

Sistemas CFX96™ Dx y CFX96 Deep Well Dx

Manual de funcionamiento

REF 1845097-IVD
1844095-IVD
1841000-IVD
12007917

Revisión del manual: mayo de 2022
Revisión del software 3.1



CUMPLE CON ETL LISTED

CUMPLE CON:

UL Std. 61010-1
UL Std. 61010-2-010
UL Std. 61010-2-101
UL Std. 61010-2-081

CERTIFICADO CONFORME A:

CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-1-12
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-010
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-101
CAN/CSA Std. C22.2 NO. 61010-2-081:2015



BIO-RAD

Sistemas CFX96™ Dx y CFX96 Deep Well Dx

Manual de funcionamiento

Versión 3.1

BIO-RAD

Asistencia técnica de Bio-Rad

El departamento de asistencia técnica de Bio-Rad en España, abre de lunes a viernes de 8:30 a 18h.

Teléfono: 91 490 65 80, opción 2

Correo electrónico: cts-iberia@bio-rad.com (solo EE.UU./Canadá)

Para asistencia técnica fuera de los EE.UU. y Canadá, contacte con su oficina de asistencia técnica local o haga clic en el enlace Contact us (Contacto) en www.bio-rad.com.

Aviso

Ninguna parte de esta publicación puede reproducirse ni transmitirse de ninguna manera ni por ningún medio, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones, o cualquier sistema de almacenamiento o recuperación de información, sin permiso por escrito de Bio-Rad.

Bio-Rad se reserva el derecho a modificar sus productos y servicios en cualquier momento. Esta guía está sujeta a cambios sin previo aviso. Aunque preparada para asegurar la precisión, Bio-Rad no asume ninguna responsabilidad por errores u omisiones, o por cualquier daño que resulte de la aplicación o uso de esta información.

BIO-RAD es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc.

BIO-RAD, HARD-SHELL y MICROSEAL son marcas comerciales de Bio-Rad Laboratories, Inc. en determinadas jurisdicciones.

SYBR es una marca comercial de Thermo Fisher Scientific Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. tiene licencia para vender reactivos que contienen SYBR Green I para su uso en PCR en tiempo real, solo con fines de investigación.

EvaGreen es una marca comercial de Biotium, Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. tiene licencia de Biotium, Inc. para vender reactivos que contienen colorante EvaGreen para su uso en PCR en tiempo real, solo con fines de investigación.

Todas las marcas comerciales utilizadas en este documento son propiedad de sus respectivos propietarios.













Copyright © 2022 de Bio-Rad Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

Uso previsto

Los sistemas CFX96 Dx y CFX96 Deep Well Dx con el software CFX Manager Dx están previstos para realizar PCR basado en fluorescencia para detectar y cuantificar secuencias de ácido nucleico. Los sistemas y el software están previstos para usarse como herramientas de diagnóstico in vitro por parte de técnicos de laboratorio cualificados. Los sistemas están concebidos para su uso con pruebas de diagnóstico de ácido nucleico de terceros, fabricadas y etiquetadas con fines de diagnóstico.

Definiciones de símbolos

Importante: Se han resaltado los cambios más relevantes!

 Fabricante	 Número de lote
 Usar antes de	 Para uso diagnóstico in vitro
 Límite de temperatura	 Número de catálogo
 Consultar instrucciones de uso	 Número de pruebas
 Para usar con	 Número de serie
 Solo para uso con receta	 Contiene látex



Marcado CE - Reglamento (UE)
2017/746 IVDR

Traducciones

Los documentos del producto se pueden proporcionar en otros idiomas en medios electrónicos.

Índice

Uso previsto	iii
Definiciones de símbolos	iii
Traducciones	iv
Seguridad y cumplimiento normativo	13
Etiquetas de advertencia de seguridad	13
Especificaciones de uso seguro y cumplimiento	14
Conformidad con la normativa	15
Peligros	15
Peligros biológicos	16
Peligros químicos	17
Peligros relacionados con productos explosivos o inflamables	18
Peligros eléctricos	18
Transporte	18
Batería	18
Eliminación	18
Garantía	19
Capítulo 1 Introducción	21
Sistemas de detección de PCR de CFX Dx	21
Más información	22
Capítulo 2 Configuración del termociclador C1000 Dx	23
Requisitos del centro	23
Requisitos de espacio de la poyata	23
Requisitos de entorno	24
Requisitos de alimentación	24
Descripción general del sistema	25
Vista frontal	25
Vista trasera	26
Módulos de reacción óptica	28

Volúmenes de muestra recomendados	28
Instalación del termociclador C1000 Dx	29
Desempaquetado y configuración del termociclador C1000 Dx	29
Conexión del módulo de reacción óptica	30
Retirada del tornillo de transporte	31
Carga de placas de muestras	32
Detección de instrumentos conectados	35
Desconexión del módulo de reacción	36
Apagado del termociclador C1000 Dx	36
Capítulo 3 Instalación del software CFX Manager Dx	37
Requisitos del sistema	38
Instalación del software CFX Manager Dx	39
Detección de instrumentos conectados	39
Archivos de software	40
Medidas de ciberseguridad recomendadas	41
Capítulo 4 Espacio de trabajo	43
Ventana de inicio	44
Startup Wizard (Asistente de inicio)	45
Ventana Protocol Editor (Editor de protocolos)	46
Ventana Plate Editor (Editor de placas)	47
Ventana Data Analysis (Análisis de datos)	48
Capítulo 5 Ventana de inicio	49
Ventana de inicio	50
Comandos del menú File (Archivo)	51
Comandos del menú View (Vista)	51
Comandos del menú User (Usuario)	52
Comandos del menú Run (Serie)	53
Comandos del menú Tools (Herramientas)	53
Comandos del menú Help (Ayuda)	54
Comandos de la barra de herramientas	55
Startup Wizard (Asistente de inicio)	56
Barra de estado	56
Panel Detected Instruments (Instrumentos detectados)	57

Visualización de las propiedades de un instrumento	61
Antes de comenzar	64
Ajuste de las preferencias de usuario	64
Creación de una mezcla maestra de reacción	80
Calibración de nuevos tintes	84
Capítulo 6 Creación de protocolos	87
Ventana Protocol Editor (Editor de protocolos)	88
Comandos del menú File (Archivo)	89
Comandos del menú Settings (Ajustes)	89
Comandos del menú Tools (Herramientas)	89
Comandos de la barra de herramientas	89
Controles de edición de protocolos	90
Creación de un protocolo en el editor de protocolos	93
Apertura de un nuevo archivo de protocolo en el editor de protocolos	93
Apertura de un protocolo existente en el editor de protocolos	94
Configuración de un nuevo protocolo	96
Adición de pasos a un protocolo	98
Inserción de un paso de gradiente	98
Introducción de un paso GOTO	100
Inserción de un paso de curva de fusión	100
Adición o eliminación de un paso de lectura de placa	102
Cambio de las opciones del paso	102
Eliminación de un paso	103
Copia, exportación o impresión de un protocolo	103
Creación de un protocolo con el escritor de protocolos automático	104
Uso de la calculadora de Ta	106
Acerca de la calculadora de Ta	106
Capítulo 7 Preparación de placas	111
Ventana Plate Editor (Editor de placas)	112
Comandos del menú File (Archivo)	113
Comandos del menú Settings (Ajustes)	113
Comandos del menú Editing Tools (Herramientas de edición)	113
Comandos de la barra de herramientas	114
Creación de un archivo de placa mediante el editor de placas	115

Apertura de un nuevo archivo de placa en el editor de placas	115
Apertura de un archivo de placa existente en el editor de placas	117
Configuración de un nuevo archivo de placa	118
Asignación de parámetros opcionales al archivo de placa	125
Asignación de un objetivo a pocillos	125
Asignación de un nombre de muestra a los pocillos	127
Asignación de conjuntos biológicos a pocillos	129
Asignación de números de repeticiones a pocillos	131
Asignación de una serie de dilución a tipos de muestra estándar	132
Copia del contenido de un pocillo a otro pocillo	133
Adición de una nota a un pocillo	134
Borrado de todo el contenido de los pocillos	134
Cambio de ajustes del experimento	136
Creación de grupos de pocillos	139
Cambio de los estilos de trazo	142
Visualización de la placa en formato de hoja de cálculo	144
Creación de una disposición de placa con el asistente de configuración de placas	147
Uso del asistente de configuración de placas	147
Capítulo 8 Procesamiento de experimentos	151
Acceso a la ventana Run Setup (Configuración de la serie)	151
Ventana Run Setup (Configuración de la serie)	152
Pestaña Protocol (Protocolo)	154
Pestaña Plate (Placa)	157
Pestaña Start Run (Iniciar serie)	160
Procesamiento de un experimento	161
Cuadro de diálogo Run Details (Detalles de la serie)	163
Pestaña Run Status (Estado de la serie)	163
Pestaña Real-time Status (Estado en tiempo real)	166
Pestaña Time Status (Estado de tiempo)	169
Realización de experimentos de PrimePCR	170
Capítulo 9 Descripción general del análisis de datos	173
Ventana Data Analysis (Análisis de datos)	173
Barra de herramientas de Data Analysis (Análisis de datos)	174
Barra de menús de Data Analysis (Análisis de datos)	175

Detalles de pestañas	177
Step Number Selector (Selector del número de paso)	178
Visualización de grupos de pocillos en Data Analysis (Análisis de datos)	179
Cambio del contenido de los pocillos después de una serie	179
Ajustes del análisis de datos	180
Ajuste del umbral	180
Ajustes de referencia	180
Modo de análisis	181
Ciclos para analizar	182
Selector de pocillos	183
Elementos de menú contextual del selector de pocillos	184
Exclusión temporal de pocillos del análisis	185
Gráficos	186
Elementos comunes de menú contextual para gráficos	186
Copia de datos del gráfico al portapapeles	186
Modificación de los ajustes del umbral de referencia	187
Clasificación de datos de objetivo y muestra	188
Ampliación de un área en el gráfico	189
Copia de gráficos en un archivo de Microsoft	190
Hojas de cálculo	191
Elementos frecuentes de menú contextual para hojas de cálculo	191
Export (Exportar)	193
Exportación de todas las hojas de datos	193
Creación de un archivo de exportación personalizado	194
Exportación a una carpeta LIMS	195
Exportación de datos con formato Seegene	195
Capítulo 10 Detalles del análisis de datos	197
Pestaña Quantification (Cuantificación)	198
Opciones de fluorocromo	199
Cuadro de diálogo Trace Styles (Estilos de trazo)	199
Opción Log Scale (Escala logarítmica)	200
Gráfico Standard Curve (Curva estándar)	201
Opciones de menú del gráfico Amplification (Amplificación)	202
Hoja de cálculo de la pestaña Quantification (Cuantificación)	202

Pestaña Quantification Data (Datos de cuantificación)	204
Hoja de cálculo Results (Resultados)	204
Hoja de cálculo Standard Curve Results (Resultados de la curva estándar)	206
Hoja de cálculo Plate (Placa)	207
Hoja de cálculo RFU	207
Pestaña Melt Curve (Curva de fusión)	208
Ajuste de los datos de la curva de fusión	210
Pestaña Melt Curve Data (Datos de la curva de fusión)	211
Hoja de cálculo Melt Peaks (Picos de fusión)	211
Hoja de cálculo Plate (Placa)	212
Hoja de cálculo RFU	213
Hoja de cálculo $-d(\text{RFU})/dT$	214
Pestaña End Point (Punto final)	215
Datos de resultados	216
Ajuste del análisis de datos de punto final	217
Hoja de cálculo RFU para análisis de punto final	217
Pestaña Allelic Discrimination (Discriminación alélica)	218
Ajuste de datos para discriminación alélica	219
Opciones de menú de gráfico	220
Hoja de cálculo Allelic Discrimination (Discriminación alélica)	220
Pestaña Custom Data View (Vista de datos personalizada)	222
Creación de una vista de datos personalizada	223
Pestaña QC (CC)	224
Cambio de criterios de CC	224
Exclusión de los pocillos que no superen el CC	225
Pestaña Run Information (Información de la serie)	226
Informes de análisis de datos	227
Categorías de informes de análisis de datos	228
Creación de un informe de análisis de datos	231
Creación de informes de grupos de pocillos	232
Capítulo 11 Análisis de expresión genética	233
Configuración de placa para análisis de expresión genética	233
Configuración de placa orientada	234
Gráficos de expresión genética	235

Gráfico de barras	236
Clasificación de datos de objetivo y muestra	238
Ajuste de los datos de expresión genética	239
Experiment Settings (Ajustes del experimento)	241
Valor de estabilidad del objetivo	243
Opciones de menú contextual	244
Hoja de cálculo Data (Datos)	245
Opción Show Details (Mostrar detalles)	246
Clustergrama	248
Ajustes	248
Opciones de menú contextual	248
Hoja de cálculo Data (Datos)	249
Diagrama de dispersión	250
Ajustes	250
Opciones de menú contextual	250
Hoja de cálculo Data (Datos)	251
Results (Resultados)	252
Estudio génico	253
Calibración entre series	253
Cuadro de diálogo Gene Study (Estudio génico)	253
Pestaña Study Setup (Configuración del estudio)	254
Preparación de un estudio génico	255
Pestaña Study Analysis (Análisis del estudio)	255
Creación de un informe de estudio génico	257
Categorías de informes de estudio génico	257
Apéndice A Cálculos de análisis de datos	261
Eficiencia de la reacción	261
Relative Quantity (Cantidad relativa)	261
Cantidad relativa cuando hay un control seleccionado	262
Desviación estándar de cantidad relativa	262
Cq con eficiencia corregida (CqE)	263
Cq con eficiencia corregida medio (MCqE)	263
Factor de normalización	263
Expresión normalizada	264

Expresión normalizada cuando hay un control seleccionado	264
Desviación estándar para la expresión normalizada	265
Expresión normalizada ajustada a escala al nivel de expresión más alto	266
Expresión normalizada ajustada a escala al nivel de expresión más bajo	266
Expresión normalizada ajustada a escala al nivel de expresión promedio	267
Desviación estándar de la expresión normalizada a escala	268
Regulación	268
Fórmulas de valores corregidos	269
Apéndice B Administración de usuarios y roles de CFX Manager Dx	271
Administración de usuarios	271
Adición y eliminación de usuarios	271
Administración de los derechos de roles	273
Inicio de sesión en el software CFX Manager Dx	274
Cambio de usuarios	275
Cambio de contraseñas de usuario	275
Visualización de rol y derechos	276
Apéndice C Integración de LIMS	277
Creación de archivos de datos compatibles con LIMS	277
Configuración de las opciones de exportación de datos y carpetas de LIMS	277
Creación de un protocolo de LIMS	279
Creación de un archivo LIMS	279
Inicio de una serie de LIMS	284
Exportación de datos a LIMS	285
Apéndice D Resolución de problemas de conexión del software CFX Manager Dx	287
Application Log (Registro de aplicación)	287
Resolución de problemas	288
Corte de suministro de corriente	288
Recuperación de archivos del ordenador de CFX Manager Dx	290
Instalación manual del software CFX Manager Dx	290
Reinstalación de los controladores	291
Apéndice E Referencias	293

Seguridad y cumplimiento normativo

Para conseguir un funcionamiento seguro del sistema CFX96™ Dx o el sistema CFX96 Deep Well Dx con el software CFX Manager™ Dx, denominado sistema CFX Dx en este documento, Bio-Rad recomienda que siga las especificaciones de seguridad enumeradas en esta sección y en este manual.

Importante: Los sistemas CFX96 Dx y CFX96 Deep Well Dx están aprobados para su uso como dispositivos médicos para diagnóstico in vitro (IVD).

Etiquetas de advertencia de seguridad

Las etiquetas de advertencia colocadas en el instrumento que aparecen en este manual le advierten sobre las causas que provocan lesiones o daños. En la [Tabla 1](#) se define cada etiqueta de advertencia de seguridad.

Tabla 1. Significado de las etiquetas de advertencia de seguridad





Icono	Significado
	<p>Advertencia sobre el riesgo de dañar el cuerpo o el equipo</p> <p>Si pone en funcionamiento el sistema CFX Dx antes de leer este manual, puede correr el riesgo de sufrir lesiones personales. Para utilizar este instrumento de manera segura, no lo utilice de ninguna manera que no esté especificada en este manual. Este instrumento lo debe manipular exclusivamente personal de laboratorio cualificado con formación en el uso seguro de equipos eléctricos. Maneje todos los componentes del sistema con cuidado y con las manos limpias y secas.</p>
	<p>Advertencia sobre el manejo de materiales biopeligrosos</p> <p>Cuando maneje muestras biopeligrosas, tenga en cuenta las precauciones y pautas recomendadas y cumpla todas las pautas locales específicas de su laboratorio y de su ubicación.</p>

Tabla 1. Significado de las etiquetas de advertencia de seguridad (continuación)

Icono	Significado
	<p>Advertencia sobre el riesgo de sufrir quemaduras</p> <p>Un termociclador genera suficiente calor para provocar quemaduras graves. Póngase gafas de seguridad u otra protección ocular en todo momento durante el funcionamiento. Permita siempre que el bloque de muestras vuelva a la temperatura de inactividad antes de abrir la tapa y eliminar las muestras. También permita que haya máxima distancia para evitar quemaduras accidentales en la piel.</p>
	<p>Advertencia sobre el riesgo de explosión</p> <p>Durante el funcionamiento normal, los bloques de muestras se pueden calentar lo suficiente para provocar que los líquidos hiervan y exploten.</p>

Especificaciones de uso seguro y cumplimiento

En la [Tabla 2](#) se enumeran las especificaciones de uso seguro para los sistemas de detección mediante PCR en tiempo real de CFX Dx de Bio-Rad. Los cables blindados suministrados se deben utilizar con estos instrumentos para garantizar el cumplimiento con los límites de la FCC clase A.

Tabla 2. Condiciones de uso seguro

Aspectos de uso	Condiciones de uso seguro
Potencia nominal de entrada	100-240 V CA, 50-60 Hz, 850 W máx.
Categoría de sobretensión	II
Fusibles	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, acción rápida (cant. 2)
Entorno	Uso exclusivo en interiores
Temperatura de uso	15-31 °C
Temperatura de almacenamiento	-20 a 60 °C
Humedad relativa	Hasta el 80 % (sin condensación)
Altitud	Hasta 2000 metros sobre el nivel del mar
Grado de contaminación	2

Conformidad con la normativa

Tras las pruebas realizadas en el sistema de detección mediante PCR CFX Dx en tiempo real, se ha determinado que cumple todos los requisitos aplicables establecidos en las siguientes normativas electromagnéticas y de seguridad:

- IEC 61010-1:2010 (3.ª ed.), EN 61010-1:2010 (3.ª ed.). Equipo eléctrico para medición, control y uso en laboratorio. Parte 1: requisitos generales
- IEC 61010-2-010:2014, EN 61010-2-010:2014. Requisitos de seguridad para equipos eléctricos para medición, control y uso en laboratorio. Parte 2-010: requisitos particulares para equipos de laboratorio para el calentamiento de materiales
- IEC 61010-2-081:2015, EN 61010-2-081:2015. Requisitos de seguridad para equipos eléctricos para medición, control y uso en laboratorio. Parte 2-081: requisitos particulares para equipos de laboratorio automáticos y semiautomáticos para análisis y otros propósitos (incluye enmienda 1)
- IEC 61010-2-101:2015 (2.ª ed.). Requisitos de seguridad para equipos eléctricos para medición, control y uso en laboratorio. Requisitos particulares para equipos médicos de diagnóstico in vitro (IVD)
- IEC 61326-1:2012 (Clase A), EN 61326-1:2013 (Clase A). Equipo eléctrico para medición, control y uso en laboratorio. Requisitos de EMC, parte 1: requisitos generales
- IEC 61326-2-6:2012, EN 61326-2-6:2013 (Clase A). Equipo eléctrico para medición, control y uso en laboratorio. Requisitos EMC. Requisitos particulares para equipos médicos de diagnóstico in vitro (IVD)

Importante: Este equipo genera, utiliza y puede irradiar energía de radiofrecuencia y, si no se instala y se utiliza de acuerdo con la documentación de instrucciones suministrada, puede causar interferencias perjudiciales en las comunicaciones por radio. El uso de los sistemas en una zona residencial puede causar interferencias perjudiciales, en cuyo caso se requerirá que los usuarios corrijan la interferencia por sus propios medios.

Peligros

El sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx se ha diseñado para funcionar de manera segura siempre que se utilice de la forma que indica el fabricante. Si el sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx o cualquiera de sus componentes asociados se utilizan de forma diferente a la indicada por el fabricante, la protección que proporciona el instrumento puede verse afectada. Bio-Rad Laboratories, Inc. no se hace responsable de las lesiones o daños que pueda provocar el uso de este equipo de manera distinta a la indicada o las modificaciones del instrumento que no haya efectuado Bio-Rad o algún agente autorizado. El servicio del sistema de detección

mediante PCR en tiempo real CFX Dx debe llevarlo a cabo únicamente personal cualificado de Bio-Rad.

Peligros biológicos

El sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx es un producto de laboratorio. No obstante, en caso de presencia de muestras biopeligrosas, observe las pautas siguientes y cumpla todas las pautas locales específicas de su laboratorio y de su ubicación.

Nota: No se emite ninguna sustancia biopeligrosa durante el funcionamiento normal de este instrumento.

Precauciones generales

- Utilice siempre bata y guantes de laboratorio, y gafas de seguridad con protectores laterales o gafas protectoras.
- Mantenga las manos alejadas de la boca, la nariz y los ojos.
- Proteja por completo cualquier corte o abrasión antes de trabajar con materiales potencialmente infecciosos.
- Lávese bien las manos con agua y jabón después de trabajar con cualquier material potencialmente infeccioso antes de abandonar el laboratorio.
- Si lleva reloj de pulsera o joyas, quíteselos antes de trabajar en la poyata.
- Conserve todo el material infeccioso o potencialmente infeccioso en recipientes irrompibles a prueba de fugas.
- Antes de salir del laboratorio, quítese la indumentaria protectora.
- Cuando lleve puestos los guantes, no escriba, responda al teléfono, encienda un interruptor de luz, ni toque nada que otras personas puedan tocar sin guantes.
- Cámbiese de guantes frecuentemente. Quítese los guantes inmediatamente cuando estén visiblemente contaminados.
- No exponga a materiales potencialmente infecciosos materiales que no puedan descontaminarse adecuadamente.
- Tras finalizar un proceso con un material biopeligroso, descontamine la zona de trabajo con un desinfectante apropiado (por ejemplo, una dilución 1:10 de lejía doméstica).

Precauciones específicas de IVD

- Todas las muestras de pacientes representan un peligro biológico potencial y se deben manipular como tales, tomando precauciones universales.
- No se emite ninguna sustancia biopeligrosa durante el funcionamiento normal de este instrumento.

Descontaminación de la superficie



ADVERTENCIA: Para evitar descargas eléctricas, apague y desconecte siempre el instrumento antes de realizar los procedimientos de descontaminación.

Las siguientes áreas se pueden limpiar con cualquier bactericida, virucida o fungicida desinfectante de uso hospitalario:

- Tapa externa y bastidor
- Superficie del bloque de reacción interna y pocillos del bloque de reacción
- Panel de control y pantalla

Para preparar y aplicar el desinfectante, consulte las instrucciones proporcionadas por el fabricante del producto. Enjuague siempre el bloque de reacción y los pocillos del bloque de reacción con agua varias veces después de aplicar un desinfectante. Seque minuciosamente el bloque de reacción y los pocillos del bloque de reacción después de enjuagarlos con agua.

Importante: No utilice detergentes abrasivos o corrosivos o soluciones alcalinas fuertes. Estos agentes pueden rayar las superficies y dañar el bloque de reacción, por lo que se produciría una pérdida de precisión del control térmico.

Eliminación de materiales biopeligrosos

Elimine los siguientes materiales potencialmente contaminados de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales para laboratorios:

- Muestras clínicas
- Reactivos
- Recipientes de reacción u otros consumibles usados que puedan estar contaminados

Peligros químicos

El sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx no contiene productos químicos potencialmente peligrosos.

Peligros relacionados con productos explosivos o inflamables

El sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx no representa un peligro especial en relación con la inflamabilidad o la posibilidad de causar explosiones si se utiliza de manera adecuada tal como viene especificado por Bio-Rad Laboratories.

Peligros eléctricos

El sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx no supone un grado excepcional de peligro eléctrico para los operarios si se instala y se utiliza adecuadamente sin modificaciones físicas, y conectado a una toma de corriente con las especificaciones adecuadas.

Transporte

Antes de mover o enviar el sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx o su módulo de reacción óptica o su base del termociclador, se deben realizar procedimientos de descontaminación. Mueva o envíe siempre el sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx y los módulos de reacción óptica en contenedores distintos con los materiales de empaquetado suministrados, que protegerán al instrumento de sufrir daños. Si no dispone de los contenedores adecuados, póngase en contacto con su oficina de Bio-Rad local.

Batería

El termociclador del sistema CFX Dx utiliza una pila botón de litio de 3 V y una pila híbrida de níquel recargable de 4,8 V para mantener los ajustes de hora y los datos de procesamiento en caso de corte eléctrico. Si la hora o los datos de procesamiento se desajustan al apagar la unidad, puede indicar que las pilas se están descargando. Si esto ocurre, póngase en contacto con el servicio técnico de Bio-Rad para obtener asistencia.

No intente cambiar las pilas. Póngase en contacto con el servicio técnico de Bio-Rad.

Eliminación

El sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx contiene materiales eléctricos que se deben eliminar como residuos no clasificados y se deben recoger por separado, de acuerdo con la Directiva de la Unión Europea 2012/19/CE sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (Directiva RAEE). Antes de la eliminación, póngase en contacto con su representante local de Bio-Rad para obtener instrucciones específicas de su país.

Garantía

El sistema de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx y sus accesorios asociados están cubiertos por una garantía de Bio-Rad estándar. Póngase en contacto con su oficina de Bio-Rad local para obtener más información sobre la garantía.

Seguridad y cumplimiento normativo

Capítulo 1 Introducción

Los sistemas de amplificación mediante PCR en tiempo real CFX Dx de Bio-Rad para diagnóstico in vitro (IVD) ofrecen los últimos avances tecnológicos y permiten una cuantificación de PCR con curva estándar, análisis de expresión genética, discriminación alélica y análisis de punto final.

Los sistemas CFX Dx están compuestos por dos módulos de hardware y software:

- Módulo de reacción óptica (ORM) CFX96™ Dx o CFX96 Deep Well Dx
- Termociclador C1000™ Dx
- Software CFX Manager™ Dx

Al usarlos con el software CFX Manager Dx, puede:

- Generar resultados inmediatos con el asistente de inicio
- Introducir o editar información de los pocillos antes, durante o después de una serie
- Interpretar datos complejos y encontrar sentido al estudio de expresión genética con herramientas como el análisis de controles PrimePCR™ y la herramienta de selección de genes de referencia
- Preparar informes completos con sus datos de PCR en tiempo real

Sistemas de detección de PCR de CFX Dx

En la [Tabla 3](#) se enumeran los productos de PCR IVD de Bio-Rad que se envían con las unidades del sistema CFX Dx.

Nota: Un sistema CFX Dx se envía con el software CFX Manager Dx, el termociclador C1000 Dx y el módulo de reacción óptica CFX96 Dx o CFX96 Deep Well Dx.

Tabla 3. Sistemas de detección de PCR IVD CFX

N.º de catálogo	Descripción
1845097-IVD	ORM * CFX96 Dx
1844095-IVD	ORM CFX96 Deep Well Dx

Tabla 3. Sistemas de detección de PCR IVD CFX (continuación)

N.º de catálogo	Descripción
1841000-IVD	Termociclador C1000 Dx
12007917	Software CFX Manager Dx v3.1

* Módulo de reacción óptica

Más información

En este documento se explica cómo configurar con seguridad y utilizar los sistemas de detección mediante PCR en tiempo real CFX96 Dx y CFX96 Deep Well Dx, que llevan la marca CE-IVD. Estos sistemas se conocen como sistema CFX Dx en este documento. Asimismo, este documento explica cómo utilizar el software CFX Manager Dx con el sistema CFX Dx.

Consejo: Haga clic en el logotipo de Bio-Rad en la esquina superior derecha de cualquier ventana del software CFX Manager Dx para iniciar el sitio web de Bio-Rad. Este portal incluye enlaces a notas técnicas, manuales, información de producto y soporte técnico. Este portal también incluye muchos recursos técnicos en una amplia variedad de métodos y aplicaciones relacionados con PCR, PCR en tiempo real y expresión genética.

Capítulo 2 Configuración del termociclador C1000 Dx

En este capítulo se explica cómo configurar el termociclador C1000 Dx del sistema CFX Dx en sus instalaciones.

Consejo: Antes de configurar el termociclador, familiarícese con él y con su módulo de reacción óptica, puertos y accesorios.

Requisitos del centro

Las tablas de esta sección enumeran la sala, el entorno y los requisitos de potencia necesarios para instalar con éxito y utilizar el termociclador del sistema CFX Dx.

Nota: Instale el termociclador del sistema CFX Dx en una superficie plana y seca con suficiente flujo de aire frío para que funcione adecuadamente.

Requisitos de espacio de la poyata

Tabla 4. Requisitos de espacio de la poyata del termociclador del sistema CFX Dx

Elemento	Especificación
Potencia de entrada	Hasta 850 W, máximo
Frecuencia	50-60 Hz, fase única
Puertos USB	5 A, 1 B
Dimensiones	An.: 33 cm (13 in) Prof.: 46 cm (18 in) Al.: 36 cm (14 in)
Peso	21 kg (47 lb)

Requisitos de entorno

Tabla 5. Requisitos de entorno del termociclador del sistema CFX Dx

Parámetro	Rango	Rango de humedad
Condiciones de funcionamiento	15-31 °C 59-87,8 °F	0-80 % HR, sin condensación
Condiciones de almacenamiento	15-31 °C 59-87,8 °F	0-80 % HR, sin condensación

Requisitos de alimentación

La alimentación al termociclador del sistema CFX Dx debe ser estable y situarse dentro de las especificaciones para garantizar un funcionamiento adecuado. El cable de alimentación conectado al puerto de entrada de alimentación debe tener capacidad para 7 A o más.

Tabla 6. Requisitos de alimentación de sistema CFX Dx

Elemento	Especificación
Voltaje de entrada de la red eléctrica	100-240 V CA; 50-60 Hz, fase única
Uso de la potencia máxima	<850 vatios
Número de enchufes de alimentación	Como mínimo 2 enchufes de alimentación: <ul style="list-style-type: none"> ■ 1 enchufe para el termociclador ■ 1 enchufe para el ordenador que ejecute el software CFX Manager Dx

Descripción general del sistema

En las ilustraciones de esta sección se muestran los componentes principales de la base del termociclador C1000 Dx.

Vista frontal



LEYENDA

1. **Módulo de reacción óptica:** incluye un sistema óptico para recopilar datos de fluorescencia y un bloque termociclador. Los sistemas de detección mediante PCR en tiempo real CFX Dx son compatibles con el módulo CFX96™ Dx y CFX96 Deep Well Dx.

2. **LED de estado:** indica cuándo el bloque está en uso.

3. **Botón de tapa:** abre o cierra la tapa del módulo de reacción óptica, y sella la cámara de reacción.

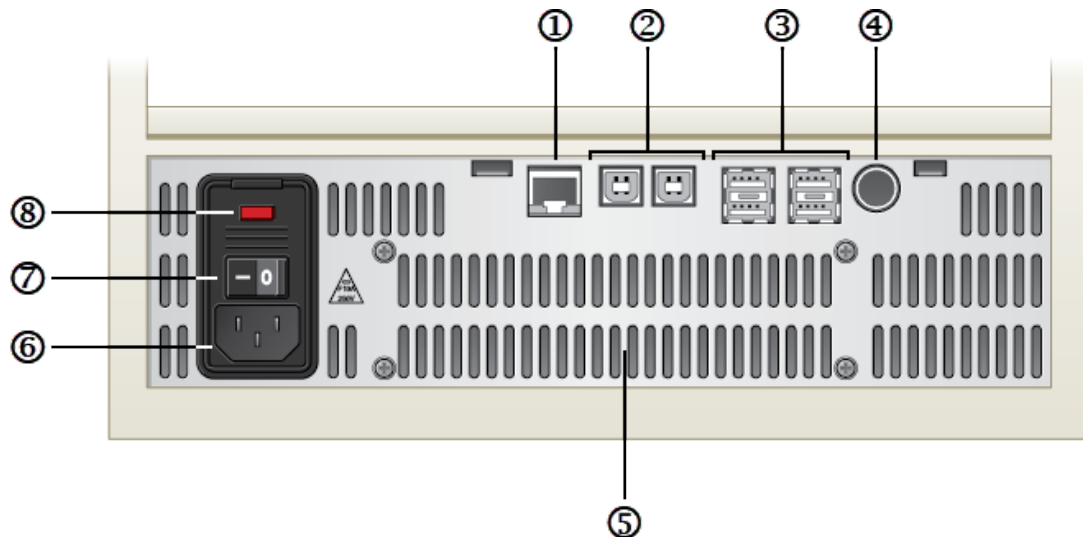
4. **Base del termociclador C1000™ Dx:** proporciona alimentación y comunicación al sistema, y aloja los módulos de reacción óptica CFX96 Dx y CFX96 Deep Well.

5. **Pantalla y botones del panel frontal:** permiten controlar el sistema en modo autónomo.
Importante: Para garantizar la integridad de los datos de estudio génico de IVD, el software CFX Manager Dx no es compatible con datos generados por el termociclador en modo autónomo.

6. **Tapa térmica interior:** mantiene la temperatura de la tapa para evitar la condensación y evaporación.

7. **Bloque de muestra/reacción:** soporta los recipientes de reacción, incluidos tubos y microplacas.

Vista trasera



LEYENDA

1. **Puerto Ethernet:** conecta el termociclador C1000 Dx a su red.

2. **Puertos USB tipo B:** conectan el termociclador C1000 Dx a un ordenador que ejecute el software CFX Manager Dx.

3. **Puertos USB tipo A:** transfieren datos desde y hacia una unidad USB.
Importante: Para garantizar la integridad de los datos de estudio génico de IVD, el software CFX Manager Dx no es compatible con datos generados por el termociclador en modo autónomo.

4. **Puerto serie de prueba:** solo para prueba de servicio.

5. **Ranuras de refrigeración:** enfrían el termociclador.
Importante: No bloquee las ranuras de refrigeración. Para un funcionamiento óptimo, asegúrese de que el aire pueda circular por detrás de la base del termociclador.

6. **Entrada de alimentación:** alimentación de red de CA; utilice el cable de alimentación suministrado.

7. **Interruptor eléctrico:** interruptor para encender y apagar el termociclador.

8. **Fusibles:** consulte [Especificaciones de uso seguro y cumplimiento en la página 14](#) para conocer las especificaciones de fusibles.

Módulos de reacción óptica

El termociclador C1000 Dx es compatible con los siguientes módulos de reacción óptica de Bio-Rad para PCR en tiempo real.

- Módulo de reacción óptica CFX96 Dx
- Módulo de reacción óptica CFX96 Deep Well Dx

El módulo de reacción óptica CFX Dx elegido y el termociclador se envían en cajas separadas. El software CFX Manager Dx se envía con el módulo de reacción óptica.

Importante: El módulo de reacción óptica se calibra con la base del termociclador con la que se envía. Por tanto, no utilice el módulo de reacción óptica con ninguna otra base de termociclador ni la base del termociclador con cualquier otro módulo de reacción óptica.

Ambos módulos de reacción óptica incluyen una tapa térmica completamente ajustable capaz de funcionar de forma fiable con una gran variedad de recipientes de reacción. Cada módulo de reacción óptica contiene ventiladores de refrigeración para un calentamiento y una refrigeración rápidos.

Cada módulo de reacción óptica CFX Dx contiene los siguientes componentes:

- **Tapa térmica interior:** mantiene la temperatura de la tapa para evitar la condensación y evaporación.
- **Bloque de muestra/reacción:** soporta los recipientes de reacción, incluidos tubos y microplacas.
- **Botón de tapa:** abre y cierra la tapa, y sella la reacción.
- **LED de estado:** cuando está encendido, indica que el bloque está en uso.

Volúmenes de muestra recomendados

Si se utiliza el termociclador C1000 Dx, el volumen de muestra máximo se determina por el tipo de módulo utilizado. En la [Tabla 7](#) se enumeran los volúmenes recomendados que se deben utilizar con cada módulo de reacción.

Tabla 7. Límite de tamaño y volumen para los módulos de reacción

Número de pocillos	Número de bloques	Volumen de muestra recomendado, µl (límite superior)
96 pocillos	1	10-50
96 pocillos profundos	1	10-125

Instalación del termociclador C1000 Dx

La base del termociclador C1000 Dx se envía en una caja separada del módulo de reacción óptica. El paquete incluye:

- Base del termociclador C1000 Dx
- Cable de alimentación
- 1 cable USB

Para instalar el termociclador C1000 Dx:

1. Desempaquete y configure la base del termociclador C1000 Dx.
2. Conecte el módulo de reacción a la base.
3. Retire el tornillo de seguridad.

En esta sección se explican estas tareas en detalle.

Desempaquetado y configuración del termociclador C1000 Dx

Importante: Antes de utilizar el termociclador, lea la información que aparece en [Seguridad y cumplimiento normativo en la página 13](#) y [Etiquetas de advertencia de seguridad en la página 13](#).

Consejo: Durante la configuración, asegúrese de que dispone de suficiente espacio para un ordenador cerca del termociclador para poder ejecutar el software CFX Manager Dx.

Para desempaquetar y configurar la base del termociclador

1. Localice el paquete que contiene la base del termociclador.
2. Extraiga la base del material de embalaje.
Consejo: Guarde el material de embalaje para utilizarlo en el futuro. Si falta algún elemento o está dañado, póngase en contacto con su oficina de Bio-Rad local.
3. Coloque la base del termociclador en una superficie lisa y seca con suficiente flujo de aire frío para obtener un funcionamiento adecuado.
4. Localice el cable de alimentación en el paquete de envío e introduzca un extremo en el puerto de entrada de alimentación situado en la parte trasera del termociclador.

Importante: No encienda el instrumento de momento.

5. Conecte el módulo de reacción de IVD a la base. Continúe en [Conexión del módulo de reacción óptica en la página 30](#).

Conexión del módulo de reacción óptica

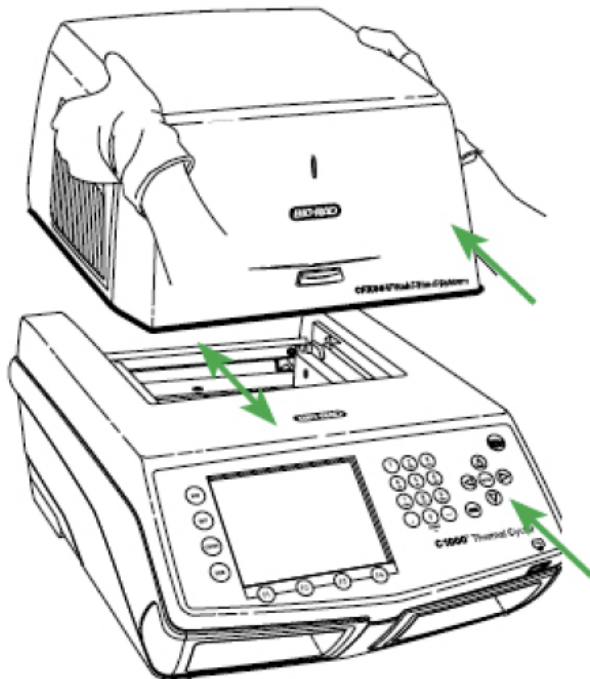
Bio-Rad envía el módulo de reacción óptica CFX96 Dx o CFX96 Deep Well con su base del termociclador C1000 Dx (pero en una caja independiente). Desempaquete cuidadosamente el módulo de reacción óptica y compruebe que los cables de alimentación y USB estén incluidos en el contenedor de envío.

Importante: Cada módulo de reacción óptica se calibra con la base del termociclador con la que se envía. Por tanto, no utilice el módulo de reacción óptica con ninguna otra base del termociclador.

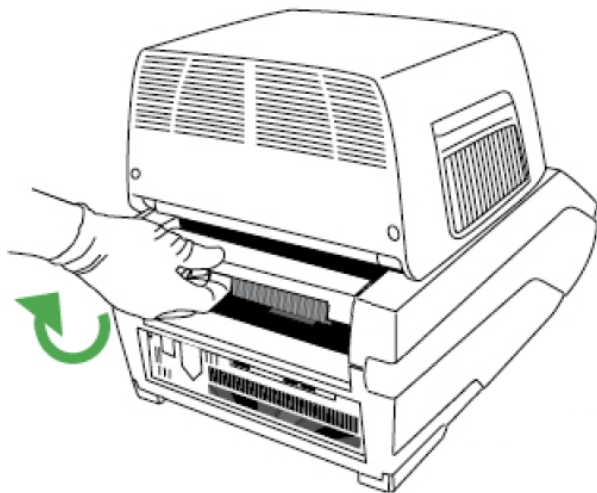
Asegúrese de que la base del termociclador C1000 Dx descansa sobre una superficie plana y seca con suficiente circulación de aire frío para funcionar adecuadamente.

Para conectar el módulo de reacción a la base del termociclador

1. Coloque el termociclador C1000 Dx en un lugar adecuado con la barra de bloqueo hacia abajo.
2. Al levantar el módulo de reacción óptica utilizando los huecos a modo de asa por encima de las ranuras de ventilación, coloque el módulo en el compartimento del módulo de reacción C1000 Dx dejando aproximadamente 2 cm de espacio en la parte delantera. Cuando se encuentre en el compartimento, el módulo óptico debe cubrir el logotipo Bio-Rad en la parte delantera del compartimento.



3. Tire de la barra de bloqueo hasta que quede al ras con los lados del compartimento del módulo. Esta acción mueve el módulo hacia delante y lo bloquea en su lugar.



4. Compruebe que el módulo se encuentre asentado completa y uniformemente en la base del termociclador C1000 Dx. No debe haber espacio adicional entre el módulo y la base.
5. Conecte el cable de alimentación a la parte trasera de la base del termociclador C1000 Dx y a una toma de corriente eléctrica adecuada, y después pulse el interruptor de alimentación del panel trasero del termociclador C1000 Dx para iniciar el sistema.

Retirada del tornillo de transporte

Importante: Los módulos de reacción óptica de Bio-Rad se envían con un tornillo de transporte insertado en la tapa interna para estabilizar el módulo de reacción óptica durante el envío. Debe retirar el tornillo de transporte antes de poder utilizar el módulo de reacción óptica.

Para retirar el tornillo de transporte

1. El termociclador C1000 Dx detecta que el tornillo de transporte está insertado en el módulo de reacción óptica y muestra un mensaje que indica que debe retirar el tornillo.

Shipping Screw Status

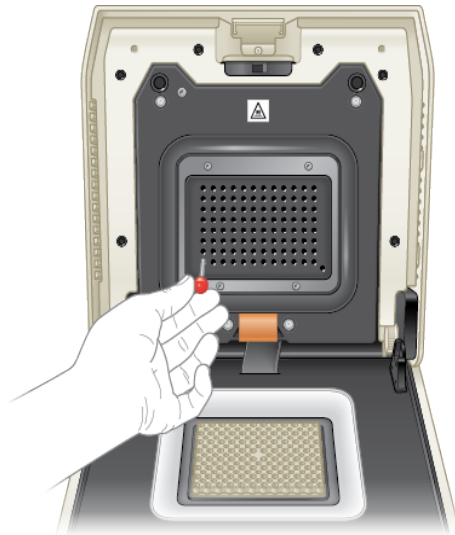
Shipping Screw is inserted.

1. Open Optical Module lid -- press manual button below the Bio-Rad logo.
2. Remove RED Shipping Screw from hole adjacent to left side of well B1
3. Close Optical Module lid -- press manual button positioned in front of block.
4. Press F1 (Screw Removed) to confirm Shipping Screw has been removed.

To check/remove the shipping screw status follow the instructions above.

Remove Screw **Main Menu**

2. Siga las instrucciones para retirar el tornillo de transporte. El siguiente diagrama muestra la ubicación del tornillo de transporte.



Nota: Debe volver a introducir el tornillo de transporte si necesita devolver el módulo de reacción por algún motivo. Guarde el tornillo en un lugar seguro y accesible.

Carga de placas de muestras

Para garantizar el calentamiento y el enfriamiento uniformes de las muestras, las placas deben estar en contacto completo con el bloque de reacción. Para garantizar un contacto adecuado, realice lo siguiente:

- Confirme que el bloque esté limpio antes de cargar las muestras.
- Presione firmemente los tubos individuales, tiras de tubos o microplacas en los pocillos de los bloques.

- Cuando se utilicen uno o varios tubos, use el bastidor de tubos (n.º catálogo 1849000 o 1849001) o cargue como mínimo un tubo vacío en cada esquina del bloque para garantizar que la tapa aplique una presión uniforme sobre los tubos individuales.

Carga de placas en el módulo de reacción óptica

Importante: Al procesar el sistema sistema CFX Dx, equilibre siempre las tiras de tubo o añada tapas de tubos a los pocillos de esquina para garantizar que la tapa térmica aplique una presión uniforme en todo el bloque.

Para cargar las placas en el módulo de reacción

1. Para abrir una tapa motorizada, realice una de las siguientes acciones:
 - En el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados) del software CFX Manager Dx, haga clic en Open Lid (Abrir tapa).
 - En la pestaña Start Run (Iniciar serie) en el software, haga clic en Open Lid (Abrir tapa).
 - Pulse el botón de la tapa de la parte delantera del instrumento.
2. Coloque la microplaca, los tubos individuales o tiras de tubos con tapas selladas en el bloque.

Importante: Compruebe que los tubos estén completamente sellados para prevenir fugas.

Consejo: Para obtener resultados óptimos, cargue volúmenes de muestra de 10-25 µl para el sistema CFX Dx.
3. Para obtener un análisis de datos más preciso, compruebe que la orientación de reacciones en el bloque sea exactamente la misma que la orientación del contenido del pocillo en la pestaña Plate (Placa) del software CFX Manager Dx.

Consejo: Puede editar el contenido del pocillo utilizando el software CFX Manager Dx antes, durante o después de la serie.
4. Para cerrar una tapa motorizada, realice una de las siguientes acciones:
 - Pulse el botón de la tapa en el instrumento.
 - En el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados) del software, haga clic en Close Lid (Cerrar tapa).
 - En la pestaña Start Run (Iniciar serie) en el software, haga clic en Close Lid (Cerrar tapa).

Importante: Asegúrese de que nada bloquee la tapa cuando se cierre. Aunque un mecanismo de seguridad evita que se cierre la tapa si detecta una obstrucción, no coloque nada en el trayecto de la tapa antes de cerrarla.

Material fungible de plástico y reactivos para PCR

Para buscar y encargar material fungible de plástico recomendado para el sistema CFX Dx, vaya a la [página web de Bio-Rad](#). Puede acceder al sitio en Help (Ayuda) > PCR Plastic Consumables Web Site (Página web de fungibles de plástico para PCR) en el software CFX Manager Dx. Además, consulte [Plastics Selector \(Selector de plásticos\)](#) y [Reagents Selector \(Selector de reactivos\)](#) para obtener ayuda para encontrar y encargar más fácilmente material fungible de plástico y reactivos para sus necesidades específicas de equipo y PCR.

Detección de instrumentos conectados

Durante la instalación, el instalador del software CFX Manager Dx instala automáticamente los controladores del instrumento en el ordenador que ejecuta el software CFX Manager Dx. CFX Manager Dx detecta los instrumentos conectados al iniciar el software.

Importante: Debe desconectar el termociclador C1000 Dx del ordenador de CFX Manager Dx antes de instalar el software. No es necesario desactivar el termociclador durante la instalación del software.

Para detectar instrumentos conectados

1. Si todavía no lo ha hecho, inserte el extremo cuadrado (macho) del cable USB tipo B suministrado en el puerto USB tipo B ubicado en la parte trasera de la base.
2. Inserte el otro extremo (puerto) en un puerto USB del ordenador de CFX Manager Dx.
3. Si el termociclador no está ya en funcionamiento, pulse el botón de encendido situado en la parte trasera del instrumento para encenderlo.
4. Inicie el software CFX Manager Dx.

El software detecta automáticamente el instrumento conectado y muestra su nombre en el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados) de la ventana de inicio.

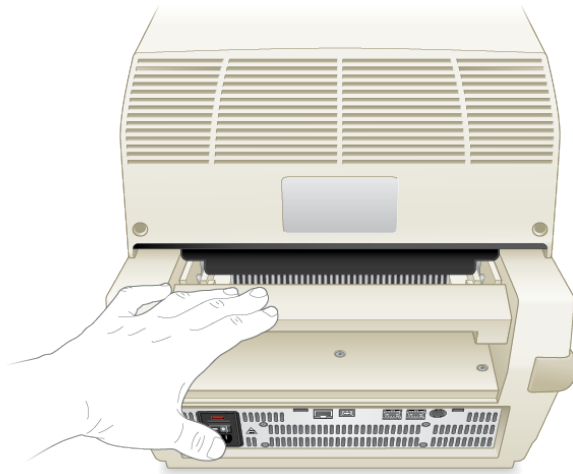
Nota: Si el instrumento no aparece en el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados), compruebe que el cable USB esté conectado correctamente. Para volver a instalar los controladores, seleccione Tools (Herramientas) > Reinstall Instrument Drivers (Volver a instalar controladores del instrumento) en la ventana de inicio del software CFX Manager Dx.

Desconexión del módulo de reacción

Importante: Apague el termociclador C1000 Dx antes de desconectar el módulo de reacción (consulte [Apagado del termociclador C1000 Dx en la página 36](#)). Las aletas de refrigeración del módulo de reacción pueden estar calientes inmediatamente después de procesar un protocolo o incubación. Asegúrese de que las aletas estén frías antes de separar el módulo de reacción.

Para separar el módulo de reacción óptica de la base del termociclador

1. En la parte trasera de la base del termociclador, presione la barra de bloqueo y libere el módulo de reacción óptica.



2. Levante con cuidado el módulo de reacción óptica del compartimento usando los huecos a modo de asa de cada lado.
3. Establezca el módulo de reacción óptica en una superficie lisa y limpia donde no corra peligro de golpearse, rayarse o caerse.

Apagado del termociclador C1000 Dx

Para apagar el termociclador

1. Después de una serie, pulse el botón para abrir la tapa situado en la parte delantera del módulo de reacción óptica de CFX para acceder a las muestras cargadas en el bloque.
2. Elimine las muestras del bloque y pulse el botón para cerrar la tapa.
3. Pulse el interruptor de alimentación del panel trasero del termociclador C1000 Dx para apagar el sistema.

Capítulo 3 Instalación del software CFX Manager Dx

En este capítulo se explica cómo instalar el software CFX Manager™ Dx.

El software CFX Manager Dx debe analizar datos de PCR en tiempo real de los sistemas CFX96™ Dx y CFX96 Deep Well Dx. También puede usar este software para controlar estos sistemas en el modo controlado por software.

Para obtener más información sobre cómo instalar el termociclador del sistema CFX Dx y el módulo de reacción óptica, consulte [Configuración del termociclador C1000 Dx en la página 23](#).

Requisitos del sistema

En la [Tabla 8](#) se enumeran los requisitos mínimos y recomendados del sistema para el ordenador que ejecute el software CFX Manager Dx (conocido como el ordenador de CFX Manager Dx).

Tabla 8. Requisitos del ordenador para el software CFX Manager Dx

Sistema	Mínimo	Recomendado
Sistema operativo	Microsoft Windows 7 SP1 Pro	Cualquiera de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> ■ Microsoft Windows 7 SP2 Pro (32 y 64 bits) ■ Microsoft Windows 10 Pro (solo 64 bits) ■ Microsoft Windows 10 Enterprise (solo 64 bits)
Importante: Secure Boot (Arranque seguro) debe estar deshabilitado en Microsoft Windows 10 Pro y Enterprise.		
Puertos	2 puertos de alta velocidad USB 2.0	2 puertos de alta velocidad USB 2.0
Espacio de disco duro	128 GB	128 GB
Velocidad del procesador	2,4 GHz, doble núcleo	2,4 GHz, cuatro núcleos
RAM	4 GB de RAM	8 GB de RAM
Resolución de pantalla	1024 x 768 con modo de color verdadero	1280 x 1024 con modo de color verdadero
PDF Reader		Adobe PDF Reader o Windows PDF Reader de una de las versiones compatibles con Microsoft Office Suites: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2007 ■ 2010 ■ 2013

Instalación del software CFX Manager Dx

Importante: Debe desconectar todos los instrumentos del ordenador de CFX Manager Dx antes de instalar o actualizar el software. No es necesario desactivar el termociclador durante la instalación del software. Asegúrese de haber guardado todas las series y de que no haya ningún experimento en marcha.

Nota: Si está instalando el software CFX Manager Dx en Windows 10, compruebe que la opción Secure Boot (Arranque seguro) esté deshabilitada antes de iniciar el procedimiento de instalación.

Para instalar el software CFX Manager Dx

1. En caso necesario, desconecte cualquier instrumento conectado del ordenador.

Localice y desconecte el cable USB del instrumento en el ordenador de CFX Manager Dx. El extremo insertado en el instrumento puede quedarse como está.
2. Inicie sesión en el ordenador de CFX Manager Dx con privilegios de administrador.
3. Coloque el CD del software CFX Manager Dx en el lector de CD del ordenador.
4. La página de inicio del software debe aparecer automáticamente. Haga doble clic en Install Software (Instalar software) en la página de inicio del software.

Nota: Si la página de inicio no aparece automáticamente, navegue hasta el lector de CD y abra la carpeta CFX_Manager; a continuación, haga doble clic en setup.exe para iniciar el asistente de instalación del software.

Consejo: En el asistente de instalación, haga clic en el botón Documentation (Documentación) para encontrar copias que permitan búsqueda de las notas de la versión, manuales de instrumento y otra documentación.

5. Siga las instrucciones indicadas en la pantalla para terminar la instalación. Una vez terminada, el icono del software de CFX Manager aparecerá en el escritorio del ordenador.
6. Una vez finalizada la instalación, puede expulsar el CD con seguridad.

Detección de instrumentos conectados

Durante la instalación, el instalador del software CFX Manager Dx instala automáticamente los controladores del instrumento en el ordenador de CFX Manager Dx. CFX Manager Dx detecta los instrumentos conectados al iniciar el software.

Para detectar instrumentos conectados

1. Si todavía no lo ha hecho, inserte el extremo cuadrado (macho) del cable USB tipo B suministrado en el puerto USB tipo B ubicado en la parte trasera de la base del instrumento.
2. Inserte el otro extremo (puerto) en un puerto USB del ordenador de CFX Manager Dx.
3. Si el instrumento no está ya en funcionamiento, pulse el botón de encendido situado en la parte trasera del instrumento para encenderlo.
4. Inicie CFX Manager Dx.

El software detecta automáticamente el instrumento conectado y muestra su nombre en el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados) de la ventana de inicio.

Nota: Si el instrumento no aparece en el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados), compruebe que el cable USB esté conectado correctamente. Para volver a instalar los controladores, seleccione Tools (Herramientas) > Reinstall Instrument Drivers (Volver a instalar controladores del instrumento) en la ventana de inicio de CFX Manager Dx.

Archivos de software

En la [Tabla 9](#) se enumeran los tipos de archivos del software CFX Manager Dx.

Tabla 9. Tipos de archivos del software CFX Manager Dx

Tipo de archivo	Extensión	Detalles
Protocolo	.prcl	Contiene los detalles de configuración del protocolo para realizar una serie de PCR.
Placa	.pltd	Contiene los detalles de configuración de la placa para realizar una serie de PCR.
Datos	.pcrd	Contiene los resultados de un experimento y análisis de PCR.
Serie PrimePCR™	.csv	Contiene la disposición de la placa y el protocolo para placas PrimePCR.
Estudio génico	.mgxd	Contiene resultados de múltiples series de PCR y análisis de expresión genética.
LIMS	.plrn	Contiene información de protocolo y configuración de placa requerida para realizar una serie compatible con LIMS.

Medidas de ciberseguridad recomendadas

Bio-Rad recomienda que trabaje con su departamento informático para implementar medidas de ciberseguridad para el ordenador utilizado con el sistema CFX96 Dx. Por ejemplo:

- Instale y configure las aplicaciones de firewall y protección antivirus adecuadas.
Importante: Configure el análisis de virus para que se realice fuera de las horas de trabajo o cuando el instrumento no esté en funcionamiento. Si se inicia un análisis de virus mientras CFX Manager Dx está procesando un experimento, puede que se cancele la serie y se pierdan los datos.
- El software CFX Manager Dx no tiene una función de apagado por inactividad de la sesión de usuario. Implemente medidas de seguridad de acceso a usuarios de Windows o de terceros (por ejemplo, implemente un protector de pantalla que requiera iniciar sesión).
- Protección de soportes extraíbles:
 - Utilice contraseñas y encriptación en el dispositivo USB para proteger los datos.
 - Deshabilite las funciones de procesamiento y reproducción automáticas para todos los soportes extraíbles.
 - Obligue a realizar un análisis de dispositivo USB cada vez que se conecte una unidad de memoria.
- Utilice un servicio de copia de seguridad para facilitar la recuperación de los datos.

Capítulo 4 Espacio de trabajo

El software CFX Manager™ Dx ofrece una interfaz para configurar placas, desarrollar protocolos de PCR, procesarlos en instrumentos CFX Dx y analizar datos a partir de series de PCR.

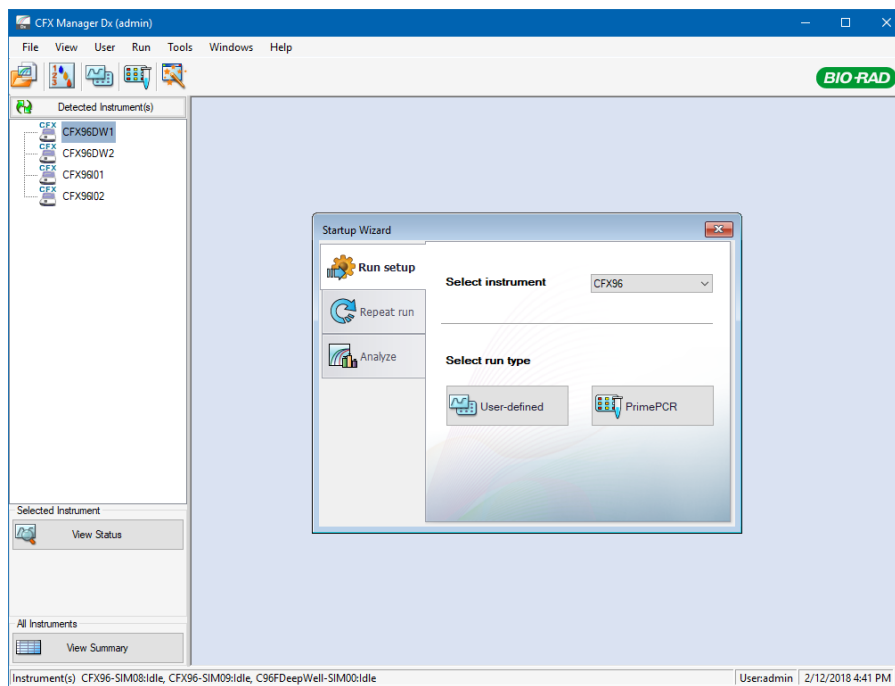
El software CFX Manager Dx presenta cinco espacios de trabajo principales:

- Ventana de inicio
- Startup Wizard (Asistente de inicio)
- Ventana Protocol Editor (Editor de protocolos)
- Ventana Plate Editor (Editor de placas)
- Ventana Data Analysis (Análisis de datos)

Cada espacio de trabajo se muestra y se describe brevemente en este capítulo.

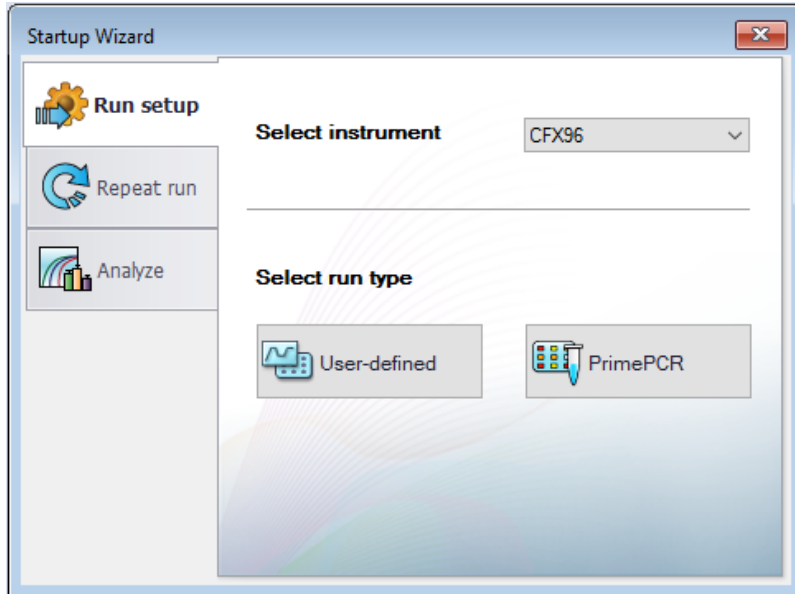
Ventana de inicio

El software CFX Manager Dx muestra el Startup Wizard (Asistente de inicio), desde donde puede configurar un experimento, realizar o repetir una serie o analizar una serie existente. Desde la ventana de inicio también puede ver registros de aplicaciones e instrumentos, crear y administrar usuarios y acceder a varias herramientas. Para obtener más información, consulte el [Capítulo 5, Ventana de inicio](#).



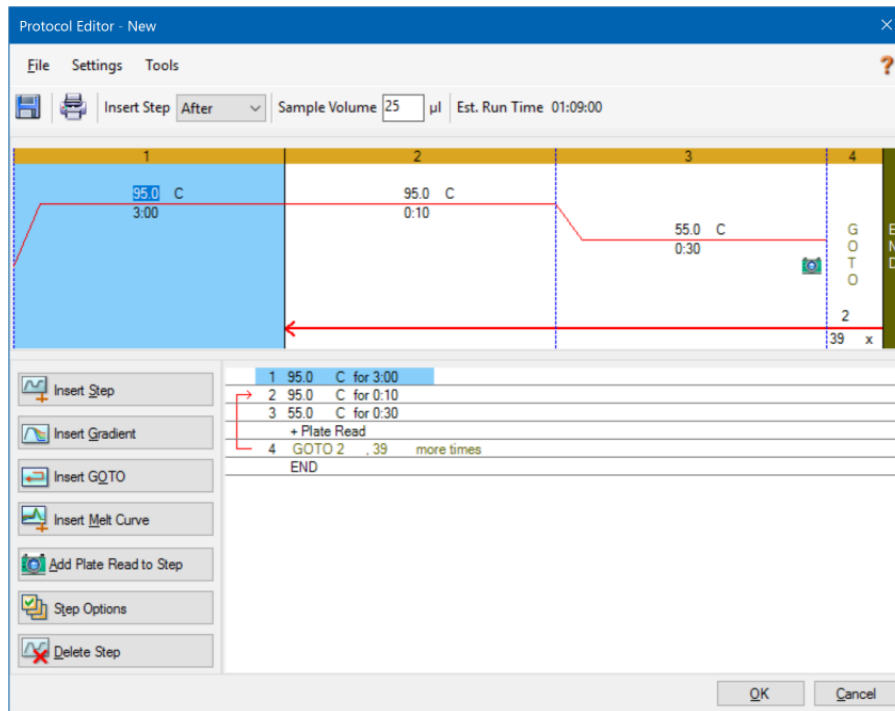
Startup Wizard (Asistente de inicio)

Utilice el Startup Wizard (Asistente de inicio) para configurar y procesar rápidamente experimentos definidos por el usuario o seleccionar y procesar un experimento PrimePCR™. También puede utilizar este asistente para repetir una serie o analizar datos de la serie.



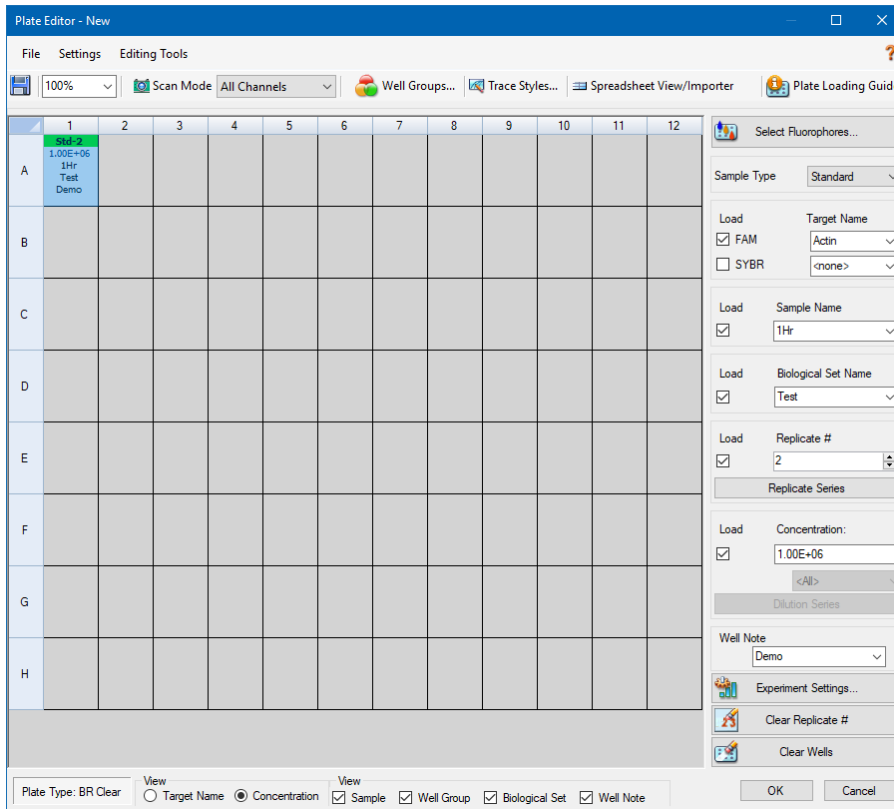
Ventana Protocol Editor (Editor de protocolos)

En Protocol Editor (Editor de protocolos) puede crear, abrir, revisar y editar un protocolo. También puede modificar la temperatura de la tapa para el protocolo abierto. La funcionalidad de Protocol Editor (Editor de protocolos) se describe en el [Capítulo 6, Creación de protocolos](#).



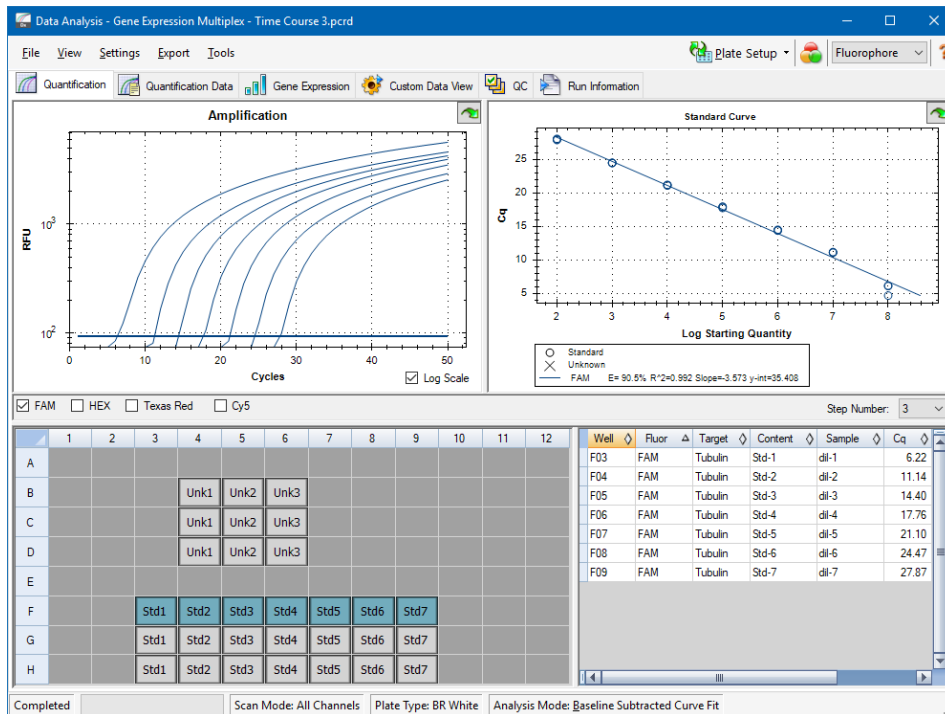
Ventana Plate Editor (Editor de placas)

En Plate Editor (Editor de placas) puede crear, abrir, revisar y editar una placa. La funcionalidad de Plate Editor (Editor de placas) se describe en el [Capítulo 7, Preparación de placas](#).



Ventana Data Analysis (Análisis de datos)

En la ventana Data Analysis (Análisis de datos) puede ver y comparar datos de series, realizar análisis estadísticos, exportar datos y crear informes listos para su publicación. La funcionalidad de Data Analysis (Análisis de datos) se describe en el [Capítulo 9, Descripción general del análisis de datos](#). Consulte también el [Capítulo 10, Detalles del análisis de datos](#).



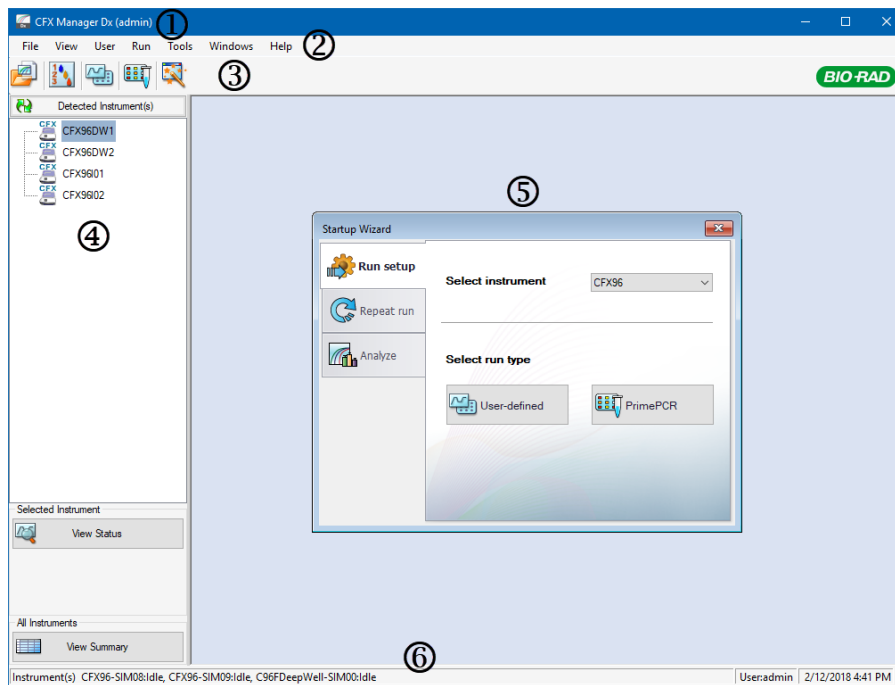
Capítulo 5 Ventana de inicio

CFX Manager™ Dx ofrece una interfaz para desarrollar protocolos de PCR, procesarlos en sistemas Dx CFX y analizar los datos de series de PCR.

En este capítulo se presenta el software CFX Manager Dx y se describen las funciones a las que se accede desde la ventana de inicio.

Ventana de inicio

CFX Manager Dx abre la ventana de inicio y muestra el Startup Wizard (Asistente de inicio), desde donde puede configurar una serie, realizar o repetir una serie o analizar una serie existente. Desde la ventana de inicio también puede ver registros de aplicaciones e instrumentos, crear y administrar usuarios y acceder a varias herramientas.



LEYENDA

1. En la barra de título del software se muestra el nombre del software y el usuario conectado.
2. La barra de menús ofrece acceso rápido a los comandos de menú de File (Archivo), View (Vista), Users (Usuarios), Run (Serie), Tools (Herramientas), Windows (Ventanas) y Help (Ayuda).
3. Los comandos de la barra de herramientas ofrecen acceso rápido a las opciones del menú.
4. En el panel izquierdo se muestran los instrumentos conectados al ordenador de CFX Manager Dx y proporciona botones desde los cuales puede manejar la tapa y ver el estado de los instrumentos.

5. En el panel principal se muestra la ventana activa. La ventana activa predeterminada de la pantalla de inicio es Startup Wizard (Asistente de inicio).
-
6. En la barra de estado se muestran los nombres de los instrumentos conectados y el usuario conectado.

Comandos del menú File (Archivo)

New (Nuevo): abre un cuadro de diálogo en el que puede elegir si desea crear un protocolo, placa o estudio génico nuevos.

Open (Abrir): abre un cuadro de diálogo en el que puede elegir navegar hasta un protocolo, placa, archivo de datos, estudio génico o archivo LIMS, o archivo de serie de PrimePCR™, y abrirlo.

Recent Data Files (Archivos de datos recientes): muestra una lista de archivos de PCR abiertos recientemente.

Repeat a Run (Repetir una serie): abre el Explorador de Windows en la ubicación de los archivos de PCR guardados, donde puede localizar una serie para su repetición.

Exit (Salir): cierra CFX Manager Dx.

Comandos del menú View (Vista)

Application Log (Registro de aplicación): muestra un registro de uso de software desde la instalación inicial hasta el día actual.

Run Reports (Informes de serie): muestra una lista de informes de la serie.

Startup Wizard (Asistente de inicio): muestra el Startup Wizard (Asistente de inicio) en el panel principal.

Run Setup (Configuración de la serie): muestra la ventana Run Setup (Configuración de serie) en el panel principal.

Instrument Summary (Resumen del instrumento): muestra la ventana Instrument Summary (Resumen del instrumento) en el panel principal.

Detected Instruments (Instrumentos detectados): alterna entre mostrar y ocultar los instrumentos conectados en el panel izquierdo. De forma predeterminada, el software muestra los instrumentos conectados en el panel izquierdo.

Toolbar (Barra de herramientas): alterna entre mostrar y ocultar la barra de herramientas situada en la parte superior de la pantalla. De forma predeterminada, el software muestra la barra de herramientas.

Status Bar (Barra de estado): alterna entre mostrar y ocultar la barra de estado situada en la parte inferior de la pantalla. De forma predeterminada, el software muestra la barra de estado.

Show (Mostrar): abre un cuadro de diálogo desde el que puede:

- Ver o bloquear el registro de Status (Estado).
- Abrir y ver la carpeta de datos de CFX Manager Dx.
- Abrir y ver la carpeta de datos del usuario.
- Abrir y ver la carpeta del archivo LIMS.
- Abrir y ver la carpeta PrimePCR.
- Ver el historial de series.
- Ver las propiedades de todos los instrumentos conectados.

Comandos del menú User (Usuario)

Select User (Seleccionar usuario): abre la pantalla Login (Iniciar sesión), en la que puede seleccionar un usuario de la lista desplegable User Name (Nombre de usuario) e iniciar sesión en la aplicación.

Change Password (Cambiar contraseña): abre el cuadro de diálogo Change Password (Cambiar contraseña), en el que los usuarios pueden cambiar su contraseña del software CFX Manager Dx.

User Preferences (Preferencias de usuario): abre el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), en el que los usuarios pueden cambiar los ajustes predeterminados para:

- Enviar y recibir notificaciones por correo electrónico al finalizar la serie.
- Guardar archivos de datos.
- Crear protocolos mediante Protocol Editor (Editor de protocolos) y Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático).
- Crear placas.
- Analizar datos.
- Realizar análisis de expresión genética.
- Determinar la calidad de los datos.
- Exportar datos de instrumentos de CFX Dx.

User Administration (Administración de usuarios): abre el cuadro de diálogo User Administration (Administración de usuarios), en el que los administradores pueden crear usuarios, modificar los permisos de los roles y asignar roles a los usuarios.

Service LoginBio-Rad (Inicio de sesión del servicio de Bio-Rad): solo para uso del personal del servicio técnico de Bio-Rad. No seleccione este comando.

Comandos del menú Run (Serie)

User-defined Run (Serie definida por el usuario): abre la ventana Run Setup (Configuración de la serie), en la que puede configurar un protocolo definido por el usuario y una placa, y posteriormente procesar un experimento de PCR en los instrumentos seleccionados.

PrimePCR Run (Serie de PrimePCR): abre la pestaña Start Run (Iniciar serie) en la ventana Run Setup (Configuración de la serie) con el protocolo y disposición de la placa de PrimePCR predeterminados cargados en función del instrumento seleccionado.

End-Point Only Run (Solo serie de punto final): abre la pestaña Start Run (Iniciar serie) en la ventana Run Setup (Configuración de la serie) con el protocolo y la disposición de la placa de punto final predeterminados cargados en función del instrumento seleccionado.

Qualification Run (Serie de cualificación): abre la pestaña Start Run (Iniciar serie) en la ventana Run Setup (Configuración de la serie) con el protocolo de cualificación y la disposición de la placa predeterminados de Bio-Rad cargados en función del instrumento seleccionado.

Comandos del menú Tools (Herramientas)

Master Mix Calculator (Calculadora de mezcla maestra): abre la Master Mix Calculator (Calculadora de mezcla maestra), en la que puede crear una mezcla de reacción e imprimir los cálculos.

Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático): abre el cuadro de diálogo Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático), en el que puede crear un nuevo protocolo fácilmente.

T_a Calculator (Calculadora T_a): abre la calculadora T_a, en la que puede calcular fácilmente la temperatura de hibridación de los cebadores.

Dye Calibration Wizard (Asistente de calibración de tinte): abre el Dye Calibration Wizard (Asistente de calibración de tinte), en el que puede calibrar un instrumento para un nuevo fluorocromo.

Reinstall Instrument Drivers (Volver a instalar controladores del instrumento): vuelve a instalar las unidades que controlan la comunicación con los sistemas de PCR en tiempo real de Bio-Rad.

Zip Data and Log Files (Datos comprimidos y archivos de registro): abre un cuadro de diálogo en el que puede seleccionar archivos para comprimirlos y guardarlos en un archivo comprimido con el fin de almacenarlos o enviarlos por correo electrónico.

Batch Analysis (Análisis de lotes): abre el cuadro de diálogo Batch Analysis (Análisis de lotes), en el que puede establecer parámetros para analizar más de un archivo de datos a la vez.

Options (Opciones): abre un cuadro de diálogo en el que puede:

- Configurar los ajustes del servidor de correo electrónico.
- Configurar los ajustes de exportación para LIMS y otros archivos de datos.

Comandos del menú Help (Ayuda)

Consejo: El menú Help (Ayuda) está disponible en la barra de menús de todas las ventanas del software CFX Manager Dx.

Open Operation Manual (Abrir manual de funcionamiento): abre el PDF correspondiente a este manual.

Gene Expression Gateway Web Site (Sitio web de puerta de enlace de expresión genética): abre la página de inicio de Bio-Rad para el sistema CFX Dx.

PCR Reagents Web Site (Sitio web de reactivos de PCR): abre la página web de reactivos para PCR de Bio-Rad, donde podrá pedir reactivos, supermezclas, tintes y kits.

PCR Plastic Consumables Web Site (Sitio web de consumibles plásticos de PCR): abre la página web de plásticos y consumibles para PCR de Bio-Rad, donde podrá pedir placas, sellos de placa, tubos y tapas, y otros accesorios de plástico para PCR.

Software Web Site (Sitio web de software): abre el sitio web del software de análisis de PCR de Bio-Rad, donde podrá pedir versiones actualizadas del software CFX Manager Dx de Bio-Rad.

About (Acerca de): muestra información sobre los derechos de autor y la versión de CFX Manager Dx.

Comandos de la barra de herramientas



: abre el Explorador de Windows, desde donde puede navegar hasta un archivo de datos o un archivo de estudio génico y abrirlo.



: abre la Master Mix Calculator (Calculadora de mezclas maestras).



: abre la ventana Run Setup (Configuración de la serie).



: abre la ventana Run Setup (Configuración de la serie) con el protocolo PrimePCR predeterminado y la disposición de placa cargados en función del instrumento seleccionado.

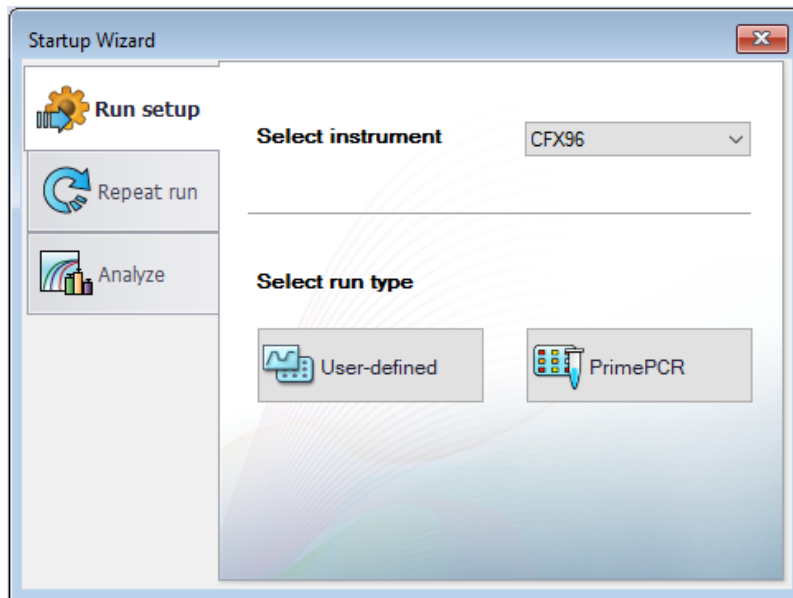


: abre el Startup Wizard (Asistente de inicio).

Startup Wizard (Asistente de inicio)

Cuando CFX Manager Dx se inicia, en el panel activo se muestra el Startup Wizard (Asistente de inicio). Desde el Startup Wizard (Asistente de inicio) puede:

- Seleccionar un instrumento de los instrumentos detectados y configurar una serie PrimePCR o definida por el usuario.
- Abrir y repetir una serie.
- Abrir un archivo de datos para analizar los resultados de una única serie o un archivo de estudio génico para los resultados de varias series de expresión génica.



Estas tareas se explican detalladamente en los siguientes capítulos.

Barra de estado

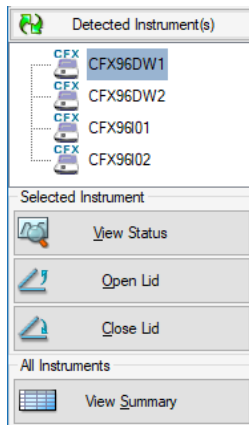
En la parte izquierda de la barra de estado situada en la parte inferior de la ventana principal del software se muestra el estado actual de los instrumentos detectados. En el lado derecho de la barra de estado se muestra el nombre del usuario actual y la fecha y hora.

Panel Detected Instruments (Instrumentos detectados)

El panel Detected Instruments (Instrumentos detectados) muestra todos los instrumentos conectados al ordenador de CFX Manager Dx. De forma predeterminada, cada instrumento aparece como un icono y por nombre aparece su número de serie.

Por ejemplo, la siguiente imagen muestra cuatro instrumentos detectados:

- Dos termocicladores C1000™ con módulos de reacción CFX96™ Deep Well (CFX96DW1 y CFX96DW2)
- Dos termocicladores C1000™ con módulos de reacción CFX96™ (CFX96I01 y CFX96I02)



Desde este panel puede realizar lo siguiente:

- Ver las propiedades y los tintes calibrados para un instrumento seleccionado.

Para obtener información sobre las propiedades de los instrumentos, consulte [Visualización de las propiedades de un instrumento en la página 61](#).

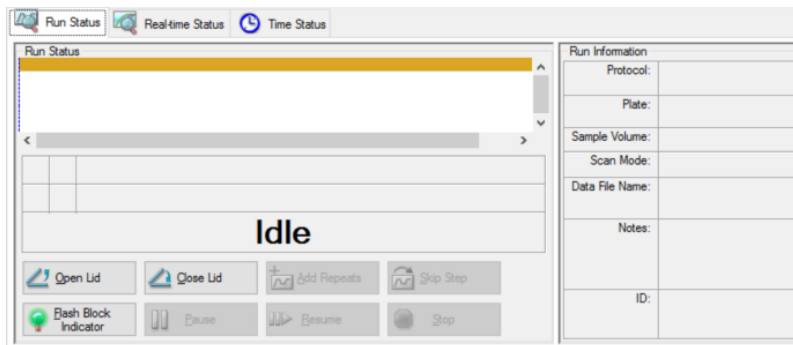
- Ver el estado de un instrumento conectado.
- Abrir la tapa motorizada del instrumento seleccionado.
- Cerrar la tapa motorizada del instrumento seleccionado.
- Ver el estado de todos los instrumentos conectados.

Para ver el estado de un instrumento conectado

- ▶ En el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados), seleccione el instrumento objetivo y realice una de las siguientes acciones:

- Haga clic en View Status (Ver estado) en la sección Selected Instrument (Instrumento seleccionado).
- Haga clic con el botón derecho y seleccione View Status (Ver estado) en el menú que aparece.

Aparece el cuadro de diálogo Run Details (Detalles de la serie), donde se muestra la pestaña Run Status (Estado de la serie). El estado del instrumento seleccionado aparece debajo del panel de estado de la serie, por ejemplo:



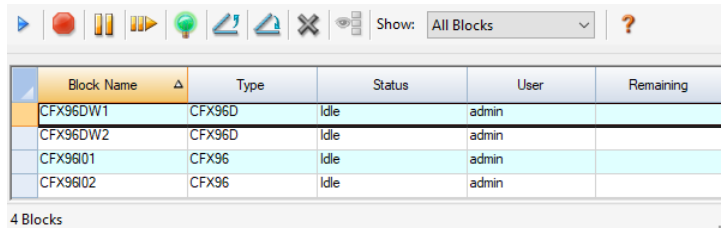
Para abrir o cerrar la tapa de un instrumento

- ▶ En el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados), seleccione el instrumento objetivo y realice una de las siguientes acciones:
 - Haga clic en Open Lid (Abrir tapa) o en Close Lid (Cerrar tapa) en la sección Selected Instrument (Instrumento seleccionado).
 - Haga clic con el botón derecho y seleccione la acción adecuada en el menú que aparece.
 - Abra el cuadro de diálogo Run Details (Detalles de la serie), seleccione la pestaña Run Status (Estado de la serie) y haga clic en Open Lid (Abrir tapa) o Close Lid (Cerrar tapa).

Para ver el estado de todos los instrumentos detectados

- ▶ Realice una de las siguientes acciones:
 - En la sección All Instruments (Todos los instrumentos) del panel Detected Instruments (Instrumentos detectados), haga clic en View Summary (Ver resumen).
 - En la barra de menús, seleccione View (Vista) > Instrument Summary (Resumen de instrumentos).

Aparece el cuadro de diálogo Instrument Summary (Resumen de instrumentos):



Block Name	Type	Status	User	Remaining
CFX96DW1	CFX96D	Idle	admin	
CFX96DW2	CFX96D	Idle	admin	
CFX9601	CFX96	Idle	admin	
CFX9602	CFX96	Idle	admin	

4 Blocks

Consejo: Si el sistema detecta únicamente un instrumento conectado, la sección All Instruments (Todos los instrumentos) no aparece en el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados). Para ver el resumen de instrumentos para un solo instrumento, seleccione View (Vista) > Instrument Summary (Resumen de instrumentos).

Controles de la barra de herramientas Instrument Summary (Resumen de instrumentos)

En la [Tabla 10](#) se enumeran los controles y funciones de la barra de herramientas Instrument Summary (Resumen de instrumentos).

Tabla 10. Controles de la barra de herramientas Instrument Summary (Resumen de instrumentos)











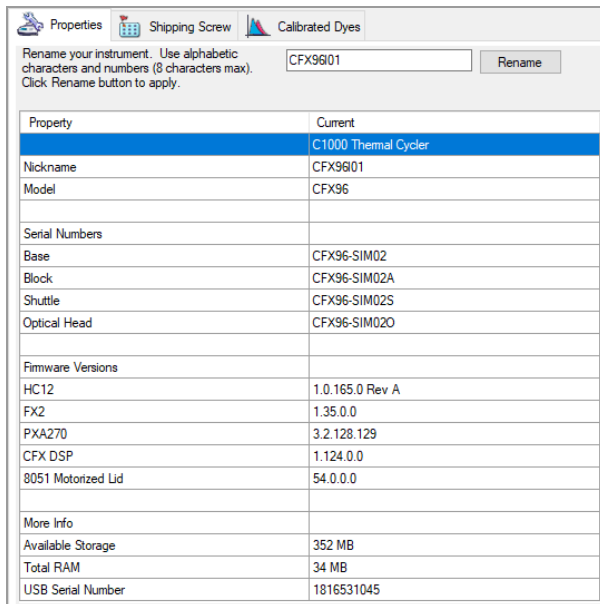
Botón	Nombre del botón	Función
	Crear una nueva serie	Crea una serie en el bloque seleccionado abriendo la ventana Run Setup (Configuración de la serie).
	Parar	Detiene la serie actual en los bloques seleccionados.
	Pausar	Pausa la serie actual en los bloques seleccionados.
	Continuar	Retoma la serie en los bloques seleccionados.
	Indicador flash de bloque	Ilumina el indicador LED en la tapa de los bloques seleccionados.
	Abrir tapa	Abre la tapa motorizada del bloque seleccionado.
	Cerrar tapa	Cierra la tapa motorizada del bloque seleccionado.
	Esconder bloques seleccionados	Oculto los bloques seleccionados en la lista Instrument Summary (Resumen de instrumentos).
	Mostrar todos los bloques	Muestra los bloques seleccionados en la lista Instrument Summary (Resumen de instrumentos).

Tabla 10. Controles de la barra de herramientas Instrument Summary (Resumen de instrumentos) (continuación)

Botón	Nombre del botón	Función
	Show (Mostrar)	Seleccione los bloques que se deben mostrar en la lista. Seleccione una de las opciones para mostrar todos los bloques detectados, todos los bloques inactivos, todos los bloques en procesamiento con el usuario actual o todos los bloques en procesamiento.

Visualización de las propiedades de un instrumento

Desde el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados) puede ver los detalles acerca de un instrumento seleccionado, incluidas sus propiedades, el estado de su tornillo de transporte y una lista de sus tintes calibrados (fluorocromos).



Para ver las propiedades del instrumento

- En el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados), haga clic con el botón derecho en el instrumento objetivo y seleccione Properties (Propiedades) en el menú que aparece.

Pestaña Properties (Propiedades)

En la pestaña Properties (Propiedades) se enumeran los detalles técnicos acerca del instrumento seleccionado incluidos el modelo, los números de serie de sus componentes y las versiones de firmware. El nombre predeterminado del instrumento (su número de serie) aparece en distintas ubicaciones, incluido el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados) y la barra de encabezado del cuadro de diálogo Instrument Properties (Propiedades del instrumento). Puede renombrar el instrumento para identificarlo con más facilidad.

Para renombrar un instrumento

- En la pestaña Instrument Properties (Propiedades del instrumento), escriba un nombre en el cuadro Rename (Renombrar) situado en la parte superior de la pestaña Properties (Propiedades) y haga clic en Rename (Renombrar).

El nuevo nombre aparece en la fila Nickname (Alias) de la pestaña Properties (Propiedades), así como en la barra de encabezado Instrument Properties (Propiedades del instrumento) y el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados).

Pestaña Shipping Screw (Tornillo de transporte)

En la pestaña Shipping Screw (Tornillo de transporte) se muestra el estado actual del tornillo de transporte para el instrumento seleccionado (retirado o instalado). En la pestaña también se incluyen instrucciones para instalar o retirar el tornillo de transporte rojo.

Consejo: Si el software detecta el tornillo de transporte, el cuadro de diálogo Instrument Properties (Propiedades del instrumento) mostrará automáticamente la pestaña Shipping Screw (Tornillo de transporte). Siga las instrucciones para retirar el tornillo.

Nota: Debe retirar el tornillo de transporte antes de poder utilizar el instrumento. Para obtener más información, consulte [Retirada del tornillo de transporte en la página 31](#).

Pestaña Calibrated Dyes (Tintes calibrados)

En la pestaña Calibrated Dyes (Tintes calibrados) se muestran los fluorocromos calibrados y las placas para el instrumento seleccionado.

	Fluorophore	Channel	Plate Type	Calibrated By	Date	Errors	Detail
1	Cal Gold 540	2	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
2	Cal Gold 540	2	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
3	Cal Orange 560	2	BR Clear	Factory	07/05/2013 14:	<input type="checkbox"/>	Info
4	Cal Orange 560	2	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
5	Cal Red 610	3	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
6	Cal Red 610	3	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
7	Cy5	4	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
8	Cy5	4	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
9	Cy5-5	4	BR Clear	Factory	07/05/2013 14:	<input type="checkbox"/>	Info
10	Cy5-5	4	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
11	FAM	1	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
12	FAM	1	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
13	HEX	2	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
14	HEX	2	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
15	Quasar 670	4	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
16	Quasar 670	4	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
17	Quasar 705	5	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
18	Quasar 705	5	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
19	ROX	3	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info

Para ver más información sobre una calibración, haga clic en el botón Info (Información) de la columna Detail (Detalle).

Antes de comenzar

Ajuste de las preferencias de usuario

Consejo: No es necesario realizar estas tareas para utilizar el software CFX Manager Dx. Puede omitir esta sección o llevar a cabo estas tareas en cualquier otro momento.

En CFX Manager Dx, puede personalizar su entorno de trabajo. Si el administrador creó usuarios del software, cada usuario podrá personalizar su entorno de trabajo. Si el administrador no creó usuarios, los cambios de las preferencias se aplicarán a todos los que inicien sesión en CFX Manager Dx. (Para obtener información sobre la creación de usuarios de CFX Manager Dx, consulte el [Apéndice B, Administración de usuarios y roles de CFX Manager Dx](#)).

Por ejemplo, en el menú Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario), puede realizar lo siguiente:

- Establecer una notificación por correo electrónico al completar la serie.
- Cambiar los ajustes predeterminados para:
 - La ubicación en la que desea guardar archivos.
 - Los archivos de configuración de la serie.
 - El prefijo de denominación de archivos.
- Establecer los parámetros predeterminados que se van a utilizar al crear un nuevo protocolo y placa.
- Establecer los parámetros predeterminados de análisis de datos y expresión genética.
- Personalizar los parámetros predeterminados de control de calidad.
- Personalizar los parámetros de exportación de datos.

En el menú Tools (Herramientas), puede realizar lo siguiente:

- Crear una mezcla maestra.
- Calibrar los tintes para un instrumento específico.

Nota: La mezcla maestra y la calibración de tintes están disponibles para todos los que inicien sesión en CFX Manager Dx.

En esta sección se explica detalladamente cómo realizar estas tareas.

Configuración de notificaciones por correo electrónico

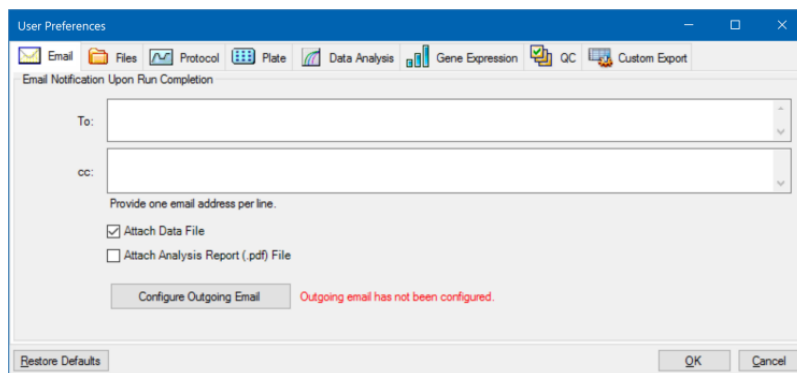
Puede conectar CFX Manager Dx a su servidor de correo electrónico saliente para enviar notificaciones por correo electrónico de finalización de la serie a una lista de usuarios. También puede elegir adjuntar un archivo de datos y un informe de análisis a la lista de usuarios. Para configurar la conexión entre CFX Manager Dx y su servidor SMTP, consulte [Conexión de CFX Manager Dx a un servidor SMTP en la página 66](#).

Nota: La posibilidad de un usuario de acceder a las funciones de configuración de correo electrónico depende del grupo del usuario y los permisos asignados por el administrador. Para obtener más información sobre la administración de usuarios y sus roles, consulte [Administración de usuarios en la página 271](#).

Para configurar las notificaciones por correo electrónico

1. Seleccione Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario) para abrir el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).

Aparece el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), donde se muestra la pestaña Email (Correo electrónico).



Nota: Se le informa en caso de que el sistema detecte que no ha configurado un servidor SMTP válido para CFX Manager Dx. Haga clic en Configure Outgoing Email (Configurar correo electrónico saliente) para abrir el cuadro de diálogo Options (Opciones) y configurar el servidor SMTP de correo electrónico. Para obtener más información, consulte [Conexión de CFX Manager Dx a un servidor SMTP en la página 66](#).

2. En el cuadro de texto To (Para), escriba la dirección de correo electrónico de cada persona a la que desee informar de la finalización de la serie. Todos los destinatarios recibirán un correo electrónico una vez finalizada la serie.

Nota: Debe introducir cada dirección de correo electrónico en líneas distintas. Pulse Enter (Entrar) o Return (Retorno) después de introducir cada dirección.

3. (Opcional) En el cuadro de texto cc, escriba la dirección de correo electrónico de cada destinatario al que desee enviar una copia de cada notificación por correo electrónico.
4. (Opcional) De forma predeterminada, todos los destinatarios recibirán una copia del archivo de datos como un archivo adjunto. Desactive esta casilla de verificación si no desea adjuntar una copia del archivo de datos.
5. (Opcional) Seleccione Attach Analysis Report (Adjuntar informe de análisis) para adjuntar un PDF del informe de análisis al correo electrónico.
6. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).

Para editar una dirección de correo electrónico de un destinatario

- Modifique la dirección de correo electrónico según sea necesario y haga clic en OK (Aceptar).

Para eliminar un destinatario de correo electrónico

1. Seleccione el destinatario de correo electrónico y pulse la tecla Delete (Eliminar).
2. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Importante: Al hacer clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), se restablecen todas las preferencias de todas las pestañas a los ajustes originales de fábrica. Tenga cuidado al hacer clic en este botón.

Conexión de CFX Manager Dx a un servidor SMTP

Importante: Algunos proveedores de servicios de correo web comercial (como Yahoo! y Gmail) han incrementado la seguridad del correo electrónico. Si utiliza estas cuentas, debe habilitar el ajuste para **permitir aplicaciones menos seguras** en la configuración de su cuenta para permitir que CFX Manager Dx envíe correos electrónicos. Consulte la información de seguridad de su proveedor de servicios de correo web para obtener más información.

Debe establecer una conexión entre CFX Manager Dx y su servidor de correo electrónico antes de que el software pueda enviar una notificación por email.

Para conectar CFX Manager Dx con un servidor de correo electrónico

1. Realice una de las siguientes acciones:
 - Seleccione User (Usuario) > User Preferences (Preferencias de usuario) y haga clic en Configure Outgoing Email (Configurar correo saliente) en la pestaña Email (Correo electrónico).
 - Seleccione Tools (Herramientas) > Options (Opciones).

Aparece el cuadro de diálogo Options (Opciones), donde se muestra la pestaña Email (Correo electrónico).

The screenshot shows the 'Options' dialog box with the 'Email' tab selected. The fields are as follows:

- SMTP Server Name: smtp.gmail.com
- Port: 587
- Use SSL:
- Use Default "From" Address:
- "From" Address: (empty)
- Authentication Required:
- User Name: your account name@gmail.com
- Password: (empty)
- Test Email Address: (empty)
- Test Attachment: Attachment Size in MB: 0.5

2. Proporcione la siguiente información para su empresa:

- **SMTP Server Name (Nombre de servidor SMTP):** nombre del servidor de correo saliente de su empresa.
- **Port (Puerto):** número de puerto de su servidor SMTP. Normalmente es el 25.
- **Use SSL (Usar SSL):** opción de Capa de sockets seguros (SSL). Algunos servidores SMTP requieren este ajuste. Si su empresa no lo requiere, desactive esta casilla de verificación.
- **Use Default "From" Address (Usar dirección «De» de forma predeterminada):** nombre del servidor de correo electrónico de su empresa. Algunos servidores SMTP requieren que todos los correos enviados tengan una dirección «De» de un dominio determinado. Por ejemplo, nombre@suempresa.com. Si ese es el caso, desactive esta casilla de verificación y proporcione una dirección de correo electrónico válida.
- **Authentication Required (Se requiere autenticación):** si su sitio web requiere autenticación de cuenta, compruebe que esta casilla de verificación esté marcada.
- **User Name (Nombre de usuario):** nombre de una cuenta autenticada. Es necesario solo si está activada la casilla Authentication Required (Se requiere autenticación).
- **Password (Contraseña):** contraseña para la cuenta autenticada. Es necesario solo si está activada la casilla Authentication Required (Se requiere autenticación).

3. Para comprobar que los ajustes del servidor SMTP sean correctos, introduzca una dirección de correo electrónico válida en el cuadro de texto Test Email Address (Probar dirección de correo) y haga clic en Test Email (Probar correo).

Nota: Algunos servidores SMTP no permiten archivos adjuntos y otros permiten archivos adjuntos con un tamaño máximo específico. Si tiene la intención de enviar archivos de datos o informes a través de CFX Manager Dx, seleccione Test Attachment (Probar adjunto) y seleccione un valor de 5 megabytes (MB) o más en Attachment Size in MB (Tamaño del adjunto en MB).

4. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

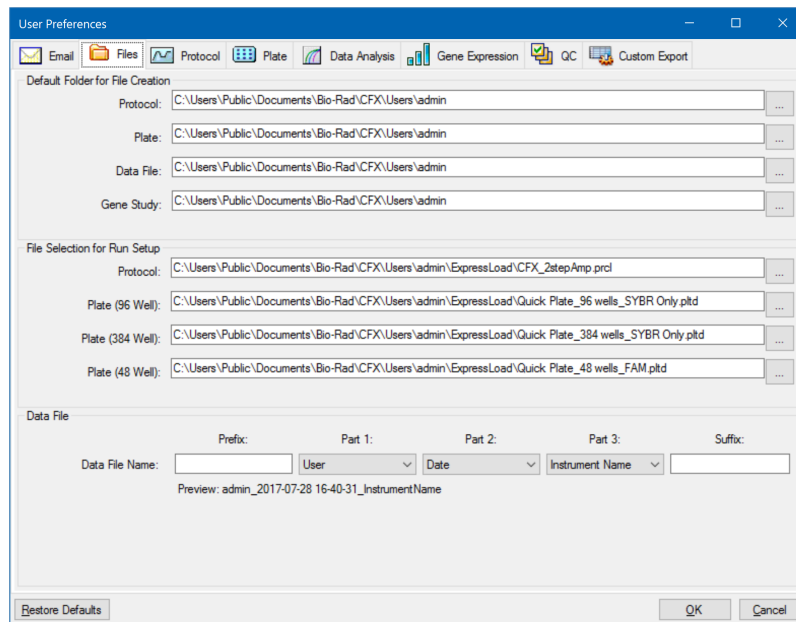
Cambio de los ajustes de archivo predeterminados

En la pestaña Files (Archivos) del cuadro de diálogo User Preference (Preferencia de usuario), puede cambiar lo siguiente:

- La ubicación predeterminada para guardar los archivos de CFX Manager Dx
- Los archivos predeterminados para la configuración de la serie
- Los parámetros de denominación de archivos predeterminados

Para cambiar los ajustes de archivo predeterminados

1. Seleccione Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario) para abrir el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).
2. En el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), seleccione la pestaña Files (Archivos).



3. En la sección Default Folder for File Creation (Carpeta predeterminada para creación de archivos), navegue hasta una carpeta predeterminada en la que desee que se guarden los nuevos archivos, y selecciónela. Puede seleccionar una ubicación distinta para cada tipo de archivo:
 - Protocolo
 - Placa
 - Archivo de datos
 - Estudio génico
4. En la sección File Selection for Run Setup (Selección de archivos para configuración de serie), navegue hasta los archivos de placa y de protocolo objetivo que deben aparecer cuando abra la ventana Experiment Setup (Configuración del experimento) y selecciónelos.
5. En la sección Data File (Archivo de datos), defina el prefijo o sufijo para los archivos de datos. Para cualquier parte, seleccione un nuevo valor de la lista desplegable. También puede introducir valores personalizados para el prefijo y el sufijo en los cuadros de texto Prefix (Prefijo) y Suffix (Sufijo).

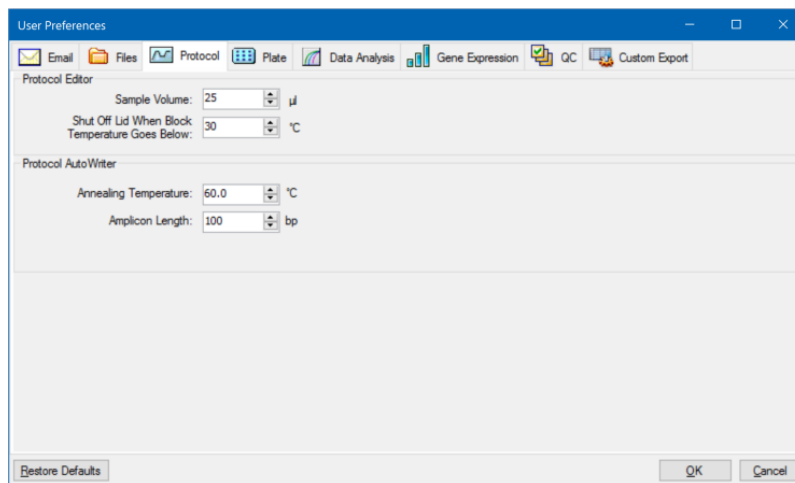
CFX Manager Dx muestra una vista previa del nombre de archivo debajo de los cuadros de selección.
6. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Importante: Al hacer clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), se restablecen todas las preferencias de todas las pestañas a los ajustes originales de fábrica. Tenga cuidado al hacer clic en este botón.

Ajuste de los parámetros predeterminados del protocolo

Para establecer los parámetros predeterminados del protocolo para Protocol Editor (Editor de protocolos) y Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático)

1. Seleccione Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario) para abrir el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).
2. En el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), seleccione la pestaña Protocol (Protocolo).



3. En la sección Protocol Editor (Editor de protocolos), especifique los valores para los siguientes ajustes que aparecen en Protocol Editor (Editor de protocolos):
 - **Sample volume (Volumen de la muestra):** volumen de cada muestra en los pocillos (en µl).
 - **Lid Shutoff temperature (Temperatura de desconexión de la tapa):** temperatura en °C a la cual el calentador de la tapa se apaga durante una serie.
4. En la sección Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático), especifique los valores para los siguientes ajustes que aparecen en el Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático):
 - **Annealing temperature (Temperatura de hibridación):** temperatura en °C para experimentos que utilizan ADN polimerasa de iProof™, ADN polimerasa de iTaq™ u otras polimerasas.
 - **Amplicon length (Longitud de amplicón):** longitud del amplicón en bp.
5. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Importante: Al hacer clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), se restablecen todas las preferencias de todas las pestañas a los ajustes originales de fábrica. Tenga cuidado al hacer clic en este botón.

Ajuste de parámetros de placa predeterminados

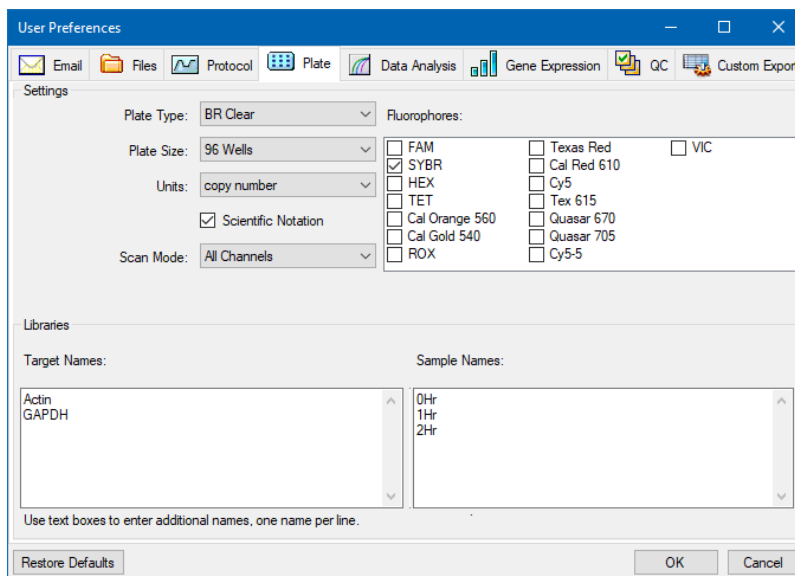
Los cambios que realiza en la pestaña Plate (Placa) están disponibles para todos los usuarios del software. Los cambios que realiza durante la configuración de la placa están disponibles para los usuarios después de guardar y cerrar el archivo de placa.

En el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), puede realizar lo siguiente:

- Establecer los parámetros de placa predeterminados.
- Añadir nuevos nombres de objetivos y muestras a las bibliotecas correspondientes.
- Eliminar nombres de objetivos y muestras de las bibliotecas correspondientes.

Para establecer los parámetros de placa predeterminados

1. Seleccione Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario) para abrir el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).
2. En el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), seleccione la pestaña Plate (Placa).



3. Especifique los valores de los siguientes ajustes para un nuevo archivo de placa. Estos valores aparecen en la ventana Plate Editor (Editor de placas):

- **Plate type (Tipo de placa)**

- **Plate size (Tamaño de la placa)**

- **Units (Unidades):** concentración de la plantilla inicial para los pocillos que contienen estándares.

CFX Manager Dx utiliza estas unidades para crear una curva estándar en la pestaña Data Analysis Quantification (Cuantificación del análisis de datos).

- **Scientific notation (Notación científica):** cuando se selecciona, CFX Manager Dx muestra las unidades de concentración en notación científica.

- **Scan mode (Modo de exploración):** número o tipo de canales que se van a explorar durante una serie.

- **Fluorophores (Fluorocromos):** fluorocromos predeterminados que aparecen en los controles de carga de pocillos de Plate Editor (Editor de placas).

- **Libraries (Bibliotecas):** nombres de objetivos y muestras que utiliza normalmente en los experimentos:

- Target names (Nombres de objetivos):** nombres de los genes y secuencias objetivo.

- Sample names (Nombres de las muestras):** nombres de las muestras del experimento o una característica identificadora para las muestras (por ejemplo, ratón1, ratón2, ratón3).

4. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Para añadir un nuevo nombre de objetivo o muestra

- ▶ En el cuadro adecuado de la biblioteca, escriba el nombre del objetivo o muestra y haga clic en OK (Aceptar).

Para eliminar un nombre de objetivo o muestra

- ▶ En el cuadro adecuado de la biblioteca, seleccione el nombre y pulse la tecla Delete (Eliminar) y, a continuación, haga clic en OK (Aceptar).

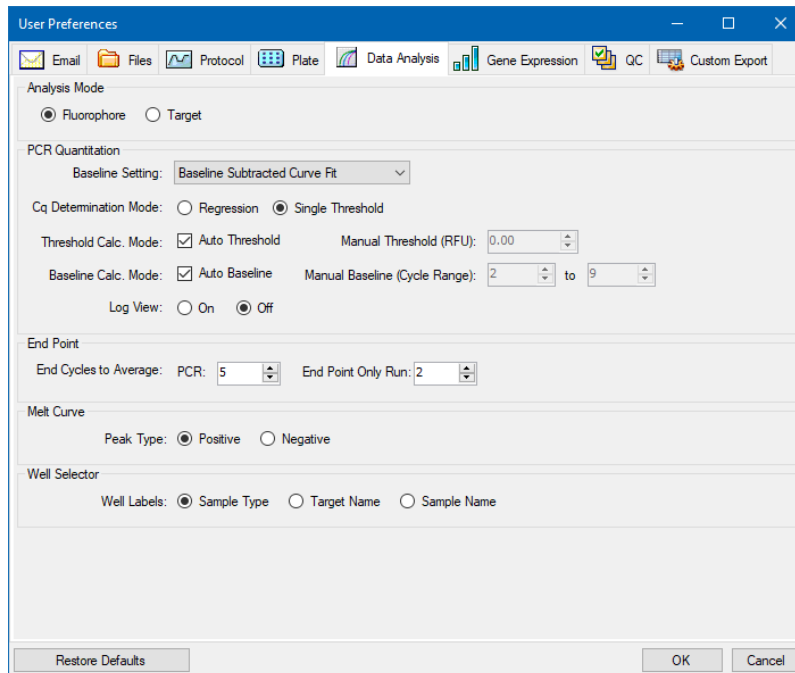
Importante: Los nombres que elimine de la biblioteca se eliminarán del software y dejarán de estar disponibles para los usuarios. Para restaurar los nombres de CFX Manager Dx predeterminados, haga clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados). Al hacer clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), se restablecen todas las preferencias de todas las

pestañas a los ajustes originales de fábrica. Tenga cuidado al eliminar los nombres de CFX Manager Dx predeterminados y al hacer clic en este botón.

Ajuste de parámetros de análisis de datos predeterminados

Para establecer los parámetros de análisis de datos predeterminados

1. Seleccione Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario) para abrir el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).
2. En el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), seleccione la pestaña Data Analysis (Análisis de datos).



3. En la sección Analysis Mode (Modo de análisis), elija el modo en que desea analizar los datos (fluorocromo u objetivo).
4. En la sección PCR Quantitation (Cuantificación de PCR), establezca los parámetros predeterminados para las siguientes opciones:

- **Baseline Setting (Ajustes de referencia):** método de referencia para el modo de análisis.
- **Cq Determination Mode (Modo de determinación de Cq):** modo en el que los valores de C_q se calculan para cada trazo de fluorescencia (regresión o umbral único).
- **Threshold Calc. Mode (Modo de calc. de umbral):** cantidad objetivo del punto final.

La opción predeterminada es Auto. Es decir, el software calcula automáticamente el objetivo del punto final. Para establecer un umbral específico, desactive la casilla de verificación Auto

e introduzca la cantidad final, calculada en unidades de fluorescencia relativa (RFU). El valor máximo es de 65 000,00 RFU. Los archivos de datos para series posteriores utilizarán estos ajustes del umbral.

- **Baseline Calc. Mode (Modo de calc. de referencia):** valor de referencia para todos los trazos.

La opción predeterminada es Auto. Es decir, el software calcula automáticamente la referencia para todos los trazos. Para establecer un valor de referencia específico, desactive la casilla de verificación Auto e introduzca un valor mínimo y máximo para el rango de ciclo (1 a 9999). Los archivos de datos para series posteriores utilizarán este rango de ciclo.

- **Log View (Vista de registro):** determina cómo se muestran los datos de amplificación en el software:
 - On (Activar):** los datos de amplificación se muestran en un gráfico semilogarítmico.
 - Off (Desactivar):** (de forma predeterminada) los datos de amplificación se muestran en un gráfico lineal.

5. En la sección End Point (Punto final), elija el número de ciclos finales por término medio al realizar los cálculos de punto final:

- **PCR:** número de ciclos finales por término medio para los datos de cuantificación (el valor predeterminado es 5).
- **End Point Only run (Procesar solo punto final):** número de ciclos finales por término medio para los datos de punto final (el valor predeterminado es 2).

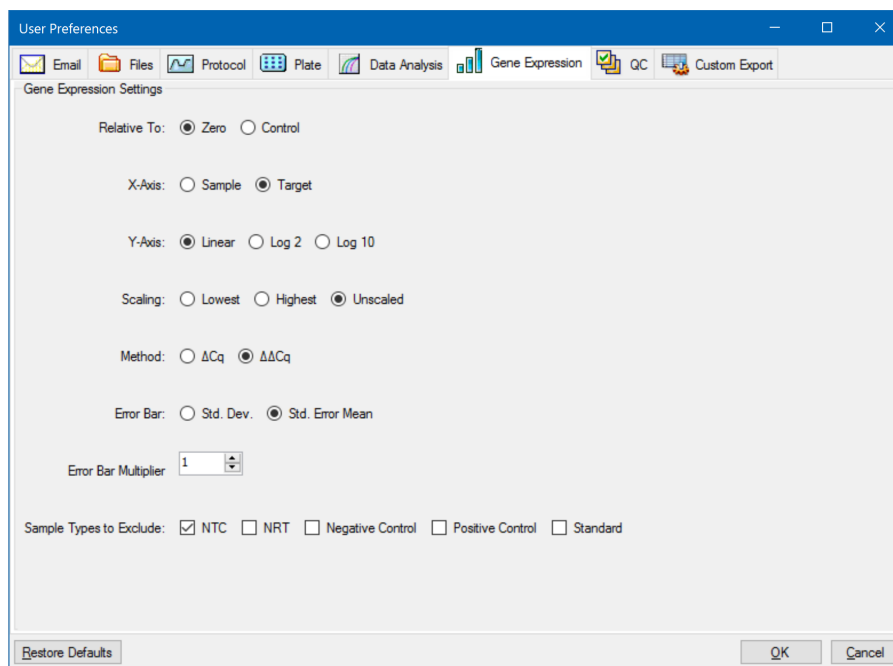
6. En la sección Melt Curve (Curva de fusión), elija el tipo de pico que se va a detectar (positivo o negativo).
7. En la sección Well Selector (Selector de pocillos), elija cómo mostrar las etiquetas de los pocillos (por tipo de muestra, nombre de la muestra o nombre de objetivo).
8. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Importante: Al hacer clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), se restablecen todas las preferencias de todas las pestañas a los ajustes originales de fábrica. Tenga cuidado al hacer clic en este botón.

Ajuste de los parámetros del archivo de datos de expresión genética

Para establecer los parámetros predeterminados de un nuevo archivo de datos de expresión genética

1. Seleccione Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario) para abrir el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).
2. En el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), seleccione la pestaña Gene Expression (Expresión genética).



3. Especifique los valores para los siguientes ajustes:
 - **Relative to (Relativos a):** representa los datos de expresión genética en relación con un control (con origen en 1) o con cero:
 - Zero (Cero):** el software ignora el control. Es el valor predeterminado cuando no se asigna ninguna muestra de control en la ventana Experiment Settings (Ajustes del experimento).
 - Control (Control):** el software calcula los datos en relación con la muestra de control asignada en la ventana Experiment Setup (Configuración del experimento).
 - **X-axis (Eje X):** representa la muestra o el objetivo en el eje x.
 - **Y-axis (Eje Y):** representa la escala lineal, de log2 o de log10 en el eje y.

- **Scaling (Ajustar a escala):** opción de ajustar a escala del gráfico (la opción predeterminada está sin ajustar a escala):
 - Highest (Superior):** el software ajusta a escala el gráfico al punto de datos más alto.
 - Lowest (Inferior):** el software ajusta a escala el gráfico al punto de datos más bajo.
 - Unscaled (Sin ajustar a escala):** el software presenta los datos sin escala en el gráfico.
- **Mode (Modo):** modo de análisis, o cantidad relativa (ΔC_q), o bien expresión normalizada ($\Delta\Delta C_q$).
- **Error Bar (Barra de error):** variabilidad de los datos presentada como la desviación estándar Std. Dev. (Desv. est.) o el error estándar de la media (Std. Error Mean).
- **Error Bar Multiplier (Multiplicador de barras de error):** multiplicador de desviación estándar utilizado para representar las barras de error (el valor predeterminado es 1).
Puede aumentar el multiplicador a 2 o 3.
- **Sample Types to Exclude (Tipos de muestra para excluir):** tipos de muestra que se van a excluir del análisis.

Puede seleccionar una o más muestras que desee excluir del análisis. Para excluir todos los tipos de muestra, desactive todas las casillas de verificación de cualquier tipo de muestra seleccionado.

4. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Importante: Al hacer clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), se restablecen todas las preferencias de todas las pestañas a los ajustes originales de fábrica. Tenga cuidado al hacer clic en este botón.

Personalización de las reglas de control de calidad

En CFX Manager Dx, puede establecer normas de control de calidad que se aplican a los datos de la ventana de análisis de datos. El software valida los datos conforme a las reglas que establezca.

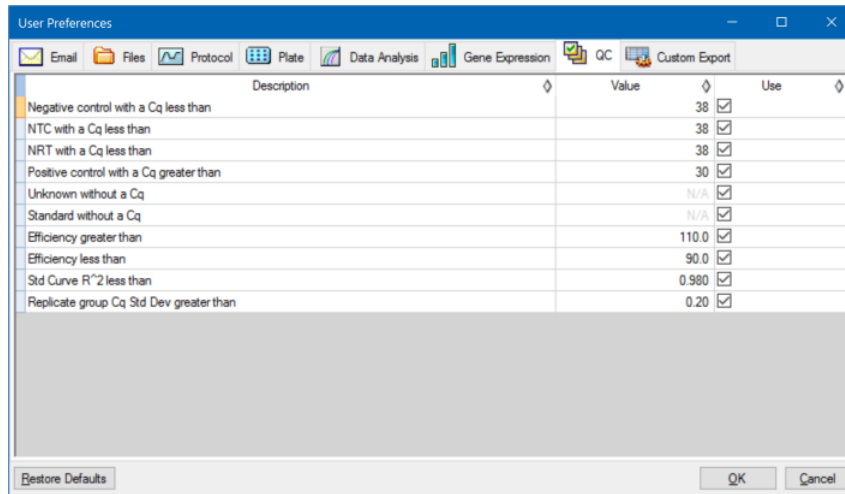
Nota: De forma predeterminada, todas las reglas de control de calidad están habilitadas.

Consejo: Puede excluir fácilmente los pocillos que fallan en un parámetro de CC del análisis en el módulo QC (CC) de la ventana Data Analysis (Análisis de datos).

Para personalizar las reglas de control de calidad

1. Seleccione Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario) para abrir el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).

2. En el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), seleccione la pestaña QC (CC).



donde:

- **NTC**: sin control de plantilla
 - **NRT**: sin control de transcriptasa inversa
 - **Efficiency (Eficiencia)**: eficiencia de la reacción
 - **Std Curve R² (Curva estándar R²)**: valor de R al cuadrado para la curva estándar
 - **Replicate group Cq Std Dev (Desv. est. Cq grupo repeticiones)**: desviación estándar calculada para cada grupo de repeticiones
3. Para cada regla de CC, realice una de las siguientes acciones:
 - Para usar el valor predeterminado, no haga nada.
 - Para cambiar el valor, haga clic en el cuadro de texto Value (Valor) correspondiente, introduzca un nuevo valor y pulse la tecla Enter (Entrar).
 - Para deshabilitar la regla, desactive la casilla de verificación Use (Usar).
 4. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Importante: Al hacer clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), se restablecen todas las preferencias de todas las pestañas a los ajustes originales de fábrica. Tenga cuidado al hacer clic en este botón.

Personalización de los parámetros de exportación de datos

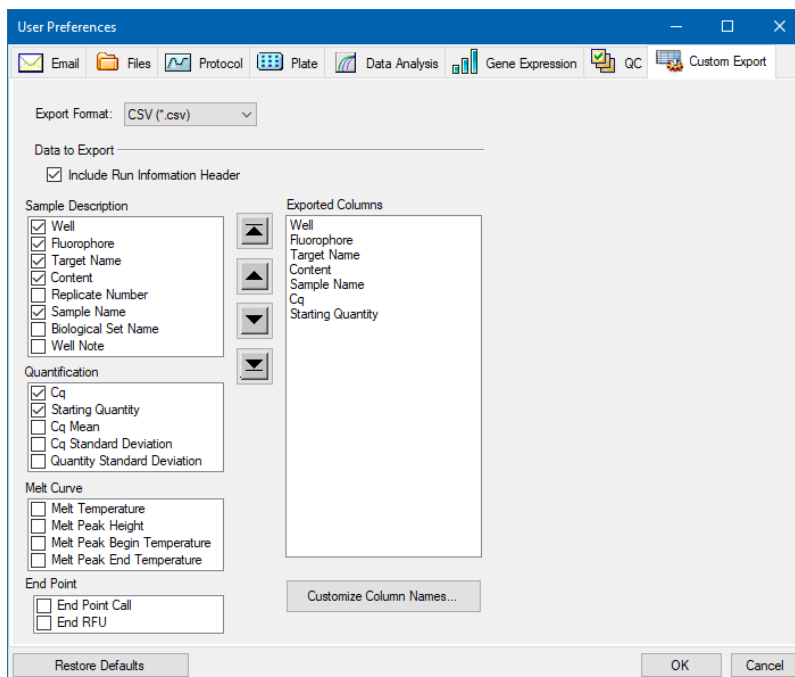
Puede exportar datos de CFX Manager Dx en los siguientes formatos:

- Texto (.txt)
- CSV (.csv)
- Excel 2007 (.xlsx)
- Excel 2003 (.xls)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

Puede especificar el tipo de datos que desea exportar y personalizar el resultado de los datos exportados.

Para personalizar los parámetros de exportación de datos

1. Seleccione Users (Usuarios) > User Preferences (Preferencias de usuario) para abrir el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).
2. En el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), seleccione la pestaña Custom Export (Exportación personalizada).



3. En la lista desplegable Export Format (Formato de exportación), seleccione el formato al que desea exportar los datos.
4. En la sección Data to Export (Datos para exportar), active o desactive las casillas de verificación para el tipo de datos que desea exportar. Los puntos seleccionados aparecen en el cuadro de lista Exported Columns (Columnas exportadas).

Nota: De forma predeterminada, la información de la serie se incluye en el encabezado. Desactive esta casilla de verificación si no desea incluir la información de la serie.

5. Puede modificar el orden de visualización de los elementos seleccionados en los resultados.
En el cuadro de lista Exported Columns (Columnas exportadas), resalte el elemento y haga clic en los botones de flecha a la izquierda de la lista para desplazarlo hacia arriba o hacia abajo.
6. También puede modificar los nombres de columnas de los elementos seleccionados en los resultados:
 - a. Haga clic en Customize Column Names (Personalizar nombres de columnas).
Aparece el cuadro de diálogo Column Name Customizer (Personalizador de nombres de columna).
 - b. Para cada nombre de columna predeterminado que desee cambiar, escriba el nuevo nombre en su campo Custom Name (Nombre personalizado).
 - c. Realice una de las siguientes acciones:
 - Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y volver a la pestaña Custom Export (Exportación personalizada). El nuevo nombre aparece entre paréntesis junto al nombre predeterminado en el cuadro de lista Exported Columns (Columnas exportadas).
 - Haga clic en Cancel (Cancelar) para borrar los cambios y volver a la pestaña Custom Export (Exportación personalizada).
7. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Importante: Al hacer clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), se restablecen todas las preferencias de todas las pestañas a los ajustes originales de fábrica. Tenga cuidado al hacer clic en este botón.

Creación de una mezcla maestra de reacción

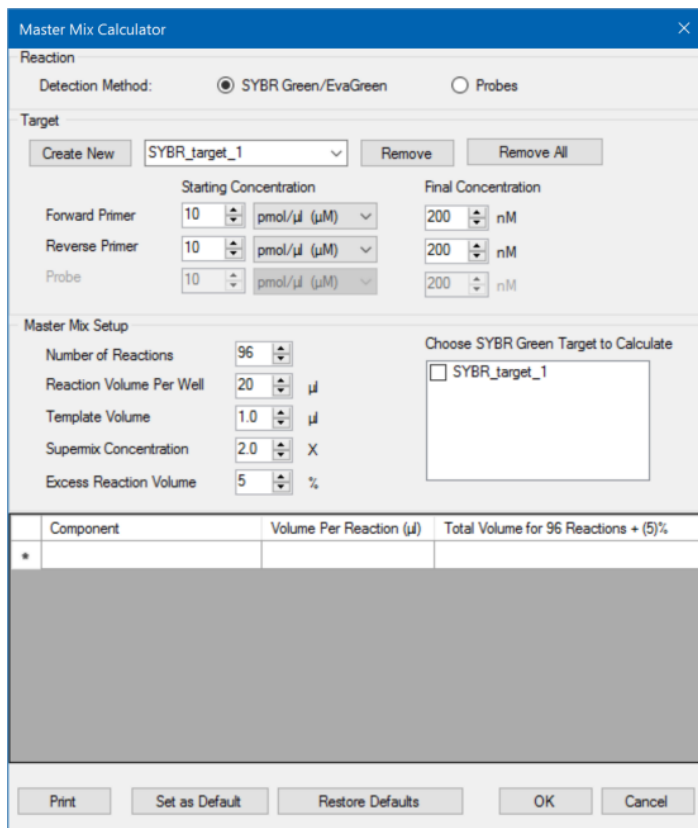
Mediante la calculadora de mezcla maestra de CFX Manager Dx, puede calcular fácilmente el volumen necesario de cada componente en la mezcla maestra. Puede imprimir la tabla de cálculo de

mezcla maestra en la impresora predeterminada y guardar los cálculos de cada objetivo para su uso posterior.

Para crear una mezcla maestra de reacción con la calculadora de mezcla maestra

1. Para abrir una calculadora de mezcla maestra, realice una de las siguientes acciones:
 - Seleccione Tools (Herramientas) > Master Mix Calculator (Calculadora de mezcla maestra).
 - Haga clic en Master Mix Calculator (Calculadora de mezcla maestra) en la barra de herramientas.

Aparece Master Mix Calculator (Calculadora de mezcla maestra).



2. En la sección Reaction (Reacción), elija un método de detección:
 - SYBR® Green/EvaGreen
 - Probes (Sondas)

3. Para crear un nuevo objetivo, en la sección Target (Objetivo) haga clic en Create New (Crear nuevo). Aparece un nuevo nombre de objetivo en la lista desplegable de objetivos.
4. (Opcional) Para cambiar el nombre de objetivo predeterminado:
 - a. Resalte el nombre del objetivo en la lista desplegable de objetivos.
 - b. Escriba un nuevo nombre de objetivo en el cuadro de Target (Objetivo).
 - c. Pulse la tecla Enter (Entrar).
5. Ajuste las concentraciones iniciales y finales de los cebadores de avance y retroceso y de cualquier sonda.
6. En la sección Master Mix Setup (Configuración de la mezcla maestra), ajuste los valores para:
 - El número de reacciones que se van a procesar
 - El volumen de reacciones por pocillo
 - El volumen de plantilla por pocillo
 - La concentración de supermezcla por pocillo
 - El volumen excedente de reacciones por pocillo
7. (Opcional) Realice los pasos 2-6 en tantos objetivos como sea necesario.
8. En la sección Choose Target to Calculate (Seleccionar objetivo para calcular), elija el objetivo que desea calcular.

Consejo: Puede calcular solo uno, varios o todos los objetivos al mismo tiempo.

Los volúmenes calculados de los componentes necesarios en cada objetivo seleccionado aparecen en la tabla de mezcla maestra.
9. Haga clic en Set as Default (Establecer como predeterminado) para establecer la entrada de cantidades en las secciones Target (Objetivo) y Master Mix Setup (Configuración de mezcla maestra) como nuevos valores predeterminados.
10. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar el contenido del cuadro de diálogo Master Mix Calculator (Calculadora de mezcla maestra).

Para imprimir la tabla de cálculos de mezcla maestra

- Para imprimir una tabla de cálculos de mezcla maestra, haga clic en Print (Imprimir).

La tabla de cálculos se imprime en la impresora predeterminada.

Para guardar la tabla de cálculos de mezcla maestra como un PDF

- ▶ Cambie la impresora predeterminada a un controlador de PDF y haga clic en Print (Imprimir) en Master Mix Calculator (Calculadora de mezcla maestra).

Para borrar los objetivos

- ▶ Seleccione el objetivo utilizando la lista desplegable de objetivos y haga clic en Remove (Eliminar).

Importante: Al eliminar un objetivo de la lista de objetivos también lo elimina de cualquier cálculo de mezcla maestra en el que se utilice. Tenga cuidado al eliminar un objetivo.

Calibración de nuevos tintes

Los sistemas CFX96™ Dx vienen calibrados de fábrica para fluorocromos utilizados normalmente en placas con pocillos blancos y pocillos transparentes. En la [Tabla 11](#) se enumeran los fluorocromos y el canal para los que está calibrado cada instrumento.

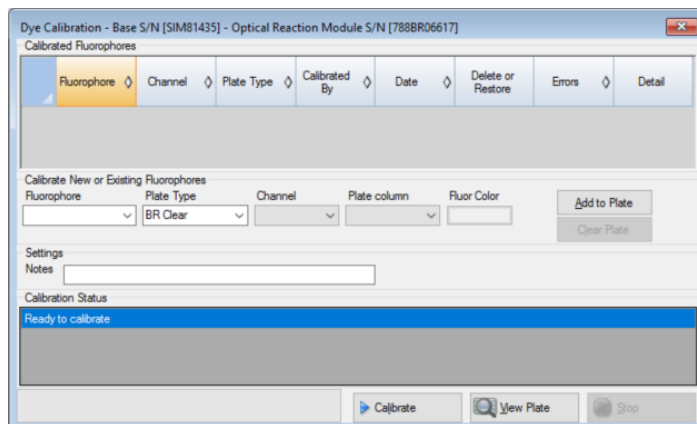
Nota: Los sistemas CFX96 también incluyen un canal dedicado a química FRET. Este canal no requiere calibración para tintes específicos.

Tabla 11. Fluorocromos y canales calibrados de fábrica

Fluorocromos	Canal	Excitación, nm	Detección, nm
FAM, SYBR® Green I	1	450-490	515-530
VIC, HEX, CAL Fluor Gold 540, Cal Fluor Orange 560	2	515-535	560-580
ROX, Texas Red, CAL Fluor Red 610, TEX 615	3	560-590	610-650
CY5, Quasar 670	4	620-650	675-690
Quasar 705, Cy5.5	5	672-684	705-730

Para calibrar nuevos tintes para sistemas CFX

1. En la ventana de inicio, seleccione un instrumento objetivo en el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados).
2. Seleccione Tools (Herramientas) > Calibration Wizard (Asistente de calibración) para abrir el asistente Dye Calibration (Calibración de tinte).



Los fluorocromos ya calibrados para el instrumento objetivo aparecen en la tabla Calibrated Fluorophores (Fluorocromos calibrados).

3. En la sección Calibrate New or Existing Fluorophores (Calibrar fluorocromos nuevos o existentes), seleccione el fluorocromo que desea calibrar en la lista desplegable.

Si el nombre del fluorocromo no aparece en la lista, introduzca el nombre en el cuadro de texto para añadirlo a la lista.
4. Seleccione el tipo de placa para el fluorocromo.

Si el tipo de placa no está incluido en la lista, introduzca el nombre en el cuadro de texto para añadirlo a la lista.
5. Seleccione un canal para el fluorocromo.
6. Seleccione una columna de la placa para el fluorocromo.
7. (Opcional) Escriba un color para asociarlo con el fluorocromo.
8. Haga clic en Add to Plate (Añadir a placa) para añadir el fluorocromo.
9. (Opcional) Repita los pasos 3-8 para añadir cada fluorocromo que desee calibrar para la placa.
10. Cuando termine de añadir los fluorocromos, haga clic en View Plate (Ver placa) para abrir la ventana Pure Dye Plate Display (Visualización de placa de tinte puro).

Utilice esta ventana como guía para cargar los tintes en la placa.
11. Prepare una placa de 96 pocillos para calibrar los tintes:
 - a. Pipetee la disolución del tinte en cada pocillo siguiendo el patrón que aparece en Pure Dye Plate Display (Visualización de placa de tinte puro).
 - b. Para cada fluorocromo, llene cuatro pocillos con 50 μ l (placa de 96 pocillos) de solución de tinte de 300 nM. Observe que al menos la mitad de la placa contiene pocillos vacíos.
 - c. Selle la placa con el método de sellado que utilizará en el experimento.
12. Coloque la placa de calibración en el bloque y cierre la tapa.
13. En el asistente de calibración de tinte, haga clic en Calibrate (Calibrar) y después en OK (Aceptar) para confirmar que la placa se encuentra en el bloque.
14. Cuando el software CFX Manager Dx completa la serie de calibración, aparece un cuadro de diálogo. Haga clic en Yes (Sí) para terminar la calibración y abrir el visor de calibración de tintes.
15. Haga clic en OK (Aceptar) para cerrar la ventana.

Capítulo 6 Creación de protocolos

Un protocolo es un conjunto de pasos que se procesan en una secuencia específica. En el software CFX Manager™ Dx, todos los pasos están asociados con opciones del instrumento. Por ejemplo, los pasos indican al instrumento que controle el bloque y la temperatura de la tapa, aplique una diferencia de temperatura en el bloque, realice una lectura de placa o realice un análisis de curva de fusión. Cada opción se especifica para placas y tipos de serie distintos.

CFX Manager Dx incluye dos opciones para crear protocolos: Protocol Editor (Editor de protocolos) y Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático).

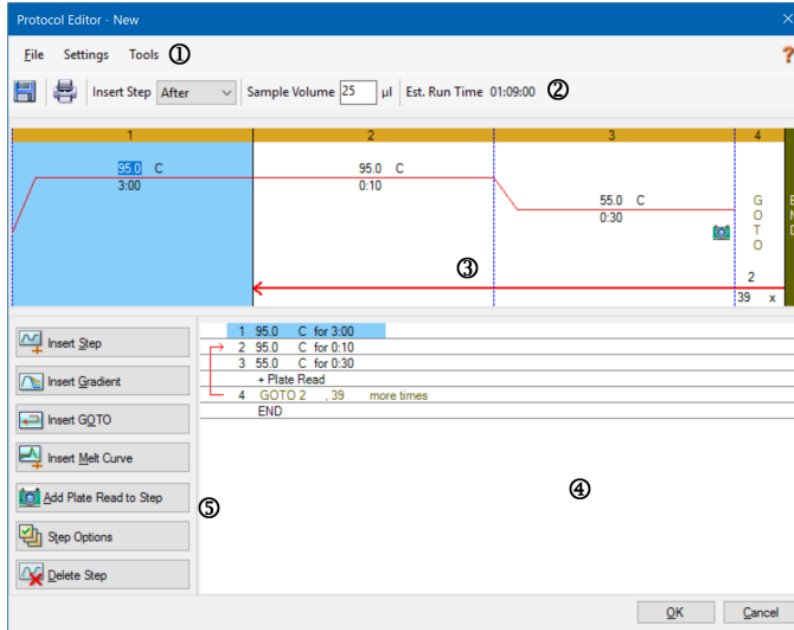
El editor de protocolos incluye las siguientes funciones:

- Controles del protocolo estándar para crear protocolos rápidamente
- Capacidad de calcular rápidamente un gradiente para el número de filas seleccionado
- Capacidad de calcular rápidamente el tiempo de serie para el número de tipo de placa seleccionado
- Capacidad de editar los pasos del protocolo
- Capacidad de guardar protocolos para su reutilización
- Capacidad de imprimir el protocolo en una impresora predeterminada

El escritor de protocolos automático genera automáticamente un protocolo de PCR personalizado con arranque en caliente, desnaturalización inicial, hibridación y pasos de extensión utilizando los parámetros que proporcione. A continuación puede ver una representación gráfica del protocolo sugerido y editar, procesar o guardar el protocolo.

Ventana Protocol Editor (Editor de protocolos)

Utilice el editor de protocolos para crear, abrir, revisar y editar un protocolo. De forma predeterminada, el editor de protocolos se abre mostrando un protocolo genérico en tiempo real de dos pasos para una placa de 96 pocillos.



LEYENDA

1. La barra de menús proporciona un acceso rápido a los comandos del menú File (Archivo), Settings (Ajustes) y Tools (Herramientas).
2. La barra de herramientas proporciona un acceso rápido para guardar e imprimir el protocolo, determinar dónde introducir un paso, establecer el volumen de la muestra y ver el tiempo de serie del protocolo estimado.
3. El panel principal muestra una representación gráfica del protocolo.
4. El panel inferior muestra el esquema del protocolo.
5. El panel izquierdo muestra los controles del protocolo que puede añadir para personalizar el protocolo.

Comandos del menú File (Archivo)

Save (Guardar): guarda el protocolo actual.

Save As (Guardar como): guarda el protocolo actual con un nombre nuevo o en una nueva ubicación.

Close (Cerrar): cierra el editor del protocolos.

Comandos del menú Settings (Ajustes)

Lid Settings (Ajustes de tapa): abre el cuadro de diálogo Lid Settings (Ajustes de tapa), desde el que puede cambiar o establecer la temperatura de la tapa.

Comandos del menú Tools (Herramientas)

Gradient Calculator (Calculadora de gradiente): abre un cuadro de diálogo desde el que puede seleccionar el tipo de bloque para un paso de gradiente. El valor predeterminado es de 96 pocillos.

Run time Calculator (Calculadora de tiempo de serie): abre un cuadro de diálogo desde el que puede seleccionar el tipo de placa y el modo de exploración para calcular el tiempo de la serie estimado en la ventana Run Setup (Configuración de la serie). El valor predeterminado es de 96 pocillos, todos los canales.

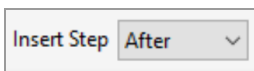
Comandos de la barra de herramientas



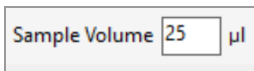
: guarda el archivo de protocolo actual.



: imprime la ventana seleccionada.

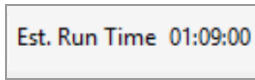


: utilice este comando para seleccionar dónde desea insertar los pasos relacionados con el paso seleccionado actualmente.



: utilice este comando para introducir un volumen de muestra en µl. Los volúmenes de las muestras varían dependiendo del tipo de bloque:

- Para un bloque de 96 pocillos profundos, el rango es 0-125 µl.
- Para un bloque de 96 pocillos, el rango es 0-50 µl.



: muestra el tiempo de la serie estimado en función de los pasos del protocolo, tasa de aumento y el tipo de bloque seleccionado.

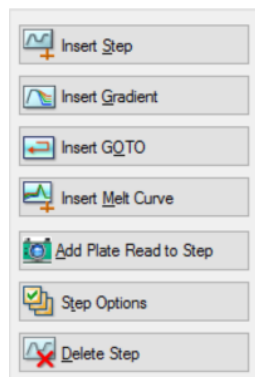


: muestra información de ayuda sobre los protocolos.

Controles de edición de protocolos

El panel izquierdo de la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos) incluye controles que puede utilizar para crear protocolos.

Cada control consiste en un conjunto de parámetros que representan un paso en el protocolo. Puede modificar cada parámetro, o añadir o eliminar parámetros para personalizar el protocolo. En esta sección se describen las opciones en cada control.



- **Insert Step (Insertar paso):** inserta un paso antes o después del paso seleccionado. Puede editar los valores de temperatura y tiempo de espera en la visualización gráfica o en el esquema del protocolo.
- **Insert Gradient (Insertar gradiente):** inserta un paso de gradiente en función del tipo de bloque de pocillos seleccionado en la calculadora de gradientes. Puede editar el rango de gradiente en el panel Gradient (Gradiente) cuando se inserta un paso de gradiente.
- **Insert GOTO (Insertar GOTO):** inserta un paso de ciclaje (bucle) que informa al software para que repita pasos específicos en secuencia para un número específico de ciclos. Las repeticiones comienzan después de que se complete el primer ciclo. Por ejemplo,

puede informar al software para que realice 39 repeticiones de los pasos 2-4. Después de la última repetición, el software habrá realizado los pasos 2-4 un total de 40 veces. Puede editar el paso de volver a (GOTO) y el número de ciclos en la visualización gráfica o en el esquema del protocolo.

- **Insert Melt Curve (Insertar curva de fusión):** inserta un paso de lectura de la curva de fusión.
- **Insert Plate Read to Step (Insertar lectura de placa en el paso):** añade un comando de lectura de placa al paso seleccionado. Una lectura de placa mide la cantidad de fluorescencia al final de un ciclo. Por lo general, el paso de lectura de placa es el último paso de un bucle GOTO.

Consejo: Después de añadir un comando de lectura de placa a un paso, el botón cambia a Remove Plate Read (Eliminar lectura de placa) cuando selecciona dicho paso.

- **Remove Plate Read (Eliminar lectura de placa):** elimina un comando de lectura de placa del paso seleccionado.

Consejo: Después de eliminar un comando de lectura de placa de un paso, el botón cambia a Add Plate Read to Step (Añadir lectura de placa al paso) al seleccionar dicho paso.

- **Step Options (Opciones del paso):** abre el cuadro de diálogo Step Options (Opciones del paso) y muestra las opciones disponibles para el paso seleccionado. Consulte [Step Options \(Opciones del paso\) en la página 91](#) para obtener información más detallada sobre las opciones del paso.

Consejo: También puede acceder a Step Options (Opciones del paso) haciendo clic con el botón derecho en el paso en la visualización gráfica.

- **Delete Step (Eliminar paso):** elimina el paso seleccionado del protocolo.

Step Options (Opciones del paso)

Abra el cuadro de diálogo Step Options (Opciones del paso) para ver las opciones que puede añadir, cambiar o eliminar de un paso.

- **Plate Read (Lectura de placa):** cuando se selecciona, añade una lectura de placa al paso.
- **Temperature (Temperatura):** establece la temperatura objetivo para el paso seleccionado.
- **Gradient (Gradiente):** establece el rango de gradiente para el paso; el rango es 1-24 °C.

Nota: Un gradiente se procesa con la temperatura más baja en la parte delantera del bloque (en esta imagen, la fila H) y la temperatura más alta en la parte trasera del bloque (en esta imagen, la fila A).

- **Increment (Incremento):** cantidad que debe aumentar (o disminuir) la temperatura del paso seleccionado; la cantidad de este valor se añade a la temperatura objetivo con cada ciclo. El rango es de $\pm 0,1$ a 10 °C.

Nota: Para disminuir la temperatura, escriba un signo menos (–) delante del valor numérico (por ejemplo, -5 °C).

- **Ramp Rate (Tasa de aumento):** tasa de aumento para el paso seleccionado; el rango depende del tamaño del bloque.
- **Time (Tiempo):** tiempo de espera para el paso seleccionado.
- **Extend (Extender):** cantidad de tiempo (en segundos) para ampliar o disminuir el paso seleccionado; esta opción se añade al tiempo de espera de cada ciclo; el rango es de 1 a 60 segundos.
- **Beep (Señal sonora):** una vez seleccionado, se emite una señal sonora al final del paso.

Consejo: Si introduce un número que está fuera del rango de opción, el software cambia el número a la entrada más cercana dentro del rango.

Creación de un protocolo en el editor de protocolos

Mediante el editor de protocolos, puede crear archivos de protocolo personalizados. También puede editar y guardar archivos de protocolo previamente guardados o archivos de protocolo de muestra enviados con el software CFX Manager Dx.

Para crear un nuevo archivo de protocolo, realice una de las siguientes acciones:

- Abra un archivo de protocolo en el editor de protocolos.

Consejo: Puede abrir un protocolo nuevo o existente en el editor de protocolos.

- Configure un nuevo protocolo.
- Añada pasos al protocolo en el panel de control de protocolos.
- Edite las propiedades de los pasos.
- Guarde el protocolo.

Consejo: Para crear un nuevo protocolo a partir de un archivo de protocolo guardado previamente o de muestra, consulte [Apertura de un protocolo existente en el editor de protocolos en la página 94](#).

Apertura de un nuevo archivo de protocolo en el editor de protocolos

CFX Manager Dx ofrece varias opciones para abrir un nuevo archivo de protocolo:

- Desde la ventana de inicio
- Desde el cuadro de diálogo Startup Wizard (Asistente de inicio)
- Desde el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie)

Para abrir un nuevo archivo de protocolo desde la ventana de inicio

- ▶ Seleccione File (Archivo) > New (Nuevo) > Protocol (Protocolo).

Se abre la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos), que muestra el archivo de protocolo predeterminado.

Consejo: Para obtener información sobre cómo configurar su protocolo predeterminado, consulte [Cambio de los ajustes de archivo predeterminados en la página 68](#).

Para abrir un nuevo archivo de protocolo desde el asistente de inicio

1. En la ventana de inicio, realice una de las siguientes acciones para abrir el asistente de inicio si no está a la vista:

- Seleccione View (Vista) > Startup Wizard (Asistente de inicio).
- Haga clic en Startup Wizard (Asistente de inicio) en la barra de herramientas.

De forma predeterminada, el asistente de inicio muestra la pestaña Run Setup (Configuración de la serie) con el tipo de instrumento CFX96™ seleccionado.

2. Si es necesario, seleccione el tipo de instrumento en la lista desplegable.
3. Haga clic en User-defined (Definida por el usuario) como el tipo de serie.

El cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie) se abre en la pestaña Protocol (Protocolo) y muestra el archivo de protocolo predeterminado.

4. Haga clic en Create New (Crear nuevo).

Se abre la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos), que muestra el protocolo en tiempo real predeterminado.

Para abrir un nuevo protocolo desde el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie)

1. En la ventana de inicio, realice una de las siguientes acciones para abrir el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie):

- Seleccione Run (Serie) > User-defined Run (Serie definida por el usuario).
- Haga clic en User-defined Run Setup (Configuración de la serie definida por el usuario) en la barra de herramientas.

El cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie) se abre en la pestaña Protocol (Protocolo) y muestra el archivo de protocolo predeterminado.

2. Haga clic en Create New (Crear nuevo).

Se abre la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos), que muestra el protocolo en tiempo real predeterminado.

Apertura de un protocolo existente en el editor de protocolos

CFX Manager Dx proporciona archivos del protocolo de muestra que puede editar y guardar como protocolos nuevos personalizados. También puede crear un nuevo protocolo a partir de un protocolo personalizado existente.

Para abrir un archivo de protocolo de muestra

1. En la ventana de inicio, seleccione File (Archivo) > Open (Abrir) > Protocol (Protocolo).
De forma predeterminada, el Explorador de Windows abre la ubicación de la carpeta Sample files (Archivos de muestra) de CFX Manager Dx.
2. Abra la carpeta Sample files (Archivos de muestra). Aparecen las siguientes carpetas:
 - **ConventionalProtocols (Protocolos convencionales)**: contiene archivos de protocolo de ejemplo para el análisis de PCR tradicional.
 - **DataFiles (Archivos de datos)**: contiene archivos de datos de ejemplo que puede utilizar para explorar las funciones de CFX Manager Dx.
 - **MeltCalibration (Calibración de fusión)**: contiene archivos de protocolo de ejemplo para su uso con el software de análisis de fusión de precisión de Bio-Rad.
 - **Plates (Placas)**: contiene archivos de placa de ejemplo.
 - **RealTimeProtocols (Protocolos en tiempo real)**: contiene archivos de protocolo de ejemplo para el análisis de PCR en tiempo real.
3. Abra la carpeta del protocolo del tipo de serie que desea realizar, ya sea ConventionalProtocols (Protocolos convencionales) o RealTimeProtocols (Protocolos en tiempo real).
4. Seleccione el protocolo de su elección y haga clic en Open (Abrir).
El protocolo de muestra se abre en la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos).
5. Seleccione File (Archivo) > Save As (Guardar como) y guarde el protocolo con un nombre nuevo o en una nueva carpeta.

Para abrir un protocolo existente

1. En la ventana de inicio, realice una de las siguientes acciones:
 - Seleccione File (Archivo) > Open (Abrir) > Protocol (Protocolo), navegue hasta el protocolo objetivo, selecciónelo y haga clic en Open (Abrir).
 - Abra Startup Wizard (Asistente de inicio) y realice una de las siguientes acciones:
 - Para editar el protocolo mostrado, haga clic en Edit Selected (Editar seleccionado).
 - Para editar un protocolo existente, haga clic en Select Existing (Seleccionar existente) y navegue hasta el archivo objetivo.

El protocolo se abre en la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos).

2. Seleccione File (Archivo) > Save As (Guardar como) y guarde el protocolo con un nombre nuevo o en una nueva carpeta.

Configuración de un nuevo protocolo

Consejo: Si en el archivo de protocolo se incluyen los parámetros necesarios (por ejemplo, si está editando un archivo de placa existente), puede omitir esta sección. Continúe en [Adición de pasos a un protocolo en la página 98](#).

Los nuevos archivos de protocolo requieren los siguientes parámetros:

- Tipo de bloque
- Modo de exploración para el tipo de bloque seleccionado
- Temperatura de la tapa
- Volumen de la muestra

Ajuste del tipo de bloque

CFX Manager Dx calcula automáticamente los aumentos de temperatura para los pasos de gradiente en función del tipo de bloque.

Nota: El tipo de placa establecido en Protocol Editor (Editor de protocolos) debe ser el mismo que el de la placa en el módulo de reacción.

Para establecer el tipo de bloque

- ▶ En la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos), seleccione Tools (Herramientas) > Gradient Calculator (Calculadora de gradiente) y elija el tipo de placa adecuado de la lista desplegable que aparece.

Selección del modo de exploración para el tipo de bloque elegido

Para determinar el tiempo de serie del protocolo, seleccione el tipo de bloque objetivo y el modo de exploración.

Para seleccionar el tipo de bloque y el modo de exploración

- ▶ En la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos), seleccione Tools (Herramientas) > Run time Calculator (Calculadora de tiempo de serie) y elija el tipo de placa adecuado y el modo de exploración de la lista desplegable que aparece.

Ajuste de la temperatura de la tapa

CFX Manager Dx establece la temperatura de la tapa predeterminada en 105,0 °C.

Puede cambiar los ajustes predeterminados o apagar el calentador de tapa según resulte necesario para el protocolo.

Consejo: Puede cambiar la temperatura de tapa predeterminada en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario). Consulte [Ajuste de los parámetros predeterminados del protocolo en la página 70](#).

Para ajustar la temperatura de la tapa

1. En la ventana Plate Editor (Editor de placas), seleccione Settings (Ajustes) > Lid Settings (Ajustes de tapa).

Aparece el cuadro de diálogo Lid Settings (Ajustes de tapa).

2. Realice una de las siguientes acciones:

- Seleccione User Defined (Definido por el usuario) e introduzca un valor de temperatura en el cuadro de texto.
- Seleccione Turn Off Lid Heater (Apagar calentador de tapa).

3. Haga clic en OK (Aceptar) para aceptar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo.

Ajuste del volumen de la muestra

De forma predeterminada, CFX Manager Dx establece el volumen de la muestra para cada pocillo en 25 µl. Sin embargo, el rango de sistema CFX Dx es de 0-125 µl.

El instrumento utiliza uno de los dos modos de control de temperatura para determinar cuándo la muestra alcanza la temperatura objetivo en un protocolo:

- **Calculated mode (Modo calculado):** cuando el volumen de la muestra se establece en un volumen adecuado para el bloque, el instrumento calcula la temperatura de la muestra en función de su volumen. Este es el modo estándar.
- **Block mode (Modo bloque):** cuando el volumen de la muestra se establece en cero (0) µl, el instrumento registra la temperatura de la muestra como la misma que la temperatura del bloque medida.

Para establecer el volumen de la muestra para un bloque específico

- ▶ En la ventana Plate Editor (Editor de placas), escriba el valor correcto en el cuadro de texto Sample Volume (Volumen de la muestra) de la barra de herramientas.

Consejo: Puede cambiar el volumen de la muestra predeterminada en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario). Consulte [Cambio de los ajustes de archivo predeterminados en la página 68](#).

Adición de pasos a un protocolo

Para añadir un paso a un protocolo

1. Abra el protocolo en la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos).
2. Determine dónde desea insertar el nuevo paso. En la barra de herramientas, seleccione Before (Antes) o After (Después) en la lista desplegable Insert Step (Insertar paso).
3. En el gráfico, seleccione el paso anterior o posterior a aquel en que desea insertar el nuevo paso.
4. En el panel izquierdo, haga clic en Insert Step (Insertar paso).
5. Para cambiar la temperatura o el tiempo de espera, haga clic en el valor predeterminado del gráfico o el esquema del protocolo y escriba un nuevo valor.
6. (Opcional) En el panel izquierdo, haga clic en Step Options (Opciones del paso) para mostrar el cuadro de diálogo Step Options (Opciones del paso) y modifique las opciones disponibles para el paso seleccionado.

Consejo: Puede acceder al cuadro de diálogo Step Options (Opciones del paso) del menú contextual en el panel del gráfico o en el panel del esquema del protocolo.

7. Haga clic en OK (Aceptar) y, a continuación, en Yes (Sí) para guardar los cambios realizados en el protocolo.

Aparece el cuadro de diálogo Save As (Guardar como).

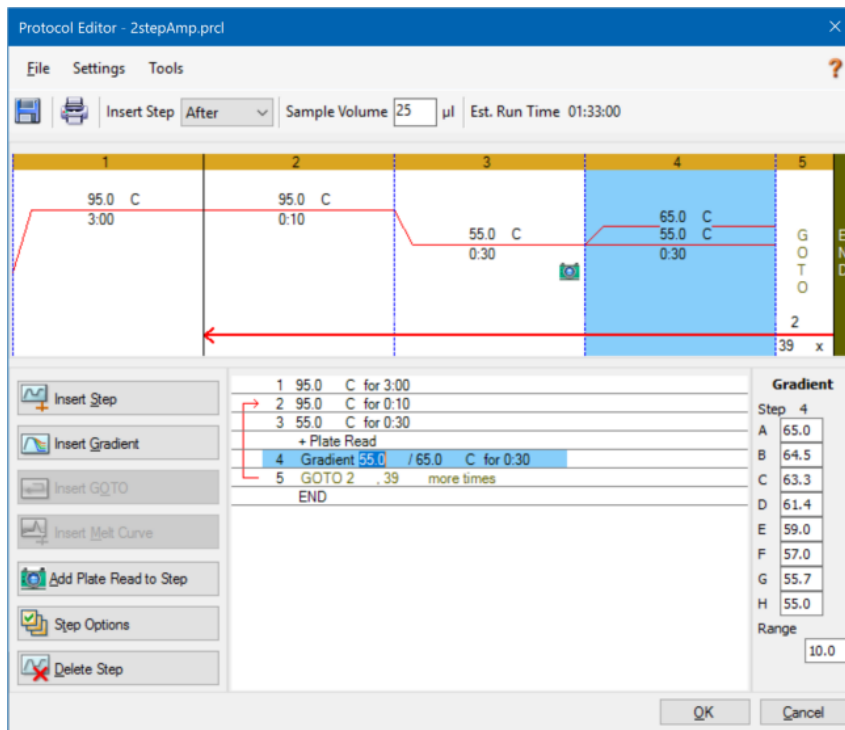
8. En el cuadro de diálogo Save As (Guardar como), escriba un nombre para el nuevo archivo de protocolo y haga clic en Save (Guardar).

Inserción de un paso de gradiente

Para insertar un paso de gradiente

1. Compruebe que el tamaño de la placa para el gradiente sea el mismo que el tipo de bloque del instrumento, 96 pocillos.
2. Si todavía no lo ha hecho, seleccione el tamaño de placa para el gradiente:
Seleccione Tools (Herramientas) > Gradient Calculator (Calculadora de gradiente) y elija el tipo de pocillo adecuado de la lista desplegable.
3. En la barra de herramientas, seleccione Before (Antes) o After (Después) en la lista desplegable Insert Step (Insertar paso).
4. En el gráfico o en el panel del esquema, seleccione el paso anterior o posterior al que desea insertar el nuevo paso de gradiente.

- En el panel izquierdo, haga clic en Insert Gradient (Insertar gradiente). El nuevo paso de gradiente queda resaltado en el gráfico y el panel del esquema, por ejemplo:



La temperatura de cada fila en el gradiente aparece en la tabla Gradient (Gradiente) del panel derecho.

- Para editar el rango de temperatura del gradiente, realice una de las siguientes acciones:
 - Haga clic en la temperatura predeterminada en el gráfico o panel del esquema, e introduzca una nueva temperatura.
 - Haga clic en Step Options (Opciones del paso) para introducir el rango de gradiente en la ventana Step Options (Opciones del paso).
 - Cambie el valor del Range (Rango) en la tabla Gradient (Gradiente).
- Para editar el tiempo de espera, haga clic en el tiempo predeterminado en la vista gráfica o de texto e introduzca un tiempo nuevo.
- Haga clic en OK (Aceptar) y, a continuación, en Yes (Si) para guardar los cambios.

Introducción de un paso GOTO

Nota: No puede insertar un paso GOTO dentro de un conjunto GOTO; no puede crear bucles GOTO anidados.

Para introducir un paso GOTO

1. En la barra de herramientas, seleccione Before (Antes) o After (Después) de la lista desplegable Insert Step (Insertar paso).
2. En el gráfico, seleccione el paso anterior o posterior al que desea insertar el paso GOTO.
3. En el panel izquierdo, haga clic en Insert GOTO (Insertar GOTO).
4. Para editar el número de paso GOTO o el número de repeticiones de GOTO, seleccione el número predeterminado en el gráfico o panel del esquema, e introduzca un nuevo valor.
5. Haga clic en OK (Aceptar) y, a continuación, en Yes (Sí) para guardar los cambios.

Inserción de un paso de curva de fusión

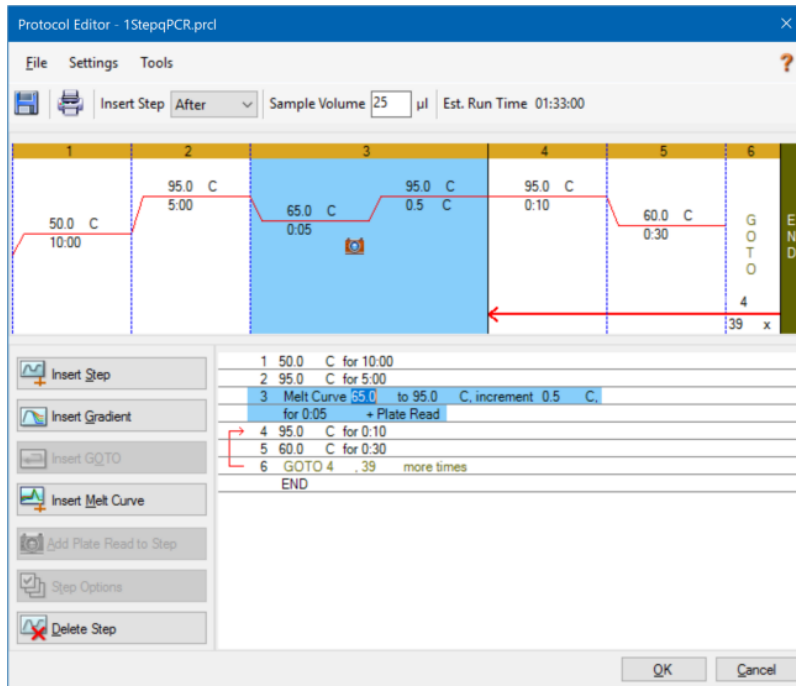
Consejo: No puede insertar un paso de curva de fusión dentro de un bucle GOTO.

Nota: El paso de curva de fusión incluye una suspensión de 30 segundos al principio del paso que no se muestra en el protocolo.

Para insertar un paso de curva de fusión

1. En la barra de herramientas, seleccione Before (Antes) o After (Después) de la lista desplegable Insert Step (Insertar paso).
2. En el gráfico, seleccione el paso anterior o posterior al que desea insertar el paso de curva de fusión.

3. En el panel izquierdo, haga clic en Insert Melt Curve (Insertar curva de fusión). El nuevo paso de la curva de fusión queda resaltado en el gráfico y el panel del esquema, por ejemplo:



4. Para editar el rango de temperatura de fusión o aumentar el tiempo, seleccione el número predeterminado en el gráfico o panel del esquema e introduzca un nuevo valor.
5. Haga clic en OK (Aceptar) y, a continuación, en Yes (Sí) para guardar los cambios.

Adición o eliminación de un paso de lectura de placa

Consejo: Después de añadir un comando de lectura de placa a un paso, el botón cambia a Remove Plate Read (Eliminar lectura de placa) cuando selecciona dicho paso.

Para añadir una lectura de placa a un paso

1. En la barra de herramientas, seleccione Before (Antes) o After (Después) de la lista desplegable Insert Step (Insertar paso).
2. En el gráfico, seleccione el paso antes o después del cual desea insertar el paso de lectura de placa.
3. En el panel izquierdo, haga clic en Add Plate Read to Step (Añadir lectura de placa al paso) para añadir una lectura de placa al paso seleccionado.
4. Haga clic en OK (Aceptar) y, a continuación, en Yes (Sí) para guardar los cambios.

Para eliminar una lectura de placa de un paso

- ▶ En el gráfico, seleccione el paso que contiene la lectura de placa y haga clic en Remove Plate Read (Eliminar lectura de placa) en el panel izquierdo.

Cambio de las opciones del paso

Para cambiar las opciones para un paso seleccionado

1. Seleccione el paso objetivo en el gráfico o el panel de esquema.
2. En el panel izquierdo, haga clic en Step Options (Opciones del paso) para abrir el cuadro de diálogo Step Options (Opciones del paso).

También puede hacer clic con el botón derecho en el paso objetivo en cualquier panel y seleccionar Step Options (Opciones del paso) en el menú que aparece.
3. Para añadir, modificar o eliminar opciones:
 - Introduzca un valor en el cuadro de texto adecuado.
 - Edite un valor en el cuadro de texto específico.
 - Active o desactive una casilla de verificación.
4. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo Step Options (Opciones del paso).
5. Haga clic en OK (Aceptar) y después en Yes (Sí) para guardar el protocolo.

Eliminación de un paso

Para eliminar un paso en el protocolo

1. Seleccione el paso en el panel del gráfico o esquema.
2. En el panel izquierdo, haga clic en Delete Step (Eliminar paso) para eliminar el paso seleccionado.
3. Haga clic en OK (Aceptar) y después en Yes (Sí) para guardar el protocolo.

Copia, exportación o impresión de un protocolo

Para copiar un protocolo

- ▶ Haga clic con el botón derecho en el esquema del protocolo y seleccione Copy Protocol (Copiar protocolo).

Puede pegar el esquema en un archivo .txt, .xls, .doc o .ppt.

Para exportar un protocolo

1. Haga clic con el botón derecho en el esquema del protocolo y seleccione Export Protocol (Exportar protocolo).
Aparece el cuadro de diálogo Save As (Guardar como).
2. (Opcional) En el Explorador de Windows, navegue hasta una carpeta en la que guardar el archivo del protocolo.
3. En File name (Nombre de archivo), escriba un nombre para el archivo de protocolo exportado.
4. Haga clic en Save (Guardar).

Para imprimir un protocolo

- ▶ Haga clic con el botón derecho en el esquema del protocolo y seleccione Print (Imprimir).

Puede imprimir el esquema del protocolo en la impresora predeterminada.

Creación de un protocolo con el escritor de protocolos automático

Importante: Bio-Rad no garantiza que el procesamiento de un protocolo creado con el escritor de protocolos automático siempre tenga como resultado un producto PCR en tiempo real.

El escritor de protocolos automático de CFX Manager Dx genera automáticamente protocolos de ciclaje basados en los siguientes parámetros de entrada:

- **Amplicon length (Longitud de amplicón):** longitud estimada del producto de PCR
- **Annealing temperature (Temperatura de hibridación):** T_a de reacción para los cebadores utilizados

Si se desconoce la T_a , puede utilizar la calculadora de T_a para calcularla automáticamente en función de sus secuencias de cebadores.

Nota: La T_a se ajusta a partir de la información de la temperatura (T_m) de fusión del cebador que se basa en la enzima seleccionada y la velocidad del protocolo.

- **Enzyme type (Tipo de enzima):** la enzima ADN polimerasa (ADN polimerasa de iTaq™, iProof™ u otro)

Si utiliza una enzima diferente a ADN polimerasa de iTaq o iProof, puede introducir más información, incluido el rango de gradiente, el tiempo de activación en caliente (en segundos) y el tiempo de extensión final (en segundos).

- **Run speed (Velocidad de procesamiento):** velocidad de reacción (estándar, rápida o ultrarrápida)

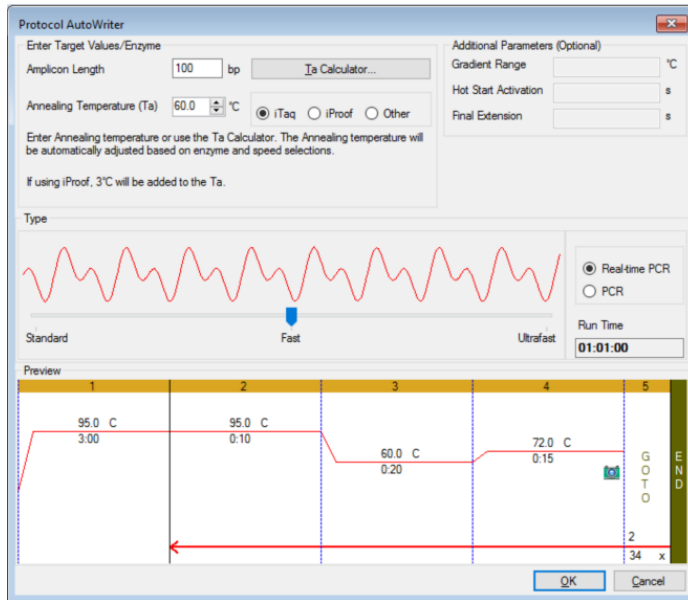
El escritor de protocolos automático optimiza el protocolo dependiendo de la configuración de velocidad seleccionada. El tiempo de procesamiento total se determina por el número de pasos y ciclos, el tiempo de incubación en cada paso y el tiempo que lleva alcanzar la uniformidad a la temperatura objetivo.

Mediante los parámetros que ha introducido y las pautas PCR estándar, el escritor de protocolos automático genera automáticamente un protocolo de PCR personalizado con pasos de arranque en caliente, desnaturalización inicial, hibridación y extensión. A continuación puede ver una representación gráfica del protocolo sugerido y editar, procesar o guardar el protocolo.

Para crear un nuevo protocolo utilizando el escritor de protocolos automático de CFX Manager Dx:

1. En la ventana de inicio, seleccione Tools (Herramientas) > Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático).

Aparece el cuadro de diálogo Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático).



2. En la sección Enter Target Values/Enzyme (Introducir valores objetivo/enzima), realice lo siguiente:

- Introduzca la temperatura de hibridación (T_a) para los cebadores, si se conoce.

Consejo: Consulte [Uso de la calculadora de \$T_a\$ en la página 106](#) para obtener más información.

Nota: Para obtener más información acerca de los cálculos utilizados en la calculadora de T_a , consulte Breslauer et al. 1986.

- Introduzca la longitud de amplicón en pares de bases (bp).
- Seleccione un tipo de enzima de la lista de opciones (ADN polimerasa de iTaq™, iProof™ u otro).

Consejo: Si selecciona Other (Otro) como el tipo de enzima, se activan los parámetros de la sección Additional Parameters (Optional) (Parámetros adicionales (opcional)).

3. Si ha seleccionado Other (Otro) como el tipo de enzima, puede agregar al protocolo cualquiera de los siguientes parámetros, o todos:
 - Rango de gradiente
 - Temperatura de activación en caliente
 - Tiempo de extensión final
4. En la sección Type (Tipo), mueva la barra deslizante para seleccionar una velocidad de protocolo (estándar, rápido o ultrarrápido). CFX Manager Dx ajusta el tiempo de procesamiento total.
5. Seleccione el tipo de PCR para realizar (el PCR en tiempo real es el predeterminado).

Con el PCR en tiempo real, CFX Manager Dx agrega un paso de lectura de placa para recopilar datos de fluorescencia.
6. En la sección Preview (Vista previa), revise el protocolo. Puede realizar cambios según sea necesario.
7. Realice una de las siguientes acciones:
 - Haga clic en OK (Aceptar) para guardar el protocolo nuevo. Después de guardarlo, el protocolo se abre en el asistente de inicio. Haga clic en Edit Selected (Editar seleccionado) para realizar cambios en el protocolo. Por ejemplo, es posible que necesite cambiar la temperatura de la tapa y el volumen de la muestra.
 - Haga clic en Cancel (Cancelar) para cerrar la ventana sin guardar el protocolo.

Uso de la calculadora de T_a

Cuando se desconoce la temperatura de hibridación del cebador, puede utilizar la calculadora de T_a para calcular el valor. Puede utilizar el valor en Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático) o en Protocol Editor (Editor de protocolos) para crear su protocolo.

Acerca de la calculadora de T_a

La calculadora T_a calcula el valor T_m para cada cebador, así como el valor T_a para el protocolo a la velocidad estándar.

La calculadora T_a del protocolo se basa en los valores T_m del cebador medio aplicando las siguientes reglas:

- Si la diferencia entre los valores del cebador T_m es >4 °C, $T_a = (\text{el menor de los valores de los dos cebadores } T_m + 2) - 4$ °C

- Si la diferencia entre los valores T_m es de ≤ 4 °C, $T_a = (\text{la media de los valores de los cebadores } T_m) - 4$ °C

Método de recuento de pares de base

Para cada cebador, la calculadora T_a utiliza el método de recuento de pares de base para secuencias de 14 pares de bases (bp) o menos.

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

donde w, x, y y z son los números de las bases A, T, G y C en la secuencia, respectivamente.

Método del vecino más cercano

Para secuencias de más de 14 bp de longitud se utiliza el método del vecino más cercano. En el método del vecino más cercano, los cálculos de la temperatura de fusión se basan en la relación termodinámica entre entropía (orden o medida de la aleatoriedad del oligonucleótido), entalpía (calor liberado o absorbido por el oligonucleótido), energía libre y temperatura.

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

donde:

- ΔH = valor de entalpía, cal/mol*K
- T = temperatura, Kelvin
- ΔS = valor de entropía, cal/mol*K
- ΔG = energía libre de Gibbs en cal/mol*K

El cambio en entropía y entalpía se calcula directamente sumando los valores para los pares de nucleótidos que se muestran en la [Tabla 12](#) (Breslauer et al. 1986).

La relación entre la energía libre y la concentración de reactivos y productos en equilibrio viene dada por:

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

donde R es la constante universal de los gases ideales (1,986 cal/mol*K).

Al sustituir G en las dos ecuaciones y resolver la T, se obtiene

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

suponiendo que la concentración de ADN y el complejo de ADN-cebador sea la misma.

Se ha demostrado empíricamente que hay un cambio de 5 kcal de energía libre (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996) durante la transición de ADN monocatenario a ADN de forma B. Se trata, posiblemente,

de energía de iniciación de la hélice. Finalmente, al añadir un ajuste de sal se obtiene la ecuación que utiliza la calculadora de T_a :

$$T = (\Delta H - 5(\text{Kcal/K}^*\text{mol})) / (\Delta S + (R * \ln(1/(\text{cebador})))) + 16,6 \log_{10} (\text{molaridad de la sal})$$

No se requiere una constante de ajuste para la concentración de la sal, dado que los diversos parámetros se determinaron a 1 M NaCl y el \log_{10} de 1 es cero.

Los cálculos termodinámicos suponen que la hibridación tiene lugar a un pH 7,0. Los cálculos de T_m suponen que las secuencias no son simétricas y contienen al menos una G o C.

La secuencia de oligonucleótido debería tener al menos 14 bases de longitud para ofrecer valores de T_m razonables. Con menos de 14 bases se utiliza el método de recuento de pares de base (consulte la [Tabla 12](#) a continuación).

Tabla 12. Constantes de interacción de Breslauer

Interacción		ΔH	ΔS	ΔG
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

Uso de la calculadora de T_a

Para utilizar la calculadora de T_a

- Para abrir la calculadora de T_a , realice una de las siguientes acciones:
 - Si se encuentra en el Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático), haga clic en T_a Calculator (Calculadora de T_a).
 - En la ventana de inicio, seleccione Tools (Herramientas) > T_a Calculator (Calculadora de T_a).

Aparece el cuadro de diálogo T_a Calculator (Calculadora de T_a)

- En el cuadro de texto Forward Primer (Cebador de avance), escriba o pegue la secuencia del cebador de avance.

Consejo: Puede utilizar los botones A, T, G, y C situados a la izquierda del cuadro de diálogo para introducir la secuencia.
- Escriba o pegue la secuencia del cebador de retroceso en el cuadro de texto Reverse Primer (Cebador de retroceso).
- Haga clic en Calculate (Calcular).

La calculadora de T_a calcula y muestra el T_m de cada cebador y el promedio de los valores T_m y T_a , por ejemplo:

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 (iTaq)	54.3	°C

Si los valores del cebador T_m distan por más de 4 °C, el Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático) utiliza el valor inferior de T_m del cebador + 2 °C como base para calcular el valor de T_a , que puede modificar posteriormente cambiando la enzima y la velocidad de reacción.

La calculadora de T_a genera una temperatura de hibridación para la velocidad estándar con ADN polimerasa de iTaq. Cuando utilice una enzima diferente, los ajustes de velocidad ajustan automáticamente la T_a .

5. Realice una de las siguientes acciones:
 - Si ha abierto la calculadora de T_a desde el Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático), haga clic en OK (Aceptar). Volverá al Protocol AutoWriter (Escritor de protocolos automático). La temperatura de hibridación se modifica automáticamente.
 - Si ha abierto la calculadora de T_a desde el menú Tools (Herramientas), registre los cálculos y haga clic en Cancel (Cancelar) para cerrar la calculadora.

Capítulo 7 Preparación de placas

Un archivo de placa contiene información sobre parámetros de la serie, como modo de exploración, fluorocromos y contenido de los pocillos. Después de la serie, el software CFX Manager™ Dx enlaza el contenido de los pocillos a los datos de fluorescencia recopilados durante la serie y aplica el análisis adecuado en la ventana Data Analysis (Análisis de datos). Por ejemplo, los pocillos cargados con un tipo de muestra estándar se utilizan para generar una curva estándar.

El software CFX Manager Dx para crear placas: Plate Editor (Editor de placas) para series de PCR en tiempo real y Setup Wizard (Asistente de configuración) para análisis de expresión genética normalizada.

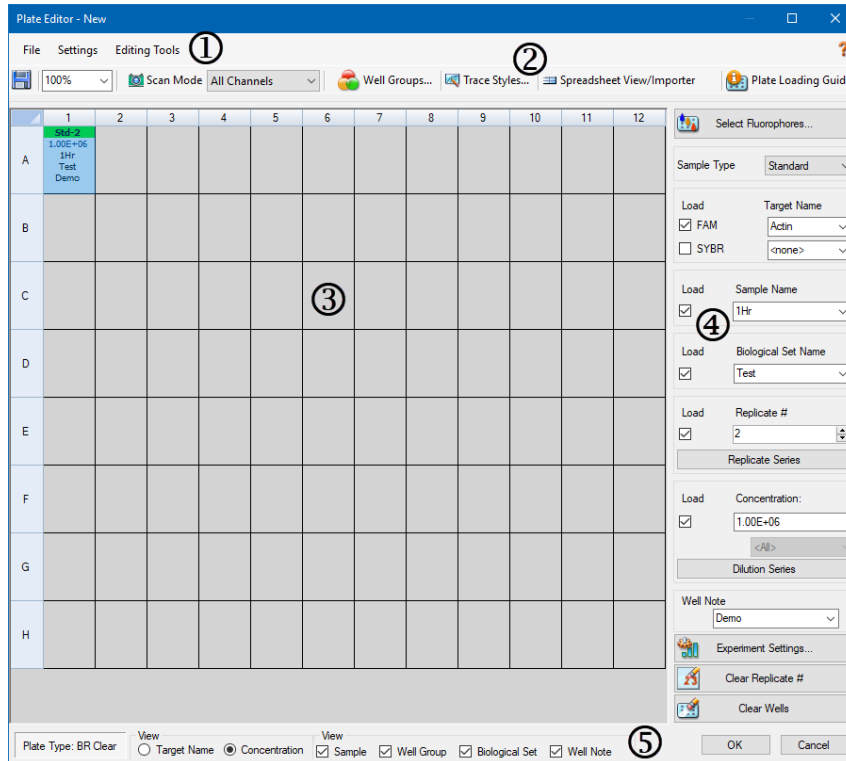
El editor de placas incluye las siguientes funciones:

- Fluorocromos estándar y tipos de muestras que se deben asignar a los pocillos de la placa
- Capacidad de establecer objetivos de referencia y muestras de control para el análisis de la expresión genética
- Capacidad de editar la configuración de la placa antes, durante o después de una serie
- Capacidad de guardar archivos de placa para su reutilización
- Capacidad de imprimir el archivo de placa en una impresora predeterminada

El asistente de configuración le guía para crear una disposición de placa para el análisis de expresión genética normalizada. Puede utilizar el asistente de configuración antes, durante o después de una serie.

Ventana Plate Editor (Editor de placas)

Puede utilizar el editor de placas para crear placas personalizadas o modificar placas existentes.



LEYENDA

1. La barra de menús proporciona un acceso rápido a los comandos del menú File (Archivo) y Settings (Ajustes), así como a las opciones de herramientas de edición de placas.
2. La barra de herramientas proporciona un acceso rápido a funciones de carga de placas importantes.
3. El panel principal muestra el esquema de la placa y las opciones de la placa conforme las aplica.
4. El panel derecho muestra las opciones que utiliza para personalizar su placa.
5. El panel inferior muestra el tipo de placa y proporciona acceso rápido a la visualización de las opciones.

Comandos del menú File (Archivo)

Save (Guardar): guarda el archivo de datos de la placa en la ubicación especificada en la pestaña File (Archivo) del cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario). Consulte [Cambio de los ajustes de archivo predeterminados en la página 68](#) para obtener más información. Este elemento de menú solo está disponible al crear un nuevo archivo de placa.

Save As (Guardar como): guarda el archivo de datos de la placa abierta con el nuevo nombre que introduzca. Este elemento de menú solo está disponible al crear un nuevo archivo de placa.

Extract Plate (Extraer placa): abre un cuadro de diálogo en el que puede extraer/guardar el archivo de placa (.pltd). Este elemento de menú solo está disponible al ver o editar un archivo de placa existente.

Print (Imprimir): imprime el archivo de datos de la placa abierta.

Close (Cerrar): cierra el editor de placas.

Comandos del menú Settings (Ajustes)

Plate Size (Tamaño de la placa): proporciona opciones entre las que puede seleccionar un tamaño de placa para la serie.

Nota: El sistema CFX Dx puede utilizar solo una placa de 96 pocillos.

Plate Type (Tipo de placa): permite elegir el tipo de pocillo en la placa que contiene las muestras: BR blanco o BR claro. Para obtener un análisis de datos preciso, el tipo de placa seleccionado debe ser el mismo que el tipo de placa utilizado en la serie.

Number Convention (Convención de números): permite seleccionar o deseleccionar la opción de mostrar unidades en notación científica. El modo predeterminado debe mostrar unidades en notación científica.

Units (Unidades): permite elegir las unidades que se van a mostrar en las hojas de cálculo cuando realice la cuantificación de desconocidos respecto a la curva estándar.

Comandos del menú Editing Tools (Herramientas de edición)

Setup Wizard (Asistente de configuración): abre el asistente de configuración, en el que puede definir los parámetros de disposición y análisis para la placa actual. Puede utilizar el asistente de configuración antes, durante o después de la finalización de una serie.

Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo): abre el cuadro de diálogo View (Vista), que muestra la disposición de la placa como una plantilla en formato de hoja de cálculo.

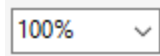
Puede utilizar este cuadro de diálogo para exportar o importar datos de plantilla de placa en formato .csv.

Flip Plate (Girar placa): gira el contenido de la placa 180°.

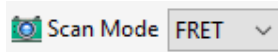
Comandos de la barra de herramientas



Guarda el archivo de placa actual.



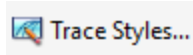
Muestra una lista desplegable desde la que puede aumentar o disminuir la ampliación de la vista de placa.



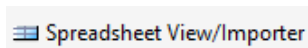
Muestra una lista desplegable desde la que puede seleccionar un modo de exploración, que da instrucciones al instrumento sobre los canales desde los que recopilar datos de fluorescencia durante una serie.



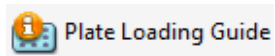
Abre el administrador de grupos de pocillos, que puede utilizar para crear grupos de pocillos para la placa actual.



Muestra un cuadro de diálogo en el que puede elegir los colores y símbolos para los trazos de amplificación.



Abre el cuadro de diálogo View (Vista), que muestra la disposición de placa como una plantilla en formato de hoja de cálculo. Puede utilizar este cuadro de diálogo para exportar o importar datos de plantilla de placa en formato .csv.



Muestra los pasos necesarios para configurar una placa y cargar los pocillos.

Creación de un archivo de placa mediante el editor de placas

Con el editor de placas, puede crear archivos de placa personalizados. También puede editar y guardar archivos de placa guardados anteriormente o archivos de placa de muestra enviados con el software CFX Manager Dx.

Para crear un nuevo archivo de placa, realice una de las siguientes acciones:

- Abra un archivo de placa en el editor de placas.

- Seleccione el tipo de placa.

Nota: El tipo de placa del archivo de placa debe ser el mismo que el tipo de la placa del módulo de reacción.

- Seleccione el modo de exploración que se va a utilizar en el protocolo.
- Seleccione los fluorocromos que se van a utilizar en la placa.
- Seleccione el tipo de muestra, objetivos y muestras.
- Seleccione repeticiones, si procede.
- Guarde la disposición de la placa.

Consejo: Para crear una nueva placa a partir de archivos de placa guardados anteriormente o de archivos de placa de muestra, consulte [Apertura de un archivo de placa existente en el editor de placas en la página 117](#).

Apertura de un nuevo archivo de placa en el editor de placas

El software CFX Manager Dx ofrece varias opciones para abrir un nuevo archivo de placa:

- Desde la ventana de inicio
- Desde el cuadro de diálogo Startup Wizard (Asistente de inicio)
- Desde el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie)

Para abrir un nuevo archivo de placa desde la ventana de inicio

- ▶ Seleccione File (Archivo) > New (Nuevo) > Plate (Placa).

Se abre la ventana Plate Editor (Editor de placas), que muestra el archivo de placa predeterminado para el instrumento seleccionado.

Consejo: Para obtener información sobre cómo configurar el archivo de placa predeterminado, consulte [Cambio de los ajustes de archivo predeterminados en la página 68](#).

Para abrir un nuevo archivo de placa desde el asistente de inicio

1. En la ventana de inicio, realice una de las siguientes acciones para abrir el asistente de inicio si no está a la vista:

- Seleccione View (Vista) > Startup Wizard (Asistente de inicio).
- Haga clic en Startup Wizard (Asistente de inicio) en la barra de herramientas.

De forma predeterminada, el asistente de inicio muestra la pestaña Run Setup (Configuración de la serie) con el instrumento CFX96™ seleccionado.

2. Si es necesario, seleccione el tipo de instrumento en la lista desplegable.
3. Para crear una nueva placa, haga clic en User-defined (Definida por el usuario) como el tipo de serie.

Se abre el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie), que muestra la pestaña Protocol (Protocolo).

4. Haga clic en la pestaña Plate (Placa) y en Create New (Crear nuevo).

Se abre la ventana Plate Editor (Editor de placas), que muestra la disposición de la placa predeterminada para el instrumento seleccionado.

Para abrir un nuevo archivo de placa desde el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie)

1. En la ventana de inicio, realice una de las siguientes acciones para abrir el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie):

- Seleccione Run (Serie) > User-defined Run (Serie definida por el usuario).
- Haga clic en User-defined Run Setup (Configuración de la serie definida por el usuario) en la barra de herramientas.

Se abre el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie), que muestra la pestaña Protocol (Protocolo).

2. Para crear una nueva placa, haga clic en la pestaña Plate (Placa) y en Create New (Crear nuevo).

Se abre la ventana Plate Editor (Editor de placas), que muestra la disposición de la placa predeterminada para el instrumento seleccionado.

Apertura de un archivo de placa existente en el editor de placas

El software CFX Manager Dx proporciona archivos de placa de muestra que puede editar y guardar como una nueva placa. También puede crear un nuevo archivo de placa a partir de un archivo de placa guardado anteriormente.

Para abrir un archivo de placa de muestra

1. En la ventana de inicio, seleccione File (Archivo) > Open (Abrir) > Plate (Placa).

El Explorador de Windows abre la ubicación de la carpeta Sample files (Archivos de muestra) de CFX Manager Dx.

2. Abra la carpeta Sample files (Archivos de muestra) y, a continuación, abra la carpeta Plates (Placas).
3. Seleccione la placa de su elección y haga clic en Open (Abrir).

El archivo de placa de muestra se abre en la ventana Plate Editor (Editor de placas).

4. Seleccione File (Archivo) > Save As (Guardar como) y guarde el archivo de placa con un nombre nuevo o en una nueva carpeta.

Para abrir un archivo de placa guardado anteriormente

1. En la ventana de inicio, seleccione File (Archivo) > Open (Abrir) > Plate (Placa), navegue hasta la placa objetivo, selecciónela y haga clic en Open (Abrir).

La placa objetivo se abre en la ventana Plate Editor (Editor de placas).

2. Seleccione File (Archivo) > Save As (Guardar como) y guarde el archivo de placa con un nombre nuevo o en una nueva carpeta.

Configuración de un nuevo archivo de placa

Consejo: Si en el archivo de placa se incluyen los parámetros necesarios (por ejemplo, si está editando una muestra o un archivo de placa existente), puede omitir esta sección. Continúe en [Asignación de parámetros opcionales al archivo de placa en la página 125](#).

Los nuevos archivos de placa requieren los siguientes parámetros:

- Tamaño de placa
- Tipo de placa
- Modo de exploración
- Un fluorocromo (tinte)
- Un tipo de muestra

Selección del tamaño y tipo de placa

Importante: Debe seleccionar el tamaño de la placa durante la configuración de la placa. No puede cambiar el tamaño de la placa durante o después de una serie.

El software aplica el tamaño y el tipo de la placa a todos los pocillos durante la serie. Asegúrese de que el tamaño de la placa seleccionado es el mismo que el de la placa que va a utilizar en la serie.

Los instrumentos CFX96 y CFX96 Deep Well de Bio-Rad están calibrados de fábrica para una gran variedad de combinaciones de placa y tinte fluorescente. La calibración es específica para el tipo de instrumento, tinte y placa. Asegúrese de que el fluorocromo que va a utilizar está calibrado para el tipo de placa que ha seleccionado.

Selección del modo de exploración

Los sistemas CFX96 y CFX96 Deep Well estimulan y detectan fluorocromos en cinco canales. Todos los sistemas utilizan varios modos de exploración de adquisición de datos para recopilar datos de fluorescencia durante una serie.

El software CFX Manager Dx proporciona tres modos de exploración:

- All Channels (Todos los canales)
 - Explora canales de 1 a 5 en los sistemas CFX96 y CFX96 Deep Well
- SYBR®/FAM
 - Explora solo el canal 1
 - Permite una exploración rápida

- FRET
 - Explora solo el canal FRET
 - Permite una exploración rápida

Selección de fluorocromos

Importante: Antes de comenzar con la serie, el software CFX Manager Dx verifica que los fluorocromos que ha especificado en la placa están calibrados en dicho instrumento. No puede procesar una placa si esta incluye los fluorocromos que no se han calibrado en ese instrumento.

Debe cargar al menos un fluorocromo en la disposición de la placa antes de la serie. Puede añadir todos los fluorocromos que sean necesarios en este momento, pero la placa debe contener al menos uno. Los fluorocromos seleccionados aparecen como opciones para objetivos en Target Names (Nombres de objetivos).

Utilice el cuadro de diálogo Select Fluorophores (Seleccionar fluorocromos) para cargar fluorocromos (o tintes de placa) en los controles de la carga de pocillos de Plate Editor (Editor de placas). Los fluorocromos que aparecen en el cuadro de diálogo Select Fluorophores (Seleccionar fluorocromos) dependen del modo de exploración que seleccione:

- All Channels (Todos los canales)

Aparecen todos los fluorocromos disponibles.

Consejo: Puede añadir tantos fluorocromos como sea necesario, pero solo puede cargar un fluorocromo por canal en cada pocillo.

- SYBR®/FAM

Solo aparecen los fluorocromos del canal 1.

- FRET

Solo aparece el fluorocromo del canal 6.

Consejo: El fluorocromo FRET del canal 6 solo aparece cuando FRET es el modo de exploración seleccionado. No está disponible para el modo de exploración All Channels (Todos los canales).

Nota: No puede añadir o eliminar fluorocromos directamente desde el cuadro de diálogo Select Fluorophore (Seleccionar fluorocromos). Debe calibrar nuevos fluorocromos en un instrumento mediante el Calibration Wizard (Asistente de calibración). Después de calibrar, el nuevo fluorocromo se añade automáticamente a la lista.

Selección de tipos de muestras

Importante: Debe seleccionar al menos un tipo de muestra para asignar a los pocillos de la placa antes de la serie.

El software CFX Manager Dx ofrece cinco tipos de muestras:

- Desconocido
- Estándar
- NTC (sin control de plantilla)
- Control positivo
- Control negativo
- NRT (sin control de transcriptasa inversa)

Asigna los tipos de muestras a los pocillos de la placa.

Configuración de una nueva placa

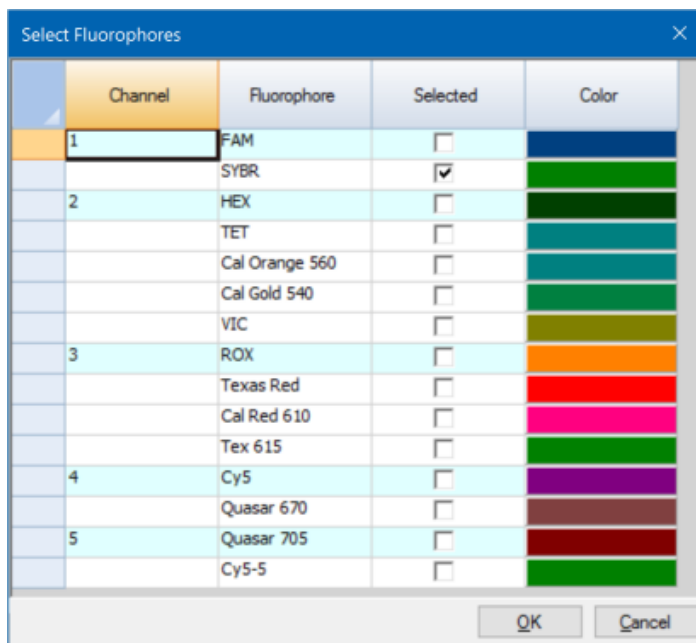
Para configurar una nueva placa

1. Abra una nueva placa en la ventana Plate Editor (Editor de placas).
2. Para establecer el tamaño de la placa, seleccione Settings (Ajustes) > Plate Size (Tamaño de placa) y, en el menú desplegable, seleccione el tamaño de placa adecuado.
3. Para establecer el tipo de la placa, seleccione Settings (Ajustes) > Plate Type (Tipo de placa) y, en el menú desplegable, seleccione BR White (BR blanco) o BR Clear (BR claro).
4. También puede cambiar la convención de números y las unidades de visualización desde el menú Settings (Ajustes):
 - Para cambiar la convención de números, seleccione Settings (Ajustes) > Number Convention (Convención de números) y seleccione Scientific Notation (Notación científica).

Consejo: Scientific Notation (Notación científica) está seleccionada de forma predeterminada. En este caso, la selección de Scientific Notation (Notación científica) borra los valores predeterminados y establece la convención de números y el formulario estándar.
 - Para cambiar las unidades de visualización, seleccione Settings (Ajustes) > Units (Unidades) y seleccione un nuevo valor unitario.

5. Para establecer el modo de exploración, seleccione el modo de exploración adecuado en la lista desplegable Scan Mode (Modo de exploración) de la barra de herramientas de la ventana Plate Editor (Editor de placas).
6. Seleccione los fluorocromos necesarios para la placa:
 - a. En el panel derecho, haga clic en Select Fluorophores (Seleccionar fluorocromos).

Aparece el cuadro de diálogo Select Fluorophores (Seleccionar fluorocromos). Puede ver los fluorocromos disponibles para el tipo de modo de exploración que ha seleccionado en el [Paso 5](#), por ejemplo:



- b. Para seleccionar un fluorocromo, haga clic en la casilla de verificación Selected (Seleccionado).

Consejo: Para eliminar un fluorocromo de la lista, desactive la casilla de verificación Selected (Seleccionado).
- c. Para cambiar el color de visualización del fluorocromo, haga clic en el cuadro Color.

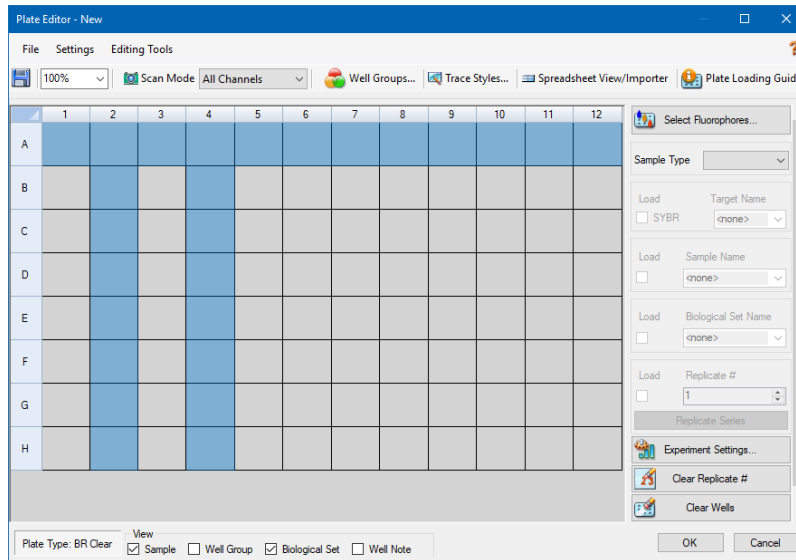
Nota: El color que ha seleccionado representa el fluorocromo en la ventana Plate Editor (Editor de placas) y en los gráficos Data Analysis (Análisis de datos).
- d. En el cuadro de diálogo Color, seleccione el color que desee o haga clic en Define Custom Colors (Definir colores personalizados) y cree un nuevo color para representar el fluorocromo.

- e. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo Select Fluorophores (Seleccionar fluorocromos).
7. Debe seleccionar al menos un pocillo para cargar un tipo de muestra. De forma predeterminada, se selecciona el pocillo A1.

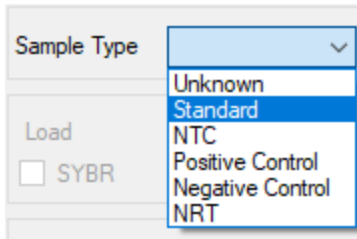
En el panel de la placa, realice una de las siguientes acciones:

- Para cargar varios pocillos adyacentes, haga clic en un pocillo y arrástrelo al pocillo objetivo.
- Para cargar varios pocillos no adyacentes, mantenga pulsada la tecla Control y haga clic en cada pocillo.
- Para cargar una columna entera con el mismo tipo de muestra, haga clic en el número de la columna.
- Para cargar una fila entera, haga clic en su número de fila.
- Para cargar toda la placa, haga clic en la esquina superior izquierda de la placa.

Por ejemplo:



8. En el menú desplegable Sample Type (Tipo de muestra), asigne un tipo de muestra al pocillo o pocillos seleccionados.

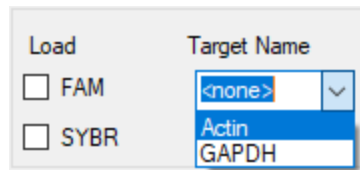


9. Asigne al menos un fluorocromo a todos los pocillos que contienen un tipo de muestra. Puede asignar más de un fluorocromo a un pocillo o a un grupo de pocillos.

Nota: Puede asignar solo un fluorocromo por canal. No puede asignar más de un fluorocromo del mismo canal al mismo pocillo.

Consejo: Puede asociar un objetivo con el fluorocromo o puede asignar solo el fluorocromo al pocillo en este momento y asociar un objetivo al fluorocromo después de procesar el experimento.

- Para asignar solo un fluorocromo a los pocillos seleccionados, en la sección Target Names (Nombres de objetivos) del panel derecho, active la casilla de verificación Load (Cargar) para el fluorocromo específico.
- Para asociar un objetivo con un fluorocromo, en la sección Target Names (Nombres de objetivos), elija un nombre objetivo de la lista desplegable para el fluorocromo específico. El software activa automáticamente su casilla de verificación Load (Cargar).



10. En el caso de los pocillos que contienen un tipo de muestra estándar, debe cargar una concentración. Cada pocillo puede contener un valor de concentración diferente. De forma predeterminada, el software CFX Manager Dx carga una concentración de 1,00 E+ 06 a todos los pocillos con un tipo de muestra estándar. Puede modificar el valor en caso necesario.
- a. En el panel de la placa, seleccione el pocillo o grupo de pocillos estándar.
 - b. En la sección Concentration (Concentración), haga clic en Load (Cargar) para cargar el valor al pocillo o pocillos seleccionados.
 - c. (Opcional) Para cargar otra concentración, escriba el nuevo valor en el cuadro de texto Concentration (Concentración) y pulse Enter (Entrar).
 - d. Realice este paso en todos los pocillos con el tipo de muestra estándar.

Consejo: Para cargar la misma concentración a todos los pocillos estándar, asegúrese de que aparece <All> (Todos) en la lista desplegable debajo del valor de concentración. Para cargar el mismo valor de concentración a todos los pocillos con un fluorocromo específico, haga clic en la lista desplegable y seleccione el fluorocromo.

11. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar la placa nueva.

Asignación de parámetros opcionales al archivo de placa

Un archivo de placa contiene información sobre el contenido de cada pocillo cargado con una muestra para una serie. Después de la serie, el software CFX Manager Dx vincula el contenido de los pocillos con los datos de fluorescencia recopilados durante el protocolo y aplica el análisis adecuado en la ventana Data Analysis (Análisis de datos).

En CFX Manager Dx, puede asignar parámetros a cada pocillo en su placa antes, durante o incluso después de procesar experimentos. Puede asignar los parámetros a un archivo de placa existente o a uno nuevo. Estos parámetros incluyen:

- **Target names (Nombres de objetivos):** nombre del objetivo o los objetivos de interés (genes o secuencias) en cada pocillo cargado.
- **Sample names (Nombres de muestras):** identificador o condición que se corresponde con la muestra en cada pocillo cargado, como 0h, 1h o 2h.

Consejo: Los nombres de objetivos y nombres de muestras deben ser iguales entre pocillos para comparar los datos en la pestaña Gene Expression (Expresión genética) de la ventana Data Analysis (Análisis de datos). Cada nombre debe mostrar las mismas mayúsculas y minúsculas, puntuación y espaciado. Por ejemplo, «Actin» no es lo mismo que «actin», «2h» no es lo mismo que «2 h.», y «Ratón 1» no es lo mismo que «ratón1». Para garantizar la coherencia de los nombres, introduzca los nombres en la sección Libraries (Bibliotecas), en User (Usuario) > User Preferences (Preferencias de usuario) > Plate (Placa), disponible en la pantalla de inicio.

- **Biological sets (Conjuntos biológicos):** identificador o condición que se corresponde con un conjunto de pocillos.
- **Replicates (Repeticiones):** cada pocillo que se utiliza para analizar la misma combinación de muestras y objetivos; es decir, para repetir reacciones de qPCR.
- **Dilution series (Serie de dilución):** cantidad para cambiar la concentración del tipo de muestra estándar en un grupo de repeticiones para crear datos de curva estándar para analizar.

Asignación de un objetivo a pocillos

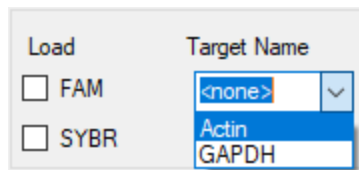
Consejo: Puede asignar el mismo nombre de objetivo a uno o varios pocillos. También puede asignar varios objetivos al mismo pocillo.

Para asignar un objetivo a un pocillo o grupo de pocillos

1. En el editor de placas, asegúrese de que el pocillo o grupo de pocillos tengan un tipo de muestra asignado.

Consulte [Selección de tipos de muestras en la página 120](#) para obtener información sobre cómo asignar tipos de muestras a pocillos.

2. En el panel de la placa, seleccione el pocillo o grupo de pocillos:
 - Para seleccionar un solo pocillo, haga clic en el pocillo.
 - Para seleccionar varios pocillos adyacentes, haga clic en un pocillo y arrástrelo al pocillo objetivo.
 - Para seleccionar varios pocillos no adyacentes, mantenga pulsada la tecla Control y haga clic en cada pocillo.
 - Para seleccionar una columna entera con el mismo tipo de muestra, haga clic en el número de la columna.
 - Para seleccionar una fila entera, haga clic en su número de fila.
3. En el panel derecho, seleccione un nombre de la lista desplegable Target Name (Nombre de objetivo) para cada fluorocromo seleccionado.



4. Repita el [Paso 3](#) para cada pocillo o grupo de pocillos a los que deba asignar un objetivo.
Consejo: Puede asignar el mismo nombre de objetivo o uno distinto para cada fluorocromo seleccionado.
5. Haga clic en OK (Aceptar) para aceptar los cambios y guardar la placa.

Para eliminar un nombre de objetivo

- ▶ Para eliminar un nombre de objetivo del pocillo o grupo de pocillos seleccionado, desactive su casilla de verificación Load (Cargar).

Importante: Al eliminar un nombre de objetivo de un pocillo, también elimina su fluorocromo asociado. Tenga cuidado al eliminar un nombre de objetivo de un pocillo.

Para añadir un nombre de objetivo a la lista

- ▶ Para añadir un nombre de objetivo a la lista desplegable, realice una de las siguientes acciones:
 - Introduzca un nombre en la lista desplegable Target Name (Nombre de objetivo) y pulse Enter (Entrar).

Consejo: Los nombres de objetivos que añada a una lista aparecen en las demás listas de objetivos.

- Haga clic en el símbolo + verde a la derecha de la lista desplegable, escriba un nombre para el objetivo y pulse Enter (Entrar).
- Haga clic en User Preferences (Preferencias de usuario) en la barra de herramientas y añada el nombre a la biblioteca de Target Names (Nombres de objetivos) de la pestaña Plate (Placa).

Importante: Los nombres de objetivos que añada en la lista desplegable solo estarán disponibles para la placa actual, y solo si asigna el nombre a un pocillo y guarda la disposición de la placa. Si no asigna un nombre a un pocillo y guarda la disposición de la placa, el nombre no se guardará y no estará disponible para su uso en el futuro. Para añadir un nombre de objetivo de forma permanente, añádalo también a la biblioteca de Target Names (Nombres de objetivos) mediante el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario). Los nombres que añada a la biblioteca estarán disponibles cuando vuelva a abrir el editor de placas. Consulte [Ajuste de parámetros de placa predeterminados en la página 71](#) para obtener más información.

Para borrar un nombre de objetivo de la lista

1. Haga clic en User Preferences (Preferencias de usuario) en la barra de herramientas.
Aparece el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), donde se muestra la pestaña Plate (Placa).
2. En la biblioteca de Target Names (Nombres de objetivos) en la pestaña Plate (Placa), seleccione el nombre que desee borrar y pulse la tecla Delete (Eliminar).
3. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y salir del cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).

Importante: No puede eliminar nombres de objetivos que haya guardado con un archivo de placa. Los nombres personalizados que añada a la lista desplegable Target Names (Nombres de objetivos) y no utilice y guarde con la placa se eliminarán automáticamente de la lista. Los nombres que elimine de la biblioteca de Target Names (Nombres de objetivos) se eliminarán permanentemente del software y ya no estarán disponibles para los usuarios. Tenga cuidado al eliminar nombres de objetivos.

Asignación de un nombre de muestra a los pocillos

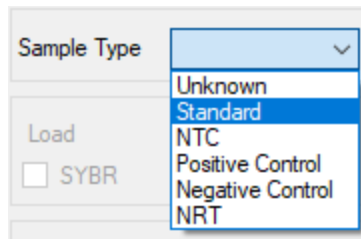
Nota: Para asignar un nombre de muestra, debe asignar como mínimo un fluorocromo a los pocillos seleccionados. Si los pocillos seleccionados no tienen un fluorocromo asignado, la lista desplegable Sample Names (Nombres de muestras) está deshabilitada. Consulte [Asignación de](#)

[un objetivo a pocillos en la página 125](#) para obtener información sobre cómo asignar fluorocromos.

Consejo: Solo puede asignar un nombre de muestra a cada pocillo o grupo de pocillos.

Para asignar un nombre de muestra a un pocillo o grupo de pocillos

1. En el editor de placas, asegúrese de que el pocillo o el grupo de pocillos tenga un fluorocromo asignado.
2. En el panel de la placa, seleccione el pocillo o grupo de pocillos.
3. En el panel derecho, seleccione un nombre en la lista desplegable Sample Names (Nombres de muestras).



4. Repita el [Paso 3](#) para cada pocillo o grupo de pocillos a los que deba asignar un nombre de muestra.
5. Haga clic en OK (Aceptar) para aceptar los cambios y guardar la placa.

Para eliminar un nombre de muestra

- ▶ Para eliminar un nombre de muestra de un pocillo o grupo de pocillos seleccionado, desactive su casilla de verificación Load (Cargar).

Para añadir un nombre de muestra a la lista

- ▶ Para añadir un nombre de muestra a la lista desplegable, realice una de las siguientes acciones:
 - Introduzca un nombre en la lista desplegable Sample Names (Nombres de muestras) y pulse Enter (Entrar).
 - Haga clic en el símbolo + verde a la derecha de la lista desplegable y escriba un nombre para la muestra.
 - Haga clic en User Preferences (Preferencias de usuario) en la barra de herramientas y añada el nombre a la biblioteca de Sample Names (Nombres de muestras) de la pestaña Plate (Placa).

Importante: Los nombres de muestras que añada en la lista desplegable solo estarán disponibles para la placa actual, y solo si asigna el nombre a un pocillo y guarda la disposición de la placa. Si no asigna un nombre a un pocillo y guarda la disposición de la placa, el nombre no se guardará y no estará disponible para su uso en el futuro. Para añadir un nombre de muestra de forma permanente, añádale también a la biblioteca de Sample Names (Nombres de muestras) mediante el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario). Los nombres que añada a la biblioteca estarán disponibles cuando vuelva a abrir el editor de placas. Consulte [Ajuste de parámetros de placa predeterminados en la página 71](#) para obtener más información.

Para borrar un nombre de muestra de la lista

1. Haga clic en User Preferences (Preferencias de usuario) en la barra de herramientas.
Aparece el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario), donde se muestra la pestaña Plate (Placa).
2. En la biblioteca de Sample Names (Nombres de muestras) en la pestaña Plate (Placa), seleccione el nombre que desee borrar y pulse la tecla Delete (Eliminar).
3. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y salir del cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario).

Importante: No puede eliminar nombres de muestras que haya guardado con un archivo de placa. Los nombres personalizados que añada a la lista Sample Names (Nombres de muestras) y no utilice y guarde con la placa se eliminan automáticamente de la lista desplegable. Los nombres que elimine de la biblioteca de nombres de muestras se eliminarán del software y ya no estarán disponibles para los usuarios. Tenga cuidado al eliminar nombres de muestras.

Asignación de conjuntos biológicos a pocillos

Nota: Para asignar un conjunto biológico, debe asignar como mínimo un fluorocromo a los pocillos seleccionados. Al asignar un fluorocromo se habilita la lista desplegable Biological Set Name (Nombre del conjunto biológico). Consulte [Asignación de un objetivo a pocillos en la página 125](#) para obtener información sobre cómo asignar fluorocromos.

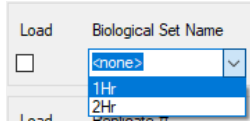
Consejo: Puede asignar un conjunto biológico a cada pocillo o grupo de pocillos.

Para asignar un conjunto biológico a un pocillo o grupo de pocillos

1. En las opciones de View (Vista) que aparecen en la parte inferior de la ventana Plate Editor (Editor de placas), active la casilla de verificación Biological Set (Conjunto biológico).
2. En el editor de placas, asegúrese de que el pocillo o el grupo de pocillos tenga un fluorocromo asignado.

3. En el panel de la placa, seleccione el pocillo o grupo de pocillos.
4. En el panel derecho, seleccione un nombre en la lista desplegable Biological Set Name (Nombre del conjunto biológico).

El software CFX Manager Dx selecciona automáticamente la casilla de verificación Load (Cargar).



5. Repita el [Paso 4](#) para cada pocillo o grupo de pocillos a los que deba asignar un conjunto biológico.
6. Haga clic en OK (Aceptar) para aceptar los cambios y guardar la placa.

Consejo: Al asignar nombres de conjuntos biológicos a pocillos se habilita Biological Set Analysis Options (Opciones de análisis de conjuntos biológicos) en el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento), donde puede realizar análisis de muestras en una de cuatro configuraciones. Consulte [Cambio de ajustes del experimento en la página 136](#) para obtener más información.

Para eliminar un conjunto biológico

- ▶ Para eliminar un conjunto biológico del pocillo o grupo de pocillos seleccionado, desactive su casilla de verificación Load (Cargar).

Para añadir un nombre de conjunto biológico a la lista

- ▶ Para añadir un nombre de conjunto biológico a la lista desplegable, escriba un nombre en el cuadro desplegable Biological Set Name (Nombre del conjunto biológico) y pulse Enter (Entrar):

Importante: Los nombres de conjuntos biológicos que añada en la lista desplegable, solo estarán disponibles para la placa actual y solo si asigna el nombre a un pocillo y guarda la disposición de la placa. Si no asigna un nombre a un pocillo y guarda la disposición de la placa, el nombre no se guardará y no estará disponible para su uso en el futuro.

Para visualizar todos los conjuntos biológicos en la placa

- ▶ Active la casilla de verificación Biological Set (Conjunto biológico) en las opciones de View (Vista) en la parte inferior de la ventana Editor.



Todos los pocillos muestran el nombre de su respectivo conjunto biológico, si lo tienen asignado. El control Biological Set Name (Nombre del conjunto biológico) se muestra en el panel derecho.

Para ocultar los conjuntos biológicos, desactive la casilla de verificación Biological Set (Conjunto biológico) en las opciones de View (Vista).

Asignación de números de repeticiones a pocillos

Importante: Para asignar números de repeticiones, los pocillos seleccionados deben tener contenidos idénticos de pocillos. Es decir, los pocillos seleccionados deben tener el mismo tipo y fluorocromo. Si procede, también se les debe asignar los mismos nombres de objetivos y muestras, y el mismo conjunto biológico. Si no coinciden, el software CFX Manager Dx no habilita esta opción.

Para asignar números de repeticiones a un grupo de pocillos

1. En el editor de placas, asegúrese de que los contenidos del grupo de pocillos sean idénticos.
2. En el panel de la placa, seleccione el grupo objetivo de pocillos.
3. Para asignar el mismo número de repeticiones a todos los pocillos seleccionados, en la sección Replicate # (N.º de repeticiones) del panel derecho, escriba el número de repeticiones en el cuadro y seleccione Load (Cargar).

4. (Opcional) Para aplicar una serie de repeticiones a un conjunto de pocillos seleccionados:
 - a. Haga clic en Replicate Series (Series de repeticiones). La sección Replicate # (N.º de repeticiones) cambia para presentar las siguientes opciones:

- **Replicate size (Tamaño de repetición):** número que representa el número de pocillos en cada grupo de repeticiones
- **Starting replicate # (N.º inicial de repeticiones):** el primer número en la serie de repeticiones para el grupo de repeticiones seleccionado

Nota: De forma predeterminada, el software CFX Manager Dx muestra el número inicial de repeticiones como un número mayor que el último número de repeticiones asignado en la placa. Por ejemplo, si el número de la última repetición de la placa es cinco, el siguiente número inicial es el seis. Puede cambiar el número inicial a cualquier número que no se haya asignado aún.

- Dirección de la carga (horizontal o vertical).

- b. Haga clic en Apply (Aplicar) para aplicar los parámetros a la serie y volver a la pantalla de Replicate # (N.º de repeticiones).
5. Haga clic en OK (Aceptar) para aceptar los cambios y guardar la placa.

Para retirar un pocillo de una serie de repeticiones

- ▶ Seleccione un pocillo o un grupo de pocillos que desee eliminar y desactive la casilla de verificación Replicate # Load (Carga del n.º de repeticiones).

También puede hacer clic en Clear Replicate # (Borrar n.º de repeticiones) para borrar el número de repeticiones de un pocillo o un grupo de pocillos seleccionado.

Asignación de una serie de dilución a tipos de muestra estándar

Como se ha indicado anteriormente, se debe asignar un valor de concentración a todos los pocillos con el tipo de muestra estándar. Puede asignar una serie de dilución a varios pocillos con el tipo de muestra Standard (Estándar).

Nota: Para asignar una serie de dilución a un grupo de pocillos, los pocillos se deben incluir en una serie de repeticiones. Consulte [Asignación de números de repeticiones a pocillos en la página 131](#) para obtener más información acerca de cómo añadir pocillos a una serie de repeticiones.

Para asignar una serie de dilución a un grupo de pocillos de muestras estándar

1. En el editor de placas, asegúrese de que se cumplan los siguientes requisitos:
 - El tipo de muestra del grupo de pocillos es estándar.
 - Todos los pocillos del grupo tienen asignado al menos un fluorocromo y todos contienen los mismos fluorocromos.
 - Todos los pocillos del grupo están incluidos en la misma serie de repeticiones.

Nota: El software CFX Manager Dx habilita la opción Dilution Series (Serie de dilución) solo cuando todos los pocillos seleccionados cumplan estos criterios.

2. En el panel de la placa, seleccione el grupo objetivo de pocillos.

- En la sección Concentration (Concentración) en el panel derecho, haga clic en Dilution Series (Serie de dilución). La sección Concentration (Concentración) cambia para mostrar las siguientes opciones:

The image shows a dialog box for configuring a dilution series. It includes the following fields and options:

- Starting Concentration: 1.00E+06
- Replicates from: 9
- to: 16
- Dilution Factor: 10.000
- Radio buttons: Increasing, Decreasing
- Dropdown menu: <All>
- Buttons: Cancel, Apply

- **Starting concentration (Concentración inicial):** valor de concentración desde el que se inicia la serie
 - **Replicates from and to (Repeticiones de origen y destino):** repeticiones en la serie a las que se aplicará el factor de dilución
 - **Dilution factor (Factor de dilución):** cantidad para cambiar la concentración dentro de cada grupo de repeticiones
- Configure los valores para las opciones o acepte los predeterminados.
 - De forma predeterminada, la serie de dilución disminuye según el factor de dilución. Seleccione Increasing (Ascendente) para aumentar la serie de dilución.
 - (Opcional) De forma predeterminada, el factor de dilución se aplica a todos los fluorocromos de la serie de repeticiones. Si la serie contiene más de un fluorocromo y desea aplicar la dilución a un solo fluorocromo, selecciónelo de la lista desplegable.
 - Haga clic en Apply (Aplicar) para aplicar la serie de dilución al grupo de pocillos y vuelva a la vista Concentration (Concentración).
 - Haga clic en OK (Aceptar) para aceptar los cambios y guardar la placa.

Copia del contenido de un pocillo a otro pocillo

Puede copiar el contenido de un pocillo y pegarlo en otro o en varios pocillos. No obstante, puede copiar el contenido de un solo pocillo. No puede seleccionar varios pocillos y copiar su contenido.

Para copiar el contenido de un pocillo a otro pocillo

- En el panel de la placa, seleccione el pocillo que desea copiar.
- Haga clic con el botón derecho en el pocillo y seleccione Copy Well (Copiar pocillo).

3. Seleccione el pocillo o los pocillos en los que desea pegar el contenido:
 - Para seleccionar un solo pocillo, haga clic en el pocillo.
 - Para seleccionar varios pocillos adyacentes, haga clic en un pocillo y arrástrelo al pocillo objetivo.
 - Para seleccionar varios pocillos no adyacentes, mantenga pulsada la tecla Control y haga clic en cada pocillo.
4. Una vez seleccionados los pocillos objetivo, haga clic con el botón derecho y seleccione Paste Well (Pegar pocillo).

El software CFX Manager Dx pega el contenido del primer pocillo en los pocillos seleccionados.

Adición de una nota a un pocillo

Puede añadir una nota descriptiva a un pocillo. Puede ver las notas del pocillo en la pestaña Quantification (Cuantificación) de la ventana Data Analysis (Análisis de datos).

Para añadir una nota a un pocillo

1. En el panel de la placa, seleccione el pocillo o pocillos a los que desee añadir una nota.
2. En la sección View (Vista) en el panel inferior, seleccione Well Note (Nota del pocillo).

El área de la nota del pocillo aparece en el panel derecho.



3. Escriba el contenido de la nota en el cuadro de texto y pulse Enter (Entrar).

El texto aparece en la parte inferior de los pocillos seleccionados.

Consejo: Si había creado una nota de pocillo anterior, puede seleccionarla de la lista desplegable y aplicarla a los pocillos seleccionados.

Borrado de todo el contenido de los pocillos

Puede borrar todo el contenido de un pocillo individual, de un grupo de pocillos o de toda la placa. Al borrar los pocillos no se eliminan los datos de fluorescencia recogidos durante la lectura de placa.

Al borrar un pocillo se elimina permanentemente el contenido de todo el pocillo. Tenga cuidado al borrar los pocillos.

Para borrar todos los ajustes de los pocillos

1. En el editor de placas, seleccione el pocillo o el grupo de pocillos en el panel de la placa:

- Para seleccionar un solo pocillo, haga clic en el pocillo.
 - Para seleccionar varios pocillos adyacentes, haga clic en un pocillo y arrástrelo al pocillo objetivo.
 - Para seleccionar varios pocillos no adyacentes, mantenga pulsada la tecla Control y haga clic en cada pocillo.
 - Para seleccionar una columna entera con el mismo tipo de muestra, haga clic en el número de la columna.
 - Para seleccionar una fila entera, haga clic en su número de fila.
2. En el panel derecho, haga clic en Clear Wells (Borrar pocillos).
El software CFX Manager Dx borra todos los ajustes de los pocillos seleccionados.
 3. Haga clic en OK (Aceptar) para aceptar los cambios y guardar la placa.

Cambio de ajustes del experimento

Utilice el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento) para ver o cambiar la lista de objetivos o muestras, o para seleccionar el grupo de análisis de expresión genética y la opción de análisis si ha asignado conjuntos biológicos a los pocillos de la placa.

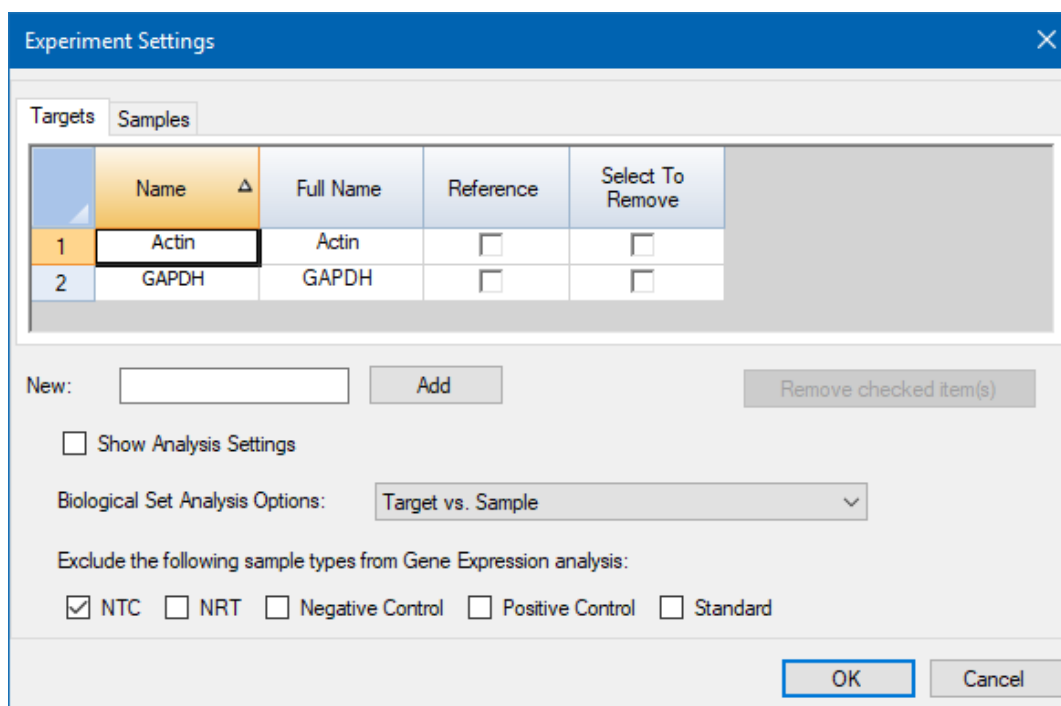
En el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento), la pestaña Targets (Objetivos) muestra una lista de nombres de objetivos para cada reacción del PCR, como el gen objetivo o las secuencias de genes de interés.

La pestaña Samples (Muestras) muestra una lista de nombres de muestras que indica la fuente del objetivo, como por ejemplo una muestra tomada a 1 hora (1h) o de un individuo en concreto (ratón1).

Para cambiar los ajustes de placa mediante el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento)

1. Para abrir el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento), realice una de las siguientes acciones:
 - En el panel derecho del editor de placas, haga clic en Experiment Settings (Ajustes del experimento).
 - En la pestaña Gene Expression (Expresión genética) de la ventana Data Analysis (Análisis de datos), haga clic en Experiment Settings (Ajustes del experimento).

Aparece el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento), donde se muestra el contenido de la pestaña Targets (Objetivos).



- Para añadir un nuevo nombre de objetivo o muestra, escriba un nombre en el cuadro de texto New (Nuevo) de la pestaña adecuada y haga clic en Add (Añadir).
- Para eliminar uno o más nombres de objetivos o muestras de la lista, active la casilla de verificación del elemento en la columna Select to Remove (Seleccionar para eliminar) de la pestaña correspondiente y haga clic en Remove checked item(s) (Eliminar elementos marcados).
- El software CFX Manager Dx excluye NTC (sin control de plantilla) del tiempo de muestra del análisis de expresión genética.

Para incluir tipos de muestra de NTC, desactive su casilla de verificación en la sección Exclude the following sample types (Excluir los siguientes tipos de muestras). Puede elegir excluir los siguientes tipos de muestras activando la casilla de verificación apropiada:

- NRT (sin control de transcriptasa inversa)
- Negative Control (Control negativo)
- Positive Control (Control positivo)
- Standard (Estándar)

5. En la pestaña Targets (Objetivos):

- a. Para seleccionar un objetivo como la referencia para un análisis de datos de expresión genética, selecciónelo en la columna Reference (Referencia).
- b. Para ocultar los ajustes de análisis que se aplicarán en la pestaña Gene Expression (Expresión genética) en la ventana Analysis Settings (Ajustes de análisis), desactive Show Analysis Settings (Mostrar ajustes de análisis).

El software oculta las siguientes columnas:

- Color
- Show Chart (Mostrar gráfico)
- Auto Efficiency (Eficiencia automática)
- Efficiency (%) (Eficiencia (%))

- c. Para cambiar el color del objetivo cuando aparece en el gráfico de expresión genética, haga clic en su celda de la columna Color, seleccione un nuevo color en el cuadro de diálogo Color que aparece y haga clic en OK (Aceptar).
- d. Para mostrar el objetivo en el color seleccionado en el gráfico de expresión genética, seleccione su casilla de verificación en la columna Show Chart (Mostrar gráfico).
- e. De forma predeterminada, CFX Manager Dx calcula automáticamente la eficiencia relativa para un objetivo si sus datos incluyen una curva estándar.

Para usar un valor de eficiencia previamente determinado, introduzca el valor en su celda en la columna Efficiency (%) (Eficiencia (%)) y pulse el botón Enter (Entrar). CFX Manager Dx desactiva la casilla de verificación Auto Efficiency (Eficiencia automática).

6. En la pestaña Samples (Muestras):

- a. Para seleccionar una muestra como la muestra de control para el análisis de datos de expresión genética, active su casilla de verificación en la columna Control.
- b. Para asignar la condición de control a una muestra para una serie, haga clic en su casilla de verificación en la columna Control.
- c. Si aún no está seleccionado, haga clic en Show Analysis Settings (Mostrar ajustes de análisis) para ver o modificar los parámetros de análisis que se aplicarán en la pestaña Gene Expression (Expresión genética). El software oculta las columnas Color y Show Chart (Mostrar gráfico).

7. Si ha asignado uno o más conjuntos biológicos a pocillos en la placa (consulte [Asignación de conjuntos biológicos a pocillos en la página 129](#)), seleccione una de las opciones siguientes en la lista Biological Set Analysis Options (Opciones de análisis de conjuntos biológicos):
 - **Target vs. Sample (Objetivo frente a muestra):** solo se utiliza el nombre de muestra del pocillo en los cálculos de expresión genética.
 - **Target vs. Biological Set (Objetivo frente a conjunto biológico):** solo se utiliza el nombre de conjunto biológico en los cálculos.
 - **Target vs. Sample_Biological Set (Objetivo frente a muestra_conjunto biológico):** el nombre de la muestra y el nombre del conjunto biológico se combinan para crear un solo nombre utilizado en los cálculos.
 - **Target vs. Biological Set_Sample (Objetivo frente a conjunto biológico_muestra):** el nombre de la muestra y el nombre del conjunto biológico se combinan para crear un solo nombre utilizado en los cálculos.
8. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los parámetros en el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento) y volver a la ventana Plate Editor (Editor de placas).

Creación de grupos de pocillos

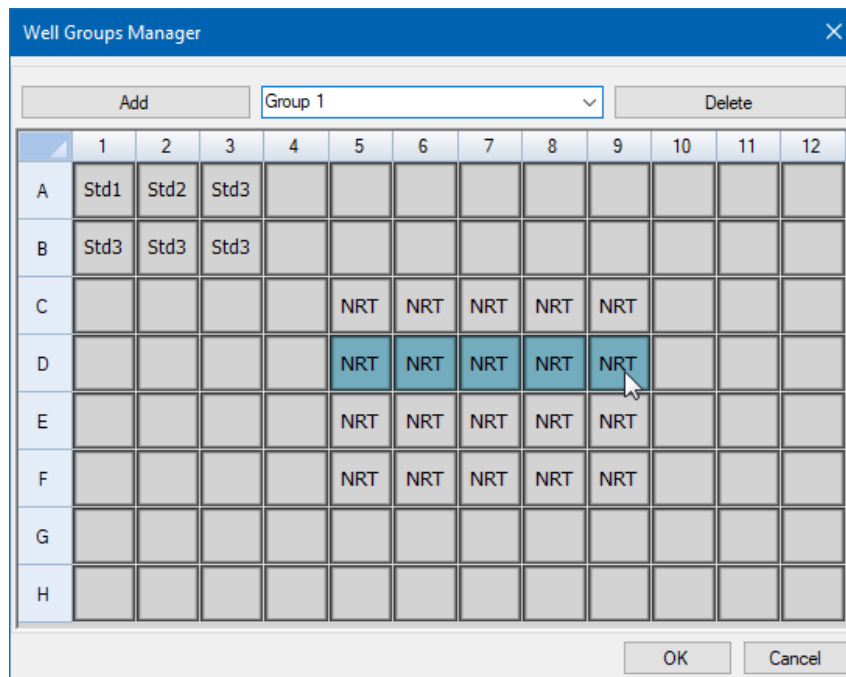
Los grupos de pocillos dividen una única placa en subconjuntos de pocillos que se pueden analizar de forma independiente en la ventana Data Analysis (Análisis de datos). Una vez se han configurado los grupos de pocillos, seleccione uno de ellos en la ventana Data Analysis (Análisis de datos) para analizar los datos como un grupo independiente. Por ejemplo, configure grupos de pocillos para analizar varios experimentos procesados en una placa o para analizar cada grupo de pocillos con una curva estándar diferente.

Nota: El grupo de pocillos predeterminado es All Wells (Todos los pocillos).

Para crear grupos de pocillos

1. Para abrir el administrador de grupos de pocillos, realice una de las siguientes acciones:
 - En la barra de herramientas de Plate Editor (Editor de placas), haga clic en Well Groups (Grupos de pocillos).
 - En la ventana Data Analysis (Análisis de datos), haga clic en Manage Well Groups (Gestionar grupos de pocillos).

Aparece el cuadro de diálogo Well Groups Manager (Administrador de grupos de pocillos).



- Haga clic en Add (Añadir) para crear un grupo nuevo. El menú desplegable muestra el nombre del grupo como Group 1 (Grupo 1) para el primer grupo.
- Seleccione los pocillos para el grupo de pocillos en la vista de placa haciendo clic y arrastrando a través del grupo de pocillos. Los pocillos seleccionados aparecen en azul en el administrador.
- (Opcional) Para cambiar el nombre del grupo, seleccione el nombre en el menú desplegable y escriba uno nuevo.
- (Opcional) Para borrar un grupo de pocillos, seleccione el nombre de la lista desplegable y haga clic en Delete (Eliminar).
- Haga clic en OK (Aceptar) para terminar y cerrar la ventana, o en Cancel (Cancelar) para cerrar la ventana sin realizar cambios.

Importante: Para mostrar los grupos de pocillos, seleccione Well Groups (Grupos de pocillos) en las opciones de View (Vista) en la parte inferior de la ventana Plate Editor (Editor de placas).

Elementos de menú contextual para el cuadro de diálogo Well Groups Manager (Administrador de grupos de pocillos)

En la [Tabla 13](#) se enumeran los elementos del menú disponibles en el cuadro de diálogo Well Groups Manager (Administrador de grupos de pocillos) cuando haga clic con el botón derecho en cualquier pocillo.

Tabla 13. Elementos de menú contextual en el cuadro de diálogo Plate Editor Well Selector (Selector de pocillos del editor de placas).

Elemento	Función
Copy (Copiar)	Copia el contenido de los pocillos que se pueden pegar en otro pocillo o pocillos.
Copy as Image (Copiar como imagen)	Copia la vista del selector de pocillos como una imagen.
Print (Imprimir)	Imprime la vista del selector de pocillos.
Print Selection (Imprimir selección)	Imprime solo las celdas seleccionadas.
Export to Excel (Exportar a Excel)	Exporta los datos a una hoja de cálculo de Excel.
Export to CSV (Exportar a CSV)	Exporta los datos como un documento separado por comas.
Export to Xml (Exportar a xml)	Exporta los datos como un documento .xml.
Export to Html (Exportar a html)	Exporta los datos como un documento .html.

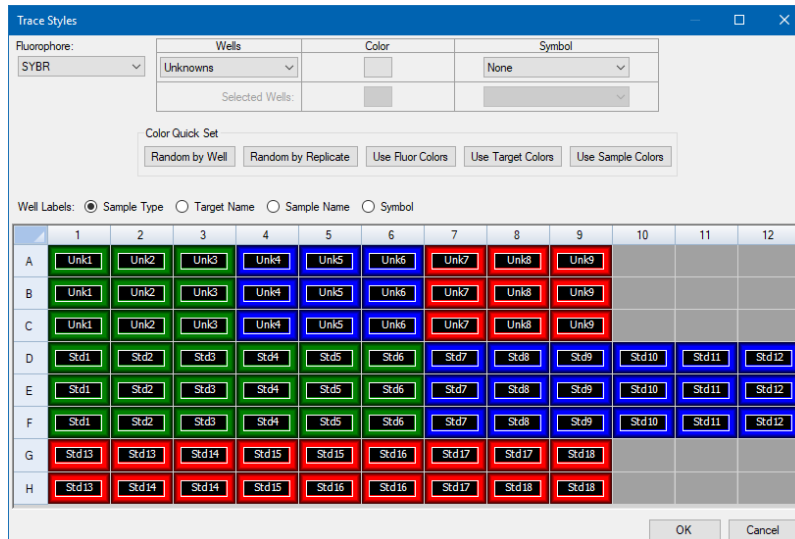
Cambio de los estilos de trazo

Durante la configuración de la placa y mientras una serie se encuentra en curso, puede modificar el color y el estilo de los trazos de amplificación. Puede ver con facilidad los trazos en la ventana de estado en tiempo real conforme se recogen los datos.

Para cambiar los estilos de trazo

1. Haga clic en Trace Style (Estilo de trazo) en la barra de herramientas de Plate Editor (Editor de placas).

Aparece el cuadro de diálogo Trace Styles (Estilos de trazo) para la placa abierta, por ejemplo:



2. Para presentar los estilos de trazo mediante un fluorocromo específico, selecciónelo de la lista desplegable de fluorocromos.
3. Para cambiar la presentación de trazos:
 - a. Seleccione el tipo de trazo de la lista desplegable Wells (Pocillos).
 - b. Haga clic en su color en la columna Color.
 - c. En el cuadro de diálogo Color que aparece, elija otro color para el trazo y haga clic en OK (Aceptar).
El cambio del tipo de pocillo aparece en la cuadrícula inferior.
 - d. (Opcional) Seleccione un símbolo para el trazo en la lista desplegable Symbols (Símbolos).
4. Para cambiar rápidamente el conjunto de colores, haga clic en la selección adecuada de la sección Color Quick Set (Ajuste rápido del color).

5. Para ver las etiquetas de los pocillos en la cuadrícula, seleccione el tipo de etiqueta en la sección Well Labels (Etiquetas de pocillos).
6. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios o en Cancel (Cancelar) para cancelar los cambios.

Visualización de la placa en formato de hoja de cálculo

La herramienta Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo) muestra el contenido de una placa en formato de hoja de cálculo. Puede utilizar la herramienta Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo) para exportar el contenido de los pocillos en un formato delimitado por tabuladores a una aplicación como Microsoft Excel. También puede importar el contenido de los pocillos desde una aplicación delimitada por tabuladores.

Para utilizar la herramienta Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo)

1. En la barra de herramientas de Plate Editor (Editor de placas), haga clic en Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo) para abrir el cuadro de diálogo Plate Spreadsheet View (Vista de la hoja de cálculo de la placa).

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

2. El cuadro de diálogo de Spreadsheet View (Vista de la hoja de cálculo) muestra el contenido en la placa para un solo fluorocromo. Para ver el contenido de la placa para otro fluorocromo, selecciónelo de la lista desplegable Fluors List (Lista de fluorocromos).
3. Haga clic en Export Template (Exportar plantilla) para exportar una plantilla de la hoja de cálculo de la placa a un archivo de Excel (formato .csv). Puede editar esta plantilla para importar la información del contenido de los pocillos.
4. (Opcional) Haga clic en Import (Importar) para importar el contenido de los pocillos desde un archivo delimitado por comas.
5. Para clasificar la hoja de cálculo de acuerdo con los datos en una columna específica, haga clic en el triángulo situado junto al nombre de una columna.

Consejo: Puede editar el contenido de cualquier celda de una columna que tenga un asterisco (*) junto con el nombre de la columna (por ejemplo, *Target Name (*Nombre de objetivo)).

Nota: Seleccione las unidades para los datos de curva estándar en la columna Quantity (Cantidad) abriendo el editor de placas y seleccionando Settings (Ajustes) > Units (Unidades) en la barra de menús. Una vez completada la serie de la placa, los datos de estos estándares aparecen en el gráfico Standard Curve (Curva estándar) de la pestaña Quantification (Cuantificación) en la ventana Data Analysis (Análisis de datos) con las unidades que seleccione.

Elementos del menú contextual para la herramienta Plate Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo de la placa)

En la [Tabla 14](#) se muestran los elementos de menú disponibles en la herramienta Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo) cuando hace clic con el botón derecho en cualquier pocillo de la herramienta.

Tabla 14. Elementos del menú contextual de la herramienta Plate Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo de la placa)

Elemento	Función
Copy (Copiar)	Copia toda la hoja de cálculo.
Copy as Image (Copiar como imagen)	Copia la hoja de cálculo como un archivo de imagen.
Print (Imprimir)	Imprime la hoja de cálculo.
Print Selection (Imprimir selección)	Imprime solo las celdas seleccionadas.
Export to Excel (Exportar a Excel)	Exporta el archivo a una hoja de cálculo de Excel.
Export to CSV (Exportar a CSV)	Exporta el archivo como archivo .csv.
Export to Xml (Exportar a xml)	Exporta el archivo como archivo .xml.
Export to Html (Exportar a html)	Exporta el archivo como archivo .html.
Find (Buscar)	Busca texto específico.

Tabla 14. Elementos del menú contextual de la herramienta Plate Spreadsheet View/Importer (Vista/importador de hoja de cálculo de la placa) (continuación)

Elemento	Función
Sort (Clasificar)	Clasifica la hoja de cálculo seleccionando hasta tres columnas de datos en la ventana Sort (Clasificar).

Creación de una disposición de placa con el asistente de configuración de placas

Puede utilizar el asistente de configuración para introducir la información de disposición de la placa necesaria para el análisis de expresión genética normalizada, incluyendo:

- Nombres de objetivos
- Nombres de muestras
- Ubicación de los objetivos y la muestra en la placa
- Genes de referencia
- Muestra de control

Puede utilizar el asistente de configuración antes, durante o después de una serie.

Uso del asistente de configuración de placas

En esta sección se explica cómo crear una disposición de la placa utilizando el asistente de configuración de placas. Para ver el contenido de cada pocillo en la placa con mayor facilidad, haga clic en Zoom plate (Ampliar placa) en la parte superior del asistente de configuración.

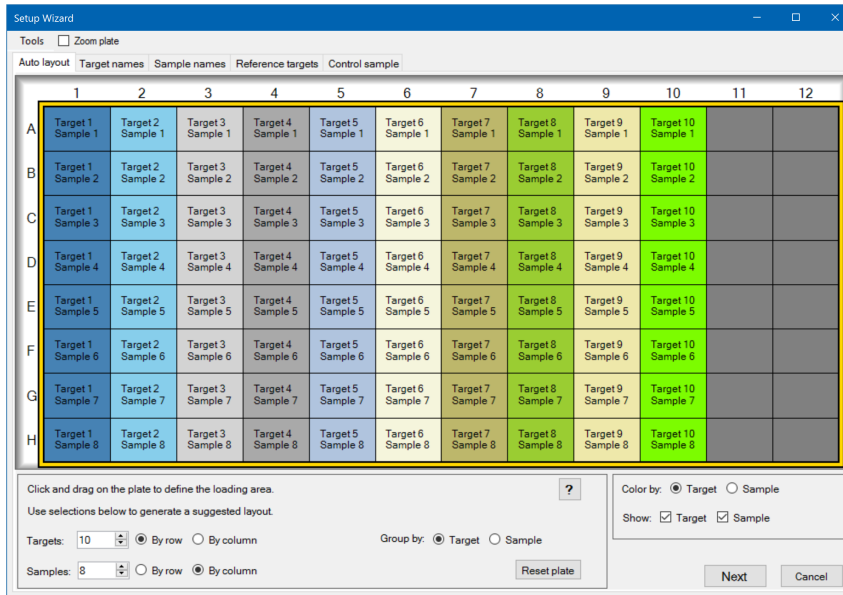
Importante: Volver a la pestaña Auto layout (Disposición automática) mientras se encuentra en cualquier otra pestaña del asistente de configuración reinicia la disposición de la placa. Tenga cuidado cuando seleccione esta pestaña.

Consejo: Puede reiniciar la disposición seleccionando Tools (Herramientas) > Clear Plate (Desactivar placa) en el asistente de configuración.

Para utilizar el asistente de configuración de placas

1. Abra Plate Edito (Editor de placas).
2. Para abrir el asistente de configuración, elija Editing Tools (Herramientas de edición) > Setup Wizard (Asistente de configuración).

Aparece el asistente de configuración, donde se muestra la pestaña Auto layout (Disposición automática).



3. En la pestaña Auto layout (Disposición automática), realice lo siguiente:
 - a. Haga clic en un pocillo de la cuadrícula y arrástrelo para especificar el área de la placa en la que pretende cargar una muestra.
 - b. Introduzca el número de objetivos y muestras que desee cargar.

Consejo: El número de objetivos y muestras debe ser igual al número de celdas seleccionadas. Si los números introducidos no encajan en el área seleccionada, modifique los números o el área de selección de la placa. La orientación de los elementos en la placa y su agrupación se puede especificar.
 - c. (Opcional) Cambie la orientación de la placa. Por ejemplo, puede establecer objetivos en columnas y muestras en filas, o agruparlos por muestras.
 - d. Haga clic en Next (Siguiente) para continuar con la pestaña Target names (Nombres de objetivos).

Nota: Si la disposición de la placa no tiene un patrón regular, utilice la pestaña Target names (Nombres de objetivos) para colocar manualmente sus objetivos, o la pestaña Sample names (Nombres de muestras) para colocar sus muestras en la placa. Haga clic y arrastre para seleccionar varios pocillos.

4. En la pestaña Target names (Nombres de objetivos), defina los nombres objetivo para los grupos objetivo:
 - a. Realice una de las siguientes acciones:
 - Para renombrar los objetivos por grupo, establezca Select by (Seleccionar por) en Target (Objetivo).
 - Para renombrar los objetivos por pocillo, establezca Select by (Seleccionar por) en Well (Pocillo).
 - b. Seleccione un grupo objetivo o un pocillo de la cuadrícula y escriba un nombre en la lista desplegable Target name (Nombre de objetivo).

Consejo: Pulse Tab para seleccionar el siguiente grupo o pocillo a la derecha o Enter (Entrar) para seleccionar el siguiente grupo o pocillo a continuación. Asimismo, en las pestañas Target name (Nombre de objetivo) y Sample name (Nombre de muestra), mantenga pulsada la tecla Control y haga clic en un pocillo para seleccionar varios pocillos no adyacentes.
 - c. Haga clic en Next (Siguiete) para continuar con la pestaña Sample names (Nombres de muestras).
5. En la pestaña Sample names (Nombres de muestras), defina los nombres de muestras para los grupos de muestras:
6. Haga clic en Next (Siguiete) para continuar con la pestaña Reference targets (Objetivos de referencia).
7. En la pestaña Reference targets (Objetivos de referencia), seleccione uno o más objetivos para utilizarlos como referencias de expresión genética normalizada y haga clic en Next (Siguiete) para continuar con la pestaña Control sample (Muestra de control).
8. En la pestaña Control sample (Muestra de control), seleccione una muestra para utilizarla como un control para cálculos de expresión genética relativos.
9. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar la disposición de la placa y vuelva al editor de placas, en el que puede definir los parámetros de la placa. Consulte [Asignación de parámetros opcionales al archivo de placa en la página 125](#) para obtener más información.

También puede hacer clic en Previous (Anterior) para volver a una pestaña anterior para realizar cambios.

Nota: Al volver a la pestaña Auto layout (Disposición automática) se reinicia automáticamente la placa. Tenga cuidado al hacer clic en Previous (Anterior).

Capítulo 8 Procesamiento de experimentos

En este capítulo se explica cómo procesar experimentos de análisis personalizados (definidos por el usuario) o PrimePCR™ utilizando el software CFX Manager™ Dx.

Un archivo de datos de procesamiento contiene el protocolo y la información de placa de la serie. El archivo también contiene los datos de los análisis que CFX Manager Dx realiza una vez finalizada la serie.

El software CFX Manager Dx facilita la configuración y el procesamiento de experimentos definidos por el usuario o PrimePCR. La ventana Run Setup (Configuración de la serie) le guía por los pasos comunes para configurar un experimento hasta el cuadro de diálogo Run Setup (Configuración de la serie), desde el que inicia la serie.

Acceso a la ventana Run Setup (Configuración de la serie)

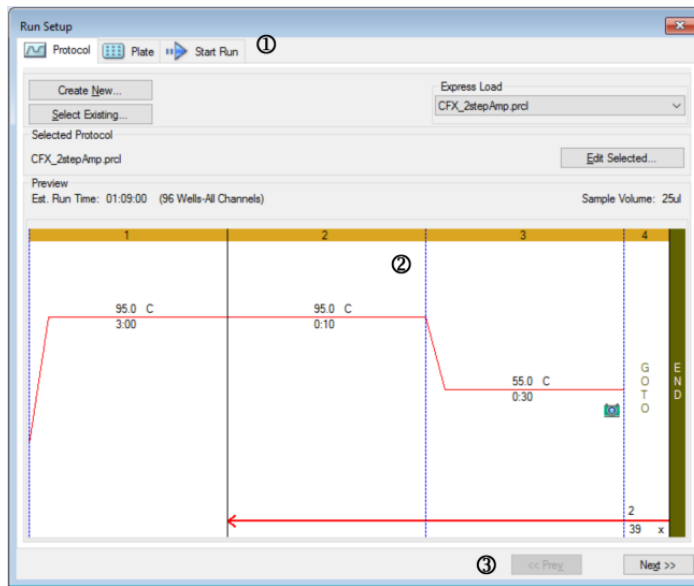
Para acceder a la ventana Run Setup (Configuración de la serie)

- ▶ Realice una de las siguientes acciones:
 - En la pestaña Run setup (Configuración de la serie) del Startup Wizard (Asistente de inicio), haga clic en User-defined (Definida por el usuario) o en PrimePCR.
 - En la ventana de inicio, haga clic en User-defined Run Setup (Configuración de la serie definida por el usuario) o en PrimePCR Run Setup (Configuración de la serie PrimePCR) en la barra de herramientas.
 - En la ventana de inicio, seleccione Run (Serie) > User-defined Run (Serie definida por el usuario) o Run (Serie) > PrimePCR Run (Serie de PrimePCR).

Ventana Run Setup (Configuración de la serie)

En la ventana Run Setup (Configuración de la serie) se ofrece acceso rápido a los archivos y ajustes necesarios para configurar y procesar un experimento. Cuando elige procesar un experimento definido por el usuario, la ventana Run Setup (Configuración de la serie) se abre y muestra la pestaña Protocol (Protocolo). Cuando elige procesar un experimento PrimePCR, la ventana Run Setup (Configuración de la serie) se abre y muestra la pestaña Start Run (Iniciar serie).

Consejo: Consulte [Realización de experimentos de PrimePCR en la página 170](#) para obtener información sobre PrimePCR; consulte [Pestaña Start Run \(Iniciar serie\) en la página 160](#) para obtener información sobre la pestaña Start Run (Iniciar serie).



LEYENDA

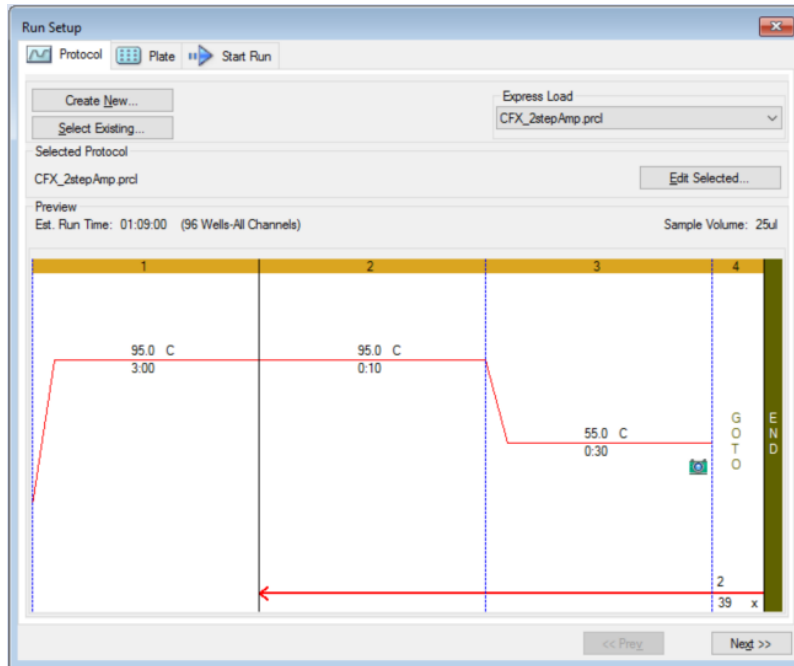
1. Las pestañas le guiarán para configurar y procesar un experimento:
 - Pestaña Protocol (Protocolo): seleccione un protocolo existente para procesar o editar, o cree un nuevo protocolo en Protocol Editor (Editor de protocolos).
 - Pestaña Plate (Placa): seleccione una placa existente para procesar o editar, o cree una nueva placa en Plate Editor (Editor de placas).
 - Pestaña Start Run (Iniciar serie): vea los ajustes del experimento, seleccione uno o más bloques de instrumentos e inicie la serie.

2. En la ventana principal se muestran las opciones para cada pestaña conforme las aplica.

3. Los botones de navegación le dirigen a la pestaña Start Run (Iniciar serie).

Pestaña Protocol (Protocolo)

La pestaña Protocol (Protocolo) muestra una vista previa del archivo de protocolo que va a procesar. Un archivo de protocolo contiene las instrucciones para los pasos de temperatura del instrumento, así como las opciones del instrumento que controlan el ritmo de aumento, el volumen de la muestra y la temperatura de la tapa.



De forma predeterminada, el software muestra el protocolo definido en la sección File Selection for Run Setup (Selección de archivos para configuración de serie) en la pestaña Files (Archivos) del cuadro de diálogo User (Usuario) > User Preferences (Preferencias de usuario). Puede cambiar el protocolo predeterminado en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario). Consulte [Cambio de los ajustes de archivo predeterminados en la página 68](#) para obtener más información.

En la pestaña Protocol (Protocolo), puede:

- Crear un nuevo protocolo para procesarlo
- Seleccionar un protocolo existente para procesarlo o editarlo

Consulte el [Capítulo 6, Creación de protocolos](#) para obtener más información sobre la creación y modificación de protocolos.

Para crear un protocolo nuevo

1. En la pestaña Protocol (Protocolo), haga clic en Create New (Crear nuevo).
Aparece el editor de protocolos.
2. Utilice el editor de protocolos para crear un protocolo nuevo.
3. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar el protocolo y vuelva a la pestaña Protocol (Protocolo) en Run Setup (Configuración de la serie).
4. Vea los detalles del protocolo y realice una de las siguientes acciones:
 - Si los detalles son correctos, haga clic en Next (Siguiete) para continuar con la pestaña Plate (Placa).
 - Si los detalles son incorrectos, haga clic en Edit Selected (Editar seleccionado) para volver a la ventana Protocol Editor (Editor de protocolos). Revise el protocolo, guarde los cambios y haga clic en Next (Siguiete) en la pestaña Protocol (Protocolo) para continuar con la pestaña Plate (Placa).

Para seleccionar un protocolo existente

1. En la pestaña Protocol (Protocolo), realice una de las siguientes acciones:
 - Haga clic en Select Existing (Seleccionar existente) y navegue hasta un protocolo existente.
 - Haga clic en Express Load (Carga rápida) y seleccione un protocolo de la lista desplegable de protocolos.

Consejo: Puede añadir protocolos o eliminarlos de la lista desplegable Express Load (Carga rápida). Consulte [Adición y eliminación de protocolos de carga rápida](#) a continuación para obtener más información.
2. Vea los detalles del protocolo y realice una de las siguientes acciones:
 - Si los detalles son correctos, haga clic en Next (Siguiete) para continuar con la pestaña Plate (Placa).
 - Si los detalles son incorrectos, haga clic en Edit Selected (Editar seleccionado) para abrir el editor de protocolos. Revise el protocolo, guarde los cambios y haga clic en Next (Siguiete) en la pestaña Protocol (Protocolo) para continuar con la pestaña Plate (Placa).

Adición y eliminación de protocolos de carga rápida

Puede modificar el contenido de la lista desplegable Express Load (Carga rápida) que aparece en el editor de protocolos. Los protocolos de esta lista se guardan en la siguiente carpeta:

c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\

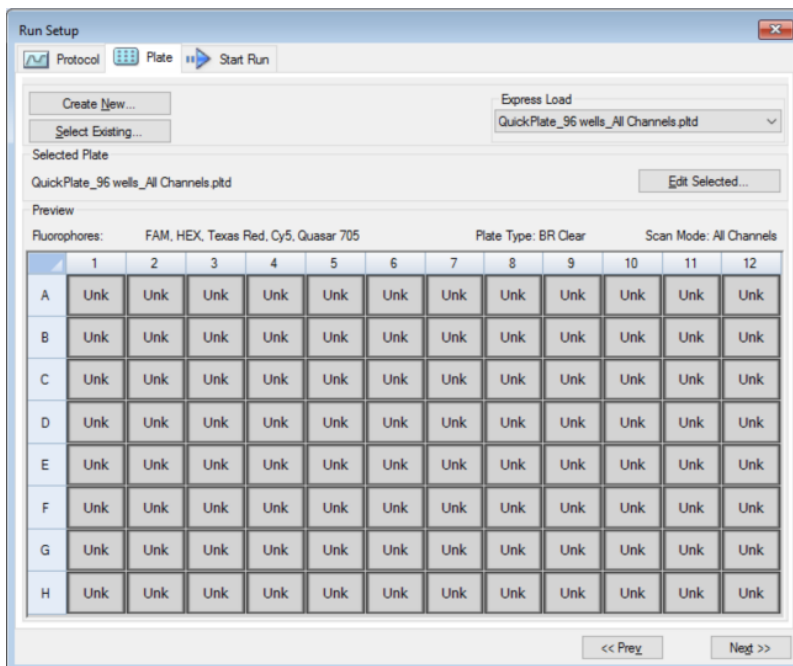
Para modificar la lista Express Load (Carga rápida) de protocolos

1. Navegue hasta la carpeta ExpressLoad (Carga rápida) y ábrala.
2. Revise los archivos de protocolo (.pcri) de la carpeta.
3. Realice una de las siguientes acciones:
 - Elimine los protocolos de la carpeta para eliminarlos de la lista desplegable.
 - Copie los protocolos en la carpeta para añadirlos a la lista desplegable.

Pestaña Plate (Placa)

Nota: Si el protocolo seleccionado en la pestaña Protocol (Protocolo) no incluye un paso de lectura de placa para el análisis de PCR en tiempo real, la pestaña Plate (Placa) está oculta. Para ver la pestaña Plate (Placa), añada al menos una lectura de placa al protocolo.

La pestaña Plate (Placa) muestra una vista previa del archivo de placa que va a cargar. En la serie de PCR en tiempo real, el archivo de placa contiene una descripción del contenido de cada pocillo, incluidos sus fluorocromos, el modo de exploración y el tipo de placa. El software CFX Manager Dx utiliza estas descripciones para la recopilación y el análisis de datos.



De forma predeterminada, el software muestra la placa definida en la sección File Selection for Run Setup (Selección de archivos para configuración de la serie) en la pestaña Files (Archivos) del cuadro de diálogo User (Usuario) > User Preferences (Preferencias de usuario). Puede cambiar la placa predeterminada en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario). Consulte [Cambio de los ajustes de archivo predeterminados en la página 68](#) para obtener más información.

En la pestaña Plate (Placa), puede:

- Crear una nueva placa para cargarla.
- Seleccionar una placa existente para cargarla o editarla.

Consulte el [Capítulo 7, Preparación de placas](#) para obtener más información sobre la creación y modificación de placas.

Para crear una nueva placa

1. En la pestaña Plate (Placa), haga clic en Create New (Crear nuevo).
Aparece el editor de placas.
2. Utilice el editor de placas para crear una nueva placa.
3. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar la placa y vuelva a la pestaña Plate (Placa) en Run Setup (Configuración de la serie).
4. Vea los detalles de la placa y realice una de las siguientes acciones:
 - Si los detalles son correctos, haga clic en Next (Siguiente) para continuar con la pestaña Start Run (Iniciar serie).
 - Si los detalles son incorrectos, haga clic en Edit Selected (Editar seleccionado) para volver a la ventana del editor de placas. Revise el archivo de placa, guarde los cambios y después haga clic en Next (Siguiente) en la pestaña Plate (Placa) para continuar con la pestaña Start Run (Iniciar serie).

Para seleccionar un archivo de placa existente

1. En la pestaña Plate (Placa), realice una de las siguientes acciones:
 - Haga clic en Select Existing (Seleccionar existente) y navegue hasta un archivo de placa existente.
 - Haga clic en Express Load (Carga rápida) y seleccione un archivo de placa de la lista desplegable.

Consejo: Puede añadir placas o eliminarlas de la lista desplegable Express Load (Carga rápida). Consulte [Adición y eliminación de archivos de placa de carga rápida](#) a continuación para obtener más información.
2. Vea los detalles de la placa y realice una de las siguientes acciones:
 - Si los detalles son correctos, haga clic en Next (Siguiente) para continuar con la pestaña Start Run (Iniciar serie).
 - Si los detalles son incorrectos, haga clic en Edit Selected (Editar seleccionado) para abrir la ventana del editor de placas. Revise el archivo de placa, guarde los cambios y después haga clic en Next (Siguiente) para continuar con la pestaña Start Run (Iniciar serie).

Adición y eliminación de archivos de placa de carga rápida

Puede modificar el contenido de la lista desplegable Express Load (Carga rápida) que aparece en el editor de placas. Las placas que aparecen en esta lista se guardan en la siguiente carpeta:

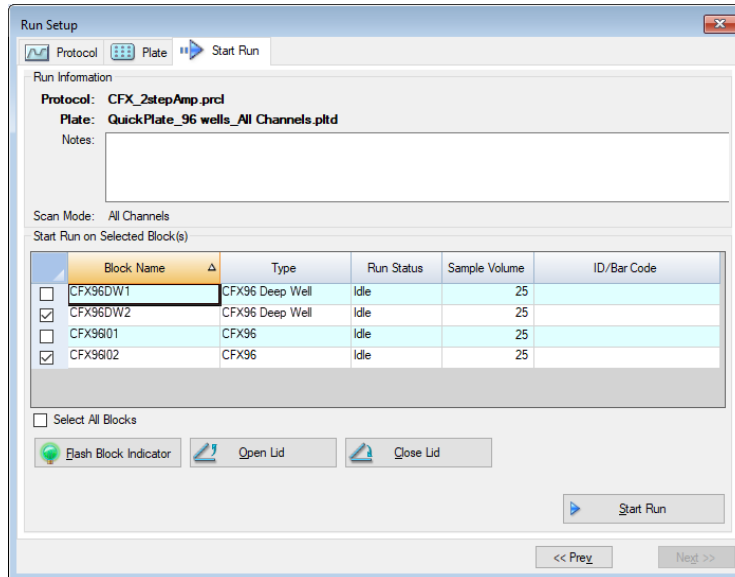
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\

Para modificar la lista Express Load (Carga rápida) de archivos de placa

1. Navegue hasta la carpeta ExpressLoad (Carga rápida) y ábrala.
2. Revise los archivos de placa (.pltd) de la carpeta.
3. Realice una de las siguientes acciones:
 - Elimine los archivos de placa de la carpeta para eliminarlos de la lista desplegable.
 - Copie los archivos de placa en la carpeta para añadirlos a la lista desplegable.

Pestaña Start Run (Iniciar serie)

En la pestaña Start Run (Iniciar serie) se muestra información sobre el experimento que se va a procesar. También muestra el bloque o bloques del instrumento conectado en el que puede procesar el experimento.



En la pestaña Start Run (Iniciar serie) puede realizar lo siguiente:

- Ver información detallada sobre la serie, incluidos el archivo de protocolo, el archivo de placa y el modo de exploración seleccionados.
- Añadir notas sobre la serie.
- Ver detalles sobre todos los instrumentos conectados, incluidos su estado de serie (en funcionamiento o inactivo), el volumen de la muestra en μl , la temperatura de la tapa, el modo de emulación, así como el ID o código de barras, si están disponibles.

Nota: Puede modificar las columnas que aparecen en la tabla Start Run on Selected Blocks (Iniciar serie en los bloques seleccionados). Consulte [Modificación de detalles en la tabla Selected Blocks \(Bloques seleccionados\) en la página 161](#) para obtener información.

- Seleccionar el bloque o bloques donde va a realizar la serie.
- Abrir o cerrar de forma remota la tapa de cada instrumento seleccionado.
- Iniciar la serie.

Modificación de detalles en la tabla Selected Blocks (Bloques seleccionados)

Puede modificar las columnas que aparecen en la tabla Start Run Selected Block(s) (Iniciar serie en los bloques seleccionados). También puede modificar los valores predeterminados del volumen de la muestra y la temperatura de la tapa en la tabla. Los cambios de configuración se aplican a la serie que se va a procesar.

Para añadir columnas en la tabla Start Run on Selected Blocks (Iniciar serie en los bloques seleccionados)

- ▶ Haga clic con el botón derecho en la tabla y seleccione una opción en el menú que aparece.

Para eliminar columnas en la tabla Start Run on Selected Blocks (Iniciar serie en los bloques seleccionados)

- ▶ Haga clic con el botón derecho en la tabla y desactive la opción del menú que aparece.

Para editar los valores de volumen de la muestra o temperatura de la tapa para un bloque

- ▶ Seleccione la celda de volumen de la muestra o temperatura de la tapa para el bloque objetivo e introduzca un nuevo valor en la celda.

Para añadir un ID de serie o código de barras para un bloque

- ▶ Seleccione la celda ID/Bar Code (ID/código de barras) e introduzca un ID o escanee el bloque con un lector de códigos de barras.

Procesamiento de un experimento

Importante: Antes de procesar un experimento, asegúrese de que el software antivirus de su ordenador no inicie un escaneo durante la serie.

Para procesar un experimento

1. En la pestaña Start Run (Iniciar serie), compruebe los detalles de la placa y el protocolo en la sección Run Information (Información de la serie).
2. (Opcional) Añada notas acerca de la serie o experimento en el cuadro de texto Notes (Notas).
3. Active la casilla de verificación de uno o más bloques en los que desee realizar la serie.

Consejo: Para procesar el experimento en todos los bloques, seleccione Select All Blocks (Seleccionar todos los bloques) ubicado bajo la tabla Selected Blocks (Bloques seleccionados).

4. (Opcional) Haga clic en Flash Block Indicator (Indicador flash de bloque) para hacer parpadear el indicador LED en los bloques de instrumentos seleccionados.
5. Inserte las placas del experimento en el bloque:
 - a. Haga clic en Open Lid (Abrir tapa). La tapa motorizada de cada bloque seleccionado se abre.
 - b. Inserte un bloque de experimento en cada bloque seleccionado.
 - c. Haga clic en Close Lid (Cerrar tapa).

Consejo: También puede pulsar el botón de la parte delantera de cada bloque para abrir y cerrar la tapa.

6. Haga clic en Open Lid (Abrir tapa) y Close Lid (Cerrar tapa) para abrir y cerrar la tapa motorizada de cada bloque de instrumentos seleccionado.
7. Visualice los detalles de la serie y realice una de las siguientes acciones:
 - Si los detalles son correctos, haga clic en Start Run (Iniciar serie).
 - Si los detalles son incorrectos:
 - Corrija los detalles en la tabla Selected Blocks (Bloques seleccionados) y haga clic en Start Run (Iniciar serie).
 - Vuelva a la pestaña correcta y realice los cambios adecuados, guarde los cambios y después haga clic en Next (Siguiendo) para volver a la pestaña Start Run (Iniciar serie).

Para iniciar una nueva serie desde una serie anterior

- ▶ Realice una de las siguientes acciones:
 - Seleccione File (Archivo) > Repeat a Run (Repetir una serie) en la barra de menús principal del software; navegue hasta el archivo de datos de procesamiento que desee repetir y haga doble clic en él.
 - Seleccione la pestaña Repeat Run (Repetir serie) del asistente de inicio y haga doble clic en el archivo de datos de procesamiento que desee repetir.

De forma opcional, en la pestaña Repeat Run (Repetir serie) puede hacer clic en Browse (Examinar) y navegar, y hacer doble clic en el archivo de datos de procesamiento que desee repetir.

Cuadro de diálogo Run Details (Detalles de la serie)

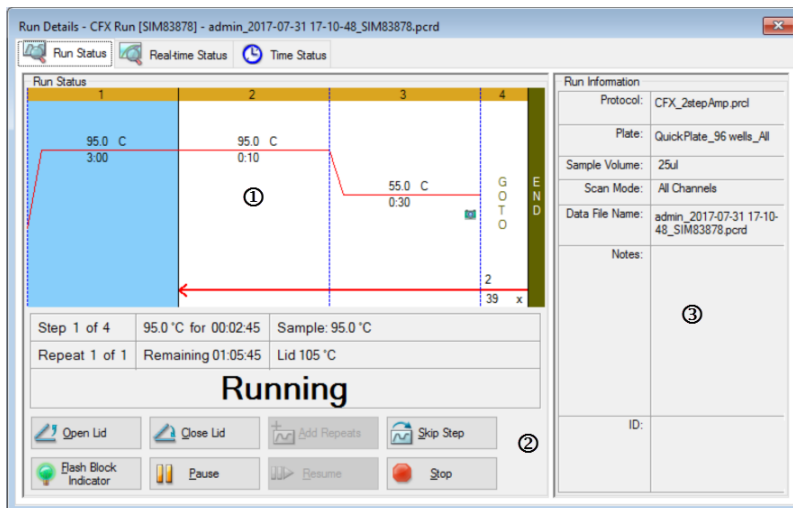
Al hacer clic en Start Run (Iniciar serie), el software CFX Manager Dx le indica que guarde el archivo de datos (.pcrd), inicia la serie y abre el cuadro de diálogo Run Details (Detalles de la serie). El cuadro de diálogo Run Details (Detalles de la serie) incluye tres pestañas de estado:

- **Run Status (Estado de la serie):** utilice esta pestaña para ver el estado actual del protocolo, abrir o cerrar la tapa, pausar una serie, añadir repeticiones o detener la serie.
- **Real-time Status (Estado en tiempo real):** utilice esta pestaña para ver los datos de fluorescencia de PCR en tiempo real a medida que se recopilan.
- **Time Status (Estado de tiempo):** utilice esta pestaña para ver un cronómetro de cuenta atrás para el protocolo.

Estas pestañas se explican en detalle en las secciones siguientes.

Pestaña Run Status (Estado de la serie)

En la pestaña Run Status (Estado de la serie) se muestra el estado actual de una serie en curso. Desde esta vista, puede controlar la tapa y cambiar la serie en curso.



LEYENDA

1. Panel Run Status (Estado de la serie): muestra el progreso actual del protocolo.
2. Controles de Run Status (Estado de la serie): permite utilizar el instrumento o interrumpir el protocolo actual.
3. Panel Run Information (Información de la serie): muestra detalles de la serie.

Comandos de Run Status (Estado de la serie)

Utilice los comandos de la pestaña Run Status (Estado de la serie) para utilizar el instrumento desde el software o cambiar una serie que se encuentre en curso.

Nota: La realización de cambios en el protocolo durante la serie, como la adición de repeticiones, no cambia el archivo del protocolo asociado con la serie. Estas acciones se registran en Run Log (Registro de serie).



: abre la tapa motorizada en los instrumentos seleccionados.

Importante: Al abrir la tapa durante una serie, se pausa la serie durante el paso actual y se pueden modificar los datos.



: cierra la tapa motorizada en los instrumentos seleccionados.



: añade más repeticiones al paso GOTO actual en el protocolo. Esta opción está disponible solo cuando se está procesando un paso GOTO.



: omite el paso actual en el protocolo.

Nota: Si omite un paso GOTO, el software le solicita que confirme que desea omitir todo el bucle GOTO y continuar con el siguiente paso del protocolo.



: ilumina el LED en el instrumento seleccionado para identificar los bloques seleccionados.



: pausa el protocolo.

Nota: Esta acción se registra en Run Log (Registro de serie).



: reanuda un protocolo pausado.

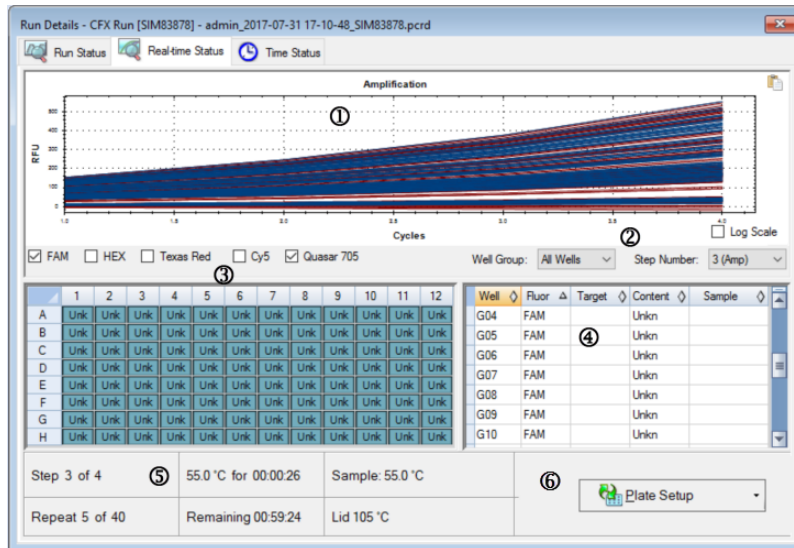


: detiene la serie antes de que finalice el protocolo.

Nota: Detener una serie antes de que finalice el protocolo puede modificar los datos.

Pestaña Real-time Status (Estado en tiempo real)

La pestaña Real-time Status (Estado en tiempo real) muestra datos de PCR en tiempo real recogidos en cada ciclo durante la serie después de las dos primeras lecturas de placa.



LEYENDA

1. Panel de amplificación de trazos: muestra datos de amplificación en tiempo real durante la serie.

2. Identificador del grupo de pocillos: si los grupos de pocillos se identificaron en la configuración de placas, los usuarios pueden seleccionar un grupo de pocillos específico para ver sus trazos, pocillos e información tabular.
 Identificador del número de paso: si el protocolo recopila datos a más de un paso (por ejemplo, durante la amplificación y la curva de fusión), los usuarios pueden seleccionar un paso específico y ver los trazos recopilados en ese paso.

3. Panel del selector de pocillos: muestra los pocillos activos, inactivos y vacíos en la placa.

4. Panel de la tabla Plate setup (Configuración de placa): muestra la configuración de la placa en formato tabular.

5. Panel Run details (Detalles de la serie): muestra el estado en tiempo real de la serie, incluidos:
 - Paso actual
 - Repetición actual
 - Temperatura actual
 - Tiempo restante
 - Temperatura de la muestra
 - Temperatura de la tapa

6. Plate Setup (Configuración de placa): abre el cuadro de diálogo Plate Setup (Configuración de placa), en el que los usuarios pueden modificar la configuración de la placa actual durante una serie.

En la pestaña Real-time Status (Estado en tiempo real) puede:

- Mostrar u ocultar trazos en tiempo real seleccionándolos en el panel selector de pocillos o en la tabla de configuración de placas.
- Ver un solo trazo o grupos de trazos seleccionándolos en la lista desplegable de grupos de pocillos.
- Editar la placa o sustituir el archivo de placa.
- Aplicar un archivo de PrimePCR a la serie.

Cómo mostrar u ocultar trazos en tiempo real

De forma predeterminada, todos los pocillos rellenos están activos y aparecen en la tabla de configuración de placas. Los pocillos activos aparecen en azul en el panel selector de pocillos. En este mismo panel, los pocillos ocultos aparecen en gris claro, y los pocillos no utilizados aparecen en gris oscuro.

Puede ocultar trazos de los pocillos activos durante la serie. CFX Manager Dx continúa recopilando datos para todos los pocillos; cuando oculta los pocillos, sus datos no aparecerán en la tabla de configuración de placas.

Para ocultar trazos en tiempo real

- ▶ En el panel selector de pocillos, haga clic en los pocillos activos (azul) que desee ocultar.

Para mostrar trazos en tiempo real

- ▶ En el panel selector de pocillos, haga clic en los pocillos ocultos (gris claro) que desee mostrar.

Para obtener más información sobre el selector de pocillos, consulte el [Selector de pocillos en la página 183](#).

Edición de una configuración de placa

Para editar una configuración de placa

- ▶ Haga clic en Plate Setup (Configuración de placa) y seleccione View/Edit Plate (Ver/editar placa).

Aparece la ventana Plate Editor (Editor de placas), en la que puede editar la placa mientras la serie está en curso. Para obtener más información acerca de la edición de placas, consulte el [Capítulo 7, Preparación de placas](#).

Nota: También puede editar los estilos de trazo de la ventana Plate Editor (Editor de placas). Los cambios aparecen en el diagrama de trazos de amplificación en la pestaña Real-time Status (Estado en tiempo real).

Sustitución de un archivo de placa

Consejo: La sustitución de un archivo de placa es especialmente útil si inicia una serie con un archivo de placa rápida en la carpeta ExpressLoad (Carga rápida).

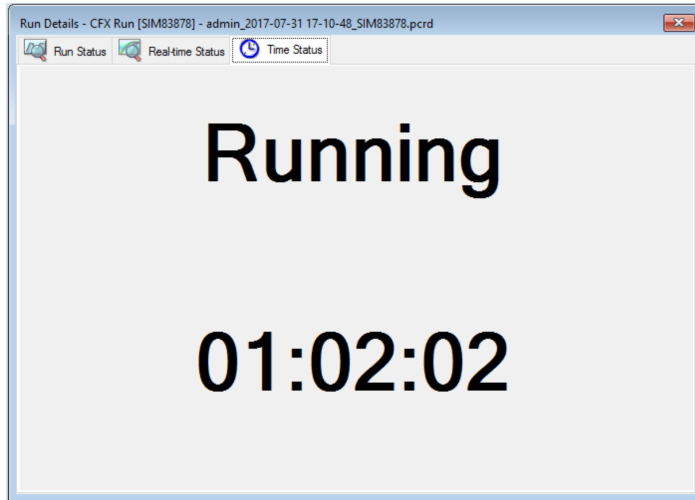
Para sustituir un archivo de placa

- ▶ Haga clic en Plate Setup (Configuración de placa) y seleccione una de las siguientes opciones:
 - Replace Plate file (Sustituir archivo de placa): seleccione el nuevo archivo de placa de la lista en la ventana del explorador
 - Apply PrimePCR file (Aplicar archivo PrimePCR): busque un archivo de serie desde el que se obtendrá la disposición de la placa utilizando la búsqueda inteligente o haga clic en Browse (Examinar) para encontrar un archivo que haya descargado desde el sitio web de Bio-Rad y que no esté ubicado en la carpeta PrimePCR

Nota: CFX Manager Dx comprueba el modo de exploración y el tamaño de la placa del archivo de placa. Deben ser idénticos a los ajustes de serie con los que se inició la serie.

Pestaña Time Status (Estado de tiempo)

En la pestaña Time Status (Tiempo) se muestra el tiempo restante para completar la serie actual.



Realización de experimentos de PrimePCR

Los experimentos de PrimePCR utilizan una vía o análisis específicos de la enfermedad que Bio-Rad ha validado y optimizado por laboratorio húmedo, y que están disponibles en los formatos siguientes:

- Paneles con placas: placas que contienen análisis específicos para una ruta biológica o enfermedad; incluyen controles de PrimePCR y genes de referencia
- Placas configuradas personalizadas: placas que se pueden configurar en una disposición definida por el usuario con la opción de elegir análisis para objetivos de interés, controles y referencias
- Análisis individuales: tubos que contienen grupos de cebadores individuales para su uso en reacciones en tiempo real

Para reducir el tiempo general de la serie, puede eliminar el paso de fusión del protocolo. Bio-Rad recomienda que no realice ninguna otra modificación a un protocolo de serie de PrimePCR. El protocolo predeterminado es el que se utilizó para la validación del análisis. Cualquier desviación puede afectar a los resultados. Los cambios al protocolo se anotan en la pestaña Run Information (Información de la serie) del archivo de datos resultante y en cualquier informe que se cree.

Para iniciar una serie de PrimePCR

- ▶ Para iniciar una serie de PrimePCR, realice cualquiera de las siguientes acciones:
 - En el asistente de inicio, seleccione PrimePCR en la pestaña Run Setup (Configuración de la serie) y después seleccione la química adecuada (SYBER o sonda).
 - Seleccione una serie de PrimePCR de la lista Recent Runs (Series recientes) en la pestaña Repeat run (Repetir serie) del asistente de inicio.
 - Seleccione File (Archivo) > New (Nuevo) > PrimePCR Run (Serie de PrimePCR) en la ventana de inicio.
 - Seleccione File (Archivo) > New (Nuevo) > PrimePCR Run File (Archivo de serie de PrimePCR) en la ventana de inicio.
 - Arrastre y coloque un archivo de serie de PrimePCR en la ventana de inicio.

Después de seleccionar una serie de PrimePCR, la ventana Run Setup (Configuración de la serie) se abre en la pestaña Start Run (Iniciar serie) con la disposición de la placa de PrimePCR predeterminada cargada en función del instrumento seleccionado.

Para eliminar el paso de fusión del protocolo

- ▶ En la pestaña Protocol (Protocolo), desactive la casilla adyacente a Include Melt Step (Incluir paso de fusión).

Para importar la información objetivo para las placas de PrimePCR en una disposición de la placa

1. Realice una de las siguientes acciones:
 - En la pestaña Real-time Status (Estado en tiempo real) del cuadro de diálogo Run Details (Detalles de la serie), seleccione Plate Setup (Configuración de placa) > Apply PrimePCR File > (Aplicar archivo PrimePCR).
 - En la ventana Data Analysis (Análisis de datos), seleccione Plate Setup (Configuración de placa) > Apply PrimePCR File (Aplicar archivo PrimePCR).
2. En el cuadro de diálogo PrimePCR run file (Archivo de serie de PrimePCR), haga clic en Browse (Examinar) para navegar al archivo de PrimePCR adecuado (.csv).
3. Seleccione el archivo de PrimePCR objetivo y haga clic en Open (Abrir).

CFX Manager Dx importa la información objetivo en la disposición de la placa.

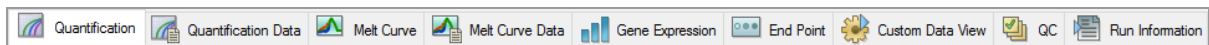
Capítulo 9 Descripción general del análisis de datos

CFX Manager™ Dx ofrece varios métodos para abrir y ver archivos de datos. Puede:

- Seleccionar File (Archivo) > Open (Abrir) > Data File (Archivo de datos) en la ventana de inicio y buscar el archivo .pcrd.
- Seleccione File (Archivo) > Recent Data Files (Archivos de datos recientes) en la ventana de inicio para seleccionar de una lista de los últimos diez archivos de datos abiertos.

Ventana Data Analysis (Análisis de datos)

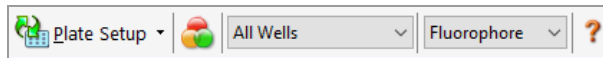
La ventana Data Analysis (Análisis de datos) muestra varias pestañas, cada una de las cuales muestra los datos analizados para un método de análisis específico o información específica de la serie. Las pestañas aparecen solo si los datos recopilados en la serie están disponibles para ese tipo de análisis.



Consejo: Para elegir las pestañas que desea mostrar, selecciónelas en el menú desplegable View (Vista) de la ventana Data Analysis (Análisis de datos). Para volver a la disposición original, seleccione Ajustes > Restore Default Window Layout (Restablecer la disposición de ventana predeterminada).



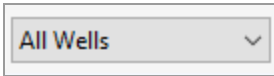


Barra de herramientas de Data Analysis (Análisis de datos)

La barra de herramientas de la ventana Data Analysis (Análisis de datos) ofrece acceso rápido a funciones importantes de análisis de datos.



En la [Tabla 15](#) se enumeran las funciones de los botones en la barra de herramientas.

Tabla 15. Barra de herramientas de la ventana Data Analysis (Análisis de datos)

Botón	Nombre	Función
	Plate Setup (Configuración de placa)	Ver/editar placa: abre el editor de placas para ver y editar el contenido de los pocillos. Replace Plate file (Sustituir archivo de placa): selecciona un archivo de placa para sustituir la disposición de la placa. Apply PrimePCR file (Aplicar archivo PrimePCR): selecciona un archivo de serie para sustituir la disposición de la placa para una serie de PrimePCR™.
	Gestionar grupos de pocillos	Abre la ventana Well Groups Manager (Administrador de grupos de pocillos) para crear, editar y borrar grupos de pocillos.
	Grupo de pocillos	Selecciona el nombre de un grupo de pocillos existente del menú desplegable. La selección predeterminada es All Wells (Todos los pocillos). Este botón solo aparece cuando se crean grupos de pocillos.
	Modo de análisis	Analiza los datos en modo Fluorophore (Fluorocromo) o Target (Objetivo).
	Ayuda	Abre una copia digital de este manual en formato PDF de Acrobat.

Barra de menús de Data Analysis (Análisis de datos)

En la [Tabla 16](#) se enumeran los elementos de la barra de menús en la ventana Data Analysis (Análisis de datos).

Tabla 16. Elementos de la barra de menús de la ventana Data Analysis (Análisis de datos)

Elemento de menú	Comando	Función
File (Archivo)	Save (Guardar)	Guarda el archivo.
	Save As (Guardar como)	Guarda el archivo con un nuevo nombre.
	Repeat Run (Repetir serie)	Extrae el archivo del protocolo y de la placa de la serie actual para volver a procesarlo.
	Close (Cerrar)	Cierra la ventana Data Analysis (Análisis de datos).
View (Vista)	Run Log (Registro de serie)	Abre una ventana Run Log (Registro de serie) para ver el registro de serie del archivo de datos actual.
	Quantification (Cuantificación), Melt Curve (Curva de fusión), Gene Expression (Expresión genética), End Point (Punto final), Custom Data View (Vista de datos personalizada), QC (CC), Run Information (Información de procesamiento)	Muestra los datos analizados en las pestañas seleccionadas en la ventana Data Analysis (Análisis de datos). Se debe seleccionar al menos una pestaña.
Settings (Ajustes)	C _q Determination Mode (Modo de determinación de C _q)	Seleccione el modo Regression (Regresión) o Single Threshold (Umbral único) para determinar cómo se calculan los valores de C _q para cada trazo.
	Baseline Setting (Ajuste de referencia)	Seleccione el método Baseline Subtraction (Sustracción de referencia) para los grupos de pocillos seleccionados.

Tabla 16. Elementos de la barra de menús de la ventana Data Analysis (Análisis de datos) (continuación)

Elemento de menú	Comando	Función
	Analysis Mode (Modo de análisis)	Selecciónelo para analizar datos por fluorocromo o por objetivo.
	Ciclos para analizar	Seleccione los ciclos que se deben analizar.
	Baseline Threshold (Umbral de referencia)	Abre la ventana Baseline Threshold (Umbral de referencia) para ajustar la referencia o el umbral.
	Trace Styles (Estilos de trazo)	Abre la ventana Trace Styles (Estilos de trazo).
	Plate Setup (Configuración de placa)	Abre Plate Editor (Editor de placas) para ver y editar la placa; sustituir la placa actual por una de un archivo de placas definido por el usuario o un archivo de serie de PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Incluir todos los pocillos excluidos)	Incluye todos los pocillos excluidos del análisis.
	Mouse Highlighting (Resaltado del ratón)	Enciende o apaga el resaltado simultáneo de datos con el puntero del ratón. Consejo: Si el resaltado del ratón se encuentra desactivado, pulse la tecla Control para activarlo temporalmente.
	Restore Default Window Layout (Restaurar disposición predeterminada de ventana)	Restaura la disposición de las ventanas al ajuste predeterminado.

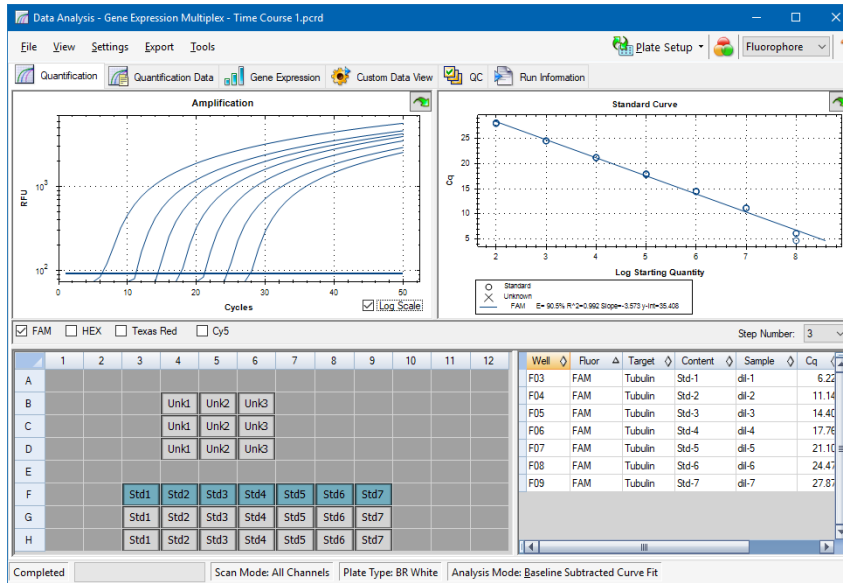
Tabla 16. Elementos de la barra de menús de la ventana Data Analysis (Análisis de datos) (continuación)

Elemento de menú	Comando	Función
Export (Exportar)	Export All Data Sheets to Excel (Exportar todas las hojas de datos a Excel)	Exporta todas las vistas de hojas de cálculo de cada pestaña a un archivo de Excel individual.
	Custom Export (Exportación personalizada)	Abre la ventana de exportación personalizada en la que se pueden especificar los campos para exportar y el formato del archivo.
	Export to LIMS Folder (Exportar a carpeta LIMS)	Abre una ventana para guardar datos en un formato predeterminado en la carpeta LIMS.
	Seegene Export (Exportación de Seegene)	Abre una ventana para identificar la ubicación para guardar los datos de todas las vistas de hojas de cálculo de archivos de Excel estructurados específicamente para su uso por parte de Seegene, Inc.
Tools (Herramientas)	Reports (Informes)	Abre el informe para este archivo de datos.
	Well Group Reports (Informes del grupo de pocillos)	Abre la ventana Well Group Reports (Informes del grupo de pocillos) para generar informes para los grupos de pocillos especificados.
	Import Fluorophore Calibration (Importar calibración de fluorocromo)	Seleccione un archivo de calibración para aplicarlo al archivo de datos actual.
	qbase+	Inicia qbase+ v2.5 directamente a partir de un archivo .pcrd si está instalado.

Detalles de pestañas

Cada pestaña de la ventana Data Analysis (Análisis de datos) muestra datos en gráficos y hojas de cálculo para un método de análisis específico, e incluye un selector de pocillos para seleccionar los datos que desea mostrar. Cuando se abre, Data Analysis (Análisis de datos) muestra la pestaña Quantification (Cuantificación) de forma predeterminada. Puede utilizar los datos del gráfico

Amplification (Amplificación) en la pestaña Quantification (Cuantificación) para determinar los ajustes de análisis adecuados para la serie.

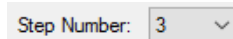


Nota: El software vincula los datos de los paneles de cada pestaña Data Analysis (Análisis de datos). Por ejemplo, al resaltar un pocillo situando el puntero del ratón sobre el pocillo en la vista del selector de pocillos se resaltan los datos de todos los demás paneles.

Step Number Selector (Selector del número de paso)

Los sistemas CFX96 y CFX96 Deep Well pueden adquirir datos de fluorescencia en varios pasos de protocolo; el software mantiene los datos adquiridos en cada paso de manera independiente. El software muestra el selector del número de paso. Cuando un protocolo contiene como mínimo un paso de recogida de datos, el software CFX Manager Dx muestra los datos del primer paso de recogida.

Si el protocolo contiene más de un paso de recogida, puede seleccionar otro paso de la lista desplegable, por ejemplo:



Cuando selecciona un paso, el software aplica una selección a todos los datos que se muestran en la ventana Data Analysis (Análisis de datos).

Visualización de grupos de pocillos en Data Analysis (Análisis de datos)

Los pocillos de la placa se pueden agrupar en subconjuntos para el análisis independiente utilizando grupos de pocillos. Al crear grupos de pocillos, sus nombres de grupo aparecen en la lista desplegable Well Groups (Grupos de pocillos) de la ventana Data Analysis (Análisis de datos), en la barra de herramientas.

Si ha creado grupos de pocillos, el software muestra el grupo de pocillos predeterminado All Wells (Todos los pocillos) cuando abre la ventana Data Analysis (Análisis de datos) mostrando los datos en todos los pocillos con contenido en los gráficos y hojas de cálculo. Solo aparecen en el selector de pocillos los pocillos de ese grupo de pocillos cargado con contenido y solo se incluyen en los cálculos de análisis de datos los datos de estos pocillos.

Nota: Si no ha creado grupos de pocillos, la lista desplegable Well Groups (Grupos de pocillos) no aparece en la barra de herramientas.

Cambio del contenido de los pocillos después de una serie

Durante el análisis de datos, datos de fluorescencia que se recogieron de cada pocillo durante el procesamiento nunca cambian al cambiar la manera en la que se muestran los datos cambiando el contenido de los pocillos en el editor de placas. Una vez el módulo recoge los datos de fluorescencia, no puede eliminar esos datos, pero puede elegir eliminar los datos de la vista y del análisis.

Para cambiar el contenido de los pocillos después de una serie

- ▶ En la ventana Data Analysis (Análisis de datos), haga clic en Plate Setup (Configuración de placa) y seleccione una de las siguientes opciones:
 - **Edit/View Plate (Editar/Ver placa):** abre el editor de placas, en el que puede realizar cambios manuales a la disposición.
 - **Replace Plate file (Sustituir archivo de placa):** abre el navegador Select Plate (Seleccionar placa), en el que puede navegar a un archivo de placa guardado anteriormente con el que sustituir la disposición de la placa actual.
 - **Apply PrimePCR file (Aplicar archivo PrimePCR):** abre el cuadro de diálogo del archivo Select PrimePCR (Seleccionar PrimePCR), en el que puede navegar a un archivo de serie de PrimePCR™ y aplicarlo a la disposición de la placa.

Consejo: Puede agregar o editar información sobre el contenido del pocillo antes de una serie, durante una serie o después de la finalización de una serie de PCR. Debe asignar un modo de exploración y un tamaño de placa antes de la serie. Estos parámetros no pueden cambiar después de la serie.

Ajustes del análisis de datos

Los datos del gráfico Amplification (Amplificación) en la pestaña Quantification (Cuantificación) muestran la fluorescencia relativa (RFU) para cada pocillo en cada ciclo. Cada trazo en el gráfico representa los datos de un único fluorocromo en un pocillo. Estos datos se usan para determinar los valores de C_q para cada pocillo y por fluorocromo. El software usa uno de dos modos para determinar los valores de C_q :

- **Regression (Regresión):** aplica un modelo de regresión multivariable y no lineal a trazos de pocillos individuales y después utiliza este modelo para calcular un valor óptimo de C_q .
- **Single Threshold (Umbral único):** utiliza un valor umbral único para calcular el valor de C_q en función del punto de cruce del umbral de trazos de fluorescencia individuales.

Seleccione Settings (Ajustes) > C_q Determination Mode (Modo de determinación de C_q) para elegir el modo de determinación del C_q .

Ajuste del umbral

En el modo Single Threshold (Umbral único), puede ajustar el umbral de un fluorocromo haciendo clic en la línea del umbral en el gráfico Amplification (Amplificación) y moviendo el puntero del ratón de forma vertical. También puede especificar un umbral de cruce exacto para el fluorocromo seleccionado.

Ajustes de referencia

El software fija automáticamente una base de referencia para cada pocillo de forma individual. El ajuste de referencia determina el método de sustracción de la referencia para todos los trazos de fluorescencia. El software ofrece tres opciones de sustracción de la referencia:

- **No Baseline Subtraction (Sin sustracción de referencia):** muestra los datos como trazos de fluorescencia relativa. Algunos análisis no se pueden realizar en este modo de análisis, por lo que el software no muestra las pestañas Gene Expression (Expresión genética), End Point (Punto final) y Allelic Discrimination (Discriminación alélica).
- **Baseline Subtracted (Referencia sustraída):** muestra los datos como trazos con la referencia sustraída para cada fluorocromo en un pocillo. El software debe sustraer la referencia de los datos para determinar los ciclos de cuantificación, construir curvas estándar y determinar la concentración de las muestras desconocidas. Para generar un trazo con sustracción de referencia, el software ajusta la mejor línea recta posible a través de la fluorescencia registrada de cada pocillo durante los ciclos de referencia y después sustrae los datos que mejor se ajustan de los datos sustraídos del fondo en cada ciclo.

- **Baseline Subtracted Curve Fit (Ajuste de curva con referencia sustraída):** muestra los datos como trazos con la referencia sustraída y el software suaviza la curva con la referencia sustraída mediante un filtro de media centrada. Este proceso se realiza para que cada C_q permanezca invariable.

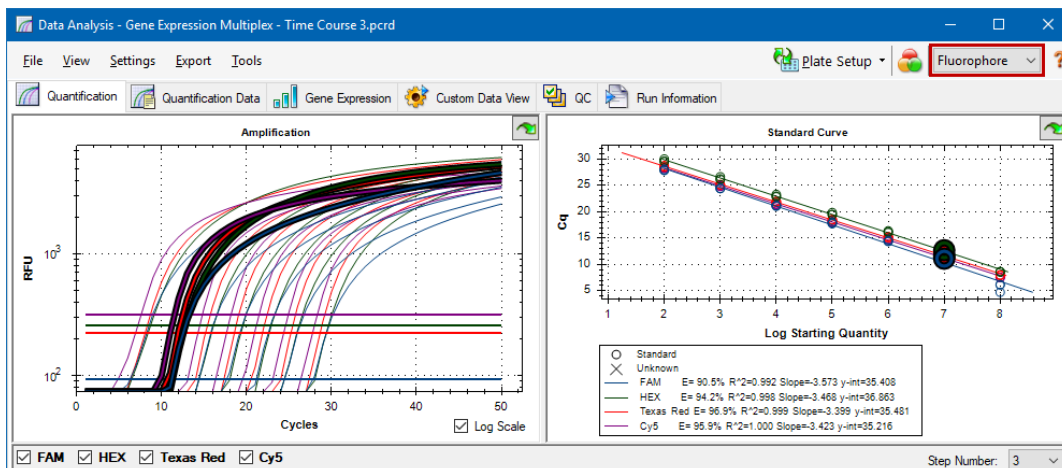
Además de estas opciones, también puede seleccionar Apply Fluorescent Drift Correction (Aplicar corrección de variación de fluorescencia). Para pocillos que tengan valores RFU con una variación anómala, el software deriva una referencia estimada de los pocillos adyacentes para los que se generó correctamente una línea de referencia horizontal.

Para cambiar el ajuste de sustracción de la referencia

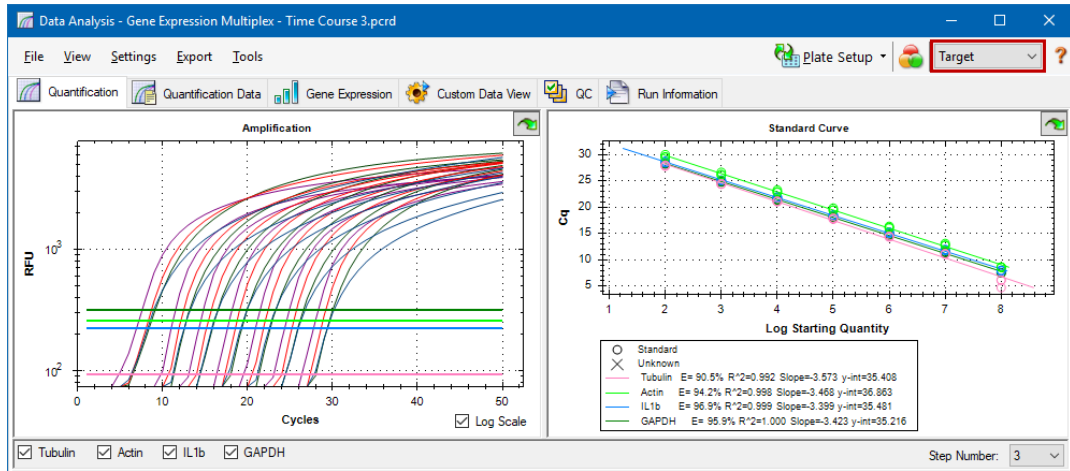
- Seleccione Settings (Ajustes) > Baseline Setting (Ajuste de referencia).

Modo de análisis

Los datos se pueden agrupar y analizar por fluorocromo o por nombre de objetivo. Cuando se agrupan por fluorocromo, los trazos de los datos se muestran por fluorocromo según se indica en la configuración de placa para esa serie. Los datos individuales de fluorocromo aparecen en la amplificación y en el gráfico curva estándar (si está disponible) cuando se seleccionan las casillas de verificación adecuadas del selector de fluorocromo, situadas bajo el gráfico de amplificación.



Cuando se agrupan por objetivo, los trazos de los datos se muestran por nombre de objetivo según lo introducido en la configuración de placa para ese procesamiento.



Para elegir un modo de análisis de datos

- ▶ Realice una de las siguientes acciones:
 - Seleccione Settings (Ajustes) > Analysis Mode (Modo de análisis).
 - Elija un modo del menú desplegable de Analysis Mode (Modo de análisis) en la barra de herramientas.

Ciclos para analizar

Puede limitar el número de ciclos para analizar. También puede analizar los datos de un conjunto de ciclos determinado. El número máximo de ciclos que puede analizar es 50.

Nota: La eliminación de ciclos al principio de una serie puede tener un impacto significativo en las líneas de referencia.

Para limitar el análisis de datos a un rango de ciclos específico

1. Seleccione Settings (Ajustes) > Cycles to Analyze (Ciclos para analizar).
Aparece el cuadro de diálogo Cycles to Analyze (Ciclos para analizar).
2. Introduzca los valores correspondientes al ciclo de inicio y finalización y haga clic en OK (Aceptar).

Haga clic en Restore Defaults (Restaurar valores predeterminados) en el cuadro de diálogo Cycles to Analyze (Ciclos para analizar) para volver a los ciclos utilizados originalmente para análisis.

Selector de pocillos

Utilice el selector de pocillos para mostrar u ocultar los datos de pocillos en los gráficos u hojas de cálculo en la ventana Data Analysis (Análisis de datos). En el selector de pocillos únicamente se pueden seleccionar los pocillos cargados con muestra. El software tiñe los pocillos en el selector de pocillos:

- **Azul:** indica los pocillos seleccionados. Los datos de los pocillos seleccionados aparecen en la ventana Data Analysis (Análisis de datos).
- **Gris claro:** indica los pocillos no seleccionados. Los datos de pocillos no seleccionados no aparecen en la ventana Data Analysis (Análisis de datos).
- **Gris oscuro:** indica los pocillos vacíos.

	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			

Para mostrar u ocultar datos de pocillos

- ▶ En el selector de pocillos, realice una de las siguientes acciones:
 - Para ocultar un pocillo, haga clic en el pocillo en cuestión. Para mostrar ese pocillo, vuelva a hacer clic en él.
 - Para ocultar varios pocillos, arrastre sobre los pocillos que desea seleccionar. Para mostrar esos pocillos, vuelva a arrastrar sobre ellos.
 - Haga clic en la esquina superior izquierda de la placa para ocultar todos los pocillos. Vuelva a hacer clic en la esquina superior izquierda para mostrar todos los pocillos.
 - Haga clic en el inicio de una fila o una columna para ocultarlos. Vuelva a hacer clic en la fila o columna para mostrarlos.

Elementos de menú contextual del selector de pocillos

En la [Tabla 17](#) se enumeran las opciones de menú contextual disponibles en la vista del selector de pocillos.

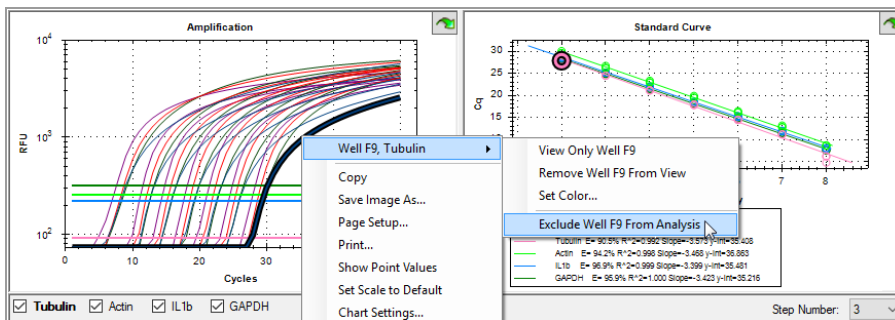
Tabla 17. Elementos de menú contextual en los selectores de pocillos

Elemento	Función
Well XX (Pocillo XX)	Muestra solo este pocillo, elimina este pocillo de la vista, establece un color para este pocillo o excluye este pocillo del análisis.
Selected Wells (Pocillos seleccionados) (hacer clic con el botón derecho y arrastrar)	Muestra solo estos pocillos, elimina estos pocillos de la vista, establece un color para estos pocillos o excluye estos pocillos del análisis.
Copy (Copiar)	Copia el contenido del pocillo a un portapapeles, incluido el tipo de muestra y el n.º de repeticiones opcional.
Copy as Image (Copiar como imagen)	Copia la vista del selector de pocillos como una imagen.
Print (Imprimir)	Imprime la vista del selector de pocillos.
Print Selection (Imprimir selección)	Imprime la selección actual.
Export to Excel (Exportar a Excel)	Exporta los datos a una hoja de cálculo de Excel.
Export to CSV (Exportar a CSV)	Exporta los datos como un documento de texto.
Export to Xml (Exportar a xml)	Exporta los datos como un documento .xml.
Well Labels (Etiquetas de pocillo)	Cambia las etiquetas de pocillo a Sample Type (Tipo de muestra), Target Name (Nombre de objetivo), o Sample Name (Nombre de la muestra).

Exclusión temporal de pocillos del análisis

Para excluir pocillos de los análisis de datos temporalmente

- Haga clic con el botón derecho en el selector de pocillos. Para excluir varios pocillos, haga clic con el botón derecho y arrastre para resaltar varios pocillos, trazos o puntos.
- En el menú contextual, elija la opción adecuada:
 - Well (Pocillo) > Exclude Well (Excluir pocillo)
 - Selected Wells (Pocillos seleccionados) > Exclude from Analysis (Excluir del análisis)
 - Selected Traces (Trazos seleccionados) > Exclude these wells from Analysis (Excluir estos pocillos del análisis)



Para eliminar de forma permanente los pocillos del análisis, también puede borrar todo el contenido de los pocillos en Plate Editor (Editor de placas) haciendo clic en el botón Clear Wells (Borrar pocillos).

Importante: Debe volver a introducir el contenido de pocillos que se haya borrado.

Para incluir un pocillo excluido

- ▶ Haga clic con el botón derecho en el pocillo adecuado en el selector de pocillos y seleccione Well (Pocillo) > Include Well in Analysis (Incluir pocillo en el análisis).

Gráficos

Cada gráfico de la ventana Data Analysis (Análisis de datos) muestra los datos en un gráfico distinto e incluye opciones para ajustar y exportar los gráficos de datos o gráficos.

Elementos comunes de menú contextual para gráficos

En la [Tabla 18](#) se enumeran los elementos del menú contextual disponibles en gráficos. Algunos de los elementos disponibles están presentes para todos los gráficos y estos elementos se pueden utilizar para cambiar cómo se muestran los datos o para exportarlos fácilmente desde un gráfico.

Tabla 18. Elementos de menú contextual para gráficos

Elemento	Función
Copy (Copiar)	Copia el gráfico al portapapeles.
Save Image As (Guardar imagen como)	Guarda la imagen con un tamaño, resolución y tipo de archivo específicos. Los formatos de imagen disponibles son PNG (predeterminado), JPG y BMP.
Page Setup (Configuración de página)	Obtenga una vista previa y seleccione la configuración de la página para impresión.
Print (Imprimir)	Imprime el gráfico.
Set Scale to Default (Establecer escala al valor predeterminado)	Devuelve el gráfico a su vista predeterminada después de haberlo ampliado.
Chart Options (Opciones del gráfico)	Abre la ventana Chart Options (Opciones del gráfico) para cambiar el gráfico, incluido cambiar el título, seleccionar límites para los ejes x e y, mostrar líneas de cuadrícula y mostrar marcas menores en los ejes.

Nota: Los elementos de menú que se aplican a gráficos específicos se describen en el [Capítulo 10, Detalles del análisis de datos](#).

Copia de datos del gráfico al portapapeles

Puede copiar el contenido del gráfico y pegarlo en cualquier aplicación que acepte archivos de imagen de mapa de bits.

Para copiar datos del gráfico al portapapeles

1. En el menú contextual de gráfico, seleccione Copy (Copiar).

2. Abra una aplicación que acepte imágenes de mapa de bits, por ejemplo, Microsoft Word.
3. Haga clic con el botón derecho y seleccione Paste (Pegar) para pegar la imagen de mapa de bits del portapapeles a la aplicación.

Modificación de los ajustes del umbral de referencia

En el modo Single Threshold (Umbral único), puede ajustar el umbral de un fluorocromo haciendo clic en la línea del umbral en el gráfico Amplification (Amplificación) y moviendo el puntero del ratón de forma vertical. También puede especificar un umbral de cruce exacto para el fluorocromo seleccionado.

Consejo: Puede especificar un rango de ciclo para determinar la referencia de todos los archivos de datos en la pestaña Data Analysis (Análisis de datos) en User (Usuario) > User Preferences (Preferencias de usuario).

Para ajustar el ciclo de referencia de inicio y fin para cada pocillo

1. En la pestaña Quantification (Cuantificación), seleccione un solo fluorocromo bajo el gráfico Amplification (Amplificación).
2. En el menú contextual de gráfico, seleccione Baseline Threshold (Umbral de referencia).

Aparece el cuadro de diálogo Baseline Threshold (Umbral de referencia).

	Well	Fluor	Baseline Begin	Baseline End
1	A01	SYBR	2	17
2	A02	SYBR	2	17
3	A03	SYBR	2	17
4	A04	SYBR	2	11
5	A05	SYBR	2	11
6	A06	SYBR	2	12
7	A07	SYBR	2	8
8	A08	SYBR	2	10
9	A09	SYBR	2	12
10	A10	SYBR	0	0

3. En la sección Baseline Cycles (Ciclos de referencia), realice una de las siguientes acciones:
 - Para seleccionar un pocillo, haga clic en su número de fila.
 - Para seleccionar varios pocillos adyacentes, haga clic en el número de fila del primer pocillo y arrastre hacia abajo la columna hasta el pocillo final.
 - Para seleccionar varios pocillos no adyacentes, mantenga pulsada la tecla Control y haga clic en el número de fila de cada pocillo objetivo.
 - Para seleccionar todos los pocillos, haga clic en la esquina superior izquierda de la tabla.
4. Ajuste el ciclo de Baseline Begin (Inicio de referencia) y el de Baseline End (Final de referencia) para todos los pocillos seleccionados, o cambie el número de ciclo inicial y final en la parte inferior de la hoja de cálculo.

Consejo: Para revertir los ajustes a los últimos valores guardados, haga clic en Reset All User Defined Values (Restablecer todos los valores definidos por el usuario).
5. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y volver al gráfico.

Para especificar un rango de ciclo de todos los archivos de datos

- ▶ En la ventana de inicio o Plate Editor (Editor de placas) seleccione User (Usuario) > User Preferences (Preferencias de usuario) y elija la pestaña Data Analysis (Análisis de datos).

Clasificación de datos de objetivo y muestra

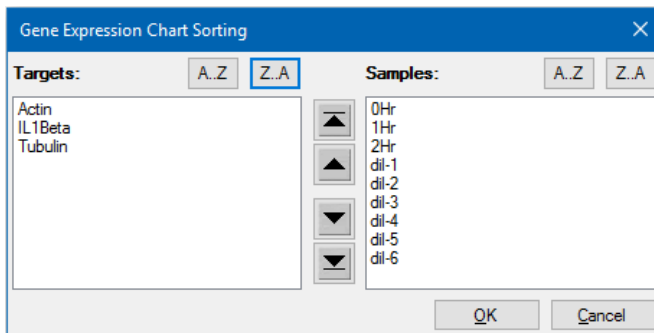
Nota: Esta opción está disponible únicamente en gráficos de expresión genética.

De forma predeterminada, las listas de objetivos y muestras aparecen en orden alfabético. Utilice el cuadro de diálogo Sort (Clasificar) para clasificar la visualización en orden alfabético inverso o para mover un término manualmente a una posición distinta en la lista.

Para clasificar datos de objetivo y muestra

1. En el menú contextual de gráfico, haga clic en Sort (Clasificar).

Aparece el cuadro de diálogo Gene Expression Chart Sorting (Clasificación de gráfico de expresión genética).



2. En el cuadro de diálogo, haga clic en Z-A para clasificar la lista en orden alfabético inverso.
3. Para mover un término de forma manual, selecciónelo y haga clic en el botón adecuado entre los gráficos:
 - Haga clic en la flecha hacia arriba o hacia abajo para desplazar el término seleccionado una posición.
 - Haga clic en la flecha de barra hacia arriba o hacia abajo para desplazar el término seleccionado al primer o último puesto de la lista.
4. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y volver a la pestaña Gene Expression (Expresión genética).

Ampliación de un área en el gráfico

Para ampliar un área del gráfico

- ▶ Haga clic y arrastre a través del gráfico y después haga clic en Zoom*. El software cambia el tamaño del gráfico y lo centra en el área seleccionada.

Nota: * El gráfico de barras no requiere que haga clic en el comando emergente Zoom.

Para restablecer el gráfico a la vista completa

- ▶ Haga clic con el botón derecho en el gráfico y seleccione Set Scale to Default (Establecer escala al valor predeterminado).

Copia de gráficos en un archivo de Microsoft

Puede copiar gráficos de datos a documentos de Microsoft Word, Excel o PowerPoint. La resolución de la imagen se corresponde con la de la pantalla de la cual se obtuvo

Para copiar gráficos en un archivo de Microsoft

1. En la ventana Data Analysis (Análisis de datos), seleccione Copy (Copiar) en el menú contextual del gráfico.
2. Abra un archivo en blanco de Microsoft y pegue el contenido del portapapeles.



Alternativa: Haga clic en el icono de clic y arrastrar, y arrastre y coloque el gráfico en un archivo de Microsoft.

Hojas de cálculo

En las hojas de cálculo mostradas en el análisis de datos se incluyen opciones para clasificar y transferir los datos. Clasifique las columnas a través de uno de los siguientes métodos:

- Haga clic y arrastre una columna a una nueva ubicación en la tabla seleccionada.
- Haga clic en el encabezado de columna para clasificar los datos en orden ascendente o descendente.

Para clasificar las tres columnas de datos en la ventana Sort (Clasificar)

1. Haga clic con el botón derecho en la hoja de cálculo y seleccione Sort (Clasificar).
2. En el cuadro de diálogo Sort (Clasificar), seleccione el primer título de columna que va a clasificar. Clasifique los datos en orden ascendente o descendente.
3. Seleccione una segunda o tercera columna para clasificar y elija entre Ascending (Ascendente) o Descending (Descendente).
4. Haga clic en OK (Aceptar) para clasificar los datos o haga clic en Cancel (Cancelar) para detener la clasificación.

Resalte los datos de los gráficos asociados y del selector de pocillos manteniendo el puntero del ratón sobre una celda. Haga clic en una celda para copiar y pegar su contenido en otro programa de software.

Elementos frecuentes de menú contextual para hojas de cálculo

En la [Tabla 19](#) se enumeran los elementos de menú contextual disponibles en cualquier vista de hoja de cálculo.

Tabla 19. Elementos de menú contextual para hojas de cálculo

Elemento	Función
Copy (Copiar)	Copia el contenido de los pocillos seleccionados a un portapapeles y, a continuación, pega el contenido en una hoja de cálculo como Excel.
Copy as Image (Copiar como imagen)	Copia la vista de la hoja de cálculo como un archivo de imagen y la pega en un archivo que acepte un archivo de imagen, como los archivo de texto, de imágenes o de hojas de cálculo.
Print (Imprimir)	Imprime la vista actual.

Tabla 19. Elementos de menú contextual para hojas de cálculo (continuación)

Elemento	Función
Print Selection (Imprimir selección)	Imprime la selección actual.
Export to Excel (Exportar a Excel)	Exporta los datos a una hoja de cálculo de Excel.
Export to CSV (Exportar a CSV)	Exporta los datos a un archivo separado por comas (.csv).
Export to Xml (Exportar a xml)	Exporta los datos a un archivo xml.
Export to Html (Exportar a html)	Exporta los datos a un archivo html.
Find (Buscar)	Busca texto.
Sort (Clasificar)	Clasifica los datos en hasta tres columnas.
Select Columns (Seleccionar columnas)	Selecciona las columnas que se mostrarán en la hoja de cálculo.

Export (Exportar)

El software CFX Manager Dx ofrece cuatro opciones de exportación en el menú desplegable Export (Exportar):

- Export All Data Sheets (Exportar todas las hojas de datos)
- Custom Export (Exportación personalizada)
- Export to LIMS (Exportar a LIMS)
- Seegene Export (Exportación de Seegene)

Exportación de todas las hojas de datos

Puede exportar todas las vistas de hojas de cálculo de cada pestaña del software CFX Manager Dx a archivos individuales.

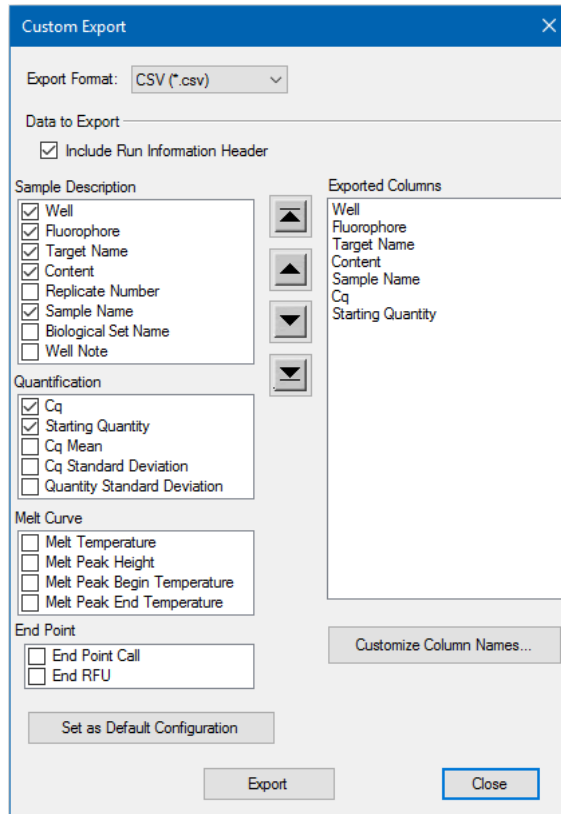
Para exportar todas las hojas de datos

- ▶ Seleccione Export (Exportar) > Export All Data Sheets (Exportar todas las hojas de datos) y, a continuación, seleccione el tipo de archivo que desee:
 - CSV (*.csv)
 - Texto (*.txt)
 - Excel 2007 (*.xlsx)
 - Excel 2003 (*.xls)
 - XML (*.xml)

Creación de un archivo de exportación personalizado

Para crear un archivo de exportación personalizado

1. Seleccione Export (Exportar) > Custom Export (Exportación personalizada). Aparece el cuadro de diálogo Custom Export (Exportación personalizada).



2. Seleccione el formato de exportación de la lista desplegable que aparece.
3. Seleccione las casillas de verificación para los elementos que desee exportar.
4. (Opcional) Haga clic en Customize Column Names (Personalizar nombres de columnas) para cambiar el nombre de las columnas.
5. Haga clic en Export (Exportar). Aparece el cuadro de diálogo Save As (Guardar como).
6. En el cuadro de diálogo Save As (Guardar como), especifique un nombre de archivo y una ubicación en la que guardar el archivo exportado.
7. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar el archivo de exportación.

Exportación a una carpeta LIMS

Puede exportar los datos a un formato de archivo compatible con LIMS.

Para exportar datos en formato de LIMS

1. Seleccione Export (Exportar) > Export to LIMS Folder (Exportar a carpeta LIMS).
Aparece el cuadro de diálogo Save As (Guardar como).
2. En el cuadro de diálogo Save As (Guardar como), especifique un nombre de archivo y una ubicación en la que guardar el archivo exportado.
3. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar el archivo de exportación.

Exportación de datos con formato Seegene

Puede exportar los datos de todas las vistas de hoja de cálculo a archivos de Excel estructurados específicamente para su uso por parte de Seegene, Inc.

Para exportar datos en un formato específico de Seegene

1. Seleccione Export (Exportar) > Seegene Export (Exportación de Seegene).
Aparece el cuadro de diálogo Save As (Guardar como).
2. En el cuadro de diálogo Save As (Guardar como), especifique una ubicación de carpeta en la que guardar los archivos de Excel (.xlsx) con formato de Seegene.
3. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los archivos de exportación.

Capítulo 10 Detalles del análisis de datos

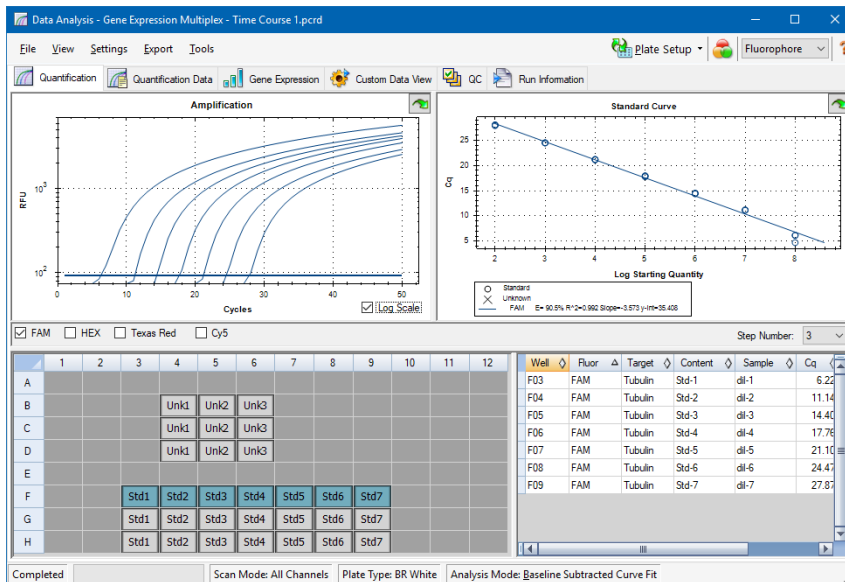
La ventana Data Analysis (Análisis de datos) del software CFX Manager™ Dx incluye varias pestañas en las que ver datos. En este capítulo se explica estas pestañas en detalle.

Consejo: Puede elegir las pestañas que desea ver en la ventana Data Analysis (Análisis de datos) usando el menú View (Vista). La disposición personalizada se guarda con el archivo de datos.

Pestaña Quantification (Cuantificación)

Utilice los datos de la pestaña Quantification (Cuantificación) para establecer las condiciones del análisis de datos, incluidos los ajustes de referencia de pocillos individuales y los ajustes del umbral. La pestaña Quantification (Cuantificación) muestra datos en estas cuatro vistas:

- **Gráfico Amplification (Amplificación):** muestra las unidades de fluorescencia relativas (RFU) de cada pocillo en cada ciclo. Cada trazo en el gráfico representa los datos de un único fluorocromo en un pocillo.
- **Standard curve (Curva estándar):** aparece solo si el procesamiento incluye pocillos designados como estándar (Std.) de tipo de muestra. La curva estándar muestra el trazado del ciclo del umbral respecto al registro de la cantidad inicial. La leyenda muestra la eficiencia (E) de la reacción para cada fluorocromo en los pocillos con un tipo de muestra estándar.
- **Selector de pocillos:** selecciona los pocillos con los datos de fluorescencia que desea mostrar.
- **Hoja de cálculo:** muestra una hoja de cálculo de los datos recogidos en los pocillos seleccionados.



Opciones de fluorocromo

Para mostrar los datos de fluorocromo en los gráficos y hojas de cálculo de la pestaña Quantification (Cuantificación), seleccione los fluorocromos objetivo bajo el gráfico Amplification (Amplificación). Para ocultar los datos de fluorocromo en la ventana de análisis de datos, desactive su casilla de verificación.

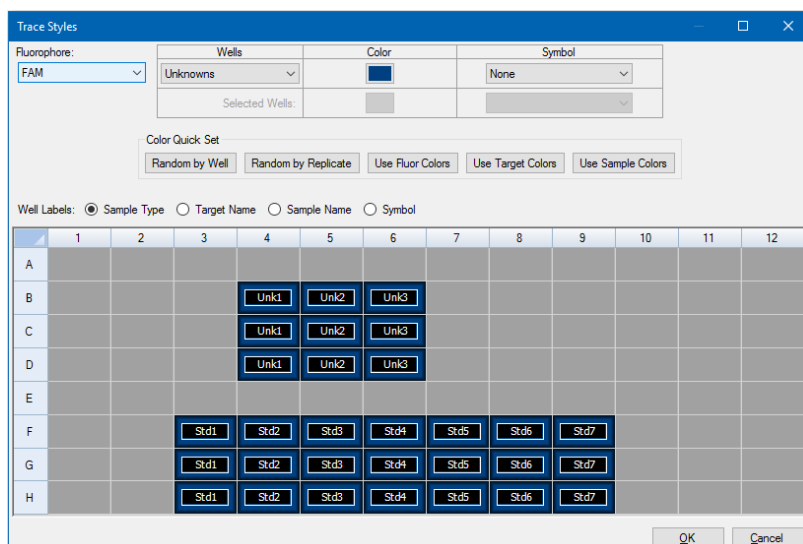
Cuadro de diálogo Trace Styles (Estilos de trazo)

Mediante el cuadro de diálogo Trace Styles (Estilos de trazo), puede ajustar la apariencia de los trazos en los gráficos de amplificación y de la curva de fusión de las pestañas Quantification (Cuantificación) y Melt Curve (Curva de fusión). A continuación, puede previsualizar los cambios en el selector de pocillos que aparece en el cuadro de diálogo Trace Styles (Estilos de trazo).

Para ajustar los estilos de trazo

1. Seleccione un solo fluorocromo bajo el gráfico de Amplification (Amplificación).
2. Para abrir el cuadro de diálogo Trace Styles (Estilos de trazo), realice una de las siguientes acciones:
 - Haga clic en Trace Style (Estilos de trazo) en el gráfico Amplification (Amplificación).
 - Seleccione Settings (Ajustes) > Trace Styles (Estilos de trazo) en la barra de menús Data Analysis (Análisis de datos).
 - Haga clic con el botón derecho en un trazo y seleccione Trace Styles (Estilos de trazo).

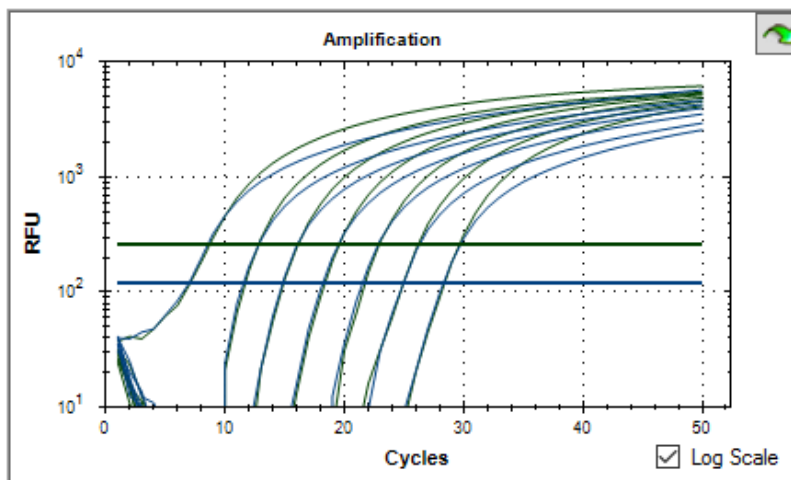
Aparece el diálogo Trace Styles (Estilos de trazo).



3. En el cuadro de diálogo Trace Styles (Estilos de trazo), seleccione un grupo específico de pocillos en el selector de pocillos del panel inferior. También puede seleccionar los pocillos que contengan un tipo de muestra en el menú desplegable de la columna Wells (Pocillos).
4. Realice una de las siguientes acciones:
 - Para elegir un color para los pocillos seleccionados, haga clic en la casilla de la columna Color.
 - Para asignar un símbolo para los pocillos seleccionados, seleccione un símbolo desde la lista desplegable Symbol (Símbolo).
 - Para asignar rápidamente un color a los pocillos por etiqueta de botón, haga clic en el conjunto rápido adecuado:
 - Random by Well (Aleatorio por pocillo)
 - Random by Replicate (Aleatorio por repetición)
 - Use Fluor Colors (Usar colores de fluorocromo)
 - Use Target Colors (Usar colores objetivo)
 - Use Sample Colors (Usar colores de muestra)
 - Para asignar etiquetas de pocillo, elija Sample Type (Tipo de muestra), Target Name (Nombre de objetivo), Sample Name (Nombre de muestra) o Symbol (Símbolo).

Opción Log Scale (Escala logarítmica)

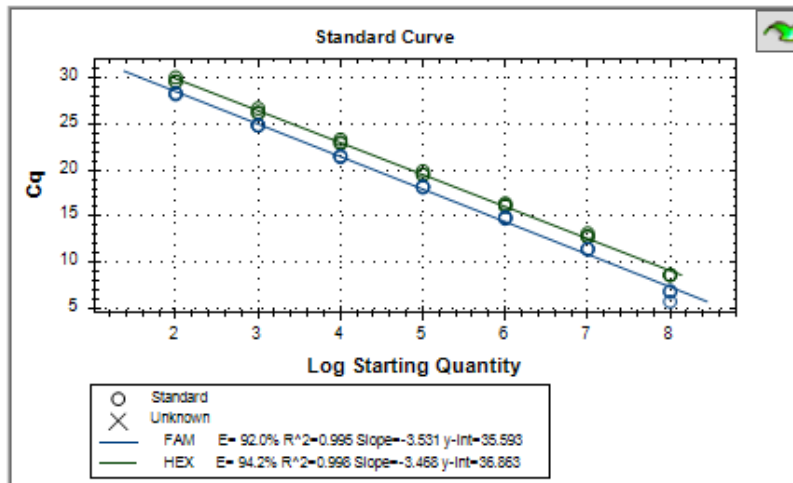
Seleccione Log Scale (Escala logarítmica) bajo el gráfico Amplification (Amplificación) para ver los trazos de fluorescencia en una escala semilogarítmica:



Consejo: Para ampliar cualquier área del gráfico, arrastre el cursor sobre el área objetivo. Para volver a la vista completa, haga clic con el botón derecho en el gráfico y seleccione Set Scale to Default (Establecer escala al valor predeterminado).

Gráfico Standard Curve (Curva estándar)

El software crea una tabla de curva estándar en la pestaña Quantification (Cuantificación) si los datos incluyen tipos de muestras definidos como Std. (Estándar) para al menos un fluorocromo de la serie.



El gráfico Standard Curve (Curva estándar) muestra la siguiente información:

- Nombre para cada curva (el fluorocromo u objetivo).
- Color de cada fluorocromo u objetivo.
- Eficiencia (E) de la reacción. Utilice esta estadística para optimizar una reacción multiplex e igualar los datos para una curva estándar.

Nota: La eficiencia de la reacción describe la cantidad que se produce de su objetivo con cada ciclo del protocolo. Una eficiencia del 100 % indica que está duplicando su objetivo con cada ciclo.

- Coeficiente de determinación, R² (escrito como R²). Utilice esta estadística para determinar la manera en la que la línea describe los datos (buen ajuste).
- Pendiente
- Intersección y

Opciones de menú del gráfico Amplification (Amplificación)

Además de las opciones del menú contextual para gráficos (consulte [Elementos comunes de menú contextual para gráficos en la página 186](#)), se enumeran en la [Tabla 20](#) las opciones de menú disponibles solo en el gráfico Amplification (Amplificación).

Nota: El gráfico Standard Curve (Curva estándar) proporciona solo las opciones frecuentes del menú contextual.

Tabla 20. Elementos del menú contextual y de clic izquierdo del gráfico Amplification (Amplificación)

Opción de menú	Función
Show Threshold Values (Mostrar los valores del umbral)	Muestra el valor del umbral para cada curva de amplificación del gráfico.
Trace Styles (Estilos de trazo)	Abre la ventana Trace Styles (Estilos de trazo) para cambiar los estilos de los trazos que aparecen en las pestañas Quantification (Cuantificación) y Melt Curve (Curva de fusión).
Baseline Thresholds (Umbrales de referencia)	Abre la ventana Baseline Thresholds (Umbrales de referencia) para cambiar la referencia o los umbrales de cada fluorocromo (los cambios aparecen en el gráfico Amplification (Amplificación) de la pestaña Quantification (Cuantificación)).

Hoja de cálculo de la pestaña Quantification (Cuantificación)

En la [Tabla 21](#) se definen los datos que se muestran en la pestaña Quantification (Cuantificación).

Tabla 21. Contenido de la hoja de cálculo de la pestaña Quantification (Cuantificación)

Información	Descripción
Well (Pocillo)	Posición del pocillo en la placa
Fluor (Fluorocromo)	Fluorocromo detectado
Target (Objetivo)	Nombre de objetivo cargado en los pocillos del editor de placas
Content (Contenido)	Combinación del tipo de muestra (necesario) y del n.º de repeticiones (opcional) cargada en el editor de placas
Sample (Muestra)	Nombre de muestra cargado en los pocillos del editor de placas
C _q	Ciclo de cuantificación para cada trazo

Cambio de los datos de objetivo, contenido o muestra

Puede cambiar los datos de las columnas Target (Objetivo), Content (Contenido) y Sample (Muestra) editando el archivo de placa con el editor de placas incluso después de procesar el experimento.

Para cambiar los datos en las columnas Content (Contenido), Target (Objetivo) y Sample (Muestra)

- ▶ Haga clic en Plate Setup (Configuración de placa) y seleccione View/Edit Plate (Ver/editar placa) para abrir el editor de placas.

Pestaña Quantification Data (Datos de cuantificación)

La pestaña Quantification Data (Datos de cuantificación) muestra los datos de cuantificación recopilados en cada pocillo. El software CFX Manager Dx muestra los datos en cuatro vistas de hoja de cálculo distintas:

- Results (Resultados): muestra una hoja de cálculo con los datos. Esta es la vista predeterminada.
- Standard Curve Results (Resultados de la curva estándar): muestra una hoja de cálculo con los datos de la curva estándar.
- Plate (Placa): muestra los datos en cada pocillo como un mapa de placas.
- RFU: muestra las cantidades de RFU en cada pocillo para cada ciclo.

Seleccione cada hoja de cálculo de la lista desplegable que aparece debajo de la pestaña Quantification Data (Datos de cuantificación).

Hoja de cálculo Results (Resultados)

La hoja de cálculo Results (Resultados) muestra los datos de cada pocillo de la placa.

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

Nota: Todos los cálculos de Std. Dev (Desv. est.) son aplicables para los grupos de repeticiones asignados en los pocillos en la ventana Plate Editor (Editor de placas). Los cálculos se sitúan en el promedio del valor de C_q de cada pocillo en el grupo de repeticiones.

En la [Tabla 22](#) se definen los datos que aparecen en la hoja de cálculo Results (Resultados).

Tabla 22. Contenido de la hoja de cálculo Results (Resultados)

Información	Descripción
Well (Pocillo)	Posición del pocillo en la placa
Fluor (Fluorocromo)	Fluorocromo detectado
Target (Objetivo)	Nombre de objetivos de amplificación (genética)
Content (Contenido)	Tipo de muestra y n.º de repeticiones
Sample (Muestra)	Descripción de la muestra
Biological Set Name (Nombre del conjunto biológico)	Nombre del conjunto biológico
C _q	Ciclo de cuantificación
C _q Mean (Cq medio)	Media del ciclo de cuantificación del grupo de repeticiones
C _q Std. Dev (Desv. est. de Cq)	Desviación estándar del ciclo de cuantificación del grupo de repeticiones
Starting Quantity (SQ) (Cantidad inicial)	Estimación de la cantidad inicial del objetivo
Log Starting Quantity (Registrar cantidad inicial)	Registro de la cantidad inicial
SQ Mean (Media de la SQ)	Media de la cantidad inicial
SQ Std. Dev (Desv. est. de SQ)	Desviación estándar de la cantidad inicial en las repeticiones

Hoja de cálculo Standard Curve Results (Resultados de la curva estándar)

La hoja de cálculo Standard Curve Results (Resultados de la curva estándar) muestra los parámetros de curva estándar calculados.

Fluor	Efficiency %	Slope	Y-Intercept	R ²
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

En la [Tabla 23](#) se definen los datos que aparecen en la hoja de cálculo Standard Curve Results (Resultados de la curva estándar).

Tabla 23. Contenido de la hoja de cálculo Standard Curve Results (Resultados de la curva estándar)

Información	Descripción
Fluor (Fluorocromo) (o Target (Objetivo))	Fluorocromo (u objetivo) detectado
Efficiency % (% eficiencia)	Eficiencia de la reacción
Slope (Pendiente)	Pendiente de la curva estándar
Y-intercept (Intersección y)	Punto en el que la curva intercepta el eje y
R ²	Coefficiente de determinación

Hoja de cálculo Plate (Placa)

La hoja de cálculo Plate (Placa) muestra un mapa de placas de los datos de un fluorocromo cada vez

Plate	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			

Para ver los datos de un fluorocromo específico

- Haga clic en esta pestaña en la parte inferior de la hoja de cálculo.

Hoja de cálculo RFU

La hoja de cálculo de RFU muestra las lecturas de unidades de fluorescencia relativas (RFU) para cada pocillo adquiridas en cada ciclo de la serie. El número de pocillo aparece en la parte superior de cada columna y el número de ciclo aparece a la izquierda de cada fila.

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

Pestaña Melt Curve (Curva de fusión)

Descargo de responsabilidad: Bio-Rad no concede ningún derecho de análisis de curva de fusión en un análisis de fusión de alta resolución en el ámbito de diagnóstico in vitro para humanos o animales. Además, es responsabilidad del comprador obtener cualquier derecho de propiedad intelectual que resulte necesario para sus aplicaciones específicas.

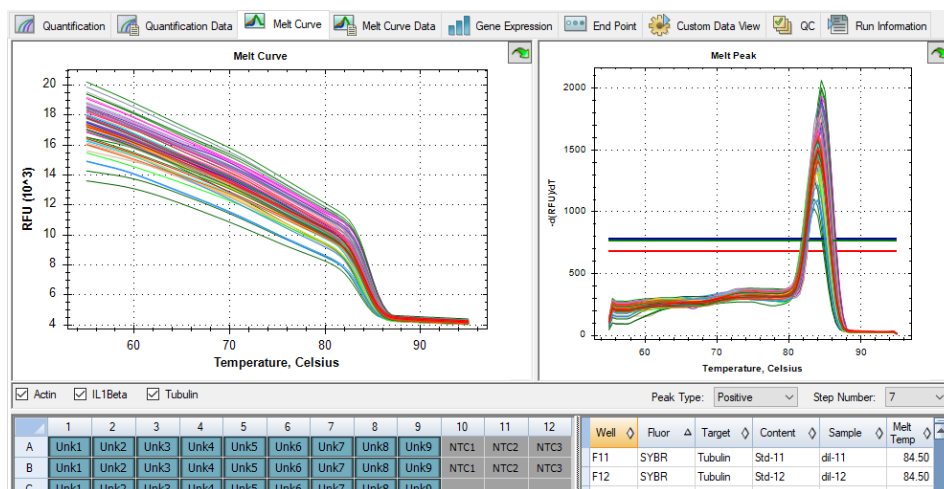
Para tintes fijadores de ADN y sondas de hibridación no dissociables, la fluorescencia es más brillante cuando las dos cadenas de ADN se atemperan. Por tanto, a medida que la temperatura aumenta hacia la temperatura de fusión (T_m), la fluorescencia disminuye a ritmo constante (pendiente constante). Al alcanzar la T_m , se produce una reducción drástica de la fluorescencia con un cambio evidente en la pendiente. El ritmo de este cambio se determina trazando la primera regresión de fluorescencia negativa respecto a la temperatura ($-d(\text{RFU})/dT$). Un ritmo de cambio de la fluorescencia mayor genera picos visibles y representa la T_m de los complejos de ADN de doble cadena.

El software CFX Manager Dx representa los datos de RFU recopilados durante una curva de fusión como una función de la temperatura. Para analizar los datos de los picos de fusión, el software asigna una temperatura inicial y final a cada pico moviendo la barra de umbral. El suelo del área de pico se especifica mediante la posición de la barra del umbral de fusión. Un pico válido debe tener una altura mínima relativa a la distancia entre la barra del umbral y la altura del pico más alto.

La pestaña Melt Curve (Curva de fusión) muestra la T_m (Temperatura de fusión) de productos de PCR amplificados en cuatro vistas:

- Melt Curve (Curva de fusión): muestra los datos en tiempo real para cada fluorocromo como RFU por temperatura para cada pocillo.
- Melt Peak (Pico de fusión): muestra la regresión negativa de los datos de RFU por temperatura para cada pocillo.
- Selector de pocillos: muestra los pocillos para mostrar u ocultar los datos.
- Hoja de cálculo de picos: muestra los datos recopilados en el pocillo seleccionado.

Nota: Esta hoja de cálculo muestra hasta dos picos para cada trazo. Para ver más picos, haga clic en la pestaña Melt Curve Data (Datos de la curva de fusión).



En la [Tabla 24 en la página 209](#) se definen los datos que aparecen en la hoja de cálculo Melt Curve (Curva de fusión).

Tabla 24. Contenido de la hoja de cálculo Melt Curve (Curva de fusión)

Información	Descripción
Well (Pocillo)	Posición del pocillo en la placa
Fluor (Fluorocromo)	Fluorocromo detectado
Content (Contenido)	Combinación del tipo de muestra y el n.º de repeticiones
Sample (Muestra)	Nombre de la muestra cargada en el editor de placas
Melt Temp (Temperatura de fusión)	Temperatura del pico de fusión para cada pocillo

Nota: En esta hoja de cálculo solo aparecen los dos picos más altos

Ajuste de los datos de la curva de fusión

Para ajustar los datos de la curva de fusión

- ▶ Realice una de las siguientes acciones:
 - Haga clic y arrastre las barras del umbral en el gráfico Melt Peak (Pico de fusión) para incluir o excluir picos en el análisis de datos.
 - Seleccione Positive (Positivo) en el menú desplegable Peaks (Picos) para mostrar los datos de la hoja de cálculo de los picos situados por encima de la línea del umbral de fusión, o seleccione Negative (Negativo) para ver los datos de la hoja de cálculo de los picos situados bajo la línea del umbral de fusión.
 - Abra la ventana Trace Styles (Estilos de trazo) para cambiar el color de los trazos en los gráficos Melt Curve (Curva de fusión) y Melt Peak (Pico de fusión).
 - Seleccione un número en el selector Step Number (Número de paso) para ver los datos de la curva de fusión en otro paso del protocolo. La lista muestra más de un paso si el protocolo incluye lecturas de placa en más de un paso de curva de fusión.
 - Seleccione los pocillos en el selector de pocillos para centrarse en subconjuntos de datos.
 - Seleccione un grupo de pocillos para ver y analice un subconjunto de los pocillos de la placa. Seleccione cada grupo de pocillos por nombre en el menú desplegable Well Group (Grupo de pocillos) de la barra de herramientas.

Pestaña Melt Curve Data (Datos de la curva de fusión)

La pestaña Melt Curve Data (Datos de la curva de fusión) muestra los datos de la pestaña Melt Curve (Curva de fusión) en varias hojas de cálculo que incluyen todos los picos de fusión de cada trazo. ofrece cuatro opciones de hojas de cálculo en las que ver los datos de la curva de fusión:

- Melt Peaks (Picos de fusión): muestra todos los datos, incluidos todos los picos de fusión de cada trazo. Esta es la vista predeterminada.
- Plate (Placa): muestra una vista de los datos y contenidos de cada pocillo de la placa.
- RFU: muestra las cantidades de RFU a cada temperatura para cada pocillo.
- $-d(\text{RFU})/dT$: muestra el ritmo de cambio negativo en RFU como los cambios de temperatura (T). Es un primer gráfico de regresión para cada pocillo de la placa.

Seleccione una hoja de cálculo de la lista desplegable que aparece bajo la pestaña Melt Curve Data (Datos de la curva de fusión).

Hoja de cálculo Melt Peaks (Picos de fusión)

La hoja de cálculo Melt Peaks (Picos de fusión) muestra todos los datos de la curva de fusión.

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	dil-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

En la [Tabla 25 en la página 212](#) se definen los datos que aparecen en la hoja de cálculo Melt Peaks (Picos de fusión).

Tabla 25. Contenido de la hoja de cálculo Melt Peaks (Picos de fusión)

Información	Descripción
Well (Pocillo)	Posición del pocillo en la placa
Fluor (Fluorocromo)	Fluorocromo detectado
Content (Contenido)	Tipo de muestra que aparece en la ventana Plate editor (Editor de placas)
Target (Objetivo)	Objetivo (gen) de la amplificación
Sample (Muestra)	Nombre de la muestra que aparece en la ventana Plate Editor (Editor de placas)
Melt Temperature (Temperatura de fusión)	Temperatura de fusión de cada producto, que aparece como un pico (más alta) por fila en la hoja de cálculo
Peak Height (Altura del pico)	Altura del pico
Begin Temperature (Temperatura de inicio)	Temperatura al principio del pico
End Temperature (Temperatura final)	Temperatura al final del pico

Hoja de cálculo Plate (Placa)

La hoja de cálculo Plate (Placa) muestra los datos de la curva de fusión en un formato de placa.

		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								

Nota: Para ajustar el pico que llama el software, ajuste la línea del umbral en el gráfico Melt Peak (Pico de fusión) de la pestaña Melt Curve (Curva de fusión).

En la [Tabla 26 en la página 213](#) se definen los datos que aparecen en la hoja de cálculo Plate (Placa).

Tabla 26. Contenido de la hoja de cálculo Plate (Placa)

Información	Descripción
Content (Contenido)	Combinación del tipo de muestra (necesario) y n.º de repeticiones (opcional)
Sample (Muestra)	Descripción de la muestra
Peak 1 (Pico 1)	Primer pico de fusión (más alto)
Peak 2 (Pico 2)	Segundo pico de fusión (más bajo)

Hoja de cálculo RFU

La hoja de cálculo RFU muestra la fluorescencia para cada pocillo en cada ciclo adquirido durante la curva de fusión.

En la [Tabla 27](#) se definen los datos que se muestran en la hoja de cálculo RFU.

Tabla 27. Contenido de la hoja de cálculo RFU

Información	Descripción
Número de pocillo (A1, A2, A3, A4, A5)	Posición de pocillo en la placa para los pocillos cargados
Temperature (Temperatura)	Temperatura de fusión del objetivo amplificado, ilustrado como un pocillo por fila y varios pocillos para varios productos en el mismo pocillo

Hoja de cálculo $-d(\text{RFU})/dT$

La hoja de cálculo $-d(\text{RFU})/dT$ muestra el ritmo de cambio negativo en RFU a medida que cambia la temperatura (T).

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

En la [Tabla 28](#) se definen los datos que aparecen en la hoja de cálculo $-d(\text{RFU})/dT$.

Tabla 28. Contenido de la hoja de cálculo $-d(\text{RFU})/dT$

Información	Descripción
Número de pocillo (A1, A2, A3, A4, A5)	Posición de pocillo en la placa para los pocillos cargados
Temperatura $-d(\text{RFU})/dT$	Ritmo de cambio negativo en RFU a medida que cambia la temperatura (T)

Pestaña End Point (Punto final)

Abra la pestaña End Point (Punto final) para analizar las unidades de fluorescencia relativa (RFU) finales para los pocillos de muestras. El software compara los niveles de RFU para los pocillos con muestras desconocidas con los niveles de RFU para los pocillos con controles negativos y «llama a» las desconocidas positivas o negativas. Las muestras positivas tienen un valor de RFU que es mayor que el valor de RFU promedio de los controles negativos más el valor de corte.

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	

Para analizar los datos de punto final, la placa debe contener controles negativos o el software no puede realizar la llamada. Procese uno de los dos tipos de protocolos siguientes:

- Procese un protocolo de cuantificación: configure un protocolo estándar. Una vez finalizada la serie, abra la ventana Data Analysis (Análisis de datos), adapte los ajustes del análisis de datos en la pestaña Quantification (Cuantificación) y, a continuación, haga clic en la pestaña End Point (Punto final) para elegir un ciclo de punto final.
- Procese un protocolo End Point Only (Solo punto final): cargue el protocolo End Point Only (Solo punto final) en la pestaña Plate (Placa) de la ventana Run Setup (Configuración de la serie), seleccione o cree una placa, e inicie la serie.

La pestaña End Point (Punto final) muestra los valores medios de RFU para determinar si el último ciclo (final) amplificó el objetivo. Utilice estos datos para determinar si está presente una secuencia objetivo específica (positiva) en una muestra. Los objetivos positivos tienen unos valores de RFU superiores al nivel de corte que define.

Consejo: Para crear un protocolo de punto final, abra la pestaña Protocol (Protocolo) (ventana Run Setup (Configuración de la serie)) y seleccione Run (Serie) > End Point Only Run (Serie de solo punto final).

Cuando la serie finaliza, el archivo de datos abre la pestaña End Point (Punto final), que consta de las siguientes secciones:

- Settings (Ajustes): adapta los ajustes del análisis de datos.
- Results (Resultados): muestra los resultados inmediatamente después de que adapte los ajustes.
- Well Selector (Selector de pocillos): selecciona los pocillos con los datos de punto final que desea mostrar.
- Hoja de cálculo RFU: presenta la RFU final recogida en los pocillos seleccionados.

Datos de resultados

La sección Results (Resultados) muestra los siguientes datos:

- Lowest RFU value (Valor de RFU inferior): valor de RFU más bajo en los datos
- Highest RFU value (Valor de RFU superior): valor de RFU más alto en los datos
- Negative Control Average (Promedio de control negativo): RFU promedio para los pocillos que contienen controles negativos
- Cut Off Value (Valor de corte): calculado añadiendo la tolerancia (RFU o porcentaje de rango que aparece en los ajustes) y el promedio de los controles negativos. Las muestras con RFU mayores que el valor de corte se denominarán «positivas». Para ajustar el valor de corte, cambie la RFU o el porcentaje de rango

El valor de corte se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Valor de corte} = \text{promedio de control negativo} + \text{tolerancia}$$

Seleccione una tolerancia mediante uno de estos métodos:

- RFU (predeterminado): seleccione este método para usar un valor de RFU absoluto para la tolerancia. El valor de tolerancia de RFU mínimo es 2. El máximo es el valor absoluto del valor de RFU más alto menos el valor absoluto del valor de RFU más bajo. El valor de tolerancia de RFU predeterminado es del 10 % del rango de RFU total.
- Porcentaje de rango: seleccione este método para usar el porcentaje del rango de RFU para la tolerancia. El porcentaje de rango mínimo es del 1 %. El porcentaje de rango máximo es del 99 %. El porcentaje de rango predeterminado es del 10 %.

Ajuste del análisis de datos de punto final

Para ajustar los datos en la pestaña End Point (Punto final)

- ▶ Realice una de las siguientes acciones:
 - Elija un fluorocromo de la lista desplegable.
 - Elija un valor de ciclo final para el promedio con el fin de establecer un número de ciclos para calcular la RFU de punto final promedio.
 - Seleccione RFU para visualizar los datos en unidades de fluorescencia relativa.
 - Seleccione el porcentaje de rango para ver los datos como un porcentaje del rango de RFU.
 - Seleccione los pocillos en el selector de pocillos para centrarse en subconjuntos de datos.
 - Seleccione un grupo de pocillos para ver y analice un subconjunto de los pocillos de la placa. Seleccione cada grupo de pocillos por nombre en el menú desplegable Well Group (Grupo de pocillos) de la barra de herramientas.

Hoja de cálculo RFU para análisis de punto final

En la [Tabla 29](#) se definen los datos que aparecen en la hoja de cálculo RFU en la pestaña End Point (Punto final).

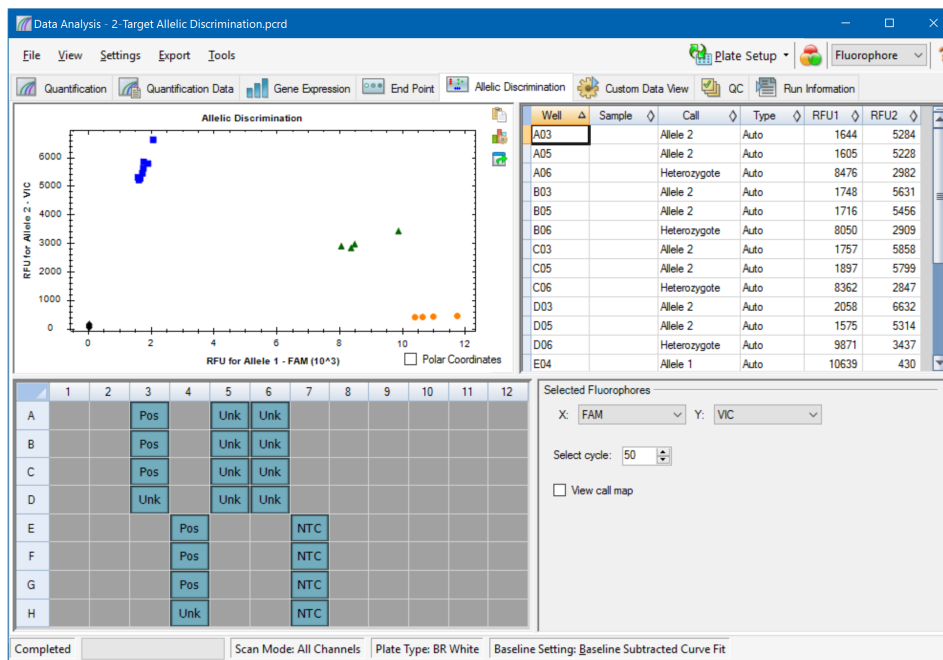
Tabla 29. Contenido de la hoja de cálculo End Point (Punto final)

Información	Descripción
Well (Pocillo)	Posición del pocillo en la placa
Fluor (Fluorocromo)	Fluorocromo detectado
Content (Contenido)	Combinación del tipo de muestra y del n.º de repeticiones
End RFU (RFU final)	RFU en el ciclo de punto final
Call (Llamada)	Positiva o negativa, donde las muestras positivas tienen un valor de RFU que es mayor que el valor de RFU promedio de los controles negativos más el valor de corte
Sample (Muestra)	Nombre de la muestra cargada en el editor de placas

Pestaña Allelic Discrimination (Discriminación alélica)

La pestaña Allelic Discrimination (Discriminación alélica) asigna genotipos a pocillos con muestras desconocidas. Utilice estos datos para identificar muestras con diferentes genotipos, incluidos Allele 1 (Alelo 1), Allele 2 (Alelo 2), Heterozygote (Heterocigoto), No Call (Sin llamada) (sin amplificación) o Undetermined (Indeterminado).

Nota: Los datos de discriminación alélica deben provenir de series multiplex con al menos dos fluorocromos. Cada fluorocromo identifica un alelo en todas las muestras.



El análisis de discriminación alélica requiere los siguientes contenidos mínimos en los pocillos:

- Dos fluorocromos en cada pocillo
- Muestras NTC (sin control de plantilla) para análisis de datos optimizado

El software CFX Manager Dx ofrece cuatro opciones de visualización de los datos de discriminación alélica:

- Gráfico Allelic Discrimination (Discriminación alélica): muestra los datos en un gráfico de RFU para el alelo 1/alelo 2. Cada punto en el gráfico representa datos de ambos fluorocromos en un pocillo. Puede alternar entre coordenadas cartesianas y polares activando o desactivando la casilla de verificación Polar Coordinates (Coordenadas polares). Las coordenadas cartesianas representan la RFU para el alelo 1 en el eje x y la RFU para el alelo 2 en el eje y. Las

coordenadas polares representan el ángulo en el eje x y la distancia de RFU en el eje y desde el origen (mediana de todos los tipos NTC).

- Hoja de cálculo Well (pocillo): muestra los datos de discriminación alélica recopilados en cada pocillo de la placa.
- Selector de pocillos: selecciona los pocillos con los datos alélicos que desea mostrar.
- Panel Selected Fluorophores (Fluorocromos seleccionados): cambia las etiquetas de los ejes x e y en el gráfico Allelic Discrimination (Discriminación alélica), el ciclo que se va a analizar y si se muestra o no el mapa de llamadas.

Ajuste de datos para discriminación alélica

El software asigna automáticamente un genotipo a los pocillos con muestras desconocidas en función de las posiciones de los tipos NTC y del ángulo y la distancia de los puntos de datos desconocidos de los tipos NTC.

Para ajustar los datos de discriminación alélica

- ▶ Realice una de las siguientes acciones:
 - Para mostrar coordenadas polares, marque la casilla de verificación en el gráfico Allelic Discrimination (Discriminación alélica).
 - Para ver otro fluorocromo, selecciónelo de la lista desplegable en el panel Selected Fluorophores (Fluorocromos seleccionados).
 - Para cambiar una llamada, arrastre los puntos de datos en el gráfico Allelic Discrimination (Discriminación alélica) y elija una opción de la lista Selected Wells (Pocillos seleccionados):
 - Allele 1 (Alelo 1)
 - Allele 2 (Alelo 2)
 - Heterozygote (Heterocigoto)
 - Undetermined (Indeterminado)
 - No Call (Ninguna llamada)
 - Auto Call (Llamada automática)

Consejo: Seleccione Auto Call (Llamada automática) para volver a la llamada predeterminada.

Opciones de menú de gráfico

Además de las opciones de menú contextual para gráficos (consulte [Elementos comunes de menú contextual para gráficos en la página 186](#)), se enumeran en la [Tabla 30](#) las opciones de menú disponibles en el gráfico Allelic Discrimination (Discriminación alélica).

Tabla 30. Opciones de menú contextual y de clic izquierdo del gráfico Allelic Discrimination (Discriminación alélica)

Opción de menú	Función
Zoom	Enfoca la visualización del gráfico en el área seleccionada (haciendo clic y arrastrando el cursor en el gráfico). Consejo: Para restaurar el zoom para mostrar todos los puntos de datos, haga clic con el botón derecho y seleccione Set Scale to Default (Establecer escala en valor predeterminado).
Well (Pocillo)	En el caso del pocillo seleccionado, las opciones son mostrar solo este pocillo, suprimir este pocillo de la vista, establecer un color para este trazo o excluir este pocillo del análisis.
Selected Wells (Pocillos seleccionados)	En el caso de los pocillos seleccionados (haciendo clic y arrastrando el cursor en el gráfico), las opciones son mostrar solo estos pocillos, suprimir estos pocillos de la vista, establecer un color para estos trazos o excluir estos pocillos del análisis.

Hoja de cálculo Allelic Discrimination (Discriminación alélica)

En la [Tabla 31](#) se definen los datos que aparecen en la hoja de cálculo de discriminación alélica.

Tabla 31. Contenido de la hoja de cálculo Allelic Discrimination (Discriminación alélica)

Información	Descripción
Well (Pocillo)	Posición del pocillo en la placa
Sample (Muestra)	Descripción del nombre de la muestra
Call (Llamada)	Identidad del alelo, incluidos el Allele 1 (Alelo 1), Allele 2 (Alelo 2), Heterozygote (Heterocigoto), No Call (Sin llamada) o Undetermined (Indeterminado) automáticos

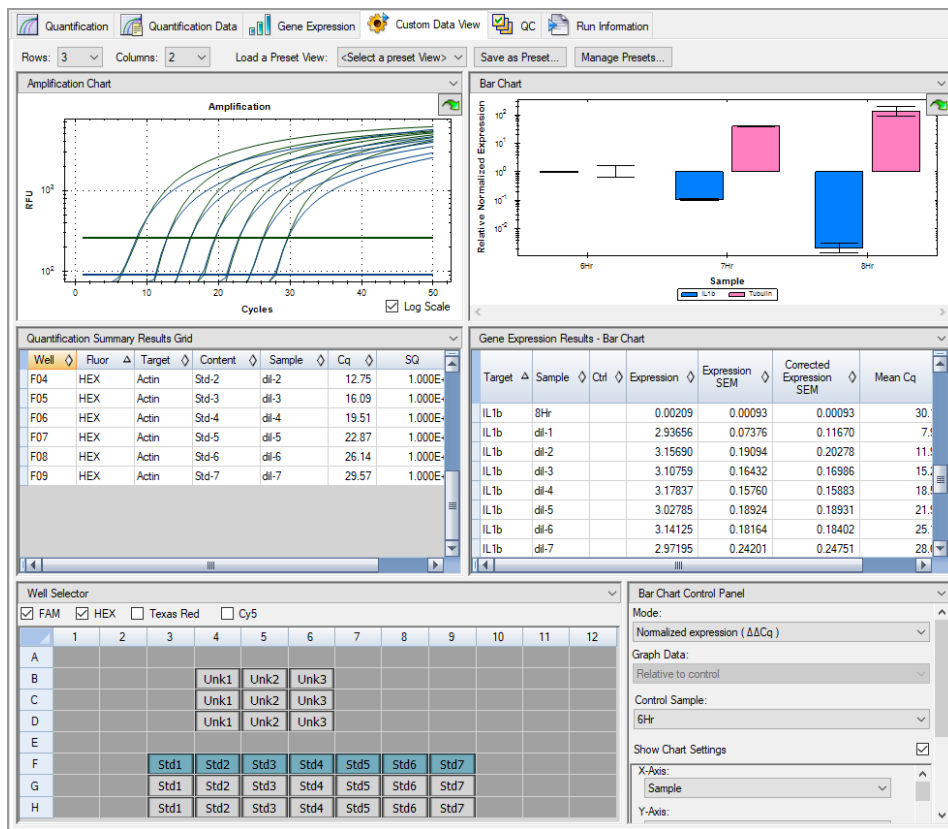
Tabla 31. Contenido de la hoja de cálculo Allelic Discrimination (Discriminación alélica) (continuación)

Información	Descripción
Type (Tipo)	Auto (automático) o Manual, describe cómo se hizo la llamada. Automático indica que el software seleccionó la llamada. Manual indica que el usuario seleccionó la llamada
RFU1	RFU para el alelo 1
RFU2	RFU para el alelo 2

Pestaña Custom Data View (Vista de datos personalizada)

La pestaña Custom Data View (Vista de datos personalizada) se muestra simultáneamente en varios paneles en un formato personalizable.

La lista desplegable Load a Preset View (Cargar vista predefinida) ofrece una selección de plantillas de formato de presentación. La vista predeterminada que se muestra depende del archivo que se esté analizando. Por ejemplo, si se trata de datos de curva de fusión, aparece la vista predeterminada Amp+Melt.



Creación de una vista de datos personalizada

Para crear una vista de datos personalizada

- ▶ Realice una de las siguientes acciones:
 - Seleccione otra vista predefinida de la lista desplegable.
 - Seleccione otra vista de gráfico de la lista desplegable ubicada en la parte superior de cada panel individual.
 - Modifique el número de filas y de columnas en la tabla.
 - Modifique las dimensiones del panel individual. Arrastre las barras en el perímetro de cada panel.

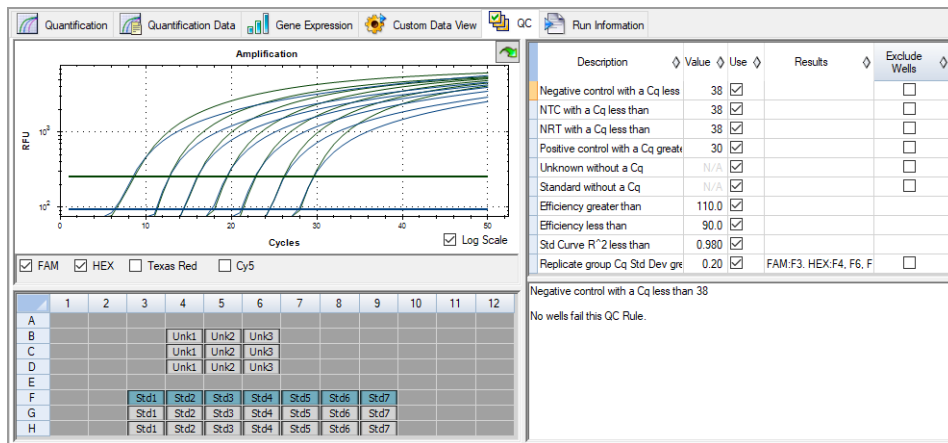
Haga clic en Save as Preset (Guardar como predefinida) para guardar la vista personalizada como una plantilla predefinida. Haga clic en Manage Presets (Gestionar vistas predefinidas) para eliminar, cambiar de nombre o restablecer vistas predefinidas existentes.

Pestaña QC (CC)

Utilice la pestaña QC (CC) para evaluar rápidamente a la calidad de los datos de procesamiento conforme a las reglas definidas en.

El software CFX Manager Dx ofrece cuatro opciones en las que ver los datos de CC:

- **Gráfico Amplification (Amplificación):** muestra la RFU de cada pocillo en cada ciclo. Cada trazo en el gráfico representa los datos de un único fluorocromo en un pocillo.
- **Tabla de reglas de CC:** muestra las reglas disponibles de CC y los ajustes que definen cada regla. Las reglas de CC aplicadas se indican con una marca de verificación.
- **Selector de pocillos:** selecciona los pocillos con los datos de fluorescencia que desea mostrar.
- **Panel resumen de reglas de CC:** muestra la regla de CC seleccionada y resalta los pocillos que no cumplen la regla.



Cambio de criterios de CC

Para cambiar los criterios de CC

- ▶ Active o desactive la casilla de verificación Use (Uso) para incluir o excluir la regla del CC.

Exclusión de los pocillos que no superen el CC

El software CFX Manager Dx muestra los pocillos que no cumplen los criterios del CC en la columna Results (Resultados) de la tabla de reglas de CC y el panel resumen.

Para excluir los pocillos que no cumplen los criterios de CC

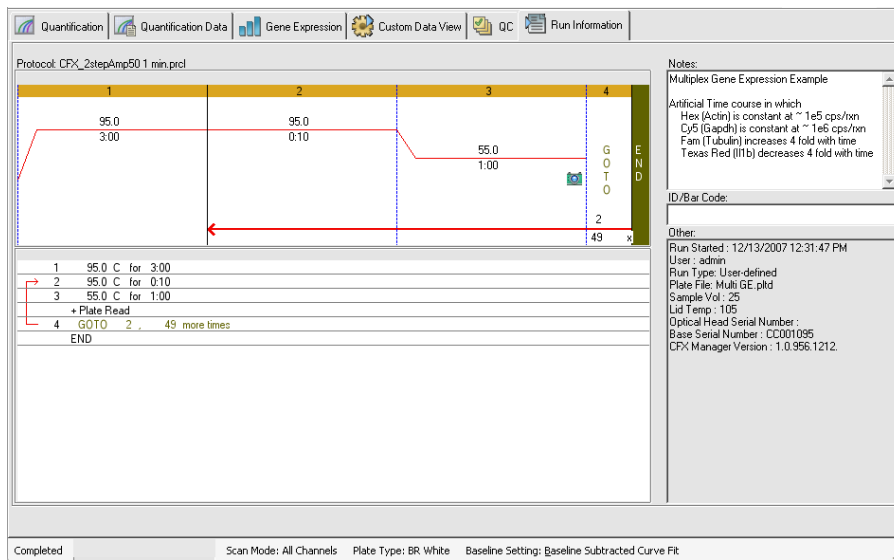
- ▶ Seleccione Exclude Wells (Excluir pocillos) para cada pocillo que se vaya a excluir.

Pestaña Run Information (Información de la serie)

La pestaña Run Information (Información de la serie) muestra el protocolo e información adicional sobre cada serie. Utilice esta pestaña para realizar lo siguiente:

- Visualice el protocolo.
- Introduzca o edite notas sobre la serie.
- Introduzca o edite el ID o el código de barras para la serie.
- Visualice los eventos que se pudieron producir durante la serie. Utilice estos mensajes para ayudar a solucionar los problemas de una serie.

Consejo: Haga clic con el botón derecho en Protocol (Protocolo) para copiarlo, exportarlo o imprimirlo. Haga clic con el botón derecho en los paneles Notes (Notas), ID/Bar Code (ID/código de barras) u Other (Otros) para cortar, copiar, pegar, eliminar o seleccionar el texto.

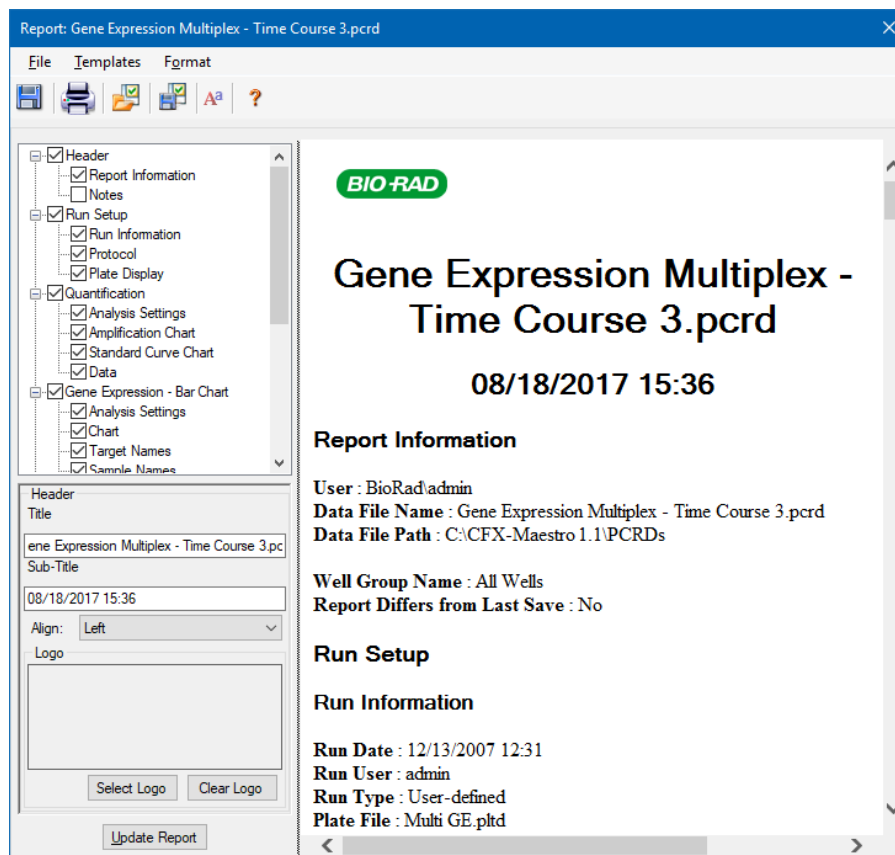


Informes de análisis de datos

El cuadro de diálogo Report (Informe) muestra información sobre el archivo de datos actual en la ventana Data Analysis (Análisis de datos). Para abrir un informe, seleccione Tools (Herramientas) > Reports (Informes).

El cuadro de diálogo Report (Informe) se compone de las secciones siguientes:

- Menú y barra de herramientas: ofrece opciones para dar formato, guardar e imprimir el informe o la plantilla.
- Lista de opciones (parte superior izquierda del cuadro de diálogo): incluye opciones para mostrar en el informe.
- Panel de opciones (parte inferior izquierda del cuadro de diálogo): muestra cuadros de texto en los que puede introducir información acerca de una opción seleccionada.
- Panel de vista previa (parte superior derecha del cuadro de diálogo): muestra una vista previa del informe actual.



Categorías de informes de análisis de datos

En la [Tabla 32](#) se enumeran todas las opciones disponibles para un informe de análisis de datos, dependiendo del tipo de datos de la ventana Data Analysis (Análisis de datos).

Tabla 32. Categorías de informes de análisis de datos en la lista de opciones

Categoría	Opción	Descripción
Header (Encabezado)		
		Título, subtítulo y logotipo para el informe
	Report Information (Información del informe)	Fecha de la serie, nombre de usuario, nombre del archivo de datos, ruta del archivo de datos y grupo de pocillos seleccionado
	Audit Information (Información de auditoría)	Información complementaria necesaria para autorías, incluidas firmas
	Notes (Notas)	Notas sobre el informe de datos
Run Setup (Configuración de la serie)		
	Run Information (Información de la serie)	Fecha de la serie, nombre de usuario, nombre del archivo de datos, ruta del archivo de datos y grupo de pocillos seleccionado
	Protocol (Protocolo)	Vista del texto de los pasos y las opciones del protocolo
	Plate Display (Visualización de la placa)	Vista de la información de la placa en cada pocillo de la placa
Quantification (Cuantificación)		
	Analysis Settings (Ajustes de análisis)	Número del paso de recogida de datos, modo de análisis y método de sustracción de referencia
	Amplification Chart (Gráfico de amplificación)	Gráfico de amplificación para series que incluye datos de cuantificación

Tabla 32. Categorías de informes de análisis de datos en la lista de opciones (continuación)

Categoría	Opción	Descripción
	Gráfico Standard Curve (Curva estándar)	Gráfico de curva estándar
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que enumera los datos de cada pocillo
Gene Expression (Expresión genética): Bar Chart (Gráfico de barras)		
	Analysis Settings (Ajustes de análisis)	Modo de análisis, datos del gráfico, opción de ajuste a escala y error del gráfico
	Chart (Gráfico)	Copia del gráfico de barras
	Target Names (Nombres de objetivos)	Gráfico de nombres de objetivos
	Sample Names (Nombres de muestras)	Gráfico de nombres de muestras
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que enumera los datos de cada pocillo
	Target Stability (Estabilidad del objetivo)	Gráfico de los valores de estabilidad del objetivo
Gene Expression (Expresión genética): Clustergram and Scatter Plot (Clustergrama y diagrama de dispersión)		
	Analysis Settings (Ajustes de análisis)	Ajustes para cada tipo de gráfico
	Chart (Gráfico)	Copia del gráfico
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que enumera los datos de cada objetivo
Melt Curve (Curva de fusión)		
	Analysis Settings (Ajustes de análisis)	Número de paso de fusión y ajuste de la barra de umbral

Tabla 32. Categorías de informes de análisis de datos en la lista de opciones (continuación)

Categoría	Opción	Descripción
	Melt Curve Chart (Gráfico de la curva de fusión)	Gráfico de la curva de fusión
	Melt Peak Chart (Gráfico del pico de fusión)	Gráfico del pico de fusión
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que enumera los datos de cada pocillo
Allelic Discrimination (Discriminación alélica)		
	Analysis Settings (Ajustes de análisis)	Presenta los fluorocromos, el ciclo y el mapa de llamada de la vista
	Allelic Discrimination Chart (Gráfico de discriminación alélica)	Copia del gráfico de discriminación alélica
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que enumera los datos de cada pocillo
End Point (Punto final)		
	Analysis Settings (Ajustes de análisis)	Fluorocromo, ciclos finales para el promedio, modo, valor de RFU inferior, valor de RFU superior y valor de corte
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que enumera los datos de cada pocillo
QC Parameters (Parámetros de CC)		
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que enumera los parámetros de cada regla de CC

Creación de un informe de análisis de datos

Puede guardar el formato de un informe como plantilla para volver a usarla para informes parecidos.

Para crear un informe de análisis de datos

1. Realice los ajustes finales al contenido de los pocillos, pocillos seleccionados, gráficos y hojas de cálculo en la ventana Data Analysis (Análisis de datos) antes de crear el informe.
2. Seleccione Tools (Herramientas) > Reports (Informes) en la barra del menú Data Analysis (Análisis de datos) para abrir el cuadro de diálogo Report (Informe).
3. Elija las opciones que desea incluir en el informe. El informe se abre con las opciones predeterminadas seleccionadas. Active o desactive las casillas de verificación para cambiar categorías completas u opciones individuales dentro de una categoría.

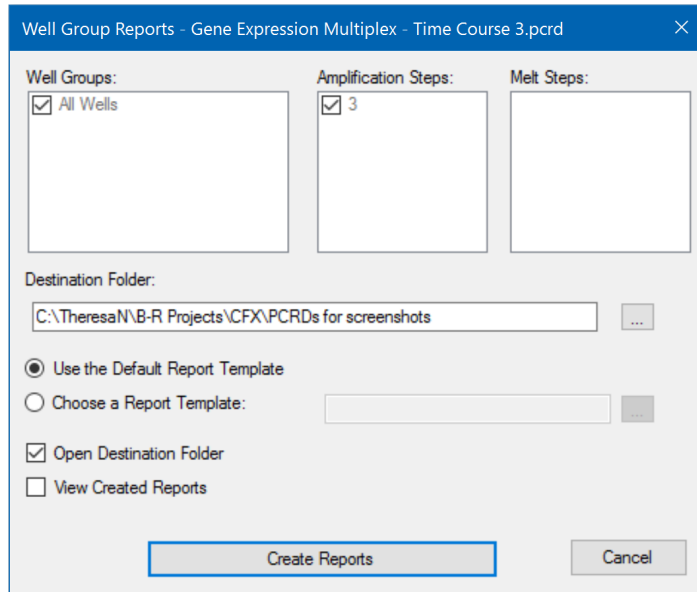
Nota: Los datos que aparecen en el informe dependen de las selecciones actuales en las pestañas de la ventana Data Analysis (Análisis de datos). Por ejemplo, una serie de cuantificación podría no contener una curva estándar y, por tanto, esos datos no aparecen en la ventana Data Analysis (Análisis de datos) o en el informe de datos.

4. Cambie el orden de las categorías y los elementos de un informe. Arrastre las opciones a la posición relativa. Los elementos se pueden reordenar solo dentro de las categorías a las que pertenecen.
5. (Opcional) En el panel Report Options (Opciones de informe), introduzca información relevante para la opción seleccionada:
 - Elija un subconjunto de información para mostrar en el informe.
 - Elija ajustes específicos para la opción seleccionada.
 - Cambie el texto que desea mostrar para la opción seleccionada.
6. Haga clic en Update Report (Actualizar informe) para actualizar la vista previa del informe con cualquier cambio.
7. Imprima o guarde el informe. Haga clic en el botón Print Report (Imprimir informe) en la barra de herramientas para imprimir el informe actual. Seleccione File (Archivo) > Save (Guardar) para guardar el informe en formato de archivo PDF (archivo Adobe Acrobat Reader) y seleccione una ubicación en la que guardar el archivo. Seleccione File (Archivo) > Save As (Guardar como) para guardar el informe con un nuevo nombre o en una nueva ubicación.
8. (Opcional) Cree una plantilla de informe con la información que desee. Para guardar los ajustes del informe actual en una plantilla, seleccione Template (Plantilla) > Save (Guardar) o Save As (Guardar como). Después, cargue la plantilla del informe cuando desee crear un nuevo informe.

Creación de informes de grupos de pocillos

Para crear un informe de grupo de pocillos

1. Seleccione Tools (Herramientas) > Well Group Reports (Informes de grupos de pocillos) en la ventana Data Analysis (Análisis de datos).



2. En el cuadro de diálogo Well Groups Reports (Informes de grupos de pocillos), seleccione los grupos de pocillos, los pasos de amplificación y los pasos de fusión que desea incluir en el informe.
3. Introduzca la ruta o navegue hasta la carpeta de destino en la que desea guardar el informe.
4. (Opcional) Seleccione Choose a Report Template (Elegir una plantilla de informe) y navegue hasta la carpeta del archivo de plantilla.
5. (Opcional) Seleccione Open Destination Folder (Abrir carpeta de destino) y vea los informes después de generarlos.
6. Haga clic en Create Reports (Crear informes).

Capítulo 11 Análisis de expresión genética

Con el uso de controles estrictamente cualificados en sus reacciones, puede utilizar el software CFX Manager™ Dx para procesar una serie de expresión genética con objeto de normalizar las diferencias relativas en una concentración de objetivo entre muestras. Normalmente, los niveles de expresión de uno o más genes de referencia se utilizan para normalizar los niveles de expresión de un gen de interés. Los genes de referencia tienen en cuenta las diferencias de carga u otras variaciones representadas en cada muestra, y sus niveles de expresión no deben verse afectados en el sistema biológico que se estudia.

Elija la pestaña Gene Expression (Expresión genética) en la ventana Data Analysis (Análisis de datos) para evaluar las diferencias relativas entre reacciones de PCR en dos o más pocillos. Por ejemplo, puede evaluar números relativos de genomas víricos o números relativos de secuencias transfectadas en una reacción de PCR. La aplicación más común del estudio de expresión genética es la comparación de la concentración ADNc en más de una reacción para estimar los niveles de ARN mensajero de estado estable.

El software calcula el nivel de expresión relativa de un objetivo con uno de los siguientes casos:

- El nivel de expresión relativa de una secuencia objetivo (objetivo 1) relacionada con otro objetivo (objetivo 2); por ejemplo, la cantidad de un gen en comparación con otro gen bajo el mismo tratamiento de muestras.
- El nivel de expresión relativa de una secuencia objetivo en una muestra en comparación con el mismo objetivo bajo un tratamiento de muestras diferente; por ejemplo, la cantidad relativa de un gen en comparación consigo mismo en condiciones temporales, geográficas o de desarrollo diferentes.

Configuración de placa para análisis de expresión genética

Para realizar análisis de expresión genética, el contenido de los pocillos debe incluir lo siguiente:

- Dos o más objetivos: los dos objetivos que representan genes amplificados o secuencias distintos en las muestras.
- Uno o más objetivos de referencia: al menos un objetivo debe ser un objetivo de referencia para la expresión normalizada. Asigne todos los objetivos de referencia en la ventana Experiment Settings (Ajustes de experimento) para analizar los datos en modo de expresión normalizada

($\Delta\Delta C_q$). Las series que no contienen una referencia se deben analizar con el modo de expresión relativa (ΔC_q).

- Muestras frecuentes: las reacciones deben incluir muestras comunes (un mínimo de dos) para ver los datos trazados en la pestaña Gene Expression (Expresión genética). Estas muestras deben representar tratamientos o condiciones distintos para cada una de sus secuencias objetivo. Designe una muestra de control (opcional) en la ventana Experiment Settings (Ajustes del experimento). Si no se selecciona un control, el software usa el C_q más bajo como control.

Los requisitos para la configuración de la expresión genética en el editor de placas dependen de si los contenidos de la reacción son PCR singleplex, con un fluorocromo en las reacciones, o PCR multiplex, con más de un fluorocromo en las reacciones.

Configuración de placa orientada

Si la configuración de placa de un archivo de datos no contiene la información necesaria para el análisis y la pestaña Gene Expression (Expresión genética) está seleccionada, el espacio que normalmente ocupa el gráfico de barras contendrá instrucciones para introducir dicha información. Para la expresión genética normalizada, realice los siguientes pasos:

1. Defina los nombres de objetivos y muestras con cualquiera de los siguientes métodos:
 - Plate Setup (Configuración de placa): abre la ventana Plate Editor (Editor de placas).
 - Replace Plate file (Sustituir archivo de placa): abre el explorador Select Plate (Seleccionar placa), donde puede navegar hasta un archivo de placa guardado previamente para sustituir la disposición de la placa actual.
 - Replace PrimePCR File (Sustituir archivo PrimePCR): abre el cuadro de diálogo Select PrimePCR file (Seleccionar archivo PrimePCR), donde puede navegar hasta un archivo de serie de PrimePCR™ y aplicarlo a la disposición de la placa.
2. Seleccione uno o más objetivos de referencia y una muestra de control mediante el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento).

Si la disposición de la placa ya contiene información sobre el objetivo y la muestra, solo es necesario el segundo paso y se resalta en color naranja. Este paso se debe completar antes de que tenga lugar el análisis de la expresión genética normalizada.

Nota: Los datos para el clustergrama y diagrama de dispersión se muestran solo si se cumplen todos los requisitos para la expresión genética normalizada que aparecen en Plate Setup (Configuración de placa) para el análisis de expresión genética.

Gráficos de expresión génica

El software CFX Manager Dx muestra los datos de expresión génica en distintas vistas. En la [Tabla 33](#) se enumeran las opciones de gráficos disponibles en el software.

Tabla 33. Opciones de gráficos de expresión génica





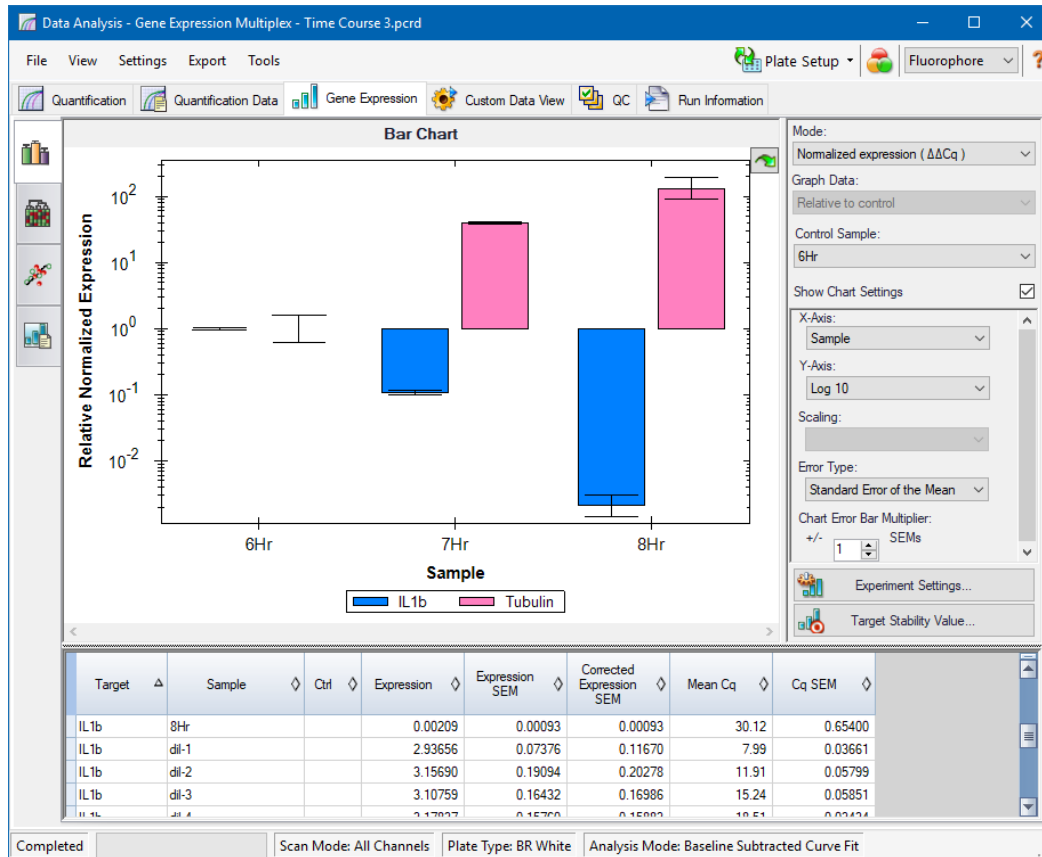
Botón	Nombre	Función
	Gráfico de barras	Muestra los datos de expresión génica normalizada en formato de gráfico de barras.
	Clustergrama	Muestra los datos de expresión normalizada en una jerarquía basada en el grado de similitud de la expresión para diferentes objetivos y muestras.
	Diagrama de dispersión	Muestra la expresión normalizada de objetivos para un control en comparación con una muestra experimental.
	Resultados	Realiza un resumen de los datos de todos los gráficos.

Gráfico de barras



La expresión relativa de los objetivos se presenta en estas dos vistas:

- Gráfico de expresión genética: muestra los datos de PCR en tiempo real como uno de los siguientes:
 - $\Delta\Delta C_q$: expresión normalizada relativa calculada mediante muestras de control y objetivos de referencia.
 - ΔC_q : cantidad relativa del gen objetivo en una muestra en relación con una muestra de control.
- Hoja de cálculo: muestra una hoja de cálculo con los datos de expresión genética.

Consejo: Haga clic con el botón derecho en cualquier gráfico u hoja de cálculo para ver las opciones. Seleccione View/Edit Plate (Ver/editar placa) en el menú desplegable Plate Setup (Configuración de placa) para abrir el editor de placas y cambiar los contenidos de los pocillos en la placa.

Consejo: Seleccione Sort (Clasificar) en el menú contextual para reorganizar el orden de los nombres de objetivos y muestras en el gráfico.

Expresión genética normalizada

Para normalizar los datos, utilice el nivel de expresión medido de uno o más genes de referencia como el valor de normalización. Los genes de referencia son objetivos que no están regulados en el sistema biológico que se estudia, como *actina*, *GAPDH* o *tubulina*.

Para configurar un análisis de expresión genética normalizada ($\Delta\Delta C_q$)

1. Abra un archivo de datos (extensión .pcrd).
2. Revise los datos en la pestaña Quantification (Cuantificación) de la ventana Data Analysis (Análisis de datos). Realice ajustes en los datos, como modificar el umbral y el modo de análisis.
3. Elija la pestaña Gene Expression (Expresión genética).
4. En la pestaña Gene Expression (Expresión genética), haga clic en Experiment Settings (Ajustes del experimento).
5. En el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento), realice lo siguiente:
 - a. Elija la pestaña Samples (Muestras) y seleccione un control. Cuando se asigna un control, el software CFX Manager Dx normaliza las cantidades relativas de todos los genes para la cantidad de control, que se establece en 1.
 - b. Elija la pestaña Target (Objetivo) y seleccione los genes de referencia. El análisis de expresión genética requiere una referencia entre los objetivos de sus muestras.
6. Seleccione Normalized Expression (Expresión normalizada) ($\Delta\Delta C_q$) si aún no lo está, y vea los niveles de expresión en la pestaña Gene Expression (Expresión genética).

Cantidad relativa

Por definición, los datos de cantidad relativa (ΔC_q) no están normalizados. Este método se utiliza para cuantificar las muestras que no incluyen genes de referencia (objetivos). Normalmente, los investigadores confían en una de las siguientes consideraciones cuando configuran su serie:

- Cada muestra contiene la misma cantidad que la plantilla, posiblemente la misma masa de ARN o ADNc en cada pocillo.
- Cualquier variación en la cantidad de la muestra biológica cargada se normalizará después del procesamiento mediante algún método del análisis de datos fuera del software. Por ejemplo, un investigador puede decidir dividir el valor de la cantidad relativa entre el factor normalizador, posiblemente la masa de ácido nucleico cargada para cada muestra, o el número de células a partir del cual se aisló el ácido nucleico.

Para procesar un análisis Relative Quantity (Cantidad relativa) (ΔC_q)

- ▶ En la pestaña Gene Expression (Expresión genética), seleccione Relative Quantity (Cantidad relativa) (ΔC_q) de la lista desplegable Mode (Modo) en el panel derecho.

Consejo: Para comparar los resultados con los datos de otras series de expresión genética, abra un nuevo estudio génico o añada un archivo de datos a un estudio génico existente.

Clasificación de datos de objetivo y muestra

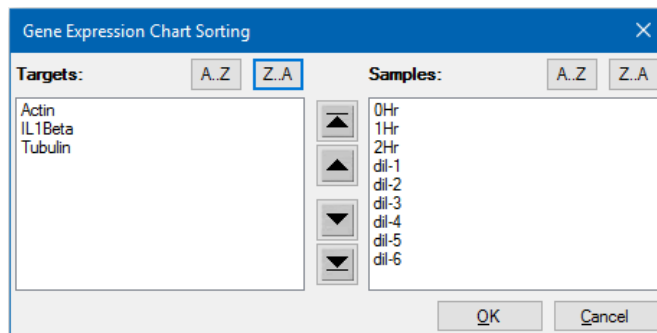
Nota: Esta opción está disponible únicamente en gráficos de expresión genética.

De forma predeterminada, las listas de objetivos y muestras aparecen en orden alfabético. Utilice el cuadro de diálogo Sort (Clasificar) para clasificar la visualización en orden alfabético inverso o para mover un término manualmente a una posición distinta en la lista.

Para clasificar datos de objetivo y muestra

1. En el menú contextual de gráfico, haga clic en Sort (Clasificar).

Aparece el cuadro de diálogo Gene Expression Chart Sorting (Clasificación de gráfico de expresión genética).



2. En el cuadro de diálogo, haga clic en Z-A para clasificar la lista en orden alfabético inverso.
3. Para mover un término de forma manual, selecciónelo y haga clic en el botón adecuado entre los gráficos:
 - Haga clic en la flecha hacia arriba o hacia abajo para desplazar el término seleccionado una posición.
 - Haga clic en la flecha de barra hacia arriba o hacia abajo para desplazar el término seleccionado al primer o último puesto de la lista.
4. Haga clic en OK (Aceptar) para guardar los cambios y volver a la pestaña Gene Expression (Expresión genética).

Ajuste de los datos de expresión genética

Después de seleccionar el modo de análisis —expresión normalizada ($\Delta\Delta Cq$) o cantidad relativa (ΔCq)— ajuste los datos que ve en la pestaña Gene Expression (Expresión genética) cambiando las opciones de configuración a la derecha del gráfico.

Consejo: Establezca las opciones de datos de Gene Expression (Expresión genética) predeterminadas en el cuadro de diálogo User Preferences (Preferencias de usuario) (consulte [Ajuste de los parámetros del archivo de datos de expresión genética en la página 76](#)).

Representación de datos

Establezca el valor del eje y a la escala lineal para habilitar las opciones de datos del gráfico. Las opciones de datos del gráfico le permiten presentar los datos en el gráfico con una de estas opciones:

- Relativos al control: represente los datos con el eje ajustado a escala de 0 a 1. Si asigna un control a su serie, seleccione esta opción para visualizar rápidamente el incremento o la disminución del objetivo.
- Relativos a cero: represente los datos con el origen en cero.

Control Sample (Muestra de control)

Utilice el menú desplegable Control Sample (Muestra de control) para seleccionar una muestra que se utilizará para normalizar la cantidad relativa:

Ajustes de gráfico

Las siguientes opciones (descritas a continuación) se muestran cuando se selecciona el cuadro Show Chart Settings (Mostrar ajustes del gráfico): X-Axis (Eje X), Y-Axis (Eje Y), Scaling (Ajustar a escala), Error Type (Tipo de error) y Chart Error Multiplier (Multiplicador de error del gráfico).

X-Axis Options (Opciones del eje x)

La opción del eje x permite seleccionar los datos del eje x del gráfico de expresión genética:

- Target (Objetivo): representa los nombres de objetivos en el eje x.
- Sample (Muestra): representa los nombres de muestras en el eje x.

Y-Axis Options (Opciones del eje y)

La opción del eje y permite mostrar el gráfico de expresión genética en una de las tres escalas siguientes:

- Lineal: seleccione esta opción para mostrar una escala lineal.

Consejo: Al establecer el eje y en lineal, se habilita la lista desplegable Graph Data (Representar datos), en la que puede elegir representar los datos respecto al control o respecto a cero.

- Log 2: seleccione esta opción para evaluar las muestras en un rango dinámico amplio.
- Log 10: seleccione esta opción para evaluar las muestras en un rango dinámico muy amplio.

Opciones de Scaling (Ajustar a escala)

Seleccione Normalized Gene Expression (Expresión genética normalizada) ($\Delta\Delta C_q$) y establezca Control Sample (Muestra de control) en None (Ninguno) para habilitar las opciones de escala en el gráfico de expresión genética. Seleccione una de estas opciones de escala para calcular y presentar los datos como mejor se ajuste a su diseño de serie:

- Unscaled (Sin ajustar a escala): presenta la expresión genética normalizada sin ajustar a escala.
- Highest (Superior): ajusta a escala la expresión genética normalizada de cada objetivo dividiendo el nivel de expresión de cada muestra entre el nivel de expresión superior en todas las muestras.

Esta opción de escala utiliza la fórmula de escala al valor superior.

- Lowest (Inferior): ajusta a escala la expresión genética normalizada de cada objetivo dividiendo el nivel de expresión de cada muestra entre el nivel de expresión inferior en todas las muestras.

Esta opción de escala utiliza la fórmula de escala al valor inferior.

- Average (Promedio): ajusta a escala la expresión genética normalizada de cada objetivo dividiendo el nivel de expresión de cada muestra entre la media geométrica de los niveles de expresión para todas las muestras.

Esta opción de escala utiliza la fórmula de escala al valor promedio.

Tipo de error

Seleccione una opción para el tipo de cálculos de error (barras de error) en el gráfico de expresión genética:

- Error estándar de la media (predeterminado)
- Desviación estándar

Multiplicador de barras de error del gráfico

Seleccione un multiplicador para las barras de error del gráfico de expresión genética. Seleccione uno de estos números enteros:

+/- 1 (predeterminado), 2 o 3. El tipo de multiplicador cambia cuando selecciona el tipo de error:

- SEM para error estándar de la media
- Desv. est. para las desviaciones estándar

Experiment Settings (Ajustes del experimento)

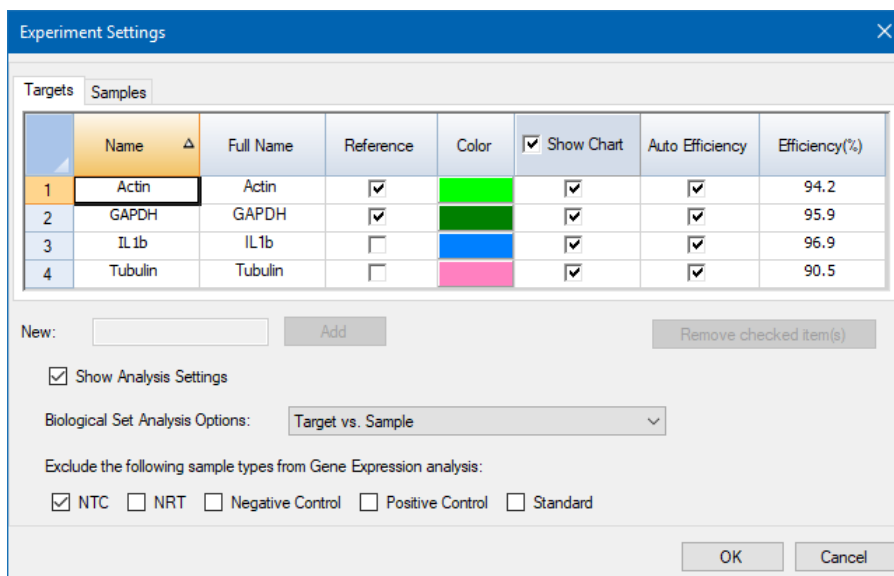
Consejo: El cuadro de diálogo también está disponible en el editor de placas. Para obtener más información, consulte [Cambio de ajustes del experimento en la página 136](#).

En el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento), puede ver o cambiar la lista de objetivos o muestras, seleccionar genes de referencia, seleccionar controles o establecer el grupo Gene Expression Analysis (Análisis de expresión genética) que se debe analizar si los nombres de conjuntos biológicos se han añadido a los pocillos.

Para abrir el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento)

- ▶ En la pestaña Bar Chart (Gráfico de barras), haga clic en Experiment Settings (Ajustes del experimento) en la parte inferior del panel derecho.

Aparece el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento), donde se muestra la pestaña Targets (Objetivos).



Para establecer los ajustes de Targets (Objetivos)

- ▶ En la pestaña Targets (objetivos), realice una de las siguientes acciones:
 - Para seleccionar un objetivo como referencia para un análisis de datos de expresión genética, seleccione su nombre en la columna Reference (Referencia).
 - Para cambiar el color del objetivo, haga clic en su celda en la columna Color y cambie el color en el cuadro de diálogo Color que aparece.

El cambio del color aparece en los gráficos de expresión genética.
 - Para utilizar un valor de eficiencia previamente determinado, desactive la casilla de verificación del objetivo en la columna Auto Efficiency (Eficiencia automática), e introduzca un número para el porcentaje de eficiencia de un objetivo.

El software calcula la eficiencia relativa de un objetivo utilizando Auto Efficiency (Eficiencia automática) si los datos de un objetivo incluyen una curva estándar.

Para establecer los ajustes de Sample (Muestra)

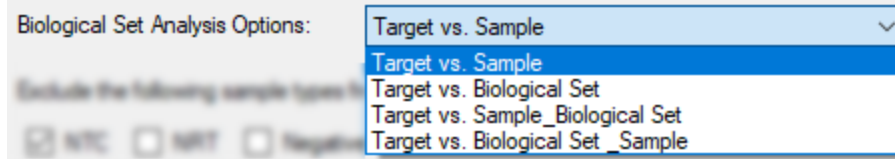
- ▶ En la pestaña Samples (Muestras), realice una de las siguientes acciones:
 - Para seleccionar una muestra como control para un análisis de datos de expresión genética, seleccione su nombre en la columna Control.
 - Para cambiar el color de la muestra, haga clic en su celda en la columna Color y cambie el color en el cuadro de diálogo Color que aparece.

El cambio del color aparece en los gráficos de expresión genética.
 - Para mostrar la muestra en los gráficos de expresión genética, seleccione el elemento en la columna Show Chart (Mostrar gráfico).
 - Para eliminar la muestra de los gráficos de expresión genética, borre el elemento de la columna Show Chart (Mostrar gráfico).

Consejo: Los datos de la muestra permanecen en la tabla Results (Resultados).

Para modificar la selección de Biological Set Analysis Options (Opciones de análisis de conjuntos biológicos)

- ▶ Si ha asignado uno o más conjuntos biológicos a pocillos en la placa (consulte [Asignación de conjuntos biológicos a pocillos en la página 129](#)), la lista Biological Set Analysis Options (Opciones de análisis de conjuntos biológicos) aparece en el cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento) y le permite cambiar la selección según sea necesario.



- **Target vs. Sample (Objetivo frente a muestra):** solo se utiliza el nombre de muestra del pocillo en los cálculos de expresión genética.
- **Target vs. Biological Set (Objetivo frente a conjunto biológico):** solo se utiliza el nombre de conjunto biológico en los cálculos.
- **Target vs. Sample_Biological Set (Objetivo frente a muestra_conjunto biológico):** el nombre de la muestra y el nombre del conjunto biológico se combinan para crear un solo nombre utilizado en los cálculos.
- **Target vs. Biological Set_Sample (Objetivo frente a conjunto biológico_muestra):** el nombre de la muestra y el nombre del conjunto biológico se combinan para crear un solo nombre utilizado en los cálculos.

Para excluir un tipo de muestra de los cálculos del análisis

- ▶ Active su casilla de verificación en la parte inferior del cuadro de diálogo Experiment Settings (Ajustes del experimento).

Nota: Esto excluye los controles o las normas del análisis de expresión genética.

Valor de estabilidad del objetivo

Los valores de estabilidad del objetivo se calculan cuando se utiliza más de un gen de referencia. El software CFX Manager Dx calcula dos parámetros de calidad para los genes de referencia:

- **Coefficient Variance (CV) (Coeficiente de variación (CV)):** corresponde a las cantidades relativas del gen de referencia normalizadas. Un valor de CV inferior denota una mayor estabilidad.
- **M Value (M) (Valor de M (M)):** medida de la estabilidad de la expresión genética de referencia.

Los valores recomendados de CV y M se muestran en la parte inferior del cuadro de diálogo Stability Value (Valor de estabilidad).

Para ver el valor de estabilidad del objetivo

- ▶ En la pestaña Gene Expression Bar Chart (Gráfico de barras de expresión genética), haga clic en Target Stability Value (Valor de estabilidad del objetivo) en la parte inferior del panel derecho.

Aparece el cuadro de diálogo Stability Value (Valor de estabilidad).

Opciones de menú contextual

Haga clic con el botón derecho en el gráfico de expresión genética para seleccionar los elementos que aparecen en la [Tabla 34](#).

Tabla 34. Elementos del menú contextual de expresión genética

Elemento	Función
Copy (Copiar)	Copia el gráfico en un portapapeles.
Save Image As (Guardar imagen como)	Guarda el gráfico como un archivo de imagen. Establezca la resolución y las dimensiones de la imagen y, a continuación, seleccione el tipo de archivo (PNG, GIF, JPG, TIF o BMP).
Page Setup (Configuración de página)	Selecciona una configuración de página para imprimir.
Print (Imprimir)	Imprime el gráfico.
Set Scale to Default (Establecer escala al valor predeterminado)	Show All (Mostrar todo) muestra todos los datos en el gráfico de barras. Scroll Bar (Barra de desplazamiento) muestra una barra de desplazamiento si hay demasiadas muestras para que aparezcan en el marco del gráfico conservando una anchura de barras mínima.
Chart Options (Opciones del gráfico)	Abre la ventana Chart Options (Opciones del gráfico) para ajustar el gráfico.
Sort (Clasificar)	Clasifica el orden de las muestras u objetivos que aparecen en el eje x del gráfico.
Use Corrected Std Devs (Usar desv. est. corregidas)	Calcula las barras de error usando la fórmula de desviación estándar corregida.
Use Solid Bar Colors (Usar colores sólidos en las barras)	Muestra colores sólidos en las barras del gráfico.
X-Axis Labels (Etiquetas del eje x)	Muestra las etiquetas del eje x horizontalmente o en ángulo.

Hoja de cálculo Data (Datos)

En la [Tabla 35](#) se definen los datos que se muestran en la tabla de datos de expresión genética.

Nota: Los valores de la tabla se calculan en función del tipo de gráfico y de las preferencias seleccionadas en el panel de la derecha.

Tabla 35. Descripción de la información de la hoja de cálculo en la pestaña Bar Chart (Gráfico de barras)

Información	Descripción
Target (Objetivo)	Nombre del objetivo (gen amplificado) seleccionado en la ventana Experiment Settings (Ajustes del experimento).
Sample (Muestra)	Nombre de la muestra seleccionado en la ventana Experiment Settings (Ajustes del experimento).
Ctrl	Nombre del control seleccionado en la ventana Experiment Settings (Ajustes del experimento).
Relative Quantity (Cantidad relativa) o Expression (Expresión)	Cantidad relativa (ΔC_q) o expresión genética normalizada ($\Delta\Delta C_q$), dependiendo del modo seleccionado.
Relative Quantity (Cantidad relativa) o Expression SEM (SEM de expresión) (o SD)	Error estándar de la media (SEM) o desviación estándar (SD) de la cantidad relativa o expresión normalizada, dependiendo de la opción seleccionada.
Corrected Relative Quantity (Cantidad relativa corregida) o Expression SEM (SEM de expresión) (o SD)	Cálculo del valor corregido para SEM o SD de la cantidad relativa o expresión normalizada, dependiendo de la opción seleccionada.
Mean C_q (C_q medio)	Media del ciclo de cuantificación
C_q SEM (SEM de C_q) (o SD)	SEM o SD del ciclo de cuantificación, dependiendo de la opción seleccionada.

Opción Show Details (Mostrar detalles)

En la [Tabla 36](#) se definen los datos que aparecen cuando Show Details (Mostrar detalles) está seleccionada en el menú contextual de la hoja de cálculo del gráfico de barras.

Tabla 36. Información en la hoja de cálculo del gráfico de barras con Show Details (Mostrar detalles) seleccionado

Información	Descripción
Data Set (Conjunto de datos)	Datos de fluorescencia de un fluorocromo en el archivo de datos
Relative Quantity (Cantidad relativa)	Cantidad relativa calculada de muestras
Relative Quantity SD (SD de cantidad relativa)	Desviación estándar del cálculo de la cantidad relativa
Corrected Relative Quantity SD (SD de cantidad relativa corregida)	Desviación estándar calculada de la cantidad relativa corregida
Relative Quantity SEM (SEM de cantidad relativa)	Error estándar de la media del cálculo de la cantidad relativa
Corrected Relative Quantity SEM (SEM de cantidad relativa corregida)	Error estándar de la media calculado de la cantidad relativa corregida
Relative Quantity(lg) (Cantidad relativa(lg))	\log_2 de la cantidad relativa que se usa para análisis estadístico
SD RQ(lg)	Desviación estándar de la cantidad relativa (\log_2)
SEM Expression(lg) (SEM de expresión(lg))	Error estándar de la media de la expresión (\log_2)
Unscaled Expression (Expresión sin escala)	Expresión calculada sin ajustar a escala
Unscaled Expression SD (SD de expresión sin escala)	Desviación estándar calculada de la expresión sin ajustar a escala
Corrected Unscaled Expression SD (SD de expresión sin escala corregida)	Desviación estándar calculada de la expresión sin ajustar a escala corregida

Tabla 36. Información en la hoja de cálculo del gráfico de barras con Show Details (Mostrar detalles) seleccionado (continuación)

Información	Descripción
Unscaled Expression SEM (SEM de expresión sin escala)	Error estándar calculado de la media de la expresión sin ajustar a escala
Corrected Unscaled Expression SEM (SEM de expresión sin escala corregida)	Error estándar de la media calculado de la expresión sin ajustar a escala corregida
Unscaled Expression(Ig) (Expresión sin escala(Ig))	\log_2 de la expresión sin ajustar a escala
SD Unscaled Expression(Ig) (SD de expresión sin escala(Ig))	Desviación estándar de la expresión sin escala (\log_2)
SEM Unscaled Expression(Ig) (SEM de expresión sin escala (Ig))	Error estándar de la media de la expresión sin escala (\log_2)
Expression (Expresión)	Expresión genética normalizada
Corrected Expression SD (SD de expresión corregida)	Desviación estándar calculada
Expression SEM (SEM de expresión)	Error estándar de la media
Corrected Expression SEM (SEM de expresión corregida)	Error estándar de la media calculado
Expression(Ig) (Expresión(Ig))	\log_2 de la expresión (expresión normalizada) que se usa para el análisis estadístico
SD Expression(Ig) (Expresión de desv. est. (Ig))	Desviación estándar de la expresión (\log_2)
SEM Expression(Ig) (SEM de expresión(Ig))	Error estándar de la media de la expresión (\log_2)
Mean C_q (C_q medio)	Media del ciclo de cuantificación
C_q SD (SD de C_q)	Desviación estándar del ciclo de cuantificación
C_q SEM (SEM de C_q)	Error estándar de la media del ciclo de cuantificación

Clustergrama

El clustergrama muestra los datos en una jerarquía basada en el grado de similitud de la expresión para distintos objetivos y muestras.

Nota: Debe elegir un objetivo de referencia para mostrar cualquiera de los diagramas de datos que no sean de expresión relativa para gráficos de barras.

La imagen del clustergrama representa la expresión relativa de una muestra u objetivo de la siguiente manera:

- Incremento (rojo): expresión superior
- Disminución (verde o azul): expresión inferior
- Sin regulación (negro)
- Sin valor calculado (negro con una X blanca)

Cuanto más claro sea el tono del color, mayor será la diferencia de expresión relativa. Si no se puede calcular un valor de C_q normalizado, el cuadrado será negro con una X blanca.

En los bordes exteriores del diagrama de datos hay un dendrograma, que indica la jerarquía de los clústeres. Los objetivos y las muestras con patrones de expresión similares tendrán ramas adyacentes, mientras que aquellos con patrones diferentes serán más distantes.

Ajustes

Puede establecer las siguientes opciones:

- Cluster By (Agrupar por): elija Targets (Objetivos), Samples (Muestras), Both (Ambos) o None (Ninguno).
- Size (Tamaño): ajusta el tamaño de la imagen y cambia el grado de ampliación del gráfico.
- Split Out Replicates (Repeticiones divididas): muestra valores para las repeticiones individuales.

Consejo: Puede cambiar el esquema de color para el clustergrama y diagrama de dispersión del rojo/verde predeterminado a rojo/azul seleccionando esta opción de menú contextual en cualquiera de estos gráficos.

Opciones de menú contextual

Las opciones del menú contextual para el clustergrama son las mismas que las del gráfico de barras. Consulte la [Tabla 34 en la página 244](#) para obtener más información sobre las opciones disponibles. Asimismo, seleccione Color Scheme (Esquema de colores) para cambiar la expresión de disminución de rojo/verde predeterminada a rojo/azul en el gráfico.

Hoja de cálculo Data (Datos)

La hoja de cálculo muestra valores para el objetivo, la muestra y la expresión normalizada. Haga clic en la casilla de verificación situada junto a un objetivo para incluirlo o excluirlo del diagrama.

Diagrama de dispersión

En el diagrama de dispersión se muestra la expresión normalizada de objetivos para una muestra de control frente a una muestra del experimento. Las líneas en el gráfico indican el umbral de la normativa. Los puntos de datos entre las líneas indican que la diferencia en expresión de ese objetivo (gen) es poco significativa entre las muestras. Los puntos de datos fuera de las líneas exceden el umbral de la normativa y podrían ser de interés.

La imagen del gráfico muestra los siguientes cambios en la expresión objetivo en función del umbral de la normativa:

- Incremento (círculo rojo): expresión relativamente superior
- Disminución (círculo verde o azul): expresión relativamente inferior
- Sin cambio (círculo negro)

Haga clic y arrastre cualquier línea del umbral para ajustar el valor del umbral de la normativa.

Ajustes

Puede establecer las siguientes opciones:

- Muestra de control
- Muestra experimental
- Umbral de la normativa. Conforme aumenta o disminuye el valor de la normativa, las líneas del umbral en el gráfico se mueven en consecuencia.

Opciones de menú contextual

Las opciones del menú contextual para el diagrama de dispersión son las mismas que las del gráfico de barras. Consulte la [Tabla 34 en la página 244](#) para obtener más información sobre las opciones disponibles. Además, seleccione Symbol (Símbolo) para cambiar el símbolo utilizado en el diagrama del círculo predeterminado a uno de los siguientes:

- Triángulo
- Cruz
- Cuadrado
- Rombo

Hoja de cálculo Data (Datos)

En la hoja de cálculo se muestran los valores de la expresión normalizada y objetivo para las muestras de control y experimentales. También indica si los objetivos se han aumentado o disminuido en comparación con el umbral de la normativa. Haga clic en la casilla de verificación situada junto a un objetivo para incluirlo o excluirlo del diagrama.

Results (Resultados)

La pestaña Results (Resultados) proporciona una hoja de cálculo que resume los datos de todos los gráficos. En la [Tabla 37](#) se definen los datos que se muestran en la hoja de cálculo Results (Resultados).

Tabla 37. Información de la pestaña Results (Resultados)

Información	Descripción
Target (Objetivo)	Nombre de objetivo (gen amplificado)
Sample (Muestra)	Nombre de la muestra
Mean C _q (C _q medio)	Media del ciclo de cuantificación
Mean Efficiency Corrected C _q (C _q con eficiencia corregida medio)	Media del ciclo de cuantificación después de ajustar la eficiencia de la reacción
Normalized Expression (Expresión normalizada)	Expresión objetivo normalizada para un objetivo de referencia ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Expresión normalizada relativa)	Expresión normalizada relativa para una muestra de control; también denominada grado de cambio
Regulation (Regulación)	Cambio en la expresión relativa a una muestra de control
Compared to Regulation Threshold (En comparación con el umbral de regulación)	Incremento o disminución de una muestra experimental basada en la configuración del umbral

Nota: Los datos de repeticiones se encuentran solo en las hojas de cálculo de las pestañas de análisis de datos en las que se han seleccionado Split Out Replicates (Repeticiones divididas) (es decir, clustergrama). Puede haber una discrepancia entre los datos de expresión en las hojas de cálculo del análisis de expresión genética si selecciona «None» (Ninguno) como muestra de control en el gráfico de barras.

Estudio génico

Cree un estudio génico para comparar los datos de expresión genética de uno o más experimentos de PCR en tiempo real utilizando un calibrador entre series para normalizar entre experimentos. Cree un estudio génico añadiendo datos de uno o más archivos de datos (extensión .pcrd) al estudio génico. El software los agrupa en un solo archivo (extensión .mgxd).

Nota: El número máximo de muestras que puede analizar en un estudio génico está limitado por el tamaño de la RAM y la memoria virtual del ordenador.

Calibración entre series

La calibración entre series se intenta automáticamente en cada estudio génico para cada objetivo con objeto de normalizar las variaciones entre series entre los objetivos analizados en series de PCR en tiempo real independientes (es decir, archivos .pcrd diferentes generados a partir de distintas placas).

Para que el software reconozca una muestra como un calibrador entre series, debe compartir el mismo nombre de objetivo, nombre de la muestra y, si se utiliza, nombre del conjunto biológico en cada placa que se compara.

Nota: Como mínimo, debe haber presente un calibrador entre series en el estudio génico para que se produzca la calibración entre series. Los objetivos sin muestras adecuadas de calibrador entre series se procesarán sin corrección en el estudio génico (no recomendado).

Los calibradores entre series se pueden aplicar de dos maneras:

- Por objetivo: los distintos cebadores de PCR pueden tener eficiencias distintas. De forma predeterminada, el calibrador entre series se aplica a todos los pocillos de la misma placa que tengan el mismo nombre de objetivo, por ejemplo el C_q generado con el mismo análisis.
- Estudio completo: el usuario selecciona un calibrador entre series y se aplica a todo el estudio génico.

Cuadro de diálogo Gene Study (Estudio génico)

El cuadro de diálogo Gene Study (Estudio génico) incluye dos pestañas:

- Pestaña Study Setup (Configuración del estudio): gestiona las series del estudio génico.

Importante: Al añadir o eliminar archivos de datos en un estudio génico, no cambian los datos del archivo original.

- Pestaña Study Análisis (Análisis del estudio): presenta los datos de expresión genética de las series combinadas.

Pestaña Study Setup (Configuración del estudio)

En la [Tabla 38](#) se definen los datos que aparecen en la pestaña Study Setup (Configuración del estudio).

Tabla 38. Pestaña Study Setup (Configuración del estudio) en el cuadro de diálogo Gene Study (Estudio génico)

Título de la columna	Descripción
File Name (Nombre de archivo)	Nombre del archivo de datos de procesamiento (extensión .pcrd)
File Folder (Carpeta de archivo)	Directorio que almacena el archivo de datos para cada serie del estudio génico
Date Created (Fecha de creación)	Fecha en la que se recopilaron los datos de procesamiento
Well Group Name (Nombre del grupo de pocillos)	Nombre del grupo de pocillos seleccionado al añadir el archivo al estudio génico Consejo: Para analizar un grupo de pocillos en el estudio génico, debe seleccionar ese grupo de pocillos en la ventana Data Analysis (Análisis de datos) antes de importar el archivo de datos al estudio génico.
Step (Paso)	Paso del protocolo que incluye la lectura de la placa para recopilar datos de PCR en tiempo real
Run Type (Tipo de serie)	Serie definida por el usuario o de PrimePCR™
Protocol Edited (Protocolo editado)	Si se selecciona, indica que se ha editado el protocolo utilizado para una serie de PrimePCR
View Plate (Ver placa)	Abre un mapa de placa de la placa con los datos en cada una de las series incluidas en el estudio génico

Preparación de un estudio génico

Para preparar un estudio génico

1. Antes de importar datos a un estudio génico, realice lo siguiente en la ventana Data Analysis (Análisis de datos):
 - Compruebe que las muestras con el mismo contenido tengan el mismo nombre. En un estudio génico, el software asume que los pocillos con el mismo nombre de objetivo o de muestra contienen la misma muestra.
 - Ajuste la línea de referencia y el umbral (C_q) en la pestaña Quantification (Cuantificación) para optimizar los datos en cada serie.
 - Seleccione el grupo de pocillos que desea incluir en el estudio génico.

Para mostrar los datos de un grupo de pocillos en el estudio génico, ese grupo debe estar seleccionado antes de importar el archivo de datos.

La pestaña Study Setup (Configuración del estudio) muestra una lista de todas las series del estudio génico.

2. El cuadro de diálogo Gene Study (Estudio génico), elija la pestaña Study Setup (Configuración del estudio).
3. Haga clic en Add Data Files (Añadir archivos de datos) para seleccionar un archivo de una ventana del explorador.

Consejo: Para añadir series rápidamente a un estudio génico, arrastre los archivos de datos (extensión .pcrd) al cuadro de diálogo Study Setup (Configuración del estudio).
4. El software CFX Manager Dx realiza automáticamente el análisis del estudio génico a medida que añade los archivos de datos. Elija la pestaña Study Analysis (Análisis del estudio) para ver los resultados.

Para eliminar series del estudio génico

- ▶ Seleccione uno o más archivos de datos de la lista y haga clic en Remove (Eliminar).

Para añadir notas sobre el estudio génico

- ▶ Introduzca notas sobre los archivos y análisis en el cuadro de texto Notes (Notas).

Pestaña Study Analysis (Análisis del estudio)

La pestaña Study Analysis (Análisis del estudio) presenta los datos de todas las series en el estudio génico. Las opciones de análisis de datos de expresión genética son iguales que las de un archivo de datos individual con las siguientes excepciones:

- En el caso de los gráficos de barras, los valores de calibración entre series (si se calculan) aparecen cuando hace clic en Inter-run Calibration (Calibración entre series).

Nota: Solo se pueden utilizar los siguientes tipos de muestras como calibradores entre series:

- Desconocido
- Estándar
- Control positivo

Los tipos de muestra de control negativo, sin control de plantilla (NTC) y sin control de transcriptasa inversa (NRT) no se pueden utilizar como calibrador entre series.

Creación de un informe de estudio génico

Para crear un informe de estudio génico

1. Ajuste los datos del informe de estudio génico y los gráficos según sea necesario antes de crear un informe.
2. Seleccione Tools (Herramientas) > Reports (Informes) en el menú Gene Study (Estudio génico) para abrir el cuadro de diálogo Report (Informe).
3. Elija las opciones que desea incluir en el informe. El informe se abre con las opciones predeterminadas seleccionadas. Active o desactive las casillas de verificación para cambiar categorías completas u opciones individuales dentro de una categoría.

En [Categorías de informes de estudio génico en la página 257](#) se enumera las opciones disponibles para mostrar.

4. Cambie el orden de las categorías y los elementos de un informe. Arrastre las opciones para la posición necesaria. Los elementos se pueden reordenar solo dentro de las categorías a las que pertenecen.
5. Haga clic en Update Report (Actualizar informe) para actualizar la vista previa del informe con cualquier cambio.
6. Imprima o guarde el informe. Haga clic en el botón Print Report (Imprimir informe) en la barra de herramientas para imprimir el informe actual. Seleccione File (Archivo) > Save (Guardar) para guardar el informe en formato de archivo PDF (archivo Adobe Acrobat Reader) y seleccione una ubicación en la que guardar el archivo. Seleccione File (Archivo) > Save As (Guardar como) para guardar el informe con un nuevo nombre o en una nueva ubicación.
7. (Opcional) Cree una plantilla de informe con la información que desee. Para guardar los ajustes del informe actual en una plantilla, seleccione Template (Plantilla) > Save (Guardar) o Save As (Guardar como). Después, cargue la plantilla del informe cuando desee crear un nuevo informe.

Categorías de informes de estudio génico

Utilice el cuadro de diálogo Gene Study Report (Informe de estudio génico) para organizar los datos del estudio génico en un informe. En la [Tabla 39](#) se enumeran todas las opciones disponibles para un informe de estudio génico.

Tabla 39. Categorías para un informe de estudio génico

Categoría	Opción	Descripción
Header (Encabezado)		
		Título, subtítulo y logotipo para el informe
	Report Information (Información del informe)	Fecha, nombre de usuario, nombre del archivo de datos, ruta del archivo de datos y grupo de pocillos seleccionado
	Gene Study File List (Lista de archivos del estudio génico)	Lista de todos los archivos de datos del estudio génico
	Notes (Notas)	Notas sobre el informe de datos
Study Analysis: Bar Chart (Análisis del estudio: gráfico de barras)		
	Analysis Settings (Ajustes de análisis)	Lista de los parámetros de análisis seleccionados
	Chart (Gráfico)	Gráfico de barras de expresión genética que muestra los datos
	Target Names (Nombres de objetivos)	Lista de objetivos del estudio génico
	Sample Names (Nombres de muestras)	Lista de muestras del estudio génico
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que muestra los datos
	Target Stability (Estabilidad del objetivo)	Datos de estabilidad del objetivo
	Inter-run Calibration (Calibración entre series)	Datos de calibración entre series
Study Analysis: Clustergram and Scatter Plot (Análisis del estudio: clustergrama y diagrama de dispersión)		
	Analysis Settings (Ajustes de análisis)	Ajustes para cada tipo de gráfico

Tabla 39. Categorías para un informe de estudio génico (continuación)

Categoría	Opción	Descripción
	Chart (Gráfico)	Gráfico de expresión genética que muestra los datos
	Data (Datos)	Hoja de cálculo que enumera los datos de cada objetivo

Apéndice A Cálculos de análisis de datos

El software CFX Manager™ Dx calcula fórmulas automáticamente y muestra los resultados en las pestañas de Data Analysis (Análisis de datos). En este apéndice se explica en detalle cómo el software CFX Manager Dx calcula las fórmulas.

Eficiencia de la reacción

Las pruebas sugieren que utilizar una medición precisa de las eficiencias para cada cebador y grupo de sondas le proporcionará resultados más precisos al analizar datos de expresión genética. El valor predeterminado de eficiencia utilizado en los cálculos de expresión genética es 100 %. Para evaluar la eficiencia de la reacción, genere una curva estándar utilizando diluciones en serie de una muestra representativa en un rango dinámico relevante y, a continuación, registre la eficiencia del análisis de expresión genética posterior. Si la serie incluye una curva estándar, el software calcula automáticamente la eficiencia y la muestra bajo la curva estándar en la pestaña Quantification (Cuantificación) cuando Auto Efficiency (Eficiencia automática) está activada en la pestaña Targets (Objetivos) de la ventana Experiment Settings (Ajustes del experimento).

La eficiencia (E) en las fórmulas de eficiencia hace referencia a las «eficiencias» según las describe Pfaffl (2001) y Vandesompele et al. (2002). En estas publicaciones, una eficiencia de 2 (duplicación perfecta con cada ciclo) es equivalente a una eficiencia del 100 % en este software. Puede convertir sus cálculos de eficiencia a los utilizados en el software utilizando las relaciones matemáticas siguientes:

- $E = (\% \text{ eficiencia} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ eficiencia} = (E - 1) * 100$

Relative Quantity (Cantidad relativa)

La fórmula de la cantidad relativa (ΔC_q) para cualquier muestra (GOI) es:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Nota: Esta fórmula se utiliza para calcular la cantidad relativa cuando no se ha definido ninguna muestra de control.

Donde:

- E = eficiencia del cebador y conjunto de sondeo. Esta eficiencia se calcula con la fórmula (% eficiencia * 0,01) + 1, donde el 100 % eficiencia = 2
- $C_{q(\text{min})}$ = C_q promedio para la muestra con el C_q promedio más bajo para GOI
- $C_{q(\text{muestra})}$ = C_q promedio para la muestra
- GOI = gen de interés (un objetivo)

Cantidad relativa cuando hay un control seleccionado

Cuando hay asignada una muestra de control, la cantidad relativa (RQ) para cualquier muestra con un gen de interés (GOI) se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})} \right)$$

Donde:

- E = eficiencia del cebador y conjunto de sondeo. Esta eficiencia se calcula con la fórmula (% eficiencia * 0,01) + 1, donde el 100 % eficiencia = 2
- $C_{q(\text{control})}$ = C_q promedio para la muestra de control
- $C_{q(\text{muestra})}$ = C_q promedio para cualquier muestra con un GOI
- GOI = gen de interés (un objetivo)

Desviación estándar de cantidad relativa

La fórmula de la desviación estándar de la cantidad relativa es

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q\text{GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Donde:

- SD Relative Quantity = desviación estándar de la cantidad relativa
- SD $C_{q\text{GOI}}$ muestra = desviación estándar del C_q para la muestra (GOI)
- Cantidad relativa = cantidad relativa de la muestra
- E = eficiencia del cebador y conjunto de sondeo. Esta eficiencia se calcula con la fórmula (% eficiencia * 0,01) + 1, donde el 100 % eficiencia = 2
- GOI = gen de interés (un objetivo)

C_q con eficiencia corregida (C_{qE})

La fórmula de C_q con eficiencia corregida es

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Donde:

- E = eficiencia

C_q con eficiencia corregida medio (MC_{qE})

La fórmula para el C_q con eficiencia corregida media es

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE} (\text{Rep 1}) + C_{qE} (\text{Rep 2}) + \dots + C_{qE} (\text{Rep n})}{n}$$

Donde:

- C_{qE} = C_q con eficiencia corregida
- n = número de repeticiones

Factor de normalización

El denominador de la ecuación de expresión normalizada se conoce como factor de normalización. El factor de normalización es la media geométrica de las cantidades relativas de todos los objetivos (genes) de referencia para una muestra determinada, tal como se describe en la siguiente fórmula:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

Donde:

- RQ = cantidad relativa
- n = número de objetivos de referencia
- GOI = gen de interés (un objetivo)

Expresión normalizada

Expresión normalizada ($\Delta\Delta C_q$) es la cantidad relativa del objetivo (gen) normalizado a las cantidades de los objetivos de referencia (genes o secuencias) en el sistema biológico. Para seleccionar los objetivos de referencia, abra la ventana Experiment Settings (Ajustes del experimento) y haga clic en la columna de referencia para cada objetivo que sirva como gen de referencia.

La fórmula para la expresión normalizada, que utiliza el cálculo de cantidad relativa (RQ) calculada, es

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{(\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Donde:

- RQ = cantidad relativa de una muestra
- Ref = objetivo de referencia en una serie que incluye uno o más objetivos de referencia de cada muestra
- GOI = gen de interés (un objetivo)

En el supuesto de que los objetivos de referencia no cambien su nivel de expresión en el sistema biológico, el cálculo de la expresión normalizada constituirá las diferencias de carga o variaciones en el número de células que se representan en cada una de las muestras.

Expresión normalizada cuando hay un control seleccionado

Cuando selecciona una muestra de control en la ventana Experiment Settings (Ajustes del experimento), el software establece el nivel de expresión de la muestra de control en 1. En esta situación, el software normaliza las cantidades relativas de las expresiones de todos los objetivos (gen) a la cantidad de control (un valor de 1). La expresión normalizada es equivalente al análisis de la expresión normalizada no ajustada a escala cuando se elige un control.

Nota: Esto también se conoce como expresión normalizada relativa (RNE) y grado de cambio.

Desviación estándar para la expresión normalizada

El reajuste a ajustar a escala del valor de la expresión normalizada se consigue dividiendo la desviación estándar de la expresión normalizada entre el valor de la expresión normalizada para los niveles de expresión individual más altos o más bajos, dependiendo de la opción de reajuste que elija. La fórmula de la desviación estándar (SD) del factor de normalización es

$$SD NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

Donde:

- RQ = cantidad relativa de una muestra
- SD = desviación estándar
- NF = factor de normalización
- Ref = objetivo de referencia
- n = número de objetivos de referencia

Cuando se asigna una muestra de control, no necesita volver a ajustar la escala en la desviación estándar, según se muestra en la siguiente fórmula:

$$SD NE_{\text{sample (GOI)}} = NE_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD NF_{\text{sample}}}{NF_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD RQ_{\text{sample (GOI)}}}{RQ_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

Donde:

- NE = expresión normalizada
- RQ = cantidad relativa de una muestra
- SD = desviación estándar
- GOI = gen de interés (un objetivo)

Expresión normalizada ajustada a escala al nivel de expresión más alto

Cuando la serie no incluye controles, escale la expresión normalizada (NE) de cada objetivo (gen) dividiendo el nivel de expresión de cada muestra entre el nivel superior de expresión en todas las muestras. El software establece el nivel más alto de expresión en un valor de 1 y vuelve a ajustar a escala todos los niveles de expresión de muestras. La fórmula para el ajuste a escala más alto es

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

Donde:

- GOI = gen de interés (objetivo)

Expresión normalizada ajustada a escala al nivel de expresión más bajo

Cuando la serie no incluye controles, escale la expresión normalizada (NE) para cada objetivo (gen) dividiendo el nivel de expresión de cada muestra entre el nivel de expresión más bajo de todas las muestras. El software establece el nivel más bajo de expresión en un valor de 1 y vuelve a ajustar a escala todos los niveles de expresión de muestras. La fórmula para el ajuste a escala más bajo es

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

Donde:

- GOI = gen de interés (objetivo)

Expresión normalizada ajustada a escala al nivel de expresión promedio

Cuando la serie no incluye controles, ajuste a escala la expresión normalizada (NE) para cada objetivo (gen) dividiendo el nivel de expresión de cada muestra entre el nivel de media geométrica de la expresión de todas las muestras. El software establece el nivel de expresión promedio en un valor de 1 y vuelva a ajustar a escala todos los niveles de expresión de las muestras. La fórmula para el ajuste a escala promedio es

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Donde:

- GOI = gen de interés (objetivo)
- GM = media geométrica de la expresión normalizada para todas las muestras

Desviación estándar de la expresión normalizada a escala

El reajuste a escala del valor de la expresión normalizada (NE) se consigue dividiendo la desviación estándar (SD) de la expresión normalizada entre el valor de la expresión normalizada para el nivel de expresión más alto (MAX) o más bajo (MIN), dependiendo de la opción de escala que elija.

Nota: Cuando se asigna una muestra de control, no necesita realizar esta función de reajuste a escala en la desviación estándar.

El cálculo de esta fórmula es

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

Donde:

- NE = expresión normalizada
- SD = desviación estándar
- GOI = gen de interés (objetivo)
- MAX = nivel de expresión más alto
- MIN = nivel de expresión más bajo

Regulación

Regulación es una medida del aumento o disminución en la expresión de un objetivo para una muestra experimental frente a una muestra de control y se determina de la siguiente manera:

Si expresión (experimental) > expresión (control):

$$\text{Regulation} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Si expresión (experimental) < expresión (control):

$$\text{Regulation} = -1 / \left(\frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

Nota: Para Bar Chart (Gráfico de barras), la *expresión* se basa en la cantidad relativa o en la expresión normalizada, dependiendo del modo seleccionado (consulte [Gráfico de barras en la página 236](#)). Sin embargo, para el diagrama de dispersión y el clustergrama, la regulación siempre se calcula a partir de la expresión normalizada.

Fórmulas de valores corregidos

Una diferencia entre valores corregidos y valores no corregidos se ve solo si se crea una curva estándar como parte de la serie de PCR en tiempo real. El software utiliza tres ecuaciones para determinar la propagación del error:

- Error estándar
- Error estándar para expresión normalizada
- Error estándar para el gen de interés normalizado (objetivo)

La fórmula para el error estándar es

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Donde:

- n = número de objetivos de referencia (genes)
- SD = desviación estándar

El error estándar para el factor de normalización en la fórmula de expresión normalizada es

$$SE NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref 1)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref 2)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref n)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref n)}}}\right)^2}$$

Donde:

- n = número de objetivos de referencia
- SE = error estándar
- NF = expresión normalizada
- RQ = cantidad relativa

El error estándar para la fórmula del gen de interés normalizado (GOI) es

$$SE GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE GOI}{GOI}\right)^2}$$

Donde:

- SE = error estándar
- GOI = gen de interés (un objetivo)
- NF = factor de normalización
- n = número de objetivos de referencia

Apéndice B Administración de usuarios y roles de CFX Manager Dx

En el software CFX Manager™ Dx, puede crear usuarios y asignar un rol a estos usuarios. Los roles limitan el acceso a las funciones de CFX Manager Dx. Solo se puede asignar un rol por usuario a la vez. No obstante, un administrador del software CFX Manager Dx puede modificar el rol del usuario en cualquier momento.

Consejo: No es necesario crear usuarios para utilizar CFX Manager Dx. Si no crea usuarios, toda la actividad la lleva a cabo el *administrador* de cuentas de usuarios predeterminado.

Importante: El administrador de usuarios es la cuenta administradora predeterminada, que utiliza para iniciar sesión al principio en CFX Manager Dx. Se recomienda que cree un usuario específico para administrar CFX Manager Dx. Asigne a este usuario el rol de administrador y realice todas las tareas de administración con este usuario.

Importante: El software CFX Manager Dx no dispone de una función de tiempo de espera de inactividad de la sesión del usuario. Por lo tanto, se recomienda que implemente las medidas de seguridad de Windows o de terceros (por ejemplo, implementar un salvapantallas en el que sea necesario iniciar sesión).

Administración de usuarios

En la edición estándar del software CFX Manager Dx, las cuentas de usuario pueden tener cualquier nombre o contraseña.

Para asignar un rol a cada usuario, selecciónelo en la lista de roles de la ventana User Administration (Administración de usuarios). En este ejemplo se proporciona al usuario invitado el derecho adicional de guardar archivos.

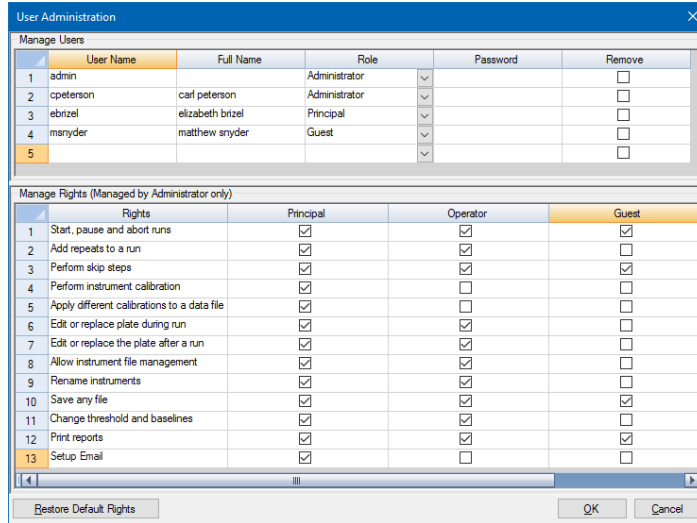
Adición y eliminación de usuarios

Nota: Solo el administrador de CFX Manager Dx puede añadir o eliminar usuarios.

Para añadir cuentas de usuario a CFX Manager Dx

1. En la ventana de inicio, seleccione User (Usuario) > User Administration (Administración de usuarios).

Aparece el cuadro de diálogo User Administration (Administración de usuarios).



2. En el panel Manage Users (Administrar usuarios), introduzca un nombre de usuario.

3. Seleccione un rol de usuario.

Los roles limitan los derechos del usuario. El rol predeterminado es Principal.

Consejo: Puede modificar los derechos asociados a cada rol. La modificación de los derechos de un rol afecta a todos los usuarios a los que se asignó dicho rol. Para obtener más información, consulte [Administración de los derechos de roles en la página 273](#).

4. (Opcional) Escriba un valor en los campos Full Name (Nombre completo) y Password (Contraseña) para el usuario.

5. Haga clic en OK (Aceptar) para abrir un cuadro de diálogo y confirmar que desea cerrar la ventana.

6. Haga clic en Yes (Sí) para cerrar el cuadro de diálogo y la ventana.

Para eliminar un usuario

1. En el panel Manage Users (Administrar usuarios), seleccione Remove (Eliminar) para cada usuario que desee eliminar.

2. Haga clic en OK (Aceptar) para abrir un cuadro de diálogo y confirmar que desea cerrar la ventana.

3. Haga clic en Yes (Sí) para cerrar el cuadro de diálogo y la ventana.

Nota: La lista de usuarios del software siempre debe incluir un administrador.

Administración de los derechos de roles

CFX Manager Dx incluye estos cuatro roles:

- **Administrador (necesario):** los administradores tienen todos los derechos y no puede cambiarlos. Los administradores también pueden añadir o eliminar usuarios, y cambiar los derechos de cada rol.

Nota: Solo un administrador puede cambiar los derechos de los roles.

- **Principal:** de forma predeterminada, el usuario principal tiene todos los derechos.
- **Operador:** de forma predeterminada, el usuario operador tiene todos los derechos, excepto omitir ciclos.
- **Invitado:** de forma predeterminada, el usuario invitado solo puede leer archivos.

Importante: El cambio de derechos para un rol afecta a todos los usuarios a los que se les haya asignado ese rol. No puede personalizar un rol para un usuario específico. Tenga cuidado al modificar los derechos de los roles.

Para especificar los derechos de cada rol

1. En la ventana de inicio, seleccione User (Usuario) > User Administration (Administración de usuarios).
2. En el panel Manage Rights (Gestionar derechos), realice cualquiera de las siguientes acciones:
 - Para eliminar un derecho de un rol, desactive su casilla de verificación.
 - Para añadir un derecho a un rol, active su casilla de verificación.
3. Haga clic en OK (Aceptar) para abrir un cuadro de diálogo y confirmar que desea cerrar la ventana.
4. Haga clic en Yes (Sí) para cerrar el cuadro de diálogo y la ventana.

Para restablecer los derechos para todos los roles

- ▶ En el cuadro de diálogo User Administration (Administración de usuarios), haga clic en Restore Default Rights (Restablecer derechos predeterminados).

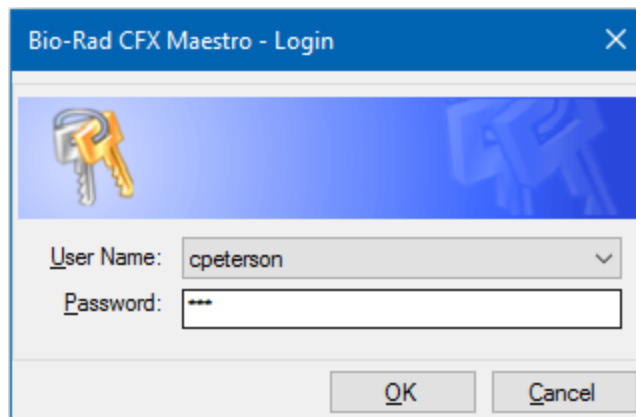
Inicio de sesión en el software CFX Manager Dx

El software CFX Manager Dx administra quién inicia sesión en el software a través del cuadro de diálogo Login (Iniciar sesión). Al iniciar el software, CFX Manager Dx muestra automáticamente el cuadro de diálogo Login (Iniciar sesión) cuando aparecen dos o más usuarios en la ventana User Administration (Administración de usuarios).

CFX Manager Dx muestra el nombre del usuario conectado en la parte superior de la ventana de inicio.

Para iniciar sesión en CFX Manager Dx

1. En el cuadro de diálogo Login (Iniciar sesión), seleccione su nombre de la lista desplegable de usuarios.
2. Escriba su contraseña.
3. Haga clic en OK (Aceptar) para cerrar el cuadro de diálogo Login (Iniciar sesión) y abrir el software.



Cambio de usuarios

Puede cambiar de usuario mientras se está ejecutando el software.

Para cambiar de usuario

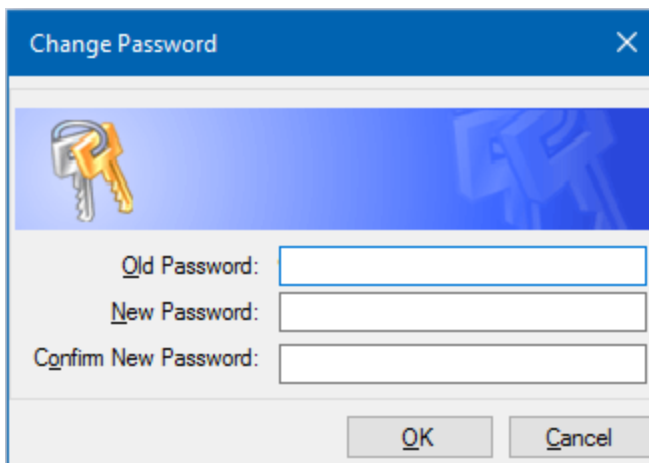
1. En la ventana de inicio, seleccione User (Usuario) > Select User (Seleccionar usuario) para abrir el cuadro de diálogo Select User (Seleccionar usuario).
2. Seleccione un nombre de la lista desplegable User Name (Nombre de usuario).
3. Escriba la contraseña del nuevo usuario.
4. Haga clic en OK (Aceptar) para cerrar el cuadro de diálogo Login (Iniciar sesión) y abrir el software.

Cambio de contraseñas de usuario

Los usuarios de CFX Manager Dx pueden cambiar su propia contraseña en cualquier momento.

Para cambiar contraseñas de usuario

1. En la ventana de inicio, seleccione User (Usuario) > Change Password (Cambiar contraseña) para abrir el cuadro de diálogo Change Password (Cambiar contraseña).



2. En Old Password (Contraseña antigua), escriba su contraseña actual.
3. En New Password (Contraseña nueva), escriba una contraseña nueva y vuelva a escribirla en Confirm New Password (Confirmar nueva contraseña).
4. Haga clic en OK (Aceptar) para confirmar el cambio.

Visualización de rol y derechos

Consejo: Los usuarios a los que se han asignado los roles de Principal, Operator (Operador) o Guest (Invitado) solo pueden ver los ajustes, derechos y roles de su usuario.

Para ver el rol y los derechos del usuario actual

- ▶ En la ventana de inicio, seleccione User (Usuario) > User Administration (Administración de usuarios).

Contacte con su administrador de CFX Manager Dx para modificar los ajustes, derechos y roles de usuarios enumerados en la ventana User Administration (Administración de usuarios).

Apéndice C Integración de LIMS

Puede configurar el software CFX Manager™ Dx para su uso con un sistema de gestión de información de laboratorio (LIMS). Para la integración de LIMS, CFX Manager Dx requiere información de configuración de la placa generada por la plataforma de LIMS (un archivo LIMS, *.plrn), un archivo de protocolo creado mediante el software CFX Manager Dx (*.prcl), una ubicación de exportación de datos definida y un formato de exportación definido.

Una vez finalizada la serie, CFX Manager Dx genera un archivo de datos (.pcrd) y lo guarda en la ubicación de la carpeta de exportación de datos definida. CFX Manager Dx también puede crear un archivo de datos compatible con LIMS en formato .csv y guardarlo en la misma ubicación.

Creación de archivos de datos compatibles con LIMS

En este apéndice se explica cómo configurar el software CFX Manager Dx para crear, guardar y exportar archivos de datos compatibles con LIMS.

Configuración de las opciones de exportación de datos y carpetas de LIMS

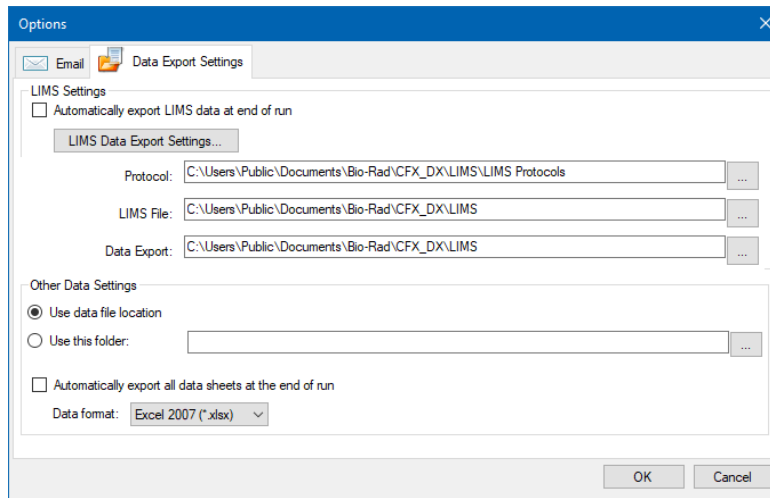
De forma predeterminada, CFX Manager Dx guarda los protocolos, archivos y archivos de exportación de datos de LIMS en esta carpeta:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

Puede configurar CFX Manager Dx para guardar los archivos en otra carpeta, y puede modificar las opciones de exportación para los datos de LIMS.

Para configurar las opciones de exportación de datos y carpetas de LIMS

1. En la ventana de inicio, seleccione Tools (Herramientas) > Options (Opciones).
2. En el cuadro de diálogo Options (Opciones), seleccione Data Export Settings (Ajustes de exportación de datos).



3. (Opcional) Seleccione **Automatically export LIMS data at end of run** (Exportar automáticamente datos de LIMS al final de la serie).

El software exportará automáticamente los datos de LIMS después de cada serie y los guardará en la ubicación especificada.

4. Para cambiar las opciones de exportación predeterminadas de los datos de LIMS, haga clic en **LIMS Data Export Settings** (Ajustes de exportación de datos de LIMS).

Importante: Solo los datos de LIMS exportados como un archivo .csv se pueden volver a importar a CFX Manager Dx.

5. En el cuadro de diálogo **LIMS Data Export Format Settings** (Ajustes de formato de exportación de datos de LIMS), seleccione las opciones de exportación requeridas y haga clic en **OK** (Aceptar).
6. En el cuadro de diálogo **Options** (Opciones), navegue hasta una carpeta predeterminada en la que desee guardar los archivos de datos de LIMS y selecciónela. Puede seleccionar una ubicación distinta para cada tipo de archivo:

- Protocolo
- Archivo LIMS
- Exportación de datos

7. Haga clic en **OK** (Aceptar) para guardar los cambios y cerrar el cuadro de diálogo **Options** (Opciones).

Creación de un protocolo de LIMS

Para iniciar una serie de LIMS, cree un archivo de protocolo (*.prcl) de CFX Manager Dx y guárdelo en la ubicación designada de la carpeta del protocolo de LIMS.

Consulte el [Capítulo 6, Creación de protocolos](#) para obtener más información.

Creación de un archivo LIMS

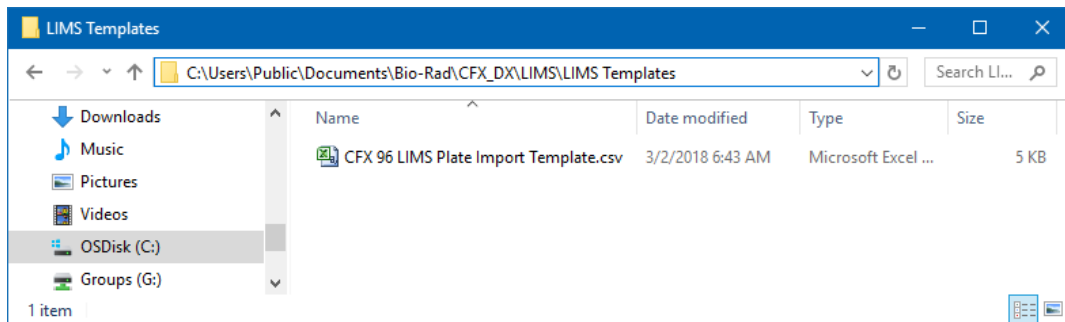
Un archivo LIMS (*.plrn) contiene los mismos detalles de configuración de placa y el nombre de archivo del protocolo. El LIMS interno genera este archivo. CFX Manager Dx utiliza un archivo LIMS para crear un archivo de placa para utilizarlo con un archivo de protocolo.

CFX Manager Dx proporciona archivos de plantilla de importación de placas, que puede editar para crear archivos de placa de LIMS personalizados.

Consejo: Esta tarea debe realizarla un especialista en LIMS.

Para crear un archivo LIMS

1. En la ventana de inicio, seleccione View (Vista) > Show (Mostrar) > LIMS File Folder (Carpeta de archivo LIMS).
2. Abra la carpeta LIMS Templates (Plantillas de LIMS) y seleccione un archivo .csv para importarlo a su LIMS interno.



3. Mediante el LIMS, edite el archivo de plantilla rellorando los campos necesarios enumerados en la [Tabla 40](#).
4. Guarde la plantilla con la extensión de nombre de archivo .plrn en la carpeta LIMS File (Archivo LIMS).

Importante: CFX Manager Dx puede abrir solo el archivo .plrn. Debe guardar el archivo .csv como .plrn para iniciar la serie de LIMS.

Tabla 40. Definición del contenido del archivo .csv LIMS

Columna	Fila	Descripción	Contenido	Propósito
A	1	Encabezado de placa	No editar	Predefinido
A,B,C	2	Campo/datos/instrucción	No editar	Predefinido
B	3	Versión	No editar	Predefinido
B	4	Tamaño de la placa	No editar	Predefinido
B	5	Tipo de placa	Introduzca «BR White» (BR blanco), «BR Clear» (BR claro) u otro tipo de placa calibrada	Necesario
B	6	Modo de exploración	Introduzca «SYBR/FAM Only:» (Solo SYBR/FAM:), «All Channels» (Todos los canales) o «FRET»	Necesario

Tabla 40. Definición del contenido del archivo .csv LIMS (continuación)

Columna	Fila	Descripción	Contenido	Propósito
B	7	Unidades	Introduzca una de las siguientes palabras: «copy number» (copiar número), «fold dilution» (dilución de grado), «micromoles», «nanomoles», «picomoles», «femtomoles», «attomoles», «milligrams» (miligramos), «micrograms» (microgramos), «nanograms» (nanogramos), «picograms» (picogramos), «femtograms» (femtogramos), «attograms» (attogramos) o «percent» (porcentaje)	Necesario
B	8	ID de serie	Introduzca una descripción breve o código de barras para identificar esta serie (30 caracteres máximo, no se permite utilizar comas)	Opcional

Tabla 40. Definición del contenido del archivo .csv LIMS (continuación)

Columna	Fila	Descripción	Contenido	Propósito
B	9	Nota de la serie	Introduzca una descripción de la serie	Opcional
B	10	Protocolo de serie	Introduzca el nombre del archivo del protocolo exactamente como se indica.	Necesario
A	11	Archivo de datos	Introduzca el nombre del archivo de datos	Opcional
A	12-15	Pendiente/vacío	No editar	Predefinido
A	16	Datos de la placa	No editar	Predefinido

Tabla 40. Definición del contenido del archivo .csv LIMS (continuación)

Columna	Fila	Descripción	Contenido	Propósito
A	17-113	Posición del pocillo	No editar	Predefinido
B-G		Colorante Ch1, colorante Ch2, colorante Ch3, colorante Ch4, colorante Ch5, FRET	Introduzca un nombre de tinte calibrado (por ejemplo, «FAM») para cada canal (Ch) que se utilice	Necesario
H		Tipo de muestra	Introduzca uno de los siguientes tipos de muestras «Unknown» (Desconocido), «Standard» (Estándar), «Positive Control» (Control positivo), «Negative Control» (Control negativo), «NTC» o «NRT»	Necesario
I		Nombre de la muestra	Introduzca el nombre de la muestra	Opcional
J-O		CH1 objetivo, CH2 objetivo, CH3 objetivo, CH4 objetivo, CH5 objetivo, FRET objetivo,	Introduzca el nombre objetivo de cada canal (CH) utilizado	Opcional
P		Nombre del conjunto biológico	Introduzca el nombre del conjunto biológico	Opcional

Tabla 40. Definición del contenido del archivo .csv LIMS (continuación)

Columna	Fila	Descripción	Contenido	Propósito
Q		Repetición	Introduzca un número entero positivo para cada conjunto de repeticiones. El valor no puede ser cero	Opcional
R-W		Cantidad CH1, cantidad CH2, cantidad CH3, cantidad CH4, cantidad CH5, cantidad FRET	Introduzca los valores de cantidad para cualquier norma. Introduzca la concentración con formato decimal	Necesario para todas las normas
X		Nota del pocillo	Introduzca una nota del pocillo (20 caracteres máximo)	Opcional
Y-AD		Color del pocillo Ch1, color del pocillo Ch2, color del pocillo Ch3, color del pocillo Ch4, color del pocillo Ch5, color del pocillo FRET	Introduzca cualquier color de estilo de trazo definido por el usuario con formato decimal de número entero (argb) de 32 bits	Opcional

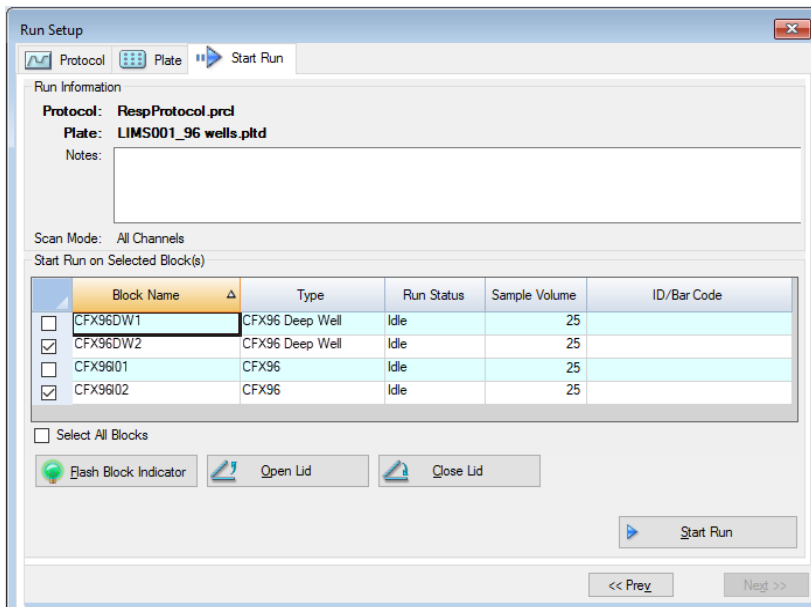
Inicio de una serie de LIMS

Para iniciar una serie LIMS

1. Realice una de las siguientes acciones para abrir un archivo LIMS .plrn:
 - En la ventana de inicio, seleccione View (Vista) > Show (Mostrar) > LIMS File Folder (Carpeta de archivo LIMS) y abra el archivo .plrn objetivo.
 - En la ventana de inicio, seleccione File (Archivo) > Open (Abrir) > LIMS File (Archivo LIMS) y abra el archivo .plrn objetivo.

El archivo se abre en la pestaña Start Run (Iniciar serie) en el asistente de Run Setup (Configuración de la serie). En la pestaña Start Run (Iniciar serie) se muestra información sobre el experimento que se va a procesar. También muestra el bloque o bloques del instrumento conectado en el que puede procesar el experimento.

2. En la pestaña Start Run (Iniciar serie), seleccione un instrumento y haga clic en Start Run (Iniciar serie).



Exportación de datos a LIMS

Una vez finalizada la serie, CFX Manager Dx genera un archivo de datos (.pcrd) y lo guarda en la ubicación de la carpeta de exportación de datos definida.

Para exportar el archivo de datos a LIMS

- Abra el archivo .pcrd y seleccione Export (Exportar) > Export to LIMS Folder (Exportar a carpeta LIMS).

Consejo: Si selecciona Automatically Export Data after Run in LIMS Options (Exportar datos automáticamente después del procesamiento en las opciones de LIMS), CFX Manager Dx crea un archivo de datos compatible con LIMS en formato .csv y lo guarda en la misma carpeta.

Apéndice D Resolución de problemas de conexión del software CFX Manager Dx

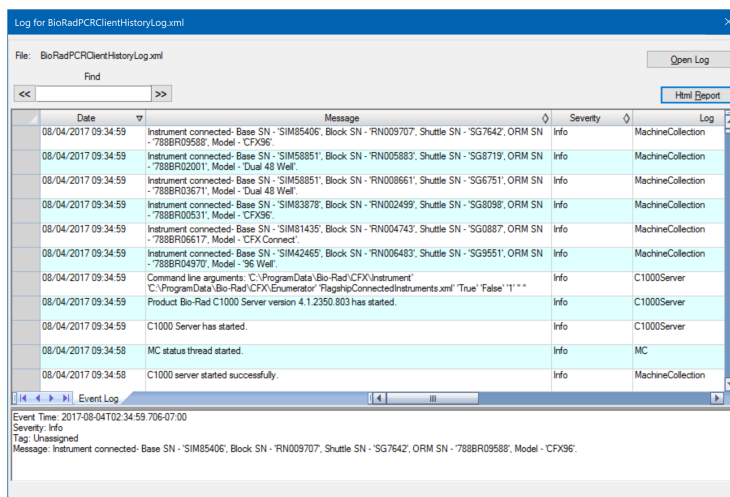
Application Log (Registro de aplicación)

Antes de comenzar una nueva serie, los instrumentos CFX96™ y CFX96 Deep Well inician una prueba de autodiagnóstico para comprobar que funcionan dentro de lo especificado. El software registra los resultados de esta prueba en el archivo Run Log (Registro de serie) y Application Log (Registro de aplicación). Si detecta un problema en uno o más experimentos, abra los registros de aplicación y de serie para descubrir cuándo empezó el problema.

CFX Manager™ Dx realiza un seguimiento de la información sobre el estado de un instrumento durante una serie en el Application Log (Registro de aplicación). Utilice estos registros para realizar un seguimiento de los eventos que se producen en los instrumentos y en el software y para la resolución de problemas.

Para abrir el Application log (Registro de aplicación)

- En la ventana de inicio, seleccione View (Vista) > Application Log (Registro de aplicación).



Resolución de problemas

Normalmente, los problemas de comunicación del software y el instrumento se pueden resolver reiniciando su ordenador y el sistema. Asegúrese de guardar cualquier trabajo que se encuentre en curso antes de reiniciar.

Nota: Verifique que su ordenador dispone de suficiente RAM y espacio de disco libre. La RAM mínima es de 4 GB y el espacio de disco duro mínimo es de 128 GB.

Corte de suministro de corriente

En un corte de suministro de corriente, el instrumento y el ordenador se apagarán. Si el corte de suministro de corriente es breve, el instrumento continuará procesando un protocolo, pero el registro de aplicación detectará el corte de suministro de corriente. En función de los ajustes del ordenador y del tiempo en el que no haya alimentación, el instrumento y el software intentan continuar la serie en función del paso del protocolo:

- Si el protocolo se encuentra en un paso sin lectura de placa, el protocolo continúa la serie en cuanto el instrumento recupera la alimentación.
- Si el protocolo se encuentra en un paso con lectura de placa, el instrumento espera a que el software se reinicie y continúe la comunicación para recopilar los datos. En esta situación, el protocolo solo continúa si el ordenador no apaga el software. Cuando el ordenador y el software se inician de nuevo, el protocolo continúa.

Retirada de las muestras del módulo de reacción durante el corte del suministro de corriente

Puede abrir una tapa motorizada bloqueada en un módulo de reacción para retirar las muestras durante un corte de suministro de corriente.

Para retirar la placa de bloqueo

1. Presione la barra de bloqueo para retirar el módulo de reacción del termociclador C1000™ Dx.
2. Coloque con cuidado el módulo de reacción en un escritorio o en la poyata del laboratorio.
3. Coloque el módulo para que la parte delantera se extienda 5 cm fuera del borde.



4. Con una llave Allen, retire los dos tornillos grandes de debajo de la parte delantera del borde del módulo de reacción (bajo el botón para abrir la tapa).

Debe oír cómo se desbloquea el cerrojo de seguridad del interior del módulo.

Importante: No retire los dos tornillos pequeños situados en la parte delantera del módulo.



5. Pulse para abrir la tapa del módulo de reacción. Observe que el pestillo (plástico oscuro) ya no está enganchado. Retire las muestras del bloque.
6. Vuelva a enganchar el pestillo de seguridad y fíjelo con los tornillos grandes para volver a montar el módulo de reacción con la tapa abierta.



Recuperación de archivos del ordenador de CFX Manager Dx

Puede retirar datos y archivos de registro ubicadas en el instrumento y transferirlos al disco duro de un ordenador conectado.

Nota: Todos los archivos de la carpeta de datos en tiempo real en la base del instrumento se recuperan en el ordenador.

Para recuperar los archivos del instrumento

1. En el panel Detected Instruments (Instrumentos detectados) de la ventana de inicio, haga clic con el botón derecho en el instrumento objetivo y seleccione una de las siguientes acciones:
 - Retrieve Log Files (Recuperar archivos de registro)
 - Retrieve Data Files (Recuperar archivos de datos)
2. Elija una ubicación de la carpeta para guardar los archivos recuperados.
3. Haga clic en Ok (Aceptar).

Instalación manual del software CFX Manager Dx

Para instalar el software CFX Manager Dx manualmente

1. En caso necesario, desconecte cualquier instrumento conectado del ordenador.

Localice y desconecte el cable USB del instrumento en el ordenador de CFX Manager Dx. El extremo insertado en el instrumento puede quedarse como está.
2. Inicie sesión en el ordenador de CFX Manager Dx con privilegios de administrador.
3. Inserte el CD del software.
4. En el Explorador de Windows, navegue hasta el CD, haga clic con el botón derecho en el icono de CD del software y seleccione Explore (Explorar) para abrir la ventana del CD.
5. Haga doble clic en la carpeta CFX_Manager para abrir la carpeta y, a continuación, haga doble clic en setup.exe para iniciar el asistente de instalación del software.
6. Siga las instrucciones del asistente para instalar el software y después haga clic en Finish (Finalizar).

Reinstalación de los controladores

Para volver a instalar los controladores de los instrumentos

- ▶ En la ventana de inicio, seleccione Tools (Herramientas) > Reinstall Instrument Drivers (Volver a instalar controladores del instrumento).

Nota: Si tiene problemas con el software al comunicarse con un sistema en tiempo real después de reinstalar los controladores y comprobar la conexión por USB, póngase en contacto con el servicio técnico de Bio-Rad.

Apéndice E Referencias

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, K.J. 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, J.L. et al. (1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. *Nature Genetics* 9, 341–342.
5. Pfaffl, M.W. (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*. 2nd ed (New York: SAGE Publications, Inc.).

Aviso de copyright de Minpack (1999), Universidad de Chicago. Todos los derechos reservados

La redistribución y el uso en formatos fuente y binario, con o sin modificaciones, están permitidos siempre que se cumplan las siguientes condiciones:

1. Las redistribuciones de código fuente deben conservar el anterior aviso de copyright, esta lista de condiciones y el aviso legal que aparece a continuación.
2. Las redistribuciones en formato binario deben reproducir el anterior aviso de copyright, esta lista de condiciones y el aviso legal que aparece a continuación en la documentación o en otros materiales proporcionados con la distribución.
3. La documentación del usuario final incluida en la redistribución, si existe, debe incluir el siguiente reconocimiento:

«Este producto incluye un software desarrollado por la Universidad de Chicago, como operador del Laboratorio Nacional de Argonne».

Apéndice E Referencias



Bio-Rad Laboratories, Inc.
5731 W Las Positas Blvd
Pleasanton, CA 94588
USA

EC	REP
----	-----

Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette, France
Tel.: +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 **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