



## Logiciel CFX Maestro Dx SE

**Guide d'utilisation**  
Version 2.3

REF	
	12014330
	12014334
	12014335
	12014348
	12014349
	12016659
	12016687

Révision du manuel : Mai 2022

Révision du logiciel : 2.3



# Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

Guide d'utilisation

Version 2.3



## **Bio-Rad™ Assistance technique**

Le service d'assistance technique de Bio-Rad aux États-Unis est ouvert du lundi au vendredi, de 5h00 à 17h00, heure du Pacifique.

**Tél.** : 1-800-424-6723, option 2

**Courriel** : [Support@bio-rad.com](mailto:Support@bio-rad.com) (États-Unis/Canada uniquement)

Pour obtenir une assistance technique en dehors des États-Unis et du Canada, contacter le bureau d'assistance technique local ou cliquer sur le lien Nous contacter à l'adresse [bio-rad.com](http://bio-rad.com).

### **Avis**

La reproduction ou la transmission du présent document, en totalité ou en partie, sous quelque forme ou par quelque procédé que ce soit, électronique ou mécanique, y compris la photocopie ou l'enregistrement, ou tout système de stockage ou d'extraction de données, est interdite sans l'autorisation écrite de Bio-Rad Laboratories, Inc.

Bio-Rad se réserve le droit de modifier ses produits et ses services à tout moment. Des modifications pourront être apportées à ce guide sans préavis. Bien que sa rédaction ait été guidée par un souci d'homogénéité, Bio-Rad décline toute responsabilité en cas d'erreurs ou d'omissions, ou de tout dommage découlant de l'application ou de l'utilisation des présentes informations.

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc.

SYBR est une marque commerciale de Thermo Fisher Scientific Inc.

EvaGreen est une marque commerciale de Biotium, Inc.






Toutes les marques commerciales utilisées dans le présent document sont la propriété de leur propriétaire respectif.


Copyright © 2022 détenu par Bio-Rad Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

## Usage prévu

Le Système de PCR en temps réel CFX Opus Dx™ avec Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition™ est conçu pour effectuer une PCR reposant sur la fluorescence pour détecter et quantifier des séquences d'acide nucléique. Le système et le logiciel sont destinés à un usage de diagnostic in vitro par des techniciens de laboratoire formés. Les systèmes sont prévus pour être utilisés avec des tests d'acides nucléiques tiers fabriqués et étiquetés à des fins diagnostiques.

## Lexique des symboles

 Fabricant	 Numéro de lot
 Date limite d'utilisation	 Pour un usage diagnostique in vitro
 Limite de température	 Numéro de catalogue
 Consulter les instructions d'utilisation	 Nombre de tests
 À utiliser avec	 Numéro de série

<b>Rx Only</b> Utilisation sur ordonnance uniquement	 Contient du latex
<b>CE</b> Marquage CE - Règlement (UE) 2017/746 IVDR	

## Traductions

Les documents produits peuvent être fournis dans d'autres langues sur des supports électroniques.

## Historique des révisions

Document	Date	Description du changement
Guide d'utilisation 2.0 du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition (ID du document #10000135551)	Décembre 2020	Ver A, version initiale
Guide d'utilisation 2.3 du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition (ID du document #10000135551)	Mai 2022	<ul style="list-style-type: none"><li>■ Mise à jour pour la prise en charge du système CFX Opus Deepwell Dx</li><li>■ Mise à jour du tableau de lexique des symboles</li><li>■ Ajout d'une note sur la cybersécurité à l'introduction</li></ul>



# Sommaire

Usage prévu .....	iii
Lexique des symboles .....	iii
Traductions .....	iv
Historique des révisions .....	v
<b>Sécurité et conformité réglementaire .....</b>	<b>17</b>
Étiquettes d'avertissement de sécurité .....	17
Sécurité et conformité réglementaire .....	20
Conformité de sécurité .....	20
Compatibilité électromagnétique (CEM) .....	21
Avertissements et remarques relatifs à la CEM .....	22
Exigences environnementales .....	23
Risques .....	24
Risques biologiques .....	24
Risques chimiques .....	26
Risques d'explosion ou d'inflammabilité .....	26
Risques électriques .....	27
Transport .....	27
Batterie .....	27
Élimination .....	27
Garantie .....	28
<b>Chapitre 1 Introduction .....</b>	<b>29</b>
Caractéristiques principales du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition .....	31
En savoir plus .....	31
<b>Chapitre 2 Installation du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition .....</b>	<b>33</b>
Configuration minimum requise du système .....	34
Installation du logiciel CFX Maestro Dx SE .....	36
Détection des appareils connectés .....	38
Fichiers logiciels .....	39



<b>Chapitre 3 Gestion des comptes utilisateurs du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition</b> .....	41
Démarrage du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition .....	42
Ajout d'utilisateurs Microsoft Windows sur l'ordinateur du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition	44
Ajout et suppression d'utilisateurs du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition .....	46
Gestion des rôles d'utilisateur du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition .....	48
Affichage de votre rôle et de vos autorisations .....	49
<b>Chapitre 4 Utilisation du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition</b> .....	51
Fichiers sécurisés .....	51
<b>Chapitre 5 L'espace de travail</b> .....	63
La fenêtre d'accueil .....	64
Le Startup Wizard (Assistant de démarrage) .....	65
La fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) .....	66
La fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) .....	67
La fenêtre Data Analysis (Analyse de données) .....	68
<b>Chapitre 6 La fenêtre d'accueil</b> .....	69
La fenêtre d'accueil .....	70
Commandes du menu File (Fichier) .....	71
Commandes du menu View (Affichage) .....	71
Commandes du menu User (Utilisateur) .....	72
Commandes du menu Run (Série) .....	73
Commandes du menu Tools (Outils) .....	73
Commandes du menu Help (Aide) .....	74
Commandes de la barre d'outils .....	75
Le Startup Wizard (Assistant de démarrage) .....	76
Barre d'état .....	76
Volet Detected Instruments (Appareils détectés) .....	77
Visualisation des propriétés d'un appareil .....	80
Avant de commencer .....	81
Création d'un mélange réactionnel pour réaction .....	81
Calibration de nouveaux fluorophores .....	84
Définition des préférences utilisateur .....	87

<b>Chapitre 7 Création de protocoles</b> .....	105
Paramètres et plages pour les étapes de protocole .....	106
Fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) .....	108
Commandes du menu File (Fichier) .....	108
Commande du menu Settings (Paramètres) .....	109
Commandes du menu Tools (Outils) .....	109
Commandes de la barre d'outils .....	109
Commandes de modification des protocoles .....	110
Création d'un protocole dans Protocol Editor (Éditeur de protocole) .....	114
Ouverture d'un nouveau fichier de protocole dans l'éditeur de protocole .....	114
Ouverture d'un protocole existant dans l'éditeur de protocole .....	116
Configuration d'un nouveau protocole .....	117
Ajout d'étapes à un protocole .....	120
Insertion d'une étape de gradient .....	121
Insertion d'une étape de boucle GOTO .....	122
Insertion d'une étape de courbe de fusion .....	123
Ajout ou suppression d'une étape de lecture de plaque .....	125
Modification des options de l'étape .....	125
Suppression d'une étape .....	126
Copie, exportation ou impression d'un protocole .....	126
Création d'un protocole à l'aide du rédacteur automatique de protocole .....	127
Utilisation du calculateur Ta .....	129
À propos du calculateur Ta .....	129
<b>Chapitre 8 Préparation des plaques</b> .....	135
Fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) .....	136
Commandes du menu File (Fichier) .....	136
Commandes du menu Edit (Édition) .....	137
Commandes du menu Settings (Paramètres) .....	137
Modification des commandes du menu Tools (Outils) .....	138
Commandes de la barre d'outils .....	138
Création d'un fichier de plaque à l'aide de l'éditeur de plaque .....	140
Ouverture d'un nouveau fichier de plaque dans l'éditeur de plaque .....	140
Ouverture d'un fichier de plaque existant dans l'éditeur de plaque .....	142
Configuration d'un nouveau fichier de plaque .....	143

Attribution de paramètres optionnels au fichier de plaque .....	151
Attribution d'une cible aux puits .....	151
Attribution d'un nom d'échantillon aux puits .....	154
Attribution des groupes biologiques aux puits .....	156
Attribution de nombres de réplicats techniques aux puits .....	158
Attribution d'une série de dilutions aux types d'échantillons étalons .....	160
Copie du contenu d'un puits dans un autre puits .....	161
Ajout d'une note à un puits .....	162
Élimination de tout le contenu des puits .....	162
Modification des paramètres de l'expérience .....	164
Création de groupes de puits .....	167
Changement des styles de traces .....	170
Affichage, exportation et importation de la plaque sous forme de feuille de calcul .....	172
Création d'une disposition de plaque à l'aide du Plate Setup Wizard (Assistant de configuration de plaque) .....	174
Utilisation de l'assistant de configuration de plaque .....	174
<b>Chapitre 9 Réalisation d'expériences .....</b>	<b>177</b>
La fenêtre Run Setup (Configuration de la série) .....	178
Accès à la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) .....	179
Onglet Protocol (Protocole) .....	180
Onglet Plate (Plaque) .....	183
Onglet Start Run (Démarrer la série) .....	186
Réalisation d'une expérience .....	187
Boîte de dialogue Run Details (Détails de la série) .....	189
Onglet Run Status (État de la série) .....	189
Onglet Real-time Status (État en temps réel) .....	192
Onglet Time Status (État temporel) .....	195
Réalisation d'expériences PrimePCR .....	196
Transfert de données autonomes à des fins d'analyse .....	198
Transfert des données par e-mail .....	198
Transfert de données depuis le Système de PCR en temps réel CFX Opus Dx .....	198
Transfert de données via le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition .....	201
Transfert de données à l'aide d'une clé USB .....	201
Transfert de données via un lecteur réseau partagé à l'aide du Système de PCR en temps réel .....	202

CFX Opus Dx .....	
Création d'un fichier de données .....	202
<b>Chapitre 10 Présentation générale de l'analyse de données .....</b>	<b>203</b>
Fenêtre Data Analysis (Analyse de données) .....	203
Barre d'outils Data Analysis (Analyse de données) .....	204
Barre du menu Data Analysis (Analyse de données) .....	205
Onglet Details (Détails) .....	210
Sélecteur du numéro d'étape .....	210
Visualisation des groupes de puits dans l'analyse de données .....	211
Changement du contenu des puits après une série .....	211
Paramètres de l'analyse de données .....	213
Réglage du seuil .....	213
Baseline Settings (Paramètres de la ligne de base) .....	213
Mode d'analyse .....	214
Cycles à analyser .....	215
Sélecteur de puits .....	216
Éléments du menu contextuel du sélecteur de puits .....	217
Exclusion temporaire de puits de l'analyse .....	218
Graphiques .....	219
Outils des graphiques .....	219
Grossissement d'une zone du graphique .....	227
Copie de graphiques dans un fichier Microsoft .....	227
Éléments courants du menu contextuel pour les graphiques .....	227
Feuilles de calcul .....	229
Éléments courants du menu contextuel pour les feuilles de calcul .....	229
Exportation .....	231
Exportation de toutes les fiches de données .....	231
Exportation de fichiers RDML .....	232
Création d'un fichier d'exportation personnalisé .....	233
Exportation vers un dossier LIMS .....	235
Exportation de données formatées pour Seegene .....	235
<b>Chapitre 11 Détails de l'analyse de données .....</b>	<b>237</b>
Onglet Quantification .....	238
Options des fluorophores .....	238

Boîte de dialogue Trace Styles (Styles des courbes)	239
Option de l'échelle logarithmique	240
Graphique de courbe d'étalonnage	241
Options du menu Amplification Chart (Graphique d'amplification)	242
Feuille de calcul de l'onglet Quantification	242
Onglet Quantification Data (Données de quantification)	244
Feuille de calcul des résultats	244
Feuille de calcul des résultats de la courbe standard	246
Feuille de calcul de la plaque	247
Feuille de calcul des RFU	248
Onglet Melt Curve (Courbe de fusion)	249
Ajustement des données de la courbe de fusion	251
Onglet Melt Curve Data (Données de la courbe de fusion)	252
Feuille de calcul des pics de fusion	252
Feuille de calcul de la plaque	253
Feuille de calcul de la RFU	254
Feuille de calcul $-d(\text{RFU})/dT$	255
Onglet End Point (Point final)	256
Données de résultats	257
Ajustement de l'analyse de données du point final	258
Feuille de calcul des RFU pour l'analyse de point final	258
Onglet Allelic Discrimination (Discrimination allélique)	259
Ajustement des données pour la discrimination allélique	260
Options du menu Chart (Graphique)	262
Feuille de calcul de la discrimination allélique	262
Onglet Custom Data View (Affichage de données personnalisé)	264
Création d'un affichage de données personnalisé	265
Onglet QC (CQ)	266
Modification des critères de CQ	267
Exclusion des puits qui ne passent pas le CQ	267
Onglet Run Information (Informations sur la série)	268
Rapports de l'analyse de données	269
Catégories des rapports d'analyse de données	270
Création d'un rapport d'analyse de données	274

Création de rapports de groupes de puits .....	276
<b>Chapitre 12 Analyse de l'expression génique</b> .....	<b>277</b>
Configuration de la plaque pour l'analyse de l'expression génétique .....	277
Configuration de plaque guidée .....	278
Graphiques d'expression des gènes .....	279
Représentation graphique .....	280
Modification et annotation de l'affichage du graphique .....	282
Ajustement des données d'expression des gènes .....	288
Paramètres de l'expérience .....	290
Options du menu contextuel .....	292
Feuille de calcul des données .....	293
Option Show Details (Afficher les détails) .....	295
Dendrogramme .....	298
Paramètres .....	298
Options du menu contextuel .....	298
Tableur de données .....	299
Nuage de points .....	300
Paramètres .....	300
Options du menu contextuel .....	300
Feuille de calcul des données .....	301
Feuille de calcul des résultats .....	302
Étude des gènes .....	303
Étalonnage inter-séries .....	303
Boîte de dialogue Gene Study (Étude des gènes) .....	304
Onglet Study Setup (Configuration de l'étude) .....	304
Préparation d'une étude des gènes .....	305
Onglet Study Analysis (Analyse de l'étude) .....	306
Catégories de rapports d'étude des gènes .....	307
Création d'un rapport de l'étude des gènes .....	310
<b>Annexe A Calculs de l'analyse de données</b> .....	<b>311</b>
Efficacité d'une réaction .....	311
Quantité relative .....	311
Quantité relative en cas de sélection d'un contrôle .....	312
Écart-type de la quantité relative .....	312

Cq à l'efficacité corrigée (CqE) .....	313
Cq à l'efficacité moyenne corrigée (MCqE) .....	313
Expression normalisée .....	314
Expression et quantité relative pour les groupes biologiques .....	315
Expression normalisée lorsqu'un contrôle est sélectionné .....	315
Écart-type pour l'expression normalisée .....	316
Expression normalisée mise à l'échelle au niveau d'expression le plus haut .....	317
Expression normalisée mise à l'échelle au niveau d'expression le plus bas .....	317
Expression normalisée mise à l'échelle au niveau d'expression moyen .....	317
Écart-type pour l'expression normalisée mise à l'échelle .....	319
Barres d'erreur pour l'écart-type(Ig) et l'erreur-type de la moyenne (Ig) .....	320
Fold-change .....	321
Formules des valeurs corrigées .....	322
Calcul de l'intervalle de confiance pour l'analyse des groupes biologiques .....	323
Calculs dans un diagramme en boîte (Box and Whisker) .....	323
<b>Annexe B Pistes d'audit</b> .....	<b>325</b>
Affichage des pistes d'audit .....	325
Événements auditables .....	327
<b>Annexe C Intégration au LIMS</b> .....	<b>331</b>
Création de fichiers de données compatibles avec le système LIMS .....	331
Configuration du dossier LIMS et options d'exportation des données .....	331
Création d'un protocole LIMS .....	333
Création d'un fichier LIMS .....	333
Démarrage d'une série LIMS .....	338
Exportation des données vers un LIMS .....	339
<b>Annexe D Résolution des problèmes avec le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition</b> .....	<b>341</b>
Mettre des fichiers et dossiers du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition en liste autorisée .....	341
Journal des applications .....	342
Récupération des fichiers journaux d'application et de micrologiciel .....	343
Résolution des problèmes .....	343
Coupure de courant .....	343
Transfert de fichiers vers l'ordinateur de CFX Maestro Dx SE .....	344
Installation manuelle du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition .....	344

Réinstallation des pilotes .....	345
<b>Annexe E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products .....</b>	<b>347</b>
Software Notices .....	348
ZedGraph .....	348
Standard Open License Text .....	348
LGPL-2.1 .....	348
<b>Annexe F Références bibliographiques .....</b>	<b>361</b>



## Sommaire







## Sécurité et conformité réglementaire

Les systèmes de PCR en temps réel CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx, et CFX Opus Deepwell Dx (connus dans ce guide comme le Système CFX Opus Dx) chauffent et refroidissent très rapidement pendant le fonctionnement. Pour un fonctionnement sûr du système de PCR en temps réel, Bio-Rad vous recommande vivement de suivre les spécifications de sécurité répertoriées dans cette section et tout au long de ce manuel.


### Étiquettes d'avertissement de sécurité

Les étiquettes d'avertissement apposées sur le Système CFX Opus Dx et figurant dans ce manuel signalent à l'utilisateur les sources de blessures ou de dégâts. Le [Tableau 1](#) définit chaque étiquette d'avertissement de sécurité.

**Tableau 1. Avertissements de sécurité généraux**

Icône	Signification
	<p>L'utilisation du Système CFX Opus Dx avant de lire ce manuel peut présenter un risque de lésions corporelles. L'utilisation de cet appareil d'une manière non spécifiée dans ce manuel ou par Bio-Rad peut entraîner une dégradation ou une désactivation des fonctions de protection de l'appareil.</p>
 	<p>Il n'y a aucun danger biologique ou radioactif associé au Système CFX Opus Dx lui-même. Ces dangers ne deviennent un problème que lorsqu'ils sont introduits dans le système via les échantillons testés. Lors de la manipulation d'échantillons présentant un danger biologique ou radioactif, il convient de respecter les précautions et les directives recommandées propres au laboratoire ou au lieu de travail. Ces directives doivent inclure des méthodes de nettoyage, de surveillance et d'élimination des matières dangereuses que vous utilisez.</p>
	<p>De plus, comme indiqué ci-dessus, il existe un faible risque d'explosion ou d'expulsion de liquides ou de vapeurs des conteneurs d'échantillons. Lorsque vous travaillez avec des matières dangereuses, le risque de blessure due à l'expulsion de matières est aggravé par le risque que les matières dangereuses elles-mêmes puissent être dispersées dans et autour de l'instrument. Les utilisateurs doivent prendre les précautions appropriées dans une telle situation.</p>
	<p>Le Système CFX Opus Dx fonctionne(nt) à des températures suffisamment élevées pour provoquer de graves brûlures. Laissez toujours le bloc d'échantillons revenir à la température ambiante avant d'ouvrir le couvercle et de retirer les échantillons. Même après le refroidissement du bloc d'échantillons, les zones environnantes ainsi que la plaque chauffante peuvent rester chaudes pendant un certain temps. Dans les situations où le temps n'est pas suffisant pour permettre à l'instrument de refroidir, il est recommandé d'utiliser des équipements de protection tels que des gants thermiques ou des « gants isolants ».</p>
	<p>La sécurité et les performances de tout système intégrant un Système CFX Opus Dx est sous la seule responsabilité de l'assembleur du système.</p>

**Tableau 1. Avertissements de sécurité généraux, suite**

Icône	Signification
	<p>Le Système CFX Opus Dx peut devenir suffisamment chaud au cours du fonctionnement normal pour provoquer l'ébullition ou la vaporisation des liquides des échantillons, ce qui met sous pression les conteneurs d'échantillons. Il est possible que les conteneurs d'échantillons tombent en panne, entraînant des fuites, des projections de liquide ou une rupture explosive et expulsant des vapeurs ou des liquides dans et autour de l'appareil.</p> <p>Les utilisateurs doivent toujours utiliser l'appareil avec le couvercle fermé ou porter des lunettes de sécurité, des gants thermiques et d'autres équipements de protection individuelle pendant le fonctionnement pour éviter les blessures. L'ouverture de l'appareil alors que les échantillons sont encore chauds, par exemple après avoir interrompu une série, peut permettre aux récipients sous pression de fuir, de pulvériser ou de faire jaillir du liquide. Laissez toujours refroidir les échantillons avant d'ouvrir le couvercle.</p> <p>Les utilisateurs ne doivent jamais exécuter une réaction avec un couvercle ou un joint ouvert, desserré, perforé ou autrement endommagé car cela augmentera la probabilité d'une rupture ou d'une explosion dangereuse.</p> <p>Les utilisateurs ne doivent jamais exécuter une réaction avec des réactifs volatils qui pourraient augmenter la probabilité d'une rupture ou d'une explosion dangereuse.</p>

## Sécurité et conformité réglementaire

### Conformité de sécurité

Le Système CFX Opus Dx a été testé(s) et déclaré(s) conforme(s) à toutes les exigences applicables des normes de sécurité et électromagnétiques suivantes :

- CEI 61010-1:2010 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire, Partie 1 : exigences générales
- CEI 61010-2-010:2019 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire – Partie 2-010 : exigences particulières pour appareils de laboratoire utilisés pour l'échauffement des matières
- CEI 61010-2-081:2019 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire – Partie 2-081 : exigences particulières pour les appareils de laboratoire, automatiques et semi-automatiques, destinés à l'analyse et autres usages
- CEI 61010-2-101:2018 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire – Partie 2-101 : Exigences particulières pour les appareils médicaux de diagnostic in vitro (DIV)
  
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-1-12:2018 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire, Partie 1 : exigences générales
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-010:19 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire, Partie 2-010 : exigences particulières pour appareils de laboratoire utilisés pour l'échauffement des matières
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-081:19 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire, Partie 2-081 : exigences particulières pour les appareils de laboratoire, automatiques et semi-automatiques, destinés à l'analyse et autres usages
- CSA-C22.2 NO. 61010-2-101:19 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire – Partie 2-101 : Exigences particulières pour les appareils médicaux de diagnostic in vitro (DIV)
  
- EN 61010-1:2010 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire, Partie 1 : exigences générales

- EN 61010-2-010:2014 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Partie 2-010 : exigences particulières pour appareils de laboratoire utilisés pour l'échauffement des matières
- EN 61010-2-081:2015 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Partie 2-081 : exigences particulières pour les appareils de laboratoire, automatiques et semi-automatiques, destinés à l'analyse et autres usages
- EN 61010-2-101:2017 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Partie 2-101 : Exigences particulières pour les appareils médicaux de diagnostic in vitro (DIV)
  
- UL 61010-1:2012 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Partie 1 : exigences générales
- UL 61010-2-010:2019 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Partie 2-010 : exigences particulières pour appareils de laboratoire utilisés pour l'échauffement des matières
- UL 61010-2-081:2019 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Partie 2-081 : exigences particulières pour les appareils de laboratoire, automatiques et semi-automatiques, destinés à l'analyse et autres usages
- UL 61010-2-101:19 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Partie 2-101 : Exigences particulières pour les appareils médicaux de diagnostic in vitro (DIV)

## Compatibilité électromagnétique (CEM)

Le Système CFX Opus Dx a été testé(s) et déclaré(s) conforme(s) à toutes les exigences applicables des normes électromagnétiques et de compatibilité suivantes :

- CEI 61326-1:2012 Appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Exigences de CEM – Partie 1 : exigences générales Testé en tant qu'appareil de classe A
- CEI 61326-2-6:2012 Règles de sécurité pour appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Exigences de CEM – Partie 2-6 : Exigences particulières – appareils médicaux de diagnostic in vitro (DIV)
- EN 61326-1:2013 Appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Exigences de CEM – Partie 1 : exigences générales Testé en tant qu'appareil de classe A
- EN 61326-2-6:2013 Appareils électriques de mesure, de régulation et de laboratoire – Exigences de CEM – Partie 2-6 : Exigences particulières – appareils médicaux de diagnostic in vitro (DIV)

- FCC partie 15, sous-partie B, sections 15.107 et 15.109. Testé en tant qu'appareil numérique de classe A
- CAN ICES-003v6:2019 Norme sur le matériel brouilleur, matériel informatique (y compris les appareils numériques) – Limites et méthodes de mesure. Testé aux limites de classe A

## Avertissements et remarques relatifs à la CEM

- **Avertissement** : Les changements ou modifications apportés à cette unité et qui ne sont pas expressément autorisés par Bio-Rad pourraient annuler la capacité de l'utilisateur à utiliser l'appareil.
- **Remarque** : Cet appareil a été testé et s'est révélé conforme aux limites pour un appareil numérique de classe A, conformément à la Partie 15 des règles FCC. Ces limites sont conçues pour assurer une protection raisonnable contre les perturbations nuisibles lorsque l'appareil fonctionne dans un environnement commercial. Cet appareil produit, utilise et peut émettre des rayonnements radiofréquences et provoquer des perturbations nuisibles dans les communications radio s'il n'est pas installé et utilisé conformément au manuel d'instructions. Le fonctionnement de cet appareil dans un environnement résidentiel est susceptible de provoquer des perturbations nuisibles, auquel cas l'utilisateur devra y remédier à ses propres frais.
- **Remarque concernant la conformité FCC** : Bien que cet appareil ait été testé et qu'il se soit révélé conforme à la Partie 15, sous-partie B, des règles FCC pour un appareil numérique de classe A, veuillez noter que cette mise en conformité est volontaire, dans la mesure où l'appareil rentre dans la catégorie des « dispositifs exemptés » visés au Titre 47 CFR 15.103(c), en ce qui concerne les règles FCC mentionnées en vigueur au moment de sa fabrication.
- **Remarque concernant les câbles** : Cet instrument a été testé pour sa conformité CEM à l'aide de câbles USB spécialement conçus, qui sont fournis avec l'instrument. Ces câbles, ou les remplacements autorisés par Bio-Rad, doivent être utilisés avec cet instrument pour garantir la conformité continue avec les limites d'émissions CEM.

## Exigences environnementales

Le(s) Système CFX Opus Dx ont été conçus pour être utilisés en toute sécurité dans les conditions environnementales énumérées dans le tableau suivant.

**Tableau 2. Exigences environnementales du Système de PCR en temps réel CFX Opus Dx**

Paramètre	Spécification
Environnement	Réservé à un usage en intérieur
Altitude de fonctionnement	Jusqu'à 2 000 mètres au-dessus du niveau de la mer
Température ambiante de la pièce	15 à 31 °C*
Température de transport et de stockage	-20 à 60 °C**
Humidité relative	20 % à 80 % (sans condensation)***
Puissance de fonctionnement	100 à 240 VCA ± 10 %, 50/60 Hz, 850 W maximum
Fluctuation de la tension d'alimentation secteur	± 10 %
Consommation électrique maximum	< 850 W
Fusibles	10 A, 250 V, 5x20 mm, rapides (qté. 2)
Catégorie de surtension	II
Degré de pollution	2

\*Le fonctionnement de l'appareil en dehors de cette plage de température peut ne pas répondre aux spécifications de performance. Une température ambiante entre 5 et 40 °C est considérée comme sûre.

\*\*Stockez et transportez l'appareil dans son emballage d'expédition pour répondre à ces conditions de température.

\*\*\*Le fonctionnement de l'appareil à 4 °C doit être limité à 18 heures dans ces conditions. Tout maintien à 4 °C peut être effectué jusqu'à 72 heures si l'humidité est inférieure à 60 % (sans condensation).



## Risques

Le Système CFX Opus Dx est conçu(s) pour fonctionner en toute sécurité pour une utilisation de la manière prescrite par le fabricant. Si le système ou l'un de ses composants associés est utilisé d'une manière non spécifiée par le fabricant, la protection inhérente fournie par l'appareil peut être altérée. Bio-Rad n'est pas responsable des blessures ou des dommages causés par l'utilisation de cet équipement d'une manière non spécifiée, ou des modifications de l'appareil non effectuées par Bio-Rad ou un agent autorisé. L'entretien du Système CFX Opus Dx doit uniquement être réalisé par un personnel formé au Bio-Rad.

### Risques biologiques

Le Système CFX Opus Dx est un produit de laboratoire. Cependant, en présence d'échantillons présentant un danger biologique, il convient de respecter les directives locales propres au laboratoire ou au lieu de travail et les consignes suivantes.

**Remarque :** Aucune substance présentant un danger biologique ne se dégage durant les opérations normales de cet appareil.

### Précautions générales

- Toujours porter une blouse et des gants de laboratoire, ainsi que des lunettes de sécurité munies d'écrans latéraux.
- Conserver les mains à l'écart de la bouche, du nez et des yeux.
- Protéger complètement les coupures ou abrasions avant de travailler avec des matières potentiellement infectieuses.
- Se laver soigneusement les mains au savon et à l'eau après avoir manipulé des matières potentiellement infectieuses et avant de quitter le laboratoire.
- Retirer les montres-bracelets et les bijoux avant de travailler sur la paillasse.
- Conserver tout matériel infectieux ou potentiellement infectieux dans des récipients incassables hermétiques.
- Avant de quitter le laboratoire, retirer les vêtements de protection.
- Retirer les gants avant d'écrire, de téléphoner, d'allumer la lumière ou de toucher tout objet que d'autres personnes pourraient toucher sans gants.
- Changer fréquemment de gants. Retirer immédiatement les gants lorsqu'ils sont visiblement contaminés.

- Ne pas exposer le matériel ne pouvant pas être adéquatement décontaminé au matériel potentiellement infectieux.
- Lorsqu'une tâche impliquant du matériel présentant un risque biologique est terminée, décontaminer la zone de travail avec un décontaminant approprié (par exemple, une dilution à 1:10 d'eau de Javel ménagère).

## Décontamination de la surface



**AVERTISSEMENT !** Afin de prévenir tout choc électrique, systématiquement mettre hors tension et débrancher l'appareil avant de procéder à la décontamination.

Les parties suivantes peuvent être nettoyées avec tout désinfectant bactéricide, virucide ou fongicide de grade hospitalier :

- Couvercle externe et châssis
- Surface interne du bloc d'échantillons et puits du bloc d'échantillons
- Panneau de commande et affichage

Pour préparer et appliquer le désinfectant, se reporter aux instructions fournies par le fabricant du produit. Toujours rincer le bloc d'échantillons et les puits du bloc d'échantillons plusieurs fois avec de l'eau après avoir appliqué un désinfectant. Sécher soigneusement le bloc d'échantillons et les puits du bloc d'échantillons après le rinçage à l'eau.

**Important :** Ne pas utiliser de détergents abrasifs ou corrosifs ou de solutions alcalines fortes. Ces agents peuvent rayer les surfaces et endommager le bloc d'échantillons, résultant en une perte de contrôle thermique précis.

## Élimination du matériel présentant un risque biologique

Éliminer le matériel suivant potentiellement contaminé conformément aux réglementations locales, régionales et nationales des laboratoires :

- Échantillons cliniques
- Réactifs
- Cuvettes réactionnelles ou autres consommables usagés susceptibles d'être contaminés

## Risques chimiques

Le Système CFX Opus Dx ne contient aucune substance chimique potentiellement dangereuse.

## Risques d'explosion ou d'inflammabilité

Le Système CFX Opus Dx ne présente(nt) aucun risque inhabituel d'inflammabilité ou d'explosion, à condition d'une utilisation de manière appropriée selon les indications des laboratoires Bio-Rad.

## Risques électriques

Le Système CFX Opus Dx ne présente(nt) aucun risque électrique inhabituel pour les opérateurs en cas d'installation et d'utilisation correctes, sans subir d'altérations physiques, et en cas de raccordement à une source d'alimentation conforme aux spécifications.

## Transport

Avant de déplacer ou d'expédier le Système CFX Opus Dx, des procédures de décontamination doivent être effectuées. Déplacez ou expédiez toujours le système dans un ou plusieurs conteneurs séparés dans le matériau d'emballage fourni par Bio-Rad, qui protégera le système contre les dommages.

Pour plus d'informations sur le transport du système et pour demander la caisse de transport appropriée, contactez votre bureau Bio-Rad local.

## Batterie

Le Système CFX Opus Dx utilise une pile bouton au lithium-métal de 3 V pour conserver les réglages de l'heure en cas de coupure de courant. Si la configuration de l'heure n'est pas conservée après la mise hors tension de l'unité, cela peut indiquer une baisse de capacité des piles.



**AVERTISSEMENT !** Ne pas tenter de remplacer les piles. Elles ne sont pas réparables par l'utilisateur. Au lieu de cela, contactez le service d'assistance technique de Bio-Rad pour obtenir de l'aide.

### Disposition uniquement applicable dans l'état de Californie, États-Unis.

- Matériau perchlorate : les piles au lithium contiennent du perchlorate ; des précautions de manipulation particulières peuvent s'appliquer. Voir [www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate](http://www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate).

## Élimination

Le Système CFX Opus Dx contien(nen)t des composants électriques ; ceux-ci ne doivent pas être éliminés comme des déchets non triés et être collectés séparément, conformément à la directive de l'Union européenne 2012/19/UE sur les déchets d'équipements électriques et électroniques (Directive DEEE). Avant l'élimination, contacter le représentant local de Bio-Rad pour les instructions spécifiques au pays.

## Garantie

Le Système CFX Opus Dx et ses accessoires associés sont couverts par une garantie Bio-Rad standard. Contacter le bureau local de Bio-Rad pour les détails relatifs à la garantie.

# Chapitre 1 Introduction

Les systèmes d'amplification par PCR haute performance de Bio-Rad présentent les avancées technologiques les plus récentes et procurent une précision et une reproductibilité supérieures pour l'amplification des acides nucléiques en lien avec les expériences génomiques.

Le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition de Bio-Rad est compatible avec les appareils suivants et propose des fichiers de séries optimisés pour tests avec amorce et sondes PrimePCR de Bio-Rad :

- Système de PCR en temps réel Opus 96 Dx CFX (connu dans ce guide sous le nom de CFX Opus 96 Dx)
- Système de PCR en temps réel Opus 384 Dx CFX (connu dans ce guide sous le nom de CFX Opus 384 Dx)
- Système de PCR en temps réel Opus Deepwell Dx CFX (connu dans ce guide sous le nom de CFX Opus Deepwell Dx)

L'utilisation du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition (désigné dans ce guide sous le nom de CFX Maestro Dx SE) permet d'interpréter des données complexes et de créer de solides études pour l'analyse génétique. Quelques clics suffisent pour configurer les études et rendre intelligible l'analyse de l'expression génétique grâce à des outils tels que les tests t de Student, l'ANOVA unidirectionnelle, l'analyse des contrôles PrimePCR et l'outil sélecteur des gènes de référence. L'utilisateur peut ensuite se servir des outils de visualisation et d'annotation personnalisables de CFX Maestro Dx SE afin de préparer ses résultats en vue de leur publication.

**Remarque :** L'affichage de certains écrans dans CFX Maestro peut sembler différent de ceux représentés dans ce guide d'utilisation. L'affichage dans le logiciel est correct, et les fonctionnalités sont identiques.

**Important :** la cybersécurité représente la protection des actifs dans le cyberspace contre les cyberattaques. La cybersécurité est la capacité de Bio-Rad à sécuriser son personnel, ses informations, ses systèmes et sa réputation dans le cyberspace. Le cyberspace est le monde technologiquement interconnecté en permanence. Il se compose de personnes, d'organisations, d'informations et de technologies.

En cas de problèmes de cybersécurité, une réaction rapide est importante ! Si vous suspectez un problème de cybersécurité concernant votre instrument ou si vous pensez que la cybersécurité a été violée sur votre site, contactez immédiatement votre représentant Bio-Rad pour une assistance technique.

## Caractéristiques principales du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

CFX Maestro Dx SE permet d'effectuer les tâches suivantes :

- Analyser des données à l'aide de graphiques en barres, dendogrammes ou nuages de points pour rapidement interpréter et comprendre les résultats.
- Personnaliser la présentation des données et exporter des graphiques haute résolution pour publication et création de rapports.
- Déterminer la qualité de l'ARN et résoudre les problèmes relatifs aux expériences avec les contrôles d'analyse PrimePCR.
- Sélectionner le gène de référence approprié et analyser sa stabilité avec l'outil Reference Gene Selection (Sélection des gènes de référence).
- Procéder à l'analyse statistique, y compris ANOVA unidirectionnelle dans l'analyse de l'expression génétique.

Ce guide d'utilisation explique ces fonctions et montre comment les utiliser.

### En savoir plus

Après avoir installé CFX Maestro Dx SE et avoir configuré l'appareil de PCR Bio-Rad associé, l'utilisateur pourra accéder à ce guide ainsi qu'à des rubriques d'aide CFX Maestro Dx SE dans le menu Help (Aide) de n'importe quel affichage.

**Conseil** : Cliquer sur le logo Bio-Rad dans le coin supérieur droit de n'importe quelle fenêtre CFX Maestro Dx SE pour lancer le site web de Bio-Rad. Ce site comporte des liens vers des notes techniques, des manuels, des vidéos, des informations sur les produits et le service d'assistance technique. Il fournit aussi de nombreuses ressources techniques sur une grande variété de méthodes et d'applications liées à la PCR, à la PCR en temps réel et à l'expression des gènes.





## Chapitre 2 Installation du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

Ce chapitre explique comment installer le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition. Pour obtenir des informations sur la configuration des appareils de PCR en temps réel pris en charge par Bio-Rad, consulter le guide correspondant.

CFX Maestro Dx SE est obligatoire pour analyser les données de PCR en temps réel à partir des systèmes de PCR en temps réel CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx et CFX Opus Deepwell Dx. Il est également possible d'utiliser ce logiciel pour contrôler ces systèmes en mode contrôlé par le logiciel.

Les systèmes CFX Opus Dx sont livrés avec un câble USB dans le paquet d'accessoires. Utiliser le câble USB pour connecter l'ordinateur exécutant CFX Maestro Dx SE au Système CFX Opus Dx.

Retirer le matériel d'emballage et le conserver en vue d'une utilisation ultérieure. Si un article manque ou qu'il est endommagé, contacter le bureau local de Bio-Rad.

## Configuration minimum requise du système

Le [Tableau 3](#) répertorie la configuration minimum recommandée du système pour l'ordinateur sur lequel le logiciel CFX Maestro Dx SE s'exécute.

**Tableau 3. Configuration informatique requise pour CFX Maestro Dx SE**

Système	Minimum	Recommandé
Système d'exploitation	Microsoft Windows 10 (64 bits uniquement), version 1511 ou ultérieure, avec les dernières mises à jour de sécurité.	Microsoft Windows 10 (64 bits uniquement), version 1511 ou ultérieure, avec les dernières mises à jour de sécurité.
<b>Remarque :</b> Windows 11 prend également en charge le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition.		
<b>Important :</b> Le démarrage sécurisé doit être désactivé sur les ordinateurs exécutant CFX Maestro Dx SE. Les ordinateurs sur lesquels CFX Maestro Dx SE est exécuté doivent être configurés de manière à ne pas redémarrer automatiquement après une mise à jour du système ou de sécurité si une série est en cours. Consultez votre administrateur système pour obtenir de l'aide.		
Ports	2 ports USB 2.0 ultrarapides	2 ports USB 2.0 ultrarapides
Espace sur le disque dur	128 Go	128 Go
Vitesse du processeur	2,4 GHz, Dual Core	2,4 GHz, Quad Core
RAM	4 Go de RAM	8 Go de RAM
Résolution d'écran	1024 x 768 avec mode true-color	1280 x 1024 avec mode true-color
PDF Reader		Adobe PDF Reader ou Windows PDF Reader de l'une des suites Microsoft Office prises en charge : <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 2016</li> <li>■ 2019</li> </ul>
Localisation	SE Microsoft Windows 64 bits pris en charge en anglais, chinois et russe	SE Microsoft Windows 64 bits pris en charge en anglais, chinois et russe

**Remarque :** S'il est prévu que le logiciel CFX Automation Control soit exécuté sur le même ordinateur que CFX Maestro Dx SE, définir la résolution d'écran à 1280 x 1024 avec mode true-color.



## Installation du logiciel CFX Maestro Dx SE

**Important :** Tous les appareils connectés doivent être débranchés de l'ordinateur CFX Maestro Dx SE avant d'installer le logiciel ou de le mettre à niveau. Il n'est pas nécessaire d'éteindre l'appareil pendant l'installation du logiciel. Veiller à enregistrer toutes les séries et à ce qu'aucune expérience ne soit en cours d'exécution.

**Remarque :** Vérifier que Secure Boot (Démarrage sécurisé) est désactivé avant de lancer la procédure d'installation. S'assurer que l'ordinateur est configuré de manière à ne pas redémarrer automatiquement après une mise à jour du système ou de sécurité si une série est en cours. Consultez votre administrateur système pour obtenir de l'aide.

### Pour installer le logiciel CFX Maestro Dx SE

1. Si nécessaire, débrancher d'éventuels appareils connectés de l'ordinateur.

Localiser et débrancher le câble USB de l'appareil sur l'ordinateur CFX Maestro Dx SE. L'extrémité insérée dans le Système CFX Opus Dx peut rester en place.

2. Ouvrir une session sur l'ordinateur CFX Maestro Dx SE avec privilèges d'administration.
3. Insérer la clé USB du logiciel CFX Maestro Dx SE dans le port USB de l'ordinateur.
4. Dans Windows Explorer, accéder à la clé USB du logiciel CFX Maestro Dx SE et l'ouvrir.

La clé USB contient les notes de mise à jour et les dossiers suivants :

- CFX
- Pilotes
- Micrologiciel
- Démarrage rapide

Conjointement avec d'autres fichiers, le dossier CFX contient le programme d'installation du logiciel CFX Maestro Dx SE (CFXMaestroDxSetup.exe).

5. Ouvrir le dossier CFX et double-cliquer sur CFXMaestroDxSetup.exe pour démarrer le programme d'installation.
6. Suivre les instructions d'installation à l'écran.

Une fois terminé, l'icône Bio-Rad du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition apparaît sur le bureau de l'ordinateur.

**Conseil :** Le programme d'installation CFX Maestro installe automatiquement le guide d'utilisation du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition. Pour localiser ces guides, accédez au menu Help (Aide) et sélectionnez Open User Guides (Ouvrir les guides d'utilisation).

7. Une fois l'installation terminée, la clé USB du logiciel peut être éjectée en toute sécurité.

## Détection des appareils connectés

Durant l'installation, le programme d'installation de CFX Maestro Dx SE installe automatiquement les pilotes sur l'ordinateur de CFX Maestro Dx SE. CFX Maestro Dx SE détecte les appareils connectés lorsque vous démarrez le logiciel.

### Pour détecter les appareils connectés

1. Si cela n'a pas été fait, insérer l'extrémité carrée (mâle) du câble USB de type B fourni dans le port USB de type B situé à l'arrière de la base de l'appareil.
2. Insérez l'autre extrémité (port) dans un port USB sur l'ordinateur CFX Maestro Dx SE.
3. Si l'appareil ne fonctionne pas déjà, appuyer sur l'interrupteur d'alimentation sur l'appareil pour le mettre en marche.
4. Démarrer le logiciel CFX Maestro Dx SE.

Le logiciel détecte automatiquement l'appareil connecté et en affiche le nom dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés) de la fenêtre d'accueil.

**Remarque :** si l'appareil n'apparaît pas dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés), vérifiez que le câble USB est correctement installé. Pour réinstaller les pilotes, dans la fenêtre d'accueil de CFX Maestro Dx SE, sélectionner Tools (Outils) > Reinstall Instrument Drivers (Réinstaller les pilotes de l'appareil).

## Fichiers logiciels

Le [Tableau 4](#) répertorie les types de fichiers de CFX Maestro Dx SE.

**Tableau 4. Types de fichiers de CFX Maestro Dx SE**

Type de fichier	Extension	Détails
Protocol (Protocole)	.prcl	Contient les détails de configuration du protocole pour la réalisation d'une série de PCR.
Plate (Plaque)	.pltd	Contient les détails de configuration de la plaque pour la réalisation d'une série de PCR.
Data (Données)	.pcrd	Contient les résultats d'une série expérimentale et d'une analyse de la PCR.
Série PrimePCR	.csv	Contient le protocole et la disposition de plaque pour les plaques PrimePCR.
Gene Study (Étude des gènes)	.mgxd	Contient les résultats de plusieurs séries de PCR et d'analyses d'expression génétique.
Fichier de pré-données autonome	.zpcr	Contient les lectures de fluorescence issues du fonctionnement autonome qui sont converties en un fichier de données.
LIMS	.plrn	Contient les informations sur la configuration de la plaque et le protocole nécessaires à la réalisation d'une série compatible avec le LIMS.
JSON	.json	Fichier en lecture seule généré uniquement par les systèmes CFX Opus Dx, ce fichier contient les données du fichier de série qui apparaissent dans le volet de détails du navigateur de fichiers lorsqu'un fichier de série est sélectionné. Ce fichier est généré une fois la série terminée. Il est exporté avec le fichier .zpcr et enregistré avec les fichiers de données lorsque l'emplacement d'enregistrement est une clé USB ou un dossier réseau partagé.





## Chapitre 3 Gestion des comptes utilisateurs du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

Dans le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition, les utilisateurs se connectent avec leur nom d'utilisateur et leur mot de passe Windows. La personne qui a installé CFX Maestro Dx SE se voit attribuer automatiquement le rôle Administrator (Administrateur) et peut créer et gérer des comptes et des rôles d'utilisateurs. Tous les autres utilisateurs doivent se voir attribuer un compte d'utilisateur pour pouvoir se connecter et utiliser le logiciel.

**Important :** Chaque utilisateur doit posséder un compte Windows et un mot de passe sur l'ordinateur de CFX Maestro Dx SE avant que vous puissiez lui attribuer un compte utilisateur et un rôle. Les utilisateurs peuvent être membres du groupe Windows Users (Utilisateurs Windows) ou du groupe Windows Administrators (Administrateurs Windows). Les membres du groupe Windows Users (Utilisateurs Windows) ne peuvent accéder qu'à leurs propres fichiers et dossiers CFX Maestro Dx SE. Les membres du groupe Windows Administrators (Administrateurs Windows) peuvent accéder aux fichiers et dossiers de tous les utilisateurs de l'ordinateur.

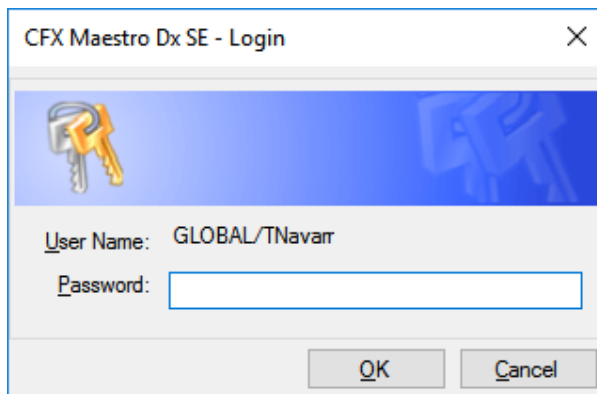
Ce chapitre explique comment créer des utilisateurs Microsoft Windows afin d'ajouter ces utilisateurs à CFX Maestro Dx SE. Cette section explique également comment ajouter des utilisateurs CFX Maestro Dx SE et gérer les rôles et autorisations des utilisateurs.

## Démarrage du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

**Remarque :** Chaque utilisateur doit se connecter avec son nom d'utilisateur et son mot de passe Windows.

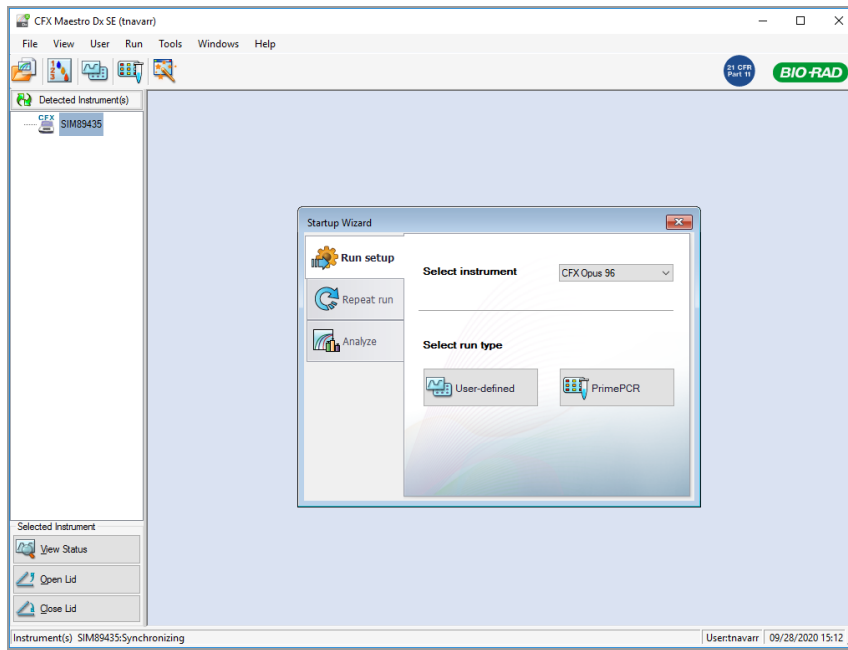
### Pour démarrer CFX Maestro Dx SE

1. Sur le bureau de l'ordinateur de CFX Maestro Dx SE, effectuer un double clic sur l'icône de raccourci CFX Maestro Dx SE pour démarrer l'application.
2. Dans la boîte de dialogue Login (Connexion), saisir votre mot de passe Windows et cliquer sur OK.



CFX Maestro Dx SE s'ouvre dans la fenêtre d'accueil. La barre de titre affiche le nom d'utilisateur Windows de l'utilisateur connecté et la barre de menus affiche un autocollant bleu indiquant que le logiciel est conforme à la norme 21 CFR Part 11, par exemple :

## Démarrage du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition



## Ajout d'utilisateurs Microsoft Windows sur l'ordinateur du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

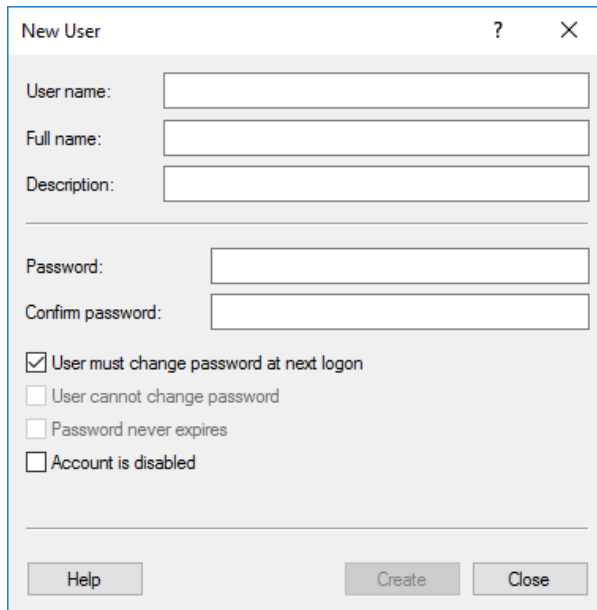
Tous les utilisateurs doivent se connecter à l'ordinateur CFX Maestro Dx SE avec leur nom d'utilisateur et mot de passe Windows. Pour un suivi d'audit précis, les comptes d'utilisateurs Windows ne peuvent pas être ajoutés par l'intermédiaire de la boîte de dialogue Start (Démarrer) > Settings (Paramètres) > Accounts (Comptes). Les comptes d'utilisateurs Windows **doivent** être ajoutés par l'intermédiaire de la console Computer Management (Gestion de l'ordinateur).

**Important :** Les modifications apportées aux propriétés des utilisateurs Windows (y compris le nom d'utilisateur et le nom complet) après avoir créé l'utilisateur CFX Maestro Dx SE invalident l'utilisateur CFX Maestro Dx SE. Assurez-vous que les informations sont correctes avant d'enregistrer l'utilisateur Windows et de créer l'utilisateur CFX Maestro Dx SE associé.

**Conseil :** Examiner la documentation Microsoft Windows Administration (Administration de Microsoft Windows) et consulter votre administrateur système Windows pour obtenir plus d'informations avant de créer des comptes Windows.

### Pour ajouter des comptes d'utilisateurs Windows à l'ordinateur CFX Maestro Dx SE

1. Connectez-vous à l'ordinateur CFX Maestro Dx SE en tant que membre du groupe d'administrateurs Windows.
2. Sur le bureau, cliquez avec le bouton droit sur My Computer (Mon ordinateur) et sélectionnez Manage (Gérer) pour ouvrir la console Computer Management (Gestion de l'ordinateur).
3. Dans la console Computer Management (Gestion de l'ordinateur), développez Local Users (Utilisateurs locaux) et Groups (Groupes).
4. Cliquez avec le bouton droit sur le dossier Users (Utilisateurs) et sélectionnez New User (Nouvel utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue New User (Nouvel utilisateur).



The image shows a 'New User' dialog box with the following fields and options:

- User name: [Text Input]
- Full name: [Text Input]
- Description: [Text Input]
- Password: [Text Input]
- Confirm password: [Text Input]
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons at the bottom: Help, Create, Close.

5. Dans la boîte de dialogue New User (Nouvel utilisateur), vous devez remplir les champs suivants :
  - User name (Nom d'utilisateur)
  - Full name (Nom complet)
  - Password (Mot de passe)
  - Confirm password (Confirmer le mot de passe)
6. Cliquer sur Create (Créer).

## Ajout et suppression d'utilisateurs du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

**Conseil :** Seuls les utilisateurs avec le rôle Administrator (Administrateur) CFX Maestro Dx SE peuvent créer et supprimer des comptes d'utilisateur CFX Maestro Dx SE. La personne qui a installé CFX Maestro Dx SE reçoit automatiquement le rôle Administrator (Administrateur). Cette personne peut attribuer le rôle Administrator (Administrateur) à d'autres utilisateurs.

**Remarque :** Dans CFX Maestro Dx SE, au moins un utilisateur doit avoir le rôle Administrator (Administrateur).

### Pour ajouter des comptes d'utilisateur à CFX Maestro Dx SE

1. Vérifier que chaque utilisateur prévu est membre du groupe Windows Users (Utilisateurs Windows) ou du groupe Windows Administrators (Administrateurs Windows) et dispose d'un mot de passe Windows sur l'ordinateur CFX Maestro Dx SE.
2. Démarrer CFX Maestro Dx SE et se connecter en tant qu'Administrateur.
3. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner User (Utilisateur) > User Administration (Administration des utilisateurs).

La boîte de dialogue User Administration (Administration des utilisateurs) s'affiche.

User Administration					
Manage Users					
	User Name	Full Name	Role	Domain	Remove
1	tnavar	Theresa Navaro	Administrator	GLOBAL	<input type="checkbox"/>
2	vbala	Vivek Balaguru	Principal	USHERJ28KYF2	<input type="checkbox"/>
3	msnyder	Matther Snyder	Principal	USHERJ28KYF2	<input type="checkbox"/>
4	bbrizel	Bradley Brizel	Operator	GLOBAL	<input type="checkbox"/>
5	Guest	Guest User	Guest	USHERJ28KYF2	<input type="checkbox"/>
6					<input type="checkbox"/>

Manage Rights (Managed by Administrator only)				
	Rights	Principal	Operator	Guest
1	Start, pause and abort runs	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	Add repeats to a run	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	Perform skip steps	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	Perform instrument calibration	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	Apply different calibrations to a data	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6	Edit or replace plate during run	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7	Edit or replace the plate after a run	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8	Rename instruments	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9	Save any file	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10	Change threshold and baselines	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11	Print reports	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12	Setup Email	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Restore Default Rights      OK      Cancel

4. Dans la section Manage Users (Gérer les utilisateurs), fournir les informations suivantes pour chaque utilisateur :

- **User name (Nom d'utilisateur)** — dans CFX Maestro Dx SE, il **doit** s'agir du nom d'utilisateur de connexion Windows de l'utilisateur.

- **Full name (Nom complet)** — le nom complet de l'utilisateur.

Ce nom s'affiche dans le champ Full User (Utilisateur complet) de la piste d'audit. Ce nom doit être le même que celui saisi dans le champ Full Name (Nom complet) lors de la création de l'utilisateur Windows.

- **Role (Rôle)** — le rôle à attribuer à l'utilisateur.

**Remarque :** Vous ne pouvez sélectionner qu'un seul rôle dans la liste déroulante. Pour plus d'informations, reportez-vous à la rubrique [Gestion des rôles d'utilisateur du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition](#).

- **Domain (Domaine)** — le domaine Windows à partir duquel l'utilisateur accède au logiciel.

Consultez votre administrateur système Windows pour plus d'informations.



5. Cliquez sur OK, puis sur Yes (Oui) pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue User Administration (Administration des utilisateurs).

### **Pour supprimer un compte d'utilisateur CFX Maestro Dx SE**

1. Démarrer CFX Maestro Dx SE et se connecter en tant qu'Administrateur.
2. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionnez User (Utilisateur) > User Administration (Administration des utilisateurs) pour ouvrir la boîte de dialogue User Administration (Administration des utilisateurs).
3. Dans le volet Manager Users (Gérer les utilisateurs), sélectionner Remove (Supprimer) pour chaque utilisateur que l'on souhaite supprimer.
4. Cliquez sur OK, puis sur Yes (Oui) pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue User Administration (Administration des utilisateurs).

## **Gestion des rôles d'utilisateur du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition**

**Important :** CFX Maestro Dx SE exige qu'au moins un utilisateur se voie attribuer le rôle Administrator (Administrateur). Vous pouvez attribuer ce rôle à plusieurs utilisateurs.

Il existe quatre rôles d'utilisateur pour CFX Maestro Dx SE. Chaque utilisateur doit se voir attribuer un rôle pour accéder au logiciel. Bien que les utilisateurs ne puissent se voir attribuer qu'un seul rôle, vous pouvez modifier le rôle d'un utilisateur à tout moment.

À l'exception du rôle Administrator (Administrateur), vous pouvez modifier les autorisations attribuées à chaque rôle. Tous les utilisateurs auxquels un rôle est attribué héritent uniquement des autorisations de ce rôle.

Par défaut, les droits pour chaque rôle sont les suivants :

- Administrator (Administrateur) — ce rôle dispose de toutes les autorisations; vous ne pouvez pas modifier ces autorisations.
- Principal — ce rôle dispose de toutes les autorisations, sauf celle permettant de configurer la messagerie électronique.
- Operator (Opérateur) — ce rôle dispose de toutes les autorisations, sauf celle permettant d'ignorer des cycles et configurer la messagerie électronique.
- Guest (Invité) — ce rôle peut seulement consulter les fichiers en lecture seule.

Lors de l'attribution de rôles dans CFX Maestro Dx SE, déterminez soigneusement les besoins de chaque utilisateur. Par exemple, sans l'autorisation d'enregistrer, les utilisateurs avec le rôle Guest (Invité) ne

pourront pas signer un fichier. Sans l'autorisation de configurer un compte de messagerie, aucun des rôles ne recevra d'e-mail à la fin d'une série.

#### **Pour modifier les autorisations d'un rôle**

1. Démarrer CFX Maestro Dx SE et se connecter en tant qu'Administrateur.
2. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionnez User (Utilisateur) > User Administration (Administration des utilisateurs) pour ouvrir la boîte de dialogue User Administration (Administration des utilisateurs).
3. Dans la section Manage Rights (Gérer les droits), pour chaque rôle, cochez ou décochez la case d'autorisations spécifiques si nécessaire.
4. Cliquez sur OK, puis sur Yes (Oui) pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue User Administration (Administration des utilisateurs).

### **Affichage de votre rôle et de vos autorisations**

**Conseil :** Les utilisateurs à qui des rôles de Principal (Principal), Operator (Opérateur) ou Guest (Invité) sont attribués ne peuvent afficher que les paramètres, autorisations et rôles d'utilisateur associés. Les utilisateurs auxquels le rôle Administrator (Administrateur) est attribué peuvent afficher l'ensemble des autorisations et rôles d'utilisateur.

#### **Pour afficher le rôle et les autorisations d'utilisateur en cours**

- Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner User (Utilisateur) > User Administration (Administration des utilisateurs).

Contactez l'administrateur CFX Maestro Dx SE pour modifier les paramètres, autorisations et rôles d'utilisateur répertoriés dans la fenêtre User Administration (Administration des utilisateurs).



## Chapitre 4 Utilisation du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

**Important :** Le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition utilise l'authentification d'utilisateur Microsoft Windows pour vérifier l'accès aux fichiers de données CFX sécurisés. Contacter votre administrateur Windows pour créer un environnement conforme aux exigences de la norme 21 CFR Part 11.

Avec CFX Maestro Dx SE, les utilisateurs peuvent

- Signer les fichiers de données et d'étude des gènes.
- Protéger par mot de passe les fichiers de données.
- Afficher et imprimer les pistes d'audit.

Cette section explique ces fonctionnalités en détail.

### Fichiers sécurisés

Par défaut, CFX Maestro Dx SE enregistre les fichiers sécurisés dans le dossier personnel de l'utilisateur connecté, qui se trouve dans

C:\Users\

Vous pouvez enregistrer et modifier les fichiers .pcrd dans ce dossier. Ce dossier contient des liens vers d'autres dossiers (par exemple, le dossier Sample Files [Fichiers d'échantillons]) contenant des fichiers en lecture seule. Cependant, un administrateur peut supprimer le contenu de ce dossier.

**Conseil :** Autrement, votre administrateur système Windows peut créer un dossier partagé et votre administrateur CFX Maestro Dx SE peut programmer le logiciel pour enregistrer tous les fichiers dans ce dossier.

Dans CFX Maestro Dx SE, les fichiers de plaque, de protocole, de données et d'étude des gènes sont marqués comme sécurisés lorsqu'ils sont enregistrés. Vous pouvez créer ces fichiers dans le logiciel CFX Maestro ou dans CFX Maestro Dx SE. Après avoir été enregistrés dans CFX Maestro Dx SE, vous ne pouvez ouvrir ces fichiers que dans CFX Maestro Dx SE.

CFX Maestro Dx SE crée une piste d'audit pour tous les fichiers de données sécurisés et d'étude des gènes (fichiers .pcrd et .mgxd, respectivement). Le logiciel enregistre toutes les activités auditées dans la piste d'audit du fichier. Pour plus d'informations, voir [Pistes d'audit à la page 325](#).

### Signature de fichiers sécurisés

Après avoir enregistré un fichier dans CFX Maestro Dx SE, les utilisateurs peuvent ajouter une signature électronique. Pour signer un fichier, le rôle de l'utilisateur doit avoir l'autorisation d'enregistrer un fichier. Par exemple, par défaut, le rôle Guest (Invité) n'a pas l'autorisation d'enregistrer un fichier et par conséquent, les utilisateurs auxquels ce rôle est attribué ne peuvent pas signer un fichier.

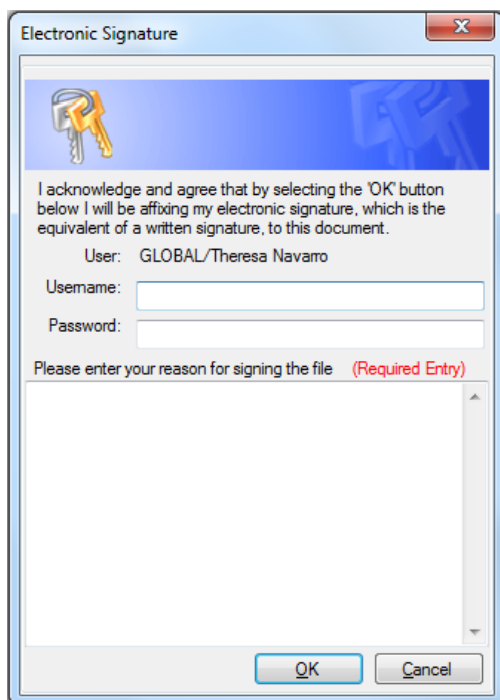
Dans CFX Maestro Dx SE, les fichiers signés ne sont pas définis en lecture seule. Ils peuvent être examinés, modifiés et signés plusieurs fois. Un suivi de toutes les modifications et signatures est effectué dans la piste d'audit du fichier. Vous pouvez signer les types de fichiers suivants :

- Fichiers de données (.pcrd)
- Fichiers d'étude des gènes (.mgxd)

**Remarque :** Les fichiers doivent être enregistrés avant de pouvoir être signés. Si vous avez récemment effectué une analyse dans CFX Maestro Dx SE, enregistrer d'abord le fichier de données résultant.

#### Pour signer un fichier

1. Se connecter à CFX Maestro Dx SE avec vos informations de connexion Windows.
2. Ouvrir le fichier de données sécurisé ou le fichier d'étude des gènes à signer.
3. Choisir File (Fichier) > Sign (Signer). La boîte de dialogue Electronic Signature (Signature électronique) s'affiche.



4. Saisir votre nom d'utilisateur et votre mot de passe Windows et le motif de la signature du fichier.

Le nom d'utilisateur et le motif de la signature sont inclus dans la piste d'audit (pour plus d'informations, voir [Pistes d'audit à la page 325](#)).

5. Cliquer sur OK pour soumettre la signature et fermer la boîte de dialogue.

### Modification des fichiers sécurisés

Dans CFX Maestro Dx SE, les utilisateurs peuvent modifier les fichiers sécurisés, y compris les données signées et non signées et les fichiers d'étude des gènes. Le logiciel vous invite à fournir une raison de la modification lorsque vous enregistrez une donnée sécurisée modifiée ou un fichier d'étude des gènes. Un suivi des modifications est effectué dans la piste d'audit du fichier.

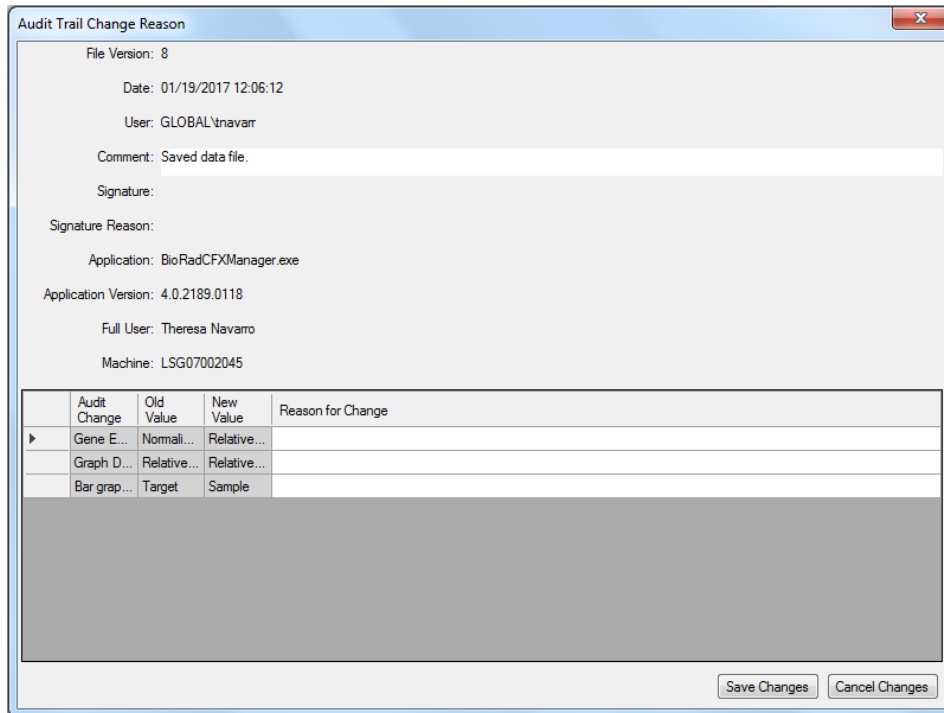
**Conseil :** Étant donné que le logiciel ne crée pas de pistes d'audit pour les fichiers de plaque ou de protocole, vous n'êtes pas invité à fournir une raison lorsque vous enregistrez les modifications apportées à ces fichiers.

### Pour enregistrer un fichier modifié de données ou d'étude des gènes

1. Se connecter à CFX Maestro Dx SE avec vos informations de connexion Windows.
2. Ouvrir et modifier un fichier de données sécurisé ou un fichier d'étude des gènes.

**Conseil :** Pour une liste des activités auditées, voir [Événements auditées à la page 327](#).

3. Choisir File (Fichier) > Save (Enregistrer). La boîte de dialogue Audit Trail Change Reason (Motif de modification de la piste d'audit) s'affiche.



Cette boîte de dialogue affiche les informations suivantes, qui sont capturées dans l'en-tête de piste d'audit du fichier pour chaque événement de modification :

- **Date** — la date à laquelle la modification a été effectuée.
  - **User (Utilisateur)** — le domaine Windows et le nom d'utilisateur de l'utilisateur connecté.
  - **Comment (Commentaire)** — le dernier commentaire enregistré.
  - **Signature** — la signature électronique de la dernière personne qui a signé le fichier.
  - **Signature reason (Motif de la signature)** — le motif de la signature.
  - **Application** – CFX Maestro Dx SE (s'affiche comme BioRadCFXManager.exe, ce qui est correct).
  - **Application version (Version de l'application)** — la version actuelle de CFX Maestro Dx SE.
  - **Full user (Utilisateur complet)** — le nom complet de l'utilisateur connecté.
- Remarque :** Ce nom s'affiche dans la piste d'audit.
- **Machine** — l'ordinateur sur lequel l'installation est effectuée.

La table des modifications affiche les modifications auditable qui se sont produites à la suite de la modification. Une brève description de la raison du changement peut également s'afficher.

**Conseil :** Vous pouvez ajouter ou modifier des descriptions dans la colonne Reason for Change (Motif de la modification).

4. Consulter la liste des modifications. Fournir des raisons détaillées si nécessaire.
5. Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Cliquer sur Save Changes (Enregistrer les modifications) pour enregistrer les modifications apportées au fichier, ainsi que toutes les modifications que vous avez apportées au tableau et fermer la boîte de dialogue.

Les modifications apportées au fichier et les raisons des modifications apparaissent dans la piste d'audit du fichier.
  - Cliquer sur Cancel Changes (Annuler les modifications) pour rétablir le fichier à son état précédent et fermer la boîte de dialogue.

Les modifications ne sont pas enregistrées dans le fichier et la piste d'audit n'est pas mise à jour.



## Protection par mot de passe des fichiers

Comme niveau de sécurité supplémentaire, CFX Maestro Dx SE permet aux utilisateurs de définir des mots de passe sur tous les fichiers sécurisés. Lorsque vous définissez des mots de passe sur un fichier sécurisé, tenez compte des conditions suivantes :

Condition	Action
Aucun mot de passe n'est requis.	Tous les utilisateurs peuvent ouvrir, modifier et enregistrer le fichier sécurisé en fonction de leurs autorisations.
Le fichier nécessite le mot de passe d'enregistrement.	Tous les utilisateurs peuvent ouvrir le fichier sécurisé et les utilisateurs qui connaissent le mot de passe d'enregistrement peuvent modifier et enregistrer le fichier sécurisé.
Le fichier nécessite le mot de passe d'ouverture.	Seuls les utilisateurs qui connaissent le mot de passe d'ouverture peuvent ouvrir, modifier et enregistrer le fichier sécurisé.
Le fichier nécessite à la fois les mots de passe d'ouverture et d'enregistrement.	Certains utilisateurs peuvent ouvrir le fichier sécurisé et un sous-groupe de ces utilisateurs peut modifier et enregistrer le fichier.

En fonction du rôle de l'utilisateur, n'importe quel utilisateur peut exécuter Save As (Enregistrer sous) pour créer un nouveau fichier sécurisé avec un autre nom ou enregistrer un fichier avec le même nom dans un autre emplacement tant que l'une des conditions suivantes est vraie :

- Le fichier sécurisé n'est pas protégé par mot de passe.
- L'utilisateur connaît le mot de passe pour ouvrir le fichier.

**Conseil :** Le nouveau fichier est enregistré sans protection par mot de passe. Le fichier d'origine conserve ses mots de passe.

Selon le rôle, un utilisateur peut modifier et enregistrer le fichier d'origine tant que l'une des conditions suivantes est vraie :

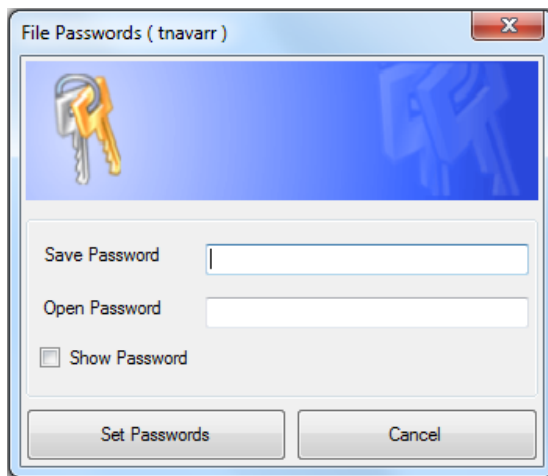
- Le fichier n'est pas protégé par mot de passe.
- L'utilisateur connaît les mots de passe d'ouverture et d'enregistrement du fichier.

**Remarque :** Le rôle de l'utilisateur doit comprendre le droit d'enregistrer des fichiers afin de définir des mots de passe. Par exemple, les utilisateurs ayant le rôle Guest (Invité) ne peuvent pas enregistrer de fichiers et ne peuvent donc pas définir de mots de passe sur un fichier.

**Important :** Seuls les administrateurs CFX Maestro Dx SE peuvent réinitialiser ou supprimer les mots de passe.

### Pour protéger un fichier par mot de passe

1. Se connecter à CFX Maestro Dx SE avec vos informations d'identification Windows.
2. Ouvrir le fichier sécurisé.
3. Choisir File (Fichier) > File Passwords (Mots de passe de fichier). La boîte de dialogue File Passwords (Mots de passe de fichier) s'affiche.



4. Saisir les mots de passe dans les zones Save Password (Mot de passe d'enregistrement) et Open Password (Mot de passe d'ouverture).

**Conseil :** Par défaut, les mots de passe apparaissent sous forme d'astérisque lorsqu'ils sont saisis. Sélectionner Show Password (Afficher le mot de passe) pour afficher le mot de passe à mesure que vous le saisissez.

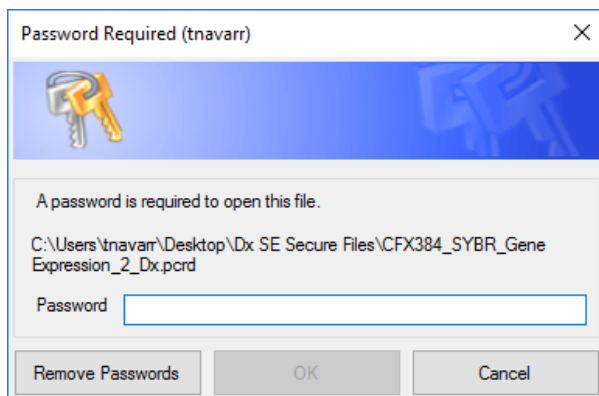
**Important :** Les mots de passe sont sensibles à la casse. CFX Maestro Dx SE ne fixe pas de limitations sur les mots de passe. Pour consulter les meilleures pratiques, consulter votre administrateur système afin de connaître les exigences en matière de mot de passe sur votre site.

5. Cliquer sur Set Passwords (Définir les mots de passe) pour définir les mots de passe et fermer la boîte de dialogue.
6. Choisir File (Fichier) > Save (Enregistrer) pour enregistrer les modifications apportées au fichier.

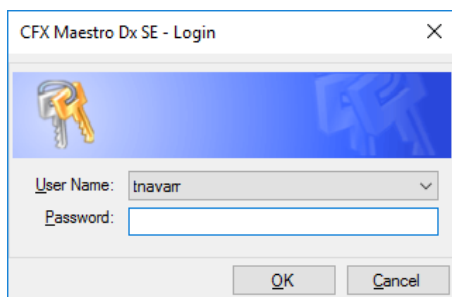
## Pour supprimer les mots de passe

**Important :** Vous devez être un administrateur CFX Maestro Dx SE pour supprimer les mots de passe.

1. Dans la boîte de dialogue Password Required (Mot de passe requis), cliquer sur Remove Passwords (Supprimer les mots de passe).



La boîte de dialogue Login (Connexion) de CFX Maestro Dx SE s'affiche.



2. Indiquer le nom d'utilisateur et le mot de passe Windows pour l'administrateur CFX Maestro Dx SE et cliquer sur OK.

Le fichier de données d'origine s'affiche.

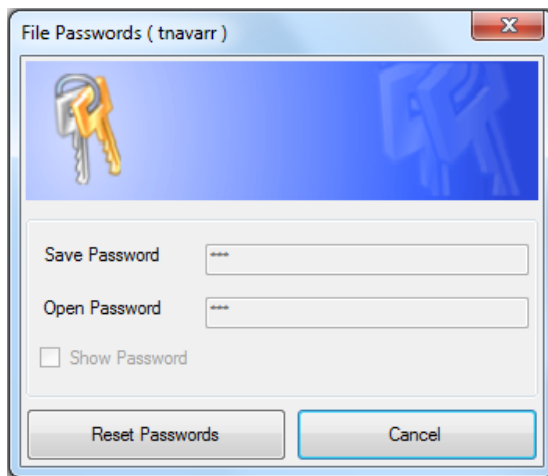
**Important :** Vous devez enregistrer le fichier pour supprimer les mots de passe.

3. Choisir File (Fichier) > Save (Enregistrer) pour enregistrer les modifications apportées au fichier.

### Pour modifier les mots de passe

**Important :** Seuls les administrateurs CFX Maestro Dx SE peuvent modifier les mots de passe.

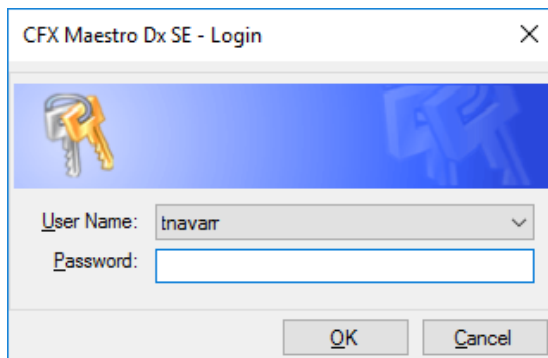
1. Ouvrir le fichier sécurisé.
2. Choisir File (Fichier) > File Passwords (Mots de passe de fichier). La boîte de dialogue File Passwords (Mots de passe de fichier) s'affiche.



**Conseil :** Les mots de passe d'enregistrement, d'ouverture et d'affichage sont désactivés.

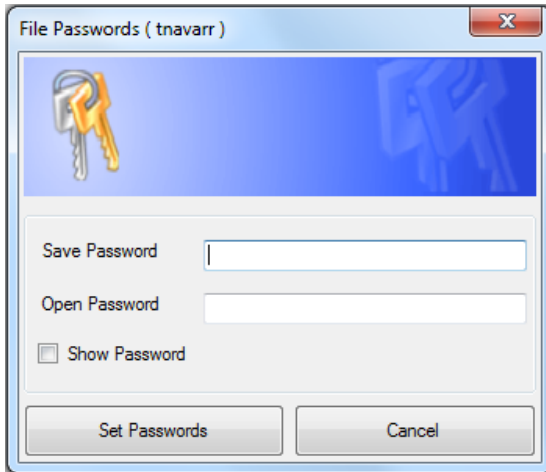
3. Cliquer sur Reset Passwords (Réinitialiser les mots de passe).

La boîte de dialogue Login (Connexion) de CFX Maestro Dx SE s'affiche.



4. Indiquer le nom d'utilisateur et le mot de passe Windows pour l'administrateur CFX Maestro Dx SE et cliquer sur OK.

La boîte de dialogue File Passwords (Mots de passe de fichier) s'affiche.



5. Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Pour réinitialiser la protection par mot de passe, saisir un nouveau mot de passe dans la zone de mot de passe appropriée.
  - Pour supprimer la protection par mot de passe, effacer les zones de mot de passe.
6. Cliquer sur Set Passwords (Définir les mots de passe) pour enregistrer les modifications de mot de passe et quitter la boîte de dialogue.



## Chapitre 5 L'espace de travail

Le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition fournit une interface qui permet de configurer les plaques, de mettre au point des protocoles de PCR et de les exécuter sur les appareils CFX Opus DxDeepwell Dx et d'analyser les données issues des séries de PCR.

CFX Maestro Dx SE se compose de cinq principaux espaces de travail :

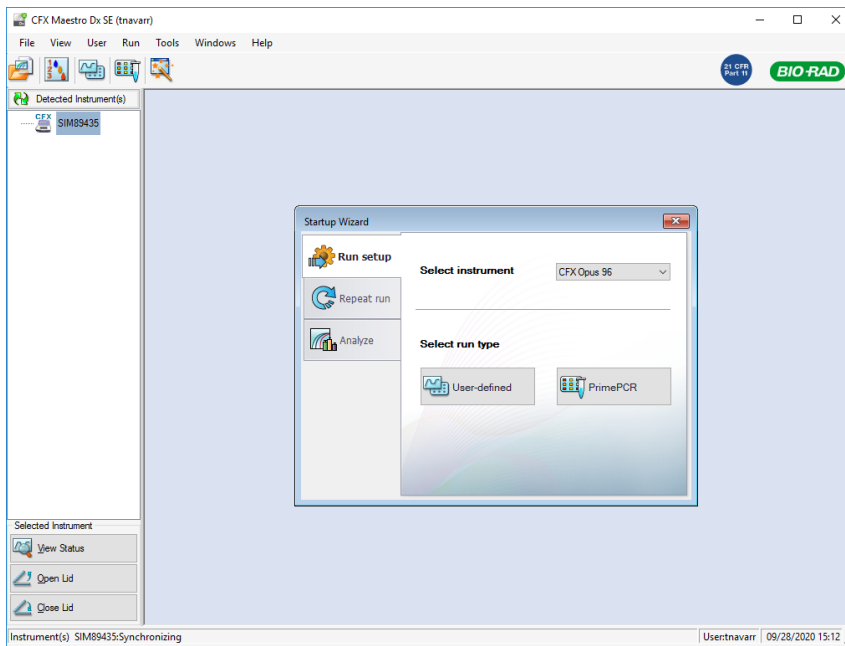
- La fenêtre d'accueil
- Le Startup Wizard (Assistant de démarrage)
- La fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole)
- La fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque)
- La fenêtre Data Analysis (Analyse de données)

Chaque espace de travail est reproduit et brièvement décrit dans chapitre.



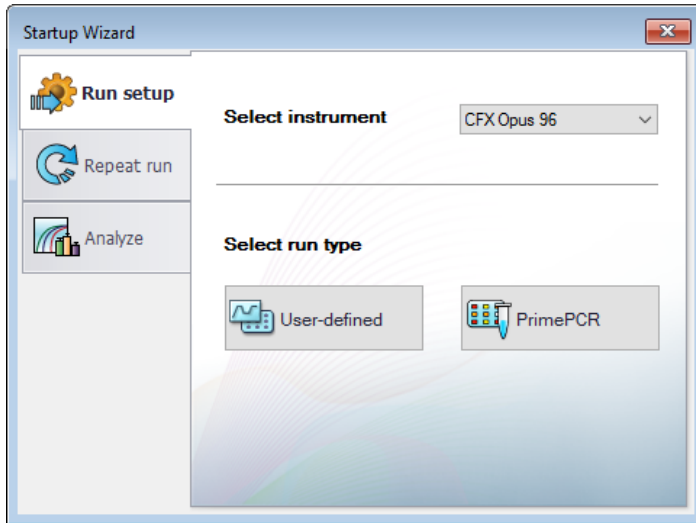
## La fenêtre d'accueil

Le logiciel CFX Maestro Dx SE s'ouvre dans la fenêtre d'accueil et affiche l'assistant de démarrage à partir duquel l'utilisateur peut configurer une expérience, réaliser ou répéter une série ou analyser une série existante. La fenêtre d'accueil permet par ailleurs d'afficher les logs des applications et des appareils, de créer et gérer les utilisateurs et d'accéder à une panoplie d'outils utiles. Pour de plus amples informations, consulter le [Chapitre 6, La fenêtre d'accueil](#).



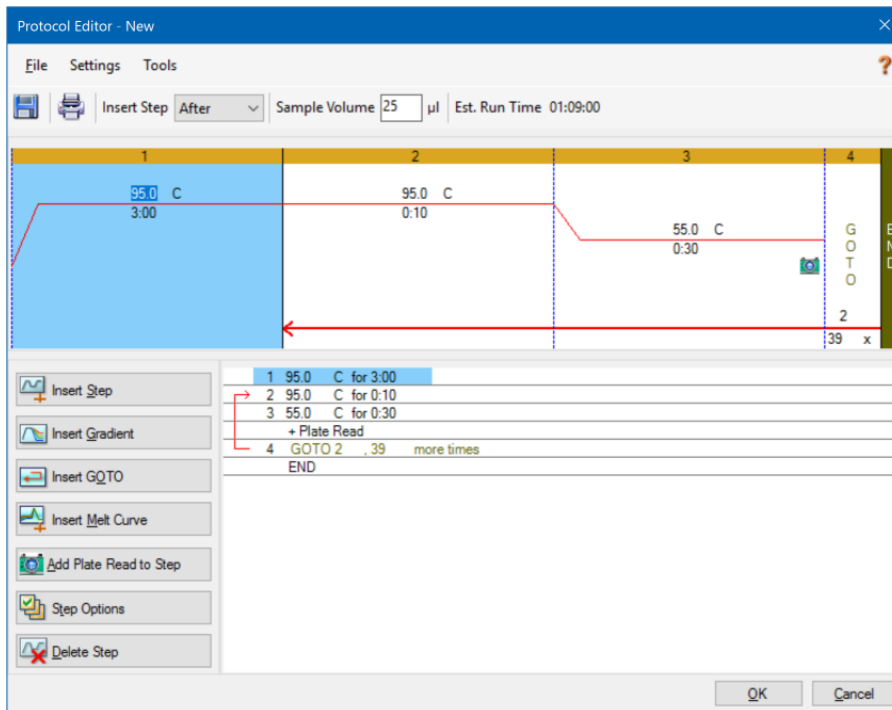
## Le Startup Wizard (Assistant de démarrage)

Utiliser l'assistant de démarrage pour rapidement configurer et effectuer des expériences définies par l'utilisateur ou sélectionner et effectuer une expérience PrimePCR. Il est également possible d'utiliser cet assistant pour répéter une série ou en analyser les données.



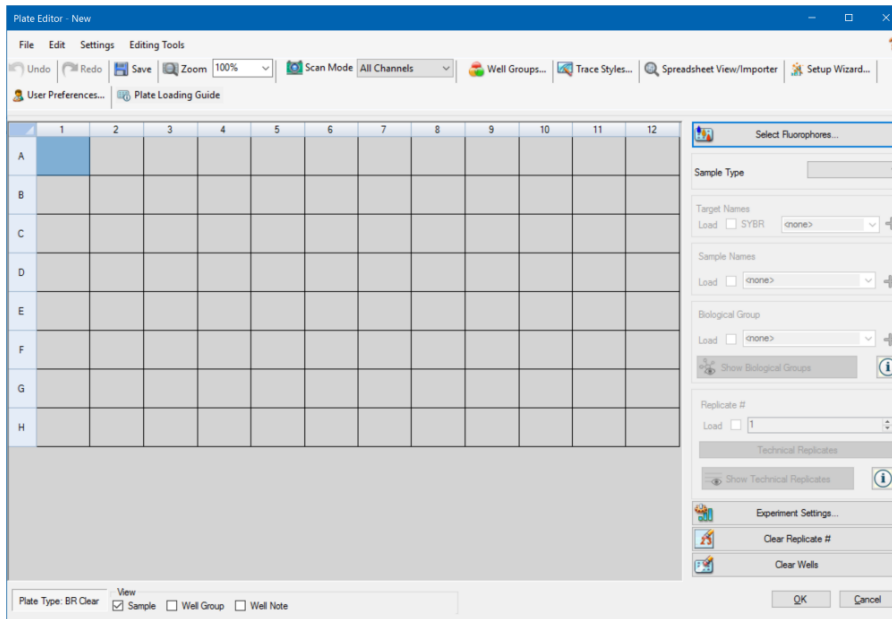
## La fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole)

Le Protocol Editor (Éditeur de protocole) permet de créer, d'ouvrir, d'examiner et de modifier un protocole. Il est également possible de modifier la température du couvercle pour le protocole ouvert. La fonctionnalité Protocol Editor (Éditeur de protocole) est décrite en détail au [Chapitre 7, Création de protocoles](#).



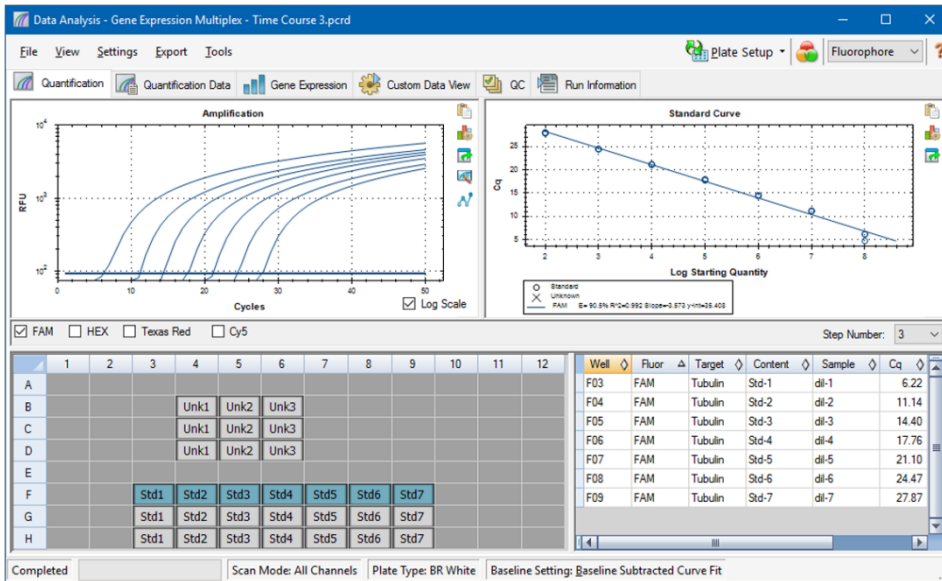
## La fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque)

Dans l'éditeur de plaque, il est possible de créer, ouvrir, passer en revue et modifier une plaque. La fonctionnalité de l'éditeur de plaque est détaillée dans le [Chapitre 8, Préparation des plaques](#).



## La fenêtre Data Analysis (Analyse de données)

La fenêtre Data Analysis (Analyse de données) permet d'afficher et de comparer les données d'une série, d'effectuer des analyses statistiques, d'exporter des données et de créer des rapports prêts à être publiés. La fonctionnalité Data Analysis (Analyse des données) est détaillée au [Chapitre 10, Présentation générale de l'analyse de données](#) et au [Chapitre 11, Détails de l'analyse de données](#).



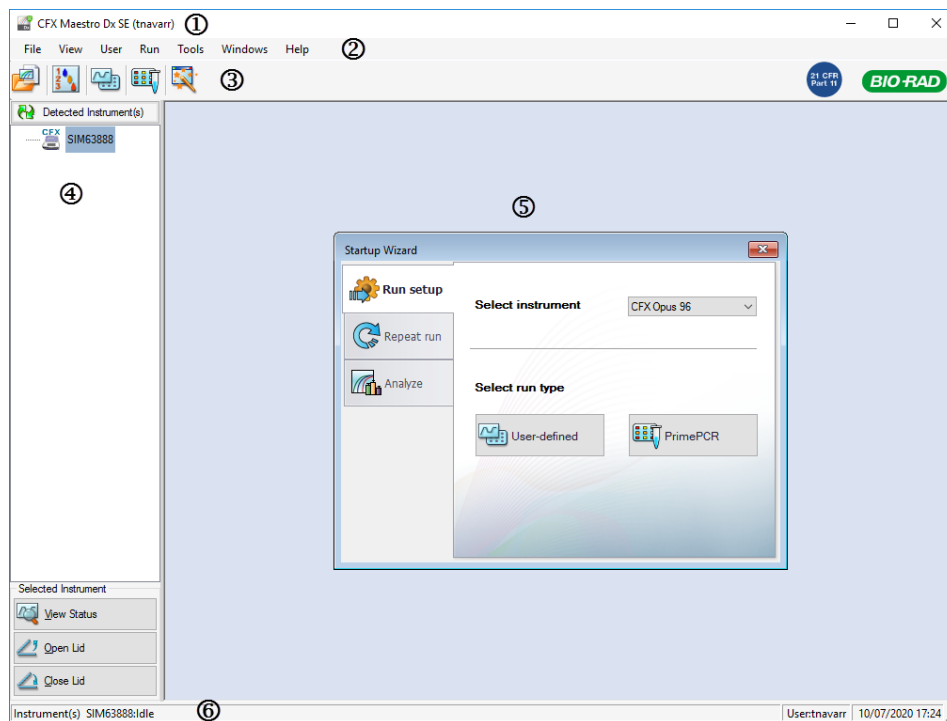
## Chapitre 6 La fenêtre d'accueil

Le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition fournit une interface qui permet de mettre au point des protocoles de PCR, de les exécuter sur les systèmes Dx CFX, et d'analyser les données issues des séries de PCR.

Ce chapitre présente le logiciel CFX Maestro Dx SE et explique les fonctionnalités accessibles depuis la fenêtre d'accueil.

## La fenêtre d'accueil

Le logiciel CFX Maestro Dx SE s'ouvre dans la fenêtre d'accueil et affiche l'assistant de démarrage à partir duquel l'utilisateur peut configurer une expérience, réaliser ou répéter une série ou analyser une série existante. La fenêtre d'accueil permet par ailleurs d'afficher les logs des applications et des appareils, de créer et gérer les utilisateurs et d'accéder à une panoplie d'outils utiles.



### LÉGENDE

1. La barre de titre du logiciel affiche le nom du logiciel et de l'utilisateur connecté.
2. La barre de menu offre un accès rapide aux commandes des menus File (Fichier), View (Affichage), Users (Utilisateurs), Run (Série), Tools (Outils), Window (Fenêtre) et Help (Aide).
3. Les commandes de la barre d'outils fournissent un accès rapide aux options de menu.
4. Le volet de gauche présente les appareils connectés à l'ordinateur CFX Maestro Dx SE et fournit des boutons qui permettent d'agir sur le couvercle et d'afficher l'état des appareils.
5. Le volet principal affiche la fenêtre de travail. La fenêtre de travail par défaut de l'écran d'accueil est Startup Wizard (Assistant de démarrage).

6. La barre d'état affiche les noms des appareils connectés et de l'utilisateur connecté.

## Commandes du menu File (Fichier)

**New (Nouveau)** — ouvre une boîte de dialogue à partir de laquelle un nouveau protocole, une nouvelle plaque ou une nouvelle étude des gènes peuvent être créés.

**Open (Ouvrir)** — ouvre une boîte de dialogue à partir de laquelle il est possible d'accéder à et d'ouvrir un protocole, une plaque, un fichier de données, une étude des gènes, un fichier LIMS existants, une série issue d'un appareil autonome (série autonome) ou un fichier de série PrimePCR™.

**Recent Data Files (Fichiers de données récents)** — affiche une liste des fichiers PCR récemment ouverts.

**Repeat a Run (Répéter une série)** — ouvre Windows Explorer à l'emplacement des fichiers PCR enregistrés, dans lesquels il est possible de rechercher une série qui doit être répétée.

**Exit (Quitter)** — ferme CFX Maestro Dx SE.

## Commandes du menu View (Affichage)

**Application Log (Journal des applications)** — permet d'afficher un journal d'utilisation du logiciel depuis son installation initiale jusqu'à la date actuelle.

**Run Reports (Rapports de séries)** — affiche une liste des rapports de séries.

**Startup Wizard (Assistant de démarrage)** — affiche l'assistant de démarrage dans le volet principal.

**Run Setup (Configuration de la série)** — affiche la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) dans le volet principal.

**Instrument Summary (Résumé des appareils)** — affiche la fenêtre Instrument Summary (Résumé des appareils) dans le volet principal.

**Detected Instruments (Appareils détectés)** — permet d'afficher ou de masquer les appareils connectés dans le volet de gauche. Par défaut, le logiciel affiche les appareils connectés dans le volet de gauche.

**Toolbar (Barre d'outils)** — permet d'afficher ou de masquer la barre d'outils en haut de l'écran. Par défaut, le logiciel affiche la barre d'outils.

**Status Bar (Barre d'état)** — permet d'afficher ou de masquer la barre d'état au bas de l'écran. Par défaut, le logiciel affiche la barre d'état.

**Show (Afficher)** — ouvre une boîte de dialogue à partir de laquelle l'utilisateur peut

- Afficher ou bloquer le journal d'état.



- Ouvrir et afficher le dossier de données de CFX Maestro Dx SE.
- Ouvrir et afficher le dossier de données de l'utilisateur.
- Ouvrir et afficher le dossier de fichiers du système LIMS.
- Ouvrir et afficher le dossier PrimePCR.
- Afficher l'historique des séries.
- Afficher les propriétés de l'ensemble des appareils connectés.

## Commandes du menu User (Utilisateur)

**Select User (Sélectionner l'utilisateur)** — ouvre l'écran Login sur lequel il est possible de sélectionner un utilisateur dans la liste déroulante User Name et se connecter à l'application.

**Change Password (Modifier le mot de passe)** — ouvre la boîte de dialogue Change Password dans laquelle les utilisateurs peuvent modifier leur mot de passe .

**Remarque :** Cette option est désactivée pour CFX Maestro Dx SE. Les utilisateurs doivent modifier leur mot de passe Windows pour modifier leur mot de passe CFX Maestro Dx SE.

**User Preferences (Préférences utilisateur)** — ouvre la boîte de dialogue User Preferences dans laquelle les utilisateurs peuvent modifier les paramètres par défaut pour

- L'envoi ou la réception d'une notification par e-mail à la fin de la série
- L'enregistrement de fichiers de données
- La création de protocoles via l'éditeur de protocole ou le rédacteur automatique de protocole
- La création de plaques
- L'analyse de données
- La réalisation d'une analyse de l'expression génique
- La détermination de la qualité des données
- L'exportation des données de l'appareil CFX

**User Administration (Administration des utilisateurs)** — ouvre la boîte de dialogue User Administration dans laquelle les administrateurs peuvent créer des utilisateurs, modifier les autorisations des rôles et attribuer des rôles aux utilisateurs.

**Service Login Bio-Rad (Connexion de service)** — usage réservé au personnel technique de Bio-Rad. Ne pas sélectionner cette commande.

## Commandes du menu Run (Série)

**User-defined Run (Série définie par l'utilisateur)** — ouvre la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) dans laquelle il est possible de configurer un protocole et une plaque définis par l'utilisateur puis d'effectuer une expérience de PCR sur l'appareil sélectionné.

**PrimePCR Run (Série PrimePCR)** — ouvre l'onglet Start Run (Démarrer la série) dans la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) avec le protocole PrimePCR par défaut et la disposition de plaque chargée sur la base de l'appareil sélectionné.

**End-Point Only Run (Série de point final uniquement)** — ouvre l'onglet Start Run (Démarrer la série) dans la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) avec le protocole de point final par défaut et la disposition de plaque chargée sur la base de l'appareil sélectionné.

**Qualification Run (Série de qualification)** — ouvre l'onglet Start Run (Démarrer la série) dans la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) avec le protocole de qualification Bio-Rad par défaut et la disposition de plaque chargée pour l'appareil sélectionné.

## Commandes du menu Tools (Outils)

**Master Mix Calculator (Calculateur du mélange principal)** — ouvre le calculateur du mélange principal dans lequel il est possible de créer un mélange réactionnel et d'imprimer les calculs.

**Protocol AutoWriter (Rédacteur automatique de protocole)** — ouvre la boîte de dialogue Protocol AutoWriter dans laquelle il est aisé de créer un nouveau protocole.

**T<sub>a</sub> Calculator (Calculateur T<sub>a</sub>)** — ouvre le calculateur T<sub>a</sub> dans lequel il est possible de facilement calculer la température de renaturation des amorces.

**Dye Calibration Wizard (Assistant d'étalonnage des fluorophores)** — ouvre l'assistant d'étalonnage des fluorophores dans lequel il est possible d'étalonner un appareil pour un nouveau fluorophore.

**Reinstall Instrument Drivers (Réinstaller les pilotes de l'appareil)** — réinstalle les pilotes qui contrôlent la communication avec les systèmes de PCR en temps réel de Bio-Rad.

**Zip Data and Log Files (Compresser les données et les fichiers logs)** — ouvre une boîte de dialogue dans laquelle il est possible de sélectionner les fichiers à compresser et à enregistrer dans un fichier zippé pour stockage ou envoi par e-mail.

**Batch Analysis (Analyse par lots)** — ouvre la boîte de dialogue Batch Analysis dans laquelle il est possible de définir les paramètres pour l'analyse de plusieurs fichiers de données en même temps.

**Options** — ouvre une boîte de dialogue dans laquelle il est possible de

- Configurer les paramètres du serveur de messagerie
- Configurer les paramètres d'exportation pour LIMS, Seegene et d'autres fichiers de données

**Conseil :** Vous pouvez également sélectionner l'option permettant de démarrer automatiquement la visionneuse Seegene une fois l'exportation terminée si vous choisissez d'exporter vos données au format Seegene.

- Modifier la langue d'affichage de l'interface utilisateur (anglais, chinois, russe)

**Important :** Vous devez redémarrer CFX Maestro Dx SE pour afficher la langue sélectionnée.

**Important :** La langue de votre système d'exploitation doit correspondre à la langue que vous souhaitez afficher dans l'interface de CFX Maestro Dx SE.

## Commandes du menu Help (Aide)

**Conseil :** Le menu Help (Aide) est disponible sur la barre de menu dans toutes les fenêtres du logiciel CFX Maestro Dx SE.

**Contents (Contenu)** — affiche l'onglet Contents (Sommaire) dans le système Help (Aide) du logiciel CFX Maestro Dx SE.

**Index** — affiche l'onglet Index dans le système Help (Aide) de CFX Maestro Dx SE.

**Search (Rechercher)** — affiche l'onglet Search (Rechercher) dans le système Help (Aide) du logiciel CFX Maestro Dx SE.

**Open User Guide (Ouvrir le guide d'utilisation)** — ouvre ce guide au format PDF.

**Additional Documentation (Documentation supplémentaire)** — donne accès au manuel d'utilisation des systèmes de PCR en temps réel CFX Opus Dx.

**Release Notes (Notes de mise à jour)** — Ouvre le document Notes de mise à jour pour la version installée de CFX Maestro Dx SE.

**Video Ressources (Ressources vidéo)** — permet d'accéder à un site web qui héberge des ressources vidéo sur Bio-Rad, telles que des vidéos d'instructions.

**Site web des applications et technologies de la PCRq** — permet d'accéder au site des applications et technologies de la qPCR de Bio-Rad où l'utilisateur pourra obtenir des informations complémentaires sur la PCR en temps réel.

**Site web des réactifs de PCR** — permet d'accéder au site web des réactifs de PCR et de qPCR de Bio-Rad pour pouvoir commander des réactifs, des SuperMix, des fluorophores et des kits de PCR.

**Site web des consommables plastique de PCR** — permet d'accéder au site web des consommables plastique de PCR de Bio-Rad pour pouvoir commander des plaques, des films adhésifs, des tubes et des bouchons et autres accessoires pour la PCR.

**Site web du logiciel** — permet d'accéder au site web du logiciel d'analyse de la PCR de Bio-Rad pour pouvoir commander les versions mises à jour de CFX Maestro Dx SE de Bio-Rad.

**About (À propos)** — affiche les informations relatives au copyright et à la version de CFX Maestro Dx SE.

## Commandes de la barre d'outils



— ouvre Windows Explorer, où il est possible d'accéder à un fichier de données ou à un fichier d'étude des gènes et de l'ouvrir.



— ouvre le calculateur du mélange principal.



— ouvre la fenêtre Run Setup (Configuration de la série).



— ouvre la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) avec le protocole PrimePCR par défaut et la disposition de plaque chargée sur la base de l'appareil sélectionné.

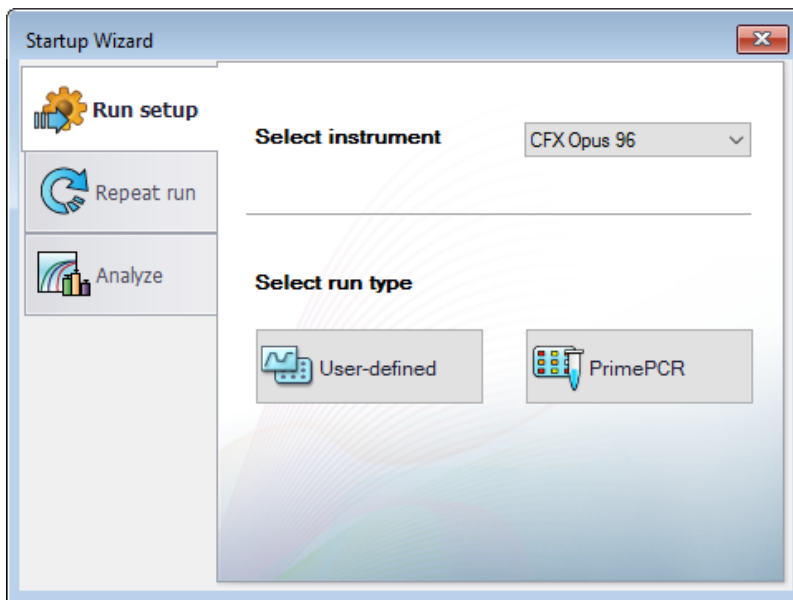


— ouvre le Startup Wizard (Assistant de démarrage).

## Le Startup Wizard (Assistant de démarrage)

Lorsque CFX Maestro Dx SE démarre, le volet de travail affiche l'assistant de démarrage. À partir de l'assistant de démarrage, il est possible de :

- Sélectionner un appareil parmi les appareils détectés et configurer une série définie par l'utilisateur ou PrimePCR
- Ouvrir et répéter une série
- Ouvrir un fichier de données pour analyser les résultats d'une série unique ou un fichier d'étude des gènes pour les résultats de plusieurs séries d'expression génique



Ces tâches sont expliquées en détail dans les chapitres suivants.

## Barre d'état

Le côté gauche de la barre d'état au pied de la fenêtre principale du logiciel affiche l'état actuel des appareils détectés. Le côté droit affiche le nom de l'utilisateur en cours ainsi que la date et l'heure.

## Volet Detected Instruments (Appareils détectés)

Le volet Detected Instruments (Appareils détectés) affiche chacun des appareils connectés à l'ordinateur CFX Maestro Dx SE. Par défaut, chaque appareil se présente sous la forme d'une icône, et son numéro de série apparaît comme son nom.

À partir de ce volet, vous pouvez

- Afficher les propriétés et les fluorophores calibrés pour l'appareil sélectionné.

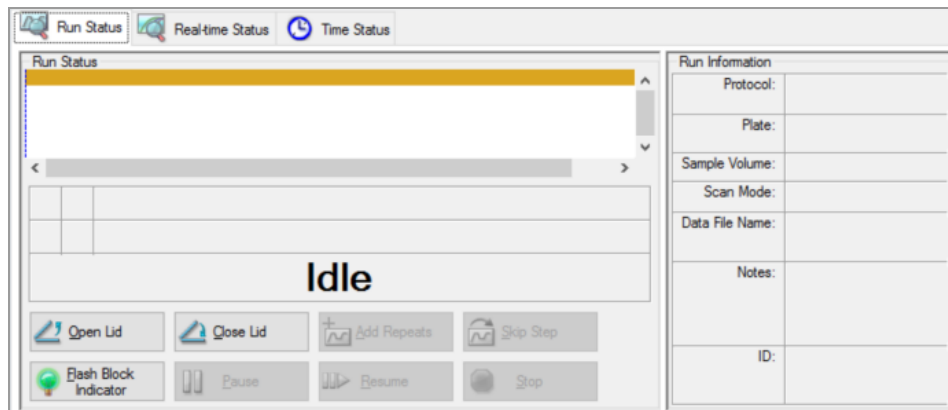
Pour obtenir des informations sur les propriétés de l'appareil, consulter la section [Visualisation des propriétés d'un appareil à la page 80](#).

- Afficher l'état d'un appareil connecté
- Ouvrir le couvercle motorisé sur l'appareil sélectionné
- Fermer le couvercle motorisé sur l'appareil sélectionné
- Afficher l'état de tous les appareils connectés

### Pour afficher l'état d'un appareil connecté

- ▶ Dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés), sélectionner l'appareil cible et effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Cliquer sur View Status (Afficher l'état) dans la section Selected Instrument (Appareil sélectionné).
  - Cliquer avec le bouton droit et sélectionner View Status (Afficher l'état) sur le menu qui s'affiche.

La boîte de dialogue Run Details (Détails de la série) apparaît, affichant l'onglet Run Status (État de la série). L'état de l'appareil sélectionné apparaît sous le volet d'état de la série, par exemple :



### **Pour ouvrir ou fermer le couvercle d'un appareil**

- ▶ Dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés), sélectionner l'appareil cible et effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Cliquer sur Open Lid (Ouvrir le couvercle) ou Close Lid (Fermer le couvercle) dans la section Selected Instrument (Appareil sélectionné).
  - Cliquer avec le bouton droit et sélectionner l'action appropriée sur le menu qui s'affiche.
  - Ouvrir la boîte de dialogue Run Details (Détails de la série), sélectionner l'onglet Run Status (État de la série) et cliquer sur Open Lid (Ouvrir le couvercle) ou Close Lid (Fermer le couvercle).

### **Pour afficher l'état de tous les appareils connectés**

- ▶ Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Dans la section All Instruments (Tous les instruments) du volet Detected Instruments (Appareils détectés), cliquer sur View Summary (Afficher le résumé).
  - Dans la barre d'outils, sélectionner View (Afficher) > Instrument Summary (Résumé de l'appareil).


La boîte de dialogue Instrument Summary (Résumé de l'appareil) s'affiche.

**Conseil :** Si l'appareil ne détecte qu'un seul appareil connecté, la section All Instruments (Tous les instruments) ne s'affiche pas dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés). Pour afficher le résumé de l'appareil pour un seul appareil, sélectionner View (Afficher) > Instrument Summary (Résumé de l'appareil).

## Commandes de la barre d'outils Instrument Summary (Résumé de l'appareil)

Le [Tableau 5](#) répertorie les commandes et les fonctions dans la barre de données Instrument Summary (Résumé de l'appareil).

**Tableau 5. Commandes de la barre d'outils Instrument Summary (Résumé de l'appareil)**

Bouton	Nom du bouton	Fonction
	Create a new Run (Créer une nouvelle série)	Crée une série sur le bloc sélectionné en ouvrant la fenêtre Run Setup (Configuration de la série).
	Stop (Arrêt)	Arrête la série en cours sur les blocs sélectionnés.
	Pause	Met en pause la série en cours sur les blocs sélectionnés.
	Resume (Reprendre)	Reprend la série sur les blocs sélectionnés.
	Flash Block Indicator (Clignotant du témoin de bloc)	Fait clignoter le voyant sur le couvercle des blocs sélectionnés.
	Open Lid (Ouvrir le couvercle)	Ouvre le couvercle motorisé du bloc sélectionné.
	Close Lid (Fermer le couvercle)	Ferme le couvercle motorisé du bloc sélectionné.
	Hide Selected Blocks (Masquer les blocs sélectionnés)	Masque les blocs sélectionnés dans la liste Instrument Summary (Résumé de l'appareil)
	Show All Blocks (Afficher tous les blocs)	Affiche les blocs sélectionnés dans la liste Instrument Summary (Résumé de l'appareil)
	Show (Afficher)	Sélectionner les blocs à afficher dans la liste. Sélectionner l'une des options pour afficher tous les blocs détectés, tous les blocs inactifs, tous les blocs qui sont analysés avec l'utilisateur actuel ou tous les blocs en cours d'analyse



## Visualisation des propriétés d'un appareil

À partir du volet Detected Instruments (Appareils détectés), il est possible de visualiser les détails sur un appareil sélectionné, y compris ses propriétés, l'état de sa vis de transport (appareils CFX Connect et CFX Touch uniquement) et une liste de ses fluorophores calibrés.

### Pour visualiser les propriétés d'un appareil

- Dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés), faire un clic droit sur l'instrument concerné et sélectionner Properties (Propriétés) dans le menu qui apparaît.

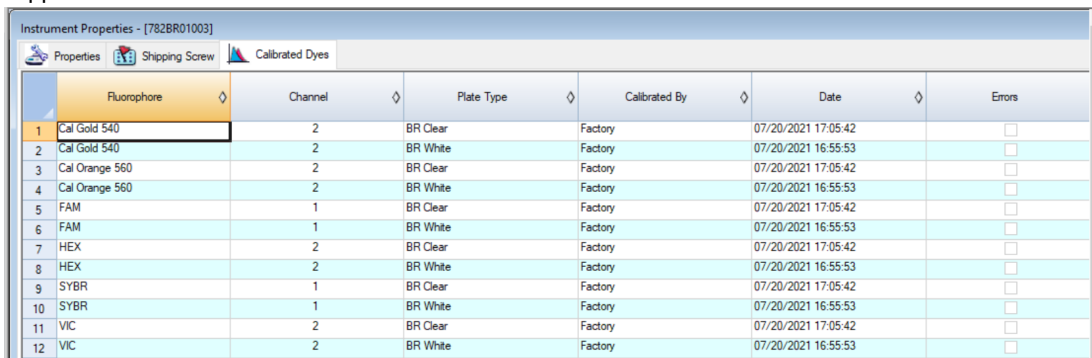
### Onglet Properties (Propriétés)

L'onglet Properties répertorie les détails techniques sur l'appareil sélectionné, y compris le modèle, les numéros de série de ses composants et les versions des logiciels. Le nom par défaut de l'appareil (son numéro de série) apparaît à de nombreux endroits, y compris dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés) et dans la barre d'en-tête de la boîte de dialogue Instrument Properties (Propriétés de l'appareil). Il est possible de renommer l'appareil pour mieux l'identifier.

**Remarque :** Vous ne pouvez pas modifier le nom de l'appareil CFX Opus à l'aide de CFX Maestro.

### Onglet Calibrated Dyes (fluorophores calibrés)

L'onglet Calibrated Dyes (Fluorophores calibrés) affiche les fluorophores et les plaques calibrés pour l'appareil sélectionné.



	Fluorophore	Channel	Plate Type	Calibrated By	Date	Errors
1	Cal Gold 540	2	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
2	Cal Gold 540	2	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
3	Cal Orange 560	2	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
4	Cal Orange 560	2	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
5	FAM	1	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
6	FAM	1	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
7	HEX	2	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
8	HEX	2	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
9	SYBR	1	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
10	SYBR	1	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>
11	VIC	2	BR Clear	Factory	07/20/2021 17:05:42	<input type="checkbox"/>
12	VIC	2	BR White	Factory	07/20/2021 16:55:53	<input type="checkbox"/>

Pour voir les informations détaillées sur une calibration, cliquer sur le bouton Info (Informations) dans la colonne Detail (Détails).

## Avant de commencer

Cette section explique les tâches que vous devrez peut-être effectuer avant d'utiliser CFX Maestro Dx SE. Ceci comprend

- Création d'un mélange réactionnel pour réaction
- Calibration de nouveaux fluorophores

### Création d'un mélange réactionnel pour réaction

À l'aide du calculateur du mélange réactionnel de CFX Maestro Dx SE, il est facile de calculer le volume requis de chaque composant dans le mélange réactionnel. Il est possible d'imprimer le tableau de calcul du mélange réactionnel sur l'imprimante par défaut et d'enregistrer les calculs pour chaque cible pour usage ultérieur.

#### **Pour créer un mélange réactionnel pour réaction à l'aide du calculateur du mélange réactionnel**

1. Pour ouvrir le calculateur du mélange réactionnel, procéder de l'une des façons suivantes :
  - Sélectionner Tools (Outils) > Master Mix Calculator (Calculateur du mélange réactionnel).
  - Cliquer sur Master Mix Calculator dans la barre d'outils.

Le calculateur du mélange réactionnel s'affiche.

Component	Volume Per Reaction (µl)	Total Volume for 96 Reactions + (5)%
*		

2. Dans la section Reaction (Réaction), sélectionner une méthode de détection :
  - SYBR® Green/EvaGreen®
  - Probes (Sondes)
3. Pour créer une nouvelle cible, dans la section Target (Cible), cliquer sur Create New (Créer nouvelle). Le nom d'une nouvelle cible apparaît dans la liste déroulante des cibles.
4. (Facultatif) Pour changer le nom de cible par défaut :
  - a. Mettre le nom de la cible en surbrillance dans la liste déroulante.
  - b. Saisir un nouveau nom dans la zone Target (Cible).
  - c. Appuyer sur la touche Entrée.
5. Ajuster les concentrations initiale et finale pour les amorces sens et anti-sens et les éventuelles sondes.

6. Dans la section Master Mix Setup (Configuration du mélange réactionnel), ajuster les valeurs pour
  - le nombre de réactions à exécuter,
  - le volume de réaction par puits,
  - le volume de matrice par puits,
  - la concentration supermix par puits,
  - le volume de réaction excédentaire par puits.
7. (Facultatif) Effectuer les étapes 2 à 6 pour autant de cibles que nécessaire.

8. Dans la section Choose Target to Calculate (Sélectionner la cible à calculer), sélectionner la cible à calculer.

**Conseil** : Il est possible de calculer simultanément une seule, plusieurs ou l'ensemble des cibles.

Les volumes calculés des composants requis pour chaque cible sélectionnée apparaissent dans le tableau du mélange réactionnel.

9. Cliquer sur Set as Default (Définir par défaut) pour définir comme nouvelles valeurs par défaut la saisie des quantités dans les sections Target (Cible) et Master Mix Setup (Configuration du mélange réactionnel).
10. Cliquer sur OK pour enregistrer le contenu de la boîte de dialogue Master Mix Calculator.

#### **Pour imprimer le tableau des calculs du mélange réactionnel**

- ▶ Pour imprimer un tableau des calculs du mélange réactionnel, cliquer sur Print (Imprimer).

Le tableau des calculs s'imprime sur l'imprimante par défaut.

#### **Pour enregistrer le tableau des calculs du mélange réactionnel au format PDF**

- ▶ Remplacer l'imprimante par défaut par un pilote PDF puis cliquer sur Print (Imprimer) dans la boîte de dialogue Master Mix Calculator.

#### **Pour supprimer des cibles**

- ▶ Sélectionner la cible dans la liste déroulante puis cliquer sur Remove (Supprimer).

**Important** : La suppression d'une cible de la liste des cibles la supprime aussi de tous les calculs de mélange réactionnel où elle est éventuellement utilisée. L'utilisateur doit supprimer une cible avec prudence.

## Calibration de nouveaux fluorophores

Les systèmes CFX Opus 96 Dx et CFX Opus Deepwell Dx sont calibrés en usine pour les fluorophores couramment utilisés dans les plaques à puits blancs et les plaques à puits clairs. Les systèmes CFX Opus 384 Dx sont calibrés en usine pour les fluorophores couramment utilisés sur les plaques à puits blancs uniquement. Le [Tableau 6](#) présente les fluorophores, ainsi que le canal pour lesquels chaque appareil est calibré.

**Remarque :** Les systèmes CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx et CFX Opus Deepwell Dx comprennent également un canal dédié à la chimie FRET. Ce canal ne nécessite pas de calibration pour des colorants spécifiques.

**Important :** Si vous effectuez une calibration définie par l'utilisateur d'un fluorophore qui a été calibré en usine, l'appareil utilise la calibration définie par l'utilisateur au lieu de la calibration usine.

**Tableau 6. Fluorophores, canaux et appareils étalonnés en usine**

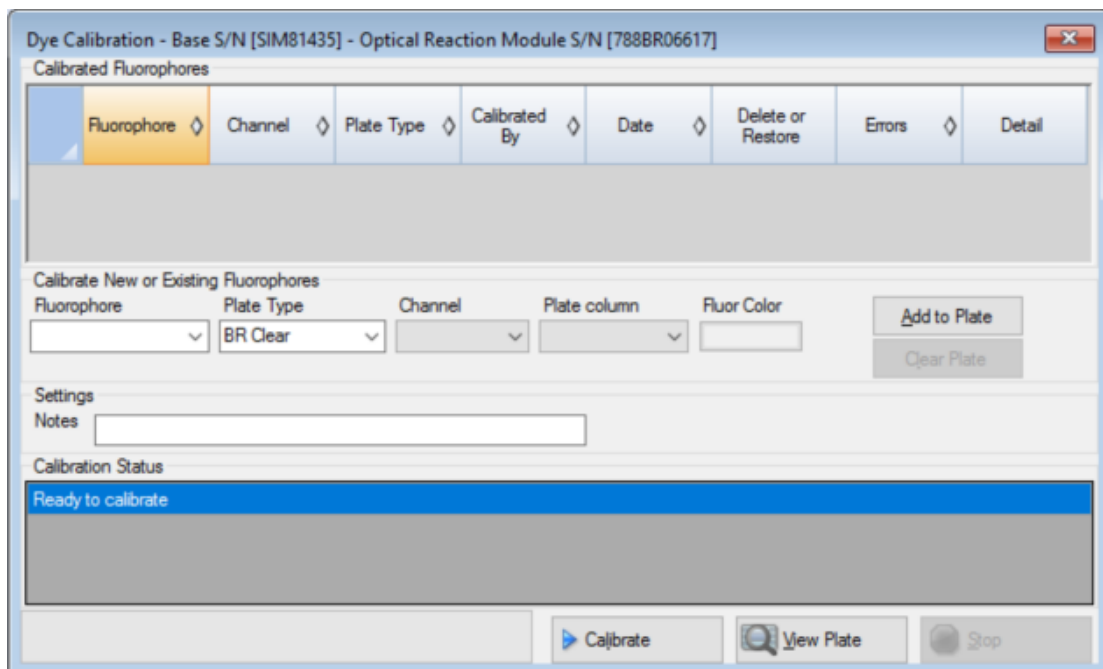
Fluorophores	Canal	Excitation, nm	Détection, nm	Appareil
FAM, SYBR® Green I	1	450–490	515–530	Systèmes CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx et CFX Opus Deepwell Dx
VIC, HEX, CAL Fluor Gold 540, Cal Fluor Orange 560	2	515–535	560–580	Systèmes CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx et CFX Opus Deepwell Dx
ROX, Texas Red, CAL Fluor Red 610, TEX 615	3	560–590	610–650	Systèmes CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx et CFX Opus Deepwell Dx
Cy5, Quasar 670	4	620–650	675–690	Systèmes CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx et CFX Opus Deepwell Dx
Quasar 705, Cy5.5	5	672–684	705–730	Systèmes CFX Opus 96 Dx uniquement

**Chimie FRET (non calibrée en usine)**

Fluorophores	Canal	Excitation, nm	Détection, nm	Appareil
Couleur non calibrée en usine	FRET	450–490	560-580	Systèmes CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx et CFX Opus Deepwell Dx

### Pour calibrer de nouveaux fluorophores pour les systèmes CFX

1. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner un appareil cible dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés).
2. Sélectionner Tools (Outils) > Calibration Wizard (Assistant d'étalonnage) pour ouvrir le Dye Calibration wizard (Assistant de calibration des fluorophores).



Les fluorophores déjà calibrés pour l'appareil cible apparaissent dans le tableau Calibrated Fluorophores (Fluorophores calibrés).

3. Dans la section Calibrate New or Existing Fluorophores (Calibrer les fluorophores nouveaux ou existants), sélectionner le fluorophore à calibrer dans la liste déroulante.

Si le nom du fluorophore ne figure pas dans la liste, saisir son nom dans la zone de texte pour l'ajouter à la liste.

**Important :** L'utilisateur doit nommer les fluorophores calibrés de manière personnalisée avec prudence. Si vous créez une calibration de fluorophore personnalisée pour un fluorophore portant le même nom qu'un fluorophore calibré en usine, le fluorophore personnalisé (et non le fluorophore calibré en usine) sera celui utilisé par l'instrument pendant les analyses.

4. Sélectionner le type de plaque pour le fluorophore.  
  
Si le type de plaque ne figure pas dans la liste, saisir le nom dans la zone de texte pour l'ajouter à la liste.
5. Sélectionner un canal pour le fluorophore.
6. Sélectionner une colonne de plaque pour le fluorophore.
7. (Facultatif) Saisir une couleur à associer au fluorophore.
8. Cliquer sur Add to Plate (Ajouter à la plaque) pour ajouter le fluorophore.
9. (Facultatif) Recommencer les étapes 3 à 8 pour ajouter chaque fluorophore que l'on prévoit de calibrer pour la plaque.
10. Une fois l'ajout des fluorophores terminé, cliquer sur View Plate (Afficher la plaque) pour ouvrir la fenêtre Pure Dye Plate Display (Affichage de la plaque de colorant pur).  
  
Utiliser cette fenêtre comme guide pour charger les fluorophores dans la plaque.
11. Préparer une plaque 96 puits, 384 puits ou puits profond pour la calibration des fluorophores :
  - a. Pipeter la solution de fluorophore dans chaque puits, en suivant le schéma reproduit dans la fenêtre Pure Dye Plate Display (Affichage de la plaque de fluorophore pur).
  - b. Pour chaque fluorophore, remplir quatre puits avec 50 µl (plaque 96 puits ou puits profond), 30 µl (plaque 384 puits) de solution de colorant 300 nM. Noter que la moitié de la plaque au moins contient des puits vides.
  - c. Sceller la plaque à l'aide de la méthode de scellage qui sera utilisée au cours de l'expérience.
12. Placer la plaque de calibration dans le bloc et fermer le couvercle.
13. Dans le Dye Calibration wizard (Assistant de calibration des fluorophores), cliquer sur Calibrate (Calibrer), puis sur OK pour confirmer que la plaque se trouve dans le bloc.
14. Lorsque le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition termine la calibration, une boîte de dialogue apparaît. Cliquer sur Yes (Oui) pour terminer la calibration et ouvrir la visionneuse de calibration des fluorophores.
15. Cliquer sur OK pour fermer la fenêtre.

## Définition des préférences utilisateur

**Conseil :** la réalisation de ces tâches n'est pas obligatoire pour pouvoir utiliser le logiciel CFX Maestro Dx SE. Il est possible d'ignorer cette section ou d'effectuer ces tâches à tout moment.

Dans CFX Maestro Dx SE, chaque utilisateur peut personnaliser son environnement de travail. Par exemple, dans le menu Users (Utilisateurs) > User Preferences (Préférences utilisateur), il est possible d'effectuer les opérations suivantes :

- Configurer une notification par e-mail à la fin de la série.

**Remarque :** Cette fonctionnalité n'est disponible que pour les utilisateurs dont le rôle leur fournit ce droit. Consultez [Gestion des rôles d'utilisateur du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition à la page 48](#) pour plus d'informations.

- Modifier les paramètres par défaut pour
  - L'emplacement pour l'enregistrement des fichiers
  - Les fichiers de configuration de la série
  - Le préfixe d'affectation des noms de fichier
- Définir les paramètres par défaut à utiliser lors de la création d'un nouveau protocole et d'une nouvelle plaque.
- Définir les paramètres d'analyse de données et d'expression génique par défaut.
- Personnaliser les paramètres de contrôle qualité par défaut.
- Personnaliser les paramètres d'exportation des données.

Dans le menu Tools (Outils), effectuer l'une des opérations suivantes :

- Créer un mélange master mix.
- Étalonner les fluorophores pour un appareil spécifique.

**Remarque :** Le mélange master mix et la calibration des fluorophores sont disponibles à tout utilisateur qui se connecte au logiciel.

Cette section explique comment réaliser ces tâches.

### Configuration de la notification par e-mail

Il est possible de connecter CFX Maestro Dx SE à son serveur de messagerie sortant pour envoyer par e-mail à une liste d'utilisateurs des notifications des séries effectuées. L'on peut aussi choisir de joindre un fichier de données et un rapport d'analyse à la liste des utilisateurs. Pour configurer la connexion entre



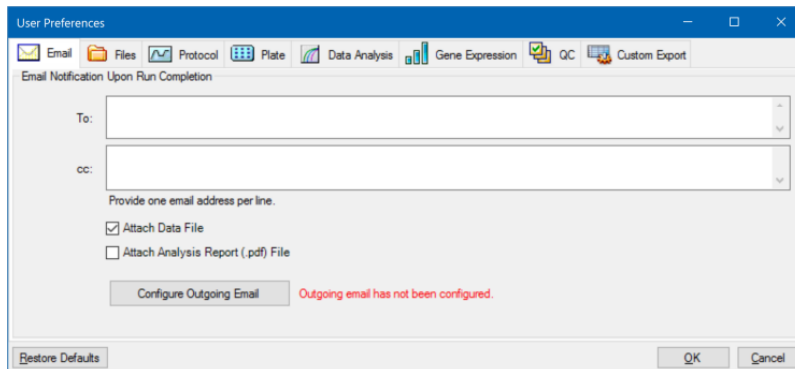
CFX Maestro Dx SE et le serveur SMTP, voir [Connexion de Security Edition à un serveur SMTP à la page 89](#).

**Remarque :** La possibilité pour un utilisateur d'accéder aux fonctions de configuration de la messagerie dépend du rôle de l'utilisateur et des autorisations accordées par l'administrateur. Pour les détails sur la gestion des utilisateurs et leurs rôles, consultez [Gestion des rôles d'utilisateur du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition à la page 48](#).

### Pour configurer les notifications par e-mail

1. Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).

La boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) apparaît et affiche l'onglet Email (E-mail).



**Remarque :** L'utilisateur est informé si le système détecte qu'aucun serveur SMTP valide n'a pas été configuré pour CFX Maestro Dx SE. Cliquer sur Configure Outgoing Email (Configurer le courrier sortant) pour ouvrir la boîte de dialogue Options et configurer le serveur SMTP. Pour de plus amples informations, voir [Connexion de Security Edition à un serveur SMTP à la page 89](#).

2. Dans la zone de texte To (À), saisir l'adresse e-mail de chaque personne devant être informée des séries effectuées. Tous les destinataires recevront un e-mail une fois la série terminée.

**Remarque :** Chaque adresse e-mail doit être saisie sur une ligne distincte. Appuyer sur Entrée ou Retour après chaque adresse.

3. (Facultatif) Dans la zone de texte Cc, saisir l'adresse e-mail de tout destinataire auquel il est prévu d'envoyer une copie de chaque notification par e-mail.
4. (Facultatif) Par défaut, tous les destinataires reçoivent une copie du fichier de données en pièce jointe. Décocher cette case pour ne pas joindre une copie du fichier de données.
5. (Facultatif) Sélectionner Attach Analysis Report pour joindre un PDF du rapport d'analyse à l'e-mail.

6. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue User Preferences.

**Remarque :** Il se peut que vous puissiez configurer le système de manière à ce qu'il envoie une notification par e-mail à votre téléphone portable, en fonction de votre fournisseur de services. Contactez votre fournisseur de services de téléphonie mobile pour obtenir des informations spécifiques concernant l'adresse e-mail de votre téléphone portable. Saisissez l'adresse e-mail de votre téléphone (par exemple, 5552221234@your\_service\_provider\_EmailDomain.net) dans la zone de texte To (Destinataire) de l'écran User Preferences (Préférences utilisateur).

#### **Pour modifier l'adresse e-mail d'un destinataire**

- Le cas échéant, modifier l'adresse e-mail puis cliquer sur OK.

#### **Pour supprimer l'adresse e-mail d'un destinataire**

1. Sélectionner le destinataire puis appuyer sur la touche Suppr.
2. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

**Important :** Le fait de cliquer sur Restore Defaults (Rétablir paramètres par défaut) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) rétablit les paramètres d'usine d'origine pour toutes les préférences de tous les onglets. L'utilisateur doit appuyer sur cette touche avec prudence.

### **Connexion de Security Edition à un serveur SMTP**

**Important :** Certains fournisseurs de services de messagerie Web commerciaux ont amélioré la sécurité des messageries. En cas d'utilisation de ces comptes, il faut d'abord activer l'option **Allow less secure apps (Autoriser les applications moins sécurisées)** dans les paramètres de son compte pour autoriser CFX Maestro Dx SE à envoyer des e-mails. Pour plus d'informations, consulter les informations relatives à la sécurité de son fournisseur de services de messagerie.

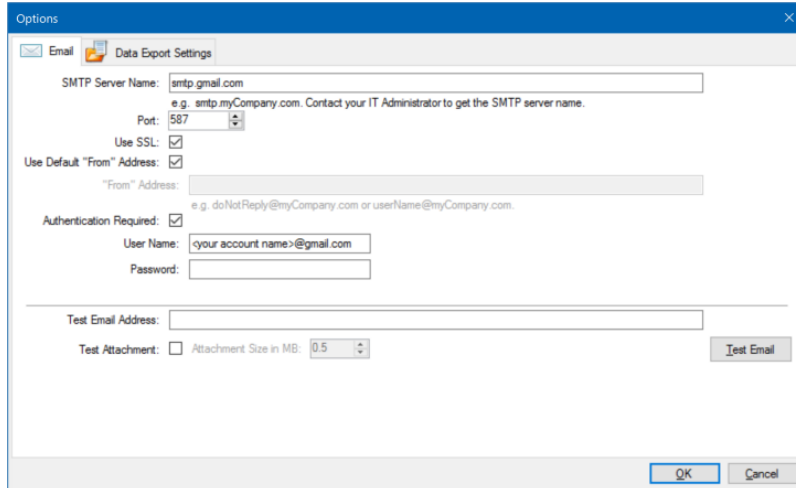
Si vous utilisez le serveur SMTP de Google Gmail ou de Microsoft Office 365 pour envoyer des e-mails, vous devez activer une vérification à 2 facteurs et générer un « mot de passe d'application » dans les paramètres de votre compte Gmail ou Office365. Pour l'authentification dans la boîte de dialogue Maestro Email Setup (Configuration de la messagerie Maestro), copiez et collez le « mot de passe d'application » dans le champ Password (Mot de passe) au lieu du mot de passe normal de messagerie.

Il faut établir une connexion entre CFX Maestro Dx SE et le serveur de messagerie avant que le logiciel ne puisse envoyer des notifications par e-mail.

#### **Pour connecter CFX Maestro Dx SE à un serveur de messagerie**

1. Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) puis cliquer sur Configure Outgoing Email (Configurer le courrier sortant) dans l'onglet Email.
  - Sélectionner Tools (Outils) > Options.

La boîte de dialogue Options s'affiche, affichant l'onglet Email (E-mail).



2. Fournir les informations suivantes pour sa société :

- **SMTP Server Name (Nom du serveur SMTP)** — nom du serveur de courrier sortant de la société.
- **Port** — numéro de port du serveur SMTP. Il s'agit généralement du numéro 25.
- **Use SSL (Utiliser SSL)** — Option Secure Sockets Layer (SSL). Certains serveurs SMTP exigent cette option. Si cela n'est pas le cas pour la société concernée, décocher cette case.
- **Use Default "From" Address (Utiliser l'adresse « De » par défaut)** — nom du serveur de messagerie de la société. Certains serveurs SMTP exigent que tous les messages envoyés aient une adresse « De » d'un certain domaine, par exemple, nom@entreprise.com. Si c'est le cas, décocher cette case et fournir une adresse e-mail valide.
- **Authentication Required (Authentification requise)** — si le site exige une authentification du compte, vérifier que cette case est cochée.
- **User Name (Nom d'utilisateur)** — nom du compte authentifié. Cela n'est requis que si Authentication Required est coché.

- **Password (Mot de passe)** — mot de passe du compte authentifié. Cela n'est requis que si Authentication Required est coché.

**Important :** Si vous utilisez le serveur SMTP de Google Gmail ou de Microsoft Office 365 pour envoyer des e-mails, vous devez activer une vérification à 2 facteurs puis générer un « mot de passe d'application » dans les paramètres de votre compte Gmail ou Office365. Pour l'authentification dans la boîte de dialogue Maestro Email Setup (Configuration de la messagerie Maestro), copiez et collez le « mot de passe d'application » dans le champ Password (Mot de passe) du CFX Maestro Dx SE au lieu du mot de passe normal de messagerie.

Pour vérifier que les paramètres du serveur SMTP sont corrects, saisir une adresse e-mail valide dans la zone de texte Test Email Address (Adresse e-mail de test) puis cliquer sur Test Email (E-mail test).

**Remarque :** Certains serveurs SMTP n'autorisent pas les pièces jointes et d'autres ne les autorisent que jusqu'à une taille spécifique. S'il est prévu que des fichiers de données et/ou des rapports soient transmis par e-mail à l'aide de CFX Maestro Dx SE, sélectionner Test Attachment (Pièce jointe test) et définir Attachment Size in Mb (Taille pièce jointe en Mo) à 5 Mo au moins.

3. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

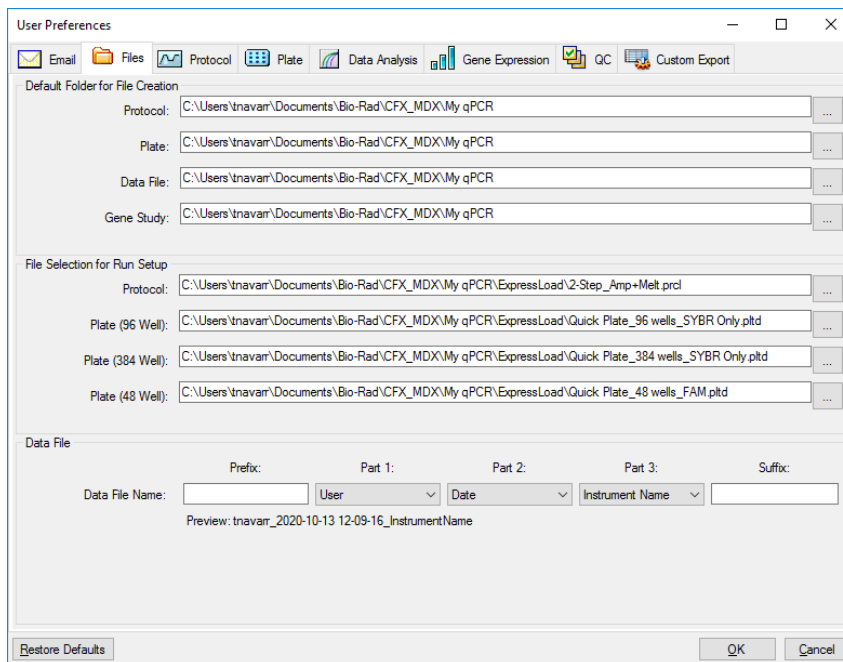
### Modification des paramètres de fichier par défaut

Les éléments suivants peuvent être modifiés dans l'onglet Files (Fichiers) de la boîte de dialogue User Preference (Préférences utilisateur) :

- L'emplacement par défaut pour l'enregistrement des fichiers CFX Maestro Dx SE
- Les fichiers par défaut pour la configuration de la série
- Les paramètres d'affectation des noms de fichier par défaut

#### Pour modifier les paramètres de fichier par défaut

1. Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).
2. Dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur), sélectionner l'onglet Files (Fichiers).



3. Dans la section Default Folder for File Creation (Dossier par défaut pour la création de fichiers), accéder à un dossier par défaut pour l'enregistrement des nouveaux fichiers et le sélectionner. Il est possible de sélectionner un emplacement différent pour chaque type de fichier :

- Protocol (Protocole)
- Plate (Plaque)
- Data File (Fichier de données)
- Gene Study (Étude des gènes)

4. Dans la section File Selection for Run Setup (Sélection de fichier pour la configuration de la série), accéder au fichier de protocole de la cible et aux fichiers de plaque qui devront apparaître lors de l'ouverture de la fenêtre Experiment Setup (Configuration de l'expérience) et les sélectionner.

5. Dans la section Data File (Fichier de données), définir le préfixe et/ou le suffixe pour les fichiers de données. Quel que soit l'élément, sélectionner une nouvelle valeur dans la liste déroulante correspondante. Il est également possible de fournir des valeurs personnalisées pour le préfixe et le suffixe dans les zones de texte Prefix (Préfixe) et Suffix (Suffixe).

CFX Maestro Dx SE affiche un aperçu du nom de fichier sous les zones de sélection.

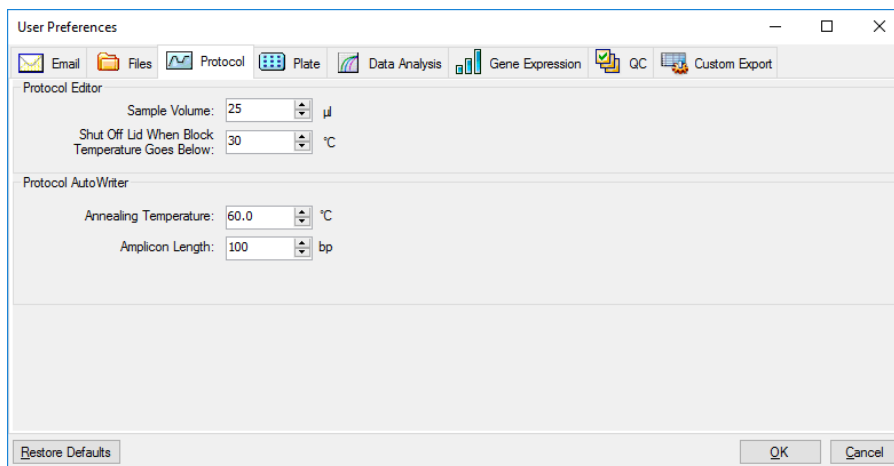
6. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

**Important :** Le fait de cliquer sur Restore Defaults (Rétablir paramètres par défaut) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) rétablit les paramètres d'usine d'origine pour toutes les préférences de tous les onglets. L'utilisateur doit appuyer sur cette touche avec prudence.

## Définition des paramètres de protocole par défaut

### Pour définir les paramètres de protocole par défaut pour l'éditeur de protocole et le rédacteur automatique de protocole

1. Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).
2. Dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur), sélectionner l'onglet Protocol (Protocole).



3. Dans la section Protocol Editor (Éditeur de protocole), spécifier les valeurs pour les paramètres suivants qui apparaissent dans l'éditeur de protocole :
  - **Sample volume (Volume d'échantillon)** — volume de chaque échantillon dans les puits (en µl).
  - **Lid Shutoff temperature (Température d'arrêt du couvercle)** — température en °C à laquelle le chauffage du couvercle s'arrête durant une série.
4. Dans la section Protocol AutoWriter (Rédacteur automatique de protocole), spécifier les valeurs pour les paramètres suivants qui apparaissent dans le rédacteur automatique de protocole :
  - **Annealing temperature (Température de renaturation)** — température en °C pour les expériences faisant appel à l'ADN polymérase iProof, l'ADN polymérase iTaq ou d'autres polymérases.
  - **Amplicon length (Longueur de l'amplicon)** — longueur de l'amplicon dans la pb.

5. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

**Important :** Le fait de cliquer sur Restore Defaults (Rétablir paramètres par défaut) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) rétablit les paramètres d'usine d'origine pour toutes les préférences de tous les onglets. L'utilisateur doit appuyer sur cette touche avec prudence.

### Définition des paramètres de plaque par défaut

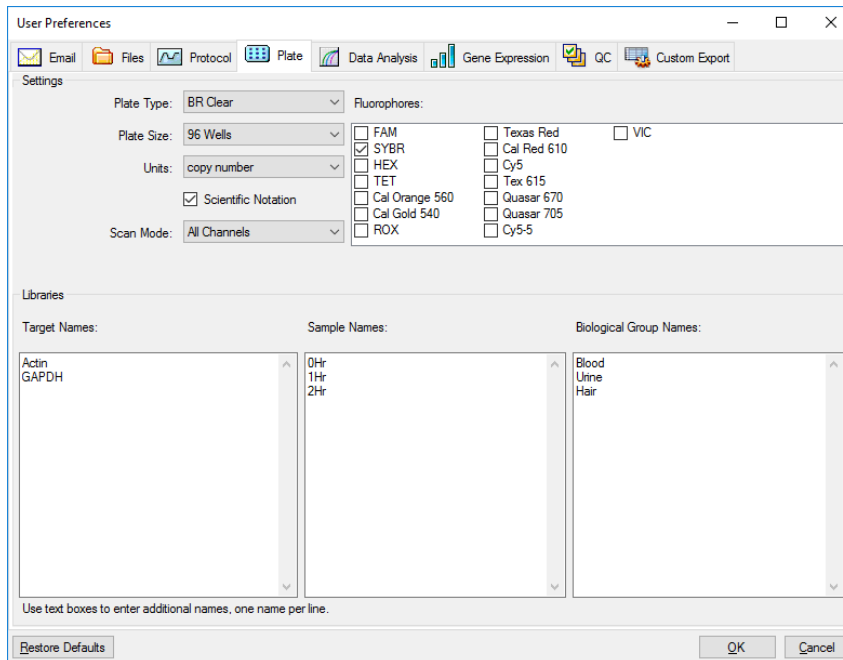
Les modifications apportées dans l'onglet Plate (Plaque) sont à la disposition de tous les utilisateurs du logiciel. Les modifications apportées durant la configuration de la plaque sont à disposition de tous les utilisateurs après l'enregistrement et la fermeture du fichier de plaque.

Dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur), il est possible d'effectuer les opérations suivantes :

- Définir les paramètres de plaque par défaut.
- Ajouter de nouveaux noms de cible, d'échantillon et de groupe biologique à leurs bibliothèques respectives.
- Supprimer des noms de cible, d'échantillon et de groupe biologique de leurs bibliothèques respectives.

### Pour définir les paramètres de plaque par défaut

1. Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).
2. Dans la boîte de dialogue User Preferences, sélectionner l'onglet Plate (Plaque).



3. Spécifier les valeurs pour les paramètres suivants d'un nouveau fichier de plaque. Ces valeurs apparaissent dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) :

- **Plate Type (Type de plaque)**
- **Plate size (Dimensions de la plaque)**
- **Units (Unités)** — concentration de la matrice de départ pour les puits contenant les étalons.  
CFX Maestro Dx SE utilise ces unités pour créer une courbe standard dans l'onglet Quantification de l'analyse de données.
- **Scientific notation (Notation scientifique)** — lorsque cette case est cochée, CFX Maestro Dx SE affiche les unités de la concentration en notation scientifique.
- **Scan mode (Mode de balayage)** — nombre ou type de canaux à balayer durant une série.
- **Fluorophores** — fluorophores par défaut apparaissant dans les contrôles de chargement du puits de l'éditeur de plaque.



- **Libraries (Bibliothèques)** – noms de cible, d'échantillon et de groupe biologique généralement utilisés dans les expériences :
  - **Target names (Noms des cibles)** — noms des gènes et des séquences de la cible.
  - **Sample names (Noms des échantillons)** — noms des échantillons expérimentaux ou caractéristique d'identification pour les échantillons (par exemple, Souris1, Souris2, Souris3).
  - **Biological group names (Noms des groupes biologiques)** — noms pour les groupes d'échantillons similaires ayant le même état ou les mêmes conditions de traitement (par exemple, 0 h, 1 h, 2 h).

4. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

#### **Pour ajouter un nouveau nom de cible, d'échantillon ou de groupe biologique**

- ▶ Dans la zone de bibliothèque appropriée, saisir le nom pour la cible, l'échantillon ou le groupe biologique puis cliquer sur OK.

#### **Pour supprimer un nom de cible, d'échantillon ou de groupe biologique**

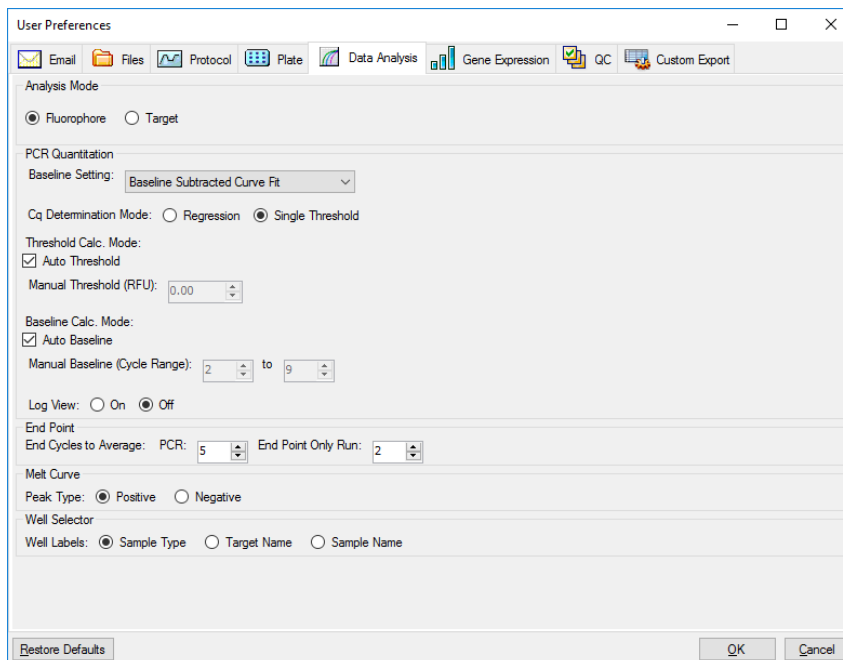
- ▶ Dans la zone de bibliothèque appropriée, sélectionner le nom, appuyer sur la touche Suppr puis cliquer sur OK.

**Important :** Les noms supprimés de la bibliothèque sont supprimés du logiciel et ne sont plus disponibles pour les utilisateurs. Pour rétablir les noms par défaut de CFX Maestro Dx SE, cliquer sur Restore Defaults (Rétablir les paramètres par défaut). Le fait de cliquer sur Restore Defaults (Rétablir paramètres par défaut) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) rétablit les paramètres d'usine d'origine pour toutes les préférences de tous les onglets. L'utilisateur doit faire preuve de prudence lorsqu'il supprime les noms par défaut de CFX Maestro Dx SE et clique sur ce bouton.

## Configuration des paramètres d'analyse de données par défaut

### Pour configurer les paramètres d'analyse de données par défaut

1. Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).
2. Dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur), sélectionner l'onglet Data Analysis (Analyse de données).



3. Dans la section Analysis Mode (Mode d'analyse), sélectionner le mode avec lequel les données seront analysées (Fluorophore ou Target [Cible]).
4. Dans la section PCR Quantification (Quantification de la PCR), définir les paramètres par défaut pour les options suivantes :

- **Baseline Setting (Paramètre de la valeur de référence)** — la méthode de référence pour le mode d'analyse.
- **Cq Determination Mode (Mode de détermination du Cq)** — le mode avec lequel les valeurs C<sub>q</sub> sont calculées pour chaque trace de fluorescence (régression ou seuil unique).
- **Threshold Calc. Mode (Mode calc. seuil)** — quantité de cible du point final.

Le paramètre par défaut est Auto. En d'autres termes, le logiciel calcule automatiquement la cible du point final. Pour définir un seuil spécifique, décocher la case Auto et saisir la quantité

pour le point final, calculée dans les unités de la fluorescence relative (ou RFU). La valeur maximale est 65000.00 RFU. Les fichiers de données pour les séries suivantes utiliseront ce paramètre de seuil.

- **Baseline Calc. Mode (Mode cal. valeur de référence)** — la valeur de référence pour toutes les traces.

Le paramètre par défaut est Auto. En d'autres termes, le logiciel calcule automatiquement la valeur de référence pour toutes les traces. Pour définir une valeur de référence spécifique, décocher la case Auto et saisir des valeurs minimales et maximales pour la plage de cycle (1 à 9999). Les fichiers de données utiliseront cette plage de cycle pour les séries suivantes.

- **Log View (Affichage du log)** — détermine la façon dont le logiciel affiche les données d'amplification :
  - On (Activé)** — les données d'amplification sont affichées dans un graphique semi-logarithmique.
  - Off (Désactivé)** — (valeur par défaut) les données d'amplification sont affichées dans un graphique linéaire.

5. Dans la section End Point (Point final), sélectionner le nombre de cycles de fin à moyenner lors des calculs de point final :
  - **PCR** — le nombre de cycles de fin à moyenner pour les données de quantification (5 par défaut).
  - **End Point Only run (Série de point final uniquement)** — le nombre de cycles de fin à moyenner pour les données de point final (2 par défaut).
6. Dans la section Melt Curve (Courbe de fusion), sélectionner le type de pic à détecter (positif ou négatif).
7. Dans la section Well Selector (Sélecteur de puits), sélectionner le mode d'affichage des étiquettes de puits (par type d'échantillon, nom de la cible ou nom de l'échantillon).
8. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

**Important :** Le fait de cliquer sur Restore Defaults (Rétablir paramètres par défaut) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) rétablit les paramètres d'usine d'origine pour toutes les préférences de tous les onglets. L'utilisateur doit appuyer sur cette touche avec prudence.

## Définition des paramètres du fichier de données de l'expression génique par défaut

### Pour définir les paramètres par défaut pour un nouveau fichier de données d'expression génique

1. Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).
2. Dans la boîte de dialogue User Preferences, sélectionner l'onglet Gene Expression (Expression génique).
3. Spécifier les valeurs pour les paramètres suivants :
  - **Relative to (Par rapport à)** — représente les données d'expression génique graphiquement par rapport soit à un contrôle (ayant 1 pour origine) soit à zéro :
    - Zero** — le logiciel ignore le contrôle. Il s'agit de la valeur par défaut lorsqu'aucun échantillon de contrôle n'est désigné dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).
    - Control** — le logiciel calcule les données par rapport à l'échantillon de contrôle désigné dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).
  - **X-axis (Axe des abscisses)** — représente graphiquement l'échantillon ou la cible sur l'axe des abscisses.
  - **Y-axis (Axe des ordonnées)** — représente graphiquement l'échelle linéaire, log<sub>2</sub> ou log<sub>10</sub> sur l'axe des ordonnées.
  - **Scaling (Mise à l'échelle)** — option de mise à l'échelle pour le graphique (l'option par défaut est l'absence de mise à l'échelle) :
    - Highest (Le plus élevé)** — le logiciel met le graphique à l'échelle par rapport au point de données le plus élevé.
    - Lowest (Le plus bas)** — le logiciel met le graphique à l'échelle par rapport au point de données le plus bas.
    - Unscaled (Sans mise à l'échelle)** — le logiciel présente les données sans mise à l'échelle.
  - **Mode** — mode d'analyse, soit quantité relative ( $\Delta C_q$ ) soit expression normalisée ( $\Delta\Delta C_q$ ).
  - **Error Bar (Barre d'erreur)** — variabilité des données présentée soit comme l'écart-type (Std. Dev.) soit comme l'erreur type de la moyenne (Std. Error Mean).
  - **Error Bar Multiplier (Multiplicateur de barres d'erreur)** — multiplicateur de l'écart-type utilisé pour représenter les barres d'erreur graphiquement (la valeur par défaut est 1).

Le multiplicateur peut être augmenté à 2 ou 3.

- **Sample Types to Exclude (Types d'échantillons à exclure)** — types d'échantillons à exclure de l'analyse.

Il est possible de sélectionner un ou plusieurs échantillons à exclure de l'analyse. Pour exclure tous les types d'échantillons, décocher les cases des types d'échantillons sélectionnés.

4. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

**Important :** Le fait de cliquer sur Restore Defaults (Rétablir paramètres par défaut) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) rétablit les paramètres d'usine d'origine pour toutes les préférences de tous les onglets. L'utilisateur doit appuyer sur cette touche avec prudence.

### Personnalisation des règles de contrôle qualité

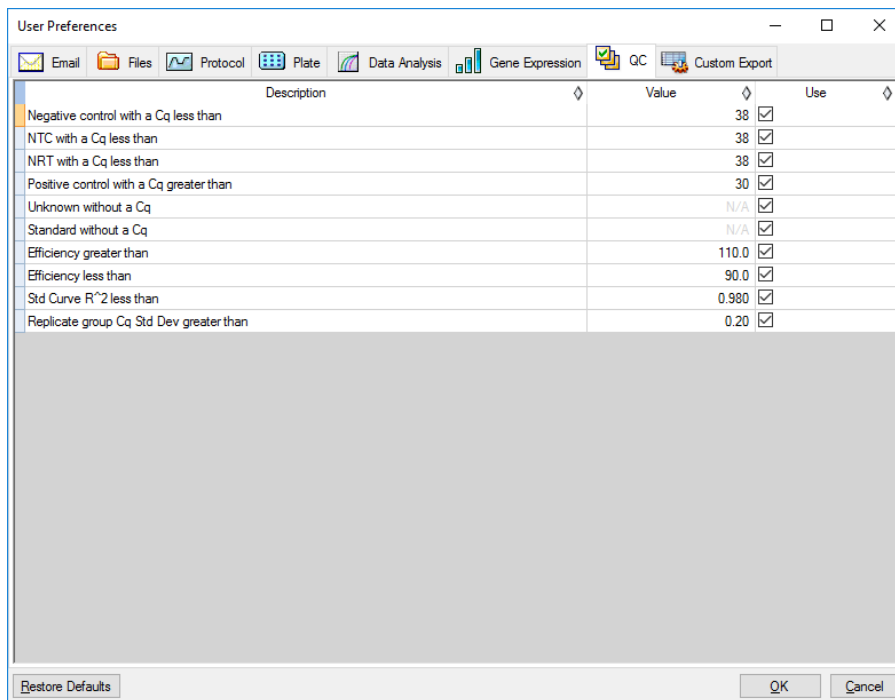
CFX Maestro Dx SE permet de définir des règles de contrôle qualité qui sont appliquées aux données dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Le logiciel valide les données en fonction des règles définies par l'utilisateur.

**Remarque :** Par défaut, toutes les règles de contrôle qualité sont activées.

**Conseil :** Les puits pour lesquels l'analyse renvoie un paramètre CQ non concluant peuvent être aisément exclus dans le module CQ de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).

#### Pour personnaliser les règles de contrôle qualité

1. Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).
2. Dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur), sélectionner l'onglet QC (CQ).



Où :

- **NTC** — contrôle sans matrice
  - **NRT** — contrôle sans transcriptase inverse
  - **Efficiency (Efficacité)** — efficacité d'une réaction de PCR
  - **Std Curve R<sup>2</sup> (R<sup>2</sup> courbe d'étalonnage)** — valeur R carrée pour la courbe d'étalonnage
  - **Replicate group Cq Std Dev (Écart-type Cq pour groupe de réplicats)** — écart-type calculé pour chaque groupe de réplicats
3. Pour chaque règle de CQ, effectuer l'une des opérations suivantes :
    - Ne rien faire s'il s'agit d'utiliser sa valeur par défaut.
    - Pour modifier sa valeur, cliquer dans la zone de texte Value (Valeur) correspondante, saisir une nouvelle valeur et appuyer sur la touche Entrée.
    - Pour désactiver la règle, décocher la case Use (Utiliser) correspondante.
  4. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

**Important :** Le fait de cliquer sur Restore Defaults (Rétablir paramètres par défaut) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) rétablit les paramètres d'usine d'origine pour toutes les préférences de tous les onglets. L'utilisateur doit appuyer sur cette touche avec prudence.

### Personnalisation des paramètres d'exportation des données

Les données de CFX Maestro Dx SE peuvent être exportées dans les formats suivants :

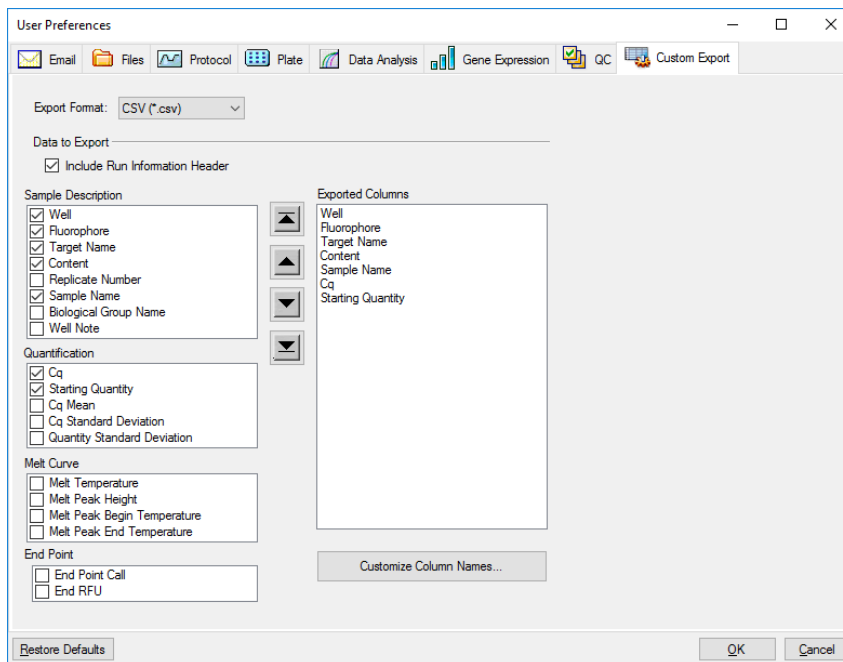
- Text (.txt)
- CSV (.csv)
- Excel (.xls, .xlsx)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

**Important :** Microsoft Excel doit être installé sur votre ordinateur pour que vous puissiez exporter des données vers une feuille de calcul Microsoft Excel.

L'utilisateur peut spécifier le type de données à exporter et personnaliser la sortie des données exportées.

#### Pour personnaliser les paramètres d'exportation des données

1. Sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) pour ouvrir la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).
2. Dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur), sélectionner l'onglet Custom Export (Exportation personnalisée).



3. Dans la liste déroulante Export Format (Format d'exportation), sélectionner le format pour l'exportation des données.
4. Dans la section Data to Export (Données à exporter), cocher ou décocher les cases correspondant au type de données à exporter. Les éléments sélectionnés apparaissent dans la zone de liste déroulante Exported Columns (Colonnes exportées).

**Remarque :** Par défaut, les informations sur la série sont incluses dans l'en-tête. Décocher cette case pour ne pas inclure les informations sur la série.

5. Il est possible de modifier l'ordre d'affichage de sortie des éléments sélectionnés.

Dans la liste de texte déroulante Exported Columns (Colonnes exportées), mettre l'élément en surbrillance puis cliquer sur les boutons fléchés à gauche de la liste pour la déplacer vers le haut ou vers le bas.

6. Le cas échéant, il sera possible de modifier les noms des colonnes de sortie des éléments suivants :
  - a. Cliquer sur Customize Column Names (Personnaliser les noms de colonnes).

La boîte de dialogue Column Name Customizer (Assistant de personnalisation des noms de colonnes) s'affiche.

- b. Pour chaque nom de colonne par défaut que l'on souhaite modifier, saisir le nouveau nom dans le champ Custom Name (Nom personnalisé) correspondant.



c. Effectuez l'une des opérations suivantes :

- Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et revenir à l'onglet Custom Export (Exportation personnalisée). Le nouveau nom s'affiche entre parenthèses à côté du nom de colonne par défaut, dans la zone de liste déroulante Exported Columns (Colonnes exportées).
- Cliquer sur Cancel (Annuler) pour effacer les modifications et revenir à l'onglet Custom Export (Exportation personnalisée).

7. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue.

**Important :** Le fait de cliquer sur Restore Defaults (Rétablir paramètres par défaut) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) rétablit les paramètres d'usine d'origine pour toutes les préférences de tous les onglets. L'utilisateur doit appuyer sur cette touche avec prudence.

## Chapitre 7 Création de protocoles

Un protocole est constitué d'étapes qui sont exécutées dans un ordre spécifique. Dans le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition, toutes les étapes sont associées à des options de l'appareil. Par exemple, les étapes indiquent à l'appareil de contrôler la température du bloc et du couvercle, d'appliquer une différence de température dans le bloc, de procéder à une lecture de plaque ou d'effectuer une analyse de la courbe de fusion. Chaque option est spécifiée pour des types de plaque et de série différents.

CFX Maestro Dx SE propose deux options pour créer des protocoles : Protocol Editor (Éditeur de protocole) et Protocol AutoWriter (Rédacteur automatique de protocole).

Les fonctions de l'éditeur de protocole sont les suivantes :

- Commandes de protocole standard pour rapidement créer des protocoles
- Capacité à rapidement calculer un gradient pour le nombre de lignes sélectionnées
- Capacité à rapidement calculer le temps d'exécution pour le type de plaque sélectionné
- Capacité à modifier les étapes du protocole
- Capacité à enregistrer les protocoles pour réutilisation
- Capacité à imprimer le protocole sur une imprimante par défaut

Le rédacteur automatique de protocole génère automatiquement un protocole PCR personnalisé avec étapes de démarrage à chaud, dénaturation initiale, renaturation et extension à l'aide des paramètres saisis. Il est possible de visualiser une représentation graphique du protocole suggéré et de modifier, exécuter ou enregistrer le protocole.

## Paramètres et plages pour les étapes de protocole

Utilisez les informations du [Tableau 7](#) pour modifier les paramètres par défaut des étapes de votre protocole.

### Étapes de température

La température cible est une valeur comprise entre 4,0 et 100,0 °C, définie en dixièmes de degré. Le système augmente jusqu'à cette température et maintient cette valeur pendant une durée spécifiée (le temps de maintien).

### Étapes de gradient

La plage de gradient est la différence entre les températures inférieure et supérieure dans une étape de gradient. La plage maximale autorisée est de 24 °C. La température la plus basse est une valeur comprise entre 30,0 et 99,0 °C, définie en dixièmes de degré. La température supérieure maximale est de 100 °C. Le thermocycleur monte au gradient de température cible à travers le bloc et maintient cette température pendant une durée spécifiée.

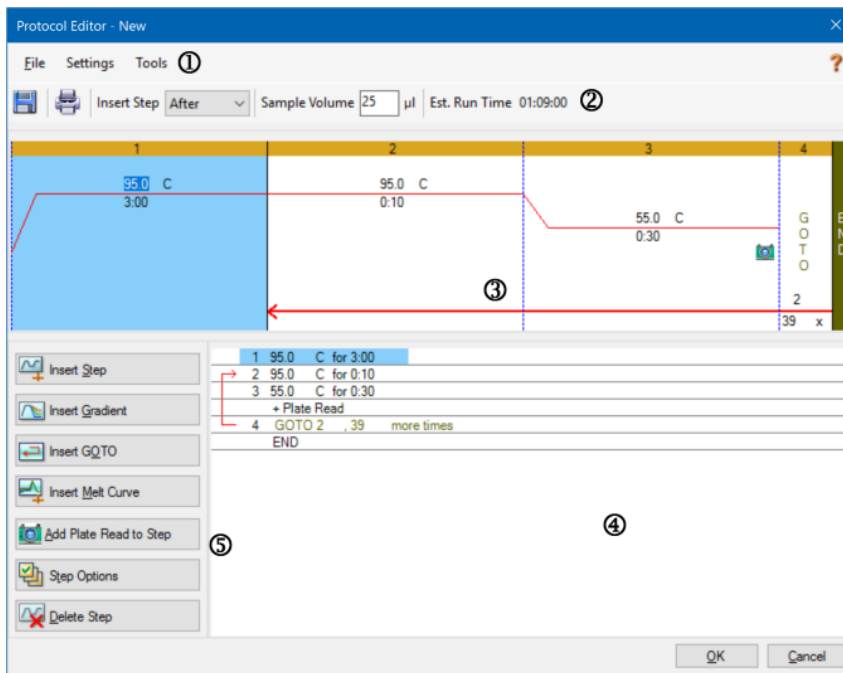
**Important :** l'instrument calcule les points du gradient. Lorsque vous entrez une valeur dans les champs supérieur et inférieur du calculateur de gradient, le logiciel calcule et attribue automatiquement les températures pour les champs restants. Lorsque vous entrez une température dans n'importe quel champ entre les champs supérieur et inférieur, l'appareil calcule automatiquement les champs restants. Vous ne pouvez pas saisir manuellement une valeur de température dans chaque champ.

Tableau 7. Paramètres et plages pour les étapes de protocole

Paramètre	Plage	Description
Ramp rate (Vitesse de rampe)	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Pour les systèmes CFX Opus 96 Dx : 0,1 à 5 °C par seconde</li> <li>■ Pour les systèmes CFX Opus 384 Dx : 0,1 à 2,5 °C par seconde</li> <li>■ Pour les systèmes CFX Opus Deepwell Dx : 0,1 à 2,5 °C par seconde</li> </ul>	<p>Indique au thermocycleur de monter à la température cible à la vitesse spécifiée dans cette étape.</p> <p>Disponible uniquement pour les étapes de température.</p>
Increment (Incrément)	Un nombre de -10,0 à 10,0 °C par cycle en dixièmes de degré	<p>Demande au thermocycleur de changer la température cible d'une étape à chaque cycle, où un nombre positif augmente la température et un nombre négatif diminue la température.</p> <p>Disponible uniquement pour les étapes de température.</p>
Extend (Prolonger)	Une durée de -60 à 60 s par cycle	<p>Demande au thermocycleur de prolonger le temps de maintien à chaque cycle. Un nombre positif augmente le temps de maintien et un nombre négatif diminue le temps de maintien.</p> <p>Disponible pour les étapes de température et de gradient.</p>
Beep (Bip)	(Pas de paramètres)	<p>Demande au thermocycleur d'émettre un bip pour signaler que le thermocycleur a atteint la température cible pour cette étape.</p> <p>Disponible uniquement pour les étapes de température.</p>
Plate read (Lecture de la plaque)	(Pas de paramètres)	<p>Demande au thermocycleur d'ajouter une lecture de plaque à l'étape sélectionnée.</p> <p>Disponible pour les étapes de température et de gradient.</p>

## Fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole)

Utiliser la fenêtre Protocol Editor pour créer, ouvrir, passer en revue et modifier un protocole. Par défaut, l'éditeur de protocole affiche un protocole à 2 étapes en temps réel générique pour une plaque à 96 puits.



### LÉGENDE

1. La barre de menu permet un accès rapide aux commandes des menus File (Fichier), Settings (Paramètres) et Tools (Outils).
2. La barre d'outils constitue un accès rapide pour enregistrer et imprimer le protocole, déterminer s'il faut ou non insérer une étape, définir le volume d'échantillon et visualiser la durée d'exécution estimée du protocole.
3. Le volet principal comporte une représentation graphique du protocole.
4. Le volet inférieur affiche le plan du protocole.
5. Le volet gauche comprend les commandes de protocole qu'il est possible d'ajouter pour personnaliser le protocole.

## Commandes du menu File (Fichier)

**Save (Enregistrer)** — enregistre le protocole en cours.

**Save As (Enregistrer sous)** — enregistre le protocole en cours avec un nouveau nom ou à un nouvel emplacement.

**File Passwords (Mots de passe de fichier)** — permet aux utilisateurs de définir leurs mots de passe d'enregistrement et d'ouverture de fichier.

**Conseil :** Pour plus d'informations, voir [Protection par mot de passe des fichiers à la page 56](#).

**Close (Fermer)** — ferme l'éditeur de protocole.

## Commande du menu Settings (Paramètres)

**Lid Settings (Paramètres de couvercle)** — ouvre la boîte de dialogue Lid Settings dans laquelle il est possible de changer ou de définir la température de couvercle.

## Commandes du menu Tools (Outils)

**Gradient Calculator (Calculateur de gradient)** — ouvre une boîte de dialogue à partir de laquelle l'utilisateur peut sélectionner le type de bloc pour une étape de gradient. La valeur par défaut est 96 puits.

**Run time Calculator (Calculateur de la durée d'exécution)** — ouvre une boîte de dialogue à partir de laquelle il est possible de sélectionner le type de plaque et le mode de balayage afin de calculer la durée d'exécution estimée dans la fenêtre Run Setup (Configuration de la série). La valeur par défaut est 96 puits, tous les canaux.

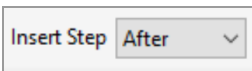
## Commandes de la barre d'outils



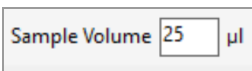
— enregistre le fichier de protocole en cours.



— imprime la fenêtre sélectionnée.



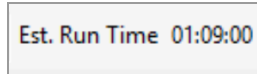
— utiliser cette commande pour sélectionner l'emplacement dédié à l'insertion des étapes correspondant à l'étape actuellement sélectionnée.



— utiliser cette commande pour saisir un volume d'échantillon en µl. Les volumes d'échantillon diffèrent en fonction du type de bloc :

- Pour un bloc 96 puits, la plage est comprise entre 0 et 50 µl.
- Pour un bloc 384 puits, la plage est comprise entre 0 et 30 µl.

- Pour un bloc 96 puits profond, la plage est comprise entre 0 et 125 µl.



— affiche la durée estimée de la série en fonction des étapes de protocole, de la vitesse de la rampe et du type de bloc sélectionné.

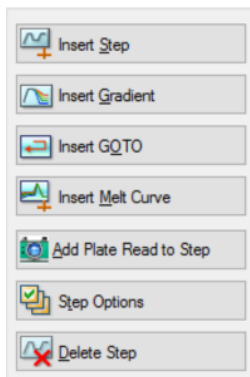


— affiche les informations d'aide concernant les protocoles.

## Commandes de modification des protocoles

Le volet de gauche de la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) contient des commandes qui peuvent être utilisées pour créer des protocoles.

Chaque commande consiste en un jeu de paramètres qui représentent une étape dans le protocole. Il est possible de modifier chaque paramètre et de l'ajouter ou de le supprimer pour personnaliser le protocole. Cette section décrit les options associées à chaque commande.



- **Insert Step (Insérer une étape)** — insère une étape avant ou après l'étape sélectionnée. L'utilisateur peut modifier les valeurs de température et de durée de suspension soit dans l'affichage graphique du protocole, soit dans le plan du protocole.
- **Insert Gradient (Insérer un gradient)** — insère une étape de gradient en fonction du type de bloc de puits sélectionné dans le calculateur de gradient. La plage de gradient peut être modifiée dans le volet Gradient qui apparaît lors de l'insertion d'une étape de gradient.
- **Insert GOTO (Insérer une boucle GOTO)** — insère une étape de cycle (boucle) qui indique au logiciel de répéter des étapes spécifiques en séquence pour un nombre de cycles donné. Les répétitions commencent après l'achèvement du premier cycle. Par exemple, l'utilisateur peut indiquer au logiciel d'effectuer 39 répétitions des étapes 2 à 4. Après la dernière répétition, le logiciel aura effectué les étapes 2 à 4 40 fois au total. Il est possible de modifier l'étape revenir à (boucle GOTO) ainsi que le nombre de cycles soit dans l'affichage graphique, soit dans le plan du protocole.
- **Insert Melt Curve (Insérer une courbe de fusion)** — insère une étape de lecture de courbe de fusion.

- **Insert Plate Read to Step (Ajouter la lecture de plaque à l'étape)** — ajoute une commande de lecture de plaque à l'étape sélectionnée. Une lecture de plaque mesure la quantité de fluorescence à la fin d'un cycle. L'étape de lecture de plaque est généralement la dernière étape dans une boucle GOTO.

**Conseil** : Après avoir ajouté une commande de lecture de plaque à une étape, le bouton change en Remove Plate Read (Supprimer la lecture de plaque) lors de la sélection de l'étape.

- **Remove Plate Read (Supprimer la lecture de plaque)** — supprime une commande de lecture de plaque de l'étape sélectionnée.

**Conseil** : Après avoir supprimé une commande de lecture de plaque d'une étape, le bouton change en Add Plate Read to Step (Ajouter la lecture de plaque à l'étape) lors de la sélection de l'étape.

- **Step Options (Options de l'étape)** — ouvre la boîte de dialogue Step Options (Options de l'étape) et affiche les options disponibles pour l'étape sélectionnée. Consulter la section [Options de l'étape à la page 112](#) pour obtenir des informations détaillées à propos des options de l'étape.

**Conseil** : Il est également possible d'accéder à Step Options (Options de l'étape) en cliquant avec le bouton droit sur l'étape dans l'affichage graphique.

- **Delete Step (Supprimer l'étape)** — supprime l'étape sélectionnée du protocole.



## Options de l'étape

Ouvrir la boîte de dialogue Step Options (Options de l'étape) pour voir les options que l'on peut ajouter, modifier ou supprimer dans une étape.

The screenshot shows the 'Step Options' dialog box. On the left, under 'Step 1', there are several settings: 'Plate Read' (checkbox), 'Temperature' (95.0 °C), 'Gradient' (text box °C), 'Increment' (text box °C/cycle), 'Ramp Rate' (text box °C/sec), 'Time' (3:00 sec/cycle), 'Extend' (text box sec/cycle), and 'Beep' (checkbox). On the right, under 'Gradient', there are eight empty text boxes labeled A through H. At the bottom are 'OK' and 'Cancel' buttons.

- **Plate Read (Lecture de plaque)** — lorsque cette option est sélectionnée, ajoute une lecture de plaque à l'étape.

- **Temperature (Température)** — définit la température cible pour l'étape sélectionnée.

- **Gradient** — définit la plage de gradient pour l'étape ; la plage est comprise entre 1 et 24 °C.

**Remarque :** Un gradient s'exécute avec la température minimale à l'avant du bloc (sur cette image, ligne H) et la température maximale à l'arrière du bloc (sur cette image, ligne A).

- **Increment (Incrément)** — valeur pour l'augmentation (ou la diminution) de la température de l'étape sélectionnée ; cette valeur est ajoutée à la température cible avec chaque cycle. La plage est comprise entre  $\pm 0,1$  et 10 °C.

**Remarque :** Pour diminuer la température, saisir un signe moins (–) avant la valeur numérique (par exemple, –5 °C).

- **Ramp Rate (Vitesse de rampe)** — vitesse de rampe pour l'étape sélectionnée ; la plage dépend de la taille du bloc.

- **Time (Durée)** — durée de maintien pour l'étape sélectionnée.

- **Extend (Prolonger)** — durée (en secondes) de prolongement ou de raccourcissement de l'étape sélectionnée ; cette option est ajoutée à la durée de maintien dans chaque cycle ; la plage est comprise entre  $\pm 1$  et 60 s.
- **Beep (Bip)** — lorsque cette case est cochée, un bip retentit pendant l'étape.

**Conseil** : Lorsque le nombre saisi est en dehors de la plage de l'option, le logiciel remplace ce nombre par l'entrée la plus proche dans la plage.

## Création d'un protocole dans Protocol Editor (Éditeur de protocole)

L'utilisation du Protocol Editor (Éditeur de protocole) permet de créer des fichiers de protocole personnalisés. Il est également possible de modifier et d'enregistrer des fichiers de protocole précédemment enregistrés ou des fichiers de protocole d'échantillons livrés avec le logiciel CFX Maestro Dx SE.

Pour créer un nouveau fichier de protocole, procéder comme suit :

- Ouvrir un fichier de protocole dans Protocol Editor (Éditeur de protocole).

**Conseil** : Il est possible d'ouvrir un protocole nouveau ou existant dans Protocol Editor (Éditeur de protocole).

- Configurer le nouveau protocole.
- Ajouter des étapes au protocole depuis le volet des commandes de protocole.
- Modifier les propriétés des étapes.
- Enregistrer le protocole.

**Conseil** : Pour créer un nouveau protocole à partir d'un fichier précédemment enregistré ou d'un fichier de protocole d'échantillon, consulter la section [Ouverture d'un protocole existant dans l'éditeur de protocole à la page 116](#).

## Ouverture d'un nouveau fichier de protocole dans l'éditeur de protocole

CFX Maestro Dx SE propose plusieurs options pour ouvrir un nouveau fichier de protocole :

- Depuis le menu File (Fichier) de la fenêtre d'accueil
- Depuis la boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) de la fenêtre d'accueil
- Depuis la boîte de dialogue Startup Wizard (Assistant de démarrage) dans la fenêtre d'accueil

### Pour ouvrir un nouveau fichier de protocole depuis le menu File (Fichier)

- ▶ Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner File (Fichier) > New (Nouveau) > Protocol (Protocole).

La fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) s'ouvre, affichant le fichier de protocole par défaut.

**Conseil** : Pour obtenir des informations sur la configuration du protocole par défaut, consulter la section [Modification des paramètres de fichier par défaut à la page 91](#).

### **Pour ouvrir un nouveau fichier de protocole depuis la boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série)**

1. Dans la fenêtre d'accueil, effectuer l'une des opérations suivantes pour ouvrir la boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) :

- Sélectionner Run (Série) > User-defined Run (Série définie par l'utilisateur).
- Cliquer sur User-defined Run Setup (Configuration de la série définie par l'utilisateur) dans la barre d'outils.

La boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) s'ouvre dans l'onglet Protocol (Protocole) et affiche le fichier de protocole par défaut.

2. Cliquer sur Create New (Créer nouveau).

La fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) s'ouvre, affichant le protocole en temps réel par défaut.

### **Pour ouvrir un nouveau fichier de protocole depuis le Startup Wizard (Assistant de démarrage)**

1. Dans la fenêtre d'accueil, effectuer l'une des opérations suivantes pour ouvrir l'assistant de démarrage s'il n'apparaît pas dans l'affichage :

- Sélectionner View (Afficher) > Startup Wizard (Assistant de démarrage).
- Cliquer sur Startup Wizard (Assistant de démarrage) dans la barre d'outils.

2. Le cas échéant, sélectionner le type d'appareil dans la liste déroulante.

3. Cliquer sur User-defined (Définie par l'utilisateur) pour le type de série.

La boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) s'ouvre dans l'onglet Protocol (Protocole) et affiche le fichier de protocole par défaut.

4. Cliquer sur Create New (Créer nouveau).

La fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) s'ouvre, affichant le protocole en temps réel par défaut.

### **Pour ouvrir un nouveau protocole depuis le menu Run (Série)**

1. Dans la fenêtre d'accueil, effectuer l'une des opérations suivantes pour ouvrir la boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) :

- Sélectionner Run (Série) > User-defined Run (Série définie par l'utilisateur).
- Cliquer sur User-defined Run Setup (Configuration de la série définie par l'utilisateur) dans la barre d'outils.

La boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) s'ouvre dans l'onglet Protocol (Protocole) et affiche le fichier de protocole par défaut.

2. Cliquer sur Create New (Créer nouveau).

La fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) s'ouvre, affichant le protocole en temps réel par défaut.

## Ouverture d'un protocole existant dans l'éditeur de protocole

CFX Maestro Dx SE fournit des exemples de fichiers de protocole qu'il est possible de modifier et d'enregistrer comme de nouveaux protocoles personnalisés. Il est également possible de créer un nouveau protocole à partir d'un protocole personnalisé existant.

### Pour ouvrir un exemple de fichier de protocole

1. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner File (Fichier) > Open (Ouvrir) > Protocol (Protocole).  
Par défaut, Windows Explorer s'ouvre à l'emplacement du dossier Sample files (Fichiers d'exemple) de CFX Maestro Dx SE.
2. Ouvrir le dossier Sample files. Les dossiers suivants sont visibles :
  - **ConventionalProtocols** — contient des exemples de fichiers de protocole pour l'analyse de PCR traditionnelle.
  - **DataFiles** — contient des exemples de fichiers de données pouvant servir à explorer les fonctions de CFX Maestro Dx SE.
  - **MeltCalibration** — contient des exemples de fichiers de protocole à utiliser avec le logiciel d'analyse de la fusion de précision de Bio-Rad.
  - **Plates** — contient des exemples de fichiers de plaque.
  - **RealTimeProtocols** – contient des exemples de fichiers de protocole pour l'analyse de la PCR en temps réel.
3. Ouvrir le dossier de protocoles pour le type de série à réaliser, à savoir ConventionalProtocols ou RealTimeProtocols.
4. Sélectionner le protocole choisi puis cliquer sur Open (Ouvrir).  
L'exemple de protocole s'ouvre dans la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole).
5. Sélectionner File (Fichier) > Save As (Enregistrer sous) et enregistrer le protocole avec un nouveau nom ou dans un nouveau dossier.

### Pour ouvrir un protocole existant

1. Dans la fenêtre d'accueil, effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Sélectionner File (Fichier) > Open (Ouvrir) > Protocol (Protocole), accéder au protocole de la cible et le sélectionner, puis cliquer sur Open.
  - Ouvrir le Startup Wizard (Assistant de démarrage) et effectuer l'une des opérations suivantes :
    - Pour modifier le protocole affiché, cliquer sur Edit Selected (Modifier la sélection).
    - Pour modifier un autre protocole existant, cliquer sur Select Existing (Sélectionner un fichier existant) et accéder au fichier de la cible.

Le protocole s'ouvre dans la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole).
2. Sélectionner File (Fichier) > Save As (Enregistrer sous) et enregistrer le protocole avec un nouveau nom ou dans un nouveau dossier.

### Configuration d'un nouveau protocole

**Conseil** : Si le fichier de protocole comprend les paramètres requis (par exemple, en cas de modification d'un fichier de plaque existant), il est possible d'ignorer cette section. Passer à [Ajout d'étapes à un protocole à la page 120](#).

Les nouveaux fichiers de protocole exigent les paramètres suivants :

- Type de bloc
- Mode de balayage pour le type de bloc choisi
- Température de couvercle
- Volume d'échantillon

## Définition du type de bloc

CFX Maestro Dx SE calcule automatiquement les incréments de température pour les étapes de gradient sur la base du type de bloc.

**Remarque :** Le type de plaque défini dans l'éditeur de protocole doit être identique au type de plaque du module de réaction.

### Pour définir le type de bloc

- ▶ Dans la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole), sélectionner Tools (Outils) > Gradient Calculator (Calculateur de gradient) et choisir le type de plaque approprié dans la liste déroulante qui apparaît.

## Sélection du mode de lecture pour le type de bloc choisi

Pour déterminer la durée d'exécution du protocole, sélectionner le type de bloc de la cible et le mode de lecture.

### Pour sélectionner le type de bloc et le mode de lecture

- ▶ Dans la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole), sélectionner Tools (Outils) > Run time Calculator (Calculateur de la durée d'exécution) et choisir le type de plaque et le mode de balayage appropriés dans la liste déroulante qui apparaît.

## Réglage de la température du couvercle

CFX Maestro Dx SE définit les températures de couvercle par défaut comme suit :

- Appareils à 96 puits et puits profonds – 105,0 °C
- Appareils à 384 puits – 95,0 °C

Il est possible de changer les paramètres par défaut ou d'éteindre le chauffage du couvercle pour le protocole.

### Pour régler la température du couvercle

1. Dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque), sélectionner Settings (Paramètres) > Lid Settings (Paramètres du couvercle).

La boîte de dialogue Lid Settings (Paramètres du couvercle) apparaît.

2. Effectuez l'une des opérations suivantes :

- Sélectionner User Defined (Défini par l'utilisateur) et saisir une valeur de température dans la zone de texte.
- Sélectionner Turn Off Lid Heater (Éteindre le chauffage du couvercle).

3. Cliquer sur OK pour accepter les modifications et fermer la boîte de dialogue.



## Définition du volume d'échantillon

Par défaut, CFX Maestro Dx SE définit le volume d'échantillon pour chaque puits sur 25 µl. Les volumes d'échantillon diffèrent en fonction du type de bloc, par exemple :

- 0–50 µl pour un bloc 96 puits
- 0–30 µl pour un bloc 384 puits

L'appareil utilise l'un des deux modes de contrôle de la température pour déterminer à quel moment l'échantillon atteint la température cible dans un protocole :

- **Calculated mode (Mode calculé)** — lorsque le volume d'échantillon est défini sur un volume adéquat non nul pour le bloc, l'appareil calcule la température de l'échantillon en fonction du volume d'échantillon. Il s'agit du mode standard.
- **Block mode (Mode bloc)** — lorsque le volume d'échantillon est défini sur zéro (0) µl, l'appareil enregistre la température de l'échantillon comme étant identique à la température du bloc mesurée.

### Pour définir le volume d'échantillon pour un bloc spécifique

- ▶ Dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque), saisir la valeur correcte dans la zone de texte Sample Volume (Volume d'échantillon) de la barre d'outils.

**Conseil** : Il est possible de modifier le volume d'échantillon par défaut dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur). Consulter la section [Modification des paramètres de fichier par défaut à la page 91](#).

## Ajout d'étapes à un protocole

### Pour ajouter une étape à un protocole

1. Ouvrir le protocole dans la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole).
2. Déterminer l'endroit où insérer la nouvelle étape. Dans la barre d'outils, sélectionner Before (Avant) ou After (Après) dans la liste déroulante Step (Étape).
3. Sur le graphique, sélectionner l'étape avant ou après laquelle il est prévu d'insérer la nouvelle étape.
4. Dans le volet gauche, cliquer sur Insert Step (Insérer une étape).
5. Pour changer la température ou la durée de maintien, cliquer sur la valeur par défaut sur le graphique ou le plan du protocole et saisir une nouvelle valeur.
6. (Facultatif) Dans le volet gauche, cliquer sur Step Options (Options de l'étape) pour faire apparaître la boîte de dialogue Step Options (Options de l'étape) et modifier les options disponibles pour l'étape sélectionnée.

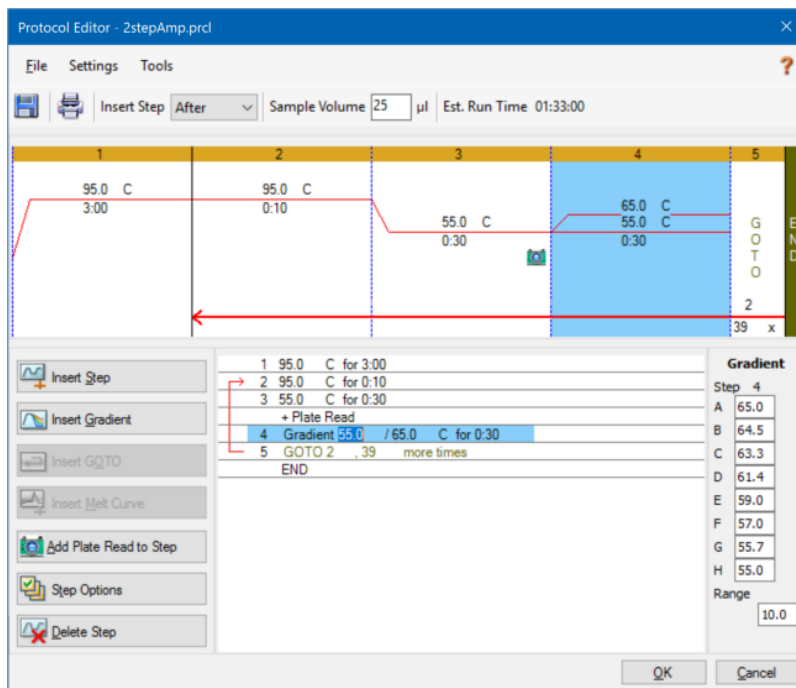
**Conseil** : Il est possible d'accéder à la boîte de dialogue Step Options (Options de l'étape) dans le menu contextuel soit dans le volet du graphique soit dans le volet du plan du protocole.

7. Cliquer sur OK puis sur Yes (Oui) pour enregistrer les changements de protocole.  
La boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous) apparaît.
8. Dans la boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous), saisir un nom pour le nouveau fichier de protocole puis cliquer sur Save (Enregistrer).

## Insertion d'une étape de gradient

### Pour insérer une étape de gradient

1. Vérifier que les dimensions de la plaque pour le gradient sont les mêmes que celles du type de bloc de l'appareil, à 96 puits, 384 puits, ou puits profond.
2. Si ce n'est déjà fait, sélectionner les dimensions de la plaque pour le gradient :  
Sélectionner Tools (Outils) > Gradient Calculator (Calculateur de gradient) et choisir le type de puits approprié dans la liste déroulante.
3. Dans la barre d'outils, sélectionner Before (Avant) ou After (Après) dans la liste déroulante Insert Step (Insérer une étape).
4. Dans le graphique ou le volet de plan, sélectionner l'étape avant ou après laquelle l'on prévoit d'insérer la nouvelle étape.
5. Dans le volet de gauche, cliquer sur Insert Gradient (Insérer un gradient). La nouvelle étape de gradient est mise en surbrillance dans le graphique et le volet de plan, par exemple :



La température de chaque ligne du gradient apparaît dans le tableau Gradient du volet de droite.

6. Pour modifier la plage de température du gradient, effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Cliquer sur la température par défaut dans le graphique ou le volet de plan et saisir une nouvelle température.
  - Cliquer sur Step Options (Options de l'étape) pour saisir la plage du gradient dans la fenêtre Step Options (Options de l'étape).
  - Modifier la valeur Range (Plage) dans le tableau Gradient.
7. Pour modifier la durée de stabilisation, cliquer sur la durée par défaut dans le graphique ou l'affichage texte et saisir une nouvelle heure.
8. Cliquer sur OK puis sur Yes (Oui) pour enregistrer les modifications.

## Insertion d'une étape de boucle GOTO

**Remarque :** Il n'est pas possible d'insérer une étape de boucle GOTO dans un ensemble GOTO ni de créer des boucles GOTO imbriquées.

### **Pour insérer une étape de boucle GOTO**

1. Dans la barre d'outils, sélectionner Before (Avant) ou After (Après) dans la liste déroulante Insert Step (Insérer une étape).
2. Dans le graphique, sélectionner l'étape avant ou après laquelle l'on prévoit d'insérer l'étape de boucle GOTO.
3. Dans le volet gauche, cliquer sur Insert GOTO (Insérer une boucle GOTO).
4. Pour modifier le numéro de l'étape de boucle GOTO ou le nombre de répétitions de boucles GOTO, sélectionner le nombre par défaut dans le graphique ou le volet de plan et saisir une nouvelle valeur.
5. Cliquer sur OK puis sur Yes (Oui) pour enregistrer les modifications.

### **Insertion d'une étape de courbe de fusion**

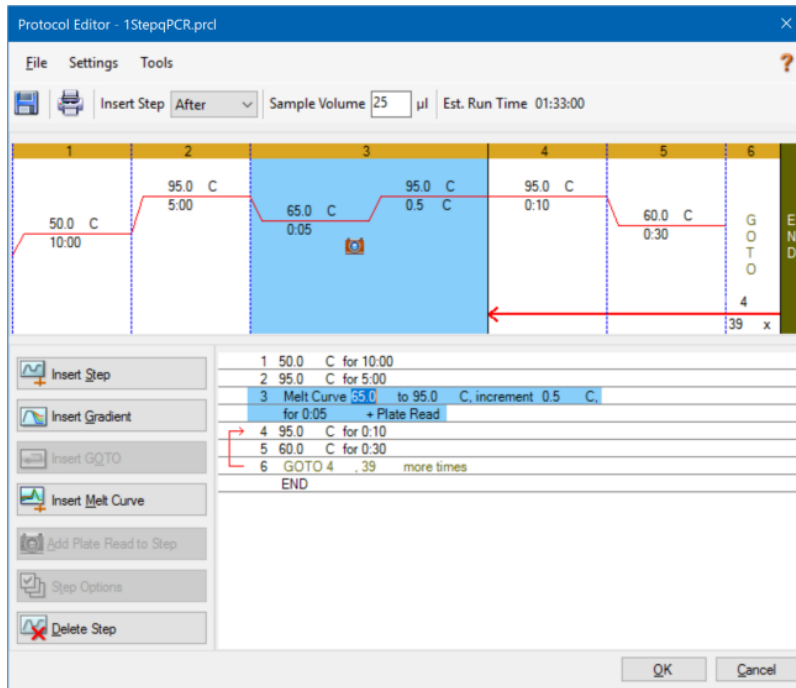
**Conseil** : Il est impossible d'insérer une étape de courbe de fusion dans une boucle GOTO.

**Remarque** : L'étape de courbe de fusion inclut une durée de stabilisation de 30 s au début de l'étape qui ne s'affiche pas dans le protocole.

### **Pour insérer une étape de courbe de fusion**

1. Dans la barre d'outils, sélectionner Before (Avant) ou After (Après) dans la liste déroulante Insert Step (Insérer une étape).
2. Dans le graphique, sélectionner l'étape avant ou après laquelle l'on prévoit d'insérer l'étape de courbe de fusion.

3. Dans le volet de gauche, cliquer sur Insert Melt Curve (Insérer une courbe de fusion). La nouvelle étape de courbe de fusion est mise en surbrillance dans le graphique et le volet de plan, par exemple :



4. Pour modifier la plage de température de fusion ou augmenter la durée, sélectionner le nombre par défaut dans le graphique ou le volet de plan et saisir une nouvelle valeur.
5. Cliquer sur OK puis sur Yes (Oui) pour enregistrer les modifications.

## Ajout ou suppression d'une étape de lecture de plaque

**Conseil :** Après avoir ajouté une commande de lecture de plaque à une étape, le bouton change en Remove Plate Read (Supprimer la lecture de plaque) lors de la sélection de l'étape.

### Pour ajouter une lecture de plaque à une étape

1. Dans la barre d'outils, sélectionner Before (Avant) ou After (Après) dans la liste déroulante Insert Step (Insérer une étape).
2. Sur le graphique, sélectionner l'étape avant ou après laquelle il est prévu d'insérer l'étape de lecture de plaque.
3. Dans le volet gauche, cliquer sur Add Plate Read to Step (Ajouter une lecture de plaque à l'étape) pour ajouter une lecture de plaque à l'étape sélectionnée.
4. Cliquer sur OK puis sur Yes (Oui) pour enregistrer les modifications.

### Pour supprimer une lecture de plaque d'une étape

- Sur le graphique, sélectionner l'étape qui contient la lecture de plaque puis cliquer sur Remove Plate Read (Supprimer la lecture de plaque) dans le volet gauche.

## Modification des options de l'étape

### Pour modifier les options de l'étape associées à l'étape sélectionnée

1. Sélectionner l'étape cible dans le graphique ou le volet de plan.
2. Dans le volet de gauche, cliquer sur Step Options (Options de l'étape) pour ouvrir la boîte de dialogue Step Options (Options de l'étape).

Le cas échéant, cliquer avec le bouton droit sur l'étape cible dans l'un des deux volets et sélectionner Step Options (Options de l'étape) dans le menu qui apparaît.

3. Pour ajouter, modifier ou supprimer des options :
  - Saisir une valeur dans la zone de texte correspondante.
  - Saisir une valeur dans la zone de texte spécifique.
  - Cocher ou décocher une case.
4. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue Step Options (Options de l'étape).
5. Cliquer sur OK puis sur Yes (Oui) pour enregistrer le protocole.

## Suppression d'une étape

**Important :** Il est impossible d'annuler cette fonction. L'utilisateur doit supprimer les étapes avec prudence.

### Pour supprimer une étape dans le protocole

1. Sélectionner l'étape dans le graphique ou le volet de plan.
2. Dans le volet de gauche, cliquer sur Delete Step (Supprimer l'étape) pour supprimer l'étape sélectionnée.
3. Cliquer sur OK puis sur Yes (Oui) pour enregistrer le protocole.

## Copie, exportation ou impression d'un protocole

### Pour copier un protocole

- Faire un clic droit sur le plan du protocole et sélectionner Copy Protocol (Copier le protocole).

Il est possible de copier la description dans un fichier .txt, .xls, .doc ou .ppt.

### Pour exporter un protocole

1. Faire un clic droit sur le plan du protocole et sélectionner Export Protocol (Exporter le protocole).  
La boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous) apparaît.
2. (Facultatif) Dans Windows Explorer, accéder à un dossier dans lequel enregistrer le fichier du protocole.
3. Dans la zone File name (Nom de fichier), saisir un nom pour le fichier de protocole exporté.
4. Cliquer sur Save (Enregistrer).

### Pour imprimer un protocole

- Faire un clic droit sur le plan du protocole et sélectionner Print (Imprimer).

Il est possible d'imprimer le plan du protocole sur l'imprimante par défaut.

## Création d'un protocole à l'aide du rédacteur automatique de protocole

**Important :** Bio-Rad ne garantit pas que l'exécution d'un protocole créé avec le rédacteur automatique de protocole résultera systématiquement en un produit de PCR.

Le rédacteur automatique de protocole de CFX Maestro Dx SE génère automatiquement des cycles de protocole reposant sur les paramètres d'entrée suivants :

- **Amplicon length (Longueur de l'amplicon)** — longueur prévue du produit de la PCR
- **Annealing temperature (Température de renaturation)** —  $T_a$  de réaction pour les amorces utilisées

Si la  $T_a$  est inconnue, il est possible d'utiliser le calculateur  $T_a$  pour automatiquement la calculer sur la base des séquences d'amorce.

**Remarque :** La valeur  $T_a$  est ajustée à partir des informations de température de fusion de l'amorce ( $T_m$ ) qui reposent sur l'enzyme sélectionnée et la vitesse de protocole.

- **Enzyme type (Type d'enzyme)** — enzyme ADN polymérase (iTaQ, iProof ou Other)

Si une enzyme autre que l'ADN polymérase iTaq ou iProof est utilisée, il est possible de saisir des informations complémentaires, y compris la plage de gradient, le temps d'activation en démarrage à chaud (en s) et la durée d'extension finale (en s).

- **Run speed (Vitesse de la série)** — vitesse de réaction (Standard, Fast [Rapide] ou Ultrafast [Ultrarapide])

Le rédacteur automatique de protocole optimise le protocole en fonction du paramètre de vitesse sélectionné. La durée d'exécution totale est déterminée par le nombre d'étapes et de cycles, la durée d'incubation à chaque étape et le temps qu'il faut pour atteindre une température cible uniforme.

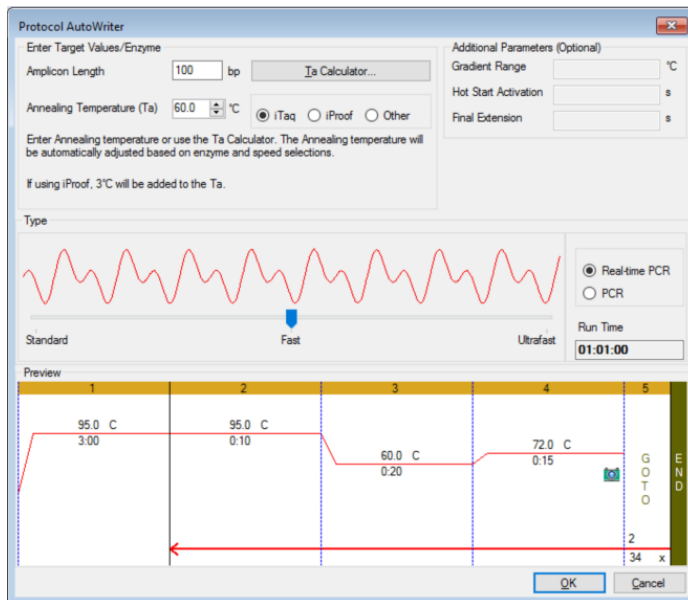
À l'aide des paramètres saisis et des directives de PCR standard, le rédacteur automatique de protocole génère automatiquement un protocole PCR personnalisé avec étapes de démarrage à chaud, dénaturation initiale, renaturation et extension. Il est possible de visualiser une représentation graphique du protocole suggéré et de modifier, exécuter ou enregistrer le protocole.



## Pour créer un nouveau protocole à l'aide du rédacteur automatique de protocole de CFX Maestro Dx SE

1. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner Tools (Outils) > Protocol AutoWriter (Rédacteur automatique de protocole).

La boîte de dialogue Protocol AutoWriter apparaît.



2. Dans la section Enter Target Values/Enzyme (Saisir valeurs de la cible/enzyme), procéder comme suit :

- Saisir la température de renaturation ( $T_a$ ) pour les amorces, si elle est connue.  
**Conseil :** Voir [Utilisation du calculateur  \$T\_a\$  à la page 129](#) pour plus d'informations.  
**Remarque :** Pour plus d'informations sur les calculs utilisés dans le calculateur  $T_a$ , consulter Breslauer et al. 1986.
- Saisir la longueur de l'amplicon dans les paires de base (pb).
- Sélectionner un type d'enzyme dans la liste d'options (ADN polymérase iTaq, ADN polymérase iProof ou Other).  
**Conseil :** Si Other (Autre) est sélectionné comme type d'enzyme, les paramètres de la section Additional Parameters (Optional) (Paramètres supplémentaires (facultatif)) deviennent actifs.

3. Si Other a été sélectionné comme type d'enzyme, il est possible d'ajouter l'un ou l'ensemble des paramètres suivants au protocole :
  - Gradient range (Plage de gradient)
  - Hot start activation temperature (Température d'activation du démarrage à chaud)
  - Final extension time (Durée d'extension finale)
4. Dans la section Type, déplacer le curseur pour sélectionner une vitesse de protocole (Standard, Fast [Rapide] ou Ultrafast [Ultrarapide]). CFX Maestro Dx SE ajuste la durée d'exécution totale.
5. Sélectionner le type de PCR à effectuer (la PCR en temps réel est la valeur par défaut).  
Avec la PCR en temps réel, CFX Maestro Dx SE ajoute une étape de lecture de plaque pour recueillir les données de fluorescence.
6. Dans la section Preview (Aperçu), passer le protocole en revue. Il est possible d'apporter les éventuels changements nécessaires.
7. Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Cliquer sur OK pour enregistrer le nouveau protocole. Une fois le protocole enregistré, il s'ouvre dans l'assistant de démarrage. Cliquer sur Edit Selected (Modifier la sélection) pour apporter les éventuelles modifications du protocole. Par exemple, il peut être nécessaire de modifier la température de couvercle et le volume d'échantillon.
  - Cliquer sur Cancel (Annuler) pour fermer la fenêtre sans enregistrer le protocole.

## Utilisation du calculateur $T_a$

Lorsque la température d'hybridation pour l'amorce est inconnue, utiliser le calculateur  $T_a$  pour calculer la valeur. Il est possible d'utiliser la valeur dans les options Protocol AutoWriter (Rédacteur automatique de protocole) ou Protocol Editor (Éditeur de protocole) pour créer son propre protocole.

### À propos du calculateur $T_a$

Le calculateur  $T_a$  calcule la valeur  $T_m$  pour chaque amorce ainsi que la valeur  $T_a$  pour le protocole à la vitesse standard.

La valeur  $T_a$  pour le protocole repose sur les valeurs  $T_m$  moyennes de l'amorce, auxquelles s'appliquent les valeurs suivantes :

- Si la différence entre les valeurs  $T_m$  de l'amorce est  $> 4$  °C,  $T_a = (\text{valeur la plus basse des deux valeurs } T_m \text{ de l'amorce} + 2) - 4$  °C
- Si la différence entre les valeurs  $T_m$  est  $\leq 4$  °C,  $T_a = (\text{moyenne des valeurs } T_m \text{ de l'amorce}) - 4$  °C

## Méthode de comptage des paires de base

Pour chaque amorce, le calculateur  $T_a$  utilise la méthode de comptage des paires de base pour les séquences de 14 paires de base (pb) au maximum.

$$T_m = ((w*A + x*T) * 2) + ((y*G + z*C) * 4)$$

où w, x, y et z sont les nombres de bases A, T, G et C de la séquence, respectivement.

## Méthode des plus proches voisins

La méthode des plus proches voisins est utilisée pour les séquences supérieures à 14 bp. Dans la méthode des plus proches voisins, les calculs de la température de fusion reposent sur la relation thermodynamique entre l'entropie (ordre ou valeur des données aléatoires de l'oligonucléotide), l'enthalpie (chaleur dégagée ou absorbée par l'oligonucléotide), l'énergie libre et la température.

$$\Delta H = \Delta G + T * \Delta S$$

où :

- $\Delta H$  = Valeur d'enthalpie, cal/mol\*K
- T = température, Kelvin
- $\Delta S$  = Valeur d'entropie, cal/mol\*K
- $\Delta G$  = Énergie libre de Gibbs en cal/mol\*K

Le changement dans les valeurs d'entropie et d'enthalpie est directement calculé en additionnant les valeurs pour les paires de nucléotides reproduites dans le [Tableau 8](#) (Breslauer et al. 1986).

La relation entre l'énergie libre et la concentration de réactifs et de produits à l'équilibre est donnée par :

$$\Delta G = R * T * \ln ((ADN * Amorce) / ((ADN + Amorce)))$$

où R désigne le gaz constant (1,986 cal/mol\*K).

En remplaçant G dans les deux équations et en résolvant T, on obtient :

$$T = \Delta H / (\Delta S + R * \ln((ADN * Amorce) / (ADN + Amorce)))$$

dans l'hypothèse où la concentration d'ADN et du complexe ADN-amorce sont égales.

La survenue d'un changement d'énergie libre de 5 kcal (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996) durant la transition d'un ADN monobrin à un ADN B a été déterminée empiriquement. Il s'agit probablement d'une énergie liée à l'initiation de l'hélice. Pour finir, l'ajout d'un ajustement pour le sel produit l'équation utilisée par le calculateur  $T_a$  :

$$T = (\Delta H - 5(\text{Kcal/K} * \text{mol})) / (\Delta S + (R * \ln(1 / (\text{amorce})))) + 16,6 \log_{10} (\text{MolaritéSel})$$

Aucune constante d'ajustement n'est requise pour la concentration en sel, dans la mesure où les différents paramètres ont été déterminés à 1 M NaCl et que le  $\log_{10}$  de 1 est égal à zéro.

Les calculs thermodynamiques partent du présupposé que l'hybridation se produit à un pH 7.0. Les calculs  $T_m$  supposent que les séquences ne soient pas symétriques et qu'elles contiennent au moins un G ou un C.

La séquence des oligonucléotides doit avoir une longueur d'au moins 14 bases pour produire des valeurs  $T_m$  raisonnables. S'il y a moins de 14 bases, il faudra recourir à la méthode de comptage des paires de bases (voir le [Tableau 8](#) suivant).

**Tableau 8. Constantes (de couplage) pour l'interaction de Breslauer**

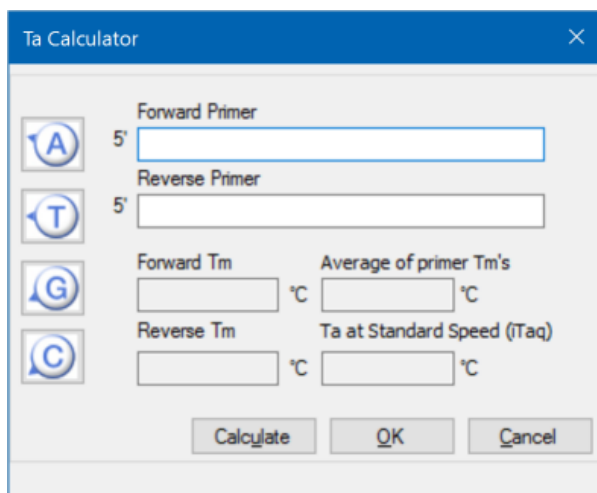
Interaction		$\Delta H$	$\Delta S$	$\Delta G$
AA	TT	9,1	24	1,5
AT	TA	8,6	23,9	1,5
AC	TG	6,5	17,3	1,3
AG	TC	7,8	20,8	1,6
TA	AT	6	16,9	0,9
TT	AA	9,1	24	1,9
TC	AG	5,6	13,5	1,6
TG	AC	5,8	12,9	1,9
CA	GT	5,8	12,9	1,9
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3
GC	CG	11,1	26,7	3,1
GG	CC	11	26,6	3,1

## Utilisation du calculateur $T_a$

### Pour utiliser le calculateur $T_a$

1. Pour ouvrir le calculateur  $T_a$ , effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Pour l'utilisateur qui se trouve actuellement dans Protocol AutoWriter (Rédacteur automatique de protocole), cliquer sur  $T_a$  Calculator (Calculateur  $T_a$ ).
  - Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner Tools (Outils) >  $T_a$  Calculator (Calculateur  $T_a$ ).

La boîte de dialogue  $T_a$  Calculator (Calculateur  $T_a$ ) apparaît.



2. Dans la zone de texte Forward Primer (Amorce sens), saisir ou coller la séquence de l'amorce sens.  
**Conseil** : Il est également possible d'utiliser les boutons A, T, G et C sur le côté gauche de la boîte de dialogue pour saisir la séquence.
3. Saisir ou coller la séquence de l'amorce antisens dans la zone de texte Reverse Primer (Amorce antisens).
4. Cliquer sur Calculate (Calculer).

Le calculateur  $T_a$  calcule et affiche la  $T_m$  de chaque amorce et les valeurs moyennes  $T_m$  et  $T_a$ , par exemple :

Field	Value	Unit
Forward Primer	5' CTG GAG CCT TCA GTT GCA G	
Reverse Primer	5' GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC	
Forward $T_m$	59.7	°C
Reverse $T_m$	56.9	°C
Average of primer $T_m$ 's	58.3	°C
$T_a$ at Standard Speed (i $T_{aq}$ )	54.3	°C

Si les valeurs  $T_m$  de l'amorce présentent un écart de plus de 4 °C, le rédacteur automatique de protocole utilise la valeur  $T_m$  inférieure de l'amorce + 2 °C comme base pour calculer la valeur  $T_a$ , qui pourra être modifiée ultérieurement en changeant l'enzyme et la vitesse réactionnelle.

Le calculateur  $T_a$  génère une température d'hybridation pour la vitesse standard avec l'ADN polymérase iTaq. En cas d'utilisation d'une autre enzyme, les paramètres de vitesse règlent automatiquement la  $T_a$ .

5. Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Si le calculateur  $T_a$  a été ouvert à partir de Protocol AutoWriter (Rédacteur automatique de protocole), cliquer sur OK pour revenir dans Protocol AutoWriter (Rédacteur automatique de protocole). La température d'hybridation est automatiquement modifiée.
  - Si le calculateur  $T_a$  a été ouvert à partir du menu Tools (Outils), enregistrer les calculs et cliquer sur Cancel (Annuler) pour fermer le calculateur.



## Chapitre 8 Préparation des plaques

Un fichier de plaque contient des informations sur les paramètres de série, comme le mode de lecture, les fluorophores et le contenu du puits. Au terme de la série, le logiciel Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition lie le contenu du puits aux données de fluorescence collectées au cours de la série et applique l'analyse appropriée dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Par exemple, les puits chargés avec un type d'échantillon étalon sont utilisés pour générer une courbe d'étalonnage.

CFX Maestro Dx SE propose deux options pour créer des plaques : L'éditeur de plaque (Plate Editor) pour les séries de PCR en temps réel et l'assistant de configuration (Setup Wizard) pour l'analyse de l'expression génétique normalisée.

La fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) comporte les fonctionnalités suivantes :

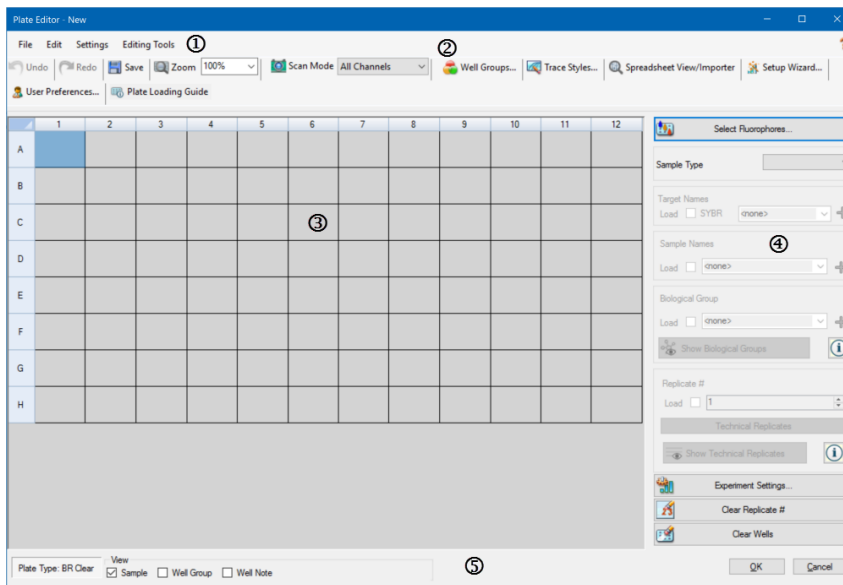
- Fluorophores étalons et types d'échantillons à attribuer aux plaques de puits
- Fonction de définition de la cible de référence et de l'échantillon de contrôle pour l'analyse de l'expression génétique
- Fonction de modification de la configuration de la plaque avant, pendant ou après une série
- Fonction d'enregistrement des fichiers de plaques en vue de leur réutilisation
- Fonction d'impression du fichier de plaque sur une imprimante par défaut

L'assistant de configuration guide l'utilisateur dans la création d'une disposition de plaque pour l'analyse de l'expression génétique normalisée. L'assistant de configuration peut être utilisé avant, pendant ou après une série.



## Fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque)

Il est possible d'utiliser la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) pour créer des plaques personnalisées ou modifier des plaques existantes.



### LÉGENDE

1. La barre de menu fournit un accès rapide aux commandes de menu File (Fichier) et Settings (Paramètres) ainsi qu'aux options des outils de modification de la plaque.
2. La barre d'outils fournit un accès rapide à d'importantes fonctions de chargement de plaque.
3. Le volet principal affiche le volet de plan de la plaque et les options de plaque à mesure de leur application.
4. Le volet de droite affiche les options utilisées pour personnaliser la plaque.
5. Le volet inférieur affiche le type de plaque et fournit un accès rapide aux options d'affichage.

## Commandes du menu File (Fichier)

**Save (Enregistrer)** — enregistre le fichier de données de la plaque à l'emplacement spécifié dans l'onglet File (Fichier) de la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur). Consulter la section [Modification des paramètres de fichier par défaut à la page 91](#) pour de plus amples informations. Cet élément de menu n'est disponible que lors de la création d'un nouveau fichier de plaque.

**Save As (Enregistrer sous)** — enregistre le fichier de données de plaque ouvert avec le nouveau nom indiqué par l'utilisateur. Cet élément de menu n'est disponible que lors de la création d'un nouveau fichier de plaque.

**File Passwords (Mots de passe de fichier)** — permet aux utilisateurs de définir leurs mots de passe d'enregistrement et d'ouverture de fichier.

**Extract Plate (Extraire la plaque)** — ouvre une boîte de dialogue dans laquelle il est possible d'extraire/enregistrer le fichier de plaque (.pltd). Cet élément de menu n'est disponible que lors de la visualisation ou de la modification d'un fichier de plaque existant.

**Print (Imprimer)** — imprime le fichier de données de plaque ouvert.

**Close (Fermer)** — ferme l'éditeur de protocole.

## Commandes du menu Edit (Édition)

**Undo (Annuler)** — rétablit une modification sur un fichier de plaque jusqu'à l'enregistrement du fichier.

**Redo (Rétablir)** — inverse l'opération d'annulation la plus récente à moins que le fichier de plaque n'ait été enregistré.

## Commandes du menu Settings (Paramètres)

**Plate size (Dimensions de la plaque)** — ouvre une boîte de dialogue permettant de sélectionner une dimension de plaque pour la série.

**Remarque** : Les dimensions de la plaque doivent être identiques aux dimensions du bloc de l'appareil sur lequel la série est réalisée.

**Sélectionnez 96 puits pour :**

- CFX Opus 96 Dx
- CFX Opus Deepwell Dx

**Sélectionnez 384 puits pour :**

- CFX Opus 384Dx

**Plate Type (type de plaque)** — permet de choisir le type de puits dans la plaque contenant les échantillons, soit BR White ou BR Clear. Pour une analyse de données exacte, le type de plaque sélectionné doit être identique au type de plaque utilisé dans la série.

**Remarque** : Les nouveaux types de plaque doivent être étalonnés. Consulter [Calibration de nouveaux fluorophores à la page 84](#) pour plus d'informations.

**Number Convention (Convention numérique)** — permet de cocher ou de décocher la case d'affichage des unités en notation scientifique. Par défaut, les unités sont affichées en notation scientifique.

**Units (Unités)** — permet de choisir les unités à afficher dans les feuilles de calcul lors de la réalisation de la quantification d'inconnus versus une courbe standard.

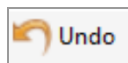
## Modification des commandes du menu Tools (Outils)

**Setup Wizard (Assistant de configuration)** — ouvre l'assistant de configuration dans lequel il est possible de définir les paramètres de disposition et d'analyse pour la plaque en cours. L'assistant de configuration peut être utilisé avant, pendant ou après la finalisation d'une série.

**Spreadsheet View/Importer (Affichage sous forme de feuille de calcul/importation)** — ouvre la boîte de dialogue View (Afficher) qui permet de visualiser la disposition de plaque sous forme de modèle au format feuille de calcul. Cette boîte de dialogue peut être utilisée pour exporter ou importer les données du modèle de plaque au format .csv.

**Flip Plate (Retourner la plaque)** — retourne le contenu de la plaque de 180°.

## Commandes de la barre d'outils



Undo

Rétablit une modification apportée à une plaque. CFX Maestro Dx SE prend en charge jusqu'à dix actions d'annulation



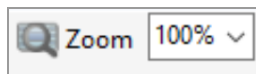
Redo

Annule l'action d'annulation la plus récente. CFX Maestro Dx SE prend en charge jusqu'à dix actions de restauration.



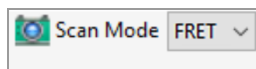
Save

Enregistre le fichier de plaque en cours.



Zoom 100% ▾

Affiche une liste déroulante à partir de laquelle il est possible d'augmenter ou de diminuer le grossissement de l'affichage de plaque.



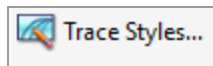
Scan Mode FRET ▾

Affiche une liste déroulante qui permet de sélectionner un mode de balayage indiquant à l'appareil les canaux dans lesquels les données de fluorescence doivent être collectées pendant une série.



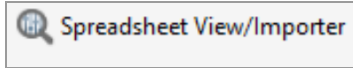
Well Groups...

Ouvre la fenêtre Well Groups Manager (Gestionnaire des groupes de puits) qui peut être utilisée pour créer des groupes de puits pour la plaque en cours.

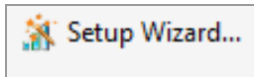


Trace Styles...

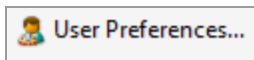
Affiche une boîte de dialogue dans laquelle il est possible de choisir les couleurs et les symboles pour les traces d'amplification.



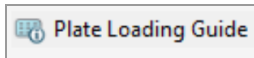
Ouvre la boîte de dialogue View (Afficher) qui permet de visualiser la disposition de plaque sous forme de modèle au format feuille de calcul. Cette boîte de dialogue peut être utilisée pour exporter ou importer les données du modèle de plaque au format .csv.



Ouvre le Setup Wizard (Assistant de configuration) dans lequel il est possible de définir les paramètres de disposition et d'analyse pour la plaque en cours. L'assistant de configuration peut être utilisé avant, pendant ou après une série.



Ouvre l'onglet Plate (Plaque) dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) dans laquelle il est possible de définir les paramètres de disposition de plaque et de créer ou de supprimer les noms de cibles, d'échantillons et de groupes biologiques. Les modifications apportées dans l'onglet Plate (Plaque) seront disponibles lors de la prochaine ouverture de l'éditeur de plaque.



Affiche les étapes nécessaires pour configurer une plaque et charger les puits.

## Création d'un fichier de plaque à l'aide de l'éditeur de plaque

L'utilisation du Plate Editor (Éditeur de plaque) permet de créer des fichiers de plaque personnalisés. Il est également possible de modifier et d'enregistrer des fichiers de plaque précédemment enregistrés ou des exemples de fichiers de plaque fournis avec le Système CFX Opus Dx.

Pour créer un nouveau fichier de plaque, procéder comme suit :

- Ouvrir un fichier de plaque dans l'éditeur de plaque.
- Sélectionner le type de plaque.  
**Remarque** : Le type de plaque pour le fichier de plaque doit être identique à la plaque dans le module de réaction.
- Sélectionner le mode de lecture à utiliser dans le protocole.
- Sélectionner les fluorophores à utiliser dans la plaque.
- Sélectionner le type d'échantillon, les cibles et les échantillons.
- Sélectionner les réplicats techniques le cas échéant.
- Enregistrer la disposition de plaque.

**Conseil** : Pour créer une nouvelle plaque à partir de fichiers de plaque précédemment enregistrés ou d'exemples de fichiers, consulter [Ouverture d'un fichier de plaque existant dans l'éditeur de plaque à la page 142](#).

## Ouverture d'un nouveau fichier de plaque dans l'éditeur de plaque

CFX Maestro Dx SE propose plusieurs options pour ouvrir un nouveau fichier de plaque :

- Depuis la fenêtre d'accueil
- Depuis la boîte de dialogue Startup Wizard (Assistant de démarrage)
- Depuis la boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série)

### Pour ouvrir un nouveau fichier de plaque depuis la fenêtre d'accueil

- ▶ Sélectionner File (Fichier) > New (Nouvelle) > Plate (Plaque).

La fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) s'ouvre, affichant le fichier de plaque par défaut pour l'appareil sélectionné.

**Conseil** : Pour obtenir des informations sur la configuration du fichier de plaque par défaut, consulter la section [Modification des paramètres de fichier par défaut à la page 91](#).

### **Pour ouvrir un nouveau fichier de plaque depuis le Startup Wizard (Assistant de démarrage)**

1. Dans la fenêtre d'accueil, effectuer l'une des opérations suivantes pour ouvrir l'assistant de démarrage s'il n'apparaît pas dans l'affichage :

- Sélectionner View (Afficher) > Startup Wizard (Assistant de démarrage).
- Cliquer sur Startup Wizard (Assistant de démarrage) dans la barre d'outils.

2. Le cas échéant, sélectionner le type d'appareil dans la liste déroulante.

3. Pour créer une nouvelle plaque, cliquer sur User-defined (Définie par l'utilisateur) pour le type de série.

La boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) s'ouvre, affichant l'onglet Plate (Plaque).

4. Cliquer sur l'onglet Plate (Plaque) et cliquer sur Create New (Créer nouvelle).

La fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) s'ouvre, affichant la disposition de plaque par défaut pour l'appareil sélectionné.

### **Pour ouvrir un nouveau fichier de plaque depuis la boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série)**

1. Dans la fenêtre d'accueil, effectuer l'une des opérations suivantes pour ouvrir la boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) :

- Sélectionner Run (Série) > User-defined Run (Série définie par l'utilisateur).
- Cliquer sur User-defined Run Setup (Configuration de la série définie par l'utilisateur) dans la barre d'outils.

La boîte de dialogue Run Setup (Configuration de la série) s'ouvre dans l'onglet Protocol (Protocole).

2. Pour créer une nouvelle plaque, cliquer sur l'onglet Plate (Plaque) puis cliquer sur Create New (Créer nouvelle).

La fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) s'ouvre, affichant la disposition de plaque par défaut pour l'appareil sélectionné.

## Ouverture d'un fichier de plaque existant dans l'éditeur de plaque

CFX Maestro Dx SE fournit des exemples de fichiers de plaque qu'il est possible de modifier et d'enregistrer comme une nouvelle plaque. Il est également possible de créer un nouveau fichier de plaque à partir d'un fichier de plaque précédemment enregistré.

### Pour ouvrir un exemple de fichier de plaque

1. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner File (Fichier) > Open (Ouvrir) > Plate (Plaque).  
Windows Explorer s'ouvre à l'emplacement du dossier Sample files (Fichiers d'exemple) du Système CFX Opus Dx.
2. Ouvrir le dossier Sample files puis le dossier Plates (Plaques).
3. Sélectionner un fichier de plaque et cliquer sur Open (Ouvrir).  
Le fichier de plaque d'exemple s'ouvre dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque).
4. Sélectionner File (Fichier) > Save As (Enregistrer sous) et enregistrer le fichier de plaque avec un nouveau nom ou dans un nouveau dossier.

### Pour ouvrir un fichier de plaque précédemment enregistré

1. Dans la fenêtre d'accueil, effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Sélectionner File (Fichier) > Open (Ouvrir) > Plate (Plaque), accéder à la plaque de la cible et la sélectionner, puis cliquer sur Open.
  - Ouvrir le Startup Wizard (Assistant de démarrage) et effectuer l'une des opérations suivantes :
    - Pour modifier un fichier de plaque existant, cliquer sur Select Existing (Sélectionner un fichier existant) et accéder au fichier de la cible.
    - Pour modifier le fichier de plaque affiché, cliquer sur Edit Selected (Modifier la sélection).

Le fichier de la cible s'ouvre dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque).
2. Sélectionner File (Fichier) > Save As (Enregistrer sous) et enregistrer le fichier de plaque avec un nouveau nom ou dans un nouveau dossier.

## Configuration d'un nouveau fichier de plaque

**Conseil :** Si le fichier de plaque comprend les paramètres requis (par exemple, en cas de modification d'un échantillon ou d'un fichier de plaque existant), il est possible d'ignorer cette section. Passer à la section [Attribution de paramètres optionnels au fichier de plaque à la page 151](#).

Les nouveaux fichiers de plaque nécessitent les paramètres suivants :

- Dimensions de la plaque
- Type de plaque
- Mode de lecture
- Un fluorophore
- Un type d'échantillon

### Sélection des dimensions et du type de plaque

**Important :** Il convient de sélectionner les dimensions de la plaque pendant la configuration de la plaque. Les dimensions de la plaque ne pourront plus être modifiées pendant ou après une série.

Le logiciel applique les dimensions et le type de plaque à tous les puits pendant la série. Veiller à ce que les dimensions de la plaque sélectionnées soient identiques à celles de la plaque qui sera utilisée dans la série.

Les systèmes CFX Opus Dx du Bio-Rad sont calibrés en usine pour de nombreuses combinaisons de fluorophores et de plaques. La calibration est spécifique à l'appareil, au fluorophore et au type de plaque. Vérifier que le fluorophore que l'on prévoit d'utiliser est calibré pour le type de plaque sélectionné.

**Conseil :** Pour calibrer une nouvelle combinaison de fluorophores et de types de plaques sur un appareil, sélectionner Tools (Outils) > Dye Calibration Wizard (Assistant de calibration des fluorophores). Pour obtenir des informations sur la calibration des fluorophores et des types de plaques, consulter la section [Calibration de nouveaux fluorophores à la page 84](#).

### Sélection du mode de lecture

Les systèmes CFX Opus 96 Dx et CFX Opus Deepwell Dx excitent et détectent les fluorophores dans cinq canaux (plus FRET). Le système CFX Opus 384 Dx excite et détecte les fluorophores dans quatre canaux (plus FRET). Tous les systèmes utilisent de multiples modes de balayage d'acquisition des données pour recueillir les données de fluorescence durant une série.

CFX Maestro Dx SE comporte trois modes de lecture :

- All Channels (Tous les canaux)
  - Balaye les canaux 1 à 5 sur les systèmes CFX Opus 96 Dx et CFX Opus Deepwell Dx
  - Lit les canaux 1 à 4 sur les systèmes CFX Opus 384 Dx



- SYBR®/FAM
  - Lit uniquement le canal 1
  - Fournit une lecture rapide
- FRET
  - Lit uniquement le canal FRET
  - Fournit une lecture rapide

### Sélection des fluorophores

**Important :** Avant de commencer la série, les systèmes CFX vérifient que les fluorophores spécifiés dans la plaque sont calibrés sur cet appareil. Il est impossible d'analyser une plaque si elle comporte des fluorophores qui n'ont pas été calibrés sur cet appareil.

L'utilisateur doit charger au moins un fluorophore sur la disposition de plaque avant la série. Il est possible d'ajouter à ce moment autant de fluorophores que nécessaire, mais la plaque doit contenir au moins un fluorophore. Les fluorophores sélectionnés apparaissent sous forme d'options pour les cibles dans le paramètre Target Names (Noms des cibles).

La boîte de dialogue Select Fluorophores (Sélectionner des fluorophores) est utilisée pour charger les fluorophores (ou les fluorophores de la plaque) dans les contrôles de chargement du puits de la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Les fluorophores qui apparaissent dans la boîte de dialogue Select Fluorophores (Sélectionner des fluorophores) dépendent du mode de lecture sélectionné :

- All Channels (Tous les canaux)

Tous les fluorophores disponibles apparaissent.

**Conseil :** Il est possible d'ajouter autant de fluorophores que nécessaire, mais seul un fluorophore par canal peut être chargé dans chaque puits.

- SYBR®/FAM

Seuls les fluorophores du canal 1 apparaissent.

- FRET

Seuls les fluorophores du canal 6 apparaissent.

**Conseil :** Le fluorophore du canal 6 FRET n'apparaît que lorsque FRET est le mode de lecture sélectionné. Il n'est pas disponible pour le mode de lecture All Channels (Tous les canaux).

**Remarque :** L'utilisateur ne peut pas ajouter directement de fluorophores dans la boîte de dialogue Select Fluorophores (Sélectionner des fluorophores) ni les supprimer de cette dernière. Pour calibrer de nouveaux fluorophores sur un appareil, utiliser le Dye Calibration Wizard (Assistant de calibration des fluorophores). Au terme de la calibration, le nouveau fluorophore est automatiquement ajouté à

cette liste. Pour de plus amples informations, consulter la section [Calibration de nouveaux fluorophores à la page 84](#).

## Sélection des types d'échantillons

**Important :** L'utilisateur doit sélectionner au moins un type d'échantillon à attribuer aux puits de la plaque avant la série.

Le logiciel CFX Maestro Dx SE propose cinq types d'échantillons :

- Unknown (Inconnu)
- Standard (Étalon)
- NTC (contrôle sans matrice)
- Positive Control (Contrôle positif)
- Negative Control (Contrôle négatif)
- NRT (absence de transcriptase inverse)

L'utilisateur attribue les types d'échantillons aux puits de la plaque.

## Configuration d'une nouvelle plaque

### Pour configurer une nouvelle plaque

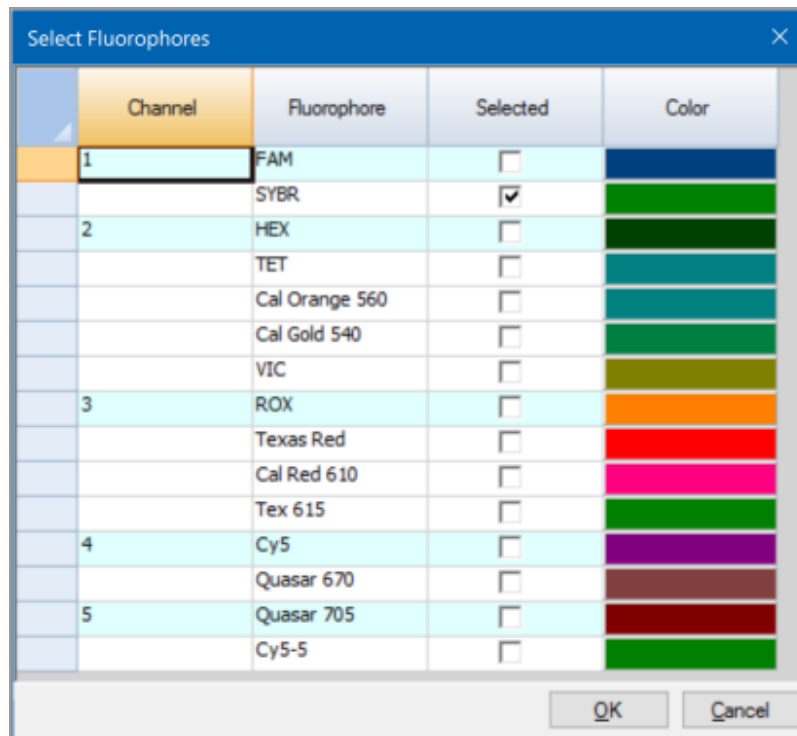
1. Ouvrir une nouvelle plaque dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque).
2. Pour définir les dimensions de la plaque, sélectionner Settings (Paramètres) > Plate Size (Dimensions de la plaque) et sélectionner les dimensions de plaque appropriées dans le menu déroulant.
3. Pour définir le type de plaque, sélectionner Settings (Paramètres) > Plate Type (Type de plaque) et sélectionner soit BR White soit BR Clear dans le menu déroulant.
4. Le cas échéant, à partir du menu Settings (Paramètres), il est possible de changer la convention numérique et les unités d'affichage :
  - Pour changer la convention numérique, sélectionner Settings > Number Convention (Convention numérique) et sélectionner Scientific Notation (Notation scientifique).

**Conseil :** La sélection par défaut est Scientific Notation (Notation scientifique). Dans ce cas, la sélection de Scientific Notation (Notation scientifique) efface la valeur par défaut et définit la convention numérique sur la forme standard.

  - Pour changer les unités d'affichage, sélectionner Settings (Paramètres) > Units (Unités) et sélectionner une nouvelle valeur d'unité.

5. Pour définir le mode de lecture, sélectionner le mode de lecture approprié dans la liste déroulante Scan Mode (Mode de lecture) de la barre d'outils de la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque).
6. Sélectionner les fluorophores requis pour la plaque :
  - a. Dans le volet droit, cliquer sur Select Fluorophores (Sélectionner des fluorophores).

La boîte de dialogue Select Fluorophores (Sélectionner des fluorophores) apparaît. Sont visibles les fluorophores disponibles pour le type de mode de lecture sélectionné à l'Étape 5, par exemple :



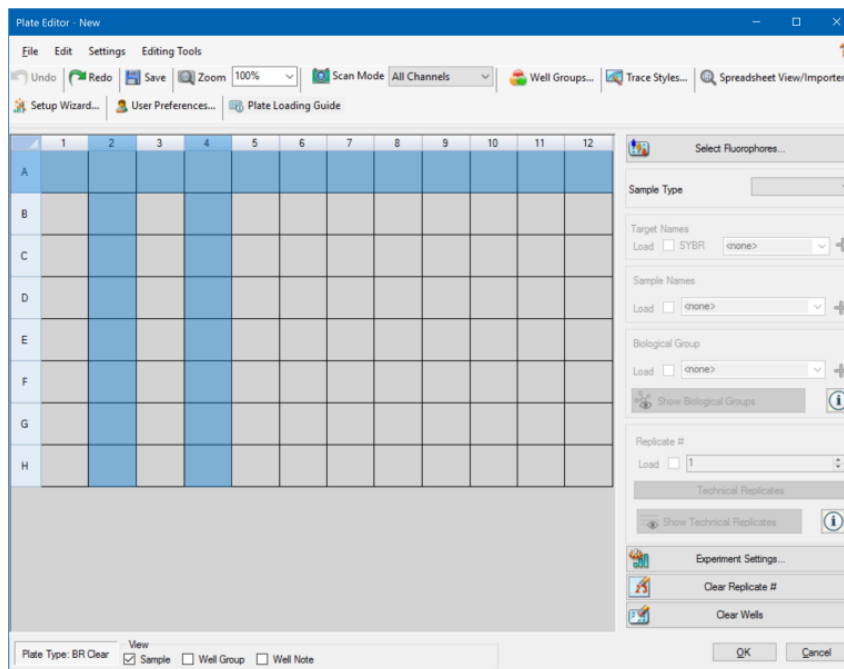
- b. Pour sélectionner un fluorophore, cocher sa case Selected (Sélectionné).  
**Conseil :** Pour supprimer un fluorophore de la liste, décocher sa case Selected (Sélectionné).
- c. Pour modifier la couleur d'affichage du fluorophore, cliquer sur la zone Color (Couleur).  
**Remarque :** La couleur sélectionnée représente le fluorophore à la fois dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) et dans les graphiques Data Analysis (Analyse de données).

- d. Dans la boîte de dialogue Color, sélectionner la couleur souhaitée ou cliquer sur Define Custom Colors (Définir les couleurs personnalisées) et créer une nouvelle couleur pour représenter le fluorophore.
  - e. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et quitter la boîte de dialogue Select Fluorophores (Sélectionner des fluorophores).
7. Il faut sélectionner au moins un puits dans lequel charger un type d'échantillon. Par défaut, le puits A1 est sélectionné.

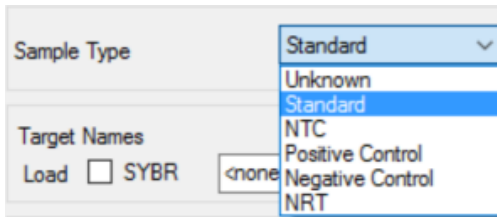
Dans le volet de plaque, effectuer l'une des opérations suivantes :

- Pour charger plusieurs puits adjacents, cliquer sur un puits et le faire glisser vers le puits cible.
- Pour charger plusieurs puits non adjacents, maintenir la touche Ctrl enfoncée et cliquer sur chaque puits.
- Pour charger une colonne entière avec le même type d'échantillon, cliquer sur le numéro de la colonne.
- Pour charger une ligne entière, cliquer sur le numéro de ligne correspondant.
- Pour charger toute la plaque, cliquer dans le coin supérieur gauche de la plaque.

Par exemple :



- Attribuer un type d'échantillon au puits ou aux puits sélectionnés à partir du menu déroulant Sample Type (Type d'échantillon).

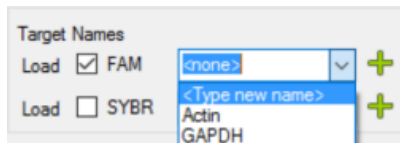


- Attribuer au moins un fluorophore à tous les puits qui contiennent un type d'échantillon. Il est possible d'attribuer plusieurs fluorophores à un puits ou un groupe de puits.

**Remarque :** Un seul fluorophore peut être attribué par canal. Il est impossible d'attribuer plusieurs fluorophores du même canal au même puits.

**Conseil :** Il est possible d'associer une cible au fluorophore ou uniquement le fluorophore au puits à ce stade et d'associer une cible au fluorophore une fois l'expérience réalisée.

- Pour attribuer uniquement un fluorophore aux puits sélectionnés, dans la section Target Names (Noms des cibles) du volet droit, cocher la case Load (Charger) pour le fluorophore spécifique.
- Pour associer une cible à un fluorophore, dans la section Target Names (Noms des cibles), sélectionner le nom d'une cible dans la liste déroulante pour le fluorophore spécifique. Le logiciel coche automatiquement la case Load (Charger) correspondante.



- Pour les puits contenant un type d'échantillon Standard (Étalon), une concentration doit être chargée. Chaque puits doit avoir une valeur de concentration différente. Par défaut, CFX Maestro Dx SE charge une concentration de 1,00E+06 dans tous les puits ayant un type d'échantillon Standard (Étalon). Il est possible de modifier la valeur si nécessaire.
  - Dans le volet de plaque, sélectionner un puits ou un groupe de puits Standard (Étalon).
  - Dans la section Concentration, cliquer sur Load (Charger) pour charger la valeur sur le ou les puits sélectionnés.
  - (Facultatif) Pour charger une autre concentration, saisir la nouvelle valeur dans la zone de texte Concentration puis appuyer sur Entrée.
  - Exécuter cette étape pour tous les puits ayant le type d'échantillon Standard (Étalon).

**Conseil :** Pour charger la même concentration dans tous les puits Standard (Étalon), veiller à ce que <All> (<Tous>) apparaisse dans la liste déroulante sous la valeur Concentration. Pour charger la même valeur de concentration dans tous les puits ayant un fluorophore spécifique, cliquer sur la liste déroulante et sélectionner le fluorophore.

11. Cliquer sur OK pour enregistrer la nouvelle plaque.

## Éléments du menu contextuel pour l'outil Plate Editor (Éditeur de plaque)

Le [Tableau 9](#) répertorie les éléments de menu disponibles dans l'outil Plate Editor (Éditeur de plaque) d'un simple clic avec le bouton droit sur n'importe quel puits dans l'outil. Ce menu apparaît également dans l'outil Plate Spreadsheet View/Importer (Affichage sous forme de feuille de calcul/importation).

**Tableau 9. Éléments de menu contextuel dans l'outil Plate Spreadsheet View/Importer (Affichage sous forme de feuille de calcul/importation)**

Élément	Fonction
Copy (Copier)	Copie la feuille de calcul dans son intégralité.
Copy as Image (Copier en tant qu'image)	Copie la feuille de travail en tant que fichier image.
Print (Imprimer)	Imprime la feuille de calcul.
Print Selection (Imprimer la sélection)	Imprime uniquement les cellules sélectionnées.
Export to Excel (Exporter vers Excel)	Exporte le fichier vers une feuille de calcul Excel.
Export to Csv (Exporter vers Csv)	Exporte le fichier au format de fichier .csv.
Export to Xml (Exporter vers Xml)	Exporte le fichier au format de fichier .xml.
Export to Html (Exporter vers Html)	Exporte le fichier au format de fichier .html.
Find (Rechercher)	Recherche un texte spécifique.
Sort (Trier)	Trie la feuille de calcul en sélectionnant jusqu'à trois colonnes de données dans la fenêtre Sort (Trier).

## Attribution de paramètres optionnels au fichier de plaque

Un fichier de plaque comporte des informations sur le contenu de chaque puits dans lequel un échantillon est chargé pour une série. Au terme de la série, le logiciel CFX Maestro Dx SE lie le contenu du puits aux données de fluorescence collectées au cours du protocole et applique l'analyse appropriée dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).

CFX Maestro Dx SE permet d'attribuer des paramètres à chaque puits dans la plaque avant, pendant ou même après la réalisation d'expériences. Il est possible d'attribuer les paramètres à un fichier de plaques existant ou nouveau. Ces paramètres comprennent :

- **Target names (Noms de cibles)** — la ou les cibles d'intérêt (gènes ou séquences) dans chaque puits chargé.
- **Sample names (Noms d'échantillons)** — l'identifiant ou la condition qui correspond à l'échantillon dans chaque puits chargé, comme par exemple mouse1 (souris1), mouse2 (souris2) ou mouse3 (souris3).
- **Biological groups (Groupes biologiques)** — l'identifiant ou la condition qui correspond à un groupe de puits, par exemple 0Hr (0 h), 1Hr (1 h) ou 2Hr (2 h).

**Conseil** : Les noms de cibles, les noms d'échantillons et les groupes biologiques doivent être identiques d'un puits à l'autre pour pouvoir comparer les données dans l'onglet Gene Expression (Expression génétique) de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Chaque nom doit contenir la même mise en majuscules, la même ponctuation et le même espacement. Par exemple, « Actine » n'est pas la même chose que « actine », « 2Hr » n'est pas la même chose que « 2 h » et « Mouse 1 » n'est pas la même chose que « mouse1 ». Pour garantir la cohérence de la dénomination, saisir les noms dans la section Libraries (Bibliothèques) dans User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) > Plate (Plaque), disponible dans la fenêtre d'accueil.

- **Technical replicates (Réplicats techniques)** — chaque puits utilisé pour analyser la même combinaison d'échantillons et de cibles ; à savoir, répéter les réactions qPCR.
- **Dilution series (Série de dilutions)** — quantité permettant de modifier la concentration du type d'échantillon Standard (Étalon) à l'intérieur d'un groupe de réplicats pour générer les données de la courbe d'étalonnage à analyser.

### Attribution d'une cible aux puits

**Conseil** : l'utilisateur peut attribuer le même nom de cible à un seul puits ou à plusieurs. Il est également possible d'attribuer plusieurs cibles au même puits.



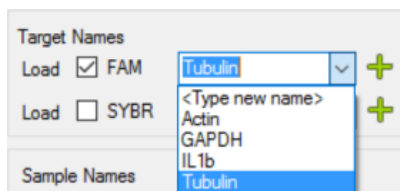
**Important :** L'effleurement de la touche OK après l'attribution d'une cible enregistre les modifications et désactive l'option Undo (Annuler) dans la barre d'outils Plate Editor (Éditeur de plaque). L'utilisateur doit appuyer sur la touche OK avec prudence.

### Pour attribuer une cible à un puits ou à un groupe de puits

1. Dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque), vérifier qu'un type d'échantillon a bien été attribué au puits ou au groupe de puits.

Consulter la section [Sélection des types d'échantillons à la page 145](#) pour obtenir des informations sur l'attribution des types d'échantillons aux puits.

2. Dans le volet des plaques, sélectionner le puits ou le groupe de puits.
  - Pour afficher un seul puits, cliquer sur le puits.
  - Pour sélectionner plusieurs puits adjacents, cliquer sur un puits et le faire glisser vers le puits cible.
  - Pour sélectionner plusieurs puits non adjacents, maintenir la touche Ctrl enfoncée et cliquer sur chaque puits.
  - Pour sélectionner une colonne entière avec le même type d'échantillon, cliquer sur le numéro de la colonne.
  - Pour sélectionner une ligne entière, cliquer sur le numéro de ligne correspondant.
3. Dans le volet de droite, sélectionner un nom dans la liste déroulante Target Name (Nom de cible) pour chaque fluorophore sélectionné.



4. Recommencer l'[Étape 3](#) pour chaque puits ou groupe de puits auxquels une cible doit être attribuée.

**Conseil :** L'utilisateur peut attribuer le même nom de cible ou un nom différent pour chaque fluorophore sélectionné.

5. Cliquer sur OK pour accepter les modifications et enregistrer la plaque.

**Remarque :** Si la plaque a été changée par inadvertance, cliquer sur Undo (Annuler) dans la barre d'outils Plate Editor (Éditeur de plaque) avant de cliquer sur OK pour accepter les modifications.

### Pour supprimer un nom de cible

- Pour supprimer un nom de cible du puits ou du groupe de puits sélectionné, décocher la case Load (Charger) correspondante.

**Important :** La suppression d'un nom de cible d'un puits supprime également son fluorophore associé. Faire preuve de prudence lors de la suppression d'un nom de cible d'un puits.

### Pour ajouter un nom de cible à la liste

- Pour ajouter un nom de cible à la liste déroulante, effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Saisir un nom dans la liste déroulante Target Name (Nom de cible) et appuyer sur Entrée.  
**Conseil :** Les noms de cibles ajoutés à une liste apparaissent dans toutes les autres listes de cibles.
  - Cliquer sur le symbole + vert à droite de la liste déroulante, saisir un nom pour la cible et appuyer sur Entrée.
  - Cliquer sur l'onglet User Preferences (Préférences utilisateur) dans la barre d'outils et ajouter le nom à la bibliothèque Target Names (Noms de cibles) de l'onglet Plate (Plaque).

**Important :** Les noms de cibles ajoutés dans la liste déroulante ne sont disponibles que pour la plaque en cours et uniquement si l'utilisateur attribue le nom à un puits et qu'il enregistre la disposition de plaque. Si l'utilisateur n'attribue pas de nom à un puits et qu'il n'enregistre pas la disposition de plaque, le nom n'est pas enregistré et ne sera pas disponible en vue d'une utilisation ultérieure. Pour ajouter un nom de cible de manière permanente, il convient de l'ajouter également à la bibliothèque Target Names (Noms de cibles) à l'aide de la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur). Les noms ajoutés à la bibliothèque sont disponibles lorsque l'utilisateur ouvre à nouveau la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Consulter la section [Définition des paramètres de plaque par défaut à la page 94](#) pour de plus amples informations.

### Pour supprimer un nom de cible de la liste

1. Cliquer sur User Preferences (Préférences utilisateur) dans la barre d'outils.  
La boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) apparaît, affichant l'onglet Plate (Plaque).
2. Dans la bibliothèque Target Names (Noms de cibles) de l'onglet Plate (Plaque), sélectionner le nom à supprimer et appuyer sur la touche Delete (Supprimer).
3. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et quitter la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).

**Important :** Les noms de cibles enregistrés avec un fichier de plaque ne peuvent pas être supprimés. Les noms personnalisés ajoutés à la liste déroulante Target Names (Noms de cibles) qui ne sont pas utilisés et enregistrés avec la plaque sont automatiquement supprimés de la liste. Les noms supprimés de la bibliothèque Target Names (Noms de cibles) sont définitivement supprimés du logiciel et ne sont plus disponibles pour les utilisateurs. L'utilisateur doit supprimer les noms de cibles avec prudence.

## Attribution d'un nom d'échantillon aux puits

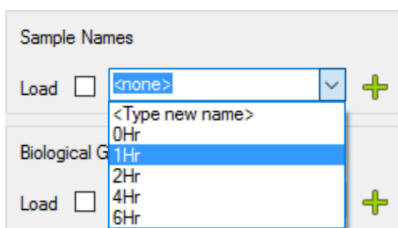
**Remarque :** Pour attribuer un nom d'échantillon, au moins un fluorophore doit être attribué aux puits sélectionnés. Si aucun fluorophore n'est attribué aux puits sélectionnés, la liste déroulante Sample Names (Noms d'échantillons) est désactivée. Consulter la section [Attribution d'une cible aux puits à la page 151](#) pour obtenir des informations sur l'attribution des fluorophores.

**Conseil :** L'utilisateur ne peut attribuer qu'un nom d'échantillon à chaque puits ou groupe de puits.

### Pour attribuer un nom d'échantillon à un puits ou à un groupe de puits

1. Dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque), vérifier qu'un fluorophore a bien été attribué au puits ou au groupe de puits.
2. Dans le volet des plaques, sélectionner le puits ou le groupe de puits.
3. Dans le volet de droite, sélectionner un nom dans la liste déroulante Sample Names (Noms d'échantillons).

Le logiciel coche automatiquement la case Load (Charger) correspondante.



4. Recommencer l'[Étape 3](#) pour chaque puits ou groupe de puits auxquels un nom d'échantillon doit être attribué.
5. Cliquer sur OK pour accepter les modifications et enregistrer la plaque.

**Remarque :** Si la plaque a été changée par inadvertance, cliquer sur Undo (Annuler) dans la barre d'outils Plate Editor (Éditeur de plaque) avant de cliquer sur OK pour accepter les modifications.

### Pour supprimer un nom d'échantillon

- ▶ Pour supprimer un nom d'échantillon d'un puits ou d'un groupe de puits sélectionné, décocher la case Load (Charger) correspondante.

### Pour ajouter un nom d'échantillon à la liste

- ▶ Pour ajouter un nom d'échantillon à la liste déroulante, effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Saisir un nom dans la liste déroulante Sample Names (Noms d'échantillons) et appuyer sur Entrée.
  - Cliquer sur le symbole + vert à droite de la liste déroulante et saisir un nom pour l'échantillon.
  - Cliquer sur l'onglet User Preferences (Préférences utilisateur) dans la barre d'outils et ajouter le nom à la bibliothèque Sample Names (Noms d'échantillons) de l'onglet Plate (Plaque).

**Important :** Les noms d'échantillons ajoutés dans la liste déroulante ne sont disponibles que pour la plaque en cours et uniquement si l'utilisateur attribue le nom à un puits et qu'il enregistre la disposition de plaque. Si l'utilisateur n'attribue pas de nom à un puits et qu'il n'enregistre pas la disposition de plaque, le nom n'est pas enregistré et ne sera pas disponible en vue d'une utilisation ultérieure. Pour ajouter un nom d'échantillon de manière permanente, il convient de l'ajouter également à la bibliothèque Sample Names (Noms d'échantillons) à l'aide de la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur). Les noms ajoutés à la bibliothèque sont disponibles lorsque l'utilisateur ouvre à nouveau la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Consulter la section [Définition des paramètres de plaque par défaut à la page 94](#) pour de plus amples informations.

### Pour supprimer un nom d'échantillon de la liste

1. Cliquer sur User Preferences (Préférences utilisateur) dans la barre d'outils.  
La boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) apparaît, affichant l'onglet Plate (Plaque).
2. Dans la bibliothèque Sample Names (Noms d'échantillons) de l'onglet Plate (Plaque), sélectionner le nom à supprimer et appuyer sur la touche Delete (Supprimer).
3. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et quitter la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).

**Important :** Les noms d'échantillons enregistrés avec un fichier de plaque ne peuvent pas être supprimés. Les noms personnalisés ajoutés à la liste Sample Names (Noms d'échantillons) qui ne sont pas utilisés et enregistrés avec la plaque sont automatiquement supprimés de la liste déroulante. Les noms supprimés de la bibliothèque Sample Names (Noms d'échantillons) sont supprimés du logiciel et ne sont plus disponibles pour les utilisateurs. L'utilisateur doit supprimer les noms d'échantillons avec prudence.

## Attribution des groupes biologiques aux puits

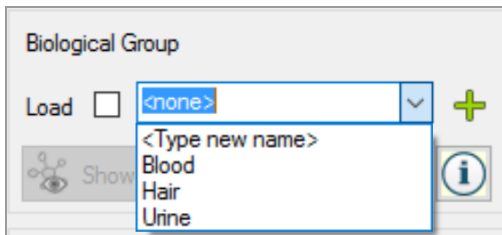
**Remarque :** Pour attribuer un groupe biologique, au moins un fluorophore doit être attribué aux puits sélectionnés. L'attribution d'un fluorophore active la liste déroulante Biological Groups (Groupes biologiques). Consulter la section [Attribution d'une cible aux puits à la page 151](#) pour obtenir des informations sur l'attribution des fluorophores.

**Conseil :** L'utilisateur peut attribuer un groupe biologique à chaque puits ou groupe de puits.

### Pour attribuer un groupe biologique à chaque puits ou groupe de puits

1. Dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque), vérifier qu'un fluorophore a bien été attribué au puits ou au groupe de puits.
2. Dans le volet des plaques, sélectionner le puits ou le groupe de puits.
3. Dans le volet droit, effectuer une sélection dans la liste déroulante Biological Group (Groupe biologique).

CFX Maestro Dx SE coche automatiquement la case Load (Charger) correspondante.



4. Recommencer l'Étape 3 pour chaque puits ou groupe de puits auxquels un groupe biologique doit être attribué.
5. Cliquer sur OK pour accepter les modifications et enregistrer la plaque.

**Remarque :** Si la plaque a été changée par inadvertance, cliquer sur Undo (Annuler) dans la barre d'outils Plate Editor (Éditeur de plaque) avant de cliquer sur OK pour accepter les modifications.

### Pour supprimer un groupe biologique

- Pour supprimer un groupe biologique du puits ou du groupe de puits sélectionné, décocher la case Load (Charger) correspondante.

### Pour ajouter un groupe biologique à la liste

- Pour ajouter un groupe biologique à la liste déroulante, effectuer l'une des opérations suivantes :

- Saisir un nom dans la zone déroulante Biological Group (Groupe biologique) et appuyer sur Entrée.
- Cliquer sur le symbole + vert à droite de la liste déroulante et saisir un nom pour le groupe biologique.
- Cliquer sur l'onglet User Preferences (Préférences utilisateur) dans la barre d'outils et ajouter le nom à la bibliothèque Biological Group Names (Noms de groupes biologiques) de l'onglet Plate (Plaque).

**Important :** Les noms de groupes biologiques ajoutés dans la liste déroulante ne sont disponibles que pour la plaque en cours et uniquement si l'utilisateur attribue le nom à un puits et qu'il enregistre la disposition de plaque. Si l'utilisateur n'attribue pas de nom à un puits et qu'il n'enregistre pas la disposition de plaque, le nom n'est pas enregistré et ne sera pas disponible en vue d'une utilisation ultérieure. Pour ajouter un nom de groupe biologique de manière permanente, il convient de l'ajouter également à la bibliothèque Biological Group Names (Noms de groupes biologiques) à l'aide de la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur). Les noms ajoutés à la bibliothèque sont disponibles lorsque l'utilisateur ouvre à nouveau la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Consulter la section [Définition des paramètres de plaque par défaut à la page 94](#) pour de plus amples informations.

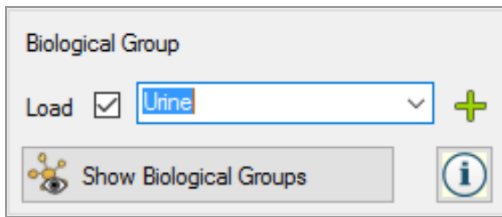
### Pour supprimer un nom de groupe biologique de la liste

1. Cliquer sur User Preferences (Préférences utilisateur) dans la barre d'outils.  
La boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) apparaît, affichant l'onglet Plate (Plaque).
2. Dans la bibliothèque Biological Group Names (Noms de groupes biologiques) de l'onglet Plate (Plaque), sélectionner le nom à supprimer et appuyer sur la touche Delete (Supprimer).
3. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et quitter la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur).

**Important :** Les noms de groupes biologiques enregistrés avec un fichier de plaque ne peuvent pas être supprimés. Les noms personnalisés ajoutés à la liste déroulante Biological Group Names (Noms de groupes biologiques) qui ne sont pas utilisés et enregistrés avec la plaque sont automatiquement supprimés de la liste. Les noms supprimés de la bibliothèque Biological Group Names (Noms de groupes biologiques) sont définitivement supprimés du logiciel et ne sont plus disponibles pour les utilisateurs. L'utilisateur doit supprimer les noms biologiques avec prudence.

### Pour afficher tous les groupes biologiques sur la plaque

- ▶ Cliquer sur Show Biological Groups (Afficher les groupes biologiques) pour afficher tous les groupes biologiques sur la plaque.



Chaque groupe est identifié par une couleur spécifique et le bouton Show Biological Groups (Afficher les groupes biologiques) passe à Hide Biological Groups (Masquer les groupes biologiques).

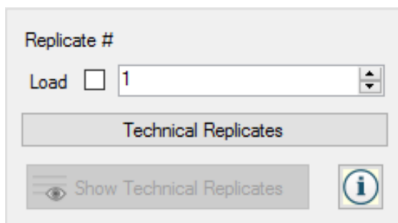
Cliquer sur Hide Biological Groups (Masquer les groupes biologiques) pour effacer la couleur dans les puits. De même, il est possible de cliquer sur n'importe quel puits dans la plaque pour masquer les groupes biologiques.

## Attribution de nombres de réplicats techniques aux puits

**Important :** Pour attribuer des nombres de réplicats techniques, les puits sélectionnés doivent avoir des contenus identiques. C'est-à-dire que les puits sélectionnés doivent avoir le même type d'échantillon et le même fluorophore. Le cas échéant, doivent leur avoir été attribués les mêmes noms de cible et d'échantillon et le même groupe biologique. Si ces éléments ne sont pas identiques, CFX Maestro Dx SE n'active pas cette option.

### Pour attribuer des nombres de réplicats techniques à un groupe de puits

1. Dans l'éditeur de plaque, veiller à ce que le contenu du groupe de puits soit identique.
2. Dans le volet de plaque, sélectionner le groupe cible de puits.
3. Pour attribuer le même nombre de réplicats à tous les puits sélectionnés, dans la section Replicate # (Nb de réplicats) du volet droit, saisir le nombre de réplicats puis cocher Load (Charger).



4. (Facultatif) Pour appliquer une série de réplicats à un ensemble de puits sélectionnés :

- a. Cliquez sur Technical Replicates (Réplicats techniques). La zone Replicate # (Nb de réplacats) change pour afficher les options suivantes :

- **Replicate size (Taille du réplacat)** — nombre représentant le nombre de puits dans chaque groupe de réplacats
- **Starting replicate # (Nb de départ des réplacats)** — premier nombre dans la série de réplacats pour le groupe de réplacats sélectionné

**Remarque :** Par défaut, le nombre de départ affiché par CFX Maestro Dx SE est le dernier nombre de réplacats techniques attribué dans la plaque, incrémenté d'une unité. Par exemple, si le dernier nombre de réplacats techniques dans la plaque était cinq, le nombre de départ suivant sera six. Il est possible de remplacer le nombre de départ par n'importe quel nombre qui ne soit pas déjà attribué.

- Sens de chargement (Horizontal ou Vertical)

- b. Cliquer sur Apply pour appliquer les paramètres à la série et revenir à l'affichage Replicate # (Nb de réplacats).
5. Cliquer sur OK pour accepter les modifications et enregistrer la plaque.

**Remarque :** Si la plaque a été changée par inadvertance, cliquer sur Undo (Annuler) dans la barre d'outils Plate Editor (Éditeur de plaque) avant de cliquer sur OK pour accepter les modifications.

### Pour supprimer un puits d'une série de réplacats

- ▶ Sélectionner le puits ou le groupe de puits à supprimer et décocher la case Load (Charger).

De même, il est possible de cliquer sur Clear Replicate # (Effacer le nb de réplacats) pour effacer le nombre de réplacats d'un puits ou d'un groupe de puits sélectionné.

### Pour visualiser toutes les réplacats techniques sur la plaque

- ▶ Cliquer sur Show (Afficher) pour visualiser tous les réplacats techniques sur la plaque.

Chaque groupe est identifié par une couleur spécifique et le bouton Show Technical Replicates (Afficher les réplacats techniques) est remplacé par Hide Technical Replicates (Masquer les réplacats)



techniques).

Cliquer sur Hide Technical Replicates (Masquer les répliqués techniques) pour effacer la couleur dans les puits. De même, il est possible de cliquer sur n'importe quel puits de la plaque pour masquer les répliqués techniques.

## Attribution d'une série de dilutions aux types d'échantillons étalons

Comme indiqué précédemment, tous les puits avec le type d'échantillon Standard (Étalon) doivent se voir attribuer une valeur de concentration. Il est possible d'attribuer une série de dilutions à plusieurs puits avec le type d'échantillon Standard (Étalon).

**Remarque :** Pour pouvoir attribuer une série de dilutions à un groupe de puits, les puits doivent être inclus dans une série de répliqués techniques. Consulter la section [Attribution de nombres de répliqués techniques aux puits à la page 158](#) pour obtenir des informations sur l'ajout de puits à une série de répliqués.

### Pour attribuer une série de dilutions à un groupe d'échantillons étalons

1. Dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque), veiller à ce que les conditions suivantes soient respectées :
  - Le type d'échantillon pour le groupe de puits est Standard (Étalon).
  - Tous les puits dans le groupe se voient attribuer au moins un fluorophore et ils contiennent tous les mêmes fluorophores.
  - Tous les puits dans le groupe sont inclus dans la même série de répliqués techniques.

**Remarque :** Le logiciel CFX Maestro Dx SE active l'option Dilution Series (Série de dilutions) uniquement lorsque tous les puits sélectionnés répondent à ces critères.
2. Dans le volet des plaques, sélectionner le groupe cible de puits.
3. Dans la section Concentration du volet de droite, cliquer sur Dilution Series (Série de dilutions). La section Concentration change pour afficher les options suivantes :

Starting Concentration: 1.00E+06  
 Replicates from: 9  
 to: 16  
 Dilution Factor: 10.000  
 Increasing  Decreasing  
 <All>  
 Cancel Apply

- **Starting concentration (Concentration de départ)** — valeur de concentration à laquelle la série démarre
  - **Replicates from and to (Réplicats en provenance de et vers)** — réplicats dans la série auxquels le facteur de dilution sera appliqué
  - **Dilution factor (Facteur de dilution)** — quantité permettant de modifier la concentration à l'intérieur de chaque groupe de réplicats
4. Définir les valeurs pour les options ou accepter les valeurs par défaut.
  5. Par défaut, le facteur de dilution diminue la série de dilutions. Sélectionner Increasing (Augmenter) pour augmenter la série de dilutions.
  6. (Facultatif) Par défaut, le facteur de dilution s'applique à tous les fluorophores dans la série de réplicats. Si la série contient plusieurs fluorophores et que la dilution doit être appliquée à un seul d'entre eux, sélectionner ce dernier dans la liste déroulante.
  7. Cliquer sur Apply (Appliquer) pour appliquer la série de dilutions au groupe de puits et revenir à l'affichage Concentration.
  8. Cliquer sur OK pour accepter les modifications et enregistrer la plaque.

## Copie du contenu d'un puits dans un autre puits

L'utilisateur peut copier le contenu d'un puits et le coller dans un seul puits ou dans plusieurs puits. Il peut toutefois ne copier le contenu que d'un seul puits. Mais il est impossible de sélectionner plusieurs puits et de copier leur contenu.

### Pour copier le contenu d'un puits dans un autre puits

1. Dans le volet des plaques, sélectionner le puits à copier.
2. Cliquer avec le bouton droit sur le puits et sélectionner Copy Well (Copier le puits).
3. Sélectionner le ou les puits dans lesquels coller le contenu :
  - Pour sélectionner un seul puits, cliquer sur le puits.

- Pour sélectionner plusieurs puits adjacents, cliquer sur un puits et le faire glisser vers le puits cible.
  - Pour sélectionner plusieurs puits non adjacents, maintenir la touche Ctrl enfoncée et cliquer sur chaque puits.
4. Une fois les puits cibles sélectionnés, cliquer avec le bouton droit et sélectionner Paste Well (Coller le puits).

CFX Maestro Dx SE colle le contenu du premier puits dans les puits sélectionnés.

## Ajout d'une note à un puits

Il est possible d'ajouter une note descriptive à un puits. L'utilisateur peut afficher les notes associées à un puits dans l'onglet Quantification de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).

### Pour ajouter une note à un puits

1. Dans le volet des plaques, sélectionner le ou les puits pour lesquels on prévoit d'ajouter une note.
2. Dans la section View (Afficher) du volet inférieur, sélectionner Well Note (Note de puits).

La zone Well Note (Note de puits) apparaît dans le volet de droite.



3. Saisir le contenu de la note dans la zone de texte et appuyer sur Entrée.

Le texte apparaît au bas des puits sélectionnés.

**Conseil** : Si une note a été créée auparavant pour un puits, il est possible de la sélectionner dans la liste déroulante et de l'appliquer aux puits sélectionnés.

## Élimination de tout le contenu des puits

Il est possible d'éliminer tout le contenu d'un puits individuel, d'un groupe de puits ou de la plaque complète. L'élimination du contenu des puits ne supprime pas les données de fluorescence recueillies durant la lecture de plaque.

**Important** : Cela élimine de façon permanente le contenu du puits. Si l'utilisateur clique sur OK et enregistre la plaque après l'élimination du contenu du puits, cette action ne peut être éliminée. L'utilisateur doit éliminer le contenu des puits avec prudence.

### Pour effacer tous les paramètres des puits

1. Dans l'éditeur de plaque, sélectionner le puits ou le groupe de puits dans le volet de plaque :

- Pour sélectionner un seul puits, cliquer sur le puits.
  - Pour sélectionner plusieurs puits adjacents, cliquer sur un puits et le faire glisser vers le puits cible.
  - Pour sélectionner plusieurs puits non adjacents, maintenir la touche Ctrl enfoncée et cliquer sur chaque puits.
  - Pour sélectionner une colonne entière avec le même type d'échantillon, cliquer sur le numéro de la colonne.
  - Pour sélectionner une ligne entière, cliquer sur le numéro de ligne correspondant.
2. Dans le volet droit, cliquer sur Clear Wells (Effacer les puits).
- CFX Maestro Dx SE efface tous les paramètres des puits sélectionnés.
3. Effectuez l'une des opérations suivantes :
- Si les puits ont été effacés par erreur, cliquer sur Undo (Annuler) dans la barre d'outils Plate Editor (Éditeur de plaque) avant de cliquer sur OK pour accepter les modifications.
- Important :** Le fait de cliquer sur OK avant de cliquer sur Undo enregistre les modifications et désactive l'option Undo dans la barre d'outils Plate Editor.
- Cliquer sur OK pour accepter les modifications et enregistrer la plaque.

## Modification des paramètres de l'expérience

Utiliser la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) pour afficher ou modifier la liste des cibles, échantillons ou groupes biologiques ou pour définir le groupe d'échantillons d'analyse de l'expression génétique à analyser si des groupes biologiques ont été attribués aux puits dans la plaque.

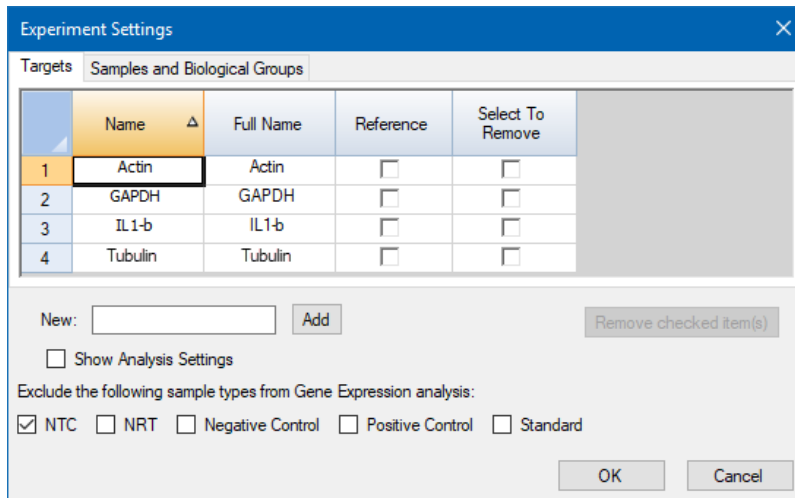
Dans la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience), l'onglet Targets (Cibles) affiche une liste des noms de cibles pour chaque réaction de PCR, comme le gène cible ou les séquences de gènes d'intérêt.

L'onglet Samples (Échantillons) et Biological Groups (Groupes biologiques) affiche une liste des noms d'échantillons et de groupes biologiques qui indiquent la source de la cible, comme un échantillon prélevé à 1 heure (1h) ou sur un individu spécifique (souris1).

### Pour modifier les paramètres de la plaque à l'aide de la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience)

1. Pour ouvrir la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience), effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Dans le volet de droite de la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque), cliquer sur Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).
  - Dans l'onglet Gene Expression (Expression génétique) de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), cliquer sur Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).

La boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) apparaît et affiche le contenu de l'onglet Targets (Cibles).



2. Pour ajouter un nouveau nom de cible, d'échantillon ou de groupe biologique, saisir un nom dans la section New Textbox (Nouvelle zone de texte) de l'onglet correspondant et cliquer sur Add (Ajouter).
3. Pour supprimer un ou plusieurs noms de cibles, d'échantillons ou de groupes biologiques de la liste, cocher la case de l'élément dans l'onglet correspondant de la colonne Select to Remove (Sélectionner pour supprimer) et cliquer sur Remove checked item(s) (Supprimer l'élément ou les éléments cochés).
4. Le logiciel CFX Maestro Dx SE exclut le type d'échantillon NTC (contrôle sans matrice) de l'analyse de l'expression génétique.

Pour inclure les échantillons de type NTC, décocher la case correspondante dans la section Exclude the following sample types (Exclure les types d'échantillons suivants). L'utilisateur peut décider d'exclure les types d'échantillons suivants en cochant la case correspondante :

- NRT (absence de transcriptase inverse)
- Negative Control (Contrôle négatif)
- Positive Control (Contrôle positif)
- Standard (Étalon)

5. Dans l'onglet Targets (Cibles) :
  - a. Pour sélectionner une cible comme référence pour l'analyse de données de l'expression génétique, sélectionner cette dernière dans la colonne Reference (Référence).
  - b. Pour masquer les paramètres de l'analyse qui seront appliqués dans l'onglet Gene Expression (Expression génétique) de la fenêtre Analysis Settings (Paramètres de l'analyse), décocher la case Show Analysis Settings (Afficher les paramètres de l'analyse).

Le logiciel masque les colonnes suivantes :

- Color (Couleur)
  - Show Chart (Afficher le graphique)
  - Auto Efficiency (Efficacité auto)
  - Efficiency (%) (Efficacité [%])
- c. Pour changer la couleur de la cible représentée dans le graphique d'expression génétique, cliquer sur la cellule correspondante dans la colonne Color (Couleur), sélectionner une nouvelle couleur dans la boîte de dialogue Color (Couleur) qui apparaît puis cliquer sur OK.
  - d. Pour afficher la cible dans la couleur sélectionnée dans le graphique d'expression génétique, cocher la case correspondante dans la colonne Show Chart (Afficher le graphique).

- e. Par défaut, CFX Maestro Dx SE calcule automatiquement l'efficacité relative pour une cible si ses données comportent une courbe d'étalonnage.

Pour utiliser une valeur d'efficacité déterminée auparavant, saisir la valeur dans la cellule correspondante de la colonne Efficiency (%) (Efficacité [%]) et appuyer sur la touche Entrée. CFX Maestro Dx SE décoche la case Auto Efficiency (Efficacité auto).

- 6. Dans l'onglet Samples (Échantillons) et Biological Groups (Groupes biologiques) :
  - a. Pour sélectionner un échantillon ou un groupe biologique en tant qu'échantillon de contrôle pour l'analyse de données de l'expression génétique, cocher la case correspondante dans la colonne Control (Contrôle).
  - b. Pour attribuer l'état de contrôle à un échantillon ou un groupe biologique pour une série, cocher la case correspondante dans la colonne Control (Contrôle).
  - c. Si ce n'est déjà fait, cliquer sur Show Analysis Settings (Afficher les paramètres de l'analyse) pour afficher ou modifier les paramètres de l'analyse qui seront appliqués dans l'onglet Gene Expression (Expression génétique). Le logiciel masque les colonnes Color (Couleur) et Show Chart (Afficher le graphique).
- 7. Cliquer sur OK pour enregistrer les paramètres dans la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) et revenir à la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque).

## Création de groupes de puits

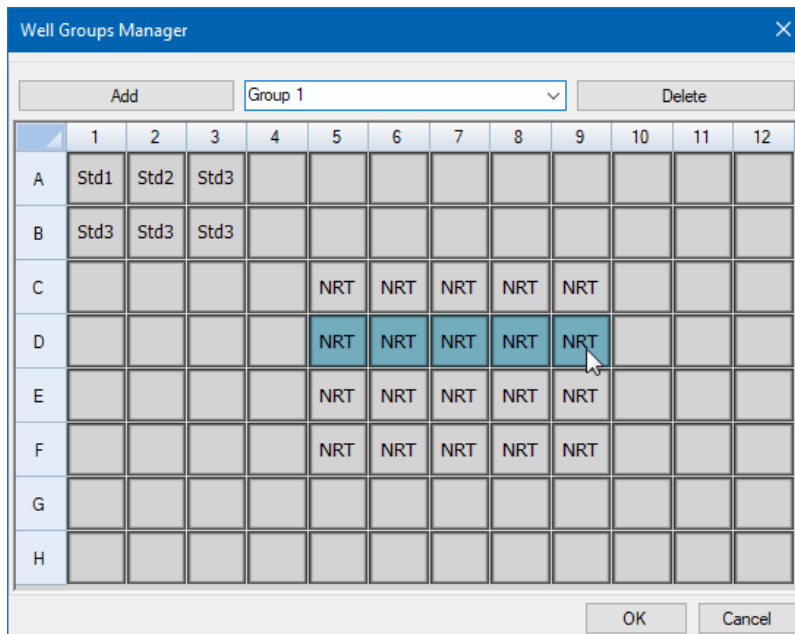
Les groupes de puits divisent une plaque individuelle en sous-ensembles de puits qui peuvent être analysés indépendamment dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Une fois les groupes de puits configurés, sélectionner un puits dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) pour analyser les données sous forme de groupe indépendant. Par exemple, configurer des groupes de puits pour analyser plusieurs séries d'expériences dans une plaque ou pour analyser chaque groupe de puits avec une courbe d'étalonnage différente.

**Remarque :** Le groupe de puits par défaut est All Wells (Tous les puits).

### Pour créer des groupes de puits

1. Pour ouvrir la boîte de dialogue Well Groups Manager (Gestionnaire des groupes de puits), effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Dans la barre d'outils Plate Editor (Éditeur de plaque), cliquer sur Well Groups (Groupes de puits).
  - Dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), cliquer sur Manage Well Groups (Gérer les groupes de puits).

La boîte de dialogue Well Groups Manager (Gestionnaire des groupes de puits) apparaît.





2. Cliquer sur Add (Ajouter) pour créer un nouveau groupe. Le menu déroulant affiche Group 1 (Groupe 1) comme nom de groupe pour le premier groupe.
3. Sélectionner les puits pour le groupe de puits dans l'affichage de plaque en cliquant dessus et les en faisant glisser dans le groupe de puits. Les puits sélectionnés apparaissent en bleu dans le gestionnaire.
4. (Facultatif) Pour modifier le nom du groupe, sélectionner son nom dans le menu déroulant et saisir un nouveau nom.
5. (Facultatif) Pour supprimer un groupe de puits, sélectionner son nom dans la liste déroulante et cliquer sur Delete (Supprimer).
6. Cliquer sur OK pour terminer et fermer la fenêtre ou cliquer sur Cancel (Annuler) pour fermer la fenêtre sans apporter de modifications.

### Éléments de menu contextuel pour la boîte de dialogue Well Groups Manager (Gestionnaire des groupes de puits)

Le [Tableau 10](#) répertorie les éléments de menu disponibles dans la boîte de dialogue Well Groups Manager (Gestionnaire des groupes de puits) lorsque l'on appuie avec le bouton droit sur n'importe quel puits.

**Tableau 10. Éléments de menu contextuel dans la boîte de dialogue Plate Editor Well Groups Manager (Gestionnaires des groupes de puits pour l'éditeur de plaque)**

Élément	Fonction
Copy (Copier)	Copie le contenu du puits qui peut être copié dans un ou d'autres puits.
Copy as Image (Copier en tant qu'image)	Copie l'affichage du sélecteur de puits en tant qu'image.
Print (Imprimer)	Imprime l'affichage du sélecteur de puits.
Print Selection (Imprimer la sélection)	Imprime uniquement les cellules sélectionnées.
Export to Excel (Exporter vers Excel)	Exporte les données vers une feuille de calcul Excel.
Export to Csv (Exporter vers Csv)	Exporte les données dans un format de document séparé par une virgule.

Élément	Fonction
Export to Xml (Exporter vers Xml)	Exporte les données au format de document .xml.
Export to Html (Exporter vers Html)	Exporte les données au format de document .html.

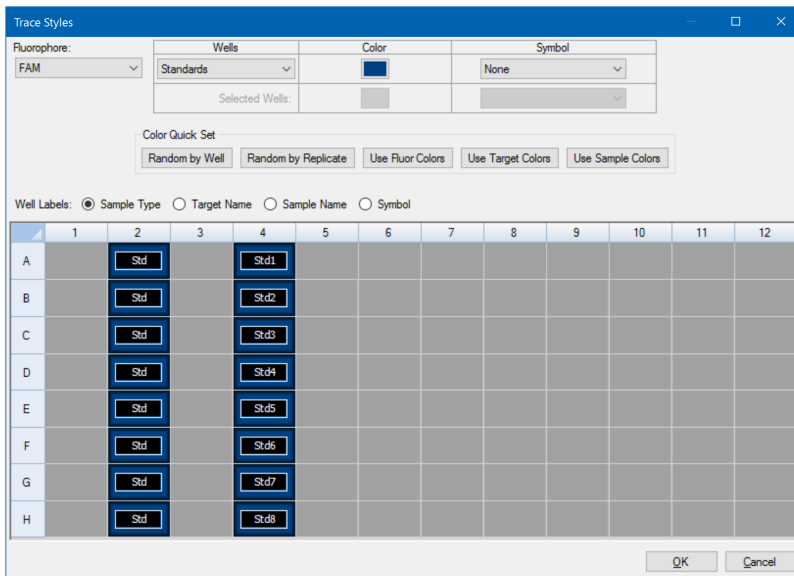
## Changement des styles de traces

Durant la configuration de la plaque et alors qu'une série est en cours, il est possible de modifier la couleur et le style des traces d'amplification. Il est alors possible de facilement visualiser les traces dans la fenêtre d'état en temps réel à mesure que les données sont recueillies.

### Pour changer les styles des traces

1. Dans la barre d'outils Plate Editor (Éditeur de plaque), cliquer sur Trace Styles (Styles des traces).

La boîte de dialogue Trace Styles apparaît pour la plaque ouverte, par exemple :



2. Pour afficher les styles des traces selon un fluorophore spécifique, sélectionner celui-ci dans la liste déroulante Fluorophores.
3. Pour changer l'affichage des traces :
  - a. Sélectionner le type de trace dans la liste déroulante Wells (Puits).
  - b. Cliquer sur sa couleur dans la colonne Color.
  - c. Dans la boîte de dialogue Color (Couleur) qui s'affiche, choisir une autre couleur pour la trace puis cliquer sur OK.

CFX Maestro Dx SE affiche le changement de couleur pour le type de puits dans la grille.
  - d. (Facultatif) Sélectionner un symbole pour la trace dans la liste déroulante Symbols (Symboles).
4. Pour changer rapidement le jeu de couleurs, cliquer sur le choix approprié dans la rubrique Color Quick Set (Paramétrage rapide des couleurs).

5. Pour visualiser les étiquettes des puits dans la grille, sélectionner le type d'étiquette dans la rubrique Well Labels (Étiquettes des puits).
6. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications ou sur Cancel (Annuler) pour les annuler.

## Affichage, exportation et importation de la plaque sous forme de feuille de calcul

L'outil Spreadsheet View/Importer (Affichage sous forme de feuille de calcul/importation) affiche le contenu d'une plaque sous forme de feuille de calcul. La visionneuse offre l'option d'afficher, d'importer et d'exporter les données de puits comme décrit ci-dessous.

### Utilisation de la visionneuse de feuilles de calcul pour exporter et importer des données de plaque

À partir de la visionneuse de feuilles de calcul, vous pouvez exporter le nom de la cible, le nom de l'échantillon, le nom du groupe biologique et les notes associées à un puits sous forme de modèle au format délimité par des tabulations vers une application telle que Microsoft Excel. Vous pouvez également importer ces données à partir d'une application délimitée par des tabulations dans une plaque prédéfinie, à partir d'un fichier d'informations d'expérience.

#### Pour utiliser l'outil Spreadsheet View/Importer (Affichage sous forme de feuille de calcul/importation)

1. Créez et enregistrez un fichier de plaque (consultez [Création d'un fichier de plaque à l'aide de l'éditeur de plaque](#)).
2. Sur la barre d'outils du Plate Editor (Éditeur de plaque), cliquez sur l'onglet Spreadsheet View/Importer (Affichage sous forme de feuille de calcul/importation) pour ouvrir la boîte de dialogue Plate Spreadsheet View (Affichage de la plaque sous forme de feuille de calcul).

Row	Column	Sample Type	Replicate #	*Target Name	*Sample Name	Starting Quantity	Units
D	10	Std	10	Tubulin	dil-10	1.000E+005	copy number
D	11	Std	11	Tubulin	dil-11	1.000E+006	copy number
D	12	Std	12	Tubulin	dil-12	1.000E+007	copy number
E	1	Std	1	Actin	dil-1	1.000E+002	copy number
E	2	Std	2	Actin	dil-2	1.000E+003	copy number
E	3	Std	3	Actin	dil-3	1.000E+004	copy number
E	4	Std	4	Actin	dil-4	1.000E+005	copy number
E	5	Std	5	Actin	dil-5	1.000E+006	copy number
E	6	Std	6	Actin	dil-6	1.000E+007	copy number
E	7	Std	7	Tubulin	dil-7	1.000E+002	copy number
E	8	Std	8	Tubulin	dil-8	1.000E+003	copy number
E	9	Std	9	Tubulin	dil-9	1.000E+004	copy number
E	10	Std	10	Tubulin	dil-10	1.000E+005	copy number
E	11	Std	11	Tubulin	dil-11	1.000E+006	copy number
E	12	Std	12	Tubulin	dil-12	1.000E+007	copy number

3. (Facultatif) Cliquez sur les cases Show Biological Set Name (Afficher le nom de l'ensemble biologique) et Show Well Note (Afficher la note associée au puits) pour afficher ces colonnes dans la vue de la feuille de calcul et dans le fichier exporté.
4. Cliquez sur le bouton Export Template (Exporter le modèle) pour créer un modèle vide dans un fichier Excel (format .csv). Le fichier exporté présentera la même mise en page que votre plaque.

**Conseil :** Utilisez le nom du fichier de plaque lors de l'enregistrement de vos fichiers de plaque afin d'identifier facilement le fichier.

5. Remplissez les cellules du fichier Excel à l'aide du contenu de votre puits.

**Remarque :** Il est uniquement possible de modifier le contenu d'une cellule de colonne dont le nom est accompagné d'un astérisque (\*) (\*Target Name [Nom de la cible], \*Sample Name [Nom de l'échantillon], \*Biological Group Name [Nom du groupe biologique], \*Well Note [Note associée au puits]).

**Remarque :** Vous ne pouvez pas ajouter de valeurs aux colonnes Standard Curve (Courbe d'étalonnage) et Quantity (Quantité) dans le fichier Excel exporté. Pour modifier ces données, revenez au Plate Editor (Éditeur de plaque) et sélectionnez Settings (Paramètres) > Units (Unités) dans la barre de menus. Une fois la série de la plaque terminée, les données de ces étalons apparaissent dans le graphique de courbe d'étalonnage de l'onglet Quantification dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) avec les unités sélectionnées.

6. Importez à nouveau le fichier Excel rempli dans le Plate Editor (Éditeur de plaque) en cliquant sur le bouton Import (Importer). Les données de plaque importées apparaissent dans la fenêtre Plate Spreadsheet View (Affichage de la plaque sous forme de feuille de calcul).

**Important :** Si vous avez plusieurs fluorophores, vous devrez effectuer les étapes 3 à 5 pour chaque fluorophore à l'aide du menu déroulant Flours List (Liste des fluorophores) de la fenêtre Plate Spreadsheet View (Affichage de la plaque sous forme de feuille de calcul).

7. Cliquez sur le bouton OK. Les nouvelles données de plaque apparaissent maintenant dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque).

**Conseil :** Vous pouvez afficher les éléments de menu disponibles dans l'outil Spreadsheet View/Importer (Affichage sous forme de feuille de calcul/importation) d'un simple clic avec le bouton droit sur n'importe quel puits dans l'outil, ou sur n'importe quel en-tête de tableau de la fenêtre Plate Spreadsheet View (Affichage de la plaque sous forme de feuille de calcul).

## Création d'une disposition de plaque à l'aide du Plate Setup Wizard (Assistant de configuration de plaque)

Il est possible d'utiliser l'assistant de configuration pour saisir les informations relatives à la disposition de plaque indispensables à l'analyse de l'expression génétique normalisée, y compris :

- Noms des cibles
- Noms des échantillons
- Emplacement des cibles et de l'échantillon sur la plaque
- Gène(s) de référence
- Échantillon de contrôle

L'assistant de configuration peut être utilisé avant, pendant ou après une série.

### Utilisation de l'assistant de configuration de plaque

Cette section explique comment créer une disposition de plaque à l'aide du Plate Setup Wizard (Assistant de configuration de plaque). Pour faciliter la visualisation du contenu de chaque puits dans la plaque, cliquer sur Zoom plate (Zoomer sur la plaque) dans la partie supérieure de l'assistant de configuration.

**Important :** Le fait de revenir à l'onglet Auto layout (Disposition auto) à partir de n'importe quel autre onglet de l'assistant de configuration réinitialise la disposition de plaque. L'utilisateur doit sélectionner cet onglet avec prudence.

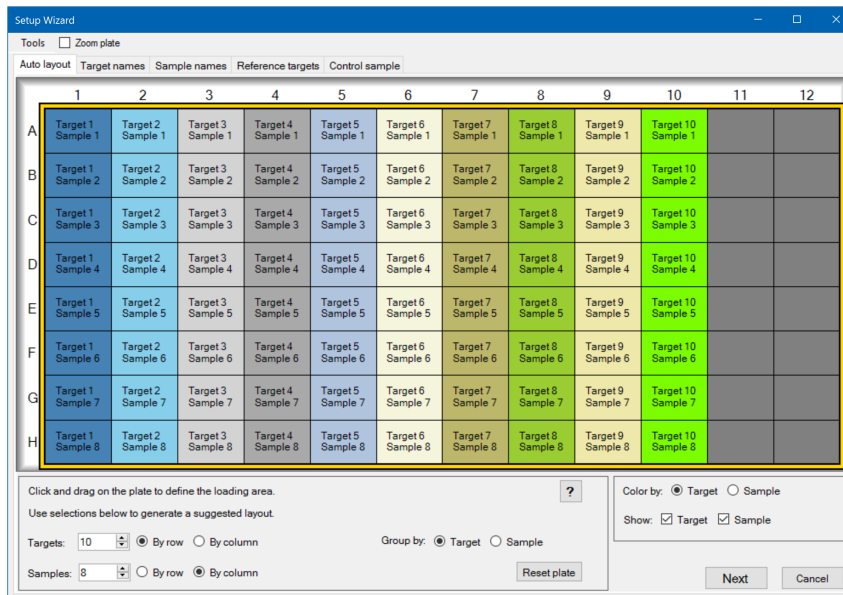
**Conseil :** Il est possible de réinitialiser la disposition en sélectionnant Tools (Outils) > Clear Plate (Effacer la plaque) dans l'assistant de configuration.

#### Pour utiliser l'assistant de configuration de plaque

1. Ouvrir l'éditeur de plaque.
2. Pour ouvrir le Setup Wizard (Assistant de configuration), effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Choisir Editing Tools (Outils d'édition) > Setup Wizard (Assistant de configuration).
  - Cliquer sur l'assistant de configuration sur la barre de l'éditeur de plaque.

L'assistant de configuration apparaît, affichant l'onglet Auto layout (Disposition auto).

## Création d'une disposition de plaque à l'aide du Plate Setup Wizard (Assistant de configuration de plaque)



3. Dans l'onglet Auto layout, procéder comme suit :
  - a. Cliquer sur un puits de la grille et le faire glisser horizontalement et vers le bas pour spécifier la zone de la plaque où il est prévu de charger l'échantillon.
  - b. Saisir le nombre de cibles et d'échantillons à charger.

**Conseil :** Le nombre de cibles et d'échantillons doit être équivalent au nombre de cellules sélectionnées. Si les nombres saisis ne concordent pas avec la zone sélectionnée, modifier les nombres ou la zone de sélection de la plaque. L'orientation des éléments sur la plaque et leur groupement peuvent être spécifiés.
  - c. (Facultatif) Changer l'orientation de la plaque. Par exemple, il est possible de définir les cibles dans les colonnes et les échantillons dans les lignes ou de grouper par échantillons.
  - d. Cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Target names (Noms de cibles).

**Remarque :** Si la disposition de plaque n'est pas régulière, utiliser l'onglet Target names (Noms de cibles) pour manuellement positionner les cibles ou l'onglet Sample names (Noms des échantillons) pour manuellement positionner les échantillons sur la plaque. Cliquer et faire glisser pour sélectionner plusieurs puits.

4. Dans l'onglet Target names, définir les noms des cibles pour les groupes de cibles :
  - a. Effectuez l'une des opérations suivantes :
    - Pour renommer les cibles par groupe, définir Select by (Sélectionner par) sur Target (Cible).
    - Pour renommer les cibles par puits, définir Select by (Sélectionner par) sur Well (Puits).



- b. Sélectionner un groupe de cibles ou un puits dans la grille et saisir un nom dans la liste déroulante Target name (Nom de la cible).

**Conseil :** Appuyez sur la touche de tabulation pour sélectionner le groupe ou le puits suivant vers la droite ou Entrée pour sélectionner le groupe ou le puits suivant en dessous. Le cas échéant, sur les onglets Target name (Nom de la cible) et Sample name (Nom de l'échantillon), maintenir la touche Ctrl enfoncée et cliquer sur un puits pour sélectionner plusieurs puits qui ne sont pas adjacents.

- c. Cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Sample names.
5. Dans l'onglet Sample names, définir les noms des échantillons pour les groupes d'échantillons :
6. Cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Reference targets (Cibles de référence).
7. Dans l'onglet Reference targets, sélectionner une ou plusieurs cibles à utiliser comme références pour l'expression génétique normalisée et cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Control sample (Échantillon de contrôle).
8. Dans l'onglet Control sample, sélectionner un échantillon à utiliser comme contrôle pour les calculs de l'expression génétique relative.
9. Cliquer sur OK pour enregistrer la disposition de plaque et revenir à l'éditeur de plaque où il est possible de définir les paramètres de plaque. Consulter [Attribution de paramètres optionnels au fichier de plaque à la page 151](#) pour plus d'informations.

Le cas échéant, cliquer sur Previous (Précédent) pour revenir à un onglet précédent pour effectuer d'éventuelles modifications.

**Remarque :** Le fait de revenir à l'onglet Auto layout (Disposition auto) réinitialise automatiquement la plaque. L'utilisateur doit cliquer sur Previous (Précédent) avec prudence.

## Chapitre 9 Réalisation d'expériences

Ce chapitre explique comment exécuter des tests personnalisés (définis par l'utilisateur) ou PrimePCR à l'aide du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition.

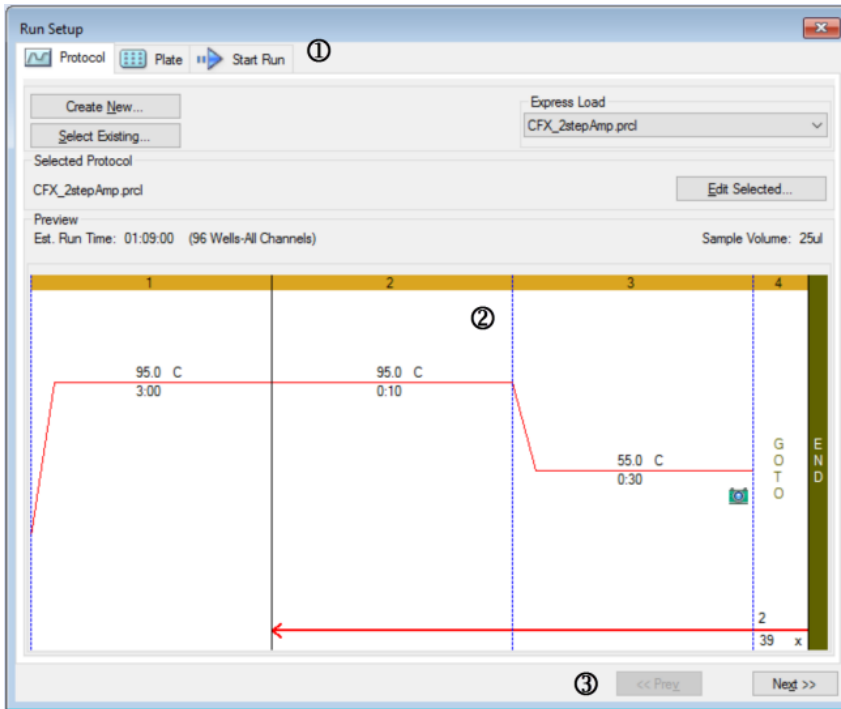
Le fichier de données d'une série comprend les informations sur le protocole et la plaque pour la série. Le fichier contient aussi les données des analyses que CFX Maestro Dx SE réalise une fois la série terminée.

CFX Maestro Dx SE facilite la configuration et la réalisation d'expériences définies par l'utilisateur ou PrimePCR. La fenêtre Run Setup (Configuration de la série) guide l'utilisateur dans les étapes courantes de la configuration d'une expérience et le conduit à la boîte de dialogue Start Run (Démarrer la série) à partir de laquelle il démarre la série.

## La fenêtre Run Setup (Configuration de la série)

La fenêtre Run Setup (Configuration de la série) fournit un accès rapide aux fichiers et paramètres nécessaires pour préparer et réaliser une expérience. Lorsque l'on décide de réaliser une expérience définie par l'utilisateur, la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) s'ouvre, affichant l'onglet Protocol (Protocole). Lorsque l'on décide de réaliser une expérience PrimePCR, la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) s'ouvre, affichant l'onglet Start Run (Démarrer la série).

**Conseil :** Consulter la section [Réalisation d'expériences PrimePCR à la page 196](#) pour obtenir des informations sur PrimePCR ; consulter la section [Onglet Start Run \(Démarrer la série\) à la page 186](#) pour obtenir des informations sur l'onglet Start Run (Démarrer la série).



## LÉGENDE

1. Les onglets guident l'utilisateur à travers les étapes de configuration et de réalisation d'une expérience :
  - Onglet Protocol (Protocole) — sélectionner un protocole existant pour l'exécuter ou le modifier ou pour créer un nouveau protocole dans la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole).
  - Onglet Plate (Plaque) — sélectionner une plaque existante pour l'exécuter ou la modifier ou pour créer une nouvelle plaque dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque).
  - Onglet Start Run (Démarrer la série) — afficher les paramètres de l'expérience, sélectionner un ou plusieurs blocs et démarrer la série.

---

2. La fenêtre principale affiche les options pour chaque onglet au fur et à mesure de leur application.

---

3. Les boutons de navigation conduisent à l'onglet Start Run (Démarrer la série).

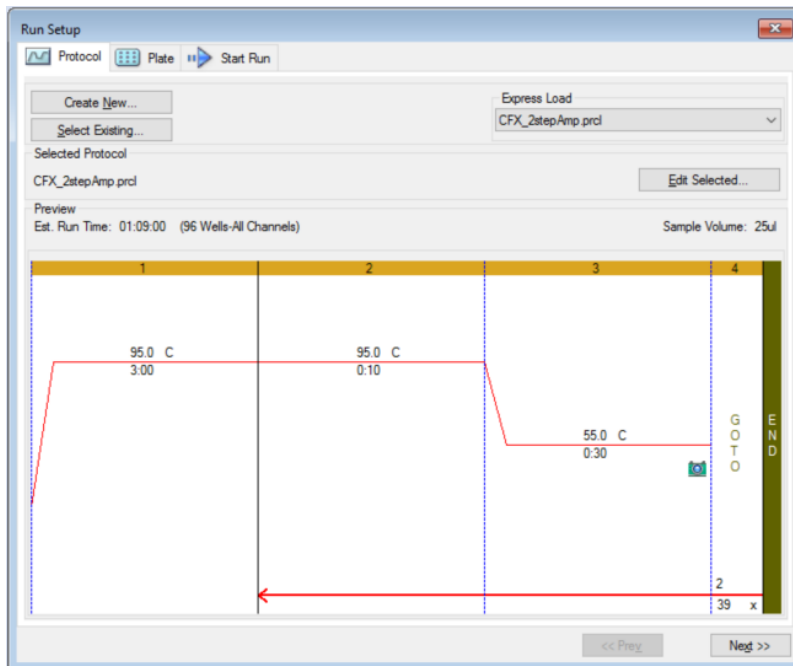
## Accès à la fenêtre Run Setup (Configuration de la série)

### Pour accéder à la fenêtre Run Setup

- ▶ Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Dans l'onglet Run Setup (Configuration de la série) de l'assistant de démarrage, cliquer sur User-defined (Définie par l'utilisateur) ou PrimePCR.
  - Dans la fenêtre d'accueil, cliquer soit sur User-defined Run Setup (Configuration de la série définie par l'utilisation) ou PrimePCR Run Setup (Configuration de la série PrimePCR) dans la barre d'outils.
  - Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner soit Run (Série) > User-defined Run (Série définie par l'utilisateur) soit Run > PrimePCR Run (Série PrimePCR).

## Onglet Protocol (Protocole)

L'onglet Protocol (Protocole) affiche un aperçu du fichier de protocole que l'on prévoit d'exécuter. Un fichier de protocole contient les instructions relatives aux étapes de température de l'appareil ainsi que les options de l'appareil qui contrôlent la vitesse de la rampe, le volume d'échantillon et la température du couvercle.



Par défaut, le logiciel affiche le protocole défini dans la section File Selection for Run Setup (Sélection de fichier pour la configuration de la série) de l'onglet Files (Fichiers) dans la boîte de dialogue User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur). Il est possible de modifier le protocole par défaut dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur). Consulter la section [Modification des paramètres de fichier par défaut à la page 91](#) pour de plus amples informations.

L'onglet Protocol (Protocole) permet de

- Créer un nouveau protocole à exécuter
- Sélectionner un protocole existant pour l'exécuter ou le modifier

Pour de plus amples informations sur la création et la modification des protocoles, consulter le [Chapitre 7, Création de protocoles](#).

### Pour créer un nouveau protocole

1. Dans l'onglet Protocol (Protocole), cliquer sur Create New (Créer nouveau).  
La fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) apparaît.
2. Utiliser la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole) pour créer un nouveau protocole.
3. Cliquer sur OK pour enregistrer le protocole et revenir à l'onglet Protocol (Protocole) dans Run Setup (Configuration de la série).
4. Afficher les détails du protocole et effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Si les détails sont corrects, cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Plate (Plaque).
  - Si les détails sont incorrects, cliquer sur Edit Selected (Modifier la sélection) pour revenir à la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole). Examiner le protocole, enregistrer les modifications puis cliquer sur Next (Suivant) dans l'onglet Protocol (Protocole) pour passer à l'onglet Plate (Plaque).

### Pour sélectionner un protocole existant

1. Dans l'onglet Protocol (Protocole), effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Cliquer sur Select Existing (Sélectionner un protocole existant) et accéder à un protocole existant.
  - Cliquer sur Express Load (Chargement exprès) et sélectionner un protocole dans la liste déroulante des protocoles.  
  
**Conseil** : Il est possible d'ajouter des protocoles à la liste déroulante Express Load (Chargement exprès) ou de les supprimer de cette dernière. Consulter la section [Ajout et suppression de protocoles à chargement express](#) qui suit pour de plus amples informations.
2. Afficher les détails du protocole et effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Si les détails sont corrects, cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Plate (Plaque).
  - Si les détails sont incorrects, cliquer sur Edit Selected (Modifier la sélection) pour ouvrir la fenêtre Protocol Editor (Éditeur de protocole). Examiner le protocole, enregistrer les modifications puis cliquer sur Next (Suivant) dans l'onglet Protocol (Protocole) pour passer à l'onglet Plate (Plaque).

### Ajout et suppression de protocoles à chargement express

Il est possible de modifier le contenu de la liste déroulante Express Load (Chargement express) qui apparaît dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Les protocoles figurant dans cette liste sont enregistrés dans le dossier suivant :

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX\_MDx\Users\\ExpressLoad\

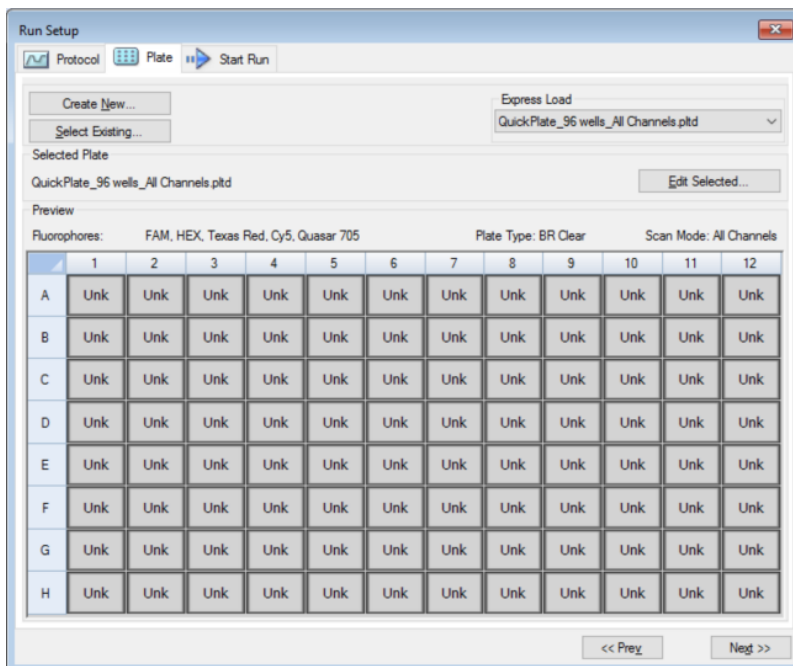
**Pour modifier la liste Express Load (Chargement express) des protocoles**

1. Accéder au dossier Express Load (Chargement express) et l'ouvrir.
2. Examiner les fichiers de protocoles (.pcri) dans le dossier.
3. Effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Supprimer les protocoles du dossier pour les retirer de la liste déroulante.
  - Copier les fichiers dans le dossier pour les ajouter à la liste déroulante.

## Onglet Plate (Plaque)

**Remarque :** Si le protocole sélectionné dans l'onglet Protocol (Protocole) ne comporte pas d'étape de lecture de plaque pour l'analyse de PCR en temps réel, l'onglet Plate (Plaque) est masqué. Pour afficher l'onglet Plate (Plaque), ajouter au moins une lecture de plaque au protocole.

L'onglet Plate (Plaque) affiche un aperçu du fichier de plaque que l'on prévoit de charger. Dans une série de PCR en temps réel, le fichier de plaque contient une description du contenu de chaque puits, y compris ses fluorophores, le mode de balayage et le type de plaque. CFX Maestro Dx SE utilise ces descriptions pour la collecte et l'analyse des données.



Par défaut, le logiciel affiche la plaque définie dans la section File Selection for Run Setup (Sélection de fichier pour la configuration de la série) de l'onglet Files (Fichiers) dans la boîte de dialogue User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur). Il est possible de modifier la plaque par défaut dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur). Consulter la section [Modification des paramètres de fichier par défaut à la page 91](#) pour de plus amples informations.

L'onglet Plate (Plaque) permet de

- Créer une nouvelle plaque à charger
- Sélectionner une plaque existante pour la charger ou la modifier



Pour de plus amples informations sur la création et la modification des plaques, consulter le [Chapitre 8, Préparation des plaques](#).

### **Pour créer une nouvelle plaque**

1. Dans l'onglet Plate (Plaque), cliquer sur Create New (Créer nouvelle).  
La fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) apparaît.
2. Utiliser la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) pour créer une nouvelle plaque.
3. Cliquer sur OK pour enregistrer la plaque et revenir à l'onglet Plate (Plaque) dans Run Setup (Configuration de la série).
4. Afficher les détails de la plaque et effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Si les détails sont corrects, cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Start Run (Démarrer la série).
  - Si les détails sont incorrects, cliquer sur Edit Selected (Modifier la sélection) pour revenir à la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Examiner le fichier de plaque, enregistrer les modifications puis cliquer sur Next (Suivant) dans l'onglet Plate (Plaque) pour passer à l'onglet Start Run (Démarrer la série).

### **Pour sélectionner un fichier de plaque existant**

1. Dans l'onglet Plate (Plaque), effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Cliquer sur Select Existing (Sélectionner un fichier existant) et accéder à un fichier de plaque existant.
  - Cliquer sur Express Load (Chargement express) et sélectionner un fichier de plaque dans la liste déroulante.  
  
**Conseil** : Il est possible d'ajouter des plaques à la liste déroulante Express Load (Chargement express) ou de les supprimer de cette dernière. Consulter la section [Ajout et suppression de fichiers de plaque à chargement express](#) qui suit pour de plus amples informations.
2. Afficher les détails de la plaque et effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Si les détails sont corrects, cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Start Run (Démarrer la série).
  - Si les détails sont incorrects, cliquer sur Edit Selected (Modifier la sélection) pour ouvrir la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Examiner le fichier de plaque, enregistrer les modifications puis cliquer sur Next (Suivant) pour passer à l'onglet Start Run (Démarrer la série).

## Ajout et suppression de fichiers de plaque à chargement express

Il est possible de modifier le contenu de la liste déroulante Express Load (Chargement express) qui apparaît dans l'éditeur de plaque. Les plaques figurant dans cette liste sont enregistrées dans le dossier suivant :

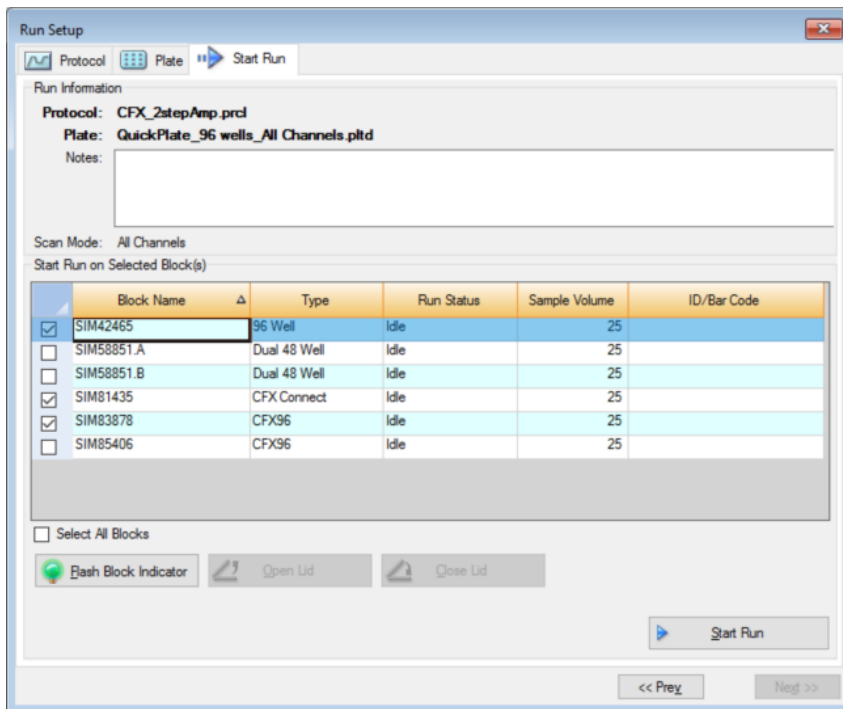
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_MDx\Users\\ExpressLoad\

### Pour modifier la liste Express Load des fichiers de plaque

1. Accéder au dossier Express Load (Chargement express) et l'ouvrir.
2. Examiner les fichiers de plaque (.pltd) dans le dossier.
3. Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Supprimer les fichiers de plaque du dossier pour les supprimer de la liste déroulante.
  - Copier les fichiers de plaque dans le dossier pour les ajouter à la liste déroulante.

## Onglet Start Run (Démarrer la série)

L'onglet Start Run (Démarrer la série) affiche des informations sur l'expérience à réaliser. Il affiche aussi le bloc ou les blocs de l'appareil connecté sur lequel l'expérience sera effectuée.



Dans l'onglet Start Run (Démarrer la série), il est possible d'effectuer les opérations suivantes :

- Visualiser les informations détaillées de la série, y compris le fichier de protocole sélectionné, le fichier de plaque et le mode de balayage.
- Ajouter des notes sur la série.
- Visualiser les détails sur tous les appareils connectés, y compris l'état en fonctionnement ou à l'arrêt, le volume d'échantillon en µl, la température de couvercle, le mode d'émulation et l'ID ou le code-barres le cas échéant.

**Remarque :** Il est possible d'ajouter les colonnes qui apparaissent dans le tableau Start Run on Selected Blocks (Démarrer la série sur les blocs sélectionnés). Consulter [Modification des détails dans le tableau des blocs sélectionnés à la page 187](#) pour plus d'informations.

- Sélectionner le ou les blocs sur lesquels procéder à l'expérience.
- Ouvrir ou fermer le couvercle à distance de chaque appareil sélectionné.

- Démarrer la série.

### Modification des détails dans le tableau des blocs sélectionnés

Il est possible de modifier les colonnes qui apparaissent dans le tableau Start Run on Selected Block(s) (Démarrer la série sur le ou les blocs sélectionnés). Le tableau permet également de modifier les valeurs par défaut du volume d'échantillon et de la température du couvercle. Les modifications apportées au paramètre sont appliquées à la série qui doit être réalisée.

#### Pour ajouter des colonnes dans le tableau Start Run on Selected Blocks (Démarrer la série sur le ou les blocs sélectionnés)

- ▶ Cliquer avec le bouton droit sur le tableau et sélectionner une option dans le menu qui apparaît.

#### Pour supprimer des colonnes dans le tableau Start Run on Selected Blocks (Démarrer la série sur le ou les blocs sélectionnés)

- ▶ Cliquer avec le bouton droit sur le tableau et effacer l'option dans le menu qui apparaît.

#### Pour modifier les valeurs du volume d'échantillon ou de la température du couvercle pour un bloc

- ▶ Sélectionner la cellule du volume d'échantillon ou de la température du couvercle pour le bloc de la cible et saisir une nouvelle valeur dans la cellule.

#### Pour ajouter un identifiant de série ou un code-barres pour un bloc

- ▶ Sélectionner la cellule ID/Bar Code (ID/code-barres) pour le bloc de la cible et saisir un identifiant ou balayer le bloc avec un lecteur de code-barres.

## Réalisation d'une expérience

**Important :** Avant de réaliser une expérience, veiller à ce que le logiciel antivirus de l'ordinateur ne lance pas une analyse durant la série. Voir [Installation du logiciel CFX Maestro Dx SE à la page 36](#) et votre administrateur système pour plus d'informations.

#### Pour réaliser une expérience

1. Dans l'onglet Start Run (Démarrer la série), vérifier les détails de la plaque et du protocole dans la section Run Information (Informations sur la série).
2. (Facultatif) Ajouter des notes sur la série ou l'expérience dans la zone de texte Notes.
3. Cocher la case d'un ou plusieurs blocs sur lesquels procéder à l'expérience.

**Conseil** : Pour procéder à l'expérience sur tous les blocs, cocher la case Select All Blocks (Sélectionner tous les blocs) située en dessous du tableau Selected Blocks (Blocs sélectionnés).

4. (Facultatif) Cliquer sur Flash Block Indicator (Clignotant du témoin de bloc) pour faire clignoter le voyant sur les blocs sélectionnés de l'appareil.
5. Insérer les plaques dans le bloc :
  - a. Cliquer sur Open Lid (Ouvrir le couvercle). Le couvercle motorisé de chaque bloc sélectionné s'ouvre.
  - b. Insérer une plaque expérimentale dans chaque bloc sélectionné.
  - c. Cliquer sur Close Lid (Fermer le couvercle).

**Conseil** : Sur le Système CFX Opus Dx, appuyer sur Open Lid (Ouvrir le couvercle) ou Close Lid (Fermer le couvercle) sur l'écran d'accueil.

6. Cliquer sur Open Lid et Close Lid pour ouvrir et fermer le couvercle motorisé de chaque bloc sélectionné de l'appareil.
7. Afficher les détails de la série et effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Si les détails sont corrects, cliquer sur Start Run (Démarrer la série).
  - Si les détails sont incorrects :
    - Corriger les détails dans le tableau Selected Blocks (Blocs sélectionnés) puis cliquer sur Start Run.
    - Revenir à l'onglet correct et procéder aux modifications appropriées, enregistrer les modifications puis cliquer sur Next (Suivant) pour revenir à l'onglet Start Run (Démarrer la série) et démarrer la série.

#### **Pour démarrer une nouvelle série à partir d'une série précédente**

- ▶ Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Sélectionner File (Fichier) > Repeat a Run (Répéter une série) dans la barre de menu principale du logiciel, accéder au fichier de données pour lequel la répétition est souhaitée et double-cliquer dessus.
  - Sélectionner l'onglet Repeat Run dans le Startup Wizard (Assistant de démarrage) puis double-cliquer sur le fichier de données de la série à répéter.

À titre facultatif, sur l'onglet Repeat Run, il est possible de cliquer sur Browse (Parcourir), d'accéder au fichier de données de la série à répéter et de cliquer dessus.

## Boîte de dialogue Run Details (Détails de la série)

Lorsque l'utilisateur clique sur Start Run (Démarrer la série), CFX Maestro Dx SE l'invite à enregistrer le fichier de données (.pcrd), démarre la série et ouvre la boîte de dialogue Run Details (Détails de la série). La boîte de dialogue Run Details (Détails de la série) comprend trois onglets d'état :

- **Run Status (État de la série)** — utiliser cet onglet pour visualiser l'état actuel du protocole, ouvrir ou fermer le couvercle, mettre une série en pause, ajouter des répétitions, ignorer des étapes ou arrêter la série.
- **Real-time Status (État en temps réel)** — utiliser cet onglet pour visualiser les données de fluorescence de la PCR en temps réel à mesure qu'elles sont recueillies.
- **Time Status (État temporel)** — utiliser cet onglet pour visualiser en plein écran un décompte pour le protocole.

Ces onglets sont expliqués en détail dans les sections suivantes.

### Onglet Run Status (État de la série)

L'onglet Run Status (État de la série) affiche l'état actuel d'une série en cours. Il est également possible de contrôler le couvercle et de modifier la série en cours à partir de cet affichage.

Run Details - CFX Run [SIM83878] - admin\_2017-07-31 17-10-48\_SIM83878.pcrd

Run Status | Realtime Status | Time Status

Run Status

Step	Temperature	Duration	Sample
Step 1 of 4	95.0 °C	00:02:45	Sample: 95.0 °C
Repeat 1 of 1	Remaining	01:05:45	Lid 105 °C

**Running**

Open Lid | Close Lid | Add Repeats | Skip Step | Flash Block Indicator | Pause | Resume | Stop

Run Information

Protocol:	CFX_2stepAmp.prc1
Plate:	QuickPlate_96_wells_All
Sample Volume:	25ul
Scan Mode:	All Channels
Data File Name:	admin_2017-07-31 17-10-48_SIM83878.pcrd
Notes:	(3)
ID:	

## LÉGENDE

1. Volet Run Status (État de la série) — affiche la progression actuelle du protocole.
2. Commandes Run Status (État de la série) — permettent à l'utilisateur d'utiliser l'appareil ou d'interrompre le protocole en cours.
3. Volet Run Information (Informations sur la série) — affiche les détails de la série.

## Commandes de Run Status (État de la série)

Utiliser les commandes de l'onglet Run Status soit pour faire fonctionner l'appareil à partir du logiciel soit pour modifier une série qui est en cours.

**Remarque :** Les modifications apportées au protocole durant la série, comme l'ajout de répétitions, ne change pas le fichier de protocole associé à la série. Ces actions sont consignées dans le journal des séries.



— ouvre le couvercle motorisé sur certains appareils.

**Important :** L'ouverture du couvercle durant une série met celle-ci en pause durant l'étape en cours et pourrait altérer les données. [Commandes de Run Status \(État de la série\) à la page 190.](#)



— ferme le couvercle motorisé sur certains appareils.



— ajoute davantage de répétitions dans l'étape de boucle GOTO en cours du protocole. Cette option n'est disponible que lorsqu'une étape de boucle GOTO est en cours d'exécution.

**Remarque :** Vous pouvez ajouter des répétitions supplémentaires pendant un cycle GOTO lorsque le protocole est en cours. Cependant, CFX Maestro Dx SE sait reconnaître la modification la plus récente du nombre de répétitions. Par exemple, si vous ajoutez 10 répétitions supplémentaires pendant un cycle GOTO, le logiciel modifiera le nombre total qui deviendra  $n + 10$ . Si vous ajoutez ensuite cinq (5) répétitions supplémentaires pendant le même cycle, CFX Maestro modifiera le nombre total de répétitions qui deviendra  $n + 5$ . Le premier changement (10 répétitions) est ignoré. Pour vous assurer que le logiciel exécute le nombre cible de répétitions, saisissez le nombre total (dans ce cas, 15 répétitions).



— ignore l'étape actuelle dans le protocole.

**Remarque :** Si vous demandez d'ignorer un cycle lors d'une étape GOTO, le système passe au cycle suivant dans la boucle GOTO. Si le dernier cycle de l'étape GOTO était en cours au moment de la demande d'ignorer le cycle, le système passe à l'étape suivante.



— fait clignoter le voyant sur l'appareil sélectionné pour identifier les blocs sélectionnés.



— met le protocole en pause.

**Remarque :** Cette action est consignée dans le journal des séries.



— reprend un protocole mis en pause.

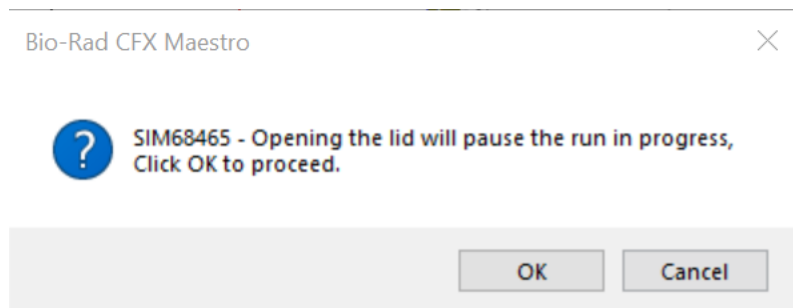


— arrête la série avant la fin du protocole.

**Remarque :** L'arrêt d'une série avant la fin du protocole pourrait altérer les données.

## Ouverture du couvercle de l'appareil pendant une série de PCR

Si le couvercle d'un appareil est ouvert pendant une série de PCR, CFX Maestro Dx SE affichera la boîte de dialogue de confirmation suivante :

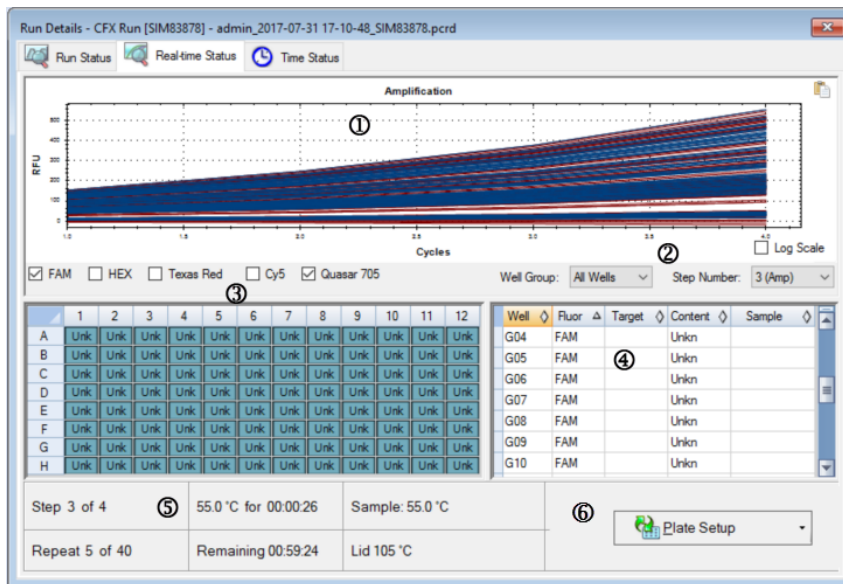


Lors de l'apparition de la boîte de dialogue, les appareils continuent d'exécuter le protocole. Le bouton OK a pour effet d'interrompre la série, et le couvercle de l'appareil se déverrouille et s'ouvre. Le bouton Cancel (Annuler) a pour effet de fermer la boîte de dialogue et de reprendre la série.



## Onglet Real-time Status (État en temps réel)

L'onglet Real-time Status (État en temps réel) affiche les données de la PCR en temps réel recueillies durant chaque cycle de la série après les deux premières lectures de plaque.



### LÉGENDE

1. Volet des courbes d'amplification — affiche les données d'amplification en temps réel durant la série.

---

2. Identifiant du groupe de puits — si des groupes de puits ont été identifiés dans la configuration de plaque, les utilisateurs peuvent sélectionner un groupe spécifique pour en visualiser les courbes, les puits et les informations tabulaires.  
 Identifiant de numéro d'étape — si le protocole recueille des données lors de plusieurs étapes (par exemple durant l'amplification et la courbe de fusion), les utilisateurs peuvent sélectionner une étape spécifique et visualiser les traces recueillies à chaque étape.

---

3. Volet du sélecteur de puits — affiche les puits actifs, inactifs et vides de la plaque.

---

4. Volet du tableau de configuration de la plaque — affiche la configuration de la plaque au format tabulaire.

5. Volet des détails de la série — affiche l'état en temps réel de la série, y compris :
    - Étape en cours
    - Répétition en cours
    - Température actuelle
    - Temps restant
    - Température de l'échantillon
    - Température de couvercle
- 
6. Plate Setup (Configuration de la plaque) — ouvre la boîte de dialogue Plate Setup dans laquelle les utilisateurs peuvent modifier la configuration actuelle de la plaque durant une série.

Dans l'onglet Real-time Status (État en temps réel), il est possible de

- Afficher ou masquer les courbes en temps réel en les sélectionnant dans le volet de sélecteur de puits ou le tableau de configuration de la plaque
- Visualiser des courbes uniques ou des groupes de courbes en les sélectionnant dans la liste déroulante des groupes de puits
- Modifier la plaque ou remplacer le fichier de plaque
- Appliquer un fichier PrimePCR à la série.

### Affichage ou masquage des courbes en temps réel

Par défaut, tous les puits remplis sont actifs et apparaissent dans le tableau de configuration de la plaque. Les puits actifs apparaissent en bleu dans le volet de sélection des puits. Les puits masqués apparaissent en gris clair et les puits inutilisés en gris foncé dans le volet de sélection des puits.

Il est possible de masquer les courbes des puits actifs durant la série. CFX Maestro Dx SE continue à recueillir des données pour tous les puits ; lorsque des puits sont cachés, leurs données n'apparaissent pas dans le tableau de configuration de la plaque.

#### Pour masquer des traces en temps réel

- ▶ Dans le volet de sélection des puits, cliquer sur les puits actifs (bleus) à masquer.

#### Pour afficher des traces en temps réel

- ▶ Dans le volet de sélection des puits, cliquer sur les puits masqués (gris clair) à afficher.

Pour plus d'informations sur le sélecteur de puits, consulter [Sélecteur de puits à la page 216](#).

## Modification d'une configuration de plaque

### Pour modifier une configuration de plaque

- ▶ Cliquer sur Plate Setup (Configuration de la plaque) puis sélectionner View/Edit Plate (Afficher/modifier la plaque).

Apparaît la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) où il est possible de modifier la plaque lors que la série est en cours. Pour plus d'informations sur la modification des plaques, consulter le [Chapitre 8, Préparation des plaques](#).

**Remarque** : Les styles des courbes peuvent aussi être modifiés à partir de la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Les modifications apparaissent dans le graphique des traces d'amplification de l'onglet Real-time Status (État en temps réel).

## Remplacement d'un fichier de plaque

**Conseil** : Le remplacement d'un fichier de plaque s'avère particulièrement utile si l'utilisateur lance une série avec un fichier Quick Plate (Plaque rapide) dans le dossier Express Load (Chargement exprès).

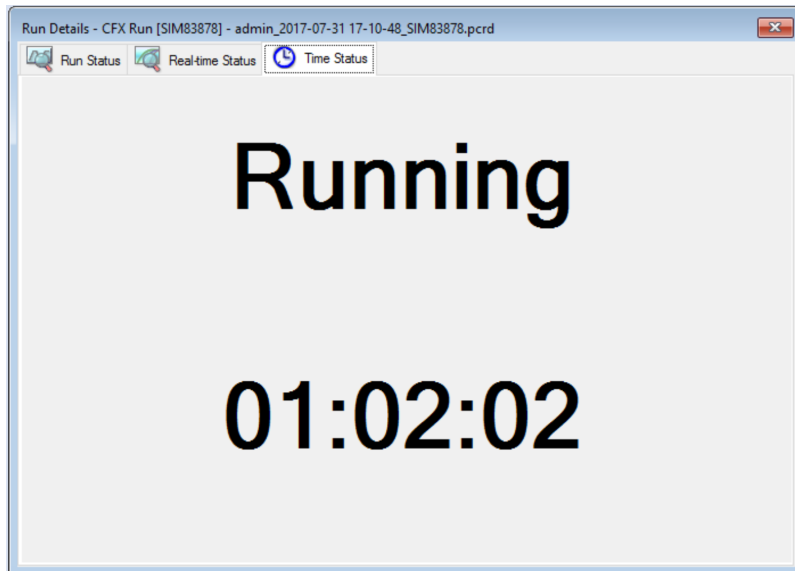
### Pour remplacer un fichier de plaque

- ▶ Cliquer sur Plate Setup (Configuration de la plaque) puis sélectionner l'une des options suivantes :
  - Fichier Replace Plate (Remplacer la plaque) — sélectionner le nouveau fichier de plaque dans la liste de la fenêtre de navigation
  - Apply PrimePCR file (Appliquer le fichier PrimePCR) — rechercher un fichier de série qui permettra d'obtenir la disposition de plaque, soit à l'aide de Smart Search (Recherche intelligente), soit en cliquant sur Browse (Parcourir) pour rechercher un fichier téléchargé depuis le site web de Bio-Rad et qui ne se trouve pas dans le dossier PrimePCR

**Remarque** : CFX Maestro Dx SE vérifie le mode de lecture et les dimensions de la plaque pour le fichier de plaque. Ils doivent correspondre aux paramètres de la série avec lesquels la série a été lancée.

## Onglet Time Status (État temporel)

L'onglet Time Status (État temporel) affiche le temps restant pour finaliser la série en cours.



## Réalisation d'expériences PrimePCR

Les expériences PrimePCR utilisent des dosages spécifiques à des voies biologiques ou à la maladie que Bio-Rad a validé et optimisé en laboratoire et sont disponibles dans les formats suivants :

- Plaques prêtes à l'emploi — plaques contenant des dosages qui sont spécifiques à une voie biologique ou à une maladie ; elles incluent les contrôles PrimePCR et les gènes de référence.
- Plaques personnalisables — plaques pouvant être configurées selon une disposition définie par l'utilisateur avec l'option de choisir des dosages pour les cibles d'intérêt, les contrôles et les références.
- Dosages individuels — tubes contenant des ensembles d'amorces individuels à utiliser dans les réactions en temps réel.

Afin de réduire la durée d'exécution totale, il est possible de supprimer l'étape de courbe de fusion du protocole. Bio-Rad recommande vivement de n'apporter aucune autre modification à un protocole de la série PrimePCR. Le protocole par défaut est celui ayant été utilisé pour la validation du dosage. Tout écart par rapport à cela peut avoir des répercussions sur les résultats. Les modifications apportées au protocole sont notées dans l'onglet Run Information (Informations sur la série) du fichier de données qui en résulte et dans les éventuels rapports créés.

### Pour démarrer une série PrimePCR

- ▶ Pour démarrer une série PrimePCR, procéder de l'une des façons suivantes :
  - Dans le Startup Wizard (Assistant de démarrage), sélectionner PrimePCR dans l'onglet Run Setup (Configuration de la série) puis sélectionner la composition chimique (SYBR<sup>®</sup> ou sonde).
  - Sélectionner une série PrimePCR dans la liste Recent Runs (Séries récentes) de l'onglet Repeat Run (Répéter la série) du Startup Wizard (Assistant de démarrage).
  - Sélectionner File (Fichier) > Open (Ouvrir) > PrimePCR Run File (Fichier de série PrimePCR) dans la fenêtre d'accueil.
  - Glisser-déposer un fichier de série PrimePCR sur la fenêtre d'accueil.

Une fois qu'une série PrimePCR a été sélectionnée, la fenêtre Run Setup (Configuration de la série) ouvre l'onglet Start Run (Démarrer la série) avec la disposition de plaque PrimePCR par défaut chargée sur la base de l'appareil sélectionné.

### Pour supprimer l'étape de courbe de fusion du protocole

- ▶ Sur l'onglet Protocol (Protocole), décocher la case en regard de Include Melt Step (Inclure l'étape de courbe de fusion).

### **Pour importer les informations de la cible pour les plaques PrimePCR dans une disposition de plaque**

1. Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Dans l'onglet Real-time Status (État en temps réel) de la boîte de dialogue Run Details (Détails de la série), sélectionner Plate Setup (Configuration de la plaque) > Apply PrimePCR File (Appliquer le fichier PrimePCR).
  - Dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), sélectionner Plate Setup (Configuration de la plaque) > Apply PrimePCR File (Appliquer le fichier PrimePCR).
2. Dans la boîte de dialogue PrimePCR Run File (Fichier de série PrimePCR), cliquer sur Browse (Parcourir) pour accéder au fichier PrimePCR approprié (.csv).
3. Sélectionner le fichier PrimePCR de la cible puis cliquer sur Open (Ouvrir).

Le Système CFX Opus Dx importe les informations de la cible dans la disposition de la plaque.

## Transfert de données autonomes à des fins d'analyse

**Important :** Lorsque vous transférez des fichiers de données du Système CFX Opus Dx vers CFX Maestro Dx SE, tous les fichiers enregistrés sur le système sont transférés. Veiller à disposer de suffisamment d'espace disque pour le transfert.

Une fois la série achevée, CFX Maestro Dx SE analyse les données de fluorescence. Si la série est réalisée en mode autonome et enregistrée sur le Système CFX Opus Dx, les données doivent être transférées sur l'ordinateur CFX Maestro Dx SE à des fins d'analyse.

Le Système CFX Opus Dx peut stocker jusqu'à 100 séries de PCR en temps réel. Une fois la série achevée, l'utilisateur peut transférer les fichiers de données autonomes à l'ordinateur CFX Maestro Dx SE par e-mail, sur une clé USB ou par le biais du logiciel.

Cette section explique les modalités de transfert des fichiers de données autonomes à l'ordinateur CFX Maestro Dx SE.

### Transfert des données par e-mail

#### Pour envoyer un fichier de données par e-mail à la fin d'une série

1. Configurer les notifications par e-mail pour l'appareil.

Voir [Configuration de la notification par e-mail à la page 87](#) ou le Manuel d'utilisation du Système de PCR en temps réel CFX Opus Dx.

2. Lors de la configuration des notifications par e-mail, s'assurer d'avoir coché la case Attach Data File (Joindre le fichier de données).

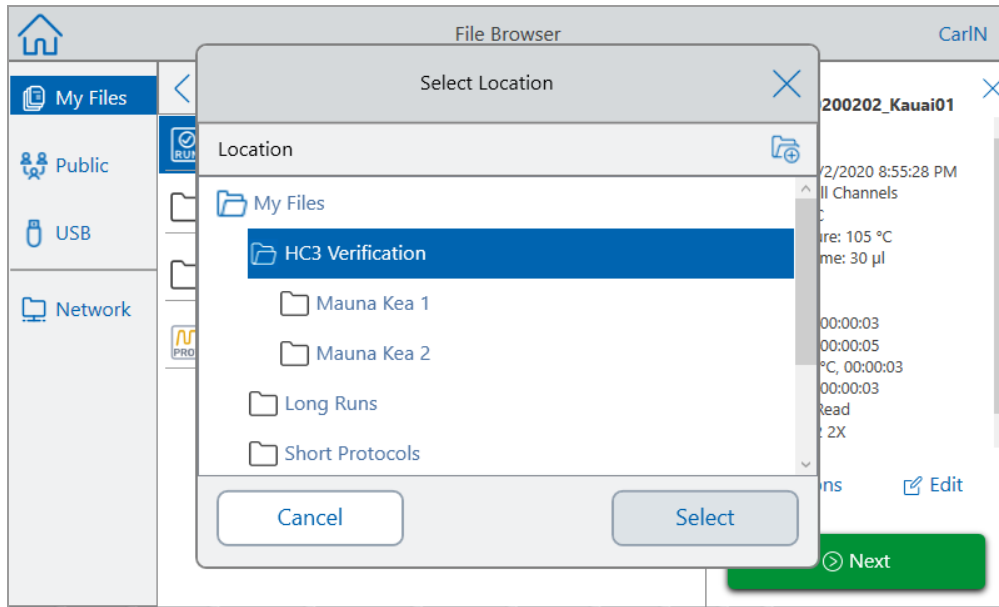
Les données de la série sont envoyées par e-mail sous forme d'un fichier .pcrd.

### Transfert de données depuis le Système de PCR en temps réel CFX Opus Dx


La fonction File Browser (Navigateur de fichiers) du Système CFX Opus Dx vous permet de transférer des fichiers de données vers une clé USB connectée ou vers un dossier réseau partagé. Vous pouvez également transférer des fichiers de protocole CFX Maestro Dx SE d'un lecteur USB ou d'un lecteur réseau partagé vers votre dossier ou le dossier Public sur le Système CFX Opus Dx et les exécuter sur le Système CFX Opus Dx.

**Conseil :** Cette section explique comment transférer des données. Pour plus d'informations sur la configuration de la connexion Ethernet, consultez le Manuel d'utilisation du Système de PCR en temps réel CFX Opus Dx disponible dans le menu Help (Aide) de CFX Maestro Dx SE.

1. Sur l'écran d'accueil du Système CFX Opus Dx, appuyez sur Files (Fichiers) pour afficher l'écran File Browser (Navigateur de fichiers).
2. Sur l'écran File Browser (Navigateur de fichiers), accédez au fichier que vous souhaitez copier, puis appuyez sur le fichier pour afficher le volet de détails du fichier.
3. Dans le volet des détails du fichier, appuyez sur Options, puis sur Copy (Copier).



La boîte de dialogue Select Location (Sélectionner un emplacement) s'affiche.

4. Dans la boîte de dialogue Select Location (Sélectionner un emplacement), effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Accédez à un dossier existant.
  - Accédez à l'emplacement pour créer un dossier dans lequel enregistrer le fichier, puis appuyez sur Create Folder (Créer un dossier)  pour créer un nouveau dossier à cet emplacement.
5. Appuyez sur Select (Sélectionner) pour copier le fichier à l'emplacement sélectionné ou sur Cancel (Annuler) pour revenir à l'écran File Browser (Navigateur de fichiers).

**Remarque :** Si un fichier portant le même nom existe à l'emplacement sélectionné, un message s'affiche. Appuyez sur Yes (Oui) pour écraser le fichier existant ou sur No (Non) pour revenir à l'écran File Browser (Navigateur de fichiers).



Le Système CFX Opus Dx affiche un message de confirmation lorsque le fichier est copié avec succès.

## Transfert de données via le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

### Pour transférer des données via CFX Maestro Dx SE

1. Dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés) de la fenêtre d'accueil, cliquer avec le bouton droit sur l'appareil cible et sélectionner Retrieve Data Files (Récupérer les fichiers de données).

CFX Maestro Dx SE affiche la boîte de dialogue Browse For Folder (Rechercher un dossier).

2. Dans la boîte de dialogue Browse For Folder, accéder à l'emplacement où il est prévu d'enregistrer les fichiers de données puis cliquer sur OK.

Le processus de transfert crée un dossier nommé Real-Time Data (Données en temps réel) à l'emplacement sélectionné. Les données de la série sont enregistrées dans le dossier Real-Time Data (Données en temps réel) comme fichiers .zpcr séparés.

## Transfert de données à l'aide d'une clé USB

L'insertion d'une clé USB dans le port correspondant situé sur l'appareil enregistre automatiquement le fichier de données dans le répertoire racine de la clé USB une fois la série achevée. Il est également possible de localiser des fichiers de données précédemment enregistrés et de les enregistrer sur une clé USB insérée.

### Pour transférer des fichiers de données sur une clé USB sur le Système CFX Opus Dx

- Dans la boîte de dialogue Select Location (Sélectionner l'emplacement), appuyer sur USB et accéder au dossier cible dans lequel copier le fichier ou sur Cancel (Annuler) pour revenir à l'écran File Browser (Navigateur de fichiers).

**Remarque :** Si un fichier portant le même nom existe à l'emplacement sélectionné, une boîte de dialogue s'affiche. Appuyez sur Yes (Oui) pour écraser le fichier existant ou sur No (Non) pour revenir à l'écran File Browser (Navigateur de fichiers).

Le Système CFX Opus Dx affiche un message de confirmation lorsque le fichier est copié avec succès.

## Transfert de données via un lecteur réseau partagé à l'aide du Système de PCR en temps réel CFX Opus Dx

**Conseil :** Vous pouvez transférer des données vers et depuis un lecteur réseau partagé uniquement via le Système CFX Opus Dx.

Le Système CFX Opus Dx vous permet de vous connecter à un lecteur réseau partagé via Ethernet. Une fois la connexion établie, vous pouvez transférer des fichiers de données vers et depuis un dossier sur le lecteur réseau partagé.

### Pour transférer des données vers et depuis un lecteur réseau partagé

- Dans la boîte de dialogue Select Location (Sélectionner l'emplacement), appuyer sur Network (Réseau) et accéder au dossier cible dans lequel copier le fichier ou sur Cancel (Annuler) pour revenir à l'écran File Browser (Navigateur de fichiers).

**Remarque :** Si un fichier portant le même nom existe à l'emplacement sélectionné, une boîte de dialogue s'affiche. Appuyez sur Yes (Oui) pour écraser le fichier existant ou sur No (Non) pour revenir à l'écran File Browser (Navigateur de fichiers).

Le Système CFX Opus Dx affiche un message de confirmation lorsque le fichier est copié avec succès.

## Création d'un fichier de données

Pour analyser les données transférées de l'appareil vers l'ordinateur CFX Maestro Dx SE, le fichier de données compressé (fichier .zpcr) doit être converti en fichier de données (fichier .pcrd). CFX Maestro Dx SE convertit le fichier .zpcr en fichier .pcrd, puis sélectionne un fichier de plaque utilisant le même mode de balayage et la même taille de plaque et l'applique au fichier .pcrd.

### Pour créer un fichier de données à partir d'un fichier de données autonome

1. Dans CFX Maestro Dx SE, procéder de l'une des façons suivantes :
  - Localiser le fichier .zpcr cible et le faire glisser sur la fenêtre d'accueil de CFX Maestro Dx SE.
  - Sélectionner File (Fichier) > Open (Ouvrir) > Stand-alone Run (Exécution autonome) puis accéder au fichier cible et le sélectionner.

CFX Maestro Dx SE fait apparaître la boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous).

2. Accéder au dossier dans lequel il est prévu d'enregistrer le fichier .pcrd puis cliquer sur Save (Enregistrer).

Une fois le fichier .pcrd enregistré, CFX Maestro Dx SE ouvre la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) et affiche les données qui en résultent.

## Chapitre 10 Présentation générale de l'analyse de données

Le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition traite automatiquement les données de la PCR en temps réel à la fin de chaque série et ouvre la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) pour afficher ces données (le fichier .pcrd).

- Faire glisser un fichier de données (extension .pcrd) sur la fenêtre d'accueil et le déposer
- Sélectionner File (Fichier) > Open (Ouvrir) > Data File (Fichier de données) dans la fenêtre d'accueil et accéder au fichier .pcrd de la cible.
- Sélectionner File (Fichier) > Recent Data Files (Fichiers de données récents) de la fenêtre d'accueil pour faire une sélection dans une liste des dix fichiers de données ouverts le plus récemment
- Choisir l'onglet Analyze (Analyser) dans l'assistant de démarrage puis sélectionner dans Recent Files (Fichiers récents) ou cliquer sur Browse (Parcourir) pour localiser le fichier de données

### Fenêtre Data Analysis (Analyse de données)

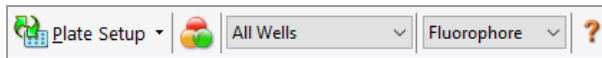
La fenêtre Data Analysis (Analyse de données) comporte plusieurs onglets, chacun présentant les données analysées pour une méthode d'analyse spécifique ou des informations spécifiques à la série. Les onglets n'apparaissent que si les données recueillies dans la série sont disponibles pour ce type d'analyse.



**Conseil :** Pour choisir les onglets à afficher, les sélectionner dans le menu View (Affichage) déroulant de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Pour revenir à la disposition d'origine des onglets, sélectionner Settings (Paramètres) > Restore Default Window Layout (Rétablir la disposition par défaut de la fenêtre).



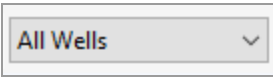
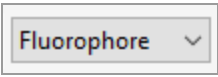

## Barre d'outils Data Analysis (Analyse de données)

La barre d'outils de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) fournit un accès rapide à d'importantes fonctions d'analyse de données.



Le [Tableau 11](#) répertorie les fonctions des boutons dans la barre d'outils.

**Tableau 11. Barre d'outils de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données)**

Bouton	Nom	Fonction
	Plate Setup (Configuration de la plaque)	View/Edit plate (Afficher/modifier la plaque) — ouvre l'éditeur de plaque pour afficher et modifier le contenu des puits.  Replace Plate file (Remplacer le fichier de plaque) — sélectionne un fichier de plaque pour remplacer la disposition de plaque.  Apply PrimePCR file (Appliquer le fichier PrimePCR) — sélectionne un fichier de série afin de remplacer la disposition de plaque pour une série PrimePCR.
	Manage Well Groups (Gérer les groupes de puits)	Ouvre la fenêtre Well Groups Manager (Gestionnaire des groupes de puits) pour créer, modifier et supprimer des groupes de puits.
	Well Group (Groupe de puits)	Sélectionne un nom de groupe de puits existant dans le menu déroulant. La sélection par défaut est All Wells (Tous les puits). Ce bouton apparaît uniquement lorsque des groupes de puits sont créés.
	Analysis Mode (Mode d'analyse)	Analyse les données soit en mode Fluorophore, soit en mode Target (Cible).
	Help (Aide)	Ouvre la rubrique Help (Aide) du logiciel où vous trouverez l'aide en ligne et une copie numérique de ce manuel au format Acrobat PDF.

## Barre du menu Data Analysis (Analyse de données)

Le [Tableau 12](#) répertorie les éléments de la barre de menu de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).

**Tableau 12. Éléments de la barre de menu de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données)**

Élément du menu	Commande	Fonction
File (Fichier)	Save (Enregistrer)	Enregistre le fichier.
	Save As (Enregistrer sous)	Enregistre le fichier sous un nouveau nom.
	File Passwords (Mots de passe des fichiers)	Permet aux utilisateurs de définir des mots de passe d'enregistrement et d'ouverture de fichiers.
	Sign (Signer)	Permet aux utilisateurs de signer le fichier de données.
	Repeat Run (Répéter la série)	Extrait le fichier de protocole et de plaque de la série en cours pour l'exécuter à nouveau.
	Close (Fermer)	Ferme la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).
View (Affichage)	Run Log (Journal des séries)	Ouvre une fenêtre Run Log (Journal des séries) pour visualiser le journal des séries du fichier de données actuel.
	Audit Trail (Piste d'audit)	Ouvre la piste d'audit du fichier.
	Quantification, Melt Curve (Courbe de fusion), Gene Expression (Expression génique), End Point (Point final), Custom Data View (Affichage de données personnalisé), QC (CQ), Run Information (Informations sur la série)	Affiche les données analysées dans les onglets sélectionnés de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Au moins un onglet doit être sélectionné.

**Tableau 12. Éléments de la barre de menu de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), suite**

<b>Élément du menu</b>	<b>Commande</b>	<b>Fonction</b>
Paramètres	C <sub>q</sub> Determination Mode (Mode de détermination de C <sub>q</sub> )	Vous permet de sélectionner le mode Regression ou Single Threshold (Seuil unique) pour déterminer comment les valeurs C <sub>q</sub> sont calculées pour chaque courbe.

Tableau 12. Éléments de la barre de menu de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), suite

Élément du menu	Commande	Fonction
	Baseline Setting (Paramètre de la ligne de base)	Vous permet de sélectionner la méthode Baseline Subtraction (Soustraction de la ligne de base) pour les groupes de puits sélectionnés.
	Mode d'analyse	Vous permet d'analyser les données par Fluorophore ou par Target (Cible).
	Cycles à analyser	Vous permet de sélectionner les cycles à analyser.
	Baseline Threshold (Seuil de référence)	Ouvre la fenêtre Baseline Threshold (Seuil de référence) pour ajuster la valeur de référence ou le seuil.
	Trace Styles (Styles des traces)	Ouvre la fenêtre Trace Styles (Styles des traces).
	Plate Setup (Configuration de la plaque)	Ouvre l'éditeur de plaque pour visualiser et modifier la plaque ou remplacer la plaque actuelle par une plaque provenant d'un fichier défini par l'utilisateur ou d'un fichier PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Inclure tous les puits exclus)	Inclut tous les puits exclus dans l'analyse.
	Mouse Highlighting (Mise en surbrillance avec la souris)	Active ou désactive la mise en surbrillance simultanée des données avec le pointeur de la souris.  <b>Conseil</b> : Si Mouse Highlighting (Mise en surbrillance avec la souris) est désactivé, appuyer sur la touche Ctrl pour activer temporairement la mise en surbrillance.
	Restore Default Window Layout (Rétablir la disposition par défaut de la fenêtre)	Rétablit la disposition des fenêtres à la valeur par défaut.



**Tableau 12. Éléments de la barre de menu de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), suite**

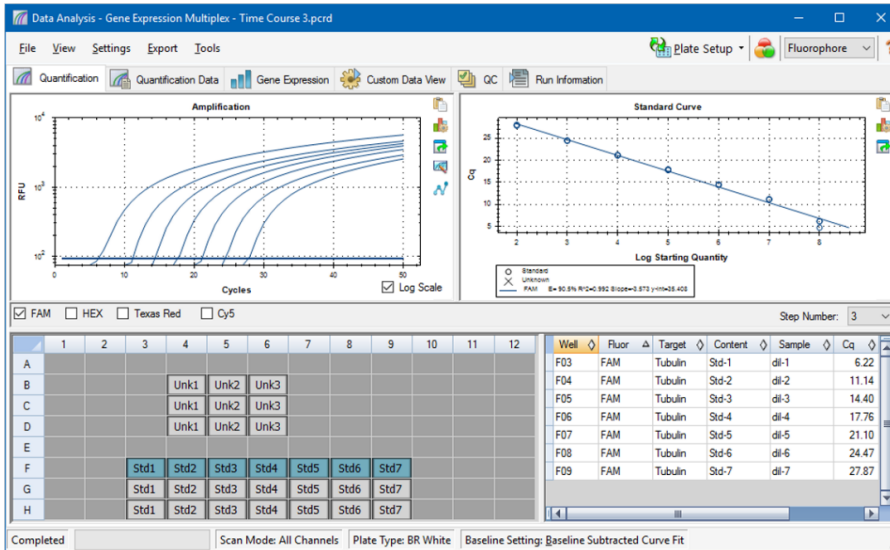
Élément du menu	Commande	Fonction
Exportation	Exporter toutes les feuilles de données	Vous permet de choisir d'exporter toutes les vues de feuille de calcul de chaque onglet vers un fichier .csv, .txt. Fichier Excel ou .xml.
	Export RDML File (Exporter le fichier RDML)	Vous permet de sélectionner la version 1.1 ou 1.0 du fichier RDML dans laquelle exporter le fichier.
	Custom Export (Exportation personnalisée)	Ouvre la fenêtre Custom Export (Exportation personnalisée) dans laquelle les champs à exporter et le format de fichier peuvent être spécifiés.
	Export to LIMS Folder (Exporter vers un dossier LIMS)	Ouvre une fenêtre pour enregistrer dans le dossier LIMS les données dans un format prédéterminé.
	Manual Export (Exportation manuelle)	Ouvre une fenêtre pour identifier l'emplacement d'enregistrement des données de toutes les vues de tableur dans des fichiers Excel structurés spécifiquement pour être utilisés par Seegene, Inc. et Bio-Rad Laboratories.  <b>Conseil :</b> Vous pouvez également démarrer automatiquement la visionneuse Seegene une fois l'exportation terminée. Pour plus d'informations, voir <a href="#">Commandes du menu Tools (Outils)</a> à la page 73.

**Tableau 12. Éléments de la barre de menu de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), suite**

Élément du menu	Commande	Fonction
Tools (Outils)	Reports (Rapports)	Ouvre le rapport pour ce fichier de données.
	Well Group Reports (Rapports des groupes de puits)	Ouvre la fenêtre Well Group Report (Rapport des groupes de puits) pour générer des rapports pour des groupes de puits spécifiés.
	Import Fluorophore Calibration (Importer l'étalonnage des fluorophores)	Sélectionner un fichier de calibration à appliquer au fichier de données en cours.
	qbase+	Lance directement qbase+ v2.5 à partir du fichier .pcrd actuel s'il est installé.
	Générer un fichier PLRN LIMS	Enregistre le fichier de données sous forme de fichier .plrn au format LIMS.

## Onglet Details (Détails)

Chaque onglet de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) affiche les données dans des graphiques et des tableurs pour une méthode d'analyse spécifique et inclut un sélecteur de puits pour sélectionner les données à afficher. À l'ouverture, la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) affiche par défaut l'onglet Quantification. Il est possible d'utiliser les données du graphique de quantification de l'onglet Quantification pour déterminer les paramètres d'analyse appropriés pour la série.



**Remarque :** Le logiciel relie les données des volets de chaque onglet Data Analysis (Analyse de données). Par exemple, la mise en surbrillance d'un puits en plaçant le pointeur de la souris sur le puits dans le sélecteur de puits met en surbrillance les données dans tous les autres volets.

## Sélecteur du numéro d'étape

Les systèmes CFX Opus Dx peuvent acquérir des données de fluorescence à plusieurs étapes du protocole ; le logiciel maintient indépendamment les données acquises à chaque étape. CFX Maestro Dx SE affiche le sélecteur du numéro d'étape sous le graphique Standard Curve (Courbe d'étalonnage) dans l'onglet Quantification. Lorsqu'un protocole contient au moins une étape de collecte de données, CFX Maestro Dx SE affiche les données de la première étape de collecte.

Si le protocole contient plusieurs étapes de collecte, il est possible de sélectionner une autre étape à partir de la liste déroulante. Par exemple :

Step Number:

Lorsqu'une étape est sélectionnée, le logiciel applique cette sélection à toutes les données qui apparaissent dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).

## Visualisation des groupes de puits dans l'analyse de données

Les puits de la plaque peuvent être regroupés en sous-ensembles pour une analyse indépendante utilisant des groupes de puits. Lorsque des groupes de puits sont créés, leurs noms apparaissent dans la liste déroulante Well Groups (Groupes de puits) de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) dans la barre d'outils.

Si des groupes de puits ont été créés, le logiciel affiche le groupe de puits par défaut All Wells (Tous les puits) à l'ouverture de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), affichant les données dans tous les puits avec le contenu des graphiques et des tableurs. Seuls les puits de ce groupe chargés avec le contenu apparaissent dans le sélecteur de puits, et seules les données de ces puits sont incluses dans les calculs de l'analyse de données.

**Conseil :** Pour créer, modifier et supprimer des groupes de puits, cliquer sur Manage Well Groups (Gérer les groupes de puits) dans la barre d'outils.

**Remarque :** Si aucun groupe de puits n'a été créé, la liste déroulante Well Groups (Groupes de puits) n'apparaît pas dans la barre d'outils.

## Changement du contenu des puits après une série

Durant l'analyse de données, le fait de modifier la façon dont les données sont affichées en changeant le contenu des puits dans l'éditeur de plaque ne modifie jamais les données de fluorescence recueillies à partir de chaque puits durant la série. Après le recueil des données de fluorescence par le module, ces données ne peuvent pas être supprimées mais il est possible de choisir de les supprimer de l'affichage et de l'analyse.

### Pour modifier le contenu des puits après une série

- ▶ Dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), cliquer sur Plate Setup (Configuration de la plaque) et sélectionner l'une des options suivantes :
  - **Edit/View Plate (Modifier/afficher la plaque)** — ouvre l'éditeur de plaque où il est possible de procéder à des changements manuels de la disposition.
  - **Replace Plate File (Remplacer le fichier de plaque)** — ouvre le navigateur Select Plate (Sélectionner la plaque) où il est possible d'accéder à un fichier de plaque précédemment enregistré par lequel remplacer la disposition de la plaque actuelle.
  - **Apply PrimePCR file (Appliquer le fichier PrimePCR)** — ouvre la boîte de dialogue Select PrimePCR file (Sélectionner le fichier PrimePCR) où il est possible d'accéder à un fichier de la série PrimePCR et de l'appliquer à la disposition de la plaque.

**Conseil** : Il est possible d'ajouter ou de modifier des informations sur le contenu du puits avant une série, pendant une série ou après la fin d'une série PCR. Il faut définir le mode de balayage et les dimensions de la plaque avant la série. Ces paramètres ne peuvent pas être modifiés après la série.

## Paramètres de l'analyse de données

Les données du graphique d'amplification dans l'onglet Quantification affichent l'unité de la fluorescence relative (RFU) pour chaque puits, et ce, à chaque cycle. Chaque courbe dans le graphique représente les données issues d'un seul fluorophore dans un puits. Ces données sont utilisées pour déterminer les valeurs de  $C_q$  pour chaque puits et pour chaque fluorophore. Le logiciel utilise l'un des deux modes suivants pour déterminer les valeurs de  $C_q$  :

- **Regression (Régression)** — applique un modèle de régression non linéaire multivariable aux courbes de puits individuelles et utilise ce modèle pour calculer une valeur de  $C_q$  optimale.
- **Single Threshold (Seuil unique)** — utilise une valeur de seuil unique pour calculer la valeur de  $C_q$  basée sur le point de franchissement du seuil des courbes de fluorescence individuelles.

Sélectionner Settings (Paramètres >  $C_q$  Determination Mode (Mode de détermination)) pour choisir le mode de détermination du  $C_q$ .

### Réglage du seuil

En mode Single Threshold (Seuil unique), il est possible de régler le seuil pour un fluorophore en cliquant sur la ligne de seuil dans le graphique Amplification et en déplaçant le pointeur de la souris verticalement. De même, il est possible de spécifier un seuil de franchissement exact pour le fluorophore sélectionné.

### Baseline Settings (Paramètres de la ligne de base)

Le logiciel définit automatiquement la ligne de base individuelle pour chaque puits. Le paramètre de la ligne de base détermine la méthode de soustraction de la ligne de base pour l'ensemble des courbes de fluorescence. Le logiciel fournit trois options de soustraction de la ligne de base :

- **No Baseline Subtraction (Absence de soustraction de la ligne de base)** — affiche les données en tant que courbes de fluorescence relative. Ce mode (d'analyse) ne permettant pas la réalisation de certaines analyses, le logiciel n'affiche donc pas les onglets Gene Expression (Expression génique), End point (Point final) et Allelic Discrimination (Discrimination allélique).
- **Baseline Subtracted (Ligne de base soustraite)** — affiche les données en tant que courbes soustraites de la ligne de base pour chaque fluorophore dans un puits. Le logiciel doit soustraire les données de la ligne de base pour pouvoir déterminer les cycles de quantification, construire les courbes d'étalonnage et définir la concentration des échantillons inconnus. Pour générer une courbe soustraite de la ligne de base, le logiciel ajuste la meilleure ligne droite à la fluorescence enregistrée de chaque puits pendant les cycles des valeurs de référence, puis soustrait les données d'adaptation optimale des données soustraites du bruit de fond à chaque cycle.
- **Baseline Subtracted Curve Fit (Ajustement de la courbe soustraite de la ligne de base)** — affiche les données en tant que courbes soustraites de la ligne de base, où le logiciel lisse la courbe

soustraite de la ligne de base à l'aide d'un filtre spatial qui remplace la valeur centrale. Ce processus est réalisé afin que chaque  $C_q$  reste invariant.

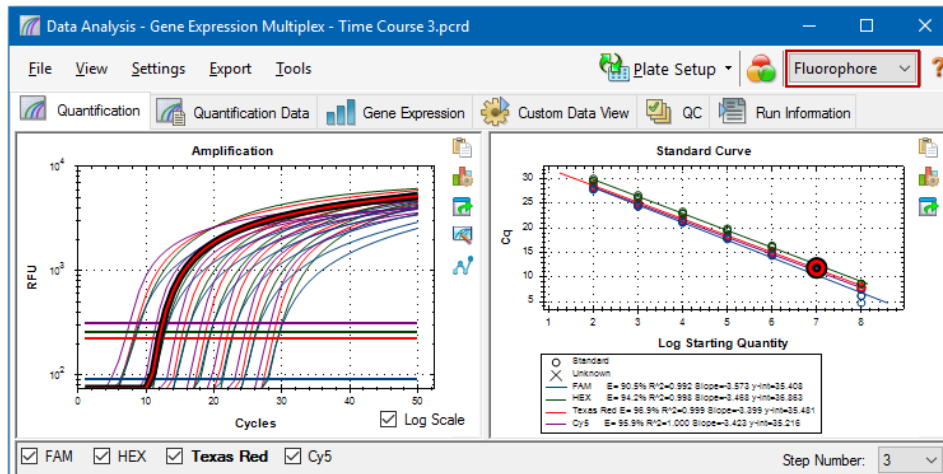
Outre ces options, il est également possible de sélectionner Apply Fluorescent Drift Correction (Appliquer une correction à la dérive fluorescente). Pour les puits avec des valeurs RFU qui présentent une dérive irrégulière pendant les premiers cycles d'une série, le logiciel extrait une valeur de référence estimée des puits adjacents pour lesquels une ligne de base horizontale avait été correctement générée.

### Pour modifier le paramètre de soustraction de la ligne de base

- Sélectionner Settings (Paramètres) > Baseline Setting (Paramètre de la ligne de base).

## Mode d'analyse

Les données peuvent être regroupées et analysées soit par fluorophore, soit par nom de cible. Lorsqu'elles sont regroupées par fluorophore, les traces de données s'affichent par fluorophore, comme l'indique la configuration de la plaque pour cette série. Les données de chaque fluorophore apparaissent dans le graphique d'amplification et de courbe d'étalonnage (le cas échéant), lorsque les cases du sélecteur de fluorophore correspondantes, situées sous le graphique d'amplification, sont cochées.



Lorsqu'elles sont regroupées par cible, les courbes de données s'affichent par le nom de cible saisi dans la configuration de la plaque pour cette série.

### Pour choisir un mode d'analyse de données

- Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Sélectionner Settings (Paramètres) > Analysis Mode (Mode d'analyse).
  - Choisir un mode dans le menu déroulant Analysis Mode (Mode d'analyse) de la barre d'outils.

## Cycles à analyser

Il est possible de limiter le nombre de cycles à analyser. De même, il est possible d'analyser les données à partir d'un ensemble de cycles spécifique. Le nombre maximum de cycles pouvant être analysés est 50.

**Remarque :** La suppression de cycles au début d'une série peut avoir des répercussions importantes sur l'établissement de la valeur de référence.

### Pour restreindre l'analyse des données à une plage spécifique de cycles

1. Sélectionner Settings (Paramètres) > Cycles to Analyze (Cycles à analyser).

La boîte de dialogue Cycles to Analyze apparaît.

2. Saisir les valeurs de cycle de début et de fin puis cliquer sur OK.

Cliquer sur la boîte de dialogue Restore Defaults in the Cycles to Analyze (Rétablir les valeurs par défaut dans les cycles à analyser) pour revenir aux cycles initialement utilisés pour l'analyse.



## Sélecteur de puits

Utiliser le sélecteur de puits pour afficher ou masquer les données de puits dans les tableaux ou les feuilles de calcul par le biais de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Seuls les puits dans lesquels un échantillon a été chargé peuvent être sélectionnés dans le sélecteur de puits. Le logiciel colore les puits dans le sélecteur de puits :

- **Bleu** — indique les puits sélectionnés. Les données provenant des puits sélectionnés apparaissent dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).
- **Gris clair** — indique les puits désélectionnés. Les données provenant des puits désélectionnés n'apparaissent pas dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).
- **Gris foncé** — indique les puits vides.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B				Unk1	Unk2	Unk3						
C				Unk1	Unk2	Unk3						
D				Unk1	Unk2	Unk3						
E												
F			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			
G			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			
H			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			

### Pour afficher ou masquer les données de puits

- ▶ Dans le sélecteur de puits, effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Pour masquer un puits, cliquer sur le puits individuel. Pour afficher ce puits, cliquer à nouveau sur le puits.
  - Pour masquer plusieurs puits, glisser sur les puits que l'on souhaite sélectionner. Pour afficher ces puits, glisser à nouveau sur les puits.
  - Cliquer dans le coin supérieur gauche de la plaque pour masquer tous les puits. Cliquer à nouveau dans le coin supérieur gauche pour afficher tous les puits.
  - Cliquer sur le début d'une colonne ou d'une ligne pour masquer ces puits. Cliquer à nouveau sur la colonne ou la ligne pour afficher les puits.

## Éléments du menu contextuel du sélecteur de puits

Le [Tableau 13](#) répertorie les options contextuelles disponibles dans l'affichage Well Selector (Sélecteur de puits).

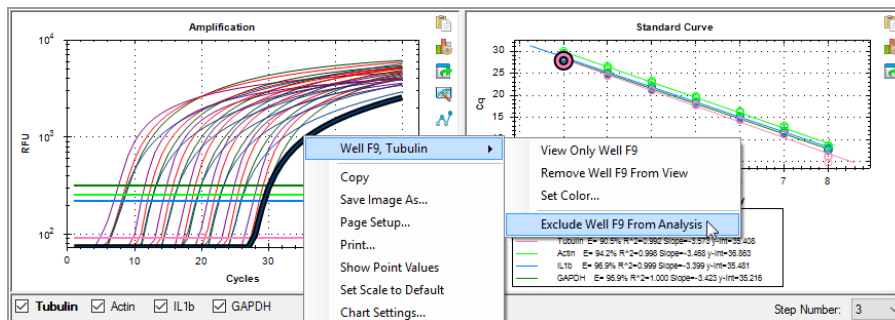
**Tableau 13. Éléments de menu contextuel dans la vue des sélecteurs de puits**

Élément	Fonction
Well XX (Puits XX)	N'affiche que ce puits, supprime ce puits de l'affichage, définit la couleur pour ce puits ou exclut ce puits de l'analyse.
Selected Wells (Puits sélectionnés) (cliquer avec le bouton droit et faire glisser)	N'affiche que ces puits, supprime ces puits de l'affichage, définit la couleur pour ces puits ou exclut ces puits de l'analyse.
Copy (Copier)	Copie le contenu du puits dans un presse-papiers, y compris Sample Type (Type d'échantillon) et l'option Replicate # (Nb de répliqués).
Copy as Image (Copier en tant qu'image)	Copie l'affichage du sélecteur de puits en tant qu'image.
Print (Imprimer)	Imprime l'affichage du sélecteur de puits.
Print Selection (Imprimer la sélection)	Imprime la sélection en cours.
Export to Excel (Exporter vers Excel)	Exporte les données vers une feuille de calcul Excel.
Export to Csv (Exporter vers Csv)	Exporte les données sous forme de document .csv.
Export to Xml (Exporter vers Xml)	Exporte les données au format de document .xml.
Well Labels (Étiquettes de puits)	Remplace les étiquettes de puits par Sample Type (Type d'échantillon), Target Name (Nom de cible) ou Sample Name (Nom d'échantillon).

## Exclusion temporaire de puits de l'analyse

### Pour exclure temporairement des puits de l'analyse de données

1. Faire un clic droit sur le puits dans le sélecteur de puits, sur une trace de fluorescence ou sur un point tracé sur la courbe d'étalonnage. Pour exclure plusieurs puits, faire un clic droit et faire glisser pour mettre en surbrillance plusieurs puits, traces ou points.
2. À partir du menu contextuel, choisir l'option appropriée :
  - Well (Puits) > Exclude Well (Exclure le puits)
  - Selected Wells (Puits sélectionnés) > Exclude from Analysis (Exclure de l'analyse)
  - Selected Traces (Traces sélectionnées) > Exclude these wells from Analysis (Exclure ces puits de l'analyse)



Le cas échéant, pour supprimer les puits de l'analyse de manière permanente, effacer le contenu des puits dans l'éditeur de plaque en cliquant sur le bouton Clear Wells (Effacer les puits).

**Important :** Il faut resaisir tout contenu de puits ayant été effacé.

### Pour inclure un puits exclu

- Faire un clic droit sur le puits approprié dans le sélecteur de puits puis sélectionner Well > Include Well in Analysis (Inclure le puits dans l'analyse).

## Graphiques

Chaque graphique dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) affiche les données avec une représentation graphique différente et propose des options pour ajuster et exporter les données ou les graphiques.

### Outils des graphiques

Le [Tableau 14](#) reprend les options du menu contextuel disponibles dans la plupart des graphiques.

**Tableau 14. Éléments du menu contextuel communs à la plupart des graphiques**

Élément	Fonction
Copy (Copier)	Copie le graphique dans un presse-papiers.
Save Image As... (Enregistrer l'image sous...)	Enregistre le graphique comme un fichier image. Définir la résolution et les dimensions de l'image puis sélectionner le type de fichier (PNG, GIF, JPG, TIF ou BMP).
Page Setup... (Mise en page...)	Sélectionne une mise en page pour l'impression.
Print... (Imprimer...)	Imprime le graphique.
Set Scale to Default (Rétablir l'échelle par défaut)	Affiche toutes les données dans le graphique en barres. Les barres de défilement s'affichent s'il y a trop de points de données/d'échantillons à afficher dans la zone du graphique.
Paramètres des graphiques	Ouvre la boîte de dialogue Chart Settings (Paramètres des graphiques) dans laquelle il est possible de modifier les options d'affichage du graphique, notamment : <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Titres du graphique et des axes</li> <li>■ Police et dimensions du graphique et des axes</li> <li>■ Échelle des axes</li> <li>■ Position des légendes</li> </ul>

Les outils des graphiques apparaissent également dans chaque graphique de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Tous les graphiques affichent ces outils :

**Copy To Clipboard (Copier dans le presse-papiers)** — copie le contenu de l'affichage graphique dans le presse-papiers.

**Chart Settings (Paramètres des graphiques)** — ouvre la boîte de dialogue Chart Settings (Paramètres des graphiques) dans laquelle il est possible de modifier les options d'affichage du graphique.

**Export (Exporter)** — ouvre la boîte de dialogue Export Options (Options d'exportation) à partir de laquelle il est possible de modifier la résolution et les dimensions du graphique et d'enregistrer celui-ci à un emplacement spécifié sous l'un des types de fichiers suivants :

- .bmp
- .jpg
- .png

### Outils des graphiques en barres

Outre les outils des graphiques, les graphiques en barres affichent les outils suivants :

**Sort (Trier)** — trie les cibles et les échantillons par ordre alphabétique ou alphabétique inversé.

**Color Settings (Paramètres de couleur)** — ouvre la boîte de dialogue Color Settings (Paramètres de couleur) dans laquelle il est possible de changer la couleur des cibles et des échantillons.

Pour plus d'informations sur ces outils, consulter [Modification et annotation de l'affichage du graphique à la page 282](#).

### Outils des graphiques d'amplification

Outre les outils énumérés ci-dessus, les graphiques d'amplification affichent les outils suivants :

**Trace Styles (Styles des courbes)** — ouvre la boîte de dialogue Trace Styles (Styles des courbes) dans laquelle il est possible de modifier l'apparence des courbes dans le graphique d'amplification.

**Baseline Threshold (Seuil de référence)** — ouvre la boîte de dialogue Baseline Threshold (Seuil de référence) dans laquelle il est possible de modifier la valeur de référence par défaut pour les puits sélectionnés ou le seuil pour chaque courbe de fluorescence dans le graphique d'amplification.

### Copie des données du graphique dans le presse-papiers

L'utilisateur peut copier le contenu de l'affichage du graphique et le coller dans n'importe quelle application qui accepte les fichiers d'image au format bitmap.

#### Pour copier les données du graphique dans le presse-papiers

1. Dans les outils de graphique, sélectionnez l'icône Copy to Clipboard (Copier dans le presse-papiers).
2. Ouvrir une application qui accepte les images bitmap, par exemple, Microsoft Word.
3. Cliquer avec le bouton droit et sélectionner Paste (Coller) pour coller l'image bitmap du presse-papiers dans l'application.

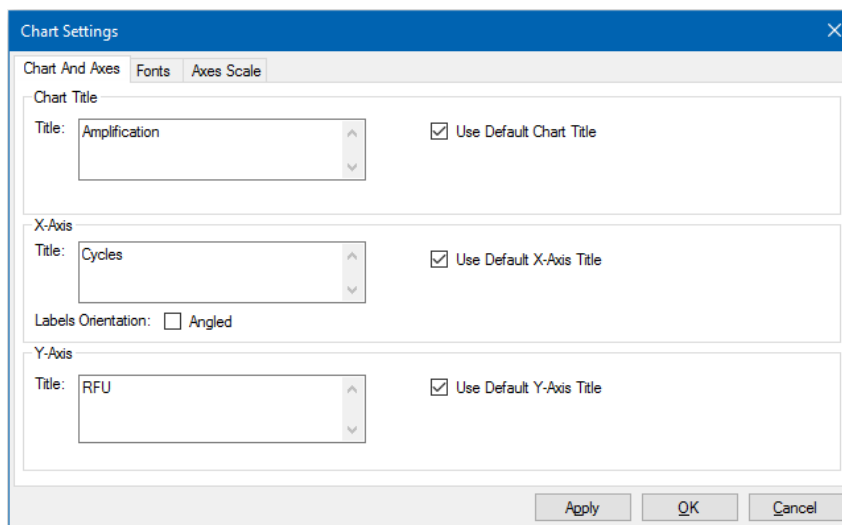
## Modification des paramètres d'affichage du graphique

Utiliser la boîte de dialogue Chart Settings (Paramètres du graphique) pour modifier les titres, les polices et les tailles, l'échelle des axes et l'emplacement de la légende pour le graphique affiché. Les modifications apportées s'appliquent uniquement au graphique affiché et sont enregistrées avec ce dernier.

### Pour modifier les paramètres d'affichage du graphique

1. Dans les outils du graphique, cliquer sur Chart Settings (Paramètres du graphique).

La boîte de dialogue Chart Settings (Paramètres du graphique) apparaît.



2. Sélectionner l'onglet Chart And Axes (Graphique et axes) pour :

- Saisir un titre pour le graphique.
- Saisir un nouveau titre pour l'axe des abscisses et mettre les étiquettes à l'angle.
- Saisir un nouveau titre pour l'axe des ordonnées.

3. Sélectionner l'onglet Fonts (Polices) pour modifier la police et la taille de police du graphique.

**Conseil :** Par défaut, la taille des caractères est automatiquement mise à l'échelle en réponse aux modifications de dimensions du graphique. Sélectionner **Changer Font Size (Modifier la taille de police)** pour définir une taille de police statique pour chaque type d'étiquette.

4. Sélectionner l'onglet Axes Scale (Échelle des axes) pour :

- Effacer la mise à l'échelle automatique des axes des abscisses et des ordonnées et spécifier des valeurs de mise à l'échelle minimales et maximales.

- Choisir d'afficher le quadrillage ou les graduations sur le graphique.
5. Sélectionner l'onglet Legend (Légende) pour :
    - Choisir de masquer la légende du graphique.
    - Modifier la position par défaut de la légende du graphique.

**Remarque** : Une fois placée à gauche ou à droite du graphique, la légende affiche uniquement les dix premiers fluorophores dans le graphique.
  6. Cliquer sur Apply (Appliquer) à tout moment pour afficher les modifications apportées aux paramètres du graphique sans les enregistrer.
  7. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et revenir au graphique.

### Exportation du graphique

Utiliser cette boîte de dialogue pour modifier la largeur, la hauteur et la résolution du graphique afin de l'exporter vers l'un des formats de fichier suivants :

- .bmp
- .jpg
- .png

Le graphique exporté peut alors être utilisé pour présenter les résultats dans des sessions d'affichage, des présentations Microsoft PowerPoint et des revues professionnelles.

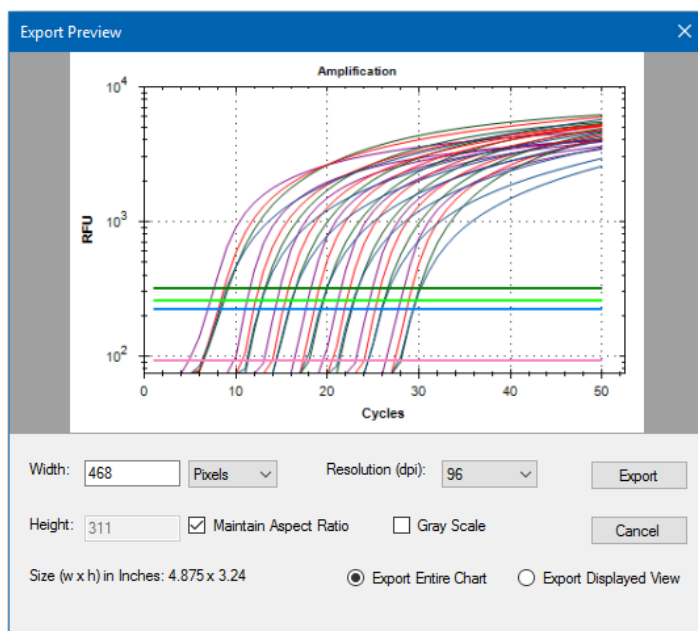
**Remarque** : Prendre ce qui suit en compte lors de la modification des réglages :

- Limites maximum et minimum pour la largeur et la hauteur
  - À 72 dpi : 0,1 à 83 pouces
  - À 96 dpi : 0,1 à 62 pouces
  - À 150 dpi : 0,1 à 40 pouces
  - À 300 dpi : 0,1 à 20 pouces
  - À 600 dpi : 0,1 à 10 pouces
  - Pour toutes les résolutions : 2 à 6 000 pixels
- Le rapport hauteur/largeur repose sur la largeur.

### Pour exporter le graphique

1. À partir des outils des graphiques, cliquer sur Export (Exporter).

La boîte de dialogue Export Preview (Aperçu de l'exportation) apparaît.



2. Modifier les paramètres de l'affichage comme souhaité.
3. Cliquer sur Export (Exporter).
4. Dans la boîte de dialogue Export, procéder comme suit :
  - a. (Facultatif) Accéder au dossier dans lequel enregistrer le fichier du graphique.
  - b. Saisir un nom pour le fichier et choisir un type de fichier dans la liste déroulante.
5. Cliquer sur Save (Enregistrer) pour enregistrer le fichier du graphique.

### Modification des paramètres de seuil des valeurs de référence

En mode Single Threshold (Seuil unique), il est possible d'ajuster le seuil pour un fluorophore en cliquant sur la ligne de seuil dans le graphique Amplification et en déplaçant le pointeur de la souris verticalement. De même, il est possible de spécifier un seuil de franchissement exact pour le fluorophore sélectionné.

**Conseil :** Il est possible de spécifier une plage de cycles pour déterminer la ligne de base de tous les fichiers de données dans l'onglet Data Analysis (Analyse de données) dans User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur).

### Pour ajuster le cycle de référence de début et de fin pour chaque puits

1. Dans l'onglet Quantification, sélectionner un seul fluorophore sous le graphique Amplification.
2. Dans les outils du graphique, sélectionner Baseline Threshold (Seuil de référence).



La boîte de dialogue Baseline Threshold (Seuil de référence) apparaît.

3. Dans la section Baseline Cycles (Cycles de référence), procéder de l'une des façons suivantes :
  - Pour sélectionner un puits, cliquer sur le numéro de ligne correspondant.
  - Pour sélectionner plusieurs puits adjacents, cliquer sur le numéro de ligne du premier puits et faire glisser la colonne jusqu'au dernier puits.
  - Pour sélectionner plusieurs puits non adjacents, maintenir la touche Ctrl enfoncée et cliquer sur le numéro de ligne de chaque puits cible.
  - Pour sélectionner tous les puits, cliquer sur le coin supérieur gauche du tableau.
4. Ajuster les cycles Baseline Begin (Début de la ligne de base) et Baseline End (Fin de la ligne de base) pour tous les puits sélectionnés ou changer le numéro de cycle Begin (Début) et End (Fin) au pied du tableur.

**Conseil :** Pour rétablir les dernières valeurs enregistrées des paramètres, cliquer sur Reset All User Defined Values (Rétablir toutes les valeurs définies par l'utilisateur).

5. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et revenir au tableau.

#### **Pour spécifier une plage de cycles pour tous les fichiers de données**

- ▶ Dans la fenêtre d'accueil ou l'éditeur de plaque, sélectionner User (Utilisateur) > User Preferences (Préférences utilisateur) puis choisir l'onglet Data Analysis (Analyse de données).

#### **Tri des données de cibles, d'échantillons et de groupes biologiques**

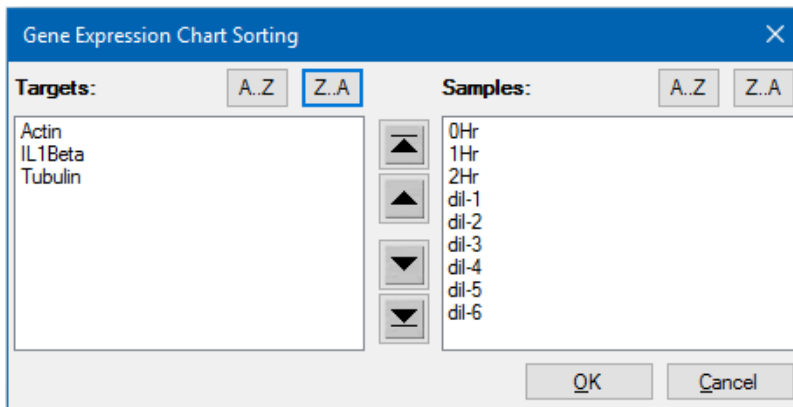
**Remarque :** Cette option n'est disponible que sur les graphiques d'expression génique.

Par défaut, les listes Targets (cibles), Samples (Échantillons) et Biological Groups (Groupes biologiques) apparaissent par ordre alphabétique. Utiliser la boîte de dialogue Sort (Trier) pour trier l'affichage en ordre alphabétique inverse ou pour manuellement déplacer un terme vers une position différente dans la liste.

#### **Pour trier les données de cibles, d'échantillons et de groupes biologiques**

1. À partir des outils des graphiques, cliquer sur Sort (Trier).

La boîte de dialogue Gene Expression Chart Sorting (Tri du graphique d'expression génique) apparaît.



2. Dans la boîte de dialogue, cliquer sur Z-A pour trier la liste en ordre alphabétique inverse.
3. Pour manuellement déplacer un terme, le sélectionner et cliquer sur le bouton approprié entre les graphiques :
  - Cliquer sur la flèche vers le haut ou vers le bas pour déplacer le terme sélectionné d'une position.
  - Cliquer sur la flèche vers le haut ou vers le bas avec une barre pour déplacer le terme sélectionné vers le haut ou le bas de la liste.
4. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et revenir à l'onglet Gene Expression (Expression génique).

## Modification des paramètres de couleurs d'une cible et d'un échantillon

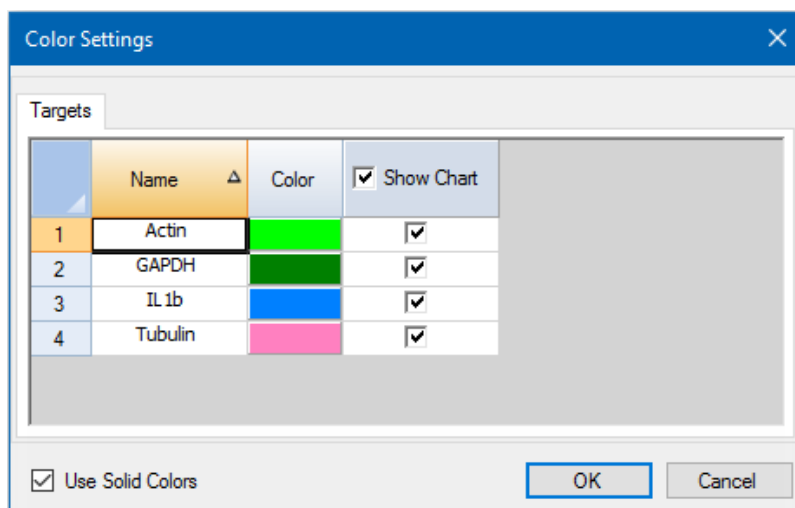
**Remarque :** Cette option n'est disponible que sur les graphiques d'expression génique.

Utiliser la boîte de dialogue Color Settings (Paramètres de couleurs) pour modifier la couleur d'une cible ou d'un échantillon ou pour supprimer l'élément du graphique.

### Pour modifier les paramètres de couleurs

1. Dans les outils du graphique, sélectionner Color Settings (Paramètres de couleurs).

La boîte de dialogue Color Settings (Paramètres de couleurs) apparaît.



2. Pour modifier la couleur d'affichage d'une cible ou d'un échantillon, cliquer sur sa couleur dans la colonne Color (Couleur).
3. Dans la boîte de dialogue Color (Couleur) qui apparaît, sélectionner une nouvelle couleur et cliquer sur OK.
4. Pour supprimer l'élément du graphique d'expression génique, décocher la case correspondante dans la colonne Show Chart (Afficher le graphique).

**Conseil :** Pour effacer tous les éléments du graphique d'expression génique, décocher la case Show Chart (Afficher le graphique) dans l'en-tête de colonne.

5. (Facultatif) Par défaut, le graphique en barres se présente avec des couleurs de dégradé. Pour afficher une couleur unie, sélectionner Use Solid Colors (Utiliser des couleurs unies).
6. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et revenir à l'onglet Gene Expression (Expression génique).

## Grossissement d'une zone du graphique

### Pour grossir une zone du graphique

- Cliquer et glisser sur le graphique puis cliquer sur Zoom. Le logiciel redimensionne le graphique et le centre sur la zone sélectionnée.

**Remarque** : Le graphique en barres ne nécessite pas de cliquer sur la commande Zoom qui s'affiche.

### Pour redimensionner le graphique en plein écran

- Faire un clic droit dans le graphique puis sélectionner Set Scale to Default (Rétablir l'échelle par défaut).

## Copie de graphiques dans un fichier Microsoft

Il est possible de copier des graphiques de données dans des documents Microsoft Word, Excel ou PowerPoint. La résolution d'image correspond à celle de l'écran d'où l'image provient.

### Pour copier des graphiques dans un fichier Microsoft

1. Dans la fenêtre Data Analysis (Analyse des données), cliquez sur Copy To Clipboard (Copier dans le presse-papiers) dans le coin supérieur droit du volet du graphique.
2. Ouvrir un fichier Microsoft vierge et coller le contenu du presse-papiers.

## Éléments courants du menu contextuel pour les graphiques

Le [Tableau 15](#) répertorie les éléments de menu contextuel disponibles dans les graphiques. Certains des éléments sont présents pour l'ensemble des graphiques, notamment les éléments permettant de modifier l'affichage des données ou de faciliter l'exportation des données d'un graphique.

**Tableau 15. Éléments de menu contextuel pour les graphiques**

Élément	Fonction
Copy (Copier)	Copie le graphique dans le presse-papiers.
Save Image As (Enregistrer l'image sous)	Enregistre l'image avec une taille, une résolution et un type de fichier spécifiques, notamment PNG (par défaut), JPG et BMP.
Page Setup (Mise en page)	Affiche les options de configuration d'impression.

Élément	Fonction
Print (Imprimer)	Imprime le graphique.
Set Scale to Default (Rétablir l'échelle par défaut)	Rétablit l'affichage par défaut du graphique après un grossissement.
Chart Options (Options du graphique)	Ouvre la fenêtre Chart Options (Options du graphique) pour modifier le graphique, y compris son titre, sélectionner les limites pour les axes des abscisses et des ordonnées, et afficher le quadrillage les repères mineurs des axes.

**Remarque :** Les éléments de menu qui s'appliquent à des graphiques spécifiques sont décrits dans le [Chapitre 11, Détails de l'analyse de données](#).

## Feuilles de calcul

Les feuilles de calcul reproduites dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) comportent des options qui permettent de trier et de transférer les données. Trier les colonnes en appliquant l'une de ces méthodes :

- Cliquer sur une colonne et la faire glisser vers un nouvel emplacement dans le tableau sélectionné.
- Cliquer sur l'en-tête de colonne pour trier les données dans l'ordre croissant ou décroissant.

### Pour trier jusqu'à trois colonnes de données dans la fenêtre Sort (Trier)

1. Cliquer avec le bouton droit sur la feuille de calcul et sélectionner Sort (Trier).
2. Dans la boîte de dialogue Sort (Trier), sélectionner le titre de la première colonne à trier. Trier les données dans l'ordre croissant ou décroissant.
3. Sélectionner une deuxième ou troisième colonne à trier et choisir Ascending (Croissant) ou Descending (Décroissant).
4. Cliquer sur OK pour trier les données ou sur Cancel (Annuler) pour arrêter le tri.

**Conseil :** Mettre les données des graphiques et du sélecteur de puits associés en surbrillance en passant le pointeur de la souris au-dessus d'une cellule. Cliquer dans une cellule pour copier et coller son contenu dans un autre programme logiciel.

## Éléments courants du menu contextuel pour les feuilles de calcul

Le [Tableau 16](#) répertorie les éléments du menu contextuel disponibles sur n'importe quelle vue de la feuille de calcul.

**Tableau 16. Éléments du menu contextuel pour les feuilles de calcul**

Élément	Fonction
Copy (Copier)	Copie le contenu des puits sélectionnés vers un presse-papiers, puis le colle dans une feuille de calcul telle qu'Excel.
Copy as Image (Copier en tant qu'image)	Copie la vue de la feuille de calcul comme fichier image et le colle dans un fichier acceptant un fichier image, notamment les fichiers texte, image ou de tableur.
Print (Imprimer)	Imprime la vue actuelle.
Print Selection (Imprimer la sélection)	Imprime la sélection en cours.

**Tableau 16. Éléments du menu contextuel pour les feuilles de calcul, suite**

<b>Élément</b>	<b>Fonction</b>
Export to Excel (Exporter vers Excel)	Exporte les données vers une feuille de calcul Excel.
Export to Text (Exporter vers texte)	Exporte les données vers un éditeur de texte.
Export to Csv (Exporter vers Csv)	Exporte les données dans un fichier .csv.
Export to Xml (Exporter vers Xml)	Exporte les données vers un fichier .xml.
Export to Html (Exporter vers Html)	Exporte les données vers un fichier .html.
Find (Rechercher)	Recherche du texte.
Sort (Trier)	Trie les données dans trois colonnes maximum.
Select Columns (Sélectionner des colonnes)	Sélectionne les colonnes qui apparaîtront dans la feuille de calcul.

## Exportation

CFX Maestro Dx SE fournit quatre options d'exportation dans le menu déroulant Export (Exporter) :

- Exporter toutes les feuilles de données
- Export RDML Files (Exporter les fichiers RDML)
- Custom Export (Exportation personnalisée)
- Export to LIMS Folder (Exporter vers un dossier LIMS)
- Manual Export (Exportation manuelle)

### Exportation de toutes les fiches de données

Il est possible d'exporter tous les affichages des feuilles de calcul de chaque onglet de CFX Maestro Dx SE vers des fichiers distincts.

#### Pour exporter toutes les feuilles de données

- ▶ Sélectionner Export (Exporter) > Export All Data Sheets (Exporter toutes les feuilles de données) puis sélectionner le type de fichier souhaité :

- CSV (\*.csv)
- Texte (\*.txt)
- Classeur Excel (\*.xlsx)

Les analyses exportées sont enregistrées dans plusieurs fichiers de classeur Excel avec un onglet de feuille de calcul de données d'analyse par fichier. Lorsqu'une analyse comprend plusieurs fluorophores, les données de chaque fluorophore sont exportées vers un onglet de feuille de calcul distinct.

- Classeur Excel - combiné (\*.xlsx)

Les analyses exportées sont enregistrées dans un seul fichier de classeur Excel qui comprend plusieurs onglets de feuille de calcul, un pour chaque ensemble de données d'analyse.

- Excel 97 - 2003 (\*.xls)

**Important :** Microsoft Excel doit être installé sur votre ordinateur pour que vous puissiez exporter des données vers une feuille de calcul Microsoft Excel.

- Xml (\*.xml)



## Exportation de fichiers RDML

RDML est une norme de données universelle structurée qui permet d'échanger des données de PCR quantitative (PCRq). La norme de données est un fichier de texte au format Extensible Markup Language (.xml). Consulter la version internationale du site web de RDML Consortium ([www.rdml.org](http://www.rdml.org)) pour obtenir des informations complémentaires sur le format d'échange de données RDML.

**Important :** Les fichiers RDML exportés comprennent des données d'analyse avec les paramètres de ligne de base que vous appliquez dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Pour plus d'informations sur les paramètres de ligne de base, consultez [Baseline Settings \(Paramètres de la ligne de base\)](#) à la page 213.

**Remarque :** Enregistrer le fichier RDML sous la version 1.1 en cas d'utilisation de la version 2.3 ou supérieure du logiciel qbase+.

### Pour exporter un fichier RDML

1. Sélectionner Export (Exporter) > Export RDML Files (Exporter les fichiers RDML) et sélectionner RDML v1.1 ou RDML v1.0 dans la liste qui se déroule.

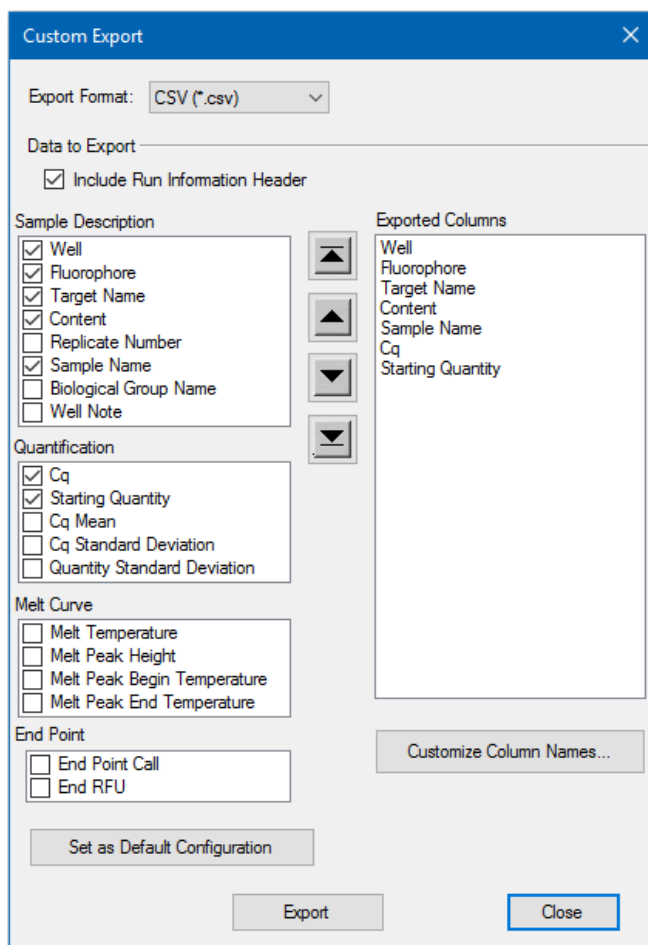
La boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous) apparaît.

2. Dans la boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous), spécifier un nom de fichier et l'emplacement dans lequel le fichier RDML doit être enregistré.
3. Cliquer sur OK pour enregistrer le fichier d'exportation.

## Création d'un fichier d'exportation personnalisé

### Pour créer un fichier d'exportation personnalisé

1. Sélectionner Export (Exporter) > Custom Export (Exportation personnalisée). La boîte de dialogue Custom Export (Exportation personnalisée) apparaît.



2. Sélectionner le format d'exportation dans la liste déroulante qui apparaît.
3. Cocher les cases correspondant aux éléments à exporter.
4. (Facultatif) Cliquer sur Customize Column Names (Personnaliser les noms de colonne) pour modifier les noms de colonne.
5. Cliquer sur Export (Exporter). La boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous) apparaît.

6. Dans la boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous), spécifier un nom de fichier et l'emplacement où le fichier exporté doit être enregistré.
7. Cliquer sur OK pour enregistrer le fichier d'exportation.

## Exportation vers un dossier LIMS

Il est possible d'exporter les données vers un format de fichier compatible LIMS. Pour plus d'informations sur la création, la gestion et l'utilisation des fichiers LIMS, consulter l'[Annexe C, Intégration au LIMS](#).

### Pour exporter des données au format LIMS

1. Sélectionner Export > Export to LIMS Folder (Exporter vers un dossier LIMS).  
La boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous) apparaît.
2. Dans la boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous), spécifier un nom de fichier et l'emplacement où le fichier exporté doit être enregistré.
3. Cliquer sur OK pour enregistrer le fichier d'exportation.

## Exportation de données formatées pour Seegene

Il est possible d'exporter les données de tous les affichages des feuilles de calcul vers des fichiers Excel structurés spécifiquement pour être utilisés par Seegene, Inc.

**Conseil :** Vous pouvez également démarrer automatiquement la visionneuse Seegene une fois l'exportation terminée. Pour plus d'informations, voir [Commandes du menu Tools \(Outils\) à la page 73](#).

### Pour exporter des données dans un format spécifique pour Seegene

1. Sélectionnez Export (Exporter) > Manual Export (Exportation manuelle).  
La boîte de dialogue Browse For Folder (Rechercher un dossier) apparaît.
2. Dans la boîte de dialogue Browse For Folder (Rechercher un dossier), spécifier un nom pour l'emplacement du dossier dans lequel les fichiers Excel (.xlsx) formatés pour Seegene et exportés doivent être enregistrés.  
  
Les analyses sont exportées dans plusieurs fichiers de classeur Excel avec un onglet de feuille de calcul de données d'analyse par fichier.
3. Cliquer sur OK pour enregistrer les fichiers d'exportation.



## Chapitre 11 Détails de l'analyse de données

La fenêtre Data Analysis (Analyse des données) du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition comprend plusieurs onglets où les données peuvent être visualisées. Ce chapitre explique ces onglets en détail.

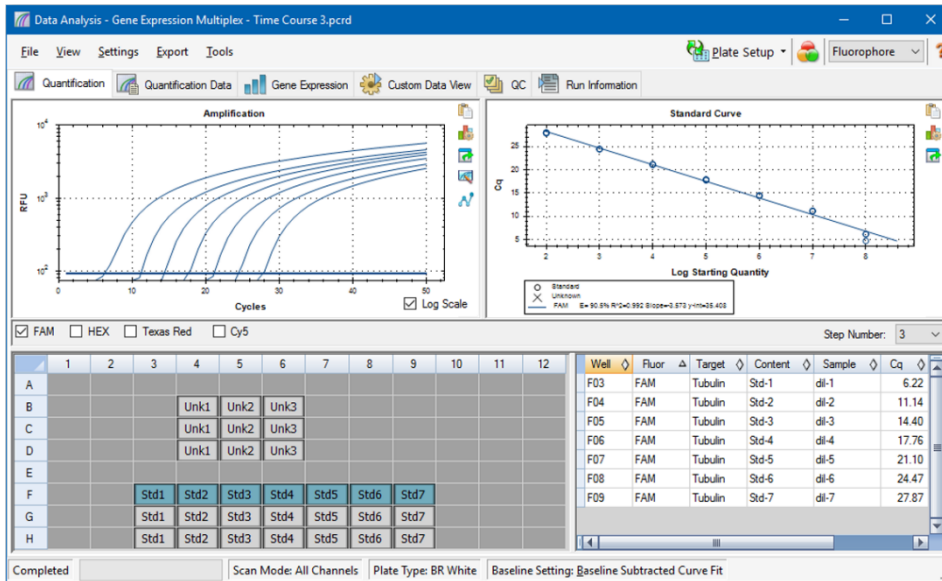
**Conseil :** Il est possible de choisir les onglets à visualiser dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) du menu View (Affichage). La disposition personnalisée est enregistrée avec le fichier de données.

## Onglet Quantification

Utiliser les données dans l'onglet Quantification pour définir les conditions d'analyse des données, y compris les paramètres de la valeur de référence pour les puits individuels et les paramètres de seuil.

L'onglet Quantification présente les données dans l'un des quatre affichages suivants :

- Amplification chart (Graphique d'amplification) — affiche les unités de la fluorescence relative (RFU) pour chaque puits à chaque cycle. Chaque courbe dans le graphique représente les données issues d'un seul fluorophore dans un puits.
- Standard curve (Courbe d'étalonnage) — apparaît uniquement si la série inclut des puits désignés en tant qu'échantillon de type étalon (Std). La courbe d'étalonnage affiche le cycle seuil représenté en fonction du log de la quantité de départ. La légende affiche l'efficacité de la réaction (E) pour chaque fluorophore dans les puits contenant un échantillon de type étalon.
- Well selector (Sélecteur de puits) — sélectionne les puits avec les données de fluorescence que l'on souhaite afficher.
- Spreadsheet (Feuille de calcul) — affiche une feuille de calcul des données collectées dans les puits sélectionnés.



## Options des fluorophores

Pour afficher les données de fluorophores dans les graphiques et les feuilles de calcul de l'onglet Quantification, sélectionner le ou les fluorophores des cibles sous le graphique d'amplification. Pour

masquer les données de fluorophore dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), décocher cette case.

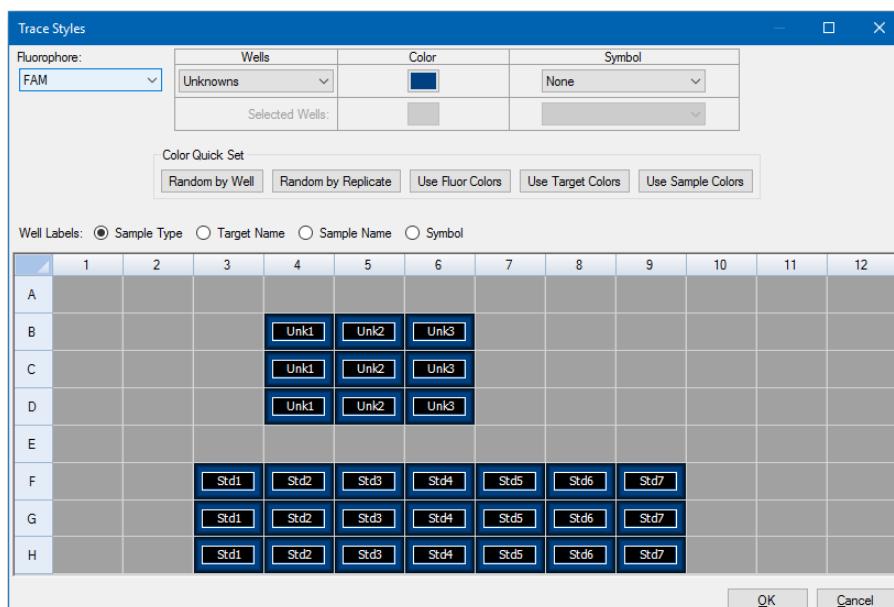
## Boîte de dialogue Trace Styles (Styles des courbes)

À l'aide de la boîte de dialogue Trace Styles (Styles des courbes), il est possible d'ajuster l'apparence des courbes dans les graphiques d'amplification et de courbe de fusion des onglets Quantification et Melt Curve (Courbe de fusion). Les modifications peuvent alors être prévisualisées dans le sélecteur de puits qui apparaît dans la boîte de dialogue Trace Styles (Styles des courbes).

### Pour ajuster les styles des courbes

1. Sélectionner un seul fluorophore dans le graphique d'amplification.
2. Pour ouvrir la boîte de dialogue Trace Styles (Styles des courbes), procéder l'une des façons suivantes :
  - Cliquer sur Trace Styles (Styles des courbes) dans le graphique d'amplification.
  - Sélectionner Settings (Paramètres) > Trace Styles (Styles des courbes) dans la barre du menu Data Analysis (Analyse de données).
  - Faire un clic droit sur une trace puis sélectionner Trace Styles (Styles des courbes).

La boîte de dialogue Trace Styles (Styles des courbes) apparaît.

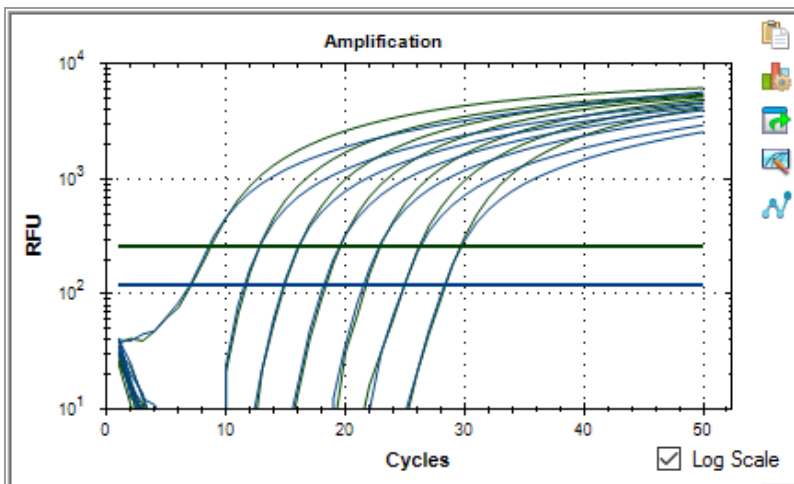




3. Dans la boîte de dialogue Trace Styles (Styles des courbes), sélectionner un ensemble spécifique de puits dans le sélecteur de puits dans le volet inférieur. Le cas échéant, sélectionner les puits qui contiennent un type d'échantillon dans le menu déroulant de la colonne Wells (Puits).
4. Procéder de l'une des façons suivantes :
  - Pour choisir une couleur pour les puits sélectionnés, cocher la case dans la colonne Color (Couleur).
  - Pour attribuer un symbole aux puits sélectionnés, le sélectionner dans la liste déroulante Symbol (Symbole).
  - Pour rapidement colorier les puits par étiquettes, cliquer sur le paramétrage rapide approprié :
    - Random by Well (Aléatoire par puits)
    - Random by Replicate (Aléatoire par réplicat)
    - Use Fluor Colors (Utiliser les couleurs de la fluorescence)
    - Use Target Colors (Utiliser les couleurs des cibles)
    - Use Sample Colors (Utiliser les couleurs des échantillons)
  - Pour attribuer des étiquettes de puits, choisir Sample Type (Type d'échantillon), Target Name (Nom de la cible), Sample Name (Nom de l'échantillon) ou Symbol (Symbole).

## Option de l'échelle logarithmique

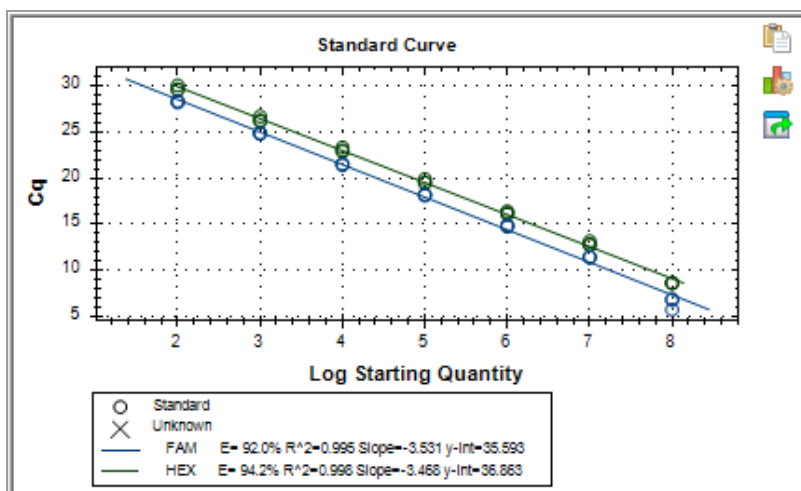
Sélectionner Log Scale (Échelle logarithmique) sous le graphique Amplification pour visualiser les traces de fluorescence sur une échelle semi-logarithmique :



**Conseil :** Pour grossir une zone du graphique, faire glisser le curseur sur la zone de la cible. Pour revenir à l'affichage normal, faire un clic droit sur le graphique puis sélectionner Set Scale to Default (Rétablir l'échelle par défaut).

## Graphique de courbe d'étalonnage

Le logiciel crée un graphique de courbe d'étalonnage dans l'onglet Quantification si les données incluent des types d'échantillons définis comme Std pour au moins un fluorophore dans la série.



Le graphique de courbe d'étalonnage affiche les informations suivantes :

- Nom de chaque courbe (le fluorophore ou la cible).
- Couleur de chaque fluorophore ou cible.
- Efficacité de la réaction (E). Utiliser cette donnée statistique pour optimiser une réaction multiplexe et égaliser les données pour une courbe d'étalonnage.

**Remarque :** L'efficacité de la réaction décrit la quantité de cible produite avec chaque cycle dans le protocole. Une efficacité de 100 % indique le redoublement de la cible à chaque cycle.

- Coefficient de détermination, R<sup>2</sup> (libellé R<sup>2</sup>). Utiliser cette donnée statistique pour déterminer comment la ligne décrit correctement les données (qualité de l'ajustement).
- Pente (Pente)
- Coordonnée à l'origine

## Options du menu Amplification Chart (Graphique d'amplification)

Outre les options habituelles du menu contextuel pour les graphiques (consulter la section [Éléments courants du menu contextuel pour les graphiques à la page 227](#)), le [Tableau 17](#) répertorie les options de menu disponibles uniquement sur le graphique Amplification.

**Tableau 17. Éléments des menus sur clic droit et clic gauche du graphique d'amplification**

Option de menu	Fonction
Well XX, Fluor Target (Puits XX, cible fluor)	N'affiche que ce puits, supprime ce puits de l'affichage, définit la couleur pour cette trace ou exclut ce puits de l'analyse.
Selected Traces (Traces sélectionnées)	N'affiche que ces puits, supprime ces puits de l'affichage, définit la couleur de ces traces ou exclut ces puits de l'analyse.
Show Threshold Values (Afficher les valeurs de seuil)	Affiche la valeur de seuil pour chaque courbe d'amplification du graphique.
Trace Styles (Styles des traces)	Ouvre la fenêtre Trace Styles (Styles des traces) pour changer les styles des traces qui apparaissent sur les onglets Quantification et Melt Curve (Courbe de fusion).
Baseline Thresholds (Seuils de référence)	Ouvre la fenêtre Baseline Thresholds (Seuils de référence) pour modifier la valeur de référence ou les seuils de chaque fluorophore (les changements apparaissent dans le graphique d'amplification de l'onglet Quantification).

## Feuille de calcul de l'onglet Quantification

Le [Tableau 18](#) définit les données affichées dans la feuille de calcul de l'onglet Quantification.

**Tableau 18. Contenu de la feuille de calcul de l'onglet Quantification**

Information	Description
Well (Puits)	Position du puits dans la plaque
Fluor	Fluorophore détecté
Target (Cible)	Nom de la cible chargé dans les puits de l'éditeur de plaque
Content (Contenu)	Une combinaison de Sample Type (obligatoire) et Replicate # (facultatif) chargés dans l'éditeur de plaque

Information	Description
Sample (Échantillon)	Nom de l'échantillon chargé dans les puits de l'éditeur de plaque
C <sub>q</sub>	Cycle de quantification pour chaque trace

### Modification des données de cible, de contenu ou d'échantillon

Il est possible de modifier les données des colonnes Target (Cible), Content (Contenu) et Sample (Échantillon) en modifiant le fichier de plaque à l'aide de l'éditeur de plaque, même une fois l'expérience effectuée.

#### **Pour modifier les données dans les colonnes Content (Contenu), Target (Cible) et Sample (Échantillon)**

- Cliquer sur Plate Setup (Configuration de la plaque) puis sélectionner View/Edit Plate (Afficher/modifier la plaque) pour ouvrir l'éditeur de plaque.

## Onglet Quantification Data (Données de quantification)

L'onglet Quantification Data (Données de quantification) affiche les données de quantification recueillies dans chaque puits. CFX Maestro Dx SE affiche les données dans quatre vues de feuille de calcul différentes :

- Results (Résultats) — affiche une feuille de calcul des données. Il s'agit de l'affichage par défaut.
- Standard Curve Results (Résultats de la courbe de données) — affiche une feuille de calcul des données de la courbe standard.
- Plate (Plaque) — affiche les données de chaque puits sous forme de carte de la plaque.
- RFU — affiche les quantités RFU dans chaque puits pour chaque cycle.

Sélectionner chaque feuille de calcul dans la liste déroulante apparaissant en dessous de l'onglet Quantification Data (Données de quantification).

### Feuille de calcul des résultats

La feuille de calcul Results (Résultats) affiche les données pour chaque puits dans la plaque.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity
B04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.911E+05	5.281
B05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.07	17.09	0.024	1.993E+05	5.300
B06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.08	17.08	0.035	1.980E+05	5.297
C04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.13	17.13	0.003	1.917E+05	5.283
C05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.12	17.09	0.024	1.937E+05	5.287
C06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.12	17.08	0.035	1.930E+05	5.285
D04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.908E+05	5.281
D05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.08	17.09	0.024	1.988E+05	5.298

**Remarque :** Tous les calculs Std. Dev (écart-type) s'appliquent aux groupes de réplicats attribués aux puits dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque). Les calculs établissent la moyenne de la valeur  $C_q$  pour chaque puits dans le groupe de réplicats.

Le [Tableau 19](#) définit les données présentées dans la feuille de calcul Results (Résultats).

**Tableau 19. Contenu de la feuille de calcul des résultats**

<b>Information</b>	<b>Description</b>
Well (Puits)	Position du puits dans la plaque
Fluor	Fluorophore détecté
Target (Cible)	Nom de la cible d'amplification (gène)
Content (Contenu)	Type d'échantillon et n° de réplikat
Sample (Échantillon)	Description de l'échantillon
Biological Set Name (Nom de l'ensemble biologique)	Nom de l'ensemble biologique
C <sub>q</sub>	Cycle de quantification
C <sub>q</sub> Mean (Moyenne C <sub>q</sub> )	Moyenne du cycle de quantification pour le groupe de réplikat
C <sub>q</sub> Std. Dev (Écart-type C <sub>q</sub> )	Écart-type du cycle de quantification pour le groupe de réplikat
Starting Quantity (SQ) (Quantité de départ [SQ])	Estimation de la quantité de départ de la cible
Log Starting Quantity (Log de la quantité de départ)	Log de la quantité de départ
SQ Mean (Moyenne SQ)	Moyenne de la quantité de départ
SQ Std. Dev (Écart-type SQ)	Écart type de la quantité de départ dans les réplikat

## Feuille de calcul des résultats de la courbe standard

La feuille de calcul des résultats de la courbe standard affiche les paramètres de la courbe standard calculée.

Fluor	Efficiency %	Slope	Y-Intercept	R <sup>2</sup>
Cy5	95.93	-3.423	35.216	1.000
FAM	91.97	-3.531	35.593	0.995
HEX	94.24	-3.468	36.863	0.998
Texas Red	96.86	-3.399	35.481	0.999

Le [Tableau 20](#) définit les données présentées dans la feuille de calcul des résultats de la courbe standard.

**Tableau 20. Contenu de la feuille de calcul des résultats de la courbe standard**

Information	Description
Fluor (or Target) (ou Cible)	Fluorophore (ou cible) détecté(e)
Efficiency % (Efficacité %)	Efficacité de la réaction
Slope (Pente)	Pente de la courbe d'étalonnage
Y-intercept (Coordonnée à l'origine)	Point d'intersection entre la courbe et l'axe des ordonnées
R <sup>2</sup>	Coefficient de détermination

## Feuille de calcul de la plaque

La feuille de calcul de la plaque affiche une carte de données de la plaque pour un fluorophore à la fois.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	Content								
	Sample								
	Cq								
	copy number								
B	Content			Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3			
	Sample			6Hr	7Hr	8Hr			
	Cq			27.36	22.11	19.07			
	copy number			2.14e+02	6.60e+03	4.78e+04			
C	Content			Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3			
	Sample			6Hr	7Hr	8Hr			
	Cq			30.38	22.11	19.24			
	copy number			3.00e+01	6.58e+03	4.27e+04			

### Pour afficher les données associées à un fluorophore spécifique

- Cliquer sur l'onglet correspondant au bas de la feuille de calcul.



## Feuille de calcul des RFU

La feuille de calcul des RFU présente les relevés des unités de la fluorescence relative (RFU) de chaque puits acquis durant chaque cycle de la série. Le numéro de puits apparaît en haut de chaque colonne et le numéro de cycle à gauche de chaque ligne.

Cycle	B4	B5	B6	C4	C5	C6	D4	D5	D6	F3	F4	F5
1	45.6	11.6	15.0	5.48	7.14	23.6	1.35	-17.5	192	39.9	30.6	35.5
2	29.9	5.01	5.65	0.0416	-0.989	12.4	-0.689	-17.2	157	39.4	20.4	15.2
3	15.0	0.773	6.65	-2.41	-0.154	9.63	-3.27	-6.84	133	44.9	13.8	8.62
4	6.29	3.24	5.62	-0.119	-1.37	7.70	2.58	-3.87	112	47.9	6.28	4.95
5	5.02	2.66	3.65	1.75	3.86	4.31	-3.29	0.0588	92.1	63.4	1.48	3.60
6	-2.71	2.83	0.862	3.84	3.17	7.76	2.50	8.79	65.9	84.3	-4.18	1.53
7	-9.01	-0.350	1.51	-0.970	4.06	3.31	-0.340	5.18	45.7	121	-8.35	-4.28

## Onglet Melt Curve (Courbe de fusion)

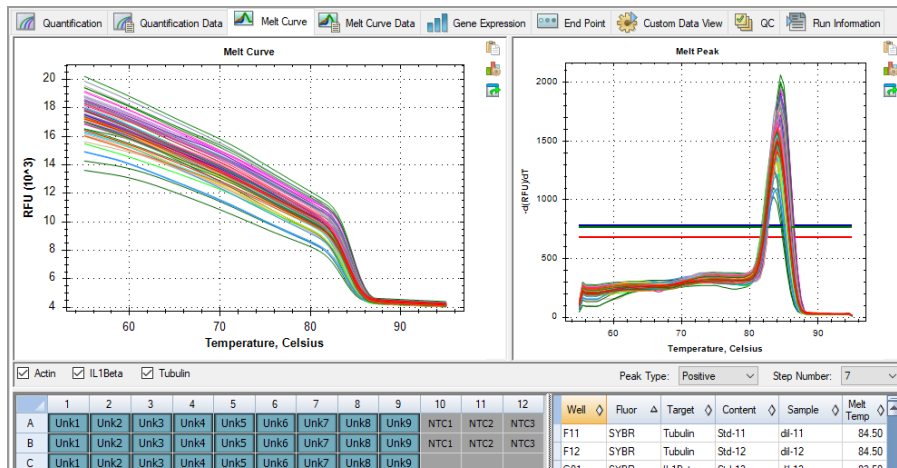
Concernant les colorants qui fixent l'ADN et les sondes d'hybridation non clivables, la fluorescence atteint sa pleine brillance lorsque l'hybridation des deux brins d'ADN a lieu. Par conséquent, à mesure que la température avoisine la température de fusion ( $T_m$ ), la fluorescence diminue à une vitesse constante (pente constante). Une fois la  $T_m$  atteinte, la fluorescence enregistre une diminution considérable qui entraîne un changement sensible au niveau de la pente. Le taux de ce changement est défini en traçant la première régression négative de la fluorescence au regard de la température ( $-d(\text{RFU})/dT$ ). Le plus grand changement dans la fluorescence se traduit par des pics visibles et représente la  $T_m$  des complexes ADN double brin.

CFX Maestro Dx SE crée un tracé des données de RFU collectées pendant une courbe de fusion en fonction de la température. Pour analyser les données du pic de fusion, le logiciel attribue une température de début et de fin à chaque pic en déplaçant la barre de seuil. La position de la barre de seuil de fusion permet de spécifier le plancher de la surface du pic. Pour être valide, un pic doit avoir une hauteur minimale par rapport à la distance entre la barre de seuil et la hauteur du pic le plus élevé.

L'onglet Melt Curve (Courbe de fusion) présente la  $T_m$  (température de fusion) des produits de PCR amplifiés dans quatre affichages :

- Melt Curve (Courbe de fusion) — affiche les données en temps réel pour chaque fluorophore sous forme de RFU en fonction de la température pour chaque puits.
- Melt Peak (Pic de fusion) — affiche la régression négative des données de la RFU en fonction de la température pour chaque puits.
- Well selector (Sélecteur de puits) — affiche les puits pour afficher ou masquer les données.
- Peak spreadsheet (Feuille de calcul du pic) — affiche les données collectées dans le puits sélectionné.

**Remarque :** Cette feuille de calcul affiche jusqu'à deux pics par trace. Pour afficher davantage de pics, cliquer sur l'onglet Melt Curve Data (Données de la courbe de fusion).



Le [Tableau 21](#) définit les données présentées dans la feuille de calcul de la courbe de fusion.

**Tableau 21. Contenu de la feuille de calcul de la courbe de fusion**

Information	Description
Well (Puits)	Position du puits dans la plaque
Fluor	Fluorophore détecté
Content (Contenu)	Combinaison du type d'échantillon et du numéro de réplicat
Sample (Échantillon)	Nom de l'échantillon chargé dans l'éditeur de plaque
Melt Temp (Temp de fusion)	Température du pic de fusion pour chaque puits <b>Remarque :</b> Seuls les deux pics les plus élevés apparaissent dans cette feuille de calcul.

## Ajustement des données de la courbe de fusion

### Pour ajuster les données de la courbe de fusion

- ▶ Procéder de l'une des façons suivantes :
  - Cliquer sur les barres de seuil et les faire glisser dans le graphique du pic de fusion pour inclure les pics dans l'analyse de données ou les en exclure.
  - Sélectionner Positive (Positif) dans le menu déroulant Peaks (Pics) pour afficher les données de feuille de calcul pour les pics au-dessus de la ligne de seuil de fusion ou sélectionner Negative (Négatif) pour visualiser les données pour les pics en dessous de la ligne.
  - Ouvrir la fenêtre Trace Styles (Styles des traces) pour changer la couleur des traces dans les graphiques de courbe de fusion et de pic de fusion.
  - Sélectionner un numéro dans le sélecteur Step Number (Numéro d'étape) pour afficher les données de la courbe de fusion à une autre étape du protocole. La liste comporte plus d'une étape si le protocole comprend des lectures de plaque à plusieurs étapes de la courbe de fusion.
  - Sélectionner les puits dans le sélecteur de puits pour mettre l'accent sur les sous-ensembles de données.
  - Sélectionner un groupe de puits pour visualiser et analyser un sous-ensemble des puits dans la plaque. Sélectionner chaque groupe de puits par son nom dans le menu déroulant Well Group (Groupe de puits) de la barre d'outils.

## Onglet Melt Curve Data (Données de la courbe de fusion)

L'onglet Melt Curve Data (Données de la courbe de fusion) affiche les données de l'onglet Melt Curve (Courbe de fusion) dans plusieurs feuilles de calcul qui comprennent tous les pics de fusion pour chaque trace. CFX Maestro Dx SE propose quatre options de feuille de calcul pour afficher les données de la courbe de fusion :

- Melt Peaks (Pics de fusion) — affiche toutes les données, y compris tous les pics de fusion, pour chaque trace. Il s'agit de l'affichage par défaut.
- Plate (Plaque) — affiche une vue des données et du contenu de chaque puits de la plaque.
- RFU — affiche les quantités RFU à chaque température pour chaque puits.
- $-d(\text{RFU})/dT$  — affiche le taux de changement négatif de la RFU à mesure que la température (T) change. Il s'agit d'un premier tracé de la régression pour chaque puits de la plaque.

Sélectionner chaque feuille de calcul dans la liste déroulante apparaissant en dessous de l'onglet Melt Curve Data.

## Feuille de calcul des pics de fusion

La feuille de calcul Melt Peaks (Pics de fusion) affiche toutes les données de la courbe de fusion.

The screenshot shows the 'Melt Curve Data' tab in the software. A dropdown menu is set to 'Melt Peaks', and the 'Step Number' is 7 with 'Peak Type: Positive'. Below this is a table with the following columns: Well, Fluor, Target, Content, Sample, Melt Temperature, Peak Height, Begin Temperature, and End Temperature. The table contains 12 rows of data for wells A01 through D01.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Melt Temperature	Peak Height	Begin Temperature	End Temperature
A01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1497.19	78.00	88.50
A02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1426.57	78.50	94.00
A03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1492.53	78.50	91.00
B01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1408.73	78.50	92.50
B02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1510.77	78.00	89.00
B03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1493.25	78.00	88.50
C01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1521.98	78.50	91.50
C02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1618.79	78.00	90.00
C03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1581.56	78.00	89.00
D01	SYBR	Actin	Std-1	dit-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

Le [Tableau 22 à la page 253](#) définit les données apparaissant dans la feuille de calcul des pics de fusion.

**Tableau 22. Contenu de la feuille de calcul des pics de fusion**

Information	Description
Well (Puits)	Position du puits dans la plaque
Fluor	Fluorophore détecté
Content (Contenu)	Type d'échantillon répertorié dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque)
Target (Cible)	Cible d'amplification (gène)
Sample (Échantillon)	Nom de l'échantillon répertorié dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque)
Melt Temperature (Température de fusion)	Température de fusion de chaque produit, apparaissant comme un pic (valeur la plus élevée) par ligne dans la feuille de calcul
Peak Height (Hauteur du pic)	Hauteur du pic
Begin Temperature (Température de départ)	Température au commencement du pic
End Temperature (Température finale)	Température à la fin du pic

## Feuille de calcul de la plaque

La feuille de calcul de la plaque affiche les données de la courbe de fusion dans un format de plaque.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							
B	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							
C	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							

**Remarque :** Pour ajuster le pic considéré par le logiciel, ajuster la ligne de seuil dans le graphique du pic de fusion sur l'onglet Melt Curve (Courbe de fusion).

Le [Tableau 23 à la page 254](#) définit les données apparaissant dans la feuille de calcul de la plaque.

**Tableau 23. Contenu de la feuille de calcul de la plaque**

Information	Description
Contenu (Contenu)	Combinaison de Sample Type (obligatoire) et Replicate # (Nb de réplicats)
Sample (Échantillon)	Description de l'échantillon
Peak 1 (Pic 1)	Premier pic de fusion (le plus élevé)
Peak 2 (Pic 2)	Deuxième pic de fusion (inférieur)

## Feuille de calcul de la RFU

La feuille de calcul de la RFU affiche la fluorescence pour chaque puits à chaque cycle acquis pendant la courbe de fusion.

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	17243	16043	16541	16440	17362	17038	17387	18303	17813	14914	16441	16356	17906	17758
55.50	17138	15948	16440	16340	17243	16923	17280	18178	17693	14836	16337	16252	17784	17644
56.00	17033	15853	16339	16241	17124	16808	17173	18053	17574	14758	16233	16149	17663	17530
56.50	16929	15758	16238	16141	17005	16693	17067	17928	17454	14681	16130	16046	17542	17417
57.00	16824	15663	16136	16042	16885	16579	16960	17802	17334	14603	16026	15942	17420	17303
57.50	16719	15568	16035	15942	16766	16464	16853	17677	17214	14525	15922	15839	17299	17189
58.00	16614	15473	15934	15843	16647	16349	16746	17552	17094	14447	15819	15736	17178	17075
58.50	16505	15375	15831	15740	16524	16232	16637	17423	16971	14360	15707	15628	17054	16958
59.00	16393	15273	15724	15634	16400	16112	16525	17292	16845	14264	15591	15517	16928	16839

Le [Tableau 24](#) définit les données affichées dans la feuille de calcul de la RFU.

**Tableau 24. Contenu de la feuille de calcul de la RFU**

Information	Description
Well number (Numéro de puits) (A1, A2, A3, A4, A5)	Position du puits dans la plaque pour les puits chargés
Temperature (Température)	Température de fusion de la cible amplifiée, représentée sous forme d'un puits par ligne et de plusieurs puits pour différents produits dans le même puits

## Feuille de calcul -d(RFU)/dT

La feuille de calcul -d(RFU)/dT affiche le taux de changement négatif dans la RFU à mesure que la température (T) change.

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	105	95.0	101	99.5	119	115	107	125	120	77.8	104	103	121	114
55.50	227	206	219	215	258	249	231	271	260	169	225	224	263	246
56.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
56.50	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.50	209	189	202	198	238	229	213	250	239	154	206	206	242	227
58.00	214	193	204	202	242	232	215	253	243	164	214	210	245	231
58.50	222	200	210	209	247	237	221	260	249	184	228	219	249	237

Le [Tableau 25](#) définit les données présentées dans la feuille de calcul -d(RFU)/dT

**Tableau 25. Contenu de la feuille de calcul -d(RFU)/dT**

Information	Description
Well number (Numéro de puits) (A1, A2, A3, A4, A5)	Position du puits dans la plaque pour les puits chargés
Température -d(RFU)/dT	Taux négatif de changement dans la RFU à mesure que la température (T) change.



## Onglet End Point (Point final)

Ouvrir l'onglet End Point (Point final) pour analyser les RFU (unités de la fluorescence relative finales) pour les puits d'échantillons. Le logiciel compare les taux de RFU de puits ayant des échantillons inconnus aux taux de RFU de puits ayant des contrôles négatifs et « dénomine » le positif ou le négatif inconnu. Les échantillons positifs ont une valeur RFU supérieure à la valeur RFU moyenne des contrôles négatifs plus la valeur de seuil.

Well	Fluor	Content	Sample	End RFU	Call
C03	HEX	Std-1		15271	(+) Positive
C04	HEX	Std-2		10788	(+) Positive
C05	HEX	Std-3		6245	(+) Positive
C06	HEX	Std-4		4035	(+) Positive
C07	HEX	Neg Ctrl		1887	
D03	HEX	Std-1		15193	(+) Positive
D04	HEX	Std-2		10781	(+) Positive
D05	HEX	Std-3		6294	(+) Positive
D06	HEX	Std-4		4013	(+) Positive
D07	HEX	Neg Ctrl		1882	
E03	HEX	Std-1		14530	(+) Positive
E04	HEX	Std-2		10240	(+) Positive
E05	HEX	Std-3		5838	(+) Positive
E06	HEX	Std-4		3896	(+) Positive
E07	HEX	Neg Ctrl		1882	
F03	HEX	Std-1		14055	(+) Positive
F04	HEX	Std-2		9932	(+) Positive
F05	HEX	Std-3		5826	(+) Positive
F06	HEX	Std-4		3964	(+) Positive
F07	HEX	Neg Ctrl		1883	

Pour analyser les données du point final, la plaque doit contenir des contrôles négatifs ou le logiciel ne peut pas procéder à la dénomination.

- Exécuter un protocole Quantification — configurer un protocole standard. Une fois la série terminée, ouvrir la fenêtre Data Analysis (Analyse de données), ajuster les paramètres d'analyse de données dans l'onglet Quantification puis cliquer sur l'onglet End Point pour choisir un cycle de point final.
- Exécuter un protocole End Point Only (Point final uniquement) — charger le protocole End Point Only dans l'onglet Plate de la fenêtre Run Setup (Configuration de la série), sélectionner ou créer une plaque puis démarrer la série.

L'onglet End Point (Point final) affiche les valeurs RFU moyennes pour déterminer si la cible a été amplifiée par le dernier cycle (final). Utiliser ces données pour déterminer si une séquence de cibles

spécifique est présente (positive) dans un échantillon. Les cibles positives ont des valeurs RFU supérieures au niveau de seuil défini.

**Conseil :** Pour créer un protocole de point final, ouvrir l'onglet Protocol (fenêtre Run Setup) puis sélectionner Run (Série) > End Point Only Run (Série de point final uniquement).

Une fois la série terminée, le fichier de données s'ouvre sur l'onglet End Point (Point final), qui comprend les sections suivantes :

- Settings (Paramètres) — ajuste les paramètres d'analyse de données.
- Results (Résultats) — affiche les résultats immédiatement après l'ajustement des paramètres.
- Well Selector (Sélecteur de puits) — sélectionne les puits avec les données de point final à afficher.
- RFU spreadsheet (Tableur RFU) — affiche la RFU finale recueillie dans les puits sélectionnés.

## Données de résultats

La section Results (Résultats) présente les données suivantes :

- Lowest RFU value (Valeur RFU la plus faible) — valeur RFU la plus faible dans les données
- Highest RFU value (Valeur RFU la plus élevée) — valeur RFU la plus élevée dans les données
- Negative Control Average (Moyenne pour contrôle négatif) — moyenne de la RFU pour les puits qui contiennent des contrôles négatifs
- Cut Off Value (Valeur seuil) — calculée en ajoutant la tolérance (RFU ou Pourcentage de la plage répertorié dans les paramètres) et la moyenne des contrôles négatifs. Les échantillons dont les RFU sont supérieures à la valeur seuil seront définis comme « positifs ». Pour régler la valeur seuil, modifier le RFU ou le pourcentage de la plage

La valeur seuil est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Valeur seuil} = \text{Moyenne pour contrôle négatif} + \text{Tolérance}$$

Sélectionner une tolérance à l'aide de l'une de ces méthodes :

- RFU (par défaut) — sélectionner cette méthode pour utiliser une valeur RFU absolue pour la tolérance. La valeur RFU minimum de tolérance est égale à 2. La valeur maximum correspond à la valeur absolue de la valeur RFU la plus élevée moins la valeur absolue de la valeur RFU la plus faible. La valeur RFU de tolérance par défaut est égale à 10 % de la plage RFU totale.
- Percent of Range (Pourcentage de la plage) — sélectionner cette méthode pour utiliser un pourcentage de la plage RFU pour la tolérance. Le pourcentage minimum de la plage est égal à 1 %. Le pourcentage maximum de la plage est égal à 99 %. Le pourcentage de la plage par défaut est égal à 10 %.

## Ajustement de l'analyse de données du point final

### Pour ajuster les données dans l'onglet End Point (Point final)

- ▶ Procéder de l'une des façons suivantes :
  - Choisir un fluorophore dans la liste déroulante.
  - Choisir une valeur End Cycle to Average (Cycle de fin pour la moyenne) pour définir le nombre de cycles servant à calculer la RFU du point final moyenne.
  - Sélectionner RFU pour visualiser les données en unités de la fluorescence relative.
  - Sélectionner Percentage of Range pour visualiser les données comme pourcentage de la plage RFU.
  - Sélectionner les puits dans le sélecteur de puits pour mettre l'accent sur les sous-ensembles de données.
  - Sélectionner un groupe de puits pour visualiser et analyser un sous-ensemble des puits dans la plaque. Sélectionner chaque groupe de puits par son nom dans le menu déroulant Well Group (Groupe de puits) de la barre d'outils.

## Feuille de calcul des RFU pour l'analyse de point final

Le [Tableau 26](#) définit les données présentées dans la feuille de calcul RFU de l'onglet End Point (Point final).

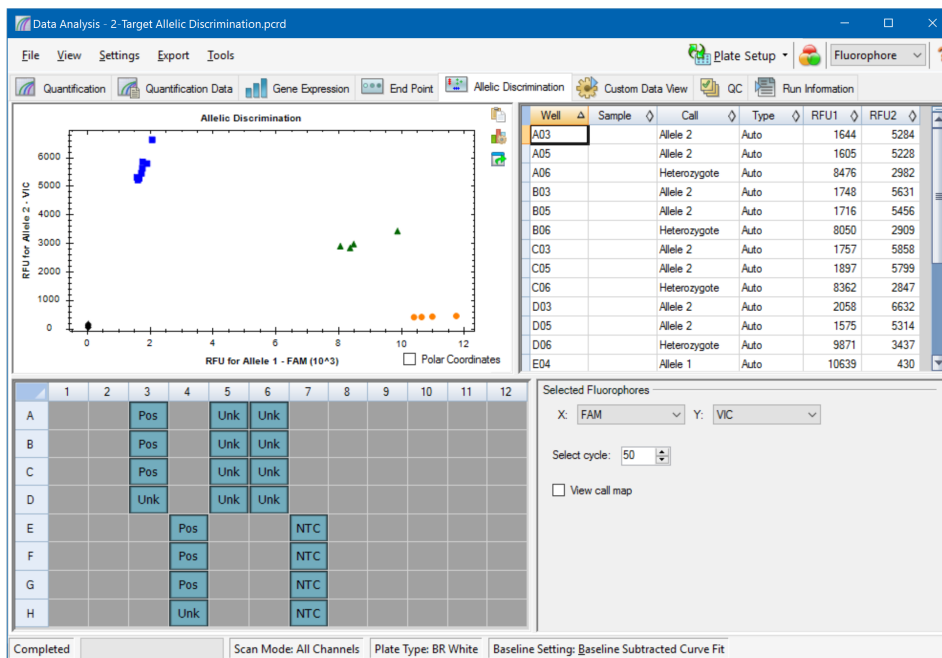
**Tableau 26. Contenu de la feuille de calcul du point final de la RFU**

Information	Description
Well (Puits)	Position du puits dans la plaque
Fluor	Fluorophore détecté
Content (Contenu)	Combinaison de Type d'échantillon et Nb de répliquats
End RFU (RFU finale)	RFU au cycle de point final
Call (Dénomination)	Positive ou négative, où les échantillons positifs ont une valeur RFU supérieure à la valeur RFU moyenne des contrôles négatifs plus la valeur seuil.
Sample (Échantillon)	Nom de l'échantillon chargé dans l'éditeur de plaque.

## Onglet Allelic Discrimination (Discrimination allélique)

L'onglet Allelic Discrimination (Discrimination allélique) attribue les génotypes aux puits qui contiennent des échantillons inconnus. Utiliser ces données pour identifier les échantillons qui comportent différents génotypes, y compris Allele 1 (Allèle 1), Allele 2 (Allèle 2), Heterozygote (Hétérozygote), No Call (Aucune dénomination) (absence d'amplification) ou Undetermined (Indéterminé).

**Remarque :** Les données pour la discrimination allélique doivent provenir de séries multiplexes contenant au moins deux fluorophores. Chaque fluorophore identifie un allèle dans l'ensemble des échantillons.



L'analyse par discrimination allélique suppose que chaque puits contienne au minimum :

- Deux fluorophores dans chaque puits
- Des échantillons NTC (contrôle sans matrice) pour optimiser l'analyse de données.

CFX Maestro Dx SE propose quatre options qui permettent d'afficher les données de discrimination allélique :

- Graphique Allelic Discrimination (Discrimination allélique) — affiche les données dans un graphique RFU for Allele 1/Allele 2 (RFU pour l'allèle 1/allèle 2). Chaque point dans le graphique représente les données issues des deux fluorophores dans un puits. Il est possible de passer des coordonnées cartésiennes aux coordonnées polaires en cochant et en décochant la case Polar Coordinates

(Coordonnées polaires). Les coordonnées cartésiennes représentent la RFU pour l'allèle 1 sur l'axe des abscisses et la RFU pour l'allèle 2 sur l'axe des ordonnées. Les coordonnées polaires représentent l'angle sur l'axe des abscisses et l'origine et la RFU sur l'axe des ordonnées (médiane de tous les NTC).

- Feuille de calcul Well (Puits) — affiche les données de discrimination allélique collectées dans chaque puits de la plaque.
- Well selector (Sélecteur de puits)— sélectionne les puits avec les données alléliques que l'on souhaite afficher.
- Panel Selected Fluorophores (Fluorophores sélectionnés) — modifie les étiquettes des axes des abscisses et des ordonnées dans le graphique Allelic Discrimination (Discrimination allélique), le cycle à analyser et détermine si la carte des dénominations doit être affichée.

## Ajustement des données pour la discrimination allélique

Le logiciel attribue automatiquement un génotype aux puits avec des échantillons inconnus sur la base des positions des NTC et de l'angle et de la distance des points de données inconnus par rapport aux NTC.

### Pour ajuster les données de discrimination allélique

- ▶ Procéder de l'une des façons suivantes :
  - Pour afficher les coordonnées polaires, cocher la case dans le graphique Allelic Discrimination (Discrimination allélique).
  - Pour visualiser un autre fluorophore, le choisir dans la liste déroulante du panneau Selected Fluorophores (Fluorophores sélectionnés).
  - Pour changer une dénomination, faire glisser le curseur sur le ou les points de données dans le graphique Allelic Discrimination et choisir une option dans la liste Selected Wells (Puits sélectionnés) :
    - Allele 1 (Allèle 1)
    - Allele 2 (Allèle 2)
    - Heterozygote (Hétérozygote)
    - Undetermined (Indéterminé)
    - No Call (Aucune dénomination)
    - Auto Call (Dénomination auto)

**Conseil** : Sélectionner Auto Call (Dénomination auto) pour revenir à la dénomination par défaut.

## Options du menu Chart (Graphique)

Outre les options habituelles du menu contextuel pour les graphiques (consulter la section [Éléments courants du menu contextuel pour les graphiques à la page 227](#)), le [Tableau 27](#) répertorie les options de menu disponibles sur le graphique de discrimination allélique.

**Tableau 27. Options de menu sur clic droit et clic gauche du graphique de discrimination allélique**

Option de menu	Fonction
Zoom	Fait converger l'affichage du graphique sur la zone sélectionnée (en cliquant et faisant glisser le curseur dans le graphique). <b>Conseil :</b> Pour rétablir le zoom de manière à voir tous les points de données, faire un clic droit et sélectionner Set Scale to Default (Rétablir l'échelle par défaut).
Well (Puits)	Pour le puits sélectionné, les options sont : n'afficher que ce puits, supprimer ce puits de l'affichage, définir la couleur de cette trace ou exclure ce puits de l'analyse.
Selected Wells (Puits sélectionnés)	Pour les puits sélectionnés (sélectionnés en cliquant et faisant glisser le curseur dans le graphique), les options sont : n'afficher que ces puits, supprimer ces puits de l'affichage, définir la couleur de ces traces ou exclure ces puits de l'analyse.

## Feuille de calcul de la discrimination allélique

Le [Tableau 28](#) définit les données qui figurent dans la feuille de calcul de la discrimination allélique.

**Tableau 28. Contenu de la feuille de calcul de la discrimination allélique**

Information	Description
Well (Puits)	Position du puits dans la plaque
Sample (Échantillon)	Description du nom de l'échantillon
Call (Dénomination)	Identité de l'allèle, y compris Allele 1 (Allèle 1), Allele 2 (Allèle 2), Hétérozygote (Hétérozygote), No Call (Aucune dénomination) ou Undetermined (Indéterminé)

**Tableau 28. Contenu de la feuille de calcul de la discrimination allélique, suite**

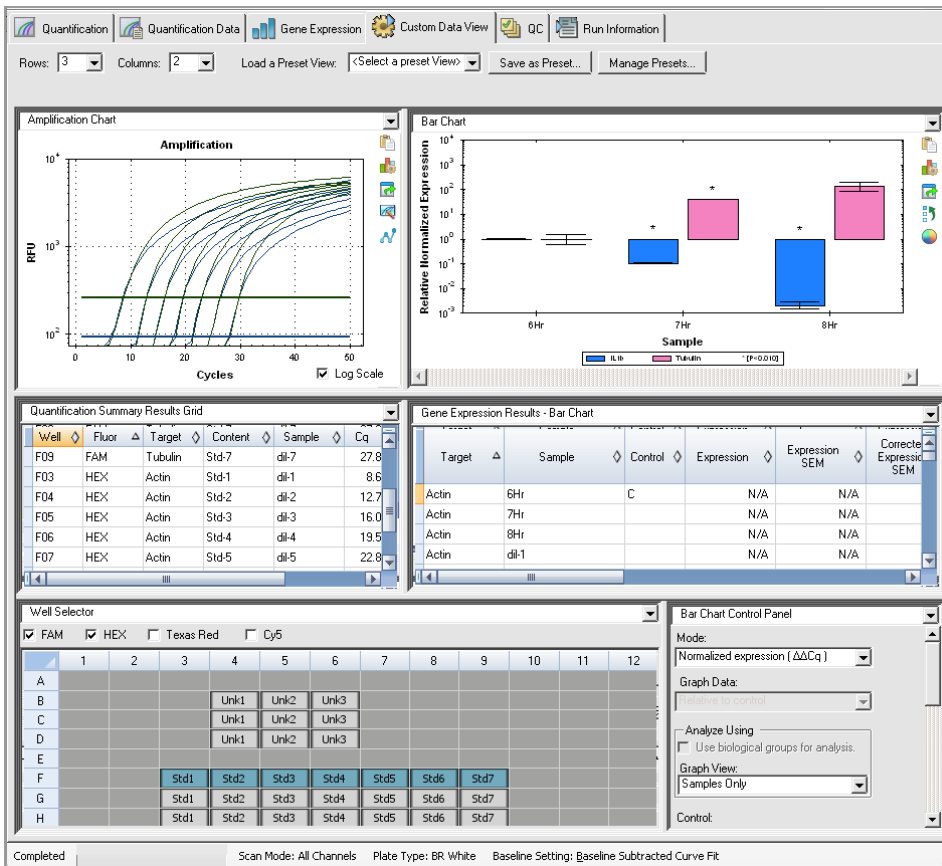
<b>Information</b>	<b>Description</b>
Type	Auto (Automatique) ou Manual (Manuel), décrit la manière dont la dénomination a été sélectionnée. Automatique indique que le logiciel a sélectionné la dénomination. Manuel indique que l'utilisateur a choisi la dénomination.
RFU1	RFU pour l'allèle 1
RFU2	RFU pour l'allèle 2



## Onglet Custom Data View (Affichage de données personnalisés)

L'onglet Custom Data View (Affichage de données personnalisés) affiche plusieurs volets dans un format personnalisable.

La liste déroulante Load a Preset View (Charger un affichage prédéfini) offre une sélection de modèles de formats d'affichage. L'affichage par défaut qui se présente dépend du fichier en cours d'analyse. Par exemple, si les données de l'option Melt Curve (Courbe de fusion) sont présentes, l'affichage par défaut Amp+Melt (Amp+Fusion) apparaît.



## Création d'un affichage de données personnalisé

### Pour créer un affichage de données personnalisé

- ▶ Procéder de l'une des façons suivantes :
  - Sélectionner un autre affichage prédéfini dans la liste déroulante.
  - Sélectionner un autre affichage graphique dans la liste déroulante située dans la partie supérieure de chaque volet.
  - Changer le nombre de lignes et de colonnes dans l'onglet.
  - Changer les dimensions de chaque volet. Faire glisser les barres à la périphérie de chaque volet.

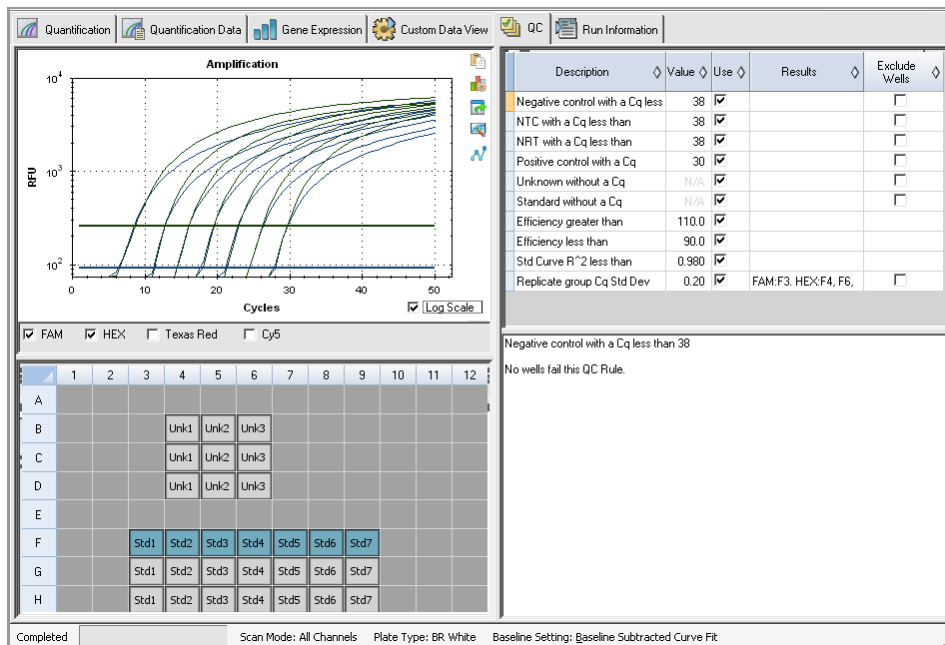
Cliquer sur Save as Preset (Enregistrer comme prédéfini) pour enregistrer l'affichage personnalisé comme un modèle prédéfini. Cliquer sur Manage Presets (Gérer les prédéfinis) pour supprimer, renommer ou rétablir des affichages personnalisés existants.

## Onglet QC (CQ)

Utiliser l'onglet QC (CQ) pour procéder à une évaluation rapide de la qualité des données de la série en se basant sur les règles définies dans l'onglet QC (CQ) dans la fenêtre User Preferences (Préférences utilisateur) .

Le logiciel CFX Maestro Dx SE propose quatre options pour pouvoir afficher les données de CQ :

- **Amplification chart (Graphique d'amplification)** — affiche la RFU pour chaque puits à chaque cycle. Chaque courbe dans le graphique représente les données issues d'un seul fluorophore dans un puits.
- **QC rules table (Table de règles de CQ)** — affiche les règles de CQ disponibles ainsi que les paramètres qui définissent chacune des règles. Les règles de CQ appliquées sont indiquées par une case à cocher.
- **Well selector (Sélecteur de puits)** — sélectionne les puits avec les données de fluorescence à afficher.
- **QC rule summary pane (Volet de résumé de la règle de CQ)** — affiche la règle de CQ sélectionnée et met en surbrillance les puits qui ne respectent pas la règle.



## Modification des critères de CQ

### Pour modifier les critères de CQ

- ▶ Cocher ou décocher la case Use (Utiliser) pour la règle à inclure dans le CQ ou à exclure.

## Exclusion des puits qui ne passent pas le CQ

CFX Maestro Dx SE affiche les puits ne remplissant pas les critères de CQ dans la colonne Results (Résultats) du tableau des règles de CQ et dans le volet récapitulatif.

### Pour exclure des puits qui ne passent pas le CQ

- ▶ Sélectionner Exclude Wells (Exclure les puits) pour chaque puits à exclure.

## Onglet Run Information (Informations sur la série)

L'onglet Run Information (Informations sur la série) affiche le protocole et d'autres informations concernant chaque série. Utiliser cet onglet pour effectuer les opérations suivantes :

- Afficher le protocole.
- Saisir ou modifier des notes concernant la série.
- Saisir ou modifier l'ID ou le code-barres pour la série.
- Afficher les événements qui auraient pu survenir pendant la série. Utiliser ces messages pour mieux résoudre les problèmes liés à une série.

**Conseil :** Cliquer avec le bouton droit sur le protocole pour le copier, l'exporter ou l'imprimer. Cliquer avec le bouton droit sur les volets Notes, ID/Bar Code (ID/Code-barres) ou Other (Autre) pour annuler, couper, copier, coller, supprimer ou sélectionner le texte.

Protocol: CFX\_2stepAmp50 1 min.prd

Step	Temp	Time
1	95.0 C	for 3:00
2	95.0 C	for 0:10
3	55.0 C	for 1:00
4	GOTO 2	49 more times

Notes:  
Multiplex Gene Expression Example  
Artificial Time course in which  
Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run  
Cys (Gadd45) is constant at ~ 1e6 cps/run  
Fam (Tubulin) increases 4 fold with time  
Texas Red (IT1b) decreases 4 fold with time

ID/Bar Code:

Other:  
Run Started : 12/13/2007 12:31:47 PM  
User : admin  
Run Type: User-defined  
Plate File: Multi GE.pltd  
Sample Vol : 25  
Lid Temp : 105  
Optical Head Serial Number :  
Base Serial Number : CC001035  
CFX Manager Version : 1.0.956.1212.

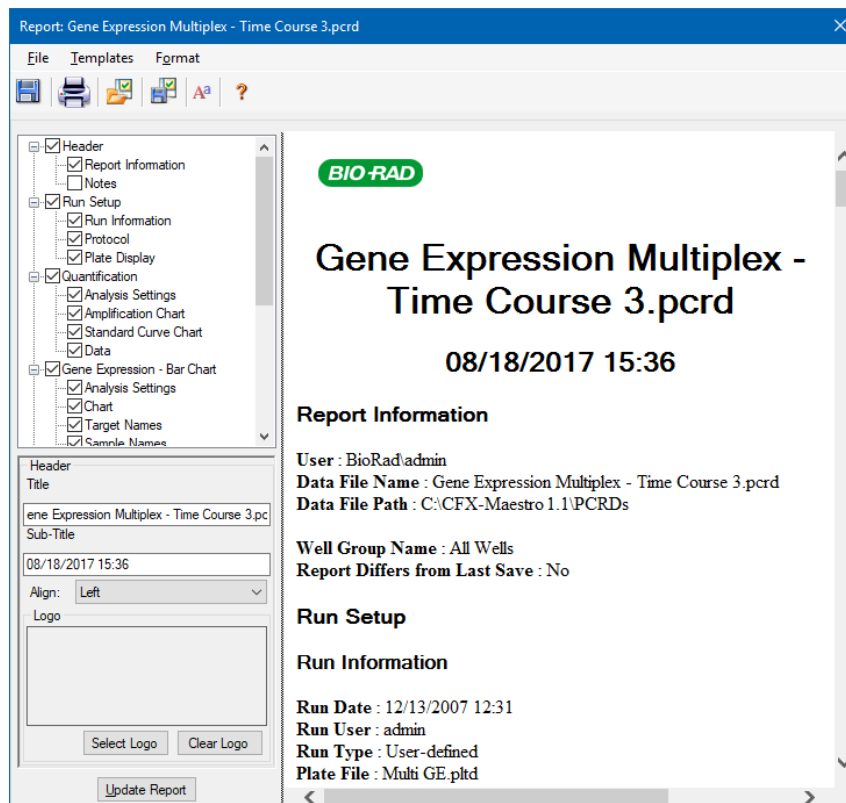
Completed | Scan Mode: All Channels | Plate Type: BR White | Baseline Setting: Baseline Subtracted Curve Fit

## Rapports de l'analyse de données

La boîte de dialogue Report (Rapport) affiche des informations sur le fichier de données en cours dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Pour ouvrir un rapport, sélectionner Tools (Outils) > Reports (Rapports) ou cliquer sur Reports (Rapports) dans la barre d'outils.

La boîte de dialogue Report (Rapport) contient les sections suivantes :

- Menu et barre d'outils — fournissent des options pour mettre en forme, enregistrer et imprimer le rapport ou le modèle.
- Liste d'options (partie supérieure gauche de la boîte de dialogue) — fournit les options à afficher dans le rapport.
- Volet d'options (partie inférieure gauche de la boîte de dialogue) — affiche les zones de texte où il est possible de saisir des informations sur une option sélectionnée.
- Volet de prévisualisation (côté droit de la boîte de dialogue) — affiche un aperçu du rapport en cours.



## Catégories des rapports d'analyse de données

Le [Tableau 29](#) répertorie toutes les options disponibles pour un rapport d'analyse de données, en fonction du type de données dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).

**Tableau 29. Catégories des rapports d'analyse de données dans la liste des options**

Catégorie	Option	Description
<b>Header (En-tête)</b>		
		Titre, sous-titre et logo pour le rapport
	Report Information (Informations sur le rapport)	Date de la série, nom d'utilisateur, nom du fichier de données, chemin du fichier de données et groupe de puits sélectionné
	Audit Information (Informations sur l'audit)	Informations complémentaires requises pour l'audit, y compris signatures
	Notes	Notes sur le rapport de données
<b>Configuration de la série</b>		
	Run Information (Informations sur la série)	Date de la série, nom d'utilisateur, nom du fichier de données, chemin du fichier de données et groupe de puits sélectionné
	Protocol (Protocole)	Affichage au format texte des étapes et des options du protocole
	Plate Display (Affichage de la plaque)	Affichage sous forme de plaque des informations dans chaque puits de la plaque
<b>Quantification</b>		
	Analysis Settings (Paramètres d'analyse)	Numéro de l'étape de recueil des données, mode d'analyse et méthode de soustraction de la valeur de référence
	Amplification Chart (Graphique d'amplification)	Graphique d'amplification pour les séries qui comprennent des données de quantification

**Tableau 29. Catégories des rapports d'analyse de données dans la liste des options, suite**

Catégorie	Option	Description
	Standard Curve Chart (Graphique de courbe d'étalonnage)	Graphique de courbe d'étalonnage
	Data (Données)	Tableur répertoriant les données de chaque puits
<b>Expression génique — Graphique en barres</b>		
	Analysis Settings (Paramètres d'analyse)	Mode d'analyse, données graphiques, option de mise à l'échelle et erreur de graphique
	Chart (Graphique)	Copie du graphique en barres
	Target Names (Noms des cibles)	Graphique des noms de cibles
	Sample Names (Noms des échantillons)	Graphique des noms d'échantillons
	Data (Données)	Tableur répertoriant les données de chaque puits
	Target Stability (Stabilité de la cible)	Graphique des valeurs de stabilité de la cible
	Box and Whisker chart (Diagramme en boîte)	Diagramme en boîte
	Dot Plot chart (Graphique par points)	Dot Plot chart (Graphique par points)
<b>Gene Expression (Expression génique) — dendogramme et nuage de points</b>		
	Analysis Settings (Paramètres d'analyse)	Paramètres pour chaque type de graphique
	Chart (Graphique)	Copie du graphique
	Data (Données)	Tableur répertoriant les données de chaque cible



**Tableau 29. Catégories des rapports d'analyse de données dans la liste des options, suite**

Catégorie	Option	Description
<b>Expression générique — Données ANOVA</b>		
	ANOVA Settings (Paramètres ANOVA)	Seuil de la valeur-p utilisé dans l'analyse ANOVA)
	ANOVA Results (Résultats ANOVA)	Tableau de résultats de l'ANOVA et de l'analyse post-hoc HSD de Tukey
<b>Courbe de fusion</b>		
	Analysis Settings (Paramètres d'analyse)	Numéro d'étape de la fusion et réglage de la barre de seuil
	Melt Curve Chart (Graphique de la courbe de fusion)	Graphique de la courbe de fusion
	Melt Peak Chart (Graphique du pic de fusion)	Graphique du pic de fusion
	Data (Données)	Tableur répertoriant les données de chaque puits
<b>Discrimination allélique</b>		
	Analysis Settings (Paramètres d'analyse)	Fluorophores, cycle et carte des dénominations
	Allelic Discrimination Chart (Graphique de la discrimination allélique)	Copie du graphique de discrimination allélique
	Data (Données)	Tableur répertoriant les données de chaque puits
<b>Point final</b>		
	Analysis Settings (Paramètres d'analyse)	Fluorophore, cycle de fin pour la moyenne, mode, valeur RFU la plus faible, valeur RFU la plus élevée et valeur seuil

**Tableau 29. Catégories des rapports d'analyse de données dans la liste des options, suite**

<b>Catégorie</b>	<b>Option</b>	<b>Description</b>
	Data (Données)	Tableur répertoriant les données de chaque puits
<b>Paramètres de CQ</b>		
	Data (Données)	Tableur répertoriant les paramètres pour chaque règle de CQ

## Création d'un rapport d'analyse de données

Il est possible d'enregistrer la mise en page du rapport comme modèle qui pourra être réutilisé pour des rapports similaires.

### Pour créer un rapport d'analyse de données

1. Apporter les derniers ajustements au contenu du puits, aux puits sélectionnés, aux graphiques et aux feuilles de calcul dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) avant de créer le rapport.
2. Sélectionner Tools (Outils) > Reports (Rapports) dans la barre de menu Data Analysis (Analyse de données) pour ouvrir la boîte de dialogue Report (Rapport).
3. Choisir les options que l'on souhaite inclure dans le rapport. Le rapport s'ouvre en affichant les options sélectionnées par défaut. Cocher ou décocher les cases pour modifier des catégories entières ou des options individuelles à l'intérieur d'une catégorie.

Le [Tableau 29 à la page 270](#) répertorie les options disponibles à afficher.

**Remarque :** Les données qui figurent dans le rapport dépendent des sélections en cours à l'intérieur des onglets de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Par exemple, une série de quantification peut ne pas contenir de courbe d'étalonnage, auquel cas ces données ne figureront pas dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) ou dans le rapport de données.

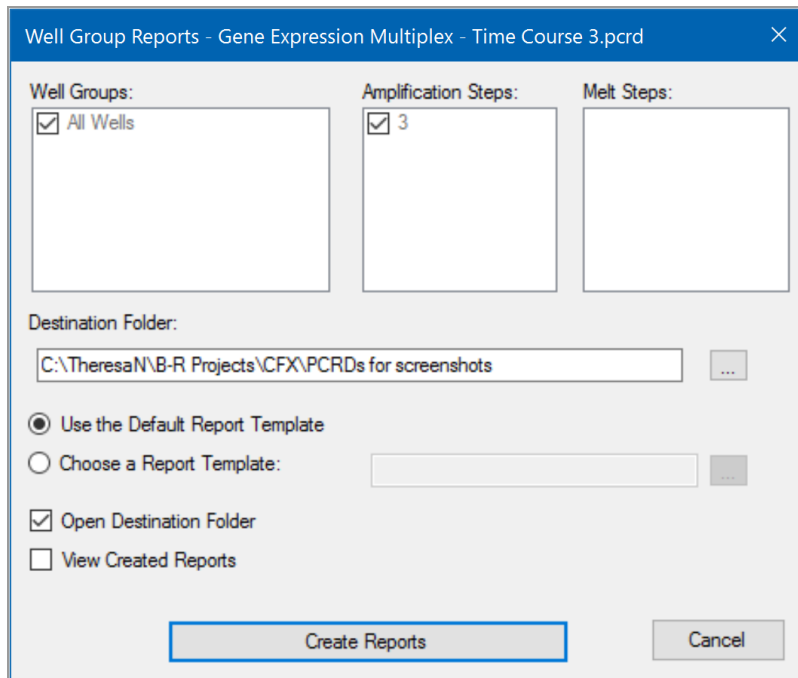
4. Modifier l'ordre des catégories et des éléments dans un rapport. Faire glisser les options vers la position correspondante. Les éléments ne peuvent être réordonnés qu'à l'intérieur des catégories auxquelles ils appartiennent.
5. (Facultatif) Dans le volet Report Options (Options du rapport), saisir des informations pertinentes pour l'option sélectionnée :
  - Choisir un sous-ensemble d'informations qui sera affiché dans le rapport.
  - Choisir des paramètres spécifiques pour l'option sélectionnée.
  - Modifier le texte qui s'affichera pour l'option sélectionnée.
6. Cliquer sur Update Report (Actualiser le rapport) pour actualiser le champ Report Preview (Aperçu du rapport) avec les modifications éventuellement apportées.
7. Imprimer ou enregistrer le rapport :
  - a. Cliquer sur le bouton Print Report (Imprimer le rapport) dans la barre d'outils pour imprimer le rapport en cours.
  - b. Sélectionner File (Fichier) > Save (Enregistrer) pour enregistrer le rapport au format PDF (fichier Adobe Acrobat Reader), MHT (document Microsoft) ou MHTML (document Microsoft).

- c. Sélectionner un emplacement dans lequel enregistrer le fichier.
  - d. Sélectionner File (Fichier) > Save As (Enregistrer sous) pour enregistrer le rapport avec un nouveau nom ou dans un nouvel emplacement.
8. (Facultatif) Créer un modèle de rapport avec les informations souhaitées. Pour enregistrer les paramètres du rapport en cours dans un modèle, sélectionner Template (Modèle) > Save (Enregistrer) ou Save As (Enregistrer sous). Il suffira ensuite de charger le modèle de rapport la prochaine fois qu'un nouveau rapport sera créé.

## Création de rapports de groupes de puits

### Pour créer un rapport de groupe de puits

1. Sélectionner Tools (Outils) > Well Group Reports (Rapports de groupes de puits) dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données).



2. Dans la boîte de dialogue Well Group Reports (Rapports de groupes de puits), sélectionner les groupes de puits, les étapes d'amplification et les étapes de fusion à inclure dans le rapport.
3. Accéder au chemin ou au dossier de destination dans lequel le rapport doit être enregistré.
4. (Facultatif) Sélectionner Choose a Report Template (Choisir un modèle de rapport) et accéder au dossier du fichier de modèle.
5. (Facultatif) Sélectionner Open Destination Folder (Ouvrir le dossier de destination) pour ouvrir le dossier et afficher les rapports après leur production.
6. Cliquer sur Create Reports (Créer des rapports).

## Chapitre 12 Analyse de l'expression génique

Avec l'utilisation de contrôles rigoureusement qualifiés dans les réactions, il est possible d'utiliser le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition pour procéder à une série d'expression génétique afin de normaliser les différences relatives dans une concentration cible parmi les échantillons. Généralement, les niveaux d'expression pour un ou plusieurs gènes de référence servent à normaliser les niveaux d'expression d'un gène d'intérêt. Les gènes de référence prennent en compte les différences de chargement ou d'autres variations représentées dans chaque échantillon et leurs niveaux d'expression ne devraient pas être affectés dans le système biologique étudié.

Choisir l'onglet Gene Expression (Expression des gènes) dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) pour évaluer les différences relatives entre les réactions PCR dans deux puits ou plus. Par exemple, il est possible d'évaluer les nombres relatifs de génomes viraux ou les nombres relatifs de séquences transfectées dans une réaction de PCR. L'application la plus fréquente pour l'analyse de l'expression génétique est la comparaison de la concentration en ADNc dans plusieurs réactions afin d'estimer les taux d'ARN messagers stables.

Le logiciel calcule le niveau d'expression relative d'une cible selon l'un de ces scénarios :

- Niveau d'expression relative d'une cible (cible 1) par rapport à une autre (cible 2), par exemple, quantité d'un gène par rapport à un autre dans le même traitement d'un échantillon.
- Niveau d'expression relatif d'une séquence cible dans un échantillon par rapport à la même cible sous différents traitements d'échantillon ; par exemple, la quantité relative d'un gène par rapport à lui-même dans différentes conditions temporelles, géographiques ou de développement.

### Configuration de la plaque pour l'analyse de l'expression génétique

Pour réaliser l'analyse de l'expression génétique, le contenu des puits doit comporter les éléments suivants :

- Deux cibles ou plus — les deux cibles qui représentent différents gènes amplifiés ou différentes séquences dans les échantillons.
- Une ou plusieurs cibles de référence — une cible au moins doit être une cible de référence pour l'expression normalisée. Attribuer toutes les cibles de référence dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) pour analyser les données en mode Normalized Expression

(Expression normalisée) ( $\Delta\Delta C_q$ ). Les séries qui ne contiennent pas de référence doivent être analysées en utilisant le mode Relative Expression (Expression relative) ( $\Delta C_q$ ).

- Échantillons communs — les réactions doivent comporter des échantillons communs (deux requis au minimum) pour afficher les données tracées dans l'onglet Gene Expression (Expression génétique). Ces échantillons doivent représenter différents traitements ou pathologies pour chacune des séquences cibles. Attribuer un échantillon de contrôle (facultatif) dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience). Si aucun contrôle n'est sélectionné, le logiciel utilise le  $C_q$  le plus bas en tant que contrôle.

Les critères pour la configuration de l'expression génétique dans la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) dépendent du fait que le contenu de la réaction soit une PCR uniplexe, avec un fluorophore dans les réactions, ou une PCR multiplexe, avec un ou plusieurs fluorophores dans les réactions.

## Configuration de plaque guidée

Si la configuration de plaque d'un fichier de données ne contient pas les informations requises pour l'analyse et que l'onglet Gene Expression soit sélectionné, l'espace normalement occupé par le graphique en barres contiendra des instructions pour saisir ces informations. Pour l'expression génétique normalisée, procéder comme suit :

1. Définir les noms de la cible et de l'échantillon de l'une des façons suivantes :
  - Plate Setup (Configuration de la plaque) — ouvre la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque).
  - Replace Plate File (Remplacer le fichier de plaque) — ouvre le navigateur Select Plate (Sélectionner la plaque) où il est possible d'accéder à un fichier de plaque précédemment enregistré par lequel remplacer la disposition de la plaque actuelle.
  - Replace PrimePCR File (Remplacer le fichier PrimePCR) — ouvre la boîte de dialogue Select PrimePCR file (Sélectionner le fichier PrimePCR) où il est possible d'accéder à un fichier de la série PrimePCR et de l'appliquer à la disposition de la plaque.
2. Sélectionner un ou plusieurs gènes de référence et un échantillon de contrôle à l'aide de la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).







Si la disposition de la plaque contient déjà les informations de cible et d'échantillon, seule la deuxième étape est requise et mise en surbrillance en orange. Cette étape doit être effectuée avant que l'analyse de l'expression génétique normalisée puisse survenir.

**Remarque :** Les données pour le nuage de points et le dendrogramme ne s'affichent que si toutes les exigences pour l'expression génétique normalisée énumérées sous Plate Setup (Configuration de la plaque) pour l'analyse de l'expression des gènes sont remplies.

## Graphiques d'expression des gènes

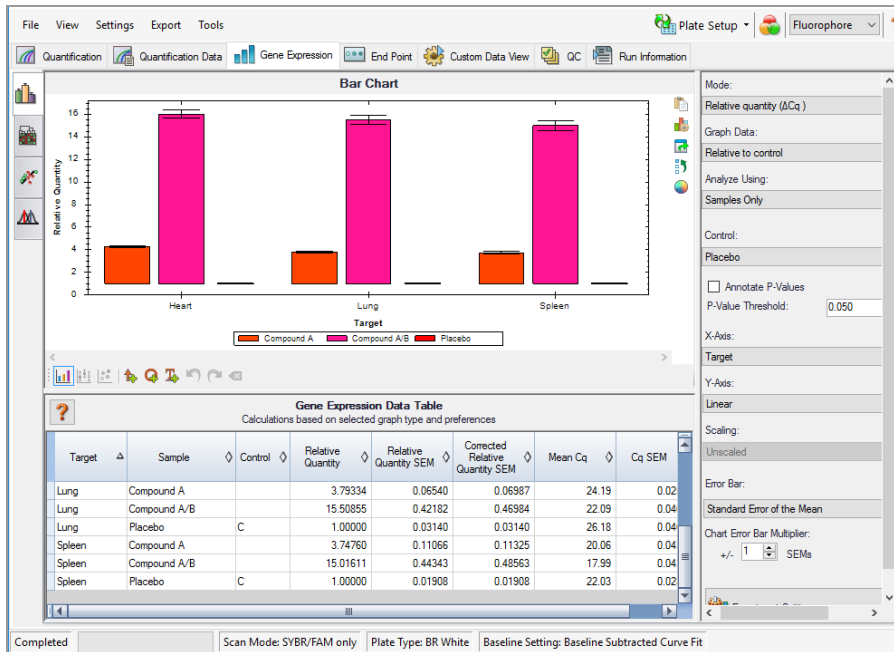
CFX Maestro Dx SE affiche les données d'expression des gènes dans de multiples vues. Le [Tableau 30](#) répertorie les options graphiques disponibles dans le logiciel.

**Tableau 30. Options graphiques de l'expression des gènes**

Bouton	Nom	Fonction
	Graphing (Représentation graphique)	Affiche les données d'expression génétique normalisée dans l'un des affichages suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Bar chart (Graphique en barres) (par défaut)</li> <li>■ Box and Whisker chart (Diagramme en boîte)</li> <li>■ Dot Plot chart (Graphique par points)</li> </ul>
	Dendrogramme	Affiche les données d'expression normalisée selon une hiérarchie reposant sur le degré de similarité de l'expression pour les différentes cibles et les différents échantillons.
	Scatter Plot (Nuage de points)	Affiche l'expression normalisée des cibles pour un contrôle versus un échantillon expérimental.
	ANOVA	Affiche les résultats de l'ANOVA unidirectionnelle sur les données de l'expression génétique à l'aide des paquets R suivants pour procéder à l'ANOVA et déterminer les résultats de Tukey : <ul style="list-style-type: none"> <li>■ car (companion to applied regression)</li> <li>■ lsmeans (moyennes des moindres carrés)</li> </ul>
	Outil de sélection des gènes de référence	(Disponible sur l'onglet Study Analysis dans la fenêtre Gene Study) Identifie les gènes de référence testés et les classifie comme étant Ideal (Idéal), Acceptable ou Unstable (Instable) sur la base de leur stabilité.
	Analyse des contrôles PrimePCR	(Disponible sur l'onglet Study Analysis dans la fenêtre Gene Study) Affiche les résultats des échantillons testés.



## Représentation graphique



L'expression relative des cibles est présentée dans ces deux affichages :

- Gene Expression chart (Graphique d'expression génétique) — affiche les données de la PCR en temps réel sous l'une des formes suivantes :
  - $\Delta\Delta C_q$  — expression relative normalisée calculées à l'aide des échantillons de contrôle et des cibles de référence.
  - $\Delta C_q$  — quantité relative du gène cible dans un échantillon relatif à un échantillon de contrôle.

Consulter la section [Modification et annotation de l'affichage du graphique à la page 282](#) pour de plus amples informations sur l'affichage des données.

- Spreadsheet (Feuille de calcul) — affiche une feuille de calcul contenant les données d'expression génétique.

**Conseil :** Cliquer avec le bouton droit sur n'importe quel(le) graphique ou feuille de calcul pour connaître les options. Cliquer sur View/Edit Plate (Afficher/modifier la plaque) dans le menu déroulant Plate Setup (Configuration de la plaque) pour ouvrir la fenêtre Plate Editor (Éditeur de plaque) et modifier le contenu du puits dans la plaque.

**Conseil :** Sélectionner Sort (Trier) dans le menu contextuel pour réorganiser l'ordre des noms de cibles et d'échantillons dans le graphique.

## Expression génétique normalisée

Pour normaliser les données, utiliser le niveau d'expression mesuré d'un ou de plusieurs gènes de référence en tant que facteur de normalisation. Les gènes de référence désignent des cibles qui ne sont pas régulées dans le système biologique à l'étude, comme *l'actine*, la *GAPDH* ou la *tubuline*.

### Pour configurer l'analyse de l'expression génétique normalisée ( $\Delta\Delta C_q$ )

1. Ouvrir un fichier de données (extension . pcrd).
2. Examiner les données dans l'onglet Quantification de la fenêtre Data Analysis (Analyse de données). Ajuster les données, en modifiant par exemple le seuil et le mode d'analyse.
3. Sélectionner l'onglet Gene Expression (Expression génétique).
4. Dans l'onglet Gene Expression (Expression génétique), cliquer sur Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).
5. Dans la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience), procéder comme suit :
  - a. Choisir l'onglet Samples (Échantillons) et sélectionner un contrôle. Une fois le contrôle attribué, le logiciel CFX Maestro Dx SE normalise les quantités relatives pour tous les gènes sur la quantité de contrôle, qui est définie sur 1.
  - b. Cliquer sur l'onglet Target (Cible) et sélectionner les gènes de référence. L'analyse de l'expression génétique nécessite une référence parmi les cibles dans les échantillons.
6. Sélectionner Normalized Expression (Expression normalisée) ( $\Delta\Delta C_q$ ) si ce n'est déjà fait, puis afficher les niveaux d'expression dans l'onglet Gene Expression (Expression génétique).

**Remarque :** Il est également possible d'utiliser l'assistant de configuration pour paramétrer la disposition de plaque en vue de l'analyse de l'expression génétique.

## Quantité relative

Par définition, les données de quantité relative ( $\Delta C_q$ ) ne sont pas normalisées. Cette méthode sert à quantifier les échantillons qui ne comprennent aucun gène de référence (cible). Les chercheurs sont généralement certains de l'une des considérations suivantes lorsqu'ils configurent leur série :

- Chaque échantillon contient la même quantité d'ARN ou d'ADNc dans chaque puits.
- Toute divergence dans la quantité d'échantillon biologique chargée sera normalisée après la série selon une certaine méthode dans l'analyse de données en dehors du logiciel. Par exemple, un chercheur peut choisir de diviser la valeur de la quantité relative par le facteur de normalisation, éventuellement la masse de l'acide nucléique chargé pour chaque échantillon ou le nombre de cellules à partir desquelles l'acide nucléique a été isolé.

### Pour effectuer une analyse de la quantité relative ( $\Delta C_q$ )

- Dans l'onglet Gene Expression (Expression des gènes), sélectionner Relative Quantity ( $\Delta C_q$ ) dans la liste déroulante Mode du volet droit.

**Conseil :** Pour comparer les résultats aux données d'autres séries d'expression des gènes, ouvrir une nouvelle étude des gènes ou ajouter un fichier de données à une étude existante.

## Modification et annotation de l'affichage du graphique

L'utilisation des commandes de menu de la barre d'outils des graphiques et les outils du graphique d'analyse de données permet de modifier l'affichage du graphique, d'annoter chaque graphique et de modifier l'écran graphique. La barre d'outils des graphiques apparaît entre le graphique et la feuille de calcul de l'analyse de données au bas de l'écran.

### Outils de la barre d'outils des graphiques

**Conseil :** Consulter [Graphiques à la page 219](#) pour plus d'informations sur les outils qui apparaissent à droite des graphiques d'analyse de données.

La barre d'outils sous les graphiques permet d'accéder rapidement aux outils d'annotation.



Le [Tableau 31](#) répertorie les fonctions des boutons de la barre d'outils des graphiques.

**Tableau 31. Barre d'outils des graphiques**










Bouton	Nom	Fonction
	Bar chart (Graphique en barres)	Affiche l'expression relative des cibles.
	Box and Whisker chart (Diagramme en boîte)	Affiche les données sous forme d'écart interquartiles (consulter <a href="#">Calculs dans un diagramme en boîte (Box and Whisker) à la page 323</a> pour les détails du calcul). <b>Remarque :</b> Disponible uniquement si Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Biological Groups Only (Groupes biologiques uniquement).

Tableau 31. Barre d'outils des graphiques, suite

Bouton	Nom	Fonction
	Dot Plot chart (Graphique par points)	Affiche les points de données des échantillons individuels pour chaque cible. <b>Remarque</b> : Disponible uniquement si Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Biological Groups Only (Groupes biologiques uniquement).
	Add Arrow (Ajouter une flèche)	Trace une flèche sur le graphique actif.
	Add Circle (Ajouter un cercle)	Trace un cercle sur le graphique actif.
	Add Text (Ajouter du texte)	Insère une zone de texte sur le graphique actif dans lequel il est possible d'ajouter du texte pour identifier les éléments intéressants.
	Undo (Annuler)	Supprime la dernière annotation faite sur le graphique actif ou y revient.
	Redo (Rétablir)	Rétablit la dernière action d'annulation faite sur le graphique actif.
	Clear all (Effacer tout)	Efface toutes les annotations sur le graphique actif.

### Tri des données de cibles, d'échantillons et de groupes biologiques

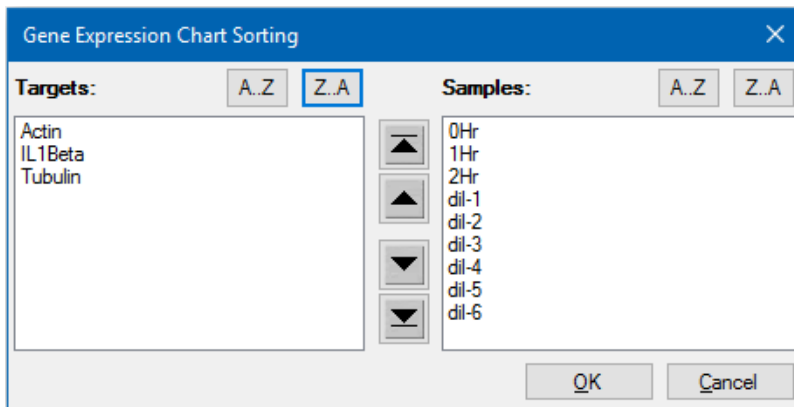
**Remarque** : Cette option n'est disponible que sur les graphiques d'expression génique.

Par défaut, les listes Targets (cibles), Samples (Échantillons) et Biological Groups (Groupes biologiques) apparaissent par ordre alphabétique. Utiliser la boîte de dialogue Sort (Trier) pour trier l'affichage en ordre alphabétique inverse ou pour manuellement déplacer un terme vers une position différente dans la liste.

#### Pour trier les données de cibles, d'échantillons et de groupes biologiques

1. À partir des outils des graphiques, cliquer sur Sort (Trier).

La boîte de dialogue Gene Expression Chart Sorting (Tri du graphique d'expression génique) apparaît.



2. Dans la boîte de dialogue, cliquer sur Z-A pour trier la liste en ordre alphabétique inverse.
3. Pour manuellement déplacer un terme, le sélectionner et cliquer sur le bouton approprié entre les graphiques :
  - Cliquer sur la flèche vers le haut ou vers le bas pour déplacer le terme sélectionné d'une position.
  - Cliquer sur la flèche vers le haut ou vers le bas avec une barre pour déplacer le terme sélectionné vers le haut ou le bas de la liste.
4. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et revenir à l'onglet Gene Expression (Expression génique).

## Modification des paramètres de couleurs d'une cible, d'un échantillon et d'un groupe biologique

Utiliser la boîte de dialogue Color Settings (Paramètres de couleurs) pour modifier la couleur d'une cible, d'un échantillon ou d'un groupe biologique ou pour supprimer l'élément du graphique.

### Pour modifier les paramètres de couleurs d'une cible

1. Dans le volet de droite de la boîte de dialogue Gene Expression (Expression génétique), vérifier que Sample (Échantillon) apparaît dans la liste déroulante X-Axis (Axe des abscisses).
2. Dans Chart Tools (Outils du graphique), sélectionner Color Settings (Paramètres de couleurs).  
La boîte de dialogue Color Settings (Paramètres de couleurs) apparaît.
3. Pour modifier la couleur d'affichage d'une cible, cliquer sur sa couleur dans la colonne Color (Couleur).
4. Dans la boîte de dialogue Color (Couleur) qui apparaît, sélectionner une nouvelle couleur et cliquer sur OK.
5. Pour supprimer une cible du graphique d'expression génétique, décocher la case correspondante dans la colonne Show Chart (Afficher le graphique).

**Conseil :** Pour effacer toutes les cibles, décocher Show Chart (Afficher le graphique) dans l'entête de colonne.

6. (Facultatif) Par défaut, la barre se présente avec des couleurs unies. Pour afficher les barres avec des couleurs de dégradé, décocher la case Use Solid Colors (Utiliser des couleurs unies).
7. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et revenir à l'onglet Gene Expression (Expression génétique).

### Pour modifier les paramètres de couleurs d'un échantillon ou d'un groupe biologique

1. Dans le volet de droite de la boîte de dialogue Gene Expression (Expression génétique), vérifier que Target (Cible) apparaît dans la liste déroulante X-Axis (Axe des abscisses).
2. Réaliser les étapes décrites au point [Pour modifier les paramètres de couleurs d'une cible à la page 285](#).

## Modification de l'affichage du graphique

### Pour modifier l'affichage du graphique en cours

- Sélectionner la commande de menu de la barre d'outils pour l'affichage de la cible.

**Remarque :** L'onglet Gene Expression (Expression génétique) qui s'ouvre affiche toujours les données dans l'affichage Bar Chart (Graphie en barres) par défaut.

## Exclusion des points de données aberrants

Dans le graphique par points, les valeurs aberrantes sont faciles à visualiser et à exclure de l'analyse.

### Pour exclure des points de données aberrants

- Dans le graphique par points, faire un clic droit sur la valeur aberrante de la cible puis sélectionner Exclude Well from Analysis (Exclure le puits de l'analyse).

Le point est supprimé du graphique par points et le puits devient gris dans le sélecteur de puits de l'onglet Quantification.

### Pour inclure un point de données aberrant exclu

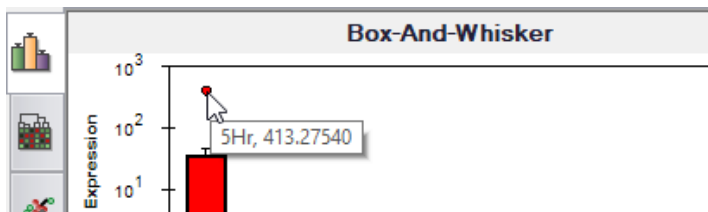
- Dans l'onglet Quantification, faire un clic droit sur le puits dans le sélecteur de puits et sélectionner Well > Include in Analysis (Inclure dans l'analyse).

## Affichage des détails du point de données

### Pour afficher les détails du point de données

- Dans le diagramme en boîte et ou le graphique à points, placer le curseur sur un point de données individuel.

Une info-bulle s'affiche, indiquant le nom de l'échantillon et son expression (quantité relative ou expression normalisée selon le mode sélectionné).



## Annotation des graphiques

Il est possible d'ajouter des flèches, des cercles et du texte à chaque vue du graphique en barres pour clairement communiquer les données. Les annotations sont enregistrées avec le graphique en barres et apparaissent dans le fichier exporté et imprimé. Cependant, les annotations faites sur la vue d'un graphique en barres ne sont pas ajoutées aux vues d'autres graphiques.

### Pour tracer une flèche ou un cercle sur le graphique

1. Dans la barre d'outils du graphique en barres, cliquer sur l'outil spécifique.
2. Cliquer dans le graphique en barres et faire glisser le curseur sur le graphique comme souhaité.

### **Pour ajouter du texte au graphique**

1. Dans la barre d'outils du graphique en barres, cliquer sur Add Text (Ajouter du texte).
2. Cliquer dans le graphique en barres. Une zone de texte apparaît à cet emplacement.
3. Saisir le texte dans la zone de texte.
4. Cliquer n'importe où dans le graphique pour sortir de la zone de texte.

**Conseil** : Appuyer sur Entrée pour ajouter plusieurs lignes dans la zone de texte.

### **Pour déplacer une annotation**

1. Pointer le curseur sur l'annotation. L'icône se transforme en une main pointant l'index et la bordure de l'annotation est mise en surbrillance.
2. Cliquer sur l'annotation et la déplacer.
3. Relâcher l'annotation pour valider sa position.

### **Pour annuler une annotation**

- ▶ Cliquer sur Undo (Annuler).

L'annotation la plus récente est supprimée.

**Conseil** : Il est possible d'annuler les dix annotations les plus récentes, une par une.

### **Pour rétablir une annotation**

- ▶ Cliquer sur Redo (Rétablir).

La dernière annotation supprimée réapparaît.

**Conseil** : Il est possible de rétablir les dix annotations les plus récentes, une par une.

### **Pour supprimer une annotation**

- ▶ Faire un clic droit sur l'annotation et sélectionner Delete (Supprimer).



## Ajustement des données d'expression des gènes

Après avoir sélectionné le mode d'analyse, expression normalisée ( $\Delta\Delta Cq$ ) ou quantité relative ( $\Delta Cq$ ), régler les données qui s'affichent dans l'onglet Gene Expression (Expression génétique) en modifiant les options de paramétrage à droite du graphique.

**Conseil :** L'utilisateur définit les options pour les données d'expression génétique par défaut dans la boîte de dialogue User Preferences (Préférences utilisateur) (consulter la section [Définition des paramètres du fichier de données de l'expression génique par défaut à la page 99](#)).

## Représentation graphique des données

Définir la valeur de l'axe des ordonnées sur Linear scale (Échelle linéaire) pour activer les options de représentation graphique des données. Les options de représentation graphique des données permettent de présenter les données dans le graphique avec l'une des options suivantes :

- Relative to control (Relatives au contrôle) — représentation graphique des données avec l'axe mis à l'échelle de 0 à 1. Si un contrôle est attribué dans la série, sélectionner cette option pour afficher rapidement la régulation positive et négative de la cible.
- Relative to zero (Relatives à zéro) — représentation graphique des données avec l'origine à zéro.

## Analyse Using (Analyser à l'aide de)

Utiliser le menu déroulant pour sélectionner les modalités d'analyse et de traçage des données. Les options sont :

- Samples Only (Échantillons uniquement) — les données sont analysées et tracées pour chaque échantillon.
- Biological Groups Only (Groupes biologiques uniquement) — les données sont analysées et tracées pour les groupes biologiques. L'expression qui s'affiche pour le groupe biologique correspond à la moyenne géométrique des échantillons dans ce groupe.
- Sample Biological Group (Groupe biologique de l'échantillon) — les données sont analysées et tracées pour chaque échantillon avec le groupe biologique ajouté après le nom de l'échantillon. Les valeurs-p reproduites sont calculées en fonction du groupe biologique.
- Biological Group Sample (Échantillon du groupe biologique) — les données sont analysées et tracées pour chaque échantillon avec le groupe biologique ajouté avant le nom de l'échantillon. Les valeurs-p reproduites sont calculées en fonction du groupe biologique.

Utiliser le menu déroulant pour sélectionner un échantillon qui sera utilisé pour normaliser la quantité relative :

## Annoter les valeurs-p et seuil de la valeur-p

Lorsque Annotate P-Values (Annoter les valeurs-p) est sélectionné, le logiciel affiche un astérisque (\*) sur le graphique en barres au-dessus d'une cible si sa valeur-p est inférieure au seuil sélectionné. Le logiciel calcule automatiquement la valeur-p en comparant le niveau d'expression de l'échantillon au niveau d'expression de l'échantillon de contrôle sélectionné à l'aide du test-t standard. La plage de seuils de la valeur-p est 0,000—1,000.

## Options de l'axe des abscisses

Ces options permettent de sélectionner les données de l'axe des abscisses du graphique d'expression des gènes :

- Target (Cible) — trace les noms des cibles sur l'axe des abscisses.
- Sample (Échantillon) — trace les noms des échantillons sur l'axe des abscisses.

## Options de l'axe des ordonnées

L'option de l'axe des ordonnées permet d'afficher le graphique d'expression génétique dans l'une de ces trois échelles :

- Linear (Linéaire) — sélectionner cette option pour afficher une échelle linéaire.
 

**Conseil :** La définition de l'axe des ordonnées sur Linear (Linéaire) active la liste déroulante Graph Data (Représentation graphique des données) dans laquelle il est possible de donner une représentation graphique des données relatives au contrôle ou relatives à zéro.
- Log 2 — sélectionner cette option pour évaluer les échantillons dans une grande plage dynamique.
- Log 10 — sélectionner cette option pour évaluer les échantillons dans une très grande plage dynamique.

## Options de mise à l'échelle

Sélectionnez Normalized Gene Expression (Expression génétique normalisée) ( $\Delta\Delta C_q$ ) et définissez sur None (Aucun) afin d'activer les options de mise à l'échelle dans le graphique de l'expression génétique. Sélectionner l'une des options de mise à l'échelle suivantes pour calculer et présenter les données selon les modalités qui conviennent le mieux à la conception de la série :

- Unscaled (Non mise à l'échelle) — présente l'expression génétique normalisée non mise à l'échelle.
- Highest (Le plus haut) — met à l'échelle l'expression génétique normalisée pour chaque cible en divisant le niveau d'expression de chaque échantillon par le niveau d'expression le plus haut dans tous les échantillons.

L'option de mise à l'échelle utilise la formule mise à l'échelle au plus haut.

- **Lowest (Le plus bas)** — met à l'échelle l'expression génétique normalisée pour chaque cible en divisant le niveau d'expression de chaque échantillon par le niveau d'expression le plus bas dans tous les échantillons.

L'option de mise à l'échelle utilise la formule mise à l'échelle au plus bas.

- **Average (Moyenne)** — met à l'échelle l'expression génétique normalisée pour chaque cible en divisant le niveau d'expression de chaque échantillon par la moyenne géométrique des niveaux d'expression pour l'ensemble des échantillons.

L'option de mise à l'échelle utilise la formule mise à l'échelle à la moyenne.

Sélectionner une option pour le type de calculs d'erreurs (barres d'erreur) du graphique d'expression génétique :

### Multiplicateur de barres d'erreur du graphique

Sélectionner un multiplicateur pour les barres d'erreur du graphique d'expression génétique. Sélectionner l'un des nombres entiers suivants :

- +/- 1 (par défaut)
- 2
- 3

Le type de multiplicateur change lors de la sélection de la barre d'erreur :

- SEMs pour l'erreur type de la moyenne
- Std Devs pour les écarts-types

### Paramètres de l'expérience

**Conseil** : La boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) est également disponible dans l'éditeur de plaque. Pour de plus amples informations, consulter [Modification des paramètres de l'expérience à la page 164](#).

Dans la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience), il est possible de visualiser ou de modifier la liste des cibles, échantillons ou groupes biologiques, de sélectionner les gènes de référence, de sélectionner des contrôles ou de définir le groupe d'analyse d'expression des gènes à analyser si des groupes biologiques ont été ajoutés aux puits.

#### Pour ouvrir la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience)

- ▶ Dans l'onglet Graphing (Représentation graphique), cliquer sur Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) au pied du volet droit.

Apparaît la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience), affichant l'onglet Targets (Cibles).

### Pour ajuster les paramètres Targets (Cibles)

- ▶ Dans l'onglet Targets (Cibles), procéder de l'une des façons suivantes :
  - Pour sélectionner une cible comme référence pour l'analyse de données de l'expression génétique, sélectionner son nom dans la colonne Reference (Référence).
  - Pour changer la couleur de la cible, cliquer sur sa cellule dans la colonne Color (Couleur) et changer la couleur dans la boîte de dialogue Color (Couleur) qui apparaît.

Le changement de couleur apparaît dans les graphiques d'expression des gènes.

- Pour utiliser une valeur d'efficacité précédemment déterminée, décocher la case de la cible dans la colonne Auto Efficiency (Efficacité auto) et saisir un nombre pour le pourcentage d'efficacité d'une cible.

Le logiciel calcule l'efficacité relative pour une cible à l'aide de la fonction Auto Efficiency (Efficacité auto) si les données pour une cible incluent une courbe standard.

### Pour ajuster les paramètres d'un échantillon

- ▶ Dans l'onglet Samples (Échantillons), procéder de l'une des façons suivantes :
  - Pour sélectionner un échantillon comme contrôle pour l'analyse de données de l'expression génétique, sélectionner son nom dans la colonne Control (Contrôle).
  - Pour changer la couleur du groupe d'échantillons, cliquer sur sa cellule dans la colonne Color (Couleur) et changer la couleur dans la boîte de dialogue Color (Couleur) qui apparaît.

Le changement de couleur apparaît dans les graphiques d'expression des gènes.

- Pour afficher l'échantillon dans les graphiques d'expression des gènes, le sélectionner dans la colonne Show Chart (Afficher le graphique).
- Pour supprimer l'échantillon des graphiques d'expression des gènes, l'effacer dans la colonne Show Chart (Afficher le graphique).

**Conseil** : Les données du groupe d'échantillons restent dans le tableau des résultats.

### Pour exclure un type d'échantillon des calculs de l'analyse

- ▶ Cocher sa case au pied de la boîte de dialogue Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).

**Remarque** : Cela exclut les contrôles et/ou les étalons de l'analyse de l'expression des gènes.

## Options du menu contextuel

Faire un clic droit sur le graphique d'expression génétique pour sélectionner les éléments affichés dans le [Tableau 32](#).

**Tableau 32. Éléments du menu contextuel de l'expression des gènes**

Élément	Fonction
Copy (Copier)	Copie le graphique dans un presse-papiers.
Save Image As (Enregistrer l'image sous)	Enregistre le graphique comme un fichier image. Définir la résolution et les dimensions de l'image puis sélectionner le type de fichier (PNG, JPG, ou BMP).
Page Setup (Mise en page)	Sélectionne une mise en page pour l'impression.
Print (Imprimer)	Imprime le graphique.
Set Scale to Default (Rétablir l'échelle par défaut)	Show All (Tout afficher) affiche toutes les données dans le graphique en barres. Scroll Bar (Barre de défilement) affiche une barre de défilement s'il y a trop d'échantillons à afficher dans la zone du graphique tout en maintenant une largeur de barres minimum.
Paramètres des graphiques	Ouvre la fenêtre Chart Settings (Paramètres des graphiques) pour ajuster le graphique.
Sort (Trier)	Trie l'ordre des échantillons ou des cibles qui apparaissent sur l'axe des abscisses du graphique.
Use Corrected Std Devs (Utiliser des écarts-types corrigés)	Calcule les barres d'erreur à l'aide de la formule de l'écart-type corrigé.
Use Solid Bar Colors (Utiliser des couleurs de barres pleines)	Affiche des barres pleines dans le graphique.
X-Axis Labels (Étiquettes de l'axe des abscisses)	Affiche les étiquettes de l'axe des abscisses horizontalement ou en biais.

## Feuille de calcul des données

Le [Tableau 33](#) définit les données affichées dans le tableau des données de l'expression génétique.

**Remarque :** Les valeurs figurant dans le tableau sont calculées en fonction du type de graphique et des préférences sélectionnées dans le volet de droite.

**Tableau 33. Description des informations contenues dans la feuille de calcul de l'onglet**

Information	Description
Target (Cible)	Nom de la cible (gène amplifié) sélectionnée dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).
Biological Group (Groupe biologique) Sample Biological Group (Groupe biologique de l'échantillon) Biological Group Sample (Échantillon du groupe biologique)	Nom de l'échantillon et/ou du groupe biologique sélectionné dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).
Contrôle	Nom du contrôle sélectionné dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience). Lorsque Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Samples Only (Échantillons uniquement), le contrôle correspond à l'échantillon sélectionné dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience). Lorsque les options Biological Groups Only (Groupes biologiques uniquement), Sample Biological Group (Groupe biologique de l'échantillon) ou Biological Group Sample (Échantillon du groupe biologique) sont sélectionnées, le contrôle correspond au groupe biologique sélectionné dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).
Relative Quantity or Expression (Quantité relative ou Expression)	Quantité relative ( $\Delta C_q$ ) ou expression génétique normalisée ( $\Delta\Delta C_q$ ) selon le mode sélectionné.
Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (SEM ou [SD] de la quantité relative ou de l'expression)	Erreur type de la moyenne (SEM) ou écart-type (SD) de la quantité relative ou de l'expression normalisée selon l'option sélectionnée. Disponible uniquement si Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Samples Only (Échantillons uniquement), Sample Biological Group (Groupe biologique de l'échantillon) ou Biological Group Sample (Échantillon du groupe biologique).

Information	Description
Corrected Relative Quantity or Expression SEM (or SD) (SEM ou [SD] de la quantité relative ou de l'expression corrigée)	Calcul de la valeur corrigée pour l'erreur type de la moyenne (SEM) ou l'écart-type (SD) de la quantité relative ou de l'expression normalisée selon l'option sélectionnée. Disponible uniquement si Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Samples Only (Échantillons uniquement), Sample Biological Group (Groupe biologique de l'échantillon) ou Biological Group Sample (Échantillon du groupe biologique).
Mean C <sub>q</sub> (C <sub>q</sub> moyen)	Moyenne du cycle de quantification (cette valeur ne s'affiche pas si Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Biological Groups Only (Groupes biologiques uniquement)).
C <sub>q</sub> SEM (or SD) (SEM ou SD C <sub>q</sub> )	Erreur type de la moyenne (SEM) ou écart-type (SD) du cycle de quantification selon l'option sélectionnée (cette valeur ne s'affiche pas si Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Biological Groups Only (Groupes biologiques uniquement)).

## Option Show Details (Afficher les détails)

Le [Tableau 34](#) définit les données affichées lorsque Show Details (Afficher les détails) est sélectionné dans le menu contextuel de la feuille de calcul du graphique en barres.

**Tableau 34. Informations dans la feuille de calcul du graphique en barres lorsque Show Details (Afficher les détails) est sélectionné**

Information	Description
Data Set (Ensemble de données)	Données de fluorescence issues d'un fluorophore dans le fichier de données
Relative Quantity (Quantité relative)	Quantité relative d'échantillons calculée
Relative Quantity SD (SD quantité relative)	Écart-type du calcul de la quantité relative
Corrected Relative Quantity SD (SD quantité relative corrigée)	Écart-type calculé de la quantité relative corrigée
Relative Quantity SEM (SEM quantité relative)	Erreur type de la moyenne du calcul de la quantité relative
Corrected Relative Quantity SEM (SEM quantité relative corrigée)	Erreur type calculée de la moyenne de la quantité relative corrigée
Relative Quantity(lg) (Quantité relative[lg])	Log <sub>2</sub> de la quantité relative utilisée à des fins d'analyse statistique
SD RQ(lg)	Écart-type de la quantité relative (log <sub>2</sub> )
SEM Expression(lg)	Erreur type de la moyenne de l'expression (log <sub>2</sub> )
Unscaled Expression (Expression non mise à l'échelle)	Expression calculée non mise à l'échelle
Unscaled Expression SD (SD expression non mise à l'échelle)	Écart-type calculé de l'expression non mise à l'échelle
Corrected Unscaled Expression SD (SD expression non mise à l'échelle corrigée)	Écart-type calculé de l'expression non mise à l'échelle corrigée



**Tableau 34. Informations dans la feuille de calcul du graphique en barres lorsque Show Details (Afficher les détails) est sélectionné, suite**

Information	Description
Unscaled Expression SEM (SEM expression non mise à l'échelle)	Erreur type calculée de la moyenne de l'expression non mise à l'échelle
Corrected Unscaled Expression SEM (SEM expression non mise à l'échelle corrigée)	Erreur type calculée de la moyenne de l'expression non mise à l'échelle corrigée
Unscaled Expression(lg) (Expression non mise à l'échelle [lg])	Log <sub>2</sub> de l'expression non mise à l'échelle
SD Unscaled Expression(lg) (SD expression non mise à l'échelle [lg])	Écart-type de l'expression non mise à l'échelle (log <sub>2</sub> )
SEM Unscaled Expression(lg) (SEM expression non mise à l'échelle [lg])	Erreur type de la moyenne de l'expression non mise à l'échelle (log <sub>2</sub> )
Expression (Quantité relative ou expression)	Expression génétique normalisée
Corrected Expression SD (SD expression corrigée)	Écart-type calculé de l'expression non mise à l'échelle corrigée
Expression SEM (SEM expression)	Erreur type de la moyenne de l'expression
Corrected Expression SEM (SEM expression corrigée)	Erreur type calculée de la moyenne de l'expression corrigée
Expression(lg)	Log <sub>2</sub> de l'expression (expression normalisée) utilisée à des fins d'analyse statistique
SD Expression(lg)	Écart-type de l'expression (log <sub>2</sub> )
SEM Expression(lg)	Erreur type de la moyenne de l'expression (log <sub>2</sub> )
Mean C <sub>q</sub> (C <sub>q</sub> moyen)	Moyenne du cycle de quantification

**Tableau 34. Informations dans la feuille de calcul du graphique en barres lorsque Show Details (Afficher les détails) est sélectionné, suite**

<b>Information</b>	<b>Description</b>
C <sub>q</sub> SD (SD C <sub>q</sub> )	Écart-type du cycle de quantification
C <sub>q</sub> SEM (SEM C <sub>q</sub> )	Erreur type de la moyenne du cycle de quantification

## Dendrogramme

Le dendrogramme affiche les données selon un regroupement hiérarchique qui repose sur le degré de similitude de l'expression pour différentes cibles et différents échantillons.

**Remarque :** L'utilisateur doit choisir une cible de référence pour afficher n'importe quel tracé de données autre que l'expression relative pour les graphiques en barres.

L'image du dendrogramme décrit l'expression relative d'un échantillon ou d'une cible de la manière suivante :

- Régulation positive (rouge) — expression supérieure
- Régulation négative (vert ou bleu) — expression inférieure
- Absence de régulation (noir)
- Absence de valeur calculée (noir avec une croix blanche)

Moins les couleurs sont ombrées, plus l'écart dans l'expression relative est grand. Si aucune valeur de  $C_q$  normalisée ne peut être calculée, le carré apparaîtra en noir avec une croix blanche.

Les bords extérieurs du tracé de données présentent un dendrogramme qui indique la hiérarchie de regroupement. Les cibles ou les échantillons qui présentent des schémas d'expression similaires seront représentés avec des nœuds adjacents, par opposition à ceux qui présentent des schémas dissemblables et qui seront plus distants.

## Paramètres

Possibilité de définir les options suivantes :

- Cluster By (Regrouper par) — choix possibles : Targets (Cibles), Samples (Échantillons), Both (Les deux) ou None (Aucun).
- Size (Taille) — règle la taille de l'image et modifie le niveau de grossissement du graphique.
- Split Out Replicates (Fractionner les réplicats) — affiche les valeurs pour les réplicats individuels.

**Conseil :** il est possible de modifier le jeu de couleurs par défaut pour le en le faisant passant de rouge/vert à rouge/bleu ; pour ce faire, sélectionner l'option du menu contextuel dans de ces graphiques.

## Options du menu contextuel

Les options du menu contextuel pour le dendrogramme sont identiques à celles pour le graphique en barres. Consulter le [Tableau 32 à la page 292](#) pour connaître les options disponibles. En outre, la sélection de Color Scheme (Jeu de couleurs) permet de modifier la couleur par défaut de l'expression négative sur le graphique en la faisant passer de rouge/vert à rouge/bleu.

## Tableur de données

Le tableur affiche les valeurs pour la cible, l'échantillon et l'expression normalisée.

## Nuage de points

Le nuage de points affiche l'expression normalisée des cibles pour un contrôle versus un échantillon expérimental. Les lignes du graphique indiquent le seuil de fold-change. Les points de données entre les lignes indiquent que la différence d'expression pour cette cible (gène) est négligeable entre les échantillons. Les points de données en dehors des lignes dépassent le seuil de fold-change et peuvent présenter un intérêt.

La représentation graphique montre les changements suivants dans l'expression de la cible sur la base du seuil de fold-change :

- Régulation positive (cercle rouge) — expression relativement supérieure
- Régulation négative (cercle vert ou bleu) — expression relativement inférieure
- Pas de changement (cercle noir)

Cliquer sur l'une ou l'autre des lignes de seuil et la faire glisser pour ajuster la valeur de fold-change.

## Paramètres

Possibilité de définir les options suivantes :

- Control Sample (Échantillon de contrôle)
- Experimental Sample (Échantillon expérimental)
- Fold Change Threshold (Seuil de fold-change). À mesure que l'utilisateur augmente ou diminue la valeur fold-change, les lignes de seuil se déplacent en conséquence sur le graphique.

## Options du menu contextuel

Les options du menu contextuel pour le graphique en nuage sont identiques à celles pour le graphique en barres. Consulter le [Tableau 32 à la page 292](#) pour connaître les options disponibles. En outre, sélectionner Symbol pour remplacer le symbole de cercle par défaut utilisé sur le graphique par l'un des symboles suivants :

- Triangle
- Croix
- Carré
- Diamant

## Feuille de calcul des données

La feuille de calcul affiche les valeurs pour la cible et l'expression normalisée pour les échantillons de contrôle et expérimentaux. Elle indique également si les cibles font l'objet d'une régulation positive ou négative par comparaison avec la régulation cible.

## Feuille de calcul des résultats

La feuille de calcul Results (Résultats) résume les données de tous les graphiques. Le [Tableau 35](#) définit les données affichées dans le tableur Results (Résultats).

**Tableau 35. Informations dans l'onglet Results**

Information	Description
Target (Cible)	Nom de la cible (gène amplifié)
Sample (Échantillon)	Nom de l'échantillon
Mean C <sub>q</sub> (Cq moyen)	Moyenne du cycle de quantification
Mean Efficiency Corrected C <sub>q</sub> (Cq corrigé de l'efficacité moyenne)	Moyenne du cycle de quantification après ajustement pour l'efficacité d'une réaction de PCR
Normalized Expression (Expression normalisée)	Expression de la cible normalisée par rapport à une cible de référence ( $\Delta\Delta C_q$ )
Relative Normalized Expression (Expression normalisée relative)	Expression normalisée relative par rapport à un échantillon de contrôle ; également appelée fold-change
Regulation (Régulation)	Changement de l'expression par rapport à un échantillon de contrôle
Compared to Regulation Threshold (Comparé au seuil de régulation)	Régulation positive ou négative d'un échantillon expérimental sur la base du paramètre de seuil

**Remarque :** Les données pour les réplicats ne se trouvent que dans les tableurs des onglets d'analyse de données où Split Out Replicates (Fractionner les réplicats) a été sélectionné (à savoir Clustergram). Il peut y avoir une divergence entre les données d'expression dans les tableurs d'analyse de l'expression des gènes si None (Aucun) est sélectionné comme échantillon de contrôle sur le graphique en barres.

## Étude des gènes

Créer une étude des gènes pour comparer les données de l'expression génétique issues d'une ou de plusieurs expériences sur un appareil de PCR en temps réel en réalisant un étalonnage inter-séries afin de normaliser les expériences. Créer une étude des gènes en ajoutant des données provenant d'un ou de plusieurs fichiers de données (extension .pcrd) à l'étude des gènes. Le logiciel les regroupe en un seul fichier (extension .mgxd).

**Remarque :** Le nombre maximum d'échantillons pouvant être analysés dans une étude des gènes est limité par la taille de la mémoire vive et de la mémoire virtuelle de l'ordinateur.

### Étalonnage inter-séries

L'étalonnage inter-séries est automatiquement tenté dans chaque étude des gènes pour chaque cycle afin de normaliser les variations inter-séries entre les cibles dosées dans des séries de PCR en temps réel distinctes (c'est-à-dire différents fichiers .pcrd générés à partir de différentes plaques).

Pour que le logiciel reconnaisse un échantillon comme étalon inter-séries, cet échantillon doit partager les mêmes noms de cible, nom d'échantillon et, le cas échéant, nom d'ensemble biologique sur chaque plaque comparée.

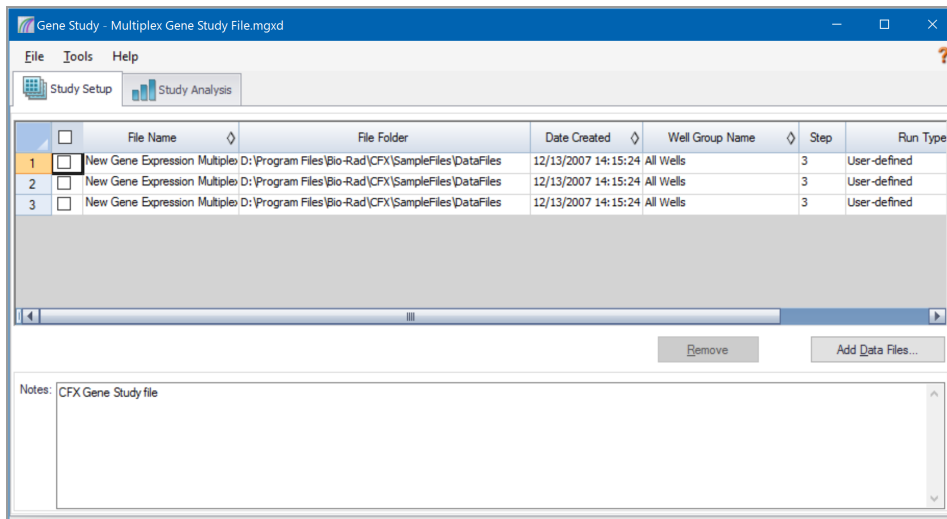
**Remarque :** Au moins un échantillon étalon inter-séries doit être présent dans l'étude des gènes pour que l'étalonnage inter-séries puisse avoir lieu. Les cibles sans échantillons étalons inter-séries appropriés seront traitées sans correction dans l'étude des gènes (non recommandé).

Les étalons inter-séries peuvent être appliqués de deux manières :

- Par cible — les différentes amorces de PCR peuvent présenter des efficacités différentes. Par défaut, l'étalon inter-séries est appliqué à tous les puits de la même plaque ayant le même nom de cible, par exemple le  $C_q$  généré avec le même dosage.
- Intégralité de l'étude — un étalon inter-séries est sélectionné par l'utilisateur et appliqué à l'intégralité de l'étude des gènes.



## Boîte de dialogue Gene Study (Étude des gènes)



La boîte de dialogue Gene Study (Étude des gènes) comporte deux onglets :

- Onglet Study Setup (Configuration de l'analyse) — gère les séries dans l'étude des gènes.
  - Important :** L'ajout ou le retrait de fichiers de données dans une étude des gènes ne modifie pas les données du fichier d'origine.
- Onglet Study Analysis (Analyse de l'étude) — affiche les données de l'expression génétique pour les séries combinées.

### Onglet Study Setup (Configuration de l'étude)

Le [Tableau 36](#) définit les données présentées dans l'onglet Study Setup (Configuration de l'étude).

**Tableau 36. Onglet Study Setup (Configuration de l'étude) dans la boîte de dialogue Gene Study (Étude des gènes)**

Titre de la colonne	Description
File Name (Nom de fichier)	Nom du fichier de données de la série (extension .pcrd)
File Folder (Dossier du fichier)	Répertoire où le fichier de données est conservé pour chaque série dans l'étude des gènes
Date Created (Date de création)	Date à laquelle les données de la série ont été recueillies

**Tableau 36. Onglet Study Setup (Configuration de l'étude) dans la boîte de dialogue Gene Study (Étude des gènes), suite**

Titre de la colonne	Description
Well Group Name (Nom du groupe de puits)	Nom du groupe de puits sélectionné au moment de l'ajout du fichier à l'étude des gènes  <b>Conseil</b> : Pour analyser un groupe de puits dans l'étude des gènes, il faut sélectionner ce groupe dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) avant d'importer le fichier de données dans l'étude.
Step (Étape)	Étape du protocole incluant la lecture de plaque pour recueillir les données de la PCR en temps réel
Run Type (Type de série)	Série soit définie par l'utilisateur soit PrimePCR
Protocol Edited (Protocole modifié)	Si cette colonne est sélectionnée, indique que le protocole utilisé pour une série PrimePCR a été modifié
View Plate (Afficher la plaque)	Ouvre une carte de la plaque avec les données dans chacune des séries incluses dans l'étude des gènes

## Préparation d'une étude des gènes

### Pour préparer une étude des gènes

- Avant d'importer des données dans une étude des gènes, il convient d'effectuer les opérations suivantes dans la fenêtre Data Analysis (Analyse de données) :
  - Vérifier que les échantillons ayant le même contenu portent le même nom. Dans une étude des gènes, le logiciel suppose que les puits ayant le même nom de cible ou le même nom d'échantillon contiennent des échantillons identiques.
  - Régler la valeur de référence et le seuil ( $C_q$ ) dans l'onglet Quantification pour optimiser les données dans chaque série.
  - Sélectionner le groupe de puits que l'on souhaite inclure dans l'étude des gènes.  
  
Pour pouvoir afficher les données provenant d'un groupe de puits dans une étude de gènes, ce groupe doit être sélectionné avant d'importer le fichier de données.

L'onglet Study Setup (Configuration de l'étude) affiche une liste de toutes les séries dans l'étude des gènes.

- Dans la boîte de dialogue Gene Study (Étude des gènes), choisir l'onglet Study Setup (Configuration de l'étude).

3. Cliquer sur Add Data Files (Ajouter des fichiers de données) pour sélectionner un fichier dans une fenêtre de navigation.

**Conseil :** Pour ajouter rapidement des séries à une étude des gènes, faire glisser les fichiers de données (extension .pcrd) dans la boîte de dialogue Study Setup (Configuration de l'étude).

4. Le logiciel CFX Maestro Dx SE réalise automatiquement l'analyse de l'étude des gènes à mesure que des fichiers de données sont ajoutés. Choisir l'onglet Study Analysis (Analyse de l'étude) pour afficher les résultats.

### Pour supprimer des séries de l'étude des gènes

- Sélectionner un ou plusieurs fichiers dans la liste et cliquer sur Remove (Supprimer).

### Pour ajouter des notes sur l'étude des gènes

- Saisir les notes sur les fichiers et l'analyse dans la zone de texte Notes.

## Onglet Study Analysis (Analyse de l'étude)

L'onglet Study Analysis (Analyse de l'étude) affiche toutes les données de toutes les séries de l'étude des gènes. Les options d'analyse de données de l'expression génétique sont identiques aux options pour un fichier de données unique, à l'exception ou aux exceptions suivantes :

- Pour les graphiques en barres, les valeurs d'étalonnage inter-séries (si elles sont calculées) apparaissent lorsque l'utilisateur clique sur Inter-run Calibration (Étalonnage inter-séries).

**Remarque :** Seuls les types d'échantillons suivants peuvent être utilisés comme étalon inter-séries :

- Unknown (Inconnu)
- Standard (Étalon)
- Positive Control (Contrôle positif)

Les types d'échantillons Negative Control (Contrôle négatif), no template control (Absence de contrôle de la matrice) (NTC) et no reverse transcriptase control (Absence de contrôle de la transcriptase inverse) (NRT) ne peuvent pas être utilisés comme étalon inter-séries.

- L'outil Reference Gene Selection (Sélection des gènes de référence) identifie les gènes de référence testés et les classe comme étant Ideal (Idéal), Acceptable ou Unstable (Instable) sur la base de leur stabilité :
  - Les gènes de référence Ideal (Idéal) sont stables et représentent des variations minimales sur les échantillons testés.

- ❑ Les gènes de référence Acceptable ne sont pas idéalement stables et représentent une variation modérée sur les échantillons testés. Utiliser ces gènes de référence dans l'analyse si aucun gène de référence Ideal n'est présent.
- ❑ Les gènes de référence Unstable (Instable) représentent une variation excessive sur les échantillons testés. Il est recommandé d'exclure ces gènes des analyses.
- L'outil PrimePCR Analysis Controls (Analyse des contrôles PrimePCR) affiche dans un tableau les résultats des échantillons testés :
  - ❑ L'onglet Summary (Récapitulatif) affiche un résumé de tous les échantillons testés. Les échantillons positifs à l'ensemble des dosages de contrôle apparaissent en vert. Les échantillons négatifs à l'un ou plusieurs des dosages de contrôle apparaissent en jaune.
  - ❑ L'onglet PCR affiche les résultats du dosage de contrôle de la PCR positif. Ce dosage détecte l'inhibition ou les problèmes expérimentaux qui affectent l'expression des gènes.
  - ❑ L'onglet RT affiche les résultats du dosage de contrôle de la transcription inverse. Ce dosage procède à l'évaluation qualitative du déroulement de la transcription inverse (RT) et identifie les échantillons où la RT est susceptible de compromettre l'expression des gènes.
  - ❑ L'onglet gDNA affiche les résultats du dosage de contrôle de la contamination de l'ADN. Ce dosage détermine si de l'ADN génomique (ADNg) est présent dans un échantillon à un taux qui pourrait affecter les résultats de la qPCR.
  - ❑ L'onglet RQ affiche les résultats des dosages de qualité de l'ARN (RQ1 et RQ2). Ces dosages évaluent de manière qualitative si l'intégrité de l'ARN pourrait affecter l'expression des gènes de manière indésirable.

## Catégories de rapports d'étude des gènes

Utiliser la boîte de dialogue Gene Study Report (Rapport d'étude des gènes) pour organiser les données de l'étude des gènes dans un rapport. Le [Tableau 37](#) répertorie l'ensemble des options disponibles pour un rapport d'étude des gènes.

**Tableau 37. Catégories pour un rapport d'étude des gènes**

Catégorie	Option	Description
<b>Header (En-tête)</b>		
		Titre, sous-titre et logo pour le rapport

**Tableau 37. Catégories pour un rapport d'étude des gènes, suite**

Catégorie	Option	Description
	Report Information (Informations sur le rapport)	Date, nom d'utilisateur, nom du fichier de données, chemin du fichier de données et le groupe de puits sélectionné
	Gene Study File List (Liste du fichier dans l'étude des gènes)	Liste de tous les fichiers de données dans l'étude des gènes
	Notes	Notes sur le rapport de données
<b>Onglet Analysis (Analyse) : Graphique en barres</b>		
	Analysis Settings (Paramètres d'analyse)	Liste des paramètres d'analyse sélectionnés
	Chart (Graphique)	Graphique en barres de l'expression génétique affichant les données
	Target Names (Noms des cibles)	Liste des cibles dans l'étude des gènes
	Sample Names (Noms des échantillons)	Liste des échantillons dans l'étude des gènes
	Data (Données)	Feuille de calcul affichant les données
	Target Stability (Stabilité de la cible)	Données de stabilité de la cible
	Inter-run Calibration (Étalonnage inter-séries)	Données d'étalonnage inter-séries
	Box and Whisker chart (Diagramme en boîte)	Diagramme en boîte de l'expression génétique
	Dot-Plot Chart (Graphique à points)	Graphique à points de l'expression génétique
<b>Onglet Analysis (Analyse) : Dendogramme et nuage de points</b>		
	Analysis Settings (Paramètres d'analyse)	Paramètres pour chaque type de graphique

**Tableau 37. Catégories pour un rapport d'étude des gènes, suite**

<b>Catégorie</b>	<b>Option</b>	<b>Description</b>
	Chart (Graphique)	Graphique en barres de l'expression génétique affichant les données
	Data (Données)	Tableur répertoriant les données de chaque cible
<b>Onglet Analysis (Analyse) : Données ANOVA</b>		
	ANOVA Settings (Paramètres ANOVA)	Seuil de la valeur-p utilisé dans l'analyse
	ANOVA Results (Résultats ANOVA)	Tableau de résultats de l'ANOVA et de l'analyse post-hoc du test HSD de Tukey
	Shapiro-Wilk Normality Test (Test de normalité de Shapiro-Wilk)	Groupe biologique, comptage, valeur-p et toutes les erreurs qui se produisent pour chaque cible dans l'analyse
	ANOVA Errors (Erreurs ANOVA)	Erreurs identifiées durant les calculs de l'ANOVA

## Création d'un rapport de l'étude des gènes

### Pour créer un rapport de l'étude des gènes

1. Le cas échéant, ajuster les données et les graphiques du rapport d'étude des gènes avant de créer un rapport.
2. Sélectionner Tools (Outils) > Reports (Rapports) dans le menu Gene Study (Étude des gènes) pour ouvrir la boîte de dialogue Report (Rapport).
3. Choisir les options que l'on souhaite inclure dans le rapport. Le rapport s'ouvre en affichant les options sélectionnées par défaut. Cocher ou décocher les cases pour modifier des catégories entières ou des options individuelles à l'intérieur d'une catégorie.

La section [Catégories de rapports d'étude des gènes à la page 307](#) répertorie les options disponibles à afficher.

4. Modifier l'ordre des catégories et des éléments dans un rapport. Faire glisser les options vers la position requise. Les éléments ne peuvent être réordonnés qu'à l'intérieur des catégories auxquelles ils appartiennent.
5. Cliquer sur Update Report (Actualiser le rapport) pour actualiser le champ Report Preview (Aperçu du rapport) avec les modifications éventuellement apportées.
6. Imprimer ou enregistrer le rapport. Cliquer sur le bouton Print Report (Imprimer le rapport) dans la barre d'outils pour imprimer le rapport en cours. Sélectionner File (Fichier) > Save (Enregistrer) pour enregistrer le rapport au format PDF (fichier Adobe Acrobat Reader) et sélectionner un emplacement pour l'enregistrement du fichier. Sélectionner File (Fichier) > Save As (Enregistrer sous) pour enregistrer le rapport avec un nouveau nom ou dans un nouvel emplacement.
7. (Facultatif) Créer un modèle de rapport avec les informations souhaitées. Pour enregistrer les paramètres du rapport en cours dans un modèle, sélectionner Template (Modèle) > Save (Enregistrer) ou Save As (Enregistrer sous). Il suffira ensuite de charger le modèle de rapport la prochaine fois qu'un nouveau rapport sera créé.

## Annexe A Calculs de l'analyse de données

Le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition calcule automatiquement les formules et affiche les résultats dans les onglets Data Analysis (Analyse de données). Cette annexe explique en détail comment CFX Maestro Dx SE calcule les formules.

### Efficacité d'une réaction

Certains éléments laissent à penser que l'utilisation d'une mesure exacte des efficacités pour chaque jeu d'amorces et de sondes produira des résultats plus précis au cours de l'analyse des données de l'expression génétique. La valeur d'efficacité par défaut utilisée dans les calculs de l'expression génétique est égale à 100 %. Pour évaluer l'efficacité d'une réaction, créer une courbe d'étalonnage en utilisant les dilutions en série d'un échantillon représentatif sur une plage dynamique pertinente, puis enregistrer l'efficacité pour l'analyse de l'expression génétique suivante. Si la série comporte une courbe d'étalonnage, le logiciel calcule alors automatiquement l'efficacité et l'affiche sous la courbe d'étalonnage (Standard Curve) de l'onglet Quantification lorsque la case Auto Efficiency (Efficacité auto) est cochée dans l'onglet Targets (Cibles) de la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience).

L'efficacité (E) dans les formules d'efficacité se réfère aux « efficacités » telles que décrites par Pfaffl (2001) and Vandesompele et al. (2002). Dans cet ouvrage, une efficacité de 2 (doublement parfait à chaque cycle) équivaut à une efficacité de 100 % dans ce logiciel. Il est possible de convertir les calculs d'efficacité pour qu'ils deviennent ceux utilisés dans le logiciel à l'aide des relations mathématiques suivantes :

- $E = (\% \text{ Efficacité} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ Efficacité} = (E - 1) * 100$

### Quantité relative

La formule pour la quantité relative ( $\Delta C_q$ ) de n'importe quel échantillon (GOI) est :

$$\text{Quantité relative}_{\text{échantillon (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_q(\text{min}) - C_q(\text{échantillon}))}$$

**Remarque :** Cette formule sert à calculer la quantité relative lorsqu'il n'y a pas d'échantillon de contrôle défini.

Où :



- E = Efficacité du jeu d'amorces et de sondes. Cette efficacité est calculée avec la formule (% d'efficacité \* 0,01) + 1, où 100 % d'efficacité = 2
- $C_{q(\min)}$  = Cq moyen pour l'échantillon avec le Cq moyen le plus bas pour le gène d'intérêt
- $C_{q(\text{sample})}$  = Cq moyen pour l'échantillon
- GOI = Gène d'intérêt (une cible)

## Quantité relative en cas de sélection d'un contrôle

Lorsqu'un échantillon de contrôle ou groupe biologique est attribué, la quantité relative (RQ) pour tout échantillon qui présente un gène d'intérêt (GOI) est alors calculée à l'aide de cette formule :

$$\text{Quantité relative}_{\text{échantillon (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left( C_{q(\text{contrôle})} - C_{q(\text{échantillon})} \right)$$

Où :

- E = Efficacité du jeu d'amorces et de sondes. Cette efficacité est calculée avec la formule (% d'efficacité \* 0.01) + 1, où 100 % d'efficacité = 2
- $C_{q(\text{contrôle})}$  = Moyenne du Cq pour l'échantillon de contrôle
- $C_{q(\text{échantillon})}$  = Moyenne du Cq pour tous les échantillons avec un GOI
- GOI = Gène d'intérêt (une cible)

## Écart-type de la quantité relative

**Important :** Ce calcul s'applique uniquement lorsque Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Samples Only (Échantillons uniquement), Sample Biological Group (Groupe biologique de l'échantillon) ou Biological Group Sample (Échantillon du groupe biologique).

La formule pour l'écart-type de la quantité relative est

$$\text{SD Quantité relative} = \text{SD } C_{q\text{GOI}} \times \text{Quantité relative}_{\text{échantillon (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Où :

- SD quantité relative = Écart-type de la quantité relative
- $\text{SD } C_{q\text{GOI}} \text{ échantillon}$  = Écart-type du Cq pour l'échantillon (GOI)
- Quantité relative = Quantité relative de l'échantillon

- E = Efficacité du jeu d'amorces et de sondes. Cette efficacité est calculée avec la formule (% d'efficacité \* 0.01) + 1, où 100 % d'efficacité = 2
- GOI = Gène d'intérêt (une cible)

## C<sub>q</sub> à l'efficacité corrigée (C<sub>qE</sub>)

La formule pour le C<sub>q</sub> à l'efficacité corrigée est

$$C_{qE} = C_q \times (\log (E) / \log (2))$$

Où :

- E = Efficacité

## C<sub>q</sub> à l'efficacité moyenne corrigée (MC<sub>qE</sub>)

La formule pour le C<sub>q</sub> à l'efficacité moyenne corrigée est

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE} \text{ (Rep 1)} + C_{qE} \text{ (Rep 2)} + \dots + C_{qE} \text{ (Rep n)}}{n}$$

Où :

- C<sub>qE</sub> = C<sub>q</sub> à l'efficacité corrigée
- n = Nombre de réplicats

## Expression normalisée

L'expression normalisée ( $\Delta\Delta C_q$ ) est la quantité relative de la cible (gène) normalisée par rapport aux quantités des cibles de référence (gènes ou séquences) dans le système biologique. Pour sélectionner les cibles de référence, ouvrir la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) puis cliquer sur la colonne de référence pour chaque cible servant de gène de référence.

La formule pour l'expression normalisée, qui utilise le calcul de la quantité relative (RQ) calculée, est

$$\text{Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{échantillon (GOI)}} = \frac{\text{QR}_{\text{échantillon (GOI)}}}{\left( \text{QR}_{\text{échantillon (Ref 1)}} \times \text{QR}_{\text{échantillon (Ref 2)}} \times \dots \times \text{QR}_{\text{échantillon (Ref n)}} \right)^{\frac{1}{n}}}$$

Où :

- RQ = Quantité relative d'un échantillon
- Ref = cible de référence dans une série incluant une ou plusieurs cibles de référence dans chaque échantillon
- GOI = Gène d'intérêt (une cible)

À condition que les cibles de référence ne changent pas leur niveau d'expression dans le système biologique, le calcul de l'expression normalisée tiendra compte des différences ou des variations de chargement dans le nombre de cellules qui sont représentées dans chacun des échantillons.

## Expression et quantité relative pour les groupes biologiques

Lorsque Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Biological Groups Only (Groupes biologiques uniquement), le logiciel affiche l'expression moyenne (expression normalisée ou quantité relative, en fonction de la sélection de mode) des échantillons dans le groupe biologique. Étant donné que l'expression est généralement distribuée selon une loi log-normale, sa moyenne est établie à l'aide de la moyenne géométrique :

$$\text{Expression biological group} = \sqrt[n]{\text{Exp}_1 \cdot \text{Exp}_2 \cdot \dots \cdot \text{Exp}_n}$$

Où :

- $\text{Exp}_1, \text{Exp}_2, \text{Exp}_n$  = quantité relative ou expression normalisée des échantillons dans le groupe biologique
- $n$  = nombre d'échantillons dans le groupe biologique

## Expression normalisée lorsqu'un contrôle est sélectionné

Lorsqu'un échantillon de contrôle est sélectionné dans la fenêtre Experiment Settings (Paramètres de l'expérience), le logiciel définit à 1 le niveau d'expression de l'échantillon de contrôle. Dans cette situation, le logiciel normalise les quantités relatives de l'expression de toutes les cibles (gènes) à la quantité du contrôle (une valeur de 1). Cette expression normalisée est équivalente à l'analyse de l'expression normalisée non mise à l'échelle lorsqu'un contrôle est choisi.

**Remarque :** Cela est également connu sous le nom d'expression normalisée relative (RNE) et de fold-change.

## Écart-type pour l'expression normalisée

La remise à l'échelle de la valeur de l'expression normalisée se fait en divisant l'écart-type de l'expression normalisée par la valeur de l'expression normalisée pour les niveaux d'expression individuels le plus haut ou le plus bas, selon l'option de mise à l'échelle choisie. La formule pour l'écart-type (SD) du facteur de normalisation est la suivante :

$$SD NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD QR_{\text{chantillon}} (R:f 1)}{n \times QR_{\text{chantillon}} (R:f 1)}\right)^2 + \left(\frac{SD QR_{\text{chantillon}} (R:f 2)}{n \times QR_{\text{chantillon}} (R:f 2)}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD QR_{\text{chantillon}} (R:f n)}{n \times QR_{\text{chantillon}} (R:f n)}\right)^2}$$

Où :

- RQ = Quantité relative d'un échantillon
- SD = Écart-type
- NF = Facteur de normalisation
- Ref = Cible de référence
- n = Nombre de cibles de référence

Lorsqu'un échantillon de contrôle est attribué, il n'est pas nécessaire de réaliser cette fonction de remise à l'échelle sur l'écart-type, comme l'indique la formule suivante :

$$SD NE_{\text{échantillon (GOI)}} = NE_{\text{échantillon (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD NF_{\text{échantillon}}}{NF_{\text{échantillon}}}\right)^2 + \left(\frac{SD QR_{\text{échantillon (GOI)}}}{QR_{\text{échantillon (GOI)}}}\right)^2}$$

Où :

- NE = Expression normalisée
- RQ = Quantité relative d'un échantillon
- SD = Écart-type
- GOI = Gène d'intérêt (une cible)

## Expression normalisée mise à l'échelle au niveau d'expression le plus haut

Lorsque la série ne comporte pas de contrôles, mettre l'expression normalisée (NE) à l'échelle pour chaque cible (gène) en divisant le niveau d'expression de chaque échantillon par le niveau d'expression le plus haut dans tous les échantillons. Le logiciel définit le niveau d'expression le plus haut à une valeur de 1 et remet à l'échelle tous les niveaux d'expression des échantillons. La formule pour la mise à l'échelle la plus haute est

$$\text{Mis à l'échelle Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{échantillon (GOI)}} = \frac{\text{Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{échantillon (GOI)}}}{\text{Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{Le plus haut échantillon (GOI)}}$$

Où :

- GOI = Gène d'intérêt (une cible)

## Expression normalisée mise à l'échelle au niveau d'expression le plus bas

Lorsque la série ne comporte pas de contrôles, mettre l'expression normalisée (NE) à l'échelle pour chaque cible (gène) en divisant le niveau d'expression de chaque échantillon par le niveau d'expression le plus bas dans tous les échantillons. Le logiciel définit le niveau d'expression le plus bas à une valeur de 1 et remet à l'échelle tous les niveaux d'expression des échantillons. La formule pour la mise à l'échelle la plus basse est

$$\text{Mis à l'échelle Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{échantillon (GOI)}} = \frac{\text{Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{échantillon (GOI)}}}{\text{Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{Le plus bas échantillon (GOI)}}$$

Où :

- GOI = Gène d'intérêt (une cible)

## Expression normalisée mise à l'échelle au niveau d'expression moyen

Lorsque la série ne comporte pas de contrôles, mettre l'expression normalisée (NE) à l'échelle pour chaque cible (gène) en divisant le niveau d'expression de chaque échantillon par le niveau d'expression moyen géométrique de tous les échantillons. Le logiciel définit le niveau d'expression moyen à une valeur de 1 et remet à l'échelle tous les niveaux d'expression des échantillons. La formule pour la mise à l'échelle moyenne est

$$\text{Mis à l'échelle Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{échantillon (GOI)}} = \frac{\text{Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{échantillon (GOI)}}}{\text{Normalisé Expression (Quantité relative ou expression)}_{\text{GM (GOI)}}$$

## Annexe A Calculs de l'analyse de données

Où :

- GOI = Gène d'intérêt (une cible)
- GM = moyenne géométrique de l'expression normalisée de tous les échantillons

## Écart-type pour l'expression normalisée mise à l'échelle

La remise à l'échelle de la valeur de l'expression normalisée mise à l'échelle (NE) se fait en divisant l'écart-type (SD) de l'expression normalisée par la valeur de l'expression normalisée pour les niveaux d'expression le plus haut (MAX) ou le plus bas (MIN), selon l'option de mise à l'échelle choisie.

**Remarque :** Lorsqu'un échantillon de contrôle est attribué, il n'est pas nécessaire de réaliser cette fonction de remise à l'échelle sur l'écart-type.

Le calcul pour cette formule est

$$\text{SD Mis à l'échelle NE}_{\text{échantillon (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{échantillon (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX ou MIN (GOI)}}$$

Où :

- NE = Expression normalisée
- SD = Écart-type
- GOI = Gène d'intérêt (une cible)
- MAX = Niveau d'expression le plus haut
- MIN = Niveau d'expression le plus bas



## Barres d'erreur pour l'écart-type(lg) et l'erreur-type de la moyenne (lg)

Pour compléter l'utilisation des intervalles de confiance, il est possible d'afficher des barres d'erreur pour les groupes biologiques basées soit sur l'écart-type, soit sur l'erreur-type de la moyenne du  $\log_2$  de l'expression. Les barres d'erreur sont calculées comme suit :

$$\text{RQ Lower Error Bar (Barre d'erreur inférieure QR)} = 2^{\text{RQ(lg)} - \text{SD RQ(lg)}} \text{ ou } 2^{\text{RQ(lg)} - \text{SEM RQ(lg)}}$$

$$\text{RQ Upper Error Bar (Barre d'erreur supérieure QR)} = 2^{\text{RQ(lg)} + \text{SD RQ(lg)}} \text{ ou } 2^{\text{RQ(lg)} + \text{SEM RQ(lg)}}$$

Où :

- $\text{RQ(lg)}$  =  $\log_2$  de la quantité relative pour le groupe biologique
- $\text{SD RQ(lg)}$  = écart-type de la quantité relative ( $\log_2$ )
- $\text{SEM RQ(lg)}$  = erreur-type de la moyenne de la quantité relative ( $\log_2$ )

$$\text{Exp. Lower Error Bar (Barre d'erreur inférieure Exp.)} = 2^{\text{Exp.(lg)} - \text{SD Exp.(lg)}} \text{ ou } 2^{\text{Exp.(lg)} - \text{SEM Exp.(lg)}}$$

$$\text{Exp. Upper Error Bar (Barre d'erreur supérieure Exp.)} = 2^{\text{Exp.(lg)} + \text{SD Exp.(lg)}} \text{ ou } 2^{\text{Exp.(lg)} + \text{SEM Exp.(lg)}}$$

Où :

- $\text{Exp.(lg)}$  =  $\log_2$  de l'expression (expression normalisée) pour le groupe biologique
- $\text{SD RQ(lg)}$  = écart-type de l'expression ( $\log_2$ )
- $\text{SEM RQ(lg)}$  = erreur-type de la moyenne de l'expression ( $\log_2$ )

## Fold-change

Le fold-change désigne une valeur de l'augmentation ou de la diminution dans l'expression d'une cible pour un échantillon expérimental comparativement à un échantillon de contrôle ou groupe biologique que l'on détermine comme suit :

Si Expression (expérimental) > Expression (contrôle) :

$$\text{Fold- Change} = \frac{\text{Expression (Quantité relative ou expression) (expérimental)}}{\text{Expression (Quantité relative ou expression) (contrôle)}}$$

Si Expression (expérimental) < Expression (contrôle) :

$$\text{Fold- Change} = -1 / \left( \frac{\text{Expression (Quantité relative ou expression) (expérimental)}}{\text{Expression (Quantité relative ou expression) (contrôle)}} \right)$$

**Remarque** : concernant la représentation graphique, l'*expression* se base, selon le mode sélectionné, soit sur la quantité relative, soit sur l'expression normalisée (consulter la section [Représentation graphique à la page 280](#)). Toutefois, pour le Scatter Plot (Nuage de points) et le Clustergram (Dendogramme), le fold-change est systématiquement calculé à partir de l'expression normalisée.

## Formules des valeurs corrigées

**Important :** Ces calculs s'appliquent uniquement lorsque Analyze Using (Analyser à l'aide de) est défini sur Samples Only (Échantillons uniquement), Sample Biological Group (Groupe biologique de l'échantillon) ou Biological Group Sample (Échantillon du groupe biologique).

Un écart entre les valeurs corrigées et les valeurs non corrigées n'est visible que si une courbe d'étalonnage est créée dans le cadre d'une série de PCR en temps réel. Le logiciel utilise trois équations pour déterminer la propagation de l'erreur :

- Erreur type
- Erreur type pour l'expression normalisée
- Erreur type pour le gène d'intérêt (cible) normalisé

La formule pour l'erreur type est

$$\text{Standard (Étalon) Error (Erreur type)} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Où :

- n = Nombre de cibles de référence (gènes)
- SD = Écart-type

L'erreur type pour le facteur de normalisation dans la formule de l'expression normalisée est

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ QR_{\text{échantillon (Ref 1)}}}{n \times SE\ QR_{\text{échantillon (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ QR_{\text{échantillon (Ref 2)}}}{n \times SE\ QR_{\text{échantillon (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ QR_{\text{échantillon (Ref n)}}}{n \times SE\ QR_{\text{échantillon (Ref n)}}}\right)^2}$$

Où :

- n = Nombre de cibles de référence
- SE = Erreur type
- NF = Facteur de normalisation
- RQ = Quantité relative

L'erreur type pour la formule du gène d'intérêt (GOI) normalisé est

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

Où :

- SE = Erreur type

- GOI = Gène d'intérêt (une cible)
- NF = Facteur de normalisation
- n = Nombre de cibles de référence

## Calcul de l'intervalle de confiance pour l'analyse des groupes biologiques

Lorsqu'une analyse des groupes biologiques est réalisée (Analyze Using [Analyser à l'aide de] étant défini sur Biological Groups Only [Groupes biologiques uniquement]), les intervalles de confiance sont calculés pour la quantité relative et l'expression normalisée relative.

Les intervalles de confiance sont calculés en échelle log sur la base de la distribution t à l'aide de la formule suivante :

$$CI = \bar{X} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Où :

- $\bar{X}$  = expression moyenne des niveaux d'expression de l'échelle log des échantillons dans le groupe biologique
- $SD$  = écart-type des niveaux d'expression de l'échelle log des échantillons dans le groupe biologique
- $n$  = nombre d'échantillons dans le groupe biologique
- $t$  = obtenu à partir de la distribution t sur la base des degrés de liberté et du niveau alpha

**Remarque :** Le niveau alpha peut être défini à l'aide du champ de seuil de la valeur-p dans l'onglet Graphing (Représentation graphique).

Une fois les intervalles de confiance calculés, ils sont convertis en échelle linéaire et présentés dans le tableau de données de l'expression génétique et le graphique en barres dans l'onglet Graphing (Représentation graphique).

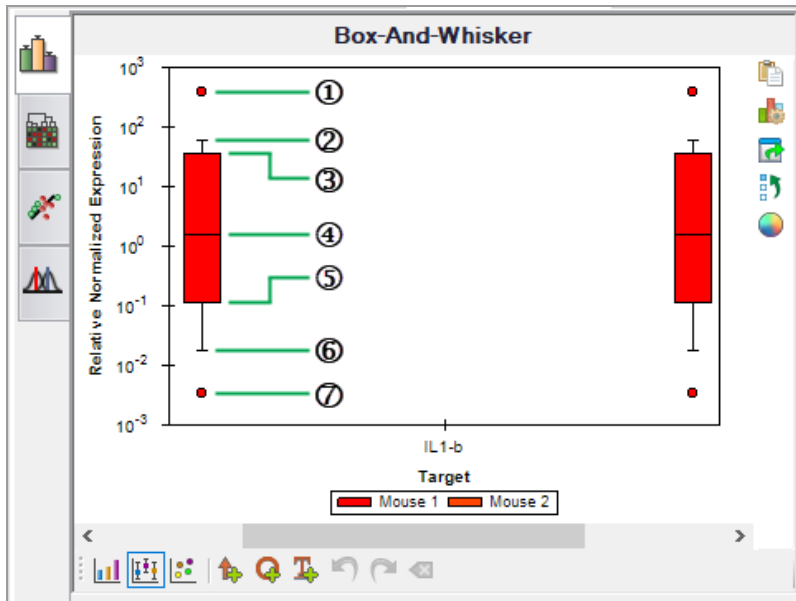
## Calculs dans un diagramme en boîte (Box and Whisker)

Le diagramme en boîte affiche la distribution des valeurs de l'expression à l'intérieur d'un groupe biologique en traçant les données sous forme de quartiles. Le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> quartiles sont représentés respectivement par les limites inférieures et supérieures du diagramme. La médiane prend la forme d'une ligne pleine coupant le diagramme. Les lignes verticales ou « moustaches » représentent les valeurs

minimum et maximum non extrêmes dans l'ensemble de données. Les valeurs extrêmes sont des valeurs comprises entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>e</sup> quartile, plus 1,5 fois l'intervalle interquartile.

**Remarque :** Si le groupe biologique ne contient qu'un échantillon, ce dernier est représenté par un seul cercle, indiquant un point de données unique.

Le diagramme en boîte suivant indique la représentation de ces données.



#### LÉGENDE

1. Valeur extrême (outlier). Cette valeur extrême est  $> Q3 + (1,5 \times [Q3 - Q1])$ .  
**Remarque :** Placer le curseur au-dessus du cercle pour afficher une info-bulle qui indique le nom de l'échantillon et les informations concernant la quantité relative ou l'expression normalisée selon le mode de sélection.

---

2. Délimitation de la valeur maximum non extrême

---

3. Supérieur/3<sup>e</sup> quartile (Q3). 75 % des valeurs de l'expression sont inférieures à Q3.

---

4. Médiane, ou valeur la plus centrale, des valeurs de l'expression hiérarchisée

---

5. Inférieur/1<sup>er</sup> quartile (Q1). 25 % des valeurs de l'expression sont inférieures à Q1.

---

6. Délimitation de la valeur minimum non extrême

---

7. Valeur extrême (outlier). Cette valeur aberrante est  $< Q1 - (1,5 \times [Q3 - Q1])$ .

## Annexe B Pistes d'audit

Le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition crée des pistes d'audit pour les fichiers de données et d'études des gènes (fichiers .procd et .mgxd respectivement). Toutes les modifications apportées ou les actions effectuées sur les fichiers sécurisés de données et d'études des gènes sont capturées dans la piste d'audit du fichier lorsque le fichier est enregistré. CFX Maestro Dx SE crée une piste d'audit distincte pour chaque fichier.

Vous pouvez choisir File (Fichier) > Save As (Enregistrer sous) et enregistrer les fichiers sécurisés de données et d'études des gènes signés ou non signés dans un autre dossier ou sous un autre nom. Le nouveau fichier hérite de la piste d'audit du fichier d'origine. La piste d'audit du nouveau fichier comprend également l'activité Save As (Enregistrer sous). Les modifications ou les actions effectuées sur le nouveau fichier sont enregistrées dans sa propre piste d'audit. Le fichier d'origine conserve sa piste d'audit, sur laquelle une autre activité est capturée.

[Événements auditable à la page 327](#) répertorie les événements auditable que le logiciel capture.

## Affichage des pistes d'audit

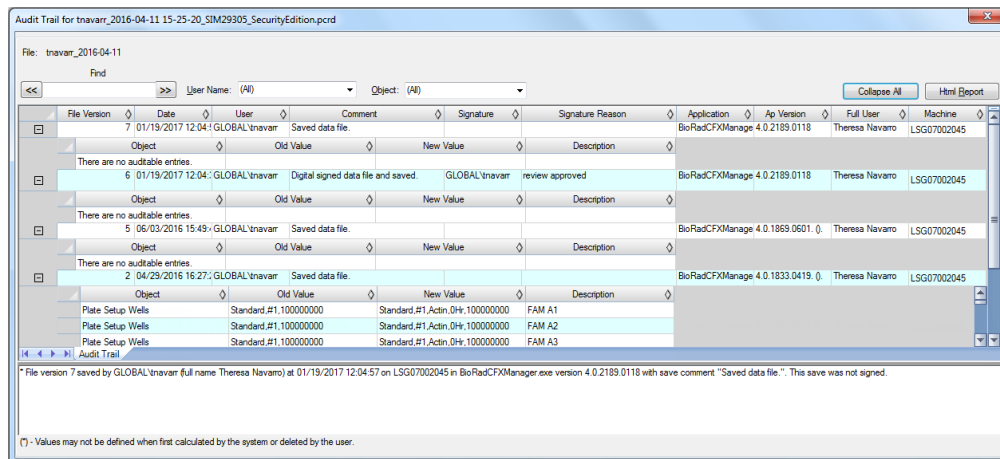
Chaque piste d'audit affiche les informations suivantes :

- Détails de l'en-tête d'audit
  - File version (Version du fichier) — la version enregistrée du fichier
  - Date — la date de l'événement auditable actuel
  - User (Utilisateur) — le domaine Windows et le nom d'utilisateur de l'utilisateur connecté
  - Comment (Commentaire) — le dernier commentaire enregistré
  - Signature — la signature électronique de la dernière personne qui a signé le fichier
  - Signature reason (Motif de la signature) — le motif de la signature.
  - Application — CFX Maestro Dx SE
  - Application version (Version de l'application) — la version actuelle de CFX Maestro Dx SE
  - Full user (Utilisateur complet) — le nom complet de l'utilisateur connecté.
  - Machine — l'ordinateur sur lequel CFX Maestro Dx SE est installé

- **Audit des détails de la modification**
  - Object (Objet) — l'élément qui a été modifié (l'élément audité)
  - Old value (Ancienne valeur) — la valeur précédente
  - New value (Nouvelle valeur) — la nouvelle valeur
  - Description — la description de la modification

### Pour afficher la piste d'audit

- ▶ Dans le fichier de données ouvert ou d'étude des gènes, sélectionnez View (Affichage) > Audit Trail (Piste d'audit). La piste d'audit du fichier s'affiche.



Par défaut, les données sont triées par date et heure, et tous les événements apparaissent dans la vue développée. Vous pouvez filtrer la vue par nom d'utilisateur et objet, et réduire la vue développée pour effectuer facilement un tri avec n'importe quel champ d'en-tête. Vous pouvez également afficher la piste d'audit sous forme de rapport html.

### Pour trier par nom d'utilisateur

- ▶ Sélectionner l'utilisateur cible dans la liste déroulante User Name (Nom d'utilisateur).

### Pour trier par objet

- ▶ Sélectionner la cible dans la liste déroulante Object (Objet).

### Pour masquer la description complète des événements

- ▶ Cliquer sur Collapse All (Tout réduire).

**Pour trier les données dans le tableau des détails des modifications**

- ▶ Cliquer sur le symbole en forme de losange dans l'en-tête de la colonne de données pour effectuer un tri croissant (de A à Z, du plus petit nombre au plus grand ou du plus ancien au plus récent).

**Pour imprimer la piste d'audit**

1. Cliquer sur Rapport HTML pour afficher la piste d'audit dans un navigateur Web.
2. Dans la fenêtre de votre navigateur, effectuer l'une des opérations suivantes :
  - Sélectionner File (Fichier) > Print (Imprimer).
  - Effectuer un clic droit sur le rapport et sélectionner Print (Imprimer).

## Événements auditable

CFX Maestro Dx SE capture les événements auditable suivants dans les fichiers de données et d'études des gènes.

**Événements auditable pendant l'exécution**

- Heure de démarrage de la série
- Modifications de la plaque temporelle de la série
- Modifications du protocole temporel de la série
- Heure de fin de la série

**Événements auditable lors de la création d'un fichier de données**

- Fichier de données créé
- Lectures interpolées de plaques ajoutées par le système

**Événements auditable lors de l'enregistrement d'un fichier de données**

- Général
  - Name (Nom)
  - Signature
  - Configuration de la plaque
  - Afficher les puits
  - Fluorophores analysés
  - Modifications de la plaque



- Mode d'analyse
- Groupe de puits actifs de PCR
- Onglet Quantification
  - Étape active
  - Settings (Paramètres) — C<sub>q</sub> Determination mode (Mode de détermination C<sub>q</sub>)
  - Settings (Paramètres) — Baseline Setting (Paramètre de la valeur de référence)
  - Correction à la dérive appliquée
  - Settings (Paramètres) — Cycles to Analyze (Cycles à analyser)
  - Settings (Paramètres) — Analysis Mode (Mode d'analyse)
  - Settings (Paramètres) — Baseline Threshold (Seuil de base)
- Onglet Melt Curve (Courbe de fusion)
  - Étape active
  - Type de pic affiché
  - Seuil d'analyse du pic
- Onglet End Point (Point final)
  - Fluorophore actif/cible
  - Terminer les cycles à la moyenne
  - Méthode de calcul de la tolérance
  - Pourcentage de la gamme
- Onglet Allelic Discrimination (Discrimination allélique)
  - Fluorophore sur les axes des abscisses et des ordonnées
  - Sélectionner le nombre de cycles
  - Carte des dénominations
- Onglet Gene Expression (Expression génique) — All plots (Tous les tracés)
  - Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) — Target reference (Référence cible)
  - Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) — Sample control (Contrôle des échantillons)
  - Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) — Auto efficiency (Efficacité auto)

- Experiment Settings (Paramètres de l'expérience) — Efficiency (Efficacité)
- Onglet Gene Expression (Expression génique) — Graphing (Représentation graphique)
  - Mode d'analyse
  - Données graphiques
  - X-axis (Axe des abscisses)
  - Axe des ordonnées
  - Option de mise à l'échelle
  - Barre d'erreur
  - Multiplicateur de barres d'erreur
  - P-Value Threshold (Seuil de valeur-p)
- Onglet Gene Expression (Expression génique) — Clustergram (Dendogramme)
  - Cluster By (Regrouper par)
  - Split out replicates (Fractionner les réplicats)
- Onglet Gene Expression (Expression génique) — Scatter Plot (Nuage de points)
  - Control Biological Group (Groupe biologique de contrôle)
  - Experimental Biological Group (Groupe biologique expérimental)
  - Fold Change Threshold (Seuil de fold-change)
- Onglet Gene Expression (Expression génique) — ANOVA
  - P-Value Threshold (Seuil de valeur-p)
- Plate Setup (Configuration de la plaque — View/Edit Plate (Afficher/modifier la plaque))
  - Settings (Paramètres) — PlateType (Type de plaque)
  - Settings (Paramètres) — Units (Unités)
  - Editing Tools (Modifier les outils) — Flip Plate (Retourner la plaque)
  - Well groups (Groupes de puits)
  - Fluorophores de plaque
- Plate Setup (Configuration de la plaque) — Replace Plate and Apply PrimePCR File (Remplacer la plaque et appliquer le fichier PrimePCR)
  - Plate Setup Import (Importation de la configuration de la plaque)

## Audit Changes for Gene Study Files (Audit des modifications pour les fichiers d'étude des gènes)

### Général

- Name (Nom)
- Onglet Study Setup (Configuration de l'étude)
  - Ajouter/supprimer des fichiers de données
- Onglet Study Analysis (Analyse de l'étude)

## Annexe C Intégration au LIMS

Il est possible de configurer le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition pour l'utiliser avec un système de gestion de l'information en laboratoire (LIMS). Pour l'intégration au LIMS, CFX Maestro Dx SE exige les informations de configuration de la plaque générées par la plateforme LIMS (un fichier LIMS, \*.plm), un fichier de protocole créé à l'aide de CFX Maestro Dx SE (\*.prcl), un emplacement d'exportation des données défini et un format d'exportation défini.

Une fois la série terminée, CFX Maestro Dx SE génère un fichier de données (.pcrd) et l'enregistre dans un dossier d'exportation de données défini. CFX Maestro Dx SE peut également créer un fichier de données compatible avec le système LIMS au format .csv et l'enregistrer au même emplacement.

### Création de fichiers de données compatibles avec le système LIMS

Cette annexe explique comment configurer CFX Maestro Dx SE pour créer, enregistrer et exporter des fichiers de données compatibles avec le système LIMS.

#### Configuration du dossier LIMS et options d'exportation des données

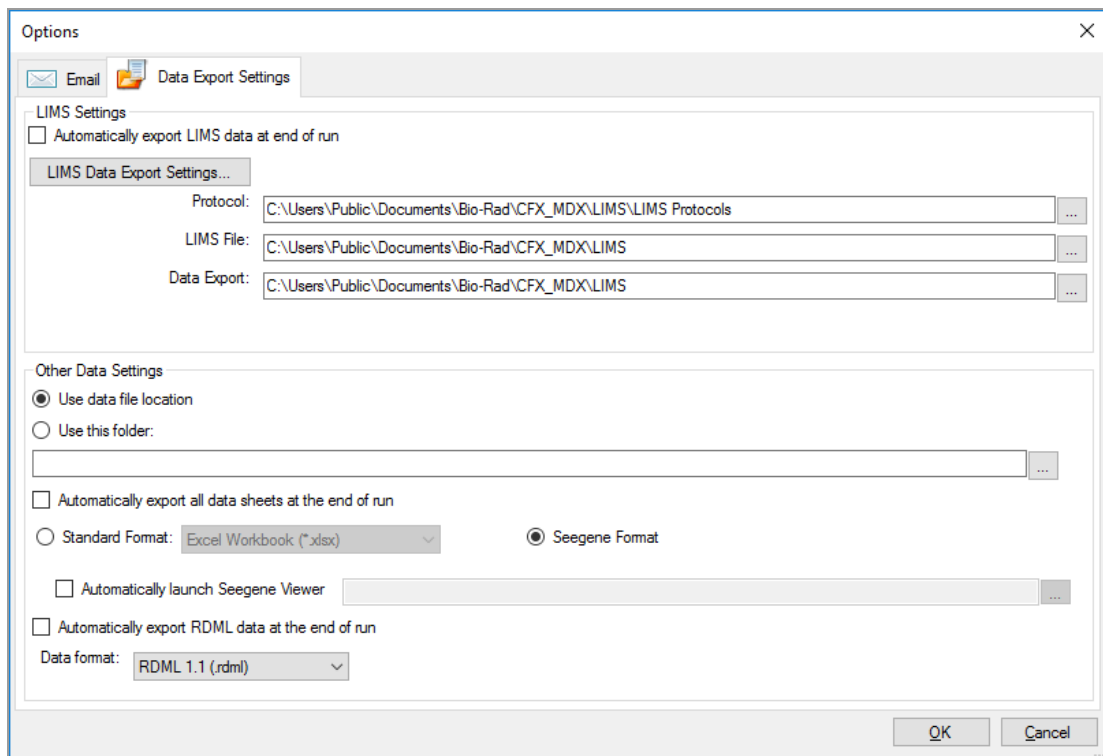
Par défaut, CFX Maestro Dx SE enregistre les protocoles, les fichiers et les fichiers d'exportation de données du système LIMS dans ce dossier :

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_Dx\LIMS

Il est possible de configurer CFX Maestro Dx SE de manière à ce qu'il enregistre les fichiers dans un autre dossier et de modifier les options d'exportation pour les données du LIMS.

#### Pour configurer un dossier LIMS et les options d'exportation des données

1. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner Tools (Outils) > Options.
2. Dans la boîte de dialogue Options, sélectionner Data Export Settings (Paramètres d'exportation des données).



3. (Facultatif) Select Automatically export LIMS data at end of run (Sélectionner automatiquement l'exportation des données du LIMS à la fin de la série)

Le logiciel exportera automatiquement les données du LIMS après chaque série et les enregistrera à l'emplacement spécifié.

4. Pour modifier les options d'exportation par défaut pour les données du LIMS, cliquer sur Data Export Settings (Paramètres d'exportation des données).

**Important :** Seules les données du LIMS exportées au format de fichier .csv peuvent être réimportées dans CFX Maestro Dx SE.

5. Dans la boîte de dialogue LIMS Data Export Format Settings (Paramètres de format d'exportation des données du LIMS), sélectionner les options d'exportation requises et cliquer sur OK.
6. Dans la boîte de dialogue Options, accéder à un dossier par défaut pour l'enregistrement des fichiers de données du LIMS et le sélectionner. Il est possible de sélectionner un emplacement différent pour chaque type de fichier :

- Protocol (Protocole)
- LIMS file (Fichier LIMS)

- Data export (Exportation des données)

7. Cliquer sur OK pour enregistrer les modifications et fermer la boîte de dialogue Options.

## Création d'un protocole LIMS

Pour démarrer une série avec le système LIMS, créer un fichier de protocole (\*.prcl) CFX Maestro Dx SE et l'enregistrer dans l'emplacement du dossier de protocole LIMS prévu à cet effet.

Consulter le [Chapitre 7, Création de protocoles](#) pour de plus amples informations.

## Création d'un fichier LIMS

Un fichier LIMS (\*.plrn) comporte les détails de la configuration de la plaque et le nom de fichier du protocole. Ce fichier est généré par votre LIMS interne. CFX Maestro Dx SE utilise le fichier LIMS pour créer un fichier de plaque à utiliser avec un fichier de protocole.

CFX Maestro Dx SE fournit des fichiers de modèle d'importation de plaques qu'il est possible de modifier pour créer des fichiers de plaque LIMS personnalisés.

**Conseil :** Cette tâche doit être effectuée par un spécialiste LIMS.

### Pour créer un fichier LIMS

1. Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner View (Affichage) > Show (Afficher) > LIMS File Folder (Dossier du fichier LIMS).
2. Ouvrir le dossier LIMS Templates (Modèles LIMS) et sélectionner un fichier .csv à importer dans le LIMS interne.
3. Modifier le fichier de modèle en remplissant les champs obligatoires énumérés dans le [Tableau 38](#).
4. Effectuez l'une des opérations suivantes :
  - Pour enregistrer vos modifications pour une utilisation future, enregistrer le fichier sous forme de fichier .csv.
  - Pour enregistrer vos modifications et utiliser le fichier immédiatement, enregistrer le fichier avec l'extension .plrn.
  - Enregistrer le modèle avec l'extension .plrn dans le dossier de fichiers LIMS.

**Important :** CFX Maestro Dx SE ne peut ouvrir que le fichier .plrn. Il faut enregistrer le fichier .csv en .plrn afin de démarrer le LIMS.

**Tableau 38. Définition du contenu du fichier .csv du LIMS**

Colonne	Ligne	Description	Contenu	Usage
A	1	En-tête de plaque	Ne pas modifier	Prédéfini
A, B, C	2	Champ/données/instruction	Ne pas modifier	Prédéfini
B	3	Version	Ne pas modifier	Prédéfini
B	4	Dimensions de la plaque	Ne pas modifier	Prédéfini
B	5	Type de plaque	Saisir « BR White », « BR Clear » ou tout autre type de plaque étalonnée	Obligatoire
B	6	Mode de lecture	Saisir « SYBR/FAM Only », « All Channels » ou « FRET »	Obligatoire
B	7	Unités	Saisir l'une des valeurs suivantes : « Copy Number », « Fold Dilution », « Micromoles », « Nanomoles », « Picomoles », « Femtomoles », « Attomoles », « Milligrams », « Micrograms », « Nanograms », « Picograms », « Femtograms », « Attograms » ou « Percent »	Obligatoire

**Tableau 38. Définition du contenu du fichier .csv du LIMS, suite**

Colonne	Ligne	Description	Contenu	Usage
B	8	ID de la série	Saisir une brève description ou un code-barres identifiant cette série (30 caractères maximum, virgules non autorisées)	Facultatif
B	9	Notes liées à la série	Saisir la description de la série	Facultatif
B	10	Protocole de la série	Saisir le nom de fichier du protocole exactement comme répertorié.	Obligatoire
A	11	Fichier de données	Saisir le nom du fichier de données	Facultatif
A	12-15	À définir/vide	Ne pas modifier	Prédéfini
A	16	Données de plaque	Ne pas modifier	Prédéfini
A	17-113	Position du puits	Ne pas modifier	Prédéfini
B-G		Colorant can.1, colorant can.2, colorant can.3, colorant can.4, colorant can.5, FRET	Saisir un nom de colorant étalonné (par exemple, « FAM ») pour chaque canal utilisé	Obligatoire
H		Type d'échantillon	Saisir l'un des types d'échantillon suivants : « Unknown », « Standard », « Positive Control », « Negative Control », « NTC » ou « NRT »	Obligatoire



**Tableau 38. Définition du contenu du fichier .csv du LIMS, suite**

Colonne	Ligne	Description	Contenu	Usage
I		Nom de l'échantillon	Saisir le nom de l'échantillon	Facultatif
J-O		Cible can.1, cible can.2, cible can.3, cible can.4, cible can.5, cible FRET	Saisir le nom de la cible pour chaque canal utilisé	Facultatif
P		Nom de la collection	Saisir le nom de l'ensemble biologique	Facultatif
Q		Réplikat	Saisir un entier positif pour chaque ensemble de répliquats. La valeur ne peut pas être égale à zéro.	Facultatif
R-W		Quantité can.1, quantité can.2, quantité can.3, quantité can.4, quantité can.5, quantité FRET	Saisir les valeurs de quantité pour n'importe quel étalon. Saisir la concentration sous forme décimale.	Obligatoire pour tous les étalons

Tableau 38. Définition du contenu du fichier .csv du LIMS, suite

Colonne	Ligne	Description	Contenu	Usage
X		Note relative au puits	<p>Saisir une note sur le puits (20 caractères maximum)</p> <p><b>Remarque :</b> Bien que les notes de CFX Maestro Dx SE soient limitées à 20 caractères dans Well Note (Note relative aux puits) via le logiciel, le champ Well Note (Note relative aux puits) peut contenir jusqu'à 500 caractères s'il est inclus dans un fichier .plrn importé. Cependant, CFX Maestro Dx SE affichera uniquement les 20 premiers caractères. Le fichier .pcrd exporté contiendra tous les caractères du champ Well Note (Note relative aux puits), aucune donnée n'est perdue.</p>	Facultatif

**Tableau 38. Définition du contenu du fichier .csv du LIMS, suite**

Colonne	Ligne	Description	Contenu	Usage
Y-AD		Couleur de puits can.1, couleur de puits can.2, couleur de puits can.3, couleur de puits can.4, couleur de puits can.5, couleur de puits FRET	Saisir toute couleur de style de trace définie par l'utilisateur sous forme d'un entier 32 bits (argb) au format décimal	Facultatif

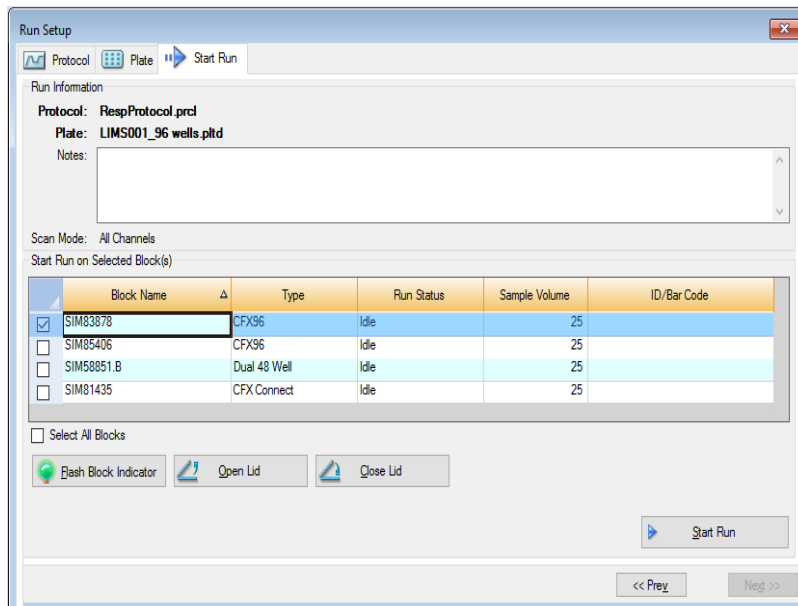
## Démarrage d'une série LIMS

### Pour démarrer une série LIMS

1. Effectuer l'une des opérations suivantes pour ouvrir un fichier LIMS .plrn :
  - Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner View (Affichage) > Show (Afficher) > LIMS File Folder (Dossier de fichier LIMS) et ouvrir le fichier .plrn cible.
  - Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner File (Fichier) > Open (Ouvrir) > LIMS File (Fichier LIMS) et ouvrir le fichier .plrn cible.

Le fichier s'ouvre dans l'onglet Start Run (Démarrer la série) de l'assistant Run Setup (Configuration de la série). L'onglet Start Run (Démarrer la série) affiche des informations sur l'expérience à réaliser. Il affiche également le ou les blocs de l'appareil connectés sur lesquels l'expérience sera effectuée.

2. Dans l'onglet Start Run (Démarrer la série), sélectionner un appareil et cliquer sur Start Run (Démarrer la série).



## Exportation des données vers un LIMS

Une fois la série achevée, CFX Maestro Dx SE génère un fichier de données (.pcrd) et l'enregistre dans l'emplacement de dossier d'exportation des données défini.

### Pour exporter un fichier de données vers un LIMS

- Ouvrir le fichier .pcrd et sélectionner Export (Exporter) > Export to LIMS Folder (Exporter vers un dossier LIMS).

**Conseil :** Si l'utilisateur sélectionne Automatically Export Data after Run (Exporter automatiquement les données après la série) dans LIMS Options (Options LIMS), CFX Maestro Dx SE crée un fichier de données compatible avec le LIMS au format .csv et l'enregistre dans le même dossier.



## Annexe D Résolution des problèmes avec le Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

Cette annexe fournit des suggestions pour résoudre les problèmes que vous pourriez rencontrer lors de la mise à niveau ou de l'exécution du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition.

### Mettre des fichiers et dossiers du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition en liste autorisée

Afin de se protéger contre les virus et les logiciels malveillants, votre service informatique peut avoir mis en œuvre des mesures de sécurité logicielles très strictes. Ces mesures peuvent avoir un impact sur le temps de mise à niveau ou d'exécution de CFX Maestro Dx SE.

Pour améliorer les performances de CFX Maestro Dx SE, Bio-Rad recommande à votre service informatique de mettre sur liste blanche les fichiers et dossiers suivants dans les paramètres du pare-feu de votre logiciel antivirus installé sur l'ordinateur CFX Maestro Dx SE :

#### Dossiers

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx
- C:\ProgramData\Bio-Rad\CFX\_MDx
- C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_MDx

#### Fichiers

- Tous les fichiers .exe situés dans le dossier C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx
- R.exe et Rscript.exe (situés dans le dossier C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx\R\R-3.3.1\bin)

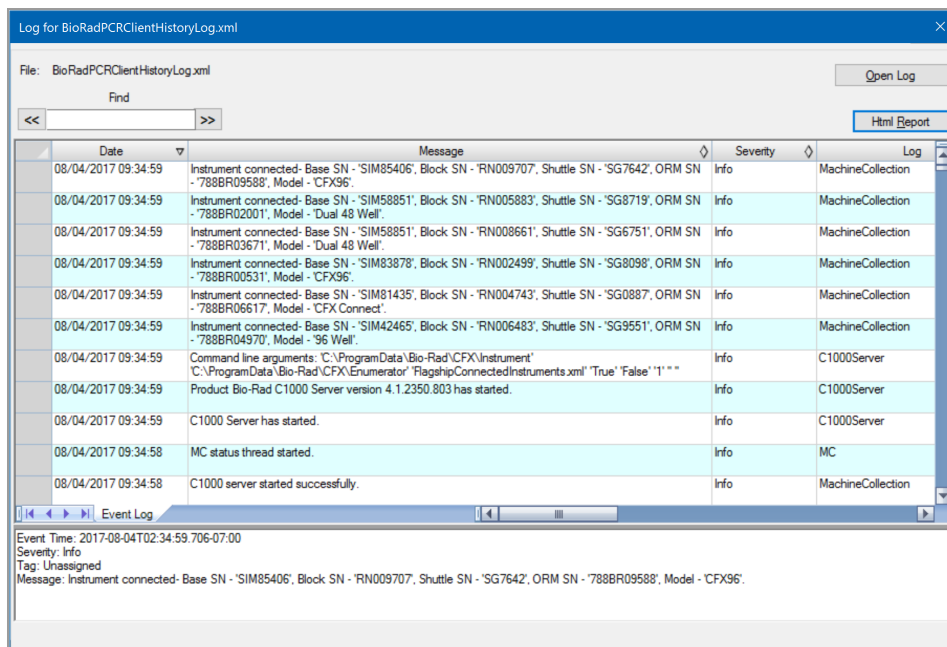
## Journal des applications

Avant de commencer une nouvelle série, le système CFX Opus Dx lance un test d'autodiagnostic pour vérifier qu'il est conforme aux spécifications. Le logiciel consigne les résultats de ce test dans le fichier Run Log (Log des séries) et Application Log (Log des applications). Si un problème est observé dans une ou plusieurs expériences, ouvrir les journaux des séries et des applications pour découvrir quand le problème a commencé.

CFX Maestro Dx SE Dx assure le suivi des informations sur l'état d'un appareil durant une série dans le journal des applications. Utiliser ces logs pour suivre les événements qui surviennent sur les appareils et dans le logiciel et pour la résolution des problèmes.

### Pour ouvrir les application logs

- Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner View (Affichage) > Application Log (Journal des applications).



Pour afficher le journal des applications sous forme de fichier HTML, cliquer sur le bouton HTML Report (Rapport HTML).

## Récupération des fichiers journaux d'application et de micrologiciel

Les journaux d'application et de micrologiciel contiennent des informations détaillant les actions effectuées lors de l'utilisation du logiciel et les performances des séries. Ces journaux enregistrent également toutes les erreurs logicielles ou micrologicielles qui se produisent pendant le fonctionnement du logiciel ou de l'appareil.

### Pour accéder aux fichiers journaux d'application et de micrologiciel :

1. Dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés), faites un clic droit sur l'appareil.
2. Sélectionnez Retrieve Log Files (Récupérer les fichiers journaux).
3. Dans la boîte de dialogue Browse for Folder (Rechercher un dossier), sélectionnez le dossier de destination dans votre réseau ou un disque local sur lequel vous souhaitez enregistrer les fichiers journaux.

**Remarque :** Le dossier s'intitule « Logs » (Journaux).

4. Cliquez sur OK pour enregistrer les fichiers.

**Important :** L'enregistrement d'un fichier journal avec le même nom de fichier qu'un fichier journal existant aura pour effet d'écraser le fichier journal existant.

## Résolution des problèmes

Généralement, les problèmes de communication du logiciel et de l'appareil peuvent être résolus en redémarrant l'ordinateur et le système. Veillez à enregistrer tout travail en cours avant le redémarrage.

**Remarque :** Vérifier que l'ordinateur dispose de suffisamment de RAM et d'espace disque disponible. La RAM minimum est 4 Go et l'espace sur le disque dur minimum est 128 Go.

### Coupure de courant

En cas de coupure de courant, l'appareil et l'ordinateur seront éteints. Si la coupure de courant est de courte durée, l'appareil reprendra l'exécution du protocole mais le journal des applications consignera la panne de courant. En fonction du paramétrage de l'ordinateur et de la durée de la coupure de courant, l'appareil et le logiciel tentent de poursuivre l'exécution en fonction de l'étape du protocole :

- Si le protocole se trouve à une étape sans lecture de plaque, son exécution se poursuit dès lors que le courant est rétabli.
- Si le protocole se trouve à une étape avec lecture de plaque, l'appareil attend que le logiciel redémarre et rétablisse la communication pour recueillir les données. Dans cette situation, le



protocole ne se poursuit que si le logiciel n'est pas arrêté par l'ordinateur. Lorsque l'ordinateur et le logiciel redémarrent, le protocole continue.

## Transfert de fichiers vers l'ordinateur de CFX Maestro Dx SE

Il est possible de transférer des fichiers de données et des fichiers logs qui se trouvent sur l'appareil vers le disque dur d'un ordinateur CFX Maestro Dx SE.

**Conseil :** Tous les fichiers dans le dossier de données en temps réel sur la base de l'appareil sont transférés sur l'ordinateur.

**Remarque :** À partir des appareils CFX Opus Dx, vous ne pouvez transférer que des fichiers logs. Tous les fichiers logs de l'appareil sont transférés vers l'ordinateur.

### Pour récupérer les fichiers de l'appareil

1. Dans le volet Detected Instruments (Appareils détectés) de la fenêtre d'accueil, cliquer avec le bouton droit sur l'appareil cible et sélectionner Retrieve Log Files (Récupérer les fichiers logs).
2. Choisir un emplacement de dossier pour enregistrer les fichiers récupérés.
3. Cliquer sur OK.

## Installation manuelle du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition

### Pour manuellement installer CFX Maestro Dx SE

1. Si nécessaire, débrancher d'éventuels appareils connectés de l'ordinateur.  
Localiser et débrancher le câble USB de l'appareil sur l'ordinateur CFX Maestro Dx SE. L'extrémité insérée dans l'appareil peut rester en place.
2. Ouvrir une session sur l'ordinateur CFX Maestro Dx SE avec privilèges d'administration.
3. Insérer la clé USB de CFX Maestro Dx SE dans le port USB de l'ordinateur.
4. Dans Windows Explorer, accéder à la clé USB de CFX Maestro Dx SE et l'ouvrir.
5. Ouvrir le dossier CFX et double-cliquer sur CFXMaestroDxSetup.exe pour effectuer l'installation de CFX Maestro Dx SE.
6. Suivre les instructions à l'écran pour installer le logiciel.  
Une fois l'installation terminée, l'écran de démarrage Bio-Rad du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition apparaît à l'écran et l'icône Bio-Rad du Logiciel CFX Maestro Dx, Security Edition apparaît sur le bureau.
7. Éjecter en toute sécurité la clé USB du logiciel et démarrer CFX Maestro Dx SE.

## Réinstallation des pilotes

### Pour réinstaller les pilotes d'appareils

- ▶ Dans la fenêtre d'accueil, sélectionner Tools (Outils) > Reinstall Instrument Drivers (Réinstaller les pilotes d'appareils).

**Remarque :** En cas de problèmes liés à la communication du logiciel avec un système en temps réel après la réinstallation des pilotes et la vérification de la connexion USB, contacter l'assistance technique de Bio-Rad.



## Annexe E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products

This document includes licensing information relating to free, open-source, and public-source software and data (together, the “MATERIALS”) included with or used to develop Bio-Rad products and services. The terms of the applicable free, open-source, and public-source licenses (each an “OPEN LICENSE”) govern Bio-Rad’s distribution and your use of the MATERIALS. Bio-Rad and the third-party authors, licensors, and distributors of the MATERIALS disclaim all warranties and liability arising from all use and distribution of the MATERIALS. To the extent the OSS is provided under an agreement with Bio-Rad that differs from the applicable OSS LICENSE, those terms are offered by Bio-Rad alone.

Bio-Rad has reproduced below copyright and other licensing notices appearing within the MATERIALS. While Bio-Rad seeks to provide complete and accurate copyright and licensing information for all MATERIALS, Bio-Rad does not represent or warrant that the following information is complete, correct, or error-free. MATERIALS recipients are encouraged to (a) investigate the identified MATERIALS to confirm the accuracy of the licensing information provided and (b) notify Bio-Rad of any inaccuracies or errors found in this document so that Bio-Rad may update this document accordingly.

Certain OPEN LICENSES (such as the Affero General Public Licenses, Common Development and Distribution Licenses, Common Public License, Creative Commons Share-Alike License, Eclipse Public License, Mozilla Public Licenses, GNU General Public Licenses, GNU Library/Lesser General Public Licenses, and Open Data Commons Open Database License) require that the source materials be made available to recipients or other requestors under the terms of the same OPEN LICENSE.

The corresponding open source software is available for download from the links in the section that follows.

## Software Notices

### ZedGraph

Project homepage/download site:

<https://sourceforge.net/projects/zedgraph/>

Bio-Rad source code site:

<https://github.com/bio-rad-lsg-open-source/ZedGraph-5.0.1>

External source code site:

<https://github.com/ZedGraph/ZedGraph>

Project licensing notices:

/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

/sources/ZedGraph/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

## Standard Open License Text

### LGPL-2.1

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

Version 2.1, February 1999

Copyright (C) 1991, 1999 Free Software Foundation, Inc. 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

[This is the first released version of the Lesser GPL. It also counts as the successor of the GNU Library Public License, version 2, hence the version number 2.1.]

## Preamble

The licenses for most software are designed to take away your freedom to share and change it. By contrast, the GNU General Public Licenses are intended to guarantee your freedom to share and change free software--to make sure the software is free for all its users.

This license, the Lesser General Public License, applies to some specially designated software packages--typically libraries--of the Free Software Foundation and other authors who decide to use it. You can use it too, but we suggest you first think carefully about whether this license or the ordinary General Public License is the better strategy to use in any particular case, based on the explanations below.

When we speak of free software, we are referring to freedom of use, not price. Our General Public Licenses are designed to make sure that you have the freedom to distribute copies of free software (and charge for this service if you wish); that you receive source code or can get it if you want it; that you can change the software and use pieces of it in new free programs; and that you are informed that you can do these things.

To protect your rights, we need to make restrictions that forbid distributors to deny you these rights or to ask you to surrender these rights. These restrictions translate to certain responsibilities for you if you distribute copies of the library or if you modify it.

For example, if you distribute copies of the library, whether gratis or for a fee, you must give the recipients all the rights that we gave you. You must make sure that they, too, receive or can get the source code. If you link other code with the library, you must provide complete object files to the recipients, so that they can relink them with the library after making changes to the library and recompiling it. And you must show them these terms so they know their rights.

We protect your rights with a two-step method: (1) we copyright the library, and (2) we offer you this license, which gives you legal permission to copy, distribute and/or modify the library.

To protect each distributor, we want to make it very clear that there is no warranty for the free library. Also, if the library is modified by someone else and passed on, the recipients should know that what they have is not the original version, so that the original author's

reputation will not be affected by problems that might be introduced by others.

Finally, software patents pose a constant threat to the existence of any free program. We wish to make sure that a company cannot effectively restrict the users of a free program by obtaining a restrictive license from a patent holder. Therefore, we insist that any patent license obtained for a version of the library must be consistent with the full freedom of use specified in this license.

Most GNU software, including some libraries, is covered by the ordinary GNU General Public License. This license, the GNU Lesser General Public License, applies to certain designated libraries, and is quite different from the ordinary General Public License. We use this license for certain libraries in order to permit linking those libraries into non-free programs.

When a program is linked with a library, whether statically or using a shared library, the combination of the two is legally speaking a combined work, a derivative of the original library. The ordinary General Public License therefore permits such linking only if the entire combination fits its criteria of freedom. The Lesser General Public License permits more lax criteria for linking other code with the library.

We call this license the "Lesser" General Public License because it does Less to protect the user's freedom than the ordinary General Public License. It also provides other free software developers Less of an advantage over competing non-free programs. These disadvantages are the reason we use the ordinary General Public License for many libraries. However, the Lesser license provides advantages in certain special circumstances.

For example, on rare occasions, there may be a special need to encourage the widest possible use of a certain library, so that it becomes a de-facto standard. To achieve this, non-free programs must be allowed to use the library. A more frequent case is that a free library does the same job as widely used non-free libraries. In this case, there is little to gain by limiting the free library to free software only, so we use the Lesser General Public License.

In other cases, permission to use a particular library in non-free programs enables a greater number of people to use a large body of free software. For example, permission to use the GNU C Library in non-free programs enables many more people to use the whole GNU

operating system, as well as its variant, the GNU/Linux operating system.

Although the Lesser General Public License is Less protective of the users' freedom, it does ensure that the user of a program that is linked with the Library has the freedom and the wherewithal to run that program using a modified version of the Library.

The precise terms and conditions for copying, distribution and modification follow. Pay close attention to the difference between a "work based on the library" and a "work that uses the library". The former contains code derived from the library, whereas the latter must be combined with the library in order to run.

#### GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

#### TERMS AND CONDITIONS FOR COPYING, DISTRIBUTION AND MODIFICATION

0. This License Agreement applies to any software library or other program which contains a notice placed by the copyright holder or other authorized party saying it may be distributed under the terms of this Lesser General Public License (also called "this License"). Each licensee is addressed as "you".

A "library" means a collection of software functions and/or data prepared so as to be conveniently linked with application programs (which use some of those functions and data) to form executables.

The "Library", below, refers to any such software library or work which has been distributed under these terms. A "work based on the Library" means either the Library or any derivative work under copyright law: that is to say, a work containing the Library or a portion of it, either verbatim or with modifications and/or translated straightforwardly into another language. (Hereinafter, translation is included without limitation in the term "modification".)

"Source code" for a work means the preferred form of the work for making modifications to it. For a library, complete source code means all the source code for all modules it contains, plus any associated interface definition files, plus the scripts used to control compilation and installation of the library.

Activities other than copying, distribution and modification are not covered by this License; they are outside its scope. The act of running a program using the Library is not restricted, and output



from such a program is covered only if its contents constitute a work based on the Library (independent of the use of the Library in a tool for writing it). Whether that is true depends on what the Library does and what the program that uses the Library does.

1. You may copy and distribute verbatim copies of the Library's complete source code as you receive it, in any medium, provided that you conspicuously and appropriately publish on each copy an appropriate copyright notice and disclaimer of warranty; keep intact all the notices that refer to this License and to the absence of any warranty; and distribute a copy of this License along with the Library. You may charge a fee for the physical act of transferring a copy, and you may at your option offer warranty protection in exchange for a fee.

2. You may modify your copy or copies of the Library or any portion of it, thus forming a work based on the Library, and copy and distribute such modifications or work under the terms of Section 1 above, provided that you also meet all of these conditions:

a) The modified work must itself be a software library.

b) You must cause the files modified to carry prominent notices stating that you changed the files and the date of any change.

c) You must cause the whole of the work to be licensed at no charge to all third parties under the terms of this License.

d) If a facility in the modified Library refers to a function or a table of data to be supplied by an application program that uses the facility, other than as an argument passed when the facility is invoked, then you must make a good faith effort to ensure that, in the event an application does not supply such function or table, the facility still operates, and performs whatever part of its purpose remains meaningful. (For example, a function in a library to compute square roots has a purpose that is entirely well-defined independent of the application. Therefore, Subsection 2d requires that any application-supplied function or table used by this function must be optional: if the application does not supply it, the squareroot function must still compute square roots.)

These requirements apply to the modified work as a whole. If identifiable sections of that work are not derived from the Library, and can be reasonably considered independent and separate works in themselves, then this License, and its terms, do not apply to those sections when you distribute them as separate works. But when you

distribute the same sections as part of a whole which is a work based on the Library, the distribution of the whole must be on the terms of this License, whose permissions for other licensees extend to the entire whole, and thus to each and every part regardless of who wrote it.

Thus, it is not the intent of this section to claim rights or contest your rights to work written entirely by you; rather, the intent is to exercise the right to control the distribution of derivative or collective works based on the Library.

In addition, mere aggregation of another work not based on the Library with the Library (or with a work based on the Library) on a volume of a storage or distribution medium does not bring the other work under the scope of this License.

3. You may opt to apply the terms of the ordinary GNU General Public License instead of this License to a given copy of the Library. To do this, you must alter all the notices that refer to this License, so that they refer to the ordinary GNU General Public License, version 2, instead of to this License. (If a newer version than version 2 of the ordinary GNU General Public License has appeared, then you can specify that version instead if you wish.) Do not make any other change in these notices. Once this change is made in a given copy, it is irreversible for that copy, so the ordinary GNU General Public License applies to all subsequent copies and derivative works made from that copy. This option is useful when you wish to copy part of the code of the Library into a program that is not a library.

4. You may copy and distribute the Library (or a portion or derivative of it, under Section 2) in object code or executable form under the terms of Sections 1 and 2 above provided that you accompany it with the complete corresponding machine-readable source code, which must be distributed under the terms of Sections 1 and 2 above on a medium customarily used for software interchange. If distribution of object code is made by offering access to copy from a designated place, then offering equivalent access to copy the source code from the same place satisfies the requirement to distribute the source code, even though third parties are not compelled to copy the source along with the object code.

5. A program that contains no derivative of any portion of the Library, but is designed to work with the Library by being compiled or linked with it, is called a "work that uses the Library". Such a work, in isolation, is not a derivative work of the Library, and

therefore falls outside the scope of this License. However, linking a "work that uses the Library" with the Library creates an executable that is a derivative of the Library (because it contains portions of the Library), rather than a "work that uses the library". The executable is therefore covered by this License. Section 6 states terms for distribution of such executables. When a "work that uses the Library" uses material from a header file that is part of the Library, the object code for the work may be a derivative work of the Library even though the source code is not. Whether this is true is especially significant if the work can be linked without the Library, or if the work is itself a library. The threshold for this to be true is not precisely defined by law. If such an object file uses only numerical parameters, data structure layouts and accessors, and small macros and small inline functions (ten lines or less in length), then the use of the object file is unrestricted, regardless of whether it is legally a derivative work. (Executables containing this object code plus portions of the Library will still fall under Section 6.) Otherwise, if the work is a derivative of the Library, you may distribute the object code for the work under the terms of Section 6. Any executables containing that work also fall under Section 6, whether or not they are linked directly with the Library itself.

6. As an exception to the Sections above, you may also combine or link a "work that uses the Library" with the Library to produce a work containing portions of the Library, and distribute that work under terms of your choice, provided that the terms permit modification of the work for the customer's own use and reverse engineering for debugging such modifications. You must give prominent notice with each copy of the work that the Library is used in it and that the Library and its use are covered by this License. You must supply a copy of this License. If the work during execution displays copyright notices, you must include the copyright notice for the Library among them, as well as a reference directing the user to the copy of this License. Also, you must do one of these things:

a) Accompany the work with the complete corresponding machine-readable source code for the Library including whatever changes were used in the work (which must be distributed under Sections 1 and 2 above); and, if the work is an executable linked with the Library, with the complete machine-readable "work that uses the Library", as object code and/or source code, so that the user can modify the Library and then relink to produce a modified executable containing the modified Library. (It is understood that the user who changes the

contents of definitions files in the Library will not necessarily be able to recompile the application to use the modified definitions.)

b) Use a suitable shared library mechanism for linking with the Library. A suitable mechanism is one that (1) uses at run time a copy of the library already present on the user's computer system, rather than copying library functions into the executable, and (2) will operate properly with a modified version of the library, if the user installs one, as long as the modified version is interface-compatible with the version that the work was made with.

c) Accompany the work with a written offer, valid for at least three years, to give the same user the materials specified in Subsection 6a, above, for a charge no more than the cost of performing this distribution.

d) If distribution of the work is made by offering access to copy from a designated place, offer equivalent access to copy the above specified materials from the same place.

e) Verify that the user has already received a copy of these materials or that you have already sent this user a copy.

For an executable, the required form of the "work that uses the Library" must include any data and utility programs needed for reproducing the executable from it. However, as a special exception, the materials to be distributed need not include anything that is normally distributed (in either source or binary form) with the major components (compiler, kernel, and so on) of the operating system on which the executable runs, unless that component itself accompanies the executable.

It may happen that this requirement contradicts the license restrictions of other proprietary libraries that do not normally accompany the operating system. Such a contradiction means you cannot use both them and the Library together in an executable that you distribute.

7. You may place library facilities that are a work based on the Library side-by-side in a single library together with other library facilities not covered by this License, and distribute such a combined library, provided that the separate distribution of the work based on the Library and of the other library facilities is otherwise permitted, and provided that you do these two things:

a) Accompany the combined library with a copy of the same work based on the Library, uncombined with any other library facilities. This must be distributed under the terms of the Sections above.

b) Give prominent notice with the combined library of the fact that part of it is a work based on the Library, and explaining where to find the accompanying uncombined form of the same work.

8. You may not copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library except as expressly provided under this License. Any attempt otherwise to copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

9. You are not required to accept this License, since you have not signed it. However, nothing else grants you permission to modify or distribute the Library or its derivative works. These actions are

prohibited by law if you do not accept this License. Therefore, by modifying or distributing the Library (or any work based on the Library), you indicate your acceptance of this License to do so, and all its terms and conditions for copying, distributing or modifying the Library or works based on it.

10. Each time you redistribute the Library (or any work based on the Library), the recipient automatically receives a license from the original licensor to copy, distribute, link with or modify the Library subject to these terms and conditions. You may not impose any further restrictions on the recipients' exercise of the rights granted herein. You are not responsible for enforcing compliance by third parties with this License.

11. If, as a consequence of a court judgment or allegation of patent infringement or for any other reason (not limited to patent issues), conditions are imposed on you (whether by court order, agreement or otherwise) that contradict the conditions of this License, they do not excuse you from the conditions of this License. If you cannot distribute so as to satisfy simultaneously your obligations under this License and any other pertinent obligations, then as a consequence you may not distribute the Library at all. For example, if a patent license would not permit royalty-free redistribution of the Library by all those who receive copies directly or indirectly through you, then the only way you could satisfy both it and this

License would be to refrain entirely from distribution of the Library.

If any portion of this section is held invalid or unenforceable under any particular circumstance, the balance of the section is intended to apply, and the section as a whole is intended to apply in other circumstances.

It is not the purpose of this section to induce you to infringe any patents or other property right claims or to contest validity of any such claims; this section has the sole purpose of protecting the integrity of the free software distribution system which is implemented by public license practices. Many people have made generous contributions to the wide range of software distributed through that system in reliance on consistent application of that system; it is up to the author/donor to decide if he or she is willing to distribute software through any other system and a licensee cannot impose that choice. This section is intended to make thoroughly clear what is believed to be a consequence of the rest of this License.

12. If the distribution and/or use of the Library is restricted in certain countries either by patents or by copyrighted interfaces, the original copyright holder who places the Library under this License may add an explicit geographical distribution limitation excluding those countries, so that distribution is permitted only in or among countries not thus excluded. In such case, this License incorporates the limitation as if written in the body of this License.

13. The Free Software Foundation may publish revised and/or new versions of the Lesser General Public License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns.

Each version is given a distinguishing version number. If the Library specifies a version number of this License which applies to it and "any later version", you have the option of following the terms and conditions either of that version or of any later version published by the Free Software Foundation. If the Library does not specify a license version number, you may choose any version ever published by the Free Software Foundation.

14. If you wish to incorporate parts of the Library into other free programs whose distribution conditions are incompatible with these, write to the author to ask for permission. For software which is

copyrighted by the Free Software Foundation, write to the Free Software Foundation; we sometimes make exceptions for this. Our decision will be guided by the two goals of preserving the free status of all derivatives of our free software and of promoting the sharing and reuse of software generally.

NO WARRANTY

15. BECAUSE THE LIBRARY IS LICENSED FREE OF CHARGE, THERE IS NO WARRANTY FOR THE LIBRARY, TO THE EXTENT PERMITTED BY APPLICABLE LAW. EXCEPT WHEN OTHERWISE STATED IN WRITING THE COPYRIGHT HOLDERS AND/OR OTHER PARTIES PROVIDE THE LIBRARY "AS IS" WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. THE ENTIRE RISK AS TO THE QUALITY AND PERFORMANCE OF THE LIBRARY IS WITH YOU. SHOULD THE LIBRARY PROVE DEFECTIVE, YOU ASSUME THE COST OF ALL NECESSARY SERVICING, REPAIR OR CORRECTION.

16. IN NO EVENT UNLESS REQUIRED BY APPLICABLE LAW OR AGREED TO IN WRITING WILL ANY COPYRIGHT HOLDER, OR ANY OTHER PARTY WHO MAY MODIFY AND/OR REDISTRIBUTE THE LIBRARY AS PERMITTED ABOVE, BE LIABLE TO YOU FOR DAMAGES, INCLUDING ANY GENERAL, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE THE LIBRARY (INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOSS OF DATA OR DATA BEING RENDERED INACCURATE OR LOSSES SUSTAINED BY YOU OR THIRD PARTIES OR A FAILURE OF THE LIBRARY TO OPERATE WITH ANY OTHER MATERIALS), EVEN IF SUCH HOLDER OR OTHER PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES.

END OF TERMS AND CONDITIONS

How to Apply These Terms to Your New Libraries

If you develop a new library, and you want it to be of the greatest possible use to the public, we recommend making it free software that everyone can redistribute and change. You can do so by permitting redistribution under these terms (or, alternatively, under the terms of the ordinary General Public License).

To apply these terms, attach the following notices to the library. It is safest to attach them to the start of each source file to most effectively convey the exclusion of warranty; and each file should have at least the "copyright" line and a pointer to where the full notice is found.

<one line to give the library's name and a brief idea of what it does.>

Copyright (C) <year> <name of author>

This library is free software; you can redistribute it and/or modify it under the terms of the GNU Lesser General Public License as published by the Free Software Foundation; either version 2.1 of the License, or (at your option) any later version. This library is distributed in the hope that it will be useful, but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the GNU Lesser General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU Lesser General Public License along with this library; if not, write to the Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Also add information on how to contact you by electronic and paper mail. You should also get your employer (if you work as a programmer) or your school, if any, to sign a "copyright disclaimer" for the library, if necessary. Here is a sample; alter the names:

Yoyodyne, Inc., hereby disclaims all copyright interest in the library `Frob' (a library for tweaking knobs) written by James Random Hacker.

<signature of Ty Coon>, 1 April 1990

Ty Coon, President of Vice

That's all there is to it!



Annexe E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products

## Annexe F Références bibliographiques

1. Sugimoto et al. 1996 Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes. *Nucleic Acids Research* 24, 4,501–4,505.
2. Breslauer KJ et al. 1986 Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3,746–3,750.
3. Hellemans J et al. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biol* 8, R19.
4. Livak JL et al. (1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. *Nature Genetics* 9, 341–342.
5. Pfaffl MW (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29, 2,002–2,007.
6. Vandesompele J et al. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 3, 1–12.
7. Fox J (2008). *Applied Regression Analysis and Generalized Linear Models*. 2e éd (New York : SAGE Publications, Inc.).

### **Minpack Copyright Notice (1999) University of Chicago. Tous droits réservés**

La redistribution et l'utilisation en formes source et binaire, avec ou sans modification, sont permises sous réserve que les conditions suivantes soient respectées :

1. Toute redistribution de code source doit être accompagnée de la mention de droit d'auteur susmentionnée, de la présente liste de conditions et de l'avis de non-responsabilité suivant.
2. Les redistributions en forme binaire doivent reproduire la mention de droit d'auteur susmentionnée, la présente liste de conditions et l'avis de non-responsabilité suivant dans la documentation et/ou tout autre matériel fourni avec la distribution.
3. La documentation de l'utilisateur final incluse avec la redistribution, le cas échéant, doit comporter l'énoncé suivant :

« Ce produit inclut un logiciel développé par l'Université de Chicago, en tant qu'opérateur d'Argonne National Laboratory. »

## Annexe F Références bibliographiques



Bio-Rad Laboratories, Inc.  
4000 Alfred Nobel Drive  
Hercules, CA 94547



Bio-Rad  
3 boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette, France  
Tél. : +33 (0)1 47 95 60 00  
Fax : +33 (0)1 47 41 91 33  
bio-rad.com



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

**Website** [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399  
**Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23  
**France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050  
**Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670  
**The Netherlands** 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23  
**Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

