



## Software CFX Maestro Dx SE

Guia do utilizador do  
Versão 2.3

REF	
	12014330
	12014334
	12014335
	12014348
	12014349
	12016659
	12016687

Revisão do Manual: Maio de 2022

Revisão do software: 2.3





# **CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)**

**Guia do utilizador**

**Versão 2.3**



## **Suporte técnico da Bio-Rad™**

O departamento de Suporte Técnico da Bio-Rad na EUROPA, Portugal está aberto de segunda-feira a sexta-feira, das 9:00 às 17:30 GMT.

**Telefone:** 1-800-424-6723, opção 2

**E-mail:** [Support@bio-rad.com](mailto:Support@bio-rad.com) (apenas para EUA/Canadá)

Para assistência técnica fora dos EUA e do Canadá, entre em contacto com o suporte técnico local ou clique no link Contact us (Contactar-nos) em [bio-rad.com](http://bio-rad.com).

## **Aviso**

Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida ou transmitida sob qualquer forma ou por qualquer meio, eletrónico ou mecânico, inclusive fotocópia, gravação ou qualquer sistema de armazenamento ou recuperação de informações, sem autorização por escrito da Bio-Rad Laboratories, Inc.

A Bio-Rad reserva-se o direito de modificar os seus produtos e serviços a qualquer momento. Este guia está sujeito a alterações sem aviso prévio. Embora preparado para garantir a exatidão, a Bio-Rad não se responsabiliza por erros ou omissões, ou por qualquer dano resultante da aplicação ou utilização desta informação.

BIO-RAD é uma marca registada da Bio-Rad Laboratories, Inc.

SYBR é uma marca registada da Thermo Fisher Scientific Inc.

EvaGreen é uma marca registada da Biotium, Inc.

Todas as marcas registadas usadas neste documento são propriedade dos seus respetivos titulares.


Direitos de autor © 2022 por Bio-Rad Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

## Utilização prevista

O Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx™ com CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)™ destina-se a realizar o PCR à base de fluorescência para detetar e quantificar sequências de ácidos nucleicos. O sistema e software destinam-se a ser utilizados para efetuar diagnóstico in vitro por técnicos de laboratório com formação. Os sistemas destinam-se a ser utilizados com testes de ácido nucleico de diagnóstico de terceiros que tenham sido fabricados e rotulados para fins de diagnóstico.

## Dicionário de símbolos

 Fabricante	 Número do lote
 Utilizar até	 Para utilização em diagnóstico in vitro
 Limite de temperatura	 Número de catálogo
 Consulte as instruções de utilização	 Número de testes
 Para utilizar com	 Número de série

<b>Rx Only</b> Sujeito a receita médica	 Contém látex
<b>CE</b> Marcação CE - Regulamento (EU) 2017/746 IVDR	

## Traduções

Os documentos relativos ao produto podem ser fornecidos noutras línguas em suporte eletrónico.

## Histórico das revisões

Documento	Data	Descrição da alteração
CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) Guia do utilizador, 2.0 (Doc ID #10000135639)	Dezembro de 2020	Ver. A, versão inicial
CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) Guia do utilizador, 2.3 (Doc ID #10000135639)	Maio de 2022	<ul style="list-style-type: none"><li>■ Atualizado para apoiar o CFX Opus Deepwell Dx</li><li>■ Tabela de conjunto de símbolos atualizada</li><li>■ Adicionada nota de segurança cibernética à Introdução</li></ul>





# Índice

Utilização prevista .....	iii
Dicionário de símbolos .....	iii
Traduções .....	iv
Histórico das revisões .....	v
<b>Conformidade de segurança e regulamentar .....</b>	<b>17</b>
Rótulos de advertência de segurança .....	17
Conformidade de segurança e regulamentar .....	19
Conformidade de segurança .....	19
Compatibilidade eletromagnética (CEM) .....	20
Advertências e observações da CEM .....	21
Requisitos ambientais .....	22
Riscos .....	23
Riscos biológicos .....	23
Riscos químicos .....	25
Riscos de explosão ou de inflamabilidade .....	25
Riscos elétricos .....	26
Transporte .....	26
Bateria .....	26
Descarte .....	26
Garantia .....	27
<b>Capítulo 1 Introdução .....</b>	<b>29</b>
Principais funcionalidades do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) .....	31
Como saber mais .....	31
<b>Capítulo 2 Instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) .....</b>	<b>33</b>
Requisitos de sistema .....	34
Instalação de CFX Maestro Dx SE Software .....	36
Detetar os instrumentos ligados .....	37

Ficheiros de software .....	38
<b>Capítulo 3 Gerir contas de utilizador no CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)</b> .....	<b>39</b>
Iniciar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) .....	40
Adicionar utilizadores do Microsoft Windows ao computador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) .....	42
Adicionar e remover utilizadores do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) .....	44
Gerir as funções do utilizador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) .....	46
Visualizar a sua função e as suas permissões .....	47
<b>Capítulo 4 Utilizar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)</b> .....	<b>49</b>
Ficheiros seguros .....	49
<b>Capítulo 5 O espaço de trabalho</b> .....	<b>61</b>
A janela Home (Início) .....	62
O Startup Wizard (Assistente de arranque) .....	63
A janela Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	64
A janela Plate Editor (Editor de placa) .....	65
A janela Data Analysis (Análise de dados) .....	66
<b>Capítulo 6 A janela Home (Início)</b> .....	<b>67</b>
A janela Home (Início) .....	68
Comandos do menu File (Ficheiro) .....	69
Comandos do menu View (Visualizar) .....	69
Comandos do menu User (Utilizador) .....	70
Comandos do menu Run (Corrida) .....	71
Comandos do menu Tools (Ferramentas) .....	71
Comandos do menu Help (Ajuda) .....	72
Comandos da Toolbar (Barra de ferramentas) .....	73
O Startup Wizard (Assistente de arranque) .....	74
Barra de estado .....	74
Painel Detected Instrument (Instrumentos detetados) .....	75
Visualizar as propriedades de um instrumento .....	78
Antes de começar .....	80
Criar uma mistura-mestre de reação .....	80

Calibrar novos corantes .....	82
Configurar as preferências do utilizador .....	85
<b>Capítulo 7 Criar protocolos .....</b>	<b>105</b>
Parâmetros e intervalos para as etapas do protocolo .....	106
Janela Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	108
Comandos do menu File (Ficheiro) .....	109
Comandos do menu Settings (Configurações) .....	109
Comandos do menu Tools (Ferramentas) .....	109
Comandos da Toolbar (Barra de ferramentas) .....	109
Controlos de edição de protocolo .....	110
Criar um protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	114
Abrir um novo ficheiro de protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	114
Abrir um protocolo existente no Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	116
Configurar um novo protocolo .....	117
Adicionar etapas a um protocolo .....	119
Inserir uma etapa de gradiente .....	120
Inserir a etapa GOTO (IR PARA) .....	121
Inserir uma etapa Melt Curve (Curva de fusão) .....	122
Adicionar ou remover uma etapa de leitura de placa .....	124
Alterar as Step Options (Opções de etapa) .....	124
Eliminar uma etapa .....	125
Copiar, exportar ou imprimir um protocolo .....	125
Criar um protocolo com o Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo) .....	126
Usar a Ta Calculator (Calculadora de Ta) .....	128
Sobre a Ta Calculator (Calculadora de Ta) .....	128
<b>Capítulo 8 Preparar placas .....</b>	<b>133</b>
Janela do Plate Editor (Editor de placa) .....	134
Comandos do menu File (Ficheiro) .....	134
Comandos do menu Edit (Editar) .....	135
Comandos do menu Settings (Configurações) .....	135
Comandos do menu Editing Tools (Ferramentas de edição) .....	136
Comandos da Toolbar (Barra de ferramentas) .....	136
Criar um ficheiro de placa usando o Plate Editor (Editor de placa) .....	138
Abrir um novo ficheiro de placa no Plate Editor (Editor de placa) .....	138

Abrir um ficheiro de placa existente no Plate Editor (Editor de placa) .....	140
Configurar um novo ficheiro de placa .....	141
Atribuir parâmetros opcionais ao Plate File (Ficheiro de placa) .....	149
Atribuir um alvo a poços .....	149
Atribuir um nome da amostra a poços .....	152
Atribuir grupos biológicos a poços .....	153
Atribuir números de réplicas técnicas a poços .....	155
Atribuir uma série de diluição a tipos de amostra padrão .....	157
Copiar o conteúdo de um poço para outro poço .....	158
Adicionar uma observação a um poço .....	159
Limpar todo o conteúdo dos poços .....	159
Alterar configurações de experiências .....	161
Criar grupos de poços .....	164
Alterar estilos de traçados .....	166
Visualização, exportação e importação da placa em formato de folha de cálculo .....	168
Criar um Plate Layout (Layout de placa) usando o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração da placa) .....	170
Usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) da placa .....	170
<b>Capítulo 9 Correr experiências</b> .....	<b>173</b>
A janela Run Setup (Configuração da corrida) .....	174
Aceder à janela Run Setup (Configuração da corrida) .....	175
Separador Protocol (Protocolo) .....	176
Separador Plate (Placa) .....	179
Separador Start Run (Iniciar corrida) .....	182
Correr uma experiência .....	183
Caixa de diálogo Run Details (Pormenores da corrida) .....	185
Separador Run Status (Estado da corrida) .....	185
Separador Real-time Status (Estado em tempo real) .....	188
Separador Time Status (Estado de tempo) .....	191
Realizar experiências PrimePCR .....	192
Transferir dados autónomos para análise .....	194
Transferir dados por e-mail .....	194
Transferir dados a partir do Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx .....	194
Transferir dados utilizando o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) .....	196

Transferir dados usando uma unidade USB .....	196
Transferir dados através de uma unidade de rede partilhada usando o Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx .....	197
Criar um ficheiro de dados .....	197
<b>Capítulo 10 Visão geral da análise de dados .....</b>	<b>199</b>
Janela Data Analysis (Análise de dados) .....	199
Barra de ferramentas Data Analysis (Análise de dados) .....	200
Barra de menu da Data Analysis (Análise de dados) .....	201
Informações do separador .....	206
Step Number Selector (Seletor de número de etapa) .....	206
Visualizar grupos de poços na Data Analysis (Análise de dados) .....	207
Alterar conteúdos de poços após uma corrida .....	207
Configurações de análise de dados .....	209
Ajustar o limiar .....	209
Configurações de linha de base .....	209
Analysis Mode (Modo de análise) .....	210
Cycles to Analyze (Ciclos para análise) .....	211
Well Selector (Seletor de poços) .....	212
Itens de menu do botão direito do rato para seletor de poços .....	213
Excluir temporariamente poços da análise .....	214
Gráficos .....	215
Ferramentas de gráficos .....	215
Ampliar uma área no gráfico .....	223
Copiar gráficos para um ficheiro da Microsoft .....	223
Itens de menu do botão direito do rato comuns para gráficos .....	223
Folhas de Cálculo .....	225
Itens de menu do botão direito do rato comuns para folhas de cálculo .....	225
Export (Exportar) .....	227
Exportar todas as folhas de dados .....	227
Exportar ficheiros RDML .....	228
Criar um ficheiro de exportação personalizado .....	229
Exportar para uma pasta LIMS .....	231
Exportar dados formatados para Seegene .....	231

<b>Capítulo 11 Informações da análise de dados</b> .....	233
Separador Quantification (Quantificação) .....	234
Opções de fluoróforos .....	234
Caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traçados) .....	235
Opção Log Scale (Escala logarítmica) .....	236
Gráfico Standard Curve (Curva padrão) .....	237
Opções de menu do gráfico Amplification (Amplificação) .....	238
Folha de cálculo do separador Quantification (Quantificação) .....	238
Separador Quantification Data (Dados de quantificação) .....	240
Folha de Cálculo Results (Resultados) .....	240
Folha de Cálculo Standard Curve Results (Resultados de curva padrão) .....	242
Folha de Cálculo Plate (Placa) .....	243
Folha de cálculo RFU .....	244
Separador Melt Curve (Curva de fusão) .....	245
Ajustar os Melt Curve Data (Dados da curva de fusão) .....	247
Separador Melt Curve Data (Dados da curva de fusão) .....	248
Folha de cálculo Melt Peaks (Picos de fusão) .....	248
Folha de Cálculo Plate (Placa) .....	249
Folha de cálculo RFU .....	250
Folha de cálculo -d(RFU)/dT .....	251
Separador End Point (Ponto final) .....	252
Dados de Results (Resultados) .....	253
Ajustar a análise de dados de ponto final .....	255
Folha de cálculo RFU para End Point Analysis (Análise de ponto final) .....	255
Separador Allelic Discrimination (Discriminação alélica) .....	256
Ajustar os dados de discriminação alélica .....	257
Opções do menu Chart (Gráfico) .....	258
Folha de cálculo Allelic Discrimination (Discriminação alélica) .....	258
Separador Custom Data View (Vista de dados personalizada) .....	260
Criar uma vista de dados personalizada .....	261
Separador QC (CQ) .....	262
Alterar os critérios de CQ .....	263
Excluir poços reprovados no CQ .....	263
Separador Run Information (Informações de corrida) .....	264

Relatórios de Data Analysis (Análise de dados)	265
Categorias de Data Analysis Report (Relatório de análise de dados)	266
Criar um Data Analysis Report (Relatório de análise de dados)	270
Criar Well Group Reports (Relatórios de grupo de poços)	272
<b>Capítulo 12 Análise de expressão génica</b>	<b>273</b>
Configuração de placa para a análise de expressão génica	273
Configuração de placa orientada	274
Gene Expression Charts (Gráficos de expressão génica)	275
Graphing (Gráfico)	276
Alterar e anotar a Chart View (Vista de Gráfico)	278
Ajustar os dados de expressão génica	284
Experiment Settings (Configurações de experiências)	286
Opções do menu do botão direito	288
Folha de cálculo de dados	289
Opção Show Details (Mostrar pormenores)	291
Clustergram	293
Settings (Configurações)	293
Opções do menu do botão direito	293
Folha de cálculo de dados	293
Scatter Plot (Gráfico de dispersão)	294
Configurações	294
Opções do menu do botão direito	294
Folha de cálculo de dados	294
Folha de cálculo Results (Resultados)	296
Gene Study (Estudo de genes)	297
Inter-run Calibration (Calibração entre corridas)	297
Caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes)	298
Separador Study Setup (Configuração do estudo)	298
Preparar um Gene Study (Estudo de genes)	299
Separador Study Analysis (Análise do estudo)	300
Categorias de relatórios Gene Study (Estudo de genes)	301
Criar um relatório Gene Study (Estudo de genes)	304
<b>Anexo A Cálculos da análise de dados</b>	<b>305</b>
Eficiência da reação	305

Relative Quantity (Quantidade relativa) .....	305
Quantidade relativa quando é selecionado um controlo .....	306
Desvio padrão da quantidade relativa .....	306
Eficiência corrigida Cq (CqE) .....	307
Mean Efficiency Corrected Cq (Eficiência média corrigida Cq) (MCqE) .....	307
Normalized Expression (Expressão normalizada) .....	308
Expressão e quantidade relativa para grupos biológicos .....	309
Expressão normalizada quando for selecionado um controlo .....	309
Desvio padrão para a expressão normalizada .....	310
Expressão normalizada com escala fixada para o nível mais alto de expressão .....	311
Expressão normalizada com escala fixada o nível mais baixo de expressão .....	311
Expressão normalizada com escala fixada para o nível médio de expressão .....	311
Desvio padrão para a expressão normalizada com escala .....	313
Barras de erros para desvio padrão (lg) e erro padrão da média (lg) .....	314
Alteração da multiplicação .....	315
Fórmulas de valor corrigidas .....	316
Cálculo do intervalo de confiança para Biological Group Analysis (Análise de grupo biológico) .....	317
Cálculos de Box and Whisker chart (Diagrama de caixa) .....	317
<b>Anexo B Pistas de auditoria .....</b>	<b>319</b>
Visualizar pistas de auditoria .....	319
Eventos auditáveis .....	321
<b>Anexo C Integração LIMS .....</b>	<b>325</b>
Criar ficheiros de dados compatíveis com LIMS .....	325
Configurar a pasta e as opções de exportação de dados LIMS .....	325
Criar um protocolo LIMS .....	327
Criar um ficheiro LIMS .....	327
Iniciar uma corrida LIMS .....	333
Exportar dados para um LIMS .....	334
<b>Anexo D Resolução de problemas no CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) .....</b>	<b>335</b>
Adicionar ficheiros e pastas do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) à lista de permissões .....	335
Registo da aplicação .....	336
Recuperação de ficheiros de registo Aplicação e Firmware .....	337



Resolução de problemas .....	337
Falta de energia .....	337
Transferir ficheiros para o computador do CFX Maestro Dx SE .....	338
Instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) manualmente .....	338
Reinstalar os drivers .....	339
<b>Anexo E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products .....</b>	<b>341</b>
Software Notices .....	342
ZedGraph .....	342
Standard Open License Text .....	342
LGPL-2.1 .....	342
<b>Anexo F Referências .....</b>	<b>355</b>

## Índice





## Conformidade de segurança e regulamentar

Os sistemas de PCR em tempo real CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx (referidos neste guia como Sistema CFX Opus Dx) aquecem e arrefecem muito rapidamente durante a operação. Para a operação segura do sistema de PCR em tempo real, a Bio-Rad recomenda seguir as especificações de segurança listadas nesta secção e em todo este manual.




### Rótulos de advertência de segurança

Os rótulos de advertência colocados no Sistema CFX Opus Dx e neste manual alertam para fontes de ferimentos ou lesões. A [Tabela 1](#) define cada rótulo com avisos de segurança.

**Tabela 1. Advertências gerais de segurança**

Ícone	Significado
	Operar o Sistema CFX Opus Dx antes de ler este manual pode constituir um risco de lesões corporais. A utilização deste instrumento de uma maneira não especificada neste manual ou pela Bio-Rad poderá fazer com que as funcionalidades de proteção do instrumento sejam afetadas ou desativadas.
	Não existem riscos biológicos ou riscos radioativos associados ao próprio Sistema CFX Opus Dx. Esses riscos só se tornam uma preocupação quando são introduzidos no sistema por meio das amostras que estão a ser testadas. Ao manusear amostras com risco biológico ou radioativo, siga as precauções e diretrizes recomendadas específicas para o seu laboratório e localização. Estas diretrizes devem incluir métodos de limpeza, monitorização e descarte para os materiais perigosos utilizados.
	
	Além disso, conforme identificado acima, há um pequeno risco de explosão ou de expulsão de líquidos ou vapores dos recipientes de amostra. Ao trabalhar com materiais perigosos, o risco de ferimentos causados por material expelido é agravado pelo próprio risco de dispersão dos materiais perigosos dentro e ao redor do instrumento. Os utilizadores devem tomar as precauções adequadas face a tal situação.

**Tabela 1. Advertências gerais de segurança, continuação**

Ícone	Significado
	<p>O Sistema CFX Opus Dx funciona a temperaturas suficientemente altas para causar queimaduras graves. Espere sempre que o bloco de amostras retorne à temperatura ambiente antes de abrir a tampa e remover as amostras. Mesmo depois de o bloco de amostras arrefecer, as áreas circundantes, bem como a placa de aquecimento, podem permanecer quentes por algum tempo. Em situações onde não há tempo suficiente para permitir que o instrumento arrefeça, é recomendada a utilização de equipamentos de proteção, como luvas térmicas ou «luvas de forno».</p>
	<p>A segurança e o desempenho de qualquer sistema que incorpore um sistema Sistema CFX Opus Dx é da exclusiva responsabilidade do montador do sistema.</p>
	<p>Durante a operação normal, o Sistema CFX Opus Dx pode ficar suficientemente quente para fazer com que os líquidos nas amostras ferverem ou evaporem, pressurizando os recipientes de amostra. Existe a possibilidade de falha dos recipientes de amostra, levando a derrames, à pulverização de fluidos ou à rutura explosiva, e à dispersão de vapores ou líquidos dentro e ao redor do instrumento.</p> <p>Os utilizadores devem sempre operar o instrumento com a tampa fechada ou usar óculos de proteção, luvas térmicas e outros equipamentos de proteção individual durante a operação para evitar ferimentos. Abrir o instrumento enquanto as amostras ainda estão quentes, como após cancelar uma corrida, pode fazer com que os recipientes pressurizados derramem, pulverizem ou jorrem líquido. Espere sempre que as amostras arrefeçam antes de abrir a tampa.</p> <p>Os utilizadores nunca devem executar uma reação com uma tampa ou vedação que esteja aberta, solta, perfurada ou danificada, pois isso aumenta a probabilidade de rutura ou explosão.</p> <p>Os utilizadores nunca devem executar uma reação com reagentes voláteis que possam aumentar a probabilidade de rutura ou explosão.</p>

## Conformidade de segurança e regulamentar

### Conformidade de segurança

O Sistema CFX Opus Dx foi testado e considerado em conformidade com todos os requisitos aplicáveis das seguintes normas de segurança e padrões eletromagnéticos:

- IEC 61010-1:2010 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório, Parte 1: Requisitos gerais
- IEC 61010-2-010:2019 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-010: Requisitos particulares para equipamento de laboratório para o aquecimento de materiais
- IEC 61010-2-081:2019 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-081: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório automáticos e semiautomáticos para análises e outros usos
- IEC 61010-2-101:2018 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-101: Requisitos particulares para equipamento médico para diagnóstico in vitro (IVD)
  
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-1-12:2018 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório, Parte 1: Requisitos gerais
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-010:19 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório, Parte 2-010: Requisitos particulares para equipamento de laboratório para o aquecimento de materiais
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-081:19 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório, Parte 2-081: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório automáticos e semiautomáticos para análises e outros usos
- CSA-C22.2 NO. 61010-2-101:19 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-101: Requisitos particulares para equipamento médico para diagnóstico in vitro (IVD)
  
- EN 61010-1:2010 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório, Parte 1: Requisitos gerais

- EN 61010-2-010:2014 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-010: Requisitos particulares para equipamento de laboratório para o aquecimento de materiais
- EN 61010-2-081:2015 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-081: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório automáticos e semiautomáticos para análises e outros usos
- EN 61010-2-101:2017 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-101: Requisitos particulares para equipamento médico para diagnóstico in vitro (IVD)
  
- UL 61010-1:2012 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 1: Requisitos gerais
- UL 61010-2-010:2019 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-010: Requisitos particulares para equipamento de laboratório para o aquecimento de materiais
- UL 61010-2-081:2019 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-081: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório automáticos e semiautomáticos para análises e outros usos
- UL 61010-2-101:19 Requisitos de segurança para aparelhos elétricos de medição, de controlo e de laboratório — Parte 2-101: Requisitos particulares para equipamento médico para diagnóstico in vitro (IVD)

## Compatibilidade eletromagnética (CEM)

O Sistema CFX Opus Dx foi testado e considerado em conformidade com todos os requisitos aplicáveis das seguintes normas de compatibilidade eletromagnética:

- IEC 61326-1:2012 Equipamento elétrico de medição, de comando e de laboratório — Requisitos relativos à CEM — Parte 1: Requisitos gerais Requisitos gerais. Testado como um dispositivo de Classe A
- IEC 61326-2-6:2012 Equipamento elétrico de medição, de comando e de laboratório — Requisitos relativos à CEM — Parte 2-6: Requisitos particulares — Equipamento médico para diagnóstico in vitro (IVD)

- EN 61326-1:2013 Equipamento elétrico de medição, de comando e de laboratório — Requisitos relativos à CEM — Parte 1: Requisitos gerais. Testado como um dispositivo de Classe A
- EN 61326-2-6:2013 Equipamento elétrico de medição, de comando e de laboratório — Requisitos relativos à CEM — Parte 2-6: Requisitos particulares — Equipamento médico para diagnóstico in vitro (IVD)
- Parte 15, subparte B, secções 15.107 e 15.109 da FCC. Testado como um dispositivo digital Classe A
- CAN ICES-003v6:2019 Norma de equipamento causador de interferência, equipamento de tecnologia da informação (incluindo aparelho digital) — Limites e métodos de medição. Testado para os limites da Classe A

## Advertências e observações da CEM

- **Advertência:** alterações ou modificações desta unidade que não sejam expressamente aprovadas pela Bio-Rad podem anular a autoridade do utilizador para operar o equipamento.
- **Observação:** este equipamento foi testado e está em conformidade com os limites para dispositivos digitais de Classe A, conforme a parte 15 das regras da FCC. Esses limites foram estabelecidos para oferecer proteção razoável contra interferência prejudicial quando o equipamento é operado em ambiente comercial. O equipamento gera, usa e pode irradiar energia de radiofrequência e, se não for instalado e utilizado de acordo com o manual de instruções, pode causar interferência prejudicial em comunicações via rádio. É provável que a operação deste equipamento numa área residencial cause interferência prejudicial, em cujo caso o utilizador deverá corrigir a interferência pelos seus próprios meios.
- **Observação sobre a conformidade FCC:** embora este instrumento tenha sido testado e considerado conforme com a parte 15, subparte B das regras da FCC para um dispositivo digital da Classe A, tenha em atenção que esta conformidade é voluntária, pois o instrumento qualifica-se como um «dispositivo isento» ao abrigo da 47 CFR 15.103(c), com relação aos regulamentos da FCC citados em vigor no momento do fabrico.
- **Observação relativa a cabos:** Este instrumento foi testado quanto à conformidade CEM usando cabos USB especialmente projetados, que são fornecidos com o instrumento. Devem ser utilizados estes cabos, ou substitutos autorizados pela Bio-Rad com este instrumento para garantir a conformidade contínua com os limites de emissões CEM.

## Requisitos ambientais

O Sistema CFX Opus Dxs foi projetado para operar com segurança nas condições ambientais listadas na seguinte tabela.

**Tabela 2. Requisitos ambientais do Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx**

Parâmetro	Especificação
Ambiente	Apenas para uso interno
Altitude de funcionamento	Até 2.000 metros acima do nível do mar
Temperatura ambiente da sala	15–31 °C*
Temperatura de transporte e armazenamento	-20° a 60 °C** -4 a 140 °F
Humidade relativa	20% a 80% (sem condensação)***
Potência de funcionamento	100 a 240 VCA ±10%, 50/60 Hz, 850 W máx.
Flutuação da tensão de alimentação da rede	±10%
Energia máxima utilizada	<850 watts
Fusíveis	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, fusão rápida (qtd. 2)
Categoria de sobretensão	II
Grau de poluição	2

\*O funcionamento do instrumento fora desta gama de temperaturas pode não cumprir as especificações de desempenho. Uma temperatura ambiente entre 5-40 °C é considerada segura.

\*\*Armazenar e transportar o instrumento no seu contentor de transporte para satisfazer estas condições de temperatura.

\*\*\*Operar o instrumento a 4 °C deve ser limitado a 18 horas nestas condições. Pode ser realizado em 4 °C durante um máximo de 72 horas se a humidade for inferior a 60% (sem condensação).



## Riscos

O Sistema CFX Opus Dx é concebido para funcionar em segurança quando utilizado da forma indicada pelo fabricante. Se o sistema ou qualquer um de seus componentes associados for utilizado de maneira não especificada pelo fabricante, a proteção inerente fornecida pelo instrumento poderá ser afetada. A Bio-Rad não é responsável por qualquer lesão ou dano causado pela utilização deste equipamento de maneira não especificada, ou por modificações no instrumento não realizadas pela Bio-Rad ou por um agente autorizado. A assistência do Sistema CFX Opus Dx deve ser realizada apenas por pessoal com formação no Bio-Rad .

### Riscos biológicos

O Sistema CFX Opus Dx é um produto de laboratório. Porém, se houver presença de materiais que sejam potenciais riscos biológicos, siga as diretrizes abaixo e cumpra qualquer diretriz local específica para o seu laboratório e localização:

**Observação:** não é emitida nenhuma substância de risco biológico durante a operação normal deste instrumento.

### Precauções gerais

- Use sempre luvas de laboratório, bata e óculos de segurança com proteção lateral ou óculos de proteção.
- Mantenha as mãos longe da boca, nariz e olhos.
- Proteja completamente qualquer corte ou arranhão antes de trabalhar com materiais potencialmente infecciosos.
- Lave bem as mãos com água e sabão depois de trabalhar com qualquer material potencialmente infeccioso antes de sair do laboratório.
- Retire o relógio e as joias antes de trabalhar na bancada.
- Armazene todos os materiais infecciosos ou potencialmente infecciosos em recipientes inquebráveis à prova de derrames.
- Antes de sair do laboratório, remova o vestuário de proteção.
- Não use as mãos com luvas para escrever, atender ao telefone, acender a luz ou tocar algo que outras pessoas possam tocar sem luvas.
- Troque as luvas com frequência. Retire as luvas imediatamente quando estiverem visivelmente contaminadas.

#### Conformidade de segurança e regulamentar

- Não exponha materiais que não podem ser devidamente descontaminados a material potencialmente infeccioso.
- Ao concluir uma operação que envolva material que represente risco biológico, descontamine a área de trabalho com um desinfetante apropriado (uma solução de lixívia doméstica 1:10, por exemplo).

## Descontaminação da superfície



**AVISO!** Para evitar choques elétricos, deve desligar e retirar sempre a ficha do instrumento da tomada antes de realizar os procedimentos de descontaminação.

As seguintes áreas podem ser limpas com qualquer desinfetante bactericida, virucida ou fungicida de uso hospitalar:

- Tampa exterior e chassis
- Superfície interior do bloco de amostras e poços de blocos de amostras
- Painel de controlo e ecrã

Para preparar e aplicar o desinfetante, consulte as instruções fornecidas pelo fabricante do produto. Lave sempre os poços do bloco de amostras e o bloco de amostras várias vezes com água após aplicar um desinfetante. Seque completamente o bloco de amostras e os poços do bloco de amostras após o enxaguamento com água.

**Importante:** não use detergentes abrasivos ou corrosivos ou soluções alcalinas fortes. Estes agentes podem arranhar superfícies e danificar o bloco de amostras, resultando em perda do controlo térmico preciso.

## Descarte de materiais que representam um risco biológico

Descarte os seguintes materiais potencialmente contaminados de acordo com os regulamentos locais, regionais e nacionais de laboratório:

- Amostras clínicas
- Reagentes
- Frascos de reação utilizados ou outros consumíveis que possam estar contaminados.

## Riscos químicos

O Sistema CFX Opus Dx não contém quaisquer materiais químicos potencialmente perigosos.

## Riscos de explosão ou de inflamabilidade

O Sistema CFX Opus Dx não apresenta nenhum risco fora do normal relacionado com a inflamabilidade ou explosão quando utilizado de maneira apropriada, conforme especificado pelos Laboratórios da Bio-Rad.

Conformidade de segurança e regulamentar

## Riscos elétricos

O Sistema CFX Opus Dx não representa nenhum risco elétrico fora do normal para os operadores se instalado e operado corretamente, sem modificação física e ligado a uma fonte de energia com a especificação correta.

## Transporte

Antes de mover ou transportar o Sistema CFX Opus Dx, devem ser executados os procedimentos de descontaminação. Mova sempre ou transporte o sistema num contentor separado no material de embalagem Bio-Rad fornecido, que protege o sistema contra danos.

Para obter informações sobre como transportar o sistema e solicitar o material de embalagem adequado, entre em contacto com o escritório local da Bio-Rad.

## Bateria

O Sistema CFX Opus Dx usa uma bateria de lítio de 3 V do tipo moeda de metal e uma bateria recarregável de níquel-hidreto metálico de 4,8 V para manter as configurações de hora em caso de perda de energia CA. Se os dados de hora não permanecerem configurados após o encerramento da unidade, isso pode indicar que as baterias estão a ficar fracas.



**AVISO!** Não tente mudar as pilhas. Não podem receber assistência pelo utilizador. Contacte com o Suporte Técnico da Bio-Rad para obter assistência.

### Apenas para o Estado da Califórnia, EUA

- Material de perclorato — As baterias de lítio contêm material de perclorato; pode ser necessário manuseio especial. Consulte [www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate](http://www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate).

## Descarte

O Sistema CFX Opus Dx contém materiais elétricos que não devem ser descartados como resíduos não triados; devem ser recolhidos separadamente, de acordo com a Diretriz da União Europeia 2012/19/UE sobre resíduos e equipamentos eletrônicos — Diretriz WEEE. Antes proceder ao descarte, contacte com o representante local da Bio-Rad para obter instruções específicas do país.

## Garantia

O Sistema CFX Opus Dx e os seus acessórios associados estão cobertos por uma garantia Bio-Rad padrão. Entre em contacto com o seu escritório local da Bio-Rad para obter informações sobre a garantia.

Conformidade de segurança e regulamentar

# Capítulo 1 Introdução

Os sistemas de amplificação de PCR de alto desempenho da Bio-Rad apresentam os mais recentes avanços tecnológicos, proporcionando maior precisão e reprodutibilidade na amplificação de ácidos nucleicos para experiências genómicas.

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) da Bio-Rad é compatível com os instrumentos seguintes e apresenta ficheiros executáveis otimizados para os ensaios de iniciadores e sondas PrimePCR da Bio-Rad:

- CFX Sistema de PCR em tempo real Opus 96 Dx (referido neste guia como CFX Opus 96 Dx)
- Sistema de PCR em tempo real CFX Opus 384 Dx (referido neste guia como CFX Opus 384 Dx)
- Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Deepwell Dx (conhecido neste guia como CFX Opus Deepwell Dx)

Com o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) (referido neste guia como CFX Maestro Dx SE), é possível interpretar dados complexos e elaborar estudos poderosos para análise genética. Com apenas alguns cliques, é possível configurar estudos e compreender o estudo de expressão génica com ferramentas como testes t, ANOVA unidirecional, análise de controlos PrimePCR e a ferramenta de seleção de genes de referência. Em seguida, é possível preparar os resultados para publicações e posters com as ferramentas de visualização e anotação de dados altamente personalizáveis do CFX Maestro Dx SE.

**Observação:** A exibição de alguns ecrãs no CFX Maestro pode parecer diferente dos representados neste guia do utilizador. A exibição no software é correta, e a funcionalidade é a mesma.

**Importante:** A cibersegurança visa a proteção de bens no ciberespaço contra ciberataques. Através da cibersegurança, a Bio-Rad protege o seu pessoal, a sua informação, os seus sistemas e a sua reputação no ciberespaço. O ciberespaço é um mundo continuamente ligado e tecnologicamente interligado constituído por pessoas, organizações, informação e tecnologias.

A reação rápida é importante para a resolução de problemas de cibersegurança! Se suspeitar de um potencial problema de cibersegurança relativa ao seu instrumento ou de uma violação da cibersegurança no seu local, contacte imediatamente o seu representante da Bio-Rad para obter suporte técnico.



## Principais funcionalidades do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

Com o CFX Maestro Dx SE, é possível realizar as seguintes operações:

- Analisar dados usando gráficos de barra, clustergrams ou gráficos de dispersão para interpretar e compreender rapidamente os resultados obtidos.
- Personalizar a representação dos dados obtidos e exportar gráficos de alta resolução para publicação e geração de relatórios.
- Determinar a qualidade do RNA e solucionar problemas de experiências com controlos de análise PrimePCR.
- Selecionar o gene de referência apropriado e analisar a sua estabilidade com a ferramenta Reference Gene selection (Seleção de gene de referência).
- Realizar análise estatística, inclusive ANOVA unidirecional em análise de expressão génica.

Este guia do utilizador descreve estas funcionalidades e como as utilizar.

### Como saber mais

Após instalar o CFX Maestro Dx SE e configurar o instrumento de PCR associado ao Bio-Rad, pode aceder a este guia, bem como a tópicos de ajuda CFX Maestro Dx SE detalhados a partir do menu Help (Ajuda) em qualquer visualização.

**Dica:** clique no logotipo do Bio-Rad, no canto superior direito de qualquer janela do CFX Maestro Dx SE para abrir o site da Bio-Rad. Este site inclui ligações para notas técnicas, manuais, vídeos, informações sobre produtos e suporte técnico. Este site também fornece muitos recursos técnicos numa ampla variedade de métodos e aplicações relacionados ao PCR, ao PCR em tempo real e à expressão génica.



## Capítulo 2 Instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

Este capítulo explica como instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança). Para obter mais informações sobre como configurar os instrumentos de PCR em tempo real suportados da Bio-Rad, consulte o guia apropriado.

O CFX Maestro Dx SE é necessário para analisar dados de PCR em tempo real dos sistemas de PCR em tempo real CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx. Também é possível usar este software para controlar esses sistemas no modo controlado por software.

Os sistemas CFX Opus Dx são enviados com um cabo USB no saco de acessórios. Use o cabo USB para ligar o computador com o CFX Maestro Dx SE ao Sistema CFX Opus Dx.

Remova os materiais de embalagem e guarde-os para uso futuro. Se algum item estiver em falta ou danificado, entre em contacto com o escritório local da Bio-Rad.

## Requisitos de sistema

A [Tabela 3](#) lista os requisitos de sistema mínimos e recomendados para o computador que executa o CFX Maestro Dx SE.

**Tabela 3. Requisitos do computador para o CFX Maestro Dx SE**

Sistema	Mínimo	Recomendado
Sistema operacional	Microsoft Windows 10 (apenas 64 bits), compilação 1511 ou posterior, com as últimas atualizações de segurança.	Microsoft Windows 10 (apenas 64 bits), compilação 1511 ou posterior, com as últimas atualizações de segurança.
<b>Observação:</b> O Windows 11 também suporta CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança).		
<b>Importante:</b> a inicialização no modo de segurança deve ser desativada nos computadores que executam o CFX Maestro Dx SE. Os computadores que executam o CFX Maestro Dx SE devem ser configurados de forma a não reiniciarem automaticamente após uma atualização de segurança ou do sistema se uma corrida estiver em curso. Consulte o administrador do sistema para obter assistência.		
Portas	2 portas USB 2.0 de alta velocidade	2 portas USB 2.0 de alta velocidade
Espaço no disco rígido	128 GB	128 GB
Velocidade do processador	2,4 GHz, Dual Core	2,4 GHz, Quad Core
RAM	4 GB RAM	8 GB RAM
Resolução do ecrã	1024 x 768 com modo de cor real	1280 x 1024 com modo de cor real
Leitor PDF		Adobe PDF Reader ou Windows PDF Reader de um dos pacotes do Microsoft Office suportados: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 2016</li> <li>■ 2019</li> </ul>
Localização	Microsoft Windows de 64 bits suportado em inglês, chinês e russo	Microsoft Windows de 64 bits suportado em inglês, chinês e russo

**Observação:** se planeia executar o software CFX Automation Control no mesmo computador que o CFX Maestro Dx SE, configure a resolução de ecrã para 1280 x 1024 com modo de cor real.

## Instalação de CFX Maestro Dx SE Software

**Importante:** deve-se desconectar quaisquer instrumentos ligados ao computador do CFX Maestro Dx SE antes de instalar ou fazer upgrade do software. Não é necessário desligar o instrumento durante a instalação do software. Certifique-se de que guardou todas as corridas e que não está a correr nenhuma experiência.

**Observação:** verifique se o Secure Boot (inicialização em modo de segurança) está desativado antes de iniciar o procedimento de instalação. Certifique-se de que o computador está configurado de forma a não reiniciar automaticamente após uma atualização de segurança ou do sistema se estiver em curso uma corrida. Consulte o administrador do sistema para obter assistência.

### Como instalar o software do CFX Maestro Dx SE

1. Se necessário, desconecte todos os instrumentos ligados ao computador.

Localize e desligue o cabo USB do instrumento no computador do CFX Maestro Dx SE. A extremidade inserida no Sistema CFX Opus Dx pode permanecer no lugar.

2. Inicie a sessão no computador do CFX Maestro Dx SE com privilégios de administração.
3. Insira a unidade USB do software CFX Maestro Dx SE na porta USB do computador.
4. No Windows Explorer, aceda e abra a unidade USB do software CFX Maestro Dx SE.

A unidade USB contém as Release Notes (Notas de versão) e as seguintes pastas:

- CFX
- Drivers
- Firmware
- Quick Start (Início rápido)

Juntamente com outros ficheiros, a pasta CFX contém o instalador de software do CFX Maestro Dx SE (CFXMaestroDxSetup.exe).

5. Abra a pasta CFX e clique duas vezes em CFXMaestroDxSetup.exe para iniciar o instalador.
6. Siga as instruções de instalação no ecrã.

Quando concluído, o ícone Bio-Rad CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) aparece no ambiente de trabalho do computador.

**Dica:** O instalador do CFX Maestro instala automaticamente o guia do utilizador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança). Para localizar estas guias, navegue até ao menu Help (Ajuda) e selecione Open User Guide (Abrir guias do utilizador).

7. Após a conclusão da instalação, é possível ejetar com segurança a unidade USB do software.

## Detetar os instrumentos ligados

Durante a instalação, o instalador do CFX Maestro Dx SE instala automaticamente os drivers do instrumento no computador do CFX Maestro Dx SE. O CFX Maestro Dx SE deteta os instrumentos ligados quando inicia o software.

### Como detetar instrumentos ligados

1. Se ainda não o tiver feito, insira a extremidade quadrada (macho) do cabo USB tipo B fornecido à porta USB tipo B localizada na parte traseira da base do instrumento.
2. Insira a outra extremidade (porta) numa porta USB no computador do CFX Maestro Dx SE.
3. Se o instrumento ainda não estiver ligado, pressione o interruptor ligar/desligar no instrumento para ligá-lo.
4. Inicie o CFX Maestro Dx SE.

O software deteta automaticamente o instrumento ligado e exibe o nome no painel Detected Instruments (Instrumentos detetados) na janela Home (Início).

**Observação:** se o instrumento não aparecer no painel Detected Instruments (Instrumentos detetados), verifique se o cabo USB está instalado corretamente. Para reinstalar os drivers, selecione Tools (Ferramentas) > Reinstall Instrument Drivers (Reinstalar drivers do instrumento) na janela Home (Início) do CFX Maestro Dx SE.

## Ficheiros de software

A [Tabela 4](#) lista os tipos de ficheiro do CFX Maestro Dx SE.

**Tabela 4. Tipos de ficheiro do CFX Maestro Dx SE**

Tipo de ficheiro	Extensão	Informação
Protocolo	.prcl	Contém pormenores de configuração do protocolo para executar uma corrida de PCR.
Placa	.pltd	Contém pormenores de configuração da placa para executar uma corrida de PCR.
Dados	.pcrd	Contém os resultados de uma corrida de experiência e de análise de PCR.
Corrida PrimePCR	.csv	Contém o protocolo e o esquema das placas para as placas PrimePCR.
Estudo de genes	.mgxd	Contém os resultados de múltiplas corridas PCR e análises de expressão génica.
Ficheiro de dados prévios autónomos	.zpcr	Contém leituras de fluorescência da operação autónoma que são convertidos num ficheiro de dados.
LIMS	.plrn	Contém informações de configuração da placa e do protocolo requeridos para realizar uma corrida compatível com LIMS.
JSON	.json	Um ficheiro somente de leitura gerado apenas pelos sistemas CFX Opus Dx. Contém os dados do ficheiro executável que aparecem no painel de informações no File Browser (Explorador de ficheiros) quando é selecionado um ficheiro executável. É gerado após a conclusão de uma corrida. É exportado com o ficheiro .zpcr e guardado com os ficheiros de dados quando a Save Location (Localização de armazenamento) é uma unidade USB ou uma pasta de rede partilhada.



## Capítulo 3 Gerir contas de utilizador no CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

No CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança), os utilizadores iniciam a sessão com o seu nome de utilizador e palavra-passe do Windows. A pessoa que instalou o CFX Maestro Dx SE recebe automaticamente a função Administrator (Administrador) e pode criar e gerir contas e funções de utilizadores. Todos os outros utilizadores devem ter uma conta de utilizador atribuída para iniciar a sessão e utilizar o software.

**Importante:** cada utilizador deve ter uma conta e uma palavra-passe do Windows no computador do CFX Maestro Dx SE antes de lhe ser atribuída uma conta de utilizador e uma função. Os utilizadores podem ser membros do grupo Windows Users (Utilizadores do Windows) ou do grupo Windows Administrators (Administradores do Windows). Os membros do grupo Windows Users (Utilizadores do Windows) podem aceder apenas aos seus próprios ficheiros e pastas do CFX Maestro Dx SE. Os membros do grupo Windows Administrators (Administradores do Windows) podem aceder aos ficheiros e pastas de todos os utilizadores do computador.

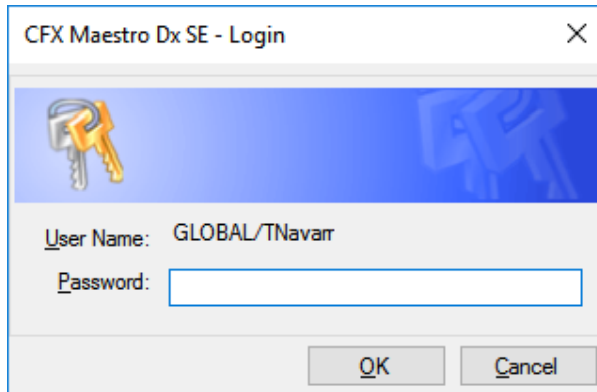
O desta secção explica como criar utilizadores do Microsoft Windows para adicioná-los ao CFX Maestro Dx SE. Esta secção também explica como adicionar utilizadores do CFX Maestro Dx SE e gerir funções e permissões de utilizador.

## Iniciar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

**Observação:** cada utilizador deve iniciar a sessão com o seu nome de utilizador e palavra-passe do Windows.

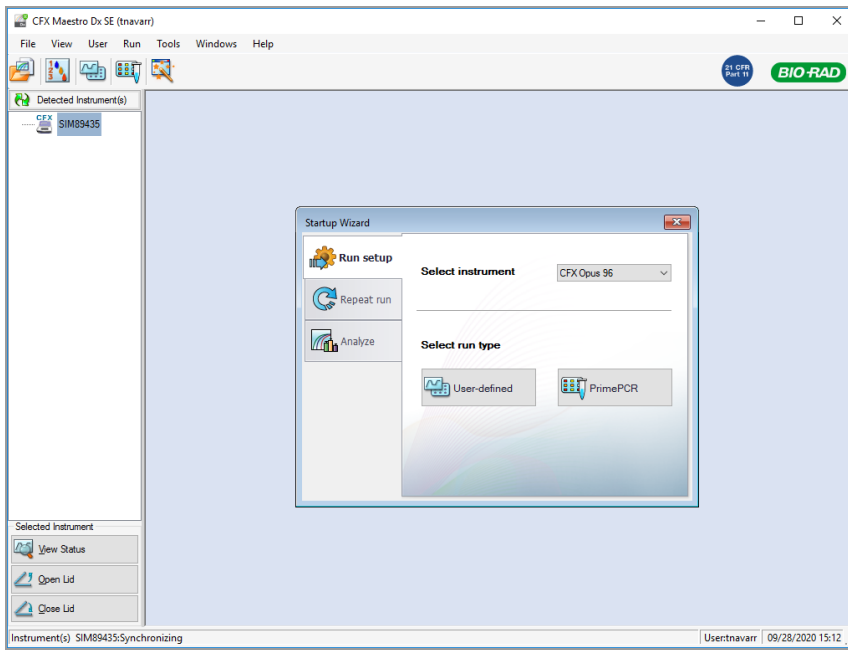
### Como iniciar o CFX Maestro Dx SE

1. Na área de trabalho do computador do CFX Maestro Dx SE, clique duas vezes no ícone de atalho do CFX Maestro Dx SE para iniciar a aplicação.
2. Na caixa de diálogo Login (Início de Sessão), digite a sua palavra-passe do Windows e clique em OK.



O CFX Maestro Dx SE é aberto na janela inicial. A barra de título exibe o nome de utilizador do Windows do utilizador com a sessão iniciada, e a barra de menu exibe uma etiqueta azul indicando que o software é compatível com a parte 11, título 21 do CFR, por exemplo:

Iniciar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)



## Adicionar utilizadores do Microsoft Windows ao computador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

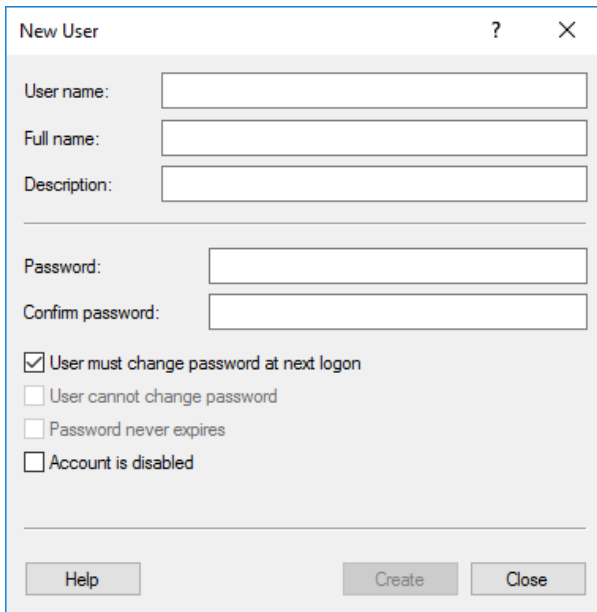
Todos os utilizadores devem iniciar a sessão no computador do CFX Maestro Dx SE com o seu nome de utilizador e a palavra-passe do Windows. Para um acompanhamento rigoroso das auditorias, as contas de utilizador do Windows não podem ser adicionadas por meio da caixa de diálogo Start (Iniciar) > Settings (Configurações) > Accounts (Contas). As contas de utilizador do Windows **devem** ser adicionadas por meio da consola de gestão do computador.

**Importante:** as alterações feitas às propriedades do utilizador do Windows (incluindo o nome de utilizador e o nome completo) após a criação do utilizador do CFX Maestro Dx SE associado invalida o utilizador do CFX Maestro Dx SE. Certifique-se de que as informações estão corretas antes de guardar o utilizador do Windows e criar o utilizador do CFX Maestro Dx SE associado.

**Dica:** reveja a documentação de administração do Microsoft Windows e consulte o administrador do sistema Windows para obter mais informações antes de criar contas do Windows.

### Como adicionar contas de utilizador do Windows ao computador do CFX Maestro Dx SE

1. Inicie a sessão no computador do CFX Maestro Dx SE como membro do grupo de administradores do Windows.
2. Na área de trabalho, clique com o botão direito em My Computer (O meu computador) e selecione Manage (Gerir) para abrir a consola Computer Management (Gestão do computador).
3. Em Computer Management (Gestão do computador), expanda Local Users and Groups (Utilizadores e grupos locais).
4. Clique com o botão direito na pasta Users (Utilizadores) e selecione New User (Novo utilizador) para abrir a caixa de diálogo New User (Novo utilizador).



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

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

Buttons at the bottom: Help, Create, Close.

5. Na caixa de diálogo New User (Novo utilizador), deve preencher os seguintes campos:
  - User name (Nome de utilizador)
  - Full name (Nome completo)
  - Password (Palavra-passe)
  - Confirm password (Confirmar a palavra-passe)
6. Clique em Create (Criar).

## Adicionar e remover utilizadores do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

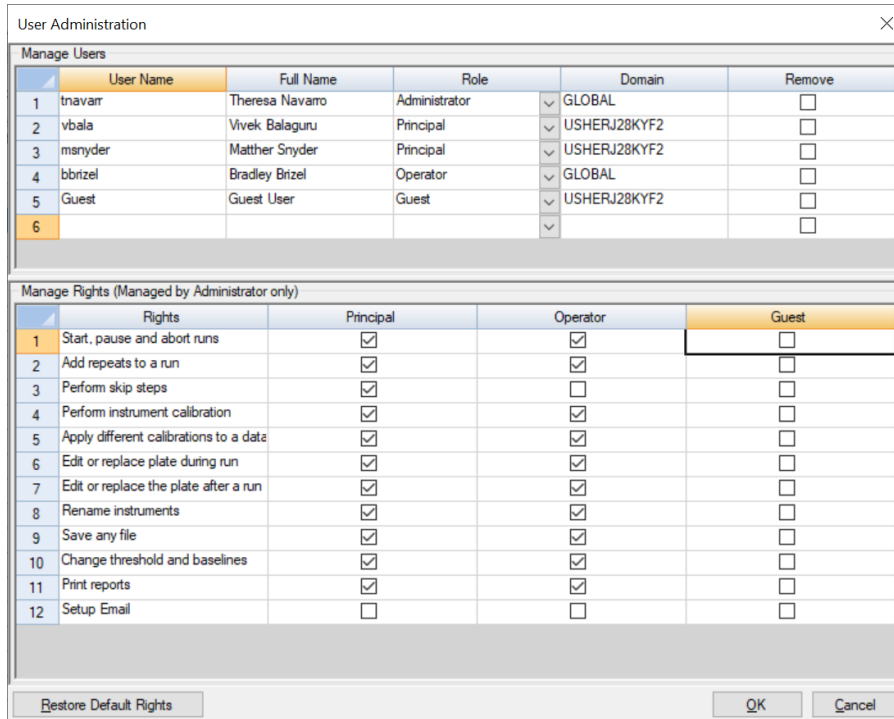
**Dica:** apenas utilizadores com a função Administrator (Administrador) do CFX Maestro Dx SE podem criar e remover contas de utilizador do CFX Maestro Dx SE. A pessoa que instalou o CFX Maestro Dx SE recebe automaticamente a função de administrador. Essa pessoa pode atribuir a função Administrator (Administrador) a outros utilizadores.

**Observação:** no CFX Maestro Dx SE, deve ser atribuída a função Administrator (Administrador) a pelo menos um utilizador.

### Como adicionar contas de utilizador do CFX Maestro Dx SE

1. Verifique se cada utilizador pretendido é membro do grupo Windows Users (Utilizadores do Windows) ou do grupo Windows Administrators (Administradores do Windows) e possui uma palavra-passe do Windows no computador do CFX Maestro Dx SE.
2. Inicie o CFX Maestro Dx SE e inicie a sessão como Administrator (Administrador).
3. Na janela Home (Início), selecione User (Utilizador) > User Administration (Administração de utilizadores).

É exibida a caixa de diálogo User Administration (Administração de utilizadores).



4. Na secção Manage Users (Gerir utilizadores), forneça as seguintes informações para cada utilizador:

- **User name** (Nome de utilizador) — no CFX Maestro Dx SE , **deve** ser o nome que o utilizador usa para fazer iniciar a sessão no Windows.
- **Full name** (Nome completo) — o nome completo do utilizador.  
Este nome é exibido no campo Full User (utilizador completo) na pista de auditoria. Este nome deve ser idêntico ao nome inserido no campo Full Name (Nome completo) quando o utilizador do Windows foi criado.
- **Role** (Função) — a função a ser atribuída ao utilizador.  
**Observação:** só pode seleccionar uma função na lista suspensa. Consulte [Gerir as funções do utilizador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition \(Edição de Segurança\)](#) para obter mais informações.
- **Domain** (Domínio) — o domínio do Windows a partir do qual o utilizador acede ao software.  
Consulte o administrador do sistema Windows para obter mais informações.

5. Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo User Administration (Administração de utilizadores).

#### Como remover uma conta de utilizador do CFX Maestro Dx SE

1. Inicie o CFX Maestro Dx SE e inicie a sessão como Administrator (Administrador).
2. Na janela Home (Início), selecione User (Utilizador) > User Administration (Administração de utilizadores) para abrir a caixa de diálogo User Administration (Administração de utilizadores).
3. No painel Manage Users (Gerir utilizadores), selecione Remove (Remover) para cada utilizador que deseje remover.
4. Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo User Administration (Administração de utilizadores).

## Gerir as funções do utilizador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

**Importante:** o CFX Maestro Dx SE requer que pelo menos um utilizador seja atribuído à função Administrator (Administrador). Pode atribuir essa função a mais de um utilizador.

O CFX Maestro Dx SE tem quatro funções de utilizador. Cada utilizador deve ter uma função atribuída para aceder ao software. Embora os utilizadores possam ter apenas uma função atribuída, é possível alterar a função de um utilizador a qualquer momento.

Exceto para a função Administrator (Administrador), é possível alterar as permissões atribuídas a cada função. Todos os utilizadores a quem foi atribuída uma função herdam apenas as permissões dessa função.

Por predefinição, os direitos para cada função são os seguintes:

- Administrator (Administrador) — esta função tem todas as permissões; não é possível alterar estas permissões.
- Principal — esta função tem todas as permissões, exceto para configurar o e-mail.
- Operator (Operador) — esta função tem todas as permissões, exceto para saltar ciclos e configurar o e-mail.
- Guest (Convidado) — esta função só pode ler os ficheiros.

Ao atribuir funções no CFX Maestro Dx SE, determine cuidadosamente os requisitos para cada utilizador. Por exemplo, sem permissão para guardar, os utilizadores a quem foi atribuída a função Guest (Convidado) não poderão assinar um ficheiro. Sem permissão para configurar uma conta de e-mail, nenhuma das funções receberá e-mails quando uma corrida for concluída.



### Como modificar as permissões de uma função

1. Inicie o CFX Maestro Dx SE e inicie a sessão como Administrator (Administrador).
2. Na janela Home (Início), selecione User (Utilizador) > User Administration (Administração de utilizadores) para abrir a caixa de diálogo User Administration (Administração de utilizadores).
3. Na secção Manage Rights (Gerir direitos), para cada função, desmarque ou marque a caixa de seleção de permissões específicas conforme necessário.
4. Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo User Administration (Administração de utilizadores).

### Visualizar a sua função e as suas permissões

**Dica:** os utilizadores a quem foram atribuídas as funções de utilizador Principal (Principal), Operator (Operador) ou Guest (Convidado) podem ver apenas as suas próprias configurações, permissões e funções de utilizador. Os utilizadores a quem foi atribuída a função Administrator (Administrador) podem ver todas as permissões e funções de utilizador.

### Como ver as suas permissões e função de utilizador

- ▶ Na janela Home (Início), selecione User (Utilizador) > User Administration (Administração de utilizadores).

Entre em contacto com o administrador do CFX Maestro Dx SE para modificar as configurações, as permissões e as funções de utilizador listadas na janela User Administration (Administração de utilizadores).



## Capítulo 4 Utilizar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

**Importante:** o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) usa a autenticação de utilizador do Microsoft Windows para verificar o acesso a ficheiros de dados seguros do CFX. Entre em contacto com o administrador do Windows para criar um ambiente que atenda aos requisitos da parte 11, título 21 do CFR.

Utilizando o CFX Maestro Dx SE, os utilizadores podem

- Assinar ficheiros de dados e de estudo de genes.
- Proteger os ficheiros de dados com palavra-passe.
- Visualizar e imprimir pistas de auditoria.

Esta secção descreve estas funcionalidades em pormenor.

### Ficheiros seguros

Por predefinição, o CFX Maestro Dx SE guarda os ficheiros seguros na pasta pessoal do utilizador com a sessão iniciada, localizada em

C:\Users\

Pode guardar e editar ficheiros .pcrd nessa pasta. Esta pasta contém ligações para outras pastas (por exemplo, a Pasta Sample Files (Ficheiros de amostra)) que contêm ficheiros que são apenas de leitura. No entanto, um administrador pode apagar o conteúdo dessa pasta.

**Dica:** como alternativa, o administrador do sistema Windows pode criar uma pasta partilhada e o administrador do CFX Maestro Dx SE pode programar o software para guardar todos os ficheiros nessa pasta.

No CFX Maestro Dx SE, os ficheiros de placa, protocolo, dados e estudo de genes são marcados como seguros quando guardados. Pode criar esses ficheiros no software CFX Maestro ou no CFX Maestro Dx SE. Depois de serem guardados no CFX Maestro Dx SE, poderá abri-los apenas no CFX Maestro Dx SE.

O CFX Maestro Dx SE cria pistas de auditoria para todos os ficheiros seguros de dados e de estudos de genes (ficheiros .pcrd e .mgxd, respetivamente). O software regista todas as atividades auditáveis na pista de auditoria do ficheiro. Para obter mais informações, consulte [Pistas de auditoria na página 319](#).

## Assinar ficheiros seguros

Depois de guardar um ficheiro no CFX Maestro Dx SE, os utilizadores podem adicionar uma assinatura eletrónica. Para assinar um ficheiro, a função do utilizador deve ter permissão para guardar um ficheiro. Por exemplo, por predefinição, a função Guest (Convidado) não tem permissão para guardar um ficheiro e, portanto, os utilizadores a quem foi atribuída essa função não podem assinar um ficheiro.

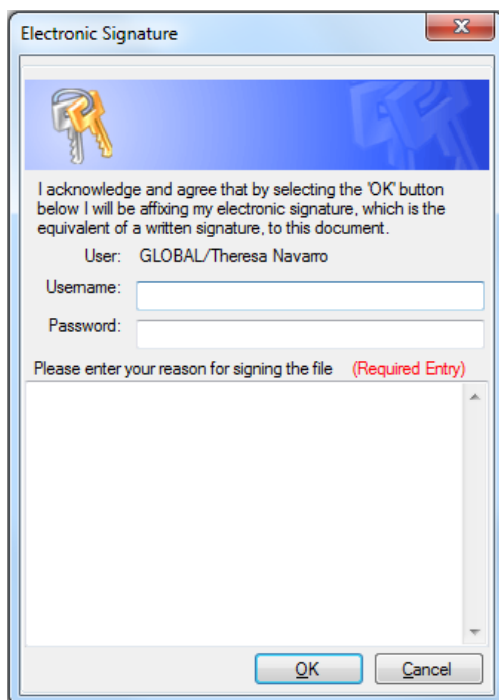
No CFX Maestro Dx SE, os ficheiros assinados não são definidos como somente de leitura. Podem ser revistos, modificados e assinados várias vezes. Todas as alterações e assinaturas são rastreadas na pista de auditoria do ficheiro. Pode assinar os seguintes tipos de ficheiro:

- Ficheiros de dados (.pcrd)
- Ficheiros de estudo de genes (.mgxd)

**Observação:** os ficheiros devem ser guardados antes de serem assinados. Se efetuou uma corrida no CFX Maestro Dx SE, guarde primeiro o ficheiro de dados criado.

### Como assinar um ficheiro

1. Inicie a sessão no CFX Maestro Dx SE com as suas credenciais de início de sessão do Windows.
2. Abra o ficheiro de dados seguro ou o ficheiro de estudo de genes que deseja assinar.
3. Escolha File (Ficheiro) > Sign (Assinar). É exibida a caixa de diálogo Electronic Signature (Assinatura eletrónica).



4. Digite o seu nome de utilizador e palavra-passe do Windows e o motivo para assinar o ficheiro.

O nome de utilizador e o motivo da assinatura são incluídos na pista de auditoria (para obter mais informações, consulte [Pistas de auditoria na página 319](#)).

5. Clique em OK para enviar a assinatura e fechar a caixa de diálogo.

### Modificar ficheiros seguros

No CFX Maestro Dx SE, os utilizadores podem modificar ficheiros seguros, incluindo ficheiros de dados assinados e não assinados e ficheiros de estudo de genes. O software solicita que forneça um motivo para a alteração ao guardar um ficheiro seguro modificado de dados ou de estudo de genes. As alterações são rastreadas na pista de auditoria do ficheiro.

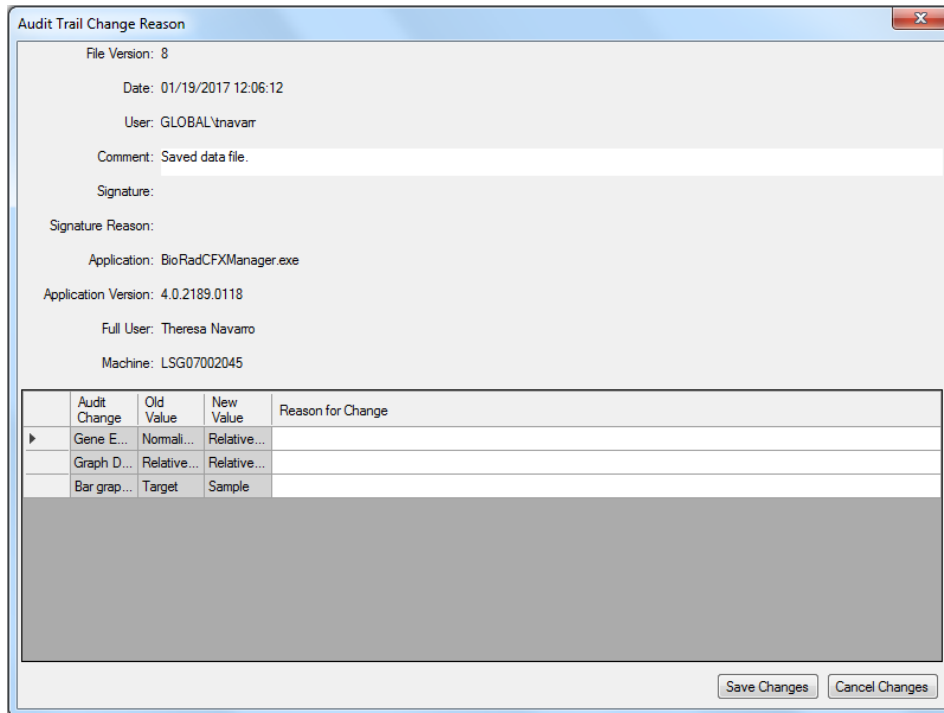
**Dica:** como o software não cria pistas de auditoria para ficheiros de placa ou de protocolo, não é necessário fornecer um motivo ao guardar as alterações nesses ficheiros.

#### Como guardar um ficheiro de dados ou de estudo de genes modificado

1. Inicie a sessão no CFX Maestro Dx SE com as suas credenciais de início de sessão do Windows.
2. Abra e modifique um ficheiro de dados seguro ou um ficheiro de estudo de genes.

**Dica:** para obter uma lista de atividades auditáveis, consulte [Eventos auditáveis na página 321](#).

3. Escolha File (Ficheiro) > Save (Guardar). É exibida a caixa de diálogo Audit Trail Change Reason (Motivo da alteração da pista de auditoria).



Esta caixa de diálogo exibe as seguintes informações, que são capturadas no cabeçalho da pista de auditoria do ficheiro para cada evento de alteração:

- **Date** (Data) — a data em que a alteração ocorreu.
- **User** (Utilizador) — o domínio do Windows e o nome do utilizador com a sessão iniciada.
- **Comment** (Comentário) — o último comentário guardado.
- **Signature** (Assinatura) — a assinatura eletrónica da última pessoa que assinou o ficheiro.
- **Signature reason** (Motivo da assinatura) — o motivo da assinatura.
- **Application** (Aplicação) — CFX Maestro Dx SE (aparece como BioRadCFXManager.exe, o que está correto).
- **Application version** (Versão da aplicação) — a versão atual do CFX Maestro Dx SE.
- **Full user** (Utilizador completo) — o nome completo do utilizador com a sessão iniciada.  
**Observação:** este nome é exibido na pista de auditoria.
- **Machine** (Dispositivo) — o computador no qual está instalado.

A tabela de alterações exibe as alterações auditáveis que ocorreram como resultado da modificação. Pode também ser mostrada uma breve descrição do motivo da alteração.

**Dica:** pode adicionar ou editar as descrições na coluna Reason for Change (Motivo da alteração).

4. Reveja a lista de alterações. Forneça motivos pormenorizados, se necessário.
5. Execute uma das seguintes opções:

- Clique em Save Changes (Guardar alterações) para guardar as alterações ao ficheiro, bem como quaisquer alterações feitas na tabela e feche a caixa de diálogo.

As alterações ao ficheiro e os motivos das alterações aparecem na pista de auditoria do ficheiro.

- Clique em Cancel Changes (Cancelar alterações) para reverter o ficheiro ao estado anterior e fechar a caixa de diálogo.

As alterações ao ficheiro não são guardadas e a pista de auditoria não é atualizada.

## Proteger os ficheiros com palavra-passe

Como um nível adicional de segurança, o CFX Maestro Dx SE permite que os utilizadores definam palavras-passe em todos os ficheiros seguros. Ao definir palavras-passe para um ficheiro seguro, considere as seguintes condições:

Condição	Ação
Não é necessária nenhuma palavra-passe.	Todos os utilizadores podem abrir, modificar, e guardar o ficheiro seguro, com base nas suas permissões.
O ficheiro requer a palavra-passe para Save (Guardar).	Todos os utilizadores podem abrir o ficheiro seguro e os utilizadores que conhecem a palavra-passe para Guardar podem modificar e guardar o ficheiro seguro.
O ficheiro requer a palavra-passe para Open (Abrir).	Somente os utilizadores que conhecem a palavra-passe para Abrir podem abrir, modificar e guardar o ficheiro seguro.
O ficheiro requer as palavras-passe para Open (Abrir) e Save (Gravar).	Alguns utilizadores podem abrir o ficheiro seguro e um subgrupo desses utilizadores pode modificar e guardar o ficheiro.

Dependendo da função do utilizador, qualquer utilizador pode executar o comando Save as (Guardar como) para criar um ficheiro seguro com outro nome ou guardar um ficheiro com o mesmo nome noutra local, desde que uma das seguintes condições seja verdadeira:

- O ficheiro seguro não está protegido por palavra-passe.
- O utilizador tem a palavra-passe para abrir o ficheiro.

**Dica:** o novo ficheiro é guardado sem proteção com palavra-passe. O ficheiro original mantém as suas palavras-passe.

Dependendo da função, um utilizador pode modificar e guardar o ficheiro original, desde que uma das seguintes condições seja verdadeira:

- O ficheiro não está protegido por palavra-passe.
- O utilizador tem a palavra-passe para abrir e guardar o ficheiro.

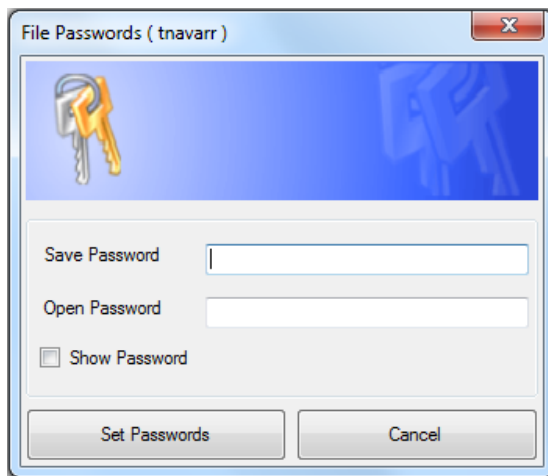
**Observação:** para definir palavras-passe, a função do utilizador deve incluir o direito de guardar ficheiros. Por exemplo, os utilizadores com a função Guest (Convidado) não podem guardar ficheiros e, portanto, não podem definir palavras-passe para um ficheiro.



**Importante:** somente os administradores do CFX Maestro Dx SE podem redefinir ou remover palavras-passe.

### Como proteger um ficheiro com palavra-passe

1. Inicie a sessão no CFX Maestro Dx SE com as suas credenciais do Windows.
2. Abra o ficheiro seguro.
3. Escolha File (Ficheiro) > File Passwords (Palavras-passe de ficheiros). É exibida a caixa de diálogo File Passwords (Palavras-passe de ficheiros).



4. Digite as palavras-passe nas caixas Save Password (Palavra-passe para Guardar) e Open Password (Palavra-passe para Abrir).

**Dica:** por predefinição, as palavras-passe aparecem como asteriscos quando digitadas. Selecione Show Password (Mostrar palavra-passe) para exibir a palavra-passe à medida que a digita.

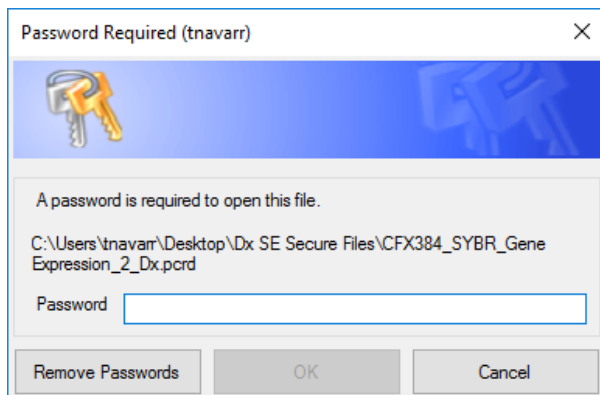
**Importante:** as palavras-passe diferenciam maiúsculas de minúsculas. O CFX Maestro Dx SE não define limitações de palavras-passe. Para seguir as melhores práticas, consulte o administrador do sistema para obter os requisitos de palavra-passe do local.

5. Clique em Set Passwords (Definir palavras-passe) para definir as palavras-passe e fechar a caixa de diálogo.
6. Escolha File (Ficheiro) > Save (Guardar) para guardar as alterações no ficheiro.

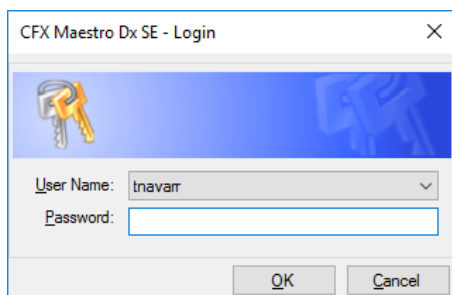
## Como remover palavras-passe

**Importante:** para remover palavras-passe do CFX Maestro Dx SE deve ser um administrador.

1. Na caixa de diálogo Password Required (Palavra-passe obrigatória), clique em Remove Passwords (Remover palavras-passe).



É exibida a caixa de diálogo Login (Início de sessão) do CFX Maestro Dx SE.



2. Insira o User Name (Nome de utilizador) e a Password (Palavra-passe) do Windows para o administrador do CFX Maestro Dx SE e clique em OK.

É exibido o ficheiro de dados original.

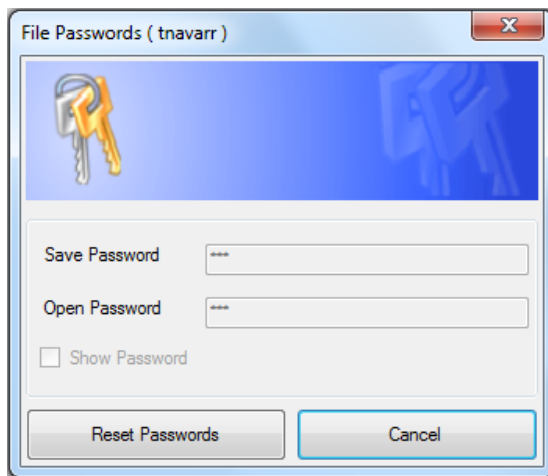
**Importante:** deve guardar o ficheiro para remover as palavras-passe.

3. Escolha File (Ficheiro) > Save (Guardar) para guardar as alterações no ficheiro.

## Como alterar palavras-passe

**Importante:** somente os administradores do CFX Maestro Dx SE podem alterar as palavras-passe.

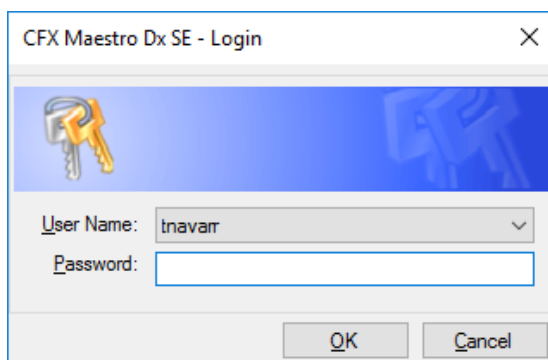
1. Abra o ficheiro seguro.
2. Escolha File (Ficheiro) > File Passwords (Palavras-passe de ficheiros). É exibida a caixa de diálogo File Passwords (Palavras-passe de ficheiros).



**Dica:** Save Password (Palavra-passe para Guardar), Open Password (Palavra-passe para Abrir) e Show Password (Mostrar palavra-passe) estão desativadas.

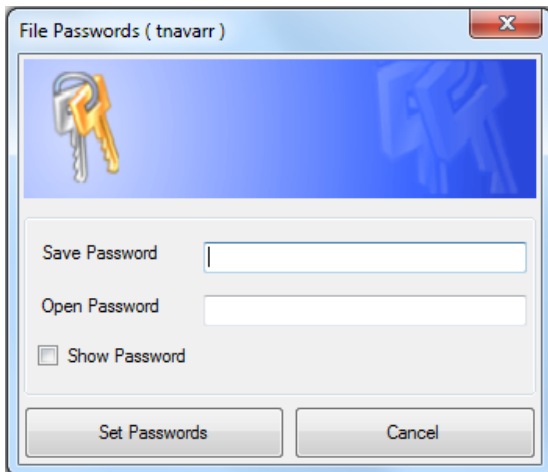
3. Clique em Reset Passwords (Redefinir palavras-passe).

É exibida a caixa de diálogo Login (Início de sessão) do CFX Maestro Dx SE.



4. Insira o User Name (Nome de utilizador) e a Password (Palavra-passe) do Windows para o administrador do CFX Maestro Dx SE e clique em OK.

É exibida a caixa de diálogo File Passwords (Palavras-passe de ficheiros).



5. Execute uma das seguintes opções:
  - Para redefinir a proteção com palavra-passe, digite uma nova palavra-passe na caixa de palavra-passe apropriada.
  - Para remover a proteção com palavra-passe, desmarque as caixas de palavra-passe.
6. Clique em Set Passwords (Definir palavras-passe) para guardar as alterações de palavra-passe e sair da caixa de diálogo.



## Capítulo 5 O espaço de trabalho

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) fornece uma interface para a configuração de placas, desenvolvimento de protocolos de PCR, correndo-os nos instrumentos CFX Opus Dx Deepwell Dx e a análise de dados das corridas de PCR.

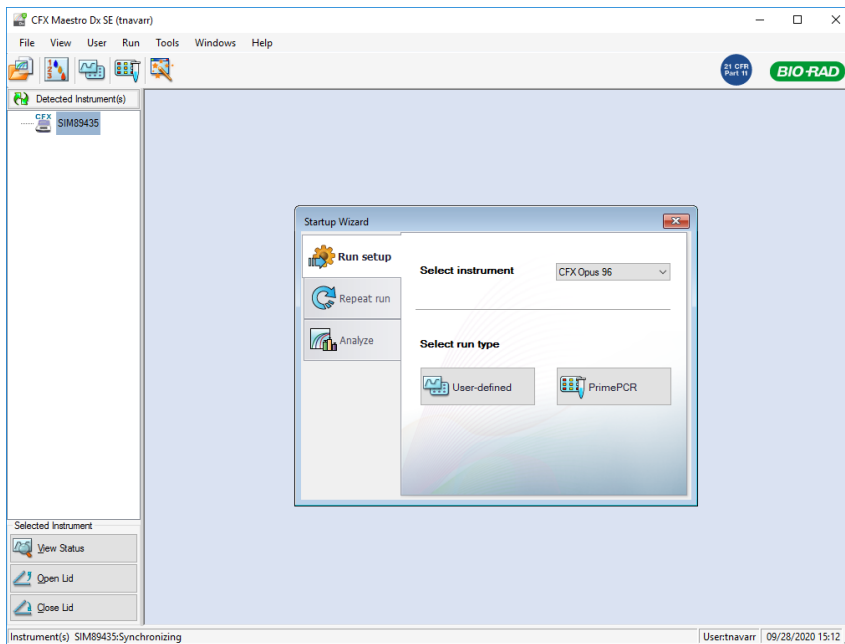
O CFX Maestro Dx SE apresenta cinco espaços de trabalho principais:

- A janela Home (Início)
- O Startup Wizard (Assistente de arranque)
- A janela Protocol Editor (Editor de protocolo)
- A janela Plate Editor (Editor de placa)
- A janela Data Analysis (Análise de dados)

Cada espaço de trabalho é apresentado e brevemente descrito neste capítulo.

## A janela Home (Início)

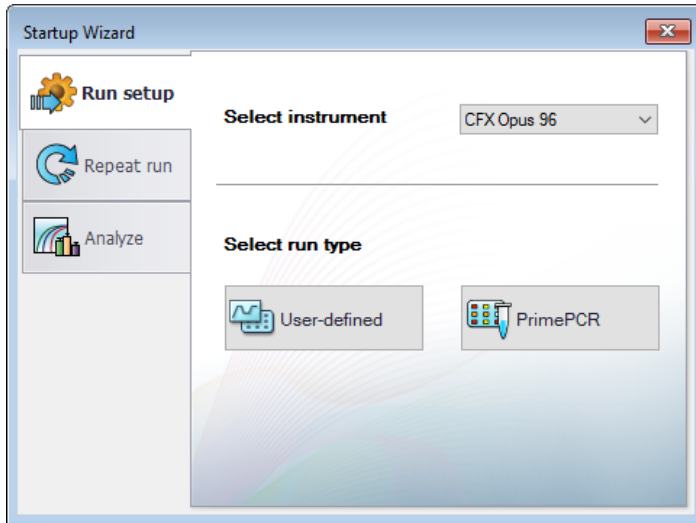
O CFX Maestro Dx SE abre na janela Home (Início) e exibe o Startup Wizard (Assistente de arranque) a partir do qual é possível configurar uma experiência, realizar ou repetir uma corrida, ou analisar uma corrida existente. Na janela Home (Início) também é possível visualizar registos de aplicações e instrumentos, criar e gerir utilizadores e aceder a várias ferramentas úteis. Consulte [Capítulo 6, A janela Home \(Início\)](#) para obter mais informações.





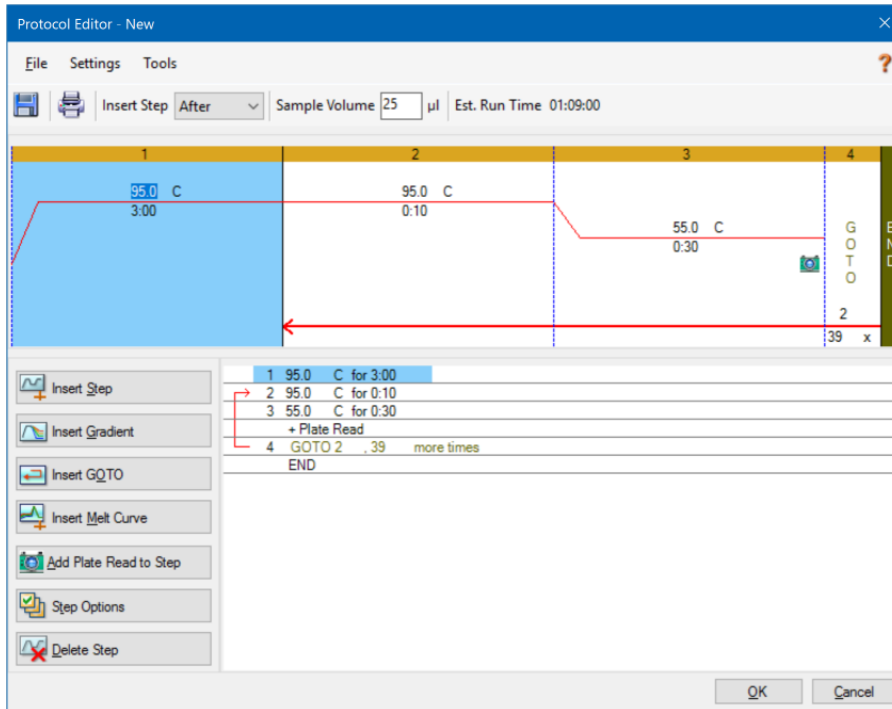
## O Startup Wizard (Assistente de arranque)

Use o Startup Wizard (Assistente de arranque) para configurar e correr rapidamente experiências definidas pelo utilizador ou selecionar e correr uma experiência PrimePCR. Também é possível utilizar este assistente para repetir uma corrida ou analisar dados da corrida.



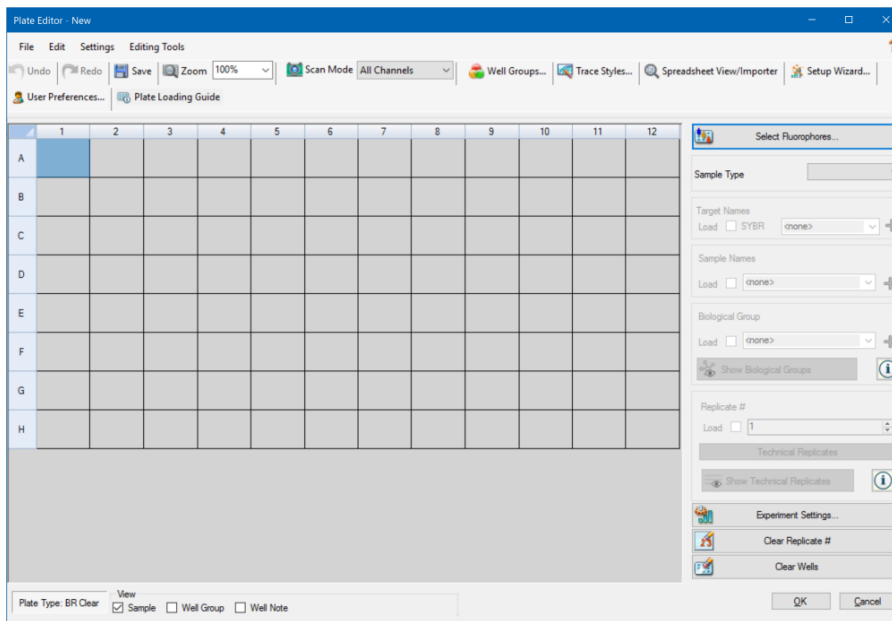
## A janela Protocol Editor (Editor de protocolo)

No Protocolo Editor (Editor de protocolo) é possível criar, abrir, rever e editar um protocolo. Também é possível modificar a temperatura da tampa para o protocolo aberto. A funcionalidade Protocol Editor (Editor de protocolo) está descrita em pormenor no [Capítulo 7, Criar protocolos](#).



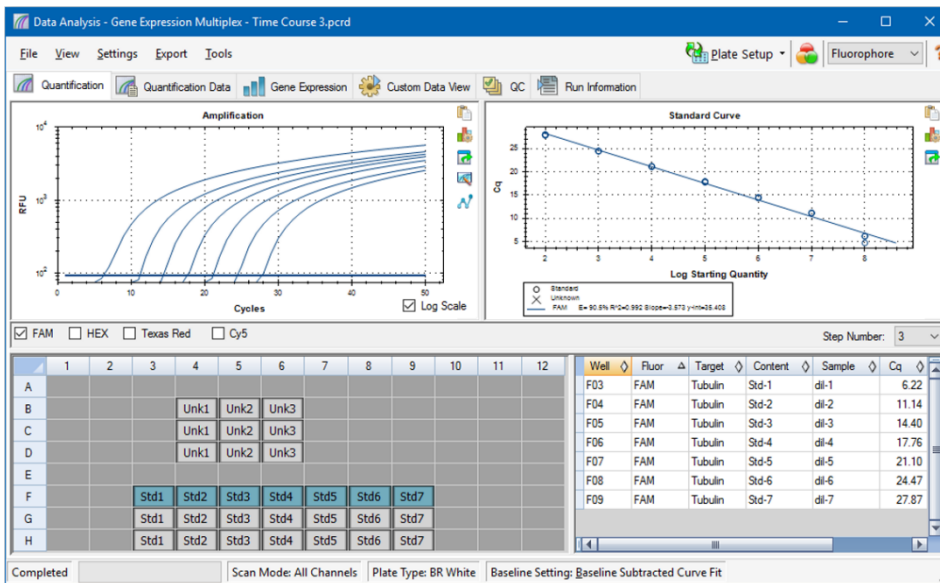
## A janela Plate Editor (Editor de placa)

Use o Plate Editor (Editor de placa) para criar, abrir, rever e editar uma placa. A funcionalidade Plate Editor (Editor de placa) está descrita em pormenor no [Capítulo 8, Preparar placas](#).



## A janela Data Analysis (Análise de dados)

Na janela Data Analysis (Análise de dados) é possível visualizar e comparar dados de corridas, executar análise estatísticas, exportar dados e criar relatórios prontos para publicação. A funcionalidade de análise de dados é descrita em pormenor no [Capítulo 10, Visão geral da análise de dados](#) e no [Capítulo 11, Informações da análise de dados](#).



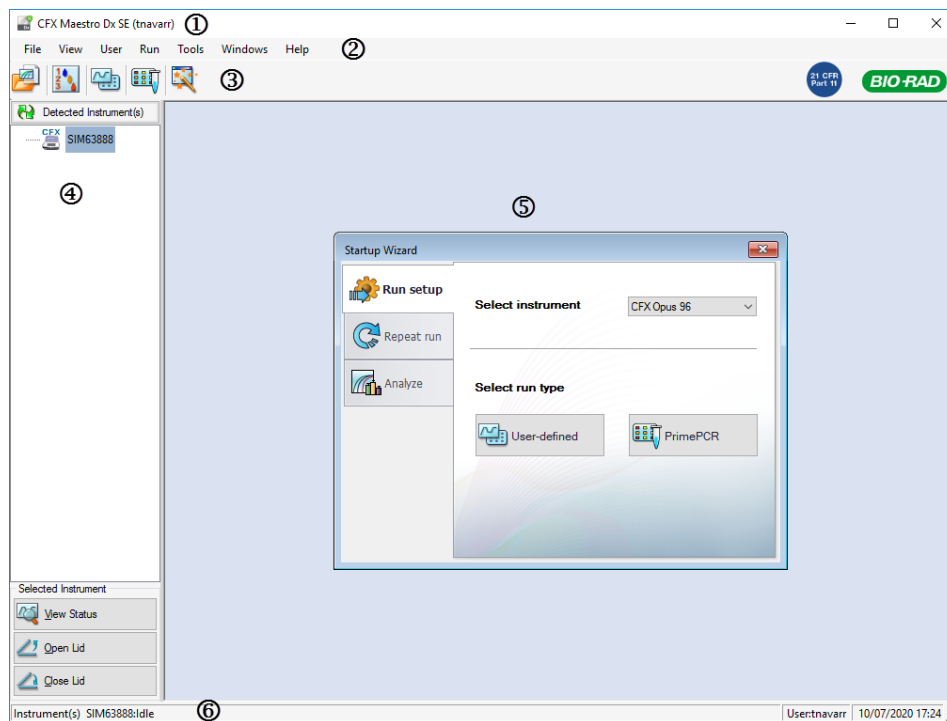
## Capítulo 6 A janela Home (Início)

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) fornece uma interface para desenvolver protocolos de PCR, correndo-os em sistemas CFX Dx e analisando os dados da corrida de PCR.

Este capítulo apresenta o CFX Maestro Dx SE e descreve as funcionalidades que podem ser acedidas na janela Home (Início).

## A janela Home (Início)

O CFX Maestro Dx SE abre na janela Home (Início) e exibe o Startup Wizard (Assistente de arranque) a partir do qual é possível configurar uma corrida, realizar ou repetir uma corrida, ou analisar uma corrida existente. Na janela Home (Início) também é possível visualizar registos de aplicações e instrumentos, criar e gerir utilizadores e aceder a várias ferramentas úteis.



### LEGENDA

1. A barra de título do software exibe o nome do software e o utilizador com a sessão iniciada.
2. A barra de menus fornece acesso rápido aos comandos de menu File (Ficheiro), View (Visualizar), Users (Utilizadores), Run (Corrida), Tools (Ferramentas) e Help (Ajuda).
3. Os comandos da barra de ferramentas proporcionam um acesso rápido às opções do menu.
4. O painel da esquerda exibe os instrumentos ligados ao computador do CFX Maestro Dx SE e disponibiliza botões com os quais é possível operar a tampa e visualizar o estado dos instrumentos.

5. O painel principal exibe a janela de trabalho. A janela de trabalho predefinida na tela Home (Início) é o Startup Wizard (Assistente de arranque).
6. A barra de estado exibe o nome dos instrumentos ligados e o utilizador com a sessão iniciada.

## Comandos do menu File (Ficheiro)

**New** (Novo) — abre uma caixa de diálogo na qual é possível optar por criar um protocolo, placa ou estudo de genes.

**Open** (Abrir) — abre uma caixa de diálogo a partir da qual é possível optar por navegar e abrir um protocolo existente, placa, ficheiro de dados, estudo de genes, ficheiro LIMS, executar uma corrida a partir de um instrumento independente (corrida independente) ou ficheiro executável PrimePCR.

**Recent Data Files** (Ficheiros de dados recentes) — exibe uma lista de ficheiros PCR abertos recentemente.

**Repeat a Run** (Repetir uma corrida) — abre o Windows Explorer no local dos ficheiros de PCR guardados, nos quais é possível localizar uma corrida para repetir.

**Exit** (Sair) — fecha o CFX Maestro Dx SE.

## Comandos do menu View (Visualizar)

**Application Log** (Registo da aplicação) — exibe o registo da utilização do software desde a instalação inicial até ao dia atual.

**Run Reports** (Relatórios de corrida) — exibe uma lista de relatórios de corrida.

**Startup Wizard** (Assistente de arranque) — exibe o Startup Wizard (Assistente de arranque) no painel principal.

**Run Setup** (Configuração da corrida) — exibe a janela Run Setup (Configuração da corrida) no painel principal.

**Instrument Summary** (Resumo de instrumentos) — exibe a janela Instrument Summary (Resumo de instrumentos) no painel principal.

**Detected Instruments** (Instrumentos detetados) — alterna entre exibir ou não os instrumentos ligados no painel da esquerda. Como predefinição, o software exibe os instrumentos ligados no painel da esquerda.

**Toolbar** (Barra de ferramentas) — alterna entre exibir ou não a barra de ferramentas na parte superior do ecrã. Como predefinição, o software exibe a barra de ferramentas.

**Status Bar** (Barra de estado) — alterna entre exibir ou não a barra de estado na parte inferior do ecrã. Como predefinição, o software exibe a barra de estado.

**Show** (Mostrar) — abre uma caixa de diálogo na qual é possível

- Visualizar ou bloquear o registo do estado.
- Abrir e visualizar a pasta de dados do CFX Maestro Dx SE.
- Abrir e visualizar a pasta de dados do utilizador.
- Abrir e visualizar a pasta de ficheiros LIMS.
- Abrir e visualizar a pasta do PrimePCR.
- Visualizar o histórico da corrida.
- Visualizar as propriedades de todos os instrumentos ligados.

## Comandos do menu User (Utilizador)

**Select User** (Selecionar utilizador) — abre o ecrã Login (Início de sessão) no qual é possível selecionar um utilizador na lista suspensa User Name (Nome do utilizador) e iniciar a sessão na aplicação.

**Change Password** (Alterar palavra-passe) — abre a caixa de diálogo Change Password (Alterar palavra-passe), na qual os utilizadores podem alterar a sua palavra-passe .

**Observação:** esta opção está desativada para o CFX Maestro Dx SE. Os utilizadores devem alterar a sua palavra-passe do Windows para alterar a sua palavra-passe do CFX Maestro Dx SE.

**User Preferences** (Preferências do utilizador) — abre a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), na qual os utilizadores podem alterar as configurações predefinidas

- Enviar e receber notificação por e-mail após a conclusão da corrida
- Guardar ficheiros de dados
- Criar protocolos através do Protocol Editor (Editor de protocolo) ou Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo)
- Criar placas
- Analisar dados
- Executar a análise de expressão génica
- Determinar a qualidade dos dados
- Exportar os dados de instrumento do CFX



**User Administration** (Administração do utilizador) — abre a caixa de diálogo User Administration (Administração do utilizador), na qual os administradores podem criar utilizadores, modificar permissões de função e atribuir funções aos utilizadores.

**Bio-Rad Service Login** (Início de sessão de serviço da Bio-Rad)— apenas para uso do pessoal de serviço técnico da Bio-Rad. Não seleccione este comando.

## Comandos do menu Run (Corrida)

**User-defined Run** (Corrida definida pelo utilizador) — abre a janela Run Setup (Configuração da corrida), na qual é possível configurar um protocolo e uma placa definidos pelo utilizador e, em seguida, correr um experiência de PCR no instrumento seleccionado.

**PrimePCR Run** (Corrida PrimePCR) — abre o separador Start Run (Iniciar corrida) na janela Run Setup (Configuração da corrida) com o protocolo PrimePCR predefinido e o layout da placa carregado com base no instrumento seleccionado.

**End-Point Only Run** (Corrida somente de ponto final) — abre o separador Start Run (Iniciar corrida) na janela Run Setup (Configuração da corrida) com o protocolo de ponto final predefinido e o layout da placa carregado com base no instrumento seleccionado.

**Qualification Run** (Corrida de qualificação) — abre o separador Start Run (Iniciar corrida) na Run Setup (Configuração da corrida) com o protocolo de qualificação da Bio-Rad predefinido e o layout da placa carregado com base no instrumento seleccionado.

## Comandos do menu Tools (Ferramentas)

**Master Mix Calculator** (Calculadora de mistura-mestre) — abre a Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre), na qual é possível criar uma mistura de reacção e imprimir os cálculos.

**Protocol AutoWriter** (Gerador automático de protocolo) — abre a caixa de diálogo Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo), na qual é possível criar facilmente um novo protocolo.

**T<sub>a</sub> Calculator** (Calculadora de T<sub>a</sub>) — abre a T<sub>a</sub> Calculator (Calculadora de T<sub>a</sub>), na qual é possível calcular facilmente a temperatura de hibridação dos iniciadores.

**Dye Calibration Wizard** (Assistente de calibração de corante) — abre o Dye Calibration Wizard (Assistente de calibração de corante), no qual é possível calibrar um instrumento para um novo fluoróforo.

**Reinstall Instrument Drivers** (Reinstalar drivers de instrumentos) — reinstala os drivers que controlam a comunicação com os sistemas de PCR em tempo real da Bio-Rad.

**Zip Data and Log Files** (Compactar ficheiros de dados e de registo) — abre uma caixa de diálogo na qual é possível selecionar ficheiros para condensar e guardar num ficheiro compactado para armazenamento ou envio por e-mail.

**Batch Analysis** (Análise em lote) — abre a caixa de diálogo Batch Analysis (Análise em lote), na qual é possível definir parâmetros para analisar mais de um ficheiro de dados de cada vez.

**Options** (Opções) — abre uma caixa de diálogo na qual é possível

- Definir as suas configurações de servidor de e-mail
- Definir configurações de exportação para ficheiros LIMS, Seegene e outros ficheiros de dados

**Dica:** também é possível selecionar a opção para iniciar automaticamente o Seegene Viewer na exportação, se optar por exportar os dados no formato Seegene.

- Altere o idioma que a interface do utilizador apresenta (inglês, chinês, russo)

**Importante:** Tem de reiniciar CFX Maestro Dx SE para exibir o idioma selecionado.

**Importante:** O idioma do seu sistema operativo deve corresponder ao idioma que pretende exibir na interface do CFX Maestro Dx SE.

## Comandos do menu Help (Ajuda)

**Dica:** o menu Help (Ajuda) fica disponível em todas as janelas do CFX Maestro Dx SE.

**Contents** (Índice) — exibe o separador Contents (Índice) no sistema de ajuda do CFX Maestro Dx SE.

**Index** (índice remissivo) — exibe o separador Index (índice remissivo) no Sistema de ajuda do CFX Maestro Dx SE.

**Search** (Pesquisa) — exibe o separador Search (Pesquisa) no sistema de ajuda do CFX Maestro Dx SE.

**Open User Guide** (Abrir o Guia do Utilizador) — abre uma versão em PDF deste guia.

**Additional Documentation** (Documentação adicional) — fornece acesso ao Manual de Funcionamento dos sistemas de PCR em tempo real CFX Opus Dx.

**Release Notes** (Notas de versão) — abre o documento Release Notes (Notas de versão) para a versão instalada do CFX Maestro Dx SE.

**Video Resources** (Recursos de vídeo) — abre um site em que há recursos de vídeo do Bio-Rad, como vídeos instrutivos.

**qPCR Applications and Technologies Web Site** (Website de aplicações e tecnologias qPCR) — abre o website de aplicações e tecnologias qPCR da Bio-Rad, a partir do qual é possível obter informação adicional sobre o PCR em tempo real (qPCR).

**PCR Reagents Web Site** (Website de reagentes PCR) — abre o website da Bio-Rad de reagentes PCR e qPCR, no qual é possível encomendar reagentes, supermixes, corantes e kits de PCR.

**PCR Plastic Consumables Web Site** (Website de consumíveis plásticos de PCR) — abre o website de consumíveis plásticos de PCR da Bio-Rad, no qual é possível encomendar placas, selos de placas, tubos e tampas e outros acessórios plásticos para PCR.

**Software Web Site** (Website do software) — abre o website de software de análise de PCR da Bio-Rad, onde é possível encomendar versões atualizadas do CFX Maestro Dx SE da Bio-Rad.

**About** (Sobre) — exhibe as informações de direitos de autor e versão do CFX Maestro Dx SE.

## Comandos da Toolbar (Barra de ferramentas)



— abre o Windows Explorer, no qual é possível aceder e abrir um ficheiro de dados ou um ficheiro de estudo de genes.



— abre a Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre).



— abre a janela Run Setup (Configuração da corrida).



— abre a janela Run Setup (Configuração da corrida) com o protocolo PrimePCR predefinido e o layout da placa carregado com base no instrumento selecionado.

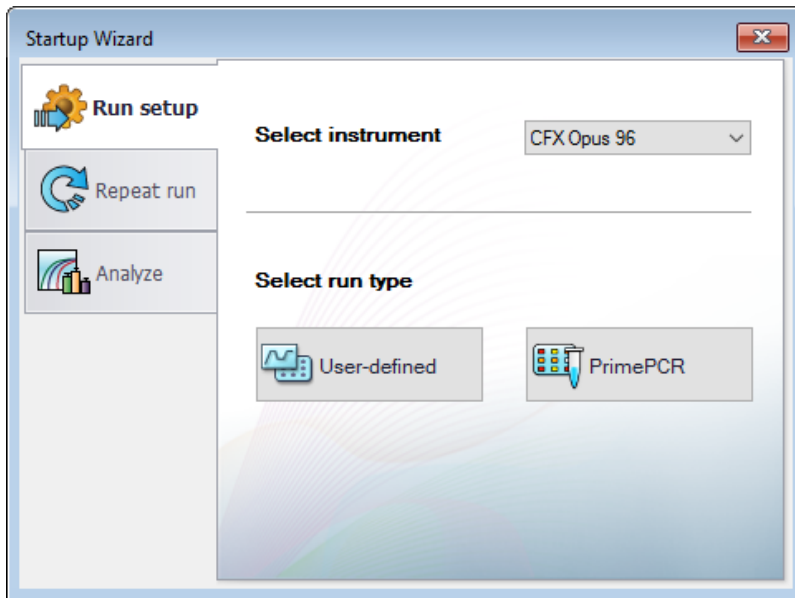


— abre o Startup Wizard (Assistente de arranque).

## O Startup Wizard (Assistente de arranque)

Quando o CFX Maestro Dx SE é iniciado, o painel de trabalho exibe o Startup Wizard (Assistente de arranque). A partir da caixa de diálogo Startup Wizard (Assistente de arranque), é possível

- Selecionar um instrumento entre os instrumentos detetados e configurar uma corrida definida pelo utilizador ou PrimePCR
- Abrir e repetir uma corrida
- Abrir um ficheiro de dados para analisar resultados de uma única corrida ou um ficheiro de estudo de genes para resultados de múltiplas corridas de expressão génica



Essas tarefas são descritas em pormenor nos capítulos a seguir.

## Barra de estado

O lado esquerdo da barra de estado na parte inferior da janela principal do software exibe o estado atual dos instrumentos detetados. O lado direito da barra de estado exibe o nome do utilizador atual e a data e hora.

## Painel Detected Instrument (Instrumentos detetados)

O painel Detected Instruments (Instrumentos detetados) exibe cada instrumento que está ligado ao computador do CFX Maestro Dx SE. Como predefinição, cada instrumento é exibido como um ícone e o seu número de série aparece como o seu nome.

Neste painel, é possível

- Visualizar as propriedades e corantes calibrados para o instrumento selecionado

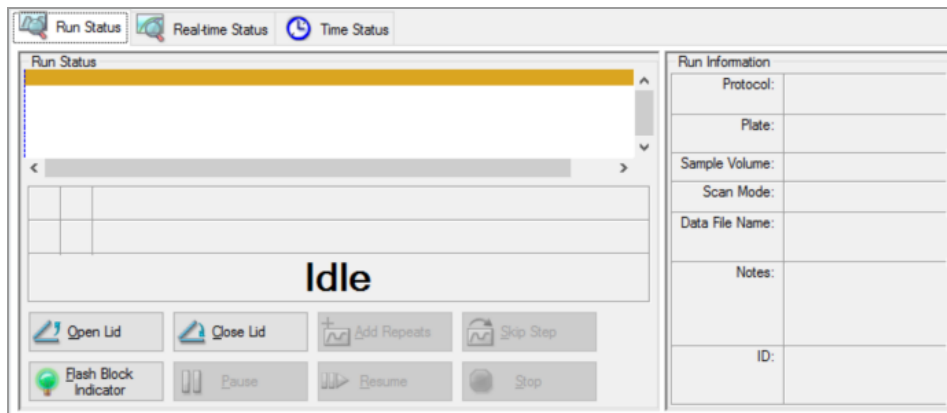
Para obter mais informações sobre as propriedades dos instrumentos, consulte [Visualizar as propriedades de um instrumento na página 78](#).

- Visualizar o estado de um instrumento ligado
- Abrir a tampa motorizada do instrumento selecionado
- Fechar a tampa motorizada do instrumento selecionado
- Visualizar o estado de todos os instrumentos ligados

### Como visualizar o estado de um instrumento ligado

- ▶ No painel Detected Instruments (Instrumentos detetados), selecione o instrumento alvo e execute uma das seguintes opções:
  - Clique em View Status (Visualizar estado) na secção Selected Instrument (Instrumento selecionado).
  - Clique com o botão direito e selecione View Status (Visualizar estado) no menu exibido.

Abrir-se-á a caixa de diálogo Run Details (Pormenores da corrida) exibindo o separador Run Status (Estado da corrida). O estado do instrumento selecionado será exibido abaixo do painel de estado da corrida, por exemplo:



### Como abrir ou fechar a tampa de um instrumento

- ▶ No painel Detected Instruments (Instrumentos detetados), selecione o instrumento alvo e execute uma das seguintes opções:
  - Clique em Open Lid (Abrir tampa) ou Close Lid (Fechar tampa) na secção Selected Instrument (Instrumento selecionado).
  - Clique com o botão direito e selecione a ação apropriada no menu exibido.
  - Abra a caixa de diálogo Run Details (Pormenores da corrida), selecione o separador Run Status (Estado da corrida) e clique em Open Lid (Abrir tampa) ou Close Lid (Fechar tampa).

### Como visualizar o estado de todos os instrumentos detetados

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - Na secção All Instruments (Todos os instrumentos) no painel Detected Instruments (Instrumentos detetados), clique em View Summary (Visualizar resumo).
  - Na barra de menu, selecione View (Visualizar) > Instrument Summary (Resumo de instrumentos).










É exibida a caixa de diálogo Instrument Summary (Resumo de instrumentos).


**Dica:** se o sistema detetar apenas um instrumento ligado, a secção All Instruments (Todos os instrumentos) não é exibida no painel Detected Instruments (Instrumentos detetados). Para visualizar o resumo de instrumentos para um único instrumento, selecione View (Visualizar) > Instrument Summary (Resumo de instrumentos).

## Controlos da barra de ferramentas Instrument Summary (Resumo de instrumentos)

A [Tabela 5](#) lista os controlos e as funções na barra de ferramentas Instrument Summary (Resumo de instrumentos).

**Tabela 5. Controlos da barra de ferramentas Instrument Summary (Resumo de instrumentos)**

Botão	Nome do botão	Função
	Create a new Run (Criar corrida)	Cria uma corrida no bloco selecionado abrindo a janela Run Setup (Configuração da corrida).
	Stop (Parar)	Para a corrida atual nos blocos selecionados.
	Pause (Pausar)	Pausa a corrida atual nos blocos selecionados.
	Resume (Retomar)	Retoma a corrida nos blocos selecionados.
	Flash Block Indicator (Piscar indicador do bloco)	Pisca o LED indicador na tampa dos blocos selecionados.
	Open Lid (Abrir tampa)	Abre a tampa motorizada do bloco selecionado.
	Close Lid (Fechar tampa)	Fecha a tampa motorizada do bloco selecionado.
	Hide Selected Blocks (Ocultar blocos selecionados)	Ocultar os blocos selecionados na lista Instrument Summary (Resumo de instrumentos)
	Show All Blocks (Mostrar todos os blocos)	Mostra os blocos selecionados na lista Instrument Summary (Resumo de instrumentos)

Botão	Nome do botão	Função
	Show (Mostrar)	Seleciona os blocos a mostrar na lista. Selecione uma das opções para mostrar todos os blocos detetados, todos os blocos parados, todos os blocos em corrida com o utilizador atual ou todos os blocos em corrida

## Visualizar as propriedades de um instrumento

No painel Detected Instruments (Instrumentos detetados), é possível ver informações sobre um instrumento selecionado, incluindo as propriedades, o estado do parafuso de transporte (apenas os instrumentos CFX Connect e CFX Touch) e uma lista dos corantes calibrados (fluoróforos).

### Como visualizar as propriedades do instrumento

- ▶ No painel Detected Instruments (Instrumentos detetado), clique com o botão direito do rato no instrumento alvo e selecione Properties (Propriedades) no menu.

### Separador Properties (Propriedades)

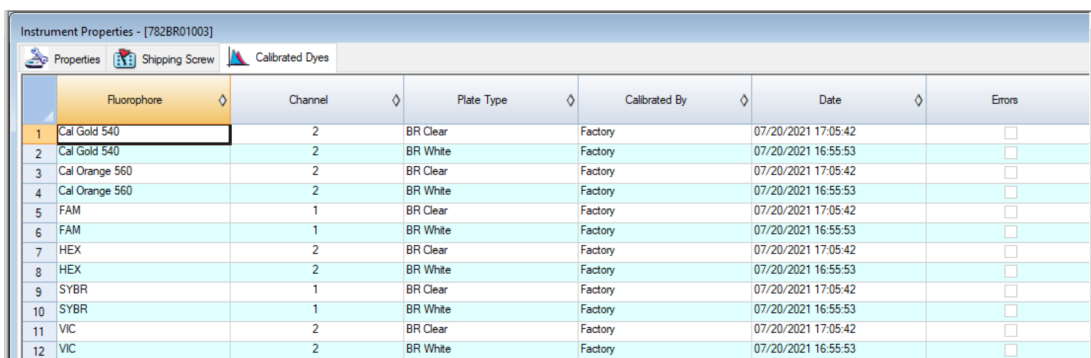
O separador Properties (Propriedades) lista informações técnicas sobre o instrumento selecionado, incluindo o modelo, números de série dos seus componentes e versões de firmware. O nome predefinido do instrumento (o número de série) aparece em vários locais, incluindo o painel Detected Instruments (Instrumentos detetado) e na barra de cabeçalho da caixa de diálogo Instrument Properties (Propriedades do instrumento). É possível mudar o nome do instrumento para poder identificá-lo com mais facilidade.

**Observação:** Não se pode mudar o nome do instrumento CFX Opus usando o CFX Maestro.

### Separador Calibrated Dyes (Corantes calibrados)

O separador Calibrated Dyes (Corantes calibrados) exhibe os fluoróforos e as placas calibrados para o instrumento selecionado.





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

Para ver informações pormenorizadas sobre uma calibração, clique no botão Info (Informações) na coluna Detail (Informação).

## Antes de começar

Esta secção explica as tarefas que pode precisar de realizar antes de usar o CFX Maestro Dx SE. Estas incluem:

- Criar uma mistura-mestre de reação
- Calibrar novos corantes

### Criar uma mistura-mestre de reação

Usando a Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre) do CFX Maestro Dx SE, é possível calcular facilmente o volume necessário de cada componente para uma mistura-mestre. É possível imprimir a tabela de cálculos da mistura-mestre na impressora predefinida e guardar os cálculos para cada alvo para uso posterior.

#### **Como criar uma Reaction Master Mix (Mistura-mestre de reação) usando a Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre)**

1. Para abrir a Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre), execute uma das seguintes opções:
  - Selecione Tools (Ferramentas) > Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre).
  - Clique em Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre) na barra de ferramentas.É exibida a Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre).

2. Na secção Reaction (Reação), selecione o método de deteção:
  - SYBR® Green/EvaGreen®
  - Probes (Sondas)
3. Para criar um alvo, na secção Target (Alvo), clique em Create New (Criar). É exibido um novo nome de alvo aparece na lista suspensa de alvo.
4. (Opcional) Para alterar o nome de alvo predefinido:
  - a. Realce o nome do alvo na lista suspensa de alvos.
  - b. Digite um novo nome de alvo na caixa Target (Alvo).
  - c. Pressione a tecla Enter.
5. Ajuste as concentrações inicial e final para os iniciadores diretos/reversos e quaisquer sondas.
6. Na secção Master Mix Setup (Configuração da mistura-mestre), ajuste os valores como
  - Number of reactions to run (Números de reações a correr)

- Reaction volume per well (Volume de reação por poço)
  - Template volume per well (Volume de modelo por poço)
  - Supermix concentration per well (Concentração de Supermix por poço)
  - Excess reaction volume per well (Volume de reação em excesso por poço)
7. (Opcional) Executar as etapas 2–6 para tantos alvos quantos forem necessários.
  8. Na secção Choose Target to Calculate (Selecionar alvo para calcular), selecione o alvo para calcular.  
  
**Dica:** é possível calcular apenas um, vários ou todos os alvos ao mesmo tempo.  
  
Os volumes calculados dos componentes necessários para cada alvo selecionado aparecem na tabela de mistura-mestre.
  9. Clique em Set as Default (Configurar como predefinição) para configurar a entrada de quantidades nas secções Target (Alvo) e Master Mix Setup (Configuração da mistura-mestre) como novas predefinições.
  10. Clique em OK para guardar os conteúdos da caixa de diálogo Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre).

#### Imprimir a tabela de cálculos da mistura-mestre

- ▶ Para imprimir a tabela de cálculos da mistura-mestre, clique em Print (Imprimir).  
  
A tabela de cálculos é impressa na sua impressora predefinida.

#### Guardar a tabela de cálculos da mistura mestre como um PDF

- ▶ Altere a sua impressora predefinida para um driver PDF e clique em Print (Imprimir) na Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre).

#### Como eliminar alvos

- ▶ Selecione o alvo usando a lista suspensa de alvos e clique em (Remove) Remover.  
  
**Importante:** remover um alvo da lista de alvos também o remove de qualquer cálculo de mistura-mestre em que é usado. Tenha cuidado ao eliminar um alvo.

## Calibrar novos corantes

Os sistemas CFX Opus 96 Dx e CFX Opus Deepwell Dx são calibrados de fábrica para fluoróforos comumente usados em placas de poços brancos e de poços transparentes. Os sistemas CFX Opus 384 Dx são calibrados de fábrica apenas para fluoróforos comumente usados em placas de poços brancos. A [Tabela 6](#) lista os fluoróforos e o canal para o qual cada instrumento está calibrado.

**Observação:** Os sistemas CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx também incluem um canal dedicado à química FRET. Este canal não requer calibração para corantes específicos.

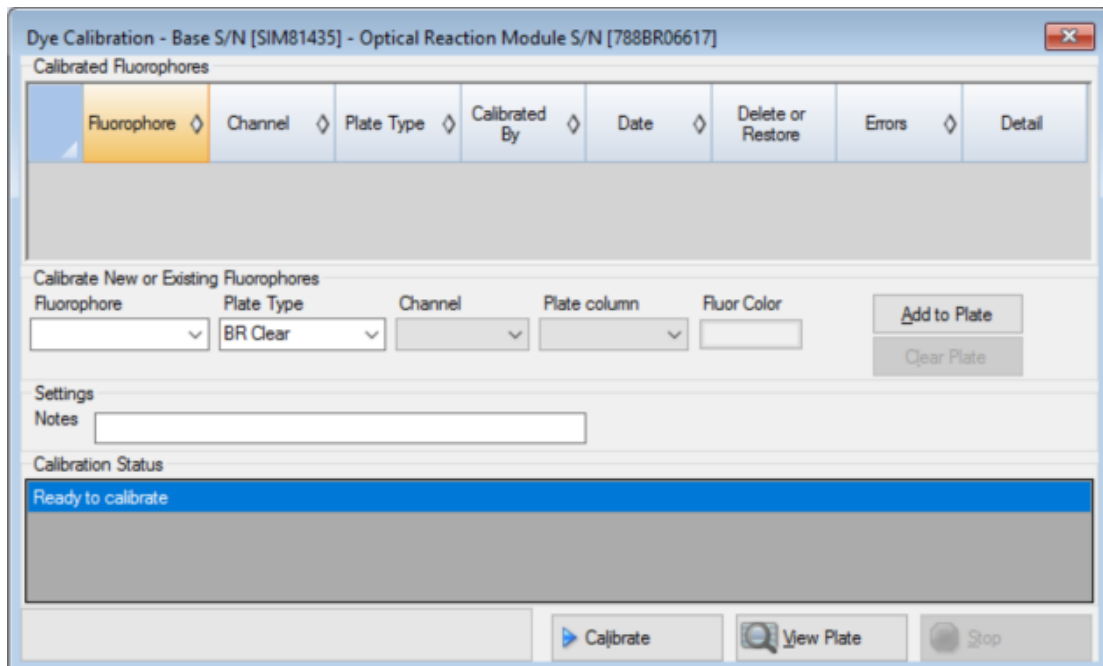
**Importante:** se realizar uma calibração definida pelo utilizador de um corante que foi calibrado na fábrica, o instrumento usará a calibração definida pelo utilizador em vez da calibração de fábrica.

**Tabela 6. Fluoróforos calibrados na fábrica, canais e instrumentos**

Fluoróforos	Canal	Excitação, nm	Deteção, nm	Instrumento
FAM, SYBR® Green I	1	450–490	515–530	Sistemas CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx, e CFX Opus Deepwell Dx
VIC, HEX, CAL Fluor Gold 540, Cal Fluor Orange 560	2	515–535	560–580	Sistemas CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx
ROX, Texas Red, CAL Fluor Red 610, TEX 615	3	560–590	610–650	Sistemas CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx, e CFX Opus Deepwell Dx
CY5, Quasar 670	4	620–650	675–690	Sistemas CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx, e CFX Opus Deepwell Dx
Quasar 705, Cy5.5	5	672–684	705–730	Somente sistemas CFX Opus 96 Dx
<b>FRET Chemistry (não calibrada de fábrica)</b>				
Cor não calibrada de fábrica	FRET	450–490	560–580	Sistemas CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx, e CFX Opus Deepwell Dx

### Como calibrar novos corantes para sistemas CFX

1. Na janela Home (Início), selecione um instrumento alvo no painel Detected Instruments (Instrumentos detetados).
2. Selecione Tools (Ferramentas) > Calibration Wizard (Assistente de calibração) para abrir o Dye Calibration wizard (Assistente de calibração de corante).



Os fluoróforos que já tenham sido calibrados para o instrumento alvo aparecem na tabela Calibrated Fluorophores (Fluoróforos calibrados).

3. Na secção Calibrate New or Existing Fluorophores (Calibrar fluoróforos novos ou existentes), selecione o fluoróforo que deseja calibrar na lista suspensa.

Se o nome do fluoróforo não estiver incluído na lista, digite o nome na caixa de texto para adicioná-lo à lista.

**Importante:** tome cuidado ao nomear fluoróforos com calibração personalizada. Se criar uma calibração de corante personalizada para um fluoróforo com o mesmo nome de um fluoróforo calibrado na fábrica, o fluoróforo personalizado (não o fluoróforo calibrado na fábrica) será usado pelo instrumento durante as corridas.

4. Selecione o tipo de placa para o fluoróforo.

Se o tipo de placa não estiver incluído na lista, digite o nome na caixa de texto para adicioná-lo à lista.

5. Selecione um canal para o fluoróforo.
6. Selecione uma coluna de placa para o fluoróforo.
7. (Opcional) Digite uma cor para associar ao fluoróforo.
8. Clique em Add to Plate (Adicionar à placa) para adicionar o fluoróforo.
9. (Opcional) Repita as etapas 3–8 para adicionar cada fluoróforo que pretenda calibrar para a placa.
10. Ao terminar de adicionar fluoróforos, clique em View Plate (Visualizar placa) para abrir a janela Pure Dye Plate Display (Exibir placa de corante puro).

Use esta janela como guia para carregar corantes na placa.

11. Prepare uma placa com 96, 384 ou deep well para a calibração do corante:
  - a. Pipete a solução do corante em cada poço, seguindo o padrão mostrado em Pure Dye Plate Display (Exibir placa de corante puro).
  - b. Para cada fluoróforo, encha quatro poços com 50 µl (placa de 96 poços ou placa deep well) ou 30 µl (placa de 384 poços) da solução de corante 300 nM. Observe que pelo menos metade da placa contenha poços vazios.
  - c. Sele a placa usando o método de vedação que escolheu para a sua experiência.
12. Coloque a placa de calibração no bloco e feche a tampa.
13. No Dye Calibration wizard (Assistente de calibração de corante), clique em Calibrate (Calibrar) e depois em OK para confirmar que a placa está no bloco.
14. Quando o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) concluir a corrida de calibração, será exibida uma caixa de diálogo. Clique em Yes (Sim) para concluir a calibração e abrir o Dye Calibration Viewer (Visualização de calibração do corante).
15. Clique em OK para fechar a janela.

## Configurar as preferências do utilizador

**Dica:** não é necessário realizar estas tarefas para usar o CFX Maestro Dx SE. É possível ignorar esta secção ou realizar estas tarefas a qualquer momento sem problemas.

No CFX Maestro Dx SE, cada utilizador pode personalizar o seu ambiente de trabalho. Por exemplo, no menu Users (Utilizadores) > User Preferences (Preferências do utilizador), é possível fazer o seguinte:

- Configurar a notificação por e-mail de conclusão da corrida.

**Observação:** esta funcionalidade está disponível apenas para utilizadores cujas funções tenham esse direito. Consulte [Gerir as funções do utilizador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition \(Edição de Segurança\) na página 46](#) para mais informações.

- Alterar as configurações predefinidas para
  - A localização na qual guardar os ficheiros
  - Os ficheiros de configuração da corrida
  - O prefixo de nomenclatura do ficheiro
- Definir os parâmetros predefinidos para usar ao criar protocolo e placa.
- Definir os parâmetros predefinidos de análise de dados e expressão génica.
- Personalizar os parâmetros predefinidos de controlo de qualidade.
- Personalizar os parâmetros de exportação de dados.

No menu Tools (Ferramentas), é possível fazer o seguinte:

- Criar uma mistura-mestre.
- Calibrar corantes para um instrumento específico.

**Observação:** a mistura-mestre e a calibração de corantes estão disponíveis para qualquer pessoa que inicie a sessão no software.

Esta secção explica como realizar essas tarefas.

### Configurar a notificação por e-mail

É possível ligar o CFX Maestro Dx SE ao seu servidor de e-mail de saída para enviar uma notificação por e-mail da conclusão da corrida para uma lista de utilizadores. Também é possível optar por anexar um ficheiro de dados e um relatório de análise à lista de utilizadores. Para configurar a ligação entre CFX Maestro Dx SE e o seu servidor SMTP, consulte [Ligar o Security Edition a um servidor SMTP na página 88](#).

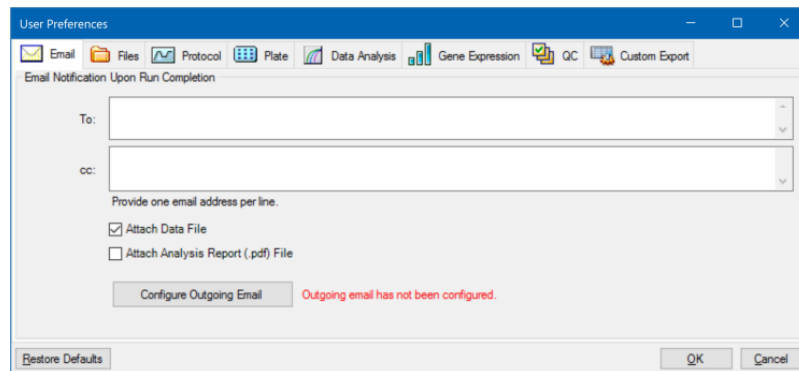
**Observação:** a capacidade do utilizador de aceder às funcionalidades de configuração de e-mail depende da função do utilizador e das permissões atribuídas pelo administrador. Para detalhes sobre a gestão dos utilizadores e as suas funções, consulte [Gerir as funções do utilizador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition \(Edição de Segurança\) na página 46](#).



## Como configurar a notificação por e-mail

1. Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).

É exibida a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) com o separador Email (E-mail).



**Observação:** será informado se o sistema detetar que não configurou um servidor SMTP válido para o CFX Maestro Dx SE. Clique em Configure Outgoing Email (Configurar e-mail de saída) para abrir a caixa de diálogo Options (Opções) e configurar o e-mail do servidor SMTP. Para mais informações, consulte [Ligar o Security Edition a um servidor SMTP na página 88](#).

2. Na caixa de texto To (Para), digite o endereço de e-mail de cada pessoa que pretende informar sobre a conclusão da corrida. Todos os destinatários receberão um e-mail após a conclusão da corrida.
 

**Observação:** deve-se inserir cada endereço de e-mail numa linha separada. Pressione Enter ou Return (↵) após cada endereço.
3. (Opcional) Na caixa de texto cc, digite o endereço de e-mail de qualquer destinatário para quem pretende enviar uma cópia de cada notificação por e-mail.
4. (Opcional) Como predefinição, todos os destinatários recebem uma cópia do ficheiro de dados como um anexo. Desmarque a caixa de seleção Attach Data File (Anexar ficheiro de dados) se não deseja anexar uma cópia do ficheiro de dados.
5. (Opcional) Selecione Attach Analysis Report (Anexar relatório de análise) para anexar um PDF do relatório de análise ao e-mail.
6. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).

**Observação:** Poderá conseguir configurar o sistema para enviar uma notificação por e-mail para o seu telemóvel, dependendo do seu fornecedor de serviços. Contacte o seu fornecedor de serviços de telemóvel para informações específicas sobre o endereço de correio eletrónico do seu telemóvel. Introduza o endereço de correio eletrónico do seu telefone (por exemplo, 5552221234@your\_service\_provider\_EmailDomain.net) na caixa de texto To (Para) do ecrã User Preferences (Preferências do utilizador).

### Como editar o endereço de e-mail do destinatário

- Modifique o endereço de e-mail conforme necessário e clique em OK.

### Como remover um destinatário de e-mail

1. Selecione o destinatário do e-mail e pressione a tecla Delete (Eliminar).
2. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) redefine todas as preferências em todos os separadores para as configurações originais de fábrica. Tenha cuidado ao clicar neste botão.

### Ligar o Security Edition a um servidor SMTP

**Importante:** Alguns fornecedores de serviços de webmail comerciais têm segurança de e-mail melhorada. Caso use uma destas contas, deve acionar a configuração **Allow less secure apps** (Permitir aplicações menos seguras) nas suas configurações de contas para permitir que o CFX Maestro Dx SE envie e-mails. Consulte as informações de segurança do seu fornecedor de serviços de webmail para obter mais informações.

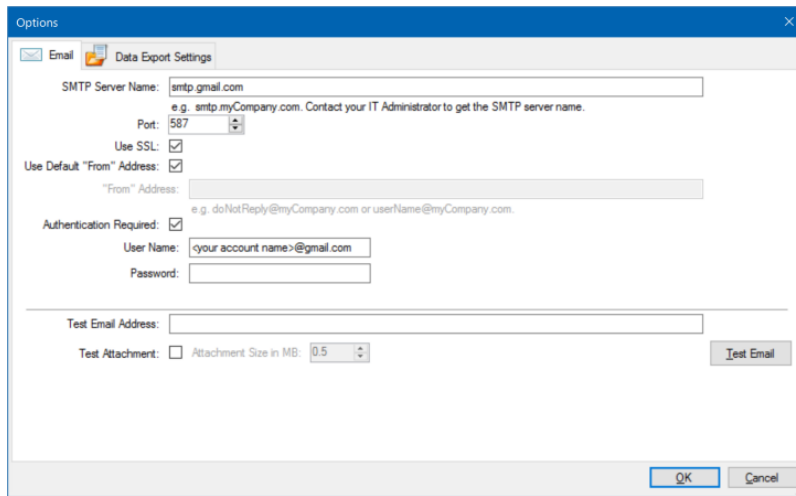
Se está a utilizar um servidor SMTP Gmail da Google ou Microsoft Office 365 para enviar e-mails, tem de ativar a verificação de 2 fatores e gerar uma "Palavra-passe da aplicação" nas definições da conta Gmail ou Office365. Para autenticação na caixa de diálogo de Configuração do E-mail Maestro, copie e cole a "Palavra-passe da aplicação" para o campo da Password (Palavra-passe) em vez de usar a palavra-passe normal do e-mail.

É necessário estabelecer uma ligação entre o CFX Maestro Dx SE e o seu servidor de e-mail antes do software poder enviar notificações por e-mail.

### Como ligar o CFX Maestro Dx SE a um servidor de e-mail

1. Execute uma das seguintes opções:
  - Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) e clique em Configure Outgoing Email (Configurar e-mail de saída) no separador Email.
  - Selecione Tools (Ferramentas) > Options (Opções).

É exibida a caixa de diálogo Options (Opções), mostrando o separador Email.



2. Insira as seguintes informações da sua empresa:

- **SMTP Server Name** (Nome do Servidor SMTP) — o nome do servidor de e-mail de saída da sua empresa.
- **Port** (Porta) — o número da porta do seu servidor SMTP. Normalmente, é 25.
- **Use SSL** (Usar SSL) — opção para Secure Sockets Layer (SSL). Alguns servidores SMTP requerem esta configuração. Se não for requerido na sua empresa, desmarque esta caixa de seleção.
- **Use Default "From" Address** (Usar endereço "De" predefinido) — o nome do servidor de e-mail na sua empresa. Alguns servidores SMTP exigem que todos os e-mails enviados tenham um endereço "de" que seja de determinado domínio, por exemplo, nome@SuaEmpresa.com. Se esse for o caso, desmarque esta caixa de seleção e insira um endereço de e-mail válido.
- **Authentication Required** (Autenticação requerida) — se o seu local exigir autenticação da conta, verifique se esta caixa de seleção está marcada.
- **User Name** (Nome de utilizador) — o nome da conta autenticada. Esta informação é requerida apenas se for selecionado Authentication Required (Autenticação requerida).

- **Password** (Palavra-passe) — a palavra-passe para a conta autenticada. Esta informação é requerida apenas se for selecionado Authentication Required (Autenticação requerida).

**Importante:** Se está a utilizar um servidor SMTP Gmail da Google ou Microsoft Office 365 para enviar e-mails, tem de ativar a verificação de 2 fatores e então gerar uma "Palavra-passe da aplicação" nas definições da conta Gmail ou Office365. Para autenticação na caixa de diálogo de Configuração do E-mail Maestro, copie e cole a "Palavra-passe da aplicação" para o campo da Password (Palavra-passe) do CFX Maestro Dx SE em vez da palavra-passe normal do e-mail.

Para verificar se as configurações do servidor SMTP estão corretas, digite um endereço de e-mail válido na caixa de texto Test Email Address (Testar endereço de e-mail) e clique em Test Email (Testar e-mail).

**Observação:** Alguns servidores SMTP não permitem anexos e outros permitem anexos somente até um tamanho específico. Caso pretenda enviar por e-mail ficheiros de dados e/ou relatórios usando o CFX Maestro Dx SE, selecione Test Attachment (Testar anexo) e defina Attachment Size (Tamanho do anexo) em MB como 5 megabytes (MB) ou mais.

3. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

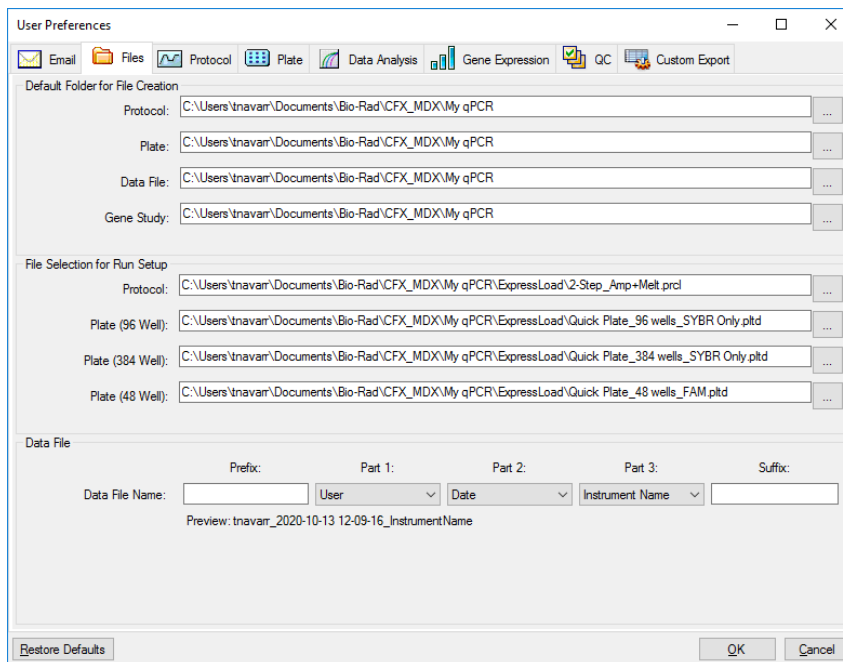
### Alterar as configurações predefinidas dos ficheiros

No separador Files (Ficheiros), na caixa de diálogo User Preference (Preferências do utilizador), é possível alterar o seguinte:

- A localização predefinida para guardar os ficheiros de CFX Maestro Dx SE.
- Os ficheiros predefinidos para configuração da corrida.
- Os parâmetros de nomenclatura de ficheiros predefinidos

### Como alterar as configurações predefinidas dos ficheiros

1. Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), selecione o separador Files (Ficheiros).



3. Na secção Default Folder for File Creation (Pasta predefinida para a criação de ficheiros), navegue e seleccione uma pasta predefinida na qual deseja guardar os novos ficheiros. É possível seleccionar uma localização diferente para cada tipo de ficheiro:
  - Protocol (Protocolo)
  - Plate (Placa)
  - Data File (Ficheiro de dados)
  - Gene Study (Estudo de genes)
4. Na secção File Selection for Run Setup (Seleção de ficheiro para configuração da corrida), navegue e seleccione os ficheiros de placa e o protocolo alvo a serem exibidos quando abrir a janela Experiment Setup (Configuração de experiência).
5. Na secção Data File (Ficheiro de dados), defina o prefixo e/ou sufixo dos ficheiros de dados. Para qualquer parte, seleccione um novo valor na sua lista suspensa. Pode também fornecer valores de prefixo e sufixo personalizados nas caixas de texto Prefix (Prefixo) e Suffix (Sufixo).

O CFX Maestro Dx SE exibe uma pré-visualização do nome do ficheiro abaixo das caixas de seleção.

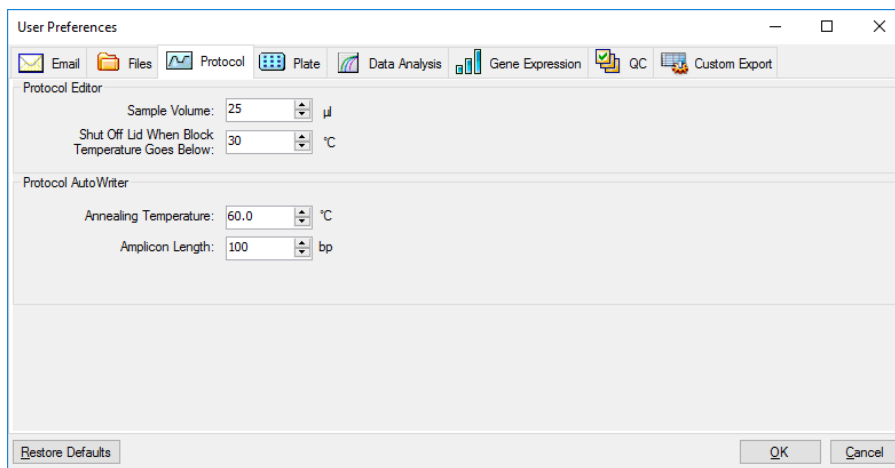
6. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) redefine todas as preferências em todos os separadores para as configurações originais de fábrica. Tenha cuidado ao clicar neste botão.

## Configurar os parâmetros de protocolo predefinidos

### Como configurar os parâmetros predefinidos do protocolo para o Protocol Editor (Editor de protocolo) e o Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo)

1. Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), selecione o separador Protocol (Protocolo)



3. Na secção Protocol Editor (Editor de protocolo), especifique valores para as seguintes configurações que aparecem no Protocol Editor (Editor de protocolo):
  - **Sample volume** (Volume da amostra) — o volume de cada amostra nos poços (em µl).
  - **Lid Shutoff temperature** (Temperatura de desligamento da tampa) — a temperatura em °C na qual o aquecedor da tampa se desliga durante uma corrida.
4. Na secção Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo), especifique valores para as seguintes configurações que aparecem no Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo):
  - **Annealing temperature** (Temperatura de hibridação) — a temperatura em °C para experiências que usam polimerase de DNA iProof, polimerase de DNA iTaQ, ou outras polimerases.
  - **Amplicon length** (Comprimento do Amplicon) — o comprimento do amplicon em bp.

5. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) redefine todas as preferências em todos os separadores para as configurações originais de fábrica. Tenha cuidado ao clicar neste botão.

### Configurar os parâmetros de placa predefinidos

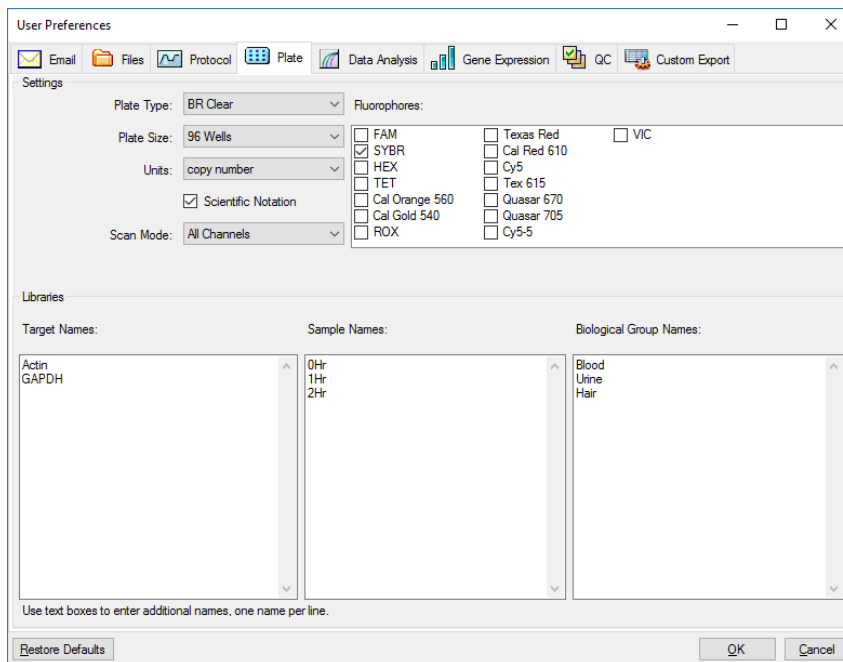
As alterações feitas no separador Plate (Placa) estão disponíveis para todos os utilizadores do software. As alterações feitas durante a instalação da placa estão disponíveis para os utilizadores após ter guardado e fechado o ficheiro da placa.

Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), é possível fazer o seguinte:

- Configurar os parâmetros de placa predefinidos.
- Adicionar novos nomes de alvos, amostras e grupos biológicos às respetivas bibliotecas.
- Eliminar nomes de alvos, amostras e grupos biológicos das respetivas bibliotecas.

### Como configurar os parâmetros de placa predefinidos

1. Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), selecione o separador Plate (Placa).



3. Especifique os valores seguinte para as configurações de um novo ficheiro de placa. Estes valores são exibidos na janela Plate Editor (Editor de placa):

- **Plate Type (Tipo de placa)**
- **Plate Size (Tamanho da placa)**
- **Units (Unidades)** — a concentração do modelo inicial para poços que contêm padrões.  
O CFX Maestro Dx SE usa estas unidades para criar uma curva padrão no separador Data Analysis Quantification (Quantificação de análise de dados).
- **Scientific notation (Notação científica)** — quando selecionado, o CFX Maestro Dx SE exibe as unidades de concentração em notação científica.
- **Scan mode (Modo de leitura)** — o número ou tipo de canais a serem lidos durante uma corrida.
- **Fluorophores (Fluoróforos)** — os fluoróforos predefinidos que são exibidos nos controlos de carregamento do poço do Plate Editor (Editor de placa).



- **Libraries** (Bibliotecas) — os nomes de alvos, amostras e grupos biológicos que utiliza habitualmente nas experiências:
  - **Target names** (Nomes de alvos) — os nomes dos genes e sequências alvo.
  - **Sample names** (Nomes de amostras) — os nomes das amostras de experiências ou uma característica identificadora das amostras (por exemplo, Rato1, Rato2, Rato3).
  - **Biological group names** (Nomes do grupo biológico) — os nomes para grupos de amostras semelhantes que tenham o mesmo estado ou condições de tratamento (por exemplo, 0Hr, 1Hr, 2Hr).

4. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

#### **Como adicionar um novo alvo, amostra ou nome de grupo biológico**

- ▶ Na caixa da biblioteca apropriada, digite o nome do alvo, amostra ou grupo biológico e clique em OK.

#### **Como eliminar um nome de alvo, amostra ou grupo biológico**

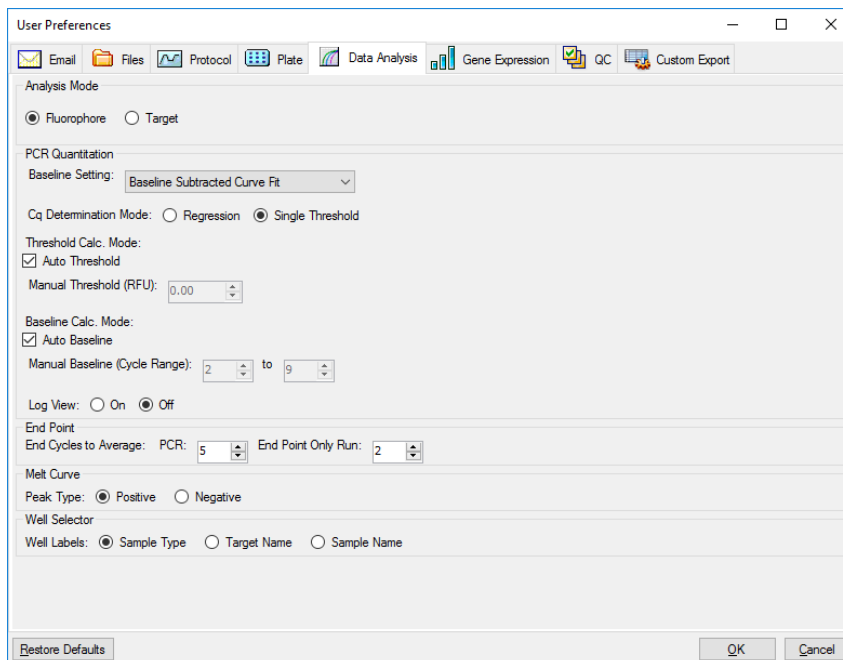
- ▶ Na caixa da biblioteca apropriada, selecione o nome e pressione a tecla Delete (Eliminar) e clique em OK.

**Importante:** nomes que sejam removidos da biblioteca Sample Names (Nomes de amostras) são removidos do software e deixam de estar disponíveis para os utilizadores. Para restaurar os nomes predefinidos do CFX Maestro Dx SE, clique em Restore Defaults (Restaurar predefinições). clicar em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) redefine todas as preferências em todos os separadores para as configurações originais de fábrica. Tenha cuidado ao eliminar nomes predefinidos do CFX Maestro Dx SE e ao clicar neste botão.

## Configurar os parâmetros de análise de dados predefinidos

### Como configurar os parâmetros de análise de dados predefinidos

1. Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), selecione o separador Data Analysis (análise de dados).



3. Na secção Analysis Mode (Modo de análise), selecione o modo no qual analisar os dados (Fluorophore (Fluoróforo) ou Target (Alvo)).
4. Na secção PCR Quantitation (Quantificação de PCR), defina os parâmetros predefinidos para as seguintes opções:
  - **Baseline Setting** (Configuração de linha de base) — o método de linha de base para o modo de análise.
  - **Cq Determination Mode** (Modo de determinação de Cq) — o modo no qual os valores de C<sub>q</sub> são calculados para cada traçado de fluorescência (regressão ou limiar individual).
  - **Threshold Calc. Mode** (Modo de cálc. do limiar) — a quantidade do alvo do ponto final.

A predefinição é Auto (Automático). Ou seja, o software calcula automaticamente o alvo do ponto final. Para definir um limiar específico, desmarque a caixa de seleção Auto (Automático) e

insira a quantidade do ponto final, calculada em unidades de fluorescência relativas (ou RFU). O valor máximo é 65000,00 RFUs. Os ficheiros de dados para corridas subsequentes usarão esta configuração de limiar.

- **Baseline Calc. Mode** (Modo de cálc. de linha de base) — o valor da linha de base para todos os traçados.

A predefinição é Auto (Automático). Ou seja, o software calcula automaticamente a linha de base para todos os traçados. Para definir um valor específico de linha de base, desmarque a caixa de seleção Auto (Automático) e insira os valores mínimo e máximo para o intervalo do ciclo (1 a 9999). Os ficheiros de dados para corridas subsequentes usarão este intervalo de ciclo.

- **Log View** (Visualização de registo) — determina como o software exibe os dados de amplificação:
  - On** (Ligado) — os dados de amplificação são exibidos num gráfico semilogarítmico.
  - Off** (Desligado) — (predefinição) os dados de amplificação são exibidos num gráfico linear.

5. Na secção End Point (Ponto final), selecione o número de ciclos finais para calcular a média ao calcular os pontos finais:
  - **PCR** — o número de ciclos finais para a média para os dados de quantificação (a predefinição é 5).
  - **End Point Only run** (Corrida somente de ponto final) — o número de ciclos finais para a média para os dados de ponto final (a predefinição é 2).
6. Na secção Melt Curve (Curva de fusão), selecione o tipo de pico a detetar (positivo ou negativo).
7. Na secção Well Selector (Seletor de poços), selecione como exibir os rótulos dos poços (por tipo de amostra, nome do alvo, ou nome da amostra).
8. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) redefine todas as preferências em todos os separadores para as configurações originais de fábrica. Tenha cuidado ao clicar neste botão.

## Configurar os parâmetros predefinidos do ficheiro de dados de expressão génica

### Como configurar os parâmetros predefinidos de um novo ficheiro de dados de expressão génica

1. Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), selecione o separador Gene Expression (Expressão génica).
3. Especifique os valores para as configurações a seguir:
  - **Relative to** (Relativo a) — representa graficamente os dados da expressão génica relativos a um controlo (originado em 1) ou a zero:
    - Zero** — o software ignora o controlo. Este é o valor predefinido quando nenhuma amostra de controlo é atribuída na janela Experiment Settings (Configurações de experiências).
    - Control** (Controlo) — o software calcula os dados relativos à amostra de controlo atribuída na janela Experiment Setup (Configuração de experiência).
  - **X-axis** (Eixo X) — representa graficamente a amostra ou o alvo no eixo x.
  - **Y-axis** (Eixo Y) — representa graficamente em escala linear, log<sub>2</sub> ou log<sub>10</sub> no eixo y.
  - **Scaling** (escala) — a opção de escala para o gráfico (a opção predefinida é sem escala):
    - Highest** (Mais alto) — o software ajusta a escala do gráfico para o ponto de dados mais alto.
    - Lowest** (Mais baixo) — o software ajusta a escala do gráfico para o ponto de dados mais baixo.
    - Unscaled** (Sem escala) — o software apresenta os dados sem escala no gráfico.
  - **Mode** (Modo) — o modo de análise, quantidade relativa ( $\Delta C_q$ ) ou expressão normalizada ( $\Delta\Delta C_q$ ).
  - **Error Bar** (Barra de erro) — a variabilidade dos dados apresentada como desvio padrão (Std. Dev.) (Desvio padrão) ou o erro padrão da média (Std. Error Mean) (Média de erro padrão).
  - **Error Bar Multiplier** (Multiplicador de barra de erros) — o multiplicador de desvio padrão usado para representar graficamente as barras de erro (o padrão é 1).

É possível aumentar o multiplicador para 2 ou 3.
  - **Sample Types to Exclude** (Tipos de amostra para exclusão) — os tipos de amostra a serem excluídos da análise.

É possível selecionar uma ou mais amostras para excluir da análise. Para excluir todos os tipos de amostra, desmarque as caixas de seleção de todos os tipos de amostra selecionados.

4. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) redefine todas as preferências em todos os separadores para as configurações originais de fábrica. Tenha cuidado ao clicar neste botão.

### Personalizar as regras de controlo de qualidade

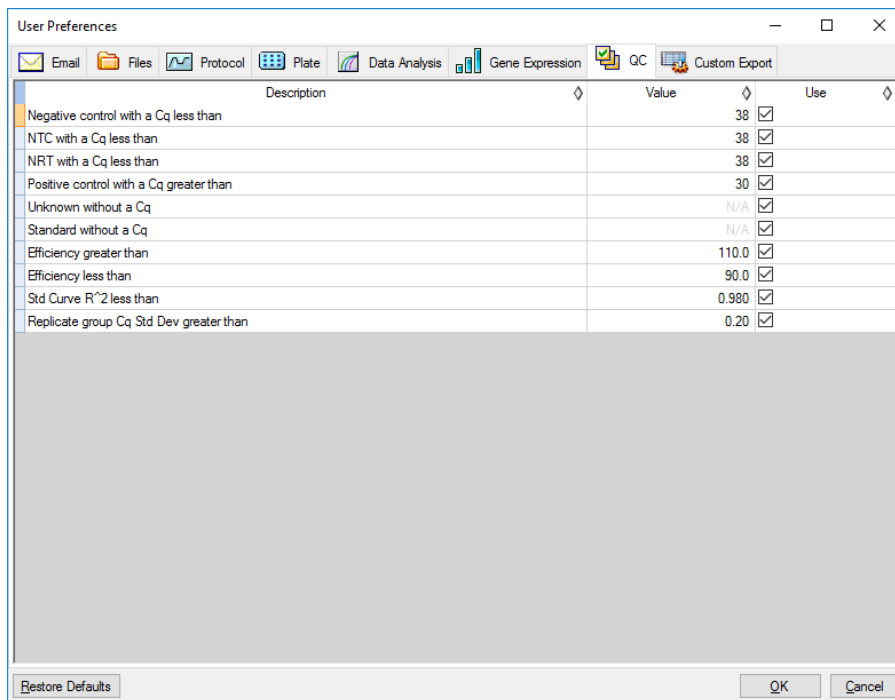
No CFX Maestro Dx SE, é possível definir regras de controlo de qualidade que são aplicadas aos dados na janela Data Analysis (Análise de dados). O software valida os dados em relação às regras configuradas.

**Observação:** Por predefinição, todas as regras de controlo de qualidade estão ativadas.

**Dica:** pode facilmente excluir poços que falham num parâmetro de CQ da análise no módulo CQ da janela Data Analysis (Análise de dados).

#### Como personalizar as regras de controlo de qualidade

1. Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), selecione o separador QC (CQ)



Em que:

- **NTC** — sem controlo de modelo
  - **NRT** — sem controlo de transcriptase reversa
  - **Efficiency** (Eficiência) — eficiência da reação
  - **Std Curve R<sup>2</sup>** (R<sup>2</sup> de curva padrão) — valor quadrado R para a curva padrão
  - **Replicate group Cq Std Dev** (Desvio padrão Cq do grupo de réplicas) — desvio padrão calculado para cada grupo de réplicas
3. Para cada CQ, execute uma das seguintes opções:
    - Para usar o seu valor predefinido, não faça nada.
    - Para alterar esse valor, clique na caixa de texto Value (Valor), digite um novo valor e pressione a tecla Enter.
    - Para desabilitar a regra, desmarque a caixa de seleção Use (Usar).
  4. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) redefine todas as preferências em todos os separadores para as configurações originais de fábrica. Tenha cuidado ao clicar neste botão.

## Personalizar os parâmetros de exportação de dados

Pode exportar os dados do CFX Maestro Dx SE nos seguintes formatos:

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

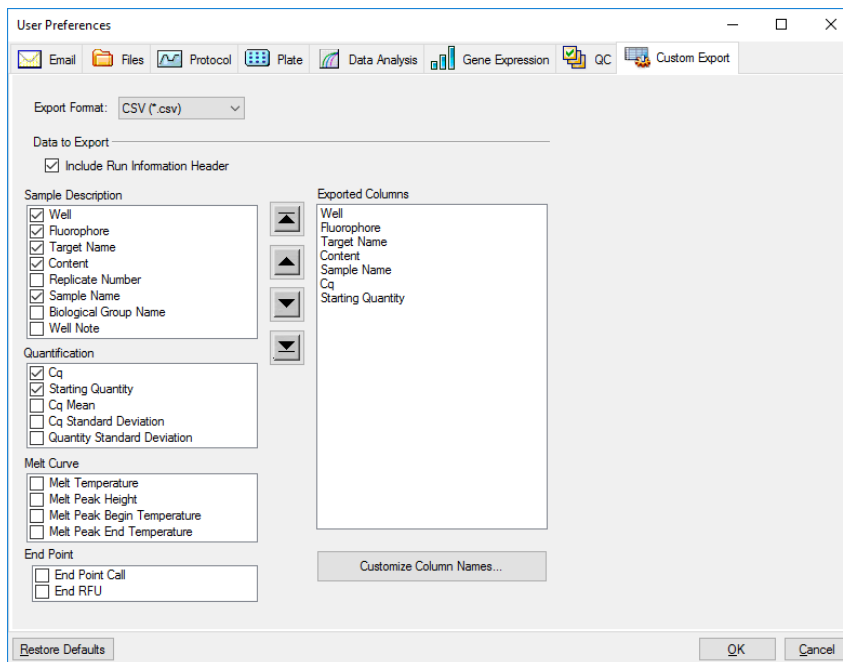
**Importante:** O seu computador tem de ter instalado o Microsoft Excel para que possa exportar dados para uma folha de cálculo Microsoft Excel.

Pode especificar o tipo de dados a serem exportados e personalizar a saída dos dados exportados.

### Como personalizar os parâmetros de exportação de dados

1. Selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), selecione o separador Custom Export (Personalizar exportação).

## Capítulo 6 A janela Home (Início)



3. Na lista suspensa Export Format (Formato da exportação), selecione um formato no qual exportar os dados.
4. Na secção Data to Export (Dados a exportar), selecione ou desmarque as caixas de verificação para os tipos de dado a exportar. Os itens selecionados aparecem na caixa de listagem Exported Columns (Colunas exportadas).

**Observação:** como predefinição, as informações da corrida estão incluídas no cabeçalho. Desmarque esta caixa de seleção se não desejar que essas informações da corrida sejam incluídas.

5. Pode alterar a ordem de exibição da saída dos itens selecionados.

Na caixa de listagem Exported Columns (Colunas exportadas), destaque o item e em seguida clique nos botões de seta à esquerda da lista para movê-lo para cima ou para baixo.

6. Opcionalmente, é possível alterar os nomes da coluna da saída dos itens selecionados:
  - a. Clique em Customize Column Names (Personalizar nomes de colunas).

É exibida a caixa de diálogo Column Name Customizer (Personalizador de nome de colunas).
  - b. Para cada nome predefinido de coluna que deseje alterar, digite o novo nome no campo Custom Name (Nome personalizado).



- c. Execute uma das seguintes opções:
  - Clique em OK para guardar as alterações e voltar para o separador Custom Export (Personalizar exportação). O novo nome aparece entre parênteses ao lado do nome predefinido da coluna na caixa de listagem Exported Columns (Colunas exportadas).
  - Clique em Cancel (Cancelar) para desfazer as alterações e voltar para o separador Custom Export (Personalizar exportação).

7. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) redefine todas as preferências em todos os separadores para as configurações originais de fábrica. Tenha cuidado ao clicar neste botão.



## Capítulo 7 Criar protocolos

Um protocolo é um conjunto de etapas executadas numa sequência específica. No CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança), todas as etapas estão associadas às opções do instrumento. Por exemplo, as etapas dão instruções ao instrumento para controlar a temperatura do bloco e da tampa, aplicar uma diferença de temperatura ao bloco, fazer uma leitura de placa ou executar uma análise da curva de fusão. Cada opção é especificada para diferentes tipos de placa e corrida.

O CFX Maestro Dx SE oferece duas opções para criar protocolos: Protocol Editor (Editor de protocolo) e Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo).

As funcionalidades do Protocol Editor (Editor de protocolo) incluem o seguinte:

- Controlos de protocolo padrão para criar protocolos rapidamente
- Capacidade de calcular rapidamente um gradiente para o número selecionado de linhas
- Capacidade de calcular rapidamente o tempo de execução para o tipo de placa selecionado
- Capacidade de editar etapas do protocolo
- Capacidade de guardar protocolos para reutilização
- Capacidade de imprimir o protocolo para uma impressora predefinida

O Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo) gera automaticamente um protocolo de PCR personalizado com etapas de início a quente, desnaturação inicial, hibridação e extensão, usando os parâmetros fornecidos. É possível, então, visualizar uma representação gráfica do protocolo sugerido e editar, executar ou guardar o protocolo.

## Parâmetros e intervalos para as etapas do protocolo

Use as informações da [Tabela 7](#) para modificar as configurações padrão das etapas do protocolo.

### Etapas de temperatura

A temperatura-alvo é um valor entre 4,0 e 100,0 °C, definido em décimos de grau. O sistema aquece até essa temperatura e mantém esse valor pelo período especificado (o tempo de espera).

### Etapas de gradiente

O intervalo do gradiente é a diferença entre as temperaturas inferior e superior numa etapa de gradiente. O intervalo máximo permitido é de 24 °C. A temperatura inferior é um valor entre 30,0 e 99,0 °C, definido em décimos de grau. A temperatura superior máxima é 100 °C. O termociclador aquece até ao gradiente de temperatura-alvo em todo o bloco e mantém essa temperatura pelo tempo de espera especificado.

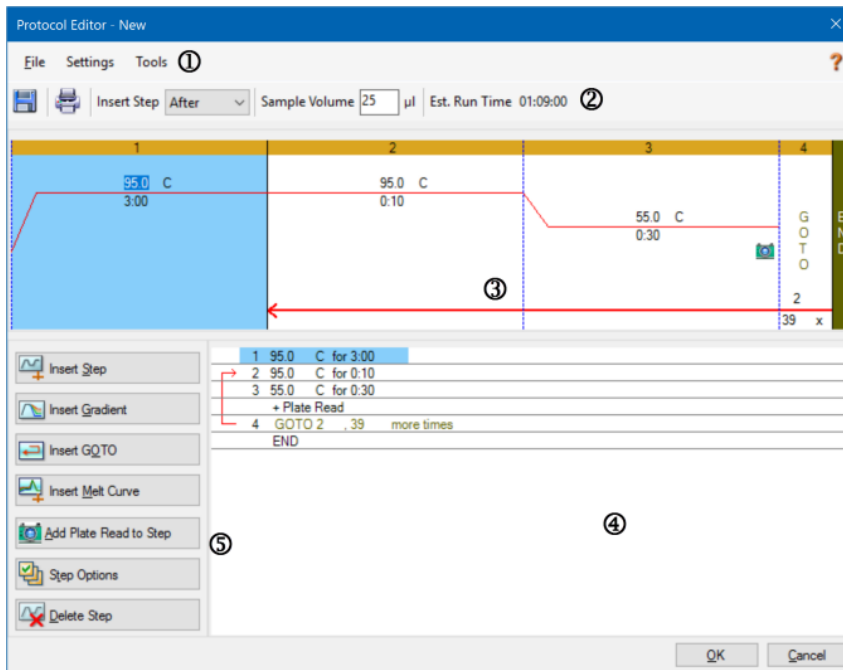
**Importante:** o instrumento calcula o valor do gradiente. Quando insere um valor nos campos superior e inferior da calculadora de gradiente, o software calcula e atribui automaticamente as temperaturas aos campos restantes. Quando insere uma temperatura em qualquer campo entre os campos superior e inferior, o instrumento calcula automaticamente os campos restantes. Não é possível inserir um valor de temperatura manualmente em cada campo.

Tabela 7. Parâmetros e intervalos para as etapas do protocolo

Parâmetro	Intervalo	Descrição
Ramp rate (Taxa de rampa)	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Para os sistemas CFX Opus 96 Dx : 0,1–5 °C por segundo</li> <li>■ Para sistemas CFX Opus 384 Dx : 0,1–2,5 °C por segundo</li> <li>■ Para sistemas CFX Opus Deepwell Dx: 0,1–2,5 °C por segundo</li> </ul>	<p>Instrui o termociclador a aquecer até à temperatura-alvo na taxa especificada nessa etapa.</p> <p>Disponível apenas para etapas de temperatura.</p>
Increment (Incremento)	Um número de -10,0 a 10,0 °C por ciclo, em décimos de grau	<p>Instrui o termociclador a alterar a temperatura-alvo de uma etapa a cada ciclo, em que um número positivo aumenta a temperatura e um número negativo diminui a temperatura.</p> <p>Disponível apenas para etapas de temperatura.</p>
Extend (Prolongar)	Um tempo de -60 a 60 segundos por ciclo	<p>Instrui o termociclador a prolongar o tempo de espera a cada ciclo. Um número positivo aumenta o tempo de espera e um número negativo diminui o tempo de espera.</p> <p>Disponível para etapas de temperatura e gradiente.</p>
Beep (Sinal sonoro)	(Nenhum parâmetro)	<p>Instrui o termociclador a emitir um sinal sonoro para sinalizar que o termociclador atingiu a temperatura desejada para essa etapa.</p> <p>Disponível apenas para etapas de temperatura.</p>
Plate Read (Leitura da placa)	(Nenhum parâmetro)	<p>Instrui o termociclador a adicionar uma leitura de placa à etapa selecionada.</p> <p>Disponível para etapas de temperatura e gradiente.</p>

## Janela Protocol Editor (Editor de protocolo)

Use o Protocol Editor (Editor de protocolo) para criar, abrir, rever e editar um protocolo. Como predefinição, o Protocol Editor (Editor de protocolo) exibe um protocolo genérico de duas etapas em tempo real para uma placa de 96 poços.



### LEGENDA

1. A barra de menus fornece acesso rápido aos comandos do menu File (Ficheiro), Settings (Configurações) e Tools (Ferramentas).
2. A barra de ferramentas fornece acesso rápido para guardar e imprimir o protocolo, determinar onde inserir uma etapa, definir o volume da amostra e visualizar o tempo estimado de corrida do protocolo.
3. O painel principal exibe uma representação gráfica do protocolo.
4. O painel inferior exibe o esquema do protocolo.
5. O painel esquerdo exibe os controlos de protocolo que é possível adicionar para personalizar o protocolo.

## Comandos do menu File (Ficheiro)

**Save** (Guardar) — guarda o protocolo atual.

**Save As** (Guardar como) — guarda o protocolo atual com um novo nome ou numa nova localização.

**File Passwords** (Palavras-passe de ficheiros) — permite que os utilizadores definam palavras-passe para guardar e abrir os ficheiros.

**Dica:** para obter mais informações, consulte [Proteger os ficheiros com palavra-passe na página 54](#).

**Close** (Fechar) — fecha o Protocol Editor (Editor de protocolo).

## Comandos do menu Settings (Configurações)

**Lid Settings (Configurações da tampa)** — abre a caixa de diálogo Lid Setting (Configuração da tampa) na qual é possível alterar ou definir a temperatura da tampa.

## Comandos do menu Tools (Ferramentas)

**Gradient Calculator** (Calculadora de gradiente) — abre uma caixa de diálogo na qual é possível selecionar o tipo de bloco para uma etapa de gradiente. O padrão é 96 poços.

**Run time Calculator** (Calculadora do tempo de corrida) — abre uma caixa de diálogo na qual é possível selecionar o tipo de placa e modo de leitura para calcular o tempo de corrida estimado na janela Run Setup (Configuração da corrida). O padrão é 96 poços, todos os canais.

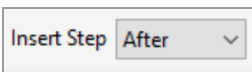
## Comandos da Toolbar (Barra de ferramentas)



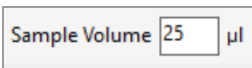
— guarda o ficheiro de protocolo atual.



— imprime a janela selecionada.



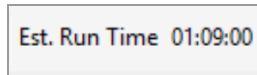
— use este comando para selecionar onde inserir etapas com relação à etapa atualmente selecionada.



— use este comando para inserir um volume de amostra em µl. Os volumes de amostra diferem dependendo do tipo de bloco:

- Para um bloco de 96 poços, o intervalo é 0–50 µl.

- Para um bloco de 384 poços, o intervalo é 0–30 µl.
- Para um bloco de 96 poços fundos, o intervalo é 0–125 µl.



— exibe o tempo de corrida estimado com base nas etapas de protocolo, taxa de rampa e o tipo de bloco selecionado.



— exibe informações de ajuda sobre protocolos.

## Controlos de edição de protocolo

O painel da esquerda da janela do Protocol Editor (Editor de protocolo) contém os controlos que podem ser usados para criar protocolos.

Cada controlo consiste num conjunto de parâmetros que representam uma etapa no protocolo. É possível modificar cada parâmetro e adicioná-lo ou removê-lo para personalizar o protocolo. Esta secção descreve as opções em cada controlo.



- **Insert Step** (Inserir etapa) — insere uma etapa antes ou depois da etapa selecionada. É possível editar os valores de temperatura e tempo de espera na exibição gráfica do protocolo ou no esquema do protocolo.
  - **Insert Gradient** (Inserir gradiente) — insere uma etapa de gradiente com base no tipo de bloco de poços selecionado na calculadora de gradiente. É possível editar o intervalo do gradiente no painel Gradient (Gradiente) que aparece quando uma etapa de gradiente é inserida.
  - **Insert GOTO** (Inserir IR PARA) — insere uma etapa cíclica (loop), que instrui o software para repetir etapas específicas em sequência para um número especificado de ciclos. As repetições começam depois do primeiro ciclo ser concluído. Por exemplo, é possível instruir o software para executar 39 repetições das etapas 2–4. Depois da repetição final, o software terá realizado as etapas 2–4 um total de 40 vezes. É possível editar a etapa de retorno (GOTO (IR PARA)) e o número de ciclos na exibição gráfica do protocolo ou no esquema do protocolo.
  - **Insert Melt Curve** (Inserir curva de fusão) — insere uma etapa de leitura de curva de fusão.
  - **Insert Plate Read to Step** (Inserir leitura de placa na etapa) — adiciona um comando de leitura de placa para a etapa selecionada. Uma leitura de placa mede a quantidade de fluorescência ao fim de um ciclo. A etapa de leitura de placa geralmente é a última etapa num loop GOTO (IR PARA).
- Dica:** depois de adicionar um comando de leitura de placa a uma etapa, o botão será mudado para Remove Plate Read (Remover leitura de placa) ao selecionar a etapa.



- **Remove Plate Read** (Remover leitura de placa) — remove um comando de leitura de placa da etapa selecionada.

**Dica:** depois de remover um comando de leitura de placa de uma etapa, o botão será mudado para Add Plate Read to Step (Adicionar leitura de placa à etapa) ao selecionar a etapa.

- **Step Options** (Opções de etapa) — abre a caixa de diálogo Step Options (Opções da etapa) e exibe as opções disponíveis para a etapa selecionada. Consulte [Step Options \(Opções de etapa\) na página 112](#) para informações pormenorizadas sobre as opções da etapa.

**Dica:** também é possível aceder Step Options (Opções de etapa) clicando com o botão direito do rato na etapa na exibição gráfica.

- **Delete Step** (Eliminar etapa) — elimina a etapa selecionada do protocolo.

## Step Options (Opções de etapa)

Abra a caixa de diálogo Step Options (Opções de etapa) para exibir as opções que é possível adicionar, alterar ou remover a uma etapa.

The screenshot shows the 'Step Options' dialog box. Under 'Step 1', the following options are visible:

- Plate Read
- Temperature: 95.0 °C
- Gradient: [ ] °C
- Increment: [ ] °C/cycle
- Ramp Rate: [ ] °C/sec
- Time: 3:00 sec/cycle
- Extend: [ ] sec/cycle
- Beep

On the right side, under the heading 'Gradient', there is a vertical column of eight empty input boxes labeled A through H.

- **Plate Read** (Leitura de placa) — quando selecionado, adiciona uma leitura de placa à etapa.
- **Temperature** (Temperatura) — configura a temperatura alvo para a etapa selecionada.
- **Gradient** (Gradiente) — configura o intervalo do gradiente para a etapa; o intervalo é de 1 a 24° C.  
**Observação:** um gradiente é executado com a temperatura mais baixa na frente do bloco (nesta imagem, linha H) e a temperatura mais alta na parte de trás do bloco (nesta imagem, linha A).
- **Increment** (Incremento) — a quantidade para aumentar (ou diminuir) a temperatura da etapa selecionada; esse valor é adicionado à temperatura alvo em cada ciclo. O intervalo é de  $\pm 0,1$  a 10° C.  
**Observação:** para diminuir a temperatura, insira um sinal de menos (–) antes do valor numérico (por exemplo, – 5° C).
- **Ramp Rate** (Taxa de rampa) — a taxa de rampa para a etapa selecionada; o intervalo depende do tamanho do bloco.
- **Time** (Hora) — o tempo de espera para a etapa selecionada.

- **Extend** (Prolongar) — a quantidade de tempo (em segundos) para prolongar ou encurtar a etapa selecionada; esta opção é adicionada ao tempo de espera em cada ciclo; o intervalo é de  $\pm 1$  a 60 segundos.
- **Beep** (Sinal sonoro) — quando selecionado, é emitido um sinal sonoro durante a etapa.

**Dica:** quando insere um número que está fora do intervalo de opções, o software altera o número para a entrada mais próxima dentro do intervalo.

## Criar um protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo)

Usando o Protocol Editor (Editor de protocolo), é possível criar ficheiros de protocolo personalizados. Também é possível editar e guardar ficheiros de protocolo guardados anteriormente ou ficheiros de protocolo de amostra enviados com o CFX Maestro Dx SE.

Para criar um ficheiro de protocolo, faça o seguinte:

- Abra um ficheiro de protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo).

**Dica:** é possível abrir um protocolo novo ou existente no Protocol Editor (Editor de protocolo).

- Configure o novo protocolo.
- Adicione etapas ao protocolo a partir do painel de controlos de protocolo.
- Edite as propriedades das etapas.
- Guarde o protocolo.

**Dica:** para criar um protocolo a partir de um guardado anteriormente ou de um modelo de ficheiro de protocolo, consulte [Abrir um protocolo existente no Protocol Editor \(Editor de protocolo\) na página 116](#).

## Abrir um novo ficheiro de protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo)

O CFX Maestro Dx SE oferece várias opções para abrir um novo ficheiro de protocolo:

- A partir do menu File (Ficheiro) na janela inicial
- A partir da caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida) na janela inicial
- A partir da caixa de diálogo do Startup Wizard (Assistente de arranque) na janela inicial

### Como abrir um novo ficheiro de protocolo a partir do menu File (Ficheiro)

- ▶ Na janela Home (Início), selecione File (Ficheiro) > New (Novo) > Protocol (Protocolo).

A janela Protocol Editor (Editor de protocolo) abre exibindo o layout do protocolo predefinido.

**Dica:** para obter informações sobre como configurar o protocolo predefinido, consulte [Alterar as configurações predefinidas dos ficheiros na página 90](#).

### Como abrir um novo protocolo na caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida)

1. Na janela Home (Início), execute uma das seguintes opções para abrir a caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida):
  - Selecione Run (Corrida) > User-defined Run (Corrida definida pelo utilizador).
  - Clique em User-defined Run Setup (Configuração da corrida definida pelo utilizador) na barra de ferramentas.

A caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida) abre no separador Protocol (Protocolo) e exibe o ficheiro de protocolo predefinido

2. Clique em Create New (Criar).

A janela Protocol Editor (Editor de protocolo) abre exibindo o protocolo em tempo real predefinido.

### Como abrir um novo ficheiro de protocolo a partir do Startup Wizard (Assistente de arranque)

1. Na janela Home (Início), execute uma das seguintes opções para abrir o Startup Wizard (Assistente de arranque), se não estiver à vista:
  - Selecione View (Visualizar) > Startup Wizard (Assistente de arranque).
  - Clique em Startup Wizard (Assistente de arranque) na barra de ferramentas.
2. Se necessário, selecione o tipo de instrumento na lista suspensa.
3. Clique em User-defined (Definido pelo utilizador) como run type (Tipo de corrida).

A caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida) abre no separador Protocol (Protocolo) e exibe o ficheiro de protocolo predefinido.

4. Clique em Create New (Criar).

A janela Protocol Editor (Editor de protocolo) abre exibindo o protocolo em tempo real predefinido.

### Como abrir um novo protocolo a partir do menu Run (Corrida)

1. Na janela Home (Início), execute uma das seguintes opções para abrir a caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida):
  - Selecione Run (Corrida) > User-defined Run (Corrida definida pelo utilizador).
  - Clique em User-defined Run Setup (Configuração da corrida definida pelo utilizador) na barra de ferramentas.

A caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida) abre no separador Protocol (Protocolo) e exibe o ficheiro de protocolo predefinido

2. Clique em Create New (Criar).

A janela Protocol Editor (Editor de protocolo) abre exibindo o protocolo em tempo real predefinido.

## Abrir um protocolo existente no Protocol Editor (Editor de protocolo)

O CFX Maestro Dx SE fornece ficheiros de protocolo de amostra que é possível editar e guardar como novos protocolos personalizados. Também é possível criar um protocolo a partir de um protocolo personalizado existente.

### Como abrir um ficheiro de protocolo de amostra

1. Na janela Home (Início), selecione File (Ficheiro) > Open (Abrir) > Protocol (Protocolo).  
Como predefinição, o Windows Explorer abre a localização da pasta de ficheiros Sample (Amostra) do CFX Maestro Dx SE.
2. Abra a pasta de ficheiros Sample (Amostra). São exibidas as seguintes pastas:
  - **ConventionalProtocols** — contém exemplos de ficheiros de protocolo para a análise tradicional de PCR.
  - **DataFiles** — contém exemplos de ficheiros de dados que é possível usar para explorar as funcionalidades do CFX Maestro Dx SE.
  - **MeltCalibration** — contém exemplos de ficheiros de protocolo para uso com a Precision Melt Analysis (Análise de fusão de precisão) do software Bio-Rad
  - **Plates** (Placas) — contém exemplos de ficheiros de placa.
  - **RealTimeProtocols** – contém exemplos de ficheiros de protocolo para análise de PCR em tempo real.
3. Abra a pasta do protocolo para o tipo de execução que pretende executar, ConventionalProtocols ou RealTimeProtocols.
4. Selecione o protocolo e clique em Open (Abrir).  
O ficheiro do protocolo é aberto na janela Plate Editor (Editor de protocolo).
5. Selecione File (Ficheiro) > Save As (Guardar como) e guarde o protocolo com um novo nome ou numa nova pasta.

### Como abrir um protocolo existente

1. Na janela Home (Início), execute uma das seguintes opções:
  - Selecione File (Ficheiro) > Open (Abrir) > Protocol (Protocolo), navegue, selecione o protocolo alvo e clique em Open (Abrir).
  - Abra o Startup Wizard (Assistente de arranque) e execute uma das seguintes opções:
    - Para editar o protocolo exibido, clique em Edit Selected (Editar selecionado).
    - Para editar outro protocolo existente, clique em Select Existing (Selecionar existente) e navegue até ao ficheiro pretendido.

O protocolo é aberto na janela Plate Editor (Editor de protocolo).
2. Selecione File (Ficheiro) > Save As (Guardar como) e guarde o protocolo com um novo nome ou numa nova pasta.

### Configurar um novo protocolo

**Dica:** se o ficheiro de protocolo incluir os parâmetros necessários (por exemplo, se estiver a editar um ficheiro de placa existente), poderá ignorar esta secção. Siga para [Adicionar etapas a um protocolo na página 119](#).

Os novos ficheiros de protocolo requerem os seguintes parâmetros:

- Tipo de bloco
- Modo de leitura para o tipo de bloco selecionado
- Lid temperature (Temperatura da tampa)
- Sample volume (Volume de amostras)

## Definir o tipo de bloco

O CFX Maestro Dx SE calcula automaticamente os incrementos de temperatura para etapas de gradiente com base no tipo de bloco.

**Observação:** o tipo de placa definido no Protocol Editor (Editor de protocolo) deve ser o mesmo do que a placa no módulo de reação.

### Como definir o tipo de bloco

- ▶ Na janela do Protocol Editor (Editor de protocolo), selecione Tools (Ferramentas) > Gradiente Calculator (Calculadora de gradiente) e escolha o tipo de placa apropriado na lista suspensa exibida.

## Selecionar o modo de leitura para o tipo de bloco selecionado

Para determinar o tempo de corrida do protocolo, selecione o tipo de bloco pretendido e o modo de leitura.

### Como selecionar o tipo de bloco e o modo de leitura

- ▶ Na janela do Protocol Editor (Editor de protocolo), selecione Tools (Ferramentas) > Run time Calculator (Calculadora do tempo de corrida) e escolha o tipo de placa e o modo de leitura apropriados na lista suspensa exibida.

## Ajustar a temperatura da tampa

O CFX Maestro Dx SE define as temperaturas predefinidas da tampa como segue:

- instrumentos de 96 poços e poços profundos — 105,0 °C
- Instrumentos de 384 poços — 95,0 °C

É possível alterar as configurações predefinidas ou desligar o aquecedor da tampa conforme necessário para o protocolo.

### Como ajustar a temperatura da tampa

1. Na janela Plate Editor (Editor de placa), selecione Settings (Configurações) > Lid Settings (Configurações da tampa).  
É exibida a caixa de diálogo Lid Settings (Configurações da tampa).
2. Execute uma das seguintes opções:
  - Selecione User Defined (Definido pelo utilizador) e insira um valor de temperatura na caixa de texto.
  - Selecione Turn Off Lid Heater (Desligar o aquecedor de tampa).
3. Clique em OK para aceitar as alterações e fechar a caixa de diálogo



## Definir o volume de amostra

Como predefinição, o CFX Maestro Dx SE define o volume de amostra para cada poço para 25 µl. Os volumes de amostra diferem dependendo do tipo de bloco, por exemplo:

- 0 a 50 µl para um bloco de 96 poços
- 0 a 30 µl para um bloco de 384 poços

O instrumento usa um de dois modos de controlo de temperatura para determinar quando a amostra atinge a temperatura alvo num protocolo:

- **Calculated mode** (Modo calculado) — quando o volume da amostra é ajustado para um volume diferente de zero apropriado para o bloco, o instrumento calcula a temperatura da amostra com base no volume da amostra. Este é o modo padrão.
- **Block mode** (Modo de bloco) — quando o volume da amostra é ajustado para zero (0) µl, o instrumento regista a temperatura da amostra como a mesma do que a temperatura medida no bloco.

### Como definir o volume de amostra para um bloco específico

- ▶ Na janela do Plate Editor (Editor de placa), digite o valor correto na caixa de texto Sample Volume (Volume de amostra) na barra de ferramentas.

**Dica:** é possível alterar o volume de amostra predefinido na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador). Consulte [Alterar as configurações predefinidas dos ficheiros na página 90](#).

## Adicionar etapas a um protocolo

### Como adicionar etapas a um protocolo

1. Abra o protocolo na janela Protocol Editor (Editor de protocolo).
2. Determine onde inserir a nova etapa. Na barra de ferramentas, selecione Before (Antes) ou After (Depois) na lista suspensa Step (Etapa).
3. No gráfico, selecione a etapa antes ou depois da qual pretende inserir a nova etapa.
4. No painel esquerdo, clique em Insert Step (Inserir etapa).
5. Para alterar a temperatura ou o tempo de espera, clique no valor predefinido do gráfico ou no esquema do protocolo e insira um novo valor.
6. (Opcional) No painel esquerdo, clique em Step Options (Opções de etapa) para exibir a caixa de diálogo Step Options (Opções de etapa) e modifique as opções disponíveis para a etapa selecionada.

**Dica:** é possível aceder à caixa de diálogo Step Options (Opções de etapa) no menu do botão direito no painel de gráfico ou no painel de esquema do protocolo.

7. Clique em OK e, em seguida, clique em Yes (Sim) para guardar as alterações do protocolo.

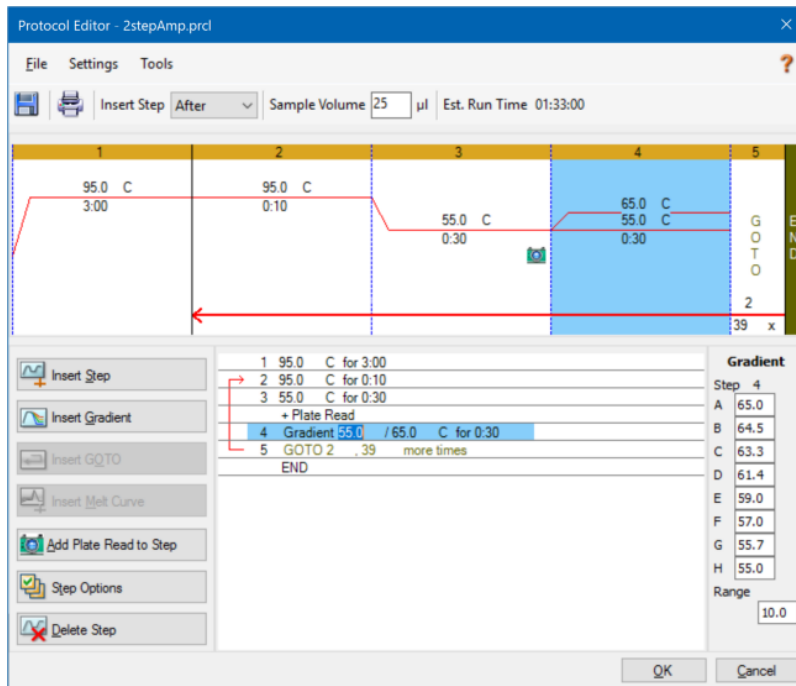
É exibida a caixa de diálogo Save As (Guardar como).

8. Na caixa de diálogo Save As (Guardar como), insira um nome para o novo ficheiro de protocolo e clique em Save (Guardar).

## Inserir uma etapa de gradiente

### Como inserir uma etapa de gradiente

1. Verifique se o tamanho de placa para o gradiente é o mesmo do tipo de bloco do instrumento, 96 poços, 384 poços ou poços profundos.
2. Se ainda não tiver sido feito, selecione o tamanho da placa para o gradiente:  
Selecione Tools (Ferramentas) > Gradient Calculator (Calculadora de gradiente) e escolha o tipo de poço apropriado da lista suspensa.
3. Na barra de ferramentas, selecione Before (Antes) ou After (Depois) na lista suspensa Insert Step (Inserir etapa).
4. No painel de gráfico ou de esquema, selecione a etapa antes ou depois da qual pretende inserir a etapa de gradiente.
5. No painel esquerdo, clique em Insert Gradient (Inserir gradiente). A nova etapa de gradiente é destacada no painel de gráfico e de esquema, por exemplo:



A temperatura de cada linha do gradiente aparece na tabela Gradient (Gradiente) no painel da direita.

- Para editar o intervalo de temperatura do gradiente, execute uma das seguintes opções:
  - Clique na temperatura predefinida no painel de gráfico ou de esquema e insira uma nova temperatura.
  - Clique em Step Options (Opções de etapa) para inserir o intervalo de gradiente na janela Step Options (Opções de etapa).
  - Altere o valor de Range (Intervalo) na tabela Gradient (Gradiente).
- Para editar o tempo de espera, clique no tempo predefinido na vista de gráfico ou texto e insira um novo tempo.
- Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar as alterações.

## Inserir a etapa GOTO (IR PARA)

**Observação:** não é possível inserir uma etapa GOTO (IR PARA) dentro de um conjunto GOTO (IR PARA); não é possível criar loops GOTO (IR PARA) aninhados.

### Como inserir a etapa GOTO (IR PARA)

1. Na barra de ferramentas, selecione Before (Antes) ou After (Depois) na lista suspensa Insert Step (Inserir etapa).
2. No gráfico, selecione a etapa antes ou depois da qual pretende inserir a etapa GOTO (IR PARA).
3. No painel esquerdo, clique em Insert GOTO (Inserir IR PARA).
4. Para editar o número da etapa GOTO (IR PARA) ou o número de repetições GOTO (IR PARA), selecione o número predefinido no painel gráfico ou de esquema e insira um novo valor.
5. Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar as alterações.

### Inserir uma etapa Melt Curve (Curva de fusão)

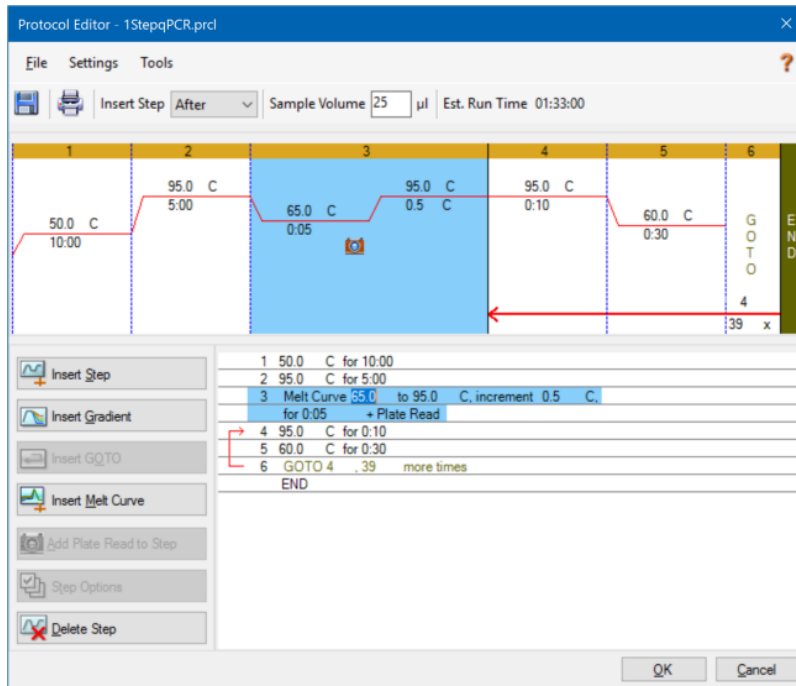
**Dica:** não é possível inserir uma etapa de curva de fusão dentro de um loop GOTO (IR PARA).

**Observação:** A etapa de curva de fusão inclui uma retenção de 30 seg no início da etapa que não é mostrada no protocolo.

### Como inserir uma etapa de curva de fusão

1. Na barra de ferramentas, selecione Before (Antes) ou After (Depois) na lista suspensa Insert Step (Inserir etapa).
2. No gráfico, selecione a etapa antes ou depois da qual pretende inserir a etapa de curva de fusão.

- No painel esquerdo, clique em Insert Melt Curve (Inserir curva de fusão). A nova etapa de curva de fusão é destacada no painel de gráfico e de esquema, por exemplo:



- Para editar o intervalo de temperatura ou tempo de incremento da fusão, selecione o número predefinido no painel de gráfico ou de esquema e insira um novo valor.
- Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar as alterações.

## Adicionar ou remover uma etapa de leitura de placa

**Dica:** depois de adicionar um comando de leitura de placa a uma etapa, o botão será mudado para Remove Plate Read (Remover leitura de placa) ao selecionar a etapa.

### Como adicionar uma leitura de placa a uma etapa

1. Na barra de ferramentas, selecione Before (Antes) ou After (Depois) na lista suspensa Insert Step (Inserir etapa).
2. No gráfico, selecione a etapa antes ou depois da qual pretende inserir a etapa de leitura de placa.
3. No painel da esquerda, clique em Add Plate Read to Step (Adicionar leitura de placa à etapa) para adicionar uma leitura de placa à etapa selecionada.
4. Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar as alterações.

### Como remover uma leitura de placa de uma etapa

- ▶ No gráfico, selecione a etapa contendo a leitura de placa e clique em Remove Plate Read (Remover leitura de placa) no painel da esquerda.

## Alterar as Step Options (Opções de etapa)

### Como alterar as Step Options (opções de etapa) para uma etapa selecionada

1. Selecione a etapa desejada no painel de gráfico ou de esquema.
2. No painel esquerdo, clique em Step Options (Opções de etapa) para abrir a caixa de diálogo Step Options (Opções de etapa).  
  
Como alternativa, clique com o botão direito do rato na etapa desejada no painel e selecione Step Options (Opções de etapa).
3. Para adicionar, modificar ou remover opções:
  - Insira um valor na caixa de texto apropriada.
  - Edite um valor na caixa de texto específica.
  - Marque ou desmarque uma caixa de seleção.
4. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo Step Options (Opções de etapa).
5. Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar o protocolo.

## Eliminar uma etapa

**Importante:** não é possível anular esta função. Tenha cuidado ao eliminar etapas.

### Como eliminar uma etapa no protocolo

1. Selecione a etapa no painel de gráfico ou de esquema.
2. No painel da esquerda, clique em Delete Step (Eliminar etapa) para eliminar a etapa selecionada.
3. Clique em OK e em Yes (Sim) para guardar o protocolo.

## Copiar, exportar ou imprimir um protocolo

### Como copiar um protocolo

- ▶ Clique com o botão direito do rato no esquema do protocolo e selecione Copy Protocol (Copiar protocolo)

É possível colar o esquema num ficheiro .txt, .xls, .doc, ou .ppt.

### Como exportar um protocolo

1. Clique com o botão direito do rato no esquema do protocolo e selecione Export Protocol (Exportar protocolo)

É exibida a caixa de diálogo Save As (Guardar como).

2. (Opcional) No Windows Explorer, navegue até uma pasta na qual guardar o ficheiro do protocolo.
3. Em File Name (Nome do ficheiro), insira um nome para o ficheiro de protocolo exportado.
4. Clique em Save (Guardar).

### Como imprimir um protocolo

- ▶ Clique com o botão direito do rato no esquema do protocolo e selecione Print (Imprimir)

É possível imprimir o esquema do protocolo na impressora predefinida.

## Criar um protocolo com o Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo)

**Importante:** a Bio-Rad não garante que a corrida de um protocolo criado com o Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo) resultará sempre num produto PCR.

O Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo) do CFX Maestro Dx SE gera automaticamente protocolos de ciclagem com base nos seguintes parâmetros de entrada:

- **Amplicon length** (Comprimento do amplicon) — o comprimento esperado do produto PCR
- **Annealing temperature** (Temperatura de hibridação) — a  $T_a$  da reação para os iniciadores que estão a ser usados  
  
Se a  $T_a$  for desconhecida, será possível usar a calculadora de  $T_a$  para a calcular automaticamente com base na sequência de iniciadores utilizada.  
  
**Observação:** a  $T_a$  é ajustada a partir da informação da temperatura de fusão do iniciador ( $T_m$ ), que é baseada na enzima selecionada e na velocidade do protocolo.
- **Enzyme type** (Tipo de enzima) — a enzima DNA polimerase (DNA polimerase iTaq, iProof ou outra)  
  
Se usar uma enzima diferente de DNA polimerase iTaq ou iProof, poderá inserir informações adicionais, incluindo o intervalo de gradiente, o tempo de ativação de início a quente (em segundos) e o tempo de extensão final (em segundos).
- **Run speed** (Velocidade da corrida) — a velocidade da reação (standard (padrão), fast (rápida) ou ultrafast (ultrarrápida))

O Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo) otimiza o protocolo, dependendo da configuração de velocidade selecionada. O tempo total da corrida é determinado pelo número de etapas e ciclos, o tempo de incubação em cada etapa e o tempo necessário para atingir a uniformidade na temperatura desejada.

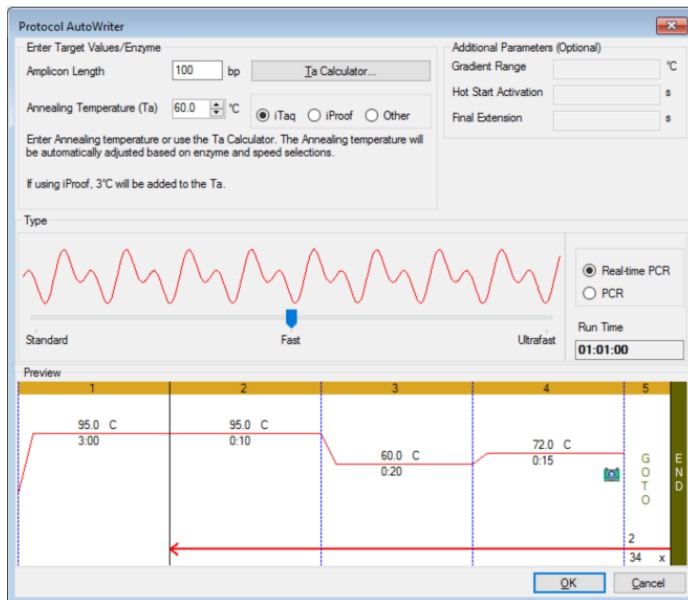
Usando parâmetros inseridos e diretrizes padrão de PCR, o Protocolo AutoWriter (Gerador automático de protocolo) gera automaticamente um protocolo de PCR personalizado com etapas de início a quente, desnaturação inicial, hibridação e extensão. É possível, então, visualizar uma representação gráfica do protocolo sugerido e editar, executar ou guardar o protocolo.



## Como criar um protocolo usando o Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo) do CFX Maestro Dx SE

1. Na janela Home (Início), selecione Tools (Ferramentas) > Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo).

É exibida a caixa de diálogo Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo).



2. Na secção Enter Target Values/Enzyme (Inserir Valores/Enzimas de alvo), execute uma das opções a seguir:

- Insira Annealing temperature (Temperatura de hibridação) ( $T_a$ ) para os iniciadores sendo usados, se conhecida.

**Dica:** consulte [Usar a Ta Calculator \(Calculadora de Ta\)](#) na página 128 para obter mais informações.

**Observação:** para obter informações sobre os cálculos usados na  $T_a$  Calculator (Calculadora de Ta), consulte Breslauer et al. 1986.

- Insira o Amplicon Length (Comprimento do amplicon) em pares de bases (bp).
- Selecione um tipo de enzima a partir da lista de opções (iTaq DNA polymerase (DNA polimerase iTaq), iProof DNA polymerase (DNA polimerase iProof) ou Other (Outra)).

**Dica:** Se selecionar Other (Outra) como o tipo de enzima, os parâmetros na secção Additional Parameters (Optional) (Parâmetros Adicionais (Opcional)) serão ativados.

3. Se selecionou Other (Outra) como o tipo de enzima, será possível adicionar um ou todos os parâmetros a seguir ao protocolo:
  - Gradient range (Intervalo do gradiente)
  - Hot start activation temperature (Temperatura de ativação de início a quente)
  - Final extension time (Tempo de extensão final)
4. Na secção Type (Tipo), mova a barra deslizante para selecionar uma velocidade de protocolo (Standard (Padrão), Fast (Rápida) ou Ultrafast (Ultrarrápida)). O CFX Maestro Dx SE ajusta o tempo de corrida total.
5. Selecione o tipo de PCR para execução (Real-time PCR (PCR em tempo real) é a predefinição).  
Com o Real-time PCR (PCR em tempo real), o CFX Maestro Dx SE adiciona uma etapa de leitura de placa para recolher dados de fluorescência.
6. Na secção Preview (Pré-visualização), reveja o protocolo. É possível fazer alterações, se necessário.
7. Execute uma das seguintes opções:
  - Clique em OK para guardar o novo protocolo. Depois de guardado, o protocolo é aberto no Startup Wizard (Assistente de arranque). Clique em Edit Selected (Editar selecionado) para fazer qualquer alteração ao protocolo. Por exemplo, pode precisar de alterar a temperatura da tampa e o volume da amostra.
  - Clique em Cancel (Cancelar) para fechar a janela sem guardar o protocolo.

## Usar a $T_a$ Calculator (Calculadora de $T_a$ )

Quando a temperatura de hibridação para o iniciador é desconhecida, é possível usar a  $T_a$  Calculator (Calculadora de  $T_a$ ) para calcular o valor. É possível usar o valor no Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo) ou no Protocol Editor (Editor de protocolo) para criar o seu protocolo.

### Sobre a $T_a$ Calculator (Calculadora de $T_a$ )

A  $T_a$  Calculator (Calculadora de  $T_a$ ) calcula o valor  $T_m$  para cada iniciador, além do valor  $T_a$  para o protocolo na velocidade padrão.

O  $T_a$  para o protocolo é baseado nos valores médios  $T_m$  dos iniciadores com as seguintes regras aplicadas:

- Se a diferença entre os valores  $T_m$  do iniciador for  $>4$  °C, a  $T_a = (\text{menor dos dois valores } T_m \text{ do iniciador} + 2) - 4$  °C

- Se a diferença entre os valores  $T_m$  for  $\leq 4$  °C, a  $T_a = (\text{média dos valores do } T_m) - 4$  °C

### Método de contagem de pares de bases

Para cada iniciador, a  $T_a$  Calculator (Calculadora de Ta) usa o método de contagem de pares de bases para sequências de 14 pares de bases (pb) ou menos.

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

em que w, x, y e z são os números das bases A, T, G e C na sequência, respetivamente.

### Método do “vizinho mais próximo”

Para sequências mais longas do que 14 bp, é usado o método de “vizinho mais próximo”. No método de “vizinho mais próximo”, os cálculos de temperatura de fusão são baseados na relação termodinâmica entre entropia (ordem ou uma medida da aleatoriedade do oligonucleotídeo), entalpia (calor libertado ou absorvido pelo oligonucleotídeo), energia livre e temperatura.

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

em que:

- $\Delta H$  = Valor de entalpia, Cal/Mole\*K
- T = temperatura, Kelvin
- $\Delta S$  = Valor de entropia, Cal/Mol\*K
- $\Delta G$  = Energia livre de Gibbs em Cal/Mol\*K

As mudanças na entropia e na entalpia são calculadas diretamente pela soma dos valores para os pares de nucleótidos mostrados na [Tabela 8](#) (Breslauer et al. 1986).

A relação entre a energia livre e a concentração dos reagentes e produtos em equilíbrio é dada por:

$$\Delta G = R * T * \ln((\text{DNA} * \text{Iniciador}) / (\text{DNA} + \text{Iniciador}))$$

onde R é a constante do gás (1,986 Cal/Mol\*K).

Substituir G nas duas equações e solucionar T resulta em

$$T = \Delta H / (\Delta S + R * \ln((\text{DNA} * \text{Iniciador}) / (\text{DNA} + \text{Iniciador})))$$

supondo que as concentrações de DNA e complexo DNA-iniciador sejam iguais.

Foi determinado empiricamente que há uma alteração de 5 kcal de energia livre (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996) durante a transição de DNA de linhagem individual para o DNA da forma B. Isto é presumivelmente a energia de iniciação da hélice. Por fim, adicionar um ajuste para sal resulta na equação que a calculadora de  $T_a$  usa:

$$T = (\Delta H - 5(\text{KCal/K*Mol})) / (\Delta S + (R * \ln(1/(\text{iniciador})))) + 16,6 \log_{10}(\text{Molaridade do sal})$$

Não é necessária a constante de ajuste para a concentração do sal, uma vez que os vários parâmetros foram determinados em 1 M NaCl e o  $\log_{10}$  de 1 é zero.

Os cálculos termodinâmicos supõem que a hibridação ocorra no pH 7,0. Os cálculos de  $T_m$  supõem que as sequências não sejam simétricas e contenham pelo menos um G ou C.

A sequência do oligonucleotídeo deve ter pelo menos 14 bases de comprimento para resultar em valores de  $T_m$  razoáveis. Menos de 14 bases usam o método de contagem de pares de bases (consulte a [Tabela 8](#) a seguir).

**Tabela 8. Constantes de interação de Breslauer**

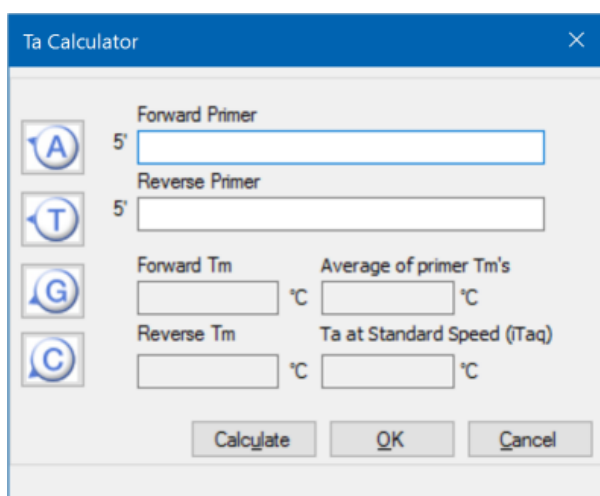
Interação		$\Delta H$	$\Delta S$	$\Delta G$
AA	TT	9,1	24	1,5
AT	TA	8,6	23,9	1,5
AC	TG	6,5	17,3	1,3
AG	TC	7,8	20,8	1,6
TA	AT	6	16,9	0,9
TT	AA	9,1	24	1,9
TC	AG	5,6	13,5	1,6
TG	AC	5,8	12,9	1,9
CA	GT	5,8	12,9	1,9
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3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

## Usar a T<sub>a</sub> Calculator (Calculadora de Ta)

### Como usar a T<sub>a</sub> Calculator (Calculadora de Ta)

1. Para abrir a T<sub>a</sub> Calculator (Calculadora de Ta), execute uma das seguintes opções:
  - Se estiver no Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo), clique em T<sub>a</sub> Calculator (Calculadora de Ta).
  - Na janela Home (Início), selecione Tools (Ferramentas) > T<sub>a</sub> Calculator (Calculadora de Ta).

É exibida a caixa de diálogo T<sub>a</sub> Calculator (Calculadora de Ta).



2. Na caixa de texto Forward Primer (Iniciador direto), digite ou cole a sequência de iniciador direto.  
**Dica:** também é possível usar os botões A, T, G, C no lado esquerdo da caixa de diálogo para inserir a sequência.
3. Digite ou cole a sequência do iniciador reverso na caixa de texto Reverse Primer (Iniciador reverso).
4. Clique em Calculate (Calcular).

A  $T_a$  Calculator (Calculadora de  $T_a$ ) calcula e exibe o  $T_m$  de cada iniciador e os valores médios de  $T_m$  e  $T_a$ , por exemplo:

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

Se os valores  $T_m$  do iniciador tiverem mais de 4 °C de distância, o Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo) usa o valor mais baixo  $T_a$  do iniciador + 2 °C como base para cálculo do valor de  $T_a$ , que pode ser modificado ainda mais alterando a enzima e a velocidade de reação.

A  $T_a$  Calculator (Calculadora de  $T_a$ ) gera uma temperatura de hibridação para a velocidade padrão com a polimerase de DNA iTaq. Ao usar uma enzima diferente, as configurações de velocidade ajustam automaticamente o  $T_a$ .

5. Execute uma das seguintes opções:
  - Se a  $T_a$  Calculator (Calculadora de  $T_a$ ) tiver sido aberta pelo Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo), clique em OK. Voltará ao Protocol AutoWriter (Gerador automático de protocolo). A temperatura de hibridação é modificada automaticamente.
  - Se a  $T_a$  Calculator (Calculadora de  $T_a$ ) tiver sido aberta a partir do menu Tools (Ferramentas), grave os cálculos e clique em Cancel (Cancelar) para fechar a calculadora.

## Capítulo 8 Preparar placas

Um ficheiro de placa contém informações sobre parâmetros da corrida, como o modo de leitura, os fluoróforos e o conteúdo dos poços. Após a corrida, o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) associa o conteúdo dos poços aos dados de fluorescência recolhidos durante a corrida e aplica a análise apropriada na janela Data Analysis (Análise de dados). Por exemplo, poços carregados com o tipo de amostra padrão são usados para gerar uma curva padrão.

O CFX Maestro Dx SE oferece duas opções para criar placas: o Plate Editor (Editor de placa) para corridas de PCR em tempo real e o Setup Wizard (Assistente de configuração) para análise de expressão génica normalizada.

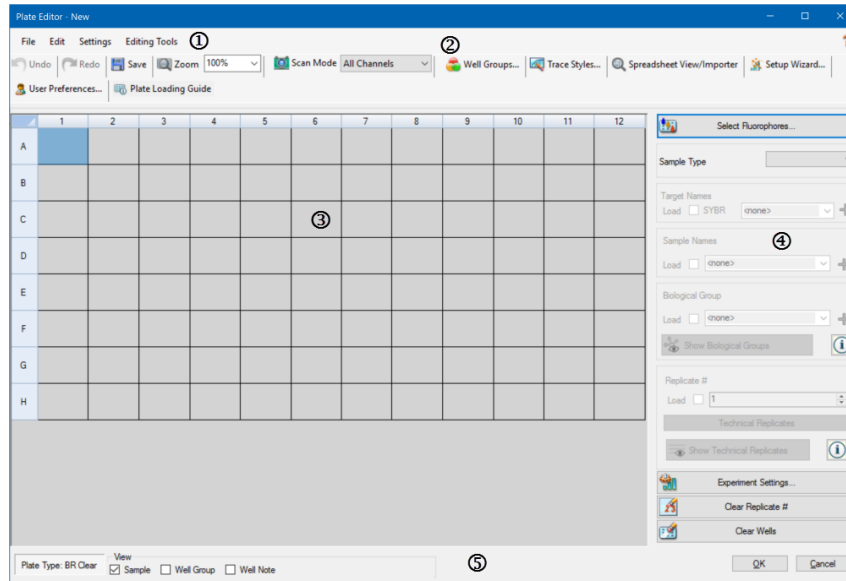
O Plate Editor (Editor de placa) inclui as seguintes funcionalidades:

- Fluoróforos padrão e tipos de amostras para atribuir a poços de placa
- Capacidade de configurar o alvo de referência e a amostra de controlo para análise de expressão génica
- Capacidade de editar a configuração da placa antes, durante ou depois de uma corrida
- Capacidade de guardar ficheiros de placa para reutilização
- Capacidade de imprimir o ficheiro de placa numa impressora predefinida

O Setup Wizard (Assistente de configuração) proporciona orientação na criação de um layout de placa para análise de expressão génica normalizada. É possível usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) antes, durante ou depois de uma corrida.

## Janela do Plate Editor (Editor de placa)

Use o Plate Editor (Editor de placa) para criar placas personalizadas ou modificar placas existentes.



### LEGENDA

1. A barra de menus proporciona acesso rápido aos comandos do menu File (Ficheiro) e Settings (Configurações), bem como às opções de ferramentas de edição de placas.
2. A barra de ferramentas proporciona acesso rápido a funções importantes de carregamento de placas.
3. O painel principal exibe o esquema da placa e as opções da placa à medida que são aplicadas.
4. O painel direito exibe as opções usadas para personalizar a placa.
5. O painel inferior exibe o tipo de placa e proporciona acesso rápido às opções de visualização.

## Comandos do menu File (Ficheiro)

**Save** (Guardar) — guarda o ficheiro de dados da placa na localização especificada no separador File (Ficheiro) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador). Consulte [Alterar as configurações predefinidas dos ficheiros na página 90](#) para obter mais informações. Este item de menu está disponível somente ao criar um ficheiro de placa.



**Save As** (Guardar como) — Guarda o ficheiro de dados de placa aberto com um novo nome fornecido pelo utilizador. Este item de menu está disponível somente ao criar um ficheiro de placa.

**File Passwords** (Palavras-passe de ficheiros) — permite que os utilizadores definam palavras-passe para guardar e abrir os ficheiros.

**Extract Plate** (Extrair placa) — abre uma caixa de diálogo na qual é possível extrair/guardar o ficheiro de placa (.pltd). Este item de menu está disponível somente ao visualizar ou editar um ficheiro de placa existente.

**Print** (Imprimir) — imprime o ficheiro de dados de placa aberto.

**Close** (Fechar) — fecha o Plate Editor (Editor de placa).

## Comandos do menu Edit (Editar)

**Undo** (Anular) — reverte uma alteração para um ficheiro de placa até que a placa seja guardada.

**Redo** (Refazer) — inverte a ação Undo (Anular) mais recente, a menos que o ficheiro de placa tenha sido guardado.

## Comandos do menu Settings (Configurações)

**Plate Size** (Tamanho da placa) — abre uma caixa de diálogo a partir da qual é possível selecionar um tamanho de placa para a corrida.

**Observação:** o tamanho da placa deve ser o mesmo que o tamanho do bloco no instrumento no qual a corrida é executada.

### Escolher 96-poços para:

- CFX Opus 96 Dx
- CFX Opus Deepwell Dx

### Escolher 384 poços para:

- CFX Opus 384Dx

**Plate Type** (Tipo de placa) — permite que escolha o tipo de poços na placa que contém as amostras, BR White (BR branco) ou BR Clear (BR transparente). Para uma análise de dados precisa, o tipo de placa selecionado deve ser o mesmo que o tipo de placa usado na corrida.

**Observação:** deve-se calibrar os novos tipos de placa. Consulte [Calibrar novos corantes na página 82](#) para obter mais informações.

**Number Convention** (Convenção de números) — permite que marque ou desmarque a opção para exibir unidades em notação científica. Como predefinição, as unidades são exibidas em notação científica.

**Units** (Unidades) — permite que escolha as unidades a serem exibidas nas folhas de cálculo ao realizar a quantificação de incógnitas versus uma curva padrão.

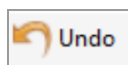
## Comandos do menu Editing Tools (Ferramentas de edição)

**Setup Wizard** (Assistente de configuração) — abre o Setup Wizard (Assistente de configuração), no qual é possível definir o layout e os parâmetros de análise para a placa atual. É possível usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) antes, durante ou depois de uma corrida ser concluída.

**Spreadsheet View/Importer** (Ver/importar folha de cálculo) — abre a caixa de diálogo View (Visualizar), que exibe o layout da placa como um modelo em formato de folha de cálculo. É possível usar esta caixa de diálogo para exportar ou importar dados de modelo de placa no formato .csv.

**Flip Plate** (Inverter placa) — inverte o conteúdo da placa em 180°.

## Comandos da Toolbar (Barra de ferramentas)



Undo

Reverte uma alteração para uma placa. O CFX Maestro Dx SE permite anular até dez ações



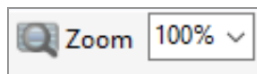
Redo

Reverte a ação Undo (Anular) mais recente. O CFX Maestro Dx SE permite refazer até dez ações.



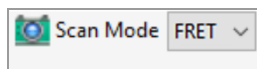
Save

Guarda o ficheiro de placa atual.



Zoom 100% ▾

Exibe uma lista suspensa na qual é possível aumentar ou reduzir a ampliação da vista de placa.



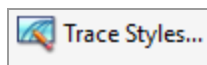
Scan Mode FRET ▾

Exibe uma lista suspensa a partir da qual é possível selecionar um modo de leitura, que indica ao instrumento de quais canais deve recolher os dados de fluorescência durante uma corrida.



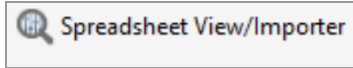
Well Groups...

Abre o Well Groups Manager (Gestor de grupos de poços), que pode ser usado para criar grupos de poços para a placa atual.

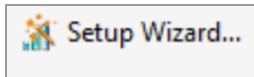


Trace Styles...

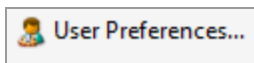
Exibe uma caixa de diálogo na qual é possível selecionar as cores e os símbolos para os traçados de amplificação.



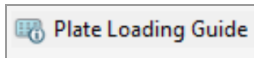
Abre a caixa de diálogo View (Visualizar), que exibe o layout da placa como um modelo em formato de folha de cálculo. É possível usar esta caixa de diálogo para exportar ou importar dados de modelo de placa no formato .csv.



Abre o Setup Wizard (Assistente de configuração), no qual é possível definir o layout e os parâmetros de análise para a placa atual. É possível usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) antes, durante ou depois de uma corrida.



Abre o separador Plate (Placa) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador), onde é possível definir parâmetros de layout de placa e criar ou eliminar nomes de alvo, amostra e grupo biológico. As alterações feitas no separador Plate (Placa) estarão disponíveis na próxima vez que o Plate Editor (Editor de placa) for aberto.



Exibe as etapas necessárias para configurar uma placa e carregar os poços.

## Criar um ficheiro de placa usando o Plate Editor (Editor de placa)

Usando o Plate Editor (Editor de placa), é possível criar ficheiros de placa personalizados. Também é possível editar e guardar ficheiros de placas guardados anteriormente ou ficheiros de placas de amostra enviados com o Sistema CFX Opus Dx.

Para criar um ficheiro de placa, faça o seguinte:

- Abra um ficheiro de placa no Plate Editor (Editor de placa).

- Selecione o tipo de placa.

**Observação:** o tipo de placa para o ficheiro de placa deve ser o mesmo que a placa no módulo de reação.

- Selecione o modo de leitura a usar no protocolo.
- Selecione os fluoróforos a usar na placa.
- Selecione o tipo de amostra, alvos e amostras.
- Selecione as réplicas técnicas, se apropriado.
- Guarde o layout da placa.

**Dica:** para criar uma placa a partir de uma placa guardada anteriormente ou de um modelo de ficheiro de placa, consulte [Abrir um ficheiro de placa existente no Plate Editor \(Editor de placa\) na página 140](#).

## Abrir um novo ficheiro de placa no Plate Editor (Editor de placa)

O CFX Maestro Dx SE oferece várias opções para abrir um novo ficheiro de placa:

- A partir da janela Home (Início)
- A partir da caixa de diálogo Startup Wizard (Assistente de arranque)
- A partir da caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida)

### Como abrir um novo ficheiro de placa a partir da janela Home (Início)

- ▶ Selecione File (Ficheiro) > New (Novo) > Plate (Placa).

A janela Plate Editor (Editor de placa) abre exibindo a ficheiro de placa predefinido para o instrumento selecionado.

**Dica:** para obter informações sobre como configurar o ficheiro de placa predefinido, consulte [Alterar as configurações predefinidas dos ficheiros na página 90](#).

### Como abrir um novo ficheiro de placa a partir do Startup Wizard (Assistente de arranque)

1. Na janela Home (Início), execute uma das seguintes opções para abrir o Startup Wizard (Assistente de arranque), se não estiver à vista:

- Selecione View (Visualizar) > Startup Wizard (Assistente de arranque).
- Clique em Startup Wizard (Assistente de arranque) na barra de ferramentas.

2. Se necessário, selecione o tipo de instrumento na lista suspensa.
3. Para criar uma placa, clique em User-defined (Definido pelo utilizador) como o tipo de corrida.

A caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida) abre exibindo o separador Protocol (Protocolo).

4. Clique no separador Plate (Placa) e em Create New (Criar).

A janela Plate Editor (Editor de placa) abre exibindo o layout da placa predefinido para o instrumento selecionado.

### Como abrir um novo ficheiro de placa na caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida)

1. Na janela Home (Início), execute uma das seguintes opções para abrir a caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida):

- Selecione Run (Corrida) > User-defined Run (Corrida definida pelo utilizador).
- Clique em User-defined Run Setup (Configuração da corrida definida pelo utilizador) na barra de ferramentas.

É exibida a caixa de diálogo Run Setup (Configuração da corrida) no separador Protocol (Protocolo).

2. Para criar uma placa, clique no separador Plate (Placa) e clique em Create New (Criar).

A janela Plate Editor (Editor de placa) abre exibindo o layout da placa predefinido para o instrumento selecionado.

## Abrir um ficheiro de placa existente no Plate Editor (Editor de placa)

O CFX Maestro Dx SE fornece ficheiros de placa de amostra que é possível editar e guardar como uma nova placa. Também é possível criar um ficheiro de placa a partir de um ficheiro de placa anteriormente guardado.

### Como abrir um ficheiro de placa de amostra

1. Na janela Home (Início), selecione File (Ficheiro) > Open (Abrir) > Plate (Placa).

O Windows Explorer abre a localização da pasta de ficheiros Sample (Amostra) do Sistema CFX Opus Dx.

2. Abra a pasta de ficheiros Sample (Amostra) e abra a pasta Plates (Placas).
3. Selecione um ficheiro de placa e clique em Open (Abrir).

O ficheiro da placa de amostra é aberto na janela Plate Editor (Editor de placa).

4. Selecione File (Ficheiro) > Save As (Guardar como) e guarde o ficheiro de placa com um novo nome ou numa nova pasta.

### Como abrir um ficheiro de placa previamente guardado

1. Na janela Home (Início), execute uma das seguintes opções:

- Selecione File (Ficheiro) > Open (Abrir) > Plate (Placa), navegue, selecione a placa pretendida e clique em Open (Abrir).
- Abra o Startup Wizard (Assistente de arranque) e execute uma das seguintes opções:
  - Para editar um ficheiro de placa existente, clique em Select Existing (Selecionar existente) e navegue até ao ficheiro pretendido.
  - Para editar o ficheiro de placa exibido, clique em Edit Selected (Editar selecionado).

A placa pretendida é aberta na janela Plate Editor (Editor de placa).

2. Selecione File (Ficheiro) > Save As (Guardar como) e guarde o ficheiro de placa com um novo nome ou numa nova pasta.

## Configurar um novo ficheiro de placa

**Dica:** se o ficheiro da placa incluir os parâmetros necessários (por exemplo, se estiver a editar uma amostra ou um ficheiro de placa existente), poderá ignorar esta secção. Continue com [Atribuir parâmetros opcionais ao Plate File \(Ficheiro de placa\) na página 149](#).

Os novos ficheiros de placa requerem os seguintes parâmetros:

- Plate Size (Tamanho da placa)
- Plate Type (Tipo de placa)
- Scan mode (Modo de leitura)
- One fluorophore (Um fluoróforo) (corante)
- One sample type (Um tipo de amostra)

### Selecionar o tamanho e tipo de placa

**Importante:** é necessário selecionar um tamanho de placa durante a configuração de placa. Não é possível alterar o tamanho da placa durante a corrida ou depois dela.

O software aplica o tamanho e tipo de placa a todos os poços durante a corrida. Certifique-se de que o tamanho de placa selecionado é o mesmo da placa que será usada na corrida.

Os sistemas Bio-Rad CFX Opus Dx são calibrados de fábrica para muitas combinações de corantes fluorescentes e placas. A calibração é específica para o instrumento, corante e tipo de placa. Certifique-se de que o fluoróforo que tenciona usar está calibrado para o tipo de placa selecionado.

**Dica:** para calibrar uma nova combinação de corante e tipo de placa num instrumento, selecione Tools (Ferramentas) > Dye Calibration Wizard (Assistente de calibração de corante). Para obter mais informações sobre calibração de corantes e tipos de placa, consulte [Calibrar novos corantes na página 82](#).

### Selecionar o modo de leitura

Os sistemas CFX Opus 96 Dx e CFX Opus Deepwell Dx excitam e detetam fluoróforos em cinco canais (mais FRET). O sistema CFX Opus 384 Dx excita e deteta fluoróforos em quatro canais (mais FRET). Todos os sistemas usam vários modos de leitura de aquisição de dados para recolher dados de fluorescência durante uma corrida.

O CFX Maestro Dx SE fornece três modos de leitura:

- All Channels (Todos os canais)
  - Analisa os canais 1 a 5 nos sistemas CFX Opus 96 Dx e CFX Opus Deepwell Dx
  - Analisa os canais 1 a 4 nos sistemas CFX Opus 384 Dx

- SYBR®/FAM
  - Analisa apenas o canal 1
  - Fornece uma leitura rápida
- FRET
  - Analisa apenas o canal FRET
  - Fornece uma leitura rápida

### Selecionar fluoróforos

**Importante:** antes de iniciar a execução, os sistemas CFX verificam se os fluoróforos especificados na placa estão calibrados naquele instrumento. Não é possível executar uma corrida numa placa se esta incluir fluoróforos que não foram calibrados naquele instrumento.

Deve-se carregar pelo menos um fluoróforo no layout da placa antes da corrida. É possível adicionar tantos fluoróforos quantos forem necessários neste momento, mas a placa deve conter pelo menos um fluoróforo. Os fluoróforos selecionados aparecem como opções para alvos em Target Names (Nomes de alvos).

Use a caixa de diálogo Select Fluorophores (Selecione fluoróforos) para carregar fluoróforos (ou corantes de placa) nos controlos de carga de poços do Plate Editor (Editor de placa). Os fluoróforos que aparecem na caixa de diálogo Select Fluorophores (Selecionar fluoróforos) dependem do modo de leitura selecionado:

- All Channels (Todos os canais)

São exibidos todos os fluoróforos disponíveis.

**Dica:** é possível adicionar tantos fluoróforos quantos forem necessários, mas apenas poderá carregar um fluoróforo por canal em cada poço.

- SYBR®/FAM

São exibidos apenas os fluoróforos do canal 1.

- FRET

Apenas é exibido o fluoróforo do canal 6.

**Dica:** o fluoróforo FRET do canal 6 apenas é exibido quando FRET é o modo de leitura selecionado. Não está disponível para o modo de leitura All Channels (Todos os canais).

**Observação:** não é possível adicionar fluoróforos diretamente ou removê-los da caixa de diálogo Select Fluorophore (Selecionar fluoróforo). Deve-se calibrar os novos fluoróforos num instrumento usando o Dye Calibration Wizard (Assistente de calibração de corante). Após a calibração, o novo



fluoróforo será automaticamente adicionado a esta lista. Para obter mais informações, consulte [Calibrar novos corantes na página 82](#).

## Selecionar tipos de amostra

**Importante:** deve-se carregar pelo menos um tipo de amostra para atribuir aos poços de placa antes da corrida.

O CFX Maestro Dx SE oferece cinco tipos de amostra:

- Unknown (Desconhecido)
- Standard (Padrão)
- NTC (no template control (sem controlo de modelo))
- Positive Control (Controlo positivo)
- Negative Control (Controlo negativo)
- NRT (no reverse transcriptase (sem transcriptase reversa))

Atribua os tipos de amostra aos poços de placa.

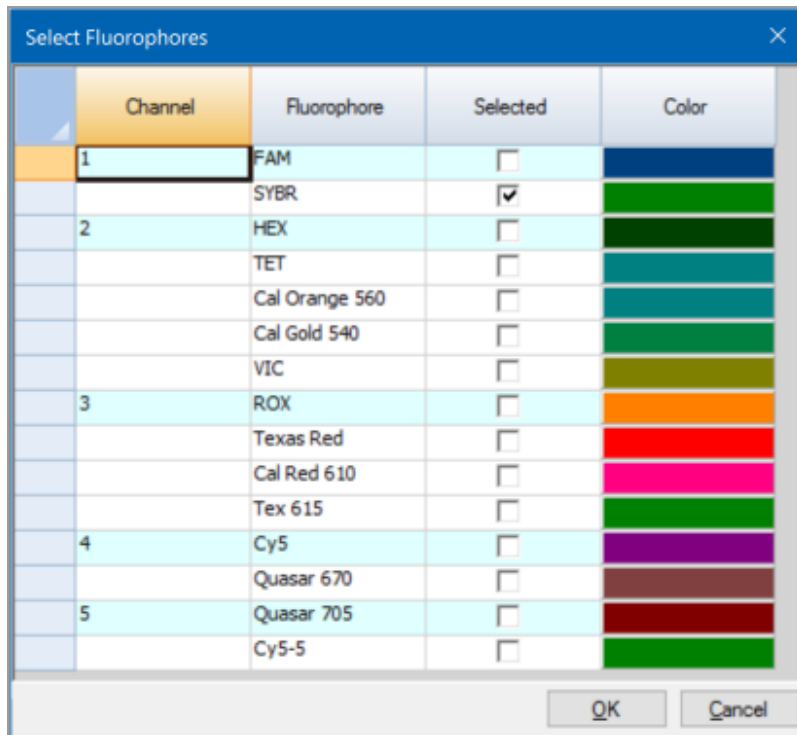
## Configurar uma nova placa

### Como configurar uma nova placa

1. Abra uma nova placa na janela Plate Editor (Editor de placa).
2. Para definir o tamanho da placa, selecione Settings (Configurações) > Plate Size (Tamanho da placa) e selecione o tamanho da placa apropriado no menu suspenso.
3. Para configurar o tipo de placa, selecione Settings (Configurações) > Plate Type (Tipo de placa) e selecione BR White (BR branco) ou BR Clear (BR transparente) no menu suspenso.
4. Opcionalmente, no menu Settings (Configurações), é possível alterar a convenção de números e as unidades de exibição:
  - Para alterar a convenção de números, selecione Settings (Configurações) > Number Convention (Convenção de números) e selecione Scientific Notation (Notação científica).  
**Dica:** A Scientific Notation (Notação científica) está selecionada como predefinição. Neste caso, selecionar Scientific Notation (Notação científica) desmarca a predefinição e define a convenção de números como formato padrão.
  - Para alterar as unidades de exibição, selecione Settings (Configurações) > Units (Unidades) e selecione um novo valor de unidade.

5. Para configurar o modo de leitura, selecione o modo de leitura apropriado na lista suspensa Scan Mode (Modo de leitura) na barra de ferramentas da janela do Plate Editor (Editor de placa).
6. Selecione os fluoróforos necessários para a placa:
  - a. No painel direito, clique em Select Fluorophores (Selecionar fluoróforos).

É exibida a caixa de diálogo Select Fluorophores (Selecionar fluoróforos). São exibidos os fluoróforos disponíveis para o tipo de modo de leitura selecionado na [Etapa 5](#), por exemplo:



- b. Para selecionar um fluoróforo, clique na caixa de seleção Selected (Selecionado).
 

**Dica:** para remover um fluoróforo da lista, desmarque a caixa de seleção Selected (Selecionado).
- c. Para alterar a cor de exibição do fluoróforo, clique na caixa Color (Cor).
 

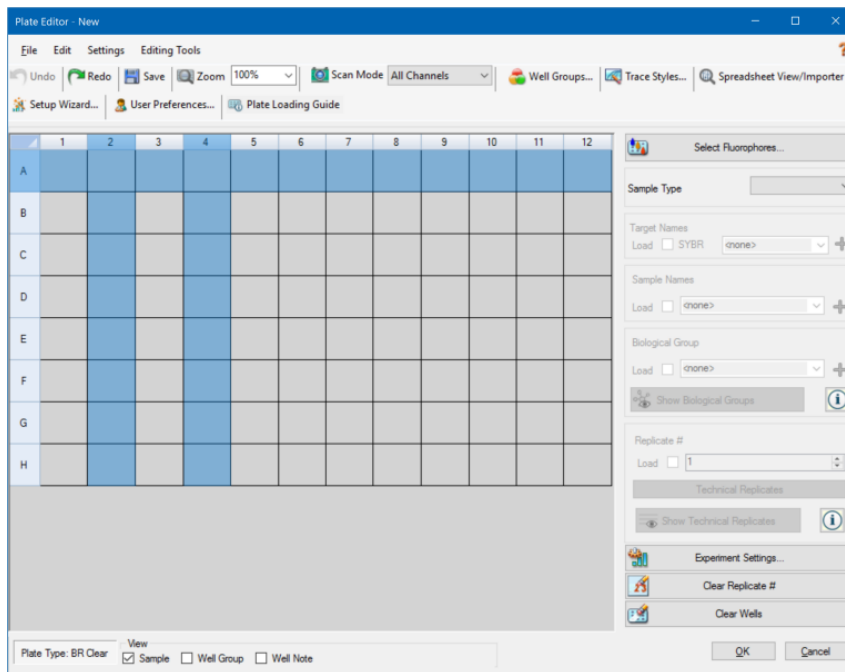
**Observação:** a cor selecionada representa o fluoróforo na janela do Plate Editor (Editor de placa) e nos gráficos Data Analysis (Análise de dados).
- d. Na caixa de diálogo Color (Cor), selecione a cor que deseja ou clique em Define Custom Colors (Definir cores personalizadas) e crie uma cor para representar o fluoróforo.

- e. Clique em OK para guardar as alterações e sair da caixa de diálogo Select Fluorophores (Selecionar fluoróforos).
7. Deve-se seleccionar ao menos um poço no qual carregar um tipo de amostra. Como predefinição, o poço A1 está seleccionado.

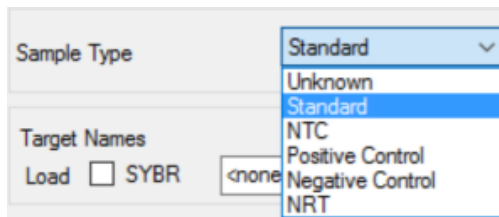
No painel de placa, execute uma das seguintes opções:

- Para carregar vários poços adjacentes, clique num poço e arraste para o poço alvo.
- Para carregar vários poços não adjacentes, mantenha pressionada a tecla Control (Ctrl) e clique em cada poço.
- Para carregar uma coluna inteira com o mesmo tipo de amostra, clique no número da coluna.
- Para carregar uma linha inteira, clique no número da linha.
- Para carregar a placa inteira, clique no canto superior esquerdo da placa.

Por exemplo:



8. Atribua um tipo de amostra ao poço ou poços selecionados no menu suspenso Sample Type (Tipo de amostra).

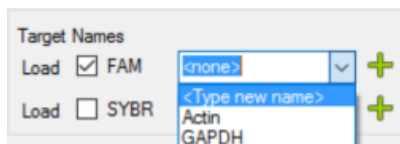


9. Atribua pelo menos um fluoróforo a todos os poços que contenham um tipo de amostra. É possível atribuir mais de um fluoróforo a um poço ou grupo de poços.

**Observação:** apenas é possível atribuir um fluoróforo por canal. Não é possível atribuir mais de um fluoróforo do mesmo canal e ao mesmo poço.

**Dica:** é possível associar um alvo ao fluoróforo ou atribuir apenas o fluoróforo ao poço neste momento e associar um alvo ao fluoróforo depois de executar a experiência.

- Para atribuir apenas um fluoróforo aos poços selecionados, na secção Target names (Nomes de alvos) no painel direito, marque a caixa de seleção Load (Carregar) para o fluoróforo específico.
- Para associar um alvo a um fluoróforo, na secção Target names (Nomes de alvos), selecione um nome de alvo na lista suspensa para o fluoróforo específico. O software marca automaticamente a respetiva caixa de seleção Load (Carregar).



10. Para poços contendo um tipo de amostra Standard (Padrão), deve-se carregar uma concentração. Cada poço pode ter um valor de concentração diferente. Como predefinição, o CFX Maestro Dx SE carrega a concentração de 1.00E+06 para todos os poços com um tipo de amostra Standard (Padrão). É possível alterar o valor, se necessário.
- No painel da placa, selecione o poço Standard (Padrão) ou o grupo de poços.
  - Na secção Concentration (Concentração), clique em Load (Carregar) para carregar o valor para o(s) poço(s) selecionado(s).
  - (Opcional) Para carregar outra concentração, insira o novo valor na caixa de texto Concentration (Concentração) e pressione Enter.
  - Execute esta etapa para todos os poços com tipo de amostra Standard (Padrão).

Criar um ficheiro de placa usando o Plate Editor (Editor de placa)

**Dica:** para carregar a mesma concentração em todos os poços Standard (Padrão), verifique se <All> (Todos) aparece na lista suspensa abaixo do valor Concentration (Concentração). Para carregar o mesmo valor de concentração em todos os poços com um fluoróforo específico, clique na lista suspensa e selecione o fluoróforo.

11. Clique em OK para guardar a nova placa.

## Clique com o botão direito do rato nos itens do menu para a ferramenta de edição de placas

A [Tabela 9](#) lista os itens de menu disponíveis no Plate Editor (Editor de placas) ao clicar com o botão direito do rato em qualquer poço na ferramenta. Este menu também aparece na Vista de Folha de Cálculo/Importar.

**Tabela 9. Itens de menu do botão direito do rato para a ferramenta Spreadsheet View/Importer (Ver/Importar folha de cálculo) da Plate (Placa)**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia a folha de cálculo inteira.
Copy as Image (Copiar como imagem)	Guarda a folha de cálculo como um ficheiro de imagem.
Print (Imprimir)	Imprime a folha de cálculo.
Print Selection (Imprimir seleção)	Imprime apenas as células selecionadas.
Export to Excel (Exportar para Excel)	Exporta o ficheiro para uma folha de cálculo Excel.
Export to CSV (Exportar para CSV)	Exporta o ficheiro como um ficheiro .csv.
Export to Xml (Exportar para Xml)	Exporta o ficheiro como um ficheiro .xml.
Export to Html (Exportar para Html)	Exporta o ficheiro como um ficheiro .html.
Find (Localizar)	Procura um texto específico.
Sort (Ordenar)	Ordena a folha de cálculo selecionando até três colunas de dados na janela Sort (Ordenar).

## Atribuir parâmetros opcionais ao Plate File (Ficheiro de placa)

Um ficheiro de placa contém informações sobre o conteúdo de cada poço carregado com amostras para uma corrida. Após a corrida, o CFX Maestro Dx SE associa o conteúdo do poço aos dados de fluorescência recolhidos durante o protocolo e aplica a análise apropriada na janela Data Analysis (Análise de dados).

No CFX Maestro Dx SE, é possível atribuir parâmetros a cada poço na placa antes, durante ou mesmo depois de executar experiências. É possível atribuir os parâmetros a um ficheiro de placa existente ou a um novo ficheiro de placa. Esses parâmetros incluem:

- **Target names** (Nomes dos alvos) — o alvo ou os alvos de interesse (genes ou sequências) em cada poço carregado.
- **Sample names** (Nomes das amostras) — o identificador ou a condição que corresponde à amostra em cada poço carregado, como rato1, rato2 ou rato3.
- **Biological groups** (Grupos biológicos) — o identificador ou a condição que corresponde a um grupo de poços, como 0Hr, 1Hr, ou 2Hr.

**Dica:** os nomes de alvos, amostras e grupos biológicos devem ser os mesmos entre os poços para comparar os dados no separador Gene Expression (Expressão génica) na janela Data Analysis (Análise de dados). Cada nome deve usar maiúsculas/minúsculas, pontuação e espaçamento de modo idêntico. Por exemplo, "Actina" não é o mesmo que "actina", "2Hr" não é o mesmo que "2 hr" e "Rato 1" não é o mesmo que "rato1." Para garantir a consistência da nomenclatura, insira os nomes na secção Libraries (Bibliotecas) em User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) > Plate (Placa), disponível na janela inicial.

- **Technical replicates** (Réplicas técnicas) — cada poço que é usado para analisar a mesma combinação de amostra e alvo; ou seja, replicar reações de qPCR.
- **Dilution series** (Série de diluição) — a quantidade para mudar a concentração do tipo de amostra Padrão dentro de um grupo de réplicas para criar dados da curva padrão para analisar.

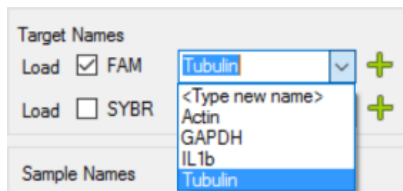
### Atribuir um alvo a poços

**Dica:** é possível atribuir o mesmo nome de alvo a um único poço ou a múltiplos poços. Também é possível atribuir múltiplos alvos ao mesmo poço.

**Importante:** clicar em OK depois de atribuir um alvo guarda as alterações e desativa Undo (Anular) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa). Tenha cuidado ao clicar em OK.

### Como atribuir um alvo a um poço ou grupo de poços

1. No Plate Editor (Editor de placa), certifique-se de que o poço ou o grupo de poços tem um tipo de amostra atribuído.  
  
Veja [Selecionar tipos de amostra na página 143](#) para mais informações sobre atribuição de tipos de amostra a poços.
2. No painel da placa, selecione o poço ou o grupo de poços:
  - Para selecionar um único poço, clique no poço.
  - Para selecionar vários poços adjacentes, clique num poço e arraste para o poço alvo.
  - Para selecionar vários poços não adjacentes, mantenha pressionada a tecla Control (Ctrl) e clique em cada poço.
  - Para selecionar uma coluna inteira com o mesmo tipo de amostra, clique no número da coluna.
  - Para selecionar uma linha inteira, clique no número de linha.
3. No painel da direita, selecione um nome na lista suspensa Target Name (Nome do alvo) para cada fluoróforo selecionado.



4. Repita a [Etapa 3](#) para cada poço ou grupo de poços aos quais deve atribuir um alvo.

**Dica:** é possível atribuir o mesmo nome de alvo ou um diferente para cada fluoróforo selecionado.

5. Clique em OK para aceitar as alterações e guardar a placa.

**Observação:** se alterou a placa com erro, clique em Undo (Anular) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa) antes de clicar em OK para aceitar as alterações.

### Como remover um nome de alvo

- ▶ Para remover um nome de alvo do poço ou grupo de poços selecionado, desmarque a respetiva caixa de seleção Load (Carregar).

**Importante:** remover um nome de alvo de um poço também remove o fluoróforo associado. Tenha cuidado ao remover um nome de alvo de um poço.



### Como adicionar um nome de alvo à lista

- ▶ Para adicionar um nome de alvo à lista suspensa, execute uma das seguintes opções:
  - Insira um nome na lista suspensa Target Name (Nome do alvo) e pressione Enter.

**Dica:** os nomes de alvos que adicionar a uma lista aparecerão em todas as outras listas de alvos.
  - Clique no símbolo + verde à direita da lista suspensa, insira um nome para o alvo e pressione Enter.
  - Clique em User Preferences (Preferências do utilizador) na barra de ferramentas e adicione o nome à biblioteca Target Names (Nomes de alvos) no separador Plate (Placa).

**Importante:** os nomes de alvos que adicionar à lista suspensa estão disponíveis somente para a placa atual e apenas se atribuir o nome a um poço e guardar o layout da placa. Se não atribuir o nome a um poço e guardar o layout da placa, o nome não será guardado e não estará disponível para uso futuro. Para adicionar permanentemente um nome de alvo, adicione-o também à biblioteca Target Names (Nomes de alvos) usando a caixa de diálogo User Preferences (Preferências de utilizadores). Os nomes que adicionar à biblioteca estarão disponíveis quando abrir o Plate Editor (Editor de placa) novamente. Consulte [Configurar os parâmetros de placa predefinidos na página 93](#) para obter mais informações.

### Como eliminar um nome de alvo da lista

1. Clique em User Preferences (Preferências do utilizador) na barra de ferramentas.

A caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) aparece, exibindo o separador Plate (Placa).
2. Na biblioteca User Preferences (Preferências do utilizador) no separador Plate (Placa), selecione o nome a eliminar e pressione a tecla Delete (Eliminar).
3. Clique em OK para guardar as modificações e sair da caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).

**Importante:** não é possível eliminar nomes de alvos que tenham sido guardados com um ficheiro de placa. Os nomes personalizados que sejam adicionados à lista suspensa Target Names (Nomes de alvos), e não sejam usados e guardados com a placa, serão automaticamente removidos da lista. Os nomes que sejam eliminados da biblioteca Target Names (Nomes de alvos) são removidos do software permanentemente e deixam de estar disponíveis para os utilizadores. Tenha cuidado ao eliminar nomes de alvos.

## Atribuir um nome da amostra a poços

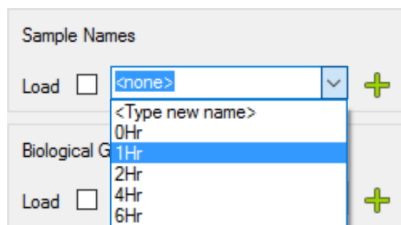
**Observação:** para atribuir um nome de amostra, é necessário atribuir aos poços selecionados pelo menos um fluoróforo. Se aos poços selecionados não for atribuído um fluoróforo, a lista suspensa Sample Names (Nomes de amostras) é desativada. Veja [Atribuir um alvo a poços na página 149](#) para obter mais informações sobre a atribuição de fluoróforos.

**Dica:** é possível atribuir apenas um nome de amostra a cada poço ou grupo de poços.

### Como atribuir um nome de amostra a um poço ou grupo de poços

1. No Plate Editor (Editor de placa), certifique-se de que o poço ou o grupo de poços tem um fluoróforo atribuído.
2. No painel da placa, selecione o poço ou o grupo de poços.
3. No painel da direita, selecione um nome na lista suspensa Sample Names (Nomes de amostras).

O software marca automaticamente a respectiva caixa de seleção Load (Carregar).



4. Repita a [Etapa 3](#) para cada poço ou grupo de poços aos quais deve atribuir um nome de amostra.
5. Clique em OK para aceitar as alterações e guardar a placa.

**Observação:** se alterou a placa com erro, clique em Undo (Anular) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa) antes de clicar em OK para aceitar as alterações.

### Como remover um nome de amostra

- ▶ Para remover um nome de amostra do poço ou grupo de poços selecionado, desmarque a respectiva caixa de seleção Load (Carregar).

### Como adicionar um nome de amostra à lista

- ▶ Para adicionar um nome de amostra à lista suspensa, execute uma das seguintes opções:
  - Insira um nome na lista suspensa Sample names (Nomes de amostras) e pressione Enter.
  - Clique no símbolo + verde à direita da lista suspensa e insira um nome para a amostra.

- Clique em User Preferences (Preferências do utilizador) na barra de ferramentas e adicione o nome à biblioteca Sample names (Nomes de amostras) no separador Plate (Placa).

**Importante:** os nomes de placas que adicionar à lista suspensa estão disponíveis somente para a placa atual e apenas se atribuir o nome a um poço e guardar o layout da placa. Se não atribuir o nome a um poço e guardar o layout da placa, o nome não será guardado e não estará disponível para uso futuro. Para adicionar permanentemente um nome de amostra, adicione-o também à biblioteca Sample Names (Nomes de amostras) usando a caixa de diálogo User Preferences (Preferências de utilizadores). Os nomes que adicionar à biblioteca estarão disponíveis quando abrir o Plate Editor (Editor de placa) novamente. Consulte [Configurar os parâmetros de placa predefinidos na página 93](#) para obter mais informações.

### Como eliminar um nome de amostra da lista

1. Clique em User Preferences (Preferências do utilizador) na barra de ferramentas.  
A caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) aparece, exibindo o separador Plate (Placa).
2. Na biblioteca Sample Names (Nomes de amostras) no separador Plate (Placa), selecione o nome a eliminar e pressione a tecla Delete (Eliminar).
3. Clique em OK para guardar as modificações e sair da caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).

**Importante:** não é possível eliminar nomes de amostras que tenham sido guardados com um ficheiro de placa. Os nomes personalizados que sejam adicionados à lista suspensa Sample Names (Nomes de amostras), e não sejam usados e guardados com a placa, serão automaticamente removidos da lista. Os nomes que sejam eliminados da biblioteca Sample Names (Nomes de amostras) são removidos do software e deixam de estar disponíveis para os utilizadores. Tenha cuidado ao eliminar nomes de amostras.

## Atribuir grupos biológicos a poços

**Observação:** para atribuir um grupo biológico, deve atribuir aos poços selecionados ao menos um fluoróforo. Atribuir um fluoróforo aciona a lista suspensa Biological Groups (Grupos biológicos). Veja [Atribuir um alvo a poços na página 149](#) para obter mais informações sobre a atribuição de fluoróforos.

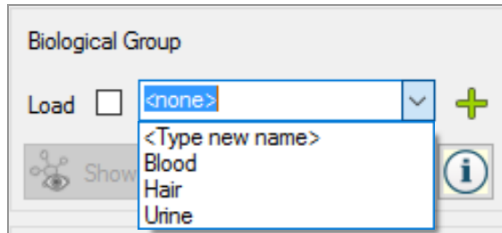
**Dica:** é possível atribuir um grupo biológico a cada poço ou grupo de poços.

### Como atribuir um grupo biológico a um poço ou grupo de poços

1. No Plate Editor (Editor de placa), certifique-se de que o poço ou o grupo de poços tem um fluoróforo atribuído.
2. No painel da placa, selecione o poço ou o grupo de poços.

3. No painel direito, faça uma seleção na lista suspensa Biological Group (Grupo biológico).

O CFX Maestro Dx SE seleciona automaticamente a caixa de seleção Load (Carregar).



4. Repita a [Etapa 3](#) para cada poço ou grupo de poços aos quais deve atribuir um grupo biológico.
5. Clique em OK para aceitar as alterações e guardar a placa.

**Observação:** se alterou a placa com erro, clique em Undo (Anular) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa) antes de clicar em OK para aceitar as alterações.

### Como remover um grupo biológico

- ▶ Para remover um grupo biológico do poço ou do grupo de poços selecionado, desmarque a caixa de seleção Load (Carregar).

### Como adicionar um grupo biológico à lista

- ▶ Para adicionar um grupo biológico à lista suspensa, execute uma das seguintes opções:
  - Insira um nome na lista suspensa Biological Group (Grupo biológico) e pressione Enter.
  - Clique no símbolo + verde à direita da lista suspensa e insira um nome para o grupo biológico.
  - Clique em User Preferences (Preferências do utilizador) na barra de ferramentas e adicione o nome à biblioteca Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos) no separador Plate (Placa).

**Importante:** os nomes de grupos biológicos que adicionar à lista suspensa estão disponíveis somente para a placa atual e apenas se atribuir o nome a um poço e guardar o layout da placa. Se não atribuir o nome a um poço e guardar o layout da placa, o nome não será guardado e não estará disponível para uso futuro. Para adicionar permanentemente um nome de grupo biológico, adicione-o também à biblioteca Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos) usando a caixa de diálogo User Preferences (Preferências de utilizadores). Os nomes que adicionar à biblioteca estarão disponíveis quando abrir o Plate Editor (Editor de placa) novamente. Consulte [Configurar os parâmetros de placa predefinidos na página 93](#) para obter mais informações.

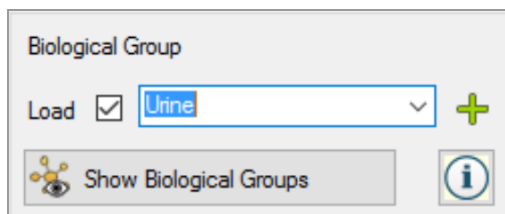
### Como eliminar um nome de grupo biológico da lista

1. Clique em User Preferences (Preferências do utilizador) na barra de ferramentas.  
A caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) aparece, exibindo o separador Plate (Placa).
2. Na biblioteca Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos) no separador Plate (Placa), selecione o nome a eliminar e pressione a tecla Delete (Eliminar).
3. Clique em OK para guardar as modificações e sair da caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador).

**Importante:** não é possível eliminar nomes de grupos biológicos que tenham sido guardados com um ficheiro de placa. Os nomes personalizados que sejam adicionados à lista suspensa Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos), e não sejam usados e guardados com a placa, serão removidos da lista automaticamente. Nomes que sejam eliminados da biblioteca Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos) são removidos do software e deixam de estar disponíveis para os utilizadores. Tenha cuidado ao eliminar nomes biológicos.

### Como visualizar todos os grupos biológicos na placa

- Clique em Show Biological Groups (Mostrar grupos biológicos) para visualizar todos os grupos biológicos na placa.



Cada grupo é identificado por uma cor específica e o botão Show Biological Groups (Mostrar grupos biológicos) é alterado para Hide Biological Groups (Ocultar grupos biológicos).

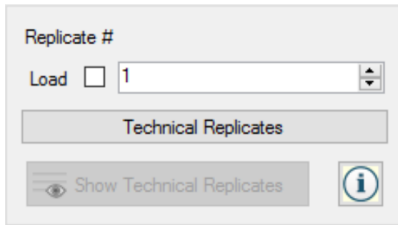
Clique em Hide Biological Groups (Ocultar grupos biológicos) para limpar a cor nos poços. Como alternativa, é possível clicar em qualquer poço na placa para ocultar os grupos biológicos.

## Atribuir números de réplicas técnicas a poços

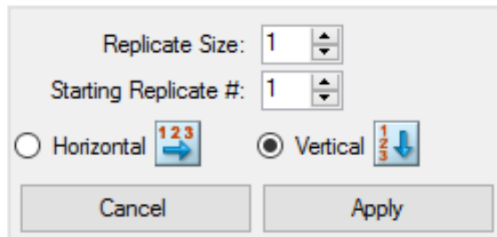
**Importante:** para atribuir os números de réplicas técnicas, os poços selecionados devem ter conteúdos de poço idênticos. Ou seja, os poços selecionados devem ter o mesmo tipo de amostra e fluoróforo. Se apropriado, também devem receber os mesmos nomes de alvo e de amostra e o mesmo grupo biológico. Se não forem os mesmos, o CFX Maestro Dx SE não ativa esta opção.

### Como atribuir números de réplicas técnicas a um grupo de poços

1. No Plate Editor (Editor de placa), assegure-se de que os conteúdos do grupo de poços são idênticos.
2. No painel de placa, selecione o grupo alvo dos poços.
3. Para atribuir o mesmo número de réplicas a todos os poços selecionados, na secção Replicate # (N.º de réplica) no painel direito, insira o número da réplica na caixa e selecione Load (Carregar).



4. (Opcional) Para aplicar uma série de réplicas a um conjunto de poços selecionado:
  - a. Clique em Technical Replicates (Réplicas técnicas). A secção Replicate # (N.º de réplica) é alterada para exibir as seguintes opções:



- **Replicate size** (Tamanho da réplica) — um número que representa o número de poços em cada grupo de réplicas
- **Starting replicate #** (Nº inicial da réplica) — o primeiro número na série de réplicas para o grupo selecionado de réplicas.

**Observação:** como predefinição, o CFX Maestro Dx SE exibe o número inicial da réplica como um número maior que o último número de réplicas técnicas atribuído na placa. Por exemplo, se o último número de réplicas técnicas na placa for cinco, o próximo número inicial será seis. É possível alterar o número inicial para qualquer número que ainda não esteja atribuído.

- Direção de carregamento (horizontal e vertical)
- b. Clique em Apply (Aplicar) para aplicar os parâmetros à série e volte para a vista Replicate # (N.º de réplica).
5. Clique em OK para aceitar as alterações e guardar a placa.

**Observação:** se alterou a placa com erro, clique em Undo (Anular) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa) antes de clicar em OK para aceitar as alterações.

### Remover um poço de uma série de réplicas

- ▶ Selecione o poço ou grupo de poços a serem removidos e desmarque a caixa de seleção Replicate # Load (Carregar n.º de réplica).

Alternativamente, é possível clicar em Clear Replicate # (Limpar n.º de réplica) para limpar o número de réplica de um poço ou grupo de poços selecionado.

### Visualizar todas as réplicas técnicas na placa

- ▶ Clique em Show Technical Replicates (Mostrar réplicas técnicas) para visualizar todas as réplicas técnicas na placa.

Cada grupo é identificado por uma cor específica e o botão Show Technical Replicates (Mostrar réplicas técnicas) é alterado para Hide Technical Replicates (Ocultar réplicas técnicas).

Clique em Hide Technical Replicates (Ocultar réplicas técnicas) para limpar a cor nos poços. Como alternativa, é possível clicar em qualquer poço na placa para ocultar as réplicas técnicas.

## Atribuir uma série de diluição a tipos de amostra padrão

Como mencionado anteriormente, todos os poços com o tipo de amostra Standard (Padrão) devem receber um valor de concentração. É possível atribuir uma série de diluição a vários poços com o tipo de amostra Standard (Padrão).

**Observação:** para atribuir uma série de diluição a um grupo de poços, os poços devem ser incluídos numa série de réplicas técnicas. Consulte [Atribuir números de réplicas técnicas a poços na página 155](#) para obter mais informações sobre como adicionar poços a uma série de réplicas.

### Como atribuir uma série de diluição a um grupo de poços de amostra Standard (Padrão)

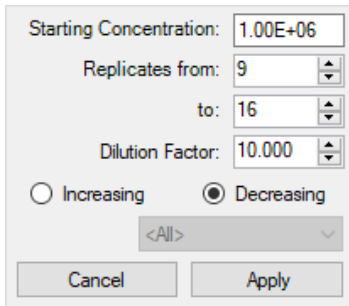
1. No Plate Editor (Editor de placa), assegure-se de que os seguintes requisitos a seguir são cumpridos:

- O tipo de amostra do grupo de poços é Standard (Padrão).
- Todos os poços do grupo recebem pelo menos um fluoróforo e todos contêm os mesmos fluoróforos.
- Todos os poços no grupo estão incluídos na mesma série de réplicas técnicas.

**Observação:** o CFX Maestro Dx SE ativa a opção Dilution Series (Série de diluição) apenas quando todos os poços selecionados cumprirem esses critérios.

2. No painel de placa, selecione o grupo alvo dos poços.

- Na secção Concentration (Concentração) no painel direito, clique em Dilution Series (Série de diluição). A secção Concentration (Concentração) é alterada para exibir as seguintes opções:



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

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

- **Starting concentration** (Início da concentração) — o valor de concentração a partir do qual a série começa
  - **Replicates from and to** (Réplicas de e para)— as réplicas da série à qual o fator de diluição será aplicado
  - **Dilution factor** (Fator de diluição) — o valor para alterar a concentração dentro de cada grupo de réplica
- Defina os valores para as opções ou aceite os padrões.
  - Como predefinição, a série de diluição diminui pelo fator de diluição. Selecione Increasing (Aumento) para aumentar a série de diluição.
  - (Opcional) Como predefinição, o fator de diluição aplica-se a todos os fluoróforos da série de réplica. Se a série contém mais de um fluoróforo e pretende aplicar a diluição a um único fluoróforo, selecione-o na lista suspensa.
  - Clique em Apply (Aplicar) para aplicar a série de diluição ao grupo de poços e voltar à vista Concentration (Concentração).
  - Clique em OK para aceitar as alterações e guardar a placa.

## Copiar o conteúdo de um poço para outro poço

É possível copiar o conteúdo de um poço e colá-lo num único poço ou em vários poços. No entanto, é possível copiar o conteúdo de um único poço. Não é possível seleccionar vários poços e copiar os respetivos conteúdos.

### Como copiar o conteúdo de um poço para outro poço

- No painel de placa, selecione o poço a ser copiado.
- Clique com o botão direito do rato no poço e selecione Copy Well (Copiar poço)



3. Selecione o poço ou poços em que o conteúdo deve ser colado:
  - Para selecionar um único poço, clique no poço.
  - Para selecionar vários poços adjacentes, clique num poço e arraste para o poço alvo.
  - Para selecionar vários poços não adjacentes, mantenha pressionada a tecla Control (Ctrl) e clique em cada poço.
4. Com os poços destino selecionados, clique com o botão direito do rato e selecione Paste Well (Colar poço).

O CFX Maestro Dx SE cola o conteúdo do primeiro poço nos poços selecionados.

## Adicionar uma observação a um poço

É possível adicionar uma observação descritiva a um poço. É possível visualizar as observações dos poços no separador Quantification (Quantificação) na janela Data Analysis (Análise de dados).

### Como adicionar uma observação a um poço

1. No painel de placa, selecione o poço ou poços aos quais pretende adicionar uma observação.
2. Na secção View (Visualizar) no painel inferior, selecione Well Note (Observação de poço).

A área Well Note (Observação de poço) aparece no painel direito.



3. Insira o conteúdo da observação na caixa de texto e pressione Enter.

O texto aparece na parte inferior dos poços selecionados.

**Dica:** se criou anteriormente uma observação de poço, poderá seleccioná-la a partir da lista suspensa e aplicá-la aos poços selecionados.

## Limpar todo o conteúdo dos poços

É possível limpar um poço individual, um grupo de poços ou todo o conteúdo da placa. A limpeza dos poços não remove os dados de fluorescência recolhidos durante a leitura de placa.

**Importante:** limpar um poço remove permanentemente o conteúdo do poço. Se clicar em OK e guardar a placa após limpar um poço, não poderá anular a ação de limpeza. Tenha cuidado ao limpar poços.

### Como limpar toda a configuração dos poços

1. No Plate Editor (Editor de placa), selecione o poço ou o grupo de poços no painel de placa:
  - Para selecionar um único poço, clique no poço.
  - Para selecionar vários poços adjacentes, clique num poço e arraste para o poço alvo.
  - Para selecionar vários poços não adjacentes, mantenha pressionada a tecla Control (Ctrl) e clique em cada poço.
  - Para selecionar uma coluna inteira com o mesmo tipo de amostra, clique no número da coluna.
  - Para selecionar uma linha inteira, clique no número de linha.
2. No painel direito, clique em Clear Wells (Limpar poços).

O CFX Maestro Dx SE limpa toda a configuração dos poços selecionados.
3. Execute uma das seguintes opções:
  - Se limpou os poços com erro, clique em Undo (Anular) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa) antes de clicar em OK para aceitar as alterações.

**Importante:** clicar em OK antes de clicar em Undo (Anular) guarda as alterações e desativa Undo (Anular) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa).
  - Clique em OK para aceitar as alterações e guardar a placa.

## Alterar configurações de experiências

Use a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências) para visualizar ou alterar a lista de alvos, amostras ou grupos biológicos, ou definir o grupo de amostras para análise de expressão génica para ser analisado se tiverem sido atribuídos grupos biológicos a poços na placa.

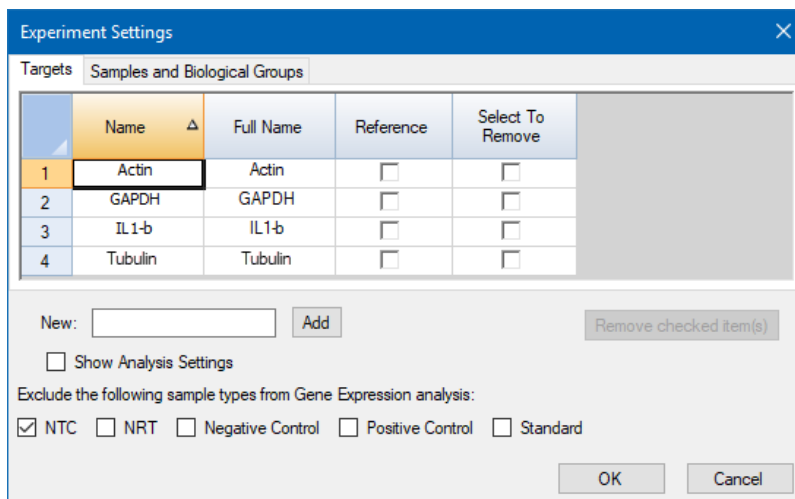
Na caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências), o separador Targets (Alvos) exibe uma lista de nomes de alvos para cada reação de PCR, como o gene alvo ou sequências de genes de interesse.

O separador Samples and Biological Groups (Amostras e grupos biológicos) exibe uma lista de nomes de amostras e grupos biológicos que indica a origem do alvo, como uma amostra tirada a uma 1 hora (1Hr) ou de um indivíduo específico (rato1).

### Alterar as configurações de placa usando a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências)

1. Para abrir a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências), execute uma das seguintes opções:
  - No painel da direita no Plate Editor (Editor de placa), clique em Experiment Settings (Configurações de experiências).
  - No separador Gene Expression (Expressão génica) na janela Data Analysis (Análise de dados), clique em Experiment Settings (Configurações de experiências).

A caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências) aparece exibindo o conteúdo do separador Targets (Alvos).



2. Para adicionar um novo nome de alvo, amostra ou grupo biológico, insira na respetivo separador um nome na caixa de texto New (Novo) e clique em Add (Adicionar).
3. Para remover um ou mais nomes de alvo, amostra ou grupo biológico da lista, seleccione, no separador apropriado, a caixa de seleção do item na coluna Select to Remove (Selecionar para remover) e clique em Remove (Remover) no(s) item(ns) marcado(s).
4. O CFX Maestro Dx SE elimina o tipo de amostra NTC (no template control (sem controlo de modelo)) da análise de expressão génica.

Para incluir tipos de amostras NTC, desmarque a respetiva caixa de seleção na secção Exclude the following sample types (Eliminar os seguintes tipos de amostra). É possível escolher eliminar os seguintes tipos de amostras marcando a caixa de seleção apropriada:

- NRT (no reverse transcriptase (sem transcriptase reversa))
- Negative Control (Controlo negativo)
- Positive Control (Controlo positivo)
- Standard (Padrão)

5. No separador Targets (Alvos):
  - a. Para seleccionar um alvo como referência para a análise de dados de expressão génica, seleccione-o na coluna Reference (Referência).
  - b. Para ocultar as configurações de análise que serão aplicadas, no separador Gene Expression (Expressão génica) na janela Analysis Settings (Configurações de análise), desmarque Show Analysis Settings (Mostrar configurações de análise).

O software oculta as seguintes colunas:

- Color (Cor)
  - Show Chart (Mostrar gráfico)
  - Auto Efficiency (Eficiência automática)
  - Efficiency % (% de eficiência)
- c. Para alterar a cor do alvo no gráfico Gene (Expressão génica), clique na respetiva célula na coluna Color (Cor), seleccione uma nova cor na caixa de diálogo Color (Cor) que é exibida e clique em OK.
  - d. Para exibir a amostra na cor seleccionada no gráfico Gene Expression (Expressão génica), seleccione a respetiva caixa de seleção na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).
  - e. Como predefinição, o CFX Maestro Dx SE calcula automaticamente a eficiência relativa de um alvo se os dados incluírem uma curva padrão.

Para usar um valor de eficiência determinado previamente, insira o valor na célula respetiva na coluna Efficiency (%) (% de eficiência) e pressione a tecla Enter. O CFX Maestro Dx SE desmarca a caixa de seleção Auto Efficiency (Eficiência automática).

6. No separador Samples and Biological Groups (Amostras e grupos biológicos):
  - a. Para selecionar uma amostra ou um grupo biológico como a amostra de controlo para a análise de dados de expressão génica, marque a respetiva caixa de seleção na coluna Control (Controlo).
  - b. Para definir uma amostra ou um grupo biológico como a amostra de controlo para a análise de dados de expressão génica, marque a respetiva caixa de seleção na coluna Control (Controlo).
  - c. Se ainda não estiver selecionada, clique em Show Analysis Settings (Mostrar configurações de análise) para visualizar ou alterar os parâmetros de análise que serão aplicados ao separador Gene Expression (Expressão génica). O software oculta as colunas Color (Cor) e Show Chart (Mostrar gráfico).
7. Clique em OK para guardar os parâmetros na caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências) e voltar para a janela Plate Editor (Editor de placa).

## Criar grupos de poços

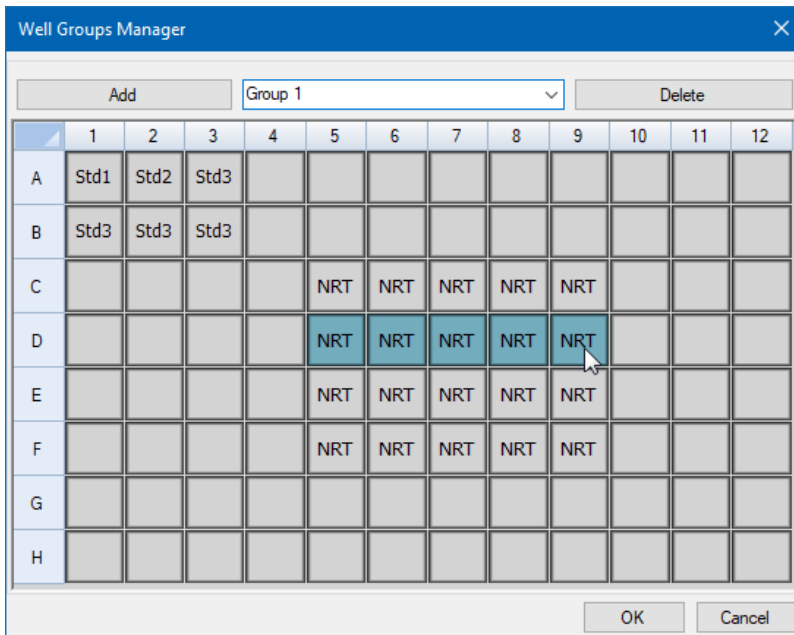
Os grupos de poços dividem uma única placa em subconjuntos de poços que podem ser analisados independentemente na janela Data Analysis (Análise de dados). Após configurar os grupos de poços, selecione um deles na janela Data Analysis (Análise de dados) para analisar os dados como um grupo independente. Por exemplo, configurar grupos de poços para analisar múltiplas experiências executadas numa placa ou para analisar cada grupo de poços com uma curva padrão diferente.

**Observação:** o grupo de poços predefinido é All Wells (Todos os poços).

### Como criar grupos de poços

1. Para abrir o Well Groups Manager (Gestor de grupos de poços), execute uma das seguintes opções
  - Na barra de ferramentas do Plate Editor (Editor de placa), clique em Well Groups (Grupos de poços).
  - Na janela Data Analysis (Análise de dados), clique em Manage Well Groups (Gerir grupos de poços).

É exibida a caixa de diálogo Well Groups Manager (Gestor de grupos de poços).



2. Clique em Add (Adicionar) para criar um grupo. O menu suspenso exibe o nome do grupo como Group 1 (Grupo 1) para o primeiro grupo.

3. Selecione os poços para o grupo de poços na vista da placa clicando e arrastando o rato pelo grupo de poços. Os poços selecionados aparecem em azul no Manager (Gestor).
4. (Opcional) Para alterar o nome do grupo, selecione o nome no menu suspenso e insira um novo nome.
5. (Opcional) Para eliminar um grupo de poços, selecione o respetivo nome na lista suspensa e clique em Delete (Eliminar).
6. Clique em OK para concluir e fechar a janela, ou clique em Cancel (Cancelar) para fechar a janela sem fazer alterações.

### Itens de menu do botão direito para a caixa de diálogo Well Groups Manager (Gestor de grupos de poços)

A [Tabela 10](#) lista os itens de menu disponíveis na caixa de diálogo Well Groups Manager (Gestor de grupos de poços) ao clicar com o botão direito em qualquer poço.

**Tabela 10. Itens de menu do botão direito na caixa de diálogo Plate Editor Well Groups Manager (Gestor de grupos de poços do Editor de placa)**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o conteúdo do poço, que pode então ser colado noutra poço ou poços.
Copy as Image (Copiar como imagem)	Copia a vista do seletor de poços como uma imagem.
Print (Imprimir)	Imprime a vista do seletor de poços.
Print Selection (Imprimir seleção)	Imprime apenas as células selecionadas.
Export to Excel (Exportar para Excel)	Exporta os dados para uma folha de cálculo Excel.
Export to CSV (Exportar para CSV)	Exporta os dados como um documento separado por vírgulas.
Export to Xml (Exportar para Xml)	Exporta os dados como um documento .xml.
Export to Html (Exportar para Html)	Exporta os dados como um documento .html.

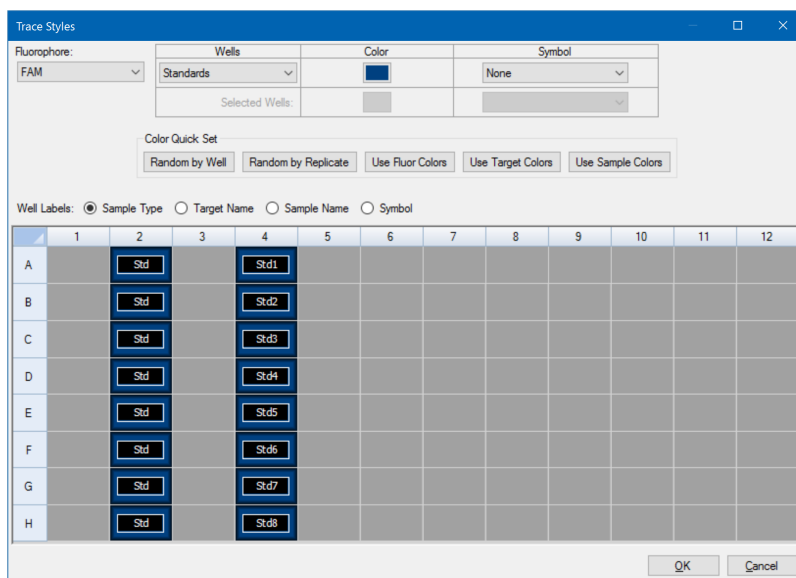
## Alterar estilos de traçados

Durante a configuração de placa e enquanto uma corrida estiver em curso, é possível modificar a cor e o estilo dos traçados de amplificação. É possível visualizar facilmente os traçados na janela de estado em tempo real à medida que os dados são recolhidos.

### Como alterar os estilos de traçados

1. Clique em Trace Styles (Estilos de traçados) na barra de ferramentas do editor de placa.

É exibida a caixa de diálogo estilos de traçados para a placa aberta, por exemplo:



2. Para visualizar os estilos de traçados para um fluoróforo específico, selecione-o na lista suspensa Fluorophores (Fluoróforos).
3. Para alterar a exibição do traçado:
  - a. Selecione o tipo de traçado na lista suspensa Wells (Poços).
  - b. Clique na cor na coluna Color (Cor).
  - c. Na caixa de diálogo Color (Cor) que aparecerá, escolha outra cor para o traçado e clique em OK.  
 O CFX Maestro Dx SE exibe a alteração da cor para o tipo de poço na grelha.
  - d. (Opcional) Selecione um símbolo para o traçado na lista suspensa Symbols (Símbolos).
4. Para alterar rapidamente o conjunto de cores, clique na escolha apropriada na secção Color Quick Set (Definição de cor rápida).



5. Para visualizar os rótulos dos poços na grelha, selecione o tipo de rótulo na secção Well Labels (Rótulos de poços).
6. Clique em OK para guardar as alterações ou em Cancel (Cancelar) para cancelar as alterações.

## Visualização, exportação e importação da placa em formato de folha de cálculo

A ferramenta Spreadsheet View/Importer (Ver/Importar folha de cálculo) exibe o conteúdo de uma placa no formato de folha de cálculo. O visualizador oferece a opção de visualizar, importar e exportar dados do poço, tal como descrito abaixo.

### Utilização do visualizador de folhas de cálculo para exportar e importar dados de placas

A partir do visualizador da folha de cálculo, pode exportar o Nome do alvo, Nome da amostra, Nome do grupo biológico e Notas do poço como modelo num formato delimitado por tabulação para uma aplicação como o Microsoft Excel. Também pode importar esses dados de uma aplicação delimitada por tabulação para uma placa pré-definida a partir de um ficheiro de informação experimental.

#### Como usar a ferramenta Spreadsheet View/Importer (Ver/Importar folha de cálculo)

1. Criar e guardar um ficheiro de placas (ver [Criar um ficheiro de placa usando o Plate Editor \(Editor de placa\)](#)).
2. Na barra de ferramentas do Plate Editor (Editor de placa), clique no separador para abrir o Spreadsheet View/Importer (Ver/Importar folha de cálculo) para abrir a caixa de diálogo Plate Spreadsheet View (Vista de folha de cálculo de placa).

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

3. (Opcional) Clique nas caixas Show Biological Set Name (Mostrar nome do conjunto biológico) e Show Well Note (Mostrar nota do poço) para exibir essas colunas na Spreadsheet View (Vista de folha de cálculo) e no ficheiro exportado.
4. Clique no botão Export Template (Exportar modelo) para criar um modelo vazio num ficheiro Excel (formato .csv). O ficheiro exportado apresentará a mesma disposição que a sua placa.

**Dica:** Utilize o nome do ficheiro de placas quando guardar os seus ficheiros de placas para identificar facilmente o ficheiro.

5. Preencha automaticamente as células do ficheiro Excel com o conteúdo dos seus poços.

**Observação:** Só se pode editar o conteúdo de qualquer célula numa coluna que tenha um asterisco (\*) ao lado do nome da coluna (\*Target Name (Nome do alvo), \*Sample Name (Nome da amostra), \*Biological Group Name (Nome do grupo biológico), \*Well Name (Nome do poço)).

**Observação:** Não é possível adicionar valores às colunas Standard Curve (Curva padrão) e de Quantity (Quantidade) no ficheiro Excel exportado. Para modificar esses dados, volte ao editor de placas e selecione Settings (Definições) > Units (Unidades) na barra de menu. Após a conclusão da corrida da placa, os dados desses padrões aparecem no gráfico Standard Curve (Curva padrão) no separador Quantification (Quantificação) na janela Data Analysis (Análise de dados) com as unidades seleccionadas.

6. Importe o ficheiro Excel preenchido de volta para o editor de placas, clicando no botão Importar. Os dados da chapa importados aparecem na janela de visualização da folha de cálculo.

**Importante:** Se tiver vários fluoróforos, terá de executar as etapas 3-5 para cada fluoróforo utilizando o menu pendente Lista de Fluoróforos na Vista da Folha de Cálculo de Placas.

7. Clique no botão OK. Os novos dados da placa aparecem agora na janela do editor de placas.

**Dica:** Pode ver os itens de menu disponíveis na ferramenta de Folha de Cálculo/importador quando clicar com o botão direito do rato em qualquer poço da ferramenta ou em qualquer um dos cabeçalhos da vista da folha de cálculo da placa.

## Criar um Plate Layout (Layout de placa) usando o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração da placa)

É possível usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) para inserir as informações de layout de placa necessárias para a análise de expressão génica normalizada, incluindo:

- Target names (Nomes de alvos)
- Sample names (Nomes de amostras)
- Localização dos alvos e amostra na placa
- Reference gene(s) (Gene(s) de referência)
- Control sample (Amostra de controlo)

É possível usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) antes, durante ou depois de uma corrida.

### Usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) da placa

Esta secção explica como criar um layout de placa usando o Setup Wizard (Assistente de configuração) da placa. Para visualizar o conteúdo de cada poço na placa com mais facilidade, clique em Zoom plate (Ampliar placa) na parte superior do Setup Wizard (Assistente de configuração).

**Importante:** voltar ao separador Auto layout (Layout automático) enquanto estiver em qualquer outro separador no Setup Wizard (Assistente de configuração) redefine o layout da placa. Tenha cuidado ao selecionar este separador.

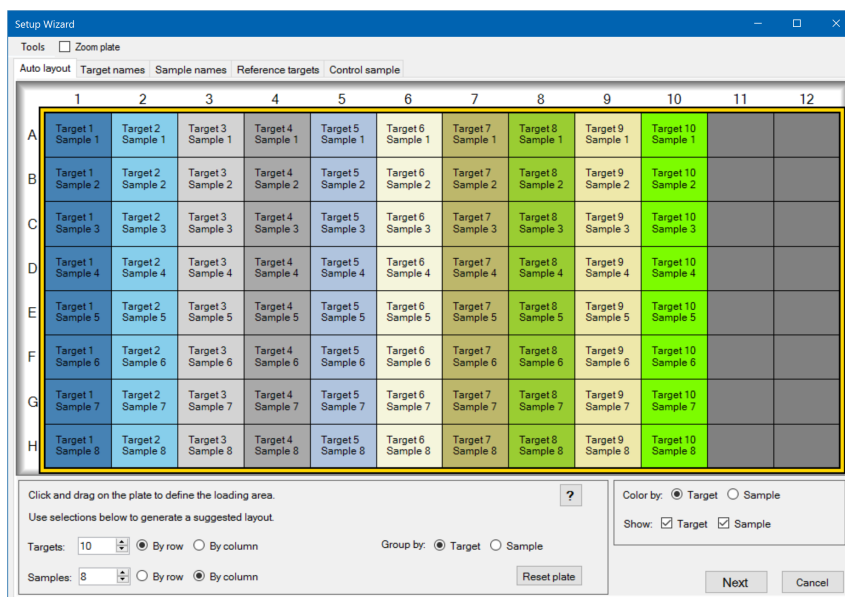
**Dica:** é possível reiniciar o layout selecionando Tools (Ferramentas) > Clear Plate (Limpar placa) no Setup Wizard (Assistente de configuração).

### Como usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) da placa

1. Abra o Plate Editor (Editor de placa).
2. Para abrir o assistente de configuração, execute uma das seguintes opções:
  - Selecione Editing Tools (Editar ferramentas) > Setup Wizard (Assistente de configuração).
  - Clique em Setup Wizard (Assistente de configuração) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa).

O Setup Wizard (Assistente de configuração) aparece exibindo o separador Auto layout (Layout automático).

Criar um Plate Layout (Layout de placa) usando o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração da placa)



3. No separador Auto layout (Layout automático), execute uma das opções a seguir:
  - a. Clique num poço na grelha e arraste para cima e para baixo para especificar a área na placa na qual pretende carregar a amostra.
  - b. Insira o número de alvos e amostras a carregar.

**Dica:** o número de alvos e amostras deve ser igual ao número de células selecionadas. Se os números inseridos não couberem na área selecionada, modifique os números ou a área de seleção da placa. A orientação dos itens na placa e o seu agrupamento podem ser especificados.
  - c. (Opcional) Alterar a orientação da placa. Por exemplo, é possível definir metas em colunas e amostras em linhas ou agrupar por amostras.
  - d. Clique em Next (Avançar) para continuar para o separador Target names (Nomes de alvos).

**Observação:** se o layout da placa não tiver um padrão regular, use o separador Target names (Nomes de alvos) para posicionar manualmente os alvos ou o separador Samples names (Nomes de amostra) para posicionar manualmente as amostras na placa. Clique e arraste para selecionar vários poços.

4. No separador Target Names (Nomes de alvos), defina os nomes de alvos para os grupos de alvo:
  - a. Execute uma das seguintes opções:
    - Para mudar o nome dos alvos por grupo, configure Select by (Selecionar por) como Target (Alvo).

- Para mudar o nome dos alvos por poço, configure Select by (Selecionar por) como Well (Poço).
  - b. Selecione um grupo de alvos ou poços na grelha e insira um nome na lista suspensa Target name (Nome do alvo).

**Dica:** pressione Tab (→) para selecionar o próximo grupo ou poço para a direita ou Enter para selecionar o próximo grupo ou poço abaixo. Como alternativa, nos separadores Target name (Nome do alvo) e Sample Name (Nome da amostra), mantenha pressionada a tecla Control (Ctrl) e clique num poço para selecionar vários poços que não são adjacentes.
  - c. Clique em Next (Avançar) para continuar para o separador Sample Names (Nomes de amostras).
5. No separador Sample names (Nomes de amostras), defina os nomes de amostra para os grupos de amostras.
  6. Clique em Next (Avançar) para continuar para o separador Reference targets (Alvos de referência)
  7. No separador Reference targets (Alvos de referência), selecione um ou mais alvos para usar como referência para a expressão génica normalizada e clique em Next (Avançar) para prosseguir para o separador Control sample (Amostra de controlo).
  8. No separador Control sample (Amostra de controlo), selecione uma amostra para usar como controlo para cálculos relativos de expressão génica.
  9. Clique em OK para guardar o layout da placa e voltar ao Plate Editor (Editor de placa), no qual é possível definir os parâmetros da placa. Consulte [Atribuir parâmetros opcionais ao Plate File \(Ficheiro de placa\) na página 149](#) para obter mais informações.

Em alternativa, clique em Previous (Anterior) para voltar a um separador anterior para fazer alterações.

**Observação:** voltar para o separador Auto layout (Layout automático) redefine automaticamente a placa. Tenha cuidado ao clicar em Previous (Anterior).

## Capítulo 9 Correr experiências

Este capítulo explica como correr experiências de ensaio personalizadas (definidas pelo utilizador) ou de PrimePCR usando o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança).

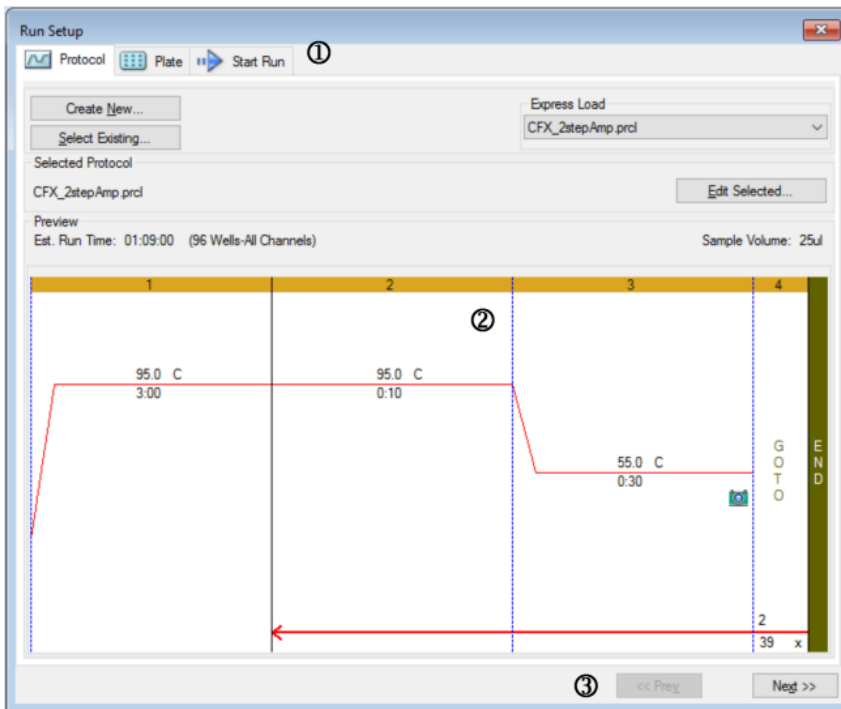
Um ficheiro de dados da corrida contém as informações do protocolo e da placa para a corrida. O ficheiro também contém os dados da análise que o CFX Maestro Dx SE executa depois de a corrida ser concluída.

O CFX Maestro Dx SE facilita a configuração e a corrida de experiências definidas pelo utilizador ou de PrimePCR. A janela Run Setup (Configuração da corrida) guia o utilizador pelas etapas comuns de configuração de uma experiência, conduzindo-o para a caixa de diálogo Start Run (Iniciar corrida), a partir da qual a corrida é iniciada.

## A janela Run Setup (Configuração da corrida)

A janela Run Setup (Configuração da corrida) oferece acesso rápido aos ficheiros e às configurações necessárias para configurar e correr uma experiência. Se escolher correr uma experiência definida pelo utilizador, a janela Run Setup (Configuração da corrida) abre-se exibindo o separador Protocol (Protocolo). Se escolher correr uma experiência PrimePCR, a janela Run Setup (Configuração da corrida) abre-se exibindo o separador Start run (Iniciar corrida).

**Dica:** consulte [Realizar experiências PrimePCR na página 192](#) para obter mais informações sobre o PrimePCR; consulte [Separador Start Run \(Iniciar corrida\) na página 182](#) para obter mais informações sobre o separador Start Run (Iniciar corrida).





## LEGENDA

1. Os separadores orientam o utilizador na configuração e corrida de uma experiência:
  - Separador Protocol (Protocolo) — seleccionar um protocolo existente para executar ou editar ou para criar um protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo).
  - Separador Plate (Placa) — seleccionar uma placa existente para executar ou editar ou para criar um protocolo no Plate Editor (Editor de placa).
  - Separador Start Run (Iniciar corrida) — visualizar as configurações de experiência, seleccionar um ou mais blocos do instrumento e iniciar a corrida.

---

2. A janela principal exibe as opções para cada separador à medida que as aplica.

---

3. Os botões de navegação conduzem o utilizador para o separador Start Run (Iniciar corrida).

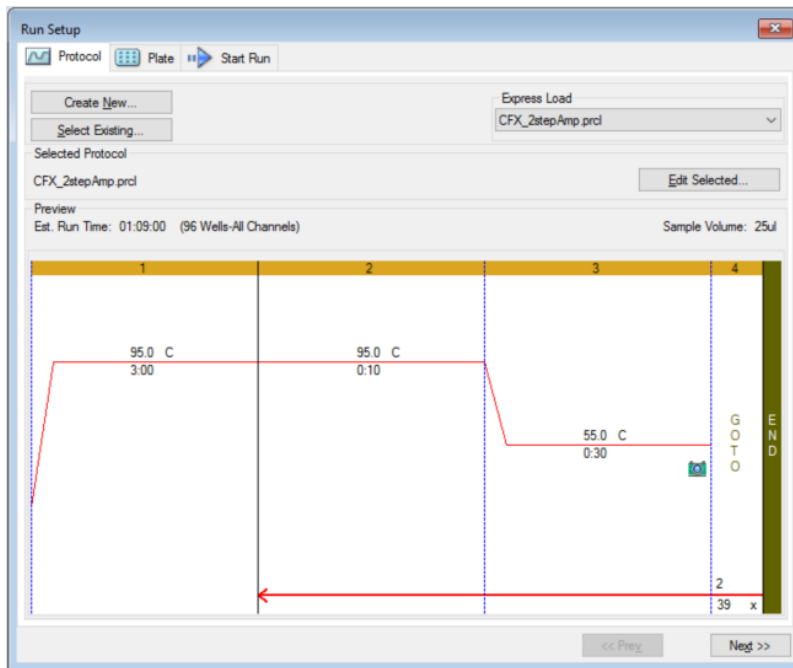
## Aceder à janela Run Setup (Configuração da corrida)

### Como aceder à janela Run Setup (Configuração da corrida)

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - No separador Run setup (Executar configuração) do Startup Wizard (Assistente de arranque), clique em User-defined (Definido pelo utilizador) ou PrimePCR.
  - Na janela Home (Início), seleccione User-defined Run Setup (Configuração da corrida definida pelo utilizador) ou PrimePCR Run Setup (Configuração da corrida PrimePCR) na barra de ferramentas.
  - Na janela Home (Início), seleccione Run (Corrida) > User-defined Run (Corrida definida pelo utilizador) ou Run (Corrida) > PrimePCR Run (Corrida PrimePCR).

## Separador Protocol (Protocolo)

O separador Protocol (Protocolo) exibe uma pré-visualização do ficheiro de protocolo que se pretende correr. Um ficheiro de protocolo contém as instruções para as etapas de temperatura do instrumento, bem como as opções do instrumento que controlam a taxa de rampa, o volume da amostra e a temperatura da tampa.



Como predefinição, o software exibe o protocolo definido na secção File Selection for Run Setup (Seleção de ficheiro para Configuração da corrida) no separador Files (Ficheiros) na caixa de diálogo User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador). É possível alterar o protocolo predefinido na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador). Consulte [Alterar as configurações predefinidas dos ficheiros na página 90](#) para obter mais informações.

No separador Protocol (Protocolo), é possível:

- Criar um protocolo para a corrida
- Selecionar um protocolo existente para correr ou editar

Para obter mais informações sobre a criação e modificação de protocolos, consulte o [Capítulo 7, Criar protocolos](#).

### Como criar um protocolo

1. No separador Protocol (Protocolo), clique em Create New (Criar).  
É exibido o Protocol Editor (Editor de protocolo).
2. Use o Protocol Editor (Editor de protocolo) para criar um protocolo.
3. Clique em OK para guardar o protocolo e voltar para o separador Protocol (Protocolo) em Run Setup (Configuração da corrida).
4. Visualize os pormenores do protocolo e execute uma das seguintes opções:
  - Se os pormenores estiverem corretos, clique em Next (Próximo) para seguir para o separador Plate (Placa).
  - Se os pormenores estiverem incorretos, clique em Edit Selected (Editar selecionado) para voltar ao Protocol Editor (Editor de protocolo). Reveja o protocolo, guarde as alterações e clique em Next (Próximo) no separador Protocol (Protocolo) para avançar para o separador Plate (Placa).

### Como selecionar um protocolo existente

1. No separador Protocol (Protocolo), execute uma das seguintes opções:
  - Clique em Select Existing (Selecionar existente) e navegue até um protocolo existente.
  - Clique em Express Load (Carregamento rápido) e selecione um protocolo da lista suspensa de protocolos.  
  
**Dica:** é possível adicionar ou remover protocolos da lista suspensa Express Load (Carregamento rápido). Consulte [Adicionar e remover protocolos de Carregamento rápido](#), a seguir, para mais informações.
2. Visualize os pormenores do protocolo e execute uma das seguintes opções:
  - Se os pormenores estiverem corretos, clique em Next (Próximo) para seguir para o separador Plate (Placa).
  - Se os pormenores estiverem incorretos, clique em Edit Selected (Editar selecionado) para abrir a janela do Protocol Editor (Editor de protocolo). Reveja o protocolo, guarde as alterações e clique em Next (Próximo) no separador Protocol (Protocolo) para avançar para o separador Plate (Placa).

### Adicionar e remover protocolos de Carregamento rápido

É possível modificar os conteúdos da lista suspensa Express Load (Carregamento rápido) que aparece no Protocol Editor (Editor de protocolo). Os protocolos nesta lista estão guardados na pasta a seguir:

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX\_MDX\Users\<user\_name>\ExpressLoad\

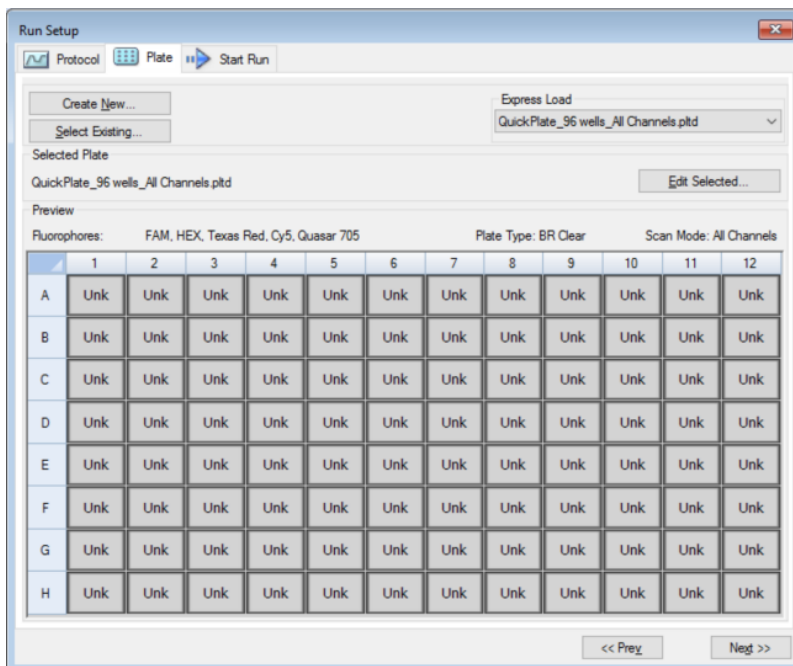
### **Como modificar a lista Express Load (Carregamento rápido) dos protocolos**

1. Navegue e abra a pasta ExpressLoad (Carregamento rápido).
2. Reveja os ficheiros de protocolo (.pcri) na pasta.
3. Execute uma das opções a seguir:
  - Elimine os protocolos da pasta para os remover da lista suspensa.
  - Copie os protocolos para a pasta para os adicionar à lista suspensa.

## Separador Plate (Placa)

**Observação:** se o protocolo seleccionado no separador Protocol (Protocolo) não incluir uma etapa de leitura de placa para a análise de PCR em tempo real, o separador Plate (Placa) fica oculto. Para visualizar o separador Plate (Placa), adicione pelo menos uma leitura de placa ao protocolo.

O separador Plate (Placa) exhibe uma pré-visualização do ficheiro de placa que se pretende carregar. Numa corrida de PCR em tempo real, o ficheiro de placa contém uma descrição do conteúdo de cada poço, inclusive os fluoróforos, o modo de leitura e o tipo de placa. O CFX Maestro Dx SE utiliza estas descrições para a recolha e análise dos dados.



Como predefinição, o software exhibe a placa definida na seção File Selection for Run Setup (Seleção de ficheiro para configuração da corrida) no separador Files (Ficheiros) na caixa de diálogo User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador). É possível alterar a placa predefinida na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador). Consulte [Alterar as configurações predefinidas dos ficheiros na página 90](#) para obter mais informações.

No separador Plate (Placa), é possível:

- Criar uma placa para carregar
- Seleccionar uma placa existente para carregar ou editar

Para obter mais informações sobre a criação e modificação de placas, consulte o [Capítulo 8, Preparar placas](#).

### Como criar uma placa

1. No separador Plate (Placa), clique em Create New (Criar).  
É exibido o Plate Editor (Editor de placa).
2. Use o Plate Editor (Editor de placa) para criar a placa.
3. Clique em OK para guardar a placa e voltar para o separador Plate (Placa) em Run Setup (Configuração da corrida).
4. Visualize os pormenores da placa e execute uma das seguintes opções:
  - Se os pormenores estiverem corretos, clique em Next (Próximo) para seguir para o separador Start Run (Iniciar corrida).
  - Se os pormenores estiverem incorretos, clique em Edit Selected (Editar selecionado) para voltar ao Plate Editor (Editor de placa). Reveja o ficheiro da placa, guarde as alterações e clique em Next (Próximo) no separador Plate (Placa) para avançar para o separador Start Run (Iniciar corrida).

### Como selecionar um ficheiro de placa existente

1. No separador Plate (Placa), execute uma das seguintes opções:
  - Clique em Select Existing (Selecionar existente) e navegue até um ficheiro de placa existente.
  - Clique em Express Load (Carregamento rápido) e selecione um ficheiro de placa da lista suspensa.  
  
**Dica:** é possível adicionar ou remover placas da lista suspensa Express Load (Carregamento rápido). Consulte [Adicionar e remover ficheiros de placa de Carregamento rápido](#), a seguir, para mais informações.
2. Visualize os pormenores da placa e execute uma das seguintes opções:
  - Se os pormenores estiverem corretos, clique em Next (Próximo) para seguir para o separador Start Run (Iniciar corrida).
  - Se os pormenores estiverem incorretos, clique em Edit Selected (Editar selecionado) para abrir a janela do Plate Editor (Editor de placa). Reveja o ficheiro da placa, guarde as alterações e clique em Next (Próximo) para avançar para o separador Start Run (Iniciar corrida).

### Adicionar e remover ficheiros de placa de Carregamento rápido

É possível modificar o conteúdo da lista suspensa Express Load (Carregamento rápido) que aparece no Plate Editor (Editor de placa). As placas que aparecem nesta lista são guardadas na pasta a seguir:

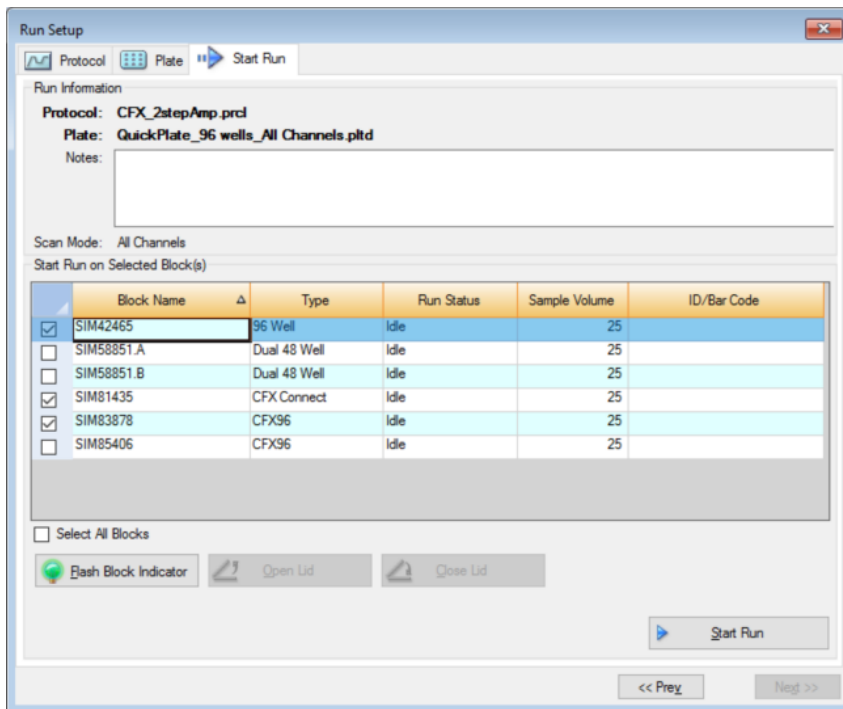
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_MDx\Users\\ExpressLoad\

**Como modificar a lista Express Load (Carregamento rápido) dos ficheiros de placa**

1. Navegue e abra a pasta ExpressLoad (Carregamento rápido).
2. Reveja os ficheiros de placa (.pltd) na pasta.
3. Execute uma das seguintes opções:
  - Elimine os ficheiros de placa da pasta para os remover da lista suspensa.
  - Copie os ficheiros de placa para a pasta para os adicionar à lista suspensa.

## Separador Start Run (Iniciar corrida)

O separador Start Run (Iniciar corrida) exibe informações sobre a experiência que se vai correr. Exibe também o bloco ou blocos do instrumento ligado nos quais é possível correr a experiência.



No separador menu Start Run (Iniciar corrida), é possível fazer o seguinte:

- Visualizar informações pormenorizadas da corrida, nomeadamente o ficheiro de protocolo selecionado, o ficheiro de placa e o modo de leitura.
- Adicionar observações sobre a corrida.
- Visualizar pormenores sobre todos os instrumentos ligados, nomeadamente o seu estado de corrida (em operação ou parado), o volume da amostra em  $\mu\text{l}$ , a temperatura da tampa, o modo de emulação e a ID ou código de barras, se disponível.

**Observação:** é possível modificar as colunas que aparecem na tabela Start Run on Selected Blocks (Iniciar corrida nos blocos selecionados). Consulte [Modificar os pormenores na tabela de blocos selecionados na página 183](#) para obter mais informações.

- Selecionar o bloco ou blocos nos quais realizar a corrida.
- Abrir ou fechar remotamente a tampa de cada instrumento selecionado.



- Iniciar a corrida.

### Modificar os pormenores na tabela de blocos selecionados

É possível modificar as colunas que aparecem na tabela Start Run on Selected Block(s) (Iniciar corrida no(s) bloco(s) selecionado(s)). Também é possível modificar os valores predefinidos de volume de amostra e temperatura da tampa na tabela. As alterações das configurações são aplicadas à corrida a ser realizada.

#### Como adicionar colunas na tabela Start Run on Selected Block(s) (Iniciar corrida no(s) bloco(s) selecionado(s))

- ▶ Clique com o botão direito do rato na tabela e selecione uma opção no menu exibido.

#### Como remover colunas na tabela Start Run on Selected Block(s) (Iniciar corrida no(s) bloco(s) selecionado(s))

- ▶ Clique com o botão direito do rato na tabela e desmarque a opção no menu exibido.

#### Como editar valores de volume de amostra volume ou temperatura da tampa de um bloco

- ▶ Selecione a célula do volume da amostra ou temperatura da tampa para o bloco pretendido e insira um novo valor na célula.

#### Como adicionar uma ID da corrida ou um código de barras para um bloco

- ▶ Selecione a célula de ID/código de barras para o bloco pretendido e insira uma ID ou scaneie o bloco com um leitor de código de barras.

## Correr uma experiência

**Importante:** antes de correr uma experiência, verifique se o software antivírus do seu computador não iniciará uma leitura durante a corrida. Consulte [Instalação de CFX Maestro Dx SE Software na página 36](#) e o administrador do sistema para obter mais informações.

#### Como correr uma experiência

1. No separador Star Run (Iniciar corrida), verifique os pormenores da placa e do protocolo na seção Run Information (Informações da corrida).
2. (Opcional) Adicione observações sobre a corrida ou experiência na caixa de texto Notes (Observações).
3. Selecione a caixa de seleção de um ou mais blocos nos quais realizar a corrida.

**Dica:** para executar a experiência em todos os blocos, selecione Select All Blocks (Selecionar todos os blocos) localizados abaixo da tabela Selected Blocks (Blocos selecionados).

4. (Opcional) Clique em Flash Block Indicator (Piscar indicador do bloco) para piscar o LED indicador nos blocos de instrumentos selecionados.
5. Insira as placas de experiência no bloco:
  - a. Clique em Open Lid (Abrir tampa). A tampa motorizada de cada bloco selecionado é aberta.
  - b. Insira uma placa de experiência em cada bloco selecionado.
  - c. Clique em Close Lid (Fechar tampa).

**Dica:** no Sistema CFX Opus Dx, toque em Open Lid (Abrir tampa) ou Close Lid (Fechar tampa) no ecrã inicial.
6. Clique em Open Lid (Abrir tampa) e Close Lid (Fechar tampa) para abrir e fechar a tampa motorizada de cada bloco do instrumento selecionado.
7. Visualize os pormenores da corrida e execute uma das seguintes opções:
  - Se os pormenores estiverem corretos, clique em Start Run (Iniciar corrida).
  - Se os pormenores estiverem incorretos:
    - Corrija os pormenores na tabela Selected Blocks (Blocos selecionados) e clique em Start Run (Iniciar corrida).
    - Volte ao separador correto e faça as alterações apropriadas, guarde as alterações e clique em Next (Avançar) para voltar ao separador Start Run (Iniciar corrida) e iniciar a corrida.

#### **Como iniciar uma nova corrida a partir de uma corrida anterior**

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - Selecione File (Ficheiro) > Repeat a Run (Repetir uma corrida) na barra de menu principal do software; navegue e clique duas vezes no ficheiro de dados da corrida que deseja repetir.
  - Selecione o separador Repeat Run (Repetir corrida) no Startup Wizard (Assistente de arranque) e clique duas vezes no ficheiro de dados da corrida que deseja repetir.

Opcionalmente, no separador Repeat Run (Repetir corrida), é possível clicar em Browse (Procurar), navegar para os ficheiros de dados da corrida que deseja repetir e clicar duas vezes neste ficheiro.

## Caixa de diálogo Run Details (Pormenores da corrida)

Ao clicar em Start Run (Iniciar corrida), o CFX Maestro Dx SE solicita que guarde o ficheiro de dados (.pcrd), inicia a corrida e abre a caixa de diálogo Run Details (Pormenores da corrida). A caixa de diálogo Run Details (Pormenores da corrida) contém três separadores de estado:

- **Run Status** (Estado da corrida) — use este separador para visualizar o estado atual do protocolo, abrir ou fechar a tampa, pausar uma corrida, adicionar repetições, ignorar etapas ou interromper a corrida.
- **Real-time Status** (Estado em tempo real) — use este separador para visualizar os dados de fluorescência de PCR em tempo real à medida que são recolhidos.
- **Time Status** (Estado de tempo) — use este separador para exibir um cronómetro de contagem regressiva em ecrã total para o protocolo.

Estes separadores são descritos em pormenor nas secções a seguir.

### Separador Run Status (Estado da corrida)

O separador Run Estado (Estado da corrida) exibe o estado atual de uma corrida em curso. Nesta visualização também é possível controlar a tampa e alterar a corrida em curso.

Run Details - CFX Run [SIM83878] - admin\_2017-07-31 17-10-48\_SIM83878.pcrd

Run Status | Realtime Status | Time Status

Run Status

95.0 C 3:00 | 95.0 C 0:10 | 55.0 C 0:30 | G O T O | E N D

Step 1 of 4 | 95.0 °C for 00:02:45 | Sample: 95.0 °C

Repeat 1 of 1 | Remaining 01:05:45 | Lid 105 °C

**Running**

Open Lid | Close Lid | Add Repeats | Skip Step | Flash Block Indicator | Pause | Resume | Stop

Run Information

Protocol:	CFX_2stepAmp.prcf
Plate:	QuickPlate_96_wells_All
Sample Volume:	25ul
Scan Mode:	All Channels
Data File Name:	admin_2017-07-31 17-10-48_SIM83878.pcrd
Notes:	
ID:	

#### LEGENDA

1. Painel Run Status (Estado da corrida) — exibe o progresso atual do protocolo.
2. Controlos do Run Status (Estado da corrida) — permitem operar o instrumento ou interromper o protocolo atual.
3. Painel Run Information (Informações da corrida) — exibe as informações da corrida.

### Comandos Run Status (Estado da corrida)

Use os comandos no separador Run Status (Estado da corrida) para operar o instrumento a partir do software ou alterar uma corrida em curso.

**Observação:** fazer alterações no protocolo durante a corrida, como adicionar repetições, não altera o ficheiro de protocolo associado à corrida. Estas ações são registadas no Run Log (Registo de corrida).



— abre a tampa motorizada nos instrumentos selecionados.

**Importante:** abrir a tampa durante uma corrida interrompe a corrida durante a etapa atual e pode alterar os dados. [Comandos Run Status \(Estado da corrida\) na página 186.](#)



— fecha a tampa motorizada nos instrumentos selecionados.



— adiciona mais repetições à etapa atual do GOTO (IR PARA) no protocolo. Esta opção está disponível somente quando uma etapa GOTO (IR PARA) está a ser executada.

**Observação:** é possível adicionar mais repetições durante um ciclo GOTO (Ir para) quando o protocolo está em curso. No entanto, o CFX Maestro Dx SE reconhece a alteração mais recente no número de repetições. Por exemplo, se adicionar mais 10 repetições durante um ciclo GOTO (Ir para), o software alterará o número total para  $n + 10$ . Se, em seguida, adicionar mais cinco (5) repetições ao mesmo ciclo, o CFX Maestro alterará o número total de repetições para  $n + 5$ . A primeira alteração (10 repetições) será ignorada. Para garantir que o software executa o número desejado de repetições, insira o número total (neste caso, 15 repetições).



— ignora a etapa atual no protocolo.

**Observação:** se ignorar uma etapa GOTO (IR PARA), o sistema avançará para o próximo ciclo no loop GOTO (IR PARA). Se o último ciclo da etapa GOTO (IR PARA) estava em curso no momento do avanço, o sistema passa para a próxima etapa.



— pisca o LED no instrumento selecionado para identificar os blocos selecionados.



— pausa o protocolo.

**Observação:** esta ação é registada no Run Log (Registo de corrida).



- retoma um protocolo em pausa.

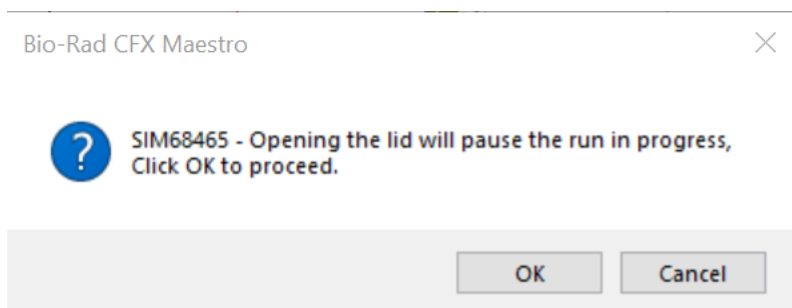


— interrompe a corrida antes que os protocolos terminem.

**Observação:** interromper uma corrida antes do término do protocolo pode alterar os dados.

### Abrir a tampa do instrumento durante uma PCR Run (Corrida PCR)

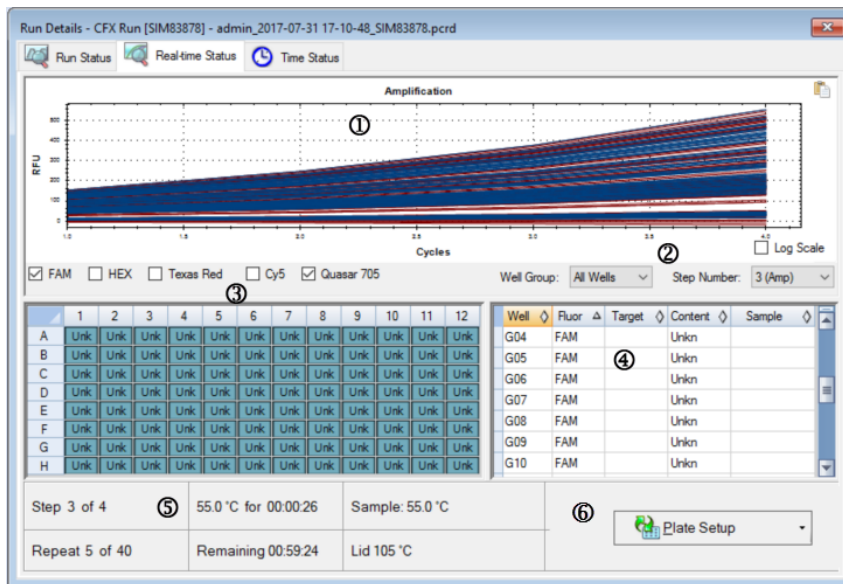
Se a tampa de qualquer instrumento for aberta durante uma corrida de PCR, o CFX Maestro Dx SE mostrará a seguinte caixa de diálogo de confirmação:



Enquanto a caixa de diálogo aparece, os instrumentos continuam a correr o protocolo. O botão OK coloca a corrida em pausa e a tampa do instrumento desengata e abre. O botão Cancelar rejeita a caixa de diálogo e retoma a corrida.

## Separador Real-time Status (Estado em tempo real)

O separador Real-time Status (Estado em tempo real) exibe os dados de PCR em tempo real recolhidos em cada ciclo durante a corrida após as duas primeiras leituras de placa.



### LEGENDA

1. Amplification trace pane (Painel de traçado de amplificação) — exibe os dados de amplificação em tempo real durante a corrida.
2. Well group identifier (Identificador de grupo de poço) — se forem identificados grupos de poços na configuração da placa, os utilizadores podem selecionar um grupo de poços específico para visualizar os traçados, os poços e as informações das tabelas.  
Step number identifier (Identificador do número de etapa) — se o protocolo recolher dados em mais de uma etapa (por exemplo, durante a amplificação e a curva de fusão), os utilizadores poderão selecionar uma etapa específica e visualizar os traçados recolhidos nessa etapa.
3. Well selector pane (Painel seletor de poço) — exibe os poços ativos, inativos e vazios na placa.
4. Plate setup table pane (Painel de tabela de configuração de placa) — exibe a configuração da placa em formato de tabela.

5. Run details pane (Painel de informações da corrida) — exibe o estado em tempo real da corrida, incluindo:
  - Current step (Etapa atual)
  - Current repeat (Repetição atual)
  - Current temperature (Temperatura atual)
  - Time remaining (Tempo restante)
  - Sample temperature (Temperatura da amostra)
  - Lid temperature (Temperatura da tampa)

---

6. Plate Setup (Configuração de placa) — abre a caixa de diálogo Plate Setup (Configuração de placa), na qual os utilizadores podem modificar a configuração de placa atual durante uma corrida.

No separador Real-time Status (Estado em tempo real), é possível:

- Mostrar ou ocultar os traçados em tempo real selecionando-os no painel do seletor de poço ou na tabela de configuração da placa
- Visualizar um único traçado ou grupos de traçados, selecionando-os no menu suspenso do grupo de poços
- Editar a placa ou substituir o ficheiro da placa
- Aplicar um ficheiro PrimePCR à corrida.

### Exibir ou ocultar traçados em tempo real

Como predefinição, todos os poços cheios estão ativos e aparecem na tabela de configuração de placa. Os poços ativos aparecem em azul no painel de seletor de poços. Os poços ativos ocultos aparecem em cinza claro e os poços sem uso aparecem em cinza escuro no painel de seletor de poços.

É possível ocultar traçados de poços ativos durante a corrida. O CFX Maestro Dx SE continua a recolher dados para todos os poços; ao ocultar poços, os dados não aparecem na tabela de configuração da placa.

#### Como ocultar traçados em tempo real

- ▶ No painel de seletor de poços, clique nos poços ativos (azuis) que deseja ocultar.

#### Como exibir traçados em tempo real

- ▶ No painel de seletor de poços, clique nos poços ocultos (cinza claros) que deseja exibir.

Para mais informações sobre o seletor de poços, consulte [Well Selector \(Seletor de poços\) na página 212](#).

## Editar uma Plate Setup (Configuração de placa)

### Como editar uma configuração de placa

- ▶ Clique em Plate Setup (Configuração de placa) e selecione View/Edit Plate (Visualizar/Editar placa).

A janela Plate Editor (Editor de placa) aparece, na qual é possível editar a placa enquanto a corrida está em curso. Para obter mais informações sobre a edição de placas, consulte [Capítulo 8, Preparar placas](#).

**Observação:** também é possível editar os estilos de traçados na janela Plate Editor (Editor de placa). As alterações aparecem no traçado de rastreamento de amplificação no separador Real-time Status (Estado em tempo real).

### Substituir um ficheiro de placa

**Dica:** substituir um ficheiro de placa é especialmente útil se uma corrida for iniciada com um ficheiro Quick Plate (Placa rápida) na pasta ExpressLoad (Carregamento rápido).

### Como substituir um ficheiro de placa

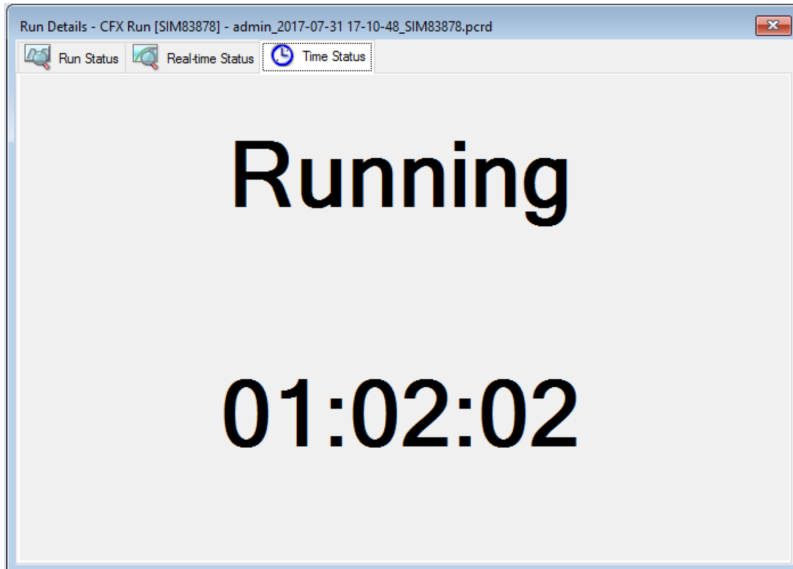
- ▶ Clique em Plate Setup (Configuração de placa) e selecione uma das seguintes opções:
  - Replace Plate file (Substituir ficheiro de placa) — selecione o novo ficheiro de placa da lista na janela do explorador
  - Apply PrimePCR file (Aplicar ficheiro PrimePCR) — procure um ficheiro executável a partir do qual o layout da placa será obtido usando a pesquisa inteligente ou clique em Browse (Navegar) para encontrar um ficheiro que tenha sido descarregado do website da Bio-Rad e que não esteja localizado na pasta PrimePCR

**Observação:** o CFX Maestro Dx SE verifica o modo de leitura e o tamanho da placa do ficheiro de placa. Devem ser os mesmos do que as configurações nas quais a corrida foi iniciada.



## Separador Time Status (Estado de tempo)

O separador Time Status (Estado de tempo) exibe o tempo restante para concluir a corrida atual.



## Realizar experiências PrimePCR

As experiências PrimePCR utilizam ensaios específicos para percurso ou doença validados e otimizados pela Bio-Rad em laboratório experimental nos seguintes formatos:

- Preplated panels (Painéis com placa prévia) — placas contendo ensaios que sejam específicos para um percurso biológico ou uma doença; incluem genes de controlo e referência PrimePCR.
- Custom configured plates (Placas de configuração personalizadas) — placas que podem ser configuradas num layout definido pelo utilizador com a opção de seleccionar ensaios para alvos de interesse, controlos e referências.
- Individual assays (Ensaio individuais) — tubos contendo conjuntos de iniciadores individuais para uso em reações em tempo real.

Para reduzir o tempo geral da corrida, é possível remover a etapa de fusão no protocolo. A Bio-Rad recomenda vigorosamente que não faça nenhuma outra modificação a um protocolo de corrida PrimePCR. O protocolo predefinido é aquele que foi usado para a validação do ensaio. Qualquer desvio em relação a este protocolo pode afetar os resultados. As alterações ao protocolo são anotadas no separador Run Information (Informações da corrida) do ficheiro de dados resultante e em quaisquer relatórios que sejam criados.

### Como iniciar uma corrida PrimePCR

- ▶ Para iniciar uma corrida PrimePCR, execute qualquer uma das seguintes opções:
  - No Startup Wizard (Assistente de arranque), seleccione PrimePCR no separador Run setup (Configuração da corrida) e, em seguida, seleccione a química apropriada (SYBR<sup>®</sup> ou Probe (Sonda)).
  - Seleccione uma corrida PrimePCR na lista Recent Runs (Corridas recentes) no separador Repeat run (Repetir corrida) no Startup Wizard (Assistente de arranque).
  - Seleccione File (Ficheiro) > Open (Abrir) > PrimePCR Run File (Ficheiro executável PrimePCR) na janela Home (Início).
  - Arraste e solte um ficheiro executável PrimePCR para a janela Home (Início).

Depois de seleccionar uma corrida PrimePCR, a janela Run Setup (Configuração da corrida) abre-se no separador Start Run (Iniciar corrida) com o layout da placa PrimePCR predefinido carregado com base no instrumento seleccionado.

### Como remover a etapa de fusão no protocolo

- ▶ No separador Protocol (Protocolo), desmarque a caixa adjacente a Include Melt Step (Incluir etapa de fusão).

### Como importar as informações do alvo das placas PrimePCR para um layout de placa

1. Execute uma das seguintes opções:
    - No separador Real-time Status (Estado em tempo real) na caixa de diálogo Run Details (Pormenores da corrida), selecione Plate Setup (Configuração de placa) > Apply PrimePCR File (Aplicar ficheiro PrimePCR).
    - Na janela Data Analysis (Análise de dados), selecione Plate Setup (Configuração de placa) > Apply PrimePCR File (Aplicar ficheiro PrimePCR).
  2. Na caixa de diálogo do ficheiro executável PrimePCR, clique em Browse (Navegar) para navegar até ao ficheiro PrimePCR apropriado (.csv).
  3. Selecione o ficheiro PrimePCR pretendido e clique em Open (Abrir).
- O Sistema CFX Opus Dx importa as informações do ficheiro pretendido para o layout da sua placa.

## Transferir dados autónomos para análise

**Importante:** quando transfere ficheiros de dados do Sistema CFX Opus Dx para o CFX Maestro Dx SE, todos os ficheiros guardados no sistema são transferidos. Certifique-se de que tem espaço em disco suficiente para que os dados sejam transferidos com segurança.

Quando a corrida é concluída, o CFX Maestro Dx SE analisa os dados de fluorescência. Se a corrida for realizada no modo autónomo e guardada no próprio Sistema CFX Opus Dx, os dados deverão ser transferidos para o computador do CFX Maestro Dx SE para análise.

O Sistema CFX Opus Dx pode armazenar até 100 corridas de PCR em tempo real. Depois da conclusão da corrida, é possível transferir ficheiros de dados autónomos para o computador do CFX Maestro Dx SE por e-mail, unidade USB ou pelo próprio software.

Esta seção explica como transferir ficheiros de dados autónomos para o computador do CFX Maestro Dx SE.

### Transferir dados por e-mail

#### Como enviar um ficheiro de dados por e-mail no término de uma corrida

1. Configure as notificações por e-mail para o instrumento.

Consulte [Configurar a notificação por e-mail na página 86](#) ou o Manual de funcionamento do Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx .

2. Ao configurar notificações por e-mail, certifique-se de que Attach Data File (Anexar ficheiro de dados) está selecionado.

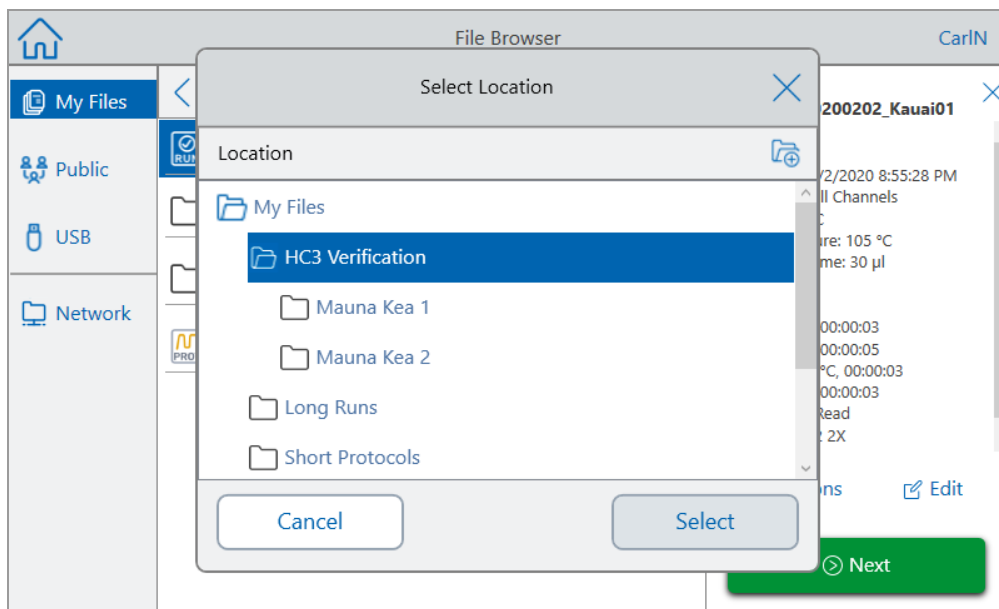
Os dados da corrida são enviados por e-mail como um ficheiro .pcrd.

### Transferir dados a partir do Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx


Utilizando a funcionalidade File Browser (Explorador de ficheiros) no Sistema CFX Opus Dx, é possível transferir ficheiros de dados para uma unidade USB ligada ou para uma pasta de rede partilhada. É também possível transferir ficheiros de protocolo do CFX Maestro Dx SE de uma unidade USB ou de uma unidade de rede partilhada para a sua pasta ou a pasta Pública no Sistema CFX Opus Dx e executá-los no Sistema CFX Opus Dx.

**Dica:** esta seção explica como transferir dados. Para obter informações sobre como configurar a ligação Ethernet , consulte o Manual de funcionamento do Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx disponível na no menu Help (Ajuda) do CFX Maestro Dx SE.

1. No ecrã inicial do Sistema CFX Opus Dx, toque em Files (Ficheiros) para visualizar o ecrã File Browser (Explorador de ficheiros).
2. No ecrã File Browser (Explorador de ficheiros), navegue até ao ficheiro que deseja copiar e toque no ficheiro para visualizar o painel de informações.
3. No painel de informações do ficheiro, toque em Options (Opções) e em Copy (Copiar).



É exibida a caixa de diálogo Select Location (Selecionar localização).

4. Na caixa de diálogo Select Location (Selecionar localização), execute uma das seguintes opções:
  - Navegue até uma pasta existente.
  - Navegue até à localização para criar uma pasta na qual guardar o ficheiro e toque em Create Folder (Criar pasta)  para criar uma pasta nessa localização.
5. Toque em Select (Selecionar) para copiar o ficheiro para a localização selecionada ou em Cancel (Cancelar) para voltar ao ecrã File Browser (Explorador de ficheiros).

**Observação:** se já existir um ficheiro com esse nome na localização selecionada, será exibida uma caixa de mensagens. Toque em Yes (Sim) para substituir o ficheiro existente ou em No (Não) para voltar ao ecrã File Browser (Explorador de ficheiros).

O Sistema CFX Opus Dx exibirá uma mensagem de confirmação quando o ficheiro for copiado com sucesso.

## Transferir dados utilizando o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

### Como transferir dados utilizando o CFX Maestro Dx SE

1. No painel Detected Instruments (Instrumentos detetados) na janela Home (Início), clique com o botão direito do rato no instrumento pretendido e selecione Retrieve Data Files (Recuperar ficheiros de dados).

O CFX Maestro Dx SE exhibe a caixa de diálogo Browse for Folder (Procurar pasta).

2. Na caixa de diálogo Browse for Folder (Procurar pasta), navegue para o local no qual planeia guardar os ficheiros de dados e clique em OK.

O processo de transferência cria uma pasta chamada Real-Time Data no local selecionado. Os dados da corrida são salvos na pasta Real-Time Data como ficheiros .zpcr separados.

## Transferir dados usando uma unidade USB

Se for inserida uma unidade USB na porta USB do instrumento, o ficheiro de dados será guardado automaticamente no diretório raiz da unidade USB quando a corrida estiver completa. Também é possível localizar ficheiros de dados guardados e guardá-los numa unidade USB conectada.

### Como transferir ficheiros de dados para uma unidade USB no Sistema CFX Opus Dx

- ▶ Na caixa de diálogo Select Location (Selecionar localização), toque em USB e navegue até à pasta para a qual deseja copiar o ficheiro, ou em Cancel (Cancelar) para voltar ao ecrã File Browser (Explorador de ficheiros).

**Observação:** se já existir um ficheiro com esse nome na localização selecionada, será exibida uma caixa de diálogo. toque em Yes (Sim) para substituir o ficheiro existente ou em No (Não) para voltar ao ecrã File Browser (Explorador de ficheiros).

O Sistema CFX Opus Dx exibirá uma mensagem de confirmação quando o ficheiro for copiado com sucesso.

## Transferir dados através de uma unidade de rede partilhada usando o Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx

**Dica:** é possível transferir dados de e para uma unidade de rede partilhada usando apenas o Sistema CFX Opus Dx.

O Sistema CFX Opus Dx permite ligar-se a uma unidade de rede partilhada usando a Ethernet. Tendo estabelecido uma ligação, é possível transferir ficheiros de dados de e para uma pasta na unidade de rede partilhada.

### Como transferir dados de e para uma unidade de rede partilhada

- ▶ Na caixa de diálogo Select Location (Selecionar localização), toque em Network (Rede) e navegue até à pasta para a qual deseja copiar o ficheiro, ou em Cancel (Cancelar) para voltar ao ecrã File Browser (Explorador de ficheiros).

**Observação:** se já existir um ficheiro com esse nome na localização selecionada, será exibida uma caixa de diálogo. toque em Yes (Sim) para substituir o ficheiro existente ou em No (Não) para voltar ao ecrã File Browser (Explorador de ficheiros).

O Sistema CFX Opus Dx exibirá uma mensagem de confirmação quando o ficheiro for copiado com sucesso.

## Criar um ficheiro de dados

Para analisar os dados transferidos do instrumento para o computador do CFX Maestro Dx SE, o ficheiro de dados comprimido (ficheiro .zpcr) deve ser convertido num ficheiro de dados (ficheiro .pcrd). O CFX Maestro Dx SE converte o ficheiro .zpcr num ficheiro .pcrd e seleciona um ficheiro de placa que tenha o mesmo modo de leitura e tamanho de placa e aplica-o ao ficheiro .pcrd.

### Criar um ficheiro de dados a partir de um ficheiro de dados independente

1. No CFX Maestro Dx SE, execute uma das seguintes opções:
  - Localize o ficheiro .zpcr pretendido e arraste-o para a janela Home (Início) do CFX Maestro Dx SE.
  - Selecione File (Ficheiro) > Open (Abrir) > Stand-alone Run (Corrida independente), navegue e selecione o ficheiro pretendido.

O CFX Maestro Dx SE exhibe a caixa de diálogo Save As (Guardar como).

2. Navegue até à pasta onde pretende guardar o ficheiro .pcrd e clique em Save (Guardar).

Depois de guardar o ficheiro .pcrd, o CFX Maestro Dx SE abre a janela Data Analysis (Análise de dados) e exhibe os dados resultantes.





## Capítulo 10 Visão geral da análise de dados

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) processa dados de PCR em tempo real automaticamente no final de cada corrida e abre a janela Data Analysis (Análise de dados) para exibir esses dados (o ficheiro .pcrd).

- Arrastar um ficheiro de dados (extensão .pcrd) na janela Home (Início) e soltá-lo.
- Selecionar File (Ficheiro) > Open (Abrir) > Data File (Ficheiros de dados) na janela Home (Início) e procurar o ficheiro .pcrd pretendido.
- Selecionar File (Ficheiro) > Recent Data Files (Ficheiros de dados recentes) na janela Home (Início) para escolher a partir de uma lista dos dez ficheiros de dados abertos recentemente
- Selecionar o separador Analyze (Analisar) no Startup Wizard (Assistente de arranque) e escolher a partir de Recent Files (Ficheiros recentes) ou clicar em Browse (Procurar) para localizar o ficheiro de dados.

### Janela Data Analysis (Análise de dados)

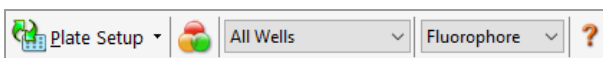
A janela Data Analysis (Análise de dados) exibe vários separadores, cada um com os dados analisados para um método de análise ou específico ou uma informação específica da corrida. Os separadores apenas são exibidos se os dados recolhidos na corrida estiverem disponíveis para aquele tipo de análise.



**Dica:** para escolher os separadores a exibir, selecione-os no menu suspenso View (Visualizar) na janela Data Analysis (Análise de dados). Para voltar ao layout original do separador, selecione Settings (Configurações) > Restore Default Window Layout (Restaurar o layout da janela predefinido).



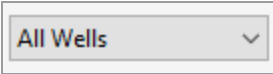
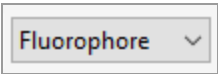

## Barra de ferramentas Data Analysis (Análise de dados)

A barra de ferramentas na janela Data Analysis (Análise de dados) proporciona um acesso rápido a funções importantes de análise de dados.



A [Tabela 11](#) lista as funções dos botões na barra de ferramentas.

**Tabela 11. Barra de ferramentas na janela Data Analysis (Análise de dados)**

Botão	Nome	Função
	Plate Setup (Configuração de placa)	View/Edit plate (Visualizar/editar placa) — abre o Plate Editor (Editor de placa) para visualizar e editar o conteúdo dos poços.  Replace Plate (Substituir placa) — seleciona um ficheiro de placa para substituir o layout da placa.  Apply PrimePCR file (Aplicar ficheiro PrimePCR) — seleciona um ficheiro executável para substituir o layout da placa para uma corrida PrimePCR.
	Manage Well Groups (Gerir grupos de poços)	Abre a janela do Well Groups Manager (Gestor de grupos de poços) para criar, editar e eliminar grupos de poços.
	Well Group (Grupo de poços)	Seleciona um nome de grupo de poços existente no menu suspenso. A seleção predefinida é All Wells (Todos os poços). Este botão é exibido apenas quando são criados grupos de poços.
	Analysis Mode (Modo de análise)	Analisa os dados no modo de fluoróforo ou alvo.
	Help (Ajuda)	Abre a secção de ajuda do software, na qual é possível encontrar a ajuda online e uma cópia digital deste manual no formato Acrobat PDF.

## Barra de menu da Data Analysis (Análise de dados)

A [Tabela 12](#) lista os itens da barra de menu na janela Data Analysis (Análise de dados).

**Tabela 12. Itens da barra de menu da janela Data Analysis (Análise de dados)**

Item do menu	Command (Comando)	Função
File (Ficheiro)	Save (Guardar)	Guarda o ficheiro.
	Save As (Guardar como)	Guarda o ficheiro com um novo nome.
	File Passwords (Palavras-passe de ficheiro)	Permite que os utilizadores definam palavras-passe para guardar e abrir ficheiros.
	Sign (Assinar)	Permite que os utilizadores assinem o ficheiro de dados.
	Repeat Run (Repetir corrida)	Extrai o protocolo e o ficheiro de placa da corrida atual para a voltar a executar
	Close (Fechar)	Fecha a janela Data Analysis (Análise de dados).
View (Visualizar)	Run Log (Registo de corrida)	Abre uma janela Run Log (Registo de corrida) para visualizar o registo da corrida do ficheiro de dados atual.
	Audit Trail (Pista de auditoria)	Abre a pista de auditoria para o ficheiro.
	Quantification (Quantificação), Melt Curve (Curva de fusão), Gene Expression (Expressão génica), End Point (Ponto final), Custom Data View (Vista de dados personalizada), QC (CQ), Run Information (Informações de corrida)	Exibe os dados analisados nos separadores selecionados na janela Data Analysis (Análise de dados). Pelo menos um separador deve ser selecionado.

**Tabela 12. Itens da barra de menu da janela Data Analysis (Análise de dados), continuação**

<b>Item do menu</b>	<b>Command (Comando)</b>	<b>Função</b>
Settings (Configurações)	$C_q$ Determination Mode (Modo de determinação de $C_q$ )	Permite selecionar o modo Regression (Regressão) ou Single Threshold (Limiar único) para determinar como os valores $C_q$ são calculados para cada traçado.

Tabela 12. Itens da barra de menu da janela Data Analysis (Análise de dados), continuação

Item do menu	Command (Comando)	Função
	Baseline Setting (Configuração de linha de base)	Permite selecionar o método Baseline Subtraction (Subtração de linha de base) para os grupos de poços selecionados.
	Analysis Mode (Modo de análise)	Permite analisar os dados por Fluorophore (Fluoróforo) ou por Target (Alvo).
	Cycles to Analyze (Ciclos para análise)	Permite selecionar os ciclos a serem analisados.
	Baseline Thresholds (Limiares de linha de base)	Abre a janela Baseline Threshold (Limiar de linha de base) para ajustar a linha de base ou o limiar.
	Trace Styles (Estilos de traçados)	Abre a janela Trace Styles (Estilos de traçados).
	Plate Setup (Configuração de placa)	Abre o Plate Editor (Editor de placa) para visualizar e editar a placa; substituir a placa atual por uma de um ficheiro de placa definido pelo utilizador ou de um ficheiro executável PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Incluir todos os poços excluídos)	Inclui todos os poços excluídos na análise.
	Mouse Highlighting (Realce do rato)	Ativa ou desativa o realce simultâneo de dados com o ponteiro do rato. <b>Dica:</b> se o Mouse Highlighting (Realce do rato) estiver desligado, pressione a tecla Control (Ctrl) para ligar temporariamente o realce.
	Restore Default Window Layout (Restaurar o layout da janela predefinido)	Restaura o layout das janelas para a configuração predefinida.

**Tabela 12. Itens da barra de menu da janela Data Analysis (Análise de dados), continuação**

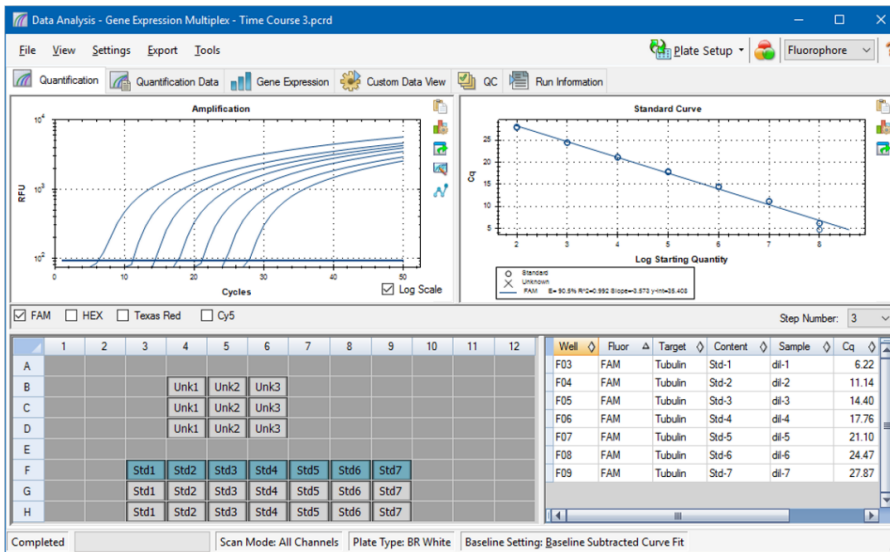
Item do menu	Command (Comando)	Função
Export (Exportar)	Export All Data Sheets (Exportar todas as folhas de dados)	Permite selecionar se deseja exportar todas as vistas de folha de cálculo de cada separador para um .csv, .txt. Excel ou ficheiro .xml.
	Export RDML File (Exportar ficheiro RDML).	Permite selecionar a versão 1.1 ou 1.0 do RDML para exportar o ficheiro.
	Custom Export (Personalizar exportação)	Abre a janela Custom Export (Personalizar exportação), na qual podem ser definidos os campos e o formato de ficheiro a ser exportados.
	Export to LIMS Folder (Exportar para a pasta LIMS)	Abre uma janela para guardar dados num formato predeterminado para a pasta LIMS.
	Manual Export (Exportar manual)	<p>Abre uma janela para identificar a localização para guardar dados de todas as vistas de folhas de cálculo em ficheiros Excel estruturados especificamente para uso pela Seegene, Inc. e Bio-Rad Laboratories.</p> <p><b>Dica:</b> É igualmente possível iniciar automaticamente o Seegene Viewer na exportação. Consulte <a href="#">Comandos do menu Tools (Ferramentas) na página 71</a> para obter mais informações.</p>

**Tabela 12. Itens da barra de menu da janela Data Analysis (Análise de dados), continuação**

<b>Item do menu</b>	<b>Command (Comando)</b>	<b>Função</b>
Tools (Ferramentas)	Reports (Relatórios)	Abre o Report (Relatório) para este ficheiro de dados.
	Well Group Reports (Relatórios de grupo de poços)	Abre uma janela Well Group Report (Relatórios de grupo de poços) para gerar relatórios para grupos de poços especificados.
	Import Fluorophore Calibration (Importar calibragem de fluoróforo)	Seleciona um ficheiro de calibragem para aplicar ao ficheiro de dados atual.
	qbase+	Inicia o qbase+ v2.5 diretamente do ficheiro .pcrd atual, se estiver instalado.
	Generate LIMS PLRN file (Gerar um ficheiro LIMS PLRN)	Guarda o ficheiro de dados como um ficheiro .plrnr no formato LIMS.

## Informações do separador

Cada separador na janela Data Analysis (Análise de dados) exibe dados em gráficos e folhas de cálculo para um método de análise específico e inclui um seletor de poços para selecionar os dados que pretende exibir. Quando é aberta, a Data Analysis (Análise de dados) exibe o separador Quantification (Quantificação) por predefinição. É possível usar os dados do gráfico Amplification (Amplificação) no separador Quantification (Quantificação) para determinar as configurações da análise de dados apropriadas para a corrida.

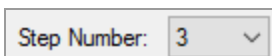


**Observação:** o software liga os dados nos painéis de cada separador Data Analysis (Análise de dados). Por exemplo, destacar um poço colocando o ponteiro do rato sobre o poço na vista do seletor de poços realça os dados em todos os outros painéis.

## Step Number Selector (Seletor de número de etapa)

Os sistemas CFX Opus Dx podem adquirir dados de fluorescência em várias etapas do protocolo; o software mantém os dados adquiridos em cada etapa de forma independente. O CFX Maestro Dx SE exibe o seletor de número de etapa abaixo do gráfico de curva padrão no separador Quantification (Quantificação). Quando um protocolo contém pelo menos uma etapa de recolha de dados, o CFX Maestro Dx SE exibe os dados da primeira etapa da recolha.

Se o protocolo contiver mais do que uma etapa de recolha, é possível selecionar outra etapa na lista suspensa. Por exemplo:





Quando uma etapa é selecionada, o software aplica essa seleção a todos os dados exibidos na janela Data Analysis (Análise de dados).

## Visualizar grupos de poços na Data Analysis (Análise de dados)

Os poços na placa podem ser agrupados em subconjuntos para análise independente usando grupos de poços. Quando cria grupos de poços, os nomes dos grupos são exibidos na janela Data Analysis (Análise de dados), na lista suspensa Well Groups (Grupos de poços) na barra de ferramentas.

Se criou grupos de poços, o software exibe o grupo de poços predefinido All Wells (Todos os poços) quando a janela de Data Analysis (Análise de dados) é aberta, exibindo os dados em todos os poços com conteúdo nos gráficos e folhas de cálculo. Somente os poços nesse grupo de poços carregados com conteúdo são exibidos no seletor de poços e somente os dados para esses poços são incluídos nos cálculos de análise de dados.

**Dica:** para criar, editar e eliminar todos os grupos, clique em Manage Well Groups (Gerir grupos de poços) na barra de ferramentas.

**Observação:** se não criou grupos de poços, a lista suspensa Well Groups (Grupos de poços) não será exibida na barra de ferramentas.

## Alterar conteúdos de poços após uma corrida

Durante a análise de dados, alterar a forma como os dados são exibidos, alterando o conteúdo dos poços no Plate Editor (Editor de placa), nunca altera os dados de fluorescência que foram recolhidos em cada poço durante a corrida. Após terem sido recolhidos os dados de fluorescência pelo módulo, não será possível eliminar esses dados, mas será possível optar por remover os dados da exibição e da análise.

### Como alterar o conteúdo de poços após uma corrida

- ▶ Na janela Data Analysis (Análise de dados), clique em Plate Setup (Configuração de placa) e selecione uma das opções a seguir:
  - **Edit/View Plate** (Editar/Visualizar placa) — abre o Plate Editor (Editor de placa), no qual é possível fazer alterações manuais ao layout.
  - **Replace Plate File** (Substituir ficheiro de placa) — abre o explorador Select Plate (Selecionar placa), no qual é possível navegar para um ficheiro de placa anteriormente guardado para substituir o layout atual da placa.
  - **Apply PrimePCR file** (Aplicar ficheiro PrimePCR) — abre a caixa de diálogo Select PrimePCR file (Selecionar ficheiro PrimePCR), na qual é possível navegar para um ficheiro executável PrimePCR e aplicá-lo no layout da placa.

**Dica:** é possível adicionar ou editar informações sobre o conteúdo do poço antes de uma corrida, durante uma corrida ou após a conclusão de uma corrida de PCR. Deve atribuir-se o modo de leitura e o tamanho da placa antes da corrida. Estes parâmetros não podem ser alterados após a corrida.

## Configurações de análise de dados

Os dados do gráfico Amplification (Amplificação) no separador Quantification (Quantificação) exibem a unidade de fluorescência relativa (RFU) para cada poço em cada ciclo. Cada traçado no gráfico representa dados de um único fluoróforo em um poço. Estes dados são usados para determinar os valores de  $C_q$  para cada poço numa base por fluoróforo. O software usa um ou dois modos para determinar os valores  $C_q$ :

- **Regression** (Regressão) — aplica um modelo de regressão não linear multivariável a rastreamentos de poços individuais e, em seguida, usa esse modelo para calcular o valor  $C_q$ .
- **Single Threshold** (Limiar único) — usa um valor de limiar único para calcular o valor de  $C_q$  com base no ponto de cruzamento de limiar de traçados individuais de fluorescência.

Selecione Settings (Configurações) >  $C_q$  Determination Mode (Modo de determinação de  $C_q$ ) para selecionar o modo de determinação  $C_q$ .

### Ajustar o limiar

No modo Single Threshold (Limiar único), é possível ajustar o limiar para um fluoróforo clicando na linha de limiar no gráfico Amplification (Amplificação) e movendo o ponteiro do rato verticalmente. Alternativamente, é possível especificar um limiar de cruzamento exato para o fluoróforo selecionado.

### Configurações de linha de base

O software automaticamente define a linha de base individualmente para cada poço. A configuração de linha de base determina o método de subtração da linha de base para todos os traçados de fluorescência. O software oferece três opções de subtração de linha de base:

- **No Baseline Subtraction** (Nenhuma subtração de linha de base) — exibe os dados como traçados de fluorescência relativa. Algumas análises não são possíveis neste modo de análise e, portanto, o software não exibe os separadores Gene Expression (Expressão génica), End Point (Ponto final) e Allelic Discrimination (Discriminação alélica).
- **Baseline Subtracted** (Linha de base subtraída) — exibe os dados como traçados com linha de base subtraída para cada fluoróforo num poço. O software deve subtrair a linha de base dos dados para determinar ciclos de quantificação, construir curvas padrão e determinar a concentração de amostras desconhecidas. Para gerar o traçado com linha de base subtraída, o software enquadra a melhor linha reta pela fluorescência registada de cada poço durante os ciclos de linha de base e em seguida subtrai os dados de melhor ajuste dos dados de fundo subtraídos a cada ciclo.
- **Baseline Subtracted Curve Fit** (Encaixe de curva de linha de base subtraída) — exibe os dados como traçados de linha de base subtraída e o software suaviza a curva de linha de base subtraída

usando um filtro de média centralizada. Este processo é realizado para que cada  $C_q$  seja deixado sem variante.

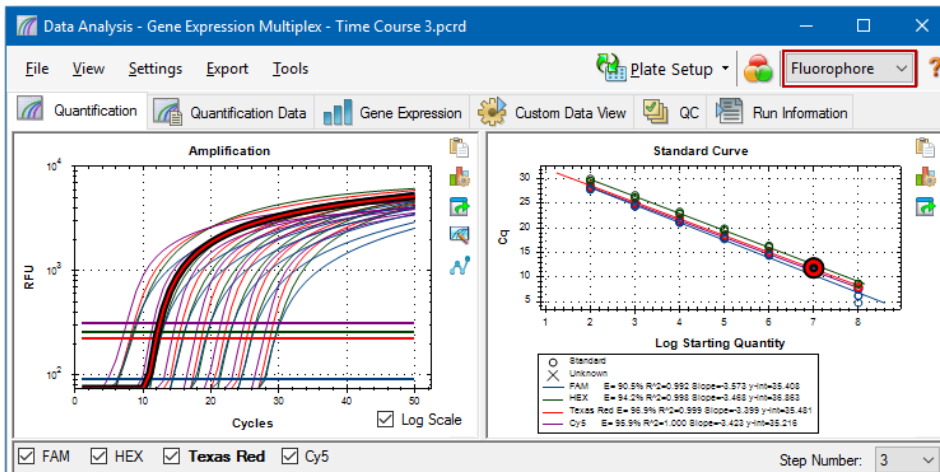
Adicionalmente a essas opções, também é possível selecionar Apply Fluorescent Drift Correction (Aplicar correção de derivação fluorescente). Para poços que tenham valores de RFU com derivação anormal durante os ciclos iniciais de uma corrida, o software deriva uma linha de base estimada dos poços adjacentes para os quais uma linha de base horizontal tenha sido gerada com sucesso.

### Como alterar a configuração de subtração de linha de base

- ▶ Selecione Settings (Configurações) > Baseline Setting (Configuração de linha de base).

## Analysis Mode (Modo de análise)

Os dados podem ser agrupados e analisados por nome de fluoróforo ou de alvo. Quando agrupados por fluoróforo, os traçados de dados são exibidos por fluoróforo conforme indicado na configuração de placa para essa corrida. Os dados do fluoróforo individual são exibidos no gráfico de amplificação e curva padrão (se disponível) quando as caixas de seleção de fluoróforo apropriadas, localizadas abaixo do gráfico de amplificação, são selecionadas.



Quando agrupados por alvo, os traçados de dados são exibidos por nome de alvo conforme inserido na configuração de placa para essa corrida.

### Como escolher um modo de análise de dados

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - Selecione Settings (Configurações) > Analysis Mode (Modo de análise).

- Selecione um modo no menu suspenso Analysis Mode (Modo de análise) na barra de ferramentas.

## Cycles to Analyze (Ciclos para análise)

É possível restringir o número de ciclos para análise. Também é possível analisar os dados de um conjunto específico de ciclos. O número máximo de ciclos que é possível analisar é 50.

**Observação:** a remoção de ciclos do início de uma corrida pode ter um impacto significativo na linha de base.

### Como restringir a análise de dados para um intervalo específico de ciclos

1. Selecione Settings (Configurações) > Cycles to Analyze (Ciclos para análise).

É exibida a caixa de diálogo Cycles to Analyze (Ciclos para análise).

2. Digite os valores dos ciclos inicial e final e clique em OK.

Clique em Restore Defaults (Restaurar predefinições) na caixa de diálogo Cycles to Analyze (Ciclos para análise) para voltar aos ciclos usados originalmente para análise.

## Well Selector (Seletor de poços)

Use o Well Selector (Seletor de poços) para visualizar ou ocultar os dados dos poços nos gráficos ou folhas de cálculo na janela Data Analysis (Análise de dados). Somente os poços carregados com amostra podem ser selecionados no seletor de poços. O software aplica cores nos poços no seletor de poços:

- **Azul** — indica poços selecionados. Os dados dos poços selecionados são exibidos na janela Data Analysis (Análise de dados).
- **Cinza claro** — indica poços não selecionados. Os dados dos poços não selecionados não são exibidos na janela Data Analysis (Análise de dados).
- **Cinza escuro** — indica poços vazios.

	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			

### Como exibir ou ocultar dados de poços

- ▶ No seletor de poços, execute uma das opções a seguir:
  - Para ocultar um poço, clique no poço individual. Para voltar a exibir o poço, clique nele novamente.
  - Para ocultar vários poços, arraste o cursor pelos poços que deseja selecionar. Para voltar a exibir os poços, arraste o cursor pelos poços novamente.
  - Clique no canto esquerdo superior da placa para ocultar todos os poços. Clique no canto superior esquerdo novamente para exibir todos os poços.
  - Clique no início de uma coluna ou linha para ocultar os poços. Clique na coluna ou linha novamente para voltar a exibir os poços.

## Itens de menu do botão direito do rato para seletor de poços

A [Tabela 13](#) lista as opções do botão direito disponíveis na vista de seletor de poços.

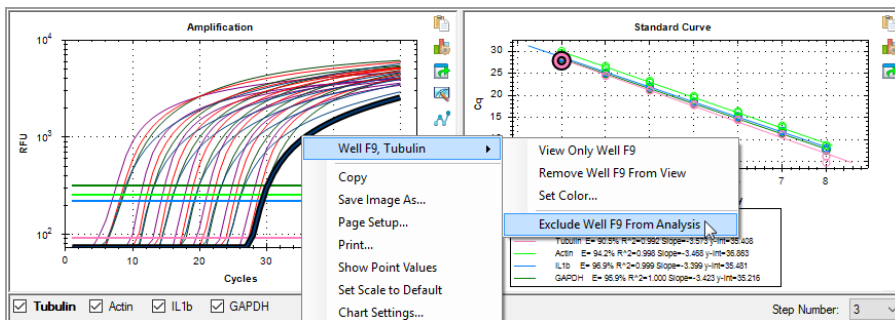
**Tabela 13. Itens de menu do botão direito do rato para vista de seletor de poços**

Item	Função
Well XX (Poço XX)	Exibe somente este poço, remove-o da vista, define a cor desse poço ou exclui-o da análise.
Selected Wells (right-click and drag) (Poços selecionados (clique com o botão direito e arraste))	Exibe apenas estes poços, remove-os da vista, define a cor desses poços ou exclui-os da análise.
Copy (Copiar)	Copia o conteúdo do poço para uma área de transferência, incluindo o Sample Type (Tipo de amostra) e Replicate # (N.º de réplica) opcional.
Copy as Image (Copiar como imagem)	Copia a vista do seletor de poços como uma imagem.
Print (Imprimir)	Imprime a vista do seletor de poços.
Print Selection (Imprimir seleção)	Imprime a seleção atual.
Export to Excel (Exportar para Excel)	Exporta os dados para uma folha de cálculo Excel.
Export to CSV (Exportar para CSV)	Exporta os dados como um documento .csv.
Export to Xml (Exportar para Xml)	Exporta os dados como um documento .xml.
Well Labels (Rótulos de poço)	Altera os rótulos dos poços para Sample Type (Tipo de amostra), Target Name (Nome do alvo) ou Sample Name (Nome da amostra).

## Excluir temporariamente poços da análise

### Como excluir temporariamente poços da análise de dados

1. Clique com o botão direito do rato no seletor de poços, num traçado de fluorescência ou num ponto desenhado na curva padrão. Para excluir vários poços, clique com o botão direito do rato e arraste para destacar vários poços, traçados ou pontos.
2. A partir do menu do botão direito do rato, selecione a opção apropriada:
  - Well (Poço) > Exclude Well (Excluir poço)
  - Selected Wells (Poços selecionados) > Exclude from Analysis (Excluir da análise)
  - Selected Traces (Traçados selecionados) > Exclude these wells from Analysis (Excluir estes poços da análise)



Como alternativa, para remover permanentemente poços da análise, limpe o conteúdo dos poços no Plate Editor (Editor de placas) clicando no botão Clear Wells (Limpar poços).

**Importante:** deve-se voltar a inserir qualquer conteúdo de poço que estiver limpo.

### Como incluir um poço excluído

- ▶ Clique com o botão direito do rato no poço apropriado no seletor de poços e selecione Well (Poço) > Include Well in Analysis (Incluir poço na análise).



## Gráficos

Cada gráfico na janela Data Analysis (Análise de dados) exibe os dados num gráfico diferente e inclui opções para ajustar e exportar os dados ou gráficos.

### Ferramentas de gráficos

A [Tabela 14](#) lista as opções disponíveis ao clicar com o botão direito disponíveis na maioria dos gráficos.

**Tabela 14. Itens de menu do botão direito do rato comuns à maioria dos gráficos**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o gráfico para a área de transferência
Save Image As... (Guardar imagem como)	Guarda o gráfico como um ficheiro de imagem. Configure a resolução e as dimensões da imagem e, em seguida, selecione o tipo de ficheiro (PNG, GIF, JPG, TIF ou BMP).
Page Setup... (Configuração de página)	Seleciona uma configuração de página para impressão.
Print... (Imprimir)	Imprime o gráfico.
Set Scale to Default (Colocar na escala predefinida)	Mostra todos os dados no gráfico de barras. Exibe a barra de deslocamento se houver muitos pontos de dados/amostras a serem exibidos no quadro do gráfico.
Chart Settings (Configurações do gráfico)	Abre a caixa de diálogo Chart Settings (Configurações do gráfico), na qual é possível modificar as opções de exibição do gráfico, incluindo: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Títulos de gráficos e eixos</li> <li>■ Fonte e tamanho de gráficos e eixos</li> <li>■ Escala do eixo</li> <li>■ Posição da legenda</li> </ul>

As ferramentas aparecem em cada gráfico na janela Data Analysis (Análise de dados). Todos os gráficos exibem estas ferramentas:

**Copy to Clipboard** (Copiar para área de transferência) — copia o conteúdo da vista do gráfico para a área de transferência.

**Chart Settings** (Configurações de gráfico) — abre a caixa de diálogo Chart Settings (Configurações do gráfico), na qual é possível modificar as opções de exibição do gráfico.

**Export** (Exportar) — abre a caixa de diálogo Export Options (Opções de exportação), onde é possível modificar a resolução e o tamanho do gráfico e guardá-lo numa localização especificada como um dos seguintes tipos de ficheiro:

- .bmp
- .jpg
- .png

### Ferramentas do gráfico de barras

Além das ferramentas de gráfico, os gráficos de barra exibem as seguintes ferramentas:

**Sort** (Ordenar) — ordena os alvos e amostras alfabeticamente ou em ordem alfabética inversa.

**Color Settings** (Configurações de cores) — abre a caixa de diálogo Color Settings (Configurações de cores), na qual é possível alterar a cor dos alvos e amostras.

Para obter mais informações sobre estas ferramentas, consulte [Alterar e anotar a Chart View \(Vista de Gráfico\) na página 278](#).

### Ferramentas do gráfico Amplification (Amplificação)

Além das listadas acima, os gráficos de amplificação exibem as seguintes ferramentas:

**Trace Styles** (Estilos de traçados) — abre a caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traçados) na qual é possível modificar a aparência dos traçados no gráfico de amplificação.

**Baseline Threshold** (Limiar de base) — abre a caixa de diálogo Baseline Threshold (Limiar de base), na qual é possível modificar a linha de base predefinida para poços selecionados ou alterar o limite para cada curva de fluorescência no gráfico de amplificação.

### Copiar dados do gráfico para a área de transferência

É possível copiar o conteúdo de uma vista de gráfico e colá-la em qualquer aplicação que aceite ficheiros de imagem bitmap.

#### Como copiar dados do gráfico para a área de transferência

1. Nas ferramentas de gráfico, selecione o ícone Copy to Clipboard (Copiar para a área de transferência).
2. Abra uma aplicação que aceite imagens de bitmap, por exemplo o Microsoft Word.
3. Clique o botão direito e selecione Paste (Colar) para colar a imagem bitmap da área de transferência na aplicação.

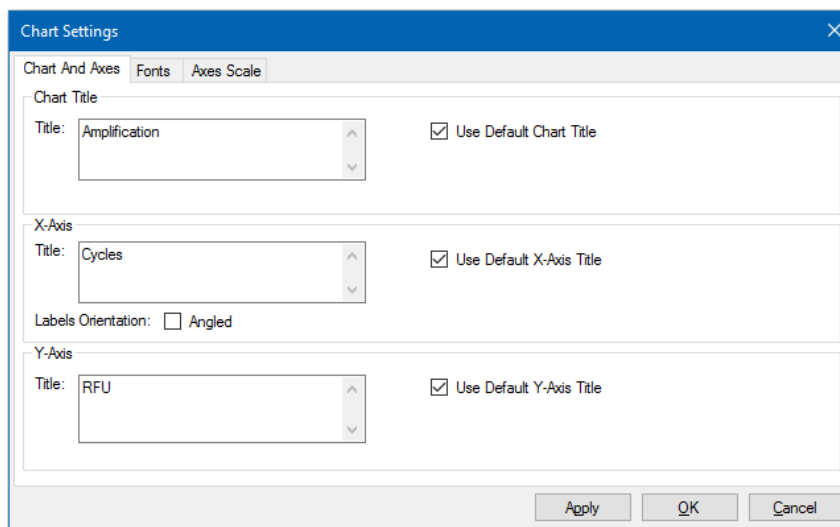
## Alterar as configurações de exibição de gráfico

Use a caixa de diálogo Chart Settings (Configurações do gráfico) para alterar títulos, fontes e tamanhos, escala do eixo e localização da legenda para o gráfico exibido. As alterações feitas aplicar-se-ão apenas ao gráfico exibido e serão guardadas com o gráfico.

### Como alterar as configurações de exibição de gráfico

1. Nas ferramentas do gráfico, clique em Chart Settings (Configurações do gráfico).

É exibida a caixa de diálogo Chart Settings (Configurações do gráfico).



2. Selecione o separador Chart And Axes (Gráfico e eixos) para:

- Digite um título para o gráfico.
- Digite um novo título para o eixo x e aplique o ângulo dos rótulos.
- Digite um novo título para o eixo y.

3. Selecione o separador Fonts (Fontes) para alterar a fonte e o tamanho da fonte do gráfico.

**Dica:** como predefinição, o tamanho da fonte é alterado automaticamente à medida que o tamanho do gráfico muda. Selecione Change Font Size (Alterar tamanho da fonte) para definir um tamanho de fonte fixo para cada tipo de rótulo.

4. Selecione o separador Axes Scale (Escala dos eixos) para:

- Desmarcar a escala automática dos eixos x e y e especificar valores de escala mínimos e máximos.
- Selecionar exibir linhas de grade ou marcas de verificação no gráfico.

5. Selecione o separador Legend (Legenda) para:

- Escolher ocultar a legenda do gráfico.
- Alterar a posição predefinida da legenda do gráfico.

**Observação:** quando a legenda estiver posicionada à esquerda ou à direita do gráfico, apenas serão exibidos os dez primeiros fluoróforos no gráfico.

6. Clique em Apply (Aplicar) a qualquer momento para visualizar as alterações das configurações do gráfico sem as guardar.
7. Clique em OK para guardar as alterações e voltar para o gráfico.

### Exporting the Chart (Exportar o gráfico)

Use esta caixa de diálogo para modificar a largura, altura e resolução do gráfico para exportá-lo num dos seguintes formatos de ficheiro:

- .bmp
- .jpg
- .png

Em seguida, é possível usar o gráfico exportado para exibir os resultados em sessões de posters, apresentações do Microsoft PowerPoint e publicações profissionais.

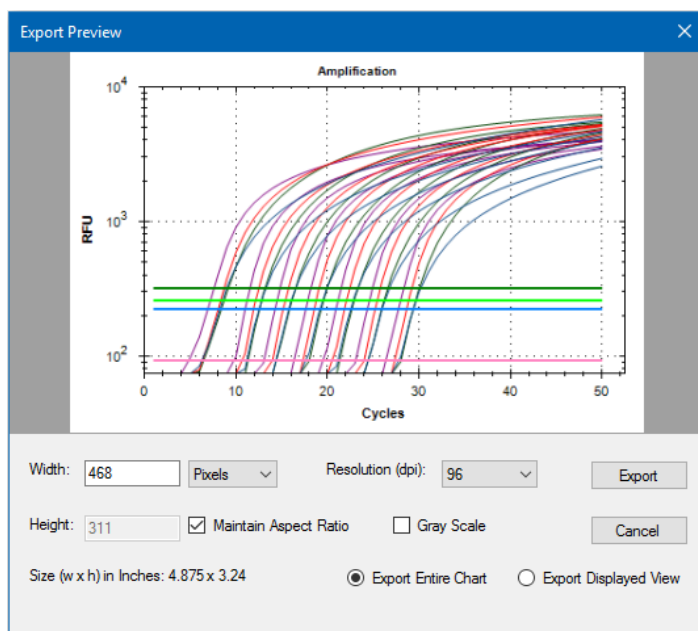
**Observação:** considere o seguinte ao modificar as configurações:

- Limites máximos e mínimos de largura e altura
  - At 72 dpi: 0,1–83 pol.
  - At 96 dpi: 0,1–62 pol.
  - At 150 dpi: 0,1–40 pol.
  - At 300 dpi: 0,1–20 pol.
  - At 600 dpi: 0,1–10 pol.
  - Em todas as resoluções: 2–6.000 píxeis
- A proporção é baseada na largura.

### Como exportar o gráfico

1. Nas ferramentas do gráfico, clique em Export (Exportar).

É exibida a caixa de diálogo Export Preview (Pré-visualização da exportação).



2. Modifique as configurações para a exibição conforme requerido.
3. Clique em Export (Exportar).
4. Na caixa de diálogo Export (Exportar), faça o seguinte:
  - a. (Opcional) Navegue até uma pasta na qual guardar o ficheiro do relatório.
  - b. Digite um nome para o ficheiro e escolha um tipo de ficheiro na lista suspensa.
5. Clique em Save (Guardar) para guardar o ficheiro do gráfico.

### Modificar as configurações de limiar de linha de base

No modo Single Threshold (Limiar único), é possível ajustar o limiar para um fluoróforo clicando na linha de limiar no gráfico Amplification (Amplificação) e movendo o ponteiro do rato verticalmente.

Alternativamente, é possível especificar um limiar de cruzamento exato para o fluoróforo selecionado.

**Dica:** é possível especificar um intervalo de ciclo para determinar a linha de base para todos os ficheiros de dados no separador Data Analysis (Análise de dados) em User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador).

### Como ajustar o ciclo inicial e final da linha de base para cada poço

1. No separador Quantification (Quantificação), selecione um único fluoróforo no gráfico Amplification (Amplificação).
2. Nas ferramentas de gráfico, selecione Baseline Threshold (Limiar de linha de base).

É exibida a caixa de diálogo Baseline Threshold (Limiar de linha de base).

3. Na seção Baseline Cycles (Ciclos de linha de base), execute uma das seguintes opções:
  - Para selecionar um poço, clique no número da linha.
  - Para selecionar vários poços adjacentes, clique no número da linha do primeiro poço e arraste a coluna até o poço final.
  - Para selecionar vários poços não adjacentes, pressione a tecla Control (Ctrl) e clique no número da linha de cada poço alvo.
  - Para selecionar todos os poços, clique no canto superior esquerdo da tabela.
4. Ajuste os ciclos Baseline Begin (Início da linha de base) e Baseline End (Final da linha de base) para todos os poços selecionados ou altere o número dos ciclos Baseline Begin (Início da linha de base) e Baseline End (Final da linha de base) na parte inferior da folha de cálculo.

**Dica:** para reverter as configurações para os últimos valores guardados, clique em Reset All User Defined Values (Redefinir todos os valores definidos pelo utilizador).
5. Clique em OK para guardar as alterações e voltar para o gráfico.

#### **Como especificar um intervalo de ciclo para todos os ficheiros de dados**

- ▶ Na janela Home (Início) ou Plate Editor (Editor de placa), selecione User (Utilizador) > User Preferences (Preferências do utilizador) e selecione o separador Data Analysis (Análise de dados).

### **Ordenar dados de Target (Alvo), Sample (Amostra) e Biological Group (Grupo biológico)**

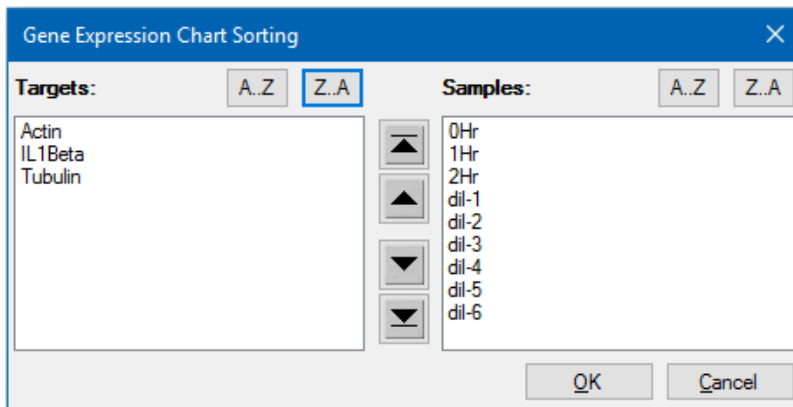
**Observação:** esta opção está disponível apenas em gráficos de expressão génica.

Como predefinição, as listas de alvos, amostras e grupos biológicos são mostradas em ordem alfabética. Use a caixa de diálogo Sort (Ordenar) para ordenar a exibição em ordem alfabética inversa ou para mover manualmente um termo para uma posição diferente na lista.

#### **Como ordenar dados de alvos, amostras e grupos biológicos**

1. Nas ferramentas de gráfico, clique em Sort (Ordenar).

É exibida a caixa de diálogo Gene Expression Chart Sorting (Ordenar gráfico de expressão génica).



2. Na caixa de diálogo, clique em Z-A para ordenar a lista em ordem alfabética inversa.
3. Para mover um termo manualmente, selecione-o e clique no botão apropriado entre os gráficos:
  - Clique na seta para cima ou para baixo para mover o termo selecionado uma posição.
  - Clique na seta com barra para cima ou para baixo para mover o termo selecionado para a parte de cima ou para a parte de baixo da lista.
4. Clique em OK para guardar as alterações e voltar para o separador Gene Expression (Expressão génica).

## Alterar as Color Settings (Configurações de cores) de Targets (Alvo) e Sample (Amostra)

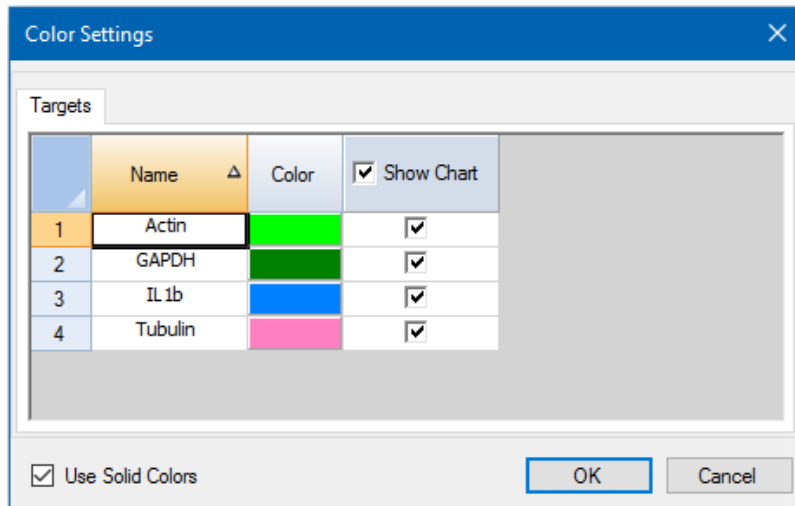
**Observação:** esta opção está disponível apenas em gráficos de expressão génica.

Use a caixa de diálogo Color Settings (Configurações de cores) para alterar a cor de um alvo ou amostra, ou remover o item do gráfico.

### Como alterar as configurações de cores

1. Nas ferramentas do gráfico, selecione Color Settings (Configurações de cores).

É exibida a caixa de diálogo Color Settings (Configurações de cores).



2. Para alterar a cor de exibição para um alvo ou amostra, clique na respetiva cor na coluna Color (Cor).

3. Na caixa de diálogo Color (Cor), escolha uma nova cor e clique em OK.

4. Para remover o item do gráfico de expressão génica, remova a seleção na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).

**Dica:** para remover todos os itens do gráfico de expressão génica, remova a seleção na coluna Show Chart (Mostrar gráfico) no topo da coluna.

5. (Opcional) Como predefinição, a cor do gráfico de barras aparece em forma de gradiente. Para exibir a cor em forma sólida, selecione Use Solid Colors (Usar cores sólidas).
6. Clique em OK para guardar as alterações e voltar para o separador Gene Expression (Expressão génica).



## Ampliar uma área no gráfico

### Como ampliar uma área do gráfico

- ▶ Clique e arraste o cursor no gráfico e, em seguida, clique em Zoom. O software redimensiona o gráfico e centraliza-o na área selecionada.

**Observação:** o gráfico de barras não exige clicar no comando Zoom.

### Como redefinir o gráfico para uma vista completa

- ▶ Clique com o botão direito do rato no gráfico e selecione Set Scale to Default (Colocar na escala predefinida).

## Copiar gráficos para um ficheiro da Microsoft

É possível copiar gráficos de dados para documentos do Microsoft Word, Excel ou PowerPoint. A resolução da imagem corresponde à do ecrã na qual a imagem foi obtida.

### Como copiar gráficos para um ficheiro da Microsoft

1. Na janela Data Analysis (Análise de dados), clique em Copy To Clipboard (Copiar para a área de transferência) no canto superior direito do painel do gráfico.
2. Abra um ficheiro da Microsoft em branco e cole o conteúdo da área de transferência.

## Itens de menu do botão direito do rato comuns para gráficos

A [Tabela 15](#) lista os itens do menu do botão direito disponíveis em gráficos. Alguns dos itens estão presentes em todos os gráficos, incluindo itens para mudar o modo como os dados são exibidos ou para exportar facilmente dados de um gráfico.

**Tabela 15. Itens de menu do botão direito do mouse para os gráficos**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o gráfico para a área de transferência.
Save Image As (Guardar imagem como)	Guarda a imagem no tamanho, na resolução e no tipo de ficheiro especificados, incluindo PNG (predefinido), JPG e BMP.
Page Setup (Configuração de página)	Exibe as opções de configuração de impressão.

Item	Função
Print (Imprimir)	Imprime o gráfico.
Set Scale to Default (Colocar na escala predefinida)	Retorna o gráfico para a sua vista predefinida depois de ampliá-lo.
Chart Options (Opções do gráfico)	Abre a janela Chart Options (Opções do gráfico) para alterar o gráfico, incluindo o próprio título, selecionar limites para os eixos x e y e exibir linhas de grelha e marcações menores nos eixos.

**Observação:** os itens de menu que se aplicam a gráficos específicos são descritos no [Capítulo 11, Informações da análise de dados](#).

## Folhas de Cálculo

As folhas de cálculo exibidas em Data Analysis (Análise de dados) incluem opções para ordenar e transferir os dados. Ordene as colunas com um destes métodos:

- Clique e arraste uma coluna para uma nova localização na tabela selecionada.
- Clique no cabeçalho da coluna para ordenar os dados em ordem crescente ou decrescente.

### Como ordenar até três colunas de dados na janela Sort (Ordenar)

1. Clique com o botão direito na folha de cálculo e selecione Sort (Ordenar).
2. Na caixa de diálogo Sort (Ordenar), selecione o título da primeira coluna a ordenar. Ordene os dados em ordem crescente ou decrescente.
3. Selecione uma segunda ou terceira coluna para ordenar e selecione Ascending (Crescente) ou Descending (Decrescente).
4. Clique em OK para ordenar os dados ou clique em Cancel (Cancelar) para interromper a ordenação.

**Dica:** destaque os dados nos gráficos associados e no seletor de poços segurando o cursor sobre uma célula. Clique numa célula para copiar e colar o seu conteúdo noutra programa de software.

## Itens de menu do botão direito do rato comuns para folhas de cálculo

A [Tabela 16](#) lista os itens de menu do botão direito disponíveis em qualquer vista de folha de cálculo.

**Tabela 16. Itens de menu do botão direito do rato para folhas de cálculo**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o conteúdo dos poços selecionados para uma área de transferência e depois cola o conteúdo numa folha de cálculo, como o Excel.
Copy as Image (Copiar como imagem)	Copia a vista da folha de cálculo como um ficheiro de imagem e cola-a num ficheiro que aceita um ficheiro de imagem, como ficheiros de texto, imagem ou folhas de cálculo.
Print (Imprimir)	Imprime a vista atual.
Print Selection (Imprimir seleção)	Imprime a seleção atual.

**Tabela 16. Itens de menu do botão direito do rato para folhas de cálculo, continuação**

<b>Item</b>	<b>Função</b>
Export to Excel (Exportar para Excel)	Exporta os dados para uma folha de cálculo Excel.
Export to Text (Exportar para texto)	Exporta os dados para um editor de texto.
Export to CSV (Exportar para CSV)	Exporta os dados para um ficheiro .csv.
Export to Xml (Exportar para Xml)	Exporta os dados para um ficheiro .xml.
Export to Html (Exportar para Html)	Exporta os dados para um ficheiro .html.
Find (Localizar)	Procura o texto.
Sort (Ordenar)	Ordena os dados em até três colunas.
Select Columns (Selecionar colunas)	Seleciona as colunas que serão exibidas na folha de cálculo.

## Export (Exportar)

O CFX Maestro Dx SE oferece várias opções de exportação no menu suspenso Export (Exportar):

- Export All Data Sheets (Exportar todas as folhas de dados)
- Export RDML Files (Exportar ficheiros RDML).
- Custom Export (Personalizar exportação)
- Export to LIMS Folder (Exportar para a pasta LIMS)
- Manual Export (Exportar manual)

### Exportar todas as folhas de dados

É possível exportar todas as vistas de folha de cálculo de todos separadores do CFX Maestro Dx SE para ficheiros separados.

#### Como exportar todas as folhas de dados

- ▶ Selecione Export (Exportar) > Export All Data Sheets (Exportar todas as folhas de dados) e, em seguida, selecione o tipo de ficheiro desejado:

- CSV (\*.csv)
- Texto (\*.txt)
- Livro Excel (\*.xlsx)

As análises exportadas são guardadas em vários livros Excel, com uma folha de dados de análise por ficheiro. Quando uma análise inclui vários fluoróforos, os dados de cada fluoróforo são exportados para folhas diferentes.

- Livro Excel - combinado (\*.xlsx)

As análises exportadas são guardadas num único livro Excel que inclui várias folhas, uma para cada conjunto de dados de análise.

- Excel 97 - 2003 (\*.xls)

**Importante:** O seu computador tem de ter instalado o Microsoft Excel para que possa exportar dados para uma folha de cálculo do Microsoft Excel.

- XML (\*.xml)

## Exportar ficheiros RDML

O RDML é um padrão de dados estruturado e universal para intercâmbio de dados quantitativos de PCR (qPCR). O padrão dos dados é um ficheiro de texto em formato Extensible Markup Language (.xml). Consulte o website do International RDML Consortium ([www.rdml.org](http://www.rdml.org)) para informações adicionais sobre o formato de intercâmbio de dados RDML.

**Importante:** Os ficheiros RDML exportados incluem dados de análise com as definições da linha de base que se aplicam na janela Data Analysis (Análise de dados). Para mais informações sobre as definições de linha de base, consulte [Configurações de linha de base na página 209](#).

**Observação:** guarde o ficheiro RDML como versão 1.1 se estiver a usar a versão 2.3 ou posterior do software qbase+.

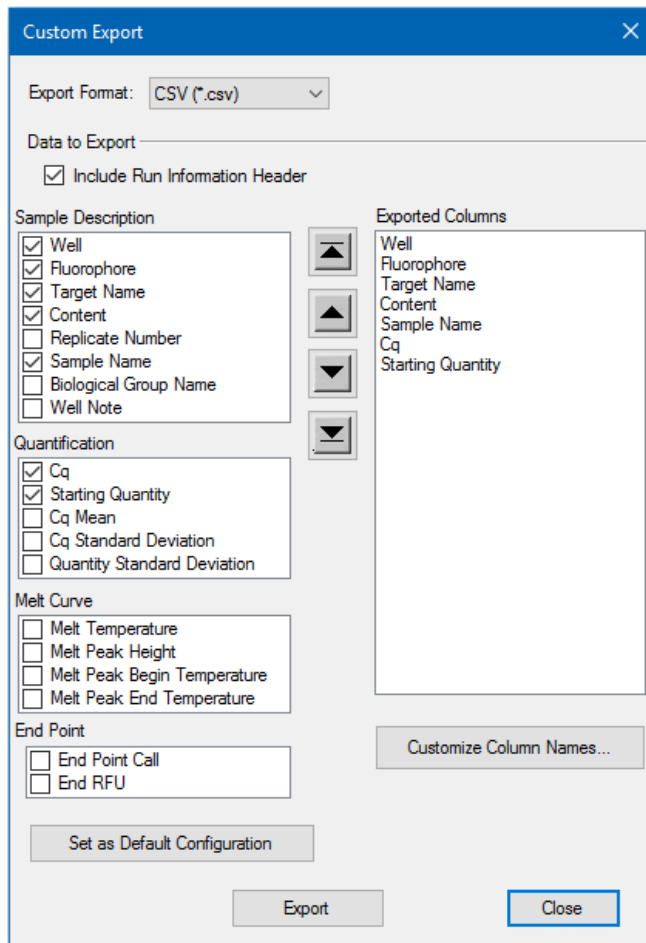
### Como exportar um ficheiro RDML

1. Selecione Export (Exportar) > Export RDML Files (Exportar ficheiros RDML) e selecione RDML v1.1 ou RDML v1.0 na lista exibida.  
É exibida a caixa de diálogo Save As (Guardar como).
2. Na caixa de diálogo Save As (Guardar como), especifique um nome do ficheiro e localização na qual pretende guardar o ficheiro RDML.
3. Clique em OK para guardar o ficheiro exportado.

## Criar um ficheiro de exportação personalizado

### Como criar um ficheiro de exportação personalizado

1. Selecione Export (Exportar) > Custom Export (Exportação personalizada). É exibida a caixa de diálogo Custom Export (Exportação personalizada).



2. Selecione o formato de exportação na lista suspensa que é exibida.
3. Selecione as caixas de seleção para os itens a exportar.
4. (Opcional) Clique em Customize Column (Customizar coluna) para alterar nomes de colunas.
5. Clique em Export (Exportar). É exibida a caixa de diálogo Save As (Guardar como).
6. Na caixa de diálogo Save As (Guardar como), especifique um nome do ficheiro e localização na qual pretende guardar o ficheiro exportado.

7. Clique em OK para guardar o ficheiro exportado.



## Exportar para uma pasta LIMS

É possível exportar dados para um formato de ficheiro compatível com LIMS. Para obter mais informações sobre a criação, gestão e utilização de ficheiros LIMS, consulte o [Anexo C, Integração LIMS](#).

### Como exportar dados para o formato LIMS

1. Selecione Export (Exportar) > Export to LIMS Folder (Exportar para pasta LIMS).  
É exibida a caixa de diálogo Save As (Guardar como).
2. Na caixa de diálogo Save As (Guardar como), especifique um nome do ficheiro e localização na qual pretende guardar o ficheiro exportado.
3. Clique em OK para guardar o ficheiro exportado.

## Exportar dados formatados para Seegene

É possível exportar os dados de todas as vistas de folhas de cálculo para ficheiros Excel estruturados especificamente para uso pela Seegene, Inc.

**Dica:** é igualmente possível automaticamente o Seegene Viewer quando a exportação for concluída. Consulte [Comandos do menu Tools \(Ferramentas\) na página 71](#) para obter mais informações.

### Como exportar dados num formato específico para o Seegene

1. Selecione Export (Exportar) > Manual Export (Exportar manual).  
A caixa de diálogo Browse for Folder (Procurar pasta) é exibida.
2. Na caixa de diálogo Browse for Folder (Procurar pasta), especifique a localização da pasta onde pretende guardar os ficheiros exportados do Excel (.xlsx) formatados para o Seegene.  
As análises são exportadas para vários livros Excel, com uma folha de dados de análise por ficheiro.
3. Clique em OK para guardar os ficheiros exportados.



## Capítulo 11 Informações da análise de dados

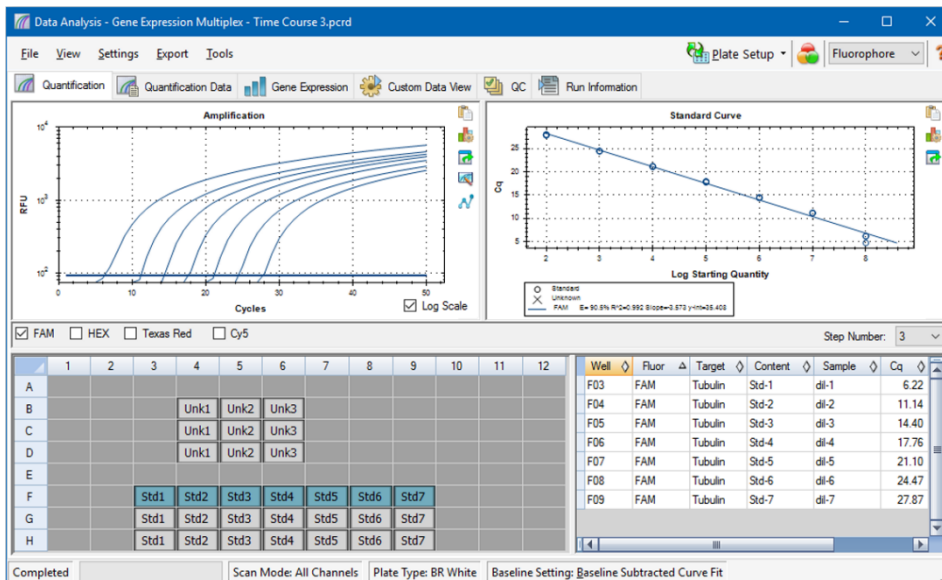
A janela de Data Analysis (Análise de dados) do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) inclui vários separadores para visualizar os dados. Este capítulo explica esses separadores em pormenor.

**Dica:** é possível selecionar que separadores visualizar na janela Data Analysis (Análise de dados) usando o menu View (Visualizar). O layout personalizado é guardado com o ficheiro de dados.

## Separador Quantification (Quantificação)

Use os dados no separador Quantification (Quantificação) para configurar as condições de análise de dados, incluindo as configurações de linha de base para poços individuais e as configurações de limiar. O separador Quantification (Quantificação) exibe os dados nestas quatro vistas:

- Gráfico Amplification (Amplificação) — exibe as unidades de fluorescência relativas (RFU) para cada poço em cada ciclo. Cada traçado no gráfico representa dados de um único fluoróforo em um poço.
- Standard curve (Curva padrão) — é exibido apenas se a corrida incluir poços designados como padrão de tipo de amostra (Std). A curva padrão exibe o ciclo de limiar desenhado em relação ao log da quantidade inicial. A legenda exibe a Reaction Efficiency (Eficiência da reação) (E) para cada fluoróforo nos poços com um tipo de amostra Standard (Padrão).
- Well selector (Seletor de poços) — seleciona os poços com os dados de fluorescência que deseja exibir.
- Spreadsheet (Folha de Cálculo) — exibe uma folha de cálculo dos dados recolhidos nos poços selecionados.



## Opções de fluoróforos

Para exibir os dados do fluoróforo nos gráficos e folha de cálculos do separador Quantification (Quantificação), selecione o(s) fluoróforo(s)-alvo abaixo do gráfico Amplification (Amplificação). Para ocultar os dados do fluoróforo na janela de análise de dados, desmarque a caixa de seleção.

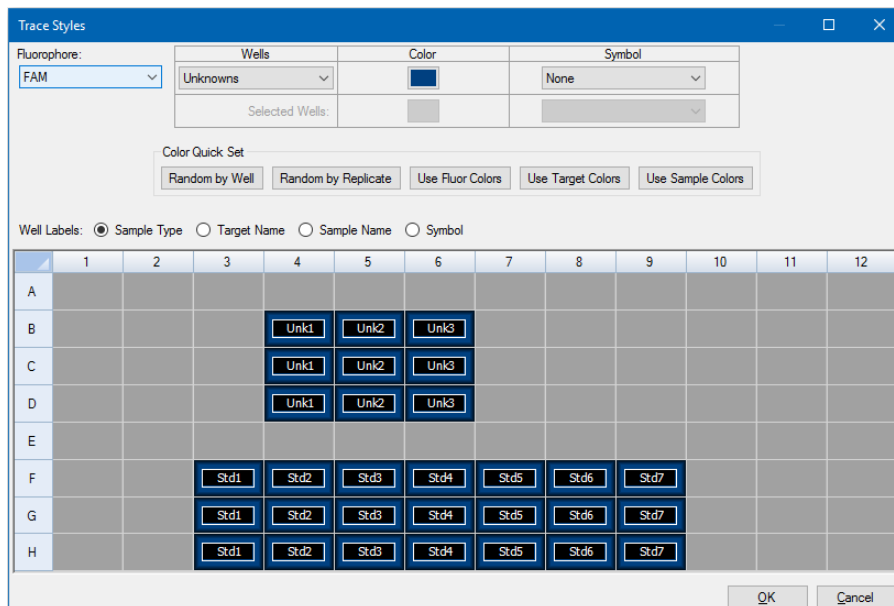
## Caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traçados)

Usando a caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traçados), é possível ajustar os gráficos de amplificação e curva de fusão nos separadores Quantification (Quantificação) e Melt Curve (Curva de fusão). Em seguida, é possível pré-visualizar as alterações no seletor de poços que aparece na caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traçados).

### Como ajustar os Estilos de traçados

1. Selecione um único fluoróforo no gráfico Amplification (Amplificação).
2. Para abrir a caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traçados), execute uma das seguintes opções:
  - Clique em Trace Styles (Estilos de traçados) no gráfico Amplification (Amplificação).
  - Selecione Settings (Configurações) > Trace Styles (Estilos de traçados) na barra de menu Data Analysis (Análise de dados).
  - Clique com o botão direito num traçado e selecione Trace Styles (Estilos de traçados).

É exibida a caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traçados).

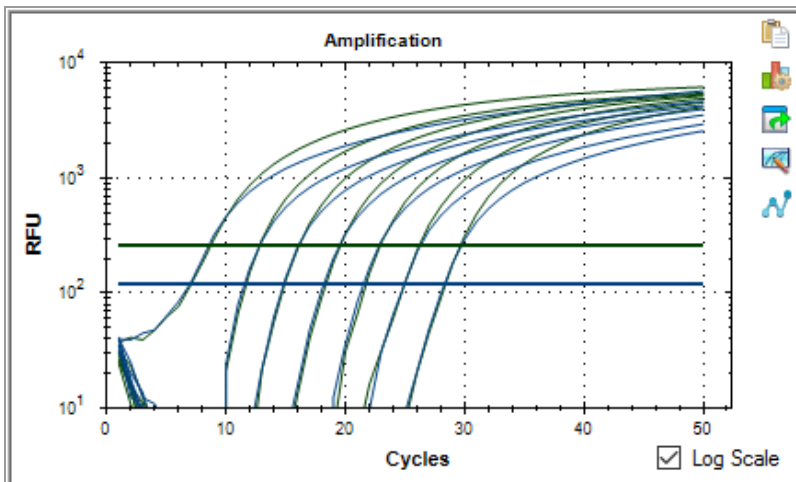


3. Na caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traçados), selecione um conjunto específico de poços no seletor de poços no painel inferior. Como alternativa, selecione poços que contenham um tipo de amostra no menu suspenso na coluna Wells (Poços).
4. Execute uma das opções a seguir:

- Para selecionar uma cor para os poços selecionados, clique na caixa na coluna Color (Cor).
- Para atribuir um símbolo aos poços selecionados, selecione um símbolo na lista suspensa Symbols (Símbolos).
- Para colorir rapidamente os poços, clique na formatação rápida apropriada (Color Quick Set):
  - Random by Well (Aleatório por poço)
  - Random by Replicate (Aleatório por réplica)
  - Use Fluor Colors (Use cores de fluorescência)
  - Use Target Colors (Use cores de alvo)
  - Use Sample Colors (Use cores de amostra)
- Para atribuir rótulos de poço, selecione Sample Type (Tipo de amostra), Target Name (Nome do alvo), Sample Name (Nome da amostra) ou Symbol (Símbolo).

## Opção Log Scale (Escala logarítmica)

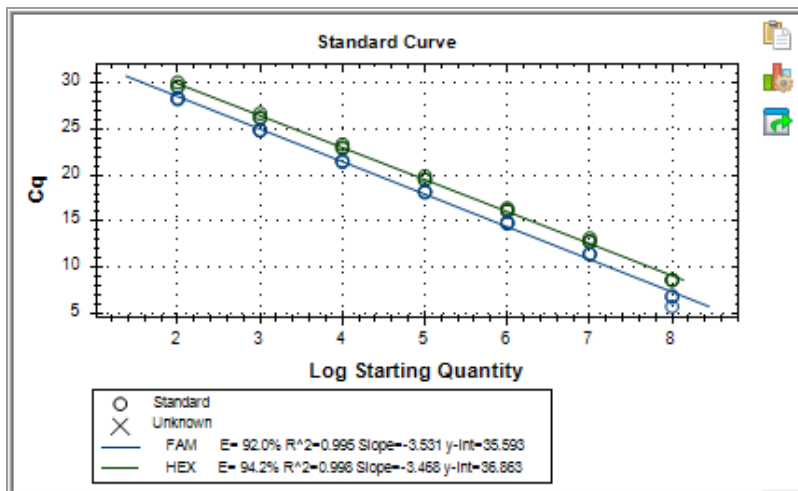
Selecione Log Scale (Escala logarítmica) abaixo do gráfico Amplification (Amplificação) para visualizar os traçados de fluorescência numa escala semilogarítmica:



**Dica:** para ampliar qualquer área do gráfico, arraste o cursor ao longo da área pretendida. Para voltar à vista completa, clique com o botão direito do rato no gráfico e selecione Set Scale to Default (Colocar na escala predefinida).

## Gráfico Standard Curve (Curva padrão)

O software cria um gráfico Standard Curve (Curva padrão) no separador Quantification (Quantificação) se os dados incluírem tipos de amostra definidos como padrão para pelo menos um fluoróforo na corrida.



O gráfico Standard Curve (Curva padrão) exibe as informações a seguir:

- Nome de cada curva (o fluoróforo ou alvo).
- Cor de cada fluoróforo ou alvo.
- Eficiência da reação (E). Use esta estatística para otimizar uma reação multiplexada e equalizar os dados para uma curva padrão.

**Observação:** a eficiência da reação descreve quanto do seu alvo está a ser produzido em cada ciclo do protocolo. Uma eficiência de 100% indica que está a dobrar o seu alvo em cada ciclo.

- Coeficiente de determinação,  $R^2$  (escrito como  $R^2$ ). Use esta estatística para determinar com que rigor a linha descreve os dados (qualidade do ajuste).
- Slope (Inclinação)
- interceto y

## Opções de menu do gráfico Amplification (Amplificação)

Além das opções comuns de menu do botão direito para gráficos (consulte [Itens de menu do botão direito do rato comuns para gráficos na página 223](#)), a [Tabela 17](#) lista as opções de menu disponíveis apenas no gráfico Amplification (Amplificação).

**Tabela 17. Itens de menu dos botões direito e esquerdo do rato para o gráfico Amplification (Amplificação)**

Opções do menu	Função
Well XX (Poço XX), Fluor Target (Alvo de flúor)	Exibe somente esse poço, remove poço desta visualização, configura a cor desse traçado ou exclui esse poço da análise.
Selected Traces (Traçados selecionados)	Exibe apenas esses poços, remove esses poços da visualização, configura a cor desses traçados ou exclui esses poços da análise.
Show Threshold Values (Mostrar valores de limiar)	Exibe o valor de limiar para cada curva de amplificação no gráfico.
Trace Styles (Estilos de traçados)	Abre a janela Trace Styles (Estilos de traçados) para alterar Estilos de traçados que aparecem nos separadores Quantification (Quantificação) e Melt Curve (Curva de fusão).
Baseline Thresholds (Limiares de linha de base)	Abre a janela Baseline Thresholds (Limiares de linha de base) para alterar a linha de base ou os limiares de cada fluoróforo (as alterações aparecem no gráfico Amplification (Amplificação), no separador Quantification (Quantificação)).

## Folha de cálculo do separador Quantification (Quantificação)

A [Tabela 18](#) define os dados exibidos na folha de cálculo no separador Quantification (Quantificação).

**Tabela 18. Conteúdo da folha de cálculo do separador Quantification (Quantificação)**

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Flúor)	Fluoróforo detetado
Target (Alvo)	Nome do alvo carregado nos poços do Plate Editor (Editor de placa)



<b>Informações</b>	<b>Descrição</b>
Conteúdo	Uma combinação de Sample Type (Tipo de amostra) (requerido) e Replicate # (N.º de réplica) (opcional) carregada no Plate Editor (Editor de placa)
Sample (Amostra)	Nome da amostra carregada nos poços do Plate Editor (Editor de placa)
C <sub>q</sub>	Ciclo de quantificação para cada traçado

### Alterar dados em Target (Alvo), Content (Conteúdo) ou Sample (Amostra)

É possível alterar os dados nas colunas Target (Alvo), Content (Conteúdo) e Sample (Amostra) editando o ficheiro de placa através do Plate Editor (Editor de placa), mesmo depois de ter corrido a experiência.

#### Como alterar os dados nas colunas Content (Conteúdo), Target (Alvo) e Sample (Amostra)

- ▶ Clique em Plate Setup (Configuração de placa) e selecione View/Edit Plate (Visualizar/Editar placa) para abrir o editor de placa.

## Separador Quantification Data (Dados de quantificação)

O separador Quantification Data (Dados de quantificação) exibe os dados de quantificação recolhidos em cada poço. O CFX Maestro Dx SE exibe os dados em quatro vistas diferentes de folhas de cálculo:

- Results (Resultados) — exibe uma folha de cálculo dos dados. Esta é a vista predefinida.
- Standard Curve Results (Resultados da curva padrão) — exibe uma folha de cálculo dos dados da curva padrão.
- Plate (Placa) — exibe os dados em cada poço como um mapa da placa.
- RFU — exibe as quantidades de RFU em cada poço para cada ciclo.

Selecione cada folha de cálculo na lista suspensa abaixo do separador Quantification Data (Dados de quantificação).

## Folha de Cálculo Results (Resultados)

A folha de cálculo Results (Resultados) exibe os dados de cada poço na placa.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity
B04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.911E+05	5.281
B05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.07	17.09	0.024	1.993E+05	5.300
B06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.08	17.08	0.035	1.980E+05	5.297
C04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.13	17.13	0.003	1.917E+05	5.283
C05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.12	17.09	0.024	1.937E+05	5.287
C06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.12	17.08	0.035	1.930E+05	5.285
D04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.908E+05	5.281
D05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.08	17.09	0.024	1.988E+05	5.298

**Observação:** todos os cálculos Std. Dev (Desvio padrão) aplicam-se aos grupos replicados atribuídos nos poços na janela do Plate Editor (Editor de placa). A média de cálculos do valor  $C_q$  para cada poço no grupo de réplicas.

A [Tabela 19](#) define os dados que aparecem na folha de cálculo Results (Resultados).

**Tabela 19. Conteúdo da folha de cálculo Results (Resultados)**

<b>Informações</b>	<b>Descrição</b>
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Flúor)	Fluoróforo detetado
Target (Alvo)	Nome do alvo de amplificação (gene)
Conteúdo	Sample type (Tipo de amostra) e Replicate # (N.º de réplica)
Sample (Amostra)	Descrição de amostra
Biological Set Name (Nome do conjunto biológico)	Nome do conjunto biológico
C <sub>q</sub>	Ciclo Quantification (Quantificação)
C <sub>q</sub> Mean (Média de C <sub>q</sub> )	Média do ciclo de quantificação para o grupo de réplica
C <sub>q</sub> Std. Dev (Desvio Padrão C <sub>q</sub> )	Desvio padrão do ciclo de quantificação para o grupo de réplica
Starting Quantity (Quantidade inicial) (QI)	Estimativa da quantidade inicial do alvo
Log Starting Quantity (Log da quantidade inicial)	Log da quantidade inicial
SQ Mean (Média QI)	Média da quantidade inicial
SQ Std. (Desvio Padrão C <sub>q</sub> )	Desvio padrão da quantidade inicial nas réplicas

## Folha de Cálculo Standard Curve Results (Resultados de curva padrão)

A folha de cálculo Standard Curve Results (Resultados de curva padrão) exibe os parâmetros da curva padrão calculada.

Fluor	Efficiency %	Slope	Y-Intercept	R <sup>2</sup>
Cy5	95.93	-3.423	35.216	1.000
FAM	91.97	-3.531	35.593	0.995
HEX	94.24	-3.468	36.863	0.998
Texas Red	96.86	-3.399	35.481	0.999

A [Tabela 20](#) define os dados que aparecem na folha de cálculo Standard Curve Results (Resultados de curva padrão).

**Tabela 20. Conteúdo da folha de cálculo Standard Curve Results (Resultados de curva padrão)**

Informações	Descrição
Fluor (Flúor) (ou Target (Alvo))	Fluoróforo (ou alvo) detetado
Efficiency % (% de eficiência)	Eficiência da reação
Slope (Inclinação)	Inclinação da curva padrão
Y-intercept (Interceto y)	Ponto no qual a curva interceta o eixo y
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação

## Folha de Cálculo Plate (Placa)

A folha de cálculo Plate (Placa) exibe um mapa da placa dos dados para um fluoróforo de cada vez.

	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			

### Como visualizar dados de um fluoróforo específico

- ▶ Clique no respetivo separador na parte inferior da folha de cálculo.

## Folha de cálculo RFU

A folha de cálculo de RFU exibe as leituras das unidades de fluorescência relativa (RFU) para cada poço adquirido em cada ciclo da corrida. O número do poço aparece no topo de cada coluna e o número do ciclo aparece à esquerda de cada linha.

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

## Separador Melt Curve (Curva de fusão)

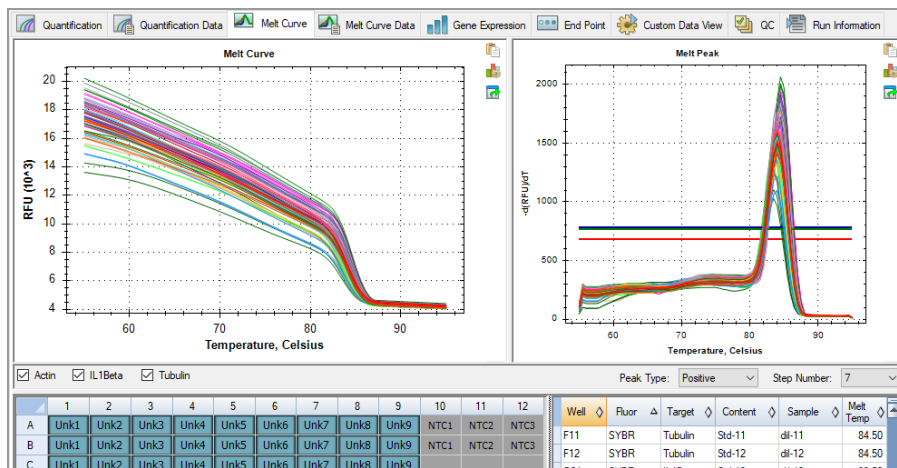
Para corantes de ligação ao DNA e sondas de hibridização não cliváveis, a fluorescência é mais brilhante quando as duas cadeias de DNA se ligam. Portanto, à medida que a temperatura aumenta para a temperatura de fusão ( $T_m$ ), a fluorescência diminui a uma taxa constante (inclinação constante). No  $T_m$  há uma redução dramática na fluorescência com uma mudança perceptível na inclinação. A taxa dessa mudança é determinada pelo desenho da primeira regressão negativa de fluorescência versus temperatura ( $-d(\text{RFU})/dT$ ). A maior taxa de alteração na fluorescência resulta em picos visíveis e representa o  $T_m$  dos complexos de DNA de cadeia dupla.

O CFX Maestro Dx SE desenha os dados da RFU recolhidos durante uma curva de fusão em função da temperatura. Para analisar os dados do pico de fusão, o software atribui uma temperatura inicial e final a cada pico movendo a barra limiar. O piso da área do pico é especificado pela posição da barra do limiar de fusão. Um pico válido deve ter uma altura mínima em relação à distância entre a barra limiar e a altura do pico mais alto.

O separador Melt Curve (Curva de fusão) exibe a temperatura  $T_m$  (temperatura de fusão) dos produtos de PCR amplificados em quatro visualizações:

- Melt Curve (Curva de fusão) — exibe os dados em tempo real de cada fluoróforo como RFU por temperatura para cada poço.
- Melt Peak (Pico de fusão) — exibe a regressão negativa dos dados da RFU por temperatura para cada poço.
- Well selector (Seletor de poços) — exibe poços para mostrar ou ocultar os dados.
- Peak spreadsheet (Folha de cálculo de pico) — exibe os dados recolhidos no poço selecionado.

**Observação:** esta folha de cálculo exibe até dois picos para cada traçado. Para ver mais picos, clique no separador Melt Curve Data (Dados da curva de fusão).



A [Tabela 21](#) define os dados mostrados na folha de cálculo Melt Curve (Curva de fusão).

**Tabela 21. Conteúdo da folha de cálculo Melt Curve (Curva de fusão)**

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Fluór)	Fluoróforo detetado
Conteúdo	Uma combinação de Sample Type (Tipo de amostra) e Replicate number (Nº de réplica)
Sample (Amostra)	Nome da amostra carregada no Plate Editor (Editor de placa)
Melt Temp (Temperatura de fusão)	A temperatura do pico de fusão para cada poço <b>Observação:</b> somente os dois picos mais altos aparecem nesta folha de cálculo.



## Ajustar os Melt Curve Data (Dados da curva de fusão)

### Como ajustar os Melt Curve Data (Dados da curva de fusão)

- ▶ Execute uma das opções a seguir:
  - Clique e arraste as barras de limiar no gráfico Melt Peak (Pico de fusão) para incluir ou excluir picos na análise de dados.
  - Selecione Positive (Positivo) no menu suspenso Peaks (Picos) para mostrar os dados da folha de cálculo para os picos acima da linha Melt Threshold (Limiar de fusão) ou selecione Negative (Negativo) para visualizar os dados da folha de cálculo para os picos abaixo da linha Melt Threshold (Limiar de fusão).
  - Abra a janela Trace Styles (Estilos de traçados) para alterar a cor dos traçados nos gráficos Melt Curve (Curva de fusão) e Melt Peak (Pico de fusão).
  - Selecione um número no seletor Step Number (Número da etapa) para visualizar os dados da Melt Curve (Curva de fusão) noutra etapa do protocolo. A lista mostra mais de uma etapa se o protocolo incluir leituras de placa em mais de uma etapa de curva de fusão.
  - Selecione poços no seletor de poços para se concentrar nos subconjuntos dos dados.
  - Selecione um grupo de poços para visualizar e analisar um subconjunto dos poços na placa. Selecione cada grupo de poços por nome no menu suspenso Well Group (Grupo de poços) na barra de ferramentas.

## Separador Melt Curve Data (Dados da curva de fusão)

O separador Melt Curve Data (Dados de curva de fusão) exibe os dados do separador Melt Curve (Curva de fusão) em várias folhas de cálculo que incluem todos os picos de fusão para cada traçado. O CFX Maestro Dx SE oferece quatro opções de folha de cálculo para visualizar os dados da curva de fusão:

- Melt Peaks (Picos de fusão) — exibe todos os dados, inclusive todos os picos de fusão, para cada traçado. Esta é a vista predefinida.
- Plate (Placa) — exibe uma visualização dos dados e do conteúdo de cada poço na placa.
- RFU — exibe as quantidades de RFU em cada temperatura para cada poço.
- $-d(\text{RFU})/dT$  — exibe a taxa de mudança negativa na RFU à medida que a temperatura (T) muda. Este é um gráfico de primeira regressão de cada poço na placa.

Selecione cada folha de cálculo na lista suspensa que aparece abaixo do separador Melt Curve Data (Dados da curva de fusão).

## Folha de cálculo Melt Peaks (Picos de fusão)

A folha de cálculo Melt Peaks (Picos de fusão) exibe todos os dados de curva de fusão.

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	di-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

A [Tabela 22 na página 249](#) define os dados que aparecem na folha de cálculo Melt Peaks (Picos de fusão).

Tabela 22. Conteúdo da folha de cálculo Melt Peaks (Picos de fusão)

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Flúor)	Fluoróforo detetado
Conteúdo	Sample Type (Tipo de amostra) listada na janela Plate Editor (Editor de placa)
Target (Alvo)	Amplification target (Alvo de amplificação) (gene)
Sample (Amostra)	Sample Name (Nome da amostra) listada na janela Plate Editor (Editor de placa)
Melt Temperature (Temperatura de fusão)	A temperatura de fusão de cada produto, listada como um pico (mais alto) por linha na folha de cálculo
Peak Height (Altura do pico)	Altura do pico
Begin Temperature (Temperatura de início)	Temperatura no início do pico
End Temperature (Temperatura final)	Temperatura no final do pico

## Folha de Cálculo Plate (Placa)

A folha de cálculo Plate (Placa) exibe os dados da curva de fusão num formato de placa.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							
B	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							
C	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							

**Observação:** para ajustar o pico que o software chama, ajuste a linha de limiar no gráfico Melt Peak (Pico de fusão) no separador Melt Curve (Curva de fusão).

A [Tabela 23 na página 250](#) define os dados que aparecem na folha de cálculo Plate (Placa).

**Tabela 23. Conteúdo da folha de cálculo Plate (Placa)**

Informações	Descrição
Conteúdo	Combinação de Sample Type (Tipo de amostra) (obrigatório) e Replicate # (N.º de réplica) (opcional)
Sample (Amostra)	Descrição de amostra
Peak 1 (Pico 1)	Primeiro pico de fusão (mais alto)
Peak 2 (Pico 2)	Segundo pico de fusão (mais baixo)

## Folha de cálculo RFU

A folha de cálculo de RFU exibe a fluorescência para cada poço em cada ciclo adquirido durante a curva de fusão.

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	17243	16043	16541	16440	17362	17038	17387	18303	17813	14914	16441	16356	17906	17758
55.50	17138	15948	16440	16340	17243	16923	17280	18178	17693	14836	16337	16252	17784	17644
56.00	17033	15853	16339	16241	17124	16808	17173	18053	17574	14758	16233	16149	17663	17530
56.50	16929	15758	16238	16141	17005	16693	17067	17928	17454	14681	16130	16046	17542	17417
57.00	16824	15663	16136	16042	16885	16579	16960	17802	17334	14603	16026	15942	17420	17303
57.50	16719	15568	16035	15942	16766	16464	16853	17677	17214	14525	15922	15839	17299	17189
58.00	16614	15473	15934	15843	16647	16349	16746	17552	17094	14447	15819	15736	17178	17075
58.50	16505	15375	15831	15740	16524	16232	16637	17423	16971	14360	15707	15628	17054	16958
59.00	16393	15273	15724	15634	16400	16112	16525	17292	16845	14264	15591	15517	16928	16839

A [Tabela 24](#) define os dados exibidos na folha de cálculo RFU.

**Tabela 24. Conteúdo da folha de cálculo RFU**

Informações	Descrição
Well number (Número do poço) (A1, A2, A3, A4, A5)	Posição do poço na placa para os poços carregados
Temperature (Temperatura)	Temperatura de fusão do alvo amplificado, desenhado como um poço por linha e múltiplos poços para múltiplos produtos no mesmo poço

## Folha de cálculo -d(RFU)/dT

A folha de cálculo -d(RFU)/dT exibe a taxa de mudança negativa na RFU à medida que a temperatura (T) muda.

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

A [Tabela 25](#) define os dados que aparecem na folha de cálculo -d(RFU)/dT.

**Tabela 25. Conteúdo da folha de cálculo -d(RFU)/dT**

Informações	Descrição
Well number (Número do poço) (A1, A2, A3, A4, A5)	Posição do poço na placa para os poços carregados
Temperature (Temperatura) -d(RFU)/dT	Taxa de variação negativa no RFU como alterações de temperatura (T)

## Separador End Point (Ponto final)

Abra o separador End Point (Ponto final) para analisar as unidades de fluorescência relativa (RFUs) finais para os poços de amostra. O software compara os níveis de RFU para poços com amostras desconhecidas para os níveis de RFU para poços com controlos negativos e “chama” o desconhecido positivo ou negativo. As amostras positivas têm um valor de RFU maior que o valor médio de RFU dos controlos negativos mais o valor de corte.

The screenshot displays the 'Data Analysis - CFX96\_5 Color End Point.pcrd' window. The 'End Point' separator is active. The settings panel on the left shows the following configuration:

- Fluorophore: FAM
- End Cycles To Average: 2
- RFUs:  Percent of Range (selected)
- Percent of Range: 10.0

The Results section shows:

- Lowest RFU value: 2663
- Highest RFU value: 18293
- Negative Control Average: 2682
- Cut Off Value: 4243

The main table lists the following data:

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	

The well plate grid at the bottom shows a 96-well plate layout with columns 1-12 and rows A-H. Wells C03-C07, D03-D07, E03-E07, and F03-F07 are highlighted in blue, corresponding to the data in the table. Wells C07, D07, and E07 are labeled 'Neg'.

Para analisar os dados do ponto final, a placa deve conter controlos negativos ou o software não pode fazer a chamada.

- Correr um protocolo Quantification (Quantificação) — configurar um protocolo predefinido. Após a conclusão da corrida, abra a janela Data Analysis (Análise de dados), ajuste as configurações de análise de dados no separador Quantification (Quantificação) e, em seguida, clique no separador End Point (Ponto final) para selecionar um ciclo de ponto final.
- Executar um protocolo End Point Only (Apenas ponto final) — carregue o protocolo End Point Only (Apenas ponto final) no separador Plate (Placa) da janela Run Setup (Configuração da corrida), selecione ou crie uma placa e inicie a corrida

O separador End Point (Ponto final) exibe os valores de RFU para determinar se o alvo foi amplificado pelo último (final) ciclo. Use esses dados para determinar se uma sequência de alvos específica está presente (positiva) numa amostra. Os alvos positivos têm valores de RFU mais altos do que o nível de corte que define.

**Dica:** para criar um protocolo de ponto final, abra o separador Protocol (Protocolo) na janela Run Setup (Configuração da corrida) e selecione Run (Corrida) > End Point Only Run (Apenas corrida de ponto final).

Quando a corrida for concluída, o ficheiro de dados é aberto no separador End Point (Ponto final), que compreende as seguintes seções:

- Settings (Configurações) — ajusta as configurações de análise de dados.
- Results (Resultados)— exibe os resultados imediatamente depois de ajustar as configurações.
- Well selector (Seletor de poços) — selecione os poços com os dados de ponto final que deseja exibir.
- RFU spreadsheet (Folha de cálculo RFU) — exibe a RFU final recolhida nos poços selecionados.

## Dados de Results (Resultados)

A seção Results (Resultados) exibe os seguintes dados:

- Lowest RFU value (Valor de RFU mais baixo) — valor de RFU mais baixo nos dados
- Highest RFU value (Valor de RFU mais alto) — valor de RFU mais alto nos dados
- Negative Control Average (Média do controlo negativo) — RFU média para os poços que contêm controlos negativos
- Cut Off Value (Valor de corte) — calculado ao adicionar a tolerância (RFU ou percentagem do intervalo listada em Settings (Configurações)) e a média dos controlos negativos. Amostras com RFU maiores do que o valor de corte são designadas "Positivas". Como ajustar o valor de corte, altere a RFU ou a percentagem de intervalo

O Cut Off Value (Valor de corte) é calculado usando esta fórmula:

$$\text{Cut Off Value (Valor de corte)} = \text{Negative Control Average (Média do controlo negativo)} + \text{Tolerance (Tolerância)}$$

Selecione uma tolerância por um destes métodos:

- RFU (predefinição) — selecione este método para usar um valor absoluto de RFU para a tolerância. O valor mínimo de tolerância de RFU é 2. O máximo é o valor absoluto do mais alto valor de RFU menos o valor absoluto do mais baixo valor de RFU. O valor predefinido de tolerância de RFU é 10% do intervalo total de RFU.

- **Porcentagem do intervalo** — selecione este método para usar uma porcentagem do intervalo RFU para a tolerância. A porcentagem mínima do intervalo é 1%. A porcentagem máxima do intervalo é 99%. A porcentagem predefinida do intervalo é 10%.



## Ajustar a análise de dados de ponto final

### Como ajustar os dados no separador End Point (Ponto final)

- ▶ Execute uma das opções a seguir:
  - Selecione um fluoróforo na lista suspensa.
  - Selecione um End Cycle (Ciclo final) para o valor de Average (Média) para definir o número de ciclos com os quais calcular a média da RFU do ponto final.
  - Selecione RFU para visualizar os dados nas unidades de fluorescência relativas.
  - Selecione Percentage of Range (Porcentagem do intervalo) para visualizar os dados como uma porcentagem do intervalo RFU.
  - Selecione poços no seletor de poços para se concentrar nos subconjuntos dos dados.
  - Selecione um grupo de poços para visualizar e analisar um subconjunto dos poços na placa. Selecione cada grupo de poços por nome no menu suspenso Well Group (Grupo de poços) na barra de ferramentas.

## Folha de cálculo RFU para End Point Analysis (Análise de ponto final)

A [Tabela 26](#) define os dados que aparecem na folha de cálculo RFU no separador End Point (Ponto final)

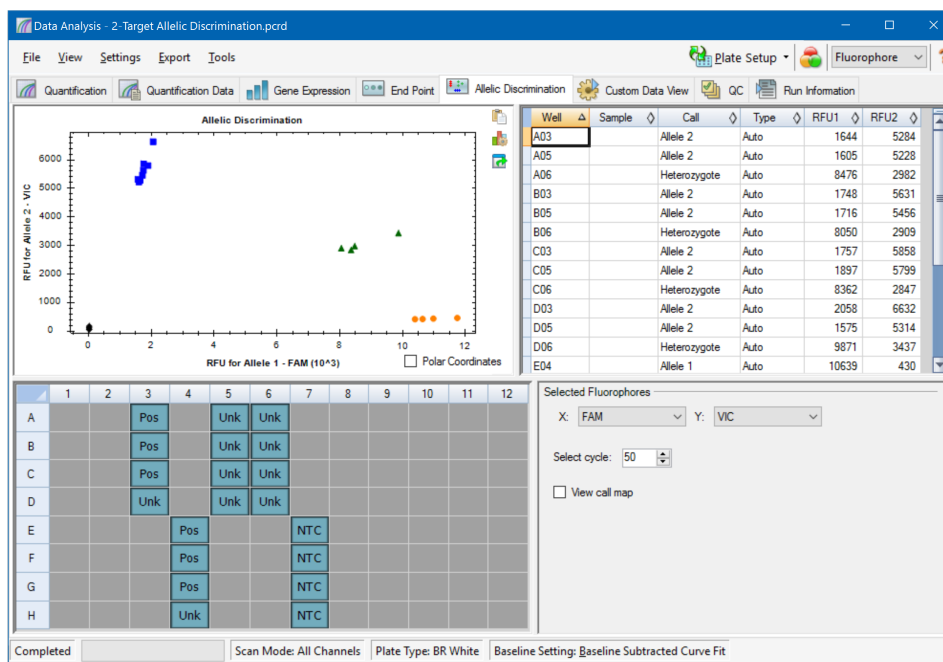
**Tabela 26. Conteúdo da folha de cálculo End Point (Ponto final) de RFU**

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Flúor)	Fluoróforo detetado
Conteúdo	Combinação de Sample Type (Tipo de amostra) e Replicate # (N.º de réplica)
End RFU (RFU final)	RFU no ciclo final
Call (Chamada)	Positive (Positivo) ou Negative (Negativo), onde as amostras positivas têm um valor de RFU maior que a RFU média dos controlos negativos mais o Cut Off Value (Valor de corte)
Sample (Amostra)	Nome da amostra carregada no Plate Editor (Editor de placa)

## Separador Allelic Discrimination (Discriminação alélica)

O separador Allelic Discrimination (Discriminação alélica) designa genótipos para poços com amostras desconhecidas. Use esses dados para identificar amostras com diferentes genótipos, incluindo o Alelo 1, Alelo 2, Heterozygote (Heterozigoto), No Call (Sem chamada (sem amplificação)) ou Undetermined (Não determinado).

**Observação:** Os dados para discriminação alélica devem ser provenientes de execuções multiplex com ao menos dois fluoróforos. Cada fluoróforo identifica um alelo em todas as amostras.



A análise de discriminação alélica exige o conteúdo de poço mínimo a seguir:

- Dois fluoróforos em cada poço
- Amostras NTC (sem controlo de modelo) para análise de dados otimizada.

O CFX Maestro Dx SE oferece quatro opções para a visualização dos dados de discriminação alélica:

- Allelic Discrimination chart (Gráfico de Discriminação alélica) — exhibe os dados num gráfico de RFU para Alelo 1/Alelo 2. Cada ponto no gráfico representa dados de ambos fluoróforos num poço. É possível alternar entre coordenadas cartesianas e polares selecionando e desmarcando a caixa de seleção Polar Coordinates (Coordenadas polares). Cartesian Coordinates (Coordenadas cartesianas) representam RFU para Alelo 1 no eixo X e RFU para Alelo 2 no eixo Y. Polar

Coordinates (Coordenadas polares) representam o ângulo no eixo X e a distância entre a origem e a RFU no eixo Y (mediana de todos os NTC).

- Well spreadsheet (Folha de cálculo de poço) — exibe os dados de discriminação alélica recolhidos em cada poço da placa.
- Well selector (Seletor de poços) — selecione os poços com os dados alélicos que deseja exibir.
- Painel Selected Fluorophores (Fluoróforos selecionados) — altera os rótulos dos eixos X e Y no gráfico Allelic Discrimination (Discriminação alélica), o ciclo para análise e se deseja exibir o mapa de chamadas.

## Ajustar os dados de discriminação alélica

O software atribui automaticamente um genótipo aos poços com amostras desconhecidas com base nas posições dos NTC e o ângulo e distância dos pontos de dados desconhecidos dos NTC.

### Como ajustar os dados de discriminação alélica

- ▶ Execute uma das opções a seguir:
  - Para visualizar coordenadas polares, selecione a caixa de seleção no gráfico de Allelic Discrimination (Discriminação alélica).
  - Para visualizar outro fluoróforo, selecione-o na lista suspensa no painel Selected Fluorophores (Fluoróforos selecionados).
  - Para alterar uma chamada, arraste o rato pelos pontos de dados no gráfico Allelic Discrimination (Discriminação alélica) e selecione uma opção na lista Selected Wells (Poços selecionados):
    - Allele 1 (Alelo 1)
    - Allele 2 (Alelo 2)
    - Heterozygote (Heterozigoto)
    - Undetermined (Não determinado)
    - No Call (Sem chamada)
    - Auto Call (Chamada automática)

**Dica:** selecione Auto Call (Chamada automática) para reverter para a chamada predefinida.

## Opções do menu Chart (Gráfico)

Além das opções comuns de menu do botão direito para gráficos (consulte [Itens de menu do botão direito do rato comuns para gráficos na página 223](#)), a [Tabela 27](#) lista as opções de menu disponíveis no gráfico Allelic Discrimination (Discriminação alélica).

**Tabela 27. Opções de menu com clique nos botões direito e esquerdo do rato para o gráfico Allelic Discrimination (Discriminação alélica)**

Opções do menu	Função
Zoom	Focaliza a visualização do gráfico na área selecionada (clicando e arrastando o cursor no gráfico).  <b>Dica:</b> para restaurar o zoom para mostrar todos os pontos de dados, clique com o botão direito do rato e selecione Set Scale to Default (Colocar na escala predefinida).
Well (Poço)	Para o poço selecionado, as opções são: display only this well (exibir apenas este poço), remove this well from view (remover este poço da vista), set color for this trace (definir a cor para este traçado) ou exclude the well from analysis (excluir este poço da análise).
Selected Wells (Poços selecionados)	Para os poços selecionados (selecionados clicando e arrastando o cursor no gráfico), as opções são: display only these wells (exibir somente esses poços), remove these wells from view (remover estes poços da vista), set color for these traces (definir a cor para estes traçados) ou exclude these wells from analysis (excluir estes poços da análise).

## Folha de cálculo Allelic Discrimination (Discriminação alélica)

A [Tabela 28](#) define os dados que aparecem na folha de cálculo Allelic Discrimination (Discriminação alélica).

**Tabela 28. Conteúdo da folha de cálculo de Allelic Discrimination (Discriminação alélica)**

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Sample (Amostra)	Sample name description (Descrição do nome da amostra)

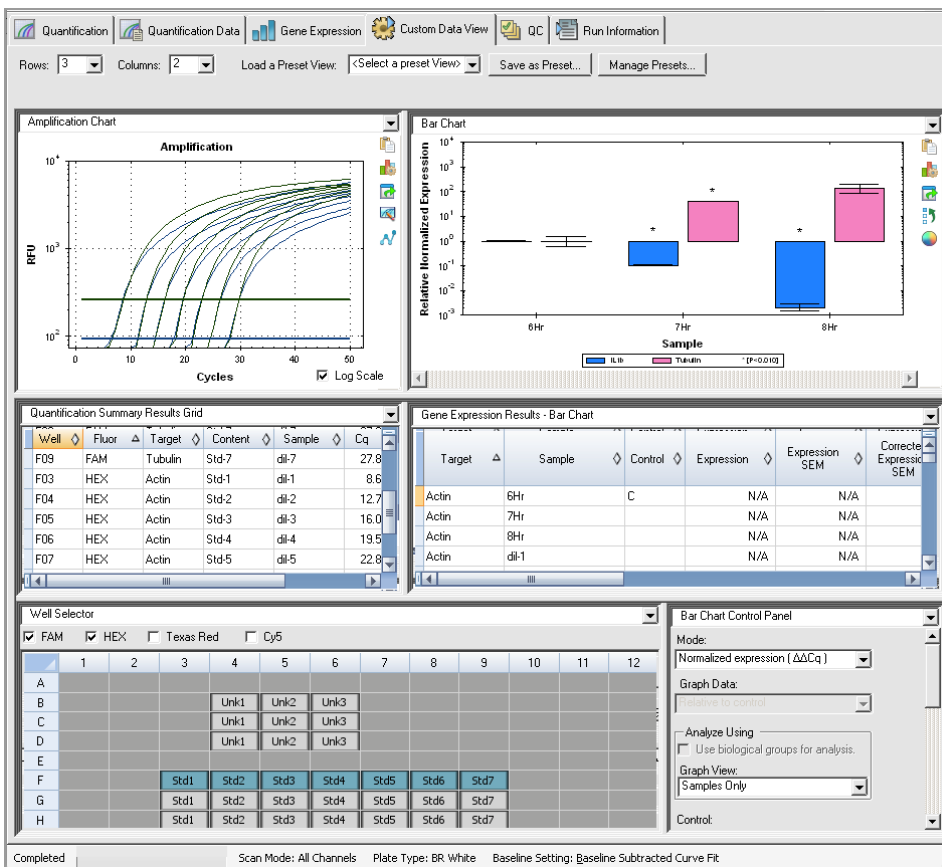
**Tabela 28. Conteúdo da folha de cálculo de Allelic Discrimination (Discriminação alélica), continuação**

<b>Informações</b>	<b>Descrição</b>
Call (Chamada)	Identidade do alelo, nomeadamente Allele 1 (Alelo 1), Allele 2 (Alelo 2), Heterozygote (Heterozigoto), No Call (Sem chamada) ou Undetermined (Não determinado) automáticos
Tipo	Auto (Automático) ou Manual, descreve como a chamada foi feita. Automático indica que o software selecionou a chamada. Manual indica que o utilizador selecionou a chamada.
RFU1	RFU para Allele1 (Alelo 1)
RFU2	RFU para Allele2 (Alelo 2)

## Separador Custom Data View (Vista de dados personalizada)

O separador Custom Data View (Vista de dados personalizada) exibe vários painéis simultaneamente num formato personalizável.

A lista suspensa Load a Preset View (Carregar uma vista predefinida) oferece uma seleção de modelos de formato de exibição. A vista predefinida exibida depende do ficheiro que está a ser analisado. Por exemplo, se houver dados de Melt Curve (Curva de fusão), será exibida a vista predefinida Amp+Melt (Amp + fusão).



## Criar uma vista de dados personalizada

### Como criar uma vista de dados personalizada

- ▶ Execute uma das opções a seguir:
  - Selecione uma vista predefinida alternativa na lista suspensa.
  - Selecione outra vista de gráfico na lista suspensa localizada no cimo de cada painel individual.
  - Altere o número de linhas e colunas na tabela.
  - Altere as dimensões do painel individual. Arraste as barras para a periferia de cada painel.

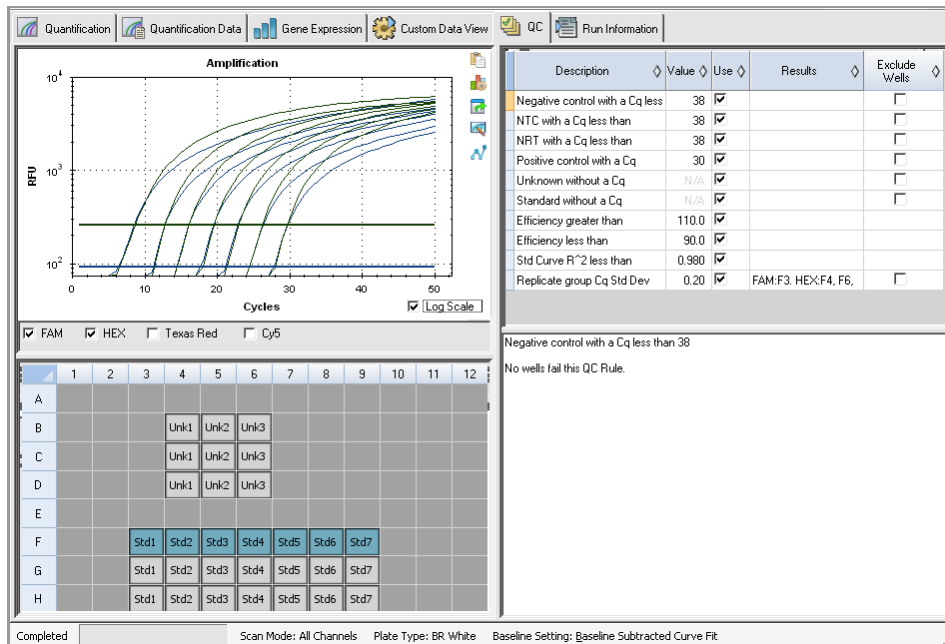
Clique em Save as Preset (Guardar como predefinição) para guardar a personalização como um modelo predefinido. Clique em Manage Presets (Gerir predefinições) para eliminar, mudar o nome, ou restaurar visualizações predefinidas existentes.

## Separador QC (CQ)

Use o separador CQ para avaliar rapidamente a qualidade dos dados de corrida com base nas regras definidas no separador CQ na janela User Preferences (Preferências do utilizador).

O CFX Maestro Dx SE oferece quatro opções para visualizar os dados de CQ:

- **Gráfico Amplification** (Amplificação) — exibe a RFU para cada poço, em cada ciclo. Cada traçado no gráfico representa dados de um único fluoróforo em um poço.
- **Tabela de regras de CQ** — exibe as regras de CQ disponíveis e as configurações que definem cada regra. As regras de CQ aplicadas são indicadas por uma marca de seleção.
- **Well selector** (Seletor de poços) — seleciona os poços com os dados de fluorescência que deseja exibir.
- **Painel de resumo de regras de CQ** — exibe a regra de CQ selecionada e destaca os poços que falham na regra.





## Alterar os critérios de CQ

### Como alterar os critérios de CQ

- ▶ Selecione ou desmarque a caixa de seleção Use (Utilizar) para que a regra seja incluída ou excluída do CQ.

## Excluir poços reprovados no CQ

O CFX Maestro Dx SE exibe os poços que reprovam nos critérios de CQ na coluna Results (Resultados) da tabela de regras de CQ e no painel de resumo.

### Como excluir os poços que reprovaram nos critérios de CQ

- ▶ Selecione Exclude Wells (Excluir poços) para cada poço a ser excluído.

## Separador Run Information (Informações de corrida)

O separador Run Information (Informações de corrida) exibe o protocolo e outras informações sobre cada corrida. Use este separador para executar uma das opções a seguir:

- Visualizar o protocolo.
- Inserir ou editar observações sobre a corrida.
- Inserir ou editar o ID ou código de barras para a corrida.
- Visualizar eventos que possam ter ocorrido durante a corrida. Usar essas mensagens para ajudar a resolver o problema de uma corrida.

**Dica:** clicar com o botão direito do rato em Protocol (Protocolo) para copiar, exportar ou imprimi-lo. Clique com o botão direito do rato nos painéis Notes (Observações), ID/Bar Code (ID/Código de barras) ou Other (Outro) para anular, cortar, copiar, colar, eliminar ou selecionar o texto.

The screenshot displays the Run Information window in CFX Maestro. The main area shows a protocol graph for 'Protocol\_CFX\_2stepAmp50.1\_min.prl' with four steps. Step 1: 95.0 C for 3:00. Step 2: 95.0 C for 0:10. Step 3: 55.0 C for 1:00. Step 4: GOTO 2, 49 more times. The graph shows temperature changes and a 'GOTO' event. The right panel contains 'Notes', 'ID/Bar Code', and 'Other' sections with run details like 'Run Started: 12/13/2007 12:31:47 PM'.

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

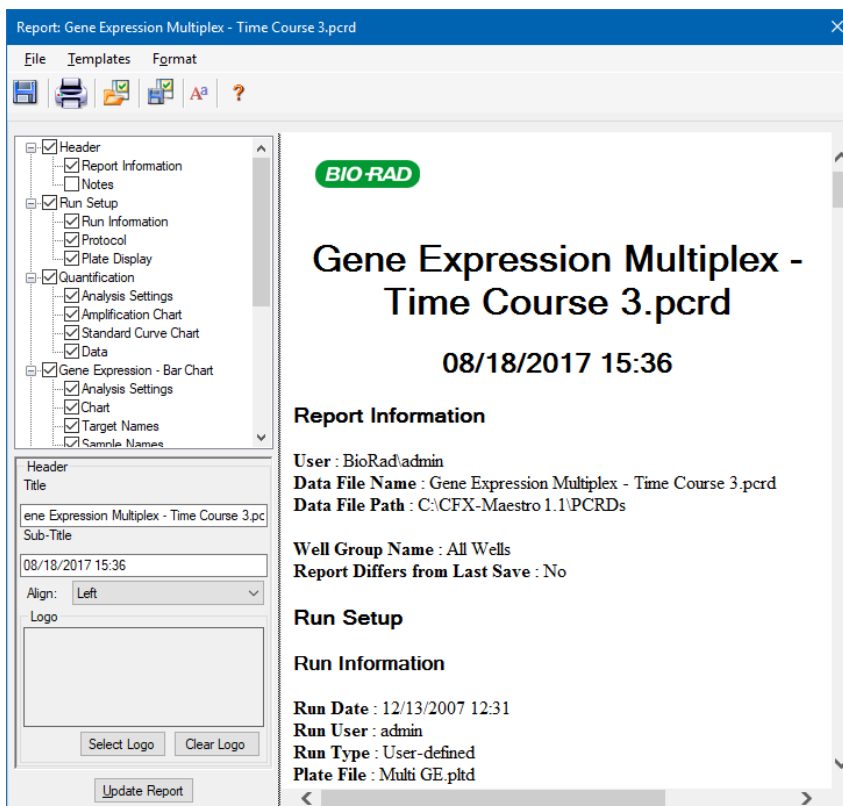
Run Started : 12/13/2007 12:31:47 PM  
User : admin  
Run Type : User-defined  
Plate File : Multi GE.pltd  
Sample Vol : 25  
Lid Temp : 105  
Optical Head Serial Number :  
Base Serial Number : CC001035  
CFX Manager Version : 1.0.956.1212.

## Relatórios de Data Analysis (Análise de dados)

A caixa de diálogo Report (Relatório) exibe informações sobre o ficheiro de dados atual na janela Data Analysis (Análise de dados). Para abrir um relatório, selecione Tools (Ferramentas) > Reports (Relatórios) na barra de ferramentas.

A caixa de diálogo Report (Relatório) contém as seguintes seções:

- Menu e barra de ferramentas — fornece opções para formatar, guardar e imprimir o relatório ou modelo.
- Options list (Lista de opções) (lado superior esquerdo da caixa de diálogo) — fornece opções para exibir no relatório.
- Options pane (Painel de opções) (lado inferior esquerdo da caixa de diálogo) — exibe caixas de texto nas quais é possível inserir informações sobre uma opção selecionada.
- Preview pane (Painel de visualização) (lado direito da caixa de diálogo) — exibe uma visualização do relatório atual.



## Categorias de Data Analysis Report (Relatório de análise de dados)

A [Tabela 29](#) lista todas as opções disponíveis para um relatório de análise de dados, dependendo do tipo de dados na janela Data Analysis (Análise de dados).

**Tabela 29. Categorias de relatórios de análise de dados na lista de opções**

<b>Categoria</b>	<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
<b>Header (Cabeçalho)</b>		
		Título, subtítulo e logotipo do relatório
	Report Information (Informações do relatório)	Run date (Data da corrida), user name (nome do utilizador), data file name (nome do ficheiro de dados), data file path (caminho do ficheiro de dados) e selected well group (grupo de poços selecionados)
	Audit Information (Informações sobre auditoria)	Informações suplementares requeridas para auditoria, incluindo assinaturas
	Notes (Observações)	Observações sobre o relatório de dados
<b>Run Setup (Configuração da corrida)</b>		
	Run Information (Informações da corrida)	Run date (Data da corrida), user name (nome do utilizador), data file name (nome do ficheiro de dados), data file path (caminho do ficheiro de dados) e selected well group (grupo de poços selecionados)
	Protocol (Protocolo)	Vista do texto das etapas e opções do protocolo
	Plate Display (Exibição de placa)	Vista da placa da informação em cada poço da placa
<b>Quantification (Quantificação)</b>		

**Tabela 29. Categorias de relatórios de análise de dados na lista de opções, continuação**

<b>Categoria</b>	<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Data collection step number (Número de etapa de recolha de dados), analysis mode (modo de análise) e baseline subtraction method (método de subtração de linha de base)
	Amplification Chart (Gráfico de amplificação)	Gráfico Amplification (Amplificação) para corridas que incluem dados de quantificação
	Gráfico Standard Curve (Curva padrão)	Gráfico Standard Curve (Curva padrão)
	Data (Dados)	Folha de cálculo com os dados em cada poço
<b>Gene Expression (Expressão génica) — Bar chart (Gráfico de barras)</b>		
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Analysis mode (Modo de análise), chart data (dados de gráfico), scaling option (opção de escala) e chart error (erro de gráfico)
	Chart (Gráfico)	Cópia do gráfico de barras
	Target Names (Nomes de alvos)	Gráfico de nomes de alvos
	Sample Names (Nomes de amostras)	Gráfico de nomes de amostras
	Data (Dados)	Folha de cálculo com os dados em cada poço
	Target Stability (Estabilidade alvo)	Gráfico dos valores de estabilidade alvo
	Box-and-Whisker Chart (Diagrama de caixa)	Box-and-Whisker Chart (Diagrama de caixa)
	Dot Plot Chart (Gráfico de pontos)	Dot Plot Chart (Gráfico de pontos)

**Tabela 29. Categorias de relatórios de análise de dados na lista de opções, continuação**

<b>Categoria</b>	<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
<b>Gene Expression (Expressão génica) — Clustergram e Scatter Plot (Gráfico de dispersão)</b>		
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Configurações para cada tipo de gráfico
	Chart (Gráfico)	Cópia do gráfico
	Data (Dados)	Folha de cálculo com os dados em cada alvo
<b>Gene Expression (Expressão génica) — ANOVA Data (Dados ANOVA)</b>		
	ANOVA Settings (Configurações ANOVA)	P-value Threshold (Limiar de valor P) usado na análise
	ANOVA Results (Resultados ANOVA)	Tabela de resultados de ANOVA e análise Tukey's HSD post-hoc (post-hoc de HSD de Tukey)
<b>Melt Curve (Curva de fusão)</b>		
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Número da etapa de fusão e configuração da barra limiar
	Melt Curve Chart (Gráfico de Curva de Fusão)	Melt Curve Chart (Gráfico de Curva de Fusão)
	Melt Peak Chart (Gráfico de Pico de fusão)	Melt Peak Chart (Gráfico de Pico de fusão)
	Data (Dados)	Folha de cálculo com os dados em cada poço
<b>Allelic Discrimination (Discriminação alélica)</b>		
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Exibe os fluoróforos, o ciclo e a vista de mapa de chamadas
	Allelic Discrimination Chart (Gráfico de discriminação alélica)	Cópia do gráfico de discriminação alélica

**Tabela 29. Categorias de relatórios de análise de dados na lista de opções, continuação**

<b>Categoria</b>	<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
	Data (Dados)	Folha de cálculo com os dados em cada poço
<b>End Point (Ponto final)</b>		
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Fluorophore (Fluoróforo), end cycles to average (ciclos finais para média), mode (modo), lowest RFU value (valor RFU mais baixo), highest RFU value (valor RFU mais alto) e cut off value (valor de corte)
	Data (Dados)	Folha de cálculo com os dados em cada poço
<b>QC Parameters (Parâmetros de CQ)</b>		
	Data (Dados)	Folha de cálculo com os parâmetros para cada regra de CQ

## Criar um Data Analysis Report (Relatório de análise de dados)

É possível guardar o layout do relatório como um modelo, que pode ser usado novamente para relatórios similares.

### Como criar um relatório de análise de dados

1. Faça ajustes finais ao conteúdo do poço, poços selecionados, gráficos e folha de cálculos na janela Data Analysis (Análise de dados) antes de criar o relatório.
2. Selecione Tools (Ferramentas) > Reports (Relatórios) na barra de menu Data Analysis (Análise de dados) para abrir a caixa de diálogo Report (Relatório).
3. Escolha as opções que deseja incluir no relatório. O relatório é aberto com as opções predefinidas selecionadas. Selecione ou desmarque as caixas de seleção para alterar categorias inteiras ou opções individuais dentro de uma categoria.

A [Tabela 29 na página 266](#) lista as opções disponíveis para exibição.

**Observação:** os dados que aparecem no relatório dependem das seleções atuais nos separadores da janela Data Analysis (Análise de dados). Por exemplo, uma corrida de quantificação pode não conter uma curva padrão e, portanto, esses dados não aparecem na janela Data Analysis (Análise de dados) ou no relatório de dados.

4. Altere a ordem das categorias e itens num relatório. Arraste as opções para a posição relativa. Os itens podem ser reordenados apenas dentro das categorias às quais pertencem.
5. (Opcional) No painel Report Options (Opções do relatório), insira informações relevantes para a opção selecionada:
  - Escolha um subconjunto de informações para visualizar no relatório.
  - Selecione as configurações específicas para a opção selecionada.
  - Altere o texto a ser exibido para a opção selecionada.
6. Clique em Update Report (Atualizar relatório) para atualizar a Report Preview (Pré-visualização de relatório) com quaisquer alterações.
7. Imprima ou guarde o relatório:
  - a. Clique no botão Print Report (Imprimir relatório) na barra de ferramentas para imprimir o relatório atual.
  - b. Selecione File (Ficheiro) > Save (Guardar) para guardar o relatório no formato de ficheiro PDF (ficheiro Adobe Acrobat Reader), MHT (documento da Microsoft) ou MHTML (documento da Microsoft).
  - c. Selecione uma localização para guardar o ficheiro.

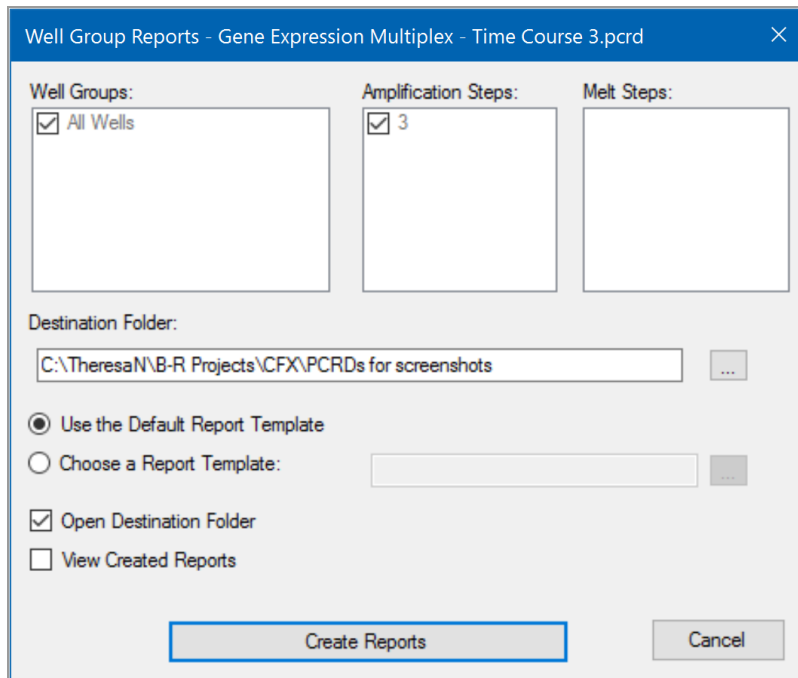


- d. Selecione File (Ficheiro) > Save As (Guardar como) para guardar o relatório com um novo nome ou numa nova localização.
8. (Opcional) Criar um modelo de relatório com as informações desejadas. Para guardar as configurações atuais do relatório num modelo, selecione Template (Modelo) > Save (Guardar) ou Save As (Guardar como). Em seguida, carregue o modelo de relatório na próxima vez que pretender criar um relatório.

## Criar Well Group Reports (Relatórios de grupo de poços)

### Como criar um relatório de grupo de poços

1. Selecione Tools (Ferramentas) > Well Group Reports (Relatórios de grupo de poços) na janela Data Analysis (Análise de dados).



2. Na caixa de diálogo Well Group Reports (Relatórios de grupo de poços), selecione os Well Groups (Grupos de poços), Amplification Steps (Etapas de amplificação) e as Melt Steps (Etapas de fusão) a incluir no relatório.
3. Digite o caminho ou navegue até à pasta de destino em que pretende guardar o relatório.
4. (Opcional) Selecione Choose a Report Template (Selecionar um modelo de relatório) e navegue até à pasta de ficheiro de modelo.
5. (Opcional) Selecione Open Destination Folder (Abrir pasta de destino) para abrir a pasta e exibir os relatórios depois que eles forem gerados.
6. Clique em Create Reports (Criar relatórios).

## Capítulo 12 Análise de expressão génica

Utilizando controlos altamente qualificados nas reações, é possível usar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) para executar uma corrida de expressão génica para normalizar as diferenças relativas numa concentração alvo entre as amostras. Tipicamente, os níveis de expressão para um ou mais genes de referência são usados para normalizar os níveis de expressão de um gene de interesse. Os genes de referência levam em consideração as diferenças de carga ou outras variações representadas em cada amostra e os seus níveis de expressão não devem ser afetados no sistema biológico em estudo.

Selecione o separador Gene Expression (Expressão génica) na janela Data Analysis (Análise de dados) para avaliar as diferenças relativas entre as reações PCR em dois ou mais poços. Por exemplo, é possível avaliar os números relativos de genomas virais ou os números relativos de sequências transfetadas numa reação de PCR. A aplicação mais comum para o estudo da expressão génica é a comparação da concentração de cDNA em mais de uma reação para estimar os níveis de RNA mensageiro em estado estacionário.

O software calcula o nível de expressão relativa de um alvo num destes cenários:

- Nível de expressão relativa de uma sequência alvo (Alvo 1) em relação a outro alvo (Alvo 2); por exemplo, a quantidade de um gene em relação a outro gene sob o mesmo tratamento de amostra.
- Nível de expressão relativa de uma sequência alvo numa amostra em comparação com o mesmo alvo sob outro tratamento de amostra; por exemplo, a quantidade relativa de um gene em relação a ele mesmo em diferentes condições temporais, geográficas ou de desenvolvimento.

### Configuração de placa para a análise de expressão génica

Para realizar a análise de expressão génica, o conteúdo dos poços deve incluir os seguintes:

- Dois ou mais alvos — os dois alvos que representam diferentes genes amplificados ou sequências nas amostras.
- Um ou mais alvos de referência — pelo menos um alvo deve ser um alvo de referência para a expressão normalizada. Atribua todos os alvos de referência na janela Experiment Settings (Configurações de experiências) para analisar os dados no modo de expressão normalizada ( $\Delta\Delta C_q$ ). Corridas que não contenham uma referência devem ser analisadas usando o modo de expressão relativa ( $\Delta C_q$ ).

- Amostras comuns — as reações devem incluir amostras comuns (pelo menos duas) para visualizar os dados desenhados no separador Gene Expression (Expressão génica). Essas amostras devem representar tratamentos ou condições diferentes para cada uma das sequências de alvo. Atribua uma amostra de controlo (opcional) na janela Experiment Settings (Configurações de experiências). Se não for selecionado nenhum controlo, o software usará o  $C_q$  mais baixo como o controlo.

Os requisitos para a configuração da expressão génica no Plate Editor (Editor de placa) dependem do conteúdo da reação ser singleplex PCR, com um fluoróforo nas reações, ou multiplex PCR, com mais de um fluoróforo nas reações.

## Configuração de placa orientada

Se a configuração de placa de um ficheiro de dados de não contiver as informações requeridas para a análise e o separador Gene Expression (Expressão génica) estiver selecionado, o espaço normalmente ocupado pelo gráfico de barras conterá instruções para inserir estas informações. Para a expressão génica normalizada, execute as seguintes etapas:

1. Defina os nomes de alvo e amostra utilizando um dos seguintes:
  - Plate Setup (Configuração de placa) — abre a janela Plate Editor (Editor de placa).
  - Replace Plate File (Substituir ficheiro de placa) — abre o explorador Select Plate (Selecionar placa), no qual é possível navegar para um ficheiro de placa anteriormente guardado para substituir o layout atual da placa.
  - Replace PrimePCR file (Substituir ficheiro PrimePCR) — abre a caixa de diálogo Select PrimePCR file (Selecionar ficheiro PrimePCR), na qual é possível navegar para um ficheiro executável PrimePCR e aplicá-lo no layout da placa.
2. Selecione um ou mais alvos de referência e uma amostra de controlo usando a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências).







Se o layout da placa já contiver informações de alvo e amostra, somente a segunda etapa será requerida e estará destacada em laranja. Esta etapa deve ser concluída antes que a análise da expressão génica normalizada possa ocorrer.

**Observação:** os dados para gráfico de dispersão e clustergram são exibidos somente se todos os requisitos para a expressão génica normalizada listados em Plate Setup for Gene Expression Analysis (Configuração de placa para análise de expressão génica) forem cumpridos.

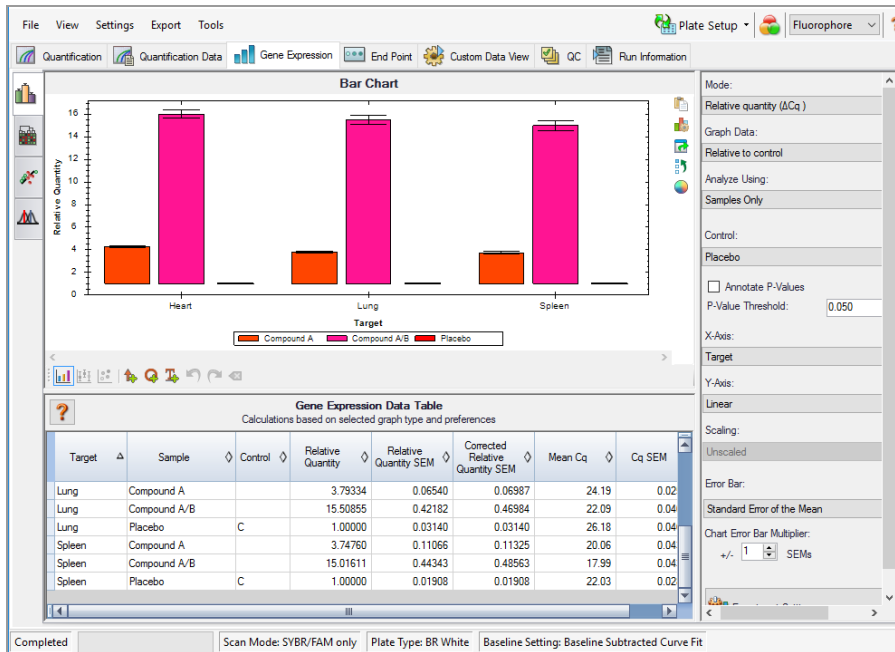
## Gene Expression Charts (Gráficos de expressão génica)

O CFX Maestro Dx SE exibe os dados de expressão génica em várias vistas. A [Tabela 30](#) lista as opções de gráfico disponíveis no software.

**Tabela 30. Opções do gráfico de expressão génica**

Botão	Nome	Função
	Graphing (Gráfico)	Exibe dados de expressão génica normalizada numa das vistas a seguir: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Bar chart (Gráfico de barras) (predefinido)</li> <li>■ Box and whisker chart (Diagrama de caixa)</li> <li>■ Dot plot chart (Gráfico de pontos)</li> </ul>
	Clustergram	Exibe os dados de expressão normalizada numa hierarquia com base no grau de similaridade de expressão para diferentes alvos e amostras.
	Scatter Plot (Gráfico de dispersão)	Exibe a expressão normalizada de alvos para um controlo versus uma amostra experimental.
	ANOVA	Exibe os resultados da ANOVA unidirecional nos dados da expressão génica usando os seguintes pacotes R para executar a ANOVA e determinar os resultados de Tukey: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Companion to Applied Regression (Guia para a regressão aplicada) (car)</li> <li>■ Least-square means (Médias de mínimo quadrado) (lsmeans)</li> </ul>
	Reference Gene Selection Tool (Ferramenta de seleção do gene de referência)	(Disponível no separador Study Analysis (Análise do estudo) na janela Gene Study (Estudo de genes)). Identifica os genes de referência testados e classifica-os como Ideal, Acceptable (Aceitável) ou Unstable (Instável) com base na sua estabilidade.
	PrimePCR Controls Analysis (Análise de controlos PrimePCR)	(Disponível no separador Study Analysis (Análise do estudo) na janela Gene Study (Estudo de genes)) Exibe os resultados das amostras testadas.

## Graphing (Gráfico)



A expressão relativa dos alvos é apresentada nestas duas vistas:

- Gene Expression chart (Gráfico de expressão génica) — exhibe os dados em tempo real do PCR como um dos seguintes:
  - $\Delta\Delta C_q$  — expressão normalizada relativa calculada usando amostras de controlo e alvos de referência.
  - $\Delta C_q$  — quantidade relativa do gene alvo numa amostra relativa a uma amostra de controlo.

Consulte [Alterar e anotar a Chart View \(Vista de Gráfico\) na página 278](#) para obter mais informações sobre como visualizar gráficos.

- Spreadsheet (Folha de cálculo) — exhibe uma folha de cálculo dos dados de expressão génica.

**Dica:** clique com o botão direito em qualquer gráfico ou folha de cálculo para ver as opções. Selecione View/Edit Plate (Visualizar/editar placa) no menu suspenso Plate Setup (Configuração de placa) para abrir o Plate Editor (Editor de placa) e alterar o conteúdo do poço na placa.

**Dica:** selecione Sort (Ordenar) no menu ao clicar com o botão direito para reorganizar a ordem de nomes de Target (Alvo) e Sample (Amostra) no gráfico.

## Expressão génica normalizada

Para normalizar os dados, use o nível de expressão medido de um ou mais genes de referência como um fator de normalização. Os genes de referência são alvos que não são regulados no sistema biológico em estudo, como a *actina*, a *GAPDH* ou a *tubulina*.

### Como configurar a análise de expressão génica normalizada ( $\Delta\Delta C_q$ )

1. Abra um ficheiro de dados (extensão .pcrd).
2. Reveja os dados no separador Quantification (Quantificação) na janela Data Analysis (Análise de dados). Ajuste os dados, como, por exemplo, alterando o limiar e o modo de análise.
3. Selecione o separador Gene Expression (Expressão génica).
4. No separador Gene Expression (Expressão génica), clique em Experiment Settings (Configurações de experiências).
5. Na caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências), faça o seguinte:
  - a. Selecione o separador Samples (Amostras) e selecione um controlo. Quando for atribuído o controlo, o CFX Maestro Dx SE normaliza as quantidades relativas de todos os genes para a quantidade de controlo, que é definida como 1.
  - b. Selecione o separador Target (Alvo) e selecione os genes de referência. A análise de expressão génica exige uma referência entre os alvos das suas amostras.
6. Selecione Normalized Expression (Expressão normalizada) ( $\Delta\Delta C_q$ ), se ainda não estiver selecionado e, em seguida, exibir os níveis de expressão no separador Gene Expression (Expressão génica).

**Observação:** também é possível usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) para configurar o layout da placa para análise de expressão génica normalizada.

## Relative Quantity (Quantidade relativa)

Por definição, os dados de quantidade relativa ( $\Delta C_q$ ) não estão normalizados. Este método é usado para quantificar amostras que não incluem genes de referência (alvos). Normalmente, os investigadores confiam numa das seguintes premissas quando configuram uma corrida:

- Cada amostra contém a mesma quantidade de RNA ou cDNA em cada poço.
- Qualquer variação na quantidade de amostra biológica carregada será normalizada após a corrida por algum método na análise de dados exterior ao software. Por exemplo, um investigador pode optar por dividir o valor da quantidade relativa pelo fator de normalização, possivelmente a massa de ácido nucleico carregada para cada amostra ou o número de células das quais o ácido nucleico foi isolado.

### Como executar uma análise Relative Quantity (Quantidade relativa) ( $\Delta C_q$ )

- ▶ No separador Gene Expression (Expressão génica), selecione Relative Quantity (Quantidade relativa) ( $\Delta C_q$ ) da lista suspensa Mode (Modo) no painel direito.

**Dica:** Para comparar os resultados com dados de outras corridas de expressão génica, abra um novo estudo de genes ou adicione um ficheiro de dados a um estudo de genes existente.

## Alterar e anotar a Chart View (Vista de Gráfico)

Usando os comandos de menu e as ferramentas de análise de dados, é possível alterar a exibição do gráfico, anotar cada gráfico e alterar a exibição do gráfico. A barra de ferramentas de gráficos é exibida entre o gráfico e a folha de cálculo de análise de dados na parte inferior do ecrã.

### Chart Toolbar Tools (Barra de ferramentas do gráfico)

**Dica:** consulte [Gráficos na página 215](#) para obter informações sobre as ferramentas de gráfico que aparecem no lado direito dos gráficos de análise de dados.

A barra de ferramentas abaixo dos gráficos fornece acesso rápido às ferramentas de anotação.



A [Tabela 31](#) lista as funções dos botões na barra de ferramentas dos gráficos.

**Tabela 31. Barra de ferramentas do gráfico**










Botão	Nome	Função
	Bar chart (Gráfico de barras)	Exibe a expressão relativa dos alvos.
	Box and Whisker chart (Diagrama de caixa)	Exibe os dados como intervalos de quartil (consulte <a href="#">Cálculos de Box and Whisker chart (Diagrama de caixa) na página 317</a> para obter os pormenores do cálculo). <b>Observação:</b> Disponível somente se Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Biological Groups Only (Apenas grupos biológicos).
	Dot Plot chart (Gráfico de pontos)	Exibe os pontos de dados de amostra para cada alvo. <b>Observação:</b> Disponível somente se Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Biological Groups Only (Apenas grupos biológicos).



Tabela 31. Barra de ferramentas do gráfico, continuação

Botão	Nome	Função
	Add Arrow (Adicionar seta)	Desenha uma seta no gráfico ativo.
	Add Circle (Adicionar círculo)	Desenha um círculo no gráfico ativo
	Add Text (Adicionar texto)	Insere uma caixa de texto no gráfico ativo, na qual é possível adicionar texto para identificar itens de interesse no gráfico.
	Undo (Anular)	Remove ou reverte a última anotação realizada no gráfico ativo.
	Redo (Refazer)	Reverte a última ação Undo (Anular) executada no gráfico ativo.
	Clear All (Limpar todos)	Limpa todas as anotações no gráfico ativo.

### Ordenar dados de Target (Alvo), Sample (Amostra) e Biological Group (Grupo biológico)

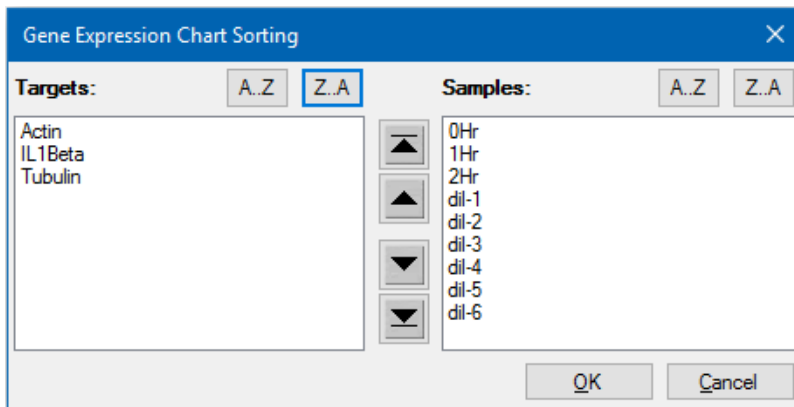
**Observação:** esta opção está disponível apenas em gráficos de expressão génica.

Como predefinição, as listas de alvos, amostras e grupos biológicos são mostradas em ordem alfabética. Use a caixa de diálogo Sort (Ordenar) para ordenar a exibição em ordem alfabética inversa ou para mover manualmente um termo para uma posição diferente na lista.

#### Como ordenar dados de alvos, amostras e grupos biológicos

1. Nas ferramentas de gráfico, clique em Sort (Ordenar).

É exibida a caixa de diálogo Gene Expression Chart Sorting (Ordenar gráfico de expressão génica).



2. Na caixa de diálogo, clique em Z-A para ordenar a lista em ordem alfabética inversa.
3. Para mover um termo manualmente, selecione-o e clique no botão apropriado entre os gráficos:
  - Clique na seta para cima ou para baixo para mover o termo selecionado uma posição.
  - Clique na seta com barra para cima ou para baixo para mover o termo selecionado para a parte de cima ou para a parte de baixo da lista.
4. Clique em OK para guardar as alterações e voltar para o separador Gene Expression (Expressão génica).

## Alterar as Color Settings (Configurações de cores) de Target (Alvo), Sample (Amostra) e Biological Group (Grupo Biológico)

Use a caixa de diálogo Color Settings (Configurações de cores) para alterar a cor de um alvo, amostra ou grupo biológico, ou remover o item do gráfico.

### Como alterar as configurações de cores de alvo

1. No painel da direita, na caixa de diálogo Gene Expression (Expressão génica), verifique se Sample (Amostra) aparece na lista suspensa X-Axis (Eixo X).
2. Em Chart Tools (Ferramentas do gráfico), selecione Color Settings (Configurações de cores).  
É exibida a caixa de diálogo Color Settings (Configurações de cores).
3. Para alterar a cor de exibição para um alvo, clique na cor na coluna Color (Cor).
4. Na caixa de diálogo Color (Cor), escolha uma nova cor e clique em OK.
5. Para remover um alvo do gráfico de expressão génica, remova a seleção na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).

**Dica:** para limpar todos os alvos, desmarque Show Chart (Mostrar gráfico) no cabeçalho da coluna.

6. (Opcional) Como predefinição, as barras são exibidas em cores sólidas. Para exibir as barras em cores gradientes, desmarque Use Solid Colors (Usar cores sólidas).
7. Clique em OK para guardar as alterações e voltar para o separador Gene Expression (Expressão génica).

### Como alterar as configurações de cor de amostra ou grupo biológico

1. No painel da direita, na caixa de diálogo Gene Expression (Expressão génica), verifique se Target (Alvo) aparece na lista suspensa X-Axis (Eixo X).
2. Execute as etapas em [Como alterar as configurações de cores de alvo na página 281](#).

## Alterar a Chart View (Vista de Gráfico)

### Como alterar a vista de gráfico atual

- Selecione o comando do menu da barra de ferramentas para a vista pretendida.

**Observação:** O separador Gene Expression (Expressão génica) abre sempre exibindo os dados na vista Bar Chart (Gráfico de barra).

## Excluir pontos de dados discrepantes

No gráfico Dot Plot (Pontos), é possível visualizar e excluir facilmente os valores discrepantes da análise.

### Como excluir pontos de dados discrepantes

- ▶ No gráfico Dot Plot (Pontos), clique com o botão direito no valor discrepante e selecione Exclude Well from Analysis (Excluir poço da análise).

O ponto de dados é removido do gráfico Dot Plot (Pontos) e o poço muda para a cor cinza em Well Selector (Seletor de poços) no separador Quantification (Quantificação).

### Como incluir um ponto de dados discrepante excluído

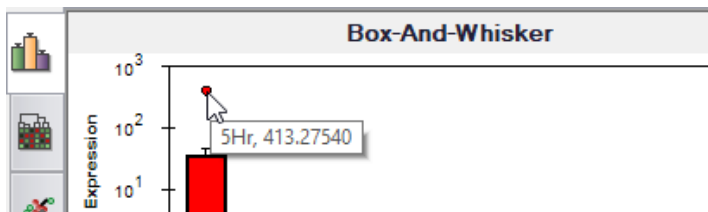
- ▶ No separador Quantification (Quantificação), clique com o botão direito em Well Selector (Seletor de poços e selecione) Well (Poço) > Include in Analysis (Incluir na análise).

## Visualização de pormenores do ponto de dados

### Como visualizar os pormenores do ponto de dados

- ▶ Nos gráficos Box and Whisker (Diagrama de caixa) e Dot Plot (Pontos), coloque o cursor sobre um ponto de dados individual.

É exibida uma dica de ferramenta aparece, mostrando o nome da amostra e sua expressão (quantidade relativa ou expressão normalizada, dependendo da opção selecionada).



## Anotar os gráficos

É possível adicionar setas, círculos e texto a cada gráfico de barras para comunicar os dados com clareza. As anotações são guardadas com o gráfico de barras e exibidas no ficheiro exportado e impresso. No entanto, as anotações feitas a uma vista de gráfico não são adicionadas às outras vistas de gráfico.

### Como desenhar uma seta ou um círculo no gráfico

1. Na barra de ferramentas do gráfico de barras, clique na ferramenta específica.
2. Clique no gráfico de barras e arraste o cursor pelo gráfico, conforme necessário.

### Como adicionar texto ao gráfico

1. Na barra de ferramentas do gráfico de barras, clique em Add Text (Adicionar texto).
2. Clique no gráfico de barras. É exibida uma caixa de texto nessa localização.
3. Adicione texto na caixa de texto.
4. Clique em qualquer parte do gráfico para sair da caixa de texto.

**Dica:** pressione Enter para adicionar linhas múltiplas à caixa de texto.

### Como mover uma anotação

1. Passe o cursor sobre a anotação. O ícone muda para um dedo apontando e o limite da anotação é destacado.
2. Clique na anotação e arraste-a para outra posição.
3. Solte a anotação para garantir sua posição.

### Como anular uma anotação

- ▶ Clique em Undo (Anular).

A anotação adicionada mais recentemente é removida.

**Dica:** é possível anular as dez anotações mais recentes, uma de cada vez.

### Como refazer uma anotação

- ▶ Clique em Redo (Refazer).

A anotação removida mais recente é repostada.

**Dica:** é possível refazer as dez anotações mais recentes, uma de cada vez.

### Como eliminar uma anotação

- ▶ Clique com o botão direito na anotação e selecione Delete (Eliminar).

## Ajustar os dados de expressão génica

Após selecionar o modo de análise, a expressão normalizada ( $\Delta\Delta Cq$ ) ou a quantidade relativa ( $\Delta Cq$ ), ajuste os dados exibidos no separador Gene Expression (Expressão génica), alterando as opções de configuração à direita do gráfico.

**Dica:** as opções de dados predefinida da Gene Expression (Expressão génica) são definidas na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do utilizador) (consulte [Configurar os parâmetros predefinidos do ficheiro de dados de expressão génica na página 98](#)).

### Dados do gráfico

Define o valor do eixo y para a escala linear para permitir as opções dados do gráfico. As opções de dados do gráfico permitem que apresente os dados no gráfico com uma destas opções:

- Relative to control (Relativos ao controlo) — traça um gráfico dos dados com o eixo em escala de 0 a 1. Se atribuir um controlo à corrida, seleccione esta opção para visualizar rapidamente a regulação positiva e a regulação negativa do alvo.
- Relative to zero (Relativos a zero) — traça um gráfico dos dados com origem no zero.

### Analyze Using (Analisar usando)

Use o menu suspenso para selecionar como os dados são analisados e desenhados. As opções são:

- Samples Only (Apenas amostras) — os dados são analisados e desenhados por amostra.
- Biological Groups Only (Apenas grupos biológicos) — os dados são analisados e desenhados por grupos biológicos. A expressão exibida para o grupo biológico é a média geométrica das amostras naquele grupo.
- Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra) — os dados são analisados e desenhados por amostra com o grupo biológico apostado ao nome da amostra. Os valores de P são calculados com base no grupo biológico.
- Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico) — os dados são analisados e desenhados por amostra com o grupo biológico antes do nome da amostra. Os valores de P são calculados com base no grupo biológico.

Use o menu suspenso para selecionar uma amostra que será usada para normalizar a Relative Quantity (Quantidade relativa):

### Annotate P-Values (Anotar Valores P) e P-Value Threshold (Limiar do Valor P)

Quando Annotate P-Values (Anotar Valores P) for selecionado, o software exibirá um asterisco (\*) no gráfico de barras acima de um alvo se o respetivo valor P estiver abaixo do limiar selecionado. O software

calcula automaticamente o valor P, comparando o nível de expressão da amostra com o nível de expressão da amostra de controlo selecionada, usando um teste t padrão. O intervalo limiar do valor P é 0,000—1,000.

### X-Axis Options (Opções do eixo X)

A opção do eixo x permite exibir os dados do eixo x do gráfico Gene Expression (Expressão génica):

- Target (Alvo) — traça um gráfico com os nomes dos alvos no eixo x.
- Sample (Amostra) — traça um gráfico com os nomes das amostras no eixo x.

### Y-Axis Options (Opções de eixo Y)

A opção do eixo y permite exibir o gráfico Gene Expression (Expressão génica) numa destas três escalas:

- Linear — selecione esta opção para traçar uma escala linear
 

**Dica:** definir o eixo y como Linear ativa a lista suspensa Graph Data (Dados do gráfico), a partir da qual é possível optar por representar graficamente os dados relativos ao controlo ou relativos a zero.
- Log 2 — selecione esta opção para avaliar amostras através de um grande intervalo dinâmico.
- Log 10 — selecione esta opção para avaliar amostras através de um muito grande intervalo dinâmico.

### Opções de escala

Selecione Normalized Gene Expression (Expressão génica normalizada) ( $\Delta\Delta C_q$ ) e defina como None (Nenhum) para ativar as opções de escala no gráfico de expressão génica. Selecione uma dessas opções de escala para calcular e apresentar os dados do modo que melhor se enquadre à conceção da corrida:

- Unscaled (Sem escala) — apresenta a expressão génica normalizada sem escala.
  - Highest (Mais alto) — ajusta a escala da expressão génica normalizada para cada alvo, dividindo o nível de expressão de cada amostra pelo nível de expressão mais alto em todas as amostras.
- Esta opção de escala usa a fórmula “escala criada para o mais alto”.
- Lowest (Mais baixo) — ajusta a escala da expressão génica normalizada para cada alvo, dividindo o nível de expressão de cada amostra pelo nível de expressão mais baixo em todas as amostras.

Esta opção de escala usa a fórmula “escala criada para o mais baixo”

- **Average (Média)** — ajusta a escala da expressão génica normalizada para cada alvo, dividindo o nível de expressão de cada amostra pela média geométrica dos níveis de expressão de todas as amostras.

Esta opção de escala usa a fórmula “escala criada para a média”.

Selecione uma opção para o tipo de cálculos de erro (barras de erros) no gráfico Gene Expression (Expressão génica):

### Chart Error Bar Multiplier (Multiplicador de barra de erros do gráfico)

Selecione um multiplicador para as barras de erros no gráfico Gene Expression (Expressão génica).

Selecione um destes números inteiros:

- +/- 1 (predefinição)
- 2
- 3

O tipo de multiplicador muda ao selecionar a barra de erros:

- SEM para erros padrão da média
- Std Devs (Desv. padrão) para desvios padrão.

### Experiment Settings (Configurações de experiências)

**Dica:** esta caixa de diálogo também está disponível no Plate Editor (Editor de placa). Para obter mais informações, consulte a seção [Alterar configurações de experiências na página 161](#).

Na caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências), é possível visualizar ou alterar a lista de alvos, amostras ou grupos biológicos, selecionar os genes de referência, selecionar os controlos ou configurar o grupo Gene Expression Analysis (Análise de expressão génica) a ser analisado se forem adicionados grupos biológicos aos poços.

#### Abrir a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências)

- ▶ No separador Graphing (Gráficos), clique em Experiment Settings (Configurações de experiências) na parte inferior do painel direito.

É exibida a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências) com o separador Targets (Alvos).



### Como ajustar as configurações de Targets (Alvos)

- ▶ No separador Targets (Alvos), execute uma das opções a seguir:
  - Para selecionar um alvo como referência para análise de dados de expressão génica, selecione o respetivo nome na coluna Reference (Referência).
  - Para alterar a cor do alvo, clique na respetiva célula na coluna Color (Cor) e altere a cor na caixa de diálogo Color (Cor) exibida.
 

A alteração de cor aparece nos gráficos Gene Expression (Expressão génica).
  - Para usar um valor de eficiência determinado anteriormente, limpe a caixa de seleção do alvo na coluna Auto Efficiency (Eficiência automática) e insira um número para a percentagem de eficiência de um alvo.
 

O software calcula a eficiência relativa de um alvo usando Auto Efficiency (Eficiência automática), se os dados de um alvo incluírem uma curva padrão.

### Ajustar as configurações de Sample (Amostra)

- ▶ No separador Samples (Amostras e grupos biológicos), execute uma das opções a seguir:
  - Para selecionar uma amostra como controlo para a análise de dados de expressão génica, selecione o respetivo nome na coluna Control (Controlo).
  - Para alterar a cor da amostra, clique na respetiva célula na coluna Color (Cor) e altere a cor na caixa de diálogo Color (Cor) exibida.
 

A alteração de cor aparece nos gráficos Gene Expression (Expressão génica).
  - Para exibir a amostra nos gráficos Gene Expression (Expressão génica), selecione-o na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).
  - Para remover a amostra dos gráficos Gene Expression (Expressão génica), remova a seleção na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).
 

**Dica:** os dados da amostra permanecem na tabela Results (Resultados).

### Como excluir um tipo de amostra dos cálculos de análise

- ▶ Marque a caixa de seleção na parte inferior da caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experiências).
 

**Observação:** esta ação exclui controlos e/ou padrões da análise de expressão génica.

## Opções do menu do botão direito

Clique com o botão direito do rato no gráfico de expressão génica para seleccionar os itens exibidos na [Tabela 32](#).

**Tabela 32. Itens de expressão génica do menu do botão direito**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o gráfico para a área de transferência
Save Image As (Guardar imagem como)	Guarda o gráfico como um ficheiro de imagem. Configure a resolução e as dimensões da imagem e, em seguida, seleccione o tipo de ficheiro (PNG, JPG, ou BMP).
Page Setup (Configuração de página)	Seleciona uma configuração de página para impressão.
Print (Imprimir)	Imprime o gráfico.
Set Scale to Default (Colocar na escala predefinida)	Show All (Mostrar todos) exhibe todos os dados no gráfico de barra. Scroll Bar (Barra de deslocamento) exhibe uma barra de deslocamento se houver muitas amostras a serem exibidas no quadro do gráfico, mantendo a largura mínima da barra.
Chart Settings (Configurações do gráfico)	Abre a janela Chart Settings (Configurações do gráfico) para ajustar o gráfico.
Sort (Ordenar)	Ordena as amostras ou os alvos que aparecem no eixo X do gráfico.
Use Corrected Std Devs (Usar desvios padrão corrigidos)	Calcula as barras de erros usando a fórmula de desvio padrão corrigida.
Use Solid Bar Colors (Usar cores sólidas na barra)	Exibe as barras no gráfico numa cor sólida.
X–Axis Labels (Rótulos do eixo X)	Exibe os rótulos do eixo x na horizontal ou inclinados.

## Folha de cálculo de dados

A [Tabela 33](#) define os resultados exibidos na tabela de dados Gene Expression (Expressão génica).

**Observação:** os valores na tabela são calculados com base no tipo de gráfico e nas preferências selecionados no painel da direita.

**Tabela 33. Descrição das informações na folha de cálculo no separador**

Informações	Descrição
Target (Alvo)	Nome do alvo (gene amplificado) selecionado na janela Experiment Settings (Configurações de experiências).
Biological Group (Grupo biológico)	Nome da amostra e/ou grupo biológico selecionado na janela Experiment Settings (Configurações de experiências).
Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra)	
Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico)	
Controlo	Nome do controlo selecionado na janela Experiment Settings (Configurações de experiências). Quando Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Samples Only (Apenas amostras), Control (Controlo) é a amostra selecionada na janela Experiment Settings (Configurações de experiências). Quando Biological Groups Only (Apenas grupos biológicos), Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra) ou Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico) for selecionado, o controlo é o grupo biológico selecionado na janela Experiment Settings (Configurações de experiências).
Relative Quantity (Quantidade relativa) ou Expression (Expressão)	Relative Quantity (Quantidade relativa) ( $\Delta C_q$ ) ou Normalized Gene Expression (Expressão génica normalizada) ( $\Delta\Delta C_q$ ), dependendo do modo selecionado.
Relative Quantity (Quantidade relativa) ou Expression SEM (SEM da expressão) ou SD	Erro padrão da média (SEM) ou desvio padrão (SD) da quantidade relativa ou expressão normalizada, dependendo da opção selecionada. Disponível somente se Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Samples Only (Apenas amostras), Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra) ou Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico).

<b>Informações</b>	<b>Descrição</b>
Relative Quantity (Quantidade relativa) ou Expression SEM (SEM de expressão) (ou SD) corrigido	Cálculo do valor corrigido para SEM ou SD da quantidade relativa ou expressão normalizada, dependendo da opção selecionada. Disponível somente se Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Samples Only (Apenas amostras), Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra) ou Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico).
Mean C <sub>q</sub> (Média de C <sub>q</sub> )	Média do ciclo de quantificação (não é exibida se Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Biological Groups Only (Apenas grupos biológicos)).
SEM (ou SD) de C <sub>q</sub>	SEM ou SD do ciclo de quantificação, dependendo da opção selecionada (não é exibido se Analyze Using (Analisar usando) for definido como Biological Groups Only (Apenas grupos biológicos)).

## Opção Show Details (Mostrar pormenores)

A [Tabela 34](#) define os dados exibidos quando é selecionado Show Details (Mostrar pormenores) no menu ao clicar com o botão direito da folha de cálculo do gráfico de barras.

**Tabela 34. Informações na folha de cálculo do gráfico de barras com Show Details (Mostrar pormenores) selecionado**

Informações	Descrição
Data Set (Conjunto de dados)	Dados de fluorescência de um fluoróforo no ficheiro de dados
Relative Quantity (Quantidade relativa)	Quantidade relativa calculada de amostras
Relative Quantity SD (SD da quantidade relativa)	Desvio padrão do cálculo de quantidade relativa
Corrected Relative Quantity SD (SD da quantidade relativa corrigida)	Desvio padrão calculado da quantidade relativa corrigida
Relative Quantity SEM (SEM da quantidade relativa)	Erro padrão da média do cálculo da quantidade relativa
Corrected Relative Quantity SEM (SEM da quantidade relativa corrigida)	Erro padrão calculado da média da quantidade relativa corrigida
Relative Quantity (Quantidade relativa) (lg)	$\log_2$ da quantidade relativa que é usado para a análise estatística
SD RQ(lg)	Desvio padrão da quantidade relativa ( $\log_2$ )
SEM Expression (Expressão SEM) (lg)	Erro padrão da média da expressão ( $\log_2$ )
Unscaled Expression (Expressão sem escala)	Expressão sem escala calculada
Unscaled Expression SD (SD de expressão sem escala)	Desvio padrão calculado da expressão sem escala
Corrected Unscaled Expression SD (SD de expressão sem escala corrigida)	Desvio padrão calculado da expressão sem escala corrigida

**Tabela 34. Informações na folha de cálculo do gráfico de barras com Show Details (Mostrar por-menores) selecionado, continuação**

<b>Informações</b>	<b>Descrição</b>
Unscaled Expression SEM (SEM de expressão sem escala)	Erro padrão calculado da média da expressão sem escala
Corrected Unscaled Expression SEM (SEM de expressão sem escala corrigida)	Erro padrão calculado da média da expressão sem escala corrigida
Unscaled Expression (Expressão sem escala) (lg)	Log <sub>2</sub> da expressão sem escala
SD Unscaled Expression (SD de expressão sem escala)	Desvio padrão da expressão sem escala (log <sub>2</sub> )
SEM Unscaled Expression (SEM de expressão sem escala)	Erro padrão da média da expressão sem escala (log <sub>2</sub> )
Expression (Expressão)	Expressão génica normalizada
Corrected Expression SD (SD de expressão corrigida)	Desvio padrão calculado da expressão corrigida
Expression SEM (SEM de expressão)	Erro padrão da média da expressão
Corrected Expression SEM (SEM de expressão corrigida)	Erro padrão calculado da média da expressão corrigida
Expression (Expressão) (lg)	Log <sub>2</sub> da expressão (expressão normalizada) que é usado para a análise estatística
SD Expression (Expressão SD) (lg)	Desvio padrão da expressão (log <sub>2</sub> )
SEM Expression (Expressão SEM) (lg)	Erro padrão da média da expressão (log <sub>2</sub> )
Mean C <sub>q</sub> (Média de C <sub>q</sub> )	Média do ciclo de quantificação
C <sub>q</sub> SD	Desvio padrão do ciclo de quantificação
C <sub>q</sub> SEM	Erro padrão da média do ciclo de quantificação

## Clustergram

O clustergram exibe os dados numa hierarquia com base no grau de similaridade de expressão para diferentes alvos e amostras.

**Observação:** deve escolher um alvo de referência para exibir qualquer um dos gráficos de dados que não sejam a expressão relativa para gráficos de barras.

A imagem do clustergram representa a expressão relativa de uma amostra ou alvo da seguinte forma:

- Upregulation (Regulação positiva) (vermelho) — maior expressão
- Downregulation (Regulação negativa) (verde ou azul) — menor expressão
- No regulation (Sem regulação) (preto)
- No value calculated (Sem valor calculado) (preto com um X branco)

Quanto mais claro o tom de cor, maior a diferença de expressão relativa. Se nenhum valor  $C_q$  normalizado puder ser calculado, o quadrado ficará preto com um X branco.

Nos limites externos do gráfico de dados há um dendrograma, que indica a hierarquia de agrupamento. Os alvos ou amostras que possuem padrões de expressão semelhantes terão ramificações adjacentes, enquanto aqueles com padrões diferentes estarão mais distantes.

### Settings (Configurações)

É possível configurar as seguintes opções:

- Cluster By (Agrupar por)— selecione a partir de Targets (Alvos), Samples (Amostras), Both (Ambos) ou None (Nenhum).
- Size (Tamanho) — ajusta o tamanho da imagem e altera o grau de ampliação do gráfico.
- Split Out Replicates (Réplicas separadas) — exibe os valores para as réplicas individuais.

**Dica:** é possível alterar o esquema de cores para do esquema predefinido Red/Green (vermelho/verde) para Red/Blue (vermelho/azul), selecionando esta opção a partir do menu do botão direito desses gráficos.

### Opções do menu do botão direito

As opções do menu do botão direito do rato para o clustergram são as mesmas do gráfico de barras. Consulte [Tabela 32 na página 288](#) para ver as opções disponíveis. Além disso, selecione Color Scheme (Esquema de cores) para alterar a expressão de regulação negativa do esquema predefinido Red/Green (vermelho/verde) para Red/Blue (vermelho/azul) no gráfico.

### Folha de cálculo de dados

A folha de cálculo exibe valores para o alvo, a amostra e a expressão normalizada.

## Scatter Plot (Gráfico de dispersão)

O gráfico de dispersão exibe a expressão normalizada de alvos para uma amostra de controlo versus uma amostra. As linhas no gráfico indicam o limiar de alteração da multiplicação. Os pontos de dados entre as linhas indicam que a diferença na expressão para esse alvo (gene) é insignificante entre as amostras. Os pontos de dados fora das linhas excedem o limiar de alteração da multiplicação e podem ser interessantes.

A imagem do gráfico mostra as seguintes alterações na expressão de alvo com base no limiar de alteração da multiplicação

- Upregulation (Regulação positiva) (círculo vermelho) — relativamente maior expressão
- Downregulation (Regulação negativa) (círculo verde ou azul) — relativamente menor expressão
- No change (Sem alteração) (círculo preto)

Clique e arraste a linha de limiar para ajustar o valor limiar de alteração da multiplicação

## Configurações

É possível configurar as seguintes opções:

- Control Sample (Amostra de controlo)
- Experimental Sample (Amostra experimental)
- Limiar de alteração da multiplicação. À medida que aumenta ou diminui o valor de alteração da multiplicação, as linhas de limiar no gráfico acompanham.

## Opções do menu do botão direito

As opções do menu do botão direito do rato para o gráfico de dispersão são as mesmas do gráfico de barras. Consulte [Tabela 32 na página 288](#) para ver as opções disponíveis. Além disso, seleccione Symbol (Símbolo) para alterar o símbolo usado no gráfico, do círculo predefinido para um dos seguintes:

- Triângulo
- Cruz
- Quadrado
- Losango

## Folha de cálculo de dados

A folha de cálculo exibe os valores para o alvo, a amostra e a expressão normalizada para controlo e amostras experimentais. Também indica se os alvos apresentam uma regulação positiva ou negativa,



em comparação com a regulação do alvo.

## Folha de cálculo Results (Resultados)

A folha de cálculo Results (Resultados) resume os dados de todos os gráficos. A [Tabela 35](#) define os resultados exibidos na folha de cálculo Results (Resultados).

**Tabela 35. Informações no separador Results (Resultados)**

Informações	Descrição
Target (Alvo)	Nome do alvo (gene amplificado)
Sample (Amostra)	Nome da amostra
Mean C <sub>q</sub> (Média de C <sub>q</sub> )	Média do ciclo de quantificação
Mean Efficiency Corrected C <sub>q</sub> (Eficiência média corrigida C <sub>q</sub> )	A média do ciclo de quantificação após o ajuste para a eficiência da reação
Normalized Expression (Expressão normalizada)	Expressão de destino normalizada para um alvo de referência ( $\Delta\Delta C_q$ )
Relative Normalized Expression (Expressão normalizada relativa)	Expressão normalizada relativa a uma amostra de controlo; também chamado de Fold Change (Alteração de multiplicação)
Regulation (Regulação)	Alteração na expressão normalizada relativa numa amostra de controlo
Compared to Regulation Threshold (Por comparação com o Limiar de regulação)	Regulação positiva ou negativa de uma amostra experimental com base na configuração do limiar

**Observação:** os dados para as réplicas são encontrados apenas nas folhas de cálculo dos separadores de análise de dados nas quais foi selecionada a opção Split Out Replicates (Réplicas separadas) (ou seja, Clustergram). Pode haver uma discrepância entre os dados de expressão nas folhas de cálculo de análise de expressão génica se selecionar “none” (nenhum) como a amostra de controlo no gráfico de barras.

## Gene Study (Estudo de genes)

Crie um estudo de genes para comparar os dados de expressão génica de uma ou mais experiências de PCR em tempo real usando um calibrador entre corridas para normalizar entre as experiências. Crie um estudo de genes adicionando dados de um ou mais ficheiros de dados (extensão .pcrd) ao estudo de genes. O software agrupa-os num único ficheiro (extensão .mgxd).

**Observação:** o número máximo de amostras que é possível analisar num estudo de genes é limitado pelo tamanho da memória RAM e da memória virtual do computador.

### Inter-run Calibration (Calibração entre corridas)

A calibração entre corridas é tentada automaticamente em cada estudo de genes para cada alvo, a fim de normalizar as variações entre corridas entre os alvos analisados em ensaios separados de PCR em tempo real (isto é, ficheiros .pcrd diferentes gerados a partir de placas diferentes).

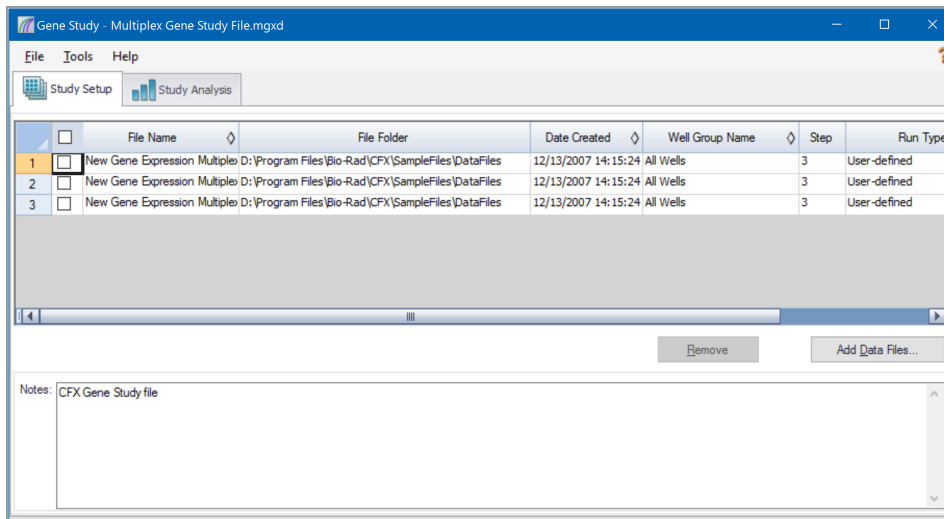
Para que o software reconheça uma amostra como um calibrador entre corridas, deve partilhar o mesmo nome de alvo, nome da amostra e, se usado, o nome do conjunto biológico em todas as placas comparadas.

**Observação:** pelo menos uma amostra de calibrador entre corridas deve estar presente no estudo de genes para que a calibração entre corridas ocorra. Alvos sem amostras de calibradores entre corridas apropriados serão processados sem correção no estudo de genes (não recomendado).

Os calibradores entre corridas podem ser aplicados de duas maneiras:

- Per target (Por alvo) — diferentes iniciadores de PCR podem ter diferentes eficiências. Como predefinição, o calibrador entre corridas é aplicado a todos os poços na mesma placa que possuem o mesmo nome de alvo, por exemplo, o  $C_q$  gerado com o mesmo ensaio.
- Entire study (Estudo completo) — é selecionado um calibrador entre corridas pelo utilizador e aplicado a todo o estudo de genes.

## Caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes)



A caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes) inclui dois separadores:

- Separador Study Setup (Configuração do estudo) — gere as corridas no estudo de genes.
  - Importante:** adicionar ou remover ficheiros de dados num estudo de genes não altera os dados no ficheiro original.
- Separador Study Analysis (Análise do estudo) — exhibe os dados da expressão génica para as corridas combinadas.

## Separador Study Setup (Configuração do estudo)

A [Tabela 36](#) define os dados que aparecem no separador Study Setup (Configuração do estudo).

**Tabela 36. Separador Study Setup (Configuração do estudo) na caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes)**

Título da coluna	Descrição
File Name (Nome do ficheiro)	Nome do ficheiro de dados executável (extensão .pcrd)
File Folder (Pasta de ficheiros)	Diretório que armazena o ficheiro de dados para cada corrida no estudo de genes

**Tabela 36. Separador Study Setup (Configuração do estudo) na caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes), continuação**

Título da coluna	Descrição
Date Created (Data de criação)	Data em que os dados da corrida foram recolhidos
Well Group Name (Nome do grupo de poços)	Nome do grupo de poços que foi selecionado quando o ficheiro foi adicionado ao estudo de genes <b>Dica:</b> para analisar um grupo de poços no estudo de genes, deve selecionar esse grupo de poços na janela Data Analysis (Análise de dados) antes de importar o ficheiro de dados para o estudo de genes.
Step (Etapa)	Etapa do protocolo que inclui a leitura de placa para recolher dados de PCR em tempo real
Run Type (Tipo de corrida)	Corrida definida pelo utilizador ou PrimePCR
Protocol Edited (Protocolo editado)	Se selecionado, indica que o protocolo usado para uma corrida PrimePCR foi editado
View Plate (Visualizar placa)	Abre um mapa de placa relativo à placa com os dados em cada uma das execuções incluídas no Gene Study (Estudo de genes)

## Preparar um Gene Study (Estudo de genes)

### Como preparar um Gene Study (Estudo de genes)

- Antes de importar dados para um estudo de genes, execute o seguinte na janela Data Analysis (Análise de dados):
  - Verifique se as amostras contendo o mesmo conteúdo têm o mesmo nome. Num estudo de genes, o software assume que poços com o mesmo nome de Target (Alvo) ou Sample (Amostra) contêm as mesmas amostras.
  - Ajuste a linha de base e o limiar ( $C_q$ ) no separador Quantification (Quantificação) para otimizar os dados em cada corrida.
  - Selecione o grupo de poços que deseja incluir no estudo de genes.  
Para exibir dados de um grupo de poços no estudo de genes, esse grupo deve ser selecionado antes de importar o ficheiro de dados.

O separador Study Setup (Configuração do estudo) exibe uma lista de todas as corridas no estudo de genes.

2. Na caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes), selecione o separador Study Setup (Configuração do estudo).
3. Clique em Add Data Files (Adicionar ficheiros de dados) para selecionar um ficheiro numa janela do explorador.

**Dica:** Para adicionar corridas rapidamente a um estudo de genes, arraste os ficheiros de dados (com extensão .pcrd) para a caixa de diálogo Study Setup (Configuração do estudo).

4. O CFX Maestro Dx SE realiza automaticamente a análise do estudo de genes à medida que os ficheiros de dados são adicionados. Selecione o separador Study Analysis (Análise do estudo) para visualizar os resultados.

### Como remover execuções do estudo de genes

- ▶ Selecione um ou mais ficheiros na lista e clique em Remove (Remover).

### Como adicionar observações sobre o estudo de genes

- ▶ Insira observações sobre os ficheiros e a análise na caixa de texto Notes (Observações).

## Separador Study Analysis (Análise do estudo)

O separador Study Analysis (Análise do estudo) exibe os dados de todas as corridas do estudo de genes. As opções de análise de dados da expressão génica são as mesmas do que para um único ficheiro de dados com as seguintes exceções:

- Para gráficos de barras, os valores de calibração entre corridas (se calculados) aparecem quando clica Inter-run Calibration (Calibração entre corridas).

**Observação:** somente os seguintes tipos de amostra podem ser usados como um calibrador entre corridas:

- Unknown (Desconhecido)
- Standard (Padrão)
- Positive Control (Controlo positivo)

Os tipos de amostra negative control (controlo negativo), no template control (sem controlo de modelo) (NTC) e no reverse transcriptase control (sem controlo de transcriptase reversa) (NRT) não podem ser usados como um calibrador entre corridas

- A ferramenta Reference Gene Selection (Seleção de genes de referência) identifica os genes de referência testados e classifica-os como Ideal, Acceptable (Aceitável) ou Unstable (Instável) com base em sua estabilidade:

- Os genes de referência ideais são estáveis e representam variações mínimas entre as amostras testadas.
- Genes de referência aceitáveis não são idealmente estáveis e representam variação moderada entre as amostras testadas. Use estes genes de referência em análise se nenhum gene de referência ideal estiver presente.
- Genes de referência instáveis representam variação excessiva entre as amostras testadas. Recomenda-se que esses genes sejam excluídos das análises.
- A ferramenta PrimePCR Analysis Controls (Controlos de análise PrimePCR) exibe os resultados das amostras testadas numa tabela:
  - O separador Summary (Resumo) exibe um resumo de todas as amostras testadas. As amostras que passaram por todos os ensaios de controlo aparecem em verde. As amostras que falharam em um ou mais dos ensaios de controlo aparecem em amarelo.
  - O separador PCR exibe os resultados do ensaio de controlo PCR positivo. Este ensaio deteta a inibição ou problemas experimentais que afetam a expressão génica.
  - O separador RT exibe os resultados do ensaio de controlo de transcrição reversa. Este ensaio avalia qualitativamente o desempenho da RT e identifica amostras onde o desempenho da RT é suscetível de comprometer a expressão génica.
  - O separador gDNA exibe os resultados do ensaio de controlo de contaminação de DNA. Este ensaio determina se o genómico DNA (DNA genómico) (gDNA) está presente numa amostra num nível que pode afetar os resultados do qPCR.
  - O separador RQ exibe os resultados dos ensaios de qualidade de RNA (RQ1 e RQ2). Estes ensaios avaliam qualitativamente se a integridade do RNA pode afetar adversamente a expressão génica.

## Categorias de relatórios Gene Study (Estudo de genes)

Use a caixa de diálogo Gene Study Report (Relatório do estudo de genes) para organizar os dados do estudo de genes num relatório. A [Tabela 37](#) lista todas as opções disponíveis para um relatório de estudo de genes.

**Tabela 37. Categorias para um relatório de estudo de genes**

Categoria	Opção	Descrição
<b>Header (Cabeçalho)</b>		
		Título, subtítulo e logotipo do relatório

**Tabela 37. Categorias para um relatório de estudo de genes, continuação**

<b>Categoria</b>	<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
	Report Information (Informações do relatório)	Date (Data), user name (nome do utilizador), data file name (nome do ficheiro de dados), data file path (caminho do ficheiro de dados) e selected well group (grupo de poços selecionados)
	Gene Study File List (Lista de ficheiros do estudo de genes)	Lista de todos os ficheiros de dados no estudo de genes
	Notes (Observações)	Observações sobre o relatório de dados
<b>Análise de estudo: Bar chart (Gráfico de barras)</b>		
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Lista dos parâmetros de análise selecionados
	Chart (Gráfico)	Gráfico de barras da expressão génica em que são exibidos os dados
	Target Names (Nomes de alvos)	Lista de alvos no estudo de genes
	Sample Names (Nomes de amostras)	Lista de amostras no estudo de genes
	Data (Dados)	Folha de cálculo que exhibe os dados
	Target Stability (Estabilidade alvo)	Dados de estabilidade do alvo
	Inter-run Calibration (Calibração entre corridas)	Dados de calibração entre corridas
	Box-and-Whisker Chart (Diagrama de caixa)	Diagrama de caixa da expressão génica
	Dot-Plot Chart (Gráfico de pontos)	Gráfico de pontos da expressão génica

**Análise de estudo: Clustergram e Scatter Plot (Gráfico de dispersão)**



**Tabela 37. Categorias para um relatório de estudo de genes, continuação**

<b>Categoria</b>	<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Configurações para cada tipo de gráfico
	Chart (Gráfico)	Gráfico de expressão génica em que são exibidos os dados
	Data (Dados)	Folha de cálculo com os dados em cada alvo
<b>Análise de estudo: Dados ANOVA</b>		
	ANOVA Settings (Configurações ANOVA)	P-value Threshold (Limiar de valor P) usado na análise
	ANOVA Results (Resultados ANOVA)	Tabela de resultados de ANOVA e análise Tukey's HSD post-hoc (post-hoc de HSD de Tukey)
	Shapiro-Wilk Normality Test (Teste de normalidade Shapiro-Wilk)	Grupo biológico, contagem, valor P e quaisquer erros que ocorram para cada alvo na análise
	ANOVA Errors (Erros de ANOVA)	Erros identificados durante os cálculos de ANOVA

## Criar um relatório Gene Study (Estudo de genes)

### Como criar um relatório Gene Study (Estudo de genes)

1. Ajuste os dados e gráficos do relatório de estudo de genes, conforme necessário, antes de criar um relatório.
2. Selecione Tools (Ferramentas) > Reports (Relatórios) no menu Gene Study (Estudo de genes) para abrir a caixa de diálogo Report (Relatórios).
3. Escolha as opções que deseja incluir no relatório. O relatório é aberto com as opções predefinidas selecionadas. Selecione ou desmarque as caixas de seleção para alterar categorias inteiras ou opções individuais dentro de uma categoria.

[Categorias de relatórios Gene Study \(Estudo de genes\) na página 301](#) lista as opções disponíveis para exibição.

4. Altere a ordem das categorias e itens num relatório. Arraste as opções para a posição desejada. Os itens podem ser reordenados apenas dentro das categorias às quais pertencem.
5. Clique em Update Report (Atualizar relatório) para atualizar a Report Preview (Pré-visualização de relatório) com quaisquer alterações.
6. Imprima ou guarde o relatório. Clique no botão Print Report (Imprimir relatório) na barra de ferramentas para imprimir o relatório atual. Selecione File (Ficheiro) > Save (Guardar) para guardar o relatório em formato de ficheiro PDF (ficheiro Adobe Acrobat Reader) e selecione uma localização para guardar o ficheiro. Selecione File (Ficheiro) > Save As (Guardar como) para guardar o relatório com um novo nome ou numa nova localização.
7. (Opcional) Criar um modelo de relatório com as informações desejadas. Para guardar as configurações atuais do relatório num modelo, selecione Template (Modelo) > Save (Guardar) ou Save As (Guardar como). Em seguida, carregue o modelo de relatório na próxima vez que pretender criar um relatório.

## Anexo A Cálculos da análise de dados

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) calcula as fórmulas automaticamente e exibe os resultados nos separadores Data Analysis (Análise de dados). Este anexo explica em pormenor como o CFX Maestro Dx SE calcula as fórmulas.

### Eficiência da reação

A evidência sugere que o uso de uma medida precisa de eficiências para cada iniciador e sonda lhe dará resultados mais precisos ao analisar os dados de expressão génica. O valor de eficiência predefinido usado nos cálculos de expressão génica é 100%. Para avaliar a eficiência da reação, gere uma curva padrão usando diluições seriadas de uma amostra representativa numa faixa dinâmica relevante e, em seguida, registre a eficiência para a análise de expressão génica subsequente. Se a corrida incluir uma curva padrão, o software calcula automaticamente a eficiência e exibe-a na Standard Curve (Curva padrão) no separador Quantification (Quantificação) quando Auto Efficiency (Eficiência automática) for selecionada no separador Targets (Alvos) na janela Experiment Settings (Configurações de experiências).

A efficiency (eficiência) (E) nas fórmulas de eficiência refere-se às “eficiências” descritas por Pfaffl (2001) e Vandesompele et al. (2002). Nestas publicações, uma eficiência de 2 (duplicação perfeita em cada ciclo) é equivalente a 100% de eficiência neste software. É possível converter os cálculos de eficiência que utiliza para os que são usados no software através das seguintes relações matemáticas:

- $E = (\% \text{ de Eficiência} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ de Eficiência} = (E - 1) * 100$

### Relative Quantity (Quantidade relativa)

A fórmula para quantidade relativa ( $\Delta C_q$ ) para qualquer amostra (GOI) é:

$$\text{Quantidade } Quantity_{\text{sample}} (\text{GOI}) = E_{\text{GOI}}^{(C_q (\text{min}) - C_q (\text{sample}))}$$

**Observação:** esta fórmula é usada para calcular a Relative Quantity (Quantidade relativa) quando não há amostra de controlo definido.

Em que:

- E = eficiência do iniciador e conjunto de sondas. Esta eficiência é calculada com a fórmula (% de eficiência \* 0,01) + 1, em que 100% de eficiência = 2
- $C_{q \text{ (mín.)}}$  =  $C_q$  médio para a amostra com a menor média  $C_q$  para GOI
- $C_{q \text{ (amostra)}}$  =  $C_q$  médio para a amostra
- GOI = Gene of interest (gene de interesse) (um alvo)

## Quantidade relativa quando é selecionado um controlo

Quando é atribuída uma amostra controlo ou grupo biológico, a relative quantity (quantidade relativa) (RQ) para qualquer amostra com um gene of interest (gene de interesse) (GOI) é calculada com esta fórmula:

$$\text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left( C_{q \text{ (control)}} - C_{q \text{ (sample)}} \right)$$

Em que:

- E = eficiência do iniciador e conjunto de sondas. Esta eficiência é calculada com a fórmula (% de eficiência \* 0,01) + 1, em que 100% de eficiência = 2
- $C_{q \text{ (controlo)}}$  = Average (Média)  $C_q$  para a amostra de controlo
- $C_{q \text{ (amostra)}}$  = Average (Média)  $C_q$  para todas as amostras com um GOI
- GOI = Gene of interest (gene de interesse) (um alvo)

## Desvio padrão da quantidade relativa

**Importante:** Este cálculo é aplicável apenas quando Analyze Using (Analisar usando) estiver configurado como Samples Only (Apenas amostras), Sample Biological Group (Grupo biológico de amostra) ou Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico).

A fórmula para o desvio padrão da quantidade relativa é

$$\text{SD Relative Quantity} = \text{SD } C_{q \text{ GOI}} \times \text{Relative Quantity}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Em que:

- SD Relative Quantity (Quantidade relativa SD) = desvio padrão da quantidade relativa
- $\text{SD } C_{q \text{ GOI sample (amostra)}}$  = Desvio padrão do  $C_q$  para a amostra (GOI)
- Relative Quantity (Quantidade relativa) = Quantidade relativa da amostra

- E = eficiência do iniciador e conjunto de sondas. Esta eficiência é calculada com a fórmula (% de eficiência \* 0,01) + 1, em que 100% de eficiência = 2
- GOI = Gene of interest (gene de interesse) (um alvo)

## Eficiência corrigida C<sub>q</sub> (C<sub>qE</sub>)

A fórmula para a eficiência corrigida C<sub>q</sub> é

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Em que:

- E = Eficiência

## Mean Efficiency Corrected C<sub>q</sub> (Eficiência média corrigida C<sub>q</sub>) (MC<sub>qE</sub>)

A fórmula para Mean Efficiency Corrected C<sub>q</sub> (Eficiência média corrigida C<sub>q</sub>) é

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE (Rep 1)} + C_{qE (Rep 2)} + \dots + C_{qE (Rep n)}}{n}$$

Em que:

- C<sub>qE</sub> = Eficiência corrigida C<sub>q</sub>
- n = Número de réplicas

## Normalized Expression (Expressão normalizada)

Normalized expression (Expressão normalizada) ( $\Delta\Delta C_q$ ) é a quantidade relativa de alvo (gene) normalizada para as quantidades dos alvos de referência (genes ou sequências) no sistema biológico em causa. Para selecionar alvos de referência, abra a janela Experiment Settings (Configurações de experiências) e clique na coluna de referência para cada alvo que serve como um gene de referência.

A fórmula para expressão normalizada, que usa o cálculo da Relative Quantity (Quantidade relativa) (RQ) calculada, é

$$\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{(\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Em que:

- RQ = Relative Quantity (Quantidade relativa) da amostra
- Ref = Alvo de referência numa corrida que inclua um ou mais alvos de referência em cada amostra
- GOI = Gene of interest (gene de interesse) (um alvo)

Desde que os alvos de referência não alterem o respetivo nível de expressão no sistema biológico em causa, o cálculo da expressão normalizada será responsável pelas diferenças de carregamento ou variações no número de células que são representadas em cada uma de suas amostras.

## Expressão e quantidade relativa para grupos biológicos

Quando Analyze Using (Analisar usando) estiver configurado como Biological Groups Only (Apenas grupos biológicos), o software exibe a expressão da média (expressão normalizada ou quantidade relativa, dependendo da seleção de modo) das amostras dentro do grupo biológico. Como a expressão tipicamente é distribuída normalmente por log, a expressão tem a média calculada usando a média geométrica:

$$\text{Expression biological group} = \sqrt[n]{\text{Exp}_1 \cdot \text{Exp}_2 \cdot \dots \cdot \text{Exp}_n}$$

Em que:

- $\text{Exp}_1, \text{Exp}_2, \text{Exp}_n$  = Quantidade relativa ou expressão normalizada das amostras no grupo biológico
- $n$  = Número de amostras no grupo biológico

## Expressão normalizada quando for selecionado um controlo

Ao selecionar uma amostra de controlo na janela Experiment Settings (Configurações de experiências), o software define o nível de expressão da amostra de controlo como 1. Nesta situação, o software normaliza as quantidades relativas de toda a expressão do alvo (gene) para a quantidade de controlo (um valor igual a 1). Esta expressão normalizada é equivalente à análise da expressão normalizada sem escala quando é escolhido um controlo.

**Observação:** esta expressão também é conhecida como a expressão normalizada relativa (RNE) e alteração da multiplicação.

## Desvio padrão para a expressão normalizada

A alteração da escala do valor da expressão normalizada (NE) é realizada dividindo o desvio padrão (SD) da expressão normalizada pelo valor da expressão normalizada para os níveis de expressão individual mais altos (MAX) ou mais baixos (MIN), dependendo da opção de escala escolhida. A fórmula para desvio padrão (SD) do fator de normalização é

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (Ref\ n)}}{n \times RQ_{sample\ (Ref\ n)}}\right)^2}$$

Em que:

- RQ = Relative Quantity (Quantidade relativa) da amostra
- SD = Desvio padrão
- NF = Fator de normalização
- Ref = Alvo de referência
- n = Número de alvos de referência

Quando uma amostra de controlo é designada, não é necessário executar essa função de alteração da escala no desvio padrão, conforme mostrado na fórmula a seguir:

$$SD\ NE_{sample\ (GOI)} = NE_{sample\ (GOI)} \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{amostra}}{NF_{amostra}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{sample\ (GOI)}}{RQ_{sample\ (GOI)}}\right)^2}$$

Em que:

- NE = Expressão normalizada
- RQ = Relative Quantity (Quantidade relativa) da amostra
- SD = Desvio padrão
- GOI = Gene of interest (gene de interesse) (um alvo)



## Expressão normalizada com escala fixada para o nível mais alto de expressão

Quando a corrida não inclui controlos, dimensione a expressão normalizada (NE) para cada alvo (gene) dividindo o nível de expressão de cada amostra pelo nível mais alto de expressão de todas as amostras. O software define o nível mais alto de expressão para um valor de 1 e redimensiona todos os níveis de expressão de amostra. A fórmula para a escala mais alta é

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Highest sample (GOI)}}}$$

Em que:

- GOI = Gene de interesse (alvo)

## Expressão normalizada com escala fixada o nível mais baixo de expressão

Quando a corrida não inclui controlos, dimensione a expressão normalizada (NE) para cada alvo (gene) dividindo o nível de expressão de cada amostra pelo nível mais baixo de expressão de todas as amostras. O software define o nível mais baixo de expressão para um valor de 1 e redimensiona todos os níveis de expressão de amostra. A fórmula para a escala mais baixa é

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{Lowest sample (GOI)}}}$$

Em que:

- GOI = Gene de interesse (alvo)

## Expressão normalizada com escala fixada para o nível médio de expressão

Quando a corrida não inclui controlos, dimensione a normalized expression (expressão normalizada) (NE) para cada alvo (gene) dividindo o nível de expressão de cada amostra pelo nível médio geométrico de expressão de todas as amostras. O software define o nível médio de expressão para um valor de 1 e redimensiona todos os níveis de expressão de amostra. A fórmula para a escala média é

$$\text{Scaled Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{Normalized Expression}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{Normalized Expression}_{\text{GM (GOI)}}}$$

Em que:

- GOI = Gene de interesse (alvo)

- GM = Geometric mean (Média geométrica) da expressão normalizada para todas as amostras

## Desvio padrão para a expressão normalizada com escala

A alteração da escala do valor da expressão normalizada (NE) com escala é realizada dividindo o desvio padrão (SD) da expressão normalizada pelo valor da expressão normalizada para os níveis de expressão individual mais altos (MAX) ou mais baixos (MIN), dependendo da opção de escala escolhida.

**Observação:** quando uma amostra de controlo é designada, não é necessário executar essa função de alteração da escala no desvio padrão.

O cálculo para esta fórmula é

$$\text{SD Scaled NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX ou MIN (GOI)}}$$

Em que:

- NE = Expressão normalizada
- SD = Desvio padrão
- GOI = Gene de interesse (alvo)
- MAX = Nível de expressão mais alto
- MIN = Nível de expressão mais baixo

## Barras de erros para desvio padrão (lg) e erro padrão da média (lg)

Além dos intervalos de confiança, as barras de erros podem ser exibidas para grupos biológicos com base no desvio padrão ou no erro padrão da média de  $\log_2$  da expressão. As barras de erros são calculadas como segue:

$$\text{RQ barra de erros inferior} = 2^{\text{RQ(lg)} - \text{SD RQ(lg)}} \text{ ou } 2^{\text{RQ(lg)} - \text{SEM RQ(lg)}}$$

$$\text{RQ barra de erros superior} = 2^{\text{RQ(lg)} + \text{SD RQ(lg)}} \text{ ou } 2^{\text{RQ(lg)} + \text{SEM RQ(lg)}}$$

Em que:

- $\text{RQ(lg)} = \log_2$  da quantidade relativa para o grupo biológico
- $\text{SD RQ(lg)} =$  desvio padrão da quantidade relativa ( $\log_2$ )
- $\text{SEM RQ(lg)} =$  erro padrão da média da quantidade relativa ( $\log_2$ )

$$\text{Exp. Barra de erros inferior} = 2^{\text{Exp.(lg)} - \text{SD Exp.(lg)}} \text{ ou } 2^{\text{Exp.(lg)} - \text{SEM Exp.(lg)}}$$

$$\text{Exp. Barra de erros superior} = 2^{\text{Exp.(lg)} + \text{SD Exp.(lg)}} \text{ ou } 2^{\text{Exp.(lg)} + \text{SEM Exp.(lg)}}$$

Em que:

- $\text{Exp.(lg)} = \log_2$  da expressão (expressão normalizada) para o grupo biológico
- $\text{SD RQ(lg)} =$  desvio padrão da expressão ( $\log_2$ )
- $\text{SEM RQ(lg)} =$  erro padrão da média da expressão ( $\log_2$ )

## Alteração da multiplicação

A alteração da multiplicação é uma medida do aumento ou da redução na expressão de um alvo para uma amostra experimental em comparação com uma de controlo ou um grupo biológico e é determinada da seguinte forma:

Se Expressão (experimental) > Expressão (controlo):

$$\text{Fold Change} = \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}}$$

Se Expressão (experimental) < Expressão (controlo):

$$\text{Fold Change} = -1 / \left( \frac{\text{Expression (experimental)}}{\text{Expression (control)}} \right)$$

**Observação:** para o gráfico, a *Expressão* é baseada na quantidade relativa ou expressão normalizada, dependendo do modo seleccionado (ver [Graphing \(Gráfico\) na página 276](#)). No entanto, para gráfico de dispersão e clustergram a alteração da multiplicação sempre é calculada a partir da expressão normalizada.

## Fórmulas de valor corrigidas

**Importante:** estes cálculos são aplicáveis apenas quando Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Samples Only (Apenas amostras), Sample Biological Group (Grupo biológico de amostra) ou Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico).

A diferença entre valores corrigidos e não corrigidos é visualizada apenas caso a curva padrão for criada como parte da corrida de PCR em tempo real. O software usa três equações para determinar a propagação de erro:

- Standard Error (Erro padrão)
- Erro padrão para a expressão normalizada
- Erro padrão para o gene de interesse (alvo) normalizado

A fórmula para o erro padrão é

$$\text{Erro padrão} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Em que:

- n = Número de alvos de referência (genes)
- SD = Desvio padrão

O erro padrão para o fator de normalização na fórmula de expressão normalizada é

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

Em que:

- n = Número de alvos de referência
- SE = Erro padrão
- NF = Fator de normalização
- RQ = Relative quantity (Quantidade relativa)

A fórmula para o erro padrão para o gene de interesse (GOI) normalizado é

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

Em que:

- SE = Erro padrão

- GOI = Gene of interest (gene de interesse) (um alvo)
- NF = Fator de normalização
- n = Número de alvos de referência

## Cálculo do intervalo de confiança para Biological Group Analysis (Análise de grupo biológico)

Ao conduzir a análise de grupos biológicos (Analyze Using (Analisar usando) é configurado como Biological Groups Only (Apenas grupos biológicos), os intervalos de confiança são calculados para a quantidade relativa e a expressão normalizada relativa.

Os intervalos de confiança são calculados em escala logarítmica com base na distribuição t usando a seguinte fórmula:

$$CI = \bar{X} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Em que:

- $\bar{X}$  = Expressão média dos níveis de expressão em escala logarítmica das amostras no grupo biológico
- $SD$  = Desvio padrão dos níveis de expressão em escala logarítmica das amostras no grupo biológico
- $n$  = número de amostras no grupo biológico
- $t$  = obtido a partir da distribuição t com base nos graus de liberdade e no nível alfa

**Observação:** O nível alfa pode ser definido usando o campo de P-value threshold (Limiar do valor P) no separador Graphing (Gráficos).

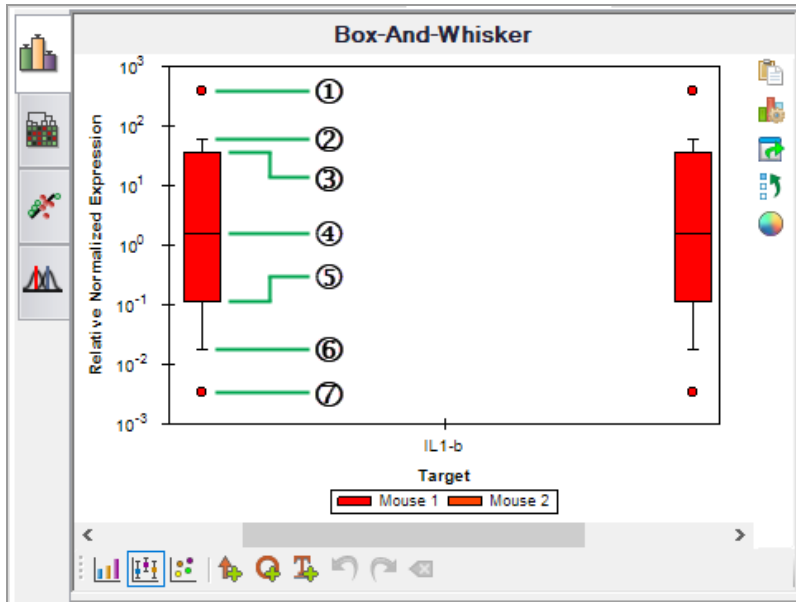
Após cálculo dos intervalos de confiança estes são convertidos em escala linear e apresentados na Gene Expression Data Table (Tabela de dados de expressão génica) e no gráfico de barras no separador Graphing (Gráficos).

## Cálculos de Box and Whisker chart (Diagrama de caixa)

O diagrama de caixa exhibe a distribuição dos valores de expressão dentro de um grupo biológico desenhando os dados como quartis. O 1º e o 3º quartis são representados pelos limites inferior e superior da caixa, respetivamente. A média é exibida como uma reta sólida que atravessa a caixa. As retas representam os valores mínimos e máximos não discrepantes no conjunto de dados. Os discrepantes são valores que ultrapassam o 1º e o 3º quartis por 1,5 vez o intervalo entre os quartis.

**Observação:** se houver apenas uma amostra no grupo biológico, esta será mostrada como um único círculo, indicando um único ponto de dados.

O Box and Whisker chart (Diagrama de caixa) a seguir mostra como esses dados são representados.



#### LEGENDA

1. Discrepante. O valor deste discrepante é  $> Q3 + (1,5 \times [Q3 - Q1])$ .  
**Observação:** coloque o cursor sobre o círculo para visualizar uma dica de ferramenta que exibe o nome da amostra e as informações da quantidade relativa ou da expressão normalizada dependendo de qual modo é selecionado.
2. Demarcação máxima não discrepante
3. Quartil superior/ $3^{\circ}$  ( $Q3$ ). 75% dos valores de expressão são inferiores a  $Q3$ .
4. A média, ou o valor mais central dos valores de expressão ordenados por classificação
5. Quartil inferior/ $1^{\circ}$  ( $Q1$ ). 25% dos valores de expressão são inferiores a  $Q1$ .
6. Demarcação mínima não discrepante
7. Discrepante. O valor deste discrepante é  $< Q1 + (1,5 \times [Q3 - Q1])$ .



## Anexo B Pistas de auditoria

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) cria pistas de auditoria para ficheiros de dados e de estudos de genes (ficheiros .prcd e .mgxd, respetivamente). Quaisquer alterações feitas ou ações executadas em ficheiros de dados seguros e de estudo de genes são capturadas na pista de auditoria quando o ficheiro é guardado. O CFX Maestro Dx SE cria uma pista de auditoria separada para cada ficheiro.

É possível escolher File (Ficheiro) > Save As (Guardar como) e guardar os ficheiros de dados seguros e de estudo de genes assinados ou não assinados noutra pasta ou com outro nome. O novo ficheiro herda a pista de auditoria do ficheiro original. A pista de auditoria do novo ficheiro também inclui a atividade Save As (Guardar como). As alterações ou ações executadas no novo ficheiro são capturadas na sua própria pista de auditoria. O ficheiro original mantém a pista de auditoria na qual são capturadas outras atividades.

[Eventos auditáveis na página 321](#) lista os eventos auditáveis que o software captura.

## Visualizar pistas de auditoria

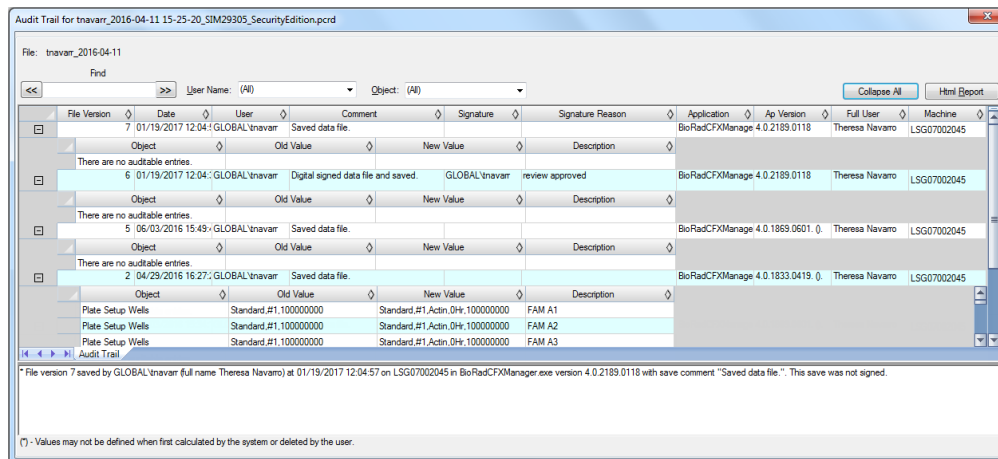
Cada pista de auditoria exibe as seguintes informações:

- Informações do cabeçalho de auditoria
  - File version (Versão do ficheiro) — a versão guardada do ficheiro
  - Date (Data) — a data do evento auditável atual
  - User (utilizador) — o domínio do Windows e o nome do utilizador com a sessão iniciada
  - Comment (Comentário) — o último comentário guardado
  - Signature (Assinatura) — a assinatura eletrónica da última pessoa que assinou o ficheiro
  - Signature reason (Motivo da assinatura) — o motivo da assinatura
  - Application (Aplicação) — CFX Maestro Dx SE
  - Application version (Versão da aplicação) — a versão atual do CFX Maestro Dx SE
  - Full user (Utilizador completo) — o nome completo do utilizador com a sessão iniciada
  - Machine (Dispositivo) — o computador no qual o CFX Maestro Dx SE está instalado

- Informações sobre alterações para auditoria
  - Object (Objeto) — o item que foi alterado (o item auditado)
  - Old value (Valor antigo) — o valor anterior
  - New value (Novo valor) — o novo valor
  - Description (Descrição) — a descrição da alteração

### Como visualizar a pista de auditoria

- ▶ No ficheiro de dados ou de estudo de genes aberto, selecione View (Visualizar) > Audit Trail (Pista de auditoria). A pista de auditoria do ficheiro é exibida.



Por predefinição, os dados são ordenados por data e hora, e todos os eventos aparecem na vista expandida. Pode filtrar a vista por nome de utilizador e objeto e recolher a vista expandida para ordenar por qualquer campo de cabeçalho. Pode também visualizar a pista de auditoria como um relatório html.

### Como ordenar por nome de utilizador

- ▶ Selecione o utilizador de destino na lista suspensa User Name (Nome do utilizador).

### Como ordenar por objeto

- ▶ Selecione o alvo na lista suspensa Object (Objeto).

### Como ocultar a descrição completa dos eventos

- ▶ Clique em Collapse All (Recolher tudo).

### Como ordenar dados na tabela de informações sobre alterações

- ▶ Clique no símbolo de losango no cabeçalho da coluna de dados para ordenar de forma crescente (A a Z, do menor ao maior número, ou do mais antigo ao mais recente).

### Como imprimir a pista de auditoria

1. Clique em HTML Report (Relatório HTML) para exibir a pista de auditoria num navegador da Web.
2. Na janela do navegador, execute uma das seguintes opções:
  - Selecione File (Ficheiro) > Print (Imprimir).
  - Clique com o botão direito no relatório e selecione Print (Imprimir).

## Eventos auditáveis

O CFX Maestro Dx SE captura os eventos auditáveis a auditar em ficheiros de dados e de estudos de genes.

### Eventos auditáveis durante a corrida

- Hora de início da corrida
- Edições de placa no tempo de corrida
- Edições de protocolo no tempo de corrida
- Hora de término da corrida

### Eventos auditáveis quando é criado um ficheiro de dados

- Criação do ficheiro de dados
- Leituras de placa interpoladas adicionadas pelo sistema

### Eventos auditáveis quando é guardado um ficheiro de dados

- General (Geral)
  - Nome
  - Signing (Assinatura)
  - Plate Setup (Configuração de placa)
  - Display Wells (Exibição de poços)
  - Analyzed fluorophores (Fluoróforos analisados)
  - Plate edits (Edições de placa)

- Analysis mode (Modo de análise)
- PCR Active Well Group (Grupo de poços de PCR ativos)
- Separador Quantification (Quantificação)
  - Active step (Etapa ativa)
  - Settings (Configurações) — C<sub>q</sub> Determination mode (Modo de determinação de C<sub>q</sub>)
  - Settings (Configurações) — Baseline Setting (Configuração de linha de base)
  - Drift correction applied (Aplicada correção de derivação)
  - Settings (Configurações) — Cycles to Analyze (Ciclos para análise)
  - Settings (Configurações) — Analysis Mode (Modo de análise)
  - Settings (Configurações) — Baseline Threshold (Limiars de linha de base)
- Separador Melt Curve (Curva de fusão)
  - Active step (Etapa ativa)
  - Tipo de pico exibido
  - Limiar de análise de pico
- Separador End Point (Ponto final)
  - Fluoróforo ativo/alvo
  - Ciclos finais para a média
  - Método de cálculo de tolerância
  - Percentagem do intervalo
- Separador Allelic Discrimination (Discriminação alélica)
  - Fluoróforo dos eixos X e Y
  - Selecionar número do ciclo
  - Exibir mapa de chamadas
- Separador Gene Expression (Expressão génica) — Todos os gráficos
  - Experiment Settings (Configurações de experiências) — Target reference (Referência alvo)
  - Experiment Settings (Configurações de experiências) — Sample control (Controlo da amostra)
  - Experiment Settings (Configurações de experiências) — Auto efficiency (Eficiência automática)

- Experiment Settings (Configurações de experiências) — Efficiency (Eficiência)
- Separador Gene Expression (Expressão génica) — Graphing (Gráficos)
  - Analysis mode (Modo de análise)
  - Dados do gráfico
  - Eixo X
  - Eixo Y
  - Opção de escala
  - Barra de erros
  - Error Bar Multiplier (Multiplicador da barra de erros)
  - Limiar de P-Value (Valor P)
- Separador Gene Expression (Expressão génica) — Clustergram
  - Cluster By (Agrupar por)
  - Split out replicates (Réplicas separadas)
- Separador Gene Expression (Expressão génica) — Scatter Plot (Gráfico de dispersão)
  - Grupo biológico de controlo
  - Grupo biológico experimental
  - Limiar de alteração da multiplicação
- Separador Gene Expression (Expressão génica) — ANOVA
  - Limiar de P-Value (Valor P)
- Plate Setup (Configuração da placa) — View/Edit Plate (Visualizar/editar placa)
  - Settings (Configurações) — PlateType (Tipo de placa)
  - Settings (Configurações) — Units (Unidades)
  - Editing Tools (Ferramentas de edição) — Flip Plate (Inverter placa)
  - Grupos de poços
  - Placas de fluoróforo
- Plate Setup (Configuração da placa) — Substituir a placa e aplicar o ficheiro PrimePCR
  - Importação da configuração da placa

## Auditar alterações nos ficheiros de estudo de genes

### General (Geral)

- Nome
- Separador Study Setup (Configuração do estudo)
  - Adicionar/remover ficheiros de dados
- Separador Study Analysis (Análise do estudo)

## Anexo C Integração LIMS

É possível configurar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) para uso com um sistema de gestão de informações de laboratório (LIMS). Para integração LIMS, o CFX Maestro Dx SE requer informações de configuração da placa geradas pela plataforma LIMS (um ficheiro LIMS, \*.plrn), um ficheiro de protocolo criado usando o CFX Maestro Dx SE (\*.prcl), uma localização de exportação de dados definida e um formato de exportação definido.

Quando a corrida termina, o CFX Maestro Dx SE gera um ficheiro de dados (.pcrd) e guarda-o na pasta de exportação de dados definida. O CFX Maestro Dx SE também pode criar um ficheiro de dados compatível com LIMS no formato .csv e guardá-lo no mesmo local.

### Criar ficheiros de dados compatíveis com LIMS

Este anexo explica como configurar o CFX Maestro Dx SE para criar, guardar e exportar ficheiros de dados compatíveis com LIMS.

#### Configurar a pasta e as opções de exportação de dados LIMS

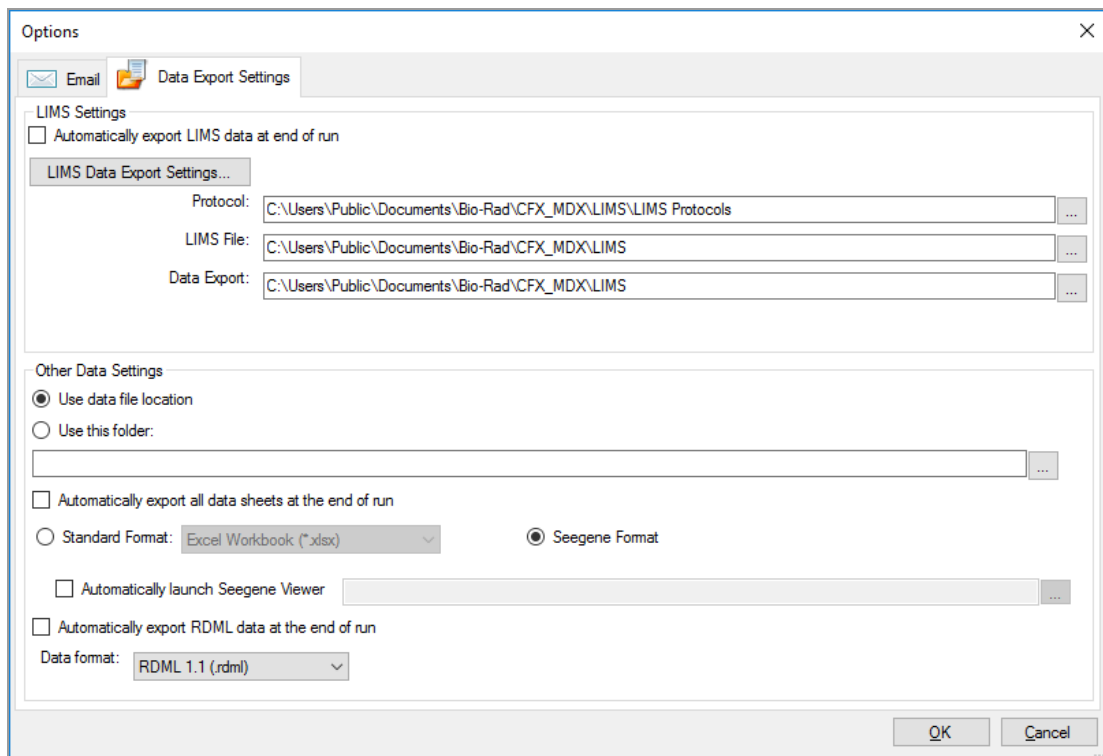
Como predefinição, o CFX Maestro Dx SE guarda os protocolos LIMS, os ficheiros e os ficheiros de exportação de dados na seguinte pasta:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_Dx\LIMS

É possível configurar o CFX Maestro Dx SE para guardar os ficheiros noutra pasta e alterar as opções de exportação para os dados LIMS.

#### Como configurar uma pasta e as opções de exportação de dados LIMS

1. Na janela Home (Início), selecione Tools (Ferramentas) > Options (Opções).
2. Na caixa de diálogo Options (Opções), selecione Data Export Settings (Configurações de exportação de dados).



3. (Opcional) Seleccione Automatically export LIMS data (Exportar dados LIMS automaticamente) no final da corrida.

O software exportará automaticamente os dados LIMS após cada corrida e guardá-los-á na localização especificada.

4. Para alterar as opções de exportação predefinidas para os dados LIMS, clique em LIMS Data Export Settings (Configurações de exportação de dados LIMS).

**Importante:** apenas os dados LIMS exportados como um ficheiro .csv file podem ser novamente importados para o CFX Maestro Dx SE.

5. Na caixa de diálogo LIMS Data Export Format Settings (Configurações de formato de exportação de dados LIMS), seleccione as opções de exportação necessárias e clique em OK.

6. Na caixa de diálogo Options (Opções), navegue e seleccione uma pasta predefinida na qual deseja guardar os ficheiros de dados LIMS. É possível seleccionar uma localização diferente para cada tipo de ficheiro:

- Protocol (Protocolo)
- LIMS file (ficheiro LIMS)



- Data export (Exportação de dados)

7. Clique em OK para guardar as alterações e fechar a caixa de diálogo Options (Opções).

## Criar um protocolo LIMS

Para iniciar uma corrida do LIMS, crie um ficheiro de protocolo (\*.prcl) do CFX Maestro Dx SE e guarde-o na localização da pasta do protocolo LIMS designado.

Consulte o [Capítulo 7, Criar protocolos](#) para obter mais informações.

## Criar um ficheiro LIMS

Os ficheiros LIMS (\*.plrn) contêm as informações de configuração da placa e o nome do ficheiro do protocolo. Este ficheiro é gerado pelo LIMS interno. O CFX Maestro Dx SE usa o ficheiro LIMS para criar um ficheiro de placa para usar com um ficheiro de protocolo.

O CFX Maestro Dx SE fornece ficheiros de modelo de importação de placa que é possível editar para criar ficheiros de placa LIMS personalizados.

**Dica:** esta tarefa deve ser executada por um especialista em LIMS.

### Como criar um ficheiro LIMS

1. Na janela Home (Início), selecione View (Visualizar) > Show (Mostrar) > LIMS File Folder (Pasta de ficheiros LIMS).
2. Abra a pasta LIMS Templates (Modelos LIMS) e selecione um ficheiro .csv para importar para o LIMS interno.
3. Edite o ficheiro de modelo preenchendo os campos requeridos enumerados na [Tabela 38](#).
4. Execute uma das seguintes opções:
  - Para guardar as alterações para uso futuro, guarde o ficheiro como um ficheiro .csv.
  - Para guardar as alterações e usar o ficheiro imediatamente, guarde o ficheiro com a extensão .plrn.
  - Guarde o modelo com a extensão de nome de ficheiro .plrn na pasta File LIMS (Ficheiro LIMS).

**Importante:** o CFX Maestro Dx SE só pode abrir o ficheiro .plrn. Deve guardar o ficheiro .csv como .plrn para iniciar a corrida do LIMS.

**Tabela 38. Definição do conteúdo do ficheiro .csv LIMS**

<b>Coluna</b>	<b>Linha</b>	<b>Descrição</b>	<b>Conteúdo</b>	<b>Finalidade</b>
A	1	Plate Header (Cabeçalho da placa)	Não editar	Predefinido
A, B, C	2	Field/Data/Instruction (Campo/Dados/Instrução)	Não editar	Predefinido
B	3	Version (Versão)	Não editar	Predefinido
B	4	Plate Size (Tamanho da placa)	Não editar	Predefinido
B	5	Plate Type (Tipo de placa)	Inserir "BR White" (Branco BR), "BR Clear" (Transparente BR) ou outro tipo de placa calibrada	Requerido
B	6	Scan Mode (Modo de leitura)	Inserir "SYBR/FAM Only" (Apenas SYBR/FAM), "All Channels" (Todos os canais) ou "FRET"	Requerido

Tabela 38. Definição do conteúdo do ficheiro .csv LIMS, continuação

Coluna	Linha	Descrição	Conteúdo	Finalidade
B	7	Units (Unidades)	Inserir um dos seguintes: “copy number” (número da cópia), “fold dilution” (diluição da multiplicação), “micromoles,” “nanomoles,” “picomoles,” “femtomoles,” “attomoles,” “milligrams” (miligramas), “micrograms” (microgramas), “nanograms” (nanogramas), “picograms” (picogramas), “femtograms” (femtogramas), “attograms” (atogramas) ou “percent” (por cento)	Requerido
B	8	Run ID (ID da corrida)	Inserir uma breve descrição ou código de barras que identifique esta corrida (máximo de 30 caracteres, vírgulas não permitidas)	Opcional
B	9	(Run Notes) Observações da corrida	Inserir a descrição da corrida	Opcional

**Tabela 38. Definição do conteúdo do ficheiro .csv LIMS, continuação**

Coluna	Linha	Descrição	Conteúdo	Finalidade
B	10	Run Protocol (Protocolo da corrida)	Inserir o nome do ficheiro de protocolo exatamente como listado.	Requerido
A	11	Data File (Ficheiro de dados)	Inserir o nome do ficheiro de dados	Opcional
A	12-15	TBD/Empty (Vazio)	Não editar	Predefinido
A	16	Plate Data (Dados da placa)	Não editar	Predefinido
A	17-113	Well Position (Posição de poço)	Não editar	Predefinido
B-G		Ch1 Dye (Corante), Ch2 Dye (Corante), Ch3 Dye (Corante), Ch4 Dye (Corante), Ch5 Dye (Corante), FRET	Inserir um nome do corante calibrado (por exemplo, "FAM") para cada canal que está a ser usado	Requerido
H		Sample Type (Tipo de amostra)	Inserir um dos tipos de amostra a seguir: "Unknown" (Desconhecido), "Standard" (Padrão), "Positive Control" (Controlo positivo), "Negative Control" (Controlo negativo), "NTC" ou "NRT"	Requerido
I		Sample Name (Nome da amostra)	Inserir o nome da amostra	Opcional
J-O		CH1 Target (Alvo), CH2 Target (Alvo), CH3 Target (Alvo), CH4 Target (Alvo), CH5 Target (Alvo), FRET Target (Alvo)	Inserir o nome do alvo para cada canal usado	Opcional

**Tabela 38. Definição do conteúdo do ficheiro .csv LIMS, continuação**

<b>Coluna</b>	<b>Linha</b>	<b>Descrição</b>	<b>Conteúdo</b>	<b>Finalidade</b>
P		Collection Name (Nome da coleção)	Inserir o nome do conjunto biológico	Opcional
Q		Replicate (Réplica)	Inserir um inteiro positivo para cada conjunto de réplicas. O valor não pode ser zero.	Opcional
R-W		CH1 Quantity (Quantidade), CH2 Quantity (Quantidade), CH3 Quantity (Quantidade), CH4 Quantity (Quantidade), CH5 Quantity (Quantidade), FRET (Quantidade)	Inserir os valores de quantidade para qualquer padrão. Inserir a concentração em formato decimal.	Requerido para todos os padrões

**Tabela 38. Definição do conteúdo do ficheiro .csv LIMS, continuação**

Coluna	Linha	Descrição	Conteúdo	Finalidade
X		Well Note (Observação de poço)	<p>Inserir a observação de poço (máximo de 20 caracteres)</p> <p><b>Observação:</b>  embora o CFX Maestro Dx SE tenha um limite de 20 caracteres para observações inseridas em Well Note (Observação de poço) por meio do software, o campo Well Note (Observação de poço) pode conter até 500 caracteres se incluído num ficheiro .plr importado. No entanto, o CFX Maestro Dx SE exibirá apenas os primeiros 20 caracteres. O ficheiro .pcrd exportado conterá todos os caracteres no campo Well Note (Observação de poço); nenhum dado será perdido.</p>	Opcional

**Tabela 38. Definição do conteúdo do ficheiro .csv LIMS, continuação**

Coluna	Linha	Descrição	Conteúdo	Finalidade
Y-AD		Ch1 Well Color (Cor do poço), Ch2 Well Color (Cor do poço), Ch3 Well Color (Cor do poço), Ch4 Well Color (Cor do poço), Ch5 Well Color (Cor do poço), FRET Well Color (Cor do poço),	Inserir qualquer cor de estilo de traçado definida pelo utilizador num formato decimal de inteiro de 32 bits (argb)	Opcional

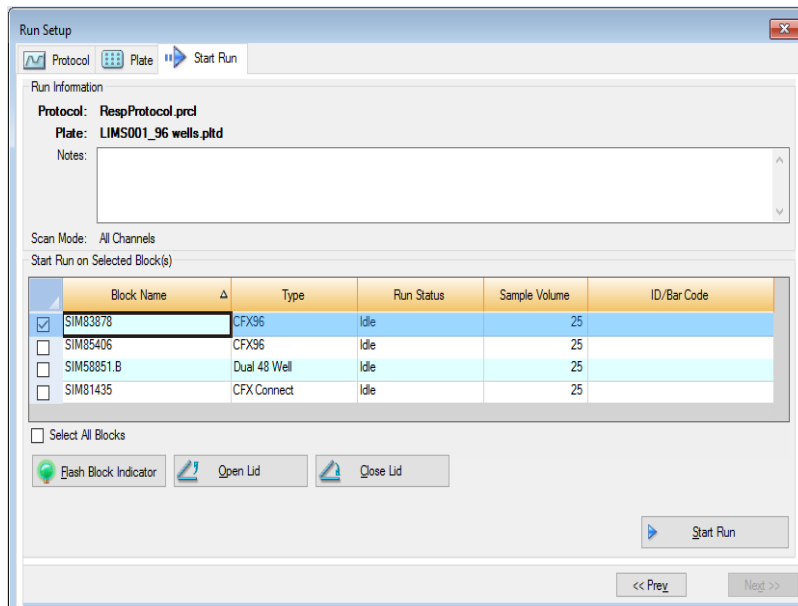
## Iniciar uma corrida LIMS

### Como iniciar uma corrida LIMS

1. Execute uma das opções a seguir para abrir um ficheiro LIMS .plrn:
  - Na janela Home (Início), selecione View (Visualizar) > Show (Mostrar) > LIMS File Folder (Pasta de ficheiros LIMS) e abra o ficheiro .plrn pretendido.
  - Na janela Home (Início), selecione View (Visualizar) > Open (Abrir) > LIMS File (Ficheiro LIMS) e abra o ficheiro .plrn pretendido.

O ficheiro abre no separador Start Run (Iniciar corrida) no Run Setup Wizard (Assistente de configuração da corrida). O separador Start Run (Iniciar corrida) exibe informações sobre a experiência que se vai correr. Exibe também o bloco ou blocos do instrumento ligado nos quais é possível correr a experiência.

2. No separador Start Run (Iniciar corrida) selecione um instrumento e clique em Start Run (Iniciar corrida).



## Exportar dados para um LIMS

Após a conclusão da corrida, o CFX Maestro Dx SE gera um ficheiro de dados (.pcrd) e guarda-o numa localização definida na pasta de exportação de dados.

### Como exportar o ficheiro de dados para LIMS

- ▶ Abra o ficheiro .pcrd e selecione Export (Exportar) > Export to LIMS Folder (Exportar para pasta LIMS).

**Dica:** se seleccionar Automatically Export Data after Run (Exportar dados automaticamente depois da corrida) em LIMS Options (Opções de LIMS), o CFX Maestro Dx SE cria um ficheiro de dados compatível com o LIMS no formato .csv e guarda-o na mesma pasta.



## Anexo D Resolução de problemas no CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança)

Este anexo oferece sugestões para solucionar os problemas que pode encontrar durante a atualização ou a execução do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança).

### Adicionar ficheiros e pastas do CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) à lista de permissões

A fim de garantir proteção contra vírus e malware, o departamento de TI pode ter implementado medidas de segurança de software muito rígidas. Essas medidas podem afetar o tempo de atualização ou de execução do CFX Maestro Dx SE.

A fim de melhorar o desempenho do CFX Maestro Dx SE, a Bio-Rad recomenda que o departamento de TI adicione os seguintes ficheiros e pastas à lista de permissões nas configurações de Firewall do software antivírus instalado no computador do CFX Maestro Dx SE:

#### Pastas

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx
- C:\ProgramData\Bio-Rad\CFX\_MDx
- C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_MDx

#### Ficheiros

- Todos os ficheiros .exe localizados na pasta C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx
- R.exe e Rscript.exe (localizados na pasta C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX\_MDx\R\R-3.3.1\bin)

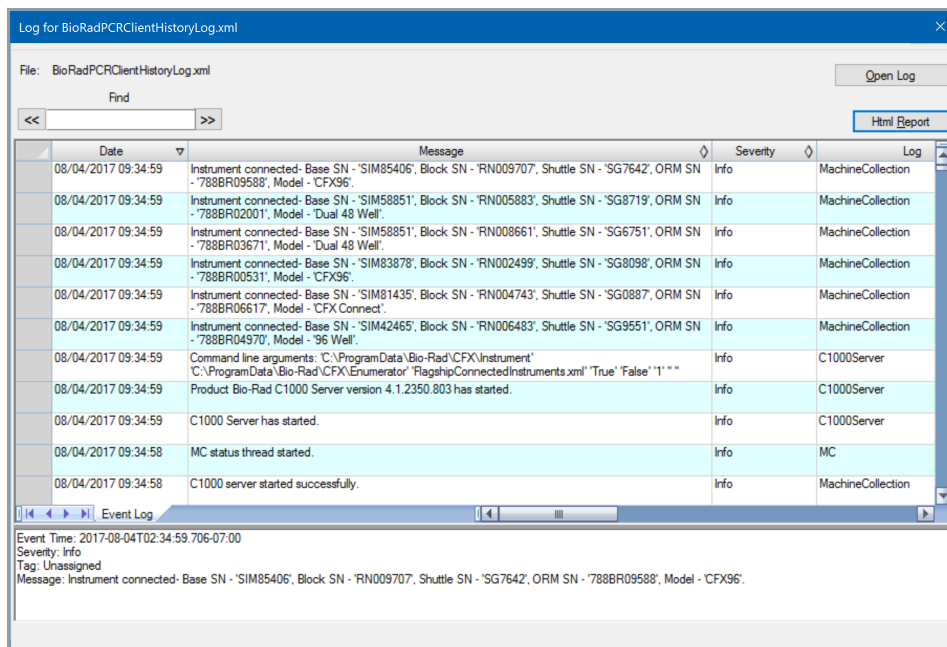
## Registo da aplicação

Antes de iniciar uma nova corrida, o sistema CFX Opus Dx inicia um teste de autodiagnóstico para verificar se está a ser executado dentro das especificações. O software regista os resultados do teste no ficheiro Run Log (Registo de corrida) e Application Log (Registo da aplicação). Se se aperceber de um problema em uma ou mais experiências, abra os Registos de corrida e da aplicação para descobrir quando teve início o problema.

O CFX Maestro Dx SE Dx rastreia informações sobre o estado de um instrumento durante uma corrida no Application Log (Registo da aplicação). Use esses registos para rastrear eventos que ocorrem nos instrumentos e no software e para solução de problemas.

### Como abrir o Registo da aplicação

- ▶ Na janela Home (Início), selecione View (Visualizar) > Application Log (Registo da aplicação).



Para ver o Application Log (Registo da aplicação) como um ficheiro HTML, clique no botão HTML Report (Relatório HTML).

## Recuperação de ficheiros de registo Aplicação e Firmware

Os registos de aplicações e firmware contêm informações que detalham as ações executadas durante a utilização do software e o desempenho das execuções. Estes registos também guardam quaisquer erros de software ou firmware que ocorram durante o funcionamento do software ou instrumento.

### Para aceder aos ficheiros de registo da aplicação e do firmware:

1. No painel Detected Instruments (Instrumentos detetados), clique com o botão direito do rato sobre o instrumento.
2. Selecione Retrieve Log Files (Recuperar ficheiros de registo).
3. Na caixa de diálogo Browse for Folder (Procurar por pasta), selecione a pasta de destino na sua rede ou numa unidade local para a qual pretende guardar os ficheiros de registo.

**Observação:** A pasta chama-se "Logs" (Registos).

4. Clique em OK para guardar os ficheiros.

**Importante:** Guardar um ficheiro de registo com o mesmo nome de ficheiro que um ficheiro de registo existente irá sobrescrever o ficheiro de registo existente.

## Resolução de problemas

Tipicamente, os problemas de comunicação do software e do instrumento podem ser resolvidos reiniciando o computador e o sistema. Certifique-se de que guardou qualquer trabalho em curso antes de reiniciar.

**Observação:** verifique se o seu computador tem RAM e espaço livre em disco suficientes. O mínimo de RAM é 4 GB e o mínimo de espaço no disco rígido é 128 GB.

### Falta de energia

Em caso de falta de energia, o instrumento e o computador serão desligados. Se a falta de energia for curta, o instrumento retomará a corrida de um protocolo, mas o registo da aplicação anotarà a falta de energia. Dependendo das configurações do computador e do período em que a energia está desligada, o instrumento e o software tentam continuar a corrida, dependendo da etapa do protocolo:

- Se o protocolo estiver numa etapa sem leitura de placa, o protocolo continuará a corrida assim que o instrumento voltar a receber energia.
- Se o protocolo estiver numa etapa com uma leitura de placa, o instrumento aguardará a reinicialização do software e retomará a comunicação para recolher os dados. Nessa situação, o

protocolo continua apenas se o software não for desligado pelo computador. Quando o computador e o software são inicializados novamente, o protocolo continua.

## Transferir ficheiros para o computador do CFX Maestro Dx SE

É possível transferir os dados e os ficheiros de registo localizados no instrumento para o disco rígido de um computador CFX Maestro Dx SE ligado.

**Dica:** todos os ficheiros na pasta de dados em tempo real da base do instrumento são transferidos para o computador.

**Observação:** nos instrumentos CFX Opus Dx, é possível transferir apenas ficheiros de registo. Todos os ficheiros de registo do instrumento são transferidos para o computador.

### Como recuperar ficheiros do instrumento

1. No painel Detected Instruments (Instrumentos detetados) na janela Home (Início), clique com o botão direito do rato no instrumento pretendido e selecione Retrieve Log Files (Recuperar ficheiros de registo).
2. Escolha uma localização de pastas para guardar os ficheiros recuperados.
3. Clique em OK.

## Instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) manualmente

### Como instalar o CFX Maestro Dx SE manualmente

1. Se necessário, desconecte todos os instrumentos ligados ao computador.  
Localize e desligue o cabo USB do instrumento no computador do CFX Maestro Dx SE. A extremidade inserida no instrumento pode permanecer no lugar.
2. Inicie a sessão no computador do CFX Maestro Dx SE com privilégios de administração.
3. Insira a unidade USB do CFX Maestro Dx SE na porta USB do computador.
4. No Windows Explorer, navegue para e abra a unidade USB do CFX Maestro Dx SE.
5. Abra a pasta CFX e clique duas vezes em CFXMaestroDxSetup.exe para instalar o CFX Maestro Dx SE.
6. Siga as instruções no ecrã para instalar o software.

Depois de concluída, o ecrã de abertura do Bio-Rad CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) é exibido no computador e o ícone do Bio-Rad CFX Maestro Dx Software, Security Edition (Edição de Segurança) aparece na área de trabalho.

7. Ejecte com segurança a unidade USB do software e inicie o CFX Maestro Dx SE.

## Reinstalar os drivers

### Como reinstalar os drivers do instrumento

- ▶ Na janela Home (Início), selecione Tools (Ferramentas) > Reinstall Instrument Drivers (Reinstalar os drivers do instrumento).

**Observação:** Se tiver problemas de comunicação entre o software e um sistema em tempo real depois de reinstalar os drivers e verificar a ligação USB, entre em contacto com o Technical Support (Suporte Técnico) da Bio-Rad.



## Anexo E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products

This document includes licensing information relating to free, open-source, and public-source software and data (together, the “MATERIALS”) included with or used to develop Bio-Rad products and services. The terms of the applicable free, open-source, and public-source licenses (each an “OPEN LICENSE”) govern Bio-Rad’s distribution and your use of the MATERIALS. Bio-Rad and the third-party authors, licensors, and distributors of the MATERIALS disclaim all warranties and liability arising from all use and distribution of the MATERIALS. To the extent the OSS is provided under an agreement with Bio-Rad that differs from the applicable OSS LICENSE, those terms are offered by Bio-Rad alone.

Bio-Rad has reproduced below copyright and other licensing notices appearing within the MATERIALS. While Bio-Rad seeks to provide complete and accurate copyright and licensing information for all MATERIALS, Bio-Rad does not represent or warrant that the following information is complete, correct, or error-free. MATERIALS recipients are encouraged to (a) investigate the identified MATERIALS to confirm the accuracy of the licensing information provided and (b) notify Bio-Rad of any inaccuracies or errors found in this document so that Bio-Rad may update this document accordingly.

Certain OPEN LICENSES (such as the Affero General Public Licenses, Common Development and Distribution Licenses, Common Public License, Creative Commons Share-Alike License, Eclipse Public License, Mozilla Public Licenses, GNU General Public Licenses, GNU Library/Lesser General Public Licenses, and Open Data Commons Open Database License) require that the source materials be made available to recipients or other requestors under the terms of the same OPEN LICENSE.

The corresponding open source software is available for download from the links in the section that follows.

## Software Notices

### ZedGraph

Project homepage/download site:

<https://sourceforge.net/projects/zedgraph/>

Bio-Rad source code site:

<https://github.com/bio-rad-lsg-open-source/ZedGraph-5.0.1>

External source code site:

<https://github.com/ZedGraph/ZedGraph>

Project licensing notices:

/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

/sources/ZedGraph/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

## Standard Open License Text

### LGPL-2.1

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

Version 2.1, February 1999

Copyright (C) 1991, 1999 Free Software Foundation, Inc. 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

[This is the first released version of the Lesser GPL. It also counts as the successor of the GNU Library Public License, version 2, hence the version number 2.1.]



## Preamble

The licenses for most software are designed to take away your freedom to share and change it. By contrast, the GNU General Public Licenses are intended to guarantee your freedom to share and change free software--to make sure the software is free for all its users.

This license, the Lesser General Public License, applies to some specially designated software packages--typically libraries--of the Free Software Foundation and other authors who decide to use it. You can use it too, but we suggest you first think carefully about whether this license or the ordinary General Public License is the better strategy to use in any particular case, based on the explanations below.

When we speak of free software, we are referring to freedom of use, not price. Our General Public Licenses are designed to make sure that you have the freedom to distribute copies of free software (and charge for this service if you wish); that you receive source code or can get it if you want it; that you can change the software and use pieces of it in new free programs; and that you are informed that you can do these things.

To protect your rights, we need to make restrictions that forbid distributors to deny you these rights or to ask you to surrender these rights. These restrictions translate to certain responsibilities for you if you distribute copies of the library or if you modify it.

For example, if you distribute copies of the library, whether gratis or for a fee, you must give the recipients all the rights that we gave you. You must make sure that they, too, receive or can get the source code. If you link other code with the library, you must provide complete object files to the recipients, so that they can relink them with the library after making changes to the library and recompiling it. And you must show them these terms so they know their rights.

We protect your rights with a two-step method: (1) we copyright the library, and (2) we offer you this license, which gives you legal permission to copy, distribute and/or modify the library.

To protect each distributor, we want to make it very clear that there is no warranty for the free library. Also, if the library is modified by someone else and passed on, the recipients should know that what they have is not the original version, so that the original author's

reputation will not be affected by problems that might be introduced by others.

Finally, software patents pose a constant threat to the existence of any free program. We wish to make sure that a company cannot effectively restrict the users of a free program by obtaining a restrictive license from a patent holder. Therefore, we insist that any patent license obtained for a version of the library must be consistent with the full freedom of use specified in this license.

Most GNU software, including some libraries, is covered by the ordinary GNU General Public License. This license, the GNU Lesser General Public License, applies to certain designated libraries, and is quite different from the ordinary General Public License. We use this license for certain libraries in order to permit linking those libraries into non-free programs.

When a program is linked with a library, whether statically or using a shared library, the combination of the two is legally speaking a combined work, a derivative of the original library. The ordinary General Public License therefore permits such linking only if the entire combination fits its criteria of freedom. The Lesser General Public License permits more lax criteria for linking other code with the library.

We call this license the "Lesser" General Public License because it does Less to protect the user's freedom than the ordinary General Public License. It also provides other free software developers Less of an advantage over competing non-free programs. These disadvantages are the reason we use the ordinary General Public License for many libraries. However, the Lesser license provides advantages in certain special circumstances.

For example, on rare occasions, there may be a special need to encourage the widest possible use of a certain library, so that it becomes a de-facto standard. To achieve this, non-free programs must be allowed to use the library. A more frequent case is that a free library does the same job as widely used non-free libraries. In this case, there is little to gain by limiting the free library to free software only, so we use the Lesser General Public License.

In other cases, permission to use a particular library in non-free programs enables a greater number of people to use a large body of free software. For example, permission to use the GNU C Library in non-free programs enables many more people to use the whole GNU

operating system, as well as its variant, the GNU/Linux operating system.

Although the Lesser General Public License is Less protective of the users' freedom, it does ensure that the user of a program that is linked with the Library has the freedom and the wherewithal to run that program using a modified version of the Library.

The precise terms and conditions for copying, distribution and modification follow. Pay close attention to the difference between a "work based on the library" and a "work that uses the library". The former contains code derived from the library, whereas the latter must be combined with the library in order to run.

#### GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

#### TERMS AND CONDITIONS FOR COPYING, DISTRIBUTION AND MODIFICATION

0. This License Agreement applies to any software library or other program which contains a notice placed by the copyright holder or other authorized party saying it may be distributed under the terms of this Lesser General Public License (also called "this License"). Each licensee is addressed as "you".

A "library" means a collection of software functions and/or data prepared so as to be conveniently linked with application programs (which use some of those functions and data) to form executables.

The "Library", below, refers to any such software library or work which has been distributed under these terms. A "work based on the Library" means either the Library or any derivative work under copyright law: that is to say, a work containing the Library or a portion of it, either verbatim or with modifications and/or translated straightforwardly into another language. (Hereinafter, translation is included without limitation in the term "modification".)

"Source code" for a work means the preferred form of the work for making modifications to it. For a library, complete source code means all the source code for all modules it contains, plus any associated interface definition files, plus the scripts used to control compilation and installation of the library.

Activities other than copying, distribution and modification are not covered by this License; they are outside its scope. The act of running a program using the Library is not restricted, and output

from such a program is covered only if its contents constitute a work based on the Library (independent of the use of the Library in a tool for writing it). Whether that is true depends on what the Library does and what the program that uses the Library does.

1. You may copy and distribute verbatim copies of the Library's complete source code as you receive it, in any medium, provided that you conspicuously and appropriately publish on each copy an appropriate copyright notice and disclaimer of warranty; keep intact all the notices that refer to this License and to the absence of any warranty; and distribute a copy of this License along with the Library. You may charge a fee for the physical act of transferring a copy, and you may at your option offer warranty protection in exchange for a fee.

2. You may modify your copy or copies of the Library or any portion of it, thus forming a work based on the Library, and copy and distribute such modifications or work under the terms of Section 1 above, provided that you also meet all of these conditions:

a) The modified work must itself be a software library.

b) You must cause the files modified to carry prominent notices stating that you changed the files and the date of any change.

c) You must cause the whole of the work to be licensed at no charge to all third parties under the terms of this License.

d) If a facility in the modified Library refers to a function or a table of data to be supplied by an application program that uses the facility, other than as an argument passed when the facility is invoked, then you must make a good faith effort to ensure that, in the event an application does not supply such function or table, the facility still operates, and performs whatever part of its purpose remains meaningful. (For example, a function in a library to compute square roots has a purpose that is entirely well-defined independent of the application. Therefore, Subsection 2d requires that any application-supplied function or table used by this function must be optional: if the application does not supply it, the squareroot function must still compute square roots.)

These requirements apply to the modified work as a whole. If identifiable sections of that work are not derived from the Library, and can be reasonably considered independent and separate works in themselves, then this License, and its terms, do not apply to those sections when you distribute them as separate works. But when you

distribute the same sections as part of a whole which is a work based on the Library, the distribution of the whole must be on the terms of this License, whose permissions for other licensees extend to the entire whole, and thus to each and every part regardless of who wrote it.

Thus, it is not the intent of this section to claim rights or contest your rights to work written entirely by you; rather, the intent is to exercise the right to control the distribution of derivative or collective works based on the Library.

In addition, mere aggregation of another work not based on the Library with the Library (or with a work based on the Library) on a volume of a storage or distribution medium does not bring the other work under the scope of this License.

3. You may opt to apply the terms of the ordinary GNU General Public License instead of this License to a given copy of the Library. To do this, you must alter all the notices that refer to this License, so that they refer to the ordinary GNU General Public License, version 2, instead of to this License. (If a newer version than version 2 of the ordinary GNU General Public License has appeared, then you can specify that version instead if you wish.) Do not make any other change in these notices. Once this change is made in a given copy, it is irreversible for that copy, so the ordinary GNU General Public License applies to all subsequent copies and derivative works made from that copy. This option is useful when you wish to copy part of the code of the Library into a program that is not a library.

4. You may copy and distribute the Library (or a portion or derivative of it, under Section 2) in object code or executable form under the terms of Sections 1 and 2 above provided that you accompany it with the complete corresponding machine-readable source code, which must be distributed under the terms of Sections 1 and 2 above on a medium customarily used for software interchange. If distribution of object code is made by offering access to copy from a designated place, then offering equivalent access to copy the source code from the same place satisfies the requirement to distribute the source code, even though third parties are not compelled to copy the source along with the object code.

5. A program that contains no derivative of any portion of the Library, but is designed to work with the Library by being compiled or linked with it, is called a "work that uses the Library". Such a work, in isolation, is not a derivative work of the Library, and

therefore falls outside the scope of this License. However, linking a "work that uses the Library" with the Library creates an executable that is a derivative of the Library (because it contains portions of the Library), rather than a "work that uses the library". The executable is therefore covered by this License. Section 6 states terms for distribution of such executables. When a "work that uses the Library" uses material from a header file that is part of the Library, the object code for the work may be a derivative work of the Library even though the source code is not. Whether this is true is especially significant if the work can be linked without the Library, or if the work is itself a library. The threshold for this to be true is not precisely defined by law. If such an object file uses only numerical parameters, data structure layouts and accessors, and small macros and small inline functions (ten lines or less in length), then the use of the object file is unrestricted, regardless of whether it is legally a derivative work. (Executables containing this object code plus portions of the Library will still fall under Section 6.) Otherwise, if the work is a derivative of the Library, you may distribute the object code for the work under the terms of Section 6. Any executables containing that work also fall under Section 6, whether or not they are linked directly with the Library itself.

6. As an exception to the Sections above, you may also combine or link a "work that uses the Library" with the Library to produce a work containing portions of the Library, and distribute that work under terms of your choice, provided that the terms permit modification of the work for the customer's own use and reverse engineering for debugging such modifications. You must give prominent notice with each copy of the work that the Library is used in it and that the Library and its use are covered by this License. You must supply a copy of this License. If the work during execution displays copyright notices, you must include the copyright notice for the Library among them, as well as a reference directing the user to the copy of this License. Also, you must do one of these things:

a) Accompany the work with the complete corresponding machine-readable source code for the Library including whatever changes were used in the work (which must be distributed under Sections 1 and 2 above); and, if the work is an executable linked with the Library, with the complete machine-readable "work that uses the Library", as object code and/or source code, so that the user can modify the Library and then relink to produce a modified executable containing the modified Library. (It is understood that the user who changes the

contents of definitions files in the Library will not necessarily be able to recompile the application to use the modified definitions.)

b) Use a suitable shared library mechanism for linking with the Library. A suitable mechanism is one that (1) uses at run time a copy of the library already present on the user's computer system, rather than copying library functions into the executable, and (2) will operate properly with a modified version of the library, if the user installs one, as long as the modified version is interface-compatible with the version that the work was made with.

c) Accompany the work with a written offer, valid for at least three years, to give the same user the materials specified in Subsection 6a, above, for a charge no more than the cost of performing this distribution.

d) If distribution of the work is made by offering access to copy from a designated place, offer equivalent access to copy the above specified materials from the same place.

e) Verify that the user has already received a copy of these materials or that you have already sent this user a copy.

For an executable, the required form of the "work that uses the Library" must include any data and utility programs needed for reproducing the executable from it. However, as a special exception, the materials to be distributed need not include anything that is normally distributed (in either source or binary form) with the major components (compiler, kernel, and so on) of the operating system on which the executable runs, unless that component itself accompanies the executable.

It may happen that this requirement contradicts the license restrictions of other proprietary libraries that do not normally accompany the operating system. Such a contradiction means you cannot use both them and the Library together in an executable that you distribute.

7. You may place library facilities that are a work based on the Library side-by-side in a single library together with other library facilities not covered by this License, and distribute such a combined library, provided that the separate distribution of the work based on the Library and of the other library facilities is otherwise permitted, and provided that you do these two things:

a) Accompany the combined library with a copy of the same work based on the Library, uncombined with any other library facilities. This must be distributed under the terms of the Sections above.

b) Give prominent notice with the combined library of the fact that part of it is a work based on the Library, and explaining where to find the accompanying uncombined form of the same work.

8. You may not copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library except as expressly provided under this License. Any attempt otherwise to copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

9. You are not required to accept this License, since you have not signed it. However, nothing else grants you permission to modify or distribute the Library or its derivative works. These actions are

prohibited by law if you do not accept this License. Therefore, by modifying or distributing the Library (or any work based on the Library), you indicate your acceptance of this License to do so, and all its terms and conditions for copying, distributing or modifying the Library or works based on it.

10. Each time you redistribute the Library (or any work based on the Library), the recipient automatically receives a license from the original licensor to copy, distribute, link with or modify the Library subject to these terms and conditions. You may not impose any further restrictions on the recipients' exercise of the rights granted herein. You are not responsible for enforcing compliance by third parties with this License.

11. If, as a consequence of a court judgment or allegation of patent infringement or for any other reason (not limited to patent issues), conditions are imposed on you (whether by court order, agreement or otherwise) that contradict the conditions of this License, they do not excuse you from the conditions of this License. If you cannot distribute so as to satisfy simultaneously your obligations under this License and any other pertinent obligations, then as a consequence you may not distribute the Library at all. For example, if a patent license would not permit royalty-free redistribution of the Library by all those who receive copies directly or indirectly through you, then the only way you could satisfy both it and this



License would be to refrain entirely from distribution of the Library.

If any portion of this section is held invalid or unenforceable under any particular circumstance, the balance of the section is intended to apply, and the section as a whole is intended to apply in other circumstances.

It is not the purpose of this section to induce you to infringe any patents or other property right claims or to contest validity of any such claims; this section has the sole purpose of protecting the integrity of the free software distribution system which is implemented by public license practices. Many people have made generous contributions to the wide range of software distributed through that system in reliance on consistent application of that system; it is up to the author/donor to decide if he or she is willing to distribute software through any other system and a licensee cannot impose that choice. This section is intended to make thoroughly clear what is believed to be a consequence of the rest of this License.

12. If the distribution and/or use of the Library is restricted in certain countries either by patents or by copyrighted interfaces, the original copyright holder who places the Library under this License may add an explicit geographical distribution limitation excluding those countries, so that distribution is permitted only in or among countries not thus excluded. In such case, this License incorporates the limitation as if written in the body of this License.

13. The Free Software Foundation may publish revised and/or new versions of the Lesser General Public License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns.

Each version is given a distinguishing version number. If the Library specifies a version number of this License which applies to it and "any later version", you have the option of following the terms and conditions either of that version or of any later version published by the Free Software Foundation. If the Library does not specify a license version number, you may choose any version ever published by the Free Software Foundation.

14. If you wish to incorporate parts of the Library into other free programs whose distribution conditions are incompatible with these, write to the author to ask for permission. For software which is

copyrighted by the Free Software Foundation, write to the Free Software Foundation; we sometimes make exceptions for this. Our decision will be guided by the two goals of preserving the free status of all derivatives of our free software and of promoting the sharing and reuse of software generally.

NO WARRANTY

15. BECAUSE THE LIBRARY IS LICENSED FREE OF CHARGE, THERE IS NO WARRANTY FOR THE LIBRARY, TO THE EXTENT PERMITTED BY APPLICABLE LAW. EXCEPT WHEN OTHERWISE STATED IN WRITING THE COPYRIGHT HOLDERS AND/OR OTHER PARTIES PROVIDE THE LIBRARY "AS IS" WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. THE ENTIRE RISK AS TO THE QUALITY AND PERFORMANCE OF THE LIBRARY IS WITH YOU. SHOULD THE LIBRARY PROVE DEFECTIVE, YOU ASSUME THE COST OF ALL NECESSARY SERVICING, REPAIR OR CORRECTION.

16. IN NO EVENT UNLESS REQUIRED BY APPLICABLE LAW OR AGREED TO IN WRITING WILL ANY COPYRIGHT HOLDER, OR ANY OTHER PARTY WHO MAY MODIFY AND/OR REDISTRIBUTE THE LIBRARY AS PERMITTED ABOVE, BE LIABLE TO YOU FOR DAMAGES, INCLUDING ANY GENERAL, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE THE LIBRARY (INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOSS OF DATA OR DATA BEING RENDERED INACCURATE OR LOSSES SUSTAINED BY YOU OR THIRD PARTIES OR A FAILURE OF THE LIBRARY TO OPERATE WITH ANY OTHER MATERIALS), EVEN IF SUCH HOLDER OR OTHER PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES.

END OF TERMS AND CONDITIONS

How to Apply These Terms to Your New Libraries

If you develop a new library, and you want it to be of the greatest possible use to the public, we recommend making it free software that everyone can redistribute and change. You can do so by permitting redistribution under these terms (or, alternatively, under the terms of the ordinary General Public License).

To apply these terms, attach the following notices to the library. It is safest to attach them to the start of each source file to most effectively convey the exclusion of warranty; and each file should have at least the "copyright" line and a pointer to where the full notice is found.

<one line to give the library's name and a brief idea of what it does.>

Copyright (C) <year> <name of author>

This library is free software; you can redistribute it and/or modify it under the terms of the GNU Lesser General Public License as published by the Free Software Foundation; either version 2.1 of the License, or (at your option) any later version. This library is distributed in the hope that it will be useful, but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the GNU Lesser General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU Lesser General Public License along with this library; if not, write to the Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Also add information on how to contact you by electronic and paper mail. You should also get your employer (if you work as a programmer) or your school, if any, to sign a "copyright disclaimer" for the library, if necessary. Here is a sample; alter the names:

Yoyodyne, Inc., hereby disclaims all copyright interest in the library `Frob' (a library for tweaking knobs) written by James Random Hacker.

<signature of Ty Coon>, 1 April 1990

Ty Coon, President of Vice

That's all there is to it!



## Anexo F Referências

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 (Nova Iorque: SAGE Publications, Inc.).

### **Minpack Copyright Notice (1999) Universidade de Chicago. Todos os direitos reservados**

A redistribuição e a utilização em formatos de fonte e binários, com ou sem modificações, são permitidos, desde que sejam cumpridas as seguintes condições:

1. As redistribuições do código-fonte devem reter a notificação de direitos autorais acima referida, esta lista de condições e a exoneração de responsabilidade seguinte.
2. As redistribuições em formato binário devem reproduzir a notificação de direitos autorais acima referida, esta lista de condições e a exoneração de responsabilidade seguinte na documentação e/ou outros materiais fornecidos com a distribuição.
3. A documentação para o utilizador final incluída com a redistribuição, se houver, deve incluir a seguinte declaração:

“Este produto inclui software desenvolvido pela Universidade de Chicago, atuando na qualidade de operador do Argonne National Laboratory.”

## Anexo F Referências





Bio-Rad Laboratories, Inc.  
4000 Alfred Nobel Drive  
Hercules, CA 94547



Bio-Rad  
3, boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette, França  
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](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399  
**Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23  
**France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050  
**Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670  
**The Netherlands** 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23  
**Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

