

Februar 2022

Rotor-Gene® Q MDx CE Benutzerhandbuch



IVD

CE

REF

9002022, 9002032, 9002042



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, DEUTSCHLAND

R1

Inhalt

1	Einleitung	8
1.1	Über dieses Benutzerhandbuch	8
1.2	Allgemeine Informationen	9
1.2.1	Technischer Service	9
1.2.2	Grundsatzerklärung	9
1.2.3	Versionsmanagement	10
1.3	Verwendungszweck des Rotor-Gene Q MDx	10
1.3.1	Anforderungen des Rotor-Gene Q MDx	10
1.4	Benötigtes Material	11
1.5	Zusätzlich benötigtes Material	11
2	Sicherheitshinweise	12
2.1	Sachgemäße Handhabung	13
2.2	Elektrische Sicherheit	15
2.3	Biologische Sicherheit	16
2.4	Chemische Sicherheit	18
2.5	Abfallentsorgung	18
2.6	Gefahr durch mechanische Teile	19
2.7	Wartungssicherheit	20
2.8	Symbole auf dem Rotor-Gene Q MDx	22
3	Allgemeine Beschreibung	23
3.1	Funktionsprinzip des Rotor-Gene Q MDx	23
3.1.1	Thermische Leistungen	23
3.1.2	Optisches System	24
3.1.3	Verfügbare Kanäle	25
3.2	Externe Merkmale des Rotor-Gene Q MDx	26
3.2.1	Lüftungsöffnungen im Deckel	26
3.2.2	Deckelgriff	26
3.2.3	Rotorkammer	26
3.2.4	Geräte-Statusleuchten	26

3.3	Interne Merkmale des Rotor-Gene Q MDx	27
3.3.1	Rotornabe.....	27
3.3.2	Optische Linse.....	27
	Die optische Linse fokussiert das Anregungslicht von der Diode auf die Röhren.	27
4	Installationsverfahren	28
4.1	Auslieferung und Installation des Systems	28
4.1.1	Entpacken des Rotor-Gene Q MDx	28
4.1.2	Installation der Hardware	29
4.1.3	Software-Installation.....	30
4.1.4	Softwareversion.....	33
4.1.5	Weitere Software auf Computern, die mit Rotor-Gene Q MDx Geräten verbunden sind	33
4.2	Standortanforderungen	40
4.3	Netzstromanschluss	41
4.3.1	Netzstromanforderungen	41
4.3.2	Anforderungen an die Erdung.....	41
4.3.3	Installation des Netzkabels	41
4.4	Konfigurationen für die Sicherheit von Windows	41
4.5	Anforderungen an die Arbeitsstation.....	43
4.6	Entpacken und Installieren des Rotor-Gene Q MDx.....	44
4.6.1	Softwareupgrade.....	45
4.7	Zubehör	45
4.8	Erneutes Verpacken und Versenden des Rotor-Gene Q MDx.....	45
4.9	Erste Schritte	45
4.9.1	Einschalten des Rotor-Gene Q MDx und der Arbeitsstation	45
5	Allgemeiner Betriebsablauf.....	46
5.1	Verwenden der Rotor-Gene Q MDx Software.....	46
5.1.1	Schnellstart-Assistent.....	46
5.1.2	Erweiterter Assistent	50
5.2	Verwendung der Rotor-Gene Q MDx Hardware.....	69
5.2.1	Rotortypen	69

5.2.2	Reaktionsansatz	72
5.2.3	Einrichtung von Rotor-Discs	75
6	Benutzeroberfläche für die Analyse	79
6.1	Arbeitsbereich	79
6.2	Symbolleiste	79
6.3	Rohdatenkanäle anzeigen	79
6.4	Proben umschalten	80
6.5	Dateimenü	82
6.5.1	Neu	82
6.5.2	Öffnen und speichern	84
6.5.3	Berichte	85
6.5.4	Einrichtung	86
6.6	Analysemenü	86
6.6.1	Analyse	86
6.6.2	Quantifizierung	88
6.6.3	Zwei Standardkurven	101
6.6.4	Relative Quantifizierung mit Delta-Delta-C _T	105
6.6.5	Schmelzkurvenanalyse	108
6.6.6	Vergleichende Quantifizierung	111
6.6.7	Allelische Diskriminierung	113
6.6.8	Streuungsdiagrammanalyse	115
6.6.9	EndPoint-Analyse	117
6.6.10	Konzentrationsanalyse	124
6.6.11	High Resolution Melt-Analyse	126
6.7	Laufmenü	127
6.7.1	Lauf starten	127
6.7.2	Lauf unterbrechen	128
6.7.3	Lauf abbrechen	128
6.8	Ansichtsmenü	128
6.8.1	Laufeinstellungen	128
6.8.2	Temperaturdiagramm	132

6.8.3	Profilfortschritt	133
6.8.4	Proben bearbeiten	133
6.8.5	Anzeigeoptionen	140
6.9	Zugriffsschutz der Rotor-Gene Q Software	140
6.9.1	Konfigurationen für Windows 7	142
6.9.2	Konfigurationen für Windows 10	147
6.9.3	Mehrere Benutzer auf einem Computer	149
6.9.4	Audit-Trails.....	150
6.9.5	Signaturen verwenden	152
6.9.6	Probensperrung	153
6.9.7	Gespernte Vorlagen	155
6.10	Verstärkungsmenü	155
6.11	Fenstermenü.....	156
6.12	Hilfefunktion.....	156
6.12.1	Send Support E-Mail (Support-E-Mail senden)	157
7	Zusätzliche Funktionen	161
7.1	Analysevorlagen	161
7.2	Öffnen eines zweiten Laufs	161
7.3	Maßstabsoptionen	161
7.4	Exportieren von Diagrammen.....	162
7.5	Schraub Schlüssel-Symbol	165
7.6	Optionen für ausgewählte Bereiche	166
8	Wartung	167
8.1	Reinigen der Oberfläche des Rotor-Gene Q MDx.....	167
8.2	Dekontaminieren der Oberfläche des Rotor-Gene Q MDx	168
8.3	Reparatur von Rotor-Gene Q.....	168
9	Optische Temperaturverifizierung.....	169
9.1	Das Prinzip der OTV.....	169
9.2	Komponenten des Rotor-Disc OTV Kits.....	169
9.3	Durchführen einer OTV.....	170
10	High Resolution Melt-Analyse.....	173

10.1	Geräte	174
10.2	Reaktionschemie.....	175
10.3	Beispiel für SNP-Genotypisierung	175
10.4	Beispiel für eine Methylierungsanalyse	177
10.5	Hinweise für erfolgreiche HRM-Analysen	178
10.6	Probenvorbereitung	180
10.7	Einrichtung der Software	180
10.8	Real-Time-PCR-Enzyme und -Kits.....	186
10.9	HRM-Datenanalyse	187
11	Fehlerbehebung	191
11.1	Log-Archivdateien	192
11.2	Hardware- und Softwarefehler	192
11.2.1	Fehlerbehebung beim HRM	192
11.3	Fehler- und Warnmeldungen	193
11.3.1	Allgemeine Gerätefehler.....	193
11.3.2	Meldungen der Rotor-Gene Q Software	196
12	Glossar	201
13	Technische Daten	202
13.1	Umweltbedingungen – Betriebsbedingungen.....	202
13.2	Transportbedingungen	202
13.3	Lagerungsbedingungen	202
13.4	Mechanische Daten und Ausstattungsmerkmale	202
13.5	Spezifikationen (Hardware und Software)	203
13.5.1	Thermische Spezifikationen.....	203
13.5.2	Optische Spezifikationen.....	203
14	Anhang A – Rechtliches	204
14.1	FCC-Erklärung.....	204
14.2	Konformität mit IEC EN 61326	205
14.3	Konformitätserklärung	206
14.4	Elektro- und Elektronik-Altgeräte (WEEE)	207
14.5	Haftungsausschlussklausel.....	208

14.6	Software-Lizenzvereinbarung	209
15	Anhang B – Mathematische Techniken.....	212
15.1	Quantifizierung	212
15.1.1	Konfidenzintervalle der berechneten Konzentrationen	212
15.1.2	Konfidenzintervalle für C _T -Werte.....	213
16	Bestellinformationen	214
16.1	Rotor-Gene Q MDx Produkte, Zubehör und Verbrauchsmaterialien.....	214
17	Bearbeitungshistorie des Dokuments	217

1 Einleitung

Vielen Dank, dass Sie sich für den Rotor-Gene Q MDx entschieden haben. Wir sind der festen Überzeugung, dass er zu einem integralen Bestandteil Ihres Labors werden wird.

Vor der Verwendung des Rotor-Gene Q MDx sollten Sie dieses Handbuch sorgfältig durchlesen – beachten Sie insbesondere die Sicherheitshinweise. Die Anweisungen und Sicherheitshinweise in diesem Benutzerhandbuch müssen vom Benutzer befolgt werden, um einen sicheren Betrieb des Geräts zu gewährleisten und den sicheren Gerätezustand zu erhalten.

Hinweis: Der Rotor-Gene Q MDx ist in mehreren Konfigurationen erhältlich. Weiterführende Hinweise einschließlich der Bestellinformationen finden Sie im Abschnitt 16.

1.1 Über dieses Benutzerhandbuch

Dieses Benutzerhandbuch mit Informationen zum Rotor-Gene Q MDx ist in folgende Kapitel gegliedert:

- Einleitung
- Sicherheitshinweise
- Allgemeine Beschreibung
- Installationsverfahren
- Allgemeiner Betriebsablauf
- Wartung
- Fehlerbehebung
- Technische Daten
- Anhänge

Die Anhänge enthalten Folgendes:

- Anhang A – Rechtliches
- Anhang B – Mathematische Techniken

1.2 Allgemeine Informationen

1.2.1 Technischer Service

Bei QIAGEN® legen wir besonderen Wert auf eine hohe Qualität und Verfügbarkeit unseres Technischen Service. In unseren Serviceabteilungen arbeiten erfahrene Wissenschaftler mit umfassendem praktischem und theoretischem Fachwissen in der Molekularbiologie und der Anwendung von QIAGEN Produkten. Bei Fragen zum Rotor-Gene Q MDx oder zu anderen QIAGEN Produkten oder bei Schwierigkeiten können Sie sich gerne an uns wenden.

QIAGEN Kunden sind eine wichtige Informationsquelle hinsichtlich weitergehender oder spezialisierter Anwendungen. Diese Informationen sind sowohl für andere Wissenschaftler als auch für die Forscher von QIAGEN von Nutzen. Melden Sie sich bei uns; Ihre Vorschläge und Ideen zu unseren Produkten und zu neuen Anwendungen und Techniken interessieren uns.

Wenn Sie technische Unterstützung benötigen, kontaktieren Sie den Technischen Service von QIAGEN.

Aktuelle Informationen über den Rotor-Gene Q MDx finden Sie auf unserer Website unter <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>.

Website: support.qiagen.com

Wenn Sie den Technischen Service von QIAGEN wegen eines Fehlers kontaktieren, halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit:

- Seriennummer, Typ und Version des Rotor-Gene Q MDx
- Fehlercode (falls vorhanden)
- Zeitpunkt, an dem der Fehler zum ersten Mal auftrat
- Häufigkeit, mit der der Fehler auftritt (d. h. vorübergehend auftretender oder dauerhafter Fehler)
- Kopien von Logdateien

1.2.2 Grundsatzklärung

Es ist allgemeine Vorgehensweise bei QIAGEN, die Produkte zu verbessern, wenn neue Techniken und Komponenten verfügbar werden. QIAGEN behält sich das Recht vor, jederzeit technische Änderungen vorzunehmen. Wir unternehmen große Anstrengungen, eine hilfreiche und kundengerechte Dokumentation bereitzustellen und freuen uns daher über Ihre Kommentare zu diesem Benutzerhandbuch. Wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von QIAGEN.

1.2.3 Versionsmanagement

Bei dem vorliegenden Dokument handelt es sich um das *Rotor-Gene Q MDx Benutzerhandbuch*, Revision R1, für Rotor-Gene Q MDx Geräte mit der Rotor-Gene Q Software Version 2.3.x (wobei x eine Zahl ab 0 ist).

1.3 Verwendungszweck des Rotor-Gene Q MDx

Der Rotor-Gene Q MDx ist ein Thermocycler und dient zum Nachweis und/oder zur Quantifizierung von Real-Time-Polymerase-Kettenreaktionen (Polymerase Chain Reaction, PCR) im Rahmen klinischer Anwendungen.

Der Rotor-Gene Q MDx ist ausschließlich zur Verwendung in Kombination mit den für dieses Gerät geeigneten QIAGEN Kits und im Rahmen der in den zugehörigen QIAGEN Kit-Handbüchern beschriebenen Anwendungen vorgesehen.

Wenn der Rotor-Gene Q MDx mit anderen Kits als den QIAGEN Kits verwendet wird, ist der Benutzer für die Validierung der Leistung einer solchen Produktkombination für jede spezifische Anwendung verantwortlich.

Der Rotor-Gene Q MDx ist für den in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

Der Rotor-Gene Q MDx ist zum Gebrauch durch entsprechend ausgebildete Anwender bestimmt, wie beispielsweise Ärzte und medizinisch- oder biologisch-technische Assistenten, die in molekularbiologischen Methoden und der Bedienung des Rotor-Gene Q MDx geschult wurden.

1.3.1 Anforderungen des Rotor-Gene Q MDx

In der folgenden Tabelle wird zusammengefasst, über welche allgemeinen Kompetenzen und Erfahrungen das für Transport, Installation, Gebrauch, Wartung und Instandhaltung des Rotor-Gene Q MDx zuständige Personal verfügen sollte.

Aufgabe	Personal	Schulung und Erfahrung
Transport/Lieferung	keine besonderen Anforderungen	keine besonderen Anforderungen
Installation	Labortechniker oder vergleichbar	angemessen geschultes und erfahrenes Personal, das im Umgang mit Computern und Geräten der Laborautomation geübt ist
Routinebetrieb (Protokollläufe)	Labortechniker oder vergleichbar	ausgebildete Anwender, z. B. Ärzte und medizinisch- oder biologisch-technische Assistenten, die in molekularbiologischen Methoden geschult sind
Routinemäßige Wartung	Labortechniker oder vergleichbar	ausgebildete Anwender, z. B. Ärzte und medizinisch- oder biologisch-technische Assistenten, die in molekularbiologischen Methoden geschult sind
Instandhaltung und jährliche Wartung	nur Außendienst-Spezialisten von QIAGEN	autorisierte QIAGEN Mitarbeiter, die regelmäßig geschult und geprüft werden

1.4 Benötigtes Material

Hinweis: Verwenden Sie ausschließlich Zubehör von QIAGEN.

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

1.5 Zusätzlich benötigtes Material

- Schutzbrille
- Schutzhandschuhe
- Labormantel

Zur Verwendung des Rotor-Gene Q MDx ist ein PCR-Kit erforderlich. Dieses Kit muss separat erworben werden. Entdecken Sie das Gesamtangebot an Kits auf [QIAGEN.com](https://www.qiagen.com).

2 Sicherheitshinweise

Vor der Verwendung des Rotor-Gene Q MDx sollten Sie dieses Handbuch sorgfältig durchlesen – beachten Sie insbesondere die Sicherheitshinweise. Die Anweisungen und Sicherheitshinweise in diesem Benutzerhandbuch müssen vom Benutzer befolgt werden, um einen sicheren Betrieb des Geräts zu gewährleisten und den sicheren Gerätezustand zu erhalten.

Im *Rotor-Gene Q MDx Benutzerhandbuch* werden die folgenden Kategorien von Sicherheitshinweisen verwendet:

WARNUNG 	Der Begriff WARNUNG wird verwendet, um Sie über Situationen zu informieren, in denen eine Verletzungsgefahr für Sie oder andere besteht. Nähere Einzelheiten über diese Situationen werden in einem Textfeld wie diesem beschrieben.
---	---

VORSICHT 	Der Begriff VORSICHT weist auf Situationen hin, in denen die Gefahr einer Beschädigung eines Geräts oder anderer Gegenstände besteht. Nähere Einzelheiten über diese Situationen werden in einem Textfeld wie diesem beschrieben.
--	--

Die in diesem Benutzerhandbuch enthaltenen Hinweise sollen die im jeweiligen Land des Benutzers geltenden Sicherheitsbestimmungen nicht ersetzen, sondern lediglich ergänzen.

Bitte beachten Sie, dass Sie ggf. verpflichtet sind, Ihre lokalen Vorschriften zur Meldung schwerwiegender Vorfälle, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, an den Hersteller, seinen autorisierte Vertreter und die Regulierungsbehörde, welcher der Anwender und/oder der Patient unterliegt, zu konsultieren.

2.1 Sachgemäße Handhabung

WARNUNG 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Die unsachgemäße Anwendung des Rotor-Gene Q MDx kann zu Verletzungen des Benutzers oder zur Beschädigung des Geräts führen. Die Bedienung des Rotor-Gene Q MDx darf nur durch qualifiziertes, entsprechend geschultes Personal erfolgen. Die Instandhaltung des Rotor-Gene Q MDx darf nur von einem Außendienst-Spezialisten von QIAGEN durchgeführt werden.
---	---

Führen Sie die Wartungsarbeiten gemäß den Anweisungen in Abschnitt 8 durch. QIAGEN stellt Reparaturen, die auf nicht fachgerecht durchgeführte Wartungsmaßnahmen zurückzuführen sind, in Rechnung.

WARNUNG 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Der Rotor-Gene Q MDx ist sehr schwer und kann nicht von einer Einzelperson angehoben werden. Heben Sie das Gerät nicht allein an, um eine Verletzung und/oder Beschädigung des Geräts zu vermeiden. Wenden Sie sich zur Umstellung des Geräts an den Technischen Service von QIAGEN.
---	--

WARNUNG 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Bewegen Sie den Rotor-Gene Q MDx auf keinen Fall während des Betriebs.
---	---

VORSICHT 	Beschädigung des Geräts Verschütten Sie kein Wasser oder Chemikalien auf dem Rotor-Gene Q MDx. Durch verschüttetes Wasser oder verschüttete Chemikalien verursachte Schäden führen zum Erlöschen der Garantie.
--	--

Hinweis: Schalten Sie den Rotor-Gene Q MDx im Notfall am Netzschalter auf der Geräterückseite aus und ziehen Sie den Netzstecker aus der Netzsteckdose.

VORSICHT 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Versuchen Sie nicht, den Deckel zu öffnen, während ein Experiment läuft oder der Rotor-Gene Q MDx sich noch dreht. Wenn Sie dennoch die Deckelsperre außer Kraft setzen und in das Geräteinnere fassen, besteht die Gefahr, dass Sie Geräteteile berühren, die heiß oder elektrisch geladen sind oder sich mit hoher Geschwindigkeit drehen, und Sie könnten sich selbst verletzen oder das Gerät beschädigen.
--	---

VORSICHT 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Wenn Sie ein Experiment schnell beenden müssen, schalten Sie die Stromversorgung des Geräts ab, und öffnen Sie erst dann den Deckel. Lassen Sie die Kammer abkühlen, bevor Sie hinein fassen. Andernfalls besteht die Gefahr, dass Sie sich beim Berühren heißer Teile verletzen.
--	--

VORSICHT 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Wenn das Gerät anders verwendet wird als vom Hersteller angegeben, können die Schutzvorrichtungen des Geräts beeinträchtigt werden.
--	--

VORSICHT 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Loses Papier unter dem Rotor-Gene Q MDx behindert die Kühlung des Geräts. Es wird empfohlen, den Bereich unter dem Gerät frei und ordentlich zu halten.
--	--

VORSICHT 	Beschädigung des Geräts Verwenden Sie immer einen Schließring am Rotor. Dadurch wird verhindert, dass sich Deckel während eines Experiments von den Röhren lösen. Wenn sich Deckel während eines Experiments lösen, könnten sie die Kammer beschädigen.
--	---

<p>VORSICHT</p> 	<p>Gefahr von Materialbeschädigungen</p> <p>Vor jedem Lauf müssen Sie durch Sichtprüfung sicherstellen, dass der Rotor nicht beschädigt oder verformt ist.</p>
--	---

Wenn Sie den Rotor-Gene Q MDx während eines Experiments berühren, während Sie elektrostatisch aufgeladen sind, kann es im äußersten Fall zu einem Reset des Rotor-Gene Q MDx kommen. Die Software wird jedoch einen Neustart des Rotor-Gene Q MDx durchführen und das Experiment fortsetzen.

2.2 Elektrische Sicherheit

Ziehen Sie den Netzstecker aus der Steckdose, bevor Sie Instandhaltungs-/Wartungsarbeiten an einem Gerät vornehmen.

<p>WARNUNG</p> 	<p>Stromschlaggefahr</p> <p>Jede Unterbrechung des Schutzleiters (Erdungs- bzw. Masseleiter) im Gerät oder außerhalb des Geräts und jede Abtrennung des Schutzleiters am Anschluss der Netzleitung erhöht die Gefahr eines Stromschlags.</p> <p>Eine absichtliche Unterbrechung der Schutzleiterverbindung ist verboten.</p> <p>Gefährliche Spannung im Gerät</p> <p>Wenn das Gerät an die Stromversorgung angeschlossen ist, sind die Anschlussstellen spannungsführend. Durch das Öffnen der Abdeckungen oder das Entfernen von Gehäuseteilen können spannungsführende Komponenten freigelegt werden.</p>
---	---

Um einen zufriedenstellenden und sicheren Betrieb des Rotor-Gene Q MDx zu gewährleisten, befolgen Sie bitte die nachstehenden Hinweise:

- Das Netzkabel muss an eine Netzsteckdose mit Schutzleiter (Erdungs-/Masseleiter) angeschlossen werden.
- Nehmen Sie im Geräteinneren keine Einstellungen an Geräteteilen vor und wechseln Sie keine Teile aus.
- Nehmen Sie das Gerät nicht in Betrieb, wenn Abdeckungen oder Teile entfernt worden sind.

- Falls Flüssigkeit auf dem Gerät verschüttet wird und hinein läuft, schalten Sie es sofort aus, ziehen Sie den Netzstecker und setzen Sie sich mit dem Technischen Service von QIAGEN in Verbindung.

Falls die elektrische Sicherheit bei der Bedienung des Geräts nicht mehr gewährleistet werden kann, muss das Gerät gegen Benutzung durch darüber nicht informiertes Personal gesichert werden. Kontaktieren Sie anschließend den Technischen Service von QIAGEN.

Die elektrische Sicherheit des Geräts ist nicht mehr gegeben, wenn:

- das Gerät oder das Netzkabel beschädigt erscheint;
- das Gerät für längere Zeit unter ungünstigen Bedingungen gelagert wurde;
- das Gerät beim Transport stark beansprucht worden ist.

<p>WARNUNG</p> 	<p>Stromschlaggefahr</p> <p>Auf dem Gerät befindet sich ein Schild mit Angaben zur Einhaltung der elektrischen Vorschriften, d. h. Angaben zur Spannung und Frequenz des Stromversorgung und zu den Sicherungswerten. Das Gerät sollte nur unter diesen Bedingungen betrieben werden.</p>
--	--

2.3 Biologische Sicherheit

Bei Proben und Reagenzien, die Material biologischer Herkunft enthalten, sollte immer von einer möglichen Infektionsgefahr ausgegangen werden. Wenden Sie nur sichere Laborverfahren an, wie sie z. B. in Veröffentlichungen wie *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, HHS (<https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>) beschrieben werden.

Proben

Proben können Infektionserreger enthalten. Sie sollten sich der Gesundheitsgefahr bewusst sein, die von diesen Erregern ausgeht, und derartige Proben gemäß den erforderlichen Sicherheitsbestimmungen handhaben, lagern und entsorgen.

WARNUNG**Proben mit infektiösen Erregern**

Manche Proben, die mit diesem Gerät verwendet werden, können Infektionserreger enthalten. Gehen Sie beim Umgang mit diesen Proben mit der größtmöglichen Vorsicht und gemäß den erforderlichen Sicherheitsbestimmungen vor.

Tragen Sie immer eine Schutzbrille, zwei Paar Laborhandschuhe und einen Laborkittel.

Die verantwortliche Person (z. B. der Laborleiter) muss alle erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen ergreifen, um sicherzustellen, dass der Arbeitsbereich sicher ist und die Bediener des Geräts ausreichend geschult sind. Außerdem dürfen die Grenzwerte in Bezug auf infektiöse Erreger, die in den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) oder den Vorschriften der OSHA*, ACGIH† oder COSHH‡ festgelegt sind, nicht überschritten werden.

Beim Betrieb eines Abzugs und bei der Entsorgung von Abfallstoffen müssen alle Bestimmungen und Gesetze auf Bundes-, Landes- und kommunaler Ebene zu Gesundheitsschutz und Sicherheit am Arbeitsplatz eingehalten werden.

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (United States of America) (Arbeitssicherheits- und Gesundheitsbehörde (Vereinigte Staaten von Amerika)).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (United States of America) (Amerikanische Konferenz der Industriehygieniker der Regierung (Vereinigte Staaten von Amerika)).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (United Kingdom) (Kontrolle von gesundheitsgefährdenden Stoffen (Vereinigtes Königreich)).

2.4 Chemische Sicherheit

<p>WARNUNG</p> 	<p>Gefährliche Chemikalien</p> <p>Einige Chemikalien, die mit diesem Gerät verwendet werden, können gefährlich sein oder nach Beendigung eines Protokolllaufs gefährlich werden. Tragen Sie immer eine Schutzbrille, Laborhandschuhe und einen Laborkittel. Die verantwortliche Person (z. B. der Laborleiter) muss alle erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen ergreifen, um sicherzustellen, dass der Arbeitsbereich sicher ist. Außerdem dürfen die Grenzwerte in Bezug auf toxische (chemische oder biologische) Stoffe, die in den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) oder den Vorschriften der OSHA*, ACGIH† oder COSHH‡ festgelegt sind, nicht überschritten werden.</p> <p>Beim Betrieb eines Abzugs und bei der Entsorgung von Abfallstoffen müssen alle Bestimmungen und Gesetze auf Bundes-, Landes- und kommunaler Ebene zu Gesundheitsschutz und Sicherheit am Arbeitsplatz eingehalten werden.</p>
---	---

* OSHA: Occupational Safety and Health Administration (United States of America) (Arbeitssicherheits- und Gesundheitsbehörde (Vereinigte Staaten von Amerika)).

† ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists (United States of America) (Amerikanische Konferenz der Industriehygieniker der Regierung (Vereinigte Staaten von Amerika)).

‡ COSHH: Control of Substances Hazardous to Health (United Kingdom) (Kontrolle von gesundheitsgefährdenden Stoffen (Vereinigtes Königreich)).

Giftige Dämpfe

Arbeiten mit flüchtigen Lösungsmitteln oder toxischen Substanzen müssen unter einem funktionierenden Laborabzugssystem durchgeführt werden, damit die möglicherweise entstehenden Dämpfe abziehen können.

2.5 Abfallentsorgung

Gebrauchte Laborgeräte können Gefahrstoffe enthalten. Derartige Abfälle müssen gesammelt und gemäß den geltenden kommunalen Sicherheitsbestimmungen entsorgt werden.

Weitere Informationen zur Entsorgung des Rotor-Gene Q MDx finden Sie in Abschnitt

Elektro- und Elektronik-Altgeräte (WEEE) auf Seite 207.

2.6 Gefahr durch mechanische Teile

Der Deckel des Rotor-Gene Q MDx muss während des Betriebs geschlossen sein.

WARNUNG 	Sich bewegende Geräteteile Um einen Kontakt mit sich bewegenden Teilen beim Betrieb des Rotor-Gene Q MDx zu vermeiden, darf das Gerät nur mit geschlossenem Deckel betrieben werden.
---	--

WARNUNG 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Öffnen und schließen Sie den Deckel des Rotor-Gene Q MDx vorsichtig, um keine Finger und keine Kleidung einzuklemmen.
--	--

WARNUNG 	Beschädigung des Geräts Vergewissern Sie sich, dass der Rotor und der Schließring ordnungsgemäß installiert sind. Falls der Rotor oder der Schließring Anzeichen einer mechanischen Beschädigung oder von Korrosion aufweisen, verwenden Sie den Rotor-Gene Q MDx nicht; kontaktieren Sie den Technischen Service von QIAGEN.
---	---

WARNUNG 	Beschädigung des Geräts Wenn der Rotor-Gene Q MDx bei kalten Witterungsverhältnissen transportiert und danach sofort gestartet wird, kann es zu einer Blockade mechanischer Teile kommen. Lassen Sie das Gerät mindestens eine Stunde lang auf Raumtemperatur aufwärmen, bevor Sie es einschalten.
---	---

<p>WARNUNG</p> 	<p>Beschädigung des Geräts</p> <p>Bei einem Geräteausfall aufgrund eines Stromausfalls entfernen Sie das Netzkabel und warten Sie 10 Minuten, bevor Sie versuchen, den Deckel per Hand zu öffnen.</p>
---	--

<p>WARNUNG</p> 	<p>Überhitzungsgefahr</p> <p>Vergewissern Sie sich, dass ein Mindestabstand von 10 cm zwischen Seitenwänden und Rückseite des Rotor-Gene Q MDx und der Raumwand eingehalten wird, damit eine ausreichende Be- und Entlüftung des Geräts gewährleistet ist.</p> <p>Die Lüftungsschlitze und Öffnungen, die die Be- und Entlüftung des Rotor-Gene Q MDx gewährleisten, dürfen nicht verdeckt werden.</p>
---	---

Gefahr durch Hitze

<p>WARNUNG</p> 	<p>Heiße Oberflächen</p> <p>Die Kammer des Rotor-Gene Q MDx kann Temperaturen über 120 °C erreichen. Berührungen im heißen Zustand sind zu vermeiden.</p>
---	--

<p>WARNUNG</p> 	<p>Heiße Oberflächen</p> <p>Bei Pausierung eines Laufs kühlt der Rotor-Gene Q MDx nicht komplett auf Raumtemperatur ab. Gehen Sie vorsichtig vor, wenn Sie den Rotor oder Röhrchen in dem Gerät berühren.</p>
---	--

2.7 Wartungssicherheit

Führen Sie die Wartungsarbeiten gemäß den Anweisungen in Abschnitt 8 durch. QIAGEN stellt Reparaturen, die auf nicht fachgerecht durchgeführte Wartungsmaßnahmen zurückzuführen sind, in Rechnung.

WARNUNG/ VORSICHT 	Gefahr von Personen- und Sachschäden Es dürfen nur Wartungsarbeiten ausgeführt werden, die in diesem Benutzerhandbuch konkret beschrieben sind.
---	---

WARNUNG 	Brandgefahr Lassen Sie nach dem Reinigen des Rotor-Gene Q MDx mit einem Desinfektionsmittel auf Alkoholbasis die Tür des Rotor-Gene Q MDx offen, damit sich entzündliche Dämpfe verflüchtigen können.
---	---

WARNUNG/ VORSICHT 	Gefahr durch Stromschlag Demontieren Sie den Rotor-Gene Q MDx nicht.
---	--

VORSICHT 	Beschädigung des Gerätegehäuses Reinigen Sie das Gerätegehäuse keinesfalls mit Alkohol oder alkoholhaltigen Lösungen. Alkohol beschädigt das Gerätegehäuse. Verwenden Sie zur Reinigung des Gehäuses ausschließlich destilliertes Wasser.
--	---

2.8 Symbole auf dem Rotor-Gene Q MDx

In der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Etikettierung können die folgenden Symbole verwendet werden:

Symbol	Ort	Beschreibung
	In der Nähe der Probenkammer, ist bei geöffnetem Deckel sichtbar	Gefahr durch hohe Temperaturen – Die Temperatur der Kammer kann auf bis auf 120 °C steigen.
	Geräterückseite	Gebrauchsanweisung beachten
	Typenschild an der Geräterückseite	CE-Markierung der EU-Konformität
	Typenschild an der Geräterückseite	In-vitro-Diagnostikum
	Typenschild an der Geräterückseite	Symbol der CSA-Zertifizierung in Kanada und den USA
	Typenschild auf der Abdeckung auf der rechten Seite	Hersteller i. S. d. Gesetzes
	Typenschild auf der Abdeckung auf der rechten Seite	WEEE-Richtlinie zur Entsorgung von Elektro- und Elektronik-Altgeräten in Europa und in der restlichen Welt.
	Typenschild auf der Abdeckung auf der rechten Seite	FCC-Markierung der Federal Communications Commission der Vereinigten Staaten
	Typenschild auf der Abdeckung auf der rechten Seite	RCM-Zeichen (ehemals C-Tick) für Australien (Anbieterkennzeichnung N17965)
	Typenschild auf der Abdeckung auf der rechten Seite	RoHS-Kennzeichen für China (Einschränkungen in Bezug auf den Gebrauch bestimmter Gefahrstoffe in Elektro- und Elektronikgeräten)

3 Allgemeine Beschreibung

Der Rotor-Gene Q MDx ist ein innovatives Gerät für die hochpräzise Durchführung von Real-Time PCR. In Kombination mit den als IVD gekennzeichneten QIAGEN Kits eignet sich das Gerät hervorragend für die In-vitro-Diagnostik.

Die leistungsfähige und benutzerfreundliche Software bietet sowohl eine unkomplizierte Bedienung für Anfänger als auch eine experimentelle Plattform für erfahrene Benutzer.

3.1 Funktionsprinzip des Rotor-Gene Q MDx

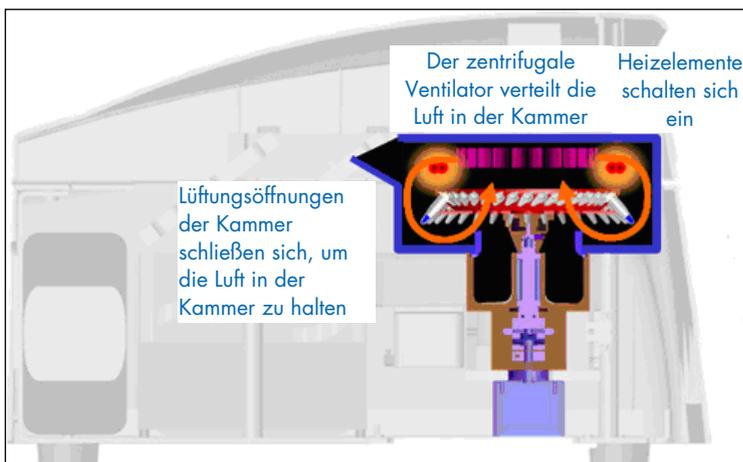
3.1.1 Thermische Leistungen

Der Rotor-Gene Q MDx nutzt ein modernes Heiz- und Kühlkonzept, um optimale Reaktionsbedingungen zu erzielen. Der einzigartige Rotationsmechanismus sorgt für eine optimale Temperatur- und optische Einheitlichkeit der Proben, die für präzise und zuverlässige Analysen unerlässlich ist.

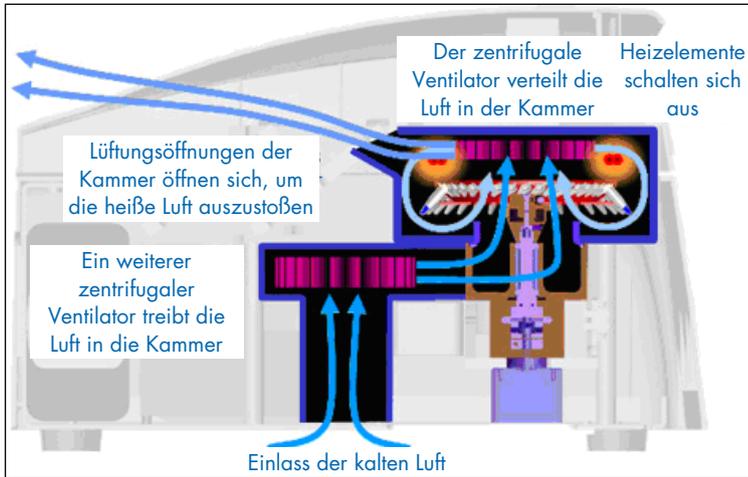
Die Proben werden während des Laufs kontinuierlich mit 400 U/min zentrifugiert. Die Zentrifugation verhindert eine Kondensation und entfernt Luftblasen. Die DNA setzt sich jedoch nicht als Pellet ab. Darüber hinaus ist es nicht notwendig, die Proben vor Beginn des Laufs zu zentrifugieren.

Die Proben werden in einem Luftofen mit niedriger Masse erwärmt und abgekühlt. Für die Erwärmung ist ein Nickel-Chrom-Heizelement im Deckel verantwortlich. Die Kammer wird gekühlt, indem Umgebungsluft von unten durch die Kammer geblasen und durch den Kammerdeckel entlüftet wird.

Erwärmung



Kühlung

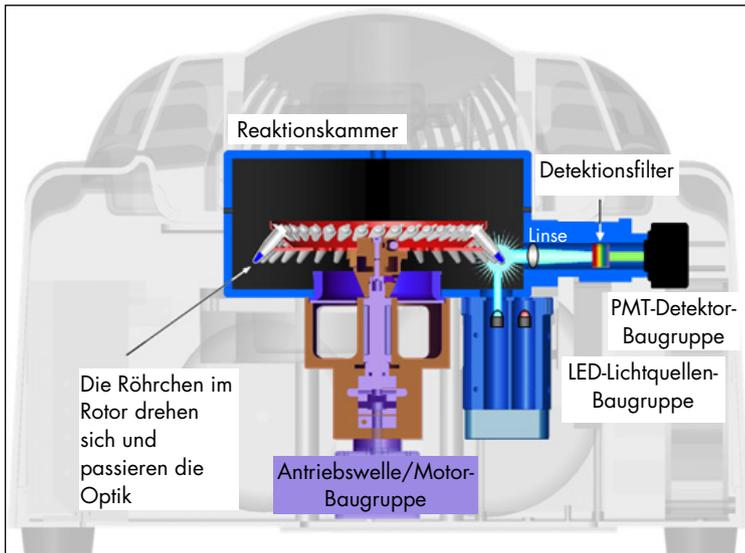


Darstellung des Heiz- und Kühlsystems

3.1.2 Optisches System

Der Rotor-Gene Q MDx bietet eine Wahl von bis zu 6 Anregungsquellen und 6 Detektionsfiltern und einen kurzen, feststehenden optischen Pfad. Er eignet sich so für Multiplex-Reaktionen und sorgt für eine minimale Fluoreszenz-Variabilität zwischen Proben. Eine Kalibrierung bzw. Kompensierung entfällt.

Die Proben werden von unten durch die Kammer von einer lichtemittierenden Diode (Light-Emitting Diode, LED) angeregt. Die Energie passiert die dünne Wand des Röhrchenbodens. Die emittierte Fluoreszenz passiert die Emissionsfilter auf der Kammerseite und wird in einem Photomultiplier gesammelt. Der feste optische Pfad stellt eine einheitliche Anregung aller Proben sicher. Daher besteht kein Bedarf nach einem passiven internen Referenzfarbstoff wie beispielsweise ROX™.



Darstellung des Optiksystems

3.1.3 Verfügbare Kanäle

Kanal	Anregung (nm)	Detektion (nm)	Beispiel für nachweisbare Fluorophore
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 Hochpass	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
High Resolution Melt (HRM)	460 ± 20	510 ± 5	SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen

Hinweis: QIAGEN Kits, die für die Verwendung in Rotor-Gene Q MDx Geräten vorgesehen sind, wurden mit Blick auf bestimmte Farbstoffkombinationen optimiert. Weitere Informationen finden Sie im entsprechenden Kit-Handbuch.

3.2 Externe Merkmale des Rotor-Gene Q MDx



- | | | | |
|---|-----------------------------|---|-----------------------|
| 1 | Lüftungsöffnungen im Deckel | 3 | Rotorkammer |
| 2 | Deckelgriff | 4 | Geräte-Statusleuchten |

3.2.1 Lüftungsöffnungen im Deckel

Der Gerätedeckel des Rotor-Gene Q ist hinten mit Lüftungsöffnungen ausgestattet. Diese Lüftungsöffnungen ermöglichen die Abgabe von heißer Luft aus der Kammer während des Betriebs. Werden diese Lüftungsöffnungen blockiert bzw. reicht der Abstand zu anderen Objekten nicht aus, können die Geräteleistungen beeinträchtigt sein.

3.2.2 Deckelgriff

Mit dem Deckelgriff wird der Deckel des Geräts nach hinten geschoben. Der Deckelgriff ist nicht für das Gewicht des Geräts ausgelegt. Daher darf das Gerät nicht an diesem Griff angehoben werden.

3.2.3 Rotorkammer

Die Rotoren werden in die Rotorkammer geladen, wo sie programmierten Temperaturzyklen ausgesetzt werden.

3.2.4 Geräte-Statusleuchten

Das Rotor-Gene Q besitzt zwei Statusleuchten. Die mit „Standby“ gekennzeichnete Leuchte verweist darauf, dass das Gerät gerade nicht läuft. Die mit „Running“ gekennzeichnete Leuchte blinkt, wenn der Rotor-Gene Q läuft.

3.3 Interne Merkmale des Rotor-Gene Q MDx



Interne Merkmale der Rotor-Gene Q Kammer

- 1 Rotornabe
- 2 Optische Linse

3.3.1 Rotornabe

Der Rotor sitzt fest auf der Rotornabe im Gerät.

3.3.2 Optische Linse

Die optische Linse fokussiert das Anregungslicht von der Diode auf die Röhren.

4 Installationsverfahren

4.1 Auslieferung und Installation des Systems

Während der Installation sollte eine Person anwesend sein, die mit den Geräten und Computern Ihres Labors vertraut ist.

Zum Lieferumfang gehören die folgenden Teile:

- Rotor-Gene Q MDx
- *Rotor-Gene Q MDx Benutzerhandbuch*
- Arbeitsstation
- Rotor-Gene Q MDx Software (wird von einem Außendienst-Spezialisten von QIAGEN während der anfänglichen Einrichtung installiert)

4.1.1 Entpacken des Rotor-Gene Q MDx

Der Rotor-Gene Q MDx wird mit allen erforderlichen Komponenten für die Einrichtung und den Betrieb des Geräts geliefert. Im Verpackungskarton befindet sich auch eine Liste aller gelieferten Komponenten.

Hinweis: Prüfen Sie anhand dieser Liste, ob alle Komponenten vorhanden sind.

Hinweis: Prüfen Sie das Gerät und die gelieferten Zubehörteile vor der Installation auf jegliche Transportschäden.

Der Karton der Zubehörteile befindet sich oben auf der Schaumstoffverpackung. Der Karton der Zubehörteile enthält:

- Installationsanleitung (Englisch; Übersetzungen befinden sich auf dem mobilen Datenträger für Gebrauchsanweisungen)
- Mobiler Datenträger (Software)
- Mobiler Datenträger (Gebrauchsanweisungen)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (für sicheren Transport demontiert)
- 36-Well Rotor (rot)

- 36-Well Rotor Locking Ring

Die folgenden Artikel befinden sich auf beiden Seiten der Schaumstoffverpackung:

- USB-Kabel und Kabel für serielle RS-232-Schnittstelle
- Internationaler Netzkabelsatz
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Nach der Entnahme aller dieser Komponenten aus dem Karton entfernen Sie die Schaumstoffverpackung über dem Rotor-Gene Q MDx. Heben Sie den Rotor-Gene Q MDx vorsichtig aus dem Karton und entfernen Sie die Kunststoffabdeckung. Öffnen Sie den Deckel, indem Sie ihn nach hinten schieben. So erhalten Sie Zugang zur Reaktionskammer.

Die folgenden Artikel sind bereits im Innern des Rotor-Gene Q MDx installiert:

- 72-Well Rotor (blau)
- 72-Well Rotor Locking Ring

Je nach Bestellung kann sich auch ein Laptop-Computer in der Verpackung befinden.

4.1.2 Installation der Hardware

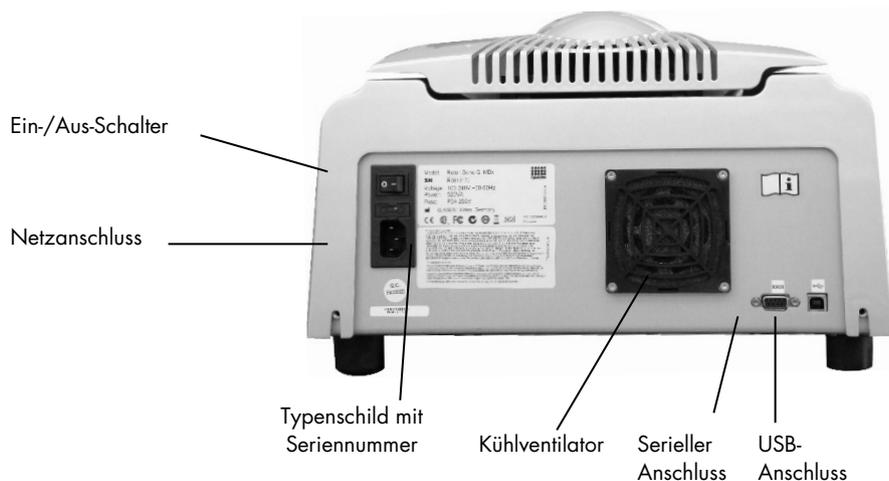
Nach dem Entpacken des Rotor-Gene Q MDx fahren Sie mit der Installation wie im Folgenden beschrieben fort.

VORSICHT 	Beschädigung des Geräts Wenn der Rotor-Gene Q MDx sofort nach dem Transport bei kalten Witterungsverhältnissen gestartet wird, kann es zu einer Blockade mechanischer Teile kommen. Lassen Sie das Gerät mindestens eine Stunde lang auf Raumtemperatur aufwärmen, bevor Sie es einschalten.
--	--

Gehen Sie dazu folgendermaßen vor:

1. Setzen Sie den Rotor-Gene Q MDx auf eine ebene Fläche.
2. Stellen Sie sicher, dass hinter dem Gerät genug Platz ist, um den Deckel vollständig zu öffnen.
3. Stellen Sie sicher, dass der Netzschalter an der Rückseite des Geräts leicht erreichbar ist.

4. Blockieren Sie die Rückseite des Geräts nicht. Stellen Sie sicher, dass das Netzkabel ggf. einfach abgezogen werden kann, wenn die Stromversorgung des Geräts abgetrennt werden muss.
5. Schließen Sie das USB-Kabel am USB-Port bzw. das serielle RS-232-Kabel am COM-Port auf der Computerrückseite an.
6. Schließen Sie das USB-Kabel bzw. das serielle RS-232-Kabel am Rotor-Gene Q MDx an.
7. Schließen Sie den Rotor-Gene Q MDx an der Stromversorgung an. Schließen Sie ein Ende des Netzkabels an der Buchse auf der Rückseite des Rotor-Gene Q MDx und das andere Ende an der Steckdose an.

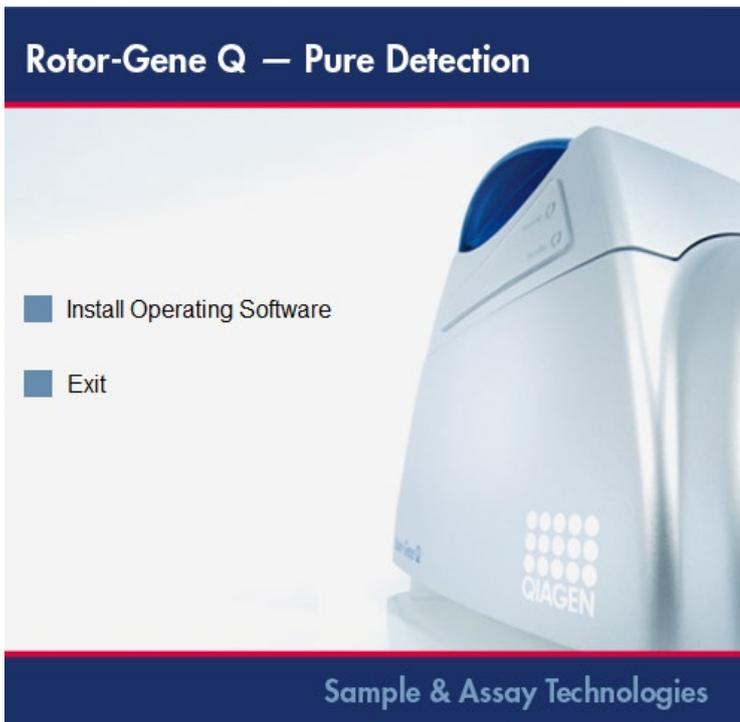


Hinweis: Schließen Sie den Rotor-Gene Q MDx nur mit den im Lieferumfang enthaltenen USB-/seriellen Kabeln an. Verwenden Sie keine anderen Kabel.

4.1.3 Software-Installation

1. Zur Installation der Rotor-Gene Q Software laden Sie die Software von QIAGEN.com herunter. Übertragen Sie die Software mithilfe eines virenfreien mobilen Datenträgers bzw. verwenden Sie den mobilen Datenträger (Software), der im Lieferumfang des Geräts enthalten ist.
2. Wenn die Software-Installation automatisch startet, wählen Sie die Option Install Operating Software (Betriebssoftware installieren) im angezeigten Fenster. Oder aber navigieren Sie zum RGQ-Software-Ordner auf dem mobilen Datenträger.

Hinweis: Die im Lieferumfang enthaltene *Rotor-Gene Q Installationsanleitung* vereinfacht die Installation und führt durch die nächsten Schritte der Software-Installation.



3. Nach Installation der Software wird automatisch ein Desktop-Symbol erstellt.
4. Schalten Sie den Rotor-Gene Q MDx ein, indem Sie den Schalter links auf der Rückseite des Geräts in die Position „I“ schieben. Eine blaue Standby-Leuchte vorne am Rotor-Gene Q MDx zeigt an, dass das Gerät betriebsbereit ist.

Hinweis: Wenn der Rotor-Gene Q MDx zum ersten Mal mit einem Computer verbunden und gestartet wird, erkennt das Betriebssystem des Computers das Gerät und zeigt mehrere Meldungen an. Weitere Hinweise finden Sie in der im Lieferumfang des Geräts enthaltenen *Rotor-Gene Q Installationsanleitung* (mobiler Datenträger und Druckversion).



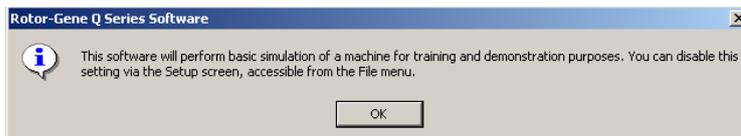
5. Doppelklicken Sie auf das Desktop-Symbol Rotor-Gene Q Series Software, um die Software zu starten.



6. Nur beim ersten Start der Software (und nicht bei folgenden Softwareupgrades) wird das Fenster Welcome (Willkommen) angezeigt.



- Geräteseriennummer: Geben Sie die Seriennummer (7-stellig) ein, die auf der Rückseite des Rotor-Gene Q MDx angegeben ist.
- Anschluss: Wählen Sie entweder USB- oder serielles Kabel. Wählen Sie den passenden COM-Anschluss oder klicken Sie auf die Schaltfläche Auto-Detect (Automatisch erkennen).
- Automatisch erkennen: Bei dieser Option wird der jeweilige USB- oder serielle Anschluss automatisch ermittelt und in der Dropdown-Liste **Port** (Anschluss) angezeigt.
- Run in Virtual Mode (In virtuellem Modus ausführen) (zu Demonstrationszwecken): Wenn Sie dieses Kontrollkästchen aktivieren, kann die Rotor-Gene Q Software auf einem Computer installiert werden, der nicht mit einem Rotor-Gene Q MDx verbunden ist. Alle Funktionen der Software sind aktiv, und Läufe können simuliert werden.
Hinweis: Wird dieses Kontrollkästchen aktiviert, obwohl der Computer mit einem Rotor-Gene Q MDx verbunden ist, dann wird vor dem Start des Laufs die folgende Meldung angezeigt: You are about to run in Virtual mode (Sie sind dabei, einen Lauf im virtuellen Modus auszuführen.) Um einen echten Lauf durchzuführen, muss die Einrichtung im Fenster Setup (Einrichtung) geändert werden (siehe Abschnitt 6.5.4).
- Begin (Beginnen): Nach Eingabe aller Informationen klicken Sie auf Begin (Beginnen). Warten Sie den Abschluss der Initialisierung ab, was einige Sekunden dauern kann. Wurde der virtuelle Modus gewählt, wird die folgende Meldung angezeigt:

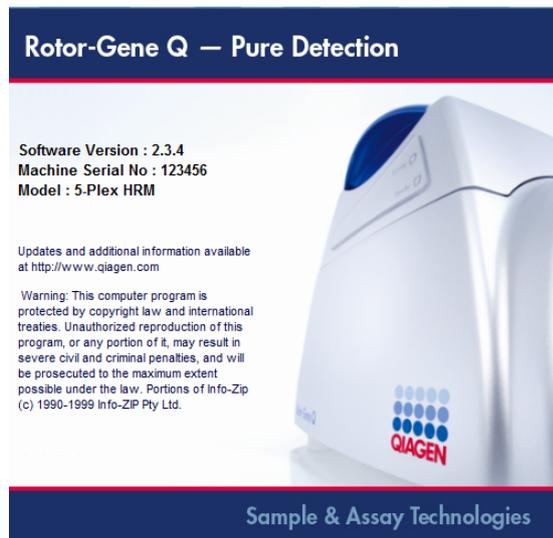


Wurde das Kontrollkästchen Run in Virtual Mode (In virtuellem Modus ausführen) nicht aktiviert, initialisiert sich die Software und öffnet sich automatisch.

- Exit Program (Programm beenden): Durch Klicken auf diese Schaltfläche wird das Programm beendet.

4.1.4 Softwareversion

Zur Ermittlung der Versionsnummer klicken Sie auf Help (Hilfe) und dann auf About This Software... (Software-Info).



In diesem Fenster werden allgemeine Angaben zur Software angezeigt, einschließlich der Software-Version sowie der Geräteseriennummer und des Gerätemodells.

Die Software darf für den Einsatz in einer Organisation, die ein Rotor-Gene Q MDx besitzt, uneingeschränkt kopiert werden. Die Software darf nicht kopiert und an Dritte außerhalb der Organisation weitergegeben werden.

4.1.5 Weitere Software auf Computern, die mit Rotor-Gene Q MDx Geräten verbunden sind

Die Software Rotor-Gene Q verwaltet zeitkritische Prozesse während des PCR-Laufs und den Datenerfassungsprozess. Aus diesem Grund ist es wichtig, sicherzustellen, dass keine anderen Prozesse wesentliche Systemressourcen verwenden und die Software Rotor-Gene Q dadurch verlangsamen. Vor allem sind die nachstehend gelisteten Punkte zu beachten.

Systemadministratoren wird angeraten, alle möglichen Einflüsse einer Modifikation des Systems auf die Ressourcen abzuwägen, bevor die betreffende Modifikation vorgenommen wird.

Virenschutzprogramm

QIAGEN ist sich im Klaren über die Bedrohung, die von Computerviren für Computer ausgeht, die mit anderen Computern Daten austauschen. Der Rotor-Gene AssayManager (Version 1.0 oder 2.1) sollte hauptsächlich in Umgebungen installiert werden, in denen es lokale Richtlinien zur Minimierung dieser Bedrohung gibt. QIAGEN empfiehlt in allen Fällen jedoch den Einsatz eines Virenschutzprogramms.

Die Auswahl und Installation eines geeigneten Werkzeugs zum Aufspüren von Viren liegen in der Verantwortung des Kunden. QIAGEN hat jedoch die Rotor-Gene Q Software mit dem Laptop-Computer von QIAGEN und den folgenden Virenschutzprogrammen auf Kompatibilität geprüft:

- Microsoft Defender Client-Version 4.18.2005.5

Angaben zu den aktuellsten Virenschutzprogrammen, die in Kombination mit der Rotor-Gene Q Software und dem Rotor-Gene AssayManager (Version 1.0 oder 2.1) geprüft wurden, finden Sie auf der Produktseite auf QIAGEN.com.

Stellen Sie bei der Auswahl eines Virenschutzprogramms sicher, dass sich dieses so konfigurieren lässt, dass der Datenbank-Ordnerpfad vom Scan ausgeschlossen werden kann. Ansonsten besteht die Gefahr von Datenbankverbindungsfehlern. Da der Rotor-Gene AssayManager (Versionen 1.0 und 2.1) auf dynamische Art neue Datenbankarchive anlegt, muss der gesamte Ordnerpfad zu den Dateien ausgeschlossen werden. Der Ausschluss bestimmter einzelner Dateien reicht nicht. Wir raten von der Verwendung eines Virenschutzprogramms ab, bei dem sich nur einzelne Dateien ausschließen lassen (beispielsweise McAfee Antivirus Plus V16.0.5). Wenn der Computer in einer Umgebung ohne Netzwerkzugang verwendet wird, stellen Sie zudem sicher, dass das Virenschutzprogramm Offline-Updates unterstützt.

Um nach der Installation eines Virenschutzprogramms übereinstimmende Ergebnisse zu erhalten, sollte ein Systemadministrator Folgendes sicherstellen:

- Wie oben erläutert muss der Datenbank-Ordnerpfad des Rotor-Gene AssayManager (1.0 und 2.1) (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA) vom Dateiscan ausgeschlossen werden.
- Aktualisierungen der Virendatenbank werden nicht durchgeführt, wenn der Rotor-Gene AssayManager (1.0 oder 2.1) gerade verwendet wird.
- Stellen Sie sicher, dass Voll- oder Teilskans der Festplatte während der Real-Time-PCR-Datenerfassung deaktiviert sind. Andernfalls besteht das Risiko einer Beeinträchtigung der Geräteleistung.

Lesen Sie sich die Konfigurationsdetails im Handbuch des gewählten Virenschutzprogramms durch.

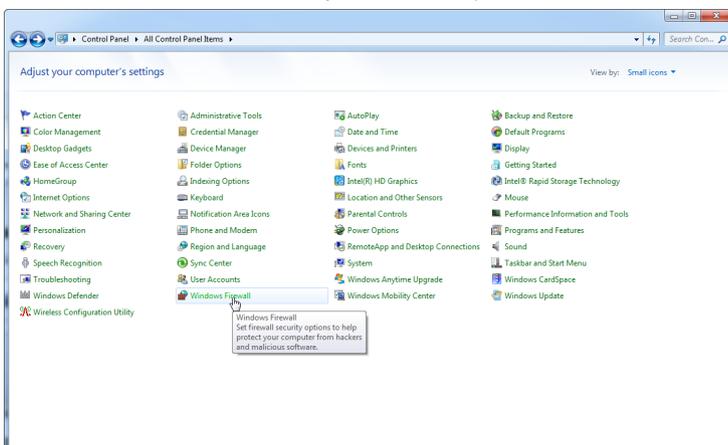
Firewall und Netzwerke

Die Rotor-Gene Q Software kann auf Computern mit und ohne Netzwerkanschluss ausgeführt werden. Im vernetzten Betrieb wird möglicherweise ein entfernter Datenbankserver verwendet. Bei einem vernetzten Betrieb ist die Firewall des von QIAGEN bereitgestellten Laptop-Computers so konfiguriert, dass eingehender Datenverkehr für alle Anschlüsse blockiert ist, mit Ausnahme jener, die zum Herstellen einer Netzwerkverbindung erforderlich sind.

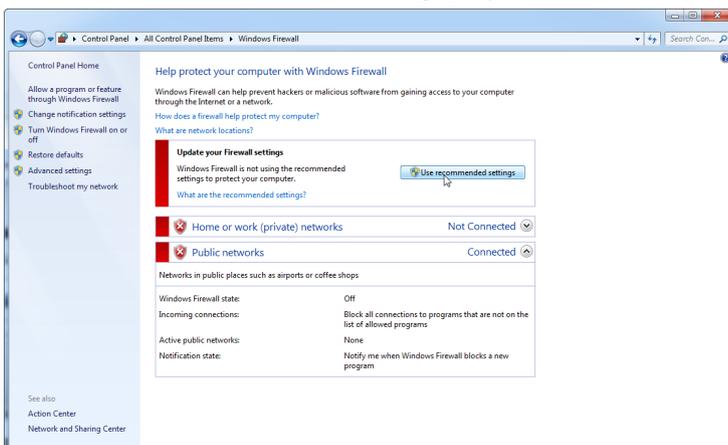
Hinweis: Die Blockade der Eingänge betrifft nicht Reaktionen auf Anfragen, die vom Benutzer ausgelöst werden. Ausgänge werden nicht blockiert, da sie unter Umständen für Updates gebraucht werden.

Wenn Ihre Konfiguration anders ist, empfiehlt QIAGEN die Konfiguration einer Firewall in derselben Weise, wie oben beschrieben. Dafür muss sich ein Systemadministrator anmelden und folgende Schritte ausführen:

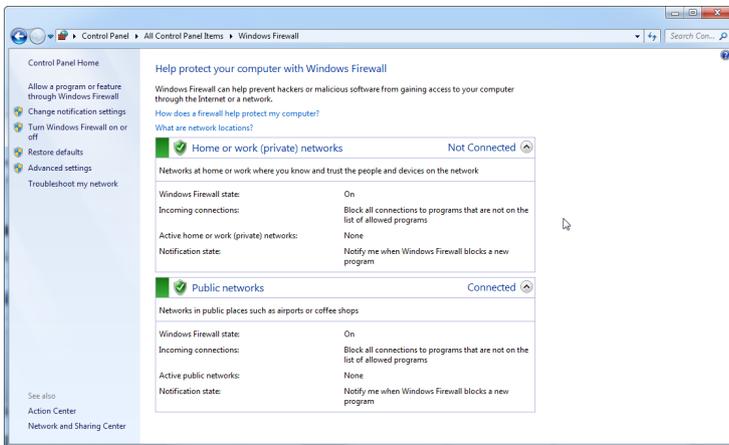
1. Öffnen Sie Control Panel (Systemsteuerung) und wählen Sie Windows Firewall.



2. Wählen Sie Use recommended settings (Empfohlene Einstellungen verwenden).

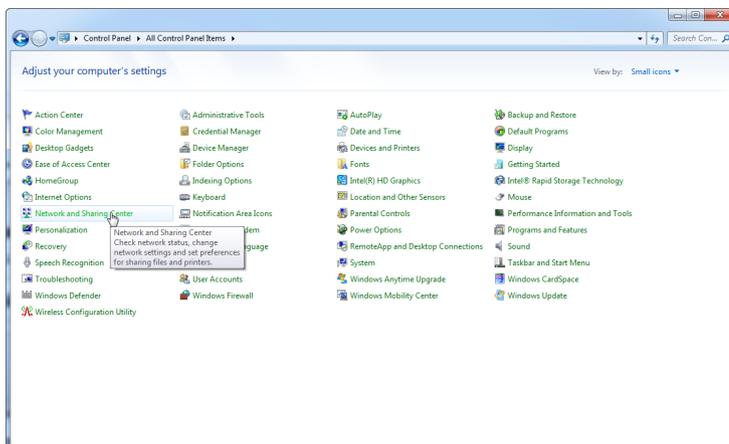


3. Stellen Sie sicher, dass die folgenden Einstellungen aktiviert sind:

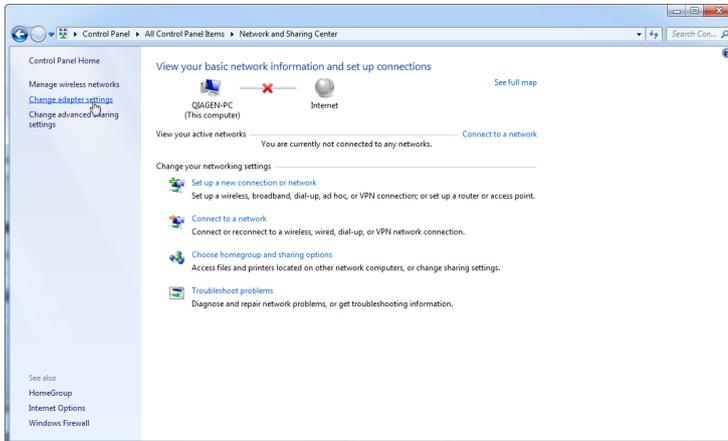


Aus Sicherheits- und Zuverlässigkeitsgründen sollte statt dem WLAN-Zugang ein kabelgebundener Netzwerkzugang verwendet werden. Bei den von QIAGEN bereitgestellten Laptop-Computern ist der WLAN-Adapter deaktiviert. Wenn Ihre Konfiguration anders ist, muss ein Systemadministrator den WLAN-Adapter manuell deaktivieren. Dies geschieht folgendermaßen:

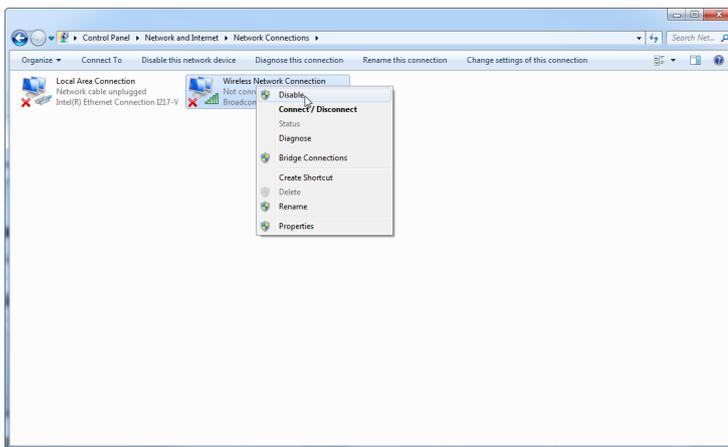
1. Öffnen Sie Control Panel (Systemsteuerung) und dann Network and Sharing Center (Netzwerk- und Freigabecenter).



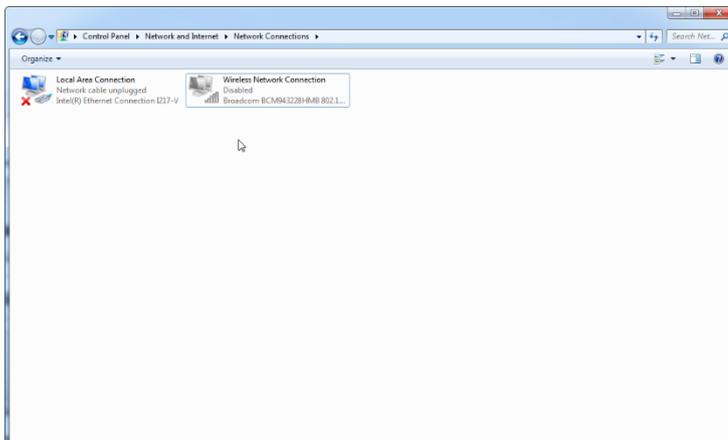
2. Wählen Sie Change adapter settings (Adaptoreinstellungen ändern).



3. Führen Sie die Maus über Wireless Network Connection (WLAN-Verbindung). Drücken Sie die rechte Maustaste und wählen Sie die Option Disable (Deaktivieren) aus dem Kontextmenü.



4. Stellen Sie sicher, dass die WLAN-Verbindung deaktiviert ist.



Systemprogramme

Viele Systemprogramme belegen selbst ohne Benutzerinteraktion erhebliche Systemressourcen. Typische Beispiele solcher Programme sind:

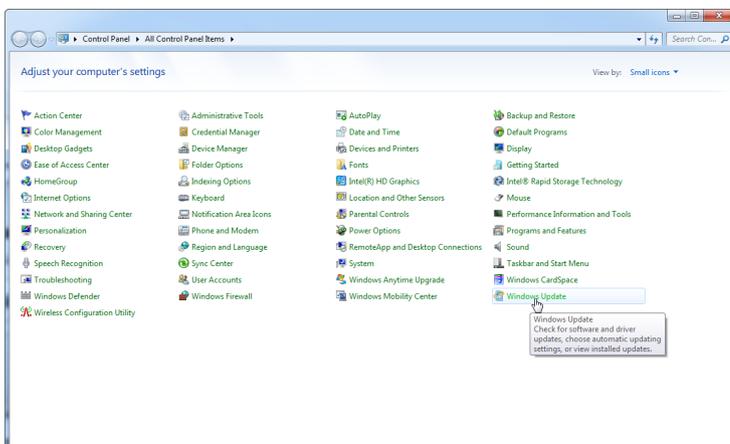
- Dateiindizierung, die von vielen heutigen Office-Anwendungen im Hintergrund durchgeführt wird
- Datenträgerdefragmentierung, die ebenfalls häufig im Hintergrund arbeitet
- Jede Software, die im Internet nach Aktualisierungen sucht
- Programme zur Fernüberwachung und -verwaltung

Wegen der Dynamik der IT-Entwicklungen ist diese Liste vielleicht nicht vollständig. Möglicherweise werden Systemprogramme veröffentlicht, die zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Handbuchs noch nicht bekannt waren. Systemadministratoren müssen unbedingt sicherstellen, dass solche Programme während PCR-Läufen nicht aktiv sind.

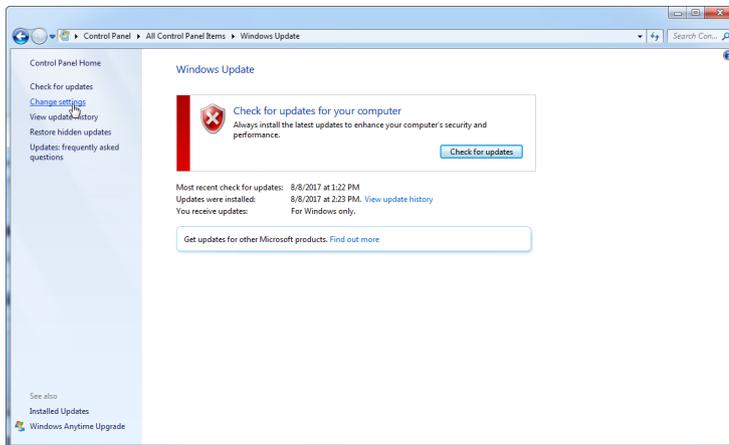
Updates des Betriebssystems

Laptop-Computer von QIAGEN sind so konfiguriert, dass automatische Aktualisierungen des Betriebssystems deaktiviert sind. Wenn die Konfiguration Ihres Computers anders ist, muss ein Systemadministrator alle automatischen Aktualisierungen des Betriebssystems deaktivieren. Gehen Sie dazu wie folgt vor:

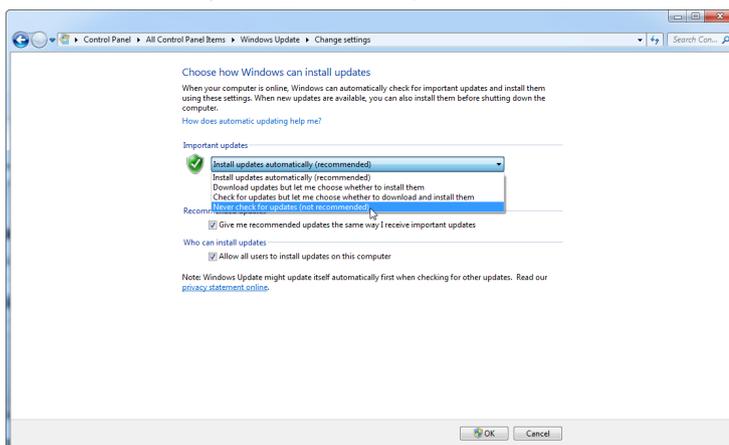
1. Öffnen Sie die Control Panel (Systemsteuerung) und wählen Sie Windows Update (Windows-Update).



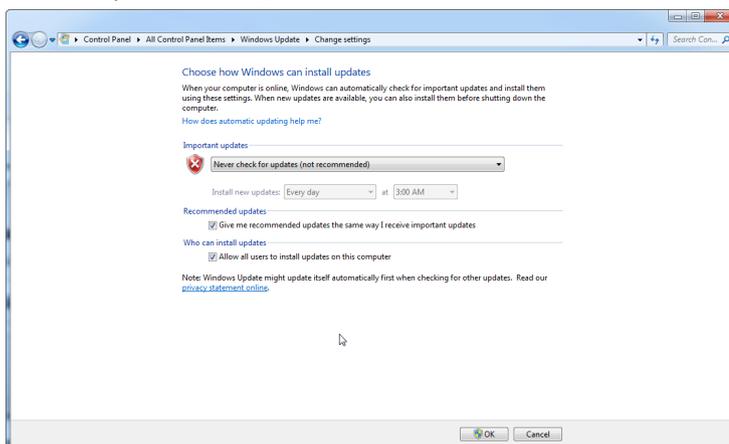
2. Wählen Sie Change settings (Einstellungen ändern).



3. Wählen Sie Never check for updates (Nie nach Updates suchen).



4. Stellen Sie sicher, dass unter Important updates (Wichtige Updates) die Option Never check for updates (Nie nach Updates suchen) aktiviert ist.



Wenn aufgedeckte Sicherheitsrisiken Updates erforderlich machen, bietet QIAGEN Mechanismen zur Installation eines definierten Satzes validierter Windows-Sicherheitspatches, entweder online (wenn der Laptop-Computer von QIAGEN über eine Internetverbindung verfügt) oder als Offline-Paket, das auf einem separaten Computer mit Internetverbindung erstellt wird.

Weitere Hinweise dazu finden Sie auf der Produktseite auf QIAGEN.com.

4.2 Standortanforderungen

Der Rotor-Gene Q MDx darf nicht in direktem Sonnenlicht oder in unmittelbarer Nähe zu Wärme- und Vibrationsquellen oder Quellen elektromagnetischer Störaussendungen aufgestellt werden. Im Anhang A finden Sie Angaben zu den Betriebsbedingungen (Temperatur und Luftfeuchtigkeit). Am Aufstellort sollten kein Durchzug, keine übermäßige Luftfeuchtigkeit, keine übermäßige Staubeinwirkung und nicht zu große Temperaturschwankungen herrschen.

Im Anhang A finden Sie Angaben zum Gewicht und den Abmessungen des Rotor-Gene Q MDx. Stellen Sie sicher, dass der Arbeitstisch trocken, sauber und groß genug ist, sodass Zubehör darauf abgelegt werden kann. Um weitere Informationen zur Beschaffenheit des Labortisches zu erhalten, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von QIAGEN.

Hinweis: Es ist äußerst wichtig, dass der Rotor-Gene Q MDx auf einer stabilen, ebenen und vibrationsfreien Fläche aufgestellt wird. Hinweise zu den Betriebsbedingungen – siehe Anhang A.

Der Rotor-Gene Q MDx muss in der Nähe (max. 1,5 m Abstand) von zwei ordnungsgemäß geerdeten Wechselstrom-Steckdosen aufgestellt werden.

WARNUNG 	Explosionsfähige Atmosphäre Der Rotor-Gene Q MDx ist nicht für den Gebrauch in explosionsfähiger Atmosphäre vorgesehen.
---	---

WARNUNG 	Überhitzungsgefahr Vergewissern Sie sich, dass auf der Rückseite der Rotor-Gene Q MDx ein Mindestabstand von 10 cm eingehalten wird, damit eine ausreichende Be- und Entlüftung des Geräts gewährleistet ist. Die Lüftungsschlitze und Öffnungen, die die Be- und Entlüftung des Rotor-Gene Q MDx gewährleisten, dürfen nicht verdeckt werden.
---	---

4.3 Netzstromanschluss

4.3.1 Netzstromanforderungen

Der Betrieb des Rotor-Gene Q MDx erfolgt bei:

- 100–240 V AC, 50–60 Hz, 520 VA (Spitzenwerte)

Vergewissern Sie sich, dass die Nennspannung des Rotor-Gene Q MDx mit der Wechselspannung am Aufstellort übereinstimmt. Die Spannungsschwankungen der Netzversorgung dürfen 10 % der Nennspannung nicht überschreiten.

4.3.2 Anforderungen an die Erdung

Zum Schutz der Mitarbeiter empfiehlt QIAGEN eine korrekte Erdung des Rotor-Gene Q MDx. Das Gerät ist mit einem 3-Phasen-Netzkabel ausgestattet, das bei korrekter Verbindung mit der Wechselspannungsquelle für eine ordnungsgemäße Erdung des Geräts sorgt. Damit diese Schutzfunktion erhalten bleibt, darf das Gerät nicht an Wechselspannungsquellen betrieben werden, die keine Erdungsleitung (Schutzleiter) besitzen.

4.3.3 Installation des Netzkabels

Schließen Sie ein Ende des Netzkabels an der Buchse auf der Rückseite des Rotor-Gene Q MDx und das andere Ende an der Steckdose an.

4.4 Konfigurationen für die Sicherheit von Windows

Auf den Laptop-Computern, die von QIAGEN zur Verwendung mit Ihrem Rotor-Gene Q MDx zur Verfügung gestellt werden, ist Microsoft Windows 7 oder 10 bereits vorinstalliert und sie sind zudem mit einem standardmäßigen Windows-Benutzerkonto (kein Administrator-Konto) und einem Administratorkonto vorkonfiguriert. Bei der Routinenutzung des Systems sollte das Standardkonto verwendet werden, da die Rotor-Gene Q Software und der Rotor-Gene AssayManager (Version 1.0 und 2.1) für eine Nutzung ohne Administratorrechte konzipiert sind. Das Administratorkonto – das Konto mit dem roten Desktophintergrund – darf nur zur Installation der Rotor-Gene Q Software bzw. des Rotor-Gene AssayManager (Version 1.0 oder 2.1) und Weitere Software auf Computern, die mit Rotor-Gene Q MDx Geräten verbunden sind verwendet werden (siehe Abschnitt „Virenschutzprogramm“). Die Nutzung des Administratorkontos wird durch einen roten Desktophintergrund angezeigt. Stellen Sie sicher, dass Sie sich für die Routineanwendung stets als Standardbenutzer anmelden.

Q1a#g3n!A6 ist das Standardpasswort für das Administratorkonto. Ändern Sie das Administratorpasswort nach der ersten Anmeldung. Bitte achten Sie darauf, dass das Passwort gesichert ist und nicht verloren geht. Für das Bedienerkonto ist kein Passwort vorhanden.

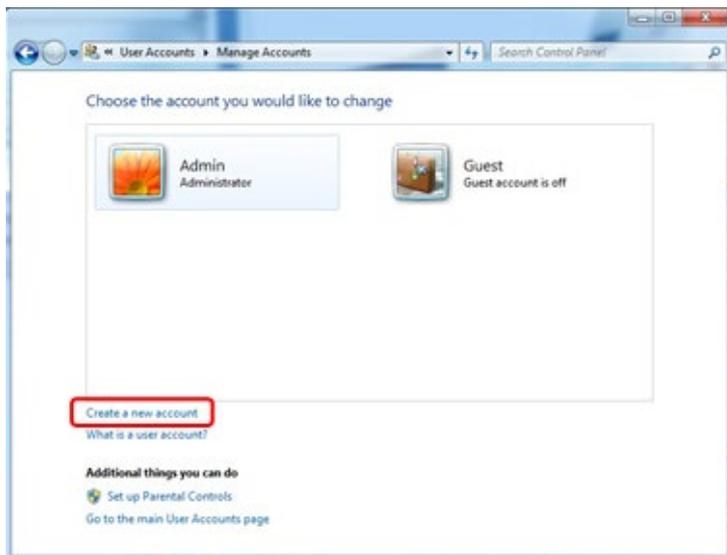
Wenn Sie das Passwort für das Administratorkonto verlieren, empfehlen wir, Microsoft um Unterstützung zu bitten.

Wenn Sie eine andere Konfiguration haben und kein Nicht-Administratorkonto verfügbar ist, sollte ein Systemadministrator ein zusätzliches standardmäßiges Windows-Benutzerkonto anlegen, um den Zugriff auf kritische Systembereiche, wie beispielsweise Programmdateien, das Verzeichnis Windows (z. B. Zugriff auf die Optionen zum Installieren bzw. Deinstallieren, einschließlich Applikationen, Betriebssystemkomponenten, Datum/Uhrzeit-Einstellungen, Windows-Updates, Firewall, Benutzerrechte und -rollen, Virusschutzaktivierung) oder leistungsrelevante Einstellungen, wie den Stromsparmodus, zu verhindern.

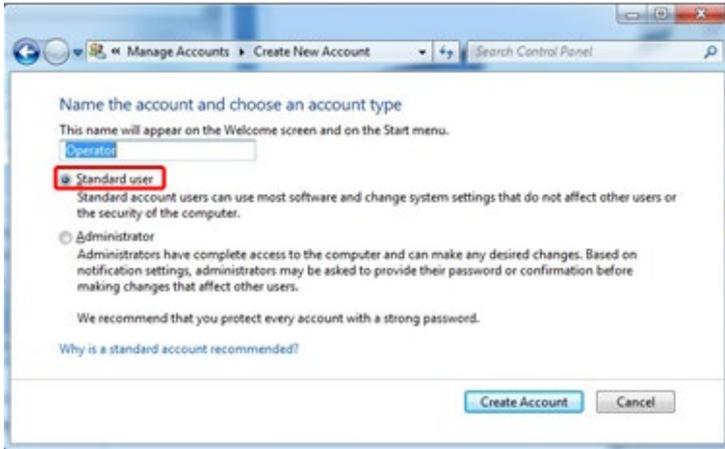
Um in Windows 7 ein Standardbenutzerkonto zu erstellen, gehen Sie wie in Abschnitt „Erstellen eines neuen Benutzerprofils“ beschrieben vor:

Öffnen Sie über das Menü Start die Windows-Systemsteuerung und wählen Sie User Accounts (Benutzerkonten) > Manage Accounts (Konten verwalten).

1. Wählen Sie Create a new account (Neues Konto erstellen).



2. Benennen Sie das Konto und wählen Sie Standard User(Standardbenutzer) als Kontotyp.



3. Klicken Sie auf Create Account (Konto erstellen).

4.5 Anforderungen an die Arbeitsstation

Der Laptop-Computer, der für den Rotor-Gene Q MDx optional erhältlich ist, erfüllt die Anforderungen der Rotor-Gene Q Software, die in der folgenden Tabelle aufgeführt werden.

Anforderungen an die Arbeitsstation

Beschreibung	Mindestanforderungen
Betriebssystem	Microsoft® Windows® 10 Professional (64 Bit); Microsoft Windows 7 Professional (32 Bit oder 64 Bit)* (Service Pack 1)
Prozessor	Mindestens Intel® Core™ 2 Duo 1,66 GHz
Arbeitsspeicher	Mindestens 1 GB RAM
Festplattenspeicher	Mindestens 10 GB HDD
Grafik	Adapter und Bildschirm mindestens 1200 x 800 Pixel
Anschlüsse	Serieller RS-232- oder USB-Anschluss
Zeigegerät	Es wird ein Touchpad oder eine Maus oder eine gleichwertige Vorrichtung benötigt.
Bluetooth	Muss ausgeschaltet sein
PDF-Viewer oder ähnliches	Muss installiert sein, da nicht im Softwareinstallationspaket enthalten
Stromversorgungsoptionen	Festplatten nie ausschalten, in den Ruhestand- oder Standby-Modus versetzen

* Für die Ausführung der Rotor-Gene Q Software mit Sicherheitsfunktionen wird Microsoft Windows 10 Professional oder Windows 7 Professional benötigt (siehe Abschnitt 6.9). Bei Verwendung von Windows 10 Home oder Windows 7 Home sind die Sicherheitsfunktionen nicht erhältlich.

† Der Rotor-Gene AssayManager® (Version 1.0 oder 2.1) hat die folgenden abweichenden Mindestanforderungen an den PC: Intel Core i3-380M Prozessor, Arbeitsspeicher 4 GB RAM, Festplattenspeicher 250 GB, USB-Anschluss ist erforderlich.

4.6 Entpacken und Installieren des Rotor-Gene Q MDx

Der Rotor-Gene Q MDx wird mit allen erforderlichen Komponenten für die Einrichtung und den Betrieb des Geräts geliefert. Im Verpackungskarton befindet sich auch eine Liste aller gelieferten Komponenten.

Hinweis: Prüfen Sie anhand dieser Liste, ob alle Komponenten vorhanden sind.

Hinweis: Prüfen Sie das Gerät und die gelieferten Zubehörteile vor der Installation auf jegliche Transportschäden.

Der Karton der Zubehörteile befindet sich oben auf der Schaumstoffverpackung. Der Karton der Zubehörteile enthält:

- Installationsanleitung (Englisch; Übersetzungen befinden sich auf dem mobilen Datenträger für Gebrauchsanweisungen)
- Mobiler Datenträger (Software)
- Mobiler Datenträger (Gebrauchsanweisungen)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (für sicheren Transport demontiert)
- 36-Well Rotor (rot)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Die folgenden Artikel befinden sich auf beiden Seiten der Schaumstoffverpackung:

- USB-Kabel und Kabel für serielle RS-232-Schnittstelle
- Internationaler Netzkabelsatz
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Nach der Entnahme aller dieser Komponenten aus dem Karton entfernen Sie die Schaumstoffverpackung über dem Rotor-Gene Q MDx. Heben Sie den Rotor-Gene Q MDx vorsichtig aus dem Karton und entfernen Sie die Kunststoffabdeckung. Öffnen Sie den Deckel, indem Sie ihn nach hinten schieben. So erhalten Sie Zugang zur Reaktionskammer.

Die folgenden Artikel sind bereits im Innern des Rotor-Gene Q MDx installiert:

- 72-Well Rotor (blau)
- 72-Well Rotor Locking Ring

Je nach Bestellung kann sich auch ein Laptop-Computer in der Verpackung befinden.

4.6.1 Softwareupgrade

Software-Updates sind auf der QIAGEN Website unter <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/> verfügbar. Diese Website kann vom Menü Help (Hilfe) in der Software aus aufgerufen werden. Zum Herunterladen der Software ist eine Online-Registrierung erforderlich.

4.7 Zubehör

Rotor-Discs und Zubehör für den Rotor-Gene Q MDx sind separat bestellbar. Weitere Informationen dazu siehe Abschnitt 16.

4.8 Erneutes Verpacken und Versenden des Rotor-Gene Q MDx

Beim Verpacken des Rotor-Gene Q MDx für den Versand müssen die Originalverpackungsmaterialien verwendet werden. Sollten die Originalverpackungsmaterialien nicht verfügbar sein, wenden Sie sich an den Technischen Service von QIAGEN. Sorgen Sie vor dem Verpacken dafür, dass das Gerät ordnungsgemäß vorbereitet wurde (siehe Abschnitt Wartung) und dass es keine biologische oder chemische Gefahr darstellt.

4.9 Erste Schritte

4.9.1 Einschalten des Rotor-Gene Q MDx und der Arbeitsstation

Stellen Sie sicher, dass Rotor-Gene Q über USB oder RS-232 mit dem Notebook-Computer verbunden ist und das sowohl das Notebook als auch Rotor-Gene Q am Netz angeschlossen sind und mit Strom versorgt werden.

5 Allgemeiner Betriebsablauf

Wir empfehlen, dass Sie sich zuerst mit den im Abschnitt 3 beschriebenen Gerätemerkmalen vertraut machen, bevor Sie fortfahren.

<p>VORSICHT</p> 	<p>Beschädigung des Geräts</p> <p>Verwenden Sie ausschließlich Durchflusszellen und Verbrauchsmaterialien von QIAGEN für den Rotor-Gene Q MDx. Kommt es bei der Verwendung anderer Arten von Durchflusszellen oder Verbrauchsmaterialien zu Geräteschäden, erlischt die Garantie.</p>
--	--

<p>VORSICHT</p> 	<p>Gefahr von Materialbeschädigungen</p> <p>Während des Betriebs des Rotor-Gene Q MDx sollten Verschiebungen des Arbeitstischs und Vibrationen vermieden werden, um die empfindlichen optischen Messungen nicht zu stören.</p>
---	---

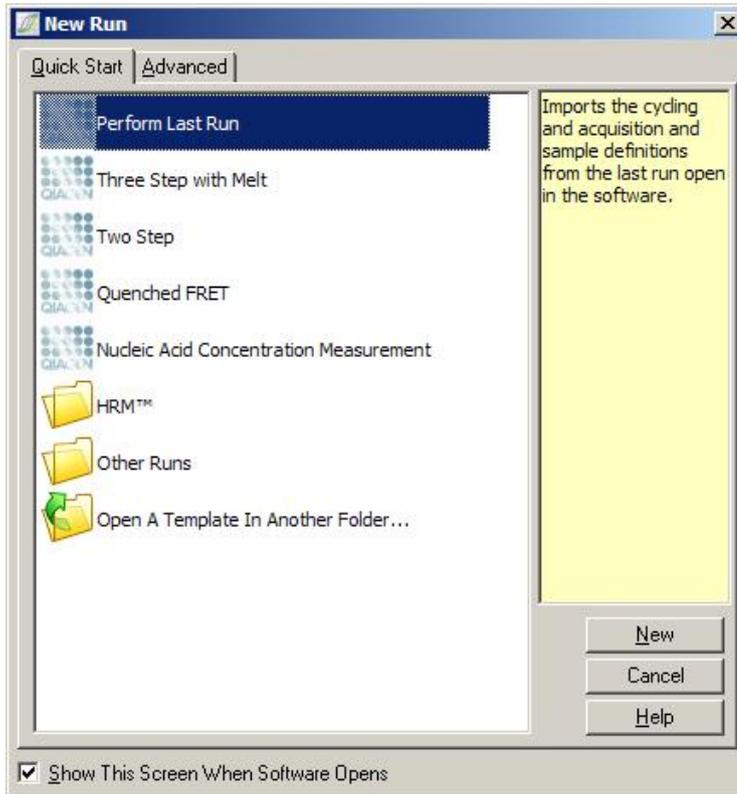
5.1 Verwenden der Rotor-Gene Q MDx Software

Neue Läufe können mit dem Assistenten Quick Start (Schnellstart) oder dem Assistenten Advanced (Erweitert) eingerichtet werden. Beide Assistenten werden bei Start der Software angezeigt. Der Assistent Quick Start (Schnellstart) soll einen möglichst zügigen Laufstart ermöglichen. Der Assistent Advanced (Erweitert) bietet mehr Optionen, z. B. eine Einstellung der Verstärkungsoptimierung und der Volumen. Zur Vereinfachung bieten die Assistenten eine Reihe von Vorlagen mit standardmäßigen Zyklusbedingungen und Erfassungskanälen. Um vom einen Assistenten zum anderen zu wechseln, wählen Sie die gewünschte Registerkarte oben im Fenster New Run (Neuer Lauf).

5.1.1 Schnellstart-Assistent

Der Assistent Quick Start (Schnellstart) sorgt für einen möglichst zügigen Laufstart. Die Benutzer können eine der häufig verwendeten Vorlagen wählen und müssen nur wenige Parameter eingeben, um den Lauf zu starten. Der Assistent Quick Start (Schnellstart) geht von einem Reaktionsvolumen von 25 µl aus. Sollen andere Reaktionsvolumen verwendet werden, nutzen Sie den Assistent Advanced (Erweitert) (siehe Abschnitt 5.1.2).

Im ersten Schritt wählen Sie die gewünschte Vorlage für den Lauf aus. Doppelklicken Sie dazu auf die Vorlage in der Liste im Fenster New Run (Neuer Lauf).



- | | |
|---|--|
| Perform Last Run (Letzten Lauf durchführen): | Die Option Perform Last Run (Letzten Lauf durchführen) verwendet die Zyklus- und Erfassungsparameter und Probendefinitionen des zuletzt in der Software geöffneten Laufs. |
| Three Step with Melt (Drei Schritte mit Denaturierung): | Dies ist ein dreistufiges Zyklusprofil mit Schmelzkurve. Die Datenerfassung erfolgt im grünen Kanal. |
| Two Step (Zwei Schritte): | Dies ist ein zweistufiges Zyklusprofil. Die Datenerfassung erfolgt in dem grünen, gelben, orangefarbenen und roten Kanal. |
| Quenched FRET (FRET mit Fluoreszenzlöschung): | Dies ist ein dreistufiges Zyklusprofil mit Schmelzkurve. Anders als bei der Option Three Step with Melt (Drei Schritte mit Denaturierung) erfolgt die Datenerfassung am Ende des Annealing-Schritts. |
| Nucleic Acid Concentration Measurement (Messung der Nukleinsäurekonzentration): | Dies ist eine Standardvorlage zur Messung der Nukleinsäurekonzentration mit interkalierenden Farbstoffen. |
| HRM: | In diesem Ordner befinden sich Profile für die hoch aufgelöste Denaturierung. |
| Other Runs (Andere Läufe): | Dieser Ordner enthält weitere Profile. |

Die Zyklus- und Erfassungsprofile aller Vorlagen können im Assistenten angepasst werden.

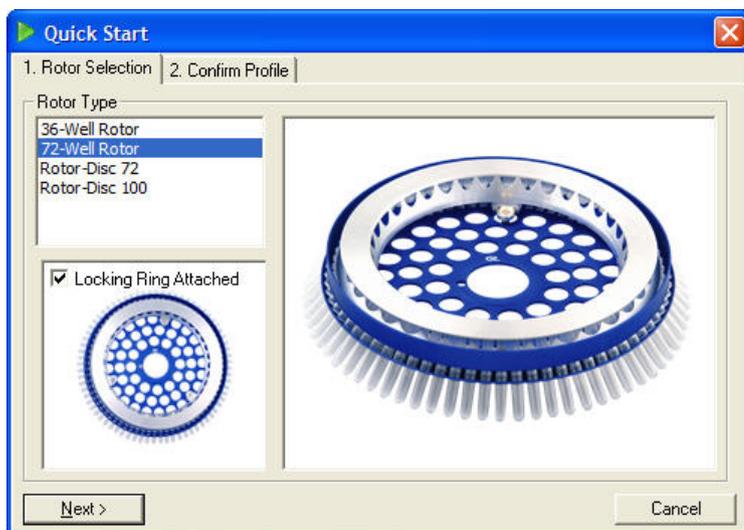
Hinweis: Der Vorlagenliste im Assistenten Quick Start (Schnellstart) können benutzerdefinierte Vorlagen hinzugefügt werden. Dazu kopieren bzw. speichern Sie *.ret-Dateien in den Ordner C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates. Nachdem die Datei an dem vom Pfad angegebenen Ort kopiert wurde, wird sie als Symbol in der Liste angezeigt. Wenn Sie benutzerspezifische Symbole für Ihre Vorlagen verwenden möchten, erstellen Sie eine *.ico-Bilddatei mit dem gleichen Dateinamen.

Für Vorlagengruppen können Unterordner angelegt werden. Auf diese Weise können die Vorlagen bequem organisiert werden, z. B. wenn mehrere Benutzer das gleiche Gerät verwenden.

Rotorauswahl

Im nächsten Fenster wählen Sie den passenden Rotortyp von der Liste.

Aktivieren Sie das Kontrollkästchen Locking Ring Attached (Schließring angebracht) und klicken Sie dann auf Next (Weiter).



Profil bestätigen

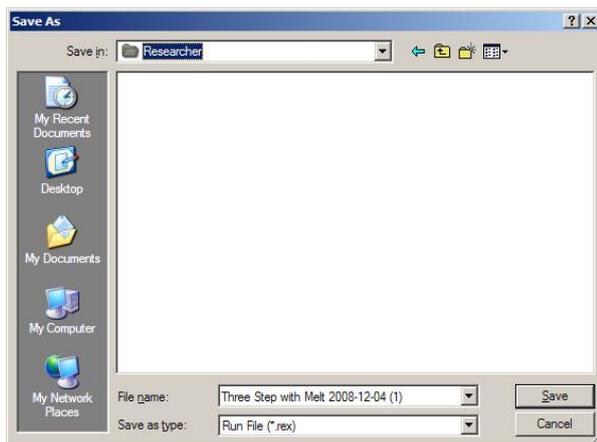
Die Zyklusbedingungen und Erfassungskanäle der gewählten Vorlage werden importiert. Diese können im Fenster Edit Profile (Profil bearbeiten) bearbeitet werden (siehe Abschnitt „Profil bearbeiten“).

Um einen Lauf zu beginnen, klicken Sie auf die Schaltfläche Start Run (Lauf starten). Vor dem Laufstart können Sie die Vorlage speichern. Klicken Sie dazu auf Save Template (Vorlage speichern).



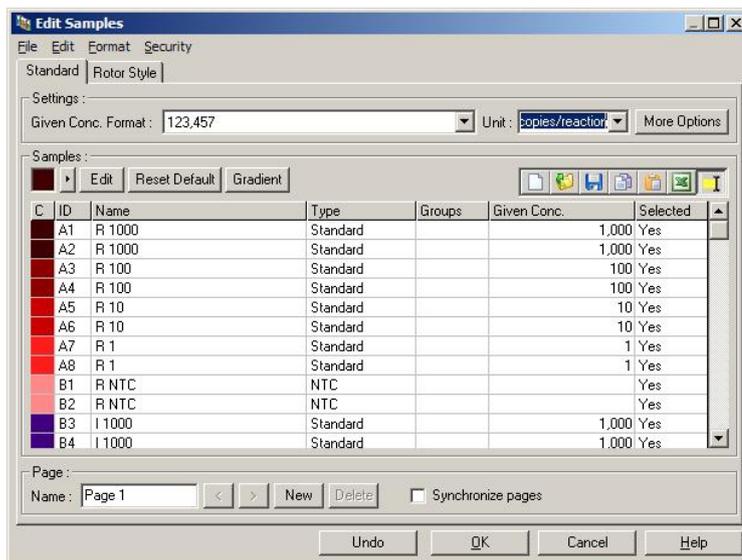
Lauf speichern

Nach Klicken der Schaltfläche Start Run (Lauf starten) wird das Fenster Save As (Speichern als) angezeigt. Der Lauf kann vom Benutzer an der gewünschten Stelle gespeichert werden. Der Dateiname des Laufs besteht aus dem Namen der verwendeten Vorlage und dem Datum des Laufs. Außerdem wird eine Folgenummer (1, 2 usw.) angehängt, um mehrere Läufe auf Grundlage der gleichen Vorlage am gleichen Tag automatisch benennen zu können.



Proben einrichten

Nach Start des Laufs können Proben im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) definiert und beschrieben werden.

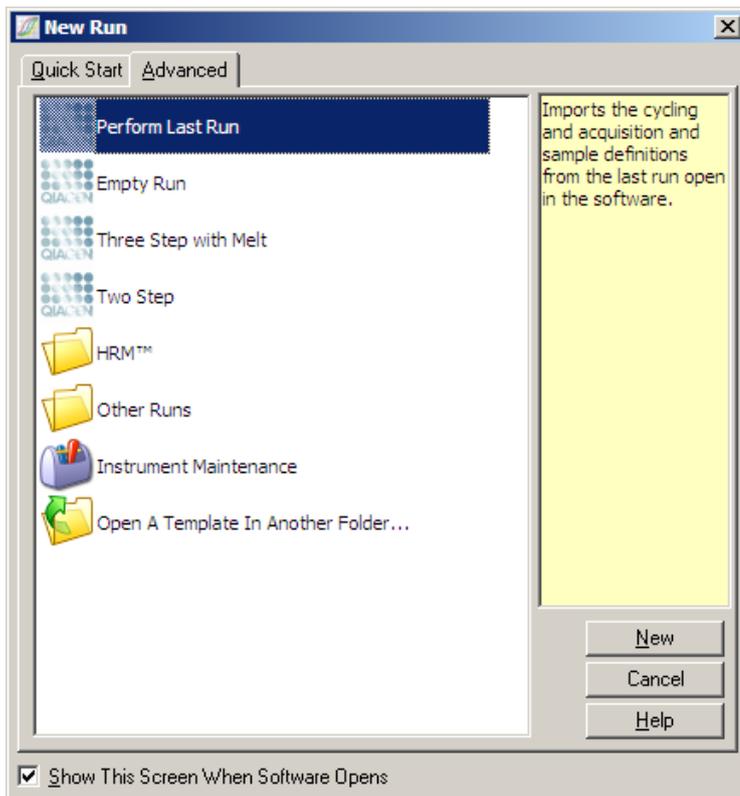


Nach dem Start des Laufs wird das Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) angezeigt, in das der Benutzer dieses Mal die Probenamen eingeben kann. Werden Probenamen während eines Laufs sehr schnell eingegeben (z. B. mit einem Barcode-Handscanner), können Buchstaben im Probenamen vertauscht werden. Daher wird empfohlen, keinen Barcode-Handscanner zu verwenden bzw. die Probenamen gegebenenfalls nach Abschluss des Laufs einzugeben. Hinweise zur Einrichtung von Probendefinitionen im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) siehe Abschnitt 6.8.4.

5.1.2 Erweiterter Assistent

Der Assistent Advanced (Erweitert) bietet Optionen, die im Assistent Quick Start (Schnellstart) nicht vorhanden sind, wie beispielsweise die Konfiguration der Verstärkungsoptimierung.

Wenn Sie den Assistent Advanced (Erweitert) verwenden, wählen Sie mit Doppelklick eine Vorlage von der Liste in der Registerkarte Advanced (Erweitert) im Fenster New Run (Neuer Lauf).



Die Vorlagenoptionen in diesem Fenster entsprechen im Wesentlichen den Optionen im Assistent Quick Start (Schnellstart)(Abschnitt 5.1.1).

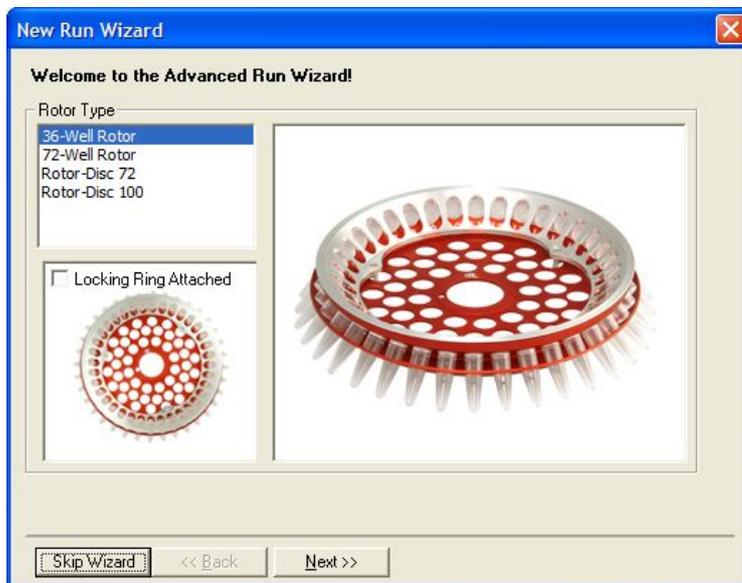
Perform Last Run (Letzten Lauf durchführen):	Mit der Option Perform Last Run (Letzten Lauf durchführen) importieren Sie die Zyklus- und Erfassungsparameter und Probendefinitionen des zuletzt in der Software geöffneten Laufs.
Empty Run (Leerer Lauf)	Dies ist ein Lauf ohne Vorgaben, in dem Benutzer alle Parameter des Profils festlegen können.
Three Step with Melt (Drei Schritte mit Denaturierung):	Dies ist ein zweischrittiges Zyklusprofil mit ausschließlicher Datenerfassung im grünen Kanal zur Beschleunigung des Laufs.
HRM:	In diesem Ordner befinden sich 2 Profile für die hochaufgelöste Denaturierung.
Other Runs (Andere Läufe):	Dieser Ordner enthält weitere Profile.
Instrument Maintenance (Gerätewartung):	Hier befindet sich die Vorlage für die Optische Temperaturverifizierung (Optical Temperature Verification, OTV). Weitere Informationen dazu siehe Abschnitt 9. Diese Vorlage kann nicht geändert werden, damit das Profil immer ordnungsgemäß funktioniert.

Hinweis: Der Vorlagenliste können benutzerdefinierte Vorlagen hinzugefügt werden. Dazu kopieren bzw. speichern Sie *.ret-Dateien in den Ordner C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\. Nachdem die Datei an dem vom Pfad angegebenen Ort kopiert wurde, wird sie als Symbol in der Liste angezeigt.

Assistent für neue Läufe – Fenster 1

Im nächsten Fenster wählen Sie den passenden Rotortyp von der Liste.

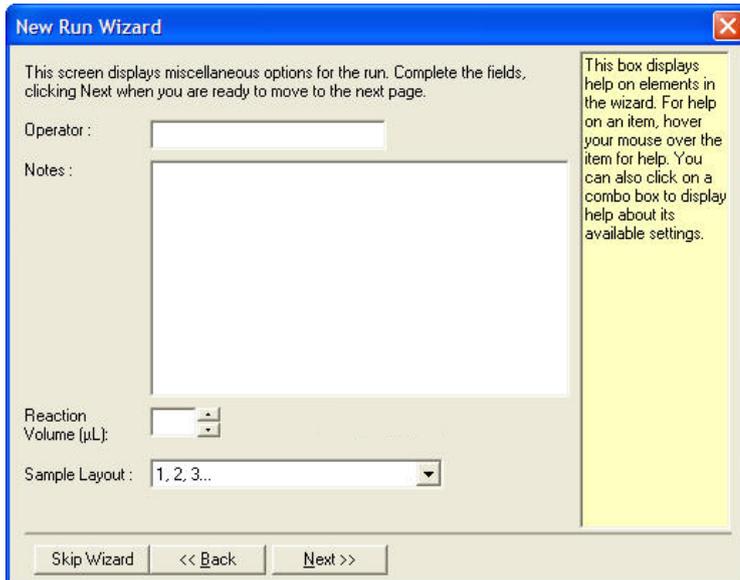
Aktivieren Sie das Kontrollkästchen Locking Ring Attached (Schließring angebracht) und klicken Sie auf Next (Weiter), um fortzufahren.



Assistent für neue Läufe – Fenster 2

Im nächsten Fenster können der Benutzername und Hinweise zum Lauf eingegeben werden. Auch das Reaktionsvolumen muss eingegeben werden.

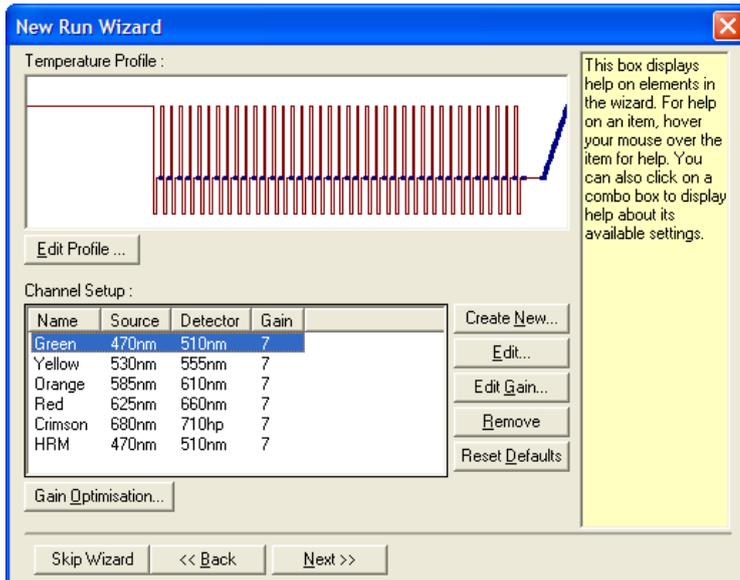
Wurde im ersten Fenster der 72-Well Rotor gewählt, stehen im Dropdown-Menü drei Optionen unter Sample Layout (Probenanordnung) zur Verfügung. „1, 2, 3...“ ist die Standardoption. Die meisten Benutzer wählen diese Option. „1A, 1B, 1C...“ sollte gewählt werden, wenn die Proben mit einer 8-kanaligen Mehrkanalpipette in benachbarte 0,1-ml-Streifenröhrchen pipettiert wurden. Außerdem kann ggf. die Anordnung „A1, A2, A3...“ gewählt werden.



Assistent für neue Läufe – Fenster 3

In diesem Fenster können die Optionen Temperature Profile (Temperaturprofil) und Channel Setup (Kanaleinrichtung) geändert werden. Nach Klicken der Schaltfläche Edit Profile... (Profil bearbeiten) wird das Fenster Edit Profile (Profil bearbeiten). Hier können Zyklusbedingungen geändert und Erfassungskanäle ausgewählt werden (AbschnittProfil bearbeiten).

Nach Einrichtung des Profils klicken Sie auf die Schaltfläche Gain Optimisation... (Verstärkungsoptimierung), um das Fenster Gain Optimisation (Verstärkungsoptimierung) anzuzeigen (siehe Seite 63).



Profil bearbeiten

Im Fenster Edit Profile (Profil bearbeiten) können die Zyklusbedingungen und Erfassungskanäle angegeben werden. Das am Anfang angezeigte Profil entspricht der gewählten Vorlage bei Einrichtung des Laufs (siehe Seite 46). Das Profil wird als Diagramm grafisch dargestellt. Die Liste der Profilstadien wird unter der grafischen Darstellung angezeigt. Zu den möglichen Elementen der Liste gehören Hold (Halten) (Seite 54), Cycling (Zyklen aktiv) (Seite 56), Melt (Denaturieren) (Seite 56) oder HRM (falls das Gerät über ein HRM-Kanal verfügt) (Seite 59).

Jede Profilstadium kann bearbeitet werden. Dazu klicken Sie auf den gewünschten Bereich in der grafischen Darstellung oder auf den passenden Namen in der Liste. Dann ändern Sie die angezeigten Einstellungen.

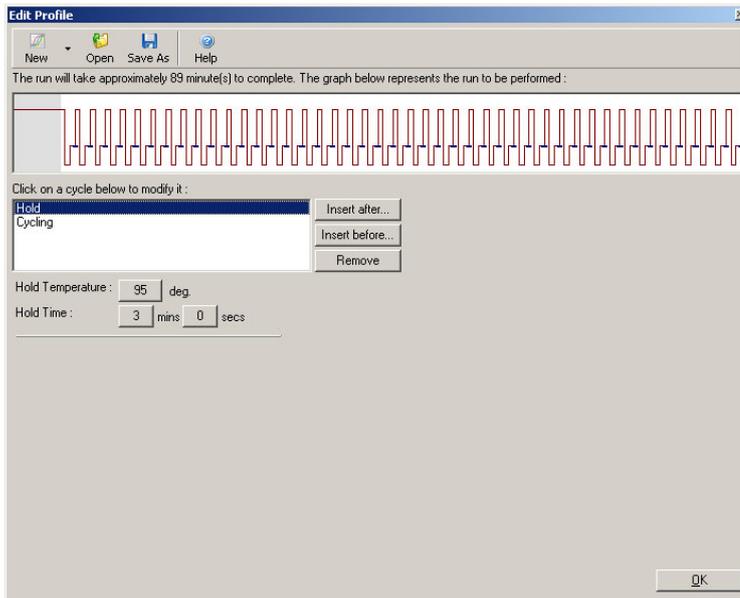
Insert after... (Einfügen nach ...): Ermöglicht das Einfügen eines neuen Zyklus nach dem ausgewählten Zyklus.

Insert before... (Einfügen vor ...): Ermöglicht das Einfügen eines neuen Zyklus vor dem ausgewählten Zyklus.

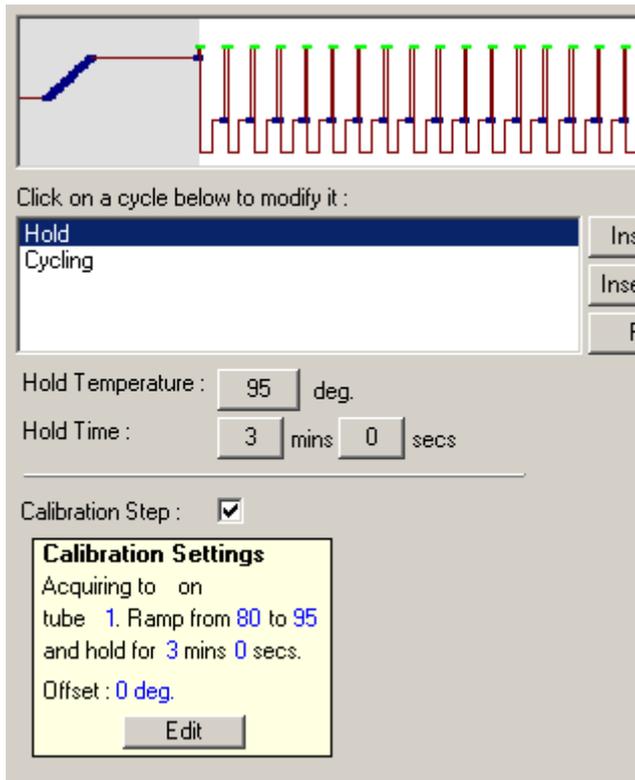
Remove (Entfernen): Entfernt den ausgewählten Zyklus aus dem Profil.

Halten

Der Befehl Hold (Halten) weist den Rotor-Gene Q MDx an, die eingestellte Temperatur eine bestimmte Zeit lang zu halten. Um die Temperatur zu ändern, klicken Sie auf die Schaltfläche Hold Temperature (Haltetemperatur) geben Sie die gewünschte Temperatur ein oder wählen Sie diese mit dem Schieberegler. Um die Dauer der Halteperiode zu ändern, klicken Sie auf die Schaltflächen Hold Time (Haltedauer), mins (Minuten) und secs (Sekunden).



Wenn Sie die Methode Optical Denature Cycling nutzen, kann ein Halteschritt als Kalibrierungsschritt dienen. In diesem Fall wird vor dem Halten eine Denaturierung zur Kalibrierung durchgeführt. In der Standardeinstellung ist eine solche Denaturierung für die erste Haltephase des Laufs konfiguriert. Dies kann jedoch bei Bedarf geändert werden.



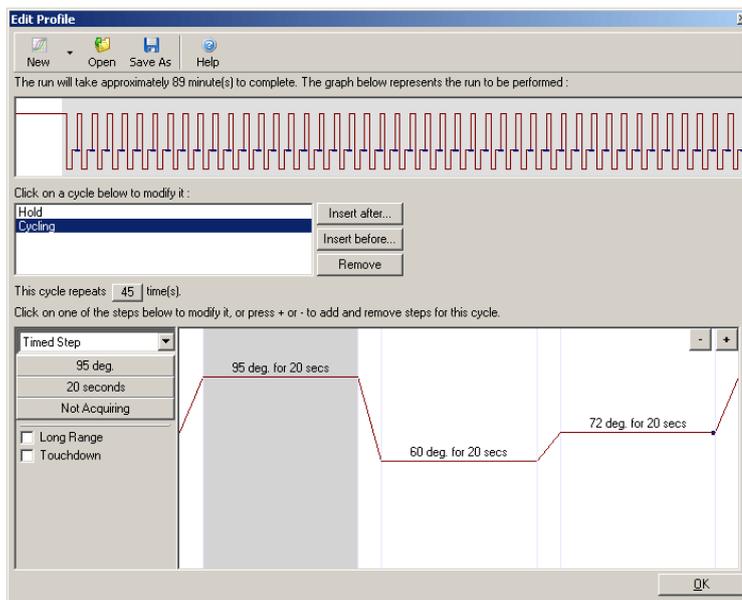
Weitere Informationen zur Methode Optical Denature Cycling siehe Seite 59.

Reaktionszyklen

Beim Durchführen von Reaktionszyklen wird eine bestimmte Anzahl benutzerdefinierter Temperatur- bzw. Zeitschritte durchgeführt. Die Anzahl der Zyklen wird mithilfe der Schaltfläche This cycle repeats X time(s). (Dieser Zyklus wird x-mal wiederholt.) festgelegt.

Ein Einzelzyklus wird grafisch dargestellt (siehe den folgenden Screenshot). Jeder Zyklusschritt kann geändert werden. Durch Ziehen der Temperaturlinie im Diagramm nach oben bzw. unten kann die Temperatur erhöht bzw. gesenkt werden. Durch Ziehen der Temperaturgrenze im Diagramm nach links bzw. rechts kann die Dauer des Schritts verkürzt bzw. verlängert werden. Oder aber klicken Sie auf den gewünschten Schritt und verwenden Sie die Schaltflächen für Temperatur und Zeit links neben dem Diagramm.

Mit den Schaltflächen „-“ und „+“ oben rechts im Diagramm können Schritte zum Zyklus hinzugefügt bzw. entfernt werden.

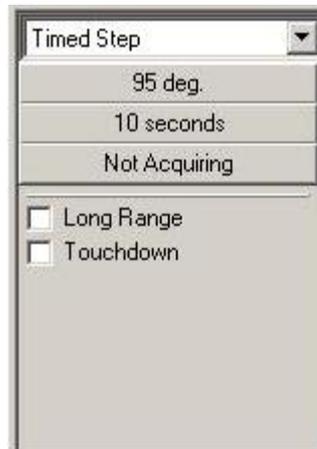


Long Range (Langer Bereich): Durch Aktivierung dieses Kontrollkästchens kann die Haltedauer des gewählten Schritts mit jedem neuen Zyklus um 1 s verlängert werden.

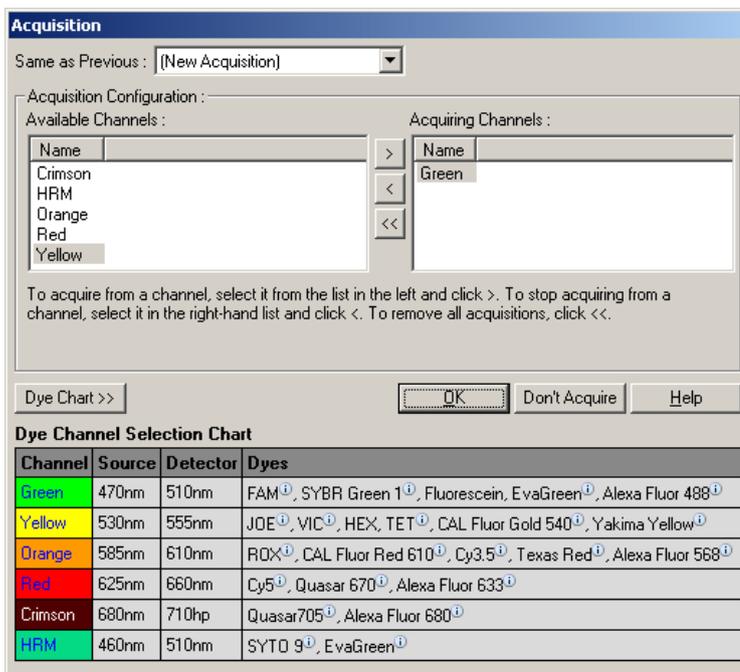
Touchdown: Durch Aktivierung dieses Kontrollkästchens wird die Temperatur um die angegebene Anzahl an Graden in der angegebenen Anzahl der ersten Zyklen gesenkt. Dies wird dann angezeigt.

Erfassung

Daten können in jedem Kanal und bei jedem Zyklusschritt erfasst werden. Um einen Kanal für die Datenerfassung festzulegen, klicken Sie auf die Schaltfläche Not Acquiring (Erfasst nicht). (Wurde bereits mindestens ein Kanal für die Erfassung dieses Schritts festgelegt, werden die Kanäle für die Erfassung hier aufgeführt.)



Nach Klicken der Schaltfläche Not Acquiring (Erfasst nicht) wird das Fenster Acquisition (Erfassung) angezeigt.



Um einen Kanal für die Erfassung festzulegen, klicken Sie auf den gewünschten Kanal und verschieben Sie ihn mit der Schaltfläche **>** von der Liste „Available Channels“ (Erhältliche Kanäle) zur Liste „Acquiring Channels“ (Erfassungskanäle). Um einen ausgewählten Kanal von der Liste „Acquiring Channels“ (Erfassungskanäle) zu entfernen, verwenden Sie die Schaltfläche **<**. Mit der Schaltfläche **<<** entfernen Sie alle Kanäle von der Liste „Acquiring Channels“ (Erfassungskanäle). Auch durch Klicken auf die Schaltfläche Don't Acquire (Nicht erfassen) werden alle Erfassungen aus dem Schritt entfernt.

Enthält das Profil mehrere unterschiedliche Zyklussequenzen, dann können die erfassten Daten an die Daten aus den vorherigen Zyklen angehängt werden. Im Dropdown-Menü **Same as Previous** (Wie vorherig) wählen Sie den Zyklusschritt aus, an den die Daten angehängt werden sollen.

Die Tabelle Dye Channel Selection Chart (Farbkanal-Auswahltable) bietet Hinweise zu den passenden Kanälen für die zu verwendenden Farbstoffe, die die Benutzer bei der Auswahl unterstützen sollen. Die in der Tabelle angezeigten Farbstoffe sind gängig und sind kein Hinweis auf die Grenzen des Geräts.

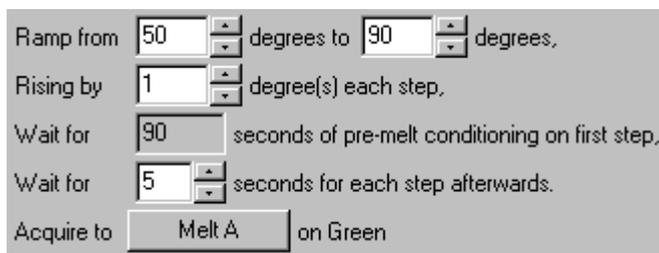
Die oben beschriebenen Erfassungsoptionen gelten auch für Denaturierungsschritte. Es ist jedoch nicht möglich, Erfassungsdaten mithilfe des Menüs Same as Previous (Wie vorherig) anzuhängen.

Denaturierung und Hybridisierung

Die Denaturierung wird durch eine Temperaturrampe zwischen zwei Temperaturen, einer niedrigeren zu einer höheren, ermöglicht. Es sind Temperaturen im Bereich 35 bis 99 °C zulässig.

Zur Einrichtung einer Denaturierung geben Sie die Start- und Endtemperatur, die Temperaturschritte, die Dauer der Halteperiode bei der ersten Erfassungstemperatur vor Beginn der Rampe, die Dauer jedes Temperaturschritts und die Erfassungskanäle an.

Anschließend wird die Rampe zwischen den beiden Temperaturen errechnet und erstellt. Liegt die Starttemperatur über der Endtemperatur, wechselt der Name des Schritts zu Hybridisation (Hybridisierung). Im folgenden Screenshot ist die Option Acquiring To (Erfassen mit) auf „Melt A“ (Denaturierung A) eingestellt. Durch Klicken auf die Schaltfläche kann diese Einstellung geändert werden. Das Fenster Acquisition (Erfassung) wird angezeigt, wo die Kanäle ausgewählt werden können.



The screenshot shows a configuration window for a denaturation step. It contains the following fields and labels:

- Ramp from: 50 degrees to 90 degrees.
- Rising by: 1 degree(s) each step.
- Wait for: 90 seconds of pre-melt conditioning on first step.
- Wait for: 5 seconds for each step afterwards.
- Acquire to: Melt A on Green

Bei der Standarddenaturierung wird die Denaturierungstemperatur schrittweise um 1 °C erhöht. Die Erfassung erfolgt nach 5 Sekunden. Der Rotor-Gene Q MDx kann konfiguriert werden, Denaturierungen in Schritten von 0,02 °C durchzuführen. Die Mindesthaltedauer zwischen den Temperaturschritten hängt von der Temperaturdifferenz in Grad ab.

High Resolution Melt

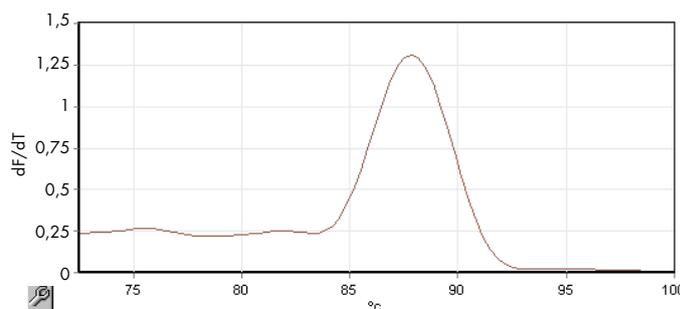
Die High Resolution Melt (HRM)-Analyse dient zur Charakterisierung von doppelsträngigen DNA-Proben auf Grundlage ihrer Dissoziationseigenschaften (Denaturierungs- bzw. Schmelzeigenschaften). Dies ähnelt der klassischen Schmelzkurvenanalyse, liefert jedoch sehr viel mehr Informationen für einen breiteren Anwendungsbereich. Die Proben können je nach Sequenz, Länge, GC-Gehalt oder Komplementarität der Stränge (bis zu einzelnen Basenpaaränderungen) unterschieden werden.

Eine HRM-Analyse kann nur auf Geräten durchgeführt werden, bei denen die HRM-Hardware und -Software installiert sind. Die Daten werden mit besonderen HRM-Quellen und -Detektoren erfasst. Die HRM-Analyse bietet auch eine Option zur Verstärkungsoptimierung vor Beginn der Denaturierung. Nach Durchführung der HRM werden die Daten mit der HRM-Analysesoftware ausgewertet (Abschnitt 10).

Optical Denature Cycling

Optical Denature Cycling ist eine faszinierende Methode für Rotor-Gene Q MDx. Sie erlaubt die Durchführung einer Schmelzkurvenanalyse in Echtzeit zur Ermittlung des Schmelzpeaks (Peak der ersten Ableitung der Schmelzkurve) einer Referenzprobe. Auf diese Weise kann die Denaturierung des PCR-Produkts mit höherer Präzision ermittelt werden als durch Einstellen einer festen Schmelztemperatur für eine Haltephase. Zur Durchführung dieser Methode setzen Sie einfach ein Referenzröhrchen mit PCR-Produkt in die Röhrchenposition 1 des Rotors. Das Referenzröhrchen muss außerdem die chemischen Substanzen für die Detektion der DNA-Strangdissoziation enthalten.

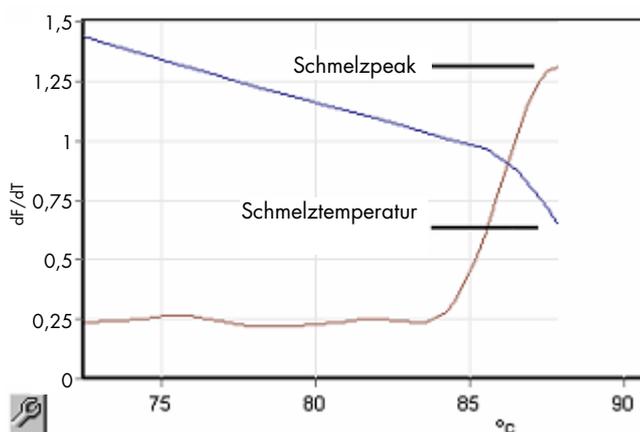
Bei der ersten Denaturierung wird die Probe standardmäßig auf 80 bis 95 °C erwärmt und die Denaturierung im grünen Kanal durchgeführt. Die Parameter dieser ersten Denaturierung können vom Benutzer angepasst werden. Mit den Daten dieser ersten Denaturierung wird eine Schmelzkurve erstellt und automatisch analysiert.



Anhand des Schmelzpeaks (Peak der 1. Ableitung der Schmelzkurve) wird die dazugehörige Schmelztemperatur in den Rohdaten abgelesen. In allen folgenden Schritten des Optical Denature Cycling-Verfahrens heizt das Gerät so schnell wie möglich, und die Daten werden kontinuierlich erfasst.

Sobald im Referenzröhrchen der Fluoreszenzwert für die Schmelztemperatur gemessen wird, wird das Gerät sofort abgekühlt, und der nächste programmierte Schritt des Zyklus beginnt ohne weitere Verzögerung. Während der Zyklen wird kein Peak berechnet. Stattdessen wird vom Fluoreszenzwert auf Erreichen des Schmelzpeaks geschlossen, da dieser das Erreichen der Schmelztemperatur anzeigt.

Im folgenden Diagramm werden die Fluoreszenzrohdaten und die erste Ableitung der Fluoreszenzkurve übereinander gelagert dargestellt. Dies illustriert, wie im Rahmen der Kalibrierung der Zusammenhang zwischen der Schmelztemperatur und dem Schmelzpeak hergestellt wird.



Zur Durchführung der Methode Optical Denature Cycling benötigen Sie:

- Ein bereits amplifiziertes PCR-Produkt, das in Position 1 des Rotors gesetzt wird. Diese Probe sollte das gleiche PCR-Produkt enthalten wie die zu untersuchenden Proben und außerdem die chemischen Substanzen, die zum Nachweis der Dissoziation des PCR-Produkts notwendig sind.
- Ein optisches Denaturierungsprofil. Es kann ein neues Profil erstellt oder ein existierendes Profil bearbeitet werden (siehe Details weiter unten).

Ein Zyklus mit der Methode Optical Denature Cycling ist fast identisch mit anderen Zyklen. Der Hauptunterschied besteht darin, dass am Start des Profils automatisch ein Denaturierungsschritt eingefügt wird und dass die Denaturierungsschritte später im Profil steiler sind. Bei einem Zyklus mit der Methode Optical Denature Cycling entfallen die Haltezeiten, da die Dissoziation des Produkts in jedem Zyklus überwacht wird.

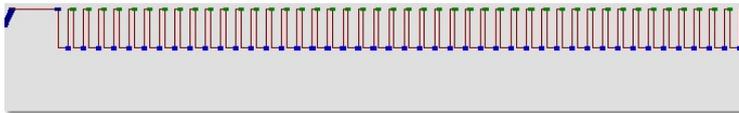
Zur Durchführung dieser Methode sind die folgenden Laufdaten erforderlich:

- Schmelztemperatur der ersten Denaturierung. Dabei handelt es sich um die gleiche Temperatur wie in dem Denaturierungsschritt eines standardmäßigen Zyklusprofils.

- Die Röhrenposition der PCR-Probe, für die eine Schmelzkurve im grünen Kanal gemessen wird.
- Es muss ein spezielles Profil für die Methode Optical Denature Cycling festgelegt werden.

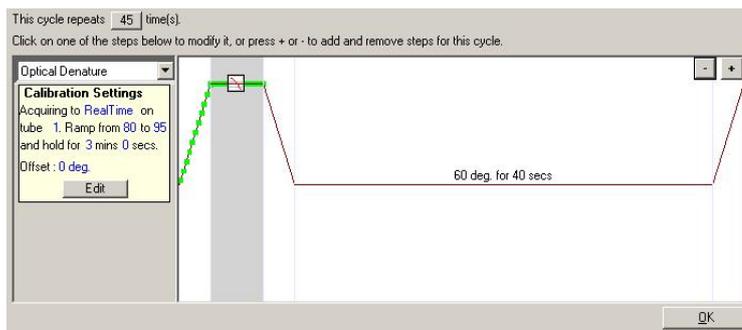
Einen neuen Zyklus für die Methode Optical Denature Cycling erstellen Sie wie weiter unten beschrieben.

1. Öffnen Sie das Fenster Edit Profile (Profil bearbeiten). Klicken Sie auf New (Neu). Klicken Sie im angezeigten Fenster auf die Schaltfläche Insert after (Danach einfügen) und wählen Sie New Cycling (Neuer Zyklus) aus dem Menü aus. Wählen Sie einen der Temperaturschritte. Klicken Sie dazu auf das Diagramm. Im Dropdown-Menü wechseln Sie von Timed Step (Zeitschritt) zu Optical Denature (Optisch denaturieren). Es wird ein Standardprofil angezeigt, das einen Denaturierungs- und einen optischen Denaturierungsschritt enthält.

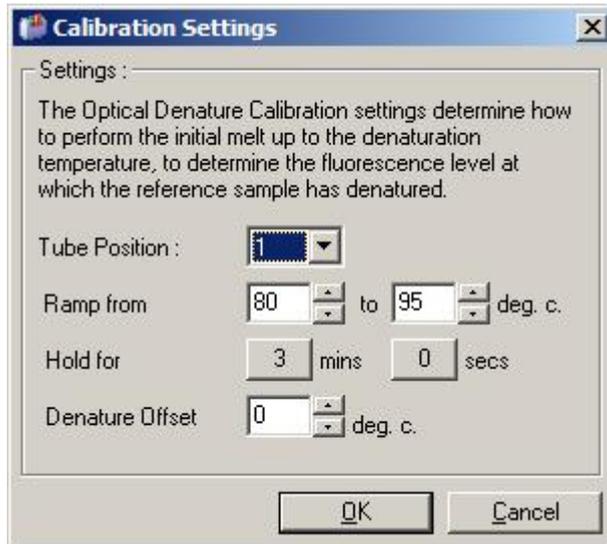


Die Temperaturrampe bei Beginn des Laufs ist das Kalibrierungsverfahren. Die grünen Punkte verweisen auf die Datenerfassungen, die in jedem Zyklus bei der Erwärmung durchgeführt werden. Die blauen Punkte verweisen auf die Datenerfassung am Ende des Annealing-Schritts bei 60 °C. Hinweis: Im Profil scheint jede Denaturierung bei der gleichen Denaturierungstemperatur stattzufinden. Dies ist jedoch unter Umständen nicht der Fall. Wenn die Probe gegen Ende des Laufs etwas länger zur Dissoziation braucht, wartet das optische Denaturierungsverfahren auf den Schmelzzeitpunkt gemäß Fluoreszenzdaten und nicht gemäß zeitlichem Verlauf. Aus diesem Grund kann die Temperaturkurve bei jedem Zyklus unterschiedlich sein.

2. Klicken Sie auf die erste Hälfte des Diagramms mit dem Symbol Optical Denature (Optisch denaturieren) . Die Daten der Calibration Settings (Kalibrierungseinstellungen) werden links im Bildschirm angezeigt.



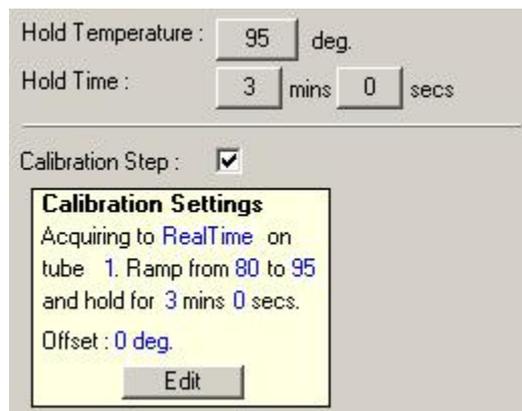
3. Die Angaben unter „Calibration Settings“ (Kalibrierungseinstellungen) sind normalerweise korrekt. Um die Angaben bei Bedarf zu ändern, klicken Sie auf Edit (Bearbeiten). Das Fenster Calibration Settings (Kalibrierungseinstellungen) wird angezeigt.



4. Stellen Sie Folgendes sicher:

- Das unter Tube Position (Röhrchenposition) angegebene Röhrchen enthält ein PCR-Produkt, dessen Schmelzpeak im grünen Kanal gemessen werden kann.
- Die Zieltemperatur der Rampe ist hoch genug, um die Probe zu denaturieren, aber nicht zu hoch, sodass die Probe nicht verbrennt.
- Die Haltedauer reicht zur Denaturierung der Probe aus.
- Der Offset-Wert für die Denaturierung ist passend eingestellt. Die Standardeinstellung von 0 °C ist bei den meisten Denaturierungen angemessen. Bei Denaturierungen mit sehr plötzlichen Übergängen kann ein Offset-Wert von -0,5 °C bis -2 °C erforderlich sein, um den Übergang zum denaturierten Zustand nachweisen zu können. Der Offset-Wert für die Denaturierung wird vom Benutzer bestimmt.

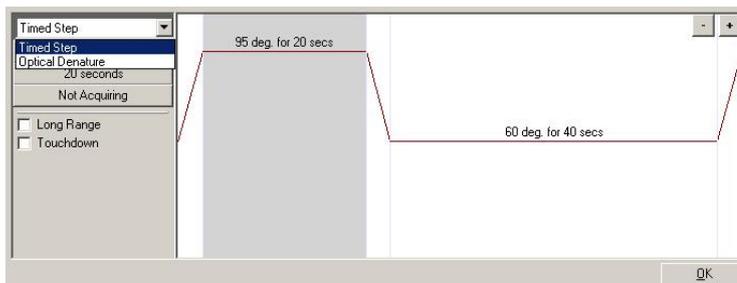
Sie können einen Denaturierungsschritt auch festlegen, indem Sie einen neuen Halteschritt einfügen. Klicken Sie auf Insert before (Einfügen vor) und wählen Sie die Option New Hold at Temperature (Neue Haltetemperatur) im Menü. Die Kalibrierungseinstellungen werden angezeigt.



Die Kalibrierungseinstellungen sind mit den Denaturierungseinstellungen synchronisiert. Eine Änderung der Haltedauer im Denaturierungsschritt führt automatisch zu einer Aktualisierung der Haltedauer der Kalibrierung. Im Rahmen der Methode Optical Denature Cycling sind das Kalibrierungsverfahren und die Denaturierung äquivalent.

Ändern eines bestehenden Schritts zur Nutzung der Methode Optical Denature Cycling

Um einen bestehenden Denaturierungsschritt einer Zyklussequenz zu ändern, wählen Sie den Zyklus in der Liste im Fenster Edit Profile (Profil bearbeiten) aus. Dann wählen Sie den Denaturierungsschritt aus, indem Sie in der Anzeige auf ihn klicken.



Klicken Sie auf das Dropdown-Menü und wählen Sie die Option Optical Denature (Optisch denaturieren). Die Temperatur und die Haltedauer werden entfernt, und das Symbol Optical Denature (Optisch denaturieren)  wird angezeigt.

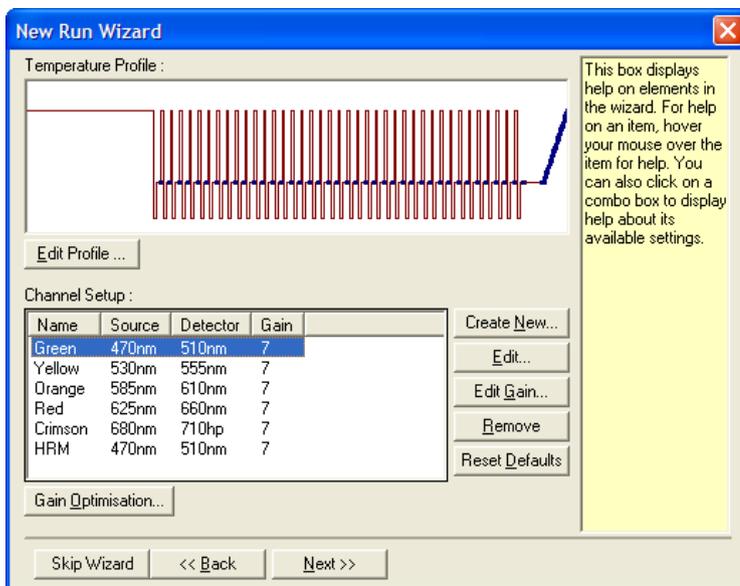
Verstärkungsoptimierung

Bei Einrichtung eines neuen Laufs ist es nützlich, die Option Gain Optimisation (Verstärkungsoptimierung) zu verwenden. Diese Funktion ermöglicht die Optimierung der Verstärkung, sodass bei einer bestimmten Temperatur (gewöhnlich der Temperatur, bei der die Datenerfassung erfolgt) der gewünschte Intensitätsbereich der Startfluoreszenz in allen Erfassungskanälen gemessen wird. Die Option Gain Optimisation (Verstärkungsoptimierung) soll sicherstellen, dass alle Daten in den dynamischen Messbereich des Detektors fallen. Ist die Verstärkung zu niedrig, geht das Signal im Hintergrundrauschen verloren. Ist die Verstärkung zu hoch, befinden sich die Signale nicht im Messbereich (Sättigung).

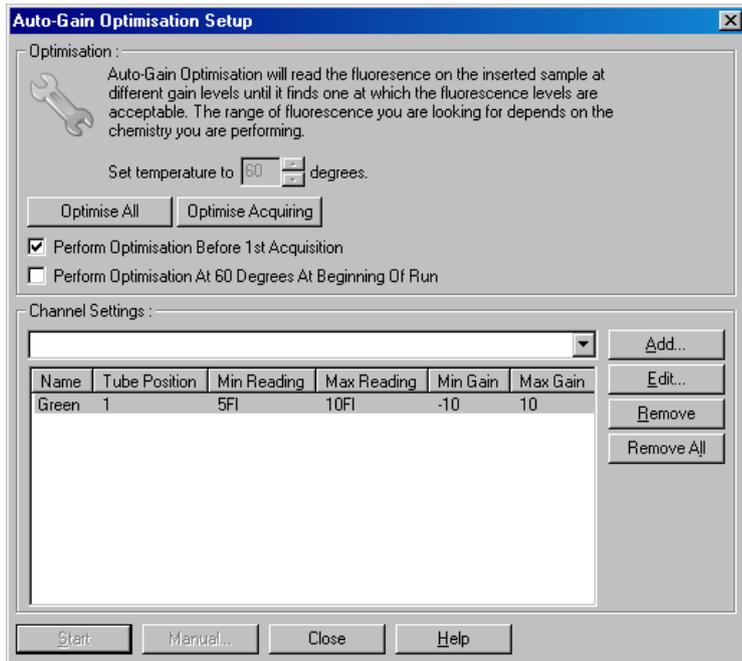
Der Verstärkungsbereich jedes Kanals ist –10 bis 10, wobei –10 die niedrigste und 10 die höchste Empfindlichkeit darstellt.

Wir empfehlen, beim ersten Lauf von Reaktionen einen Testprobe zu analysieren, die alle Reaktionskomponenten enthält. Setzen Sie die Testprobe in den Rotor-Gene Q MDx und verwenden Sie die Option Gain Optimisation (Verstärkungsoptimierung), um die beste Verstärkungseinstellung zu ermitteln. Wenn der von der Option Gain Optimisation (Verstärkungsoptimierung) gewählte Wert ein unzureichendes Signal ergibt, sollte der Wert unter Target Sample Range (Probenzielbereich) erhöht werden. Ist das erzeugte Signal gesättigt, muss der Wert unter Target Sample Range (Probenzielbereich) gesenkt werden.

Zur Durchführung der Verstärkungsoptimierung klicken Sie auf die Schaltfläche Gain Optimisation... (Verstärkungsoptimierung...) im dritten Fenster des New Run Wizard (Assistent für neue Läufe) (siehe Assistent für neue Läufe – Fenster 3).



Das Fenster Auto-Gain Optimisation Setup (Einstellung der automatischen Verstärkungsoptimierung) wird angezeigt. In diesem Fenster kann die Verstärkungsoptimierung automatisch angepasst werden, bis die Werte aller ausgewählten Kanäle innerhalb bestimmter Grenzwerte bzw. unterhalb eines bestimmten Grenzwerts liegen.



Set temperature to
(Temperatur einstellen auf):

Vor dem Ablesen des Messwerts wird der Rotor-Gene Q MDx auf die angegebene Temperatur erwärmt bzw. abgekühlt. Diese Temperatur wird standardmäßig als Datenerfassungstemperatur festgelegt.

Optimise All/Optimise Acquiring
(Alle optimieren/Nur Erfassung optimieren):

Im Rahmen der Option Optimise All (Alle optimieren) versucht die Software, alle ihr bekannten Kanäle zu optimieren. Im Rahmen der Option Optimise Acquiring (Nur Erfassung optimieren) werden nur die Kanäle optimiert, die für das Temperaturprofil des Laufs (Zyklen/Denaturierung) benötigt werden.

Perform Optimisation Before First Acquisition
(Optimierung vor erster Erfassung):

Aktivieren Sie dieses Kontrollkästchen, um beim ersten Zyklus mit Datenerfassung eine Verstärkungsoptimierung durchzuführen. Dies wird für die Option Auto-Gain Optimisation (Automatische Verstärkungsoptimierung) empfohlen.

Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run
(Optimierung bei [x] Grad bei Beginn des Laufs durchführen)

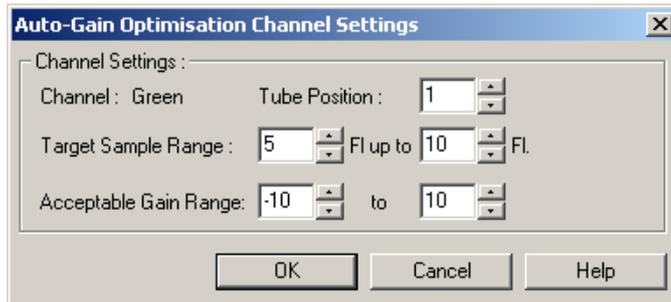
Aktivieren Sie dieses Kontrollkästchen, um kurz vor dem Lauf eine Verstärkungsoptimierung durchzuführen. Der Rotor-Gene Q MDx wird auf die angegebene Temperatur erwärmt, die Verstärkungsoptimierung und dann der erste Schritt der Zyklen (gewöhnlich ein Denaturierungsschritt) werden durchgeführt. Diese Option kann gewählt werden, wenn eine Verstärkungsoptimierung während des Laufs den ersten Schritt zu stark verlängern würde. Die Option Perform Optimisation Before 1st Acquisition (Optimierung vor 1. Erfassung durchführen) ist gewöhnlich die bevorzugte Einstellung, da die Verstärkungsoptimierung auf diese Weise bei Bedingungen durchgeführt wird, die den Laufbedingungen so nahe wie möglich kommen.

Channel Settings
(Kanaleinstellungen):

In diesem Dropdown-Menü können Kanäle hinzugefügt werden. Wählen Sie den gewünschten Kanal und klicken Sie auf Add (Hinzufügen).

Edit (Bearbeiten):

In dem angezeigten Fenster kann die Option Target Sample Range (Probenzielbereich) festgelegt werden. Der Probenzielbereich ist der Bereich der anfänglichen Fluoreszenz, der für die Probe im angegebenen Röhrchen eingestellt werden sollte. Die Option Auto-Gain Optimisation (Automatische Verstärkungsoptimierung) verwendet die Verstärkungseinstellungen, die unter Acceptable Gain Range (Akzeptabler Verstärkungsbereich) angegeben werden. Die Funktion wählt die erste Verstärkungseinstellungen, die Fluoreszenzmesswerte im Probenzielbereich erzeugt. In dem dargestellten Beispiel sucht die Option Auto-Gain Optimisation (Automatische Verstärkungsoptimierung) nach einer Verstärkungseinstellung zwischen -10 und 10, die Messwerte zwischen 5 und 10 FI für Röhrchen 1 erzeugt. Im Allgemeinen eignet sich ein Probenzielbereich von 1 bis 3 FI für interkalierende Farbstoffe, während sich ein Bereich zwischen 5 und 10 FI besser für Sondenchemien eignet.



Remove/Remove All
(Entfernen/Alle entfernen):

Remove (Entfernen) entfernt den hervorgehobenen Kanal. Remove All (Alle entfernen) entfernt alle Kanäle.

Start:

Mit **Start** beginnen Sie die Verstärkungsoptimierung. Es wird eine Verstärkung gesucht, die Fluoreszenzsignale erzeugt, die in den angegebenen Messbereich fallen. Liegt die Fluoreszenz nicht im angegebenen Bereich, wird die Verstärkung auf den am nächsten liegenden Wert gesetzt.

Manual (Manuell):

Mit dieser Option wird das Fenster Manual Gain Adjustment (Manuelle Verstärkungsanpassung) geöffnet.

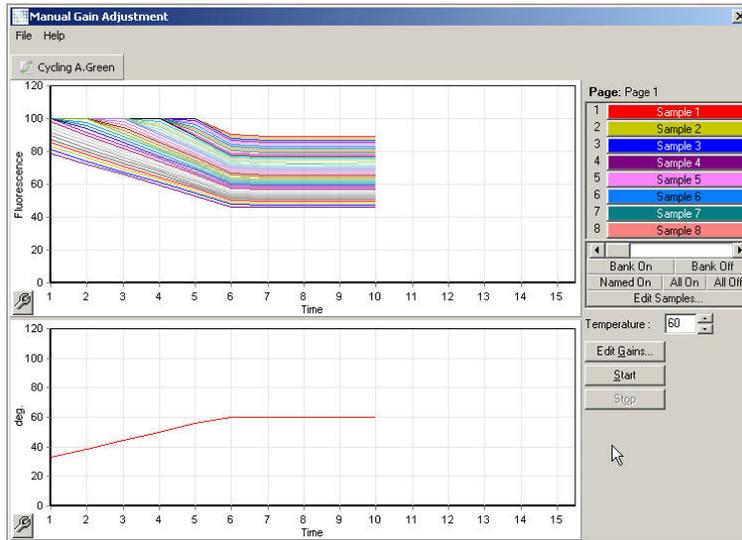
Changing Gain During a Run
(Verstärkung während des Laufs
ändern):

War die Verstärkung bei Beginn des Laufs zu hoch oder zu niedrig, kann sie während der ersten zehn Zyklen angepasst werden. Eine solche Änderung der Verstärkung wird mit einer senkrechten Linie gekennzeichnet. Die Zyklen vor der Änderung werden von der Analyse ausgeschlossen.

Hinweis: Die Verstärkungsoptimierung kann unter Umständen eine Einstellung wählen, die nicht im angegebenen Bereich liegt. Dies kann durch Fluoreszenzänderungen nach dem ersten Halteschritt verursacht werden. Trotzdem ist das Ergebnis der Verstärkungsoptimierung ein guter Hinweis auf die Intensität des Fluoreszenzsignals, mit dem der Lauf startet.

Manuelle Verstärkungsoptimierung

Zur Durchführung einer manuellen Verstärkungsoptimierung klicken Sie auf Manual... (Manuell...) im Fenster Auto-Gain Optimisation Setup (Einstellung der automatischen Verstärkungsoptimierung). Das Fenster Manual Gain Adjustment (Manuelle Verstärkungsanpassung) wird angezeigt. In diesem Fenster werden die Fluoreszenzmesswerte bei jeder gegebenen Temperatur in Echtzeit angezeigt. Diese Funktion wird verwendet, wenn der Hintergrund einer Probe unbekannt ist. Daher muss die Verstärkung ermittelt werden, um sicherzustellen, dass das Probensignal für die Detektion ausreicht.



In der Standardeinstellung werden alle Proben angezeigt. Im Umschaltbereich können Proben aus der Anzeige entfernt bzw. hinzugefügt werden. Der Umschaltbereich enthält farbig codierte Schaltflächen, die jeweils einer bestimmten Probe in der Anzeige entsprechen. Die Proben der eingblendeten, leuchtenden Schaltflächen werden angezeigt, und die Proben der ausgeblendeten, blassen Schaltflächen werden nicht angezeigt. Durch Klicken der Schaltflächen bzw. durch Ziehen des Mauszeigers über mehrere Schaltflächen können Proben ein- und ausgeschaltet werden.

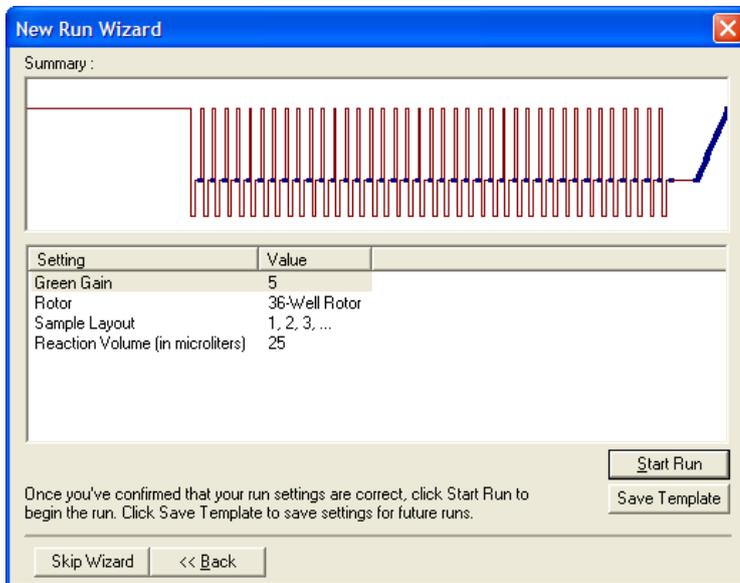
Wir empfehlen, eine manuelle Verstärkungsanpassung wie folgt durchzuführen.

1. Stellen Sie die Temperatur im Fenster Manual Gain Adjustment (Manuelle Verstärkungsanpassung) auf die Erfassungstemperatur ein, die für den Lauf erforderlich ist.
Hinweis: Die Temperatur kann während des aktiven Betriebs des Rotor-Gene Q MDx nicht angepasst werden. Um die Temperatur zu ändern, starten Sie den Rotor-Gene Q MDx neu.
2. Klicken Sie auf Start. Der Lauf beginnt. Die Temperatur des Rotor-Gene Q MDx wird auf die im Fenster angegebene Temperatur eingestellt. Im Diagramm im Fenster werden Daten angezeigt.
3. Warten Sie, bis sich die Temperatur stabilisiert hat.
4. Notieren Sie den Endpunktmesswert der Fluoreszenzintensität (FI).
5. Liegt der FI-Messwert nicht im erforderlichen Bereich, klicken Sie auf Edit Gains... (Verstärkung bearbeiten ...). und führen Sie die erforderliche Bearbeitung vor. Dieser Prozess dauert u. U. etwas, da der Rotor-Gene Q MDx zur Messung je Punkt in jedem Kanal ungefähr 4 s benötigt. Während dieser Zeit ist die Benutzeroberfläche deaktiviert.
6. Wiederholen Sie das Verfahren, bis der FI-Wert im gewünschten Bereich liegt.

7. Klicken Sie auf Stop (Stopp). Werden bei Klicken der Schaltfläche Stop (Stopp) noch Laufdaten erfasst, beendet der Rotor-Gene Q MDx zunächst die Datenerfassung und hält erst danach an. Dieser Prozess kann bis zu 5 s je Erfassungskanal dauern.

Assistent für neue Läufe – Fenster 4

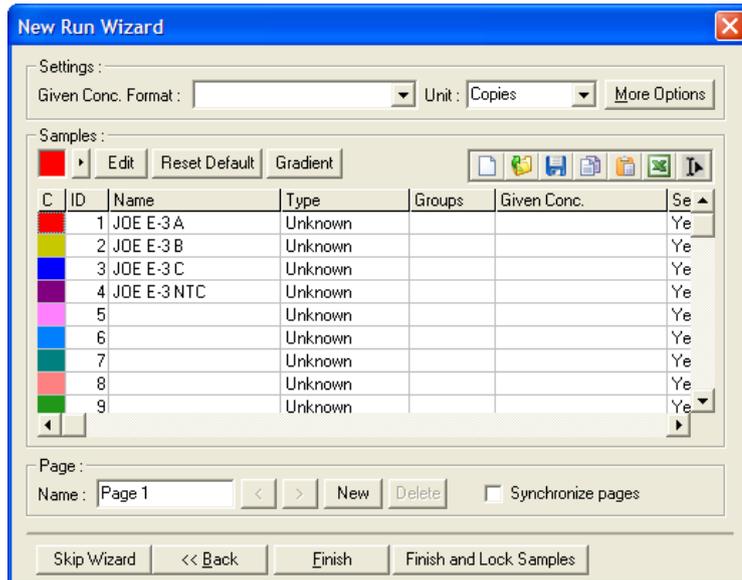
In diesem Fenster wird der Lauf zusammengefasst. Prüfen Sie die Parameter. Sind diese korrekt, klicken Sie auf Start Run (Lauf starten). Sie werden aufgefordert, einen Dateinamen anzugeben. Mit der Schaltfläche Save Template (Vorlage speichern) können Sie die Laufeinstellungen auch als Vorlage für zukünftige Läufe speichern.



Assistent für neue Läufe – Fenster 5

In dieses Fenster geben Sie die Probenarten und -beschreibungen während des aktiven Laufs ein. Die Funktionen in diesem Fenster und im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) (Seite 133) sind identisch. Die Probeninformationen können auch noch nach Abschluss des Laufs eingegeben werden.

Mit der Schaltfläche Finish and Lock Samples (Proben abschließen und sperren) wird der Bildschirm gesperrt und die Probenamen können nicht mehr geändert werden. Weitere Informationen zu dieser und weiteren Sicherheitsfunktionen siehe „Zugriffsschutz der Rotor-Gene Q Software“ (Seite 140).



5.2 Verwendung der Rotor-Gene Q MDx Hardware

5.2.1 Rotortypen

Zuerst wählen Sie den zu verwendenden Röhrchentyp und den Rotor. Es stehen 4 Rotoren für verschiedene Röhrchentypen zur Verfügung.

Hinweis: Ein 36-Well Rotor und ein 72-Well Rotor sind im Lieferumfang des Geräts enthalten. Rotor-Disc® Rotoren sind als Zubehör erhältlich.

Wichtig: Alle Röhrchen in einem Lauf müssen gleich sein. Verwenden Sie nicht mehrere unterschiedliche Röhrchentypen oder Röhrchen von unterschiedlichen Herstellern, da diese Röhrchen nicht optisch einheitlich sind. Wir empfehlen Röhrchen von QIAGEN, die für die Verwendung im Rotor-Gene Q MDx optimiert wurden (siehe Bestellinformationen). Röhrchen von anderen Herstellern können eine Eigenfluoreszenz besitzen, die die Zuverlässigkeit der Ergebnisse beeinträchtigt. Darüber hinaus können Röhrchen von unterschiedlichen Herstellern unterschiedlich lang oder dick sein. Dies führt zu einer Fehlausrichtung des optischen Pfads im Rotor-Gene Q MDx und der Reaktion im Röhrchen. QIAGEN behält sich das Recht vor, bei Problemen mit dem Rotor-Gene Q MDx im Zusammenhang mit Kunststoffmaterialien, die nicht von QIAGEN zertifiziert wurden, die technische Unterstützung zu verweigern.

Wichtig: Jegliche Verwendung von Kunststoffmaterialien, die nicht von QIAGEN zertifiziert wurden, auf dem Rotor-Gene Q MDx kann die Gerätegewährleistung ungültig machen.

VORSICHT**Beschädigung des Geräts**

Vor jedem Lauf müssen Sie durch Sichtprüfung sicherstellen, dass der Rotor nicht beschädigt oder verformt ist.

36-Well Rotor

Der 36-Well Rotor ist rot. Der 36-Well Rotor und der 36-Well Rotor Locking Ring ermöglichen die Verwendung von 0,2-ml-Röhrchen. Es ist nicht notwendig, dass die Röhrchen optisch durchsichtige Deckel besitzen, da der Rotor-Gene Q MDx die Fluoreszenz durch den Röhrchenboden (und nicht von oben) misst. Es können auch Röhrchen mit gewölbten Deckeln verwendet werden.

**72-Well Rotor**

Der 72-Well Rotor ist blau. Der 72-Well Rotor und der 72-Well Rotor Locking Ring werden zusammen mit Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, verwendet. Diese sind für Volumen bis zu einem Mindestvolumen von 20 µl geeignet. Die Deckel schließen sicher und zuverlässig.



Rotor-Disc 72 Rotor

Der Rotor-Disc 72 Rotor ist dunkelgrau. Der Rotor-Disc 72 Rotor und der Rotor-Disc 72 Locking Ring ermöglichen die Verwendung von Rotor-Disc 72. Rotor-Disc 72 ist eine Scheibe mit 72 Wells für Anwendungen mit hohem Durchsatz. Eine Rotor-Disc 72 wird oben mit einer durchsichtigen Polymerfolie abgedeckt und heißversiegelt. Die Folie, die schnell angebracht werden kann, sorgt für eine robuste, haltbare und manipulations sichere Versiegelung und verhindert eine Kontamination. Weitere Informationen zu Rotor-Disc 72 siehe Abschnitt 5.2.3.



Rotor-Disc 100 Rotor

Der Rotor-Disc 100 Rotor ist golden. Der Rotor-Disc 100 Rotor und der Rotor-Disc 100 Locking Ring ermöglichen die Verwendung von Rotor-Disc 100. Rotor-Disc 100 ist eine Scheibe mit 100 Wells für Anwendungen mit hohem Durchsatz. Die Rotor-Disc 100 ist äquivalent zu einer 96-Well-Platte, hat jedoch eine runde Form und Platz für weitere 4 Referenz-Wells. Sie ermöglicht eine Integration von Rotor-Gene Q MDx in 96-Well-basierte Arbeitsabläufe im Labor. Die zusätzlichen Wells können bequem für weitere Proben, zusätzliche Kontrollreaktionen oder Orientierungsreaktionen genutzt werden, für die also keine standardmäßige 96-Well-Position geopfert werden müssen. Die Rotor-Disc 100 ermöglicht eine reibungslose Kompatibilität mit 96-Well-Arbeitsabläufen. Es gelten die standardmäßigen Benennungsregeln für 96-Well-Platten, d. h. A1–A12 bis zu H1–H12. Die 4 zusätzlichen Referenzwells sind mit R1–R4 gekennzeichnet. Weitere Informationen zu Rotor-Disc 100 siehe Abschnitt 5.2.3.



Technische Angaben zum Rotor

Rotortyp	Well-Kapazität (µl)	Probennr.	Röhrchentyp	Empfohlenes Reaktionsvolumen (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

Hinweis: Der 36-Well Rotor und der 72-Well Rotor für den Rotor-Gene Q MDx Thermocycler eignen sich nicht für Rotor-Gene 3000 Geräte, da die optischen Ausrichtungen nicht kompatibel sind. Bitte verwenden Sie die älteren 36-Positionen- und 72-Positionen-Rotoren für Rotor-Gene 3000 Geräte.

5.2.2 Reaktionsansatz

Wichtig: In jedem Lauf müssen angemessene Kontrollen gemessen werden, um die Zuverlässigkeit der Ergebnisse sicherzustellen.

Die Reaktionen können in den folgenden Ladeblöcken angesetzt werden: Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes (für PCR Tubes, 0.2 ml), Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (für Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, und Ansetzen mit einer Einkanalpipette), Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel (für Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, Ansetzen mit einer Mehrkanalpipette), Rotor-Disc 72 Loading Block (für Rotor-Disc 72) oder Rotor-Disc 100 Loading Block (für Rotor-Disc 100). Alle Ladeblöcke bestehen aus Aluminium und können vorgekühlt werden.

Der Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (siehe Bild) bietet Platz für 18 Streifenröhrchen, bis zu acht 0,5-ml-Röhrchen (zum Ansetzen des Master-Mix) und bis zu sechzehn 0,2-ml-Röhrchen (zum Einrichten von Standardkurven). Weiter unten wird die Einrichtung eines 72-Well Rotors beschrieben. Das gleiche Verfahren kann für die Einrichtung der Reaktionen mit einem 36-Well Rotor und den passenden Zubehörprodukten verwendet werden.

1. Setzen Sie die Streifenröhrchen in den Ladeblock und aliquotieren Sie die Bestandteile der Reaktion.

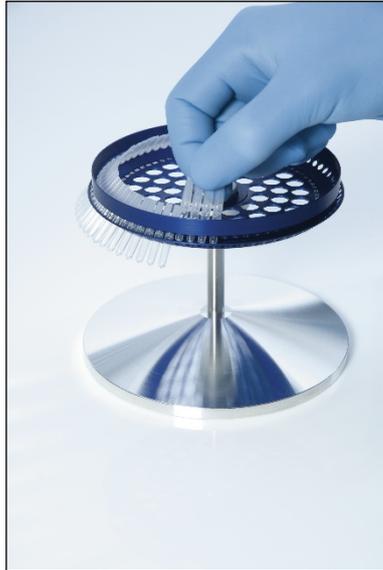


2. Verschließen Sie die Streifenröhrchen sicher mit den Deckeln und führen Sie eine Sichtprüfung durch, um den festen Verschluss zu bestätigen.



3. Setzen Sie die Streifenröhrchen in den 72-Well Rotor. Stellen Sie dabei sicher, dass jedes Röhrchen an der korrekten Position und korrekt ausgerichtet sitzt.

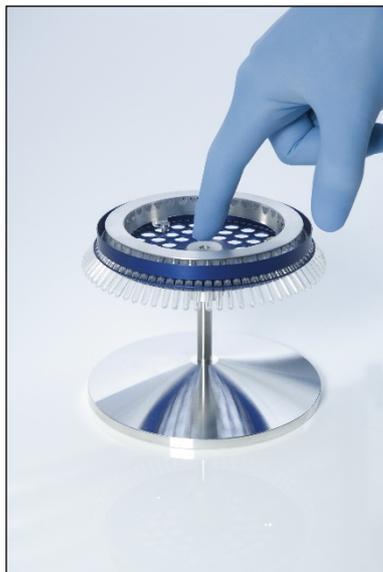
Wenn die Proben nicht korrekt in den Rotor gesetzt werden, sind sie nicht optimal über dem Detektionssystem ausgerichtet. Dies könnte zu einer Reduktion des erfassten Fluoreszenzsignals und der Detektionssensitivität führen. Ein Rotor Holder vereinfacht die Beladung mit Röhrchen und ist im Lieferumfang des Geräts enthalten.



Wichtig: Um eine möglichst gleichmäßige Temperatur zu erzielen, muss sich an jeder Position im Rotor ein Röhrchen befinden. Die Besetzung aller Positionen im Rotor sorgt für einen gleichmäßigen Luftstrom zu jedem Röhrchen. Halten Sie einige leere Röhrchen mit Deckel bereit, die zum Besetzen etwaiger nicht verwendeter Positionen eingesetzt werden können.

4. Setzen Sie den 72-Well Rotor Locking Ring auf den 72-Well Rotor und drücken Sie die 3 Führungsstifte durch die äußeren Löcher im Rotor.

Der Schließring sorgt dafür, dass die Deckel während des Laufs auf den Röhrchen bleiben.



5. Setzen Sie den beladenen Rotor in die Kammer des Rotor-Gene Q MDx. Lassen Sie dabei den Führungsstift auf der Rotornabe einrasten. Um den Rotor zu entnehmen, drücken Sie einfach auf die Rotornabe, um die Verriegelung zu lösen, und heben Sie den Rotor an.



6. Schließen Sie den Deckel und richten Sie das Laufprofil mithilfe der Rotor-Gene Q Software ein.

5.2.3 Einrichtung von Rotor-Discs

Bei Rotor-Disc handelt es sich um eine einteilige Scheibe mit 72 Plätzen (Rotor-Disc 72) bzw. 100 Plätzen (Rotor-Disc 100) für hohe Durchsätze. Rotor-Disc 72 und Rotor-Disc 100 verwenden keine Deckel. Stattdessen werden die Scheiben oben mit Rotor-Disc Heat Sealing Film verschlossen und mit einem Rotor-Disc Heat Sealer heißversiegelt. Die Folie sorgt für eine robuste, haltbare und manipulationssichere Versiegelung und verhindert Kontaminationen. Die Heißversiegelung von Rotor-Discs wird weiter unten beschrieben.

Wichtig: Vor dem Start dieses Verfahrens müssen Sie das Produktinformationsblatt lesen, das dem Rotor-Disc Heat Sealer beiliegt.

1. Schalten Sie den Rotor-Disc Heat Sealer mit dem Schalter hinten links ein.
Das Anzeigelämpchen „Power“ (Stromversorgung) leuchtet rot auf. Es dauert ungefähr 10 Minuten, bis der Rotor-Disc Heat Sealer die Betriebstemperatur erreicht hat. Das Anzeigelämpchen „Ready“ (Bereit) leuchtet grün auf.
2. Wählen Sie eine permanente oder eine abziehbare Versiegelung.
Hinweis: Der Rotor-Disc Heat Sealer in Betriebsbereitschaft ist sicher und braucht nicht ausgeschaltet zu werden.
3. Setzen Sie die Rotor-Disc auf den Rotor-Disc Loading Block. Orientieren Sie sich dabei an der Lasche in Position 1 der Rotor-Disc und den Führungslöchern im Rotor-Disc Loading Block.

4. Richten Sie die Reaktionen in der Rotor-Disc ein. Verwenden Sie dazu eine manuelle Pipette oder ein automatisiertes Liquid-Handling-System.



5. Ziehen Sie den Mittelteil einer Folie des Rotor-Disc Heat Sealing Films ab. Dazu falten Sie die Folie vorsichtig zur Hälfte, klemmen das Mittelteil zwischen zwei Fingern ein und ziehen Sie es vorsichtig heraus.
6. Legen Sie die Folie mit der korrekten Seite nach oben (Beschriftung „SIDE UP“) auf die Rotor-Disc. Die Kennzeichnung „SIDE UP“ muss sich unten auf dem Rotor-Disc Loading Block befinden. Das mittlere Loch in der Folie sollte leicht über den Zylinder des Rotor-Disc Loading Blocks und auf die Rotor-Disc gleiten.



7. Schieben Sie den Ladeblock mit abgedeckter Rotor-Disc entlang den seitlichen Führungen des Ladeblocks in den Rotor-Disc Heat Sealer. Stellen Sie sicher, dass der Rotor-Disc Loading Block vollständig eingeführt worden ist.



8. Zur Aktivierung des Versiegelungsmechanismus drücken Sie die blau eloxierte Leiste oben am Heißversiegler herunter und dann den schwarzen Riegel.



9. Nach Absenken des Versiegelungsmechanismus leuchtet das Anzeigelämpchen „Sealing“ orange. Befindet sich der Rotor-Disc Loading Block nicht in der korrekten Position, ertönt ein Warnsignal.
10. Nach Abschluss der Versiegelung ertönt ein Dauerton und das orangefarbene Anzeigelämpchen „Sealing“ beginnt zu blinken. Drücken Sie erneut auf die blau eloxierte Leiste, um den Versiegelungsmechanismus anzuheben und in die ursprüngliche Position zurückzufahren.

Wichtig: Wenn der Ton ertönt, muss das Versiegelungsverfahren sofort beendet werden, damit sich die Rotor-Disc nicht verformen kann.

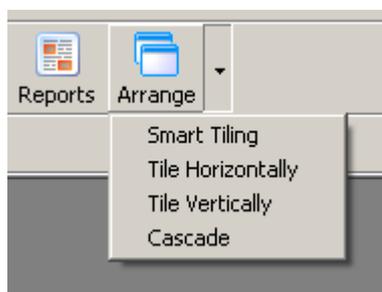
Hinweis: Wenn Sie den Sperrmechanismus versehentlich nicht aufheben, blinkt das orangefarbene Anzeigelämpchen „Sealing“ dauernd, und der Dauerton wechselt zu einem unterbrochenen Ton.

11. Ziehen Sie den Rotor-Disc Loading Block aus dem Rotor-Disc Heat Sealer. Die Folie muss nun ungefähr 10 s lang abkühlen. Die überstehende Versiegelungsfolie kann nach unten gezogen und so entfernt werden. Ziehen Sie die überstehende Folie nicht nach oben.
12. Entnehmen Sie die Rotor-Disc vom Rotor-Disc Loading Block.
13. Laden Sie die Rotor-Disc in den Rotor. Nutzen Sie dazu wieder die Führungslasche in Position 1, um die korrekte Ausrichtung sicherzustellen.

6 Benutzeroberfläche für die Analyse

6.1 Arbeitsbereich

Der Arbeitsbereich ist der Hintergrund des Hauptfensters. In diesem Bereich können Rohdaten-Diagramme und Analyseergebnisse geöffnet werden. Wenn mehrere Fenster gleichzeitig offen sind, können mithilfe der Schaltfläche Arrange (Anordnen) in der Symbolleiste geordnet werden. Durch Klicken auf den Pfeil neben der Schaltfläche Arrange (Anordnen) kann eine Option verschiedener Fensteranordnungen gewählt werden.



6.2 Symbolleiste

Die Schaltflächen in der Symbolleiste sind Shortcuts zu häufig verwendeten Funktionen. Zugriff auf diese Funktionen besteht auch in den Dropdown-Menüs.



6.3 Rohdatenkanäle anzeigen

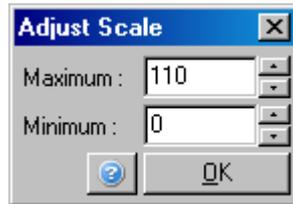
Durch Klicken auf diese Schaltflächen können Sie die (nicht analysierten) Rohdaten bestimmter Kanäle des Laufs anzeigen.



Zur Anzeige dieser Daten stehen verschiedene Optionen für die Präsentation der Daten zur Verfügung. Die Rohdaten können auch transformiert werden, um andere Weisen der Analyse zu ermöglichen.

Adjust Scale (Skalierung anpassen):

Klicken Sie mit der rechten Maustaste in das passende Fenster und wählen Sie die Option Adjust Scale (Skalierung anpassen). Mit der Option Adjust Scale (Skalierung anpassen) öffnen Sie ein Fenster, in dem der Maßstab angegeben werden kann.



Autoscale (Automatisch skalieren):

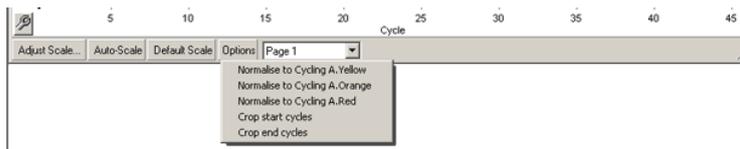
Die Schaltfläche **Autoscale** (Automatisch skalieren) passt die Skala an die maximalen und minimalen Messwerte in den Daten an.

Default Scale (Standardskalierung):

Mit der Option Default Scale (Standardskalierung) wird Skalierung zurückgesetzt, um Fluoreszenzeinheiten zwischen 0 und 100 anzuzeigen.

Schraubenschlüssel-Symbol:

Weitere Informationen dazu siehe Abschnitt 7.5.



Options (Optionen):

Mit dieser Funktion wird das oben dargestellte Dropdown-Menü angezeigt, in dem Optionen zur Transformation der Rohdaten angeboten werden.

Normalise to... (Normalisieren auf ...):

Die Amplifikationsdaten können mit Bezug auf die Daten eines passiven Referenzfarbstoffs (wie ROX), der in einem anderen Kanal gemessen wird, normalisiert werden.

Crop start cycles (Startzyklen abschneiden):

Mit dieser Funktion wird ein neuer Kanal-Datensatz erstellt, bei dem einige Startzyklen entfernt wurden. Dies ist nützlich, wenn am Anfang des Thermocycler-Laufs große Sprünge beobachtet werden, was bei Verwendung von bestimmten Reaktionen vorkommen kann.

Crop end cycles (Endzyklen abschneiden):

Mit dieser Funktion wird ein neuer Kanal-Datensatz erstellt, bei dem einige Endzyklen entfernt wurden.

Page 1 (Seite 1):

Hier wird die aktuell gewählte Seite für das Rohdatendiagramm angezeigt. Im Fenster Edit Sample (Probe bearbeiten) können mehrere Probendefinitionen erstellt werden. Die Daten können beispielsweise mit verschiedenen dicken Linien, Probendefinitionen und anderen Anzeigoptionen angezeigt werden. Dies ist insbesondere bei einer relativen Quantifizierung in einem Einzelkanal nützlich, da der Benutzer einfach zwischen der Ansicht des Zielgens und der Ansicht der Housekeeper-Proben hin und her schalten kann, indem 2 Probenseiten festgelegt werden.

6.4 Proben umschalten

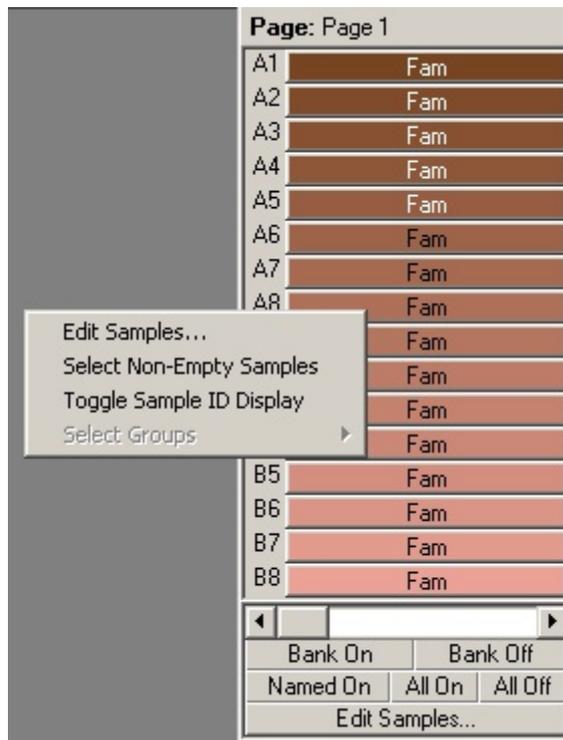
Rechts neben dem Hauptfenster befindet sich ein Umschaltbereich mit Probenlegende. Dieser enthält farbig codierte Schaltflächen, die jeweils einer bestimmten Probe in der Anzeige entsprechen. Im Umschaltbereich kann kontrolliert werden, welche Proben angezeigt werden. Die Proben der eingblendeten, leuchtenden Schaltflächen werden angezeigt, und die Proben der ausgeblendeten, blassen Schaltflächen werden nicht angezeigt.

Durch Klicken der Schaltflächen bzw. durch Ziehen des Mauszeigers über mehrere Schaltflächen können Proben ein- und ausgeschaltet werden. Mit den Schaltflächen Bank On (Bank ein) und Bank Off (Bank aus) werden alle aktuell in der Liste angezeigten Proben ein- bzw. ausgeblendet. Mithilfe der Bildlaufleiste kann die nächste Probengruppe angezeigt werden.

Hinweis: Die Anzahl der angezeigten Proben ist dynamisch und hängt von dem im Fenster verfügbaren Platz ab.

Durch Klicken der Option Named On (Mit Benennung) werden nur die Proben angezeigt, die benannt worden sind. Dies ist eine schnelle Methode, um nur relevante Proben anzuzeigen. Durch Klicken auf All On (Alle ein) oder All Off (Alle aus) werden alle bzw. keine Proben des Rotors angezeigt. Durch Drücken der Schaltfläche Edit Samples... (Proben bearbeiten...) wird das Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) angezeigt, wo Probennamen, Probentypen und Standardkonzentrationen bearbeitet werden können (siehe Abschnitt 6.8.4).

Dies ist eine Abbildung des Umschaltbereichs: Nach Klicken der rechten Maustaste im Umschaltbereich werden zusätzliche Optionen angezeigt.



Page (Seite):

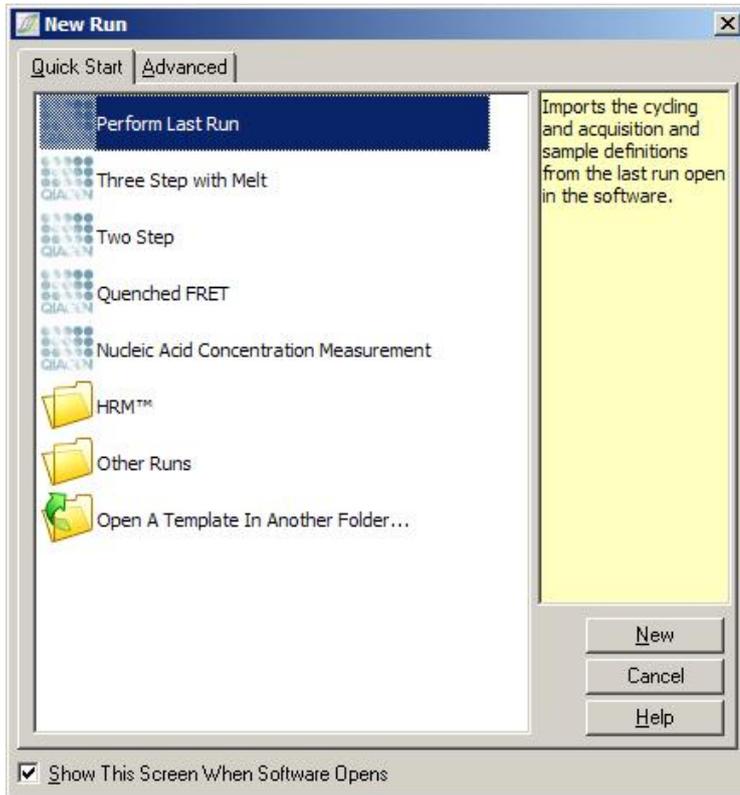
Der Eintrag unter Page (Seite) oben im Umschaltbereich gibt an, welche Probenseite angezeigt wird. Die Seiten ermöglichen verschiedene unabhängige Analysen eines einzelnen Kanaldatensatzes. Sie können z. B. zwei Standardkurven im grünen Kanal erstellen und unabhängige Berichte erstellen. Weiterführende Hinweise zur Einrichtung von Probenseiten siehe Abschnitt 6.8.4.

Toggle Sample ID Display (Proben-ID-Anzeige umschalten):	Im Falle eines 72-Well Rotors werden die Proben im Format A1 bis A8, B1 bis B8 usw. angezeigt. Mit der Option Toggle Sample ID Display (Proben-ID-Anzeige umschalten) können die Benutzer zu einer numerischen Probenordnung (1 bis 72) umschalten.
Select Non-Empty Samples (Nicht-leere Proben wählen):	Mit dieser Option kann die Wahl jeglicher Proben aufgehoben werden, deren Type (Typ) im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) als None (Kein) angegeben wird. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass ausschließlich für die Analyse relevante Proben angezeigt werden.
Select Groups (Gruppen wählen):	Wenn Sie Gruppen definiert haben, kann mit dieser Funktion die Anzeige von Proben in Gruppen umgeschaltet (ein-/ausgeschaltet) werden. Gruppen sind je nach Wunsch zusammengestellte Probensammlungen, die eine fortgeschrittene statistische Bearbeitung ermöglichen. Beispielsweise können Gruppen für Proben von behandelten und unbehandelten Patienten festgelegt werden. Gruppen können im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) festgelegt werden.

6.5 Dateimenü

6.5.1 Neu

Nach Wahl von „File“ (Datei) und dann „New“ (Neu) wird das Fenster „New Run“ (Neuer Lauf) angezeigt. In diesem Fenster befinden sich häufig genutzte Vorlagen, die in den Registerkarten „Quick Start“ (Schnellstart) und „Advanced“ (Erweitert) organisiert sind. Nach Wahl einer Vorlage werden die Benutzer von einem Assistenten durch die Einrichtung des Laufs und eventuelle Änderung von Einstellungen und Profilen geführt.



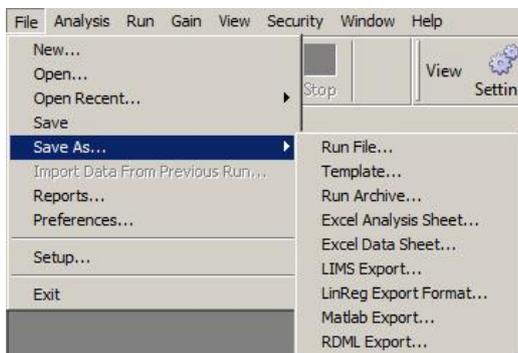
Weiterführende Hinweise zu den bereitgestellten Vorlagen siehe Abschnitt 5.1.1 und Abschnitt 5.1.2.

Neuer Lauf

New (Neu):	Mit dieser Schaltfläche wird die Einrichtung eines Laufs mithilfe der gewählten Vorlage eingeleitet.
Cancel (Abbrechen):	Mit dieser Schaltfläche wird dieses Fenster geschlossen.
Help (Hilfe):	Mit dieser Schaltfläche wird die Online-Hilfe geöffnet.
Show This Screen When Software Opens (Diesen Bildschirm bei Aufrufen der Software anzeigen):	Wenn dieses Kontrollkästchen aktiviert ist, wird das Fenster New Run (Neuer Lauf) bei Start der Software angezeigt.

6.5.2 Öffnen und speichern

- Open... (Öffnen ...):** Mit dieser Option wird eine früher gespeicherte Rotor-Gene Q Laufdatei (*.rex) oder ein Rotor-Gene Q Laufarchiv (*.rea) geöffnet.
- Open Recent... (Zuletzt verwendete öffnen):** Hier werden die letzten 4 Dateien angezeigt, die geöffnet oder gespeichert wurden.
- Save (Speichern):** Mit dieser Funktion werden alle Änderungen der Laufdatei gespeichert.



- Save as... (Speichern als ...):** Mit dieser Funktion können Laufdateien bzw. Daten in verschiedenen Formaten gespeichert werden. Die Optionen sind im Folgenden aufgelistet.
- Run File... (Laufdatei):** Mit dieser Funktion kann eine Kopie der Datei gespeichert werden. Die Benutzer können den Namen und den Speicherort ändern. Dies ist das Standardformat.
- Template... (Vorlage):** Mit dieser Funktion speichern Sie die Profileinrichtung und die damit zusammenhängenden Einstellungen, aber nicht die Laufdaten. Die Vorlage kann für zukünftige Läufe verwendet werden.
- Run Archive... (Laufarchiv):** Die Speicherung erfolgt in einem kompakteren Dateiformat. Speichern Sie Dateien in diesem Format, bevor Sie sie per E-Mail versenden. Auf diese Weise sparen Sie Zeit beim Versenden der Dateien und stellen Sie sicher, dass die Dateien von E-Mail-Client-Programmen nicht beschädigt werden.
- LIMS Export (RDML-Export):** Mit dieser Funktion speichern Sie die Analyse in LIMS-kompatiblen Formaten je nach Benutzeranforderungen. Setzen Sie sich bitte mit dem Technischen Service von QIAGEN in Verbindung, wenn Sie weitere Informationen benötigen.
- Excel Data Sheet... (Excel Datenblätter):** Mit dieser Funktion werden die Rohdaten aller Kanäle in ein Excel® Datenblatt exportiert. Nur die ausgewählten Proben werden exportiert.
- Excel Analysis Sheet... (Excel Analyseblatt):** Mit dieser Funktion werden alle Analysen des aktuellen Laufs in ein einziges Excel Datenblatt exportiert.
- LinReg Export Format... (LinReg-Exportformat):** Mit dieser Funktion werden die Rohdaten alle Kanäle in einem Format exportiert, das von LinReg (einem Programm für die Analyse der Effizienz) gelesen werden kann. Weitere Informationen dazu siehe „Exportieren nach LinReg“ weiter unten.
- Matlab Export... (Matlab Export):** Mit dieser Funktion werden die Daten in einem Format exportiert, das von dem wissenschaftlichen Programm Matlab (bzw. von dem äquivalenten Open-source-Programm Octave) gelesen werden kann. Dies kann im Rahmen der Methodenforschung nützlich sein.
- RDML Export (RDML-Export):** Mit dieser Funktion wird eine mit RDML V1.1 kompatible Datei exportiert. Die erstellte RDML-Exportdatei ist eine ZIP-Datei, die komprimierte Dateien im XML-Format und der Dateierweiterung *.rdml enthält. Die Exportdatei ist kompatibel mit dem RDML-Schemadokument (https://rdml.org/rdml_v_1_1.html), das auf der Website https://rdml.org/rdml_v_1_1.html zur Verfügung steht.

Exportieren nach LinReg

LinReg ist ein Programm, das von C. Ramakers und Mitarbeitern entwickelt worden ist. * Das LinReg-Programm ist hier verfügbar: <https://medischebiologie.nl/files/>.

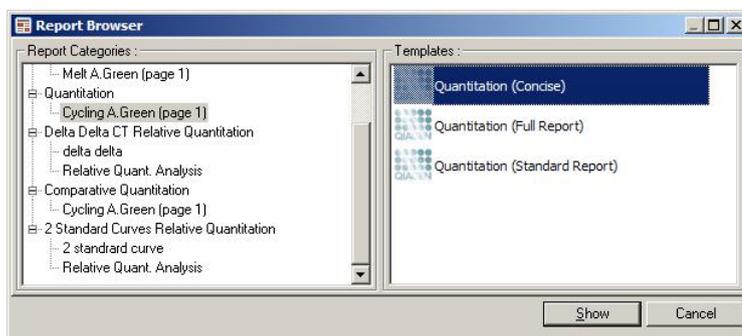
Die Rotor-Gene Q Software ermöglicht den Export von Rohdaten in einem Format, das von dem LinReg-Programm importiert und dann analysiert werden kann.

1. Öffnen Sie die Rotor-Gene Q Laufdatei, die die Rohdaten enthält.
2. Exportieren Sie die Daten im LinReg-Exportformat. Dazu wählen Sie Save As... (Speichern als) und dann LinReg Export Format... (LinReg-Exportformat).
3. Microsoft Excel zeigt die exportierten Rohdaten automatisch an.
4. Starten Sie das LinReg-Programm.

Das Programm fordert Sie auf, die Zellen zu wählen, in denen sich die Rohdaten befinden. Das Programm kann nur einen Rohdatenkanal gleichzeitig analysieren. Wählen Sie also den gewünschten Bereich im Excel-Datenblatt aus.

6.5.3 Berichte

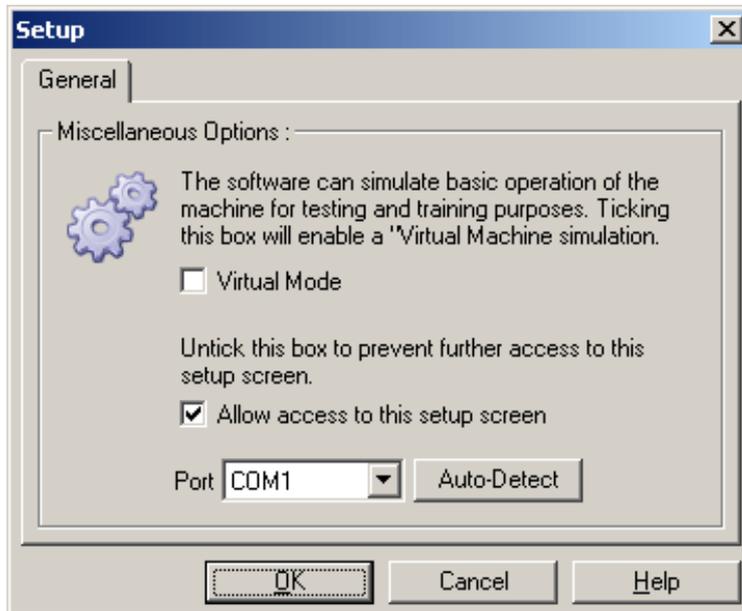
Nach Wahl von Reports (Berichten) wird das Fenster Report Browser (Bericht-Browser) angezeigt. Wenn die Daten bereits analysiert worden sind, kann der Analysebericht im Fenster Report Browser (Bericht-Browser) angezeigt werden. Es werden mehrere, unterschiedlich detaillierte Berichtarten angeboten.



* Ruijter, J.M., Ramakers, C., Hoogaars, W.M., Karlen, Y., Bakker, O., van den Hoff, M.J., and Moorman, A.F. (2009) Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res.* 37, e45.

6.5.4 Einrichtung

Die anfängliche Einrichtung des Rotor-Gene Q MDx sollte während der Installation erfolgt sein. Mit dieser Option können Sie jedoch auch noch nach der Installation die Einrichtung der Verbindung des Rotor-Gene Q MDx ändern.



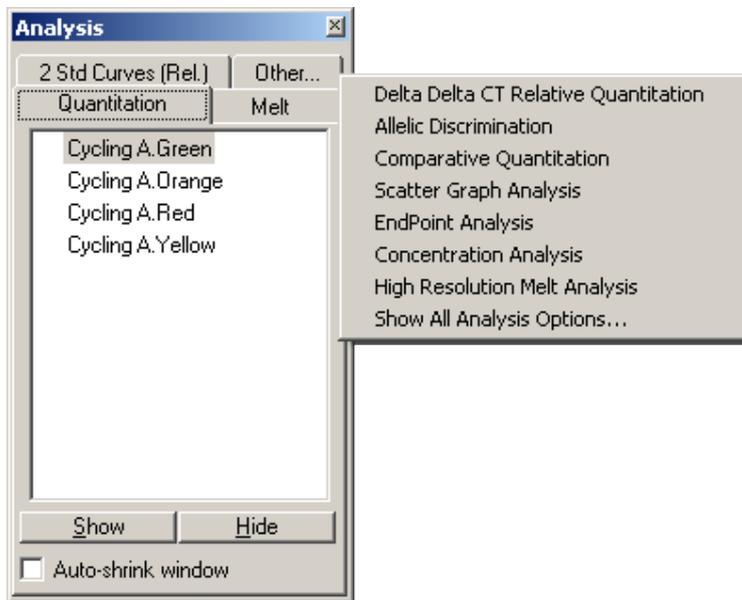
- Virtual Mode (Virtueller Modus):** Wählen Sie diese Option, wenn die Software ohne Verbindung zu einem Rotor-Gene Q MDx verwendet werden soll. Alle Funktionen der Software bleiben erhalten. Dieser Modus eignet sich besonders zu Demonstrationszwecken, Datenanalysen und die Einrichtung von Vorlagen.
- Allow access to this setup screen (Zugriff auf diesen Einrichtungsbildschirm zulassen):** Wird diese Option während der Einrichtung nicht aktiviert, besteht kein weiterer Zugriff auf dieses Fenster. Dies ist eine Sicherheitsmaßnahme, die eine Änderung der Einstellungen verhindert. Um erneut Zugriff auf dieses Fenster zu erhalten, wenden Sie sich an Ihren Händler.
- Port (Anschluss):** Wählen Sie den korrekten Kommunikationsanschluss, um die Kommunikation zwischen dem Computer und dem Rotor-Gene Q MDx zu ermöglichen.
- Auto-Detect (Automatisch erkennen):** Wenn Sie nicht sicher sind, welchen Anschluss Sie auswählen sollten, klicken Sie auf Auto-Detect (Automatisch erkennen), um nach allen erhältlichen Anschlüssen zu suchen.

6.6 Analysemenü

6.6.1 Analyse

Nach Klicken auf Analysis (Analyse) wird das Fenster Analysis (Analyse) angezeigt. In diesem Fenster können neue Analysen erstellt und bestehende Analysen angezeigt werden. Die Analysemethode wird in den Registerkarten ausgewählt. Eine Liste von Kanälen, die mit der ausgewählten Methode analysiert werden kann, wird angezeigt.

Mehrere Assays, die im gleichen Kanal durchgeführt wurden, können unabhängig voneinander analysiert werden, solange sie im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) als separate Seiten eingerichtet worden sind. Seiten, die bereit analysiert wurden, sind mit einem grünen Häkchen gekennzeichnet. Dies bedeutet, dass die Schwellenwert- und Normalisierungseinstellungen dieser Analyse gespeichert wurden. Doppelklicken Sie auf einen Kanal, um ihn anzuzeigen bzw. zu analysieren. Es wird das spezielle Analysefenster angezeigt.



Auto-shrink window (Fenster automatisch verkleinern):

Nach Wahl der Option Auto-shrink window (Fenster automatisch verkleinern) wird das Fenster verkleinert, wenn es nicht genutzt wird. Wenn Sie den Mauszeiger auf das Fenster setzen, wird es wieder größer angezeigt.

Organisation des Arbeitsbereichs

Bei jedem Start einer neuen Analyse werden die Fenster neu angeordnet, damit das neue und die bereits vorhandenen Fenster zusammen auf den Bildschirm passen. Wenn viele Fenster angezeigt werden, kann diese umständlich sein. Schließen Sie die Fenster, die Sie nicht benötigen. Klicken Sie anschließend auf Arrange (Anordnen) in der Symbolleiste. Die Fenster werden dann automatisch mit der Methode Smart Tiling (Intelligente Unterteilung) angeordnet. Oder aber wählen Sie eine andere Anordnungsmethode. Klicken Sie dazu auf den Pfeil neben der Schaltfläche Arrange (Anorden). Weitere Optionen können auch angezeigt werden, indem Sie mit der rechten Maustaste auf den Namen einer Analyse klicken.



- Show (Einblenden): Mit dieser Funktion wird die ausgewählte Analyse eingeblendet.
- Hide (Ausblenden): Mit dieser Funktion wird die ausgewählte Analyse ausgeblendet.
- Remove Analysis... (Analyse entfernen): Mit dieser Funktion wird die ausgewählte Analyse vollständig entfernt. Dies bedeutet, dass jegliche Normalisierungseinstellungen oder während der Analyse eingerichteten Denaturierungsklassen verloren gehen.

6.6.2 Quantifizierung

Wählen Sie die Registerkarte Quantitation (Quantifizierung) im Fenster Analysis (Analyse). Doppelklicken Sie auf den Kanalnamen oder wählen Sie einen Kanal. Durch Drücken der Schaltfläche Show (Einblenden) öffnen Sie dann den Zielkanal. Es werden drei Fenster angezeigt: das Hauptfenster, die Standardkurve und die Ergebnisse.

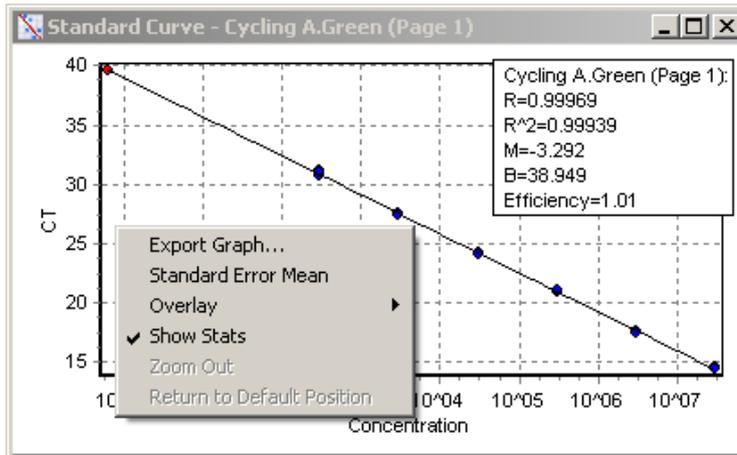
Berichte

- Reports (Berichte): Mit „Reports“ (Berichte) öffnen Sie das Fenster „Report Browser“ (Bericht-Browser), indem ein Bericht der aktuellen Analyse erstellt werden kann. Es gibt 3 Optionen: Standardbericht, vollständiger Bericht und Zusammenfassung. Doppelklicken Sie auf die gewünschte Option, um den Bericht im Fenster „Preview“ (Vorschau) anzuzeigen.
- Nach Erstellen des Berichts können Sie ihn mit den Schaltflächen oben im Fenster „Preview“ (Vorschau) drucken, speichern, per E-Mail verschicken oder nach Word exportieren.



Standardkurve

- Std.- Curve (Standardkurve): Mit dieser Schaltfläche öffnen Sie das Fenster Standard Curve (Standardkurve). Dieses Fenster wird bei Öffnen einer Analyse automatisch geöffnet. Wenn das Fenster geschlossen wird, kann es mit diesem Befehl wieder geöffnet werden.



Durch Klicken und Ziehen der Schwellenwertlinie im Hauptfenster kann der Schwellenwert verändert werden, und die Werte der Standardkurve werden dynamisch neu berechnet.

Die blauen Punkte auf der Standardkurve (einer Geraden) repräsentieren definierte Standardproben und die roten Punkte stehen für die Datenpunkte unbekannter Proben.

Hinweis: Die Standards können neu definiert werden, um die Standardkurve neu zu berechnen. Dazu blenden Sie die Standardprobe im Umschaltbereich rechts im Bildschirm aus, um sie aus der Berechnung der Standardkurve zu entfernen. Die Entfernung von Standards aus dem Diagramm zur Erhöhung des R^2 -Werts ist wissenschaftlich nicht zulässig. Ein Standard, der nicht die gewünschten Ergebnisse ergeben hat, ist ein Hinweis darauf, dass auch unbekannte Proben vielleicht nicht ordnungsgemäß gemessen wurden. Ein solcher Standard muss in den Ergebnissen berücksichtigt werden.

Efficiency (Effizienz): Dabei handelt es sich um die Effizienz der Reaktionen in einem Lauf. Dieser Wert wird auf Seite 98 näher diskutiert.

R^2 -Wert (Korrelationskoeffizient): Der R^2 -Wert bzw. R^2 -Wert drückt aus, wie gut die Daten zur Hypothese passen, dass die Messwerte der Standards auf einer Standardkurve liegen. Ist der R^2 -Wert niedrig, dann weichen die Messwerte der Standards relativ weit von der am besten angepassten Standardkurve ab. Dies bedeutet, dass die Ergebnisse (d. h. die mit der Standardkurve berechneten Ergebnisse) nicht zuverlässig sind. Als guter R^2 -Wert gilt ungefähr 0,999.

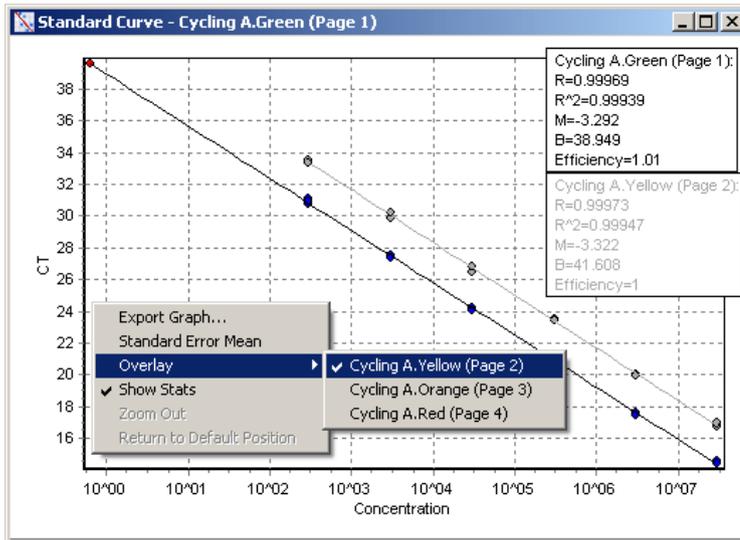
Hinweis: Ist die Zahl der für eine Standardkurve gemessenen Standards nicht ausreichend und die Standardkurve daher schlecht, kann unter Umständen trotzdem ein hoher R^2 -Wert erzielt werden. Der R^2 -Wert steigt mit abnehmender Zahl der Standards. Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse lässt sich anhand der Konfidenzintervalle der berechneten Konzentrationen besser beurteilen.

R-Wert (Quadratwurzel des Korrelationskoeffizienten): Der R-Wert ist die Quadratwurzel des R^2 -Werts. Der R^2 -Wert ist gewöhnlich bei der Ermittlung von Korrelationen hilfreicher.

M und B: Die Steigung (M) und der Schnittpunkt mit der y-Achse (B) der Standardkurve werden mit der Formel $y = Mx + B$ berechnet und im Fenster "Standard Curve" (Standardkurve) angezeigt.

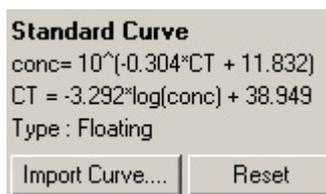
Export Graph... (Diagramm exportieren): Durch Klicken mit der rechten Maustaste auf die Anzeige der Standardkurve können die Exportoptionen angezeigt werden (siehe Abschnitt 7.4).

Overlay (Überlagerung): Wenn in einem Lauf mehrere Quantifizierungen durchgeführt worden sind, können die Standardkurven im gleichen Fenster übereinander dargestellt werden. Dies ist hilfreich, da Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Schwellenwerten grafisch sichtbar werden. Diese Funktion ist im folgenden Screenshot dargestellt.



Berechnung der Standardkurve

„Konz = ...*CT + ...“ und „CT = ...“ sind zwei Versionen der Gleichung, mit der C_T -Werte und Konzentrationen in Beziehung zueinander gesetzt werden. In Veröffentlichungen wird normalerweise die Gleichung „CT = ...“ verwendet. Die Standardkurve kann entweder „Floating“ (Dynamisch) oder „Fixed“ (Feststehend) sein. Im Fall von „Floating“ (Dynamisch) wird die optimale Gleichung der Standardkurve bei jeder Veränderung des Schwellenwerts im Hauptfenster neu berechnet. Im Fall von „Fixed“ (Feststehend) ändert sich die Gleichung nicht, da sie von einem anderen Lauf importiert worden ist.



Kurve importieren

Ist für einen bestimmten Lauf keine Standardkurve vorhanden, kann eine Standardkurve importiert werden, um die Konzentrationen abzuschätzen. Voraussetzung ist jedoch, dass die Effizienz der Reaktionen in beiden Läufen identisch ist. Kurven können von einem anderen Kanal oder einem anderen Lauf importiert werden. Klicken Sie dazu auf Import Curve (Kurve importieren).

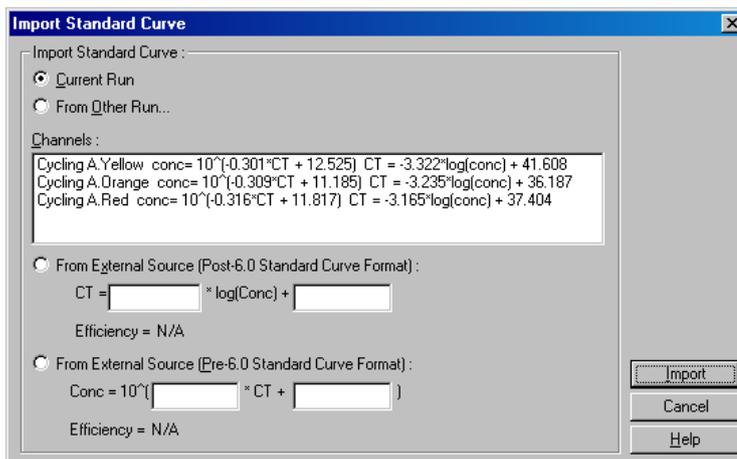
Es ist möglich, die Standardkurve bei Bedarf anzupassen. Zur Anpassung der Standardkurve wird nur die Effizienz der ursprünglichen Kurve in den aktuellen Lauf importiert. Ob die Standardkurve angepasst werden sollten, hängt von den verwendeten chemischen Reaktionen ab.

Um eine Standardkurve anzupassen, messen Sie im neuen Lauf eine Referenzprobe mit bekannter Konzentration. Um eine Probe als Referenz festzulegen, wählen Sie im Fenster Edit Samples (Proben

bearbeiten) die Probenart „Standard“ und geben den Konzentrationswert ein. Es können mehrere Probenreplikate der gleichen Referenz eingegeben werden, um die Genauigkeit zu erhöhen. Hinweis: Es ist nicht möglich, mehr als eine Referenzkonzentration oder einen Standard festzulegen. Es ist beispielsweise möglich 3 Referenzreplikate mit je 1000 Kopien zu verwenden. Es ist jedoch nicht möglich, eine Referenz mit 1000 Kopien und eine Referenz mit 100 Kopien im gleichen Lauf zu verwenden.

Nach Import der Standardkurve wird der Standardkurventyp „Fixed“ (Feststehend) angezeigt. Klicken Sie auf Reset (Zurücksetzen), um den Standardkurventyp auf „Floating“ (Dynamisch) zurückzusetzen.

Dies ist ein Screenshot des Fensters Import Standard Curve (Standardkurve importieren):



In diesem Fenster kann eine Standardkurve von einem anderen analysierten Kanal des aktuellen Laufs oder aus einem anderen Lauf importiert werden.

- | | |
|---|--|
| Current Run (Aktueller Lauf): | Wenn diese Option gewählt wird, werden Quantifizierungsanalysen von anderen Kanälen in diesem Lauf mit den dazugehörigen Standardkurven angezeigt. |
| From Other Run... (Aus anderem Lauf): | Nach Wahl dieser Option wird ein Dialog angezeigt, in dem eine Laufdatei ausgewählt und geöffnet werden kann. Würden jegliche Quantifizierungsanalysen dieses Laufs durchgeführt, werden die Standardkurven je nach analysiertem Kanal aufgelistet.

Hinweis: Die Einstellungen der Quantifizierungsanalyse müssen in der Laufdatei gespeichert worden sein. |
| Channels (Kanäle): | Hier werden die analysierten Kanäle und die Gleichungen der Standardkurven angezeigt. |
| From External Source (Aus einer externen Quelle): | In diesem Bereich können die M- und B-Werte unmittelbar eingegeben werden. Dies ist dann nützlich, wenn Werte aus einer externen Quelle wie einem Excel-Arbeitsblatt verwendet werden sollen. |

Berechnung von C_T

Invert Raw Data (Rohdaten umkehren):

Bei manchen chemischen Reaktionen nimmt das Fluoreszenzsignal exponentiell ab statt zu. Es ist möglich, bei diesen Daten eine „Quantifizierung“ durchzuführen. Dazu muss jedoch das Kontrollkästchen „Invert Raw Data“ (Rohdaten umkehren) aktiviert werden. Bei allen anderen Quantifizierungsanalysen muss diese Option deaktiviert sein.

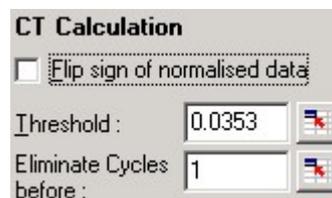


C_T Calculations (C_T -Berechnungen):

Der C_T -Wert ist die Zykluszahl, bei der die Amplifikationskurve den Detektionsschwellenwert überschreitet. Durch Eingabe der Schwellenwertlinie und Berechnung des Schnittpunkts mit allen Kurven kann der C_T -Wert aller Proben ermittelt werden.

Threshold (Schwellenwert):

Um den Schwellenwert festzulegen, klicken Sie auf das Symbol (Tabelle mit rotem Pfeil). Dann klicken und halten Sie das Diagramm und verschieben die Linie auf die gewünschte Höhe. Oder aber geben Sie einen Log-Wert ein. Oder aber bestimmen Sie den Schwellenwert mit der Option Auto-Find Threshold (Schwellenwert automatisch ermitteln). Ein Schwellenwert sollte nur in der exponentiellen Phase des Laufs manuell festgelegt werden. Er muss deutlich über der Höhe des Hintergrundsignals (um Rauschen zu vermeiden) und unter dem Signal-Plateau in späteren Zyklen liegen.



Eliminate Cycles before (Vorherige Zyklen beseitigen):

Um diesen Wert festzulegen, klicken Sie auf das Symbol (Tabelle mit rotem Pfeil). Dann klicken und halten Sie das Diagramm und verschieben die Linie nach rechts. Auf diese Weise beseitigen Sie den Schwellenwert für Zyklen am Anfang.

Hinweis: Dies ist nützlich, wenn das Rauschen in den anfänglichen Zyklen ziemlich hoch ist, z. B. als Folge von Mischeffekten.

Auto-Find Threshold (Schwellenwert automatisch erkennen):

Mit dieser Funktion wird die im Diagramm ausgewählte Region gescannt, um die Schwellenwerteinstellung zu finden, die die besten Schätzwerte der gegebenen Konzentrationen liefert. Die ausgewählte Region kann geändert werden. Dazu geben Sie in die angezeigten Textfelder neue obere und untere Grenzen ein.

Bei den allermeisten Analysen sind die standardmäßigen oberen und unteren Grenzen gut geeignet. Die Standardkurve wird auf Grundlage der Proben erstellt, die als Standards gekennzeichnet worden sind, und durch Scannen der Schwellenwerte soll die allerbeste Kurvenanpassung ermittelt werden (d. h. bei der der R-Wert so nahe wie möglich bei 1,0 liegt).



Ergebnisse

Mit dieser Option wird das Fenster Quantitation Results (Quantifizierungsergebnisse) geöffnet. Dieses Fenster wird bei Öffnen einer Analyse automatisch geöffnet. Wenn das Fenster geschlossen wurde, kann es mit diesem Befehl wieder geöffnet werden.

Analysis	No.	Colour	Name	Type	C _T	C _T Comment	Given Conc	Calc. Conc [c]	% Var	Rep. C _T	Rep. C _T Std	Rep. C _T (95% CI)	Rep. Calc. Conc	Rep. Calc. Conc (95%)
Cycling A.Green (Page 1)	1	Red	10e8	Standard	3,73		1,00E+08	7,17E+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	Red	10e8	Standard	3,74		1,00E+08	7,17E+07	28,3%					
Cycling A.Green (Page 1)	3	Red	10e8	Standard	3,74		1,00E+08	7,16E+07	28,4%					
Cycling A.Green (Page 1)	4	Orange	10e7	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	Orange	10e7	Standard	6,08		1,00E+07	1,47E+07	46,6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	Orange	10e7	Standard	5,98		1,00E+07	1,56E+07	65,9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	Green	10e6	Standard	10,43		1,00E+06	7,72E+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	Green	10e6	Standard	10,27		1,00E+06	8,58E+05	14,2%					
Cycling A.Green (Page 1)	9	Green	10e6	Standard	10,43		1,00E+06	7,71E+05	22,9%					
Cycling A.Green (Page 1)	10	Green	10e5	Standard	13,49		1,00E+05	9,66E+04	3,2%	13,65	0,13	(13,31, 13,98)	8,74E+04	(2,96E+04, 2,59E+05)
Cycling A.Green (Page 1)	11	Green	10e5	Standard	13,75		1,00E+05	8,13E+04	18,7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	Green	10e5	Standard	13,69		1,00E+05	8,48E+04	15,2%					
Cycling A.Green (Page 1)	13	Blue	10e4	Standard	15,66		1,00E+04	2,24E+04	123,7%	15,46	0,25	(14,84, 16,08)	2,56E+04	(7,62E+03, 8,36E+04)
Cycling A.Green (Page 1)	14	Blue	10e4	Standard	15,54		1,00E+04	2,42E+04	141,7%					
Cycling A.Green (Page 1)	15	Blue	10e4	Standard	15,18		1,00E+04	3,08E+04	208,8%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	Blue	10e3	Standard	21,36		1,00E+03	4,71E+02	52,9%	21,09	0,24	(20,49, 21,69)	5,65E+02	(9,13E+01, 3,50E+03)
Cycling A.Green (Page 1)	17	Blue	10e3	Standard	20,89		1,00E+03	6,47E+02	36,3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	Blue	10e3	Standard	21,02		1,00E+03	5,94E+02	40,6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	Black	10e2	Standard		NEG (Multi Ct)				1,00E+02				
Cycling A.Green (Page 1)	20	Black	10e2	Standard	23,98					7,99E+01				
Cycling A.Green (Page 1)	21	Black	10e2	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)								

Im Fenster Quantitation Results (Quantifizierungsergebnisse) werden die Ergebnisse eines Laufs in Form einer Tabelle zusammengefasst. Durch Klicken mit der rechten Maustaste und Wahl der Option Export to Excel (Nach Excel exportieren) kann die Tabelle nach Excel exportiert werden. Excel öffnet sich automatisch. Um die Daten in ein bestehendes Arbeitsblatt zu kopieren, wählen Sie stattdessen die Option Copy (Kopieren), öffnen das Arbeitsblatt und wählen dann Paste (Einfügen).

Im Fenster Quantitation Results (Quantifizierungsergebnisse) werden die folgenden Spalten angezeigt.

Analysis (Analyse):	Der aktuelle Datensatz (Erfassungskanal und Probenseite).
No. (Nr.):	Probennummer
Color (Farbe):	Die individuell festgelegte Farbe des Probendiagramms.
Type (Typ):	Die festgelegte Probenart.
C _T :	Der ermittelte C _T -Wert.
C _T Comment (C _T -Anmerkung):	Ausgeschlossene C _T -Werte werden automatisch kommentiert. Die folgenden Kennzeichnungen sind möglich: NEG (Multi Ct): Die Fluoreszenzkurve schneidet die Schwellenwertlinie mindestens zweimal (doppelter Schnittpunkt). Ein eindeutiger C _T -Wert kann nicht bestimmt werden. NEG (NTC): Die Gesamtfluoreszenzerhöhung erfüllt die Bedingungen nicht, die im Menü Outlier Removal (Entfernung von Ausreißern) unter „NTC threshold“ (NTC-Schwellenwert) definiert wurden (siehe unten). Beispielsweise schneidet die Fluoreszenzkurve zwar die gegebene Schwellenwertlinie, die kleine Gesamtsteigung ist jedoch typisch für eine Negativkontrolle ohne Template. Es wird kein C _T -Wert ausgegeben. NEG (R.Eff): Die Gesamtfluoreszenzerhöhung erfüllt die Bedingungen nicht, die im Menü Outlier Removal (Entfernung von Ausreißern) unter „Reaction efficiency threshold“ (Reaktionseffizienzschiwellenwert) definiert wurden (siehe unten). Proben, deren Reaktionen eine bestimmte Effizienz nicht erreichen, werden ausgeschlossen. Es wird kein C _T -Wert ausgegeben. Diese Kennzeichnung wird nur dann angezeigt, wenn die entsprechende Funktion aktiviert ist.

%Var	Die prozentuale Abweichung der berechneten von der bekannten Konzentration. %Var = Abs (berechnet/gegeben-1)
Rep. Ct:	Der mittlere C _T -Wert aller Proben mit dem gleichen Namen wie diese Probe.
Rep. Ct Std. Dev. (Standardabweichung, C _T -Werte der Replikate):	Die Standardabweichung der C _T -Werte aller Proben mit dem gleichen Namen wie diese Probe.
Rep. Ct. 95% C.I. (95%-KI, C _T -Werte der Replikate):	Der statistische C _T -Bereich, in den 95 % aller Abweichungen des C _T -Werts fallen. Es handelt sich dabei um eine konservative statistische Messgröße, die zur Qualitätsbeurteilung verwendet werden kann. Dieser Bereich kann durch eine höhere Anzahl an Replikaten oder weniger Variation zwischen den Replikaten verkleinert werden.
Rep. Calc. Conc. (Rep.-Berechn. Konz.)	Die berechnete Konzentration aller Proben mit dem gleichen Namen. Hinweis: Dies ist nicht ein einfacher Mittelwert der berechneten Konzentrationen. Es handelt sich um den geometrischen Mittelwert. Wegen der exponentiellen Eigenschaften der Amplifikation in Echtzeit eignet sich diese mathematische Größe besser.
Rep. Calc. Conc. 95% C.I. (Rep.-Berechn. Konz. 95%-KI):	Konzentrationsbereich, in den 95 % der Ergebnisse einer Einzelprobe fallen, sowie das lineare Regressionsmodell, auf dem der Bereich basiert. Diese Größe kann wie folgt verstanden werden: Wenn ein Lauf viele Male mit der gleichen Variabilität wiederholt wird, dann wird erwartet, dass 95 % der Ergebnisse in diesen Konzentrationsbereich fallen. Es handelt sich um eine konservative Schätzung, und der Bereich kann ziemlich groß sein, da Echtzeitanalysen relativ großen Schwankungen ausgesetzt sind. Dieser Bereich kann groß sein, wenn die Konzentrationen der Standards stark von den Konzentrationen der unbekanntenen Proben abweichen, wenn nur eine kleine Zahl an Replikaten gemessen wird oder wenn erhebliche Variationen vorliegen. Wichtig: Die Variationen dieses Werts sind durch das exponentielle Verfahren der Amplifikation in Echtzeit bedingt und nicht durch den Rotor-Gene Q MDx Thermocycler. Ähnliche Tests auf Thermocyclern mit Blöcken würden noch größere Variationen ergeben, da die Temperaturgleichmäßigkeit blockbasierter Systeme niedriger ist. Zum Vergleich verschiedener Thermocyclern empfehlen wir die Standardabweichung der C _T -Werte.

Hinweis: Weiterführende Hinweise zu Konfidenzintervallen finden Sie in Anhang B.

Hinweis: Alle Spalten mit Ausnahme von Color (Farbe), Name, Ct und Ct Comment (C_T-Anmerkung) können ein- und ausgeblendet werden. Dazu klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Fenster und wählen den Namen einer Spalte bzw. heben die Wahl einer Spalte auf.

No.	Name	Ct	Ct Comment	Given Conc (Cop)	Calc. Conc (Copie)	% Var
1	3x10 ⁸			300.000.000	324.345.068	8,1%
2	3x10 ⁸			300.000.000	301.264.230	0,4%
3	3x10 ⁸			300.000.000	308.453.920	2,8%
4	3x10 ⁸			300.000.000	298.576.301	0,5%
5	3x10 ⁷			30.000.000	27.524.578	8,3%
6	3x10 ⁷			30.000.000	26.405.444	12,0%
7	3x10 ⁷			30.000.000	28.701.296	4,3%
8	3x10 ⁷			30.000.000	23.847.613	20,5%
9	3x10 ⁶			3.000.000	3.392.142	13,1%
10	3x10 ⁶			3.000.000	3.170.880	5,7%
11	3x10 ⁶			3.000.000	3.130.752	4,4%
12	3x10 ⁶			3.000.000	3.166.396	5,5%
13	3x10 ⁵			300.000	321.913	7,3%
14	3x10 ⁵			300.000	305.744	1,9%
15	3x10 ⁵			300.000	312.045	4,0%
16	3x10 ⁵			300.000	324.696	8,2%
17	3x10 ⁴	19,47		30.000	32.420	8,1%
18	3x10 ⁴	19,59		30.000	29.872	0,4%
19	3x10 ⁴	19,53		30.000	31.102	3,7%
20	3x10 ⁴	19,52		30.000	31.301	4,3%
21	3x10 ³	22,93		3.000	2.850	5,0%
22	3x10 ³	22,96		3.000	2.793	6,9%
23	3x10 ³	22,94		3.000	2.825	5,8%
24	3x10 ³	22,91		3.000	2.888	3,7%
25	3x10 ²	26,03		300	322	7,5%
26	3x10 ²	26,11		300	305	1,6%
27	3x10 ²	26,26		300	275	8,5%
28	3x10 ²	26,18		300	291	3,1%

Mit der Funktion AutoStat (Automatische Statistik) können Mittelwerte, Standardabweichung und Mindest- und Höchstwerte von Zielproben bequem automatisch berechnet werden. Wählen Sie die gewünschten Ergebnisse, in dem Sie sie mit der linken Maustaste ziehen. Die Werte werden rechts im Bildschirm in Form einer Tabelle angezeigt.

In diesem Screenshot werden die Konzentrationen mehrerer Proben analysiert.

Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var	f
14.42	30000000	2825064	5.8%	
14.59	30000000	25142920	16.2%	
14.40	30000000	28730050	4.2%	
17.44	3000000	3422624	14.1%	
17.58	3000000	3103391	3.4%	
17.42	3000000	3467111	15.6%	
20.99	300000	285353	4.9%	
20.92	300000	298898	0.4%	
21.04	300000	275802	8.1%	
24.20	30000	30786	1.0%	

Statistics

Maximum : 28730050
 Minimum : 25142920
 Count : 3
 Mean : 27328521
 Std. Dev : 1.07537
 (Orders of Mag.)

Copy

Wichtig: Die Funktion AutoStat (Automatische Statistik) ist kontextabhängig. Dies bedeutet, dass sie wo möglich nur relevante Informationen erzeugt.

Zum Beispiel:

- Auf Grundlage eines ausgewählten Satzes berechneter Konzentrationen kann kein 95%-Konfidenzintervall bestimmt werden, da auch das Regressionsmodell berücksichtigt werden muss.
- Die Standardabweichung „Orders of Magnitude“ (Größenordnung) wird für berechnete Konzentrationen angegeben statt als absoluter Wert. Der Wert wird in Prozenten angegeben. Der Wert 1,07537 ist beispielsweise eine Abweichung von 7,54 % $(278.974 - 322.611) = (300.000/1,07537 - 00.000 * 1,07537)$. Es macht keinen Sinn, einen absoluten Wert für eine Standardkurve zu berichten. Der Wert wäre bei der niedrigsten Konzentration (± 3 Kopien) ein anderer Fehler als bei der höchsten Konzentration ($\pm 3.000.000$ Kopien). Aus diesem Grund wird die Standardabweichung mit der Option „Orders of Magnitude“ (Größenordnung) angegeben.
- Bei den berechneten Konzentrationen wird der geometrische statt dem arithmetischen Mittelwert verwendet. Auf diese Weise werden die exponentiellen Eigenschaften der Real-Time PCR berücksichtigt. Im Falle einer zweifachen Verdünnung mit 1, 2, 8 und 16 Kopien, ist der geometrische Mittelwert 4 Kopien, da dies der Wert in der Mitte der Verdünnungsreihe ist. Der arithmetische Mittelwert liegt bei 6,75. Der geometrische Mittelwert beträgt $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$ Kopien.

Dynamische Normalisierung der Röhren

Die Option Dynamic Tube (Dynamisches Röhren) ist in der Standardeinstellung aktiviert. Sie dient zur Ermittlung des mittleren Hintergrunds jeder Probe kurz vor Beginn der Amplifikation.

Bei einer standardmäßigen Normalisierung werden einfach die ersten 5 Zyklen genommen und als Indikator für den Hintergrundwert jeder Probe benutzt. Alle Datenpunkte der Probe werden durch diesen Wert dividiert, um die Daten zu normalisieren. Dies kann ungenau sein, da bei einigen Proben die Hintergrundwerte der ersten 5 Zyklen nicht den Hintergrundwerten kurz vor der Amplifikation entsprechen. Bei der dynamischen Normalisierung der Röhren wird die zweite Ableitung jeder Probenkurve verwendet, um für jede Probe einen Ausgangspunkt zu ermitteln. Für jede Probe werden die Hintergrundwerte dann ab Zyklus 1 bis zu diesem Ausgangspunkt ermittelt. Dies liefert die genauesten Quantifizierungsergebnisse.

Hinweis: Bei einigen Datensätzen ist die Hintergrundfluoreszenz in den Zyklen vor Beginn der Amplifikation nicht gleich bleibend. In diesen Fällen muss die dynamische Normalisierung der Röhren eventuell deaktiviert werden (durch Klicken auf Dynamic Tube (Dynamisches Röhren)), da die Quantifizierung mit dem dynamischen Röhren weniger genau ausfällt.

Steigungskorrektur von Rauschsignalen

Die Fluoreszenzintensität (FI) des Probenhintergrunds sollte idealerweise vor der Amplifikation konstant sein. Manchmal wird jedoch über mehrere Zyklen ein allmählicher reaktionsbedingter Anstieg oder Abfall der FI beobachtet. Dies erzeugt ein verzerrtes Rauschsignal. Anstatt einen Mittelwert zur Normalisierung dieser Linie zu verwenden, kann durch die Steigungskorrektur von Rauschsignalen eine bessere Anpassung erzielt werden. Durch Auswahl dieser Option (Schaltfläche Slope Correct (Steigungskorrektur)) können Replikatdaten verbessert werden, wenn die Probenbasislinie erkennbar ansteigt bzw. fällt. Die Steigungskorrektur von Rauschsignalen kann dann die Daten verbessern, wenn beobachtet wird, dass das Hintergrundsignal vor dem Ausgangspunkt (C_T) ansteigt oder abfällt.

Wo die Steigung nicht konstant ist oder wo die ersten Basislinien-Zyklen einen erheblichen Signalanstieg oder -abfall des Signals im Vergleich zur restlichen Kurve zeigen, kann die Option Noise Slope Correction (Steigungskorrektur von Rauschsignalen) unerwünschte Effekte haben. Zu diesen gehören Negativkontrollen, die über den Schwellenwert steigen. Solche Effekte liegen an der Anpassung der Basislinie auf Grundlage von Schätzwerten und der entsprechenden Normalisierung der Rohdaten. Daher kann diese Funktion die Datenqualität nicht immer verbessern und sollte nur dann eingesetzt werden, wenn in den Rohdatenkurven eine stetige Steigung beobachtet wird.

Anpassung des Ausgangspunkts

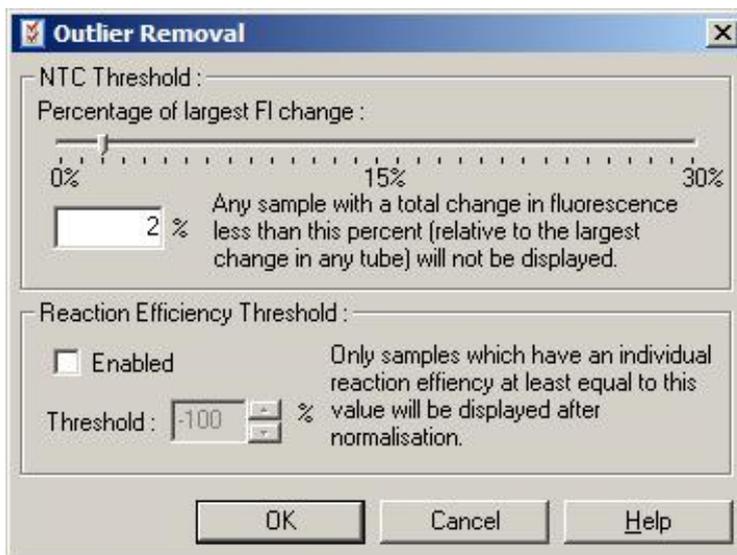
Der Algorithmus der Ausgangspunktanpassung kann verwendet werden, um die Basislinien-Mindestlänge für die Normalisierung festzulegen. Zur Anwendung der Ausgangspunktanpassung müssen zwei Parameter definiert werden. Berechnet die Option Dynamic Tube (Dynamisches Röhrchen) einen Ausgangspunkt, der niedriger ist als der erste Parameter, dann wird der zweite Parameter als Ausgangspunkt verwendet. Die Ausgangspunktanpassung kann nur zusammen mit der Normalisierung mithilfe der Funktion Dynamic Tube (Dynamisches Röhrchen) erfolgen.

Erste ignorieren

Die Fluoreszenzsignale der ersten Zyklen eines Laufs sind unter Umständen nicht repräsentativ für den Rest des Laufs. Aus diesem Grund können bessere Ergebnisse erzielt werden, wenn die ersten Zyklen ignoriert werden. Es können bis zu 10 Zyklen ignoriert werden. Wenn der erste Zyklus jedoch ähnlich aussieht wie die folgenden Zyklen, werden bessere Ergebnisse erzielt, wenn die Funktion „Ignore First“ (Erste ignorieren) deaktiviert wird, da dem Normalisierungsalgorithmus so mehr Daten zur Verfügung stehen.

Entfernung von Ausreißern

Um zwischen unerheblichen Fluoreszenzänderungen und echten Reaktionen in Kontrollen ohne Template (No Template Controls, NTC) unterscheiden zu können, werden zwei Messwerte zur Verfügung gestellt: NTC Threshold (NTC-Schwellenwert) und Reaction Efficiency Threshold (Reaktionseffizienzschwellenwert). Der NTC Threshold (NTC-Schwellenwert) wird für die meisten Anwendungen empfohlen. Der Ansatz sollte validiert werden.



NTC Threshold (NTC-Schwellenwert):

Diese Funktion ermöglicht den Ausschluss von Proben bzw. NTC aus der Analyse, bei denen eine leichte ansteigende Signaldrift beobachtet wird. Proben mit einer Änderung unter dem NTC-Schwellenwert werden im Bericht nicht berücksichtigt. Sie werden in der Spalte „CT Comment“ (C_T-Anmerkung) mit „NEG (NTC)“ gekennzeichnet.

Die Prozentzahl ist relativ zur größten Änderung in einem Röhrchen. Wenn eine Probe beispielsweise mit einem Hintergrund von 2 FI begann und auf 47 FI gestiegen ist, dann sind 45 FI 100 %. Bei einem NTC-Schwellenwert von 10 % wird jedes Signal unter 4,5 FI als Rauschen eingestuft.

**Reaction Efficiency Threshold
(Reaktionseffizienzwert)**

Der Reaktionseffizienzwert ist eine alternative Methode für den Ausschluss von Rauschen aus der Analyse. Dieser Normalisierungsalgorithmus nutzt die Verfahren zur Abschätzung der Effizienz der Reaktionen. Diese Verfahren werden auch bei der vergleichenden Quantifizierung verwendet (siehe Abschnitt 6.6.6). Alle Proben, deren Reaktionseffizienz unter diesem Wert liegt, werden ausgeschlossen und in der Spalte „Ct Comment“ (Ct-Anmerkung) mit „NEG (R.Eff)“ gekennzeichnet.

Ein Wert von 0 % bedeutet, dass in der exponentiellen Phase keine Reaktion stattfand. Ein Wert von 100 % bedeutet, dass die Reaktionen in der exponentiellen Phase vollständig effizient waren. Negative Prozentzahlen bedeuten, dass das Fluoreszenzsignal in der exponentiellen Phase abnahm.

In der aktuellen Forschung konnte noch nicht abschließend beurteilt werden, welche Effizienzgrade eine genaue Unterscheidung zwischen echten Reaktionen und Kontamination bzw. anderen Effekten ermöglichen. Aus diesem Grund empfehlen wir eine vorsichtige Verwendung dieser Funktion. Dabei gilt die Annahme, dass alle Proben mit echten Reaktionen eine sichtbare exponentielle Phase mit erhöhter Fluoreszenz besitzen. Wird dieser Wert über 0 % eingestellt, werden einige Proben mit einem wahrnehmbaren, aber ineffizienten Fluoreszenzanstieg ausgeschlossen. Eine Einstellung unter 0 % führt zur Anzeige von Proben mit Fluoreszenzabnahme in der exponentiellen Phase, die natürlich ausgeschlossen werden sollten.

Hinweis: Wird ein Fluoreszenzwert aufgrund der Aktivierung eines dieser Verfahren ausgeschlossen, wird der entsprechende Ct-Wert im Fenster Quantitation Results (Quantifizierungsergebnisse) nicht angezeigt. Gleichzeitig wird der Ausschluss in der Spalte „Ct Comment“ (Ct-Anmerkung) gekennzeichnet. Daher ist es wichtig, dass die Spalte „Ct Comment“ (Ct-Anmerkung) immer angezeigt wird.

In der folgenden Abbildung werden die Proben 7, 8 und 9 aufgrund des Reaktionseffizienzwertes ausgeschlossen.

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

Steigung, Amplifikation, Effizienz der Reaktionen

Die Steigung (M) einer Reaktion (wie im Fenster Standard Curve (Standardkurve) angezeigt) kann zur Ermittlung der exponentiellen Amplifikation und Effizienz der Reaktionen dienen. Dabei gelten die folgenden Berechnungen:

$$\text{Exponentielle Amplifikation} = 10^{(-1/M)}$$

$$\text{Effizienz der Reaktionen} = [10^{(-1/M)}] - 1$$

Dies sind die optimalen Werte: M = -3,322, exponentielle Amplifikation = 2 und Effizienz der Reaktionen = 1. Die Effizienz der Reaktionen wird im Bericht (sowohl im vollständigen als auch im Standardbericht, siehe Seite 85) und im Fenster Standard Curve (Standardkurve) angegeben.

Die Steigung wird berechnet als Änderung von C_T geteilt durch die Änderung des Log-Inputwerts (d. h. der Kopienzahl). Eine zu 100 % effiziente Amplifikation bedeutet, dass das Amplifikationsprodukt in jedem Zyklus verdoppelt wird. Dies bedeutet eine Steigung M von $-3,322$, ein Amplifikationsfaktor von 2 und eine Effizienz der Reaktionen von 1.

Liegt die Steigung M bei $-3,322$, ergeben sich die folgenden Berechnungen:

Exponentielle Amplifikation: $10^{(-1/-3.322)} = 2$

Effizienz der Reaktionen: $[10^{(-1/-3.322)}] - 1 = 1$

In einem anderen Beispiel liegt die Steigung M bei 3,8. Damit hat die Reaktion eine exponentielle Amplifikation von 1,83 und eine Effizienz der Reaktionen von 0,83 (bzw. 83 %).

Schnittpunkt mit der y-Achse

In einer Gleichung, die die Beziehung zwischen zwei Variablen beschreibt, wird der Schnittpunkt mit der y-Achse oft mit dem Buchstaben B ausgedrückt ($y = Mx + B$). Der Schnittpunkt mit der y-Achse wird manchmal auch als y-Achsenabschnitt oder Ordinatenabschnitt bezeichnet. B repräsentiert C_T bei der Konzentration 1. Bei Einsetzen von 1 in die Konzentrationsgleichung ergibt sich:

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

$$C_T = 0 * M + B$$

Das Ergebnis ist $C_T = B$

Der Schnittpunkt mit der y-Achse kann sich von Lauf zu Lauf verschieben und ist weniger stabil als der Gradient. Aus diesem Grund wird der Gradient häufiger analysiert als der Schnittpunkt mit der y-Achse.

Hauptfenster

Im Hauptfenster werden die Amplifikationsdiagramme mit einer logarithmischen x-Achse dargestellt.

Durch Klicken auf Linear Scale (Lineare Skalierung) unten im Fenster ändert sich die logarithmische Darstellung zu einer linearen Darstellung bzw. umgekehrt. Die Änderung der Darstellung betrifft nur die die Anzeige der Diagramme. Die berechneten Werte ändern sich nicht. Dies kann mit dem Zeiger-Tool geprüft werden. Klicken Sie dazu mit der rechten Maustaste auf das Diagramm und wählen Sie die Option Show pinpointer (Koordinatenwerte anzeigen). In einer logarithmischen Darstellung sind kleinere Werte im Diagramm besser erkennbar. Eine lineare Darstellung gibt eine bessere Übersicht der Gesamtreaktion.

Hinweis: Die Amplifikationsdiagramme werden in Echtzeit aktualisiert, da der Rotor-Gene Q MDx während des Laufs mehr und mehr Daten erfasst. Dank dieser Überwachung der Daten in Echtzeit können

die Benutzer die Ergebnisse sehen, sobald die Kurven exponentielles Wachstum zeigen. Vorläufige Schlussfolgerungen können gezogen und Entscheidungen für den nächsten Lauf getroffen werden.

Vorlagen für die Quantifizierungsanalyse

Die Vorlagen für die Quantifizierungsanalyse ermöglichen den Export von Normalisierungs- und Schwellenwerteneinstellungen in einer einzigen Datei mit der Dateierweiterung *.qut. Diese Datei kann importiert und bei anderen Experimenten angewendet werden. Weitere Informationen dazu siehe Abschnitt 7.1.



6.6.3 Zwei Standardkurven

Eine relative Genexpressionsanalyse kann mithilfe der 2-Standardkurven-Methode durchgeführt werden.

Für diese Methode ist eine Standardkurve für jedes Gen erforderlich. Die Konzentration jedes Gens wird mit der jeweiligen Standardkurve quantifiziert. Die Genexpression wird dann mithilfe des Normalisierungsgens (oft ein nicht reguliertes Housekeeper-Gen) normalisiert.

Es ist wichtig, dass die Standards und Probenreplikate bei der Probeneinrichtung korrekt benannt werden (siehe Abschnitt „Proben einrichten“). Insbesondere müssen identische Proben in jeder Analyse identische Namen besitzen. In einer Multiplex-Reaktion, bei der die Röhrchenpositionen des Zielgens und des Normalisierungsgens identisch sind, reicht ein Satz Probendefinitionen. Wenn eine relative Analyse mit einem Normalisierungsgen in nur einem Kanal durchgeführt wird (z. B. die Reaktionen werden in separaten Röhrchen mit dem gleichen Fluorophor durchgeführt), dann müssen 2 Probenseiten erstellt werden. Auf der ersten Seite werden für die Röhrchenpositionen mit Probe das Zielgen angegeben, die anderen Positionen bleiben unbeschriftet. Auf der zweiten Seite müssen die Positionen mit dem Normalisierungsgen beschriftet werden. Die Software wird die Proben dann über die beiden Analysen hinweg auf Grundlage der Namen korrekt zuordnen.

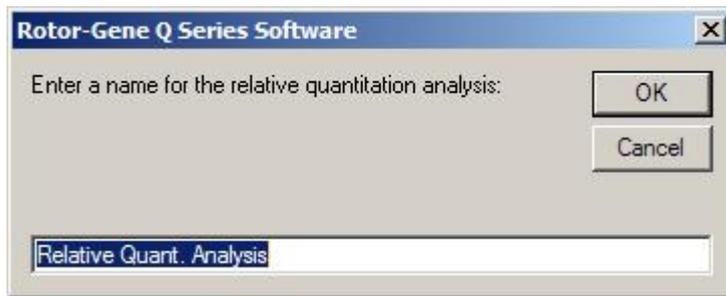
Expressionsanalyse mit der 2-Standardkurven-Methode

Die Daten werden zuerst für jedes Gen quantitativ analysiert. Andernfalls werden die Ergebnisse jedes Gens mit dem Tool Autofind Threshold (Schwellenwert automatisch ermitteln) bestimmt.

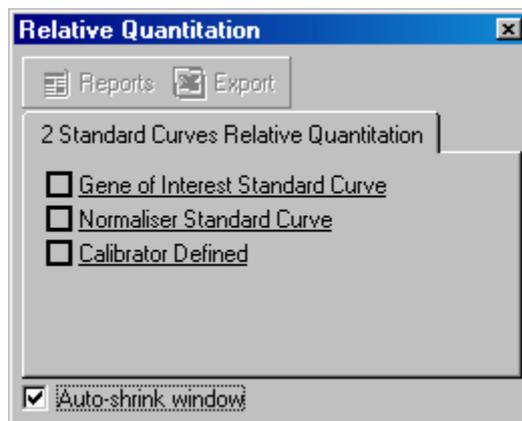
1. Im Fenster Analysis (Analyse) wählen Sie die Registerkarte 2 Std Curve (Rel.) (2-Standardkurven (relativ)). Klicken Sie auf New Analysis... (Neue Analyse).

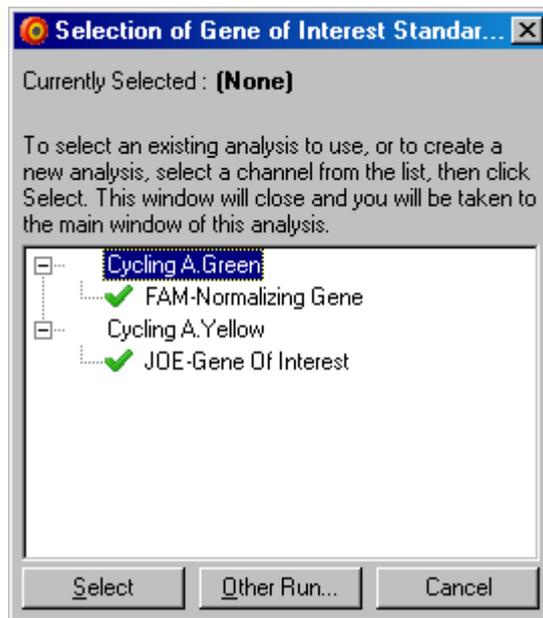


2. Geben Sie einen Namen für die Analyse ein.

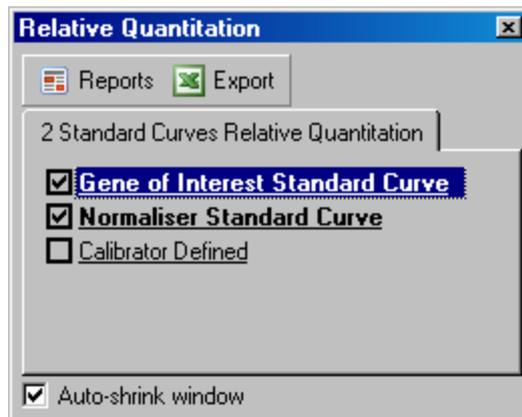


3. Weisen Sie die Seiten für die Analyse des Normalisierungsgens und die Analyse des Zielgens zu. Durch Klicken auf Gene of Interest Standard Curve (Zielgen-Standardkurve) wird das Fenster Selection of Gene of Interest Standard... (Auswahl des Zielgenstandards) angezeigt. Wählen Sie die Seite, wo das Zielgen quantifiziert wurde. Wiederholen Sie das Verfahren für das Normalisierungsgen. Optional kann ein Kalibrator festgelegt werden. Wird diese Option gewählt, wird dem Kalibrator der Wert 1 zugewiesen. Alle anderen Probenkonzentrationen werden dann relativ zu dieser Probe berechnet.

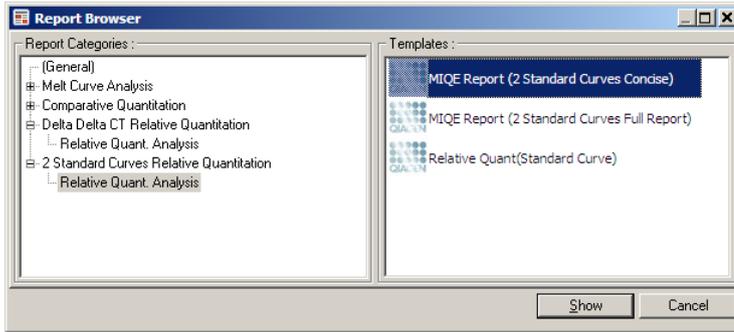




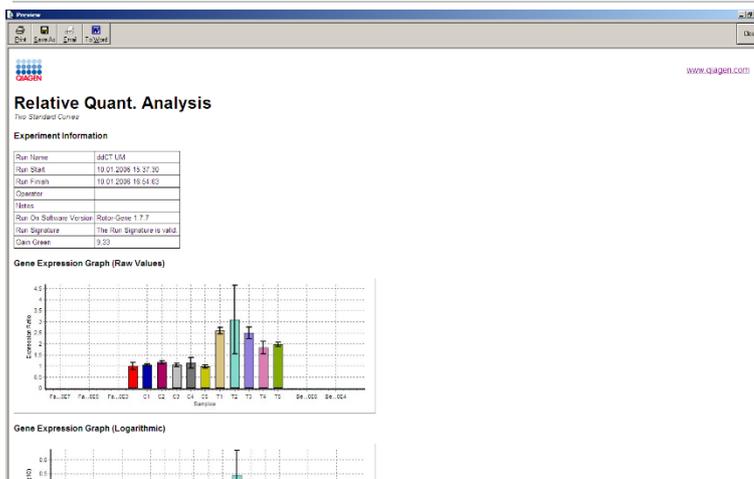
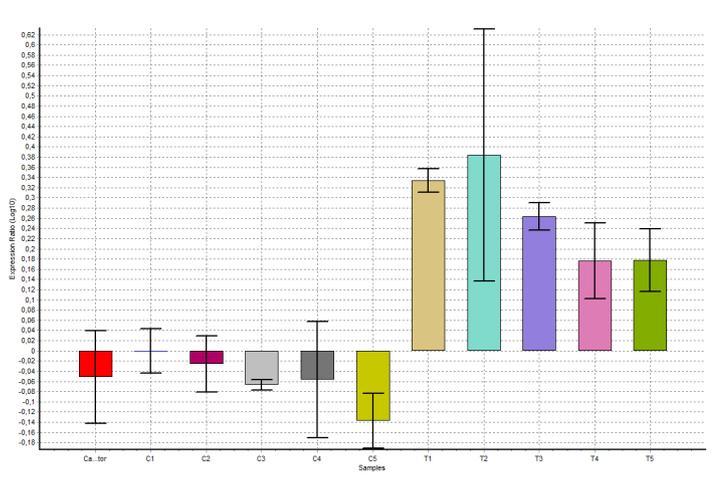
Nach Abschluss aller Auswahlen sind die Optionen mit einem Häkchen markiert wie unten gezeigt.



4. Klicken Sie auf die Schaltfläche Reports (Berichte), um den Report Browser (Bericht-Browser) anzuzeigen. Wählen Sie die Analyse mit dem korrekten Namen von der Liste. Klicken Sie auf die Schaltfläche Show (Anzeigen), um den relativen Quantifizierungsbericht anzuzeigen. Die Option Export exportiert die Ergebnisse in ein neues Excel-Arbeitsblatt. Wurde ein Kalibrator verwendet, wurden die Ergebnisse relativ zum Ergebnis der Kalibratorprobe berechnet; d. h. der Kalibratorprobe wird der Wert 1 zugewiesen.



5. Es werden angezeigt die in den Standardkurven abgelesenen Konzentrationen des Zielgens (GOI Conc.) und des Normalisierungsgens (Norm. Conc.) und die relative Konzentration (Relative Conc.). Die Ergebnisse können als Word-Datei gespeichert werden.



6. Die Werte Rel Min (Relatives Minimum) und Rel Max (Relatives Maximum) werden mit der folgenden Gleichung berechnet, in die der Koeffizient (Quotient der Standardabweichung durch Mittelwert) für das Zielgen und das Normalisierungsgen einfließt:

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

wobei:

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

6.6.4 Relative Quantifizierung mit Delta-Delta-CT

Die Delta-Delta-CT-Methode ermöglicht eine relative Genexpressionsanalyse. Die Methode wurde von Livak und Schmittgen (2001) beschrieben.*

Für diese Methode sind nicht in jedem Lauf Standardkurven erforderlich. Jede Probe wird zunächst mit Blick auf die hinzugefügte Menge DNA-Template im Vergleich mit dem Normalisierungsgen normalisiert. Diese bereits normalisierten Werte werden anschließend relativ zum Kalibrator ein zweites Mal normalisiert. Der Kalibrator kann zum Beispiel eine Wildtyp-, eine unbehandelte oder eine Zeitpunkt-Null-Probe sein.

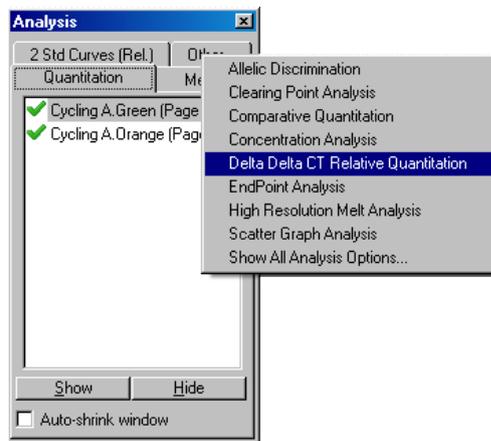
Es ist entscheidend wichtig, dass die Amplifikationseffizienzen des Zielgens und des Normalisierungsgens identisch sind. Dies muss gemäß den Richtlinien von Livak und Schmittgen validiert werden.

Es ist entscheidend wichtig, dass die Probenamen im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) korrekt definiert werden. Die gleichen Proben müssen in jedem Teil der Quantifizierungsanalyse identische Namen besitzen.

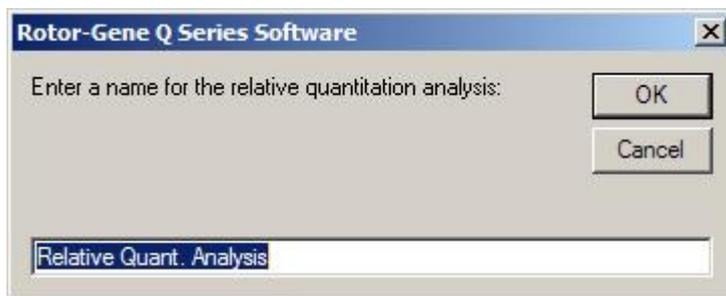
1. Analysieren Sie die Daten mit der Funktion „Quantitation“ (Quantifizierung). Nach Durchführung der Validierung ist es nicht erforderlich, eine Standardkurve zu erstellen.

In der Registerkarte Other (Andere) im Fenster Analysis (Analyse) wählen Sie die Option Delta Delta CT Relative Quantitation (Relative Delta-Delta-CT-Quantifizierung). Klicken Sie auf New Analysis (Neue Analyse).

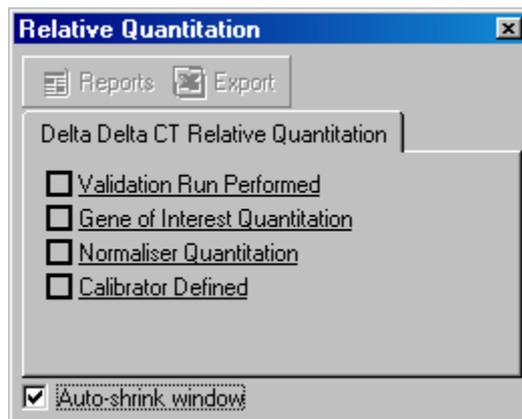
* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ method. *Methods* 25, 402.

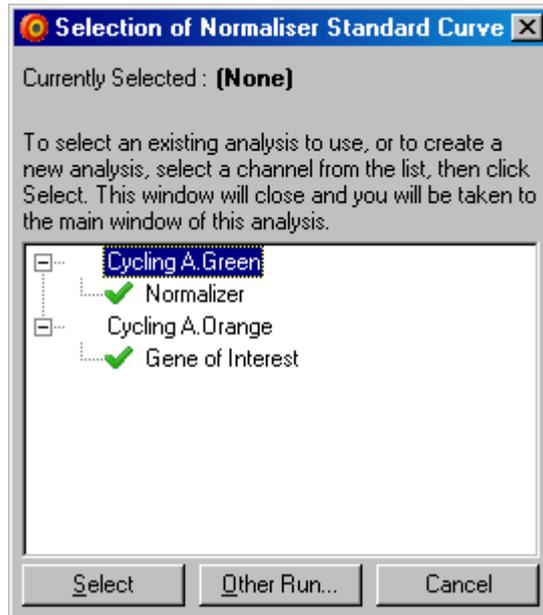


2. Geben Sie einen Namen für die Analyse ein.

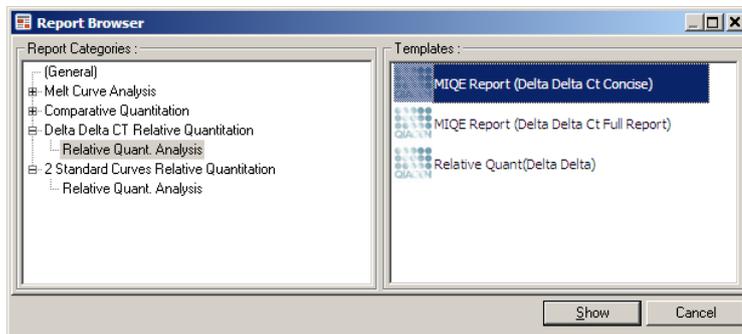


3. Die Option Validation Run Performed (Validierungslauf durchgeführt) muss aktiviert werden, um mit der Analyse fortzufahren. Definieren Sie die Seiten, wo die Zielgene und Normalisierungsgene analysiert wurden.





4. Klicken Sie auf die Schaltfläche Reports (Berichte), um den Report Browser (Bericht-Browser) anzuzeigen. Wählen Sie die Analyse mit dem korrekten Namen von der Liste. Klicken Sie auf die Schaltfläche Show (Anzeigen), um den relativen Quantifizierungsbericht anzuzeigen. Die Option Export exportiert die Ergebnisse in ein neues Excel-Arbeitsblatt. Wurde ein Kalibrator verwendet, sind die Ergebnisse relativ zum Ergebnis der Kalibratorprobe; d. h. der Kalibratorprobe wird der Wert 1 zugewiesen.



Ein Beispiel für ein Ergebnis dieser Analyse ist im Folgenden dargestellt. Die C_T -Werte des Zielgens (GOI C_T), die C_T -Werte des Normalisierungsgens (Norm. C_T), Delta C_T , Delta Delta C_T und die relative Konzentration (Relative Conc.) werden angezeigt. Die Expression ist relativ zur Kalibratorprobe angegeben, der eine relative Expression von 1 zugewiesen wurde.

Weiterführende Hinweise zur Ableitung der Größen Rel Min und Rel Max finden Sie bei Litvak and Schmittgen (2001).*

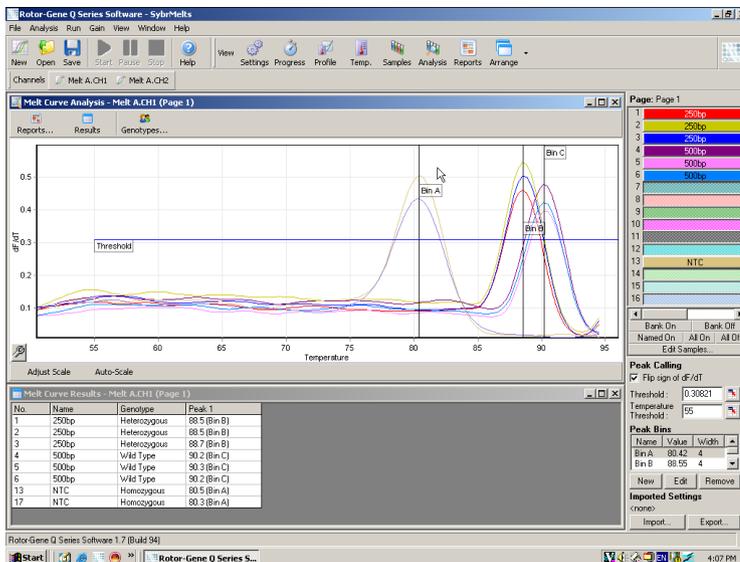
* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods* 25, 402.

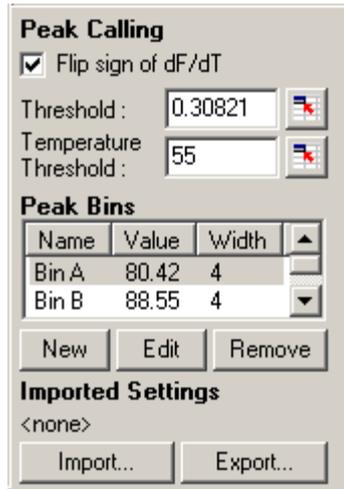
C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	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	17.41896	16.47839	18.41322	
	QS 0.1 IU/µl		28.11						
	0.316 IU/µl	37.62	28.10	9.51	4.70	0.03957	0.03633	0.04094	
	1 IU/µl	36.84	28.15	8.69	3.88	0.06805	0.04415	0.10489	
	3.16 IU/µl	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 Schmelzkurvenanalyse

Zur Schmelzkurvenanalyse werden die Rohdaten geglättet und die erste Ableitung der Kurve berechnet und analysiert. Diese Analyse wird oft für die Genotypisierung und allelische Diskriminierung verwendet. Die Peaks der Kurve werden in Klassen gruppiert, und alle Peaks unterhalb des Schwellenwerts werden verworfen. Mit dem Befehl „Genotypes“ (Genotypen) können die Klassen Genotypen zugeordnet werden.

Nach Abschluss des Laufs ist es bei einigen Reaktionen möglich, einen Denaturierungsschritt hinzuzufügen, um die Dissoziationskinetik der amplifizierten Produkte zu visualisieren. Die Temperatur wird linear erhöht und die Fluoreszenz jeder Probe wird aufgezeichnet. Eine typische Schmelzkurvenanalyse ist weiter unten dargestellt.





Flip sign of dF/dT (Vorzeichen von dF/dT umkehren):

Vor der Festlegung der Peaks stellen Sie sicher, dass das Vorzeichen von dF/dT im Datensatz korrekt ist und positive Peaks erzeugt.

Festlegen der Peaks:

Im Rahmen der Schmelzkurvenanalyse können Peaks mit unterschiedlichen Methoden festgelegt und berichtet werden. Bei einer Methode werden automatisch alle Peaks einer Probe angegeben. Bei einer anderen Methode werden die Peaks Klassen zugeordnet, was insbesondere bei Genotypisierungen nützlich ist.

Eine Klasse beschreibt einen Bereich, in dem Peaks erwartet werden. Die Schmelzkurvenanalyse-Software gruppiert Peaks je nach den tatsächlichen Peakwerten in der Kurve in Klassengruppen. Klassen können bei Bedarf bearbeitet werden.

Jeder Peak, der sich innerhalb der definierten Klassengrenzen befindet, wird der Klasse zugeordnet. Befinden sich zwei Klassen nahe nebeneinander, wird der Peak der nächsten Klasse zugeordnet.

Hinweis: Die Klassen sollten nicht optisch positioniert werden, um Peakpositionen abzuschätzen. Legen Sie die Klasse in den ungefähren Zielbereich. Dann benutzen Sie die tatsächlichen Berichtswerte in der Ergebnistabelle, um ein genaueres Ergebnis zu erhalten.

Peak Bins (Peakklassen):

Um eine Klasse festzulegen, klicken Sie auf die Schaltfläche New Bin (Neue Klasse). Dann klicken und halten Sie das Diagramm, um die Mitte der Klasse zu definieren. Um eine weitere Klasse hinzuzufügen, wiederholen Sie das Verfahren. Klassen können mit der Schaltfläche Remove (Entfernen) gelöscht werden.

Threshold (Schwellenwert):

Um den Schwellenwert (y-Achse) festzulegen, klicken Sie auf das Symbol . Dann klicken und halten Sie das Diagramm und verschieben die Linie auf die gewünschte Höhe.

Temperature Threshold (Temperaturschwellenwert):

Um den Temperaturschwellenwert (x-Achse) festzulegen, klicken Sie auf das Symbol . Dann klicken und halten Sie das Diagramm und verschieben die Schwellenwertlinie nach rechts. Damit wird die Schwellenwertlinie für die niedrigeren Temperaturen beseitigt.

Hinweis: Dies ist nützlich, wenn das Signal bei niedrigen Temperaturen verrauscht ist.

Berichte

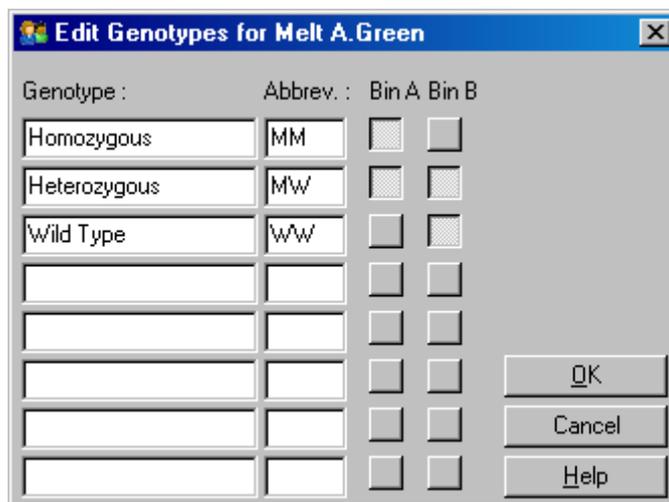
Mit dieser Option wird Report Browser (Bericht-Browser) geöffnet, in dem ein Bericht für die Vorschau gewählt werden kann. Berichte können nach aktuell ausgewähltem Kanal erzeugt werden. Oder es wird ein Multikanal-Genotypisierungsbericht erstellt.

Ergebnisse

Mit dieser Funktion wird das Fenster Melt Curve Results (Schmelzkurveergebnisse) angezeigt, in dem Probenpeaks dargestellt sind.

Genotypen

Durch Klicken auf Genotypes... (Genotypen) können Genotypen ausgewählt werden, siehe unten.

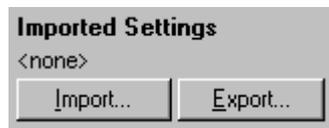


In diesem Fenster können Genotypen zu den Peakinzidenzen in den Klassen zugeordnet werden. Die standardmäßige Genotypkonfiguration ist im Screenshot dargestellt. Für heterozygote Proben werden 2 Peaks, für homozygote Proben ein Peak in der ersten Klasse und für Wildtyp ein Peak in der zweiten Klasse erwartet. In das Feld neben dem Namen des Genotyps kann eine Abkürzung eingegeben werden. Diese Abkürzungen werden beim Drucken von Multikanal-Genotypisierungsberichten verwendet, damit alle Ergebnisse aller Kanäle besser lesbar sind.

In Multiplex-Analysen müssen die Genotypen in jedem Kanal eingerichtet werden. Wird z. B. eine FRET-Analyse mit Fluoreszenzlöschung in zwei Kanälen durchgeführt, bei der ein Wildtyp und ein heterozygoter Genotyp in jedem Kanal erwartet wird, müssen die Klassenparameter in beiden Kanälen eingerichtet werden. Die Ergebnisse werden in Form eines Multiplex-Berichts ausgegeben.

Vorlagen für die Schmelzanalyse

Die Vorlagen für die Schmelzanalyse ermöglichen den Export von Normalisierungs-, Schwellenwert-, Genotyp- und Klasseneinstellungen in einer einzigen Datei mit der Dateierweiterung *.met. Diese Datei kann importiert und bei anderen Experimenten angewendet werden. Weitere Informationen dazu siehe Abschnitt 7.1.



6.6.6 Vergleichende Quantifizierung

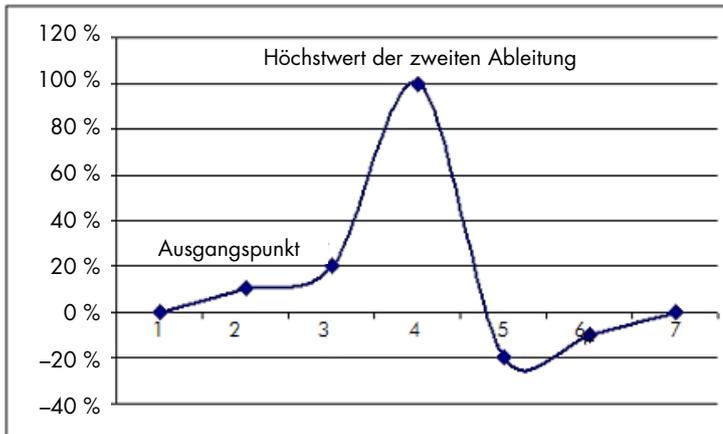
Im Rahmen der vergleichenden Quantifizierung (in Fällen, bei denen keine Standardkurve erstellt werden kann) wird die Expression von Proben relativ zur Expression einer Kontrollprobe im Lauf quantifiziert. Die vergleichende Quantifizierung wird häufig bei Mikroarray-Analysen eingesetzt. Warton und Mitarbeiter (2004)* liefern ein Beispiel für diese Methode.

1. Zur Durchführung der Analyse wählen Sie die Option Other (Andere) und dann Comparative quantitation (Vergleichende Quantifizierung) im Fenster Analysis (Analyse). Doppelklicken Sie auf den Kanal, der analysiert werden soll.
2. Im Dropdown-Menü rechts unter dem Umschaltbereich wählen Sie eine Kontrollprobe.
3. Die Ergebnisse werden automatisch berechnet und im Fenster Comparative Quantitation Results (Ergebnisse der vergleichenden Quantifizierung) unter dem Diagramm angezeigt.

In der ersten Spalte im Fenster Comparative Quantitation Results (Ergebnisse der vergleichenden Quantifizierung) werden die Probennummer und der Probenname angezeigt. In der Spalte Takeoff (Ausgangspunkt) ist der Ausgangspunkt der Probe angegeben. Die Peaks in der zweiten Ableitung des Amplifikationsdiagramms entsprechen der maximalen Fluoreszenzerhöhung der Reaktion. Der Ausgangspunkt ist definiert als der Zyklus, bei der die zweite Ableitung bei 20 % des Spitzenwerts liegt. Er zeigt das Ende des Rauschens und den Übergang zur exponentiellen Phase an.

In diesem Diagramm wird die zweite Ableitung eines Amplifikationsdiagramms angezeigt, in der die relativen Positionen des Peaks und der Ausgangspunkt gekennzeichnet sind.

* Warton, K., Foster, N.C., Gold, W.A., and Stanley, K.K. (2004) A novel gene family induced by acute inflammation in endothelial cells. *Gene* 342, 85.



In der Spalte „Amplifikation“ (Amplifikation) wird die Effizienz der Probe angegeben. Eine Effizienz von 100 % bedeutet, dass der Amplifikationswert jeder Probe bei 2 liegt, d. h. dass das Amplifikat in jedem Zyklus verdoppelt wurde. In den Rohdaten verdoppelt sich das Signal in der exponentiellen Phase. Wenn in Zyklus 12 50 Fluoreszenzeinheiten und in Zyklus 13 51 Fluoreszenzeinheiten gemessen werden, dann sollte sich die Fluoreszenz in Zyklus 14 auf 53 Fluoreszenzeinheiten erhöhen. Der Mittelwert, der aus allen Amplifikationswerten jeder Probe gebildet wird, wird rechts im Bildschirm unter dem Umschaltbereich angezeigt. Je mehr die Amplifikationsschätzwerte jeder Probe voneinander abweichen, desto größer ist das Konfidenzintervall (der Wert nach dem \pm -Zeichen). Das Konfidenzintervall gibt an, dass die wahre Amplifikation einer hohen Probenzahl (N) mit einer Wahrscheinlichkeit von 68,3 % innerhalb dieses Bereichs (1 Standardabweichung) liegt. Durch Verdopplung des \pm -Intervalls kann ein 95,4%-Konfidenzintervall für eine hohe Probenzahl N erzielt werden.

Kalibrator-Replikate

Wie bei der Delta-Delta- C_T -Methode wird eine Kalibratorprobe benötigt. Die Messungen erfolgen relativ zu dieser Kalibratorprobe. Es können Kalibrator-Replikate analysiert werden, da die Ausgangspunktswerte für mehrere Probenpositionen mit dem gleichen Probenamen gemittelt werden. Diese Funktion arbeitet nur dann korrekt, wenn die Replikate identische Namen haben.



Die mittlere Amplifikation dient zur Berechnung der Expression. Beispielsweise dauert es im Vergleich zu einer Probe mit höherem Amplifikationswert länger, bis eine Probe mit niedrigerem Amplifikationswert den Schwellenwert einer bestimmten absoluten Kopienzahl erreicht hat. In der Spalte „Rep. Conc.“ (Replikatkonzentration) im Fenster Comparative Quantitation Results (Ergebnisse

der vergleichenden Quantifizierung) ist die relative Konzentration angegeben. Die relative Konzentration jeder Probe im Vergleich mit der Kalibratorprobe wird auf Grundlage des Ausgangspunkts und der Reaktionseffizienz berechnet. Diese wird in wissenschaftlicher Schreibweise angegeben.

Hinweis: Der Wert unter Average Amplification (Mittlere Amplifikation) rechts neben \pm steht für die Standardabweichung des Amplifikationsmittelwerts nach Entfernung von Ausreißerwerten der Amplifikation. Handelt es sich um einen hohen Wert, dann ist der Fehler der berechneten Konzentrationswerte unter Umständen insgesamt groß.

Die relativen Konzentrationen werden von der Software wie folgt berechnet:

1. Der Ausgangspunkt jeder Probe wird mithilfe der Peaks der zweiten Ableitung berechnet.
2. In den Rohdaten wird die mittlere Fluoreszenzerhöhung 4 Zyklen nach dem Ausgangspunkt berechnet. Dies ist der Amplifikationswert der Probe.
3. Ausreißerwerte der Amplifikation werden nicht berücksichtigt, da diese von Rauschen der Hintergrundfluoreszenz verursacht werden.
4. Die verbleibenden Amplifikationen werden gemittelt. Dies ist der Amplifikationsmittelwert.
5. Der mittlere Ausgangspunkt wird für alle Kalibrator-Replikate berechnet.
6. Die relative Konzentration der Probe wird berechnet als $\text{Amplifikation}^{(\text{Kalibrator-Ausgangspunkt} - \text{Proben-Ausgangspunkt})}$.
7. Das Ergebnis wird in einer wissenschaftlichen Schreibweise in der Spalte „Rep. Conc.“ (Replikatkonzentration) im Fenster Comparative Quantitation Results (Ergebnisse der vergleichenden Quantifizierung) angegeben.

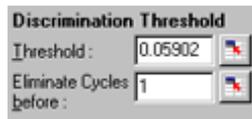
6.6.7 Allelische Diskriminierung

Bei der allelischen Diskriminierung werden kinetische Echtzeit-Daten aus 2 oder mehr Kanälen zur Genotypisierung von Proben verwendet. Zur Durchführung dieser Analyse wählen Sie die Option Other (Andere) und dann Allelic Discrimination (Allelische Diskriminierung) im Fenster Analysis (Analyse). Zur Durchführung einer allelischen Diskriminierung reicht es nicht, einen Kanal doppelzuklicken, da die Analyse mehrere Kanäle gleichzeitig erfordert. Um diese Analyse durchzuführen, halten Sie die Strg-Taste und klicken Sie auf alle Kanäle, die Sie analysieren möchten, oder ziehen Sie den Mauszeiger über diese Kanäle. Nach Hervorheben der gewünschten Kanäle, klicken Sie auf Show (Anzeigen). Die Liste wird aktualisiert. Alle diese Kanäle werden auf einer Linie und mit Häkchen angezeigt. Dies verweist darauf, dass sie alle zusammen bei der Analyse verwendet werden. Um einen oder mehrere dieser Kanäle zu entfernen, klicken Sie mit der rechten Maustaste auf die Analyse und wählen Sie Remove Analysis... (Analyse entfernen). Diese

Kanäle können dann bei einer anderen allelische Diskriminierungsanalyse verwendet werden. Ein Kanal kann bei einer Analyse nur einmal verwendet werden.

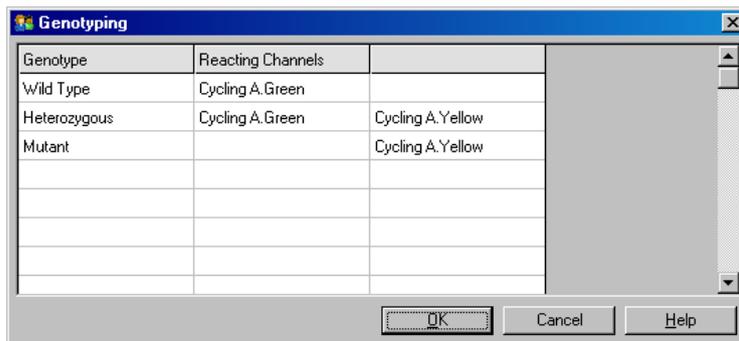
- Reports (Berichte): Mit dieser Option wird der Bericht „Allelic Discrimination Analysis“ (Analyse der allelischen Diskriminierung) für die Vorschau geöffnet.
- Results (Ergebnisse): Mit dieser Schaltfläche wird das Fenster Allelic Discrimination Results (Ergebnisse der allelischen Diskriminierung) geöffnet. Dieses Fenster wird standardmäßig geöffnet, wenn die Analyse zum ersten Mal angezeigt wird.
- Normalisierungsoptionen: Es stehen verschiedene Optionen zur Optimierung der Rohdatennormalisierung zur Verfügung:
- Dynamic Tube (Dynamisches Röhrchen) – zur dynamischen Normalisierung von Röhrchen
 - Slope Correct (Steigungskorrektur) – zur Steigungskorrektur des Rauschsignals
 - Ignore First x cycles (Erste x Zyklen ignorieren) – zur Korrektur von Rauschen in den ersten Zyklen
 - Anpassung des Ausgangspunkts
- Weitere Informationen dazu siehe Seite 96.

Discrimination Threshold (Diskriminierungsschwellenwert): Geben Sie Werte in diese Textfelder ein, um den Diskriminierungsschwellenwert zu positionieren. Alle Kurven, die diesen Schwellenwert passieren, werden als Genotypisierungsproben eingestuft. Klicken Sie auf das Symbol rechts neben jedem Textfeld. Dann ziehen Sie den Schwellenwert auf dem Diagramm an die gewünschte Stelle, um diese Werte optisch einzurichten.



Genotypen: Mit dieser Option wird das Fenster Genotyping (Genotypisierung) geöffnet, in dem festgelegt wird, welcher Genotyp in welchem Kanal nachgewiesen wird. In diesem Fenster können den Genotypen für die allelische Diskriminierungsanalyse Kanäle zugewiesen werden.

Im folgenden Beispiel ist eine Probe heterozygot, wenn die Messwerte in beiden Kanälen, Cycling A. Green und Cycling A. Yellow, den Schwellenwert überschreiten.



Vorlagen für die Allelanalyse: Die Vorlagen für die Allelanalyse ermöglichen den Export von Normalisierungs-, Schwellenwert- und Genotypeinstellungen in Form einer einzigen Datei mit der Erweiterung *.alt. Diese Datei kann importiert und bei anderen Experimenten angewendet werden. Weitere Informationen dazu siehe Abschnitt 7.1.



6.6.8 Streuungsdiagrammanalyse

Die Streuungsdiagrammanalyse ermöglicht eine Genotypisierung auf Grundlage der relativen Expression von Amplifikationskurven in 2 Kanälen. Anders als bei der allelischen Diskriminierung wird der Genotyp auf Grundlage der Regionen im Streuungsdiagramm getroffen und nicht auf Grundlage eines Schwellenwerts. Zur Durchführung dieser Analyse wählen Sie die Option Other (Andere) und dann Scatter Graph Analysis (Streuungsdiagrammanalyse) im Fenster Analysis (Analyse).

Zur Durchführung einer Streuungsdiagrammanalyse reicht es nicht, einen Kanal doppelzuklicken, da die Analyse zwei Kanäle gleichzeitig erfordert. Um diese Analyse durchzuführen, halten Sie die Umschalttaste und klicken Sie auf alle Kanäle, die Sie analysieren möchten, oder ziehen Sie den Mauszeiger über diese Kanäle. Nach Hervorheben der gewünschten Kanäle, klicken Sie auf Show (Anzeigen).

Die Liste wird aktualisiert. Alle diese Kanäle werden auf einer Linie und mit Häkchen daneben angezeigt. Dies verweist darauf, dass sie alle zusammen bei der Analyse verwendet werden. Um einen oder mehrere dieser Kanäle zu entfernen, klicken Sie mit der rechten Maustaste auf die Analyse und wählen Sie Remove Analysis... (Analyse entfernen). Diese Kanäle können dann bei einer anderen Streuungsdiagrammanalyse verwendet werden. Ein Kanal kann bei einer Analyse nur einmal verwendet werden.

Reports (Berichte): Mit dieser Option wird der Bericht Scatter Analysis (Streuungsanalyse) für die Vorschau geöffnet.

Ergebnisse: Mit dieser Schaltfläche wird das Fenster Scatter Analysis Result (Ergebnisse der Streuungsanalyse) geöffnet. Dieses Fenster wird standardmäßig geöffnet, wenn die Analyse zum ersten Mal angezeigt wird.

Normalisierungsoptionen:

Es stehen verschiedene Optionen zur Optimierung der Rohdatennormalisierung zur Verfügung:

- Dynamic Tube (Dynamisches Röhrchen) – zur dynamischen Normalisierung von Röhrchen
- Slope Correct (Steigungskorrektur) – zur Steigungskorrektur des Rauschsignals
- Ignore First x cycles (Erste x Zyklen ignorieren) – zur Korrektur von Rauschen in den ersten Zyklen
- Anpassung des Ausgangspunkts

Weitere Informationen dazu siehe Seite 96.

Genotypen:

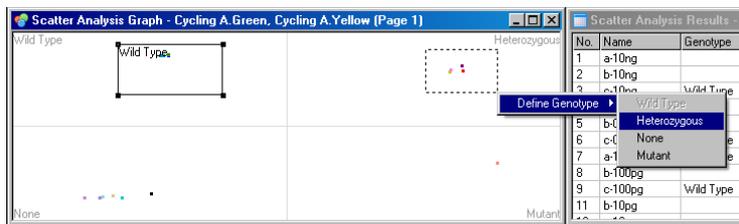
Mit dieser Option wird das Fenster Genotyping (Genotypisierung) geöffnet, in dem festgelegt wird, welcher Genotyp in welchem Kanal nachgewiesen wird. In diesem Fenster können Genotypen den Kanälen zugewiesen werden, in denen die Proben reagieren. Die ausgewählten Kanäle dienen zur Beschriftung der Ecken des Streudiagramms und führt durch den allgemeinen Bereich des Streudiagramms, wo die Regionen festgelegt werden sollten.



Streudiagramm:

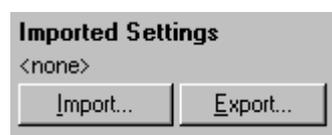
Im Streudiagramm wird die relative Expression der beiden ausgewählten Kanäle angezeigt. Die Anzeige wird normalisiert, um die unterschiedlich starken Erhöhungen in jedem Kanal zu berücksichtigen, und dann logarithmisch dargestellt, um die Unterschiede bei der Expression zwischen den Proben zu betonen.

Für die Genotypisierung müssen die Benutzer im Diagramm durch Klicken und Ziehen Regionen festlegen. Die Auswahl kann dann im Fenster „Genotyping“ (Genotypisierung) je nach konfigurierten Genotypen beschriftet werden.



Vorlagen für die Streudiagrammanalyse:

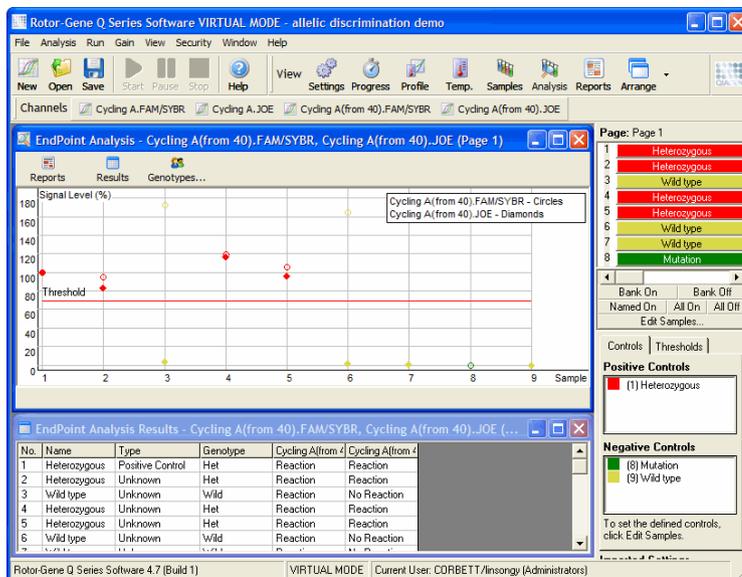
Vorlagen für die Streudiagrammanalyse ermöglichen den Export von Genotyp- und Regioneneinstellungen in eine einzige Datei mit der Erweiterung *.sct. Diese Datei kann importiert und bei anderen Experimenten angewendet werden. Weitere Informationen dazu siehe Abschnitt 7.1.



6.6.9 EndPoint-Analyse

Die EndPoint-Analyse ermöglicht die Unterscheidung von amplifizierten und nicht amplifizierten Proben am Laufende. Die Ergebnisse sind qualitativ (positiv/negativ), nicht quantitativ.

Die EndPoint-Analyse wird im folgenden Screenshot dargestellt.



Die EndPoint-Analyse ähnelt der allelischen Diskriminierung insofern, dass die Ergebnisse qualitativ sind und dass bestimmten Reaktionspermutationen in unterschiedlichen Kanälen Namen zugewiesen werden können. Die EndPoint-Analyse liefert jedoch nur einen einzelnen Messwert, während bei der allelischen Diskriminierung bei jedem Zyklus ein Messwert für die Probe ausgegeben wird. Dies bedeutet, dass Positiv- und Negativkontrollen identifiziert werden müssen, um die Analyse zu unterstützen. Die Rohdaten-Signalhöhen werden relativ zu den bekannten Positiv- und Negativkontrollen in jedem Kanal normalisiert. Die Benutzer wählen anschließend eine prozentuale Signalhöhe als Schwellenwert.

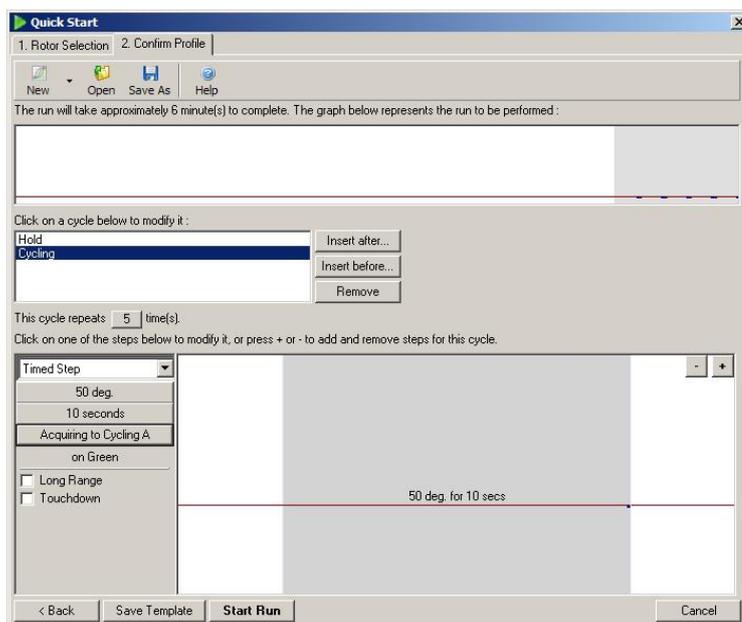
Die Begriffe im Rahmen einer EndPoint-Analyse

Einige Begriffe der EndPoint-Analyse werden im Folgenden kurz erklärt.

- Positivkontrolle: Dabei handelt es sich um eine Kontrolle, die bekanntermaßen amplifiziert wird.
- Negativkontrolle: Dabei handelt es sich um eine Kontrolle, die bekanntermaßen nicht amplifiziert wird. Diese liefert das typische Hintergrundsignal.
- Schwellenwert: Die Werte über dem Schwellenwert werden als positiv (amplifiziert) eingestuft. Diese Einstellung muss von den Benutzer bei jedem Lauf neu angepasst werden.

- Signalhöhe: Das Fluoreszenzsignal als Prozentwert. Das höchste Signal der Positivkontrollen ist dabei 100 % und das niedrigste Signal der Negativkontrollen ist 0 %.
- Genotyp: Die Auswertung der verschiedenen Reaktionspermutationen in den verschiedenen Kanälen. Beispielsweise könnte einer Probe, die sowohl in dem grünen als auch in dem gelben Kanal reagiert, der Genotyp „heterozygot“ zugewiesen werden. Dieser Genotyp kann auch in Berichten von Reaktionen mit internen Kontrollen berücksichtigt werden. Beispielsweise können Ergebnisse „inhibited“ (gehemmt), „positive“ (positiv) oder „negative“ (negativ) sein je nachdem, welche Reaktion in welchem Kanal beobachtet wurde.

Profilkonfiguration



Zur Durchführung einer EndPoint-Analyse verwenden Sie ein Profil mit einer mehrminütigen Haltephase bei 50 °C, gefolgt von einem Zyklus mit einem Schritt bei 50 °C über 10 s mit Erfassung im erforderlichen Kanal. Stellen Sie die Zahl der Wiederholungen auf 5 ein (siehe oben). Diese Zeitangaben dienen lediglich zur Orientierung und variieren möglicherweise in Ihrer Anwendung. Je mehr Wiederholungen im Profil vorgesehen sind, desto mehr Informationen sind für die Analyse vorhanden. Im Rahmen der Analyse werden automatisch alle Messwerte gemittelt und ein Einzelwert für jede Probe ausgegeben. Es wird keine bestimmte Anzahl von Wiederholungen vorgegeben. Fünf Wiederholungen reichen normalerweise, es sei denn, es ist eine besonders hohe Genauigkeit erforderlich.

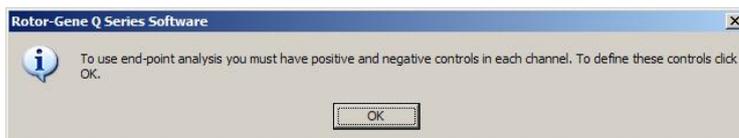
Analyse

Die EndPoint-Analyse kann in mehreren Kanälen gleichzeitig erfolgen. Zur Erstellung einer neuen Analyse klicken Sie auf die Registerkarte EndPoint (Endpunkt), wählen die Kanäle durch Ziehen mit dem Mauszeiger, und klicken Sie auf Show (Anzeigen).



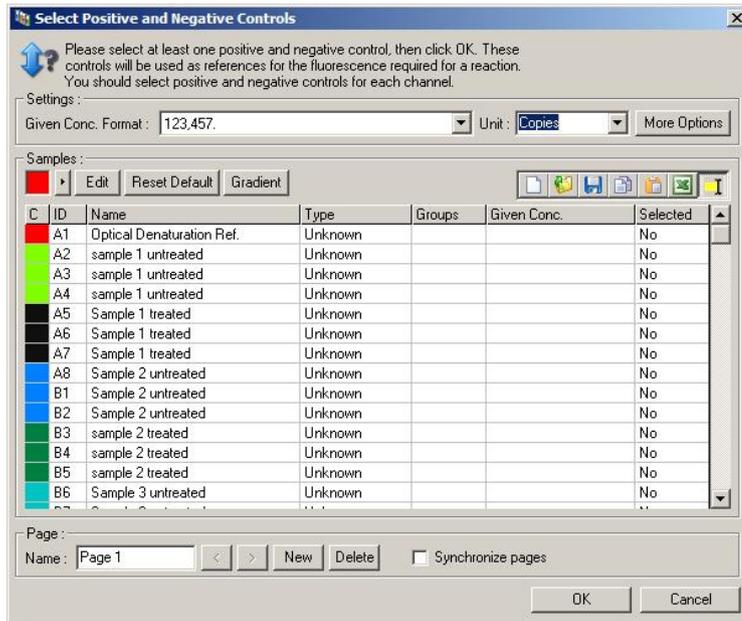
Kontrollen festlegen

Wurden die Positiv- und Negativkontrollen noch nicht festgelegt, wird beim ersten Öffnen der EndPoint-Analyse die folgende Meldung angezeigt.



Klicken Sie auf OK. Das Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) wird angezeigt. Hier können Positiv- und Negativkontrollen definiert werden. Um eine Probe als Positiv- oder Negativkontrolle festzulegen, klicken Sie auf die Probenart-Zelle. Wählen Sie dann den relevanten Kontrolltyp im Dropdown-Menü.

Hinweis: Die Kontrollen müssen „eingeschaltet“ werden. Dazu verwenden Sie den Umschaltbereich rechts neben dem Hauptfenster, um die Analyse durchzuführen.



Dieser Bildschirm funktioniert genauso wie der Bildschirm Edit Samples (Proben bearbeiten) (Abschnitt „Proben einrichten“).

Normalisierung

Bei der Normalisierung von EndPoint-Analysedaten werden alle Signalhöhen prozentual zwischen 0 % und 100 % angegeben. Es müssen mindestens eine Positiv- und eine Negativkontrolle gewählt werden. Werden mehrere Kanäle analysiert und die Standards werden keiner Multiplex-Messung unterzogen, dann müssen mehr gewählt werden. Besteht die Gefahr, dass eine Positivkontrolle nicht amplifiziert wird, müssen mehr als eine Positiv- und eine Negativkontrolle analysiert werden.

1. In jedem Kanal werden alle Positivkontrollen analysiert. Die Kontrolle mit der höchsten Fluoreszenz bestimmt den 100%-Wert. Dies bedeutet, dass im Falle von Doppelkontrollen eine Positivkontrolle ausfallen kann, ohne den Lauf zu beeinflussen.
2. Es werden alle Negativkontrollen analysiert. Die Kontrolle mit dem niedrigsten Fluoreszenzwert bestimmt den 0%-Wert.
3. Die Fluoreszenz-Rohwerte der verbleibenden Proben werden dann mit Bezug auf die höchste Positivkontrolle und die niedrigste Negativkontrolle prozentual ausgedrückt.

Zum Beispiel:

Probe	Typ	Fluoreszenz
1	Positivkontrolle	53,6
2	Positivkontrolle	53,0
3	Negativkontrolle	4,5
4	Negativkontrolle	4,3
5	Probe	48,1
6	Probe	6,4

Dieser Lauf war erfolgreich, da die beiden Positiv- und die beiden Negativkontrollen nahe beieinander und nicht in der Nähe der Fluoreszenzwerte der Proben lagen.

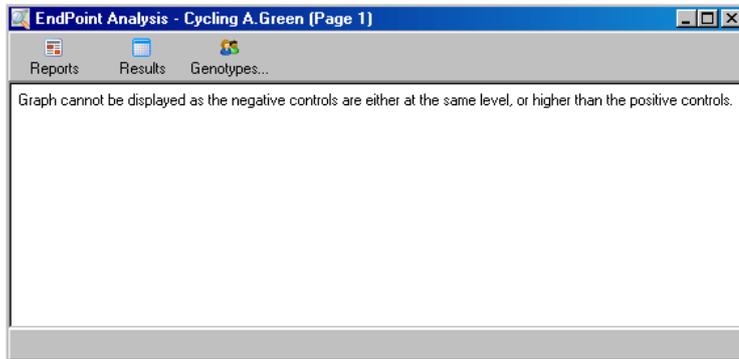
Die normalisierten Werte sind:

Probe	Typ	Expression (%)
1	Positivkontrolle	100,0
2	Positivkontrolle	97,3
3	Negativkontrolle	0,4
4	Negativkontrolle	0,0
5	Probe	84,2
6	Probe	4,0

Probe 1 war die Positivkontrolle mit der höchsten Fluoreszenz und wurde deshalb auf 100 % gesetzt. Die andere Positivkontrolle lag ein wenig niedriger. Probe 4 war die niedrigste Negativkontrolle und wurde auf 0 % gesetzt. Es ist nun klar, dass Probe 5 wahrscheinlich amplifiziert wurde, während Probe 6 wahrscheinlich nicht amplifiziert wurde.

Hinweis: Je nach ausgewählten Positiv- und Negativkontrollen ist es möglich, dass Expressionen über 100 % bzw. unter 0 % erzielt werden. Ein Ergebnis über 100 % kann so erklärt werden, dass die Probe stärker exprimiert wird als die Positivkontrollen. Ein Ergebnis unter 0 % kann so erklärt werden, dass die Probe weniger wahrscheinlich exprimiert wird als die Negativkontrollen. Da es sich um eine qualitative Analyse handelt, sind solche Ergebnisse unbedenklich.

Ist die Fluoreszenz der Negativkontrollen höher als die Fluoreszenz der Positivkontrollen, wurden die Proben falsch eingerichtet. Die folgende Meldung wird angezeigt:



Normalisierung im mehreren Kanälen

Es ist möglich, Signaldaten über mehrere Kanäle hinweg zu analysieren, die Probeneinrichtung ist jedoch komplexer. Die EndPoint-Analyse beruht auf der Annahme, dass eine Multiplex-Analyse durchgeführt wird. Daher kann jedes Röhrchen nur eine einzige Röhrchenposition besetzen. Es ist aktuell nicht möglich, eine Analyse einzurichten, bei der die Probe in einer Probenposition in einem Kanal als Positivkontrolle und in einem anderen Kanal als Negativkontrolle definiert wird.

Im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) gibt es zwar nur eine Probendefinition für jede Röhrchenposition, die Normalisierung erfolgt jedoch unabhängig voneinander in jedem Kanal.

Wenn sich an einer Röhrchenposition eine Probe befindet, die mindestens in einem Kanal eine Positivkontrolle ist, dann muss diese Probe im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) in der Spalte „Type“ (Typ) als Positivkontrolle festgelegt werden. Ansonsten ist der passende Probentyp Sample (Probe). Dies gilt auch für Negativkontrollen.

Ist eine Probe beispielsweise eine Positivkontrolle im grünen, aber nicht im gelben Kanal, muss die Probe trotzdem als Positivkontrolle festgelegt werden. In jedem Kanal wird die höchste Positivkontrolle verwendet. Solange mindestens eine Positivkontrolle im gelben Kanal amplifiziert wird, wird die Festlegung als Kontrolle im grünen Kanal ignoriert.

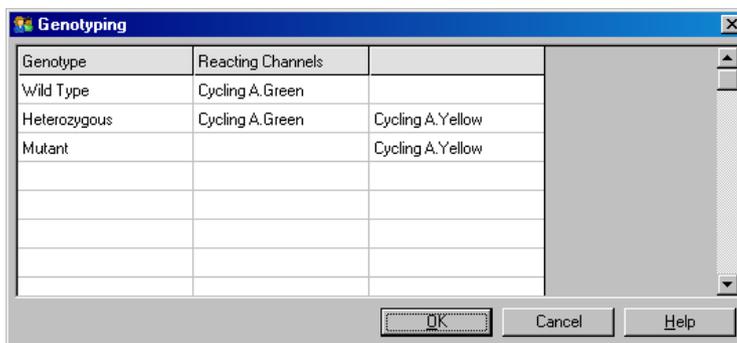
Schwellenwert

Dieser Schwellenwert legt fest, ab welcher prozentualen Expression eine Reaktion in einem Kanal als positiv gilt. Nach der Festlegung der Positiv- und Negativkontrollen werden alle Kanäle auf die gleiche Skala zwischen 0 % und 100 % normalisiert. Aus diesem Grund ist auch bei der Analyse von mehreren Kanälen nur ein prozentualer Schwellenwert erforderlich.

Klicken und ziehen Sie die Schwellenwertlinie in einen Bereich zwischen 0 und 100. Die Schwellenwertlinie sollte in der Mitte zwischen den negativen und positiven Kontrollen und weit genug weg von diesen liegen, um unschlüssige Analysenläufe zu vermeiden. Besteht der Unterschied zwischen den als positiv bzw. als negativ eingestuft Proben nur aus wenigen Prozent, könnten die Proben bei einer Wiederholung des Laufs auf der jeweils anderen Seite der Schwellenwertlinie landen.

Genotypen

Mit dieser Option wird das Fenster Genotyping (Genotypisierung) geöffnet, in dem festgelegt wird, welcher Genotyp in jedem Kanal nachgewiesen wird.



In diesem Fenster können Genotypen Kanälen zugewiesen werden. Im obigen Beispiel ist eine Probe heterozygot, wenn die Messwerte in beiden Kanälen, Cycling A. Green und Cycling A. Yellow, den Schwellenwert überschreiten.

Vorlagen für die EndPoint-Analyse

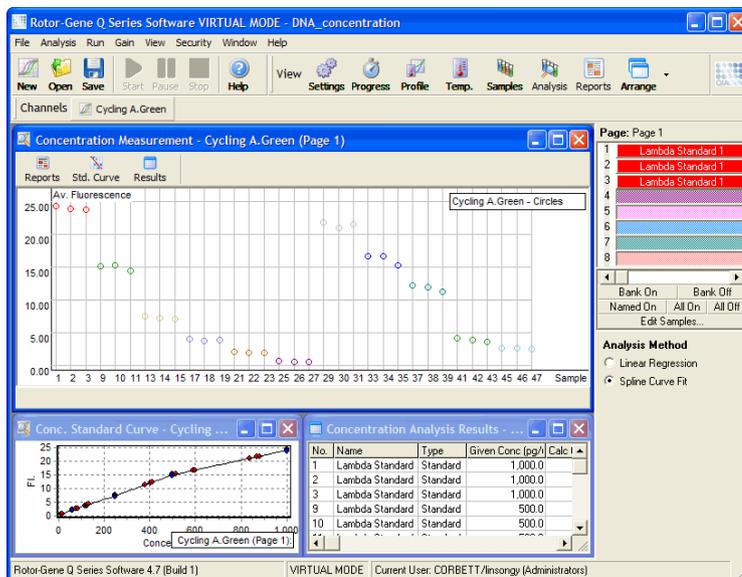
Die Vorlagen für die EndPoint-Analyse ermöglichen den Export von Normalisierungs- und Schwellenwerteinstellungen in einer einzigen Datei mit der Dateierweiterung *.ent. Diese Datei kann importiert und bei anderen Experimenten angewendet werden. Weitere Informationen dazu siehe Abschnitt 8.1.



6.6.10 Konzentrationsanalyse

Im Rahmen der Konzentrationsanalyse kann der Rotor-Gene Q MDx verwendet werden, um DNA-Konzentrationen zu messen bzw. Fluorometermessungen durchzuführen.

Diese Analyse wird im folgenden Screenshot dargestellt.



Vorbereitung eines Laufs

Zur Durchführung einer Konzentrationsanalyse müssen zunächst Fluoreszenzstandards und Proben angesetzt werden, möglichst als Triplikate.

Herstellung von Standards

Eine Standardkurve dient zur Ermittlung der DNA-Konzentration der gemessenen unbekannt Proben.

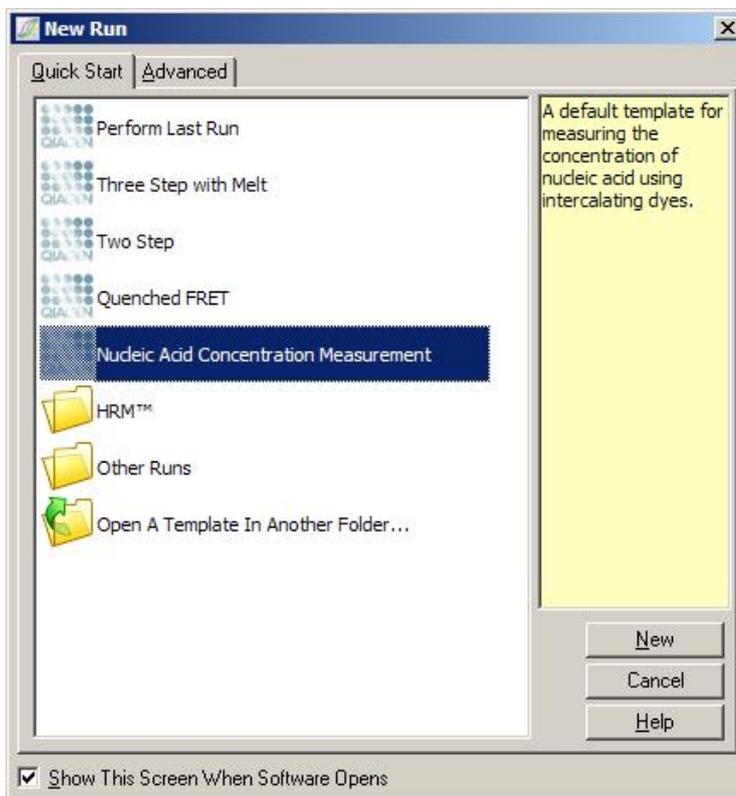
Die DNA für die Standardkurve sollte der DNA in den unbekannt Proben ähneln. Die Konzentration mindestens einer DNA-Probe sollte UV-spektroskopisch ermittelt werden. Diese Probe kann dann als Standard dienen. Es sollten mindestens drei Standards (mit Replikaten) verwendet werden. Es ist wichtig darauf hinzuweisen, dass DNA-Standards nur im Konzentrationsbereich von 1–100 ng/µl lineare Fluoreszenzwerte liefern. Innerhalb dieses Bereichs gilt, dass die Halbierung einer DNA-Konzentration auch den Fluoreszenzmesswert halbiert. Die Konfidenzintervalle jeglicher Konzentrationen außerhalb dieses Bereichs sind sehr groß, da die chemischen Reaktionen nicht linear sind.

Art der gemessenen DNA

Es wurde beobachtet, dass die Form der DNA (z. B. genomische DNA im Vergleich zu Plasmid-DNA) die Messwerte beeinflusst. Daher sollte nur ähnliche DNA gemeinsam gemessen werden. Bei Messungen genomischer DNA sollte die Verwendung von Plasmid-DNA als Standard vermieden werden.

Einrichtung des Laufs

Um den Lauf einzurichten, wählen Sie die Option Nucleic Acid Concentration Measurement (Messung der Nukleinsäurekonzentration) im Schnellstart-Assistenten.



Hinweis: Stellen Sie sicher, dass sich an Röhrenposition 1 eine Positivkontrolle (d. h. ein Standard mit hoher Konzentration) befindet. Ohne Positivkontrolle kann die Software die Verstärkungseinstellungen nicht optimieren, um die maximale Sensitivität zu erzielen. Sie werden vor jedem Lauf von der Software daran erinnert.

Analyse

Im Rahmen der Konzentrationsanalyse wird einem Fluoreszenzmesswert ein Konzentrationswert zugeordnet. Es stehen zwei Analysemodelle zur Verfügung. Die Wahl des optimalen Analysemodells beruht auf den chemischen Reaktionen und der Anwendung.

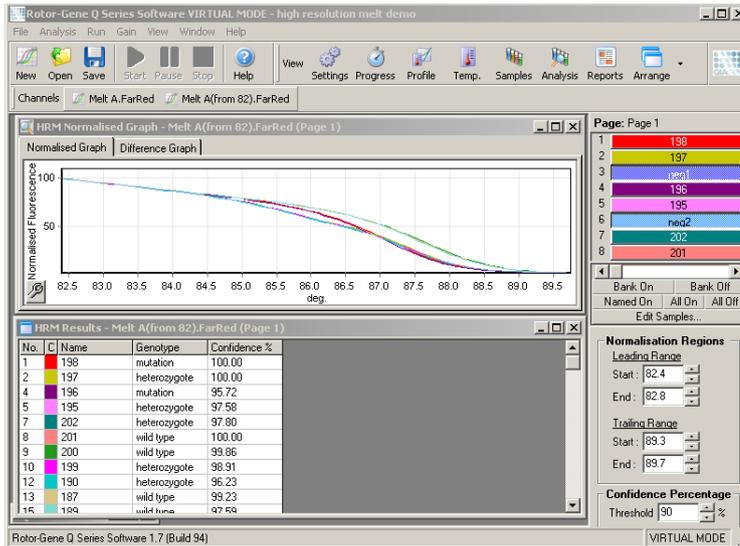
Die Funktion „Linear Regression“ (Lineare Regression) nimmt an, dass die Daten eine lineare Beziehung zueinander haben. Die Werte der unbekanntenen Proben werden auf Grundlage dieses linearen Modells abgeschätzt. Die Abweichung der Messwerte der Standards von dem linearen Modell dienen zur Bestimmung des Messfehlers. Ein lineares Verhalten der Konzentrationsmesswerte ist die am besten geeignete Analyse, da es eine Varianzanalyse (ANOVA) erlaubt.

Die Funktion „Spline Curve Fit“ (Polynomische Kurvenanpassung) nimmt nur an, dass die Konzentrationswerte mit der Fluoreszenz steigen. Mit diesem Ansatz können nicht lineare Daten genauer abgeschätzt werden. Eine ANOVA ist jedoch nicht möglich, da es sich nicht um ein lineares Modell handelt.

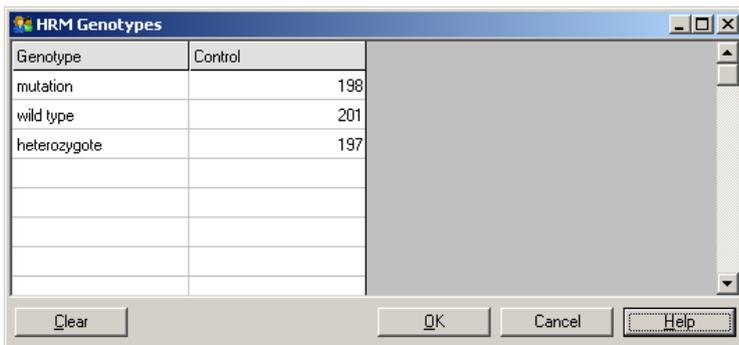
6.6.11 High Resolution Melt-Analyse

Im Rahmen der High Resolution Melt (HRM)-Analyse werden die Sequenzlänge, der GC-Gehalt und die Komplementarität der Proben charakterisiert. Die HRM-Analyse wird bei der Genotypisierung (z. B. Analyse von Genmutationen oder Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP)) und in der Epigenetik (Analyse des Methylierungsstatus der DNA) eingesetzt. Die HRM-Analyse liefert genaue Ergebnisse bei niedrigeren Kosten für Sonden und Marker im Vergleich zu anderen Methoden.

Zur Durchführung dieser Analyse wählen Sie die Option Other (Andere) und dann High Resolution Melt Analysis (High Resolution Melt-Analyse) im Fenster Analysis (Analyse). Doppelklicken Sie auf den Kanal, der analysiert werden soll. Die Schmelzkurven aus dem Rohdatenkanal werden normalisiert. Dazu werden alle Start- und Endfluoreszenzwerte gemittelt und dann die Endpunkte jeder Probe auf den Mittelwert gesetzt.



Durch Klicken auf Genotypes (Genotypen) kann die Ergebnisuweisung automatisch erfolgen. Geben Sie den Namen des Genotyps gefolgt von der Nummer der Probe ein, die als Positivkontrolle verwendet wird. Nun wird allen unbekannt Proben das Ergebnis automatisch zugewiesen.



Weitere Informationen zur HRM-Analyse siehe Abschnitt 10.

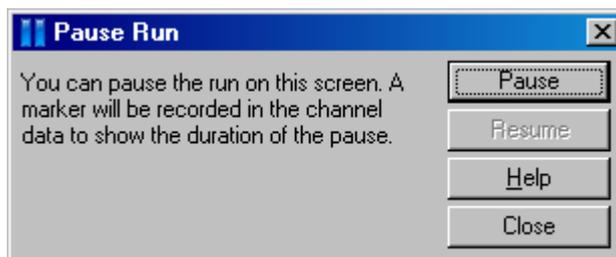
6.7 Laufmenü

6.7.1 Lauf starten

Mit dieser Option wird das festgelegte Temperaturprofil mit den aktuellen Verstärkungseinstellungen gestartet. Vor dem Laufstart wird das Fenster Profile Run Confirmation (Profillauf bestätigen) angezeigt. Das Temperaturprofil mit den Verstärkungseinstellungen jedes Kanals werden grafisch dargestellt.

6.7.2 Lauf unterbrechen

Mit dieser Option kann ein Lauf unterbrochen und wieder aufgenommen werden. Laufunterbrechungen können schwerwiegende Folgen auf die Ergebnisse haben. Aus diesem Grund werden die Daten mit einem Marker gekennzeichnet, der den Zeitpunkt und die Länge der Unterbrechung anzeigt. Im Fenster Run Settings (Laufeinstellungen) kann auch eine Meldung in der Registerkarte Messages (Meldungen) angezeigt werden (siehe Abschnitt 6.8.1).



WARNUNG

G



Heiße Oberflächen

Bei Pausierung eines Laufs kühlt der Rotor-Gene Q MDx nicht komplett auf Raumtemperatur ab. Gehen Sie vorsichtig vor, wenn Sie den Rotor oder Röhrchen in dem Gerät berühren.

6.7.3 Lauf abbrechen

Nach Wahl dieser Option wird der Benutzer aufgefordert, den Abbruch des Laufs zu bestätigen.

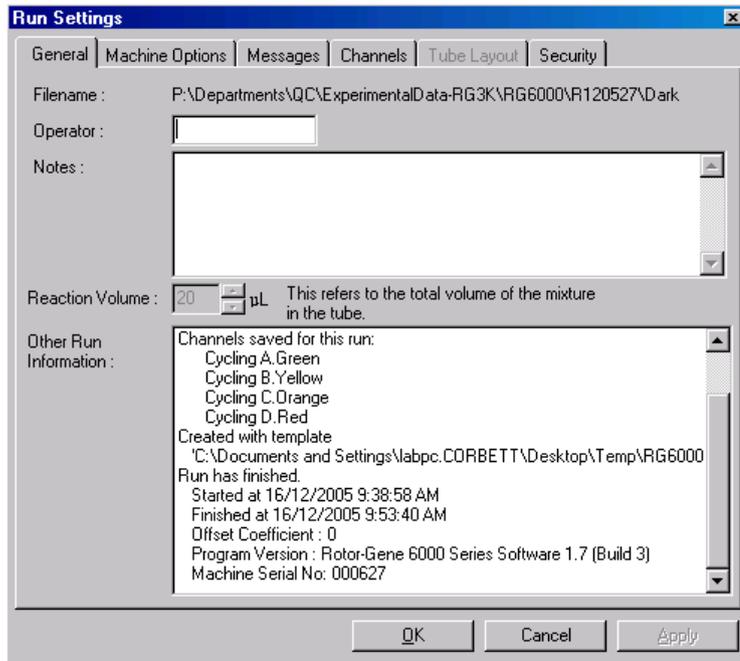
6.8 Ansichtsmenü

6.8.1 Laufeinstellungen

Allgemeines

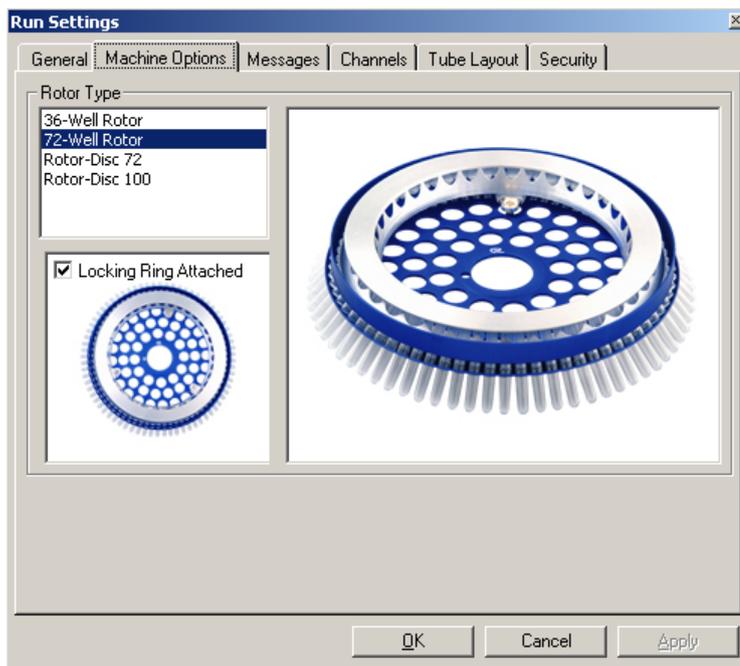
In diesem Fenster können die Laufdaten, der Laufdateiname, das Analysendatum, der Bediener und jegliche relevante Anmerkungen eingerichtet werden.

Dieses Fenster enthält alle Informationen, die zur Konfiguration eines Laufs erforderlich sind, außer dem Profil. Nach Abschluss des Laufs werden die folgenden Informationen in diesem Fenster angezeigt: verwendeter Thermocycler, Verstärkungseinstellungen, Anzahl der Kanäle und Start- und Endzeit.



Geräteoptionen

In dieser Registerkarte werden die Konfigurationseinstellungen des Rotor-Gene Q MDx Thermocyclers angezeigt.



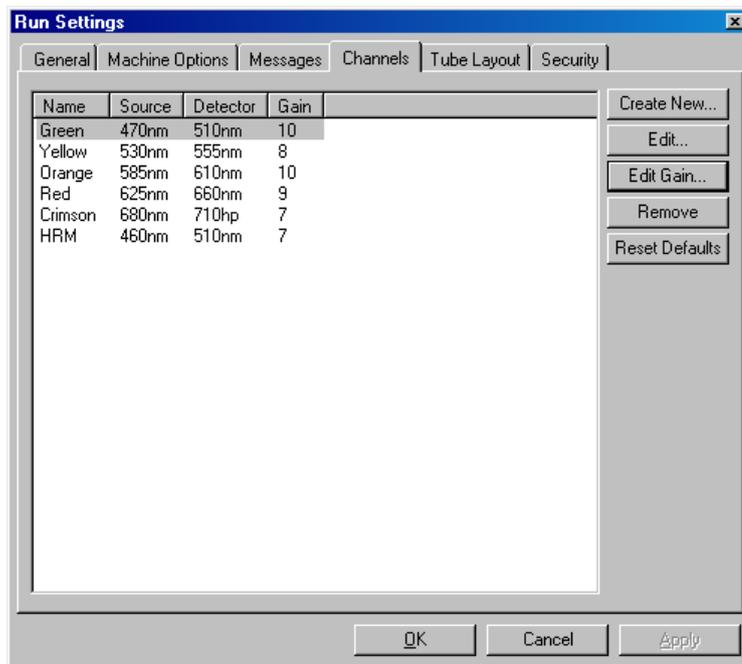
Die Rotoreinstellung muss dem aktuell im Rotor-Gene Q MDx installierten Rotor entsprechen. Wenn Sie einen bereits erfolgten Lauf öffnen, finden Sie hier die Einstellungen für den Rotor, der zum Zeitpunkt dieser Analyse im Thermocycler installiert war.

Meldungen

In dieser Registerkarte werden Meldungen über Änderungen angezeigt, die der Benutzer durchgeführt hat, z. B. Unterbrechung des Thermocyclers oder Überspringen von Zyklen während eines Laufs. Hier werden außerdem die Warnhinweise angezeigt, die während eines Laufs ausgegeben werden. Wenn die Ergebnisse nicht erwartungsgemäß ausfallen, sollten Sie diese Registerkarte prüfen.

Kanäle

Bei der Konfiguration eines neuen Laufs wird in der Registerkarte Channels (Kanäle) die aktuelle Konfiguration der verfügbaren Kanäle angezeigt. Wenn Sie einen bereits erfolgten Lauf anzeigen, finden Sie hier die Konfiguration der Kanäle, mit denen dieser Analyse durchgeführt worden ist. Mit der Option Reset Defaults (Auf Standardeinstellung zurücksetzen) können die Kanäle wiederhergestellt werden, wenn ein Lauf die Kanaleinstellungen gestört hat.



Name:	Dabei handelt es sich um den Namen des Kanals.
Source (Quelle):	Hier ist die Anregungswellenlänge der LED-Lichtquelle angegeben.
Detector (Detektor):	Hier werden die Detektionswellenlänge und der Filtertyp (nm = Bandpass, hp = Hochpass) angegeben.
Gain (Verstärkung):	Hier wird die Verstärkung des jeweiligen Kanals angegeben.
Create New... (Neu erstellen):	Mit dieser Funktion kann die Erstellung neuer Kanäle aktiviert werden. Durch Klicken auf Create New... (Neu erstellen) wird ein Fenster geöffnet, in dem ein neuer Name, eine Quelle und ein Detektionsfilter angegeben werden müssen. Die Filter können im Dropdown-Menü neben jedem Fenster ausgewählt werden.
Channels (Kanäle):	Die Standardkonfiguration für eine 4-Kanal-Multiplex-Detektion sind ein grüner, ein gelber, ein orangefarbener und ein roter Kanal.

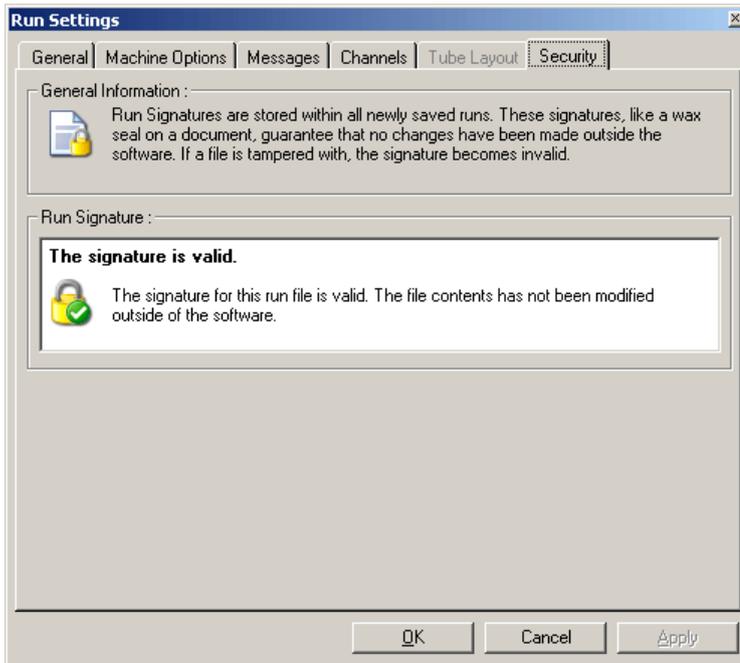
Anordnung der Röhren

Bei Verwendung eines 72-Well Rotors können die Proben so angeordnet werden, dass sie mit der Kennzeichnung eines 9 x 8-Blocks gut übereinstimmen. In der Standardeinstellung ermöglicht die Registerkarte Tube Layout (Röhrenanordnung) eine aufeinander folgende Beschriftung (d. h. 1, 2, 3...). Dies bedeutet, dass die Röhren in der Reihenfolge im Rotor-Gene Q MDx mit einer Folgenummer gekennzeichnet werden. Oder aber die Proben werden mit 1A, 1B, 1C usw. beschriftet. Diese Option kann nützlich sein, wenn die Proben mit einer Mehrkanalpipette pipettiert werden.

Sicherheit

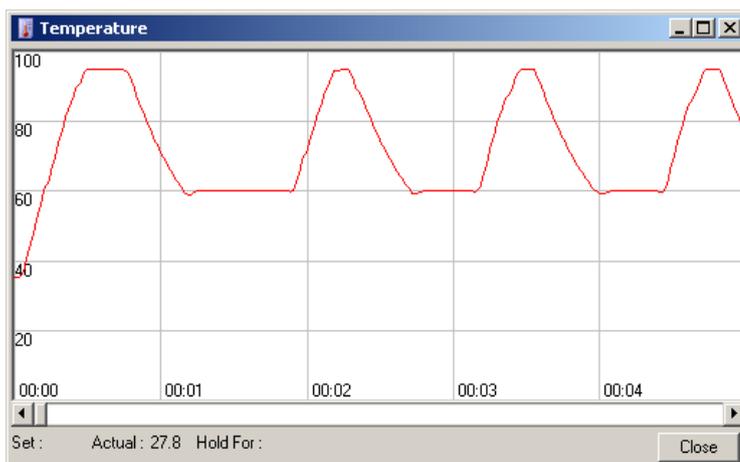
In der Registerkarte Security (Sicherheit) werden Angaben zur Laufsignatur angezeigt. Die Laufsignatur ist ein irreversibler Schlüssel, der bei jeder Dateiänderung neu erzeugt wird. Wird ein Abschnitt in einer *.rex-Datei außerhalb der Software modifiziert, dann passen die Signatur und die Datei nicht mehr zusammen. Durch Prüfen der Signatur kann sichergestellt werden, dass die Rohdaten und das Profil nicht außerhalb der Anwendung modifiziert wurden und dass das Temperaturdiagramm gültig ist. Die Signatur schützt auch vor Beschädigungen wie Dateisystemfehler.

Hinweis: Durch Versenden von *.rex-Dateien per E-Mail kann die Signatur des Verschlüsselungsverfahrens ungültig gemacht werden. Um dies zu vermeiden, sollte die Datei vor dem Versenden per E-Mail in einer *.zip-Datei verpackt werden.



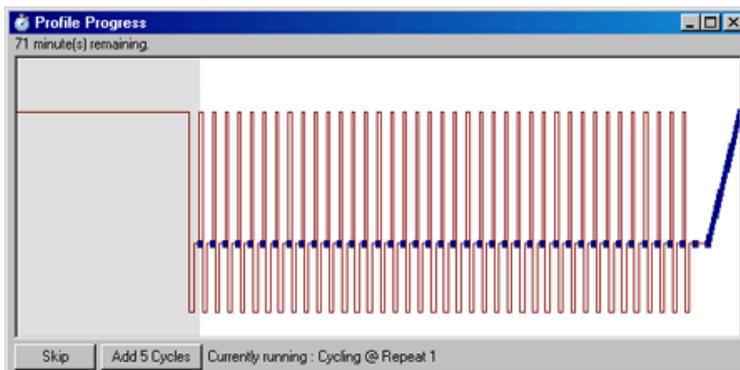
6.8.2 Temperaturdiagramm

Wählen Sie Temperature Graph (Temperaturdiagramm) im Menü View (Ansicht) oder klicken Sie auf die Schaltfläche Temp., um das Fenster Temperature (Temperatur) anzuzeigen. Im Diagramm wird während des Laufs der Verlauf der eingestellten Zyklustemperaturen angezeigt. Es handelt sich nicht um Temperaturmesswerte in Echtzeit. Während des Laufs werden für jeden Programmschritt die Angaben für Set (Solltemperatur), Actual (Isttemperatur) und Hold For (Haltedauer) angezeigt. Im Falle eines bereits durchgeführten Laufs wird im Fenster Temperature (Temperatur) der Temperaturverlauf während des Laufs angezeigt. Auf der y-Achse wird die Temperatur und auf der x-Achse die Zeit aufgetragen. Mithilfe der Bildlaufleiste können Sie vorwärts und rückwärts durch das Fenster Temperature (Temperatur) navigieren.



6.8.3 Profilfortschritt

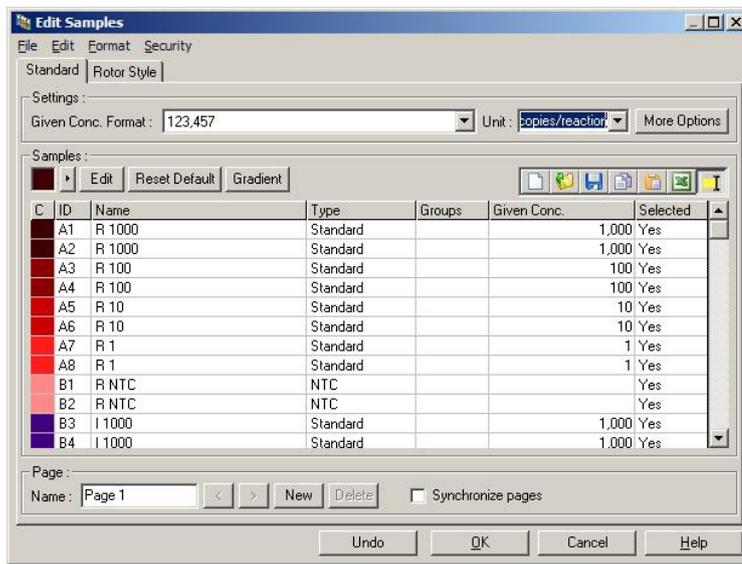
Wählen Sie Profile Progress (Profilfortschritt) im Menü View (Ansicht) oder klicken Sie auf die Schaltfläche Progress (Fortschritt), um das Fenster Profile Progress (Profilfortschritt) anzuzeigen. In diesem Fenster wird eine grafische Darstellung des Temperaturprofils angezeigt, das mit dem Lauf assoziiert ist. Bei der Durchführung eines Laufs zeigt der grau schattierte Fensterbereich an, welche Zyklen bereits abgeschlossen wurden. Es wird außerdem ein Schätzwert in Minuten angezeigt, wie lange der Lauf noch dauern wird.



Skip (Überspringen): Mit der Option Skip (Überspringen) können beliebig viele Profilschritte wie gewünscht übersprungen werden.

Add 5 Cycles (5 Zyklen hinzufügen): Mit der Option Add 5 Cycles (5 Zyklen hinzufügen) werden fünf Wiederholungen dem aktuellen Zyklusschritt hinzugefügt.

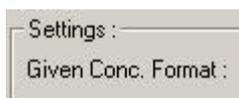
6.8.4 Proben bearbeiten



Klicken Sie auf die Schaltfläche Samples (Proben), um das Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) zu öffnen. Das Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) kann auch durch Rechtsklick auf die Probenliste rechts im Bildschirm aufgerufen werden. Dieses Fenster bietet die gleichen Funktionen wie das Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) in den Assistenten. Die Symbolleistenfunktionen sind jedoch auch den Menüs File (Datei) und Edit (Bearbeiten) erhältlich.

Oben im Fenster werden vier Menüs angezeigt: File (Datei), Edit (Bearbeiten), Format und Security (Sicherheit). Im Menü File (Datei) können neue (leere) Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) erstellt, bestehende Probenvorlagen geöffnet oder Probenamen als Vorlage für die zukünftige Verwendung gespeichert werden. Die Erweiterung dieser Vorlagendateien ist *.smp. Im Menü Edit (Bearbeiten) können Zeilen kopiert und eingefügt werden. Die Probendefinitionen können im Menü Security (Sicherheit) gesperrt werden.

Hinweis: Werden Probenamen während eines Laufs sehr schnell eingegeben (z. B. mit einem Barcode-Handscanner), können Buchstaben im Probennamen vertauscht werden. Daher wird empfohlen, keinen Barcode-Handscanner zu verwenden bzw. die Probenamen gegebenenfalls nach Abschluss des Laufs einzugeben.



Dieses Dropdown-Menü dient zur Wahl eines geeigneten Formats für die Anzeige der Konzentrationen. Die Konzentrationen werden gemäß dem aktuell ausgewählten Ort automatisch formatiert.



In diesem Dropdown-Menü werden die Maßeinheiten für den Assay eingestellt.



Schaltfläche	Bedeutung
Line style (Linienformat):	Das Linienformat kann geändert werden, um die Lesbarkeit der Diagramme bei Ausdruck auf einem Schwarzweißdrucker zu erhöhen. Bestimmte Linien können durch Änderung des Linienformats besonders betont werden. Klicken Sie auf den Nach-rechts-Pfeil links neben der Schaltfläche Edit (Bearbeiten), um diese Funktion zu nutzen.
	Durch Drücken auf „Edit“ wird die Farbwahl geöffnet. Zur Zuweisung einer Farbe zu Röhrcen können mehrere Zeilen gleichzeitig ausgewählt werden.
	Durch Drücken von „Reset Default“ (Auf Standardeinstellung zurücksetzen) werden alle ausgewählten Farbzellen wieder auf die Standardfarbe zurückgesetzt.
	Mit der Schaltfläche „Gradient“ (Farbverlauf) kann ein Farbverlauf von der ersten bis zur letzten ausgewählten Farbe eingerichtet werden. Bei einer Probeneinrichtung können mehrere Farbverläufe festgelegt werden.



Mit der Schaltfläche New (Neu) kann das Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) geleert und so auf die Eingabe neuer Daten vorbereitet werden.



Mit dem Symbol Open (Öffnen) wird ein Dialogfeld aufgerufen, in dem eine Datei des Rotor-Gene Q MDx für den Import ausgewählt werden kann.

Hinweis: Die Anzahl der Proben im geöffneten Fenster und in der zu importierenden Datei müssen übereinstimmen.



Mit dem Symbol Save (Speichern) wird ein Dialogfeld geöffnet. Hier kann der Name und der Speicherort der Datei angegeben werden, in der die Probendefinitionen gespeichert werden sollen.



Mit dem Symbol Copy (Kopieren) kopieren Sie die ausgewählten Zellen.



Mit dem Symbol Paste (Einfügen) fügen Sie die mit dem Befehl Copy (Kopieren) ausgewählten Zellen an der aktuell ausgewählten Position in die Tabelle ein.



Mit dem Symbol Excel wird ein Dialogfeld aufgerufen, in dem Sie aufgefordert werden, einen Namen und einen Speicherort für die Datei einzugeben, in der die Proben Daten gespeichert werden sollen. Nach Drücken von Save (Speichern) wird die Excel-Datei automatisch geöffnet.



Mit dem Symbol Append/Overwrite (Anhängen/überschreiben) können Sie die Art der Bearbeitung der Zellen im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) einstellen. Wird Overwrite (Überschreiben) gewählt, werden die bestehenden Daten bei der Bearbeitung überschrieben. Wird Append (Anhängen) gewählt, werden die neuen Daten bei der Bearbeitung an die existierenden Daten angehängt.

Sample Types (Probenarten):

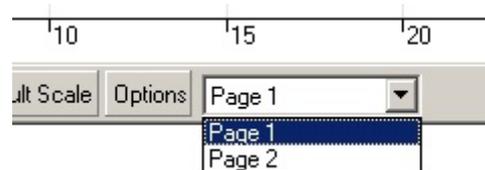
Zur Festlegung der Probenart wählen Sie eine Option in der folgenden Tabelle.

Probenart	Beschreibung
None (Keine)	Keine Probe an dieser Position
NTC	Kontrolle ohne Template
Negative Control (Negativkontrolle)	Negativkontrolle
Positive Control (Positivkontrolle)	Positivkontrolle
Unknown (Unbekannt)	Unbekannte zu analysierende Probe
Standard	Die Ergebnisse der Standards dienen zur Erstellung einer Standardkurve, mit der die Konzentrationen der unbekannt Proben errechnet werden können
Calibrator (RQ) (Kalibrator (RQ))	Dem Kalibrator wird der Wert 1 zugewiesen. Alle anderen Probenkonzentrationen werden dann relativ zu dieser Probe berechnet.

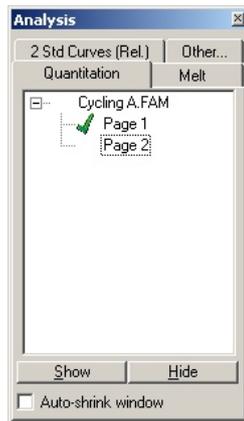
Page (Seite):

Diese Funktion ermöglicht mehrere Probendefinitionen (und außerdem separate Experimente) im gleichen Lauf. Dies ist für die Analyse von verschiedenen Produkten in verschiedenen Kanälen hilfreich. Mit den Pfeil-Schaltflächen scrollen Sie von einer Probenseite zur nächsten. Mit den Schaltflächen New (Neu) bzw. Delete (Löschen) erstellen bzw. löschen Sie Seiten. Mehrere Probendefinitionen im gleichen Kanal sind möglich, um mehreren Standardkurven ohne Multiplex-Analyse zu messen. Legen Sie die Zielproben und die zugehörigen Standardkurven einfach auf separaten Seiten fest. Dann kann ein einziger Kanal gemäß jedem Definitionssatz unabhängig analysiert werden. Die Probenseiten können mit Page 1 (Seite 1), Page 2 (Seite 2) usw.) oder mit Namen (z. B. „Housekeeper“) gekennzeichnet werden. Diese Namen werden auch in den Berichten genannt.

Bei Anzeige der Rohdaten können die Probendefinitionen für die angezeigten Daten ausgewählt werden. Verwenden Sie dazu das Dropdown-Menü neben der Schaltfläche Options (Optionen):



Die Probenseite für die Analyse kann im Fenster Analysis (Analyse) ausgewählt werden (siehe Abschnitt 6.6.1).



Given Conc. (Gegebene Konzentration):

Hier wird die bekannte Konzentration aller Standards angezeigt. Die Einheiten können als Dezimalzahl oder logarithmische Zahl angegeben werden. Sind die Standards eine Verdünnungsserie, reicht die Eingabe der ersten beiden Standards. Durch Drücken der EINGABETASTE füllt das Programm die nächsten logischen Verdünnungsschritte der Serie automatisch aus.

Line style (Linienformat):

Das Linienformat kann geändert werden, um die Lesbarkeit der Diagramme bei Ausdruck auf einem Schwarzweißdrucker zu erhöhen. Bestimmte Linien können durch Änderung des Linienformats besonders betont werden. Klicken Sie auf den Nach-rechts-Pfeil links neben der Schaltfläche Edit (Bearbeiten), um diese Funktion zu nutzen.



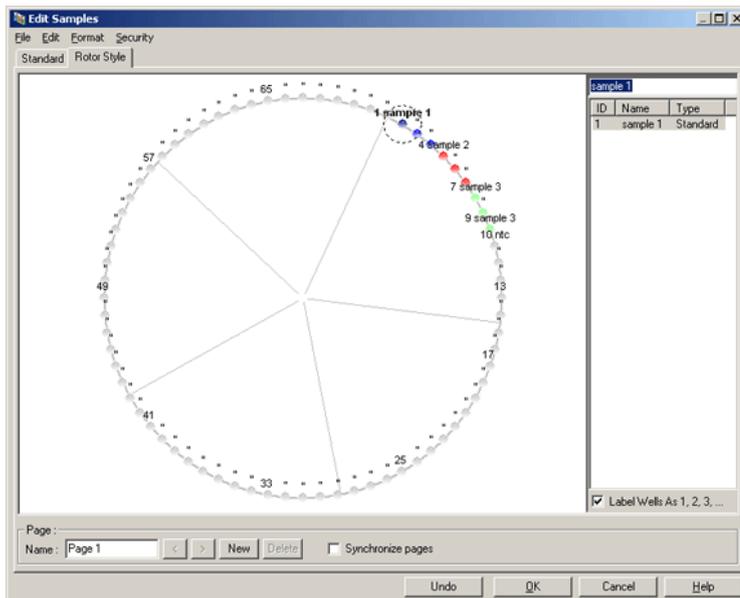
In der Symbolleiste wird das Standardformat Solid (Durchgezogen) angezeigt. Andere Optionen sind: Dashed (Gestrichelt), Dotted (Punktiert), Hairline (Feinstrich), Thin (Dünn) und Thick (Dick). Klicken Sie nach Abschluss der Änderungen auf den Nach-links-Pfeil, um zur Ansicht Edit (Bearbeiten), Reset Default (Auf Standardeinstellung zurücksetzen) und Gradient (Farbverlauf) zurückzukehren.



- Eingabe mehrerer Zeilen:** Wenn die gleichen Information in mehrere Zeilen eingegeben werden müssen, wählen Sie alle Zeilen und beginnen mit der Eingabe. Die Informationen werden gleichzeitig in allen gewählten Zeilen eingegeben. Diese Methode funktioniert auch für die Auswahl von Probenarten und Farben und die Eingabe von Konzentrationen.
- Tastenkürzel für Probenarten:** Um die Probenart schnell einzugeben, geben Sie den ersten Buchstaben der Probenart ein. Um beispielsweise fünf Proben als Kontrolle ohne Template festlegen möchten, wählen Sie die Proben in der Spalte Sample Type (Probenart) und drücken Sie auf N für „NTC“. Die Probenart aller Proben wird auf NTC gesetzt.
- Speichern und wiederverwenden:** Die vollständige Probenbeschreibung kann als Probendatei (*.smp) gespeichert und in spätere Läufe mit gleicher Probenkonfiguration geladen werden.

Rotormethode

Diese Registerkarte im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) bietet eine alternative Möglichkeit zur Eingabe von Probenamen. Wählen Sie Replikate durch Klicken und Ziehen des Mauszeigers über die Rotorabbildung. Die Liste rechts neben dem Fenster wird aktualisiert. Der Probenname kann eingegeben werden und gilt für die gesamte aktuelle Auswahl. Die Software erkennt diese Rotorpositionen als Replikate.

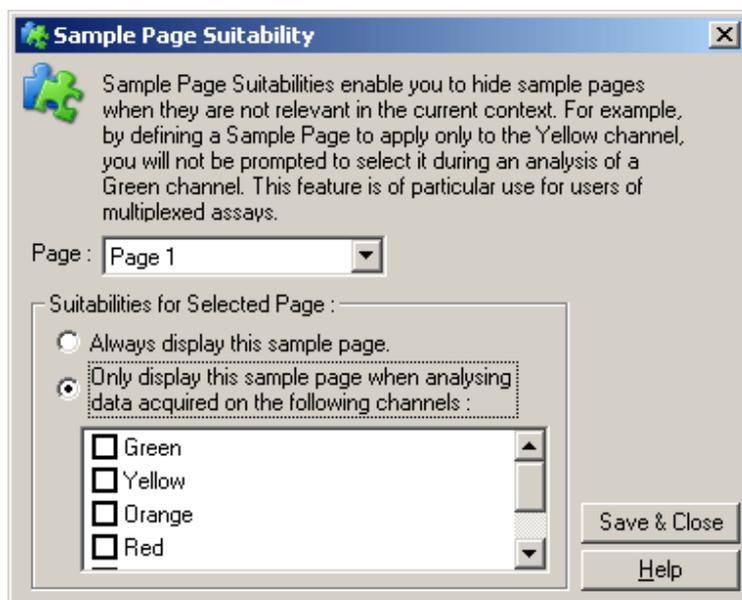


Die Registerkarte Rotor Style (Rotormethode) ist eine abgespeckte Version der Registerkarte Standard (Standardmethode). Sie wurde für Benutzer entwickelt, die Probenamen und Farben schnell einrichten möchten. Einige Einstellungen können in dieser Registerkarte nicht festgelegt werden. Dazu gehört, ob es sich bei der Probe um einen Standard handelt und was deren Konzentration ist. Wenn die Standards und Konzentrationen festgelegt werden müssen, sollte die Registerkarte Standard (Standardmethode) verwendet werden.

Eignung von Probenseiten

Um das Fenster Sample Page Suitability (Eignung von Probenseiten) aufzurufen, klicken Sie auf More Options (Weitere Optionen) im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) und dann auf Define Suitabilities (Eignung festlegen). Im Fenster Sample Page Suitability (Eignung von Probenseiten) können die Benutzer Probenseiten Kanälen zuweisen. Die Probenseite für das Zielgen gilt beispielsweise für den grünen Kanal, und die Probenseite für das Housekeeper-Gen für den gelben Kanal. In diesem Beispiel kann durch Einrichten der Eignung von Probenseiten die Anzahl der verfügbaren Analyseoptionen gesenkt werden, da nur noch die für diesen Assay relevanten Optionen angezeigt werden.

Das Fenster Sample Page Suitability (Eignung von Probenseiten) ist weiter unten dargestellt.

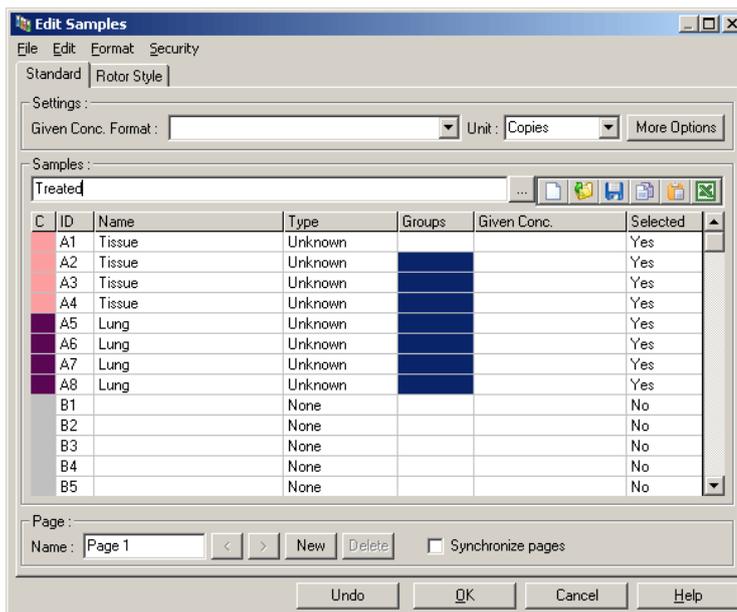


Hinweis: Erstellen Sie bei der Einrichtung eines Assays alle Probenseiten und die Probenseiteneignung. Speichern Sie alle Angaben zusammen als Vorlage. Auf diese Weise vermindern Sie den Aufwand, der für die Einrichtung jedes Laufs erforderlich ist.

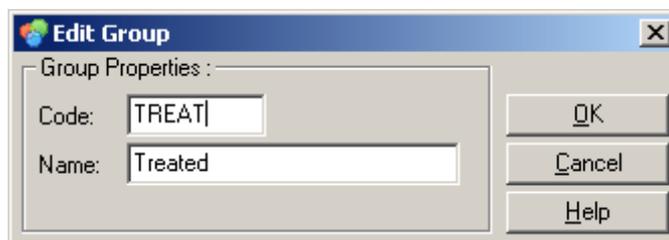
Gruppen

Probengruppen ermöglichen die statistische Auswertung einer beliebig zusammengestellten Probensammlung. Im Gegensatz zu Replikaten, die alle einen identischen Namen haben müssen, können die Proben einer Gruppe unterschiedliche Namen besitzen, an einer beliebigen Position im Rotor sitzen und mehreren Gruppen angehören.

1. Zur Festlegung einer Gruppe geben Sie den vollständigen Gruppennamen neben einer Probe ein und drücken auf die Eingabetaste.



2. Das Fenster Edit Group (Gruppe bearbeiten) wird angezeigt.

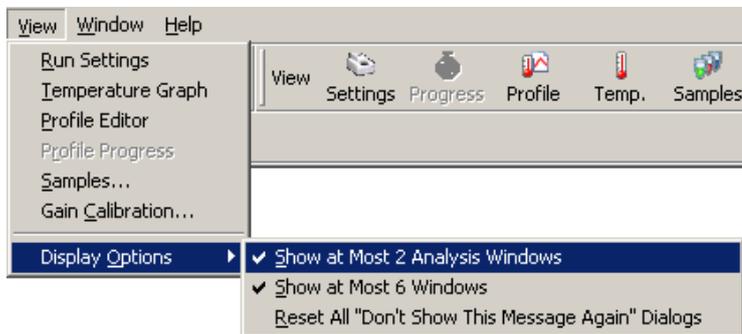


3. Legen Sie eine geeignete Abkürzung fest und klicken auf OK. Diese Abkürzung kann nun zur Einrichtung von Gruppen verwendet werden. Die Gesamtergebnisse der Gruppe, wie Mittelwert und 95%-Konfidenzintervalle, werden bei jeder Analyse automatisch berechnet.

No.	Name	Type	Ct	Given Conc [Cop]	Calc Conc [Copie]	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct Stc	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 Anzeigeeoptionen

Das Menü Display Options (Anzeigeeoptionen) ist unten abgebildet.



Show at Most 2 Analysis Windows (Höchstens 2 Analysefenster anzeigen):

Ist diese Option aktiviert, werden maximal zwei Analysefenster gleichzeitig angezeigt. Wenn mehrere Fenster geöffnet sind, leidet unter Umständen die Lesbarkeit. Durch Aktivierung dieser Option wird das zuerst geöffnete Fenster geschlossen, wenn das dritte Fenster geöffnet wird. Wenn die Option nicht aktiviert ist, können mehr als zwei Analysefenster angezeigt werden.

Show at Most 6 Analysis Windows (Höchstens 6 Analysefenster anzeigen):

Um die Lesbarkeit zu erhöhen, entfernt die Software nicht benutzte Fenster, wenn ein neues Fenster geöffnet wird. Diese Option ist standardmäßig aktiviert, da so der Bildschirm des Rotor Gene Q Software immer übersichtlich bleibt. Falls notwendig kann diese Option deaktiviert werden, um mehr als sechs Fenster gleichzeitig anzuzeigen.

Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs (Alle Dialoge „Diese Meldung nicht mehr anzeigen“ zurücksetzen):

Wird diese Option aktiviert, zeigt die Software alle Dialogfelder erneut an, bei denen das Kontrollkästchen Do not display this message again (Diese Meldung nicht mehr anzeigen) aktiviert worden war. Dazu gehören Meldungen über verdächtige Einstellungen, deren Anzeige unter Umständen zu einem früheren Zeitpunkt deaktiviert worden ist. Das kann für einen neuen Benutzer hilfreich sein, der mit dem Rotor-Gene Q MDx bzw. der Rotor-Gene Q Software noch nicht vertraut ist.

6.9 Zugriffsschutz der Rotor-Gene Q Software

Hinweis: In diesem Kapitel wird der Zugriffsschutz für die Rotor-Gene Q Software beschrieben. Im *Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application Benutzerhandbuch* bzw. *Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application Benutzerhandbuch* finden Sie die Informationen über die relevante Rotor-Gene AssayManager Software.

Die Rotor-Gene Q Software bietet Funktionen für den sicheren Betrieb. Bei korrekter Konfiguration stellt die Rotor-Gene Q Software Folgendes sicher:

- Der Zugriff auf den Rotor-Gene Q MDx und die Analyse-Software ist auf Benutzergruppen beschränkt.
- Jegliche Änderungen von Laufdateien werden in einer Log-Datei protokolliert.
- Unbefugte Änderungen werden erkannt (Signaturen).
- Die für Läufe verwendeten Vorlagen werden protokolliert.
- Die Probenamen werden gesperrt.

Integration mit Windows Sicherheitsfunktionen

Um eine hohe Rechenschaftspflicht zu erzielen, wird die Sicherheit der Rotor-Gene Q Software nicht intern verwaltet. Benutzerkonten, Benutzergruppen und Passwörter werden stattdessen von dem integrierten Sicherheitsmodell von Windows (Windows Security) verwaltet. Diese Integration ermöglicht die Verwendung des gleichen Passworts für den Zugriff auf Netzwerkdateien und Programmen und den Zugriff auf die Rotor-Gene Q Software, was den Verwaltungsaufwand senkt. Dank des zentralisierten Sicherheitsmodells können Netzwerkadministratoren in größeren Organisation beispielsweise ehemaligen Benutzern den Zugriff einfach entziehen.

Es ist daher beste Praxis, die Rotor-Gene Q Software durch Konfiguration der Windows Sicherheitsrollen sicher einzurichten.

Voraussetzungen

Die Sicherheitsfunktionen stehen nur in Windows 10 Professional oder Windows 7 Professional zur Verfügung. Windows 10 Home und Windows 7 Home bieten das feinkörnige Zugriffsmodell, das die Software nutzt, nicht an. Daher können die Sicherheitsfunktionen der Software nicht genutzt werden. Die Software muss mit der Option Force authentication through Windows domain (Authentifizierung durch Windows-Domäne erzwingen) installiert worden sein.

Hinweis: Wenn Sie sich bei einer Linux Samba-Domäne anmelden, wird das Sicherheitsmenü nicht angezeigt. Zur Nutzung der Sicherheitsfunktionen müssen Sie sich entweder lokal oder bei einem Windows-Server anmelden.

6.9.1 Konfigurationen für Windows 7

In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie das System für den sicheren Betrieb der Rotor-Gene Q Software eingerichtet wird.

Um die Sicherheitsfunktionen nutzen zu können, muss die Software mit der Option Force authentication through Windows domain (Authentifizierung durch Windows-Domäne erzwingen) installiert worden sein. Die Software fordert die Zugriffsebene und die Anmeldedaten des Benutzers über die Windows-Domäne an, was für die Rechenschaftspflicht und Sicherheit entscheidend wichtig ist.

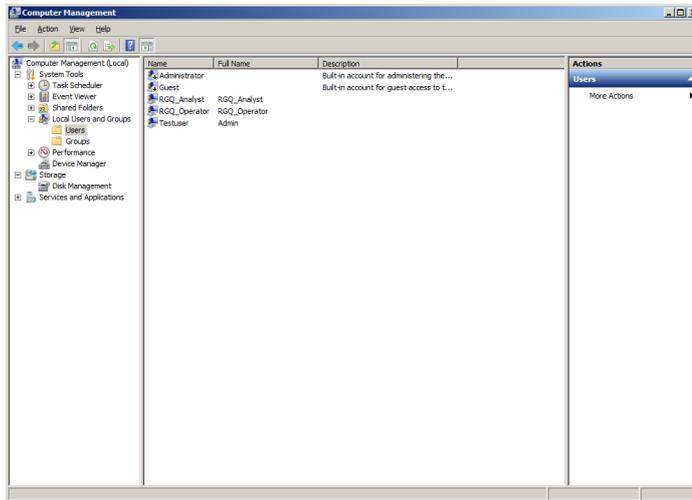
Ausführen der Software als Administrator

Viele Benutzer melden sich bei ihren Computern als Administrator an und verwenden keine Passwörter. Dies ist zwar praktisch, macht es jedoch unmöglich, die Identität des aktuellen Benutzers zu ermitteln. Damit werden Sie Ihrer Rechenschaftspflicht nicht gerecht, und viele Sicherheitsfunktionen der Rotor-Gene Q Software können nicht aktiviert werden. Bei Ausführung der Software als Administrator werden alle Softwarefunktionen aktiviert. Benutzer, die keine Sicherheitsfunktionen benötigen, haben als Administrator Zugriff auf alle Softwarefunktionen.

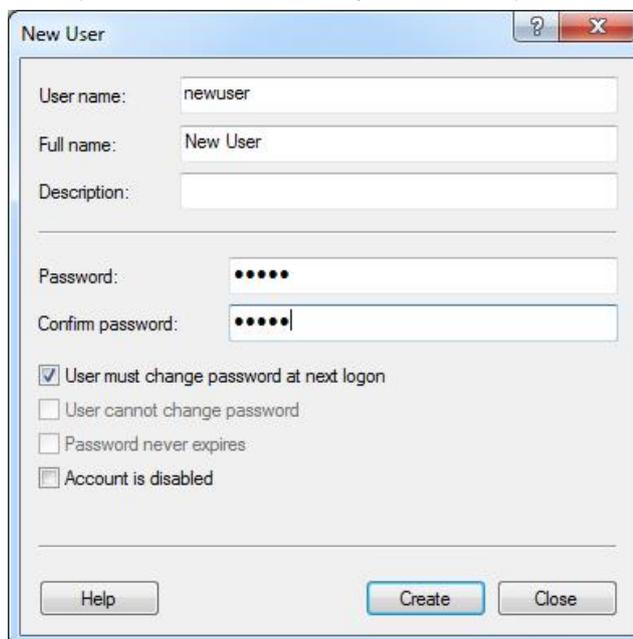
Erstellen eines neuen Benutzerprofils

Erstellen Sie ein Benutzerkonto für jeden Benutzer der Software. Wiederholen Sie die folgenden Schritte für jeden Benutzer, bis alle notwendigen Konten erstellt worden sind.

1. Wählen Sie zum Erstellen eines neuen Benutzers „Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management“ (Start/Systemsteuerung/Verwaltung/Computerverwaltung) aus und navigieren Sie zu „Local Users and Groups“ (Lokale Benutzer und Gruppen) auf der linken Seite.
2. Wählen Sie den Ordner Users (Benutzer) im angezeigten Fenster. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das rechte Fenster und wählen Sie New User (Neuer Benutzer).



- Geben Sie einen Benutzernamen und ein Passwort ein. In der Standardeinstellung wird ein Benutzer mit normalen Zugriffsrechten erstellt. Ein solcher Benutzer kann die Software ausführen, aber keine neuen Programme installieren oder Systemeinstellungen ändern.



- Klicken Sie auf Create (Erstellen). Sie können sich nun als dieser Benutzer anmelden.

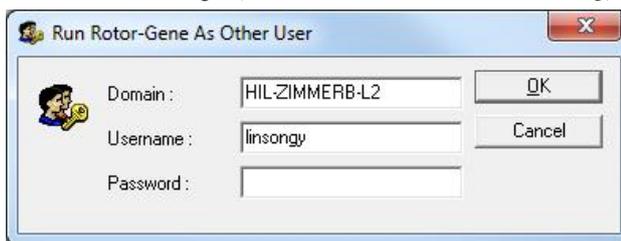
Zuweisen von Benutzerrollen

Sie sollten nun jedem Benutzer Rollen zuweisen. Beim Zugriff werden die folgenden Rollen unterschieden:

- Rotor-Gene Q Operator (Rotor-Gene Q Anwender) – kann Läufe durchführen, aber keine Berichte erstellen oder Analysen durchführen
- Rotor-Gene Q Analyst (Rotor-Gene Q Analytiker) – kann Laufdaten analysieren und Berichte erstellen, aber keine neuen Läufe durchführen
- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Rotor-Gene Q Anwender und Analytiker) – umfasst die Berechtigungen beider Rollen
- Administrator – kann Probenamen entsperren und ansonsten alle Aufgaben eines Anwenders und eines Analytikers durchführen
- None (Keine) – der Zugriff auf die Software wird verweigert

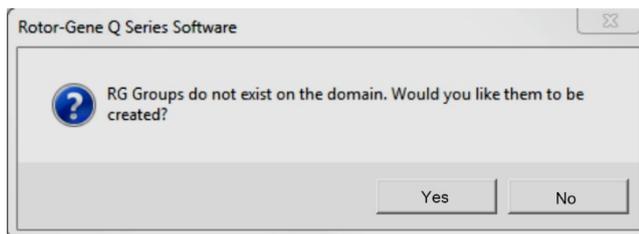
So weisen Sie Rollen zu:

1. Melden Sie als Administrator bei Windows an. Oder aber öffnen Sie die Software mit dem Symbol Rotor-Gene Q Software Login (Rotor-Gene Q Softwareanmeldung) und melden sich an.

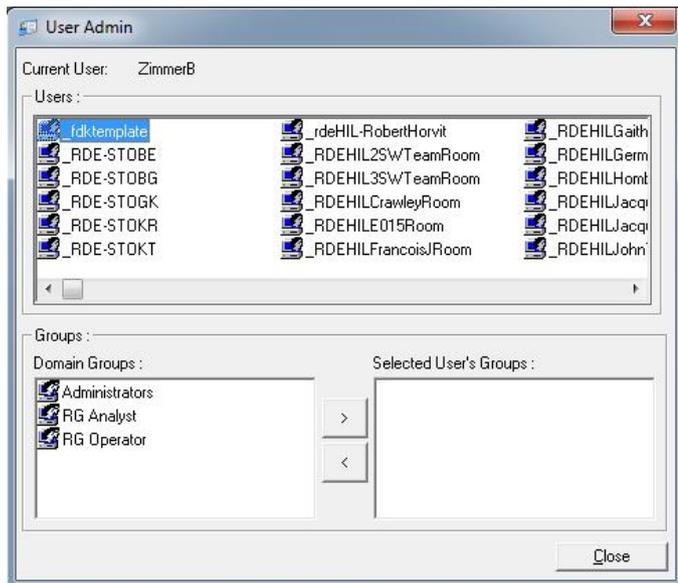


Hinweis: Wenn Sie RG-Gruppen in der Rotor-Gene Q Software anlegen möchten, müssen Sie die Software mit Administratorrechten ausführen. Klicken Sie dazu mit der rechten Maustaste auf das Desktop-Symbol und wählen Sie die Option Run as administrator (Als Administrator ausführen) im Kontextmenü.

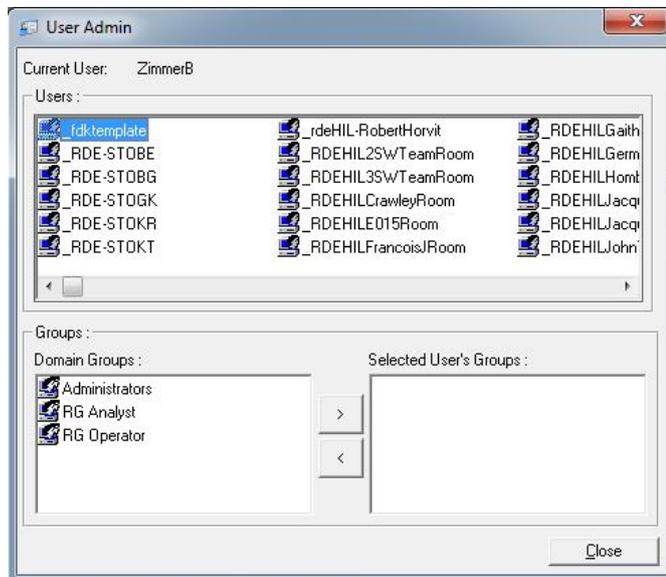
2. Nach Öffnung der Software klicken Sie auf das Menü Security (Sicherheit). Beim ersten Aufrufen des Menüs Security (Sicherheit) konfiguriert die Rotor-Gene Q Software eine Reihe von Systemgruppen, die den Zugriff auf die Software kontrollieren.



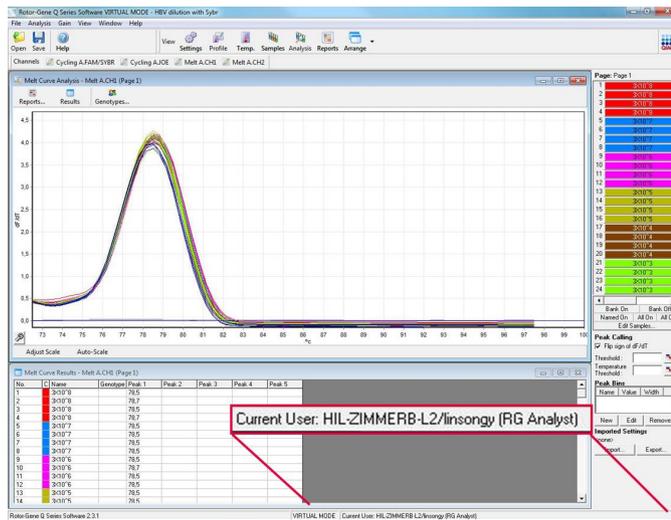
3. Klicken Sie auf Yes (Ja). Das Fenster User Admin (Administratorbenutzer) wird angezeigt. Im oberen Panel werden alle Benutzer des Computers angezeigt. Einige Konten sind Systemkonten und daher unvertraut. Im unteren Bereich wird die Gruppenzuweisung zum Benutzer angezeigt.



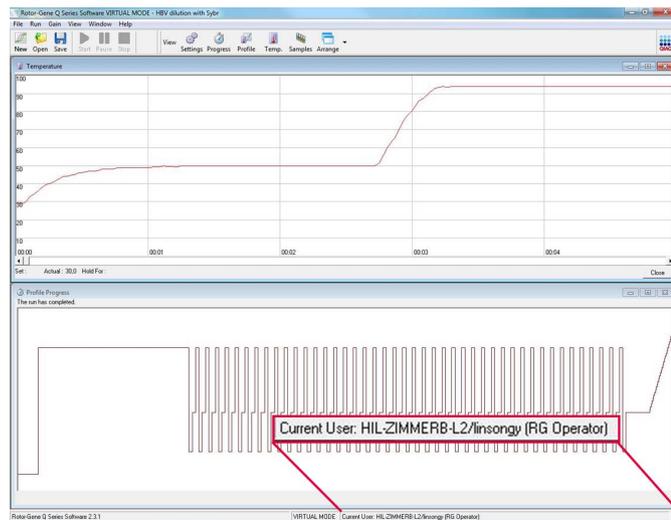
- Um einem Benutzer eine Gruppe zuzuweisen, wählen Sie den Benutzernamen von der Liste. Die Informationen im unteren Panel werden aktualisiert. Benutzer, denen keine Gruppen zugewiesen wurden, können die Software nicht starten.
- Im folgenden Beispiel weisen wir dem Benutzer linsongy der RG-Analitikergruppe zu. Dazu wählen wir die Analytikergruppe auf der linken Seite und klicken auf die Schaltfläche >. Gruppen können wieder entfernt werden. Dazu klicken Sie auf die Schaltfläche <.



- Melden Sie sich nun als dieser Benutzer an. Als RG-Analysiker stehen Ihnen das Menü Run (Lauf) und die Schaltfläche Profile (Profil) nicht zur Verfügung. Vorhandene Dateien können jedoch geöffnet und analysiert werden (siehe folgenden Screenshot). In der Statusleiste wird angezeigt, dass der Benutzer linsongy ein RG-Analysiker ist.



7. Wenn Sie sich erneut als Administrator anmelden, können Sie dem Benutzer linsongy RG-Anwenderrechte zuweisen bzw. die RG-Analytikerrechte wieder entfernen. Dann starten Sie die Software neu. Dieses Mal fehlen das Menü Analysis (Analyse) und die Schaltfläche Reports (Berichte). Das Menü Run (Lauf) wird jedoch eingeblendet. In der Statusleiste wird angezeigt, dass der Benutzer linsongy zur RG-Anwendergruppe gehört.



8. Melden Sie sich als Administrator an und entfernen Sie alle Gruppen vom Benutzer linsongy. Wenn der Benutzer linsongy die Software aufruft, wird die folgende Meldung angezeigt.



6.9.2 Konfigurationen für Windows 10

In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie das System für den sicheren Betrieb der Rotor-Gene Q Software eingerichtet wird.

Um die Sicherheitsfunktionen nutzen zu können, muss die Software mit der Option Force authentication through Windows domain (Authentifizierung durch Windows-Domäne erzwingen) installiert worden sein. Die Software fordert die Zugriffsebene und die Anmeldedaten des Benutzers über die Windows-Domäne an, was für die Rechenschaftspflicht und Sicherheit entscheidend wichtig ist.

Ausführen der Software als Administrator

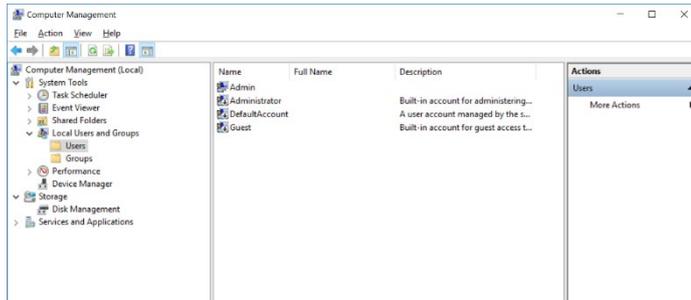
Viele Benutzer melden sich bei ihren Computern als Administrator an und verwenden keine Passwörter. Dies ist zwar praktisch, macht es jedoch unmöglich, die Identität des aktuellen Benutzers zu ermitteln. Damit werden Sie Ihrer Rechenschaftspflicht nicht gerecht, und viele Sicherheitsfunktionen der Rotor-Gene Q Software können nicht aktiviert werden.

Bei Ausführung der Software als Administrator werden alle Softwarefunktionen aktiviert. Benutzer, die keine Sicherheitsfunktionen benötigen, haben als Administrator Zugriff auf alle Softwarefunktionen.

Erstellen eines neuen Benutzerprofils

Erstellen Sie ein Benutzerkonto für jeden Benutzer der Software. Wiederholen Sie die folgenden Schritte für jeden Benutzer, bis alle notwendigen Konten erstellt worden sind.

1. Wählen Sie zum Erstellen eines neuen Benutzers Start, geben Sie Computer Management (Computerverwaltung) ein, drücken Sie die Eingabetaste und navigieren Sie zu Local Users and Groups (Lokale Benutzer und Gruppen) auf der linken Seite.
2. Wählen Sie den Ordner Users (Benutzer) im angezeigten Fenster. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das rechte Fenster und wählen Sie New User... (Neuer Benutzer).



3. Geben Sie einen Benutzernamen und ein Passwort ein. In der Standardeinstellung werden Benutzer mit normalen Zugriffsrechten erstellt. Ein solcher Benutzer kann die Software ausführen, aber keine neuen Programme installieren oder Systemeinstellungen ändern.

4. Klicken Sie auf Create (Erstellen). Sie können sich nun als dieser Benutzer anmelden.

Zuweisen von Benutzerrollen

Sie sollten nun jedem Benutzer Rollen zuweisen. Beim Zugriff werden die folgenden Rollen unterschieden:

- Rotor-Gene Q Operator (Rotor-Gene Q Anwender) – kann Läufe durchführen, aber keine Berichte erstellen oder Analysen durchführen
- Rotor-Gene Q Analyst (Rotor-Gene Q Analytiker) – kann Laufdaten analysieren und Berichte erstellen, aber keine neuen Läufe durchführen

- Rotor-Gene Q Operator and Analyst (Rotor-Gene Q Anwender und Analytiker) – umfasst die Berechtigungen beider Rollen
- Administrator – kann Probenamen entsperren und ansonsten alle Aufgaben eines Anwenders und eines Analytikers durchführen
- None (Keine) – der Zugriff auf die Software wird verweigert

Hinweis: In Microsoft Windows 10 können in der Rotor-Gene Q Software keine Benutzergruppen angelegt werden. Die Benutzergruppen müssen von einem Domänenadministrator auf Domänenebene angelegt werden. Auch die Zuweisung von Benutzern zu einer bestimmten Gruppe muss auf Domänenebene erfolgen. Das Menü Run (Lauf) ist aktiviert. In der Statusleiste wird angezeigt, dass der Benutzer linsongy zur RG-Anwendergruppe gehört.

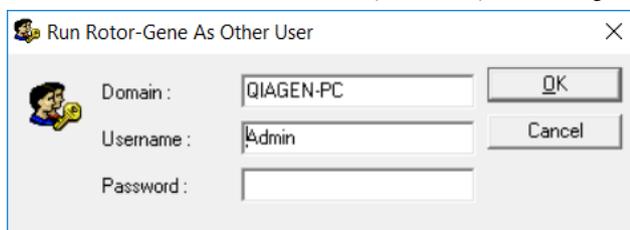
6.9.3 Mehrere Benutzer auf einem Computer

Wenn mehrere Benutzer den Computer gemeinsam nutzen, legen Sie ein Benutzerkonto ohne Zugriff auf die Rotor-Gene Q Software an. Die Benutzer melden sich dann mit diesem Benutzerkonto bei Windows an und erhalten keinen anonymen Zugriff auf Rotor-Gene Q MDx.

1. Mit dem Symbol Rotor-Gene Q Software Login (Anmeldung bei der Rotor-Gene Q Software) können die Benutzer ihr Benutzerkonto in der Rotor-Gene Q Software öffnen.



2. Geben Sie den Benutzernamen und das Passwort (Pflichtfeld) in das angezeigte Feld ein.



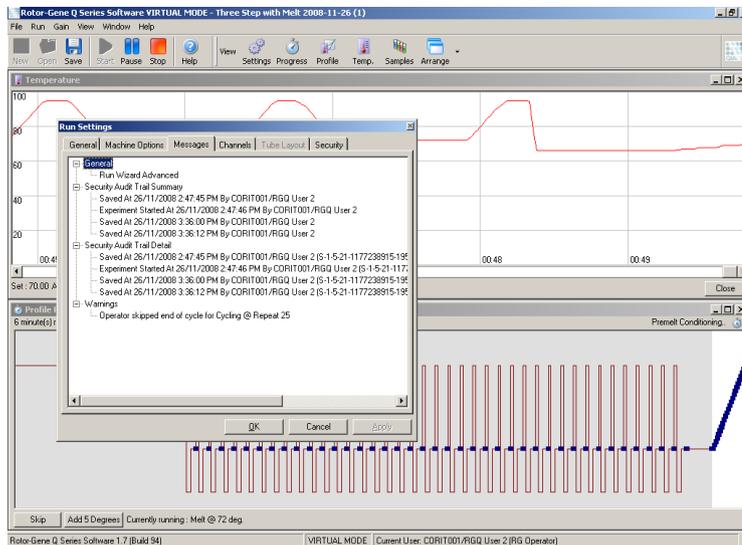
3. Die Domäne ist entweder der Computer, bei dem Sie sich anmelden, oder der Name des lokalen Netzwerks, zusammen mit dem Hostnamen. Wenden Sie sich an den Netzwerkadministrator, wenn Sie nicht sicher sind, welche Domäne Sie in diesem Feld angeben müssen.

Hinweis: Nach der Anmeldung stehen dem Benutzer alle Benutzerdateien zur Verfügung. Jeder Benutzer kann Dateien in einem eigenen Bereich speichern. Auf diese Weise wird ein hohes Sicherheitsniveau erzielt.

Hinweis: Nach Abschluss des Laufs sollte sich der Benutzer wieder abmelden, damit keine anderen Benutzer Läufe in seinem Namen durchführen können.

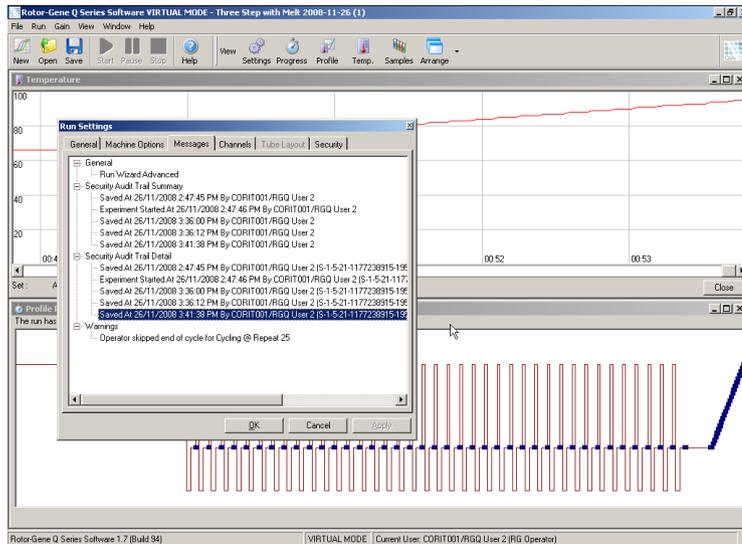
6.9.4 Audit-Trails

Bei jeder Speicherung einer Datei werden die Benutzerdetails unter Run Settings (Laufeinstellungen) in der Registerkarte Messages (Meldungen) als Security Audit Trail Summary (Zusammenfassung des Audit-Trails) und Security Audit Trail Detail (Details des Audit-Trails) gespeichert.



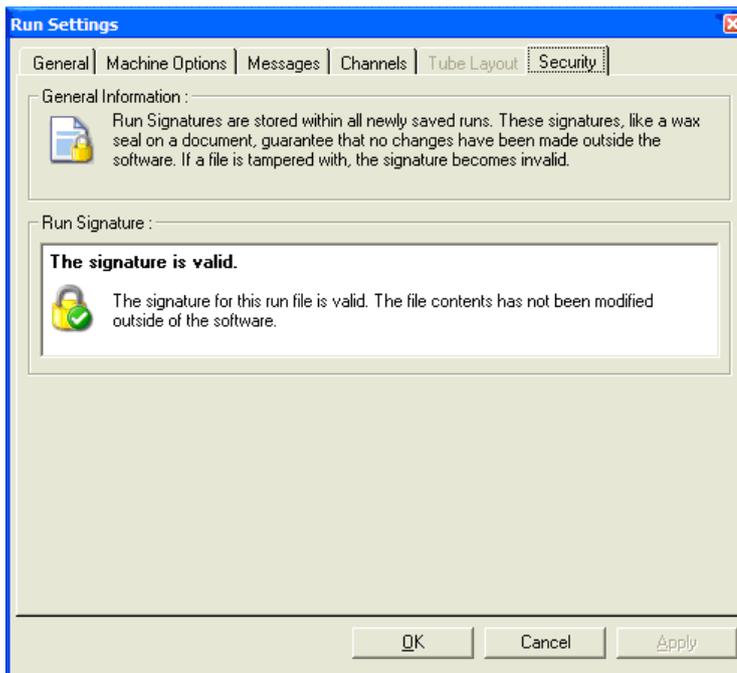
Anhand dieser Daten kann überwacht werden, wer die Inhalte einer Datei geändert hat. Unter Security Audit Trail Detail (Details des Audit-Trails) werden mehr Details aufgezeichnet, z. B. die einzigartige ID-Nummer des Benutzers. Diese ID-Nummer ist wichtig, damit kein Benutzer ein Konto mit dem gleichen Namen auf einem anderen Computer anlegen und nicht vorgeben kann, jemand anders zu sein. In einem solchen Fall sind die Benutzernamen identisch, die Konto-IDs jedoch nicht.

Die ID des Kontos „CORIT001/RGQ User 2“ ist „S-1-5-21-1177238915-195“ und wird in den Details angezeigt.

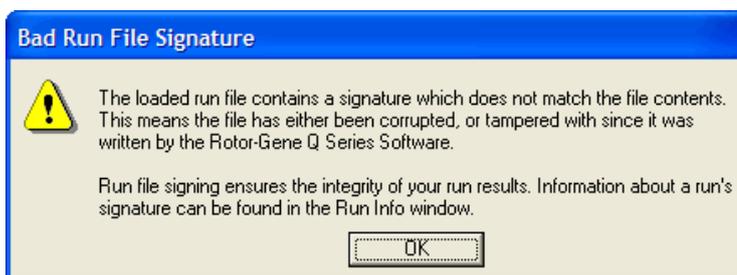


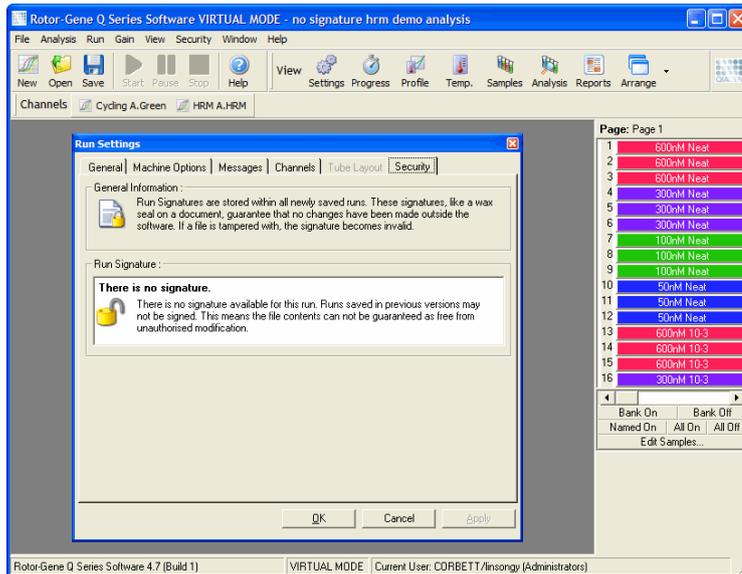
6.9.5 Signaturen verwenden

Der Audit-Trail wird in der Rotor-Gene Q Laufdatei gespeichert. Damit diese Dateien nicht unbefugt geändert werden können, müssen sie an einem sicheren Ort aufbewahrt werden, der nur von bestimmten Windows-Konten zugänglich ist. Werden die Dateien jedoch an einem gemeinsam genutzten Ort gespeichert, können Laufsignaturen die Sicherheit verbessern. Im folgenden Screenshot ist die Registerkarte Security (Sicherheit) für eine Datei mit Laufsignatur unter Run Settings (Laufeinstellungen) dargestellt.



Die Laufsignatur ist ein langes Wort, das bei jeder Speicherung der Datei neu erzeugt und mit den Inhalten der Datei verknüpft wird. Die Signatur für diese Datei ist beispielsweise 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Wird die Datei in Notepad geöffnet und bearbeitet (z. B. das Datum des Laufes wird auf 3 Tage früher eingestellt), dann wird bei Öffnung der Datei die folgende Meldung angezeigt.





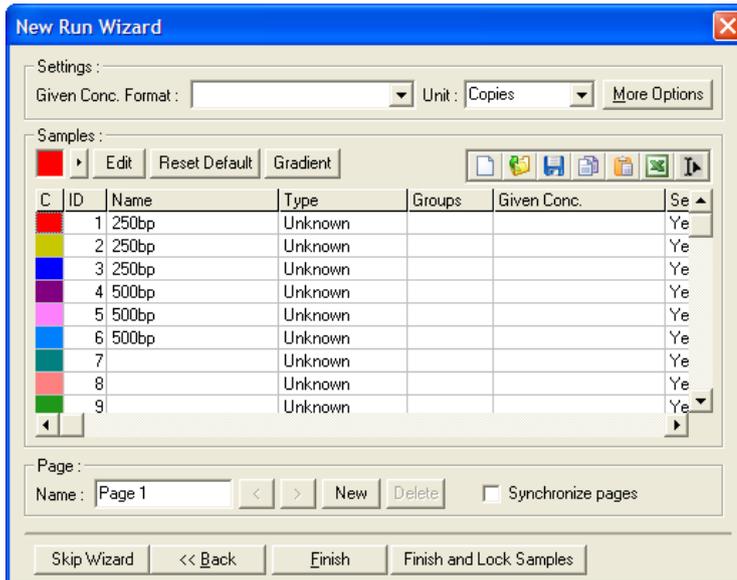
Hinweis: Durch Versenden der Dateien per E-Mail kann die Signatur ungültig gemacht werden. Um dies zu vermeiden, sollte die Datei vor dem Versenden per E-Mail in einer *.zip-Datei verpackt werden.

6.9.6 Probensperrung

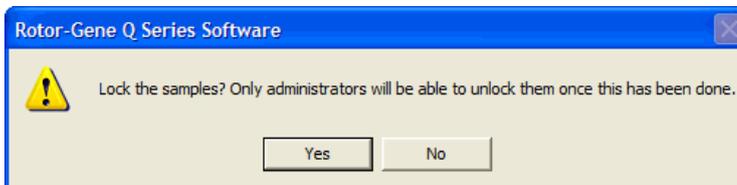
Es ist wichtig, dass die Probenamen nach dem Start eines Laufs nicht versehentlich oder absichtlich verändert werden. Aus diesem Grund bietet die Rotor-Gene Q Software die Möglichkeit einer Probensperrung. Die Probenamen können von jedem Benutzer gesperrt, jedoch nur von einem Administrator entsperrt werden. Diese Option ist für Benutzer, die den Computer im Administratormodus nutzen, nur begrenzt nützlich. Um diese Option ordnungsgemäß nutzen zu können, muss der Computer sicher eingerichtet werden, wie in den vorherigen Abschnitten beschrieben wird.

Hinweis: Wenn Sie die Funktion der Probensperrung nutzen möchten, können Sie die Software nicht als Administrator ausführen. Erstellen Sie ein Konto mit RG-Anwender- und RG-Analitikergruppen und halten Sie das Administrator-Passwort geheim. In dieser Situation müssen die Benutzer den Administrator um eine Genehmigung bitten, um Dateien zu entsperren.

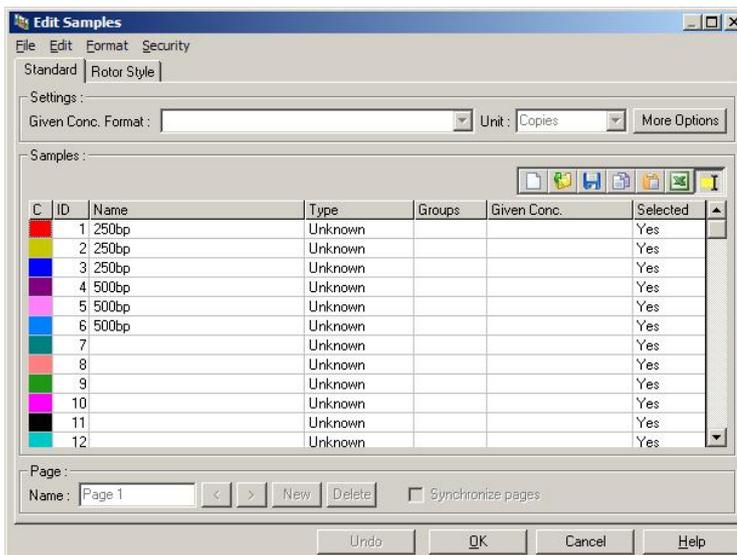
Die Proben können vor dem Laufstart mit dem Assistenten Advanced (Erweitert) gesperrt werden. Klicken Sie dazu auf die Option Finish and Lock Samples (Proben abschließen und sperren).



Die folgende Warnung wird angezeigt. Klicken Sie zur Bestätigung auf Yes (Ja).



Nach der Sperrung können die Proben nicht mehr im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) bearbeitet werden.



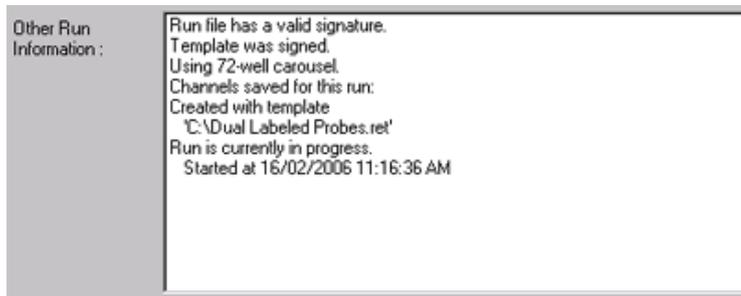
Proben können außerdem im Fenster Edit Samples (Proben bearbeiten) gesperrt und entsperrt werden. Gesperrte Proben können jedoch nur von einem Administrator entsperrt werden.



Jegliche unbefugte Änderung der Datei macht die Laufsignatur ungültig.

6.9.7 Gesperrte Vorlagen

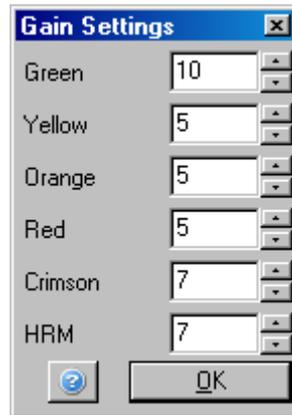
Es ist aktuell nicht möglich, schreibgeschützte Vorlagendateien mit der Rotor-Gene Q Software zu erstellen. Falls gewünscht kann jedoch die Anforderung festgelegt werden, dass alle Läufe mit einer bestimmten Vorlagendatei durchgeführt werden. Um diese Datei vor Änderungen zu schützen, sollte sie auf einem Netzwerklaufwerk gespeichert werden, in dem die Benutzer keine Daten ändern können. Während die Vorlagendatei auf einem Netzwerklaufwerk geschützt bleibt, können die Benutzer nach wie vor eigene Profile ausführen und bearbeiten. Die Rotor-Gene Q Software speichert den Namen der verwendeten Vorlagendatei, um die Rückverfolgbarkeit sicherzustellen. Um diese Informationen aufzurufen, klicken Sie auf die Schaltfläche Settings (Einstellungen) und zeigen Sie das Fenster Run Settings (Laufeinstellungen) an. Die Angaben zur Vorlage werden unter Other Run Information (Weitere Angaben zum Lauf) gespeichert.



6.10 Verstärkungsmenü

Klicken Sie auf das Menü Gain (Verstärkung), um die Gain Settings (Verstärkungseinstellungen) des aktuellen Laufs anzuzeigen. Diese Einstellungen bestimmen die Verstärkung eines bestimmten Kanals vor einem Lauf. Die Verstärkungseinstellungen vom letzten Lauf bleiben erhalten. Wurde der nächste Lauf noch nicht gestartet bzw. werden gerade die ersten Zyklen durchgeführt, können die Einstellungen noch geändert werden. Navigieren Sie mit den Nach-oben- und Nach-unten-Pfeilen zu allen Textfeldern, um sie zu ändern. Klicken Sie anschließend auf OK.

Die Verstärkung kann noch während der ersten Zyklen geändert werden. Der jeweilige Kanal, dessen Verstärkung geändert wurde, wird mit einer roten Linie gekennzeichnet. Die Zyklen vor der Verstärkungsänderung werden aus der Analyse abgeschlossen.



6.11 Fenstermenü

In diesem Menü können die Fenster als Kacheln vertikal oder horizontal oder überlappend angeordnet werden. Durch Klicken auf den Pfeil rechts neben der Schaltfläche Arrange (Anordnen) werden weitere Optionen angeboten.

6.12 Hilfefunktion

Nach Klicken der Schaltfläche Help (Hilfe) bzw. im Menü Help (Hilfe) wird das folgende Dropdown-Menü geöffnet.

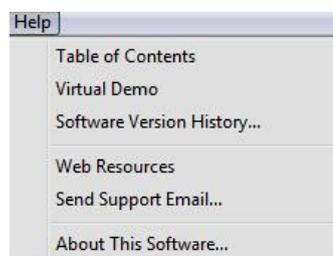


Table of Contents (Inhaltsverzeichnis):	Hier besteht Zugriff auf die Hilfefunktionen.
Virtual Demo (Virtuelle Vorstellung):	Dies ist ein Link zu einer QIAGEN Website, auf der die Software interaktiv vorgestellt wird.
Software Version History... (Versionsverlauf der Software):	Hier finden Sie einen Überblick der seit der letzten Softwareversion neu hinzugefügten Funktionen.
Web Resources (Internetressourcen):	Mit dieser Option öffnen Sie eine QIAGEN Website in einem neuen Browser-Fenster, in der Sie die aktuellsten Informationen zu Rotor Gene Q MDx Geräten und zugehörigen Reagenzien finden.
About This Software... (Info zu dieser Software):	Hier finden Sie Angaben zum verbundenen Gerät, der Seriennummer des Rotor-Gene Q MDx und der Softwareversion.

6.12.1 Send Support E-Mail (Support-E-Mail senden)

Mit der Option Send Support Email (Support-E-Mail senden) im Menü Help (Hilfe) können Sie eine E-Mail an QIAGEN schicken, die alle relevanten Informationen eines Laufs enthält. Mit der Option Save As (Speichern als) werden alle diese Informationen in einer Datei gespeichert, die Sie auf einen Datenträger oder an einen Netzwerkkort kopieren können, wenn Sie auf dem Computer, auf dem Rotor-Gene Q MDx läuft, keinen Zugang zu E-Mail haben.

In einigen Ländern ist ein Laptop-Computer optional zusammen mit dem Rotor-Gene Q MDx erhältlich, und wenn Sie die Support-E-Mail-Funktion zum ersten Mal nutzen, müssen Sie die E-Mail-Einstellungen zuerst konfigurieren.

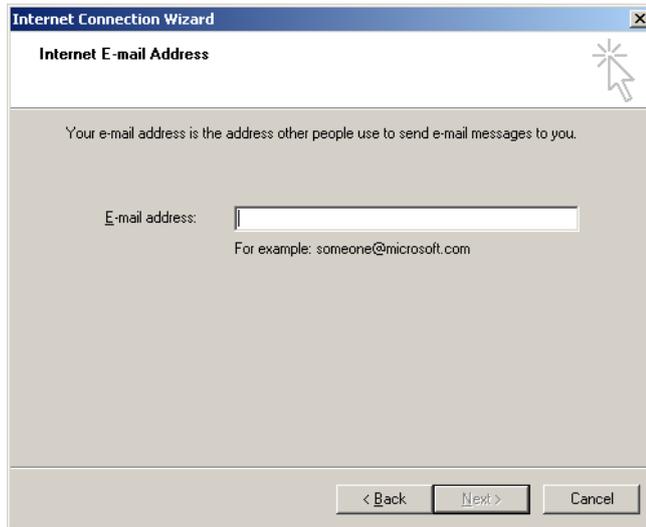
Hinweis: Sie erhalten die Einzelheiten von dem IT-Manager Ihres Unternehmens.

E-Mail-Einstellungen konfigurieren

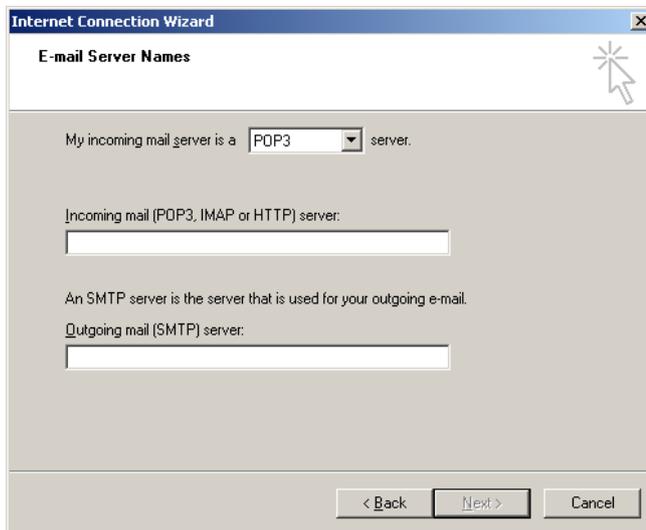
Klicken Sie auf die Option Send Support Email... (Support-E-Mail senden). Das folgende Fenster wird geöffnet.



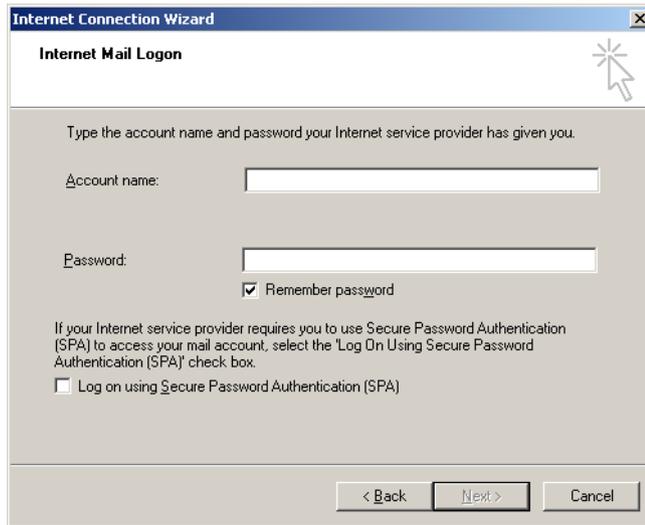
1. Geben Sie Ihren Namen ein und klicken Sie auf Next (Weiter). Das Fenster Internet E-mail Address (E-Mail-Adresse) wird geöffnet.



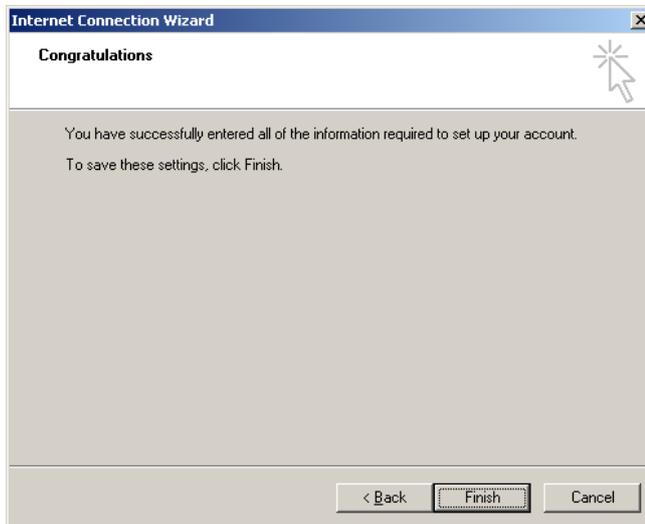
2. Geben Sie Ihre E-Mail-Adresse ein und klicken Sie auf Next (Weiter). Das Fenster E-mail Server Names (Namen der E-Mail-Server) wird geöffnet.



3. Wählen Sie die Art des Servers für eingehende E-Mails und geben Sie die Namen für den Posteingangs- und den Postausgangsserver ein. Dann drücken Sie auf Next (Weiter). Das Fenster Internet Mail Logon (E-Mail-Anmeldedaten) wird geöffnet.



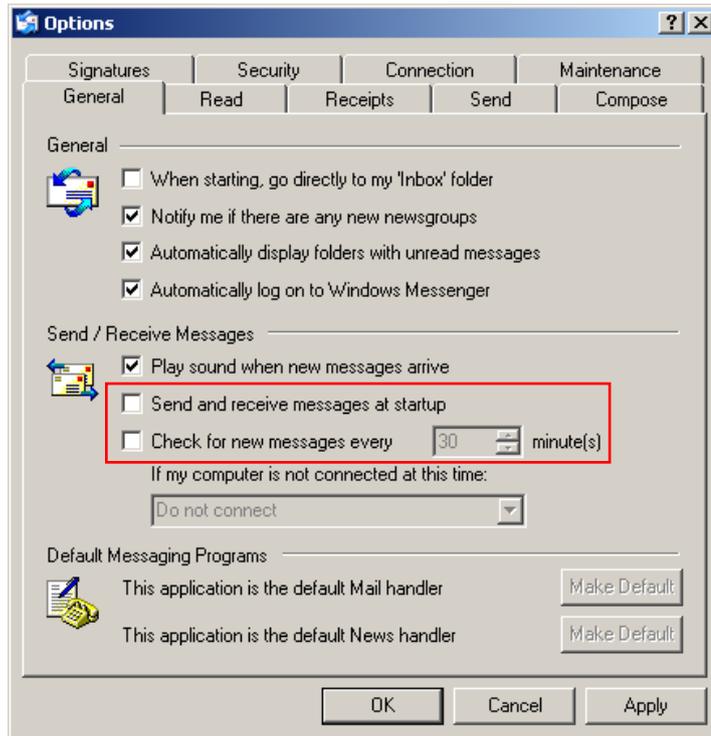
4. Geben Sie den Namen Ihres E-Mail-Kontos ein und das Passwort, falls Ihr Server eine Authentifizierung mit Passwort erfordert. Dann klicken Sie auf Next (Weiter). Das Fenster Congratulations (Glückwunsch) wird geöffnet.



5. Mit Finish (Fertigstellen) schließen Sie die Einrichtung des E-Mail-Kontos ab.

Einstellungen in Outlook

1. Öffnen Sie Outlook Express im Menü Start (Start > All programs (Alle Programme) > Outlook Express).
2. Wählen Sie Tools (Extras) und dann Options (Optionen). Das folgende Fenster wird angezeigt.



Wichtig: Um nicht während der PCR-Läufe E-Mails zu empfangen, deaktivieren Sie die Standardeinstellungen im Bildschirm Send/Receive Messages (Meldungen senden/empfangen).

3. Deaktivieren Sie die Option Send and receive messages at startup (Meldungen ab dem Start senden und empfangen).
4. Deaktivieren Sie die Option Check for new messages every 30 minutes (Alle 30 Minuten auf neue Meldungen prüfen).
5. Bestätigen Sie die Änderungen mit OK.

7 Zusätzliche Funktionen

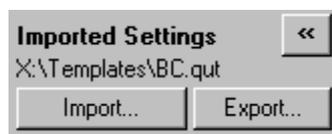
7.1 Analysevorlagen

Bei einigen Analysen müssen Schwellenwerte, Normalisierungs- und Genotypeinstellungen festgelegt werden. Diese Einstellungen werden oft in vielen Experimenten wiederverwendet.

Diese Einstellungen können daher in Form von Analysevorlagen gespeichert und so wiederverwendet werden. Auf diese Weise können der Aufwand zur Eingabe von Einstellungen und das Risiko von Eingabefehlern gesenkt werden.

Die Optionen Quantitation (Quantifizierung), Melt (Denaturierung), Allelic Discrimination (Allelische Diskriminierung), Scatter Graph Analysis (Streuungsdiagrammanalyse) und EndPoint Analysis (EndPoint-Analyse) unterstützen die Verwendung von Analysevorlagen. Bei all diesen Analysen kann eine Vorlage für die spezifische Analysenart exportiert werden. Die Quantifizierungsanalyse ermöglicht den Export und Import von *.qut-Dateien, die Quantifizierungseinstellungen enthalten.

Nach Import oder Export einer Analysenvorlage wird der Dateiname der Vorlage zur zukünftigen Nutzung angezeigt.



7.2 Öffnen eines zweiten Laufs

Während der Durchführung eines Laufs können vorhandene Läufe, die bereits fertig sind, geöffnet und analysiert werden. In dem angezeigten zweiten Fenster sind mehrere Schaltflächen, wie New (Neu) oder Start Run (Lauf starten), nicht aktiviert. Nach Abschluss des ersten Laufs kann im ersten Fenster ein weiterer Lauf gestartet werden.

7.3 Maßstabsoptionen

Klicken Sie auf die Option Adjust Scale... (Skalierung anpassen) unten im Hauptfenster, um die Funktion Adjust Scale (Skalierung anpassen) aufzurufen. Oder klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Diagramm und wählen Sie Adjust Scale... (Skalierung anpassen) im angezeigten Menü. Der Maßstab kann im angezeigten Fenster manuell eingegeben werden.



Klicken Sie auf die Option Auto-Scale... (Automatisch skalieren) unten im Hauptfenster, um die Funktion Auto-Scale (Automatisch skalieren) aufzurufen. Oder klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Diagramm und wählen Sie Auto-Scale... (Automatisch skalieren) im angezeigten Menü. Die Schaltfläche Auto-Scale (Automatisch skalieren) passt die Skala an die maximalen und minimalen Messwerte in den Daten an.

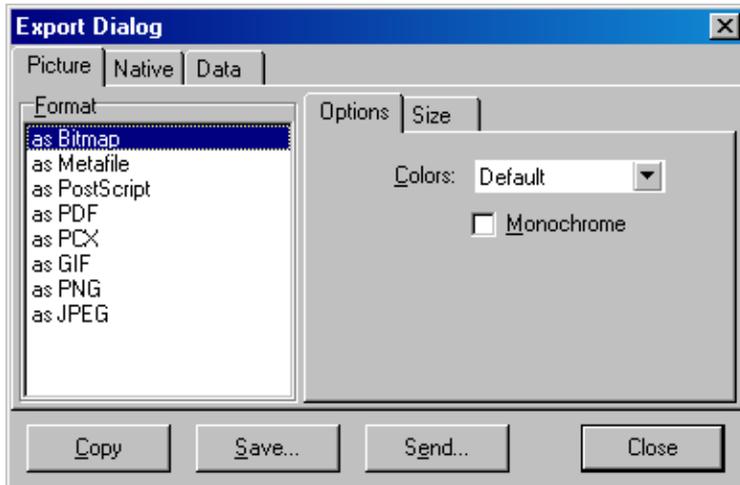
Klicken Sie auf die Option Default Scale... (Standardskalierung) unten im Hauptfenster, um die Funktion Default Scale (Standardskalierung) aufzurufen. Oder klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Diagramm und wählen Sie Default Scale... (Standardskalierung) im angezeigten Menü. Mit der Option Default Scale (Standardskalierung) wird der Maßstab zurückgesetzt, um Fluoreszenzeinheiten zwischen 0 und 100 anzuzeigen.

7.4 Exportieren von Diagrammen

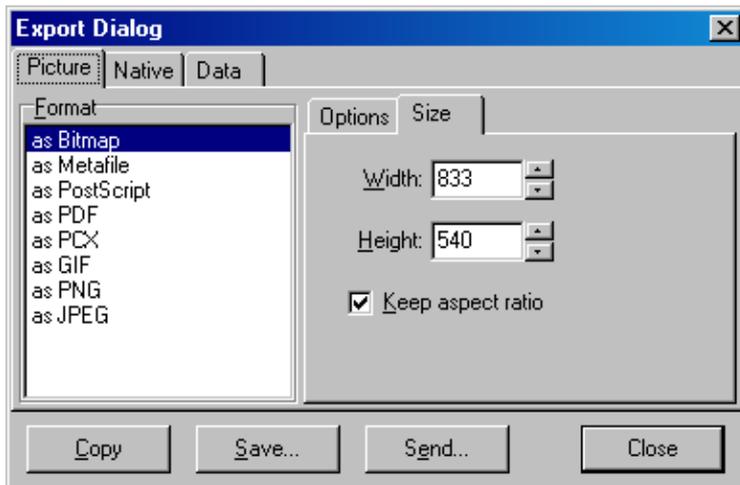
Bildexport

Die folgenden Schritte beschreiben das Speichern eines Bildes.

1. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Bild und wählen Sie die Funktion Export (Exportieren) aus dem angezeigten Menü aus.
2. Das Fenster Export Dialog (Exportdialog) wird angezeigt. Wählen Sie das gewünschte Format aus der Liste Format aus.



3. Wählen Sie die Registerkarte Size (Größe) und geben Sie die gewünschte Größe ein.



4. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen Keep aspect ratio (Seitenverhältnis beibehalten), damit das Bild bei Anpassung der Größe richtig proportioniert bleibt.

5. Klicken Sie auf Save (Speichern) und wählen Sie im angezeigten Dialogfeld einen Dateinamen und einen Speicherort für die Datei.

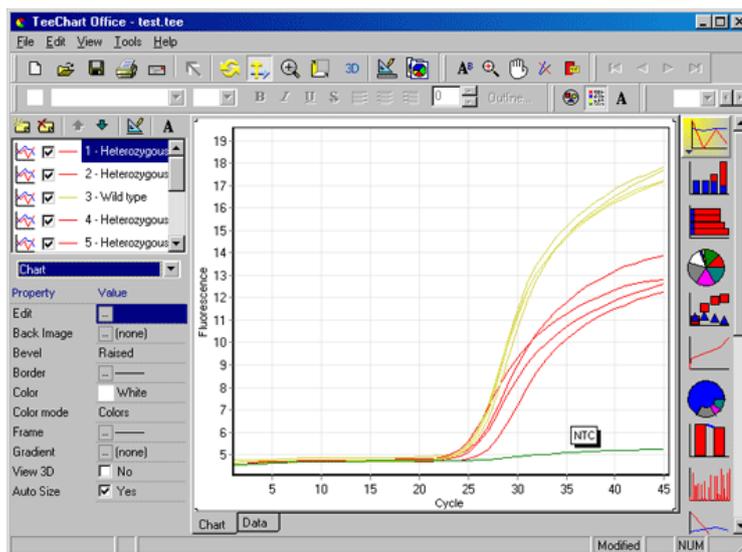
Ist ein Bild mit einer höheren Auflösung erforderlich, empfehlen wir die Vergrößerung des Bildes, bis es die Anforderungen erfüllt. Oder aber speichern Sie das Diagramm als Metadatei (*.emf, *.wmf). Dabei handelt es sich um ein vektorbasiertes Format, das in Software wie Adobe® Illustrator® geöffnet werden kann. Auf diese Weise kann ein Bild jeder gewünschten Auflösung erstellt werden.

Export im nativen Dateiformat

Für die Diagramme in der Rotor-Gene Q Software wird eine Drittkomponente benutzt: TeeChart® von Steema Software. Um ein Diagramm im nativen Format zu speichern, wählen Sie die Registerkarte Native (Nativ) im Fenster Export Dialog (Exportdialog) (siehe vorherigen Screenshot). Dann klicken Sie auf Save (Speichern). Das native Format ist das TeeChart-Standarddateiformat. Für diese Dateien können die Benutzer das Programm TeeChart Office von Steema Software benutzen. TeeChart Office ist Freeware, ist im Software-Paket der Rotor-Gene Q Software enthalten und wird mit installiert. Um die Software aufzurufen, klicken Sie auf das Symbol TeeChart Office auf dem Desktop.

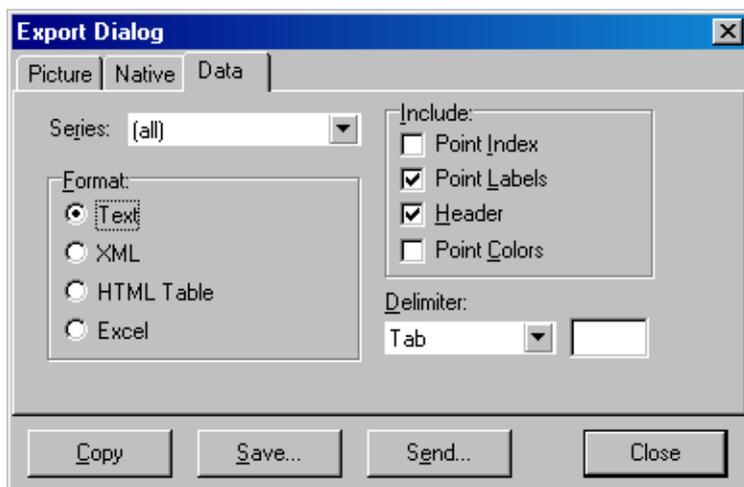


TeeChart Office ermöglicht eine Bearbeitung von exportierten Diagrammen, insbesondere die Änderung der Kurvenfarben, das Hinzufügen von Anmerkungen, die Änderung der Schriftart und die Anpassung von Datenpunkten.



Datenexport

Um Daten in verschiedenen Formaten zu exportieren, wählen Sie die Registerkarte Data (Daten) im Fenster Export Dialog (Exportdialog). Die exportierte Datei enthält die Rohdatenpunkte des Diagramms.



Rohdaten und Analysedaten können auch durch Wahl von Save As (Speichern als) im Menü File (Datei) exportiert werden (siehe Abschnitt 6.5).

7.5 Schraubenschlüssel-Symbol

Das Schraubenschlüssel-Symbol  wird unten links im Hauptfenster angezeigt. Durch Klicken des Schraubenschlüssel-Symbols werden mehrere Optionen aktiviert. Diese Optionen können auch durch Rechtsklick auf das Diagramm aufgerufen werden.



Adjust Scale (Skalierung anpassen), Autoscale (Automatische Skalierung) Revert to Default Scale (Auf Standardskalierung zurücksetzen)

Siehe Abschnitt 7.3.

Export...:

Mit dieser Option kann das Diagramm in verschiedenen Formaten gespeichert werden (siehe Abschnitt 6.4).

Copy Chart to Clipboard (Diagramm in die Zwischenablage kopieren):

Mit dieser Option wird das Diagramm in die Zwischenablage kopiert.

Edit Chart in TeeChart Office... (Diagramm in TeeChart Office bearbeiten):

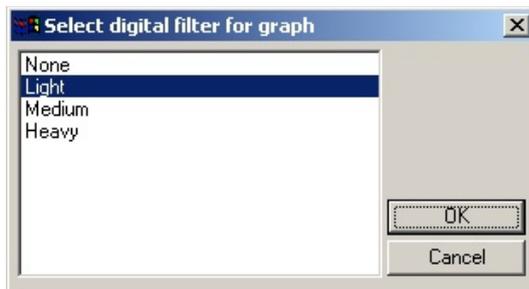
Mit dieser Option wird das Diagramm direkt in TeeChart Office geöffnet und kann dort bearbeitet werden (siehe Abschnitt 6.4).

Print (Drucken):

Mit dieser Option wird das Diagramm ausgedruckt.

Digital Filter... (Digitaler Filter):

Mit dieser Option wird der aktuell ausgewählte digitale Filter des Diagramms geändert. Mit dem digitalen Filter werden die Daten mithilfe eines verschiebbaren Punktefensters geglättet.



Show Pinpointer (Koordinatenwerte anzeigen):

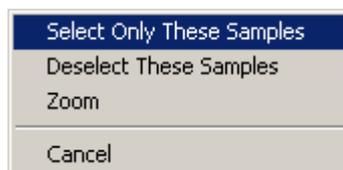
Mit dieser Option wird ein Fenster geöffnet, in dem die exakten Koordinaten der Mauszeigerposition angezeigt werden.

Grouping (Gruppierung):

Mit dieser Option können Proben mit identischen Namen gruppiert werden. Das kann bei vollen Rotorläufen hilfreich sein. Die Wahl dieser Option hat keine Auswirkungen auf die berechneten Werte.

7.6 Optionen für ausgewählte Bereiche

Durch Klicken und Gedrückthalten der linken Maustaste und Ziehen des Mauszeigers kann ein Bereich des Diagramms ausgewählt werden. Das folgende Fenster wird angezeigt.



Select Only These Samples (Nur diese Proben auswählen):

Die Wahl von Proben außerhalb des ausgewählten Bereichs wird aufgehoben.

Select Only These Samples (Nur diese Proben auswählen):

Die Wahl von Proben außerhalb des ausgewählten Bereichs wird aufgehoben.

Zoom (Vergrößerung):

Mit dieser Option wird der ausgewählte Bereich des Diagramms vergrößert dargestellt. Klicken Sie auf die Schaltfläche **Default Scale** (Standardskalierung), um die Vergrößerung wieder aufzuheben.

8 Wartung

Es ist einfach, die Leistungen des Rotor-Gene Q MDx zu erhalten. Die optischen Leistungen bleiben gut, wenn die Linsen der Emissions- und Detektionsquellen sauber gehalten werden. Wischen Sie hierzu vorsichtig mit einem Wattestäbchen, das sie vorher mit Ethanol oder Isopropanol* befeuchtet haben, über die Linsen.

Hinweis: Reinigen Sie die Linsen je nach Verwendung mindestens einmal im Monat. Wischen Sie zu diesem Zeitpunkt auch die Rotorkammer ab.

Halten Sie den Arbeitstisch sauber und staubfrei und lassen Sie keine Unterlagen darauf herumliegen. Der Lufteinlass des Rotor-Gene Q MDx befindet sich unten am Gerät, und lose Materialien wie Papier oder Staub können die Leistung beeinträchtigen.



Um eine Ansammlung von Staub zu verhindern, halten Sie den Deckel des Rotor-Gene Q MDx geschlossen, wenn er nicht verwendet wird.

Hinweis: Verwenden Sie ausschließlich Ersatzteile von QIAGEN.

8.1 Reinigen der Oberfläche des Rotor-Gene Q MDx

Der Rotor-Gene Q kann von außen mit allgemein erhältlichen Laborchemikalien gereinigt werden.

* Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen sind den relevanten Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) zu entnehmen, die Sie vom jeweiligen Produkthersteller beziehen können.

8.2 Dekontaminieren der Oberfläche des Rotor-Gene Q MDx

Bei einer Kontamination der Rotorkammer kann sie gereinigt werden. Dazu wischen Sie die Oberflächen mit einem fusselfreien Tuch ab, das Sie mit einer 0,1%igen (v/v) Natriumhypochloritlösung (Haushaltsbleiche) angefeuchtet haben. (Das Tuch darf jedoch nicht tropfen.)* Wischen Sie die Kammer mit einem fusselfreien Tuch ab, das Sie mit Wasser in PCR-Qualität angefeuchtet haben, um Natriumhypochloritspuren zu entfernen.

8.3 Reparatur von Rotor-Gene Q

Um den Rotor-Gene Q zu reparieren oder zu warten, wenden Sie sich an den Technischen Service von QIAGEN unter <https://www.qiagen.com/service-and-support/technical-support/technical-support-form/>.

* Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen sind den relevanten Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) zu entnehmen, die Sie vom jeweiligen Produkthersteller beziehen können.

9 Optische Temperaturverifizierung

Die Optische Temperaturverifizierung (OTV) ist eine Methode, mit der die Temperatur im Innern der Röhrcchen in einem Rotor-Gene Q MDx verifiziert werden können. Bei der Validierung der Röhrcchentemperaturen kann es sich um ein wichtiges Verfahren für zertifizierte Labore handeln. OTV wird mit einem Rotor-Disc OTV Kit durchgeführt (siehe Abschnitt 16). Im Folgenden wird das Prinzip der OTV nur kurz vorgestellt. Die Leistungen des OTV-Verfahrens wird in der Rotor-Gene Q MDx Software erläutert. Eine detailliertere Beschreibung des OTV-Verfahrens einschließlich Hinweisen zur Fehlerbehebung finden Sie im *Rotor-Disc OTV Handbook*.

9.1 Das Prinzip der OTV

OTV nutzt die Eigenschaften von drei thermochromatischen Flüssigkristallen (TLC)* aus, die als absolute Temperaturreferenz dienen. Die TLC werden erwärmt und wechseln bei sehr präzisen Temperaturen (50, 75 und 90 °C) von undurchsichtig zu durchsichtig. TLC geben selbst keine Fluoreszenz ab. Daher muss die Anregungsquelle mit einem fluoreszenten Einsatz abgedeckt werden, damit die Übergangspunkte der TLC vom optischen System des Rotor-Gene Q MDx nachgewiesen werden können. TLC unter der jeweiligen Übergangstemperatur sind undurchsichtig und reflektieren Licht. Ein Teil des reflektierten Lichts wird in Richtung des Detektors gestreut und erhöhen den Fluoreszenzmesswert. Wenn die Temperatur im Röhrcchen den TLC-Übergangspunkt erreicht, wird der TLC durchsichtig. Das Licht passiert die Probe, statt in Richtung des Detektors reflektiert zu werden. Das bedeutet, dass der Fluoreszenzmesswert sinkt. Die Fluoreszenzänderung dient zur Ermittlung der präzisen Übergangstemperatur jedes TLC. Die Übergangstemperatur wird mit der im werksseitigen Kalibrierungsbericht für die OTV Rotor-Disc angegebenen Temperatur verglichen, um zu prüfen, ob die Temperaturspezifikationen des Rotor-Gene Q MDx eingehalten werden.

9.2 Komponenten des Rotor-Disc OTV Kits

Für eine OTV-Lauf sind die folgenden Komponenten erforderlich:

- Rotor-Disc OTV Kit, Inhalt:
 - versiegelter Rotor-Disc 72 OTV Rotor (enthält TLCs)
 - Platteneinsatz zur Fluoreszenzsteuerung (Rotor-Gene 3000 Gerät oder Rotor-Gene Q/6000 Geräte)

* Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen sind den relevanten Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) zu entnehmen, die Sie vom jeweiligen Produkthersteller beziehen können.

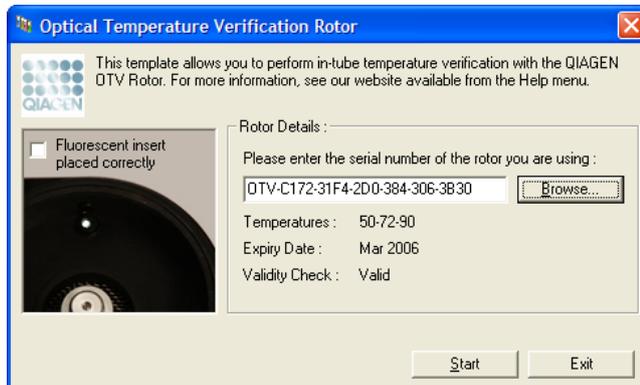
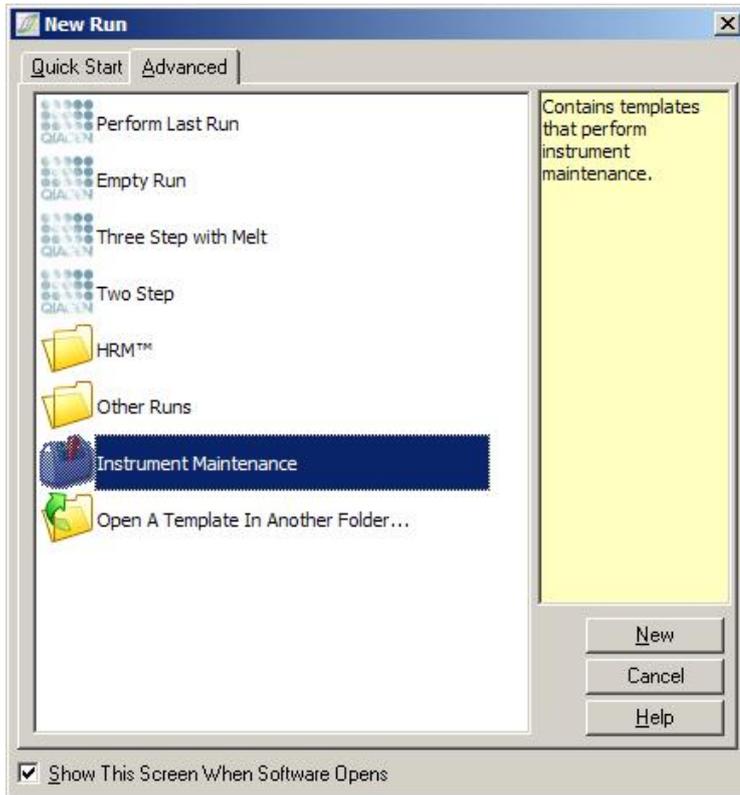
- Ein Datenträger, auf dem sich die folgenden Dateien befinden: Seriennummer und Verfallsdatum des OTV Rotors (*.txt); Vorlagendatei für OTV-Test (*.ret); Produktblatt (*.pdf); werksseitiger Kalibrierungsbericht (*.rex).
- Produktblatt
- Rotor-Gene Series Software Version ab 1.7, umfasst den benutzerfreundlichen OTV-Rotor-Assistent
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

9.3 Durchführen einer OTV

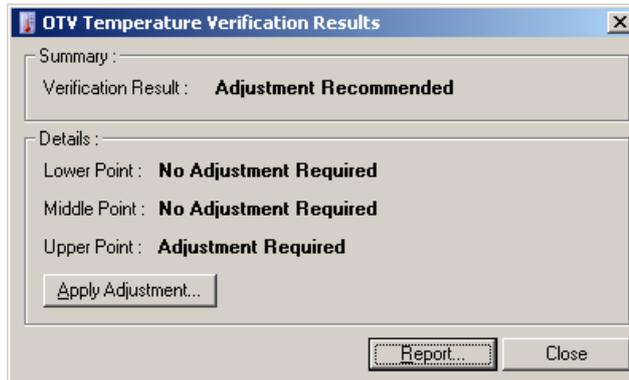
1. Setzen Sie den fluoreszierenden Einsatz über die Emissionslinse unten in der Kammer des Rotor-Gene Q MDx.
2. Positionieren Sie die OTV Rotor-Disc in einen Rotor-Disc 72 Rotor. Sichern Sie den Rotor mit einem Rotor-Disc 72 Locking Ring. Setzen Sie die Rotoreinheit in den Rotor-Gene Q MDx und lassen Sie sie einrasten. Schließen Sie den Deckel des Rotor-Gene Q MDx.



3. Rufen Sie den Assistent Advanced (Erweitert) auf, in dem Sie im Fenster New Run (Neuer Lauf) die Registerkarte Advanced (Erweitert) wählen. Im Assistent Advanced (Erweitert) klicken Sie auf Instrument Maintenance (Gerätewartung) und dann auf OTV. Der Assistent fordert zur Eingabe der OTV-Seriennummer auf. Diese finden Sie auf dem OTV-Ring. Klicken Sie dann auf Start.



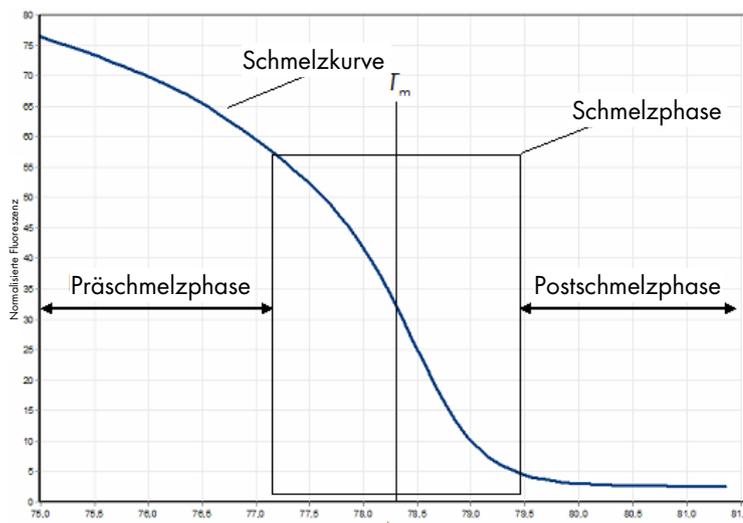
4. Die Software fordert zur Eingabe eines Dateinamens für den Lauf auf. Dann beginnt der Lauf.
5. Während des Laufs wird eine Reihe von Denaturierungen durchgeführt, um die Temperatureigenschaften des Rotor-Gene Q MDx zu ermitteln.



6. Nach Abschluss des Laufs zeigt die Software an, ob der Rotor-Gene Q MDx die technischen Spezifikationen erfüllt.
7. Ist eine Anpassung erforderlich, klicken Sie auf Apply Adjustment (Anpassung anwenden). Der Benutzer wird aufgefordert, einen Verifizierungslauf durchzuführen. Nach Abschluss des Verifizierungslauf sollten keine weiteren Anpassungen notwendig sein. Sind jedoch weitere Anpassungen notwendig, wenden Sie sich an Ihren Händler.
8. Hält der Rotor-Gene Q MDx die Spezifikationen ein, kann ein Bericht angezeigt und ausgedruckt werden.

10 High Resolution Melt-Analyse

Die High-Resolution Melt (HRM)-Analyse ist eine innovative Methode, die sich auf die Analyse der DNA-Denaturierung stützt. In der HRM-Analyse wird das Dissoziationsverfahren der DNA-Proben charakterisiert. DNA-Proben liegen als doppelsträngige DNA (dsDNA) vor und dissoziieren bei wachsenden Temperaturen zu einzelsträngiger DNA (ssDNA) (siehe folgende Abbildung). Ein HRM-Gerät erfasst Fluoreszenzsignale mit extrem hoher optischer und thermaler Präzision, was viele Anwendungen ermöglicht.



Ein typisches HRM-Diagramm. Die Schmelzkurve beschreibt den Übergang von der hohen Fluoreszenz vor der anfänglichen Präschmelzphase über die Abnahme der Fluoreszenz in der Schmelzphase und der niedrigen Fluoreszenz in der Postschmelzphase. Die Fluoreszenz nimmt ab, da der interkalierende Farbstoff bei dem Übergang der dsDNA zu einzelsträngiger DNA freigesetzt wird. Der Mittelpunkt der Schmelzphase ist der Punkt, bei dem die Fluoreszenzänderung am größten ist. Die Temperatur bei Erreichen des Mittelpunkts ist die Schmelztemperatur (T_m) der analysierten DNA.

Vor der Durchführung einer HRM-Analyse muss die Zielsequenz amplifiziert werden und mit einer hohen Kopienzahl vorliegen. Dies wird normalerweise durch PCR in Gegenwart eines dsDNA-interkalierenden Fluoreszenzfarbstoffs erzielt. Der Farbstoff hat keinen Einfluss auf ssDNA, interkaliert jedoch mit dsDNA. Im interkalierten Zustand fluoresziert der Farbstoff hell. Die Fluoreszenzänderung kann dazu dienen, die Zunahme der DNA-Konzentration während der PCR und anschließend das temperaturinduzierte DNA-Denaturierungsverfahren im Rahmen von HRM zu messen. Während der HRM-Analyse ist die Fluoreszenz anfänglich hoch, da die DNA doppelsträngig (dsDNA) vorliegt. Die Fluoreszenz nimmt mit steigender Temperatur ab, wenn die DNA in Einzelstränge dissoziiert. Das beobachtete Schmelzverhalten ist für jede DNA-Probe charakteristisch.

Mithilfe von HRM kann der Rotor-Gene Q MDx Proben auf Grundlage von Sequenzlänge, GC-Gehalt und Komplementarität der DNA-Sequenz charakterisieren. HRM kann im Rahmen von Genotypisierungen eingesetzt werden, z. B. bei der Analyse von Insertionen/Deletionen oder Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) bzw. beim Screening auf unbekannte genetische Mutationen. HRM ist auch in der Epigenetik zur Detektion und Analyse des Methylierungsstatus der DNA nützlich. Außerdem können auch kleine Mengen Varianten-DNA vor dem Hintergrund einer Wildtypsequenz quantitativ nachgewiesen werden, wobei der Grenzwert der Sensitivität bei nur 5 % liegt. Dies ist beispielsweise bei der Untersuchung von somatischen Mutationen oder Änderungen des Methylierungsstatus von CpG-Inseln hilfreich.

HRM auf dem Rotor-Gene Q MDx unterstützt mehrere Anwendungen insbesondere:

- Identifizierung von Genkandidaten für genetische Prädispositionen
- Assoziationsstudien (Vergleiche von Fällen und Kontrollen, Genotyp und Phänotyp)
- Ermittlung der Allelprävalenz innerhalb einer Population oder einer Untergruppe
- Screening und Validierung von SNP
- Screening auf Verlust der Heterozygotie.
- DNA-Fingerprinting
- Charakterisierung von Haplotypblocks
- DNA-Methylierungsanalyse
- DNA-Kartierung
- Identifizierung von Spezies
- Mutationsforschung
- Ermittlung des Verhältnisses von somatischen Mutationen
- HLA-Typisierung

HRM ist einfacher und kostengünstiger als sondenbasierte Genotypisierungs-Assays. Anders als herkömmliche Methoden handelt es sich außerdem um ein System in einem geschlossenen Röhrchen, bei dem eine Kontamination mit PCR-Produkten vermieden wird. Die Ergebnisse nicht mit den herkömmlichen Methoden wie SSCP, DHPLC, RFLP und DNA-Sequenzierung vergleichbar.

10.1 Geräte

Der Rotor-Gene Q MDx bietet die folgenden Real-Time- und thermoptischen Funktionen, die für HRM benötigt werden.

- Beleuchtung mit hoher Intensität
- Hochempfindliche optische Detektion

- Schnelle Datenerfassung
- Präzisionsgesteuerte Probentemperatur
- Minimale Temperatur- und optische Schwankungen von einer Probe zur nächsten

10.2 Reaktionschemie

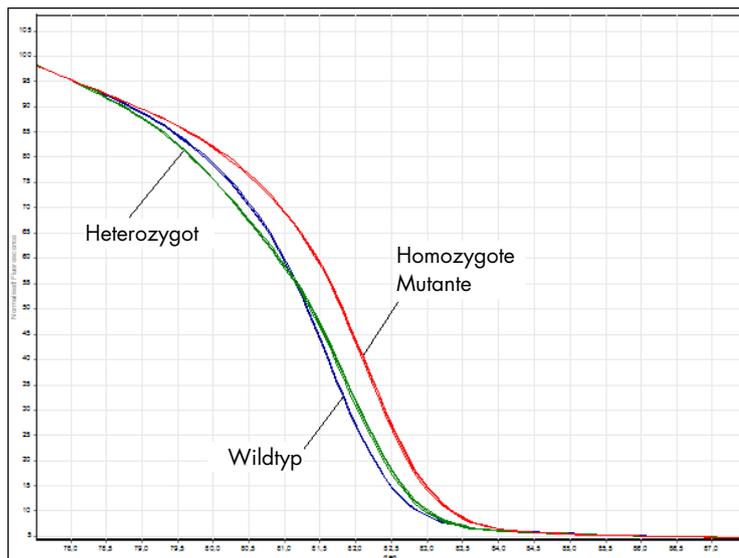
QIAGEN bietet das Type-it® HRM PCR-Kit für die HRM-Analyse von SNP und Mutationen und das EpiTect® HRM PCR-Kit für Methylierungsanalysen. Beide Kits enthalten den interkalierenden Farbstoff EvaGreen eines Drittherstellers. Das Kit enthält einen optimierten HRM-Puffer und HotStarTaq® Plus DNA-Polymerase, um unspezifische Amplifikationsprodukte zu vermeiden und zuverlässige Ergebnisse sicherzustellen.

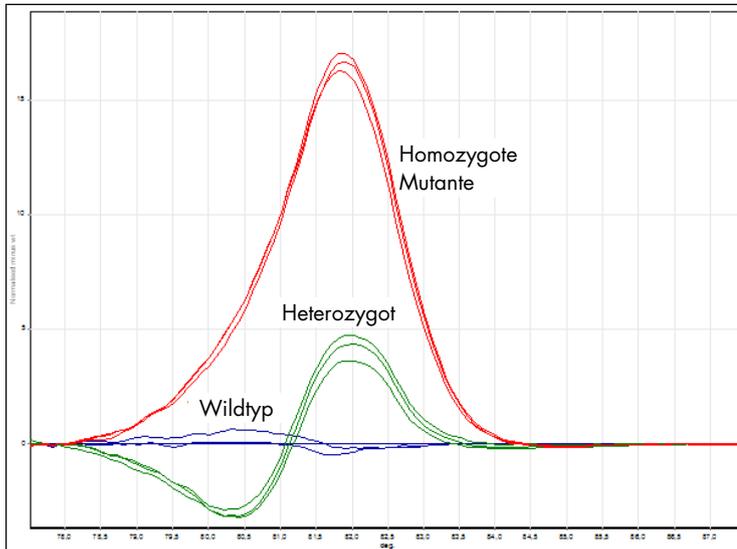
Hinweis: Alle QIAGEN HRM-Kits und -Reagenzien sind nur für Anwendungen auf Rotor-Gene Q Geräten vorgesehen, die im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch beschrieben werden.

10.3 Beispiel für SNP-Genotypisierung

Im folgenden Beispiel wurde das Type-it HRM-PCR-Kit zur HRM-Analyse des humanen SNP rs60031276 verwendet. Dabei sollten der homozygote Wildtyp, eine homozygote Mutante und heterozygote Formen unterschieden werden. Weitere technische Hinweise finden Sie im *Type-it HRM PCR Handbuch*.

A



B**C**

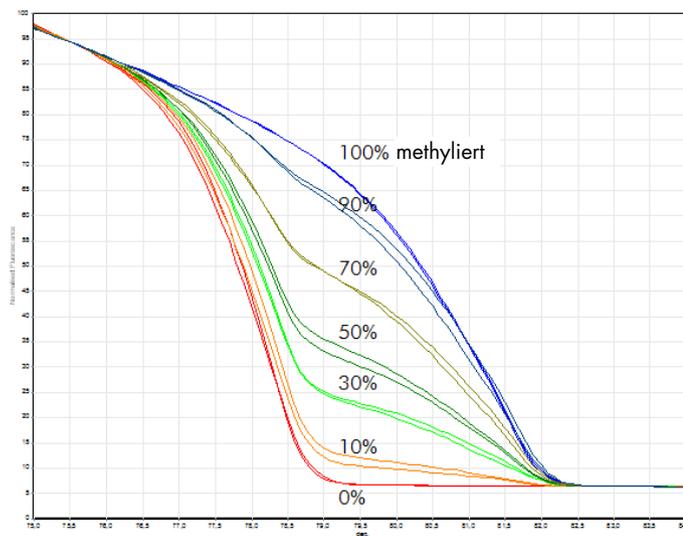
HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22	AA	Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23	unknown		homo AA	99,49
24	unknown		homo AA	99,76
28	AG	Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29	unknown		hetero AG	99,49
30	unknown		hetero AG	98,47
34	GG	Human SNP rs60031276	homo GG	100,00
35	unknown		homo GG	98,80
36	unknown		homo GG	99,53

SNP-Genotypisierung durch HRM. Der humane SNP rs60031276 (eine Substitution von A durch G) im Gen PPP1R14B (Proteinphosphatase 1, regulatorische (inhibitorische) Untereinheit 14B) wurde auf dem Rotor-Gene Q analysiert. Dazu wurden 10 ng Genom-DNA der verschiedenen Genotypen und das Type-it HRM-Kit verwendet. **A** zeigt standardmäßige, normalisierte Schmelzkurven und **B** ein auf die Wildtypprobe normalisiertes Differenzdiagramm des homozygoten Wildtyp (AA), der homozygoten Mutante (GG) und heterozygoten Proben (AG). **C** Die Genotypen der unbekanntenen Proben wurden von der Rotor-Gene Q Software korrekt zugewiesen.

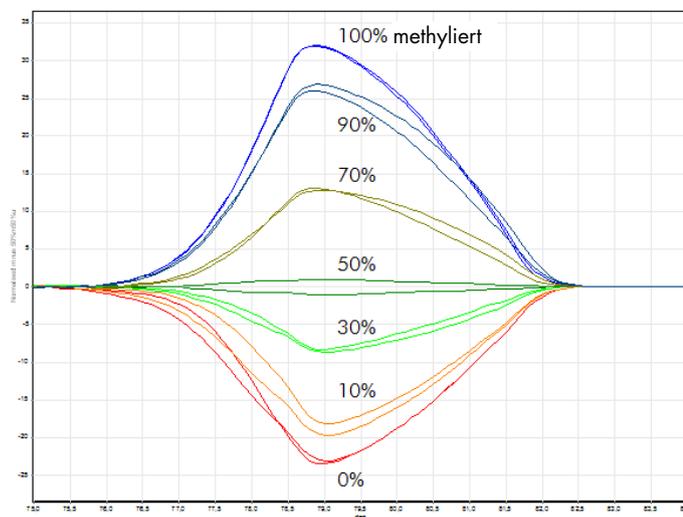
10.4 Beispiel für eine Methylierungsanalyse

Im dargestellten Beispiel wurde das EpiTect HRM-PCR-Kit für die analytische Unterscheidung zwischen Verhältnissen methylierter und nicht methylierter DNA verwendet. Weitere technische Hinweise finden Sie im *EpiTect HRM PCR Handbuch*.

A



B



Quantitative Methylierungsanalyse durch HRM. Verschiedene Verhältnisse methylierter und nicht methylierter DNA-APC (Adenomatous-polypsis-coli)-Proteine wurden mit der HRM-Methylierungsanalyse auf dem Rotor-Gene Q mit dem EpiTect HRM-Kit analysiert und unterschieden. **A** zeigt standardmäßige, normalisierte Schmelzkurven und **B** ein Differenzdiagramm, normalisiert auf die zu 50 % methylierte Probe.

10.5 Hinweise für erfolgreiche HRM-Analysen

Der Erfolg von HRM-Analysen hängt wesentlich von der jeweiligen Sequenz ab, die untersucht werden soll. Bestimmte Sequenzmotive, wie Haarnadelschleifen oder andere Sekundärstrukturen, lokalisierte Regionen mit einem ungewöhnlichen hohen oder niedrigen GC-Gehalt und Wiederholungssequenzen können einen Einfluss auf die Ergebnisse haben. Durch Verwendung der standardisierten Kits und der optimierten Protokolle von QIAGEN können jedoch viele der oben aufgeführten möglichen Probleme gelöst werden. Im Folgenden werden einige einfache Tipps beschrieben, die zum Erfolg beitragen.

Analyse kurzer DNA-Fragmente

Analysieren Sie keine Fragmente über 250 bp. Längere Produkte können zwar erfolgreich analysiert werden, die Auflösung ist jedoch gewöhnlich geringer. Dies liegt daran, dass eine einzige unterschiedliche Base das Schmelzverhalten eines 100-bp-Amplifikats stärker beeinflusst als das Schmelzverhalten eines 500-bp-Amplifikats.

Sicherstellen, dass die PCR nur das spezifische Produkt ergibt

Proben, die mit Post-PCR-Artefakten (z. B. Primer-Dimeren oder unspezifischen Produkten) kontaminiert sind, erschweren die Auswertung von HRM-Ergebnissen erheblich. Die HRM-Kits von QIAGEN sorgen für maximale Spezifität ohne Optimierung.

Ausreichende Template-DNA für Amplifikation

Bei der Fehlerbehebung von HRM-Analysen kann die Analyse von Real-Time-PCR-Daten sehr nützlich sein. Der C_T (Schwellenwertzyklus)-Wert in den Amplifikationsdiagrammen sollte nicht über 30 Zyklen betragen. Produkte, die mehr Zyklen zur Amplifikation brauchen (wegen einer niedrigen Template-Menge beim Start oder eines Template-Abbaus), ergeben gewöhnlich variabelere HRM-Ergebnisse wegen PCR-Artefakten.

Normalisierung der Template-Konzentration

Die für die Reaktion verwendete Template-Menge muss gleich bleiben. Normalisieren Sie die Startkonzentrationen, sodass die C_T -Werte aller Amplifikationsdiagramme sich nicht um mehr als drei Zyklen unterscheiden. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass sich die Input-Konzentrationen höchstens um das Zehnfache unterscheiden.

Prüfung auf aberrante Amplifikationsdiagramme

Vor der Durchführung der HRM-Analyse untersuchen Sie die Daten der Amplifikationsdiagramme sorgfältig auf anomale Verläufe der Amplifikationskurven. Ein flacher log-linearer oder ein zackiger Kurvenverlauf bzw. niedrige Endplateaus im Vergleich zu anderen Reaktionen können Hinweise auf eine unzureichende Amplifikation oder ein zu niedriges Fluoreszenzsignal (z. B. aufgrund einer zu niedrigen Primer-Konzentration) sein. Unzureichende Reaktionen können die Folge von Inhibitoren oder einer falsche Einrichtung der Reaktionen sein. HRM-Daten von solchen Proben können uneindeutig sein oder eine niedrige Auflösung besitzen. Um unzuverlässige Ergebnisse zu vermeiden, empfehlen wir Kits von QIAGEN für die Probenvorbereitung und HRM-Analyse.

Ähnliche Probenkonzentrationen nach der Amplifikation

Die Konzentration eines DNA-Fragments hat Auswirkungen auf die Schmelztemperatur (T_m). Aus diesem Grund müssen die DNA-Konzentrationen so ähnlich wie möglich sein. Bei der Analyse der PCR-Produkte müssen Sie sicherstellen, dass alle Reaktionen bis zur Plateauphase amplifiziert wurden. In der Plateauphase wurden alle Reaktionen ähnlich stark amplifiziert, unabhängig von der Startmenge. Hinweis: Bei unzureichenden Reaktionen liegt in der Plateauphase unter Umständen nicht die gleiche amplifizierte Menge vor, wenn die Assays nicht übereinstimmend eingerichtet wurden (z. B. zu niedrige Primer-Konzentration).

Einheitlichkeit der Proben

Alle Proben müssen das gleiche Volumen und die gleiche Farbstoffkonzentration besitzen. Das Denaturierungsverhalten der DNA wird von den Salzen im Reaktionsgemisch beeinflusst. Daher ist es wichtig, dass die Konzentration von Puffer, Mg und anderen Salzen in allen Proben so einheitlich wie möglich ist. Aus einem ähnlichen Grund sollten Sie nur identische Reaktionsröhrchen des gleichen Herstellers verwenden, um Variationen aufgrund der Dicke des Kunststoffes und jeglicher Autofluoreszenzeigenschaften zu vermeiden.

Ausreichende Datensammlung in den Phasen vor und nach der Schmelzphase

Erfassen Sie die HRM-Datenpunkte über einen ungefähren Bereich von 10 °C. Die beobachtete T_m sollte dabei in der Mitte dieses Bereichs liegen (siehe Abbildung auf Seite 10). Auf diese Weise zeichnen Sie genug Basislinienpunkte für eine effektive Kurvennormalisierung auf, erhöhen die Reproduzierbarkeit von Replikaten und erleichtern die Auswertbarkeit der Daten.

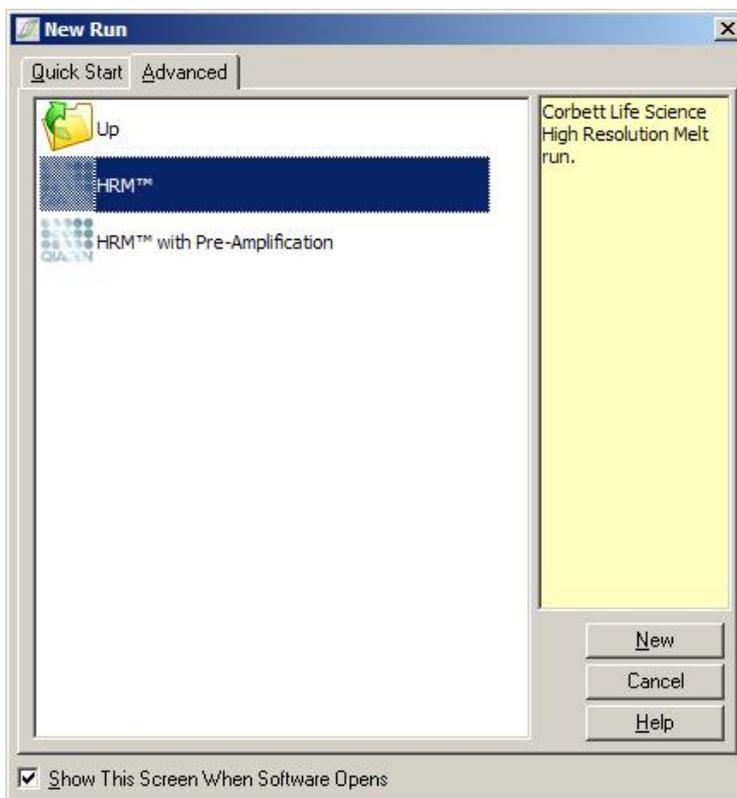
10.6 Probenvorbereitung

Bei der Aufreinigung und Lagerung der Proben sollte ein Probenabbau vermieden werden. Vermeiden Sie übermäßige Inhibitormengen, z. B. durch Ethanolverschleppung. Wir empfehlen, bei allen Proben die gleiche Template-Menge zu verwenden, um die HRM-Ergebnisse zu verbessern. Eine spektrophotometrische Bestimmung der DNA-Konzentration und -Reinheit wird empfohlen. Wir empfehlen die Verwendung von Kits von QIAGEN zur Probenvorbereitung.

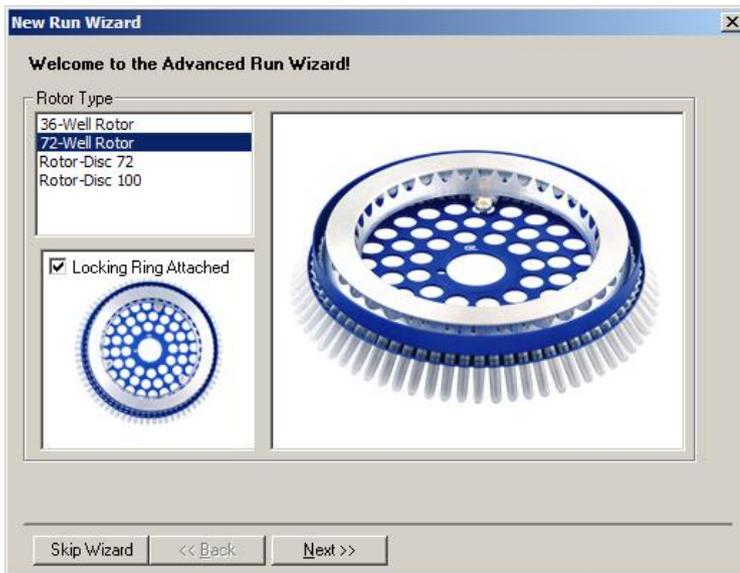
Hinweis: Bei 260 nm entspricht eine Extinktionseinheit 50 µg/ml DNA. Das Verhältnis der Extinktion bei 260 nm und 280 nm liegt bei reiner DNA bei 1,8.

10.7 Einrichtung der Software

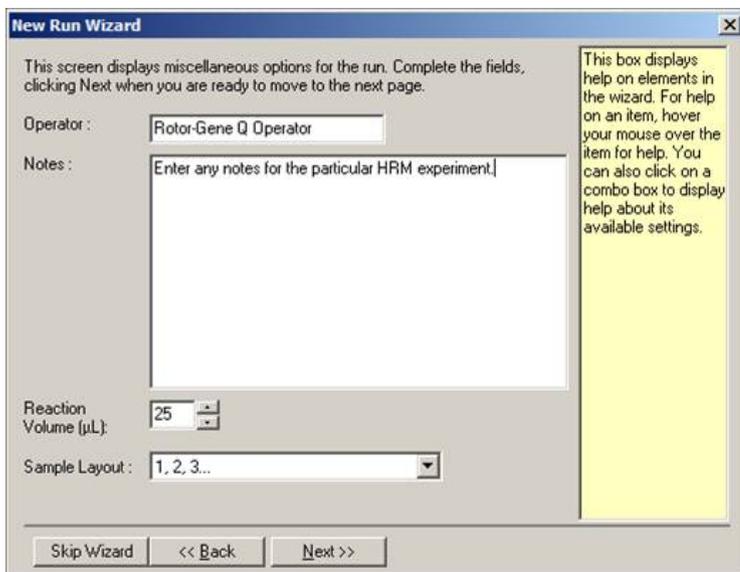
1. Öffnen Sie eine neue Laufdatei, Wählen Sie dazu New... (Neu) im Menü File (Datei).
Im Assistenten Advanced (Erweitert) wählen Sie HRM.



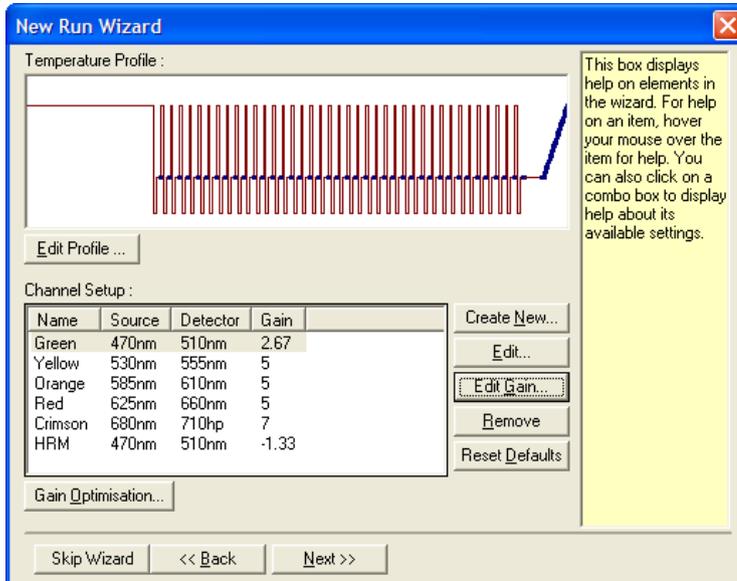
2. Legen Sie den Rotortyp fest (in diesem Beispiel ist es ein 72-Well Rotor). Stellen Sie sicher, dass der Schließring angebracht ist und das Kontrollkästchen Locking Ring Attached (Schließring angebracht) aktiviert ist. Erst dann fahren Sie mit dem nächsten Schritt fort.



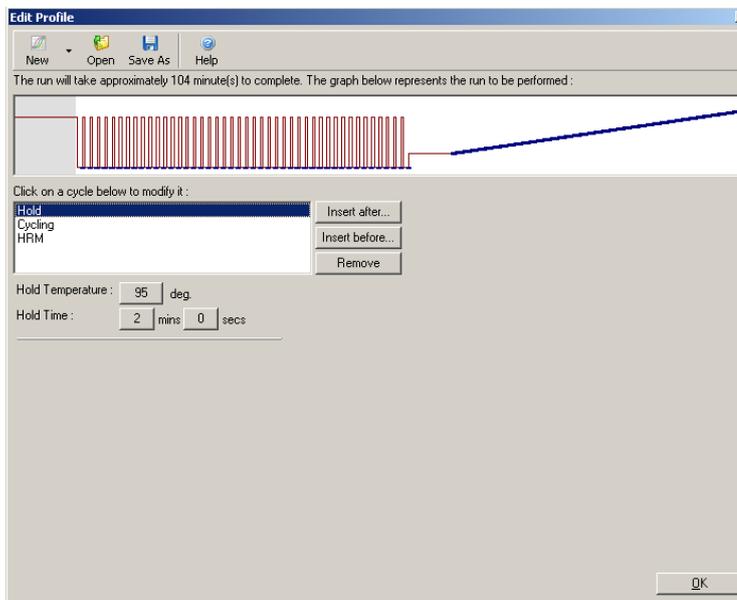
3. Legen Sie die Laufdetails fest. Geben Sie den Namen des Bedieners ein (optional) und jegliche Anmerkungen zum Experiment (optional). Wählen Sie das Reaktionsvolumen (Pflichtangabe) und das gewünschte Proben-Layout.



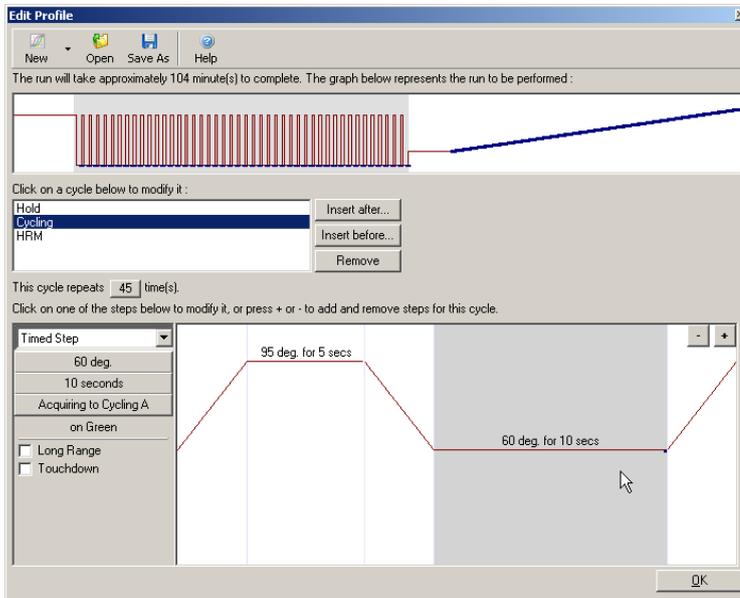
4. Klicken Sie auf die Schaltfläche Edit Profile... (Profil bearbeiten), um die Zeiten und Temperaturen der Reaktion zu ändern.



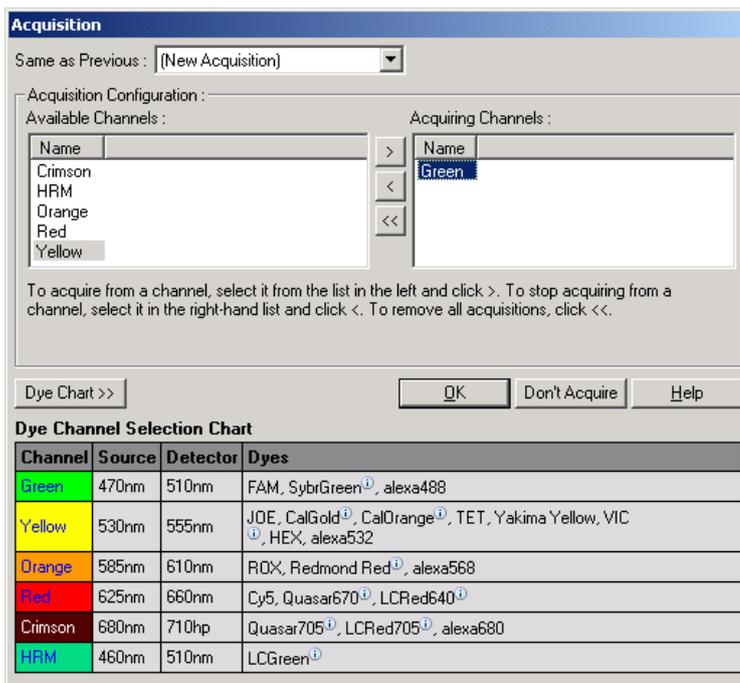
5. Legen Sie eine angemessene erste Haltedauer fest. Diese Dauer hängt vom Typ der verwendeten DNA-Polymerase ab. Das Type-it HRM-PCR-Kit und das EpiTect HRM-PCR-Kit erfordern eine Aktivierungsdauer von 5 Minuten. Die standardmäßige Aktivierungsdauer ist 10 Minuten.



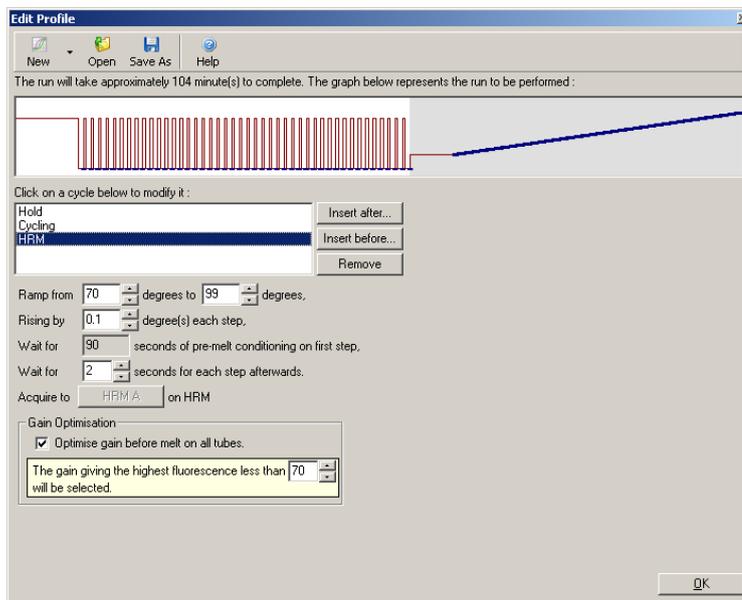
6. Ändern Sie die Zyklen je nach Anforderungen des Amplifikats.



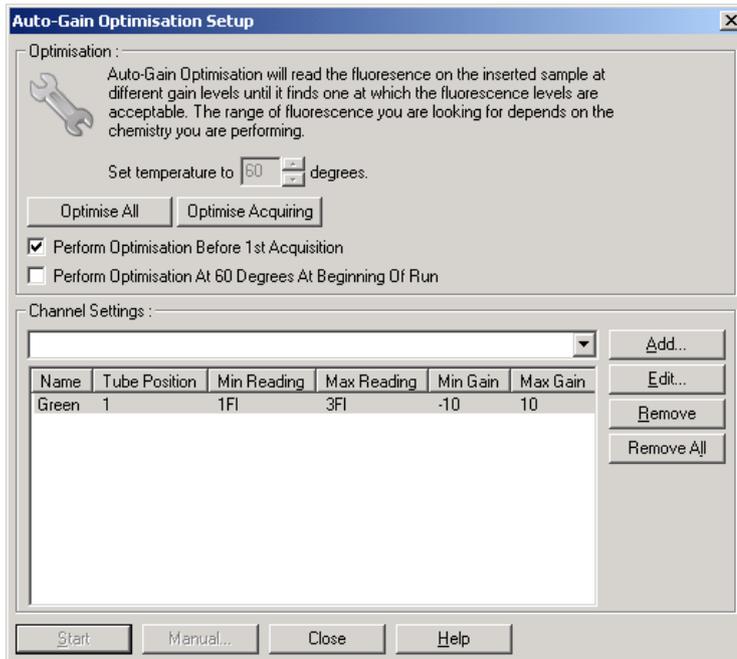
7. Stellen Sie sicher, dass die Fluoreszenzdaten erfasst werden. Erfassen Sie die Daten im grünen Kanal am Ende des Annealing-Schritts.



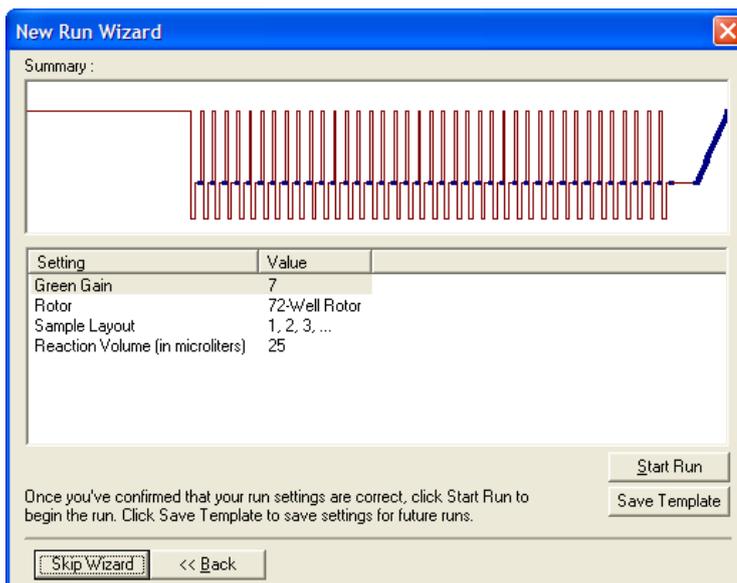
8. Legen Sie die Bedingungen des HRM-Laufs fest. Ändern Sie die Bedingungen je nach Anforderungen des Amplifikats. Bei den ersten Experimenten sollten Sie einen breiten Schmelzbereich einstellen. Verwenden Sie die theoretische T_m als Hinweis auf einen geeigneten Bereich. Wenn Sie die Schmelztemperatur des Produkts ermittelt haben, begrenzen Sie den Schmelzbereich auf 10 °C. Stellen Sie sicher, dass die Denaturierung 5 °C vor dem ersten Denaturierungsübergang beginnt. Die Standardrampe ist auf Schritte von 0,1 °C eingestellt. Jeder Schritt wird 2 s lange gehalten. Jeder Rampenschritt beträgt mindestens 0,05 °C mit einer Haltedauer von mindestens 1 s. Die Daten werden automatisch im HRM-Kanal erfasst. Die automatische Verstärkungsoptimierung wird standardmäßig durchgeführt. Die Software sucht automatisch nach der besten Verstärkungseinstellung, dass der höchste berichtete Fluoreszenzwert nicht über 70 Einheiten einer Skala bis 100 Einheiten beträgt. Hinweis: Der höchste berichtete Fluoreszenzwert kann geändert und maximal auf 100 Einheiten eingestellt werden.



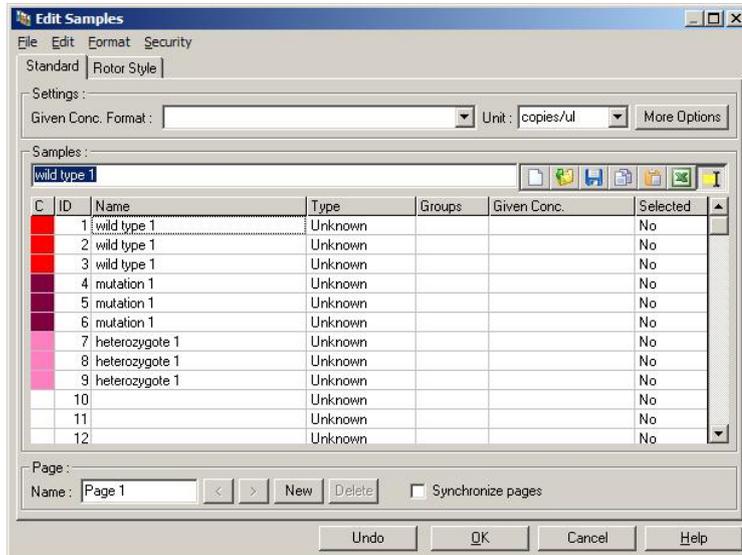
9. Optional: Einstellung der automatischen Verstärkungsoptimierung. Diese gilt nur für den Real-Time-Amplifikationsschritt und wird für den grünen Kanal eingestellt. Klicken Sie auf die Schaltfläche Optimize Acquiring (Erfassung optimieren) (um nur diese vom Lauf benutzte Kanäle zu verwenden). Die Optimierung erfolgt am besten kurz vor dem ersten Erfassungsschritt. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen Perform Optimization Before First Acquisition (Optimierung vor erster Erfassung durchführen). Die empfohlene Hintergrundfluoreszenz für interkalierende Farbstoffe liegt bei 1 bis 3 Fluoreszenzeinheiten. Um diese Einstellung zu ändern, klicken Sie den Kanalnamen in der Liste, um ihn auszuwählen. Klicken Sie dann auf die Schaltfläche Edit (Bearbeiten).



10. Starten Sie den Lauf, indem Sie auf Start Run (Lauf starten) klicken. Speichern Sie die Laufdatei auf Ihrem Computer.



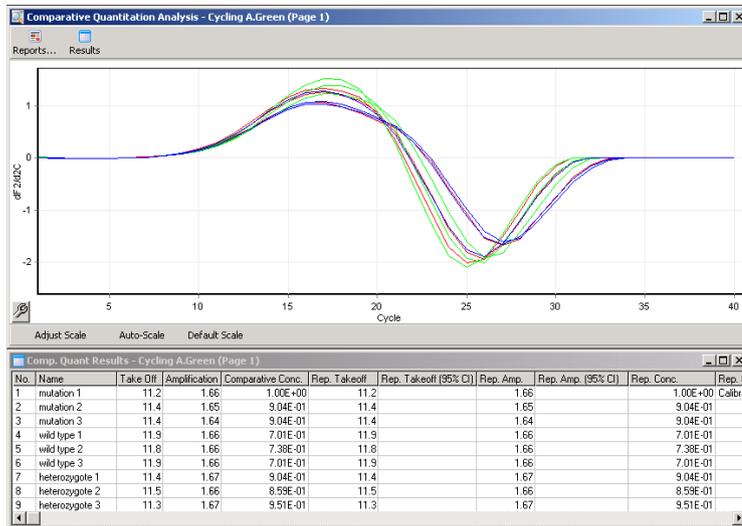
11. Bearbeiten Sie die Probenamen (optional). Die Probenamen können während oder nach einem Lauf bearbeitet werden.



10.8 Real-Time-PCR-Enzyme und -Kits

Es ist vorteilhaft, die Real-Time-PCR-Daten vor der HRM-Datenanalyse zu analysieren. Die Real-Time-PCR-Daten können Hinweise auf unzureichende Assay-Leistungen liefern. Durch Identifizierung dieser Ausreißer und dem Ausschluss aus der folgenden HRM-Analyse kann die Effektivität der HRM-Analyse insgesamt deutlich verbessert werden, da PCR-Produkte einer schlechten Qualität schlechte HRM-Ergebnisse liefern. Wir empfehlen, bei der Analyse von quantitativen Real-Time-PCR-Daten wie folgt vorzugehen.

1. Analysieren Sie die Real-Time-Daten mit der Option Quantitation (Quantifizierung) im Fenster Analysis (Analyse). Liegen jegliche C_T -Werte über 30, gilt die Amplifikation der betroffenen Reaktionen als zu spät. Diese Proben müssen mit besonderer Aufmerksamkeit analysiert oder als Ausreißer aus der Analyse entfernt werden. Eine späte Amplifikation liegt oft an zu wenig Start-Template und/oder zu viel Probenabbau.
2. Prüfen Sie die Intensität der Endpunkt-Fluoreszenz. Liegt die Endpunkt-Fluoreszenz in einem Amplifikationsdiagramm weit unterhalb der Werte in den meisten Diagrammen, sollten diese Proben aus der Analyse ausgeschlossen werden, auch wenn der C_T -Wert unter 30 liegt. Eine niedrige Endpunktfuoreszenz kann ein Hinweis auf eine inkorrekte Farbstoffmenge, inkorrekte Mengen der Reaktionskomponenten (z. B. Primer) oder die Gegenwart von Inhibitorenaktivität sein.
3. Verwenden Sie die Option Comparative Quantitation (Vergleichende Quantifizierung) im Menü Analysis (Analyse), um die Reaktionseffizienz jeder Probe zu erhalten. Ist die Effizienz nicht wie bei den anderen Reaktionen des Experiments oder liegt sie unter ungefähr 1,4, dann sollte die Reaktion als Ausreißer ausgeschlossen werden.



Ergebnisse der vergleichenden Quantifizierung. Die Reaktionseffizienz wird in der Spalte „Amplifikation“ (Amplifikation) als Punktzahl bis 2 (2 = 100 % Effizienz) angegeben.

Hinweis: Bei Verdacht auf Gegenwart von Primer-Dimeren oder unspezifischen Produkten, bewerten Sie die Reaktionen mithilfe einer Ableitung der Option Melt (Schmelzen) im Fenster Analysis (Analyse). Stellen Sie sicher, dass nur ein Peak vorhanden ist, der auf ein Einzelprodukt verweist. Bestätigen Sie falls möglich mit einem Gel, dass nur ein Amplifikationsprodukt vorhanden ist. Ist mehr als ein Produkt vorhanden, muss die Reaktion wiederholt oder erneut optimiert werden.

10.9 HRM-Datenanalyse

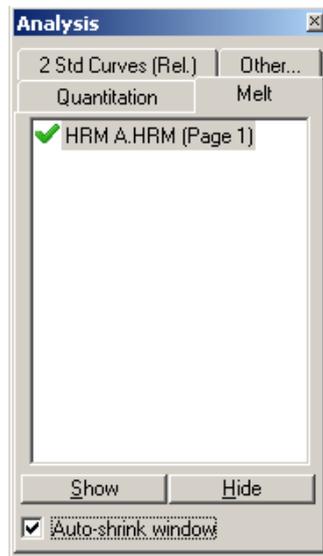
Im Rahmen einer HRM-Analyse können die Genotypen visuell oder automatisch zugewiesen werden. Die Ergebnisse können als normalisiertes Schmelz- oder als Differenzdiagramm angezeigt werden. Die Verschiebung (homozygot) und die Änderung der Kurvenform (heterozygot) der normalisierten Kurven sind eine grundlegende Darstellung der unterschiedlichen Genotypen.

Die Differenzdiagramme unterstützen die visuelle Auswertung. In den Differenzdiagrammen wird der Fluoreszenzunterschied einer Probe im Vergleich zu einer ausgewählten Kontrolle gegen die Temperatur aufgetragen. Differenzdiagramme sind eine alternative Darstellung der Unterschiede zwischen den Schmelzkurvenübergängen.

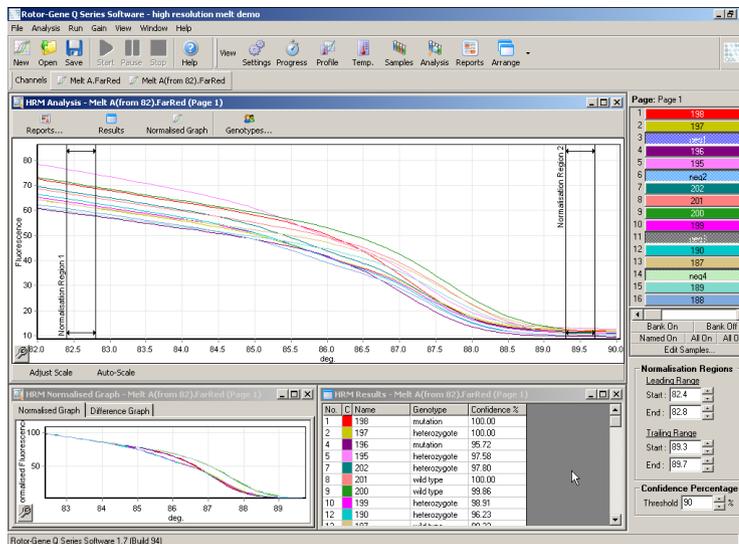
Hinweis: Die erste Ableitung der Schmelzkurvenanalyse (die als Standardoption Melt (Schmelzen) im Fenster Analysis (Analyse) verwendet wird) ist für die HRM-Analyse nicht geeignet. Dies liegt daran, dass jegliche Datenabweichung ein künstliches Rauschen erzeugt und die Datenauswertung erschwert.

Im Folgenden werden die Schritte der Analyse von HRM-Ergebnissen mit der Rotor-Gene Q Software beschrieben.

1. Wählen Sie im Fenster Analysis (Analyse) die Option HRM.

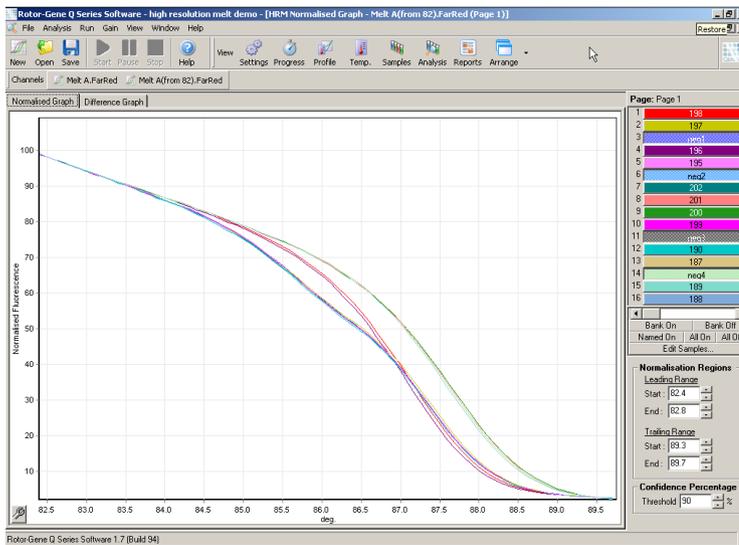


2. In den angezeigten Fenstern werden die Rohdaten, das normalisierte Diagramm und die Ergebnisse angezeigt. Im Rohdatenfenster können die Regionen für die Normalisierung angepasst werden. Eine Normalisierung erlaubt den Vergleich der Kurven bei gleicher Start- und Endfluoreszenz, was die Auswertung und Analyse unterstützt. Es stehen zwei Grenzlinien pro Region zur Verfügung, die standardmäßig auf den Enden der Kurven positioniert sind. Die Datenpunkte innerhalb dieser Grenzlinien dienen zur Normalisierung der Fluoreszenz (nur x-Achse) im Startbereich (Region 1) und im Endbereich (Region 2) des Schmelzdiagramms. Die Daten außerhalb der eingestellten Regionen werden ignoriert. Passen Sie die Regionen so an, dass sie Basislinienpunkte umfassen, die für die Phasen vor bzw. nach der Schmelzphase repräsentativ sind. Durch Verbreiterung der Regionen (durch Anklicken und Ziehen) kann die Software die Steigung der Basislinie anpassen. Eine gute Normalisierung kann nur dann erzielt werden, wenn die Normalisierungsregionen nicht in die Schmelzphase hinein verbreitert werden.



Hinweis: Wir empfehlen, die Grenzlinien nur dann zu verschieben, wenn Bereiche der Schmelzkurve vermieden werden müssen. Die Verschiebung der Grenzlinien auf die Schmelzkurvenübergänge hin kann Auswirkungen auf die Subtraktionsdiagramme und prozentualen Vertrauenswerte haben.

3. Im Fenster Normalised Graph (Normalisiertes Diagramm) werden die normalisierten Schmelzkurven angezeigt. Proben können auch in Form eines Differenzdiagramm der Unterschiede zu einer Kontrolle dargestellt werden.



4. Klicken Sie auf die Schaltfläche Genotypes... (Genotypen), um die Genotypen festzulegen. Geben Sie alle Namen der Genotypkategorien ein und wählen Sie je eine repräsentative Probe von der Probenliste.

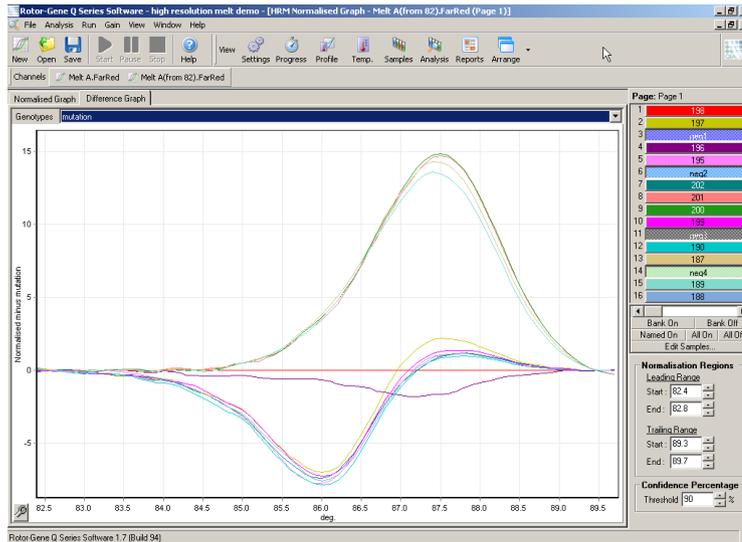
The 'HRM Genotypes' dialog box contains a table with the following data:

Genotype	Control
mutation	198
wild type	201
heterozygote	197

Buttons: Clear, OK, Cancel, Help

The 'Select a Control' dialog box prompts the user to select a representative control. It shows a list of samples with '1) 198' selected. Buttons: Select, Select None, Cancel

- Wählen Sie die Registerkarte Difference Graph (Differenzdiagramm), um das Differenzdiagramm anzuzeigen. Wählen Sie dann im Dropdown-Menü oben im Fenster den Genotyp, mit dem Sie alle anderen Proben vergleichen möchten. Im dargestellten Beispiel werden alle Proben von einer Durchschnittskurve aller Proben mit der Kennzeichnung Mutation 1 subtrahiert.



- Die Genotypen werden von der Software im Fenster Results (Ergebnisse) automatisch zugewiesen. Zur Prüfung der Integrität der automatisch zugewiesenen Ergebnisse wird ein Vertrauenswert angegeben. Der Schwellenwert, ab dem die Zuweisung automatisch erfolgen kann, kann bearbeitet werden. Proben, die unter diesen eingestellten Schwellenwert fallen, werden als Variation gekennzeichnet und müssen näher untersucht bzw. erneut getestet werden.

No.	C	Name	Genotype	Confidence %
1	198	mutation	mutation	100.00
2	197	heterozygote	heterozygote	100.00
4	196	mutation	mutation	95.72
5	195	heterozygote	heterozygote	97.58
7	202	heterozygote	heterozygote	97.80
8	201	wild type	wild type	100.00
9	200	wild type	wild type	99.86
10	199	heterozygote	heterozygote	98.91
12	190	heterozygote	heterozygote	96.23
13	187	wild type	wild type	99.23
15	188	wild type	wild type	97.59

Normalisation Regions

Leading Range
 Start: 82.4
 End: 82.8

Trailing Range
 Start: 89.3
 End: 89.7

Confidence Percentage
 Threshold: 90 %

11 Fehlerbehebung

Dieser Abschnitt enthält Informationen zur Fehlerbehebung bei Verwendung eines Rotor-Gene Q MDx Systems.

Wenn Sie weitere Hilfe benötigen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von QIAGEN. Verwenden Sie dafür folgende Kontaktinformationen:

Website: support.qiagen.com

Wenn Sie den Technischen Service von QIAGEN wegen eines Fehlers der Rotor-Gene Q MDx Software kontaktieren möchten, notieren Sie die Schritte, die zu diesem Fehler geführt haben und alle in den Dialogfeldern angezeigten Informationen. Diese Informationen helfen dem Technischen Service von QIAGEN, den Fehler zu beheben.

Wenn Sie den Technischen Service von QIAGEN wegen eines Fehlers kontaktieren, halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit:

- Seriennummer, Typ und Version des Rotor-Gene Q MDx
- Softwareversion (falls vorhanden)
- Zeitpunkt, an dem der Fehler zum ersten Mal auftrat
- Häufigkeit, mit der der Fehler auftritt (d. h. vorübergehend auftretender oder dauerhafter Fehler)
- Detaillierte Beschreibung der Fehlersituation
- Foto des Fehlers, falls möglich
- Kopien von Logdateien

Diese Informationen verhelfen Ihnen und Ihrem Ansprechpartner beim Technischen Service von QIAGEN zu einer möglichst effektiven Bearbeitung Ihres Problems.

Hinweis: Informationen zu den aktuellsten Software- und Protokollversionen finden Sie unter www.qiagen.com. In einigen Fällen sind möglicherweise Updates zur Behandlung spezifischer Probleme verfügbar.

11.1 Log-Archivdateien

Die Software protokolliert jeden Lauf zusammen mit den Diagnostikinformationen im Repository Log Archive (Log-Archiv). Mit der Option Help, Send Support Email (Hilfe, E-Mail an Support senden) können Sie eine E-Mail mit allen erforderlichen Diagnostikinformationen an den Technischen Service von QIAGEN senden (siehe Abschnitt 6.12.1).

Um Speicherplatz zu sparen, werden nur die Log-Archive der letzten 60 Läufe gespeichert. Ältere Log-Archive werden bei Anlegen von neuen Log-Archiven überschrieben.

11.2 Hardware- und Softwarefehler

11.2.1 Fehlerbehebung beim HRM

Kommentare und Vorschläge

HRM kann nicht durchgeführt werden

Das Rotor-Gene Q MDx Modell ist nicht mit der HRM-Funktion ausgestattet. Kontaktieren Sie Ihren örtlichen Vertreter von QIAGEN.

Keine HRM-Daten erhalten

Falsche Einrichtung Überprüfen Sie die Filtereinstellungen.
Überprüfen Sie, ob der Rotortyp korrekt ist.
Überprüfen Sie, ob die korrekten Reagenzien verwendet wurden.
Überprüfen Sie, ob die Reaktion korrekt eingerichtet wurde.
Messen Sie eine Positivkontrolle (d. h. führen Sie einen Assay durch, der bekanntermaßen positive Ergebnisse liefert).

Diagramme sind zackig

Schlechte oder keine Amplifikation Vergewissern Sie sich, dass die korrekten Protokolle und Reagenzien verwendet wurden. Wir empfehlen die Verwendung von Kits von QIAGEN für die HRM-Analyse.
Überprüfen Sie, ob die Reaktion korrekt eingerichtet wurde.
Überprüfen Sie die Zyklusbedingungen.
Überprüfen Sie die Startqualität und -quantität des Templates. Wir empfehlen die Verwendung von Kits von QIAGEN zur Probenvorbereitung.

Amplifikations- bzw. Schmelzdiagramme sind gesättigt

Verstärkung ist zu hoch eingestellt. Verwenden Sie die Auto-Gain Optimisation (Automatische Verstärkungsoptimierung) (siehe Seite 63).

Prozentuale Vertrauenswerte haben sich geändert

Die Normalisierungsregionen sind durch Anklicken und Ziehen verschoben worden. Verschieben Sie die Normalisierungsregionen nur dann, wenn dies notwendig ist, um die Schmelzkurve zu vermeiden.

Daten enthalten Ausreißer

Falsche Reaktionseinrichtung Überprüfen Sie, ob die korrekten Reagenzien verwendet wurden.
Überprüfen Sie, ob die verwendeten Röhrchen alle gleich sind.
Inhibitoren in der Probe Überprüfen Sie, ob der gleiche Master-Mix in allen Proben verwendet wurde.
Zu wenig Template oder Abbau von Template Überprüfen Sie die Startqualität und -quantität des Templates.

11.3 Fehler- und Warnmeldungen

11.3.1 Allgemeine Gerätefehler

Fehlermeldung	Kommentare und Vorschläge
Can't open the serial port <COMPORT> (Serieller Anschluss <COM-ANSCHLUSS> kann nicht geöffnet werden)	Dieser Fehler tritt bei Start der Software auf, wenn die Software nicht über den konfigurierten COM-Anschluss mit dem Gerät kommunizieren kann. Die Ursache sind häufig fehlerhafte Kabel, lose Stecker, fehlerhafte serielle Anschlüsse, fehlerhafte USB-Anschlüsse, ein Problem mit dem USB-Treiber oder mit dem USB-Seriell-Konvertertreiber. Stellen Sie die Verbindung wieder her oder tauschen Sie das Kabel aus. Installieren Sie die jeweiligen Treiber neu. Starten Sie die Software im Virtual Mode (Virtueller Modus) und wählen Sie die Schaltfläche Setup/Auto-Detect (Einrichten/automatisch erkennen) im Menü File (Datei), um den konfigurierten COM-Anschluss zurückzusetzen.
Chamber lid open (Kammerdeckel geöffnet) Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software. (Der Lauf kann nicht fortgeführt werden; der Kammerdeckel wurde während des Laufs geöffnet. Bitte setzen Sie das Gerät zurück und starten Sie die Software neu.)	Dieser Fehler kommt vor, wenn die Software feststellt, dass der Deckel mitten in einem Lauf offen steht. Setzen Sie das Gerät zurück und starten Sie die Software neu.
Chamber lid open (Kammerdeckel geöffnet) The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue. (Der Deckel der Gerätekommer ist geöffnet. Bitte schließen Sie den Deckel und klicken Sie auf Continue (Fortfahren)).	Dieser Fehler kommt vor, wenn der Benutzer versucht, einen Lauf zu starten, während der Gerätedeckel geöffnet ist. Schließen Sie den Deckel des Geräts und klicken Sie auf Continue (Fortfahren).
Communication corrupted (Kommunikation fehlerhaft)	Dieser Fehler tritt auf, wenn die vom Gerät empfangenen Daten nicht mit dem erwarteten Muster übereinstimmen. Um das bei dem Gerät vorliegende Problem zu identifizieren, sind weitere Untersuchungen durch einen Außendienst-Spezialisten von QIAGEN erforderlich. Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler oder den Technischen Service von QIAGEN.
Communication out of sequence (Falsche Kommunikationsreihenfolge) Instrument has received data from the machine that is out of sequence. (Das Gerät hat Daten von der Maschine empfangen, die nicht die korrekte Reihenfolge haben.)	Dieser Fehler tritt auf, wenn die vom Gerät empfangenen Daten nicht die korrekte Reihenfolge haben. Um das bei dem Gerät vorliegende Problem zu identifizieren, sind weitere Untersuchungen durch einen Außendienst-Spezialisten von QIAGEN erforderlich. Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler oder den Technischen Service von QIAGEN.
Communication protocol error (Fehler Kommunikationsprotokoll) A communication protocol error occurred with this run. (In diesem Lauf ist ein Fehler im Kommunikationsprotokoll aufgetreten.)	Dieser Fehler tritt auf, wenn das in der Firmware konfigurierte Kommunikationsprotokoll nicht mit dem erwarteten Protokoll übereinstimmt. Um das bei dem Gerät vorliegende Problem mit dem Kommunikationsprotokoll zu identifizieren, sind weitere Untersuchungen durch einen Außendienst-Spezialisten von QIAGEN erforderlich.

Fehlermeldung

Kommentare und Vorschläge

Detector motor jam, stopped machine (Detektormotor blockiert, Gerät gestoppt)

Dieser Fehler kann in kalten Klimazonen vorkommen, wenn das Rotor-Gene Q MDx sofort nach der Lieferung eingeschaltet wird.

In einem solchen Fall lassen Sie das Gerät mindestens eine Stunde lang auf Raumtemperatur aufwärmen, bevor Sie es einschalten.

Bitte setzen Sie sich mit Ihrem Händler oder dem Technischen Service von QIAGEN in Verbindung, falls das Problem nicht behoben werden kann.

Fatal hardware malfunction (Schwere Fehlfunktion der Hardware)

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. (Das Gerät hat eine schwere Fehlfunktion der Hardware festgestellt. Das Gerät muss von Ihrem Händler gewartet werden. Versuchen Sie auf keinen Fall, das Gerät vor der Wartung erneut zu verwenden.)

Dieser Fehler kommt vor, wenn die Software eine schwere Fehlfunktion der Hardware feststellt und ein Schutzverfahren auslöst, mit dem das Gerät abgeschaltet wird.

Schalten Sie das Gerät sofort aus und setzen Sie sich mit Ihrem Händler oder dem Technischen Service von QIAGEN in Verbindung.

Machine error (Gerätefehler)

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. (Dieser Lauf wurde abgebrochen, da nicht behebbare Gerätefehler aufgetreten sind. Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler, falls dies wieder vorkommt. Hängen Sie dann eine Supportarchivdatei an.)

Dieser Fehler kommt vor, wenn die Software Fehler im Gerät feststellt, die das Gerät nicht beheben kann. Die Software hat den Lauf abgebrochen.

Versuchen Sie einen neuen Lauf. Falls die Störung weiterhin bestehen bleibt, kontaktieren Sie Ihren Händler oder den Technischen Service von QIAGEN und halten Sie die Supportarchivdatei bereit.

Machine unplugged (Gerät ausgesteckt)

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. (Das Gerät reagiert nicht und zeigt die Meldung <FEHLERMELDUNG> an. Dabei handelt es sich um einen nicht behebbaren Fehler. Setzen Sie das Gerät zurück und starten Sie die Software neu.)

Dieser Fehler kommt vor, wenn das Gerät über die festgelegte Zeitüberschreitungsdauer nicht mit der Software kommuniziert. Dies liegt oft an einem Gerätefehler oder an übermäßiger Aktivität des PC, die zu einem Verlust eines Pakets führt.

Zu den häufigen softwarebedingten Ursachen gehören prozessorintensive Aufgaben (z. B. Virenschutzprogramme, geplante Virenskans, drahtlose Karten oder Infrarot-Karten).

Deaktivieren bzw. deinstallieren Sie die relevante prozessorintensive Software/Aufgabe.

Setzen Sie das Gerät zurück und starten Sie die Software neu.

Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler oder den Technischen Service von QIAGEN, falls das Problem bestehen bleibt.

Machine unplugged (Gerät ausgesteckt)

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. (Das Gerät ist nicht über den <ANSCHLUSS> mit dem Computer verbunden. Schließen Sie das serielle Kabel wieder hinten am Computer an und klicken Sie auf Continue (Fortfahren)).

Dieser Fehler kommt vor, wenn die Kommunikation über den seriellen oder USB-Anschluss abbricht.

Schließen Sie das serielle bzw. USB-Kabel wieder auf der Rückseite des Computers an und klicken Sie auf die Schaltfläche Continue (Fortfahren).

Fehlermeldung	Kommentare und Vorschläge
Object variable or with block variable not set (Objektvariable oder Variable für With-Block nicht gesetzt)	<p>Dieser Fehler kann beim Starten der Software vorkommen, wenn die Vorlagendatei für das Experiment beschädigt wurde. Dies kann vorkommen, wenn die Software/der Computer nicht ordnungsgemäß heruntergefahren wurde, z. B. bei einem Stromausfall.</p> <p>Löschen Sie die Datei C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret und starten Sie die Software neu.</p>
Rotor speed failure (Rotorgeschwindigkeitsfehler) Time out while setting the rotor speed. (Zeitüberschreitung bei der Einstellung der Rotorgeschwindigkeit.)	<p>Dieser Fehler kommt vor, wenn die Software versucht, die Rotorgeschwindigkeit einzustellen, die Zielgeschwindigkeit jedoch nicht innerhalb des zulässigen Zeitintervalls einstellen kann.</p> <p>Um das bei dem Gerät vorliegende Problem zu identifizieren, sind weitere Untersuchungen durch einen Außendienst-Spezialisten von QIAGEN erforderlich.</p> <p>Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler oder den Technischen Service von QIAGEN.</p>
Serial port in use (Serieller Anschluss besetzt) The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry. (Der serielle Anschluss wird aktuell von einer anderen Anwendung verwendet. Schließen Sie alle Anwendungen, insbesondere Kommunikations- und Synchronisierungs-Software und versuchen Sie es erneut.)	<p>Dieser Fehler kommt vor, wenn die Software versucht, über den konfigurierten COM-Anschluss eine Verbindung zum Gerät herzustellen, der Anschluss jedoch von einer anderen Software verwendet wird.</p> <p>Schließen Sie alle Anwendungen, insbesondere Kommunikations- und Synchronisierungs-Software und versuchen Sie es erneut.</p>
Shutdown timeout (Zeitüberschreitung bei Abschaltung) The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software. (Das Gerät hat sich nicht innerhalb des erwarteten Zeitintervalls abgeschaltet. Bitte setzen Sie das Gerät und die Software zurück.)	<p>Dieser Fehler kommt vor, wenn die Software einen Befehl zum Herunterfahren des Geräts ausgegeben hat, das Gerät sendet die Daten nach einer erwarteten Toleranzperiode jedoch wieder zurück.</p> <p>Setzen Sie das Gerät zurück und starten Sie die Software neu.</p>
Temperature protection activated (Temperaturschutz aktiviert) 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. (Das Gerät hat festgestellt, dass die Kammertemperatur über den sicheren Wert gestiegen ist. Daher wurde ein Geräteschutzmodus ausgelöst. Bitte schalten Sie das Gerät aus. Falls das Problem bestehen bleibt, wenden sich an Ihren Händler.)	<p>Dieser Fehler kommt vor, wenn die Software feststellt, dass die Kammertemperatur über den sicheren Wert hinaus gestiegen ist. Daher wird ein Geräteschutzverfahren aktiviert.</p> <p>Schalten Sie das Gerät sofort aus und setzen Sie sich mit Ihrem Händler oder dem Technischen Service von QIAGEN in Verbindung.</p>

Fehlermeldung

Kommentare und Vorschläge

Thermistor is open (Thermistor ist offen)

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. (Das Gerät hat festgestellt, dass der Thermistor offen ist. Um eine Gerätebeschädigung zu vermeiden, hat das Gerät sich abgeschaltet. Falls dies wieder vorkommt, wenden Sie sich an Ihren Händler.)

Dieser Fehler kommt vor, wenn die Software feststellt, dass der Thermistor offen ist und daher keine Temperaturen messen kann. In einem solchen Fall aktiviert die Software ein Geräteschutzverfahren zur Abschaltung des Geräts aus.

Schalten Sie das Gerät sofort aus und setzen Sie sich mit Ihrem Händler oder dem Technischen Service von QIAGEN in Verbindung.

Unrecoverable errors occurred (Nicht behebbare Fehler)

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. (Dieser Lauf wurde abgebrochen, da nicht behebbare Gerätefehler aufgetreten sind. Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler, falls dies wieder vorkommt. Hängen Sie dann eine Supportarchivdatei an.)

Dieser Fehler tritt mitten in einem Lauf auf, wenn die Software alle möglichen Versuche zur Wiederherstellung durchgeführt hat aber letztlich nicht erfolgreich war.

Um das bei dem Gerät vorliegende Problem zu identifizieren, sind weitere Untersuchungen durch einen Außendienst-Spezialisten von QIAGEN erforderlich.

Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler oder den Technischen Service von QIAGEN.

11.3.2 Meldungen der Rotor-Gene Q Software

Im Folgenden ist werden Bedien-, Warn- und Fehlermeldungen aufgelistet, die beim Betrieb der Rotor-Gene Q Software und Hardware auftreten können. Variable Teile der Meldung, z. B. eine charakteristische Fehlerbeschreibung, werden in Klammern angegeben (z. B. < FEHLERBESCHREIBUNG >).

Meldungstext

Allgemeine Meldungen

- 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. (Für diesen Rohdatenkanal gibt es bereit eine Seite. Wenn Sie diese Seite wirklich neu anlegen möchten, müssen Sie den Rohdatenkanal erst mit der Schaltfläche Options (Optionen) löschen. Versuchen Sie es dann erneut.)
- 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. (Es ist ein schwerwiegendes Problem aufgetreten und die Software musste sich schließen. Nach Klicken von OK wird die aktuelle Arbeit gespeichert und das Gerät falls möglich ausgeschaltet. Wenn dieses Problem bestehen bleibt, wenden Sie sich bitte an Ihren Händler.)
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. (Diese Seite kann nicht gelöscht werden. Es muss immer mindestens eine Probenseite geben.)
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry. (Verbindung zum Gerät über den seriellen Anschluss <COM-ANSCHLUSS> kann nicht hergestellt werden. Überprüfen Sie, ob das Gerät ordnungsgemäß hinten am Computer angeschlossen ist. Dann versuchen Sie es erneut.)
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. (Der serielle Anschluss <COM-ANSCHLUSS> kann nicht geöffnet werden, um eine Verbindung zum Gerät herzustellen. Überprüfen Sie, ob irgendeine Kommunikations-Software läuft. Dann versuchen Sie es erneut.)

Meldungstext

- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. (Konnte den Lauf nicht speichern, da einige Daten im Formular nicht gültig sind. Bitte überprüfen sie die Einträge und versuchen Sie es erneut.)
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. (Die Datei konnte nicht gespeichert werden. Bestätigen Sie, dass genug Speicherplatz auf dem Datenträger vorhanden ist und dass der Datenträger fehlerfrei ist.)
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. (Die E-Mail-Anwendung konnte nicht gestartet werden. Bestätigen Sie, dass die Anwendung korrekt auf dem Computer installiert worden ist.)
- 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. (Während des Laufs ist der Fehler <FEHLERBESCHREIBUNG> aufgetreten. In der Registerkarte Messages (Meldungen) im Fenster Run Settings (Laufeinstellungen) wird eine Meldung protokolliert.)
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. (Geräte wurde nicht erkannt. Bitte stellen Sie sicher, dass eine ordnungsgemäße Verbindung zum Gerät besteht und das Gerät eingeschaltet ist.)
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. (Wegen eines vorherigen Fehlers ist die Protokollfunktion zur Zeit deaktiviert. Archivprotokolle können erst wieder nach dem Neustart der Software angezeigt werden.)
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. (Nicht alle Proben konnten normalisiert werden, da die Fluoreszenzintensität zu niedrig war.)
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. (Es können nur Läufe importiert werden, die mit dem aktuellen Rotor durchgeführt wurden.)
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. (Hinweis: Die Protokolldateien des aktuellen Laufs stehen erst nach Abschluss des Laufs zur Verfügung.)
- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. (Bitte geben Sie eine gültige Zahl für Wiederholungen ein. Die Zahl muss größer als 0 sein.)
- 16 Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. (Bei der Aktualisierung von protokollierten Daten ist ein Fehler aufgetreten. Die Protokollierung wurde deaktiviert, wird jedoch beim nächsten Lauf wieder aktiviert.)
- 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. (Durch Abzeichnen der Laufdatei stellen Sie die Integrität der Laufergebnisse sicher. Informationen über die Signatur eines Laufs finden Sie im Fenster Run Settings (Laufeinstellungen)).
- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. (Proben-ID ist gesperrt. Ein Einfügen in gesperrte Proben ist nicht möglich.)
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. (TeeChart Office ist bei diesem Computer nicht installiert worden. Bitte installieren Sie die Rotor-Gene Software neu.)
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. (Der für dieses Gerät konfigurierte COM-Anschluss ist nicht ausgewählt. Sie müssen einen COM-Anschluss auswählen.)
- 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. (Die geladene Laufdatei enthält eine Signatur, die nicht mit den Dateiinhalten übereinstimmt. Dies bedeutet, dass die Datei entweder beschädigt oder manipuliert wurde, da sie mit der Rotor-Gene Software erstellt worden ist.)
- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. (Die geladene Datei hat keine Signatur. Die Dateiinhalte können nicht garantiert werden.)
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. (Die Geräteseriennummer ist nicht gültig. Seriennummern müssen mindestens 6 Stellen lang sein.)
- 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. (Das Gerät wird jetzt auf <TEMPERATUR> Grad abgekühlt. Die Kammer und die Oberflächen werden beim Öffnen immer noch sehr heiß sein. Bitte gehen Sie mit angemessener Vorsicht vor und tragen Sie beim Berühren der Oberflächen bzw. Röhrchen Schutzhandschuhe.)
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. (Es gibt einen Konflikt bei den Regionaleinstellungen Ihres Computers. Stellen Sie sicher, dass die Währung und die dezimalen Nummer-Platzhalter übereinstimmen.)

Meldungstext

- 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. (Die auf dem Willkommensbildschirm angegebene Seriennummer <SERIENNUMMER 1> stimmt nicht mit der Seriennummer des verbundenen Geräts <SERIENNUMMER 2> überein. Die Seriennummer wurde nun auf die Seriennummer des verbundenen Geräts aktualisiert.)
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. (Bei der Kommunikation mit dem Kommunikations-Board ist ein Fehler aufgetreten. Sie sollten den Computer neu starten und es erneut versuchen.)
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. (Zeitüberschreitung bei Gespräch mit dem Gerät. Überprüfen Sie, ob es korrekt angeschlossen ist.)
- 29 This feature cannot be used in virtual mode. (Diese Funktion kann nicht im virtuellen Modus verwendet werden.)
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Diese Profildatei ist mit einer aktuelleren Version der Rotor-Gene Software erstellt worden. Bestimmte Aspekte werden unter Umständen nicht ordnungsgemäß geladen.)
- 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. (Diese Laufdatei ist mit einer aktuelleren Version der Rotor-Gene Software erstellt worden. Bestimmte Aspekte des Laufs werden unter Umständen nicht ordnungsgemäß geladen.)
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Diese Probanddatei ist mit einer aktuelleren Version der Rotor-Gene Software erstellt worden. Bestimmte Aspekte werden unter Umständen nicht ordnungsgemäß geladen.)
- 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. (In dieser Einstellung simuliert die Software ein Gerät für Schulungs- und Demonstrationszwecke. Sie können die Einstellung im Bildschirm Setup (Einrichtung) im Menü File (Datei) deaktivieren.)
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Diese Vorlage ist mit einer aktuelleren Version der Rotor-Gene Software erstellt worden. Bestimmte Aspekte der Vorlage werden unter Umständen nicht ordnungsgemäß geladen.)
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. (Diese Probanddatei kann nicht geladen werden, da die Anordnung der Röhrchen nicht übereinstimmt. Laden Sie diese Proben vor dem Start des Laufs.)
- 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. (Die Kommunikation mit dem Gerät konnte nicht gestartet werden, da eine andere Anwendung den Anschluss <COM-ANSCHLUSS> bereits belegt. Überprüfen Sie, dass keine anderen Anwendungen laufen, die den gleichen seriellen Anschluss verwenden. Dann versuchen Sie es erneut.)
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. (Beim Laden der Datei sind nicht behebbare Fehler aufgetreten. Die Datei wurde nicht geladen.)
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress. (Während eines aktiven Laufs können Sie das Programm nicht anhalten.)
- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. (Sie können die Software nicht nutzen, da Sie nicht über die passenden Benutzerrechte verfügen. Bitte wenden Sie sich an den Domänen-Administrator, um Benutzergruppen einzurichten.)
- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples. (Um Proben zu exportieren zu können, müssen Sie eine Quantifizierungsanalyse durchführen.)
- 41 You must select a COM port before continuing. (Sie müssen erst einen COM-Anschluss wählen, bevor Sie fortfahren können.)
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. (Der Lauf konnte nicht am standardmäßigen Speicherort gespeichert werden. Wählen Sie im folgenden Fenster einen alternativen Speicherort für Ihren Lauf.)
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software. (Ihre Einstellungen wurden gespeichert. Klicken Sie auf OK, um die Software zu schließen.)
- 44 You must select a rotor before continuing. (Sie müssen erst einen Rotor wählen, bevor Sie fortfahren können.)

Meldungstext

- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached. (Sie können den Lauf erst dann starten, wenn Sie durch Aktivierung des Kontrollkästchens das Anbringen des Schließrings bestätigen.)

Meldungen im Zusammenhang mit der automatischen Verstärkungsanpassung

- 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. (Bei der manuellen Verstärkungsanpassung werden die Kanäle berücksichtigt, die Sie in Ihrem Profil festgelegt haben. Da Sie keine Erfassungspunkte in Ihrem Profil definiert haben, können Sie keine manuelle Verstärkungsanpassung durchführen.)
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. (Die eingegebene Temperatur liegt außerhalb des zulässigen Bereichs des Geräts. Geben Sie eine gültige Temperatur ein.)

Meldungen des Editors

- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. (Bitte geben Sie einen gültigen Gruppencode ein. Gruppencodes müssen mindestens 5 Zeichen besitzen. Leerstellen und Kommas sind nicht zulässig.)
- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. (Bitte geben Sie einen gültigen Gruppencode ein. Gruppencodes dürfen keine Kommas enthalten und dürfen nicht leer sein.)

Meldungen im Zusammenhang mit der optischen Denaturierungskalibrierung

- 50 Unable to set as optical denature point due to calibration failure. Please enter a valid number of seconds to hold. It should be a positive value. (Der optische Denaturierungspunkt kann nicht festgelegt werden, da die Kalibrierung fehlgeschlagen ist. Bitte geben Sie eine gültige Zahl für die Haltedauer in Sekunden ein. Es muss sich um eine positive Zahl handeln.)
- 51 A melt peak could not be detected during Optical Denature 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. (Bei der optischen Denaturierungskalibrierung konnte kein Schmelzpeak erkannt werden. Dies kann daran liegen, dass ein falsches Röhrchen für die Kalibrierung ausgewählt worden war oder dass sich die chemischen Reaktionen für die Probe nicht eignen. Es wurde stattdessen ein Profil mit Zeitschritten durchgeführt.)

Meldungen im Zusammenhang mit der OTV

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run. (Sie müssen eine gültige OTV-Seriennummer eingeben, um den Lauf durchführen zu können.)
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error. (Diese Temperaturverifizierungsdatei ist beschädigt. Bitte deinstallieren Sie die Rotor-Gene Software und installieren Sie sie neu, um diesen Fehler zu beheben.)
- 54 This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed. (Diese Laufdatei ist nicht korrekt abgezeichnet. Die Ergebnisse können nicht angezeigt werden.)
- 55 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly. (Sie können den Lauf erst dann starten, wenn Sie durch Aktivierung des Kontrollkästchens das korrekte Einsetzen des Fluoreszenzeinsatzes bestätigen.)
- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement. (Dieser Rotor ist abgelaufen. Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler, um einen Ersatzrotor zu erhalten.)

Meldungen im Sicherheitsmenü

- 57 Could not open the Windows user/group manager. (Der Windows Benutzer-/Gruppen-Manager konnte nicht geöffnet werden.)
- 58 Could not create groups. (Gruppen konnten nicht erstellt werden.)
- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts. (Zugang zu integrierten Konten konnte nicht geändert werden.)

Analysemenü

- 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. (Sie haben nur einen Kanal für die Analyse ausgewählt. Um mehrere Kanäle zu wählen, ziehen Sie einen Kasten um die Kanäle, die Sie im Fenster der Analyseauswahl anzeigen möchten.)
- 61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. (Sie haben mehrere Kanäle für die Analyse ausgewählt. Bei dieser Analysemethode kann jedoch nur ein Kanal analysiert werden.)

Meldungstext

Meldungen im Zusammenhang mit der Konzentrationsmessung

- 62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. (Die Konzentrationsmessung führt eine automatische Verstärkungsoptimierung an der ersten Rotorposition durch. Stellen Sie sicher, dass sich der Standard mit der höchsten Konzentration an der ersten Rotorposition befindet.)

Meldungen im Zusammenhang mit der Endpunktanalyse

- 63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. (Um eine Endpunktanalyse durchführen zu können, müssen sich in jedem Kanal Positiv- und Negativkontrollen befinden. Um diese Kontrollen zu definieren, klicken Sie auf OK.)
- 64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. (Sie haben keine Positivkontrollen definiert. Sie müssen für jeden zu analysierenden Kanal Positivkontrollen definieren.)
- 65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. (Sie haben keine Negativkontrollen definiert. Sie müssen für jeden zu analysierenden Kanal Negativkontrollen definieren.)
- 66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. (Sie haben keine NTC-Kontrollen definiert. Sie müssen für jede Gruppe NTC-Kontrollen definieren.)

Meldungen im Zusammenhang mit der HRM-Analyse

- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. (Für Genotyp <GENOTYPNAME> ist keine Kontrolle definiert.)
- 68 Duplicate genotype combinations are not allowed. (Doppelte Genotypkombinationen sind nicht erlaubt.)
- 69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. (High-Resolution-Melt-Analysen werden von diesem Gerät nicht unterstützt. Bitte wenden Sie sich an Ihren Händler, um mehr zu erfahren.)

Meldungen im Zusammenhang mit der Schmelzanalyse

- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. (Diese Genotypen können erst definiert werden, wenn Klassen gesetzt wurden. Bitte definieren Sie alle Klassen und versuchen Sie es erneut.)
- 71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. (Sie müssen eine Abkürzung für den Genotyp <GENOTYPNAME> eingeben.)

Meldungen im Zusammenhang mit der Streudiagrammanalyse

- 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. (Für die Streudiagrammanalyse müssen genau 2 Kanäle ausgewählt werden. Um mehrere Kanäle zu wählen, ziehen Sie einen Kasten um die Kanäle, die Sie im Fenster der Analyseauswahl anzeigen möchten. Oder halten Sie die Umschalttaste während Sie auf die beiden Kanäle klicken.)

Meldungen im Zusammenhang mit der Quantifizierungsanalyse

- 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..." (Für die Funktion der automatischen Schwellenwertermittlung sind mindestens 2 ausgewählte Standards erforderlich. Um dies einzurichten, klicken Sie mit der rechten Maustaste auf die Probenliste und wählen Sie „Edit Samples...“ (Proben bearbeiten).)

12 Glossar

Begriff	Beschreibung
Erfassung	Erfassung bezeichnet die Aufzeichnung von Fluoreszenzdaten. Die Daten einer Erfassung (d. h. ein Satz Fluoreszenzdaten) von einem Kanal werden in der Software im Fenster „Raw channel“ (Rohdatenkanal) angezeigt und sind noch nicht analysiert worden. Diese Daten können mithilfe der Optionen im Menü Analysis (Analyse) analysiert werden.
Klassen	In einer Schmelzanalyse werden Klassen festgelegt, um eine Region zu bestimmen, in der ein Schmelzpeak erwartet wird. Die Genotypen werden je nach Gegenwart von Peaks in bestimmten Klassen oder Klassenkombinationen bestimmt.
CE-IVD	Konformität mit der Richtlinie 98/79/EG des Europäischen Parlaments und des Rates über In-vitro-Diagnostika.
Kanal	Ein Kanal besteht aus einer Licht emittierenden Diode (LED) mit einem Anregungs-/Emissionsfilterpaar. Die LED und der Anregungsfilter regen Proben bei einer bestimmten Wellenlänge an. Die von den Proben abgegebene Fluoreszenz wird durch den Emissionsfilter geleitet, bevor sie von einem Photomultiplier detektiert wird.
Verstärkung	Der Rotor-Gene Q MDx verwendet einen Photomultiplier, um Fluoreszenzphotonen zu sammeln und in elektronische Signale umzuwandeln. Die Verstärkung ist eine Einstellung, welche die Sensitivität des Photomultipliers festlegt. Wird sie zu hoch eingestellt, ist das Signal übersättigt. Wird sie zu niedrig eingestellt, ist es nicht möglich, ein Signal von Hintergrundrauschen zu unterscheiden.
Verstärkungsoptimierung	Die Verstärkungsoptimierung ist ein Prozess, der die Verstärkungseinstellung dynamisch anpasst, sodass eine geeignete Einstellung ausgewählt werden kann, die zu einer optimalen Signaldetektion führt.
Ladeblock	Ladeblocks sind Blocks aus Aluminium in unterschiedlichen Formaten, die während der Einrichtung der Reaktionen die Röhren bzw. Rotor-Discs halten. Rotor-Disc Ladeblocks werden außerdem zusammen mit dem Rotor-Disc Heat Sealer verwendet, um Rotor-Discs zu versiegeln.
Schließring	Schließringe sind Metallringe, die auf den Rotor passen, um zu verhindern, dass sich Röhren und Deckel während des Betriebs des Rotor-Gene Q MDx lösen. Lose Deckel und Röhren könnten das Gerät beschädigen.
Rotor	Der Rotor aus Metall hält Röhren bzw. Rotor-Discs im Rotor-Gene Q MDx. Der Rotor ermöglicht eine Zentrifugation der Proben in der Gerätekommer und sorgt für eine korrekte Ausrichtung der Proben auf das Optiksistem. Der Rotor wird mit einem Schließring gesichert.
Rotor-Disc	Rotor-Discs sind runde Scheiben mit senkrechten Reaktionswells. Rotor-Discs sind in Formaten für 72 und für 100 Reaktionen erhältlich. Rotor-Discs werden mithilfe des Rotor-Disc Heat Sealer mit Rotor-Disc Heat Sealing Film verschlossen.

13 Technische Daten

QIAGEN behält sich das Recht vor, jederzeit technische Änderungen vorzunehmen.

13.1 Umweltbedingungen – Betriebsbedingungen

Leistung	100–240 V AC, 50–60 Hz, 520 VA (Spitzenwerte) Stromverbrauch 60 VA (Standby) Die Spannungsschwankungen der Netzversorgung dürfen 10 % der Nennspannung nicht überschreiten.
Sicherung	Sicherung F5A 250 V
Wärmeableitung/Kühllast	Mittelwert: 0,183 kW (632 BTU/Stunde) Spitzenwert: 0,458 kW (1578 BTU/Stunde)
Überspannungs-Schutzklasse	II
Lufttemperatur	18 bis 30 °C
Relative Luftfeuchtigkeit	10 bis 75 % (nicht kondensierend)
Höhe über Normal-Null	Bis max. 2000 m
Betriebsort	Nur in Innenbereichen
Verschmutzungsgrad	2
Umweltgefährdungsklasse	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

13.2 Transportbedingungen

Lufttemperatur	–25 °C bis 60 °C in der Originalverpackung des Herstellers
Relative Luftfeuchtigkeit	Max. 75 % (nicht kondensierend)
Umweltgefährdungsklasse	2K2 (IEC 60721-3-2)

13.3 Lagerungsbedingungen

Lufttemperatur	15 °C bis 30 °C in der Originalverpackung des Herstellers
Relative Luftfeuchtigkeit	Max. 75 % (nicht kondensierend)
Umweltgefährdungsklasse	1K2 (IEC 60721-3-1)

13.4 Mechanische Daten und Ausstattungsmerkmale

Abmessungen	Breite: 370 mm Höhe: 286 mm Tiefe (ohne Kabel): 420 mm Tiefe (Tür geöffnet) 538 mm
Gewicht	12,5 kg Standardkonfiguration
Kapazität	Bis zu 100 Proben pro Lauf mit einer Rotor-Disc 100
Software	Rotor-Gene Q Software Version 2.3.x (wobei x eine Zahl ab 0 ist)

13.5 Spezifikationen (Hardware und Software)

13.5.1 Thermische Spezifikationen

Beschreibung	Spezifikation
Temperaturbereich	35 °C bis 99 °C (50 °C bis 99 °C für Anwendung mit Zyklen)
Temperaturgenauigkeit	± 0,5 °C (kalibriert mit dem Rotor-Disc OTV-Verfahren)
Temperaturauflösung	± 0,02 °C (kleinster programmierbarer Schritt)
Temperaturgleichmäßigkeit	± 0,02 °C

13.5.2 Optische Spezifikationen

Beschreibung	Spezifikation
Anregungsquellen	Hochleistungsleuchtdioden
Detektor	Photomultiplier
Erfassungsdauer	4 s

14 Anhang A – Rechtliches

14.1 FCC-Erklärung

Die „United States Federal Communications Commission“ (USFCC) hat (in 47 CRF 15. 105) erklärt, dass die Benutzer dieses Produkts über die folgenden Fakten und Umstände informiert werden muss.

„Das Gerät erfüllt die Anforderungen von Teil 15 der FCC: Der Betrieb unterliegt den folgenden beiden Bedingungen: (1) Dieses Gerät darf keine gefährlichen Störungen verursachen und (2) dieses Gerät darf durch von außen einwirkende Interferenzen, inklusive Interferenzen, die unerwünschte Betriebszustände verursachen könnten, nicht gestört werden.“

„Dieses digitale Klasse-B-Gerät erfüllt die Anforderungen der kanadischen Standards gemäß ICES-0003.“

Die folgende Erklärung gilt für die in diesem Handbuch beschriebenen Produkte, sofern nichts anderes hierin angegeben ist. Die Erklärung für andere Produkte ist in der jeweiligen Begleitdokumentation enthalten.

Hinweis: Dieses Gerät wurde geprüft und hat dabei die Schwellenwerte für digitale Geräte der Klasse B gemäß Teil 15 der FCC-Bestimmungen eingehalten und erfüllt alle Anforderungen der kanadischen Norm ICES-003 für störungsverursachende Geräte („Interference-Causing Equipment Standard“). Diese Grenzwerte sind dafür vorgesehen, in einer gewerblichen Installation einen angemessenen Schutz gegenüber gefährlichen Störungen zu gewährleisten. Dieses Gerät erzeugt, verwendet und strahlt eventuell Funkfrequenzenergie aus und kann, wenn es nicht den Angaben in diesem Handbuch entsprechend installiert und verwendet wird, den Funkverkehr stören. Es kann jedoch nicht gewährleistet werden, dass in einer bestimmten Installation keine Störungen auftreten. Wenn dieses Gerät gefährliche Störungen im Funk- oder Fernsehempfang verursacht, was durch Aus- und Einschalten des Geräts bestimmt werden kann, wird empfohlen, die Störung durch eine oder mehrere der folgenden Maßnahmen zu beseitigen:

- Neu Ausrichten oder Umpositionieren der Empfangsantenne
- Vergrößern des Abstands zwischen Gerät und Empfänger
- Anschließen des Geräts an einen anderen Stromversorgungsschaltkreis als den, an den der Empfänger angeschlossen ist

Wenden Sie sich für Unterstützung an Ihren Händler oder einen erfahrenen Informationselektroniker.

14.2 Konformität mit IEC EN 61326

Der Rotor Gene-Q MDx Thermocycler erfüllt die Anforderungen an Störaussendungen und Störfestigkeit gemäß IEC 61326-1 und IEC 61326-2-6.

Die QIAGEN GmbH Germany ist nicht verantwortlich für Radio- oder Fernsehstörungen, die durch unberechtigte Veränderungen an diesem Gerät oder durch den Ersatz oder den Anschluss von anderen Verbindungskabeln und Zusatzgeräten als denen, die von der QIAGEN GmbH Germany angegeben werden, verursacht werden. Für die Beseitigung von Störungen, die durch die beschriebenen unberechtigten Veränderungen, Ersatzteile oder Anschlüsse verursacht werden, ist der Benutzer verantwortlich.

14.3 Konformitätserklärung

Name und Anschrift des gesetzlichen Herstellers

QIAGEN GmbH
QIAGEN Straße 1
40724 Hilden
Deutschland

Eine aktuellere Konformitätserklärung ist beim Technischen Service von QIAGEN erhältlich.

14.4 Elektro- und Elektronik-Altgeräte (WEEE)

In diesem Abschnitt finden Sie Informationen über die Entsorgung von Elektro- und Elektronik-Altgeräten durch den Benutzer.

Das Symbol mit der durchgekreuzten Mülltonne (siehe unten) weist darauf hin, dass dieses Produkt nicht mit anderen Abfällen entsorgt werden darf; es ist – gemäß den lokalen gesetzlichen Bestimmungen und Vorschriften – zur Entsorgung in eine anerkannte Entsorgungseinrichtung oder zu einer benannten Sammelstelle für Wertstoffe zu bringen.

Das getrennte Sammeln und Recycling von Elektro- und Elektronik-Altgeräten bei der Entsorgung hilft, natürliche Ressourcen zu schonen und stellt sicher, dass das Produkt in einer Art und Weise recycelt wird, die dem Schutz der menschlichen Gesundheit und dem Umweltschutz dienen.



Auf Anfrage kann das Recycling gegen eine Gebühr von QIAGEN übernommen werden. In der Europäischen Union bietet QIAGEN bei Bereitstellung eines Ersatzprodukts ein für Kunden kostenfreies Recycling ihrer WEEE-gekennzeichneten Elektronikgeräte gemäß den spezifischen Recycling-Anforderungen der WEEE.

Wenn Sie ein Elektronikgerät recyceln möchten, kontaktieren Sie Ihr QIAGEN Verkaufsbüro, um das benötigte Rücknahmeformular zu erhalten. Sobald Sie dieses Formular ausgefüllt zurückgeschickt haben, wird sich ein QIAGEN Mitarbeiter mit Ihnen in Verbindung setzen, um einen Abholtermin für das Elektronik-Altgerät zu vereinbaren oder um Ihnen ein individuelles Angebot zu unterbreiten.

14.5 Haftungsausschlussklausel

QIAGEN übernimmt keine Verpflichtungen im Rahmen ihrer Garantieerklärung, falls Gerätereparaturen oder -änderungen von anderen Personen als Personal von QIAGEN vorgenommen werden, es sei denn, QIAGEN hat zuvor schriftlich zugestimmt, dass solche Reparaturen oder Änderungen durchgeführt werden dürfen.

Für alle Teile/Materialien, die im Rahmen der Garantie ersetzt werden, gilt maximal die ursprüngliche Garantiezeit und keinesfalls eine verlängerte Garantiefrist, die über den Ablauftermin der ursprünglichen Garantie hinausgeht, es sei denn ein Handlungsbevollmächtigter von QIAGEN hat dem schriftlich zugestimmt. Die Garantiefrist für Ablesegeräte und Zusatzgeräte inklusive der zugehörigen Software beschränkt sich auf die Garantiefrist des Originalherstellers dieser Produkte. Einsprüche und Garantieerklärungen, die von irgendeiner Person (inklusive QIAGEN Außendienstmitarbeitern) gemacht werden und die mit den hier genannten Garantiebedingungen unvereinbar sind oder diesen widersprechen, sind für QIAGEN nicht bindend, es sei denn, sie wurden von einem Handlungsbevollmächtigten von QIAGEN schriftlich erstellt und per Unterschrift genehmigt.

14.6 Software-Lizenzvereinbarung

1. Im Folgenden beziehen sich „Qiagen“ auf das Unternehmen Qiagen GmbH und seine Niederlassungen und „Software“ auf Programme und Daten, die sich auf diesem physikalischen Datenträger (z. B. CD-ROM) befinden oder über das Internet bei diesen Bedingungen bereitgestellt werden. (Wenn Sie sich hinsichtlich jeglicher Aspekte nicht sicher sind oder wenn Sie jegliche Fragen haben, wenden Sie sich per E-Mail an support@qiagen.com.) Die Software und die Begleitdokumentation wurden ausschließlich auf private Kosten entwickelt. Sie werden als „kommerzielle Computersoftware“ bereitgestellt und lizenziert.

2. Lizenz

Ihre Lizenz überträgt Ihnen keine Ansprüche und keine Eigentumsrechte an der Software und ist kein Verkauf von Rechten an der Software. Qiagen gewährt Ihnen eine nicht übertragbare, nicht ausschließliche Lizenz unter folgenden Bedingungen:

2.1 In Ihrer Organisation können Sie Kopien dieser Software nutzen, solange Ihre Organisation ein Rotor-Gene Q Gerät besitzt und die Software nur den Mitarbeitern in der Organisation zugänglich ist. Die Bereitstellung dieser Software außerhalb Ihrer Organisation stellt eine Verletzung dieser Vereinbarung dar.

2.2 Die Software darf zu Sicherungszwecken bzw. als integraler Bestandteil für die befugte Nutzung der Software kopiert werden, und die Anzahl der zulässigen Kopien ist auf diese Situationen beschränkt. Alle Urheberrechtsvermerke der ursprünglichen Software müssen auch in allen Kopien reproduziert werden. Unter keinen Umständen dürfen Sie die Software auf einem Nachrichtenbrett oder einer Internet-Website veröffentlichen oder in ein ähnliches öffentliches oder privates Verteilungssystem kopieren.

2.3 Sie dürfen die Software nicht Dritten schenken oder leihen oder an Dritte vermieten.

2.4 Sie dürfen die Software bzw. jegliche Teile davon nicht in von Ihnen entwickelten Programmen oder Computersystemen integrieren.

2.5 Sie dürfen Datendateien und andere von der Software verarbeitete Dateien nicht verwenden oder auf andere Weise erstellen (mit Ausnahme der Vorgänge im Rahmen des normalen Betriebs der Software).

2.6 Sie dürfen die Software und deren Teile nicht disassemblieren, zurückentwickeln, dekompileieren, entsperren oder übersetzen bzw. jegliche Versuche unternehmen, den Quellcode bzw. die grundlegenden Algorithmen der Software zu erfahren. Sie dürfen Datendateien und andere Dateien der Software nicht ändern (mit Ausnahme der Vorgänge im Rahmen des normalen Betriebs der Software).

2.7 Handelt es sich um eine Demonstrations- oder Probeversion der Software, dürfen Sie diese nur zu Bewertungszwecken und unter Beachtung der beschriebenen Einschränkungen (wie Zeiteinschränkungen oder begrenzte Läufe bzw. andere Einschränkungen) verwenden. Die Durchsetzung dieser Beschränkungen können von der Software erzwungen werden oder nicht. Eine fehlende Erzwingung dieser Einschränkungen durch die Software bedeutet nicht, dass Sie über diese Einschränkungen hinausgehen dürfen.

2.8 Sie erklären sich einverstanden, jegliche erforderliche Registrierungs-/Lizenzschlüssel nur von Qiagen oder einem autorisierten Händler zu beziehen, und diese Schlüssel Dritten gegenüber streng geheim zu halten.

3. Kündigung

3.1 Wenn Sie gegen die Bestimmungen und Bedingungen dieser Lizenz verstoßen, kann Qiagen diese Lizenz unbeschadet sonstiger Rechte kündigen.

3.2 Sie sind verpflichtet, innerhalb 7 Tage nach der Kündigung dieser Lizenz in einem Brief an Qiagen die Zerstörung der Originalsoftware und jeglicher Kopien und aller Registrierungs-/Lizenzschlüssel und jeglicher Kopien zu bestätigen. Sie können diesen Lizenz durch Bereitstellung einer solchen Bestätigung jederzeit kündigen.

4. Haftungsbeschränkung

4.1 Qiagen gewährleistet Ihnen gegenüber nur Folgendes:

a) Wird die Software auf CD-ROM bereitgestellt, ist die CD-ROM bei einer normalen Verwendung ab dem Kaufdatum für einen Zeitraum von neunzig Tagen frei von Material- und Verarbeitungsfehlern. (Wir ersetzen jegliche beschädigte CD-ROM kostenlos.)

b) Bei normaler Verwendung funktioniert die Software im Wesentlichen gemäß der bereitgestellten Dokumentation und anderen Spezifikationen, die von Qiagen in den neunzig Tagen ab dem Kaufdatum veröffentlicht werden.

4.2 Die gesamte Haftung von Qiagen und Ihr einziges Rechtsmittel bezieht sich im Ermessen von Qiagen auf eine Entschädigung bis höchstens zum Wert von zweihundertfünfzig US-Dollar (US\$250) oder den Ersatz der Software, die die eingeschränkten Haftungsbedingungen nicht erfüllt.

4.3 MIT AUSNAHME DER IM OBIGEN ABSCHNITT 4.1 BESCHRIEBENEN GEWÄHRLEISTUNG ÜBER UND BIS ZUM MAXIMALEN, VOM ANWENDBAREN RECHT ERLAUBTEN UMFANG GEWÄHRT QIAGEN KEINE ANDEREN GEWÄHRLEISTUNGEN MIT BLICK AUF DIE SOFTWARE.

4.4 SOWEIT GESETZLICH ZULÄSSIG UND UNTER KEINEN UMSTÄNDEN UND UNABHÄNGIG VON DER RECHTSTHEORIE, UNERLAUBTEN HANDLUNGEN, VERTRÄGEN ODER ANDEREN EINFLÜSSEN IST QIAGEN IHNEN ODER ANDEREN PERSON HAFTBAR FÜR UNMITTELBARE, MITTELBARE, ZUFÄLLIGE ODER FOLGESCHÄDEN EINSCHLIESSLICH, ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF VERLUSTE DES FIRMENWERTS, ARBEITSUNTERBRECHUNGEN, COMPUTERFEHLER ODER -FEHLFUNKTIONEN ODER JEDWEGE UND ALLE ANDEREN KOMMERZIELLEN SCHÄDEN UND VERLUSTE, AUCH WENN QIAGEN ÜBER DIE MÖGLICHKEIT SOLCHER SCHÄDEN INFORMIERT WORDEN IST. IN ALLEN FÄLLEN BESCHRÄNKT SICH DIE GESAMTE HAFTBARKEIT IM RAHMEN DIESES VERTRAGS AUF DIE LIZENZGEBÜHR, DIE SIE FÜR DIESE SOFTWARE BEZAHLT HABEN. DIESE HAFTUNGSBESCHRÄNKUNG GILT NICHT FÜR DIE HAFTUNG FÜR TOD ODER KÖRPERVERLETZUNG IN DEM UMFANG, IN DEM DAS ANWENDBARE RECHT EINE SOLCHE BESCHRÄNKUNG VERBIETET.

15 Anhang B – Mathematische Techniken

In diesem Anhang werden die verwendeten mathematischen Techniken ausführlicher dargestellt.

15.1 Quantifizierung

Die berechneten Konzentrationen stammen aus einem einfachen linearen Regressionsmodell, bei dem die bekannten logarithmischen Konzentrationen auf der x-Achse und die gemessenen C_T-Werte auf der y-Achse aufgetragen werden.

Die logarithmischen Konzentrationen und C_T-Werte der Standards dienen zur Erstellung eines Modells gemäß der Gleichung:

$$y = Mx + B$$

15.1.1 Konfidenzintervalle der berechneten Konzentrationen

Wir verwenden das folgende Konfidenzintervall 100(1- α)% zur Abschätzung einer neuen Beobachtung x₀ anhand der Standardkurve.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Es handelt sich um das Konfidenzintervall der Konzentration eines Einzelwerts einer unbekannt Probe.

Nehmen wir an, dass wir k weitere Beobachtungen bei x = x₀ haben und wir den Mittelwert als \bar{Y}_0 angeben. Dann gilt

$$\bar{Y}_0 \sim N(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k})$$

und ähnliche Argumente wie oben ergeben

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Diese Formel bestimmt, wie die Konfidenzintervalle der Konzentrationswerte von unbekanntem Replikaten berechnet werden.

Zur Abschätzung der Standards kann ein engeres Konfidenzintervall berechnet werden:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Aus dieser Formel ergibt sich, dass das Hinzufügen von Replikaten einer Einzelkonzentration eines Standards die Breite des Intervalls für alle Schätzungen reduziert, da n steigt. Werden sehr viele Replikate einer unbekanntem Probe gemessen, kann die Unsicherheit des Messwerts bis maximal auf die Unsicherheit eines Einzelstandards reduziert werden. Die zusätzlichen Replikate reduzieren die Unsicherheit der unbekanntem Probe, die im linearen Modell nicht vorkommt.

15.1.2 Konfidenzintervalle für C_T -Werte

Wir nehmen an, dass der Fehler der C_T -Werte der Replikate linear und normal verteilt ist.

Daher verwenden wir das T-Konfidenzintervall für eine Probe. μ sei der Mittelwert für die C_T -Werte von Replikaten eines Werts $(x_0 \dots x_{n-1})$. Dann beträgt das Konfidenzintervall $100(1 - \alpha)\%$ für den C_T -Wert μ :

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Wir möchten uns bei Peter Cook vom Fachbereich Mathematik an der Universität von NSW, Sydney, Australien bedanken, dessen Hilfe bei der Verifizierung der mathematischen Ansätze von unschätzbarem Wert war.

16 Bestellinformationen

16.1 Rotor-Gene Q MDx Produkte, Zubehör und Verbrauchsmaterialien

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Real-Time-PCR-Thermocycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, purpurrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör, 1 Jahr Garantie auf Ersatzteile und Arbeitskosten	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Real-Time-PCR-Thermocycler und HRM-Analysator mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot) plus HRM-Kanal, Laptop-Computer, Software, Zubehör, 1 Jahr Garantie auf Ersatzteile und Arbeitskosten	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Real-Time-PCR-Thermocycler mit 6 Kanälen (blau, grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop-Computer, Software, Zubehör, 1 Jahr Garantie auf Ersatzteile und Arbeitskosten	9002042
Zubehör		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Inhalt des Kits: 2 Rotor-Disc (100 Stück/Packung), Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor und Locking Ring, Rotor-Disc 100 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Auf Anfrage
Rotor-Disc 100 (30)	30 einzeln verpackte Scheiben für 3000 Reaktionen	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 einzeln verpackte Scheiben für 30.000 Reaktionen	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	Hält Rotor-Disc 100 Scheiben im Rotor-Gene Q MDx; Rotor-Disc 100 Locking Ring erforderlich	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	Zum Sichern einer Rotor-Disc 100 im Rotor-Disc 100 Rotor	9018896

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
Rotor-Disc 100 Loading Block	Aluminiumblock zum manuellen oder automatischen Ansetzen von Reaktionen in Rotor-Disc 100 Scheiben	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Hilfsmittel zur Kennzeichnung von Wells beim manuellen Ansetzen von Reaktionen in einem Rotor-Disc Loading Block	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Heißversiegelungsgerät zur Verwendung bei Rotor-Discs; erfordert einen Rotor-Disc 72 Loading Block oder Rotor-Disc 100 Loading Block	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 Folien zur Versiegelung von Rotor-Disc 100 Scheiben oder Rotor-Disc 72 Scheiben	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 x 60 Folien zur Versiegelung von Rotor-Disc 100 Scheiben oder Rotor-Disc 72 Scheiben	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Inhalt des Kits: 3 Rotor-Disc (72 Stück/Packung), Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 Rotor und Locking Ring, Rotor-Disc 72 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Auf Anfrage
Rotor-Disc 72 (24)	24 einzeln verpackte Scheiben für 1728 Reaktionen	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 einzeln verpackte Scheiben für 17.280 Reaktionen	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	Hält Rotor-Disc 72 Scheiben im Rotor-Gene Q MDx; Rotor-Disc 72 Locking Ring erforderlich	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	Zum Sichern einer Rotor-Disc 72 im Rotor-Disc 72 Rotor	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Aluminiumblock zum manuellen oder automatischen Ansetzen von Reaktionen in Rotor-Disc 72 Scheiben	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 Streifen mit je 4 Röhrchen und Deckeln für 1000 Reaktionen	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 Streifen mit je 4 Röhrchen und Deckeln für 10.000 Reaktionen	981106

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
72-Well Rotor	Dient zur Aufnahme der Strip Tubes and Caps, 0.1 ml; erfordert Locking Ring 72-Well Rotor	9018903
Locking Ring 72-Well Rotor	Zur Absicherung von Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, im 72-Well Rotor	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Aluminium-Block zum manuellen Ansetzen der Reaktionen mit einer Einkanal-Pipette in 72 x 0,1-ml-Röhrchen	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Aluminium-Ladeblock zum manuellen Ansetzen der Reaktionen mit einer Mehrkanalpipette in 72 x 0,1-ml-Röhrchen	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1.000 dünnwandige Röhrchen für 1.000 Reaktionen	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1.000 dünnwandige Röhrchen für 10.000 Reaktionen	981008
36-Well Rotor	Hält PCR Tubes, 0.2 ml; erfordert den 36-Well Rotor Locking Ring	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	Zur Absicherung von PCR Tubes, 0.2 ml, im 36-Well Rotor	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Aluminiumblock für manuelles Ansetzen der Reaktionen in einem 8 x 12-Standard-Array mit 96 x 0,2-ml-Röhrchen	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Kit für die optische Temperaturverifizierung von Rotor-Gene Systemen, umfasst eine Rotor-Disc, die mit thermochromatischen Flüssigkristallen und Fluoreszenzeinsätzen vorbeladen ist, erfordert den Rotor-Disc 72 Rotor und Locking Ring oder das Rotor-Disc 72 Starter Kit	981400
Rotor Holder	Freistehende Metallhalterung zum Einsetzen der Röhrchen und Rotor-Discs in die Rotoren	9018908

Aktuelle Lizenzierung und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

17 Bearbeitungshistorie des Dokuments

Datum	Änderungen
R1, Februar 2022	Erstversion

Eingeschränkte Lizenzvereinbarung für Rotor-Gene Q MDx

Mit der Verwendung dieses Produkts erkennen jegliche Käufer oder Benutzer des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt und dieser Gebrauchsanweisung bereitgestellten Protokollen und nur mit den im Kit enthaltenen Komponenten verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen seiner Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zu den Kits gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zu den Kits gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der Anwendungen, die in den mit dem Produkt bereitgestellten Protokollen, dieser Gebrauchsanweisung sowie zusätzlichen, unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschrieben werden. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von QIAGEN Benutzern für andere QIAGEN Benutzer zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von QIAGEN nicht eingehend geprüft oder optimiert. QIAGEN übernimmt für diese Protokolle keine Garantie und garantiert auch nicht, dass sie keine Rechte Dritter verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieses Kit und/oder die mit diesem Kit durchgeführten Anwendungen die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieses Kit und seine Komponenten sind für den einmaligen Gebrauch lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, aufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Nutzer des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser beschränkten Lizenzvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Lizenzvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder seinen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen finden Sie unter www.qiagen.com.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, EpiTect®, HotStarTaq®, Rotor-Disc®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager®, Type-it® (QIAGEN Group); Adobe®, Illustrator® (Adobe Systems, Inc.); Alexa Fluor®, HEX™, JOE™, Marina Blue®, ROX™, SYBR®, SYTO®, TET™, Texas Red®, VIC® (Thermo Fisher Scientific or its subsidiaries); 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.). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt. Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

TeeChartOffice: Copyright 2001-2013 von David Berneda. Alle Rechte vorbehalten.

Für zutreffende Länder gilt:

Die Vergabe der Lizenz für diesen Real-time-Thermocycler fällt unter ein angemeldetes US-Patent für einen Apparat bzw. ein System (einschließlich automatisierter Thermocyclers mit Fluoreszenzdetektoren) mit angestrebter Priorität über das US-Patent Serien-Nr. 07/695,201 und entsprechenden Ansprüchen in jeglichen ausländischen Patenten von Applied Biosystems LLC, in allen Bereichen, einschließlich Forschung und Entwicklung, Anwendung und In-vitro-Diagnostik bei Menschen und Tieren. Durch jegliche Patente über Real-Time-Methoden (einschließlich, aber nicht beschränkt auf 5'-Nuklease-Assays oder jegliche Patente für Reagenzien oder Kits) erhalten Sie keinen Anspruch auf Rechte. Weitere Hinweise zum Erwerb zusätzlicher Rechte erhalten Sie vom Director of Licensing bei Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, USA.

Für zutreffende Länder gilt:

Durch den Kauf dieses Produkts erhalten eine eingeschränkte, nicht übertragbare Lizenz für ein oder mehrere der US-Patente 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; US-Patentanmeldungs-Nr. 2003-0224434 und 2006-0019253 und der PCT-Patentanmeldungs-Nr. WO 2007/035806 und alle fortführenden und Teilanmeldungen und die entsprechenden Ansprüchen in Patenten und Patentanmeldung außerhalb der USA der Eigentümer University of Utah Research Foundation; Idaho Technology, Inc.; Evotec Biosystems GmbH und/oder Roche Diagnostics GmbH nur für die Diagnostik bei Menschen und Tieren. Sie erhalten weder ausdrücklich, noch implizit, noch durch Rechtsverwirkung, noch durch andere Patente oder Patentansprüche der University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH oder sonstiger Parteien Rechte für jegliche Reagenzien oder Kits. Dieses Produkt darf nur zusammen mit autorisierten Reagenzien wie den vollständig lizenzierten Kits und -Assays von QIAGEN verwendet werden. Hinweise zum Erwerb von Lizenzen für In-vitro-Applikationen bzw. Reagenzien erhalten Sie von Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, USA.

HB-3090-001 02/2022 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Bestellung www.qiagen.com/contact | Technischer Service support.qiagen.com | Website www.qiagen.com