METHODS FOR ANALYZING PCR RESULTS AND IDENTIFYING DIAGNOSTIC SIGNALS USING INFORMATION TECHNOLOGIES

PhD Nodira Xolboyeva Xabibdjdon qizi
xalbaevanodirabegim@gmail.com

Abstract

This paper reviews literature on methods for processing real-time polymerase chain reaction (PCR) results and assessing diagnostically relevant signals using information technology. It addresses the storage of raw fluorescence data, baseline correction, analysis of amplification curves and quantification cycle (Cq) values, and verification of control results. A five-stage functional framework is proposed, covering data entry through electronic report generation. The importance of documenting analysis parameters and distinguishing calculated values from diagnostic interpretation is emphasized. The work is based on a literature review; the diagnostic performance of the proposed framework has not been experimentally evaluated.

Keywords

PCR, information technology, amplification curve, fluorescence signal, Cq, quality control, RDML, data processing.

AXBOROT TEXNOLOGIYALARI YORDAMIDA PZR NATIJALARINI TAHLIL QILISH VA DIAGNOSTIK SIGNALLARNI ANIQLASH USULLARI

PhD Nodira Xolboyeva Xabibdjdon qizi
xalbaevanodirabegim@gmail.com

Annotatsiya. Tezisda real vaqt rejimidagi polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) natijalarini axborot texnologiyalari yordamida qayta ishlash va diagnostik ahamiyatga ega signallarni baholash usullari adabiyotlar asosida ko‘rib chiqiladi. Dastlabki fluoresans ma’lumotlarini saqlash, fonni tuzatish, amplifikatsiya egri chizig‘i va Cq

ko‘rsatkichini tahlil qilish hamda nazorat natijalarini tekshirish masalalari yoritiladi. Ma’lumotlarni kiritishdan elektron hisobot tayyorlashgacha bo‘lgan besh bosqichli funksional tuzilma taklif etiladi. Tahlil parametrlarini hujjatlashtirish va hisoblangan ko‘rsatkichni diagnostik talqindan farqlash zarurligi asoslanadi. Ish adabiyotlar tahliliga tayangan; taklif etilgan tuzilmaning diagnostik samaradorligi tajribada baholanmagan.

Kalit so‘zlar: PZR, axborot texnologiyalari, amplifikatsiya egri chizig‘i, fluoresans signali, Cq, sifat nazorati, RDML, ma’lumotlarni qayta ishlash.

Kirish

Polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) biologik namunadagi muayyan nuklein kislota ketma-ketligini aniqlash va ko‘paytirishga asoslangan molekulyar tahlil usulidir. Uning real vaqt rejimidagi shaklida amplifikatsiya jarayoni davomida hosil bo‘ladigan fluoresans signali qayd etiladi. Ushbu ma’lumotlarni qayta ishlashda axborot texnologiyalaridan foydalanish natijalarni tartibli saqlash, hisoblash jarayonlarini avtomatlashtirish va namunalar o‘rtasidagi farqlarni baholash imkonini beradi [1, 2].

Real vaqt rejimidagi PZR natijalarini tahlil qilish faqat signal mavjudligini qayd etish bilan cheklanmaydi. Amplifikatsiya egri chizig‘ining shakli, fon signali, takroriy o‘lchovlarning mosligi hamda nazorat namunalarining natijalari birgalikda ko‘rib chiqilishi kerak. Sikl chegarasi ko‘rsatkichi ham qo‘llangan test tizimi va tahlil sharoitlari doirasida talqin qilinadi. Shu sababli diagnostik ahamiyatga ega signalni texnik shovqin yoki nospetsifik reaksiyadan farqlash ma’lumotlarni qayta ishlashning muhim vazifasidir [1, 3].

Tezisning maqsadi — real vaqt rejimidagi PZR ma’lumotlarini raqamli qayta ishlash, signalni baholash va natijalarni tekshirish usullarini adabiyotlar asosida tizimlashtirish. Ishda MIQE tavsiyalari, Cq talqini va PZR ma’lumotlarini almashishga bag‘ishlangan manbalar mazmunan qiyoslandi [1–6]. Tahlil sifat xarakteriga ega bo‘lib, tizimli adabiyotlar sharhi yoki mustaqil laboratoriya tadqiqoti hisoblanmaydi.

Asosiy qism

Real vaqt rejimidagi PZR natijalarini axborot texnologiyalari yordamida tahlil qilish ma’lumotlarni olish, sifatini tekshirish, signal xususiyatlarini ajratish va natijalarni talqin qilish bosqichlarini qamrab oladi. Bunda dastlabki fluoresans o‘lchovlarini saqlash muhim: faqat yakuniy raqamli ko‘rsatkichga tayanish amplifikatsiya jarayonidagi ayrim xatolarni aniqlash imkonini cheklaydi. MIQE 2.0 tavsiyalarida ham dastlabki ma’lumotlar, fonni tuzatish usuli va qo‘llangan dastur haqidagi axborotni ko‘rsatishga e’tibor qaratilgan [1].

Dastlabki qayta ishlashda namuna, fluoresans kanali va sikllar bo‘yicha o‘lchovlar mosligi tekshiriladi. Amplifikatsiyaga bog‘liq bo‘lmagan fonni noto‘g‘ri tuzatish egri chiziq shakli va hisoblash natijalariga ta’sir qilishi mumkin. Shuning uchun dastlabki o‘lchovlar va bajarilgan o‘zgarishlar saqlanishi zarur [1].

Signalni baholashning muhim ko‘rsatkichlaridan biri — kvantifikatsiya sikli (Cq). Chegaraviy usulda u fluoresans signali belgilangan chegaraga yetadigan siklni ifodalaydi. Chegara amplifikatsiyaning eksponensial bosqichiga mos kelishi kerak. Cq qiymati asbob, reagent, tahlil algoritmi va reaksiya samaradorligiga bog‘liq bo‘lgani sababli turli sharoitlarda olingan qiymatlarni kalibrlashsiz bevosita taqqoslash yoki barcha testlar uchun yagona diagnostik chegara belgilash asosli emas [1, 3].

Sifat nazoratida musbat va manfiy nazoratlar, takroriy o‘lchovlar mosligi hamda noodatiy qiymatlar tekshiriladi. Dastur qo‘shimcha tekshiruv talab qiladigan holatlarni alohida belgilashi lozim. Nazorat natijalari va chetga chiquvchi qiymatlarni qayta ishlash usulini bayon qilish MIQE tavsiyalarida ham ko‘rsatilgan [1, 2, 4].

Ma’lumotlarni yagona tuzilishda saqlash namuna identifikatori, tekshirilayotgan nishon, kanal va sikllar bo‘yicha o‘lchovlar orasidagi aloqani saqlaydi. MIQE 2.0 tavsiyalarida dastlabki ma’lumotlarni almashishda RDML kabi formatlardan foydalanish ko‘rsatilgan [1]. RDML tuzilmasi va unga mos dasturiy vositalar natijalarni

qayta ishlash hamda almashishni standartlashtirishga qaratilgan [5, 6].

Ko‘rib chiqilgan manbalar asosida dasturiy tahlil vazifalari besh funksional bosqichga ajratildi (1-jadval). Har bir bosqichda keyingi hisoblash uchun tayyorlanadigan ma’lumot va tekshiruv natijasi qayd etiladi.

1-jadval. PZR natijalarini raqamli tahlil qilishning funksional bosqichlari

Bosqich	Dasturiy vazifa	Qayd etiladigan natija
Ma’lumotlarni kiritish	Namuna, kanal va sikl yozuvlarining mosligini tekshirish	Tartiblangan ma’lumotlar
Dastlabki qayta ishlash	Fonni tuzatish, yetishmayotgan qiymatlarni belgilash	Qayta ishlangan signal va bajarilgan amallar
Belgilarni ajratish	Egri chiziq shakli, signal o‘sishi va Cq ni qayd etish	Reaksiya xususiyatlari tavsifi
Sifat nazorati	Nazoratlar va takroriy o‘lchovlar mosligini tekshirish	Qo‘shimcha tekshiriladigan holatlar
Hisobot tayyorlash	Natija, parametrlar va ogohlantirishlarni birlashtirish	Tekshiriladigan elektron hisobot

Manba: [1–6] asosida muallif tomonidan tizimlashtirilgan. Jadval tajribada tasdiqlangan algoritm natijalarini ifodalamaydi.

Dasturiy tizimda hisoblash natijasi bilan yakuniy diagnostik talqinni alohida qayd etish maqsadga muvofiq. Masalan, dastur signalning belgilangan chegaraga yetganini aniqlashi mumkin, ammo bu holatning diagnostik ahamiyati tegishli test mezonlari va nazorat natijalari bilan baholanadi. Cq qiymatini alohida holda talqin qilish o‘rniga, amplifikatsiya egri chizig‘i hamda tahlil sharoitlarini birgalikda ko‘rib chiqish zarur [1, 3].

Taklif etilayotgan yondashuvda tahlil parametrlarini qayd etish ham muhimdir. Hisobotda dastur versiyasi, fonni tuzatish usuli, Cq ni aniqlash tartibi va natijaga kiritilgan qo‘lda tuzatishlar saqlanishi kerak. Bu ma’lumotlar hisoblash jarayonining qayta tekshirilishiga xizmat qiladi va avtomatlashtirishning amaliy qiymatini oshiradi [1].

Muhokama

Taklif etilgan tuzilmaning amaliy yo‘nalishi hisoblash bosqichlarini hujjatlashtirish va shubhali holatlarni mutaxassis ko‘rib chiqishi uchun ajratishdan iborat. Dastur natijani qaysi parametrlar asosida hisoblagani saqlansa, qayta tahlilda tafovut sabablarini tekshirish mumkin. Bu vazifa yakuniy ko‘rsatkichni hisoblash bilan cheklanadigan yondashuvga nisbatan kengroq nazoratni nazarda tutadi [1, 4].

Keyingi bosqich uchun mashinaviy o‘rganish asosida egri chiziqlarni tasniflash imkoniyatini tekshirish taklif etiladi. Bunda mutaxassislar tomonidan belgilangan ma’lumotlar, o‘qitish va mustaqil sinov to‘plamlari hamda xato tasniflangan holatlarning alohida tahlili ko‘zda tutilishi lozim. Ushbu tezisda model ishlab chiqilmagan; mashinaviy o‘rganishning afzalligi yoki diagnostik aniqligi haqida natija taqdim etilmaydi. Ishning cheklovi — funksional tuzilmaning laboratoriya ma’lumotlarida sinovdan o‘tkazilmaganidir. Uning samaradorligini baholash uchun mustaqil ma’lumotlar to‘plamida mutaxassis xulosalari bilan moslikni, xatolar sabablarini va turli tahlil sharoitlaridagi barqarorlikni tekshirish zarur. Shu sababli vaqt tejalishi yoki diagnostik aniqlik oshishi haqida miqdoriy xulosa chiqarilmaydi.

Xulosa

Axborot texnologiyalari real vaqt rejimidagi PZR ma’lumotlarini tartiblash, qayta ishlash va tahlil bosqichlarini hujjatlashtirishga xizmat qiladi. Diagnostik ahamiyatga ega signalni baholashda Cq ko‘rsatkichi amplifikatsiya egri chizig‘i, nazorat natijalari va tegishli test mezonlari bilan birgalikda talqin qilinishi lozim. Tezisda

tizimlashtirilgan besh bosqichli tuzilma ma’lumotlarni kiritishdan elektron hisobotgacha bo‘lgan vazifalarni birlashtiradi. Uning amaliy samaradorligi keyingi tajribaviy tekshiruvlarda baholanishi kerak.

Foydalanilgan adabiyotlar

[1] Bustin S. A., Ruijter J. M., van den Hoff M. J. B. et al. MIQE 2.0: Revision of the Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments Guidelines // Clinical Chemistry. — 2025. — Vol. 71, № 6. — P. 634–651. — DOI: 10.1093/clinchem/hvaf043.

[2] Bustin S. A., Benes V., Garson J. A. et al. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments // Clinical Chemistry. — 2009. — Vol. 55, № 4. — P. 611–622. — DOI: 10.1373/clinchem.2008.112797.

[3] Ruiz-Villalba A., Ruijter J. M., van den Hoff M. J. B. Use and Misuse of Cq in qPCR Data Analysis and Reporting // Life. — 2021. — Vol. 11, № 6. — Article 496. — DOI: 10.3390/life11060496.

[4] Bustin S. A., Beaulieu J.-F., Huggett J. et al. MIQE précis: Practical implementation of minimum standard guidelines for fluorescence-based quantitative real-time PCR experiments // BMC Molecular Biology. — 2010. — Vol. 11. — Article 74. — DOI: 10.1186/1471-2199-11-74.

[5] Lefever S., Hellemans J., Pattyn F. et al. RDML: Structured language and reporting guidelines for real-time quantitative PCR data // Nucleic Acids Research. — 2009. — Vol. 37, № 7. — P. 2065–2069. — DOI: 10.1093/nar/gkp056.

[6] Ruijter J. M., Lefever S., Anckaert J. et al. RDML-Ninja and RDMLdb for standardized exchange of qPCR data // BMC Bioinformatics. — 2015. — Vol. 16. — Article 197. — DOI: 10.1186/s12859-015-0637-6.