

Bedienungsanleitung

qPCRsoft touch

Software für Real-Time PCR-Thermocycler



Hersteller Analytik Jena GmbH+Co. KG
Konrad-Zuse-Straße 1
07745 Jena / Deutschland
Telefon: +49 3641 77 70
Fax: +49 3641 77 9279
E-Mail: info@analytik-jena.com

Technischer Service Analytik Jena GmbH+Co. KG
Konrad-Zuse-Straße 1
07745 Jena / Deutschland
Telefon: +49 3641 77 7407
Fax: +49 3641 77 9279
E-Mail: service@analytik-jena.com



Für einen ordnungsgemäßen und sicheren Gebrauch diesen Anleitungen folgen. Für späteres Nachschlagen aufbewahren.

Allgemeine Informationen <http://www.analytik-jena.com>

Dokumentationsnummer /

Ausgabe B (04/2024)

Technische Dokumentation Analytik Jena GmbH+Co. KG

© Copyright 2024, Analytik Jena GmbH+Co. KG

Inhaltsverzeichnis




1 Softwareübersicht	5
1.1 Software starten und beenden	5
1.2 Bedienung der Software.....	7
1.3 Startseite	8
1.4 Seite Vorlagen	9
1.5 Vorlagenseiten	10
1.5.1 Vorlagenseite Allgemein	12
1.5.2 Vorlagenseite Thermocycler.....	13
1.5.3 Vorlagenseite Scan	14
1.5.4 Vorlagenseite Proben	15
1.6 Seite MONITORING	17
1.7 Seite Ergebnisse.....	18
1.8 Ergebnisseiten	20
1.8.1 Ergebnisseite Info	20
1.8.2 Ergebnisseiten DATEN, DATA CT und DATEN TM	21
2 Vorlagen und Ergebnisse.....	25
2.1 Vorlagen erstellen.....	25
2.2 Vorlagen speichern.....	25
2.3 Vorlagen öffnen	26
2.4 Ergebnisdateien speichern.....	27
2.5 Ergebnisdateien öffnen	27
2.6 Datenverwaltung	28
2.6.1 Externe Datenspeicher einrichten	29
2.6.2 Datenaustausch mit der Desktop-Software qPCRsoft	30
3 Einstellungen für ein Real-Time PCR-Experiment.....	32
3.1 Allgemeine Informationen zum Real-Time PCR-Experiment.....	33
3.2 qPCR-Protokoll programmieren	34
3.2.1 Blocktemperaturgradienten programmieren.....	39
3.3 Parameter für die Fluoreszenzmessung programmieren.....	40
3.4 Probeneigenschaften im Layout eingeben	41
4 Monitoring.....	44
4.1 qPCR-Lauf durchführen.....	44
4.2 Monitoranzeige	45
5 Ergebnisse	47
5.1 Anzeige und mathematische Berechnung der Ergebnisse anpassen	47
5.2 Ct-Wert berechnen	49
5.3 Schmelztemperatur berechnen.....	51
5.4 Ergebnisdateien in der Desktop-Software auswerten.....	52
5.5 Ergebnisse exportieren.....	53
6 Optionen – Allgemeine Softwareeinstellungen.....	54

1 Softwareübersicht

Die Software qPCRsoft touch dient der Steuerung von Real-Time PCR-Thermocyclern und der Erstellung und Auswertung von qPCR-Experimenten.

Beschriebene Software-Version	Die vorliegende Anleitung orientiert sich an der Version qPCRsoft touch 4.0.1.0.
Unterstützte Geräte	Die Software unterstützt die Gerätesteuerung und Datenauswertung folgender Geräte: <ul style="list-style-type: none"> ■ qTOWERiris
Hinweise zur Bedienungsanleitung	Folgende typografische Kennzeichnungen werden verwendet: <ul style="list-style-type: none"> ■ Softwarebegriffe sind fett ausgezeichnet. ■ In der Software sind Funktionen auf Reiter und Menüpunkte aufgeteilt. Reiter und Menüpunkte werden mit einem senkrechten Strich „ “ aneinander gereiht, z. B. Vorlagen Neue Vorlage Thermocycler. ■ Arbeitsschritte für die Bedienung der Software sind mit einem Dreieck gekennzeichnet: <ul style="list-style-type: none"> ▶ Die Seite Vorlagen aufrufen.

1.1 Software starten und beenden

Software starten	<p>Beim Einschalten des Thermocyclers wird das integrierte Tablet automatisch hochgefahren und die Software gestartet.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Den Thermocycler am Netzschalter einschalten. <ul style="list-style-type: none"> ✓ Das integrierte Tablet wird eingeschaltet ✓ Die Software startet automatisch. ▶ Alternativ kann die Software auch vom Startbildschirm aus gestartet werden.
Software beenden	<p>Software über die Startseite beenden</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Auf der Startseite: die Software über Tippen auf  beenden. <ul style="list-style-type: none"> ✓ Die Software ist beendet. ✓ Das Betriebssystem kann verwendet werden. ✓ Das Tablet kann über das Betriebssystem heruntergefahren werden. ✓ Der Thermocycler kann nach Herunterfahren des Tablets ausgeschaltet werden. Beim Ausschalten die Hinweise in der Bedienungsanleitung des Thermocyclers beachten. <p>Software über die Einstellungen beenden</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Die Einstellungen über Tippen auf  aufrufen. ▶ Die Software über Tippen auf  beenden. <ul style="list-style-type: none"> ✓ Die Software ist beendet. ✓ Das Betriebssystem kann verwendet werden. ✓ Das Tablet kann heruntergefahren werden.

- ✓ Der Thermocycler kann nach Herunterfahren des Tablets ausgeschaltet werden. Beim Ausschalten die Hinweise in der Bedienungsanleitung des Thermocyclers beachten.

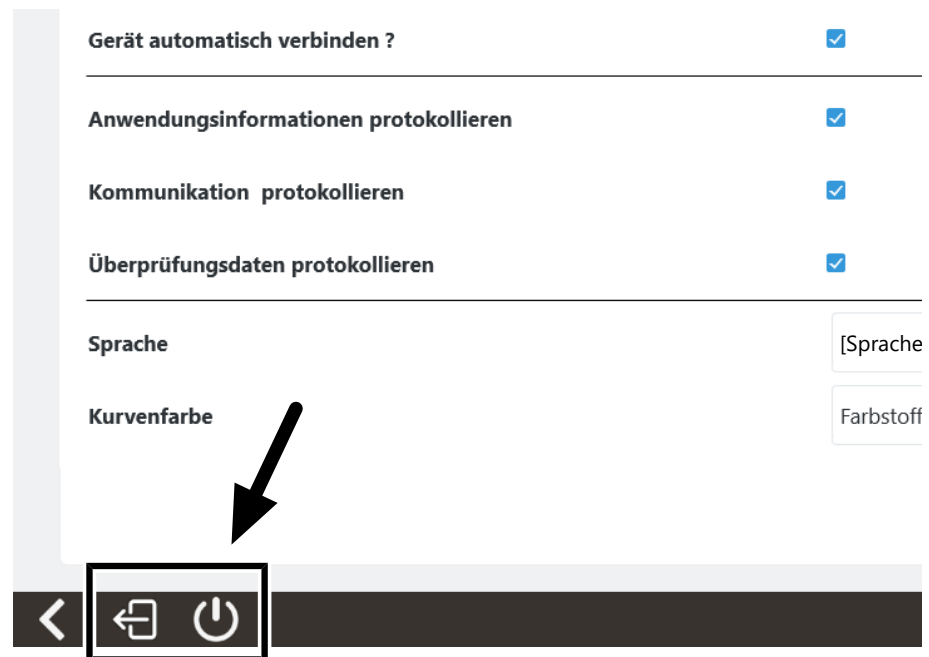





Abb. 1 Schließen der Software auf der Seite Allgemeine Einstellungen

Software über das Betriebssystem beenden

- ▶ Das Aktionscenter des Windows-Betriebssystems aufrufen: mit dem Finger vom rechten Rand des Bildschirms nach links swipen.
- ▶ Im Aktionscenter den Tabletmode aktivieren.
- ▶ Die Taskleiste des Windows-Betriebssystems aufrufen: mit dem Finger vom unteren Rand des Bildschirms nach oben swipen.
- ▶ Auf das Icon  klicken, um die aktiven Anwendungen zu sehen.
- ▶ In der Ansicht der aktiven Anwendungen die Software über Klick auf  schließen.
 - ✓ Die Software ist beendet.
 - ✓ Das Tablet kann heruntergefahren werden.
 - ✓ Der Thermocycler kann ausgeschaltet werden. Beim Ausschalten die Hinweise in der Bedienungsanleitung des Thermocyclers beachten.




Tablet herunterfahren

Tablet über die Einstellungen herunterfahren

- ▶ Über das Icon die Einstellungen aufrufen: die Software über  beenden.
 - ✓ Die Software ist beendet und das Tablet wird heruntergefahren.
 - ✓ Der Thermocycler kann ausgeschaltet werden. Beim Ausschalten die Hinweise in der Bedienungsanleitung des Thermocyclers beachten.

Tablet über das Betriebssystem herunterfahren




- ⇒ Die Software ist beendet.
- ▶ Die Taskleiste des Windows-Betriebssystems aufrufen: mit dem Finger vom unteren Rand des Bildschirms nach oben swipen.

- ▶ Auf  **Start** |  **Ein/Aus** |  **Herunterfahren** klicken.
 - ✓ Das Tablet wird heruntergefahren.
 - ✓ Der Thermocycler kann ausgeschaltet werden. Beim Ausschalten die Hinweise in der Bedienungsanleitung des Thermocyclers beachten.

1.2 Bedienung der Software

Häufig verwendete Icons

Folgende Icons/Funktionen werden in der Software häufig verwendet:

Icon	Funktion
	Hilfe aufrufen
	Einstellungen öffnen
	Auf die vorherige Seite zurückkehren.

Aktivierung einer Funktion

In der Software wird eine Funktion durch Antippen aktiviert. Bei Eingabefeldern wird entsprechend der Art der Eingabe eine alphanumerisch oder eine numerische Tastatur geöffnet.

Tastaturen











Abb. 2 Alphanumerische Tastatur



Abb. 3 Numerische Tastatur


Für die Eingabe von Texten erscheint die alphanumerische Tastatur. Für die Eingabe von Zahlenwerten wird die numerische Tastatur eingeblendet. Die Tastaturen enthalten folgende Funktionstasten:

Taste	Beschreibung
	Alphanumerisch: Auf Großbuchstaben umschalten Numerisch: Auf Rechenzeichen umschalten
	Cursor bewegen
	Zeichen links vom Cursor löschen

Taste	Beschreibung
	Zeichen rechts vom Cursor löschen
	An den Beginn der Zeile oder Auswahl springen
	Ans Ende der Zeile oder Auswahl springen
	Tastatur an den unteren oder oberen Rand des Bildschirms verschieben.
	Tastatur ausblenden

Hilfe verwenden

Für jede Programmseite kann eine Hilfe eingeblendet werden, die Informationen über die verfügbaren Parameter, Optionen und Icons auf der Seite enthält.

- ▶ Auf der Softwareoberfläche auf  tippen.
 - ✓ Die Hilfe wird eingeblendet.
- ▶ Für die Rückkehr ins Programm auf eine beliebige Stelle des Tablet-Bildschirms tippen.

1.3 Startseite



Abb. 4 Startseite



Menüs

Die Startseite erscheint nach dem Start der Software. Die Menüs auf dieser Seite sind der Ausgangspunkt für alle grundlegenden Funktionen der Software.

Menü	Funktionen
Vorlagen	Neue Vorlagen für Experimente erstellen Eine gespeicherte Vorlage für den qPCR-Lauf aktivieren

Menü	Funktionen
	qPCR-Lauf starten
Ergebnisse	Gespeicherte Ergebnisdatei öffnen

Icons

Icon	Beschreibung
	Software beenden und Tablet ausschalten Das Gerät muss anschließend am Netzschalter ausgeschaltet werden. Die Hinweise in der Bedienungsanleitung des Gerätes beachten.
	Hilfe öffnen

i HINWEIS! Sie können in den Einstellungen festlegen, ob die Startseite beim Starten der Software eingeblendet werden soll. Ist die Funktion deaktiviert, erscheint beim Start der Software die Vorlagenseite.

1.4 Seite Vorlagen

Experimente werden in der Software unter Verwendung einer Vorlage gestartet. In der Vorlage sind alle Informationen zum Experiment hinterlegt.

Über die Seite **Vorlagen** können Sie Vorlagen suchen, ein Experiment mit einer vorhandenen Vorlage starten oder eine neue Vorlage erstellen.

i HINWEIS! Sind in dem ausgewählten Speicherort viele Vorlagen angelegt, kann das Laden der Liste mit Vorlagen einen Moment dauern. Über der Liste mit Vorlagen können Sie an einem Ladebalken erkennen, wie weit das Laden der Liste vorangeschritten sind. Die Zahl über dem Ladebalken beziffert die Anzahl der geladenen Vorlagen.

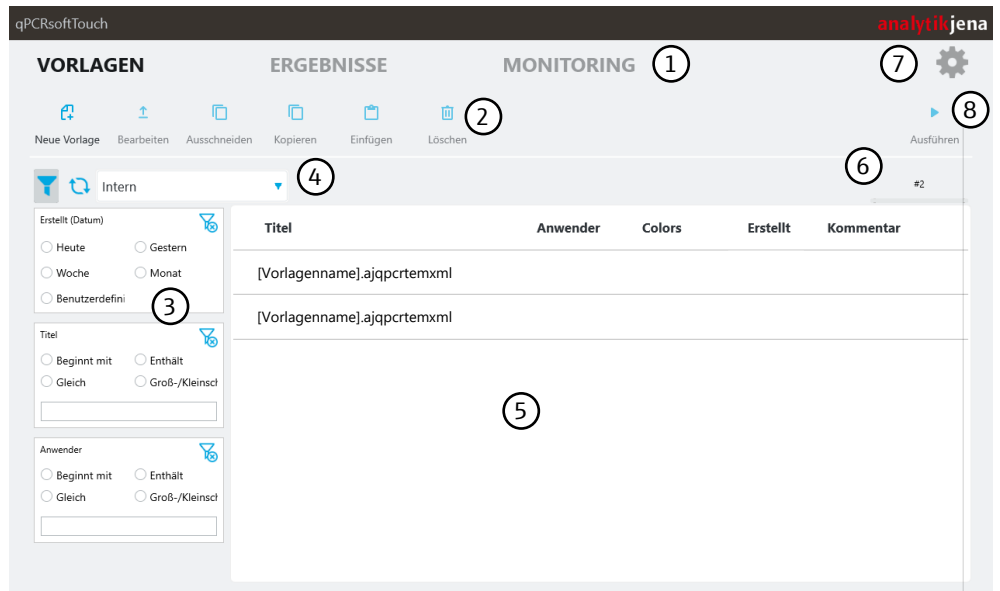





Abb. 5 Seite Vorlagen

Elemente

Die Seite **Vorlagen** Vorlagenbereich enthält folgende Elemente:

Nr.	Element	Beschreibung
1	Kopfzeile	Die Reiter ermöglichen den einfachen Wechsel zwischen den Funktionsseiten der Software.

Nr.	Element	Beschreibung
2	Iconleiste	Funktionen zum Bearbeiten vorhandener und Erstellen neuer Vorlagen. Die Vorlagen können ebenfalls zwischen verschiedenen Speicherorten verschoben werden.
3	Filter	Erlaubt das Filtern nach ausgewählten Kriterien. Bei Anwählen einer der Radio-Buttons oder des Icons  wird der Filter angewendet. Der Filter kann über das Icon  zurückgesetzt werden.
4	Auswahl des Speicherorts	Ist ein externer Datenspeicher mit dem Gerät verbunden und eingerichtet, kann in diesem Dropdown-Menü zwischen dem internen Speicher des Tablets und dem externen Datenspeicher ausgewählt werden.
5	Liste mit Vorlagen	Die Tabelle zeigt alle Vorlagen in dem ausgewählten Speicherort an. Details zu den Vorlagen, wie Anwender , Colors , Erstellt oder Kommentar werden ebenfalls mit angezeigt.
6	Ladebalken	Zeigt den Ladefortschritt für die Liste mit Vorlagen an.
7	Einstellungen	<ul style="list-style-type: none"> Allgemeine Software- und Geräteeinstellungen für den Thermocycler vornehmen. Farbmodule verwalten. Transportsicherung einlegen. Software-Update starten.
8	 Ausführen	Ein Experiment mit der ausgewählten Vorlage starten

1.5 Vorlagenseiten

Im Bereich **Neue Vorlage** erfolgt die Eingabe des PCR-Protokolls, die Festlegung der Fluoreszenzmessung, die Eingabe der Proben und das Starten des qPCR-Laufs.

Hauptelemente im Vorlagenbereich

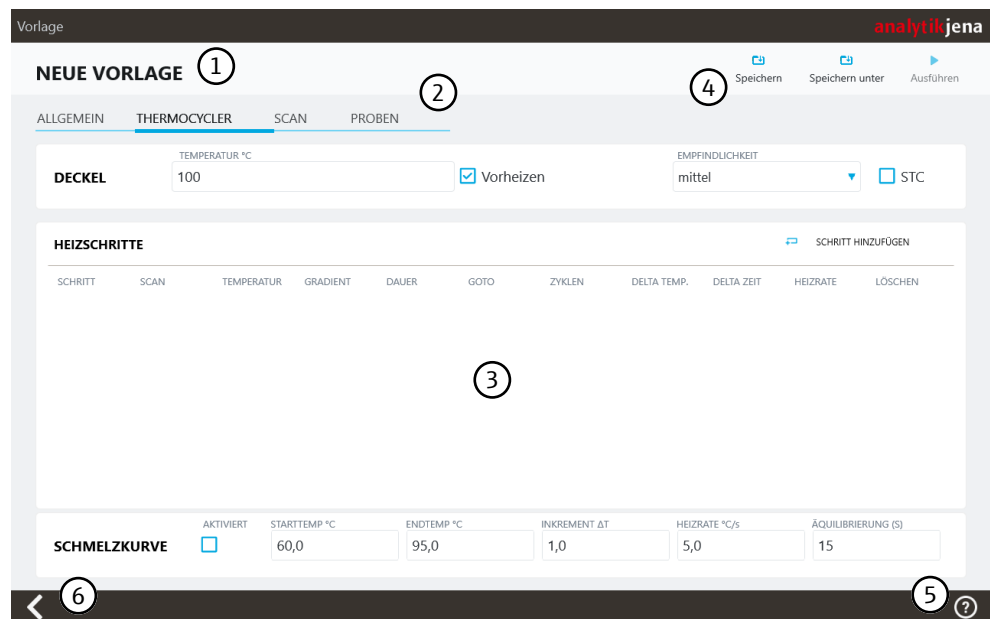




Abb. 6 Vorlagenbereich am Beispiel der Seite Thermocycler

Der Vorlagenbereich enthält folgende Elemente:

Nr.	Element	Beschreibung
1	Kopfzeile	Informationen über den Seitennamen, den Namen der Vorlagendatei
2	Seitenauswahl	Sprung zur Vorlagenseite
3	Vorlagenseite	Bearbeitungsbereich für das qPCR-Protokoll
4	Iconleiste	Funktions-Icons Die Funktionen und deren Icons variieren entsprechend dem Inhalt der aktuellen Seite.
5	Hilfe	Hilfe öffnen
6	Schließen	Die Seite Neue Vorlage schließen und zur Seite Vorlagen zurückkehren.

Die Vorlagenseiten beinhalten alle Parameter für Durchführung eines Real-Time PCR-Experiments. Die Ansichten der Vorlagenseiten erscheinen:

- bei der Erstellung einer neuen Vorlage über den Button  **Neue Vorlage** auf der Seite **Vorlagen**
- beim Editieren einer bereits erstellten Vorlage über Auswahl auf der Seite **Vorlagen** und Klicken des Buttons  **Bearbeiten**

1.5.1 Vorlagenseite Allgemein

Die Eingaben auf der Seite **Allgemein** sind optional.

Abb. 7 Seite Allgemein

Elemente

Auf der Seite **Allgemein** können folgende Informationen eingegeben werden:

Option	Beschreibung
Titel	Bezeichnung der Vorlage
Anwender	Name des Autors der Vorlage
Erstellt	Erstelldatum und -uhrzeit der Vorlage Die Informationen werden automatisch von der Software eingetragen.
Kommentar	Zusätzliche Informationen
Überprüfung	Durchführen einer technischen Prüfung. Optional vor und nach dem Experiment durchführbar.

Icons

Icon	Beschreibung
	Vorlage speichern
	Vorlage speichern unter
	Lauf starten
	Auf die Seite Vorlagen zurückkehren, Eingaben gehen verloren.
	Hilfe öffnen

1.5.2 Vorlagenseite Thermocycler

Die Seite **Thermocycler** beinhaltet alle Parameter für das PCR-Protokoll. Es können bis zu 28 Heizschritte definiert werden.

The screenshot shows the 'Thermocycler' configuration interface. At the top, there are tabs for 'ALLGEMEIN', 'THERMOCYCLER', 'SCAN', and 'PROBEN'. The 'THERMOCYCLER' tab is active. Below the tabs, there are sections for 'DECKEL' (Cover), 'HEIZSCHRITTE' (Heating Steps), and 'SCHMELZKURVE' (Melting Curve). The 'DECKEL' section includes a temperature input field set to 100, a 'Vorheizen' checkbox, and an 'EMPFINDLICHKEIT' dropdown set to 'mittel'. The 'HEIZSCHRITTE' section is a table with columns for 'SCHRIFFT', 'SCAN', 'TEMPERATUR', 'GRADIENT', 'DAUER', 'GOTO', 'ZYKLEN', 'DELTA TEMP.', 'DELTA ZEIT', 'HEIZRATE', and 'LÖSCHEN'. Step 1 is selected. The 'SCHMELZKURVE' section includes an 'AKTIVIERT' checkbox, 'STARTTEMP °C' (60,0), 'ENDTEMP °C' (95,0), 'INKREMENT ΔT' (1,0), 'HEIZRATE °C/s' (5,0), and 'ÄQUILIBRIERUNG (S)' (15).

Abb. 8 Seite Thermocycler

DECKEL

Option	Beschreibung
Temperatur	<p>Deckeltemperatur</p> <p>Die Deckeltemperatur sollte ca. 5 °C über der maximalen Blocktemperatur liegen, um das Verdunsten von Flüssigkeit aus dem Reaktionsansatz und deren Kondensation an den Wänden oder Deckel der Reaktionsgefäße zu verhindern.</p> <p>Eingabebereich: 30 ... 110 °C</p>
Vorheizen	<p>Der Heizdeckel wird auf die eingestellte Temperatur vorgeheizt, bevor das eigentliche Programm startet.</p> <p>Durch das Vorheizen bildet sich ein homogen temperiertes Luftkissen zwischen den Probengefäßen, welches eine bessere Temperaturuniformität zwischen den Proben gewährleistet. Während der Deckel aufheizt, wird der Block auf konstant 25 °C gehalten.</p> <p>Wenn die Option deaktiviert wird, startet das PCR-Programm schon, während der Deckel noch aufheizt.</p>
EMPFINDLICHKEIT	<p>Grundempfindlichkeit des Detektionssystems</p> <p>Diese Einstellung wirkt sich auf alle Farbstoffe aus und sollte nur verändert werden, wenn besonders schwache oder intensive Proben gemessen werden sollen.</p> <p>Standardeinstellung: mittel</p>
STC (Simulated Tube Control)	<p>Wenn aktiviert, wird mit der gemessenen Blocktemperatur die in der Probe herrschende Temperatur vorausberechnet und die Temperatur auf die Probentemperatur geregelt. Diese Methode wird insbesondere für schnelle Protokolle und hohe Probenvolumina empfohlen.</p> <p>Wenn deaktiviert, wird die Blocktemperatur entsprechend dem gewählten Temperaturprogramm geregelt. Insbesondere bei hohen Heiz- und Kühlraten und kurzen Haltezeiten kann die tatsächlich in der Probe herrschende Temperatur von der gewünschten Temperatur abweichen.</p>

HEIZSCHRITTE







Im Tabellenbereich editieren Sie das PCR-Protokoll.

Schmelzkurve

Bei aktivierter Funktion wird die Schmelze an die abgeschlossene Produktamplifikation angeschlossen.

Im Tabellenbereich können Sie die Schmelzkurve konfigurieren.

Icons

Icons	Beschreibung
	Vorlage speichern
	Vorlage speichern unter
	Lauf starten
	Heizschritt löschen
	Auf die Seite Vorlagen zurückkehren, Eingaben gehen verloren.
	Hilfe öffnen

1.5.3 Vorlagenseite Scan

Die Produktakkumulation wird in der Real-Time PCR durch die Zunahmen von Fluoreszenz gemessen. Die zu messenden Farben werden auf der Seite **Scan** definiert.

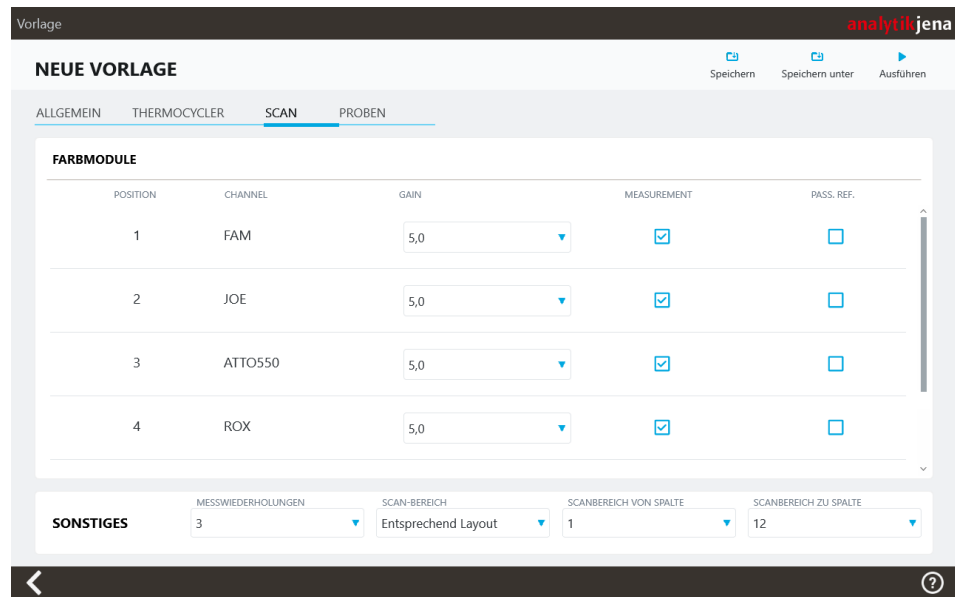


Abb. 9 Seite Scan

Elemente/Parameter

Elemente	Beschreibung
POSITION	Position der Farbmodule auf dem Farbmodulrad des Thermocyclers
KANAL	Installierte Farbmodule Im Thermocycler können bis zu 6 verschiedene Farbmodule installiert werden. Die installierten Farbmodule werden in den Optionen der Software spezifiziert.
GAIN	Abgleich der Signalintensitäten Die Intensität ist in Stufen im Bereich 0,1 ... 10,0 und sollte so gewählt werden, dass die Intensität einer positiven Probe am Ende des PCR-Laufs mindestens 10000 beträgt.

Elemente	Beschreibung
	Die Voreinstellung ist 5,0. Diese Einstellung ist empfohlen und für die meisten Experimente ideal. Sie können die Voreinstellung jederzeit in den Optionen ändern.
MESSUNG	Messung des Farbstoffs Die Fluoreszenzen der mit einem Häkchen <input checked="" type="checkbox"/> markierten Farbstoffe werden während des qPCR-Laufs gemessen.
PASS. REF.	Referenzfarbstoff Bedingt durch die verwendete LED-Technologie ist es nicht notwendig, eine passive Referenz zu verwenden. Falls dennoch ein Referenzfarbstoff gemessen werden soll, muss in dieser Spalte ein Häkchen gesetzt werden.

Icons

Icon	Beschreibung
	Vorlage speichern
	Vorlage speichern unter
	Lauf starten
	Auf die Seite Vorlagen zurückkehren, Eingaben gehen verloren.
	Hilfe öffnen

1.5.4 Vorlagenseite Proben

Auf der Seite **Proben** wird das Probenlayout mit den Probeneigenschaften und Probenpositionen im Plattenschema angezeigt und bearbeitet. Jeder Probe können damit Eigenschaften wie Name und Probentyp zugewiesen werden. Darüber hinaus können Proben aus verschiedenen experimentellen Ansätzen in Gruppen zusammengefasst werden. Jedem Farbstoff kann das entsprechende detektierte Gen und dessen Konzentration zugewiesen werden, das sich hinter der gemessenen Farbstoff-Fluoreszenz verbirgt.

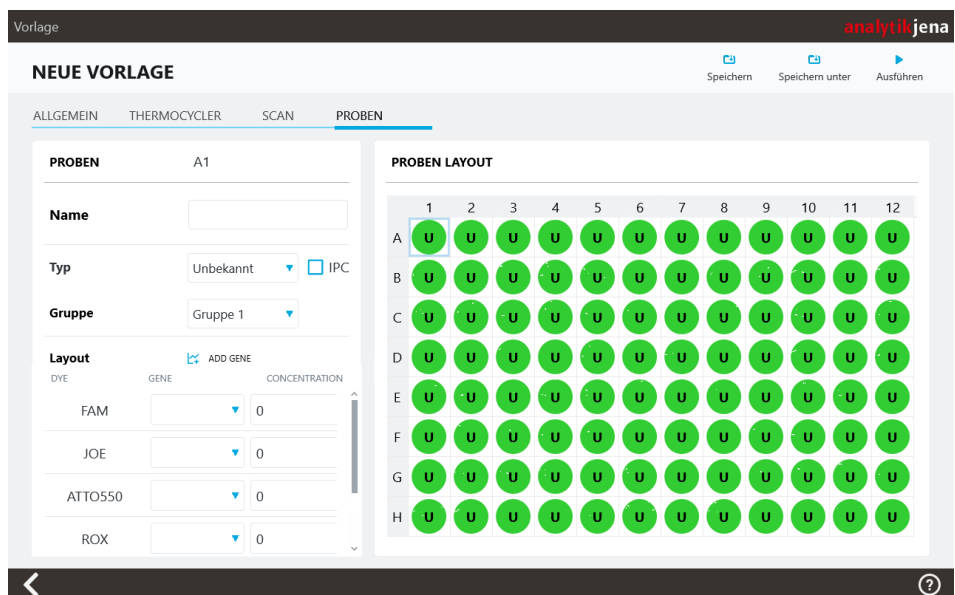







Abb. 10 Seite Proben mit dem Probenlayout im Plattenformat

Elemente/Parameter

Element	Beschreibung
PROBEN	Für das blau umschlossene (markierte) Well werden die eingegebenen Probeneigenschaften in diesem Feld angezeigt. Wenn mehrere Wells markiert sind, werden die Eigenschaften der Probe angezeigt, die sich im markierten Areal links oben befindet.
PROBEN LAYOUT	Übersicht der belegten Positionen im Layout mit einer Kurzinformati- on zu den Probeneigenschaften Die Probenzelle ist mit dem Icon des Probenotyps versehen.
Layout	Bei der Amplifikation werden die zu untersuchenden Gene mit festge- legten Farbstoffen markiert. Ein Farbstoff wird von einem bestimm- ten Farbmodul erfasst. Unter Layout können den Farbmodulen die Gene zugewiesen werden, die sich hinter den gemessen Farbstoff-Fluoreszenzen verbergen. Bei Probentyp Standard : Die Konzentration des zu analysierenden Gens eingeben.

Icons

Icon	Funktion
	Ein Gen für die Auswahl im Dropdown-Menü hinzufügen. Hinzuge- fügte Gene können den Farbstoffen zugeordnet werden.
	Vorlage speichern Vorlage speichern unter
	Lauf starten
	Auf die Seite Vorlagen zurückkehren, Eingaben gehen verloren.
	Hilfe öffnen

1.6 Seite MONITORING

Die Seite **MONITORING** wird angezeigt, wenn mit einer ausgewählten oder erstellten Vorlage ein neues Experiment gestartet wird. Auf der Seite **MONITORING** können Sie den qPCR-Lauf mit den in der Vorlage definierten Einstellungen verfolgen.

Nach dem qPCR-Lauf werden die gemessenen Ergebnisse in einer Ergebnisdatei zusammengefasst. In der Ergebnisdatei können Sie ausgehend von der Seite **MONITORING** die Fluoreszenzkurven auswerten und den Ct-Wert und die Schmelztemperatur T_m bestimmen.

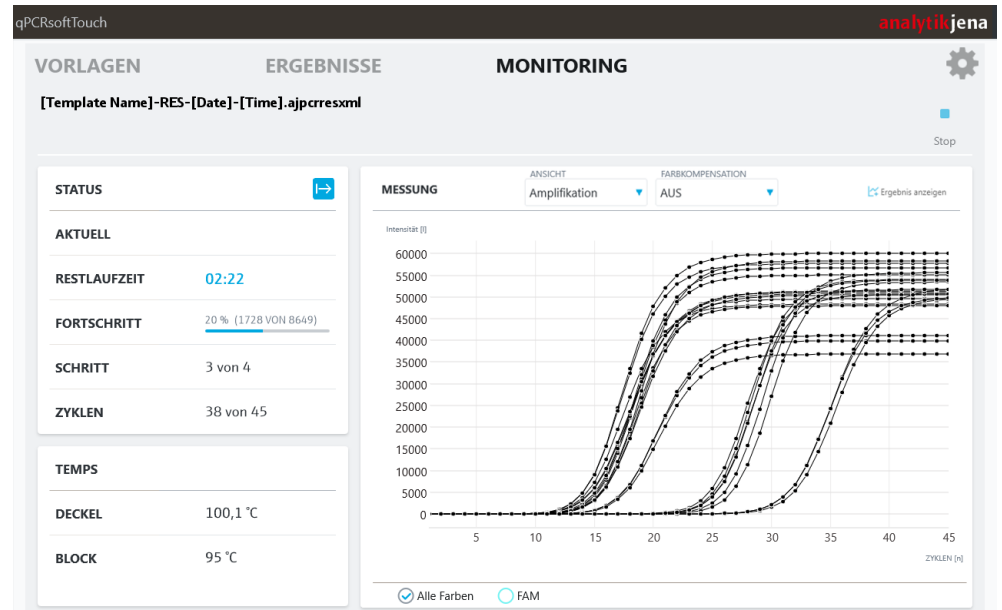


Abb. 11 Seite MONITORING mit Anzeige der Fluoreszenzkurven

Elemente

Element	Beschreibung
Grafik	Anzeige der Amplifikations- oder Schmelzkurven (Daten der Fluoreszenzmessung) Die Kurvenfarben können in den Optionen unter Allgemeine Einstellungen gewählt werden. Die Optionen über aufrufen.
ANSICHT	Liste mit Anzeigeeoptionen: <ul style="list-style-type: none"> ■ Rohdaten (Amplifikation ohne Basisliniensubtraktion) ■ Amplifikation ■ Schmelzkurve
Farbkompensation	Liste mit Farbkompensation-Optionen
Farbstoffe unterhalb der Grafik	Zielgen/Farbstoff-Kombination zur Anzeige auswählen Die Anzeige kann zwischen der Fluoreszenzintensität für den gewählten Farbstoff (Gen) oder aller Farbstoffe (Alle Farben) gewechselt werden.

Icons

Icon	Beschreibung
	qPCR-Lauf stoppen Die bisher aufgenommenen Daten müssen gespeichert werden und können danach ausgewertet werden. i HINWEIS! Die Auswertung von Daten abgebrochener Messungen ist nicht empfohlen!
	Zustand der Messung Aktueller Zustand: Start der Messung Weitere Zustände werden im Kapitel „Monitoranzeige“ erklärt.
Radio-Buttons 	Zielgen/Farbstoff-Kombination zur Anzeige auswählen Auswahl zwischen folgenden Anzeigen: <ul style="list-style-type: none"> ■ Alle Farben ■ Zielgen/Farbstoff-Kombinationen
 Ergebnis anzeigen	Ergebnisse aufrufen Zeigt die Ergebnisse der durchgeführten und beendeten Messung in der Ergebnisdatei an. Kann erst nach Ende der Messung angewählt werden.

1.7 Seite Ergebnisse

Abgeschlossene Experimente werden in einer Ergebnisdatei gespeichert.

Über die Seite **Ergebnisse** können Sie Ergebnisdateien suchen und öffnen.

i HINWEIS! Sind in dem ausgewählten Speicherort viele Ergebnisdateien hinterlegt, kann das Laden der Liste mit Ergebnisdateien einen Moment dauern. Über der Liste mit Ergebnisdateien können Sie an einem Ladebalken erkennen, wie weit das Laden der Liste vorangeschritten sind. Die Zahl über dem Ladebalken beziffert die Anzahl der geladenen Ergebnisdateien.

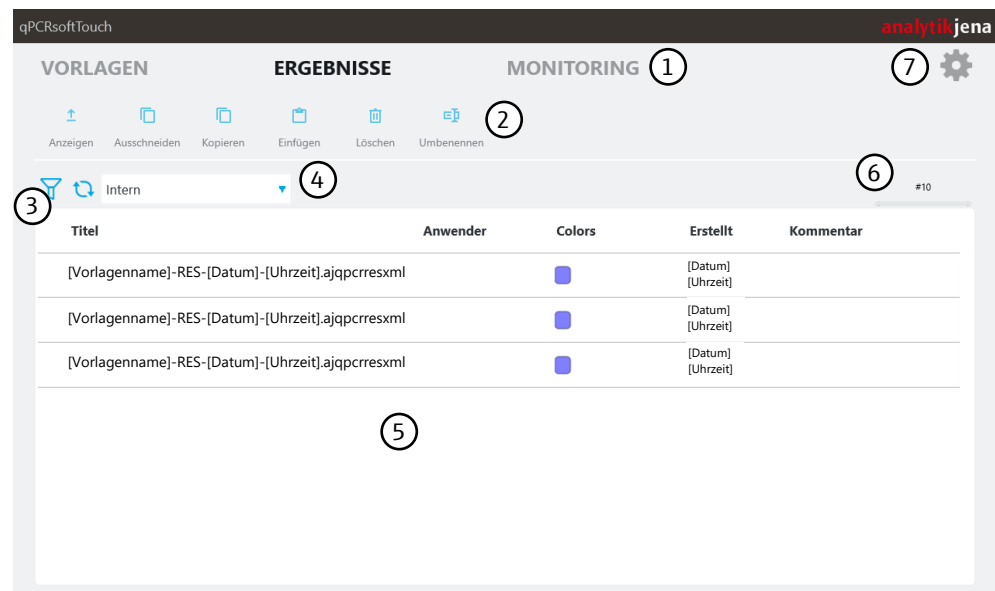




Abb. 12 Seite Ergebnisse

Elemente

Die Seite **Ergebnisse** Vorlagenbereich enthält folgende Elemente:

Nr.	Element	Beschreibung
1	Kopfzeile	Die Reiter ermöglichen den einfachen Wechsel zwischen den Funktionsseiten der Software.
2	Iconleiste	Funktionen zum: <ul style="list-style-type: none"> ■ Anzeigen von Ergebnissen ■ Verschieben von Ergebnissen zwischen verschiedenen Speicherorten
3	Filter	Erlaubt das Filtern nach ausgewählten Kriterien. Bei Anwählen einer der Radio-Buttons oder des Icons  wird der Filter angewendet. Der Filter kann über das Icon  zurückgesetzt werden.
4	Auswahl des Speicherorts	Ist ein externer Datenspeicher mit dem Gerät verbunden und eingerichtet, kann in diesem Dropdown-Menü zwischen dem internen Speicher des Tablets und dem externen Datenspeicher ausgewählt werden.
5	Liste mit Ergebnisdateien	Die Tabelle zeigt alle Ergebnisse in dem ausgewählten Speicherort an. Details zu den Ergebnissen, wie Anwender , Colors , Erstellt oder Kommentar werden ebenfalls mit angezeigt.
6	Ladebalken	Zeigt den Ladefortschritt für die Liste mit Vorlagen an.
7	Einstellungen	<ul style="list-style-type: none"> ■ Allgemeine Software- und Geräteeinstellungen für den Thermocycler vornehmen. ■ Farbmodule verwalten. ■ Transportsicherung einlegen. ■ Software-Update starten.

1.8 Ergebnisseiten

1.8.1 Ergebnisseite Info

Die Ergebnisseite **Info** beinhaltet grundlegende Informationen zu den vorgenommenen PCR-Einstellungen der angezeigten Ergebnisdatei.

INFO	
ZYKLEN	45
FARBMODULE	6
WIEDERHOLUNGEN	3
SCHMELZKURVE	Yes
PROBENLAYOUT	12 x 8
EMPFINDLICHKEIT	Mittel
SIMULATED TUBE CONTROL	Ja

HEIZSCHRITTE					
No.	Scan	Temperatur	Haltezeit	Go To	Zyklen
1		95,0	2:00		
2		95,0	0:15		
3		56,3 - 64,7	0:15		
4	🔄	72,0	0:30	2	44
5	🔄	60,0 - 95,0	Schmelzen		

Abb. 13 Seite Info




Info

Option	Beschreibung
ZYKLEN	Anzahl der Zyklen
FARBMODULE	Anzahl der eingesetzten Farbmodule
WIEDERHOLUNGEN	Anzahl der Messwiederholungen
Schmelzkurve	Zeigt an, ob eine Schmelzkurve durchgeführt wurde. Wurde eine Schmelzkurve durchgeführt, dann werden die Informationen zu dieser ebenfalls in der Tabelle unter HEIZSCHRITTE angezeigt.
PROBENLAYOUT	Anzahl der Proben im Probenlayout (Spalten x Reihen)
EMPFINDLICHKEIT	Grundempfindlichkeit des Detektorsystems
SIMULATED TUBE CONTROL	Zeigt an, ob die Methode SIMULATED TUBE CONTROL aktiviert war. Wenn aktiviert, wird mit der gemessenen Blocktemperatur die in der Probe herrschende Temperatur vorausberechnet und die Temperatur auf die Probentemperatur geregelt. Diese Methode wird insbesondere für schnelle Protokolle und hohe Probenvolumina empfohlen.

HEIZSCHRITTE

Option	Beschreibung
No.	Schritt des Temperaturprotokolls
Scan	Zeigt an, in welchem Schritt ein Scan erfolgt
Temperatur	Eingestellte Temperatur des Schrittes
Goto	Nennt den Schritt, zu welchem die programmierte Schleife zurückspringt.
Zyklen	Anzahl der Wiederholungen des Zyklus
Farbkompensation	Liste mit Farbkompensation-Optionen

Icons

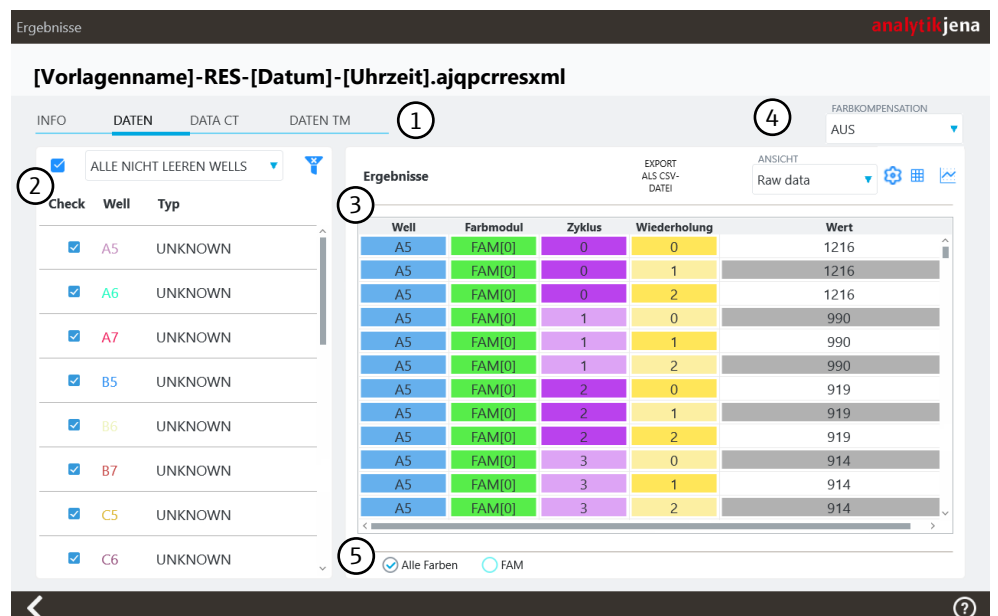
Option	Beschreibung
	Scan erfolgt in diesem Schritt des PCR-Protokolls.
	Auf die Seite Ergebnisse zurückkehren.
	Hilfe öffnen

1.8.2 Ergebnisseiten DATEN, DATA CT und DATEN TM

Die Ergebnisseite **DATEN** zeigt alle Messergebnisse der Messung an.

Die Ergebnisseiten **DATA CT** und **DATEN TM** ermöglichen die Ermittlung der Ct-Werte und der Schmelztemperaturen.

Der Grundaufbau der drei Ergebnisseiten wird in den nachfolgenden Abschnitten erläutert. Unterschiede werden an der entsprechenden Stelle aufgezeigt.



The screenshot shows the 'Ergebnisse' page with the following elements:

- 1**: Navigation tabs (INFO, DATEN, DATA CT, DATEN TM).
- 2**: Filter dropdown menu (ALLE NICHT LEEREN WELLS).
- 3**: Results table with columns: Well, Farbmodul, Zyklus, Wiederholung, Wert.
- 4**: Settings and view options (EXPORT ALS CSV-DATEI, ANSICHT: Raw data, FARBKOMPENSATION: AUS).
- 5**: Radio buttons for color selection (Alle Farben, FAM).

Well	Farbmodul	Zyklus	Wiederholung	Wert
A5	FAM[0]	0	0	1216
A5	FAM[0]	0	1	1216
A5	FAM[0]	0	2	1216
A5	FAM[0]	1	0	990
A5	FAM[0]	1	1	990
A5	FAM[0]	1	2	990
A5	FAM[0]	2	0	919
A5	FAM[0]	2	1	919
A5	FAM[0]	2	2	919
A5	FAM[0]	3	0	914
A5	FAM[0]	3	1	914
A5	FAM[0]	3	2	914

Abb. 14 Elemente der Seite DATEN

- 1 Navigationsreiter
- 2 Tabelle mit Probenauswahl
- 3 Ergebnisse, in der Ansicht als Tabelle oder Grafik
- 4 Anpassungsoptionen, Datenexport und Ansichtswchsel zwischen Liste und Diagramm
- 5 Radio-Buttons

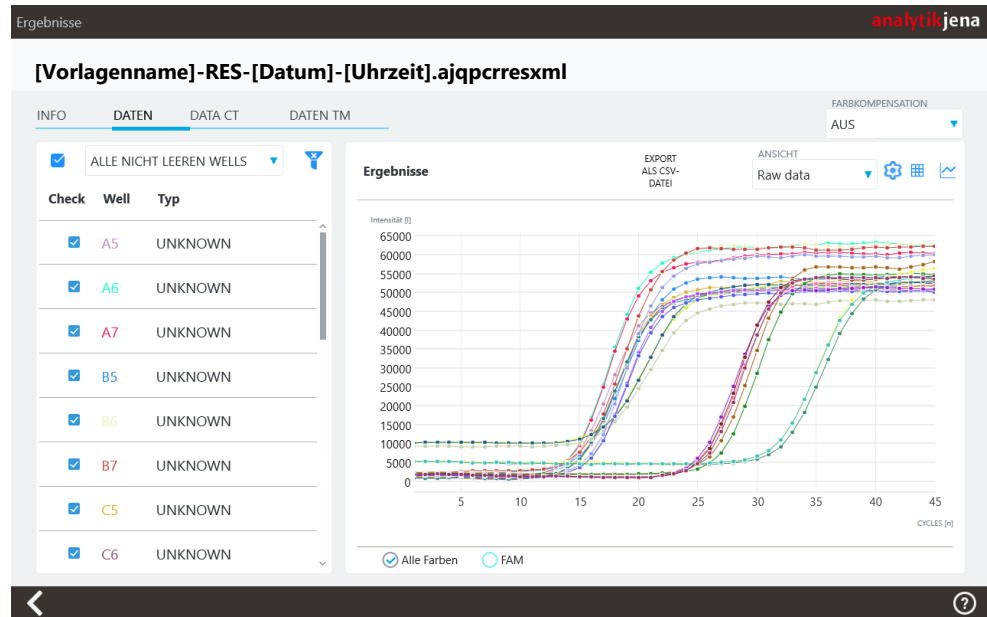


Abb. 15 Seite DATEN in der Ansicht als Diagramm

i HINWEIS! Sie können in der Ansicht als Diagramm auf einzelne Punkte in den Kurven klicken. Die Software hebt automatisch die zugehörige Probe in der Tabelle mit der Probenauswahl am linken Rand des Bildschirms hervor.

Navigationsreiter

Über die Navigationsreiter können Sie zwischen folgenden Seiten wechseln:

- **Info:** zeigt allgemeine Informationen und vorgenommene Einstellungen zur Messung
- **DATEN:** gibt einen Gesamtüberblick über die Messergebnisse
- **DATA CT:** ermöglicht die Berechnung und Darstellung der Ct-Werte
- **DATEN TM:** ermöglicht die Berechnung und Darstellung der Schmelztemperaturen (erscheint nur bei Durchführung einer Schmelzkurve im Experiment)

Tabelle mit Probenauswahl

Option	Beschreibung
Dropdown-Menü	Über das Dropdown-Menü kann ein Filter festgelegt werden. Der Filter bestimmt, welche Ergebnisse mit der Checkbox an- und abgewählt werden.
<input checked="" type="checkbox"/>	Alle Proben anwählen oder abwählen
	Filter löschen
Check	An- und Abwählen einzelner Ergebnisse
Well	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Well-Position der gemessenen Probe ▪ Kurvenfarbe der gemessenen Probe in der Grafik
Typ	Probentyp

i HINWEIS! Sie können die Zuweisung der Kurvenfarbe in den allgemeinen Softwareoptionen anpassen.




Ergebnisse

Im Abschnitt **Ergebnisse** werden die Ergebnisse der Messung angezeigt. In den Reitern **DATA CT** und **DATEN TM** werden in diesem Abschnitt die berechneten Ergebnisse der Ct-Werte und der Schmelztemperaturen angezeigt.

In der Tabellenansicht finden Sie in diesem Abschnitt folgende Informationen:

Reiter	Optionen und Beschreibung
DATEN	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Well: Well-Position der gemessenen Probe ▪ Farbmodul: Farbmodul, mit welchem gemessen wurde ▪ Zyklus: Zyklus, in welchem die Messung erfolgte ▪ Wiederholung ▪ Wert: Gemessener Wert
DATA CT	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Well: Well-Position der gemessenen Probe ▪ Probenname: Zugewiesener Probenname ▪ Probentyp: Zugewiesener Probentyp ▪ Farbstoff: Gemessener Farbstoff ▪ Gen: Zugewiesenes Gen ▪ Ct: Ct-Wert ▪ Mittelwert Ct: Durchschnittlicher Ct-Wert von Replikaten Sind keine Replikate angelegt, entspricht der durchschnittliche Wert dem Wert unter Ct. ▪ Std. dev. Ct: Standardabweichung des durchschnittlichen Ct-Wertes von Replikaten Sind keine Replikate angelegt, entfällt dieser Wert.
DATEN TM	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Well: Well-Position der gemessenen Probe ▪ Probenname: Zugewiesener Probenname ▪ Probentyp: Zugewiesener Probentyp ▪ Farbstoff: Gemessener Farbstoff ▪ Gen: Zugewiesenes Gen ▪ Tm: Schmelztemperatur-Wert ▪ Mittlere Tm: Durchschnittliche Schmelztemperatur von Replikaten Sind keine Replikate angelegt, entspricht der durchschnittliche Wert dem Wert unter Tm. ▪ Std.-Abw. Mittelwert Tm: Standardabweichung der durchschnittlichen Schmelztemperatur von Replikaten Sind keine Replikate angelegt, entfällt dieser Wert.

Anpassungsoptionen und Datenexport

Option	Beschreibung
ANSICHT (nur bei DATEN)	Liste mit Anzeige-Optionen: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Amplifikation ▪ Rohdaten ▪ Schmelzkurve
EXPORT ALS CSV-DATEI	Ergebnisse als .CSV-Datei exportieren
GENE OF INTEREST (GOI) (nur bei DATEN TM)	Zielgen/Farbstoff-Kombination auswählen
THRESHOLD	Threshold manuell eingeben (Bei DATA CT : nur bei Auswahl einer Gen/Farbstoffkombination) (Bei DATEN TM : nur bei Auswahl von Derivative)
AUTO	Threshold automatisch bestimmen (Bei DATA CT : nur bei Auswahl einer Gen/Farbstoffkombination) (Bei DATEN TM : nur bei Auswahl von Derivative)
Farbkompensation	Liste mit Farbkompensation-Optionen
	Ergebnisse als Liste anzeigen
	Ergebnisse als Diagramm anzeigen
	Anpassung der Anzeige und mathematischen Berechnung der Ergebnisse

Radio-Buttons

Option	Beschreibung
Radio-Buttons <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Zielgen/Farbstoff-Kombination zur Anzeige auswählen Auswahl zwischen folgenden Anzeigen auf den Seiten DATEN und DATA CT <ul style="list-style-type: none">▪ Alle Farben▪ Gen/Farbstoff-Kombinationen Auswahl zwischen folgenden Anzeigen auf der Seite DATEN TM : <ul style="list-style-type: none">▪ Derivative▪ GOI (Gene of Interest)

Weitere Elemente

Option	Beschreibung
<	Auf die Seite Ergebnisse zurückkehren.
?	Hilfe öffnen

2 Vorlagen und Ergebnisse

Ergebnisse

Die Software speichert alle Experimente in Ergebnisdateien. Eine Ergebnisdatei enthält folgende Informationen:

- Allgemeine Informationen zum Experiment (Seite **Info**)
- Messergebnisse (Seite **DATEN**)
- Berechnungsergebnisse Ct-Wert (Seite **DATA CT**)
- Berechnungsergebnisse Schmelzkurven (Seite **DATEN TM**)

Aus einer Ergebnisdatei heraus können keine weiteren qPCR-Experimente gestartet werden.

Ergebnisdateien werden als .AJQPCRRESXML-Datei (AJ qPCR Result XML) gespeichert.


Vorlagen

Eine Vorlage enthält die vorab eingegebenen Informationen zur Durchführung eines Experiments, jedoch keine Messdaten. Mit gespeicherten Vorlagen können immer wieder neue qPCR-Experimente durchgeführt werden. Alle Parameter einer Vorlage können editiert werden.

Vorlagen werden als .AJQPCRTEMXML-Datei (AJ qPCR Template XML) gespeichert.

2.1 Vorlagen erstellen

Sie können eine Vorlage aus 3 verschiedene Quellen in die Software hinzufügen:

- Neue Vorlage über  **Neue Vorlage** erstellen
- Vorlage in der Desktop-Software qPCRsoft erstellen und in die qPCRsoft touch importieren
- Vorlagen aus einer älteren Softwareversion im .RTSX-Format importieren


Sehen Sie dazu auch

 Vorlagen speichern [▶ 25]


2.2 Vorlagen speichern

Vorlagen speichern

Sie können die Parameter auf den Vorlagenseiten als Vorlage speichern. Dabei müssen nicht alle Vorlagenseiten vollständig ausgefüllt sein. Sie können beispielsweise das qPCR-Protokoll definieren und als Vorlage speichern und später das aktuelle Probenlayout ergänzen.

- ▶ Nach Eingabe der Parameter auf den Vorlagenseiten auf  tippen.
- ▶ Speichermedium wählen: **Intern** oder einen externen Speicherort
- ▶ Dateinamen eingeben.
- ▶ Auf **OK** tippen.

✓ Die Vorlage wird gespeichert und steht jetzt auf der Seite **Vorlagen** zur Verfügung.

 **HINWEIS!** Der interne Ordner zur Speicherung von Daten auf dem Tablet ist immer **C:\User\qTOWER iris\Documents\Analytik-Jena\qPCRsoft touch\files**.

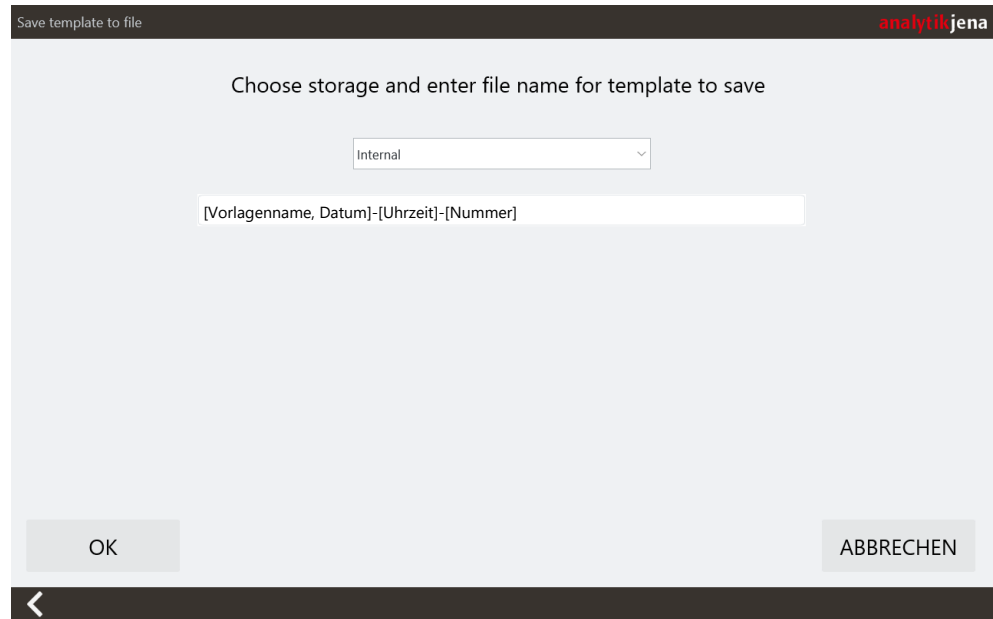


Abb. 16 Speichern einer Vorlage

Sehen Sie dazu auch

- 📄 Ergebnisdateien öffnen [▶ 27]

2.3 Vorlagen öffnen

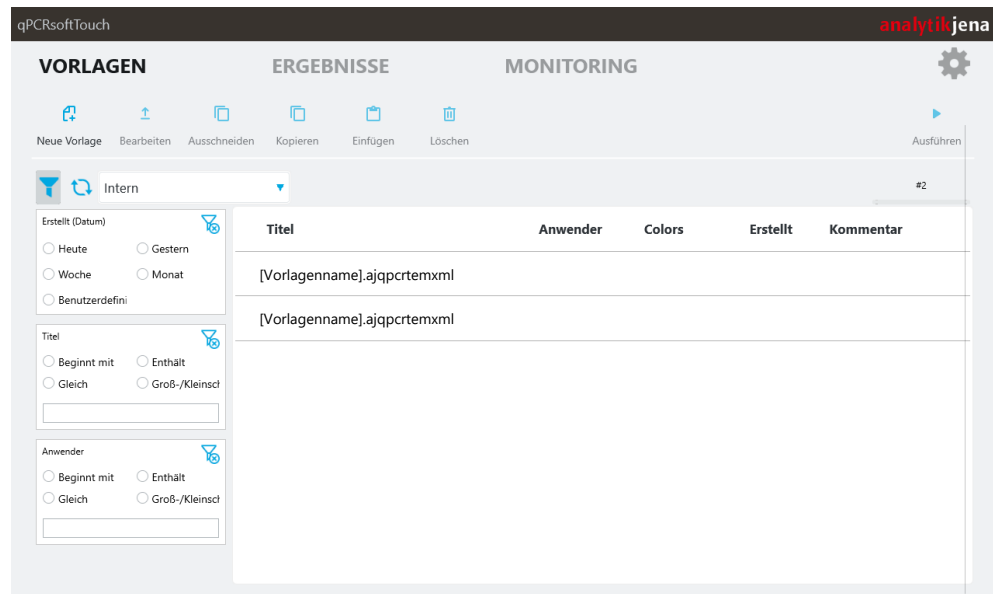





Abb. 17 Seite Vorlagen mit aufgeklappten Filteroptionen

Für den Start eines Experiments können Sie eine gespeicherte Vorlage verwenden.

- ▶ Die Seite **Vorlagen** aufrufen.
- ▶ Im Dropdown-Menü den Speicherort auswählen: **Intern** oder einen externen Speicherort

- ▶ Bei Bedarf mittels des Filters nach einer Vorlage suchen.
 - Eine oder mehrere Filteroptionen nutzen.
 - Der ausgewählte Filter wird bei Anklicken eines Radio-Buttons oder Anklicken von  angewendet.
 - Einzelne oder alle Filter bei Bedarf über  löschen.
- ▶ Vorlage auswählen und eine der folgenden Aktionen wählen:
- ▶ Über  **Bearbeiten** die ausgewählte Vorlage bearbeiten.
- ▶ Über ▶ **Ausführen** einen qPCR-Lauf mit der ausgewählten Vorlage starten.

i HINWEIS! Sind in dem ausgewählten Speicherort viele Vorlagen angelegt, kann das Laden der Liste mit Vorlagen einen Moment dauern. Über der Liste mit Vorlagen können Sie an einem Ladebalken erkennen, wie weit das Laden der Liste vorangeschritten ist. Die Zahl über dem Ladebalken beziffert die Anzahl der geladenen Vorlagen.

2.4 Ergebnisdateien speichern

Nach dem Ende des qPCR-Laufs speichert die Software die Daten automatisch als Ergebnisdatei im internen Speicher des Tablets.




Sie können die Ergebnisdateien auf der Seite **Ergebnisse** aufrufen und einsehen. Ebenfalls können Sie die Ergebnisdateien vom internen Speicher auf einen externen Speicherort verschieben oder kopieren. Nähere Informationen zur Datenverwaltung erhalten Sie im entsprechenden Kapitel dieser Anleitung.

Sehen Sie dazu auch

 Datenverwaltung [▶ 28]

2.5 Ergebnisdateien öffnen

Sie können eine gespeicherte Ergebnisdatei öffnen und nachberechnen:

- ▶ Die Seite **Ergebnisse** aufrufen.
- ▶ Im Dropdown-Menü den Speicherort wählen: **Intern** oder einen externen Speicherort
- ▶ Bei Bedarf mittels des Filters nach einer Vorlage suchen.
 - Eine oder mehrere Filteroptionen nutzen.
 - Der ausgewählte Filter wird bei Anklicken eines Radio-Buttons oder Anklicken von  angewendet.
 - Einzelne oder alle Filter bei Bedarf über  löschen.
- ▶ Ergebnisdatei auswählen.
- ▶ Ausgewählte Ergebnisdatei über  öffnen.
 - ✓ Die Ergebnisdatei wird geladen und die Daten des Experiments angezeigt.

i HINWEIS! Sind in dem ausgewählten Speicherort viele Vorlagen angelegt, kann das Laden der Liste mit Vorlagen einen Moment dauern. Über der Liste mit Vorlagen können Sie an einem Ladebalken erkennen, wie weit das Laden der Liste vorangeschritten ist. Die Zahl über dem Ladebalken beziffert die Anzahl der geladenen Vorlagen.

2.6 Datenverwaltung

Innerhalb der Software können Sie Dateien zwischen dem Tablet des Gerätes und einem externen Datenspeicher austauschen. Der externe Datenspeicher kann über den USB-Anschluss auf der Vorderseite des Gerätes angeschlossen oder über ein Netzwerk verbunden sein.

Dateiformate




Folgende Dateiformate stehen in der Software zur Verfügung:

Dateityp/ Dateierweiterung	Beschreibung
.AJQPCRRESXML	Ergebnisdatei mit Real-Time PCR-Daten
.AJQPCRTEMXML	Vorlage für Real-Time PCR-Experiment
.RTSX	Vorlage für Real-Time PCR-Experiment aus älteren Softwareversionen


i HINWEIS! Der interne Ordner zur Speicherung von Daten auf dem Tablet ist immer **C:\User\qTOWER iris\Documents\Analytik-Jena\qPCRsoft touch\files**.




Dateien zwischen Tablet und externem Datenspeicher austauschen

Sie können Dateien auf folgende Weise zwischen dem internen und einem externen Datenspeicher austauschen:

- ▶ Die Seite **Vorlagen** oder **Ergebnisse** öffnen.
- ▶ Im Dropdown-Menü das Quellverzeichnis auswählen:
 - **Intern:** Interner Speicherort des Tablets.
 - Laufwerkname des externen Speicherortes
- ▶ Die gewünschte Datei antippen.
 - ✓ Die Datei ist blau markiert.
- ▶ Mit Tipp auf  **Kopieren** die Datei in die Zwischenablage kopieren oder mit Tipp auf  **Ausschneiden** ausschneiden.
- ▶ Im Dropdown-Menü das Zielverzeichnis auswählen.
- ▶ Mit Tipp auf  **Einfügen** die Datei in den Zielordner einfügen.
 - ✓ Die Datei ist übertragen.

Dateien löschen

- ▶ Die Seite **Vorlagen** oder **Ergebnisse** öffnen.
- ▶ Im Dropdown-Menü das Quellverzeichnis auswählen:
 - **Intern:** Interner Speicherort des Tablets.
 - Laufwerkname des externen Speicherortes
- ▶ Die gewünschte Datei antippen.
 - ✓ Die Datei ist blau markiert.
- ▶ Mit Tipp auf  **Löschen** die markierte Datei löschen.
- ▶ Die Datei ist gelöscht.

- Ergebnisdateien umbenennen
- ▶ Die Seite **Ergebnisse** öffnen.
 - ▶ Im Dropdown-Menü das Quellverzeichnis auswählen:
 - **Intern**: Interner Speicherort des Tablets.
 - Laufwerkname des externen Speicherortes
 - ▶ Die gewünschte Datei antippen.
 - ✓ Die Datei ist blau markiert.
 - ▶ Mit Tipp auf  **Umbenennen** die Datei umbenennen.
- Ct-Werte und Schmelztemperaturen exportieren
- Sie könne die Ergebnisse in den Ergebnisseiten **DATEN** und **DATA CT** als .CSV-Datei exportieren.
- Nähere Informationen zum Vorgehen finden Sie unter (→ "Ergebnisse exportieren"  53).
- Sehen Sie dazu auch**
-  Ergebnisse exportieren [[▶ 53](#)]

2.6.1 Externe Datenspeicher einrichten




HINWEIS

Alle zusätzlichen Modifikationen oder Add-ons, insbesondere die Installation von weiterer Software, die über die hier beschriebene Vorgehensweise hinausgehen und nicht durch Analytik Jena oder den Service von Analytik Jena selbst vorgenommen wurden, unterliegen nicht mehr der Garantie und Verantwortung von Analytik Jena. Defekte, welche durch zusätzliche Modifikationen oder Add-ons verursacht werden, unterliegen nicht der Garantie und Verantwortung durch Analytik Jena.

Für die Umsetzung und Einhaltung von Maßnahmen zur Erfüllung der Sicherheitsanforderungen ist der Nutzer selbst verantwortlich.

Sie können Vorlagen und Ergebnisdateien auf angeschlossenen USB-Sticks, Festplatten und Netzlaufwerken speichern, verschieben oder von diesen laden.

 **HINWEIS!** Stellen Sie sicher, dass die externen Speicher vor Start der Software angeschlossen sind, damit sie von der Software erkannt werden. Angeschlossenen Netzwerke müssen zudem als Speicherpfade definiert werden, damit sie von der Software erkannt werden.

Wurde ein bereits als Speicherpfad definierter externer Speicher nicht erkannt und taucht nicht in den Dropdown-Menüs auf den Seiten **Vorlagen** und **Ergebnisse** auf: Schließen Sie die Software und starten Sie sie neu.

USB-Anschluss auf der Vorderseite des Gerätes

Sie können einen externen Datenspeicher, wie einen USB-Stick oder eine Festplatte, über den USB-Anschluss auf der Vorderseite des Gerätes anschließen.


Die Software erkennt den externen Datenspeicher nach dem Start automatisch. Der externe Datenspeicher taucht in den Dropdown-Menüs der Seiten **Vorlagen** und **Ergebnisse** sowie im Fenster zum Speichern von Vorlagen auf.

Netzwerkanschluss auf der Rückseite des Gerätedeckels

Über den Netzwerkanschluss auf der Rückseite des Deckels können Sie ein Netzwerkkabel mit dem integrierten Tablet verbinden. Über diese Verbindung können Sie auf Ordner und Laufwerke in dem verbundenen Netzwerk als Speicherorte zugreifen.

Sie müssen diese externen Speicherorte zunächst als Netzwerke verbinden und als Speicherpfade definieren, um sie als Speicherorte in der Software nutzen zu können.

i HINWEIS! Stellen Sie sicher, dass der externe Speicherort freigegeben ist. Ist dies nicht der Fall, kann die Software nicht auf den Speicherort zugreifen.

- ▶ Den Tabletmode aktivieren:
 - Das Actionscenter des Windows-Betriebssystems aufrufen: mit dem Finger vom rechten Rand des Bildschirms nach links swipen.
 - Im Actionscenter den Tabletmode aktivieren.
 - ✓ Der Tabletmode ist aktiviert.
- ▶ Die Taskleiste des Windows-Betriebssystems aufrufen: mit dem Finger vom unteren Rand des Bildschirms nach oben swipen.
- ▶ Auf  Start klicken.
- ▶ Den Windows Explorer über Klick auf **Dokumente** aufrufen.
- ▶ Das Netzwerk verbinden:
 - Über den Windows Explorer folgenden Dateipfad aufrufen: \\[IP-Adresse des externen Netzwerkes]\[freigegebener Ordner]
 - Das Kontextmenü öffnen.
 - **Netzwerk verbinden** auswählen.
 - ✓ Das Netzwerk ist verbunden.
- ▶ Den Speicherpfad definieren:
 - Über den Windows Explorer folgenden Dateipfad aufrufen: C:\Users\qTOWER iris\Documents\Analytik-Jena\qPCRsoft touch
 - Unter dem aufgerufenen Speicherpfad die .INI-Datei öffnen.
 - In der .INI-Datei unter **UserDataSources** den Speicherpfad des gewünschten externen Speicherortes wie folgt definieren:
UserDataSources=[Display Name]=[IP-Adresse des externen Netzwerkes]\[freigegebener Ordner]
 - Beispiel für einen freigegebenen Ordner:
UserDataSources=Ergebnis auf Netzwerk=\\123.456.789.123\Ergebnisse
 - Beispiel für einen angeschlossenen Datenspeicher:
UserDataSources=Festplatte=\\123.456.789.123\M:
 - Die .INI-Datei speichern und schließen.
 - ✓ Der Speicherpfad ist definiert.
 - ✓ Das verbundene Netzwerk kann als Speicherort genutzt werden.

Mehrere externe Speicherpfade einrichten

Ist ein Netzkabel über den Netzwerkanschluss angeschlossen, können Sie auch mehrere externe Speicherpfade über die oben genannte Methode in der .INI-Datei definiert werden.

Sie können über diesen Weg unterschiedliche Speicherorte festlegen.

Mehrere Speicherpfade werden über das Zeichen | voneinander getrennt, ohne Leerzeichen zwischen den Speicherpfaden.

- Beispiel für mehrere Speicherpfade:
UserDataSources=Ergebnisse User 1=\\123.456.789.123\User\User1\Ergebnisse | Ergebnisse User2=\\123.456.789.123\User\User2\Ergebnisse

2.6.2 Datenaustausch mit der Desktop-Software qPCRsoft

Sie können über einen angeschlossenen Datenträger oder einen externen Datenspeicher Daten mit der Desktop-Software qPCRsoft austauschen.

Mit der Desktop-Software können Sie:

- Vorlagen erstellen
- Ergebnisdateien auswerten

3 Einstellungen für ein Real-Time PCR-Experiment

Zu Beginn eines Real-Time PCR-Experiments erstellen oder laden Sie eine Vorlage.

Die Vorlage enthält folgende Einstellungen:

- Parameter des qPCR-Protokolls
- Parameter der optischen Messung
- Probenlayout der PCR-Platte

Eingabe starten

Für die Erstellung einer neuen Vorlage tippen Sie auf der Seite **Vorlagen** den Button **Neue Vorlage**.

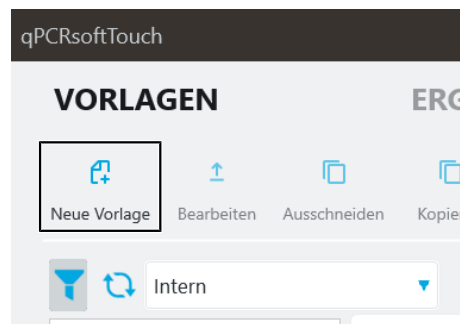


Abb. 18 Button zur Erstellung einer neuen Vorlage

Seiten für die Vorlagenerstellung

Auf den einzelnen Vorlagenseiten können Sie die benötigten Informationen für eine neue Vorlage vornehmen oder die Einstellungen einer vorhandenen Vorlage ändern. Am oberen Rand des Vorlagenbereichs befindet sich ein Menü, über das Sie schnell zu den einzelnen Vorlagenseiten gelangen.

Vorlagenseite	Beschreibung
Seite Allgemein	Allgemeine Informationen Die Eingaben auf dieser Seite sind optional.
Seite Thermocycler	PCR-Protokoll eingeben
Seite Scan	Farbmodule und Farbstoffe für den optischen Scan auswählen
Seite Proben	Platten-Layout mit Probeneigenschaften eingeben (kann auch nach dem qPCR-Lauf erfolgen)

3.1 Allgemeine Informationen zum Real-Time PCR-Experiment

Alle Eingaben auf der Vorlagenseite **Allgemein** sind optional. Folgende Informationen können eingegeben werden:

Option	Beschreibung
Titel	Bezeichnung der Vorlage
Anwender	Name des Autors der Vorlage
Erstellt	Erstelldatum und -uhrzeit der Vorlage Die Informationen werden automatisch von der Software eingetragen.
Kommentar	Zusätzliche Informationen
Überprüfung	Durchführen einer technischen Prüfung. Optional vor und nach dem Experiment durchführbar.

i HINWEIS! Die Software gibt nach Durchführung einer technischen Prüfung nur eine Meldung aus, wenn bei dieser ein Mangel festgestellt wurde. Hat die Software die technische Prüfung ohne aufgetretene Mängel abgeschlossen, erscheint keine separate Meldung. Sie können in den Einstellungen aktivieren, dass das Ergebnis der technischen Prüfung protokolliert werden soll. Beachten Sie die Informationen im entsprechenden Kapitel dieser Anleitung.

Abb. 19 Seite Allgemein mit Informationen zum Real-Time PCR-Experiment

3.2 qPCR-Protokoll programmieren

Das qPCR-Protokoll geben Sie in der Eingabemaske auf der Seite **Thermocycler** ein. Sie können für die qPCR-Protokolle bis zu 28 Heizschritte definieren und alle Parameter innerhalb der Gerätespezifikationen frei wählen.

Funktionen auf der Seite Thermocycler

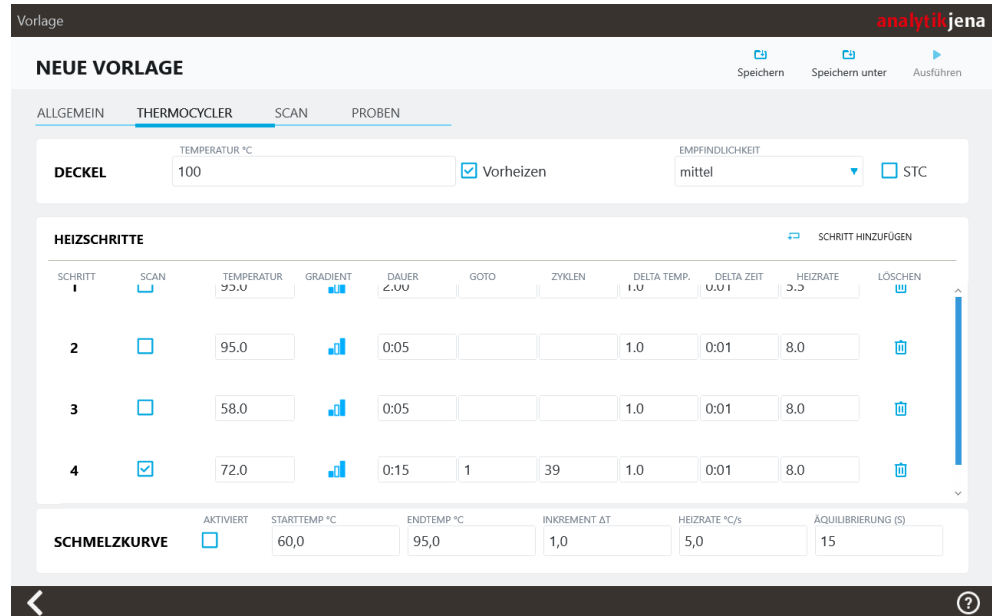


Abb. 20 Bedienelemente auf der Seite Thermocycler

Option	Beschreibung
DECKEL	<ul style="list-style-type: none"> Deckeltemperatur einstellen Vorheizen aktivieren Mesempfindlichkeit regeln STC (Simulated Tube Control) aktivieren
HEIZSCHRITTE	Protokollparameter eingeben
Schmelzkurve	Im Anschluss an den qPCR-Lauf eine DNA-Schmelzkurve aufnehmen
	Vorlage speichern
	Vorlage speichern unter

Deckelheizung programmieren

Im Feld **DECKEL** im Eingabefeld **TEMPERATUR °C** die Deckeltemperatur einstellen
Einstellbare Deckeltemperatur: **30 ... 110 °C**

Bei Aktivierung der Option **Vorheizen** wird der Heizdeckel auf die eingestellte Temperatur vorgeheizt, bevor das eigentliche PCR-Protokoll startet. Während des Vorheizens wird der Block auf konstant 25 °C gehalten. Wird **Vorheizen** deaktiviert, startet das PCR-Protokoll schon, während der Deckel noch aufheizt.

i HINWEIS! Das Vorheizen des Deckels ist in der Voreinstellung aktiviert.

Grundempfindlichkeit des Detektionssystems

Im Dropdown-Menü die Grundempfindlichkeit des Detektionssystems auswählen. Zur Auswahl stehen **hoch, mittel** und **klein**.

Die Standardeinstellung ist **mittel**.

i HINWEIS! Die Einstellung der Grundempfindlichkeit wirkt sich auf alle Farbstoffe aus. Verändern Sie die Einstellung nur, wenn Sie besonders schwache oder intensive Proben messen möchten.



STC (Simulated Tube Control)

Die Funktion **STC** aktivieren, wenn mit der gemessenen Blocktemperatur die in der Probe herrschende Temperatur vorausberechnet und die Temperatur auf die Probentemperatur geregelt werden soll.

i HINWEIS! Die Aktivierung der Funktion wird insbesondere für schnelle Protokolle und hohe Probenvolumina empfohlen.

Wenn deaktiviert, wird die Blocktemperatur entsprechend dem gewählten Temperaturprogramm geregelt. Insbesondere bei hohen Heiz- und Kühlraten und kurzen Haltezeiten kann die tatsächlich in der Probe herrschende Temperatur von der gewünschten Temperatur abweichen.

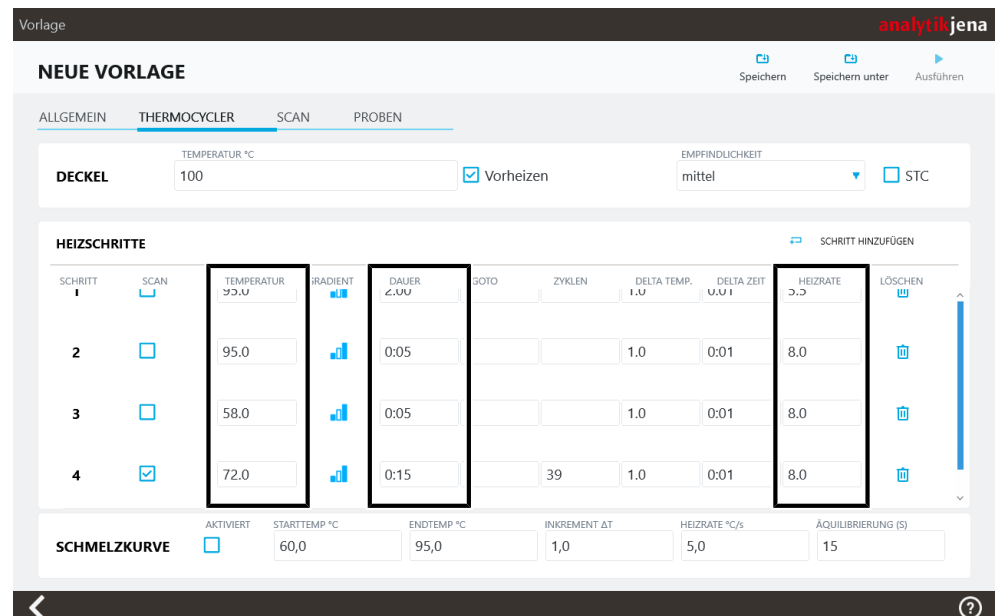
Heizschritte einfügen oder löschen

- ▶ Heizschritt an ein Protokoll anhängen:
Auf den Button  **SCHRITT HINZUFÜGEN** tippen.
 - ✓ Der Heizschritt wird an das bisherige Protokoll angefügt.
- ▶ Einen Heizschritt löschen:
In der Spalte des zu löschenden Heizschrittes auf  tippen.
 - ✓ Der markierte Heizschritt wird gelöscht.

Zieltemperatur, Haltezeit und Heizrate eingeben

- ▶ In der Spalte **Temperatur** die Zieltemperatur für jeden Heizschritt in °C eingeben.
- ▶ In der Spalte **Haltezeit** die Haltezeit für jeden Heizschritt im Format "mm:ss" (Minuten: Sekunden) eingeben.
- ▶ In der Spalte **Heizrate (°C/s)** die Heizrate oder Kühlrate für jeden Heizschritt in °C/s eingeben.

i HINWEIS! Die Voreinstellung beträgt für Heizraten 8,0 °C/s und für Kühlraten 5,5 °C/s.











SCHRITT	SCAN	TEMPERATUR	RADIENT	DAUER	SOTO	ZYKLEN	DELTA TEMP.	DELTA ZEIT	HEIZRATE	LÖSCHEN
1	<input checked="" type="checkbox"/>	100.0		2:00						
2	<input type="checkbox"/>	95.0		0:05			1.0	0:01	8.0	
3	<input type="checkbox"/>	58.0		0:05			1.0	0:01	8.0	
4	<input checked="" type="checkbox"/>	72.0		0:15		39	1.0	0:01	8.0	

Abb. 21 Temperatur, Haltezeit und Heizrate (°C/s) programmieren

Fluoreszenzmessung programmieren

- ▶ In der Spalte **Scan** das Kästchen bei dem Heizschritt aktivieren, in welchem die Fluoreszenzmessung erfolgen soll. Die Fluoreszenzmessung kann nur bei einem Heizschritt erfolgen.

i HINWEIS! Während der DNA-Schmelze erfolgt bei jedem Schritt eine optische Messung.

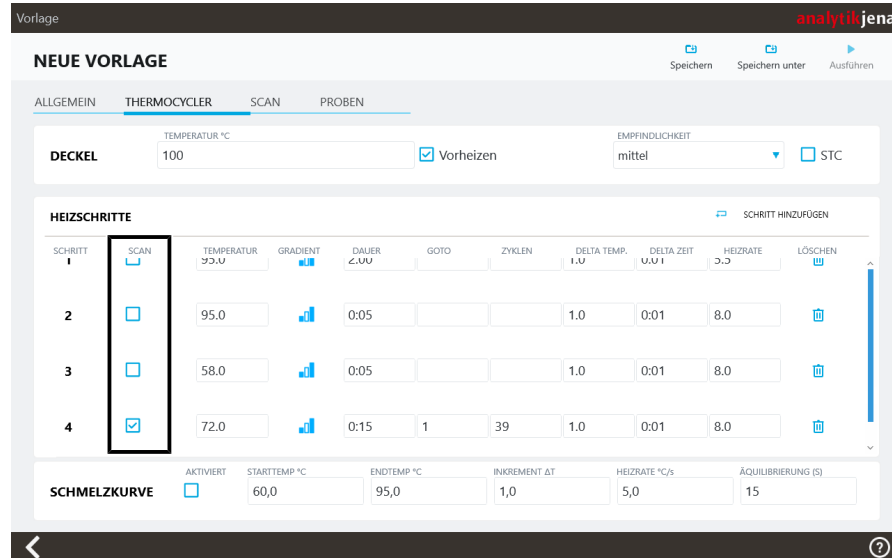


Abb. 22 Fluoreszenzmessung programmieren

Schleife programmieren

Zyklen, in denen eine Anzahl aufeinander folgender Heizschritte wiederholt wird, werden als Schleife bezeichnet. Die Schleife wird durch einen Zielschritt für den Rücksprung (**Goto**) und die Anzahl Wiederholungen (**Zyklen**) definiert:

- ▶ Im letzten Heizschritt der zukünftigen Schleife: in der Spalte **Goto** die Nummer des Zielschrittes für den Rücksprung zum Schleifenbeginn eingeben.
- ▶ Ebenfalls im letzten Heizschritt der zukünftigen Schleife: in der Spalte **Zyklen** die Anzahl der Wiederholungen eingeben.
 - ✓ Die programmierte Schleife ist eingestellt.

i HINWEIS! Die Gesamtzahl der Schleifen ist die Summe der programmierten Wiederholungen plus 1, da die Schrittabfolge bis zum Erreichen der Schleife bereits einmal durchlaufen wurde. Beispiel: Programmieren Sie für 40 Schleifen 39 Wiederholungen.

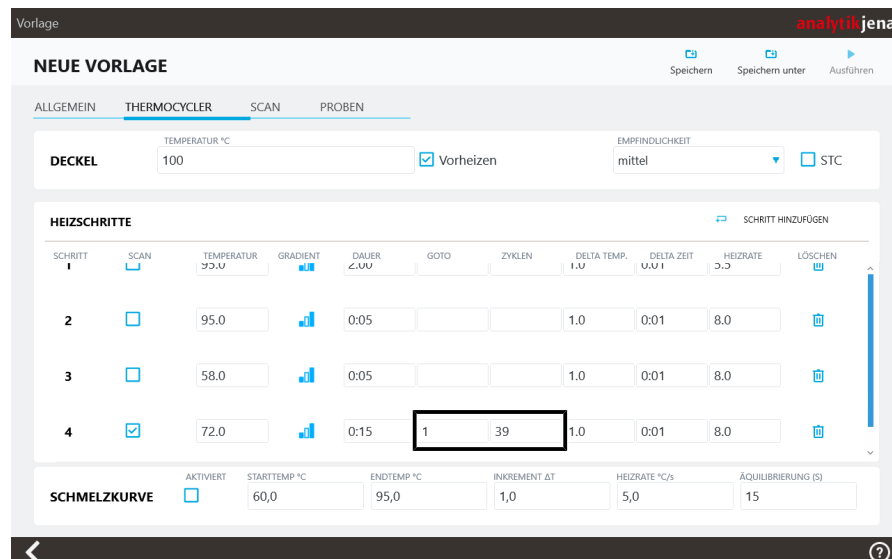


Abb. 23 Schleife im PCR-Protokoll programmieren

Inkrement/Dekrement für Temperatur und Haltezeiten programmieren

Innerhalb einer Schleife können mit Inkrementen/Dekrementen die Zieltemperatur und mit Inkrementen die Haltezeit schrittweise von Zyklus zu Zyklus um einen bestimmten Betrag verändert werden. Mit dem Vorzeichen "-" wird ein Dekrement vereinbart, d.h. die Temperatur verringert sich schrittweise um diesen Betrag. Kein Vorzeichen oder ein "+" kennzeichnen ein Inkrement, bei dem sich der Parameter schrittweise um diesen Betrag erhöht.

- ▶ Schrittweise Veränderung der Zieltemperatur:
Änderung in der Spalte **DELTA TEMP.** eintragen.
- ▶ Schrittweise Veränderung Haltezeit:
Änderung in der Spalte **DELTA ZEIT** eintragen.

The screenshot shows the 'NEUE VORLAGE' (New Protocol) configuration screen. The 'THERMOCYCLER' tab is active. The 'HEIZSCHRITTE' (Heating Steps) table is visible, with the 4th step selected. The 'DELTA TEMP.' and 'DELTA ZEIT' columns for step 4 are highlighted with a red box, showing values of 1.0 and 0:01 respectively. The 'SCHMELZKURVE' (Melting Curve) section at the bottom is also visible, with 'AKTIVIERT' (Activated) checked.

SCHRITT	SCAN	TEMPERATUR	GRADIENT	DAUER	GOTO	ZYKLEN	DELTA TEMP.	DELTA ZEIT	HEIZRATE	LÖSCHEN
1	<input checked="" type="checkbox"/>	99.0		2.00						
2	<input type="checkbox"/>	95.0		0:05			1.0	0:01	8.0	
3	<input type="checkbox"/>	58.0		0:05			1.0	0:01	8.0	
4	<input checked="" type="checkbox"/>	72.0		0:15	1	39	1.0	0:01	8.0	

Abb. 24 Inkrement/Dekrement für Zieltemperatur und Haltezeit im PCR-Protokoll programmieren

DNA-Schmelze programmieren

Bei Versuchen mit interkalierenden Farbstoffen empfiehlt es sich, die Spezifität der Produkte durch die Messung einer Schmelzkurve zu überprüfen. Dafür ist ein entsprechender Schritt zu programmieren.

- ⇒ Das qPCR-Potokoll ist programmiert und enthält einen Heizschritt mit aktivierter Fluoreszenzmessung.
- ▶ DNA-Schmelze in der Spalte **AKTIVIERT** aktivieren.
- ▶ Optionen für die DNA-Schmelze editieren.
 - ✓ Die DNA-Schmelze wird an das Ende des PCR-Protokolls angefügt. Bei der Schmelze ist die Fluoreszenzmessung automatisch aktiv.

i HINWEIS! Vor der DNA-Schmelze muss ein Heizschritt mit aktivierter Fluoreszenzmessung durchgeführt worden sein. Wenn Sie nur eine DNA-Schmelze ohne vorheriges Temperaturprotokoll durchführen wollen, erstellen Sie unbedingt einen einzelnen Heizschritt und aktivieren Sie die Fluoreszenzmessung über ein Häkchen bei „Scan“.

Folgende Optionen können editiert werden:

Option	Beschreibung
AKTIVIERT	Wenn aktiviert, wird die Schmelze an das PCR-Protokoll angefügt. Wenn deaktiviert, wird die Schmelze aus dem PCR-Protokoll entfernt, die Parameter bleiben jedoch erhalten.
STARTTEMP °C	Starttemperatur der Schmelze
ENDTEMP °C	Endtemperatur der Schmelze
INKREMENT ΔT	Temperaturdifferenz zwischen zwei Heizschritten, an denen jeweils eine Fluoreszenzmessung erfolgt
HEIZRATE °C/s	Geschwindigkeit der Temperaturerhöhung
ÄQUILIBRIERUNG (S)	Zeit zur Äquilibration der Probe, bevor die Fluoreszenzmessung erfolgt

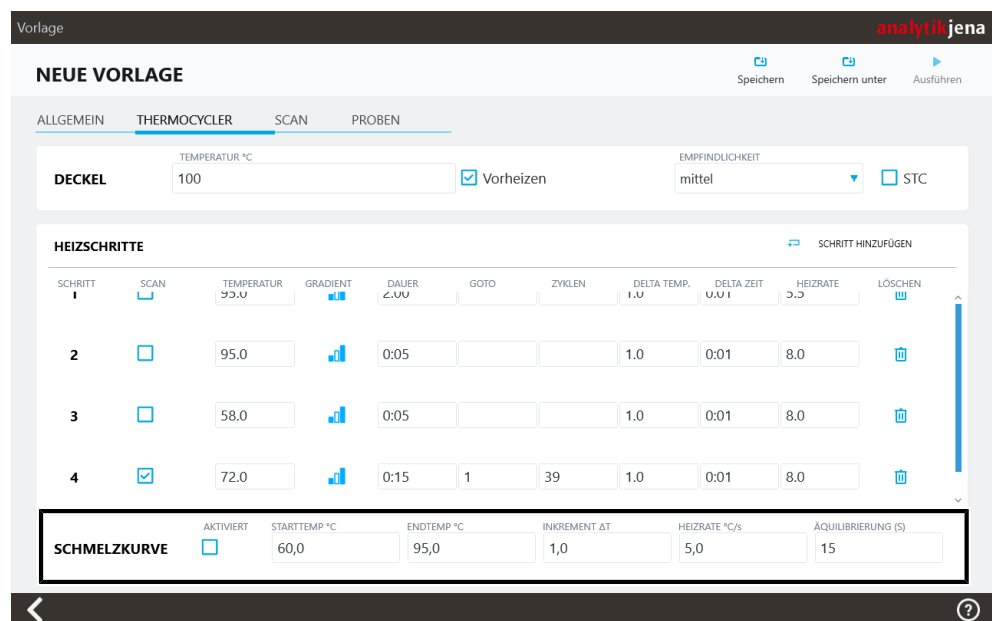


Abb. 25 DNA-Schmelze programmieren

Sehen Sie dazu auch

- Blocktemperaturgradienten programmieren [▶ 39]

3.2.1 Blocktemperaturgradienten programmieren


Sie können für den Thermoblock einen Temperaturgradienten programmieren. Der Gradient kann mit einer Spanne von bis zu 40 °C im Temperaturbereich 4 ... 99 °C liegen.

Sie können zwischen zwei Möglichkeiten der Gradientenprogrammierung auswählen:

- **Margins** : Sie können die Temperaturen für die Spalten 1 und 12 vorgeben. Die Software ermittelt automatisch die Temperaturschritte zwischen den Spalten.
- **linear**: Sie können die Temperatur für Spalte 6 (mittlere Spalte) und ein Inkrement vorgeben. Die Software verringert die Temperatur in Richtung Spalte 1 und erhöht die Temperatur in Richtung Spalte 12 von Spalte zu Spalte.

Der Gradient kann für jeden Heizschritt des qPCR-Protokolles einzeln programmiert werden.

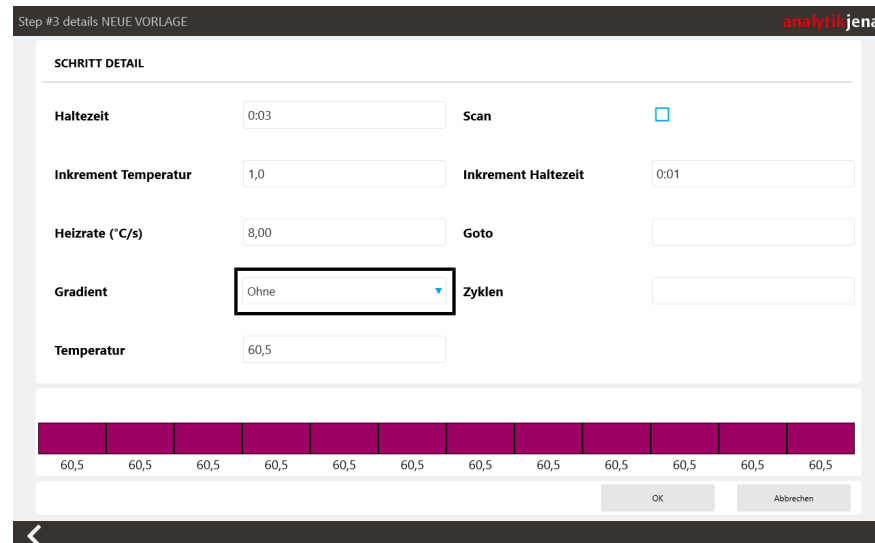
Gradientenfunktion öffnen

- ▶ In der Zeile des Heizschrittes, für den ein Gradient programmiert werden soll, auf das Icon  klicken.
 - ✓ Eine Seite mit Details des Heizschrittes erscheint.

Gradient programmieren

Der Gradient wird im qPCR-Protokoll durch die beiden Temperaturwerte getrennt durch einen Bindestrich angezeigt. Die Eingabe des Gradienten kann auf diese Weise auch direkt in der Tabelle des qPCR-Protokolls erfolgen.

- ▶ Bei **Gradient** die Art der Gradienteneingabe auswählen: **Margins** oder **linear**.
- ▶ Bei Auswahl von **Margins**:
 - Bei **Temperatur der ersten Spalte** die Temperatur für Spalte 1 eingeben.
 - Bei **Temperatur der letzten Spalte** die Temperatur für Spalte 12 eingeben.
- ▶ Bei Auswahl von **linear**:
 - Bei **Mittlere Temperatur** die Temperatur für Spalte 6 eingeben.
 - Bei **Erhöhung der Temperatur** das Inkrement eingeben.
- ✓ Die Software berechnet die einzelnen Temperaturschritte und stellt die Temperatur für jede Spalte visuell dar.
- ▶ Auf **OK** klicken.
 - ✓ Die Software übernimmt den programmierten Gradienten für das qPCR-Protokoll.



Step #3 details NEUE VORLAGE analytik jena

SCHRITT DETAIL

Haltezeit: 0:03 Scan

Inkrement Temperatur: 1,0 Inkrement Haltezeit: 0:01

Heizrate (°C/s): 8,00 Goto:

Gradient: Ohne ▾ Zyklen:

Temperatur: 60,5

60,5 60,5 60,5 60,5 60,5 60,5 60,5 60,5 60,5 60,5 60,5 60,5

OK Abbrechen

⏪

Abb. 26 Seite mit Details des Heizschrittes und Einstellung der Gradientenfunktion; Eingabe des Gradienten über die Randspalten

3.3 Parameter für die Fluoreszenzmessung programmieren

Die Produktamplifikation wird in der Real-Time PCR durch die Zunahmen der Fluoreszenz gemessen. Folgende Parameter müssen auf der Seite **Scan** dabei definiert werden:

- Farbstoffe, die gemessen werden
- Einstellungen zu den Farbstoffen
- Bereich der PCR-Platte, der gescannt wird

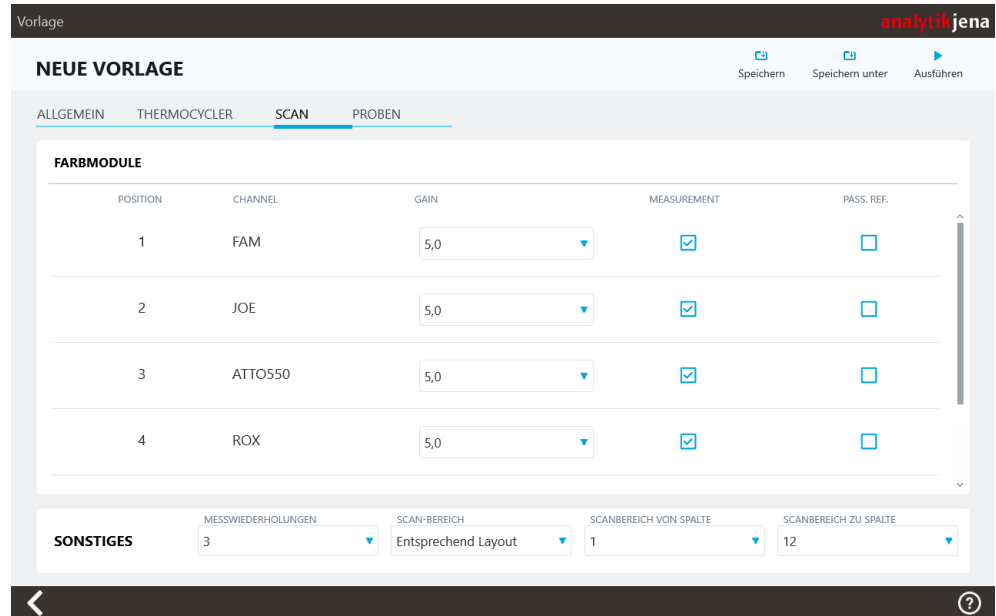


Abb. 27 Seite Scan

Parameter einstellen

- ▶ Die Fluoreszenzmessung für das benötigte Farbmodul aktivieren:
Das entsprechende Feld der Spalte **MESSUNG** neben dem Farbmodul antippen. Aktivierte Farbmessungen sind mit einem Häkchen gekennzeichnet.

i HINWEIS! Die Anzahl zu messender Farbstoffe hat keinen Einfluss auf die Dauer der Fluoreszenzmessung.

- ▶ Optional: Gain ändern. Für **GAIN** kann ein Wert im Bereich 0,1 ... 10,0 eingestellt werden. Die empfohlene Einstellung ist 5,0.

i HINWEIS! Sie können den voreingestellten Wert für den Gain in den Einstellungen ändern. Klicken Sie unter **Vorlagen** oder **Ergebnisse** auf . Im Reiter **Gerät-Einstellungen** können Sie für jedes Farbmodul eine eigene Voreinstellung für den Gain festlegen.

- ▶ Bei Verwendung eines Referenzfarbstoffs die Option **PASS. REF.** des Farbmoduls aktivieren.
 - ✓ Die grundlegenden Parameter für die Fluoreszenzmessung sind damit definiert.

Scan-Bereich und Messwiederholungen einstellen

Der Scanbereich kann entsprechend des Plattenlayouts in der Probentabelle (Voreinstellung) oder manuell festgelegt werden. Der Scanbereich wird beim Thermocycler immer spaltenweise festgelegt und muss immer aus zusammenhängenden Spalten bestehen.

Für die Fluoreszenzmessung kann die Anzahl an Messwiederholungen variiert werden. Eine höhere Anzahl an Messwiederholungen kann bei schwachen Fluoreszenzen das Signal-Rausch-Verhältnis verbessern, verlängert jedoch die Messzeit.

- ▶ In der Zeile **SONSTIGES** unter **MESSWIEDERHOLUNGEN** die Anzahl an Messwiederholungen einstellen. Voreingestellter Wert: 3
- ▶ Unter **SCAN-BEREICH** den Scanbereich festlegen.

- **Entsprechend Layout:** Die Software legt den Scanbereich anhand des Probenlayouts fest. Der Scan startet bei Spalte 1 und endet bei der letzten Spalte, in welcher Proben im Probenlayout angelegt wurden. Dazwischen werden alle Spalten gescannt, unabhängig davon, ob diese Proben enthalten oder nicht.
- **Manuell definieren:** Wählen Sie diese Option, wenn Sie den Scanbereich unter **SCANBEREICH VON SPALTE** und **SCANBEREICH ZU SPALTE** manuell festlegen möchten. Auch hier werden, wie bei **Entsprechend Layout**, dazwischen alle Spalten gescannt.

3.4 Probeneigenschaften im Layout eingeben

Das Probenlayout wird für die Auswertung der Experimente benötigt und beschreibt die Belegung im Probenblock. Jedem Well im Block kann eine Probe mit Namen, einem Probentyp, zu analysierenden Genen und Konzentrationen (bei Standards) zugewiesen werden.

Sie können das Probenlayout auf der Seite **Proben** bearbeiten.

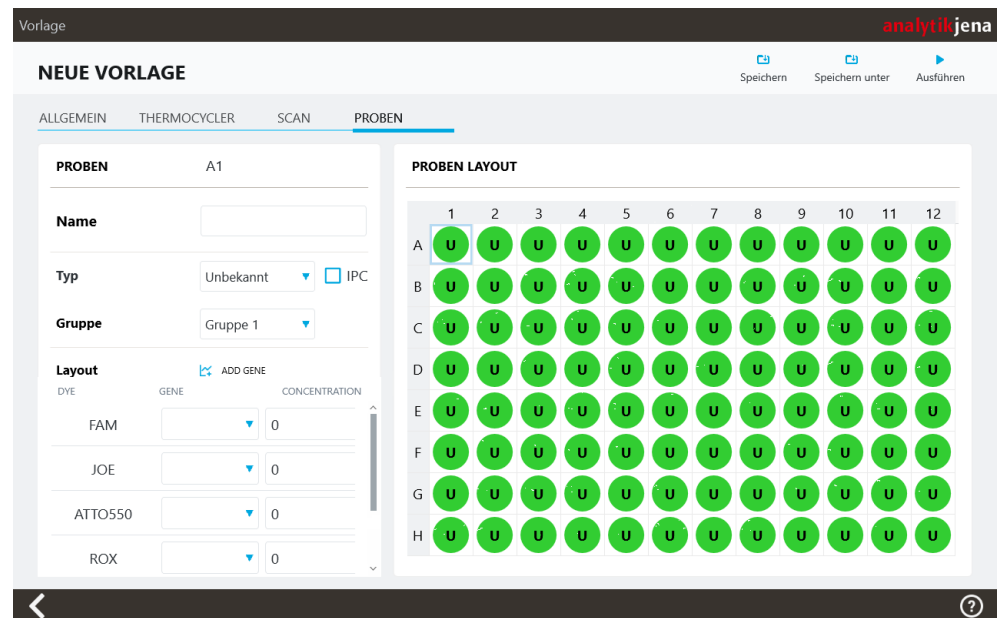








Abb. 28 Seite Proben

Elemente der Seite Proben

Element	Beschreibung
Name	Probename eingeben
Typ	Probentyp auswählen
IPC	Interne Positivkontrolle festlegen
Gruppe	Probe einer Probengruppe zuordnen. Die Proben können in bis zu 12 Gruppen unterteilt werden.
Layout	Ein Gen aus der Auswahlliste einem Farbstoff zuordnen. <ul style="list-style-type: none"> ■ Gen hinzufügen: Ein Gen zur Auswahlliste hinzufügen. ■ Gen / Konzentration: Gen und Konzentration/Einheit (bei Probenstandards) eingeben
Markierte Bereiche im Probenlayout	Die Probeneigenschaften werden jeweils den markierten Bereichen im Probenlayout zugeordnet. Es können einzelne Proben oder Probenbereiche markiert werden.

Probentypen in der Software

Folgende Probentypen können zugewiesen werden:

Probentyp	Icon	Beschreibung
Leer	-	Leere Position auf der PCR-Platte/im Layout Für leere Positionen erfolgt keine Auswertung.
Unbekannt		Probe mit unbekannter Konzentration oder Verdünnung (Messprobe)
Standard		Probe mit bekannter Konzentration oder Verdünnung
Kalibrator		Probe, deren Zielgen-Expressionslevel als 1 gesetzt wird
NTC		Kompletter Reaktionsansatz ohne Matrizenstrang (No Template Control)
Positive Kontrolle		Positiver Kontrollansatz, bei dem ein Reaktionsprodukt zu erwarten ist
Negative Kontrolle		Negativer Kontrollansatz, bei dem kein Reaktionsprodukt zu erwarten ist

Proben im Layout markieren


Proben müssen für die Eingabe der Eigenschaften markiert werden:

- ▶ Einzelne Proben durch Antippen markieren.
- ▶ Für die Markierung mehrerer Proben in angrenzenden Feldern mit dem Finger diagonal oder waagrecht/senkrecht über den Bereich fahren.
 - ✓ Markierte Proben oder Bereiche im Layout sind blau umschlossen.

Proben bearbeiten

Proben mit identischen Probeneigenschaften (Probenname, Probentyp, gleiche Gen-Farbstoff-Zuweisungen) werden als Replikate betrachtet. Die Einzelwerte dieser Proben werden gemittelt und ihr Mittelwert für die weitere Berechnung verwendet.

Bei einem Singleplex-Assay können Proben den gleichen Probennamen und Probentyp besitzen, sich jedoch in den Gen-Farbstoff-Zuweisungen unterscheiden. Diese Proben werden wegen des gleichen Namens als zusammengehörig identifiziert, die Auswertung erfolgt jedoch getrennt.

- ▶ Proben mit gleichen Eigenschaften im Layout markieren.
- ▶ Probentyp zuweisen: Unter **Typ** den Probentyp im Dropdown-Menü auswählen.
- ▶ Probenname eingeben: Unter **Name** die Bezeichnung im Feld eingeben.
- ▶ Gen und Konzentration unter **Layout** eingeben:
 - Das gesuchte Gen im Dropdown-Menü **Gen** wählen oder eine neue Genbezeichnung über die Funktion  **Gen hinzufügen** hinzufügen.
 - Bei Probentyp **Standard**: Die Konzentration des zu analysierenden Gens im Feld **Konzentration** eingeben.
 - ✓ Die Eigenschaften werden den markierten Proben zugewiesen.
- ▶ Alle weiteren Proben auf die gleiche Weise bearbeiten.

Experimente gruppieren

Während eines qPCR-Laufs können im Thermoblock mehrere Experimente mit den gleichen Thermocycler-Einstellungen gleichzeitig laufen. Dabei werden Proben, die zu einem Experiment gehören, in einer Gruppe zusammengefasst. Alle Reaktionsansätze einer Gruppe werden gemeinsam ausgewertet. Maximal 12 Gruppen können definiert werden.

In der Voreinstellung sind alle Proben im Layout der Gruppe 1 zugeordnet.

- ▶ Alle Proben eines Experiments im Layout markieren.
- ▶ In den Probeneigenschaften unter **Name** die Gruppennummer im Dropdown-Menü auswählen.
 - ✓ Den markierten Proben wird die Gruppennummer zugeordnet.
- ▶ Alle weiteren Proben auf die gleiche Weise bearbeiten.
 - ✓ Die Gruppen sind angelegt.

4 Monitoring

Die zum Start und zur Verfolgung eines Real-Time PCR-Experiments nötigen Funktionen sind auf der Seite **MONITORING** zusammengefasst.

4.1 qPCR-Lauf durchführen

Startvoraussetzungen	Für den Start eines qPCR-Laufs ist eine Vorlage erforderlich. Sie können auf der Seite Vorlagen eine vorhandene Vorlage auswählen oder eine neue Vorlage erstellen.
qPCR-Lauf starten	<ul style="list-style-type: none">▶ Die Proben in den Thermocycler einsetzen. Für das Einsetzen die Hinweise in der Bedienungsanleitung des Thermocyclers beachten.▶ Auf der Seite Vorlagen eine vorhandene Vorlage auswählen oder eine neue Vorlage erstellen.▶ Auf den Button ▶ Ausführen tippen, um den PCR-Lauf mit der ausgewählten Vorlage zu starten.<ul style="list-style-type: none">✓ Die Seite MONITORING öffnet sich automatisch.✓ Der qPCR-Lauf startet. Der Verlauf wird auf der Seite MONITORING angezeigt.
qPCR-Lauf beenden	<p>Nach Ende des qPCR-Laufs speichert die Software die Messergebnisse automatisch in einer Ergebnisdatei ab.</p> <p>Sie können die Ergebnisdatei über die Seite Ergebnisse abrufen.</p> <p>Die Ergebnisdatei ist wie folgt benannt:</p> <p>[Template Name]-RES-[Datum]-[Uhrzeit].ajqpcresxml</p>
qPCR-Lauf stoppen	<ul style="list-style-type: none">▶ Auf der Seite MONITORING auf ■ Stop tippen.<ul style="list-style-type: none">✓ Der qPCR-Lauf stoppt und kann nicht wieder fortgesetzt werden.

Sehen Sie dazu auch

- 📖 Parameter für die Fluoreszenzmessung programmieren [▶ 40]

4.2 Monitoranzeige

Während des qPCR-Laufs werden die Fluoreszenzkurven (Intensität der Fluoreszenz in Abhängigkeit von der Zyklusnummer) im Diagramm der Seite **MONITORING** aufgezichnet.

Amplifikationskurven

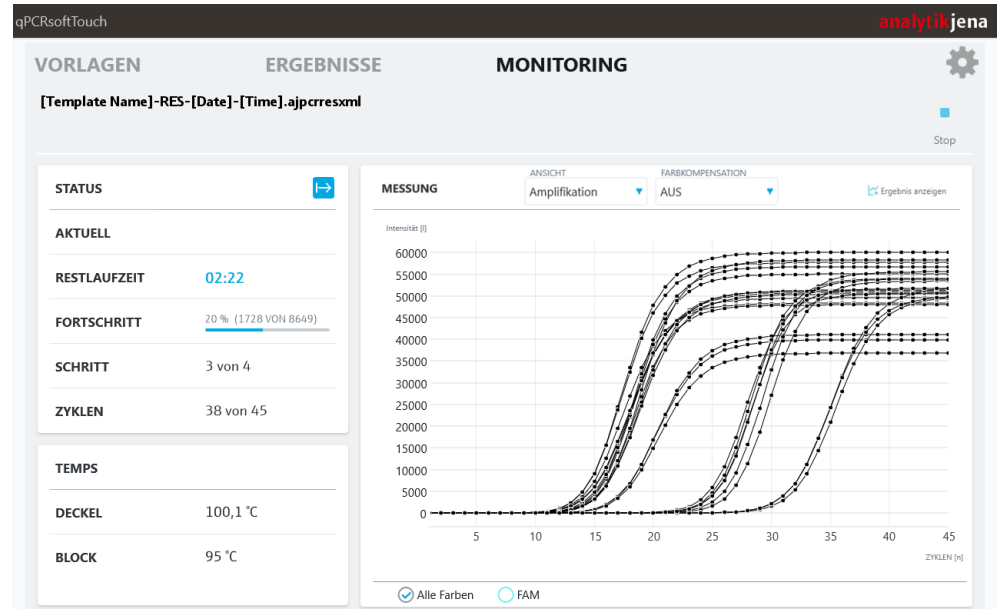


Abb. 29 Amplifikationskurven auf der Seite **MONITORING**

Über die Auswahl der Farbstoffe unter der Grafik kann zwischen der überlagerten Darstellung der Messergebnisse mit allen Farbstoffen oder der Anzeige der Einzelfarbstoffe gewählt werden.

Im Dropdown-Menü **ANSICHT** steht die Anzeige von **Rohdaten**, **Amplifikation** und **Schmelzkurve** zur Verfügung.

Die Zuweisung der Kurvenfarben kann in den Optionen der Software eingestellt werden.











Farbkompensation

Bei Verwendung mehrerer Fluoreszenzfarbstoffe in einer Probe (Multiplexing) kann es zur spektralen Überlagerung der Fluoreszenzen kommen, welches durch eine Farbkompensation korrigiert werden kann. Sie können über das Dropdown-Menü **Farbkompensation** eine Farbkompensation auswählen.




- **Aus**
Die Voreinstellung für die Farbkompensation ist Aus, da für die häufigsten Anwendungen (nur ein aktiver Messkanal oder spektral weit auseinanderliegende Farbstoffe wie z.B. FAM und ROX) die Farbkompensation nicht notwendig ist.
- **Gerätespezifische Farbkompensationen**
Bei Auswahl einer Farbkompensationen wird eine Kompensationsmatrix auf die Messdaten angewendet, die bei der Gain-Einstellung 5,0 in allen Farben eine ausreichende Kompensation der Überlagerung ermöglicht.
Wählen Sie eine der Farbkompensationen aus, die für Ihr Gerätemodell zur Verfügung stehen. Prüfen Sie experimentell, welche der Standard-Farbkompensationen für Ihre Experimente besser geeignet ist.
- **Farbkompensation importieren**
Sie können Farbkompensationen in der Desktop-Software **qPCRsoft** aufnehmen und in die Software importieren. Importierte Farbkompensationen erscheinen im Dropdown-Menü.
Beachten Sie die Hinweise zum Import von Farbkompensationen im Abschnitt zu den Optionen.

Zustands-Icons

Sie können an den nachfolgenden Icons den Zustand der Messung ablesen.

Icon	Beschreibung
	Start der Messung
	Geräteinitialisierung
	Systemtests
	Durchführen einer technischen Prüfung
	Messung der Referenzen läuft
	Messung der Proben läuft
	Reinigung nach der Messung
	Postprocessing wird durchgeführt
	Messung beendet
	Sie können das Experiment beenden und die Ergebnisse über  Ergebnis anzeigen einblenden.

Die nachfolgenden Icons zeichnen spezielle Zustände außerhalb des Messablaufs aus:

Icon	Beschreibung
	Die Messung wird abgebrochen.
	Eine Fehlermeldung ist aufgetreten.
	Keine Aktion in der Ausführung. Sie können eine neue Messung starten.


Sehen Sie dazu auch

 Optionen – Allgemeine Softwareeinstellungen [► 54]

5 Ergebnisse

Die Ergebnisse einer Messung sind in Ergebnisdateien zusammengefasst. Die Ergebnisdateien können über die Seite **Ergebnisse** aufgerufen werden.

5.1 Anzeige und mathematische Berechnung der Ergebnisse anpassen

Auf den Seiten **DATEN**, **DATA CT** und **DATEN TM** können Sie die Ergebnisse über das Dropdown-Menü **Farbkompensation** und über die Optionen mit Klick auf  anpassen.

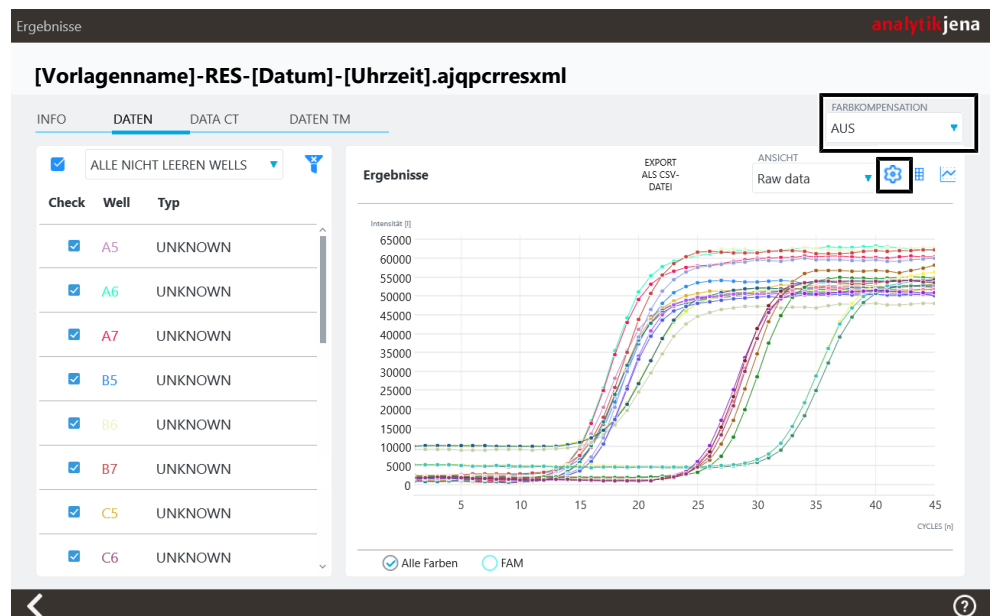



Abb. 30 Dropdown-Menü Aus und Icon  für die Optionen

Farbkompensation

Bei Verwendung mehrerer Fluoreszenzfarbstoffe in einer Probe (Multiplexing) kann es zur spektralen Überlagerung der Fluoreszenzen kommen, welches durch eine Farbkompensation korrigiert werden kann. Sie können über das Dropdown-Menü **Farbkompensation** eine Farbkompensation auswählen.

Beachten Sie zu den einzelnen Farbkompensationen ebenfalls die Hinweise unter (→ "Monitoranzeige"  45).



Anzeigeoptionen ändern

Die graphische Darstellung der Amplifikationskurven kann auf den Seiten **DATEN**, **DATA CT** und **DATEN TM** über das Icon  angepasst werden.

Die Anzeigeoptionen beeinflussen die graphische Darstellung der Messdaten in der Ansicht **Amplifikation**.

Option	Beschreibung
Glättung	Glättung der Messdaten <ul style="list-style-type: none"> ■ ohne ■ [...]Punkte Die Glättung wird über die ausgewählte Anzahl Punkte berechnet. Eingabebereich: 2 ... 12
Skalierung	Skalierung der Intensitätsachse: linear

Option	Beschreibung
Korrektur der Basislinie	<p>Über alle Proben Basislinie für jede Probe im gleichen Bereich ermitteln Die untere und obere Bereichsgrenze geben Sie in den Feldern Von Zyklus und Bis Zyklus ein.</p> <p>Probenspezifisch Diese Korrektur empfiehlt sich bei Proben mit unterschiedlichen Ct-Werten. Die untere Bereichsgrenze geben Sie im Feld Zyklen ignorieren: ein. Die obere Bereichsgrenze wird für jede Probe separat durch einen Algorithmus ermittelt.</p>

- ▶ Auf den Seiten **DATEN**, **DATA CT** oder **DATEN TM** auf  tippen. Die Anzeigeeoptionen erscheinen.
- ▶ Auf der Seite die Parameter editieren.
- ▶ Die Seite über  verlassen. Die Parameter werden übernommen.
 - ✓ Die grafische Darstellung unter **Amplifikation** wird aktualisiert.

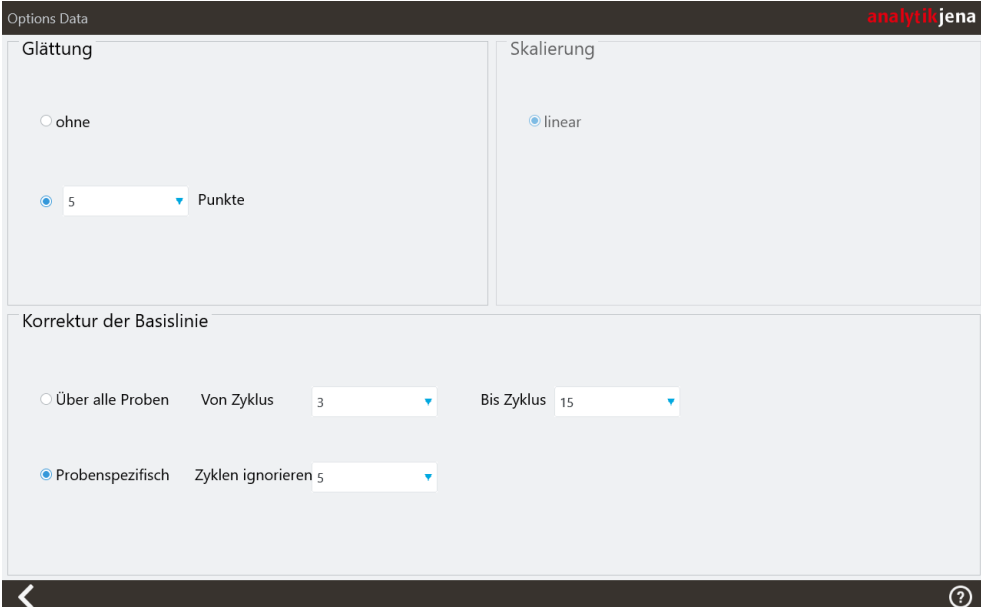





Abb. 31 Anzeigeeoptionen

Sehen Sie dazu auch

-  Monitoranzeige [▶ 45]
-  Optionen – Allgemeine Softwareeinstellungen [▶ 54]
-  Monitoranzeige [▶ 45]

5.2 Ct-Wert berechnen

Sie können die Ct-Werte auf der Seite **DATA CT** berechnen.

Elemente für die Berechnung der Ct-Werte



Well	Probenname	Probentyp	Farbstoff	Gen	Ct	Mittelwert	CStd.	dev. Ct
A5	U1	Unknown	FAM		12,21	12,04	0,15	
A6	U1	Unknown	FAM		11,97	12,04	0,15	
A7	U1	Unknown	FAM		11,94	12,04	0,15	
B5	U2	Unknown	FAM		13,43	13,25	0,16	
B6	U2	Unknown	FAM		13,22	13,25	0,16	
B7	U2	Unknown	FAM		13,12	13,25	0,16	
C5	U3	Unknown	FAM		12,87	12,52	0,30	
C6	U3	Unknown	FAM		12,37	12,52	0,30	
C7	U3	Unknown	FAM		12,32	12,52	0,30	
D5	U4	Unknown	FAM		14,98	15,07	0,10	
D6	U4	Unknown	FAM		15,07	15,07	0,10	

Abb. 32 Seite DATA CT, Tabellenansicht

Element	Beschreibung
Tabelle	Liste der Proben gemäß der Probenauswahl
Grafik- und Ergebnisbereich	Anzeige der Amplifikationskurven Anzeige der Messwerte als Tabelle
THRESHOLD	Nur bei Auswahl <input checked="" type="checkbox"/> Gen/Farbstoffkombination unterhalb des Grafik- und Tabellenbereichs. Es werden nur solche Kurven ausgewertet, deren Maximum ddRn/dT größer als der Threshold ist. <ul style="list-style-type: none"> Threshold manuell eingeben: Wert im Eingabefeld THRESHOLD eingeben Threshold automatisch bestimmen: Auf AUTO tippen
EXPORT ALS CSV-DATEI	Ergebnisse als .CSV-Datei exportieren
	Optionen für die Berechnung der Ct-Werte Anzeigeoptionen
und	Wechsel zwischen der Ansicht als Ergebnistabelle und als Grafik
Radio-Buttons	Gen/Farbstoff-Kombination zur Anzeige auswählen
<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Auswahl zwischen folgenden Anzeigen: <ul style="list-style-type: none"> Alle Farben: Ableitung der Schmelzkurve Gen/Farbstoffkombination: Schmelzkurve der ausgewählten Zielgen/Farbstoff-Kombination

Ct-Wert berechnen

Die Ct-Werte der analysierten Proben können berechnet und tabellarisch angezeigt werden.

- ▶ In einer geöffneten Ergebnisdatei die Seite **DATA CT** öffnen.
- ▶ Optional: Auf  tippen und die Optionen für die Berechnung der Ct-Werte editieren (siehe oben).
- ▶ Optional: über das Dropdown Menü **Farbkompensation** eine Farbkompensation auswählen.
- ▶ Auf  tippen.
 - ✓ Die Ct-Werte der einzelnen Proben werden in der Ergebnistabelle ausgegeben.

Die Ergebnistabelle enthält folgende Angaben:

Spalte	Beschreibung
Well	Position der Probe im Probenlayout.
Probenname	Name der Probe
Probentyp	Typ der Probe
Farbstoff	Verwendeter Fluoreszenzfarbstoff
Gen	Name des in der Probe analysierten Gens
Ct	Ct-Wert der Probe
Mittelwert Ct	Durchschnittlicher Ct-Wert von Replikaten Sind keine Replikate angelegt, entspricht der durchschnittliche Wert dem Wert unter Ct .
Std. dev. Ct	Standardabweichung des Ct-Wertes von Replikaten Sind keine Replikate angelegt, entfällt dieser Wert.

 **HINWEIS!** Mit Klicken auf  können Sie auf die Ansicht als Grafik wechseln.


5.3 Schmelztemperatur berechnen

Elemente der Seite DATEN TM

Abb. 33 Seite DATEN TM

Element	Beschreibung
Tabelle	Liste der Proben gemäß der Probenauswahl
GENE OF INTEREST (GOI)	Zielgen/Farbstoff-Kombination auswählen Die Zielgen/Farbstoff-Kombination wird anschließend in der Tabelle und der Grafik angezeigt, wenn <input checked="" type="radio"/> GOI unterhalb der Grafik ausgewählt ist. Als Farbstoff für das Zielgen muss zur Schmelzkurvenanalytik in der Regel ein interkalierender Farbstoff ausgewählt sein.
THRESHOLD	Nur bei Auswahl <input checked="" type="radio"/> Derivative unterhalb des Grafik- und Tabellenbereichs. Es werden nur solche Kurven ausgewertet, deren Maximum $ddRn/dT$ größer als der Threshold ist. <ul style="list-style-type: none"> Threshold manuell eingeben: Wert im Eingabefeld THRESHOLD eingeben Threshold automatisch bestimmen: Auf AUTO tippen
EXPORT ALS CSV-DATEI	Ergebnisse als .CSV-Datei exportieren
	Optionen für die Berechnung der Ct-Werte Anzeigeoptionen
und	Wechsel zwischen der Ansicht als Ergebnistabelle und als Grafik
Radio-Buttons <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Gen/Farbstoff-Kombination zur Anzeige auswählen Auswahl zwischen folgenden Anzeigen: <ul style="list-style-type: none"> Derivative: Ableitung der Schmelzkurve GOI: Schmelzkurve der ausgewählten Zielgen/Farbstoff-Kombination

i HINWEIS! Über die Ableitung der Schmelzkurve können Sie den Schmelzpunkt sowie eventuelle unspezifische Amplifikationen visuell feststellen.

- Schmelztemperatur berechnen
- ▶ In einer geöffneten Ergebnisdatei die Seite **DATEN Tm** öffnen.
 - ▶ Im Dropdown-Menü **GENE OF INTEREST (GOI)** den Farbstoff (das Gen) wählen.
 - ▶ Den Threshold einstellen. Mit dem Threshold werden signifikante Peaks von unwichtigen unterschieden. Der Threshold kann auf 2 Arten eingestellt werden:
 - Im Feld **THRESHOLD** den Threshold einstellen.
 - Den Button **AUTO** klicken, um den Threshold durch die Software automatisch festlegen zu lassen
 - ▶ Auf  tippen.
 - ✓ Die Schmelztemperaturen der einzelnen Probe werden in der Ergebnistabelle ausgegeben.

i HINWEIS! Der Threshold-Wert wird sowohl nach manueller Eingabe als auch automatischer Berechnung im Eingabefeld **THRESHOLD** aktualisiert und angezeigt.

Die Ergebnistabelle enthält folgende Angaben:

Spalte	Beschreibung
Well	Position der Probe im Probenlayout.
Probename	Name der Probe
Probentyp	Typ der Probe
Tm	Schmelztemperatur der Probe
Mittlere Tm	Durchschnittliche Schmelztemperatur von Replikaten Sind keine Replikate angelegt, entspricht der durchschnittliche Wert dem Wert unter Tm
Std.-Abw. Mittelwert Tm	Standardabweichung der Schmelztemperatur von Replikaten Sind keine Replikate angelegt, entfällt dieser Wert.

i HINWEIS! Mit Klicken auf  können Sie auf die Ansicht als Grafik wechseln.

5.4 Ergebnisdateien in der Desktop-Software auswerten

Sie können die Ergebnisdatei in der Desktopsoftware **qPCRsoft** öffnen und auswerten.

In der Desktop-Software können Sie zudem weitere getroffene Einstellungen der Messung einsehen. Die Desktop-Software zeigt beispielsweise an, welcher Gain eingestellt wurde oder ob die Funktion **STC** aktiviert war.

- ▶ Die gewünschten Ergebnisdateien auf einen externen Datenspeicher übertragen. Zum Übertragen die Hinweise im Kapitel „Datenverwaltung“ in dieser Bedienungsanleitung beachten.
- ▶ Den externen Datenspeicher mit Ergebnisdateien an den PC anschließen.
- ▶ Die Software **qPCRsoft** öffnen.
- ▶ In der Software die gewünschte Ergebnisdatei öffnen.
- ▶ Die Ergebnisdatei kann in der Desktop-Software ausgewertet werden. Die Auswertungen können als .RTPX-Datei gespeichert werden.


i HINWEIS! Beachten Sie die Hinweise zur Benutzung in der Bedienungsanleitung der Desktop-Software qPCRsoft.

5.5 Ergebnisse exportieren

Die Ergebnisse in den Reitern **DATEN** und **DATA CT** können als .CSV-Datei (*.csv) exportiert werden:


- ▶ **DATEN** oder **DATA CT** öffnen.
- ▶ Über der Ergebnistabelle auf **EXPORT ALS CSV-DATEI** klicken.
- ▶ Speichermedium wählen: **Intern** oder einen externen Speicherort
- ▶ Dateinamen eingeben.
- ▶ Auf **OK** tippen.
 - ✓ Die Ergebnisdaten werden exportiert und auf den gewählten Speicherort geschrieben.


6 Optionen – Allgemeine Softwareeinstellungen

Über das Icon  gelangen Sie zu den grundlegenden Einstellungen für die Software. Auf den zugehörigen Seiten können Sie Einstellungen zur Software selbst und zu den Farbmodulen vornehmen. Außerdem können Sie ein Programm-Update ausführen.

Allgemeine Softwareoptionen festlegen

Zur Einstellung der Softwareoptionen tippen Sie auf **Allgemeine Einstellungen**. Folgende Unterpunkte sind hinterlegt:

Option	Beschreibung
Systeminformationen	Nummer der Software-Version
Informationen zum Gerät	Informationen zum Gerät wie Seriennummer und Gerätetyp
Startdialog anzeigen ?	Aktiviert: die Startseite wird beim Start der Software angezeigt. Deaktiviert: beim Start der Software wird die Seite Vorlagen angezeigt.
Gerät automatisch verbinden ?	Standardmäßig ist die Option aktiviert. Aktiviert: die Software verbindet sich automatisch mit dem Thermocycler, wenn der Thermocycler eingeschaltet wird und das integrierte Tablet und die Software gestartet sind. <ul style="list-style-type: none"> Der Thermocycler kann über die Software auf dem integrierten Tablet gesteuert werden. Deaktiviert: die Software verbindet sich nicht automatisch mit dem Thermocycler. <ul style="list-style-type: none"> Bei Einschalten des Thermocyclers starten das integrierte Tablet und die Software wie gewohnt. Jedoch kann der Thermocycler nicht über die Software auf dem integrierten Tablet gesteuert werden. Die Software befindet sich im Demo-Modus. Der Thermocycler kann direkt mit der Steuersoftware auf einem verbundenen PC gesteuert werden. Ein Beenden der Software auf dem integrierten Tablet ist nicht nötig. Auf der Seite Vorlagen erscheint der Button  Gerät verbinden. Über Klicken des Buttons kann die Software auf dem integrierten Tablet mit dem Thermocycler verbunden werden.
Anwendungsinformationen protokollieren	Protokolliert die Aktionen der Software und erstellt eine Log-Datei mit diesen. Das Protokoll finden Sie unter: C:\Users\[Benutzername]\Documents\Analytik-Jena\qPCR-soft touch\log
Kommunikation protokollieren	Protokolliert die Aktionen der Gerätekommunikation und erstellt eine Log-Datei mit diesen. Das Protokoll finden Sie unter: C:\Users\[Benutzername]\Documents\Analytik-Jena\qPCR-soft touch\log\traffic
Überprüfungsdaten protokollieren	Protokolliert die Aktionen der technischen Prüfung und erstellt eine Log-Datei mit diesen. Das Protokoll finden Sie unter: C:\Users\[Benutzername]\Documents\Analytik-Jena\qPCR-soft touch\log\fibercheck
Sprache	Sprache der Programmoberfläche auswählen

Option	Beschreibung
	i HINWEIS! Die Änderung der Spracheinstellung wird erst nach einem Neustart der Anwendung wirksam. Schließen Sie die Software über das Betriebssystem und starten Sie sie neu, um die Software in der ausgewählten Sprache bedienen zu können.
Kurvenfarbe	Zuweisung der Kurvenfarben auswählen: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Well ▪ Probestyp ▪ Farbstoff ▪ Replikat
	Software beenden und Tablet herunterfahren.

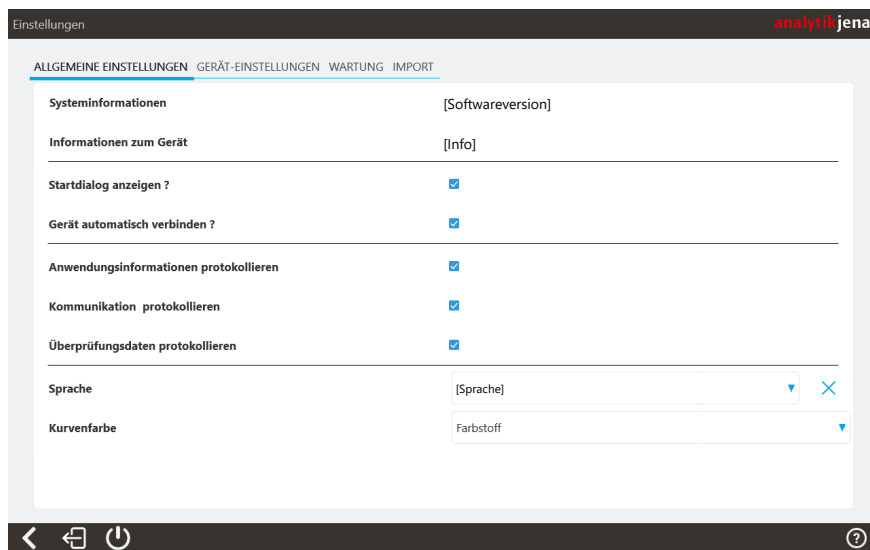


Abb. 34 Seite Allgemeine Einstellungen mit grundlegenden Software-Einstellungen

Farbmodule einstellen

Unter **Gerät-Einstellungen** definieren Sie die Positionen der im Gerät eingesetzten Farbmodule.

- ▶ In der ersten Spalte: im Dropdown-Menü das Farbmodul auswählen, welches an dieser Stelle eingebaut ist.
- ▶ In der zweiten Spalte (optional): Die Bezeichnung des Farbstoffs eingeben, den Sie mit diesem Farbmodul messen. Diese Bezeichnung erscheint anschließend bei **MONITORING** und **Ergebnisse** in der Benennung der Farbkanäle unterhalb der Grafiken.
- ▶ In der dritten Spalte: die Voreinstellung des Gains einstellen. Die Voreinstellung wird beim Erstellen einer neuen Vorlage unter **Neue Vorlage | Scan** angezeigt. Für den Gain kann ein Wert im Bereich 0,1 ... 10,0 eingestellt werden; die empfohlene Einstellung ist 5,0.
 - ✓ Die Einstellungen werden beim Verlassen der Seite **Gerät-Einstellungen** übernommen.

i HINWEIS! Nutzen Sie die Voreinstellung des Gains, um einen Wert festzulegen, den Sie regelmäßig nutzen. Die Voreinstellung erspart Ihnen mehrere Klicks bei der Erstellung einer neuen Vorlage. Passt der voreingestellte Wert nicht zu Ihrer aktuellen Messung, können Sie den Wert einfach anpassen.

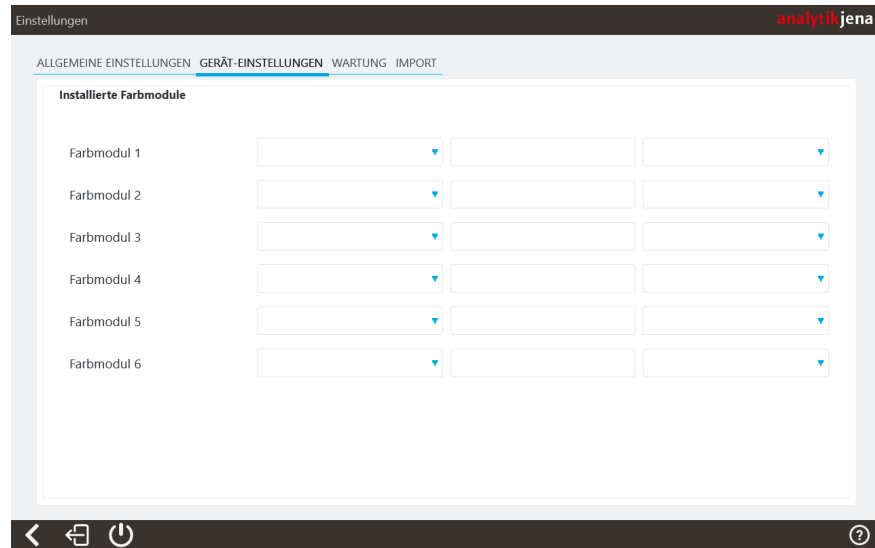


Abb. 35 Seite Gerät-Einstellungen mit Einstellungen zu den Farbmodulen

Transportsicherung anbringen und lösen

Bevor Sie das Gerät transportieren oder versenden, z.B. zu Servicezwecken, müssen Sie die Transportsicherung einsetzen und unter **Einstellungen | Wartung** aktivieren.

- ▶ Die rote Transportsicherung oder eine leere PCR-Platte in den Thermoblock einlegen und auf **Jetzt für den Transport sichern** tippen. Danach das Gerät ausschalten.
 - ✓ Der Probenblock und die empfindliche Optik im Deckel sind jetzt gesichert.
- ▶ Die Transportsicherung löst sich automatisch beim Einschalten des Gerätes. Sie können die Transportsicherung auch manuell lösen, indem Sie auf der Seite **Wartung** auf **Lösen der Transportsicherung** tippen.

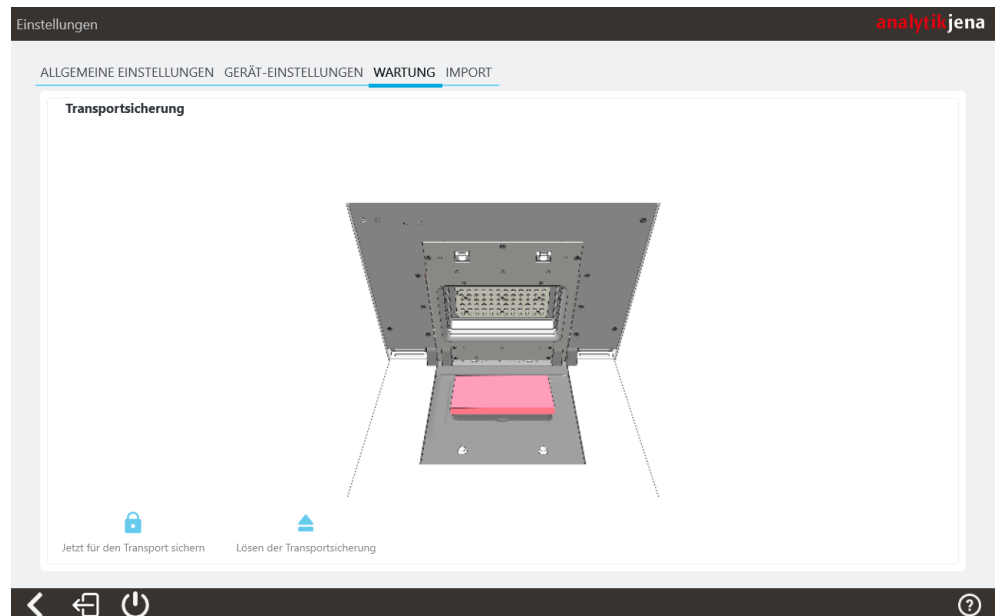


Abb. 36 Seite Wartung


Farbkompensationen importieren

Sie können Farbkompensationen in der Desktop-Software qPCRsoft aufnehmen und in die Tablet-Software qPCRsoft touch importieren.

Gehen Sie wie folgt vor:

- ▶ Eine Farbkompensation mit der Desktop-Software qPCRsoft aufnehmen.
- ▶ Die Farbkompensation auf einen externen Speicherort exportieren.

i HINWEIS! Beachten Sie zu Aufnahme und Export der Farbkompensationen die Hinweise in der Bedienungsanleitung der Desktop-Software.

- ▶ Den externen Speicher mit dem Gerät verbinden. Die Verbindung entweder über den USB-Anschluss auf der Vorderseite oder den Netzwerkanschluss auf der Rückseite des Deckels herstellen. Für die Einrichtung des externen Speicherortes die Hinweise im entsprechenden Kapitel dieser Anleitung beachten.
- ▶ Die Software öffnen.
- ▶ Die Seite **Einstellungen | Import** öffnen.
- ▶ Im Dropdown-Menü den externen Speicherort auswählen.
 - ✓ Im rechten Auswahlfeld erscheinen die Farbkompensationen des externen Speicherortes.
- ▶ Die gewünschte Farbkompensation auswählen.
- ▶ Auf  klicken, um die Farbkompensation zu importieren.
 - ✓ Die Farbkompensation erscheint im linken Auswahlfeld und ist nun in der Software als Auswahl verfügbar.

Sie können Farbkompensationen im linken Auswahlfeld über Klicken auf  löschen.

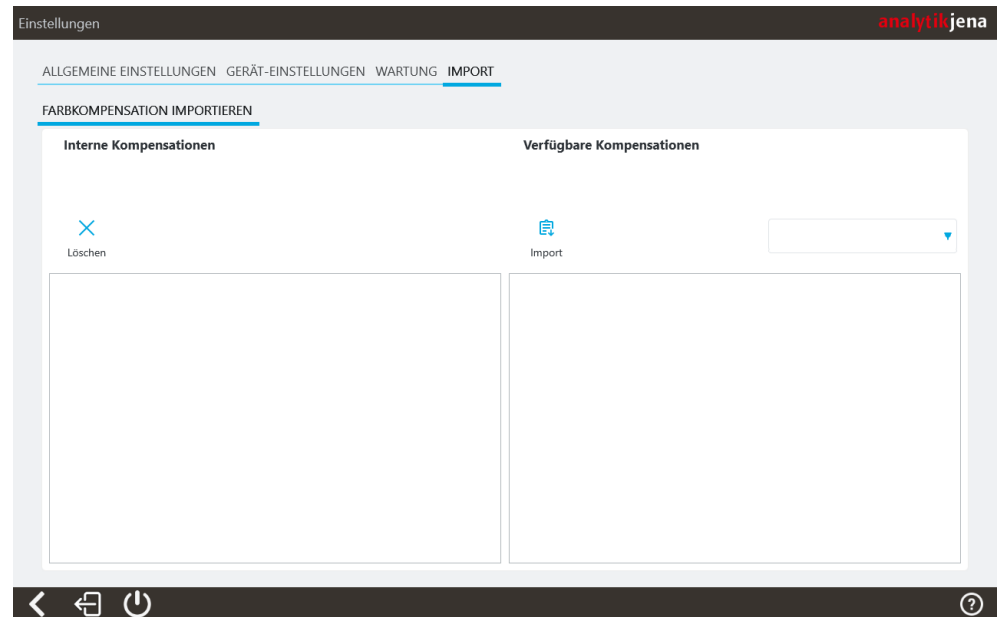


Abb. 37 Seite Import | Farbkompensation importieren