

Sistemele CFX96 Dx și CFX96 Deep Well Dx

Manual de utilizare

REF 1845097-IVD
1844095-IVD
1841000-IVD
12007917

Revizie manual: Mai 2022
Revizie software: 3.1



ETL PREZENTAT
ESTE ÎN CONFORMITATE CU
UL Std. 61010-1
UL Std. 61010-2-010
UL Std. 61010-2-101
UL Std. 61010-2-081
CERTIFICAT ÎN CONFORMITATE
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

Sistemele CFX96 Dx și CFX96 Deep Well Dx

Manual de utilizare

Versiunea 3.1

BIO-RAD

Serviciul de asistență tehnică Bio-Rad

Departamentul de asistență tehnică Bio-Rad din SUA este deschis de luni până vineri, între orele 5:00 și 17:00, ora Pacificului.

Telefon: 1-800-424-6723, opțiunea 2

E-mail: Support@bio-rad.com (Numai SUA/Canada)

Pentru asistență tehnică în afara SUA și Canadei, contactați biroul de asistență tehnică local sau faceți clic pe linkul Contactați-ne de la adresa www.bio-rad.com.

Notificare

Nicio parte a acestei publicații nu poate fi reprodusă sau transmisă sub nicio formă și prin niciun fel de mijloace, electronice sau mecanice, incluzând fotocopierea, înregistrarea sau orice sistem de stocare sau recuperare de informații, fără permisiunea scrisă din partea Bio-Rad.

Bio-Rad își rezervă dreptul de a modifica produsele și serviciile sale în orice moment. Acest ghid poate suferi modificări fără înștiințare prealabilă. Deși a fost întocmit astfel încât să asigure acuratețea, Bio-Rad nu își asumă nicio răspundere pentru erori sau omisiuni sau pentru orice daune care apar din aplicarea sau utilizarea acestor informații.

BIO-RAD este marcă comercială a Bio-Rad Laboratories, Inc.

BIO-RAD, HARD-SHELL și MICROSEAL sunt mărci comerciale ale Bio-Rad Laboratories, Inc. în anumite jurisdicții.

SYBR este marcă comercială a Thermo Fisher Scientific Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. deține licența pentru a comercializa reactivi care conțin SYBR Green I pentru utilizare în PCR în timp real, numai în scopuri de cercetare.

EvaGreen este marcă comercială a Biotium, Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. deține licența din partea Biotium, Inc. pentru a comercializa reactivi care conțin colorant EvaGreen pentru utilizare în PCR în timp real, numai în scopuri de cercetare.

Toate mărcile comerciale utilizate în prezentul document sunt proprietatea deținătorilor lor de drept.











Copyright © 2022 Bio-Rad Laboratories, Inc. Toate drepturile rezervate.



Domeniu de utilizare

Sistemele CFX96 Dx și CFX96 Deep Well Dx cu CFX Manager Dx software sunt concepute pentru a efectua PCR bazată pe fluorescență pentru detectarea și cuantificarea secvențelor de acid nucleic. Sistemele și software-ul sunt concepute pentru utilizarea în scop de diagnostic in vitro de către tehnicienii de laborator instruiți. Sistemele sunt concepute pentru a fi utilizate cu teste de diagnostic pentru acizi nucleici furnizate de alți producători care au fost produse și etichetate în scopuri de diagnostic.

Lexicon de simboluri

Important: Sunt evidențiate schimbări semnificative!

 <p>Producător</p>	 <p>Numărul lotului</p>
 <p>Utilizare de către</p>	 <p>Pentru utilizare de diagnosticare in vitro</p>
 <p>Limita de temperatură</p>	 <p>Număr de catalog</p>
 <p>Consultați instrucțiunile de utilizare</p>	 <p>Numărul de teste</p>
 <p>Pentru utilizare cu</p>	 <p>Număr de serie</p>

Rx Only Numai cu utilizare pe bază de prescripție	 Conține latex
 Marcaj CE – Regulamentul (UE) nr. 2017/746 privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro	

Traduceri

Documentele de produs pot fi furnizate în limbi suplimentare pe suport electronic.

Cuprins

Domeniu de utilizare	iii
Lexicon de simboluri	iii
Traduceri	iv
Siguranța și conformitatea cu reglementările	13
Etichete cu avertizări de siguranță	13
Specificații pentru utilizare sigură și conformitate	14
Conformitatea cu reglementările	15
Pericole	16
Pericole biologice	16
Pericole chimice	18
Pericole de explozie sau aprindere	18
Pericole electrice	18
Transport	18
Baterie	18
Eliminare	18
Garanție	19
Capitolul 1 Introducere	21
Sisteme de detecție PCR CFX Dx	21
Aflați mai multe	22
Capitolul 2 Configurarea ciclului termic C1000 Dx	23
Cerințe pentru unitate	23
Cerințe de spațiu pe masa de lucru	23
Cerințe de mediu	24
Cerințe de alimentare	24
Prezentare generală a sistemului	25
Vedere frontală	25
Vedere spate	26
Module Reacție optică	27

Volume recomandate pentru probe	27
Instalarea Ciclorului termic C1000 Dx	28
Despachetarea și instalarea bazei ciclorului termic C1000 Dx	28
Atașarea modulului optic de reacție	29
Înlăturarea șurubului de expediere	30
Încărcarea plăcilor cu probe	31
Detectarea instrumentelor conectate	33
Detașarea	34
Oprirea ciclorului termic C1000 Dx	34
Capitolul 3 Instalarea CFX Manager Dx software	35
Cerințe de sistem	36
Instalarea CFX Manager Dx software	37
Detectarea instrumentelor conectate	37
Fișierele software-ului	38
Măsuri de siguranță cibernetică recomandate	39
Capitolul 4 Spațiul de lucru	41
Fereastra Home (Fereastră de pornire)	42
Startup Wizard (Expert pornire)	43
Fereastra Protocol Editor (Editor Protocol)	44
Fereastra Plate Editor (Editor placă)	45
Fereastra Data Analysis (Analiză date)	46
Capitolul 5 Fereastra Home (Fereastră de pornire)	47
Fereastra Home (Fereastră de pornire)	48
Comenzile meniului File (Fișier)	49
Comenzile meniului View (Vizualizare)	49
Comenzile meniului User (Utilizator)	50
Comenzile meniului Run (Rulare)	51
Comenzile meniului Tools (Instrumente)	51
Comenzile meniului Help (Ajutor)	52
Comenzi bară de instrumente	52
Startup Wizard (Expert pornire)	53
Bara de stare	53
Panoul Detected Instruments (Instrumente detectate)	54

Vizualizarea proprietăților unui instrument	58
Înainte de a începe	60
Setarea preferințelor utilizatorului	60
Crearea unui amestec principal de reacție	75
Calibrarea de coloranți noi	79
Capitolul 6 Crearea de protocele	81
Fereastra Protocol Editor (Editor Protocol)	82
Comenzile meniului File (Fișier)	83
Comandă meniu Settings (Setări)	83
Comenzile meniului Tools (Instrumente)	83
Comenzi bară de instrumente	83
Soluții de control pentru editarea protocolului	84
Crearea unui protocol în Protocol Editor (Editor Protocol)	87
Deschiderea unui nou fișier de protocol în Protocol Editor (Editor Protocol)	87
Deschiderea unui protocol existent în Protocol Editor (Editor Protocol)	88
Configurarea unui nou protocol	90
Adăugarea de pași la un protocol	92
Inserarea unui pas de gradient	92
Inserarea unui pas GOTO (SaltLa)	94
Inserarea unui pas de curbă de topire	94
Adăugarea sau eliminarea unui pas de citire placă	96
Modificarea opțiunilor pașilor	96
Ștergerea unui pas	97
Copierea, exportarea sau imprimarea unui protocol	97
Crearea unui protocol cu Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol)	98
Utilizarea Ta Calculator (Calculator Ta)	100
Despre Ta Calculator (Calculator Ta)	100
Capitolul 7 Pregătirea plăcilor	105
Fereastra Plate Editor (Editor placă)	106
Comenzile meniului File (Fișier)	107
Comenzile meniului Settings (Setări)	107
Comenzile meniului Editing Tools (Instrumente de editare)	107
Comenzi bară de instrumente	108
Crearea unui fișier placă utilizând Plate Editor (Editor placă)	109

Deschiderea unui fișier placă nou în Plate Editor (Editor placă)	109
Deschiderea unui fișier placă existent în Plate Editor (Editor placă)	111
Configurarea unui fișier de placă nou	112
Atribuirea de parametri opționali fișierului placă	118
Atribuirea unei ținte alveolelor	118
Atribuirea unei denumiri de probă alveolelor	120
Atribuirea de seturi biologice alveolelor	122
Atribuirea de cifre replicări alveolelor	123
Atribuirea unei serii de diluție probelor de tip standard	125
Copierea conținutului unei alveole într-o altă alveolă	126
Adăugarea unei note la o alveolă	127
Golirea alveolelor de tot conținutul	128
Schimbarea setărilor experimentelor	129
Crearea de grupuri de alveole	132
Modificarea stilurilor urmelor	135
Vizualizarea plăcii în format foaie de calcul	137
Crearea unei structuri de placă folosind Plate Setup Wizard (Expert configurare placă)	139
Utilizarea Setup Wizard (Expert configurare) al plăcii	139
Capitolul 8 Rularea de experimente	143
Accesarea ferestrei Run Setup (Configurare rulare)	143
Fereastra Run Setup (Configurare rulare)	144
Fila Protocol	145
Fila Plate (Placă)	148
Fila Start Run (Începere rulare)	151
Rularea unui experiment	152
Casetă de dialog Run Details (Detalii rulare)	154
Fila Run Status (Stare rulare)	154
Fila Real-time Status (Stare în timp real)	157
Fila Time Status (Stare timp)	160
Efectuarea de experimente PrimePCR	161
Capitolul 9 Prezentare generală a Data Analysis (Analiză date)	163
Fereastra Data Analysis (Analiză date)	163
Bara de instrumente de analiză a datelor	164
Bara de meniu de analiză a datelor	165

Detalii filă	168
Selector Step Number (Număr pas)	169
Vizualizarea grupurilor de alveole în Data Analysis (Analiză date)	169
Modificarea conținutului alveolelor după o rulare	169
Setări Analiză date	171
Ajustarea pragului	171
Setarea Nivel inițial	171
Analysis Mode (Mod Analiză)	172
Cycles to Analyze (Cicluri de analizat)	173
Selectorul de alveole	174
Elementele de meniu afișate prin clic dreapta în Well Selector (Selector alveole)	175
Excluderea temporară a alveolelor din analiză	176
Grafice	177
Elementele de meniu comune afișate prin clic dreapta pentru grafice	177
Copierea datelor din grafic pe clipboard	178
Modificarea setărilor de prag pentru nivelul inițial	178
Sortarea datelor țintei și probei	180
Mărirea unei zone a graficului	181
Copierea graficelor într-un fișier Microsoft	181
Foi de calcul	182
Elementele de meniu comune afișate prin clic dreapta pentru foile de calcul	182
Export (Exportare)	184
Exportarea tuturor fișelor de date	184
Crearea unui fișier de exportare particularizată	185
Exportarea către un folder LIMS	186
Exportarea de date în format Seegene	186
Capitolul 10 Detalii despre fereastra Data Analysis (Analiză date)	187
Fila Quantification (Cuantificare)	188
Opțiuni fluorofori	189
Casetă de dialog Trace Styles (Stiluri Urme)	189
Opțiunea Log Scale (Scară logaritmică)	191
Graficul Standard Curve (Curbă standard)	191
Opțiunile meniului Amplification Chart (Grafic Amplificare)	192
Foaia de calcul din fila Quantification (Cuantificare)	193

Fila Quantification Data (Date de cuantificare)	194
Foaia de calcul Results (Rezultate)	194
Foaia de calcul Standard Curve Results (Rezultate Curbă standard)	196
Foaia de calcul Plate (Placă)	197
Foaia de calcul RFU	197
Fila Melt Curve (Curbă de topire)	198
Ajustarea datelor Melt Curve (Curbă de topire)	200
Fila Melt Curve Data (Date curbă de topire)	201
Foaia de calcul Melt Peaks (Vârfuri de topire)	201
Foaia de calcul Plate (Placă)	202
Foaia de calcul RFU	203
Foaia de calcul $-d(\text{RFU})/dT$	204
Fila End Point (Momentul final)	205
Date rezultate	206
Ajustarea analizei datelor din momentul final	207
Foaia de calcul RFU pentru analiza momentului final	207
Fila Allelic Discrimination (Evidențiere alelică)	208
Ajustarea datelor pentru evidențiere alelică	209
Opțiunile de meniu pentru grafice	210
Foaia de calcul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică)	211
Fila Custom Data View (Vizualizare de date personalizată)	212
Crearea unei vizualizări de date personalizată	213
Fila QC (CC)	214
Schimbarea criteriilor QC (CC)	214
Excluderea alveolelor care nu îndeplinesc QC (CC)	215
Fila Run Information (Informații rulare)	216
Rapoarte de analiză a datelor	217
Categoriile de rapoarte de analiză a datelor	218
Crearea unui raport de analiză a datelor	221
Crearea rapoartelor pentru grupuri de alveole	222
Capitolul 11 Analiza expresiei genice	223
Configurarea plăcii pentru analiza expresiei genice	223
Configurarea ghidată a plăcii	224
Graficele de expresie genică	225

Grafic cu bare	226
Sortarea datelor țintei și probei	228
Ajustarea datelor de expresie genică	228
Setări experimente	230
Valoarea stabilității țintei	233
Opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta	233
Foaia de calcul Data (Date)	234
Opțiunea Show Details (Afișare detalii)	235
Clustergramă	237
Setări	237
Opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta	237
Foaia de calcul Data (Date)	238
Corelogramă	239
Setări	239
Opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta	239
Foaia de calcul Data (Date)	240
Results (Rezultate)	241
Studiu genic	242
Inter-run Calibration (Calibrare între rulări)	242
Casetă de dialog Gene Study (Studiu genic)	242
Fila Study Setup (Configurare studiu)	243
Pregătirea unui studiu genic	243
Fila Study Analysis (Analiză studiu)	244
Crearea unui raport de studiu genic	245
Categoriile raportului de studiu genic	245
Anexa A Calcule Analiză date	247
Eficiența reacțiilor	247
Cantitate relativă	248
Cantitatea relativă când este selectat un control	248
Deviația standard a cantității relative	249
Cq corectată eficient (CqE)	249
Cq corectată eficient medie (MCqE)	249
Factor de normalizare	249
Expresie normalizată	251

Expresia normalizată când este selectat un control	251
Deviația standard pentru expresia normalizată	252
Expresia normalizată scalată la cel mai ridicat nivel de expresie	253
Expresia normalizată scalată la cel mai redus nivel de expresie	253
Expresia normalizată scalată la nivelul de expresie mediu	253
Deviația standard pentru expresia normalizată scalată	254
Reglarea	254
Formule valori corectate	255
Anexa B Gestionarea utilizatorilor și rolurilor CFX Manager Dx	257
Gestionarea utilizatorilor	257
Adăugarea și ștergerea utilizatorilor	257
Gestionarea drepturilor rolurilor	259
Autentificarea în CFX Manager Dx software	260
Schimbarea utilizatorilor	260
Schimbarea parolelor utilizatorilor	261
Vizualizarea rolului și drepturilor dumneavoastră	261
Anexa C Integrare LIMS	263
Crearea de fișiere de date compatibile cu LIMS	263
Configurarea folderului LIMS și a opțiunilor de exportare a datelor	263
Crearea unui protocol LIMS	264
Crearea unui fișier LIMS	265
Inițierea unei rulări LIMS	272
Exportarea datelor către o LIMS	273
Anexa D Depanarea problemelor de conectare a CFX Manager Dx software	275
Jurnalul aplicației	275
Depanare	276
Pană de curent	276
Preluarea fișierelor în computerul cu CFX Manager Dx	278
Instalarea manuală a CFX Manager Dx software	278
Reinstalarea driverelor	279
Anexa E Bibliografie	281

Siguranța și conformitatea cu reglementările



Pentru utilizarea sigură a sistemului CFX96 Dx sau a sistemului CFX96 Deep Well Dx cu CFX Manager Dx software, denumit CFX Dx system în acest document, Bio-Rad vă recomandă insistent să respectați specificațiile de siguranță prezentate în această secțiune și pe parcursul acestui manual.

Important: Sistemele CFX96 Dx și CFX96 Deep Well Dx sunt aprobate pentru utilizarea ca dispozitive medicale de diagnoză in vitro (IVD).



Etichete cu avertizări de siguranță

Etichetele de atenționare aplicate pe instrument și prezentate în acest manual vă avertizează despre sursele de rănire sau vătămare. [Tabelul 1](#) definește fiecare etichetă cu avertizări de siguranță.

Tabelul 1. Semnificația etichetelor cu avertizări de siguranță

Pictogramă	Semnificație
	<p>Avertizare privind riscul de vătămare corporală sau de deteriorare a echipamentului</p> <p>Operarea CFX Dx system înainte de a citi acest manual poate constitui un risc de vătămare personală. În vederea unei utilizări în siguranță, nu operați acest instrument în nicio manieră nespecificată în acest manual. Instrumentul trebuie operat exclusiv de personal de laborator calificat, instruit să utilizeze în siguranță echipamentele electrice. Manevrați întotdeauna toate componentele sistemului cu atenție și cu mâinile curate și uscate.</p>
	<p>Avertizare privind manipularea materialelor periculoase din punct de vedere biologic</p> <p>Atunci când manevrați probe periculoase din punct de vedere biologic, respectați măsurile de precauție recomandate și instrucțiunile și conformați-vă tuturor recomandărilor locale specifice pentru laboratorul dumneavoastră și locul în care vă aflați.</p>

Tabelul 1. Semnificația etichetelor cu avertizări de siguranță, continuare

Pictogramă	Semnificație
	Avertizare privind riscul de arsuri Un ciclu termic generează suficientă căldură pentru a provoca arsuri grave. În timpul operării, purtați întotdeauna ochelari de protecție sau alte echipamente de protecție a ochilor. Lăsați întotdeauna blocul probei să revină la temperatura de inactivitate înainte de a deschide capacul și scoate probele. Asigurați întotdeauna distanța maximă pentru a evita arsurile cutanate accidentale.
	Avertizare privind riscul de explozie În cursul operării normale, blocurile probei pot deveni suficient de fierbinți pentru a provoca fierberea și explozia lichidelor.

Specificații pentru utilizare sigură și conformitate

Tabelul 2 prezintă specificațiile de utilizare sigură pentru sistemele de detecție PCR în timp real ale Bio-Rad CFX Dx. Cablurile ecranate furnizate trebuie utilizate împreună cu aceste instrumente pentru a asigura conformitatea cu limitele FCC Clasa A.

Tabelul 2. Condiții de utilizare sigură

Aspect de utilizare	Condiții de utilizare sigură
Putere de intrare nominală	100-240 Vca, 50-60 Hz, 850 W max
Categorie de supratensiune	II
Siguranțe	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, fuzibile cu acțiune rapidă (cant. 2)
Mediu	Numai pentru utilizare în spații interioare
Temperatura de utilizare	15-31 °C
Temperatura de depozitare	-20 până la 60 °C
Umiditate relativă	Până la 80 % (fără condens)
Altitudine	Până la 2.000 de metri deasupra nivelului mării
Grad de poluare	2

Conformitatea cu reglementările

Sistemul de detecție PCR în timp real CFX Dx a fost testat și s-a dovedit că respectă toate cerințele aplicabile ale următoarelor standarde de siguranță și electromagnetice:

- IEC 61010-1:2010 (ed. a III-a), EN61010-1:2010 (ed. a III-a). Echipamente electrice de măsurare, control și utilizare în laborator – Partea 1: Cerințe generale
- IEC 61010-2-010:2014, EN 61010-2-010:2014. Cerințe de siguranță pentru echipamente electrice de măsurare, control și utilizare în laborator. Partea 2-010: Cerințe speciale pentru echipamente de laborator pentru încălzirea materialelor
- IEC 61010-2-081:2015, EN 61010-2-081:2015. Cerințe de siguranță pentru echipamente electrice de măsurare, control și utilizare în laborator. Partea 2-081: Cerințe speciale pentru echipamente de laborator automate și semiautomate pentru analiză și alte scopuri (include Amendamentul 1)
- IEC 61010-2-101:2015 (ed. a II-a). Cerințe de siguranță pentru echipamente electrice de măsurare, control și utilizare în laborator. Cerințe speciale pentru echipamente medicale pentru diagnostic in vitro (IVD)
- IEC 61326-1:2012 (Clasa A), EN 61326-1:2013 (Clasa A). Echipamente electrice de măsurare, control și utilizare în laborator. Cerințe CEM, Partea 1: Cerințe generale
- IEC 61326-2-6:2012, EN 61326-2-6:2013 (Clasa A). Echipamente electrice de măsurare, control și utilizare în laborator. Cerințe CEM. Cerințe speciale pentru echipamente medicale pentru diagnostic in vitro (IVD)

Important: Acest echipament generează, utilizează și poate emite energie de radiofrecvență, iar dacă nu este instalat și utilizat conform documentelor de instruire furnizate, poate provoca interferențe perturbatoare pentru comunicațiile radio. Operarea sistemelor într-o zonă rezidențială poate provoca interferențe prejudiciabile, caz în care utilizatorii vor trebui să corecteze interferențele pe propria cheltuială.

Pericole

Sistemul de detecție PCR în timp real CFX Dx este proiectat pentru a funcționa sigur și eficient când este utilizat în modul recomandat de producător. Dacă sistemul de detecție PCR în timp real CFX Dx sau oricare dintre componentele asociate acestuia este utilizat(ă) într-un mod care nu a fost menționat de către producător, nivelul de protecție inerentă asigurat de instrument poate fi afectat. Bio-Rad Laboratories, Inc. nu este răspunzătoare pentru nicio vătămare corporală sau distrugere de bunuri cauzată de utilizarea acestui echipament în orice mod nespecificat sau de modificări ale instrumentului care nu au fost efectuate de Bio-Rad sau de către un agent autorizat. Asistența tehnică a sistemului de detecție PCR în timp real CFX Dx trebuie să fie efectuată numai de către personal Bio-Rad instruit.

Pericole biologice

Sistemul CFX Dx de detecție PCR în timp real este un instrument de laborator. Dacă există totuși materiale periculoase din punct de vedere biologic, respectați următoarele instrucțiuni și conformați-vă tuturor recomandărilor locale specifice pentru laboratorul dumneavoastră și locul în care vă aflați.

Observație: Nicio substanță periculoasă din punct de vedere biologic nu este eliminată în timpul operațiunilor normale ale acestui instrument.

Măsuri de precauție generale

- Purtați întotdeauna mănuși și îmbrăcăminte de laborator, precum și ochelari de protecție sau ochelari de siguranță cu apărători laterale.
- Țineți mâinile la distanță de gură, nas și ochi.
- Protejați în mod complet orice tăietură sau urmă de frecare de pe piele înainte de a lucra cu materiale potențial infecțioase.
- Spălați-vă pe mâini foarte bine, cu apă și săpun, după ce ați lucrat cu orice materiale potențial infecțioase, înainte de a părăsi laboratorul.
- Scoateți ceasurile de mână și bijuteriile înainte de a lucra în laborator.
- Depozitați toate materialele infecțioase sau potențial infecțioase în recipiente incasabile și impermeabile.
- Înainte de a părăsi laboratorul, scoateți îmbrăcămintea de protecție.
- Nu folosiți mănuși pentru a scrie, a răspunde la telefon, a aprinde lumina sau pentru a atinge lucruri pe care alte persoane le pot atinge fără mănuși.
- Schimbați mănușile frecvent. Scoateți mănușile imediat ce au fost contaminate în mod vizibil.

- Nu expuneți materialele care nu pot fi decontaminate în mod corespunzător la materiale potențial infecțioase.
- După terminarea unei operațiuni care implică materiale periculoase din punct de vedere biologic, decontaminați zona de lucru cu un dezinfectant corespunzător (de exemplu, înălbitor de uz casnic, diluat în proporție de 1:10).

Măsuri de precauție IVD specifice

- Toate probele de pacient reprezintă potențiale riscuri biologice și trebuie manipulate în mod corespunzător, utilizând măsurile de precauție universale.
- Nicio substanță periculoasă din punct de vedere biologic nu este eliminată în timpul operării normale a acestui instrument.

Decontaminarea suprafețelor



AVERTISMENT! Pentru a preveni electrocutarea, opriți și deconectați de la priză instrumentul de fiecare dată înainte de a efectua procedurile de decontaminare.

Următoarele zone pot fi curățate cu orice dezinfectant bactericid, virucid sau fungicid de uz spitalicesc:

- Capacul exterior și șasiul
- Suprafața interioară a blocului de reacție și alveolele blocului de reacție
- Panoul de control și afișajul

Pentru a pregăti și aplica dezinfectantul, consultați instrucțiunile furnizate de fabricantul produsului. Clătiți întotdeauna blocul de reacție și alveolele blocului de reacție de mai multe ori cu apă după aplicarea unui dezinfectant. Uscați complet blocul de reacție și alveolele blocului de reacție după ce clătiți cu apă.

Important: Nu utilizați detergenți abrazivi sau corozivi sau soluții alcaline puternice. Acești agenți pot zgâria suprafețele și deteriora blocul de reacție, rezultând în pierderea controlului termic precis.

Eliminarea materialelor periculoase din punct de vedere biologic

Eliminați următoarele materiale posibil contaminate în conformitate cu regulamentele locale, regionale și naționale privind laboratoarele:

- Probe clinice
- Reactivi
- Recipientele de reacție sau alte consumabile folosite care ar putea fi contaminate

Pericole chimice

Sistemul CFX Dx de detecție PCR în timp real nu conține materiale care pot prezenta pericol chimic.

Pericole de explozie sau aprindere

Sistemul de detecție PCR în timp real CFX Dx nu prezintă pericole deosebite de aprindere sau explozie când este utilizat corect, conform specificațiilor Bio-Rad Laboratories.

Pericole electrice

Sistemul de detecție PCR în timp real CFX Dx nu prezintă pericole electrice neobișnuite pentru operatori, dacă este instalat și utilizat corect, fără modificări fizice, și dacă este conectat la o sursă de alimentare cu specificații adecvate.

Transport

Înainte de mutarea sau expedierea sistemului de detecție PCR în timp real CFX Dx sau a modului optic de reacție sau a bazei ciclului termic, trebuie realizate proceduri de decontaminare. Întotdeauna mutați sau expediați sistemul de detecție PCR în timp real CFX Dx și modulele optice de reacție în containere separate, cu materialele de ambalare furnizate, care vor proteja instrumentul împotriva deteriorării. Dacă nu se pot găsi containere corespunzătoare, contactați reprezentantul Bio-Radlocal.

Baterie

Ciclul termic CFX Dx system utilizează o baterie litiu-metal tip pastilă de 3 V și o baterie reîncărcabilă nichel-hidruură metalică de 4,8 V pentru a menține setările de timp și datele de rulare în cazul penelor de curent. Dacă datele de timp și/sau datele rulării nu rămân setate după oprirea unității, acest lucru poate fi un semnal că bateriile încep să se consume. În acest caz, contactați serviciul de asistență tehnică Bio-Rad.

Nu încercați să înlocuiți bateriile. Contactați serviciul de asistență tehnică Bio-Rad.

Eliminare

Sistemul de detecție PCR în timp real CFX Dx conține materiale electrice; acestea nu trebuie eliminate ca deșeuri nediferențiate și trebuie să fie colectate separat, în conformitate cu Directiva Uniunii Europene 2012/19/UE privind deșeurile de echipamente electrice și electronice – Directiva DEEE. Înainte de eliminare, contactați reprezentanța locală Bio-Rad pentru instrucțiuni specifice țării dvs.

Garanție

Sistemul de detecție PCR în timp real CFX Dx și accesoriile sale asociate sunt acoperite de o garanție Bio-Rad standard. Pentru detalii privind garanția, contactați reprezentanța Bio-Rad locală.

Siguranța și conformitatea cu reglementările

Capitolul 1 Introducere

Sistemele de amplificare PCR în timp real ale Bio-Rad CFX Dx pentru diagnostic in vitro (IVD) sunt prevăzute cu ultimele tehnologii avansate, permițând cuantificarea PCR cu curbă standard, analiza expresiei genice, evidențierea alelică și analiza în punctul final.

CFX Dx systems sunt alcătuite din două module hardware și software:

- Modulul optic de reacție (ORM) CFX96 Dx sau CFX96 Deep Well Dx
- ciclului termic C1000 Dx
- CFX Manager Dx software

Atunci când sunt folosite cu CFX Manager Dx software, puteți

- Genera rezultate imediate cu Startup Wizard (Expert pornire)
- Introduce sau edita informații despre alveole înainte, în timpul sau după finalizarea unei rulări
- Interpreta date complexe și înțelege studiul expresiei genice cu ajutorul unor instrumente precum analiza de control PrimePCR și instrumentul de selectare a genei de referință
- Pregăti rapoarte cuprinzătoare ale datelor PCR în timp real

Sisteme de detecție PCR CFX Dx

[Tabelul 3](#) prezintă produsele Bio-Rad IVD PCR care sunt livrate împreună cu CFX Dx system.

Observație: Un CFX Dx system se livrează împreună cu CFX Manager Dx software, ciclul termic C1000 Dx și cu modulul optic de reacție CFX96 Dx sau CFX96 Deep Well Dx.

Tabelul 3. Sisteme de detecție CFX IVD PCR

Nr. catalog	Descriere
1845097-IVD	CFX96 Dx ORM *
1844095-IVD	CFX96 Deep Well Dx ORM
1841000-IVD	ciclului termic C1000 Dx
12007917	CFX Manager Dx software v3.1

* Optical Reaction Module (Modul de reacție optică)

Aflați mai multe

Acest document explică modul în care puteți configura și utiliza în condiții de siguranță sistemele de detecție PCR în timp real CFX96 Dx și CFX96 Deep Well Dx, care poartă marcajul CE-IVD. În acest document, aceste sisteme sunt denumite CFX Dx system. De asemenea, acest document explică modul de utilizare a CFX Manager Dx software în asociere cu CFX Dx system.

Sfat: Faceți clic pe logoul Bio-Rad din colțul din dreapta sus al oricărei ferestre CFX Manager Dx software pentru a accesa site-ul web al Bio-Rad. Acest site include linkuri către note tehnice, manuale, informații despre produse și asistență tehnică. De asemenea, acest site pune la dispoziție multe resurse tehnice despre o mare varietate de metode și aplicații legate de PCR, PCR în timp real și expresia genică.

Capitolul 2 Configurarea ciclului termic C1000 Dx

Acest capitol vă explică cum să configurați ciclul termic C1000 Dx al CFX Dx system în unitatea dumneavoastră

Sfat: Înainte de a configura ciclul termic, familiarizați-vă cu ciclul termic și cu modulul său de reacție optică, porturile și accesoriile sale.

Cerințe pentru unitate

Tabelele din această secțiune cuprind cerințele pentru încăpere, mediu și energie necesare pentru instalarea și utilizarea cu succes a ciclului termic CFX Dx system.

Observație: Instalați ciclul termic CFX Dx system pe o suprafață plană și uscată, unde circulă suficient aer rece pentru o funcționare corectă.

Cerințe de spațiu pe masa de lucru

Tabelul 4. Cerințe de spațiu pe masa de lucru pentru ciclul termic al CFX Dx system

Element	Specificație
Putere de intrare	Până la 850 W, maximum
Frecvență	50-60 Hz, o singură fază
Porturi USB	5 A, 1 B
Dimensiuni	L: 13 in; 33 cm A: 18 in; 46 cm Î: 14 in; 36 cm
Greutate	47 livre; 21 kg

Cerințe de mediu

Tabelul 5. Cerințe de mediu pentru ciclul termic al CFX Dx system

Parametru	Interval	Interval de umiditate
Condiții de operare	15-31 °C 59-87,8 °F	0-80% UR, fără condensare
Condiții de depozitare	15-31 °C 59-87,8 °F	0-80% UR, fără condensare

Cerințe de alimentare

Pentru a asigura operarea corectă, alimentarea electrică a ciclului termic CFX Dx system trebuie să fie stabilă și să se încadreze în specificații. Cablul de alimentare conectat la portul de intrare a curentului trebuie să fie adecvat pentru 7 amperi sau mai mult.

Tabelul 6. Cerințe de alimentare pentru CFX Dx system

Element	Specificație
Tensiune de intrare rețea	100-240 Vca; 50-60 Hz, o singură fază
Consum maxim de energie	< 850 wați
Număr de prize	Maximum 2 prize: <ul style="list-style-type: none"> ■ 1 priză pentru ciclul termic ■ 1 priză pentru computerul pe care rulează CFX Manager Dx software

Prezentare generală a sistemului

Ilustrațiile din această secțiune prezintă componentele principale ale bazei ciclului termic C1000 Dx.

Vedere frontală



LEGENDĂ

1. **Modul optic de reacție** – include un sistem optic pentru colectarea datelor fluorescente și un bloc al ciclului termic. Sistemele de detecție PCR în timp real CFX Dx acceptă fie un modul CFX96 Dx, fie un modul CFX96 Deep Well Dx.

2. **LED de stare** – indică momentele în care blocul este utilizat.

3. **Butonul capacului** – deschide sau închide capacul modului optic de reacție și etanșează camera de reacție.

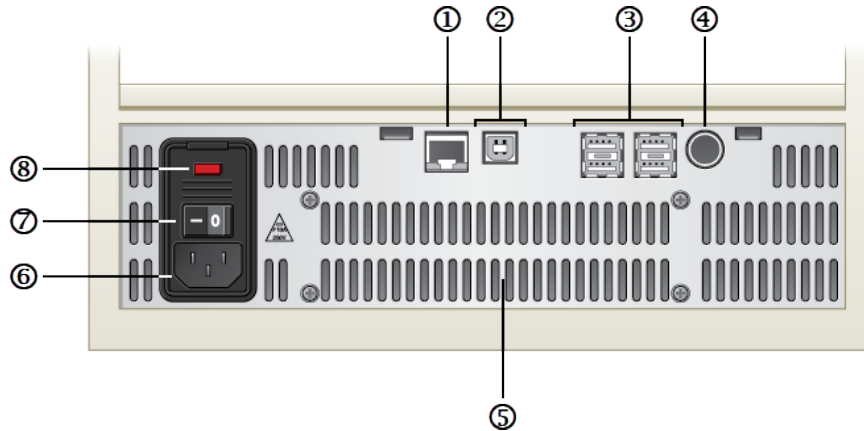
4. **Baza ciclului termic C1000 Dx** – asigură alimentarea și comunicarea sistemului și găzduiește modulele optice de reacție CFX96 Dx și CFX96 Deep Well.

5. **Afișaj și butoane panou frontal** – permit controlul sistemului în modul de sine stătător.
Important: Pentru a asigura integritatea datelor studiului genic IVD, CFX Manager Dx software nu acceptă date generate de ciclul termic în modul de sine stătător.

6. **Capac interior încălzit** – menține temperatura capacului, pentru a preveni condensarea și evaporarea.

7. **Bloc probă/reacție** – găzduiește vasul de reacție, inclusiv eprubetele și microplăcile.

Vedere spate



LEGENDĂ

1. **Port Ethernet** – conectează ciclul termic C1000 Dx la rețeaua dumneavoastră
2. **Port USB tip B** – conectează ciclul termic C1000 Dx la un computer pe care rulează CFX Manager Dx software.
3. **Porturi USB tip A** – pentru transferarea datelor pe și de pe o unitate flash USB.
Important: Pentru a asigura integritatea datelor studiului genic IVD, CFX Manager Dx software nu acceptă date generate de ciclul termic în modul de sine stătător.
4. **Port serial de testare** – doar pentru testarea de service.
5. **Orificii de ventilare** – răcesc ciclul termic.
Important: Nu blocați orificiile de ventilare. Pentru operarea optimă, asigurați-vă că aerul poate circula în spatele bazei ciclului termic.
6. **Priză de alimentare** – sursă de alimentare de la rețeaua c.a.; utilizați cablul de alimentare furnizat.
7. **Înterupător de alimentare** – întrerupător electric de formă rectangulară, cu basculare, pentru pornirea și oprirea ciclului termic.
8. **Siguranțe** – pentru specificațiile siguranțelor, consultați [Specificații pentru utilizare sigură și conformitate de la pagina 14](#).

Module Reacție optică

Ciclorul termic C1000 Dx este compatibil cu următoarele module de reacție optică Bio-Rad pentru PCR în timp real.

- Modul optic de reacție CFX96 Dx
- Modul optic de reacție CFX96 Deep Well Dx

Modulul optic de reacție CFX Dx ales și ciclorul termic sunt livrate în cutii separate. CFX Manager Dx software este livrat împreună cu modulul optic de reacție.

Important: Modulul optic de reacție este calibrat cu baza ciclorului termic împreună cu care este livrat. Așadar, nu folosiți modulul optic de reacție cu nicio altă bază de ciclor termic sau baza ciclorului termic cu niciun alt modul optic de reacție.

Ambele module de reacție optică includ un capac încălzit complet reglabil, care poate să funcționeze în mod fiabil cu o gamă largă de recipiente de reacție. Fiecare modul optic de reacție conține ventilatoare de răcire pentru încălzirea și răcirea rapidă.

Fiecare modul optic de reacție CFX Dx constă în următoarele componente:

- **Capac interior încălzit** – menține temperatura capacului, pentru a preveni condensarea și evaporarea.
- **Bloc probă/reacție** – găzduiește recipientele de reacție, inclusiv eprubete și microplăci.
- **Butonul capacului** – deschide și închide capacul și etanșează reacția.
- **LED de stare** – când este pornit, indică faptul că blocul este utilizat.

Volume recomandate pentru probe

În timpul utilizării ciclorului termic C1000 Dx, volumul maxim al probei este determinat de tipul de modul de reacție folosit. [Tabelul 7](#) indică volumele recomandate pentru folosire la fiecare modul de reacție.

Tabelul 7. Dimensiune și limită de volum pentru modulele de reacție

Număr de alveole	Număr de blocuri	Volum recomandat pentru probe, μ l (limita superioară)
96 alveole	1	10-50
96 alveole adânci	1	10-125

Instalarea Ciclului termic C1000 Dx

Baza ciclului termic C1000 Dx se livrează într-o cutie separată față de modulul de reacție optică.

Pachetul include:

- Baza ciclului termic C1000 Dx
- Cablu de alimentare
- 1 cablu USB

Pentru a instala ciclul termic C1000 Dx:

1. Despachetați și instalați baza ciclului termic C1000 Dx.
2. Atașați modulul de reacție la bază.
3. Înlăturați șurubul de expediere.

Această secțiune explică aceste sarcini în detaliu.

Despachetarea și instalarea bazei ciclului termic C1000 Dx

Important: Înainte de a opera ciclul termic, citiți informațiile din [Siguranța și conformitatea cu reglementările de la pagina 13](#) și [Etichete cu avertizări de siguranță de la pagina 13](#).

Sfat: În timpul instalării, asigurați-vă că aveți suficient spațiu lângă ciclul termic pentru un computer pe care să ruleze CFX Manager Dx software.

Pentru a despacheta și instala baza ciclului termic

1. Localizați pachetul care conține baza ciclului termic.
2. Scoateți baza din ambalaj.

Sfat: Păstrați ambalajul pentru utilizarea ulterioară. Dacă un element lipsește sau este deteriorat, contactați reprezentantul Bio-Rad local.

3. Așezați baza ciclului termic pe o suprafață plană și uscată, unde circulă suficient aer rece pentru o funcționare corectă.
4. Localizați cablul de alimentare în pachet și introduceți un capăt în portul de intrare de pe partea din spate a ciclului termic.

Important: Nu porniți încă instrumentul.

5. Atașați modulul de reacție IVD la bază. Continuați cu [Atașarea modulului optic de reacție de la pagina 29](#).

Atașarea modului optic de reacție

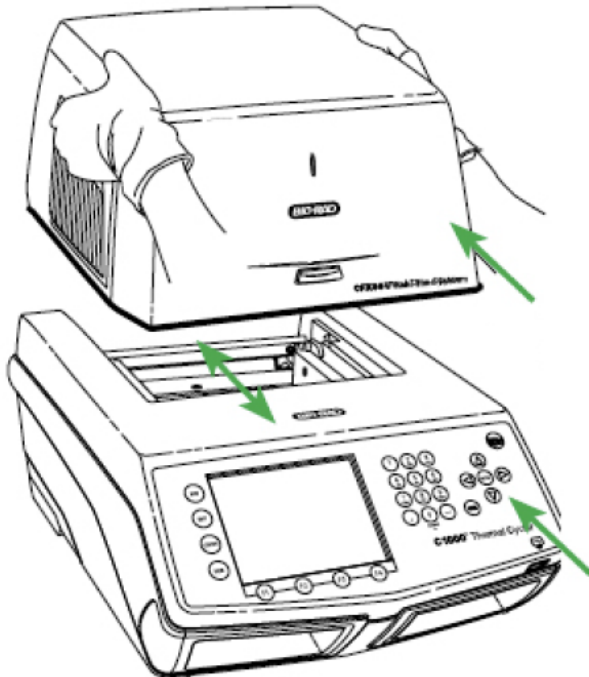
Bio-Rad livrează modulul optic de reacție CFX96 Dx sau CFX96 Deep Well împreună cu baza ciclorului termic C1000 Dx (dar într-o cutie separată). Dezambalați cu atenție modulul optic de reacție și verificați dacă pachetul conține cablurile de alimentare și USB.

Important: Fiecare modul optic de reacție este calibrat cu baza ciclorului termic cu care a fost livrat. Așadar, nu folosiți modulul optic de reacție cu nicio altă bază de ciclor termic.

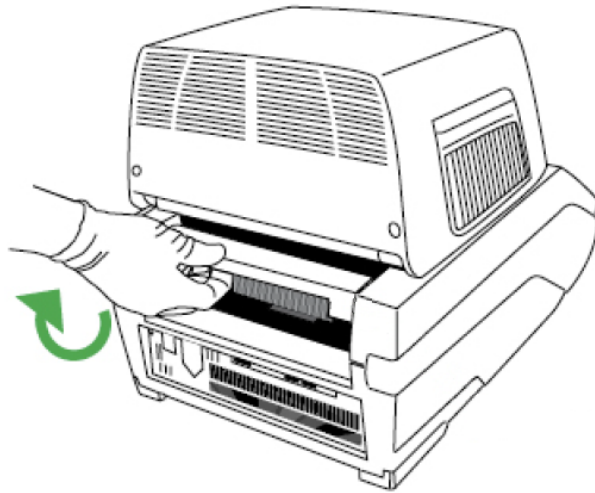
Așezați baza ciclorului termic C1000 Dx pe o suprafață plană și uscată, unde circulă suficient aer rece pentru o funcționare corectă.

Pentru a atașa modulul de reacție la baza ciclorului termic

1. Amplasați ciclorul termic C1000 Dx într-un loc adecvat, cu bara de blocare în jos.
2. Ridicând modulul optic de reacție cu ajutorul indentațiilor cu rol de mâner de deasupra orificiilor de aerisire laterale, poziționați modulul în compartimentul pentru modulul de reacție C1000 Dx, lăsând un spațiu de aproximativ 2 cm în față. Când se află în compartiment, modulul optic trebuie să acopere logoul Bio-Rad din fața compartimentului.



3. Trageți în sus bara de blocare, până când ajunge la același nivel cu laturile compartimentului modulului. Această acțiune deplasează modulul în față, fixându-l la locul său.



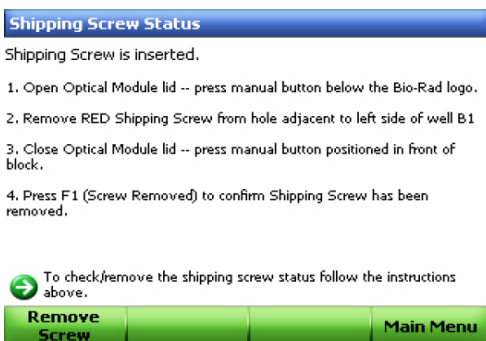
4. Asigurați-vă că modulul este așezat complet și uniform în baza ciclului termic C1000 Dx. Nu trebuie să existe spațiu suplimentar între modul și bază.
5. Introduceți cablul de alimentare în spatele bazei ciclului termic C1000 Dx și într-o priză electrică adecvată, apoi apăsați întrerupătorul de alimentare de pe panoul din spate al ciclului termic C1000 Dx pentru a porni sistemul.

Înlăturarea șurubului de expediere

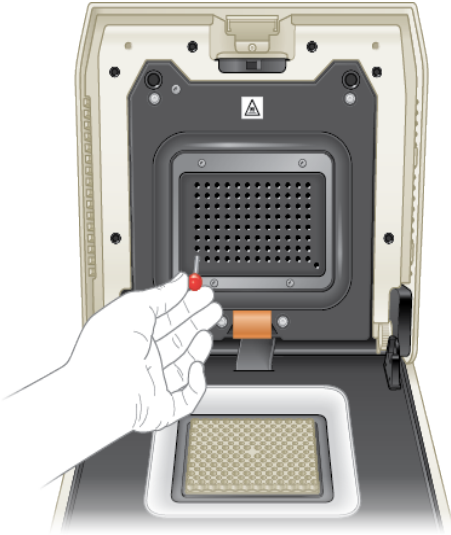
Important: Modulele optice de reacție ale Bio-Rad se livrează împreună cu un Șurub de expediere roșu introdus în capacul interior pentru a stabiliza modulul optic de reacție în timpul transportului. Trebuie să înlăturați șurubul de expediere înainte de a putea opera modulul optic de reacție.

Pentru a înlătura șurubul de expediere

1. Ciclul termic C1000 Dx recunoaște că șurubul de expediere este introdus în modulul optic de reacție și afișează un mesaj care vă instruește să înlăturați șurubul.



2. Urmați instrucțiunile pentru a înlătura șurubul de expediere. Următoarea diagramă indică locația șurubului de expediere.



Observație: Trebuie să reintroduceți șurubul de expediere dacă este nevoie să returnați modulul de reacție din orice motiv. Păstrați șurubul într-un loc sigur și accesibil.

Încărcarea plăcilor cu probe

Pentru asigurarea încălzirii și răcirii uniforme a probelor, plăcile trebuie să fie în contact total cu blocul de reacție. Pentru asigurarea unui contact adecvat, urmați următoarele proceduri:

- Confirmați că blocul este curat înainte de încărcarea probelor.
- Apăsați bine eprubetele, baretele de eprubete sau microplăcile individuale în alveolele blocului.
- Atunci când folosiți una sau puține eprubete, folosiți cadrul eprubetei (catalog nr. 1849000 sau nr. 1849001) sau încărcați cel puțin o eprubetă goală în fiecare colț al blocului pentru a vă asigura că capacul exercită presiune egală asupra eprubetelor individuale.

Încărcarea plăcilor în modulul optic de reacție

Important: La utilizarea CFX Dx system, echilibrați întotdeauna baretele de eprubete sau adăugați capacele de eprubete la alveolele din colțuri, pentru a vă asigura de aplicarea presiunii uniforme asupra întregului bloc a capacului încălzit

Pentru a încărca plăci într-modulul optic de reacție

1. Pentru a deschide capacul motorizat, efectuați una dintre următoarele:
 - În panoul Detected Instruments (Instrumente detectate) din CFX Manager Dx software, faceți clic pe Open Lid (Deschidere capac).
 - Pe fila Start Run (Începere rulare) din software, faceți clic pe Open Lid (Deschidere capac).
 - Apăsăți butonul pentru capac de pe partea frontală a instrumentului.
2. Poziționați microplaca, eprubetele individuale sau baretele de eprubete cu capace etanșe în bloc.

Important: Verificați că eprubetele sunt complet etanșate pentru a preveni scurgeri.

Sfat: Pentru rezultate optime, încărcați volume de probe de 10-25 μ l pentru CFX Dx system.
3. Pentru analize de date precise, verificați că orientarea reacțiilor din bloc este exact aceeași cu orientarea conținutului alveolelor din fila Plate (Placă) în CFX Manager Dx software.

Sfat: Puteți edita conținutul alveolelor folosind CFX Manager Dx software înainte, în timpul sau după rulare.
4. Pentru a închide capacul motorizat, efectuați una dintre următoarele:
 - Apăsăți butonul pentru capac de pe instrument.
 - Din panoul Detected Instruments (Instrumente detectate) din software, faceți clic pe Close Lid (Închidere capac).
 - Pe fila Start Run (Începere rulare) din software, faceți clic pe Close Lid (Închidere capac).

Important: Asigurați-vă că nimic nu blochează capacul atunci când se închide. Deși există un mecanism de siguranță pentru a preveni închiderea capacului dacă se detectează o obstrucție, nu puneți nimic în calea capacului înainte de închidere.

Consumabile din plastic PCR și consumabile reactivi PCR

Pentru a găsi și comanda consumabile din plastic recomandate pentru CFX Dx system accesați [site-ul web Bio-Rad](#). Puteți accesa acest site din elementul de meniu Help > PCR Plastic Consumables Web Site (Ajutor > Site web consumabile plastic PCR) din CFX Manager Dx software. Suplimentar, consultați resursele [selector de plastic](#) și [selector de reactivi](#), care vă vor ajuta să găsiți și să comandați cu ușurință consumabile din plastic și reactivi pentru nevoile dvs. specifice de componente hardware și PCR.

Detectarea instrumentelor conectate

În timpul instalării, programul de instalare a CFX Manager Dx software instalează automat driverele instrumentelor pe computerul care rulează CFX Manager Dx software. CFX Manager Dx detectează instrumentele conectate în momentul în care porniți software-ul.

Important: Trebuie să deconectați ciclul termic C1000 Dx de la computerul CFX Manager Dx înainte de a instala software-ul. Nu trebuie să opriți ciclul termic în timpul instalării software-ului.

Pentru a detecta instrumentele conectate

1. Dacă nu ați făcut încă acest lucru, introduceți capătul pătrat (tată) al cablului USB de tip B furnizat în portul USB de tip B situat în partea din spate a bazei .
2. Introduceți celălalt capăt (port) într-un port USB al computerului cu CFX Manager Dx.
3. Dacă ciclul termic nu este deja în funcțiune, apăsați întrerupătorul de pe partea din spate a instrumentului pentru a-l porni.
4. Porniți CFX Manager Dx software.

Software-ul detectează automat instrumentul conectat și afișează denumirea sa în panoul Detected Instruments (Instrumente detectate) din fereastra Home (Fereastră de pornire).

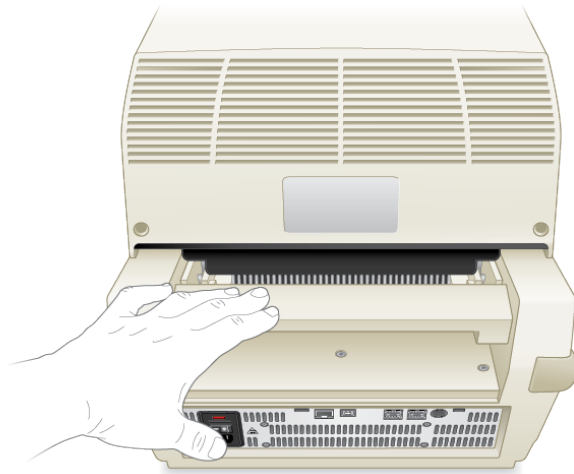
Observație: Dacă instrumentul nu apare în panoul Detected Instruments (Instrumente detectate), asigurați-vă că este instalat corect cablul USB. Pentru a reinstala driverele, selectați Tools (Instrumente) > Reinstall Instrument Drivers (Reinstalare drivere instrumente) din fereastra Home (Fereastră de pornire) a CFX Manager Dx software.

Detașarea

Important: Opriti ciclul termic C1000 Dx înainte de a detașa un modul de reacție (consultați [Oprirea ciclului termic C1000 Dx de la pagina 34](#)). Nervurile de răcire din modulul de reacție se pot încălzi excesiv imediat după rularea unui protocol sau unei incubări. Înainte de a detașa modulul de reacție, asigurați-vă că nervurile s-au răcit.

Pentru a detașa modulul optic de reacție de pe baza ciclului termic

1. Pe spatele bazei ciclului termic, împingeți în jos bara de blocare pentru a debloca și elibera modulul optic de reacție .



2. Ridicați cu atenție modulul optic de reacție din compartiment, folosind indentațiile cu rol de mâner de pe fiecare latură.
3. Așezați modulul de reacție optică pe o suprafață curată și plană, unde nu poate fi lovit, zgâriat sau scăpat pe jos.

Oprirea ciclului termic C1000 Dx

Pentru a opri ciclul termic

1. După o rulare, apăsați butonul de deschidere a capacului de pe partea frontală a modului de reacție optică CFX pentru a accesa probele încărcate în bloc.
2. Scoateți probele din bloc și apăsați butonul de închidere a capacului pentru a închide capacul.
3. Apăsați întrerupătorul de alimentare de pe panoul din spate al ciclului termic C1000 Dx pentru a opri sistemul.

Capitolul 3 Instalarea CFX Manager Dx software

Acest capitol explică modul de instalare a CFX Manager Dx software.

CFX Manager Dx software este necesar pentru a analiza datele PCR în timp real de la sistemele CFX96 Dx și CFX96 Deep Well Dx. De asemenea, puteți utiliza acest software pentru a controla aceste sisteme în modul controlat prin software.

Pentru informații privind instalarea ciclului termic și modulului de reacție CFX Dx system, consultați [Configurarea ciclului termic C1000 Dx de la pagina 23](#).

Cerințe de sistem

Tabelul 8 listează cerințele de sistem minime și recomandate pentru computerul pe care rulează CFX Manager Dx software (cunoscut și sub denumirea de computer cu CFX Manager Dx).

Tabelul 8. Cerințe de sistem pentru CFX Manager Dx software

Sistem	Minime	Recomandate
Sistem de operare	Microsoft Windows 7 SP1 Pro	Oricare dintre următoarele: <ul style="list-style-type: none"> ■ Microsoft Windows 7 SP2 Pro (pe 32 și 64 biți) ■ Microsoft Windows 10 Pro (doar pe 64 biți) ■ Microsoft Windows 10 Enterprise (doar pe 64 biți)
Important: Secure Boot (Pornire sigură sistem) trebuie dezactivată atât pe Microsoft Windows 10 Pro, cât și pe Microsoft Windows 10 Enterprise.		
Porturi	2 porturi USB 2.0 de mare viteză	2 porturi USB 2.0 de mare viteză
Spațiu hard disk	128 GB	128 GB
Viteza procesorului	2,4 GHz, Dual Core	2,4 GHz, Quad Core
RAM	4 GB RAM	8 GB RAM
Rezoluția ecranului	1024 x 768 cu mod de culori realiste	1280 x 1024 cu mod de culori realiste
Cititor PDF		Adobe PDF Reader sau Windows PDF Reader de la unul dintre seturile Microsoft Office acceptate: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2007 ■ 2010 ■ 2013

Instalarea CFX Manager Dx software

Important: Trebuie să deconectați orice instrumente conectate de la computerul cu CFX Manager Dx înainte de a instala software-ul sau de a efectua un upgrade al acestuia. Nu trebuie să opriți ciclul termic în timpul instalării software-ului. Asigurați-vă că ați salvat toate rulările și că nu este în desfășurare niciun experiment.

Observație: Dacă instalați CFX Manager Dx software pe Windows 10, verificați că Secure Boot (Pornire sigură sistem) este dezactivată înainte de a începe procedura de instalare.

Pentru a instala CFX Manager Dx software

1. Dacă este necesar, deconectați orice instrumente conectate de la computer.
Localizați și deconectați cablul USB al instrumentului de la computerul CFX Manager Dx. Capătul introdus în instrument poate să rămână în poziție.
2. Autentificați-vă pe computerul cu CFX Manager Dx cu drepturi de administrator.
3. Puneți CD-ul cu CFX Manager Dx software în unitatea de CD a computerului.
4. Pagina de lansare a software-ului trebuie să apară automat. Faceți dublu clic pe Install Software (Instalare software) de pe pagina de lansare a software-ului.

Observație: Dacă pagina de lansare nu apare automat, navigați la unitatea de CD și deschideți folderul CFX_Manager, apoi faceți dublu clic pe setup.exe pentru a inițializa expertul de instalare a software-ului.

Sfat: În expertul de instalare, faceți clic pe butonul Documentation (Documentație) pentru a găsi copii care pot fi căutate ale notelor privind versiunea, manualelor pentru instrumente și ale altor documente.

5. Urmăriți instrucțiunile de pe ecran pentru a finaliza instalarea. La finalizare, pictograma pentru software-ul CFX Manager va apărea pe desktopul computerului.
6. După ce se finalizează instalarea, puteți îndepărta în siguranță CD-ul.

Detectarea instrumentelor conectate

În timpul instalării, programul de instalare a CFX Manager Dx software instalează automat driverele instrumentelor pe computerul CFX Manager Dx. CFX Manager Dx detectează instrumentele conectate în momentul în care porniți software-ul.

Pentru a detecta instrumentele conectate

1. Dacă nu ați făcut încă acest lucru, introduceți capătul pătrat (tată) al cablului USB de tip B furnizat în portul USB de tip B situat în partea din spate a bazei instrumentului.

2. Introduceți celălalt capăt (port) într-un port USB al computerului cu CFX Manager Dx.
3. Dacă instrumentul nu este deja în funcțiune, apăsați întrerupătorul de pe partea din spate a instrumentului pentru a-l porni.
4. Porniți CFX Manager Dx.

Software-ul detectează automat instrumentul conectat și afișează denumirea lui în panoul Detected Instruments (Instrumente detectate) din fereastra Home (Fereastră de pornire).

Observație: Dacă instrumentul nu apare în panoul Detected Instruments (Instrumente detectate), asigurați-vă că este instalat corect cablul USB. Pentru a reinstala driverele, din fereastra Home (Fereastră de pornire) a CFX Manager Dx, selectați Tools (Instrumente) > Reinstall Instrument Drivers (Reinstalare drivere instrumente).

Fișierele software-ului

Tabelul 9 listează tipurile de fișiere CFX Manager Dx software.

Tabelul 9. Tipuri de fișiere CFX Manager Dx software

Tipul de fișier	Extensia	Detalii
Protocol	.prcl	Conține detaliile configurării protocolului pentru efectuarea unei rulări PCR.
Placă	.pltd	Conține detaliile configurării plăcii pentru efectuarea unei rulări PCR.
Data (Date)	.pcrd	Conține rezultatele unei rulări de experiment și unei analize PCR.
Rulare PrimePCR	.csv	Conține structura protocolului și plăcii pentru plăcile PrimePCR.
Studiu genic	.mgxd	Conține rezultatele mai multor rulări PCR și analizele expresiei genice.
LIMS	.plrn	Conține informații de configurare a plăcii și informații despre protocol necesare pentru efectuarea unei rulări compatibile LIMS.

Măsuri de siguranță cibernetică recomandate

Bio-Rad vă recomandă să colaborați cu departamentul dumneavoastră IT pentru a implementa măsuri de siguranță cibernetică pentru computerul utilizat împreună cu sistemul CFX96 Dx. De exemplu:

- Instalați și configurați programe corespunzătoare de protecție împotriva virusilor și paravane de protecție.

Important: Configurați scanarea de viruși să aibă loc în afara orelor de program sau când instrumentul nu funcționează în mod activ. Dacă se inițiază o scanare de viruși în timp ce CFX Manager Dx rulează un experiment, rularea poate fi anulată, iar datele pierdute.
- CFX Manager Dx software nu are nicio funcție de expirare a sesiunii utilizatorului pentru inactivitate. Implementați măsuri de securitate a accesului utilizatorilor create de Windows sau de terți (de exemplu, implementați un economizor de ecran cu autentificare obligatorie).
- Securitatea suporturilor amovibile:
 - Folosiți parole și criptare pe dispozitivele dumneavoastră USB, pentru a proteja datele.
 - Dezactivați funcțiile de executare automată și redare automată pentru toate dispozitivele amovibile.
 - Activați scanarea automată a unităților USB de fiecare dată când sunt conectate.
- Folosiți un instrument de backup (copiere de rezervă) pentru a facilita recuperarea datelor.

Capitolul 3 Instalarea CFX Manager Dx software

Capitolul 4 Spațiul de lucru

CFX Manager Dx software furnizează o interfață pentru configurarea plăcilor, dezvoltarea protocoalelor PCR, rularea acestora în instrumentele CFX Dx și analizarea datelor din rulările PCR.

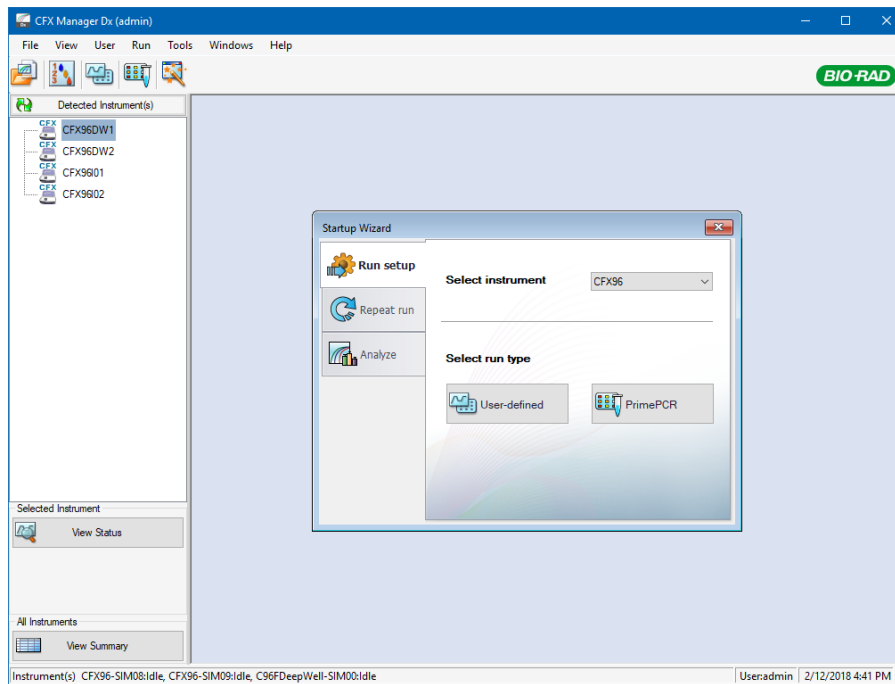
CFX Manager Dx software prezintă cinci spații de lucru principale:

- Fereastra Home (Fereastră de pornire)
- Startup Wizard (Expert pornire)
- Fereastra Protocol Editor (Editor Protocol)
- Fereastra Plate Editor (Editor placă)
- Fereastra Data Analysis (Analiză date)

Fiecare spațiu de lucru este prezentat și descris pe scurt în acest capitol.

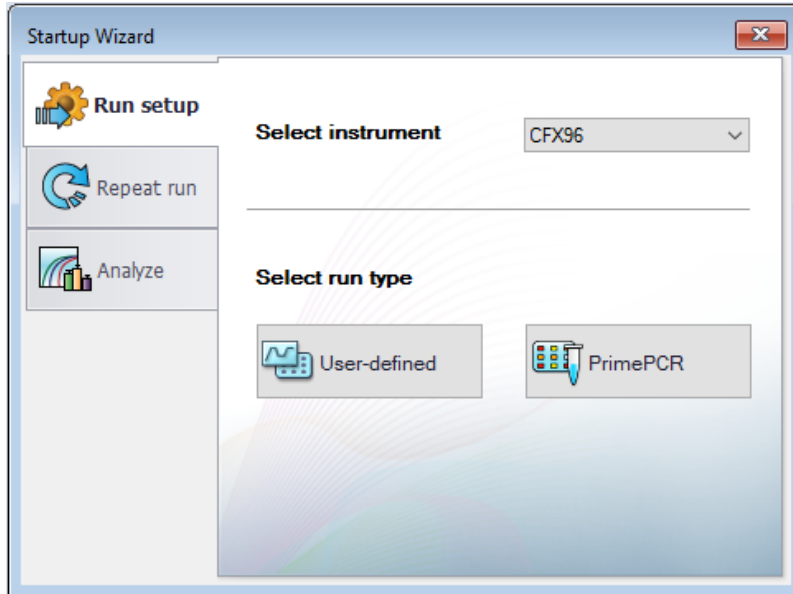
Fereastra Home (Fereastră de pornire)

CFX Manager Dx software deschide fereastra Home (Fereastră de pornire) și afișează Startup Wizard (Expert pornire), din care puteți configura un experiment, realiza sau repeta o rulare sau analiza o rulare existentă. Din fereastra Home (Fereastră de pornire) puteți, de asemenea, vizualiza jurnalele aplicației și instrumentului, crea și gestiona utilizatori și accesa multiple instrumente utile. Pentru mai multe informații, consultați [Capitolul 5, Fereastra Home \(Fereastră de pornire\)](#).



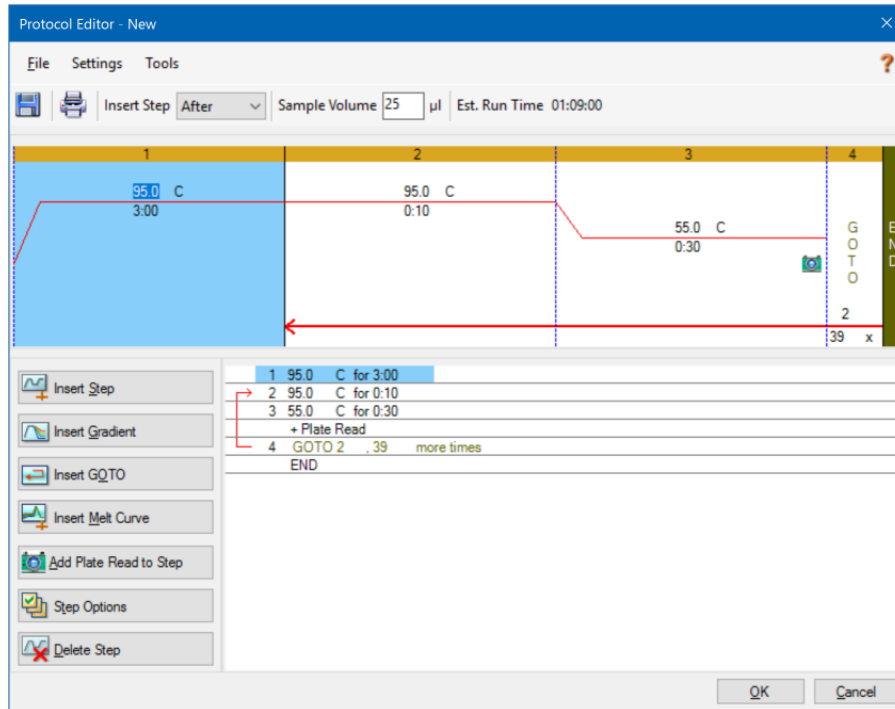
Startup Wizard (Expert pornire)

Folosiți Startup Wizard (Expert pornire) pentru a configura și rula rapid experimente definite de utilizator sau pentru a selecta și rula rapid un experiment PrimePCR. Puteți folosi acest expert și pentru a repeta o rulare sau analiza datele rulării.



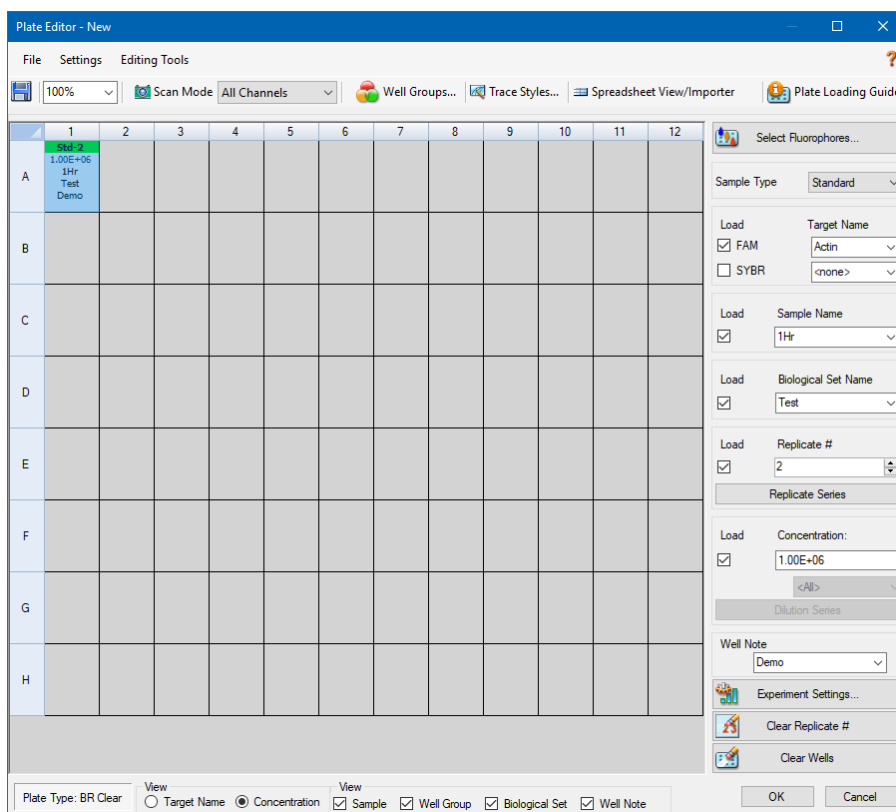
Fereastra Protocol Editor (Editor Protocol)

În Protocol Editor (Editor Protocol) puteți crea, deschide, revizui și edita un protocol. De asemenea, puteți modifica temperatura capacului pentru protocolul deschis. Funcționalitatea Protocol Editor (Editor Protocol) este detaliată în [Capitolul 6, Crearea de protocoale](#).



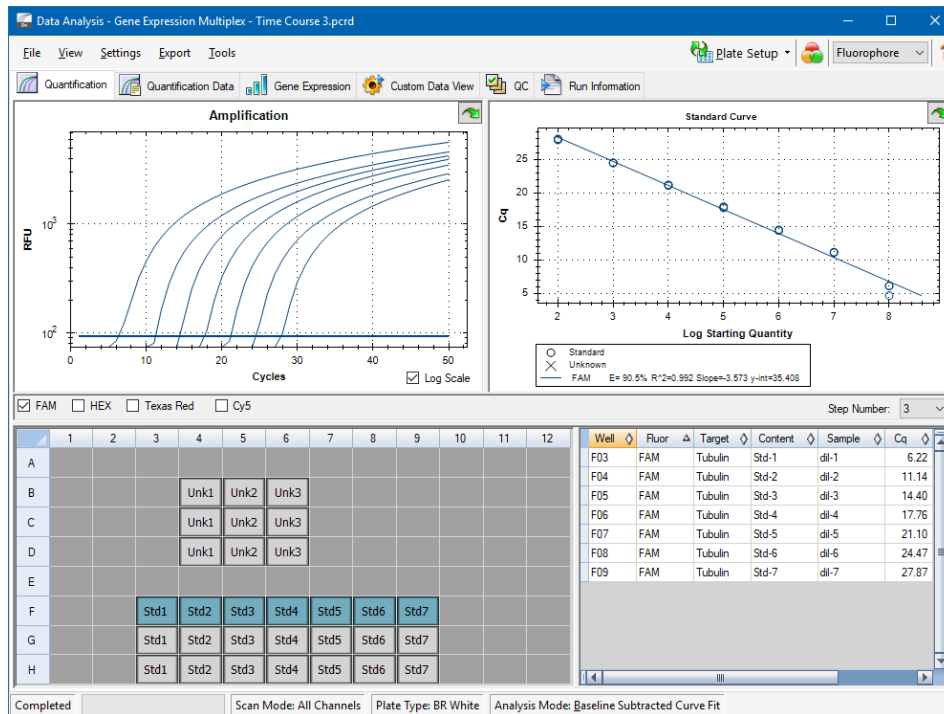
Fereastra Plate Editor (Editor placă)

În Plate Editor (Editor placă) puteți crea, deschide, revizui și edita o placă. Funcționalitatea Plate Editor (Editor placă) este detaliată în [Capitolul 7, Pregătirea plăcilor](#).



Fereastra Data Analysis (Analiză date)

În fereastra Data Analysis (Analiză date) puteți vizualiza și compara date de rulare, efectua analize statistice, exporta date și crea rapoarte pregătite pentru publicare. Funcționalitatea Data Analysis (Analiză date) este detaliată în [Capitolul 9, Prezentare generală a Data Analysis \(Analiză date\)](#). Consultați și [Capitolul 10, Detalii despre fereastra Data Analysis \(Analiză date\)](#).



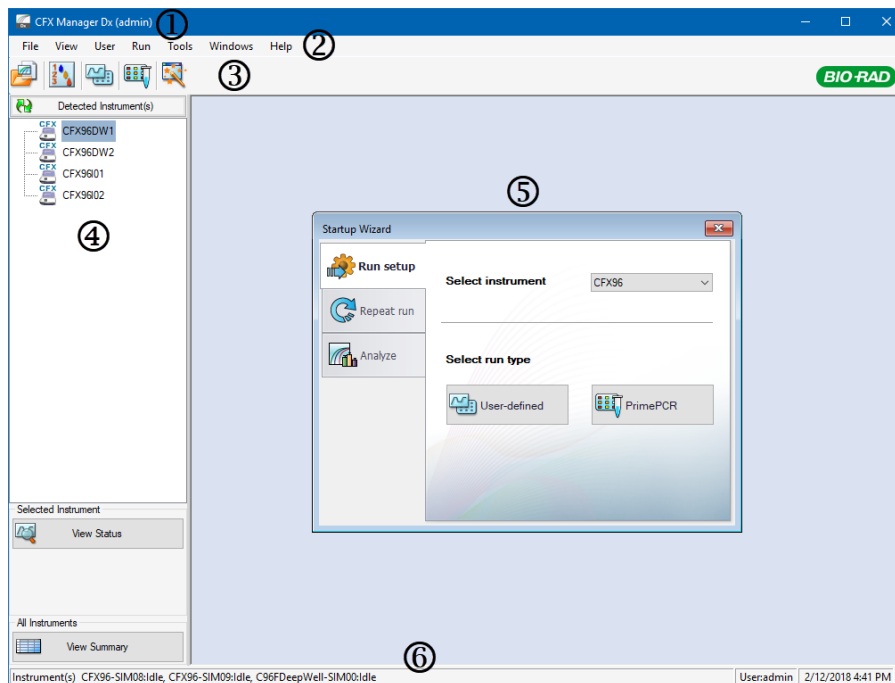
Capitolul 5 Fereastra Home (Fereastră de pornire)

CFX Manager Dx software oferă o interfață pentru dezvoltarea de protocoale PCR, rulând acestea pe CFX Dx systems și analizând date de rulare PCR.

Acest capitol introduce CFX Manager Dx software și descrie funcțiile accesibile din fereastra Home (Fereastră de pornire).

Fereastra Home (Fereastră de pornire)

CFX Manager Dx deschide fereastra Home (Fereastră de pornire) și afișează Startup Wizard (Expert pornire), din care puteți configura o rulare, efectua sau repeta o rulare sau analiza o rulare existentă. Din fereastra Home (Fereastră de pornire) puteți, de asemenea, vizualiza jurnalele aplicației și instrumentului, crea și gestiona utilizatori și accesa multiple instrumente utile.



LEGENDĂ

1. Bara de titlu a software-ului afișează numele software-ului și utilizatorul conectat.
2. Bara de meniu oferă acces rapid la comenzile meniurilor File (Fișier), View (Vizualizare), Users (Utilizatori), Run (Rulare), Tools (Instrumente), Window (Fereastră) și Help (Ajutor).
3. Comenzile barei de instrumente oferă acces rapid la opțiunile meniului.
4. Panoul din stânga afișează instrumentele conectate la computerul CFX Manager Dx și furnizează butoanele prin care puteți opera capacul și vizualiza starea instrumentelor.
5. Panoul principal afișează fereastra de lucru. Fereastra de lucru implicită de pe ecranul Home (Fereastră de pornire) este Startup Wizard (Expert pornire).
6. Bara de stare afișează numele instrumentelor conectate și utilizatorul conectat.

Comenzile meniului File (Fișier)

New (Nou) – deschide o casetă de dialog pe care o puteți folosi pentru a crea un protocol nou, o placă nouă sau un studiu genic nou.

Open (Deschidere) – deschide o casetă de dialog din care puteți alege să navigați la și să deschideți un protocol, o placă, un fișier de date, un studiu genic, un fișier LIMS existente, sau un fișier de rulare PrimePCR.

Recent Data Files (Fișiere de date recente) – afișează o listă a fișierelor PCR deschise recent.

Repeat a Run (Repetare rulare) – deschide Windows Explorer în locul în care sunt salvate fișierele PCR, unde puteți localiza o rulare de repetat.

Exit (Ieșire) – închide CFX Manager Dx.

Comenzile meniului View (Vizualizare)

Application Log (Jurnalul aplicației) – afișează un jurnal de utilizare a software-ului de la instalarea inițială și până în ziua actuală.

Run Reports (Rapoarte rulare) – afișează o listă de rapoarte de rulare.

Startup Wizard (Expert pornire) – afișează Startup Wizard (Expert pornire) în panoul principal.

Run Setup (Configurare rulare) – afișează fereastra Run Setup (Configurare rulare) în panoul principal.

Instrument Summary (Rezumat instrument) – afișează fereastra Instrument Summary (Rezumat instrument) în panoul principal.

Detected Instruments (Instrumente detectate) – comută între afișarea și neafișarea instrumentelor conectate în panoul stâng. Implicit, software-ul afișează instrumentele conectate în panoul din stânga.

Toolbar (Bară de instrumente) – comută între afișarea și neafișarea barei de instrumente în partea de sus a ecranului. Implicit, software-ul afișează bara de instrumente.

Status Bar (Bară de stare) – comută între afișarea și neafișarea barei de stare în partea de jos a ecranului. Implicit, software-ul afișează bara de stare.

Show (Afișare) – deschide o casetă de dialog din care puteți

- Vizualiza sau bloca jurnalul Status (Stare).
- Deschide și vizualiza folderul de date CFX Manager Dx.
- Deschide și vizualiza folderul de date al utilizatorului.
- Deschide și vizualiza folderul de fișiere LIMS.

- Deschide și vizualiza folderul PrimePCR.
- Vizualiza istoricul rulărilor.
- Vizualiza proprietățile tuturor instrumentelor conectate.

Comenzile meniului User (Utilizator)

Select User (Selectare utilizator) – deschide ecranul Login (Autentificare) în care puteți selecta un utilizator din lista verticală User Name (Nume utilizator) și vă puteți autentifica în aplicație.

Change Password (Schimbare parolă) – deschide caseta de dialog Change Password (Schimbare parolă), în care utilizatorii își pot schimba parola pentru CFX Manager Dx software.

User Preferences (Preferințe utilizator) – deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), în care utilizatorii pot schimba setările implicite pentru

- Trimiterea și primirea notificării prin e-mail la finalizarea rulării
- Salvarea fișierelor de date
- Crearea de protocoale prin Protocol Editor (Editor Protocol) sau Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol)
- Crearea de plăci
- Analizarea datelor
- Realizarea analizei expresiei genice
- Determinarea calității datelor
- Exportarea datelor instrumentului CFX Dx

User Administration (Administrare utilizatori) – deschide caseta de dialog User Administration (Administrare utilizatori), în care administratorii pot crea utilizatori, modifica permisiunile rolurilor și atribui roluri utilizatorilor.

Bio-Rad Service Login (Autentificare service Bio-Rad) – pentru utilizarea exclusivă de către personalul de asistență tehnică Bio-Rad. Nu selectați această comandă.

Comenzile meniului Run (Rulare)

User-defined Run (Rulare definită de utilizator) – deschide fereastra Run Setup (Configurare rulare), în care puteți configura un protocol și o placă definite de utilizator, apoi puteți rula un experiment PCR pe instrumentele selectate.

PrimePCR Run (Rulare PrimePCR) – deschide fila Start Run (Începere rulare) în fereastra Run Setup (Configurare rulare) cu protocolul PrimePCR și structura de placă implicite încărcate în funcție de instrumentul selectat.

End-Point Only Run (Rulare numai punct final) – deschide fila Start Run (Începere rulare) în fereastra Run Setup (Configurare rulare) cu protocolul de punct final și structura de placă implicite încărcate în funcție de instrumentul selectat.

Qualification Run (Rulare de calificare) – deschide fila Start Run (Începere rulare) în fereastra Run Setup (Configurare rulare) cu protocolul de calificare Bio-Rad și structura de placă implicite încărcate pentru instrumentul selectat.

Comenzile meniului Tools (Instrumente)

Master Mix Calculator (Calculator Amestec principal) – deschide Master Mix Calculator (Calculator Amestec principal), în care puteți crea un amestec de reacție și imprima calculele.

Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) – deschide caseta de dialog Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol), în care puteți crea cu ușurință un protocol nou.

T_a Calculator (Calculator T_a) – deschide T_a Calculator (Calculator T_a), în care puteți calcula cu ușurință temperatura de atașare a primerilor.

Dye Calibration Wizard (Expert calibrare coloranți) – deschide expertul Dye Calibration (Calibrare coloranți), în care puteți calibra un instrument pentru un nou fluorofor.

Reinstall Instrument Drivers (Reinstalare drivere instrument) – reinstalează driverele care controlează comunicarea cu sistemele PCR în timp real ale Bio-Rad.

Zip Data and Log Files (Fișiere ZIP jurnal și de date) – deschide o casetă de dialog în care puteți selecta fișiere pentru a le condensa și salva într-un fișier ZIP comprimat pentru stocare sau trimitere prin e-mail.

Batch Analysis (Analiza loturilor) – deschide caseta de dialog Batch Analysis (Analiza loturilor), în care puteți seta parametrii pentru analizarea mai multor fișiere de date în același timp.

Options (Opțiuni) – deschide o casetă de dialog în care puteți

- Configura setările serverului dumneavoastră de e-mail.
- Configura setările de exportare pentru fișierele LIMS și alte fișiere de date.

Comenzile meniului Help (Ajutor)

Sfat: Meniul Help (Ajutor) este disponibil în bara de meniu a tuturor ferestrelor CFX Manager Dx software.

Open Operation Manual (Deschidere manual de utilizare) – deschide un fișier PDF al acestui de utilizare.

Gene Expression Gateway Web Site (Site-ul web gateway pentru expresie genică) – deschide pagina de pornire Bio-Rad pentru CFX Dx system.

PCR Reagents Web Site (Site-ul web al reactivilor PCR) – deschide site-ul web Bio-Rad cu reactivii PCR, de unde puteți comanda reactivi, amestecuri de reacție, coloranți și kituri PCR.

PCR Plastic Consumables Web Site (Site web consumabile plastic PCR) – deschide site-ul web Bio-Rad cu articole din plastic și consumabile PCR, de unde puteți comanda plăci, folii de sigilare placă, eprubete și capace și alte accesorii PCR din plastic.

Software Web Site (Site-ul web al software-ului) – deschide site-ul web al software-ului de analiză PCR al Bio-Rad, de unde puteți comanda versiuni actualizate ale software-ului Bio-Rad CFX Manager Dx software.

About (Despre) – afișează informații despre copyright și versiune pentru CFX Manager Dx.

Comenzi bară de instrumente



– deschide Windows Explorer, în care puteți naviga la și deschide un fișier de date sau un fișier de studiu genic.



– deschide Master Mix Calculator (Calculator Amestec principal).



– deschide fereastra Run Setup (Configurare rulare).



– deschide fereastra Run Setup (Configurare rulare) cu protocolul PrimePCR și structura de placă implicite încărcate în funcție de instrumentul selectat.

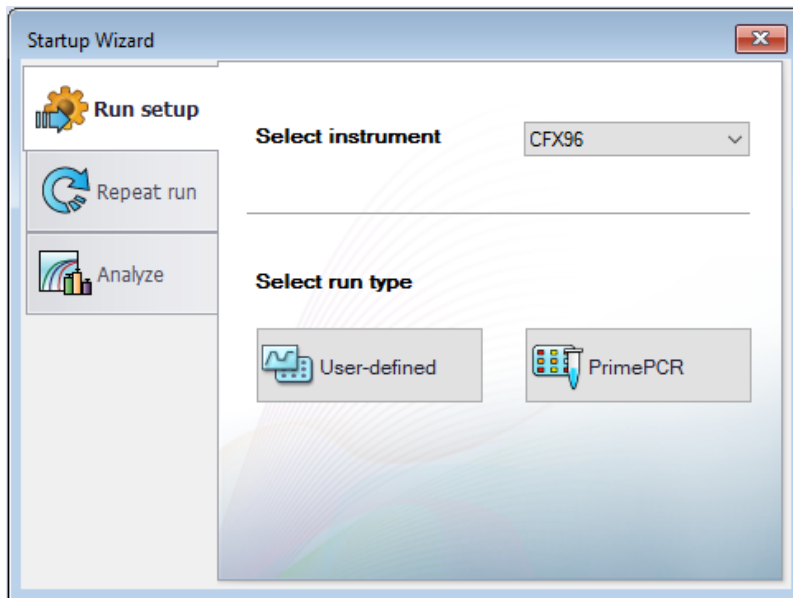


– deschide Startup Wizard (Expert pornire).

Startup Wizard (Expert pornire)

Când se inițializează CFX Manager Dx, panoul de lucru afișează Startup Wizard (Expert pornire). Din Startup Wizard (Expert pornire) puteți:

- Selecta un instrument dintre instrumentele detectate și configura o rulare definită de utilizator sau PrimePCR.
- Deschide și repeta o rulare.
- Deschide un fișier de date pentru a analiza rezultatele dintr-o singură rulare sau dintr-un fișier de studiu genic pentru rezultate din mai multe rulări de expresie genică.



Aceste activități sunt explicate în mod detaliat în capitolele care urmează.

Bara de stare

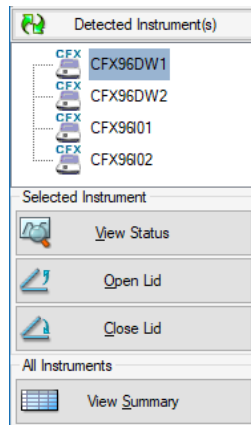
Partea stângă a barei de stare din partea de jos a ferestrei principale a software-ului afișează starea actuală a instrumentelor detectate. Partea dreaptă a barei de stare afișează numele utilizatorului actual și data și ora.

Panoul Detected Instruments (Instrumente detectate)

Panoul Detected Instruments (Instrumente detectate) afișează fiecare instrument care este conectat la computerul CFX Manager Dx. Implicit, fiecare instrument apare sub formă de pictogramă, iar numărul său de serie apare ca denumirea sa.

De exemplu, următoarea imagine afișează patru instrumente detectate:

- Două cicloare termice C1000 cu module de reacție CFX96 Deep Well (CFX96DW1 și CFX96DW2)
- Două cicloare termice C1000 cu module de reacție CFX96 (CFX96I01 și CFX96I02)



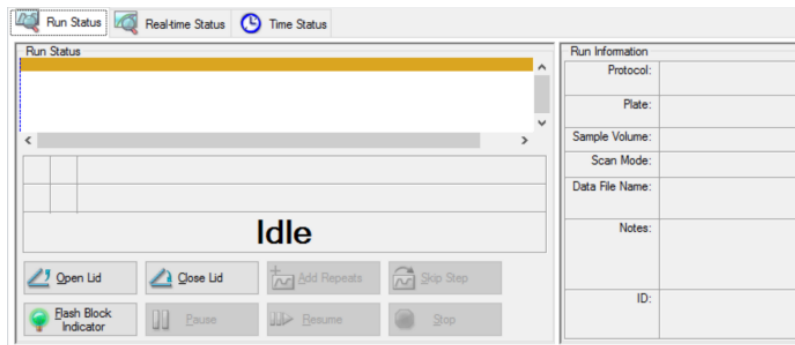
Din acest panou, puteți face următoarele lucruri:

- Vizualiza proprietățile și coloranții calibrați pentru un instrument selectat.
Pentru informații despre proprietățile instrumentului, consultați [Vizualizarea proprietăților unui instrument de la pagina 58](#).
- Vizualiza starea unui instrument conectat.
- Deschide capacul motorizat al instrumentului selectat.
- Închide capacul motorizat al instrumentului selectat.
- Vizualiza starea tuturor instrumentelor conectate.

Pentru a vizualiza starea unui instrument conectat

- ▶ În panoul Detected Instruments (Instrumente detectate), selectați instrumentul țintă și faceți una dintre următoarele:
 - Faceți clic pe View Status (Vizualizare stare) în secțiunea Selected Instrument (Instrument selectat).
 - Faceți clic dreapta și selectați View Status (Vizualizare stare) în meniul care apare.

Va apărea caseta de dialog Run Details (Detalii rulare), care afișează fila Run Status (Stare rulare). Starea instrumentului selectat apare sub panoul de stare a rulării, de exemplu:



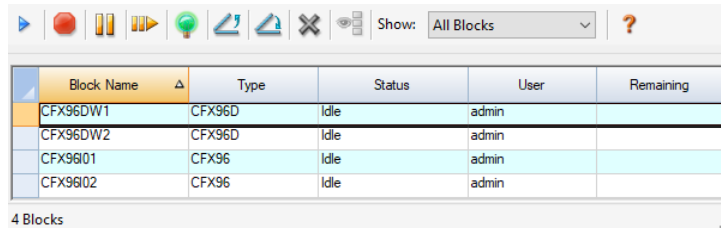
Pentru a deschide sau închide capacul unui instrument

- ▶ În panoul Detected Instruments (Instrumente detectate), selectați instrumentul țintă și faceți una dintre următoarele:
 - Faceți clic pe Open Lid (Deschidere capac) sau Close Lid (Închidere capac) în secțiunea Selected Instrument (Instrument selectat).
 - Faceți clic dreapta și selectați acțiunea corespunzătoare în meniul care apare.
 - Deschideți caseta de dialog Run Details (Detalii rulare), selectați fila Run Status (Stare rulare) și faceți clic pe Open Lid (Deschidere capac) sau Close Lid (Închidere capac).

Pentru a vizualiza starea tuturor instrumentelor detectate

- ▶ Urmați una dintre procedurile următoare:
 - În secțiunea All Instruments (Toate instrumentele) din panoul Detected Instruments (Instrumente detectate), faceți clic pe View Summary (Vizualizare rezumat).
 - În bara de meniu, selectați View > Instrument Summary (Vizualizare > Rezumat instrument).

Va apărea caseta de dialog Instrument Summary (Rezumat instrument):



The screenshot shows a dialog box titled 'Instrument Summary' with a toolbar at the top containing various icons and a 'Show: All Blocks' dropdown menu. Below the toolbar is a table with the following data:

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










At the bottom of the dialog, it says '4 Blocks'.

Sfat: Dacă sistemul detectează doar un singur instrument conectat, secțiunea All Instruments (Toate instrumentele) nu apare în panoul Detected Instruments (Instrumente detectate). Pentru a vizualiza rezumatul instrumentului pentru un singur instrument, selectați View > Instrument Summary (Vizualizare > Rezumat instrument).

Comenzile barei de instrumente Instrument Summary (Rezumat instrument)

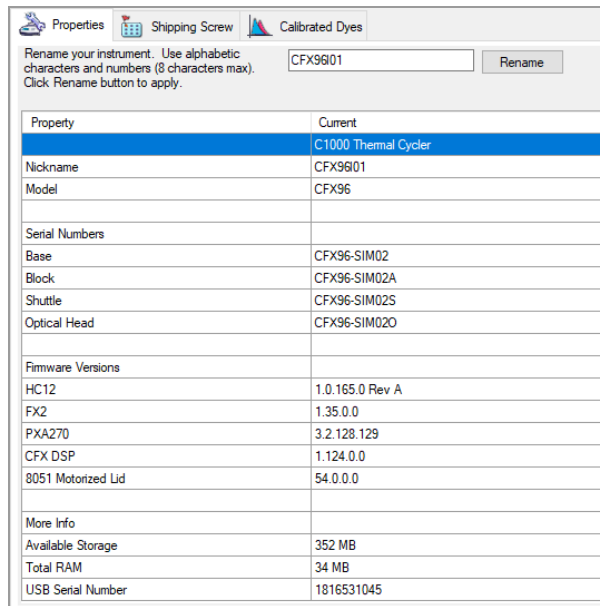
Tabelul 10 listează comenzile și funcțiile de pe bara de instrumente Instrument Summary (Rezumat instrument).

Tabelul 10. Comenzile barei de instrumente Instrument Summary (Rezumat instrument)

Buton	Nume buton	Funcție
	Creați o nouă rulare	Creează o rulare pe blocul selectat deschizând fereastra Run Setup (Configurare rulare).
	Oprește	Oprește rularea curentă pe blocurile selectate.
	Pauză	Realizează o pauză în rulare curentă pe blocurile selectate.
	Reluare	Reia rularea pe blocurile selectate.
	Indicator lumină intermitentă bloc	Face să lumineze intermitent indicatorul LED de pe capacul blocurilor selectate.
	Deschidere capac	Deschide capacul motorizat al blocului selectat.
	Închidere capac	Închide capacul motorizat al blocului selectat.
	Ascundere blocuri selectate	Ascunde blocurile selectate din lista Instrument Summary (Rezumat instrument)
	Afișare toate blocurile	Afișează blocurile selectate din lista Instrument Summary (Rezumat instrument)
Show: <input type="text" value="All Blocks"/>	Show (Afișare)	Selecționați ce blocuri vor fi afișate în listă. Selecționați una dintre opțiuni pentru a afișa toate blocurile detectate, toate blocurile inactive, toate blocurile care rulează cu utilizatorul curent sau toate blocurile care rulează

Vizualizarea proprietăților unui instrument

Din panoul Detected Instruments (Instrumente detectate) puteți vedea detalii despre un instrument selectat, inclusiv proprietățile acestuia, starea șurubului de expediere aferent și o listă a coloranților săi calibrați (fluorofori).



Pentru vizualizarea proprietăților instrumentului

- ▶ În panoul Detected Instruments (Instrumente detectate), faceți clic dreapta pe instrumentul țintă și selectați Properties (Proprietăți) în meniul care apare.

Fila Properties (Proprietăți)

Fila Properties (Proprietăți) prezintă detaliile tehnice privind instrumentul selectat, inclusiv modelul, seriile componentelor și versiunile de firmware. Denumirea implicită a instrumentului (seria acestuia) apare în multe locuri, inclusiv în panoul Detected Instruments (Instrumente detectate) și pe bara de antet a casetei de dialog Instrument Properties (Proprietăți instrument). Puteți redenumi instrumentul pentru a-l identifica mai simplu.

Pentru a redenumi un instrument

- ▶ În fila Instrument Properties (Proprietăți instrument), introduceți un nume în caseta Rename (Redenumire) în partea de sus a filei Properties (Proprietăți) și faceți clic pe Rename (Redenumire).

Denumirea nouă apare pe rândul Nickname (Alias) în fila Properties (Proprietăți), precum și pe bara de antet Instrument Properties (Proprietăți instrument) și în panoul Detected Instruments (Instrumente detectate).

Fila Shipping Screw (Șurub de expediere)

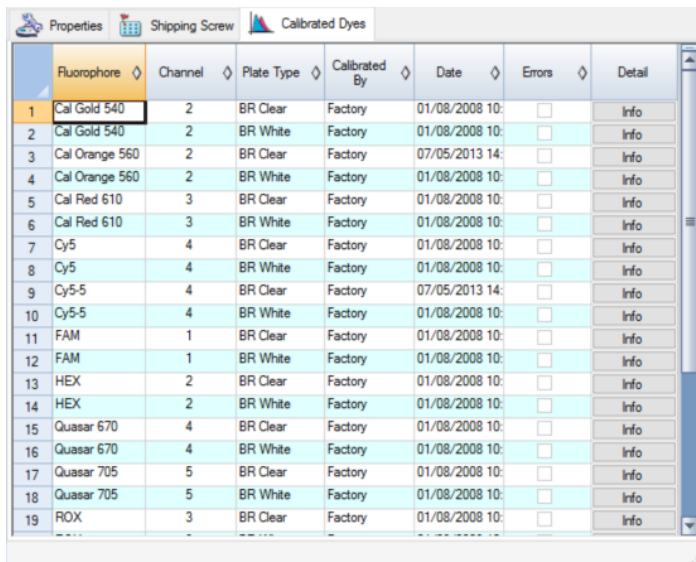
Fila Shipping Screw (Șurub de expediere) afișează starea actuală a șurubului de expediere pentru instrumentul selectat (Removed (Înlăturat) sau (Installed) (Instalat)). Fila include de asemenea instrucțiuni pentru instalarea sau înlăturarea șurubului roșu de transport.

Sfat: Dacă software-ul detectează șurubul de expediere, caseta de dialog Instrument Properties (Proprietăți instrument) afișează automat fila Shipping Screw (Șurub de expediere). Urmați instrucțiunile pentru a înlătura șurubul.

Observație: Trebuie să înlăturați șurubul de expediere înainte de a putea utiliza instrumentul. Pentru mai multe informații, consultați [Înlăturarea șurubului de expediere de la pagina 30](#).

Fila Calibrated Dyes (Coloranți calibrați)

Fila Calibrated Dyes (Coloranți calibrați) afișează fluoroforii și plăcile calibrate pentru instrumentul selectat.



	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

Pentru a vedea informații detaliate despre o calibrare, faceți clic pe butonul Info (Informații) din coloana Detail (Detalii).

Înainte de a începe

Setarea preferințelor utilizatorului

Sfat: Nu este obligatoriu să realizați aceste acțiuni pentru a utiliza CFX Manager Dx software. Puteți omite fără probleme această secțiune sau puteți realiza aceste acțiuni în orice moment.

În CFX Manager Dx, vă puteți personaliza mediul de lucru. Dacă administratorul dumneavoastră a creat utilizatori pentru software, fiecare utilizator își poate personaliza propriul mediu de lucru. Dacă administratorul dumneavoastră nu a creat utilizatori, modificările preferințelor se aplică tuturor utilizatorilor autentificați în CFX Manager Dx. (Pentru informații privind crearea de utilizatori CFX Manager Dx, consultați [Anexa B, Gestionarea utilizatorilor și rolurilor CFX Manager Dx.](#))

De exemplu, în meniul Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator), puteți face următoarele:

- Configura notificarea prin e-mail pentru finalizarea rulării.
- Modifica setările implicite pentru
 - Locul în care se salvează fișierele
 - Fișierele de configurare a rulării
 - Prefixul de denumire a fișierelor
- Seta parametrii impliciți pe care să-i utilizați când creați un nou protocol și o placă nouă.
- Seta parametrii impliciți pentru analiza datelor și expresia genică.
- Personaliza parametrii impliciți de control al calității.
- Personaliza parametrii de exportare a datelor.

În meniul Tools (Instrumente), puteți face următoarele lucruri:

- Crea un amestec principal de reacție.
- Calibra coloranți pentru un anumit instrument.

Observație: Amestecul de reacție PCR și calibrarea coloranților sunt disponibile oricărui utilizator care se autentifică în CFX Manager Dx.

Această secțiune vă explică în detaliu cum să realizați aceste acțiuni.

Configurarea notificării prin e-mail

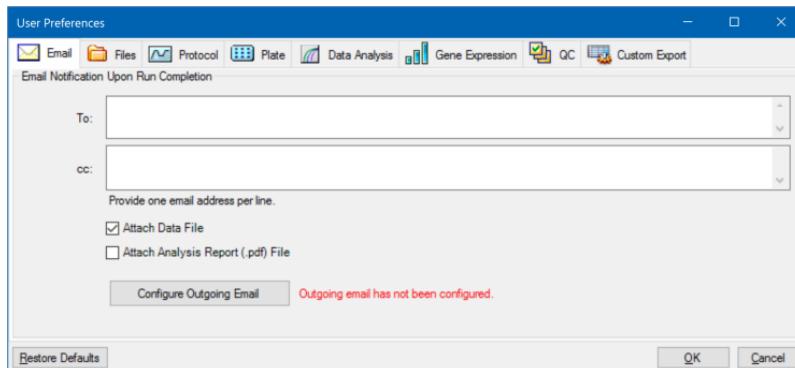
Puteți conecta CFX Manager Dx la serverul dumneavoastră de e-mail de ieșire pentru a trimite o notificare prin e-mail privind finalizarea unei rulări unei liste de utilizatori. Puteți, de asemenea, alege să atașați un fișier de date și un raport de analiză listei de utilizatori. Pentru a stabili conexiunea dintre CFX Manager Dx și serverul dumneavoastră SMTP, consultați [Conectarea CFX Manager Dx la un server SMTP de la pagina 62](#).

Observație: Capacitatea unui utilizator de a accesa funcțiile de configurare a e-mailului depinde de grupul utilizatorului și permisiunile atribuite de administrator. Pentru detalii privind gestionarea utilizatorilor și a rolurilor acestora, consultați [Gestionarea utilizatorilor de la pagina 257](#).

Pentru a configura notificările prin e-mail

1. Selectați Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator) pentru a deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).

Va apărea caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), afișând fila Email (E-mail).



Observație: Veți fi informat dacă sistemul detectează că nu ați configurat un server SMTP valid pentru CFX Manager Dx. Faceți clic pe Configure Outgoing Email (Configurare e-mail de ieșire) pentru a deschide caseta de dialog Options (Opțiuni) și a configura serverul SMTP de e-mail. Pentru mai multe informații, consultați [Conectarea CFX Manager Dx la un server SMTP de la pagina 62](#).

2. În caseta de text To (Destinatar), tastați adresa de e-mail a fiecărei persoane pe care intenționați să o informați despre finalizarea rulării. Toți destinatarii vor primi un e-mail după finalizarea rulării.

Observație: Trebuie să introduceți fiecare adresă de e-mail pe un rând separat. Apăsați Enter sau Return după fiecare adresă.

3. (Opțional) În caseta de text cc, tastați adresa de e-mail a fiecărui destinatar căruia intenționați să-i trimiteți o copie a fiecărei notificări prin e-mail.

4. (Opțional) Implicit, toți destinatarii primesc o copie a fișierului de date sub formă de atașare. Debifați caseta de selectare dacă nu doriți să atașați o copie a fișierului de date.
5. (Opțional) Selectați Attach Analysis Report (Atașare raport analiză) pentru a atașa un PDF al raportului de analiză la e-mail.
6. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).

Pentru a edita adresa de e-mail a unui destinatar

- Modificați adresa de e-mail după cum este necesar și faceți clic pe OK.

Pentru a șterge un destinatar de e-mail

1. Selectați destinatarul e-mailului și apăsați tasta Delete (Ștergere).
2. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

Important: Făcând clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), resetați toate preferințele din toate filele la setările de fabrică inițiale. Procedați cu atenție când faceți clic pe acest buton.

Conectarea CFX Manager Dx la un server SMTP

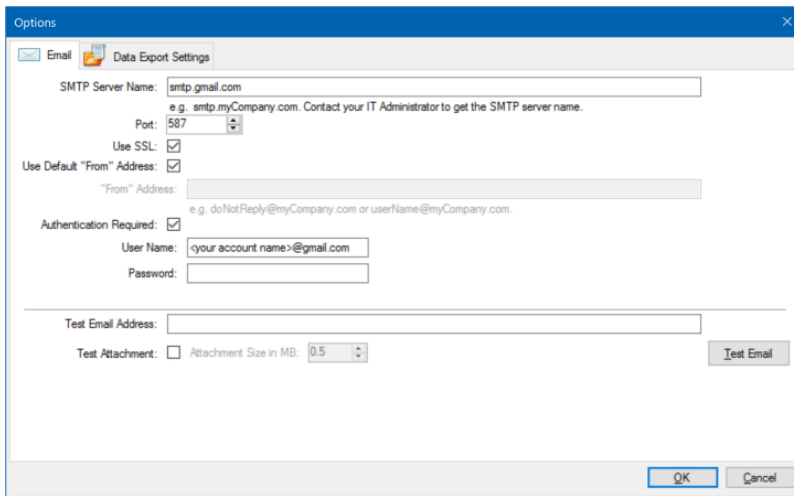
Important: Unii furnizori de servicii comerciale de e-mail (precum Yahoo! și Gmail) și-au crescut nivelul de securitate a e-mailului. Dacă utilizați aceste conturi, trebuie să activați setarea **Allow less secure apps (Permiteți aplicațiile mai puțin sigure)** în setările contului respectiv, pentru a permite CFX Manager Dx să trimită e-mailuri. Consultați informațiile de securitate ale furnizorului dumneavoastră de servicii e-mail pentru informații suplimentare.

Trebuie să stabiliți o conexiune de la CFX Manager Dx la serverul dumneavoastră de e-mail înainte ca software-ul să poată trimite notificări prin e-mail.

Pentru a conecta CFX Manager Dx la un server de e-mail

1. Urmați una dintre procedurile următoare:
 - Selectați User > User Preferences (Utilizator > Preferințe utilizator) și faceți clic pe Configure Outgoing Email (Configurare e-mail de ieșire) în fila Email (E-mail).
 - Selectați Tools > Options (Instrumente > Opțiuni).

Apare caseta de dialog Options (Opțiuni), care afișează fila Email (E-mail).



2. Introduceți următoarele informații pentru compania dumneavoastră:

- **SMTP Server Name (Denumire server SMTP)** – numele serverului pentru e-mailuri de ieșire al companiei dumneavoastră.
- **Port** – numărul portului aferent serverului dumneavoastră SMTP. De obicei, acesta este 25.
- **Use SSL (Utilizare SSL)** – opțiunea Secure Sockets Layer (SSL). Unele servere SMTP necesită această setare. Dacă nu este necesară în cadrul companiei dumneavoastră, debifați respectiva casetă de selectare.
- **Use Default "From" Address (Utilizare adresă „De la” implicită)** – numele serverului de e-mail al companiei dumneavoastră. Unele servere SMTP impun ca toate e-mailurile trimise să aibă o adresă „de la” dintr-un anumit domeniu, de exemplu, nume@CompaniaDumneavoastră.com. În acest caz, debifați această casetă de selectare și introduceți o adresă de e-mail validă.
- **Authentication Required (Autentificare necesară)** – dacă instituția dumneavoastră impune autentificarea cu un cont, asigurați-vă că această casetă de selectare este bifată.
- **User Name (Nume utilizator)** – numele contului autentificat. Este necesar numai dacă se selectează Authentication Required (Autentificare necesară).
- **Password (Parolă)** – parola pentru contul autentificat. Este necesară numai dacă se selectează Authentication Required (Autentificare necesară).

3. Pentru a vă asigura că setările serverului SMTP sunt corecte, introduceți o adresă de e-mail validă în caseta de text Test Email Address (Testare adresă de e-mail) și faceți clic pe Test Email (Testare e-mail).

Observație: Unele servere SMTP nu permit utilizarea de atașări, iar altele permit numai utilizarea de atașări până la o dimensiune maximă specifică. Dacă intenționați să trimiteți prin

e-mail fișiere de date și/sau rapoarte utilizând CFX Manager Dx, selectați Test Attachment (Testare atașament) și setați Attachment Size in MB (Dimensiune atașament în MB) la minimum 5 megabytes (MB).

4. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

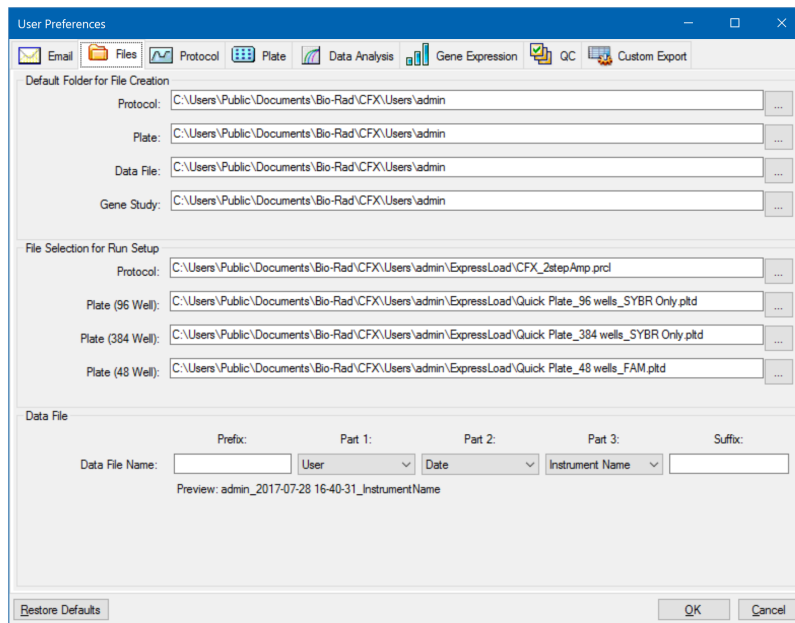
Schimbarea setărilor implicite ale fișierelor

În fila Files (Fișiere) din caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), puteți schimba următoarele:

- Locația implicită în care se salvează fișierele CFX Manager Dx
- Fișierele implicite pentru configurarea rulării
- Parametrii implicați de denumire a fișierelor

Pentru a schimba setările implicite ale fișierelor

1. Selectați Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator) pentru a deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).
2. În caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), selectați fila Files (Fișiere).



3. În secțiunea Default Folder for File Creation (Folder implicit pentru crearea fișierelor), navigați la și selectați un folder implicit în care doriți să salvați noile fișiere. Puteți selecta un loc diferit pentru fiecare tip de fișier:

- Protocol
 - Placă
 - Fișier de date
 - Studiu genic
4. În secțiunea File Selection for Run Setup (Selectare fișier pentru configurarea rulării), navigați la și selectați protocolul țintă și fișierele de placă ce vor apărea când deschideți fereastra Experiment Setup (Configurare experiment).
 5. În secțiunea Data File (Fișier de date), definiți prefixul și/sau sufixul pentru fișierele de date. Pentru orice parte, selectați o nouă valoare din lista sa verticală. Puteți, de asemenea, furniza valori personalizate pentru prefix și sufix în casetele de text Prefix și Suffix.

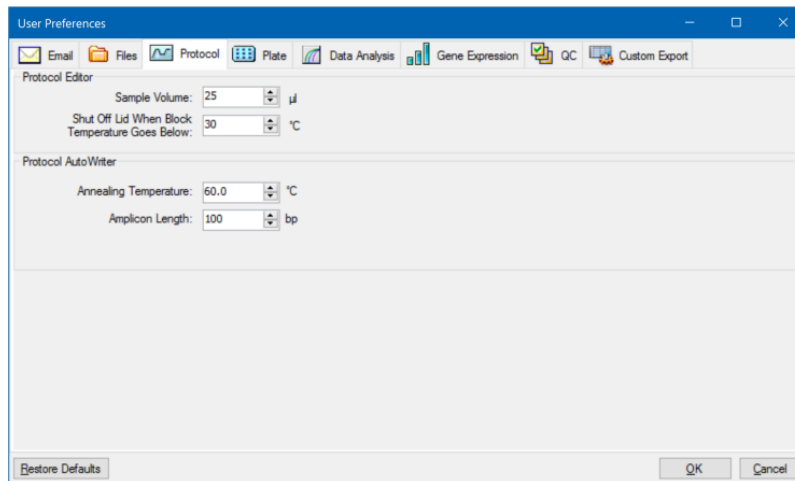
CFX Manager Dx afișează o previzualizare a numelui fișierului sub casetele de selectare.
 6. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

Important: Făcând clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), resetați toate preferințele din toate filele la setările de fabrică inițiale. Procedați cu atenție când faceți clic pe acest buton.

Setarea parametrilor de protocol implicați

Pentru a seta parametri de protocol implicați pentru Protocol Editor (Editor Protocol) și Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol)

1. Selectați Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator) pentru a deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).
2. În caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), selectați fila Protocol.



3. În secțiunea Protocol Editor (Editor Protocol), specificați valori pentru următoarele setări care apar în Protocol Editor (Editor Protocol):
 - **Sample volume (Volumul probei)** – volumul fiecărei probe din alveole (în µl).
 - **Lid Shutoff temperature (Temperatură oprire capac)** – temperatura în °C la care încălzitorul capacului se oprește în timpul unei rulări.
4. În secțiunea Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol), specificați valori pentru următoarele setări care apar în Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol):
 - **Annealing temperature (Temperatură de atașare)** – temperatura în °C pentru experimente care utilizează polimerază ADN iProof, polimerază ADN iTaq sau alte polimeraze.
 - **Amplicon length (Lungime amplicon)** – lungimea ampliconului în bp.
5. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

Important: Făcând clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), resetați toate preferințele din toate filele la setările de fabrică inițiale. Procedați cu atenție când faceți clic pe acest buton.

Setarea parametrilor de placă impliciți

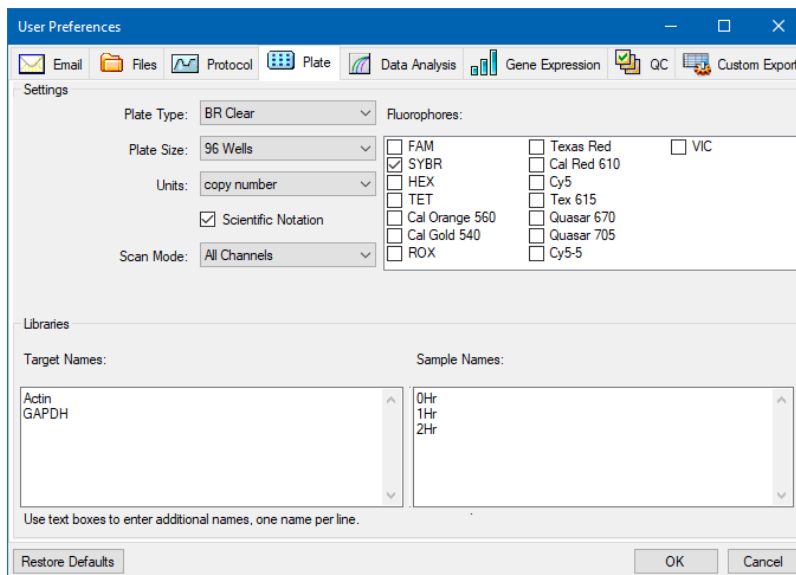
Schimbările pe care le faceți în fila Plate (Placă) sunt disponibile tuturor utilizatorilor software-ului. Schimbările pe care le faceți în timpul configurării plăcii sunt disponibile utilizatorilor după ce salvați și închideți fișierul de placă.

În caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator) puteți efectua următoarele:

- Setati parametrii de placă impliciți.
- Adăugați noi denumiri pentru țintă și probă la bibliotecile lor respective.
- Ștergeți denumiri pentru țintă și probă din bibliotecile lor respective.

Pentru a seta parametrii de placă impliciți

1. Selectați Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator) pentru a deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).
2. În caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), selectați fila Plate (Placă).



3. Specificați valori pentru următoarele setări pentru un fișier de placă nou. Aceste valori apare în fereastra Plate Editor (Editor placă):

- **Plate type (Tip de placă)**

- **Dimensiune placă**

- **Units (Unități)** – concentrația matricei de pornire pentru alveolele care conțin standarde.

CFX Manager Dx utilizează aceste unități pentru a crea o curbă standard în fila Data Analysis Quantification (Cuantificare analiză date).

- **Scientific notation (Notație științifică)** – când este selectată, CFX Manager Dx afișează unitățile de concentrație în notația științifică.

- **Scan mode (Mod scanare)** – numărul sau tipul de canale de scanat în timpul unei rulări.

- **Fluorophores (Fluorofori)** – fluoroforii implicați care apar în soluțiile de control Plate Editor (Editor placă) pentru încărcarea godeului.

- **Libraries (Biblioteci)** – denumirile pentru țintă și probă pe care le utilizați de obicei în experimentele dumneavoastră:

- Target Names (Denumiri ținte)** – denumirile genelor și secvențelor țintă.

- Sample Names (Denumiri probe)** – denumirile pentru probele experimentului sau o caracteristică identificatoare pentru mostre (de exemplu, Mouse1, Mouse2, Mouse3 – Șoarece1, Șoarece2, Șoarece3).

4. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

Pentru a adăuga o nouă denumire de țintă sau probă

- ▶ În caseta de bibliotecă corespunzătoare, introduceți numele pentru țintă sau probă și faceți clic pe OK.

Pentru a șterge o denumire de țintă sau probă

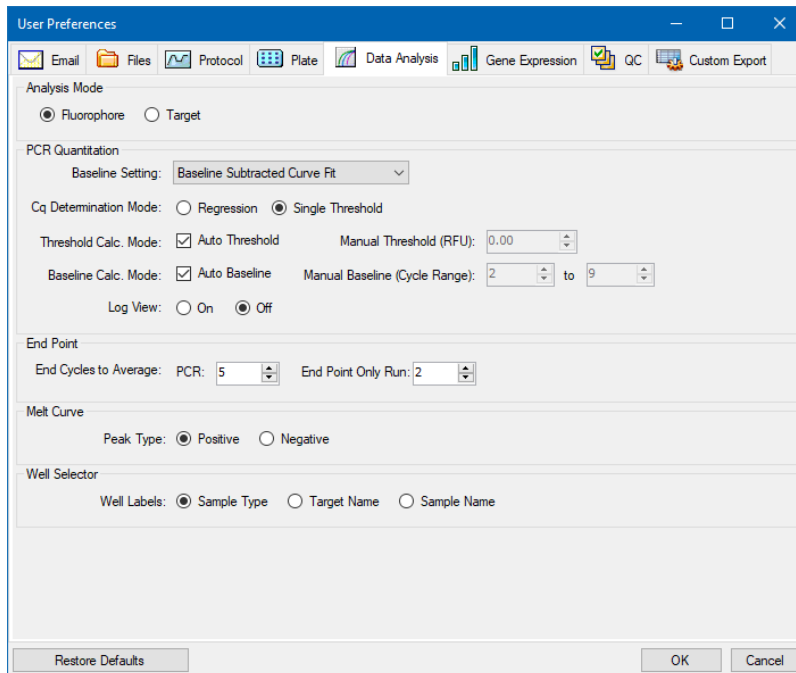
- ▶ În caseta de bibliotecă corespunzătoare, selectați numele și apăsați tasta Delete (Ștergere), apoi faceți clic pe OK.

Important: Numele pe care le înlăturați din bibliotecă sunt eliminate automat din software și nu mai sunt disponibile utilizatorilor. Pentru a restaura denumirile implicite CFX Manager Dx, faceți clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite). Făcând clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), resetați toate preferințele din toate filele la setările de fabrică inițiale. Procedați cu atenție la ștergerea denumirilor CFX Manager Dx implicite și când faceți clic pe acest buton.

Setarea parametrilor impliciti pentru analiza de date

Pentru a configura parametrii impliciti ai analizei datelor

1. Selectați Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator) pentru a deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).
2. În caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), selectați fila Data Analysis (Analiză date).



3. În secțiunea Analysis Mode (Mod Analiză), selectați modul în care să analizați datele (fie Fluorophore (Fluorofor), fie Target (Țintă)).
4. În secțiunea PCR Quantitation (Cuantificare PCR), configurați parametrii impliciti pentru următoarele opțiuni:
 - **Baseline Setting (Setarea Nivel inițial)** – metoda de referință pentru modul de analiză.
 - **Cq Determination Mode (Mod Determinare Cq)** – modul în care sunt calculate valorile C_q pentru fiecare urmă de fluorescență (fiecare regresie sau prag unic).

- **Threshold Calc. (Calculare Prag) Mode (Mod calc. prag)** – cantitatea țintei la momentul final.

Opțiunea implicită este Auto. Adică software-ul calculează automat ținta la momentul final. Pentru a configura un anumit prag, debifați caseta de selectare Auto și introduceți valoarea de la momentul final, calculată în unități de fluorescență relativă (sau RFU). Valoarea maximă este de 65.000,00 RFU. Fișierele de date pentru rulările ulterioare vor folosi această setare de prag.

- **Baseline Calc. Mode (Mod calc. nivel inițial)** – nivelul inițial pentru toate urmele.

Opțiunea implicită este Auto. Adică software-ul calculează automat nivelul inițial pentru toate urmele. Pentru a configura un anumit nivel inițial, debifați caseta de dialog Auto și introduceți valorile minime și maxime pentru intervalul de cicluri (de la 1 la 9999). Fișierele de date pentru rulările ulterioare vor folosi acest interval de cicluri.

- **Log View (Vizualizare log)** – determină modul în care software-ul afișează datele de amplificare:

- On (Activat)** – datele amplificării sunt afișate într-un grafic semilogaritmic.
- Off (Dezactivat)** – (implicit) datele amplificării sunt afișate într-un grafic liniar.

5. În secțiunea End Point (Momentul final), selectați numărul de cicluri finale pentru care veți calcula media atunci când faceți calculele pentru momentul final.

- **PCR** – numărul de cicluri finale pentru care veți calcula media datelor de cuantificare (valoarea implicită este 5).
- **End Point Only run (Rulare doar momentul final)** – numărul de cicluri finale pentru care veți calcula media datelor de la momentul final (valoarea implicită este 2).

6. În secțiunea Melt Curve (Curbă de topire), selectați tipul vârfului de detectat (pozitiv sau negativ).

7. În secțiunea Well Selector (Selector alveole), selectați modul de afișare a etichetelor alveolelor (după tipul probei, denumirea țintei sau denumirea probei).

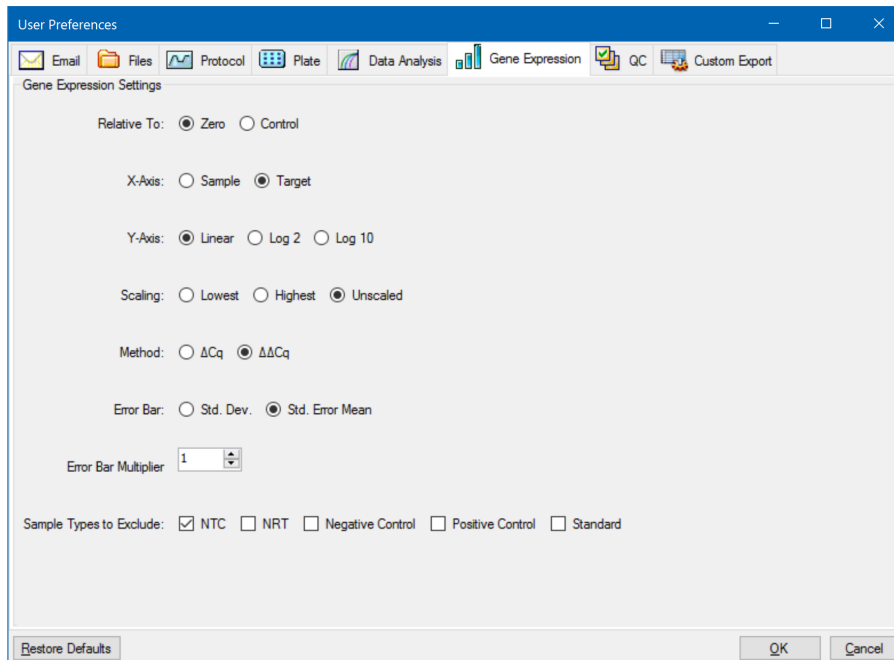
8. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

Important: Făcând clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), resetați toate preferințele din toate filele la setările de fabrică inițiale. Procedați cu atenție când faceți clic pe acest buton.

Setarea parametrilor impliciti pentru fișierul de date de expresie genică

Pentru a seta parametrii impliciti pentru un nou fișier de date de expresie genică

1. Selectați Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator) pentru a deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).
2. În caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), selectați fila Gene Expression (Expresie genică).



3. Specificați valorile pentru următoarele setări:

- **Relative to (Relativ la)** – generează un grafic pentru datele expresiei genice relativ la o proba control (începând de la 1) sau relativ la zero:
 - **Zero** – software-ul ignoră proba control. Aceasta este valoarea implicită atunci când nu este alocată nicio probă de control în fereastra Experiment Settings (Setări experiment).
 - **Control** – software-ul calculează datele relativ la proba de control alocată în fereastra Experiment Setup (Configurare experiment).
- **X-axis (Axa x)** – reprezintă grafic proba sau ținta pe axa x.
- **Y-axis (Axa y)** – reprezintă grafic scara liniară, log2 sau log10 pe axa y.

- **Scaling (Scalare)** – opțiunea de scalare pentru grafic (opțiunea implicită este Unscaled (Nescalat)):
 - Highest (Cel mai ridicat)** – software-ul scalează graficul la punctul de date cel mai ridicat.
 - Lowest (Cel mai scăzut)** – software-ul scalează graficul către punctul de date cel mai scăzut.
 - Unscaled (Nescalat)** – software-ul prezintă datele nescalate (fără scalare) în grafic.
- **Mode (Mod)** – modul de analiză, fie cantitate relativă (ΔC_q) fie expresie normalizată ($\Delta\Delta C_q$).
- **Error Bar (Bară de eroare)** – variabilitatea datelor s-a prezentat fie ca deviația standard (Std. Dev.), fie ca eroarea standard a mediei (Std. Error Mean).
- **Error Bar Multiplier (Multiplicator bară de eroare)** – multiplicatorul deviației standard utilizat pentru a desena barele de eroare (valoarea implicită este 1).

Puteți mări multiplicatorul la 2 sau 3.
- **Sample Types to Exclude (Tipuri de probe de exclus)** – aceleași tipuri de probe de exclus din analiză.

Puteți selecta una sau mai multe probe pentru excludere din analiză. Pentru a exclude toate tipurile de probe, debifați casetele de selectare pentru orice tipuri de probe selectate.

4. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

Important: Făcând clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), resetați toate preferințele din toate fișele la setările de fabrică inițiale. Procedați cu atenție când faceți clic pe acest buton.

Personalizarea regulilor de control al calității

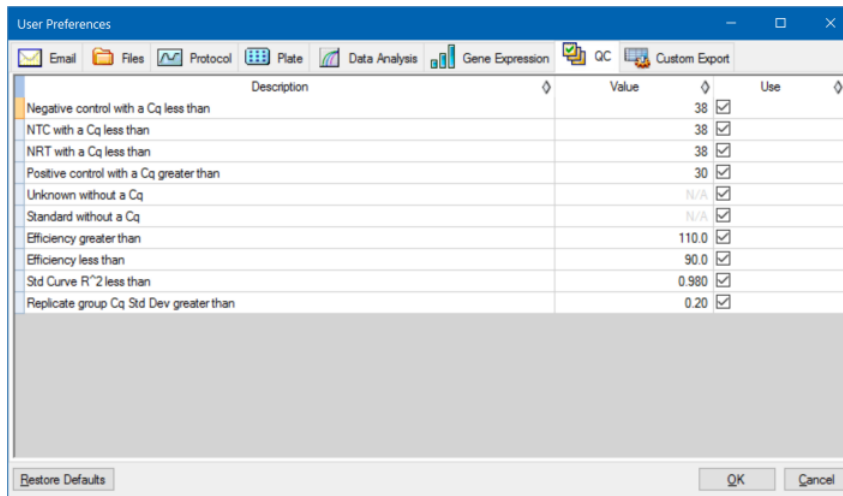
În CFX Manager Dx, puteți seta reguli pentru controlul calității, care sunt aplicate datelor din fereastra Data Analysis (Analiză date). Software-ul validează datele față de regulile setate de dumneavoastră

Observație: Implicit, toate regulile de control al calității sunt activate.

Sfat: Puteți exclude cu ușurință alveolele care nu îndeplinesc un parametru CC în modulul CC al ferestrei Data Analysis (Analiză date).

Pentru a personaliza regulile de control al calității

1. Selectați Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator) pentru a deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).
2. În caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), selectați fila QC (CC).



unde:

- **NTC** – control fără țintă de amplificare
 - **NRT** – control fără transcriptaza inversă
 - **Efficiency (Eficiență)** – eficiența reacțiilor
 - **Std Curve R² (R² curbă standard)** – valoarea R pătrat pentru curba standard
 - **Replicate group Cq Std Dev (Deviație standard Cq pentru grup de replicate)** – deviația standard calculată pentru fiecare grup de replicate
3. Pentru fiecare regulă QC (CC), urmați una dintre procedurile următoare:
 - Pentru a utiliza valoarea implicită, nu faceți nimic.
 - Pentru a modifica valoarea, faceți clic pe caseta de text Value (Valoare) aferentă, introduceți o nouă valoare și apăsați tasta Enter.
 - Pentru a dezactiva regula, debifați caseta de selectare Use (Utilizare) aferentă.
 4. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

Important: Făcând clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), resetați toate preferințele din toate filele la setările de fabrică inițiale. Procedați cu atenție când faceți clic pe acest buton.

Personalizarea parametrilor de exportare a datelor

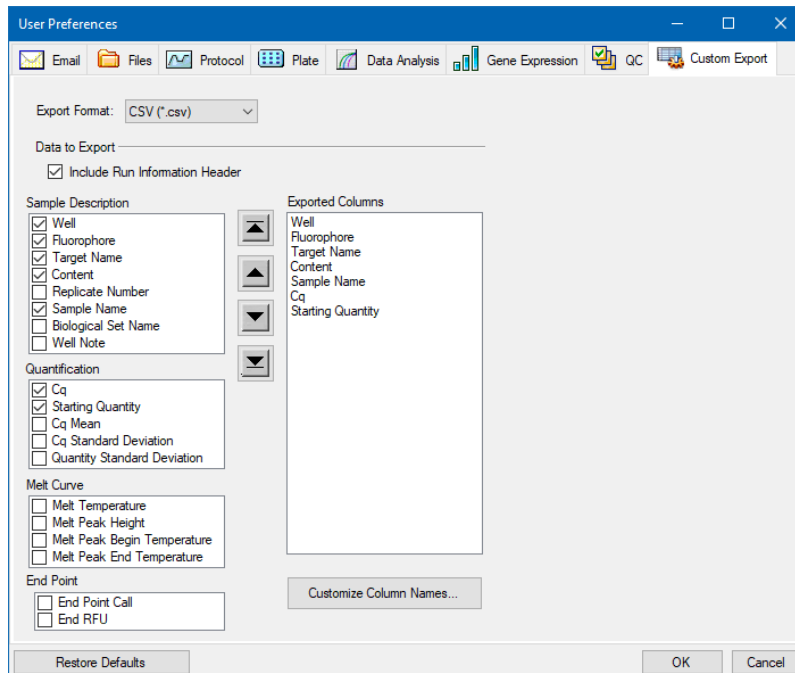
Puteți exporta datele CFX Manager Dx în următoarele formate:

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

Puteți specifica tipul de date de exportat și personaliza ieșirea datelor exportate.

Pentru a personaliza parametrii de exportare a datelor

1. Selectați Users > User Preferences (Utilizatori > Preferințe utilizator) pentru a deschide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).
2. În caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), selectați fila Custom Export (Exportare particularizată).



3. În lista verticală Export Format (Format de exportare), selectați un format în care să exportați datele.
4. În secțiunea Data to Export (Date de exportat), bifați sau debifați casetele de selectare pentru tipul de date de exportat. Elementele selectate apar în caseta listă Exported Columns (Coloane exportate).

Observație: Implicit, informațiile rulării sunt incluse în antet. Debifați această casetă de selectare dacă nu doriți să fie incluse informațiile de rulare.

5. Puteți modifica ordinea de pe afișajul de ieșire a elementelor selectate.

În caseta listă Exported Columns (Coloane exportate), evidențiați elementul, apoi faceți clic pe butoanele săgeată din stânga listei pentru a-l deplasa în sus sau în jos.

6. Opțional, puteți modifica numele coloanelor de ieșire ale elementelor selectate:

- a. Faceți clic pe Customize Column Names (Personalizare nume coloană).

Va apărea caseta de dialog Column Name Customizer (Instrument de particularizare nume coloană).

- b. Pentru fiecare nume implicit de coloană pe care doriți să-l schimbați, tastați un nume nou în câmpul Custom Name (Nume personalizat) corespunzător.

- c. Urmați una dintre procedurile următoare:

- Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a reveni la fila Custom Export (Exportare particularizată). Noul nume apare în paranteze, lângă coloana implicită din caseta listă Exported Columns (Coloane exportate).
- Faceți clic pe Cancel (Anulare) pentru a anula modificările și a reveni la fila Custom Export (Exportare particularizată).

7. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog.

Important: Făcând clic pe Restore Defaults (Restabilire valori implicite) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), resetați toate preferințele din toate filele la setările de fabrică inițiale. Procedați cu atenție când faceți clic pe acest buton.

Crearea unui amestec principal de reacție

Folosind Master Mix Calculator (Calculator Amestec principal) din CFX Manager Dx, puteți calcula cu ușurință volumul necesar al fiecărei componente a amestecului principal. Puteți imprima tabelul de calcul al amestecului principal la imprimanta dumneavoastră implicită și puteți salva calculele pentru fiecare țintă în vederea utilizării ulterioare.

Pentru a crea un amestec principal de reacție cu ajutorul Master Mix Calculator (Calculador Amestec principal)

1. Pentru a deschide Master Mix Calculator (Calculador Amestec principal), urmați una dintre procedurile următoare:

- Selectați Tools > Master Mix Calculator (Instrumente > Calculador Amestec principal).
- Faceți clic pe Master Mix Calculator (Calculador Amestec principal) de pe bara de instrumente.

Va apărea Master Mix Calculator (Calculador Amestec principal).

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

2. În secțiunea Reaction (Reacție), selectați o metodă de detecție:

- SYBR® Green/EvaGreen
- Probes (Sonde)

3. Pentru a crea o țintă nouă, în secțiunea Target (Țintă) faceți clic pe Create New (Creare nou). În lista verticală de ținte va apărea o nouă denumire de țintă.
4. (Opțional) Pentru a schimba denumirea țintei implicite:
 - a. Evidențiați denumirea țintei în lista verticală a țintei.
 - b. Tastați o nouă denumire a țintei în caseta Target (Țintă).
 - c. Apăsăți tasta Enter.
5. Ajustați concentrațiile inițiale și finale pentru primerii de redirectionare și inversare și orice sonde.
6. În secțiunea Master Mix Setup (Configurare Amestec principal), ajustați valorile pentru
 - Numărul de reacții de rulat
 - Volumul reacției per alveolă
 - Volumul șablonului per alveolă
 - Concentrație amestec de reacție per alveolă
 - Volumul reacției în exces per alveolă
7. (Opțional) Urmați pașii 2-6 pentru câte ținte este necesar.
8. În secțiunea Choose Target to Calculate (Alegere țintă de calculat), selectați ținta de calculat.

Sfat: Puteți calcula doar una sau mai multe sau toate țintele în același timp.

Volumele calculate ale componentelor necesare pentru fiecare țintă selectată apar în tabelul amestecului principal.
9. Faceți clic pe Set as Default (Stabilire ca implicit) pentru a seta cantitățile în secțiunile Target (Țintă) și Master Mix Setup (Configurare Amestec principal) drept noi valori implicite.
10. Faceți clic pe OK pentru a salva conținutul casetei de dialog Master Mix Calculator (Calculator Amestec principal).

Pentru a imprima tabelul de calcul al amestecului principal

- ▶ Pentru a imprima tabelul de calcul al amestecului principal, faceți clic pe Print (Imprimare).

Tabelul de calcul se imprimă la imprimanta dumneavoastră implicită.

Pentru a salva tabelul de calcul al amestecului principal ca fișier PDF

- ▶ Schimbați imprimanta implicită cu un driver PDF și faceți clic pe Print (Imprimare) în Master Mix Calculator (Calculator Amestec principal).

Pentru a șterge țintele

- ▶ Selectați ținta utilizând lista verticală de ținte și făcând clic pe Remove (Eliminare).

Important: Ștergerea unei ținte din lista de ținte o șterge și din toate calculele amestecului principal în care este folosită. Procedați cu atenție când ștergeți o țintă.

Calibrarea de coloranți noi

Sistemele CFX96 Dx sunt calibrate din fabrică pentru fluoroforii utilizați în mod obișnuit pe plăcile cu alveole albe și transparente. [Tabelul 11](#) afișează fluoroforii și canalul pentru care este calibrat fiecare instrument.

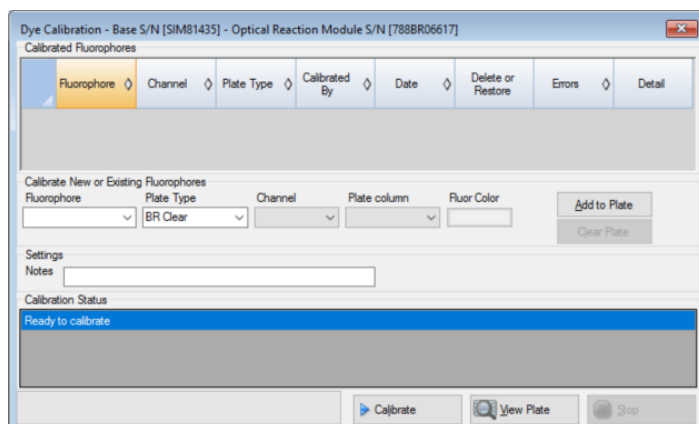
Observație: Sistemele CFX96 includ, de asemenea, un canal dedicat experimentelor chimice FRET. Acest canal nu necesită calibrare pentru coloranți specifici.

Tabelul 11. Fluorofori și canale calibrate din fabrică

Fluorofori	Canal	Excitație, nm	Dectție, 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

Pentru a calibra coloranți noi pentru sistemele CFX

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați un instrument țintă în panoul Detected Instruments (Instrumente detectate).
2. Selectați Tools > Calibration Wizard (Instrumente > Expert calibrare) pentru a deschide expertul Dye Calibration (Calibrare coloranți).



Fluoroforii calibrați deja pentru instrumentul țintă apar în tabelul Calibrated Fluorophores (Fluorofori calibrați).

3. În secțiunea Calibrate New or Existing Fluorophores (Calibrare fluorofori noi sau existenți), selectați fluoroforul de calibrat din lista verticală.

Dacă denumirea fluoroforului nu este inclusă în listă, introduceți denumirea în caseta de text pentru a o adăuga în listă.
4. Selectați tipul de placă pentru fluorofor.

Dacă tipul de placă nu este inclus în listă, introduceți denumirea în caseta de text pentru a o adăuga în listă.
5. Selectați un canal pentru fluorofor.
6. Selectați o coloană de placă pentru fluorofor.
7. (Opțional) Scrieți o culoare care doriți să fie asociată cu fluoroforul.
8. Faceți clic pe Add to Plate (Adăugare la placă) pentru a adăuga fluoroforul.
9. (Opțional) Repetați pașii 3-8 pentru a adăuga fiecare fluorofor pe care doriți să îl calibrați pentru placă.
10. Când finalizați adăugarea fluoroforilor, faceți clic pe View Plate (Vizualizare placă) pentru a deschide fereastra Pure Dye Plate Display (Afișare placă coloranți puri).

Utilizați această fereastră ca ghid pentru încărcarea coloranților pe placă.
11. Pregătiți o placă cu 96 alveole pentru calibrarea coloranților:
 - a. Pipetați soluție de colorant în fiecare alveolă, respectând tiparul din Pure Dye Plate Display (Afișare placă coloranți puri).
 - b. Pentru fiecare fluorofor, umpleți patru alveole cu 50 μl (placă cu 96 de alveole) de soluție de colorant 300 nM. Veți observa că cel puțin jumătate din placă conține alveole goale.
 - c. Sigilați placa folosind metoda de sigilare pe care o veți utiliza în cadrul experimentului.
12. Poziționați placa de calibrare în bloc și închideți capacul.
13. În expertul Dye Calibration (Calibrare coloranți), faceți clic pe Calibrate (Calibrare) și pe OK pentru a confirma că placa se află în bloc.
14. Când CFX Manager Dx software finalizează rularea de calibrare, apare o casetă de dialog. Faceți clic pe Yes (Da) pentru a finaliza calibrarea și a deschide Dye Calibration Viewer (Vizualizator de calibrare coloranți).
15. Faceți clic pe OK pentru a închide fereastra.

Capitolul 6 Crearea de protocoale

Un protocol este un set de pași care sunt executați într-o secvență specifică. În CFX Manager Dx software, toți pașii sunt asociați cu opțiunile de pe instrument. De exemplu, pașii dau instrucțiuni instrumentului să controleze temperatura blocului și a capacului, să aplice o diferență de temperatură pe bloc, să efectueze o citire de placă sau să efectueze o analiză pentru curba de topire. Fiecare opțiune este specificată pentru diferite tipuri de placă și rulare.

CFX Manager Dx furnizează două opțiuni pentru crearea de protocoale: Protocol Editor (Editor Protocol) și Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol).

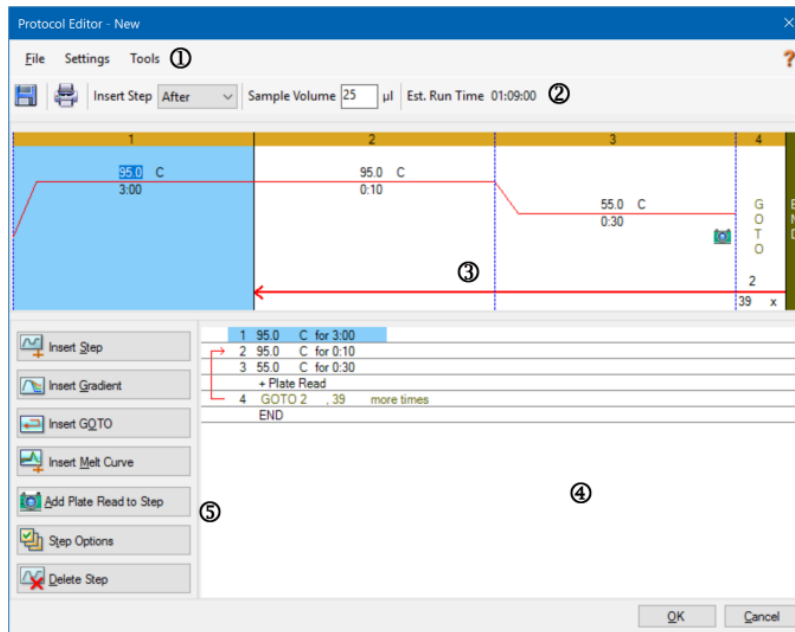
Caracteristica Protocol Editor (Editor Protocol) include următoarele:

- Soluții de control standard pentru protocol, pentru a crea rapid protocoale
- Capacitatea de a calcula rapid un gradient pentru numărul selectat de rânduri
- Capacitatea de a calcula rapid timpul de rulare pentru tipul de placă selectat
- Capacitatea de a edita pași de protocol
- Capacitatea de a salva protocoale pentru reutilizare
- Capacitatea de a imprima protocolul la o imprimantă implicită

Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) generează automat un protocol PCR personalizat cu etapa de activare pentru polimeraza hot-start, denaturare inițială, atașare și pași de elongare, folosind parametrii pe care îi furnizați dumneavoastră. Puteți apoi să vizualizați o reprezentare grafică a protocolului sugerat și să editați, rulați sau salvați protocolul.

Fereastra Protocol Editor (Editor Protocol)

Folosiți fereastra Protocol Editor (Editor Protocol) pentru a crea, deschide, verifica și edita un protocol. Implicit, Protocol Editor (Editor Protocol) deschide un protocol generic în 2 pași în timp real pentru o placă de 96 de alveole.



LEGENDĂ

1. Bara de meniu oferă acces rapid la comenzile de meniu File (Fișier), Settings (Setări) și Tools (Instrumente).
2. Bara de instrumente oferă acces rapid pentru salvarea și imprimarea protocolului, stabilirea punctului de inserare a unui pas, setarea volumului probei și vizualizarea timpului de rulare estimat al protocolului.
3. Panoul principal afișează o reprezentare grafică a protocolului.
4. Panoul de jos afișează schița protocolului.
5. Panoul din stânga afișează comenzile protocolului pe care le puteți adăuga pentru a personaliza protocolul.

Comenzile meniului File (Fișier)

Save (Salvare) – salvează protocolul curent.

Save As (Salvare ca) – salvează protocolul curent cu o denumire nouă sau într-un loc nou.

Close (Închidere) – închide Protocol Editor (Editor Protocol)

Comandă meniu Settings (Setări)

Lid Settings (Setări capac) – deschide caseta de dialog Lid Setting (Setări capac) în care puteți schimba sau seta temperatura capacului.

Comenzile meniului Tools (Instrumente)

Gradient Calculator (Calculator Gradient) – deschide o casetă de dialog din care puteți selecta tipul de bloc pentru un pas de gradient. Opțiunea implicită este 96 de alveole.

Run time Calculator (Calculator timp rulare) – deschide o casetă de dialog din care puteți selecta tipul de placă și modul de scanare pentru a calcula timpul de rulare estimat în fereastra Run Setup (Configurare rulare). Opțiunea implicită este 96 alveole, toate canalele.

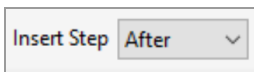
Comenzi bară de instrumente



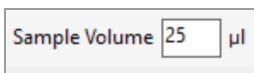
– salvează fișierul de protocol actual.



– imprimă fereastra selectată.



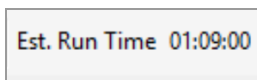
– utilizați această comandă pentru a selecta unde să introduceți pași relativ la pasul selectat în prezent.



– utilizați această comandă pentru a introduce un volum de probă în µl.

Volumele probelor diferă în funcție de tipul de bloc:

- Pentru un bloc de 96 de alveole adânci intervalul este 0-125 µl.
- Pentru un bloc de 96 de alveole intervalul este de 0-50 µl.



– afișează timpul de rulare estimat bazat pe pașii de protocol, viteza de creștere și tipul de bloc selectat.

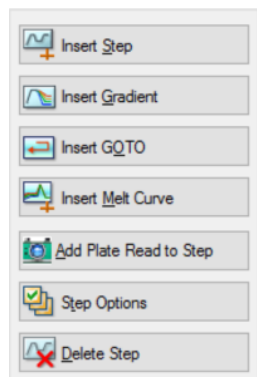


– afișează informații de Ajutor despre protocoale.

Soluții de control pentru editarea protocolului

Panoul stâng din fereastra Protocol Editor (Editor Protocol) include soluții de control pe care le puteți utiliza pentru a crea protocoale.

Fiecare soluție de control constă într-un set de parametri care reprezintă un pas din protocol. Puteți modifica fiecare parametru și îi puteți adăuga sau elimina pentru a vă personaliza protocolul. Această secțiune descrie opțiunile din fiecare soluție de control.



- **Insert Step (Inserare pas)** – inserează un pas înainte sau după pasul selectat. Puteți edita valorile pentru temperatură și timpul de menținere în afișajul grafic al protocolului sau în schița protocolului.
- **Insert Gradient (Inserare gradient)** – inserează un pas de gradient bazat pe tipul de bloc cu alveole selectat în calculatorul de gradient. Puteți edita intervalul de gradient în panoul Gradient care apare atunci când un pas de gradient este inserat.
- **Insert GOTO (Inserare SaltLa)** – inserează un pas de ciclu (circuit) step, care informează software-ul să repete pași specifici în secvență pentru un număr specificat de cicluri. Repetițiile încep după ce primul ciclu este finalizat. De exemplu, puteți informa software-ul să

efectueze 39 de repetiții pentru pașii 2-4. După repetiția finală, software-ul va fi efectuat pașii 2-4 de 40 de ori în total. Puteți edita pasul de return-to (revenire-la) (GOTO (SaltLa)) și numărul de cicluri fie din afișajul grafic, fie din schița de protocol.

- **Insert Melt Curve (Inserare curbă de topire)** – inserează un pas de citire de curbă de topire.
- **Insert Plate Read to Step (Inserare citire placă la pas)** – adăugați o comandă de citire placă la pasul selectat. O citire de placă măsoară cantitatea de fluorescență de la sfârșitul unui ciclu. Pasul pentru citire placă este în general ultimul pas dintr-o buclă GOTO (SaltLa).

Sfat: După ce adăugați o comandă de citire placă unui pas, butonul se schimbă în Remove Plate Read (Eliminare citire placă) atunci când selectați pasul.

- **Remove Plate Read (Eliminare citire placă)** – elimină o comandă de citire placă din pasul selectat.

Sfat: După ce eliminați o comandă de citire placă dintr-un pas, butonul de schimbă în Add Plate Read to Step (Adăugare citire placă la pas) atunci când selectați pasul.

- **Step Options (Opțiuni pas)** – deschide caseta de dialog Step Options (Opțiuni pas) și afișează opțiunile disponibile pentru pasul selectat. Consultați [Opțiuni pas de la pagina 85](#) pentru informații detaliate privind opțiunile pentru pas.

Sfat: De asemenea, puteți accesa Step Options (Opțiuni pas) făcând clic dreapta pe pas în afișajul grafic.

- **Delete Step (Ștergere pas)** – șterge pasul selectat din protocol.

Opțiuni pas

Deschideți caseta de dialog Step Options (Opțiuni pas) pentru a vizualiza opțiunile pe care le puteți adăuga, schimba sau elimina dintr-un pas.

- **Plate Read (Citire placă)** – când este selectată, adaugă o citire de placă la pas.
- **Temperature (Temperatură)** – setează temperatura țintă pentru pasul selectat.
- **Gradient** – setează intervalul de gradient pentru pas; intervalul este 1-24°C.

Observație: Un gradient rulează cu cea mai joasă temperatură în partea din fata a blocului (în această imagine, rândul H) și cea mai ridicată temperatură în partea din spatele blocului (în această imagine, rândul A).

- **Increment** – suma cu care să crească (sau scadă) temperatura pasului selectat; această valoare este adăugată la temperatura țintă cu fiecare ciclu. Intervalul este de $\pm 0,1-10^{\circ}\text{C}$.

Observație: Pentru a reduce temperatura, introduceți un semn de minus (–) înainte de valoarea numerică (de exemplu, -5°C).

- **Ramp Rate (Viteză de creștere)** – viteza de creștere pentru pasul selectat; intervalul depinde de dimensiunea blocului.
- **Time (Timp)** – timpul de menținere pentru pasul selectat.
- **Extend (Extindere)** – timpul (în sec.) pentru extinderea sau reducerea pasului selectat; această opțiune este adăugată la timpul de menținere din fiecare ciclu; intervalul este de 1-60 sec.
- **Beep (Bip)** – când este selectată, se aude un bip la sfârșitul pasului.

Sfat: Când introduceți un număr care este în afara intervalului de opțiuni, software-ul schimbă numărul la cea mai apropiată intrare din interval.

Crearea unui protocol în Protocol Editor (Editor Protocol)

Utilizând Protocol Editor (Editor Protocol), puteți crea fișiere protocol personalizate. Puteți, de asemenea, edita și salva fișiere protocol salvate anterior sau șabloane de fișiere protocol livrate împreună cu CFX Manager Dx software.

Pentru a crea un nou fișier protocol, procedați în felul următor:

- Deschideți un fișier protocol în Protocol Editor (Editor Protocol).
Sfat: Puteți deschide un protocol nou sau existent în Protocol Editor (Editor Protocol).
- Configurați noul protocol.
- Adăugați pași la protocol din panoul de control al protocolului.
- Editați proprietățile pașilor.
- Salvați protocolul.

Sfat: Pentru a crea un nou protocol dintr-un fișier protocol salvat anterior sau dintr-un șablon de fișier protocol, consultați [Deschiderea unui protocol existent în Protocol Editor \(Editor Protocol\) de la pagina 88](#).

Deschiderea unui nou fișier de protocol în Protocol Editor (Editor Protocol)

CFX Manager Dx oferă mai multe opțiuni de deschidere a unui nou fișier de protocol:

- Din fereastra Home (Fereastră de pornire)
- Din caseta de dialog Startup Wizard (Expert pornire)
- Din caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare)

Pentru a deschide un nou fișier de protocol din Fereastra de pornire

- ▶ Selectați File > New > Protocol (Fișier > Nou > Protocol).

Se va deschide fereastra Protocol Editor (Editor Protocol), care afișează fișierul de protocol implicit.

Sfat: Pentru informații despre configurarea protocolului implicit, consultați [Schimbarea setărilor implicite ale fișierelor de la pagina 64](#).

Pentru a deschide un nou fișier de protocol din Startup Wizard (Expert pornire)

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), urmați una dintre procedurile următoare pentru a deschide Startup Wizard (Expert pornire) dacă nu apare în vizualizare:
 - Selectați View > Startup Wizard (Vizualizare > Expert pornire).
 - Faceți clic pe Startup Wizard (Expert pornire) de pe bara de instrumente.Implicit, Startup Wizard (Expert pornire) afișează fila Run Setup (Configurare rulare) cu tipul de instrument CFX96 selectat.
2. Dacă este necesar, selectați tipul de instrument din lista verticală.
3. Faceți clic pe User-defined (Definit de utilizator) ca tip de rulare.

Se va deschide caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare) în fila Protocol, care va afișa fișierul de protocol implicit.
4. Faceți clic pe Create New (Creare nou).

Se va deschide fereastra Protocol Editor (Editor Protocol), care afișează protocolul implicit în timp real.

Pentru a deschide un nou protocol din caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare)

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), urmați una dintre procedurile următoare pentru a deschide caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare):
 - Selectați Run > User-defined Run (Rulare > Rulare definită de utilizator).
 - Faceți clic pe User-defined Run Setup (Configurare rulare definită de utilizator) de pe bara de instrumente.Se va deschide caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare) în fila Protocol, care vă va afișa fișierul de protocol implicit.
2. Faceți clic pe Create New (Creare nou).

Se va deschide fereastra Protocol Editor (Editor Protocol), care afișează protocolul implicit în timp real.

Deschiderea unui protocol existent în Protocol Editor (Editor Protocol)

CFX Manager Dx furnizează fișiere de protocol probă pe care le puteți edita și salva ca protocoale noi personalizate. De asemenea puteți crea un protocol nou dintr-un protocol personalizat existent.

Pentru a deschide un fișier de protocol probă

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați File > Open > Protocol (Fișier > Deschidere > Protocol).
Implicit, Windows Explorer se deschide la locația folderului CFX Manager Dx Sample files (Fișiere probă).
2. Deschideți folderul Sample files (Fișiere probă). Vedeți următoarele foldere:
 - **ConventionalProtocols (ProtocoaleConvenționale)** – conține fișiere de protocol exemplu pentru analiză PCR tradițională.
 - **DataFiles (FișiereDate)** – conține fișiere de date exemplu pe care le puteți utiliza pentru a explora funcțiile CFX Manager Dx.
 - **MeltCalibration (CalibrareTopire)** – conține fișiere de protocol exemplu pentru utilizare cu software-ul Precision Melt Analysis al Bio-Rad.
 - **Plates (Plăci)** – conține fișiere de placă exemplu.
 - **RealTimeProtocols (ProtocoaleTimpReal)** – conține fișiere de protocol exemplu pentru analiză PCR în timp real.
3. Deschideți folderul de protocol pentru tipul de rulare pe care doriți să îl efectuați, fie ConventionalProtocols (ProtocoaleConvenționale)sau RealTimeProtocols (ProtocoaleTimpReal).
4. Selectați protocolul pe care îl doriți și faceți clic pe Open (Deschidere).
Protocolul probă se deschide în fereastra Protocol Editor (Editor Protocol).
5. Selectați File > Save As (Fișier > Salvare ca) și salvați protocolul cu o denumire nouă sau într-un folder nou.

Pentru a deschide un protocol existent

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), efectuați una dintre următoarele:
 - Selectați File > Open > Protocol (Fișier > Deschidere > Protocol), navigați la și selectați protocolul țintă și faceți clic peOpen (Deschidere).

- Deschideți Startup Wizard (Expert pornire) și efectuați una dintre următoarele:
 - Pentru a edita protocolul afișat, faceți clic pe Edit Selected (Editare selectate).
 - Pentru a edita un alt protocol existent, faceți clic pe Select Existing (Selectare existent) și navigați la fișierul țintă.

Protocolul se deschide în fereastra Protocol Editor (Editor Protocol).

2. Selectați File > Save As (Fișier > Salvare ca) și salvați protocolul cu o denumire nouă sau într-un folder nou.

Configurarea unui nou protocol

Sfat: Dacă fișierul dumneavoastră de protocol include parametri necesari (de exemplu, dacă editați un fișier placă existent), puteți omite această secțiune. Continuați cu [Adăugarea de pași la un protocol de la pagina 92](#).

Noile fișiere de protocol necesită următorii parametri:

- Tipul blocului
- Modul de scanare pentru tipul de bloc selectat
- Temperatura capacului
- Volumul probei

Setarea tipului de bloc

CFX Manager Dx calculează automat creșterile de temperatură pentru pașii de gradient pe baza tipului de bloc.

Observație: Tipul de placă setat în Protocol Editor (Editor Protocol) trebuie să fie același cu cel pentru placa din modulul de reacție.

Pentru a seta tipul de bloc

- ▶ În fereastra Protocol Editor (Editor Protocol), selectați Tools > Gradient Calculator (Instrumente > Calculator gradient) și alegeți tipul de placă adecvat din lista verticală care apare.

Selectarea modului de scanare pentru tipul de bloc selectat

Pentru a stabili timpul de rulare a protocolului, selectați tipul blocului țintă și modul de scanare.

Pentru a stabili tipul blocului și modul de scanare

- ▶ În fereastra Protocol Editor (Editor Protocol), selectați Tools > Run time Calculator (Instrumente > Calculator timp de rulare) și alegeți tipul de placă și modul de scanare adecvate din lista verticală

care apare.

Ajustarea temperaturii capacului

CFX Manager Dx setează temperatura implicită a capacului la 105,0 °C.

Puteți modifica setările implicite sau opri încălzitorul capacului după cum necesită protocolul.

Sfat: Puteți modifica temperatura implicită a capacului în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator). Consultați [Setarea parametrilor de protocol implicați de la pagina 66](#).

Pentru a ajusta temperatura capacului

1. În fereastra Plate Editor (Editor placă), selectați Settings > Lid Settings (Setări > Setări capac).
Apare caseta de dialog Lid Settings (Setări capac).
2. Urmăriți una dintre procedurile următoare:
 - Selectați User Defined (Definite de utilizator) și introduceți o valoare de temperatură în caseta de text.
 - Selectați Turn Off Lid Heater (Oprire încălzitor capac).
3. Faceți clic pe OK pentru a accepta modificările și a închide caseta de dialog.

Setarea volumului de probă

Implicit, CFX Manager Dx setează volumul de probă pentru fiecare alveolă la 25 µl. Cu toate acestea, intervalul CFX Dx system este 0-125 µl.

Instrumentul utilizează unul din două moduri de control al temperaturii pentru a determina când ajunge proba la temperatura țintă într-un protocol:

- **Calculated mode (Mod calculat)** – atunci când volumul probei este setat la un volum corespunzător pentru bloc, instrumentul calculează temperatura probei pe baza volumului probei. Acesta este modul standard.
- **Block mode (Mod bloc)** – atunci când volumul probei este setat la zero (0) µl, instrumentul înregistrează temperatura probei ca fiind aceeași cu temperatura măsurată a blocului.

Pentru a seta volumul de probă pentru un bloc specific

- ▶ În fereastra Plate Editor (Editor placă), introduceți valoarea corectă în caseta de text Sample Volume (Volum probă) de pe bara de instrumente.

Sfat: Puteți modifica volumul de probă implicit în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator). Consultați [Schimbarea setărilor implicite ale fișierelor de la pagina 64](#).

Adăugarea de pași la un protocol

Pentru a adăuga un pas la un protocol

1. Deschideți protocolul în fereastra Protocol Editor (Editor Protocol).
2. Stabiliți unde doriți să inserați noul pas. Pe bara de instrumente, selectați Before (Înainte) sau After (După) din lista verticală Step (Pas).
3. În grafic, selectați pasul înainte sau după care intenționați să inserați noul pas.
4. În panoul din stânga, faceți clic pe Insert Step (Inserare pas).
5. Pentru a modifica temperatura sau timpul de așteptare, faceți clic pe valoarea implicită din grafic sau schița protocolului și tastați o valoare nouă.
6. (Opțional) În panoul din stânga, faceți clic pe Step Options (Opțiuni pași) pentru a deschide caseta de dialog Step Options (Opțiuni pași) și pentru a modifica opțiunile disponibile pentru pasul selectat.

Sfat: Puteți accesa caseta de dialog Step Options (Opțiuni pași) din meniul clic dreapta al panoului graficului sau al panoului schiței protocolului.

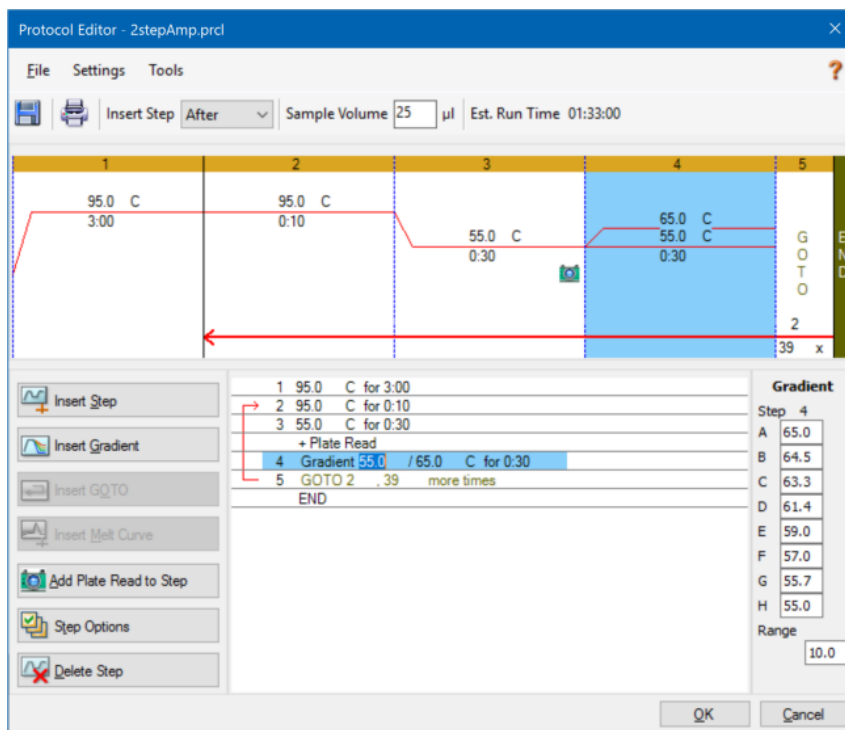
7. Faceți clic pe OK și apoi pe Yes (Da) pentru a salva modificările protocolului.
Va apărea caseta de dialog Save As (Salvare ca)
8. În caseta de dialog Save As (Salvare ca), tastați denumirea noului fișier de protocol și faceți clic pe Save (Salvare).

Inserarea unui pas de gradient

Pentru a insera un pas de gradient

1. Verificați că dimensiunea plăcii pentru gradient este aceeași cu tipul de bloc al instrumentului, cu 96 de alveole.
2. Dacă încă nu ați procedat astfel, selectați dimensiunea plăcii pentru gradient:
Selectați Tools > Gradient Calculator (Instrumente > Calculator gradient) și selectați tipul de alveolă corespunzător din lista verticală.
3. Pe bara de instrumente, selectați Before (Înainte) sau After (După) din lista verticală Insert Step (Inserare pas).
4. În grafic sau în panoul de schiță, selectați pasul înainte sau după care intenționați să inserați pasul de gradient.

5. În panoul din stânga, faceți clic pe Insert gradient (Inserare gradient). Noul pas de gradient este evidențiat în grafic și în panoul de schiță, de exemplu:



Temperatura fiecărui rând din gradient apare în tabelul Gradient în panoul din dreapta.

6. Pentru a edita intervalul de temperatură pentru gradient, efectuați una dintre următoarele:
- Faceți clic pe temperatura implicită în grafic sau panoul de schiță și introduceți o temperatură nouă.
 - Faceți clic pe Step Options (Opțiuni Pas) pentru a introduce intervalul de gradient în fereastra Step Options (Opțiuni Pas).
 - Schimbați valoarea pentru Range (Interval) în tabelul Gradient.
7. Pentru a edita timpul de menținere, faceți clic pe timpul implicit din vizualizarea grafică sau text și introduceți un timp nou.
8. Faceți clic pe OK și apoi pe Yes (Da) pentru a salva modificările.

Inserarea unui pas GOTO (SaltLa)

Observație: Nu puteți insera un pas GOTO (SaltLa) într-un set GOTO (SaltLa); nu puteți crea bucle GOTO (SaltLa) imbricate.

Pentru a insera un pas GOTO (SaltLa)

1. Pe bara de instrumente, selectați Before (Înainte) sau After (După) din lista verticală Insert Step (Inserare pas).
2. În grafic, selectați pasul înainte sau după care intenționați să inserați pasul GOTO (SaltLa).
3. În panoul din stânga, faceți clic pe Insert GOTO (Inserare SaltLa).
4. Pentru a edita numărul pasului GOTO (SaltLa) sau numărul de repetări GOTO (SaltLa), selectați numărul implicit din grafic sau din panoul de schiță și introduceți o valoare nouă.
5. Faceți clic pe OK și apoi pe Yes (Da) pentru a salva modificările.

Inserarea unui pas de curbă de topire

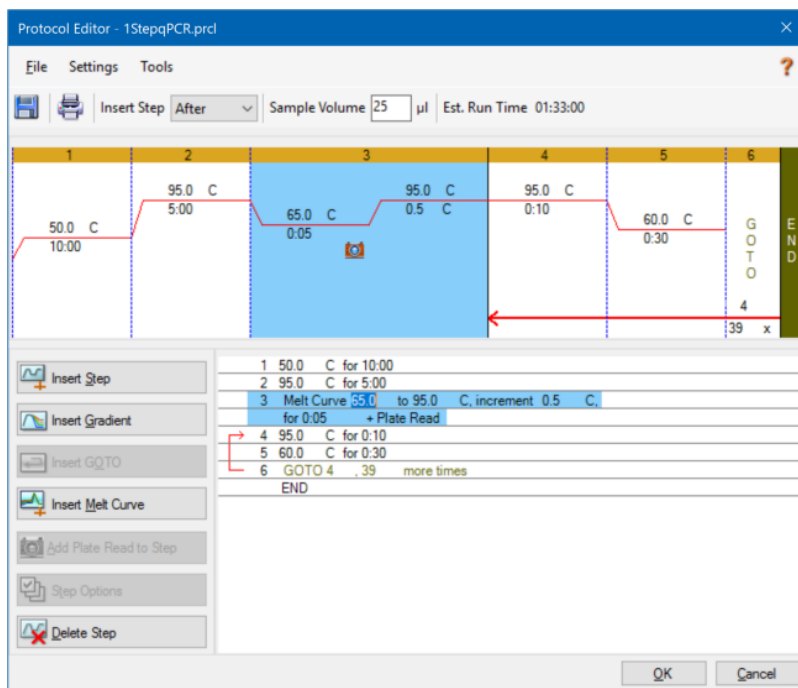
Sfat: Nu puteți insera un pas de curbă de topire într-o bucla GOTO (SaltLa).

Observație: Pasul de curbă de topire include o menținere de 30 de secunde la începutul pasului, care nu este afișată în protocol.

Pentru a insera un pas de curbă de topire

1. Pe bara de instrumente, selectați Before (Înainte) sau After (După) din lista verticală Insert Step (Inserare pas).
2. În grafic, selectați pasul înainte sau după care intenționați să inserați pasul de curbă de topire.

- În panoul din stânga, faceți clic pe Insert Melt Curve (Inserare curbă de topire). Noul pas de curbă de topire este evidențiat în grafic și în panoul de schiță, de exemplu:



- Pentru a edita intervalul de temperatură de topire sau timpul de increment, selectați numărul implicit în grafic sau în panoul de schiță și introduceți o valoare nouă.
- Faceți clic pe OK și apoi pe Yes (Da) pentru a salva modificările.

Adăugarea sau eliminarea unui pas de citire placă

Sfat: După ce adăugați o comandă de citire placă unui pas, butonul se schimbă în Remove Plate Read (Eliminare citire placă) atunci când selectați pasul.

Pentru a adăuga o citire de placă la un pas

1. Pe bara de instrumente, selectați Before (Înainte) sau After (După) din lista verticală Insert Step (Inserare pas).
2. În grafic, selectați pasul înainte sau după care intenționați să inserați pasul de citire placă.
3. În panoul din stânga, faceți clic pe Add Plate Read to Step (Adăugare citire placă la pas) pentru a adăuga o citire de placă la pasul selectat.
4. Faceți clic pe OK și apoi pe Yes (Da) pentru a salva modificările.

Pentru a elimina o citire de placă dintr-un pas

- ▶ În grafic, selectați pasul care conține citirea de placă și faceți clic pe Remove Plate Read (Eliminare citire placă) în panoul din stânga.

Modificarea opțiunilor pașilor

Pentru a modifica opțiunile pașilor pentru un pas selectat

1. Selectați pasul țintă în grafic sau în panoul de schiță.
2. În panoul din stânga, faceți clic pe Step Options (Opțiuni pași) pentru a deschide caseta de dialog Step Options (Opțiuni pași).

Ca alternativă, faceți clic dreapta pe pasul țintă în oricare panou și selectați Step Options (Opțiuni pași) în meniul care apare.

3. Pentru a adăuga, modifica sau elimina opțiuni:
 - Introduceți o valoare în caseta de text corespunzătoare.
 - Editați o valoare în caseta de text specifică.
 - Bifați sau debifați o casetă de selectare.
4. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog Step Options (Opțiuni pași).
5. Faceți clic pe OK și apoi pe Yes (Da) pentru a salva protocolul.

Ștergerea unui pas

Pentru a șterge un pas din protocol

1. Selectați pasul în grafic sau în panoul de schiță.
2. În panoul din stânga, faceți clic pe Delete Step (Ștergere pas) pentru a șterge pasul selectat.
3. Faceți clic pe OK și apoi pe Yes (Da) pentru a salva protocolul.

Copierea, exportarea sau imprimarea unui protocol

Pentru a copia un protocol

- ▶ Faceți clic dreapta pe schița protocolului și selectați Copy Protocol (Copiere protocol).

Puteți lipi schița într-un fișier .txt, .xls, .doc sau .ppt.

Pentru a exporta un protocol

1. Faceți clic dreapta pe schița protocolului și selectați Export Protocol (Exportare protocol).
Va apărea caseta de dialog Save As (Salvare ca).
2. (Opțional) În Windows Explorer, navigați la un folder în care doriți să salvați fișierul protocolului.
3. În File name (Denumire fișier), introduceți o denumire pentru fișierul de protocol exportat.
4. Faceți clic pe Save (Salvare).

Pentru a imprima un protocol

- ▶ Faceți clic dreapta pe schița protocolului și selectați Print (Imprimare).

Puteți imprima schița protocolului utilizând imprimanta dvs. implicită.

Crearea unui protocol cu Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol)

Important: Bio-Rad nu garantează că rularea unui protocol creat cu Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) va determina întotdeauna un produs PCR în timp real.

Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) din CFX Manager Dx generează automat protocoale de ciclu bazate pe următorii parametri de intrare:

- **Amplicon length (Lungime amplicon)** – lungimea așteptată a produsului PCR
- **Annealing temperature (Temperatură de atașare)** – T_a de reacție pentru primerii utilizați

Dacă T_a este necunoscută, puteți utiliza T_a Calculator (Calculator T_a) pentru a o calcula automat pe baza secvențelor de primer.

Observație: T_a este ajustată pe baza informațiilor privind temperatura de topire a primerului (T_m), care se bazează pe enzima selectată și pe viteza protocolului.
- **Enzyme type (Tip de enzimă)** – enzima DNA (ADN) polimerază (iTa_q, iProof DNA (ADN) polimerază sau Other (Alta))

Dacă utilizați o altă enzimă decât iTaq sau iProof DNA (ADN) polimerază, puteți introduce informații suplimentare, inclusiv intervalul de gradient, timpul de activare a polimerazei tip hot-start (în sec) și timpul de elongare finală (în sec).
- **Run speed (Viteza de rulare)** – viteza de reacție (standard, rapid sau ultrarapid)

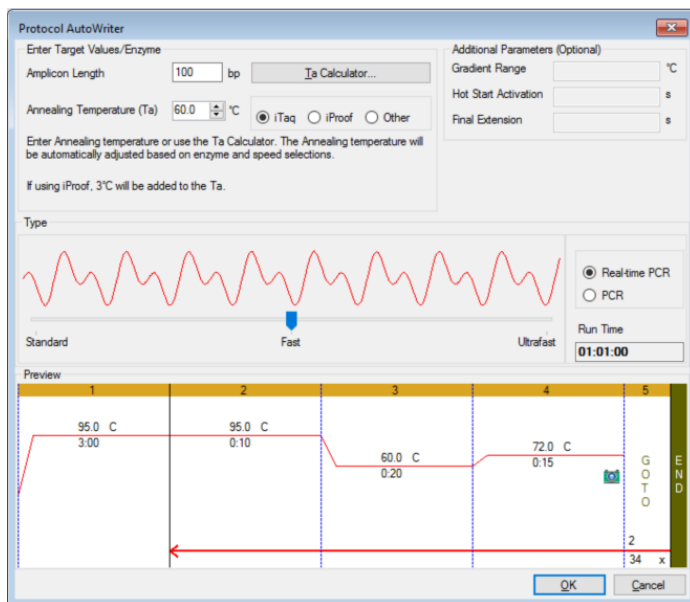
Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) optimizează protocolul în funcție de setarea de viteză selectată. Timpul de rulare total este determinat de numărul de pași și de cicluri, de timpul de incubare la fiecare pas și de timpul necesar pentru atingerea uniformității la temperatura țintă.

Utilizând parametrii introduși de dumneavoastră și ghidul standard pentru PCR, Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) generează automat un protocol PCR personalizat cu pași de activare pentru polimeraza hot-start, denaturare inițială, atașare și elongare. Puteți apoi să vizualizați o reprezentare grafică a protocolului sugerat și să editați, rulați sau salvați protocolul.

Pentru a crea un nou protocol utilizând Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) din cadrul CFX Manager Dx

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați Tools > Protocol AutoWriter (Instrumente > Utilitar de scriere automată Protocol).

Apare caseta de dialog Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol).



2. În secțiunea Enter Target Values/Enzyme (Introducere valori țintă/enzimă), procedați după cum urmează:

- Introduceți temperatura de atașare (T_a) pentru primeri, dacă este cunoscută.

Sfat: Pentru mai multe informații, consultați [Utilizarea Ta Calculator \(Calculator Ta\) de la pagina 100](#).

Observație: Pentru informații despre calculele utilizate în T_a Calculator (Calculator T_a), consultați Breslauer et al. 1986.

- Introduceți lungimea ampliconului în perechi de baze (pb).
- Selectați un tip de enzimă din lista de opțiuni (iTaq DNA (ADN) polimerază, iProof DNA (ADN) polimerază sau Other (Altal)).

Sfat: Dacă selectați Other (Altal) ca tip de enzimă, parametrii din secțiunea Additional Parameters (Optional) (Parametri suplimentari (Opțional)) devin activi.

3. Dacă ați selectat Other (Alta) ca tip de enzimă, puteți adăuga oricare dintre sau toți parametrii următori la protocol:
 - Gradient range (Interval de gradient)
 - Hot start activation temperature (Temperatură de activare pentru polimeraza tip hot-start)
 - Final extension time (Timp de elongare finală)
4. În secțiunea Type (Tip), deplasați cursorul pentru a selecta o viteză de protocol (Standard, Rapid sau Ultrarapid). CFX Manager Dx ajustează timpul total de rulare.
5. Selectați tipul de PCR de efectuat (Real-time PCR (PCR în timp real) este opțiunea implicită).
În cazul PCR în timp real, CFX Manager Dx adaugă un pas de citire placă pentru colectarea de date de fluorescență.
6. În secțiunea Preview (Previzualizare), revizuiți protocolul. Puteți efectua modificări după necesități.
7. Uurmați una dintre procedurile următoare:
 - Faceți clic pe OK pentru a salva noul protocol. După ce a fost salvat, protocolul se deschide în Startup Wizard (Expert pornire). Faceți clic pe Edit Selected (Editare selectate) pentru a aduce orice modificări protocolului. De exemplu, ați putea avea nevoie să schimbați temperatura capacului și volumul probei.
 - Faceți clic pe Cancel (Anulare) pentru a închide fereastra fără a salva protocolul.

Utilizarea T_a Calculator (Calculator T_a)

Atunci când nu cunoașteți temperatura de atașare pentru primer, puteți folosi T_a Calculator (Calculator T_a) pentru a calcula valoarea. Puteți folosi valoarea din Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) sau din Protocol Editor (Editor Protocol) pentru a vă crea protocolul.

Despre T_a Calculator (Calculator T_a)

T_a Calculator (Calculator T_a) calculează valoarea T_m pentru fiecare primer, precum și valoarea T_a pentru protocol la viteză standard.

Valoarea T_a pentru protocol este bazată pe valorile T_m medii ale primerului, aplicându-se următoarele reguli:

- Dacă diferența dintre valorile T_m ale primerului este $> 4^\circ\text{C}$, $T_a = (\text{valoarea mai mică dintre cele două valori } T_m \text{ ale primerului} + 2) - 4^\circ\text{C}$
- Dacă diferența dintre valorile T_m este $\leq 4^\circ\text{C}$, $T_a = (\text{media valorilor } T_m \text{ ale primerului}) - 4^\circ\text{C}$

Metoda numărării perechilor de baze

Pentru fiecare primer, T_a Calculator (Calculator T_a) utilizează metoda numărării perechilor de baze pentru secvențe de maximum 14 perechi de baze (pb).

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

unde w, x, y și z sunt numerele bazelor A, T, G, respectiv C din secvență.

Metoda Cel mai apropiat vecin

Pentru secvențe mai lungi de 14 bp, se utilizează metoda cu cel mai apropiat vecin. În metoda cu cel mai apropiat vecin, calculele pentru temperatura de topire sunt bazate pe relația termodinamică dintre entropie (ordine sau o măsură a caracterului aleatoriu al oligonucleotidei), entalpie (căldură eliberată sau absorbită de oligonucleotidă), energie liberă și temperatură.

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

unde:

- ΔH = Valoare entalpie, Cal/Mol*K
- T = temperatură, Kelvin
- ΔS = Valoare entropie, Cal/Mol*K
- ΔG = Energie liberă Gibbs în Cal/Mol*K

Schimbarea din entropie și entalpie este calculată direct însumând valorile pentru perechile de nucleotide afișate în [Tabelul 12](#) (Breslauer et al. 1986).

Relația dintre energia liberă și concentrația de reactanți și produse la echilibru este dată de:

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

unde R este constanta gazoasă (1,986 Cal/Mol*K).

Prin substituirea G în cele două ecuații și rezolvarea pentru T rezultă

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

presupunând că concentrațiile de ADN și complex ADN-primer sunt egale.

S-a determinat în mod empiric faptul că există o schimbare de energie liberă de 5 kcal (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996) în timpul tranziției de la ADN cu catenă unică la ADN de formă B. Aceasta se presupune a fi energie de inițializare a helixului. La final, adăugarea unei ajustări pentru sare dă ecuația pe care o utilizează Calculatorul T_a:

$$T = (\Delta H - 5(KCal/K*Mol)) / (\Delta S + (R * \ln(1/(primer)))) + 16,6 \log_{10} (MolaritateSare)$$

Nicio constantă de ajustare pentru concentrația de sare nu este necesară, deoarece diverșii parametri au fost determinați la 1 M NaCl, iar \log_{10} de 1 este zero.

Calculul termodinamic presupune că procesul de atașare are loc la pH 7,0. Calculul pentru T_m presupune că secvențele nu sunt simetrice și conțin cel puțin un G sau C.

Secvența de oligonucleotidă trebuie să fie la o lungime de cel puțin 14 baze pentru a oferi valori T_m rezonabile. Mai puțin de 14 baze utilizează aceeași metodă de numărare a perechilor de baze (consultați [Tabelul 12](#) care urmează).

Tabelul 12. Constante de interacțiune Breslaue

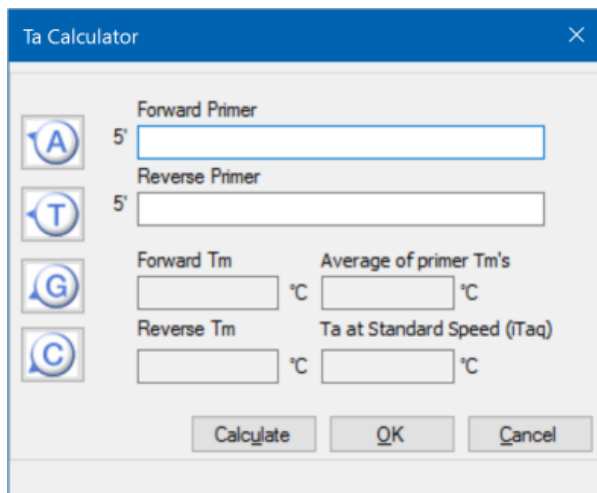
Interacțiune		ΔH	ΔS	ΔG
AA	TT	9,1	24	1,5
AT	TA	8,6	23,9	1,5
AC	TG	6,5	17,3	1,3
AG	TC	7,8	20,8	1,6
TA	AT	6	16,9	0,9
TT	AA	9,1	24	1,9
TC	AG	5,6	13,5	1,6
TG	AC	5,8	12,9	1,9
CA	GT	5,8	12,9	1,9
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3
GC	CG	11,1	26,7	3,1
GG	CC	11	26,6	3,1

Utilizarea T_a Calculator (Calculator T_a)

Pentru a utiliza T_a Calculator (Calculator T_a)

1. Pentru a deschide T_a Calculator (Calculator T_a), urmați una dintre procedurile următoare:
 - Dacă momentan vă aflați în Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol), faceți clic pe T_a Calculator (Calculator T_a).
 - În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați Tools > T_a Calculator (Instrumente > Calculator T_a).

Va apărea caseta de dialog T_a Calculator (Calculator T_a).



2. În caseta de dialog Forward Primer (primer Forward), tastați sau lipiți secvența de redirectionare a primerului.

Sfat: Puteți, de asemenea, folosi butoanele A, T, G, C din partea stângă a casetei de dialog pentru a introduce secvența.
3. Tastați sau lipiți secvența primerului revers în caseta de text Reverse Primer (primer Reverse).

4. Faceți clic pe Calculate (Calculare).

T_a Calculator (Calculator T_a) calculează și afișează T_m pentru fiecare primer și media T_m și valorile T_a , de exemplu:

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

Dacă valorile T_m ale primerului diferă între ele cu mai mult de 4°C, Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol) folosește valoarea T_m inferioară a primerului + 2 °C ca bază de calcul pentru valoarea T_a , pe care o puteți modifica ulterior prin modificarea enzimei și a vitezei de reacție.

T_a Calculator (Calculator T_a) generează o temperatură de atașare pentru viteza standard cu polimeraza ADN iTaq. Dacă se folosește o altă enzimă, setările de viteză se ajustează automat T_a .

5. Urmăți una dintre procedurile următoare:
 - Dacă ați deschis T_a Calculator (Calculator T_a) din Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol), faceți clic pe OK. Reveniți la Protocol AutoWriter (Utilitar de scriere automată Protocol). Temperatura de atașare este modificată automat.
 - Dacă ați deschis T_a Calculator (Calculator T_a) din meniul Tools (Instrumente), înregistrați calculele și faceți clic pe Cancel (Anulare) pentru a închide calculatorul.

Capitolul 7 Pregătirea plăcilor

Un fișier placă conține informații despre parametrii rulării, precum modul de scanare, fluoroforii și conținutul godeului. După rulare, CFX Manager Dx software asociază conținutul alveolelor cu datele de fluorescență colectate în timpul rulării și aplică analiza corespunzătoare în fereastra Data Analysis (Analiză date). De exemplu, alveolele încărcate cu probă de tip standard sunt utilizate pentru a genera o curbă standard.

CFX Manager Dx software oferă două opțiuni de creare a plăcilor: Plate Editor (Editor placă) pentru rulări PCR în timp real și Setup Wizard (Expert configurare) pentru analiza expresiei genice normalizate.

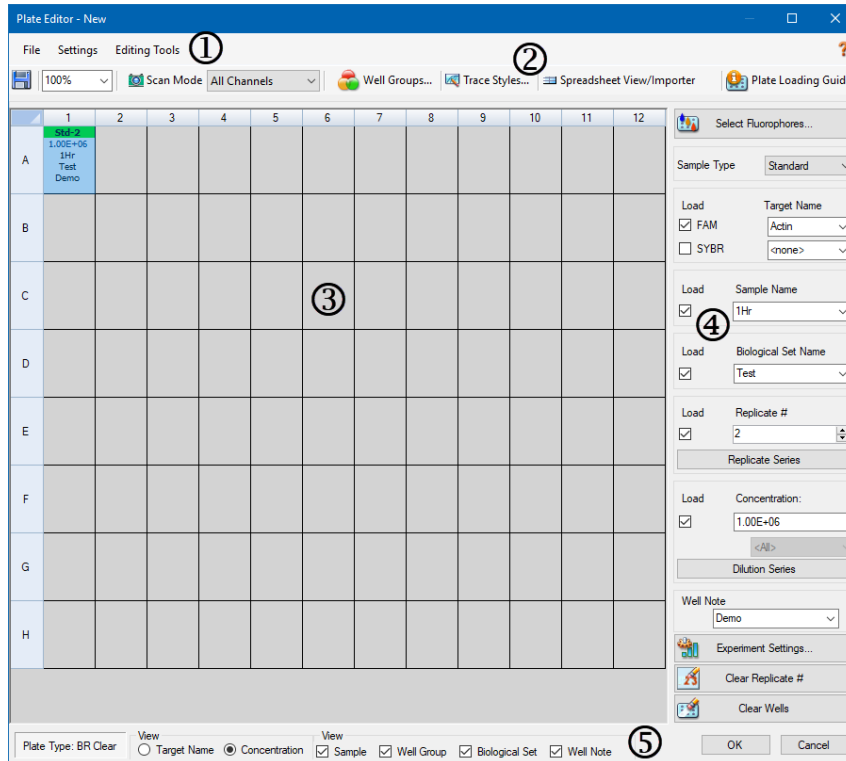
Plate Editor (Editor placă) include următoarele funcții:

- Fluorofori standard și tipuri de probe ce vor fi atribuite alveolelor plăcii
- Capacitatea de a configura țintă de referință și probă de control pentru analiza expresiei genice
- Capacitatea de a edita configurația plăcii înainte, în timpul sau după finalizarea unei rulări
- Capacitatea de a salva fișierele placă pentru reutilizare
- Capacitatea de a imprima fișierul placă la o imprimantă implicită

Setup Wizard (Expert configurare) vă asistă la crearea unei structuri de placă pentru analiza expresiei genice normalizate. Puteți folosi Setup Wizard (Expert configurare) înainte, în timpul sau după finalizarea unei rulări.

Fereastra Plate Editor (Editor placă)

Utilizați Plate Editor (Editor placă) pentru a crea plăci personalizate sau modifica plăcile existente.



LEGENDĂ

1. Bara de meniu furnizează acces rapid la comenzile de meniu File (Fișier) și Settings (Setări), precum și la opțiunile de instrumente de editare pentru placă.
2. Bara de instrumente oferă acces rapid la funcții de încărcare de placă importante.
3. Panoul principal afișează schița plăcii și opțiunile de placă atunci când le aplicați.
4. Panoul din dreapta afișează opțiuni pe care le utilizați pentru a vă personaliza placa.
5. Panoul de jos afișează tipul de placă și oferă acces rapid la opțiunile de vizualizare.

Comenzile meniului File (Fișier)

Save (Salvare) – salvează fișierul de date de placă în locația specificată în fila File (Fișier) din caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator). Pentru mai multe informații, consultați [Schimbarea setărilor implicite ale fișierelor de la pagina 64](#). Acest element de meniu este disponibil numai la crearea unui fișier de placă nou.

Save As (Salvare ca) – salvează fișierul de date de placă deschis cu un nume nou pe care îl furnizați dumneavoastră. Acest element de meniu este disponibil numai la crearea unui fișier de placă nou.

Extract Plate (Extragere placă) – deschide o casetă de dialog în care puteți extrage/salva fișierul de placă (.pltd). Acest element de meniu este disponibil numai la vizualizarea sau editarea unui fișier de placă existent.

Print (Imprimare) – imprimă fișierul de date de placă deschis.

Close (Închidere) – închide Plate Editor (Editor placă)

Comenzile meniului Settings (Setări)

Plate Size (Dimensiune placă) – furnizează opțiuni din care puteți selecta o dimensiune a plăcii pentru rulare.

Observație: CFX Dx system poate folosi doar o placă de 96 de alveole.

Plate Type (Tipul plăcii) – vă permite să alegeți tipul alveolelor din placa cu probele dumneavoastră, fie BR White (BR Alb), fie BR Clear (BR Transparent). Pentru o analiză de date precisă, tipul de placă selectat trebuie să corespundă cu tipul de placă utilizat în rulare.

Number Convention (Convenție numerică) – vă permite să bifați sau să debifați opțiunea de afișare a unităților în notație științifică. Opțiunea implicită este afișarea unităților în notație științifică.

Units (Unități) – vă permite să alegeți unitățile de afișat în foile de calcul atunci când efectuați cuantificarea unei curbe necunoscute vs. una standard.

Comenzile meniului Editing Tools (Instrumente de editare)

Setup Wizard (Expert configurare) – deschide Setup Wizard (Expert configurare), în care puteți defini parametrii de structură și analiză pentru placa actuală. Puteți folosi Setup Wizard (Expert configurare) înainte de, în timpul sau după finalizarea unei rulări.

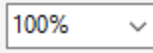
Spreadsheet View/Importer (Vizualizare/importator foaie de calcul) – deschide caseta de dialog View (Vizualizare), care afișează structura de placă drept șablon în format de foaie de calcul. Puteți utiliza această casetă de dialog pentru a exporta sau importa datele de șablon de placă în format .csv.

Flip Plate (Întoarcere placă) – întoarce conținutul plăcii la 180°.

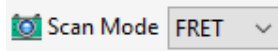
Comenzi bară de instrumente



Salvează fișierul de placă actual.



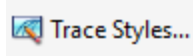
Afișează o listă verticală din care puteți crește sau reduce mărirea vizualizării plăcii.



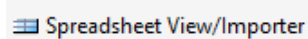
Afișează o listă verticală din care puteți selecta un mod de scanare, care dă instrucțiuni instrumentului din ce canale să colecteze date de fluorescență în timpul unei rulări.



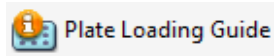
Deschide fereastra Well Groups Manager (Manager grupuri de alveole), pe care o puteți utiliza pentru a crea grupuri de alveole pentru placa actuală.



Afișează o casetă de dialog în care puteți alege culorile și simbolurile pentru urmele de amplificare.



Deschide caseta de dialog View (Vizualizare), care afișează structura dumneavoastră de placă drept șablon într-un format de foaie de calcul. Puteți utiliza această casetă de dialog pentru a exporta sau importa datele de șablon de placă în format .csv.



Afișează pașii necesari pentru configurarea unei plăci și încărcarea alveolelor.

Crearea unui fișier placă utilizând Plate Editor (Editor placă)

Utilizând Plate Editor (Editor placă), puteți crea fișiere placă particularizate. Puteți, de asemenea, edita și salva fișiere placă salvate anterior sau fișiere placă de probă livrate împreună cu CFX Manager Dx software.

Pentru a crea un nou fișier placă, procedați în felul următor:

- Deschideți un fișier placă în Plate Editor (Editor placă).
- Selectați tipul plăcii.

Observație: Tipul plăcii pentru fișierul placă trebuie să fie același cu tipul de placă din modulul de reacție.

- Selectați modul de scanare care va fi utilizat în protocol.
- Selectați fluoroforii care vor fi utilizați în placă.
- Selectați tipul probei, țintele și probele.
- Selectați replicările, dacă este cazul.
- Salvați structura plăcii.

Sfat: Pentru a crea o placă nouă din fișierele salvate anterior sau din fișiere placă de probă, consultați [Deschiderea unui fișier placă existent în Plate Editor \(Editor placă\)](#) de la pagina 111.

Deschiderea unui fișier placă nou în Plate Editor (Editor placă)

CFX Manager Dx software oferă mai multe opțiuni de deschidere a unui nou fișier de placă:

- Din fereastra Home (Fereastră de pornire)
- Din caseta de dialog Startup Wizard (Expert pornire)
- Din caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare)

Pentru a deschide un nou fișier de placă din fereastra Home (Fereastră de pornire)

- ▶ Selectați File > New > Plate (Fișier > Nou > Placă).

Fereastra Plate Editor (Editor placă) se deschide afișând fișierul de placă implicit pentru instrumentul selectat.

Sfat: Pentru informații privind setarea fișierului de placă implicit, consultați [Schimbarea setărilor implicite ale fișierelor](#) de la pagina 64.

Pentru a deschide un nou fișier de placă din Startup Wizard (Expert pornire)

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), urmați una dintre procedurile următoare pentru a deschide Startup Wizard (Expert pornire) dacă nu apare în vizualizare:

- Selectați View > Startup Wizard (Vizualizare > Expert pornire).
- Faceți clic pe Startup Wizard (Expert pornire) de pe bara de instrumente.

Implicit, Startup Wizard (Expert pornire) afișează fila Run Setup (Configurare rulare) cu instrumentul CFX96 selectat.

2. Dacă este necesar, selectați tipul de instrument din lista verticală.
3. Pentru a crea o placă nouă, faceți clic pe User-defined (Definit de utilizator) ca tip de rulare.
Se va deschide caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare) care afișează fila Protocol.
4. Faceți clic pe fila Plate (Placă) și faceți clic pe Create New (Creare nou).

Fereastra Plate Editor (Editor placă) se deschide afișând structura de placă implicită pentru instrumentul selectat.

Pentru a deschide un nou fișier de placă din caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare)

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), urmați una dintre procedurile următoare pentru a deschide caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare):

- Selectați Run > User-defined Run (Rulare > Rulare definită de utilizator).
- Faceți clic pe User-defined Run Setup (Configurare rulare definită de utilizator) de pe bara de instrumente.

Se va deschide caseta de dialog Run Setup (Configurare rulare) în fila Protocol.

2. Pentru a crea o placă nouă, faceți clic pe fila Plate (Placă) și faceți clic pe Create New (Creare nou).

Fereastra Plate Editor (Editor placă) se deschide afișând structura de placă implicită pentru instrumentul selectat.

Deschiderea unui fișier placă existent în Plate Editor (Editor placă)

CFX Manager Dx software furnizează fișiere de placă probă pe care le puteți edita și salva ca o placă nouă. De asemenea, puteți crea un fișier de placă nou dintr-un fișier de placă salvat.

Pentru a deschide un fișier de placă probă

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați File > Open > Plate (Fișier > Deschidere > Placă).
Windows Explorer deschide locația folderului CFX Manager Dx Sample files (Fișiere probă).
2. Deschideți folderul Sample files (Fișiere probă), apoi deschideți folderul Plates (Plăci).
3. Selectați placa dorită și faceți clic pe Open (Deschidere).
Fișierul de placă probă se deschide în fereastra Plate Editor (Editor placă).
4. Selectați File > Save As (Fișier > Salvare ca) și salvați fișierul de placă cu o denumire nouă sau într-un folder nou.

Pentru a deschide un fișier de placă salvat anterior

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați File > Open > Plate (Fișier > Deschidere > Placă), navigați la și selectați placa țintă și faceți clic pe Open (Deschidere).
Fișierul de placă țintă se deschide în fereastra Plate Editor (Editor placă).
2. Selectați File > Save As (Fișier > Salvare ca) și salvați fișierul de placă cu o denumire nouă sau într-un folder nou.

Configurarea unui fișier de placă nou

Sfat: Dacă fișierul dumneavoastră de placă include parametri necesari (de exemplu, dacă editați un fișier de probă sau un fișier de placă existent), puteți omite această secțiune. Continuați cu [Atribuirea de parametri opționali fișierului placă de la pagina 118](#).

Noile fișiere de placă necesită următorii parametri:

- Dimensiune placă
- Tip de placă
- Mod de scanare
- Un fluorofor (colorant)
- Un tip de probă

Selectarea dimensiunii și tipului plăcii

Important: Trebuie să selectați o dimensiune de placă în timpul configurării plăcii. Nu puteți modifica dimensiunea plăcii în timpul sau după o rulare.

Software-ul aplică dimensiunea și tipul plăcii tuturor alveolelor în timpul rulării. Asigurați-vă că dimensiunea de placă selectată este aceeași cu cea a plăcii pe care o veți utiliza în rulare.

Instrumentele Bio-Rad CFX96 și CFX96 Deep Well sunt calibrate din fabrică pentru multe combinații de colorant fluorescent și placă. Calibrarea este specifică instrumentului, colorantului și tipului de placă. Asigurați-vă că fluoroforul pe care intenționați să îl utilizați este calibrat pentru tipul de placă selectat.

Selectarea modului de scanare

Sistemele CFX96 și CFX96 Deep Well stimulează și detectează fluoroforii din cinci canale. Toate sistemele folosesc moduri multiple de scanare a datelor obținute, pentru a colecta date privind fluorescența din timpul unei rulări.

CFX Manager Dx software oferă trei moduri de scanare:

- Toate canalele
 - Scanează canalele de la 1 la 5 de pe sistemele CFX96 și CFX96 Deep Well

- SYBR®/FAM
 - Scanează doar canalul 1
 - Oferă o scanare rapidă
- FRET
 - Scanează doar canalul FRET
 - Oferă o scanare rapidă

Selectarea fluoroforilor

Important: Înainte de a iniția o rulare, CFX Manager Dx software verifică dacă fluoroforii pe care i-ați specificat în placă sunt calibrați pe instrumentul respectiv. Nu puteți rula o placă dacă include fluorofori care nu au fost calibrați pe instrumentul respectiv.

Trebuie să încărcați cel puțin un fluorofor în structura plăcii înainte de rulare. Puteți adăuga câți fluorofori sunt necesari în acest moment, însă placa trebuie să conțină cel puțin un fluorofor. Fluoroforii selectați apar ca opțiuni pentru țintele din Target Names (Denumiri ținte).

Puteți folosi caseta de dialog Select Fluorophores (Selectare fluorofori) pentru a încărca fluorofori (sau coloranți placă) în comenzile de încărcare a alveolelor din Plate Editor (Editor placă). Fluoroforii care apar în caseta de dialog Select Fluorophores (Selectare fluorofori) depind de modul de scanare selectat:

- Toate canalele

Apar toți fluoroforii disponibili.

Sfat: Puteți adăuga oricâți fluorofori trebuie, însă puteți încărca doar un fluorofor per canal în fiecare alveolă.

- SYBR®/FAM

Vor apărea doar fluoroforii din canalul 1.

- FRET

Va apărea doar fluoroforul din canalul 6.

Sfat: Fluoroforul din canalul 6 FRET apare doar când modul de scanare selectat este FRET. Nu este disponibil pentru modul de scanare All Channels (Toate canalele).

Observație: Nu puteți adăuga sau îndepărta fluorofori direct din caseta de dialog Select Fluorophore (Selectare fluorofor). Trebuie să calibrați noii fluorofori pe un instrument utilizând Calibration Wizard (Expert calibrare). După calibrare, noul fluorofor este adăugat automat pe această listă.

Selectarea tipurilor de probe

Important: Trebuie să selectați cel puțin un tip de probă pe care să îl atribuiți alveolelor plăcii înainte de rulare.

CFX Manager Dx software oferă cinci tipuri de probă:

- Unknown (Necunoscută)
- Standard
- NTC (control fără țintă de amplificare)
- Positive Control (Control pozitiv)
- Negative Control (Control negativ)
- NRT (fără transcriptază inversă)

Atribuiți tipurile de probe alveolelor plăcii.

Configurarea unei plăci noi

Pentru a configura o placă nouă

1. Deschideți o placă nouă în fereastra Plate Editor (Editor placă).
2. Pentru a seta dimensiunea plăcii, selectați Settings > Plate Size (Setări > Dimensiune placă) și selectați dimensiunea corespunzătoare a plăcii din meniul vertical.
3. Pentru a seta tipul plăcii, selectați Settings > Plate Type (Setări > Tip de placă) și selectați fie BR White (Alb), fie BR Clear (Transparent) din meniul vertical.
4. Opțional, din meniul Settings (Setări), puteți schimba convenția numerică și unitățile de afișare:
 - Pentru a schimba convenția numerică, selectați Settings > Number Convention (Setări > Convenție numerică) și selectați Scientific Notation (Notație științifică).

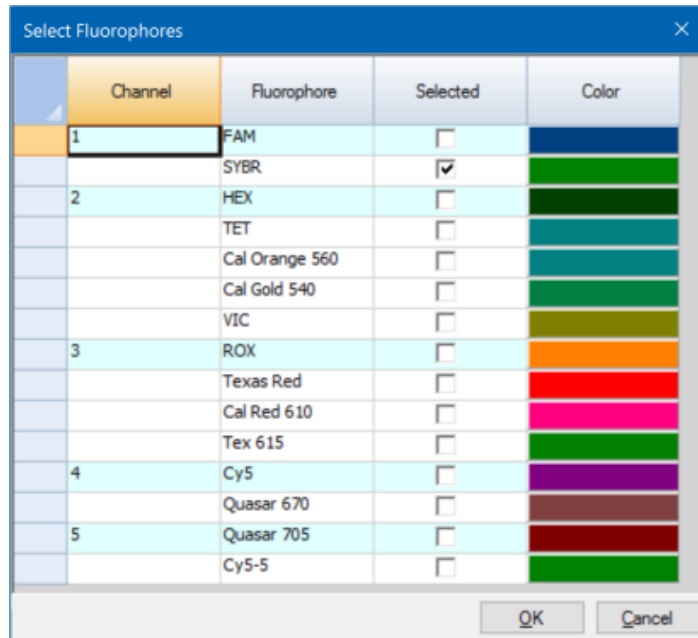
Sfat: Scientific Notation (Notație științifică) este selectată implicit. În acest caz, selectarea Scientific Notation (Notație științifică) anulează selecția implicită și setează convenția numerică la forma standard.

 - Pentru a schimba unitățile de afișare, selectați Settings > Units (Setări > Unități) și selectați o nouă valoare pentru unitate.
5. Pentru a configura modul de scanare, selectați modul de scanare corespunzător din lista verticală Scan Mode (Mod de scanare) de pe bara de instrumente a ferestrei Plate Editor (Editor placă).

6. Selectați fluoroforii necesari pentru placă:

- a. În panoul din dreapta, faceți clic pe Select Fluorophores (Selectare fluorofori).

Va apărea caseta de dialog Select Fluorophores (Selectare fluorofori). Veți vedea fluoroforii disponibili pentru tipul modului de scanare selectat de dumneavoastră în [Pasul 5](#), de exemplu:



- b. Pentru a selecta un fluorofor, faceți clic pe caseta sa de selectare Selected (Selectat).

Sfat: Pentru a elimina un fluorofor din listă, debifați-i caseta de selectare Selected (Selectat).

- c. Pentru a modifica culoarea afișajului unui fluorofor, faceți clic pe caseta Color (Culoare) a acestuia.

Observație: Culoarea pe care o selectați reprezintă fluoroforul atât în fereastra Plate Editor (Editor placă), cât și în graficele Data Analysis (Analiză date).

- d. În caseta de dialog Color (Culoare), selectați culoarea dorită sau faceți clic pe Define Custom Colors (Definire culori personalizate) și creați o nouă culoare care să reprezinte fluoroforul.

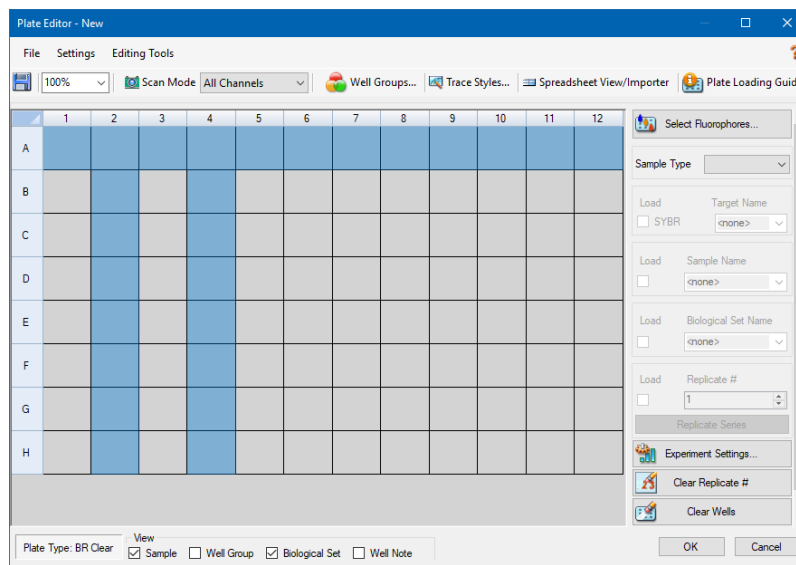
- e. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog Select Fluorophores (Selectare fluorofori).

7. Trebuie să selectați cel puțin o alveolă în care să încărcați un tip de probă. Implicit este selectat o alveolă A1.

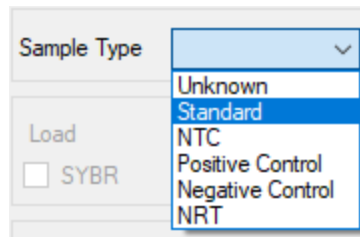
În panoul plăcii, urmați una dintre procedurile următoare:

- Pentru a încărca mai multe alveole adiacente, faceți clic pe o alveolă și trageți-o în alveola țintă.
- Pentru a încărca mai multe alveole neadiacente, apăsați tasta Control și faceți clic pe fiecare alveolă.
- Pentru a încărca o întreagă coloană cu același tip de probă, faceți clic pe numărul coloanei.
- Pentru a încărca un întreg rând, faceți clic pe numărul rândului.
- Pentru a încărca întreaga placă, faceți clic pe colțul din stânga sus al plăcii.

De exemplu:



8. Atribuiți un tip de probă godeului sau alveolelor selectate din meniul vertical Sample Type (Tip probă).

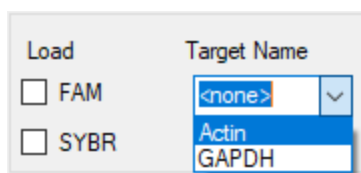


9. Atribuiți cel puțin un fluorofor tuturor alveolelor care conțin un tip de probă. Puteți atribui mai mult decât un fluorofor unei alveole sau unui grup de alveole.

Observație: Puteți atribui doar un singur fluorofor per canal. Nu puteți atribui mai mult de un fluorofor din același canal aceleiași alveole.

Sfat: Puteți asocia o țintă cu fluoroforul sau puteți atribui doar fluoroforul godeului de această dată și asocia o țintă fluoroforului după ce ați rulat experimentul.

- Pentru a atribui doar un fluorofor alveolelor selectate, în secțiunea Target Names (Denumiri ținte) din panoul din dreapta bifați caseta de selectare Load (Încărcare) pentru respectivul fluorofor.
- Pentru a asocia o țintă unui fluorofor, în secțiunea Target Names (Denumiri ținte) selectați o denumire de țintă din lista verticală pentru respectivul fluorofor. Software-ul selectează automat caseta de selectare Load (Încărcare) aferentă.



10. Pentru alveolele care conțin un tip de probă Standard, trebuie să încărcați o concentrație. Fiecare alveolă poate avea o valoare diferită a concentrației. Implicit, CFX Manager Dx software încarcă o concentrație de 1,00E+06 tuturor alveolelor cu un tip de probă Standard. Puteți modifica valoarea dacă este necesar.

- a. În panoul plăcii, selectați o alveolă sau un grup de alveole Standard.
- b. În secțiunea Concentration (Concentrație), faceți clic pe Load (Încărcare) pentru a încărca valoarea în alveola sau alveolele selectate.
- c. (Opțional) Pentru a încărca altă concentrație, tastați noua valoare în caseta de text Concentration (Concentrație) și apăsați Enter.
- d. Realizați acest pas pentru toate alveolele cu tipul de probă Standard.

Sfat: Pentru a încărca aceeași concentrație pentru toate alveolele Standard, asigurați-vă că <All> (Toate) apare în lista verticală de sub valoarea Concentration (Concentrație). Pentru a încărca aceeași valoare de concentrație pentru toate alveolele cu un anumit fluorofor, faceți clic pe lista verticală și selectați fluoroforul.

11. Faceți clic pe OK pentru a salva noua placă.

Atribuirea de parametri opționali fișierului placă

Fișierul plăcii conține informații despre conținutul fiecărei alveole încărcate cu probă pentru o rulare. După rulare, CFX Manager Dx software asociază conținutul alveolelor cu datele de fluorescență colectate în timpul protocolului și aplică analiza corespunzătoare în fereastra Data Analysis (Analiză date).

În CFX Manager Dx, puteți atribui parametri fiecărei alveole din placă înainte, în timpul sau chiar după rularea experimentelor. Puteți atribui parametrii unui fișier de placă existent sau unui nou fișier de placă. Acești parametri includ:

- **Target names (Denumiri ținte)** – ținta sau țintele de interes (gene sau secvențe) din fiecare alveolă încărcată.
- **Sample Names (Denumiri probe)** – identificatorul sau condiția care corespunde probei din fiecare alveolă încărcată, de exemplu 0 h, 1 h sau 2 h.

Sfat: Denumiri ținte și denumiri probe trebuie să fie identice între alveole, pentru a putea compara datele din fila Gene Expression (Expresie genică) din fereastra Data Analysis (Analiză date). Fiecare denumire trebuie să utilizeze același tip de caractere (majuscule sau minuscule), punctuație și spații. De exemplu, „Actin (Actină)” nu este totuna cu „actin (actină)”, „2Hr (2H)” nu este totuna cu „2 hr. (2 h.)” și „Mouse 1 (Șoarece 1)” nu este totuna cu „mouse1 (șoarece1)”. Pentru a asigura consecvența numirii, introduceți denumirile în secțiunea Libraries (Biblioteci) din User > User Preferences > Plate (Utilizator > Preferințe utilizator > Placă), disponibilă în fereastra Home (Fereastră de pornire).

- **Biological sets (Seturi biologice)** – identificatorul sau condiția care corespunde unui set de alveole.
- **Replicates (Replicări)** – fiecare alveolă care este utilizată pentru a analiza aceeași combinație probă-țintă (ținte), adică replicate ale reacțiilor qPCR.
- **Dilution series (Serie de diluție)** – cantitatea pentru modificarea concentrației tipului de probă Standard în cadrul unui grup de replicări, pentru a crea datele curbei standard de analizat.

Atribuirea unei ținte alveolelor

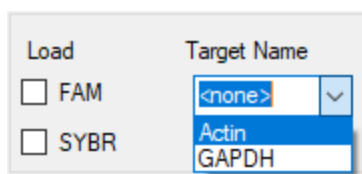
Sfat: Puteți atribui același nume de țintă unui singur sau mai multor alveole. Puteți atribui, de asemenea, mai multe ținte aceleiași alveole.

Pentru a atribui o țintă unei alveole sau unui grup de alveole

1. În Plate Editor (Editor placă), asigurați-vă că godeului sau grupului de alveole i s-a atribuit un tip de probă.

Pentru informații despre atribuirea tipurilor de probe, consultați [Selectarea tipurilor de probe de la pagina 114](#).

2. În panoul plăcii, selectați alveola sau grupul de alveole:
 - Pentru a selecta o singură alveolă, faceți clic pe alveolă.
 - Pentru a selecta mai multe alveole adiacente, faceți clic pe o alveolă și trageți-o în alveola țintă.
 - Pentru a selecta mai multe alveole neadiacente, apăsați tasta Ctrl și faceți clic pe fiecare alveolă.
 - Pentru a selecta o întreagă coloană cu același tip de probă, faceți clic pe numărul coloanei.
 - Pentru a selecta un întreg rând, faceți clic pe numărul de rând aferent.
3. În panoul din dreapta, selectați un nume din lista verticală Target Name (Denumire țintă) pentru fiecare fluorofor selectat.



4. Repetați [Pasul 3](#) pentru fiecare alveolă sau grup de alveole căruia trebuie să îi atribuiți o țintă.

Sfat: Puteți atribui aceeași denumire sau o denumire diferită de țintă pentru fiecare fluorofor selectat.
5. Faceți clic pe OK pentru a accepta modificările și a salva placa.

Pentru a șterge o denumire de țintă

- ▶ Pentru a elimina o denumire de țintă din alveolă sau grupul de alveole selectat, debifați-i caseta de selectare Load (Încărcare).

Important: Eliminarea unei denumiri de țintă dintr-o alveolă îi elimină și fluoroforii asociați. Procedați cu atenție când eliminați o denumire de țintă dintr-o alveolă.

Pentru a adăuga o denumire de țintă în listă

- ▶ Pentru a adăuga o denumire de țintă în lista verticală, urmați una dintre procedurile următoare:
 - Tastați un nume din lista verticală Target Names (Denumiri ținte) și apăsați Enter.

Sfat: Numele țintelor pe care le-ați adăugat pe o listă apar în toate celelalte liste de ținte.

- Faceți clic pe simbolul + verde din dreapta listei verticale, tastați un nume pentru țintă și apăsați Enter.
- Faceți clic pe User Preferences (Preferințe utilizator) de pe bara de instrumente și adăugați numele în biblioteca Target Names (Denumiri ținte) din fila Plate (Placă).

Important: Denumirile țintelor pe care le adăugați pe lista verticală sunt disponibile doar pentru placa curentă și doar dacă atribuiți denumirea unei alveole și salvați structura plăcii. Dacă nu atribuiți numele unei alveole și nu salvați structura plăcii, numele nu este salvat și nu este disponibil pentru utilizarea ulterioară. Pentru a adăuga permanent o denumire de țintă, adăugați-o și în biblioteca Target Names (Denumiri ținte) utilizând caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator). Numele pe care le adăugați în bibliotecă sunt disponibile după ce deschideți din nou Plate Editor (Editor placă). Pentru mai multe informații, consultați [Setarea parametrilor de placă impliciți de la pagina 67](#).

Pentru a șterge o denumire de țintă din listă

1. Faceți clic pe User Preferences (Preferințe utilizator) de pe bara de instrumente.
Va apărea caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), afișând fila Plate (Placă).
2. În biblioteca Target Names (Denumiri ținte) din fila Plate (Placă), selectați denumirea pe care doriți să o ștergeți și apăsați tasta Delete (Ștergere).
3. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).

Important: Nu puteți șterge denumirile de ținte pe care le-ați salvat împreună cu un fișier placă. Numele personalizate pe care le adăugați pe lista verticală Target Names (Denumiri ținte) și nu le folosiți și salvați împreună cu placa sunt eliminate automat din listă. Numele pe care le ștergeți din biblioteca Target Names (Denumiri ținte) sunt eliminate automat din software și nu mai sunt disponibile utilizatorilor. Procedați cu atenție când ștergeți denumiri de ținte.

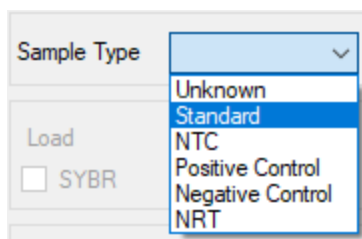
Atribuirea unei denumiri de probă alveolelor

Observație: Pentru a atribui o denumire probă, trebuie să atribuiți alveolelor selectate cel puțin un fluorofor. Dacă alveolelor selectate nu li se atribuie un fluorofor, lista verticală Sample Names (Denumiri probe) este dezactivată. Pentru informații despre atribuirea fluoroforilor, consultați [Atribuirea unei ținte alveolelor de la pagina 118](#).

Sfat: Puteți atribui o singură denumire probă fiecărei alveole sau fiecărui grup de alveole.

Pentru a atribui o denumire probă unei alveole sau unui grup de alveole

1. În Plate Editor (Editor placă), asigurați-vă că godeului sau grupului de alveole i s-a atribuit un fluorofor.
2. În panoul plăcii, selectați alveola sau grupul de alveole.
3. În panoul din dreapta, selectați un nume din lista verticală Sample Names (Denumiri probe).



4. Repetați [Pasul 3](#) pentru fiecare alveolă sau grup de alveole căruia trebuie să îi atribuiți o denumire probă.
5. Faceți clic pe OK pentru a accepta modificările și a salva placa.

Pentru a șterge o denumire probă

- ▶ Pentru a elimina o denumire probă din alveola sau grupul de alveole selectate, debifați-i caseta de selectare Load (Încărcare).

Pentru a adăuga o denumire probă în listă

- ▶ Pentru a adăuga o denumire probă în lista verticală, urmați una dintre procedurile următoare:
 - Tastați un nume din lista verticală Sample Names (Denumiri probe) și apăsați Enter.
 - Faceți clic pe simbolul + verde din dreapta listei verticale și tastați un nume pentru probă.
 - Faceți clic pe User Preferences (Preferințe utilizator) de pe bara de instrumente și adăugați numele în biblioteca Sample Names (Denumiri probe) din fila Plate (Placă).

Important: Denumirile probelor pe care le adăugați pe lista verticală sunt disponibile doar pentru placa curentă și doar dacă atribuiți denumirea unei alveole și salvați configurarea plăcii. Dacă nu atribuiți numele unei alveole și nu salvați structura plăcii, numele nu este salvat și nu este disponibil pentru utilizarea ulterioară. Pentru a adăuga permanent o denumire probă, adăugați-o și în biblioteca Sample Names (Denumiri probe) utilizând caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator). Numele pe care le adăugați în bibliotecă sunt disponibile după ce deschideți din nou Plate Editor (Editor placă). Pentru mai multe informații, consultați [Setarea parametrilor de placă impliciți de la pagina 67](#).

Pentru a șterge o denumire probă din listă

1. Faceți clic pe User Preferences (Preferințe utilizator) de pe bara de instrumente.
Va apărea caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator), afișând fila Plate (Placă).
2. În biblioteca Sample Names (Denumiri probe) din fila Plate (Placă), selectați denumirea pe care doriți să o ștergeți și apăsați tasta Delete (Ștergere).
3. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator).

Important: Nu puteți șterge denumirile de probe pe care le-ați salvat împreună cu un fișier placă. Numele personalizate pe care le adăugați pe lista verticală Sample Names (Denumiri probe) și nu le folosiți și salvați împreună cu placa sunt eliminate automat din lista verticală. Numele pe care le ștergeți din biblioteca Sample Names (Denumiri probe) sunt eliminate automat din software și nu mai sunt disponibile utilizatorilor. Procedați cu atenție când ștergeți denumiri de probe.

Atribuirea de seturi biologice alveolelor

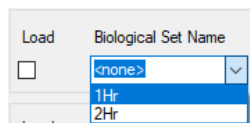
Observație: Pentru a atribui un set biologic, trebuie să atribuiți alveolelor selectate cel puțin un fluorofor. Atribuirea unui fluorofor activează lista verticală Biological Set Name (Nume set biologic). Pentru informații despre atribuirea fluoroforilor, consultați [Atribuirea unei ținte alveolelor de la pagina 118](#).

Sfat: Puteți atribui un set biologic fiecărei alveole sau fiecărui grup de alveole.

Pentru a atribui un set biologic unei alveole sau unui grup de alveole

1. În opțiunile View (Vizualizare) din partea de jos a ferestrei Plate Editor (Editor placă), bifați caseta de selectare Biological Set (Set biologic).
2. În Plate Editor (Editor placă), asigurați-vă că godeului sau grupului de alveole i s-a atribuit un fluorofor.
3. În panoul plăcii, selectați alveola sau grupul de alveole.
4. În panoul din dreapta, faceți o selecție din lista verticală Biological Set Name (Nume set biologic).

CFX Manager Dx software selectează automat caseta de selectare Load (Încărcare).



5. Repetați [Pasul 4](#) pentru fiecare alveolă sau grup de alveole căruia trebuie să îi atribuiți un set biologic.
6. Faceți clic pe OK pentru a accepta modificările și a salva placa.

Sfat: Atribuirea de nume de seturi biologice alveolelor activează Biological Set Analysis Options (Opțiuni analiză set biologic) în caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente), în care puteți efectua analiza probei folosind una dintre cele patru configurații. Pentru mai multe informații, consultați [Schimbarea setărilor experimentelor de la pagina 129](#).

Pentru a elimina un set biologic

- ▶ Pentru a elimina un set biologic din alveola sau grupul de alveole selectat, debifați-i caseta de selectare Load (Încărcare).

Pentru a adăuga un set biologic pe listă

- ▶ Pentru a adăuga un set biologic pe lista verticală, tastați un nume în caseta listei verticale Biological Set Name (Nume set biologic) și apăsați Enter.

Important: Numele seturilor biologice pe care le adăugați pe lista verticală sunt disponibile doar pentru placa curentă și doar dacă atribuiți numele unei alveole și salvați structura plăcii. Dacă nu atribuiți numele unei alveole și nu salvați structura plăcii, numele nu este salvat și nu este disponibil pentru utilizarea ulterioară.

Pentru a vedea toate seturile biologice de pe placă

- ▶ Bifați caseta de selectare Biological Set (Set biologic) din opțiunile View (Vizualizare) din partea de jos a ferestrei Editor.



Toate alveolele afișează numele setului biologic corespunzător, dacă au unul atribuit. Comanda Biological Set Name (Nume set biologic) este afișată în panoul din dreapta.

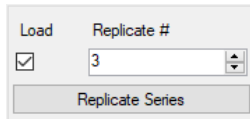
Pentru a ascunde seturile biologice, debifați caseta de selectare Biological Set (Set biologic) din opțiunile View (Vizualizare).

Atribuirea de cifre replicări alveolelor

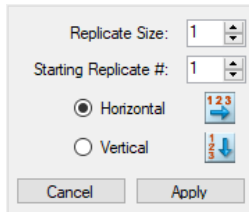
Important: Pentru a atribui cifre replicări, alveolele selectate trebuie să aibă conținut identic. Adică alveolele selectate trebuie să aibă același tip de probă și același fluorofor. Dacă se poate, trebuie, de asemenea, să le fie atribuite aceleași denumiri de țintă și de probă și același set biologic. Dacă nu sunt aceleași, CFX Manager Dx software nu activează această opțiune.

Pentru a atribui cifre replicări unui grup de alveole

1. În Plate Editor (Editor placă), asigurați-vă că conținutul grupului de alveole este identic.
2. În panoul plăcii, selectați grupul de alveole țintă.
3. Pentru a atribui aceleași număr de replicare tuturor alveole selectate, în secțiunea Replicate # (Nr. replicat) din panoul din dreapta tastați numărul replicatului în casetă și selectați Load (Încărcare).



4. (Opțional) Pentru a aplica o serie de replicare unui set de alveole selectate:
 - a. Faceți clic pe Replicate Series (Serie replicări). Secțiunea Replicate # (Nr. replicat) se modifică, afișând următoarele opțiuni:



- **Replicate size (Dimensiunea replicatului)** – un număr care reprezintă numărul de alveole din fiecare grup de replicare
- **Starting replicate # (Replicat inițial)** – primul număr din seria de replicare pentru grupul selectat de replicare

Observație: Implicit, CFX Manager Dx software afișează numărul inițial al replicatului cu o cifră mai mare decât ultimul număr al replicatului atribuit în placă. De exemplu, dacă ultimul număr de replicat din placă este cinci, următorul număr inițial este șase. Puteți schimba numărul inițial cu orice număr care nu a fost încă atribuit.

- Direcția de încărcare (orizontală sau verticală)
- b. Faceți clic pe Apply (Aplicare) pentru a aplica parametrii seriei și a reveni la afișajul Replicate # (Nr. replicat).
5. Faceți clic pe OK pentru a accepta modificările și a salva placa.

Pentru a elimina o alveolă dintr-o serie de replicate

- ▶ Selectați alveola sau grupul de alveole pe care doriți să le eliminați și debifați caseta de selectare Replicate # Load (Încărcare nr. replicat).

Alternativ, puteți face clic pe Clear Replicate # (Ștergere nr. replicat) pentru a șterge numărul replicatului dintr-o alveolă sau dintr-un grup de alveole selectate.

Atribuirea unei serii de diluție probelor de tip standard

După cum a fost menționat anterior, tuturor alveolelor cu probe de tip Standard trebuie să li se atribue o valoare de concentrație. Puteți atribui o serie de diluție mai multor alveole cu probe de tip Standard.

Observație: Pentru a atribui o serie de diluție unui grup de alveole, alveolele trebuie să fie incluse într-o serie de replicări. Pentru informații despre adăugarea alveolelor la o serie de replicate, consultați [Atribuirea de cifre replicări alveolelor de la pagina 123](#).

Pentru a atribui o serie de diluție unui grup de alveole cu probe de tip Standard

- În Plate Editor (Editor placă), asigurați-vă că sunt îndeplinite următoarele cerințe:
 - Tipul de probă pentru grupul de alveole este Standard.
 - Tuturor alveolelor din grup li s-a atribuit cel puțin un fluorofor și toate conțin aceiași fluorofori.
 - Toate alveolele din grup sunt incluse în aceeași serie de replicări.

Observație: CFX Manager Dx software permite opțiunea Dilution Series (Serie de diluție) doar dacă toate alveolele selectate îndeplinesc aceste criterii.
- În panoul plăcii, selectați grupul de alveole țintă.
- În secțiunea Concentration (Concentrație) din panoul din dreapta, faceți clic pe Dilution Series (Serie de diluție). Secțiunea Concentration (Concentrație) se modifică, afișând următoarele opțiuni:

Starting Concentration: 1.00E+06
 Replicates from: 9
 to: 16
 Dilution Factor: 10.000
 Increasing Decreasing
 <All>
 Cancel Apply

- **Starting concentration (Concentrația inițială)** – valoarea concentrației de la care pornește seria
 - **Replicates from and to (Replicatele de la și până la)** – replicatele din serie cărora li se va aplica factorul de diluție
 - **Dilution factor (Factor de diluție)** – cantitatea pentru modificarea concentrației din fiecare grup de replicate
4. Configurați valorile pentru opțiuni sau acceptați valorile implicite.
 5. Implicit, seria de diluție scade cu factorul de diluție. Selectați Increasing (Crescător) pentru a crește seria de diluție.
 6. (Opțional) Implicit, factorul de diluție se aplică tuturor fluoroforilor din seria de replicate. Dacă seria dumneavoastră conține mai mult de un fluorofor și doriți să aplicați diluția unui singur fluorofor, selectați-l din lista verticală.
 7. Faceți clic pe Apply (Aplicare) pentru a aplica seria de diluție grupului de alveole și pentru a reveni la vizualizarea Concentration (Concentrație).
 8. Faceți clic pe OK pentru a accepta modificările și a salva placa.

Copierea conținutului unei alveole într-o altă alveolă

Puteți copia conținutul unei alveole și-l puteți lipi într-o singură alveolă sau în mai multe alveole. Cu toate acestea, puteți copia conținutul unei singure alveole. Nu puteți selecta mai multe alveole pentru ca apoi să le copiați conținutul.

Pentru a copia conținutul unei alveole într-o altă alveolă

1. În panoul plăcii, selectați alveola pe care doriți să o copiați.
2. Faceți clic dreapta pe alveolă și selectați Copy Well (Copiere alveolă).
3. Selectați alveola sau alveolele în care doriți să lipiți conținutul:
 - Pentru a selecta o singură alveolă, faceți clic pe alveolă.
 - Pentru a selecta mai multe alveole adiacente, faceți clic pe o alveolă și trageți-o în alveola țintă.
 - Pentru a selecta mai multe alveole neadiacente, apăsați tasta Ctrl și faceți clic pe fiecare alveolă.
4. După ce ați selectat alveolele țintă, faceți clic dreapta și selectați Paste Well (Lipire alveolă). CFX Manager Dx software lipește conținutul primei alveole în alveolele selectate.

Adăugarea unei note la o alveolă

Puteți adăuga o notă descriptivă la o alveolă. Puteți vizualiza notele alveolelor în fila Quantification (Cuantificare) din fereastra Data Analysis (Analiză date).

Pentru a adăuga o notă la o alveolă

1. În panoul plăcii, selectați alveola sau alveolele la care intenționați să adăugați o notă.
2. În secțiunea View (Vizualizare) din panoul de jos, selectați Well Note (Notă alveolă).

Zona Well Note (Notă alveolă) apare în panoul din dreapta.



3. Scrieți conținutul notei în caseta de text și apăsați Enter.

Textul apare în partea de jos a alveolelor selectate.

Sfat: Dacă ați creat o notă de alveolă anterioară, o puteți selecta din lista verticală și o puteți aplica alveolelor selectate.

Golirea alveolelor de tot conținutul

Puteți debifa o alveolă individuală, un grup de alveole sau întreaga placă de tot conținutul. Golirea alveolelor nu elimină datele de fluorescență colectate în timpul citirii plăcii.

Golirea unei alveole elimină permanent conținutul din alveolă. Procedați cu atenție când debifați alveolele.

Pentru a debifa alveolele de toate setările

1. În Plate Editor (Editor placă), selectați alveola sau grupul de alveole în panoul plăcii:
 - Pentru a selecta o singură alveolă, faceți clic pe alveolă.
 - Pentru a selecta mai multe alveole adiacente, faceți clic pe o alveolă și trageți-o în alveola țintă.
 - Pentru a selecta mai multe alveole neadiacente, apăsați tasta Ctrl și faceți clic pe fiecare alveolă.
 - Pentru a selecta o întreagă coloană cu același tip de probă, faceți clic pe numărul coloanei.
 - Pentru a selecta un întreg rând, faceți clic pe numărul de rând aferent.
2. În panoul din dreapta, faceți clic pe Clear Wells (Debifare alveole).
CFX Manager Dx software debifează alveolele selectate de toate setările.
3. Faceți clic pe OK pentru a accepta modificările și a salva placa.

Schimbarea setărilor experimentelor

Utilizați caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente) pentru a vizualiza sau a modifica lista de ținte sau probe sau pentru a selecta grupul de analiză a expresiei genice și opțiunea de analiză a faptului de atribuire a seturilor biologice alveolelor din cadrul plăcii.

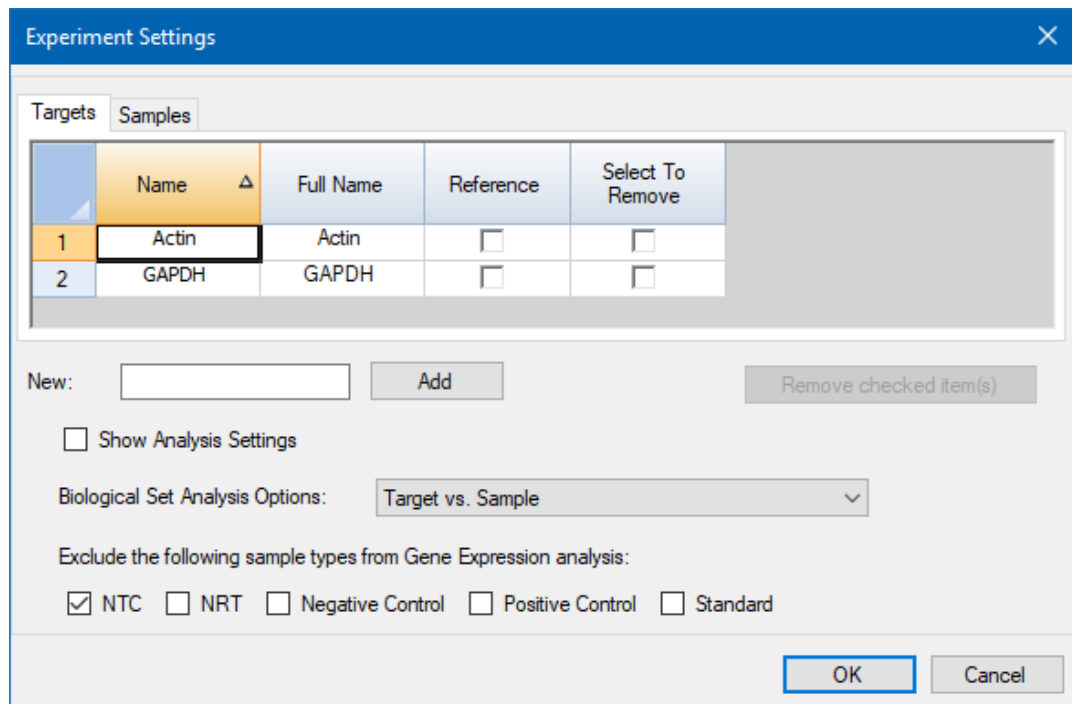
În caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente), fila Targets (Ținte) afișează o listă a denumirilor țintelor pentru fiecare reacție PCR, de exemplu gena țintă sau secvențele de gene de interes.

Fila Samples (Probe) afișează o listă de denumiri de probe care indică sursa țintei, de exemplu o probă recoltată la 1 oră (1 Hr) sau de la un anumit individ (mouse1 (șoarece1)).

Pentru a schimba setările plăcii utilizând caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente)

1. Pentru a deschide caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente), urmați una dintre procedurile următoare:
 - În panoul din dreapta al Plate Editor (Editor placă), faceți clic pe Experiment Settings (Setări experimente).
 - În fila Gene Expression (Expresie genică) din fereastra Data Analysis (Analiză date), faceți clic pe Experiment Settings (Setări experimente).

Apare caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente), care afișează conținutul filei Targets (Ținte).



2. Pentru a adăuga o nouă denumire de țintă sau probă, în tipul de filă corespunzător introduceți o denumire în caseta de text New (Nou) și faceți clic pe Add (Adăugare).
3. Pentru a elimina una sau mai multe denumiri de țintă sau probă din listă, în fila corespunzătoare bifați caseta de selectare a elementului din coloana Select to Remove (Selectare pentru eliminare) și faceți clic pe Remove checked item(s) (Eliminare elemente bifate).
4. CFX Manager Dx software exclude tipul de probă NTC (control fără ținta de amplificare) din analiza expresiei genice.

Pentru a include tipurile de probe NTC, debifați caseta de selectare corespunzătoare din secțiunea Exclude the following sample types (Excludeți următoarele tipuri de probe). Puteți alege să excludeți următoarele tipuri de probe selectând caseta de selectare corespunzătoare:

- NRT (fără transcriptază inversă)
- Negative Control (Control negativ)
- Positive Control (Control pozitiv)
- Standard

5. În fila Targets (Ținte):

- a. Pentru a selecta o țintă ca referință pentru analiza datelor expresiei genice, selectați-o în coloana Reference (Referință).
- b. Pentru a ascunde setările de analiză care vor fi aplicate în fila Gene Expression (Expresie genică) din fereastra Analysis Settings (Setări analiză), debifați Show Analysis Settings (Afișare setări analiză).

Software-ul ascunde următoarele coloane:

- Color (Culoare)
 - Show Chart (Afișare grafic)
 - Auto Efficiency (Eficiență automată)
 - Efficiency (%) (Eficiență (%))
- c. Pentru a schimba culoarea țintei așa cum este reprezentată în graficul Gene Expression (Expresie genică), faceți clic pe celula corespunzătoare din coloana Color (Culoare), selectați o culoare nouă în caseta de dialog Color (Culoare) și faceți clic pe OK.
 - d. Pentru a afișa ținta cu culoarea selectată în graficul Gene Expression (Expresie genică), bifați-i caseta de selectare în coloana Show Chart (Afișare grafic).
 - e. Implicit, CFX Manager Dx calculează automat eficiența relativă a țintei, dacă datele acesteia includ o curbă standard.

Pentru a utiliza o valoare de eficiență determinată anterior, introduceți valoarea în celula corespunzătoare din coloana Efficiency (%) (Eficiență (%)) și apăsați tasta Enter. CFX Manager Dx debifează caseta de selectare Auto Efficiency (Eficiență automată).

6. În fila Samples (Probe):

- a. Pentru a selecta o probă drept probă de control pentru analiza datelor expresiei genice, selectați caseta sa de selectare în coloana Control.
- b. Pentru a atribui condiția de control unei probe pentru o rulare, faceți clic pe caseta sa de selectare în coloana Control.
- c. Dacă nu este deja selectată, faceți clic pe Show Analysis Settings (Afișare setări analiză) pentru a vizualiza sau a schimba parametrii de analiză care vor fi aplicați în fila Gene Expression (Expresie genică). Software-ul ascunde coloanele Color (Culoare) și Show Chart (Afișare grafic).

7. Dacă atributeți unul sau mai multe seturi biologice alveolelor de pe placă (consultați [Atribuirea de seturi biologice alveolelor de la pagina 122](#)), selectați una dintre următoarele opțiuni din lista Biological Set Analysis Options (Opțiuni analiză set biologic):
 - **Target vs. Sample (Țintă vs. Probă)** – numai denumirea probei din alveolă este utilizată în calculele expresiei genice.
 - **Target vs. Biological Set (Țintă vs. Set biologic)** – numai denumirea setului biologic este utilizată în calcule.
 - **Target vs. Sample_Biological Set (Țintă vs. Probă_Set biologic)** – denumirea probei și denumirea setului biologic se combină pentru a crea un nume unic utilizat în calcule.
 - **Target vs. Biological Set_Sample (Țintă vs. Set biologic_Probă)** – denumirea setului biologic și denumirea probei se combină pentru a crea un nume unic utilizat în calcule.
8. Faceți clic pe OK pentru a salva parametrii în caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente) și a reveni la fereastra Plate Editor (Editor placă).

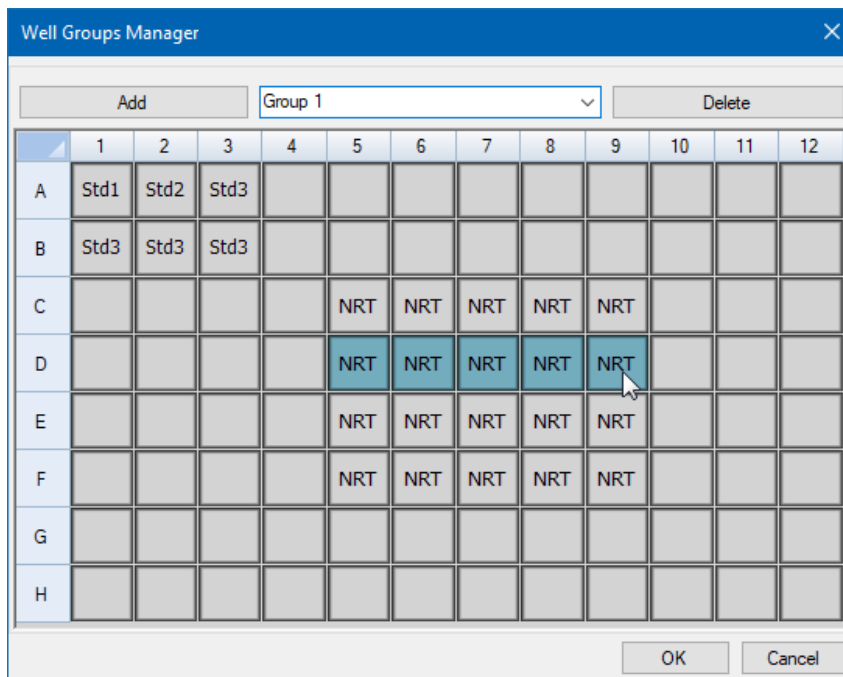
Crearea de grupuri de alveole

Grupurile de alveole împart o placă individuală în subseturi de alveole care pot fi analizate independent în fereastra Data Analysis (Analiză date). După configurarea grupurilor de alveole, selectați unul în fereastra Data Analysis (Analiză date) pentru a analiza datele pentru fiecare grup în mod independent. De exemplu, configurați grupuri de alveole pentru a analiza mai multe rulări de experimente pe o singură placă sau pentru a analiza fiecare grup de alveole cu o curbă standard diferită.

Observație: Grupul de alveole implicit este All Wells (Toate alveolele).

Pentru a crea grupuri de alveole

1. Pentru a deschide Well Groups Manager (Manager grupuri de alveole), urmați una dintre procedurile următoare:
 - Pe bara de instrumente Plate Editor (Editor placă), faceți clic pe Well Groups (Grupuri alveole).
 - În fereastra Data Analysis (Analiză date), faceți clic pe Manage Well Groups (Gestionare grupuri alveole).
- Apare caseta de dialog Well Groups Manager (Manager grupuri de alveole).



2. Faceți clic pe Add (Adăugare) pentru a crea un grup nou. Meniul vertical afișează denumirea grupului ca Group 1 (Grupul 1) pentru primul grup.
3. Selectați alveolele pentru grupul de alveole din vizualizarea plăcii, făcând clic și deplasând cursorul peste grupul de alveole. Alveolele selectate apar cu albastru în Manager.
4. (Opțional) Pentru a schimba denumirea grupului, selectați-o din meniul vertical și introduceți o denumire nouă.
5. (Opțional) Pentru a șterge un grup de alveole, selectați denumirea sa din lista verticală și faceți clic pe Delete (Ștergere).
6. Faceți clic pe OK pentru a finaliza și a închide fereastra sau faceți clic pe Cancel (Anulare) pentru a închide fereastra fără a efectua modificări.

Important: Pentru a afișa grupurile de alveole, selectați Well Groups (Grupuri alveole) din opțiunile View (Vizualizare) din partea de jos a ferestrei Plate Editor (Editor placă).

Elementele de meniu afișate prin clic dreapta pentru caseta de dialog Well Groups Manager (Manager grupuri de alveole)

Tabelul 13 listează elementele disponibile în caseta de dialog Well Groups Manager (Manager grupuri de alveole) atunci când faceți clic dreapta pe orice alveolă.

Tabelul 13. Elementele de meniu afișate prin clic dreapta pentru caseta de dialog Plate Editor Well Selector (Editor placă Selector alveole)

Element	Funcție
Copy (Copiere)	Copiază conținutul godeului, care poate fi apoi lipit în alt alveolă sau alte alveole.
Copy as Image (Copiere ca imagine)	Copiază vizualizarea selector de alveolă sub formă de imagine.
Print (Imprimare)	Imprimă vizualizarea selector de alveolă.
Print Selection (Imprimare selecție)	Imprimă doar celulele selectate.
Export to Excel (Exportare în Excel)	Exportă datele într-o foaie de calcul Excel.
Export to Csv (Exportare în Csv)	Exportă datele într-un document cu valori separate prin virgulă.
Export to Xml (Exportare în Xml)	Exportă datele drept document .xml.
Export to Html (Exportare în Html)	Exportă datele drept document .html.

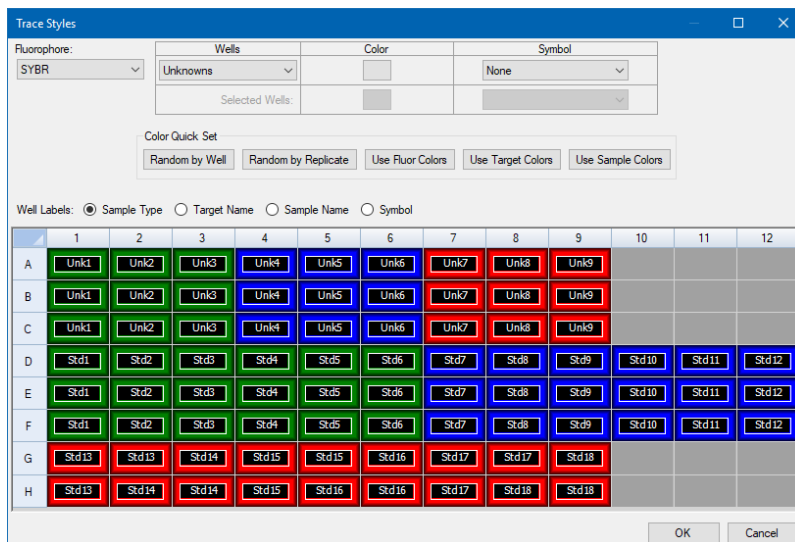
Modificarea stilurilor urmelor

În timpul configurării plăcii și în cursul rulării, puteți modifica culoarea și stilul urmelor de amplificare. Apoi puteți vedea cu ușurință urmele în fereastra de stare în timp real, pe măsură ce datele sunt colectate.

Pentru a modifica stilurile urmelor

1. Faceți clic pe Trace Styles (Stiluri Urme) în bara de instrumente Plate Editor (Editor placă).

Va apărea caseta de dialog Trace Styles (Stiluri Urme) pentru placa deschisă, de exemplu:



2. Pentru a afișa stilurile urmelor în funcție de un anumit fluorofor, selectați-l din lista verticală Fluorophores (Fluorofori).
3. Pentru a schimba afișarea urmei:
 - a. Selectați tipul urmei din lista verticală Wells (Godeuri).
 - b. Faceți clic pe culoarea acesteia în coloana Color (Culoare).
 - c. În caseta de dialog Color (Culoare) care apare, selectați o altă culoare pentru urmă și faceți clic pe OK.
Modificarea tipului de alveolă apare în grila de mai jos.
 - d. (Opțional) Selectați un simbol pentru urmă din lista verticală Symbols (Simboluri).

4. Pentru a schimba rapid setul de culori, faceți clic pe opțiunea corespunzătoare din secțiunea Color Quick Set (Set de culori rapid).
5. Pentru a vedea etichetele godeului în grilă, selectați tipul etichetei în secțiunea Well Labels (Etichete alveole).
6. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările sau pe Cancel (Anulare) pentru a anula modificările.

Vizualizarea plăcii în format foaie de calcul

Instrumentul Spreadsheet View/Importer (Vizualizare/Importator foaie de calcul) afișează conținutul unei plăci în format foaie de calcul. Puteți utiliza instrumentul Spreadsheet View/Importer (Vizualizare/Importator foaie de calcul) pentru a exporta conținutul godeului în format delimitat cu tabulatoare într-o aplicație precum Microsoft Excel. Puteți, de asemenea, importa conținut dintr-o aplicație delimitată cu tabulatoare.

Pentru a utiliza instrumentul Spreadsheet View/Importer (Vizualizare/Importator foaie de calcul)

1. În bara de instrumente Plate Editor (Editor placă), faceți clic pe Spreadsheet View/Importer (Vizualizare/Importator foaie de calcul) pentru a deschide caseta de dialog Plate Spreadsheet View (Vizualizare placă în foaie de calcul).

Row	Column	Sample Type	Replicate #	*Target Name	*Sample Name	Starting Quantity	Units
D	10	Std	10	Tubulin	dil-10	1.000E+005	copy number
D	11	Std	11	Tubulin	dil-11	1.000E+006	copy number
D	12	Std	12	Tubulin	dil-12	1.000E+007	copy number
E	1	Std	1	Actin	dil-1	1.000E+002	copy number
E	2	Std	2	Actin	dil-2	1.000E+003	copy number
E	3	Std	3	Actin	dil-3	1.000E+004	copy number
E	4	Std	4	Actin	dil-4	1.000E+005	copy number
E	5	Std	5	Actin	dil-5	1.000E+006	copy number
E	6	Std	6	Actin	dil-6	1.000E+007	copy number
E	7	Std	7	Tubulin	dil-7	1.000E+002	copy number
E	8	Std	8	Tubulin	dil-8	1.000E+003	copy number
E	9	Std	9	Tubulin	dil-9	1.000E+004	copy number
E	10	Std	10	Tubulin	dil-10	1.000E+005	copy number
E	11	Std	11	Tubulin	dil-11	1.000E+006	copy number
E	12	Std	12	Tubulin	dil-12	1.000E+007	copy number

2. Caseta de dialog Spreadsheet View (Vizualizare în foaie de calcul) afișează conținutul plăcii pentru un singur fluorofor. Pentru a vizualiza conținutul plăcii pentru alt fluorofor, selectați-l din lista verticală Fluors List (Listă fluorofori).
3. Faceți clic pe Export Template (Exportare șablon) pentru a exporta un șablon al foii de calcul a plăcii într-un format de fișier Excel (format .csv). Puteți edita acest șablon pentru a importa informațiile despre conținutul godeului.
4. (Opțional) Faceți clic pe Import (Importare) pentru a importa conținutul godeului dintr-un fișier cu delimitare prin virgule.
5. Pentru a sorta foaia de calcul în funcție de datele dintr-o anumită coloană, faceți clic pe triunghiul de lângă denumirea coloanei.

Sfat: Puteți edita conținutul oricărei celule dintr-o coloană care are un asterisc (*) lângă denumirea coloanei (de exemplu, *Target Name (Denumire țintă)).

Observație: Selectați unitățile pentru datele curbei standard din coloana Quantity (Cantitate) deschizând Plate Editor (Editor placă) și selectând Settings > Units (Setări > Unități) din bara de meniu. După ce rularea plăcii este finalizată, datele din aceste standarde apar în graficul Standard Curve (Curbă standard) din fila Quantification (Cuantificare) din fereastra Data Analysis (Analiză date) cu unitățile pe care le-ați selectat.

Elemente de meniu afișate prin clic dreapta pentru instrumentul Plate Spreadsheet View/Importer (Vizualizare/Importator foaie de calcul placă)

Tabelul 14 prezintă elementele de meniu disponibile în instrumentul Spreadsheet View/Importer (Vizualizator/Importator foaie de calcul) atunci când faceți clic dreapta pe orice alveolă din instrument.

Tabelul 14. Elemente de meniu afișate prin clic dreapta în instrumentul Plate Spreadsheet View/Importer (Vizualizare/Importator foaie de calcul placă)

Element	Funcție
Copy (Copiere)	Copiază toată foaia de calcul.
Copy as Image (Copiere ca imagine)	Copiază foaia de calcul ca fișier imagine.
Print (Imprimare)	Imprimă foaia de calcul.
Print Selection (Imprimare selecție)	Imprimă doar celulele selectate.
Export to Excel (Exportare în Excel)	Exportă fișierul într-o foaie de calcul Excel.
Export to Csv (Exportare în CSV)	Exportă fișierul ca fișier .csv.
Export to Xml (Exportare în Xml)	Exportă fișierul ca fișier .xml.
Export to Html (Exportare în Html)	Exportă fișierul ca fișier .html.
Find (Găsire)	Caută text specific.
Sort (Sortare)	Sortează foaia de calcul selectând până la trei coloane de date în fereastra Sort (Sortare).

Crearea unei structuri de placă folosind Plate Setup Wizard (Expert configurare placă)

Puteți utiliza Setup Wizard (Expert configurare) pentru a introduce informațiile privind structura plăcii care sunt necesare pentru analiza expresiei genice normalizate, inclusiv:

- Denumiri ținte
- Denumiri probe
- Poziția țintelor și probei pe placă
- Genă/gene de referință
- Probă de control

Puteți folosi Setup Wizard (Expert configurare) înainte, în timpul sau după finalizarea unei rulări.

Utilizarea Setup Wizard (Expert configurare) al plăcii

Această secțiune explică modul de creare a unei structuri de placă cu ajutorul Setup Wizard (Expert configurare). Pentru a vizualiza conținutul fiecărei alveole din placă mai ușor, faceți clic pe Zoom plate (Mărire placă) din partea de sus a Setup Wizard (Expert configurare).

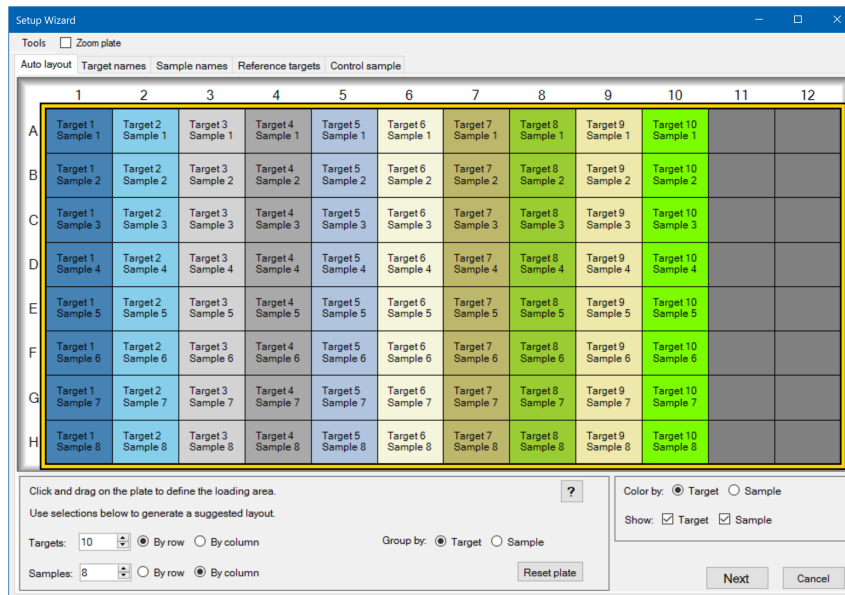
Important: Revenirea la fila Auto layout (Structură automată) când vă aflați în orice altă filă din Setup Wizard (Expert configurare) resetează structura plăcii. Procedați cu atenție când selectați această filă.

Sfat: Puteți reseta structura selectând Tools > Clear Plate (Instrumente > Ștergere placă) în Setup Wizard (Expert configurare).

Pentru a utiliza Setup Wizard (Expert configurare) al plăcii

1. Deschideți Plate Editor (Editor placă)
2. Pentru a deschide Setup Wizard (Expert configurare), alegeți Editing Tools (Instrumente de editare) > Setup Wizard (Expert configurare).

Setup Wizard (Expert configurare) va apărea în fila Auto layout (Structură automată).



3. În fila Auto layout (Structură automată), urmați procedura următoare:
 - a. Faceți clic pe o alveolă din grilă și trageți peste și în jos pentru a specifica zona de pe placă în care doriți să încărcați proba.
 - b. Introduceți numărul de ținte și probe de încărcat.

Sfat: Numărul de ținte și probe trebuie să fie egal cu numărul de celule selectate. Dacă numerele introduse nu se potrivesc în zona selectată, modificați numerele sau zona de selectare a plăcii. Orientarea elementelor de pe placă și gruparea acestora pot fi specificate.
 - c. (Opțional) Modificați orientarea plăcii. De exemplu, puteți configura țintele în coloane și probele în rânduri sau puteți grupa după probe.
 - d. Faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Target Names (Denumiri ținte).

Observație: Dacă structura plăcii nu are un model obișnuit, folosiți fila Target Names (Denumiri ținte) pentru a vă poziționa manual țintele sau fila Sample Names (Denumiri probe) pentru a vă poziționa manual probele pe placă. Faceți clic și trageți pentru a selecta mai multe alveole.

4. În fila Target Names (Denumiri țintă), definiți numele țintei pentru grupurile de ținte:
 - a. Uurmați una dintre procedurile următoare:
 - Pentru a redenumi țintele după grup, setați Select by (Selectare după) la Target (Țintă).
 - Pentru a redenumi țintele după alveolă, setați Select by (Selectare după) la Well (Alveolă).
 - b. Selectați un grup de ținte sau alveole din grilă și tastați un nume în lista verticală Target name (Denumire țintă).

Sfat: Apăsăți Tab pentru a selecta următorul grup sau următorul alveolă din dreapta sau Enter pentru a selecta următorul grup sau următorul alveolă de dedesubt. Alternativ, în filele Target name (Denumire țintă) și Sample name (Denumire probă), apăsați tasta Control și faceți clic pe o alveolă pentru a selecta mai multe alveole care nu sunt adiacente.
 - c. Faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Sample Names (Denumiri probe).
5. În fila Sample Names (Denumiri probe), definiți numele probelor pentru grupurile de probe.
6. Faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Reference targets (Ținte de referință).
7. În fila Reference targets (Ținte de referință), selectați una sau mai multe ținte pe care să le folosiți drept referințe pentru expresia genică normalizată și faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Control sample (Probă de control).
8. În fila Control sample (Probă de control), selectați o probă de utilizat ca și control în calculele expresiei genice relative.
9. Faceți clic pe OK pentru a salva structura plăcii și a reveni la fila Plate Editor (Editor placă), în care puteți defini alți parametri de placă. Pentru mai multe informații, consultați [Atribuirea de parametri opționali fișierului placă de la pagina 118](#).

Alternativ, faceți clic pe Previous (Înapoi) pentru a reveni la o filă anterioară și a efectua orice modificări.

Observație: Revenirea la fila Auto layout (Structură automată) resetează automat placa. Procedați cu atenție când faceți clic pe Previous (Înapoi).

Capitolul 8 Rularea de experimente

Acest capitol vă explică cum să rulați experimente de testare personalizate (definite de utilizator) sau PrimePCR folosind CFX Manager Dx software.

Un fișier de date de rulare conține informațiile despre protocol și placă pentru rularea respectivă. Fișierul conține și datele obținute în urma analizelor realizate de CFX Manager Dx după finalizarea rulării.

CFX Manager Dx software facilitează configurarea și rularea experimentelor definite de utilizator sau PrimePCR. Fereastra Run Setup (Configurare rulare) vă ghidează prin pașii comuni de configurare a unui experiment, ducându-vă la caseta de dialog Start Run (Începere rulare), din care puteți iniția rularea.

Accesarea ferestrei Run Setup (Configurare rulare)

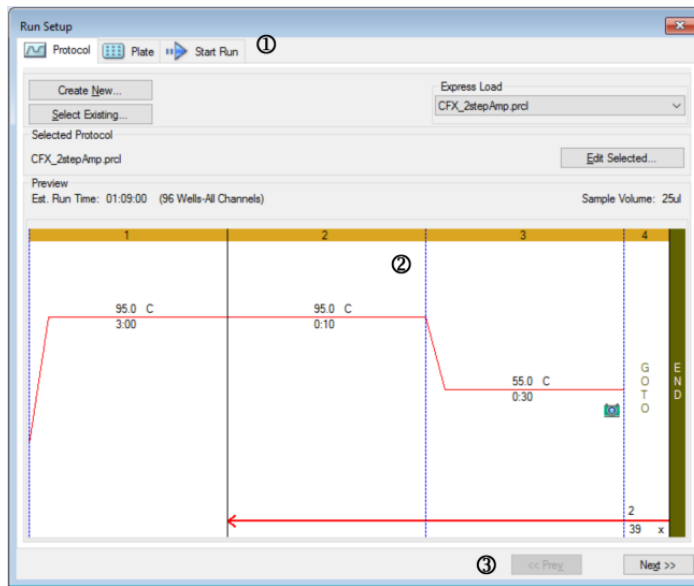
Pentru a accesa fereastra Run Setup (Configurare rulare)

- ▶ Urmați una dintre procedurile următoare:
 - În fila Run Setup (Configurare rulare) din Startup Wizard (Expert pornire), faceți clic fie pe User-defined (Definită de utilizator), fie pe PrimePCR.
 - În fereastra Home (Fereastră de pornire), faceți clic fie pe User-defined Run Setup (Configurare rulare definită de utilizator), fie pe PrimePCR Run Setup (Configurare rulare PrimePCR) de pe bara de instrumente.
 - În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați fie Run > User-defined Run (Rulare > Rulare definită de utilizator), fie Run (Rulare) > PrimePCR Run (Rulare PrimePCR).

Fereastra Run Setup (Configurare rulare)

Fereastra Run Setup (Configurare rulare) oferă acces rapid la fișierele și setările necesare pentru configurarea și desfășurarea unui experiment. Când optați să rulați un experiment definit de utilizator, fereastra Run Setup (Configurare rulare) se deschide, afișând fila Protocol. Când optați să rulați un experiment PrimePCR, fereastra Run Setup (Configurare rulare) se deschide, afișând fila Start Run (Începere rulare).

Sfat: Consultați [Efectuarea de experimente PrimePCR de la pagina 161](#) pentru informații privind PrimePCR; consultați [Fila Start Run \(Începere rulare\) de la pagina 151](#) pentru informații privind fila Start Run (Începere rulare).

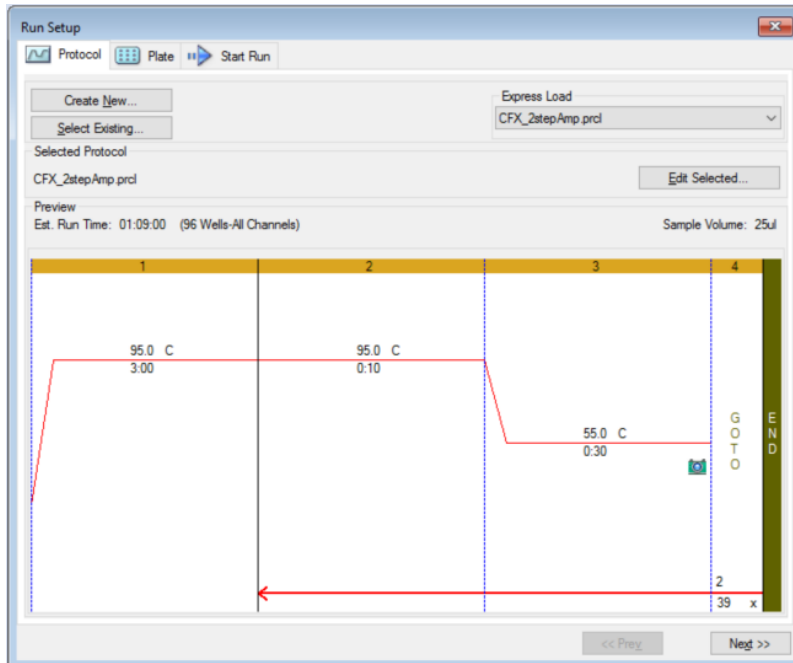


LEGENDĂ

1. Fișele vă ghidează prin configurarea și rularea unui experiment:
 - Fila Protocol – selectați un protocol existent pentru rulare sau editare sau pentru a crea un protocol nou în Protocol Editor (Editor Protocol).
 - Fila Plate (Placă) – selectați o placă existentă pentru rulare sau editare sau pentru a crea o placă nouă în Plate Editor (Editor placă).
 - Fila Start Run (Începere rulare) – vizualizați setările experimentului, selectați unul sau mai multe blocuri de instrumente și începeți rularea.
2. Fereastra principală afișează opțiunile pentru fiecare filă pe măsură ce le aplicați.
3. Butoanele de navigare vă duc la fila Start Run (Începere rulare).

Fila Protocol

Fila Protocol afișează o previzualizare a fișierului de protocol pe care intenționați să-l rulați. Un fișier de protocol conține instrucțiunile pentru pașii de temperatură ai instrumentului, precum și opțiunile instrumentului care controlează viteza de creștere, volumul probei și temperatura capacului.



Implicit, software-ul afișează protocolul definit în secțiunea File Selection for Run Setup (Selectare fișier pentru configurarea rulării) din fila Files (Fișiere) în caseta de dialog User > User Preferences (Utilizator > Preferințe utilizator). Puteți modifica protocolul implicit în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator). Pentru mai multe informații, consultați [Schimbarea setărilor implicite ale fișierelor de la pagina 64](#).

În fila Protocol, puteți:

- Crea un nou protocol de rulat
- Selecta un protocol existent pentru a-l rula sau edita

Pentru mai multe informații despre crearea și modificarea protocoalelor, consultați [Capitolul 6, Crearea de protocoale](#).

Pentru a crea un nou protocol

1. În fila Protocol, faceți clic pe Create New (Creare nou).
Va apărea fereastra Protocol Editor (Editor Protocol).
2. Utilizați Protocol Editor (Editor Protocol) pentru a crea un nou protocol.
3. Faceți clic pe OK pentru a salva protocolul și a reveni la fila Protocol din Run Setup (Configurare rulare).
4. Vizualizați detaliile protocolului și urmați una dintre procedurile următoare:
 - Dacă detaliile sunt corecte, faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Plate (Placă).
 - Dacă detaliile sunt incorecte, faceți clic pe Edit Selected (Editare selectat) pentru a reveni la fereastra Protocol Editor (Editor Protocol). Revizuiți protocolul, salvați modificările, apoi faceți clic pe Next (Înainte) din fila Protocol pentru a accesa fila Plate (Placă).

Pentru a selecta un protocol existent

1. În fila Protocol, urmați una dintre procedurile următoare:
 - Faceți clic pe Select Existing (Selectare existent) pentru a naviga la un protocol existent.
 - Faceți clic pe Express Load (Încărcare expresă) și selectați un protocol din lista verticală a protocoalelor.

Sfat: Puteți adăuga sau elimina protocoale din lista verticală Express Load (Încărcare expresă). Pentru mai multe informații, consultați [Adăugarea și ștergerea protocoalelor cu încărcare expresă](#).
2. Vizualizați detaliile protocolului și urmați una dintre procedurile următoare:
 - Dacă detaliile sunt corecte, faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Plate (Placă).
 - Dacă detaliile sunt incorecte, faceți clic pe Edit Selected (Editare selectat) pentru a deschide fereastra Protocol Editor (Editor Protocol). Revizuiți protocolul, salvați modificările, apoi faceți clic pe Next (Înainte) din fila Protocol pentru a accesa fila Plate (Placă).

Adăugarea și ștergerea protocoalelor cu încărcare expresă

Puteți modifica conținutul listei verticale Express Load (Încărcare expresă) care apare în Protocol Editor (Editor Protocol). Protocoalele din această listă sunt salvate în următorul folder:

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

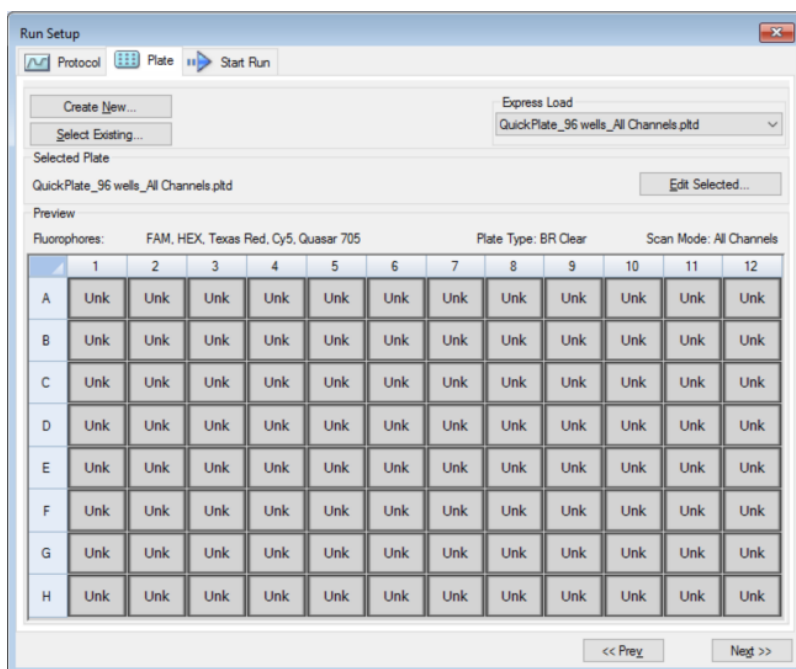
Pentru a modifica lista de protocoale Express Load (Încărcare expresă)

1. Navigați la și deschideți folderul ExpressLoad (Încărcare expresă).
2. Verificați fișierele de protocol (.pcri) din folder.
3. Urmați una dintre procedurile următoare:
 - Ștergeți protocoalele din folder pentru a le îndepărta din lista verticală.
 - Copiați protocoalele în folder pentru a le adăuga în lista verticală.

Fila Plate (Placă)

Observație: Dacă protocolul selectat în fila Protocol nu include un pas de citire placă pentru analiza PCR în timp real, fila Plate (Placă) este ascunsă. Pentru a vizualiza fila Plate (Placă), adăugați cel puțin o citire de placă la protocol.

Fila Plate (Placă) afișează o previzualizare a fișierului de placă pe care doriți să îl încărcați. Într-o rulare PCR în timp real, fișierul de placă conține o descriere a conținutului fiecărei alveole, incluzând fluoroforii acestora, modul de scanare și tipul de placă. CFX Manager Dx software utilizează aceste descrieri pentru colectarea și analiza datelor.



Implicit, software-ul afișează placa definită în secțiunea File Selection for Run Setup (Selectare fișier pentru configurarea rulării) din fila Files (Fișiere) din caseta de dialog User > User Preferences (Utilizator > Preferințe utilizator). Puteți modifica placa implicită în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator). Pentru mai multe informații, consultați [Schimbarea setărilor implicite ale fișierelor de la pagina 64](#).

În fila Plate (Placă), puteți:

- Creați o placă nouă pentru încărcare.
- Selectați o placă existentă pentru încărcare sau editare.

Pentru mai multe informații privind crearea și modificarea plăcilor, consultați [Capitolul 7, Pregătirea plăcilor](#).

Pentru a crea o placă nouă

1. Pe fila Plate (Placă), faceți clic pe Create New (Creare nou).
Apare Plate Editor (Editor placă).
2. Utilizați Plate Editor (Editor placă) pentru a crea o placă nouă.
3. Faceți clic pe OK pentru a salva placa și a reveni la fila Plate (Placă) din Run Setup (Configurare rulare).
4. Vizualizați detaliile plăcii și urmați una dintre procedurile următoare:
 - Dacă detaliile sunt corecte, faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Start Run (Începere rulare).
 - Dacă detaliile sunt incorecte, faceți clic pe Edit Selected (Editare selectate) pentru a reveni la fereastra Plate Editor (Editor placă). Revizuiți fișierul de placă, salvați modificările, apoi faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Plate (Placă) pentru a continua la fila Start Run (Începere rulare).

Pentru a selecta un fișier de placă existent

1. În fila Plate (Placă), urmați una dintre procedurile următoare:
 - Faceți clic pe Select Existing (Selectare existent) pentru a naviga la un fișier de placă existent.
 - Faceți clic pe Express Load (Încărcare expresă) și selectați un fișier de placă din lista verticală.

Sfat: Puteți adăuga sau elimina plăci din lista verticală Express Load (Încărcare expresă). Pentru mai multe informații, consultați [Adăugarea și ștergerea fișierelor placă cu încărcare expresă](#).
2. Vizualizați detaliile plăcii și urmați una dintre procedurile următoare:
 - Dacă detaliile sunt corecte, faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Start Run (Începere rulare).
 - Dacă detaliile sunt incorecte, faceți clic pe Edit Selected (Editare selectat) pentru a deschide fereastra Plate Editor (Editor placă). Revizuiți fișierul de placă, salvați modificările, apoi faceți clic pe Next (Înainte) pentru a accesa fila Start Run (Începere rulare).

Adăugarea și ștergerea fișierelor placă cu încărcare expresă

Puteți modifica conținutul listei verticale Express Load (Încărcare expresă) care apare în Plate Editor (Editor placă). Plăcile care apar în această listă sunt salvate în următorul folder:

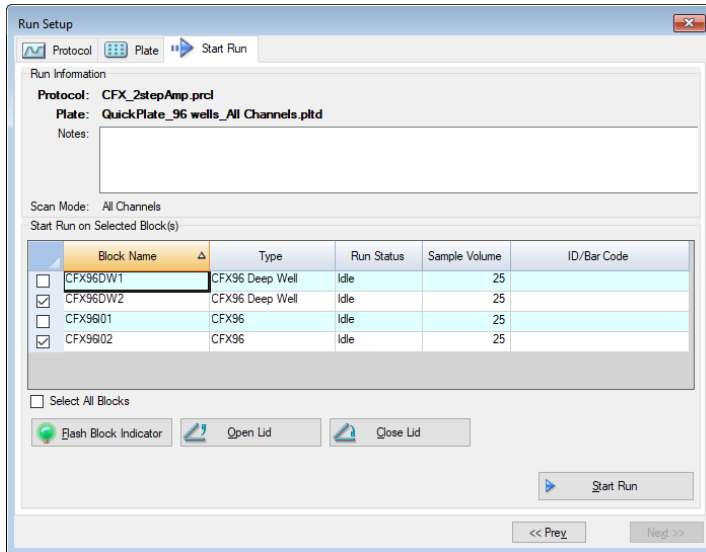
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\Users\\ExpressLoad\

Pentru a modifica lista de fișiere de placă Express Load (Încărcare expresă)

1. Navigați la și deschideți folderul ExpressLoad (Încărcare expresă).
2. Verificați fișierele de placă (.pltd) din folder.
3. Urmați una dintre procedurile următoare:
 - Ștergeți fișierele de placă din folder pentru a le îndepărta din lista verticală.
 - Copiați fișierele de placă din folder pentru a le adăuga în lista verticală.

Fila Start Run (Începere rulare)

Fila Start Run (Începere rulare) afișează informații despre experimentul care urmează a fi rulat. Aceasta afișează, de asemenea, blocul sau blocurile instrumentului conectat pe care puteți rula experimentul.



Utilizând fila Start Run (Începere rulare), puteți face următoarele lucruri:

- Vizualiza informații detaliate despre rulare, inclusiv fișierul de protocol selectat, fișierul placă și modul de scanare.
- Adăuga observații despre rulare.
- Vizualiza detalii despre toate instrumentele conectate, inclusiv starea lor de rulare (în funcțiune sau inactiv), volumul probei în μ l, temperatura capacului, modul de emulare și nr. de identificare sau codul de bare, dacă sunt disponibile.

Observație: Puteți modifica coloanele care apar în tabelul Start Run on Selected Blocks (Începere rulare pe blocurile selectate). Pentru detalii, consultați [Modificarea detaliilor din tabelul Selected Blocks \(Blocuri selectate\) de la pagina 152](#).

- Selectați blocul sau blocurile pe care doriți să realizați rulare.
- Deschideți sau închideți de la distanță capacul fiecărui instrument selectat.
- Porniți rulare.

Modificarea detaliilor din tabelul Selected Blocks (Blocuri selectate)

Puteți modifica coloanele care apar în tabelul Start Run on Selected Block(s) (Începere rulare pe blocurile selectate). Puteți, de asemenea, modifica valorile implicite pentru volumul probei și temperatura capacului în tabel. Schimbările setărilor sunt aplicate asupra rulării de efectuat.

Pentru a adăuga coloane în tabelul Start Run on Selected Blocks (Începere rulare pe blocurile selectate)

- ▶ Faceți clic dreapta pe tabel și selectați o opțiune în meniul care apare.

Pentru a elimina coloane din tabelul Start Run on Selected Blocks (Începere rulare pe blocurile selectate)

- ▶ Faceți clic dreapta pe tabel și ștergeți opțiunea din meniul care apare.

Pentru a edita valorile pentru volumul probei sau temperatura capacului pentru un bloc

- ▶ Selectați celula pentru volumul probei sau temperatura capacului pentru blocul țintă și introduceți o valoare nouă în celulă.

Pentru a adăuga un ID de rulare sau un cod de bare pentru un bloc

- ▶ Selectați celula ID/Bar Code (ID/Cod de bare) pentru blocul țintă și introduceți un ID sau scanați blocul cu un cititor de cod de bare.

Rularea unui experiment

Important: Înainte de a rula un experiment, asigurați-vă că software-ul anti-virus al computerului dumneavoastră nu va iniția o scanare în timpul rulării.

Pentru a rula un experiment

1. În fila Start Run (Începere rulare), verificați detaliile despre placă și protocol în secțiunea Run Information (Informații rulare).
2. (Opțional) Adăugați observații despre rulare sau experiment în caseta de text Notes (Observații).
3. Bifați caseta de selectare a blocului sau blocurilor pe care doriți să realizați rulare.

Sfat: Pentru a rula experimentul pe toate blocurile, selectați Select All Blocks (Selectare toate blocurile) de sub tabelul Selected Blocks (Blocuri selectate).

4. (Opțional) Faceți clic pe Flash Block Indicator (Indicator lumină intermitentă bloc) pentru a face să lumineze indicatorul LED de pe blocurile selectate ale instrumentului.
5. Introduceți plăcile experimentului în bloc:
 - a. Faceți clic pe Open Lid (Deschidere capac). Se va deschide capacul motorizat al fiecărui bloc selectat.
 - b. Introduceți un bloc de experiment în fiecare bloc selectat.
 - c. Faceți clic pe Close Lid (Închidere capac)).

Sfat: Pentru a deschide și închide capacul, puteți, de asemenea, apăsa butonul de pe partea frontală a fiecărui bloc.
6. Faceți clic pe Open Lid (Deschidere capac) și Close Lid (Închidere capac) pentru a deschide și închide capacul motorizat al fiecărui bloc selectat pentru instrument.
7. Vizualizați detaliile rulării și urmați una dintre procedurile următoare:
 - Dacă detaliile sunt corecte, faceți clic pe Start Run (Începere rulare).
 - Dacă detaliile sunt incorecte:
 - Corectați detaliile în tabelul Selected Blocks (Blocuri selectate) și faceți clic pe Start Run (Începere rulare).
 - Reveniți la fila corectă și efectuați modificările adecvate, salvați modificările, apoi faceți clic pe Next (Înainte) pentru a reveni la fila Start Run (Începere rulare) și a iniția rularea.

Pentru a iniția o nouă rulare dintr-o rulare anterioară

- ▶ Urmați una dintre procedurile următoare:
 - Selectați File > Repeat a Run (Fișier > Repetare rulare) din bara meniului principal al software-ului; navigați la și faceți dublu clic pe fișierul de date al rulării pe care doriți să o repetați.
 - Selectați fila Repeat Run (Repetare rulare) din Startup Wizard (Expert pornire) și faceți dublu clic pe fișierul de date al rulării pe care doriți să o repetați.

Opțional, în fila Repeat Run (Repetare rulare) puteți face clic pe Browse (Navigare) și naviga la și face dublu clic pe fișierul de date al rulării pe care doriți să o repetați.

Caseta de dialog Run Details (Detalii rulare)

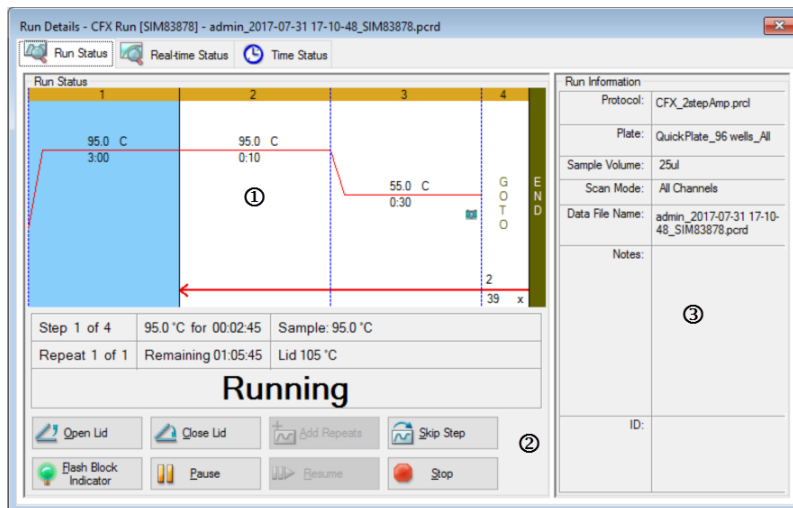
Când faceți clic pe Start Run (Începere rulare), CFX Manager Dx software vă indică să salvați fișierul de date (.pcrd), începe rularea și deschide caseta de dialog Run Details (Detalii rulare). Caseta de dialog Run Details (Detalii rulare) cuprinde trei file de stare:

- **Run Status (Stare rulare)** – utilizată pentru a vizualiza starea actuală a protocolului, a deschide sau închide capacul, a pune pe pauză o rulare, a adăuga repetări, a omite pași sau a opri rularea.
- **Real-time Status (Stare în timp real)** – utilizată pentru a vizualiza datele fluorescenței PCR în timp real, pe măsură ce sunt colectate.
- **Time Status (Stare timp)** – utilizată pentru a vizualiza pe întregul ecran cronometrul pentru numărătoarea inversă pentru protocol.

Aceste file sunt explicate în detaliu în următoarele secțiuni.

Fila Run Status (Stare rulare)

Fila Run Status (Stare rulare) afișează starea actuală a unei rulări în curs de desfășurare. În această vizualizare puteți, de asemenea, să controlați capacul și să schimbați rularea în curs de desfășurare.



LEGENDĂ

1. Panoul Run Status (Stare rulare) – afișează progresul actual al protocolului.

2. Soluții de control pentru Run Status (Stare rulare) – vă permit să operați instrumentul sau să întrerupeți protocolul actual.

3. Panoul Run Information (Informații rulare) – afișează detaliile rulării.

Comenzi Run Status (Stare rulare)

Utilizați comenzile din fila Run Status (Stare rulare) fie pentru a opera instrumentul din software, fie pentru a modifica o rulare în curs.

Observație: Schimbările aduse protocolului în timpul rulării, precum adăugarea de repetări, nu modifică fișierul de protocol asociat rulării. Aceste acțiuni sunt înregistrate în Run Log (Jurnal rulare).



– deschide capacul motorizat al instrumentelor selectate.

Important: Deschiderea capacului în timpul unei rulări pune rularea pe pauză în timpul pasului curent și ar putea modifica datele.



– închide capacul motorizat al instrumentelor selectate.



– adaugă mai multe repetări la pasul curent GOTO (SaltLa) din protocol. Această opțiune este disponibilă doar când rulează un pas GOTO (SaltLa).



– omite pasul curent din protocol.

Observație: Dacă omiteți un pas GOTO (SaltLa), software-ul vă cere să confirmați că doriți să omiteți întreaga buclă GOTO (SaltLa) și să continuați cu următorul pas din protocol.



– face să lumineze intermitent LED-ul de pe instrumentul selectat, pentru a identifica blocurile selectate.



– pune protocolul pe pauză.

Observație: Această acțiune este înregistrată în Run Log (Jurnal rulare).



– reia un protocol care a fost pus pe pauză.

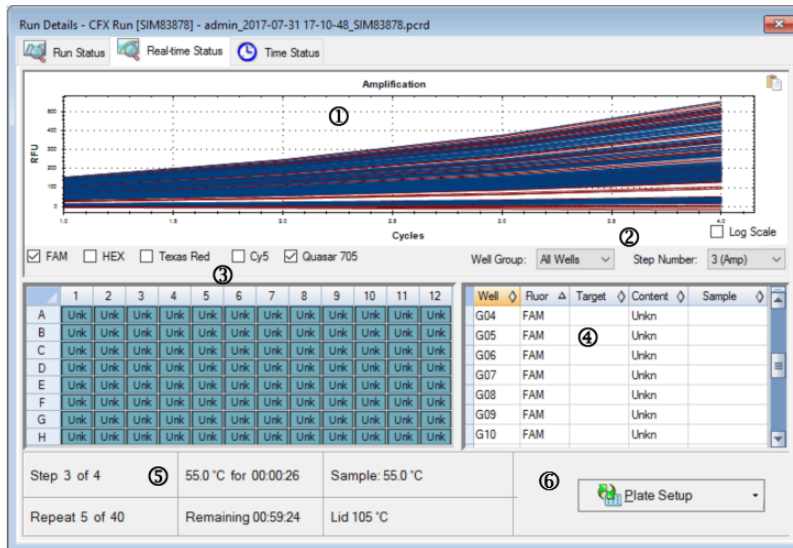


– oprește rularea înainte ca protocolul să fie finalizat.

Observație: Oprerea unei rulări înainte ca protocolul să fie finalizat vă poate modifica datele.

Fila Real-time Status (Stare în timp real)

Fila Real-time Status (Stare în timp real) afișează datele PCR în timp real colectate în fiecare ciclu în timpul rulării, după primele două citiri ale plăcii.



LEGENDĂ

1. Panoul urme de amplificare – afișează datele de amplificare în timp real din timpul rulării.

2. Identificator grup de alveole – dacă la configurarea plăcii au fost identificate grupuri de alveole, utilizatorii pot selecta un anumit grup de alveole pentru a-i vizualiza urmele, alveolele și informațiile tabelare.
Identificator număr de pas – dacă protocolul colectează date la mai mult de un pas (de exemplu, în timpul amplificării și curbei de topire), utilizatorii pot selecta un anumit pas și vizualiza urmele colectate la pasul respectiv.

3. Panoul selectorului de alveole – afișează alveolele active, inactive și goale din placă.

4. Panoul tabelului de configurare a plăcii – afișează configurarea plăcii în format tabelar.

5. Panoul cu detalii despre rulare – afișează starea rulării în timp real, inclusiv:
 - Pasul curent
 - Repetarea curentă
 - Temperatura curentă
 - Timpul rămas
 - Temperatura probei
 - Temperatura capacului
-
6. Plate Setup (Configurare placă) – deschide caseta de dialog Plate Setup (Configurare placă), în care utilizatorii pot modifica configurarea curentă a plăcii în timpul unei rulări.

În fila Real-time Status (Stare în timp real) puteți:

- Afișa sau ascunde urmele în timp real, selectându-le în panoul selectorului de alveole sau în tabelul de configurare a plăcii.
- Vizualiza o singură urmă sau grupuri de urme selectându-le din meniul vertical al grupurilor de alveole.
- Edita placa sau înlocui fișierul placă.
- Aplica un fișier PrimePCR la rulare.

Afișarea sau ascunderea urmelor în timp real

Implicit, toate alveolele umplute sunt active și apar în tabelul de configurare a plăcii. Alveolele active apar cu albastru în panoul selectorului de alveole. Alveolele ascunse apar cu gri deschis, iar alveolele nefolosite apar cu gri închis în panoul selectorului de alveole.

Puteți ascunde urmele din alveolele active în timpul rulării. CFX Manager Dx continuă să colecteze date pentru toate alveolele; când ascundeți alveole, datele lor nu apar în tabelul de configurare a plăcii.

Pentru a ascunde urmele în timp real

- ▶ În panoul selectorului de alveole, faceți clic pe alveolele active (albastre) pe care doriți să le ascundeți.

Pentru a afișa urmele în timp real

- ▶ În panoul selectorului alveole, faceți clic pe alveolele ascunse (gri deschis) pe care doriți să le afișați.

Pentru mai multe informații despre selectorul de alveole, consultați [Selectorul de alveole de la pagina 174](#).

Editarea configurării plăcii

Pentru a edita configurarea plăcii

- ▶ Faceți clic pe Plate Setup (Configurare placă) și apoi selectați View/Edit Plate (Vizualizare editare/placă).

Apare fereastra Plate Editor (Editor placă) în care puteți edita placa în timp ce rulare este în curs. Pentru mai multe informații despre editarea plăcilor, consultați [Capitolul 7, Pregătirea plăcilor](#).

Observație: De asemenea, puteți edita stilurile de urme din fereastra Plate Editor (Editor placă). Modificările apar în graficul urmelor de amplificare din fila Real-time Status (Stare în timp real).

Înlocuirea unui fișier placă

Sfat: Înlocuirea unui fișier placă este utilă în special dacă inițiați o rulare cu un fișier Quick Plate (Placă rapidă) din folderul ExpressLoad (Încărcare expresă) .

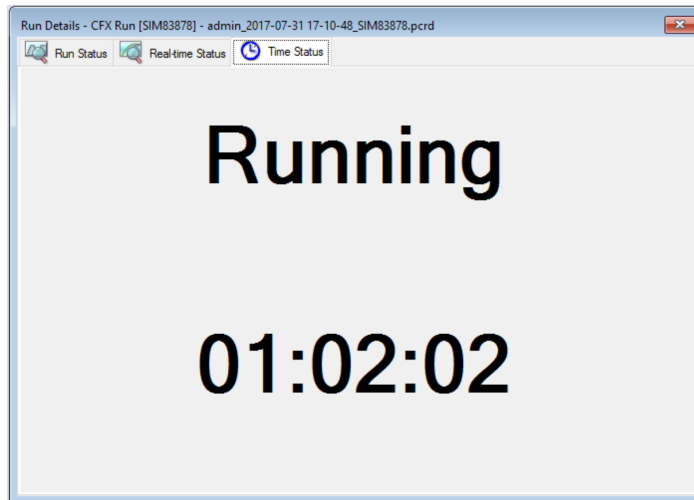
Pentru a înlocui un fișier placă

- ▶ Faceți clic pe Plate Setup (Configurare placă), apoi selectați una dintre următoarele opțiuni:
 - Replace Plate file (Înlocuire fișier placă) – selectați noul fișier placă din lista din fereastra de navigare
 - Apply PrimePCR file (Aplicare fișier PrimePCR) – căutați un fișier de rulare din care se va obține structura plăcii, utilizând Smart search (Căutare inteligentă) sau făcând clic pe Browse (Răsfoire) pentru a găsi un fișier pe care l-ați descărcat de pe site-ul web Bio-Rad și care nu se află în folderul PrimePCR

Observație: CFX Manager Dx verifică modul de scanare și dimensiunea plăcii pentru fișierul placă. Acestea trebuie să corespundă cu cele din setările rulării cu care a început rulare.

Fila Time Status (Stare timp)

Fila Time Status (Stare timp) afișează timpul rămas pentru finalizarea rulării actuale.



Efectuarea de experimente PrimePCR

Experimentele PrimePCR utilizează teste specifice pentru cale biologică sau afecțiune pe care Bio-Rad le-a validat și le-a optimizat în laborator umed și care sunt disponibile în următoarele formate:

- Panouri cu placă preconfigurată – plăci care conțin teste care sunt specifice pentru o cale biologică sau afecțiune; acestea includ soluții de control PrimePCR și gene de referință
- Plăci cu o configurație personalizată – plăci care pot fi configurate într-o structură definită de utilizator, cu opțiunea de a selecta teste pentru ținte de interes, soluții de control și referințe
- Teste individuale – eprubete care conțin seturi de primeri individuale pentru utilizare în reacții în timp real

Pentru a reduce timpul de rulare general, puteți elimina pasul de topire din protocol. Bio-Rad vă recomandă insistent să nu faceți nicio altă modificare unui protocol de rulare PrimePCR. Protocolul implicit este cel care a fost utilizat pentru validarea testului. Orice deviere de la aceasta poate afecta rezultatele. Schimbările privind protocolul sunt notate în fila Run Information (Informații rulare) pentru fișierul de date rezultat și în orice rapoarte create.

Pentru a iniția o rulare PrimePCR

- ▶ Pentru a iniția o rulare PrimePCR, efectuați oricare dintre următoarele:
 - În Startup Wizard (Expert pornire), selectați PrimePCR pe fila Run Setup (Configurare rulare) și apoi selectați chimia corespunzătoare (SYBER sau sondă).
 - Selectați o rulare PrimePCR din lista Recent Runs (Rulări recente) de pe fila Repeat Run (Repetare rulare) în Startup Wizard (Expert pornire).
 - Selectați File > New > PrimePCR Run (Fișier > Nou > Rulare PrimePCR) în fereastra Home (Fereastră de pornire).
 - Selectați File > New > PrimePCR Run File (Fișier > Nou > Fișier Rulare PrimePCR) în fereastra Home (Fereastră de pornire).
 - Trageți și eliberați un fișier de rulare PrimePCR în fereastra Home (Fereastră de pornire).

După ce ați selectat o rulare PrimePCR, fereastra Run Setup (Configurare rulare) se deschide pe fila Start Run (Începere rulare) cu structura implicită de placă PrimePCR încărcată în funcție de instrumentul selectat.

Pentru a elimina pasul de topire din protocol

- ▶ Pe fila Protocol, ștergeți caseta adiacentă față de Include Melt Step (Includere pas topire).

Pentru a importa informații țintă pentru plăci PrimePCR într-o structură de placă

1. Urmăriți una dintre procedurile următoare:
 - În fila Real-time Status (Stare în timp real) din caseta de dialog Run Details (Detalii rulare), selectați Plate Setup > Apply PrimePCR File (Configurare placă > Aplicare fișier PrimePCR).
 - În fereastra Data Analysis (Analiză date), selectați Plate Setup > Apply PrimePCR File (Configurare placă > Aplicare fișier PrimePCR).
2. În caseta de dialog fișier de rulare PrimePCR, faceți clic pe Browse (Răsfoire) pentru a naviga la fișierul PrimePCR corespunzător (.csv).
3. Selectați fișierul PrimePCR țintă și faceți clic pe Open (Deschidere).

CFX Manager Dx importă informațiile țintă în structura dvs. de placă.

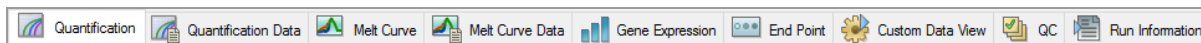
Capitolul 9 Prezentare generală a Data Analysis (Analiză date)

CFX Manager Dx furnizează mai multe metode de a deschide și vizualiza fișierele de date. Puteți:

- Să selectați File > Open > Data File (Fișier > Deschidere > Fișier de date) din fereastra Home (Fereastră de pornire) și să navigați la fișierul .pcrd țintă.
- Să selectați File > Recent Data Files (Fișier > Fișiere de date recente) din fereastra Home (Fereastră de pornire) pentru a selecta dintr-o listă cu cele mai recente zece fișiere de date deschise.

Fereastra Data Analysis (Analiză date)

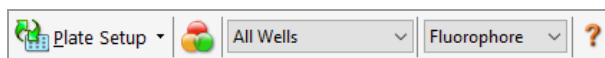
Fereastra Data Analysis (Analiză date) afișează mai multe file, fiecare filă afișând datele analizate pentru o anumită metodă de analiză sau informații specifice rulării. Filele apar doar dacă datele colectate în timpul rulării sunt disponibile pentru tipul respectiv de analiză.



Sfat: Pentru a alege filele care vor fi afișate, selectați-le din meniul vertical View (Vizualizare) din fereastra Data Analysis (Analiză date). Pentru a reveni la aspectul original al filei, selectați Settings > Restore Default Window Layout (Setări > Restabilire Aspect fereastră implicit).



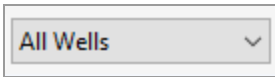
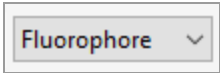

Bara de instrumente de analiză a datelor

Bara de instrumente din fereastra Data Analysis (Analiză date) oferă acces rapid la funcții importante de analiză a datelor.



Tabelul 15 listează funcțiile butoanelor de pe bara de instrumente.

Tabelul 15. Bara de instrumente a ferestrei Data Analysis (Analiză date)

Buton	Denumire	Funcție
	Plate Setup (Configurare placă)	View/Edit (Vizualizare/Editare) placă: Deschide Plate Editor (Editor placă) pentru a vizualiza și edita conținutul alveolelor. Fișier de înlocuire placă: selectează un fișier placă pentru a înlocui configurarea plăcii. Fișier pentru aplicarea PrimePCR: selectează un fișier de rulare care va înlocui structura plăcii pentru o rulare PrimePCR.
	Gestionare grupuri de alveole	Deschide fereastra Well Groups Manager (Manager grupuri de alveole) pentru a crea, edita și șterge grupuri de alveole.
	Grup de alveole	Selectează numele unui grup de alveole existent din meniul vertical. Selecția implicită este All Wells (Toate alveolele). Acest buton apare doar când sunt create grupuri de alveole.
	Analysis Mode (Mod Analiză)	Analizează datele fie în modul Fluorophore (Fluorofor), fie în modul Target (Țintă).
	Help (Ajutor)	Deschide o copie digitală a acestui manual în format Acrobat PDF.

Bara de meniu de analiză a datelor

Tabelul 16 listează elementele barei de meniu din fereastra Data Analysis (Analiză date).

Tabelul 16. Elementele barei de meniu din fereastra Data Analysis (Analiză date)

Element de meniu	Comandă	Funcție
File (Fișier)	Save (Salvare)	Salvează fișierul.
	Save As (Salvare ca)	Salvează fișierul cu o denumire nouă.
	Repeat Run (Repetare rulare)	Extrage fișierul de protocol și placă din rularea curentă, pentru a-l rula din nou.
	Close (Închidere)	Închide fereastra Data Analysis (Analiză date).
View (Vizualizare)	Run Log (Jurnal rulare)	Deschide o fereastră Run Log (Jurnal rulare) pentru a vizualiza jurnalul rulării fișierului de date curent.
	Quantification, Melt Curve, Gene Expression, End Point, Custom Data View, QC, Run Information (Cuantificare, Curbă de topire, Expresie genică, Momentul final, Vizualizare de date personalizată, CC, Informații rulare)	Afișează datele analizate din filele selectate în fereastra Data Analysis (Analiză date). Trebuie selectată cel puțin o filă.
Settings (Setări)	C _q Determination Mode (Mod determinare C _q)	Selectați modul Regression (Regresie) sau Single Threshold (Prag unic) pentru a determina cum se calculează valorile C _q pentru fiecare urmă.
	Baseline Setting (Setarea Nivel inițial)	Selectați metoda Baseline Subtraction (Scădere nivel inițial) pentru grupurile de alveole selectate.
	Analysis Mode (Mod Analiză)	Selectați pentru a analiza datele în funcție de Fluorophore (Fluorofor) sau Target (Țintă).

Tabelul 16. Elementele barei de meniu din fereastra Data Analysis (Analiză date), continuare

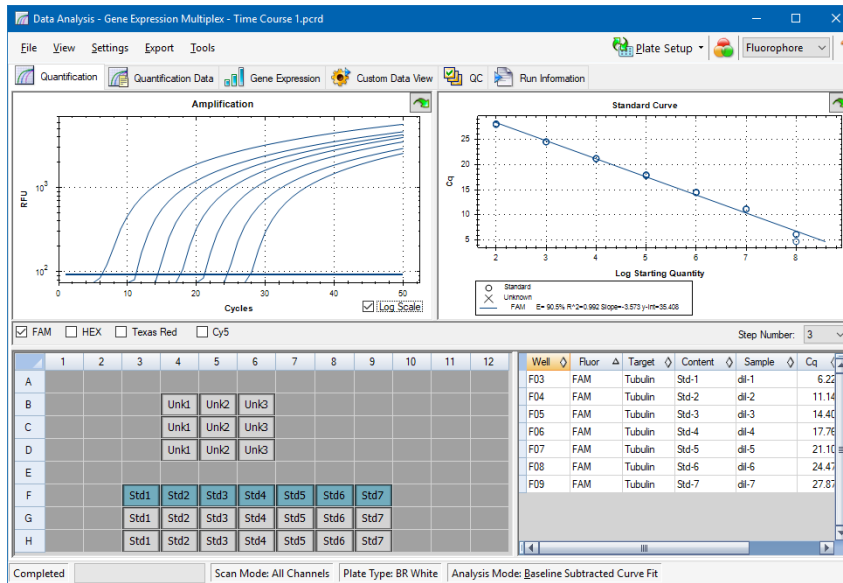
Element de meniu	Comandă	Funcție
	Cycles to Analyze (Cicluri de analizat)	Selectați ciclurile care urmează a fi analizate.
	Baseline Thresholds (Praguri nivel inițial)	Deschide fereastra Baseline Thresholds (Praguri nivel inițial) pentru a ajusta nivelul inițial sau pragul.
	Trace Styles (Stiluri Urme)	Deschide fereastra Trace Styles (Stiluri Urme).
	Plate Setup (Configurare placă)	Deschide Plate Editor (Editor placă) pentru a vizualiza și edita placa; înlocuiți placa curentă cu una dintr-un fișier placă definit de utilizator sau un fișier de rulare PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Includeți toate alveolele excluse)	Include toate alveolele excluse în analiză.
	Mouse Highlighting (Evidențiere cu mouse-ul)	Activează sau dezactivează evidențierea simultană a datelor cu indicatorul mouse-ului. Sfat: Dacă Mouse Highlighting (Evidențiere cu mouse-ul) este dezactivată, apăsați tasta Control pentru a activa temporar evidențierea.
	Restore Default Window Layout (Restabilire Aspect fereastră implicit)	Restabilește aranjarea ferestrei la setările implicite.

Tabelul 16. Elementele barei de meniu din fereastra Data Analysis (Analiză date), continuare

Element de meniu	Comandă	Funcție
Export (Exportare)	Export All Data Sheets to Excel (Exportă toate fișele de date în Excel)	Exportă toate vizualizările foilor de calcul din fiecare filă în fișiere Excel individuale.
	Custom Export (Exportare personalizată)	Deschide fereastra Custom Export (Exportare personalizată) în care pot fi specificate câmpurile de exportat și formatul fișierului.
	Export to LIMS Folder (Exportare în folderul LIMS)	Deschide o fereastră pentru a salva datele într-un format predeterminat în folderul LIMS.
	Seegene Export (Exportare Seegene)	Deschide o fereastră pentru a identifica locul de salvare a datelor din toate foile de calcul în fișiere Excel structurate special pentru a fi utilizate de Seegene, Inc.
Tools (Instrumente)	Reports (Rapoarte)	Deschide Raportul pentru acest fișier de date.
	Well Group Reports (Rapoarte pentru grupuri de alveole)	Deschide fereastra Well Group Report (Rapoarte pentru grupuri de alveole) pentru a genera rapoarte pentru grupurile de alveole specificate.
	Import Fluorophore Calibration (Importare calibrare fluorofor)	Selectați un fișier de calibrare de aplicat fișierului de date curent.
	qbase+	Lansează qbase+ v2.5 direct din fișierul .pcrd curent, dacă este instalat.

Detalii filă

Fiecare filă din fereastra Data Analysis (Analiză date) afișează datele în grafice și foi de calcul pentru o anumită metodă de analiză și include un selector de alveolă pentru selectarea datelor pe care doriți să le afișați. Când se deschide, Data Analysis (Analiză date) afișează implicit fila Quantification (Cuantificare). Puteți utiliza datele din graficul Amplification (Amplificare) din fila Quantification (Cuantificare) pentru a determina setările adecvate de analiză pentru rulare.

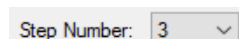


Observație: Software-ul asociază datele din panourile fiecărei file Data Analysis (Analiză date). De exemplu, evidențierea unei alveole prin plasarea indicatorului mouse-ului pe alveolă în vizualizarea selector de alveole evidențiază datele din toate celelalte panouri.

Selector Step Number (Număr pas)

Sistemele CFX96 și CFX96 Deep Well pot achiziționa date de fluorescență în cadrul mai multor pași de protocol; software-ul păstrează datele achiziționate separat pentru fiecare pas. Software-ul afișează selectorul Step Number (Număr pas). Atunci când un protocol conține cel puțin un pas de colectare a datelor, CFX Manager Dx software afișează datele din primul pas de colectare.

Dacă protocolul conține mai mult de un pas de colectare, puteți selecta un alt pas din lista verticală, de exemplu:



Când selectați un pas, software-ul aplică acea selecție tuturor datelor afișate în fereastra Data Analysis (Analiză date).

Vizualizarea grupurilor de alveole în Data Analysis (Analiză date)

Alveolele din placă pot fi grupate în subseturi pentru analiză independentă utilizând grupuri de alveole. Când creați grupuri de alveole, denumirea grupului apare în fereastra Data Analysis (Analiză date), în lista verticală Well Groups (Grupuri de alveole) de pe bara de instrumente.

Dacă ați creat grupuri de alveole, software-ul afișează grupul implicit de alveole All Wells (Toate alveole) atunci când deschideți fereastra Data Analysis (Analiză date), afișând datele din toate alveolele cu conținut în grafice și foi de calcul. Doar alveolele din grupul de alveole respectiv încărcate cu conținut apar în selectorul de alveole și doar datele pentru alveolele respective sunt incluse în calculele analizei datelor.

Observație: Dacă nu ați creat grupuri de alveole, lista verticală Well Groups (Grupuri de alveole) nu va apărea în bara de instrumente.

Modificarea conținutului alveolelor după o rulare

În timpul analizei datelor, modificarea modului în care sunt afișate datele prin modificarea conținutului alveolelor în Plate Editor (Editor placă) nu modifică niciodată datele de fluorescență colectate din fiecare alveolă în timpul rulării. După ce modulul colectează datele de fluorescență, acele date nu pot fi șterse, dar puteți să le eliminați din vizualizare și din analiză.

Pentru modificarea conținutului alveolelor după o rulare

- ▶ În fereastra Data Analysis (Analiză date), faceți clic pe Plate Setup (Configurare placă) și selectați una dintre următoarele opțiuni:
 - **Edit/View Plate (Editare/Vizualizare placă)** – deschide Plate Editor (Editor placă), unde puteți face modificări manuale la configurare.

- **Replace Plate file (Înlocuire fișier placă)** – deschide browser-ul Select Plate (Selectare placă), în care puteți naviga la o placă salvată anterior cu care să înlocuiți structura actuală a plăcii.
- **Apply PrimePCR file (Aplicare fișier PrimePCR)** – deschide caseta de dialog Select PrimePCR file (Selectare fișier PrimePCR), în care puteți naviga la un fișier de rulare PrimePCR, pe care îl puteți aplica structurii plăcii.

Sfat: Puteți adăuga sau edita informații despre conținutul godeului înainte de o rulare, în timpul sau după o rulare sau după finalizarea unei rulări PCR. Trebuie să atribuiți modul de scanare și dimensiunea plăcii înainte de rulare. Acești parametri nu pot fi modificați după rulare.

Setări Analiză date

Datele graficului Amplification (Amplificare) din fila Quantification (Cuantificare) indică fluorescența relativă (RFU) pentru fiecare alveolă din fiecare ciclu. Fiecare urmă din grafic reprezintă datele de la un singur fluorofor dintr-o alveolă. Aceste date sunt utilizate pentru determinarea valorilor C_q pentru fiecare alveolă și fluorofor. Software-ul folosește unul dintre cele două moduri pentru a determina valorile C_q :

- **Regression (Regresie)** – aplică un model de regresie neliniar, cu mai multe variabile, urmelor individuale ale godeului, iar apoi utilizează modelul respectiv pentru a calcula o valoare C_q optimă.
- **Single Threshold (Prag unic)** – folosește o singură valoare de prag pentru a calcula valoarea C_q în funcție de punctul de depășire a pragului urmelor de fluorescență individuale.

Selectați Settings > C_q Determination Mode (Setări > Mod determinare C_q) pentru a alege modul de determinare al C_q .

Ajustarea pragului

În modul Single Threshold (Prag unic), puteți ajusta pragul pentru un fluorofor făcând clic pe linia de prag din graficul Amplification (Amplificare) și deplasând indicatorul mouse-ului pe verticală. Alternativ, puteți specifica un prag exact pentru fluoroforul existent.

Setarea Nivel inițial

Software-ul setează automat nivelul inițial individual pentru fiecare alveolă. Setarea Nivel inițial determină metoda de scădere a nivelului inițial pentru toate urmele de fluorescență. Software-ul oferă trei opțiuni de scădere a nivelului inițial:

- **No Baseline Subtraction (Fără scădere a nivelului inițial)** – afișează datele sub formă de urme de fluorescență relativă. Anumite analize nu sunt posibile în acest mod de analiză, prin urmare software-ul nu afișează filele Gene Expression (Expresie genică), End Point (Momentul final) și Allelic Discrimination (Evidențiere alelică).
- **Baseline Subtracted (Nivelul inițial scăzut)** – afișează datele sub formă de urme din care s-a scăzut nivelul inițial pentru fiecare fluorofor dintr-o alveolă. Software-ul trebuie să scadă nivelul inițial din date pentru a determina ciclurile de cuantificare, construi curbele standard și determina concentrația probelor necunoscute. Pentru a genera o urmă din care s-a scăzut nivelul inițial, software-ul integrează cea mai bună linie dreaptă prin fluorescența înregistrată a fiecărei alveole în timpul ciclurilor inițiale, apoi scade datele cele mai potrivite din datele de fond din care s-a scăzut nivelul inițial la fiecare ciclu.

- **Baseline Subtracted Curve Fit (Potrivirea curbei din care s-a scăzut nivelul inițial)** – afișează datele drept urme din care s-a scăzut nivelul inițial, iar software-ul ajustează curba din care s-a scăzut nivelul inițial folosind un filtru de medie centrat. Acest proces este realizat în așa fel încât fiecare C_q să rămână invariabilă.

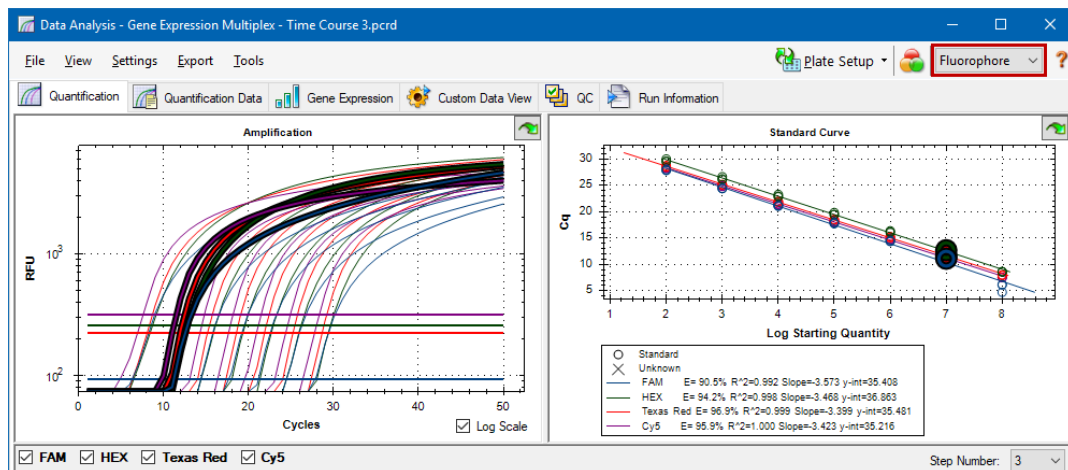
Pe lângă aceste opțiuni, puteți selecta și Apply Fluorescent Drift Correction (Aplicare corecție deviație fluorescență). Pentru alveolele care au valori de deviație RFU anormale în timpul primelor câteva cicluri ale unei rulări, software-ul derivă un nivel inițial estimat din alveolele adiacente pentru care s-a generat cu succes un nivel inițial orizontal.

Pentru a schimba setarea scăderii nivelului inițial:

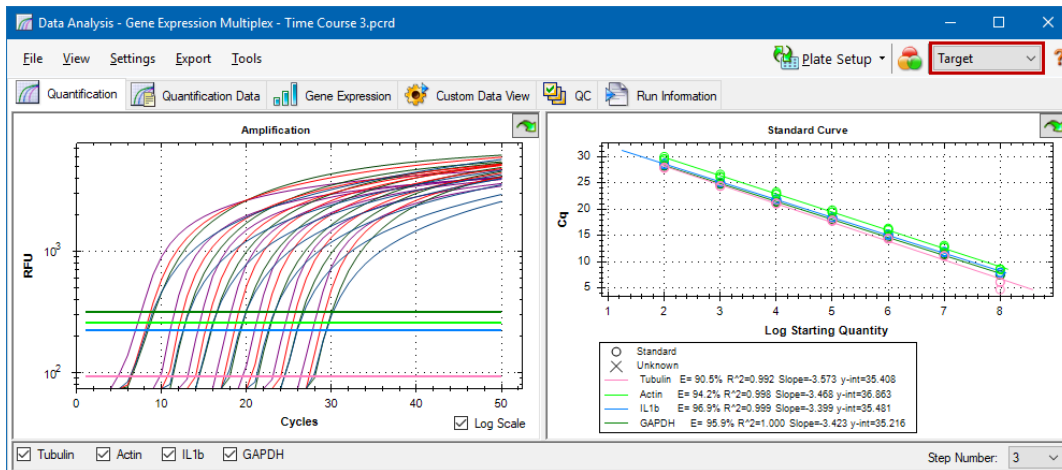
- Selectați Settings > Baseline Setting (Setări > Setarea nivelului de referință).

Analysis Mode (Mod Analiză)

Datele pot fi grupate și analizate fie după fluorofor, fie după denumirea țintei. Atunci când sunt grupate după fluorofor, urmele de date sunt afișate în funcție de fluorofor, așa cum este indicat de configurația plăcii pentru rularea respectivă. Datele individuale ale fluoroforului apar în graficul curbei de amplificare și în graficul curbei standard (dacă este disponibil) atunci când sunt bifate casețele de selectare a fluoroforului localizate sub graficul de amplificare.



Atunci când sunt grupate după țintă, urmele de date sunt afișate în funcție de denumirea țintei, așa cum a fost introdusă în configurația plăcii pentru rularea respectivă.



Pentru a alege un mod de analiză a datelor

- ▶ Urmați una dintre procedurile următoare:
 - Selectați Settings > Analysis Mode (Setări > Mod Analiză).
 - Alegeți un mod din meniul vertical Analysis Mode (Mod Analiză) de pe bara de instrumente.

Cycles to Analyze (Cicluri de analizat)

Puteți restricționa numărul de cicluri de analizat. Puteți, de asemenea, analiza date dintr-un anumit set de cicluri. Numărul maxim de cicluri pe care le puteți analiza este 50.

Observație: Eliminarea ciclurilor de la începutul unei rulări poate avea un impact semnificativ asupra valorii inițiale.

Pentru a restricționa analiza datelor la un anumit interval de cicluri

1. Selectați Settings > Cycles to Analyze (Setări > Cicluri de analizat).

Va apărea caseta de dialog Cycles to Analyze (Cicluri de analizat).

2. Introduceți valorile ciclului inițial și final și faceți clic pe OK.

Faceți clic pe Restore Defaults (Restaurare valori implicite) din caseta de dialog Cycles to Analyze (Cicluri de analizat) pentru a reveni la ciclurile utilizate original pentru analiză.

Selectorul de alveole

Folosiți Selectorul de alveole pentru a afișa sau ascunde datele alveolelor în graficele sau foile de calcul din fereastra Data Analysis (Analiză date). Doar alveolele încărcate cu probă pot fi selectate în selectorul de alveole. Software-ul colorează alveolele din Well Selector (Selectorul de alveole):

- **Albastru** – indică alveolele selectate. Datele din alveolele selectate apar în fereastra Data Analysis (Analiză date).
- **Gri deschis** – indică alveolele neselectate. Datele din alveolele neselectate nu apar în fereastra Data Analysis (Analiză date).
- **Gri închis** – indică alveolele goale.

	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			

Pentru a afișa sau ascunde datele alveolelor

- ▶ În selectorul de alveole, urmați oricare dintre procedurile următoare:
 - Pentru a ascunde o alveolă, faceți clic pe alveola respectivă. Pentru a afișa alveola respectivă, faceți clic din nou pe ea.
 - Pentru a ascunde mai multe alveole, trageți cu mouse-ul peste alveolele pe care doriți să le selectați. Pentru a afișa alveolele respective, trageți din nou cu mouse-ul peste alveole.
 - Faceți clic pe colțul din stânga sus al plăcii pentru a ascunde toate alveolele. Faceți clic din nou pe colțul din stânga sus pentru a afișa toate alveolele.
 - Faceți clic pe începutul unei coloane sau al unui rând pentru a ascunde alveolele respective. Faceți clic din nou pe coloană sau pe rând pentru a afișa alveolele.

Elementele de meniu afișate prin clic dreapta în Well Selector (Selector alveole)

Tabelul 17 listează opțiunile afișate prin clic dreapta disponibile în vizualizarea selector de alveolă.

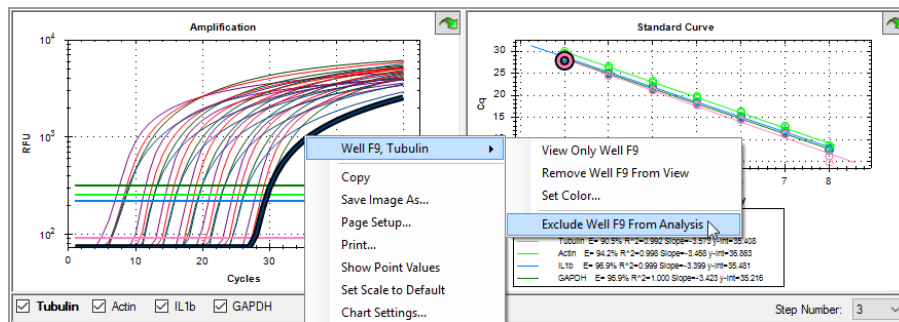
Tabelul 17. Elementele de meniu afișate prin clic dreapta în selectoarele de alveole

Element	Funcție
Well XX (Alveolă XX)	Afișează numai această alveolă, elimină această alveolă din vizualizare, setează culoarea pentru această alveolă sau exclude această alveolă din analiză.
Selected Wells (Godeuri selectate) (faceți clic dreapta și trageți)	Afișează numai aceste alveole, elimină aceste alveole din vizualizare, setează culoarea pentru aceste alveole sau exclude aceste alveole din analiză.
Copy (Copiere)	Copiază conținutul godeului pe clipboard, inclusiv Sample Type (Tip probă) și Replicate # (Nr. replică) opțional.
Copy as Image (Copiere ca imagine)	Copiază vizualizarea selector de alveolă sub formă de imagine.
Print (Imprimare)	Imprimă vizualizarea selector de alveolă.
Print Selection (Imprimare selecție)	Imprimă selecția curentă.
Export to Excel (Exportare în Excel)	Exportă datele într-o foaie de calcul Excel.
Export to Csv (Exportare în Csv)	Exportă datele ca document text.
Export to Xml (Exportare în Xml)	Exportă datele drept document .xml.
Well Labels (Etichete alveole)	Schimbă etichetele alveolelor în Sample Type (Tip probă), Target Name (Denumire țintă) sau Sample Name (Denumire probă).

Excluderea temporară a alveolelor din analiză

Pentru a exclude temporar alveole din analiza datelor

1. Faceți clic dreapta pe alveolă în selectorul de alveole. Pentru a exclude alveole multiple, faceți clic dreapta și trageți pentru a evidenția mai multe alveolele, urme sau puncte.
2. Din meniul afișat prin clic dreapta, alegeți opțiunea corespunzătoare:
 - Well > Exclude Well (Alveolă > Excludere alveolă)
 - Selected Wells > Exclude from Analysis (Godeuri selectate > Excludere din analiză)
 - Selected Traces > Exclude these wells from Analysis (Urme selectate > Excludere aceste urme din analiză)



Alternativ, pentru a elimina permanent alveole din analiză, ștergeți conținutul godeului în Plate Editor (Editor placă), făcând clic pe butonul Clear Wells (Debifare alveole).

Important: Trebuie să reintroduceți orice conținut de alveolă care este debifat.

Pentru a include o alveolă exclusă

- Faceți clic dreapta pe alveola corespunzătoare în selectorul de alveole și selectați Well > Include Well in Analysis (Alveolă > Includere alveolă în analiză).

Grafice

Fiecare grafic din fereastra Data Analysis (Analiză date) afișează datele într-o reprezentare grafică diferită și include opțiuni pentru ajustarea și exportarea datelor sau a imaginilor din grafice.

Elementele de meniu comune afișate prin clic dreapta pentru grafice

Tabelul 18 listează elementele de meniu afișate prin clic dreapta disponibile în grafice. Câteva dintre elementele disponibile sunt prezente în toate graficele, iar aceste elemente pot fi utilizate pentru a schimba modul de afișare sau pentru a exporta cu ușurință datele dintr-un grafic.

Tabelul 18. Elementele de meniu afișate prin clic dreapta pentru grafice

Element	Funcție
Copy (Copiere)	Copiază graficul pe clipboard.
Save Image As (Salvați imaginea ca)	Salvează imaginea la o anumită dimensiune și rezoluție și într-un anumit tip de fișier. Formatele de imagine disponibile sunt PNG (implicit), JPG și BMP.
Page Setup (Configurare pagină)	Previzualizarea și configurarea paginii pentru imprimare.
Print (Imprimare)	Imprimă graficul.
Set Scale to Default (Setare scară la implicit)	Restaurează vizualizarea implicită a graficului după ce acesta a fost mărit.
Chart Options (Opțiuni grafic)	Deschide fereastra Chart Options (Opțiuni grafic) pentru a modifica graficul, incluzând schimbarea titlului, selectarea limitelor pentru axele x și y, afișarea liniilor grilei și a gradațiilor minore de pe axe.

Observație: Elementele de meniu aplicabile anumitor grafice sunt descrise în [Capitolul 10, Detalii despre fereastra Data Analysis \(Analiză date\)](#).

Copierea datelor din grafic pe clipboard

Puteți copia conținutul din vizualizarea graficului și lipi acest conținut în orice aplicație care acceptă fișiere imagine bitmap.

Pentru a copia date din grafic pe clipboard

1. Din meniul clic dreapta al graficului, selectați Copy (Copiere).
2. Deschideți o aplicație care acceptă imagini bitmap, de exemplu Microsoft Word.
3. Faceți clic dreapta și selectați Paste (Lipire) pentru a lipi imaginea bitmap din clipboard în aplicație.

Modificarea setărilor de prag pentru nivelul inițial

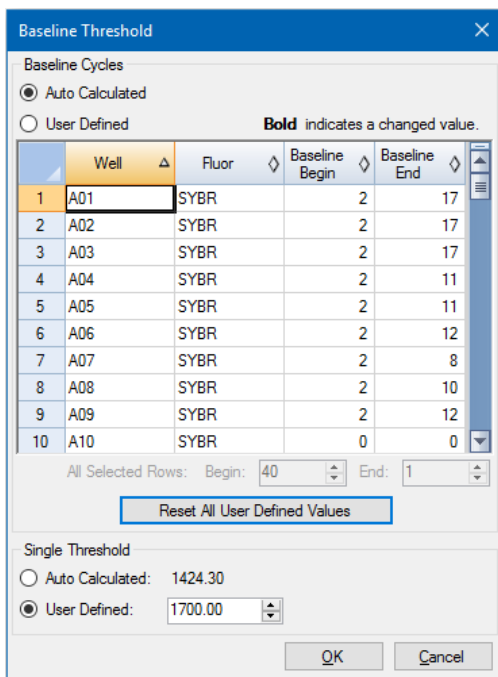
În modul Single Threshold (Prag unic), puteți ajusta pragul pentru un fluorofor făcând clic pe linia de prag din graficul Amplification (Amplificare) și deplasând indicatorul mouse-ului pe verticală. Alternativ, puteți specifica un prag exact pentru fluoroforul existent.

Sfat: Puteți specifica un interval de cicluri pentru a determina nivelul inițial pentru toate fișierele de date din fila Data Analysis (Analiză date) din User > User Preferences (Utilizator > Preferințe utilizator).

Pentru a ajusta ciclul inițial pentru început și sfârșit pentru fiecare alveolă

- În fila Quantification (Cuantificare), selectați un singur fluorofor de sub graficul Amplification (Amplificare).
- Din meniul clic dreapta al graficului, selectați Baseline Threshold (Prag nivel inițial).

Apare caseta de dialog Baseline Threshold (Prag nivel inițial).



- În secțiunea Baseline Cycles (Cicluri nivel inițial), urmați una dintre procedurile următoare:
 - Pentru a selecta o alveolă, faceți clic pe numărul de rând al acesteia.
 - Pentru a selecta mai multe alveole adiacente, faceți clic pe numărul de rând al primei alveole și deplasați cursorul în jos de-a lungul coloanei până la ultima alveolă.
 - Pentru a selecta mai multe alveole neadiacente, apăsați tasta Ctrl și faceți clic pe numărul de rând al fiecărei alveole țintă.
 - Pentru a selecta toate alveolele, faceți clic în colțul din stânga sus al tabelului.
- Ajustați ciclul inițial pentru început și ciclul inițial pentru sfârșit pentru toate alveolele selectate sau modificați numărul ciclurilor de început și de sfârșit în partea de jos a foii de calcul.

Sfat: Pentru a readuce setările la ultimele valori salvate, faceți clic pe Reset All User Defined Values (Resetare toate valorile definite de utilizator).

5. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a reveni la grafic.

Pentru a specifica un interval de cicluri pentru toate fișierele de date

- Din fereastra Home (Fereastră de pornire) sau fereastra Plate Editor (Editor placă), selectați User (Utilizator) > User Preferences (Preferințe utilizator) și alegeți fila Data Analysis (Analiză date).

Sortarea datelor țintei și probei

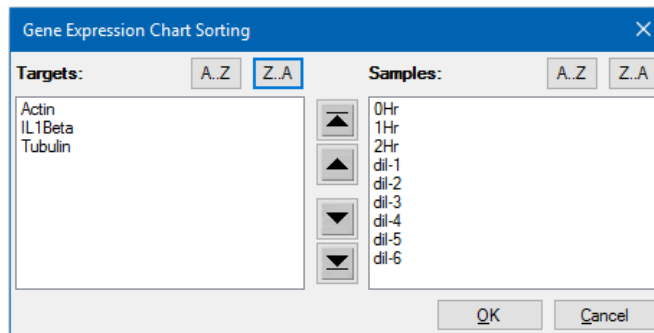
Observație: Această opțiune este disponibilă numai în graficele de expresie genică.

Implicit, lista Targets and Samples (Ținte și probe) apare în ordine alfabetică. Utilizați caseta de dialog Sort (Sortare) pentru a sorta afișajul în ordine alfabetică inversă sau pentru a muta manual un termen în altă poziție din listă.

Pentru a sorta datele țintei și probei

1. Din meniul clic dreapta al graficului, faceți clic pe Sort (Sortare).

Va apărea caseta de dialog Gene Expression Chart Sorting (Sortare grafic expresie genică).



2. În caseta de dialog, faceți clic pe Z-A pentru a sorta lista în ordine alfabetică inversă.
3. Pentru a muta manual un termen, selectați-l și faceți clic pe butonul corespunzător dintre grafice:
 - Faceți clic pe săgeata În sus sau În jos pentru a muta termenul selectat cu o poziție.
 - Faceți clic pe săgeata bară În sus sau În jos pentru a muta termenul selectat în partea de sus sau de jos a listei.
4. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a reveni la fila Gene Expression (Expresie genică).

Mărirea unei zone a graficului

Pentru a mări o zonă a graficului

- ▶ Faceți clic și deplasați mouse-ul deasupra graficului, apoi faceți clic pe Zoom (Mărire)*. Software-ul redimensionează graficul și îl centrează asupra zonei selectate.

Observație: * Pentru graficul cu bare, nu este necesar să faceți clic pe comanda pop-up Zoom (Mărire).

Pentru a reseta graficul la vizualizarea completă

- ▶ Faceți clic dreapta în grafic și selectați Set Scale to Default (Setare scară la implicit).

Copierea graficelor într-un fișier Microsoft

Puteți copia grafice de date în documente Microsoft Word, Excel sau PowerPoint. Rezoluția imaginii corespunde cu cea a ecranului din care a fost obținută imaginea

Pentru a copia grafice într-un fișier Microsoft

1. În fereastra Data Analysis (Analiză date), selectați Copy (Copiere) din meniul clic dreapta al graficului.
2. Deschideți un fișier Microsoft gol și lipiți conținutul din clipboard.



Alternativ: Faceți clic pe pictograma „clic și glisare” și trageți și fixați graficul într-un fișier Microsoft.

Foi de calcul

Foile de calcul afișate în Data Analysis (Analiză date) includ opțiuni pentru sortarea și transferarea datelor. Sortați coloanele folosind una dintre aceste metode:

- Faceți clic pe și trageți o coloană într-o nouă locație din tabelul selectat.
- Faceți clic pe antetul coloanei pentru a sorta datele în ordine ascendentă sau descendentă.

Pentru a sorta până la trei coloane de date din fereastra Sort (Sortare)

1. Faceți clic dreapta în foaia de calcul și selectați Sort (Sortare).
2. În caseta de dialog Sort (Sortare), selectați titlul primei coloane pe care doriți să o sortați. Sortați datele în ordine ascendentă sau descendentă.
3. Selectați a doua sau a treia coloană pe care doriți să o sortați și alegeți Ascending (Ascendent) sau Descending (Descendent).
4. Faceți clic pe OK pentru a sorta datele sau clic pe Cancel (Anulare) pentru a opri sortarea.

Evidențiați datele din graficele asociate și selectorul de alveole ținând indicatorul mouse-ului pe o celulă. Faceți clic într-o celulă pentru a copia și lipi conținutul acesteia în alt program software.

Elementele de meniu comune afișate prin clic dreapta pentru foile de calcul

Tabelul 19 listează elementele de meniu afișate prin clic dreapta disponibile în orice vizualizare a foii de calcul.

Tabelul 19. Elementele de meniu afișate prin clic dreapta pentru foile de calcul

Element	Funcție
Copy (Copiere)	Copiază conținutul alveolelor selectate pe clipboard, apoi lipește conținutul într-o foaie de calcul precum un document Excel.
Copy as Image (Copiere ca imagine)	Copiază vizualizarea foii de calcul sub formă de fișier imagine și o lipește într-un fișier care acceptă un fișier imagine, precum fișierele text, imagine sau foaie de calcul.
Print (Imprimare)	Imprimă vizualizarea curentă.
Print Selection (Imprimare selecție)	Imprimă selecția curentă.

Tabelul 19. Elementele de meniu afișate prin clic dreapta pentru foile de calcul, continuare

Element	Funcție
Export to Excel (Exportare în Excel)	Exportă datele într-o foaie de calcul Excel.
Export to Csv (Exportare în CSV)	Exportă datele într-un fișier (.csv) cu valori separate prin virgulă.
Export to Xml (Exportare în Xml)	Exportă datele într-un fișier Xml.
Export to Html (Exportare în Html)	Exportă datele într-un fișier Html.
Find (Găsire)	Caută text.
Sort (Sortare)	Sortează datele din până la trei coloane.
Select Columns (Selectare coloane)	Selectează coloanele care vor fi afișate în foaia de calcul.

Export (Exportare)

CFX Manager Dx software oferă patru opțiuni de exportare din meniul vertical Export (Exportare):

- Export All Data Sheets (Exportă toate fișele de date)
- Custom Export (Exportare personalizată)
- Export to LIMS (Exportare în LIMS)
- Seegene Export (Exportare Seegene)

Exportarea tuturor fișelor de date

Puteți exporta toate vizualizările foilor de calcul din fiecare filă a CFX Manager Dx software în fișiere individuale.

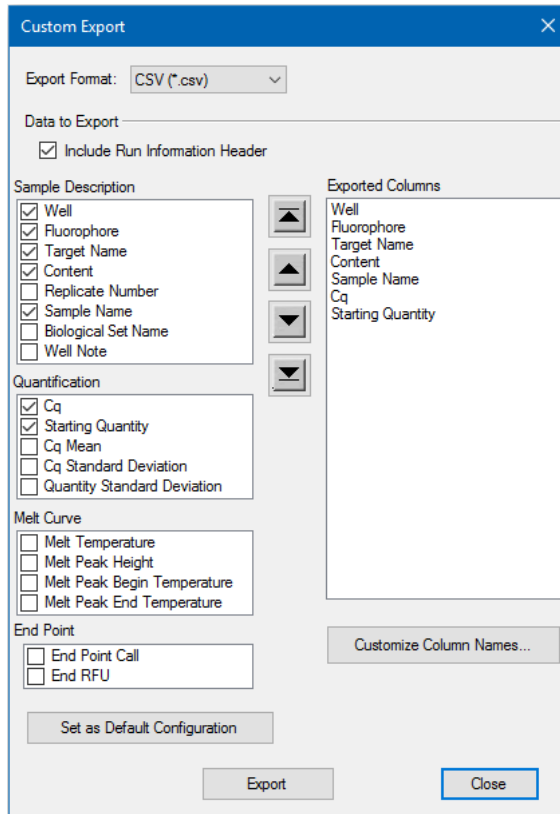
Pentru a exporta toate fișele de date

- ▶ Selectați Export > Export All Data Sheets (Exportare > Exportă toate fișele de date).
 - CSV (*.csv)
 - Text (*.txt)
 - Excel 2007 (*.xlsx)
 - Excel 2003 (*.xls)
 - XML (*.xml)

Crearea unui fișier de exportare particularizată

Pentru a crea un fișier de exportare particularizată

1. Selectați Export > Custom Export (Exportare > Exportare particularizată). Apare caseta de dialog Custom Export (Exportare particularizată).



2. Selectați formatul de exportare din lista verticală care apare.
3. Bifați casetele de selectare pentru elementele de exportat.
4. (Opțional) Faceți clic pe Customize Column Names (Personalizare nume coloană) pentru a modifica numele coloanei.
5. Faceți clic pe Export (Exportare). Va apărea caseta de dialog Save As (Salvare ca).
6. În caseta de dialog Save As (Salvare ca), specificați un nume de fișier și locul în care doriți să salvați fișierul exportat.
7. Faceți clic pe OK pentru a salva fișierul exportat.

Exportarea către un folder LIMS

Puteți exporta datele într-un format de fișier compatibil cu LIMS.

Pentru a exporta datele în format LIMS

1. Selectați Export > Export to LIMS Folder (Exportare > Exportare către folder LIMS).
Va apărea caseta de dialog Save As (Salvare ca).
2. În caseta de dialog Save As (Salvare ca), specificați un nume de fișier și locul în care doriți să salvați fișierul exportat.
3. Faceți clic pe OK pentru a salva fișierul exportat.

Exportarea de date în format Seegene

Puteți exporta datele din toate vizualizările foilor de calcul în fișiere Excel structurate special pentru a fi utilizate de Seegene, Inc.

Pentru a exporta date într-un format specific Seegene

1. Selectați Export > Seegene Export (Exportare > Exportare Seegene).
Va apărea caseta de dialog Save As (Salvare ca).
2. În caseta de dialog Save As (Salvare ca), specificați localizarea folderului în care doriți să salvați fișierele în format Seegene Excel (.xlsx) exportate.
3. Faceți clic pe OK pentru a salva fișierele exportate.

Capitolul 10 Detalii despre fereastra Data Analysis (Analiză date)

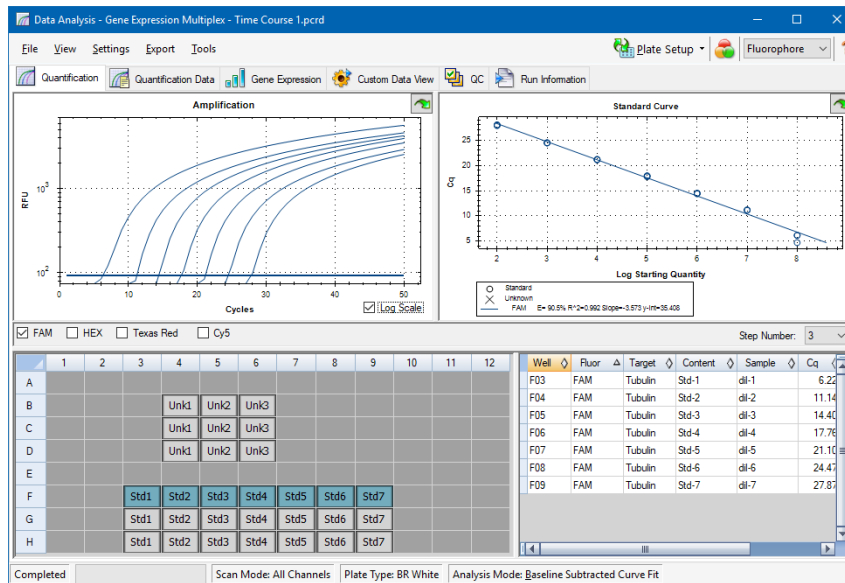
În CFX Manager Dx software, fereastra Data Analysis (Analiză date) cuprinde mai multe file în care pot fi vizualizate datele. Acest capitol explică detaliat aceste file.

Sfat: Puteți alege filele pe care doriți să le vizualizați în fereastra Data Analysis (Analiză date) utilizând meniul View (Vizualizare). Aspectul personalizat al ferestrei este salvat împreună cu fișierul de date.

Fila Quantification (Cuantificare)

Utilizați datele din fila Quantification (Cuantificare) pentru a seta condițiile pentru analiza datelor, inclusiv setările de nivel inițial pentru alveole individuale și setările de prag. Fila Quantification (Cuantificare) afișează date în aceste patru vizualizări:

- Graficul Amplification (Amplificare) – afișează unitățile de fluorescență relativă (RFU) pentru fiecare alveolă la fiecare ciclu. Fiecare urmă din grafic reprezintă datele de la un singur fluorofor dintr-o alveolă.
- Standard curve (Curbă standard) – apare numai dacă rularea include alveole desemnate ca tip de probă standard (Std). Curba standard afișează ciclul de prag reprezentat pe baza logaritmului cantității inițiale. Legenda afișează Eficiența reacțiilor (E) pentru fiecare fluorofor din alveole cu un tip de probă Standard.
- Well selector (Selector alveole) – selectează alveolele cu datele de fluorescență pe care doriți să le afișați.
- Spreadsheet (Foaie de calcul) – afișează o foaie de calcul a datelor colectate în alveolele selectate.



Opțiuni fluorofori

Pentru a afișa datele pentru fluorofori în fila Quantification (Cuantificare) a graficelor și foilor de calcul, selectați fluoroforul (fluoroforii) țintă de sub graficul Amplification (Amplificare). Pentru a ascunde datele pentru fluorofori din fereastra Data Analysis (Analiză date), debifați caseta de selectare aferentă.

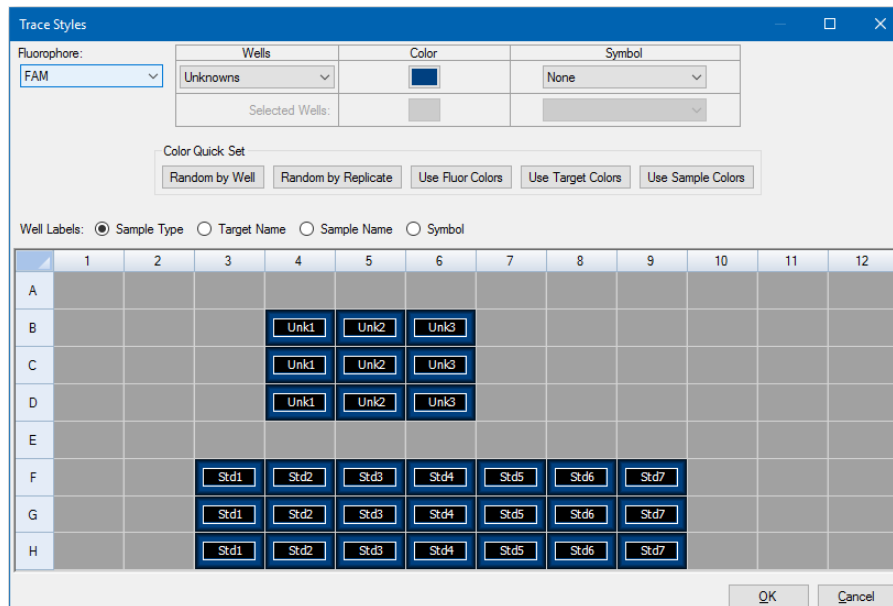
Caseta de dialog Trace Styles (Stiluri Urme)

Folosind caseta de dialog Trace Styles (Stiluri Urme), puteți ajusta aspectul urmelor în graficele pentru amplificare și curbă de topire din filele Quantification (Cuantificare) și Melt Curve (Curbă de topire). Apoi puteți previzualiza schimbările în selectorul de alveole care apare în caseta de dialog Trace Styles (Stiluri Urme).

Pentru a ajusta stilurile de urme

1. Selectați un singur fluorofor din graficul Amplification (Amplificare).
2. Pentru a deschide caseta de dialog Trace Styles (Stiluri Urme), efectuați una dintre următoarele:
 - Faceți clic pe Trace Styles (Stiluri Urme) în graficul Amplification (Amplificare).
 - Selectați Settings > Trace Styles (Setări > Stiluri Urme) din bara de meniu Data Analysis (Analiză date).
 - Faceți clic dreapta pe o urmă și selectați Trace Styles (Stiluri Urme).

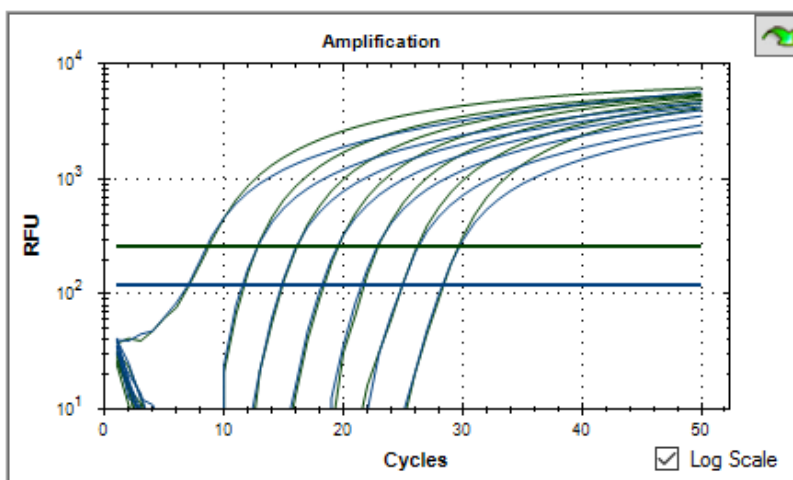
Apare dialogul Trace Styles (Stiluri Urme).



3. În caseta de dialog Trace Styles (Stiluri Urme), selectați un set specific de alveole în selectorul de alveole din panoul de jos. Alternativ, selectați alveolele care conțin un tip de probă în meniul vertical din coloana Wells (Alveole).
4. Urmați oricare dintre procedurile următoare:
 - Pentru a alege o culoare pentru alveolele selectate, faceți clic pe caseta din coloana Color (Culoare).
 - Pentru a alocă un simbol alveolelor selectate, selectați un simbol din lista verticală Symbol (Simbol).
 - Pentru a colora rapid alveolele prin eticheta butonului, faceți clic pe setul rapid corespunzător:
 - Random by Well (Aleatoriu după alveole)
 - Random by Replicate (Aleatoriu după replicare)
 - Use Fluor Colors (Utilizare culori fluorofor)
 - Use Target Colors (Utilizare culori pentru țintă)
 - Use Sample Colors (Utilizare culori pentru probă)
 - Pentru a alocă etichete de alveolă, selectați Sample Type (Tip de probă), Target Name (Denumire probă), Sample Name (Denumire probă) sau Symbol (Simbol).

Opțiunea Log Scale (Scară logaritmică)

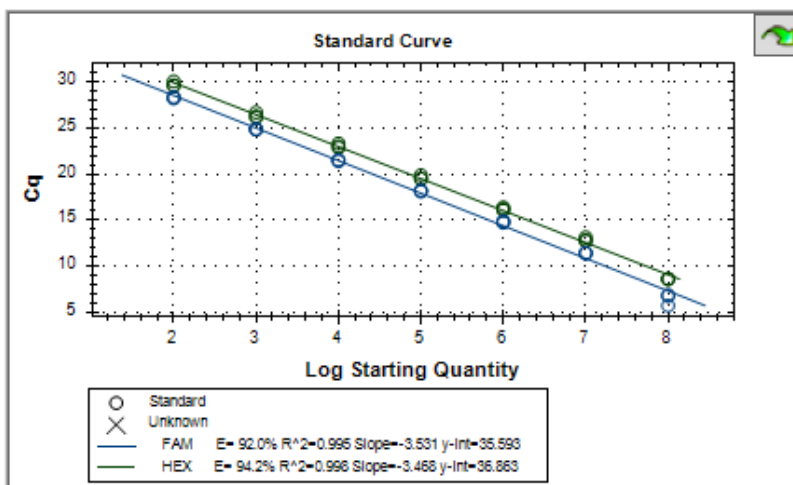
Selecți Log Scale (Scară logaritmică) de sub graficul Amplification (Amplificare) pentru a vizualiza urmele de fluorescență într-o scară semilogaritmică:



Sfat: Pentru a mări orice zonă a graficului, trageți de-a lungul zonei țintă. Pentru a reveni la o vizualizare completă, faceți clic dreapta în grafic și selecți Set Scale to Default (Setare scară la implicit).

Graficul Standard Curve (Curbă standard)

Software-ul creează un grafic Standard Curve (Curbă standard) în fila Quantification (Cuantificare) dacă datele includ tipuri de probă definite ca Std pentru cel puțin un fluorofor din rulare.



Graficul Standard Curve (Curbă standard) afișează următoarele informații:

- Denumirea fiecărei curbe (fluoroforul sau ținta).
- Culoarea fiecărui fluorofor sau fiecărei ținte.
- Eficiența reacțiilor (E). Utilizați această statistică pentru a optimiza o reacție multiplă și pentru a egaliza datele unei curbe standard.

Observație: Eficiența reacțiilor descrie cât de mult este produsă ținta dumneavoastră cu fiecare ciclu din protocol. O eficiență de 100% indică faptul că vă dublați ținta cu fiecare ciclu.

- Coeficientul de determinare, R^2 (scris sub forma R^2). Folosiți această statistică pentru a determina cât de corect descrie linia datele (adecvarea potrivirii).
- Pantă
- Punct de intersecție Y

Opțiunile meniului Amplification Chart (Grafic Amplificare)

Pe lângă opțiunile comune de meniu ale graficelor afișate prin clic dreapta (consultați [Elementele de meniu comune afișate prin clic dreapta pentru grafice de la pagina 177](#)), [Tabelul 20](#) prezintă opțiunile de meniu disponibile numai în graficul Amplification (Amplificare).

Observație: Graficul Standard Curve (Curbă standard) oferă numai opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta.

Tabelul 20. Elementele de meniu afișate prin clic dreapta și clic stânga în graficul de amplificare

Opțiune de meniu	Funcție
Show Threshold Values (Afișare valori prag)	Afișează valoarea pragului pentru fiecare curbă de amplificare din grafic.
Trace Styles (Stiluri Urme)	Deschide fereastra Trace Styles (Stiluri Urme) pentru a schimba stilurile urmelor care apar pe filele Quantification (Cuantificare) și Melt Curve (Curbă de topire).
Baseline Thresholds (Praguri nivel inițial)	Deschide fereastra Baseline Thresholds (Praguri de nivel de referință) pentru a schimba nivelul de referință sau pragurile fiecărui fluorofor (schimbările apar în graficul Amplification (Amplificare) din fila Quantification (Cuantificare)).

Foaia de calcul din fila Quantification (Cuantificare)

Tabelul 21 definește datele afișate în foaia de calcul din fila Quantification (Cuantificare).

Tabelul 21. Conținutul foi de calcul din fila Quantification (Cuantificare)

Informație	Descriere
Well (Alveolă)	Poziția godeului în placă
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detectat
Target (Țintă)	Denumirea țintei încărcate în alveolele Plate Editor (Editor placă)
Content (Conținut)	O combinație între Tipul de probă (obligatoriu) și Numărul replicatului (opțional) încărcate în Plate Editor (Editor placă)
Sample (Probă)	Denumirea probei încărcate în alveolele Plate Editor (Editor placă)
C_q	Ciclul de cuantificare pentru fiecare urmă

Modificarea datelor aferente țintei, conținutului sau probei

Puteți modifica datele din coloanele Țintă, Conținut și Probă editând fișierul plăcii cu Editor placă chiar și după rularea experimentului.

Pentru a modifica datele din coloanele Conținut, Țintă și Probă

- Faceți clic pe Plate Setup (Configurare placă) și selectați View/Edit Plate (Vizualizare/editare placă) pentru a deschide Plate Editor (Editor placă).

Fila Quantification Data (Date de cuantificare)

Fila Quantification Data (Date de cuantificare) afișează datele de cuantificare colectate în fiecare alveolă. CFX Manager Dx software afișează datele în patru vizualizări de foaie de calcul diferite:

- Results (Rezultate) – afișează o foaie de calcul a datelor. Aceasta este vizualizarea implicită.
- Standard Curve Results (Rezultate Curbă standard) – afișează o foaie de calcul cu datele curbei standard.
- Plate (Placă) – afișează datele din fiecare alveolă sub formă de hartă placă.
- RFU – afișează cantitățile RFU din fiecare alveolă pentru fiecare ciclu.

Selectați fiecare foaie de calcul din lista verticală care apare sub fila Quantification Data (Date de cuantificare).

Foaia de calcul Results (Rezultate)

Foaia de calcul Results (Rezultate) afișează date pentru fiecare alveolă din placă.

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

Observație: Toate calculele Std. Dev (deviație standard) se aplică grupelor de replicare alocate în alveolele din fereastra Plate Editor (Editor placă). Calculele stabilesc media pentru valoarea C_q pentru fiecare alveolă din grupul de replicate.

Tabelul 22 definește datele care apar în foaia de calcul Results (Rezultate).

Tabelul 22. Conținutul foii de calcul Results (Rezultate)

Informație	Descriere
Well (Alveolă)	Poziția godeului în placă
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detectat
Target (Țintă)	Nume țintă amplificare (genă)
Content (Conținut)	Tipul de probă și Numărul replicatului
Sample (Probă)	Descrierea probei
Biological Set Name (Denumire set biologic)	Denumirea setului biologic
C_q	Ciclul de cuantificare
C_q Medie	Media ciclului de cuantificare pentru grupul de replicate
C_q Std. Dev	Deviația standard a ciclului de cuantificare pentru grupul de replicate
Starting Quantity (SQ) (Cantitate inițială (SQ))	Estimare a cantității inițiale a țintei
Log Starting Quantity (Log. cantitate inițială)	Logaritmul cantității inițiale
SQ Mean (Medie SQ)	Media cantității inițiale
SQ Std. Dev	Deviație standard a cantității inițiale între replicate

Foia de calcul Standard Curve Results (Rezultate Curbă standard)

Foia de calcul Standard Curve Results (Rezultate Curbă standard) afișează parametrii curbei standard calculați.

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

Tabelul 23 definește datele care apar în foia de calcul Standard Curve Results (Rezultate Curbă standard).

Tabelul 23. Conținutul foi de calcul Rezultate Curbă standard

Informație	Descriere
Fluor (or Target) (Fluorofor sau Țintă)	Fluorofor (sau Țintă) detectat(ă)
Efficiency % (% Eficiență)	Eficiența reacțiilor
Slope (Pantă)	Panta curbei standard
Y-intercept (Punct de intersecție Y)	Punctul în care curba se intersectează cu axa y
R ²	Coeficientul de determinare

Foia de calcul Plate (Placă)

Foia de calcul Plate (Placă) afișează o hartă a plăcii datelor pentru câte un fluorofor pe rând.

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			

Pentru a vedea datele pentru un anumit fluorofor

- Faceți clic pe fila sa din partea de jos a foii de calcul.

Foia de calcul RFU

Foia de calcul RFU afișează citirile de unități de fluorescență relativă (RFU) pentru fiecare alveolă obținute la fiecare ciclu al rulării. Numărul de alveole apare în partea de sus a fiecărei coloane și numărul de cicluri apare la stânga fiecărui rând.

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

Fila Melt Curve (Curbă de topire)

Exonerare de răspundere: Bio-Rad nu acordă niciun drept pentru utilizarea analizei curbei de topire la analizarea topirii la înaltă rezoluție în domeniul diagnosticului in vitro la oameni sau animale. În plus, este responsabilitatea cumpărătorului să obțină orice drepturi de proprietate intelectuală care ar putea fi obligatorii pentru aplicațiile sale specifice.

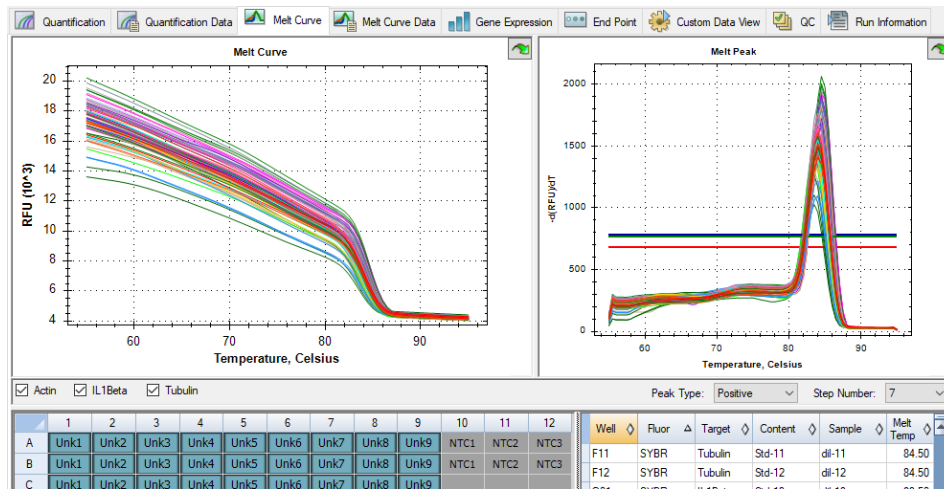
Pentru coloranții de fixare a DNA (ADN) și sondele de hibridizare neclivabile, fluorescența este cea mai puternică atunci când cele două catene de DNA (ADN) se atașează. Prin urmare, pe măsură ce temperatura crește apropiindu-se de temperatura de topire (T_m), fluorescența scade cu o viteză constantă (pantă constantă). La T_m se înregistrează o reducere dramatică a fluorescenței, cu o schimbare notabilă a pantei. Viteza acestei schimbări este determinată prin trasarea primei regresii negative a fluorescenței versus temperatura ($-d(\text{RFU})/dT$). Cea mai mare viteză de modificare a fluorescenței determină valori de vârf vizibile și reprezintă T_m (Temperatura de topire) a complexelor DNA (ADN) cu două catene.

CFX Manager Dx software trasează datele RFU colectate în timpul unei curbe de topire ca o funcție a temperaturii. Pentru a analiza datele valorilor de vârf de topire, software-ul atribuie o temperatură inițială și finală fiecărui vârf, deplasând bara de prag. Valoarea minimă a zonei de vârf este specificată de poziția barei pragului de topire. Un vârf valid trebuie să aibă o înălțime minimă relativ la distanța dintre bara de prag și înălțimea celui mai înalt vârf.

Fila Melt Curve (Curbă de topire) afișează T_m (temperatura de topire) a produselor PCR amplificate în patru vizualizări:

- Melt Curve (Curbă de topire) – afișează datele în timp real pentru fiecare fluorofor sub formă de RFUs per temperatura pentru fiecare alveolă.
- Melt Peak (Vârf de topire) – afișează regresia negativă a datelor RFU per temperatură pentru fiecare alveolă.
- Well selector (Selector alveole) – afișează alveolele pentru a arăta sau ascunde datele.
- Peak spreadsheet (Foaie de calcul vârf) – afișează datele colectate din alveola selectată.

Observație: Această foaie de calcul afișează până la două vârfuri pentru fiecare urmă. Pentru a vedea mai multe vârfuri, faceți clic pe fila Melt Curve (Curbă de topire).



Tabelul 24 de la pagina 199 definește datele care apar în foaia de calcul Melt Curve (Curbă de topire).

Tabelul 24. Conținutul foii de calcul Melt Curve (Curbă de topire)

Informație	Descriere
Well (Alveolă)	Poziția godeului în placă
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detectat
Content (Conținut)	O combinație între Tipul de probă și Numărul replicării
Sample (Probă)	Denumirea probei încărcate în Plate Editor (Editor placă)
Melt Temp (Temperatura de topire)	Temperatura vârfului de topire pentru fiecare alveolă
	Observație: Doar cele mai mari două valori de vârf apar în această foaie de calcul.

Ajustarea datelor Melt Curve (Curbă de topire)

Pentru a ajusta datele Melt Curve (Curbă de topire)

- ▶ Urmați oricare dintre procedurile următoare:
 - Faceți clic pe și trageți barele de prag din graficul Melt Peak (Vârf de topire) pentru a include sau exclude valorile de vârf în analiza datelor.
 - Selectați Positive (Pozitive) în meniul vertical Peaks (Valori de vârf) pentru a afișa datele din foaia de calcul pentru valorile de vârf de deasupra linei Melt Threshold (Prag de topire) sau selectați Negative (Negative) pentru a vizualiza datele din foaia de calcul pentru valorile de vârf de sub linia pragului de topire.
 - Deschideți fereastra Trace Styles (Stiluri Urme) pentru a schimba culoarea urmelor din graficele Melt Curve (Curbă de topire) și Melt Peak (Vârf de topire).
 - Selectați un număr în selectorul Step Number (Număr pas) pentru a vizualiza datele din Melt Curve (Curbă de topire) la un alt pas din protocol. Lista afișează mai mult de un pas dacă protocolul include citiri ale plăcii în mai mult de un pas al curbei de topire.
 - Selectați alveole din selectorul de alveole, pentru a vă axa pe subseturi de date.
 - Selectați un grup de alveole pentru a vizualiza și analiza un subset al alveolelor din placă. Selectați fiecare grup de alveole după nume în meniul vertical Well Group (Grup alveole) de pe bara de instrumente.

Fila Melt Curve Data (Date curbă de topire)

Fila Melt Curve Data (Date curbă de topire) afișează datele din fila Melt Curve (Curbă de topire) în mai multe foi de calcul care includ toate vârfurile de topire pentru fiecare urmă. CFX Manager DX software oferă patru opțiuni de foi de calcul în care să vizualizați datele pentru curba de topire:

- Melt Peaks (Vârfuri de topire) – afișează toate datele, inclusiv toate vârfurile de topire, pentru fiecare urmă. Aceasta este vizualizarea implicită.
- Plate (Placă) – afișează o vizualizare a datelor și conținutului fiecărei alveole din placă.
- RFU – afișează cantitățile RFU la fiecare temperatură pentru fiecare alveolă.
- $-d(\text{RFU})/dT$ – afișează rata negativă de schimbare din RFU pe măsură ce se schimbă temperatura (T). Acesta este un grafic de regresie inițial pentru fiecare alveolă din placă.

Selectați fiecare foaie de calcul din lista verticală care apare sub fila Melt Curve Data (Date curbă de topire).

Foaia de calcul Melt Peaks (Vârfuri de topire)

Foaia de calcul Melt Peaks (Vârfuri de topire) afișează toate datele curbei de topire.

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

Tabelul 25 de la pagina 202 definește datele care apar în foaia de calcul Melt Peaks (Vârfuri de topire).

Tabelul 25. Conținutul foii de calcul Melt Peaks (Vârfuri de topire)

Informație	Descriere
Well (Alveolă)	Poziția godeului în placă
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detectat
Content (Conținut)	Tipul de probă listat în fereastra Plate Editor (Editor placă)
Target (Țintă)	Ținta amplificării (genă)
Sample (Probă)	Denumirea probei listată în fereastra Plate Editor (Editor placă)
Melt Temperature (Temperatura de topire)	Temperatura de topire a fiecărui produs, listată ca valoare de vârf (cea mai mare) per rând în foaia de calcul
Peak Height (Înălțime de vârf)	Înălțimea vârfului
Begin Temperature (Temperatura inițială)	Temperatura la începutul vârfului
End Temperature (Temperatura finală)	Temperatura la finalul vârfului

Foaia de calcul Plate (Placă)

Foaia de calcul Plate (Placă) afișează datele privind curba de topire într-un format placă.

	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							

Observație: Pentru a ajusta vârful apelat de software, ajustați linia pragului din graficul Melt Peak (Vârf de topire) în fila Melt Curve (Curbă de topire).

[Tabelul 26 de la pagina 203](#) definește datele care apar în foaia de calcul Plate (Placă).

Tabelul 26. Conținutul foii de calcul Plate (Placă)

Informație	Descriere
Content (Conținut)	O combinație între Tipul de probă (obligatoriu) și numărul replicatului (opțional)
Sample (Probă)	Descrierea probei
Peak 1 (Vârful 1)	Primul vârf de topire (cel mai mare)
Peak 2 (Vârful 2)	Al doilea (cel mai mic) punct de topire

Foaia de calcul RFU

Foaia de calcul RFU afișează fluorescența pentru fiecare alveolă în fiecare ciclu achiziționat în timpul curbei de topire.

[Tabelul 27](#) definește datele afișate în foaia de calcul RFU.

Tabelul 27. Conținutul foii de calcul RFU

Informație	Descriere
Well number (Număr alveolă) (A1, A2, A3, A4, A5)	Poziția godeului în placă pentru alveolele încărcate
Temperature (Temperatura)	Temperatura de topire a țintei amplificate, reprezentată ca o alveolă per rând și mai multe alveole pentru mai multe produse din aceeași alveolă

Foia de calcul -d(RFU)/dT

Foia de calcul -d(RFU)/dT afișează raportul negativ de schimbare din RFU pe măsură ce temperatura (T) se modifică.

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

Tabelul 28 definește datele care apar în foia de calcul -d(RFU)/dT.

Tabelul 28. Conținutul foii de calcul -d(RFU)/dT

Informație	Descriere
Well number (Număr alveolă) (A1, A2, A3, A4, A5)	Poziția godeului în placă pentru alveolele încărcate
Temperature -d(RFU)/dT (Temperatura -d(RFU)/dT)	Raportul negativ de schimbare din RFU pe măsură ce temperatura (T) se modifică

Fila End Point (Momentul final)

Deschideți fila End Point (Momentul final) pentru a analiza unitățile finale de fluorescență relativă (RFU) pentru alveolele cu probe. Software-ul compară nivelurile RFU pentru alveolele cu probe necunoscute cu nivelurile RFU pentru alveolele cu controale negative și determină dacă proba necunoscută este pozitivă sau negativă. Probele pozitive au o valoare RFU mai mare decât media valorii RFU a controalelor negative plus valoarea limită.

The screenshot shows the 'Data Analysis - 5 Color End Point.pcrd' window. The 'End Point' tab is active. The settings panel on the left shows 'Fluorophore: FAM', 'End Cycles To Average: 2', and 'Percent of Range: 10.0'. The results summary shows: 'Lowest RFU value: 2663', 'Highest RFU value: 18293', 'Negative Control Average: 2682', and 'Cut Off Value: 4243'. The main data table is as follows:

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	

Pentru a analiza datele din momentul final, placa trebuie să conțină controale negative, altfel software-ul nu poate efectua analiza. Rulați unul dintre aceste două tipuri de protocol:

- Rulați un protocol Quantification (Cuantificare) – configurați un protocol standard. După finalizarea rulării, deschideți fereastra Data Analysis (Analiză date), ajustați setările analizei datelor în fila Quantification (Cuantificare), apoi faceți clic pe fila End Point (Momentul final) pentru a alege un ciclu final.
- Rulați un protocol End Point Only (Doar momentul final) – încărcați protocolul End Point Only (Doar momentul final) în fila Plate (Placă) a ferestrei Run Setup (Configurare rulare), selectați sau creați o placă și inițiați rularea.

Fila End Point (Momentul final) afișează media valorilor RFU, pentru a determina dacă ținta a fost amplificată de ultimul ciclu (final). Folosiți aceste date pentru a stabili dacă o anumită secvență țintă este prezentă (pozitivă) într-o probă. Țintele pozitive au valori RFU mai mari decât nivelul de prag definit de dumneavoastră.

Sfat: Pentru a crea un protocol pentru momentul final, deschideți fila Protocol (fereastra Run Setup (Configurare rulare)) și selectați Run > End Point Only Run (Rulare > Rulare doar momentul final).

După finalizarea rulării, fișierul de date se deschide la fila End Point (Momentul final), care cuprinde următoarele secțiuni:

- Settings (Setări) – ajustează setările analizei datelor.
- Results (Rezultate) – afișează rezultatele imediat după ce ați ajustat setările.
- Well selector (Selector alveole) – selectează alveolele cu datele finale pe care doriți să le afișați.
- RFU spreadsheet (Foaie de calcul RFU) – afișează datele RFU finale colectate din alveolele selectate.

Date rezultate

Secțiunea Results (Rezultate) afișează următoarele date:

- Lowest RFU value (Cea mai mică valoare RFU) – cea mai mică valoare RFU din cadrul datelor
- Highest RFU value (Cea mai mare valoare RFU) – cea mai mare valoare RFU din cadrul datelor
- Negative Control Average (Medie control negativ) – valoarea RFU medie pentru alveolele care conțin controale negative
- Cut Off Value (Valoare limită) – calculată prin adunarea toleranței (RFU sau Percentage (Procent) al intervalului indicat în Setări) și a mediei controalelor negative. Probele cu RFU mai mare decât valoarea limită vor fi numite „Pozitive”. Pentru a ajusta valoarea limită, modificați RFU sau Percentage of Range (Procent interval)

Valoarea limită este calculată utilizând următoarea formulă:

$$\text{Valoare limită} = \text{medie control negativ} + \text{toleranță}$$

Selectați o toleranță printr-una dintre următoarele metode:

- RFU (implicit) – selectați această metodă pentru a utiliza o valoare RFU absolută pentru toleranță. Valoarea minimă a toleranței RFU este 2. Valoarea maximă este valoarea absolută a celei mai mari valori RFU minus valoarea absolută a celei mai mici valori RFU. Valoarea implicită a toleranței RFU este 10 % din intervalul RFU total.
- Percent of Range (Procent interval) – selectați această metodă pentru a utiliza un procent al intervalului RFU pentru toleranță. Procentul minim al intervalului este 1 %. Procentul maxim al intervalului este 99 %. Procentul implicit al intervalului este 10 %.

Ajustarea analizei datelor din momentul final

Pentru a ajusta datele din fila End Point (Moment final)

- ▶ Urmați oricare dintre procedurile următoare:
 - Alegeți un fluorofor din lista verticală.
 - Alegeți o valoare End Cycle to Average (Ciclu final la medie) pentru a configura numărul de cicluri cu care să calculați valoarea medie finală RFU.
 - Selectați RFUs (Valori RFU) pentru a vizualiza datele în unități de fluorescență relativă.
 - Selectați Percentage of Range (Procentaj interval) pentru a vizualiza datele sub formă de procentaj al intervalului RFU.
 - Selectați alveole din selectorul de alveole, pentru a vă axa pe subseturi de date.
 - Selectați un grup de alveole pentru a vizualiza și analiza un subset al alveolelor din placă. Selectați fiecare grup de alveole după nume în meniul vertical Well Group (Grup alveole) de pe bara de instrumente.

Foaia de calcul RFU pentru analiza momentului final

Tabelul 29 definește datele care apar în foaia de calcul RFU din fila End Point (Momentul final).

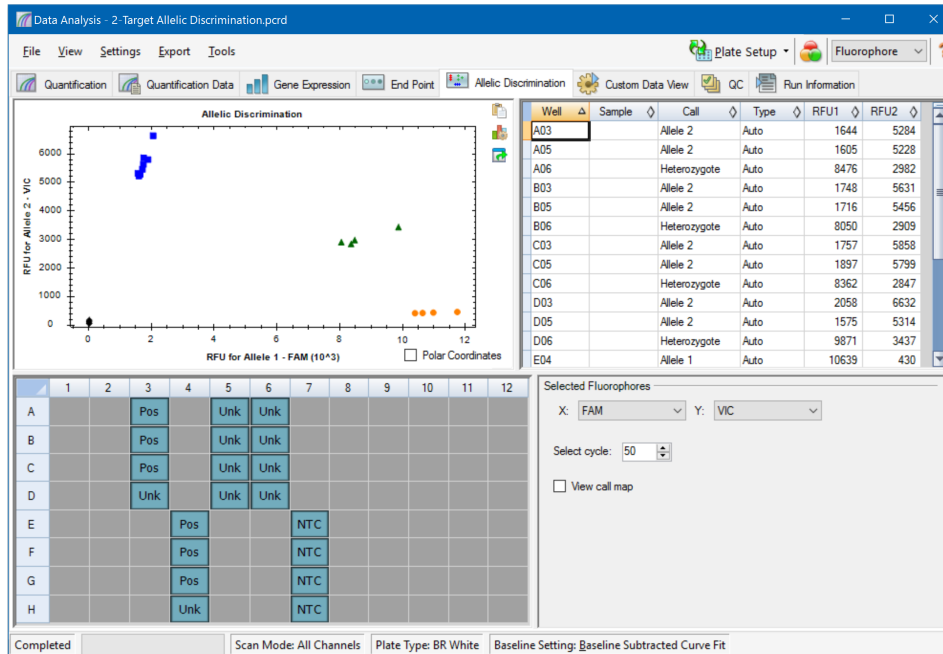
Tabelul 29. Conținutul foii de calcul End Point (Momentul final)

Informație	Descriere
Well (Alveolă)	Poziția godeului în placă
Fluor (Fluorofor)	Fluorofor detectat
Content (Conținut)	O combinație între tipul de probă și numărul replicatului
End RFU (RFU final)	RFU pentru ciclul de la momentul final
Call (Apel)	Pozitiv sau negativ, unde probele pozitive au o valoare RFU mai mare decât RFU medie a controalelor negative plus valoarea limită
Sample (Probă)	Denumirea probei încărcate în Plate Editor (Editor placă)

Fila Allelic Discrimination (Evidențiere alelică)

Fila Allelic Discrimination (Evidențiere alelică) atribuie genotipuri alveolelor cu probe necunoscute. Utilizați aceste date pentru a identifica probe cu diferite genotipuri, inclusiv Alela 1, Alela 2, Heterozigot, Niciun apel (nicio amplificare) sau Nedeterminat.

Observație: Datele pentru evidențierea alelică trebuie să provină din rulări multiplex cu cel puțin doi fluorofori. Fiecare fluorofor identifică o alelă în toate probele.



Analiza evidențierii alelice necesită următorul conținut minim al alveolelor:

- Doi fluorofori în fiecare alveolă
- Probe NTC (control fără țintă de amplificare) pentru analiza de date optimizată

CFX Manager Dx software oferă patru opțiuni în care puteți vizualiza datele privind evidențierea alelică:

- Graficul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică) – afișează datele într-un grafic al RFU pentru Alela 1/Alela 2. Fiecare punct din grafic reprezintă datele din ambii fluorofori dintr-o alveolă. Puteți comuta între coordonate carteziane și polare, bifând și debifând caseta de selectare Polar Coordinates (Coordonate polare). Coordonatele carteziane reprezintă RFU pentru Alela 1 de pe axa x și RFU pentru Alela 2 de pe axa y. Coordonatele polare reprezintă unghiul de pe axa x și distanța dintre origine și RFU de pe axa y (media tuturor NTC).

- Well spreadsheet (Foaie de calcul alveolă) – afișează datele de evidențiere alelică colectate în fiecare alveolă a plăcii.
- Well selector (Selector alveole) – selectează alveolele cu datele alelice pe care doriți să le afișați.
- Selected Fluorophores panel (Panoul Fluorofori selectați) – schimbă etichetele axei x și y în graficul Evidențiere alelică, ciclul de analizat și afișarea sau ascunderea hărții apelurilor.

Ajustarea datelor pentru evidențiere alelică

Software-ul atribuie automat un genotip alveolelor cu probe necunoscute, pe baza pozițiilor probelor martor NTC și a unghiului și distanței punctelor de date necunoscute din probele martor NTC.

Pentru a ajusta datele de evidențiere alelică

- ▶ Urmați oricare dintre procedurile următoare:
 - Pentru a afișa coordonatele polare, bifați caseta de selectare din graficul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică).
 - Pentru a vizualiza un alt fluorofor, alegeți-l din lista verticală de pe panoul Selected Fluorophores (Fluorofori selectați).
 - Pentru a schimba un apel, glisați peste punctul (punctele) de date din graficul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică) și alegeți o opțiune din lista Selected Wells (Godeuri selectate):
 - Allele 1 (Alela 1)
 - Allele 2 (Alela 2)
 - Heterozygote (Heterozigot)
 - Undetermined (Nedeterminat)
 - No Call (Niciun apel)
 - Auto Call (Apel automat)

Sfat: Selectați Auto Call (Apel automat) pentru a reveni la apelul implicit.

Opțiunile de meniu pentru grafice

Pe lângă opțiunile comune de meniu pentru grafice, afișate prin clic dreapta (consultați [Elementele de meniu comune afișate prin clic dreapta pentru grafice de la pagina 177](#)), [Tabelul 30](#) listează opțiunile de meniu disponibile în graficul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică).

Tabelul 30. Opțiunile de meniu dreapta și stânga pentru graficul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică)

Opțiune de meniu	Funcție
Zoom (Mărire)	Focalizează vizualizarea graficului asupra zonei selectate (făcând clic și trăgând cursorul în grafic). Sfat: Pentru a anula mărirea și a afișa toate punctele de date, faceți clic dreapta și selectați Set Scale to Default (Setare scară la implicit).
Well (Alveolă)	Pentru alveola selectată, opțiunile sunt: afișează doar această alveolă, elimină această alveolă din vizualizare, setează culoarea pentru această urmă sau exclude această alveolă din analiză.
Selected Wells (Godeuri selectate)	Pentru alveolele selectate (făcând clic și trăgând cursorul în grafic), opțiunile sunt: afișează doar aceste alveole, elimină aceste alveole din vizualizare, setează culoarea pentru aceste urme sau exclude aceste alveole din analiză.

Foia de calcul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică)

Tabelul 31 definește datele care apar în foaia de calcul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică).

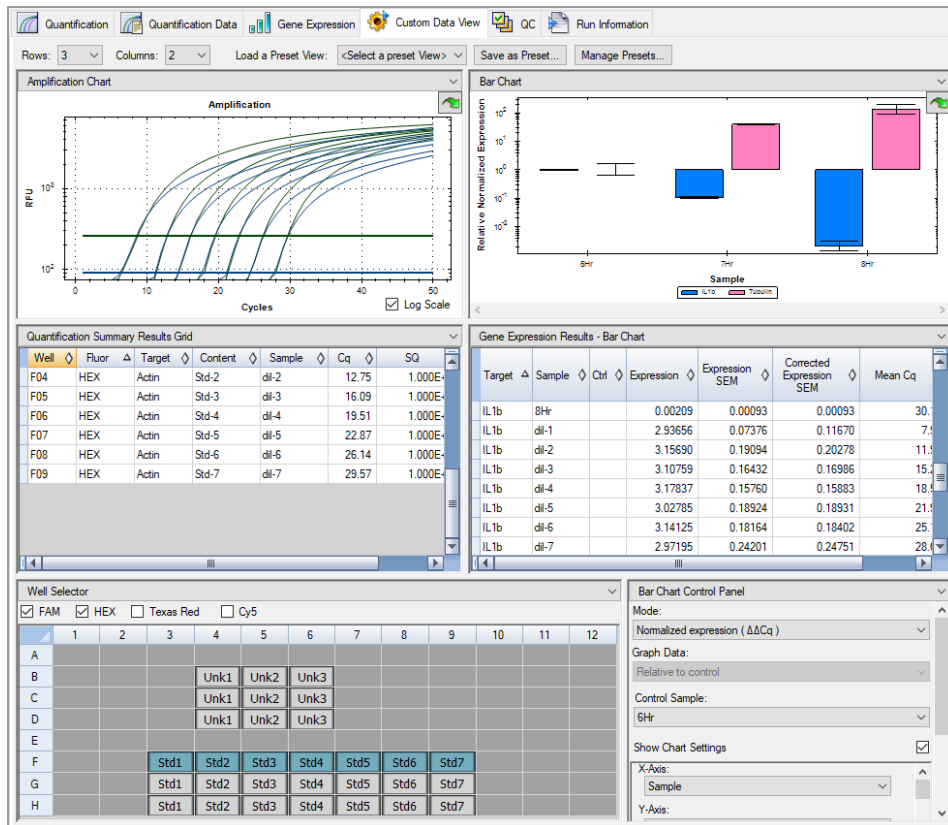
Tabelul 31. Conținutul foii de calcul Allelic Discrimination (Evidențiere alelică)

Informație	Descriere
Well (Alveolă)	Poziția godeului în placă
Sample (Probă)	Descrierea denumirii probei
Call (Apel)	Identitatea alelei, incluzând opțiunile automate Alelă 1, Alelă 2, Heterozigot, Niciun apel sau Nedeterminat
Type (Tip)	Auto (Automat) sau Manual, descrie modul în care a fost efectuat apelul. Automat indică faptul că software-ul a selectat apelul. Manual indică faptul că utilizatorul a ales apelul.
RFU1	RFU pentru Alelă 1
RFU2	RFU pentru Alelă 2

Fila Custom Data View (Vizualizare de date personalizată)

Fila Custom Data View (Vizualizare de date personalizată) afișează simultan mai multe panouri într-un format personalizabil.

Lista verticală Load a Preset View (Încărcare vizualizare prestabilită) oferă o selecție a șabloanelor de format de afișare. Vizualizarea implicită afișată depinde de fișierul analizat. De exemplu, dacă sunt prezente date Melt Curve (Curbă de topire), va apărea vizualizarea implicită Amp+Melt.



Crearea unei vizualizări de date personalizată

Pentru a crea o vizualizare de date personalizată

- ▶ Urmați oricare dintre procedurile următoare:
 - Selectați o vizualizare prestabilită alternativă din lista verticală.
 - Selectați altă vizualizare grafic din lista verticală aflată în partea de sus a fiecărui panou individual.
 - Modificați numărul de rânduri și coloane din filă.
 - Modificați dimensiunile panourilor individuale. Trageți de barele de la marginea fiecărui panou.

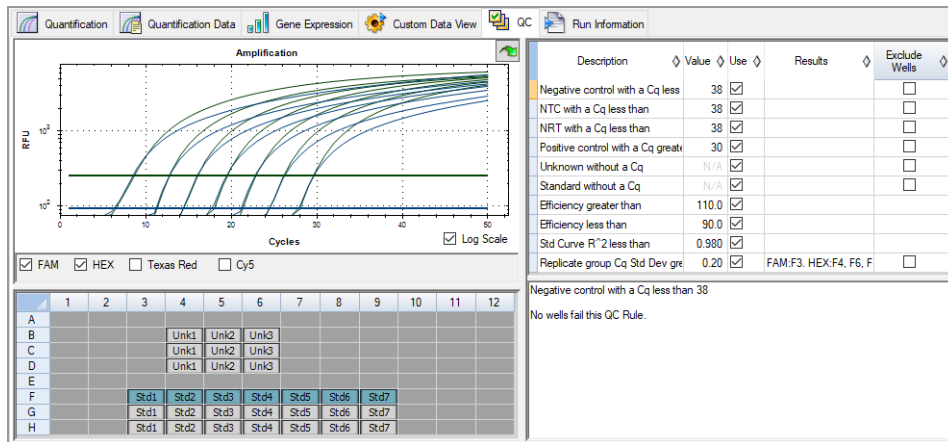
Faceți clic pe Save as Preset (Salvare ca prestabilit) pentru a salva vizualizarea personalizată ca șablon prestabilit. Faceți clic pe Manage Presets (Gestionare prestabilite) pentru a șterge, redenumi sau restabili vizualizări prestabilite existente.

Fila QC (CC)

Utilizați fila QC (CC) pentru a evalua rapid calitatea datelor de rulare pe baza regulilor definite în fila QC (CC).

CFX Manager Dx software oferă patru opțiuni în care puteți vizualiza datele QC (CC):

- Graficul **Amplification (Amplificare)** – afișează RFU pentru fiecare alveolă la fiecare ciclu. Fiecare urmă din grafic reprezintă datele de la un singur fluorofor dintr-o alveolă.
- **Tabelul de reguli QC (CC)** – afișează regulile QC (CC) disponibile și setările care definesc fiecare regulă. Regulile QC (CC) aplicate sunt indicate printr-o bifă.
- **Well selector (Selector alveole)** – selectează alveolele cu datele de fluorescență pe care doriți să le afișați.
- **QC rule summary pane (Panou rezumat regulă QC)** – afișează regula QC (CC) selectată și evidențiază alveolele care nu îndeplinesc regula.



Schimbarea criteriilor QC (CC)

Pentru a schimba criteriile QC (CC)

- Bifați sau debifați caseta de selectare Use (Utilizare) pentru regulă, pentru a o include sau exclude din QC (CC).

Excluderea alveolelor care nu îndeplinesc QC (CC)

CFX Manager Dx software afișează alveolele care nu îndeplinesc criteriile QC (CC) în coloana Rezultate din tabelul de reguli QC (CC) și în panoul rezumativ.

Pentru a exclude alveolele care nu îndeplinesc criteriile QC (CC)

- ▶ Selectați Exclude Wells (Excludere alveole) pentru fiecare alveolă pe care doriți să o excludeți.

Fila Run Information (Informații rulare)

Fila Run Information (Informații rulare) afișează informații despre protocol și alte informații despre fiecare rulare. Folosiți această filă pentru a:

- Vizualiza protocolul.
- Introduce și edita observații despre rulare.
- Introduce sau edita ID (Nr. de identificare) sau codul de bare al rulării.
- Vizualiza evenimentele potențial produse în timpul rulării. Folosiți aceste mesaje pentru depanarea unei rulări.

Sfat: Faceți clic dreapta pe Protocol pentru a-l copia, exporta sau imprima. Faceți clic dreapta pe panourile Notes (Observații), ID/Bar Code (Nr. de identificare/cod de bare) sau Other (Altele) pentru a tăia, copia, lipi, șterge sau selecta textul.

Protocol: CFX_2stepAmp50 1 min.prl

Step	Temp (C)	Time
1	95.0	3:00
2	95.0	0:10
3	55.0	1:00
4	GOTO 2	49 more times

Notes:
Multiplex Gene Expression Example
Artificial Time course in which
Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run
Cyp (Gapdh) is constant at ~ 1e6 cps/run
Fam (Tubulin) increases 4 fold with time
Texas Red (ITb) decreases 4 fold with time

ID/Bar Code:

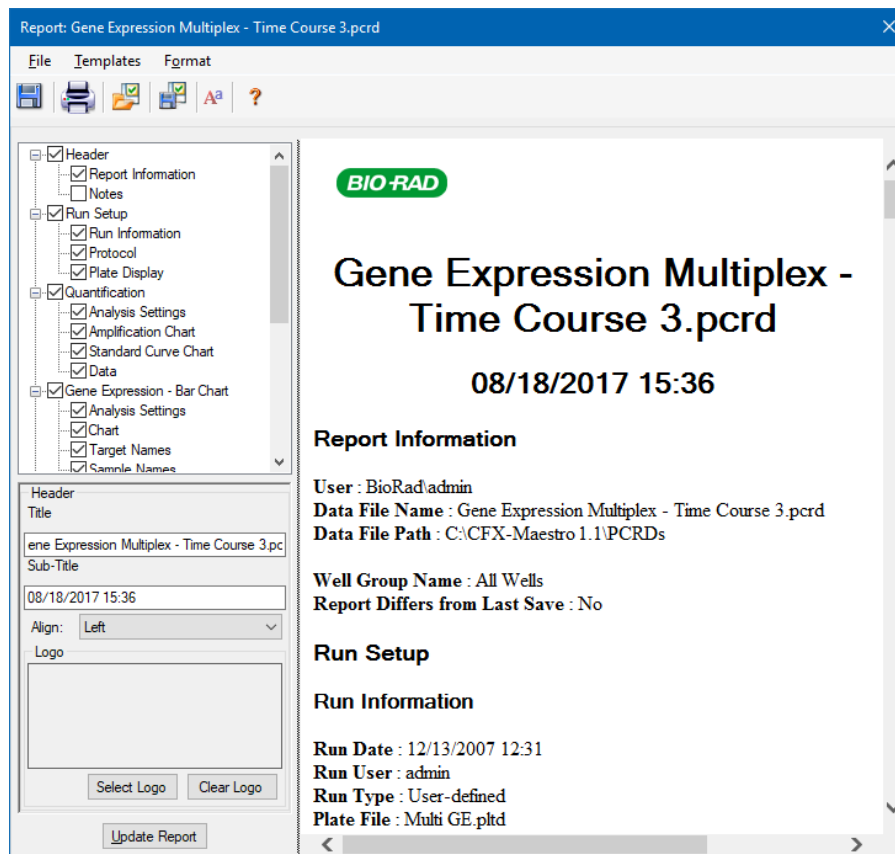
Other:
Run Started : 12/13/2007 12:31:47 PM
User : admin
Run Type: User-defined
Plate File: Multi GE.pltd
Sample Vol. : 25
Lid Temp : 10C
Optical Head Serial Number :
Base Serial Number : CC001095
CFX Manager Version : 1.0.956.1212.

Rapoarte de analiză a datelor

Caseta de dialog Report (Raport) afișează informații despre fișierul de date curent în fereastra Data Analysis (Analiză date) . Pentru a deschide un raport, selectați Tools > Reports (Instrumente > Rapoarte).

Caseta de dialog Report (Raport) cuprinde următoarele secțiuni:

- Meniu și bară de instrumente – oferă opțiuni de formatare, salvare și imprimare a raportului sau șablonului.
- Listă de opțiuni (partea stângă sus a casetei de dialog) – oferă opțiuni de afișare a raportului.
- Panou de opțiuni (partea stângă jos a casetei de dialog) – afișează casete text în care puteți introduce informații despre o opțiune selectată.
- Panou de previzualizare (partea dreaptă a casetei de dialog) – afișează o previzualizare a raportului curent.



Categorii de rapoarte de analiză a datelor

Tabelul 32 afișează toate opțiunile disponibile pentru un raport de analiză a datelor, în funcție de tipul de date din fereastra Data Analysis (Analiză date).

Tabelul 32. Categorii de rapoarte de analiză a datelor în lista de opțiuni

Categorie	Opțiune	Descriere
Header (Antet)		
		Titlu, subtitlu și logo pentru raport
	Report Information (Informații raport)	Data rulării, nume utilizator, denumirea fișierului de date, calea fișierului de date și grupul de alveole selectat
	Audit Information (Informații audit)	Informații suplimentare necesare pentru audit, inclusiv semnături
	Notes (Observații)	Observații despre raportul de date
Run Setup (Configurare rulare)		
	Run Information (Informații rulare)	Data rulării, nume utilizator, denumirea fișierului de date, calea fișierului de date și grupul de alveole selectat
	Protocol	Vizualizare în format text a pașilor și opțiunilor protocolului
	Plate Display (Afișare placă)	Vizualizare a plăcii, cu informații despre fiecare alveolă din placă
Quantification (Cuantificare)		
	Analysis Settings (Setări analiză)	Numărul pașilor de colectare a datelor, modul de analiză și metoda de scădere a nivelului inițial
	Graficul Amplification (Amplificare)	Graficul de amplificare pentru rulările care includ date de cuantificare
	Standard Curve Chart (Grafic Curbă standard)	Grafic curbă standard

Tabelul 32. Categoriile de rapoarte de analiză a datelor în lista de opțiuni, continuare

Categorie	Opțiuni	Descriere
	Data (Date)	Foaie de calcul care listează datele din fiecare alveolă
Gene Expression – Bar Chart (Expresie genică – Grafic cu bare)		
	Analysis Settings (Setări analiză)	Modul de analiză, datele graficului, opțiunea de scalare și erori grafic
	Chart (Grafic)	Copie a graficului cu bare
	Target Names (Denumiri ținte)	Grafic cu denumirile țintelor
	Sample Names (Denumiri probe)	Grafic cu denumirile probelor
	Data (Date)	Foaie de calcul care listează datele din fiecare alveolă
	Target Stability (Stabilitatea țintei)	Grafic cu valorile de stabilitate a țintelor
Gene Expression (Expresie genică) – Clustergram (Clustergramă) și Scatter Plot (Corelogramă)		
	Analysis Settings (Setări analiză)	Setări pentru fiecare tip de grafic
	Chart (Grafic)	Copie a graficului
	Data (Date)	Foaie de calcul care listează datele din fiecare țintă
Melt Curve (Curbă de topire)		
	Analysis Settings (Setări analiză)	Număr pași de topire și setare bară prag
	Grafic Melt Curve (Curbă de topire)	Graficul curbei de topire
	Grafic Melt Peak (Vârf de topire)	Graficul Melt peak (Vârf de topire)

Tabelul 32. Categoriile de rapoarte de analiză a datelor în lista de opțiuni, continuare

Categorie	Opțiune	Descriere
	Data (Date)	Foaie de calcul care listează datele din fiecare alveolă
Allelic Discrimination (Evidențiere alelică)		
	Analysis Settings (Setări analiză)	Afișează fluoroforii, ciclul și harta apelurilor de vizualizare
	Allelic Discrimination Chart (Grafic evidențiere alelică)	Copie a graficului de evidențiere alelică
	Data (Date)	Foaie de calcul care listează datele din fiecare alveolă
End Point (Momentul final)		
	Analysis Settings (Setări analiză)	Fluorofor, cicluri finale la medie, mod, cea mai mică valoare RFU, cea mai mare valoare RFU și valoarea limită
	Data (Date)	Foaie de calcul care listează datele din fiecare alveolă
QC Parameters (Parametri CC)		
	Data (Date)	Foaie de calcul cu parametrii pentru fiecare regulă CC

Crearea unui raport de analiză a datelor

Puteți salva structura raportului drept șablon, pe care-l puteți utiliza din nou pentru rapoarte similare.

Pentru a crea un raport de analiză a datelor

1. Efectuați ajustările finale la conținutul godeului, alveolele selectate, grafice și foile de calcul în fereastra Data Analysis (Analiză date) înainte de a crea raportul.
2. Selectați Tools > Reports (Instrumente > Rapoarte) din bara de meniu Data Analysis (Analiză date) pentru a deschide caseta de dialog Report (Raport).
3. Alegeți opțiunile pe care doriți să le includeți în raport. Raportul se deschide cu opțiunile implicite selectate. Bifați sau debifați casetele de selectare pentru a schimba categorii întregi sau opțiuni individuale dintr-o categorie.

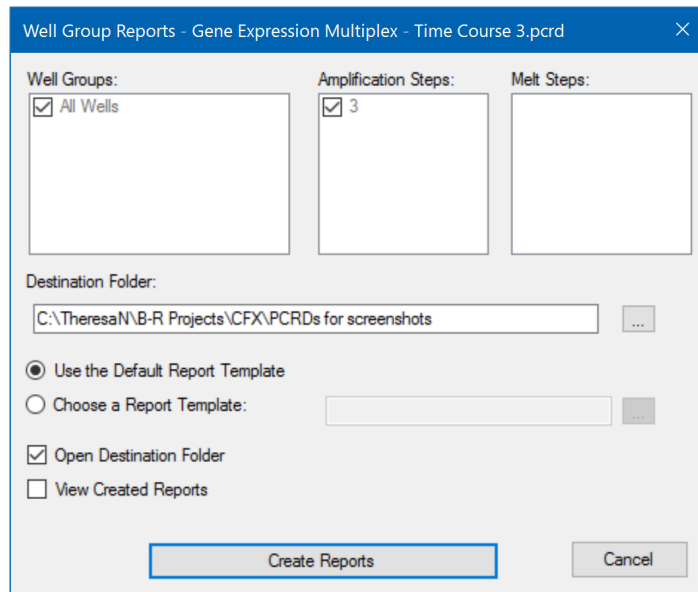
Observație: Datele care apar în raport depind de selecțiile curente din cadrul filelor ferestrei Data Analysis (Analiză date). De exemplu, o rulare de cuantificare poate să nu conțină o curbă standard și prin urmare datele respective nu apar în fereastra Data Analysis (Analiză date) sau în raportul de date.

4. Schimbați ordinea categoriilor și elementelor dintr-un raport. Trageți opțiunile în poziția aferentă. Elementele pot fi reordonate doar în cadrul categoriilor cărora le aparțin.
5. (Opțional) În panoul Report Options (Opțiuni raport), introduceți informațiile relevante pentru opțiunea selectată:
 - Alegeți un subset de informații de afișat în raport.
 - Alegeți setările specifice pentru opțiunea selectată.
 - Modificați textul de afișat pentru opțiunea selectată.
6. Faceți clic pe Update Report (Actualizare raport) pentru a actualiza Report Preview (Previzualizare raport) cu orice modificări.
7. Imprimați sau salvați raportul. Faceți clic pe butonul Print Report (Imprimare raport) de pe bara de instrumente pentru a imprima raportul curent. Selectați File > Save (Fișier > Salvare) pentru a salva raportul în format PDF (fișier Adobe Acrobat Reader) și selectați un loc în care să salvați fișierul. Selectați File > Save As (Fișier > Salvare ca) pentru a salva raportul cu o nouă denumire sau într-un nou loc.
8. (Opțional) Creați un șablon de raport cu informațiile pe care le doriți. Pentru a salva setările raportului curent într-un șablon, selectați Template > Save (Șablon > Salvare) sau Save As (Salvare ca). Apoi încărcați șablonul raportului data viitoare când doriți să creați un raport nou.

Crearea rapoartelor pentru grupuri de alveole

Pentru a crea un raport pentru un grup de alveole

1. Selectați Tools > Well Group Reports (Instrumente > Rapoarte grupuri de alveole) din fereastra Data Analysis (Analiză date).



2. Din caseta de dialog Well Groups Reports (Rapoarte grupuri de alveole), selectați grupurile de alveole, pașii de amplificare și pașii de topire de inclus în raport.
3. Introduceți calea sau navigați la folderul de destinație în care doriți să salvați raportul.
4. (Opțional) Selectați Choose a Report Template (Alegeți un șablon de raport) și navigați la folderul fișierului șablon.
5. (Opțional) Selectați Open Destination Folder (Deschidere folder destinație) pentru a deschide folderul și vizualiza rapoartele după ce sunt generate.
6. Faceți clic pe Create Reports (Creare rapoarte).

Capitolul 11 Analiza expresiei genice

Cu ajutorul unor probe control calificate mai stringent în reacțiile dumneavoastră, puteți utiliza CFX Manager Dx software pentru a efectua o rulare de expresie genică pentru a normaliza diferențele relative dintr-o concentrație țintă printre probe. În mod tipic, nivelurile de expresie pentru una sau mai multe gene de referință sunt utilizate pentru a normaliza nivelurile de expresie ale unei gene de interes. Genele de referință iau în considerare diferențele de încărcare sau alte variații reprezentate în fiecare probă și nivelurile lor de expresie trebuie să nu fie afectate în sistemul biologic studiat.

Selectați fila Gene Expression (Expresie genică) în fereastra Data Analysis (Analiză date) pentru a evalua diferențele relative între reacțiile PCR din două sau mai multe alveole. De exemplu, puteți evalua numerele relative de genomi virali sau numerele relative de secvențe transfectate dintr-o reacție PCR. Cea mai comună aplicație pentru studiul de expresie genică este comparația între concentrația cDNA (ADNc) în mai mult de o reacție pentru a estima nivelurile de stare de echilibru al RNA (ARN) mesager.

Software-ul calculează nivelul de expresie relativă al unei ținte cu unul dintre aceste scenarii:

- Nivelul de expresie relativă pentru o secvență țintă (Ținta 1) relativ la o altă țintă (Ținta 2); de exemplu cantitatea unei gene relativ la o altă genă sub același tratament al probei.
- Nivelul de expresie relativă al unei secvențe țintă dintr-o probă în comparație cu aceeași țintă sub un tratament diferit al probei; de exemplu, cantitatea relativă a unei gene în raport cu ea însăși în alte condiții temporale, geografice sau de dezvoltare.

Configurarea plăcii pentru analiza expresiei genice

Pentru a realiza analiza expresiei genice, conținutul alveolelor trebuie să includă următoarele:

- Două sau mai multe ținte – cele două ținte care reprezintă diferite gene amplificate sau secvențe din probele dumneavoastră.
- Una sau mai multe ținte de referință – cel puțin o țintă trebuie să fie țintă de referință pentru expresia normalizată. Atribuiți toate țintele de referință în fereastra Experiment Settings (Setări experimente), pentru a analiza datele în modul Expresie normalizată ($\Delta\Delta C_q$). Rulările care nu conțin o referință trebuie analizate utilizând modul Expresie relativă (ΔC_q).
- Probe comune – reacțiile dumneavoastră trebuie să includă probe comune (minimum două necesare) pentru a vă vizualiza datele reprezentate grafic în fila Gene Expression (Expresie

genică). Aceste probe ar trebui să reprezinte diferite tratamente sau condiții pentru fiecare dintre secvențele dumneavoastră țintă. Atribuiți o probă de control (opțională) în fereastra Experiment Settings (Setări experimente). Dacă nu este selectată nicio probă de control, software-ul folosește cea mai mică valoare C_q drept valoare de control.

Cerințele pentru setarea Gene Expression (Expresie genică) din Plate Editor (Editor placă) depind de tipul conținutului reacției: PCR singleplex, cu un fluorofor în reacții sau PCRmultiplex, cu mai mulți fluorofori în reacție.

Configurarea ghidată a plăcii

Dacă configurarea plăcii unui fișier de date nu conține informațiile necesare pentru analiză și fila Gene Expression (Expresie genică) este selectată, spațiul ocupat în mod normal de graficul cu bare va conține instrucțiuni pentru introducerea acestor informații. Pentru expresia genică normalizată, finalizați următorii pași:

1. Definiți denumirile Target (Țintă) și Sample (Probă) urmând oricare dintre procedurile următoare:
 - Plate Setup (Configurare placă) – deschide fereastra Plate Editor (Editor placă).
 - Replace Plate File (Înlocuire fișier placă) – deschide browser-ul Select Plate (Selectare placă), în care puteți naviga la un fișier placă salvat anterior cu care să înlocuiți structura curentă a plăcii.
 - Replace PrimePCR File (Înlocuire fișier PrimePCR) – deschide caseta de dialog Select PrimePCR File (Selectare fișier PrimePCR), în care puteți naviga la un fișier de rulare PrimePCR pe care să-l aplicați la structura plăcii.
2. Selectați una sau mai multe ținte de referință și o probă de control utilizând caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente).





Dacă structura plăcii conține deja informații despre țintă și probă, doar al doilea pas este necesar și este evidențiat cu portocaliu. Acest pas trebuie finalizat înainte de realizarea analizei expresiei genice normalizate.

Observație: Datele pentru clustergramă și corelogramă sunt afișate doar dacă toate cerințele pentru expresia genică normalizată listate în Plate Setup (Configurare placă) pentru Gene Expression Analysis (Analiza expresiei genice) sunt îndeplinite.

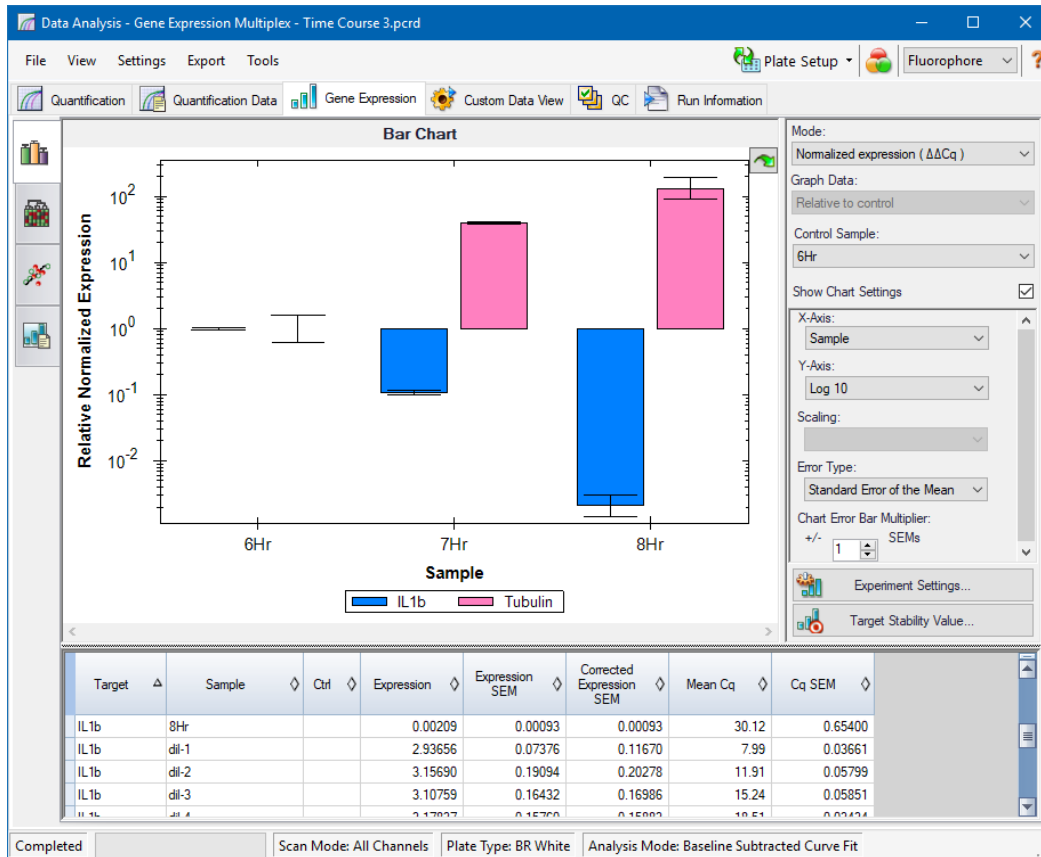
Graficele de expresie genică

CFX Manager Dx software afișează datele expresiei genice în mai multe vizualizări. [Tabelul 33](#) listează opțiunile graficelor disponibile în software.

Tabelul 33. Opțiunile graficelor de expresie genică

Buton	Denumire	Funcție
	Grafic cu bare	Afișează datele expresiei genice normalizate în format de grafic cu bare.
	Clustergramă	Afișează datele expresiei normalizate într-o ierarhie bazată pe gradul de similaritate a expresiei pentru diferite ținte și probe.
	Corelogramă	Afișează expresia normalizată a țintelor pentru un control versus o probă experimentală.
	Rezultate	Rezumă datele din toate graficele.

Grafic cu bare



Expresia relativă a țintelor este prezentată în aceste două vizualizări:

- Graficul Expresie genică – afișează datele PCR în timp real, sub una dintre următoarele forme:
 - $\Delta\Delta C_q$ – expresie normalizată relativă, calculată folosind probe de control și ținte de referință.
 - ΔC_q – cantitatea relativă a genei țintă dintr-o probă în raport cu o probă de control.
- Foaie de calcul – afișează o foaie de calcul a datelor expresiei genice.

Sfat: Faceți clic dreapta pe orice grafic sau foaie de calcul pentru a accesa opțiunile. Selectați View/Edit Plate (Vizualizare/Editare placă) din meniul vertical Plate Setup (Configurare placă) pentru a deschide Plate Editor (Editor placă) și a modifica conținutul godeului din placă.

Sfat: Selectați Sort (Sortare) din meniul clic dreapta pentru a rearanja ordinea denumirilor Target (Țintă) și Sample (Probă) din grafic.

Expresie genică normalizată

Pentru a normaliza datele, utilizați nivelul expresiei măsurat pentru una sau mai multe gene de referință ca factor de normalizare. Genele de referință sunt ținte care nu sunt regulate în sistemul biologic studiat, de exemplu *actină*, *GAPDH* sau *tubulină*.

Pentru a configura analiza expresiei genice normalizate ($\Delta\Delta C_q$)

1. Deschideți un fișier de date (extensia .pcrd).
2. Revizuiți datele din fila Quantification (Cuantificare) din fereastra Data Analysis (Analiză date). Ajustați datele, de exemplu schimbând pragul și modul de analiză.
3. Alegeți fila Gene Expression (Expresie genică).
4. În fila Gene Expression (Expresie genică), faceți clic pe Experiment Settings (Setări experimente).
5. În caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente), urmați procedura următoare:
 - a. Alegeți fila Samples (Probe) și selectați un control. La atribuirea unui control, CFX Manager Dx software normalizează cantitățile relative pentru toate genele la cantitatea de control, care este setată la 1.
 - b. Alegeți fila Target (Țintă) și selectați genele de referință. Analiza expresiei genice necesită o referință între țintele din probele dumneavoastră
6. Selectați Normalized Expression (Expresie normalizată) ($\Delta\Delta C_q$) dacă această opțiune nu este deja selectată și apoi vizualizați nivelurile de expresie în fila Gene Expression (Expresie genică).

Cantitate relativă

Prin definiție, datele de cantitate relativă (ΔC_q) nu sunt normalizate. Această metodă este utilizată pentru a cuantifica probele care nu includ gene de referință (ținte). În mod obișnuit, cercetătorii se bazează pe una dintre următoarele considerente când setează rularea:

- Fiecare probă conține aceeași cantitate de RNA (ARN) sau cDNA (ADNc) în fiecare alveolă.
- Orice variație a cantității de probă biologică încărcată va fi normalizată după rulare printr-o metodă de analiză a datelor, în afara software-ului. De exemplu, un cercetător poate alege să împartă valoarea cantității relative la factorul de normalizare, dacă se poate la masa de acid nucleic încărcată pentru fiecare probă, sau la numărul de celule din care a fost izolat acidul nucleic.

Pentru a rula o analiză a cantității relative (ΔC_q)

- ▶ În fila Gene Expression (Expresie genică), selectați Relative Quantity (ΔC_q) (Cantitate relativă) (ΔC_q) din lista verticală Mode (Mod) din panoul din dreapta.

Sfat: Pentru a compara rezultatele cu datele din alte rulări ale expresiei genice, deschideți un nou studiu genic sau adăugați un fișier de date la un studiu genic existent.

Sortarea datelor țintei și probei

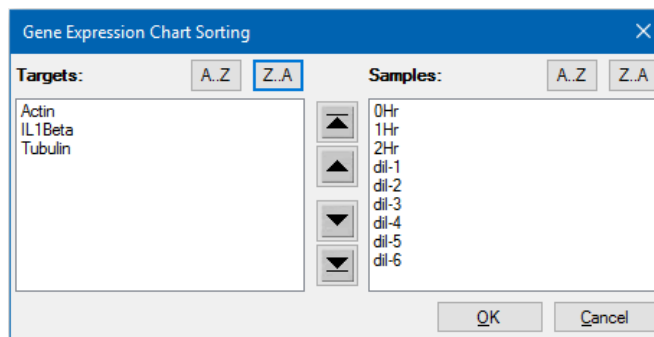
Observație: Această opțiune este disponibilă numai în graficele de expresie genică.

Implicit, lista Targets and Samples (Ținte și probe) apare în ordine alfabetică. Utilizați caseta de dialog Sort (Sortare) pentru a sorta afișajul în ordine alfabetică inversă sau pentru a muta manual un termen în altă poziție din listă.

Pentru a sorta datele țintei și probei

1. Din meniul clic dreapta al graficului, faceți clic pe Sort (Sortare).

Va apărea caseta de dialog Gene Expression Chart Sorting (Sortare grafic expresie genică).



2. În caseta de dialog, faceți clic pe Z-A pentru a sorta lista în ordine alfabetică inversă.
3. Pentru a muta manual un termen, selectați-l și faceți clic pe butonul corespunzător dintre grafice:
 - Faceți clic pe săgeata În sus sau În jos pentru a muta termenul selectat cu o poziție.
 - Faceți clic pe săgeata bară În sus sau În jos pentru a muta termenul selectat în partea de sus sau de jos a listei.
4. Faceți clic pe OK pentru a salva modificările și a reveni la fila Gene Expression (Expresie genică).

Ajustarea datelor de expresie genică

După ce ați selectat modul de analiză – expresie normalizată ($\Delta\Delta Cq$) sau cantitate relativă (ΔCq), ajustați datele pe care le vedeți în fila Gene Expression (Expresie genică) modificând opțiunile de setare din partea dreaptă a graficului.

Sfat: Setează opțiunile implicite pentru datele de Gene Expression (Expresie genică) în caseta de dialog User Preferences (Preferințe utilizator) (consultați [Setarea parametrilor impliciti pentru fișierul de date de expresie genică de la pagina 71](#)).

Datele graficului

Setați valoarea axei y la scara liniară pentru a activa opțiunile datelor graficului. Opțiunile datelor graficului vă permit să prezentați datele din grafic folosind una dintre următoarele opțiuni:

- Relativ la control – reprezentarea grafică a datelor cu axa scalată de la 0 la 1. Dacă atribuiți o valoare de control în rulare dumneavoastră, selectați această opțiune pentru a vizualiza rapid reglarea pozitivă și negativă a țintei.
- Relativ la zero – reprezentarea grafică a datelor cu originea la zero.

Probă de control

Utilizați meniul vertical Control Sample (Probă de control) pentru a selecta o probă care va fi utilizat(ă) la normalizarea cantității relative:

Setări grafic

Următoarele opțiuni (descrise mai jos) sunt afișate atunci când selectați caseta Show Chart Settings (Afișare setări grafic): X-Axis (Axa x), Y-Axis (Axa y), Scaling (Scalare), Error Type (Tip eroare) și Chart Error Multiplier (Multiplicator eroare grafic).

Opțiuni axa x

Opțiunea axei x vă permite să selectați datele axei x ale graficului Gene Expression (Expresie genică):

- Target (Țintă) – reprezintă grafic denumirile țintelor pe axa x.
- Sample (Probă) – reprezintă grafic denumirile probelor pe axa x.

Opțiuni axa y

Opțiunea axei y vă permite să afișați graficul Gene Expression (Expresie genică) pe una dintre următoarele trei scări:

- Linear (Liniară) – selectați această opțiune pentru a afișa o scară liniară.

Sfat: Setarea axei y la Linear (Liniară) activează lista verticală Graph Data (Date grafic), din care puteți alege să reprezentați grafic datele relativ la control sau relativ la zero.

- Log 2 – selectați această opțiune pentru a evalua probele la nivelul unui interval dinamic mare.
- Log 10 – selectați această opțiune pentru a evalua probele la nivelul unui interval dinamic foarte mare.

Opțiuni de scalare

Selectați Normalized Gene Expression (Expresie genică normalizată) ($\Delta\Delta C_q$) și setați Control Sample (Probă de control) la None (Niciuna) pentru a activa opțiunile de scalare în graficul Gene Expression (Expresie genică). Selectați una dintre aceste opțiuni de scalare pentru a calcula și prezenta datele în maniera cea mai adecvată pentru designul rulării dumneavoastră:

- Unscaled (Nescalat) – prezintă expresia genică normalizată nescalată.
- Highest (Cel mai ridicat) – scalează expresia genică normalizată pentru fiecare țintă, împărțind nivelul expresiei fiecărei probe la cel mai ridicat nivel de expresie pentru toate probele.
Această opțiune de scalare folosește formula „scalat la cel mai ridicat nivel”.
- Lowest (Cel mai scăzut) – scalează expresia genică normalizată pentru fiecare țintă, împărțind nivelul expresiei fiecărei probe la cel mai scăzut nivel de expresie pentru toate probele.
Această opțiune de scalare folosește formula „scalat la cel mai scăzut nivel”.
- Average (Mediu) – scalează expresia genică normalizată pentru fiecare țintă, împărțind nivelul expresiei fiecărei probe la media geometrică a nivelurilor de expresie pentru toate probele.
Această opțiune de scalare folosește formula „scalat la nivel mediu”.

Tip de eroare

Selectați o opțiune pentru calcularea tipului de eroare (barele de eroare) din graficul Gene Expression (Expresie genică).

- Standard error of the mean (default) (Eroarea standard a mediei (implicită))
- Standard deviation (Deviație standard)

Multiplicator bare de eroare din grafic

Selectați un multiplicator pentru barele de eroare din graficul Gene Expression (Expresie genică).

Selectați unul dintre aceste numere întregi:

+/- 1 (implicit), 2 sau 3. Tipul multiplicatorului se schimbă atunci când selectați tipul de eroare:

- SEMs pentru eroarea standard a mediei
- Std Devs pentru deviațiile standard

Setări experimente

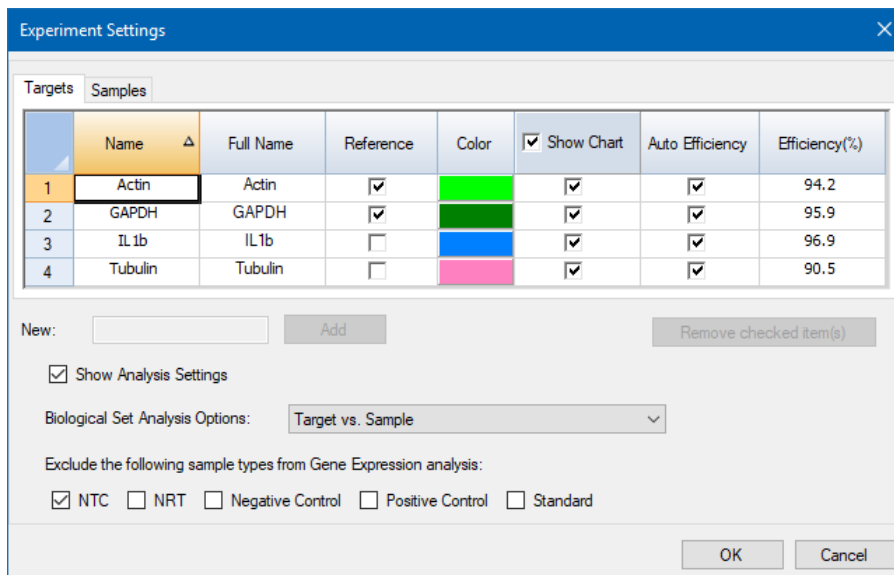
Sfat: Această casetă de dialog este disponibilă și în Plate Editor (Editor placă). Pentru mai multe informații, consultați [Schimbarea setărilor experimentelor de la pagina 129](#).

În caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente), puteți vizualiza sau modifica lista de ținte sau probe, selecta genele de referință, selecta controalele sau seta grupul Gene Expression Analysis (Analiză expresie genică) de analizat, dacă denumirile seturilor biologice au fost adăugate la alveole.

Pentru a deschide caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente)

- ▶ În Bar Chart (Grafic cu bare), faceți clic pe Experiment Settings (Setări experimente) în partea de jos a panoului din dreapta.

Apare caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente), care afișează fila Targets (Ținte).



Pentru a ajusta setările pentru Targets (Ținte)

- ▶ În fila Targets (Ținte), urmați oricare dintre procedurile următoare:
 - Pentru a selecta o țintă ca referință pentru analiza datelor expresiei genice, selectați denumirea sa în coloana Reference (Referință).
 - Pentru a schimba culoarea țintei, faceți clic pe celula corespunzătoare din coloana Color (Culoare) și modificați culoarea în caseta de dialog Color (Culoare) care apare.
Schimbarea culorii apare în graficele Gene Expression (Expresie genică).
 - Pentru a utiliza o valoare de eficiență determinată anterior, debifați caseta de selectare aferentă țintei din coloana Auto Efficiency (Eficiență automată) și introduceți un număr pentru procentul de eficiență al unei ținte.

Software-ul calculează eficiența relativă a unei ținte folosind Auto Efficiency (Eficiență automată), dacă datele pentru o țintă includ o curbă standard.

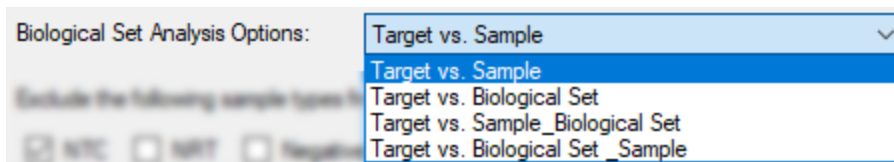
Pentru a ajusta setările pentru Sample (Probă)

- ▶ În fila Samples (Probe), urmați oricare dintre procedurile următoare:
 - Pentru a selecta o probă drept control pentru analiza datelor expresiei genice, selectați denumirea sa în coloana Control.
 - Pentru a schimba culoarea probei, faceți clic pe celula corespunzătoare din coloana Color (Culoare) și schimbați culoarea în caseta de dialog Color (Culoare) care apare.
Schimbarea culorii apare în graficele Gene Expression (Expresie genică).
 - Pentru a afișa proba în graficele Gene Expression (Expresie genică), selectați-o în coloana Show Chart (Afișare grafic).
 - Pentru a elimina proba din graficele Gene Expression (Expresie genică), debifați-o în coloana Show Chart (Afișare grafic).

Sfat: Datele probei rămân în tabelul Results (Rezultate).

Pentru a modifica selecția Biological Set Analysis Options (Opțiuni analiză set biologic)

- ▶ Dacă atribuiți unul sau mai multe seturi biologice alveolelor de pe placă (consultați [Atribuirea de seturi biologice alveolelor de la pagina 122](#)), lista Biological Set Analysis Options (Opțiuni analiză set biologic) afișează caseta de dialog Experiment Settings (Setări experimente), permițându-vă să modificați selecția după necesități.



- **Target vs. Sample (Țintă vs. Probă)** – numai denumirea probei din alveolă este utilizată în calculele expresiei genice.
- **Target vs. Biological Set (Țintă vs. Set biologic)** – numai denumirea setului biologic este utilizată în calcule.
- **Target vs. Sample_Biological Set (Țintă vs. Probă_Set biologic)** – denumirea probei și denumirea setului biologic se combină pentru a crea un nume unic utilizat în calcule.
- **Target vs. Biological Set_Sample (Țintă vs. Set biologic_Probă)** – denumirea setului biologic și denumirea probei se combină pentru a crea un nume unic utilizat în calcule.

Pentru a exclude un tip de probă din calculele analizei

- ▶ Bifați caseta de selectare aferentă din partea de jos a casetei de dialog Experiment Settings (Setări experimente).

Observație: Aceasta exclude controalele și/sau standardele din analiza expresiei genice.

Valoarea stabilității țintei

Valorile stabilității țintei sunt calculate ori de câte ori se utilizează mai mult decât o genă de referință. CFX Manager Dx software calculează doi parametri de calitate pentru genele de referință:

- **Varianța coeficienților (VC)** pentru cantitățile relative ale genelor de referință normalizate. O valoare VC mai mică denotă o stabilitate mai mare.
- **Valoarea M (M)**, o măsură a stabilității expresiei genice de referință.

Valorile VC și M recomandate sunt afișate în partea de jos a casetei de dialog Stability Value (Valoare stabilitate).

Pentru a vizualiza valoarea stabilității țintei

- ▶ În fila Gene Expression Bar Chart (Grafic cu bare expresie genică), faceți clic pe Target Stability Value (Valoarea stabilității țintei) în partea de jos a panoului din dreapta.

Apare caseta de dialog Stability Value (Valoare stabilitate).

Opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta

Faceți clic dreapta pe graficul expresiei genice pentru a selecta elementele afișate în [Tabelul 34](#).

Tabelul 34. Elementele de meniu afișate prin clic dreapta pentru expresia genică

Element	Funcție
Copy (Copiere)	Copiază graficul pe clipboard.
Save Image As (Salvați imaginea ca)	Salvează graficul ca fișier imagine. Configurați rezoluția și dimensiunile imaginii, apoi selectați tipul fișierului (PNG, GIF, JPG, TIF sau BMP).
Page Setup (Configurare pagină)	Selectează configurarea paginii pentru imprimare.
Print (Imprimare)	Imprimă graficul.

Tabelul 34. Elementele de meniu afișate prin clic dreapta pentru expresia genică, continuare

Element	Funcție
Set Scale to Default (Setare scară la implicit)	Show All (Afișare toate) afișează toate datele din graficul cu bare. Scroll Bar (Bară de defilare) afișează o bară de defilare dacă există prea multe probe de afișat în cadrul graficului, menținând o lățime minimă a barei.
Chart Options (Opțiuni grafic)	Deschide fereastra Chart Options (Opțiuni grafic), pentru a ajusta graficul.
Sort (Sortare)	Sortează ordinea probelor sau țintelor care apar pe axa x a graficului.
Use Corrected Std Devs (Utilizare deviații standard corectate)	Calculează barele de eroare utilizând formula deviației standard corectate.
Use Solid Bar Colors (Utilizare culori compacte bare)	Afișează barele compacte din grafic.
X–Axis Labels (Etichete axă x)	Afișează etichetele axei x pe orizontală sau în unghi.

Foia de calcul Data (Date)

Tabelul 35 definește datele afișate în tabelul de date Gene Expression (Expresie genică).

Observație: Valorile din tabel sunt calculate pe baza tipului de grafic și a preferințelor selectate în panoul din dreapta.

Tabelul 35. Descrierea informațiilor din foia de calcul din fila Reprezentare graficăGrafic cu bare

Informație	Descriere
Țintă	Denumirea țintei (genă amplificată) selectată în fereastra Experiment Settings (Setări experimente).
Probă	Denumirea probei și/sau a grupului biologic selectată în fereastra.
Ctrl	Denumirea controlului selectat în fereastra Experiment Settings (Setări experimente).
Cantitate relativă sau Expresie	Cantitate relativă (ΔC_q) sau Expresie genică normalizată ($\Delta\Delta C_q$), în funcție de modul selectat.

Informație	Descriere
SEM (sau SD) pentru cantitate relativă sau expresie	Eroarea standard a mediei (SEM) sau deviația standard (SD) a cantității relative sau a expresiei normalizate, în funcție de opțiunea selectată.
SEM (sau SD) corectată pentru cantitate relativă sau expresie	Calculul valorii corectate pentru SEM sau SD a cantității relative sau a expresiei normalizate, în funcție de opțiunea selectată.
Medie C_q	Media ciclului de cuantificare.
SEM (sau SD) C_q	SEM sau SD a ciclului de cuantificare, în funcție de opțiunea selectată.

Opțiunea Show Details (Afișare detalii)

Tabelul 36 definește datele afișate când este selectată opțiunea Show Details (Afișare detalii) din meniul clic dreapta al foii de calcul a graficului cu bare.

Tabelul 36. Informațiile din foaia de calcul a graficului cu bare cu opțiunea Show Details (Afișare detalii) selectată

Informație	Descriere
Set de date	Date privind fluorescența de la un fluorofor din fișierul de date
Cantitate relativă	Cantitatea relativă calculată a probelor
SD cantitate relativă	Deviația standard a calculării cantității relative
SD cantitate relativă corectată	Deviația standard calculată a cantității relative corectate
SEM cantitate relativă	Eroarea standard a mediei calculării cantității relative
SEM cantitate relativă corectată	Eroarea standard a mediei calculării cantității relative corectate
Cantitate relativă(\lg)	\log_2 al cantității relative utilizate pentru analiza statistică
SD RQ(\lg)	Deviația standard a cantității relative (\log_2)
SEM expresie(\lg)	Eroarea standard a mediei expresiei (\log_2)
Expresie nescalată	Expresia nescalată calculată
SD expresie nescalată	Deviația standard calculată a expresiei nescalate

Tabelul 36. Informațiile din foaia de calcul a graficului cu bare cu opțiunea Show Details (Afișare detalii) selectată, continuare

Informație	Descriere
SD expresie nescalată corectată	Deviația standard calculată a expresiei nescalate corectate
SEM expresie nescalată	Eroarea standard a mediei calculată a expresiei nescalate
SEM expresie nescalată corectată	Eroare standard a mediei calculată a expresiei nescalate corectate
Expresie nescalată(lg)	Log ₂ al expresiei nescalate
SD expresie nescalată(lg)	Deviația standard a expresiei nescalate (log ₂)
SEM expresie nescalată(lg)	Eroarea standard a mediei expresiei nescalate (log ₂)
Expresie	Expresie genică normalizată
SD expresie corectată	Deviația standard calculată
SEM expresie	Eroarea standard a mediei
SEM expresie corectată	Eroarea standard a mediei calculată
Expresie(lg)	Log ₂ al expresiei (expresia normalizată) utilizate pentru analiza statistică
SD expresie(lg)	Deviația standard a expresiei (log ₂)
SEM expresie(lg)	Eroarea standard a mediei expresiei (log ₂)
Medie C _q	Media ciclului de cuantificare
SD C _q	Deviație standard a ciclului de cuantificare
SEM C _q	Eroarea standard a mediei ciclului de cuantificare

Clustergramă

Clustergrama afișează datele într-o ierarhie bazată pe gradul de similaritate a expresiei pentru diferitele ținte și probe.

Observație: Trebuie să alegeți o țintă de referință pentru a afișa oricare dintre reprezentările grafice de date, în afară de expresia relativă pentru graficele cu bare.

Imaginea clustergramei descrie expresia relativă a unei probe sau ținte, după cum urmează:

- Reglare pozitivă (roșu) – expresie mai mare
- Reglare negativă (verde sau albastru) – expresie mai mică
- Nicio reglare (negru)
- Nicio valoare calculată (negru cu un X alb)

Cu cât nuanța culorii este mai deschisă, cu atât mai mare este diferența expresiei relative. Dacă nu se poate calcula nicio valoare C_q normalizată, pătratul va fi negru cu un X alb.

Pe marginile exterioare ale graficului de date se găsește o dendrogramă, care indică ierarhia de clustering. Țintele sau probele care au tipare de expresie similare vor avea ramuri adiacente, iar cele cu tipare nesimilare vor fi mai depărtate.

Setări

Puteți seta următoarele opțiuni:

- Cluster By (Grupare după) – alegeți dintre Targets (Ținte), Samples (Probe), Both (Ambele) sau None (Niciuna).
- Size (Dimensiune) – ajustează dimensiunea imaginii și modifică gradul de mărire a graficului.
- Split Out Replicates (Replicate individuale) – afișează valoarea pentru replicatele individuale.

Sfat: Puteți schimba schema de culoare pentru clustergramă și corelogramă de la setarea implicită Red/Green (Roșu/Verde) la Red/Blue (Roșu/Albastru) selectând această opțiune din meniul clic dreapta din oricare dintre aceste grafice.

Opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta

Opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta pentru clustergramă sunt aceleași cu cele pentru graficul cu bare. Consultați [Tabelul 34 de la pagina 233](#) pentru opțiunile disponibile. De asemenea, selectați Color Scheme (Schemă de culori) pentru a modifica expresia de reglare negativă de la setarea implicită Red/Green (Roșu/Verde) la Red/Blue (Roșu/Albastru) pe grafic.

Foaia de calcul Data (Date)

Foaia de calcul afișează valorile pentru țintă, probă și expresia normalizată. Faceți clic pe caseta de selectare de lângă o țintă pentru a o include sau a o exclude din reprezentarea grafică.

Corelogramă

Corelograma afișează expresia normalizată a țintelor pentru un control versus o probă experimentală. Liniile din grafic indică pragul de reglare. Punctele de date dintre linii indică faptul că diferența de expresie pentru ținta (gena) respectivă este neglijabilă între probe. Punctele de date din afara liniilor depășesc pragul de reglare și ar putea fi de interes.

Imaginea din grafic afișează următoarele modificări în expresia țintă pe baza pragului de reglare:

- Reglare pozitivă (cerc roșu) – expresie relativ mai mare
- Reglare negativă (cerc verde sau albastru) – expresie relativ mai mică
- Nicio schimbare (cerc negru)

Faceți clic pe și trageți oricare linie de prag pentru a ajusta valoarea de prag a reglării.

Setări

Puteți seta următoarele opțiuni:

- Probă de control
- Probă experimentală
- Pragul de reglare. Pe măsură ce măriți sau micșorați valoarea de reglare, liniile de prag din grafic se mută și ele în mod corespunzător.

Opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta

Opțiunile de meniu afișate prin clic dreapta pentru corelogramă sunt aceleași cu cele pentru graficul cu bare. Consultați [Tabelul 34 de la pagina 233](#) pentru opțiunile disponibile. În plus, selectați Symbol (Simbol) pentru a schimba simbolul utilizat pe grafic din cercul implicit în unul dintre următoarele:

- Triunghi
- Cruce
- Pătrat
- Romb

Foaia de calcul Data (Date)

Foaia de calcul afișează valorile pentru țintă și expresia normalizată pentru proba de control și proba experimentală. Indică, de asemenea, dacă țintele sunt reglate pozitiv sau negativ în comparație cu pragul de reglare. Faceți clic pe caseta de selectare de lângă o țintă pentru a o include sau a o exclude din reprezentarea grafică.

Results (Rezultate)

Fila Rezultate oferă o foaie de calcul care sintetizează datele din toate graficele. [Tabelul 37](#) definește datele afișate în foaia de calcul Rezultate.

Tabelul 37. Informațiile din fila Rezultate

Informație	Descriere
Target (Țintă)	Denumirea țintei (genă amplificată)
Sample (Probă)	Denumire probă
Mean C _q (Medie C _q)	Media ciclului de cuantificare
Mean Efficiency Corrected C _q (C _q corectată eficient medie)	Media ciclului de cuantificare după ajustarea pentru eficiența reacțiilor
Normalized Expression (Expresie normalizată)	Expresia țintei normalizată în funcție de o țintă de referință ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Expresie normalizată relativă)	Expresie normalizată relativă la o probă de control; denumită și Fold Change (Schimbarea factorului)
Regulation (Reglare)	Modificare a expresiei relativă la o probă de control
Compared to Regulation Threshold (Comparativ cu pragul de reglare)	Reglare pozitivă sau negativă a unei probe experimentale bazată pe setarea pragului

Observație: Datele pentru replicate se găsesc numai în foile de calcul ale fișelor de analiză a datelor în care s-a selectat Split Out Replicates (Replicate individuale) (respectiv Clustergram (Clustergramă)). Poate exista o discrepanță între datele de expresie din foile de calcul de analiză a expresiei genice dacă selecția „none” (niciuna) drept probă de control pe graficul cu bare.

Studiu genic

Creați un studiu genic pentru a compara datele de expresie genică de la unul sau mai multe experimente PCR în timp real folosind un calibrator între rulări pentru normalizare între experimente. Creați un studiu genic adăugând date din unul sau mai multe fișiere de date (extensia .pcrd) la studiul genic. Software-ul le grupează într-un fișier unic (extensie .mgxd).

Observație: Numărul maxim de probe pe care le puteți analiza într-un studiu genic este limitat de mărimea memoriei RAM a computerului și de memoria virtuală.

Inter-run Calibration (Calibrare între rulări)

Inter-run calibration (Calibrare între rulări) este încercată automat în fiecare studiu genic pentru fiecare țintă pentru a normaliza variațiile între rulări între țintele testate în rulări PCR în timp real separate (cu alte cuvinte, fișiere .pcrd generate din plăci diferite).

Pentru ca software-ul să recunoască o probă drept calibrator între rulări, aceasta trebuie să aibă același nume de țintă, nume de probă și, dacă este utilizat, același nume de set biologic pe fiecare placă comparată.

Observație: Cel puțin o probă calibrator între rulări trebuie să fie prezentă în studiul genic pentru a avea loc calibrarea între rulări. Țintele fără probe calibrator între rulări adecvate vor fi procesate fără corecție în studiul genic (nerecomandat).

Calibrările între rulări pot fi aplicate în două moduri:

- Per țintă – diferiți primeri PCR pot avea eficiențe diferite. În mod implicit, calibratorul între rulări este aplicat tuturor alveolelor unei placi care au aceeași denumire a țintei de amplificare, de exemplu C_q generată cu același test.
- Întregul studiu – un calibrator între rulări este selectat de utilizator și aplicat întregului studiu genic.

Caseta de dialog Gene Study (Studiu genic)

Caseta de dialog Gene Study (Studiu genic) include două file:

- Fila Study Setup (Configurare studiu) – gestionează rulările din studiul genic.

Important: Adăugarea sau eliminarea fișierelor de date într-un studiu genic nu modifică datele din fișierul original.

- Fila Study Analysis (Analiză studiu) – afișează datele de expresie genică pentru rulările combinate.

Fila Study Setup (Configurare studiu)

Tabelul 38 definește datele care apar în fila Study Setup (Configurare studiu).

Tabelul 38. Fila Study Setup (Configurare studiu) din caseta de dialog Gene Study (Studiu genic)

Titlu coloană	Descriere
File Name (Nume fișier)	Denumirea fișierului de date pentru rulare (extensie pcrd)
File Folder (Folder fișiere)	Director care stochează fișierul de date pentru fiecare rulare din studiul genic
Date Created (Data creării)	Data la care au fost colectate datele rulării
Well Group Name (Nume grup alveole)	Numele grupului de alveole care a fost selectat atunci când fișierul a fost adăugat la studiul genic Sfat: Pentru a analiza un grup de alveole din studiul genic, trebuie să selectați acel grup de alveole din fereastra Data Analysis (Analiză date) înainte de a importa fișierul de date în studiul genic.
Step (Pas)	Pas de protocol care include citirea de placă pentru colectarea datelor PCR în timp real
Run Type (Tip rulare)	Rulare definită de utilizator sau rulare PrimePCR
Protocol Edited (Protocol editat)	Dacă este selectată, indică faptul că protocolul utilizat pentru o rulare PrimePCR a fost editat
View Plate (Vizualizare placă)	Deschide o hartă de placă a plăcii cu datele din fiecare rulare inclusă în studiul genic

Pregătirea unui studiu genic

Pentru a pregăti un studiu genic

- Înainte de a importa datele într-un studiu genic, efectuați următoarele în fereastra Data Analysis (Analiză date):
 - Verificați că probele cu același conținut au același nume. Într-un studiu genic, software-ul presupune că alveolele cu același nume pentru Target (Țintă) sau Sample (Probă) conțin aceleași probe.
 - Ajustați nivelul inițial și pragul (C_q) în fila Quantification (Cuantificare) pentru a optimiza datele din fiecare rulare.
 - Selectați grupul de alveole pe care doriți să îl includeți în studiul genic.

Pentru a afișa date de la un grup de alveole în studiul genic, grupul respectiv trebuie să fie selectat înainte de a importa fișierul de date.

Fila Study Setup (Configurare studiu) afișează o listă a tuturor rulărilor din studiul genic.

2. În caseta de dialog Gene Study (Studiu genic) selectați fila Study Setup (Configurare studiu).
3. Faceți clic pe Add Data Files (Adăugare fișiere de date) pentru a selecta un fișier din fereastra browser-ului.

Sfat: Pentru a adăuga rapid rulări la un studiu genic, trageți fișierele de date (extensia .pcrd) în caseta de dialog Study Setup (Configurare studiu).

4. CFX Manager Dx software efectuează automat analiza studiului genic pe măsură ce adăugați fișiere de date. Selectați fila Study Analysis (Analiză studiu) pentru a vizualiza rezultatele.

Pentru a elimina rulări din studiul genic

- ▶ Selectați unul sau mai multe fișiere din listă și faceți clic pe Remove (Eliminare).

Pentru a adăuga observații despre studiul genic

- ▶ Introduceți observații despre fișiere și analiză în caseta de dialog Notes (Observații).

Fila Study Analysis (Analiză studiu)

Fila Study Analysis (Analiză studiu) afișează datele de la toate rulările din studiul genic. Opțiunile de analiză pentru datele de expresie genică sunt aceleași cu cele pentru un fișier de date unic, cu următoarea excepție:

- Pentru graficele cu bare, valorile de calibrare între rulări (dacă sunt calculate) apar atunci când faceți clic pe Inter-run Calibration (Calibrare între rulări).

Observație: Numai următoarele tipuri de probe pot fi utilizate drept calibrator între rulări:

- Unknown (Necunoscută)
- Standard
- Positive Control (Control pozitiv)

Tipurile de probe Negative Control (Control negativ), no template control (control fără ținta de amplificare) (NTC) și no reverse transcriptase control (control fără transcriptază inversă) (NRT) nu pot fi utilizate drept calibrator între rulări.

Crearea unui raport de studiu genic

Pentru a crea un raport de studiu genic

1. Ajustați datele raportului de studiu genic și graficele după caz înainte de a crea un raport.
2. Selectați Tools > Reports (Instrumente > Rapoarte) din meniul Gene Study (Studiu genic) pentru a deschide caseta de dialog Report (Raport).
3. Alegeți opțiunile pe care doriți să le includeți în raport. Raportul se deschide cu opțiunile implicite selectate. Bifați sau debifați casetele de selectare pentru a schimba categorii întregi sau opțiuni individuale dintr-o categorie.

[Categoriile raportului de studiu genic de la pagina 245](#) listează opțiunile disponibile pentru afișare.

4. Schimbați ordinea categoriilor și elementelor dintr-un raport. Trageți opțiunile în poziția necesară. Elementele pot fi reordonate doar în cadrul categoriilor cărora le aparțin.
5. Faceți clic pe Update Report (Actualizare raport) pentru a actualiza Report Preview (Previzualizare raport) cu orice modificări.
6. Imprimați sau salvați raportul. Faceți clic pe butonul Print Report (Imprimare raport) de pe bara de instrumente pentru a imprima raportul curent. Selectați File > Save (Fișier > Salvare) pentru a salva raportul în format PDF (fișier Adobe Acrobat Reader) și selectați o locație în care să salvați fișierul. Selectați File > Save As (Fișier > Salvare ca) pentru a salva raportul cu o nouă denumire sau într-un nou loc.
7. (Opțional) Creați un șablon de raport cu informațiile pe care le doriți. Pentru a salva setările raportului curent într-un șablon, selectați Template > Save (Șablon > Salvare) sau Save As (Salvare ca). Apoi încărcați șablonul raportului data viitoare când doriți să creați un raport nou.

Categoriile raportului de studiu genic

Folosiți caseta de dialog Gene Study Report (Raport studiu genic) pentru a aranja datele studiului genic într-un raport. [Tabelul 39](#) listează toate opțiuni disponibile pentru un raport de studiu genic.

Tabelul 39. Categoriile unui raport de studiu genic

Categorie	Opțiune	Descriere
Header (Antet)		
		Titlu, subtitlu și logo pentru raport

Tabelul 39. Categoriile unui raport de studiu genic, continuare

Categorie	Opțiune	Descriere
	Report Information (Informații raport)	Data, numele utilizatorului, denumirea fișierului de date, calea fișierului de date și grupul de alveole selectat
	Gene Study File List (Lista fișierelor studiului genic)	Lista tuturor fișierelor de date din studiul genic
	Notes (Observații)	Observații despre raportul de date
Study Analysis: Bar Chart (Analiză studiu: Grafic cu bare)		
	Analysis Settings (Setări analiză)	Lista parametrilor de analiză selectați
	Chart (Grafic)	Graficul cu bare al expresiei genice care afișează datele
	Target Names (Denumiri ținte)	Lista țintelor din studiul genic
	Sample Names (Denumiri probe)	Lista probelor din studiul genic
	Data (Date)	Foaie de calcul care afișează datele
	Target Stability (Stabilitatea țintei)	Date privind stabilitatea țintei
	Inter-run Calibration (Calibrare între rulări)	Date de calibrare între rulări
Study Analysis (Analiză studiu): clustergramă și corelogramă		
	Analysis Settings (Setări analiză)	Setări pentru fiecare tip de grafic
	Chart (Grafic)	Graficul expresiei genice care afișează datele
	Data (Date)	Foaie de calcul care listează datele din fiecare țintă

Anexa A Calcule Analiză date

CFX Manager Dx software calculează automat formulele și afișează rezultatele în filele Data Analysis (Analiză date). Această anexă explică în detaliu cum calculează CFX Manager Dx software formulele.

Eficiența reacțiilor

Dovezile sugerează că utilizarea unei modalități exacte de măsură a eficiențelor pentru fiecare primer și set de sonde va determina rezultate mai exacte la analiza datelor de expresie genică. Valoarea implicită a eficienței utilizată în calculele de expresie genică este 100 %. Pentru a evalua eficiența reacțiilor, generați o curbă standard utilizând diluții în serie ale unei probe reprezentative la nivelul unui interval dinamic relevant și apoi înregistrați eficiența pentru analiza ulterioară a expresiei genice. Dacă rularea dumneavoastră include o curbă standard, atunci software-ul va calcula automat eficiența și o va afișa sub Standard Curve (Curbă standard) în fila Quantification (Cuantificare), când Auto Efficiency (Eficiență automată) este bifată în fila Targets (Ținte) din fereastra Experiment Settings (Setări experimente).

Eficiența (E) din formulele de eficiență se referă la „eficiențele” descrise de Pfaffl (2001) și Vandesompele et al. (2002). În aceste publicații, o eficiență de 2 (dublarea perfectă cu fiecare ciclu) este echivalentă cu o eficiență de 100 % în acest software. Aveți posibilitatea să convertiți calculele dumneavoastră de eficiență în cele utilizate de software, utilizând următoarele relații matematice:

- $E = (\% \text{ eficiență} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ eficiență} = (E - 1) * 100$

Cantitate relativă

Formula pentru cantitatea relativă (ΔC_q) pentru orice probă (GOI) este:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Observație: Această formulă este utilizată la calcularea cantității relative atunci când nu s-a definit o probă de control.

Unde:

- E = Eficiența primerului și a setului de sonde. Această eficiență este calculată cu ajutorul formulei (% eficiență * 0,01) + 1, unde 100 % eficiență = 2
- $C_{q(\text{min})}$ = C_q medie pentru proba cu cel mai mic C_q medie pentru GOI
- $C_{q(\text{probă})}$ = C_q medie pentru probă
- GOI = Genă de interes (o țintă)

Cantitatea relativă când este selectat un control

Atunci când se atribuie o probă de control, cantitatea relativă (RQ) pentru orice probă care include o genă de interes (GOI) este calculată după următoarea formulă:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{control})} - C_{q(\text{sample})})}$$

Unde:

- E = Eficiența primerului și a setului de sonde. Această eficiență este calculată cu ajutorul formulei (% eficiență * 0,01) + 1, unde 100% eficiență = 2
- $C_{q(\text{control})}$ = C_q medie pentru proba de control
- $C_{q(\text{probă})}$ = C_q medie pentru orice probe cu GOI
- GOI = Genă de interes (o țintă)

Deviația standard a cantității relative

Formula pentru deviația standard a cantității relative este

$$SD \text{ Relative Quantity} = SD C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Unde:

- SD Relative Quantity = Deviația standard a cantității relative
- $SD C_{q \text{ GOI}}$ sample = Deviația standard a C_q pentru probă (GOI)
- Relative Quantity = Cantitatea relativă a probei
- E = Eficiența primerului și a setului de sonde. Această eficiență este calculată cu ajutorul formulei (% eficiență * 0,01) + 1, unde 100% eficiență = 2
- GOI = Genă de interes (o țintă)

C_q corectată eficient (C_{qE})

Formula pentru C_q corectată eficient este

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Unde:

- E = Eficiență

C_q corectată eficient medie (MC_{qE})

Formula pentru C_q corectată eficient medie este

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE} (\text{Rep 1}) + C_{qE} (\text{Rep 2}) + \dots + C_{qE} (\text{Rep n})}{n}$$

Unde:

- C_{qE} = C_q corectată eficient
- n = Numărul de replicări

Factor de normalizare

Numitorul ecuației expresiei normalizate se numește factor de normalizare. Factorul de normalizare reprezintă media geometrică a cantităților relative ale tuturor țintelor

(genelor) de referință pentru o probă dată, conform descrierii din această formulă:

$$\text{Normalization Factor}_{\text{sample (GOI)}} = (\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}$$

Unde:

- RQ = Cantitate relativă
- n = Numărul de ținte de referință
- GOI = Genă de interes (o țintă)

Expresie normalizată

Expresia normalizată ($\Delta\Delta C_q$) este cantitatea relativă a țintei (genei) normalizată la cantitățile țintelor de referință (gene sau secvențe) din sistemul dumneavoastră biologic. Pentru a selecta țintele de referință, deschideți fereastra Experiment Settings (Setări experimente) și faceți clic pe coloana de referință pentru fiecare țintă care servește drept genă de referință.

Formula pentru expresia normalizată, care folosește metoda de calcul a Cantității relative (RQ) calculate, este

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{sample (GOI)}}}{(RQ_{\text{sample (Ref 1)}} \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Unde:

- RQ = Cantitatea relativă a unei probe
- Ref = Ținta de referință dintr-o rulare, care include una sau mai multe ținte de referință în fiecare probă
- GOI = Genă de interes (o țintă)

Cu condiția ca țintele de referință să nu își modifice nivelul de expresie din sistemul dvs. biologic, calcularea expresiei normalizate va lua în considerare diferențele de încărcare sau variațiile numărului de celule care sunt reprezentate în fiecare dintre probele dvs.

Expresia normalizată când este selectat un control

Când selectați o probă de control din fereastra Experiment Settings (Setări experimente), software-ul setează nivelul de expresie al probei de control la 1. În această situație, software-ul normalizează cantitățile relative ale tuturor expresiilor țintelor (genelor) la cantitatea de control (o valoare de 1). Această expresie normalizată este echivalentă cu analiza expresiei normalizate nescalate atunci când este selectat un control.

Observație: Aceasta este cunoscută și sub denumirea de expresie normalizată relativă (RNE) și schimbare de ondulație.

Deviația standard pentru expresia normalizată

Rescalarea valorii expresiei normalizate este realizată împărțind deviația standard a expresiei normalizate la valoarea expresiei normalizate pentru cele mai ridicate sau cele mai scăzute niveluri individuale de expresie, în funcție de opțiunea de scalare aleasă. Formula pentru deviația standard (SD) a factorului de normalizare este

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ n)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ n)}}\right)^2}$$

Unde:

- RQ = Cantitatea relativă a unei probe
- SD = Deviația standard
- NF = Factor de normalizare
- Ref = Țintă de referință
- n = Numărul de ținte de referință

Când se atribuie o probă de control, nu este nevoie să aplicați această funcție de rescalare pentru deviația standard, după cum se arată în formula de mai jos:

$$SD\ NE_{sample\ (GOI)} = NE_{sample\ (GOI)} \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{sample}}{NF_{sample}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (GOI)}}{RQ_{sample\ (GOI)}}\right)^2}$$

Unde:

- NE = Expresia normalizată
- RQ = Cantitatea relativă a unei probe
- SD = Deviația standard
- GOI = Genă de interes (o țintă)

Expresia normalizată scalată la cel mai ridicat nivel de expresie

Când rularea nu include controale, scalați expresia normalizată (NE) pentru fiecare țintă (genă) împărțind nivelul expresiei fiecărei probe la cel mai ridicat nivel de expresie pentru toate probele. Software-ul stabilește cel mai ridicat nivel de expresie la o valoare de 1 și rescalează toate nivelurile de expresie ale probelor. Formula celei mai ridicate scalări este

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

Unde:

- GOI = Gena de interes (țintă)

Expresia normalizată scalată la cel mai redus nivel de expresie

Când rularea nu include controale, scalați expresia normalizată (NE) pentru fiecare țintă (genă) împărțind nivelul expresiei fiecărei probe la cel mai redus nivel de expresie pentru toate probele. Software-ul stabilește cel mai redus nivel de expresie la o valoare de 1 și rescalează toate nivelurile de expresie ale probelor. Formula celei mai reduse scalări este

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

Unde:

- GOI = Gena de interes (țintă)

Expresia normalizată scalată la nivelul de expresie mediu

Când rularea nu include controale, scalați expresia normalizată (NE) pentru fiecare țintă (genă), împărțind nivelul expresiei fiecărei probe la media geometrică a expresiei pentru toate probele. Software-ul stabilește nivelul mediu de expresie la o valoare de 1 și rescalează toate nivelurile de expresie ale probelor. Formula scalării medii este

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Unde:

- GOI = Gena de interes (țintă)
- GM = Media geometrică a expresiei normalizate pentru toate probele

Deviația standard pentru expresia normalizată scalată

Rescalarea valorii expresiei normalizate (NE) este realizată împărțind deviația standard (SD) a expresiei normalizate la valoarea expresiei normalizate pentru cele mai ridicate (MAX) sau cele mai scăzute (MIN) niveluri de expresie, în funcție de opțiunea de scalare aleasă.

Observație: Când se atribuie o probă de control, nu este nevoie să aplicați această funcție de rescalare pentru deviația standard.

Calculul pentru această formulă este

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX or MIN (GOI)}}$$

Unde:

- NE = Expresia normalizată
- SD = Deviația standard
- GOI = Gena de interes (țintă)
- MAX = Cel mai ridicat nivel de expresie
- MIN = Cel mai scăzut nivel de expresie

Reglarea

Reglarea măsoară mărirea sau micșorarea expresiei unei ținte pentru o probă experimentală față de o probă de control și se determină astfel:

Dacă Expresie (experimentală) > Expresie (control):

$$\text{Regulation} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Dacă Expresie (experimentală) < Expresie (control):

$$\text{Regulation} = -1 / \left(\frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

Observație: Pentru graficul cu bare, *Expresia* se bazează fie pe cantitatea relativă, fie pe expresia normalizată, în funcție de modul selectat (consultați [Grafic cu bare de la pagina 226](#)). Cu toate acestea, pentru corelogramă și clustergramă, reglarea este calculată întotdeauna pe baza expresiei normalizate.

Formule valori corectate

O diferență între valorile corectate și valorile necorectate este observată doar dacă este creată o curbă standard ca parte a rulării PCR în timp real. Software-ul folosește trei ecuații pentru a determina propagarea erorilor:

- Eroare standard
- Eroare standard pentru expresie normalizată
- Eroare standard pentru gena de interes normalizată (țintă)

Formula pentru eroarea standard este

$$\text{Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Unde:

- n = Numărul de ținte (gene) de referință
- SD = Deviația standard

Eroarea standard pentru factorul de normalizare din formula expresiei normalizate este

$$SE NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref 1)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref 2)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE RQ_{\text{example (Ref n)}}}{n \times SE RQ_{\text{example (Ref n)}}}\right)^2}$$

Unde:

- n = Numărul de ținte de referință
- SE = Eroare standard
- NF = Factor de normalizare
- RQ = Cantitate relativă

Formula erorii standard pentru gena de interes (GOI) normalizată este

$$SE GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE GOI}{GOI}\right)^2}$$

Unde:

- SE = Eroare standard
- GOI = Genă de interes (o țintă)
- NF = Factor de normalizare
- n = Numărul de ținte de referință

Anexa B Gestionarea utilizatorilor și rolurilor CFX Manager Dx

În CFX Manager Dx software, puteți crea utilizatori și alocă un rol respectivilor utilizatori. Rolurile limitează accesul la funcțiile CFX Manager Dx. Unui utilizator i se poate alocă un singur rol la un moment dat. Cu toate acestea, un administrator de CFX Manager Dx software poate schimba rolul utilizatorului în orice moment.

Sfat: Nu este necesar să creați utilizatori pentru a utiliza CFX Manager Dx. Dacă nu creați utilizatori, toată activitatea este efectuată de contul de utilizator implicit *admin*.

Important: Utilizatorul admin este contul Administrator implicit, pe care îl utilizați pentru a vă autentifica inițial în CFX Manager Dx. Se recomandă să creați un utilizator specific pentru a administra CFX Manager Dx. Alocați acestui utilizator rolul de Administrator și efectuați toate sarcinile de administrare cu acest utilizator.

Important: CFX Manager Dx software nu are nicio funcție de expirare a sesiunii utilizatorului pentru inactivitate. Așadar, este recomandat să implementați măsuri de securitate Windows sau terțe (de exemplu, implementați un economizor de ecran cu autentificare obligatorie).

Gestionarea utilizatorilor

În ediția standard a CFX Manager Dx software, conturile de utilizator pot avea orice nume sau parolă.

Pentru a alocă un rol fiecărui utilizator, selectați din lista de roluri din fereastra User Administration (Administrare utilizatori). În acest exemplu, utilizatorul Guest (Invitat) primește dreptul adăugat de a salva fișiere.

Adăugarea și ștergerea utilizatorilor

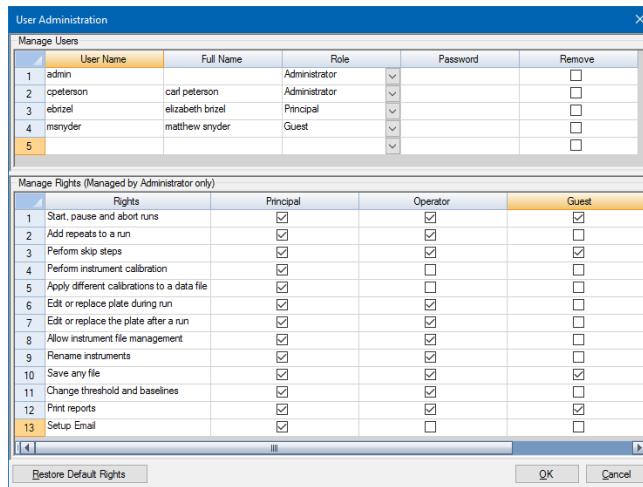
Observație: Doar administratorul CFX Manager Dx poate adăuga și șterge utilizatori.

Pentru a adăuga conturi de utilizator la CFX Manager Dx

1. Din fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați User > User Administration (Utilizator > Administrare utilizatori).

Va apărea caseta de dialog User Administration (Administrare utilizatori).

Anexa B Gestionarea utilizatorilor și rolurilor CFX Manager Dx



2. În panoul Manage Users (Gestionare utilizatori), introduceți un nume de utilizator pentru utilizator.
3. Selectați un Role (Rol) pentru utilizator.

Rolurile restricționează drepturile utilizatorului. Rolul implicit este Principal.

Sfat: Puteți modifica drepturile pentru fiecare rol în parte. Modificarea dreptului rolului afectează toți utilizatorii cărora li s-a atribuit rolul respectiv. Pentru mai multe informații, consultați [Gestionarea drepturilor rolurilor de la pagina 259](#).

4. (Opțional) Introduceți Full Name (Nume complet) și Password (Parolă) pentru utilizator.
5. Faceți clic pe OK pentru a deschide o casetă de dialog și pentru a confirma că doriți să închideți fereastra.
6. Faceți clic pe Yes (Da) pentru a închide caseta de dialog și fereastra.

Pentru a șterge un utilizator

1. În panoul Manage Users (Gestionare utilizatori), selectați Remove (Ștergere) pentru fiecare utilizator pe care doriți să-l ștergeți.
2. Faceți clic pe OK pentru a deschide o casetă de dialog și pentru a confirma că doriți să închideți fereastra.
3. Faceți clic pe Yes (Da) pentru a închide caseta de dialog și fereastra.

Observație: Lista utilizatorilor software-ului trebuie să includă întotdeauna un Administrator.

Gestionarea drepturilor rolurilor

CFX Manager Dx include aceste patru roluri:

- Administrator (obligatoriu) – administratorii au toate drepturile și nu le puteți modifica drepturile. Administratorii pot, de asemenea, adăuga și șterge utilizatori și modifica drepturile pentru fiecare rol în parte.

Observație: Doar un administrator poate modifica drepturile pentru fiecare rol în parte.

- Principal – implicit, utilizatorul principal deține toate drepturile
- Operator – implicit, utilizatorul operator deține toate drepturile, mai puțin omiterea ciclurilor
- Invitat – implicit, utilizatorul invitat poate doar citi fișiere

Important: Modificarea drepturilor unui rol afectează toți utilizatorii cărora li s-a atribuit rolul respectiv. Nu puteți particulariza un rol pentru un anumit utilizator. Procedați cu atenție când modificați drepturile rolurilor.

Pentru a specifica drepturile pentru fiecare rol în parte

1. Din fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați User > User Administration (Utilizator > Administrare utilizatori).
2. În panoul Manage Rights (Gestionare drepturi), urmați una dintre procedurile următoare:
 - Pentru a elimina un drept al unui rol, debifați caseta de selectare aferentă.
 - Pentru a adăuga un drept unui rol, bifați caseta de selectare aferentă.
3. Faceți clic pe OK pentru a deschide o casetă de dialog și pentru a confirma că doriți să închideți fereastra.
4. Faceți clic pe Yes (Da) pentru a închide caseta de dialog și fereastra.

Pentru a reseta toate drepturile pentru toate rolurile

- ▶ În caseta de dialog User Administration (Administrare utilizatori), faceți clic pe Restore Default Rights (Restaurare drepturi implicite).

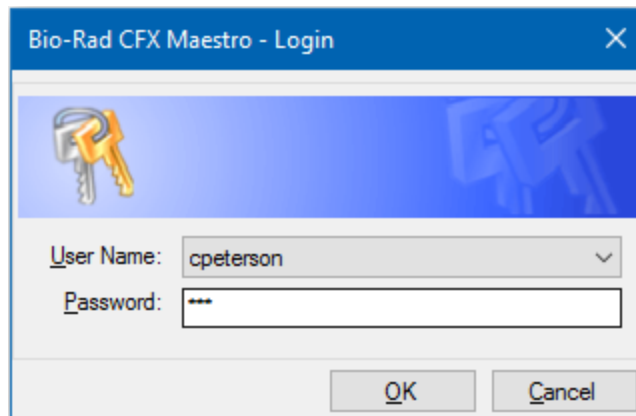
Autentificarea în CFX Manager Dx software

CFX Manager Dx software gestionează cine se autentifică în software prin caseta de dialog Login (Autentificare). Când inițializați software-ul, CFX Manager Dx afișează automat caseta de dialog Login (Autentificare) atunci când doi sau mai mulți utilizatori sunt listați în fereastra User Administration (Administrare utilizatori).

CFX Manager Dx afișează numele utilizatorului autentificat în partea de sus a ferestrei Home (Fereastră de pornire).

Pentru autentificarea în CFX Manager Dx

1. În caseta de dialog Login (Autentificare), selectați-vă numele din lista verticală User Name (Nume utilizator).
2. Introduceți parola dumneavoastră
3. Faceți clic pe OK pentru a închide caseta de dialog Login (Conectare) și a deschide software-ul.



Schimbarea utilizatorilor

Puteți schimba utilizatorii în timp ce software-ul se află în funcțiune.

Pentru a schimba utilizatorii

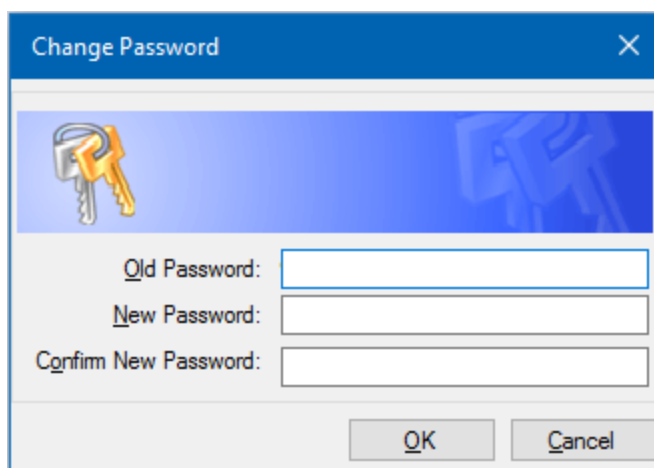
1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați User > Select User (Utilizator > Selectare utilizator) pentru a deschide caseta de dialog Login (Conectare).
2. Selectați un nume din lista verticală User Name (Nume utilizator).
3. Introduceți parola noului utilizator.
4. Faceți clic pe OK pentru a închide caseta de dialog Login (Conectare) și a deschide software-ul.

Schimbarea parolelor utilizatorilor

Utilizatorii CFX Manager Dx își pot schimba parolele în orice moment.

Pentru a schimba parola de utilizator

1. Din fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați User > Change Password (Utilizator > Schimbare parolă) pentru a deschide caseta de dialog Change Password (Schimbare parolă).



2. În Old Password (Parolă veche), tastați parola actuală.
3. În New Password (Parolă nouă), tastați o parolă nouă și tastați-o din nou în Confirm New Password (Confirmați noua parolă).
4. Faceți clic pe OK pentru a confirma modificarea.

Vizualizarea rolului și drepturilor dumneavoastră

Sfat: Utilizatorilor cărora li s-au atribuit roluri de utilizator Principal, Operator sau Invitat își pot vizualiza doar setările, drepturile și rolurile lor de utilizator.

Pentru a vă vizualiza rolul de utilizator și drepturile curente

- Din fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați User > User Administration (Utilizator > Administrare utilizatori).

Contactați-vă administratorul CFX Manager Dx pentru a modifica setările, drepturile și rolurile de utilizator listate în fereastra User Administration (Administrare utilizatori).

Anexa B Gestionarea utilizatorilor și rolurilor CFX Manager Dx

Anexa C Integrare LIMS

Puteți configura CFX Manager Dx software pentru utilizare cu un sistem de gestionare a informațiilor de laborator (LIMS). Pentru integrarea LIMS, CFX Manager Dx necesită informații pentru configurarea plăcii generate de platforma LIMS (un fișier LIMS, *.plrn), un fișier de protocol creat folosind CFX Manager Dx software (*.prcl), o locație definită pentru exportarea datelor și un format de exportare definit.

La finalizarea rulării, CFX Manager Dx generează un fișier de date (.pcrd) și îl salvează în locația definită a folderului de exportare a datelor. CFX Manager Dx poate, de asemenea, să creeze un fișier de date compatibil cu LIMS în format .csv și să îl salveze în aceeași locație.

Crearea de fișiere de date compatibile cu LIMS

Această anexă explică modul în care puteți configura CFX Manager Dx software pentru a crea, salva și exporta fișiere de date compatibile cu LIMS.

Configurarea folderului LIMS și a opțiunilor de exportare a datelor

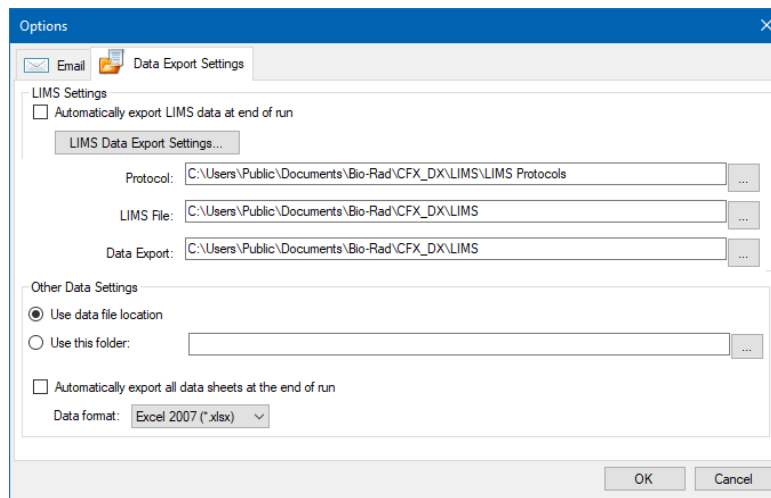
Implicit, CFX Manager Dx salvează protocoalele LIMS, fișierele LIMS și fișierele de exportare a datelor în acest folder:

```
C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS
```

Puteți configura CFX Manager Dx să salveze fișiere într-un alt folder și puteți schimba opțiunile de exportare pentru date LIMS.

Pentru a configura un folder LIMS și opțiunile de exportare a datelor

1. Din fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați Tools > Options (Instrumente > Opțiuni).
2. În caseta de dialog Options (Opțiuni), selectați Data Export Settings (Setări exportare date).



3. (Opțional) Selectați **Automatically Export LIMS data at end of run** (Exportare automată date LIMS la sfârșitul rulării).

Software-ul va exporta automat date LIMS după fiecare rulare și le va salva în locația specificată.

4. Pentru a schimba opțiunile de exportare implicite pentru date LIMS, faceți clic pe **LIMS Data Export Settings** (Setări exportare date LIMS).

Important: Numai datele LIMS exportate ca fișier .csv pot fi importate înapoi în CFX Manager Dx.

5. În caseta de dialog **LIMS Data Export Format Settings** (Setări format exportare date LIMS), selectați opțiunile de exportare necesare și faceți clic pe **OK**.
6. În caseta de dialog **Options** (Opțiuni), navigați la și selectați un folder implicit în care doriți să salvați fișierele de date LIMS. Puteți selecta un loc diferit pentru fiecare tip de fișier:

- Protocol
- Fișier LIMS
- Data export (Exportare date)

7. Faceți clic pe **OK** pentru a salva modificările și a închide caseta de dialog **Options** (Opțiuni).

Crearea unui protocol LIMS

Pentru a iniția o rulare LIMS, creați CFX Manager Dx un fișier protocol (*.prcl) și salvați-l în folderul de protocol LIMS desemnat.

Pentru mai multe informații, consultați [Capitolul 6, Crearea de protocoale](#).

Crearea unui fișier LIMS

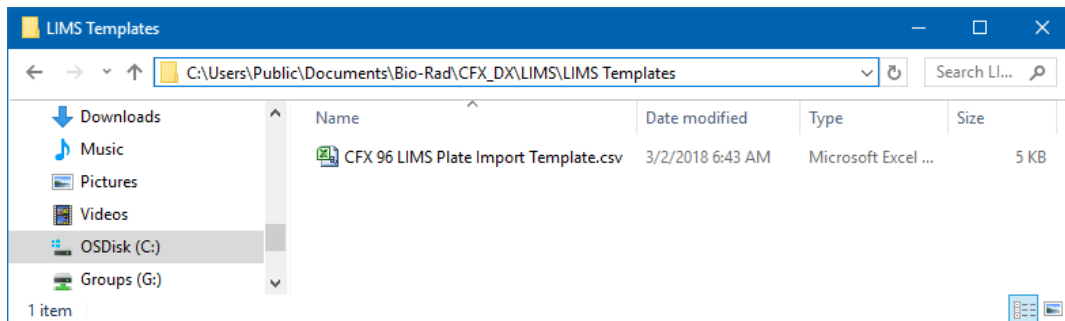
Un fișier LIMS (*.plrn) conține detaliile configurării plăcii și denumirea fișierului de protocol. Acest fișier este generat de unitatea LIMS internă. CFX Manager Dx folosește fișierul LIMS pentru a crea un fișier placă pe care să-l folosească împreună cu un fișier de protocol.

CFX Manager Dx oferă fișiere șablon de import al plăcii, pe care le puteți edita pentru a crea fișiere placă LIMS personalizate.

Sfat: Această sarcină trebuie realizată de un specialist LIMS.

Pentru a crea un fișier LIMS

1. În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați View > Show > LIMS File Folder (Vizualizare > Afișare > Folder fișier LIMS).
2. Deschideți folderul LIMS Templates (Șabloane LIMS) și selectați un fișier .csv pe care să-l importați în unitatea LIMS internă.



3. Cu ajutorul LIMS, editați fișierul șablon completând câmpurile obligatorii listate în [Tabelul 40](#).
4. Salvați șablonul cu extensia .plrn a numelui de fișier în folderul cu fișiere LIMS.

Important: CFX Manager Dx poate deschide doar fișierul .plrn. Trebuie să salvați fișierul .csv ca .plrn pentru a putea să inițiați rularea LIMS.

Tabelul 40. Definierea conținutului unui fișier LIMS .csv

Coloană	Rând	Descriere	Conținut (Conținut)	Scop
A	1	Antet placă	Nu editați	Predefinit
A,B,C	2	Câmp/Date/Instrucțiuni	Nu editați	Predefinit
B	3	Versiunea	Nu editați	Predefinit

Tabelul 40. Definirea conținutului unui fișier LIMS .csv, continuare

Coloană	Rând	Descriere	Content (Conținut)	Scop
B	4	Dimensiune placă	Nu editați	Predefinit
B	5	Tip de placă	Introduceți „BR White” (BR Alb), „BR Clear” (BR Transparent) sau alt tip de plăci calibrate	Obligatory
B	6	Mod de scanare	Introduceți „SYBR/FAM Only:” (Doar SYBR/FAM), „All Channels” (Toate canalele) sau „FRET”	Obligatory

Tabelul 40. Definirea conținutului unui fișier LIMS .csv, continuare

Coloană	Rând	Descriere	Conținut (Conținut)	Scop
B	7	Unități	Introduceți una dintre următoarele „copy number” (număr copii), „fold dilution” (factor diluție), „micromoles” (micromoli), „nanomoles” (nanomoli), „picomoles” (picomoli), „femtomoles” (femtomoli), „attomoles” (atomoli), „milligrams” (miligrame), „micrograms” (micrograme), „nanograms” (nanograme), „picograms” (picograme), „femtograms” (femtograme), „attograms” (atograme) sau „percent” (procent)	Obligatoriu

Tabelul 40. Definirea conținutului unui fișier LIMS .csv, continuare

Coloană	Rând	Descriere	Content (Conținut)	Scop
B	8	ID rulare	Introduceți o scurtă descriere sau un cod de bare care să identifice această rulare (maximum 30 de caractere, virgulele nu sunt permise)	Opțional
B	9	Observație rulare	Introduceți descrierea rulării	Opțional
B	10	Protocol rulare	Introduceți numele fișierului de protocol exact cum apare în listă.	Obligatoriu
A	11	Fișier de date	Introduceți numele fișierului de date	Opțional
A	12-15	Urmează a fi determinat/Gol	Nu editați	Predefinit
A	16	Date placă	Nu editați	Predefinit

Tabelul 40. Definirea conținutului unui fișier LIMS .csv, continuare

Coloană	Rând	Descriere	Conținut (Conținut)	Scop
A	17-113	Poziția godeului	Nu editați	Predefinit
B-G		Ch1 Dye, Ch2 Dye, Ch3 Dye, Ch4 Dye, Ch5 Dye, FRET (Colorant canal1, Colorant canal2, Colorant canal3, Colorant canal4, Colorant canal5, FRET)	Introduceți un nume de colorant calibrat (de exemplu, „FAM”) pentru fiecare canal utilizat	Obligativ
H		Tipul de probă	Introduceți unul dintre următoarele tipuri de probe: „Unknown” (Necunoscută), „Standard”, „Positive Control” (Control pozitiv), „Negative Control” (Control negativ), „NTC” sau „NRT”	Obligativ
I		Denumire probă	Introduceți denumirea probei	Opțional

Tabelul 40. Definirea conținutului unui fișier LIMS .csv, continuare

Coloană	Rând	Descriere	Content (Conținut)	Scop
J-O		CH1 Target, CH2 Target, CH3 Target, CH4 Target, CH5 Target, FRET Target (Țintă C1, Țintă C2, Țintă C3, Țintă C4, Țintă C5, Țintă FRET)	Introduceți denumirea țintei pentru fiecare canal utilizat	Opțional
P		Denumire set biologic	Introduceți denumirea setului biologic	Opțional
Q		Replicare	Introduceți un întreg pozitiv pentru fiecare set de replicate. Valoarea nu poate fi zero.	Opțional
R-W		CH1 Quantity, CH2 Quantity, CH3 Quantity, CH4 Quantity, CH5 Quantity, FRET Quantity (Cantitate C1, Cantitate C2, Cantitate C3, Cantitate C4, Cantitate C5, Cantitate FRET)	Introduceți cantitatea valorilor pentru oricare standard. Introduceți concentrația sub formă de număr zecimal.	Obligatoriu pentru toate standardele
X		Notă alveolă	Introduceți o notă pentru alveolă (maximum 20 de caractere)	Opțional

Tabelul 40. Definirea conținutului unui fișier LIMS .csv, continuare

Coloană	Rând	Descriere	Content (Conținut)	Scop
Y-AD		Ch1 Well Color, Ch2 Well Color, Ch3 Well Color, Ch4 Well Color, Ch5 Well Color, FRET Well Color (Culoare alveolă C1, Culoare alveolă C2, Culoare alveolă C3, Culoare alveolă C4, Culoare alveolă C5, Culoare alveolă FRET)	Introduceți orice culoare de stil de urmă definită de utilizator în format zecimal întreg pe 32 biți (argb)	Opțional

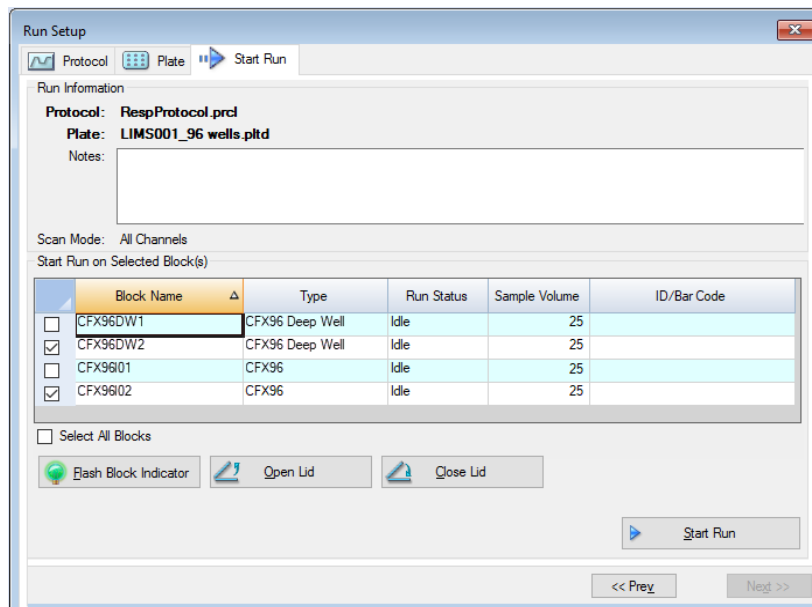
Inițierea unei rulări LIMS

Pentru a iniția o rulare LIMS

1. Urmați una dintre procedurile următoare pentru a deschide un fișier LIMS .plrn:
 - În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați View > Show > LIMS File Folder (Vizualizare > Afișare > Folder fișier LIMS) și deschideți fișierul .plrn țintă.
 - În fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați File > Open > LIMS File (Fișier > Deschidere > Fișier LIMS) și deschideți fișierul .plrn țintă.

Fișierul se deschide în fila Start Run (Începere rulare) din expertul Run Setup (Configurare rulare). Fila Start Run (Începere rulare) afișează informații despre experimentul care urmează a fi rulat. Aceasta afișează, de asemenea, blocul sau blocurile instrumentului conectat pe care puteți rula experimentul.

2. În fila Start Run (Începere rulare), selectați un instrument și faceți clic pe Start Run (Începere rulare).



Exportarea datelor către o LIMS

La finalizarea rulării, CFX Manager Dx generează un fișier de date (.pcrd) și îl salvează în locul definit al folderului de exportare a datelor.

Pentru a exporta fișierul de date către o LIMS

- ▶ Deschideți fișierul .pcrd și selectați Export > Export to LIMS Folder (Export > Exportare către folder LIMS).

Sfat: Dacă selectați Automatically Export Data after Run (Exportare automată date după rulare) din Opțiuni LIMS, CFX Manager Dx creează un fișier compatibil cu LIMS în format .csv și îl salvează în același folder.

Anexa D Depanarea problemelor de conectare a CFX Manager Dx software

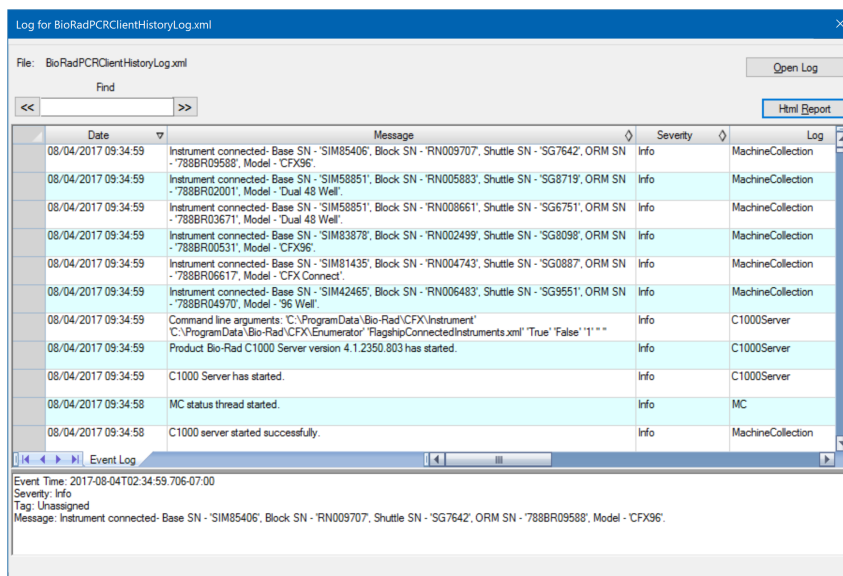
Jurnalul aplicației

Înainte de a iniția o rulare, instrumentele CFX96 și CFX96 Deep Well inițiază un test de auto-diagnosticare pentru a verifica dacă respectă specificațiile. Software-ul înregistrează rezultatele acestui test în fișierul Run Log (Jurnalul rulării) și Application Log (Jurnalul aplicației). Dacă observați o problemă la unul sau mai multe experimente, deschideți jurnalele rulării și aplicației pentru a descoperi când a început problema.

CFX Manager Dx înregistrează informații despre starea unui instrument în timpul unei rulări în Application Log (Jurnalul aplicației). Folosiți aceste jurnale pentru a monitoriza evenimentele instrumentelor și software-ului și pentru a le depana.

Pentru a deschide Jurnalul aplicației

- Din fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați View > Application Log (Vizualizare > Jurnalul aplicației).



Depanare

De obicei, problemele de comunicare ale software-ului și instrumentului pot fi rezolvate prin repornirea computerului dumneavoastră și a sistemului. Asigurați-vă că ați salvat lucrul în desfășurare înainte de repornire.

Observație: Verificați dacă computerul dumneavoastră are suficient RAM și spațiu liber pe disc. Memoria RAM minimă este de 4 GB, iar spațiul minim pe disc este de 128 GB.

Pană de curent

În caz de pană de curent, instrumentul și computerul se vor închide. Dacă pana de curent este scurtă, instrumentul va relua rularea unui protocol, dar Application Log (Jurnalul aplicației) va nota pana de curent. În funcție de setările computerului și durata de timp pentru care este oprită alimentarea electrică, instrumentul și software-ul încearcă să continue să ruleze în funcție de pasul protocolului:

- Dacă protocolul este într-un pas fără nicio citire de placă, protocolul rulează în continuare de îndată ce instrumentul este din nou alimentat cu energie.
- Dacă protocolul este într-un pas cu o citire de placă, instrumentul așteaptă ca software-ul să repornească și să reia comunicarea pentru a colecta datele. În această situație, protocolul continuă numai dacă software-ul nu este oprit de computer. Atunci când computerul și software-ul pornesc din nou, protocolul continuă.

Îndepărtarea probelor din modulul de reacție în timpul penelor de curent.

Puteți deschide un capac motorizat blocat de pe un modul de reacție pentru a îndepărta probele în timpul unei pene de curent.

Pentru a îndepărta placa de blocare

1. Împingeți în jos bara de blocare pentru a îndepărta modulul de reacție din ciclul termic C1000 Dx.
2. Așezați cu grijă modulul de reacție pe un birou sau pe masa de laborator.

3. Poziționați modulul astfel încât partea frontală a modulului să depășească marginea cu 5 cm.



4. Cu o cheie imbus, înlăturați cele două șuruburi mari de sub marginea frontală a modulului de reacție (de sub butonul pentru deschiderea capacului).

Ar trebui să auziți eliberarea clichetului de blocare din interiorul modulului.

Important: Nu înlăturați cele două șuruburi mici de pe marginea frontală a modulului.



5. Deschideți prin împingere capacul modulului de reacție. Observați faptul că clichetul (din plastic negru) nu mai este atașat. Scoateți probele dumneavoastră din bloc.

6. Puneți la loc clichetul de blocare și fixați-l cu șuruburi mari pentru a reasambla modulul de reacție cu capacul deschis.



Preluarea fișierelor în computerul cu CFX Manager Dx

Puteți prelua fișierele de date și jurnal localizate în instrument, pe care să le transferați pe unitatea de disc a unui computer atașat.

Observație: Toate fișierele din folderul cu date în timp real din baza instrumentului sunt preluate în computer.

Pentru a prelua fișiere din instrument

1. În panoul Detected Instruments (Instrumente detectate) din fereastra Home (Fereastră de pornire), faceți clic dreapta pe instrumentul țintă și selectați una dintre următoarele:
 - Retrieve Log Files (Preluare fișiere jurnal)
 - Retrieve Data Files (Preluare fișiere de date)
2. Alegeți locația folderului în care să salvați fișierele preluate.
3. Faceți clic pe Okay (OK).

Instalarea manuală a CFX Manager Dx software

Pentru a instala manual CFX Manager Dx software

1. Dacă este necesar, deconectați orice instrumente conectate de la computer.
Localizați și deconectați cablul USB al instrumentului de la computerul CFX Manager Dx. Capătul introdus în instrument poate să rămână în poziție.
2. Autentificați-vă pe computerul cu CFX Manager Dx cu drepturi de administrator.
3. Introduceți CD-ul cu software-ul.

4. În Windows Explorer, navigați la CD, faceți clic dreapta pe pictograma CD-ului cu software-ul și selectați Explore (Explorare) pentru a deschide fereastra CD-ului.
5. Faceți dublu clic pe folderul CFX_Manager pentru a deschide folderul și apoi faceți dublu clic pe setup.exe pentru a inițializa expertul de instalare a software-ului.
6. Urmați instrucțiunile din expert pentru a instala software-ul, apoi faceți clic pe Finish (Finalizare).

Reinstalarea driverelor

Pentru a reinstala driverele instrumentului

- Din fereastra Home (Fereastră de pornire), selectați Tools > Reinstall Instrument Drivers (Instrumente > Reinstalare drivere instrument).

Observație: Dacă aveți probleme cu comunicarea dintre software și sistemul în timp real după ce ați reinstalat driverele și ați verificat conexiunea USB, contactați serviciul de asistență tehnică Bio-Rad.

Anexa D Depanarea problemelor de conectare a CFX Manager Dx software

Anexa E Bibliografie

1. Sugimoto et al. (1996). Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes. *Nucleic Acids Research* 24, 4,501–4,505.
2. Breslauer KJ et al. (1986). Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc Nat Acad Sci* 83, 3,746–3,750.
3. Hellemans J et al. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biol* 8, R19.
4. Livak JL et al. (1995). Towards fully automated genome-wide polymorphism screening. *Nature Genetics* 9, 341–342.
5. Pfaffl MW (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29, 2,002–2,007.
6. Vandesompele J et al. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 3, 1–12.
7. Fox J (2008). *Applied Regression Analysis and Generalized Linear Models*. 2nd ed (New York: SAGE Publications, Inc.).

Minpack Copyright Notice (1999) University of Chicago. Toate drepturile rezervate.

Redistribuirea și utilizarea în forma sursă și binară, cu sau fără modificare, sunt permise cu îndeplinirea următoarelor condiții:

1. Redistribuirile codului sursă trebuie să păstreze notificarea privind drepturile de utilizator de mai sus, această listă de condiții și următoarea exonerare de răspundere.
2. Redistribuirile în formă binară trebuie să reproducă notificarea privind drepturile de autor de mai sus, această listă de condiții și următoarea exonerare de răspundere în documentația și/sau celelalte materiale furnizate împreună cu distribuția.
3. Documentația pentru utilizatorul final inclusă cu redistribuirea, dacă există, trebuie să includă următoarea recunoaștere:

„Acest produs include software dezvoltat de Universitatea din Chicago, ca Operator al Laboratorului Național Argonne.”

Anexa E Bibliografie



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