

# Руководство пользователя CGQ

Руководство по контролю плотности  
клеток при культивировании во  
встряхиваемых колбах



V 1.0

**000 «Диаэм»**

Москва

ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ [sales@dia-m.ru](mailto:sales@dia-m.ru)

[www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)

**С.-Петербург**  
+7 (812) 372-6040  
[spb@dia-m.ru](mailto:spb@dia-m.ru)

**Новосибирск**  
+7 (383) 328-0048  
[nsk@dia-m.ru](mailto:nsk@dia-m.ru)

**Воронеж**  
+7 (473) 232-4412  
[vrn@dia-m.ru](mailto:vrn@dia-m.ru)

**Йошкар-Ола**  
+7 (927) 880-3676  
[nba@dia-m.ru](mailto:nba@dia-m.ru)

**Красноярск**  
+7 (923) 303-0152  
[krsk@dia-m.ru](mailto:krsk@dia-m.ru)

**Казань**  
+7 (843) 210-2080  
[kazan@dia-m.ru](mailto:kazan@dia-m.ru)

**Ростов-на-Дону**  
+7 (863) 303-5500  
[rnd@dia-m.ru](mailto:rnd@dia-m.ru)

**Екатеринбург**  
+7 (912) 658-7606  
[ekb@dia-m.ru](mailto:ekb@dia-m.ru)

**Кемерово**  
+7 (923) 158-6753  
[kemerovo@dia-m.ru](mailto:kemerovo@dia-m.ru)

**Армения**  
+7 (094) 01-0173  
[armenia@dia-m.ru](mailto:armenia@dia-m.ru)



## Содержание

<b>Введение и общие вопросы.....</b>	<b>3</b>
Система CGQ — обзор.....	4
Рекомендуемые требования к программному обеспечению.....	5
Рекомендованные рабочие условия.....	5
Предупреждения.....	7
Декларации и сертификаты.....	8
Декларация CE — соответствие.....	8
Декларация WEEE — соответствие.....	9
<b>Установка и краткое руководство.....</b>	<b>10</b>
Установка компонентов CGQ на вашу качалку.....	10
Использование винтов.....	10
Использование клейких ковриков.....	11
Установка пластины датчика.....	13
Установка колбы для встряхивания и колпака колбы.....	16
Установка ПО CGQuant.....	18
На ваш компьютер или ноутбук.....	18
На компьютер или ноутбук, доставленный вместе с вашей системой CGQ.....	18
Краткое учебное руководство.....	19
<b>Основные принципы измерения CGQ.....</b>	<b>23</b>
Измерение оптической плотности клеток.....	23
Проблемы при измерении во встряхиваемой среде.....	24
Корреляция между ОП600 и сигналом CGQ.....	25
Параметры, влияющие на измерения CGQ.....	28
<b>Программное обеспечение CGQuant.....</b>	<b>31</b>
Введение в CGQuant.....	31
Файлы и зависимости CGQuant.....	31
Главное окно.....	32
Окно эксперимента.....	34
Окно информации о процессе.....	37
Управление измерением.....	39
Аннотации.....	39
Сравнение множественных измерений.....	41
Последующая обработка данных.....	42
Вычисление скорости роста.....	44
Использование центрального графика.....	46
Экспорт данных.....	47
Сбор и использование данных калибровки.....	48
<b>Раздел помощи.....</b>	<b>54</b>
Устранение неисправностей (в алфавитном порядке).....	54
Контактная информация	

## Введение и общие вопросы

Добро пожаловать в руководство пользователя CGQ и поздравляем вас с вашим решением выбрать систему CGQ для наблюдения за процессами культивирования во встряхиваемых колбах.

Идея этого руководства пользователя — дать вам всю информацию, необходимую для установки, встраивания и использования CGQ при вашей повседневной работе в лаборатории. В целом, настоятельно рекомендуется прочесть это руководство пользователя, прежде чем начинать любую установку или работу с системой CGQ.

Важные вопросы, советы или резюме выделены с помощью серых блоков.

### Важный вопрос:

Такие серые блоки будут использоваться во всем документе, чтобы выделить важные вопросы, советы или резюме.



**Предостережения помечены предупредительными символами.**

Чтобы убедиться, что в данном руководстве пользователя представлена вся информация, необходимая вам для работы с CGQ, мы в aquila biolabs полагаемся на ваши отзывы. Не стесняйтесь обращаться к нам, если вы заметили ошибки, отсутствующую или непонятную информацию, таким образом мы сможем улучшить этот документ и постараемся сделать так, чтобы он соответствовал вашим требованиям.

Это руководство пользователя все еще разрабатывается и его следует рассматривать как предварительное. Данное руководство пользователя, устройство CGQ и программное обеспечение CGQuant могут подлежать изменениям и улучшениям без уведомления. Если у вас возникли какие-то вопросы во время работы с CGQ и CGQuant, обращайтесь к нам без колебаний. Контактная информация на стр.56.

## Система CGQ — обзор

CGQ представляет собой аналитический лабораторный прибор, предназначенный главным образом для неинвазивного измерения плотности клеток при культивировании во встряхиваемых колбах в реальном времени. Однако систему CGQ можно использовать и в совершенно других методиках, требующих анализа концентрации частиц в реальном времени.



Рис. 1: Система CGQ.

Система CGQ состоит из трех компонентов, пластины датчиков, базовой станции и программного обеспечения CGQuant. Каждый компонент служит своей цели. Пластина датчиков представляет собой физическое «сердце» системы CGQ, так как выполняет измерения и последующие начальные операции обработки данных. Несколько пластин датчиков подключают к базовой станции, которая организует всю передачу данных между программным обеспечением CGQuant и пластиной датчика. Кроме того, основная станция служит центральным источником питания для всех подключенных пластин датчиков.

И наконец, программное обеспечение CGQuant — окно пользователя в мир высокоточного анализа клеточной плотности культур во встряхиваемых колбах в реальном времени. CGQuant выполняет всю визуализацию, анализ данных, последующую обработку, экспорт, создание отчетов и контроль, необходимый, чтобы дать всем пользователям CGQ интуитивно понятное и удобное решение для наблюдения, анализа и хранения своих экспериментальных данных.

### Абсолютные максимальные значения

<b>Питание</b>	
напряжение	90–264 В перем. тока (47–63 Гц)
ток	1-2 А
<b>Выходное электропитание</b>	
напряжение	5 В пост. тока
ток	6 А
<b>Рабочая температура блока питания -</b>	
	30–60 °С
<b>Ввод базовой станции CGQ</b>	
напряжение	5,0 В пост. тока
пульсация напряжения	0,1 В
<b>Выход базовой станции CGQ</b>	
напряжение	5,5 В пост. тока
ток	3 А
<b>Рабочая температура CGQ (по испытаниям)</b>	
	15–50 (75) <sup>1</sup> °С

<sup>1</sup> CGQ работал несколько недель при температуре 75°С без каких-либо заметных повреждений, однако в настоящее время опыта работы при таких температурах недостаточно, чтобы указывать их в качестве типичных рабочих условий. Хотя работа при 75°С не гарантирована, CGQ сможет работать в большинстве ожидаемых случаев.

### Рекомендованные требования к программному обеспечению

Процессор	современный 2-ядерный @ 2 Гц/ядро или лучше
ОЗУ	> 4 ГБ
Жесткий диск	> 1 ГБ
Операционная система	Microsoft Windows 7 или выше с .NET 4.5
Разрешение экрана	1920 x 1080 пикселей

### Рекомендованные рабочие условия

<b>Температура</b>	10–50 °С
	(Обязательно дайте пластинам датчика дойти до желаемой рабочей температуры в течение 30 минут).
<b>Влажность (относительная)</b>	0 – 80% (без конденсации)

**Объем заполнения**

оптимальный диапазон	10 – 15%
хороший диапазон <sup>1</sup>	5 – 25%
применимый диапазон <sup>2</sup>	2 – 30%
расширенный диапазон <sup>3</sup>	0 – 50%

**Скорость вращения**

оптимальный диапазон <sup>4</sup>	120 – 250 об/мин.
использование винтов	
диаметр встряхивания ≤ 2,5 см	0 – 300 об/мин.
диаметр встряхивания ≤ 5,0 см	0 – 250 об/мин.
использование клейких ковриков <sup>5</sup>	0 – 200 об/мин.

<sup>1</sup> качество измерения должно быть настолько же хорошим, при оптимальном диапазоне, в редких случаях может наблюдаться незначительное снижение точности или слабые артефакты.

<sup>2</sup> качество измерения должно быть приемлемым, в некоторых случаях возможно снижение точности или артефакты.

<sup>3</sup> качество измерения может быть приемлемым, во многих случаях возможно снижение точности или артефакты, не следует заполнять колбы более чем на 50% объема во избежание разбрызгивания жидкости при встряхивании.

<sup>4</sup> используйте эти скорости для получения оптимальных результатов измерения, для других скоростей встряхивания в пределах общего нормативного диапазона, в редких случаях возможно незначительное снижение точности или слабые артефакты

<sup>5</sup> чтобы гарантировать безопасные условия встряхивания, всегда смотрите руководство по эксплуатации от производителя клейких ковриков; если рекомендуемые скорости встряхивания для клейких ковриков ниже указанных здесь, используйте только скорости, указанные в руководствах к клейким коврикам.

## Предупреждения



Не используйте систему CGQ или любые ее компоненты с качалками, устанавливаемыми в водяную баню! Это может привести к поражению электрическим током и ущербу для вашего здоровья, устройства CGQ и любых других электрических устройств вокруг.



Не смотрите на луч, испускаемый светодиодами пластины датчиков CGQ! Они испускают свет высокой интенсивности (>9000 мкд) и могут повредить сетчатку и другие структуры глаза.



Не прикасайтесь, не мочите и не замыкайте разъемы на базовой станции, особенно когда она подключена к сети питания! Это может привести к ущербу для вашего здоровья и/или устройства CGQ.



Не подключайте какие-либо пластины датчиков через USB-разъем, пока пластина датчика подсоединена к базовой станции! Это может привести к повреждению CGQ и любых других устройств, подключенных через USB.



Будьте осторожны при установке пластин датчиков CGQ в пружинные зажимы во избежание травм, таких как ушибы, порезы или кровоподтеки.



Обращайтесь с колпаками колб для встряхивания аккуратно. Они могут иметь острые края, способные привести к травмам, таким как порезы.



Не проливайте жидкости на любые компоненты CGQ. В частности, это может повредить пластины датчиков или загрязнить окошки над чувствительными элементами, что отрицательно скажется на последующих измерениях.



В целом, не используйте неорганические или органические кислоты и основания, органические растворители или моющие средства для очистки устройства CGQ! Возможно, что некоторые органические растворители или поверхностно-активные вещества подходят для очистки, однако следует использовать только материалы, упомянутые в этом руководстве пользователя.



Всегда останавливайте качалку, прежде чем делать что-либо с устройством CGQ или колбами. В особенности, всегда отключайте встряхивание перед установкой или снятием компонентов во избежание ущерба для вашего здоровья и повреждения устройств и колб в качалке.



Любое вскрытие, манипуляции или копирование устройств CGQ, а также декомпиляция, копирование технологий, копирование или распределение CGQuant или компонентов встроенной программы CGQ строго запрещены в соответствии с немецким и международным законодательством и могут стать причиной исков о возмещении ущерба.

## Декларации и сертификаты

### Декларация CE — соответствие

Компания aquila biolabs GmbH, Arnold-Sommerfeld-Ring 2, 52499 Басвайлер, Германия, настоящим заявляет со всей ответственностью, что все устройства и оборудование, являющиеся частью системы CGQ и произведенные aquila biolabs GmbH, соответствуют Директивам Совета ЕС:

- О безопасности низковольтного оборудования (2014/35/ЕС)  
⇒ проверено на основании EN 61326-1:2013
- Об электромагнитной совместимости (2014/30/ЕС)  
⇒ проверено на основании EN 61010-1:2010
- Об ограничении определенных вредных веществ (2011/65/ЕС)  
⇒ проверено на основании EN 50581:2012.

Эта декларация применима ко всем изделиям со следующими идентификаторами:

#### Пластины датчиков CGQ:

- CGQ-SP-100-BV Версии: 1.00
- CGQ-SP-250-BV Версии: 1.00
- CGQ-SP-500-BV Версии: 1.00
- CGQ-SP-1000-BV Версии: 1.00
- CGQ-SP-2000-BV Версии: 1.00

#### Базовые станции CGQ:

- CGQ-BS-8-B Версии: 1.00
- CGQ-BS-16-BV Версии: 1.00

Техническая документация ведется в главном офисе aquila biolabs GmbH по адресу Arnold-Sommerfeld-Ring 2, 52499 Басвайлер, Германия.

Дата декларации: 02.09.2015

Фамилия, должность подписавшего: Konrad Herzog, управляющий директор  
Исследования и разработки



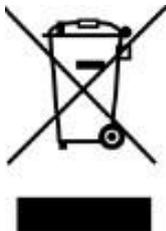
**Декларация соответствия WEEE**

WEEE-регистрационный №: 61144888

Компания aquila biolabs GmbH, Arnold-Sommerfeld-Ring 2, 52499 Басвайлер, Германия, настоящим заявляет о соответствии всех электронных компонентов системы CGQ Директиве ЕС 2012/19/ЕС.

Электронные компоненты могут содержать разные вредные вещества, способные отрицательно повлиять на ваше здоровье и окружающую среду. Во избежание вреда компания aquila biolabs рекомендует вам пользоваться местными системами утилизации и переработки электрического и электронного оборудования. Этим вы значительно уменьшите нагрузку на природные ресурсы и, следовательно, сохраните резервы нашей планеты для следующих поколений.

Компоненты, на которые распространяется эта декларация, помечены следующим значком:



Дата декларации: 02.11.2015

Фамилия, должность подписавшего: Konrad Herzog, управляющий директор  
Исследования и разработки.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Konrad Herzog', written over a large, light-colored oval shape.

## Установка и краткое руководство

### Установка компонентов CGQ на вашу качалку

#### Использование винтов

Обычно устройство CGQ устанавливают на платформу качалки с резьбовыми отверстиями. Однако так как геометрия платформы и резьбовых отверстий может различаться у разных производителей, необходимо учитывать некоторые вещи при установке CGQ с помощью винтов.

В дне базовой станции есть три продолговатых отверстия, позволяющие устанавливать ее на платформу качалки любого типа с помощью винтов. При установке базовой станции просто переместите ее по платформе, пока хотя бы два резьбовых отверстия не станут видны через продолговатые отверстия в дне базовой станции. Затем закрепите базовую станцию на платформе подходящими винтами.



**Винты с потайной головкой не рекомендуются, так как они могут повредить дно базовой станции при слишком тугом затягивании.**



**Во многих случаях при установке базовой станции лучше использовать шайбы для каждого винта. Это снизит механическую нагрузку на края продолговатых отверстий и, таким образом, может повысить устойчивость и срок службы дна базовой станции.**

Для правильной установки пластин датчиков CGQ требуются металлические зажимы определенных типов. Если ваша качалка уже оборудована подходящими зажимами, вы можете сразу перейти к стр. 13, где описана установка пластины датчиков CGQ.

Если геометрия и местоположение резьбовых отверстий вашей качалки соответствует зажимам, которые обычно поставляются с пластинами датчиков CGQ, вы можете установить эти зажимы непосредственно, как обычно. В ином случае вам придется использовать специальные пластины-адаптеры для установки зажимов CGQ (рис. 2). Сначала расположите адаптер так, чтобы как минимум два резьбовых отверстия в платформе полностью просматривались через продолговатые отверстия адаптера. Затем закрепите адаптер на платформе подходящими винтами. Наконец, установите зажим CGQ на адаптер и приверните винтами, поставленными вместе с вашим устройством CGQ.



*Рис. 2: зажим, установленный на платформу с помощью адаптера для зажимов CGQ и закрепленный винтами.*



**Винты с потайной головкой не рекомендуются, так как они могут повредить адаптер при слишком тугом затягивании.**



**Во многих случаях при установке адаптера лучше снабдить каждый винт шайбой. Это снизит механическую нагрузку на края продолговатых отверстий и, таким образом, может повысить устойчивость и срок службы адаптера.**

## Использование клейких ковриков

Для установки базовой станции CGQ на клейкий коврик просто поставьте ее на коврик задней частью к платформе качалки, как показано на рис. 3. Прижмите базовую станцию, чтобы убедиться, что она плотно соприкасается с клейким ковриком.

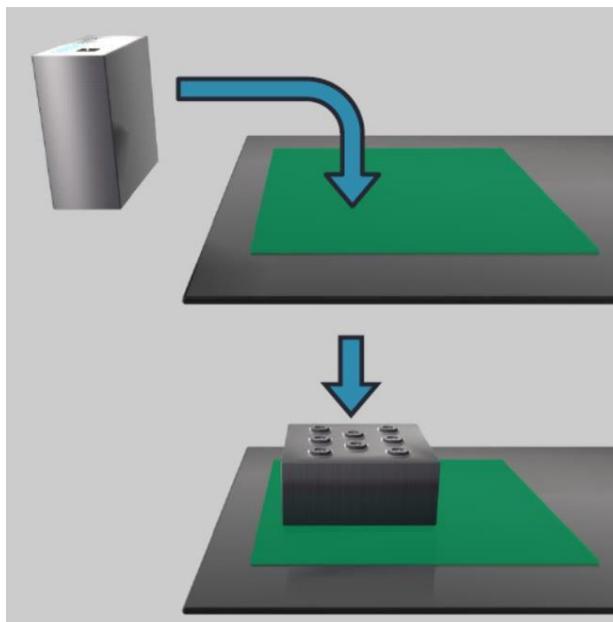


Рис. 3: Установка базовой станции CGQ на клейкие коврики



**Не допускайте накопления пыли или других загрязнений на задней стороне базовой станции, в противном случае степень прилипания базовой станции к клейкому коврику ослабнет. Базовую станцию можно очищать мягкой тканью, смоченной водой. Прочные загрязнения можно удалить этанолом или изопропанолом.**

Установите клейкий адаптер CGQ на клейкий коврик, как показано на рис. 4. Прижмите адаптер, чтобы убедиться, что он плотно соприкасается с клейким ковриком. Уже установленные пластины датчиков могут оставаться внутри клейких адаптеров во время их установки на коврик.

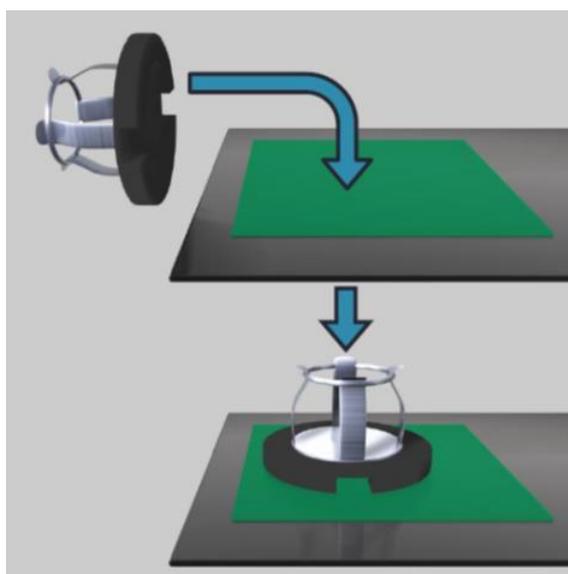


Рис. 4: Установка клейкого адаптера CGQ на клейкий коврик.



Не допускайте накопления пыли или других загрязнений на нижней стороне клейкого адаптера, в противном случае степень прилипания адаптера к клейкому коврику ослабнет. Клейкий адаптер можно очищать мягкой тканью, смоченной водой. Прочные загрязнения можно удалить этанолом или изопропанолом.

При использовании базовой станции и клейких адаптеров проверьте следующее, прежде чем запускать качалку.



Убедитесь, что все клейкие адаптеры и базовые станции плотно прижаты к клейкому коврику, в противном случае сцепление между клейким ковриком и компонентами может ослабнуть.



Убедитесь, что все компоненты правильно установлены и прижаты к клейкому коврику, чтобы гарантировать безопасность при встряхивании. В противном случае компоненты могут отделиться во время встряхивания.



Все компоненты для установки на клейкий коврик должны быть совершенно сухими и без следов каких-либо жидкостей на поверхностях. В противном случае компоненты могут отделиться во время встряхивания.



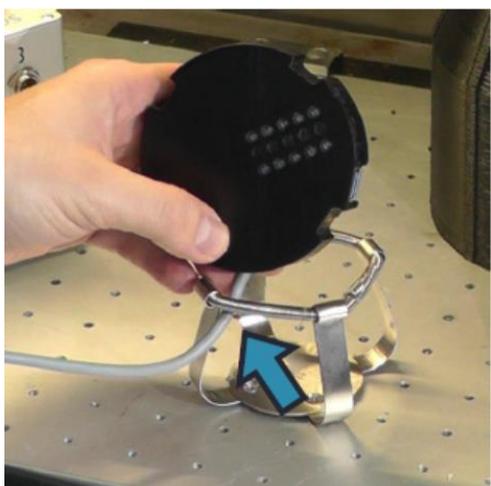
После установки всех компонентов проверьте силу приклеивания и правильность установки компонентов при желаемых скоростях встряхивания без колб, установленных в клейкие адаптеры.

Чтобы снять CGQ с клейкого коврика на платформе качалки, следуйте рекомендациям производителя клейкого коврика. Перед снятием отсоедините все кабели. Обычно базовую станцию и клейкий адаптер можно отсоединить, потянув за компонент с постоянной силой, пока он не отделится от клейкого коврика.



Не используйте жидкости для отделения базовой станции от клейкого коврика на платформе качалки. Жидкость может повредить электронные компоненты базовой станции и, в случае подключения к базовой станции, привести к ущербу для вашего здоровья.

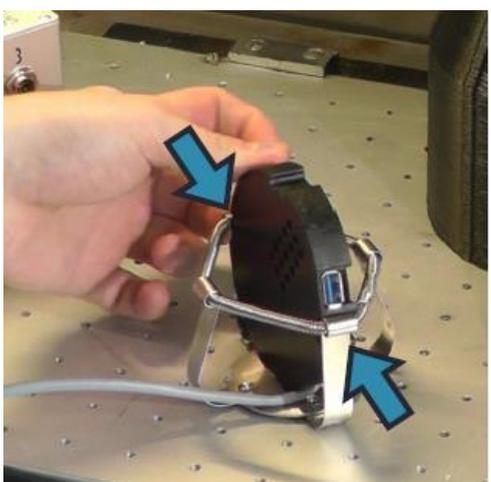
## Установка пластины датчиков



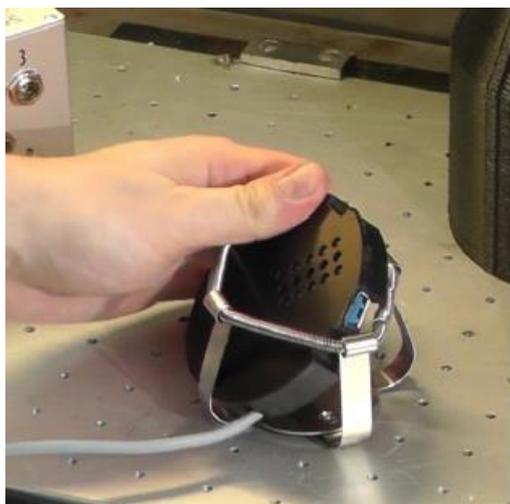
Возьмите пластину датчиков (отсоединенную от базовой станции) и держите ее над пружинным зажимом, матрицей датчиков к вам. Затем вытяните кабель пластины датчиков изнутри через передний промежуток между лапками зажима наружу и сдвиньте конец кабеля влево.



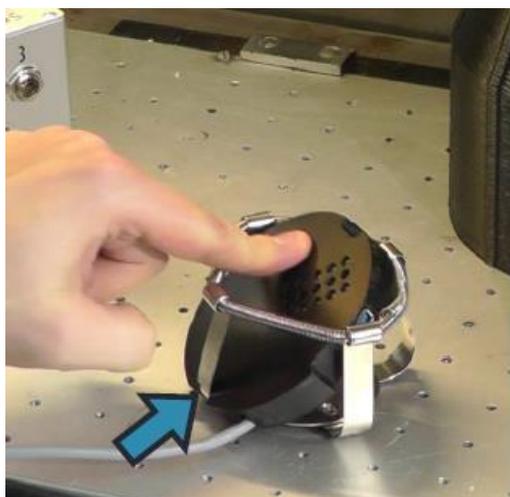
Затем поверните пластину датчиков против часовой стрелки к концу кабеля, пока фиксирующая вырезка между USB-портом и кабелем не окажется над правой лапкой металлического пружинного зажима.



Опустите пластину датчиков вниз, пока металлическая лапка пружинного зажима не коснется вырезки между USB-портом и кабелем. Затем опустите противоположную сторону пластины датчиков соответствующим образом. При этом пружина немного растянется.



Теперь поверните пластину датчиков по часовой стрелке вокруг воображаемой оси между двумя металлическими лапками пружинного зажима.



Убедитесь, что фиксирующая вырезка с левой стороны кабеля пластины датчиков соответствует положению металлической лапки пружинного зажима. Затем прижмите пластину датчиков вниз.



Наконец, пластина датчиков должна встать на место в пружинном зажиме со щелчком, и ее положение должно быть подходящим для использования устройства CGQ.



**Будьте осторожны при установке пластин датчиков в пружинные зажимы или извлечение из них во избежание травм, таких как ушибы, порезы или кровоподтеки.**



После установки пластины датчиков CGQ настоятельно рекомендуется согнуть отдельные лапки пружинных зажимов внутрь. Это поможет прочнее закрепить колбу в зажиме и избежать ее выпадения во время работы.



Убедитесь, что кабель пластины датчиков не зажат между пластиной датчиков и пружинным зажимом. В противном случае устройство может повредиться во время встряхивания.



Перед началом нового культивирования при температуре, отличающейся от текущей температуры пластины датчиков, обязательно дайте пластине датчиков нагреться до желаемой температуры культивирования. Обычно для выравнивания температур достаточно 30 минут; это поможет избежать артефактов при измерении клеточной плотности.

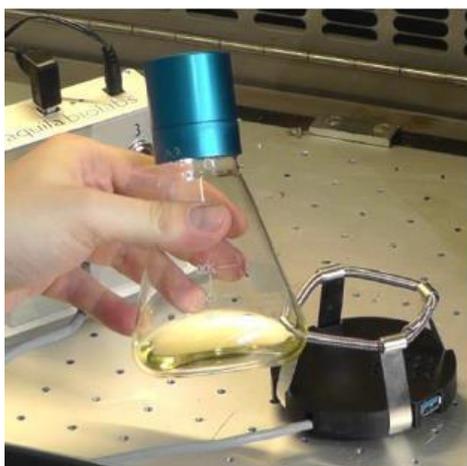
## Установка колбы для встряхивания и колпака колбы



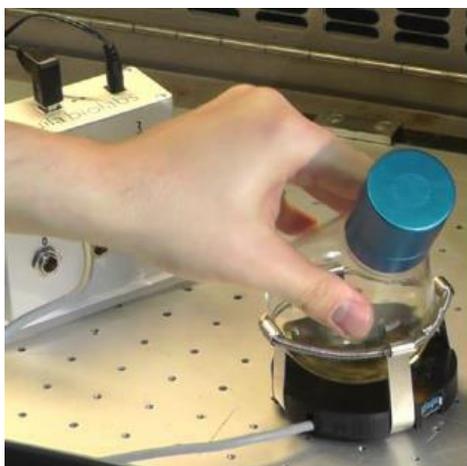
Перед началом культивирования убедитесь, что питательная среда в колбе имеет примерно такую же температуру, как температура культивирования в камере качалки. Если поставить колбы с холодной жидкостью в нагретую качалку, на дне колбы и над матрицей датчиков может образоваться конденсат. Капельки конденсата на оптическом пути создают сильные артефакты при измерении, и результаты измерения клеточной плотности становятся недостоверными.



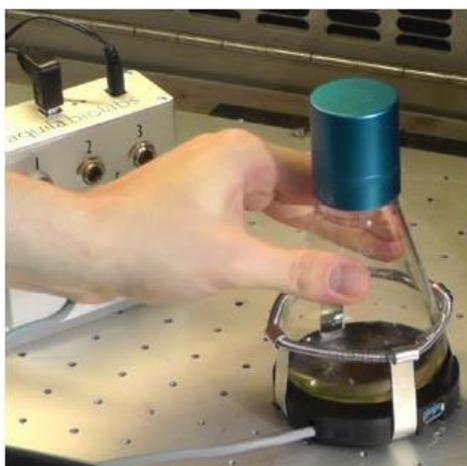
При посеве не сбрасывайте в колбу наконечник пипетки и подобные предметы. Для оптимальных результатов измерения убедитесь, что в жидкой среде в колбах нет плавающих посторонних предметов (наконечников пипеток, капсул для добавления компонентов среды и т. п.).



Подготовьте колбу с питательной средой и засейте ее.



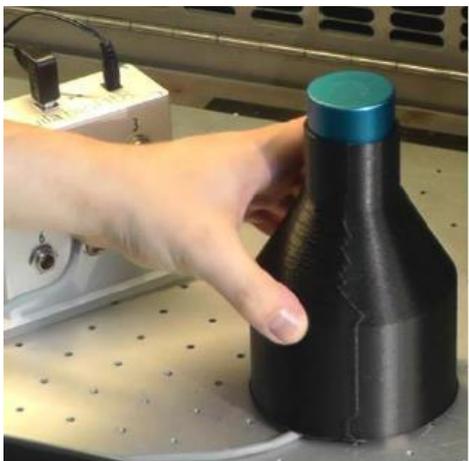
Установите колбу в пружинный зажим как обычно.



Поверните колбу вокруг вертикальной оси так, чтобы над матрицей датчиков не было дефлекторов или белого поля для надписей.



Накройте колбу колпаком и убедитесь, что кабель пластины датчиков проходит через соответствующее маленькое отверстие в нижней части колпака для колбы.



Теперь оборудование готово к работе, и вы можете начать настройку измерений в программе CGQuant.

## Установка ПО CGQuant

### **На ваш компьютер или ноутбук**

Для установки программы CGQuant и всех необходимых драйверов на ваш компьютер или ноутбук запустите файл CGQuant\_setup.exe с привилегиями администратора. При установке следуйте появляющимся подсказкам. Вы должны принять лицензионное соглашение конечного пользователя aquila biolabs для успешной установки компонентов системы CGQ.

### **На компьютер или ноутбук, доставленный вместе с вашей системой CGQ**

На все компьютеры или ноутбуки, поставляющиеся компанией aquila biolabs GmbH вместе с хотя бы одной системой CGQ, уже установлено программное обеспечение CGQuant. Дополнительной установки CGQuant не требуется. Все подготовлено для вас, таким образом, вы можете непосредственно начать свою работу с CGQ и CGQuant.

## Краткое учебное руководство

После успешной установки компонентов CGQ на вашу качалку и ПО CGQuant на компьютер вы можете начать работать с вашей системой CGQ.

### 1. Подключите базовую станцию

- Возьмите удлинительный провод питания и подсоедините его
  - к базовой станции и
  - к источнику питания.
- Возьмите провод питания и подсоедините его
  - к удлинительному проводу питания и
  - к сетевой розетке.
- Возьмите USB-кабель и подсоедините его
  - к базовой станции и
  - к компьютеру.
- Затяните винты USB-разъема, чтобы зафиксировать USB-кабель.
- Как только все кабели подсоединены, зеленый светодиод должен начать мигать и CGQ должен зарегистрироваться как COM-устройство на вашем компьютере.



**Постарайтесь правильно расположить провода, выходящие из качалки.**



**Цель — максимально уменьшить силы сдвига, действующие на кабели, обеспечив оптимальный контакт между разъемом кабеля и гнездом на базовой станции. Часто желательно закрепить кабели на внутренней стенке качалки клеевой лентой для герметизации воздухопроводов, а затем вывести их наружу, например, через маленькую прорезь в дверце или отверстие в стенке качалки.**

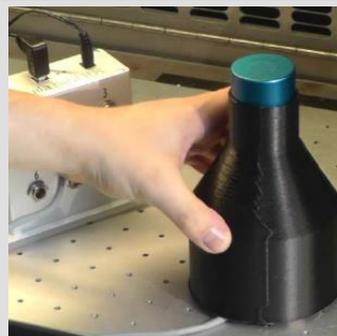
### 2. Установите и подключите пластину датчиков

- Установите пластину датчиков в подходящий пружинный зажим (подробнее см. на стр. 13).
- После установки пластины датчиков возьмите ее штекер и подключите к свободному разъему на базовой станции.
- Запомните номер ввода этого соединения; он понадобится при настройке измерений с помощью программы CGQuant.



3. Установите колбу для встряхивания и колпак колбы (как описано ранее на стр. 16)

- Поставьте колбу для культивирования поверх пластины датчиков в пружинный зажим.
- Теперь накройте колбу колпаком и убедитесь, что кабель пластины датчиков проходит через соответствующее маленькое отверстие в дне колпака для колбы.



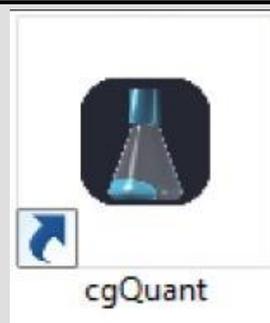
**Колба должна быть ориентирована так, чтобы над матрицей датчиков не было белого поля для надписей или дефлекторов. Вы можете просто повернуть колбу так, чтобы зона для надписей располагалась с той стороны, где от пластины датчиков отходит кабель. Неправильное положение может привести к артефактам при измерении.**

#### 4. Запустите качалку

- Теперь все действия, связанные с оборудованием, завершены, и вы можете закрыть и запустить качалку.

#### 5. Запуск ПО CGQuant

- Включите компьютер или ноутбук, подключенный к базовой станции CGQ через USB.
- Дважды щелкните по пиктограмме CGQuant на рабочем столе для запуска программы CGQuant.



#### 6. Дождитесь соединения между CGQuant и CGQ

- При запуске программа CGQuant будет пытаться установить соединение с базовой станцией CGQ. Эта процедура может занять несколько секунд.
- Изменение двух пиктограмм указывает на успешное подключение. Пиктограмма «Новый эксперимент» становится цветной, а пиктограмма «соединение» начинает мигать.



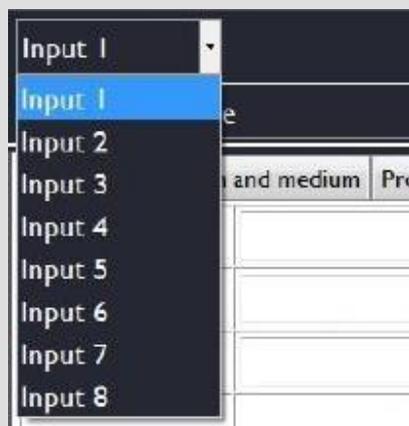
7. Откройте окно нового эксперимента

- Запустите новый эксперимент, нажав на самую левую кнопку с изображением колбы и знака «+».
- Откроется окно нового эксперимента вместе с пустой формой информации о процессе.



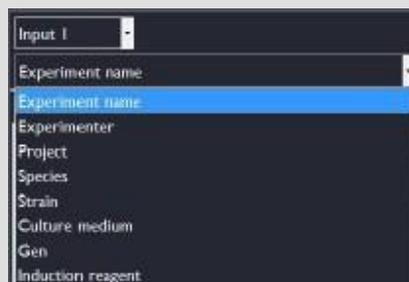
8. Выберите ввод

- Выберите ввод в соответствии с номером разъема на базовой станции, к которому подключена пластина датчиков для колбы вашего текущего эксперимента.
- Номера в списке представляют все доступные вводы, которые в настоящее время не используются для какого-либо текущего измерения



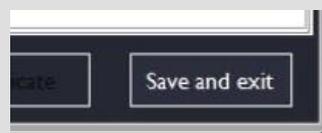
9. Выберите категорию для имени файла

- Выберите категорию из окна информации о процессе, которая будет использоваться в качестве названия файла .sgqf со всеми данными измерения и документацией вашего текущего эксперимента. Выбор по умолчанию "Experiment name" (название эксперимента).



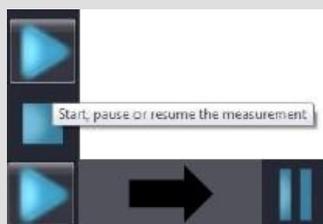
10. Сохраните информацию о процессе

- Сохраните информацию о процессе, щелкнув по кнопке "Save and exit" (сохранить и выйти) в правом нижнем углу окна информации о процессе.



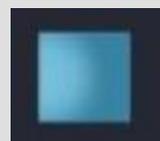
## 11. Начните измерение CGQ

- Запустите измерение, нажав кнопку “Start” в панели задач справа. При начале измерения пиктограмма этой кнопки изменится на «паузу», начнет отображаться текущее значение ОП, время выполнения эксперимента и точки данных на графике.



## 12. Остановка измерения CGQ

- Эксперимент CGQ можно остановить, нажав кнопку «Стоп».



**Если вы решите остановить измерение, то не сможете запустить его заново в том же окне эксперимента. Если нужно приостановить измерение на время, нажмите кнопку паузы.**

## 13. Экспорт данных в файл .xlsx

- Экспортируйте последнее измерение в файл xlsx, нажав кнопку “xlsx”. Кнопка начнет мигать до завершения экспорта. Затем экспортированный файл откроется автоматически в вашей программе для файлов xlsx по умолчанию (например, MS Excel, LibreOffice Calc, и др.)



## 14. Закройте окно эксперимента

- Закройте окно текущего эксперимента, щелкнув по маленькому синему крестику в верхнем левом углу.



## Основные принципы измерения CGQ

### Измерение оптической плотности клеток

Техника неинвазивного измерения плотности клеток CGQ во встряхиваемых колбах основана на принципе рассеяния света. По существу, каждое измерение состоит из последовательности трех основных стадий.

1) Светодиоды испускают свет в питательный бульон сквозь прозрачное дно колбы. Большинство фотонов проходит сквозь жидкость, однако некоторые сталкиваются с клетками и рассеиваются в разных направлениях.

2) Затем фотоны, рассеянные в обратном направлении, обнаруживаются фотодиодом, преобразующим интенсивность рассеянного света в слабый электрический ток.

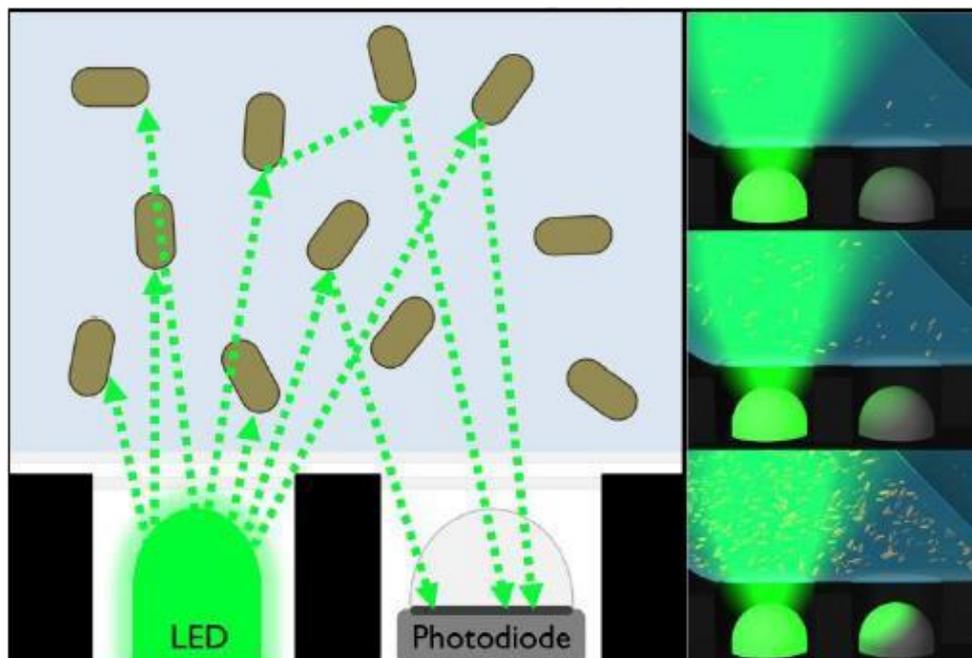


Рис. 5: Измерение оптической плотности с помощью техник рассеяния света.

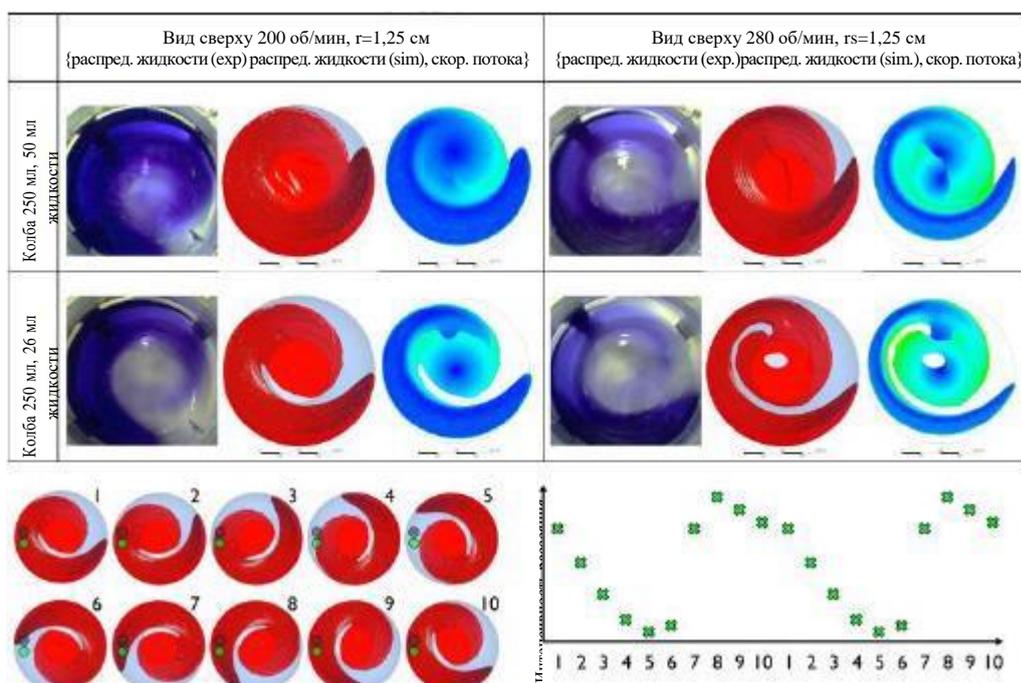
3) Этот начальный необработанный сигнал в последующем усиливается и подвергается разным аналитическим алгоритмам на пластине датчиков CGQ, и в конечном итоге выдается значение клеточной плотности. Чем выше клеточная плотность в питательном бульоне, тем выше вероятность того, что падающий свет встретится с клеткой, таким образом, чем выше плотность клеток, тем больше света рассеивается к фотодиоду.

Каждая пластина датчиков CGQ содержит высокочувствительные сенсорные элементы, расположенные в форме матрицы датчиков и светодиодов. Ее чувствительность в сочетании с затемняющим колпаком над каждой колбой позволяет измерять плотность клеток даже при такой низкой концентрации биомассы, как 0,1 ОП600. С другой стороны, рассеяние света позволяет отслеживать рост культур до плотности выше 100 ОП600. В отличие от типичных спектрофотометров, основанных на пропускании, анализ светорассеяния, использующийся в CGQ, гарантирует измерения клеточной плотности в диапазоне трех порядков величины без дополнительных стадий разведения или концентрирования. Следовательно, система CGQ дает вам простой, эффективный и точный способ отслеживать концентрацию биомассы при культивировании во встряхиваемых колбах неинвазивным способом и без необходимости в дополнительных устройствах.

### Проблемы при измерении во встряхиваемой среде

Динамичное и неоднородное распределение жидкости — ключевая особенность культивирования во встряхиваемых колбах. Следовательно, высокоточные оптические измерения в условиях постоянного встряхивания — нетривиальная задача. В частности, огромная вариабельность в наблюдаемом распределении жидкости (например, см. рис. 6), зависящая от ряда разных факторов (например, размер колбы, форма колбы, объем жидкости, частота встряхивания, радиус встряхивания, вязкость жидкости, температура и др.) требует адаптируемых систем датчиков и методов измерения. CGQ сочетает эти два аспекта с обширным анализом данных, позволяя проводить измерения клеточной плотности почти в любых условиях культивирования со встряхиванием, какие только можно представить. С помощью матрицы светодиодов и датчиков каждая пластина датчиков CGQ позволяет адаптивно измерять интенсивность обратного рассеяния света в разных радиальных положениях, то есть с учетом самого разнообразного распределения жидкости при культивировании во встряхиваемых колбах.

CGQ обрабатывает сигнал обратного рассеяния, создаваемый движущейся жидкостью, не как шум, а как источник ценной информации. Для определения одного значения клеточной плотности датчик CGQ собирает примерно миллион отдельных значений интенсивности обратного рассеяния в секунду; таким образом, создается серия точек данных, которые сочетают в себе информацию о клеточной плотности и распределении жидкости с микросекундным разрешением. Этот основной принцип измерения CGQ схематически изображен на нижних частях рис. 6. Полученная серия исходных данных подвергается интенсивному анализу данных, в результате чего получается отдельное значение плотности клеток. Система CGQ с ультрабыстрым сбором данных, адаптивным анализом данных и позициями измерения дает вам уникальную возможность точного наблюдения за клеточной плотностью в культуральных системах с непрерывным встряхиванием в реальном времени независимо от параметров встряхивания, наличия дефлекторов, турбулентности или пузырьков в жидкости.



Позиции измерения во время вращения жидкости из-за встряхивания

Рис. 6: распределение жидкости и принцип измерения клеточной плотности CGQ в системах с непрерывным встряхиванием.

## Корреляция между ОП600 и сигналом CGQ

Типичной мерой клеточной плотности является оптическая плотность, которую часто называют ОП<sub>600</sub> при длине волны измерения 600 нм, что выражается следующим уравнением по закону Ламберта-Бера:

$$c = \frac{\log_{10} \left( \frac{I_0}{I_1} \right)}{\epsilon_{\lambda} \cdot d}$$



Где:

$I_0$  — интенсивность падающего света

$I_1$  — интенсивность проходящего света

$\epsilon_{\lambda}$  — коэффициент ослабления при данной длине волны  $\lambda$

$c$  — концентрация измеряемого вещества

$d$  — длина оптического пути проходящего света

Общеизвестно, что закон Ламберта-Бера относится только к однородным разбавленным растворам, поэтому концентрации выше 0,5 ОП<sub>600</sub> необходимо разводить перед измерениями пропускания и пересчитывать соответствующим образом после измерения. В основе такого ограничения диапазона лежит растущий вклад других оптических эффектов, в частности, множественного рассеяния, в пропускающую способность, не описываемый законом Ламберта-Бера.

Как описано выше, CGQ измеряет интенсивность обратного рассеяния. Хотя сигналы рассеяния можно использовать для измерения концентрации частиц в диапазоне нескольких порядков величины, необходимо отметить, что не существует физического закона, описывающего корреляцию между клеточной плотностью (ОП<sub>600</sub>) и рассеянием (сигналами CGQ), который был бы таким же простым, как закон Ламберта-Бера для измерений пропускания. Тем не менее, такую корреляцию возможно описать с помощью более сложных эмпирических моделей, чтобы учесть такие эффекты, как множественное рассеяние.

При более высоких концентрациях (обычно выше прилбл. 10 ОП<sub>600</sub>) сигнал CGQ показывает линейную корреляцию с фактической плотностью клеток во встряхиваемой колбе.

Более низкие концентрации (обычно ниже прилбл. 5 ОП<sub>600</sub>) дают сигнал CGQ, который увеличивается экспоненциально с повышением плотности клеток. Между этими двумя зонами есть переходная зона, где экспоненциальная корреляция переходит в линейную.

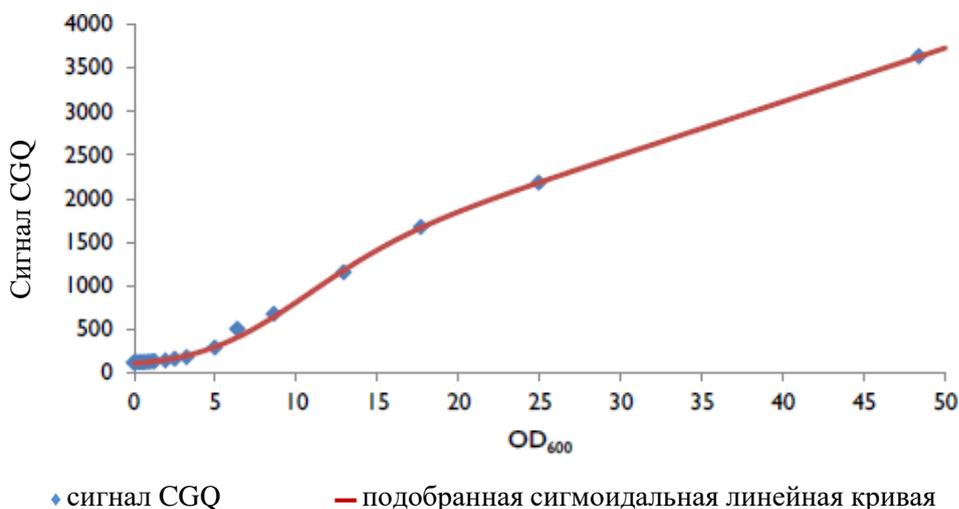


Рис. 7: зависимость сигнала CGQ от ОП600 для *S. cerevisiae* в среде YPD.

В примере, показанном на рис. 7, эту корреляцию можно описать математически как сочетание экспоненциальной сигмоидальной и линейной функции, полная форма которой описывается уравнением:

$$I_s = (m \cdot OD_{600} + n) \cdot \frac{p_1}{(1 + p_2 \cdot e^{-p_3 \cdot OD_{600} - p_4})^{p_5}} \quad \{2\}$$

где:

$I_s$  — интенсивность рассеянного света, измеренная CGQ

$m$  — наклон

$n$  — отсекаемый отрезок на оси у линейной корреляции при более высоких плотностях клеток

$p_{1-6}$  — параметры экспоненциальной сигмоидальной функции, описывающей низкие и промежуточные клеточные плотности. Однако во многих случаях в использовании этой полной функции нет необходимости, особенно при работе с концентрациями в нижнем и промежуточном диапазоне клеточных плотностей.

На рис. 8 на примере *E. coli* в среде LB показана корреляция между сигналом CGQ signal и  $OP_{600}$ , описанная с помощью, приведенной выше сигмоидальной линейной корреляции и с использованием простой четырехпараметрической экспоненциальной функции, описываемой уравнением:

$$I_s = p_1 \cdot e^{p_2 \cdot OD_{600} - p_3} + p_4 \quad \{3\}$$

где:

$I_s$  — интенсивность рассеянного света, измеренная CGQ

$p_{1-4}$  — параметры экспоненциальной функции

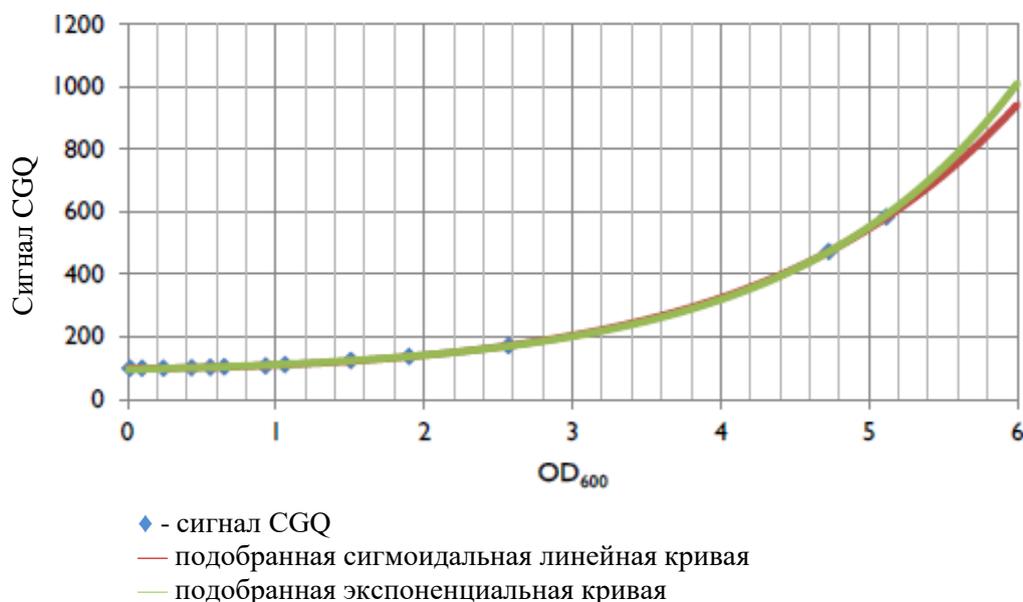


Рис. 8: зависимость сигнала CGQ от  $OP_{600}$  для *E. coli* в среде LB.

Очевидно, что простая экспоненциальная функция достаточна для удовлетворительной корреляции между сигналом CGQ и ОП<sub>600</sub> в диапазоне меньших клеточных плотностей. Даже в промежуточном диапазоне клеточных плотностей до 10–15 ОП<sub>600</sub> можно использовать простую экспоненциальную корреляцию с некоторым снижением точности.

При корреляции сигналов CGQ и реальной плотности клеток наиболее важным является учет того, что параметры коррелируемых функций зависят от некоторых свойств культуральной системы, влияющих на светорассеивающие свойства питательного бульона, таких как размер и форма клеток, состав среды, тип колбы и материала и т. п.

Если вы хотите получить из CGQ абсолютные значения реальной клеточной плотности (напр., ОП<sub>600</sub>, сухой вес клеток и т. п.), необходимо откалибровать вашу систему культивирования, как описано на стр. 48.

Однако при клеточной плотности в низком и промежуточном диапазоне (т. е. между 0,3 и 15 ОП<sub>600</sub> для вышеописанного примера *E. coli*) можно работать с относительными значениями клеточной плотности, которые не требуют предварительной калибровки. Эта концепция основана на действительной области четырехпараметрической экспоненциальной корреляционной модели. Без какой-либо калибровки и известных пар данных ОП<sub>600</sub> и сигнала CGQ вы получите относительную клеточную плотность в качестве достаточно точной меры плотности, пропорциональной реальной клеточной плотности, просто вычислив натуральный логарифм измеренного сигнала CGQ.

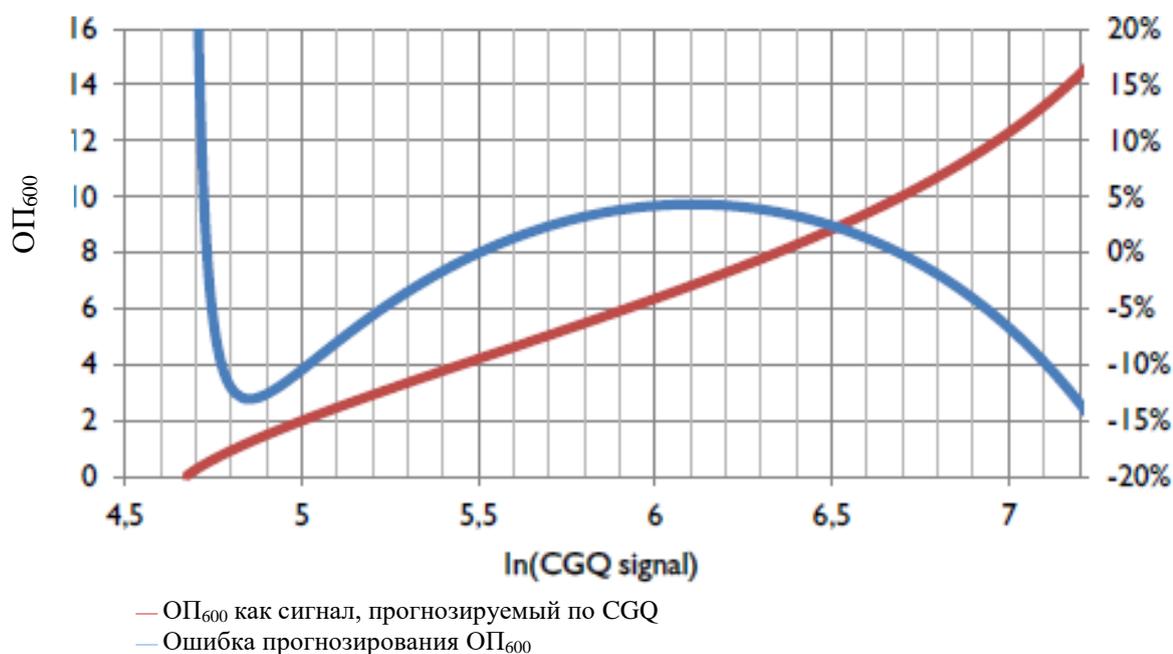


Рис. 9: относительная корреляция между клеточной плотностью и ОП<sub>600</sub>.

В пределах вышеупомянутого диапазона на примере *E. coli* на среде LB нелинейность относительной клеточной плотности составляет в среднем около -3%, +20% при 0,3 ОП<sub>600</sub> (абсолютная погрешность 0,06) и -15,5% при 15 ОП<sub>600</sub> (абсолютная погрешность 2,3). Как только станут известны хотя бы два значения реальной клеточной плотности (например, ОП<sub>600</sub> при начальном посеве и один дополнительно отобранный образец ОП<sub>600</sub>), возможно вычислить реальную клеточную плотность на основании относительной клеточной плотности. Дальнейшую информацию о внедрении и использовании относительной клеточной плотности в CGQuant см. на стр. 50.

## Параметры, влияющие на измерения CGQ

Каждая пластина датчиков CGQ представляет собой оптическую измерительную платформу, разработанную для высочайшей чувствительности и точности обнаружения рассеянного света даже при самых низких концентрациях частиц. Однако такая чувствительность означает, что CGQ будет обнаруживать также изменения в оптической среде. Чтобы создать воспроизводимую оптическую среду для воспроизводимых измерений во встряхиваемых колбах, необходимо использовать колпаки для колб, так как они создают темную зону над пластинами датчиков CGQ, не допуская воздействия на них внешних фотонов.

Общая совместимость разных пластин датчиков гарантируется калибровкой матриц датчиков на заводе. Совместимость пластин датчиков, откалиброванных на заводе, означает, что при идентичном рассеивателе, расположенном над матрицей датчиков, сигнал CGQ отличается не более чем на 5% (обычно 2%) между двумя пластинами датчиков.

При сравнении реальных рабочих условий системы CGQ и типичного спектрофотометра следует отметить некоторые важные различия.

### ***Колба для культивирования со встряхиванием — это не кювета!***

У кюветы обычно полированная и идеальная поверхность, тогда как дно колбы обычно имеет аномалии рефракции в результате процесса производства и может иметь царапины различной степени. Такие аномалии или царапины в дне колбы обычно не мешают измерениям CGQ. Однако они могут быть дополнительным источником рассеянного света, влияющим на совместимость в пределах одного культивирования и между разными культивированиями.

1. В ходе одного и того же процесса культивирования на качество данных обычно ничего не влияет, если не изменять положение или ориентацию колбы. После извлечения колбы и установки в зажим в другом положении/ориентации перед датчиком может оказаться другой набор аномалий или царапин, что может привести к скачкам на кривой плотности клеток.



**Старайтесь не вынимать и не переставлять колбы во время культивирования. Если это неизбежно, всегда старайтесь ставить колбы обратно в том же положении/ориентации, как раньше, во избежание скачков на кривой клеточной плотности.**

2. Если процессов культивирования несколько, обычно используются разные колбы. Каждая колба индивидуальна и имеет свое количество, размер и распределение аномалий или царапин, поэтому интенсивность рассеянного света при равной клеточной плотности может различаться между колбами. Если положение или ориентация колб не изменяется во время культивирования, эти индивидуальные различия (в большинстве случаев) вызывают только сдвиги сигнала CGQ, которые можно удалить с помощью программы CGQuant.

Изменения положения/ориентации колбы во время одного процесса культивирования описано выше.



**Если необходима высокая сравнимость между несколькими колбами, постарайтесь использовать колбы со сходной степенью и распределением царапин. Также может помочь использование одноразовых колб.**

### ***Колба для культивирования со встряхиванием — это не холостая кювета!***

Кюветы обычно имеют прозрачную поверхность, тогда как колбы обычно имеют деления для указания объема, гравировку и поля для надписей. Даже если надписи находятся не на дне колбы, они могут действовать как дополнительный источник рассеяния, если расположены над матрицей датчиков.

Такое рассеяние может препятствовать желаемому рассеянию клеток в питательном бульоне, вызывая артефакты на кривых плотности.



**Всегда убеждайтесь, что колба для встряхивания расположена и ориентирована так, что над матрицей датчиков нет делений, полей для надписей или гравировки.**

***Колба для культивирования со встряхиванием — это не ровная холостая кювета!***

Тогда как у кювет поверхность обычно ровная, колбы для культивирования со встряхиванием могут иметь дефлекторы, отходящие от боковых стенок или дна колбы. Дефлекторы изогнутые и, следовательно, могут действовать как дополнительный источник рассеяния или линза, если расположены над матрицей датчиков. Такое рассеяние может мешать измерению рассеяния света клетками в питательном бульоне, вызывая артефакты на кривых плотности. Кроме того, следует отметить, что перестановка колбы во время культивирования может привести к скачкам на кривой плотности клеток, как описано выше для царапин. Калибровочные данные, если требуются, всегда следует записывать для каждого типа колб.



**Всегда убеждайтесь, что колба для встряхивания расположена и ориентирована так, что дефлекторы находятся не над матрицей датчиков. Если геометрия колбы и дефлекторов позволяет такую ориентацию, попробуйте найти положение/ориентацию, чтобы внешние части матрицы датчиков не были закрыты дефлекторами.**

***Колба для культивирования со встряхиванием — это не ровная кварцевая холостая кювета!***

Точные кюветы обычно изготовлены из кварца или высококачественного стекла, тогда как колба для культивирования со встряхиванием может быть изготовлена из стекла или пластика, прозрачного, мутного или окрашенного. Обычно это не вызывает проблем при измерении клеточной плотности, однако разные материалы могут по-разному влиять на сигнал CGQ.

Пока материал хотя бы частично прозрачен для видимого света, принцип измерения CGQ действует, однако необходимо учитывать некоторые ограничения.

1. Мутный материал уменьшает количество света, поступающего в колбу от светодиодов, что снижает чувствительность в более низком диапазоне клеточных плотностей в зависимости от степени мутности. Следовательно, мутные материалы являются дополнительным источником сильного рассеяния, создавая гораздо более сильный фоновый сигнал.
2. Цветные материалы могут снизить пропускание света в колбу и из нее, как и мутные. Однако пропускающая способность прозрачного цветного материала обычно намного выше, чем мутных материалов, поэтому снижение чувствительности не так значительно. Тем не менее, с цветными материалами или питательными средами с сильным поглощением в диапазоне 500–550 нм могут возникнуть сложности.
3. Некоторые пластмассы, из которых обычно изготавливают одноразовые колбы, имеют анизотропную структуру на молекулярном уровне, что может стать дополнительным источником рассеяния, приведя к повышению фонового сигнала и артефактам на кривой клеточной плотности.

В целом, интерпретировать и сравнивать результаты измерений в колбах из разных материалов рекомендуется с осторожностью, так как возможны различия в фоновом сигнале, чувствительности или артефактах. Программа CGQuant позволяет ввести поправку на фон. Калибровочные данные, если требуются, всегда следует записывать для каждого типа материалов.



**Будьте внимательны при интерпретации и сравнении измерений в колбах из разных материалов, так как возможны различия в фоновом сигнале, чувствительности или артефактах.**

***Колба для культивирования со встряхиванием — это не неподвижная ровная кварцевая холостая кювета!***

Кюветы обычно устанавливаются в статичной среде, тогда как колба непрерывно встряхивается во время измерения, из-за чего жидкость непрерывно движется. Следовательно, все параметры жидкости встряхиваемой системы, такие как уровень наполнения, размер колбы, форма колбы, скорость встряхивания, вязкость питательного бульона и т. п. может влиять на динамическое измерение сигнала CGQ. Алгоритмы анализа данных CGQ создаются и непрерывно совершенствуются (путем обновлений встроенной программы), чтобы исключить как можно больше таких параметров жидкости, влияющих на сигнал. Однако не следует считать, что данные измерения в колбе 2000 мл, заполненной 400 мл бульона и встряхиваемой со скоростью 150 об/мин, можно непосредственно сравнивать с данными измерения в колбе 250 мл, заполненной 12,5 мл бульона и встряхиваемой со скоростью 300 об/мин. Если вы хотите выполнить непосредственное и, особенно, количественное сравнение, необходимы калибровочные измерения, как описано на стр. 48. Калибровочные данные, если требуются, всегда следует записывать для каждого типа жидкостной системы.



**Всегда будьте осторожны при интерпретации и сравнении некалиброванных результатов измерения в колбах с разными параметрами жидкости (уровнем наполнения, размером и формой колбы, скоростью встряхивания, крышками, вязкостью питательного бульона и т. п.) в связи с возможными различиями фонового сигнала, чувствительности и артефактов.**



**Будьте внимательны при интерпретации и сравнении результатов измерения в колбах, объем наполнения которых изменился (например, в результате отбора проб, добавления среды или индукции). Пока изменения объема не превышают 20% от начального объема наполнения, влияние на кривые клеточной плотности пренебрежимо мало, однако большие изменения приведут к изменению фонового сигнала, чувствительности или артефактам.**

***Колба для культивирования со встряхиванием — это не неподвижная ровная кварцевая холостая кювета, представляющая собой равновесную систему!***

Кюветы обычно заполнены раствором, находящимся в равновесном состоянии, то есть представляют собой «моментальный снимок культуры», тогда как встряхиваемая колба для культивирования — высокодинамичная и сложная биологическая система, постоянно изменяющаяся со временем. Эти изменения могут включать аспекты, влияющие на светорассеяние питательного бульона, например, растущие нитчатые микроорганизмы могут изменить вязкость, клетки, секретирующие жидкость, могут образовать двухфазную систему, сильные изменения морфологии клеток, которые могут изменить диаметр рассеяния, секрецию окрашенных веществ, секрецию или образование агрегатов, слипание клеток, образование биопленки и т. п.



**Будьте внимательны при интерпретации и сравнении результатов измерения во встряхиваемых колбах, в которых возможны связанные с ростом изменения параметров, влияющие на характер светорассеяния в питательном бульоне. Такие культуры могут различаться по фоновому сигналу, чувствительности или артефактам.**

## Программное обеспечение CGQuant

### Введение в CGQuant

CGQuant — ваш интерфейс для измерения клеточной плотности во встряхиваемых колбах в реальном времени с помощью CGQ. В ней предусмотрены различные интуитивно понятные функции, необходимые для типичных задач наблюдения в биологических лабораториях, включая

- компоненты для контроля, визуализации и сравнения измерений
- полностью настраиваемый электронный лабораторный журнал
- инструменты обработки данных и аннотаций
- инструмент для калибровки и экспорта данных.

Параллельный принцип устройства CGQ используется также в графическом пользовательском интерфейсе CGQuant, как показано в примере на рис. 10. В следующих главах подробно описана каждая функция.



Рис. 10. Обзор CGQuant

### Файлы и зависимости CGQuant

CGQuant — типичное приложение .NET и, следовательно, требует .NET-framework (4.5 или новее) на компьютере с операционной системой Microsoft Windows (Windows 7 или новее). В настоящее время программное обеспечение CGQuant для других операционных систем, таких как MacOS, Linux или BSD, не выпускается. Для выполнения CGQuant требуются некоторые динамически связываемые библиотеки (.dll). Большинство из них доступно в составе типичных распределяемых .NET framework и обычно уже установлено в операционной системе Microsoft Windows. Однако в пакет CGQuant включены три дополнительных библиотеки:

- DocumentFormat.OpenXml.dll, необходимо для поддержки экспорта в xlsx
- ClosedXML.dll, необходимо для экспорта в xlsx
- MathNet.Numerics.dll, необходимо для некоторых вычислений.

CGQuant использует определенные расширения файлов для сохранения разных типов данных. Данные измерения записываются в виде файлов .cgqf. Аннотации записываются в

виде файлов .sgqa. Данные калибровки сохраняются в виде файлов .sgqc. В нескольких функциях конфигурации, а также регистрации данных, применяются классические файлы .txt-files. Данные измерения можно экспортировать в виде файла типа OpenXML .xlsx.

По причинам портативности и доступности данных на системах, где не установлена программа CGQuant, файлы CGQuant обычно представляют собой файлы .txt с разными расширениями. Это также позволяет опытным пользователям редактировать эти файлы вручную, например, восстанавливать их или делать поврежденные файлы читаемыми программой CGQuant. Однако ручное редактирование файлов CGQuant настоятельно не рекомендуется.



**Любые изменения, внесенные в файлы CGQuant вручную, могут привести к повреждению файла и, следовательно, нечитаемости или потере данных. Действия с файлами конфигурации могут привести к серьезным неисправностям или нестабильности выполнения CGQuant.**



**В целом, настоятельно рекомендуется открывать все файлы, связанные с CGQuant (кроме .xlsx) только программой CGQuant. Ручное редактирование не рекомендуется во избежание повреждения файла и последующей потери данных, либо нарушения работы программы CGQuant.**

### Главное окно

Основное окно CGQuant служит рамкой для оценки, анализа и сбора данных. Как показано на рис. 11, это максимально упрощено и производится с помощью всего шести кнопок и одного индикатора состояния.

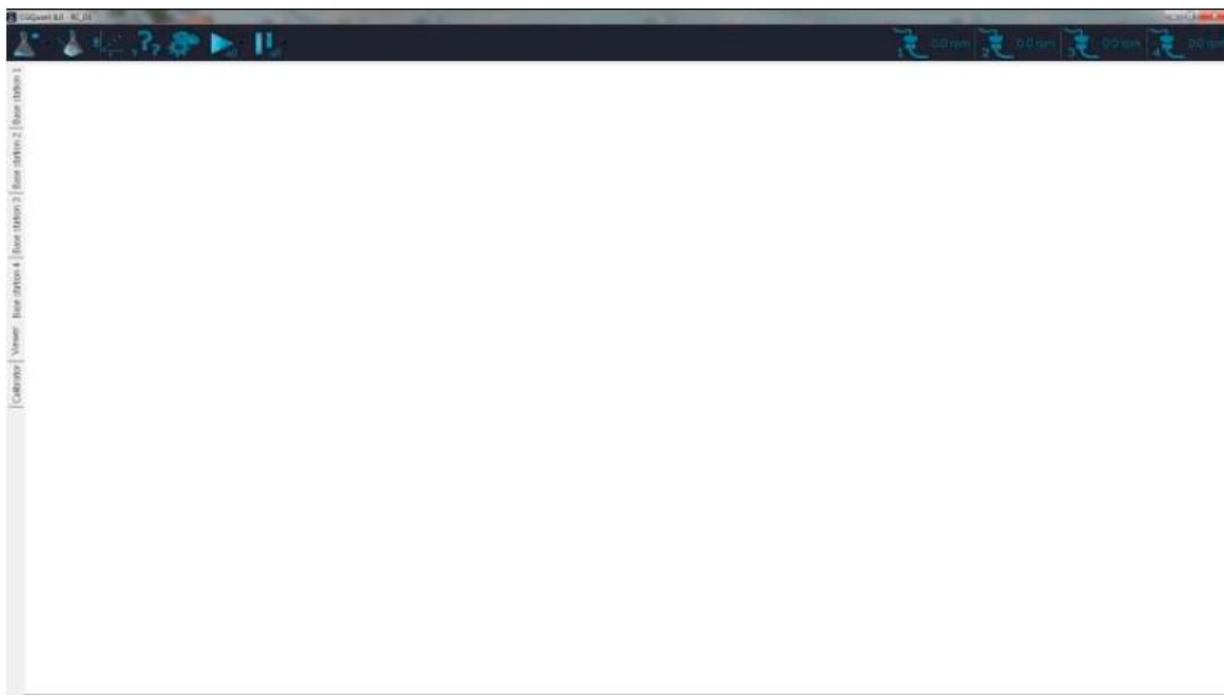


Рис. 11. Главное окно CGQuant

Главное окно содержит следующие элементы управления:

	<p>Новый эксперимент</p>	<p>Нажмите эту кнопку для запуска нового эксперимента. Если устройство CGQ не подключено к CGQuant, эта кнопка неактивна.</p>
	<p>Просмотр данных</p>	<p>Нажмите эту кнопку для просмотра данных предыдущих экспериментов. Эта кнопка всегда активна.</p>
	<p>Калибратор</p>	<p>Нажмите эту кнопку, чтобы начать новую процедуру калибровки для установления корреляции между данными интенсивности CGQ и автономными данными о клеточной плотности.</p>
	<p>Помощь</p>	<p>Нажмите эту кнопку для получения помощи. Эта кнопка всегда активна.</p>
	<p>Параметры</p>	<p>Нажмите эту кнопку для доступа к параметрам CGQuant. Эта кнопка всегда активна.</p>
	<p>Запустить все</p>	<p>Нажмите эту кнопку для одновременного запуска всех открытых экспериментов.</p>
	<p>Приостановить все</p>	<p>Нажмите эту кнопку для приостановки всех открытых экспериментов.</p>
	<p>Переход назад</p>	<p>С помощью этой кнопки можно вернуться назад к последним восьми окнам экспериментов. Кнопка активна, если открыто более восьми окон экспериментов.</p>
	<p>Переход вперед</p>	<p>С помощью этой кнопки можно перемещаться вперед к следующим восьми окнам экспериментов. Кнопка активна, если открыто более восьми окон экспериментов.</p>
	<p>Статус соединения</p>	<p>Показывает, подключено ли устройство CGQ (нижняя пиктограмма, мигающая) или отсоединено (верхняя пиктограмма, не мигающая).</p>

### Окно эксперимента

Окно эксперимента — основной компонент визуализации данных и управления устройством CGQ.

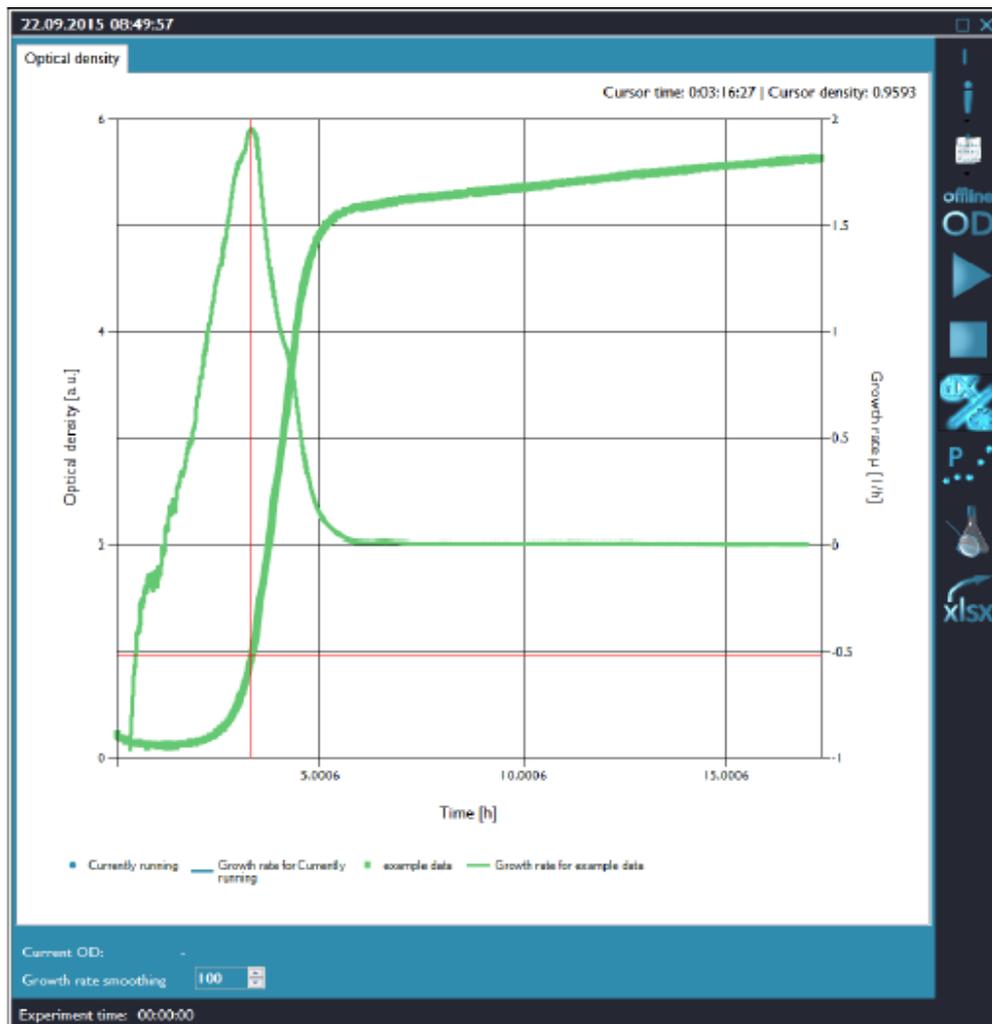


Рис. 12. Окно эксперимента CGQuant

Окно эксперимента содержит следующие элементы управления:

	<p>Номер соединения</p>	<p>Эта метка указывает на номер разъема на базовой станции, к которому подключена используемая в настоящее время пластина датчиков.</p>
--	-------------------------	---

	<p>информация о процессе</p>	<p>Нажмите эту кнопку, чтобы открыть окно информации о процессе для одной из кривых, показанных на центральном графике. Если навести курсор мыши на эту кнопку, появится меню, в котором можно выбрать кривую.</p>
	<p>Аннотации</p>	<p>Нажмите эту кнопку для добавления, просмотра или управления аннотациями.</p>
	<p>Автономное измерение ОП</p>	<p>Нажмите эту кнопку, чтобы указать начальную ОП вашей культуры, как требуется для сбора калиброванных данных. Также можно сохранить дополнительные автономные значения ОП для большей точности применяемого файла калибровки</p>
	<p>Просмотр подключенных пластин датчиков</p>	<p>Нажмите эту кнопку для просмотра подключенной пластины датчиков на платформе. При нажатии кнопки выполняющееся измерение временно приостановится и подключенная пластина датчиков начнет мигать. Для возобновления измерения нажмите кнопку повторно. Кнопка доступна только для выполняющихся экспериментов.</p>
	<p>Запуск/ возобновление эксперимента</p>	<p>Эта кнопка действует сходно с кнопкой проигрывателя. Ее нажатием можно запускать, приостанавливать или возобновлять сбор данных в текущем эксперименте.</p>
	<p>Приостановка эксперимента</p>	<p>Кнопка доступна только для выполняющихся экспериментов.</p>
	<p>Остановка эксперимента</p>	<p>Нажмите эту кнопку для прекращения сбора данных в выполняющемся эксперименте. После прекращения сбора данных возобновить эксперимент в этом окне эксперимента будет нельзя. Кнопка доступна только для выполняющихся экспериментов.</p>

	<p>Переключение измерений скорости роста</p>	<p>Нажмите эту кнопку для вычисления скоростей роста во всех экспериментах, отображающихся на центральном графике. Нажмите кнопку повторно для удаления кривых роста с графика. Если кнопка включена, кривая роста выполняющегося в настоящий момент эксперимента будет вычисляться повторно при каждом добавлении новой точки данных.</p>
	<p>Последующая обработка данных</p>	<p>Нажмите эту кнопку для доступа к функциям последующей обработки данных. Откроется отдельное окно, в котором можно, например, задать смещение для нескольких кривых и активировать логарифмический масштаб для получения относительных плотностей клеток.</p>
	<p>Загрузка дополнительных данных</p>	<p>Нажмите эту кнопку для добавления дополнительных данных к графику. Откроется отдельное окно, в котором можно выбрать файл .CGQf для открытия.</p>
	<p>Экспорт в .xlsx</p>	<p>Нажмите эту кнопку для экспорта всех данных, загруженных в текущем окне эксперимента, в файл .xlsx. Эта кнопка мигает в процессе экспорта. В последующем файлы .xlsx будут открываться автоматически в программе для работы с файлами xlsx, установленной по умолчанию.</p>

### Окно информации о процессе

Всю информацию, относящуюся к биопроцессу, можно записывать в полностью настраиваемый лабораторный журнал CGQuant в окне информации о процессе. При запуске нового эксперимента автоматически открывается окно с информацией о процессе. Вам необходимо выбрать хотя бы один номер ввода и категорию имени файла. Нажмите кнопку сохранения и выйдите, после чего можно начать измерения.

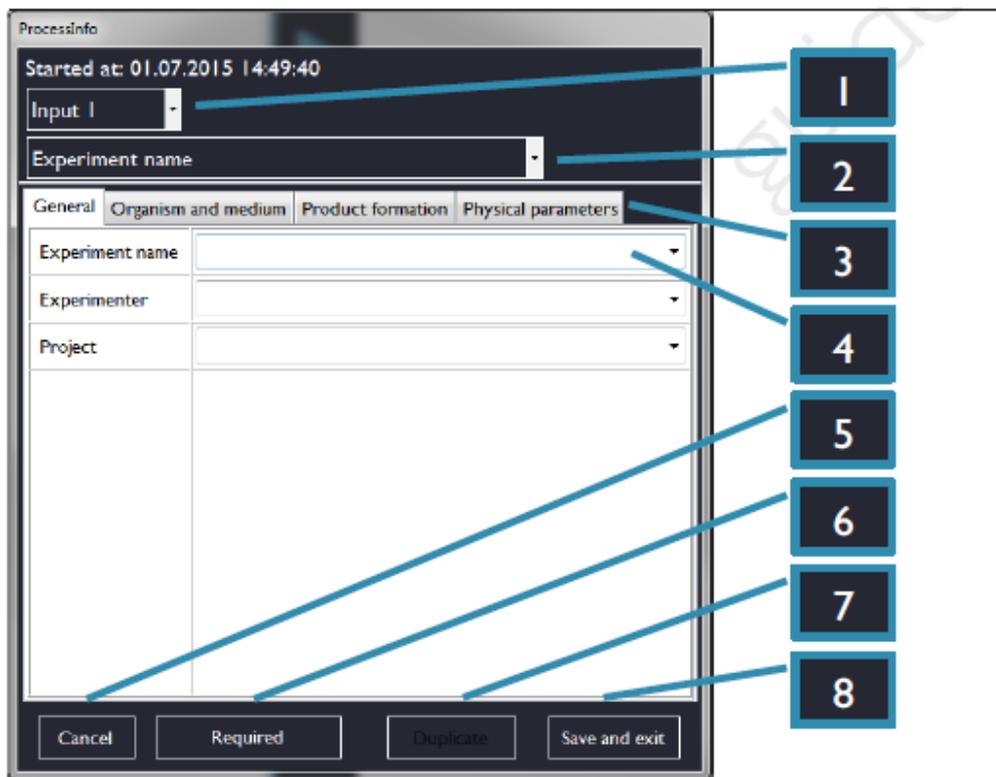


Рис. 13: окно информации о процессе CGQuant.

Окно информации о процессе содержит следующие элементы управления:

	<p>Номер ввода</p>	<p>Используйте это выпадающее меню для выбора номера ввода на базовой станции, соответствующего используемой пластине датчиков. Отображаются только номера вводов пластин датчиков, не производящих измерения в данный момент.</p>
--	--------------------	--

2	Категория названия файла	В этом выпадающем меню можно выбрать, какую категорию лабораторного журнала использовать для генерации названия файла .cgqf.
3	Вкладки лабораторного журнала	Информация в лабораторном журнале разделена на категории по вкладкам. Для просмотра всей информации переходите по вкладкам.
4	Поля лабораторного журнала	Каждая категория лабораторного журнала (например, «название эксперимента») имеет пустое поле, в которое можно ввести соответствующую информацию в виде слов или цифр. Поля, настроенные как обязательные, имеют серый фон.
5	Отмена	Чтобы закрыть окно информации о процессе, нажмите кнопку отмены. Если вы начали новый эксперимент и нажали кнопку отмены в первом появившемся окне информации о процессе, окно эксперимента полностью закроется.
6	Обязательные	Нажатием этой кнопки можно перейти к следующему обязательному полю.
7	Дублировать	Нажатием этой кнопки можно запустить новый эксперимент на основании информации о процессе в текущем окне информации о процессе. Этот вариант удобен, если вы выполняете очень похожие эксперименты, отличающиеся лишь некоторыми параметрами.
8	Сохранить и выйти	При нажатии этой кнопки вся имеющаяся в настоящее время информация о процессе сохраняется в текущем файле .cgqf и окно информации о процессе закрывается.

### Управление измерением

Запустить или приостановить измерение можно двумя способами. Для управления отдельным измерением можно использовать кнопки в окне эксперимента, как описано выше. Кроме того, все выполняющиеся измерения можно приостановить или запустить одновременно с помощью кнопок «запустить все» и «приостановить все» в панели инструментов главного окна CGQuant.

Контроль всех измерений одновременно может быть удобен во всех случаях, когда нужно остановить или запустить качалку. Нажатие кнопки «приостановить все» до остановки встряхивания поможет избежать выпадающих значений при измерении из-за замедления движения жидкости. После возобновления работы качалки дождитесь достижения конечной скорости встряхивания, после чего можно возобновить все измерения одним нажатием кнопки «запустить все».

### Аннотации

CGQuant имеет функцию аннотаций, позволяющую добавлять комментарии или автономные данные к выполняющимся или записанным ранее измерениям. Аннотации можно добавлять, редактировать и управлять ими с помощью кнопки добавления аннотаций в правой панели инструментов окна эксперимента. Чтобы открыть аннотации к выполняющемуся в настоящее время измерению, просто нажмите эту кнопку, и откроется окно аннотаций. Чтобы открыть аннотации ранее записанных данных, загруженных в окно эксперимента, поставьте курсор мыши на кнопку аннотаций и выберите нужное название набора данных из появившегося выпадающего меню, как показано ниже.

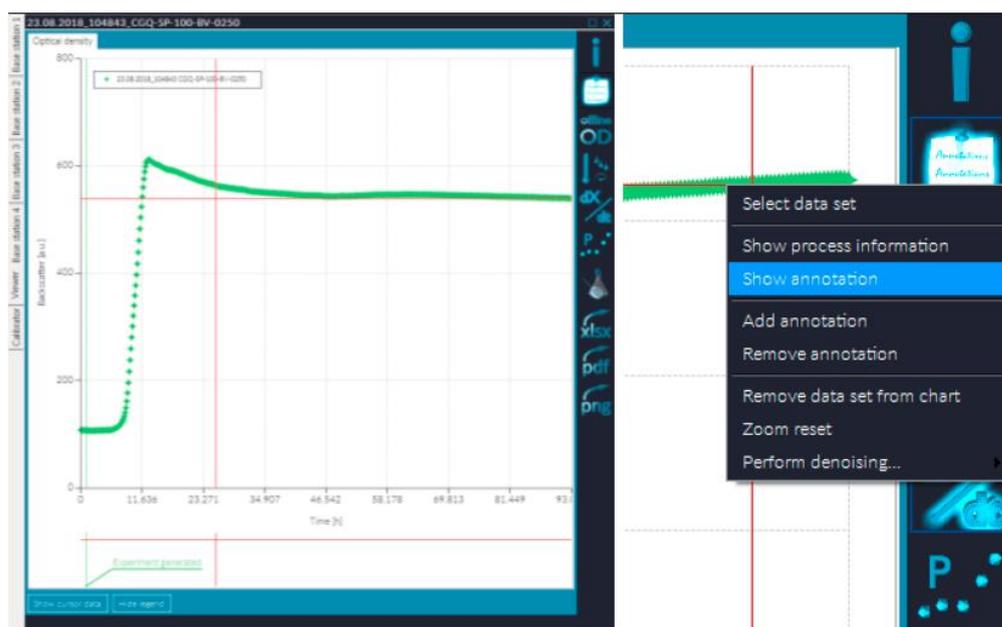


Рис.14. Доступ к аннотациям, к ранее записанным данным

Как показано на рис. 15, окно аннотаций содержит список всех ранее добавленных аннотаций. При выборе такой записи из списка в окне эксперимента отображается соответствующая выноска. Хотя расположение начальной точки выноска фиксировано, вы можете перемещать поле выноска по всему графику.

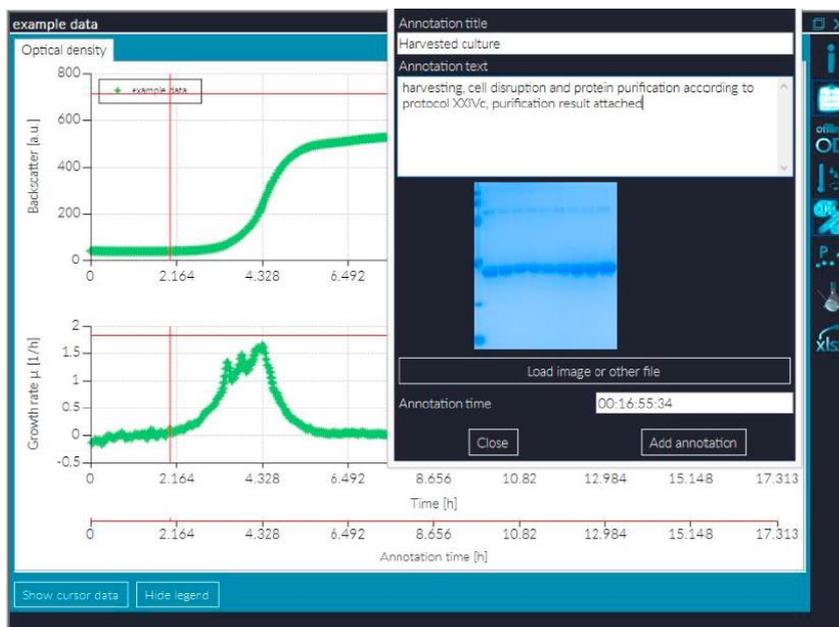


Рис. 15. Использование аннотаций

Выбор записи в списке также позволяет изменить аннотацию. Просто измените поле заглавия, текста или времени, как необходимо, и нажмите кнопку изменения аннотации, чтобы сохранить ваши измерения.

Для добавления новых аннотаций нажмите на пункт “New annotation” в списке. Если вы добавляете аннотации к выполняющимся экспериментам, время текущего эксперимента будет записано в поле времени как значение по умолчанию. После указания названия и текста аннотации можно нажать кнопку “Add annotation” для сохранения вашей последней записи (см. также рис. 16).



**Старайтесь не использовать аннотации со слишком большим числом символов на строку, так как они могут быть не видны в графике при выборе в списке аннотаций (если длина строки больше ширины графика). В настоящее время автоматического разрыва строки не предусмотрено, и разрыв строки можно ввести вручную кнопкой возврата.**

Наконец, окно аннотаций можно закрыть кнопкой “Close”.

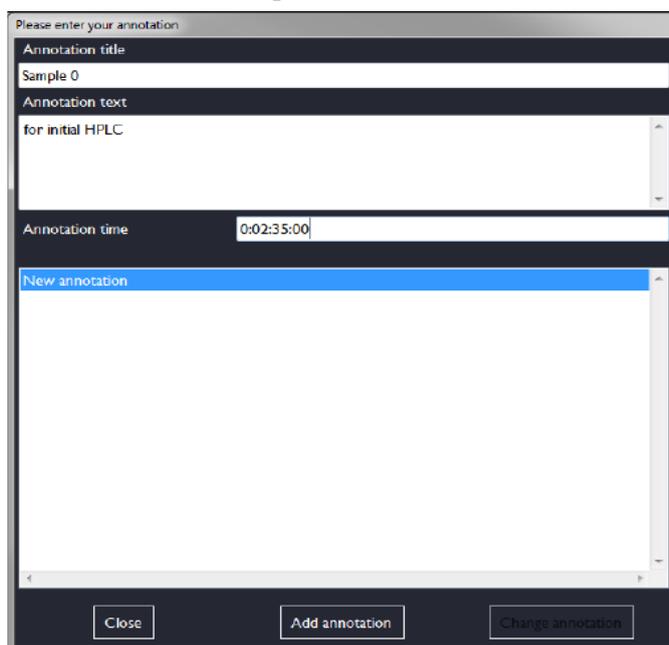


Рис. 16: добавление новой аннотации.

## Сравнение множественных измерений

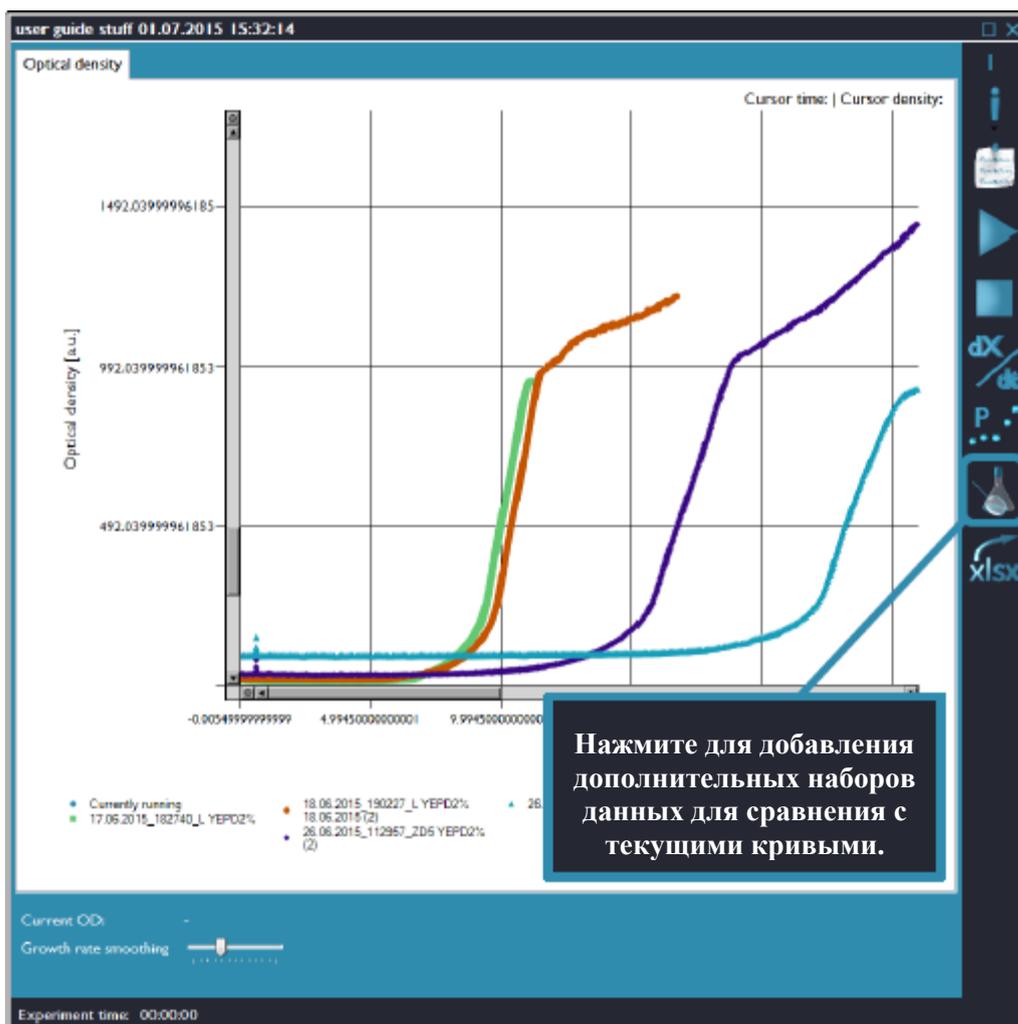


Рис. 17: добавление данных в открытое окно эксперимента

### Последующая обработка данных

Кнопка “Data post-processing” (последующая обработка данных) в правой панели задач окна эксперимента служит для доступа к функциям последующей обработки данных программы CGQuant.

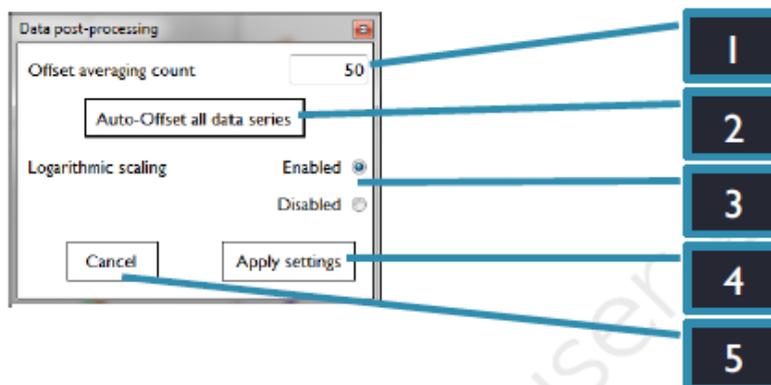


Рис. 18: окно последующей обработки данных CGQuant.

Окно последующей обработки данных содержит следующие элементы управления:

1	Значение усреднения для поправки	Установка количества точек данных для поправки (смещения).
2	Автоматическая поправка	Нажатие этой кнопки автоматически сдвигает все данные текущего графика к кривой текущего измерения или кривой с наименьшим начальным значением.
3	Включение/выключение логарифмического масштаба	Здесь можно активировать или деактивировать логарифмический масштаб для получения относительной плотности клеток, пропорциональной значению ОП <sub>600</sub> , во многих случаях.
4	Применить настройки	При нажатии этой кнопки все настройки окна последующей обработки данных будут применены к окну эксперимента.
5	Отмена	Нажмите кнопку отмены, чтобы закрыть окно последующей обработки данных, не применяя изменения.

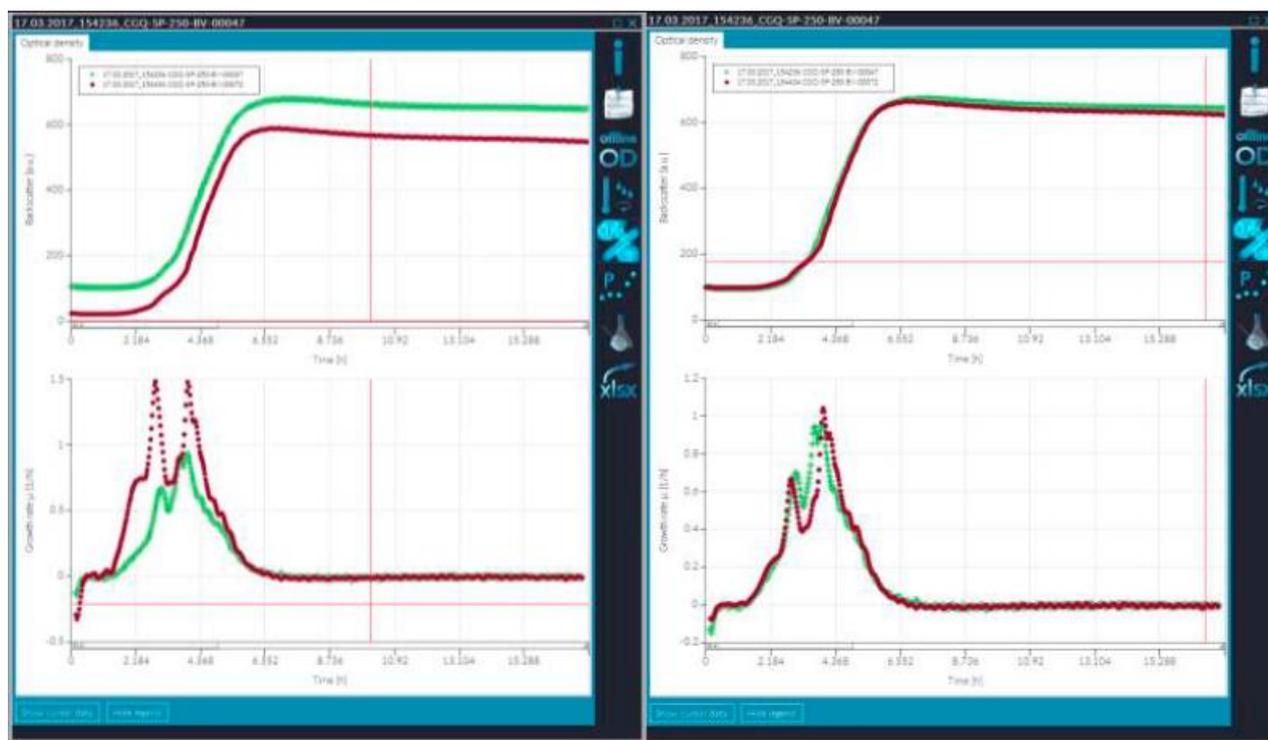


Рис. 19. Данные CGQuant до и после последующей обработки

### Вычисление скорости роста

Вычисления скорости роста показывают, когда микроорганизмы растут быстрее или медленнее и когда наступают метаболические изменения. Кроме того, они могут помочь более адекватно сравнить разные эксперименты.

CGQuant вычисляет скорости роста, если вы активировали кнопку “Growth rate” в панели инструментов).

Скорость роста вычисляется как  $\mu$  по дифференциальному уравнению микробного роста:

$$\frac{\partial X}{\partial t} = \mu \cdot X \quad \{4\}$$

где:

$X$  — плотность клеток,

$t$  — время

$\mu$  — скорость роста.

Решение этого дифференциального уравнения с учетом времени  $t$  дает экспоненциальную формулу микробного роста:

$$X_t = X_0 \cdot e^{\mu t} \quad \{5\}$$

где:

$X_t$  — плотность клеток во время  $t$

$X_0$  — начальная плотность клеток.

Однако даже если скорость роста  $\mu$  является функцией времени  $t$ , так как изменяется в ходе всего процесса культивирования из-за реакции клеток на их среду (например, ограниченного количества субстрата или кислорода, метаболических сдвигов, токсинов или токсичных метаболитов или продуктов, pH, стресса и т. п.). Таким образом, допущение экспоненциального роста по уравнению {5} с почти постоянной скоростью роста  $\mu$  действительно только для очень небольших промежутков времени. Комбинирование уравнения {5} для двух временных точек  $t$  дает уравнение:

$$\frac{X_{t_1}}{e^{\mu \cdot t_1}} = \frac{X_{t_2}}{e^{\mu \cdot t_2}} \quad \{6\}$$

которое можно переписать следующим образом:

$$\mu = \frac{\ln \frac{X_{t_2}}{X_{t_1}}}{(t_2 - t_1)} \quad \{7\}$$

где:

$\mu$  — средняя экспоненциальная скорость роста по уравнению {5} за временной интервал от  $t_1$  до  $t_2$ .

Вычисленные CGQuant скорости роста можно сгладить с помощью цифрового элемента управления вверх-вниз или ползунка в левом нижнем углу окна эксперимента. По существу, сглаживание осуществляется увеличением временного интервала от  $t_1$  до  $t_2$ . Получающиеся кривые роста более плавные, однако по мере сглаживания отображаемая скорость роста слегка снижается. Это обусловлено расширением временного интервала, что, как упоминалось выше,

может привести к вычислению скорости роста для интервалов, при которых скорость роста нельзя рассматривать как постоянную.

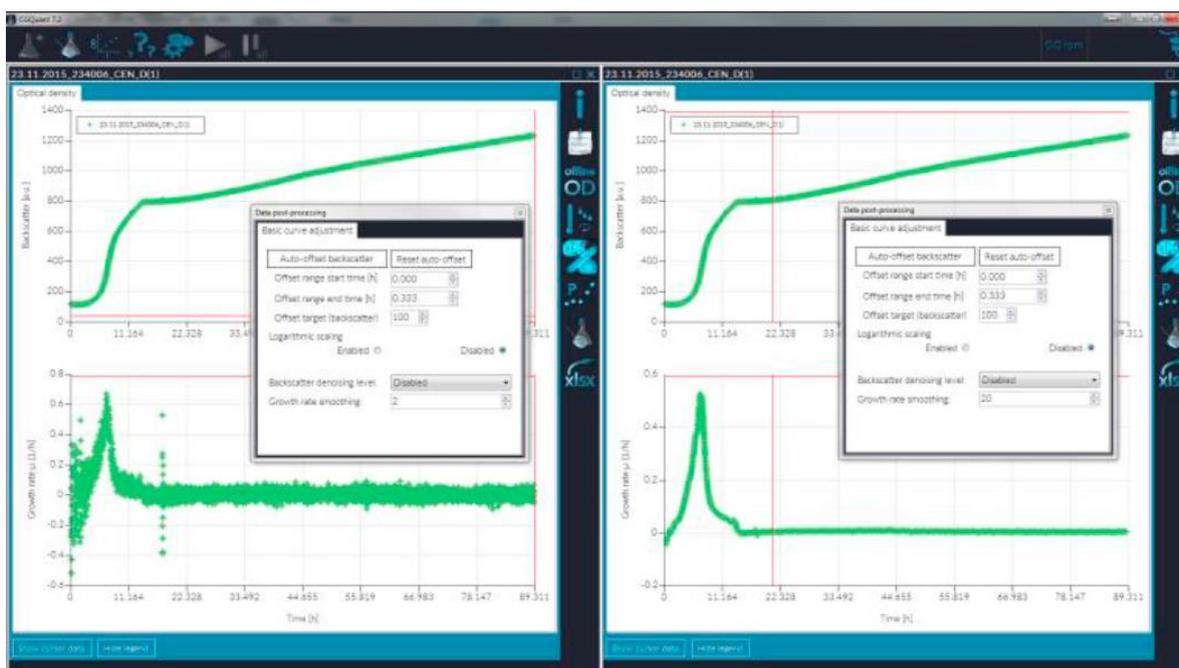


Рис. 20. Данные CGQuant со скоростями роста при разных уровнях сглаживания

Точные скорости роста, сравнимые с описанными в литературе, можно вычислить только для калиброванных данных. Кривые роста для некалиброванных данных и т. п. имеют сходную форму (сходные положения пиков, соотношения высот пиков), но разные значения абсолютной скорости роста по сравнению с калиброванными наборами данных.

Однако даже некалиброванные кривые роста содержат ценную информацию, особенно о времени метаболических сдвигов, изменениях скорости роста, связанных с индукцией, или лаг-фазе, фазах ускорения и замедления роста.

Все скорости роста можно экспортировать нажатием кнопки “xlsx-export”.

## Использование центрального графика

Вы можете увеличить масштаб центрального графика с помощью курсора. Щелкните левой кнопкой на графике и переместите мышь, удерживая левую кнопку. Появится серая область, показывающая область для увеличения масштаба (см. рис. 21). Чтобы отменить последнюю операцию масштабирования по оси, щелкните по маленькой кнопке с пиктограммой в виде круга в конце полос прокрутки.

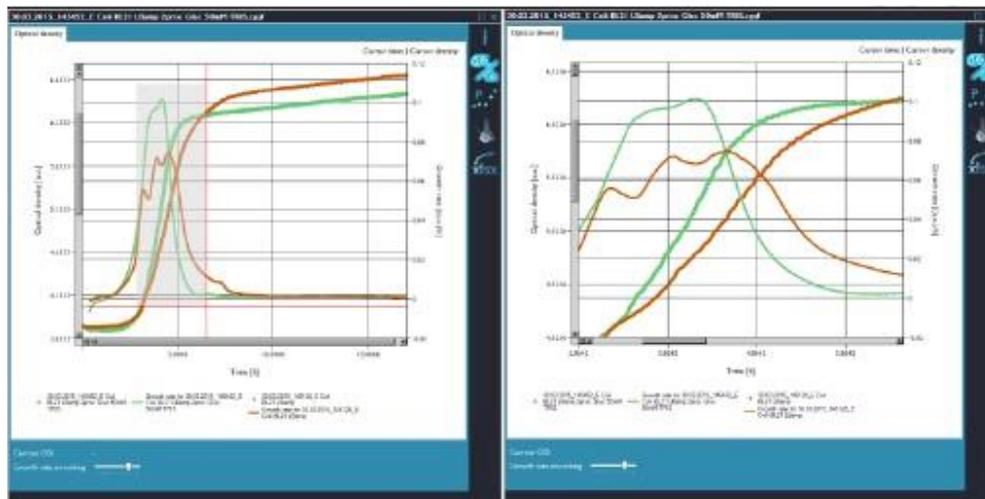


Рис. 21. График CGQuant до и после изменения масштаба

Щелкнув один раз по центральному графику, можно посмотреть координаты по осям x и y текущего положения курсора. Эти значения отображаются в правом верхнем углу центрального графика (см. рис. 22).

Вы можете удалить кривые клеточной плотности с графика, щелкнув по соответствующей кривой правой кнопкой. Если на графике не останется кривых, окно эксперимента закроется автоматически.

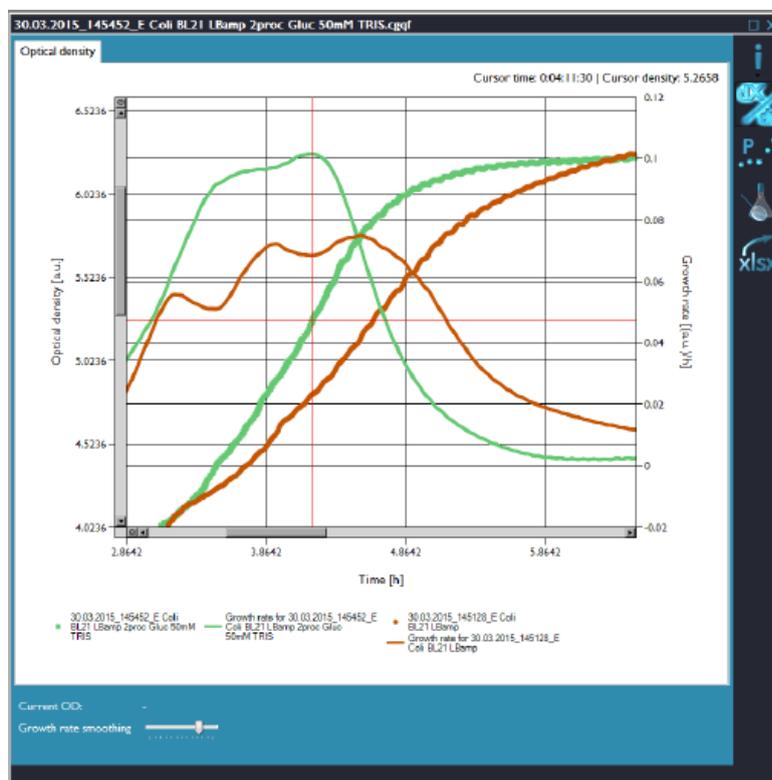


Рис. 22. Координаты курсора CGQuant

## Экспорт данных

Данные из окна эксперимента можно экспортировать в файл .xlsx с помощью кнопки экспорта в xlsx на правой панели инструментов. Нажатие этой кнопки экспортирует все показанные на графике данные в один файл, включая кривые клеточной плотности, информацию о процессе и, если кривые роста доступны или показаны, данные о калибровке, аннотации и автономные значения ОП. Каждый набор данных, загруженный и отображающийся на графике, экспортируется в файл .xlsx с одной вкладкой.

Все серии данных будут экспортироваться в соответствии со своим текущим состоянием и как показано на графике, т. е. скорости роста всегда будут экспортироваться в соответствии с текущим уровнем сглаживания. Чтобы облегчить работу с большими наборами данных на менее мощных компьютерах, можно уменьшить плотность точек данных в открывшемся окне сокращения данных (см. рис. 23) при щелчке по кнопке экспорта в xlsx.

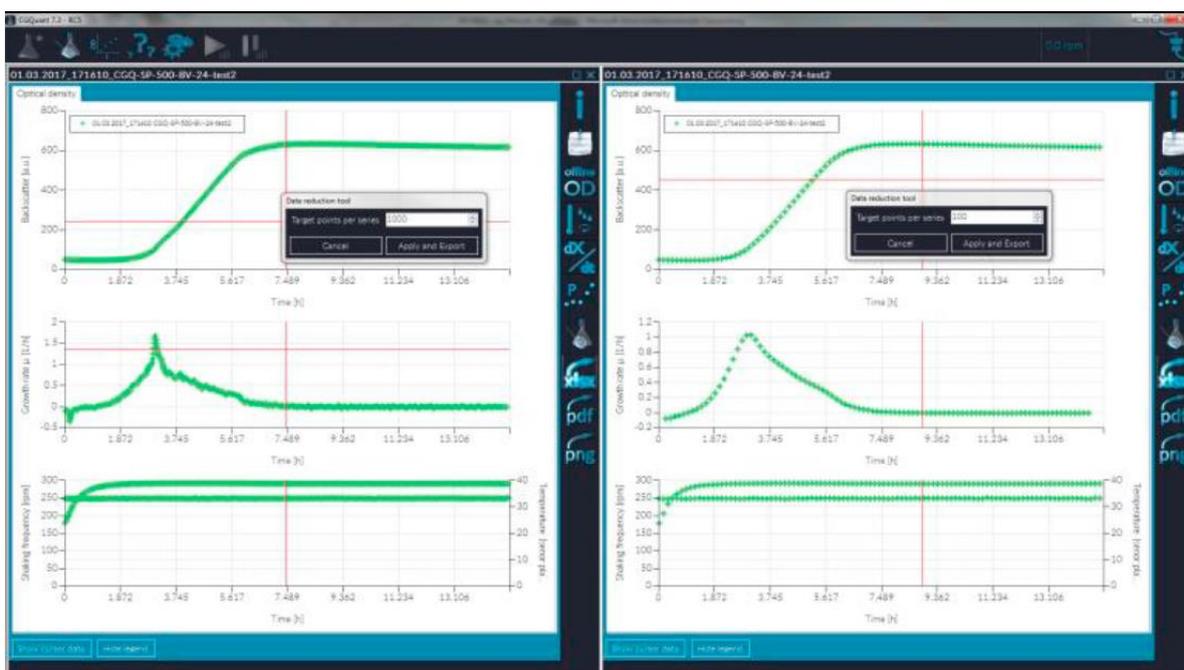


Рис. 23. Сокращение плотности данных перед экспортом в .xlsx. Слева – обычные графики. Справа – сокращенные в 100 раз.

Если вы не хотите уменьшать плотность данных, просто нажмите “No”, чтобы перейти к экспорту. В ином случае нажмите “Yes” и отрегулируйте плотность данных элементом управления со стрелками вверх-вниз. Перед экспортом данные появятся на графике для предварительного просмотра. Нажатие кнопки “Apply and export” (применить и экспортировать) запускает процесс экспорта, а нажатие кнопки отмены “Cancel” прерывает экспорт и возвращает вас назад в окно эксперимента.

Пока выполняется экспорт, кнопка экспорта в xlsx мигает. После успешного завершения экспорта мигание прекращается и созданный файл автоматически открывается в программе, установленной по умолчанию для файлов с расширением .xlsx (Microsoft Excel или LibreOffice Calc). Наконец, все данные снова появляются на графике с исходными настройками плотности данных без сокращения.

## Сбор и использование калибровочных данных

Калибровка необходима для всех методик, где требуются истинные значения плотности клеток, обычно ОП<sub>600</sub> или сухой вес клеток (СВК), и необработанных данных об обратном рассеянии CGQ недостаточно для ваших требований. Программное обеспечение CGQuant содержит сложный модуль калибровки (калибратор CGQuant), позволяющий вам строить калибровочные кривые быстро, интуитивно понятно и с минимальными ручными операциями. На основании параметров вашего биологического процесса CGQuant генерирует оптимизированный протокол калибровки и проводит вас через всю процедуру калибровки без необходимости каких-либо внешних вычислений или дополнительного программного обеспечения.

Протокол калибровки CGQuant основан на многоступенчатой процедуре с повторяющимися циклами измерения клеточной суспензии с четко определенными параметрами, один раз с помощью CGQ и один раз с помощью подходящего автономного устройства (например, спектрофотометра УФ-видимого света для измерения ОП<sub>600</sub>). Перед началом калибровки необходимо подготовить лишь несколько вещей:

1. Высококонтрированную маточную суспензию клеток в равновесной фазе.
  - a. Сначала следует вырастить клетки на среде, которая будет использоваться во время калибровки, пока они не достигнут равновесной фазы.
  - b. Затем необходимо отцентрифугировать клетки, чтобы получить высококонцентрированную маточную суспензию, и хранить на льду во избежание дальнейшего роста или повреждения клеток.
2. Как минимум одну колбу для встряхивания соответствующего размера.
3. Достаточно среды для приготовления дополнительных концентрированных суспензий и разведения образцов для автономного измерения ОП<sub>600</sub>.
4. Устройство CGQ без каких-либо выполняющихся измерений. Подсоедините CGQ к вашему компьютеру с ПО CGQuant.
5. Качалку с необходимыми условиями встряхивания для вашей калибровки.
6. Другие материалы, такие как затемняющие колпаки CGQ, кюветы, пипетки и т. п.

Чтобы запустить калибратор CGQuant, просто нажмите кнопку калибровки на панели инструментов главного окна. Экран примет начальный вид, как показано на рис.24. Калибратор CGQuant организован в виде двух частей, левая содержит элементы управления для пользователя, тогда как правая служит для руководства по процедуре калибровки и визуализации измерений. Просто следуйте инструкциям калибратора CGQuant и переходите по своим калибровочным задачам кнопкой перехода к следующему шагу.

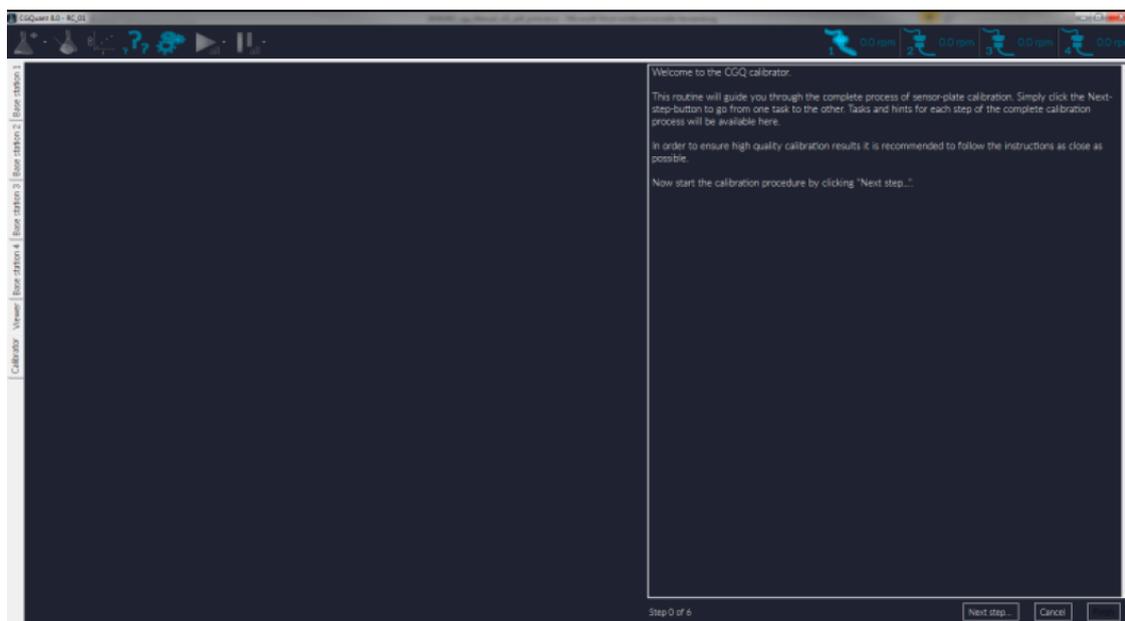


Рис. 24. Начальный экран калибратора CGQuant

Первая задача калибровки — вычисление калибровочных точек; для этого необходимы концентрированные маточные суспензии для приготовления суспензий определенной концентрации для каждой точки. Как показано на рис. 25, необходимо заполнить таблицу различной информацией и параметрами вашего биопроцесса, который требуется откалибровать, а также данными о плане калибровочной процедуры.

На основании этих параметров калибратор CGQuant вычислит оптимальную процедуру калибровки для вашей конкретной методики.

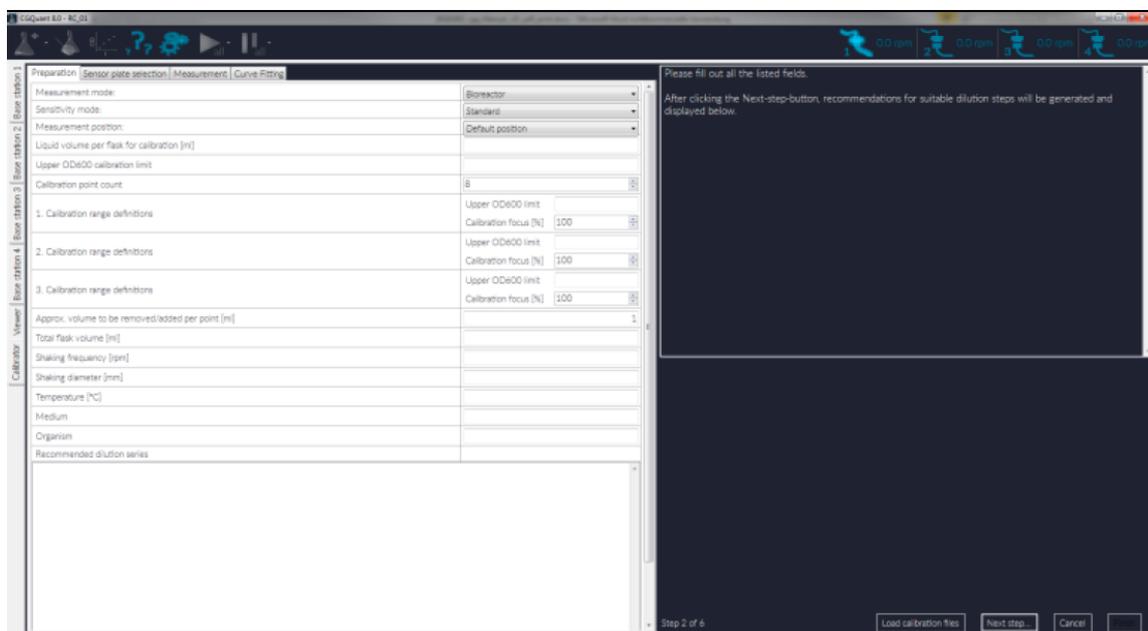


Рис. 25. Обзор калибратора CGQuant с параметрами серии разведений и вычислением.

Вычисление оптимальных калибровочных точек основано главным образом на двух параметрах, верхнем калибровочном пределе ОП<sub>600</sub> и количестве калибровочных точек. Выбранный верхний калибровочный предел должен соответствовать типичным наблюдаемым высочайшим значениям клеточной плотности в ваших биопроцессах. В зависимости от этого предела калибратор CGQuant автоматически установит рекомендованное количество калибровочных точек. Вы можете измерить его в соответствии с вашими специальными требованиями, однако необходимо собрать не менее 8 точек, в

противном случае достоверность вашей калибровки снизится, приведя к сомнительным показаниям клеточной плотности во время нормального измерения CGQ из-за такой слабой калибровки.

Вы можете точно настроить протокол калибровки, изменив три активных окна и задав верхний предел клеточной плотности и процентное число калибровочных точек. Основная идея этих активных окон — кривая, описывающая зависимость интенсивности обратного рассеяния CGQ и реальной клеточной плотности (ОП<sub>600</sub>).

Как описано ранее эту зависимость можно сформулировать как сигмоидную функцию с экспоненциальным началом (1 окно), переходной зоной (2 окно) и, наконец, линейной частью (3 окно). Если вы хотите сосредоточиться на калибровке в определенной части этой кривой, можно изменить положение и ширину каждого окна с помощью определений калибровочного диапазона. Однако в большинстве случаев должно быть достаточно автоматически выбранных калибровочных пределов.

Чтобы вычислить или вычислить заново серию разведений после заполнения таблицы, просто нажмите кнопку следующего шага. На рис. 26 показан пример конфигурации калибратора с автоматически сгенерированной серией разведений.

Preparation		Sensor plate selection		Measurement		Curve Fitting	
Measurement mode:	Shake flask						
Sensitivity mode:	Standard						
Measurement position:	Default position						
Liquid volume per flask for calibration [ml]	25						
Upper OD600 calibration limit	10						
Calibration point count	14						
1. Calibration range definitions		Upper OD600 limit	1				
		Calibration focus [%]	43				
2. Calibration range definitions		Upper OD600 limit	5				
		Calibration focus [%]	29				
3. Calibration range definitions		Upper OD600 limit	10				
		Calibration focus [%]	29				
Approx. volume to be removed/added per point [ml]	1						
Total flask volume [ml]	250						
Shaking frequency [rpm]	250						
Shaking diameter [mm]	25						
Temperature [°C]	37						
Medium	M9						
Organism	E. coli						
Recommended dilution series							
Point	OD600 calc.	Added stock volume [mL]	Substock: OD600				
0	0	0	6				
1	0.2	0.833	6				
2	0.4	0.862	6				
3	0.6	0.893	6				
4	0.8	0.926	6				
5	1	0.962	6				
6	2	0.862	30				
7	3	0.893	30				
8	4	0.926	30				
9	5	0.962	30				
10	6.25	0.862	41.25				
11	7.5	0.893	41.25				
12	8.75	0.926	41.25				
13	10	0.962	41.25				

Рис. 26. Пример калибратора CGQuant с параметрами серии разведений и вычислением.

Список последовательных разведений доступен на протяжении всей процедуры калибровки.

Следующая стадия — выбор пластин датчиков и названий файлов для использования (пример показан на рис. 27).

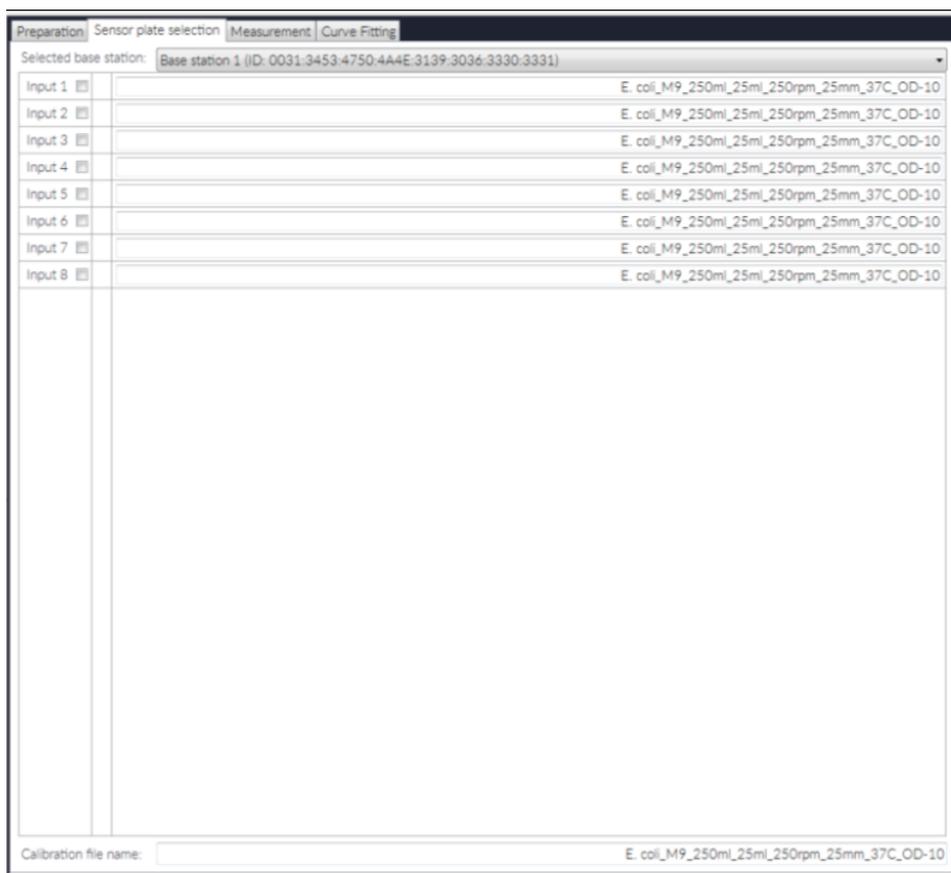


Рис. 27. Выбор пластины и названий файлов в калибраторе CGQuant

В обычном случае вам потребуется только одна пластина датчиков, однако если вы хотите выполнить калибровку при одинаковых условиях жидкости, но разных материалах колб, можно выбрать несколько вводов. Названия файлов можно изменить глобально в самом нижнем текстовом поле.

Укажите уникальное название файла для каждого ввода пластины датчиков, которая будет использоваться. Необходимо проверить пластины датчиков, которые будут использоваться.

После завершения выбора пластины датчиков и названия файла нажмите кнопку перехода к следующему шагу, чтобы перейти к калибровочным измерениям (см. рис. 28 и 29).



Рис. 28. Обзор процесса измерения калибратором CGQuant.

Каждая калибровочная точка вычисляется по нескольким измерениям. Значение по умолчанию 10, однако вы можете изменить его в соответствии с вашими требованиями. При более высоких значениях шум уменьшится, но увеличится время измерения, однако значения 10 обычно достаточно. Прочтите и следуйте инструкциям в правой части калибратора. Затем, как только скорость встряхивания достигнет установленной, запустите цикл калибровки. В таблице будет отображаться прогресс измерения. После завершения одного цикла можно запустить калибровочный цикл заново (например, если что-то пошло не так во время измерения), либо перейти к следующему циклу. Все калибровочные точки будут видны на графике справа.



**Учитывайте, что нужно использовать каждый образец, взятый из текущей калибровочной жидкости, для точного автономного измерения клеточной плотности (например, ОП<sub>600</sub>). Внесите все результаты автономного измерения клеточной плотности в соответствующее поле, щелкнув по соответствующему индикатору прогресса. (См. Рис. 29).**



Рис. 29. Детали процесса измерения в калибраторе CGQuant.

После завершения сбора калибровочных данных можно перейти к последней задаче калибровки, подбору кривой и сохранению файла (рис. 30). Здесь собранные калибровочные данные будут автоматически подобраны к уравнению {2} на стр. 26. Вы можете повлиять на процедуру подбора, задав предел сходимости и локальный предел итерации. Тогда как локальный предел итерации 500 обычно является хорошим компромиссом между производительностью и качеством подбора кривой, предел сходимости можно отрегулировать в соответствии с качеством калибровочных данных.

Перед началом процедуры подбора выберите данные для подбора в самом левом списке. При выборе они будут отображаться на графике. Вы можете выбрать, использовать ли вычисленные или измеренные автономно значения клеточной плотности, отметив соответствующий пункт. Обычно используют измеренные значения ОП<sub>600</sub>, однако в некоторых случаях, когда данные измерения недоступны, вы также можете использовать данные вычисления из изначального списка последовательных разведений.

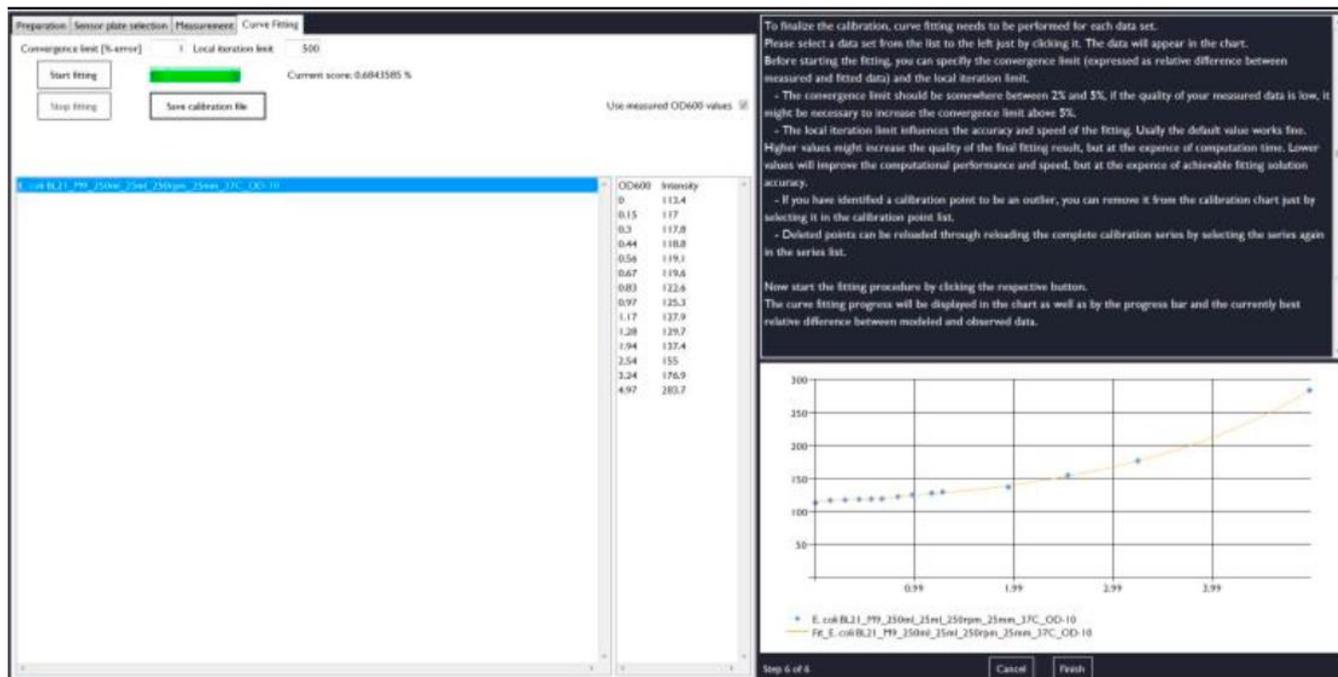


Рис. 30. Подбор кривой в калибраторе CGQuant.

Запустите процедуру подбора, нажав кнопку “Start fitting”. CGQuant автоматически выполняет подбор кривой до достижения предела сходимости или внутреннего предела итерации. CGQuant всегда отображает наилучшее решение по подбору кривой на данный момент вместе с ее текущей оценкой. Если найдено решение, соответствующее вашим требованиям, но предел сходимости еще не достигнут, вы можете вручную остановить подбор, нажав кнопку “Stop fitting”.

В некоторых случаях в калибровочных данных могут появиться выпадающие значения, мешающие программе CGQuant подобрать хорошее соответствие. Вы можете удалить эти выпадающие значения из графика для подбора кривой, нажав на них в списке точек данных, после чего программа спросит, удалить ли выделенную точку.

Все измеренные точки можно восстановить, снова нажав на серию калибровочных данных в самом левом списке.

И наконец, после подбора кривой достаточного качества, сохраните калибровочные данные, нажав кнопку “Save calibration file”.

Калибровочные файлы можно использовать для вычисления реальной клеточной плотности по данным обратного рассеяния CGQ. При запуске нового эксперимента вас спросят, нужно ли использовать калибровочный файл. Если вы хотите использовать калибровочный файл, выберите один, который создан в подходящих условиях, относящихся к клеткам и типу среды, а также колбам, жидкости и режиму встряхивания. Все данные, собранные во время последующих измерений, будут отображаться в соответствии с клеточной плотностью в калибровочном файле.

Кроме того, вы можете загрузить калибровочные данные для ранее записанных наборов данных, которые не содержат какой-либо калибровочной информации. При открытии такого файла данных вас попросят выбрать калибровочный файл.

Для вычисления клеточных плотностей из калибровочного файла необходима начальная клеточная плотность в качестве дополнительной информации. Это не потребуется, если между отдельными колбами для встряхивания нет различий. Однако, эти различия приводят к сдвигам сигнала обратного рассеяния, который необходимо скорректировать на основании известной начальной клеточной плотности.

## Раздел помощи

### Устранение неисправностей (в алфавитном порядке)

В следующем списке приведены советы для решения возможных проблем во время работы с CGQ и CGQuant. Если они не помогли получить желаемый результат, обратитесь в нашу сервисную службу (см. стр. 56).

<p><b>Не удалось установить соединение</b></p>	<p>Остановите качалку и проверьте все соединения кабелей. Затем закройте CGQuant и перезагрузите устройство CGQ, отсоединив и снова подсоединив USB-кабель и провод питания.</p> <p>Снова запустите CGQuant, соединение должно установиться за несколько секунд.</p>
<p><b>Потеря соединения</b></p>	<p>По разным причинам соединение между CGQuant и основной станцией CGQ может быть потеряно. Если все кабели и разъемы подсоединены правильно, соединение должно восстановиться автоматически за несколько секунд.</p> <p>Если соединение не установилось в течение нескольких минут, остановите качалку и проверьте соединения проводов.</p> <p>Может помочь перезапуск базовой станции, для которого нужно отсоединить и снова подсоединить USB-кабель.</p> <p>Не отсоединяйте провод питания, так как это также приведет к перезапуску пластин датчиков.</p> <p>Если соединение по-прежнему не восстановлено, остается только закрыть программу CGQuant, перезапустить все устройство CGQ, отсоединив кабель питания, и запустить все снова.</p>
<p><b>Снижение сигнала (медленное) в начале - 1</b></p>	<p>Для оптимальной работы пластины датчиков CGQ должны иметь такую же температуру, как качалка или инкубатор. После изменения температуры дайте пластинам датчиков дойти до новой температуры примерно 30 минут, прежде чем начинать измерение.</p>
<p><b>Снижение сигнала (медленное) в начале - 2</b></p>	<p>В некоторых отдельных колбах или типах колб наблюдается начальное падение сигнала роста с очень низкими значениями ОП (например, от 0,05 до 0,2). Мер противодействия этому явлению нет, однако в настоящее время мы работаем над решением. Обычно со стеклянными колбами такая проблема возникает реже, чем с пластиковыми.</p>
<p><b>Снижение сигнала (быстрое) на ранней стадии культивирования</b></p>	<p>Избегайте использования холодной среды при работе с CGQ. На колбе, заполненной холодной средой и поставленной в теплую и влажную камеру качалки, может образоваться конденсат из-за влажного воздуха. Капли перед оптикой пластины датчиков приводят к сильным сдвигам при измерении, которые быстро исчезают после испарения капель, что приводит к наблюдаемому сильному падению сигнала.</p>
<p><b>Сбой инициализации пластины датчика</b></p>	<p>Закройте окно измерения в CGQuant. Затем отсоедините соответствующую пластину датчиков и перезапустите базовую станцию, отсоединив и снова подсоединив USB-кабель (не провод питания). Теперь снова подсоедините пластину датчика к базовой станции и действуйте как обычно.</p>

<b>Резкие скачки сигнала при измерении</b>	Не останавливайте качалку во время выполнения измерений CGQ. Если вы хотите остановить качалку, нажмите кнопку “Pause all”, чтобы приостановить все измерения. Как только качалка достигла установленной скорости, можно возобновить все измерения (кнопкой “Start all” (запустить все)).
--	---

## Контактная информация сервисных центров

### Сервисный центр Диаэм в Москве:

Адрес: 129345, г. Москва, ул. Магаданская, д.7, стр.3

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный)

E-mail: [service@dia-m.ru](mailto:service@dia-m.ru)

[www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)

### Сервисный центр Диаэм в Новосибирске:

Адрес: 630090, Новосибирск, Академгородок, пр. Ак. Лаврентьева, 6/1, офис 100А

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный), +7 (383) 328-00-48

E-mail: [service@dia-m.ru](mailto:service@dia-m.ru)

[www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)

### Сервисный центр Диаэм в Казани:

Адрес: 420111, Казань, ул. Профсоюзная, д.40-42, пом. № 8

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный), +7 (843) 210-2080

E-mail: [service@dia-m.ru](mailto:service@dia-m.ru)

[www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)

