10489	
	3.16 IU/ μ l	34.45	28.05	6.40	1.59	0.33305	0.28206	0.39325	
	QS4	32.67	28.29	4.38	-0.43	1.34925	1.09820	1.65770	
	QS3	30.07	27.98	2.09	-2.73	6.61982	6.18888	7.08076	
	QS2	26.88	27.64	-0.76	-5.57	47.61474	45.02202	50.35677	
	QS1	24.07	27.10	-3.03	-7.85	230.60440	208.45384	255.10870	

6.6.5 Phân tích đường cong nóng chảy

Phân tích đường cong nóng chảy phân tích đạo hàm của dữ liệu thô sau khi làm mịn. Phân tích này thường được sử dụng để xác định kiểu gen và phân biệt alen. Các đỉnh trong đường cong được nhóm thành các thùng và tất cả các đỉnh dưới ngưỡng đều bị loại bỏ. Sau đó, các thùng có thể được ánh xạ tới các kiểu gen bằng lệnh “Genotypes” (Kiểu gen).

Sau khi lần chạy kết thúc, đối với một số hóa học, có thể thêm một bước nóng chảy vào để hình dung động học phân ly của các sản phẩm được khuếch đại. Nhiệt độ được tăng lên với tốc độ tuyến tính và phát huỳnh quang của mỗi mẫu được ghi lại. Một phân tích đường cong nóng chảy điển hình được hiển thị dưới đây.





Flip sign of dF/dT (Dấu hiệu lêch dF/dT):

Trước khi xác định các đỉnh, đảm bảo rằng dấu hiệu dF/dT là chính xác để tập dữ liệu cho các đỉnh dương.

Xác định các đỉnh:

Trong phân tích đường cong nóng chảy, có thể xác định và báo cáo đỉnh bằng các phương pháp khác nhau. Một cách là tự động gọi tắt cả các đỉnh cho mỗi mẫu. Cách khác là gán các đỉnh cho các thùng, cách này rất hữu ích cho việc xác định kiểu gen.

Các thùng xác định vùng nơi dự kiến các đỉnh sẽ xảy ra. Phần mềm phân tích đường cong nóng chảy tập hợp các đỉnh thành các nhóm thùng, dựa trên các giá trị đỉnh thực tế trong đường cong. Có thể chỉnh sửa thùng nếu được yêu cầu.

Bất kỳ đỉnh nào nằm trong phạm vi xác định của thùng sẽ được gán cho thùng. Nếu có 2 thùng gần nhau, đỉnh sẽ được gán cho thùng gần nhất.

Lưu ý: Không nên định vị các thùng bằng mắt thường để ước tính vị trí đỉnh. Đặt các thùng trong vùng quan tâm gần đúng, sau đó sử dụng các giá trị được báo cáo thực tế trong bảng kết quả để có kết quả chính xác hơn.

Peak Bins (Thùng đỉnh):

Để xác định thùng, nhấp vào nút **New Bin** (Thùng mới), sau đó nhấp và giữ trên biểu đồ để xác định tâm của thùng. Để thêm một thùng khác, lặp lại quy trình. Sử dụng nút **Remove** (Xóa) để xóa các thùng.

Threshold (Ngưỡng):

Để đặt ngưỡng (trục y), nhấp vào biểu tượng , sau đó nhấp và giữ trên biểu đồ để xác định tâm của thùng. Để thêm một thùng khác, lặp lại quy trình. Sử dụng nút **Remove** (Xóa) để xóa các thùng.

Temperature Threshold (Ngưỡng nhiệt độ):

Để đặt ngưỡng nhiệt độ (trục x), nhấp vào biểu tượng , sau đó nhấp và giữ trên biểu đồ và kéo đường ngưỡng sang bên phải. Điều này giúp loại bỏ đường ngưỡng đối với nhiệt độ thấp hơn.

Lưu ý: Điều này rất hữu ích khi tín hiệu bị nhiễu ở nhiệt độ thấp.

Báo cáo

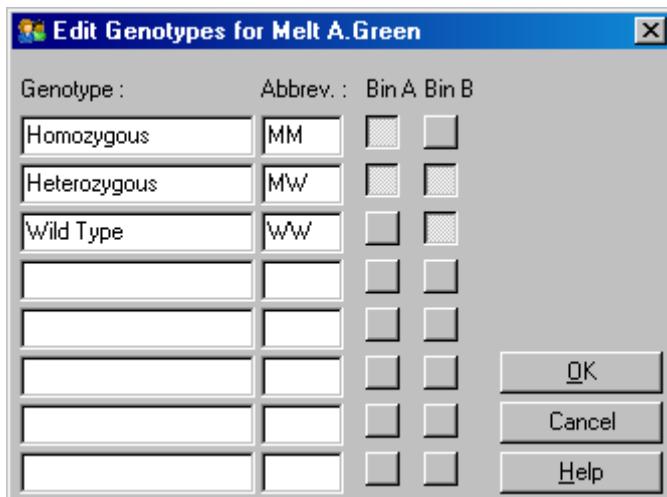
Tùy chọn này mở **Report Browser** (Trình duyệt báo cáo) nơi có thể chọn một báo cáo để xem trước. Có thể tạo báo cáo dựa trên kênh hiện được chọn hoặc có thể tạo báo cáo xác định kiểu gen đa kênh.

Kết quả

Tùy chọn này hiển thị cửa sổ **Melt Curve Results** (Kết quả đường cong nóng chảy) hiển thị các đỉnh mẫu.

Kiểu gen

Nhập vào **Genotypes...** (Kiểu gen) à chọn kiểu gen, như được hiển thị bên dưới.



Cửa sổ này cho phép các kiểu gen được chỉ định cho tỷ lệ đỉnh trong các thùng. Cấu hình kiểu gen mặc định được hiển thị trong ảnh chụp màn hình, với các mẫu dị hợp tử có 2 đỉnh, các mẫu đồng hợp tử có một đỉnh trong thùng thứ nhất và mẫu kiểu tự nhiên có một đỉnh trong thùng thứ hai. Có thể nhập chứa viết tắt vào trường bên cạnh tên của mỗi kiểu gen. Điều này được sử dụng khi in báo cáo xác định kiểu gen đa kênh, để có thể dễ dàng đọc tất cả các kết quả từ nhiều kênh.

Đối với phân tích đa kênh, phải thiết lập các kiểu gen trong mỗi kênh. Ví dụ, nếu phân tích FRET đã dập tắt kênh kép được chạy, trong đó kiểu gen tự nhiên và kiểu gen dị hợp tử được dự kiến trong mỗi kênh, các tham số thùng phải được thiết lập cho mỗi kênh. Sau đó, Kết quả sẽ được đưa ra trong một báo cáo đa kênh.

Mẫu phân tích nóng chảy

Các mẫu phân tích nóng chảy cho phép người dùng xuất các cài đặt chuẩn hóa, ngưỡng, kiểu gen và thùng thành một tệp *.met. Tệp này có thể được nhập và áp dụng lại trong các thí nghiệm khác. Xem Phần 7.1 để biết thêm chi tiết.



6.6.6 Định lượng so sánh

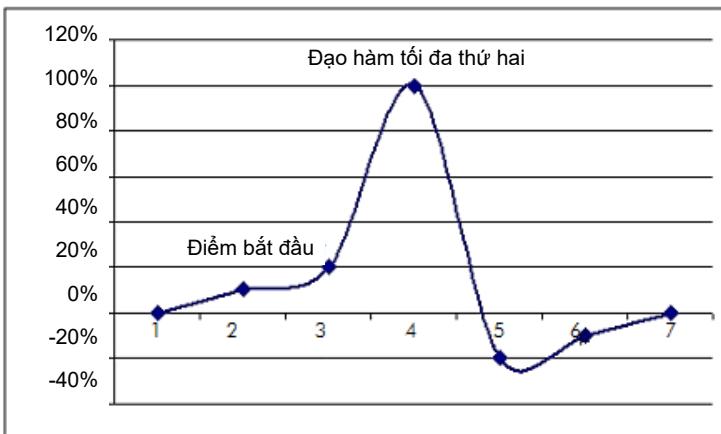
Định lượng so sánh so sánh biểu thức tương đối của mẫu với mẫu chứng trong một lần chạy khi không có sẵn đường chuẩn. Kỹ thuật này thường được sử dụng trong phân tích microarray. Warton và đồng nghiệp (2004)* cung cấp một ví dụ về kỹ thuật này.

- Để thực hiện phân tích, chọn **Other** (Khác), sau đó chọn **Comparative quantitation** (Định lượng so sánh) trong cửa sổ **Analysis** (Phân tích). Nhấp đúp vào kênh để phân tích.
- Chọn một mẫu chứng bằng menu thả xuống ở phía bên phải của màn hình bên dưới bộ chuyển đổi.
- Kết quả được tự động tính toán và hiển thị trong cửa sổ **Comparative Quantitation Results** (Kết quả định lượng so sánh) bên dưới biểu đồ.

Các cột đầu tiên của cửa sổ **Comparative Quantitation Results** (Kết quả định lượng so sánh) hiển thị số mẫu và tên mẫu. Cột **Takeoff** (Bắt đầu) cho biết điểm bắt đầu của mẫu. Đạo hàm bậc hai của biểu đồ khuếch đại tạo ra các đỉnh tương ứng với tốc độ tăng phát huỳnh quang cực đại trong phản ứng. Điểm bắt đầu được định nghĩa là chu kỳ mà tại đó đạo hàm bậc hai ở 20% mức tối đa và cho biết sự kết thúc của nhiễu và chuyển sang pha mũ.

Biểu đồ này hiển thị đạo hàm bậc hai của biểu đồ khuếch đại, hiển thị vị trí tương đối của đỉnh đạo hàm bậc hai và điểm bắt đầu.

* Warton, K., Foster, N.C., Gold, W.A., và Stanley, K.K. (2004) Một họ gen mới gây ra bối cảnh trạng viêm cấp tính trong tế bào nội mô. Gen 342, 85.



Cột “Amplification” cung cấp hiệu suất của mẫu. Một phản ứng hiệu suất 100% sẽ dẫn đến giá trị khuếch đại là 2 cho mỗi mẫu, có nghĩa là sản phẩm khuếch đại đã tăng gấp đôi trong mỗi chu kỳ. Trong dữ liệu thô, tín hiệu sẽ tăng gấp đôi theo pha mũ. Ví dụ: nếu tín hiệu là 50 đơn vị phát huỳnh quang ở chu kỳ 12 và sau đó là 51 đơn vị phát huỳnh quang ở chu kỳ 13, tín hiệu sẽ tăng lên 53 đơn vị phát huỳnh quang ở chu kỳ 14. Tất cả các giá trị khuếch đại cho mỗi mẫu được lấy trung bình để tạo ra giá trị khuếch đại được hiển thị ở bên phải của màn hình dưới bộ chuyển đổi. Độ biến thiên giữa các giá trị khuếch đại ước tính của mỗi mẫu càng lớn, khoảng tin cậy sẽ càng lớn (được biểu thị bằng giá trị sau dấu \pm). Khoảng tin cậy, đối với một số lượng mẫu lớn (N), cho xác suất 68,3% và độ khuếch đại thực của các mẫu nằm trong phạm vi này (1 độ lệch chuẩn). Bằng cách tăng gấp đôi khoảng \pm , sẽ đạt được khoảng tin cậy 95,4% cho N lớn.

Bản sao chất hiệu chuẩn

Như trong phương pháp delta delta C_T , cần phải có mẫu hiệu chuẩn và các phép đo liên quan đến mẫu hiệu chuẩn này. Các bản sao của chất hiệu chuẩn có thể được phân tích vì nếu nhiều vị trí mẫu có cùng tên thì giá trị trung bình của điểm bắt đầu của các mẫu này sẽ được sử dụng. Để sử dụng tính năng này một cách chính xác, hãy đảm bảo rằng các bản sao có tên giống hệt nhau.



Độ khuếch đại trung bình được sử dụng để tính toán biểu thức. Ví dụ, một mẫu có giá trị khuếch đại thấp sẽ mất nhiều thời gian hơn để đạt được số bản sao tuyệt đối nhất định so với mẫu có giá trị khuếch đại cao hơn. Cột “Rep. Conc.” (Nồng độ Bản sao) của cửa sổ **Comparative Quantitation Results** (Kết quả định lượng so sánh) cung cấp nồng độ tương đối. Nồng độ tương đối của mỗi mẫu so với mẫu hiệu chuẩn được tính toán dựa trên điểm bắt đầu và hiệu suất phản ứng. Điều này được thể hiện trong ký hiệu khoa học.

Lưu ý: Giá trị được hiển thị trong **Average Amplification** (Độ khuếch đại trung bình) ở bên phải của ± thể hiện độ lệch chuẩn của mức khuếch đại trung bình, sau khi loại bỏ các giá trị khuếch đại ngoại lai. Nếu giá trị này lớn, có thể có sai số lớn trong các giá trị nồng độ tính toán tổng thể.

Nồng độ tương đối được phần mềm tính toán như sau:

1. Điểm bắt đầu của mỗi mẫu được tính bằng cách xem xét các đỉnh đạo hàm bậc hai.
2. Mức tăng trung bình của dữ liệu thô trong 4 chu kỳ sau khi điểm bắt đầu được tính toán. Đây là giá trị khuếch đại cho mẫu.
3. Các khuếch đại ngoại lai được loại bỏ để tìm nhiều trong phát huỳnh quang nền.
4. Các khuếch đại còn lại được tính trung bình. Đây là mức khuếch đại trung bình.
5. Điểm bắt đầu trung bình được tính toán cho mỗi bản sao chất hiệu chuẩn.
6. Nồng độ tương đối của một mẫu được tính là Khuếch đại[^] (Bắt đầu chất hiệu chuẩn – Bắt đầu mẫu).
7. Kết quả được hiển thị bằng ký hiệu khoa học trong “Rep. Conc.” (Nồng độ Bản sao) của cửa sổ **Comparative Quantitation Results** (Kết quả định lượng so sánh).

6.6.7 Phân biệt alen

Phân biệt alen sử dụng dữ liệu động học thời gian thực từ 2 kênh trở lên cho các mẫu kiểu gen. Để thực hiện phân tích này, chọn **Other** (Khác), sau đó chọn **Allelic Discrimination** (Phân biệt alen) trong cửa sổ **Analysis** (Phân tích). Khi thực hiện phân biệt alen, chỉ cần nhấp đúp vào một kênh để phân tích là không đủ vì phân tích này được thực hiện bằng cách sử dụng nhiều kênh đồng thời. Để thực hiện phân tích này, giữ CTRL và nhấp để đánh dấu từng kênh bạn muốn phân tích hoặc kéo con trỏ chuột qua các kênh này. Khi các kênh mong muốn đã được đánh dấu, nhấp vào **Show** (Hiển thị). Danh sách sẽ cập nhật để hiển thị tất cả các kênh trên một dòng, với một dấu kiểm bên cạnh. Điều này cho thấy rằng tất cả các kênh sẽ được sử dụng trong một phân tích. Để xóa một hoặc nhiều kênh này, nhấp chuột phải vào phân tích và chọn **Remove Analysis...** (Xóa phân tích). Sau đó, các kênh này có thể được đưa vào một phân tích phân biệt alen khác. Mỗi lần chỉ có thể sử dụng một kênh trong một phân tích.

Reports (Báo cáo): Tùy chọn này sẽ mở báo cáo “Allelic Discrimination Analysis” (Phân tích phân biệt len) để xem trước.

Results (Kết quả): Tùy chọn này sẽ hiển thị cửa sổ **Allelic Discrimination Results** (Kết quả phân biệt alen). Cửa sổ này được mở theo mặc định khi phân tích được hiển thị lần đầu tiên.

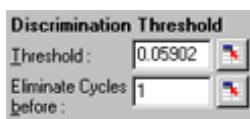
Các tùy chọn chuẩn hóa:

- Có sẵn nhiều tùy chọn để tối ưu hóa việc chuẩn hóa dữ liệu thô:
- **Dynamic Tube** (Ống động) (chuẩn hóa ống động)
 - **Slope Correct** (Điều chỉnh độ dốc) (điều chỉnh độ dốc nhiễu)
 - **Ignore First x cycles** (Bỏ qua đầu tiên x chu kỳ) (điều chỉnh nhiễu trong các chu kỳ đầu tiên)
 - **Điều chỉnh điểm bắt đầu**

Để biết thêm chi tiết, hãy xem trang 91.

Discrimination Threshold (Nguưỡng phân biệt):

Nhập giá trị vào các hộp văn bản này để định vị ngưỡng phân biệt. Tất cả các đường cong vượt quá ngưỡng này được coi là các mẫu xác định kiểu gen. Nhập vào biểu tượng ở bên phải của mỗi hộp văn bản, sau đó kéo ngưỡng trên biểu đồ để đặt các giá trị này theo trực quan.



Genotypes (Kiểu gen):

Tùy chọn này sẽ mở ra cửa sổ **Genotyping** (Xác định kiểu gen) được sử dụng để xác định kiểu gen nào được phát hiện trong mỗi kênh. Cửa sổ này cho phép chỉ định các kiểu gen cho các kênh để phân tích phân biệt alen.

Trong ví dụ dưới đây, một mẫu là dị hợp tử nếu kết quả đọc ở các kênh Cycling A.Green và Cycling A.Yellow vượt quá ngưỡng.



Mẫu phân tích alen:

Các mẫu phân tích alen cho phép xuất cài đặt chuẩn hóa, ngưỡng và kiểu gen vào một tệp *.alt duy nhất. Tệp này có thể được nhập và áp dụng lại trong các thí nghiệm khác. Xem Phần 7.1 để biết thêm chi tiết.



6.6.8 Phân tích biểu đồ phân tán

Phân tích biểu đồ phân tán cho phép xác định kiểu gen dựa trên biểu hiện tương đối của các biểu đồ khuếch đại trên 2 kênh. Không giống như phân biệt alen, kiểu gen được quyết định dựa trên các vùng được xác định từ biểu đồ phân tán thay vì từ một ngưỡng duy nhất. Để thực hiện phân tích này, chọn **Other** (Khác), sau đó chọn **Scatter Graph Analysis** (Phân tích biểu đồ phân tán) trong cửa sổ **Analysis** (Phân tích).

Khi thực hiện phân tích biểu đồ phân tán, chỉ cần nhấp đúp vào một kênh để phân tích là không đủ vì phân tích này được thực hiện bằng cách sử dụng 2 kênh đồng thời. Để thực hiện phân tích này, giữ SHIFT và nhấp để đánh dấu các kênh cần phân tích hoặc kéo con trỏ chuột qua các kênh này. Khi các kênh mong muốn đã được đánh dấu, nhấp vào **Show** (Hiển thị).

Danh sách sẽ cập nhật để hiển thị tất cả các kênh trên một dòng, với một dấu kiểm bên cạnh. Điều này cho thấy rằng tất cả các kênh sẽ được sử dụng trong một phân tích. Để xóa một hoặc nhiều kênh này, nhấp chuột phải vào phân tích và chọn **Remove Analysis...** (Xóa phân tích). Sau đó, các kênh này có thể được đưa vào một phân tích biểu đồ phân tán khác. Mỗi lần chỉ có thể sử dụng một kênh trong một phân tích.

Reports (Báo cáo): Tùy chọn này sẽ mở báo cáo **Scatter Analysis** (Phân tích phân tán) để xem trước.

Results (Kết quả): Tùy chọn này sẽ hiển thị cửa sổ Scatter Analysis Results (Kết quả phân tích phân tán). Cửa sổ này được mở theo mặc định khi phân tích được hiển thị lần đầu tiên.

Các tùy chọn chuẩn hóa: Có sẵn nhiều tùy chọn để tối ưu hóa việc chuẩn hóa dữ liệu thô:

- **Dynamic Tube** (Ống động) (chuẩn hóa ống động)
 - **Slope Correct** (Điều chỉnh độ dốc) (điều chỉnh độ dốc nhiều)
 - **Ignore First x cycles** (Bỏ qua đầu tiên x chu kỳ) (điều chỉnh nhiều trong các chu kỳ đầu tiên)
 - **Takeoff point adjustment** (Điều chỉnh điểm bắt đầu)

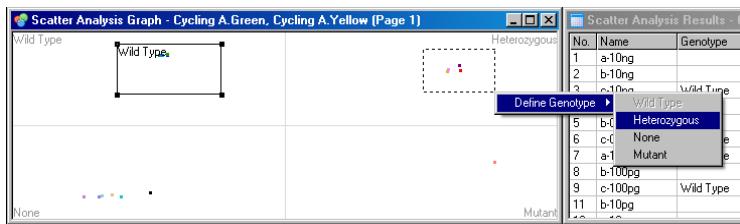
Để biết thêm chi tiết, hãy xem trang 91.

Genotypes (Kiểu gen): Tùy chọn này sẽ mở ra cửa sổ **Genotyping** (Xác định kiểu gen) được sử dụng để xác định kiểu gen nào được phát hiện trong mỗi kênh. Trong cửa sổ này, có thể chỉ định kiểu gen dựa trên các kênh trong đó mẫu phản ứng. Các kênh được chọn sẽ được sử dụng để gắn nhãn các góc của biểu đồ phân tán và sẽ hướng dẫn người dùng dồn đến khu vực chung của biểu đồ phân tán trong đó các vùng cần được xác định.



Scatter Graph (Biểu đồ phân tán): Biểu đồ phân tán hiển thị biểu thức tương đối của 2 kênh đã chọn. Màn hình được chuẩn hóa để phát hiện các lần tăng gấp nhau trong mỗi kênh và nhật ký được chuyển đổi để làm nổi bật sự khác biệt trong biểu hiện giữa các mẫu.

Để thực hiện xác định kiểu gen, người dùng xác định vùng bằng cách nhấp và kéo vùng chọn trên biểu đồ. Sau đó, lựa chọn có thể được gắn nhãn dựa trên các kiểu gen được định cấu hình trong cửa sổ **Genotyping** (Xác định kiểu gen).



Scatter graph analysis templates (Mẫu phân tích đồ thị phân tán):

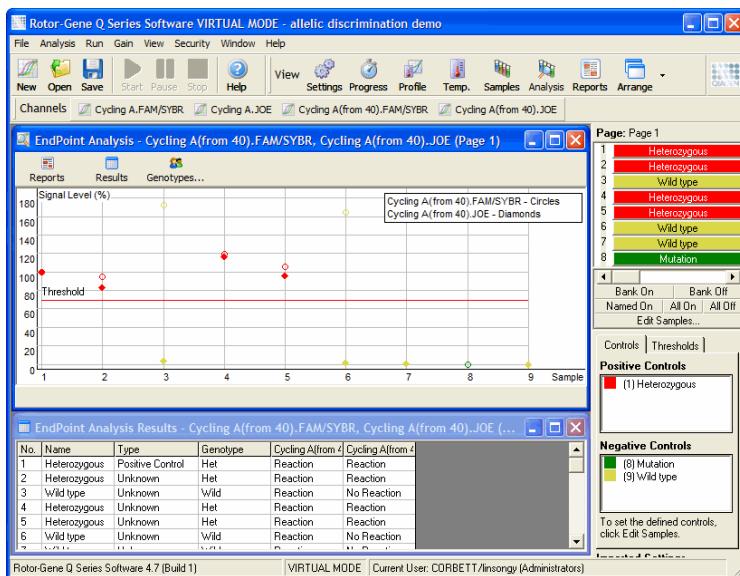
Các mẫu phân tích biểu đồ phân tán cho phép xuất cài đặt kiểu gen và vùng thành một tệp *.sct. Tệp này có thể được nhập và áp dụng lại trong các thí nghiệm khác. Xem Phần 7.1 để biết thêm chi tiết.



6.6.9 Phân tích Điểm cuối

Phân tích Điểm cuối cho phép phân biệt giữa các mẫu được khuếch đại và không được khuếch đại khi kết thúc lần chạy. Kết quả là định tính (dương tính/âm tính), không phải là định lượng.

Phân tích Điểm cuối được trình bày trong ảnh chụp màn hình bên dưới.



Phân tích Điểm cuối tương tự như phân biệt allen, trong đó kết quả là định tính và tên có thể được gán cho một số hoán vị nhất định của phản ứng qua các kênh khác nhau. Tuy nhiên, trong phân tích Điểm cuối, chỉ có một chỉ số duy nhất, trái ngược với phân biệt allen, sử dụng chỉ số theo chu kỳ cho mỗi mẫu. Điều này có nghĩa là người dùng phải xác định các mẫu chứng dương

và mẫu chứng âm để tạo thuận lợi cho việc phân tích. Đối với dữ liệu thô, các mức tín hiệu được chuẩn hóa so với các mẫu chứng dương và mẫu chứng âm đã biết cho mỗi kênh. Sau đó, người dùng chọn mức tín hiệu phần trăm làm ngưỡng.

Các thuật ngữ được sử dụng trong phân tích Điểm cuối

Một số thuật ngữ được sử dụng trong phân tích Điểm cuối được giải thích bên dưới.

Positive control (Mẫu chứng dương): Đây là một mẫu được biết là có khả năng khuếch đại.

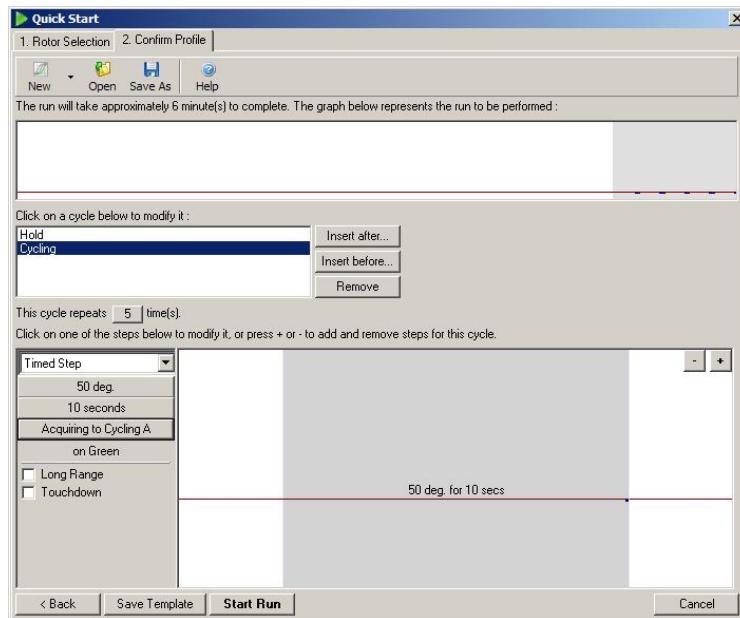
Negative control (Mẫu chứng âm): Đây là một mẫu được biết là không có khả năng khuếch đại. Mẫu chứng âm thể hiện tín hiệu nền điển hình.

Threshold (Ngưỡng): Ngưỡng là mức tín hiệu trên đó mẫu được cho là dương (được khuếch đại). Cài đặt này phải được người dùng điều chỉnh cho mỗi lần chạy.

Signal level (Mức tín hiệu): Phần trăm tín hiệu huỳnh quang, được chuẩn hóa sao cho tín hiệu cao nhất của mẫu chứng dương là 100% và tín hiệu thấp nhất của mẫu chứng âm là 0%.

Genotype (Kiểu gen): Giải thích về các hoán vị khác nhau của phản ứng trên các kênh khác nhau. Ví dụ, kiểu gen "dị hợp tử" có thể được chỉ định cho các mẫu có phản ứng ở cả hai kênh màu xanh lá và màu vàng. Kiểu gen cũng có thể được sử dụng để báo cáo kết quả của phản ứng với các mẫu chứng nội. Ví dụ: kết quả có thể được báo cáo là "bị ức chế", "dương tính" hoặc "âm tính", tùy thuộc vào việc có nhìn thấy phản ứng ở một số kênh nhất định hay không.

Cấu hình chương trình



Để thực hiện phân tích Điểm cuối, thực hiện chương trình bằng cách giữ ở 50 °C trong vài phút, sau đó thực hiện một bước quay vòng với 1 bước (50 °C trong 10 giây), thu được trên kênh yêu cầu. Đặt số lần lặp lại là 5, như hình trên. Những thời điểm này chỉ mang tính chất hướng dẫn và có thể khác nhau đối với ứng dụng cụ thể của bạn. Càng nhiều lần lặp lại trong chương trình, càng có nhiều thông tin để thực hiện phân tích. Phân tích sẽ tự động lấy trung bình tất cả các chỉ số để đạt được một giá trị duy nhất cho mỗi mẫu. Không có yêu cầu số lần lặp lại cụ thể. Trừ khi yêu cầu mức độ chính xác rất cao, thường thì 5 lần lặp lại là đủ.

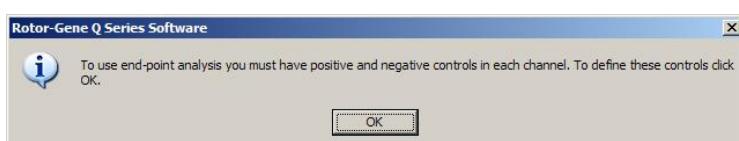
Phân tích

Có thể thực hiện phân tích Điểm cuối đồng thời trên một số kênh. Để tạo một phân tích mới, nhấp vào tab **EndPoint** (Điểm cuối), chọn các kênh bằng cách dùng con trỏ chuột kéo qua chúng, sau đó nhấp vào **Show** (Hiển thị).



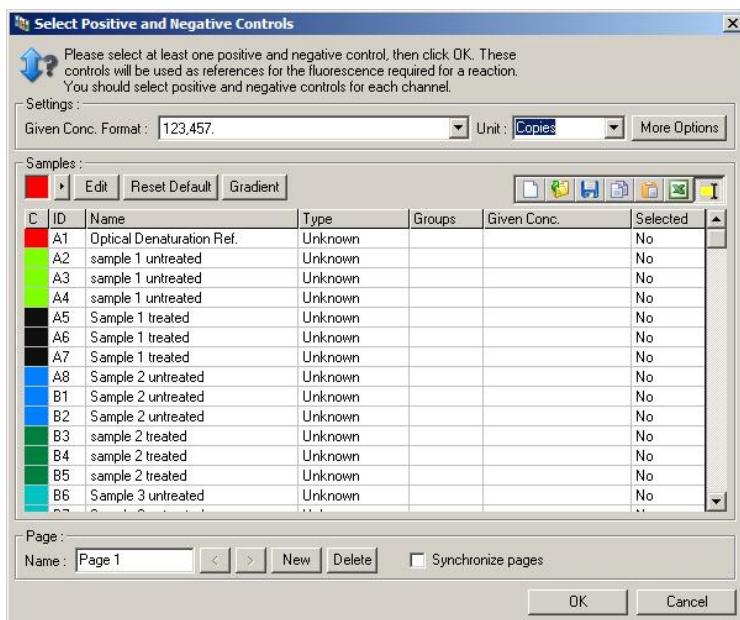
Xác định các mẫu chứng

Khi phân tích Điểm cuối được mở lần đầu tiên, thông báo sau sẽ được hiển thị nếu các mẫu chứng dương và mẫu chứng âm chưa được xác định.



Nhấp vào **OK**. Cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu) xuất hiện, cho phép xác định các mẫu chứng dương và mẫu chứng âm. Để xác định mẫu là mẫu chứng dương hay mẫu chứng âm, nhấp vào ô loại mẫu, sau đó chọn loại mẫu chứng có liên quan từ trình đơn thả xuống.

Lưu ý: Phải “on” (bật) các mẫu chứng, sử dụng bộ chuyển đổi ở phía bên phải của cửa sổ chính, để thực hiện phân tích.



Màn hình này hoạt động theo cách tương tự như cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu) (Phần “Thiết lập mẫu”).

Chuẩn hóa

Việc chuẩn hóa dữ liệu phân tích Điểm cuối sẽ chia tỷ lệ tất cả các mức tín hiệu trong phạm vi từ 0–100%. Phải chọn ít nhất một mẫu chứng dương và một mẫu chứng âm nếu phân tích nhiều kênh và các tiêu chuẩn không được ghép kênh. Nên chạy nhiều hơn một mẫu chứng dương và một mẫu chứng âm nếu có rủi ro là mẫu chứng dương có thể không khuếch đại.

- Đối với mỗi kênh, tất cả các mẫu chứng dương được phân tích và mẫu chứng có phát huỳnh quang cao nhất được đặt thành 100%. Điều này có nghĩa là nếu các mẫu chứng trùng lặp được chạy, một mẫu chứng dương có thể bị lỗi mà không ảnh hưởng đến lần chạy.
- Tất cả các mẫu chứng âm được phân tích và mẫu chứng có mức phát huỳnh quang thấp nhất được đặt thành 0%.

3. Giá trị phát huỳnh quang thô của các mẫu còn lại được chia tỷ lệ so với mẫu chứng dương cao nhất và mẫu chứng âm thấp nhất.

Ví dụ:

Mẫu	Loại	Phát huỳnh quang
1	Mẫu chứng dương	53,6
2	Mẫu chứng dương	53,0
3	Mẫu chứng âm	4,5
4	Mẫu chứng âm	4,3
5	Mẫu	48,1
6	Mẫu	6,4

Lần chạy này đã thành công, vì 2 mẫu chứng dương và 2 mẫu chứng âm gần nhau và nằm ngoài giá trị phát huỳnh quang của mẫu.

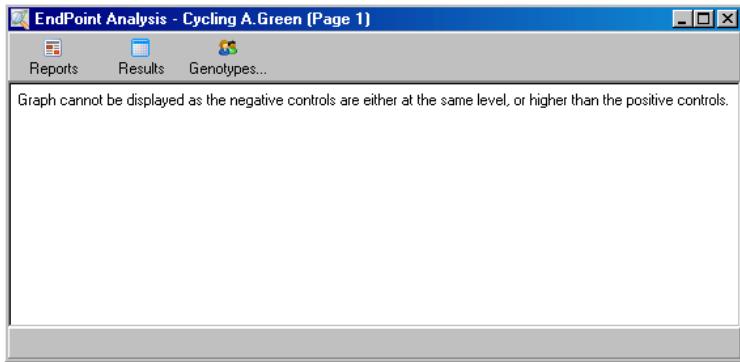
Các giá trị chuẩn hóa là:

Mẫu	Loại	Biểu thị (%)
1	Mẫu chứng dương	100,0
2	Mẫu chứng dương	97,3
3	Mẫu chứng âm	0,4
4	Mẫu chứng âm	0,0
5	Mẫu	84,2
6	Mẫu	4,0

Mẫu 1 là mẫu chứng dương với phát huỳnh quang cao nhất, vì vậy nó được đặt thành 100%. Mẫu chứng dương còn lại thấp hơn một chút. Mẫu 4, mẫu chứng âm thấp nhất được đặt thành 0%. Bây giờ rõ ràng rằng mẫu 5 có thể đã được khuếch đại, trong khi mẫu 6 có thể không được khuếch đại.

Lưu ý: Tùy thuộc vào các mẫu chứng dương và mẫu chứng âm được chọn, có thể đạt được mức biểu thị lớn hơn 100% hoặc nhỏ hơn 0%. Kết quả lớn hơn 100% có thể được hiểu là mẫu được thể hiện nhiều hơn so với các mẫu chứng dương. Kết quả nhỏ hơn 0% có thể được hiểu là ít có khả năng mẫu được khuếch đại hơn so với các mẫu chứng âm được khuếch đại. Vì phân tích này là định tính, các kết quả như vậy không được quan tâm.

Nếu các mẫu chứng âm dẫn đến phát huỳnh quang cao hơn mẫu chứng dương, các mẫu đã được thiết lập không chính xác và thông báo sau sẽ xuất hiện.



Chuẩn hóa ở nhiều kênh

Có thể phân tích dữ liệu tín hiệu qua nhiều kênh, nhưng thiết lập mẫu thì phức tạp hơn. Phân tích Điểm cuối giả định rằng quá trình ghép kênh được thực hiện và do đó mỗi ống chỉ có thể có một vị trí ống duy nhất. Hiện tại, không thể phân tích thiết lập trong đó vị trí mẫu là mẫu chứng dương cho một kênh và mẫu chứng âm cho kênh khác.

Mặc dù chỉ có một định nghĩa mẫu cho mỗi vị trí ống được đưa ra trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu), nhưng quá trình chuẩn hóa diễn ra độc lập đối với mỗi kênh.

Nếu vị trí ống là mẫu chứng dương cho ít nhất một kênh, nó phải được chỉ định là mẫu chứng dương trong cột "Type" (Loại) của cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu). Nếu không, loại của nó phải là **Sample** (Mẫu). Điều này cũng áp dụng cho các mẫu chứng âm.

Ví dụ, nếu một mẫu là mẫu chứng dương trong kênh màu xanh lá, nhưng không phải trong kênh màu vàng, mẫu đó vẫn phải được xác định là mẫu chứng dương. Vì mẫu chứng dương cao nhất trong mỗi kênh được sử dụng, nếu có ít nhất một mẫu chứng dương trong kênh màu vàng khuếch đại, định nghĩa mẫu là mẫu chứng cho kênh màu xanh lá sẽ bị bỏ qua.

Ngưỡng

Ngưỡng được sử dụng để xác định biểu thị phần trăm cần thiết cho một phản ứng trong mỗi kênh. Khi các mẫu chứng dương và mẫu chứng âm đã được xác định, tất cả các kênh sẽ được chuẩn hóa về cùng một tỷ lệ 0–100%. Vì lý do này, chỉ cần một ngưỡng, ngay cả khi phân tích nhiều kênh.

Nhấp và kéo đường ngưỡng đến vùng từ 0 đến 100. Ngưỡng không được quá gần với các mẫu ở hai bên đường vì điều này cho thấy rằng lần chạy chưa có kết luận. Nếu chênh lệch giữa một mẫu được xác định là được khuếch đại hoặc không được khuếch đại chỉ là một vài phần trăm, điều này có nghĩa là nếu phản ứng được lặp lại, mẫu có thể xuất hiện ở phía bên kia của ngưỡng.

Kiểu gen

Tùy chọn này sẽ mở ra cửa sổ **Genotyping** (Xác định kiểu gen) được sử dụng để xác định kiểu gen nào được phát hiện trong mỗi kênh.



Cửa sổ này cho phép gán kiểu gen cho các kênh. Trong ví dụ bên trên, một mẫu là dị hợp tử nếu kết quả đọc ở các kênh Cycling A.Green và Cycling A.Yellow vượt quá ngưỡng.

Mẫu phân tích Điểm cuối

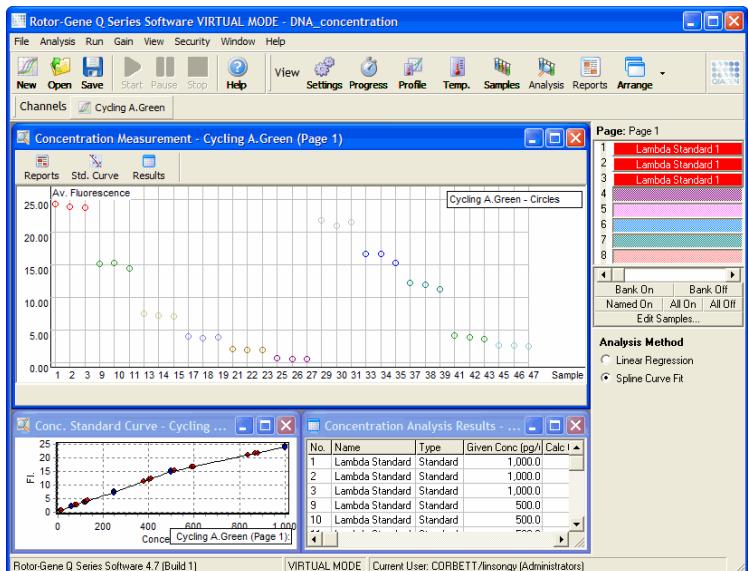
Mẫu phân tích Điểm cuối cho phép người dùng xuất cài đặt kiểu gen và ngưỡng vào một tệp *.ent duy nhất. Tệp này có thể được nhập và áp dụng lại trong các thí nghiệm khác. Xem Phần 8.1 để biết thêm chi tiết.



6.6.10 Phân tích nồng độ

Phân tích nồng độ cho phép sử dụng Rotor-Gene Q MDx để đo nồng độ DNA hoặc để thu được các chỉ số huỳnh quang kế.

Ảnh chụp màn hình bên dưới cho thấy phân tích này.



Chuẩn bị l่าน chạy

Để thực hiện phân tích nồng độ, trước tiên, chuẩn bị mẫu và chất chuẩn huỳnh quang, lý tưởng là làm ba lần.

Chuẩn bị các chất chuẩn

Một đường chuẩn được sử dụng để xác định nồng độ DNA từ mỗi mẫu được đo.

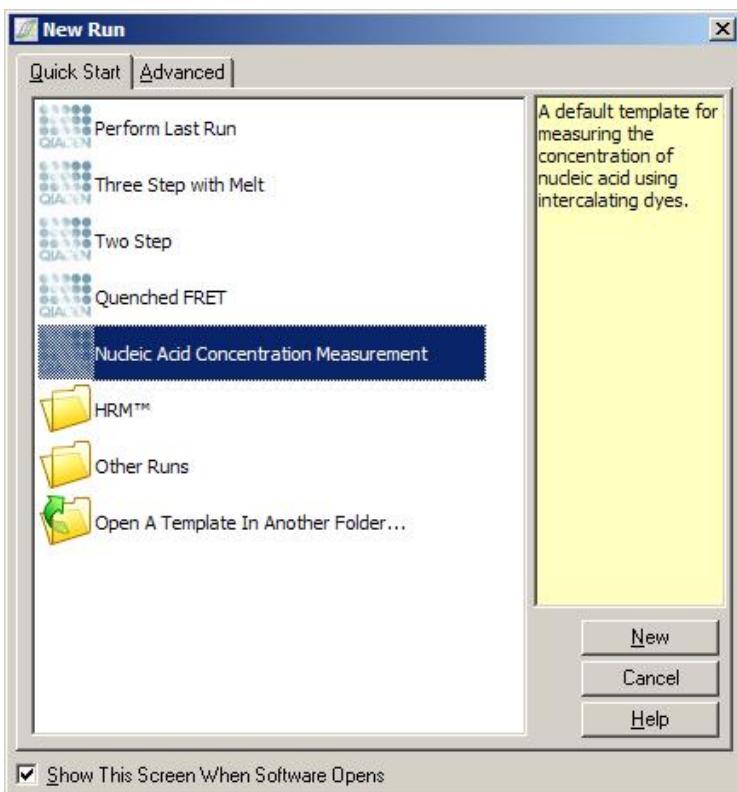
DNA được sử dụng cho đường chuẩn phải là loại DNA tương tự như trong các mẫu được đo. Nồng độ của ít nhất một mẫu DNA phải được xác định bằng phương pháp đo quang phổ tử ngoại và mẫu này nên được sử dụng làm chất chuẩn. Nên sử dụng tối thiểu 3 chất chuẩn (có lặp lại). Điều quan trọng là, các chất chuẩn DNA được sử dụng trong phát hiện phát huỳnh quang chỉ tuyển tính trong phạm vi từ 1–100 ng/ μ l. Trong phạm vi này, nếu nồng độ DNA giảm đi một nửa, chỉ số huỳnh quang cũng sẽ giảm đi một nửa. Khoảng tin cậy cho bất kỳ nồng độ nào nằm ngoài phạm vi này rất rộng do tính chất phi tuyển tính của hóa học.

Loại DNA được đo

Đã quan sát thấy chênh lệch trong phép đo các dạng DNA khác nhau (ví dụ, DNA bộ gen so với DNA plasmid). Do đó, chỉ nên đo các loại DNA tương tự nhau và tránh sử dụng DNA plasmid làm tiêu chuẩn khi đo DNA bộ gen.

Chạy thiết lập

Để thiết lập quá trình chạy, chọn **Nucleic Acid Concentration Measurement** (Đo nồng độ axit nucleic) từ trình hướng dẫn Khởi động Nhanh.



Lưu ý: Đảm bảo rằng một mẫu chứng dương, chẳng hạn như chất chuẩn nồng độ cao, được chạy ở vị trí ống 1. Nếu không có một mẫu chứng dương, phần mềm sẽ không thể tối ưu hóa cài đặt khuếch đại để có độ nhạy tối đa. Bạn sẽ được nhắc về điều này trước mỗi lần chạy.

Phân tích

Phân tích nồng độ hoạt động bằng cách liên hệ mức phát huỳnh quang với một giá trị nồng độ. Có hai mô hình phân tích. Phân tích tối ưu để lựa chọn phụ thuộc vào hóa học và ứng dụng.

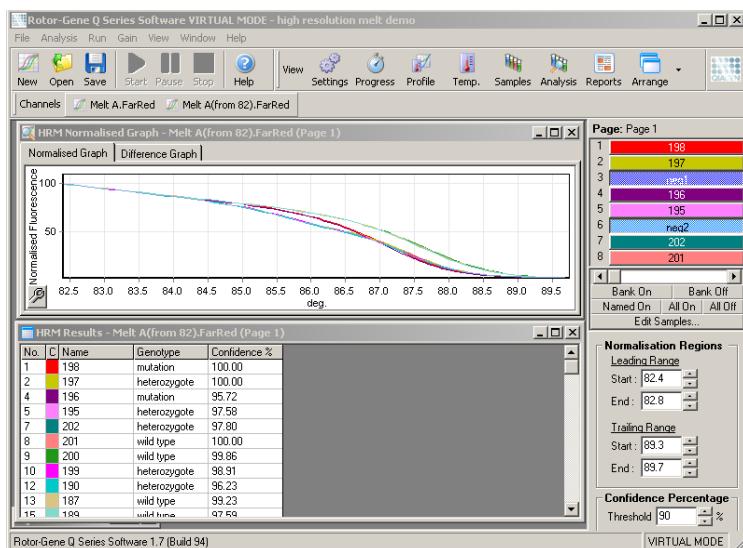
“Hồi quy tuyến tính” phân tích dữ liệu bằng cách giả định mối quan hệ tuyến tính và ước tính các giá trị chưa biết trên cơ sở mô hình tuyến tính đã tạo. Nó xác định sai số đo bằng cách kiểm tra độ lệch của các chỉ số từ một mô hình tuyến tính. Nếu chỉ số nồng độ là tuyến tính, đây sẽ là phân tích phù hợp nhất vì nó cung cấp cho người dùng phân tích thống kê về sự biến đổi (ANOVA).

“Spline Curve Fit” (Phù hợp với đường cong Spline) chỉ giả định rằng các giá trị nồng độ tăng lên khi phát huỳnh quang. Mặc dù cách tiếp cận này làm cho các ước tính của dữ liệu phi tuyến chính xác hơn, nó không thể cung cấp ANOVA, vì nó không giả định một mô hình tuyến tính.

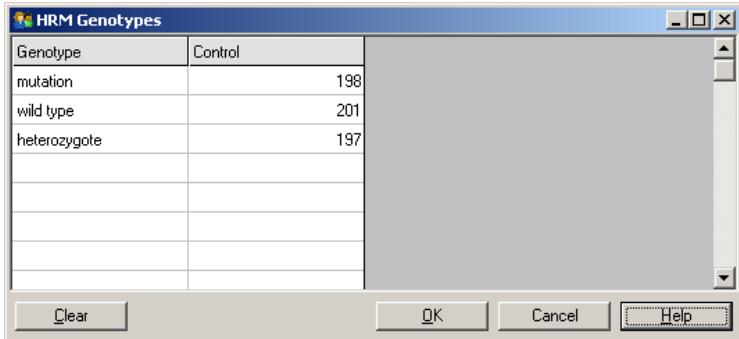
6.6.11 Phân tích Nóng chảy Phân giải Cao

Phân tích Nóng chảy Phân giải Cao (High Resolution Melt, HRM) đặc trưng cho các mẫu dựa trên độ dài trình tự, hàm lượng GC và tính bổ sung. Phân tích HRM được sử dụng trong các ứng dụng xác định kiểu gen, chẳng hạn như phân tích đột biến gen hoặc đa hình nucleotide đơn (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs), và trong các ứng dụng di truyền học để phân tích tình trạng methyl hóa DNA. Phân tích HRM cung cấp kết quả chính xác và tiết kiệm chi phí đầu dò và nhẫn so với các phương pháp khác.

Để thực hiện phân tích này, chọn **Other** (Khác), sau đó chọn **High Resolution Melt Analysis** (Phân tích Nóng chảy Phân giải Cao) trong cửa sổ **Analysis** (Phân tích). Nhấp-đúp vào kênh để phân tích. Các đường cong nóng chảy từ kênh thô được chuẩn hóa bằng cách lấy giá trị trung bình của tất cả các giá trị phát huỳnh quang bắt đầu và kết thúc, sau đó buộc các điểm cuối của mỗi mẫu phải giống với giá trị trung bình.



Thực hiện tự động gọi mẫu bằng cách nhấp vào **Genotypes** (Kiểu gen). Nhập tên của kiểu gen, sau đó nhấp vào nút **Named**. Các mẫu có tên sẽ được tự động gọi.



Để biết thêm chi tiết về phân tích HRM, xem Phần 10.

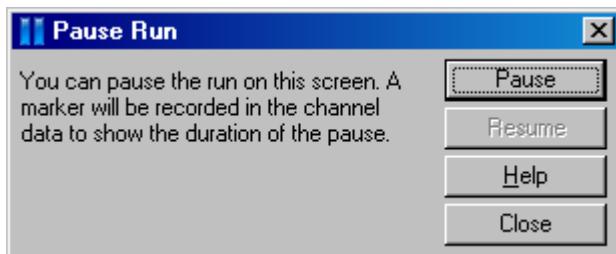
6.7 Menu chạy

6.7.1 Bắt đầu chạy

Tùy chọn này bắt đầu chương trình nhiệt độ xác định với cài đặt khuếch đại hiện tại. Trước khi bắt đầu chạy, cửa sổ **Profile Run Confirmation** (Xác nhận Chạy Chương trình) xuất hiện. Biểu diễn đồ họa của chương trình nhiệt độ được hiển thị cùng với cài đặt khuếch đại cho mỗi kênh.

6.7.2 Tạm dừng Chạy

Tùy chọn này cho phép tạm dừng và tiếp tục chạy. Việc tạm dừng và tiếp tục có thể ảnh hưởng nghiêm trọng đến kết quả của lần chạy. Vì lý do này, một điểm đánh dấu trong dữ liệu sẽ cho biết lần chạy đã bị tạm dừng và thời gian tạm dừng. Một thông báo cũng được đặt trong tab thông báo của cửa sổ **Run Settings** (Cài đặt Lần chạy) (xem Phần 6.8.1).



CẢNH BÁO 	<p>Bè mặt nóng</p> <p>Khi tạm dừng chạy, Rotor-Gene Q MDx sẽ không lạnh hoàn toàn về nhiệt độ phòng. Thận trọng trước khi cầm rôto hoặc bất kỳ ống nào trong dụng cụ.</p>
--	--

6.7.3 Dừng Chạy

Nếu tùy chọn này được chọn, một lời nhắc sẽ xuất hiện yêu cầu xác nhận rằng lần chạy sẽ được dừng lại.

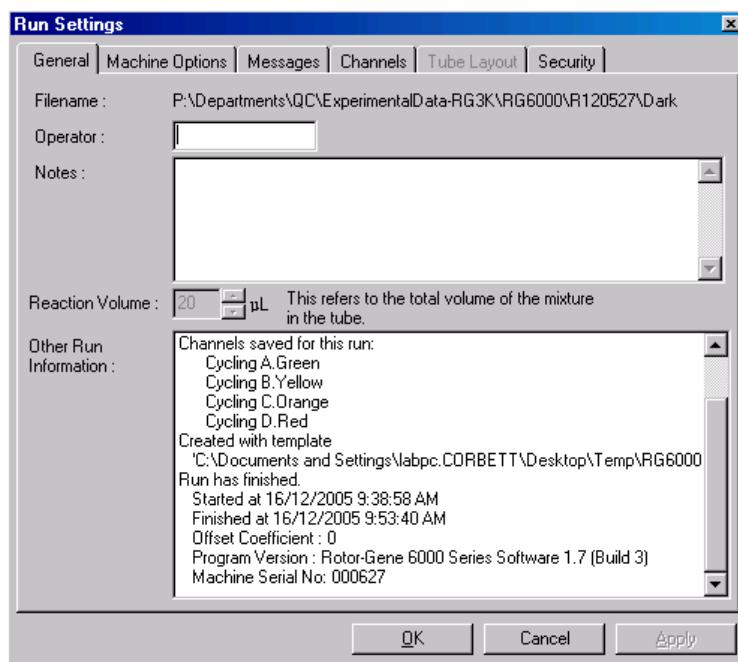
6.8 Menu xem

6.8.1 Cài đặt lần chạy

Chung

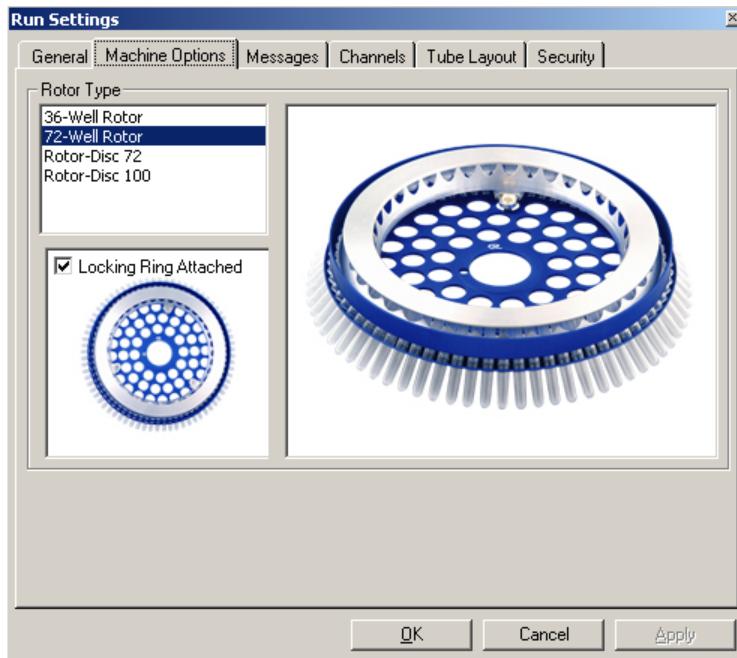
Cửa sổ này cho phép thiết lập thông tin lần chạy, tên tệp chạy, ngày phân tích, người vận hành và mọi ghi chú liên quan.

Cửa sổ chứa tất cả thông tin, ngoại trừ chương trình, cần thiết để định cấu hình một lần chạy. Sau khi lần chạy kết thúc, thông tin sau được hiển thị trong cửa sổ này: máy luân nhiệt được sử dụng, cài đặt khuếch đại, số kênh và thời gian bắt đầu và kết thúc.



Tùy chọn Máy

Tab này hiển thị cài đặt cho cấu hình của Rotor-Gene Q MDx.



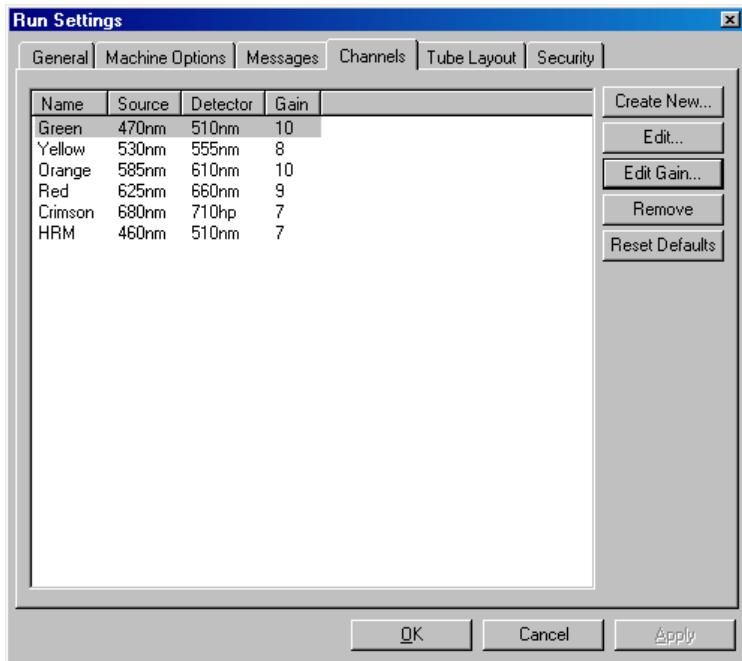
Rôto phải được đặt thành hiện được cài đặt trong Rotor-Gene Q MDx. Nếu mở lần chạy hiện tại, cài đặt này sẽ phản ánh rôto đã được lắp đặt trong máy luân nhiệt tại thời điểm đó.

Thông báo

Tab này hiển thị các thông báo cho biết người dùng đã thực hiện các thay đổi như tạm dừng máy luân nhiệt hoặc bỏ qua các chu kỳ trong lần chạy hay chưa. Tab này cũng hiển thị các cảnh báo nhận được trong lần chạy. Nên kiểm tra tab này nếu kết quả không như mong đợi.

Kênh

Nếu định cấu hình một lần chạy mới, tab kênh sẽ hiển thị cấu hình hiện tại của các kênh khả dụng. Nếu đang xem một lần chạy hiện có, thông tin được hiển thị đại diện cho cấu hình của các kênh khi lần chạy được thực hiện. Nếu một lần chạy làm hỏng cài đặt kênh, có thể khôi phục các kênh mặc định bằng cách nhấp vào **Reset Defaults** (Đặt lại mặc định).



Name (Tên):

Đây là tên của kênh.

Source (Nguồn):

Tùy chọn này xác định bước sóng kích thích của đèn LED nguồn.

Detector (Máy dò):

Tùy chọn này chỉ định bước sóng phát hiện và loại bộ lọc (nm=băng thông, hp=thông cao).

Gain (Khuếch đại):

Tùy chọn này chỉ định độ khuếch đại cho kênh cụ thể đó.

Create New... (Tạo mới):

Tính năng này cho phép tạo các kênh mới. Nhấp vào **Create New...** (Tạo mới...) sẽ mở ra một cửa sổ yêu cầu tên, nguồn và bộ lọc phát hiện mới. Có thể chọn các bộ lọc bằng cách sử dụng menu thả xuống bên cạnh mỗi cửa sổ.

Channels (Kênh):

Các kênh màu xanh lá, vàng, cam và đỏ là cấu hình tiêu chuẩn để phát hiện đa kênh 4 kênh.

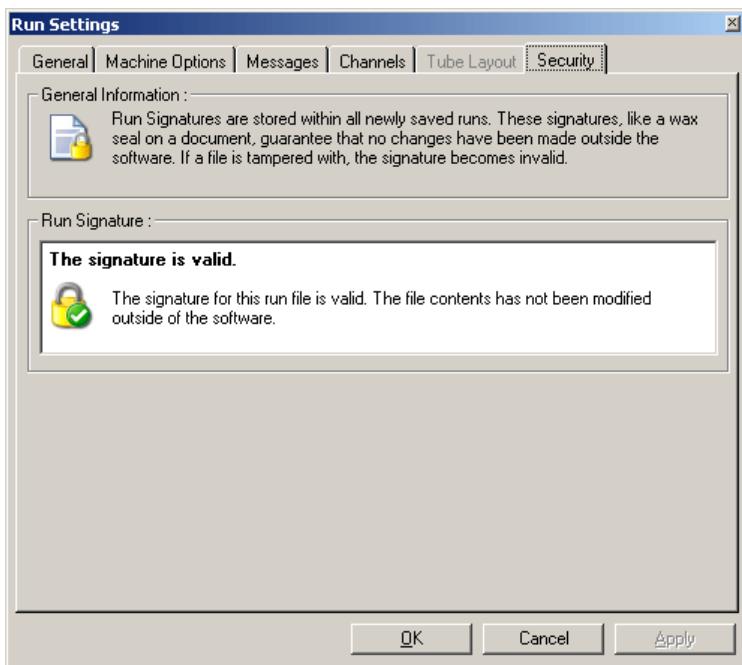
Bố cục Ống

Nếu sử dụng 72-Well Rotor, có thể sắp xếp các mẫu sao cho khớp với nhãn trên một khối 9 x 8. Theo mặc định, tab bố cục Ống cho phép các mẫu được dán nhãn tuần tự (tức là 1, 2, 3...). Điều này có nghĩa là các mẫu được dán nhãn liên tiếp theo thứ tự được đặt trong Rotor-Gene Q MDx. Ngoài ra, các mẫu có thể được dán nhãn 1A, 1B, 1C, v.v. Tùy chọn này có thể hữu ích nếu các mẫu được thiết lập bằng pipet đa kênh.

Bảo mật

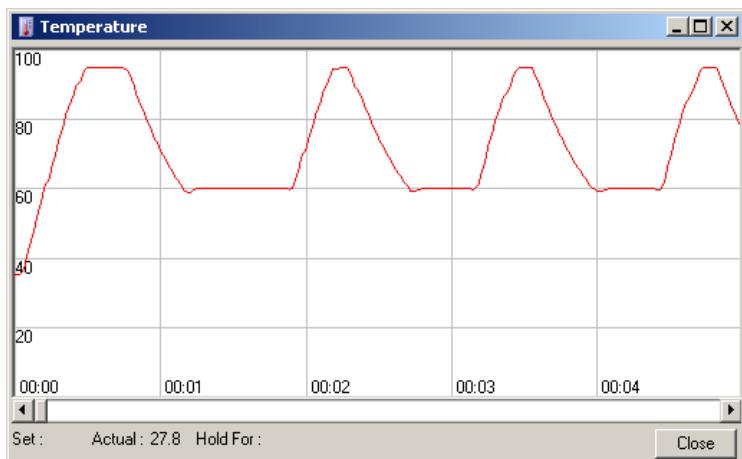
Tab bảo mật hiển thị thông tin về ký hiệu lần chạy. Ký hiệu lần chạy là một khóa không thể thay đổi được tạo lại mỗi khi tệp được thay đổi. Nếu bất kỳ phần nào của tệp *.rex được sửa đổi bên ngoài phần mềm, ký hiệu và tệp sẽ không còn khớp nữa. Kiểm tra ký hiệu cho phép xác nhận rằng dữ liệu thô không bị sửa đổi bên ngoài ứng dụng, chương trình không bị giả mạo và biểu đồ nhiệt độ là hợp lệ. Ký hiệu cũng giúp ngăn ngừa sự sai lạc chẳng hạn như lỗi hệ thống tệp.

Lưu ý: Nếu các tệp *.rex được gửi qua email, quá trình mã hóa có thể làm mất hiệu lực ký hiệu. Để tránh điều này, hãy nén tệp trước khi gửi email.



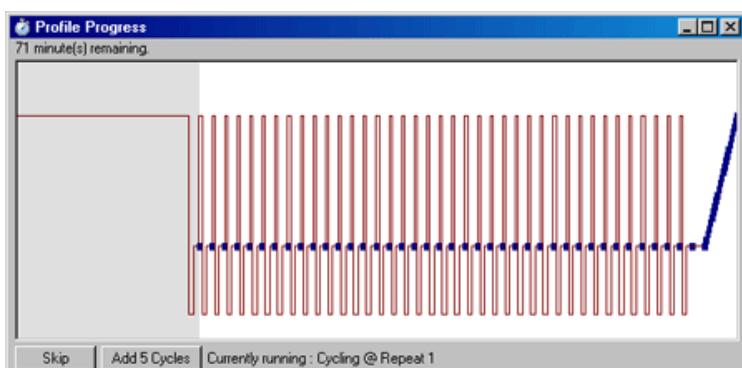
6.8.2 Biểu đồ Nhiệt độ

Chọn **Temperature Graph** (Biểu đồ nhiệt độ) từ menu **View** (Xem) hoặc nhấp vào nút **Temp.** (Nhiệt độ) để hiển thị cửa sổ **Temperature** (Nhiệt độ). Biểu đồ hiển thị quá trình cài đặt nhiệt độ trong chu kỳ. Nó không phản ánh phép đo nhiệt độ thời gian thực. Khi lần chạy tiếp tục, thời gian **Set** (Đặt), **Actual** (Thực tế) và **Hold** (Giữ) được hiển thị cho mỗi bước của chương trình. Đối với tệp lần chạy hiện có, cửa sổ **Temperature** (Nhiệt độ) hiển thị lịch sử nhiệt độ trong lần chạy. Thang đo dọc hiển thị nhiệt độ và thang đo ngang hiển thị thời gian. Sử dụng thanh cuộn để cuộn tới và lui qua cửa sổ **Temperature** (Nhiệt độ).



6.8.3 Tiết độ Chương trình

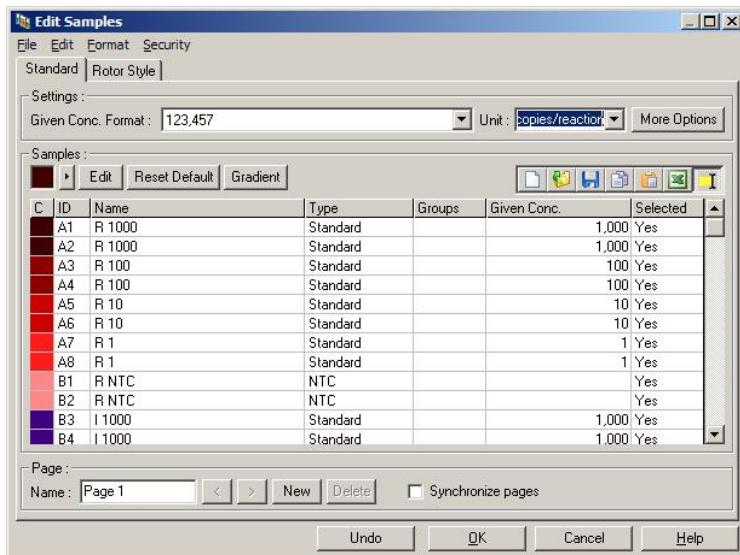
Chọn **Profile Progress** (Tiết độ Chương trình) từ menu **View** (Xem) hoặc nhấp vào nút **Progress** (Tiết độ) để hiển thị cửa sổ **Profile Progress** (Tiết độ Chương trình). Cửa sổ này hiển thị biểu diễn đồ họa của chương trình nhiệt liên quan đến lần chạy. Khi thực hiện một lần chạy, phần bóng mờ của cửa sổ cho biết số chu kỳ đã được hoàn thành. Ngoài ra còn có một ước tính về số phút lần chạy sẽ cần để kết thúc.



Skip (Bỏ qua): **Skip** (Bỏ qua) cho phép bỏ qua bất kỳ bước nào của chương trình.

Add 5 Cycles (Thêm 5 chu kỳ): **Add 5 Cycles** (Thêm 5 chu kỳ) thêm 5 lần lặp lại vào bước chu kỳ hiện tại.

6.8.4 Chính sửa Mẫu



Nhấp vào nút **Samples** để mở cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu). Cũng có thể truy cập cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu) bằng cách nhấp chuột phải vào danh sách mẫu ở bên phải màn hình. Cửa sổ này có chức năng giống với cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu) trong các trình hướng dẫn, ngoại trừ các chức năng của thanh công cụ cũng có sẵn trong menu File (Tệp) và Edit (Chỉnh sửa).

Bốn menu xuất hiện ở đầu cửa sổ, **File** (Tệp), **Edit** (Chỉnh sửa), **Format** (Định dạng) và **Security** (Bảo mật). Menu File (Tệp) được sử dụng để tạo cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu) (trống) mới, để mở một khuôn mẫu hiện có hoặc để lưu tên mẫu làm mẫu để sử dụng sau. Phần mở rộng của các tệp mẫu này là *.smp. Menu **Edit** (Chỉnh sửa) cho phép sao chép và dán các hàng. Menu Security (Bảo mật) cho phép khóa các định nghĩa mẫu.

Lưu ý: Nếu tên mẫu được nhập quá nhanh trong lần chạy (ví dụ: sử dụng máy quét mã vạch), điều này có thể dẫn đến các chữ cái bị hoán vị trong tên mẫu. Do đó, nên tránh sử dụng máy quét mã vạch và nếu có thể, hãy nhập tên mẫu sau khi lần chạy kết thúc.

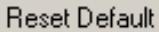
Settings : _____
Given Conc. Format : _____

Menu thả xuống này được sử dụng để chọn định dạng phù hợp cho màn hình hiển thị nồng độ. Nồng độ được định dạng tự động theo vị trí hiện đang được chọn.

Unit : copies/reaction ▾

Menu thả xuống này đặt đơn vị đo lường cho xét nghiệm.

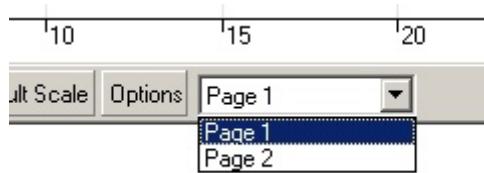
Samples : _____
[Color Box] ▶ Edit Reset Default Gradient

Nút	Tầm quan trọng																
Kiểu dương:	Có thể sửa đổi kiểu dương để cải thiện khả năng đọc đồ thị trên máy in đen trắng. Có thể làm nổi bật các đường nhất định bằng cách sửa đổi kiểu của chúng. Để truy cập tính năng này, nhấp vào nút mũi tên phải bên cạnh nút Edit (Chỉnh sửa).																
	Nhấn Edit (Chỉnh sửa) sẽ mở bộ chọn màu. Có thể chọn nhiều hàng khi gán màu cho ô.																
	Nhấp vào Reset Default (Đặt lại mặc định) để đặt lại tất cả các ô màu đã chọn trở về giá trị màu mặc định của chúng.																
	Gradient cho phép chọn một gradient từ màu đầu tiên đến màu cuối cùng được chọn. Có thể xác định một số gradient trong một thiết lập mẫu.																
																	
	Biểu tượng New (Mới) sẽ xóa cửa sổ Edit Samples (Chỉnh sửa mẫu) để chuẩn bị cho việc nhập dữ liệu.																
	Biểu tượng Open (Mở) sẽ xuất hiện một hộp thoại trong đó tệp Rotor-Gene Q MDx có thể được chọn để nhập. Lưu ý: Số lượng mẫu trong cửa sổ đang mở và tệp được nhập phải khớp với nhau.																
	Biểu tượng Save (Lưu) sẽ hiển thị một hộp thoại trong đó có thể nhập tên và thư mục nơi bản sao của các định nghĩa mẫu hiện tại sẽ được lưu.																
	Biểu tượng Copy (Sao chép) sao chép các ô đã chọn.																
	Biểu tượng Paste (Dán) sẽ dán các ô đã được chọn bằng lệnh sao chép vào vị trí hiện đang được chọn trên lưới.																
	Biểu tượng Excel sẽ trả về một hộp thoại nhắc nhập tên tệp và thư mục để lưu thông tin mẫu. Sau khi nhấn Save (Lưu), tệp Excel sẽ tự động được mở.																
	Biểu tượng Append/Overwrite (Nối thêm/Ghi đè) thay đổi việc chỉnh sửa các ô trong cửa sổ Edit Samples (Chỉnh sửa mẫu). Nếu ghi đè được chọn, dữ liệu hiện có sẽ được ghi đè khi chỉnh sửa. Nếu nối thêm được chọn, dữ liệu mới sẽ được thêm vào cuối dữ liệu hiện có khi chỉnh sửa.																
Loại Mẫu:	Có thể định nghĩa mẫu là một trong một số loại, được liệt kê trong bảng sau.																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Loại mẫu</th><th>Mô tả</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>None (Không có)</td><td>Không có mẫu nào ở vị trí đó</td></tr> <tr> <td>NTC</td><td>Mẫu chứng không mẫu</td></tr> <tr> <td>Negative Control (Mẫu chứng Âm)</td><td>Mẫu chứng âm</td></tr> <tr> <td>Positive Control (Mẫu chứng Dương)</td><td>Mẫu chứng dương</td></tr> <tr> <td>Unknown (Không xác định)</td><td>Mẫu không xác định được phân tích</td></tr> <tr> <td>Standard (Tiêu chuẩn)</td><td>Giá trị tiêu chuẩn được sử dụng để xây dựng đường chuẩn và tính toán nồng độ mẫu chưa biết</td></tr> <tr> <td>Calibrator (RQ) (Chất hiệu chuẩn (RQ))</td><td>Một chất hiệu chuẩn sẽ được gán giá trị 1 và tất cả các nồng độ mẫu khác được tính liên quan đến mẫu này</td></tr> </tbody> </table>		Loại mẫu	Mô tả	None (Không có)	Không có mẫu nào ở vị trí đó	NTC	Mẫu chứng không mẫu	Negative Control (Mẫu chứng Âm)	Mẫu chứng âm	Positive Control (Mẫu chứng Dương)	Mẫu chứng dương	Unknown (Không xác định)	Mẫu không xác định được phân tích	Standard (Tiêu chuẩn)	Giá trị tiêu chuẩn được sử dụng để xây dựng đường chuẩn và tính toán nồng độ mẫu chưa biết	Calibrator (RQ) (Chất hiệu chuẩn (RQ))	Một chất hiệu chuẩn sẽ được gán giá trị 1 và tất cả các nồng độ mẫu khác được tính liên quan đến mẫu này
Loại mẫu	Mô tả																
None (Không có)	Không có mẫu nào ở vị trí đó																
NTC	Mẫu chứng không mẫu																
Negative Control (Mẫu chứng Âm)	Mẫu chứng âm																
Positive Control (Mẫu chứng Dương)	Mẫu chứng dương																
Unknown (Không xác định)	Mẫu không xác định được phân tích																
Standard (Tiêu chuẩn)	Giá trị tiêu chuẩn được sử dụng để xây dựng đường chuẩn và tính toán nồng độ mẫu chưa biết																
Calibrator (RQ) (Chất hiệu chuẩn (RQ))	Một chất hiệu chuẩn sẽ được gán giá trị 1 và tất cả các nồng độ mẫu khác được tính liên quan đến mẫu này																

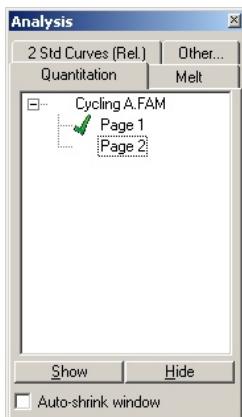
Page (Trang):

Chức năng này cho phép người dùng có các định nghĩa mẫu khác nhau và cả các thí nghiệm riêng biệt, trong cùng một lần chạy. Điều này rất hữu ích cho việc phân tích các sản phẩm khác nhau trong các kênh khác nhau. Sử dụng các nút mũi tên để di chuyển giữa các trang mẫu. Sử dụng các nút **New (Mới)** và **Delete (Xóa)** để tạo và xóa trang. Có thể có nhiều định nghĩa mẫu cho cùng một kênh, để chạy nhiều đường chuẩn mà không cần ghép kênh. Chỉ cần xác định các mẫu quan tâm và các đường chuẩn liên quan của chúng trên các trang riêng biệt. Sau đó, có thể phân tích kênh đơn với từng bộ định nghĩa một cách độc lập. Có thể dán nhãn các trang mẫu **Page 1** (Trang 1), **Page 2** (Trang 2), v.v. hoặc có thể đặt cho chúng bất kỳ tên nào (ví dụ: "Housekeeper" (Mẫu tham chiếu)). Tên này sẽ xuất hiện trong các báo cáo.

Khi xem dữ liệu thô, bạn có thể chọn các định nghĩa mẫu được sử dụng để hiển thị dữ liệu bằng menu thả xuồng bên cạnh nút **Options** (Tùy chọn):



Có thể chọn trang mẫu để sử dụng khi thực hiện phân tích trong cửa sổ **Analysis** (Phân tích) (xem Phần 6.6.1).



Given Conc. (Nồng độ đã cho):

Tùy chọn này cho biết nồng độ cho mỗi chất chuẩn. Các đơn vị có thể được xác định dưới dạng số thập phân hoặc số lô-ga. Nếu các chất chuẩn là chuỗi pha loãng thì chỉ cần nhập 2 chất chuẩn đầu tiên. Bằng cách nhấn ENTER (NHẤP), chương trình sẽ tự động thêm độ pha loãng hợp lý tiếp theo theo chuỗi.

Line style (Kiểu đường):

Có thể sửa đổi kiểu đường để cải thiện khả năng đọc đồ thị trên máy in đen trắng. Có thể làm nổi bật các đường nhất định bằng cách sửa đổi kiểu của chúng. Để truy cập tính năng này, nhấp vào nút mũi tên phải bên cạnh nút **Edit** (Chỉnh sửa).



Thanh công cụ sẽ hiển thị kiểu mặc định là **Solid** (Liên tục). Kiểu này có thể được thay đổi thành **Dashed** (Đứt nét), **Dotted** (Dấu chấm), **Hairline** (Nét mảnh), **Thin** (Mỏng) hoặc **Thick** (Dày). Khi hoàn tất, nhấp vào nút mũi tên bên trái để quay lại chế độ xem **Edit** (Chỉnh sửa), **Reset Default** (Đặt lại mặc định) và **Gradient**.



Multiple row entry (Mục nhập nhiều hàng):

Nếu một thông tin cần được nhập vào nhiều hàng cùng một lúc, chọn tất cả các hàng, sau đó bắt đầu nhập. Thông tin sẽ được nhập vào từng hàng. Điều này cũng hiệu quả với việc chọn loại mẫu, chọn màu sắc hoặc nhập nồng độ.

Sample type hotkey (Phím nóng loại mẫu):

Để nhanh chóng chọn một loại mẫu, nhập chữ cái đầu tiên của tên mẫu. Ví dụ: để đặt 5 mẫu thành mẫu chứng không mẫu, chọn chúng trong cột loại mẫu, sau đó nhấn N cho NTC. Tất cả các mẫu sẽ được chuyển đổi sang NTC.

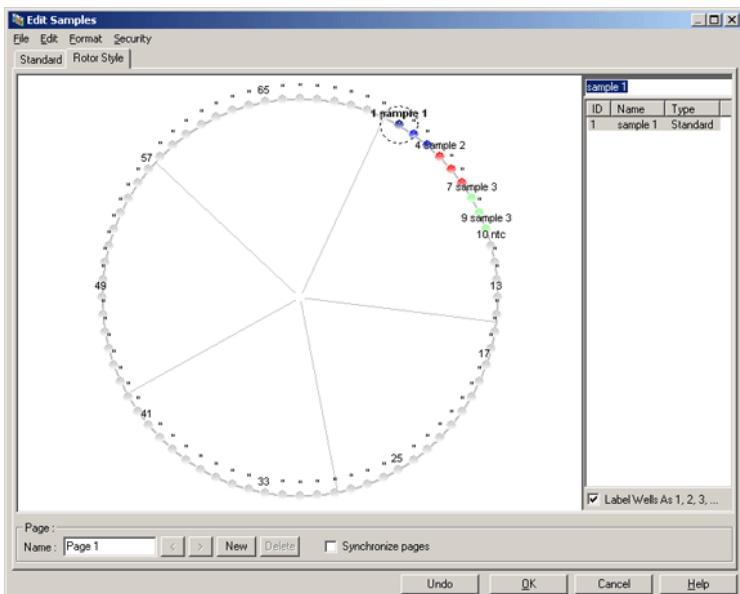
Save it, reuse it (Lưu mẫu, sử dụng lại mẫu):

Mô tả mẫu hoàn chỉnh có thể được lưu dưới dạng tệp mẫu (*.smp) và được nạp vào các lần chạy sau với cùng cấu hình mẫu.

Kiểu Rôto

Tab này trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu) cung cấp một cách khác để nhập tên mẫu.

Chọn các bản sao bằng cách nhấp và kéo con trỏ chuột qua hình ảnh rôto. Danh sách bên phải cửa sổ sẽ cập nhật. Tên mẫu có thể được nhập và thao tác này sẽ đặt cùng tên cho lựa chọn hiện tại. Phần mềm nhận dạng những lỗ này là bản sao.

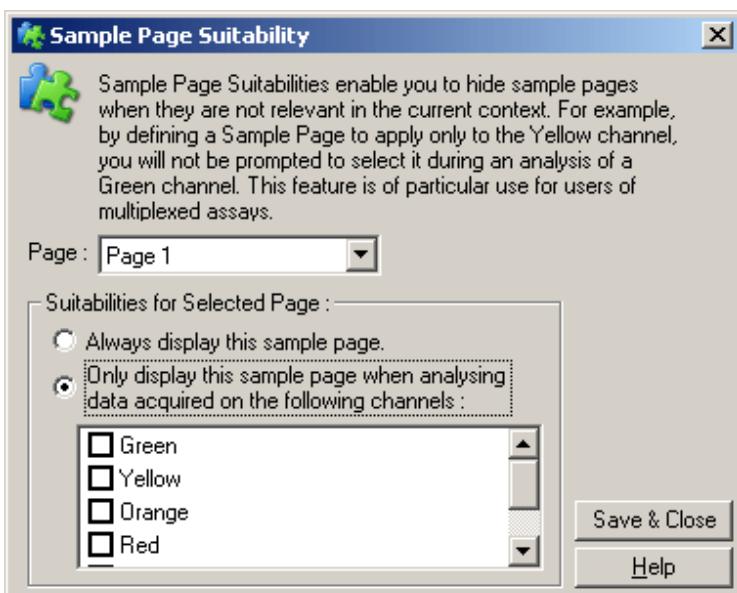


Tab **Rotor Style** (Kiểu Rôto) cung cấp phiên bản rút gọn của tab **Standard** (Tiêu chuẩn) và được thiết kế cho những người dùng muốn thiết lập tên và màu mẫu một cách nhanh chóng. Không thể xác định một số cài đặt, chẳng hạn như mẫu đại diện cho một chất chuẩn hay nồng độ đã biết của mỗi chất chuẩn, trong tab này. Nếu cần xác định những cài đặt này, tab chất chuẩn sẽ được sử dụng.

Tính phù hợp của Trang Mẫu

Để truy cập cửa sổ **Sample Page Suitability** (Tính phù hợp của Trang Mẫu), nhấp vào **More Options** (Tùy chọn Khác) trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa Mẫu), sau đó nhấp vào **Define Suitabilities** (Tính phù hợp). Cửa sổ **Sample Page Suitability** (Tính phù hợp của Trang Mẫu) cho phép người dùng khớp trang mẫu với kênh. Ví dụ: trang mẫu cho gen quan tâm có thể áp dụng cho kênh màu xanh lá và trang mẫu cho gen tham chiếu có thể áp dụng cho kênh màu vàng. Trong ví dụ này, việc thiết lập tính phù hợp của trang mẫu làm giảm số lượng các tùy chọn phân tích có sẵn để chỉ bao gồm những tùy chọn có liên quan cho xét nghiệm cụ thể.

Cửa sổ **Sample Page Suitability** (Tính phù hợp của Trang Mẫu) hiển thị dưới đây.

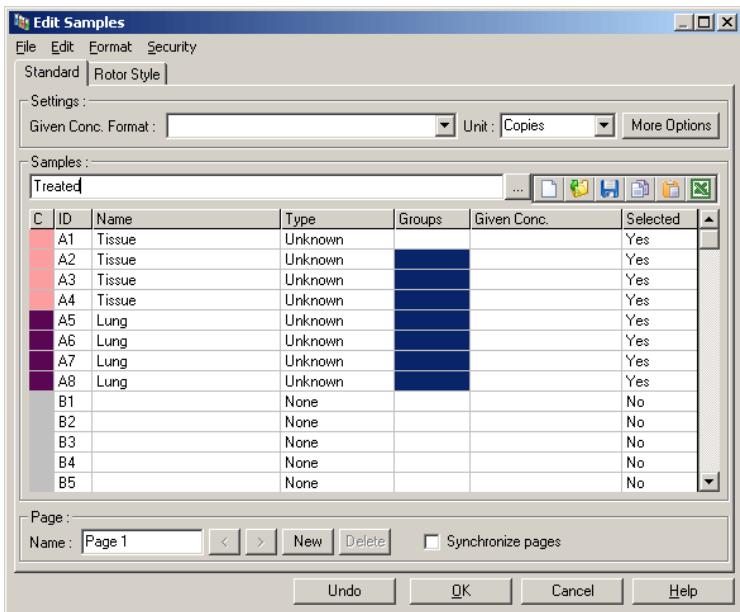


Lưu ý: Khi thiết lập xét nghiệm, tạo tất cả các trang mẫu và tính phù hợp của trang mẫu, sau đó lưu chúng dưới dạng mẫu. Điều này làm giảm số lượng thiết lập cần thiết cho mỗi lần chạy.

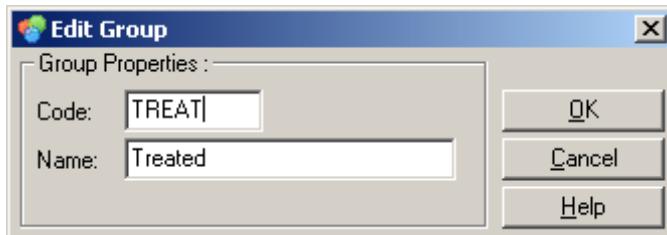
Nhóm

Các nhóm mẫu cho phép tính toán số liệu thống kê cho một tập hợp mẫu tùy ý. Không giống như các bản sao phải có tên giống hệt nhau, các mẫu có thể có bất kỳ tên nào, có thể được đặt ở bất kỳ vị trí nào trong rôto và có thể thuộc nhiều nhóm.

- Để xác định một nhóm, nhập tên đầy đủ của nhóm bên cạnh một mẫu, sau đó nhấn ENTER (NHẬP).



2. Cửa sổ **Edit Group** (Chỉnh sửa nhóm) xuất hiện.

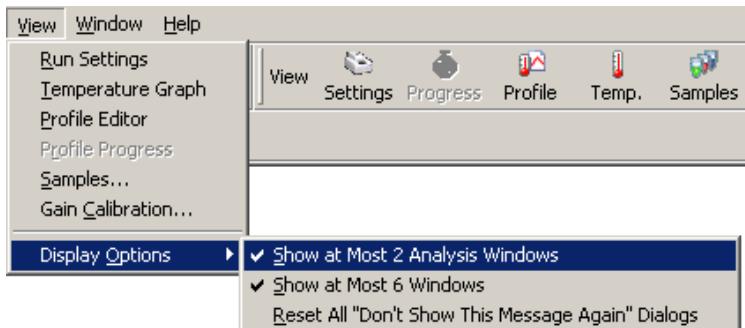


3. Xác định một từ viết tắt phù hợp, sau đó nhấp vào **OK**. Bây giờ có thể sử dụng từ viết tắt để thiết lập các nhóm. Kết quả tổng hợp, chẳng hạn như giá trị trung bình và khoảng tin cậy 95%, được tính toán tự động cho các nhóm trong bất kỳ phân tích nào.

No.	Name	Type	Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var	Rep. Ct	Rep. Qt Std	Rep. Ct (95% CI)	Rep.
A1	Tissue	Unknown	18.82				18.75	0.17	[18.48 , 19.02]	
A2	Tissue	Unknown	18.75							
A3	Tissue	Unknown	18.92							
A4	Tissue	Unknown	18.52							
A5	Lung	Unknown	18.73				18.70	0.09	[18.55 , 18.85]	
A6	Lung	Unknown	18.62							
A7	Lung	Unknown	18.81							
A8	Lung	Unknown	18.63							
A1-A8 Treated		Group					18.72	0.13	[18.62 , 18.83]	

6.8.5 Tùy chọn Hiển thị

Menu tùy chọn hiển thị được hiển thị bên dưới.



Show at Most 2 Analysis Windows
(Hiển thị nhiều nhất 2 cửa sổ phân tích):

Nếu chọn tùy chọn này, tối đa 2 cửa sổ phân tích được hiển thị cùng một lúc. Nếu mở nhiều cửa sổ, khả năng đọc có thể bị ảnh hưởng. Chọn tùy chọn này sẽ đóng cửa sổ phân tích đầu tiên và thay thế nó bằng cửa sổ được mở cuối cùng. Nếu không chọn tùy chọn này, có thể hiển thị nhiều hơn 2 cửa sổ phân tích.

Show at Most 6 Windows
(Hiển thị nhiều nhất 6 cửa sổ):

Để cải thiện khả năng đọc, phần mềm loại bỏ các cửa sổ không sử dụng khi các cửa sổ mới được mở. Tùy chọn này được bật theo mặc định, vì nó giữ cho màn hình phần mềm Rotor Gene Q luôn rõ ràng. Nếu cần xem nhiều hơn 6 cửa sổ cùng một lúc, bỏ chọn tùy chọn này.

Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs (Đặt lại tất cả hộp thoại "Không hiển thị lại thông báo này"):

Nếu tùy chọn này được chọn, phần mềm sẽ hiển thị lại tất cả các hộp thoại trong đó hộp kiểm **Do not display this message again** (Không hiển thị lại thông báo này) được chọn. Chúng bao gồm thông báo về các cài đặt đang ngõ có thể đã được đặt trước đó để không hiển thị lại. Điều này có thể hữu ích cho người dùng mới chưa quen với Rotor-Gene Q MDx hoặc phần mềm Rotor-Gene Q.

6.9 Bảo vệ Quyền truy cập Phần mềm Rotor-Gene Q

Lưu ý: Chương này trình bày cách bảo vệ truy cập phần mềm Rotor-Gene Q. Xem *Hướng dẫn Sử dụng Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application* hoặc *Hướng dẫn Sử dụng Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application* để biết thông tin về phần mềm Rotor-Gene AssayManager liên quan.

Phần mềm Rotor-Gene Q bao gồm các tính năng cho phép nó hoạt động an toàn. Khi được định cấu hình chính xác, phần mềm Rotor-Gene Q có thể đảm bảo những điều sau:

- Quyền truy cập vào Rotor-Gene Q MDx hoặc phần mềm phân tích bị hạn chế đối với các nhóm người dùng
- Các sửa đổi đối với tệp lần chạy được ghi lại
- Các sửa đổi trái phép được phát hiện (ký hiệu)
- Các mẫu được sử dụng để thực hiện các lần chạy được ghi lại
- Tên mẫu được bảo vệ

Tích hợp với bảo mật Windows

Để đảm bảo mức chịu trách nhiệm cao, phần mềm Rotor-Gene Q không quản lý bảo mật trong nội bộ. Tất cả các tài khoản, nhóm và mật khẩu đều được quản lý bằng mô hình bảo mật tích hợp sẵn của Windows (Windows Security). Tích hợp cho phép cùng một mật khẩu có quyền truy cập vào các tệp mạng và chương trình để kiểm soát quyền truy cập phần mềm Rotor-Gene Q, dẫn đến ít phải quản lý hơn. Ví dụ, trong các tổ chức lớn hơn, quản trị viên mạng có thể dễ dàng loại bỏ quyền truy cập vào người dùng cũ do mô hình bảo mật tập trung.

Vì lý do này, việc thiết lập phần mềm Rotor-Gene Q một cách an toàn chủ yếu liên quan đến cấu hình các vai trò bảo mật của Windows theo các thông lệ tốt nhất.

Điều kiện tiên quyết

Để sử dụng tính năng bảo mật, bạn phải chạy phiên bản Windows 10 hoặc Windows 7 Professional. Không thể sử dụng các tính năng bảo mật với phiên bản Windows 10 hoặc Windows 7 Home, vì phiên bản Home không có mô hình truy cập chi tiết được phần mềm sử dụng. Phần mềm phải được cài đặt với tùy chọn **Force authentication through Windows domain** (Buộc xác thực thông qua miền Windows).

Lưu ý: Menu Security (Bảo mật) sẽ không xuất hiện nếu bạn đã đăng nhập vào miền Linux Samba. Bạn phải có mã đăng nhập cục bộ hoặc máy chủ Windows để sử dụng các tính năng bảo mật.

6.9.1 Cấu hình cho Windows 7

Phần này mô tả cách thiết lập hệ thống để chạy phần mềm Rotor-Gene Q một cách an toàn.

Để sử dụng các tính năng bảo mật, phần mềm phải được cài đặt với tùy chọn **Force authentication through Windows domain** (Buộc xác thực thông qua miền Windows). Tùy chọn này truy vấn miền Windows về cấp độ truy cập và thông tin đăng nhập của bạn và là điều cần thiết để cung cấp các tính năng giải trình và bảo mật.

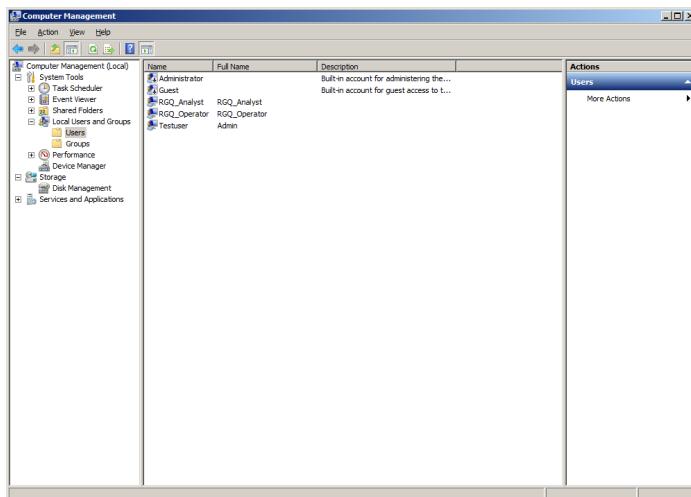
Chạy với tư cách quản trị viên

Nhiều người dùng vận hành máy tính của họ với tư cách là quản trị viên, không có mật khẩu. Mặc dù cách này rất tiện lợi nhưng nó khiến bạn không thể xác định được ai đang sử dụng máy tính. Điều này giúp loại bỏ trách nhiệm giải trình và ngăn ngừa kích hoạt nhiều biện pháp bảo mật phần mềm Rotor-Gene Q. Khi chạy với tư cách quản trị viên, tất cả các tính năng của phần mềm đều được bật. Do đó, việc chạy với tư cách quản trị viên đảm bảo rằng người dùng không cần các tính năng bảo mật có thể truy cập tất cả các tính năng của phần mềm.

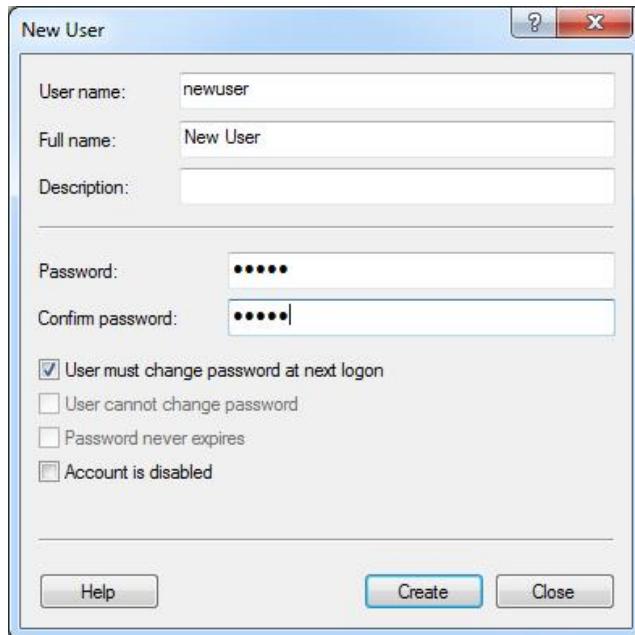
Tạo tài khoản người dùng mới

Tạo tài khoản người dùng cho từng người dùng phần mềm. Đối với mỗi người dùng, lặp lại các bước bên dưới cho đến khi tất cả các tài khoản đã được tạo.

- Để tạo người dùng mới, chọn **Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management** (Khởi động/Bảng điều khiển/Công cụ quản trị/Quản lý máy tính) và điều hướng đến **Local Users and Groups** (Người dùng và Nhóm cục bộ).
- Trong cửa sổ xuất hiện, chọn thư mục **Users** (Người dùng). Nhấp chuột phải vào cửa sổ bên phải và chọn **New User** (Người dùng mới).



- Nhập tên người dùng và mật khẩu. Theo mặc định, người dùng sẽ được tạo với các đặc quyền truy cập thông thường. Điều này có nghĩa là họ có thể chạy phần mềm nhưng không thể cài đặt chương trình mới hoặc thay đổi cài đặt hệ thống.



- Nhấp vào **Create** (Tạo). Bây giờ bạn có thể đăng nhập với tư cách là người dùng này.

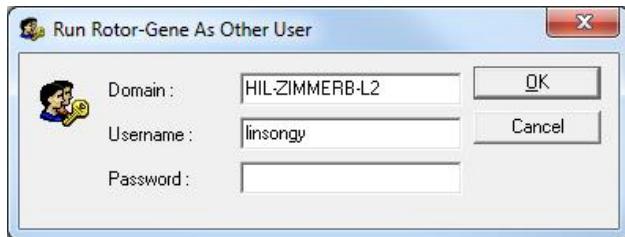
Chỉ định vai trò cho từng người dùng

Bây giờ bạn nên chỉ định vai trò cho từng người dùng. Quyền truy cập được chia thành các khu vực sau:

- Người vận hành Rotor-Gene Q — có thể thực hiện các lần chạy nhưng không thể tạo báo cáo hoặc thực hiện phân tích
- Người phân tích Rotor-Gene Q — có thể phân tích dữ liệu lần chạy và tạo báo cáo nhưng không thể thực hiện các lần chạy mới
- Người vận hành và Người phân tích Rotor-Gene Q — có khả năng của cả hai vai trò
- Quản trị viên — có thể mở khóa tên mẫu và thực hiện tất cả các hoạt động của Nhà phân tích và Người vận hành
- Không có — quyền truy cập vào phần mềm bị từ chối

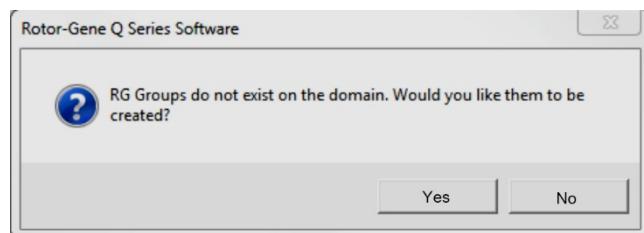
Để chỉ định vai trò:

- Đăng nhập vào Windows với tư cách quản trị viên hoặc sử dụng biểu tượng **Rotor-Gene Q Software Login** (Đăng nhập phần mềm Rotor-Gene Q) để mở phần mềm và đăng nhập.

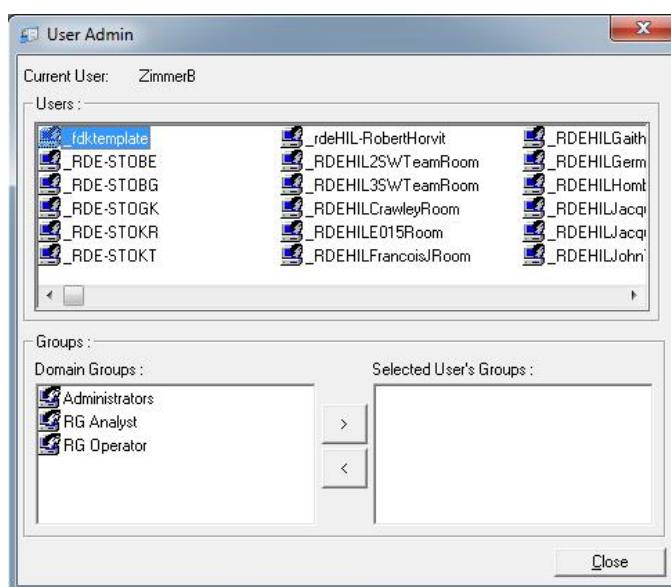


Lưu ý: Để tạo Nhóm RG bằng phần mềm Rotor-Gene Q, cần phải chạy phần mềm với quyền quản trị viên. Điều này được thực hiện bằng cách nhấp chuột phải vào biểu tượng màn hình và chọn **Run as administrator** (Chạy với tư cách quản trị viên) trong menu ngữ cảnh.

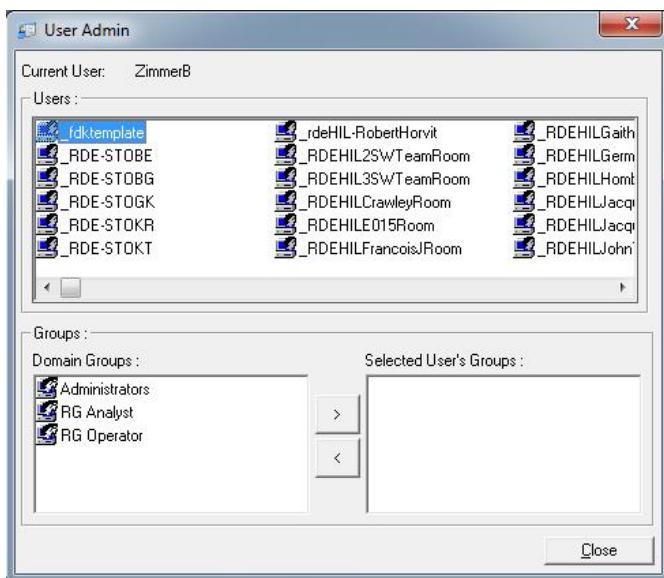
- Khi phần mềm được mở, nhấp vào menu **Security** (Bảo mật). Lần đầu tiên truy cập menu **Security** (Bảo mật), phần mềm Rotor-Gene Q cấu hình một số nhóm hệ thống sẽ kiểm soát quyền truy cập vào phần mềm.



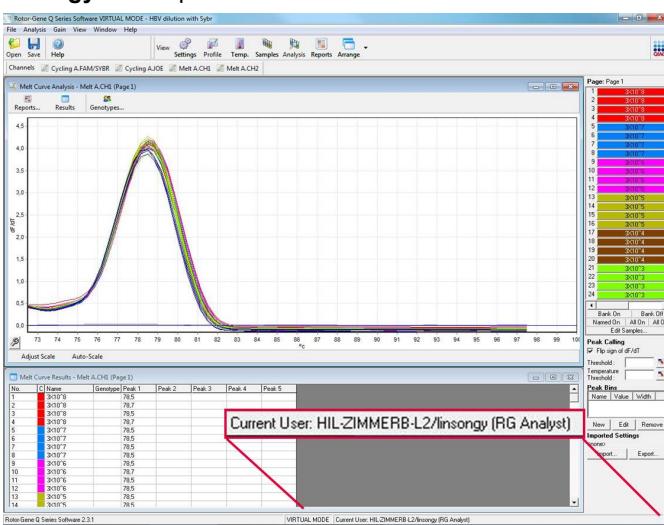
- Nhấp vào **Yes** (Có). Cửa sổ **User Admin** (Quản trị người dùng) xuất hiện. Trong bảng điều khiển trên cùng, tất cả người dùng của máy tính được hiển thị. Một số tài khoản do hệ thống sử dụng, vì vậy sẽ không quen thuộc. Ô dưới cùng hiển thị các nhóm được chỉ định cho người dùng.



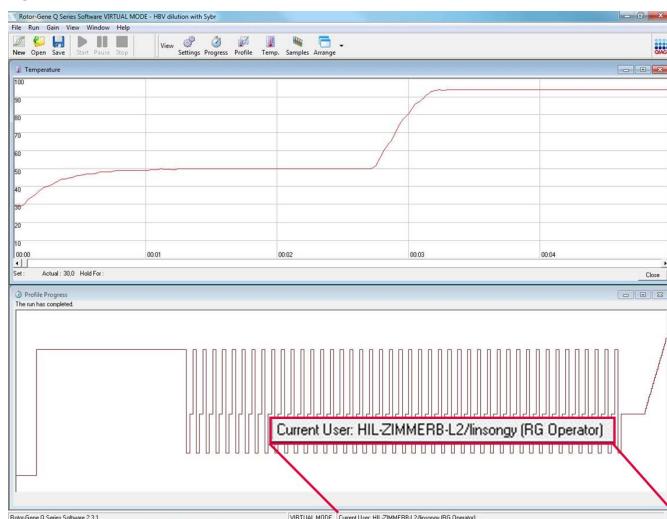
- Để chỉ định một nhóm cho một người dùng, chọn tên của người dùng đó từ danh sách. Bảng điều khiển phía dưới sẽ cập nhật. Nếu người dùng không có nhóm, họ không thể khởi chạy phần mềm.
- Trong ví dụ dưới đây, chúng tôi chỉ định người dùng **linsongy** cho nhóm Nhà phân tích RG bằng cách chọn nhóm ở phía bên trái, sau đó nhấp vào nút >. Có thể xóa các nhóm bằng cách chọn chúng, sau đó nhấp vào nút <.



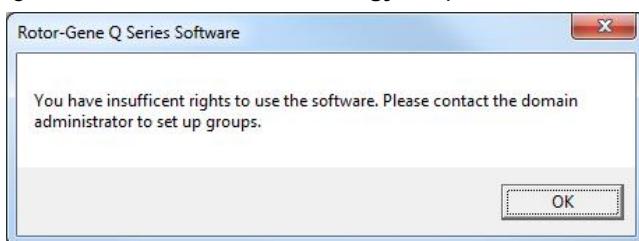
- Bây giờ đăng nhập với tư cách là người dùng này. Là Nhà phân tích RG, menu **Run** (Chạy) và nút **Profile** (Chương trình) không khả dụng. Tuy nhiên, có thể mở và phân tích các tệp hiện có, như thể hiện trong ảnh chụp màn hình bên dưới. Thanh trạng thái cho biết rằng người dùng **linsongy** là Nhà phân tích RG.



7. Bằng cách đăng nhập lại với tư cách quản trị viên, quyền Người điều hành RG có thể được gán cho **linsongy** và quyền của Người phân tích RG có thể bị xóa một lần nữa. Sau đó, phần mềm cần được khởi chạy lại. Lần này, menu **Analysis** (Phân tích) và **Reports** (Báo cáo) bị thiếu và menu Run (Chạy) được bật. Thanh trạng thái cho biết rằng người dùng **linsongy** thuộc nhóm Người vận hành RG.



8. Nếu bạn đăng nhập với tư cách quản trị viên và xóa tất cả các nhóm khỏi người dùng **linsongy**, thông báo sau sẽ xuất hiện khi **linsongy** mở phần mềm.



6.9.2 Cấu hình cho Windows 10

Phần này mô tả cách thiết lập hệ thống để chạy phần mềm Rotor Gene Q một cách an toàn.

Để sử dụng các tính năng bảo mật, phần mềm phải được cài đặt với tùy chọn **Force authentication through Windows domain** (Buộc xác thực thông qua miền Windows). Tùy chọn này truy vấn miền Windows về cấp độ truy cập và thông tin đăng nhập của bạn và là điều cần thiết để cung cấp các tính năng giải trình và bảo mật.

Chạy với tư cách quản trị viên

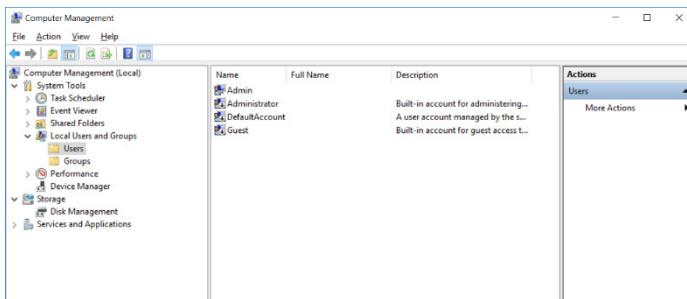
Nhiều người dùng vận hành máy tính của họ với tư cách là quản trị viên, không có mật khẩu. Mặc dù cách này rất tiện lợi nhưng nó khiến bạn không thể xác định được ai đang sử dụng máy tính. Điều này giúp loại bỏ trách nhiệm giải trình và ngăn ngừa kích hoạt nhiều biện pháp bảo mật phần mềm Rotor-Gene Q.

Khi chạy với tư cách quản trị viên, tất cả các tính năng của phần mềm đều được bật. Do đó, việc chạy với tư cách quản trị viên đảm bảo rằng người dùng không cần các tính năng bảo mật có thể truy cập tất cả các tính năng của phần mềm.

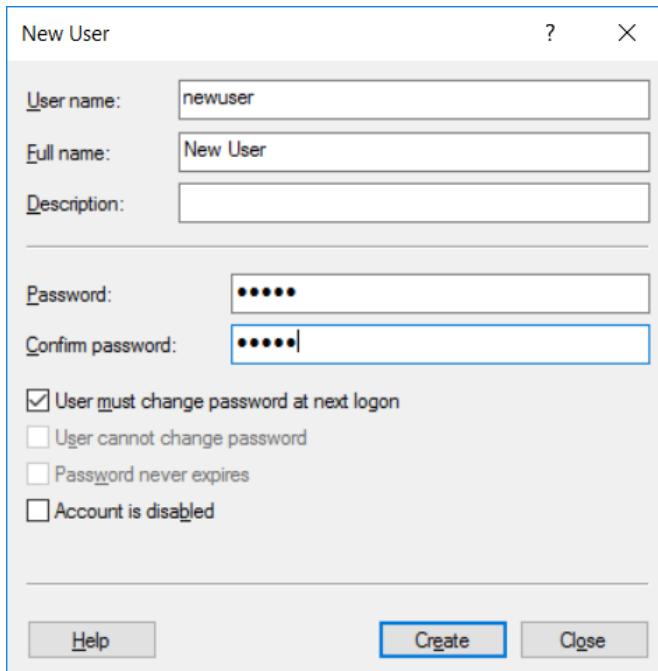
Tạo tài khoản người dùng mới

Tạo tài khoản người dùng cho từng người dùng phần mềm. Đối với mỗi người dùng, lặp lại các bước bên dưới cho đến khi tất cả các tài khoản đã được tạo.

- Để tạo người dùng mới, chọn **Start** (Khởi động), nhập **Computer Management** (Quản lý máy tính), nhấn **Nhập** (Nhập) và điều hướng **Local Users and Groups** (Người dùng và Nhóm cục bộ) ở phía bên trái.
- Trong cửa sổ xuất hiện, chọn thư mục **Users** (Người dùng). Nhấp chuột phải vào cửa sổ bên phải và chọn **New User...** (Người dùng mới...).



- Nhập tên người dùng và mật khẩu. Theo mặc định, người dùng sẽ được tạo với các đặc quyền truy cập thông thường. Điều này có nghĩa là họ có thể chạy phần mềm nhưng không thể cài đặt chương trình mới hoặc thay đổi cài đặt hệ thống.



4. Nhấp vào **Create** (Tạo). Bây giờ bạn có thể đăng nhập với tư cách là người dùng này.

Chỉ định vai trò cho từng người dùng

Bây giờ bạn nên chỉ định vai trò cho từng người dùng. Quyền truy cập được chia thành các khu vực sau:

- Người vận hành Rotor-Gene Q — có thể thực hiện các lần chạy nhưng không thể tạo báo cáo hoặc thực hiện phân tích
- Người phân tích Rotor-Gene Q — có thể phân tích dữ liệu lần chạy và tạo báo cáo nhưng không thể thực hiện các lần chạy mới
- Người vận hành và Người phân tích Rotor-Gene Q — có khả năng của cả hai vai trò
- Quản trị viên — có thể mở khóa tên mẫu và thực hiện tất cả các hoạt động của Nhà phân tích và Người vận hành
- Không có — quyền truy cập vào phần mềm bị từ chối

Lưu ý: Trong Microsoft Windows 10, không thể tạo nhóm người dùng bằng phần mềm Rotor-Gene Q. Nhóm phải được tạo trong miền bởi quản trị viên miền, cũng như chỉ định người dùng cho một nhóm cụ thể. Menu Run (Chạy) được bật. Thanh trạng thái cho biết rằng người dùng **linsongy** thuộc nhóm Người vận hành RG.

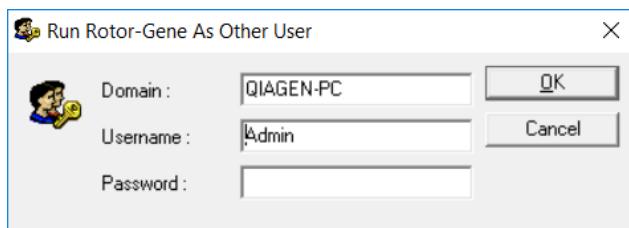
6.9.3 Chạy nhiều người dùng trên cùng một máy tính

Để sử dụng phần mềm Rotor-Gene Q với nhiều người dùng, tạo tài khoản người dùng không có quyền truy cập vào phần mềm Rotor-Gene Q. Đăng nhập vào Windows bằng tài khoản này để người dùng không thể truy cập nặc danh vào Rotor-Gene Q MDx.

- Sử dụng biểu tượng **Rotor-Gene Q Software Login** (Đăng nhập phần mềm Rotor-Gene Q), người dùng có thể mở tài khoản người dùng của mình trong phần mềm Rotor-Gene Q.



- Nhập tên người dùng và mật khẩu (bắt buộc) vào hộp xuất hiện.



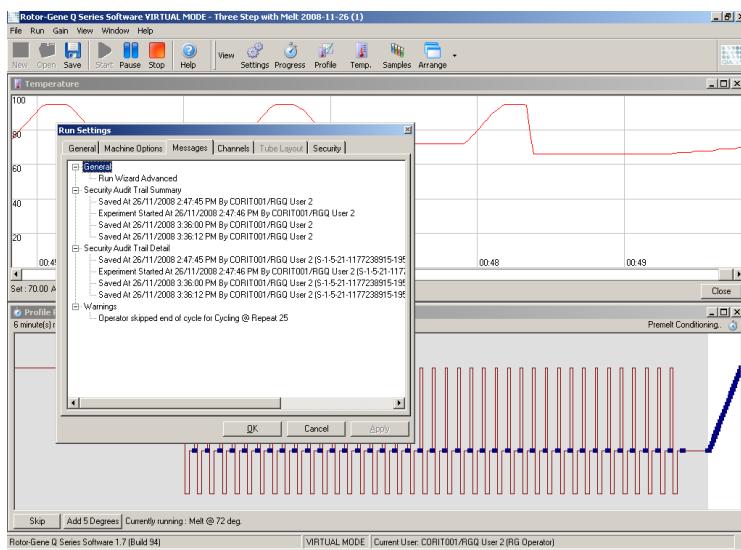
- Miền là máy tính bạn đang đăng nhập hoặc tên mạng cục bộ của bạn, cùng với tên máy chủ. Tham khảo ý kiến quản trị viên mạng của bạn nếu không chắc chắn nên nhập miền nào vào trường này.

Lưu ý: Sau khi đăng nhập, tất cả các tệp người dùng sẽ có sẵn cho người dùng đó. Mỗi người dùng có thể lưu tệp trong khu vực của riêng họ. Điều này đảm bảo mức độ bảo mật cao.

Lưu ý: Mỗi người dùng nên đăng xuất sau khi hoàn tất lần chạy của họ để ngăn người dùng khác thực hiện một lần chạy dưới danh nghĩa của họ.

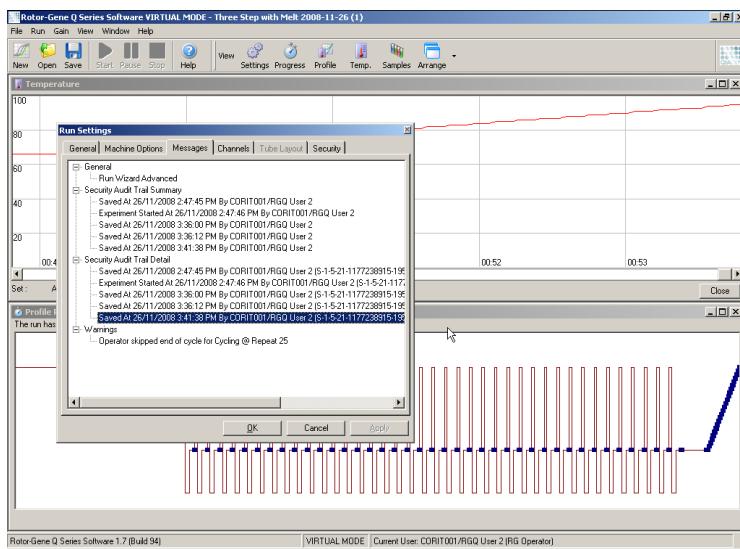
6.9.4 Lịch sử kiểm tra

Mỗi khi người dùng lưu tệp, thông tin chi tiết của họ được ghi lại trong **Run Settings** (Cài đặt lần chạy) trong tab **Messages** (Thông báo) dưới dạng Tóm tắt Lịch sử Kiểm tra Bảo mật và Chi tiết Lịch sử Kiểm tra Bảo mật.



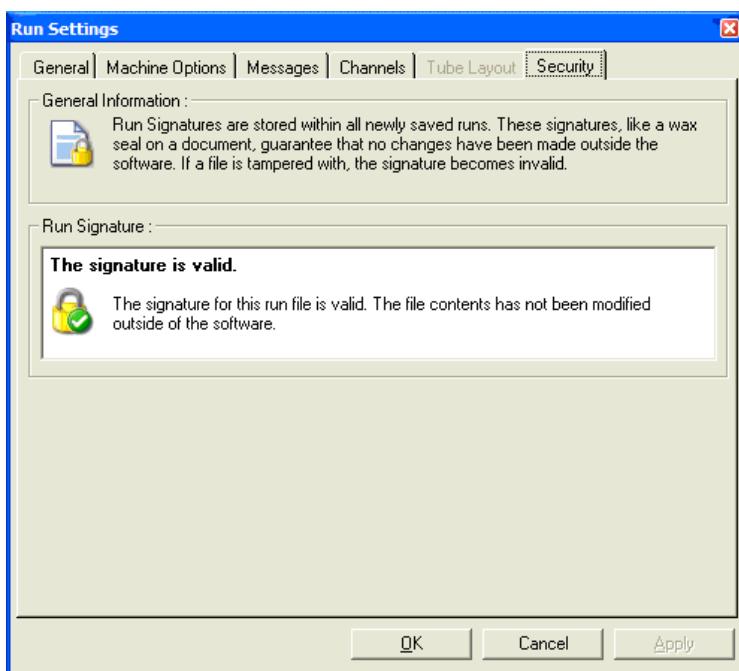
Có thể sử dụng tệp này để theo dõi ai đã sửa đổi nội dung của tệp. Chi tiết Lịch sử Kiểm tra Bảo mật chứa nhiều chi tiết hơn, chẳng hạn như mã định danh duy nhất của người dùng. Mã định danh này rất quan trọng để tránh người dùng tạo tài khoản có cùng tên trên máy tính khác và do đó mạo danh người dùng khác. Trong trường hợp này, tên người dùng sẽ giống nhau, nhưng ID tài khoản sẽ khác.

Mã định danh cho tài khoản CORIT001/RGQ Người dùng 2, S-1-5-21-1177238915-195, được hiển thị trong thông tin chi tiết.



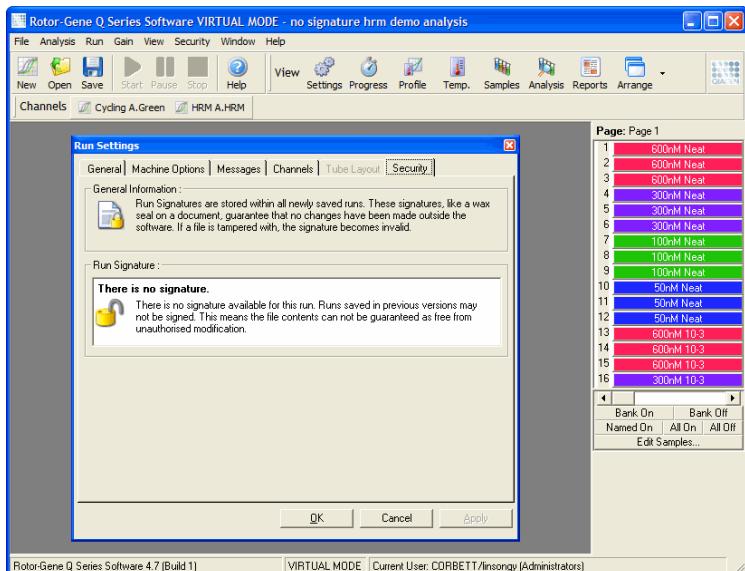
6.9.5 Ký hiệu Lần chạy

Lịch sử kiểm tra được lưu trữ trong tệp chạy Rotor-Gene Q. Để tránh bất kỳ sửa đổi không mong muốn nào đối với các tệp này, nên lưu trữ chúng ở một vị trí an toàn mà chỉ các tài khoản Windows được chỉ định mới có thể truy cập được. Tuy nhiên, nếu các tệp được lưu trữ trong một khu vực chung, Ký hiệu Lần chạy cung cấp thêm khả năng bảo mật. Ảnh chụp màn hình hiển thị tab **Security** (Bảo mật) trong Cài đặt Lần chạy cho tệp có Ký hiệu Lần chạy.



Ký hiệu Lần chạy là một từ dài được tạo mỗi khi tệp được lưu và liên kết với nội dung của tệp. Ví dụ: ký hiệu cho tệp này là **517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081**. Nếu tệp được mở trong Notepad và chỉnh sửa được thực hiện (ví dụ: ngày chạy được thay đổi thành 3 ngày trước đó), thông báo sau sẽ xuất hiện khi tệp được mở lại.





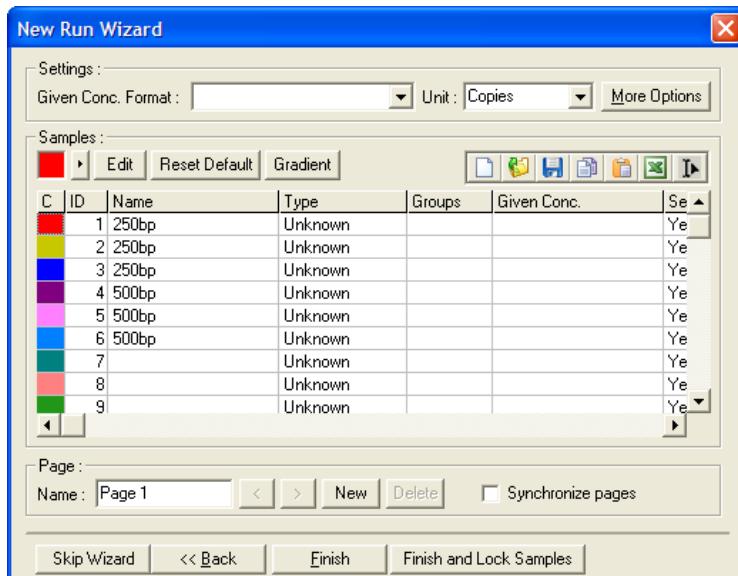
Lưu ý: Nếu các tệp được gửi qua email, quá trình mã hóa có thể làm mất hiệu lực ký hiệu. Để tránh điều này, hãy nén tệp trước khi gửi e-mail.

6.9.6 Khóa mẫu

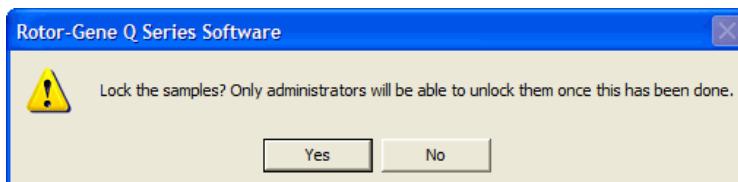
Điều quan trọng là đảm bảo rằng tên mẫu không bị thay đổi vô tình hoặc cố ý khi người dùng đã bắt đầu lần chạy. Vì lý do này, phần mềm Rotor-Gene Q cung cấp khóa mẫu. Tên mẫu có thể bị khóa bởi bất kỳ người dùng nào nhưng chỉ có thể được mở khóa bởi quản trị viên. Đối với người dùng chạy máy tính của họ ở chế độ quản trị viên, tùy chọn này có giá trị hạn chế. Để sử dụng tùy chọn này, máy tính phải được cấu hình an toàn như mô tả trong các phần trước.

Lưu ý: Nếu bạn muốn khóa mẫu, không chạy phần mềm với tư cách quản trị viên. Tạo tài khoản với nhóm Người vận hành RG và Nhà phân tích RG, đồng thời giữ bí mật mật khẩu quản trị viên. Sau đó, người dùng sẽ yêu cầu ủy quyền từ quản trị viên để mở khóa tệp.

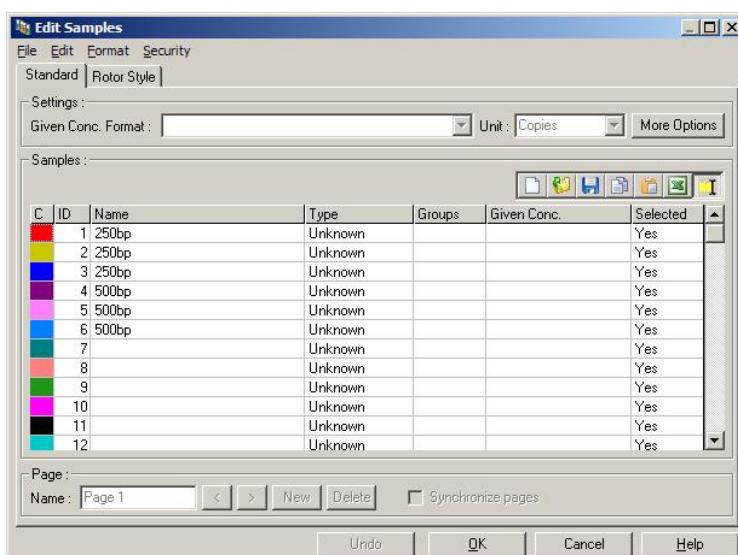
Có thể khóa mẫu trước khi bắt đầu chạy khi sử dụng trình hướng dẫn Nâng cao, bằng cách nhấp vào **Finish and Lock Samples** (Kết thúc và khóa mẫu).



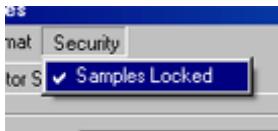
Cảnh báo sau sẽ xuất hiện. Nhấp vào Yes (Có) để xác nhận.



Sau khi khóa mẫu, sẽ không thể chỉnh sửa mẫu trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu).



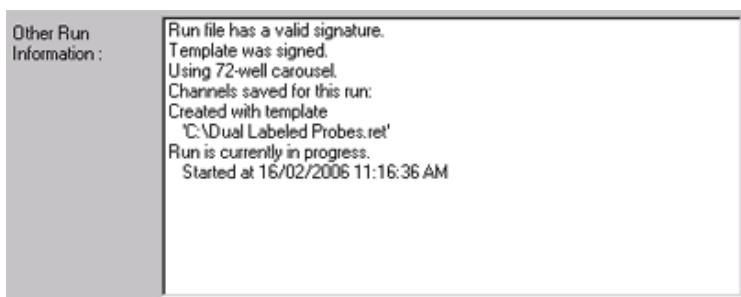
Cũng có thể khóa và mở khóa mẫu trong cửa sổ **Edit Samples** (Chỉnh sửa mẫu). Tuy nhiên, chỉ quản trị viên mới có thể mở khóa các mẫu sau khi chúng đã được khóa.



Bất kỳ thay đổi trái phép nào đối với tệp sẽ làm mất hiệu lực của Ký hiệu Lần chạy.

6.9.7 Các mẫu đã khóa

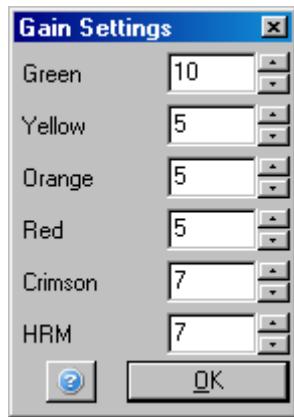
Người dùng hiện không thể tạo tệp mẫu chỉ đọc bằng phần mềm Rotor-Gene Q. Tuy nhiên, nếu muốn, có thể chỉ định yêu cầu rằng tất cả các lần chạy đều được thực hiện bằng một tệp mẫu cụ thể. Để đảm bảo quyền truy cập chỉ đọc vào mẫu này, mẫu phải được lưu trữ trên ổ đĩa mạng nơi người dùng không thể sửa đổi dữ liệu. Người dùng vẫn có thể chạy và sửa đổi chương trình của riêng họ, trong khi mẫu trên ổ đĩa mạng như ổ đĩa này được bảo vệ. Để theo dõi mẫu nào đã được sử dụng, phần mềm Rotor-Gene Q lưu trữ tên của tệp mẫu đã được chạy. Có thể truy cập thông tin này bằng cách nhấp vào nút **Settings** (Cài đặt), thao tác này sẽ cho phép hiển thị cửa sổ **Run Settings** (Cài đặt lần chạy). Thông tin mẫu được lưu trữ trong **Other Run Information** (Thông tin lần chạy khác).



6.10 Menu khuếch đại

Nhấp vào menu **Gain** (Khuếch đại) để xem **Gain Settings** (Cài đặt khuếch đại) cho lần chạy hiện tại. Thao tác này đặt độ khuếch đại của kênh được chỉ định trước khi chạy. Cài đặt khuếch đại được giữ lại từ lần chạy trước. Có thể sửa đổi cài đặt này nếu lần chạy chưa bắt đầu hoặc trong các chu kỳ ban đầu. Sử dụng các mũi tên lên/xuống bên cạnh mỗi trường văn bản để sửa đổi các trường. Sau đó nhấp vào **OK**.

Có thể thay đổi độ khuếch đại trong các chu kỳ ban đầu. Một đường màu đỏ sẽ được vẽ trong kênh thích hợp cho biết độ khuếch đại được thay đổi. Các chu kỳ trước khi thay đổi độ khuếch đại sẽ bị loại trừ khỏi phân tích.



6.11 Menu cửa sổ

Menu này cho phép các cửa sổ được sắp xếp theo chiều dọc hoặc chiều ngang, hoặc sắp xếp theo tầng. Có thể truy cập các tùy chọn khác bằng cách nhấp vào mũi tên ở bên phải của nút **Arrange** (Sắp xếp).

6.12 Chức năng trợ giúp

Khi sử dụng nút **Help** (Trợ giúp) hoặc menu Help (Trợ giúp) menu thả xuồng sau sẽ mở ra.

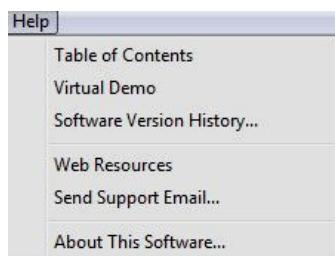


Table of Contents (Mục lục): Tùy chọn này truy cập chức năng Help (Trợ giúp).

Virtual Demo (Bản giới thiệu ảo): Tùy chọn này liên kết đến một trang web QIAGEN bằng phần trình diễn tương tác của phần mềm.

Software Version History... (Lịch sử phiên bản phần mềm...): Tùy chọn này cung cấp tổng quan ngắn gọn về các tính năng mới được thêm vào kể từ lần phát hành phần mềm được cài đặt trước đó.

Web Resources (Tài nguyên Web): Tùy chọn này sẽ mở trang web QIAGEN trong cửa sổ trình duyệt mới với thông tin mới nhất có giá trị về dụng cụ Rotor Gene Q MDx và thuốc thử tương ứng.

About This Software... (Giới thiệu về phần mềm này): Tùy chọn này cung cấp thông tin về máy được kết nối, số sê-ri của Rotor-Gene Q MDx và phiên bản phần mềm.

6.12.1 Gửi Email Hỗ trợ

Tùy chọn **Send Support Email** (Gửi Email Hỗ trợ) trong menu **Help** (Trợ giúp) cho phép bạn gửi email hỗ trợ tới QIAGEN bao gồm tất cả thông tin liên quan trong lần chạy. Tùy chọn **Save As** (Lưu dưới dạng) sẽ lưu tất cả thông tin vào một tệp mà bạn có thể sao chép vào đĩa hoặc qua mạng nếu bạn không có quyền truy cập vào email trên máy tính chạy Rotor-Gene Q MDx.

Nếu bạn sử dụng chức năng email hỗ trợ trên máy tính xách tay được cung cấp tùy chọn với Rotor-Gene Q MDx (phụ thuộc vào quốc gia) lần đầu tiên, bạn phải định cấu hình cài đặt email của mình.

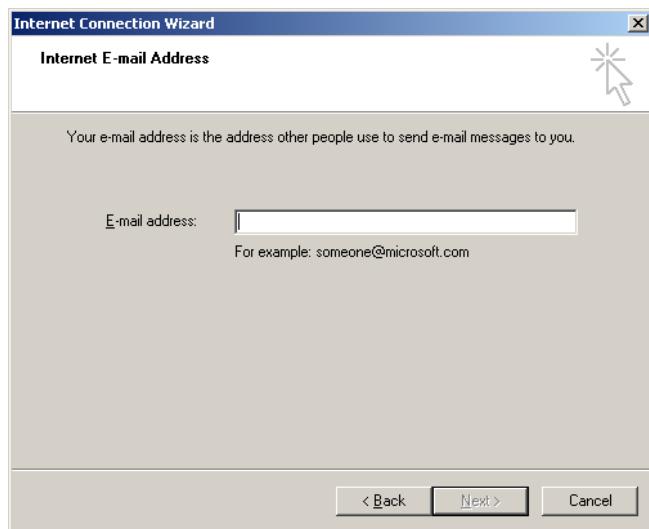
Lưu ý: Bạn có thể thực hiện các mục nhập của người quản lý CNTT của công ty bạn.

Định cấu hình cài đặt email

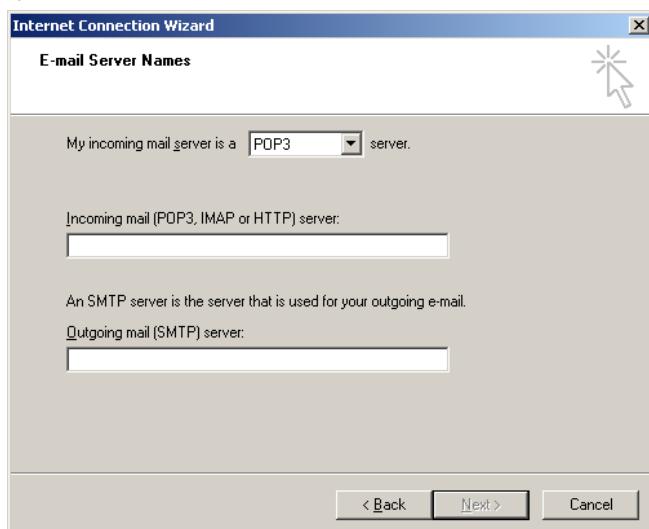
Nhấp vào tùy chọn **Send Support Email...** (Gửi Email Hỗ trợ...). Cửa sổ sau sẽ mở ra.



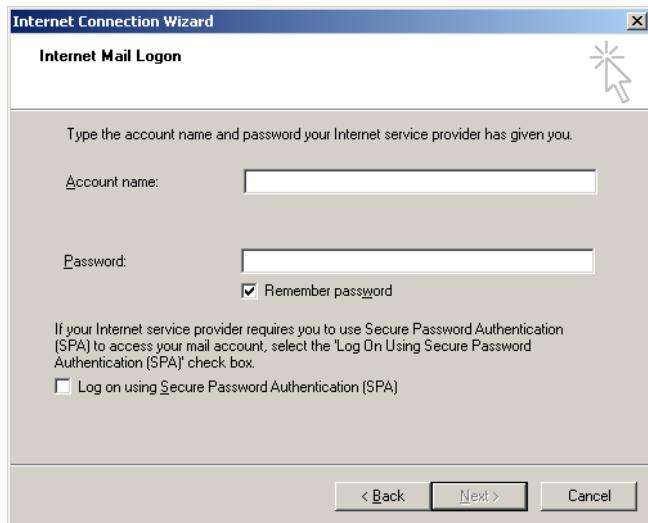
1. Nhập tên của bạn và nhấp vào **Next** (Tiếp theo). Cửa sổ **Internet E-mail Address** (Địa chỉ Email Internet) sẽ mở ra.



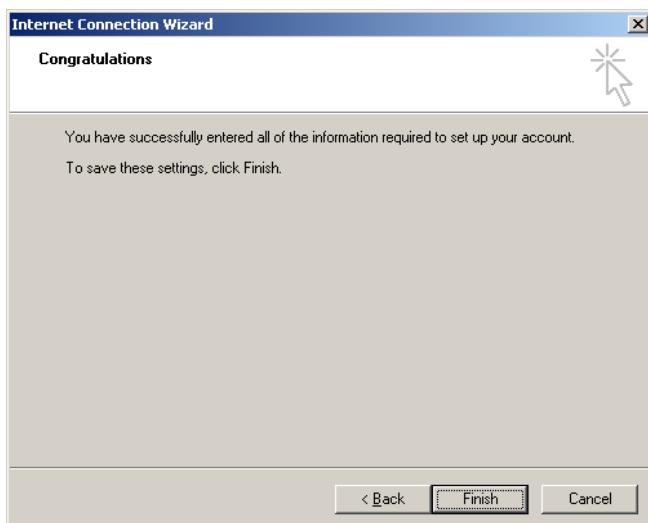
2. Nhập địa chỉ email của bạn và nhấn **Next** (Tiếp theo). Cửa sổ **E-mail Server Names** (Tên Máy chủ Email) sẽ mở ra.



3. Chọn loại máy chủ thư cho các thư đến và chỉ định tên máy chủ cho các email đến và đi. Sau đó nhấn **Next** (Tiếp theo). Cửa sổ **Internet Mail Logon** (Đăng nhập thư internet) sẽ mở ra.



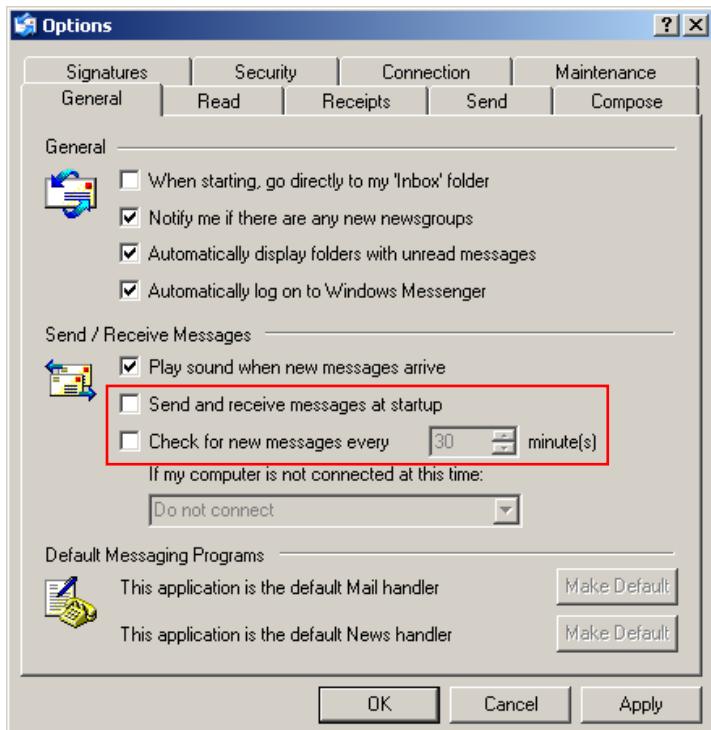
4. Nhập tên và mật khẩu tài khoản email của bạn, nếu máy chủ của bạn sử dụng xác thực mật khẩu an toàn. Sau đó nhấp vào **Next** (Tiếp theo). Cửa sổ **Congratulations** (Chúc mừng) sẽ mở ra.



5. Xác nhận với **Finish** (Hoàn tất) để hoàn tất thiết lập tài khoản email.

Thiết lập trong Outlook

1. Mở **Outlook Express** từ menu **Start** (Bắt đầu) (**Start** (Bắt đầu) > **All programs** (Tất cả chương trình) > **Outlook Express**).
2. Chọn **Tools** (Công cụ), sau đó chọn **Options** (Tùy chọn). Cửa sổ bên dưới xuất hiện.



Quan trọng: Để tránh truy xuất email trong các lần chạy PCR, tắt các mục nhập mặc định trong màn hình **Send/Receive Messages** (Gửi/nhận thông báo).

3. **Tắt Send and receive messages at startup** (Gửi và nhận thông báo khi khởi động).
4. **Tắt Check for new messages every 30 minutes** (Kiểm tra thông báo mới sau mỗi 30 phút).
5. Xác nhận thay đổi bằng **OK**.

7 Chức năng Bổ sung

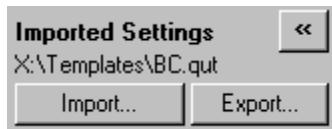
7.1 Mẫu phân tích

Một số phân tích yêu cầu người dùng xác định ngưỡng, cài đặt chuẩn hóa và cài đặt kiểu gen. Thường thì những cài đặt này được sử dụng lại thường xuyên trong nhiều thí nghiệm.

Các mẫu phân tích cho phép người dùng lưu và sử dụng lại các cài đặt này. Điều này làm giảm nỗ lực nhập lại cài đặt và giảm nguy cơ lỗi.

Các mẫu phân tích hỗ trợ Phân tích định lượng, Phân tích nóng chảy, Phân biệt allen, Phân tích biểu đồ phân tán và Phân tích Điểm cuối. Những phân tích này cho phép người dùng xuất một mẫu duy nhất cho phân tích (ví dụ: Phân tích định lượng cho phép xuất và nhập các tệp *.qut chứa cài đặt định lượng).

Sau khi một mẫu phân tích đã được nhập hoặc xuất, tên tệp của mẫu sẽ được hiển thị để tham khảo về sau.

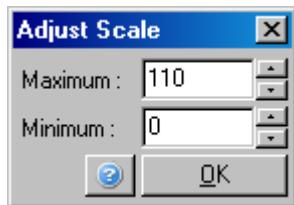


7.2 Mở lần chạy thứ hai

Trong khi thực hiện một lần chạy, có thể mở và phân tích các lần chạy đã được thực hiện trước đó. Một số chức năng, chẳng hạn như nút **New** (Mới) hoặc **Start Run** (Bắt đầu chạy) không được kích hoạt trong cửa sổ thứ hai. Có thể bắt đầu một lần chạy mới từ cửa sổ đầu tiên sau khi lần chạy đầu tiên kết thúc.

7.3 Tùy chọn tỷ lệ

Để truy cập vào **Adjust Scale** (Điều chỉnh tỷ lệ), nhấp vào **Adjust Scale...** (Điều chỉnh tỷ lệ...) ở cuối cửa sổ chính hoặc nhấp chuột phải vào biểu đồ và chọn **Adjust Scale...** (Điều chỉnh tỷ lệ...) trên menu xuất hiện. Có thể nhập tỷ lệ vào cửa sổ xuất hiện theo cách thủ công.



Để truy cập vào **Auto-Scale** (Tự động chia tỷ lệ), nhấp vào **Auto-Scale...** (Tự động chia tỷ lệ...) ở cuối cửa sổ chính hoặc nhấp chuột phải vào biểu đồ và chọn **Auto-Scale...** (Tự động chia tỷ lệ) trên menu xuất hiện. **Auto-Scale** (Tự động chia tỷ lệ) cố gắng điều chỉnh tỷ lệ với chỉ số tối đa và tối thiểu trong dữ liệu.

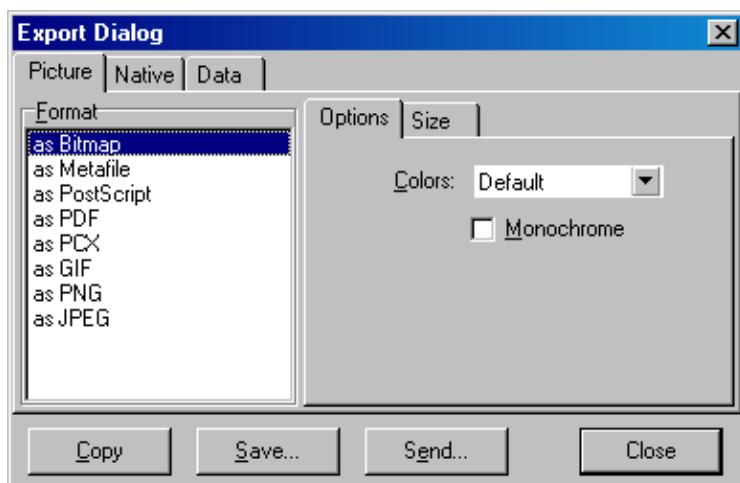
Để truy cập vào **Default Scale** (Tỷ lệ mặc định), nhấp vào **Default Scale...** (Tỷ lệ mặc định...) ở cuối cửa sổ chính hoặc nhấp chuột phải vào biểu đồ và chọn **Default Scale...** (Tỷ lệ mặc định...) trên menu xuất hiện. **Default Scale** (Tỷ lệ mặc định) đặt lại tỷ lệ để hiển thị từ 0 đến 100 đơn vị phát huỳnh quang.

7.4 Xuất biểu đồ

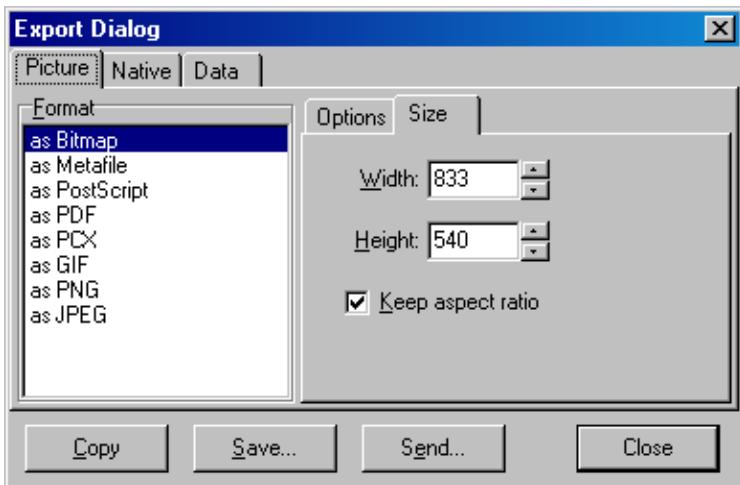
Xuất hình ảnh

Các bước sau đây mô tả cách lưu hình ảnh.

- Nhấp chuột phải vào hình ảnh và chọn **Export** (Xuất) từ menu xuất hiện.
- Cửa sổ **Export Dialog** (Hộp thoại xuất) xuất hiện. Chọn định dạng mong muốn từ danh sách **Assays** (Định dạng).



- Chọn tab **Size** (Kích thước) và chỉ định kích thước mong muốn.



4. Chọn hộp kiểm **Keep aspect ratio** (Giữ hệ số co) để giữ cho hình ảnh ở đúng tỷ lệ khi điều chỉnh kích thước của nó.
5. Nhấp vào **Save** (Lưu) và chọn tên tệp và vị trí cho tệp trong hộp thoại xuất hiện.

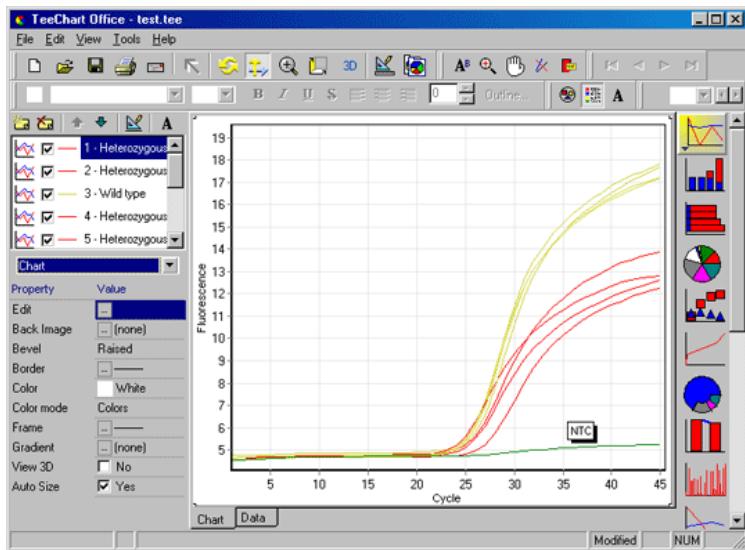
Nếu cần hình ảnh có độ phân giải cao hơn, chúng tôi khuyên bạn nên tăng kích thước của hình ảnh cho đến khi đáp ứng yêu cầu của bạn hoặc lưu biểu đồ dưới dạng tệp Meta (*.emf, *.wmf). Đây là định dạng dựa trên vectơ có thể được mở bằng phần mềm như Adobe® Illustrator®, cho phép người dùng tạo hình ảnh ở bất kỳ độ phân giải nào.

Xuất định dạng gốc

Biểu đồ trong phần mềm Rotor-Gene Q sử dụng thành phần TeeChart® của bên thứ ba do phần mềm Steema phát triển. Để lưu một biểu đồ ở định dạng gốc, chọn tab **Native** (Gốc) trong cửa sổ **Export Dialog** (Hộp thoại xuất) (xem ảnh chụp màn hình trước đó), rồi nhấp vào **Save** (Lưu). Định dạng gốc là định dạng tệp TeeChart tiêu chuẩn. Định dạng này cho phép người dùng sử dụng TeeChart Office từ phần mềm Steema. TeeChart Office có sẵn dưới dạng phần mềm miễn phí và được cài đặt như một phần của gói phần mềm Rotor-Gene Q. Để truy cập phần mềm, nhấp vào biểu tượng **TeeChart** trên màn hình nền.

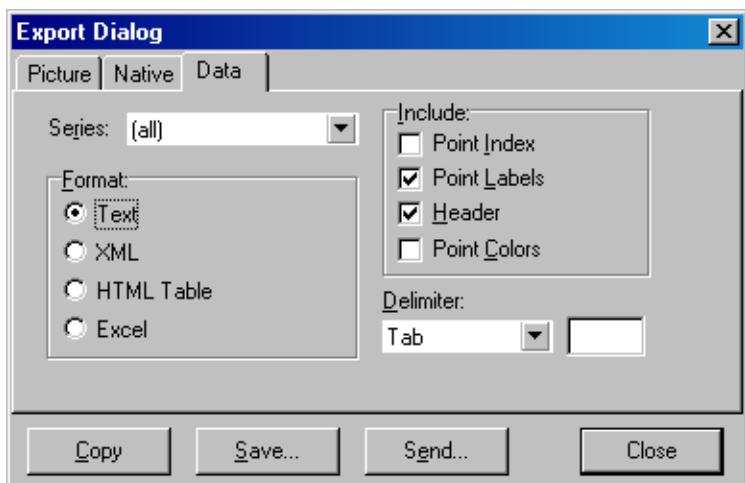


TeeChart Office cho phép thao tác với các biểu đồ đã xuất, bao gồm thay đổi màu sắc của đường cong, thêm chú thích, thay đổi phông chữ và điều chỉnh các điểm dữ liệu.



Xuất dữ liệu

Để xuất dữ liệu ở các định dạng khác nhau, chọn tab **Data** (Dữ liệu) trong cửa sổ **Export Dialog** (Hộp thoại xuất). Tệp được xuất chứa các điểm dữ liệu thô được sử dụng trong biểu đồ.



Cũng có thể thực hiện xuất dữ liệu thô và dữ liệu phân tích bằng cách chọn **Save As** (Lưu dưới dạng) trong menu **File** (Tệp) (xem Phần 6.5).

7.5 Biểu tượng chia văn/cờ lê

Biểu tượng chia văn/cờ lê  xuất hiện ở dưới cùng bên trái của cửa sổ chính. Nhấp vào biểu tượng chia văn/cờ lê sẽ bật một số tùy chọn. Cũng có thể truy cập các tùy chọn này bằng cách nhấp chuột phải vào biểu đồ.



Adjust Scale (Điều chỉnh tỷ lệ),

Autoscale (Tự động chia tỷ lệ),

Revert to Default Scale (Trở lại

tỷ lệ mặc định):

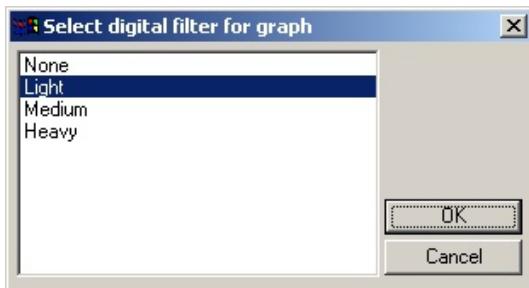
Export... (Xuất): Tùy chọn này lưu biểu đồ ở nhiều định dạng khác nhau (xem Phần 6.4).

Copy Chart to Clipboard (Sao chép biểu đồ vào bộ nhớ tạm): Tùy chọn này sẽ sao chép hình ảnh biểu đồ vào bộ nhớ tạm.

Edit Chart in TeeChart Office... (Chỉnh sửa biểu đồ trong TeeChart Office...): Tùy chọn này sẽ mở biểu đồ trực tiếp trong TeeChart Office để chỉnh sửa (xem Phần 6.4).

Print (In): Tùy chọn này sẽ in ra biểu đồ.

Digital Filter... (Bộ lọc kỹ thuật số): Điều này sửa đổi bộ lọc kỹ thuật số hiện được chọn trên biểu đồ. Bộ lọc kỹ thuật số làm mịn dữ liệu bằng cách sử dụng cửa sổ trượt các điểm.



Show Pinpointer (Hiển thị công cụ xác định): Tùy chọn này sẽ mở ra một cửa sổ hiển thị tọa độ chính xác của vị trí con trỏ chuột.

Grouping (Phân nhóm): Tùy chọn này nhóm trực quan các mẫu có tên giống hệt nhau. Tùy chọn này có thể hữu ích khi chạy toàn bộ rôto. Chọn tùy chọn này không ảnh hưởng đến các giá trị được tính toán.

7.6 Các tùy chọn vùng đã chọn

Có thể chọn một vùng của biểu đồ bằng cách nhấp và giữ nút bên trái chuột và kéo con trỏ chuột. Các tùy chọn sau sẽ xuất hiện.



Select Only These Samples
(Chỉ chọn những mẫu này): Các mẫu bên ngoài vùng đã chọn sẽ được bỏ chọn.

Select Only These Samples
(Chỉ chọn những mẫu này): Các mẫu bên ngoài vùng đã chọn sẽ được bỏ chọn.

Zoom: Các zoom này sẽ phóng to vùng đã chọn của biểu đồ. Nhấp vào nút **Default Scale** (Tỷ lệ mặc định) để thu nhỏ.

8 Bảo trì

Dễ dàng duy trì hiệu suất làm việc của Rotor-Gene Q MDx. Hiệu suất quang học được duy trì bằng cách đảm bảo rằng các thấu kính, ở cả nguồn phát xạ và nguồn phát hiện, đều sạch. Đạt được điều này bằng cách lau nhẹ đầu bôi làm bằng bông tăm ethanol hoặc isopropanol*, lên tròng kính.

Lưu ý: Làm sạch ống kính ít nhất mỗi tháng một lần, tùy thuộc vào cách sử dụng. Làm sạch buồng rôto cùng một lúc.

Đảm bảo khu vực bàn làm việc sạch sẽ, không có bụi và giấy. Đầu vào không khí của Rotor-Gene Q MDx nằm ở dưới cùng và nguyên liệu lỏng lẻo như giấy hoặc bụi có thể ảnh hưởng đến hiệu suất.



Để tránh bụi tích tụ, đóng nắp Rotor-Gene Q MDx khi không sử dụng dụng cụ.

Lưu ý: Chỉ sử dụng các bộ phận do QIAGEN cung cấp.

8.1 Làm sạch bề mặt Rotor-Gene Q MDx

Có thể làm sạch các bề mặt bên ngoài của Rotor-Gene Q bằng cách sử dụng các hóa chất thông dụng trong phòng thí nghiệm.

* Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (Safety Data Sheet, SDS) phù hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.

8.2 Khử nhiễm bề mặt Rotor-Gene Q MDx

Nếu buồng rôto bị nhiễm bẩn, có thể làm sạch bằng cách lau bề mặt bằng vải không có xơ vải được làm ẩm (nhưng không nhổ giọt) với dung dịch tẩy 0,1% (v/v).* Lau buồng bằng vải không có xơ vải, làm ẩm bằng nước cấp PCR để loại bỏ vết thuốc tẩy.

8.3 Sửa chữa Rotor-Gene Q

Để sửa chữa hoặc bảo dưỡng Rotor-Gene Q, liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN tại <https://www.qiagen.com/service-and-support/technical-support/technical-support-form/>.

* Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (Safety Data Sheet, SDS) phù hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.

9 Xác minh Nhiệt độ Quang học

Xác minh nhiệt độ quang học (Optical Temperature Verification, OTV) là một phương pháp xác minh nhiệt độ trong ống trong Rotor-Gene Q MDx. Xác nhận nhiệt độ trong ống có thể là một quy trình quan trọng trong các phòng thí nghiệm được chứng nhận. OTV được thực hiện bằng Rotor-Disc OTV Kit (xem Phần 16). Sau đây là đoạn giới thiệu ngắn gọn về nguyên tắc OTV. Hiệu suất của quy trình OTV được giải thích trong phần mềm Rotor-Gene Q MDx. Để có mô tả chi tiết hơn về quy trình OTV, bao gồm hướng dẫn xử lý sự cố, vui lòng tham khảo *Cẩm nang Rotor-Disc OTV*.

9.1 Nguyên tắc OTV

OTV sử dụng các đặc tính quang học của 3 tinh thể lỏng nhiệt sắc (Thermochromatic Liquid Crystals, TLC)* làm tham chiếu nhiệt độ tuyệt đối. Khi được gia nhiệt, TLC chuyển từ mờ đục sang trong suốt ở nhiệt độ rất chính xác (50, 75 và 90 °C). TLC không tự phát huỳnh quang. Do đó, cần phải che nguồn kích thích bằng bộ chèn huỳnh quang để hệ thống quang Rotor-Gene Q MDx có thể phát hiện ra các điểm chuyển tiếp TLC. Các TLC thấp hơn nhiệt độ chuyển đổi của chúng sẽ mờ đục và phản xạ ánh sáng. Một số ánh sáng phản xạ phân tán về phía máy dò, làm tăng phát huỳnh quang. Khi nhiệt độ trong ống đạt đến điểm chuyển tiếp TLC, TLC trở nên trong suốt và ánh sáng đi qua mẫu chứ không bị phản xạ về phía máy dò, dẫn đến giảm phát huỳnh quang. Sự thay đổi phát huỳnh quang được sử dụng để xác định nhiệt độ chuyển tiếp chính xác của mỗi TLC. Nhiệt độ chuyển tiếp được so sánh với nhiệt độ được báo cáo bởi tệp hiệu chuẩn của nhà máy cho OTV Rotor-Disc để xác minh xem Rotor-Gene Q MDx có nằm trong thông số nhiệt độ hay không.

9.2 Các thành phần của Rotor-Disc OTV Kit

Các thành phần sau được yêu cầu để chạy OTV:

- Một Rotor-Disc OTV Kit, bao gồm:
 - Rotor-Disc 72 OTV Rotor kín (chứa TLC)
 - Bộ chèn tấm tán xạ huỳnh quang (dụng cụ Rotor-Gene 3000 hoặc dụng cụ Rotor-Gene Q/6000)
 - Phương tiện Di động có chứa các tệp sau: Số sê-ri OTV Rotor và tệp ngày hết hạn (*.txt); tệp mẫu xét nghiệm OTV (*.ret); bảng chỉ dẫn về sản phẩm (*.pdf); tệp hiệu chuẩn của nhà máy (*.rex)

* Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (Safety Data Sheet, SDS) phù hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.

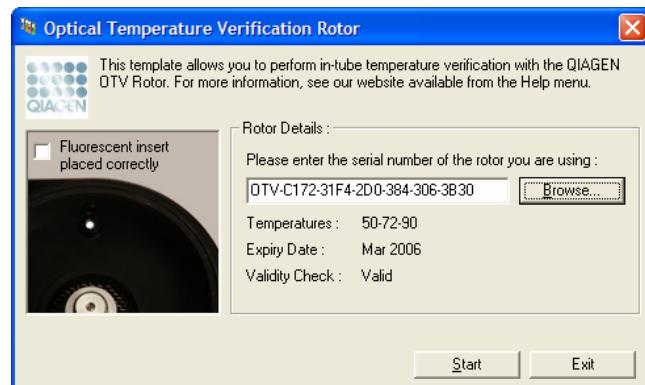
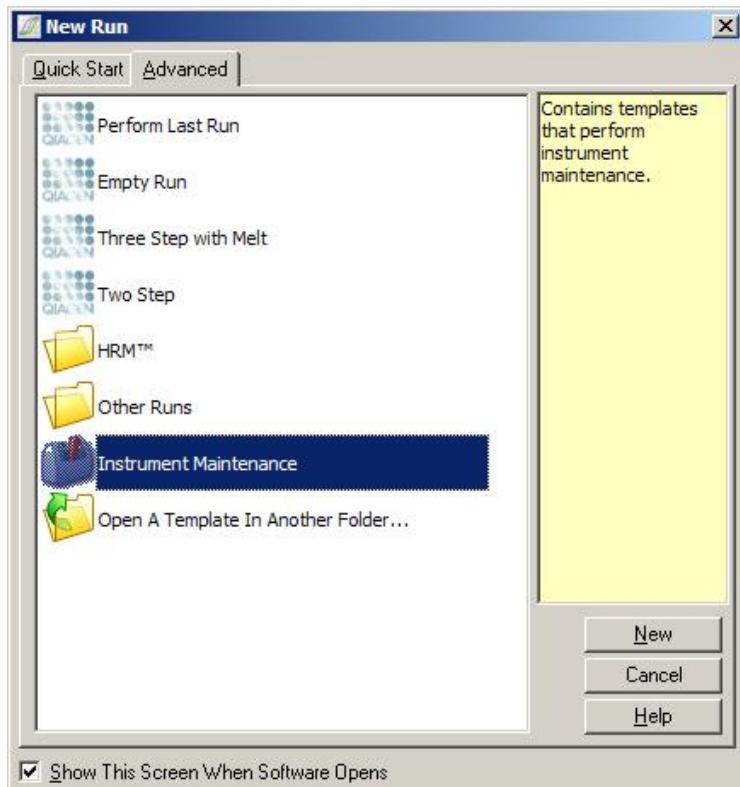
- Bảng chỉ dẫn về Sản phẩm
- Phiên bản Phần mềm Rotor-Gene Series 1.7 trở lên, có chứa trình hướng dẫn Rotor OTV dễ sử dụng
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

9.3 Chạy OTV

1. Đặt bộ chèn huỳnh quang lên thấu kính phát xạ ở dưới cùng của buồng Rotor-Gene Q MDx.
2. Đặt OTV Rotor-Disc vào Rotor-Disc 72 Rotor. Bảo mật bằng Rotor-Disc 72 Locking Ring. Đặt cụm này vào Rotor-Gene Q MDx và nhấp vào vị trí. Đóng nắp Rotor-Gene Q MDx.



3. Truy cập trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao) bằng cách chọn tab **Advanced** (Nâng cao) trong cửa sổ **New Run** (Lần chạy Mới). Trong trình hướng dẫn Advanced (Nâng cao) **Instrument maintenance** (Bảo trì dụng cụ), sau đó nhấp vào **OTV**. Trình hướng dẫn nhắc nhập số sê-ri OTV, số này được tìm thấy trên vòng OTV. Sau đó nhấp vào **Start** (Bắt đầu).



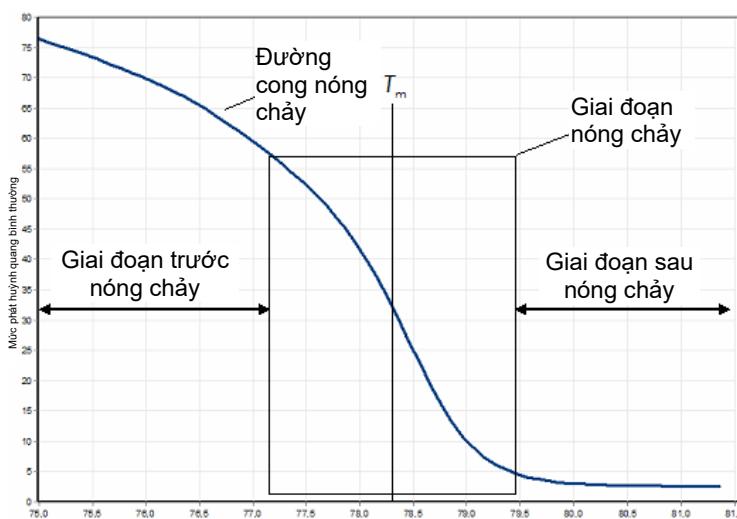
4. Sau đó, phần mềm sẽ nhắc nhập tên tệp để chạy. Sau đó, lần chạy bắt đầu.
5. Lần chạy thực hiện một loạt nóng chảy xác định các đặc tính nhiệt của Rotor-Gene Q MDx.



6. Khi lần chạy kết thúc, phần mềm cho biết Rotor-Gene Q MDx có nằm trong thông số kỹ thuật hay không.
7. Nếu cần điều chỉnh, người dùng nên nhấp vào **Apply Adjustment** (Áp dụng điều chỉnh). Thao tác này sẽ nhắc người dùng thực hiện chạy xác minh. Sau khi chạy xác minh hoàn tất, không cần điều chỉnh. Nếu cần điều chỉnh thêm, hãy liên hệ với nhà phân phối của bạn.
8. Khi Rotor-Gene Q MDx nằm trong thông số kỹ thuật, có thể xem xét và in báo cáo về lần chạy.

10 Phân tích Nóng chảy Phân giải Cao

Phân tích nóng chảy phân giải cao (High Resolution Melt, HRM) là một kỹ thuật mới dựa trên phân tích sự nóng chảy DNA. HRM đặc trưng cho các mẫu DNA theo hành vi phân ly của chúng khi chúng chuyển từ DNA sợi kép (dsDNA) sang DNA sợi đơn (ssDNA) với nhiệt độ tăng dần (xem Hình bên dưới). Dụng cụ HRM thu thập các tín hiệu huỳnh quang với độ chính xác quang học và nhiệt cực cao, tạo ra nhiều khả năng ứng dụng.



A typical HRM plot (Biểu đồ HRM điển hình). Đường cong nóng chảy vẽ biểu đồ chuyển đổi từ mức phát huỳnh quang cao của giai đoạn trước nóng chảy ban đầu qua mức phát huỳnh quang giảm của giai đoạn nóng chảy, đến mức phát huỳnh quang cơ bản ở giai đoạn sau nóng chảy. Mức phát huỳnh quang giảm khi chất nhuộm xen kẽ DNA được giải phóng khỏi dsDNA khi nó nóng chảy thành các sợi đơn. Điểm giữa của giai đoạn nóng chảy, tại đó tốc độ thay đổi phát huỳnh quang lớn nhất, xác định nhiệt độ nóng chảy (T_m) của DNA được phân tích.

Trước khi thực hiện phân tích HRM, chuỗi đích phải được khuếch đại lên số lần sao cao. Điều này thường được thực hiện bằng PCR với sự hiện diện của chất nhuộm huỳnh quang xen kẽ dsDNA. Chất nhuộm không tương tác với ssDNA nhưng tích cực xen kẽ với dsDNA và phát huỳnh quang sáng khi xen kẽ. Có thể sử dụng sự thay đổi phát huỳnh quang để đo nồng độ DNA gia tăng trong quá trình PCR và đo trực tiếp DNA nóng chảy do nhiệt gây ra bởi HRM. Trong HRM, ban đầu phát huỳnh quang cao vì mẫu bắt đầu là dsDNA. Phát huỳnh quang giảm khi nhiệt độ tăng lên và DNA phân ly thành các sợi đơn. Hành vi nóng chảy quan sát được là đặc trưng của một mẫu DNA cụ thể.

Sử dụng HRM, Rotor-Gene Q MDx có thể mô tả các mẫu dựa trên độ dài chuỗi, hàm lượng GC và tính bổ sung của chuỗi DNA. Có thể sử dụng HRM trong các ứng dụng xác định kiểu gen, chẳng hạn như phân tích thêm đoạn/mất đoạn hoặc đa hình nucleotide đơn (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), hoặc dễ sàng lọc các đột biến di truyền chưa biết. Cũng có thể sử dụng

HRM trong các ứng dụng di truyền biểu sinh để phát hiện và phân tích tình trạng methyl hóa DNA. Cũng có thể sử dụng HRM để phát hiện về mặt định lượng một tỷ lệ nhỏ DNA biến thể trong nền của chuỗi kiểu tự nhiên ở độ nhạy gần 5%. Ví dụ, có thể sử dụng HRM để nghiên cứu các đột biến mắc phải soma hoặc những thay đổi trong trạng thái methyl hóa của các đảo CpG.

HRM trên Rotor-Gene Q MDx hỗ trợ nhiều ứng dụng, bao gồm:

- Xác định các gen khuynh hướng dự phòng
- Nghiên cứu liên kết (so sánh các trường hợp và đối chứng, kiểu gen với kiểu hình)
- Xác định mức độ phổ biến của alen trong một quần thể hoặc phân nhóm
- Kiểm tra và xác nhận SNP
- Kiểm tra xem có mất dị hợp tử không
- Dấu vân tay DNA
- Đặc điểm của khối haplotype
- Phân tích methyl hóa DNA
- Ánh xạ DNA
- Xác định loài
- Phát hiện đột biến
- Xác định tỉ lệ các đột biến soma mắc phải
- Định kiểu HLA

HRM dễ dàng hơn và tiết kiệm chi phí hơn so với các xét nghiệm xác định kiểu gen dựa trên đầu dò và, không giống như các phương pháp thông thường, nó là một hệ thống ống kín ngăn ngừa nhiễm bẩn các sản phẩm PCR. Kết quả có thể so sánh với các phương pháp thông thường như SSCP, DHPLC, RFLP và giải trình tự DNA.

10.1 Dụng cụ đo đạc

Rotor-Gene Q MDx cung cấp các khả năng quang nhiệt và thời gian thực cần thiết cho HRM sau đây.

- Chiếu sáng cường độ cao
- Phát hiện quang học có độ nhạy cao
- Thu nhận dữ liệu nhanh chóng
- Nhiệt độ mẫu được kiểm soát tốt
- Biến thiên nhiệt và quang học từ mẫu đến mẫu tối thiểu

10.2 Hóa học

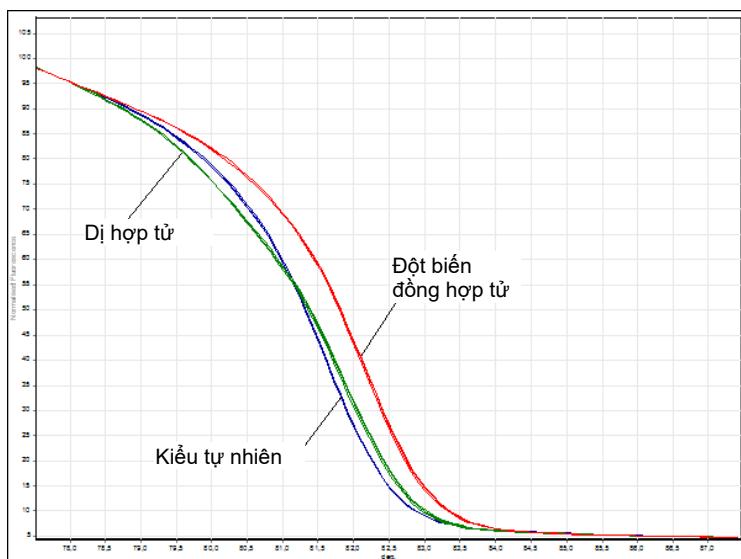
QIAGEN cung cấp Type-it® HRM PCR Kit để phân tích SNP và các đột biến bằng HRM và EpiTect® HRM PCR Kit để phân tích methyl hóa. Cả hai bộ dụng cụ đều chứa chất nhuộm huỳnh quang xen kẽ thế hệ thứ ba EvaGreen. Các bộ dụng cụ kết hợp chất đệm HRM được tối ưu hóa và HotStarTaq® Plus DNA Polymerase để tránh các sản phẩm khuếch đại không đặc hiệu và cung cấp kết quả đáng tin cậy.

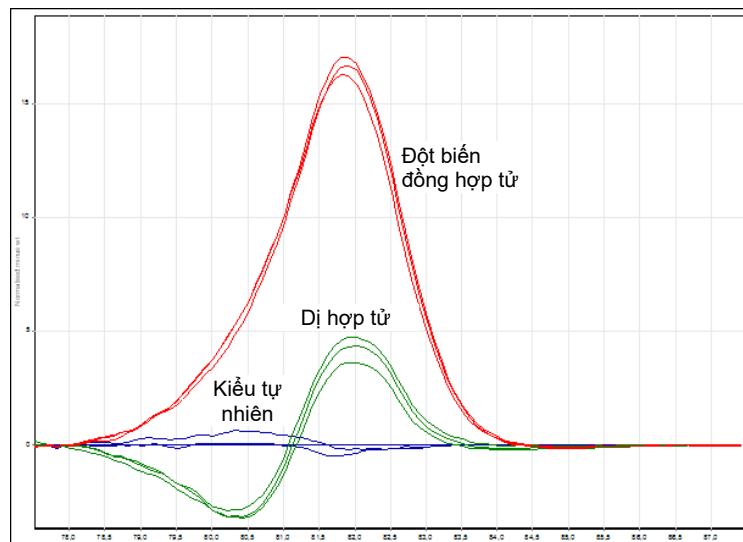
Lưu ý: Tất cả các bộ dụng cụ và thuốc thử HRM của QIAGEN chỉ được chỉ định sử dụng với các dụng cụ Rotor-Gene Q cho các ứng dụng được mô tả trong cảm nang Bộ dụng cụ QIAGEN Kit tương ứng.

10.3 Ví dụ về xác định kiểu gen SNP

Trong ví dụ minh họa, Type-it HRM PCR Kit được sử dụng trong phân tích HRM để phân biệt giữa kiểu tự nhiên đồng hợp tử, dạng đột biến đồng hợp tử và dạng dị hợp tử của SNP rs60031276 ở người. Để biết chi tiết kỹ thuật, tham khảo *Cảm nang Type-it HRM PCR*.

A



B**C**

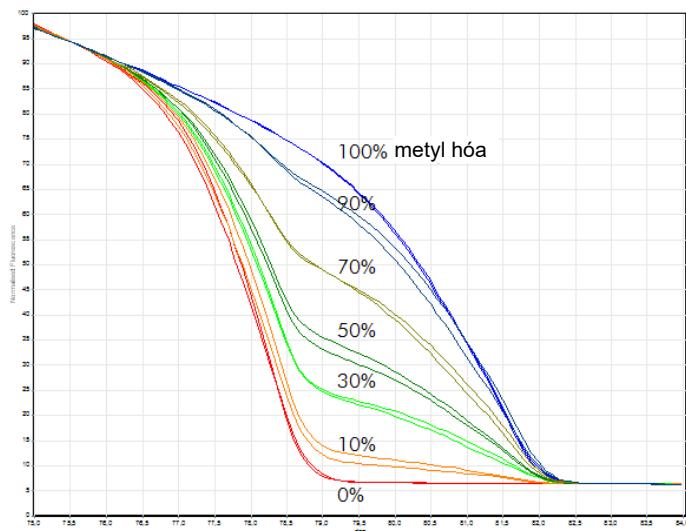
HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22	AA	Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23	unknown		homo AA	99,49
24	unknown		homo AA	99,76
28	AG	Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29	unknown		hetero AG	99,49
30	unknown		hetero AG	98,47
34	GG	Human SNP rs60031276	homo GG	100,00
35	unknown		homo GG	98,80
36	unknown		homo GG	99,53

Xác định kiểu gen SNP bằng HRM. SNP rs60031276 của người (thay A thành G) trong gen PPP1R14B (protein phosphatase 1, tiểu đơn vị điều hòa (chất ức chế) 14B) được phân tích trên Rotor-Gene Q bằng cách sử dụng 10 ng DNA bộ gen của các kiểu gen khác nhau và Type-it HRM Kit. Kiểu tự nhiên đồng hợp tử (AA), đột biến đồng hợp tử (GG) và mẫu dị hợp tử (AG) được hiển thị trên **A** là đường cong nóng chảy chuẩn hóa tiêu chuẩn và **B** là biểu đồ chênh lệch được chuẩn hóa đối với mẫu kiểu tự nhiên. **C** Phần mềm Rotor-Gene Q đã chỉ định kiểu gen cho các mẫu chưa biết.

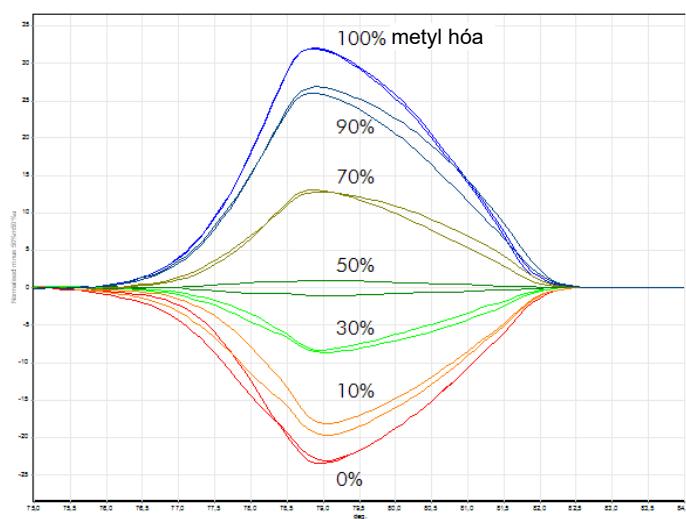
10.4 Ví dụ về phân tích methyl hóa

Trong ví dụ minh họa, EpiTect HRM PCR Kit được sử dụng trong phân tích HRM để phân biệt các tỷ lệ khác nhau của DNA được methyl hóa và chưa được methyl hóa. Để biết chi tiết kỹ thuật, tham khảo *Cẩm nang EpiTect HRM PCR*.

A



B



Phân tích định lượng methyl hóa bằng HRM. Các tỷ lệ khác nhau của DNA-APC được methyl hóa và chưa được methyl hóa (bệnh đái u tuyến polyposis coli) được phân tích và phân biệt bằng phân tích methyl hóa HRM trên Rotor-Gene Q sử dụng EpiTect HRM Kit. **A** đường cong nóng chảy chuẩn hóa tiêu chuẩn và **B** đồ thị chênh lệch được chuẩn hóa cho mẫu được methyl hóa 50%.

10.5 Hướng dẫn phân tích HRM thành công

Sự thành công của phân tích HRM phụ thuộc phần lớn vào trình tự cụ thể đang được nghiên cứu. Các mô típ trình tự nhất định, chẳng hạn như vòng kẹp tóc hoặc các cấu trúc phụ khác, các vùng cục bộ có hàm lượng GC cao hoặc thấp bất thường hoặc trình tự lặp lại đều có thể ảnh hưởng đến kết quả. Ngoài ra, việc sử dụng các bộ công cụ tiêu chuẩn hóa và các giao thức được tối ưu hóa từ QIAGEN có thể vượt qua nhiều thách thức tiềm ẩn đã được liệt kê. Dưới đây là chi tiết một số hướng dẫn đơn giản giúp đảm bảo thành công.

Phân tích các đoạn DNA nhỏ

Phân tích các đoạn không lớn hơn khoảng 250 bp. Các sản phẩm lớn hơn có thể được phân tích thành công nhưng thường cung cấp độ phân giải thấp hơn. Điều này là do, ví dụ, một biến thể bazơ đơn lẻ có ảnh hưởng lớn hơn đến hành vi nóng chảy của sản phẩm khuếch đại 100 bp so với sản phẩm khuếch đại 500 bp.

Đảm bảo rằng PCR chỉ chứa sản phẩm cụ thể

Các mẫu bị nhiễm các thành phần lạ sau PCR như chất làm mờ mồi hoặc các sản phẩm không đặc hiệu có thể làm cho kết quả HRM khó diễn giải. Các bộ dụng cụ phân tích HRM của QIAGEN đảm bảo tính đặc hiệu tối đa mà không cần tối ưu hóa.

Sử dụng đủ mẫu tiền khuếch đại

Phân tích dữ liệu real-time PCR có thể rất hữu ích khi xử lý sự cố phân tích HRM. Các biểu đồ khuếch đại phải có C_t (chu kỳ ngưỡng) nhỏ hơn hoặc bằng 30 chu kỳ. Các sản phẩm khuếch đại muộn hơn sản phẩm này (do lượng mẫu ban đầu thấp hoặc do sự phân hủy mẫu) thường tạo ra các kết quả HRM biến đổi do các thành phần lạ PCR.

Chuẩn hóa nồng độ mẫu

Lượng mẫu thêm vào phản ứng phải nhất quán. Chuẩn hóa các nồng độ ban đầu để tất cả các biểu đồ khuếch đại nằm trong khoảng 3 giá trị C_t của nhau. Điều này đảm bảo nồng độ đầu vào nằm trong phạm vi gấp 10 lần.

Kiểm tra các biểu đồ khuếch đại quang sai

Trước khi chạy HRM, hãy kiểm tra dữ liệu biểu đồ khuếch đại cẩn thận để tìm hình dạng biểu đồ khuếch đại bất thường. Các biểu đồ có pha log – tuyến tính không dốc, có răng cưa hoặc đạt mức tín hiệu thấp so với các phản ứng khác, có thể cho thấy khả năng khuếch đại kém hoặc tín hiệu huỳnh quang quá thấp (ví dụ: điều này có thể xảy ra nếu nồng độ mồi quá thấp). Phản ứng kém có thể do chất ức chế phản ứng hoặc thiết lập phản ứng không chính xác. Dữ liệu HRM từ các mẫu như vậy có thể không phải là cuối cùng được hoặc có độ phân giải thấp. Để tránh kết quả không đáng tin cậy, chúng tôi khuyên bạn nên sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN để chuẩn bị mẫu và phân tích HRM.

Đảm bảo nồng độ mẫu sau khuếch đại tương tự nhau

Nồng độ của một đoạn DNA ảnh hưởng đến nhiệt độ nóng chảy của nó (T_m). Vì lý do này, các nồng độ DNA mẫu phải được đảm bảo càng giống nhau càng tốt. Khi phân tích các sản phẩm PCR, hãy đảm bảo rằng mọi phản ứng đã được khuếch đại đến giai đoạn trạng thái bình ổn. Ở trạng thái bình ổn, tất cả các phản ứng sẽ được khuếch đại đến một mức độ tương tự bất kể lượng ban đầu của chúng là bao nhiêu. Tuy nhiên, lưu ý rằng các phản ứng kém có thể không đạt đến trạng thái bình ổn với cùng một lượng khuếch đại, ví dụ, do thiết lập xét nghiệm không nhất quán (ví dụ, nồng độ mồi quá thấp).

Đảm bảo tính đồng nhất từ mẫu đến mẫu

Tất cả các mẫu phải có thể tích bằng nhau và phải chứa cùng nồng độ chất nhuộm. Hành vi nóng chảy của DNA bị ảnh hưởng bởi các muối trong hỗn hợp phản ứng, do đó, điều quan trọng là nồng độ của chất đệm, Mg và các muối khác trong tất cả các mẫu càng đồng đều càng tốt. Tương tự, chỉ sử dụng các ống phản ứng giống hệt nhau của cùng một nhà sản xuất để tránh các biến đổi do độ dày của nhựa và đặc tính tự phát huỳnh quang.

Cho phép thu thập đủ dữ liệu cho các giai đoạn trước nóng chảy và sau nóng chảy

Ghi lại các điểm dữ liệu HRM trong phạm vi xấp xỉ 10°C , tập trung xung quanh T_m quan sát được (xem hình trên trang 10). Cách này cung cấp đầy đủ các điểm dữ liệu cơ sở để chuẩn hóa đường cong hiệu quả và sẽ dẫn đến việc lặp lại nhiều lần hơn và giải thích dữ liệu dễ dàng hơn.

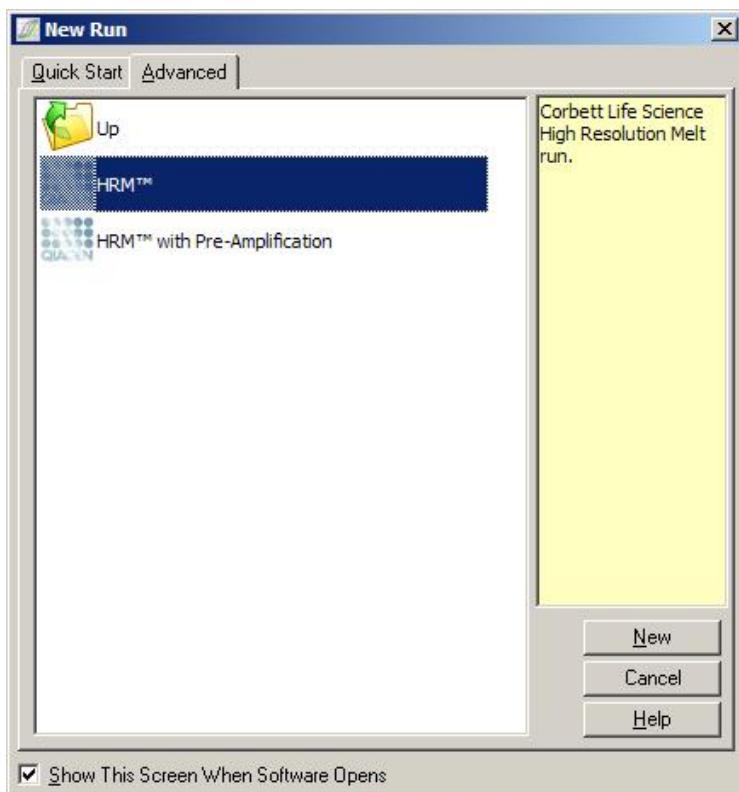
10.6 Chuẩn bị mẫu

Cần tránh làm giảm chất lượng mẫu trong quá trình lọc và bảo quản. Tránh dùng quá nhiều chất ức chế, chẳng hạn như từ quá trình chuyển sang ethanol. Để cải thiện kết quả HRM, chúng tôi khuyên bạn nên đảm bảo lượng mẫu được sử dụng nhất quán giữa các mẫu. Nên phân tích quang phổ để xác định nồng độ và độ tinh của DNA. Chúng tôi đề xuất các bộ dụng cụ QIAGEN cho chuẩn bị mẫu.

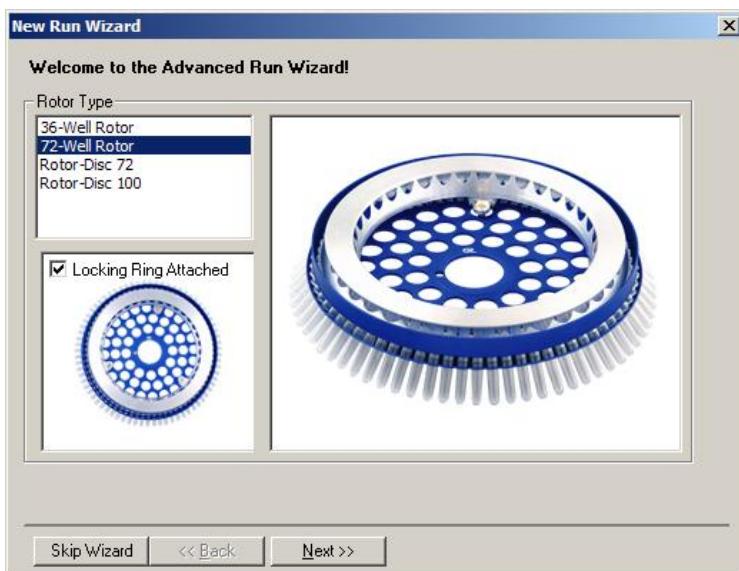
Lưu ý: Ở bước sóng 260 nm, một đơn vị độ hấp thụ bằng 50 µg/ml DNA. DNA tinh khiết sẽ cung cấp tỷ lệ từ 260 nm đến 280 nm là 1,8.

10.7 Thiết lập phần mềm

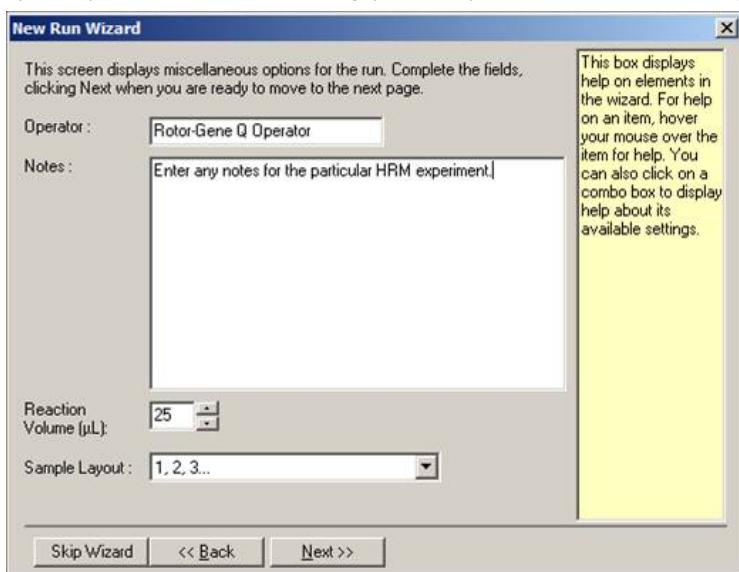
1. Mở một tệp mới chạy bằng cách chọn **New...** (Mới...) từ menu **File** (Tệp). Trong trình hướng dẫn Nâng cao, chọn **HRM**.



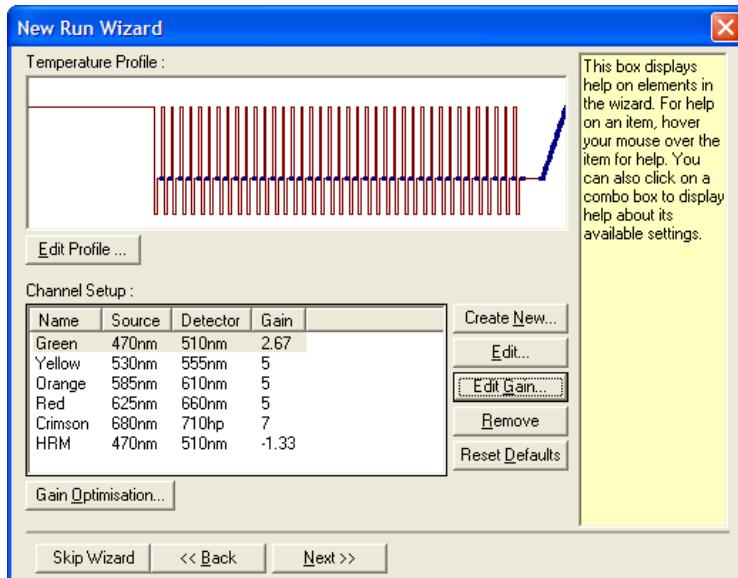
2. Đặt loại rôto (trong ví dụ này, 72-Well Rotor được sử dụng). Đảm bảo rằng vòng khóa được đặt đúng vị trí và hộp kiểm **Locking Ring Attached** (Đã gắn vòng khóa) được chọn trước khi thực hiện bước tiếp theo.



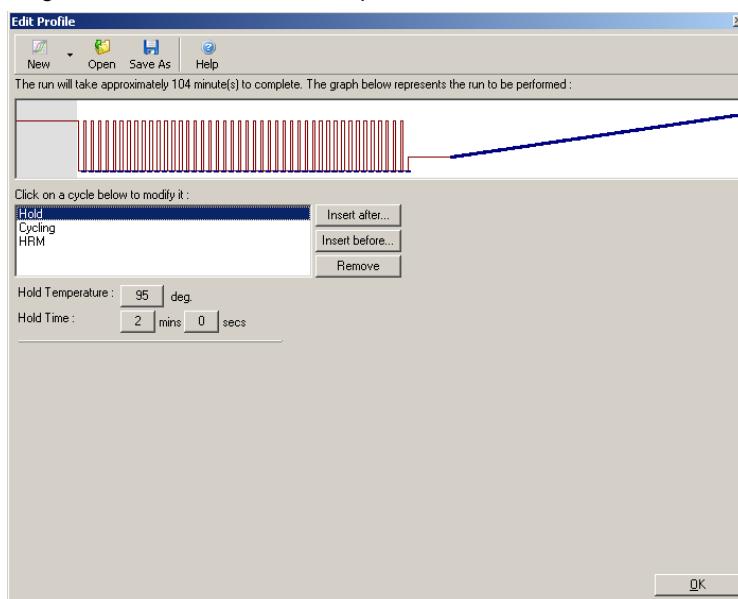
3. Đặt chi tiết lần chạy. Nhập tên người vận hành (tùy chọn) và thêm bất kỳ ghi chú nào về thí nghiệm (tùy chọn). Chọn thể tích phản ứng (bắt buộc) và cách bố trí mẫu mong muốn.



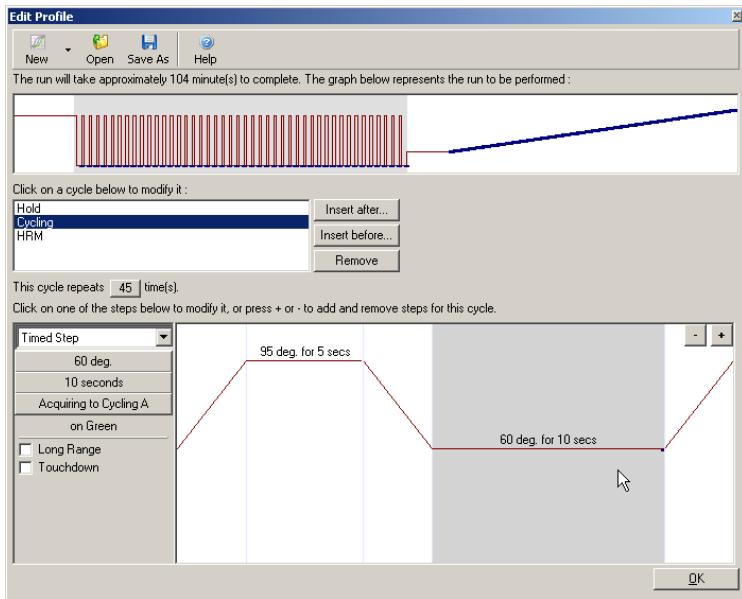
4. Nhấp vào nút **Edit Profile...** (Chỉnh sửa Chương trình...) để sửa đổi thời gian và nhiệt độ của phản ứng.



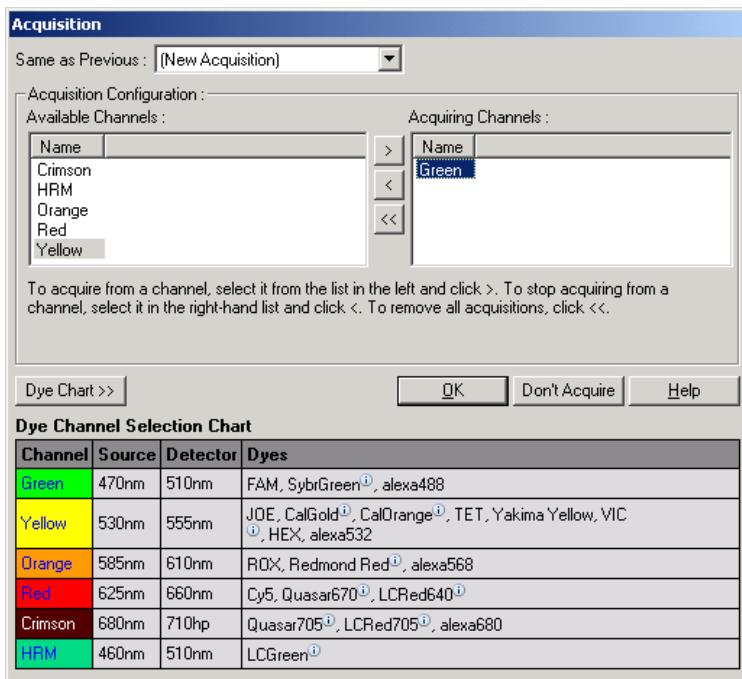
5. Đặt thời gian lưu giữ ban đầu thích hợp. Thời gian này phụ thuộc vào loại DNA polymerase được sử dụng. Type-it HRM PCR Kit và EpiTect HRM PCR Kit yêu cầu thời gian kích hoạt 5 phút. Thời gian kích hoạt mặc định là 10 phút.



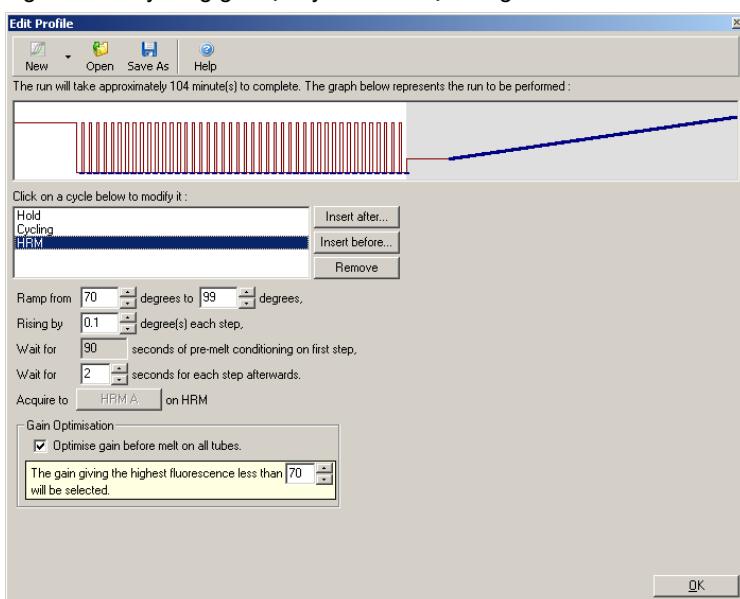
6. Điều chỉnh chu kỳ cho phù hợp với sản phẩm khuếch đại.



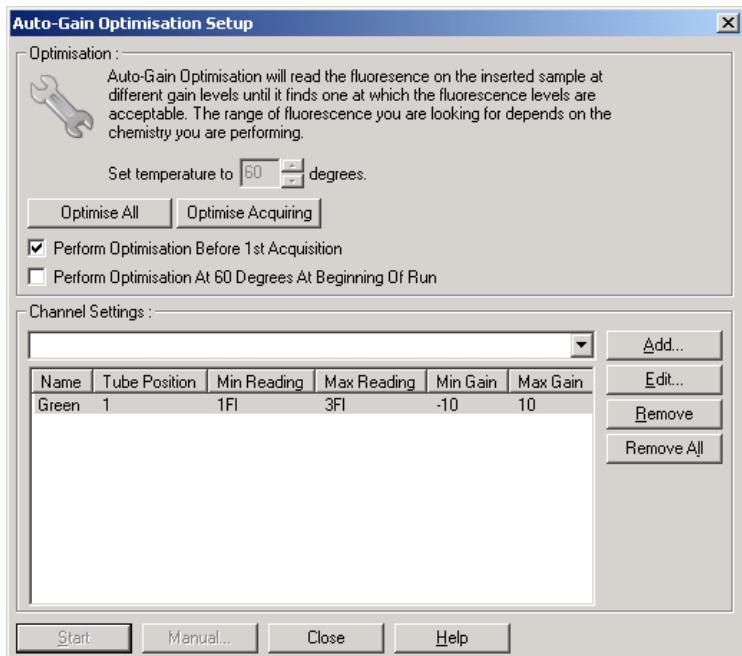
7. Đảm bảo dữ liệu huỳnh quang sẽ được thu thập. Nhận dữ liệu đến kênh màu xanh lá ở cuối bước gán mồi.



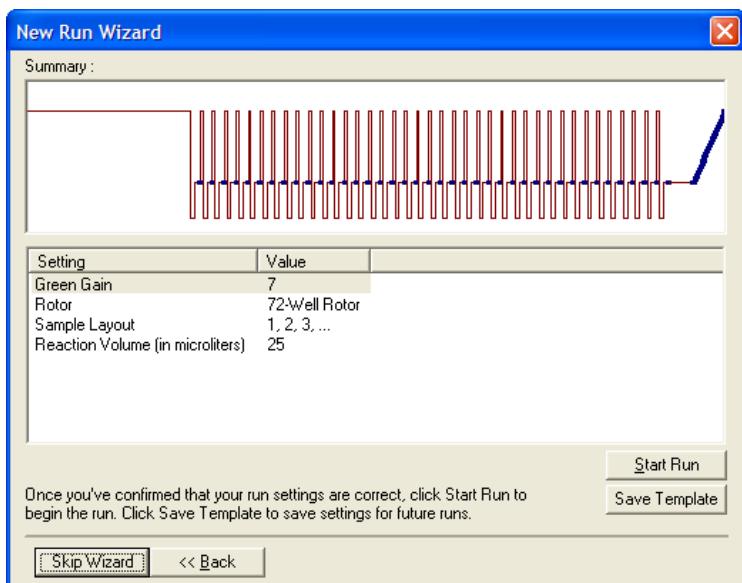
8. Đặt điều kiện chạy HRM. Điều chỉnh điều kiện cho phù hợp với sản phẩm khuếch đại. Đối với bộ thí nghiệm đầu tiên cho phép một miền nóng chảy rộng. Sử dụng T_m lý thuyết làm hướng dẫn cho một phạm vi phù hợp. Khi bạn đã xác định được vị trí sản phẩm sẽ nóng chảy, hãy giảm miền nóng chảy xuống không quá 10°C . Đảm bảo rằng bắt đầu nóng chảy diễn ra ở 5°C trước khi $^{\circ}\text{C}$ huyền tiếp nóng chảy lần đầu. Đoạn đường nối mặc định được đặt thành $0,1^{\circ}\text{C}$ với thời gian giữ 2 giây ở mỗi bước. Quá trình chuyển đổi đoạn đường nối tối thiểu là $0,05^{\circ}\text{C}$ với lần giữ thứ hai ở mỗi bước. Dữ liệu được tự động thu nhận vào kênh HRM. Tối ưu hóa Khuếch đại Tự động được thực hiện theo mặc định. Phần mềm sẽ tìm kiếm cài đặt khuếch đại tối ưu để giá trị phát huỳnh quang cao nhất được báo cáo không lớn hơn 70 đơn vị trên thang 100. Lưu ý rằng giá trị này có thể được tăng lên tối đa 100.



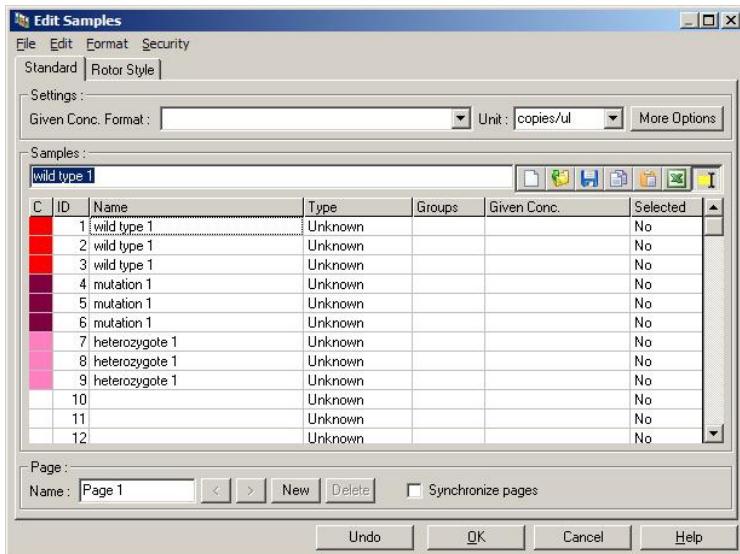
9. Không bắt buộc: Đặt Tối ưu hóa Khuếch đại Tự động. Cài đặt này chỉ áp dụng cho bước khuếch đại thời gian thực và cho kênh màu xanh lá. Nhấp vào nút **Optimize Acquiring** (Tối ưu hóa thu nhận) (để chỉ tối ưu hóa những kênh được sử dụng bởi một lần chạy). Tối ưu hóa được thực hiện tốt nhất ngay trước bước thu nhận đầu tiên, vì vậy hãy chọn hộp kiểm **Perform Optimization Before First Acquisition** (Thực hiện tối ưu hóa trước thu nhận đầu tiên). Phạm vi phát huỳnh quang nền được khuyến nghị cho chất nhuộm xen kẽ là từ 1 đến 3 đơn vị phát huỳnh quang. Để thay đổi cài đặt này, nhấp vào tên kênh để chọn nó trong danh sách, sau đó nhấp vào **Edit** (Chỉnh sửa).



10. Bắt đầu chạy bằng cách nhấp vào **Start Run** (Bắt đầu chạy) và lưu tệp lần chạy vào máy tính của bạn.



11. Chỉnh sửa tên mẫu (tùy chọn). Có thể chỉnh sửa tên mẫu trong hoặc sau lần chạy.



10.8 Phân tích dữ liệu real-time PCR

Phân tích dữ liệu real-time PCR trước khi phân tích dữ liệu HRM rất có lợi. Dữ liệu real-time PCR có thể làm nổi bật các xét nghiệm hoạt động kém. Việc xác định những xét nghiệm này và lọc chúng ra khỏi phân tích HRM tiếp theo sẽ cải thiện đáng kể hiệu quả tổng thể của phân tích HRM, vì phân tích sản phẩm PCR chất lượng kém sẽ dẫn đến kết quả HRM kém. Chúng tôi khuyên bạn nên phân tích dữ liệu real-time PCR định lượng như sau.

1. Phân tích dữ liệu thời gian thực bằng cách sử dụng tùy chọn **Quantitation** (Định lượng) từ cửa sổ **Analysis** (Phân tích). Nếu bất kỳ giá trị Ct nào bằng 30 hoặc cao hơn, các phản ứng tương ứng được coi là đã khuếch đại quá muộn. Các mẫu này phải được phân tích khi có nghi ngờ hoặc bị loại bỏ khỏi phân tích như một mẫu ngoại lai. Khuếch đại muộn thường do lượng mẫu ban đầu quá ít và/hoặc mức độ phân hủy mẫu cao.
2. Đánh giá mức phát huỳnh quang điểm cuối. Nếu huỳnh quang điểm cuối trong bất kỳ biểu đồ khuếch đại nào thấp hơn so với phần lớn các biểu đồ trong bộ dữ liệu, hãy bỏ các mẫu đó ra khỏi phân tích ngay cả khi giá trị Ct của chúng nhỏ hơn 30. Phát huỳnh quang điểm cuối thấp có thể chỉ ra lượng chất nhuộm không chính xác, mức độ không chính xác của các thành phần phản ứng (chẳng hạn như mồi), hoặc hoạt động của chất ức chế.
3. Sử dụng tùy chọn **Comparative Quantitation** (Định lượng so sánh) từ cửa sổ **Analysis** (Phân tích) để thu được hiệu suất phản ứng của từng mẫu. Nếu hiệu suất không tương tự với các phản ứng khác trong thí nghiệm hoặc nhỏ hơn gấp x 1,4, thì bỏ qua phản ứng đó như một phản ứng ngoại lệ.



Kết quả định lượng so sánh. Hiệu suất phản ứng được thể hiện trong cột “Amplification” (Khuếch đại) là điểm trên 2 (hiệu suất 2 = 100%).

Lưu ý: Nếu bạn nghi ngờ có sự hiện diện của chất mồi – chất làm mờ hoặc các sản phẩm không đặc hiệu, hãy đánh giá phản ứng bằng cách vẽ biểu đồ phái sinh sử dụng tùy chọn **Melt** (Nóng chảy) từ cửa sổ **Analysis** (Phân tích). Đảm bảo rằng có một đỉnh duy nhất, biểu thị một sản phẩm duy nhất. Nếu có thể, hãy chạy gel để kiểm tra xem có một sản phẩm khuếch đại duy nhất hay không. Nếu có nhiều hơn một sản phẩm, nên lặp lại hoặc kích hoạt lại phản ứng.

10.9 Phân tích dữ liệu HRM

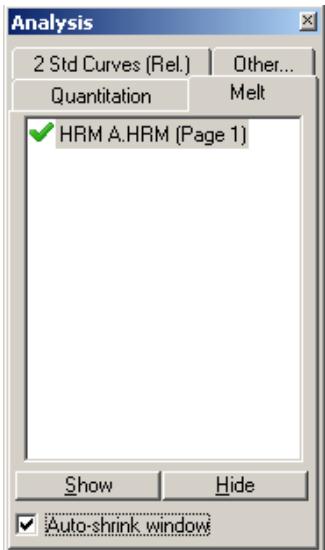
Phân tích HRM cho phép gọi các kiểu gen cả bằng cách trực quan và tự động. Kết quả có thể được xem dưới dạng biểu đồ nóng chảy chuẩn hóa hoặc biểu đồ chênh lệch. Đường cong chuẩn hóa biểu diễn cơ bản các kiểu gen khác nhau dựa trên sự dịch chuyển đường cong (đối với thẻ đồng hợp tử) và sự thay đổi hình dạng đường cong (đối với thẻ dị hợp tử).

Biểu đồ chênh lệch trợ giúp cho việc giải thích bằng hình ảnh. Biểu đồ này biểu thị sự chênh lệch về huỳnh quang của một mẫu so với mẫu chứng đã chọn ở mỗi lần chuyển đổi nhiệt độ. Biểu đồ chênh lệch cung cấp một cách nhìn khác về sự chênh lệch giữa các chuyển đổi đường cong nóng chảy.

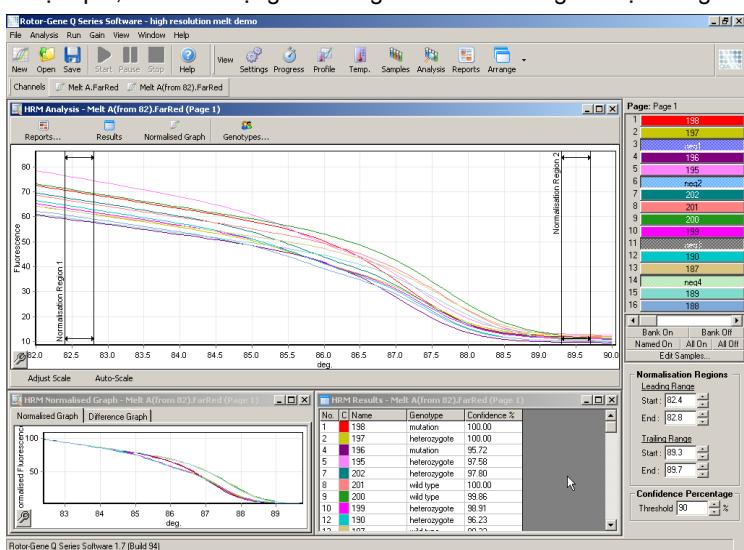
Lưu ý: Phân tích đường cong nóng chảy đạo hàm bậc nhất (như được sử dụng bởi tùy chọn **Melt** (Nóng chảy) tiêu chuẩn trong cửa sổ **Analysis** (Phân tích)) được coi là không phù hợp cho phân tích HRM. Điều này là do bất kỳ dẫn xuất nào của dữ liệu đều thêm nhiễu nhân tạo và làm cho việc giải thích dữ liệu trở nên khó khăn hơn.

Các bước sau đây mô tả phân tích kết quả HRM bằng phần mềm Rotor-Gene Q.

- Chọn tùy chọn **HRM** từ cửa sổ **Analysis** (Phân tích).

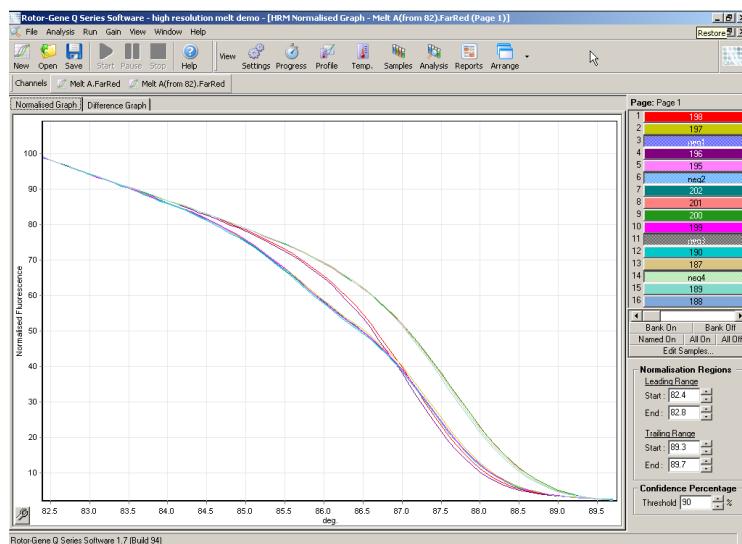


- Windows xuất hiện hiển thị dữ liệu thô, biểu đồ chuẩn hóa và kết quả. Cửa sổ dữ liệu thô cho phép điều chỉnh các vùng chuẩn hóa. Chuẩn hóa cho phép so sánh tất cả các đường cong với cùng một mức tín hiệu huỳnh quang bắt đầu và kết thúc để hỗ trợ việc giải thích và phân tích. Hai con trỏ trên mỗi vùng được cung cấp, được đặt mặc định ở cuối đường cong. Các điểm dữ liệu trong các vùng được sử dụng để chuẩn hóa phát huỳnh quang (chỉ trục y) cho điểm bắt đầu (Vùng 1) và điểm kết thúc (Vùng 2) của biểu đồ nóng chảy. Dữ liệu bên ngoài các vùng đã đặt sẽ bị bỏ qua. Điều chỉnh các vùng để bao gồm dữ liệu đường cơ sở đại diện cho các giai đoạn trước nóng chảy và sau nóng chảy. Mở rộng các vùng (bằng cách nhấp và kéo) cho phép phần mềm điều chỉnh độ dốc của đường cơ sở. Để đảm bảo các đường cong chuẩn hóa hiệu quả, tránh mở rộng các vùng chuẩn hóa vào giai đoạn nóng chảy.

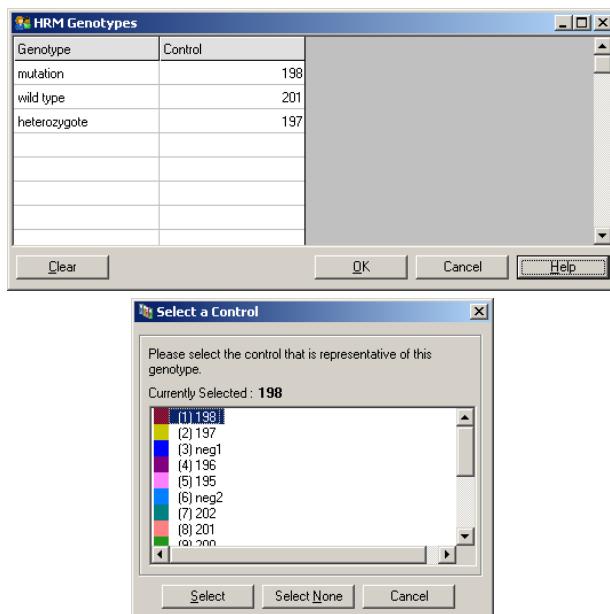


Lưu ý: Chúng tôi khuyên bạn chỉ nên di chuyển con trỏ nếu bạn muốn tránh các vùng của đường cong nóng chảy. Chuyển động của con trỏ về phía chuyển tiếp giai đoạn nóng chảy có thể ảnh hưởng đến các biểu đồ trừ và tỷ lệ phần trăm độ tin cậy.

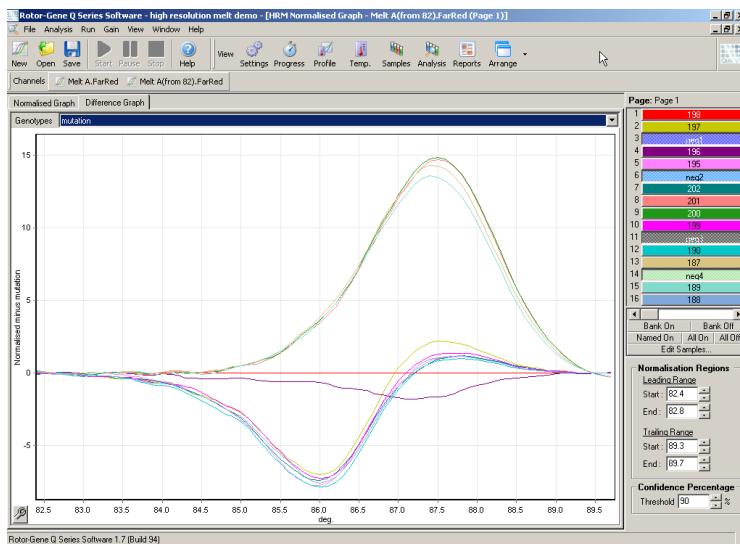
- Cửa sổ **Normalised Graph** (Biểu đồ chuẩn hóa) hiển thị các đường cong nóng chảy chuẩn hóa. Mẫu cũng có thể được xem như một biểu đồ chênh lệch so với một trong các mẫu chứng.



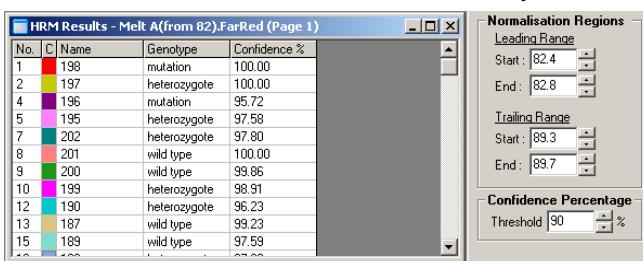
- Nhấp vào nút **Genotypes...** (Kiểu gen) để xác định kiểu gen. Nhập tên từng loại kiểu gen và chọn một mẫu đại diện cho mỗi loại từ danh sách mẫu.



5. Xem biểu đồ chênh lệch bằng cách chọn tab **Difference Graph** (Biểu đồ Chênh lệch). Sau đó, chọn kiểu gen bạn muốn để so sánh với tất cả các mẫu khác bằng cách sử dụng menu thả xuống ở trên đầu cửa sổ. Trong ví dụ được hiển thị, tất cả các mẫu được lập biểu đồ trừ đi một biểu đồ trung bình của tất cả các mẫu được gán nhãn **Mutation 1** (Đột biến 1).



6. Phần mềm sẽ tự động gọi kiểu gen trong cửa sổ **Results** (Kết quả). Giá trị độ tin cậy được cung cấp dưới dạng kiểm tra tính toàn vẹn của các kết quả được gọi tự động. Có thể chỉnh sửa giá trị ngưỡng mà trên đó các cuộc gọi tự động được thực hiện. Các mẫu nằm dưới ngưỡng đã đặt sẽ được đánh dấu là một biến thể để điều tra kỹ hơn hoặc xét nghiệm lại.



11 Xử lý sự cố

Phần này cung cấp thông tin về những việc phải làm nếu xảy ra lỗi khi sử dụng Rotor-Gene Q MDx System.

Nếu cần hỗ trợ thêm, hãy liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN bằng thông tin liên hệ bên dưới:

Trang web: support.qiagen.com

Khi liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN về lỗi với Rotor-Gene Q MDx, hãy lưu ý các bước dẫn đến lỗi và mọi thông tin xuất hiện trong bất kỳ hộp thoại nào. Thông tin này sẽ giúp Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN giải quyết vấn đề.

Khi liên hệ với Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN về lỗi, vui lòng chuẩn bị sẵn các thông tin sau:

- Số sê-ri, loại và phiên bản Rotor-Gene Q MDx
- Phiên bản phần mềm (nếu có)
- Thời điểm khi lỗi xảy ra lần đầu tiên
- Tần suất xuất hiện lỗi (nghĩa là, lỗi không liên tục hoặc liên tục)
- Mô tả chi tiết về tình huống lỗi
- Ảnh lỗi, nếu có
- Bản sao tệp nhật ký

Thông tin này sẽ giúp bạn và Chuyên gia Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN giải quyết vấn đề của bạn một cách hiệu quả nhất.

Lưu ý: Có thể tìm thấy thông tin về phần mềm và phiên bản giao thức mới nhất tại www.qiagen.com. Trong một số trường hợp, có thể có sẵn các bản cập nhật để giải quyết các vấn đề cụ thể.

11.1 Lưu trữ Nhật ký

Phần mềm giữ một bản ghi không sửa đổi của mỗi lần chạy, cùng với thông tin chẩn đoán, trong kho Log Archive (Lưu trữ nhật ký). Bằng cách sử dụng tùy chọn **Help** (Trợ giúp), **Send Support Email** (Gửi email hỗ trợ), bạn có thể gửi email cùng với tất cả thông tin chẩn đoán cần thiết tới Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN (xem Phần 6.12.1).

Để tiết kiệm dung lượng đĩa, chỉ Lưu trữ Nhật ký của 60 lần chạy gần đây nhất mới được lưu trữ. Lưu trữ Nhật ký của lần chạy cũ hơn sẽ bị ghi đè khi tạo Lưu trữ Nhật ký lần chạy mới.

11.2 Lỗi phần cứng và phần mềm

11.2.1 Xử lý sự cố HRM

Nhận xét và gợi ý

Không thể chạy HRM

Mô hình Rotor-Gene Q MDx không được trang bị HRM
Liên hệ với đại diện QIAGEN tại địa phương của bạn.

Không thu được dữ liệu HRM

Thiết lập không chính xác
Kiểm tra cài đặt bộ lọc.
Kiểm tra xem loại rôto có đúng không.
Kiểm tra xem đã sử dụng đúng thuốc thử chưa.
Kiểm tra xem phản ứng đã được thiết lập chính xác chưa.
Chạy một thí nghiệm mẫu chứng dương (tức là một xét nghiệm được biết là cung cấp kết quả).

Biểu đồ trống không đều

Khuếch đại kém hoặc không khuếch đại
Kiểm tra xem đã sử dụng đúng giao thức và thuốc thử chưa. Chúng tôi đề xuất các bộ dụng cụ QIAGEN cho phân tích HRM.
Kiểm tra xem phản ứng đã được thiết lập chính xác chưa.
Kiểm tra điều kiện chu kỳ.
Kiểm tra chất lượng và số lượng ban đầu của mẫu. Chúng tôi đề xuất các bộ dụng cụ QIAGEN cho chuẩn bị mẫu.

Đồ thị khuếch đại hoặc nóng chảy đã bão hòa

Độ khuếch đại được đặt quá cao
Sử dụng **Auto-Gain Optimisation** (Tối ưu hóa khuếch đại) (xem trang 61).

Tỷ lệ phần trăm độ tin cậy đã thay đổi

Các vùng chuẩn hóa đã được di chuyển bằng cách nháp và kéo
Chỉ di chuyển các vùng chuẩn hóa nếu cần thiết để tránh các phần của đường cong nóng chảy.

Các yếu tố ngoại lai hiện diện trong dữ liệu

Thiết lập phản ứng không nhất quán
Kiểm tra xem đã sử dụng đúng thuốc thử chưa.
Kiểm tra xem các ống được sử dụng có đồng nhất không.
Kiểm tra xem cùng một hỗn hợp chính có được sử dụng cho tất cả các mẫu không.
Chất ức chế có trong mẫu
Kiểm tra chất lượng và số lượng ban đầu của mẫu.
Mẫu quá ít hoặc giảm chất lượng

11.3 Thông báo lỗi và cảnh báo

11.3.1 Lỗi dụng cụ chung

Thông báo lỗi	Nhận xét và gợi ý
Can't open the serial port <COMPORT> (Không thể mở cổng nối tiếp <COMPORT>)	Lỗi này xảy ra khi khởi động phần mềm nếu phần mềm không thể giao tiếp với dụng cụ qua cổng COM đã cấu hình. Điều này thường do cáp bị lỗi, cáp lỏng lẻo, cổng nối tiếp bị lỗi, cổng USB bị lỗi, sự cố trình điều khiển USB hoặc sự cố trình điều khiển bộ chuyển đổi USB sang nối tiếp. Kết nối lại hoặc thay thế cáp. Cài đặt lại các trình điều khiển thích hợp. Khởi động phần mềm ở Virtual Mode (Chế độ Ảo) và chọn nút Setup/Auto-Detect (Thiết lập/Tự động phát hiện) từ menu File (Tệp) để đặt lại cổng COM đã cấu hình.
Chamber lid open (Nắp buồng mở)	Lỗi này xảy ra khi phần mềm phát hiện thấy nắp đang mở giữa lần chạy. Đặt lại máy và khởi động lại phần mềm.
Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software. (Không thể tiếp tục chạy; nắp buồng đã được mở trong lần chạy. Vui lòng đặt lại máy và khởi động lại phần mềm.)	The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue. (Nắp buồng dụng cụ đang mở. Vui lòng đóng nắp, sau đó nhấp vào Continue (Tiếp tục).)
Chamber lid open (Nắp buồng mở)	Lỗi này xảy ra khi người dùng cố gắng bắt đầu chạy trong khi nắp dụng cụ đang mở. Đóng nắp buồng dụng cụ, sau đó nhấp vào Continue (Tiếp tục).
Communication corrupted (Liên lạc bị hỏng)	Lỗi này xảy ra khi dữ liệu nhận được từ dụng cụ không phù hợp với mẫu dự kiến. Những nghiên cứu thêm được Chuyên gia Dịch vụ Hiện trường của QIAGEN yêu cầu để chẩn đoán sự cố với dụng cụ. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.
Communication out of sequence (Liên lạc không theo thứ tự)	Lỗi này xảy ra khi dữ liệu nhận được từ dụng cụ không theo đúng thứ tự. Những nghiên cứu thêm được Chuyên gia Dịch vụ Hiện trường của QIAGEN yêu cầu để chẩn đoán sự cố với dụng cụ. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.
Communication protocol error (Lỗi giao thức liên lạc)	Lỗi này xảy ra khi giao thức liên lạc được cấu hình trong vi chương trình không giống với giao thức dự kiến. Những nghiên cứu thêm được Chuyên gia Dịch vụ Hiện trường của QIAGEN yêu cầu để chẩn đoán sự cố với giao thức liên lạc hoặc dụng cụ.
Detector motor jam, stopped machine (Động cơ máy dò bị kẹt, máy dừng lại)	Lỗi này có thể xảy ra khi khởi động Rotor-Gene Q MDx ngay sau khi giao hàng ở vùng có khí hậu lạnh. Trong trường hợp này, để dụng cụ thích nghi với nhiệt độ phòng ít nhất một giờ trước khi bắt dụng cụ. Nếu lỗi vẫn tiếp diễn, vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

Thông báo lỗi	Nhận xét và gợi ý
Fatal hardware malfunction (Phản ứng hư hỏng nghiêm trọng)	Lỗi này xảy ra khi phần mềm phát hiện ra phần cứng bị hư hỏng nghiêm trọng và đã kích hoạt quy trình bảo vệ an toàn để tắt máy. Tắt dụng cụ ngay lập tức và liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ kỹ thuật QIAGEN.
The instrument detected that there was a fatal hardware malfunction. Do not attempt to re-use the machine until the machine has been serviced by your distributor. (Dụng cụ phát hiện ra rằng phần cứng bị hư hỏng nghiêm trọng. Không có sử dụng lại máy cho đến khi máy đã được nhà phân phối của bạn bảo dưỡng.)	
Machine error (Máy bị lỗi)	Lỗi này xảy ra khi phần mềm phát hiện ra lỗi trên máy mà không thể khôi phục được. Phần mềm đã dừng chạy. Thử một lần chạy khác. Nếu sự cố vẫn tiếp diễn, hãy liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN và đính kèm tệp lưu trữ hỗ trợ.
This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file. (Lần chạy này đã bị dừng do không thể khôi phục được máy bị lỗi. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn nếu điều này xảy ra lần nữa, đính kèm tệp lưu trữ hỗ trợ.)	
Machine unplugged (Máy bị rút phích cắm)	Lỗi này xảy ra nếu dụng cụ không liên lạc với phần mềm sau một khoảng thời gian chờ xác định. Điều này thường là do lỗi dụng cụ hoặc do hoạt động quá mức từ PC khiến gói bị mất. Các nguyên nhân phổ biến liên quan đến phần mềm bao gồm các tác vụ cần nhiều bộ xử lý, chẳng hạn như bảo vệ thường trú chống vi-rút hoặc quét theo lịch trình chống vi-rút, thẻ không dây hoặc thẻ hổng ngoại. Tắt hoặc gỡ cài đặt phần mềm/tác vụ cần nhiều bộ xử lý có liên quan. Đặt lại dụng cụ và khởi động lại phần mềm. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN nếu sự cố vẫn tiếp diễn.
The instrument is not responding and failed with the message <ERROR MESSAGE>. This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software. (Dụng cụ không phản hồi và không thành công với thông báo <ERROR MESSAGE>. Đây là lỗi không thể khôi phục, vui lòng đặt lại dụng cụ và khởi động lại phần mềm.)	
Machine unplugged (Máy bị rút phích cắm)	Lỗi này xảy ra khi bị mất liên lạc nối tiếp hoặc qua USB với Dụng cụ. Kết nối lại dây nối tiếp hoặc cáp USB với mặt sau của máy tính, sau đó nhấp vào nút Continue (Tiếp tục).
The instrument is not connected to your computer on <PORT NAME>. Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue. (Dụng cụ này không được kết nối với máy tính của bạn trên <PORT NAME>. Kết nối lại cáp nối tiếp với mặt sau của máy tính, sau đó nhấp vào Continue (Tiếp tục).)	
Object variable or with block variable not set (Biến đối tượng hoặc biến với khối chưa được đặt)	Lỗi này xảy ra khi khởi động phần mềm nếu tệp mẫu thí nghiệm mặc định bị hỏng. Điều này có thể xảy ra nếu phần mềm/máy tính bị tắt mà không thoát đúng cách, chẳng hạn như khi mất điện. Xóa tệp C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret, sau đó khởi động lại phần mềm.
Rotor speed failure (Tốc độ rôto bị lỗi)	Lỗi này xảy ra khi phần mềm đã cố gắng đặt tốc độ rôto và không đặt được tốc độ mục tiêu trong khoảng thời gian chờ. Những nghiên cứu thêm được Chuyên gia Dịch vụ Hiện trường của QIAGEN yêu cầu để chẩn đoán sự cố với dụng cụ. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.
Time out while setting the rotor speed. (Hết thời gian cài đặt tốc độ rôto.)	

Thông báo lỗi	Nhận xét và gợi ý
Serial port in use (Cổng nối tiếp đang được sử dụng)	Lỗi này xảy ra khi phần mềm cố gắng kết nối với máy trên cổng COM đã cấu hình khi cổng đang được phần mềm khác sử dụng. Đóng mọi ứng dụng như phần mềm liên lạc hoặc đồng bộ hóa rồi thử lại.
The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry. (Cổng nối tiếp hiện đang được sử dụng bởi một ứng dụng khác. Đóng mọi ứng dụng như phần mềm liên lạc hoặc đồng bộ hóa rồi thử lại.)	
Shutdown timeout (Hết thời gian tắt máy)	Lỗi này xảy ra khi phần mềm đưa ra lệnh tắt để tắt dụng cụ và máy tiếp tục gửi dữ liệu trở lại sau một khoảng thời gian gia hạn dự kiến. Đặt lại máy và khởi động lại phần mềm.
The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software. (Dụng cụ đã vượt quá thời gian dự kiến để tắt. Vui lòng đặt lại máy và đặt lại phần mềm.)	
Temperature protection activated (Đã kích hoạt bảo vệ nhiệt độ)	Lỗi này xảy ra khi phần mềm phát hiện nhiệt độ buồng đã tăng lên trên mức an toàn và do đó đã kích hoạt quy trình bảo vệ an toàn. Tắt dụng cụ ngay lập tức và liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ kỹ thuật QIAGEN.
The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level. It has therefore entered a self-protection mode. Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists. (Dụng cụ phát hiện thấy nhiệt độ buồng tăng trên mức an toàn. Do đó, nó đã chuyển sang chế độ tự bảo vệ. Vui lòng tắt dụng cụ và liên hệ với nhà phân phối của bạn nếu sự cố vẫn tiếp diễn.)	
Thermistor is open (Nhiệt điện trở đang mở)	Lỗi này xảy ra khi phần mềm đã phát hiện ra rằng nhiệt điện trở đang mở và do đó không thể đọc nhiệt độ; sau đó phần mềm đã kích hoạt quy trình bảo vệ an toàn để tắt máy. Tắt dụng cụ ngay lập tức và liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ kỹ thuật QIAGEN.
The instrument detected that the thermistor is open, and so to prevent damage to the machine, it has been turned off. Please contact your distributor if this occurs again. (Dụng cụ phát hiện ra rằng nhiệt điện trở đang mở, và do đó, để tránh làm hỏng máy, nó đã được tắt. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn nếu điều này xảy ra một lần nữa.)	
Unrecoverable errors occurred (Đã xảy ra lỗi không thể khôi phục)	Lỗi này xảy ra ở giữa lần chạy sau khi phần mềm đã nỗ lực hết sức để khôi phục và không thành công. Những nghiên cứu thêm được Chuyên gia Dịch vụ Hiện trường của QIAGEN yêu cầu để chẩn đoán sự cố với dụng cụ. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn hoặc Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.
This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file. (Lần chạy này đã bị dừng do không thể khôi phục được máy bị lỗi. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn nếu điều này xảy ra lần nữa, đính kèm tệp lưu trữ hỗ trợ.)	

11.3.2 Thông báo Phần mềm Rotor-Gene Q

Sau đây là danh sách sử dụng, cảnh báo và các thông báo khác có thể xuất hiện trong Phần mềm Rotor-Gene trong quá trình vận hành phần cứng và phần mềm. Bất kỳ phần nào của thông

báo có thể thay đổi, tức là, chẳng hạn như mô tả lỗi đặc trưng được đặt trong dấu ngoặc (ví dụ: <ERROR DESCRIPTION >).

Thông báo dạng văn bản

Thông báo chung

- 1 A raw channel already exists for this page. If you would like to recreate this page, you must first delete the raw channel via the Options button and then try again. (Đã tồn tại một kênh thô cho trang này. Nếu bạn muốn tạo lại trang này, trước tiên bạn phải xóa kênh thô qua nút Options (Tùy chọn) và sau đó thử lại.)
- 2 A serious problem has occurred which requires shutting down the software. After you click OK, your current work will be saved, and the machine will be turned off, if possible. If this problem persists, please contact your distributor. (Đã xảy ra sự cố nghiêm trọng yêu cầu tắt phải phần mềm. Sau khi bạn nhấp vào OK, công việc hiện tại của bạn sẽ được lưu và máy sẽ được tắt, nếu có thể. Nếu sự cố này vẫn tiếp diễn, vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn.)
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. (Không thể xóa trang này. Luôn phải có ít nhất một trang mẫu.)
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry (Không thể kết nối với dụng cụ trên cổng nối tiếp <COMPORT>. Kiểm tra xem máy đã được cắm đúng vào mặt sau của máy tính chưa, sau đó thử lại)
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. (Không thể mở cổng nối tiếp <COMPORT> để kết nối với dụng cụ. Kiểm tra để đảm bảo bạn không có bất kỳ phần mềm liên lạc nào đang mở, sau đó thử lại.)
- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. (Không thể lưu dữ liệu trên biểu mẫu không hợp lệ. Vui lòng kiểm tra các mục nhập của bạn rồi thử lại.)
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. (Không thể lưu tệp. Xác nhận đĩa có đủ dung lượng và không có lỗi.)
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. (Không thể khởi động ứng dụng email. Xác nhận rằng nó đã được cài đặt đúng cách trên máy tính của bạn.)
- 9 Encountered an error during run: <ERROR DESCRIPTION>. The run will continue, and a message will be logged in the messages tab of Run Info. (Đã gặp lỗi trong khi chạy: <ERROR DESCRIPTION>. Lần chạy sẽ tiếp tục và một thông báo sẽ được ghi vào tab thông báo của Thông tin Lần chạy.)
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. (Dụng cụ không được phát hiện. Vui lòng đảm bảo rằng bạn đã kết nối dụng cụ đúng cách và dụng cụ đã được bật.)
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. (Ghi nhật ký hiện bị vô hiệu hóa do lỗi trước đó. Không thể xem nhật ký đã lưu trữ cho đến khi phần mềm được khởi động lại.)
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. (Không phải tất cả các mẫu đều có thể được chuẩn hóa vì mức huỳnh quang quá thấp.)
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. (Chỉ có thể nhập các lần chạy được thực hiện với cùng một rôto như lần chạy hiện tại.)
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. (Xin lưu ý rằng các tệp nhật ký cho lần chạy hiện tại sẽ không có sẵn cho đến khi hoàn tất.)
- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. (Vui lòng nhập số lần hợp lệ để lặp lại. Số lần phải lớn hơn 0.)
- 16 Problem encountered while updating log data. (Đã gặp sự cố khi cập nhật dữ liệu nhật ký.) Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. (Chức năng ghi nhật ký đã bị tắt, nhưng sẽ được kích hoạt lại vào lần chạy tiếp theo.)
- 17 Run file signing ensures the integrity of your run results. Information about a run's signature can be found in the Run Info window. (Ký hiệu tệp lần chạy đảm bảo tính toàn vẹn của kết quả chạy của bạn. Có thể tìm thấy thông tin về ký hiệu của một lần chạy trong cửa sổ Run Info (Thông tin Lần chạy).)
- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. (ID mẫu đã bị khóa. Không thể dán qua các mẫu đã khóa.)
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. (TeeChart Office chưa được cài đặt trên máy tính này. Vui lòng cài đặt lại phần mềm Rotor-Gene.)
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. (Cổng COM được định cấu hình cho dụng cụ không được chọn. Bạn phải chọn một cổng COM.)
- 21 The loaded run file contains a signature which does not match the file contents. This means the file has either been corrupted, or tampered with since it was written by the Rotor-Gene software. (Tệp lần chạy được tải chứa ký hiệu không khớp với nội dung tệp. Điều này có nghĩa là tệp đã bị hỏng hoặc bị giả mạo vì nó được viết bởi phần mềm Rotor-Gene.)

Thông báo dạng văn bản

- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. (Tệp lần chạy đã tải không có ký hiệu. Không thể đảm bảo nội dung của tệp này.)
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. (Số sê-ri của máy không hợp lệ. Số sê-ri phải dài ít nhất 6 chữ số.)
- 24 The machine will now be cooled to <TEMPERATURE> degrees. The chamber and surfaces will still be very hot when opening the machine. Please exercise due caution and wear protective gloves if touching any of the surfaces or tubes. (Bây giờ máy sẽ được làm mát đến <TEMPERATURE> độ. Buồng và các bề mặt vẫn sẽ rất nóng khi mở máy. Hãy thận trọng và đeo găng tay bảo vệ nếu chạm vào bất kỳ bề mặt hoặc ống nào.)
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. (Cài đặt khu vực cho máy tính của bạn đang xung đột. Đảm bảo đơn vị tiền tệ và phần giữ chỗ số thập phân của bạn khớp với nhau.)
- 26 The serial number entered in the welcome screen <SERIAL NUMBER1> does not match the serial number stored in the attached machine <SERIAL NUMBER2>. The computer's serial number has now been updated to match the connected machine. (Số sê-ri được nhập vào màn hình chào mừng <SỐ SÊ-RI 1> không khớp với số sê-ri được lưu trong máy kèm theo <SỐ SÊ-RI 2>. Số sê-ri của máy tính hiện đã được cập nhật để khớp với máy được kết nối.)
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. (Đã xảy ra sự cố khi liên lạc với bảng liên lạc. Bạn nên khởi động lại máy tính rồi thử lại.)
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. (Có một khoảng thời gian chờ khi cố gắng nói chuyện với dụng cụ. Kiểm tra xem nó đã được cắm đúng cách chưa.)
- 29 This feature cannot be used in virtual mode. (Không thể sử dụng tính năng này ở chế độ ảo.)
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Tệp chương trình này đã được tạo trong phiên bản mới hơn của phần mềm Rotor-Gene. Một số khía cạnh có thể không tải chính xác.)
- 31 This run file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the run may not load correctly. (Tệp lần chạy này đã được tạo trong phiên bản mới hơn của phần mềm Rotor-Gene. Một số khía cạnh của lần chạy có thể không tải chính xác.)
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Tệp mẫu này đã được tạo trong phiên bản mới hơn của phần mềm Rotor-Gene. Một số khía cạnh có thể không tải chính xác.)
- 33 This software will perform basic simulation of a machine for training and demonstration purposes. You can disable this setting via the Setup screen, accessible from the File menu. (Phần mềm này sẽ thực hiện mô phỏng cơ bản một máy cho mục đích đào tạo và trình diễn. Bạn có thể tắt cài đặt này qua màn hình Setup (Thiết lập), có thể truy cập từ menu File (Tệp).)
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. (Mẫu này đã được tạo trong phiên bản mới hơn của phần mềm Rotor-Gene. Một số khía cạnh của mẫu có thể không tải chính xác.)
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. (Không thể tải tệp mẫu này vì cách bố trí ống không khớp. Nạp các mẫu này trước khi bắt đầu chạy.)
- 36 Unable to open communications with the machine because another application is already using <COMPORT>. Check you do not have any applications running that use the same serial port, then retry. (Không thể mở liên lạc với máy vì một ứng dụng khác đang sử dụng <COMPORT>. Kiểm tra để đảm bảo bạn không có ứng dụng nào đang chạy sử dụng cùng một cổng nối tiếp, sau đó thử lại.)
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. (Đã gặp lỗi không thể khôi phục khi cố gắng tải tệp. Tệp chưa được tải.)
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress. (Bạn không thể dừng chương trình khi đang chạy.)
- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. (Bạn không có đủ quyền để sử dụng phần mềm. Vui lòng liên hệ với quản trị viên miền để thiết lập nhóm.)
- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples. (Bạn phải thực hiện phân tích định lượng để xuất mẫu.)
- 41 You must select a COM port before continuing. (Bạn phải chọn một cổng COM trước khi tiếp tục.)
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. (Không thể lưu lần chạy của bạn vào vị trí mặc định của nó. Trên cửa sổ sau, hãy chọn một vị trí thay thế để lưu lần chạy của bạn.)
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software. (Cài đặt của bạn đã được lưu. Nhập vào OK để đóng phần mềm.)
- 44 You must select a rotor before continuing. (Bạn phải chọn một rôto trước khi tiếp tục.)

Thông báo dạng văn bản

- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached.
(Bạn không thể bắt đầu lần chạy cho đến khi bạn đánh dấu vào hộp kiểm để xác nhận rằng vòng khóa đã được gắn vào.)

Thông báo điều chỉnh tự động khuếch đại

- 46 Manual gain adjustment uses the channels you have defined in your profile. As you have not defined any acquisition points in your profile, you cannot perform manual gain adjustment. (Điều chỉnh độ khuếch đại theo cách thủ công sử dụng các kênh bạn đã xác định trong chương trình của mình. Vì bạn chưa xác định bất kỳ điểm thu nhận nào trong chương trình của mình, bạn không thể thực hiện điều chỉnh độ khuếch đại theo cách thủ công.)

- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. (Nhiệt độ bạn đã nhập không được lưu vì nằm ngoài phạm vi của máy. Nhập nhiệt độ hợp lệ.)

Thông báo của trình biên tập

- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. (Vui lòng nhập mã nhóm hợp lệ. Mã nhóm phải có tối đa 5 ký tự và không chứa dấu cách hoặc dấu phẩy.)

- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. (Vui lòng nhập tên nhóm không được chứa dấu phẩy hoặc để trống.)

Thông báo hiệu chuẩn biến tính quang học

- 50 Unable to set as optical denaturation point due to calibration failure. Please enter a valid number of seconds to hold. It should be a positive value. (Không thể đặt làm điểm biến tính quang học do lỗi hiệu chuẩn. Vui lòng nhập số giây hợp lệ để giữ. Số giây phải là một giá trị dương.)

- 51 A melt peak could not be detected during Optical Denaturation Calibration. This may be because the incorrect tube was selected for calibration, or that an inappropriate chemistry was used for this sample. A timed step profile was run instead. (Không thể phát hiện thấy đỉnh nóng chảy trong quá trình Hiệu chuẩn Ký hiệu Quang học. Điều này có thể là do chọn ống hiệu chuẩn không chính xác hoặc đã sử dụng hóa chất không phù hợp cho mẫu này. Thay vào đó, một chương trình bước được hẹn giờ đã được chạy.)

Thông báo OTV

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run. (Bạn phải nhập số sê-ri OTV hợp lệ để thực hiện lần chạy.)

- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error. (Tệp xác minh nhiệt độ này đã bị hỏng. Vui lòng gỡ cài đặt và cài đặt lại phần mềm Rotor-Gene để sửa lỗi này.)

- 54 This run file is not correctly signed. (Tệp lần chạy này không được ký hiệu chính xác.) Results cannot be displayed. (Không thể hiển thị kết quả.)

- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly. (Bạn không thể bắt đầu cho đến khi đánh dấu vào hộp kiểm để xác nhận rằng bộ chèn huỳnh quang đã được đặt đúng cách.)

- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement. (Rôto này đã hết hạn sử dụng. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn để có được sản phẩm thay thế.)

Thông báo menu bảo mật

- 57 Could not open the Windows user/group manager. (Không thể mở trình quản lý người dùng/nhóm Windows.)

- 58 Could not create groups. (Không thể tạo nhóm.)

- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts. (Không thể sửa đổi quyền truy cập của các tài khoản có sẵn.)

Menu phân tích

- 60 You have only selected one channel for analysis. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window. (Bạn chỉ chọn một kênh để phân tích. Để chọn nhiều kênh, hãy kéo một hình chữ nhật xung quanh các kênh bạn muốn hiển thị trong cửa sổ lựa chọn phân tích.)

- 61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. (Bạn đã chọn nhiều kênh để phân tích. Kỹ thuật phân tích này chỉ cho phép phân tích các kênh đơn lẻ.)

Thông báo đo nồng độ

- 62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. (Đo nồng độ thực hiện tối ưu hóa khuếch đại tự động ở vị trí rôto đầu tiên. Đảm bảo bạn có tiêu chuẩn nồng độ cao nhất ở vị trí rôto đầu tiên.)

Thông báo phân tích điểm cuối

Thông báo dạng văn bản

- 63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. (Để sử dụng phân tích điểm cuối, bạn phải có các mẫu chứng dương và mẫu chứng âm trong mỗi kênh. Để xác định các mẫu chứng này, nhấp vào OK.)
- 64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. (Bạn chưa xác định bất kỳ mẫu chứng dương nào. Bạn phải xác định các mẫu chứng dương cho từng kênh bạn đang phân tích.)
- 65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. (Bạn chưa xác định bất kỳ mẫu chứng âm nào. Bạn phải xác định các mẫu chứng âm cho từng kênh bạn đang phân tích.)
- 66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. (Bạn chưa xác định bất kỳ mẫu chứng NTC nào. Bạn phải xác định các mẫu chứng NTC cho mỗi nhóm.)

Thông báo phân tích HRM

- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. (Kiểu gen <GENOTYPE NAME> không có mẫu chứng được xác định.)
- 68 Duplicate genotype combinations are not allowed. (Không cho phép các tổ hợp kiểu gen trùng lặp.)
- 69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. (Nóng chảy phân giải cao không được hỗ trợ trên dụng cụ này. Vui lòng liên hệ với nhà phân phối của bạn để biết thêm thông tin.)

Thông báo phân tích nóng chảy

- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. (Không thể xác định các kiểu gen cho đến khi các thùng được đặt. Vui lòng xác định tất cả các thùng sau đó thử lại.)
- 71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. (Bạn phải nhập từ viết tắt cho kiểu gen <GENOTYPE NAME>.)

Thông báo phân tích biểu đồ phân tán

- 72 Scatter plot analysis requires exactly 2 channels to be selected. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window, or click while holding the SHIFT key on each channel. (Phân tích biểu đồ phân tán yêu cầu chọn chính xác 2 kênh. Để chọn nhiều kênh, kéo một hình chữ nhật xung quanh các kênh bạn muốn hiển thị trong cửa sổ lựa chọn phân tích hoặc nhấp trong khi giữ phím SHIFT trên mỗi kênh.)

Thông báo phân tích định lượng

- 73 The auto-find threshold feature requires that you have defined at least 2 selected standards. To set this up, right-click on the sample list and select "Edit Samples..." (Tính năng ngưỡng tự động tìm yêu cầu bạn phải xác định ít nhất 2 tiêu chuẩn đã chọn. Để thiết lập điều này, nhấp chuột phải vào danh sách mẫu và chọn "Edit Samples..." (Chỉnh sửa mẫu...))

12 Bảng chú giải

Thuật ngữ	Mô tả
Thu nhận	Thu nhận là thu thập dữ liệu huỳnh quang. Mỗi lần thu nhận (thu thập dữ liệu huỳnh quang) từ một kênh được hiển thị trong phần mềm dưới dạng dữ liệu chưa được phân tích trong cửa sổ "Raw channel" (Kênh thô). Có thể phân tích dữ liệu này bằng cách sử dụng các tùy chọn trong menu "Analysis" (Phân tích).
Thùng	Trong một phân tích nóng chảy, các thùng được thiết lập để xác định một khu vực mà một đinh nóng chảy dự kiến sẽ xảy ra. Có thể xác định kiểu gen dựa trên sự hiện diện của các đinh trong các thùng nhất định hoặc trong tổ hợp các thùng.
CE-IVD	Tuân thủ Chỉ thị 98/79/EC của Châu Âu về thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm.
Kênh	Một kênh bao gồm một điốt phát sáng (Light Emitting Diode, LED) với một bộ lọc kích thích được ghép nối với một bộ lọc phát xạ. LED và bộ lọc kích thích kích thích các mẫu ở một bước sóng nhất định. Huỳnh quang phát ra từ các mẫu được đưa qua bộ lọc phát xạ, trước khi được phát hiện bởi một bộ nhân quang.
Khuếch đại	Rotor-Gene Q MDx sử dụng một bộ nhân quang để thu thập các photon huỳnh quang và chuyển đổi chúng thành tín hiệu điện tử. Độ khuếch đại là một cài đặt xác định độ nhạy của bộ nhân quang. Nếu độ khuếch đại được đặt quá cao, tín hiệu sẽ bị bão hòa. Nếu độ khuếch đại được đặt quá thấp, không thể phân biệt tín hiệu với nhiễu nền.
Tối ưu hóa khuếch đại	Tối ưu hóa khuếch đại là quá trình tự động điều chỉnh cài đặt khuếch đại, cho phép chọn cài đặt thích hợp dẫn đến phát hiện tín hiệu tối ưu.
Khối nắp	Khối nắp là các khối nhôm có sẵn ở các định dạng khác nhau được sử dụng để giữ ống hoặc Đĩa Rô-to trong quá trình thiết lập phản ứng. Rotor-Disc Loading Blocks cũng được sử dụng với Rotor-Disc Heat Sealer để làm kín Rotor-Discs bằng nhiệt.
Vòng khóa	Vòng khóa là các vòng kim loại lắp vào rôto để ngăn các ống và nắp bị lỏng trong quá trình vận hành Rotor-Gene Q MDx. Nắp và ống bị lỏng có thể gây hư hỏng dụng cụ.
Rôto	Rôto kim loại giữ các ống hoặc Rotor-Discs trong Rotor-Gene Q MDx. Nó cho phép các mẫu quay trong buồng dụng cụ và đảm bảo rằng các mẫu được căn chỉnh chính xác với hệ thống quang học. Rôto được cố định bằng Locking Ring.
Rotor-Disc	Rotor-Disc là các đĩa tròn của lọ phản ứng có hướng thẳng đứng. Có sẵn các định dạng Rotor-Disc cho 72 và 100 phản ứng. Rotor-Disc được bít kín bằng cách sử dụng Rotor-Disc Heat Sealing Film và Rotor-Disc Heat Sealer.

13 Thông số Kỹ thuật

QIAGEN có quyền thay đổi thông số kỹ thuật bất cứ lúc nào.

13.1 Điều kiện môi trường – điều kiện hoạt động

Nguồn điện	100 – 240 V AC, 50 – 60 Hz, 520 VA (cao điểm) Công suất tiêu thụ 60 VA (chế độ chờ) Đao động điện áp của nguồn điện chính không được vượt quá 10% điện áp nguồn danh định.
Cầu chì	Cầu chì F5A 250 V
Tản nhiệt/tải nhiệt	Trung bình: 0,183 kW (632 BTU/giờ) Cao điểm: 0,458 kW (1578 BTU/giờ)
Danh mục quá điện áp	II
Nhiệt độ không khí	18 đến 30 °C
Độ ẩm tương đối	10 – 75% (không ngưng tụ)
Độ cao	Lên đến 2.000 m
Địa điểm sử dụng	Chỉ sử dụng trong nhà
Mức ô nhiễm	2
Loại môi trường	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

13.2 Điều kiện vận chuyển

Nhiệt độ không khí	-25 °C đến 60 °C trong bao bì của nhà sản xuất
Độ ẩm tương đối	Tối đa 75% (không ngưng tụ)
Loại môi trường	2K2 (IEC 60721-3-2)

13.3 Điều kiện bảo quản

Nhiệt độ không khí	15 °C đến 30 °C trong bao bì của nhà sản xuất
Độ ẩm tương đối	Tối đa 75% (không ngưng tụ)
Loại môi trường	1K2 (IEC 60721-3-1)

13.4 Dữ liệu cơ học và tính năng phần cứng

Kích thước	Chiều rộng: 370 mm Cao: 286 mm Độ sâu (không có dây cáp): 420 mm Chiều sâu (cửa mở): 538 mm
Trọng lượng	Cáu hình chuẩn 12,5 kg
Công suất	Lên đến 100 mẫu mỗi lần chạy bằng Rotor-Disc 100
Phần mềm	Phần mềm Rotor-Gene Q phiên bản 2.3.x (trong đó $x \geq 0$)

13.5 Thông số kỹ thuật (phần cứng và phần mềm)

13.5.1 Thông số kỹ thuật nhiệt

Mô tả	Thông số kỹ thuật
Phạm vi nhiệt độ	35 °C đến 99 °C (50 °C đến 99 °C cho các ứng dụng chu kỳ)
Độ chính xác nhiệt độ	± 0,5 °C (hiệu chỉnh bằng quy trình Rotor-Disc OTV)
Độ phân giải nhiệt độ	± 0,02 °C (gia số nhỏ nhất có thể lập trình)
Độ đồng đều nhiệt	± 0,02 °C

13.5.2 Thông số kỹ thuật quang học

Mô tả	Thông số kỹ thuật
Nguồn kích thích	Điốt phát quang năng lượng cao
Máy dò	Bộ nhận quang
Thời gian thu nhận	4 giây

14 Phụ lục A – Pháp lý

14.1 Tuyên bố FCC

“Ủy ban Truyền thông Liên bang Hoa Kỳ” (United States Federal Communications Commission, USFCC) (trong 47 CFR 15. 105) tuyên bố rằng người dùng sản phẩm này phải được thông báo về những sự thật và tình huống sau.

“Thiết bị này tuân thủ theo phần 15 của FCC: Việc vận hành tuân theo hai điều kiện sau: (1) Thiết bị này sẽ không gây nhiễu có hại, và (2) thiết bị này phải chấp nhận được nhiễu tiếp nhận, bao gồm nhiễu có thể gây ra vận hành không mong muốn.”

“Thiết bị kỹ thuật số Loại B này tuân thủ theo ICES-0003 của Canada.”

Tuyên bố sau áp dụng cho những sản phẩm được nêu trong hướng dẫn này, trừ khi được nêu cụ thể tại đây. Tuyên bố cho những sản phẩm khác sẽ có trong tài liệu đi kèm.

Lưu ý: Thiết bị này đã được kiểm nghiệm và cho thấy tuân thủ với các giới hạn cho thiết bị kỹ thuật số Loại B, đúng theo Phần 15 của Quy tắc FCC và đáp ứng tất cả các yêu cầu của Canada. Thiết bị Gây nhiễu Tiêu chuẩn ICES-003 cho thiết bị kỹ thuật số. Những giới hạn này được thiết kế để bảo vệ hợp lý khỏi nhiễu có hại khi lắp đặt trong môi trường dân cư. Thiết bị này tạo ra, sử dụng, và có thể phát ra năng lượng cao tần và, nếu không được cài đặt và sử dụng tuân theo hướng dẫn, có thể gây nhiễu có hại đến truyền thông vô tuyến. Tuy nhiên, không có gì đảm bảo rằng nhiễu sẽ không xảy ra trong một lắp đặt cụ thể. Nếu thiết bị này gây nhiễu có hại cho việc thu sóng vô tuyến hoặc truyền hình, được xác định bằng cách tắt và bật thiết bị, người dùng nên cố gắng khắc phục nhiễu bằng một hoặc nhiều biện pháp sau:

- Xoay hoặc di chuyển các ăng ten thu
- Tăng khoảng cách giữa thiết bị và máy thu
- Kết nối thiết bị vào ổ cắm trên mạch điện khác với mạch điện mà máy thu được kết nối

Tham khảo ý kiến của đại lý hoặc một kỹ thuật viên phát thanh/truyền hình có kinh nghiệm để được giúp đỡ.

14.2 Tuân thủ IEC EN 61326

Rotor Gene-Q MDx tuân thủ các yêu cầu về phát xạ nhiễu và khả năng miễn nhiễm nhiễu được mô tả trong IEC 61326-1 và IEC 61326-2-6.

QIAGEN GmbH Đức không chịu trách nhiệm cho bất cứ tình trạng nhiễu vô tuyến truyền hình nào gây ra bởi việc sửa đổi trái phép thiết bị này hoặc thay thế hoặc lắp đặt cáp nối và thiết bị khác với thiết bị được QIAGEN GmbH Đức nêu cụ thể. Việc giải quyết nhiễu gây ra bởi sửa đổi, thay thế hoặc lắp đặt trái phép như thế sẽ do người dùng chịu trách nhiệm.

14.3 Tuyên bố về Tuân thủ

Tên và địa chỉ của nhà sản xuất hợp pháp

QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden

Đức

Có thể yêu cầu Tuyên bố về Tuân thủ cập nhật từ Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

14.4 Rác thải thiết bị điện và điện tử (Waste Electrical and Electronic Equipment, WEEE)

Mục này cung cấp thông tin về thải bỏ rác thải thiết bị điện và điện tử của người dùng.

Biểu tượng thùng rác có bánh xe gạch chéo (xem bên dưới) cho biết rằng sản phẩm này không được thải bỏ với rác thải khác; nó phải được đưa đến cơ sở xử lý được phê duyệt hoặc đến một điểm thu gom được chỉ định để tái chế, theo luật pháp và quy định của địa phương.

Việc thu gom và tái chế riêng rác thải thiết bị điện tử tại thời điểm thải bỏ giúp bảo tồn tài nguyên thiên nhiên và đảm bảo rằng sản phẩm được tái chế theo cách bảo vệ sức khỏe con người và môi trường.



QIAGEN có thể thực hiện tái chế theo yêu cầu với chi phí bổ sung. Tại Liên minh Châu Âu, theo yêu cầu tái chế cụ thể của WEEE và nơi QIAGEN cung cấp sản phẩm thay thế, việc tái chế miễn phí các thiết bị điện tử có dấu WEEE được thực hiện.

Để tái chế thiết bị điện tử, hãy liên hệ với văn phòng bán hàng QIAGEN tại địa phương để biết biểu mẫu hoàn trả bắt buộc. Sau khi biểu mẫu được gửi, bạn sẽ được QIAGEN liên hệ để yêu cầu thông tin tiếp theo lịch thu gom rác thải điện tử hoặc cung cấp cho bạn báo giá riêng.

14.5 Điều khoản về Trách nhiệm pháp lý

QIAGEN sẽ được miễn khỏi tất cả các nghĩa vụ theo bảo hành trong trường hợp có người sửa chữa hoặc sửa đổi mà không phải là nhân sự của họ, ngoại trừ những trường hợp Công ty đã có văn bản đồng thuận cho phép thực hiện những sửa chữa hoặc sửa đổi như vậy.

Tất cả vật liệu được thay thế theo bảo hành này sẽ chỉ được bảo hành trong thời gian bảo hành ban đầu, và không bao giờ vượt quá ngày hết hạn thời gian bảo hành ban đầu trừ khi được cán bộ Công ty cho phép bằng văn bản. Các dụng cụ chỉ báo, dụng cụ giao diện, và phần mềm liên quan sẽ chỉ được bảo hành trong thời gian do nhà sản xuất ban đầu của những sản phẩm này đưa ra. Các cam đoan và bảo đảm của bất cứ người nào, bao gồm đại diện của QIAGEN, không nhất quán hoặc mâu thuẫn với các điều kiện của bảo hành này sẽ không có tính ràng buộc đối với Công ty trừ khi được cán bộ QIAGEN chấp thuận bằng văn bản.

14.6 Thỏa thuận Cấp phép Phần mềm

1. Từ "Qiagen" sau đây đề cập đến Qiagen GmbH và các công ty liên kết và "Phần mềm" có nghĩa là các chương trình và dữ liệu được cung cấp trên phương tiện vật lý này (ví dụ: CD-ROM) hoặc qua Internet với các điều kiện này. (Nếu bạn không chắc chắn về bất kỳ khía cạnh nào của thỏa thuận này hoặc có bất kỳ câu hỏi nào, hãy gửi email tới support@qiagen.com.) Phần mềm và mọi tài liệu đi kèm đã được phát triển hoàn toàn bằng chi phí cá nhân. Chúng được chuyển giao và cấp phép như "phần mềm máy tính thương mại".

2. Giấy phép

Giấy phép của bạn không mang lại quyền lợi hoặc quyền sở hữu nào trong Phần mềm cũng như không bán bất kỳ quyền nào trong Phần mềm. Qiagen cấp cho bạn giấy phép không độc quyền không thể chuyển nhượng như sau:

2.1 Bạn sử dụng bất kỳ số lượng bản sao nào của Phần mềm trong tổ chức của mình, với điều kiện là chỉ nhân viên của tổ chức mới có thể truy cập để sử dụng phần mềm và tổ chức của bạn là chủ sở hữu hiện tại của dụng cụ Rotor-Gene Q. Việc cung cấp phần mềm này để sử dụng bên ngoài tổ chức của bạn cấu thành vi phạm thỏa thuận này.

2.2 Bạn chỉ có thể tạo các bản sao của Phần mềm khi cần thiết cho mục đích sao lưu hoặc khi sao chép là một bước thiết yếu trong việc sử dụng Phần mềm khi được cho phép. Bạn phải sao chép tất cả các thông báo bản quyền trong Phần mềm gốc trên tất cả các bản sao. Trong mọi trường hợp, bạn không được phép sao chép Phần mềm lên bất kỳ bảng thông báo, trang web Internet hoặc hệ thống phân phối công cộng hoặc tư nhân tương tự nào.

2.3 Bạn không được cung cấp Phần mềm cho bất kỳ bên thứ ba nào bằng cách tặng quà hoặc cho mượn hoặc cho thuê.

2.4 Bạn không được kết hợp Phần mềm hoặc bất kỳ phần nào của Phần mềm vào các chương trình hoặc hệ thống máy tính do bạn phát triển hoặc sử dụng.

2.5 Bạn không được sử dụng hoặc xây dựng các tệp dữ liệu hoặc các tệp khác do Phần mềm xử lý (trừ khi xảy ra trong quá trình hoạt động bình thường của Phần mềm).

2.6 Bạn không được tháo rời, thiết kế ngược lại, biên soạn ngược lại, mở khóa hoặc dịch bất kỳ phần nào của Phần mềm hoặc cố gắng khám phá mã nguồn hoặc các thuật toán cơ bản của Phần mềm. Bạn không được thay đổi bất kỳ tệp dữ liệu nào hoặc các tệp khác bao gồm Phần mềm (trừ khi xảy ra trong quá trình hoạt động bình thường của Phần mềm).

2.7 Nếu đây là phiên bản trình diễn hoặc dùng thử của Phần mềm, bạn chỉ được cấp phép để sử dụng Phần mềm cho mục đích đánh giá và trong các hạn chế được mô tả (chẳng hạn như giới hạn thời gian hoặc số lần chạy giới hạn hoặc các giới hạn khác). Phần mềm có thể hoặc không cố gắng thực thi các hạn chế đã nêu và việc Phần mềm không thực thi các hạn chế đã nêu không cấu thành giấy phép cho bạn vượt ra ngoài các hạn chế đã nêu.

2.8 Bạn chỉ đồng ý nhận bất kỳ khóa đăng ký/cấp phép cần thiết nào từ Qiagen hoặc nhà phân phối được ủy quyền và giữ bí mật tuyệt đối khóa đó với tất cả các bên thứ ba.

3. Chấm dứt

3.1 Nếu bạn không tuân thủ các điều khoản và điều kiện của giấy phép này, Qiagen có thể chấm dứt giấy phép này mà không tồn tại đến bất kỳ quyền nào khác.

3.2 Trong vòng 7 ngày kể từ ngày chấm dứt giấy phép này, bạn phải gửi cho Qiagen một lá thư chứng thực việc hủy bản gốc và bất kỳ bản sao nào của Phần mềm cũng như việc hủy tất cả các bản sao của bất kỳ khóa đăng ký/cấp phép nào. Bạn có thể chấm dứt giấy phép này bất kỳ lúc nào bằng cách cung cấp xác nhận đó.

4. Bảo hành/Trách nhiệm Có giới hạn

4.1 Qiagen chỉ đảm bảo với bạn rằng:

a) Nếu phần mềm được cung cấp trên CD-ROM, CD-ROM sẽ không có khiếm khuyết về vật liệu và tay nghề trong điều kiện sử dụng bình thường trong thời gian chín mươi ngày kể từ ngày mua. (Chúng tôi sẽ thay thế miễn phí bất kỳ CD-ROM nào bị lỗi.)

b) Nếu được sử dụng đúng cách, về cơ bản Phần mềm sẽ tuân thủ tài liệu được cung cấp kèm theo Phần mềm hoặc thông số kỹ thuật khác do Qiagen xuất bản trong khoảng thời gian chín mươi ngày kể từ ngày mua.

4.2 Toàn bộ trách nhiệm pháp lý của Qiagen và biện pháp khắc phục độc quyền của bạn sẽ do Qiagen lựa chọn, hoặc bồi thường trị giá hai trăm năm mươi đô la Mỹ (250 US\$) hoặc thay thế Phần mềm không đáp ứng bảo hành có giới hạn.

4.3 NGOẠI TRỪ CÁC ĐẢM BẢO ĐƯỢC ĐƯA RA TRONG PHẦN 4.1 Ở TRÊN VÀ TRONG PHẠM VI TỐI ĐA ĐƯỢC PHÁP LUẬT CHO PHÉP, QIAGEN KHÔNG ĐƯA RA ĐẢM BẢO NÀO KHÁC ĐỐI VỚI PHẦN MỀM.

4.4 TRONG PHẠM VI TỐI ĐA ĐƯỢC PHÁP LUẬT CHO PHÉP VÀ TRONG MỌI TRƯỜNG HỢP VÀ KHÔNG THEO LÝ THUYẾT PHÁP LÝ NÀO, SAI LẦM, HỢP ĐỒNG, HOẶC THEO CÁCH KHÁC, QIAGEN SẼ CHỊU TRÁCH NHIỆM PHÁP LÝ ĐỐI VỚI BẠN HOẶC BẤT KỲ NGƯỜI NÀO KHÁC VỀ BẤT KỲ THIỆT HẠI GIÁN TIẾP, ĐẶC BIỆT, NGẪU NHIÊN HOẶC DO HẬU QUẢ THUỘC BẤT KỲ LOẠI NÀO BAO GỒM NHƯNG KHÔNG GIỚI HẠN TRONG THIỆT HẠI DO MẮT THIỆN CHÍ, NGỪNG VIỆC, HỒNG HÓC HOẶC TRỰC TRẮC MÁY TÍNH, HOẶC BẤT KỲ VÀ TẤT CẢ CÁC THIỆT HẠI HOẶC TỔN THÁT THƯƠNG MẠI KHÁC, NGAY CẢ KHI QUIAGEN SẼ ĐƯỢC THÔNG BÁO VỀ KHẢ NĂNG XÂY RA NHỮNG THIỆT HẠI ĐÓ. TRONG MỌI TRƯỜNG HỢP, TOÀN BỘ TRÁCH NHIỆM PHÁP LÝ CỦA QIAGEN THEO THỎA THUẬN NÀY SẼ ĐƯỢC GIỚI HẠN TRONG KHOẢN PHÍ CẤP PHÉP MÀ BẠN TRẢ CHO PHẦN MỀM. GIỚI HẠN TRÁCH NHIỆM NÀY SẼ KHÔNG ÁP DỤNG CHO TRÁCH NHIỆM ĐỐI VỚI TỬ VONG HOẶC THƯƠNG TẬT CÁ NHÂN TRONG PHẠM VI LUẬT HIỆN HÀNH CẨM GIỚI HẠN ĐÓ

15 Phụ lục B – Kỹ thuật Toán học

Phụ lục này mô tả chi tiết hơn các kỹ thuật toán học được sử dụng.

15.1 Định lượng

Nồng độ tính toán thu được từ một mô hình hồi quy tuyến tính đơn giản, với các giá trị đã biết là nồng độ log (x) và giá trị thực nghiệm là giá trị CT (y).

Nồng độ log và giá trị CT của các chất chuẩn được sử dụng để xây dựng mô hình ở dạng:

$$y = Mx + B$$

15.1.1 Khoảng tin cậy cho các nồng độ được tính toán

Chúng tôi sử dụng khoảng tin cậy $100(1 - \alpha)\%$ sau đây để ước tính một quan sát mới x_0 từ đường chuẩn.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}}\right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2,\alpha/2}$$

Đây là khoảng tin cậy cho nồng độ của một ẩn số duy nhất.

Giả sử bây giờ chúng ta có k quan sát thêm tại $x = x_0$ và chúng ta biểu thị giá trị trung bình của chúng bằng \bar{Y}_0 . Thì,

$$\bar{Y}_0 \sim N(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k})$$

và các đối số tương tự như trên cho

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}}\right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2,\alpha/2}$$

Công thức này cho biết cách xác định khoảng tin cậy đối với nồng độ của ẩn số lặp lại.

Để ước tính các chất chuẩn, có thể thu được khoảng tin cậy khít hơn:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2,\alpha/2}$$

Hàm ý của công thức này là việc thêm các bản sao vào nồng độ một chất chuẩn riêng lẻ sẽ làm giảm độ rộng của khoảng cho tất cả các ước tính, khi n tăng lên. Việc thêm một số lượng lớn các bản sao vào một chất chuẩn chưa biết sẽ làm giảm độ không chắc chắn của nó so với một chất chuẩn duy nhất. Các bản sao bổ sung làm giảm độ không chắc chắn do phần chưa biết không hình thành của mô hình tuyến tính.

15.1.2 Khoảng tin cậy cho giá trị CT

Chúng tôi giả định rằng lỗi trong các giá trị CT lặp lại là tuyến tính và được phân phối bình thường.

Do đó, chúng tôi sử dụng Khoảng Tin cậy t Một Mẫu. Gọi μ là giá trị trung bình cho các giá trị CT của một bản sao $(x_0 \dots x_{n-1})$. Khi đó, khoảng tin cậy $100(1-\alpha)\%$ cho giá trị CT μ là:

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2,n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2,n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Chúng tôi muốn cảm ơn Peter Cook từ Khoa Toán học của Đại học NSW, Sydney, Úc, đã giúp chúng tôi xác minh các phương pháp toán học được sử dụng.

16 Thông tin Đặt hàng

16.1 Các sản phẩm, phụ kiện và vật tư tiêu hao của Rotor-Gene Q MDx

Sản phẩm	Mục lục	Số danh mục
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Máy luân nhiệt real-time PCR với 5 kênh (xanh lá, vàng, cam, đỏ, đỏ thẫm), máy tính xách tay, phần mềm, phụ kiện, bảo hành 1 năm đối với các bộ phận và nhân công	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Máy luân nhiệt real-time PCR và Máy phân tích High Resolution Melt với 5 kênh (xanh lá, vàng, cam, đỏ, đỏ thẫm) cộng với kênh HRM, máy tính xách tay, phần mềm, phụ kiện, bảo hành 1 năm đối với các bộ phận và nhân công	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Máy luân nhiệt real-time PCR với 6 kênh (xanh dương, xanh lá, vàng, cam, đỏ, đỏ thẫm), bao gồm máy tính xách tay, phần mềm, phụ kiện, bảo hành 1 năm đối với các bộ phận và nhân công	9002042
Phụ kiện		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Bộ dụng cụ bao gồm: 2 gói Rotor-Disc 100, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor và Locking Ring, Rotor-Disc 100 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Hỏi thông tin
Rotor-Disc 100 (30)	30 đĩa được gói riêng cho 3000 phản ứng	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 đĩa được gói riêng cho 30.000 phản ứng	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	Để giữ đĩa Rotor-Disc 100 trong Rotor-Gene Q MDx; cần có Rotor-Disc 100 Locking Ring	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	Để khóa Rotor-Disc 100 trong Rotor-Disc 100 Rotor	9018896

Sản phẩm	Mục lục	Số danh mục
Rotor-Disc 100 Loading Block	Khối nhôm để thiết lập phản ứng thủ công và tự động trong đĩa Rotor-Disc 100	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Hỗ trợ đánh dấu chính xác trong quá trình thiết lập phản ứng thủ công trên Rotor-Disc Loading Block	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Dụng cụ bít kín nhiệt để sử dụng với Rotor-Discs; yêu cầu Rotor-Disc 72 hoặc 100 Loading Block	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 màng để bít kín các đĩa Rotor-Disc 100 hoặc Rotor-Disc 72	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	Màng 10 x 60 để bít kín các đĩa Rotor-Disc 100 hoặc Rotor-Disc 72	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Bộ dụng cụ bao gồm: 3 gói Rotor-Disc 72, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 Rotor và Locking Ring, Rotor-Disc 72 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Hồi thông tin
Rotor-Disc 72 (24)	24 đĩa được gói riêng cho 1728 phản ứng	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 đĩa được gói riêng cho 17.280 phản ứng	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	Để giữ đĩa Rotor-Disc 72 trong Rotor-Gene Q MDx; cần có Rotor-Disc 72 Locking Ring	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	Để khóa Rotor-Disc 72 trong Rotor-Disc 72 Rotor	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Khối nhôm để thiết lập phản ứng thủ công và tự động trong đĩa Rotor-Disc 72	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 dài, mỗi dài 4 ống và nắp cho 1.000 phản ứng	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 dài, mỗi dài 4 ống và nắp cho 10.000 phản ứng	981106
72-Well Rotor	Để giữ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml; yêu cầu Locking Ring 72-Well Rotor	9018903

Sản phẩm	Mục lục	Số danh mục
Locking Ring 72-Well Rotor	Để khóa Strip Tubes and Caps, 0.1 ml trong 72-Well Rotor	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Khối nhôm cho thiết lập phản ứng thủ công với pipet một kênh trong 72 x ống 0,1 ml	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Khối nhôm cho thiết lập phản ứng với pipet đa kênh trong 72 x ống 0,1 ml	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1.000 ống thành mỏng cho 1.000 phản ứng	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 ống thành mỏng cho 10.000 phản ứng	981008
36-Well Rotor	Để giữ PCR Tubes, 0.2 ml; yêu cầu 36-Well Rotor Locking Ring	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	Để khóa PCR Tubes, 0.2 ml trong 36-Well Rotor	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Khối nhôm cho thiết lập phản ứng thủ công trong dây 8 x 12 tiêu chuẩn sử dụng 96 x ống 0,2 ml	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Bộ dụng cụ để xác minh nhiệt độ quang học của hệ thống Rotor-Gene, bao gồm Rotor-Disc được nạp trước với tinh thể lỏng nhiệt sắc, bộ chèn huỳnh quang, yêu cầu Rotor-Disc 72 Rotor và Locking Ring hoặc Rotor-Disc 72 Starter Kit	981400
Rotor Holder	Giá đỡ độc lập bằng kim loại để lắp các ống và Rotor-Discs vào các rôto	9018908

Để biết thông tin cập nhật về cấp phép và tuyên bố từ chối trách nhiệm cụ thể theo sản phẩm, xem sổ tay hoặc hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN tương ứng. Sổ tay và hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN có sẵn tại www.qiagen.com hoặc có thể được yêu cầu từ bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN hoặc nhà phân phối tại địa phương của bạn.

17 Lịch sử Sửa đổi Tài liệu

Ngày	Sửa đổi
R1, Tháng 2 năm 2022	Phát hành lần đầu

Thỏa thuận Cấp phép Có giới hạn cho Rotor-Gene Q MDx

Việc sử dụng sản phẩm này biểu thị thỏa thuận của bất kỳ người mua hoặc người dùng sản phẩm nào với các điều khoản sau:

1. Sản phẩm chỉ có thể được sử dụng theo các quy trình được cung cấp kèm theo sản phẩm và hướng dẫn sử dụng này và chỉ được sử dụng với các thành phần có trong bộ dụng cụ. QIAGEN không cấp giấy phép theo bất kỳ tài sản sở hữu trí tuệ nào để sử dụng hoặc kết hợp các thành phần kèm theo của bộ dụng cụ này với bất kỳ thành phần nào không có trong bộ dụng cụ này trừ khi được mô tả trong các quy trình được cung cấp cùng với sản phẩm, hướng dẫn sử dụng này và các quy trình bổ sung có sẵn tại www.qiagen.com. Một số giao thức bổ sung này đã được người dùng QIAGEN cung cấp cho người dùng QIAGEN. Các giao thức này chưa được QIAGEN kiểm tra kỹ lưỡng hoặc tối ưu hóa. QIAGEN không bảo hành chúng cũng không đảm bảo rằng chúng không vi phạm các quyền của bên thứ ba.
2. Ngoài các giấy phép được nêu rõ ràng, QIAGEN không bảo đảm rằng bộ dụng cụ này và/hoặc (các) công dụng của nó không vi phạm các quyền của bên thứ ba.
3. Bộ dụng cụ này và các thành phần của bộ dụng cụ được cấp phép sử dụng một lần và không được tái sử dụng, tôn trọng hoặc bán lại.
4. QIAGEN đặc biệt từ chối bất kỳ giấy phép nào khác, được thể hiện rõ ràng hoặc ngoài những giấy phép được nêu.
5. Người mua và người dùng bộ dụng cụ này đồng ý không thực hiện hoặc cho phép bất kỳ ai khác thực hiện các bước có thể dẫn đến hoặc tạo điều kiện cho bất kỳ hành vi nào bị cấm ở trên. QIAGEN có thể thực thi các lệnh cấm của Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế này tại bất kỳ Tòa án nào và sẽ thu hồi tất cả các chi phí điều tra và Tòa án, bao gồm phí luật sư, trong bất kỳ hành động nào để thực thi Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế này hoặc bất kỳ quyền sở hữu trí tuệ nào liên quan đến bộ dụng cụ và/hoặc các thành phần của nó.

Để biết các điều khoản cấp phép được cập nhật, hãy truy cập www.qiagen.com

Nhân hiệu: QIAGEN®, Sample to Insight®, EpiTect®, HotStarTaq®, Rotor-Disc®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager®, Type-it® (Tập đoàn QIAGEN); Adobe®, Illustrator® (Adobe Systems, Inc.); Alexa Fluor®, HEX™, JOETM, Marina Blue®, ROX™, SYBR®, SYTO®, TET™, Texas Red®, VIC® (Thermo Fisher Scientific hoặc các công ty con); CAL Fluor®, Quasar® (Biosearch Technologies, Inc.); Core™, Intel® (Intel Corporation); Cy® (GE Healthcare); EvaGreen® (Biotium, Inc.); Excel®, Microsoft®, Windows® (Microsoft Corporation); LC Green® (Idaho Technology, Inc.); LightCycler® (Roche Group); Symantec® (Symantec Corporation); TeeChart® (Steema Software SL); Yakima Yellow® (Nanogen, Inc.). Các tên, nhãn hiệu, v.v. đã đăng ký được sử dụng trong tài liệu này, kể cả khi không được đánh dấu cụ thể như vậy được coi là được bảo vệ pháp lý. Các tên, nhãn hiệu, v.v. đã đăng ký được sử dụng trong tài liệu này, kể cả khi không được đánh dấu cụ thể như vậy được coi là được bảo vệ về pháp lý.

TeeChartOffice: Bản quyền 2001-2013 của David Berneda. Tất cả quyền được bảo lưu.

Đối với các quốc gia áp dụng:

Máy luân nhiệt thời gian thực này được cấp phép theo các quyền Bằng sáng chế của Hoa Kỳ đang chờ phê duyệt cho một thiết bị hoặc hệ thống bao gồm máy luân nhiệt tự động với máy đo huỳnh quang và tìm kiếm quyền ưu tiên đối với Sê-ri Hoa Kỳ số 07/695.201 và các yêu cầu tương ứng trong bất kỳ bằng sáng chế đối tác nước ngoài nào thuộc sở hữu của Applied Biosystems LLC, trong tất cả các lĩnh vực, bao gồm nghiên cứu và phát triển, tất cả các lĩnh vực ứng dụng, và chẩn đoán trong ống nghiệm cho người và động vật. Không có quyền nào được chuyển tài rõ ràng, ngay hoặc khuyến khích đối với bất kỳ bằng sáng chế nào về phương pháp thời gian thực, bao gồm nhưng không giới hạn ở 5' xét nghiệm nuclease, hoặc bất kỳ bằng sáng chế nào yêu cầu thuốc thử hoặc bộ dụng cụ. Để biết thêm thông tin về việc mua các quyền bổ sung, hãy liên hệ với Giám đốc Cấp phép tại Applied Biosystems, 850 Lincoln Center Drive, Thành phố Foster, California, 94404, Hoa Kỳ.

Đối với các quốc gia áp dụng:

Mua sản phẩm này bao gồm giấy phép có giới hạn, không thể chuyển nhượng cho một hoặc nhiều Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 6,787,338; 7,238,321; 7,081,226; 6,174,670; 6,245,514; 6,569,627; 6,303,305; 6,503,720; 5,871,908; 6,691,041; 7,387,887; 7,273,749; 7,160,998; Đơn xin cấp Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 2003-0224434 và 2006-0019253, và Đơn xin cấp Bằng sáng chế PCT số WO 2007/035806, và tất cả các phần mở rộng và phần thu nhỏ cũng như các tuyên bố tương ứng trong các bằng sáng chế và đơn xin cấp bằng sáng chế bên ngoài Hoa Kỳ, thuộc sở hữu của Quý nghiên cứu Đại học Utah, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH và/hoặc Roche Diagnostics GmbH chỉ dành cho chẩn đoán trong ống nghiệm cho người hoặc động vật. Không có quyền nào được chuyển nhượng, rõ ràng, theo hàm ý hoặc gọi ý, đối với bất kỳ thuốc thử hoặc bộ dụng cụ nào, hoặc theo bất kỳ bằng sáng chế hoặc yêu cầu bằng sáng chế nào khác thuộc sở hữu của Quý nghiên cứu Đại học Utah, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH hoặc bởi bất kỳ Bên nào khác. Sản phẩm này chỉ có thể được vận hành với các thuốc thử được ủy quyền như bộ dụng cụ và xét nghiệm QIAGEN được cấp phép đầy đủ. Để biết thông tin về việc mua giấy phép cho các ứng dụng hoặc thuốc thử chẩn đoán trong ống nghiệm, vui lòng liên hệ Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, Hoa Kỳ.

HB-3090-001 02/2022 © 2022 QIAGEN, tất cả quyền được bảo lưu.

Đặt hàng www.qiagen.com/contact | Hỗ trợ Kỹ thuật support.qiagen.com | Trang web www.qiagen.com