



## Software CFX Maestro Dx SE

Guia do usuário  
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**

**Guia do usuário**

**Versão 2.3**



## **Suporte técnico da Bio-Rad™**

O departamento de suporte técnico da Bio-Rad no Brasil está aberto de segunda-feira a sexta-feira, das 7:00 às 18:00, horário de Brasília.

**Telefone:** 4004-0399 para capitais e regiões metropolitanas; 0800 880 0092 para demais regiões. Opção 1.

**E-mail:** [suportecientifico@bio-rad.com](mailto:suportecientifico@bio-rad.com) (apenas para Brasil)

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

## **Aviso**

Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida ou transmitida em nenhum formato ou por nenhum meio, eletrônico 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 se reserva o direito a modificar seus produtos e serviços a qualquer momento. Este guia está sujeito a alterações sem notificação. Embora tenha se preparado para garantir a exatidão, a Bio-Rad não assume nenhuma responsabilidade por erros ou omissões, ou por qualquer dano resultante da aplicação ou do uso destas informações.

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

SYBR é uma marca registrada da Thermo Fisher Scientific Inc.

EvaGreen é uma marca registrada da Biotium, Inc.

Todas as marcas registradas usadas neste documento são propriedade de seus respectivos proprietários.

Copyright © 2022 por Bio-Rad Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

## Indicação de uso

O Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx™ com CFX Maestro Dx Software, Security Edition™ destina-se a realizar PCR baseado em fluorescência para detectar e quantificar sequências de ácidos nucleicos. Os sistemas e softwares são destinados ao uso diagnóstico in vitro por técnicos de laboratório treinados. 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.

## Conjunto de símbolos

 Fabricante	 Número de lote
 Usado por	 Para uso em diagnóstico in vitro
 Limite de temperatura	 Número de catálogo
 Consulte as instruções de uso	 Número de testes
 Para usar com	 Número de série
<b>Rx Only</b> Apenas para uso com receita	 Contém látex

<b>CE</b> Marcação CE - Regulação (UE) 2017/746 IVDR	
--	--

## Traduções

Os documentos do produto podem ser fornecidos em outros idiomas em mídia eletrônica.

## Histórico de revisão

Documento	Data	Descrição da alteração
Guia do usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition, 2.0 (Doc ID #10000135641)	Dezembro de 2020	Ver. A, versão inicial
Guia do usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition, 2.3 (Doc ID #10000135641)	Maio de 2022	<ul style="list-style-type: none"><li>■ Atualizado para oferecer suporte ao CFX Opus Deepwell Dx</li><li>■ Tabela de conjunto de símbolos atualizada</li><li>■ Adicionada nota de segurança cibernética à Introdução</li></ul>



# Índice

Indicação de uso .....	iii
Conjunto de símbolos .....	iii
Traduções .....	iv
Histórico de revisão .....	v
<b>Conformidade regulatória e de segurança .....</b>	<b>17</b>
Etiquetas com aviso de segurança .....	17
Conformidade regulatória e de segurança .....	19
Conformidade de segurança .....	19
Compatibilidade eletromagnética (EMC) .....	20
Avisos e observações de EMC .....	21
Requisitos ambientais .....	22
Riscos .....	23
Riscos biológicos .....	23
Riscos químicos .....	25
Riscos explosivos ou de inflamabilidade .....	25
Riscos elétricos .....	26
Transporte .....	26
Bateria .....	26
Descarte .....	26
Garantia .....	26
<b>Capítulo 1 Introdução .....</b>	<b>27</b>
Principais características do CFX Maestro Dx Software, Security Edition .....	29
Mais informações .....	29
<b>Capítulo 2 Instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition .....</b>	<b>31</b>
Requisitos de sistema .....	32
Como instalar o software CFX Maestro Dx SE .....	34
Detectar os instrumentos conectados .....	35
Arquivos de software .....	36



<b>Capítulo 3 Gerenciar contas de usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition</b>	<b>37</b>
Iniciar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition .....	38
Adicionar usuários do Microsoft Windows ao computador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition .....	40
Adicionar e remover usuários do CFX Maestro Dx Software, Security Edition .....	42
Gerenciar as funções do usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition .....	44
Visualizar sua função e permissões .....	45
<b>Capítulo 4 Usar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition</b> .....	<b>47</b>
Arquivos seguros .....	47
<b>Capítulo 5 O espaço de trabalho</b> .....	<b>57</b>
A janela Home (Início) .....	58
O Startup Wizard (Assistente de inicialização) .....	59
A janela Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	60
A janela Plate Editor (Editor de placa) .....	61
A janela Data Analysis (Análise de dados) .....	62
<b>Capítulo 6 A janela Home (Início)</b> .....	<b>63</b>
A janela Home (Início) .....	64
Comandos do menu File (Arquivo) .....	65
Comandos do menu View (Exibir) .....	65
Comandos do menu User (Usuário) .....	66
Comandos do menu Run (Executar) .....	67
Comandos do menu Tools (Ferramentas) .....	67
Comandos do menu Help (Ajuda) .....	68
Comandos da barra de ferramentas .....	69
O Startup Wizard (Assistente de inicialização) .....	70
Barra de status .....	70
Painel Detected Instrument (Instrumentos detectados) .....	71
Visualizar as propriedades de um instrumento .....	74
Antes de começar .....	76
Criar uma mistura-mestre de reação .....	76
Calibrar novos corantes .....	78
Configurar as preferências do usuário .....	81

<b>Capítulo 7 Criar protocolos</b> .....	99
Parâmetros e intervalos para etapas de protocolo .....	100
Janela Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	102
Comandos do menu File (Arquivo) .....	103
Comandos do menu Settings (Configurações) .....	103
Comandos do menu Tools (Ferramentas) .....	103
Comandos da barra de ferramentas .....	103
Controles de edição de protocolo .....	104
Criar um protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	108
Abrir um novo arquivo de protocolo no Protocol Editor (editor de protocolo) .....	108
Abrir um protocolo existente no Protocol Editor (Editor de protocolo) .....	110
Configurar um novo protocolo .....	111
Adicionar etapas em um protocolo .....	113
Inserir uma etapa de gradiente .....	114
Inserir uma etapa GOTO (IR PARA) .....	115
Inserir uma etapa Melt Curve (Curva de fusão) .....	116
Adicionar ou remover uma etapa de leitura de placa .....	118
Alterar opções de etapa .....	118
Excluir uma etapa .....	119
Copiar, exportar ou imprimir um protocolo .....	119
Criar um protocolo com o Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo) .....	120
Usar a Ta Calculator (Calculadora Ta) .....	122
Sobre a Ta Calculator (Calculadora Ta) .....	122
<b>Capítulo 8 Preparar placas</b> .....	127
Janela do Plate Editor (Editor de placa) .....	128
Comandos do menu File (Arquivo) .....	128
Comandos do menu Edit (Editar) .....	129
Comandos do menu Settings (Configurações) .....	129
Editar os comandos do menu Tools (Ferramentas) .....	130
Comandos da barra de ferramentas .....	130
Criar um arquivo de placa usando o Plate Editor (Editor de placa) .....	132
Abrir um novo arquivo de placa no Plate Editor (Editor de placa) .....	132
Abrir um arquivo de placa existente no Plate Editor (Editor de placa) .....	134
Configurar um novo arquivo de placa .....	135

Atribuir parâmetros opcionais a um arquivo de placa .....	143
Atribuir um alvo a poços .....	143
Atribuir um nome de amostra a poços .....	146
Atribuir grupos biológicos a poços .....	147
Atribuir números de réplicas técnicas a poços .....	149
Atribuir uma série de diluição a tipos de amostra padrão .....	151
Copiar o conteúdo de um poço para outro .....	152
Adicionar uma observação a um poço .....	153
Limpar todo o conteúdo dos poços .....	153
Alterar configurações do experimento .....	155
Criar grupos de poços .....	158
Alterar estilos de traço .....	160
Visualizar, exportar e importar a placa em formato de planilha .....	162
Criar um layout de placa usando o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração de placa) .....	164
Usar o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração de placa) .....	164
<b>Capítulo 9 Executar experimentos .....</b>	<b>167</b>
A janela Run Setup (Configuração de corrida) .....	168
Acessar a janela Run Setup (Configuração de corrida) .....	169
Guia Protocol (Protocolo) .....	170
Guia Plate (Placa) .....	173
Guia Start Run (Iniciar corrida) .....	176
Executar um experimento .....	177
Caixa de diálogo Run Details (Detalhes de corrida) .....	179
Guia Run Status (Status de corrida) .....	179
Guia Real-time Status (Status em tempo real) .....	182
Guia Time Status (Status de tempo) .....	185
Realizar experimentos PrimePCR .....	186
Transferir dados autônomos para análise .....	188
Transferir dados por e-mail .....	188
Transferir dados de um Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx .....	188
Transferir dados usando o CFX Maestro Dx Software, Security Edition .....	190
Transferir dados usando uma unidade USB .....	190
Transferir dados usando uma unidade de rede compartilhada com o Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx .....	191

Criar um arquivo de dados .....	191
<b>Capítulo 10 Visão geral da análise de dados .....</b>	<b>193</b>
Janela Data Analysis (Análise de dados) .....	193
Barra de ferramentas de análise de dados .....	194
Barra de menu da Data Analysis (Análise de dados) .....	195
Detalhes das guias .....	199
Seletor de número de etapa .....	199
Visualizar grupos de poços na Data Analysis (Análise de dados) .....	200
Alterar conteúdos de poços após uma corrida .....	200
Configurações de análise de dados .....	202
Ajustar o limiar .....	202
Configurações de linha de base .....	202
Modo de análise .....	203
Ciclos para análise .....	204
Seletor de poço .....	205
Itens de menu de clique com o botão direito do mouse do seletor de poço .....	206
Excluir temporariamente os poços da análise .....	207
Gráficos .....	208
Ferramentas de gráfico .....	208
Ampliar uma área no gráfico .....	216
Copiar gráficos para um arquivo da Microsoft .....	216
Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para gráficos .....	216
Planilhas .....	218
Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para planilhas .....	218
Exportar .....	220
Exportar todas as folhas de dados .....	220
Exportar arquivos RDML .....	221
Criar um arquivo de exportação personalizado .....	222
Exportar para uma pasta LIMS .....	224
Exportar dados formatados para o Seegene .....	224
<b>Capítulo 11 Detalhes da análise de dados .....</b>	<b>225</b>
Guia Quantification (Quantificação) .....	226
Opções de fluoróforos .....	226
Caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traço) .....	227

Opção Log Scale (Escala logarítmica)	228
Gráfico de Curva padrão	229
Opções de menu do gráfico Amplification (Amplificação)	230
Planilha da guia Quantification (Quantificação)	230
Guia Quantification Data (Dados de quantificação)	232
Planilha Results (Resultados)	232
Planilha Standard Curve Results (Resultados de curva padrão)	234
Planilha Plate (Placa)	235
Planilha RFU	236
Guia Melt Curve (Curva de fusão)	237
Ajustar os dados da curva de fusão	239
Guia Melt Curve Data (Dados da curva de fusão)	240
Planilha Melt Peaks (Picos de fusão)	240
Planilha Plate (Placa)	241
Planilha RFU	242
Planilha -d(RFU)/dT	243
Guia End-point	244
Dados de resultados	245
Ajustar a análise de dados de end-point	247
Planilha RFU para análise de end-point	247
Guia Allelic Discrimination (Discriminação alélica)	248
Ajuste de dados para discriminação alélica	249
Opções de menu do gráfico	250
Planilha Allelic Discrimination (Discriminação alélica)	250
Guia Custom Data View (Visualização de dados personalizada)	252
Criar uma visualização de dados personalizada	253
Guia QC (CQ)	254
Alterar os critérios de CQ	254
Excluir poços reprovados no CQ	255
Guia Run Information (Informações de corrida)	256
Relatórios de análise de dados	257
Categorias de relatórios de análise de dados	258
Criar um relatório de análise de dados	262
Criar relatórios de grupo de poços	264

<b>Capítulo 12 Análise de expressão gênica</b> .....	265
Configuração de placa para análise de expressão gênica .....	265
Configuração de placa orientada .....	266
Gráficos de expressão gênica .....	267
Gráficos .....	268
Alterar e anotar a Chart View (Visualização de gráfico) .....	270
Ajustar os dados de expressão gênica .....	276
Configurações de experimento .....	278
Opções do menu de clique com o botão direito .....	280
Planilha de dados .....	281
Opção Show Details (Mostrar Detalhes) .....	283
Clustergrama .....	285
Configurações .....	285
Opções de menu de clique com o botão direito .....	285
Planilha de dados .....	286
Gráfico de dispersão .....	287
Configurações .....	287
Opções de menu de clique com o botão direito .....	287
Planilha de dados .....	288
Planilha Results (Resultados) .....	289
Estudo de genes .....	290
Calibração entre corridas .....	290
Caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes) .....	291
Guia Study Setup (Configuração de estudo) .....	291
Preparar um estudo de genes .....	292
Guia Study Analysis (Análise de estudo) .....	293
Categorias de relatórios Gene Study (Estudo de genes) .....	294
Criar um relatório Gene Study (Estudo de genes) .....	297
<b>Apêndice A Cálculos de análise de dados</b> .....	299
Eficiência da reação .....	299
Quantidade relativa .....	299
Quantidade relativa quando um controle é selecionado .....	300
Desvio padrão da quantidade relativa .....	300
Eficiência corrigida C <sub>q</sub> (C <sub>qE</sub> ) .....	301

Cq de eficiência média corrigida (MCqE)	301
Expressão normalizada	302
Expressão e quantidade relativa para grupos biológicos	303
Expressão normalizada quando um controle for selecionado	303
Desvio padrão para a expressão normalizada	304
Expressão normalizada dimensionada para o nível mais alto de expressão	305
Expressão normalizada dimensionada para o nível mais baixo de expressão	305
Expressão normalizada dimensionada para o nível médio de expressão	305
Desvio padrão para a expressão normalizada dimensionada	307
Barras de erro para desvio padrão (lg) e erro padrão da média (lg)	308
Alteração de dobra	309
Fórmulas de valor corrigidas	310
Cálculo do intervalo de confiança para análise de grupo biológico	311
Cálculos de gráficos Box-and-Whisker	311
<b>Apêndice B Trilhas de auditoria</b>	<b>313</b>
Visualizar trilhas de auditoria	313
Eventos auditáveis	315
<b>Apêndice C Integração LIMS</b>	<b>319</b>
Criar arquivos de dados compatíveis com o LIMS	319
Configurar a pasta e as opções de exportação de dados LIMS	319
Criar um protocolo LIMS	321
Criar um arquivo LIMS	321
Iniciar uma corrida LIMS	327
Exportar dados para um LIMS	328
<b>Apêndice D Solução de problemas no CFX Maestro Dx Software, Security Edition</b>	<b>329</b>
Adicionar arquivos e pastas do CFX Maestro Dx Software, Security Edition à lista de permissões	329
Log do aplicativo	330
Recupera arquivos de log de aplicativo e firmware	331
Solução de problemas	331
Falta de energia	331
Transferir arquivos para o computador do CFX Maestro Dx SE	332
Instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition manualmente	332
Reinstalar os drivers	333

<b>Apêndice E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products</b> .....	335
Software Notices .....	336
ZedGraph .....	336
Standard Open License Text .....	336
LGPL-2.1 .....	336
<b>Apêndice F Referências</b> .....	349



## Índice





## Conformidade regulatória e de segurança

Os sistemas de PCR em tempo real CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx (conhecidos neste guia como Sistema CFX Opus Dx) aquecem e resfriam 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 seção e em todo este manual.




### Etiquetas com aviso de segurança

Etiquetas de aviso colocadas no Sistema CFX Opus Dx e neste manual avisam sobre fontes de ferimentos ou danos. A [Tabela 1](#) define cada etiqueta com aviso de segurança.

**Tabela 1. Avisos gerais de segurança**

Ícone	Significado
	Operar o Sistema CFX Opus Dx antes de ler este manual pode constituir um risco de ferimento pessoal. O uso deste instrumento de uma maneira não especificada neste manual ou pela Bio-Rad poderá fazer com que os recursos de proteção do instrumento sejam prejudicados ou desativados.
 	Não há riscos biológicos ou radioativos associados ao sistema Sistema CFX Opus Dx. Esses riscos só se tornam uma preocupação quando são introduzidos no sistema por meio das amostras que estão sendo testadas. Ao manusear amostras com risco biológico ou radioativo, siga as precauções e diretrizes recomendadas específicas para o seu laboratório e localização. Essas diretrizes devem incluir métodos de limpeza, monitoramento e descarte para os materiais perigosos em uso.
	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 usuários devem tomar as precauções adequadas para tal situação.

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

Ícone	Significado
	<p>O Sistema CFX Opus Dx opera em temperaturas altas o suficiente para causar queimaduras graves. Sempre permita que o bloco de amostra retorne à temperatura ambiente antes de abrir a tampa e remover as amostras. Mesmo depois de o bloco de amostra esfriar, 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 esfrie, o uso de equipamentos de proteção, como luvas térmicas ou “luvas de forno”, é recomendado.</p>
	<p>A segurança e o desempenho de qualquer sistema que incorpore um Sistema CFX Opus Dx é de responsabilidade exclusiva do montador do sistema.</p>
	<p>Durante a operação normal, o Sistema CFX Opus Dx pode ficar quente o suficiente para fazer com que os líquidos nas amostras ferveram ou evaporem, pressurizando os recipientes de amostra. Existe a possibilidade de falha dos recipientes de amostra, levando a vazamentos, pulverização de fluido ou ruptura explosiva e à dispersão de vapores ou líquidos dentro e ao redor do instrumento.</p> <p>Os usuários 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 vazem, pulverizem ou jorrem líquido. Sempre deixe as amostras esfriarem antes de abrir a tampa.</p> <p>Os usuários nunca devem executar uma reação com uma tampa ou vedação que esteja aberta, solta, perfurada ou danificada, pois isso aumenta a probabilidade de ruptura ou explosão.</p> <p>Os usuários nunca devem executar uma reação com reagentes voláteis que possam aumentar a probabilidade de ruptura ou explosão.</p>

## Conformidade regulatória e de segurança

### Conformidade de segurança

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

- IEC 61010-1:2010 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 1: Requisitos gerais
- IEC 61010-2-010:2019 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-010: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório para aquecimento de materiais
- IEC 61010-2-081:2019 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-081: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório automáticos e semiautomáticos para análise e outros fins
- IEC 61010-2-101:2018 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-101: Requisitos particulares para equipamentos médicos para diagnóstico in vitro (IVD)
  
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-1-12:2018 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório, Parte 1: Requisitos gerais
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-010:19 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório, Parte 2-010: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório para aquecimento de materiais
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-081:19 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório, Parte 2-081: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório automáticos e semiautomáticos para análise e outros fins
- CSA-C22.2 NO. 61010-2-101:19 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-101: Requisitos particulares para equipamentos médicos para diagnóstico in vitro (IVD)
  
- EN 61010-1:2010 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório, Parte 1: Requisitos gerais

- EN 61010-2-010:2014 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-010: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório para aquecimento de materiais
- EN 61010-2-081:2015 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-081: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório automáticos e semiautomáticos para análise e outros fins
- EN 61010-2-101:2017 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-101: Requisitos particulares para equipamentos médicos para diagnóstico in vitro (IVD)
  
- UL 61010-1:2012 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 1: Requisitos gerais
- UL 61010-2-010:2019 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-010: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório para aquecimento de materiais
- UL 61010-2-081:2019 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-081: Requisitos particulares para equipamentos de laboratório automáticos e semiautomáticos para análise e outros fins
- UL 61010-2-101:19 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Parte 2-101: Requisitos particulares para equipamentos médicos para diagnóstico in vitro (IVD)

## Compatibilidade eletromagnética (EMC)

Sistema CFX Opus Dx foi testado e considerado em conformidade com todos os requisitos aplicáveis dos seguintes padrões eletromagnéticos:

- IEC 61326-1:2012 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Requisitos da EMC — Parte 1: Requisitos gerais. Testado como um dispositivo de Classe A
- IEC 61326-2-6:2012 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Requisitos da EMC — Parte 2-6: Requisitos particulares — Equipamentos médicos para diagnóstico in vitro (IVD)

- EN 61326-1:2013 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Requisitos da EMC — Parte 1: Requisitos gerais. Testado como um dispositivo de Classe A
- EN 61326-2-6:2013 Requisitos de segurança para equipamentos elétricos para medição, controle e uso de laboratório — Requisitos da EMC — Parte 2-6: Requisitos particulares — Equipamentos médicos para diagnóstico in vitro (IVD)
- Parte 15, subparte B, seções 15.107 e 15.109 da FCC. Testado como um dispositivo digital Classe A
- CAN ICES-003v6:2019 Norma de equipamentos causadores de interferência, equipamento de tecnologia da informação (incluindo aparelho digital) — Limites e métodos de medição. Testado para os limites da Classe A

## Avisos e observações de EMC

- **Aviso:** alterações ou modificações desta unidade que não sejam expressamente aprovadas pela Bio-Rad podem anular a autoridade do usuário 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 nociva 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. A operação deste equipamento em uma área residencial é provável de causar interferência nociva, caso no qual o usuário deverá corrigir a interferência por seus próprios recursos.
- **Observação sobre a conformidade FCC:** embora este instrumento tenha sido testado e julgado em conformidade com a parte 15, subparte B das Regras da FCC para um dispositivo digital de Classe A, observe que esta conformidade é voluntária, pois o instrumento se qualifica como um “dispositivo isento” sob 47 CFR 15.103(c), com relação aos regulamentos da FCC citados em vigor no momento da fabricação.
- **Observação relativa a cabos:** este instrumento foi testado quanto à conformidade EMC usando cabos USB especialmente projetados, que são fornecidos com o instrumento. Esses cabos, ou substitutos autorizados pela Bio-Rad, devem ser usados com este instrumento para garantir a conformidade contínua com os limites de emissões EMC.

## Requisitos ambientais

O Sistema CFX Opus Dx foram projetados para operação segura nas condições ambientais listadas na tabela a seguir.

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

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

\*A operação do instrumento fora dessa faixa de temperatura pode não atender às especificações de desempenho. Uma temperatura ambiente entre 5 e 40 °C é considerada segura.

\*\*Armazene e transporte o instrumento em sua embalagem de envio para cumprir essas condições de temperatura.

\*\*\*A operação do instrumento a 4 °C deve ser limitada a 18 horas nessas condições. Podem ser realizadas esperas a 4 °C por até 72 horas se a umidade for inferior a 60% (sem condensação).

## Riscos

O Sistema CFX Opus Dx foi projetado para operar com segurança quando usado da maneira prescrita pelo fabricante. Se o sistema ou qualquer um de seus componentes associados for usado de maneira não especificada pelo fabricante, a proteção inerente fornecida pelo instrumento poderá ser prejudicada. A Bio-Rad não é responsável por qualquer lesão ou dano causado pelo uso deste equipamento de qualquer maneira não especificada, ou por modificações no instrumento não realizadas pela Bio-Rad ou por um agente autorizado. Reparos no Sistema CFX Opus Dx devem ser realizados somente por pessoal treinado pela 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 seu laboratório e localidade:

**Observação:** nenhuma substância de risco biológico é emitida durante operações normais deste instrumento.

### Precauções gerais

- Sempre use luvas de laboratório, jaleco 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 relógios de pulso e joias antes de trabalhar na bancada.
- Armazene todos os materiais infecciosos ou potencialmente infecciosos em recipientes inquebráveis à prova de vazamentos.
- Antes de sair do laboratório, remova os trajes de proteção.
- Não use as mãos com luvas para escrever, atender ao telefone, acender a luz ou tocar algo que outras pessoas podem tocar sem luvas.
- Troque as luvas com frequência. Retire as luvas imediatamente quando estiverem visivelmente contaminadas.



## Conformidade regulatória e de segurança

- 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 alvejante doméstico 1:10, por exemplo).

## Descontaminação de superfícies



**AVISO!** Para evitar choque elétrico, sempre desligue e desconecte o instrumento antes de realizar os procedimentos de descontaminação.

As seguintes áreas podem ser limpas com qualquer desinfetante bactericida, virucida ou fungicida do hospital:

- Tampa exterior e chassi
- Superfície interna do bloco de amostra e poços do bloco de amostra
- Painel de controle e tela

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

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

## Descarte de materiais que representam 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 usados ou outros consumíveis que podem estar contaminados

## Riscos químicos

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

## Riscos explosivos ou de inflamabilidade

O Sistema CFX Opus Dx apresenta riscos incomuns relacionados à inflamabilidade ou explosão quando usado de maneira adequada conforme especificado pelos Laboratórios Bio-Rad.

## Riscos elétricos

O Sistema CFX Opus Dx não representa nenhum risco elétrico incomum para os operadores se instalado e operado corretamente sem modificação física e conectado a uma fonte de alimentação com especificação correta.

## Transporte

Antes de mover ou enviar o Sistema CFX Opus Dx, os procedimentos de descontaminação devem ser executados. Sempre mova ou envie o sistema em contêineres separados no material de embalagem fornecido pela Bio-Rad, que protegerá o sistema contra danos.

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

## Bateria

O Sistema CFX Opus Dx usa uma bateria para manter as configurações de hora em caso de perda de energia CA. Se os dados de hora não permanecerem configurados após o desligamento da unidade, isso pode indicar que as baterias estão ficando fracas.



**AVISO!** Não tente trocar as baterias. Elas não podem ser reparadas pelo usuário. Entre em contato 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; manuseio especial pode ser necessário. Consulte [www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate](http://www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate).

## Descarte

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

## Garantia

O Sistema CFX Opus Dx e acessórios associados estão cobertos pela garantia padrão da Bio-Rad. Entre em contato com o escritório local da Bio-Rad para obter detalhes sobre a garantia.

# 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 ácido nucleico para experimentos genômicos.

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition da Bio-Rad é compatível com os seguintes instrumentos e recursos de arquivos de corrida otimizados para os testes de primers e sondas PrimePCR da Bio-Rad:

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

Ao usar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition (conhecido 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 entender o seu estudo de expressão gênica com ferramentas como testes t, ANOVA unidirecional, análise de controles PrimePCR e a ferramenta de seleção de genes de referência. Em seguida, é possível preparar os seus resultados para publicações e pôsteres com as ferramentas de visualização e anotação de dados altamente personalizáveis do CFX Maestro Dx SE.

**Observação:** algumas telas do CFX Maestro podem parecer diferentes daquelas representadas neste guia do usuário. A exibição no software está 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 características do CFX Maestro Dx Software, Security Edition

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

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

Este guia do usuário explica esses recursos e como usá-los.

## Mais informações

Após instalar o CFX Maestro Dx SE e configurar o instrumentos de PCR Bio-Rad associado, você poderá acessar este guia, bem como os tópicos de ajuda CFX Maestro Dx SE detalhados no menu Help (Ajuda) em qualquer visualização.

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



## Capítulo 2 Instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition

Este capítulo explica como instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition. Para obter mais informações sobre como configurar os instrumentos de PCR em tempo real compatíveis 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. Você também pode usar este software para controlar esses sistemas no modo controlado por software.

Os sistemas CFX Opus Dx são fornecidos com um cabo USB na bolsa de acessórios. Use o cabo USB para conectar 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 faltando ou danificado, entre em contato com o escritório local da Bio-Rad.



## Requisitos de sistema

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

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

Sistema	Mínimo	Recomendado
Sistema operacional	Microsoft Windows 10 (somente 64 bits), build 1511 ou posterior, com as atualizações de segurança mais recentes.	Microsoft Windows 10 (somente 64 bits), build 1511 ou posterior, com as atualizações de segurança mais recentes.
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 da tela	1024 x 768 com modo de cores verdadeiras	1280 x 1024 com modo cores verdadeiras
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	SO Microsoft Windows de 64 bits suportado em inglês, chinês e russo	SO Microsoft Windows de 64 bits suportado em inglês, chinês e russo

**Observação:** o Windows 11 também oferece suporte ao CFX Maestro Dx Software, Security Edition.

**Importante:** a inicialização segura 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 andamento. Consulte o administrador do sistema para obter assistência.

**Observação:** se você planeja executar o software CFX Automation Control no mesmo computador que o CFX Maestro Dx SE, configure a resolução de tela para 1280 x 1024 com modo de cores verdadeiras.

## Como instalar o software CFX Maestro Dx SE

**Importante:** deve-se desconectar quaisquer instrumentos conectados do 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 ter salvo todas as corridas e de que nenhum experimento esteja sendo executado.

**Observação:** verifique se a Secure Boot (Inicialização segura) está desativada antes de iniciar o procedimento de instalação. Certifique-se de que o computador esteja configurado de forma que não reinicie automaticamente após uma atualização de segurança ou do sistema se uma corrida estiver em andamento. Consulte o administrador do sistema para obter assistência.

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

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

Localize e desconecte 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. Efetue login no computador do CFX Maestro Dx SE com privilégios administrativos.
3. Insira a unidade USB do software CFX Maestro Dx SE na porta USB do computador.
4. No Windows Explorer, acesse e abra a unidade USB do software do CFX Maestro Dx SE.

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

- CFX
- Drivers
- Firmware
- Quick Start

Junto com outros arquivos, 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 na tela.

Quando a instalação é concluída, o ícone Bio-Rad CFX Maestro Dx Software, Security Edition é exibido na área de trabalho do computador.

**Dica:** o instalador do CFX Maestro instala automaticamente o guia de usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition. Para localizar esses guias, navegue até o menu Help (Ajuda) e selecione Open User Guides (Abrir guias do usuário).

7. Após a conclusão da instalação, você pode ejetar com segurança a unidade USB do software.

## Detectar os instrumentos conectados

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 detecta os instrumentos conectados quando você inicia o software.

### Para detectar instrumentos conectados

1. Se isso não tiver sido feito, insira a extremidade quadrada (macho) do cabo USB tipo B fornecido na porta USB tipo B localizada na parte da trás da base do instrumento.
2. Insira a outra extremidade (porta) em uma porta USB no computador do CFX Maestro Dx SE.
3. Se o instrumento ainda não estiver em corrida, pressione o interruptor liga/desliga do instrumento para ligá-lo.
4. Inicie o CFX Maestro Dx SE.

O software detecta automaticamente o instrumento conectado e exibe seu nome no painel Detected Instruments (Instrumentos detectados) na janela Home (Início).

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

## Arquivos de software

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

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

Tipo de arquivo	Extensão	Detalhes
Protocolo	.prcl	Contém detalhes de configuração do protocolo para executar uma corrida de PCR.
Placa	.pltd	Contém detalhes de configuração da placa para executar uma corrida de PCR.
Dados	.pcrd	Contém os resultados de uma corrida de experimento e análise de PCR.
Corrida PrimePCR	.csv	Contém layout de protocolo e placa para placas PrimePCR.
Estudo de genes	.mgxd	Contém resultados de múltiplas corridas de PCR e análises de expressão gênica.
Arquivo de dados prévios autônomos	.zpcr	Contém leituras de fluorescência da operação autônoma que são convertidos em um arquivo de dados.
LIMS	.plrn	Contém informações de configuração de placa e protocolo requeridas para realizar uma corrida compatível com LIMS.
JSON	.json	Um arquivo somente leitura gerado apenas pelos sistemas CFX Opus Dx. Contém os dados do arquivo de corrida que aparecem no painel de detalhes no File Browser (Navegador de arquivos) quando um arquivo de corrida é selecionado. É gerado após a conclusão de uma corrida. É exportado com o arquivo .zpcr e salvo com os arquivos de dados quando o Save Location (Local de salvamento) é uma unidade USB ou uma pasta de rede compartilhada.

## Capítulo 3 Gerenciar contas de usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition

No CFX Maestro Dx Software, Security Edition, os usuários fazem login com seu nome de usuário e senha do Windows. A pessoa que instalou o CFX Maestro Dx SE recebe automaticamente a função Administrator (Administrador) e pode criar e gerenciar contas e funções de usuários. Todos os outros usuários devem ter uma conta de usuário atribuída para fazer o login e usar o software.

**Importante:** cada usuário deve ter uma conta e senha do Windows no computador do CFX Maestro Dx SE antes de atribuir uma conta de usuário e função. Os usuários podem ser membros do grupo Windows Users (Usuários do Windows) ou do grupo Windows Administrators (Administradores do Windows). Os membros do grupo Windows Users (Usuários do Windows) podem acessar apenas seus próprios arquivos e pastas do CFX Maestro Dx SE. Os membros do grupo Windows Administrators (Administradores do Windows) podem acessar os arquivos e pastas de todos os usuários do computador.

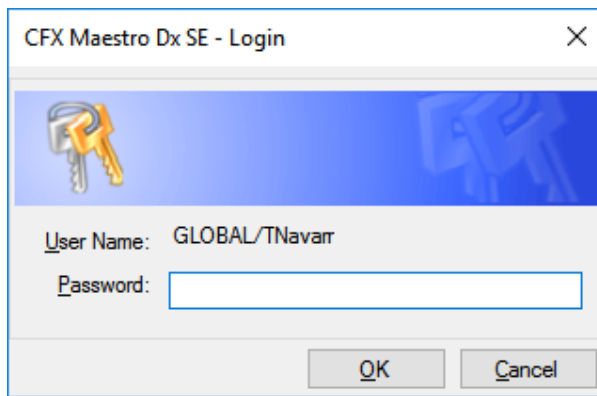
Este capítulo explica como criar usuários do Microsoft Windows para adicioná-los ao CFX Maestro Dx SE. Esta seção também explica como adicionar usuários do CFX Maestro Dx SE e gerenciar funções e permissões de usuário.

## Iniciar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition

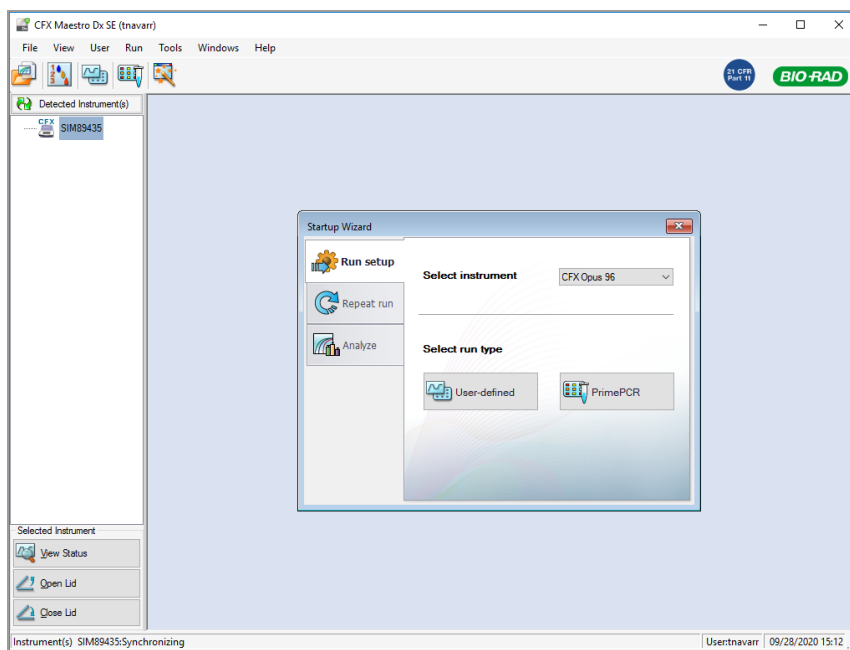
**Observação:** cada usuário deve fazer login com seu nome de usuário e senha do Windows.

### Para 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 CFX Maestro Dx SE para iniciar o aplicativo.
2. Na caixa de diálogo Login, digite sua senha do Windows e clique em OK.



O CFX Maestro Dx SE é aberto na janela inicial. A barra de título exibe o nome de usuário do Windows do usuário conectado, e a barra de menu exibe um adesivo azul indicando que o software é compatível com a 21 CFR Parte 11, por exemplo:





## Adicionar usuários do Microsoft Windows ao computador do CFX Maestro Dx Software, Security Edition

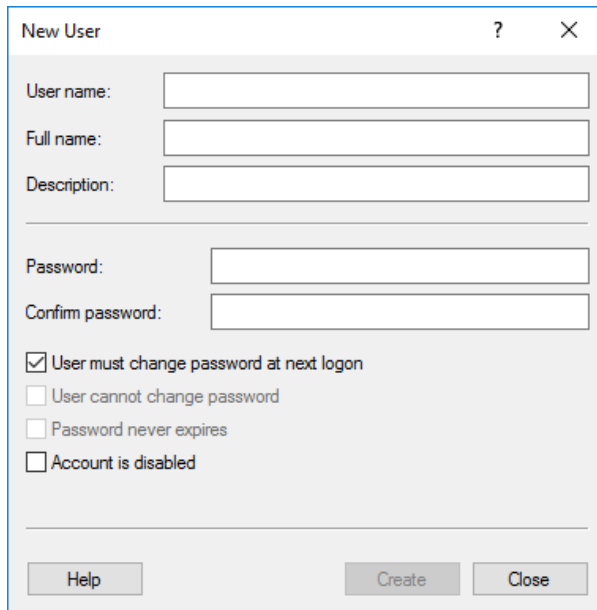
Todos os usuários devem fazer login no computador do CFX Maestro Dx SE com seu nome de usuário e senha do Windows. Para um rastreamento de auditoria preciso, as contas de usuário do Windows não podem ser adicionadas por meio da caixa de diálogo Start (Iniciar) > Settings (Configurações) > Accounts (Contas). As contas de usuário do Windows **devem** ser adicionadas por meio do console de gerenciamento do computador.

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

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

### Para adicionar contas de usuário do Windows ao computador do CFX Maestro Dx SE

1. Faça login 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 (Meu Computador) e selecione Manage (Gerenciar) para abrir o console Computer Management (Gerenciamento do Computador).
3. No Computer Management (Gerenciamento do Computador), expanda Local Users and Groups (Usuários e grupos locais).
4. Clique com o botão direito na pasta Users (Usuários) e selecione New User (Novo usuário) para abrir a caixa de diálogo Novo usuário (New User).



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 usuário), você deve preencher os seguintes campos:
  - User name (Nome de usuário)
  - Full name (Nome completo)
  - Password (Senha)
  - Confirm password (Confirme a senha)
6. Clique em Create (Criar).

## Adicionar e remover usuários do CFX Maestro Dx Software, Security Edition

**Dica:** somente usuários com a função Administrator (Administrador) do CFX Maestro Dx SE podem criar e remover contas de usuário 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 usuários.

**Observação:** no CFX Maestro Dx SE, pelo menos um usuário deve ser atribuído à função Administrator (Administrador).

### Para adicionar contas de usuário do CFX Maestro Dx SE

1. Verifique se cada usuário pretendido é membro do grupo Windows Users (Usuários do Windows) ou do grupo Windows Administrators (Administradores do Windows) e possui uma senha do Windows no computador do CFX Maestro Dx SE.
2. Inicie o CFX Maestro Dx SE e faça login como administrador.
3. Na janela Home (Início), selecione User (Usuário) > User Administration (Administração de usuários).

A caixa de diálogo User Administration (Administração de usuários) aparece.

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

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

Restore Default Rights      OK      Cancel

4. Na seção Manage Users (Gerenciar usuários), forneça as seguintes informações para cada usuário:

- **User name** (Nome de usuário) — no CFX Maestro Dx SE , **deve** ser o nome que o usuário usa para fazer login no Windows.
- **Full name** (Nome completo) — o nome completo do usuário.

Esse nome aparece no campo Full User (Usuário completo) na trilha de auditoria. Esse nome deve ser idêntico ao nome inserido no campo Full Name (Nome completo) quando o usuário do Windows foi criado.

- **Role** (Função) — a função a ser atribuída ao usuário.

**Observação:** você pode selecionar apenas uma função na lista suspensa. Consulte [Gerenciar as funções do usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition](#) para obter mais informações.

- **Domain** (Domínio) — o domínio do Windows a partir do qual o usuário acessa o software.

Consulte o administrador do sistema Windows para obter mais informações.

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

#### **Para remover uma conta de usuário do CFX Maestro Dx SE**

1. Inicie o CFX Maestro Dx SE e faça login como administrador.
2. Na janela Home (Início), selecione User (Usuário) > User Administration (Administração de usuários) para abrir a caixa de diálogo User Administration (Administração de usuários).
3. No painel Manage Users (Gerenciar usuários), selecione Remove (Remover) para cada usuário que deseje remover.
4. Clique em OK e em Yes (Sim) para salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo User Administration (Administração de usuários).

## **Gerenciar as funções do usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition**

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

O CFX Maestro Dx SE tem quatro funções de usuário. Cada usuário deve ter uma função atribuída para acessar o software. Embora os usuários possam receber apenas uma função, você pode alterar a função de um usuário a qualquer momento.

Exceto para a função Administrator (Administrador), você pode alterar as permissões atribuídas a cada função. Todos os usuários atribuídos a uma função herdam apenas as permissões dessa função.

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

- Administrator (Administrador) — esta função tem todas as permissões; você não pode alterar essas permissões.
- Principal — esta função tem todas as permissões, exceto para configurar o e-mail.
- Operator (Operador) — esta função tem todas as permissões, exceto para pular ciclos e configurar o e-mail.
- Guest (Convidado) — esta função só pode ler os arquivos.

Ao atribuir funções no CFX Maestro Dx SE, determine cuidadosamente os requisitos para cada usuário. Por exemplo, sem permissão para salvar, os usuários atribuídos à função Guest (Convidado) não poderão assinar um arquivo. Sem permissão para configurar uma conta de e-mail, nenhuma das funções receberá e-mails quando uma corrida for concluída.

### Para modificar as permissões para uma função

1. Inicie o CFX Maestro Dx SE e faça login como administrador.
2. Na janela Home (Início), selecione User (Usuário) > User Administration (Administração de usuários) para abrir a caixa de diálogo User Administration (Administração de usuários).
3. Na seção Manage Rights (Gerenciar 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 salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo User Administration (Administração de usuários).

### Visualizar sua função e permissões

**Dica:** os usuários atribuídos às funções de usuário Principal, Operator (Operador) ou Guest (Convidado) podem visualizar apenas suas próprias configurações, permissões e funções de usuário. Os usuários atribuídos à função Administrator (Administrador) podem visualizar todas as permissões e funções de usuário.

### Para visualizar suas permissões e função de usuário

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

Entre em contato com o administrador do CFX Maestro Dx SE para modificar as configurações, permissões e funções de usuário listados na janela User Administration (Administração do usuário).



## Capítulo 4 Usar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition

**Importante:** o CFX Maestro Dx Software, Security Edition usa a autenticação de usuário do Microsoft Windows para verificar o acesso a arquivos de dados seguros do CFX. Entre em contato com o administrador do Windows para criar um ambiente que atenda aos requisitos da 21 CFR Parte 11.

Usando o CFX Maestro Dx SE, os usuários podem:

- Assinar dados de assinatura e arquivos de estudo de genes.
- Proteger os arquivos de dados com senha.
- Visualizar e imprimir trilhas de auditoria.

Esta seção explica esses recursos em detalhes.

### Arquivos seguros

Por padrão, o CFX Maestro Dx SE salva arquivos seguros na pasta pessoal do usuário conectado, localizada em:

```
C:\Users\
```

Você pode salvar e editar os arquivos .pcrd nessa pasta. Essa pasta contém links para outras pastas (por exemplo, a pasta de Sample Files [Arquivos de amostra]) que contém arquivos somente leitura. No entanto, apenas um administrador pode excluir o conteúdo dessa pasta.

**Dica:** como alternativa, o administrador do sistema Windows pode criar uma pasta compartilhada e seu administrador do CFX Maestro Dx SE pode programar o software para salvar todos os arquivos nessa pasta.

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

O CFX Maestro Dx SE cria uma trilha de auditoria para todos os arquivos de dados seguros e de estudo de genes (arquivos .pcrd e .mgxd, respectivamente). O software registra todas as atividades auditáveis



na trilha de auditoria do arquivo. Para obter mais informações, consulte [Trilhas de auditoria na página 313](#).

## Assinar arquivos seguros

Depois de salvar um arquivo no CFX Maestro Dx SE, os usuários podem adicionar uma assinatura eletrônica. Para assinar um arquivo, a função do usuário deve ter permissão para salvar um arquivo. Por exemplo, por padrão, a função Guest (Convidado) não tem permissão para salvar um arquivo e, portanto, os usuários atribuídos a essa função não podem assinar um arquivo.

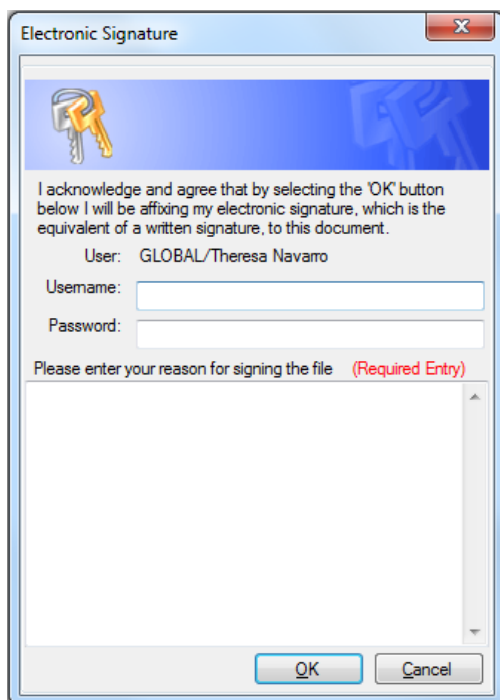
No CFX Maestro Dx SE, os arquivos assinados não são definidos como somente leitura. Eles podem ser revisados, modificados e assinados várias vezes. Todas as alterações e assinaturas são rastreadas na trilha de auditoria do arquivo. Você pode assinar os seguintes tipos de arquivo:

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

**Observação:** os arquivos devem ser salvos antes de serem assinados. Se você realizou uma corrida no CFX Maestro Dx SE, salve o arquivo de dados resultante primeiro.

### Para assinar um arquivo

1. Faça login no CFX Maestro Dx SE com suas credenciais de login do Windows.
2. Abra o arquivo de dados seguro ou o arquivo de estudo de genes que deseja assinar.
3. Escolha File (Arquivo) > Sign (Assinar). A caixa de diálogo Electronic Signature (Assinatura eletrônica) é exibida.



4. Digite seu nome de usuário e senha do Windows e o motivo para assinar o arquivo.

O nome do usuário e o motivo da assinatura são incluídos na trilha de auditoria (para obter mais informações, consulte [Trilhas de auditoria na página 313](#)).

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

### Modificar arquivos seguros

No CFX Maestro Dx SE, os usuários podem modificar arquivos seguros, incluindo dados assinados e não assinados e arquivos de estudo de genes. O software solicita que você forneça um motivo para a alteração ao salvar um arquivo de dados seguro ou de estudo de genes modificado. As alterações são rastreadas na trilha de auditoria do arquivo.

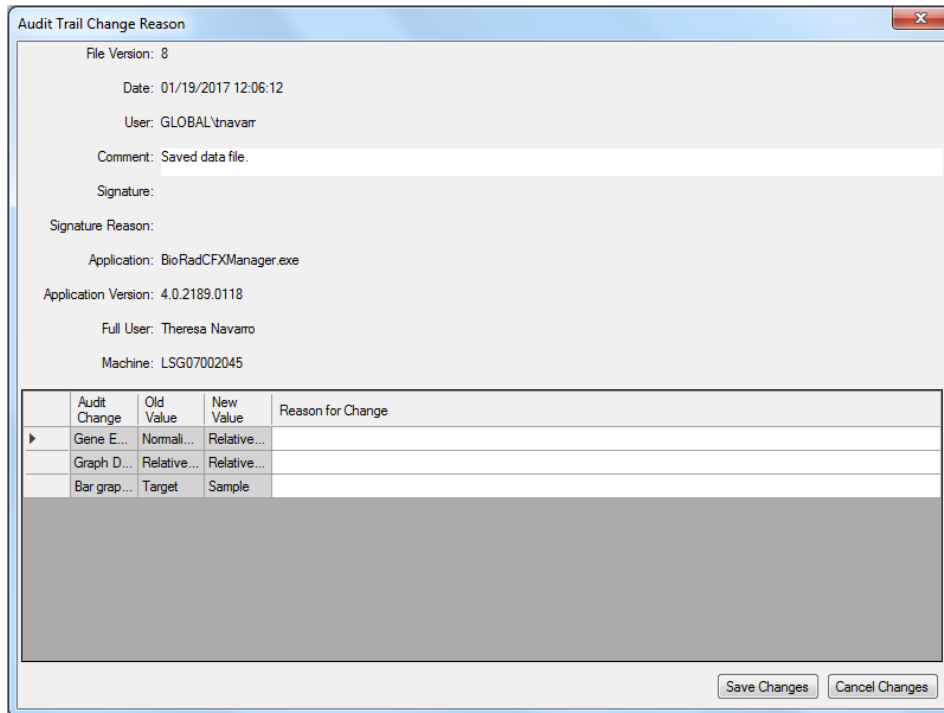
**Dica:** como o software não cria trilhas de auditoria para arquivos de placa ou de protocolo, não é necessário fornecer um motivo ao salvar as alterações nesses arquivos.

#### Para salvar um arquivo de dados ou de estudo de genes modificado

1. Faça login no CFX Maestro Dx SE com suas credenciais de login do Windows.
2. Abra e modifique um arquivo de dados seguro ou um arquivo de estudo de genes.

**Dica:** para obter uma lista de atividades auditáveis, consulte [Eventos auditáveis na página 315](#).

3. Escolha File (Arquivo) > Save (Salvar). A caixa de diálogo Audit Trail Change Reason (Motivo da alteração na trilha de auditoria) é exibida.



Essa caixa de diálogo exibe as seguintes informações, que são capturadas no cabeçalho da trilha de auditoria do arquivo para cada evento de alteração:

- **Date** (Data) — a data em que a mudança ocorreu.
- **User** (Usuário) — o domínio do Windows e o nome do usuário conectado.
- **Comment** (Comentário) — o último comentário salvo.
- **Signature** (Assinatura) — a assinatura eletrônica da última pessoa que assinou o arquivo.
- **Signature reason** (Motivo da assinatura) — o motivo da assinatura.
- **Application** (Aplicativo) — CFX Maestro Dx SE (aparece como BioRadCFXManager.exe, o que está certo).
- **Application version** (Versão do aplicativo) — a versão atual do CFX Maestro Dx SE.
- **Full user** (Usuário completo) — o nome completo do usuário conectado.  
**Observação:** esse nome aparece na trilha de auditoria.
- **Machine** (Máquina) — o computador no qual está instalado.

A tabela de alterações exibe as alterações auditáveis que ocorreram como resultado da modificação. Uma breve descrição do motivo da alteração também pode ser mostrado.

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

4. Revise a lista de alterações. Forneça motivos detalhados, se necessário.
5. Execute uma das seguintes opções:
  - Clique em Save Changes (Salvar alterações) para salvar as alterações no arquivo, bem como quaisquer alterações feitas na tabela e feche a caixa de diálogo.

As alterações no arquivo e os motivos das alterações aparecem na trilha de auditoria do arquivo.

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

As alterações não são salvas no arquivo e a trilha de auditoria não é atualizada.

## Proteger arquivos com senha

Como um nível adicional de segurança, o CFX Maestro Dx SE permite que os usuários definam senhas em todos os arquivos seguros. Ao definir senhas em um arquivo seguro, considere as seguintes condições:

Condição	Ação
Nenhuma senha é necessária.	Todos os usuários podem abrir, modificar e salvar o arquivo seguro, com base em suas permissões.
O arquivo requer a senha de salvamento.	Todos os usuários podem abrir o arquivo seguro e os usuários que conhecem a senha de salvamento podem modificar e salvar o arquivo seguro.
O arquivo requer a senha de abertura.	Somente os usuários que conhecem a senha de abertura podem abrir, modificar e salvar o arquivo seguro.
O arquivo requer as senhas de abertura e salvamento.	Alguns usuários podem abrir o arquivo seguro e um subgrupo desses usuários pode modificar e salvar o arquivo.

Dependendo da função do usuário, qualquer usuário pode executar o comando Save as (Salvar como) para criar um novo arquivo seguro com outro nome ou salvar um arquivo com o mesmo nome em outro local, desde que uma das seguintes condições seja verdadeira:

- O arquivo seguro não seja protegido por senha.
- O usuário possua a senha para abrir o arquivo.

**Dica:** o novo arquivo seja salvo sem proteção por senha. O arquivo original mantém suas senhas.

Dependendo da função, um usuário pode modificar e salvar o arquivo original, desde que uma das seguintes condições seja verdadeira:

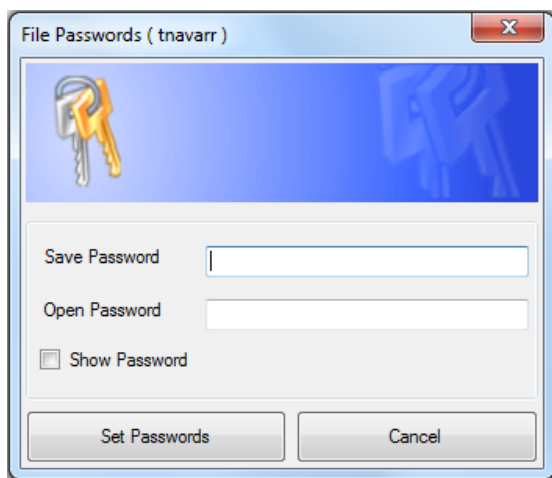
- O arquivo não seja protegido por senha.
- O usuário possua as senhas para abrir e salvar o arquivo.

**Observação:** a função do usuário deve incluir o direito de salvar arquivos para definir senhas. Por exemplo, usuários com a função Guest (Convidado) não podem salvar arquivos e, portanto, não podem definir senhas em um arquivo.

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

### Para proteger um arquivo com senha

1. Faça login no CFX Maestro Dx SE com suas credenciais do Windows.
2. Abra o arquivo seguro.
3. Escolha File (Arquivo) > File Passwords (Senhas de arquivo). A caixa de diálogo File Passwords (Senhas de arquivos) é exibida.



4. Digite as senhas nas caixas Save Password (Senha de salvamento) e Open Password (Senha de abertura).

**Dica:** por padrão, as senhas aparecem como asteriscos quando digitadas. Selecione Show Password (Mostrar senha) para exibir a senha conforme você a digita.

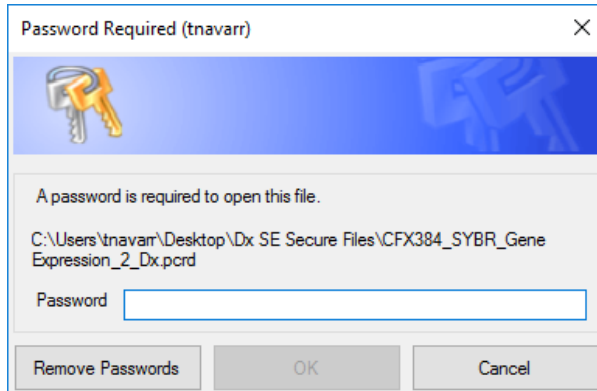
**Importante:** as senhas diferenciam maiúsculas de minúsculas. O CFX Maestro Dx SE não define limitações de senhas. Seguindo as melhores práticas, consulte o administrador do sistema para obter os requisitos de senha do local.

5. Clique em Set Passwords (Definir senhas) para definir as senhas e fechar a caixa de diálogo.
6. Escolha File (Arquivo) > Save (Salvar) para salvar as alterações no arquivo.

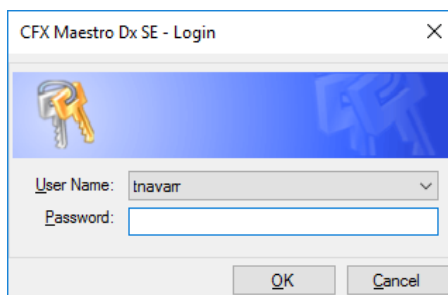
## Para remover senhas

**Importante:** você deve ser um administrador do CFX Maestro Dx SE para remover senhas.

1. Na caixa de diálogo Password Required (Senha obrigatória), clique em Remove Passwords (Remover senhas).



A caixa de diálogo de login do CFX Maestro Dx SE é exibida.



2. Forneça o nome de usuário e a senha do Windows para o administrador do CFX Maestro Dx SE e clique em OK.

O arquivo de dados original é exibido.

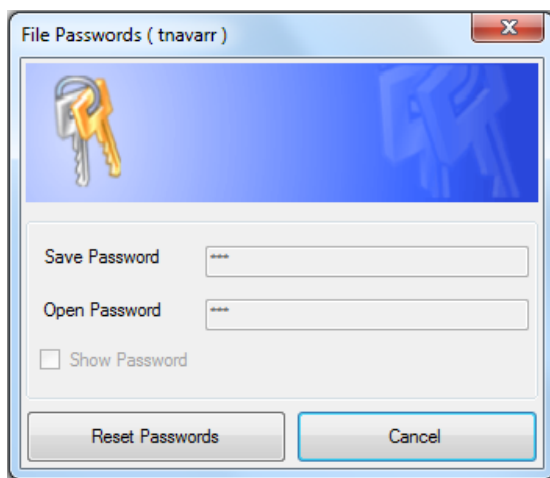
**Importante:** você deve salvar o arquivo para remover as senhas.

3. Escolha File (Arquivo) > Save (Salvar) para salvar as alterações no arquivo.

## Para alterar senhas

**Importante:** somente os administradores do CFX Maestro Dx SE podem alterar as senhas.

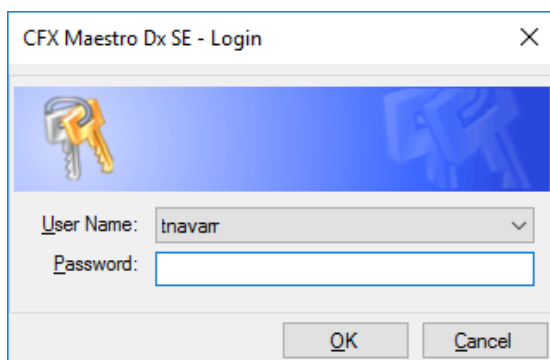
1. Abra o arquivo seguro.
2. Escolha File (Arquivo) > File Passwords (Senhas de arquivo). A caixa de diálogo File Passwords (Senhas de arquivos) é exibida.



**Dica:** Save Password (Senha de salvamento), Open Password (Senha de abertura) e Show Password (Mostrar senha) estão desativadas.

3. Clique em Reset Passwords (Redefinir senhas).

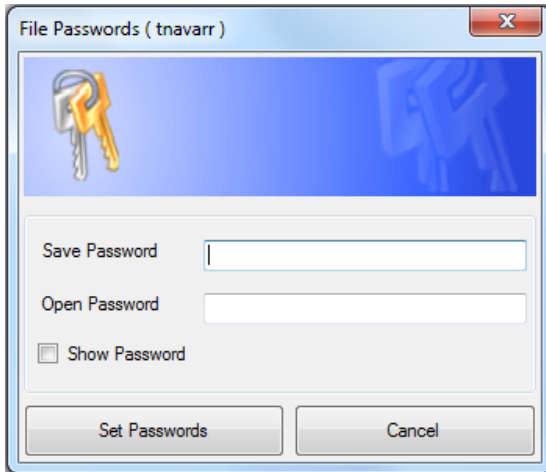
A caixa de diálogo de login do CFX Maestro Dx SE é exibida.





4. Forneça o nome de usuário e a senha do Windows para o administrador do CFX Maestro Dx SE e clique em OK.

A caixa de diálogo File Passwords (Senhas de arquivos) é exibida.



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

## Capítulo 5 O espaço de trabalho

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition fornece uma interface para a configuração de placas, o desenvolvimento de protocolos de PCR, a corrida destes nos instrumentos CFX Opus Dx Deepwell Dx e a análise de dados das corridas de PCR.

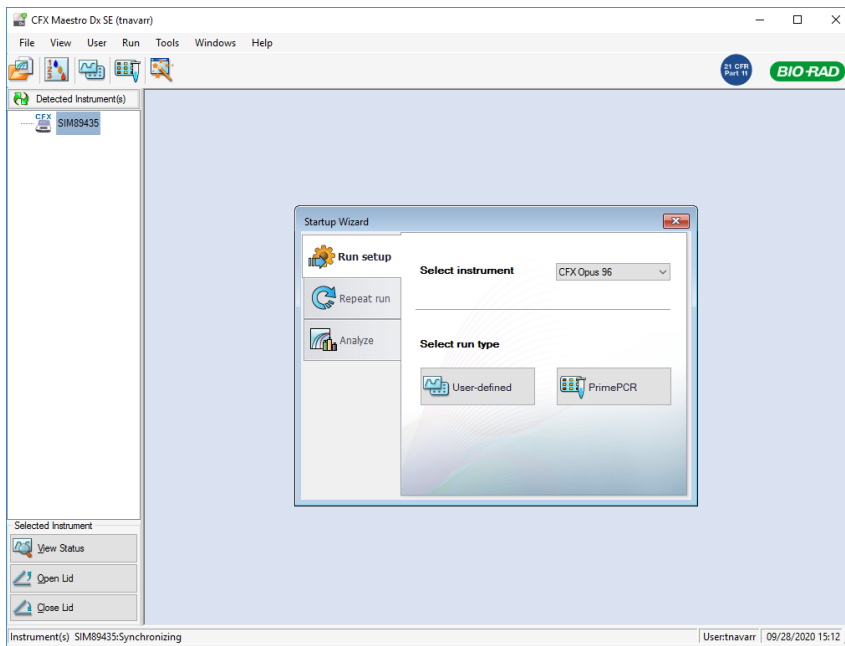
O CFX Maestro Dx SE apresenta cinco espaços de trabalho principais:

- A janela Home (Início)
- O Startup Wizard (Assistente de inicialização)
- 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 exibido e brevemente descrito neste capítulo.

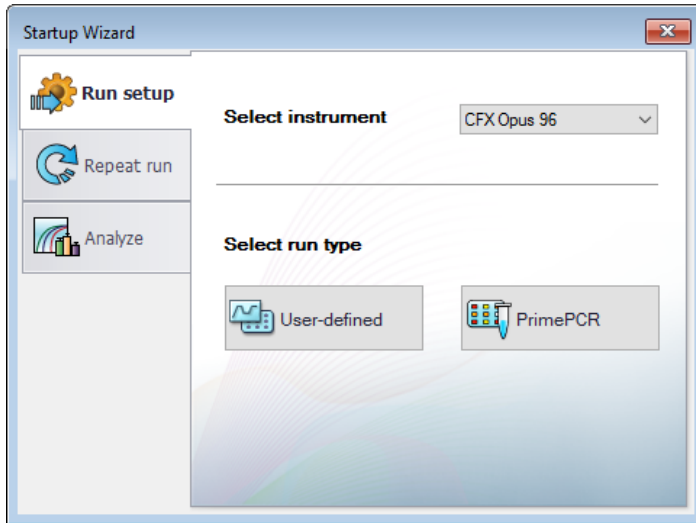
## A janela Home (Início)

O CFX Maestro Dx SE abre na janela Home (Início) e exibe o Startup Wizard (Assistente de inicialização), a partir do qual é possível configurar um experimento, realizar ou repetir uma corrida, ou analisar uma corrida existente. Na janela Home (Início) também é possível visualizar registros de aplicativo e instrumento, criar e gerenciar usuários e acessar várias ferramentas úteis. Consulte [Capítulo 6, A janela Home \(Início\)](#) para obter mais informações.



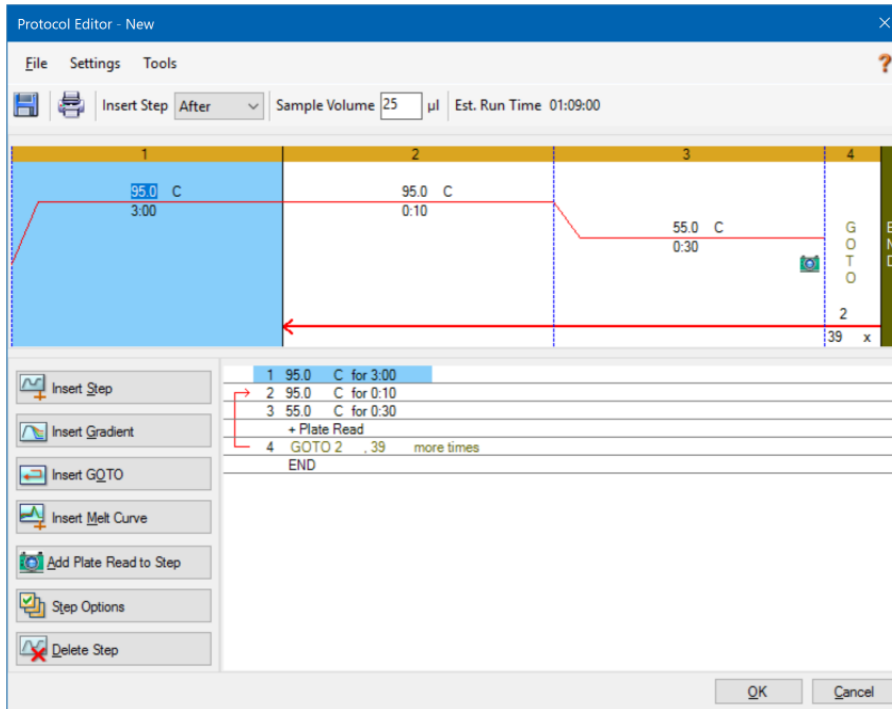
## O Startup Wizard (Assistente de inicialização)

Use o Startup Wizard (Assistente de inicialização) para configurar e executar rapidamente experimentos definidos pelo usuário ou selecionar e executar um experimento PrimePCR. Também é possível usar este assistente para repetir uma corrida ou analisar dados da corrida.



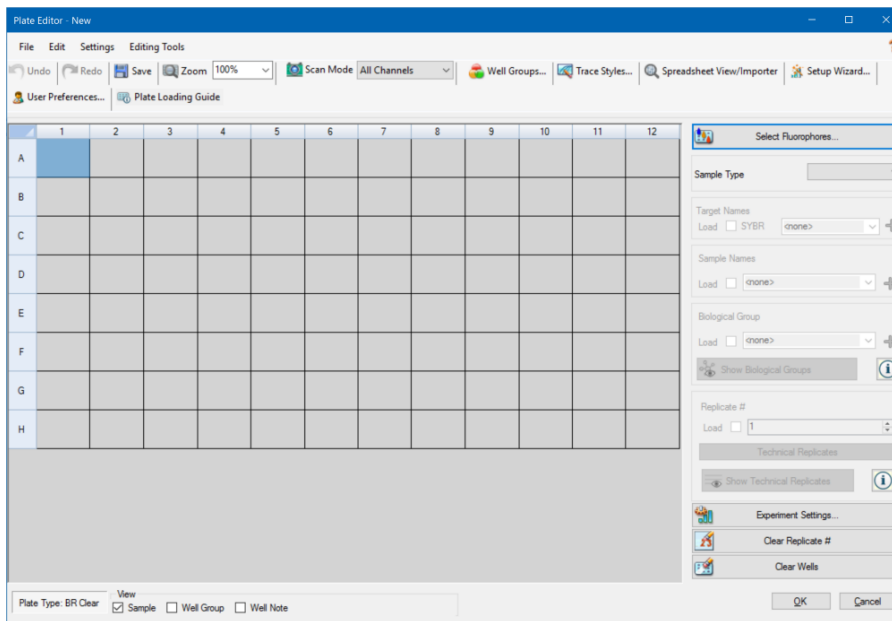
## A janela Protocol Editor (Editor de protocolo)

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



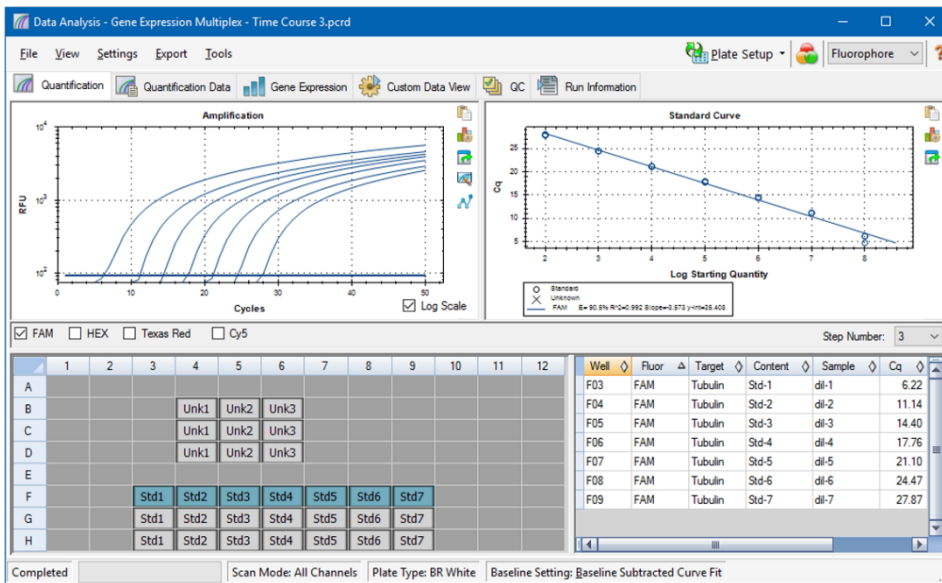
## A janela Plate Editor (Editor de placa)

Use o Plate Editor (Editor de placa) para criar, abrir, revisar e editar uma placa. A funcionalidade do Plate Editor (Editor de placa) está detalhada 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 corrida, executar análises estatísticas, exportar dados e criar relatórios prontos para publicação. A funcionalidade de análise de dados é detalhada no [Capítulo 10, Visão geral da análise de dados](#) e no [Capítulo 11, Detalhes da análise de dados](#).



## Capítulo 6 A janela Home (Início)

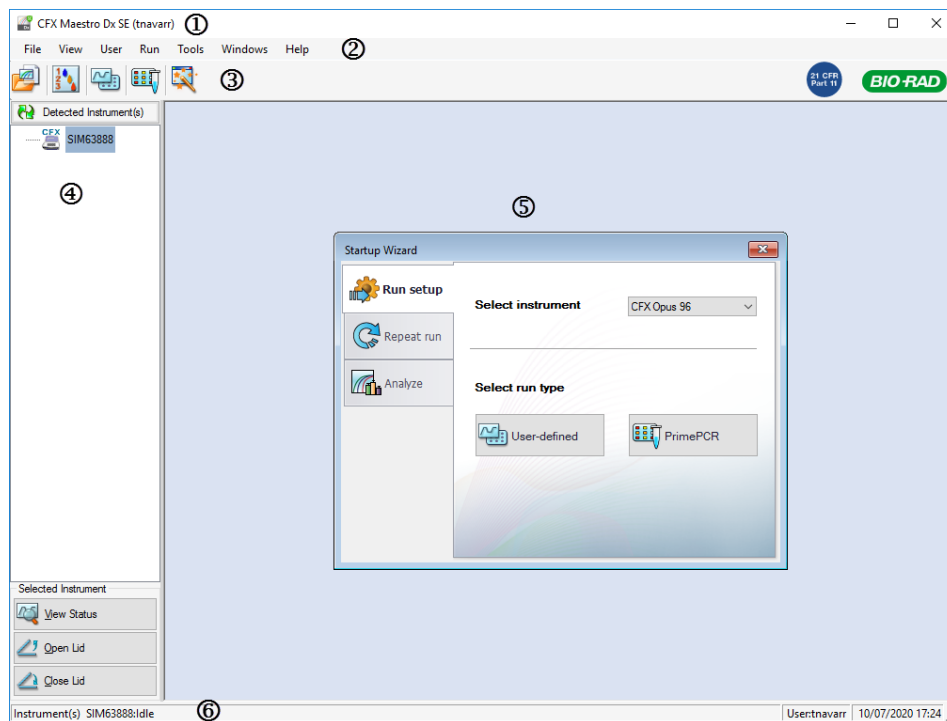
O CFX Maestro Dx Software, Security Edition fornece uma interface para desenvolver protocolos de PCR, executando-os em sistemas CFX DX e analisando os dados de corridas de PCR.

Este capítulo apresenta o CFX Maestro Dx SE e descreve os recursos que podem ser acessados 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 inicialização), 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 registros de aplicativo e instrumento, criar e gerenciar usuários e acessar várias ferramentas úteis.



### LEGENDA

1. A barra de título do software exibe o nome do software e o usuário com login feito.
2. A barra de menus fornece acesso rápido aos comandos de menu File (Arquivo), View (Exibir), Users (Usuários), Run (Corrida), Tools (Ferramentas) e Help (Ajuda).
3. Os comandos da barra de ferramentas dão acesso rápido às opções do menu.
4. O painel da esquerda exibe os instrumentos conectados ao computador do CFX Maestro Dx SE e oferece botões com os quais é possível operar a tampa e visualizar o status dos instrumentos.

5. O painel principal exibe a janela de trabalho. A janela de trabalho padrão na tela Home (Início) é o Startup Wizard (Assistente de inicialização).
  6. A barra de status exibe o nome dos instrumentos conectados e o usuário com login feito.
- 

## Comandos do menu File (Arquivo)

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

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

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

**Repeat a Run** (Repetir uma corrida) — abre o Windows Explorer no local dos arquivos de PCR salvos, nos quais você pode localizar uma corrida para repetir.

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

## Comandos do menu View (Exibir)

**Application Log** (Log do aplicativo) — exibe um log de uso do software desde a instalação inicial até o dia atual.

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

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

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

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

**Detected Instruments** (Instrumentos detectados) — alterna entre exibir ou não os instrumentos conectados no painel da esquerda. Por padrão, o software exibe instrumentos conectados no painel da esquerda.

**Toolbar** (Barra de ferramentas) — alterna entre exibir ou não a barra de ferramentas na parte superior da tela. Por padrão, o software exibe a barra de ferramentas.

**Status** (Barra de status) — alterna entre exibir ou não a barra de status na parte inferior da tela. Por padrão, o software exibe a barra de status.

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

- Visualizar ou bloquear o log de status.
- Abrir e visualizar a pasta de dados do CFX Maestro Dx SE.
- Abrir e visualizar a pasta de dados do usuário.
- Abrir e visualizar a pasta de arquivos LIMS.
- Abrir e visualizar a pasta do PrimePCR.
- Visualizar o histórico da corrida.
- Visualizar as propriedades de todos os instrumentos conectados.

## Comandos do menu User (Usuário)

**Select User** (Selecionar usuário) — abre a tela Login na qual é possível selecionar um usuário na lista suspensa User Name (Nome do usuário) e efetuar login no aplicativo.

**Change Password** (Alterar senha) — abre a caixa de diálogo Change Password (Alterar senha), na qual os usuários podem alterar suas senhas.

**Observação:** esta opção está desativada para o CFX Maestro Dx SE. Os usuários devem alterar a senha do Windows para alterar a senha do CFX Maestro Dx SE.

**User Preferences** (Preferências do usuário) — abre a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), na qual os usuários podem alterar as configurações padrão:

- Enviar e receber notificação por e-mail após a conclusão da corrida
- Salvar arquivos de dados
- Criar protocolos via Protocol Editor (Editor de protocolo) ou Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo)
- Criar placas
- Analisar dados
- Executar a análise de expressão gênica
- Determinar a qualidade dos dados
- Exportar os dados de instrumento do CFX

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

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

## Comandos do menu Run (Executar)

**User-defined Run** (Corrida definida pelo usuário) — abre a janela Run Setup (Configuração de corrida), na qual é possível definir um protocolo e placa definido pelo usuário e então executar um experimento de PCR no instrumento selecionado.

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

**End-Point Only Run** (Corrida somente de end-point) — abre a janela Run Setup (Configuração de corrida) com o protocolo de end-point padrão e o layout da placa carregado com base no instrumento selecionado.

**Qualification Run** (Corrida de qualificação) — abre a janela Run Setup (Configuração de corrida) com o protocolo de qualificação padrão da Bio-Rad e o layout da placa carregado com base no instrumento selecionado.

## 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 reação e imprimir os cálculos.

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

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

**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 dados e arquivos de registro) — abre uma caixa de diálogo na qual é possível selecionar arquivos para condensar e salvar em um arquivo 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 arquivo de dados por vez.

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

- Definir suas configurações de servidor de e-mail.
- Definir configurações de exportação para arquivos LIMS, Seegene e outros arquivos de dados.

**Dica:** você também pode selecionar a opção para iniciar automaticamente o Seegene Viewer na exportação se optar por exportar seus dados no formato Seegene.

- Alterar o idioma de exibição da interface do usuário (Inglês, chinês, russo).

**Importante:** você deve reiniciar o CFX Maestro Dx SE para exibir o idioma selecionado.

**Importante:** o idioma do sistema operacional deve corresponder ao idioma que você deseja 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 a guia Contents (Índice) no sistema de ajuda do CFX Maestro Dx SE.

**Index** (Índice remissivo) — exibe a guia Index (Índice remissivo) no sistema de ajuda do CFX Maestro Dx SE.

**Search** (Busca) — exibe a guia Search (Busca) no sistema de ajuda do CFX Maestro Dx SE.

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

**Additional Documentation** (Documentação adicional) — fornece acesso ao Manual de operação 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 da Bio-Rad, como vídeos instrutivos.

**qPCR Applications and Technologies Web Site** (Website de aplicativos e tecnologias qPCR) — abre o website de aplicativos e tecnologias qPCR da Bio-Rad, no qual é possível saber mais sobre o PCR em tempo real (qPCR).

**PCR Reagents Web Site** (Website de reagentes qPCR) — 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 qPCR) — abre o website de consumíveis plásticos de qPCR 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) — exibe as informações de direitos autorais e versão do CFX Maestro Dx SE.

## Comandos da barra de ferramentas



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



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



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



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

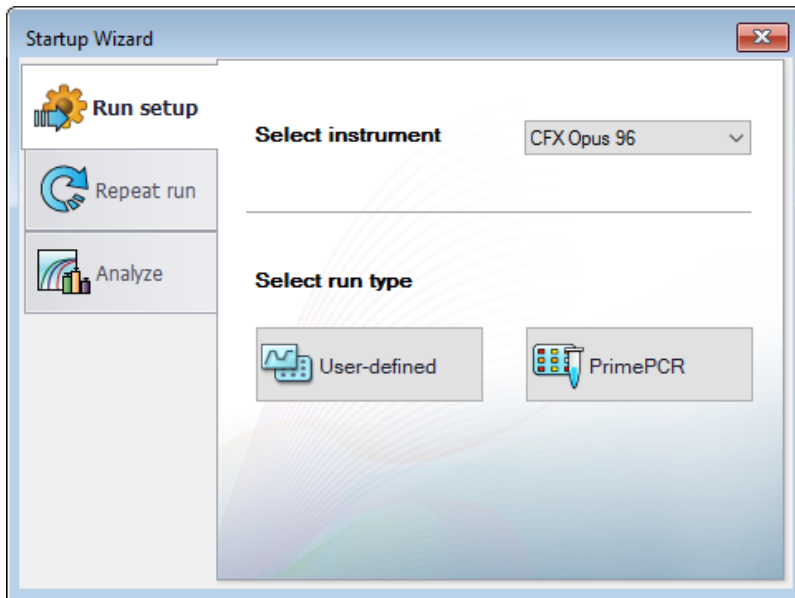


— abre o Startup Wizard (Assistente de inicialização).

## O Startup Wizard (Assistente de inicialização)

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

- Selecionar um instrumento entre os instrumentos detectados e configurar uma corrida definida pelo usuário ou PrimePCR.
- Abrir e repetir uma corrida.
- Abrir um arquivo de dados para analisar resultados de uma única corrida ou um arquivo de estudo de genes para resultados de múltiplas corridas de expressão gênica.



Essas tarefas são explicadas em detalhes nos capítulos a seguir.

## Barra de status

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

## Painel Detected Instrument (Instrumentos detectados)

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

Neste painel, você pode:

- Visualizar as propriedades e corantes calibrados para o instrumento selecionado.

Para obter mais informações sobre propriedades de instrumentos, consulte [Visualizar as propriedades de um instrumento na página 74](#).

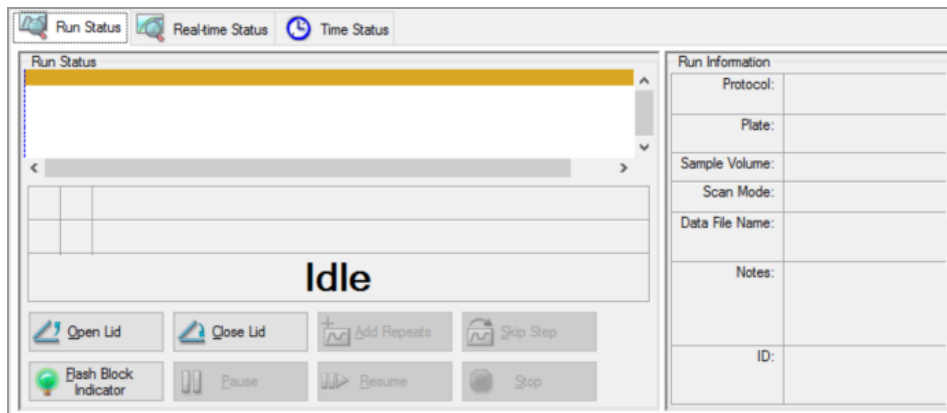
- Visualizar o estado de um instrumento conectado.
- Abrir a tampa motorizada do instrumento selecionado.
- Fechar a tampa motorizada do instrumento selecionado.
- Visualizar o estado de todos os instrumentos conectados.

### Para visualizar o estado de um instrumento conectado

- ▶ No painel Detected Instruments (Instrumentos detectados), selecione o instrumento alvo e execute uma das seguintes opções:

- Clique em View Status (Visualizar estado) na seção Selected Instrument (Instrumento selecionado).
- Clique com o botão direito e selecione View Status (Visualizar estado) no menu que aparecerá.

A caixa de diálogo Run Details (Detalhes da corrida) se abrirá, exibindo a guia Run Status (Estado da corrida). O estado do instrumento selecionado aparecerá abaixo do painel de estado da corrida, por exemplo:





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

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

### Para visualizar o estado de todos os instrumentos detectados

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










A caixa de diálogo Instrument Summary (Resumo de instrumentos) é exibida:


**Dica:** se o sistema detectar apenas um instrumento conectado, a seção All Instruments (Todos os instrumentos) não aparece no painel Detected Instruments (Instrumentos detectados). Para visualizar o resumo de instrumentos para um único instrumento, selecione View (Exibir) > Instrument Summary (Resumo de instrumentos).

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

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

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

Botão	Nome do botão	Função
	Create a new Run (Criar nova corrida)	Cria uma corrida no bloco selecionado abrindo a janela Run Setup (Configuração de 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 quais blocos mostrar na lista. Selecione uma das opções para mostrar todos os blocos detectados, todos os blocos ociosos, todos os bloco em execução pelo usuário atual ou todos os blocos em execução.

## Visualizar as propriedades de um instrumento

No painel Detected Instruments (Instrumentos detectados), é possível ver detalhes sobre um instrumento selecionado, incluindo suas propriedades, o status do parafuso de transporte (apenas instrumentos CFX Connect e CFX Touch) e uma lista de seus corantes calibrados (fluoróforos).

### Visualizar as propriedades do instrumento

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

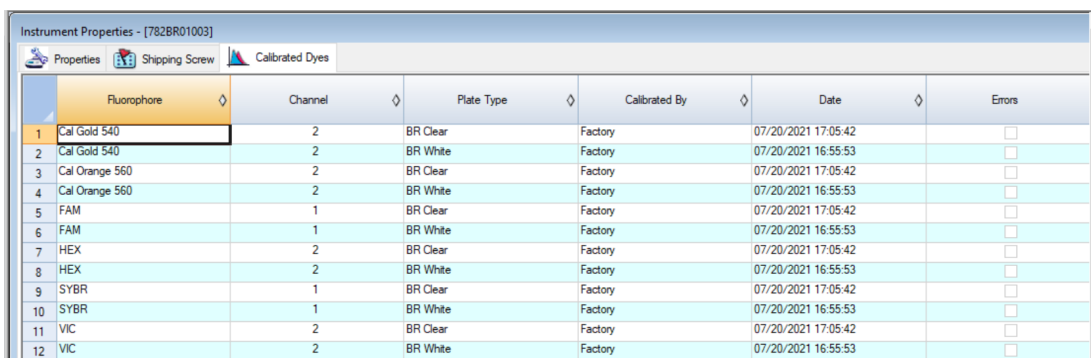
### Guia Properties (Propriedades)

A guia Properties (Propriedades) lista detalhes técnicos sobre o instrumento selecionado incluindo o modelo, os números de série de seus componentes e as versões de firmware. O nome padrão do instrumento (seu número de série) aparece em vários locais, incluindo no painel Detected Instruments (Instrumentos detectados) e na barra de cabeçalho da caixa de diálogo Instrument Properties (Propriedades do instrumento). É possível renomear o instrumento para poder identificá-lo com mais facilidade.

**Observação:** você não pode alterar o nome do instrumento CFX Opus usando o CFX Maestro.

### Guia Calibrated Dyes (Corantes calibrados)

A guia Calibrated Dyes (Corantes calibrados) exibe os fluoróforos e 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 detalhadas sobre uma calibração, clique no botão Info (Informações) na coluna Detail (Detalhe).

## Antes de começar

Esta seção explica as tarefas que você pode precisar realizar antes de usar o CFX Maestro Dx SE, incluindo, por exemplo:

- 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 em sua mistura-mestre. É possível imprimir a tabela de cálculos da mistura-mestre em sua impressora padrão e salvar os cálculos para cada alvo para uso posterior.

#### **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), faça 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.

A Master Mix Calculator (Calculadora de mistura-mestre) aparece.

2. Na seção Reaction (Reação), selecione o método de detecção:
  - SYBR® Green/EvaGreen®
  - Probes (Sondas)
3. Para criar um novo alvo, na seção Target (Alvo), clique em Create New (Criar novo). Um novo nome de alvo aparece na lista suspensa de alvos.
4. (Opcional) Para alterar o nome de alvo padrão:
  - a. Destaque 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 primers forward e reverse e quaisquer sondas.
6. Na seção Master Mix Setup (Configuração da mistura-mestre), ajuste os valores como
  - Number of reactions to run (Números de reações a executar)

- Reaction volume per well (Volume de reação por poço)
  - Template volume per well (Volume de fita molde 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 quantos alvos forem necessários.
  8. Na seção 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 destino selecionado aparecem na tabela de mistura-mestre.
  9. Clique em Set as Default (Configurar como padrão) para configurar a entrada de quantidades nas seções Target (Alvo) e Master Mix Setup (Configuração da mistura-mestre) como novos padrões.
  10. Clique em OK para salvar 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 padrão.

#### Salvar a tabela de cálculos da mistura-mestre como um PDF

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

#### Para excluir alvos

- ▶ Selecione o alvo usando a lista de alvos suspensos 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. Tome cuidado ao excluir 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 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 você realizar uma calibração definida pelo usuário de um corante que foi calibrado de fábrica, o instrumento usará a calibração definida pelo usuário em vez da calibração de fábrica.

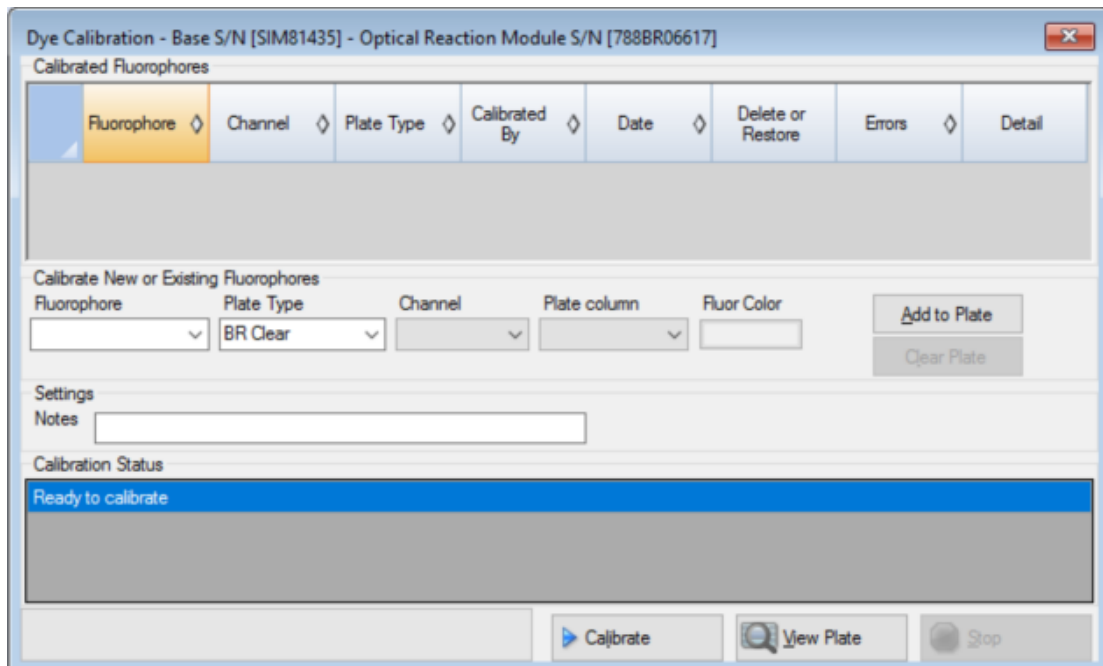
**Tabela 6. Fluoróforos calibrados de fábrica, canais e instrumentos**

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>Química FRET (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



### Para calibrar novos corantes nos sistemas CFX

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



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

3. Na seção 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 seu nome na caixa de texto para adicioná-lo à lista.

**Importante:** tome cuidado ao nomear fluoróforos com calibração personalizada. Se você criar uma calibração de corante personalizada para um fluoróforo com o mesmo nome de um fluoróforo calibrado de fábrica, o fluoróforo personalizado (não o fluoróforo calibrado de 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 seu 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 pretende 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 de poços profundos ou com 96 ou 384 poços para a calibração dos poços:
  - 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 poços profundos ou de 96 poços) 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 selagem que será usado em seu experimento.
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 concluir a corrida de calibração, uma caixa de diálogo aparecerá. 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 usuário

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

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

- Configurar notificações por e-mail de conclusão da corrida.

**Observação:** este recurso está disponível apenas para usuários cujas funções tenham esse direito. Consulte [Gerenciar as funções do usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition na página 44](#) para obter mais informações.

- Alterar as configurações padrão para:
  - O local no qual salvar os arquivos.
  - Os arquivos de configuração da corrida.
  - O prefixo de denominação do arquivo.
- Configurar os parâmetros padrão para usar ao criar um novo protocolo e placa.
- Definir os parâmetros padrão de análise de dados e expressão gênica.
- Personalizar os parâmetros padrão de controle 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 um que faça login no software.

Esta seção explica como realizar essas tarefas.

### Configurar a notificação por e-mail

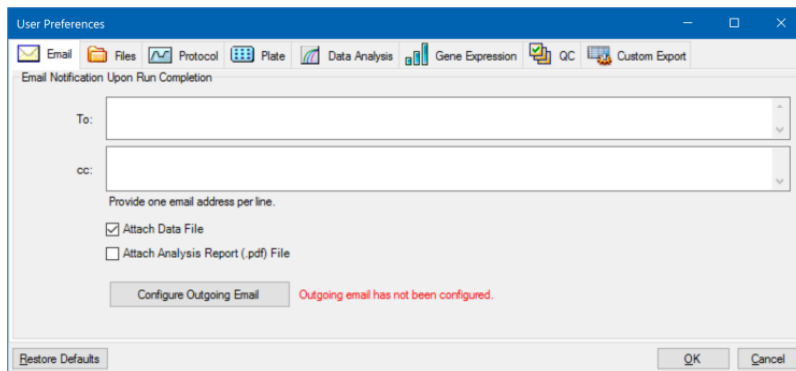
É possível conectar o CFX Maestro Dx SE ao seu servidor de e-mail de saída para enviar uma notificação por e-mail da conclusão da corrida para uma lista de usuários. Também é possível optar por anexar um arquivo de dados e um relatório de análise à lista de usuários. Para configurar a conexão entre o CFX Maestro Dx SE e seu servidor SMTP, consulte [Conectando o Security Edition a um servidor SMTP na página 84](#).

**Observação:** a capacidade do usuário de acessar os recursos de configuração de e-mail depende da função do usuário e das permissões atribuídas pelo administrador. Para obter detalhes sobre o gerenciamento de usuários e suas funções, consulte [Gerenciar as funções do usuário do CFX Maestro Dx Software, Security Edition na página 44](#).

## Configurar notificações por e-mail

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

A caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) aparece exibindo a guia Email (E-mail).



**Observação:** você é informado se o sistema detectar que você 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 obter mais informações, consulte [Conectando o Security Edition a um servidor SMTP na página 84](#).

2. Na caixa de texto To (Para), digite o endereço de e-mail de cada pessoa que planeja informar 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 em uma linha separada. Pressione Enter ou Return (Voltar) 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) Por padrão, todos os destinatários recebem uma cópia do arquivo de dados como um anexo. Desmarque esta caixa de seleção se não deseja anexar uma cópia do arquivo 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 salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).

**Observação:** você pode configurar o sistema para enviar uma notificação por e-mail para seu telefone celular, dependendo da sua operadora. Entre em contato com sua operadora de telefonia

celular para obter informações específicas sobre o endereço de e-mail do seu celular. Digite o endereço de e-mail do seu telefone (por exemplo, 5552221234@domínio\_de\_e-mail\_da\_operadora) na caixa de texto To (Para) da tela User Preferences (Preferências do usuário).

### Editar o endereço de e-mail de um destinatário

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

### Remover um e-mail de destinatário

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

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) redefine todas as preferências em todas as guias para as configurações originais de fábrica. Cuidado ao clicar neste botão.

## Conectando o Security Edition a um servidor SMTP

**Importante:** alguns provedores de serviços de webmail comerciais têm segurança de e-mail aprimorada. Caso você use uma dessas contas, você deve acionar a configuração **Allow less secure apps** (Permitir aplicativos menos seguros) em suas configurações de contas para permitir que o CFX Maestro Dx SE envie e-mail. Consulte as informações de segurança do seu fornecedor de serviços de webmail para obter mais informações.

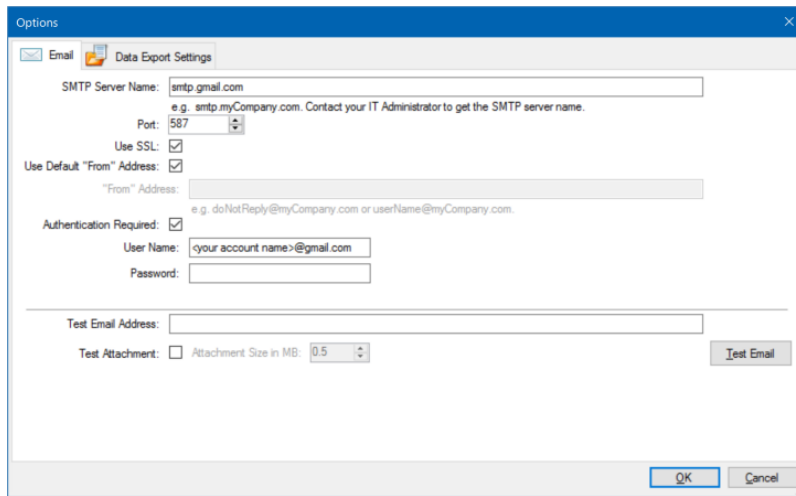
Se você estiver usando o servidor SMTP do Google Gmail ou do Microsoft Office 365 para enviar e-mails, deverá ativar uma verificação de dois fatores e gerar uma "Senha do aplicativo" nas configurações da sua conta do Gmail ou Office365. Para autenticação na caixa de diálogo Email Setup (Configuração de e-mail) do Maestro, copie e cole a "Senha do aplicativo" no campo Password (Senha) em vez da senha de e-mail normal.

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

### Para conectar o CFX Maestro Dx SE a um servidor de e-mail

1. Execute uma das seguintes opções:
  - Selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) e clique em Configure Outgoing Email (Configurar e-mail enviado) na guia Email.
  - Selecione Tools (Ferramentas) > Options (Opções).

A caixa de diálogo Options (Opções) é exibida, mostrando a guia Email.



2. Dê as seguintes informações da sua empresa:

- **SMTP Server Name** (Nome do Servidor SMTP) — o nome do servidor de envio de e-mail 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 isso não for requerido em sua empresa, desmarque esta caixa de verificação.
- **Use Default "From" Address** (Usar endereço "De" padrão) — o nome do servidor de e-mail em 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 verificação e dê um endereço de e-mail válido.
- **Authentication Required** (Autenticação requerida) — se o seu local exigir autenticação da conta, verifique se esta caixa de verificação está marcada.
- **User Name** (Nome de usuário) — o nome da conta autenticada. Isso é requerido apenas se Authentication Required (Autenticação requerida) for selecionado.

- **Password** (Senha) — a senha para a conta autenticada. Isso é requerido apenas se Authentication Required (Autenticação requerida) for selecionado.

**Importante:** se você estiver usando o servidor SMTP do Google Gmail ou do Microsoft Office 365 para enviar e-mails, deverá ativar uma verificação de dois fatores, em seguida, e gerar uma "Senha do aplicativo" nas configurações da sua conta do Gmail ou Office365. Para autenticação na caixa de diálogo Email Setup (Configuração de e-mail) do Maestro, copie e cole a "Senha do aplicativo" no campo Password (Senha) do CFX Maestro Dx SE em vez da senha de e-mail normal.

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 arquivos 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 salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

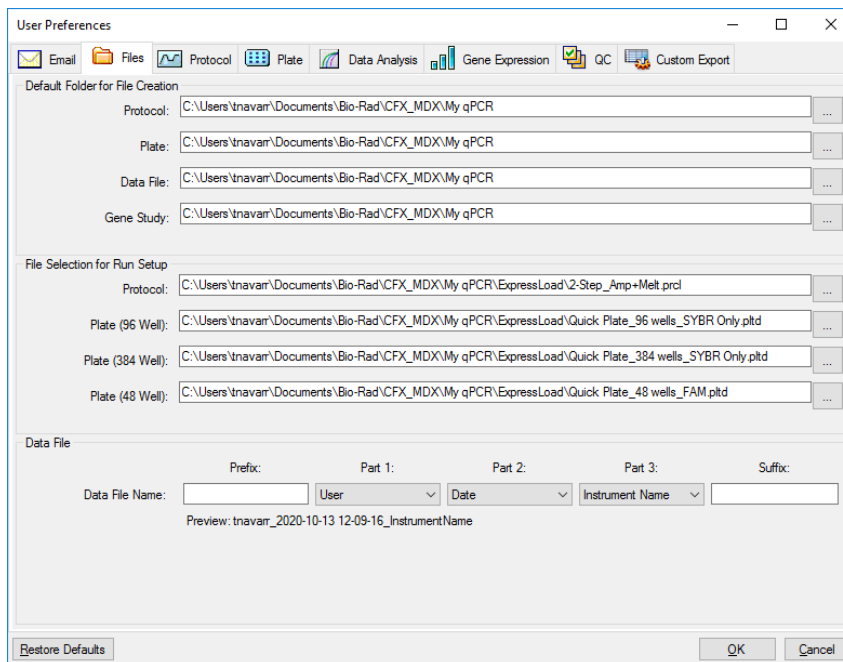
### Alterar as configurações de arquivo padrão

Na guia Files (Arquivos), na caixa de diálogo User Preference (Preferências do usuário), é possível alterar o seguinte:

- O local padrão para salvar os arquivos de CFX Maestro Dx SE.
- Os arquivos padrão para executar a configuração.
- Os parâmetros de nomenclatura de arquivos padrão.

### Alterar as configurações de arquivo padrão

1. Selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), selecione a guia Files (Arquivos).



3. Na seção Default Folder for File Creation (Pasta padrão para criação de arquivos), navegue e selecione uma pasta padrão na qual deseja salvar novos arquivos. É possível selecionar um local diferente para cada tipo de arquivo:
  - Protocol (Protocolo)
  - Plate (Placa)
  - Data File (Arquivo de dados)
  - Gene Study (Estudo de genes)
4. Na seção File Selection for Run Setup (Seleção de arquivo para configuração de corrida), navegue e selecione os arquivos de placa e protocolo de destino a serem exibidos quando você abrir a janela Experiment Setup (Configuração de experimento).
5. Na seção Data File (Arquivo de dados), defina o prefixo e/ou sufixo dos arquivos de dados. Para qualquer parte, selecione um novo valor em sua lista suspensa. Você também pode 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 arquivo abaixo das caixas de seleção.
6. Clique em OK para salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

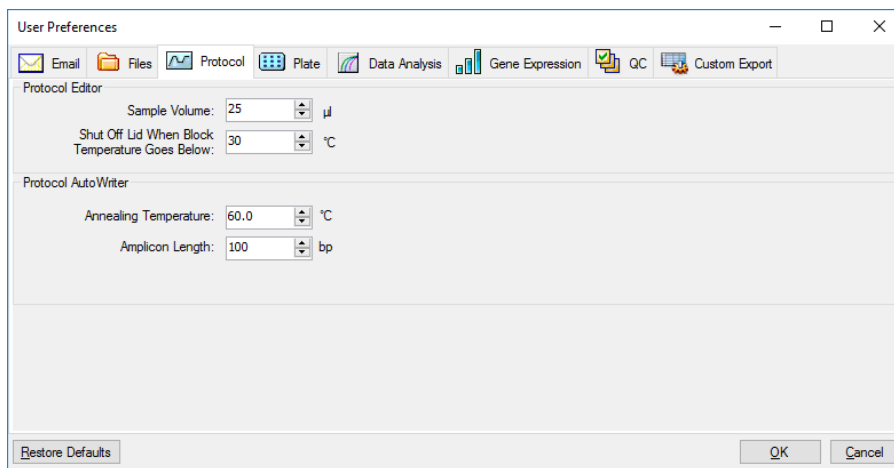


**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) redefine todas as preferências em todas as guias para as configurações originais de fábrica. Cuidado ao clicar neste botão.

## Configurar os parâmetros de protocolo padrão

### Para configurar parâmetros padrão de protocolo para o Protocol Editor (Editor de protocolo) e o Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo)

1. Selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), selecione a guia Protocol (Protocolo).



3. Na seção 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 seção Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo), especifique valores para as seguintes configurações que aparecem no Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo):
  - **Annealing temperature** (Temperatura de anelamento) — a temperatura em °C para experimentos 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 salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) redefine todas as preferências em todas as guias para as configurações originais de fábrica. Cuidado ao clicar neste botão.

## Configurar os parâmetros de placa padrão

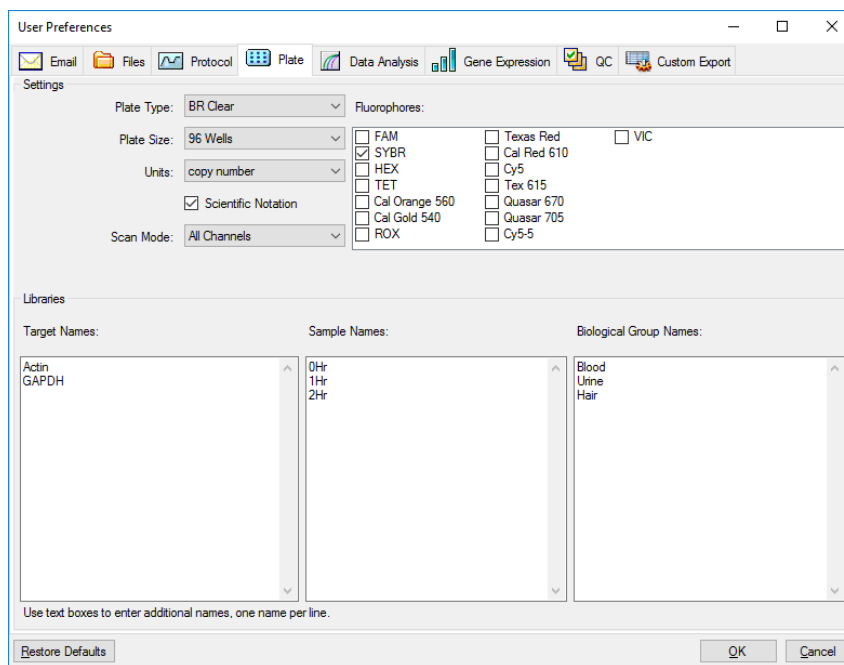
As alterações feitas na guia Plate (Placa) estão disponíveis para todos os usuários do software. As alterações feitas durante a instalação da placa estão disponíveis para os usuários depois que você salva e fecha o arquivo da placa.

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

- Configurar os parâmetros de placa padrão.
- Adicionar novos nomes de alvos, amostras e grupos biológicos em suas respectivas bibliotecas.
- Excluir nomes de alvos, amostras e grupos biológicos de suas respectivas bibliotecas.

## Configurar os parâmetros de placa padrão

1. Selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), selecione a guia Plate (Placa).



3. Especifique os valores para as configurações a seguir para um novo arquivo de placa. Esses valores aparecem 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 essas unidades para criar uma curva padrão na guia 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 padrão que aparecem nos controles de carregamento do poço do Plate Editor (Editor de placa).

- **Libraries (Bibliotecas)** — os nomes de alvos, amostras e grupos biológicos que você normalmente usa em seus experimentos:

- Target names (Nomes de alvos)** — os nomes dos genes e sequências alvo.

- Sample names (Nomes de amostras)** — os nomes das amostras de experimentos ou uma característica identificadora das amostras (por exemplo, Camundongo1, Camundongo2, Camundongo3).

- Biological group names (Nomes do grupo biológico)** — os nomes para grupos de amostras semelhantes que tenham o mesmo status ou condições de tratamento (por exemplo, 0Hr, 1Hr, 2Hr).

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

#### **Para 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.

#### **Para excluir um nome de alvo, amostra ou grupo biológico**

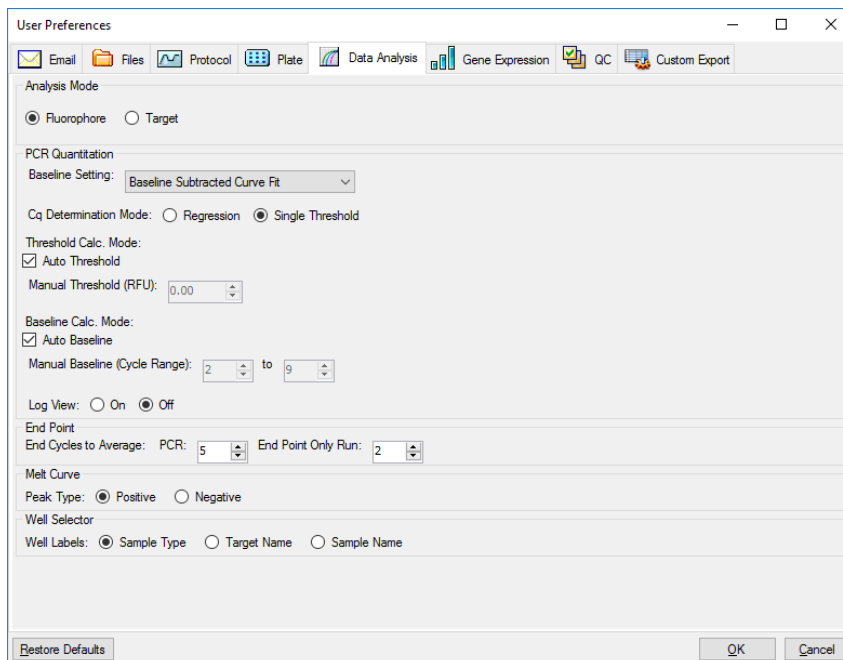
- ▶ Na caixa de biblioteca apropriada, selecione o nome e pressione a tecla Delete e clique em OK.

**Importante:** nomes que sejam removidos da biblioteca Sample Names (Nomes de amostras) serão removidos do software e deixarão de estar disponíveis para os usuários. Para restaurar os nomes padrão do CFX Maestro Dx SE, clique em Restore Defaults (Restaurar padrões). Clicar em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) redefine todas as preferências em todas as guias para as configurações originais de fábrica. Cuidado ao excluir nomes padrão do CFX Maestro Dx SE e ao clicar neste botão.

## Configurar os parâmetros de análise de dados padrão

### Para configurar os parâmetros de análise de dados padrão

1. Selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), selecione a guia Data Analysis (análise de dados).



3. Na seção Analysis Mode (Modo de análise), selecione o modo no qual analisar os dados (Fluorophore (Fluoróforo) ou Target (Alvo)).
4. Na seção PCR Quantitation (Quantificação de PCR), defina os parâmetros padrão 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 traço de fluorescência (regressão ou limiar individual).
  - **Threshold Calc. Mode** (Modo de cálc. do limiar) — a quantidade do alvo do end-point.  
O padrão é Auto (Automático). Ou seja, o software calcula automaticamente o alvo do end-point. Para definir um limiar específico, desmarque a caixa de verificação Auto (Automático) e

digite sua quantidade do end-point, calculada em unidades de fluorescência relativas (ou RFU). O valor máximo é 65000,00 RFUs. Os arquivos 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 traços.

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

- **Log View** (Visualização de log) — determina como o software exibe os dados de amplificação:
  - On** (Ativado) — os dados de amplificação são exibidos em um gráfico semilogarítmico.
  - Off** (Desativado) — (o padrão) os dados de amplificação são exibidos em um gráfico linear.

5. Na seção End-point, selecione o número de ciclos finais para calcular a média ao calcular os end-points:

- **PCR** — o número de ciclos finais para a média para os dados de quantificação (o padrão é 5).
- **End Point Only run** (Corrida de end-point) — o número de ciclos finais para a média para os dados de end-point (o padrão é 2).

6. Na seção Melt Curve (Curva de fusão), selecione o tipo de pico para detectar (positivo ou negativo).
7. Na seção Well Selector (Seletor de poço), selecione como exibir os rótulos dos poços (por tipo de amostra, nome do alvo, ou nome da amostra).
8. Clique em OK para salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo.

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) redefine todas as preferências em todas as guias para as configurações originais de fábrica. Cuidado ao clicar neste botão.

## Configurar os parâmetros padrão do arquivo de dados de expressão gênica

### Para configurar os parâmetros padrão de um novo arquivo de dados de expressão gênica

1. Selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), selecione a guia Gene Expression (Expressão gênica).
3. Especifique os valores para as seguintes configurações:
  - **Relative to** (Relativo a) — grava os dados da expressão gênica relativos a um controle (originado em 1) ou a zero:
    - Zero** — o software ignora o controle. Esse é o padrão quando nenhuma amostra de controle é atribuída na janela Experiment Settings (Configurações de experimento).
    - Control** (Controle) — o software calcula os dados relativos à amostra de controle atribuída na janela Experiment Setup (Configuração de experimento).
  - **X-axis** (Eixo X) — representa graficamente a amostra ou o alvo no eixo x.
  - **Y-axis** (Eixo Y) — gráficos linear, log2 ou escala log10 no eixo y.
  - **Scaling** (Dimensionamento) — a opção de dimensionamento para o gráfico (a opção padrão é sem escala):
    - Highest** (Mais alto) — o software dimensiona o gráfico para o ponto de dados mais alto.
    - Lowest** (Mais baixo) — o software dimensiona o gráfico para o ponto de dados mais baixo.
    - Unscaled** (Sem dimensionamento) — o software apresenta os dados sem dimensionamento 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 erro) — 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, limpe as caixas de seleção de todos os tipos de amostra selecionados.

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

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) redefine todas as preferências em todas as guias para as configurações originais de fábrica. Cuidado ao clicar neste botão.

### Personalizar regras de controle de qualidade

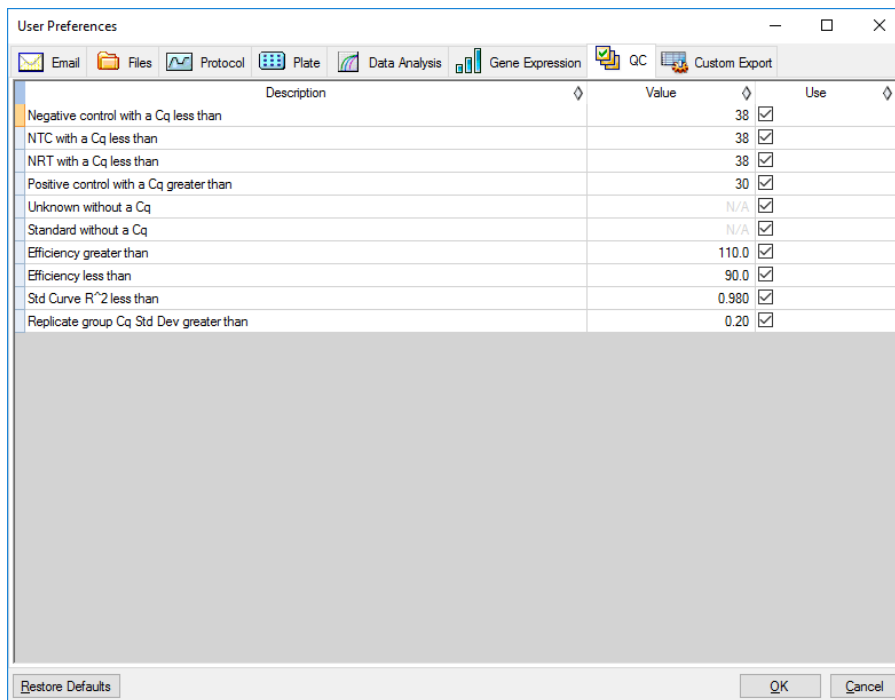
No CFX Maestro Dx SE, é possível definir regras de controle de qualidade, que são aplicadas aos dados na janela Data Analysis (Análise de dados). O software valida os dados em relação à regras configuradas.

**Observação:** por padrão, todas as regras de controle de qualidade estão ativadas.

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

### Personalizar as regras de controle de qualidade

1. Selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), selecione a guia QC (CQ).



Em que:

- **NTC** — controle sem fita molde
  - **NRT** — controle sem transcriptase reversa
  - **Efficiency** (Eficiência) — eficiência da reação
  - **Std Curve R<sup>2</sup>** (R<sup>2</sup> da 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, faça uma das seguintes opções:
    - Para usar o seu valor padrão, não faça nada.
    - Para alterar seu 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 salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo.



**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) redefine todas as preferências em todas as guias para as configurações originais de fábrica. Cuidado ao clicar neste botão.

### Personalizar parâmetros de exportação de dados

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

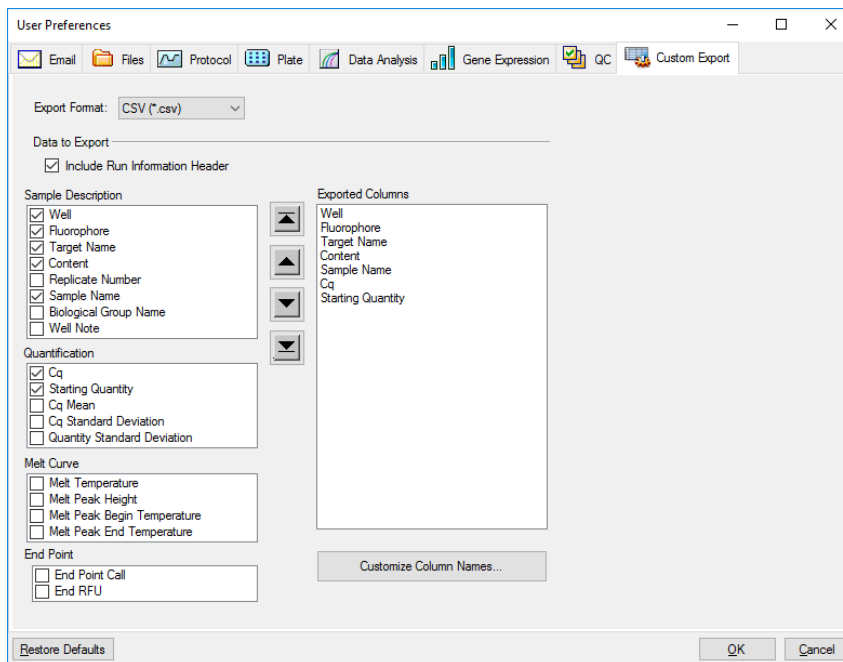
- Texto (.txt)
- CSV (.csv)
- Excel (.xls, .xlsx)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

**Importante:** seu computador deve ter o Microsoft Excel instalado para que você possa exportar dados para uma planilha do Microsoft Excel.

É possível especificar o tipo de dados a serem exportados e customizar a saída dos dados exportados.

#### Para personalizar parâmetros de exportação de dados

1. Selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) para abrir a caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).
2. Na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), selecione a guia Custom Export (Personalizar exportação).



3. Na lista suspensa Export Format (Formato da exportação), selecione um formato no qual exportar os dados.
4. Na seção 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:** por padrão, as informações da corrida estão incluídas no cabeçalho. Desmarque esta caixa de seleção se não desejar que essas informações da corrida sejam incluídas.

5. É possível 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).

A caixa de diálogo Column Name Customizer (Personalizador de nome de colunas) aparece.

- b. Para cada nome padrão de coluna que deseje alterar, digite o novo nome em seu campo Custom Name (Nome personalizado).

c. Execute uma das seguintes opções:

- Clique em OK para salvar as alterações e voltar para a guia Custom Export (Personalizar exportação). O novo nome aparece em parênteses ao lado do nome padrão da coluna na caixa de listagem Exported Columns (Colunas exportadas).
- Clique em Cancel (Cancelar) para desfazer as alterações e voltar para a guia Custom Export (Personalizar exportação).

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

**Importante:** clicar em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) redefine todas as preferências em todas as guias para as configurações originais de fábrica. Cuidado ao clicar neste botão.

## Capítulo 7 Criar protocolos

Um protocolo é um conjunto de etapas executadas em uma sequência específica. No CFX Maestro Dx Software, Security Edition, todas as etapas estão associadas às opções do instrumento. Por exemplo, as etapas instruem o instrumento a 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 fornece duas opções para criar protocolos: Protocol Editor (Editor de protocolo) e Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo).

Os recursos do Protocol Editor (Editor de protocolo) incluem o seguinte:

- Controles 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 corrida para o tipo de placa selecionado.
- Capacidade de editar etapas do protocolo.
- Capacidade de salvar protocolos para reutilização.
- Capacidade de imprimir o protocolo para uma impressora padrão.

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

## Parâmetros e intervalos para etapas de 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 de tempo especificado (o tempo de espera).

### Etapas de gradiente

O intervalo do gradiente é a diferença entre as temperaturas inferior e superior em uma 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 o gradiente de temperatura-alvo em todo o bloco e mantém essa temperatura pelo tempo de espera especificado.

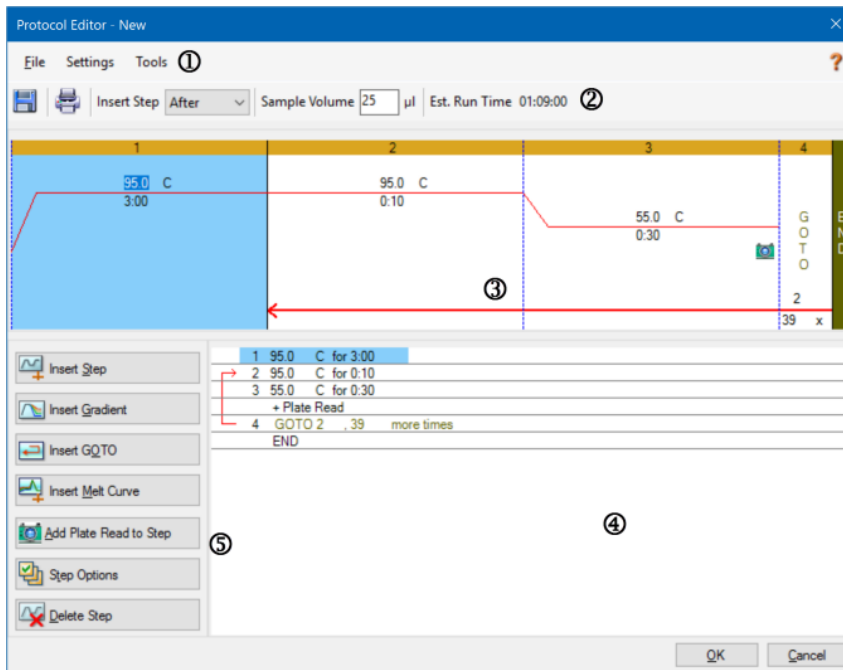
**Importante:** o instrumento calcula o valor do gradiente. Quando você insere um valor nos campos superior e inferior da calculadora de gradiente, o software calcula e atribui automaticamente as temperaturas aos campos restantes. Quando você insere uma temperatura em qualquer campo entre os campos superior 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 etapas de 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 os sistemas CFX Opus 384 Dx : 0,1–2,5 °C por segundo</li> <li>■ Para os sistemas CFX Opus Deepwell Dx: 0,1–2,5 °C por segundo</li> </ul>	<p>Instrui o termociclador a aquecer até a 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 (Estender)	Um tempo de -60 a 60 segundos por ciclo	<p>Instrui o termociclador a estender 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, revisar e editar um protocolo. Por padrão, 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 de menu File (Arquivo), Settings (Configurações) e Tools (Ferramentas).
2. A barra de ferramentas fornece acesso rápido para salvar 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 controles de protocolo que é possível adicionar para personalizar o protocolo.

## Comandos do menu File (Arquivo)

**Save** (Salvar) — salva o protocolo atual.

**Save As** (Salvar como) — salva o protocolo atual com um novo nome ou em um novo local.

**File Passwords** (Senhas de arquivo) — permite que os usuários definam senhas para salvar e abrir os arquivos.

**Dica:** para obter mais informações, consulte [Proteger arquivos com senha na página 52](#).

**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 de 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 de corrida). O padrão é 96 poços, todos os canais.

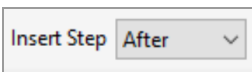
## Comandos da barra de ferramentas



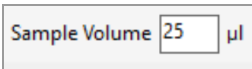
— salva o arquivo de protocolo atual.



— imprime a janela selecionada.



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

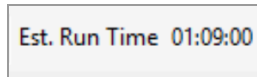


— use este comando para inserir um volume de amostra em µl. Os volumes de amostra diferem dependendo do tipo de bloco:

- 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 elevação e o tipo de bloco selecionado.

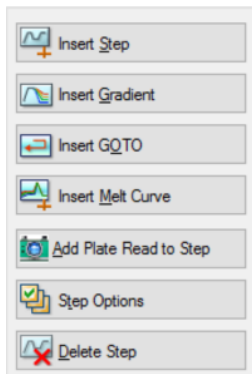


— exibe informações de ajuda sobre protocolos.

## Controles de edição de protocolo

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

Cada controle consiste em um conjunto de parâmetros que representam uma etapa no protocolo. É possível modificar cada parâmetro e adicioná-los ou removê-los para customizar seu protocolo. Esta seção descreve as opções em cada controle.



- **Insert Step** (Inserir etapa) — insere uma etapa antes ou depois da etapa selecionada. É possível editar os valores de temperatura e tempo de retenção na exibição gráfica do protocolo ou no traçado 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 informa ao 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 informar 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 traçado 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 etapa geralmente é a última etapa em um 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 [Opções de etapa na página 106](#) para informações detalhadas sobre as opções da etapa.

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

- **Delete Step** (Excluir etapa) — exclui a etapa selecionada do protocolo.

## Opções de etapa

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

The image shows a software dialog box titled "Step Options". It is divided into two main sections. The left section, labeled "Step 1", contains several configuration options: a checkbox for "Plate Read", a "Temperature" field with a value of "95.0" and a unit of "°C", a "Gradient" field with a unit of "°C", an "Increment" field with a unit of "°C/cycle", a "Ramp Rate" field with a unit of "°C/sec", a "Time" field with a value of "3:00" and a unit of "sec/cycle", an "Extend" field with a unit of "sec/cycle", and a "Beep" checkbox. The right section, labeled "Gradient", consists of a vertical column of eight empty text boxes labeled A through H. At the bottom of the dialog are "OK" and "Cancel" buttons.

- **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, digite um sinal de menos (-) antes do valor numérico (por exemplo, -5° C).
- **Ramp Rate** (Intervalo de rampa) — a taxa de rampa para a etapa selecionada; o intervalo depende do tamanho do bloco.
- **Time** (Tempo) — o tempo de espera para a etapa selecionada.

- **Extend** (Estender) — a quantidade de tempo (em segundos) para estender ou diminuir 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, um sinal sonoro é emitido durante a etapa.

**Dica:** quando você 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 arquivos de protocolo personalizado. Também é possível editar e salvar arquivos de protocolo salvos anteriormente ou arquivos de protocolo de amostra enviados com o CFX Maestro Dx SE.

Para criar um novo arquivo de protocolo, faça o seguinte:

- Abrir um arquivo de protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo).

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

- Configurar o novo protocolo.
- Adicionar etapas ao protocolo a partir do painel de controles de protocolo.
- Editar as propriedades das etapas.
- Salvar o protocolo.

**Dica:** para criar um novo protocolo a partir de um salvo anteriormente ou de um modelo de arquivo de protocolo, consulte [Abrir um protocolo existente no Protocol Editor \(Editor de protocolo\) na página 110](#).

## Abrir um novo arquivo de protocolo no Protocol Editor (editor de protocolo)

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

- No menu File (Arquivo) na janela inicial
- Na caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida) na janela inicial
- Na caixa de diálogo do Startup Wizard (Assistente de inicialização) na janela inicial

### Para abrir um novo arquivo de protocolo a partir do menu File (Arquivo)

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

A janela Protocol Editor (Editor de protocolo) abre exibindo o layout da protocolo padrão.

**Dica:** para obter informações sobre como configurar o seu protocolo padrão, consulte [Alterar as configurações de arquivo padrão na página 86](#).

### **Abrir um novo protocolo na caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida)**

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

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

A caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida) abre na guia Protocol (Protocolo) e exibe seu arquivo de protocolo padrão.

2. Clique em Create New (Criar novo).

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

### **Abrir um novo arquivo de protocolo a partir do Startup Wizard (Assistente de inicialização)**

1. Na janela Home (Início), execute uma das opções a seguir para abrir o Startup Wizard (Assistente de inicialização), se não estiver na visualização:

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

2. Se necessário, selecione o tipo de instrumento na lista suspensa.

3. Clique em User-defined (Definido pelo usuário) como run type (tipo de corrida).

A caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida) abre na guia Protocol (Protocolo) e exibe o arquivo de protocolo padrão.

4. Clique em Create New (Criar novo).

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

### **Para abrir um novo protocolo a partir do menu Run (Executar)**

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

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

A caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida) abre na guia Protocol (Protocolo) e exibe seu arquivo de protocolo padrão.

2. Clique em Create New (Criar novo).

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

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

O CFX Maestro Dx SE fornece arquivos de protocolo de amostra que é possível editar e salvar como novos protocolos customizados. Também é possível criar um novo protocolo a partir de um protocolo personalizado existente.

### Abrir um arquivo de protocolo de amostra

1. Na janela Home (Início), selecione File (Arquivo) > Open (Abrir) > Protocol (Protocolo).  
Por padrão, o Windows Explorer abre o local da pasta de arquivos Sample (Amostra) do CFX Maestro Dx SE.
2. Abra a pasta de arquivos Sample (Amostra). Você verá as seguintes pastas:
  - **ConventionalProtocols** — contém exemplos de arquivos de protocolo para análise tradicional de PCR.
  - **DataFiles** — contém exemplos de arquivos de dados que é possível usar para explorar os recursos do CFX Maestro Dx SE.
  - **MeltCalibration** — contém exemplos de arquivos de protocolo para uso com a Precision Melt Analysis (Análise de fusão de precisão) do software Bio-Rad
  - **Plates** — contém exemplos de arquivos de placa.
  - **RealTimeProtocols** — contém exemplos de arquivos de protocolo para análise de PCR em tempo real.
3. Abra a pasta do protocolo para o tipo de corrida que você planeja executar, ConventionalProtocols ou RealTimeProtocols.
4. Selecione o protocolo de sua escolha e clique em Open (Abrir).  
O arquivo do protocolo é aberto na janela Plate Editor (Editor de protocolo).
5. Selecione File (Arquivo) > Save As (Salvar como) e salve o protocolo com um novo nome ou em uma nova pasta.

### Abrir um protocolo existente

1. Na janela Home (Início), execute uma das seguintes opções:
  - Selecione File (Arquivo) > Open (Abrir) > Protocol (Protocolo), navegue, selecione a protocolo alvo e clique em Open (Abrir).

- Abra o Startup Wizard (Assistente de inicialização) 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 o arquivo alvo.

O protocolo é aberto na janela Plate Editor (Editor de protocolo).

2. Selecione File (Arquivo) > Save As (Salvar como) e salve o protocolo com um novo nome ou em uma nova pasta.

## Configurar um novo protocolo

**Dica:** se o arquivo de protocolo incluir os parâmetros necessários (por exemplo, se estiver editando um arquivo de placa existente), poderá ignorar esta seção. Siga para [Adicionar etapas em um protocolo na página 113](#).

Novos arquivos de protocolo requerem os seguintes parâmetros:

- Tipo de bloco
- Modo de leitura para o tipo de bloco selecionado
- Temperatura da tampa
- Volume de amostras



## Configurar 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 que a placa no módulo de reação.

### Para configurar 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 alvo e o modo de leitura.

### Selecionar o tipo de bloco e o modo de leitura

- ▶ Na janela do Protocol Editor (Editor de protocolo), selecione Tools (Ferramentas) > Calculator (Calculadora) de 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 padrão da tampa conforme o seguinte:

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

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

### Ajustar a temperatura da tampa

1. Na janela Plate Editor (Editor de placa), selecione Settings (Configurações) > Lid Settings (Configurações da tampa).

A caixa de diálogo Lid Settings (Configurações da tampa) aparece.

2. Execute uma das seguintes opções:
  - Selecione User Defined (Definido pelo usuário) 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.

## Configurar o volume de amostra

Por padrão, 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 dos dois modos de controle de temperatura para determinar quando a amostra atinge a temperatura alvo em um 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 registra a temperatura da amostra como a mesma que a temperatura medida no bloco.

### 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 padrão na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário). Consulte [Alterar as configurações de arquivo padrão na página 86](#).

## Adicionar etapas em um protocolo

### Para adicionar etapas em 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 anterior ou posterior à qual você planeja 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 padrão do gráfico ou no esboço do protocolo e digite 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 acessar a caixa de diálogo Step Options (Opções de etapa) no menu de clique com o botão direito no painel do gráfico ou no painel de esboço do protocolo.

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

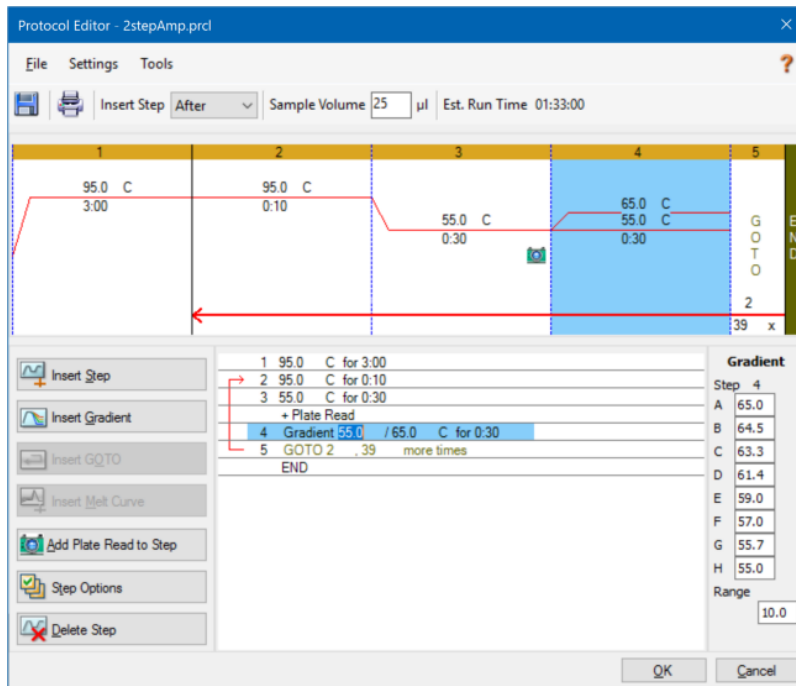
A caixa de diálogo Save As (Salvar como) aparece.

8. Na caixa de diálogo Save As (Salvar como), digite um nome para o novo arquivo de protocolo e clique em Save (Salvar).

## Inserir uma etapa de gradiente

### 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 isso 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 contorno, selecione a etapa antes ou depois da qual você planeja 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 contorno, por exemplo:



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

6. Para editar o intervalo de temperatura do gradiente, execute uma das seguintes opções:
  - Clique na temperatura padrão no de painel gráfico ou contorno 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).
7. Para editar o tempo de retenção, clique no tempo padrão na visualização de gráfico ou texto e digite um novo tempo.
8. Clique em OK e em Yes (Sim) para salvar as alterações.

## Inserir uma 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.

### Inserir uma 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 você planeja 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 padrão no painel gráfico ou de contorno e insira um novo valor.
5. Clique em OK e em Yes (Sim) para salvar as alterações.

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

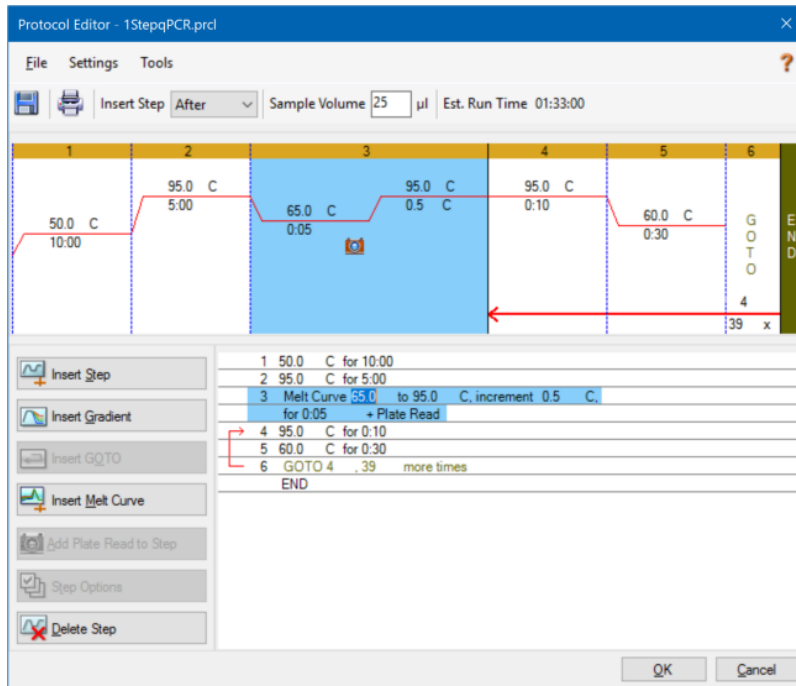
**Dica:** não é possível inserir uma etapa de curva de fusão dentro de um loop GOTO (IR PARA).

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

### 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 você planeja 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 contorno, por exemplo:



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

### Para adicionar uma leitura de placa em 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 você planeja inserir a etapa de leitura de placa.
3. No painel da esquerda pane, 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 salvar as alterações.

### Para 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 opções de etapa

### Alterar opções de etapa para uma etapa selecionada

1. Selecione a etapa desejada no painel gráfico ou de contorno.
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 mouse na etapa desejada no painel e selecione Step Options (Opções de etapa) no menu exibido.
3. Para adicionar, modificar ou remover opções:
  - Digite um valor na caixa de texto apropriada.
  - Edite um valor na caixa de texto específica.
  - Selecione ou desmarque uma caixa de seleção.
4. Clique em OK para salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo Step Options (Opções de etapa).
5. Clique em OK e em Yes (Sim) para salvar o protocolo.

## Excluir uma etapa

**Importante:** não é possível desfazer esta função. Tome cuidado ao excluir etapas.

### Para excluir uma etapa no protocolo

1. Selecione a etapa no painel gráfico ou de contorno.
2. No painel da esquerda, clique em Delete Step (Excluir etapa) para excluir a etapa selecionada.
3. Clique em OK e em Yes (Sim) para salvar o protocolo.

## Copiar, exportar ou imprimir um protocolo

### Para copiar um protocolo

- ▶ Clique com o botão direito do mouse no contorno do protocolo e selecione Copy Protocol (Copiar protocolo).

É possível colar o contorno em um arquivo .txt, .xls, .doc ou .ppt.

### Para exportar um protocolo

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

A caixa de diálogo Save As (Salvar como) aparece.

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

### Para imprimir um protocolo

- ▶ Clique com o botão direito do mouse no contorno do protocolo e selecione Print (Imprimir).

É possível imprimir o contorno do protocolo em sua impressora padrão.



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

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

O Protocol AutoWriter (Gravador 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 anelamento) — a reação  $T_a$  para os primers sendo usados  
  
Se o  $T_a$  for desconhecido, será possível usar a calculadora  $T_a$  para calculá-lo automaticamente com base em sua sequência de primers.  
  
**Observação:** a  $T_a$  é ajustado a partir da informação da temperatura de fusão do primer ( $T_m$ ), 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 você usar uma enzima diferente de DNA polimerase iTaq ou iProof, poderá inserir informações adicionais, incluindo o intervalo de gradiente, o tempo de ativação de hot-start (em segundos) e o tempo de extensão final (em segundos).
- **Run speed** (Velocidade de corrida) — a velocidade da reação (standard (padrão), fast (rápida) ou ultrafast (ultrarrápida))

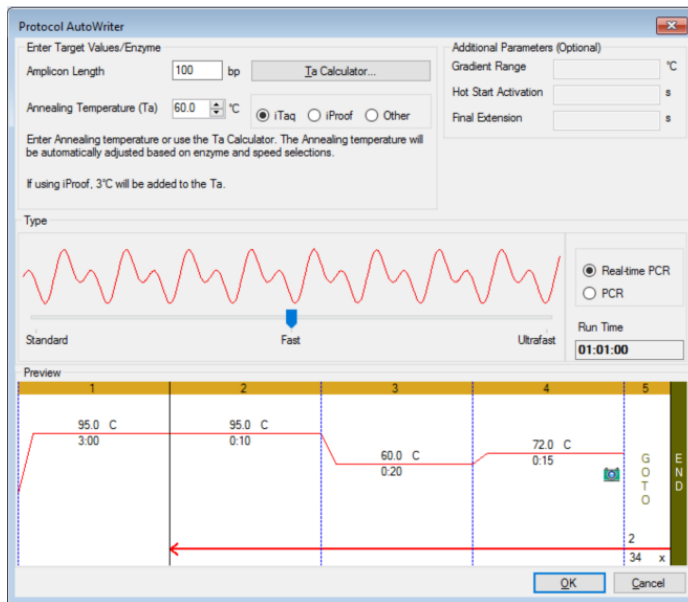
O Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo) otimiza o protocolo, dependendo da configuração de velocidade selecionada. O tempo total de corrida é determinado pelo número de etapas e ciclos, o tempo de incubação em cada etapa e o tempo necessário para atingir a uniformidade na temperatura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

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

## Criar um novo protocolo usando o Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo) do CFX Maestro Dx SE

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

A caixa de diálogo Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo) aparece.



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

- Insira Annealing temperature (Temperatura de anelamento) ( $T_a$ ) para os primers em uso, se souber.

**Dica:** consulte [Usar a Ta Calculator \(Calculadora Ta\) na página 122](#) para obter mais informações.

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

- Digite o 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 você selecionar Other (outro) como o tipo de enzima, os parâmetros na seção Additional Parameters (Optional) (Parâmetros Adicionais (Opcional)) se tornarão ativos.

3. Se você selecionou Other (outro) 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 partida a quente)
  - Final extension time (Tempo de extensão final)
4. Na seção 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 corrida (Real-time PCR (PCR em tempo real) é o padrão).

Com o Real-time PCR (PCR em tempo real), o CFX Maestro Dx SE adiciona uma etapa de leitura de placa para coletar dados de fluorescência.
6. Na seção Preview (Visualização), revise o protocolo. É possível fazer alterações, conforme necessário.
7. Execute uma das seguintes opções:
  - Clique em OK para salvar o novo protocolo. Depois de salvá-lo, o protocolo é aberto no Startup Wizard (Assistente de inicialização). Clique em Edit Selected (Editar selecionado) para fazer qualquer alteração no protocolo. Por exemplo, você pode precisar alterar a temperatura da tampa e o volume da amostra.
  - Clique em Cancel (Cancelar) para fechar a janela sem salvar o protocolo.

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

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

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

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

O  $T_a$  para o protocolo é baseado no primer médio de valores  $T_m$  com as seguintes regras aplicadas:

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

## Método de contagem de pares de bases

Para cada primer, a  $T_a$  Calculator (Calculadora 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, respectivamente.

## Método de vizinho mais próximo

Para sequências mais longas do que 14 bp, o método de vizinho mais próximo é usado. 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 liberado 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 nucleotídeos 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:

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

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

Substituir G nas duas equações e solucionar T resulta em

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

supondo que as concentrações de DNA e complexo DNA-primer 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. Isso é presumivelmente a energia de iniciação da hélice. Por fim, adicionar um ajuste salino dá a equação que a calculadora  $T_a$  usa:

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

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 o anelamento ocorra no pH 7,0. Os cálculos de  $T_m$  supõem que as sequências não sejam simétricas e contêm 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**

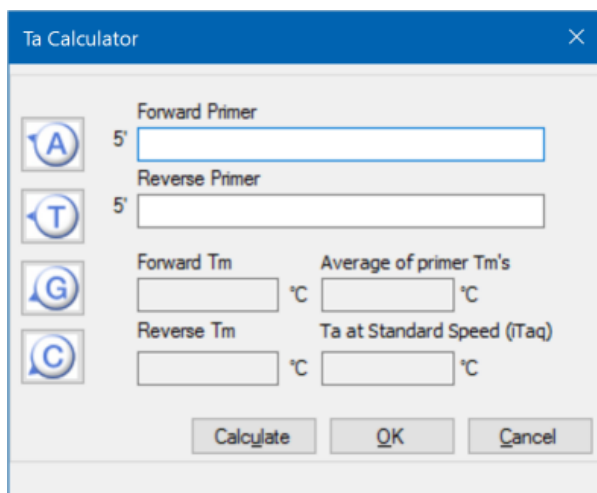
Interação		$\Delta H$	$\Delta S$	$\Delta G$
AA	TT	9,1	24	1,5
AT	TA	8,6	23,9	1,5
AC	TG	6,5	17,3	1,3
AG	TC	7,8	20,8	1,6
TA	AT	6	16,9	0,9
TT	AA	9,1	24	1,9
TC	AG	5,6	13,5	1,6
TG	AC	5,8	12,9	1,9
CA	GT	5,8	12,9	1,9
CT	GA	7,8	20,8	1,6
CC	GG	11	26,6	3,1
CG	GC	11,9	27,8	3,6
GA	CT	5,6	13,5	1,6
GT	CA	6,5	17,3	1,3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

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

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

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

A caixa de diálogo T<sub>a</sub> Calculator (Calculadora Ta) aparece.



2. Na caixa de diálogo Forward Primer (Primer de avanço), digite ou cole a sequência de primer de avanço.

**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 primer reverso na caixa de texto Reverse Primer (Primer reverso).
4. Clique em Calculate (Calcular).

A  $T_a$  Calculator (Calculadora  $T_a$ ) calcula e exibe o  $T_m$  de cada primer 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 de primer  $T_m$  tiverem mais de 4 °C de distância, o Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo) usa o valor mais baixo de primer  $T_a + 2$  °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  $T_a$ ) gera uma temperatura de anelamento 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  $T_a$ ) tiver sido aberta pelo Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo), clique em OK. Você retornará ao Protocol AutoWriter (Gravador automático de protocolo). A temperatura de anelamento é modificada automaticamente.
  - Se a  $T_a$  Calculator (Calculadora  $T_a$ ) tiver sido aberta pelo menu Tools (Ferramentas), grave os cálculos e clique em Cancel (Cancelar) para fechar a calculadora.

## Capítulo 8 Preparar placas

Um arquivo de placa contém informações sobre parâmetros de corrida, como modo de verificação, fluoróforos e conteúdo do poço. Após a corrida, o CFX Maestro Dx Software, Security Edition associa o conteúdo do poço aos dados de fluorescência coletados 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 gênica normalizada.

O Plate Editor (Editor de placa) inclui os seguintes recursos:

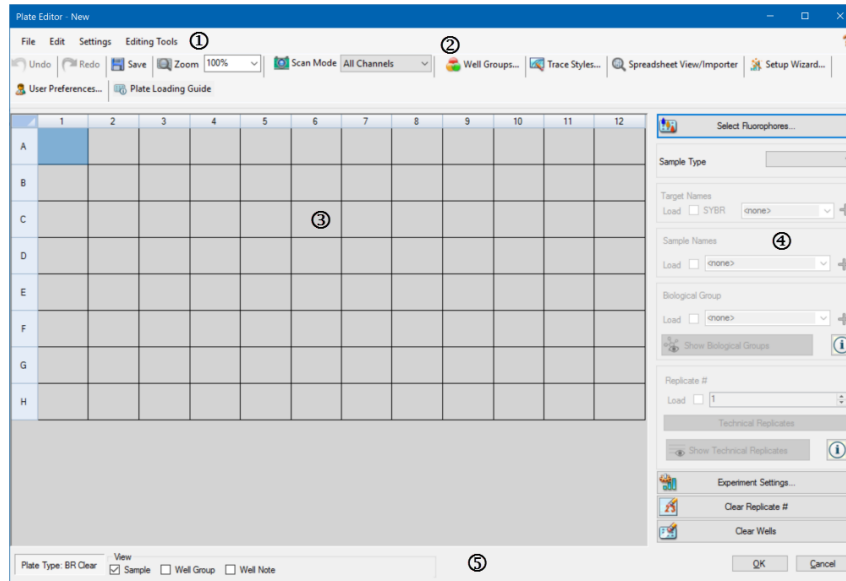
- Fluoróforos padrão e tipos de amostras para atribuir a poços de placa.
- Capacidade de configurar alvo de referência e amostra de controle para análise de expressão gênica.
- Capacidade de editar a configuração da placa antes, durante ou depois de uma corrida.
- Capacidade de salvar arquivos de placa para reutilização.
- Capacidade de imprimir o arquivo de placa em uma impressora padrão.

O Setup Wizard (Assistente de configuração) orienta você através da criação de um layout de placa para análise de expressão gênica 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 fornece acesso rápido aos comandos do menu File (Arquivo) e Settings (Configurações), bem como às opções de ferramentas de edição de placas.
2. A barra de ferramentas fornece acesso rápido a funções importantes de carregamento de placas.
3. O painel principal exibe o esboço da placa e as opções da placa à medida que são aplicadas.
4. O painel direito exibe as opções usadas para customizar a sua placa.
5. O painel inferior exibe o tipo de placa e fornece acesso rápido às opções de visualização.

## Comandos do menu File (Arquivo)

**Save** (Salvar) — salva o arquivo de dados da placa no local especificado na guia File (Arquivo) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário). Consulte [Alterar as configurações de arquivo padrão na página 86](#) para obter mais informações. Este item de menu está disponível somente ao criar um novo arquivo de placa.

**Save As** (Salvar como) — salva o arquivo de dados de placa aberto com um novo nome fornecido pelo usuário. Este item de menu está disponível somente ao criar um novo arquivo de placa.

**File Passwords** (Senhas de arquivo) — permite que os usuários definam senhas para salvar e abrir os arquivos.

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

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

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

## Comandos do menu Edit (Editar)

**Undo** (Desfazer) — reverte uma alteração para um arquivo de placa até que a placa seja salva.

**Redo** (Refazer) — inverte a ação Undo (Desfazer) mais recente, a menos que o arquivo de placa tenha sido salvo.

## 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.

**Escolha 96 poços para:**

- CFX Opus 96 Dx
- CFX Opus Deepwell Dx

**Escolha 384 poços para:**

- CFX Opus 384 Dx

**Plate Type** (Tipo de placa) — permite que você escolha o tipo de poços na placa que contém suas 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 78](#) para obter mais informações.

**Number Convention** (Convenção de números) — permite que você selecione ou desmarque a opção para exibir unidades em notação científica. O padrão é exibir unidades em notação científica.

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

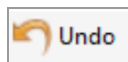
## Editar os comandos do menu Tools (Ferramentas)

**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** (Visualizar/importar planilha) — abre a caixa de diálogo View (Visualizar), que exibe o layout da placa como um modelo em formato de planilha. 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 barra de ferramentas



Undo

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



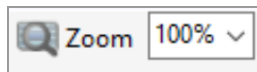
Redo

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



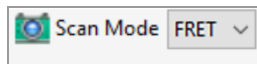
Save

Salva o arquivo de placa atual.



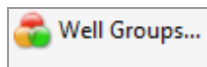
Zoom 100% ▾

Exibe uma lista suspensa da qual é possível aumentar ou reduzir a magnificação da visualização de placa.



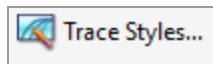
Scan Mode FRET ▾

Exibe uma lista suspensa a partir da qual é possível selecionar um modo de varredura, que instrui o instrumento de quais canais coletar os dados de fluorescência durante uma corrida.



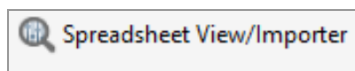
Well Groups...

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



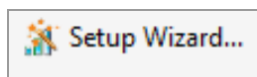
Trace Styles...

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



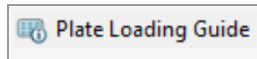
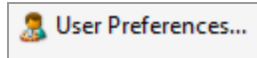
Spreadsheet View/Importer

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



Setup Wizard...

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 a guia Plate (Placa) na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário), onde é possível definir parâmetros de layout de placa e criar ou excluir nomes de alvo, amostra e grupo biológico. As alterações feitas na guia 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 arquivo de placa usando o Plate Editor (Editor de placa)

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

Para criar um novo arquivo de placa, faça o seguinte:

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

- Selecione o tipo de placa.

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

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

**Dica:** para criar uma nova placa a partir de uma salva anteriormente ou de um modelo de arquivo de placa, consulte [Abrir um arquivo de placa existente no Plate Editor \(Editor de placa\) na página 134](#).

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

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

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

### Para abrir um novo arquivo de placa a partir da janela Home (Início)

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

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

**Dica:** para obter informações sobre como configurar o seu arquivo de placa padrão, consulte [Alterar as configurações de arquivo padrão na página 86](#).

### **Abrir um novo arquivo de placa a partir do Startup Wizard (Assistente de inicialização)**

1. Na janela Home (Início), execute uma das opções a seguir para abrir o Startup Wizard (Assistente de inicialização), se não estiver na visualização:
  - Selecione View (Exibir) > Startup Wizard (Assistente de inicialização).
  - Clique em Startup Wizard (Assistente de inicialização) na barra de ferramentas.
2. Se necessário, selecione o tipo de instrumento na lista suspensa.
3. Para criar uma nova placa, clique em User-defined (Definido pelo usuário) como o tipo de corrida.  
A caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida) abre exibindo a guia Protocol (Protocolo).
4. Clique na guia Plate (Placa) e em Create New (Criar novo).  
A janela Plate Editor (Editor de placa) abre exibindo o layout da placa padrão para o instrumento selecionado.

### **Abrir um novo arquivo de placa na caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida)**

1. Na janela Home (Início), execute uma das opções a seguir para abrir a caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida):
  - Selecione Run (Executar) > User-defined Run (Corrida definida pelo usuário).
  - Clique em User-defined Run Setup (Configuração de corrida definida pelo usuário) na barra de ferramentas.A caixa de diálogo Run Setup (Configuração de corrida) abre na guia Protocol (Protocolo).
2. Para criar uma nova placa, clique na guia Plate (Placa) e clique em Create New (Criar novo).  
A janela Plate Editor (Editor de placa) abre exibindo o layout da placa padrão para o instrumento selecionado.

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

O CFX Maestro Dx SE fornece arquivos de placa de amostra que é possível editar e salvar como uma nova placa. Também é possível criar um novo arquivo de placa a partir de um arquivo de placa salvo anteriormente.

### Abrir um arquivo de placa de amostra

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

O Windows Explorer abre o local da pasta de arquivos Sample (Amostra) do Sistema CFX Opus Dx.

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

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

4. Selecione File (Arquivo) > Save As (Salvar como) e salve o arquivo de placa com um novo nome ou em uma nova pasta.

### Abrir um arquivo de placa de amostra previamente salvo

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

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

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

2. Selecione File (Arquivo) > Save As (Salvar como) e salve o arquivo de placa com um novo nome ou em uma nova pasta.

## Configurar um novo arquivo de placa

**Dica:** se o arquivo da placa incluir os parâmetros necessários (por exemplo, se estiver editando uma amostra ou um arquivo de placa existente), poderá ignorar esta seção. Continue com [Atribuir parâmetros opcionais a um arquivo de placa na página 143](#).

Novos arquivos de placa requerem os seguintes parâmetros:

- Tamanho da placa
- Tipo de placa
- Modo de leitura
- Um fluoróforo (corante)
- 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 seja o mesmo da placa que será usada na corrida.

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

**Dica:** para calibrar uma nova combinação de corante e tipo de placa em um 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 78](#).

### Selecionar o modo de leitura

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

O CFX Maestro Dx SE fornece três modos de leitura:

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



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

### Selecionar fluoróforos

**Importante:** antes de iniciar a corrida, os sistemas CFX verificam se os fluoróforos especificados na placa estão calibrados naquele instrumento. Não é possível correr uma placa se ela 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 quantos fluoróforos 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 controles 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 verificação selecionado:

- All Channels (Todos os canais)

Todos os fluoróforos disponíveis aparecem.

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

- SYBR®/FAM

Apenas fluoróforos do canal 1 aparecem.

- FRET

Apenas o fluoróforo do canal 6 aparece.

**Dica:** o fluoróforo FRET do canal 6 aparece somente 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 novos fluoróforos em um 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 78](#).

## 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 (controle sem fita molde))
- Positive Control (Controle positivo)
- Negative Control (Controle negativo)
- NRT (no reverse transcriptase (sem transcriptase reversa))

Atribua os tipos de amostra aos poços de placa.

## Configurar uma nova placa

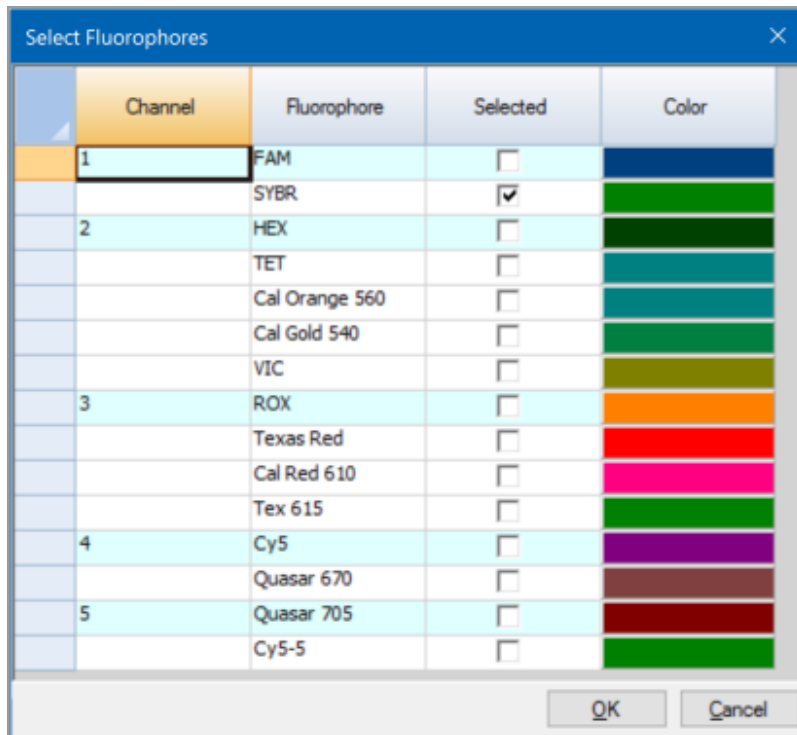
### Configurar uma nova placa

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:** Scientific Notation (Notação científica) está selecionada, por padrão. Neste caso, selecionar Scientific Notation (Notação científica) desmarca o padrão e configura 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 do , 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).

A caixa de diálogo Select Fluorophores (Selecionar fluoróforos) aparece. Você verá os fluoróforos disponíveis para o tipo de modo de leitura selecionado na [Etapa 5](#), por exemplo:



- b. Para selecionar um fluoróforo, clique em sua caixa de verificação 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 em sua 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 nova cor para representar o fluoróforo.

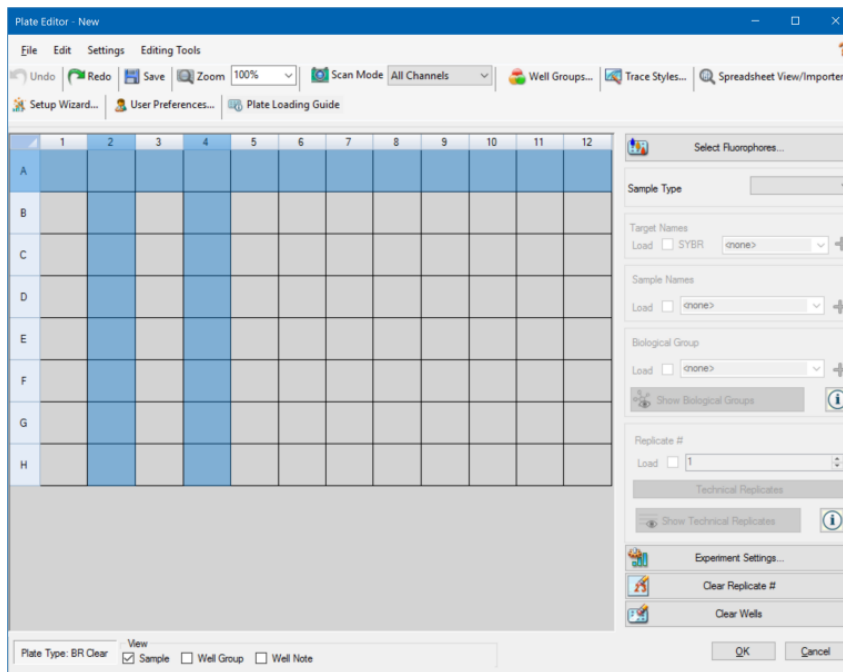
Criar um arquivo de placa usando o Plate Editor (Editor de placa)

- e. Clique em OK para salvar as alterações e sair da caixa de diálogo Select Fluorophores (Selecionar fluoróforos).
7. Deve-se selecionar ao menos um poço no qual carregar um tipo de amostra. Por padrão, o poço A1 está selecionado.

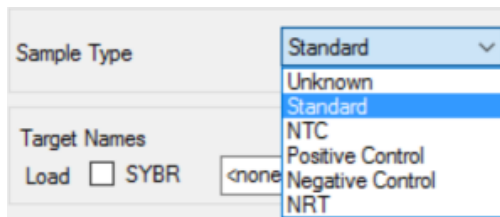
No painel de placa, execute uma das seguintes opções:

- Para carregar vários poços adjacentes, clique em um poço e arraste para o poço alvo.
- Para carregar vários poços não adjacentes, mantenha pressionada a tecla Control 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).

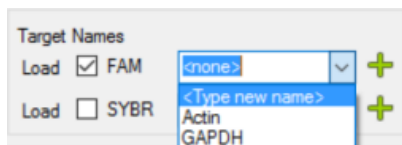


9. Atribua pelo menos um fluoróforo a todos os poços que contenham um tipo de amostra. É possível atribuir mais de um fluoróforo para um poço ou grupo de poços.

**Observação:** é possível atribuir apenas um fluoróforo por canal. Não é possível atribuir mais de um fluoróforo do mesmo canal 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 o experimento.

- Para atribuir apenas um fluoróforo aos poços selecionados, na seção 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 seção Target names (Nomes de alvos), selecione um nome de alvo na lista suspenso para o fluoróforo específico. O software marca automaticamente sua 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. Por padrão, 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 seção Concentration (Concentração), clique em Load (Carregar) para carregar o valor para o(s) poço(s) selecionado(s).
  - (Opcional) Para carregar outra concentração, digite 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 arquivo 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 salvar a nova placa.

## Itens de menu de clique com o botão direito para a ferramenta Plate Editor (Editor de placa)

A [Tabela 9](#) lista os itens de menu disponíveis na ferramenta Plate Editor (Editor de placa) ao clicar com o botão direito em qualquer poço na ferramenta. Este menu também aparece em Spreadsheet View/Importer (Visualizar/Importar planilhas).

**Tabela 9. Itens de menu de clique com o botão direito do mouse na ferramenta View/Importer (Visualizar/Importar) da planilha de placas**

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

## Atribuir parâmetros opcionais a um arquivo de placa

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

No CFX Maestro Dx SE, você pode atribuir parâmetros a cada poço em sua placa antes, durante ou mesmo depois de executar experimentos. Você pode atribuir os parâmetros a um arquivo de placa existente ou a um novo arquivo 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 camundongo1, camundongo2 ou camundongo3.
- **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 na guia Gene Expression (Expressão gênica) 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 "Camundongo 1" não é o mesmo que "camundongo1." Para garantir a consistência da nomenclatura, insira os nomes na seção Libraries (Bibliotecas) em User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) > 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 replicados 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 salva as alterações e desativa Undo (Desfazer) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa). Tome cuidado ao clicar em OK.



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

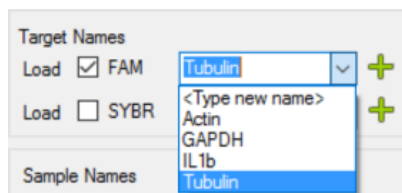
1. No Plate Editor (Editor de placa), certifique-se de que o poço ou o grupo de poços teve um tipo de amostra atribuído.

Consulte [Selecionar tipos de amostra na página 137](#) 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 em um 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 em seu 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 salvar a placa.

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

### Para remover um nome de alvo

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

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

### Para adicionar um nome de alvo à lista

- ▶ Para adicionar um nome de alvo à lista suspensa, faça um dos seguintes:
  - Digite um nome na lista suspensa Target Name (Nome do alvo) e pressione Enter.  
**Dica:** os nomes de alvos que você adicionar a uma lista aparecerão em todas as outras listas de alvos.
  - Clique no símbolo + verde à direita da lista suspensa, digite um nome para o alvo e pressione Enter.
  - Clique em User Preferences (Preferências do usuário) na barra de ferramentas e adicione o nome à biblioteca Target Names (Nomes de alvos) na guia Plate (Placa).

**Importante:** os nomes de alvos que você adicionar na lista suspensa estão disponíveis somente para a placa atual e apenas se você atribuir o nome a um poço e salvar o layout da placa. Se você não atribuir o nome a um poço e salvar o layout da placa, o nome não será salvo 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 usuários). Os nomes que você adicionar à biblioteca estarão disponíveis quando você abrir o Plate Editor (Editor de placa) novamente. Consulte [Configurar os parâmetros de placa padrão na página 89](#) para obter mais informações.

### Para excluir um nome de alvo da lista

1. Clique em User Preferences (Preferências do usuário) na barra de ferramentas.  
A caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) aparece exibindo a guia Plate (Placa).
2. Na biblioteca User Preferences (Preferências do usuário) na guia Plate (Placa), selecione o nome a excluir e pressione a tecla Delete.
3. Clique em OK para salvar as modificações e sair da caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).

**Importante:** não é possível excluir nomes de alvos que tenham sido salvos com um arquivo de placa. Nomes personalizados que sejam adicionados à lista suspensa Target Names (Nomes de alvos) e não sejam usados e salvos com a placa serão removidos da lista automaticamente. Nomes que sejam excluídos da biblioteca Target Names (Nomes de alvos) serão removidos do software permanentemente e deixarão de estar disponíveis para os usuários. Tome cuidado ao excluir nomes de alvos.

## Atribuir um nome de amostra a poços

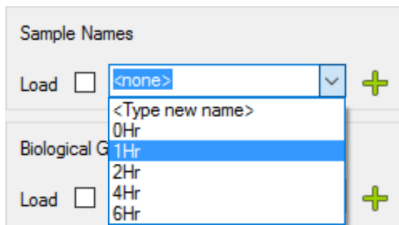
**Observação:** para atribuir um nome de amostra, é necessário atribuir aos poços selecionados ao menos um fluoróforo. Se os poços selecionados não forem atribuídos a um fluoróforo, a lista suspensa Sample Names (Nomes de amostras) é desativada. Consulte [Atribuir um alvo a poços na página 143](#) para obter mais informações sobre atribuição de fluoróforos.

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

### Para 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 teve 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 sua 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 salvar a placa.

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

### Para remover um nome de amostra

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

### Para adicionar um nome de amostra à lista

- ▶ Para adicionar um nome de amostra à lista suspensa, faça um dos seguintes:
  - Digite um nome na lista suspensa Sample names (Nomes de amostras) e pressione Enter.
  - Clique no símbolo + verde à direita da lista suspensa e digite um nome para a amostra.

- Clique em User Preferences (Preferências do usuário) na barra de ferramentas e adicione o nome à biblioteca Sample names (Nomes de amostras) na guia Plate (Placa).

**Importante:** os nomes de placas que você adicionar na lista suspensa estão disponíveis somente para a placa atual e apenas se você atribuir o nome a um poço e salvar o layout da placa. Se você não atribuir o nome a um poço e salvar o layout da placa, o nome não será salvo 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 usuários). Os nomes que você adicionar à biblioteca estarão disponíveis quando você abrir o Plate Editor (Editor de placa) novamente. Consulte [Configurar os parâmetros de placa padrão na página 89](#) para obter mais informações.

### Para excluir um nome de amostra da lista

1. Clique em User Preferences (Preferências do usuário) na barra de ferramentas.  
A caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) aparece exibindo a guia Plate (Placa).
2. Na biblioteca Sample Names (Nomes de amostras) na guia Plate (Placa), selecione o nome a excluir e pressione a tecla Delete.
3. Clique em OK para salvar as modificações e sair da caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).

**Importante:** não é possível excluir nomes de amostras que tenham sido salvos com um arquivo de placa. Nomes personalizados que sejam adicionados à lista suspensa Sample Names (Nomes de amostras) e não sejam usados e salvos com a placa serão removidos da lista automaticamente. Nomes que sejam excluídos da biblioteca Sample Names (Nomes de amostras) serão removidos do software e deixarão de estar disponíveis para os usuários. Tome cuidado ao excluir nomes de amostras.

## Atribuir grupos biológicos a poços

**Observação:** para atribuir um grupo biológico, é necessário atribuir aos poços selecionados ao menos um fluoróforo. Atribuir um fluoróforo aciona a lista suspensa Biological Groups (Grupos biológicos). Consulte [Atribuir um alvo a poços na página 143](#) para obter mais informações sobre atribuição de fluoróforos.

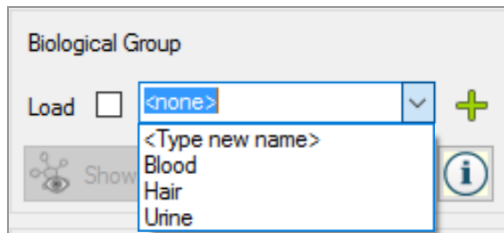
**Dica:** é possível atribuir um grupo biológico a cada poço ou grupo de poços.

### Para 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 teve 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 sua caixa de verificação 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 salvar a placa.

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

#### Para remover um grupo biológico

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

#### Para adicionar um grupo biológico à lista

- ▶ Para adicionar um grupo biológico à lista suspensa, siga um destes procedimentos:
  - Digite um nome na lista suspensa Biological Group (Grupo biológico) e pressione Enter.
  - Clique no símbolo + verde à direita da lista suspensa e digite um nome para o grupo biológico.
  - Clique em User Preferences (Preferências do usuário) na barra de ferramentas e adicione o nome à biblioteca Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos) na guia Plate (Placa).

**Importante:** os nomes de grupos biológicos que você adicionar à lista suspensa estão disponíveis somente para a placa atual e apenas se você atribuir o nome a um poço e salvar o layout da placa. Se você não atribuir o nome a um poço e salvar o layout da placa, o nome não será salvo 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 usuários). Os nomes que você adicionar à biblioteca estarão disponíveis quando você abrir o Plate Editor (Editor de placa) novamente. Consulte [Configurar os parâmetros de placa padrão na página 89](#) para obter mais informações.

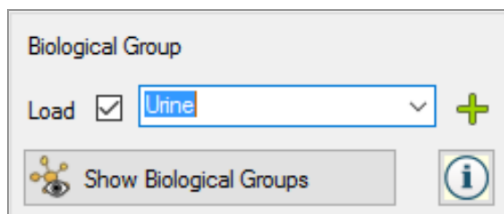
### Para excluir um nome de grupo biológico da lista

1. Clique em User Preferences (Preferências do usuário) na barra de ferramentas.  
A caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) aparece exibindo a guia Plate (Placa).
2. Na biblioteca Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos) na guia Plate (Placa), selecione o nome a excluir e pressione a tecla Delete.
3. Clique em OK para salvar as modificações e sair da caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário).

**Importante:** não é possível excluir nomes de grupos biológicos que tenham sido salvos com um arquivo de placa. Nomes personalizados que sejam adicionados à lista suspensa Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos) e não sejam usados e salvos com a placa serão removidos da lista automaticamente. Nomes que sejam excluídos da biblioteca Biological Group Names (Nomes de grupos biológicos) serão removidos do software e deixarão de estar disponíveis para os usuários. Tome cuidado ao excluir nomes biológicos.

### Para 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 réplicas técnicas).

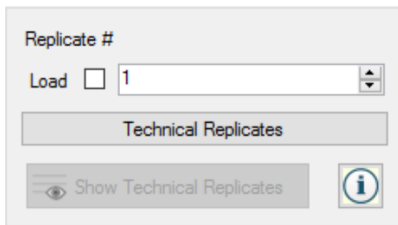
Clique em Hide Biological Groups (Ocultar Grupos biológicos) para limpar a cor nos poços. Como alternativa, você pode clicar em qualquer poço na placa para ocultar os grupos biológicos.

## Atribuir números de réplicas técnicas a poços

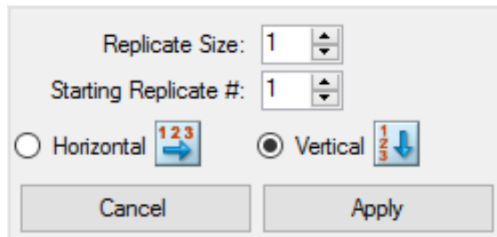
**Importante:** para atribuir números de réplicas técnicas, os poços selecionados devem ter conteúdos de poço idênticos. Ou seja, os poços selecionados devem ter o mesmo tipo de amostra e fluoróforo. Se apropriado, eles também devem receber os mesmos nomes de alvo e de amostra e o mesmo grupo biológico.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

### 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 seção Replicate # (Nº de réplica) no painel direito, digite o número da réplica na caixa e selecione Load (Carregar).



4. (Opcional) Para aplicar uma série replicada a um conjunto de poços selecionado:
  - a. Clique em Technical Replicates (Réplicas técnicas). A seção Replicate # (Nº 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 replicada para o grupo selecionado de réplicas.

**Observação:** por padrão, o CFX Maestro Dx SE exibe o número inicial da réplica como um número maior que o último número de réplicas técnicas designado na placa. Por exemplo, se o último número de réplicas técnicas na placa for cinco, o próximo número inicial será seis. Você pode 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 na série e volte para a exibição Replicate # (Nº de réplica).
5. Clique em OK para aceitar as alterações e salvar a placa.

**Observação:** se você alterou a placa com erro, clique em Undo (Desfazer) 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 réplica

- ▶ Selecione o poço ou grupo de poços a serem removidos e desmarque a caixa de seleção Replicate # Load (Carregar nº de réplica).

Alternativamente, você pode clicar em Clear Replicate # (Limpar nº 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, você pode 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. Você pode 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 em uma série de réplicas técnicas. Consulte [Atribuir números de réplicas técnicas a poços na página 149](#) para obter mais informações sobre como adicionar poços a uma série de réplicas.

### 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 requisitos a seguir sejam atendidos:

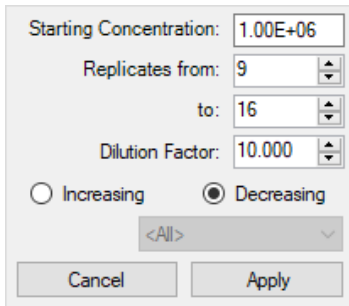
- O tipo de amostra do grupo de poços é Standard (Padrão).
- Todos os poços do grupo recebem pelo menos um fluoróforo e todos contêm os mesmos fluoróforos.
- Todos os poços no grupo incluem a mesma série de réplicas técnicas.

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

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



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



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

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

- **Starting concentration** (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 montante para alterar a concentração dentro de cada grupo de réplica
4. Defina os valores para as opções ou aceite os padrões.
  5. Por padrão, a série de diluição diminui pelo fator de diluição. Selecione Increasing (Aumento) para aumentar a série de diluição.
  6. (Opcional) Por padrão, o fator de diluição aplica-se a todos os fluoróforos da série de réplica. Se sua série contém mais de um fluoróforo e você deseja aplicar a diluição a um único fluoróforo, selecione-o na lista suspensa.
  7. Clique em Apply (Aplicar) para aplicar a série de diluição ao grupo de poços e retornar à visualização Concentration (Concentração).
  8. Clique em OK para aceitar as alterações e salvar a placa.

## Copiar o conteúdo de um poço para outro

É possível copiar o conteúdo de um poço e colá-lo em um único poço ou em vários poços. Entretanto, você pode copiar o conteúdo de um único poço apenas. Não é possível selecionar vários poços e copiar seus conteúdos.

### Copiar conteúdo do poços em outro poço

1. No painel de placa, selecione o poço a ser copiado.
2. Clique com o botão direito do mouse 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 em um 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 alvos selecionados, clique com o botão direito do mouse 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 de poço na guia Quantification (Quantificação) na janela Data Analysis (Análise de dados).

### Adicionar uma observação em um poço

1. No painel de placa, selecione o poço ou poços para os quais planeja adicionar uma observação.
2. Na seção View (Exibir) no painel inferior, selecione Well Note (Observação de poço).

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



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

O texto aparece na parte inferior dos poços selecionados.

**Dica:** se você criou uma observação de poço anterior, poderá selecioná-la a partir da lista suspensa e aplicá-la nos poços selecionados.

## Limpar todo o conteúdo dos poços

Você pode limpar um poço individual, um grupo de poços ou todo o conteúdo de toda a placa. A limpeza dos poços não remove os dados de fluorescência coletados durante a leitura de placa.

**Importante:** limpar um poço remove permanentemente o conteúdo do poço. Se você clicar em OK e salvar a placa após limpar um poço, não poderá desfazer a ação de limpeza. Cuidado ao limpar poços.

### 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 em um 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 em seu 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 você limpou os poços por engano, clique em Undo (Desfazer) 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 (Desfazer) salva as alterações e desativa Undo (Desfazer) na barra de ferramentas Plate Editor (Editor de placa).
  - Clique em OK para aceitar as alterações e salvar a placa.

## Alterar configurações do experimento

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

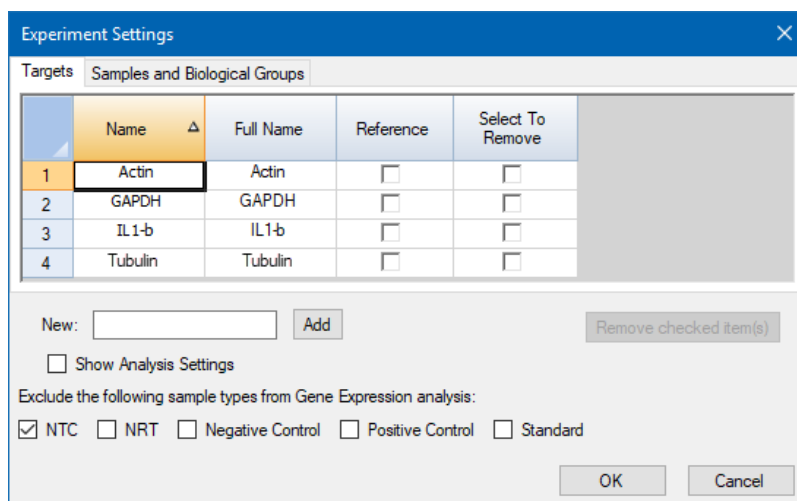
Na caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento), a guia Targets (Alvos) exibe uma lista de nomes de alvos para cada reação de PCR, como o gene alvo ou sequências de genes de interesse.

A guia 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 1 hora (1Hr) ou de um indivíduo específico (camundongo1).

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

- Para abrir a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento), faça uma das seguintes opções:
  - No painel da direita no Plate Editor (Editor de placa), clique em Experiment Settings (Configurações de experimento).
  - Na guia Gene Expression (Expressão gênica) na janela Data Analysis (Análise de dados), clique em Experiment Settings (Configurações de experimento).

A caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento) aparece exibindo o conteúdo da guia Targets (Alvos).



2. Para adicionar um novo nome de alvo, amostra ou grupo biológico, digite na respectiva guia 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, selecione, na guia apropriada, 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 exclui o tipo de amostra NTC (no template control (controle sem fita molde)) da análise de expressão gênica.

Para incluir tipos de amostras NTC, desmarque sua caixa de verificação na seção Exclude the following sample types (Excluir os seguintes tipos de amostra). É possível escolher excluir os seguintes tipos de amostras selecionando a caixa de verificação apropriada:

- NRT (no reverse transcriptase (sem transcriptase reversa))
- Negative Control (Controle negativo)
- Positive Control (Controle positivo)
- Standard (Padrão)

5. Na guia Targets (Alvos):
  - a. Para selecionar um alvo como referência para análise de dados de expressão gênica, selecione-o na coluna Reference (Referência).
  - b. Para ocultar configurações de análise que serão aplicadas, na guia Gene Expression (Expressão gênica) 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 gênica), clique em sua célula na coluna Color (Cor), selecione uma nova cor na caixa de diálogo Color (Cor) exibida e clique em OK.
  - d. Para exibir a amostra na cor selecionada no gráfico Gene Expression (Expressão gênica), selecione sua caixa de verificação na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).
  - e. Por padrão, o CFX Maestro Dx SE calcula automaticamente a eficiência relativa de um alvo se seus dados incluírem uma curva padrão.

Para usar um valor de eficiência determinado previamente, digite o valor em sua célula 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. Na guia Samples and Biological Groups (Amostras e grupos biológicos):
  - a. Para selecionar uma amostra ou um grupo biológico como a amostra de controle para a análise de dados de expressão gênica, selecione sua caixa de verificação na coluna Control (Controle).
  - b. Para selecionar uma amostra ou um grupo biológico como a amostra de controle para a análise de dados de expressão gênica, selecione sua caixa de verificação na coluna Control (Controle).
  - c. Se já não estiver selecionada, clique em Show Analysis Settings (Mostrar configurações de análise) para visualizar ou alterar parâmetros de análise que serão aplicados à guia Gene Expression (Expressão gênica). O software oculta as colunas Color (Cor) e Show Chart (Mostrar gráfico).
7. Clique em OK para salvar os parâmetros na caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento) e voltar para a janela Plate Editor (Editor de placa).

## Criar grupos de poços

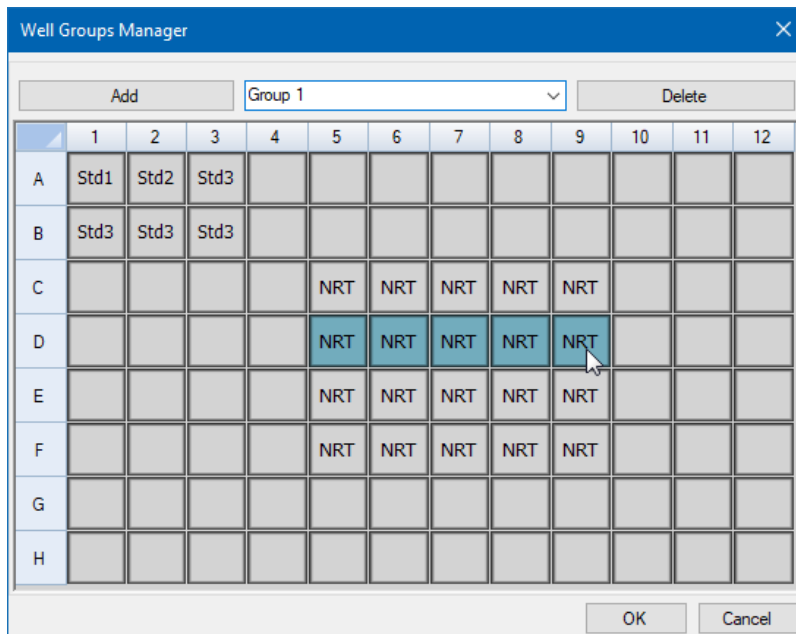
Os grupos de poços dividem uma única placa em subconjuntos de poços que podem ser analisados independentemente na janela Data Analysis (Análise de dados). Depois que os grupos de poços estiverem configurados, selecione um deles na janela Data Analysis (Análise de dados) para analisar os dados como um grupo independente. Por exemplo, configurar grupos de poços para analisar múltiplos experimentos executados em uma placa ou para analisar cada grupo de poços com uma curva padrão diferente.

**Observação:** o grupo de poços padrão é All Wells (Todos os poços).

### Para criar grupos de poços

1. Para abrir o Well Groups Manager (Gerenciador 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 (Gerenciar grupos de poços).

A caixa de diálogo Well Groups Manager (Gerenciador de grupos de poços) aparecerá.



2. Clique em Add (Adicionar) para criar um novo 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 visualização da placa clicando e arrastando com o mouse pelo grupo de poços. Os poços selecionados aparecem em azul no Gerenciador.
4. (Opcional) Para alterar o nome do grupo, selecione seu nome no menu suspenso e digite um novo nome.
5. (Opcional) Para excluir um grupo de poços, selecione seu nome na lista suspensa e clique em Delete (Excluir).
6. Clique em OK para concluir e fechar a janela, ou clique em Cancel (Cancelar) para fechar a janela sem fazer alterações.

### Caixa de diálogo Right-Click Menu Items for the Well Groups Manager (Itens de menu de clique com o botão direito para gerenciadores de grupos de poços)

A [Tabela 10](#) lista os itens de menu disponível na caixa de diálogo Well Groups Manager (Gerenciador de grupos de poços) ao clicar com o botão direito em qualquer poço.

**Tabela 10. Itens de menu de clique com o botão direito na caixa de diálogo Plate Editor Well Groups Manager (Gerenciador de grupos de poços do Editor de placa)**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o conteúdo do poço, que pode então ser colado em outro poço ou poços.
Copy as Image (Copiar como imagem)	Copia a visualização do seletor de poço como uma imagem.
Print (Imprimir)	Imprime a visualização do seletor de poço.
Print Selection (Imprimir seleção)	Imprime apenas as células selecionadas.
Export to Excel (Exportar para Excel)	Exporta os dados para uma planilha do 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.



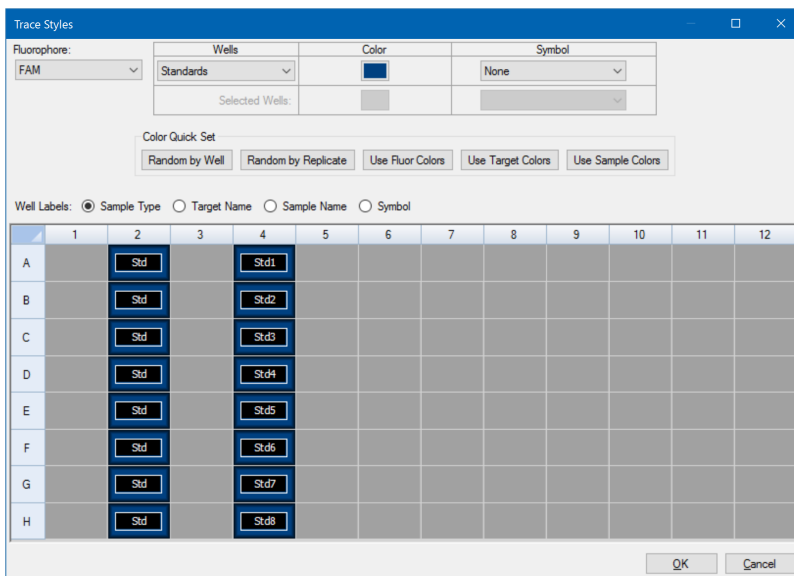
## Alterar estilos de traço

Durante a configuração de placa e enquanto uma corrida estiver em andamento, é possível modificar a cor e o estilo dos traços de amplificação. É possível visualizar facilmente os traços na janela de status em tempo real conforme os dados estão sendo coletados.

### Para alterar estilos de traço

1. Clique em Trace Styles (Estilos de traço) na barra de ferramentas do editor de placa.

A caixa de diálogo estilos de traço se abre para a placa aberta, por exemplo:



2. Para visualizar os estilos de traço por um fluoróforo específico, selecione-o na lista suspensa Fluorophores (Fluoróforos).
3. Para alterar a exibição do traço:
  - a. Selecione o tipo de traço na lista suspensa Wells (Poços).
  - b. Clique em sua cor na coluna Color (Cor).
  - c. Na caixa de diálogo Color (Cor) que aparecerá, escolha outra cor para o traço e clique em OK.  
O CFX Maestro Dx SE exibe a alteração de cor para o tipo de poço na grade.
  - d. (Opcional) Selecione um símbolo para o traço na lista suspensa Symbols (Símbolos).
4. Para alterar rapidamente o conjunto de cores, clique na escolha apropriada na seção Color Quick Set (Definição de cor rápida).

5. Para visualizar os rótulos dos poços na grade, selecione o tipo de rótulo na seção Well Labels (Rótulos de poços).
6. Clique em OK para salvar as alterações ou em Cancel (Cancelar) para cancelar as alterações.

## Visualizar, exportar e importar a placa em formato de planilha

A ferramenta Spreadsheet View/Importer (Visualização/Importação de planilha) exibe o conteúdo de uma placa no formato de planilha. O visualizador oferece a opção de visualizar, importar e exportar dados de poço conforme descrito abaixo.

### Usar o visualizador de planilhas para exportar e importar dados de placas

No visualizador de planilhas, você pode exportar o Target Name (Nomes do alvo), Sample Name (Nome da amostra), Biological Group Name (Nome do grupo biológico) e Well Notes (Observações de poços) como um modelo em um formato delimitado por tabulação para um aplicativo como o Microsoft Excel. Você também pode importar esses dados de um aplicativo delimitado por tabulação para uma placa predefinida de um arquivo de informações do experimento.

### Usar a ferramenta Spreadsheet View/Importer (Visualização/Importação de planilha)

1. Crie e salve um arquivo de placa (consulte [Criar um arquivo de placa usando o Plate Editor \(Editor de placa\)](#)).
2. Na barra de ferramentas do Plate Editor (Editor de placa), clique na guia Spreadsheet View/Importer (Visualização/Importação de planilha) para abrir a caixa de diálogo Plate Spreadsheet View (Visualização da planilha de placas).

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 observação do poço) para exibir essas colunas na Spreadsheet View (Visualização de planilha) e no arquivo exportado.

4. Clique no botão Export Template (Exportar modelo) para criar um modelo em branco em um arquivo Excel (formato .csv). O arquivo exportado exibirá o mesmo layout da placa.

**Dica:** use o nome de arquivo ao salvar seus arquivos de placa para facilitar a identificação.

5. Preencha as células do arquivo do Excel com o conteúdo do poço.

**Observação:** é possível editar o conteúdo de qualquer célula em uma coluna que tenha um asterisco (\*) ao lado do nome (\*Target Name [Nome do alvo], \*Sample Name [Nome da amostra], \*Biological Group Name [Nome do grupo biológico], \*Well Note [Observação do poço]).

**Observação:** não é possível adicionar valores à Standard Curve (Curva padrão) e às Quantity Columns (Colunas de quantidade) no arquivo Excel exportado. Para modificar esses dados, retorne ao Plate Editor (Editor de placa) e selecione Settings (Configurações) > Units (Unidades) na barra de menu. Após a conclusão da corrida da placa, os dados desses padrões aparecem no gráfico Standard Curve (Curva padrão) na guia Quantification (Quantificação) na janela Data Analysis (Análise de dados) com as unidades selecionadas.

6. Reimporte o arquivo Excel preenchido no Plate Editor (Editor de placa) clicando no botão Import (Importar). Os dados importados aparecerão na janela Plate Spreadsheet View (Visualização de planilhas de placas).

**Importante:** se você tiver vários fluoróforos, precisará executar as etapas 3 a 5 para cada fluoróforo usando o menu suspenso Flours List (Lista de fluoróforos) na Plate Spreadsheet View (Visualização de planilhas de placas).

7. Clique no botão OK. Os novos dados da placa agora aparecem na janela do Plate Editor (Editor de placa).

**Dica:** é possível visualizar os itens de menu disponíveis na ferramenta Spreadsheet View/Importer (Visualizar/Importar planilhas) ao clicar com o botão direito em qualquer poço na ferramenta ou em qualquer um dos cabeçalhos de tabela na Plate Spreadsheet View (Visualização de planilhas de placas).

## Criar um layout de placa usando o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração de placa)

É possível usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) para inserir as informações de layout de placa necessárias para a análise de expressão gênica normalizada, incluindo:

- Nomes de alvos
- Nomes de amostras
- Localização dos alvos e amostra na placa
- Gene(s) de referência
- Amostra de controle

É possível usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) antes, durante ou depois de uma corrida.

### Usar o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração de placa)

Esta seção explica como criar um layout de placa usando o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração de 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:** retornar à guia Auto layout (Layout automático) enquanto estiver em qualquer outra guia no Setup Wizard (Assistente de configuração) redefine o layout da placa. Cuidado ao selecionar esta guia.

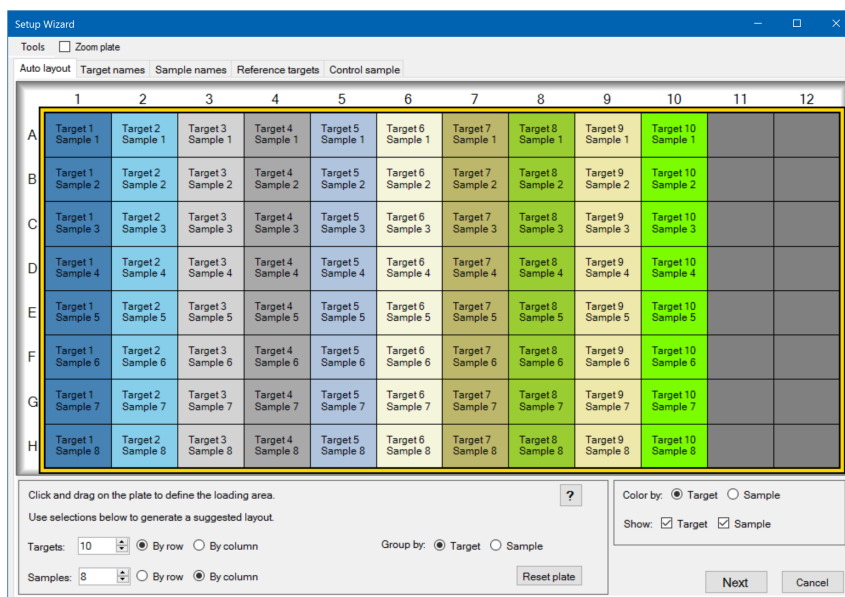
**Dica:** é possível reiniciar o layout selecionando Tools (Ferramentas) > Clear Plate (Limpar placa) no Setup Wizard (Assistente de configuração).

#### Usar o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração de placa)

1. Abra o Plate Editor (Editor de placa).
2. Para abrir o assistente de configuração, siga um destes procedimentos:
  - 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 a guia Auto layout (Layout automático).

### Criar um layout de placa usando o Plate Setup Wizard (Assistente de configuração de placa)



3. Na guia Auto layout (Layout automático), execute uma das seguintes opções:
  - a. Clique em um poço na grade e arraste para cima e para baixo para especificar a área na placa na qual você planeja carregar a amostra.
  - b. Digite o número de alvos e amostras para 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 seu agrupamento podem ser especificados.
  - c. (Opcional) Altere 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 a guia Target names (Nomes de alvos).

**Observação:** se o layout da placa não tiver um padrão regular, use a guia Target names (Nomes de alvos) para posicionar manualmente seus alvos ou a guia Samples names (Nomes de amostra) para posicionar manualmente suas amostras na placa. Clique e arraste para selecionar vários poços.

4. Na guia Target Names (Nomes de alvos), defina os nomes de alvos para os grupos de alvos:
  - a. Execute uma das seguintes opções:
    - Para renomear os alvos por grupo, configure Select by (Selecionar como) como Target (Alvo).

- Para renomear os alvos por poço, configure Select by (Selecionar por) como Well (Poço).
  - b. Selecione um grupo de alvos ou poços na grade e digite 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, nas guias Target name (Nome do alvo) e Sample Name (Nome da amostra), mantenha pressionada a tecla Control e clique em um poço para selecionar vários poços que não são adjacentes.
  - c. Clique em Next (Avançar) para continuar para a guia Sample Names (Nomes de amostra).
5. Na guia Sample names (Nomes de amostra), defina os nomes de amostra para os grupos de amostra.
  6. Clique em Next (Avançar) para continuar para a guia Reference targets (Alvos de referência).
  7. Na guia Reference targets (Alvos de referência), selecione um ou mais destinos para usar como referência para a expressão gênica normalizada e clique em Next (Avançar) para prosseguir para a guia Controle sample (Amostra de controle).
  8. Na guia Control sample (Amostra de controle), selecione uma amostra para usar como controle para cálculos relativos de expressão gênica.
  9. Clique em OK para salvar o layout da placa e retornar ao Plate Editor (Editor de placa), no qual é possível definir os parâmetros da placa. Consulte [Atribuir parâmetros opcionais a um arquivo de placa na página 143](#) para obter mais informações.

Como alternativa, clique em Previous (Anterior) para retornar a uma guia anterior para fazer alterações.

**Observação:** retornar para a guia Auto layout (Layout automático) redefine automaticamente a placa. Cuidado ao clicar em Previous (Anterior).

## Capítulo 9 Executar experimentos

Este capítulo explica como executar ensaios experimentais personalizados (definidos pelo usuário) ou do PrimePCR usando o CFX Maestro Dx Software, Security Edition.

Um arquivo de dados de corrida contém as informações de protocolo e placa para a corrida. O arquivo também contém os dados da análise que o CFX Maestro Dx SE executa depois da corrida ser concluída.

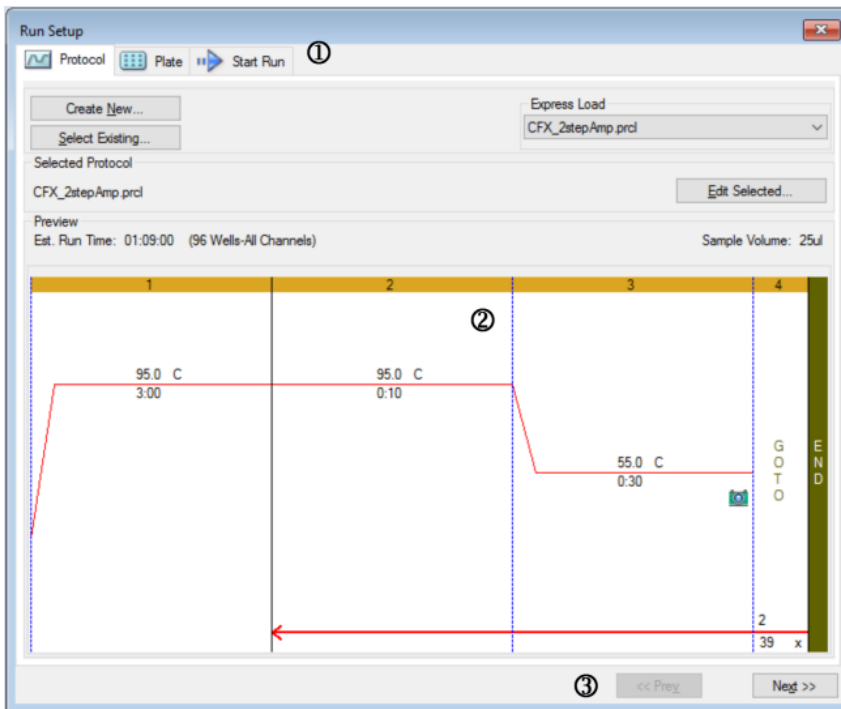
O CFX Maestro Dx SE facilita a configuração e a corrida de experimentos definidos pelo usuário ou do PrimePCR. A janela Run Setup (Configuração de corrida) guia o usuário pelas etapas comuns de configuração de um experimento, conduzindo-o para a caixa de diálogo Start Run (Iniciar corrida), de onde a corrida é iniciada.



## A janela Run Setup (Configuração de corrida)

A janela Run Setup (Configuração de corrida) oferece acesso rápido aos arquivos e às configurações necessárias para configurar e executar um experimento. Ao escolher executar um experimento definido pelo usuário, a janela Run Setup (Configuração de corrida) se abre exibindo a guia Protocol (Protocolo). Ao escolher executar um experimento PrimePCR, a janela Run Setup (Configuração de corrida) se abre exibindo a guia Start run (Iniciar corrida).

**Dica:** consulte [Realizar experimentos PrimePCR na página 186](#) para obter mais informações sobre o PrimePCR; consulte [Guia Start Run \(Iniciar corrida\) na página 176](#) para obter mais informações sobre a guia Start Run (Iniciar corrida).



#### LEGENDA

1. As guias orientam o usuário pela configuração e corrida de um experimento:
  - Guia Protocol (Protocolo) — seleciona um protocolo existente para executar ou editar ou para criar um novo protocolo no Protocol Editor (Editor de protocolo).
  - Guia Plate (Placa) — seleciona uma placa existente para executar ou editar ou para criar um novo protocolo no Plate Editor (Editor de placa).
  - Guia Start Run (Iniciar corrida) — visualiza as configurações de experimento, seleciona um ou mais blocos de instrumentos e inicia a corrida.

---

2. A janela principal exibe as opções para cada guia conforme elas são aplicadas.

---

3. Os botões de navegação conduzem o usuário para a guia Start Run (Iniciar corrida).

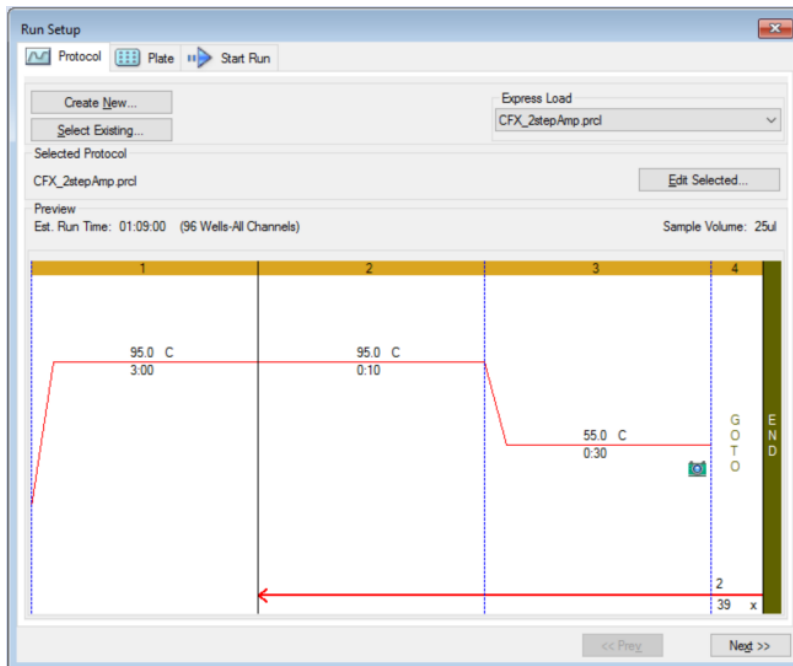
## Acessar a janela Run Setup (Configuração de corrida)

### Para acessar a janela Run Setup (Configuração de corrida)

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - Na guia Run setup (Configuração de corrida) do Startup Wizard (Assistente de inicialização), clique em User-defined (Definido pelo usuário) ou PrimePCR.
  - Na janela Home (Início), selecione User-defined Run Setup (Configuração de corrida definida pelo usuário) ou PrimePCR Run Setup (Configuração de corrida PrimePCR) na barra de ferramentas.
  - Na janela Home (Início), selecione Run (Executar) > User-defined Run (Executar definido pelo usuário) ou Run (Executar) > PrimePCR Run (Executar PrimePCR).

## Guia Protocol (Protocolo)

A guia Protocol (Protocolo) exibe uma pré-visualização do arquivo de protocolo que se pretende executar. Um arquivo de protocolo contém as instruções para as etapas de temperatura do instrumento, bem como as opções do instrumento que controlam a taxa de elevação, o volume da amostra e a temperatura da tampa.



Por padrão, o software exibe o protocolo definido na seção File Selection for Run Setup (Seleção de arquivo para configuração da corrida) na guia Files (Arquivos) na caixa de diálogo User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário). É possível alterar o protocolo padrão na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário). Consulte [Alterar as configurações de arquivo padrão na página 86](#) para obter mais informações.

Na guia Protocol (Protocolo), é possível:

- Criar um novo protocolo para a corrida
- Selecionar um protocolo existente para executar ou editar

Para obter mais informações sobre a criação e modificação de protocolos, consulte o [Capítulo 7, Criar protocolos](#).

### Para criar um novo protocolo

1. Na guia Protocol (Protocolo), clique em Create New (Criar novo).  
O Protocol Editor (Editor de protocolo) aparece.
2. Use o Protocol Editor (Editor de protocolo) para criar um novo protocolo.
3. Clique em OK para salvar o protocolo e voltar para a guia Protocol (Protocolo) em Run Setup (Configuração de corrida).
4. Visualize os detalhes do protocolo e siga um destes procedimentos:
  - Se os detalhes estiverem corretos, clique em Next (Próximo) para seguir para a guia Plate (Placa).
  - Se os detalhes estiverem incorretos, clique em Edit Selected (Editar selecionado) para voltar ao Protocol Editor (Editor de protocolo). Revise o protocolo, salve as alterações e então clique em Next (Próximo) na guia Protocol (Protocolo) para seguir à guia Plate (Placa).

### Selecionar um protocolo existente

1. Na guia Protocol (Protocolo), execute uma das seguintes opções:
  - Clique em Select Existing (Selecionar existente) e navegue até um protocolo existente.
  - Clique em Express Load (Carga expressa) e selecione um protocolo da lista suspensa de protocolos.  
  
**Dica:** é possível adicionar ou remover protocolos da lista suspensa Express Load (Carga expressa). Consulte [Adicionar e remover protocolos de carga expressa](#), a seguir, para mais informações.
2. Visualize os detalhes do protocolo e siga um destes procedimentos:
  - Se os detalhes estiverem corretos, clique em Next (Próximo) para seguir para a guia Plate (Placa).
  - Se os detalhes estiverem incorretos, clique em Edit Selected (Editar selecionado) para abrir a janela do Protocol Editor (Editor de protocolo). Revise o protocolo, salve as alterações e então clique em Next (Próximo) na guia Protocol (Protocolo) para seguir à guia Plate (Placa).

### Adicionar e remover protocolos de carga expressa

É possível modificar os conteúdos da lista suspensa Express Load (Carga expressa) que aparece no Protocol Editor (Editor de protocolo). Os protocolos nesta lista estão salvos na seguinte pasta:

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX\_MDx\Users\<user\_name>\ExpressLoad\

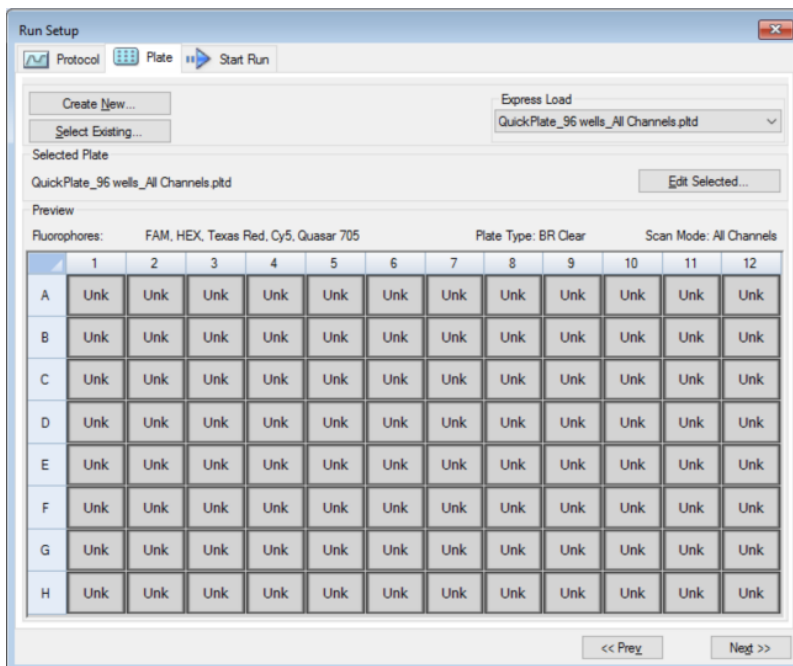
### **Modificar a lista Express Load (Carga expressa) dos protocolos**

1. Navegue e abra a pasta ExpressLoad.
2. Revise os arquivos de protocolo (.pcri) na pasta.
3. Execute uma das seguintes opções:
  - Exclua os protocolos da pasta para removê-los da lista suspensa.
  - Copie os protocolos para a pasta para adicioná-los à lista suspensa.

## Guia Plate (Placa)

**Observação:** se o protocolo selecionado na guia Protocol (Protocolo) não incluir uma etapa de leitura de placa para a análise de PCR em tempo real, a guia Plate (Placa) fica oculta. Para visualizar a guia Plate (Placa), adicione pelo menos uma leitura de placa ao protocolo.

A guia Plate (Placa) exibe uma pré-visualização do arquivo de placa que se pretende carregar. Em uma corrida de PCR em tempo real, o arquivo de placa contém uma descrição do conteúdo de cada poço, inclusive seus fluoróforos, o modo de varredura e o tipo de placa. O CFX Maestro Dx SE usa essas descrições para coletar e analisar dados.



Por padrão, o software exibe a placa definida na seção File Selection for Run Setup (Seleção de arquivo para configuração da corrida) na guia Files (Arquivos) na caixa de diálogo User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário). É possível alterar a placa padrão na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário). Consulte [Alterar as configurações de arquivo padrão na página 86](#) para obter mais informações.

Na guia Plate (Placa), é possível:

- Criar uma nova placa para carregar
- Selecionar uma placa existente para carregar ou editar

Para obter mais informações sobre a criação e modificação de placas, consulte o [Capítulo 8, Preparar placas](#).

### Para criar uma nova placa

1. Na guia Plate (Placa), clique em Create New (Criar novo).  
O Plate Editor (Editor de placa) aparece.
2. Use o Plate Editor (Editor de placa) para criar uma nova placa.
3. Clique em OK para salvar a placa e voltar para a guia Plate (Placa) em Run Setup (Configuração de corrida).
4. Visualize os detalhes da placa e siga um destes procedimentos:
  - Se os detalhes estiverem corretos, clique em Next (Próximo) para seguir para a guia Start Run (Iniciar corrida).
  - Se os detalhes estiverem incorretos, clique em Edit Selected (Editar selecionado) para voltar ao Plate Editor (Editor de placa). Revise o arquivo da placa, salve as alterações e então clique em Next (Próximo) na guia Plate (Placa) para seguir à guia Start Run (Iniciar corrida).

### Para selecionar um arquivo de placa existente

1. Na guia Plate (Placa), execute uma das seguintes opções:
  - Clique em Select Existing (Selecionar existente) e navegue até um arquivo de placa existente.
  - Clique em Express Load (Carga expressa) e selecione um arquivo de placa da lista suspensa.  
**Dica:** é possível adicionar ou remover placas da lista suspensa Express Load (Carga expressa). Consulte [Adicionar e remover arquivos de placa de carga expressa](#), a seguir, para mais informações.
2. Visualize os detalhes da placa e siga um destes procedimentos:
  - Se os detalhes estiverem corretos, clique em Next (Próximo) para seguir para a guia Start Run (Iniciar corrida).
  - Se os detalhes estiverem incorretos, clique em Edit Selected (Editar selecionado) para abrir a janela do Plate Editor (Editor de placa). Revise o arquivo da placa, salve as alterações e então clique em Next (Próximo) para seguir à guia Start Run (Iniciar corrida).

### Adicionar e remover arquivos de placa de carga expressa

É possível modificar o conteúdo da lista suspensa Express Load (Carga expressa) que aparece no Plate Editor (Editor de placa). As placas que aparecem nesta lista são salvas na seguinte pasta:

```
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx\Users\\ExpressLoad\
```

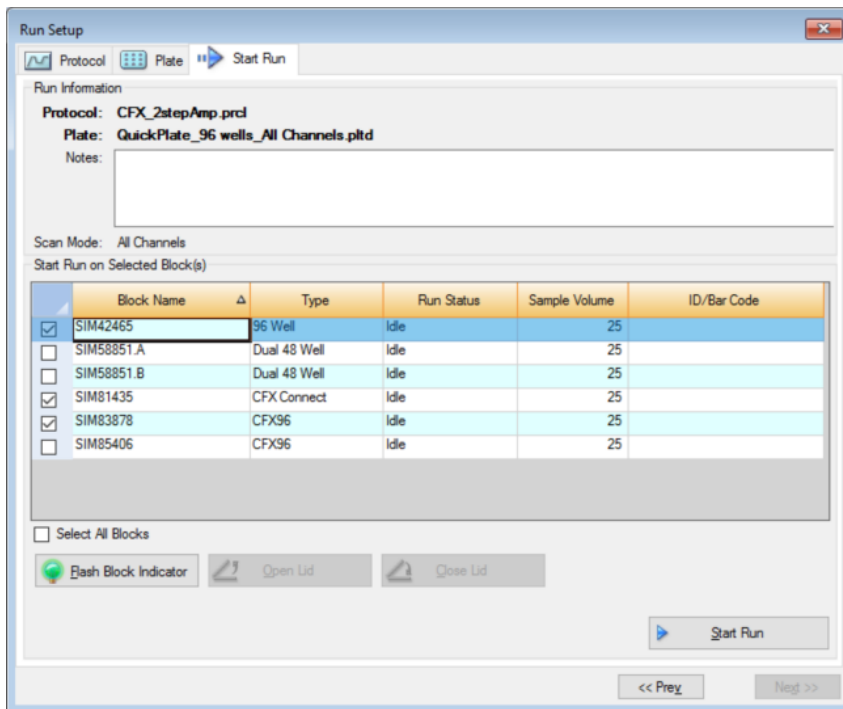
### **Modificar a lista Express Load (Carga expressa) dos arquivos de placa**

1. Navegue e abra a pasta ExpressLoad.
2. Revise os arquivos de placa (.pltd) na pasta.
3. Execute uma das seguintes opções:
  - Exclua os arquivos de placa da pasta para removê-los da lista suspensa.
  - Copie os arquivos de placa para a pasta para adicioná-los à lista suspensa.



## Guia Start Run (Iniciar corrida)

A guia Start Run (Iniciar corrida) exibe informações sobre o experimento a ser executado. Ela também exibe o bloco ou blocos de instrumentos conectados nos quais é possível executar o experimento.



Na guia Start Run (Iniciar corrida), é possível fazer o seguinte:

- Visualizar informações de corrida detalhadas, inclusive o arquivo de protocolo selecionado, arquivo de placa e modo de leitura.
- Adicionar observações sobre a corrida.
- Visualizar detalhes sobre todos os instrumentos conectados, inclusive seu status de corrida (em operação ou ocioso), volume da amostra em µl, temperatura da tampa, modo de emulação e ID ou código de barra, 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 detalhes na tabela Selected Blocks \(Blocos selecionados\) na página 177](#) para obter mais informações.

- Selecionar um ou mais blocos nos quais realizar a corrida.
- Abrir ou fechar remotamente a tampa de cada instrumento selecionado.

- Iniciar a corrida.

### Modificar os detalhes na tabela Selected Blocks (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 de volume de amostra padrão e temperatura da tampa na tabela. As alterações das configurações são aplicadas à corrida a ser realizada.

#### Para adicionar colunas na tabela Start Run on Selected Block(s) (Iniciar corrida no(s) bloco(s) selecionado(s))

- ▶ Clique com o botão direito do mouse na tabela e selecione uma opção no menu exibido.

#### Para remover colunas na tabela Start Run on Selected Block(s) (Iniciar corrida no(s) bloco(s) selecionado(s))

- ▶ Clique com o botão direito do mouse na tabela e desmarque a opção no menu exibido.

#### Para editar valores de volume de amostra volume ou temperatura da tampa para um bloco

- ▶ Selecione a célula do volume da amostra ou temperatura da tampa para o bloco alvo e digite um novo valor na célula.

#### Para adicionar uma ID de corrida ou um código de barra para um bloco

- ▶ Selecione a célula de ID/código de barras para o bloco alvo e digite uma ID ou leia o bloco com um leitor de código de barras.

## Executar um experimento

**Importante:** antes de executar um experimento, verifique se o software antivírus do seu computador não iniciará uma verificação durante a corrida. Consulte [Como instalar o software CFX Maestro Dx SE na página 34](#) e o administrador do sistema para obter mais informações.

### Executar um experimento

1. Na guia Star Run (Iniciar corrida), verifique os detalhes da placa e do protocolo na seção Run Information (Informações de corrida).
2. (Opcional) Adicione observações sobre a corrida ou experimento 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 (Indicador Piscar 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 experimental 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) na tela inicial.
6. Clique em Open Lid (Abrir tampa) e Close Lid (Fechar tampa) para abrir e fechar a tampa motorizada de cada bloco de instrumentos selecionado.
7. Visualize os detalhes da corrida e siga um destes procedimentos:
  - Se os detalhes estiverem corretos, clique em Start Run (Iniciar corrida).
  - Se os detalhes estiverem incorretos:
    - Corrija os detalhes na tabela Selected Blocks (Blocos selecionados) e clique em Start Run (Iniciar corrida).
    - Retorne à guia correta e faça as alterações apropriadas, salve as alterações e clique em Next (Avançar) para retornar à guia Start Run (Iniciar corrida) e iniciar a corrida.

#### **Iniciar uma nova corrida a partir de uma corrida anterior**

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - Selecione File (Arquivo) > Repeat a Run (Repetir uma corrida) na barra de menu principal do software; navegue e clique duas vezes no arquivo de dados de corrida que deseja repetir.
  - Selecione a guia Repeat Run (Repetir corrida) no Startup Wizard (Assistente de inicialização) e clique duas vezes no arquivo de dados de corrida da corrida que deseja repetir.

Opcionalmente, na guia Repeat Run (Repetir corrida), é possível clicar em Browse (Procurar) e navegar e clicar duas vezes no arquivo de dados da corrida que deseja repetir.

## Caixa de diálogo Run Details (Detalhes de corrida)

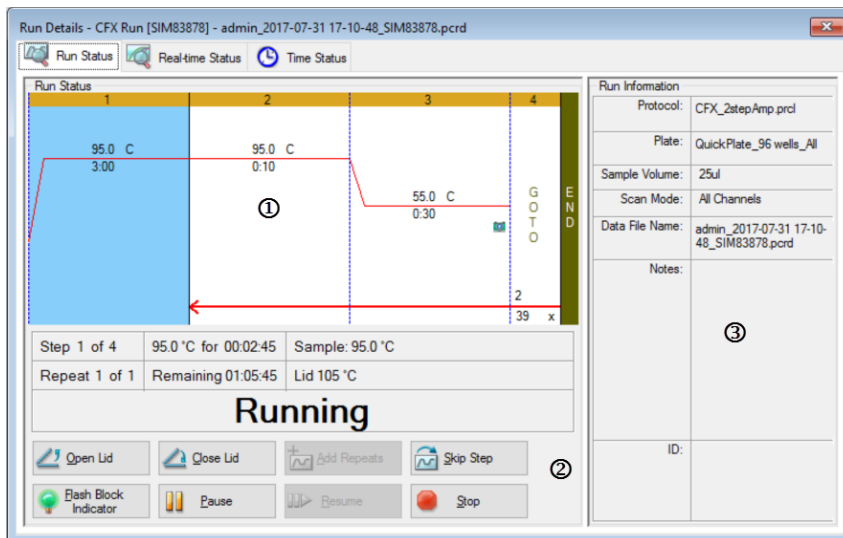
Ao clicar em Start Run (Iniciar corrida), o CFX Maestro Dx SE solicita que você salve o arquivo de dados (.pcrd), inicie a corrida e abra a caixa de diálogo Run Details (Detalhes de corrida). A caixa de diálogo Run Details (Detalhes de corrida) contém três guias de status:

- **Run Status** (Status de corrida) — use esta guia para visualizar o status atual do protocolo, abrir ou fechar a tampa, pausar uma corrida, adicionar repetições, ignorar etapas ou interromper a corrida.
- **Real-time Status** (Status em tempo real) — use esta guia para visualizar os dados de fluorescência de PCR em tempo real à medida que são coletados.
- **Time Status** (Status de tempo) — use esta guia para exibir um cronômetro de contagem regressiva em tela cheia para o protocolo.

Essas guias são explicadas em detalhes nas seções a seguir.

### Guia Run Status (Status de corrida)

A guia Run Status (Status de corrida) exibe o status atual de uma corrida em andamento. Nesta visualização também é possível controlar a tampa e alterar a corrida em andamento.



#### LEGENDA

1. Painel Run Status (Status de corrida) — exibe o progresso atual do protocolo.
2. Controles do Run Status (Status de corrida) — permitem operar o instrumento ou interromper o protocolo atual.
3. Painel Run Information (Informações de corrida) — exibe os detalhes da corrida.

### Comandos Run Status (Status de corrida)

Use os comandos na guia Run Status (Status de corrida) para operar o instrumento a partir do software ou alterar uma corrida em andamento.

**Observação:** fazer alterações no protocolo durante a corrida, como adicionar repetições, não altera o arquivo de protocolo associado à corrida. Essas ações são registradas no Run Log (Log 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 \(Status de corrida\) na página 180.](#)



— 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 sendo executada.

**Observação:** você pode adicionar mais repetições durante um ciclo GOTO (Ir para) quando o protocolo está em andamento. No entanto, o CFX Maestro Dx SE reconhece a alteração mais recente no número de repetições. Por exemplo, se você adicionar mais 10 repetições durante um ciclo GOTO (Ir para), o software alterará o número total para  $n + 10$ . Se você 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 execute o número desejado de repetições, insira o número total (neste caso, 15 repetições).



— ignora a etapa atual no protocolo.

**Observação:** se você pular uma etapa GOTO (Ir para), o sistema avançará para o próximo ciclo no ciclo GOTO (Ir para). Se o último ciclo da etapa GOTO (Ir para) estiver em andamento ao pular, o sistema avançará para a próxima etapa.



— pisca o LED no instrumento selecionado para identificar os blocos selecionados.



— pausa o protocolo.

**Observação:** esta ação é registrada no Run Log (Log de corrida).



— retoma um protocolo pausado.

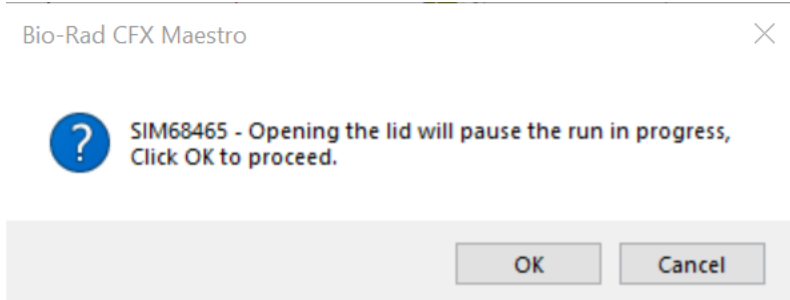


— interrompe a corrida antes que os protocolos terminem.

**Observação:** interromper uma corrida antes do término do protocolo pode alterar seus dados.

### Abrir a tampa do instrumento durante uma corrida de PCR

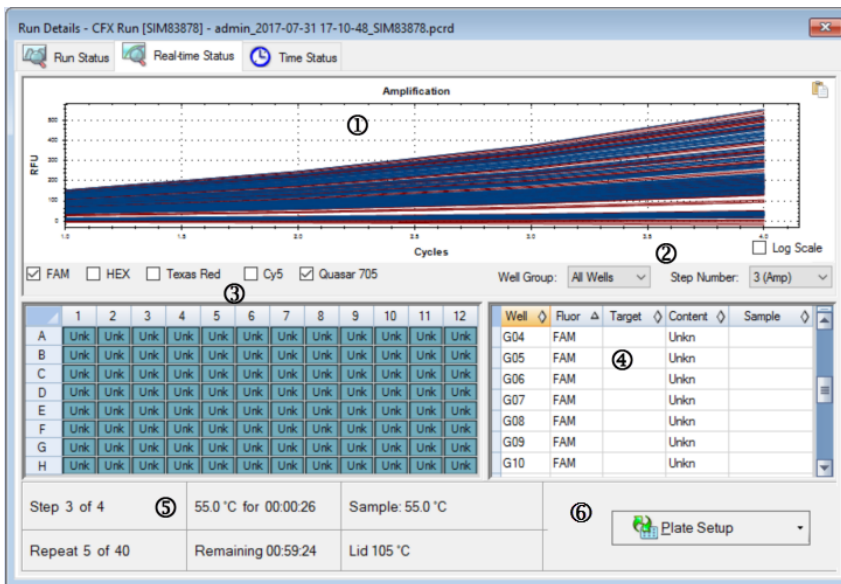
Se a tampa de qualquer instrumento for aberta durante uma corrida de PCR, o CFX Maestro Dx SE exibirá a seguinte caixa de diálogo de confirmação:



Enquanto a caixa de diálogo permanecer aberta, os instrumentos continuarão a executar o protocolo. O botão OK pausa a corrida e a tampa do instrumento abre. O botão Cancel (Cancelar) fecha a caixa de diálogo e retoma a corrida.

## Guia Real-time Status (Status em tempo real)

A guia Real-time Status (Status em tempo real) exibe dados de PCR em tempo real coletados em cada ciclo durante a corrida após as duas primeiras leituras de placa.



### LEGENDA

1. Amplification trace pane (Painel de traço de amplificação)— exibe dados de amplificação em tempo real durante a corrida.
2. Well group identifier (Identificador de grupo de poço) — se forem identificados grupos bem na configuração da placa, os usuários podem selecionar um grupo de poços específico para visualizar seus traços, poços e informações tabulares.  
Step number identifier (Identificador do número de etapa) — se o protocolo coletar dados em mais de uma etapa (por exemplo, durante a amplificação e a curva de fusão), os usuários poderão selecionar uma etapa específica e visualizar os rastreamentos coletados 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 no formato tabular.

5. Run details pane (Painel de detalhes de corrida) — exibe o status 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 usuários podem modificar a configuração de placa atual durante uma corrida.

Na guia Real-time Status (Status em tempo real), é possível:

- Mostrar ou ocultar os rastreios em tempo real selecionando-os no painel do seletor de poço ou na tabela de configuração da placa.
- Visualizar um único traço ou grupos de traços, selecionando-os no menu suspenso do grupo de poços.
- Editar a placa ou substituir o arquivo da placa.
- Aplicar um arquivo PrimePCR à corrida.

### Exibir ou ocultar traços em tempo real

Por padrão, todos os poços cheios são ativos e aparecem na tabela de configuração de placa. Os poços ativos aparecem em azul no painel de seletor de poço. Os poços ativos ocultos aparecem em cinza claro e os poços sem uso aparecem em cinza escuro no painel de seletor de poço.

Você pode ocultar traços de poços ativos durante a corrida. O CFX Maestro Dx SE continua a coletar dados para todos os poços; ao ocultar poços, seus dados não aparecem na tabela de configuração da placa.

#### Para ocultar traços em tempo real

- ▶ No painel de seletor de poço, clique nos poços ativos (azuis) que deseja ocultar.

#### Para exibir traços em tempo real

- ▶ No painel de seletor de poço, clique nos poços ocultos (cinza claros) que deseja exibir.

Para mais informações sobre o seletor de poço, consulte [Seletor de poço na página 205](#).



## Editar uma configuração de placa

### 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 uma corrida está em andamento. Para obter mais informações sobre a edição de placas, consulte [Capítulo 8, Preparar placas](#).

**Observação:** também é possível editar os estilos de traço na janela Plate Editor (Editor de placa). As alterações aparecem no gráfico de rastreamento de amplificação na guia Real-time Status (Status em tempo real).

## Substituir um arquivo de placa

**Dica:** substituir um arquivo de placa é especialmente útil se uma corrida for inicializada com um arquivo Quick Plate (Placa rápida) na pasta ExpressLoad.

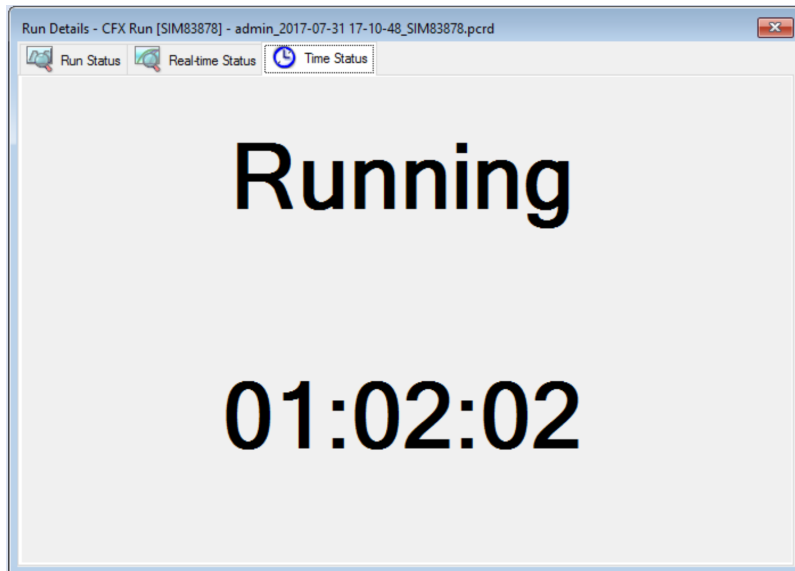
### Substituir um arquivo de placa

- ▶ Clique em Plate Setup (Configuração de placa) e selecione uma das seguintes opções:
  - Replace Plater file (Substituir arquivo de placa) — selecione o novo arquivo de placa da lista na janela do navegador.
  - Apply PrimePCR file (Aplicar arquivo PrimePCR) — procure um arquivo de corrida a partir do qual o layout da placa será obtido usando a pesquisa inteligente ou clique em Browse (Procurar) para encontrar um arquivo que tenha sido baixado 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 arquivo de placa. Eles devem ser os mesmos que as configurações nas quais a corrida foi iniciada.

## Guia Time Status (Status de tempo)

A guia Time Status (Status de tempo) exibe o tempo restante para concluir a corrida atual.



## Realizar experimentos PrimePCR

Os experimentos PrimePCR usam ensaios específicos para percurso ou doença para os quais a Bio-Rad foi validada e otimizada em laboratório úmido nos seguintes formatos:

- Preplated panels (Painéis com placa prévia) — placas contendo ensaios que sejam específicos para um percurso biológico ou uma doença; elas incluem genes de controle e referência PrimePCR.
- Custom configured plates (Placas personalizadas configuradas) — placas que podem ser configuradas em um layout definido pelo usuário com a opção de selecionar ensaios para alvos de interesse, controles e referências.
- Individual assays (Ensaio individuais) — tubos contendo conjuntos de primer 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 enfaticamente que você não faça nenhuma outra modificação a um protocolo de corrida PrimePCR. O protocolo padrão é aquele que foi usado para validação do ensaio. Qualquer desvio com relação a ele pode afetar os resultados. Alterações ao protocolo são anotadas na guia Run Information (Informações de corrida) do arquivo de dados resultante e em quaisquer relatórios que sejam criados.

### Para iniciar uma corrida PrimePCR

- ▶ Para iniciar uma corrida PrimePCR, faça qualquer um dos seguintes:
  - No Startup Wizard (Assistente de inicialização), selecione PrimePCR na guia Run setup (Configuração de corrida) e em seguida selecione a química apropriada (SYBR® ou Probe (Sonda)).
  - Selecione uma corrida do PrimePCR na lista Recent Runs (Corridas recentes) na guia Repeat run (Repetir corrida) no Startup Wizard (Assistente de inicialização).
  - Selecione File (Arquivo) > Open (Abrir) > PrimePCR Run File (Arquivo de corrida PrimePCR) na janela Home (Início).
  - Arraste e solte um arquivo de corrida PrimePCR para a janela Home (Início).

Depois de selecionar uma corrida PrimePCR, a janela Run Setup (Configuração de corrida) se abre na guia Start Run (Iniciar corrida) com o layout da placa PrimePCR padrão carregado com base no instrumento selecionado.

### Para remover a etapa de fusão no protocolo

- ▶ Na guia Protocol (Protocolo), desmarque a caixa adjacente a Include Melt Step (Incluir etapa de fusão).

### **Para importar as informações do alvo para as placas do PrimePCR para um layout de placa**

1. Execute uma das seguintes opções:
    - Na guia Real-time Status (Status em tempo real) na caixa de diálogo Run Details (Detalhes da corrida), selecione Plate Setup (Plate Setup (Configuração de placa) > Apply PrimePCR File (Aplicar arquivo PrimePCR).
    - Na janela Data Analysis (Análise de dados), selecione Plate Setup (Configuração de placa) > Apply PrimePCR File (Aplicar arquivo PrimePCR).
  2. Na caixa de diálogo PrimePCR run file (Arquivo de corrida PrimePCR), clique em Browse (Procurar) para navegar até o arquivo apropriado do PrimePCR (.csv).
  3. Selecione o arquivo PrimePCR de destino e clique em Open (Abrir).
- O Sistema CFX Opus Dx importa as informações do arquivo de destino para o layout da sua placa.

## Transferir dados autônomos para análise

**Importante:** quando você transfere arquivos de dados do Sistema CFX Opus Dx para o CFX Maestro Dx SE, todos os arquivos salvos no sistema são transferidos. Certifique-se de ter 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 autônomo e salva no próprio Sistema CFX Opus Dx, os dados precisarão 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 arquivos de dados autônomos para o computador do CFX Maestro Dx SE por e-mail, unidade USB ou pelo próprio software.

Esta seção explica como transferir arquivos de dados autônomos para o computador do CFX Maestro Dx SE.

### Transferir dados por e-mail

#### Para enviar um arquivo de dados por e-mail no fim de uma corrida.

1. Configurar notificações por e-mail para o instrumento.

Consulte [Configurar a notificação por e-mail na página 82](#) ou o Manual de operação 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 arquivo de dados) esteja selecionado.

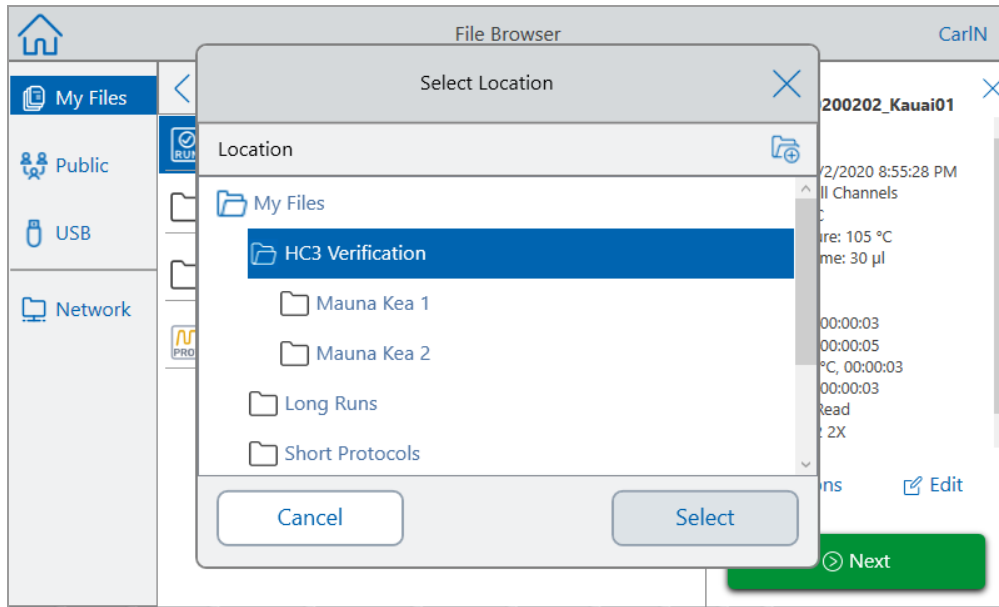
Os dados da corrida são enviados por e-mail como um arquivo .pcrd.

### Transferir dados de um Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx

Usando o recurso File Browser (Navegador de arquivos) no Sistema CFX Opus Dx, você pode transferir arquivos de dados para uma unidade USB conectada ou para uma pasta de rede compartilhada. Você também pode transferir arquivos de protocolo do CFX Maestro Dx SE de uma unidade USB ou de unidade de rede compartilhada para a sua pasta ou a pasta Public (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 conexão Ethernet, consulte o Manual de operação do Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx disponível no menu Help (Ajuda) do CFX Maestro Dx SE.

1. Na tela inicial do Sistema CFX Opus Dx, toque em Files (Arquivos) para visualizar a tela File Browser (Navegador de arquivos).
2. Na tela File Browser (Navegador de arquivos), navegue até o arquivo que deseja copiar e toque nele para visualizar o painel de detalhes.
3. No painel de detalhes do arquivo, toque em Options (Opções) e em Copy (Copiar).



A caixa de diálogo Select Location (Selecionar local) é exibida.

4. Na caixa de diálogo Select Location (Selecionar local), siga um destes procedimentos:
  - Navegue até uma pasta existente.
  - Navegue até o local para criar uma pasta na qual salvar o arquivo e toque em Create Folder (Criar pasta) (📁) para criar uma nova pasta nesse local.
5. Toque em Select (Selecionar) para copiar o arquivo para o local selecionado ou em Cancel (Cancelar) para retornar à tela File Browser (Navegador de arquivos).

**Observação:** se já existir um arquivo com esse nome no local selecionado, uma caixa de mensagem será exibida. Toque em Yes (Sim) para substituir o arquivo existente ou em No (Não) para retornar à tela File Browser (Navegador de arquivos).

O Sistema CFX Opus Dx exibirá uma mensagem de confirmação quando o arquivo for copiado com sucesso.

## Transferir dados usando o CFX Maestro Dx Software, Security Edition

### Para transferir dados usando o CFX Maestro Dx SE

1. No painel Detected Instruments (Instrumentos detectados) na janela Home (Início), clique com o botão direito do mouse no instrumento alvo e selecione Retrieve Data Files (Recuperar arquivos de dados).

O CFX Maestro Dx SE exibe a caixa de diálogo Browse for Folder (Navegar para a pasta).

2. Na caixa de diálogo Browse for Folder (Navegar para a pasta), navegue para o local no qual planeja salvar os arquivos 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 arquivos .zpcr separados.

## Transferir dados usando uma unidade USB

Se uma unidade USB for inserida na porta USB do instrumento, o arquivo de dados será salvo automaticamente no diretório raiz da unidade USB quando a corrida estiver completa. Também é possível localizar arquivo de dados salvos anteriormente e salvá-los a uma unidade USB acoplada.

### Para transferir arquivos de dados para uma unidade USB em um Sistema CFX Opus Dx

- ▶ Na caixa de diálogo Select Location (Selecionar local), toque em USB e navegue até a pasta de destino na qual deseja copiar o arquivo, ou em Cancel (Cancelar) para retornar à tela File Browser (Navegador de arquivos).

**Observação:** se já existir um arquivo com esse nome no local selecionado, uma caixa de diálogo será exibida. Toque em Yes (Sim) para substituir o arquivo existente ou em No (Não) para retornar à tela File Browser (Navegador de arquivos).

O Sistema CFX Opus Dx exibirá uma mensagem de confirmação quando o arquivo for copiado com sucesso.

## Transferir dados usando uma unidade de rede compartilhada com o Sistema de PCR em tempo real CFX Opus Dx

**Dica:** você pode transferir dados de e para uma unidade de rede compartilhada somente usando o Sistema CFX Opus Dx.

O Sistema CFX Opus Dx permite se conectar a uma unidade de rede compartilhada usando Ethernet. Com uma conexão bem-sucedida, você pode transferir arquivos de dados de e para uma pasta na unidade de rede compartilhada.

### Para transferir dados de e para uma unidade de rede compartilhada

- ▶ Na caixa de diálogo Select Location (Selecionar local), toque em Network (Rede) e navegue até a pasta de destino na qual deseja copiar o arquivo, ou em Cancel (Cancelar) para retornar à tela File Browser (Navegador de arquivos).

**Observação:** se já existir um arquivo com esse nome no local selecionado, uma caixa de diálogo será exibida. Toque em Yes (Sim) para substituir o arquivo existente ou em No (Não) para retornar à tela File Browser (Navegador de arquivos).

O Sistema CFX Opus Dx exibirá uma mensagem de confirmação quando o arquivo for copiado com sucesso.

## Criar um arquivo de dados

Para analisar os dados transferidos do instrumento para o computador do CFX Maestro Dx SE, o arquivo de dados compactado (arquivo .zpcr) deve ser convertido em um arquivo de dados (arquivo .pcrd). O CFX Maestro Dx SE converte o arquivo .zpcr em um arquivo .pcrd e seleciona um arquivo de placa que tenha o mesmo modo de leitura e tamanho de placa e o aplica ao arquivo .pcrd.

### Criar um arquivo de dados a partir de um arquivo de dados independente

1. No CFX Maestro Dx SE, faça uma das seguintes opções:
  - Localize o arquivo .zpcr de alvo e arraste-o para a janela Home (Início) do CFX Maestro Dx SE.
  - Selecione File (Arquivo) > Open (Abrir) > Stand-alone Run (Corrida independente), navegue e selecione o arquivo alvo.

O CFX Maestro Dx SE exibe a caixa de diálogo Save As (Salvar como).

2. Navegue até a pasta na qual você planeja salvar o arquivo .pcrd e clique em Save (Salvar).

Depois de salvar o arquivo .pcrd, o CFX Maestro Dx SE abre a janela Data Analysis (Análise de dados) e exibe os dados resultantes.





## Capítulo 10 Visão geral da análise de dados

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition 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 arquivo .pcrd).

- Arraste um arquivo de dados (extensão .pcrd) na janela Home (Início) e solte-o.
- Selecione File (Arquivo) > Open (Abrir) > Data File (Arquivos de dados) na janela Home (Início) e procure pelo arquivo .pcrd alvo.
- Selecione File (Arquivo) > Recent Data Files (Arquivos de dados recentes) na janela Home (Início) para selecionar a partir de uma lista dos dez arquivos de dados abertos recentemente.
- Selecione a guia Analyze (Analisar) no Startup Wizard (Assistente de inicialização) e selecione a partir de Recent Files (Arquivos recentes) ou clique em Browse (Procurar) para localizar o arquivo de dados.

### Janela Data Analysis (Análise de dados)

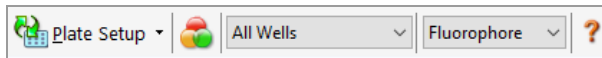
A janela Data Analysis (Análise de dados) exibe várias guias, cada uma com os dados analisados para um método de análise ou específico ou uma informação específica da corrida. As guias aparecem apenas se os dados coletados na corrida estiverem disponíveis para aquele tipo de análise.



**Dica:** para selecionar as guias a exibir, selecione-as do menu suspenso View (Visualizar) na janela Data Analysis (Análise de dados). Para retornar ao layout original da guia, selecione Configurações > Restore Default Window Layout (Restaurar o layout da janela padrão).

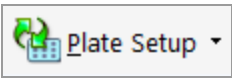

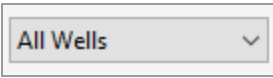
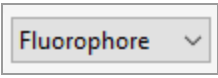

## Barra de ferramentas de análise de dados

A barra de ferramentas na janela Data Analysis (Análise de dados) fornece 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 arquivo de placa para substituir o layout da placa.  Apply PrimePCR file (Aplicar arquivo PrimePCR) — seleciona um arquivo de corrida para substituir o layout da placa para uma corrida PrimePCR.
	Manage Well Groups (Gerenciar grupos de poços)	Abre a janela do Well Groups Manager (Gerenciador de grupos de poços) para criar, editar e excluir grupos de poços.
	Well Group (Grupo de poços)	Seleciona um nome de grupo de poços existente no menu suspenso. A seleção padrão é All Wells (Todos os poços). Este botão aparece somente quando grupos de poços são criados.
	Analysis Mode (Modo de análise)	Analisa os dados no modo de fluoróforo ou alvo.
	Help (Ajuda)	Abre a seção de ajuda do software, na qual você pode 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	Comando	Função
File (Arquivo)	Save (Salvar)	Salva o arquivo.
	Save As (Salvar como)	Salva o arquivo com um novo nome.
	File Passwords (Senhas de arquivo)	Permite que os usuários definam senhas para salvar e abrir arquivos.
	Sign (Assinar)	Permite que os usuários assinem o arquivo de dados.
	Repeat Run (Repetir corrida)	Extrai o protocolo e o arquivo de placa da corrida atual para executá-lo novamente.
	Close (Fechar)	Fecha a janela Data Analysis (Análise de dados).
View (Exibir)	Run Log (Log de corrida)	Abre uma janela Run Log (Log de corrida) para visualizar o log de corrida do arquivo de dados atual.
	Audit Trail (Trilha de auditoria)	Abre a trilha de auditoria para o arquivo.
	Quantification (Quantificação), Melt Curve (Curva de fusão), Gene Expression (Expressão gênica), End Point, Custom Data View (Visualização de dados personalizados), QC (CQ), Run Information (Informações de corrida)	Exibe os dados analisados nas guias selecionadas na janela Data Analysis (Análise de dados). Pelo menos uma guia deve ser selecionada.

**Tabela 12. Itens da barra de menu da janela Data Analysis (Análise de dados), continuação**

Item do menu	Comando	Função
Settings (Configurações)	C <sub>q</sub> Determination Mode (Modo de determinação de C <sub>q</sub> )	Permite selecionar o modo Regression (Regressão) ou Single Threshold (Limiar único) para determinar como os valores C <sub>q</sub> são calculados para cada traço.
	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 traço)	Abre a janela Trace Styles (Estilos de traço).
	Plate Setup (Configuração de placa)	Abre o Plate Editor (Editor de placa) para visualizar e editar a placa; substitua a placa atual por uma de um arquivo de placa definido pelo usuário ou de um arquivo de corrida do PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Incluir todos os poços excluídos)	Inclui todos os poços excluídos na análise.
	Mouse Highlighting (Realce do mouse)	Ativa ou desativa o realce simultâneo de dados com o ponteiro do mouse. <b>Dica:</b> se o Mouse Highlighting (Realce do mouse) estiver desativado, pressione a tecla Control para ativar temporariamente o realce.
	Restore Default Window Layout (Restaurar o layout da janela padrão)	Restaura o layout das janelas para a configuração padrão.

**Tabela 12. Itens da barra de menu da janela Data Analysis (Análise de dados), continuação**

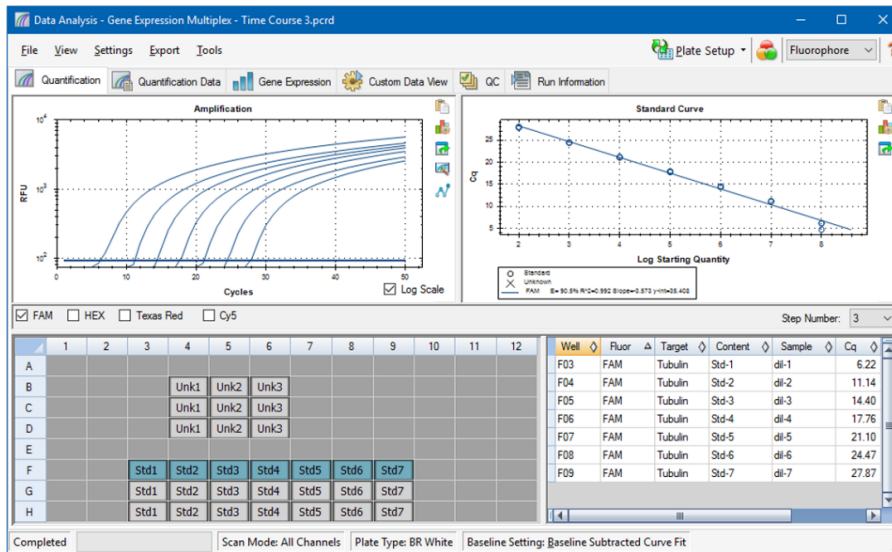
Item do menu	Comando	Função
Export (Exportar)	Export All Data Sheets (Exportar todas as folhas de dados)	Permite selecionar se deseja exportar todas as visualizações de planilha de cada guia para um .csv, .txt, Excel ou arquivo .xml.
	Export RDML File (Exportar arquivo RDML).	Permite selecionar a versão 1.1 ou 1.0 do RDML para exportar o arquivo.
	Custom Export (Personalizar exportação)	Abre a janela Custom Export (Personalizar exportação), na qual os campos a serem exportados e o formato de arquivo podem ser especificados.
	Export to LIMS Folder (Exportar para pasta LIMS)	Abre uma janela para salvar dados em um formato predeterminado para a pasta LIMS.
	Manual Export (Exportação manual)	Abre uma janela para identificar o local para salvar dados de todas as visualizações de planilhas em arquivos do Excel estruturados especificamente para uso pela Seegene, Inc. e Bio-Rad Laboratories.  <b>Dica:</b> você também pode iniciar automaticamente o Seegene Viewer na exportação. Consulte <a href="#">Comandos do menu Tools (Ferramentas) na página 67</a> para obter mais informações.

**Tabela 12. Itens da barra de menu da janela Data Analysis (Análise de dados), continuação**

<b>Item do menu</b>	<b>Comando</b>	<b>Função</b>
Tools (Ferramentas)	Reports (Relatórios)	Abre o Report (Relatório) para este arquivo 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)	Selecione um arquivo de calibragem para aplicar ao arquivo de dados atual.
	qbase+	Inicia o qbase+ v2.5 diretamente do arquivo .pcrd atual, se estiver instalado.
	Generate LIMS PLRN file (Gerar arquivo LIMS PLRN)	Salva o arquivo de dados como um arquivo .plrn no formato LIMS.

## Detalhes das guias

Cada guia na janela Data Analysis (Análise de dados) exibe dados em gráficos e planilhas para um método de análise específico e inclui um seletor de poço para selecionar os dados que você deseja mostrar. Quando é aberta, a Data Analysis (Análise de dados) exibe a guia Quantification (Quantificação) por padrão. É possível usar os dados do gráfico Amplification (Amplificação) na guia Quantification (Quantificação) para determinar as configurações da análise de dados apropriadas para a corrida.



**Observação:** o software vincula os dados nos painéis de cada guia Data Analysis (Análise de dados). Por exemplo, destacar um poço colocando o ponteiro do mouse sobre o poço na visualização do seletor de poço realça os dados em todos os outros painéis.

## 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 na guia Quantification (Quantificação). Quando um protocolo contém pelo menos uma etapa de coleta de dados, o CFX Maestro Dx SE exibe os dados da primeira etapa da coleta.

Se o protocolo contiver mais de uma etapa de coleta, você poderá selecionar outra etapa na lista suspensa. Por exemplo:

Step Number:  ▼



Quando uma etapa é selecionada, o software aplica essa seleção a todos os dados mostrados na janela Data Analysis (Análise de dados).

## Visualizar grupos de poços na Data Analysis (Análise de dados)

Poços na placa podem ser agrupados em subconjuntos para análise independente usando grupos de poços. Quando você cria grupos de poços, os nomes dos grupos aparecem na janela Data Analysis (Análise de dados), na lista suspensa Well Groups (Grupos de poços) na barra de ferramentas.

Se você criou grupos de poços, o software exibe o grupo de poços padrão 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 planilhas. Somente os poços nesse grupo de poços carregados com conteúdo aparecem no seletor de poço e somente os dados para esses poços são incluídos nos cálculos de análise de dados.

**Dica:** para criar, editar e excluir todos os grupos, clique em Manage Well Groups (Gerenciar grupos de poços) na barra de ferramentas.

**Observação:** se você não criou grupos de poços, a lista suspensa Well Groups (Grupos de poços) não aparecerá 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 coletados de cada poço durante a corrida. Depois que o módulo coleta dados de fluorescência, não será possível excluir esses dados, mas será possível optar por removê-los da exibição e da análise.

### 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 seguintes opções:
  - **Edit/View Plate** (Editar/Visualizar placa) — abre o Plate Editor (Editor de placa), no qual é possível fazer alterações manuais no layout.
  - **Replace Plate File** (Substituir arquivo de placa) — abre o navegador Select Plate (Selecionar placa), no qual é possível navegar para um arquivo de placa salvo anteriormente para substituir o layout atual da placa.
  - **Apply PrimePCR file** (Aplicar arquivo PrimePCR) — abre a caixa de diálogo Select PrimePCR file (Selecionar arquivo PrimePCR), na qual é possível navegar para um arquivo de corrida 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-se atribuir o modo de leitura e o tamanho da placa antes da corrida. Esses parâmetros não podem ser alterados após a corrida.

## Configurações de análise de dados

Os dados do gráfico Amplification (Amplificação) na guia Quantification (Quantificação) exibe a unidade de fluorescência relativa (RFU) para cada poço em cada ciclo. Cada traço 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 em uma 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 traços individuais de fluorescência.

Selecione Settings (Configurações) >  $C_q$  Determination Mode (Modo de determinação  $C_q$ ) para selecionar o modo de determinação  $C_q$ .

### Ajustar o limiar

No modo Single Threshold (Limiar único), você pode ajustar o limite para um fluoróforo clicando na linha de limite no gráfico Amplification (Amplificação) e movendo o ponteiro do mouse verticalmente. Alternativamente, você pode 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 traços 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 traços de fluorescência relativa. Algumas análises não são possíveis neste modo de análise e, portanto, o software não exibe as guias Gene Expression (Expressão gênica), End-point e Allelic Discrimination (Discriminação alélica).
- **Baseline Subtracted** (Linha de base subtraída) — exibe os dados como traços com linha de base subtraída para cada fluoróforo em um 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 traço com linha de base subtraída, o software enquadra a melhor linha reta pela fluorescência registrada de cada poço durante os ciclos de linha de base e então subtrai os dados de melhor encaixe dos dados de fundo subtraídos a cada ciclo.
- **Baseline Subtracted Curve Fit** (Encaixe de curva de linha de base subtraída) — exibe os dados como traços 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.

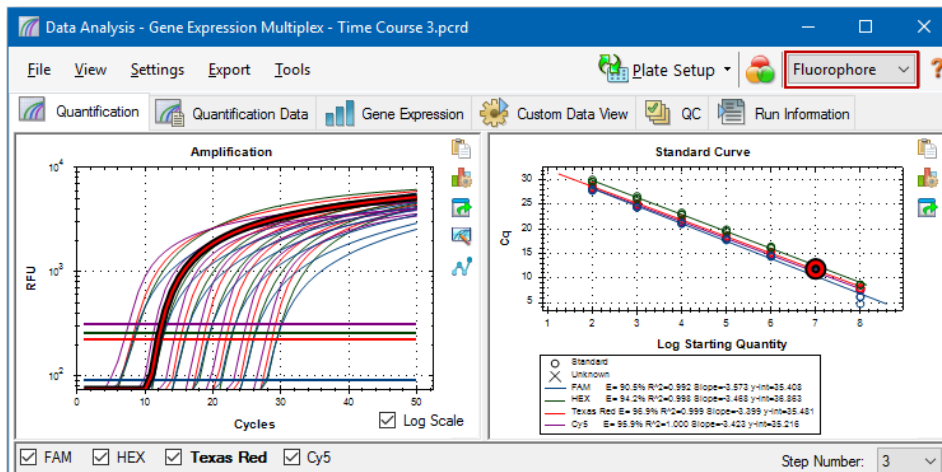
Adicionalmente a essas opções, também é possível selecionar Apply Fluorescent Drift Correction (Aplicar correção de derivação fluorescente). Para poços que tenham valores de RFU com derivação anormal durante os ciclos iniciais de uma corrida, o software deriva uma linha de base estimada dos poços adjacentes para os quais um linha de base horizontal tenha sido gerada com sucesso.

### Para alterar a configuração de subtração de linha de base

- Selecione Settings (Configurações) > Baseline Setting (Configuração de linha de base).

## Modo de análise

Os dados podem ser agrupados e analisados por nome de fluoróforo ou de alvo. Quando agrupados por fluoróforo, os traços de dados são exibidos por fluoróforo conforme indicado na configuração de placa para essa corrida. Os dados do fluoróforo individual aparecem no gráfico de amplificação e curva padrão (se disponível) quando as caixas de verificação de seleção de fluoróforo apropriadas, localizadas abaixo do gráfico de amplificação, são selecionadas.



Quando agrupados por alvo, os traços de dados são exibidos por nome de alvo conforme inserido na configuração de placa para essa corrida.

### Para 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.

## 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.

### Restringir a análise de dados para um intervalo específico de ciclos

1. Selecione Settings (Configurações) > Cycles to Analyze (Ciclos para análise).

A caixa de diálogo Cycles to Analyze (Ciclos para análise) aparece.

2. Digite os valores dos ciclos inicial e final e clique em OK.

Clique em Restore Defaults (Restaurar padrões) na caixa de diálogo Cycles to Analyze (Ciclos para análise) para retornar aos ciclos usados originalmente para análise.

## Seletor de poço

Use o Well Selector (Seletor de poço) para visualizar ou ocultar os dados do poço nos gráficos ou planilhas na janela Data Analysis (Análise de dados). Somente poços carregados com amostra podem ser selecionados no seletor de poço. O software aplica cores nos poços no seletor de poço:

- **Azul** — indica poços selecionados. Os dados dos poços selecionados aparecem na janela Data Analysis (Análise de dados).
- **Cinza claro** — indica poços não selecionados. Os dados dos poços não selecionados não aparecem 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			

### Para exibir ou ocultar dados de poços

- ▶ No seletor de poços, execute uma das seguintes opções:
  - Para ocultar um poço, clique no poço individual. Para exibir aquele poço, clique nele novamente.
  - Para ocultar vários poços, arraste pelos poços que deseja selecionar. Para exibir esses poços, arraste 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 esses poços. Clique na coluna ou linha novamente para exibir os poços.

## Itens de menu de clique com o botão direito do mouse do seletor de poço

A [Tabela 13](#) lista as opções disponíveis ao clicar com o botão direito disponíveis na visualização do seletor de poço.

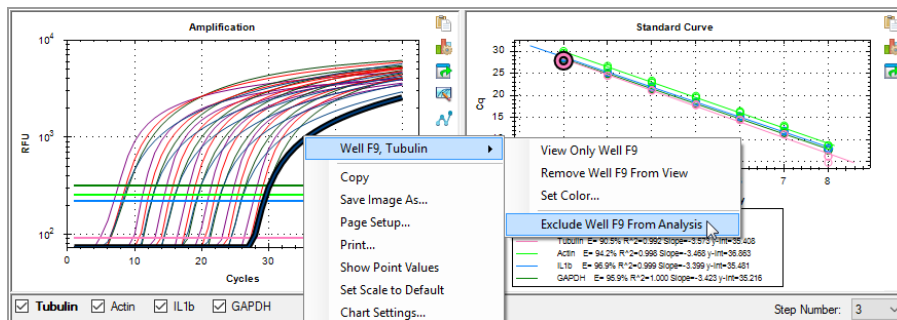
**Tabela 13. Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para os seletores de poço**

Item	Função
Well XX (Poço XX)	Exibe somente esse poço, remove-o da visualização, configura a cor desse poço ou o exclui da análise.
Selected Wells (right-click and drag) (Poços selecionados (clicar com o botão direito e arrastar))	Exibe apenas esses poços, remove-os da visualização, configura a cor desses poços ou os exclui da análise.
Copy (Copiar)	Copia o conteúdo do poço para uma área de transferência, inclusive Sample Type (Tipo de amostra) e Replicate # (Réplica #) opcional.
Copy as Image (Copiar como imagem)	Copia a visualização do seletor de poço como uma imagem.
Print (Imprimir)	Imprime a visualização do seletor de poço.
Print Selection (Imprimir seleção)	Imprime a seleção atual.
Export to Excel (Exportar para Excel)	Exporta os dados para uma planilha do 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 os poços da análise

### Excluir temporariamente os poços da análise de dados

1. Clique com o botão direito do mouse no seletor de poço, em um traço de fluorescência ou em um ponto plotado na curva padrão. Para excluir vários poços, clique com o botão direito do mouse e arraste para destacar vários poços, traços ou pontos.
2. A partir do menu de clique com botão direito do mouse, selecione a opção apropriada:
  - Well (Poço) > Exclude Well (Excluir poço)
  - Selected Wells (Poços selecionados) > Exclude from Analysis (Excluir da análise)
  - Selected Traces (Traços selecionados) > Exclude these wells from Analysis (Excluir esses 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 reinserir qualquer conteúdo de poço que estiver limpo.

### Incluir um poço excluído

- ▶ Clique com o botão direito do mouse no poço apropriado no seletor de poço 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 em um gráfico diferente e inclui opções para ajustar e exportar os dados ou gráficos.

### Ferramentas de gráfico

A [Tabela 14](#) lista as opções disponíveis ao clicar com o botão direito disponíveis na maioria dos gráficos.

**Tabela 14. Itens de menu de clique com o botão direito do mouse comuns à maioria dos gráficos**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o gráfico na área de transferência.
Save Image As... (Salvar imagem como)	Salva o gráfico como um arquivo de imagem. Configure a resolução e as dimensões da imagem e, em seguida, selecione o tipo de arquivo (PNG, GIF, JPG, TIF ou BMP).
Page Setup... (Configuração de página)	Selecione uma configuração de página para impressão.
Print... (Imprimir)	Imprime o gráfico.
Set Scale to Default (Configurar escala como padrão)	Mostra todos os dados no gráfico de barra. Exibe a barra de rolagem se houver muitos pontos de dados/amostras a serem exibidos no quadro do gráfico.
Chart Settings (Configurações de gráfico)	Abre a caixa de diálogo Chart Settings (Configurações de 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 visualização do gráfico para a área de transferência.

**Chart Settings** (Configurações de gráfico) — abre a caixa de diálogo Chart Settings (Configurações de 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 salvá-lo em um local especificado como um dos seguintes tipos de arquivo:

- .bmp
- .jpg
- .png

### Ferramentas de gráficos 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 você pode alterar a cor dos alvos e amostras.

Para obter mais informações sobre essas ferramentas, consulte [Alterar e anotar a Chart View \(Visualização de gráfico\)](#) na página 270.

### Ferramentas de gráfico de amplificação

Além dos listados acima, os gráficos de amplificação exibem as seguintes ferramentas:

**Trace Styles** (Estilos de traço) — abre a caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traço) na qual você pode modificar a aparência dos traços no gráfico de amplificação.

**Baseline Threshold** (Limiar de base) — abre a caixa de diálogo Baseline Threshold (Limiar de base), na qual você pode modificar a linha de base padrão 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 visualização de gráfico e colá-la em qualquer aplicativo que aceite arquivos de imagem bitmap.

#### Para 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 um aplicativo que aceite imagens de bitmap, por exemplo o Microsoft Word.
3. Clique o botão direito e selecione Paste (Colar) para colar a imagem de bitmap da área de transferência no aplicativo.

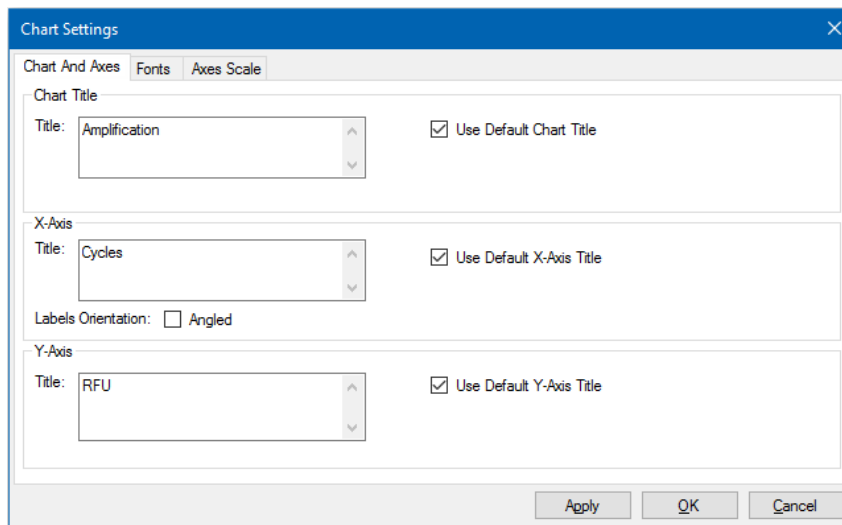
## Alterar as configurações de exibição de gráfico

Use a caixa de diálogo Chart Settings (Configurações de gráfico) para alterar títulos, fontes e tamanhos, escala do eixo e localização da legenda para o gráfico exibido. Alterações feitas se aplicarão somente ao gráfico exibido e serão salvas com o gráfico.

### Para alterar as configurações de exibição de gráfico

1. Nas ferramentas de gráfico, clique em Chart Settings (Configurações de gráfico).

A caixa de diálogo Chart Settings (Configurações de gráfico) aparece.



2. Selecione a guia Chart And Axes (Gráfico e eixos) para:
  - Digitar um título para o gráfico.
  - Digitar um novo título para o eixo x e aplique o ângulo dos rótulos.
  - Digitar um novo título para o eixo y.
3. Selecione a guia Fonts (Fontes) para alterar a fonte e o tamanho da fonte do gráfico.

**Dica:** como padrão, o tamanho da fonte é alterado automaticamente conforme o tamanho do gráfico muda. Selecione Change Font Size (Alterar tamanho da fonte) para definir um tamanho de fonte estático para cada tipo de rótulo.

4. Selecione a guia 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 a guia Legend (Legenda) para:
  - Escolher ocultar a legenda do gráfico.
  - Alterar a posição padrão da legenda do gráfico.

**Observação:** quando a legenda estiver posicionada à esquerda ou direita do gráfico, ele exibirá somente os dez primeiros fluoróforos no gráfico.

6. Clique em Apply (Aplicar) a qualquer momento para visualizar as alterações das configurações do gráfico sem salvá-las.
7. Clique em OK para salvar as alterações e voltar para o gráfico.

### Exportar o gráfico

Use esta caixa de diálogo para modificar a largura, altura e resolução do gráfico para exportá-lo em um dos seguintes formatos de arquivo:

- .bmp
- .jpg
- .png

Em seguida, você pode usar o gráfico exportado para exibir seus resultados em sessões de pôsteres, apresentações do Microsoft PowerPoint e periódicos profissionais.

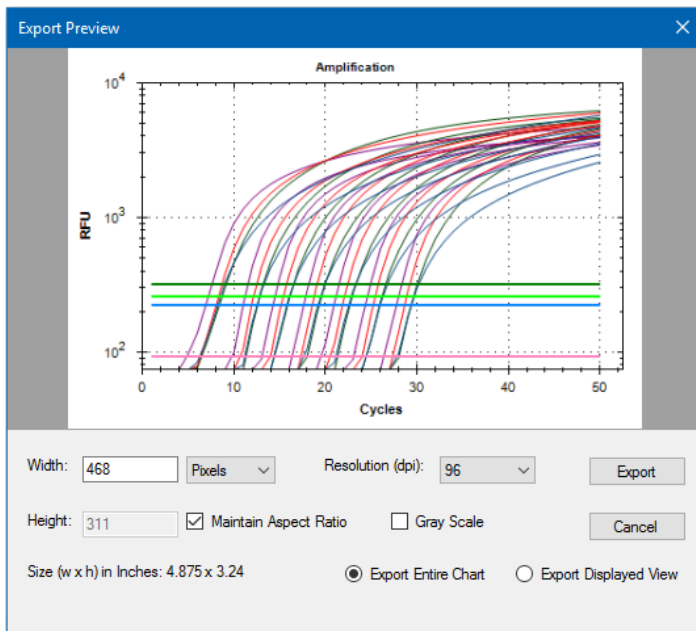
**Observação:** considere o seguinte ao modificar as configurações:

- Limites máximos e mínimos de largura e altura
  - Em 72 dpi: 0,1–83 pol.
  - Em 96 dpi: 0,1–62 pol.
  - Em 150 dpi: 0,1–40 pol.
  - Em 300 dpi: 0,1–20 pol.
  - Em 600 dpi: 0,1–10 pol.
  - Em todas as resoluções: 2–6.000 pixels
- A proporção de aspecto é baseada na largura.

### Para exportar o gráfico

1. Nas ferramentas de gráfico, clique em Export (Exportar).

A caixa de diálogo Export Preview (Pré-visualização da exportação) aparece.



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 salvar o arquivo do relatório.
  - b. Digite um nome para o arquivo e escolha um tipo de arquivo na lista suspensa.
5. Clique em Save (Salvar) para salvar o arquivo do gráfico.

### Modificar as configurações de limiar de linha de base

No modo Single Threshold (Limiar único), você pode ajustar o limiar para um fluoróforo clicando na linha de limiar no gráfico Amplification (Amplificação) e movendo o ponteiro do mouse verticalmente. Alternativamente, você pode especificar um limiar de cruzamento exato para o fluoróforo selecionado.

**Dica:** você pode especificar um intervalo de ciclo para determinar a linha de base para todos os arquivos de dados na guia Data Analysis (Análise de dados) em User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário).

### Ajustar o ciclo inicial e final da linha de base para cada poço

1. Na guia Quantification (Quantificação), selecione um único fluoróforo no gráfico Amplification (Amplificação).
2. Nas ferramentas de gráfico, selecione Baseline Threshold (Limiars de linha de base).

A caixa de diálogo Baseline Threshold (Limiar de linha de base) aparece.

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 planilha.
 

**Dica:** para reverter as configurações de volta para os últimos valores salvos, clique em Reset All User Defined Values (Redefinir todos os valores definidos pelo usuário).
5. Clique em OK para salvar as alterações e voltar para o gráfico.

#### **Especificar um intervalo de ciclo para todos os arquivos de dados**

- ▶ Na janela Home (Início) ou Plate Editor (Editor de placa), selecione User (Usuário) > User Preferences (Preferências do usuário) e selecione a guia Data Analysis (Análise de dados).

#### **Ordenar dados de alvo, amostra e grupo biológico**

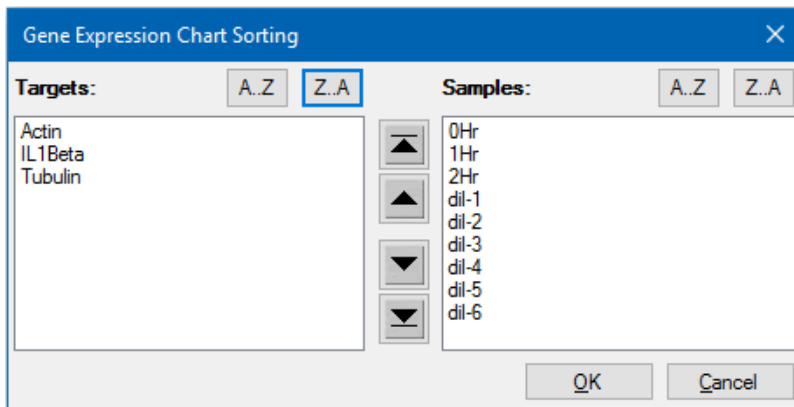
**Observação:** esta opção está disponível apenas em gráficos de expressão gênica.

Por padrão, 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 invertida ou para mover manualmente um termo para uma posição diferente na lista.

#### **Para ordenar dados de alvos, amostras e grupos biológicos**

1. Nas ferramentas de gráfico, clique em Sort (Ordenar).

A caixa de diálogo Gene Expression Chart Sorting (Ordenar gráfico de expressão gênica) aparece.



2. Na caixa de diálogo, clique em Z-A para ordenar a lista em ordem alfabética invertida.
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 em uma posição.
  - Clique na seta com barra para cima ou para baixo para mover o termo selecionado para o alto ou para a parte de baixo da lista.
4. Clique em OK para salvar as alterações e voltar para a guia Gene Expression (Expressão gênica).

## Alterar configurações de cor de alvos e amostras

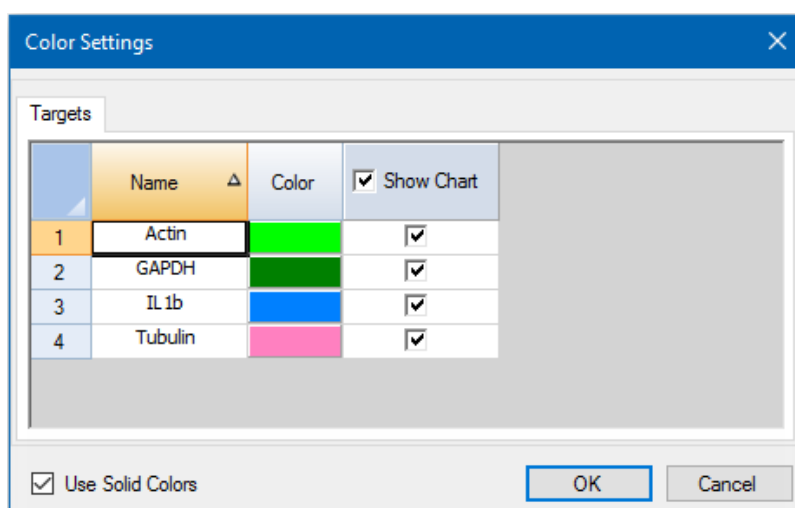
**Observação:** esta opção está disponível apenas em gráficos de expressão gênica.

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.

### Para alterar as configurações de cor

1. Nas ferramentas de gráfico, selecione Color Settings (Configurações de cores).

A caixa de diálogo Color Settings (Configurações de cores) aparece.



2. Para alterar a cor de exibição para um alvo ou amostra, clique em sua cor na coluna Color (Cor).
3. Na caixa de diálogo Color (Cor) que aparecerá, escolha uma nova cor e clique em OK.
4. Para remover o item do gráfico de expressão gênica, remova a seleção na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).

**Dica:** para remover todos os itens do gráfico de expressão gênica, remova a seleção na coluna Show Chart (Mostrar gráfico) no topo da coluna.

5. (Opcional) Por padrão, 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 salvar as alterações e voltar para a guia Gene Expression (Expressão gênica).



## Ampliar uma área no gráfico

### Para ampliar uma área do gráfico

- ▶ Clique e arraste no gráfico e então clique em Zoom. O software redimensiona o gráfico e o centraliza na área selecionada.

**Observação:** o gráfico de barras não exige clicar no comando Zoom no pop-up.

### Para redefinir o gráfico para visualização completa

- ▶ Clique com o botão direito do mouse no gráfico e selecione Set Scale to Default (Configurar escala como padrão).

## Copiar gráficos para um arquivo da Microsoft

É possível copiar gráficos de dados para documentos do Microsoft Word, Excel ou PowerPoint. A resolução da imagem corresponde à da tela na qual a imagem foi obtida.

### Para copiar gráficos para um arquivo 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 arquivo da Microsoft em branco e cole o conteúdo da área de transferência.

## Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para gráficos

A [Tabela 15](#) lista os itens do menu de clique com o botão direito que ficam 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 os dados de um gráfico.

**Tabela 15. Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para os gráficos**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o gráfico para a área de transferência.
Save Image As (Salvar imagem como)	Salva a imagem no tamanho, na resolução e no tipo de arquivo especificados, incluindo PNG (padrão), JPG e BMP.

Item	Função
Page Setup (Configuração de página)	Exibe as opções de configuração de impressão.
Print (Imprimir)	Imprime o gráfico.
Set Scale to Default (Configurar escala como padrão)	Retorna o gráfico para sua visualização padrão depois de ampliá-lo.
Chart Options (Opções do gráfico)	Abre a janela Chart Options (Opções do gráfico) para alterar o gráfico, inclusive alterar o título, selecionar limites para os eixos x e y, exibir linhas de grade e mostrar marcações menores nos eixos.

**Observação:** os itens de menu que se aplicam a gráficos específicos são descritos no [Capítulo 11, Detalhes da análise de dados](#).

## Planilhas

As planilhas mostrados 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.

### Para ordenar até três colunas de dados na janela Sort (Ordenar)

1. Clique com o botão direito na planilha e selecione Sort (Ordenar).
2. Na caixa de diálogo Sort (Ordenar), selecione o título da primeira coluna para 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 poço segurando o ponteiro do mouse sobre uma célula. Clique em uma célula para copiar e colar seu conteúdo em outro programa de software.

## Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para planilhas

A [Tabela 16](#) lista os itens de menu do botão direito disponíveis em qualquer visualização de planilha.

**Tabela 16. Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para planilhas**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o conteúdo dos poços selecionados para uma área de transferência e depois cola o conteúdo em uma planilha como do Excel.
Copy as Image (Copiar como imagem)	Copia a visualização da planilha como um arquivo de imagem e a cola em um arquivo que aceita um arquivo de imagem, como arquivos de texto, imagem ou planilha.
Print (Imprimir)	Imprime a visualização atual.

**Tabela 16. Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para planilhas, continuação**

<b>Item</b>	<b>Função</b>
Print Selection (Imprimir seleção)	Imprime a seleção atual.
Export to Excel (Exportar para Excel)	Exporta os dados para uma planilha do 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 arquivo .csv.
Export to Xml (Exportar para Xml)	Exporta os dados para um arquivo .xml.
Export to Html (Exportar para Html)	Exporta os dados para um arquivo .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 planilha.

## 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 arquivos RDML).
- Custom Export (Personalizar exportação)
- Export to LIMS Folder (Exportar para pasta LIMS)
- Manual Export (Exportação manual)

### Exportar todas as folhas de dados

É possível exportar todas as visualizações de planilha de todas as guias do CFX Maestro Dx SE para arquivos separados.

#### Para exportar todas as folhas de dados

- ▶ Selecione Export (Exportar) > Export All Data Sheets (Exportar todas as folhas de dados) e então selecione o tipo de arquivo desejado:

- CSV (\*.csv)
- Texto (\*.txt)
- Pasta de trabalho do Excel (\*.xlsx)

As análises exportadas são salvas em vários arquivos de pasta de trabalho do Excel, com uma guia de planilha de dados de análise por arquivo. Quando uma análise inclui vários fluoróforos, os dados de cada fluoróforo são exportados em guias separadas na planilha.

- Pasta de trabalho do Excel - combinado (\*.xlsx)

As análises exportadas são salvas em um único arquivo de pasta de trabalho do Excel que inclui várias guias de planilha, uma para cada conjunto de dados de análise.

- Excel 97 - 2003 (\*.xls)

**Importante:** seu computador deve ter o Microsoft Excel instalado para que você possa exportar dados para uma planilha do Microsoft Excel.

- XML (\*.xml)

## Exportar arquivos RDML

O RDML é um padrão de dados estruturado e universal para intercâmbio de dados de PCR quantitativa (qPCR). O padrão dos dados é um arquivo 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 arquivos RDML exportados incluem dados de análise com as configurações de linha de base aplicadas na janela Data Analysis (Análise de dados). Para obter mais informações sobre as configurações de linha de base, consulte [Configurações de linha de base na página 202](#).

**Observação:** salve o arquivo RDML como versão 1.1 se você estiver usando a versão 2.3 ou posterior do software qbase+.

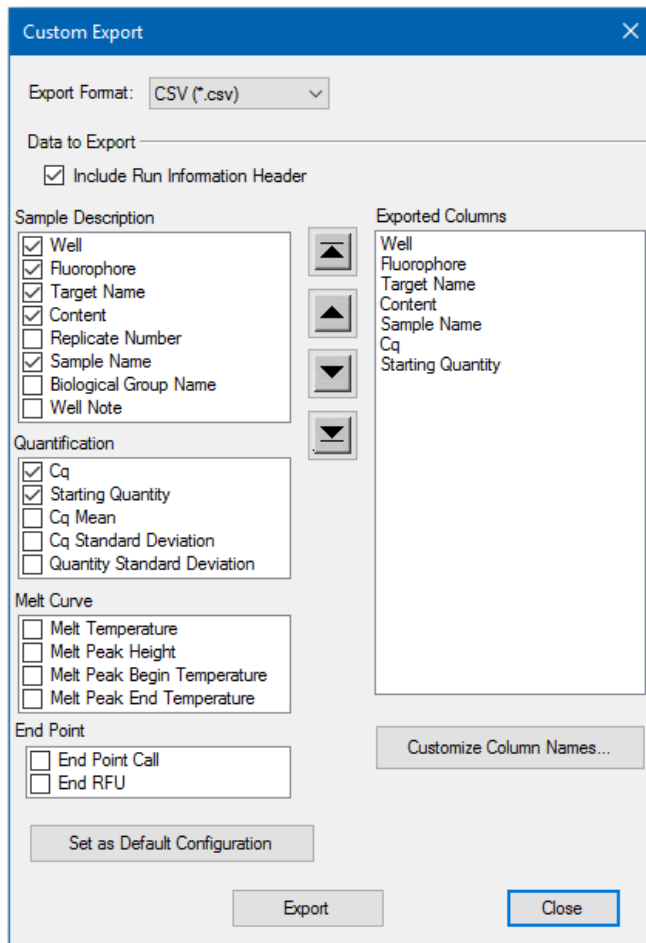
### Para exportar um arquivo RDML

1. Selecione Export (Exportar) > Export RDML Files (Exportar arquivos RDML) e selecione RDML v1.1 ou RDML v1.0 na lista que aparecerá.  
A caixa de diálogo Save As (Salvar como) aparece.
2. Na caixa de diálogo Save As (Salvar como), especifique um nome do arquivo e localização na qual salvar o arquivo RDML.
3. Clique em OK para salvar o arquivo exportado.

## Criar um arquivo de exportação personalizado

### Para criar um arquivo de exportação personalizado

1. Selecione Export (Exportar) > Custom Export (Exportação personalizada). A caixa de diálogo Custom Export (Exportação personalizada) aparece.



2. Selecione o formato de exportação na lista suspensa que aparece.
3. Selecione as caixas de seleção para os itens a serem exportados.
4. (Opcional) Clique em Customize Column (Customizar coluna) para alterar nomes de colunas.
5. Clique em Export (Exportar). A caixa de diálogo Save As (Salvar como) aparece.
6. Na caixa de diálogo Save As (Salvar como), especifique um nome do arquivo e localização na qual salvar o arquivo exportado.

7. Clique em OK para salvar o arquivo exportado.



## Exportar para uma pasta LIMS

É possível exportar dados para um formato de arquivo compatível com LIMS. Para obter mais informações sobre criação, gerenciamento e uso de arquivos LIMS, consulte o [Apêndice C, Integração LIMS](#).

### Para exportar dados para o formato LIMS

1. Selecione Export (Exportar) > Export to LIMS Folder (Exportar para pasta LIMS).  
A caixa de diálogo Save As (Salvar como) aparece.
2. Na caixa de diálogo Save As (Salvar como), especifique um nome do arquivo e localização na qual salvar o arquivo exportado.
3. Clique em OK para salvar o arquivo exportado.

## Exportar dados formatados para o Seegene

É possível exportar os dados de todas as visualizações de planilhas em arquivos do Excel estruturados especificamente para uso pela Seegene, Inc.

**Dica:** você também pode iniciar automaticamente o Seegene Viewer quando a exportação for concluída. Consulte [Comandos do menu Tools \(Ferramentas\) na página 67](#) para obter mais informações.

### Para exportar dados em um formato específico para o Seegene

1. Selecione Export > Manual Export (Exportar > Exportação manual).  
A caixa de diálogo Browse for Folder (Navegar para a pasta) é exibida.
2. Na caixa de diálogo Browse for Folder (Navegar para a pasta), especifique um local de pasta no qual salvar os arquivos exportados do Excel (.xlsx) formatados para o Seegene.  
  
As análises são exportadas em vários arquivos de pasta de trabalho do Excel, com uma guia de planilha de dados de análise por arquivo.
3. Clique em OK para salvar os arquivos exportados.

## Capítulo 11 Detalhes da análise de dados

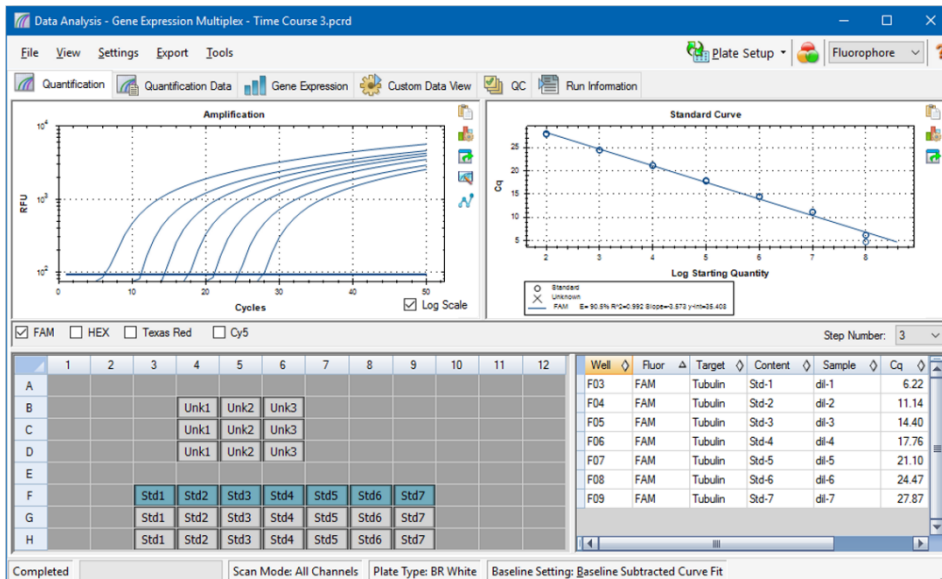
A janela Data Analysis (Análise de dados) do CFX Maestro Dx Software, Security Edition inclui várias guias para visualizar os dados. Este capítulo explica essas guias em detalhe.

**Dica:** é possível selecionar quais guias visualizar na janela Data Analysis (Análise de dados) usando o menu View (Exibir). O layout personalizado é salvo com o arquivo de dados.

## Guia Quantification (Quantificação)

Use os dados na guia 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. A guia Quantification (Quantificação) exibe os dados nestas quatro visualizações:

- Gráfico Amplification (Amplificação) — exibe as unidades de fluorescência relativas (RFU) para cada poço em cada ciclo. Cada traço no gráfico representa dados de um único fluoróforo em um poço.
- Standard curve (Curva padrão) — aparece apenas se a corrida incluir poços designados como padrão de tipo de amostra (Std). A curva padrão exibe o ciclo de limiar plotado 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 Padrão.
- Well selector (Seletor de poço) — seleciona os poços com os dados de fluorescência que deseja exibir.
- Spreadsheet (Planilha) — exibe uma planilha dos dados coletados nos poços selecionados.



## Opções de fluoróforos

Para exibir os dados do fluoróforo nos gráficos e planilhas da guia 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 sua caixa de seleção.

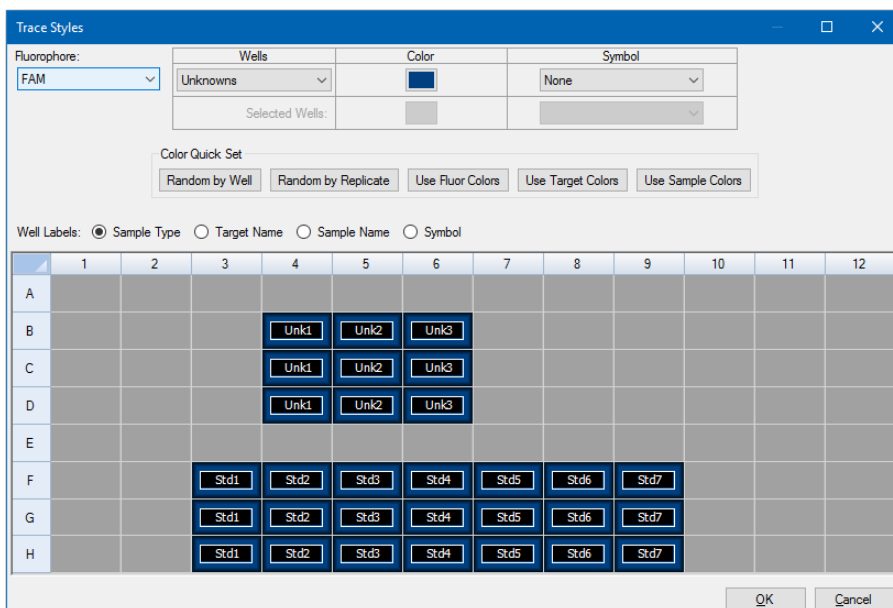
## Caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traço)

Usando a caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traço), é possível ajustar os gráficos de amplificação e curva de fusão nas guias 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 traço).

### Para ajustar estilos de traço

1. Selecione um único fluoróforo no gráfico Amplification (Amplificação).
2. Para abrir a caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traço), faça uma das seguintes opções:
  - Clique em Trace Styles (Estilos de traço) no gráfico Amplification (Amplificação).
  - Selecione Settings (Configurações) > Trace Styles (Estilos de traço) na barra de menu Data Analysis (Análise de dados).
  - Clique com o botão direito em um traço e selecione Trace Styles (Estilos de traço).

A caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traço) aparecerá.

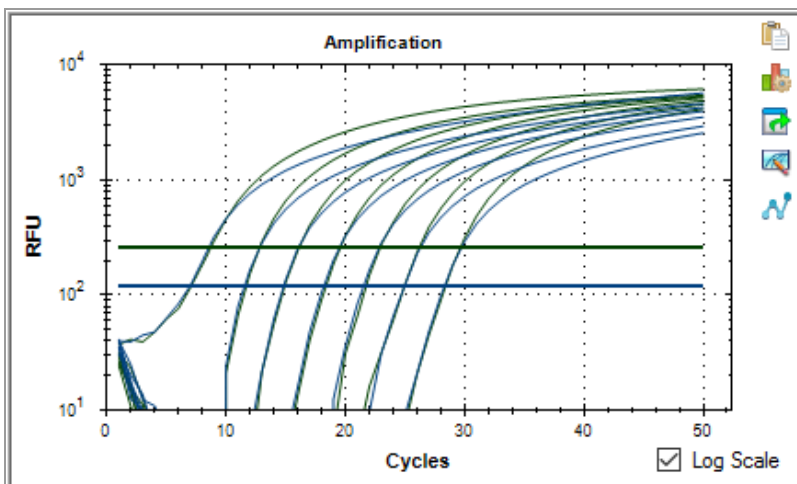


3. Na caixa de diálogo Trace Styles (Estilos de traço), selecione um conjunto específico de poços no seletor de poços no painel inferior. Como alternativa, selecione poços que contenham um tipo de amostra no menu suspenso na coluna Wells (Poços).
4. Execute uma das seguintes opções:

- 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 por rótulo do botão, clique no conjunto rápido apropriado:
  - Random by Well (Aleatório por poço)
  - Random by Replicate (Aleatório por Réplica)
  - Use Fluor Colors (Usar cores de fluorescência)
  - Use Target Colors (Usar cores de alvo)
  - Use Sample Colors (Usar 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)

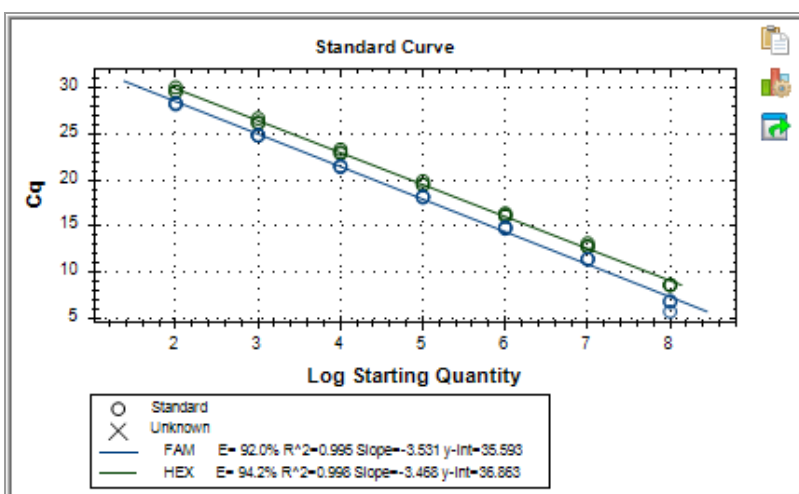
Selecione Log Scale (Escala logarítmica) abaixo do gráfico Amplification (Amplificação) para visualizar os traços de fluorescência em uma escala semilogarítmica:



**Dica:** para ampliar qualquer área do gráfico, arraste a área alvo. Para retornar a uma exibição completa, clique com o botão direito do mouse no gráfico e selecione Set Scale to Default (Configurar escala como padrão).

## Gráfico de Curva padrão

O software cria um gráfico Standard Curve (Curva padrão) na guia 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 seguintes informações:

- Nome de cada curva (o fluoróforo ou alvo).
- Cor de cada fluoróforo ou alvo.
- Eficiência da reação (E). Use essa 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 sendo produzido em cada ciclo do protocolo. Uma eficiência de 100% indica que você está dobrando seu alvo em cada ciclo.

- Coeficiente de determinação,  $R^2$  (escrito como  $R^2$ ). Use esta estatística para determinar o quão corretamente a linha descreve os dados (qualidade de ajuste).
- Inclinação
- Intercepto y

## Opções de menu do gráfico Amplification (Amplificação)

Além das opções comuns de menu do botão direito para gráficos (consulte [Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para gráficos na página 216](#)), a [Tabela 17](#) lista as opções de menu disponíveis apenas no gráfico Amplification (Amplificação).

**Tabela 17. Itens de menu de clique com os botões direito e esquerdo do mouse para o gráfico Amplification (Amplificação)**

Opções de menu	Função
Well XX (Poço XX), Fluor Target (Alvo de fluoróf.)	Exibe somente esse poço, remove poço desta visualização, configura a cor desse traço ou exclui esse poço da análise.
Selected Traces (Traços selecionados)	Exibe apenas esses poços, remove esses poços da visualização, configura a cor desses traços 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 traço)	Abre a janela Trace Styles (Estilos de traço) para alterar estilos de traço que aparecem nas guias 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), na guia Quantification (Quantificação)).

## Planilha da guia Quantification (Quantificação)

A [Tabela 18](#) define os dados exibidos na planilha na guia Quantification (Quantificação).

**Tabela 18. Conteúdo da planilha da guia Quantification (Quantificação)**

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Fluoróf.)	Fluoróforo detectado
Target (Alvo)	Nome da amostra carregada nos poços do Plate Editor (Editor de placa)

<b>Informações</b>	<b>Descrição</b>
Content (Conteúdo)	Uma combinação de Sample Type (Tipo de amostra) (requerido) e Replicate # (Nº 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 traço

### Alterar dados de alvo, conteúdo ou amostra

É possível alterar os dados nas colunas Target (Alvo), Content (Conteúdo) e Sample (Amostra) editando o arquivo de placa com o uso do editor de placa, mesmo depois de ter executado o experimento.

#### Para 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.



## Guia Quantification Data (Dados de quantificação)

A guia Quantification Data (Dados de quantificação) exibe os dados de quantificação coletados em cada poço. O CFX Maestro Dx SE exibe os dados em quatro visualizações de planilhas diferentes:

- Results (Resultados) — exibe uma planilha dos dados. Esta é a visualização padrão.
- Standard Curve Results (Resultados da curva padrão) — exibe uma planilha 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 planilha na lista suspensa que aparece abaixo da guia Quantification Data (Dados de quantificação).

### Planilha Results (Resultados)

A planilha 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 da valor  $C_q$  para cada poço no grupo de réplicas.

A [Tabela 19](#) define os dados que aparecem na planilha Results (Resultados).

**Tabela 19. Conteúdo da planilha Results (Resultados)**

<b>Informações</b>	<b>Descrição</b>
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Fluoróf.)	Fluoróforo detectado
Target (Alvo)	Nome do alvo de amplificação (gene)
Content (Conteúdo)	Tipo de amostra e N° de réplicas
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 (Cq médio)	Média do ciclo de quantificação para o grupo de réplica
C <sub>q</sub> Std. Dev (Desvio padrão de Cq)	Desvio padrão do ciclo de quantificação para o grupo de réplica
Starting Quantity (Quantidade inicial) (SQ)	Estimativa da quantidade inicial do alvo
Log Starting Quantity (Log quantidade inicial)	Log de quantidade inicial
SQ Mean (SQ médio)	Média da quantidade inicial
SQ Std. Dev (Desvio padrão SQ)	Desvio padrão da quantidade inicial nas réplicas

## Planilha Standard Curve Results (Resultados de curva padrão)

A planilha 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 planilha Standard Curve Results (Resultados de curva padrão).

**Tabela 20. Conteúdo da planilha Standard Curve Results (Resultados de curva padrão)**

Informações	Descrição
Fluor (Fluoróf.) (ou Target (Alvo))	Fluoróforo (ou alvo) detectado
Efficiency % (% de eficiência)	Eficiência da reação
Slope (Inclinação)	Inclinação da curva padrão
Y-intercept (Intercepto y)	Ponto no qual a curva intercepta o eixo y
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação

## Planilha Plate (Placa)

A planilha Plate (Placa) exibe um mapa da placa dos dados para um fluoróforo por vez.

The screenshot shows the 'Plate' tab in the software interface. The window title is 'Data Analysis - Gene Expression Multiplex - Time Course 3.pcrd'. The menu bar includes 'File', 'View', 'Settings', 'Export', and 'Tools'. The toolbar has 'Plate Setup' and 'Fluorophore' (set to 'Fluorophore'). The 'Output' section has checkboxes for 'Content', 'Sample', 'Cq', and 'Starting Quantity', all of which are checked. The main area displays a 96-well plate layout with 9 columns and 12 rows. The rows are grouped into three sections: A, B, and C. Each section has four rows: 'Content', 'Sample', 'Cq', and 'copy number'. The columns are numbered 1 to 9. The data is as follows:

	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		

The status bar at the bottom shows 'Completed', 'Scan Mode: All Channels', and 'Plate Type: BR White'.

### Para visualizar dados de um fluoróforo específico

- Clique em sua guia na parte inferior da planilha.

## Planilha RFU

A planilha de RFU exibe as leituras das relative fluorescence units (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.

The screenshot shows the 'Data Analysis - Gene Expression Multiplex - Time Course 3.pcrd' window. The 'RFU' tab is selected, and the 'Step Number' is 3. The table displays relative fluorescence units for cycles 1 through 7 across wells B4, B5, B6, C4, C5, C6, D4, D5, D6, F3, F4, and F5. The interface includes a menu bar (File, View, Settings, Export, Tools), a toolbar with icons for Quantification, Quantification Data, Gene Expression, Custom Data View, QC, and Run Information, and a status bar at the bottom indicating 'Completed', 'Scan Mode: All Channels', and 'Plate Type: BR White'.

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

## Guia Melt Curve (Curva de fusão)

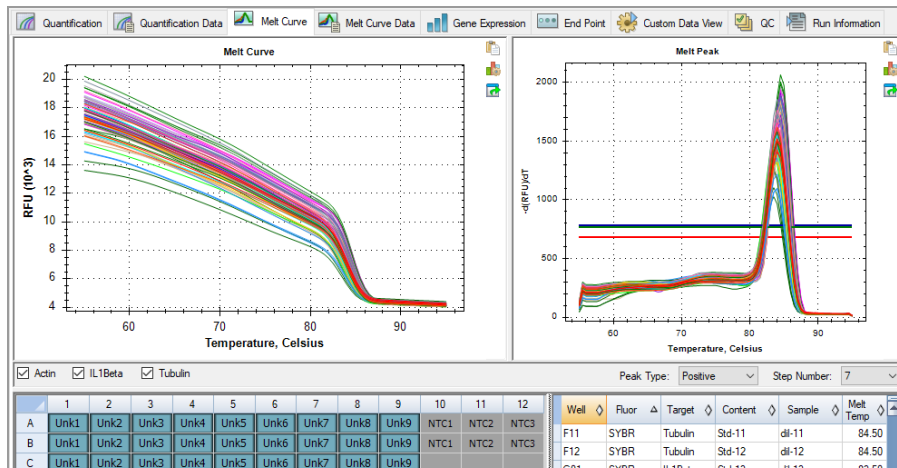
Para corantes de ligação ao DNA e sondas de hibridização não cliváveis, a fluorescência é mais brilhante quando as duas cadeias de DNA se ligam. Portanto, à medida que a temperatura aumenta para a temperatura de fusão ( $T_m$ ), a fluorescência diminui a uma taxa constante (inclinação constante). No  $T_m$  há uma redução dramática na fluorescência com uma mudança perceptível na inclinação. A taxa dessa mudança é determinada pela plotagem 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 plota os dados da RFU coletados 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.

A guia 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 RFUs 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 poço) — exibe poços para mostrar ou ocultar os dados.
- Peak spreadsheet (Planilha de pico) — exibe os dados coletados no poço selecionado.

**Observação:** esta planilha exibe até dois picos para cada traço. Para ver mais picos, clique na guia Melt Curve Data (Dados da curva de fusão).



A [Tabela 21](#) define os dados mostrados na planilha Melt Curve (Curva de fusão).

**Tabela 21. Conteúdo da planilha Melt Curve (Curva de fusão)**

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Fluoróf.)	Fluoróforo detectado
Content (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 planilha.

## Ajustar os dados da curva de fusão

### Ajustar os dados da curva de fusão

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - 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 planilha para os picos acima da linha Melt Threshold (Limiar de fusão) ou selecione Negative (Negativo) para visualizar os dados da planilha para os picos abaixo da linha Melt Threshold (Limiar de fusão).
  - Abra a janela Trace Styles (Estilos de traço) para alterar a cor dos traços 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) em outra 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 poço 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.



## Guia Melt Curve Data (Dados da curva de fusão)

A guia Melt Curve Data (Dados de curva de fusão) exibe os dados da guia Melt Curve (Curva de fusão) em várias planilhas que incluem todos os picos de fusão para cada traço. O CFX Maestro Dx SE oferece quatro opções de planilha 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 traço. Esta é a visualização padrão.
- 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 planilha na lista suspensa que aparece abaixo da guia Melt Curve Data (Dados da curva de fusão).

### Planilha Melt Peaks (Picos de fusão)

A planilha 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 241](#) define os dados que aparecem na planilha Melt Peaks (Picos de fusão).

**Tabela 22. Conteúdo da planilha Melt Peaks (Picos de fusão)**

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Fluoróf.)	Fluoróforo detectado
Content (Conteúdo)	Tipo de amostra listada na janela Plate Editor (Editor de placa)
Target (Alvo)	Alvo de amplificação (gene)
Sample (Amostra)	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 planilha
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

## Planilha Plate (Placa)

A planilha Plate (Placa) exibe dados da curva de fusão em um 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) na guia Melt Curve (Curva de fusão).

A [Tabela 23 na página 242](#) define os dados que aparecem na planilha Plate (Placa).

**Tabela 23. Conteúdo da planilha Plate (Placa)**

Informações	Descrição
Content (Conteúdo)	Combinação de Sample Type (Tipo de amostra) (obrigatório) e Replicate # (Nº 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)

## Planilha RFU

A planilha 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 planilha RFU.

**Tabela 24. Conteúdo da planilha 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, plotada como um poço por linha e múltiplos poços para múltiplos produtos no mesmo poço

## Planilha -d(RFU)/dT

A planilha -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

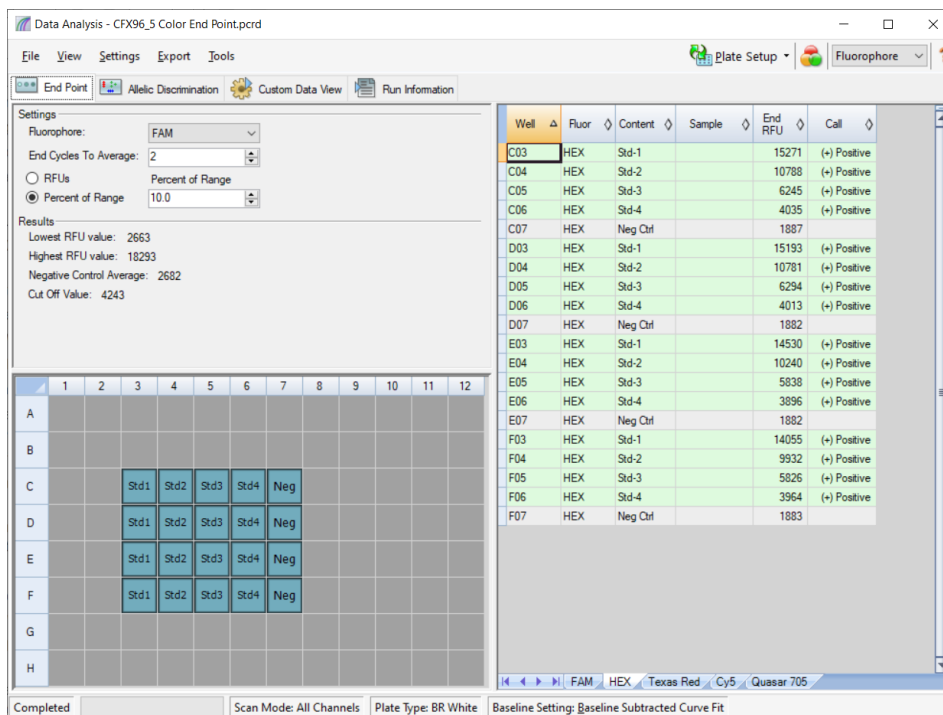
A [Tabela 25](#) define os dados que aparecem na planilha -d(RFU)/dT.

**Tabela 25. Conteúdo da planilha -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 -d(RFU)/dT (Temperatura -d(RFU)/dT)	Taxa de variação negativa na RFU como alterações de temperatura (T)

## Guia End-point

Abra a guia End-point para analisar as relative fluorescence units (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 controles negativos e “chama” o desconhecido positivo ou negativo. As amostras positivas têm um valor de RFU maior que o valor médio de RFU dos controles negativos mais o valor de corte.



Para analisar os dados do end-point, a placa deve conter controles negativos ou o software não pode fazer a chamada.

- Executar um protocolo Quantification (Quantificação) — configurar um protocolo padrão. Após a conclusão da corrida, abra a janela Data Analysis (Análise de dados), ajuste as configurações de análise de dados na guia Quantification (Quantificação) e, em seguida, clique na guia End-point para selecionar um ciclo de end-point.
- Executar um protocolo End Point Only (Apenas end-point) — carregue o protocolo End Point Only (Apenas end-point) na guia Plate (Placa) da janela Run Setup (Configuração de corrida), selecione ou crie uma placa e inicie a corrida

A guia End-point 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) em uma amostra. Alvos positivos têm valores de RFU mais altos do que o nível de corte que você define.

**Dica:** para criar um protocolo de end-point, abra a guia Protocol (Protocolo) (janela Run Setup (Configuração de corrida) e selecione Run (Executar) > End Point Only Run (Apenas corrida de end-point).

Quando a corrida for concluída, o arquivo de dados é aberto na guia End-point, na qual a 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 poço) — selecione os poços com os dados de end-point que você deseja exibir.
- RFU spreadsheet (Planilha RFU) — exibe a RFU final coletado nos poços selecionados.

## Dados de 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 controle negativo) — RFU média para os poços que contêm controles negativos
- Cut Off Value (Valor de corte) — calculado ao adicionar a tolerância (RFU ou porcentagem do intervalo listada em Settings (Configurações)) e a média dos controles negativos. Amostras com RFUs maiores do que o valor de corte serão chamadas de "Positivas". Para ajustar o valor de corte, altere a RFU ou a porcentagem de intervalo

O Cut Off Value (Valor de corte) é calculado usando esta fórmula:

$$\text{Cut Off Value (Valor de corte)} = \text{Negative Control Average (Média do controle negativo)} + \text{Tolerance (Tolerância)}$$

Selecione uma tolerância por um destes métodos:

- RFUs (padrão) — 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 padrão de tolerância de RFU é 10% do intervalo total de RFU.

- Percent of Range (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 padrão do intervalo é 10%.

## Ajustar a análise de dados de end-point

### Para ajustar os dados na guia End-point

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - 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 end-point.
  - Selecione RFUs 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 poço 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.

## Planilha RFU para análise de end-point

A [Tabela 26](#) define os dados que aparecem na planilha RFU na guia End-point

**Tabela 26. Conteúdo da planilha End-point da RFU**

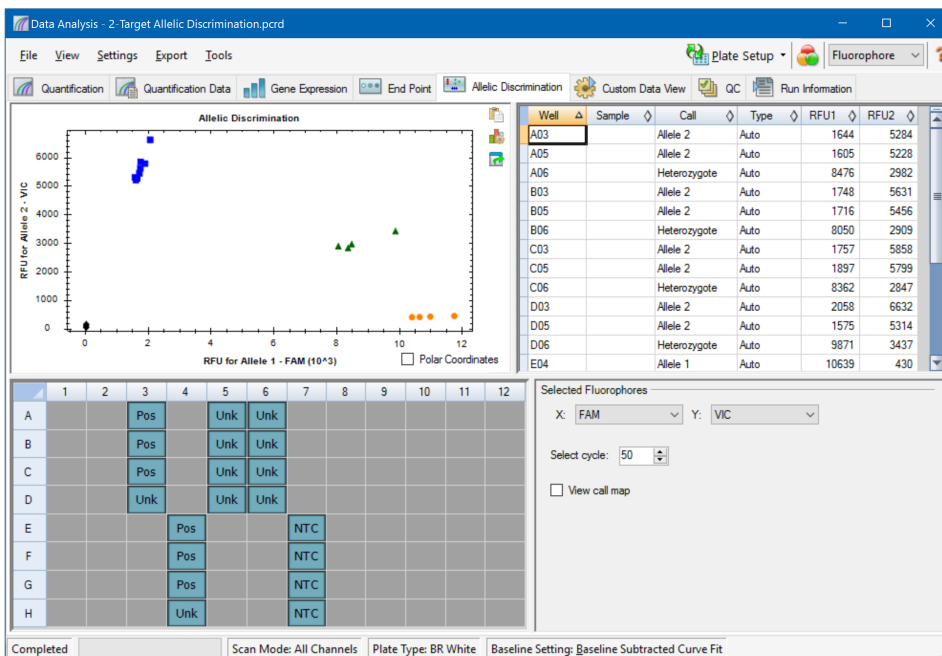
Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Fluor (Fluoróf.)	Fluoróforo detectado
Content (Conteúdo)	Combinação de Sample Type (Tipo de amostra) e Replicate # (Nº de réplica)
End RFU (RFU final)	RFU no ciclo final
Call (Chamada)	Positive (Positivo) ou Negative (Negativo), onde amostras positivas têm um valor de RFU maior que a RFU média dos controles negativos mais o Cut Off Value (Valor de corte)
Sample (Amostra)	Nome da amostra carregada no Plate Editor (Editor de placa)



## Guia Allelic Discrimination (Discriminação alélica)

A guia 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, Heterozigoto, Sem Chamada (sem amplificação) ou Indeterminado.

**Observação:** os dados para discriminação alélica devem ser provenientes de corridas 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 (controle sem fita molde) para análise de dados otimizada.

O CFX Maestro Dx SE oferece quatro opções na visualização dos dados de discriminação alélica:

- Allelic Discrimination chart (Gráfico de discriminação Alélica) — exibe os dados em um gráfico de RFU para Alelo1/Alelo2. Cada ponto no gráfico representa dados de ambos fluoróforos em um poço. Você pode 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 (mediano de todos NTCs).

- Well spreadsheet (Planilha de poço) — exibe os dados de discriminação alélica coletados em cada poço da placa.
- Well selector (Seletor de poço) — selecione os poços com os dados alélicos que você 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.

## Ajuste de dados para discriminação alélica

O software atribui automaticamente um genótipo aos poços com amostras desconhecidas com base nas posições dos NTCs e o ângulo e distância dos pontos de dados desconhecidos dos NTCs.

### Para ajustar os dados de discriminação alélica

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - Para visualizar coordenadas polares, selecione a caixa de verificação 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 mouse pelos pontos de dados no gráfico Discriminação Alélica Chart 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 padrão.

## Opções de menu do gráfico

Além das opções comuns de menu de clique com o botão direito para gráficos (consulte [Itens de menu de clique com o botão direito do mouse para gráficos na página 216](#)), a [Tabela 27](#) lista as opções de menu disponíveis no Allelic Discrimination chart (gráfico de Discriminação alélica).

**Tabela 27. Opções do menu de clique com os botões direito e esquerdo do mouse para o gráfico Allelic Discrimination (Discriminação alélica)**

Opções de menu	Função
Zoom	Focaliza a visualização do gráfico na área selecionada (clcando 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 mouse e selecione Set Scale to Default (Definir escala como padrão).
Well (Poço)	Para o well (poço) selecionado, as opções são: display only this well (exibir apenas este poço), remove this well from view (remover esse poço da visualização), set color for this trace (definir cor para esse traço) ou exclude the well from analysis (excluir esse 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 esses poços da vista), set color for these traces (definir a cor para esses traços) ou exclude these wells from analysis (excluir esses poços da análise).

## Planilha Allelic Discrimination (Discriminação alélica)

A [Tabela 28](#) define os dados que aparecem na planilha Allelic Discrimination (Discriminação alélica).

**Tabela 28. Conteúdo da planilha Allelic Discrimination (Discriminação alélica)**

Informações	Descrição
Well (Poço)	Posição do poço na placa
Sample (Amostra)	Descrição do nome da amostra

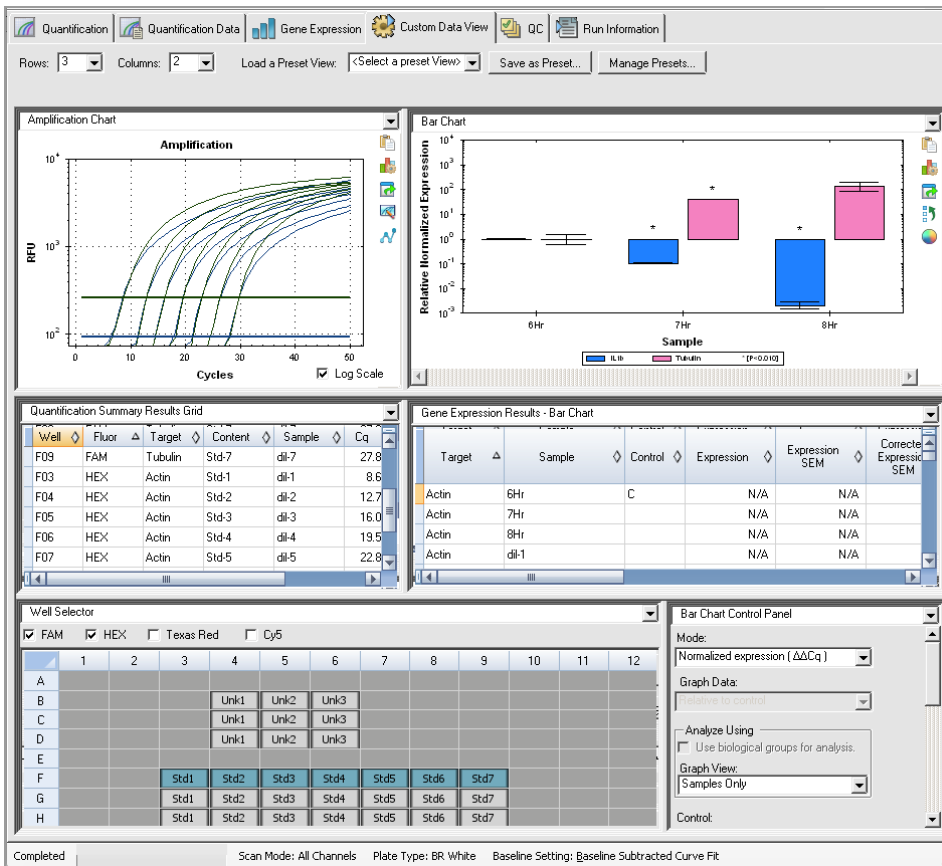
**Tabela 28. Conteúdo da planilha Allelic Discrimination (Discriminação alélica), continuação**

<b>Informações</b>	<b>Descrição</b>
Call (Chamada)	Identidade do alelo, inclusive Allele 1 (Alelo 1), Allele 2 (Alelo 2), Heterozygote (Heterozigoto), No Call (Sem chamada) ou Undetermined (Não determinado) automáticos
Type (Tipo)	Auto (Automático) ou Manual, descreve como a chamada foi feita. Automático indica que o software selecionou a chamada. Manual indica que o usuário selecionou a chamada.
RFU1	RFU para Allele1 (Alelo 1)
RFU2	RFU para Allele2 (Alelo 2)

## Guia Custom Data View (Visualização de dados personalizada)

A guia Custom Data View (Visualização de dados personalizada) exibe vários painéis simultaneamente em um formato personalizável.

A lista suspensa Load a Preset View (Carregar uma visualização pré-definida) oferece uma seleção de modelos de formato de exibição. A visualização padrão exibida depende do arquivo sendo analisado. Por exemplo, se houver dados de curva de fusão, a visualização padrão Amp+Melt (Ampliação + fusão) aparecerá.



## Criar uma visualização de dados personalizada

### Para criar uma visualização de dados personalizada

- ▶ Execute uma das seguintes opções:
  - Selecione uma visualização pré-definida alternativa na lista suspensa.
  - Selecione outra visualização de gráfico na lista suspensa localizada no alto de cada painel individual.
  - Altere o número de linhas e colunas na tabela.
  - Altere as dimensões do painel individual. Arraste as barras nas bordas de cada painel.

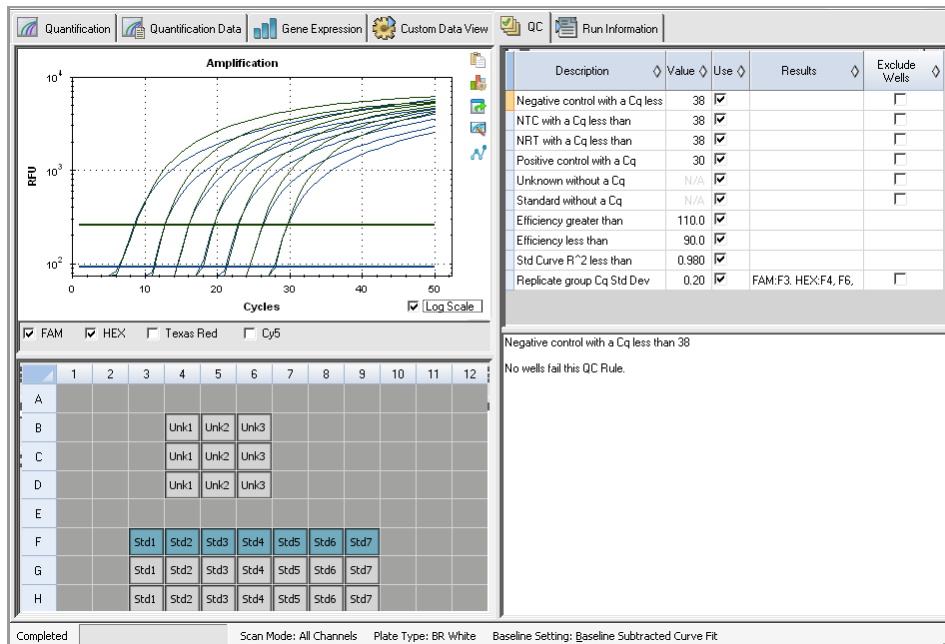
Clique em **Save as Preset** (Salvar como pré-definição) para salvar sua personalização como um modelo pré-definido. Clique em **Manage Presets** (Gerenciar pré-definições) para excluir, renomear ou restaurar visualizações pré-definidas existentes.

## Guia QC (CQ)

Use a guia QC (CQ) para avaliar rapidamente a qualidade dos dados de corrida com base nas regras definidas na guia QC (CQ) na janela User Preferences (Preferências do usuário).

O CFX Maestro Dx SE oferece quatro opções nas quais visualizar os dados de CQ:

- **Gráfico Amplification** (Amplificação) — exibe a RFU para cada poço, em cada ciclo. Cada traço 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 poço) — 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

### Alterar os critérios de CQ

- Selecione ou desmarque a caixa de seleção Use (Usar) para que a regra inclua ou exclua do CQ.

## Excluir poços reprovados no CQ

O CFX Maestro Dx SE exibe poços que reprovam nos critérios de CQ na coluna Results (Resultados) da tabela de regras de CQ e no painel de resumo.

### Excluir poços que reprovaram nos critérios de CQ

- ▶ Selecione Exclua Wells (Excluir poços) para cada poço a ser excluído.



## Guia Run Information (Informações de corrida)

A guia Run Information (Informações de corrida) exibe o protocolo e outras informações sobre cada corrida. Use esta guia para fazer uma das seguintes opções:

- 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. Use essas mensagens para ajudar a resolver o problema de uma corrida.

**Dica:** clicar com o botão direito do mouse em Protocol (Protocolo) para copiar, exportar ou imprimi-lo. Clique com o botão direito do mouse nos painéis Notes (Observações), ID/Bar Code (ID/Código de barras) ou Other (Outro) para desfazer, cortar, copiar, colar, excluir ou selecionar o texto.

The screenshot shows the 'Run Information' window in CFX Maestro. The main area displays a protocol graph for 'Protocol\_CFX\_2stepAmp50.1\_min.prl'. The graph has four steps:

Step	Temperature (C)	Duration
1	95.0	3:00
2	95.0	0:10
3	55.0	1:00
4	GOTO 2	49 more times

Below the graph is a table with the following data:

Step	Temp (C)	Time	Notes
1	95.0	C for 3:00	
2	95.0	C for 0:10	
3	55.0	C for 1:00	
+ Plate Read			
4	GOTO 2	49 more times	
END			

On the right side, there are three panels:

- Notes:** Multiplex Gene Expression Example. Artificial Time course in which Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run, Cy5 (Gadd45) is constant at ~ 1e6 cps/run, Fam (Tubulin) increases 4 fold with time, Texas Red (H1b) decreases 4 fold with time.
- ID/Bar Code:** (Empty)
- Other:** Run Started: 12/13/2007 12:31:47 PM, User: admin, Run Type: User-defined, Plate File: Multi GE.pltd, Sample Vol: 25, Lid Temp: 105, Optical Head Serial Number: , Base Serial Number: CC001095, CFX Manager Version: 1.0.956.1212.

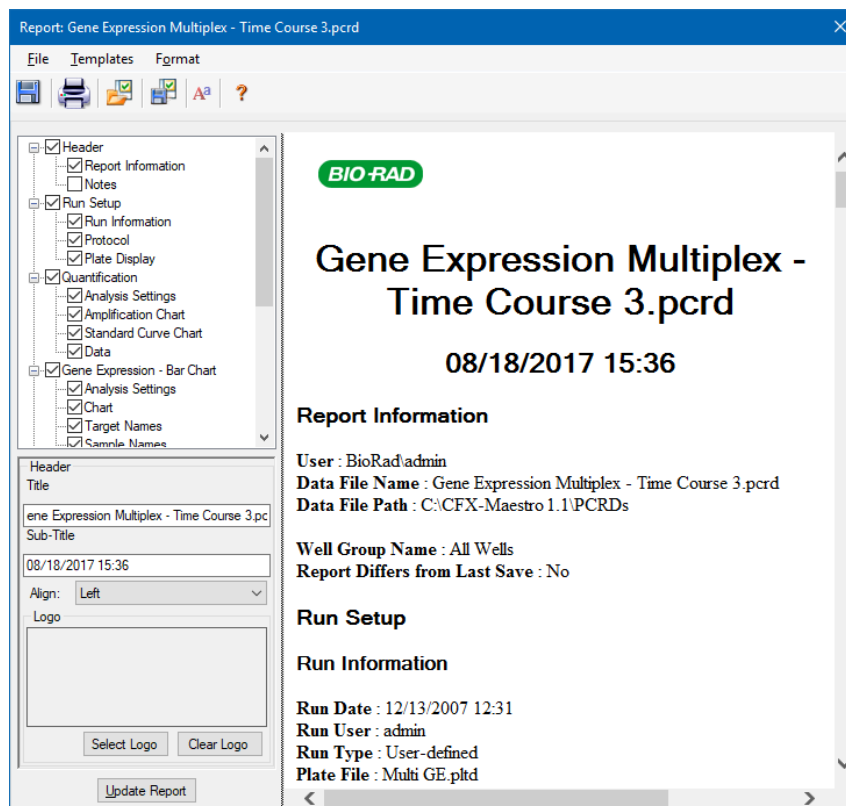
At the bottom, the status bar shows: Completed, Scan Mode: All Channels, Plate Type: BR White, Baseline Setting: Baseline Subtracted Curve Fit.

## Relatórios de análise de dados

A caixa de diálogo Report (Relatório) exibe informações sobre o arquivo 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, salvar 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 você pode 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 relatórios 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>		
		Title (Título), subtitle (subtítulo) e logo (logotipo) para o relatório
	Report Information (Informações de relatório)	Run date (Data da corrida), user name (nome do usuário), data file name (nome do arquivo de dados), data file path (caminho do arquivo 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 de corrida)</b>		
	Run Information (Informações de corrida)	Run date (Data da corrida), user name (nome do usuário), data file name (nome do arquivo de dados), data file path (caminho do arquivo de dados) e selected well group (grupo de poços selecionados)
	Protocol (Protocolo)	Visualização de 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 coleta 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 de curva padrão
	Data (Dados)	Planilha listando os dados em cada poço
<b>Gene Expression (Expressão Gênica) — Bar chart (Gráfico de barra)</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 barra
	Target Names (Nomes de alvos)	Gráfico de nomes de alvos
	Sample Names (Nomes de amostras)	Gráfico de nomes de amostras
	Data (Dados)	Planilha listando os dados em cada poço
	Target Stability (Estabilidade alvo)	Gráfico dos valores de estabilidade alvo
	Box-and-Whisker Chart (Gráfico Box-and-Whisker)	Box-and-whisker chart (Gráfico box-and-whisker)
	Dot Plot Chart (Gráfico de Pontos)	Dot plot chart (Gráfico de pontos)
<b>Gene Expression (Expressão gênica) — Clustergram (Clustergrama) e Scatter Plot (Gráfico de dispersão)</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)	Configurações para cada tipo de gráfico
	Chart (Gráfico)	Cópia do gráfico
	Data (Dados)	Planilha listando os dados em cada alvo
<b>Gene Expression (Expressão gênica) — 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)	Planilha listando os dados em cada poço
<b>Allelic Discrimination (Discriminação alélica)</b>		
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Exibe os fluoróforos, o ciclo e a visualização de mapa de chamadas
	Allelic Discrimination Chart (Gráfico de discriminação alélica)	Cópia do gráfico Allelic Discrimination (Discriminação alélica)
	Data (Dados)	Planilha listando os dados em cada poço
<b>End-point</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)	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)	Planilha listando os dados em cada poço
<b>QC Parameters (Parâmetros de CQ)</b>		
	Data (Dados)	Planilha listando os parâmetros para cada regra de CQ

## Criar um relatório de análise de dados

É possível salvar o layout do relatório como um modelo, que pode ser usado novamente para relatórios similares.

### Para criar um relatório de análise de dados

1. Faça ajustes finais ao conteúdo do poço, poços selecionados, gráficos e planilhas 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 você deseja incluir no relatório. O relatório é aberto com as opções padrão selecionadas. Selecione ou desmarque as caixas de seleção para alterar categorias inteiras ou opções individuais dentro de uma categoria.

A [Tabela 29 na página 258](#) lista as opções disponíveis para exibição.

**Observação:** os dados que aparecem no relatório dependem das seleções atuais nas guias 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. Alterar a ordem das categorias e itens em um relatório. Arraste as opções para a posição relativa. Os itens podem ser reordenados apenas dentro das categorias às quais eles 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 (Visualização de relatório) com quaisquer alterações.
7. Imprima ou salve o relatório:
  - a. Clique no botão Print Report (Imprimir relatório) na barra de ferramentas para imprimir o relatório atual.
  - b. Selecione File (Arquivo) > Save (Salvar) para salvar o relatório no formato de arquivo PDF (arquivo Adobe Acrobat Reader), MHT (documento da Microsoft) ou MHTML (documento da Microsoft).
  - c. Selecione um local para salvar o arquivo.

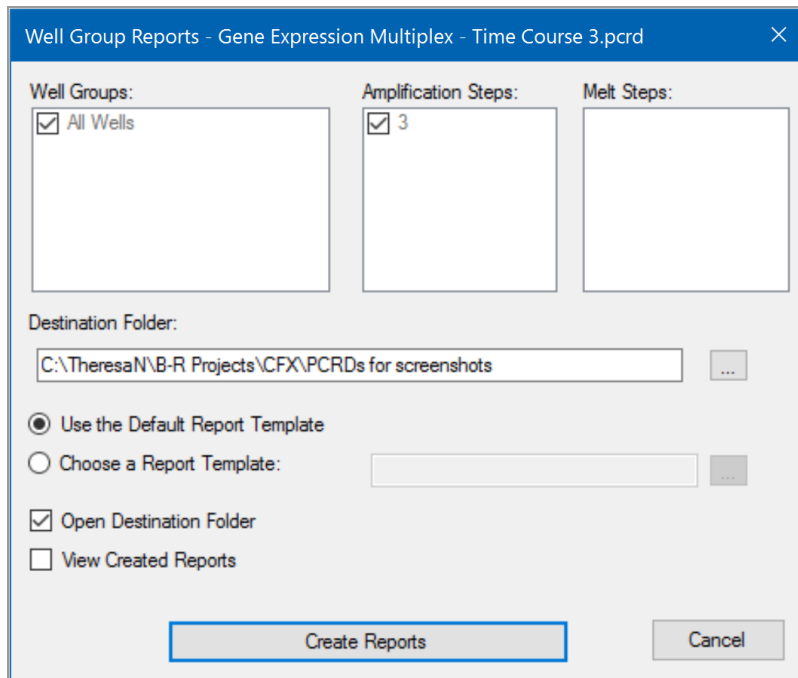
- d. Selecione File (Arquivo) > Save As (Salvar como) para salvar o relatório com um novo nome ou em um novo local.
8. (Opcional) Criar um modelo de relatório com as informações desejadas. Para salvar as configurações atuais do relatório em um modelo, selecione Template (Modelo) > Save (Salvar) ou Save As (Salvar como). Em seguida, carregue o modelo de relatório na próxima vez que você quiser criar um novo relatório.



## Criar relatórios de grupo de poços

### Criar Well Group Reports (Relatórios 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 grupos de poços, etapas de amplificação e as etapas de fusão para incluir no relatório.
3. Digite o caminho ou navegue até a pasta de alvo para salvar o relatório.
4. (Opcional) Selecione Choose a Report Template (Selecionar um modelo de relatório) e navegue para a pasta de arquivo 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 gênica

Com o uso de controles altamente qualificados em suas reações, é possível usar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition para executar uma expressão gênica para normalizar as diferenças relativas em uma concentração alvo entre as amostras. Tipicamente, 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 volume ou outras variações representadas em cada amostra e seus níveis de expressão não devem ser afetados no sistema biológico em estudo.

Selecione a guia Gene Expression (Expressão gênica) na janela Data Analysis (Análise de dados) para avaliar as diferenças relativas entre as reações PCR em dois ou mais poços. Por exemplo, você pode avaliar números relativos de genomas virais ou números relativos de sequências transfectadas em uma reação de PCR. A aplicação mais comum para o estudo da expressão gênica 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 com um desses 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 em uma 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 análise de expressão gênica

Para realizar a análise de expressão gênica, o conteúdo dos poços deve incluir os seguintes:

- Dois ou mais alvos — os dois alvos que representam diferentes genes amplificados ou sequências em suas amostras.
- Um ou mais alvos de referência — pelo menos um alvo deve ser um alvo de referência para expressão normalizada. Atribua todos os alvos de referência na janela Experiment Settings (Configurações de experimento) para analisar os dados no modo de expressão normalizada ( $\Delta\Delta C_q$ ). Corridas que não contenham uma referência devem ser analisados usando o modo de expressão relativa ( $\Delta C_q$ ).

- Amostras comuns — suas reações devem incluir amostras comuns (mínimo de duas requeridas) para visualizar seus dados traçados na guia Gene Expression (Expressão gênica). Essas amostras devem representar tratamentos ou condições diferentes para cada uma de suas sequências de alvo. Atribua uma amostra de controle (opcional) na janela Experiment Settings (Configurações de experimento). Se nenhum controle for selecionado, o software usará o  $C_q$  mais baixo como o controle.

Os requisitos para a configuração da expressão gênica no Plate Editor (Editor de placa) dependem do conteúdo da reação serem 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 arquivo de dados de não contiver as informações requeridas para a análise e a guia Gene Expression (Expressão gênica) estiver selecionada, o espaço normalmente ocupado pelo gráfico de barras conterá instruções para inserir estas informações. Para a expressão gênica normalizada, realize as seguintes etapas:

1. Defina os nomes de alvo e amostra fazendo qualquer dos seguintes:
  - Plate Setup (Configuração de placa) — abre a janela Plate Editor (Editor de placa).
  - Replace Plate File (Substituir arquivo de placa) — abre o navegador Select Plate (Selecionar placa), no qual é possível navegar para um arquivo de placa salvo anteriormente para substituir o layout atual da placa.
  - Replace PrimePCR file (Substituir arquivo PrimePCR) — abre a caixa de diálogo Select PrimePCR file (Selecionar arquivo PrimePCR), no qual é possível navegar para um arquivo de corrida PrimePCR e aplicá-lo no layout da placa.
2. Selecione um ou mais alvos de referência e uma amostra de controle usando a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento).







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 gênica normalizada possa ocorrer.

**Observação:** os dados para gráfico de dispersão e clustergrama são exibidos somente se todos os requisitos para a expressão gênica normalizada listados em Plate Setup for Gene Expression Analysis (Configuração de placa para análise de expressão gênica) forem cumpridos.

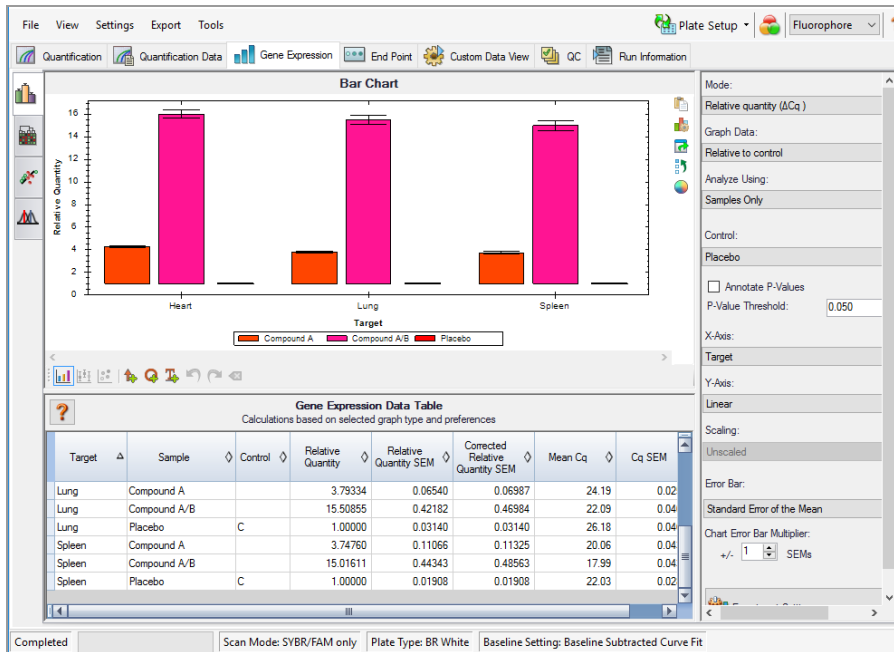
## Gráficos de expressão gênica

O CFX Maestro Dx SE exibe os dados de expressão gênica em várias visualizações. A [Tabela 30](#) lista as opções de gráfico disponíveis no software.

**Tabela 30. Opções do gráfico de expressão gênica**

Botão	Nome	Função
	Graphing (Gráficos)	Exibe dados de expressão gênica normalizada em uma das seguintes visualizações: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Bar chart (Gráfico de barra) (padrão)</li> <li>■ Gráficos Box-and-Whisker</li> <li>■ Dot plot chart (Gráfico de pontos)</li> </ul>
	Clustergram (Clustergrama)	Exibe os dados de expressão normalizada em uma 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 controle versus uma amostra experimental.
	ANOVA	Exibe os resultados da ANOVA unidirecional nos dados da expressão gênica 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 (Acompanhante da regressão aplicada) (car)</li> <li>■ Least-square means (Médias de mínimo quadrado) (lsmeans)</li> </ul>
	Reference Gene Selection Tool (Ferramenta de seleção de gene de referência)	(Disponível na guia Study Analysis (Análise de estudo) na janela Gene Study (Estudo de genes) Identifica os genes de referência testados e os categoriza como Ideal, Acceptable (Aceitável) ou Unstable (Instável) com base em sua estabilidade.
	PrimePCR Controls Analysis (Análise de controles PrimePCR)	(Disponível na guia Study Analysis (Análise de estudo) na janela Gene Study (Estudo de genes) Exibe os resultados das amostras testadas.

## Gráficos



A expressão relativa de alvos é apresentada nestas duas visualizações:

- Gene Expression chart (Gráfico de expressão gênica) — exibe os dados em tempo real do PCR como um dos seguintes:
  - $\Delta\Delta C_q$  — expressão normalizada relativa calculada usando amostras de controle e alvos de referência.
  - $\Delta C_q$  — quantidade relativa do gene alvo em uma amostra relativa a uma amostra de controle.

Consulte [Alterar e anotar a Chart View \(Visualização de gráfico\)](#) na página 270 para obter mais informações.

- Spreadsheet (Planilha) — exibe uma planilha dos dados de expressão gênica.

**Dica:** clique com o botão direito em qualquer gráfico ou planilha para 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 Alvo e Amostra no gráfico.

## Expressão gênica 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 *actina*, *GAPDH* ou *tubulina*.

### Configurar a análise de expressão gênica normalizada ( $\Delta\Delta C_q$ )

1. Abra um arquivo de dados (extensão .pcrd).
2. Revise os dados na guia Quantification (Quantificação) na janela Data Analysis (Análise de dados). Faça ajustes nos dados, como alterar o limiar e o modo de análise.
3. Selecione a guia Gene Expression (Expressão gênica).
4. Na guia Gene Expression (Expressão gênica), clique em Experiment Settings (Configurações de experimento).
5. Na caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento), faça o seguinte:
  - a. Selecione a guia Samples (Amostras) e selecione um controle. Quando um controle é designado, o CFX Maestro Dx SE normaliza as quantidades relativas de todos os genes para a quantidade de controle, que é configurada como 1.
  - b. Selecione a guia Target (Alvo) e selecione um controle. A análise de expressão gênica exige uma referência entre os alvos em 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 na guia Gene Expression (Expressão gênica).

**Observação:** você também pode usar o Setup Wizard (Assistente de configuração) para configurar o layout da placa para análise de expressão gênica normalizada.

## 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 pesquisadores confiam em uma das seguintes considerações quando configuram sua 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 fora do software. Por exemplo, um pesquisador pode optar por dividir o valor da quantidade relativa pelo fator de normalização, possivelmente a massa de ácido nucléico carregada para cada amostra ou o número de células das quais o ácido nucléico foi isolado.

### Executar uma análise quantidade relativa ( $\Delta C_q$ )

- ▶ Na guia Gene Expression (Expressão gênica), 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 gênica, abra um novo estudo de genes ou adicione um arquivo de dados a um estudo de genes existente.

## Alterar e anotar a Chart View (Visualização de gráfico)

Usando os comandos de menu e as ferramentas de análise de dados, você pode alterar a exibição do gráfico, anotar cada gráfico e alterar a exibição do gráfico. A barra de ferramentas de gráficos aparece entre o gráfico e a planilha de análise de dados na parte inferior da tela.

### Barra de ferramentas de gráfico

**Dica:** consulte [Gráficos na página 208](#) 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 de gráfico**










Botão	Nome	Função
	Bar chart (Gráfico de barras)	Exibe a expressão relativa dos destinos.
	Gráficos Box-and-Whisker	Exibe os dados como intervalos de quartil (consulte <a href="#">Cálculos de gráficos Box-and-Whisker na página 311</a> para obter os detalhes 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 de 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 você pode adicionar texto para identificar itens de interesse no gráfico.
	Undo (Desfazer)	Remove ou reverte a última anotação realizada no gráfico ativo.
	Redo (Refazer)	Reverte a última ação Undo (Desfazer) executada no gráfico ativo.
	Clear All (Limpar todos)	Limpa todas as anotações no gráfico ativo.

### Ordenar dados de alvo, amostra e grupo biológico

**Observação:** esta opção está disponível apenas em gráficos de expressão gênica.

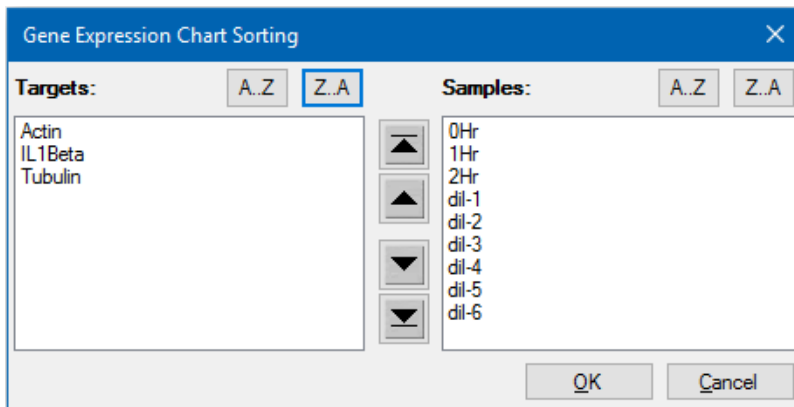
Por padrão, as listas de alvos, amostras e grupos biológicos são mostradas em ordem alfabética. Use a caixa de diálogo Sort (Ordenar) para ordenar a exibição em ordem alfabética invertida ou para mover manualmente um termo para uma posição diferente na lista.

#### Para ordenar dados de alvos, amostras e grupos biológicos

1. Nas ferramentas de gráfico, clique em Sort (Ordenar).

A caixa de diálogo Gene Expression Chart Sorting (Ordenar gráfico de expressão gênica) aparece.





2. Na caixa de diálogo, clique em Z-A para ordenar a lista em ordem alfabética invertida.
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 em uma posição.
  - Clique na seta com barra para cima ou para baixo para mover o termo selecionado para o alto ou para a parte de baixo da lista.
4. Clique em OK para salvar as alterações e voltar para a guia Gene Expression (Expressão gênica).

## Alterar configurações de cor de alvo, amostra e 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.

### Para alterar as configurações de cor

1. No painel da direita, na caixa de diálogo Gene Expression (Expressão gênica), verifique se Sample (Amostra) aparece na lista suspensa X-Axis (Eixo X).
2. Em Chart Tools (Ferramentas de gráfico), selecione Color Settings (Color Settings (Configurações de cores)).

A caixa de diálogo Color Settings (Configurações de cores) aparece.

3. Para alterar a cor de exibição para um alvo, clique em sua cor na coluna Color (Cor).
4. Na caixa de diálogo Color (Cor) que aparecerá, escolha uma nova cor e clique em OK.
5. Para remover um alvo dos gráfico de expressão gênica, 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) Por padrão, as barras aparecem em cores sólidas. Para exibir as barras em cores gradientes, desmarque Use Solid Colors (Usar cores sólidas).
7. Clique em OK para salvar as alterações e voltar para a guia Gene Expression (Expressão gênica).

### Para alterar as configurações de cor de amostra ou grupo biológico

1. No painel da direita, na caixa de diálogo Gene Expression (Expressão gênica), verifique se Target (Alvo) aparece na lista suspensa X-Axis (Eixo X).
2. Execute as etapas em [Para alterar as configurações de cor na página 273](#).

## Alterar a Chart View (Visualização de gráfico)

### Alterar a visualização de gráfico atual

- Selecione o comando do menu da barra de ferramentas para a visualização alvo.

**Observação:** A guia Gene Expression (Expressão gênica) sempre abre exibindo os dados na visualização Bar Chart (Gráfico de barra).

## Excluir pontos de dados discrepantes

No gráfico Dot Plot (Pontos), é possível visualizar e excluir facilmente os discrepantes de sua análise.

### Para excluir pontos de dados discrepantes

- ▶ No gráfico Dot Plot (Pontos), clique com o botão direito no discrepante alvo 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) na guia **Quantification** (Quantificação).

### Para incluir um ponto de dados discrepante excluído

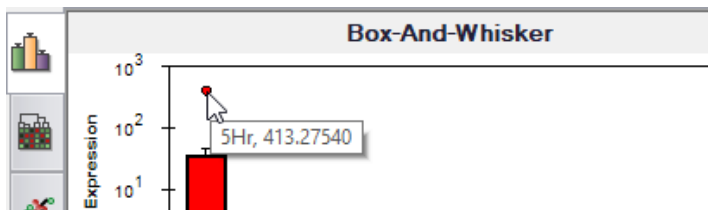
- ▶ Na guia **Quantification** (Quantificação), clique com o botão direito em **Well Selector** (Seletor de poços) e selecione **Well (Poço) > Include in Analysis** (Incluir na análise).

## Visualizar detalhes do ponto de dados

### Para visualizar detalhes do ponto de dados

- ▶ No gráfico **Box-and-Whisker** ou no **Dot Plot** (Gráfico de pontos), pause seu em um ponto de dados individual.

Uma dica de ferramenta aparece, mostrando o nome da amostra e sua expressão (quantidade relativa ou expressão normalizada, dependendo da opção selecionada).



## Anotar gráficos

É possível adicionar seta, círculos e texto a cada gráfico de barras para comunicar dados com clareza. As anotações são salvas com o gráfico de barras e aparecem no arquivo exportado e impresso. Porém, anotações feitas a uma visualização de gráfico não são adicionadas às outras visualizações de gráfico.

### Para 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 seu cursor pelo gráfico, conforme necessário.

**Para 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. Uma caixa de texto aparecerá nesse local.
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.

**Para mover uma anotação**

1. Passe seu cursor sobre a anotação. O ícone muda para um dedo apontando e a borda da anotação é destacada.
2. Clique na anotação e arraste-a para outra posição.
3. Solte a anotação para garantir sua posição.

**Para desfazer uma anotação**

- ▶ Clique em Undo (Desfazer).

A anotação adicionada mais recentemente é removida.

**Dica:** é possível desfazer as dez anotações mais recentes, uma por vez.

**Para refazer uma anotação**

- ▶ Clique em Redo (Refazer).

A anotação removida mais recente retorna.

**Dica:** é possível refazer as dez anotações mais recentes, uma por vez.

**Para excluir uma anotação**

- ▶ Clique com o botão direito na anotação e selecione Delete (Excluir).

## Ajustar os dados de expressão gênica

Após selecionar seu modo de análise, a expressão normalizada ( $\Delta\Delta Cq$ ) ou a quantidade relativa ( $\Delta Cq$ ), ajuste os dados que você vê na guia Gene Expression (Expressão gênica), alterando as opções de configuração à direita do gráfico.

**Dica:** as opções de dados padrão da expressão gênica são definidas na caixa de diálogo User Preferences (Preferências do usuário) (consulte [Configurar os parâmetros padrão do arquivo de dados de expressão gênica na página 93](#)).

### 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 você apresente os dados no gráfico com uma destas opções:

- Relative to control (Relativos ao controle) — faz um gráfico dos dados com o eixo em escala de 0 a 1. Se você atribuir um controle em sua corrida, selecione esta opção para visualizar rapidamente a regulação positiva e a regulação negativa do alvo.
- Relative to zero (Relativos a zero) — faz um gráfico dos dados com origem no zero.

### Analisar usando

Use o menu suspenso para selecionar como os dados são analisados e traçados. As opções são:

- Samples Only (Somente amostras) — os dados são analisados e traçados por amostra.
- Biological Groups Only (Somente grupos biológicos) — os dados são analisados e traçados 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 traçados 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 traçados 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 seu 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 controle selecionada, usando um teste t padrão. O intervalo limiar do valor P é 0,000—1,000.

### Opções do eixo X

A opção do eixo x permite que você mostre os dados do eixo x do gráfico Gene Expression (Expressão gênica):

- Target (Alvo) — faz um gráfico com os nomes dos alvos no eixo x.
- Sample (Amostra) — faz um gráfico com os nomes das amostras no eixo x.

### Opções de eixo Y

A opção do eixo y permite que você mostre o gráfico Gene Expression (Expressão gênica) em uma destas três escalas:

- Linear — selecione esta opção para mostrar uma escala linear
 

**Dica:** definir o eixo y como Linear ativa a lista suspensa Graph Data (Dados de gráfico), a partir da qual você pode optar por representar graficamente os dados relativos ao controle ou relativos a zero.
- Log 2 — selecione esta opção para avaliar amostras através de uma grande intervalo dinâmico.
- Log 10 — selecione esta opção para avaliar amostras através de um enorme intervalo dinâmico.

### Opções de dimensionamento

Selecione Normalized Gene Expression (Expressão gênica normalizada) ( $\Delta\Delta C_q$ ) e defina como None (Nenhum) para ativar as opções de dimensionamento no gráfico de expressão gênica. Selecione uma dessas opções de escala para calcular e apresentar seus dados de um modo que melhor se enquadre ao projeto de sua corrida:

- Unscaled (Sem escala) — apresenta a expressão gênica normalizada sem escala.
- Highest (Mais alta) — escala a expressão gênica 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 dimensionamento usa a fórmula escalada para a mais alta.

- Lowest (Mais baixa) — escala a expressão gênica 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 dimensionamento usa a fórmula escalada para a mais baixa.

- Average (Média) — escala a expressão gênica 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 escalada para a média.

Selecione uma opção para o tipo de cálculos de erro (barras de erro) no gráfico Gene Expression (Expressão gênica):

### Multiplicador da barra de erro do gráfico

Selecione um multiplicador para as barras de erro no gráfico Gene Expression (Expressão gênica).  
Selecione um desses inteiros:

- +/- 1 (padrão)
- 2
- 3

O tipo de multiplicador muda ao selecionar a barra de erros:

- SEMs para erro padrão da média
- Std Devs (Desv. padrão) para desvios padrão.

### Configurações de experimento

**Dica:** esta caixa de diálogo também está disponível no Plate Editor (Editor de placa). Para obter mais informações, consulte a seção [Alterar configurações do experimento na página 155](#).

Na caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento), é possível visualizar ou alterar a lista de alvos, amostras ou grupos biológicos, selecionar os genes de referência, selecionar os controles ou configurar o grupo Gene Expression Analysis (Análise de expressão gênica) para ser analisado se grupos biológicos foram adicionados nos poços.

#### Abrir a caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento)

- ▶ Na guia Graphing (Gráficos), clique em Experiment Settings (Configurações de experimento) na parte inferior do painel direito.

A caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento) aparece exibindo a guia Targets (Alvos).

#### Ajustar as configurações Targets (Alvos)

- ▶ Na guia Targets (Alvos), execute uma das seguintes opções:
  - Para selecionar um alvo como referência para análise de dados de expressão gênica, selecione seu nome na coluna Reference (Referência).

- Para alterar a cor do alvo, clique em sua 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 gênica).

- 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 porcentagem 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 Sample (Amostra)

- ▶ Na guia Samples (Amostras e grupos biológicos), execute uma das seguintes opções:

- Para selecionar uma amostra como um controle para análise de dados de expressão gênica, selecione seu nome na coluna Controle (Controle).
- Para alterar a cor da amostra, clique em sua 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 gênica).

- Para exibir a amostra nos gráficos Gene Expression (Expressão gênica), selecione-o na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).
- Para remover a amostra dos gráficos Gene Expression (Expressão gênica), remova a seleção na coluna Show Chart (Mostrar gráfico).

**Dica:** os dados da amostra permanece na tabela Results (Resultados).

### Para excluir um tipo de amostra dos cálculos de análise

- ▶ Marque sua caixa de seleção na parte inferior da caixa de diálogo Experiment Settings (Configurações de experimento).

**Observação:** isso exclui controles e/ou padrões da análise de expressão gênica.



## Opções do menu de clique com o botão direito

Clique com o botão direito do mouse no gráfico de expressão gênica para selecionar os itens exibidos na [Tabela 32](#).

**Tabela 32. Itens de expressão gênica do menu de clique com o botão direito**

Item	Função
Copy (Copiar)	Copia o gráfico para a área de transferência
Save Image As (Salvar imagem como)	Salva o gráfico como um arquivo de imagem. Configure a resolução e as dimensões da imagem e, em seguida, selecione o tipo de arquivo (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 (Configurar escala como padrão)	Show All (Mostrar todos) exibe todos os dados no gráfico de barra. Scroll Bar (Barra de rolagem) exibe uma barra de rolagem se houver muitas amostras a serem exibidas no quadro do gráfico, mantendo a largura mínima da barra.
Chart Settings (Configurações de gráfico)	Abre a janela Chart Settings (Configurações do gráfico) para ajustar o gráfico.
Sort (Ordenar)	Ordena a ordem de amostras ou alvos que aparecem no eixo X do gráfico.
Use Corrected Std Devs (Usar desvios padrão corrigidos)	Calcula as barras de erro usando a fórmula de desvio padrão corrigida.
Use Solid Bar Colors (Usar cores sólidas na barra)	Exibe as barras sólidas no gráfico.
X-Axis Labels (Rótulos do eixo X)	Exibe rótulos do eixo x na horizontal ou angular.

## Planilha de dados

A [Tabela 33](#) define os resultados exibidos na tabela de dados Gene Expression (Expressão gênica).

**Observação:** os valores na tabela são calculados com base no tipo de gráfico e preferências selecionados no painel da direita.

**Tabela 33. Descrição das informações na planilha da guia**

Informações	Descrição
Target (Alvo)	Nome do alvo (gene amplificado) selecionado na janela Experiment Settings (Configurações de experimento).
Biological Group (Grupo biológico) Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra) Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico)	Nome da amostra e/ou grupo biológico selecionado na janela Experiment Settings (Configurações de experimento).
Control (Controle)	Nome do controle selecionado na janela Experiment Settings (Configurações de experimento). Quando Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Samples Only (Somente amostras), Control (Controle) é a amostra selecionada na janela Experiment Settings (Configurações de experimento). Quando Biological Groups Only (Apenas grupo biológico), Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra) ou Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico) for selecionado, o controle é o grupo biológico selecionado na janela Experiment Settings (Configurações de experimento).
Relative Quantity (Quantidade relativa) ou Expression (Expressão)	Relative Quantity (Quantidade relativa ( $\Delta C_q$ ) ou Normalized Gene Expression (Expressão gênica normalizada ( $\Delta\Delta C_q$ ), dependendo do modo selecionado.
Relative Quantity (Quantidade relativa) ou Expression SEM (SEM da expressão)	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 (Somente amostra), Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra) ou Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico).

Informações	Descrição
Relative Quantity (Quantidade relativa) ou Expression SEM (SEM de expressão) corrigida (ou SD)	Cálculo do valor corrigida 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 (Somente amostra), Sample Biological Group (Grupo biológico da amostra) ou Biological Group Sample (Amostra de grupo biológico).
Mean C <sub>q</sub> (Cq médio)	Média do ciclo de quantificação (não é exibida se Analyze Using (Analisar usando) estiver definido como Biological Groups Only (Somente 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 (Somente grupos biológicos)).

## Opção Show Details (Mostrar Detalhes)

A [Tabela 34](#) define os dados exibidos quando Show Details (Mostrar detalhes) é selecionado no menu ao clicar com o botão direito da planilha do gráfico de barras.

**Tabela 34. Informações na planilha do gráfico de barras com Show Details (Mostrar detalhes) selecionado**

Informações	Descrição
Data Set (Conjunto de dados)	Dados de fluorescência de um fluoróforo no arquivo 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 planilha do gráfico de barras com Show Details (Mostrar detalhes) 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 gênica 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> (C <sub>q</sub> médio)	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

## Clustergrama

O clustergrama exibe os dados em uma hierarquia com base no grau de similaridade de expressão para diferentes alvos e amostras.

**Observação:** você 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 clustergrama 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.

Nas bordas externas do gráfico de dados há um dendrograma, que indica a hierarquia de agrupamento. Alvos ou amostras que possuem padrões de expressão semelhantes terão ramificações adjacentes, enquanto aqueles com padrões diferentes estarão mais distantes.

## 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 (Dividir réplicas) — exibe os valores para as réplicas individuais.

**Dica:** é possível alterar o esquema de cores para do padrão Red/Green (vermelho/verde) para Red/Blue (vermelho/azul), selecionando esta opção a partir do menu de clique com o botão direito em desses gráficos.

## Opções de menu de clique com o botão direito

As opções de menu de clique com botão direito do mouse para o clustergrama são as mesmas do gráfico de barras. Consulte a [Tabela 32 na página 280](#) para ver as opções disponíveis. Além disso, selecione Color Scheme (Esquema de cores) para alterar a expressão de regulação para baixo do padrão Red/Green (vermelho/verde) para Red/Blue (vermelho/azul) no gráfico.

## Planilha de dados

A planilha exibe valores para o alvo, amostra e expressão normalizada.

## Gráfico de dispersão

O gráfico de dispersão exibe a expressão normalizada de alvos para uma amostra de controle versus uma amostra. As linhas no gráfico indicam o limiar de alteração de dobra. 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 de dobra e podem ser interessantes.

A imagem de plotagem mostra as seguintes alterações na expressão de alvo com base no limiar de alteração de dobra.

- 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 de dobra.

## Configurações

É possível configurar as seguintes opções:

- Control Sample (Amostra de controle)
- Experimental Sample (Amostra experimental)
- Fold Change Threshold (Limiar de alteração de dobra). À medida que você aumenta ou diminui o valor de alteração de dobra, as linhas de limiar no gráfico se movem de acordo.

## Opções de menu de clique com o botão direito

As opções de menu ao clicar com o botão direito do mouse para o gráfico de dispersão são as mesmas que as do gráfico de barras. Consulte a [Tabela 32 na página 280](#) para ver as opções disponíveis. Além disso, selecione Symbol (Símbolo) para alterar o símbolo usado no gráfico do círculo padrão para um dos seguintes:

- Triângulo
- Cruz
- Quadrado
- Losango



## Planilha de dados

A planilha exibe valores para o alvo, amostra e expressão normalizada para controle e amostras de experimentos. Ele também indica se os alvos estão com os índices altos ou baixos, em comparação com a regulação do alvo.

## Planilha Results (Resultados)

A planilha Results (Resultados) resume os dados de todos os gráficos. A [Tabela 35](#) define os resultados exibidos na planilha Results (Resultados).

**Tabela 35. Informações na guia Results (Resultados)**

Informações	Descrição
Target (Alvo)	Nomes de alvo (gene amplificado)
Sample (Amostra)	Nome da amostra
Mean C <sub>q</sub> (Cq médio)	Média do ciclo de quantificação
Mean Efficiency Corrected C <sub>q</sub> (Eficiência média corrigida Cq)	A média do ciclo de quantificação após o ajuste para a eficiência da reação
Normalized Expression (Expressão normalizada)	Expressão normalizada para um alvo de referência ( $\Delta\Delta C_q$ )
Relative Normalized Expression (Expressão normalizada relativa)	Expressão normalizada relativa a uma amostra de controle; também chamado de Fold Change (Alteração de dobra)
Regulation (Regulação)	Alteração na expressão normalizada relativa em uma amostra de controle
Comparado ao Regulation Threshold (Limiar de regulação)	Regulação positiva ou negativa de uma amostra experimental com base na configuração do limiar

**Observação:** os dados para replicações são encontrados apenas nas planilhas das guias de análise de dados nas quais as Split Out Replicates (Réplicas da divisão) foram selecionadas (ou seja, Clustergram (Clustergrama)). Pode haver uma discrepância entre os dados de expressão nas planilhas de análise de expressão gênica se você selecionar “none” (nenhum) como a amostra de controle no gráfico de barras.

## Estudo de genes

Crie um estudo de genes para comparar dados de expressão gênica de um ou mais experimentos de PCR em tempo real usando um calibrador entre corridas para normalizar entre os experimentos. Crie um estudo de genes adicionando dados de um ou mais arquivos de dados (extensão .pcrd) ao estudo de genes. O software agrupa-os em um único arquivo (extensão .mgxd).

**Observação:** o número máximo de amostras que você pode analisar em um estudo de genes é limitado pelo tamanho da memória RAM e da memória virtual do computador.

### 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 testes separados de PCR em tempo real (isto é, arquivos .pcrd diferentes gerados a partir de placas diferentes).

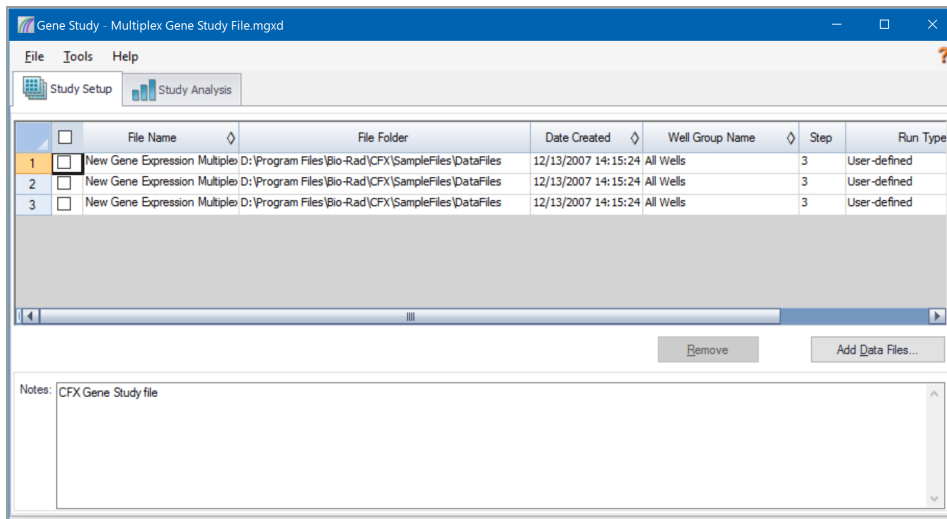
Para que o software reconheça uma amostra como um calibrador entre corridas, ele deve compartilhar o mesmo nome de alvo, nome da amostra e, se usado, o nome do conjunto biológico em todas as placas comparadas.

**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. Por padrão, 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 teste.
- Entire study (Estudo completo) — um calibrador entre corridas é selecionado pelo usuário 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 duas guias:

- Guia Study Setup (Configuração de estudo) — gerencia as corridas no estudo de genes.
  - Importante:** adicionar ou remover arquivos de dados em um estudo de genes não altera os dados no arquivo original.
- Guia Study Analysis (Análise de estudo) — exibe os dados da expressão gênica para as corridas combinadas.

## Guia Study Setup (Configuração de estudo)

A [Tabela 36](#) define os dados que aparecem na guia Study Setup (Configuração de estudo).

**Tabela 36. Guia Study Setup (Configuração de estudo) na caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes)**

Título da coluna	Descrição
File Name (Nome do arquivo)	Nome do arquivo de dados de corrida (extensão .pcrd)
File Folder (Pasta de arquivos)	Diretório que armazena o arquivo de dados para cada corrida no estudo de genes

**Tabela 36. Guia Study Setup (Configuração de 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 de corrida foram coletados
Well Group Name (Nome do grupo de poço)	Nome do grupo de poços que foi selecionado quando o arquivo foi adicionado ao estudo de genes <b>Dica:</b> para analisar um grupo de poços no estudo de genes, você deve selecionar esse grupo de poços na janela Data Analysis (Análise de dados) antes de importar o arquivo de dados para o estudo de genes.
Step (Etapa)	Etapa do protocolo que inclui a leitura de placa para coletar dados de PCR em tempo real
Run Type (Tipo de corrida)	Corrida definida pelo usuário ou PrimePCR
Protocol Edited (Protocolo editado)	Se selecionado, indica que o protocolo usado para uma corrida de PrimePCR foi editado
View Plate (Visualizar placa)	Abre um mapa de placa da placa com os dados em cada uma das corridas incluídas no Gene Study (Estudo de genes)

## Preparar um estudo de genes

### Preparar um estudo de genes

- Antes de importar dados para um estudo de genes, faça uma das seguintes opções na janela Data Analysis (Análise de dados):
  - Verifique se as amostras contendo o mesmo conteúdo têm o mesmo nome. Em um estudo de genes, o software supõe que poços com o mesmo nome de Alvo ou Amostra contenham as mesmas amostras.
  - Ajuste a linha de base e o limiar ( $C_q$ ) na guia 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 arquivo de dados.

A guia Study Setup (Configuração de estudo) exibe uma lista de todas as corridas no estudo de genes.

2. Na caixa de diálogo Gene Study (Estudo de genes), selecione a guia Study Setup (Configuração de estudo).
3. Clique em Add Data Files (Adicionar arquivos de dados) para selecionar um arquivo de uma janela do navegador.

**Dica:** para adicionar corridas rapidamente a um estudo de genes, arraste os arquivos de dados (com extensão .pcrd) na caixa de diálogo Study Setup (Configuração de estudo).

4. O CFX Maestro Dx SE realiza automaticamente a análise do estudo de genes conforme arquivos de dados são adicionados. Selecione a guia Study Analysis (Análise de estudo) para visualizar os resultados.

#### Para remover corridas do estudo de genes

- ▶ Selecione um ou mais arquivos na lista e clique em Remove (Remover).

#### Para adicionar observações sobre o estudo de genes

- ▶ Insira observações sobre os arquivos e análise na caixa de texto Notes (Observações).

## Guia Study Analysis (Análise de estudo)

A guia Study Analysis (Análise de estudo) exibe os dados de todas as corridas do estudo de genes. As opções de análise de dados da expressão gênica são as mesmas que para um único arquivo de dados com a seguinte exceções:

- Para gráficos de barras, os valores de calibração entre corridas (se calculados) aparecem quando você 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 (Controle positivo)

Os tipos de amostra negative control (controle negativo), no template control (controle sem fita molde) (NTC) e no reverse transcriptase control (sem controle 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 os categoriza 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 esses 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 (Controles de análise PrimePCR) exibe os resultados das amostras testadas em uma tabela:
  - A guia Summary (Resumo) exibe um resumo de todas as amostras testadas. As amostras que passaram por todos os testes de controle aparecem em verde. As amostras que falharam em um ou mais dos testes de controle aparecem em amarelo.
  - A guia PCR exibe os resultados do teste de controle PCR positivo. Este teste detecta a inibição ou problemas experimentais que afetam a expressão gênica.
  - A guia RT exibe os resultados do teste de controle de transcrição reversa. Este ensaio avalia qualitativamente o desempenho da RT e identifica amostras onde o desempenho da RT é susceptível de comprometer a expressão gênica.
  - A guia gDNA exibe os resultados do teste de controle de contaminação de DNA. Este teste determina se o genômico DNA (DNA genômico) (gDNA) está presente em uma amostra em um nível que pode afetar os resultados do qPCR.
  - A guia RQ exibe os resultados dos testes de qualidade de RNA (RQ1 e RQ2). Estes ensaios avaliam qualitativamente se a integridade do RNA pode afetar adversamente a expressão gênica.

## Categories 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 em um 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**

<b>Categoria</b>	<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
<b>Header (Cabeçalho)</b>		
		Title (Título), subtitle (subtítulo) e logo (logotipo) para o relatório
	Report Information (Informações de relatório)	Data, nome do usuário, nome do arquivo de dados, caminho do arquivo de dados e o grupo de poços selecionado
	Gene Study File List (Lista de arquivos do estudo de genes)	Lista de todos os arquivos de dados no estudo de genes
	Notes (Observações)	Observações sobre o relatório de dados
<b>Study Analysis (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 gênica mostrando 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)	Planilha que exibe os dados
	Target Stability (Estabilidade alvo)	Dados de estabilidade do alvo
	Inter-run Calibration (Calibração entre corridas)	Dados de calibração entre corridas
	Gráfico Box-and-Whisker	Gráfico Box-and-Whisker da expressão gênica
	Dot-Plot Chart (Gráfico de pontos)	Gráfico de pontos da expressão gênica



**Tabela 37. Categorias para um relatório de estudo de genes, continuação**

<b>Categoria</b>	<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
<b>Study Analysis (Análise de estudo): Clustergram (Clustergrama) e Scatter Plot (Gráfico de dispersão)</b>		
	Analysis Settings (Configurações de análise)	Configurações para cada tipo de gráfico
	Chart (Gráfico)	Gráfico de expressão gênica mostrando os dados
	Data (Dados)	Planilha listando os dados em cada alvo
<b>Study Analysis (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)

### 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 você deseja incluir no relatório. O relatório é aberto com as opções padrão selecionadas. Selecione ou desmarque as caixas de seleção para alterar categorias inteiras ou opções individuais dentro de uma categoria.

A seção [Categorias de relatórios Gene Study \(Estudo de genes\) na página 294](#) lista as opções disponíveis para exibição.

4. Alterar a ordem das categorias e itens em um relatório. Arraste as opções para a posição desejada. Os itens podem ser reordenados apenas dentro das categorias às quais eles pertencem.
5. Clique em Update Report (Atualizar relatório) para atualizar a Report Preview (Visualização de relatório) com quaisquer alterações.
6. Imprimir ou salvar o relatório. Clique no botão Print Report (Imprimir relatório) na barra de ferramentas para imprimir o relatório atual. Selecione File (Arquivo) > Save (Salvar) para salvar o relatório em formato de arquivo PDF (arquivo Adobe Acrobat Reader) e selecione um local para salvar o arquivo. Selecione File (Arquivo) > Save As (Salvar como) para salvar o relatório com um novo nome ou em um novo local.
7. (Opcional) Criar um modelo de relatório com as informações desejadas. Para salvar as configurações atuais do relatório em um modelo, selecione Template (Modelo) > Save (Salvar) ou Save As (Salvar como). Em seguida, carregue o modelo de relatório na próxima vez que você quiser criar um novo relatório.



## Apêndice A Cálculos de análise de dados

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition calcula as fórmulas automaticamente e exibe os resultados nas guias Data Analysis (Análise de dados). Este apêndice explica em detalhes como o CFX Maestro Dx SE calcula as fórmulas.

### Eficiência da reação

Evidências sugerem que o uso de uma medida precisa de eficiências para cada primer e sonda lhe dará resultados mais precisos ao analisar dados de expressão gênica. O valor padrão de eficiência usado nos cálculos de expressão gênica é 100%. Para avaliar a eficiência da reação, gerar uma curva padrão usando diluições seriadas de uma amostra representativa em uma faixa dinâmica relevante e, em seguida, registrar a eficiência para a análise de expressão gênica subsequente. Se a sua corrida incluir uma curva padrão, então o software calcula automaticamente a eficiência e a exibe na Standard Curve (Curva padrão) na guia Quantification (Quantificação) quando Auto Efficiency (Eficiência automática) for verificada na guia Targets (Alvos) na janela Experiment Settings (Configurações de experimento).

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. Você tem a opção de converter seus cálculos de eficiência para aqueles usados no software usando os seguintes relacionamentos matemáticos:

- $E = (\% \text{ de Eficiência} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ de Eficiência} = (E - 1) * 100$

### Quantidade relativa

A fórmula para quantidade relativa ( $\Delta C_q$ ) para qualquer amostra (GOI) é:

$$\text{Quantidade relativa}_{\text{amostra (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_q(\text{min}) - C_q(\text{amostra}))}$$

**Observação:** esta fórmula é usada para calcular Relative Quantity (Quantidade relativa) quando não há amostra de controle definido.

Em que:

- E = eficiência do primer 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 de interesse (um alvo)

## Quantidade relativa quando um controle é selecionado

Quando uma amostra controle ou grupo biológico é atribuída, então a relative quantity (quantidade relativa) (RQ) para qualquer amostra com um gene de interesse (GOI) é calculada com esta fórmula:

$$\text{Quantidade relativa}_{\text{amostra (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left( C_{q \text{ (controle)}} - C_{q \text{ (amostra)}} \right)$$

Em que:

- E = eficiência do primer e conjunto de sondas. Esta eficiência é calculada com a fórmula (% de eficiência \* 0,01) + 1, em que 100% de eficiência = 2
- $C_{q \text{ (controle)}}$  = Average (Média)  $C_q$  para a amostra de controle
- $C_{q \text{ (amostra)}}$  =  $C_q$  médio para todas as amostras com um GOI
- GOI = 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

$$\text{SD Quantidade relativa} = \text{SD } C_{q \text{ GOI}} \times \text{Quantidade relativa}_{\text{amostra (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Em que:

- Quantidade relativa SD = desvio padrão da quantidade relativa
- $\text{SD } C_{q \text{ GOI}}$  mostra = desvio padrão do  $C_q$  para a amostra (GOI)
- Quantidade relativa = quantidade relativa da amostra
- E = eficiência do primer e conjunto de sondas. Esta eficiência é calculada com a fórmula (% de eficiência \* 0,01) + 1, em que 100% de eficiência = 2

- GOI = gene de interesse (um alvo)

## Eficiência corrigida C<sub>q</sub> (C<sub>qE</sub>)

A fórmula para eficiência corrigida C<sub>q</sub> é

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Em que:

- E = eficiência

## C<sub>q</sub> de eficiência média corrigida (MC<sub>qE</sub>)

A fórmula para C<sub>q</sub> de eficiência média corrigida é

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE} (Rep 1) + C_{qE} (Rep 2) + \dots + C_{qE} (Rep n)}{n}$$

Em que:

- C<sub>qE</sub> = C<sub>q</sub> de eficiência média corrigida
- n = número de réplicas

## Expressão normalizada

A expressão normalizada ( $\Delta\Delta C_q$ ) é a quantidade relativa de seu alvo (gene) normalizada para as quantidades dos alvos de referência (genes ou sequências) em seu sistema biológico. Para selecionar alvos de referência, abra a janela Experiment Settings (Configurações de experimento) 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 Quantidade relativa (RQ), é

$$\text{Expressão dimensionada}_{\text{amostra (GOI)}} = \frac{RQ_{\text{amostra (GOI)}}}{(RQ_{\text{amostra (Ref 1)}} \times RQ_{\text{amostra (Ref 2)}} \times \dots \times RQ_{\text{amostra (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Em que:

- RQ = quantidade relativa da amostra
- Ref = alvo de referência em uma corrida que inclua um ou mais alvos de referência em cada amostra
- GOI = gene de interesse (um alvo)

Desde que os alvos de referência não alterem seu nível de expressão em seu sistema biológico, 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 (Somente 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 um controle for selecionado

Ao selecionar uma amostra de controle na janela Experiment Settings (Configurações de experimento), o software define o nível de expressão da amostra de controle como 1. Nesta situação, o software normaliza as quantidades relativas de toda a expressão do alvo (gênica) para a quantidade de controle (um valor igual a 1). Essa expressão normalizada é equivalente à análise da expressão normalizada fora de escala quando um controle é escolhido.

**Observação:** isso também é conhecido como a expressão normalizada relativa (RNE) e alteração de dobra.



## Desvio padrão para a expressão normalizada

O redimensionamento do valor da expressão normalizada é realizado dividindo o desvio padrão da expressão normalizada pelo valor da expressão normalizada para os níveis de expressão individual mais altos ou mais baixos, dependendo da opção de dimensionamento escolhida. A fórmula para desvio padrão (SD) do fator de normalização é

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{amostra\ (Ref\ 1)}}{n \times RQ_{amostra\ (Ref\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{amostra\ (Ref\ 2)}}{n \times RQ_{amostra\ (Ref\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{amostra\ (Ref\ n)}}{n \times RQ_{amostra\ (Ref\ n)}}\right)^2}$$

Em que:

- RQ = 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 controle é designada, você não precisa executar essa função de redimensionamento no desvio padrão, conforme mostrado na seguinte fórmula:

$$SD\ NE_{amostra\ (GOI)} = NE_{amostra\ (GOI)} \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{amostra}}{NF_{amostra}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{amostra\ (GOI)}}{RQ_{amostra\ (GOI)}}\right)^2}$$

Em que:

- NE = expressão normalizada
- RQ = quantidade relativa da amostra
- SD = desvio padrão
- GOI = gene de interesse (um alvo)

## Expressão normalizada dimensionada para o nível mais alto de expressão

Quando a corrida não inclui controles, 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 escala mais alta é

$$\text{Expressão normalizada dimensionada}_{\text{amostra (GOI)}} = \frac{\text{Expressão dimensionada}_{\text{amostra (GOI)}}}{\text{Expressão normalizada}_{\text{Mais alto amostra (GOI)}}$$

Em que:

- GOI = gene de interesse (alvo)

## Expressão normalizada dimensionada para o nível mais baixo de expressão

Quando a corrida não inclui controles, 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 escala mais baixa é

$$\text{Expressão normalizada dimensionada}_{\text{amostra (GOI)}} = \frac{\text{Expressão dimensionada}_{\text{amostra (GOI)}}}{\text{Expressão normalizada}_{\text{Mais baixo amostra (GOI)}}$$

Em que:

- GOI = gene de interesse (alvo)

## Expressão normalizada dimensionada para o nível médio de expressão

Quando a corrida não inclui controles, 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 escala média é

$$\text{Expressão normalizada dimensionada}_{\text{amostra (GOI)}} = \frac{\text{Expressão dimensionada}_{\text{amostra (GOI)}}}{\text{Expressão normalizada}_{\text{GM (GOI)}}$$

Em que:

## Apêndice A Cálculos de análise de dados

- GOI = gene de interesse (alvo)
- GM = média geométrica da expressão normalizada para todas as amostras

## Desvio padrão para a expressão normalizada dimensionada

O redimensionamento do valor da expressão normalizada (NE) dimensionada é realizado 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 dimensionamento escolhida.

**Observação:** quando uma amostra de controle é designada, você não precisa executar essa função de redimensionamento no desvio padrão.

O cálculo para esta fórmula é

$$SD\ NE\ em\ escala_{amostra\ (GOI)} = \frac{SD\ NE_{amostra\ (GOI)}}{NE_{MÁX\ ou\ MÍN\ (GOI)}}$$

Em que:

- NE = expressão normalizada
- SD = desvio padrão
- GOI = gene de interesse (alvo)
- MÁX = nível de expressão mais alto
- MÍN = nível de expressão mais baixo

## Barras de erro para desvio padrão (lg) e erro padrão da média (lg)

Além dos intervalos de confiança, as barras de erro 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 erro são calculadas como segue:

$$\text{RQ barra de erro inferior} = 2^{\text{RQ}(\lg) - \text{SD RQ}(\lg)} \text{ ou } 2^{\text{RQ}(\lg) - \text{SEM RQ}(\lg)}$$

$$\text{RQ barra de erro superior} = 2^{\text{RQ}(\lg) + \text{SD RQ}(\lg)} \text{ ou } 2^{\text{RQ}(\lg) + \text{SEM RQ}(\lg)}$$

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 ( $\log_2$ )

$$\text{Exp. Barra de erro inferior} = 2^{\text{Exp.}(\lg) - \text{SD Exp.}(\lg)} \text{ ou } 2^{\text{Exp.}(\lg) - \text{SEM Exp.}(\lg)}$$

$$\text{Exp. Barra de erro superior} = 2^{\text{Exp.}(\lg) + \text{SD Exp.}(\lg)} \text{ ou } 2^{\text{Exp.}(\lg) + \text{SEM Exp.}(\lg)}$$

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 de dobra

A alteração de dobra é uma medida do aumento ou da redução na expressão de um alvo para uma amostra experimental em comparação com uma de controle ou um grupo biológico e é determinada da seguinte forma:

Se Expressão (experimental) > Expressão (controle):

$$\text{Alteração de dobra} = \frac{\text{Expressão (experimental)}}{\text{Expressão (controle)}}$$

Se Expressão (experimental) < Expressão (controle):

$$\text{Alteração de dobra} = -1 / \left( \frac{\text{Expressão (experimental)}}{\text{Expressão (controle)}} \right)$$

**Observação:** para o gráfico, a *Expressão* é baseada na quantidade relativa ou expressão normalizada, dependendo do modo selecionado (consulte [Gráficos na página 268](#)). Porém, para gráfico de dispersão e clustergrama, a alteração de dobra sempre é calculada a partir da expressão normalizada.

## Fórmulas de valor corrigidas

**Importante:** esses cálculos são aplicáveis 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).

Uma diferença entre valores corrigidos e não corrigidos é vista somente se uma curva padrão for criada como parte da corrida de PCR em tempo real. O software usa três equações para determinar a propagação de erro:

- 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

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{amostra\ (Ref\ 1)}}{n \times SE\ RQ_{amostra\ (Ref\ 1)}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{amostra\ (Ref\ 2)}}{n \times SE\ RQ_{amostra\ (Ref\ 2)}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{amostra\ (Ref\ n)}}{n \times SE\ RQ_{amostra\ (Ref\ n)}}\right)^2}$$

Em que:

- n = número de alvos de referência
- SE = erro padrão
- NF = fator de normalização
- RQ = 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 de interesse (um alvo)
- NF = fator de normalização
- n = número de alvos de referência

## Cálculo do intervalo de confiança para 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 de log 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) na guia Graphing (Gráficos).

Depois que os intervalos de confiança são calculados, eles são convertidos em escala linear e apresentados na Gene Expression Data Table (Tabela de dados de expressão gênica) e no gráfico de barras na guia Graphing (Gráficos).

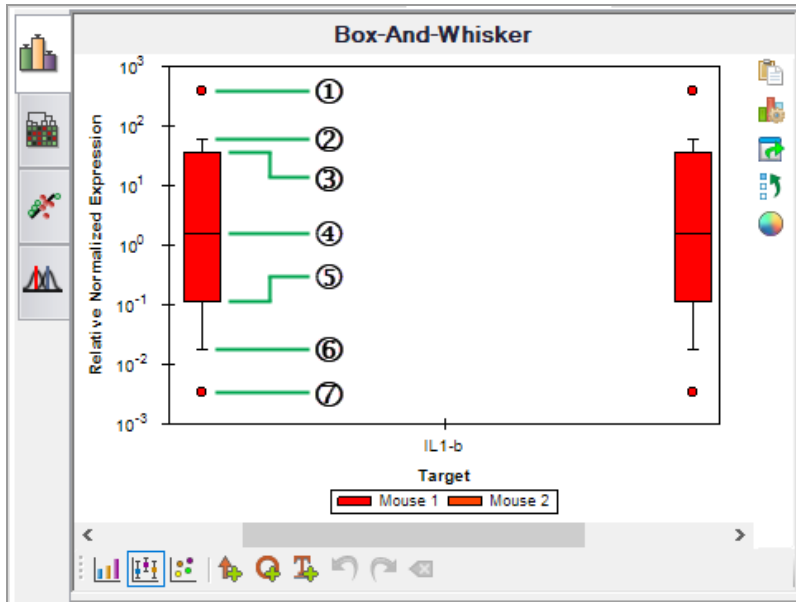
## Cálculos de gráficos Box-and-Whisker

O gráfico Box-and-Whisker exibe a distribuição dos valores de expressão dentro de um grupo biológico traçando os dados como quartis. O 1º e o 3º quartis são representados pelos limites inferior e superior da caixa, respectivamente. A média é exibida como uma linha sólida atravessando a caixa. Os whiskers representam os valores mínimos e máximos que não sejam 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, ela será mostrada como um único círculo, indicando um único ponto de dados.

O gráfico Box-and-Whisker a seguir demonstra 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° (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° (Q1). 25% dos valores de expressão são inferiores a Q1.
6. Demarcação mínima não discrepante
7. Discrepante. O valor deste discrepante é  $< Q1 + (1,5 \times [Q3 - Q1])$ .

## Apêndice B Trilhas de auditoria

O CFX Maestro Dx Software, Security Edition cria trilhas de auditoria para arquivos de dados e estudos genéticos (arquivos .prcd e .mgxd, respectivamente). Quaisquer alterações feitas ou ações executadas em arquivos de dados seguros e de estudo de genes são capturados na trilha de auditoria quando o arquivo é salvo. O CFX Maestro Dx SE cria uma trilha de auditoria separada para cada arquivo.

Você pode escolher File (Arquivo) > Save As (Salvar como) e salvar arquivos de dados seguros e de estudo de genes assinados ou não assinados em outra pasta ou com outro nome. O novo arquivo herda a trilha de auditoria do arquivo original. A trilha de auditoria do novo arquivo também inclui a atividade Save As (Salvar como). Alterações ou ações executadas no novo arquivo são capturadas em sua própria trilha de auditoria. O arquivo original mantém sua trilha de auditoria, na qual outras atividades são capturadas.

A seção [Eventos auditáveis na página 315](#) lista os eventos auditáveis que o software captura.

### Visualizar trilhas de auditoria

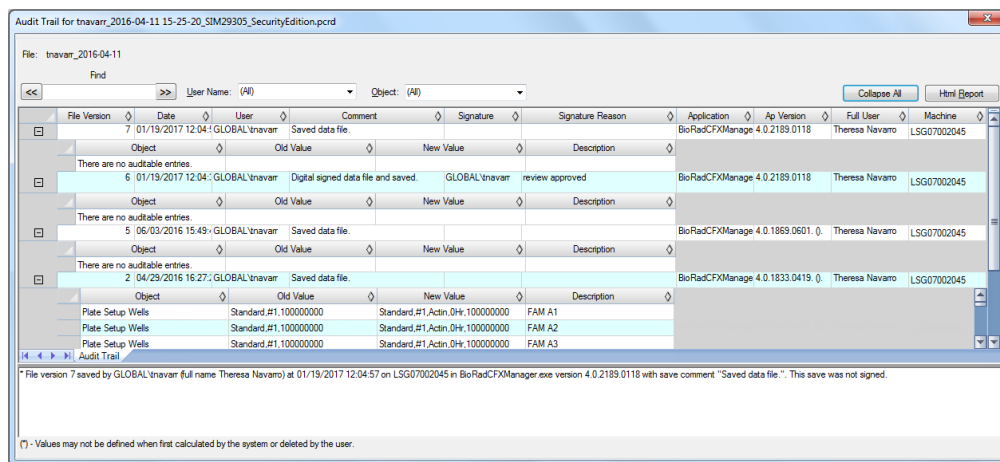
Cada trilha de auditoria exibe as seguintes informações:

- Detalhe do cabeçalho de auditoria
  - File version (Versão do arquivo) — a versão salva do arquivo
  - Date (Data) — a data do evento auditável atual
  - User (Usuário) — o domínio do Windows e o nome do usuário conectado
  - Comment (Comentário) — o último comentário salvo
  - Signature (Assinatura) — a assinatura eletrônica da última pessoa que assinou o arquivo
  - Signature reason (Motivo da assinatura) — o motivo da assinatura
  - Application (Aplicativo) — CFX Maestro Dx SE
  - Application version (Versão do aplicativo) — a versão atual do CFX Maestro Dx SE
  - Full user (Usuário completo) — o nome completo do usuário conectado
  - Machine (Máquina) — o computador no qual o CFX Maestro Dx SE está instalado
- Detalhe da mudança de 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

### Para ver a trilha de auditoria

- ▶ No arquivo de dados ou de estudo de genes aberto, selecione View (Exibir) > Audit Trail (Trilha de auditoria). A trilha de auditoria do arquivo é exibida.



Por padrão, os dados são ordenados por data e hora, e todos os eventos aparecem na visualização expandida. Você pode filtrar a exibição por nome de usuário e objeto e recolher a exibição expandida para ordenar por qualquer campo de cabeçalho. Você também pode visualizar a trilha de auditoria como um relatório html.

### Para ordenar por nome de usuário

- ▶ Selecione o usuário de destino na lista suspensa User Name (Nome do usuário).

### Para ordenar por objeto

- ▶ Selecione o alvo na lista suspensa Object (Objeto).

### Para ocultar a descrição completa dos eventos

- ▶ Clique em Collapse All (Recolher tudo).

**Para ordenar dados na tabela de detalhes da alteração**

- ▶ Clique no símbolo de losango no cabeçalho da coluna de dados para executar uma classificação em ordem crescente (A a Z, do menor ao maior número, ou do mais antigo ao mais recente).

**Para imprimir a trilha de auditoria**

1. Clique em HTML Report (Relatório HTML) para exibir a trilha de auditoria em um navegador da web.
2. Na janela do seu navegador, execute uma das seguintes opções:
  - Selecione File (Arquivo) > 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 seguir em arquivos de dados e estudos genéticos.

**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 um arquivo de dados é criado**

- Arquivo de dados criado
- Leituras de placa interpoladas adicionadas pelo sistema

**Eventos auditáveis quando um arquivo de dados é salvo**

- Geral
  - Name (Nome)
  - Signing (Assinatura)
  - Plate Setup (Configuração de placa)
  - Display Wells (Exibir 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)
- Guia 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 (Correção de derivação aplicada)
  - Settings (Configurações) — Cycles to Analyze (Ciclos para análise)
  - Settings (Configurações) — Analysis Mode (Modo de análise)
  - Settings (Configurações) — Baseline Threshold (Limiares de linha de base)
- Guia Melt Curve (Curva de fusão)
  - Active step (Etapa ativa)
  - Peak type displayed (Tipo de pico exibido)
  - Peak analysis threshold (Limiar de análise de pico)
- Guia End-point
  - Active fluorophore/target (Fluoróforo ativo/alvo)
  - End cycles to average (Ciclos finais para a média)
  - Tolerance calculation method (Método de cálculo de tolerância)
  - Percentage of range (Porcentagem do intervalo)
- Guia Allelic Discrimination (Discriminação alélica)
  - X- and Y-axis fluorophore (Fluoróforo do eixo X e Y)
  - Select cycle number (Selecionar número do ciclo)
  - View call map (Exibir mapa de chamadas)
- Guia Gene Expression (Expressão gênica) — Todos os gráficos
  - Experiment Settings (Configurações de experimento) — Target reference (Referência de alvo)
  - Experiment Settings (Configurações de experimento) — Sample control (Controle de amostra)
  - Experiment Settings (Configurações de experimento) — Auto efficiency (Eficiência automática)
  - Experiment Settings (Configurações de experimento) — Efficiency (Eficiência)

- Guia Gene Expression (Expressão gênica) — Graphing (Gráficos)
  - Analysis mode (Modo de análise)
  - Graph data (Dados do gráfico)
  - X-axis (Eixo X)
  - Y-axis (Eixo Y)
  - Scaling option (Opções de dimensionamento)
  - Error bar (Barra de erro)
  - Error Bar Multiplier (Multiplicador da barra de erro)
  - P-value threshold (Limiar de Valor P)
- Guia Gene Expression (Expressão gênica) — Clustergram (Clustergram)
  - Cluster By (Agrupar por)
  - Split out replicates (Dividir réplicas)
- Guia Gene Expression (Expressão gênica) — Scatter Plot (Gráfico de dispersão)
  - Control biological group (Grupo biológico de controle)
  - Experimental biological group (Grupo biológico experimental)
  - Fold change threshold (Limiar de alteração de dobra)
- Guia Gene Expression (Expressão gênica) — ANOVA
  - P-value threshold (Limiar de Valor P)
- Plate Setup (Configuração de placa) — View/Edit Plate (Exibir/editar placa)
  - Settings (Configurações) — PlateType
  - Settings (Configurações) — Units (Unidades)
  - Editing Tools (Ferramentas de edição) — Flip Plate (Inverter placa)
  - Well groups (Grupos de poços)
  - Plate fluorophores (Placas de fluoróforo)
- Plate Setup (Configuração da placa) — Substitua a placa e aplique o arquivo PrimePCR
  - Plate Setup Import (Importação de configuração de placa)

## Auditar alterações nos arquivos de estudo de genes

### Geral

- Name (Nome)
- Guia Study Setup (Configuração de estudo)
  - Adicionar/remover arquivos de dados
- Guia Study Analysis (Análise de estudo)

## Apêndice C Integração LIMS

Você pode configurar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition para uso com um sistema de gerenciamento de informações de laboratório (LIMS). Para integração LIMS, o CFX Maestro Dx SE requer informações de configuração da placa geradas pela plataforma LIMS (um arquivo LIMS, \*.plrn), um arquivo de protocolo criado usando o CFX Maestro Dx SE (\*.prcl), um local de exportação de dados definido e um formato de exportação definido.

Quando a corrida termina, o CFX Maestro Dx SE gera um arquivo de dados (.pcrd) e o salva na pasta de exportação de dados definida. O CFX Maestro Dx SE também pode criar um arquivo de dados compatível com LIMS no formato .csv e salvá-lo no mesmo local.

### Criar arquivos de dados compatíveis com o LIMS

Este apêndice explica como configurar o CFX Maestro Dx SE para criar, salvar e exportar arquivos de dados compatíveis com o LIMS.

#### Configurar a pasta e as opções de exportação de dados LIMS

Por padrão, o CFX Maestro Dx SE salva os protocolos LIMS, os arquivos e os arquivos de exportação de dados na seguinte pasta:

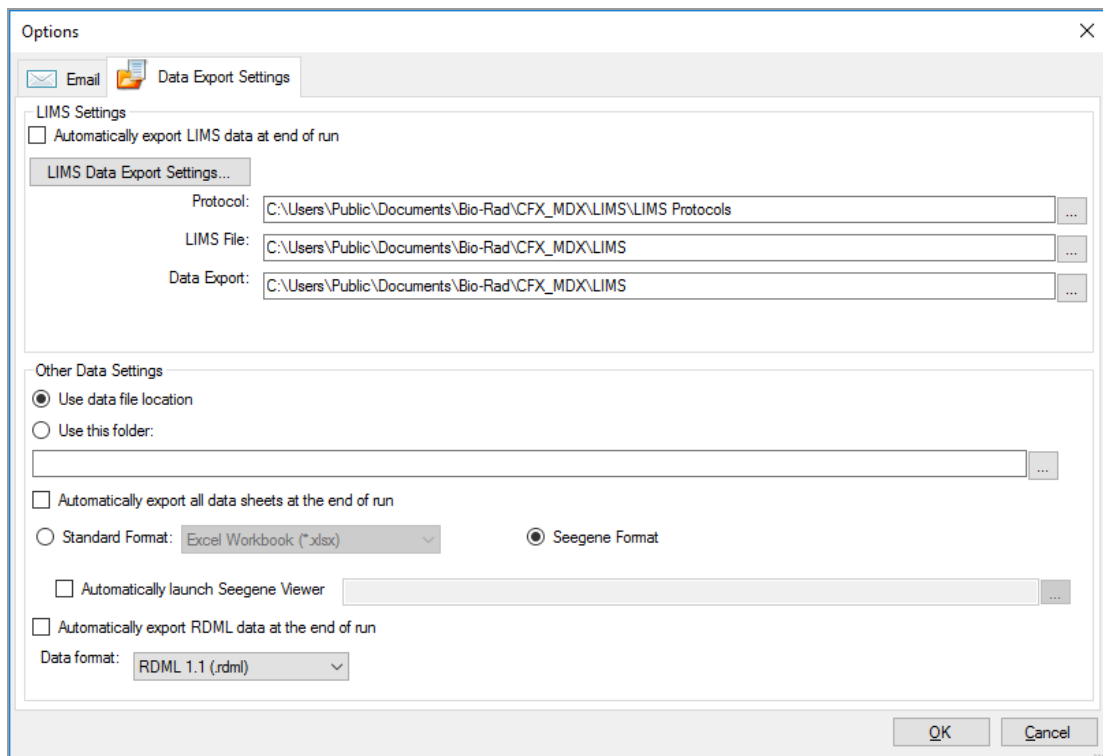
C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX\_Dx\LIMS

Você pode configurar o CFX Maestro Dx SE para salvar os arquivos em outra pasta e alterar as opções de exportação para os dados LIMS.

#### 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 salvará no local especificado.

4. Para alterar as opções de exportação padrão para os dados LIMS, clique em LIMS Data Export Settings (Configurações de exportação de dados LIMS).

**Importante:** apenas os dados LIMS exportados como um arquivo .csv file podem ser importados de volta 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 padrão na qual deseja salvar os arquivos de dados do LIMS. É possível seleccionar um local diferente para cada tipo de arquivo:

- Protocol (Protocolo)
- LIMS file (arquivo LIMS)
- Data export (Exportação de dados)

7. Clique em OK para salvar as alterações e fechar a caixa de diálogo Options (Opções).

## Criar um protocolo LIMS

Para iniciar uma corrida do LIMS, crie um arquivo de protocolo (\*.prcl) do CFX Maestro Dx SE e salve-o no local da pasta do protocolo LIMS designado.

Consulte [Capítulo 7, Criar protocolos](#) para obter mais informações.

## Criar um arquivo LIMS

Um arquivo LIMS (\*.plrn) contém os detalhes da configuração da placa e o nome do arquivo do protocolo. Este arquivo é gerado por seu LIMS interno. O CFX Maestro Dx SE usa o arquivo LIMS para criar um arquivo de placa para usar com um arquivo de protocolo.

O CFX Maestro Dx SE fornece arquivos de modelo de importação de placa que você pode editar para criar arquivos de placa LIMS personalizados.

**Dica:** esta tarefa deve ser executada por um especialista em LIMS.

### Criar um arquivo LIMS

1. Na janela Home (Início), selecione View (Exibir) > Show (Mostrar) > LIMS File Folder (Pasta de arquivos LIMS).
2. Abra a pasta LIMS Templates (Modelos LIMS) e selecione um arquivo .csv para importar em seu LIMS interno.
3. Edite o arquivo de modelo preenchendo os campos requeridos listados na [Tabela 38](#).
4. Execute uma das seguintes opções:
  - Para salvar as alterações para uso futuro, salve o arquivo como um arquivo .csv.
  - Para salvar as alterações e usar o arquivo imediatamente, salve o arquivo com a extensão .plrn.
  - Salve o modelo com a extensão de nome de arquivo .plrn na pasta File LIMS (Arquivo LIMS).

**Importante:** o CFX Maestro Dx SE pode abrir apenas o arquivo .plrn. Você deve salvar o arquivo .csv como .plrn para iniciar a corrida do LIMS.

**Tabela 38. Definição do conteúdo do arquivo .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 arquivo .csv LIMS, continuação**

<b>Coluna</b>	<b>Linha</b>	<b>Descrição</b>	<b>Conteúdo</b>	<b>Finalidade</b>
B	7	Units (Unidades)	Inserir um dos seguintes: “copy number” (número da cópia), “fold dilution” (diluição de dobra), “micromoles,” “nanomoles,” “picomoles,” “femtomoles,” “attomoles,” “milligrams” (miligramas), “micrograms” (microgramas), “nanograms” (nanogramas), “picograms” (picogramas), “femtograms” (femtogramas), “attograms” (attogramas) ou “percent” (por cento)	Requerido
B	8	Run ID (ID de corrida)	Digite uma breve descrição ou código de barras identificando esta corrida (máximo de 30 caracteres, vírgulas não permitidas)	Opcional
B	9	Run Notes (Observações da corrida)	Informe a descrição da corrida	Opcional

**Tabela 38. Definição do conteúdo do arquivo .csv LIMS, continuação**

<b>Coluna</b>	<b>Linha</b>	<b>Descrição</b>	<b>Conteúdo</b>	<b>Finalidade</b>
B	10	Run Protocol (Protocolo de corrida)	Inserir o nome do arquivo de protocolo exatamente como listado.	Requerido
A	11	Data File (Arquivo de dados)	Inserir o nome do arquivo 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, Ch2 Dye, Ch3 Dye, Ch4 Dye, Ch5 Dye, FRET (Corante Ch1, Corante Ch2, Corante Ch3, Corante Ch4, Corante Ch5, FRET)	Digitar um nome do corante calibrado (por exemplo, "FAM") para cada canal sendo usado	Requerido
H		Sample Type (Tipo de amostra)	Inserir um dos seguintes tipos de amostra: "Unknown" (Desconhecido), "Standard" (Padrão), "Positive Control" (Controle positivo), "Negative Control" (Controle negativo), "NTC" ou "NRT"	Requerido
I		Sample Name (Nome da amostra)	Inserir o nome da amostra	Opcional
J-O		CH1 Target, CH2 Target, CH3 Target, CH4 Target, CH5 Target, FRET Target	Inserir o nome do alvo para cada canal usado	Opcional

**Tabela 38. Definição do conteúdo do arquivo .csv LIMS, continuação**

Coluna	Linha	Descrição	Conteúdo	Finalidade
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, CH2 Quantity, CH3 Quantity, CH4 Quantity, CH5 Quantity, FRET Quantity (Quantidade CH1, Quantidade CH2, Quantidade CH3, Quantidade CH4, Quantidade CH5, Quantidade FRET)	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 arquivo .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 ao inserir observações em Well Note (Observação de poço) por meio do software, o campo Well Note (Observação de poço) pode conter até 500 caracteres se incluído em um arquivo .plrn importado. No entanto, o CFX Maestro Dx SE exibirá apenas os primeiros 20 caracteres. O arquivo .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 arquivo .csv LIMS, continuação**

Coluna	Linha	Descrição	Conteúdo	Finalidade
Y-AD		Ch1 Well Color, Ch2 Well Color, Ch3 Well Color, Ch4 Well Color, Ch5 Well Color, FRET Well Color (Cor do poço Ch1, Cor do poço Ch2, Cor do poço Ch3, Cor do poço Ch4, Cor do poço Ch5, Cor do poço FRET)	Inserir qualquer cor de estilo de traço definida pelo usuário em um formato decimal de inteiro de 32 bits (argb)	Opcional

## Iniciar uma corrida LIMS

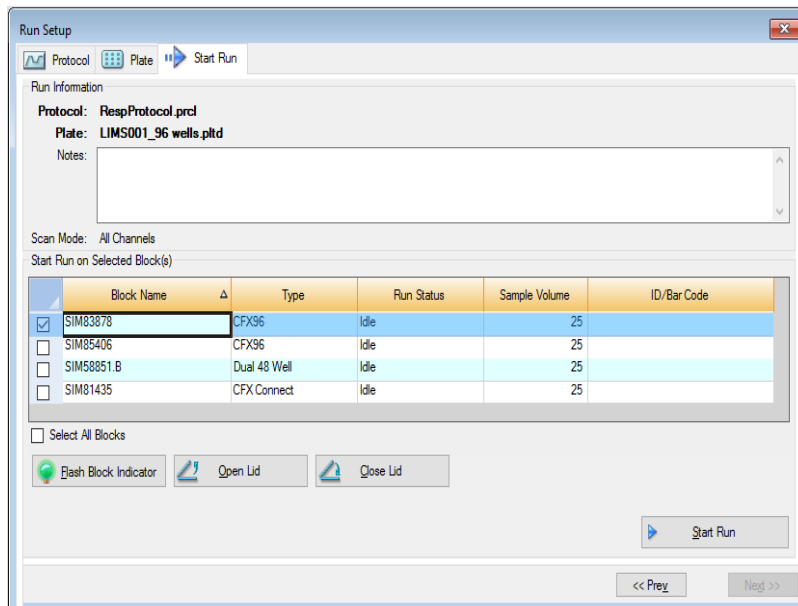
### Para iniciar uma corrida LIMS

1. Execute uma das opções a seguir para abrir um arquivo .plrn do LIMS:
  - Na janela Home (Início), selecione View (Exibir) > Show (Mostrar) > LIMS File Folder (Pasta de arquivos LIMS) e abra o arquivo .plrn alvo.
  - Na janela Home (Início), selecione View (Exibir) > Open (Abrir) > LIMS File (Arquivo LIMS) e abra o arquivo .plrn alvo.

O arquivo abre na guia Run setup (Configuração de corrida) no Run Setup Wizard (Assistente de configuração de inicialização). A guia Start Run (Iniciar corrida) exibe informações sobre o experimento a ser executado. Ela também exibe o bloco ou blocos de instrumentos conectados nos quais é possível executar o experimento.

2. Na guia 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 arquivo de dados (.pcrd) e o salva em um local definido na pasta de exportação de dados.

### Para exportar o arquivo de dados para um LIMS.

- ▶ Abra o arquivo .pcrd e selecione Export (Exportar) > Export to LIMS Folder (Exportar para pasta LIMS).

**Dica:** se você selecionar Automatically Export Data after Run (Exportar dados automaticamente depois da corrida) em LIMS Options (Opções de LIMS), o CFX Maestro Dx SE cria um arquivo de dados compatível com o LIMS no formato .csv e o salva na mesma pasta.

## Apêndice D Solução de problemas no CFX Maestro Dx Software, Security Edition

Este apêndice fornece sugestões para solucionar os problemas que você pode encontrar durante a atualização ou a corrida do CFX Maestro Dx Software, Security Edition.

### Adicionar arquivos e pastas do CFX Maestro Dx Software, Security Edition à lista de permissões

Para oferecer proteção contra vírus e malware, seu departamento de TI pode ter implementado medidas de segurança de software muito rígidas. Essas medidas podem afetar o tempo de atualização ou de corrida do CFX Maestro Dx SE.

A fim de melhorar o desempenho do CFX Maestro Dx SE, a Bio-Rad recomenda que o seu departamento de TI adicione os seguintes arquivos 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

#### Arquivos

- Todos os arquivos .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)

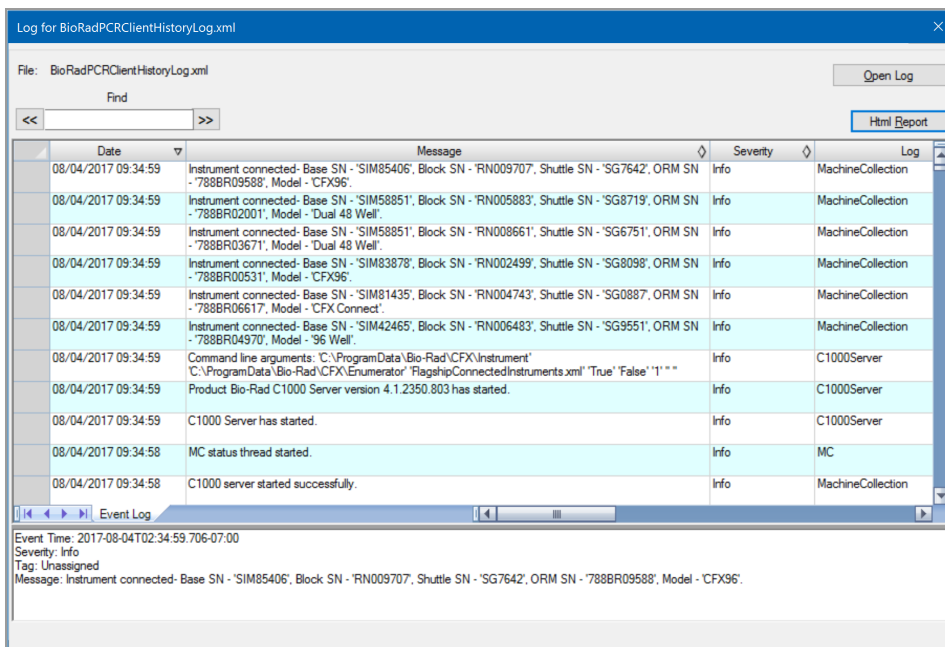
## Log do aplicativo

Antes de iniciar uma nova corrida, o sistema CFX Opus Dx inicia um teste de autodiagnóstico para verificar se está sendo executado dentro das especificações. O software registra os resultados desse teste no arquivo do Run Log (Log de corrida) Application Log (Log do aplicativo). Se perceber um problema em um ou mais experimentos, abra os logs de corrida e do aplicativo para descobrir quando o problema foi iniciado.

O CFX Maestro Dx SE Dx rastreia informações sobre o estado de um instrumento durante uma corrida no Application Log (Log do aplicativo). Use esses registros para rastrear eventos que ocorrem nos instrumentos e no software e para solução de problemas.

### Abrir o log do aplicativo

- ▶ Na janela Home (Início), selecione View (Exibir) > Application Log (Log do aplicativo).



Para visualizar o log de aplicativo como um arquivo HTML, clique no botão HTML Report (Relatório HTML).

## Recupera arquivos de log de aplicativo e firmware

Os logs de aplicativo e firmware contêm informações que especificam as ações realizadas durante o uso do software e o desempenho das corridas. Esses logs também registram quaisquer erros de software ou firmware que ocorrem durante a operação do software ou do instrumento.

### Para acessar os arquivos de log de aplicativo e firmware:

1. No painel Detected Instruments (Instrumentos detectados), clique com o botão direito no instrumento.
2. Selecione Retrieve Log Files (Recuperar arquivos de log).
3. Na caixa de diálogo Browse for Folder (Procurar pasta), selecione a pasta de destino em sua rede ou unidade local na qual deseja salvar os arquivos de log.

**Observação:** a pasta é intitulada "Logs".

4. Clique em OK para salvar os arquivos.

**Importante:** salvar um arquivo de log com o mesmo nome de um arquivo existente substituirá o arquivo de log existente.

## Solução de problemas

Tipicamente, problemas de comunicação de software e instrumento podem ser resolvidos reiniciando seu computador e o sistema. Certifique-se de salvar qualquer trabalho em andamento 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

No 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 log do aplicativo anotará a falta de energia. Dependendo das configurações do computador e do tempo que a energia é desligada, o instrumento e o software tentam continuar a corrida, dependendo da etapa do protocolo:

- Se o protocolo estiver em uma etapa sem leitura de placa, o protocolo continuará em execução assim que o instrumento recuperar a energia.
- Se o protocolo estiver em uma etapa com uma leitura de placa, o instrumento aguardará a reinicialização do software e retomará a comunicação para coletar 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 arquivos para o computador do CFX Maestro Dx SE

Você pode transferir os dados e os arquivos de registro localizados no instrumento para o disco rígido de um computador CFX Maestro Dx SE conectado.

**Dica:** todos os arquivos 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 arquivos de log. Todos os arquivos de registro do instrumento são transferidos para o computador.

### Para recuperar arquivos do instrumento

1. No painel Detected Instruments (Instrumentos detectados) na janela Home (Início), clique com o botão direito do mouse no instrumento alvo e selecione Retrieve Log Files (Recuperar arquivos de registro).
2. Escolha um local de pasta para salvar os arquivos recuperados.
3. Clique em OK.

## Instalar o CFX Maestro Dx Software, Security Edition manualmente

### Instalar o CFX Maestro Dx SE manualmente

1. Se necessário, desconecte todos os instrumentos conectados ao computador.  
  
Localize e desconecte o cabo USB do instrumento no computador do CFX Maestro Dx SE. A extremidade inserida no instrumento pode permanecer no lugar.
2. Efetue login no computador do CFX Maestro Dx SE com privilégios administrativos.
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 na tela para instalar o software.  
  
Depois de concluída, a tela de abertura do CFX Maestro Dx Software, Security Edition da Bio-Rad aparece na tela do computador e o ícone do CFX Maestro Dx Software, Security Edition da Bio-Rad aparece na área de trabalho.
7. Ejecte com segurança a unidade USB do software e inicie o CFX Maestro Dx SE.

## Reinstalar os drivers

### Para reinstalar os drivers do instrumento

- ▶ Na janela Home (Início), selecione Tools (Ferramentas) > Reinstall Instrument Drivers (Reinstalar drivers do instrumento).

**Observação:** se você tiver problemas de comunicação entre o software e um sistema em tempo real depois de reinstalar os drivers e verificar a conexão USB, entre em contato com o suporte técnico da Bio-Rad.



## Apêndice 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!



## Apêndice 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 (New York: SAGE Publications, Inc.).

### **Minpack Copyright Notice (1999) Universidade de Chicago. Todos os direitos reservados**

Redistribuição e uso em formatos de fonte e binários, com ou sem modificações, são permitidos, desde que as seguintes condições sejam cumpridas:

1. Redistribuições do código-fonte devem reter a notificação de direitos autorais acima, esta lista de condições e o seguinte aviso.
2. Redistribuições em formato binário devem reproduzir a notificação de direitos autorais acima, esta lista de condições e o seguinte aviso na documentação e/ou outros materiais fornecidos com a distribuição.
3. A documentação para o usuário final incluída com a redistribuição, se houver, deve incluir o seguinte reconhecimento:

“Este produto inclui software desenvolvido pela Universidade de Chicago, como operadora do Argonne National Laboratory.”

## Apêndice F Referências



Bio-Rad Laboratories, Inc.  
4000 Alfred Nobel Drive  
Hercules, CA 94547



Bio-Rad  
3, boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette, France  
Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00  
Fax: +33 (0)1 47 41 91 33  
bio-rad.com



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

**Website** [bio-rad.com](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

