# ПРОГРАММА ДЛЯ ЭВМ

# Программа для оценки относительной экспрессии генов при определении минимальной остаточной болезни у пациентов с острыми лейкозами

## Инструкция

1) Ввести исходные данные в Ваш амплификатор перед проведением реакции:

Столбец "Target":

В столбец "Target" ввести обозначение исследуемого аналита (гена, транскрипта или транслокации; например, 210, 9-21, не используя символ ";"

(точка с запятой)); если используется референсный ген, следует вводить его обозначение в столбец "Target" (например, "abl").

Нужно вводить одно универсальное обозначение референсных генов, даже если этих генов несколько в одной таблице.

Столбец "Sample":

В столбец "Sample" ввести обозначение пробы пациента (ячейки этого столбца должны быть одинаковыми в строках с исследованием разных генов одного и того же пациента).

2) Выбрать файл амплификации, такой, как на картинке:





# 3) Запустить в программе CFX Manager:

4) Правой кнопкой мыши нажать на таблицу в нижнем правом углу окошка и выбрать "Export to CSV":



5) Правой кнопкой мыши нажать на таблицу в нижнем правом углу окошка и выбрать "Export to CSV":



Сохранить этот файл. В случае ошибок ввода в амплификатор можно отредактировать этот файл в MS Excel или любом текстовом редакторе.

6) Заполнить форму для расчётов:

## Выбрать файл CSV.

#### Перевести файл qPCR в таблицу

#### (инструкция - в нижней части страницы)

	Открыть				<u>?</u> ×
<b>D</b> C 1 Y	Папка:	🗀 ОКТЯБРЬ		💽 G 🤌 🛤	•
Выберите фаил:		26-10-20-14	)424		admin_2020-
Выберите файл Файл не выбран		27-10-20-13	1754		admin_2020-
	Недавние документы	28-10-20-15	31 47		admin_2020-
Выберите систему:		admin_2020-	 10-01 14-15-20_CT025471	1915-1111-1111-11-1111-111-111-111-111-1	admin_2020-
CEX96 V	Рабоций стол	admin_2020-	10-01 14-15-20_CT025471 - C	Quantification Cq Results_0	admin_2020-
	табочий стол	admin_2020-	10-02 14-03-56_CT025471 10-02 14-03-56_CT025471 - (	Juantification Cg Results 0	admin_2020-
Введите референсный ген так, как		admin_2020-	10-05 12-39-51_CT025471		admin_2020-
ahl	Мои	admin_2020-	10-05 12-39-51_CT025471 - ( 10-07 13-39-51_CT025471	Quantification Cq Results_0	admin_2020-
abi	документы	admin_2020-	10-07 15-46-16_CT025471		admin_2020-
Введите обозначение проб "диког		admin_2020-	10-09 13-58-46_CT025471		admin_2020-
wt	Мой компьютер	•	]		•
		Имя файла:	admin_2020-10-01 14-15-20	0_CT025471 - Qua 💌	Открыть
Введите количество одинаковых :	оторија Сетевое	Тип файлов:	Все файлы	•	Отмена
2	окружение		Г Только чтение		

🔲 Определить референсные строки автоматически

Отослать файл qPCR

# Выбрать систему (например, CFX96).

p picenter.1spbgmu.ru/views ×														_		-
C Prenicenter tsphamu.ru/views/cfx2excel	Cn)	9 · C · C	(al.) =			admin_202	0-10-01 14-15	-20_CT025471	- Quantific	ation Cq Results_0 - Mic	crosoft Excel					
		Главная	Вставка І	Разметка ст	раницы Ф	ормулы	Данные	Рецензиро	вание Е	нд					0.	- 0
	1	X Call	bri -	11 - 6	A* .* ) = .	2.		Общий		1	<b>TT</b> 2		Вча Вставить *	Σ.	A	a
		-La -		144 12	1 A 7			оощии	10.000	<u> </u>			🚰 Удалить *	3-	R	uru
еревести файл qPCR в таблицу	Вставит	ъ 🦪 Ж	КЧ-	8 · 🖉 ·	<u>A</u> - ≡ =	三田 評	律 图*	- %	100 .60 .00	Условное о	Сорматирова	ать Стили	Формат *	0.	Сортировка Н	айти наелит
	Буфер об	ме 🦻	Шри	фт	6 1	Выравниван	ие б	Числ	o 6	c	тили		Ячейки	J	Редактировани	
іструкция - в нижней части страницы)		A1	- (9	$f_N$												Г
		АВ	C	D	E	F	G	н	1	J K	L	М	N	0	P	1
	1	Well	Fluor	Target	Content	Sample	Biological	Ca	Co Mean	Co Std. De Starting O	Log Startir	SQ Mean	SQ Std. De Set	Point V	Vell Note	г
Выберите файл:	2	B01	FAM	12 21	Unkn	433	3	NaN	. 0	0 NaN	NaN	0	0	60		1
	3	B02	FAM	12 21	Unkn	433	3	NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60		•
Выберите файл Файл не выбран	4	B03	FAM	wt	Unkn	431		31,32305	31,32305	0 316,5885	2,500495	316,5885	0	60		
	5	B04	FAM	wt	Unkn	431		31,36669	31,36669	0 307,2042	2,487427	307,2042	0	60		
Выберите систему:	6	B05	FAM	evi	Unkn	431		35,37816	35,37816	0 19,33006	1,286233	19,33006	0	60		E
	7	B06	FAM	evi	Unkn	431		34,36342	34,36342	0 38,91221	1,590086	38,91221	0	60		L
UFX96 *	8	C01	FAM		210 Unkn	431		26,55707	26,55707	0 8464,862	3,92762	8464,862	0	60		L
Ввелите референсный ген так, как иказывали в приборе (в столбие Target)	9	C02	FAM	1	210 Unkn	431		26,42875	26,42875	0 9247,901	3,966043	9247,901	0	60		L
and the second	10	C03	FAM	wt	Unkn	436	5	31,16061	31,16061	0 354,1069	2,549134	354,1069	0	60		L
abl	11	C04	FAM	wt	Unkn	436	5	31,31	31,31	0 319,4501	2,504403	319,4501	0	60		Ł
	12	D01	FAM		190 Unkn	431		NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60		Ł
Введите обозначение проб "дикого типа" так, как в таблице (столбец Target)	13	D02	FAM		190 Unkn	431	L	41,96944	41,96944	0 0,205371	-0,68746	0,205371	0	60		Ł
	14	F09	FAM		27 Neg Ctrl	k-		NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60		-
wt	15	F10	FAM		27 NTC	deps		NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60		Ł
Вранита колинаство опинаковых иссталований кампой пообы	16	F11	FAM		210 Pos Ctri	K+		36,02331	35,02331	0 12,38938	1,093049	12,38938	0	60		Ł
эведите количество одинаковых исследовании каждой прооы	1/	F12	FAM	wt	Std	a3		27,91964	27,91964	0 3690	3,56/026	3690	0	60		Ł
2	18	801	HEX	abi	Unkn	433	5	24,07337	24,07337	0 68045,79	4,832801	68045,79	0	60		Ł
	19	802	HEX	abi	Unkn	433	5	24,20052	24,20052	0 59000,98	4,775734	39000,98	0	00		÷
🔲 Определить референсные строки автоматически	20	803	LEY	abl	Unkn	431		25,90273	25,90273	0 10033,0	4,2/49/9	100333,0	0	60		t
	22	C03	HEY	abl	Linko	451		24,67285	20,00092	0 44668 83	4 650005	44668 83	0	60		t
Отослать файл qPCR	23	C04	HEX	abl	Unkn	430	5	25 00788	25 00788	0 35305 72	4 547845	35305 72	0	60		t
	24	D01	HEX	abl	Unkn	430		25,93586	25,93586	0 18402.53	4.264878	18402.53	0	60		t
	25	D02	HEX	abl	Unkn	431		26,10625	26,10625	0 16327.61	4.212923	16327.61	0	60		t
	26	502					-	21,20020		. 10027/01	.,=22020		~	00		

Если Вы работаете на амплификаторе CFX96 и пользуетесь CFX Manager, при открытии CSV файла в MS Excel у Вас должна отобразиться примерно такая картина

### Ввести обозначение референсных генов (например, abl).

epicenter.1spbgmu.ru/views ×		- m - 40				adapte 202	0 10 01 14 14	C 20 CT02547	1. 0	alian Ca Davilla	0.11	and French	_				1000
C Depicenter.1spbgmu.ru/views/cfx2excel	( <u>9</u> 3) - '	* (= * 494				aumin_202	0-10-01 14-1:	5-20_C102547.	I - Quantint	ation cq Results	_o - micros	OIL EXCEL					-
		авная Ві	ставка І	Разметка стран	ницы 🧉	ормулы	Данные	Рецензиро	вание в	Вид						1	Ø - •
		X Calib	ri -	11 · A	۸ <sup>*</sup> =	= = 📚		Общий	-					Ва Вставить	- Σ-	Â	- iñ
еревести файл qPCR в таблицу	Вставить	ж	К Ц -	🗄 - 🙆 - 🛓	-	■ ■ 律	傳 图-	- %	000 50° 60°	Условно	е Фор	матирова	ть Стили	ПФормат	- 0-	Сортирови	са Найти
	Буфер обм	e 5	Шри	¢т	G	Выравниван	ие Б	Числ	10 19	( construction of the second	Стил	и		Ячейки		Редактиро	ование
нструкция - в нижней части страницы)		1	- (9)	fr	<u> </u>					A							
			6	0		5	6				V			AL.	0	0	0
	1	Well	Eluor	Target	Content	Samola	Riological	n LCa	Co Mean	Co Std. De Sta	n I I I	L Startir	SO Mean	SO Std. De Se	at Roint	P Nell Note	ų
Drifenum değu	2	B01	FAM	12 21	Unkn	43	Biological	NaN	0	0 Nal	N Na	aN	0 Contraction	0	60	vennote	
Биосрите фаял.	3	802	FAM	12.21	Unkn	43	2	NaN	0	0 Nal	N Na	aN	0	0	60		
Выберите файл Файл не выбран	4	B03	FAM	wt	Unkn	43		31,32305	31.32305	0 31	16.5885 2	2,500495	316,5885	0	60		
	5	B04	FAM	wt	Unkn	43:	L	31,36669	31,36669	0 30	7,2042 2	2,487427	307,2042	0	60		
Выберите систему.	6	B05	FAM	evi	Unkn	43:	1	35,37816	35,37816	0 19	9,33006 1	,286233	19,33006	0	60		
	7	B06	FAM	evi	Unkn	43:	L	34,36342	34,36342	0 38	3,91221 1	,590086	38,91221	0	60		
CFX96 V	8	C01	FAM	210	Unkn	43:	L	26,55707	26,55707	0 84	164,862	3,92762	8464,862	0	60		
Province and an and you many new france (n another Toward)	9	C02	FAM	210	Unkn	43:	L	26,42875	26,42875	0 92	47,901 3	8,966043	9247,901	0	60		
зведите референсным тен так, как указывали в присоре (в столоце тагдес)	10	C03	FAM	wt	Unkn	43	5	31,16061	31,16061	0 35	54,1069 2	2,549134	354,1069	0	60		
apl	11	C04	FAM	wt	Unkn	43	5	31,31	31,31	0 31	19,4501 2	2,504403	319,4501	0	60		
	12	D01	FAM	190	Unkn	43:	1	NaN	0	0 Na	N Na	aN	0	0	60		
Введите обозначение проб "дикого типа" так, как в таблице (столбец Target)	13	D02	FAM	190	Unkn	43:	L	41,96944	41,96944	0 0,:	205371 -	0,68746	0,205371	0	60		
	14	F09	FAM	27	Neg Ctrl	k-		NaN	0	0 Na	N Na	aN	0	0	60		
wt	15	F10	FAM	27	NTC	deps		NaN	0	0 Na	N Na	aN	0	0	60		
	16	F11	FAM	210	Pos Ctrl	k+		36,02331	36,02331	0 12	2,38938 1	1,093049	12,38938	0	60		
введите количество одинаковых исследовании каждои пробы	17	F12	FAM	wt	Std	a3		27,91964	27,91964	0	3690 3	8,567026	3690	0	60		
2	18	B01	HEX	abl	Unkn	433	3	24,07337	24,07337	0 68	3045,79 4	,832801	68045,79	0	60		
2	19	B02	HEX	abl	Unkn	433	3	24,26052	24,26052	0 59	9666,98 4	1,775734	59666,98	0	60		
Определить референсные строки автоматически	20	B03	HEX	abl	Unkn	43:	L	25,90273	25,90273	0 1	18835,6 4	,274979	18835,6	0	60		
	21	804	HEX	abi	Unkn	43:		25,86692	25,86692	0 19	9315,21	4,2859	19315,21	0	60		
Отослать файл qPCR	22	03	HEX	abi	Unkn	43	-	24,67285	24,67285	0 44	1008,83 4	1,650005	44668,83	0	60		
	23	L04	HEX	api	Unkn	43		25,00788	25,00788	0 35	305,72 4	4,54/845	35305,72	0	60		
	24	001	HEX	api	Unkň	43		25,93586	25,93586	0 18	s402,53 4	,2048/8	18402,53	0	60		
	20	002	MEX	api	UNKN	43.		20,10625	20,10625	0 16	327,01 4	,212923	10327,61	0	60		
	20																

#### Ввести обозначение проб целевого гена (например, wt – где применимо).

C Bastanta takan seti sa 16 Sand		· · · ·	•			admin_202	0-10-01 14-1	5-20_CT02547	1 - Quantific	ation Cq R	esults_0 - Mid	crosoft Excel					- = ×
		Главная	Вставка	Разметка стра	ницы d	ормулы	Данные	Рецензиро	вание В	Вид						6	) _ = x
		X		1 1074								HTTP:	1-71	Вча Вставить *	Σ-	A	-40
			ibri *	11 * A	A -	= = *		Общий	*		- C		-1	Vaaguto T		R	in a
Перевести файл qPCR в таблицу	Bcras	ить 🥣 Ж	K 4 -	H - 🙆 - 🔒	A - 🔳	■ ■ 详	傳 图-	- %	000 56 400	Ye	овное	Форматиров	ать Стили	CODMAT *	0-	Сортировка	Найти и
	Буфер	обме 🗟	Шри	ΦT	G	Выравниван	ие Б	Чис	10 5	φοριιαι	C	Тили	AHEEK	Ячейки	-	Редактиро	вание
(инструкция - в нижней части страницы)		41	+ (0)	fx				A						1	<u>.</u>		3
		A D	6	D	c	E	G				V			N	0	D	0
	1	A D	Eluor	Target	Contont	Sample	Rielogica	I Ca	Ca Moan	Ca Std D	n Starting (	L og Startir	SO Moon	SO Std De Set	Doint V	Moll Noto	u -
Profession house	2	B01	FAM	12 21	Unkn		biologica	NaN	Cq Wear	cq stu. p	NaN	NaN	O IVICALI	O O	60	vennote	
рысерите фана.	3	B02	FAM	12 21	Unkn	433	3	NaN	0		0 NaN	NaN	0	0	60		
Выберите файл Файл не выбран	4	B03	FAM	wt	Unkn	431	L	31,32305	31,32305		316,5885	2,500495	316,5885	0	60		
	5	B04	FAM	wt	Unkn	431	L	31,36669	31,36669		307,2042	2,487427	307,2042	0	60		
Выберите систему:	6	B05	FAM	evi	Unkn	431	L	35,37816	35,37816		0 19,33006	1,286233	19,33006	0	60		
	7	B06	FAM	evi	Unkn	431	L	34,36342	34,36342		38,91221	1,590086	38,91221	0	60		
CFX96 *	8	C01	FAM	21	0 Unkn	431	Ł	26,55707	26,55707		8464,862	3,92762	8464,862	0	60		
Введите референсный ген так, как указывали в приборе (в столбие Target)	9	C02	FAM	21	0 Unkn	431	L	26,42875	26,42875		9247,901	3,966043	9247,901	0	60		_
	10	C03	FAM	wt	Unkn	436	5	31,16061	31,16061		354,1069	2,549134	354,1069	0	60		_
abl	11	C04	FAM	wt	Unkn	436	5	31,31	31,31		319,4501	2,504403	319,4501	0	60		
	12	D01	FAM	19	0 Unkn	431	L	NaN	0		0 NaN	NaN	0	0	60		_
Введите обозначение проб "дикого типа" так, как в таблице (столбец Target)	13	D02	FAM	19	0 Unkn	431	1	41,96944	41,96944		0 0,205371	-0,68746	0,205371	0	60		
	14	F09	FAM	2	7 Neg Ctrl	K-		NaN	0		0 NaN	NaN	0	0	60		
wi	15	F10	FAM	2	7 NIC	deps		Nan	26 02221		0 NaN	NaN	12 20020	0	60		
Ввелите количество олинаковых исстелований каждой пробы	17	F11	FAIN	21	Ctd	RT		30,02331	30,02331		2600	2,557026	12,30330	0	60		
	18	B01	HEY	abl	Linko	433		24 07337	24.07337		68045 79	4 832801	68045 79	0	60		
2	19	802	HEX	abl	Unkn	433	1	24,26052	24,26052		59666.98	4,775734	59666.98	0	60		
	20	B03	HEX	abl	Unkn	431		25,90273	25,90273		18835.6	4,274979	18835.6	0	60		
🔲 Определить референсные строки автоматически	21	B04	HEX	abl	Unkn	431	L	25,86692	25,86692		0 19315,21	4,2859	19315,21	0	60		_
0 1.7 000	22	C03	HEX	abl	Unkn	436	5	24,67285	24,67285		44668,83	4,650005	44668,83	0	60		
Отослать фаил феск	23	C04	HEX	abl	Unkn	436	5	25,00788	25,00788		35305,72	4,547845	35305,72	0	60		
	24	D01	HEX	abl	Unkn	431	L	25,93586	25,93586		0 18402,53	4,264878	18402,53	0	60		
	25	D02	HEX	abl	Unkn	431	L .	26,10625	26,10625		16327,61	4,212923	16327,61	0	60		
	26																

Это важно - для значений целевого гена рассчитываются средние значения чисел копий референсных генов и отношения количества ампликонов целевых и референсных генов.

Ввести количество одинаковых исследований каждой пробы: если мы капаем в каждые две лунки одну и ту же пробу с одними и теми же реагентами, чтобы затем рассчитать среднее значение по этим парам лунок, то следует указать 2 (в три лунки - 3 и так далее). Повторов нет – указать 1.

-> C D enicenter tenbamula Wiews/cfv?excel	C. 7	- Ci - 😂	<b>H</b> ) •			admin_2020	-10-01 14-19	5-20_CT025471	L - Quantific	ation Cq Results_0 - I	licrosoft Excel					
C D epicente . Tapogindi d/ News/cixzexcei		авная В	ставка І	азметка стра	ницы Ф	юрмулы "	Данные	Рецензиро	вание В	інд						. – –
	ß	X Calib	ri •	11 × A	` = :	= = 😜		Общий					Вч= Вставить № Узранть	-Σ-	Â	æ
lеревести файл qPCR в таблицу	Вставить	ж	<u>кч</u> -	9 - 🔕 - 1	A - 🔳	= = # f	<b>₽</b> 🔤 •	- %	000 50 400	Условное	Форматиров	ать Стили	Формат -	0-	Сортировк	а Найтии
	Буфер обме		Шри	¢τ	6	Быравнивани	ie Gi	Числ	10 15	форматирование	Стили	ут яческт	Ячейки	~	Редактиро	выделите
инструкция - в нижней части страницы)	-	1	-6	f.												
		P	C	D	E	E	G	ы	1	I K	1	M	N	0	P	0
	1	Woll	Eluor	Target	Content	Sample	Biological		Co Mean	Co Std. De Starting	O Log Startin	SO Mean	SO Std. De Se	t Roint	Vell Note	u
Bufenure daŭn	2	B01	FAM	12.21	Unkn	433	Diological	NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60	rennote	
Discipline dana.	3	B02	FAM	12 21	Unkn	433		NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60		
Выберите файл не выбран	4	B03	FAM	wt	Unkn	431		31.32305	31.32305	0 316.58	35 2.500495	316.5885	0	60		
	5	B04	FAM	wt	Unkn	431		31,36669	31,36669	0 307,20	2,487427	307,2042	0	60		
Выберите систему:	6	B05	FAM	evi	Unkn	431		35,37816	35,37816	0 19,330	1,286233	19,33006	0	60		
	7	B06	FAM	evi	Unkn	431		34,36342	34,36342	0 38,912	1,590086	38,91221	0	60		
CFX96 *	8	C01	FAM	21	0 Unkn	431		26,55707	26,55707	0 8464,8	3,92762	8464,862	0	60		
Brannes satananan'i nan any nan manunany ny manfana (ny ananfana Tarrat)	9	C02	FAM	21	0 Unkn	431	111	26,42875	26,42875	0 9247,9	3,966043	9247,901	0	60		
DBedarie pewepenchaniten tak, kak ykasasaatn B upnoope (B cronotte target)	10	C03	FAM	wt	Unkn	436		31,16061	31,16061	0 354,10	59 2,549134	354,1069	0	60		
abl	11	C04	FAM	wt	Unkn	436		31,31	31,31	0 319,45	2,504403	319,4501	0	60		
	12	D01	AM	19	0 Unkn	431		NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60		
Введите обозначение проб "дикого типа" так, как в таблице (столбец Target)	13	D02	FAM	19	0 Unkn	431		41,96944	41,96944	0 0,2053	-0,68746	0,205371	0	60		
	14	F09	FAM	2	7 Neg Ctrl	k-		NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60		
wt	15	F10	FAM	2	7 NTC	deps		NaN	0	0 NaN	NaN	0	0	60		
	16	F11	FAM	21	0 Pos Ctrl	k+		36,02331	36,02331	0 12,389	38 1,093049	12,38938	0	60		
введите количество одинаковых исследовании каждои прооы	17	F12	FAM	wt	Std	a3		27,91964	27,91964	0 36	3,567026	3690	0	60		
2	18	B01	HEX	abl	Unkn	433		24,07337	24,07337	0 68045,	79 4,832801	68045,79	0	60		
£	19	B02	HEX	abl	Unkn	433		24,26052	24,26052	0 59666,	4,775734	59666,98	0	60		
Определить референсные строки автоматически	20	B03	HEX	abl	Unkn	431		25,90273	25,90273	0 18835	,6 4,274979	18835,6	0	60		
- F. H. H. F. F. H. F. H.	21	B04	HEX	abl	Unkn	431		25,86692	25,86692	0 19315,	4,2859	19315,21	0	60		
Отослать файл qPCR	22	C03	HEX	api	Unkn	436	_	24,67285	24,67285	0 44668,	4,650005	44668,83	0	60		
	23	C04	HEX	api	Unkn	436		25,00788	25,00788	0 35305,	/2 4,547845	35305,72	0	60		
	24	D01	HEX	abl	Unkn	431		25,93586	25,93586	0 18402,	4,264878	18402,53	0	60		
	25	002	HEX	api	Unkn	431		26,10625	26,10625	0 16327,	4,212923	16327,61	0	60		

На данной картинке видно, что каждая проба была поставлена дважды, и в некоторых парах соответствующих лунок (отмечены одним цветом, столбец "Well") был проведён анализ референсного гена.