

Software zur Crosstalk-Kompensation eines optischen Detektionssystems und dessen Einflussfaktoren

Mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler der Firma Qiagen lassen sich bestimmte DNA-Abschnitte innerhalb einer Probe optisch identifizieren. Dabei wird die Fluoreszenz gemessen, welche während der DNA-Amplifikation der nachzuweisenden Abschnitte und einem zugegebenen Farbstoff entsteht. Diese Fluoreszenz wird nachgewiesen, indem für den verwendeten Farbstoff charakteristische Wellenlängenbereiche zur Beleuchtung respektive Detektion ausgewählt werden. Aus wirtschaftlichen Gründen werden innerhalb einer Probe bis zu fünf verschiedene DNA-Abschnitte gleichzeitig analysiert. Dazu wird mit der entsprechend Anzahl Farbstoffen und optische Kanälen gearbeitet (Multiplexing). Bei diesem Verfahren kann es vorkommen, dass die Absorptions- bzw. Emissionsspektren der Farbstoffe überlappen. Es entsteht Crosstalk, welcher die Interpretation der Resultate erschwert. In einer vorhergehenden Thesis wurde festgestellt, dass sich Crosstalk grundsätzlich rechnerisch kompensieren lässt. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Software entwickelt, welche das Verhalten des Rotor-Gene Q anhand Charakteristiken der verbauten Komponenten simuliert und darstellt. Gestützt auf der Simulation lassen sich Aussagen über Einflüsse auf den Crosstalk machen. Mit Hilfe der simulierten Resultate können bereits bestehende Experimente aus der Praxis vom Crosstalk bereinigt werden. Der verwendete Kompensationsalgorithmus muss allerdings noch verfeinert werden.

Im Verlauf der Arbeit hat sich gezeigt, dass für eine korrekte Crosstalk-Kompensation weitere Parameter bekannt sein müssen. Dies sind die Gain-Einstellung am Photomultiplier und die Nichtlinearität der Verstärkerschaltung nach dem Photomultiplier. Da beide Einflussfaktoren nur ungenau bekannt sind, führt dies zu Fehlern bei der Kompensation. Die Simulation wurde deshalb so konzipiert, dass die noch unbestimmten Faktoren leicht implementiert werden können. Für den weiteren Erkenntnisgewinn bietet die Software eine bequeme Möglichkeit, verschiedene Modellsimulationen durchzuführen.

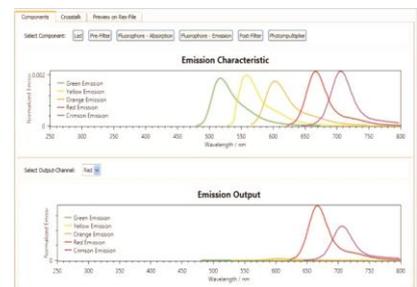


Diplomierende
Stefan Bernhardsgrütter
Roman Fürst

Dozierende
Peter Biller
Ewald Mund
Christoph Georg Stamm



Rotor-Gene Q Thermocycler. Mit diesem Gerät lassen sich bestimmte DNA-Sequenzen innerhalb einer Probe identifizieren.



Die entwickelte Software simuliert das Systemverhalten des Thermocyclers. Durch sie kann Crosstalk bestimmt werden. Das Bild zeigt als Beispiel die simulierte Photonenemission von mehreren Fluorophoren.