



Software CFX Maestro Dx SE

Guida per l'utente
Versione 2.3

REF	
	12014330
	12014334
	12014335
	12014348
	12014349
	12016659
	12016687

Revisione del manuale: Maggio 2022

Revisione del software: 2.3



Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Guida per l'utente

Versione 2.3



Assistenza tecnica Bio-Rad™

Il reparto di assistenza tecnica di Bio-Rad negli Stati Uniti è aperto dal lunedì al venerdì, dalle ore 05.00 alle ore 17.00 (fuso costa pacifica).

Telefono: 1-800-424-6723, opzione 2

E-mail: support@bio-rad.com (solo per U.S.A./Canada)

Per assistenza tecnica al di fuori degli Stati Uniti e del Canada, contattare l'ufficio locale di assistenza tecnica oppure fare clic sul link Contattaci disponibile all'indirizzo bio-rad.com.

Avviso

Nessuna parte della presente pubblicazione può essere riprodotta o trasmessa in alcuna forma o mediante alcun mezzo, elettronico o meccanico, fra cui fotocopia, registrazione o qualsiasi sistema di conservazione o recupero delle informazioni, senza l'autorizzazione scritta di Bio-Rad Laboratories, Inc.

Bio-Rad si riserva il diritto di modificare i propri prodotti e servizi in qualsiasi momento. Questa guida è soggetta a modifiche senza preavviso. Sebbene si impegni a garantire l'accuratezza, Bio-Rad non si assume alcuna responsabilità per errori od omissioni, o per danni derivanti dall'applicazione o dall'utilizzo di queste informazioni.

BIO-RAD è un marchio di Bio-Rad Laboratories, Inc.

SYBR è un marchio di Thermo Fisher Scientific Inc.

EvaGreen è un marchio di Biotium, Inc.












Tutti i marchi utilizzati nel presente documento appartengono ai rispettivi proprietari.

Copyright © 2022 di Bio-Rad Laboratories, Inc. Tutti i diritti riservati.

Uso previsto

Il sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Dx™ con Software CFX Maestro Dx, Security Edition™ ha lo scopo di eseguire la PCR basata sulla fluorescenza per rilevare sequenze quantitative di acidi nucleici. Il sistema e il software sono previsti per l'uso diagnostico in vitro da parte di tecnici di laboratorio qualificati. I sistemi vanno utilizzati con test diagnostici degli acidi nucleici di terzi, che sono stati prodotti ed etichettati per scopi diagnostici.

Glossario dei simboli

 Produttore	 Numero di lotto
 Data di scadenza	 Per uso diagnostico in vitro
 Limite di temperatura	 Numero di catalogo
 Consultare le istruzioni per l'uso	 Numero di test
 Per l'uso con	 Numero di serie
Rx Only Solo su prescrizione medica	 Contiene lattice

CE Marchio CE - Regolamento (UE) 2017/746 IVDR	
---	--

Traduzioni

I documenti del prodotto possono essere forniti in altre lingue su supporti elettronici.

Cronologia delle revisioni

Documento	Data	Descrizione della modifica
Guida per l'utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition, 2.0 (ID doc. n. 10000135624)	Dicembre 2020	Vers. A, release iniziale
Guida per l'utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition, 2.3 (ID doc. n. 10000135624)	Maggio 2022	<ul style="list-style-type: none">■ Aggiornamento per supportare CFX Opus Deepwell Dx■ Tabella glossario dei simboli aggiornato■ Aggiunta nota sulla sicurezza informatica all'introduzione

Indice

Usò previsto	iii
Glossario dei simboli	iii
Traduzioni	iv
Cronologia delle revisioni	v
Sicurezza e conformità normativa	17
Etichette di avvertenza per la sicurezza	17
Sicurezza e conformità normativa	19
Conformità alla sicurezza	19
Compatibilità elettromagnetica (EMC)	20
Note e avvertenze di compatibilità elettromagnetica	21
Requisiti di ambiente	22
Pericoli	23
Rischi biologici	23
Rischi chimici	25
Rischio di esplosione o infiammabilità	25
Rischi elettrici	26
Trasporto	26
Batteria	26
Smaltimento	26
Garanzia	26
Capitolo 1 Introduzione	27
Caratteristiche principali del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	29
Maggiori informazioni	29
Capitolo 2 Installazione del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	31
Requisiti di sistema	32
Installazione del software CFX Maestro Dx SE	34
Rilevamento degli strumenti collegati	36
File del software	37

Capitolo 3 Gestione degli account utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	39
Avvio del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	40
Aggiunta di utenti Microsoft Windows al computer con il Software CFX Maestro Dx, Security Edition	42
Aggiunta e rimozione di utenti del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	44
Gestione dei ruoli utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	45
Visualizzazione del ruolo e delle autorizzazioni	46
Capitolo 4 Utilizzo del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	47
File protetti	47
Capitolo 5 Area di lavoro	57
Finestra Home	58
Procedura guidata di avvio	59
Finestra dell'editor protocollo	60
Finestra dell'editor piastra	61
Finestra Data Analysis (Analisi dei dati)	62
Capitolo 6 Finestra Home	63
Finestra Home	64
Comandi del menu File	65
Comandi del menu View (Visualizza)	65
Comandi del menu User (Utente)	66
Comandi del menu Run (Analisi)	67
Comandi del menu Tools (Strumenti)	67
Comandi del menu Help (Guida)	68
Comandi della barra degli strumenti	69
Finestra Startup Wizard (Procedura guidata di avvio)	70
Barra di stato	70
Riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati)	71
Visualizzazione delle proprietà di uno strumento	74
Operazioni preliminari	75
Creazione di una master mix di reazione	75
Calibrazione di nuovi coloranti	77
Impostazione delle preferenze utente	80

Capitolo 7 Creazione di protocolli	99
Parametri e intervalli per le fasi del protocollo	100
Finestra dell'editor protocollo	102
Comandi del menu File	102
Comando del menu Settings (Impostazioni)	103
Comandi del menu Tools (Strumenti)	103
Comandi della barra degli strumenti	103
Comandi di modifica protocollo	104
Creazione di un protocollo nell'editor protocollo	108
Apertura di un nuovo file di protocollo nell'editor protocollo	108
Apertura di un protocollo esistente nell'editor protocollo	110
Impostazione di un nuovo protocollo	111
Aggiunta di fasi ad un protocollo	113
Inserimento di una fase gradiente	114
Inserimento di una fase GOTO	115
Inserimento di una fase della curva di fusione	116
Aggiunta o rimozione di una fase di lettura piastra	118
Modifica delle opzioni della fase	118
Eliminazione di una fase	119
Copia, esportazione o stampa di un protocollo	119
Creazione di un protocollo con Protocol AutoWriter (AutoWriter protocollo)	120
Utilizzo del calcolatore Ta	122
Informazioni sul calcolatore Ta	122
Capitolo 8 Preparazione delle piastre	127
Finestra dell'editor piastra	128
Comandi del menu File	128
Comandi del menu Edit (Modifica)	129
Comandi del menu Settings (Impostazioni)	129
Modifica dei comandi del menu Tools (Strumenti)	130
Comandi della barra degli strumenti	130
Creazione di un file piastra usando l'editor piastra	132
Apertura di un nuovo file piastra nell'editor piastra	132
Apertura di un file piastra esistente nell'editor piastra	134
Impostazione di un nuovo file piastra	135

Assegnazione di parametri opzionali al file piastra	143
Assegnazione di un target ai pozzetti	143
Assegnazione di un nome campione ai pozzetti	146
Assegnazione di gruppi biologici ai pozzetti	147
Assegnazione dei numeri di replicati tecnici ai pozzetti	150
Assegnazione di una serie di diluizione ai tipi di campione standard	151
Copia del contenuto del pozzetto in un altro pozzetto	153
Aggiunta di una nota ad un pozzetto	153
Cancellazione di tutto il contenuto dei pozzetti	154
Modifica delle impostazioni dell'esperimento	155
Creazione di gruppi di pozzetti	158
Modifica degli stili tracce	160
Visualizzazione, esportazione e importazione della piastra in formato foglio di calcolo	162
Creazione di una disposizione piastra usando la procedura di impostazione guidata	164
Utilizzo della procedura di impostazione guidata della piastra	164
Capitolo 9 Esecuzione di esperimenti	167
Finestra Run Setup (Impostazione analisi)	168
Accesso alla finestra Run Setup (Impostazione analisi)	169
Scheda Protocol (Protocollo)	170
Scheda Plate (Piastra)	173
Scheda Start Run (Avvia analisi)	176
Esecuzione di un esperimento	177
Finestra di dialogo Run Details (Dettagli analisi)	179
Scheda Run Status (Stato analisi)	179
Scheda Real-time Status (Stato in tempo reale)	182
Scheda Time Status (Stato tempo)	185
Esecuzione di esperimenti PrimePCR	186
Trasferimento dei dati stand-alone per l'analisi	188
Trasferimento di dati tramite e-mail	188
Trasferimento di dati dal sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Dx	188
Trasferimento dei dati tramite il Software CFX Maestro Dx, Security Edition	191
Trasferimento dei dati con un'unità USB	191
Trasferimento dei dati tramite un'unità di rete condivisa utilizzando il sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Dx	192

Creazione di un file di dati	192
Capitolo 10 Descrizione generale della finestra Data Analysis (Analisi dei dati)	193
Finestra Data Analysis (Analisi dei dati)	193
Barra degli strumenti Data Analysis (Analisi dei dati)	194
Barra dei menu Data Analysis (Analisi dei dati)	195
Dettagli scheda	199
Selettore del numero di fase	199
Visualizzazione dei gruppi di pozzetti nell'analisi dei dati	200
Modifica del contenuto dei pozzetti dopo l'analisi	200
Impostazioni dell'analisi dei dati	202
Regolazione della soglia	202
Impostazioni della linea basale	202
Modalità di analisi	203
Cicli da analizzare	204
Selettore pozzetto	205
Elementi del menu di scelta rapida del selettore dei pozzetti	206
Esclusione provvisoria dei pozzetti dall'analisi	207
Grafici	208
Strumenti dei grafici	208
Ingrandimento di un'area nel grafico	216
Copia di grafici in un file Microsoft	216
Elementi comuni del menu di scelta rapida per i grafici	216
Fogli di calcolo	218
Elementi comuni del menu di scelta rapida per i fogli di calcolo	218
Export (Esporta)	220
Esportazione di tutte le schede di dati	220
Esportazione dei file RDML	221
Creazione di un file di esportazione personalizzato	222
Esportazione in una cartella LIMS	224
Esportazione dei dati con formattazione Seegene	224
Capitolo 11 Dettagli dell'analisi dei dati	225
Scheda Quantification (Quantificazione)	226
Opzioni fluoroforo	226
Finestra di dialogo Trace Styles (Stili traccia)	227

Opzione Log Scale (Scala logaritmica)	228
Grafico della curva standard	229
Opzioni del menu del grafico di amplificazione	230
Foglio di calcolo della scheda Quantification (Quantificazione)	230
Scheda Quantification Data (Dati di quantificazione)	232
Foglio di calcolo Results (Risultati)	232
Foglio di calcolo dei risultati della curva standard	234
Foglio di calcolo Plate (Piastra)	235
Foglio di calcolo RFU	236
Scheda Melt Curve (Curva di fusione)	237
Correzione dei dati della curva di fusione	239
Scheda Melt Curve Data (Dati curva di fusione)	240
Foglio di calcolo dei picchi di fusione	240
Foglio di calcolo Plate (Piastra)	241
Foglio di calcolo RFU	242
Foglio di calcolo $-d(RFU)/dT$	243
Scheda End Point (Punto finale)	244
Dati relativi ai risultati	245
Regolazione dell'analisi dei dati del punto finale	247
Foglio di calcolo RFU per l'analisi al punto finale	247
Scheda Allelic Discrimination (Discriminazione allelica)	248
Regolazione dei dati per la discriminazione allelica	249
Opzioni di menu dei grafici	250
Foglio di calcolo della discriminazione allelica	250
Scheda di visualizzazione personalizzata dei dati	252
Creazione di una vista personalizzata dei dati	253
Scheda QC (CQ)	254
Modifica dei criteri CQ	255
Esclusione dei pozzetti che non superano il CQ	255
Scheda Run Information (Informazioni analisi)	256
Report di analisi dei dati	257
Categorie dei report di analisi dei dati	258
Creazione di un report di analisi dei dati	261
Creazione di report sul gruppo di pozzetti	263

Capitolo 12 Analisi dell'espressione genica	265
Impostazione della piastra per l'analisi dell'espressione genica	265
Impostazione guidata della piastra	266
Grafici dell'espressione genica	267
Rappresentazione grafica	268
Modifica e annotazione della vista grafico	270
Rettifica dei dati di espressione genica	276
Impostazioni dell'esperimento	278
Opzioni del menu di scelta rapida	280
Foglio di calcolo dei dati	281
Opzione Show Details (Mostra dettagli)	283
Diagramma di gruppo	285
Impostazioni	285
Opzioni del menu di scelta rapida	285
Foglio di calcolo dei dati	286
Grafico di dispersione	287
Impostazioni	287
Opzioni del menu di scelta rapida	287
Foglio di calcolo dei dati	287
Foglio di calcolo Results (Risultati)	288
Studio dei geni	289
Calibrazione inter-analisi	289
Finestra di dialogo Gene Study (Studio dei geni)	290
Scheda Study Setup (Impostazione studio)	290
Preparazione di uno studio dei geni	291
Scheda Study Analysis (Analisi dello studio)	292
Categorie di report dello studio dei geni	293
Creazione di un report dello studio dei geni	296
Appendice A Calcoli dell'analisi dei dati	297
Efficienza della reazione	297
Quantità relativa	297
Quantità relativa quando si seleziona un controllo	298
Deviazione standard della quantità relativa	298
Cq con correzione d'efficienza (CqE)	299

Cq medio con correzione d'efficienza (MCqE)	299
Espressione normalizzata	300
Espressione e quantità relativa per i gruppi biologici	301
Espressione normalizzata quando si seleziona un controllo	301
Deviazione standard per l'espressione normalizzata	302
Espressione normalizzata rapportata al livello più alto di espressione	303
Espressione normalizzata rapportata al livello più basso di espressione	303
Espressione normalizzata rapportata al livello di espressione medio	303
Deviazione standard per l'espressione normalizzata rapportata	305
Barre di errore per deviazione standard (lg) ed errore standard della media (lg)	306
Fold change	307
Formule dei valori corretti	308
Calcolo dell'intervallo di confidenza per l'analisi del gruppo biologico	309
Calcoli del diagramma a scatola e baffi	309
Appendice B Audit Trail	311
Visualizzazione degli audit trail	311
Eventi controllabili	313
Appendice C Integrazione LIMS	317
Creazione di file di dati compatibili con LIMS	317
Impostazione della cartella LIMS e delle opzioni per l'esportazione dei dati	317
Creazione di un protocollo LIMS	319
Creazione di un file LIMS	319
Avvio di un'analisi LIMS	325
Esportazione dei dati in un LIMS	326
Appendice D Risoluzione dei problemi del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	327
File e cartelle del Software CFX Maestro Dx, Security Edition consentiti	327
Registro dell'applicazione	328
Recupero dei file di registro dell'applicazione e del firmware	329
Risoluzione dei problemi	329
Interruzione di alimentazione	329
Trasferimento di file nel computer CFX Maestro Dx SE	330
Installazione manuale del Software CFX Maestro Dx, Security Edition	330
Reinstallazione dei driver	331

Appendice E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products	333
Software Notices	334
ZedGraph	334
Standard Open License Text	334
LGPL-2.1	334
Appendice F Bibliografia	347

Sommario

Sicurezza e conformità normativa

I sistemi per PCR in tempo reale CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx (denominati in questa guida sistema CFX Opus Dx) si riscaldano e si raffreddano molto rapidamente durante il funzionamento. Per un funzionamento sicuro del sistema per PCR in tempo reale, Bio-Rad consiglia vivamente di seguire le specifiche di sicurezza elencate in questo paragrafo e in tutto il manuale.

Etichette di avvertenza per la sicurezza

Le etichette di avvertenza riportate sul sistema CFX Opus Dx e in questo manuale avvisano l'utente relativamente alle fonti di possibili lesioni o danni. Nella [Tabella 1](#) viene definita ciascuna etichetta di avvertenza per la sicurezza.

Tabella 1. Avvertenze generali di sicurezza







Icona	Significato
	L'azionamento del sistema CFX Opus Dx prima di aver letto questo manuale può comportare un rischio di lesioni personali. L'uso dello strumento in un modo non specificato in questo manuale o da Bio-Rad può comprometterne o disabilitarne le funzioni di protezione.
 	Non sussistono rischi biologici o rischi radioattivi associati al sistema CFX Opus Dx stesso. Tali rischi diventano una preoccupazione solo quando vengono introdotti nel sistema tramite i campioni da analizzare. Durante la manipolazione di campioni a rischio biologico o radioattivi, attenersi alle precauzioni consigliate e alle linee guida specifiche per il proprio laboratorio e luogo. Le linee guida dovrebbero includere la pulizia, il monitoraggio e i metodi di smaltimento per i materiali pericolosi in uso.
	Inoltre, come indicato sopra, esiste un piccolo rischio di esplosione o di espulsione di liquidi o vapori dai contenitori dei campioni. Quando si lavora con materiali pericolosi, il rischio di lesioni dovute al materiale espulso è aggravato dal rischio che il materiale pericoloso stesso possa essere disperso all'interno e intorno allo strumento. Gli utenti dovrebbero adottare precauzioni appropriate per tale circostanza.

Tabella 1. Avvertenze generali di sicurezza, continua

Icona	Significato
	<p>Il sistema CFX Opus Dx funziona a temperature sufficientemente elevate da causare gravi ustioni. Lasciare sempre che il blocco campioni torni alla temperatura ambiente prima di aprire il coperchio e rimuovere i campioni. Anche dopo il raffreddamento del blocco, le aree circostanti e la piastra del riscaldatore possono rimanere calde per un tempo prolungato. In situazioni in cui non vi è tempo sufficiente per consentire allo strumento di raffreddarsi, si consiglia l'uso di dispositivi di protezione quali guanti termici o "guanti da forno".</p>
	<p>La sicurezza e le prestazioni di qualsiasi sistema che incorpora un sistema CFX Opus Dx è di esclusiva responsabilità dell'assemblatore del sistema.</p>
	<p>Durante il normale funzionamento, il sistema CFX Opus Dx può diventare sufficientemente caldo da causare l'ebollizione o l'evaporazione dei liquidi nei campioni, pressurizzando i contenitori dei campioni. Esiste la possibilità che i contenitori dei campioni possano danneggiarsi causando perdite, spruzzi di fluido o rotture esplosive nonché l'espulsione di vapori o liquidi all'interno e intorno allo strumento.</p> <p>Gli utenti devono sempre utilizzare lo strumento con il coperchio chiuso o indossare occhiali di protezione, guanti termici e altri dispositivi di protezione personale durante il funzionamento per evitare lesioni. L'apertura del coperchio mentre i campioni sono ancora caldi, ad esempio dopo l'interruzione di un'analisi, può causare fuoriuscite, spruzzi o schizzi di liquido dai contenitori pressurizzati. Lasciare sempre raffreddare i campioni prima di aprire il coperchio.</p> <p>Gli utenti non dovrebbero mai eseguire reazioni con il coperchio o sigillo aperto, allentato, forato o danneggiato in altro modo poiché ciò aumenta la probabilità di una rottura o esplosione pericolosa.</p> <p>Gli utenti non dovrebbero mai eseguire reazioni con reagenti volatili che potrebbero aumentare la probabilità di una rottura o esplosione pericolosa.</p>

Sicurezza e conformità normativa

Conformità alla sicurezza

Il sistema CFX Opus Dx è stato testato e ritenuto conforme a tutti i requisiti applicabili dei seguenti standard di sicurezza ed elettromagnetici:

- IEC 61010-1:2010 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 1: Prescrizioni generali
- IEC 61010-2-010:2019 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-010: Prescrizioni particolari per apparecchi da laboratorio per il riscaldamento di materiali
- IEC 61010-2-081:2019 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-081: Prescrizioni particolari per apparecchi da laboratorio automatici e semi-automatici per analisi e altri scopi
- IEC 61010-2-101:2018 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-101: Prescrizioni particolari per apparecchiature mediche per uso diagnostico in vitro (IVD)

- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-1-12:2018 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 1: Prescrizioni generali
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-010:19 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-010: Prescrizioni particolari per apparecchi da laboratorio per il riscaldamento di materiali
- CAN/CSA-C22.2 NO. 61010-2-081:19 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-081: Prescrizioni particolari per apparecchi da laboratorio automatici e semi-automatici per analisi e altri scopi
- CSA-C22.2 NO. 61010-2-101:19 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-101: Prescrizioni particolari per apparecchiature mediche per uso diagnostico in vitro (IVD)

- EN 61010-1:2010 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 1: Prescrizioni generali

- EN 61010-2-010:2014 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-010: Prescrizioni particolari per apparecchi da laboratorio per il riscaldamento di materiali
- EN 61010-2-081:2015 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-081: Prescrizioni particolari per apparecchi da laboratorio automatici e semi-automatici per analisi e altri scopi
- EN 61010-2-101:2017 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-101: Prescrizioni particolari per apparecchiature mediche per uso diagnostico in vitro (IVD)

- UL 61010-1:2012 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 1: Prescrizioni generali
- UL 61010-2-010:2019 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-010: Prescrizioni particolari per apparecchi da laboratorio per il riscaldamento di materiali
- UL 61010-2-081:2019 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-081: Prescrizioni particolari per apparecchi da laboratorio automatici e semi-automatici per analisi e altri scopi
- UL 61010-2-101:19 Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio - Parte 2-101: Prescrizioni particolari per apparecchiature mediche per uso diagnostico in vitro (IVD)

Compatibilità elettromagnetica (EMC)

Il sistema CFX Opus Dx è stato testato e ritenuto conforme a tutti i requisiti applicabili dei seguenti standard di compatibilità elettromagnetica:

- IEC 61326-1:2012 Apparecchi elettrici di misura, controllo e laboratorio - Prescrizioni di compatibilità elettromagnetica - Parte 1: Prescrizioni generali. Testato come dispositivo di classe A.
- IEC 61326-2-6:2012 Apparecchi elettrici di misura, controllo e laboratorio - Prescrizioni di compatibilità elettromagnetica - Parte 2-6: Prescrizioni particolari per apparecchiature mediche per uso diagnostico in vitro (IVD)
- EN 61326-1:2013 Apparecchi elettrici di misura, controllo e laboratorio - Prescrizioni di compatibilità elettromagnetica - Parte 1: Prescrizioni generali. Testato come dispositivo di classe A.
- EN 61326-2-6:2013 Apparecchi elettrici di misura, controllo e laboratorio - Prescrizioni di compatibilità elettromagnetica - Parte 2-6: Prescrizioni particolari per apparecchiature mediche per

uso diagnostico in vitro (IVD)

- FCC Parte 15, Sottoparte B, Sezioni 15.107 e 15.109. Testato come dispositivo digitale di classe A.
- CAN ICES-003v6:2019 Standard per apparecchiature che provocano interferenze, apparecchiature per la tecnologia dell'informazione (comprese le apparecchiature digitali) - Limiti e metodi di misurazione. Testato secondo i limiti di classe A.

Note e avvertenze di compatibilità elettromagnetica

- **Avvertenza:** le modifiche o i cambiamenti apportati a questa unità, non espressamente approvati da Bio-Rad, potrebbero invalidare l'autorità dell'utente di utilizzare l'apparecchiatura.
- **Nota:** questo apparecchio è stato collaudato e ritenuto conforme ai limiti previsti per i dispositivi digitali di classe A, conformemente alla Parte 15 delle norme FCC. Tali limiti sono concepiti per fornire un ragionevole livello di protezione contro interferenze dannose quando l'apparecchiatura viene azionata in un ambiente commerciale. Questo dispositivo genera, usa e può irradiare energia a radiofrequenza; se non viene installato e utilizzato in ottemperanza al manuale delle istruzioni, può causare interferenze dannose per le radiocomunicazioni. È probabile che il funzionamento di questa apparecchiatura in una zona residenziale causi interferenze dannose, nel cui caso l'utente dovrà correggere l'interferenza a proprie spese.
- **Nota relativa alla conformità FCC:** sebbene questo strumento sia stato testato e ritenuto conforme alla Parte 15, Sottosezione B delle norme FCC per un dispositivo digitale di classe A, non dimenticare che tale conformità è volontaria, affinché lo strumento venga qualificato come "dispositivo esente" ai sensi di 47 CFR 15.103(c), in merito alle norme FCC citate in vigore al momento della produzione.
- **Nota sui cavi:** questo strumento è stato testato per la conformità EMC utilizzando cavi USB appositamente progettati, forniti con lo strumento. Questi cavi, o sostituzioni autorizzate da Bio-Rad, devono essere utilizzati con questo strumento per garantire la continua conformità ai limiti di emissioni EMC.

Requisiti di ambiente

Il sistema CFX Opus Dx sono stati progettati per funzionare in sicurezza nelle condizioni ambientali elencate nella tabella di seguito.

Tabella 2. Requisiti di ambiente per sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Dx

Parametro	Specifica
Ambiente	Solo per uso in ambienti interni
Altitudine operativa	Fino a 2.000 d'altezza (s.l.m.)
Temperatura ambiente	15-31 °C*
Temperatura di trasporto e conservazione	Da -20 a 60 °C** da -4 a 140 °F
Umidità relativa	Dal 20 all'80% (senza condensa)***
Potenza di funzionamento	Da 100 a 240 V CA \pm 10%, 50/60 Hz, 850 W max
Fluttuazione della tensione di rete	\pm 10%
Consumo energetico massimo	<850 watt
Fusibili	10 A, 250 V, 5 x 20 mm, ad azione veloce (qtà. 2)
Categoria di sovratensione	II
Grado di inquinamento	2

*Il funzionamento dello strumento al di fuori di questo intervallo di temperatura potrebbe non soddisfare le specifiche di prestazione. Una temperatura ambiente compresa tra 5 e 40 °C è considerata sicura.

**Conservare e trasportare lo strumento nel suo contenitore di spedizione per soddisfare queste condizioni di temperatura.

***Il funzionamento dello strumento a 4 °C dovrebbe essere limitato a 18 ore in queste condizioni. La conservazione a 4 °C deve essere limitata a un massimo di 72 ore se l'umidità è inferiore al 60% (senza condensa).

Pericoli

Il sistema CFX Opus Dx è progettato per funzionare in sicurezza se utilizzato nel modo prescritto dal produttore. Se il sistema o uno dei suoi componenti associati viene utilizzato in un modo non specificato dal produttore, la protezione intrinseca fornita dallo strumento potrebbe essere compromessa. Bio-Rad non è responsabile per lesioni o danni causati dall'uso di questa apparecchiatura in modo non specificato o da modifiche allo strumento non eseguite da Bio-Rad o un agente autorizzato. La manutenzione del sistema CFX Opus Dx deve essere eseguita solo da personale addestrato Bio-Rad.

Rischi biologici

Il sistema CFX Opus Dx è un prodotto di laboratorio. Se tuttavia sono presenti campioni a rischio biologico, attenersi alle seguenti linee guida e rispettare eventuali linee guida locali specifiche del laboratorio e del luogo.

Nota: durante il normale funzionamento di questo strumento, non viene rilasciata alcuna sostanza di origine biologica potenzialmente dannosa.

Precauzioni generali

- Indossare sempre camice e guanti da laboratorio, nonché occhiali di protezione con elementi protettivi laterali o occhialini protettivi da laboratorio.
- Tenere le mani lontano da bocca, naso e occhi.
- Prima di lavorare con materiali potenzialmente infettivi, proteggere completamente eventuali tagli o abrasioni cutanee.
- Lavarsi bene le mani con acqua e sapone dopo aver lavorato con qualsiasi materiale potenzialmente infettivo e prima di lasciare il laboratorio.
- Rimuovere orologi da polso e braccialetti prima di iniziare il lavoro al banco del laboratorio.
- Conservare tutto il materiale infettivo o potenzialmente infettivo in contenitori infrangibili ed ermetici.
- Prima di uscire dal laboratorio, rimuovere gli indumenti di protezione.
- Non usare i guanti per scrivere, rispondere al telefono, accendere la luce o toccare oggetti che altri potrebbero toccare a mani nude.
- Cambiare i guanti di frequente. Rimuovere immediatamente i guanti quando sono visibilmente contaminati.
- Non esporre materiali che non possono essere adeguatamente decontaminati a contatto con materiale potenzialmente infettivo.

- Dopo aver completato un'operazione sul materiale a rischio biologico, decontaminare l'area di lavoro con un disinfettante appropriato (ad esempio, una diluizione di candeggina per uso domestico in rapporto 1:10).

Decontaminazione delle superfici



AVVERTENZA Per evitare scosse elettriche, spegnere e scollegare sempre lo strumento prima di eseguire le procedure di decontaminazione.

Le seguenti superfici possono essere pulite utilizzando un disinfettante battericida, virucida o fungicida di grado ospedaliero:

- Coperchio esterno e telaio
- Superficie interna del blocco campioni e pozzetti del blocco campioni
- Pannello di controllo e display

Per preparare e applicare il disinfettante, fare riferimento alle istruzioni fornite dal produttore del prodotto. Dopo aver applicato il disinfettante, sciacquare sempre il blocco campioni e i pozzetti del blocco campioni svariate volte con acqua. Asciugare accuratamente il blocco campioni e i pozzetti del blocco campioni dopo aver risciacquato con acqua.

Importante: non utilizzare detergenti abrasivi o corrosivi o soluzioni alcaline forti. Questi agenti possono graffiare le superfici e danneggiare il blocco campioni, determinando la perdita dell'accuratezza del controllo termico.

Smaltimento di materiali biologicamente pericolosi

I seguenti materiali potenzialmente contaminati vanno smaltiti in conformità con le normative locali, regionali, nazionali e di laboratorio.

- Campioni clinici
- Reagenti
- Cuvette di reazione usate o altri materiali di consumo potenzialmente contaminati

Rischi chimici

Il sistema CFX Opus Dx non contiene materiali chimici potenzialmente pericolosi.

Rischio di esplosione o infiammabilità

Il sistema CFX Opus Dx non presenta alcun rischio particolare in relazione all'infiammabilità o all'esplosione quando viene utilizzato in maniera corretta secondo quanto indicato da Bio-Rad Laboratories.

Rischi elettrici

Il sistema CFX Opus Dx non comporta alcun rischio particolare per gli operatori se viene installato e utilizzato correttamente senza alcuna modifica fisica e collegato a una fonte di alimentazione conforme alle specifiche.

Trasporto

Prima di spostare o spedire sistema CFX Opus Dx, è necessario eseguire le procedure di decontaminazione. Spostare o spedire sempre il sistema in un contenitore separato nel materiale di imballaggio fornito da Bio-Rad per proteggere il sistema da eventuali danni.

Per informazioni sul trasporto del sistema e per richiedere il materiale di imballaggio appropriato, contattare l'ufficio Bio-Rad locale.

Batteria

Il sistema CFX Opus Dx utilizza una batteria per mantenere le impostazioni dell'ora in caso di interruzione dell'alimentazione CA. Se l'ora non rimane impostata dopo lo spegnimento dell'unità, può significare che le batterie si stanno esaurendo.



AVVERTENZA Non tentare di cambiare le batterie. Non sono riparabili dall'utente. Contattare l'assistenza tecnica Bio-Rad.

Solo per lo stato della California, USA

- Materiale perclorato - Le batterie al litio contengono materiale perclorato; potrebbe essere necessario un trattamento speciale. Vedere www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate.

Smaltimento

Il sistema CFX Opus Dx contiene materiali elettrici che non devono essere smaltiti come rifiuti indifferenziati e devono essere raccolti separatamente, conformemente alla Direttiva dell'Unione Europea 2012/19/UE sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (Direttiva RAEE). Prima dello smaltimento, contattare il rappresentante Bio-Rad locale per le istruzioni specifiche del paese.

Garanzia

Il sistema CFX Opus Dx e i relativi accessori sono coperti da una garanzia Bio-Rad standard. Per maggiori dettagli sulla garanzia, contattare l'ufficio Bio-Rad locale.

Capitolo 1 Introduzione

I sistemi di amplificazione PCR ad alte prestazioni di Bio-Rad integrano i più recenti progressi tecnologici, fornendo una maggiore accuratezza e riproducibilità nell'amplificazione degli acidi nucleici per esperimenti genomici.

Il Software CFX Maestro Dx, Security Edition di Bio-Rad è compatibile con i seguenti strumenti e file di analisi ottimizzati per i saggi con sonde e primer PrimePCR di Bio-Rad.

- Sistema per PCR in tempo reale CFX Opus 96 Dx (denominato in questa guida CFX Opus 96 Dx)
- Sistema per PCR in tempo reale CFX Opus 384 Dx (denominato in questa guida CFX Opus 384 Dx)
- Sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Deepwell Dx (denominato in questa guida CFX Opus Deepwell Dx)

Utilizzando il Software CFX Maestro Dx, Security Edition (denominato in questa guida CFX Maestro Dx SE), è possibile interpretare dati complessi e realizzare studi efficaci per l'analisi genetica. Con pochi clic, è possibile impostare studi e comprendere lo studio di espressione genica con strumenti quali test t, one-way ANOVA, analisi dei controlli PrimePCR e lo strumento di selezione del gene di riferimento. Successivamente, è possibile preparare i risultati per pubblicazioni e poster con gli strumenti di annotazione e visualizzazione dati altamente personalizzabili di CFX Maestro Dx SE.

Nota: la visualizzazione di alcune schermate in CFX Maestro potrebbe apparire diversa da quelle rappresentate in questa guida per l'utente. La visualizzazione nel software è corretta e la funzionalità è la stessa.

Importante: La sicurezza informatica è la protezione delle risorse presenti nel cyberspazio dagli attacchi informatici. La sicurezza informatica è la capacità di Bio-Rad di proteggere le sue persone, le sue informazioni, i suoi sistemi e anche la sua reputazione nel cyberspazio. Il cyberspazio è un mondo tecnologicamente interconnesso, sempre attivo e formato da persone, organizzazioni, informazioni e tecnologia.

Per tutti i problemi di sicurezza informatica, è fondamentale reagire in fretta. Se si sospetta che vi sia un problema di sicurezza informatica relativo alla propria strumentazione o si sia verificata una violazione della sicurezza informatica stessa, contattare immediatamente il proprio rappresentante Bio-Rad per assistenza tecnica.

Caratteristiche principali del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Con CFX Maestro Dx SE è possibile eseguire quanto segue:

- Analizzare i dati utilizzando grafici a barre, diagrammi di gruppo o diagrammi di dispersione per interpretare e comprendere rapidamente i risultati.
- Personalizzare la rappresentazione dei dati ed esportare i grafici ad alta risoluzione per la pubblicazione e la generazione di report.
- Determinare la qualità dell'RNA e risolvere i problemi degli esperimenti con i controlli dell'analisi PrimePCR.
- Selezionare il gene di riferimento appropriato e analizzarne la stabilità utilizzando lo strumento di selezione del gene di riferimento.
- Eseguire analisi statistiche utilizzando la tecnica di analisi della varianza a un criterio di classificazione (one-way ANOVA) nell'analisi dell'espressione genica.

La presente guida per l'utente spiega queste funzioni e come utilizzarle.

Maggiori informazioni

Dopo aver installato CFX Maestro Dx SE e impostato lo strumento per PCR Bio-Rad associato, è possibile accedere a questa guida nonché agli argomenti dettagliati della guida di CFX Maestro Dx SE dal menu Help (Guida) in qualsiasi vista.

Suggerimento: fare clic sul logo Bio-Rad nell'angolo in alto a destra di una finestra di CFX Maestro Dx SE per avviare il sito web di Bio-Rad. Questo sito include collegamenti a note tecniche, manuali, video, informazioni di prodotto e assistenza tecnica. Questo sito fornisce inoltre molte risorse tecniche su un'ampia varietà di metodi e applicazioni correlate alla PCR, alla real-time PCR e all'espressione genica.

Capitolo 2 Installazione del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

In questo capitolo viene spiegato come configurare il Software CFX Maestro Dx, Security Edition. Per informazioni sull'impostazione degli strumenti per PCR in tempo reale di Bio-Rad supportati, consultare la guida appropriata.

CFX Maestro Dx SE è necessario per analizzare i dati PCR in tempo reale dai sistemi per PCR in tempo reale CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx. Inoltre, è possibile utilizzare questo software per controllare questi sistemi in modalità controllata da software.

I sistemi CFX Opus Dx vengono forniti con un cavo USB nella borsa degli accessori. Utilizzare il cavo USB per collegare il computer che esegue CFX Maestro Dx SE al sistema CFX Opus Dx.

Rimuovere i materiali di imballaggio e conservarli per utilizzi futuri. Qualora manchi un componente o sia danneggiato, contattare l'ufficio Bio-Rad locale.

Requisiti di sistema

Nella [Tabella 3](#) sono elencati i requisiti di sistema minimi e consigliati per il computer che esegue CFX Maestro Dx SE.

Tabella 3. Requisiti del computer per CFX Maestro Dx SE

Sistema	Minimo	Consigliato
Sistema operativo	Microsoft Windows 10 (solo 64 bit), build 1511 o successiva, con gli ultimi aggiornamenti di sicurezza.	Microsoft Windows 10 (solo 64 bit), build 1511 o successiva, con gli ultimi aggiornamenti di sicurezza.
Nota: anche Microsoft Windows 11 supporta il Software CFX Maestro Dx, Security Edition		
Importante: l'avvio protetto deve essere disabilitato sui computer che eseguono CFX Maestro Dx SE. I computer che eseguono CFX Maestro Dx SE devono essere configurati in modo che non si riavvino automaticamente dopo un aggiornamento di sicurezza o del sistema se è in corso un'analisi. Per ricevere assistenza, rivolgersi all'amministratore di sistema.		
Porte	2 porte USB 2.0 ad alta velocità	2 porte USB 2.0 ad alta velocità
Spazio disponibile su disco rigido	128 GB	128 GB
Velocità del processore	2,4 GHz, Dual Core	2,4 GHz, Quad Core
RAM	4 GB DI RAM	8 GB DI RAM
Risoluzione dello schermo	1024 x 768 con modalità true-color	1280 x 1024 con modalità true-color
Lettore PDF		Adobe PDF Reader o Windows PDF Reader di una delle Microsoft Office Suite supportate: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2016 ■ 2019
Localizzazione	È supportato il sistema operativo Microsoft Windows a 64 bit in inglese, cinese e russo	È supportato il sistema operativo Microsoft Windows a 64 bit in inglese, cinese e russo

Nota: se si prevede di eseguire il software CFX Automation Control sullo stesso computer di CFX Maestro Dx SE, impostare la risoluzione dello schermo su 1280 x 1024 con la modalità 16,8 milioni di colori.

Installazione del software CFX Maestro Dx SE

Importante: prima di installare o aggiornare il software, è necessario scollegare dal computer CFX Maestro Dx SE tutti gli strumenti collegati. Non occorre spegnere lo strumento durante l'installazione software. Verificare di aver salvato tutte le analisi e che non vi siano esperimenti in esecuzione.

Nota: verificare che l'avvio protetto sia disabilitato prima di iniziare la procedura di installazione. Assicurarsi che il computer sia configurato in modo tale da non riavviarsi automaticamente dopo un aggiornamento di sistema o di sicurezza se è in corso un'analisi. Per ricevere assistenza, rivolgersi all'amministratore di sistema.

Per installare il software CFX Maestro Dx SE

1. Se necessario, scollegare dal computer tutti gli strumenti collegati.

Individuare e scollegare il cavo USB dello strumento sul computer CFX Maestro Dx SE. L'estremità collegata al sistema CFX Opus Dx può rimanere inserita.
2. Accedere al computer CFX Maestro Dx SE con i privilegi amministrativi.
3. Inserire l'unità USB del software CFX Maestro Dx SE nella porta USB del computer.
4. In Windows Explorer (Esplora risorse), accedere e aprire l'unità USB del software CFX Maestro Dx SE.

L'unità USB contiene le note di rilascio e le seguenti cartelle:

- CFX
- Drivers (Driver)
- Firmware
- Quick Start (Avvio rapido)

Oltre ad altri file, la cartella CFX contiene il programma di installazione del CFX Maestro Dx SE (CFXMaestroDxSetup.exe).

5. Aprire la cartella CFX e fare doppio clic su CFXMaestroDxSetup.exe per avviare il programma di installazione.
6. Seguire le istruzioni di installazione visualizzate sullo schermo.

Al termine dell'operazione, l'icona del Software CFX Maestro Dx, Security Edition Bio-Rad viene visualizzata sul desktop del computer.

Suggerimento: il programma di installazione di CFX Maestro installa automaticamente la guida per l'utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition. Per individuare queste guide, accedere al menu Help (Guida) e selezionare Open User Guides (Apri guide per l'utente).

7. Al termine dell'installazione, è possibile rimuovere in sicurezza l'unità USB del software.

Rilevamento degli strumenti collegati

Durante l'installazione, il programma di installazione software di CFX Maestro Dx SE installa automaticamente i driver dello strumento sul computer CFX Maestro Dx SE. CFX Maestro Dx SE rileva gli strumenti collegati quando si avvia il software.

Per rilevare gli strumenti collegati

1. Se non è ancora stato fatto, inserire l'estremità quadrata (maschio) del cavo USB di tipo B fornito nella porta USB di tipo B che si trova sul retro della base dello strumento.
2. Inserire l'altra estremità (porta) in una porta USB sul computer CFX Maestro Dx SE.
3. Se lo strumento non è già in esecuzione, premere l'interruttore di alimentazione sullo strumento per accenderlo.
4. Avviare CFX Maestro Dx SE.

Il software rileva automaticamente lo strumento collegato e ne visualizza il nome nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati) nella finestra Home.

Nota: se lo strumento non viene visualizzato nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati), verificare che il cavo USB sia installato correttamente. Per reinstallare i driver, nella finestra Home (Home) in CFX Maestro Dx SE selezionare Tools > Reinstall Instrument Drivers (Strumenti > Reinstalla driver strumento).

File del software

Nella [Tabella 4](#) sono elencati i tipi di file del CFX Maestro Dx SE.

Tabella 4. Tipi di file CFX Maestro Dx SE

Tipo di file	Estensione	Dettagli
Protocollo	.prcl	Contiene i dettagli di impostazione del protocollo per eseguire un'analisi PCR.
Piastra	.pltd	Contiene i dettagli di impostazione della piastra per eseguire un'analisi PCR.
Dati	.pcrd	Contiene i risultati di un esperimento eseguito e dell'analisi PCR.
PrimePCR eseguito	.csv	Contiene il protocollo e la disposizione della piastra per le piastre PrimePCR.
Studio dei geni	.mgxd	Contiene i risultati di più analisi PCR e delle analisi dell'espressione genica.
File dati preliminari standalone	.zpcr	Contiene le letture della fluorescenza ottenute con il funzionamento standalone (autonomo), che sono convertite in file di dati.
LIMS	.plrn	Contiene le informazioni relative al protocollo e all'impostazione della piastra per eseguire un'analisi LIMS compatibile.
JSON	.json	File di sola lettura generato solo dai sistemi CFX Opus Dx che contiene i dati del file di analisi che vengono visualizzati nel riquadro dei dettagli nel browser dei file quando viene selezionato un file di analisi. Questo file viene generato al termine di un'analisi. Viene esportato con il file .zpcr e salvato con i file di dati quando il percorso di salvataggio è un'unità USB o una cartella di rete condivisa.

Capitolo 3 Gestione degli account utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Nel Software CFX Maestro Dx, Security Edition, gli utenti accedono con il nome utente e la password di Windows. Alla persona che ha installato CFX Maestro Dx SE viene automaticamente assegnato il ruolo di amministratore e può creare e gestire account e ruoli utente. A tutti gli altri utenti deve essere assegnato un account utente per poter accedere e utilizzare il software.

Importante: ogni utente deve disporre di un account Windows e di una password nel computer CFX Maestro Dx SE prima di poter assegnare un account utente e un ruolo. Gli utenti possono essere membri del gruppo di utenti Windows o del gruppo di amministratori Windows. I membri del gruppo di utenti Windows possono accedere solo ai file e cartelle CFX Maestro Dx SE. I membri del gruppo di amministratori Windows possono accedere ai file e alle cartelle di tutti gli utenti del computer.

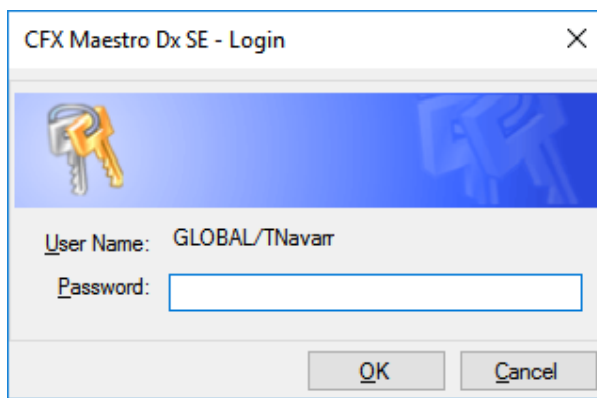
In questo capitolo viene spiegato come creare utenti Microsoft Windows per aggiungerli a CFX Maestro Dx SE. Questo paragrafo spiega inoltre come aggiungere utenti CFX Maestro Dx SE e gestire ruoli e autorizzazioni utente.

Avvio del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Nota: ogni utente deve accedere con il proprio nome utente e password di Windows.

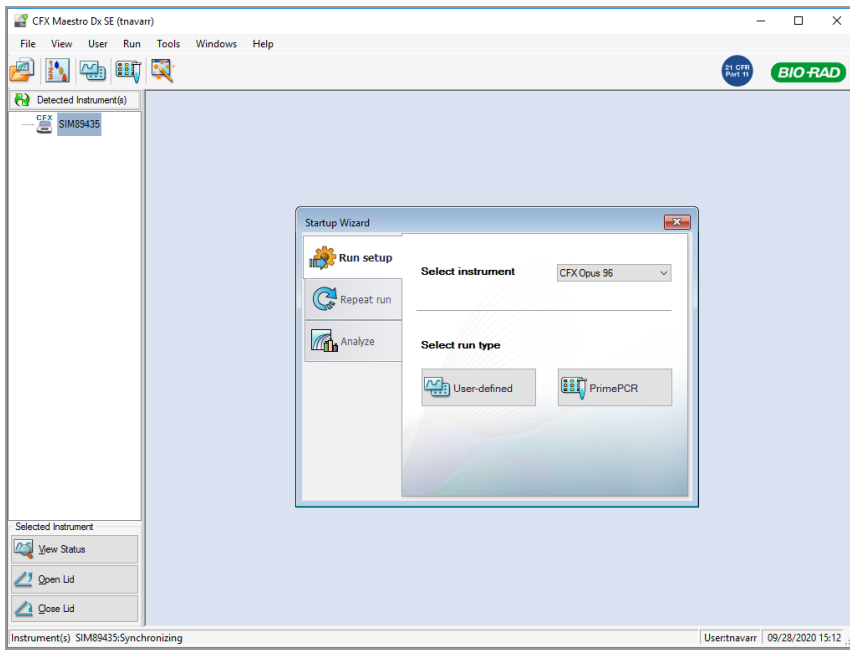
Per avviare CFX Maestro Dx SE

1. Sul desktop del computer CFX Maestro Dx SE, fare doppio clic sull'icona del collegamento CFX Maestro Dx SE per avviare l'applicazione.
2. Nella finestra di dialogo Login (Accesso), digitare la password di Windows e fare clic su OK.



Quando si apre CFX Maestro Dx SE viene visualizzata la finestra Home. La barra del titolo mostra il nome utente di Windows dell'utente connesso e la barra dei menu mostra un adesivo blu indicante che il software è conforme alla norma 21 CFR Parte 11, ad esempio:

Avvio del Software CFX Maestro Dx, Security Edition



Aggiunta di utenti Microsoft Windows al computer con il Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Tutti gli utenti devono accedere al computer CFX Maestro Dx SE con il proprio nome utente e password di Windows. Per un controllo accurato, gli account utente di Windows non possono essere aggiunti tramite la finestra di dialogo Start > Settings > Accounts (Start > Impostazioni > Account). Gli account utente di Windows **devono** essere aggiunti tramite la console Computer Management (Gestione del computer).

Importante: le modifiche apportate alle proprietà utente di Windows (inclusi il nome utente e il nome completo) dopo aver creato l'utente CFX Maestro Dx SE associato annullano l'utente CFX Maestro Dx SE. Prima di salvare l'utente Windows e creare l'utente CFX Maestro Dx SE associato, assicurarsi che le informazioni siano corrette.

Suggerimento: prima di creare account Windows, rivedere la documentazione di amministrazione di Microsoft Windows e consultare l'amministratore di sistema Windows per ulteriori informazioni.

Per aggiungere account utente di Windows al computer CFX Maestro Dx SE

1. Accedere al computer CFX Maestro Dx SE come membro del gruppo dell'amministratore di Windows.
2. Sul desktop, fare clic con il pulsante destro del mouse su My Computer (Computer) e selezionare Manage (Gestione) per aprire la console Computer Management (Gestione computer).
3. Nella console Computer Management (Gestione computer), espandere Local Users and Groups (Utenti e gruppi locali).
4. Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla cartella Users (Utenti) e selezionare New User (Nuovo utente) per aprire la finestra di dialogo New User (Nuovo utente).

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

- User name: [Text input field]
- Full name: [Text input field]
- Description: [Text input field]
- Password: [Text input field]
- Confirm password: [Text input field]
- 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. Nella finestra di dialogo New User (Nuovo utente), è necessario completare i seguenti campi:
 - User name (Nome utente)
 - Full name (Nome completo)
 - Password
 - Confirm password (Conferma password)
6. Fare clic su Create (Crea).

Aggiunta e rimozione di utenti del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Suggerimento: solo gli utenti con ruolo di amministratore CFX Maestro Dx SE possono creare e rimuovere account utenti CFX Maestro Dx SE. Alla persona che ha installato CFX Maestro Dx SE viene automaticamente assegnato il ruolo di amministratore. Quella persona può assegnare il ruolo di amministratore ad altri utenti.

Nota: in CFX Maestro Dx SE, il ruolo di amministratore deve essere assegnato ad almeno un utente.

Per aggiungere account utente CFX Maestro Dx SE

1. Verificare che ogni utente previsto sia un membro del gruppo di utenti di Windows o del gruppo di amministratori di Windows e disponga di una password di Windows sul computer CFX Maestro Dx SE.
2. Avviare CFX Maestro Dx SE e accedere come amministratore.
3. Nella finestra Home, selezionare User > User Administration (Utente > Amministrazione utenti).

Viene visualizzata la finestra di dialogo User Administration (Amministrazione utenti).

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

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

Restore Default Rights OK Cancel

4. Nella sezione Manage Users (Gestisci utenti), fornire le seguenti informazioni per ogni utente:
 - **User name** (Nome utente): in CFX Maestro Dx SE **deve** corrispondere al nome utente di accesso Windows dell'utente.
 - **Full name** (Nome completo): il nome completo dell'utente.

Questo nome viene visualizzato nel campo Full User (Utente completo) nell'audit trail. Questo nome deve essere lo stesso nome immesso nel campo Full Name (Nome completo) quando è stato creato l'utente Windows.
 - **Role** (Ruolo): il ruolo da assegnare all'utente.

Nota: è possibile selezionare un solo ruolo dall'elenco a discesa. Per ulteriori informazioni, vedere [Gestione dei ruoli utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition](#).
 - **Domain** (Dominio): il dominio Windows da cui l'utente accede al software.

Per ulteriori informazioni, rivolgersi all'amministratore di sistema di Windows.
5. Fare clic su OK, quindi su Yes (Sì) per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo User Administration (Amministrazione utenti).

Per rimuovere un account utente CFX Maestro Dx SE

1. Avviare CFX Maestro Dx SE e accedere come amministratore.
2. Nella finestra Home, selezionare User > User Administration (Utente > Amministrazione utenti) per aprire la finestra di dialogo User Administration (Amministrazione utenti).
3. Nel riquadro Manage Users (Gestisci utenti), selezionare Remove (Rimuovi) per ciascun utente che si desidera rimuovere.
4. Fare clic su OK, quindi su Yes (Sì) per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo User Administration (Amministrazione utenti).

Gestione dei ruoli utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Importante: CFX Maestro Dx SE richiede che ad almeno un utente venga assegnato il ruolo di amministratore. È possibile assegnare questo ruolo a più di un utente.

CFX Maestro Dx SE ha quattro ruoli utente. Ad ogni utente deve essere assegnato un ruolo per poter accedere al software. Sebbene agli utenti possa essere assegnato un solo ruolo, è possibile modificare il ruolo di un utente in qualsiasi momento.

Ad eccezione del ruolo di amministratore, è possibile modificare le autorizzazioni assegnate a ciascun ruolo. Tutti gli utenti assegnati a un ruolo ereditano solo le autorizzazioni di quel ruolo.

Per impostazione predefinita, i diritti per ogni ruolo sono i seguenti:

- **Administrator (Amministratore):** questo ruolo dispone di tutte le autorizzazioni; non è possibile modificare queste autorizzazioni.
- **Principal (Entità):** questo ruolo dispone di tutte le autorizzazioni tranne per la configurazione della posta elettronica.
- **Operator (Operatore):** questo ruolo dispone di tutte le autorizzazioni ad eccezione di quella che consente di saltare i cicli e di configurare la posta elettronica.
- **Guest:** questo ruolo può solo leggere file.

Quando si assegnano ruoli in CFX Maestro Dx SE, determinare attentamente i requisiti per ogni utente. Ad esempio, senza l'autorizzazione al salvataggio, gli utenti a cui è stato assegnato il ruolo Guest non saranno in grado di firmare un file. Senza l'autorizzazione a configurare un account e-mail, nessuno dei ruoli riceverà e-mail al termine di un'analisi.

Per modificare le autorizzazioni per un ruolo

1. Avviare CFX Maestro Dx SE e accedere come amministratore.
2. Nella finestra Home, selezionare User > User Administration (Utente > Amministrazione utenti) per aprire la finestra di dialogo User Administration (Amministrazione utenti).
3. Nella sezione Manage Rights (Gestisci diritti), per ogni ruolo, deselezionare o selezionare la casella di controllo delle autorizzazioni specifiche secondo necessità.
4. Fare clic su OK, quindi su Yes (Sì) per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo User Administration (Amministrazione utenti).

Visualizzazione del ruolo e delle autorizzazioni

Suggerimento: gli utenti cui viene assegnato il ruolo utente Principal (Entità), Operator (Operatore) o Guest (Ospite) possono visualizzare solo le proprie impostazioni, autorizzazioni e ruoli utente. Gli utenti cui è stato assegnato il ruolo di amministratore possono visualizzare tutte le autorizzazioni e i ruoli utente.

Per visualizzare il ruolo utente e le autorizzazioni correnti

- ▶ Nella finestra Home, selezionare User > User Administration (Utente > Amministrazione utenti).

Contattare l'amministratore di CFX Maestro Dx SE per modificare le impostazioni, le autorizzazioni e i ruoli utente elencati nella finestra User Administration (Amministrazione utenti).

Capitolo 4 Utilizzo del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Importante: il Software CFX Maestro Dx, Security Edition utilizza l'autenticazione utente di Microsoft Windows per verificare l'accesso ai file di dati CFX protetti. Contattare l'amministratore di Windows per creare un ambiente conforme ai requisiti della norma 21 CFR Parte 11.

Utilizzando CFX Maestro Dx SE, gli utenti possono:

- Firmare file di dati e file di studio dei geni.
- Proteggere con password i file di dati.
- Visualizzare e stampare gli audit trail.

In questo paragrafo vengono spiegate nel dettaglio queste caratteristiche.

File protetti

Per impostazione predefinita, CFX Maestro Dx SE salva i file protetti nella cartella personale dell'utente connesso, che si trova in

C:\Users\

È possibile salvare e modificare i file .pcrd in quella cartella. Questa cartella contiene collegamenti ad altre cartelle (ad esempio, la cartella dei file campione) che contengono file di sola lettura. Tuttavia, un amministratore può eliminare il contenuto di quella cartella.

Suggerimento: in alternativa, l'amministratore di sistema Windows può creare una cartella condivisa e l'amministratore di CFX Maestro Dx SE può programmare il software per salvare tutti i file in quella cartella.

In CFX Maestro Dx SE, i file di piastra, protocollo, dati e studio dei geni sono contrassegnati come protetti quando vengono salvati. È possibile creare questi file nel software CFX Maestro o in CFX Maestro Dx SE. Una volta salvati in CFX Maestro Dx SE, possono essere aperti solo in CFX Maestro Dx SE.

CFX Maestro Dx SE crea un audit trail per tutti i file di dati e file di studio dei geni protetti (rispettivamente file .pcrd e .mgxd). Il software registra tutta l'attività controllabile nell'audit trail del file. Per ulteriori informazioni, vedere [Audit Trail a pagina 311](#).

Firma dei file protetti

Una volta salvato un file in CFX Maestro Dx SE, gli utenti possono aggiungere una firma elettronica. Per firmare un file, il ruolo dell'utente deve disporre dell'autorizzazione per salvare un file. Ad esempio, per impostazione predefinita, il ruolo Guest non dispone dell'autorizzazione per salvare un file e pertanto gli utenti assegnati a questo ruolo non possono firmare un file.

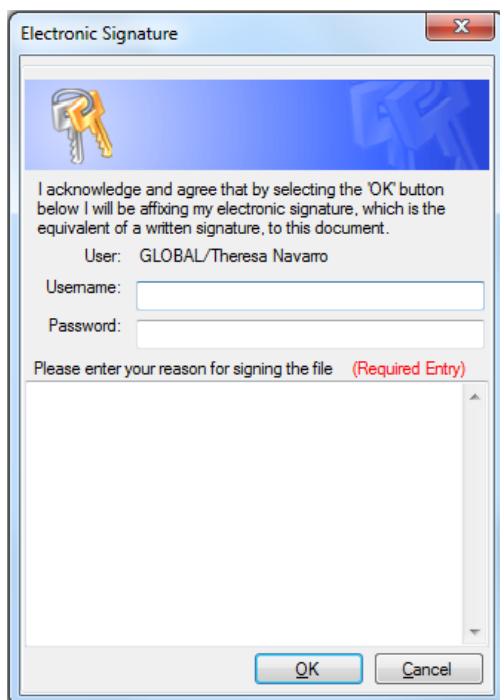
In CFX Maestro Dx SE, i file firmati non sono impostati in sola lettura. Possono essere rivisti, modificati e firmati più volte. Tutte le modifiche e le firme vengono registrate nell'audit trail del file. È possibile firmare i seguenti tipi di file:

- File di dati (.pcrd)
- File di studio dei geni (.mgxd)

Nota: i file devono essere salvati prima di poter essere firmati. Se di recente è stata eseguita un'analisi in CFX Maestro Dx SE, salvare prima il file di dati risultante.

Per firmare un file

1. Effettuare l'accesso a CFX Maestro Dx SE con le proprie credenziali di accesso a Windows.
2. Aprire il file di dati o il file di studio dei geni protetto da firmare.
3. Scegliere File > Sign (File > Firma). Viene visualizzata la finestra di dialogo Electronic Signature (Firma elettronica).



4. Immettere il nome utente e la password di Windows e il motivo della firma del file.

Il nome utente e il motivo della firma sono inclusi nell'audit trail (per ulteriori informazioni, vedere [Audit Trail a pagina 311](#)).

5. Fare clic su OK per inviare la firma e chiudere la finestra di dialogo.

Modifica dei file protetti

In CFX Maestro Dx SE, gli utenti possono modificare file protetti, inclusi file di dati e di studio dei geni con e senza firma. Il software richiede di fornire un motivo per la modifica quando si salva un file di dati o di studio dei geni protetto modificato. Le modifiche vengono registrate nell'audit trail del file.

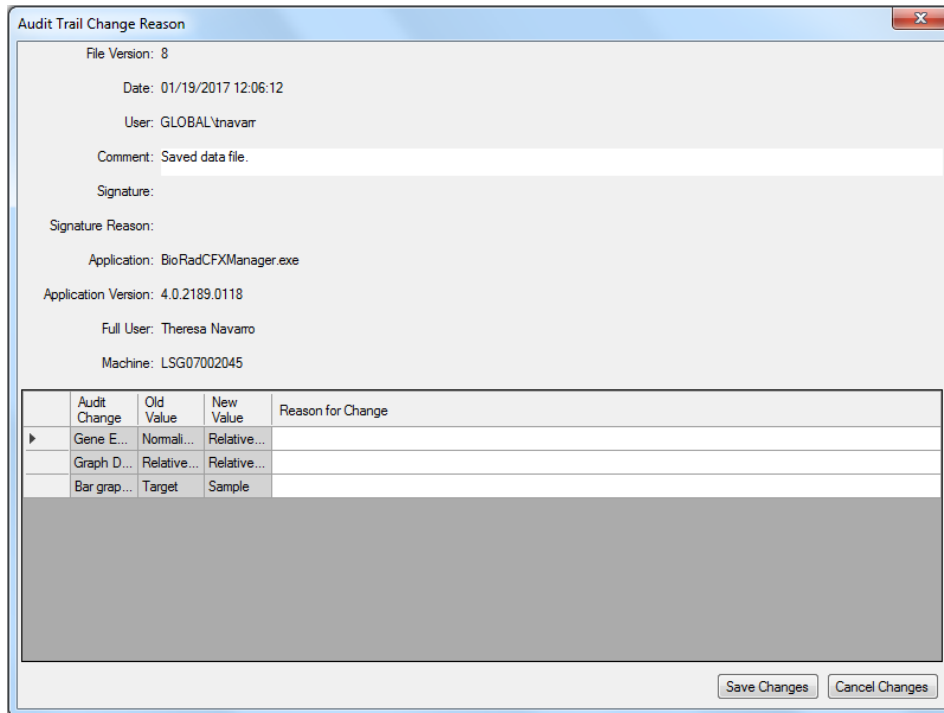
Suggerimento: poiché il software non crea audit trail per file di piastra o protocollo, non viene richiesto di fornire un motivo quando si salvano le modifiche a tali file.

Per salvare un file di dati o di studio dei geni modificato

1. Effettuare l'accesso a CFX Maestro Dx SE con le proprie credenziali di accesso a Windows.
2. Aprire e modificare un file di dati o di studio dei geni protetto.

Suggerimento: per un elenco delle attività controllabili, vedere [Eventi controllabili a pagina 313](#).

- Scegliere File > Save (File > Salva). Viene visualizzata la finestra di dialogo Audit Trail Change Reason (Motivo modifica audit trail).



Questa finestra di dialogo visualizza le informazioni riportate di seguito, che vengono acquisite nell'intestazione dell'audit trail del file per ogni evento di modifica:

- **Date** (Data): la data in cui si è verificata la modifica.
- **User** (Utente): il dominio Windows e il nome utente dell'utente connesso.
- **Comment** (Commento): l'ultimo commento salvato.
- **Signature** (Firma): la firma elettronica dell'ultima persona che ha firmato il file.
- **Signature reason** (Motivo della firma): il motivo della firma.
- **Application** (Applicazione): CFX Maestro Dx SE (appare come BioRadCFXManager.exe, che è corretto).
- **Application version** (Versione dell'applicazione): la versione corrente di CFX Maestro Dx SE.
- **Full user** (Utente completo): il nome completo dell'utente connesso.
Nota: questo nome appare nell'audit trail.
- **Machine** (Computer): il computer su cui è installato.

La tabella delle modifiche mostra le modifiche controllabili che si sono verificate in conseguenza della modifica. È possibile che venga visualizzata anche una breve descrizione del motivo della modifica.

Suggerimento: è possibile aggiungere o modificare le descrizioni nella colonna Reason for Change (Motivo della modifica).

4. Rivedere l'elenco delle modifiche. Fornire motivi dettagliati, se necessario.
5. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Fare clic su Save Changes (Salva modifiche) per salvare le modifiche al file, nonché eventuali modifiche apportate alla tabella e chiudere la finestra di dialogo.

Le modifiche al file e i motivi delle modifiche vengono visualizzati nell'audit trail del file.

- Fare clic su Cancel Changes (Annulla modifiche) per ripristinare il file allo stato precedente e chiudere la finestra di dialogo.

Le modifiche non vengono salvate nel file e l'audit trail non viene aggiornato.

Password di protezione dei file

Come ulteriore livello di sicurezza, CFX Maestro Dx SE consente agli utenti di impostare password su tutti i file protetti. Quando si impostano le password in un file protetto, tenere presenti le seguenti condizioni:

Condizione	Azione
Non è richiesta alcuna password.	Tutti gli utenti possono aprire, modificare e salvare il file protetto, in base alle loro autorizzazioni.
Il file richiede la password di salvataggio.	Tutti gli utenti possono aprire il file protetto e gli utenti che conoscono la password di salvataggio possono modificare e salvare il file protetto.
Il file richiede la password di apertura.	Solo gli utenti che conoscono la password di apertura possono aprire, modificare e salvare il file protetto.
Il file richiede sia la password di apertura sia quella di salvataggio.	Alcuni utenti possono aprire il file protetto e un sottogruppo di tali utenti può modificare e salvare il file.

A seconda del ruolo dell'utente, qualsiasi utente può eseguire il comando Save As (Salva con nome) per creare un nuovo file protetto con un altro nome o salvare un file con lo stesso nome in un altro percorso purché si verifichi una delle seguenti condizioni:

- Il file protetto non è protetto da password.
- L'utente ha la password per aprire il file.

Suggerimento: il nuovo file viene salvato senza password di protezione. Il file originale conserva le proprie password.

A seconda del ruolo, un utente può modificare e salvare il file originale purché si verifichi una delle seguenti condizioni:

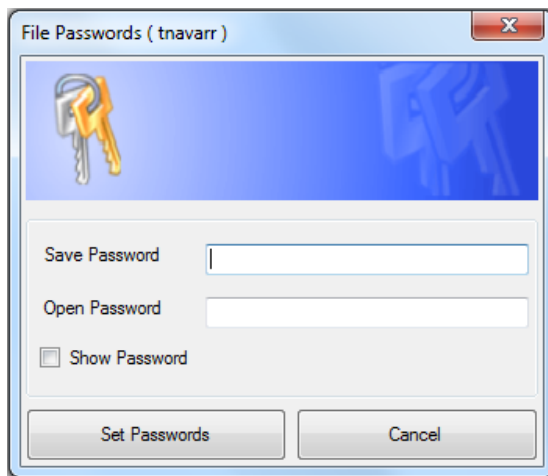
- Il file non è protetto da password.
- L'utente ha la password per aprire e la password per salvare il file.

Nota: il ruolo dell'utente deve includere il diritto di salvare i file al fine di impostare le password. Ad esempio, gli utenti con il ruolo Guest non possono salvare i file e quindi non possono impostare le password in un file.

Importante: solo gli amministratori CFX Maestro Dx SE possono reimpostare o rimuovere le password.

Per proteggere con password un file

1. Effettuare l'accesso a CFX Maestro Dx SE con le credenziali di Windows.
2. Aprire il file protetto.
3. Scegliere File > File Passwords (File > Password del file). Viene visualizzata la finestra di dialogo File Passwords (Password del file).



4. Immettere le password nelle caselle Save Password (Password di salvataggio) e Open Password (Password di apertura).

Suggerimento: per impostazione predefinita, le password vengono visualizzate come caratteri asterisco quando vengono digitate. Selezionare Show Password (Mostra password) per visualizzare la password durante la digitazione.

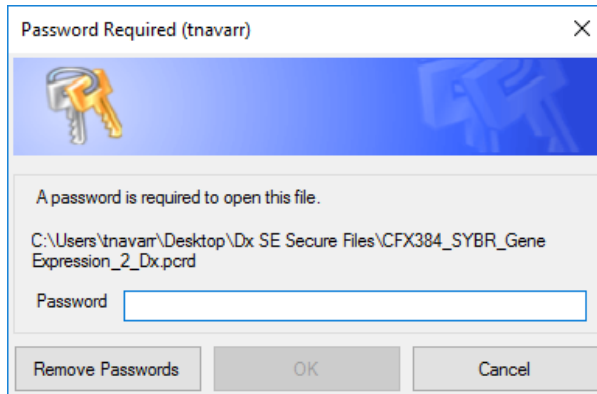
Importante: le password fanno distinzione tra maiuscole e minuscole. CFX Maestro Dx SE non imposta limitazioni sulle password. Per la procedura consigliata, consultare l'amministratore di sistema per i requisiti della password presso la propria struttura.

5. Fare clic su Set Passwords (Imposta password) per impostare le password e chiudere la finestra di dialogo.
6. Scegliere File > Save (File > Salva) per salvare le modifiche al file.

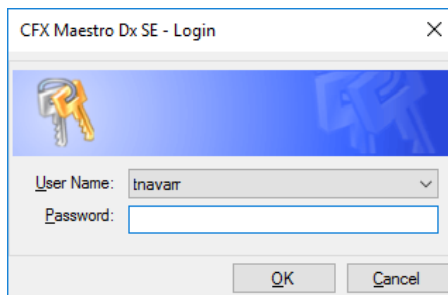
Per rimuovere le password

Importante: è necessario essere un amministratore di CFX Maestro Dx SE per rimuovere le password.

1. Nella finestra di dialogo Password Required (Password richiesta), fare clic su Remove Passwords (Rimuovi password).



Viene visualizzata la finestra di dialogo di accesso a CFX Maestro Dx SE.



2. Fornire il nome utente e la password di Windows per l'amministratore di CFX Maestro Dx SE e fare clic su OK.

Viene visualizzato il file di dati originale.

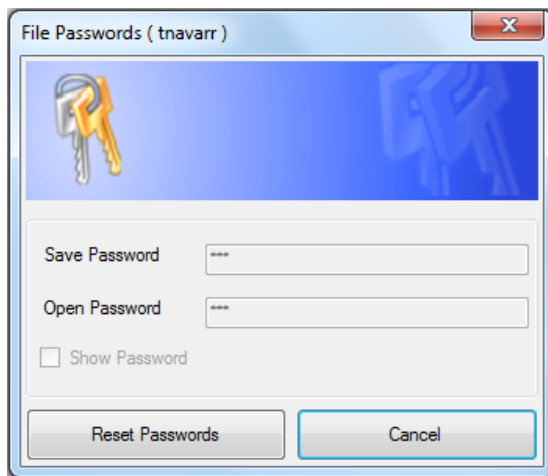
Importante: è necessario salvare il file per rimuovere le password.

3. Scegliere File > Save (File > Salva) per salvare le modifiche al file.

Per modificare le password

Importante: solo gli amministratori di CFX Maestro Dx SE possono modificare le password.

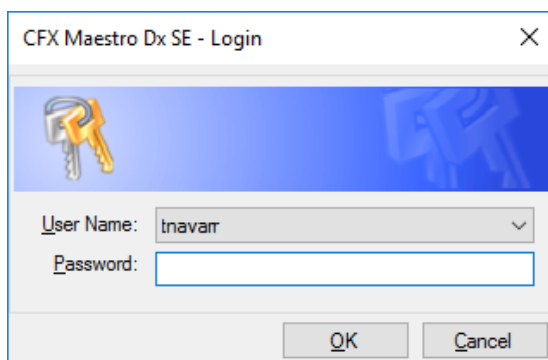
1. Aprire il file protetto.
2. Scegliere File > File Passwords (File > Password del file). Viene visualizzata la finestra di dialogo File Passwords (Password del file).



Suggerimento: le opzioni Save Password (Password di salvataggio), Open Password (Password di apertura) e Show Password (Mostra password) sono disabilite.

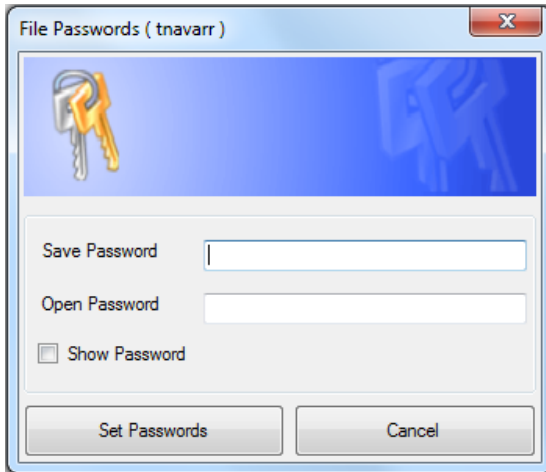
3. Fare clic su Reset Passwords (Reimposta password).

Viene visualizzata la finestra di dialogo di accesso a CFX Maestro Dx SE.



4. Fornire il nome utente e la password di Windows per l'amministratore di CFX Maestro Dx SE e fare clic su OK.

Viene visualizzata la finestra di dialogo File Passwords (Password del file).



5. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per reimpostare la password di protezione, digitare una nuova password nella casella della password appropriata.
 - Per rimuovere la protezione tramite password, deselezionare le caselle della password.
6. Fare clic su Set Passwords (Imposta password) per salvare le modifiche alla password e uscire dalla finestra di dialogo.

Capitolo 5 Area di lavoro

Il Software CFX Maestro Dx, Security Edition fornisce un'interfaccia per l'impostazione delle piastre, lo sviluppo di protocolli PCR, la loro esecuzione sugli strumenti CFX Opus Dx Deepwell Dx e l'analisi dei dati dalle analisi PCR.

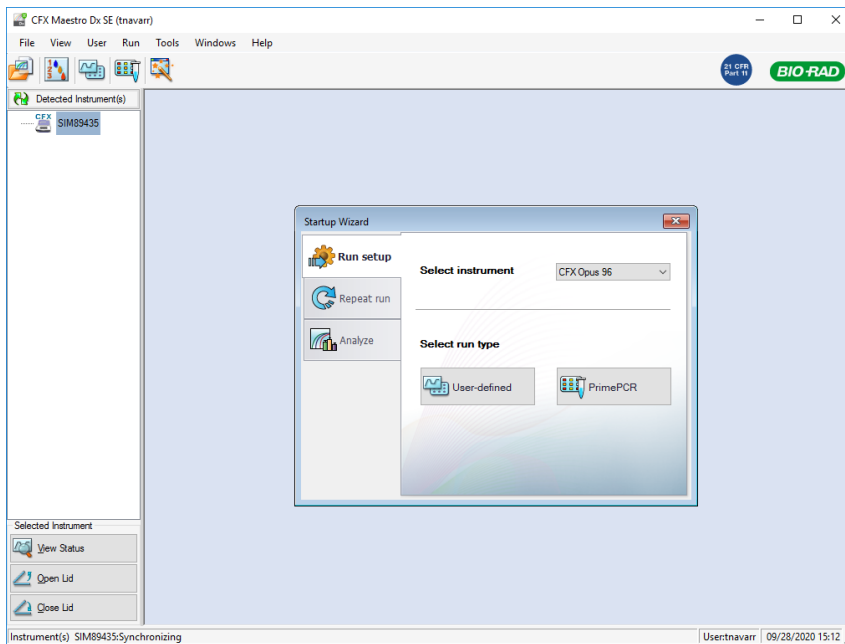
CFX Maestro Dx SE presenta cinque aree di lavoro principali:

- Finestra Home
- Finestra Startup Wizard (Procedura guidata di avvio)
- Finestra Protocol Editor (Editor protocollo)
- Finestra Plate Editor (Editor piastra)
- Finestra Data Analysis (Analisi dei dati)

Ogni spazio di lavoro viene mostrato e illustrato brevemente in questo capitolo.

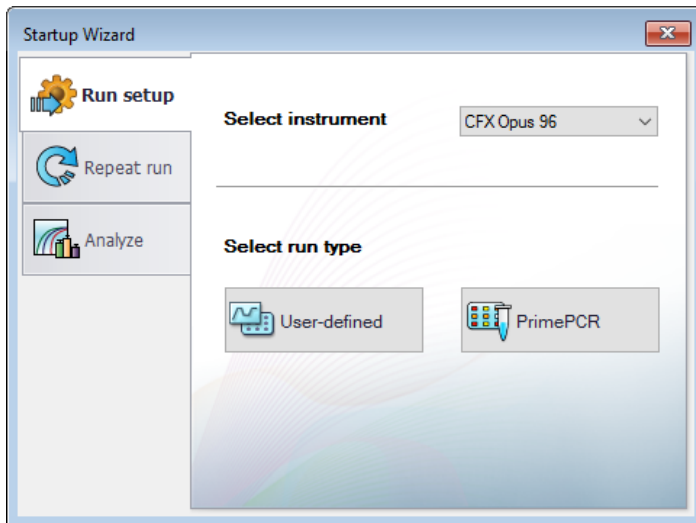
Finestra Home

CFX Maestro Dx SE si apre nella finestra Home (Home) e visualizza la procedura guidata di avvio, dalla quale è possibile impostare un esperimento, eseguire o ripetere un'analisi, o analizzare un'analisi esistente. Dalla finestra Home, è inoltre possibile visualizzare i registri dell'applicazione e dello strumento, creare e gestire utenti e accedere a numerosi strumenti utili. Per maggiori informazioni, fare riferimento al [Capitolo 6, Finestra Home](#).



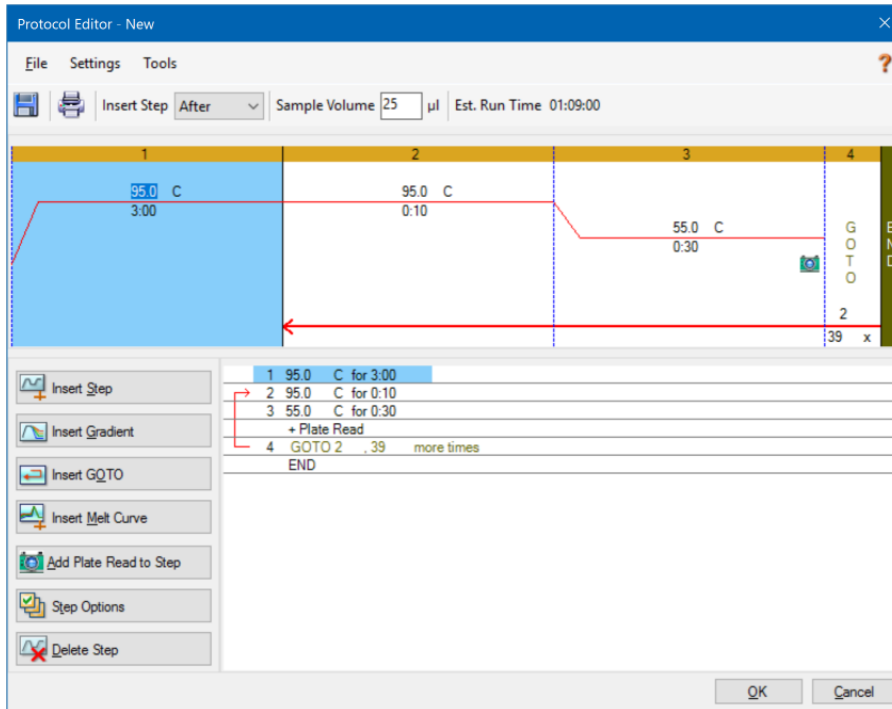
Procedura guidata di avvio

Utilizzare la procedura guidata di avvio per impostare ed eseguire rapidamente esperimenti definiti dall'utente o per selezionare ed eseguire un esperimento PrimePCR. È possibile utilizzare questa procedura guidata anche per ripetere un'analisi o per analizzare i dati dell'analisi.



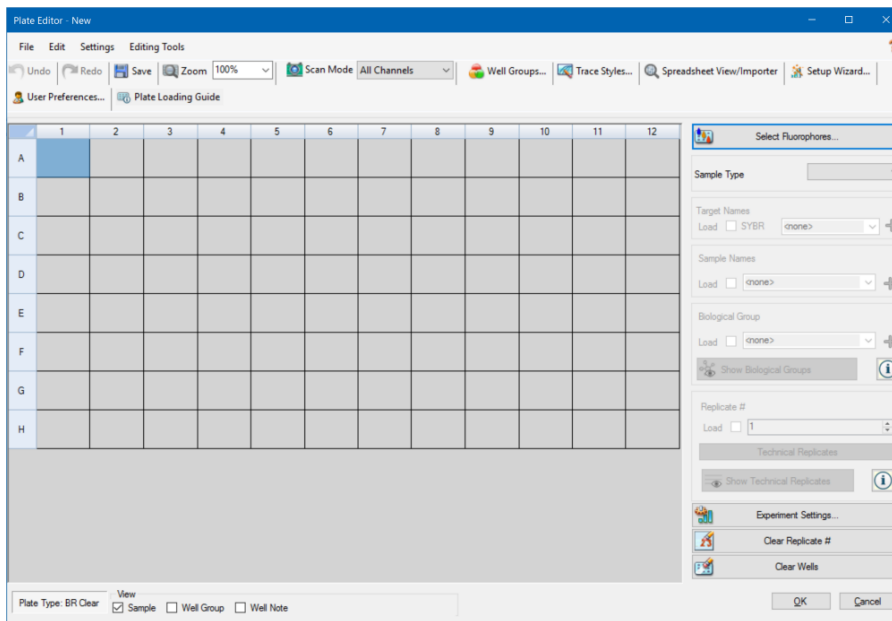
Finestra dell'editor protocollo

Nell'editor protocollo è possibile creare, aprire, rivedere e modificare un protocollo. È inoltre possibile modificare la temperatura del coperchio per il protocollo aperto. La funzionalità dell'editor protocollo è dettagliata nel [Capitolo 7, Creazione di protocolli](#).



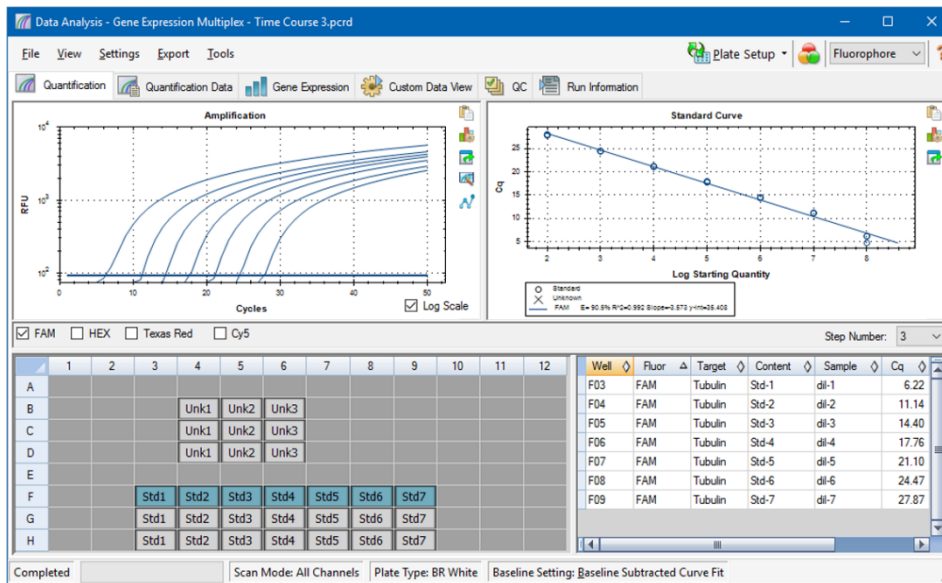
Finestra dell'editor piastra

Nell'editor piastra è possibile creare, aprire, rivedere e modificare una piastra. La funzionalità Editor piastra è descritta dettagliatamente nel [Capitolo 8, Preparazione delle piastre](#).



Finestra Data Analysis (Analisi dei dati)

Nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), è possibile visualizzare e confrontare i dati delle analisi, eseguire analisi statistiche, esportare i dati e creare report pronti per essere pubblicati. La funzionalità di analisi dei dati è descritta nel dettaglio nel [Capitolo 10, Descrizione generale della finestra Data Analysis \(Analisi dei dati\)](#) e nel [Capitolo 11, Dettagli dell'analisi dei dati](#).



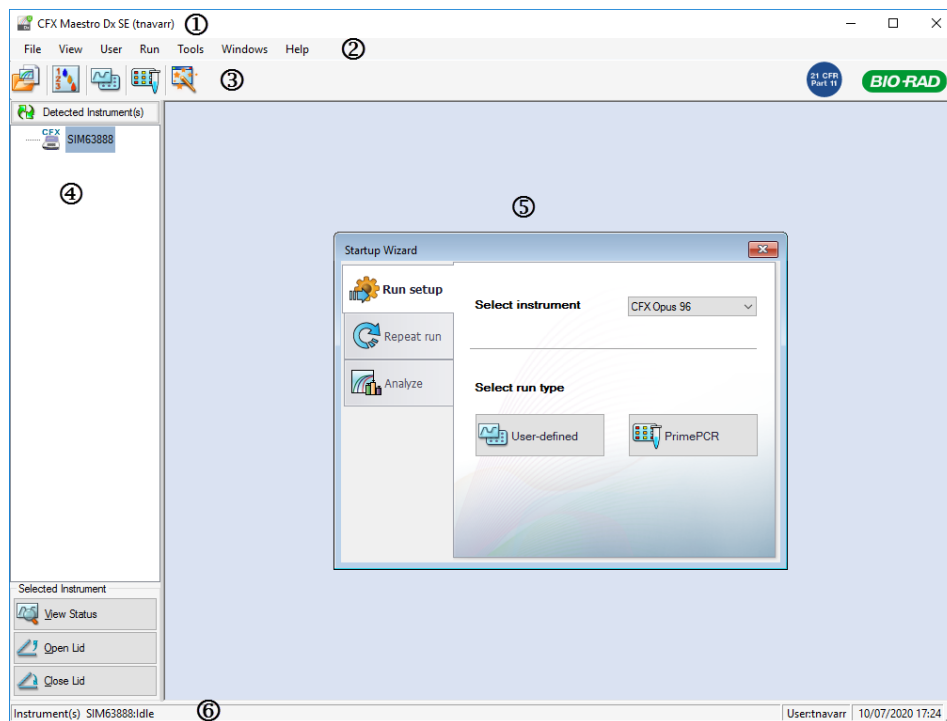
Capitolo 6 Finestra Home

Il Software CFX Maestro Dx, Security Edition fornisce un'interfaccia per sviluppare protocolli PCR, eseguirli su sistemi CFX Dx e analizzare dati delle analisi PCR.

In questo capitolo viene fornita un'introduzione a CFX Maestro Dx SE e vengono spiegate le funzioni accessibili dalla finestra Home.

Finestra Home

Quando si apre CFX Maestro Dx SE, viene visualizzata la finestra Home con la procedura di configurazione guidata, dalla quale è possibile impostare un'analisi, eseguire o ripetere un'analisi, oppure analizzare un'analisi esistente. Dalla finestra Home, è inoltre possibile visualizzare i registri dell'applicazione e dello strumento, creare e gestire gli utenti e accedere a diversi strumenti utili.



LEGENDA

1. La barra del titolo del software mostra il nome del software e l'utente connesso.
2. La barra dei menu offre l'accesso rapido ai comandi del menu File (File), View (Visualizza), Users (Utenti), Run (Analisi), Tools (Strumenti), Window (Finestra) e Help (Guida).
3. I comandi della barra degli strumenti forniscono un accesso rapido alle opzioni dei menu.
4. Nel riquadro di sinistra sono visualizzati gli strumenti collegati al computer CFX Maestro Dx SE e sono disponibili i pulsanti da cui è possibile far funzionare il coperchio e visualizzare lo stato degli strumenti.

5. Il riquadro principale mostra la finestra di lavoro. La finestra operativa predefinita della schermata Home è quella della procedura guidata di avvio.

6. Nella barra di stato sono visualizzati i nomi degli strumenti collegati e dell'utente registrato.

Comandi del menu File

New (Nuovo): consente di aprire una finestra di dialogo da cui è possibile scegliere di creare un nuovo protocollo, una nuova piastra o un nuovo studio dei geni.

Open (Apri): consente di aprire una finestra di dialogo da cui è possibile scegliere di individuare e aprire un protocollo, una piastra, un file di dati, uno studio dei geni, un file LIMS, un'analisi da uno strumento stand-alone (analisi stand-alone) o un file di analisi PrimePCR esistenti.

Recent Data Files (File di dati recenti): consente di visualizzare un elenco dei file PCR aperti di recente.

Repeat a Run (Ripeti un'analisi): consente di aprire Windows Explorer (Esplora risorse) nel percorso dei file PCR salvati, in cui è possibile individuare un'analisi da ripetere.

Exit (Esci): consente di chiudere CFX Maestro Dx SE.

Comandi del menu View (Visualizza)

Application Log (Registro applicazione): consente di visualizzare un registro di utilizzo del software dall'installazione iniziale alla data corrente.

Run Reports (Report di analisi): consente di visualizzare un elenco di report di analisi.

Startup Wizard (Procedura guidata di avvio): consente di visualizzare la procedura guidata di avvio nel riquadro principale.

Run Setup (Impostazione analisi): consente di visualizzare la finestra Run Setup (Impostazione analisi) nel riquadro principale.

Instrument Summary (Riepilogo strumenti): consente di visualizzare la finestra Instrument Summary (Riepilogo strumenti) nel riquadro principale.

Detected Instruments (Strumenti rilevati): consente di scegliere se visualizzare o meno gli strumenti collegati nel riquadro di sinistra. Per impostazione predefinita, il software visualizza gli strumenti collegati nel riquadro di sinistra.

Toolbar (Barra degli strumenti): consente di scegliere se visualizzare o no la barra degli strumenti nella parte superiore della schermata. Per impostazione predefinita, il software visualizza la barra degli strumenti.

Status Bar (Barra di stato): consente di scegliere se visualizzare o no la barra di stato nella parte inferiore dello schermo. Per impostazione predefinita, il software visualizza la barra di stato.

Show (Mostra): consente di aprire una finestra di dialogo dalla quale è possibile

- Visualizzare o bloccare il registro di stato.
- Aprire e visualizzare la cartella dei dati di CFX Maestro Dx SE.
- Aprire e visualizzare la cartella dei dati dell'utente.
- Aprire e visualizzare la cartella dei file LIMS.
- Aprire e visualizzare la cartella PrimePCR.
- Visualizzare la cronologia dell'analisi.
- Visualizzare le proprietà di tutti gli strumenti collegati.

Comandi del menu User (Utente)

Select User (Seleziona utente): consente di aprire la schermata di accesso in cui è possibile selezionare un utente dall'elenco a discesa User Name (Nome utente) e accedere all'applicazione.

Change Password (Modifica password): consente di aprire la finestra di dialogo Change Password (Modifica password) in cui gli utenti possono modificare la propria password.

Nota: questa opzione è disabilitata per CFX Maestro Dx SE. Gli utenti devono modificare la propria password di Windows per cambiare quella di CFX Maestro Dx SE.

User Preferences (Preferenze utente): consente di aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente) in cui gli utenti possono modificare le impostazioni predefinite per

- Inviare e ricevere una notifica e-mail al termine dell'analisi
- Salvare i file di dati
- Creare protocolli tramite l'editor dei protocolli o l'autowriter protocollo
- Creare piastre
- Analizzare dati
- Eseguire analisi dell'espressione genica
- Determinare la qualità dei dati
- Esportare i dati dello strumento CFX

User Administration (Amministrazione utenti): consente di aprire la finestra di dialogo User Administration (Amministrazione utenti) in cui gli amministratori possono creare utenti, modificare le autorizzazioni dei ruoli e assegnare i ruoli agli utenti.

Bio-Rad Service Login (Accesso all'assistenza Bio-Rad): ad uso esclusivo del personale dell'assistenza tecnica Bio-Rad. Non selezionare questo comando.

Comandi del menu Run (Analisi)

User-defined Run (Analisi definita dall'utente): consente di aprire la finestra Run Setup (Impostazione analisi), nella quale è possibile impostare un protocollo e una piastra definiti dall'utente, quindi eseguire un esperimento PCR sullo strumento selezionato.

PrimePCR Run (Analisi PrimePCR): consente di aprire la scheda Start Run (Avvia analisi) nella finestra Run Setup (Impostazione analisi) con il protocollo PrimePCR e il layout della piastra predefiniti, caricati in base allo strumento selezionato.

End-Point Only Run (Analisi solo del punto finale): consente di aprire la scheda Start Run (Avvia analisi) nella finestra Run Setup (Impostazione analisi) con il protocollo del punto finale e il layout della piastra predefiniti, caricati in base allo strumento selezionato.

Qualification Run (Analisi di qualificazione): consente di aprire la scheda Start Run (Avvia analisi) nella finestra Run Setup (Impostazione analisi) con il protocollo di qualificazione e il layout della piastra Bio-Rad predefiniti, caricati per lo strumento selezionato.

Comandi del menu Tools (Strumenti)

Master Mix Calculator (Calcolatore master mix): consente di aprire il calcolatore della master mix in cui è possibile creare una miscela di reazione e stampare i calcoli.

Protocol AutoWriter (Autowriter protocollo): consente di aprire la finestra di dialogo Protocol AutoWriter (Autowriter protocollo) in cui è possibile creare un protocollo in tutta semplicità.

T_a Calculator (Calcolatore T_a): consente di aprire il calcolatore T_a in cui è possibile calcolare la temperatura di annealing dei primer.

Dye Calibration Wizard (Procedura guidata Calibrazione coloranti): consente di aprire la procedura guidata per la calibrazione dei coloranti in cui è possibile calibrare uno strumento per un nuovo fluoroforo.

Reinstall Instrument Drivers (Reinstalla driver strumento): consente di reinstallare i driver che controllano la comunicazione con i sistemi per PCR in tempo reale di Bio-Rad.

Zip Data and Log Files (Comprimi dati e file di registro): consente di aprire una finestra di dialogo in cui è possibile selezionare i file da comprimere e salvare un file zippato per l'archiviazione o l'invio tramite posta elettronica.

Batch Analysis (Analisi dei lotti): consente di aprire la finestra di dialogo Batch Analysis (Analisi dei lotti) in cui è possibile impostare i parametri per analizzare più di un file di dati alla volta.

Options (Opzioni): consente di aprire una finestra di dialogo in cui è possibile

- configurare le impostazioni del server di posta elettronica;
- configurare le impostazioni di esportazione per LIMS, Seegene e altri file di dati.

Suggerimento: è inoltre possibile selezionare l'opzione per avviare automaticamente il visualizzatore Seegene al momento dell'esportazione se si sceglie di esportare i dati in formato Seegene.

- Modificare la lingua visualizzata dall'interfaccia utente (inglese, cinese, russo)

Importante: è necessario riavviare CFX Maestro Dx SE per visualizzare la lingua selezionata.

Importante: la lingua del sistema operativo deve corrispondere alla lingua che si desidera visualizzare nell'interfaccia CFX Maestro Dx SE.

Comandi del menu Help (Guida)

Suggerimento: il menu Help (Guida) è disponibile nella barra dei menu in tutte le finestre del software CFX Maestro Dx SE.

Contents (Contenuto): consente di visualizzare la scheda Contents (Contenuto) nella guida di CFX Maestro Dx SE.

Index (Indice): consente di visualizzare la scheda Index (Indice) nella guida di CFX Maestro Dx SE.

Search (Cerca): consente di visualizzare la scheda Search (Cerca) nella guida di CFX Maestro Dx SE.

Open User Guide (Apri Guida utente): consente di aprire un PDF di questa guida.

Additional Documentation (Documentazione aggiuntiva): fornisce l'accesso al manuale operativo dei sistemi per PCR in tempo reale CFX Opus Dx.

Release Notes (Note di rilascio): consente di aprire il documento delle note di rilascio per la versione di CFX Maestro Dx SE installata.

Video Resources (Risorse video): consente di aprire un sito web in cui risiedono le risorse video Bio-Rad, come i video tutorial.

qPCR Applications and Technologies Web Site (Sito web applicazioni e tecnologie qPCR): consente di aprire il sito web delle applicazioni e tecnologie qPCR di Bio-Rad, da cui è possibile scoprire altre informazioni sulla PCR in tempo reale (qPCR).

PCR Reagents Web Site (Sito web reagenti PCR): consente di aprire il sito web dei reagenti PCR e qPCR di Bio-Rad, da cui è possibile ordinare i reagenti PCR, le supermix, i coloranti e i kit.

PCR Plastic Consumables Web Site (Sito web materiali di consumo in plastica PCR): consente di aprire il sito web dei materiali di consumo e degli elementi in plastica per PCR di Bio-Rad, da cui è possibile ordinare piastre PCR, sigilli per piastre, provette e tappi, e altri accessori di plastica.

Software Web Site (Sito web software): consente di aprire il sito web del software di analisi PCR di Bio-Rad, da cui è possibile ordinare le versioni aggiornate di CFX Maestro Dx SE di Bio-Rad.

About (Informazioni): consente di visualizzare le informazioni di copyright e versione di CFX Maestro Dx SE.

Comandi della barra degli strumenti



: consente di aprire Windows Explorer (Esplora risorse), in cui è possibile individuare e aprire un file di dati o un file di studio dei geni.



: consente di aprire il Master Mix Calculator (Calcolatore master mix).



: consente di aprire la finestra Run Setup (Impostazione analisi).



: consente di aprire la finestra Run Setup (Impostazione analisi) con il protocollo PrimePCR e il layout della piastra predefiniti, caricati in base allo strumento selezionato.

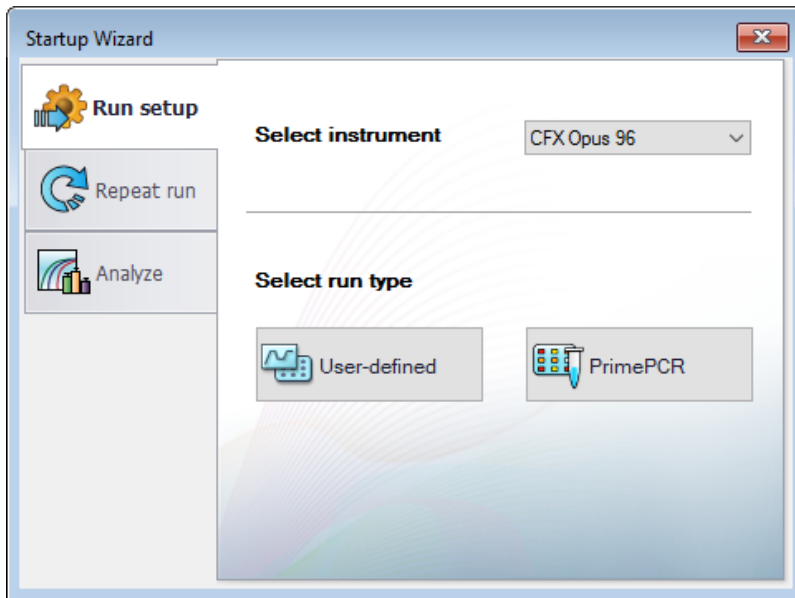


: consente di aprire la procedura guidata di avvio.

Finestra Startup Wizard (Procedura guidata di avvio)

Quando CFX Maestro Dx SE si avvia, nel riquadro operativo compare la procedura guidata di avvio. Dalla finestra di dialogo Startup Wizard (Procedura guidata di avvio)

- Selezionare uno strumento dagli strumenti rilevati e impostare un'analisi definita dall'utente o PrimePCR.
- Aprire e ripetere un'analisi.
- Aprire un file di dati per analizzare i risultati di una singola analisi o un file di studio dei geni per i risultati di più analisi dell'espressione genica.



Tali attività sono spiegate in maniera particolareggiata nei capitoli che seguono.

Barra di stato

A sinistra della barra di stato in fondo alla finestra principale del software è visualizzato lo stato attuale degli strumenti rilevati. A destra della barra di stato il sistema visualizza il nome dell'utente attuale con la data e l'ora.

Riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati)

Il riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati) visualizza tutti gli strumenti collegati al computer CFX Maestro Dx SE. Per impostazione predefinita, ciascuno strumento viene visualizzato come icona e il suo numero di serie viene visualizzato come nome.

Da questo riquadro, è possibile

- Visualizzare le proprietà e i coloranti calibrati per lo strumento selezionato.

Per informazioni sulle proprietà dello strumento, vedere [Visualizzazione delle proprietà di uno strumento a pagina 74](#).

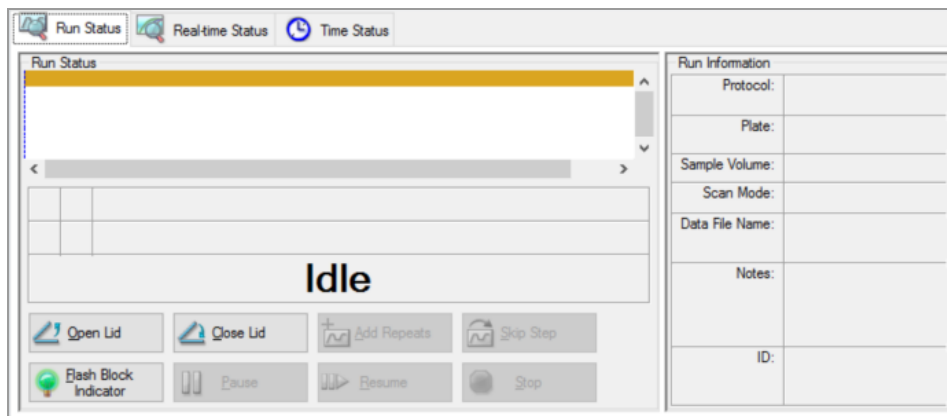
- Visualizzare lo stato di uno strumento collegato.
- Aprire il coperchio motorizzato sullo strumento selezionato.
- Chiudere il coperchio motorizzato sullo strumento selezionato.
- Visualizzare lo stato di tutti gli strumenti collegati.

Per visualizzare lo stato di uno strumento collegato

- ▶ Nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati), selezionare lo strumento target ed eseguire una delle seguenti opzioni:

- Fare clic su View Status (Visualizza stato) nella sezione Selected Instrument (Strumento selezionato).
- Fare clic con il pulsante destro del mouse e scegliere View Status (Visualizza stato) dal menu visualizzato.

La finestra di dialogo Run Details (Dettagli analisi) viene visualizzata con la scheda Run Status (Stato analisi). Lo stato dello strumento selezionato viene visualizzato sotto il riquadro dello stato dell'analisi, ad esempio:



Per aprire o chiudere il coperchio di uno strumento

- ▶ Nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati), selezionare lo strumento target ed eseguire una delle seguenti opzioni:
 - Fare clic su Open Lid (Apri coperchio) o Close Lid (Chiudi coperchio) nella sezione Selected Instrument (Strumento selezionato).
 - Fare clic con il pulsante destro del mouse e scegliere l'azione appropriata dal menu visualizzato.
 - Aprire la finestra di dialogo Run Details (Dettagli analisi), selezionare la scheda Run Status (Stato analisi) e fare clic su Open Lid (Apri coperchio) o Close Lid (Chiudi coperchio).

Per visualizzare lo stato di tutti gli strumenti rilevati

- ▶ Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati) della sezione All Instruments (Tutti gli strumenti), fare clic su View Summary (Visualizza riepilogo).
 - Nella barra dei menu, selezionare View > Instrument Summary (Visualizza > Riepilogo strumenti).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Instrument Summary (Riepilogo strumenti).

Suggerimento: se il sistema rileva solo uno strumento collegato, la sezione All Instruments (Tutti gli strumenti) non viene visualizzata nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati). Per visualizzare il riepilogo strumenti per un solo strumento, selezionare View > Instrument Summary (Visualizza > Riepilogo strumenti).

Comandi della barra degli strumenti Instrument Summary (Riepilogo strumenti)

Nella [Tabella 5](#) vengono elencati i comandi e le funzioni della barra degli strumenti Instrument Summary (Riepilogo strumenti).

Tabella 5. Comandi della barra degli strumenti Instrument Summary (Riepilogo strumenti)

Pulsante	Nome pulsante	Funzione
	Create a new Run (Crea nuova analisi)	Crea un'analisi sul blocco selezionato aprendo la finestra Run Setup (Impostazione analisi).
	Stop (Arresta)	Arresta l'analisi attuale sui blocchi selezionati.
	Pause (Pausa)	Mette in pausa l'analisi attuale sui blocchi selezionati.
	Resume (Riprendi)	Riprende l'analisi sui blocchi selezionati.
	Flash Block Indicator (Lampeggio indicatore di blocco)	Fa lampeggiare il LED indicatore sul coperchio dei blocchi selezionati.
	Open Lid (Apri coperchio)	Apri il coperchio motorizzato del blocco selezionato.
	Close Lid (Chiudi coperchio)	Chiude il coperchio motorizzato del blocco selezionato.
	Hide Selected Blocks (Nascondi blocchi selezionati)	Consente di nascondere i blocchi selezionati nell'elenco Instrument Summary (Riepilogo strumenti)
	Show All Blocks (Mostra tutti i blocchi)	Consente di visualizzare i blocchi selezionati nell'elenco Instrument Summary (Riepilogo strumenti)
	Show (Mostra)	Seleziona quali blocchi mostrare nell'elenco. Selezionare una delle opzioni per mostrare tutti i blocchi rilevati, tutti i blocchi inattivi, tutti i blocchi in esecuzione con l'utente attuale o tutti i blocchi in esecuzione

Visualizzazione delle proprietà di uno strumento

Dal riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati) è possibile visualizzare i dettagli di uno strumento selezionato, incluse le proprietà, lo stato della vite di imballaggio (solo strumenti CFX Connect e CFX Touch) e un elenco dei relativi coloranti calibrati (fluorofori).

Per visualizzare le proprietà dello strumento

- Nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati), fare clic con il pulsante destro del mouse sullo strumento desiderato e scegliere Properties (Proprietà) dal menu visualizzato.

Scheda Properties (Proprietà)

Nella scheda Properties (Proprietà) sono elencati i dettagli tecnici sullo strumento selezionato tra cui il modello, i numeri di serie dei rispettivi componenti e le versioni del firmware. Il nome predefinito dello strumento (il suo numero di serie) appare in numerose posizioni, tra cui il riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati) nella barra di intestazione della finestra di dialogo Instrument Properties (Proprietà strumento). È possibile rinominare lo strumento in modo da identificarlo più facilmente.

Nota: non è possibile modificare il nome dello strumento CFX Opus utilizzando CFX Maestro.

Scheda Calibrated Dyes (Coloranti calibrati)

Nella scheda Calibrated Dyes (Coloranti calibrati) sono visualizzati i fluorofori calibrati e le piastre per lo strumento selezionato.

	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"/>

Per maggiori informazioni sulla calibrazione, fare clic sul pulsante Info (Informazioni) nella colonna Detail (Dettagli).

Operazioni preliminari

In questo paragrafo vengono spiegate le attività che potrebbe essere necessario eseguire prima di utilizzare CFX Maestro Dx SE, ad esempio:

- Creazione di una master mix di reazione
- Calibrazione di nuovi coloranti

Creazione di una master mix di reazione

Utilizzando il Master Mix Calculator di CFX Maestro Dx SE, è possibile calcolare facilmente il volume richiesto di ciascun componente nel master mix. È possibile stampare la tabella di calcolo della master mix con la stampante predefinita e salvare i calcoli per ciascun target per un utilizzo futuro.

Per creare un master mix delle reazioni con il Master Mix Calculator

1. Per aprire il Master Mix Calculator (Calcolatore master mix), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Selezionare Tools > Master Mix Calculator (Strumenti > Calcolatore master mix).
 - Fare clic su Master Mix Calculator (Calcolatore master mix) nella barra degli strumenti.

Viene visualizzata la finestra Master Mix Calculator (Calcolatore master mix).

The screenshot shows the 'Master Mix Calculator' window. The 'Reaction' section has 'SYBR Green/EvaGreen' selected. The 'Target' section shows 'SYBR_target_1' in the dropdown. The 'Master Mix Setup' section has the following values: Number of Reactions: 96, Reaction Volume Per Well: 20 µl, Template Volume: 1.0 µl, Supemix Concentration: 2.0 X, Excess Reaction Volume: 5%. The table below is empty.

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

2. Nella sezione Reaction (Reazione), selezionare un metodo di rilevamento:
 - SYBR® Green/EvaGreen®
 - Probes (Sonde)
3. Per creare un nuovo target, nella sezione Target fare clic su Create New (Crea nuovo). Nell'elenco a discesa dei target appare un nuovo nome target.
4. (Facoltativo) Per modificare il nome target predefinito:
 - a. Evidenziare il nome del target nell'elenco a discesa dei target.
 - b. Immettere un nuovo nome target nella casella Target.
 - c. Premere il tasto Enter (Invio).
5. Regolare le concentrazioni iniziale e finale per i primer diretto e inverso e per le sonde.
6. Nella sezione Master Mix Setup (Impostazione master mix), correggere i valori per
 - Numero di reazioni da eseguire

- Volume di reazione per pozzetto
 - Volume modello per pozzetto
 - Concentrazione supermix per pozzetto
 - Volume di reazione in eccesso per pozzetto
7. (Facoltativo) Eseguire le fasi 2-6 per il numero necessario di target.
 8. Nella sezione Choose Target to Calculate (Scegli target da calcolare), selezionare il target da calcolare.

Suggerimento: è possibile calcolare solo un target, diversi target o tutti i target nello stesso tempo.

I volumi calcolati dei componenti necessari per ciascun target selezionato sono visualizzati nella tabella dei master mix.

9. Fare clic su Set as Default (Imposta come predefinito) per impostare le quantità inserite nelle sezioni Target and Master Mix Setup (Impostazioni Target e Master mix) come nuovi valori predefiniti.
10. Fare clic su OK per salvare il contenuto della finestra di dialogo Master Mix Calculator.

Per stampare la tabella dei calcoli della master mix

- ▶ Per stampare una tabella dei calcoli della master mix, fare clic su Print (Stampa).

La tabella di calcolo viene stampata sulla stampante predefinita.

Per salvare la tabella dei calcoli della master mix in formato .pdf

- ▶ Cambiare la stampante predefinita con un driver PDF e fare clic su Print on the Master Mix Calculator (Stampa sul calcolatore master mix).

Per eliminare target

- ▶ Selezionare il target utilizzando l'elenco a discesa dei target e fare clic su Remove (Rimuovi).

Importante: la rimozione di un target dall'elenco dei target lo rimuove anche da qualsiasi calcolo della master mix in cui viene utilizzato. Prestare attenzione quando si elimina un target.

Calibrazione di nuovi coloranti

I sistemi CFX Opus 96 Dx e CFX Opus Deepwell Dx vengono calibrati in fabbrica per i fluorofori comunemente utilizzati nelle piastre con pozzetti bianchi e pozzetti trasparenti. I sistemi CFX Opus 384 Dx vengono calibrati in fabbrica per i fluorofori comunemente utilizzati esclusivamente nelle piastre con pozzetti bianchi. Nella [Tabella 6](#) vengono elencati i fluorofori e il canale per cui viene calibrato ogni strumento.

Nota: i sistemi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx includono anche un canale dedicato alla chimica FRET. Questo canale non richiede calibrazione per determinati coloranti.

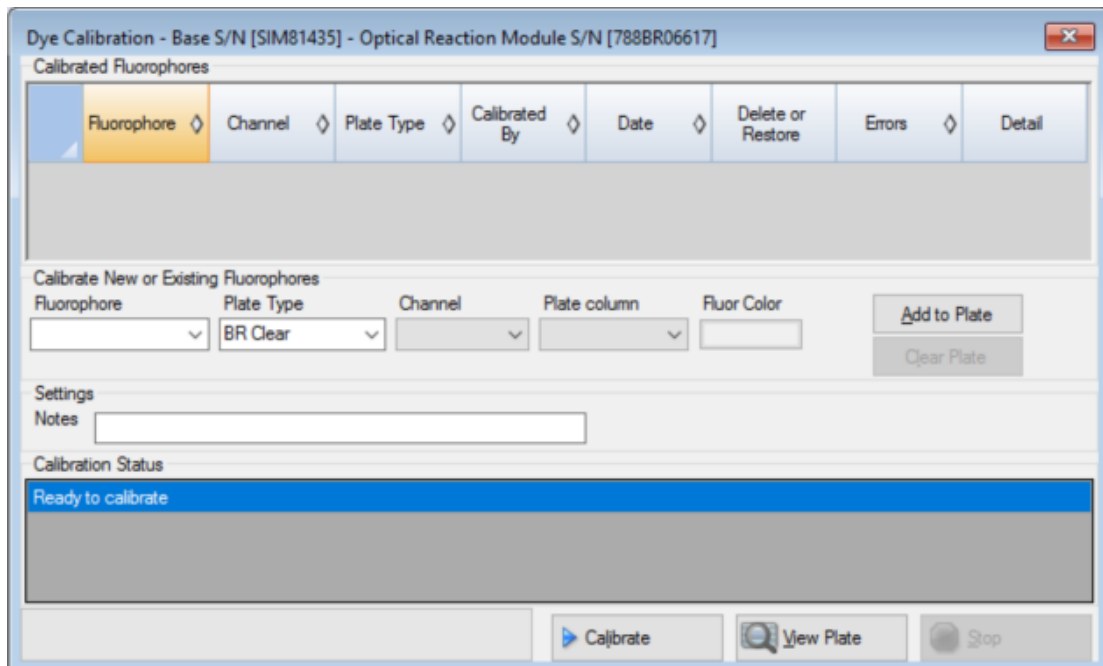
Importante: se si esegue una calibrazione definita dall'utente di un colorante calibrato in fabbrica, lo strumento utilizza la calibrazione definita dall'utente invece della calibrazione eseguita in fabbrica.

Tabella 6. Fluorofori calibrati in fabbrica, canali e strumenti

Fluorofori	Canale	Eccitazione, nm	Rilevamento, nm	Strumento
FAM, SYBR® Green I	1	450–490	515–530	Sistemi 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	Sistemi 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	Sistemi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx
CY5, Quasar 670	4	620–650	675–690	Sistemi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx
Quasar 705, Cy5.5	5	672–684	705–730	Solo sistemi CFX Opus 96 Dx
Chimica FRET (non calibrata in fabbrica)				
Colore non calibrato in fabbrica	FRET	450–490	560–580	Sistemi CFX Opus 96 Dx, CFX Opus 384 Dx e CFX Opus Deepwell Dx

Per calibrare nuovi coloranti per sistemi CFX

1. Nella finestra Home, selezionare uno strumento target nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati).
2. Selezionare Tools > Calibration Wizard (Strumenti > Procedura guidata di calibrazione) per aprire la procedura guidata di calibrazione del colorante.



I fluorofori già calibrati per lo strumento target vengono visualizzati nella tabella dei fluorofori calibrati.

3. Nella sezione Calibrate New or Existing Fluorophores (Calibra fluorofori nuovi o esistenti), dall'elenco a discesa selezionare il fluoroforo da calibrare.

Se il nome del fluoroforo non è incluso nell'elenco, digitarne il nome nella casella di testo per aggiungerlo all'elenco.

Importante: prestare attenzione durante la denominazione di fluorofori calibrati personalizzati. Se si crea una calibrazione del colorante personalizzata per un fluoroforo con lo stesso nome di un fluoroforo calibrato in fabbrica, il fluoroforo personalizzato (non il fluoroforo calibrato in fabbrica) sarà quello utilizzato dallo strumento durante le analisi.

4. Selezionare il tipo di piastra per il fluoroforo.

Se il tipo di piastra non è incluso nell'elenco, digitare il nome nella casella di testo per aggiungerlo all'elenco.

5. Selezionare un canale per il fluoroforo.
6. Selezionare una colonna piastra per il fluoroforo.
7. (Facoltativo) Digitare un colore da associare al fluoroforo.
8. Fare clic su Add to Plate (Aggiungi a piastra) per aggiungere il fluoroforo.
9. (Facoltativo) Ripetere i passaggi da 3 a 8 per aggiungere ciascun fluoroforo che si prevede di calibrare per la piastra.
10. Una volta completata l'aggiunta di fluorofori, fare clic su View Plate (Visualizza piastra) per aprire la finestra Pure Dye Plate Display (Display piastra colorante puro).

Usare questa finestra come guida per il caricamento dei coloranti nella piastra.
11. Preparare una piastra a 96, 384 pozzetti o a pozzetti profondi per la calibrazione del colorante:
 - a. Pipettare la soluzione di colorante in ciascun pozzetto, seguendo il pattern mostrato in Pure Dye Plate Display (Display piastra colorante puro).
 - b. Per ciascun fluoroforo, riempire quattro pozzetti con 50 µl (piastra a 96 pozzetti o a pozzetti profondi), 30 µl (piastra a 384 pozzetti) di soluzione di colorante da 300 nM. Si noti che almeno metà piastra contiene pozzetti vuoti.
 - c. Sigillare la piastra usando il metodo di sigillatura che verrà utilizzato nell'esperimento.
12. Posizionare la piastra di calibrazione nel blocco e chiudere il coperchio.
13. Nella procedura guidata per la calibrazione dei coloranti, fare clic su Calibrate (Calibra), quindi su OK per confermare che la piastra è nel blocco.
14. Quando il Software CFX Maestro Dx, Security Edition completa l'analisi di calibrazione, viene visualizzata una finestra di dialogo. Fare clic su Yes (Sì) per terminare la calibrazione e aprire il Dye Calibration Viewer (Visualizzatore calibrazione colorante).
15. Fare clic su OK per chiudere la finestra.

Impostazione delle preferenze utente

Suggerimento: per utilizzare CFX Maestro Dx SE non è necessario eseguire queste attività. È possibile saltare questa sezione o eseguire queste attività in qualsiasi momento.

In CFX Maestro Dx SE, ogni utente può personalizzare il proprio ambiente di lavoro. Ad esempio, nel menu Users > User Preferences (Utenti > Preferenze utente), è possibile eseguire quanto segue:

- Impostare le notifiche e-mail relative al completamento dell'analisi.

Nota: questa funzione è disponibile solo per gli utenti al cui ruolo è stato assegnato questo diritto. Per ulteriori informazioni, vedere [Gestione dei ruoli utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition a pagina 45](#).

- Modificare le impostazioni predefinite per
 - La posizione in cui salvare i file
 - I file di impostazione dell'analisi
 - Il prefisso di denominazione dei file
- Impostare i parametri predefiniti da utilizzare per la creazione di un nuovo protocollo e una nuova piastra.
- Impostare i parametri predefiniti per le analisi dei dati e l'espressione genica.
- Personalizzare i parametri di controllo qualità predefiniti.
- Personalizzare i parametri di esportazione dati.

Nel menu Tools (Strumenti), è possibile eseguire quanto segue:

- Creare una master mix.
- Calibrare i coloranti per uno strumento specifico.

Nota: la master mix e la calibrazione dei coloranti sono disponibili per chiunque acceda al software.

In questo paragrafo viene spiegato come eseguire queste attività.

Impostazione delle notifiche e-mail

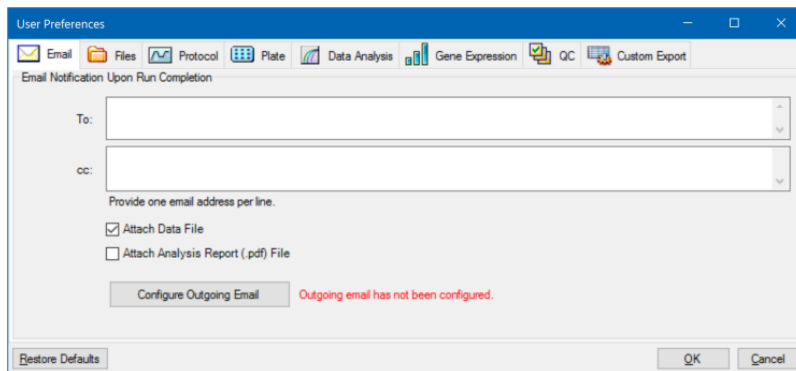
È possibile collegare CFX Maestro Dx SE al server di posta elettronica in uscita per inviare la notifica e-mail del completamento dell'analisi ad un elenco di utenti. Si può anche scegliere di allegare un file di dati e un report di analisi all'elenco di utenti. Per impostare la connessione tra CFX Maestro Dx SE e il server SMTP, vedere [Connessione di Security Edition a un server SMTP a pagina 83](#).

Nota: la capacità di un'utente di accedere alle funzioni di impostazione della posta elettronica dipende dal ruolo dell'utente e dalle autorizzazioni assegnate dall'amministratore. Per i dettagli sulla gestione degli utenti e dei loro ruoli, vedere [Gestione dei ruoli utente del Software CFX Maestro Dx, Security Edition a pagina 45](#).

Per impostare le notifiche e-mail

1. Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) per aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).

Viene visualizzata la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente) con la scheda Email (E-mail).



Nota: l'utente viene avvisato se il sistema rileva che non è stato impostato un server SMTP valido per CFX Maestro Dx SE. Fare clic su Configure Outgoing Email (Configura posta elettronica in uscita) per aprire la finestra di dialogo Options (Opzioni) e configurare il server SMTP di posta elettronica. Per ulteriori informazioni, vedere [Connessione di Security Edition a un server SMTP a pagina 83](#).

2. Nella casella di testo To (A), digitare l'indirizzo e-mail di ogni persona che si intende informare al termine di un'analisi. Tutti i destinatari riceveranno un'e-mail al termine dell'analisi.

Nota: è necessario immettere ogni indirizzo e-mail su una riga separata. Premere Enter (Invio) o Return (Ritorno a capo) dopo ciascun indirizzo.

3. (Facoltativo) nella casella di testo cc, digitare l'indirizzo e-mail di ogni destinatario a cui si prevede di inviare una copia di ogni notifica e-mail.
4. (Facoltativo) Per impostazione predefinita, tutti i destinatari ricevono una copia del file di dati sotto forma di allegato. Deselezionare questa casella di controllo se non si desidera allegare una copia del file di dati.
5. (Facoltativo) Selezionare Attach Analysis Report (Allega report di analisi) per allegare un PDF del report di analisi all'e-mail.
6. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).

Nota: potrebbe essere possibile configurare il sistema per inviare una notifica e-mail al proprio cellulare a seconda del proprio fornitore di servizi. Contattare il proprio fornitore di servizi di telefonia cellulare per informazioni specifiche sull'indirizzo e-mail del cellulare. Inserire l'indirizzo e-mail del telefono (ad esempio, 5552221234@your_service_provider_EmailDomain.net) nella casella di testo To (A) della schermata User Preferences (Preferenze utente).

Per modificare l'indirizzo e-mail di un destinatario

- Modificare l'indirizzo e-mail secondo necessità e fare clic su OK.

Per rimuovere un destinatario dell'e-mail

1. Selezionare il destinatario dell'e-mail e premere il tasto Delete (Cancella).
2. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

Importante: Facendo clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), tutte le preferenze in tutte le schede verranno ripristinate alle impostazioni predefinite originali. Procedere con cautela quando si fa clic su questo pulsante.

Connessione di Security Edition a un server SMTP

Importante: alcuni fornitori di servizi di webmail hanno aumentato la sicurezza della posta elettronica. Se si utilizzano questi account, occorre abilitare l'impostazione **Allow less secure apps** (Consenti app meno sicure) nelle impostazioni dell'account per permettere a CFX Maestro Dx SE di inviare e-mail. Per ulteriori informazioni, vedere le informazioni relative alla sicurezza del proprio provider di servizi di webmail.

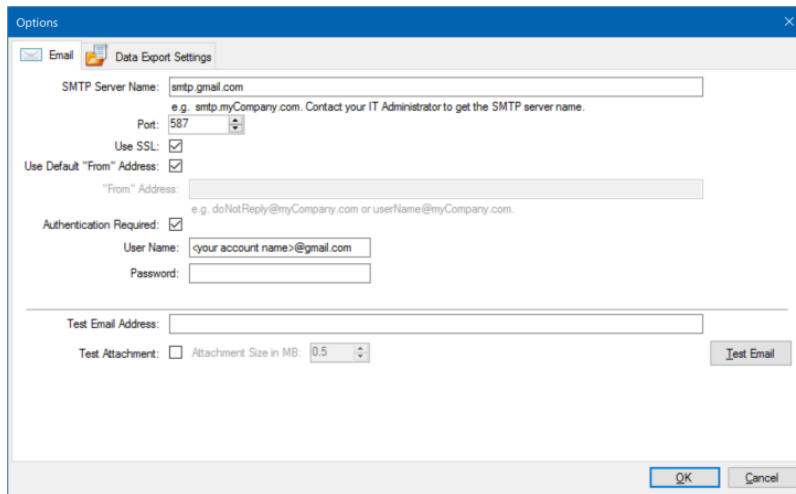
Se per inviare e-mail si utilizza il server SMTP Google Gmail o Microsoft Office 365, è necessario abilitare la verifica a 2 fattori e generare una "Password App" nelle impostazioni dell'account Gmail od Office365. Per l'autenticazione nella finestra di dialogo Maestro Email Setup (Impostazione e-mail Maestro), copiare e incollare la "Password App" nel campo Password invece della normale password per la posta.

Occorre stabilire una connessione da CFX Maestro Dx SE al server di posta elettronica prima che il software possa inviare notifiche e-mail.

Per collegare CFX Maestro Dx SE a un server di posta elettronica

1. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) e fare clic sull'opzione Configure Outgoing Email (Configura posta elettronica in uscita) della scheda Email (E-mail).
 - Selezionare Tools > Options (Strumenti > Opzioni).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Options (Opzioni) con la scheda Email (E-mail).



2. Fornire le informazioni riportate di seguito per la propria azienda:

- **SMTP Server Name** (Nome server SMTP): il nome del server di posta elettronica in uscita dell'azienda.
- **Port** (Porta): il numero di porta del server SMTP, che solitamente è il 25.
- **Use SSL** (Utilizza SSL): opzione Secure Sockets Layer (SSL). Alcuni server SMTP richiedono questa impostazione. Se non è richiesto dall'azienda, deselezionare questa casella di controllo.
- **Use Default "From" Address** (Utilizza indirizzo "Da" predefinito): il nome del server di posta elettronica dell'azienda. Alcuni server SMTP richiedono che tutte le e-mail inviate abbiano un indirizzo "Da" appartenente a un determinato dominio, ad esempio nome@aziendautente.com. In tal caso, deselezionare questa casella di controllo e immettere un indirizzo e-mail valido.
- **Authentication Required** (Autenticazione richiesta): se il sito richiede l'autenticazione dell'account, verificare che questa casella di controllo sia selezionata.
- **User Name** (Nome utente): il nome dell'account autenticato. È obbligatorio solo se è selezionata l'opzione Authentication Required (Autenticazione richiesta).

- **Password:** la password dell'account autenticato. È obbligatorio solo se è selezionata l'opzione Authentication Required (Autenticazione richiesta).

Importante: Se per inviare e-mail si utilizza il server SMTP Google Gmail o Microsoft Office 365, è necessario abilitare la verifica a 2 fattori, quindi generare una "Password App" nelle impostazioni dell'account Gmail od Office365. Per l'autenticazione nella finestra di dialogo Maestro Email Setup (Impostazione e-mail Maestro), copiare e incollare la "Password App" nel campo Password del CFX Maestro Dx SE invece della normale password per la posta.

Per verificare se le impostazioni del server SMTP sono corrette, immettere un indirizzo e-mail valido nella casella di testo Test Email Address (Verifica indirizzo di posta elettronica) e fare clic su Test Email (Messaggio di posta elettronica di prova).

Nota: alcuni server SMTP non consentono gli allegati e altri consentono solo gli allegati fino a una dimensione specifica. Se si intende inviare per e-mail file di dati e/o report utilizzando CFX Maestro Dx SE, selezionare Test Attachment (Prova allegato) e impostare le dimensioni in MB per l'allegato su 5 megabyte (MB) o più.

3. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

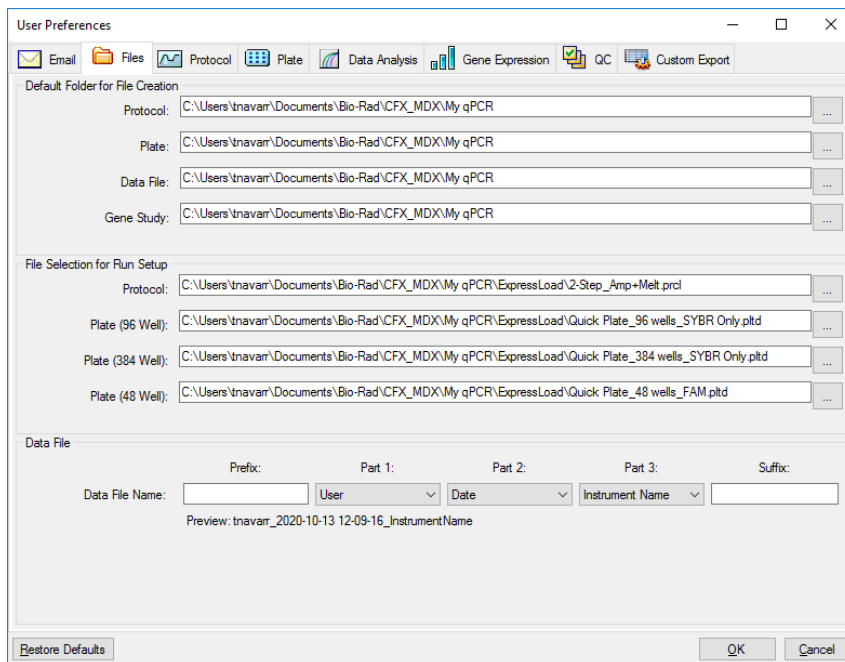
Modifica delle impostazioni file predefinite

Nella scheda Files (File) presente nella finestra di dialogo User Preference (Preferenze utente) è possibile modificare quanto segue:

- Il percorso predefinito in cui salvare i file CFX Maestro Dx SE
- I file predefiniti per l'impostazione dell'analisi
- I parametri di denominazione file predefiniti

Per cambiare le impostazioni file predefinite

1. Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) per aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).
2. Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), selezionare la scheda Files (File).



3. Nella sezione Default Folder for File Creation (Cartella predefinita per la creazione file), selezionare la cartella predefinita nella quale si desidera salvare i nuovi file. È possibile selezionare un percorso diverso per ciascun tipo di file:

- Protocol (Protocollo)
- Plate (Piastra)
- Data File (File di dati)
- Gene Study (Studio dei geni)

4. Nella sezione File Selection for Run Setup (Selezione dei file per l'impostazione dell'analisi), individuare e selezionare i file protocollo target e piastra che devono apparire quando si apre la finestra Experiment Setup (Impostazione esperimento).

5. Nella sezione file di dati, definire il prefisso e/o il suffisso per i file di dati. Per ogni parte, selezionare un nuovo valore dall'elenco a discesa. È inoltre possibile fornire valori di prefisso e suffisso personalizzati nelle caselle di testo Prefix (Prefisso) e Suffix (Suffisso).

CFX Maestro Dx SE visualizza un'anteprima del nome file sotto le caselle di selezione.

6. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

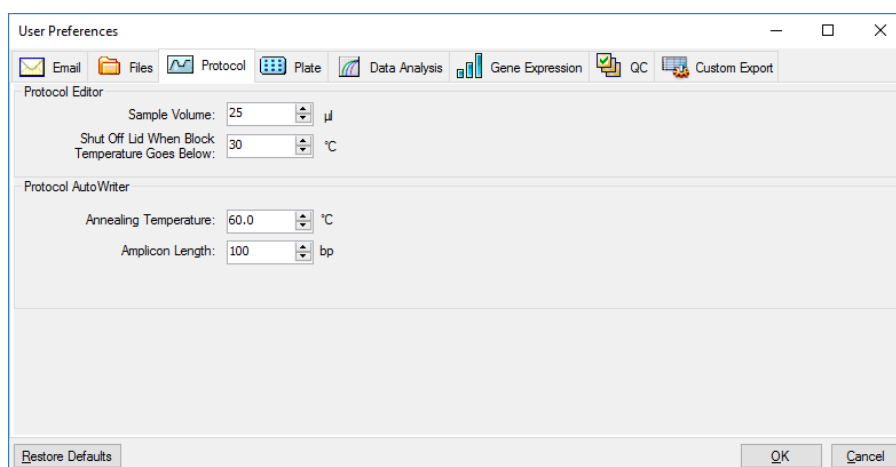
Importante: Facendo clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), tutte le preferenze in tutte le schede verranno

ripristinate alle impostazioni predefinite originali. Procedere con cautela quando si fa clic su questo pulsante.

Impostazione dei parametri predefiniti del protocollo

Per impostare i parametri predefiniti del protocollo per l'editor protocollo e per l'autowriter protocollo

1. Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) per aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).
2. Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), selezionare la scheda Protocol (Protocollo).



3. Nella sezione Protocol Editor (Editor protocollo), specificare i valori per le seguenti impostazioni che vengono visualizzate nell'editor protocollo:
 - **Sample volume** (Volume campione): il volume di ciascun campione nei pozzetti (in µl).
 - **Lid Shutoff temperature** (Temperatura di arresto coperchio): la temperatura in °C alla quale il riscaldatore del coperchio si spegne durante un'analisi.
4. Nella sezione Protocol AutoWriter (Autowriter protocollo), specificare i valori per le seguenti impostazioni che vengono visualizzate nell'autowriter protocollo:
 - **Annealing temperature** (Temperatura di annealing): la temperatura in °C per gli esperimenti che utilizzano iProof DNA polimerasi, iTaq DNA polimerasi o altre polimerasi.
 - **Amplicon length** (Lunghezza amplicone): la lunghezza dell'amplicone in bp.
5. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

Importante: Facendo clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), tutte le preferenze in tutte le schede verranno ripristinate alle impostazioni predefinite originali. Procedere con cautela quando si fa clic su questo pulsante.

Impostazione dei parametri predefiniti della piastra

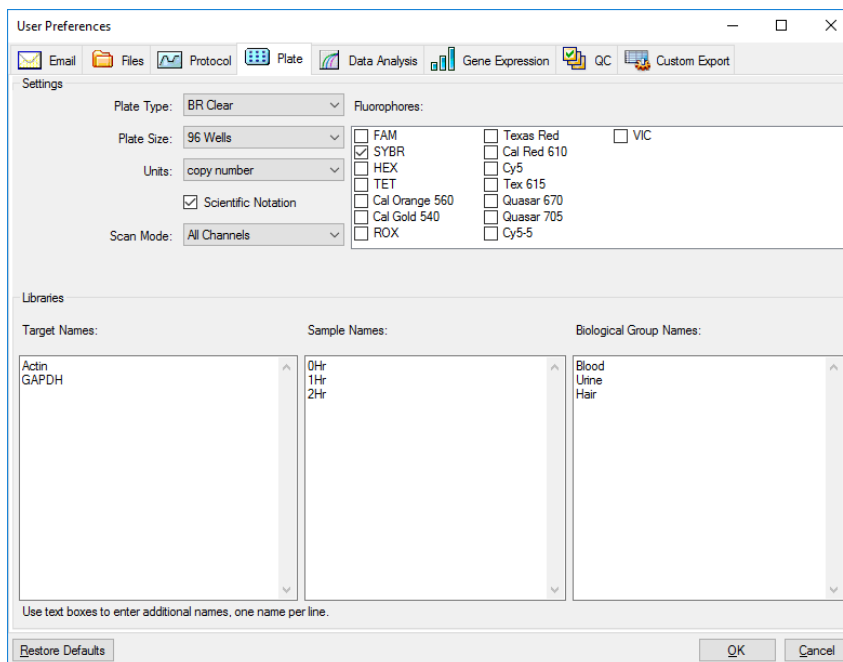
Le modifiche apportate alla scheda Plate (Piastra) sono disponibili per tutti gli utenti del software. Le modifiche apportate durante l'impostazione piastra sono disponibili per gli utenti dopo il salvataggio e la chiusura del file piastra.

Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), è possibile eseguire quanto segue:

- Impostare i parametri predefiniti della piastra.
- Aggiungere nuovi nomi di target, campioni e gruppi biologici alle rispettive librerie.
- Eliminare i nomi di target, campioni e gruppi biologici dalle rispettive librerie.

Per impostare i parametri predefiniti della piastra

1. Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) per aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).
2. Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), selezionare la scheda Plate (Piastra).



3. Specificare i valori per le seguenti impostazioni per il nuovo file piastra. Tali valori vengono visualizzati nella finestra Plate Editor (Editor piastra):

- **Plate type (Tipo di piastra)**
- **Plate size (Dimensioni piastra)**
- **Units (Unità):** la concentrazione del template iniziale per i pozzetti che contengono standard.
CFX Maestro Dx SE utilizza queste unità per creare una curva standard nella scheda Data Analysis Quantification (Quantificazione analisi dei dati).
- **Scientific notation (Notazione scientifica):** quando è selezionata questa opzione, CFX Maestro Dx SE visualizza le unità della concentrazione in notazione scientifica.
- **Scan mode (Modalità di scansione):** il numero o il tipo di canali da esaminare durante un'analisi.
- **Fluorophores (Fluorofori):** i fluorofori predefiniti che compaiono nei controlli di caricamento dei pozzetti dell'editor piastra.
- **Libraries (Librerie):** i nomi di target, campioni e gruppi biologici che vengono generalmente utilizzati negli esperimenti:
 - **Target names (Nomi target):** i nomi dei geni e delle sequenze target.
 - **Sample names (Nomi campioni):** i nomi dei campioni dell'esperimento o una caratteristica di identificazione dei campioni [ad esempio, Mouse1 (Topo1), Mouse2 (Topo2), Mouse3 (Topo3)].
 - **Biological group names (Nomi gruppi biologici):** i nomi dei gruppi di campioni simili che hanno lo stesso stato o condizione di trattamento (ad esempio, 0Hr, 1Hr, 2Hr).

4. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

Per aggiungere un nuovo nome per target, campioni o gruppi biologici

- ▶ Nella casella della libreria appropriata, digitare il nome per il target, campione o gruppo biologico e fare clic su OK.

Per eliminare un nome di target, campione o gruppo biologico

- ▶ Nella casella della libreria appropriata, selezionare il nome e premere il tasto Delete (Canc), quindi fare clic su OK.

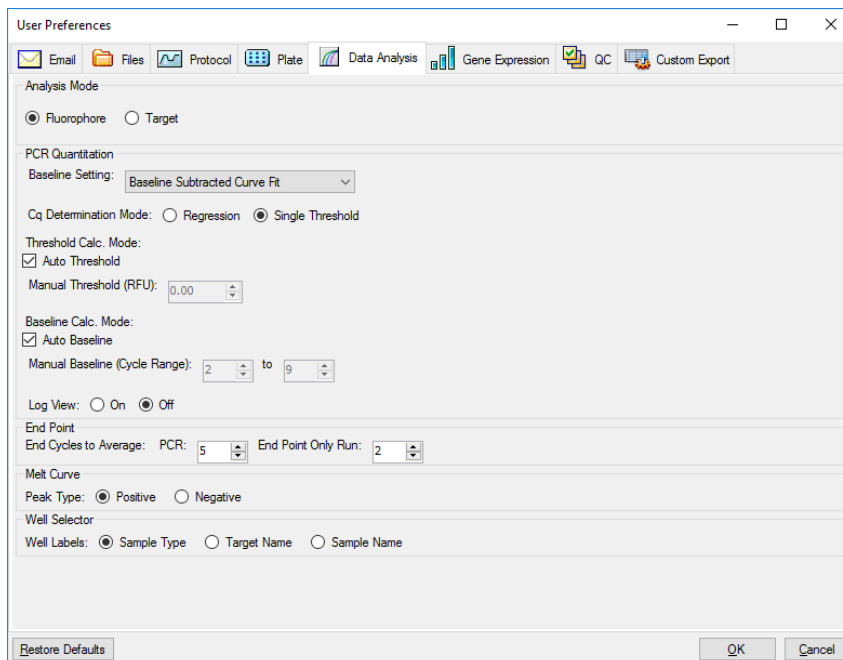
Importante: i nomi che vengono eliminati dalla libreria vengono rimossi dal software e non sono più disponibili per gli utenti. Per ripristinare i nomi CFX Maestro Dx SE predefiniti, fare clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite). Facendo clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), tutte le preferenze in tutte le schede verranno ripristinate alle impostazioni predefinite originali. Procedere

con cautela quando si eliminano i nomi CFX Maestro Dx SE predefiniti e quando si fa clic su questo pulsante.

Impostazione dei parametri predefiniti per l'analisi dei dati

Per impostare i parametri predefiniti per l'analisi dei dati

1. Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) per aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).
2. Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), selezionare la scheda Data Analysis (Analisi dei dati).



3. Nella sezione Analysis Mode (Modalità di analisi), selezionare la modalità con la quale analizzare i dati: Fluorophore (Fluoroforo) o Target.
4. Nella sezione PCR Quantitation (Quantificazione PCR), impostare i parametri predefiniti per le seguenti opzioni:

- **Baseline Setting** (Impostazione linea basale): il metodo della linea basale per la modalità di analisi.
- **Cq Determination Mode** (Modalità di determinazione Cq): la modalità con la quale vengono calcolati i valori C_q per ciascuna traccia di fluorescenza (regressione o soglia singola).
- **Threshold Calc. Mode** (Modalità calc. soglia): la quantità target del punto finale.

L'impostazione predefinita è Auto (Automatico). In pratica, il software calcola automaticamente il punto finale target. Per impostare una soglia specifica, deselezionare la casella di controllo Auto

(Automatico) e inserire la quantità del punto finale desiderata, calcolata in relative unità di fluorescenza (o RFU). Il valore massimo è 65.000,00 RFU. I file di dati per le analisi successive utilizzeranno questa impostazione della soglia.

- **Baseline Calc. Mode** (Modalità calc. linea basale): il valore della linea basale per tutte le tracce.

L'impostazione predefinita è Auto (Automatico). In pratica, il software calcola automaticamente la linea basale per tutte le tracce. Per impostare un valore specifico di linea basale, deselezionare la casella di controllo Auto (Automatico) e inserire i valori minimo e massimo per l'intervallo di ciclo (da 1 a 9.999). I file di dati per le analisi successive utilizzeranno questo intervallo di ciclo.

- **Log View** (Visualizzazione registro): determina il modo in cui il software visualizza i dati di amplificazione:

- On** (Acceso): i dati di amplificazione vengono visualizzati in un grafico semilogaritmico.
- Off** (Spento) (impostazione predefinita): i dati di amplificazione vengono visualizzati in un grafico lineare.

5. Nella sezione End Point (Punto finale), selezionare il numero di cicli finali per la media quando si effettuano i calcoli dei punti finali:

- **PCR**: il numero di cicli finali di cui calcolare la media per i dati di quantificazione (il valore predefinito è 5).
- **End Point Only run** (Analisi solo nel punto finale): il numero di cicli finali di cui calcolare la media per i dati nel punto finale (il valore predefinito è 2).

6. Nella sezione Melt Curve (Curva di fusione), selezionare il tipo di picco da rilevare (positivo o negativo).

7. Nella sezione Well Selector (Selettore pozzetto), selezionare come visualizzare le etichette pozzetto (in base a tipo di campione, nome target o nome campione).

8. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

Importante: Facendo clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), tutte le preferenze in tutte le schede verranno ripristinate alle impostazioni predefinite originali. Procedere con cautela quando si fa clic su questo pulsante.

Impostazione dei parametri predefiniti del file di dati dell'espressione genica

Baseline Calc. Mode Per impostare i parametri predefiniti per un nuovo file di dati dell'espressione genica

1. Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) per aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).
2. Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), selezionare la scheda Gene Expression (Espressione genica).
3. Specificare i valori per le seguenti impostazioni:
 - **Relative to** (Rispetto a): rappresenta graficamente i dati dell'espressione genica rispetto a un controllo (che inizia con 1) o a zero:
 - Zero**: il software ignora il controllo. Questa è l'impostazione predefinita quando non viene assegnato alcun campione di controllo nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento).
 - Control** (Controllo): il software calcola i dati in relazione al campione di controllo assegnato nella finestra Experiment Setup (Impostazione esperimento).
 - **X-axis** (Asse X): rappresenta graficamente il campione o il target sull'asse delle ascisse.
 - **Y-axis** (Asse Y): rappresenta graficamente la scala lineare, log2 o log10 sull'asse delle ordinate.
 - **Scaling** (Scala): l'opzione di scala per il grafico. L'opzione predefinita è Unscaled (Non scalato):
 - Highest** (Più alto): il software scala il grafico rispetto al punto dati più alto.
 - Lowest** (Più basso): il software scala il grafico rispetto al punto dati più basso.
 - Unscaled** (Non scalato): il software presenta i dati non scalati nel grafico.
 - **Mode** (Modalità): la modalità di analisi, quantità relativa (ΔC_q) o espressione normalizzata ($\Delta\Delta C_q$).
 - **Error Bar** (Barra di errore): la variabilità dei dati presentata come deviazione standard (Std. Dev.) o errore standard della media (Std. Error Mean).
 - **Error Bar Multiplier** (Moltiplicatore barra di errore): il moltiplicatore della deviazione standard utilizzato per rappresentare graficamente le barre di errore (il valore predefinito è 1).
È possibile aumentare il moltiplicatore a 2 o 3.
 - **Sample Types to Exclude** (Tipi di campioni da escludere): i tipi di campione da escludere dall'analisi.

È possibile selezionare uno o più campioni da escludere dall'analisi. Per escludere tutti i tipi di campione, deselezionare le caselle di controllo di ogni tipo di campione selezionato.

4. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

Importante: Facendo clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), tutte le preferenze in tutte le schede verranno ripristinate alle impostazioni predefinite originali. Procedere con cautela quando si fa clic su questo pulsante.

Personalizzazione delle regole di controllo qualità

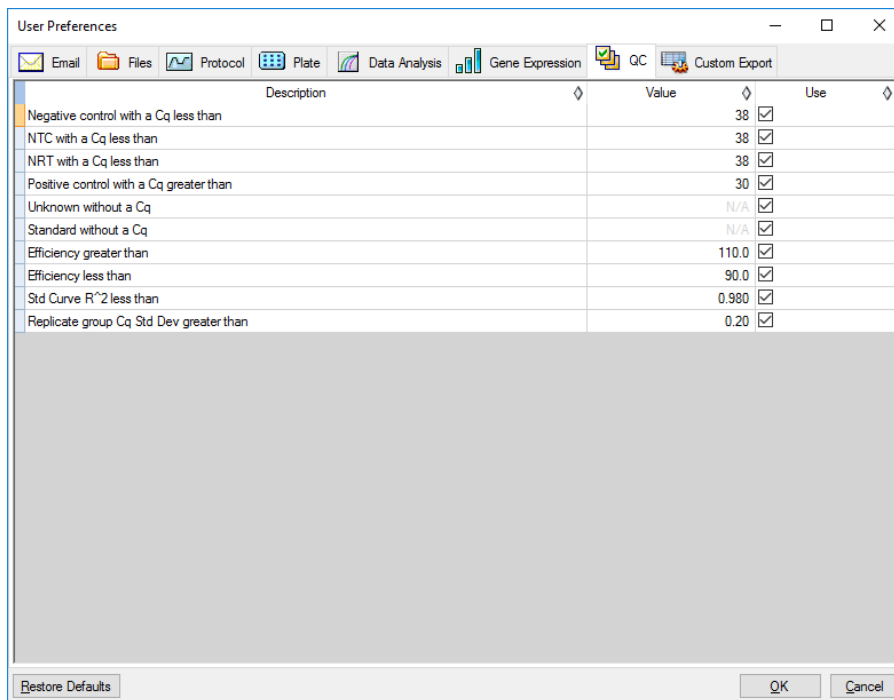
In CFX Maestro Dx SE, è possibile impostare le regole di controllo qualità, che vengono applicate ai dati nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Il software convalida i dati rispetto alle regole impostate.

Nota: per impostazione predefinita, tutte le regole di controllo qualità sono abilitate.

Suggerimento: è possibile escludere facilmente i pozzetti che non rispettano un parametro CQ dall'analisi nel modulo QC (CQ) della finestra Data Analysis (Analisi dei dati).

Per personalizzare le regole di controllo qualità

1. Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) per aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).
2. Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), selezionare la scheda QC (CQ).



Dove:

- **NTC** (No Template Control): controllo senza template
- **NRT** (No Reverse Transcriptase): controllo senza trascrittasi inversa
- **Efficiency** (Efficienza): efficienza della reazione
- **Std Curve R²**: valore R quadrato per la curva standard
- **Replicate group Cq Std Dev**: deviazione standard calcolata per ciascun gruppo di replicati

3. Per ciascuna regola CQ, eseguire una delle seguenti operazioni:

- Per usare il suo valore predefinito, non fare nulla.
- Per modificarne il valore, fare clic sulla relativa casella di testo Value (Valore), digitare un nuovo valore e premere il tasto Enter (Invio).
- Per disabilitare la regola, deselezionare la sua casella di controllo Use (Usa).

4. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

Importante: Facendo clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), tutte le preferenze in tutte le schede verranno

ripristinate alle impostazioni predefinite originali. Procedere con cautela quando si fa clic su questo pulsante.

Personalizzazione dei parametri di esportazione dati

È possibile esportare dati CFX Maestro Dx SE nei seguenti formati:

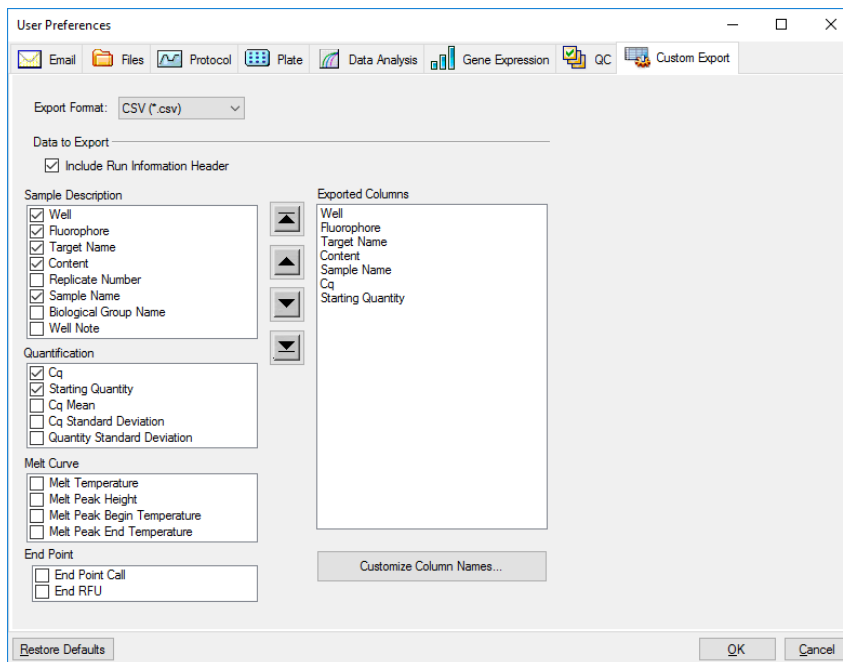
- Testo (.txt)
- CSV (.csv)
- Excel (.xls, .xlsx)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

Importante: sul computer in uso deve essere installato Microsoft Excel per poter esportare i dati in un foglio di calcolo Microsoft Excel.

È possibile specificare il tipo di dati da esportare e personalizzare la stampa dei dati esportati.

Per personalizzare i parametri di esportazione dati

1. Selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) per aprire la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).
2. Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), selezionare la scheda Custom Export (Personalizza esportazione).



3. Nell'elenco a discesa Export Format (Formato esportazione), selezionare un formato in cui esportare i dati.
4. Nella sezione Data to Export (Dati da esportare), selezionare o deselezionare le caselle di controllo per il tipo di dati da esportare. Gli elementi selezionati vengono visualizzati nella casella di riepilogo Exported Columns (Colonne esportate).

Nota: per impostazione predefinita, le informazioni sull'analisi sono incluse nell'intestazione. Deselezionare questa casella di controllo se si desidera che le informazioni sull'analisi non vengano incluse.

5. È possibile cambiare l'ordine di visualizzazione di stampa degli elementi selezionati.

Nella casella di elenco Exported Columns (Colonne esportate), selezionare l'elemento, quindi fare clic sui pulsanti freccia a sinistra dell'elenco per spostarlo su o giù.

6. Facoltativamente, è possibile cambiare i nomi delle colonne di output degli elementi selezionati:

- a. Fare clic su Customize Column Names (Personalizza nomi colonna).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Column Name Customizer (Personalizzazione nomi colonna).

- b. Per ciascun nome di colonna predefinito che si desidera modificare, digitare il nuovo nome nel campo Custom Name (Personalizza nome) corrispondente.

- c. Eseguire una delle seguenti operazioni:
- Fare clic su OK per salvare le modifiche e tornare alla scheda Custom Export (Personalizza esportazione). Il nuovo nome viene visualizzato tra parentesi accanto al nome di colonna predefinito nella casella di riepilogo Exported Columns (Colonne esportate).
 - Fare clic su Cancel (Annulla) per annullare le modifiche e tornare alla scheda Custom Export (Personalizza esportazione).

7. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

Importante: Facendo clic su Restore Defaults (Ripristina impostazioni predefinite) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), tutte le preferenze in tutte le schede verranno ripristinate alle impostazioni predefinite originali. Procedere con cautela quando si fa clic su questo pulsante.

Capitolo 7 Creazione di protocolli

Un protocollo è una serie di fasi che vengono eseguite in una determinata sequenza. Nel Software CFX Maestro Dx, Security Edition, tutte le fasi sono associate alle opzioni sullo strumento. Ad esempio, le fasi indicano allo strumento di controllare la temperatura del blocco e del coperchio, applicare una differenza di temperatura nel blocco, effettuare la lettura di una piastra o eseguire l'analisi della curva di fusione. Ogni opzione viene specificata per i vari tipi di piastre e di analisi.

CFX Maestro Dx SE offre due opzioni per la creazione di protocolli: Protocol Editor (Editor protocollo) e Protocol AutoWriter (Autowriter protocollo).

Le funzioni dell'editor protocollo includono quanto segue:

- Controlli del protocollo standard per creare protocolli in modo rapido
- Possibilità di calcolare rapidamente un gradiente per il numero di file selezionato
- Possibilità di calcolare rapidamente il tempo di esecuzione per il tipo di piastra selezionato
- Possibilità di modificare le fasi del protocollo
- Possibilità di salvare i protocolli per successivi riutilizzi
- Possibilità di stampare il protocollo su una stampante predefinita

L'autowriter protocollo genera automaticamente un protocollo PCR personalizzato con le diverse fasi di attivazione enzimatica (hot start), denaturazione iniziale, annealing ed estensione utilizzando i parametri forniti dall'utente. È inoltre possibile visualizzare una rappresentazione grafica del protocollo suggerito e modificare, eseguire o salvare il protocollo.

Parametri e intervalli per le fasi del protocollo

Utilizzare le informazioni della [Tabella 7](#) per modificare le impostazioni predefinite per le fasi del protocollo.

Fasi della temperatura

La temperatura target è un valore compreso tra 4,0 e 100,0 °C, impostato in decimi di grado. Il sistema raggiunge questa temperatura e mantiene quel valore per un periodo di tempo specificato (il tempo di mantenimento).

Fasi del gradiente

L'intervallo di gradiente è la differenza tra la temperatura inferiore e quella superiore in una fase del gradiente. L'intervallo massimo consentito è di 24 °C. La temperatura inferiore è un valore compreso tra 30,0 e 99,0 °C, impostato in decimi di grado. La temperatura superiore massima è di 100 °C. Il termociclature aumenta fino al gradiente di temperatura target attraverso il blocco e mantiene quella temperatura per un tempo di mantenimento specificato.

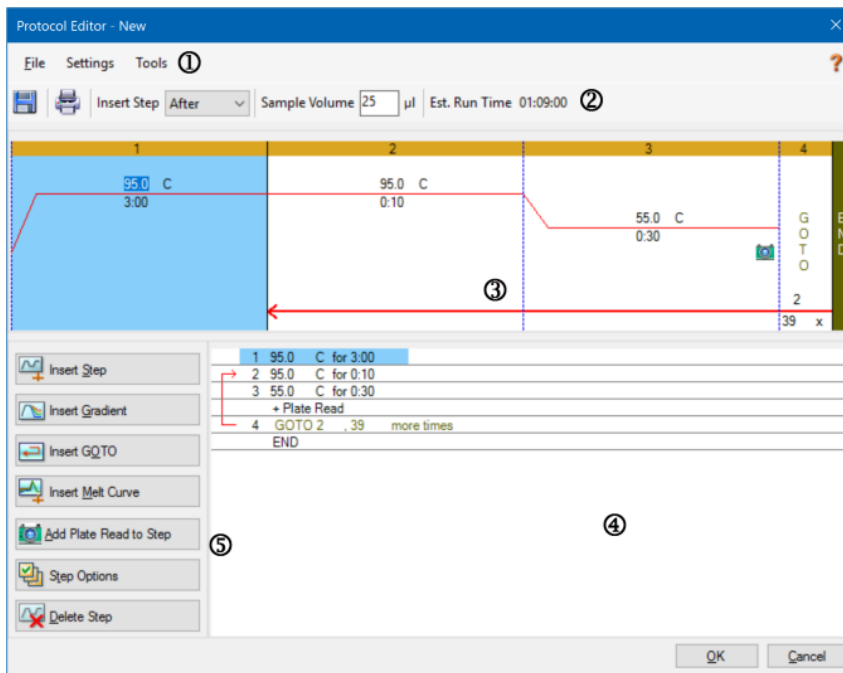
Importante: lo strumento calcola il valore del gradiente. Quando si immette un valore nei campi superiore e inferiore del calcolatore del gradiente, il software calcola e assegna automaticamente le temperature per i campi rimanenti. Quando si immette una temperatura in un campo qualsiasi tra il campo superiore e quello inferiore, lo strumento calcola automaticamente i campi rimanenti. Non è possibile inserire manualmente un valore di temperatura in ogni campo.

Tabella 7. Parametri e intervalli per le fasi del protocollo

Parametro	Intervallo	Descrizione
Ramp rate (Velocità di rampa)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Per i sistemi CFX Opus 96 Dx: 0,1 - 5 °C al sec ■ Per i sistemi CFX Opus 384 Dx: 0,1 - 2,5 °C al sec ■ Per i sistemi CFX Opus Deepwell Dx: 0,1 - 2,5 °C al sec 	<p>Indica al termociclatore di raggiungere la temperatura target alla velocità specificata in quella fase.</p> <p>Disponibile solo per fasi di temperatura.</p>
Increment (Incremento)	Un numero compreso tra -10,0 e 10,0 °C per ciclo in decimi di grado	<p>Indica al termociclatore di modificare la temperatura target di un'unità per ogni ciclo, dove un numero positivo aumenta la temperatura e un numero negativo la diminuisce.</p> <p>Disponibile solo per fasi di temperatura.</p>
Extend (Estendi)	Un tempo compreso tra -60 e 60 sec per ciclo	<p>Indica al termociclatore di estendere il tempo di mantenimento per ogni ciclo. Un numero positivo aumenta il tempo di mantenimento, mentre un numero negativo lo diminuisce.</p> <p>Disponibile per entrambe le fasi della temperatura e del gradiente.</p>
Beep (Segnale acustico)	(Nessun parametro)	<p>Indica al termociclatore di emettere un segnale acustico per segnalare che il termociclatore ha raggiunto la temperatura target per quella fase.</p> <p>Disponibile solo per fasi di temperatura.</p>
Plate read (Lettura piastra)	(Nessun parametro)	<p>Indica al termociclatore di aggiungere una lettura della piastra nella fase selezionata.</p> <p>Disponibile per entrambe le fasi della temperatura e del gradiente.</p>

Finestra dell'editor protocollo

Utilizzare l'editor protocollo per creare, aprire, rivedere e modificare un protocollo. Per impostazione predefinita, l'editor protocollo apre un protocollo a 2 fasi in tempo reale per una piastra da 96 pozzetti.



LEGENDA

1. La barra dei menu fornisce un accesso rapido ai comandi dei menu File (File), Settings (Impostazioni) e Tools (Strumenti).
2. La barra degli strumenti offre l'accesso rapido per salvare e stampare il protocollo, stabilire dove inserire una fase, impostare il volume del campione e visualizzare il tempo stimato di esecuzione del protocollo.
3. Nel riquadro principale è visualizzata una rappresentazione grafica del protocollo.
4. Nel riquadro inferiore appare la struttura del protocollo.
5. Nel riquadro di sinistra sono visualizzati i controlli del protocollo che è possibile aggiungere per personalizzare il protocollo.

Comandi del menu File

Save (Salva): consente di salvare il protocollo corrente.

Save As (Salva con nome): consente di salvare il protocollo corrente con un nuovo nome o in un nuovo percorso.

File Passwords (Password file): consente agli utenti di impostare le password di salvataggio e apertura file.

Suggerimento: per ulteriori informazioni, vedere [Password di protezione dei file a pagina 52](#).

Close (Chiudi): consente di chiudere l'editor protocollo.

Comando del menu Settings (Impostazioni)

Lid Settings (Impostazioni coperchio): apre la finestra di dialogo Lid Setting (Impostazione coperchio) in cui si può modificare o impostare la temperatura del coperchio.

Comandi del menu Tools (Strumenti)

Gradient Calculator (Calcolatore gradiente): apre una finestra di dialogo dalla quale è possibile selezionare il tipo di blocco per una fase gradiente. L'impostazione predefinita è 96 pozzetti.

Run time Calculator (Calcolatore tempo di analisi): apre una finestra di dialogo dalla quale è possibile selezionare il tipo di piastra e la modalità di scansione per calcolare il tempo di analisi stimato nella finestra Run Setup (Impostazione analisi). L'impostazione predefinita è 96 pozzetti, All channels (Tutti i canali).

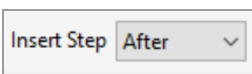
Comandi della barra degli strumenti



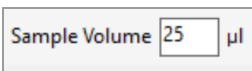
: consente di salvare il file del protocollo corrente.



: consente di stampare la finestra selezionata.



: questo comando consente di scegliere dove inserire i passaggi relativi alla fase attualmente selezionata.



: questo comando consente di immettere un volume di campione in µl. I volumi dei campioni variano in base al tipo di blocco:

- Per un blocco da 96 pozzetti, l'intervallo è compreso tra 0 e 50 µl.
- Per un blocco da 384 pozzetti, l'intervallo è compreso tra 0 e 30 µl.

- Per un blocco da 96 pozzetti profondi, l'intervallo è compreso tra 0 e 125 µl.



: consente di visualizzare il tempo di esecuzione stimato in base alle fasi del protocollo, alla velocità di rampa e al tipo di blocco selezionati.

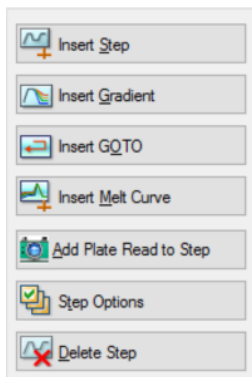


: consente di visualizzare informazioni della Guida sui protocolli.

Comandi di modifica protocollo

Il riquadro sinistro della finestra dell'editor protocollo comprende i comandi che è possibile utilizzare per creare i protocolli.

Ciascun controllo è composto da una serie di parametri che rappresentano una fase nel protocollo. È possibile modificare ciascun parametro e aggiungerlo o rimuoverlo per personalizzare il protocollo. Questa sezione descrive le opzioni disponibili in ogni controllo.



- **Insert Step** (Inserisci fase): inserisce una fase prima o dopo la fase selezionata. È possibile modificare i valori della temperatura e del tempo di mantenimento nella visualizzazione grafica del protocollo o nella struttura del protocollo.
- **Insert Gradient** (Inserisci gradiente): inserisce una fase gradiente in base al tipo di blocco del pozzetto selezionato nel calcolatore del gradiente. È possibile modificare l'intervallo del gradiente nel riquadro Gradient (Gradiente) che viene visualizzato quando si inserisce una fase gradiente.
- **Insert GOTO** (Inserisci GOTO): inserisce una fase ciclica (loop), che indica al software di ripetere determinate fasi in sequenza per un numero di cicli specificato. Le ripetizioni iniziano dopo il completamento del primo ciclo. Ad esempio, è possibile indicare il software di eseguire 39 ripetizioni delle fasi 2–4. Dopo la ripetizione finale, il software avrà eseguito le fasi 2–4 per un totale di 40 volte. È possibile modificare la fase di ritorno (GOTO) e il numero di cicli nella visualizzazione grafica o nella struttura del protocollo.
- **Insert Melt Curve** (Inserisci curva di fusione): inserisce una fase di lettura della curva di fusione.
- **Insert Plate Read to Step** (Inserisci lettura piastra nella fase): aggiunge un comando di lettura piastra alla fase selezionata. Una lettura piastra misura la quantità di fluorescenza alla fine di un ciclo. La fase di lettura piastra di solito è l'ultima fase in un loop GOTO.

Suggerimento: dopo aver aggiunto un comando di lettura piastra a una fase, il pulsante cambia in Remove Plate Read (Rimuovi lettura piastra) quando si seleziona la fase.

- **Remove Plate Read** (Rimuovi lettura piastra): rimuove un comando di lettura piastra dalla fase selezionata.

Suggerimento: dopo aver rimosso un comando di lettura piastra da una fase, il pulsante cambia in Add Plate Read to Step (Aggiungi lettura piastra alla fase) quando si seleziona la fase.

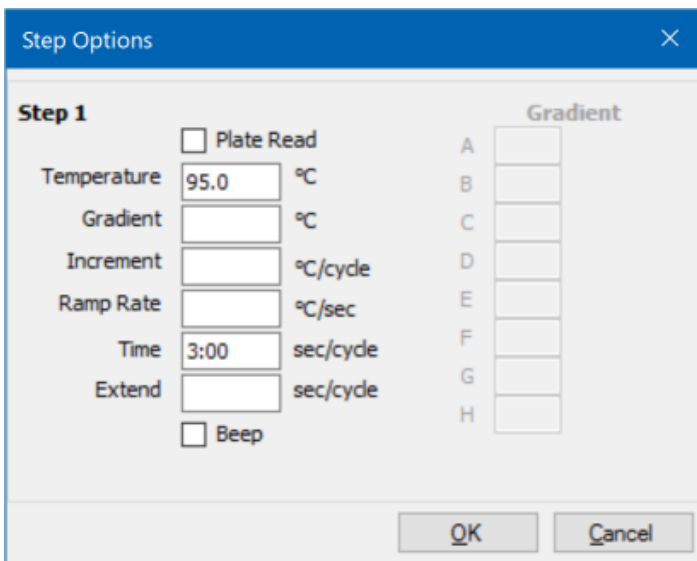
- **Step Options** (Opzioni fase): apre la finestra di dialogo Step Options (Opzioni fase) e visualizza le opzioni disponibili per la fase selezionata. Per informazioni dettagliate sulle opzioni della fase, vedere [Opzioni fase a pagina 106](#).

Suggerimento: è inoltre possibile accedere alle opzioni della fase facendo clic con il pulsante destro del mouse sulla fase nella visualizzazione grafica.

- **Delete Step** (Elimina fase): elimina la fase selezionata dal protocollo.

Opzioni fase

Aprire la finestra di dialogo Step Options (Opzioni fase) per visualizzare le opzioni che è possibile aggiungere, modificare o rimuovere da una fase.



- **Plate Read** (Lettura piastra): quando è selezionata questa opzione, viene aggiunta una lettura piastra alla fase.
- **Temperature** (Temperatura): imposta la temperatura target per la fase selezionata.
- **Gradient** (Gradiente): imposta l'intervallo gradiente per la fase; l'intervallo è compreso tra 1 e 24 °C.

Nota: viene eseguito un gradiente con la temperatura più bassa nella parte anteriore del blocco (fila H in questa immagine) e la temperatura più alta nella parte posteriore del blocco (fila A in questa immagine).

- **Increment** (Incremento): la quantità per aumentare (o diminuire) la temperatura della fase selezionata; questo valore viene aggiunto alla temperatura target con ogni ciclo. L'intervallo è compreso tra $\pm 0,1$ e 10 °C.
- **Nota:** per diminuire la temperatura, immettere un segno meno (-) prima del valore numerico (ad esempio, -5 °C).
- **Ramp Rate** (Velocità di rampa): la velocità di rampa per la fase selezionata; l'intervallo dipende dalle dimensioni del blocco.
- **Time** (Tempo): il tempo di mantenimento della fase selezionata.

- **Extend** (Estendi): la quantità di tempo (in sec) per prolungare o ridurre la fase selezionata; questa opzione viene aggiunta al tempo di mantenimento in ogni ciclo; l'intervallo è compreso tra ± 1 e 60 sec.
- **Beep** (Segnale acustico): se selezionato, viene emesso un segnale acustico durante la fase.

Suggerimento: quando si immette un valore che non rientra nell'intervallo dell'opzione, il software lo modifica con il valore più vicino compreso nell'intervallo.

Creazione di un protocollo nell'editor protocollo

Usando l'editor protocollo, è possibile creare file protocollo personalizzati. Inoltre, è possibile modificare e salvare i file di protocollo precedentemente salvati o i file di protocollo campione spediti con CFX Maestro Dx SE.

Per creare un nuovo file protocollo, procedere come segue:

- Aprire un file protocollo nell'editor protocollo.

Suggerimento: è possibile aprire un protocollo nuovo o esistente nell'editor del protocollo.

- Impostare il nuovo protocollo.
- Aggiungere fasi al protocollo dal riquadro dei controlli del protocollo.
- Modificare le proprietà delle fasi.
- Salvare il protocollo.

Suggerimento: per creare un nuovo protocollo da un file di protocollo salvato in precedenza o di esempio, vedere [Apertura di un protocollo esistente nell'editor protocollo a pagina 110](#).

Apertura di un nuovo file di protocollo nell'editor protocollo

CFX Maestro Dx SE offre più opzioni per aprire un nuovo file di protocollo:

- Dal menu File nella finestra Home
- Dalla finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi) nella finestra Home
- Dalla finestra di dialogo Startup Wizard (Procedura guidata di avvio) nella finestra Home

Per aprire un nuovo file di protocollo dal menu File

- ▶ Nella finestra Home, selezionare File > New > Protocol (File > Nuovo > Protocollo).

Viene visualizzata la finestra dell'editor protocollo con il file di protocollo predefinito.

Suggerimento: per le informazioni sull'impostazione del protocollo predefinito, vedere [Modifica delle impostazioni file predefinite a pagina 85](#).

Per aprire un nuovo protocollo dalla finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi)

1. Nella finestra Home, eseguire una delle seguenti operazioni per aprire la finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi):
 - Selezionare Run > User-defined Run (Analisi > Analisi definita dall'utente).

- Fare clic su User-defined Run Setup (Impostazione analisi definita dall'utente) nella barra degli strumenti.

Si apre la finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi) nella scheda Protocol (Protocollo) e visualizza il file di protocollo predefinito.

2. Fare clic su Create New (Crea nuovo).

Viene visualizzata la finestra dell'editor protocollo con il protocollo in tempo reale predefinito.

Per aprire un nuovo file di protocollo dalla procedura guidata di avvio

1. Nella finestra Home, eseguire una delle seguenti operazioni per aprire la procedura guidata di avvio se non è già visualizzata:

- Selezionare View > Startup Wizard (Visualizza > Procedura guidata di avvio).
- Fare clic su Startup Wizard (Procedura guidata di avvio) nella barra degli strumenti.

2. Se necessario, selezionare il tipo di strumento dall'elenco a discesa.

3. Fare clic su User-defined (Definito dall'utente) come tipo di analisi.

Si apre la finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi) nella scheda Protocol (Protocollo) e visualizza il file di protocollo predefinito.

4. Fare clic su Create New (Crea nuovo).

Viene visualizzata la finestra dell'editor protocollo con il protocollo in tempo reale predefinito.

Per aprire un nuovo protocollo dal menu Run (Analisi)

1. Nella finestra Home, eseguire una delle seguenti operazioni per aprire la finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi):

- Selezionare Run > User-defined Run (Analisi > Analisi definita dall'utente).
- Fare clic su User-defined Run Setup (Impostazione analisi definita dall'utente) nella barra degli strumenti.

Si apre la finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi) nella scheda Protocol (Protocollo) e visualizza il file di protocollo predefinito.

2. Fare clic su Create New (Crea nuovo).

Viene visualizzata la finestra dell'editor protocollo con il protocollo in tempo reale predefinito.

Apertura di un protocollo esistente nell'editor protocollo

CFX Maestro Dx SE fornisce i file protocollo campione che è possibile modificare e salvare come nuovi protocolli personalizzati. È inoltre possibile creare un nuovo protocollo da un protocollo personalizzato esistente.

Per aprire un file protocollo di esempio

1. Nella finestra Home, selezionare File > Open > Protocol (File > Apri > Protocollo).
Per impostazione predefinita, Windows Explorer (Esplora risorse) si apre nel percorso della cartella dei file di esempio di CFX Maestro Dx SE.
2. Aprire la cartella dei file di esempio. Sono presenti le seguenti cartelle:
 - **ConventionalProtocols** (Protocolli convenzionali): contiene i file protocollo di esempio per l'analisi PCR tradizionale.
 - **DataFiles** (File di dati): contiene i file di dati di esempio che è possibile utilizzare per esplorare le funzioni di CFX Maestro Dx SE.
 - **MeltCalibration** (Calibrazione di fusione): contiene i file protocollo di esempio da utilizzare con il software Precision Melt Analysis di Bio-Rad.
 - **Plates** (Piastrine): contiene i file piastra di esempio.
 - **RealTimeProtocols** (Protocolli in tempo reale): contiene i file protocollo di esempio per l'analisi PCR in tempo reale.
3. Aprire la cartella del protocollo per il tipo di analisi che si intende effettuare, ConventionalProtocols (Protocolli convenzionali) o RealTimeProtocols (Protocolli in tempo reale).
4. Selezionare il protocollo che si è scelto e fare clic su Open (Apri).
Il protocollo di esempio viene aperto nella finestra Protocol Editor (Editor protocollo).
5. Selezionare File > Save As (File > Salva con nome) e salvare il protocollo con un nuovo nome o in una nuova cartella.

Per aprire un protocollo esistente

1. Nella finestra Home, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Selezionare File > Open > Protocol (File > Apri > Protocollo), accedere al protocollo target, selezionarlo e fare clic su Open (Apri).
 - Aprire la procedura guidata di avvio ed eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per modificare il protocollo visualizzato, fare clic su Edit Selected (Modifica selezione).

- Per modificare un altro protocollo esistente, fare clic su Select Existing (Seleziona esistente) e accedere al file target.

Il protocollo viene aperto nella finestra Protocol Editor (Editor protocollo).

2. Selezionare File > Save As (File > Salva con nome) e salvare il protocollo con un nuovo nome o in una nuova cartella.

Impostazione di un nuovo protocollo

Suggerimento: se il file del protocollo include i parametri richiesti (ad esempio, se si sta modificando un file piastra esistente) è possibile saltare questo paragrafo. Passare al capitolo [Aggiunta di fasi ad un protocollo a pagina 113](#).

I nuovi file protocollo richiedono i seguenti parametri:

- Tipo di blocco
- Modalità di scansione per il tipo di blocco scelto
- Temperatura del coperchio
- Volume del campione

Impostazione del tipo di blocco

CFX Maestro Dx SE calcola automaticamente gli incrementi della temperatura per le fasi gradiente in base al tipo di blocco.

Nota: il tipo di piastra impostato nell'editor protocollo deve corrispondere alla piastra presente nel modulo di reazione.

Per impostare il tipo di blocco

- ▶ Nella finestra Protocol Editor (Editor protocollo), selezionare Tools > Gradient Calculator (Strumenti > Calcolatore gradiente) e scegliere il tipo di piastra appropriato nell'elenco a discesa visualizzato.

Selezione della modalità di scansione per il tipo di blocco scelto

Per determinare il tempo di esecuzione del protocollo, selezionare il tipo di blocco target e la modalità di scansione.

Per selezionare il tipo di blocco e la modalità di scansione

- ▶ Nella finestra Protocol Editor (Editor protocollo), selezionare Tools > Run time Calculator (Strumenti > Calcolatore tempo di esecuzione) e scegliere il tipo di piastra e la modalità di scansione appropriati nell'elenco a discesa visualizzato.

Regolazione della temperatura del coperchio

CFX Maestro Dx SE imposta le temperature predefinite del coperchio nel seguente modo:

- Strumenti a 96 pozzetti e a pozzetti profondi: 105,0 °C
- Strumenti a 384 pozzetti: 95,0 °C

È possibile modificare le impostazioni predefinite o disattivare il riscaldatore del coperchio, come ritenuto necessario per il protocollo.

Per regolare la temperatura del coperchio

1. Nella finestra dell'editor piastra, selezionare Settings > Lid Settings (Impostazioni > Impostazioni coperchio).
Viene visualizzata la finestra di dialogo Lid Settings (Impostazioni coperchio).
2. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Selezionare User Defined (Definito dall'utente) e immettere un valore per la temperatura nella casella di testo.
 - Selezionare Turn Off Lid Heater (Spegni riscaldatore coperchio).
3. Fare clic su OK per accettare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo.

Impostazione del volume del campione

Per impostazione predefinita, CFX Maestro Dx SE imposta il volume campione per ciascun pozzetto a 25 µl. I volumi dei campioni variano in base al tipo di blocco, ad esempio:

- 0–50 µl per un blocco a 96 pozzetti
- 0–30 µl per un blocco a 384 pozzetti

Lo strumento utilizza una delle due modalità di controllo della temperatura per determinare quando il campione raggiunge la temperatura target in un protocollo:

- **Calculated mode** (Modalità calcolata): quando il volume del campione è impostato su un volume diverso da zero appropriato per il blocco, lo strumento calcola la temperatura del campione in base al volume del campione. Questa è la modalità standard.
- **Block mode** (Modalità blocco): quando il volume del campione è impostato su zero (0) µl, lo strumento registra la temperatura del campione come se fosse uguale alla temperatura del blocco misurata.

Per impostare il volume del campione per un blocco specifico

- ▶ Nella finestra Plate Editor (Editor piastra), digitare il valore corretto nella casella di testo Sample Volume (Volume campione) nella barra degli strumenti.

Suggerimento: nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente) è possibile modificare il volume predefinito del campione. Fare riferimento a [Modifica delle impostazioni file predefinite a pagina 85](#).

Aggiunta di fasi ad un protocollo

Per aggiungere una fase al protocollo

1. Aprire il protocollo nella finestra Protocol Editor (Editor protocollo).
2. Stabilire dove inserire la nuova fase. Nella barra degli strumenti, selezionare Before (Prima) o After (Dopo) nell'elenco a discesa Step (Fase).
3. Nel grafico, selezionare la fase prima o dopo la quale si intende inserire la nuova fase.
4. Nel riquadro di sinistra, fare clic su Insert Step (Inserisci fase).
5. Per cambiare la temperatura o il tempo di mantenimento, fare clic sul valore predefinito presente sul grafico o sulla struttura del protocollo e digitare un nuovo valore.
6. (Facoltativo) Nel riquadro di sinistra, fare clic su Step Options (Opzioni fase) per visualizzare la finestra di dialogo Step Options (Opzioni fase) e modificare le opzioni disponibili per la fase selezionata.

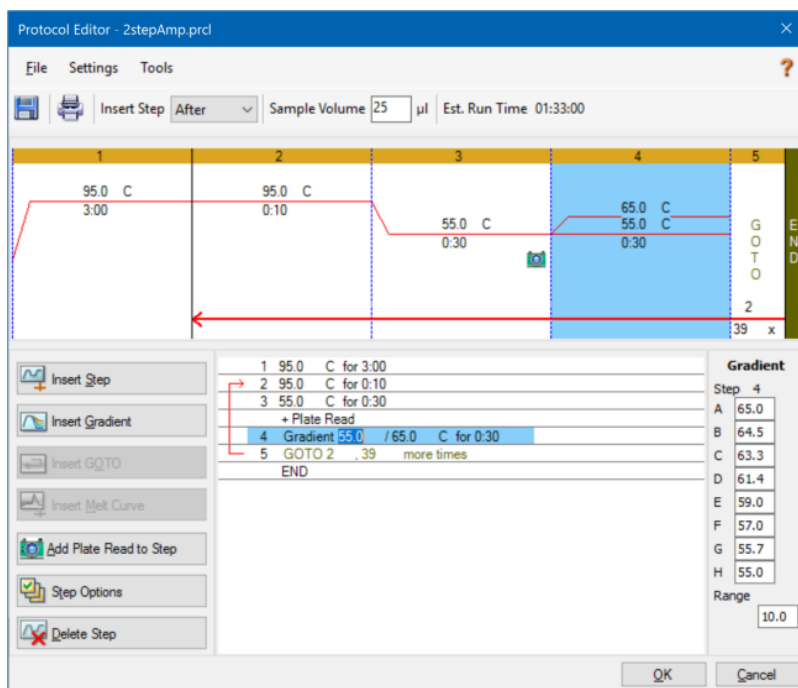
Suggerimento: è possibile accedere alla finestra di dialogo Step Options (Opzioni fasi) del menu di scelta rapida nel riquadro del grafico o nel riquadro della struttura del protocollo.

7. Fare clic su OK e poi su Yes (Sì) per salvare le modifiche apportate al protocollo.
Viene visualizzata la finestra di dialogo Save As (Salva con nome).
8. Nella finestra di dialogo Save As (Salva con nome), immettere un nome per il nuovo file di protocollo e fare clic su Save (Salva).

Inserimento di una fase gradiente

Per inserire una fase gradiente

1. Verificare che le dimensioni della piastra per il gradiente corrispondano a quelle del tipo di blocco dello strumento, a 96 pozzetti, 384 pozzetti o a pozzetti profondi.
2. Se non è già stato fatto, selezionare le dimensioni della piastra per il gradiente:
Selezionare Tools > Gradient Calculator (Strumenti > Calcolatore gradiente) e scegliere il tipo di pozzetto appropriato dall'elenco a discesa.
3. Nella barra degli strumenti, selezionare Before (Prima) o After (Dopo) dall'elenco a discesa Insert Step (Inserisci fase).
4. Nel grafico o nel riquadro della struttura, selezionare la fase prima o dopo la quale si programma di inserire la fase gradiente.
5. Nel riquadro di sinistra, fare clic su Insert Gradient (Inserisci gradiente). La nuova fase gradiente viene evidenziata nel grafico e nel riquadro della struttura, ad esempio:



La temperatura di ciascuna riga nel gradiente viene visualizzata nella tabella del gradiente nel riquadro a destra.

6. Per modificare l'intervallo della temperatura del gradiente, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Fare clic sulla temperatura predefinita nel grafico o nel riquadro della struttura e inserire una nuova temperatura.
 - Fare clic su Step Options (Opzioni fase) per inserire l'intervallo di gradiente nella finestra Step Options (Opzioni fase).
 - Modificare il valore Range (Intervallo) nella tabella del gradiente.
7. Per modificare il tempo di conservazione, fare clic sul tempo predefinito nella vista a grafico o a testo e inserire un nuovo tempo.
8. Fare clic su OK, quindi su Yes (Sì) per salvare le modifiche.

Inserimento di una fase GOTO

Nota: non è possibile inserire una fase GOTO in una serie GOTO; non è possibile creare loop GOTO annidati.

Per inserire una fase GOTO

1. Nella barra degli strumenti, selezionare Before (Prima) o After (Dopo) dall'elenco a discesa Insert Step (Inserisci fase).
2. Nel grafico, selezionare la fase prima o dopo la quale si programma di inserire la fase GOTO.
3. Nel riquadro di sinistra, fare clic su Insert GOTO (Inserisci GOTO).
4. Per modificare il numero di fase GOTO o il numero di ripetizioni GOTO, selezionare il numero predefinito nel grafico o nel riquadro struttura e immettere un nuovo valore.
5. Fare clic su OK, quindi su Yes (Sì) per salvare le modifiche.

Inserimento di una fase della curva di fusione

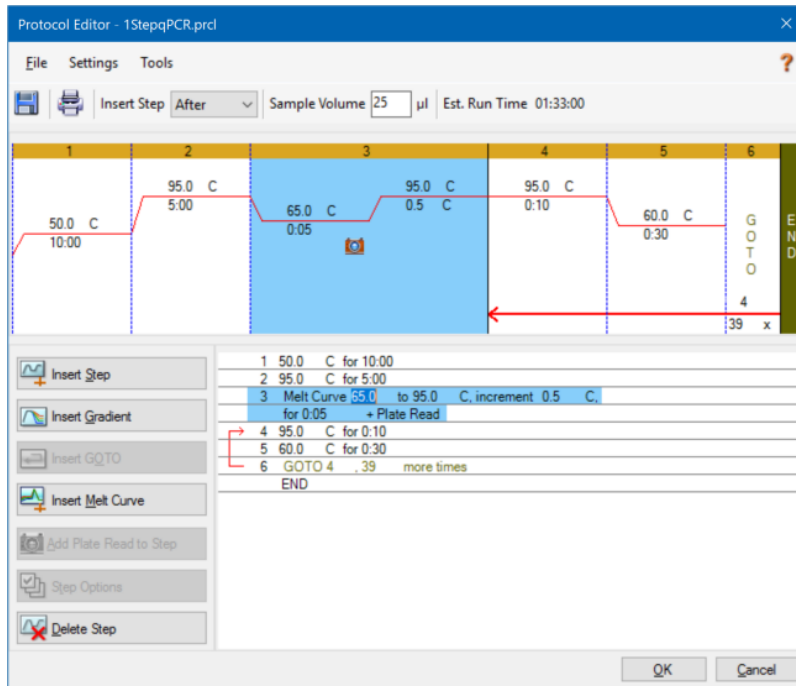
Suggerimento: non è possibile inserire una fase della curva di fusione all'interno di un loop GOTO.

Nota: la fase della curva di fusione include un'attesa di 30 sec all'inizio della fase che non viene visualizzata nel protocollo.

Per inserire una fase di curva di fusione

1. Nella barra degli strumenti, selezionare Before (Prima) o After (Dopo) dall'elenco a discesa Insert Step (Inserisci fase).
2. Nel grafico, selezionare la fase prima o dopo la quale si programma di inserire la fase di curva di fusione.

3. Nel riquadro di sinistra, fare clic su Insert Melt Curve (Inserisci curva di fusione). La nuova fase di curva di fusione viene evidenziata nel grafico e nel riquadro della struttura, ad esempio:



4. Per modificare l'intervallo della temperatura di fusione o il tempo di incremento, selezionare il numero predefinito nel grafico o nel riquadro struttura e inserire un nuovo valore.
5. Fare clic su OK, quindi su Yes (Sì) per salvare le modifiche.

Aggiunta o rimozione di una fase di lettura piastra

Suggerimento: dopo aver aggiunto un comando di lettura piastra a una fase, il pulsante cambia in Remove Plate Read (Rimuovi lettura piastra) quando si seleziona la fase.

Per aggiungere una lettura piastra ad una fase

1. Nella barra degli strumenti, selezionare Before (Prima) o After (Dopo) dall'elenco a discesa Insert Step (Inserisci fase).
2. Nel grafico, selezionare la fase prima o dopo la quale si prevede di inserire la fase di lettura piastra.
3. Nel riquadro a sinistra, fare clic su Add Plate Read to Step (Aggiungi lettura piastra alla fase) per aggiungere una lettura piastra alla fase selezionata.
4. Fare clic su OK, quindi su Yes (Sì) per salvare le modifiche.

Per rimuovere una lettura piastra da una fase

- Sul grafico, selezionare la fase che contiene la lettura piastra e fare clic su Remove Plate Read (Rimuovi lettura piastra) nel riquadro a sinistra.

Modifica delle opzioni della fase

Per cambiare le opzioni della fase per la fase selezionata

1. Selezionare la fase target nel grafico o nel riquadro struttura.
2. Nel riquadro di sinistra, fare clic su Step Options (Opzioni fase) per aprire la finestra di dialogo Step Options (Opzioni fase).

In alternativa, fare clic con il tasto destro del mouse sulla fase target in uno dei riquadri e selezionare Step Options (Opzioni fase) nel menu che appare.
3. Per aggiungere, modificare o rimuovere le opzioni:
 - Immettere un valore nella casella di testo appropriata.
 - Modificare un valore nella casella di testo specifica.
 - Selezionare o deselezionare una casella di controllo.
4. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo Step Options (Opzioni fase).
5. Fare clic su OK e poi su Yes (Sì) per salvare il protocollo.

Eliminazione di una fase

Importante: questa funzione non può essere annullata. Procedere con cautela quando si eliminano le fasi.

Per eliminare una fase del protocollo

1. Selezionare la fase nel grafico o nel riquadro struttura.
2. Nel riquadro di sinistra, fare clic su Delete Step (Elimina fase) per eliminare la fase selezionata.
3. Fare clic su OK e poi su Yes (Sì) per salvare il protocollo.

Copia, esportazione o stampa di un protocollo

Per copiare un protocollo

- ▶ Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla struttura del protocollo e scegliere Copy Protocol (Copia protocollo).

È possibile incollare la struttura in un file .txt, .xls, .doc o .ppt.

Per esportare un protocollo

1. Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla struttura del protocollo e selezionare Export Protocol (Esporta protocollo).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Save As (Salva con nome).

2. (Facoltativo) In Windows Explorer, navigare fino alla cartella in cui salvare il file del protocollo.
3. Nel campo File name (Nome file), digitare un nome per il file del protocollo esportato.
4. Fare clic su Save (Salva).

Per stampare un protocollo

- ▶ Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla struttura del protocollo e selezionare Print (Stampa).

È possibile stampare la struttura del protocollo sulla stampante predefinita.

Creazione di un protocollo con Protocol AutoWriter (AutoWriter protocollo)

Importante: Bio-Rad non garantisce che l'esecuzione di un protocollo creato con Protocol AutoWriter (AutoWriter protocollo) generi sempre un prodotto di PCR.

L'autowriter protocollo di CFX Maestro Dx SE genera automaticamente protocolli di ciclo in base ai seguenti parametri di input:

- **Amplicon length** (Lunghezza amplicone): la lunghezza prevista del prodotto di PCR
- **Annealing temperature** (Temperatura di annealing): la reazione T_a per i primer utilizzati

Se il valore di T_a non è noto, è possibile utilizzare il calcolatore T_a per calcolarlo automaticamente in base alle sequenze del primer.

Nota: il valore di T_a viene regolato secondo le informazioni relative alla temperatura di fusione del primer (T_m) che sono basate sull'enzima selezionato e sulla velocità di protocollo.
- **Enzyme type** (Tipo di enzima): l'enzima DNA polimerasi [iTaq, iProof DNA polimerasi (iProof DNA polimerasi) o Other (Altro)]

Se si utilizza un enzima diverso da iTaq o iProof DNA polimerasi, è possibile immettere informazioni aggiuntive, tra cui l'intervallo del gradiente, il tempo di attivazione hot-start (in sec) e il tempo di estensione finale (in sec).
- **Run speed** (Velocità analisi): la velocità di reazione [Standard (Normale), Fast (Veloce) o Ultrafast (Ultraveloce)].

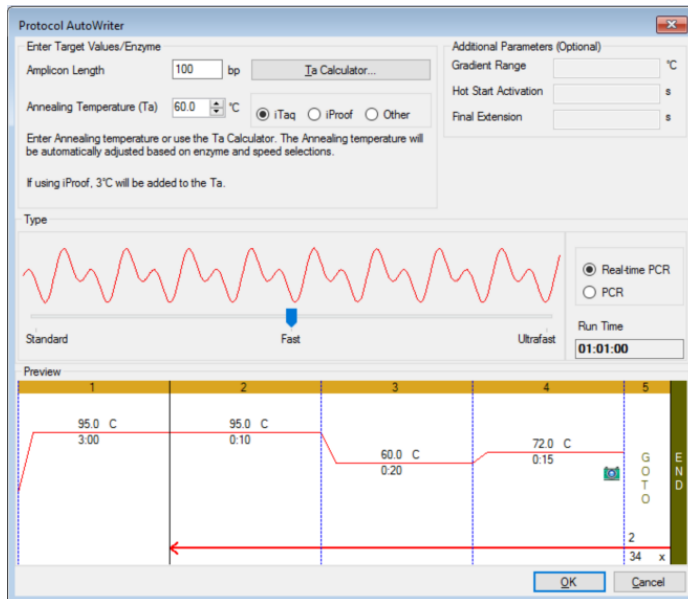
L'autowriter protocollo ottimizza il protocollo in base all'impostazione della velocità selezionata. Il tempo totale di analisi viene determinato dal numero di fasi e cicli, dal tempo di incubazione in ogni fase e dal tempo necessario per il raggiungimento dell'uniformità alla temperatura target.

Utilizzando i parametri immessi e le linee guida standard per la PCR, l'autowriter protocollo genera automaticamente un protocollo PCR personalizzato con le diverse fasi di attivazione enzimatica (hot start), denaturazione iniziale, annealing ed estensione. È inoltre possibile visualizzare una rappresentazione grafica del protocollo suggerito e modificare, eseguire o salvare il protocollo.

Per creare un nuovo protocollo utilizzando l'autowriter protocollo di CFX Maestro Dx SE

1. Nella finestra Home, selezionare Tools > Protocol AutoWriter (Strumenti > Autowriter protocollo).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Protocol AutoWriter (Autowriter protocollo).



2. Nella sezione Enter Target Values/Enzyme (Immetti valori target/enzima), eseguire quanto segue:

- Immettere la temperatura di annealing (T_a) per i primer, se nota.

Suggerimento: per ulteriori informazioni, vedere [Utilizzo del calcolatore \$T_a\$ a pagina 122](#).

Nota: per ulteriori informazioni sui calcoli utilizzati nel calcolatore T_a , vedere Breslauer et al. 1986.

- Immettere la lunghezza dell'amplicone in coppie di basi (bp).
- Selezionare un tipo di enzima dall'elenco di opzioni [iTaq DNA polymerase (iTaq DNA polimerasi), iProof DNA polymerase (iProof DNA polimerasi) o Other (Altro)].

Suggerimento: se si seleziona Other (Altro) come tipo di enzima, i parametri nella sezione Additional Parameters (Parametri aggiuntivi) (opzionale) si attivano.

3. Se è stato selezionato Other (Altro) come tipo di enzima, è possibile aggiungere i seguenti parametri al protocollo:
 - Gradient range (Intervallo gradiente)
 - Temperatura di attivazione hot start
 - Final extension time (Tempo di estensione finale)
4. Nella sezione Type (Tipo), spostare la barra di scorrimento per selezionare una velocità di protocollo [Standard, Fast (Veloce) o Ultrafast (Ultraveloce)]. CFX Maestro Dx SE regola il tempo totale di analisi.
5. Selezionare il tipo di PCR da eseguire [Real-time PCR (PCR in tempo reale) è l'impostazione predefinita].

Con real-time PCR, CFX Maestro Dx SE aggiunge una fase di lettura piastra per raccogliere i dati della fluorescenza.
6. Nella sezione di anteprima, rivedere il protocollo. È possibile apportare le modifiche necessarie.
7. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Fare clic su OK per salvare il nuovo protocollo. Dopo averlo salvato, il protocollo apre la procedura guidata di avvio. Fare clic su Edit Selected (Modifica selezionato) per apportare modifiche al protocollo. Ad esempio, potrebbe essere necessario modificare la temperatura del coperchio e il volume del campione.
 - Fare clic su Cancel (Annulla) per chiudere la finestra senza salvare il protocollo.

Utilizzo del calcolatore T_a

Quando la temperatura di annealing per il primer non è nota, è possibile utilizzare il calcolatore T_a per calcolarne il valore. Per creare il protocollo, è possibile utilizzare il valore presente nell'autowriter protocollo o nell'editor protocollo.

Informazioni sul calcolatore T_a

Il calcolatore T_a calcola il valore T_m per ciascun primer, nonché il valore T_a per il protocollo alla velocità standard.

Il valore T_a per il protocollo si basa sui valori medi T_m del primer con applicazione delle seguenti regole:

- Se la differenza tra i valori T_m del primer è >4 °C, il valore $T_a = (\text{il minore dei due valori } T_m \text{ del primer} + 2) - 4$ °C
- Se la differenza tra i valori T_m è ≤ 4 °C, il valore $T_a = (\text{media dei valori } T_m \text{ del primer}) - 4$ °C

Metodo di conteggio delle coppie di basi

Per ciascun primer, il calcolatore T_a utilizza il metodo di conteggio delle coppie di basi per le sequenze fino a 14 coppie di basi (bp).

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

dove w, x, y e z sono rispettivamente i numeri delle basi A, T, G e C nella sequenza.

Metodo del vicino più vicino

Per le sequenze più lunghe di 14 bp, viene utilizzato il metodo del vicino più vicino. Nel metodo del vicino più vicino, i calcoli della temperatura di fusione si basano sulla relazione termodinamica tra entropia (ordine o misura della casualità dell'oligonucleotide), entalpia (calore rilasciato o assorbito dall'oligonucleotide), energia libera e temperatura.

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

dove:

- ΔH = valore di entalpia, Cal/Mole*K
- T = temperatura, Kelvin
- ΔS = valore di entropia, Cal/Mole*K
- ΔG = energia libera di Gibbs in Cal/Mole*K

La variazione di entropia ed entalpia viene calcolata direttamente sommando i valori per le coppie di nucleotidi mostrate nella [Tabella 8](#) (Breslauer et al. 1986).

La relazione tra l'energia libera e la concentrazione di reagenti e prodotti in equilibrio viene calcolata come segue:

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

dove R è la costante gas (1,986 Cal/Mole*K).

Dalla sostituzione di G nelle due equazioni e la risoluzione per T deriva:

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

presupponendo che la concentrazione di DNA e del complesso DNA-primer siano uguali.

È stato determinato empiricamente che c'è una variazione di energia libera di 5 kcal (3,4 kcal) (Sugimoto et al. 1996) durante la transizione dal DNA a singola elica al DNA a forma B. Si tratta presumibilmente dell'energia necessaria per l'inizio della formazione dell'elica. Infine, l'aggiunta di una regolazione per il sale fornisce un'equazione che il calcolatore T_a utilizza:

$$T = (\Delta H - 5(KCal/K * Mole)) / (\Delta S + (R * \ln(1/(primer)))) + 16,6 \log_{10} (\text{concentrazione molare del sale})$$

Non è necessaria alcuna costante di regolazione per la concentrazione salina, dal momento che i vari parametri sono stati determinati a 1 M NaCl e il \log_{10} di 1 è zero.

I calcoli termodinamici presumono che la l'appaiamento si verifichi a pH 7,0. I calcoli T_m presumono che le sequenze non siano simmetriche e contengano almeno una G o C.

La sequenza di oligonucleotidi deve essere lunga almeno 14 basi per fornire valori T_m ragionevoli. Con meno di 14 basi si utilizza il metodo di conteggio delle coppie di basi (vedere la [Tabella 8](#) riportata di seguito).

Tabella 8. Costanti di interazione Breslauer

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

Utilizzo del calcolatore T_a

Per utilizzare il calcolatore T_a

- Per aprire il calcolatore T_a, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Se ci si trova nell'autowriter protocollo, fare clic su T_a Calculator (Calcolatore T_a).
 - Nella finestra Home, selezionare Tools > T_a Calculator (Strumenti > Calcolatore T_a).

Viene visualizzata la finestra di dialogo T_a Calculator (Calcolatore T_a).

- Nella casella di testo Forward Primer (Primer diretto), digitare o incollare la sequenza del primer diretto.

Suggerimento: è inoltre possibile utilizzare i pulsanti A, T, G, C sul lato sinistro della finestra di dialogo per inserire la sequenza.
- Nella casella di testo Reverse Primer (Primer inverso) digitare o incollare la sequenza del primer inverso.
- Fare clic su Calculate (Calcola).

Il calcolatore T_a calcola e visualizza il valore T_m di ciascun primer e i valori medi di T_m e T_a , ad esempio:

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 i valori T_m del primer presentano una differenza di oltre 4 °C l'uno dall'altro, l'autowriter protocollo utilizza il valore T_m del primer più basso +2 °C come base per calcolare il valore T_a , che è possibile modificare ulteriormente cambiando l'enzima e la velocità di reazione.

Il calcolatore T_a genera una temperatura di annealing per velocità standard con iTaq DNA polimerasi. Quando si utilizza un enzima diverso, le impostazioni di velocità regolano automaticamente la T_a .

5. Eseguire una delle seguenti operazioni:

- Se il calcolatore T_a è stato aperto dall'autowriter protocollo, fare clic su OK. Si torna all'autowriter protocollo. La temperatura di annealing viene automaticamente modificata.
- Se il calcolatore T_a è stato aperto dal menu Tools (Strumenti), registrare i calcoli e fare clic su Cancel (Annulla) per chiudere il calcolatore.

Capitolo 8 Preparazione delle piastre

Un file piastra contiene informazioni sui parametri di analisi, come la modalità di scansione, i fluorofori e il contenuto del pozzetto. Dopo l'analisi, il Software CFX Maestro Dx, Security Edition collega il contenuto del pozzetto ai dati di fluorescenza raccolti durante l'analisi e applica l'analisi appropriata nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Ad esempio, i pozzetti caricati con il tipo di campione standard vengono usati per generare una curva standard.

CFX Maestro Dx SE fornisce due opzioni per creare le piastre: l'editor piastra per le analisi PCR in tempo reale e la procedura guidata di impostazione per l'analisi dell'espressione genica normalizzata.

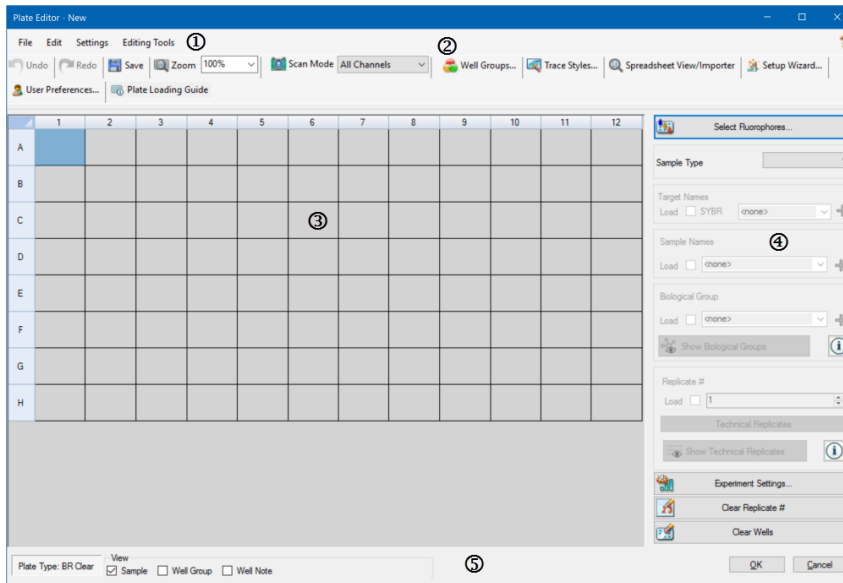
L'editor piastra include le seguenti funzioni:

- Fluorofori standard e tipi di campione da assegnare ai pozzetti della piastra
- Possibilità di impostare il target di riferimento e il campione di controllo per l'analisi dell'espressione genica
- Possibilità di modificare l'impostazione della piastra prima, durante o dopo un'analisi
- Possibilità di salvare file piastra per successivi riutilizzi
- Possibilità di stampare il file piastra su una stampante predefinita

La procedura di impostazione guidata aiuta a creare una disposizione della piastra per l'analisi dell'espressione genica normalizzata. È possibile usare la procedura di impostazione guidata prima, durante o dopo un'analisi.

Finestra dell'editor piastra

La finestra Plate Editor (Editor piastra) viene utilizzata per creare piastre personalizzate o modificare piastre esistenti.



LEGENDA

1. La barra dei menu fornisce rapido accesso ai comandi del menu File e Settings (Impostazioni), nonché alle opzioni degli strumenti di modifica della piastra.
2. La barra degli strumenti fornisce rapido accesso alle importanti funzioni di caricamento piastra.
3. Il riquadro principale visualizza la struttura della piastra e le opzioni piastra quando vengono applicate.
4. Il riquadro a destra visualizza le opzioni che vengono utilizzate per personalizzare la piastra.
5. Il riquadro inferiore visualizza il tipo di piastra e fornisce rapido accesso alle opzioni di visualizzazione.

Comandi del menu File

Save (Salva): salva il file di dati della piastra nel percorso specificato nella scheda File della finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente). Per ulteriori informazioni, vedere [Modifica delle](#)

[impostazioni file predefinite a pagina 85](#). Questo elemento del menu è disponibile solo quando si crea un nuovo file piastra.

Save As (Salva con nome): salva il file di dati piastra aperto con un nuovo nome fornito. Questo elemento del menu è disponibile solo quando si crea un nuovo file piastra.

File Passwords (Password file): consente agli utenti di impostare le password di salvataggio e apertura file.

Extract Plate (Estrai piastra): apre una finestra di dialogo in cui è possibile estrarre/salvare il file piastra (.pltd). Questo elemento del menu è disponibile solo quando si visualizza o si modifica un file piastra esistente.

Print (Stampa): stampa il file di dati piastra aperto.

Close (Chiudi): chiude l'editor piastra.

Comandi del menu Edit (Modifica)

Undo (Annulla): annulla una modifica a un file piastra finché il file piastra non viene salvato.

Redo (Ripeti): annulla l'azione Undo (Annulla) più recente a meno che il file piastra non sia stato salvato.

Comandi del menu Settings (Impostazioni)

Plate Size (Dimensioni piastra): apre una finestra di dialogo da cui è possibile selezionare le dimensioni della piastra per l'analisi.

Nota: le dimensioni della piastra devono essere uguali a quelli del blocco dello strumento su cui viene eseguita l'analisi.

Scegliere 96 pozzetti per:

- CFX Opus 96 Dx
- CFX Opus Deepwell Dx

Scegliere 384 pozzetti per:

- CFX Opus 384Dx

Plate Type (Tipo di piastra): consente di scegliere il tipo di pozzetti della piastra che contiene i campioni, BR White (BR bianco) o BR Clear (BR trasparente). Per ottenere un'analisi dei dati accurata, il tipo di piastra selezionato deve corrispondere al tipo di piastra utilizzato nell'analisi.

Nota: è necessario calibrare i nuovi tipi di piastra. Per ulteriori informazioni, vedere [Calibrazione di nuovi coloranti a pagina 77](#).

Number Convention (Convenzione numerica): consente di selezionare o deselezionare l'opzione per visualizzare le unità in notazione scientifica. Per impostazione predefinita, le unità vengono visualizzate in notazione scientifica.

Units (Unità): permette di scegliere le unità da mostrare nel foglio di calcolo quando si esegue la quantificazione di sconosciuti vs. una curva standard.

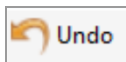
Modifica dei comandi del menu Tools (Strumenti)

Setup Wizard (Procedura di impostazione guidata): apre la procedura di impostazione guidata, in cui è possibile definire la disposizione e i parametri di analisi per la piastra attuale. È possibile usare la procedura guidata di avvio prima, durante o dopo aver completato un'analisi.

Spreadsheet View/Importer (Vista foglio di calcolo/Programma importazione): apre la finestra di dialogo View (Visualizza), che visualizza la disposizione della piastra come modello in formato foglio di calcolo. È possibile usare questa finestra di dialogo per esportare o importare i dati del modello piastra in formato .csv.

Flip Plate (Inclina piastra): inclina il contenuto della piastra di 180°.

Comandi della barra degli strumenti



Undo

Ripristina una modifica in una piastra. CFX Maestro Dx SE supporta fino a dieci azioni di annullamento



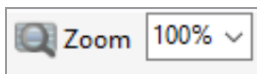
Redo

Annulla l'azione Undo (Annulla) più recente. CFX Maestro Dx SE supporta fino a dieci azioni di ripetizione.



Save

Salva il file piastra corrente.



Zoom 100% ▾

Visualizza un elenco a discesa da cui è possibile aumentare o diminuire l'ingrandimento della vista piastra.



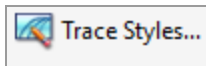
Scan Mode FRET ▾

Visualizza un elenco a discesa da cui è possibile selezionare una modalità di scansione, che indica allo strumento da quali canali raccogliere i dati di fluorescenza durante un'analisi.



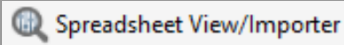
Well Groups...

Apri il Well Groups Manager (Gestore gruppi di pozzetti), che è possibile usare per creare dei gruppi di pozzetti per la piastra attuale.

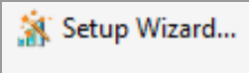


Trace Styles...

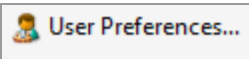
Visualizza una finestra di dialogo in cui è possibile scegliere i colori e i simboli per le tracce di amplificazione.



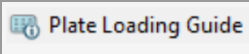
Aprire la finestra di dialogo View (Visualizza), che visualizza la disposizione della piastra come modello in formato foglio di calcolo. È possibile usare questa finestra di dialogo per esportare o importare i dati del modello piastra in formato .csv.



Aprire la procedura di impostazione guidata, in cui è possibile definire la disposizione e i parametri di analisi per la piastra attuale. È possibile usare la procedura di impostazione guidata prima, durante o dopo un'analisi.



Aprire la scheda Plate (Piastra) nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), in cui è possibile definire i parametri della disposizione piastra e creare o eliminare i nomi del target, del campione e del gruppo biologico. Le modifiche apportate nella scheda Plate (Piastra) sono disponibili alla prossima apertura dell'editor piastra.



Visualizza le fasi necessarie per l'impostazione di una piastra e il caricamento dei pozzetti.

Creazione di un file piastra usando l'editor piastra

Usando l'editor piastra, è possibile creare file piastra personalizzati. Inoltre, è possibile modificare e salvare file piastra salvati in precedenza o file piastra di esempio forniti insieme al sistema CFX Opus Dx.

Per creare un nuovo file piastra, procedere come segue:

- Aprire un file piastra nell'editor piastra.
- Selezionare il tipo di piastra.

Nota: il tipo di piastra per il file piastra deve corrispondere alla piastra presente nel modulo di reazione.

- Selezionare la modalità di scansione da utilizzare nel protocollo.
- Selezionare i fluorofori da utilizzare nella piastra.
- Selezionare il tipo di campione, i target e i campioni.
- Selezionare i replicati tecnici, se opportuno.
- Salvare il layout della piastra.

Suggerimento: per creare una nuova piastra dai file piastra di esempio o salvati in precedenza, vedere [Apertura di un file piastra esistente nell'editor piastra a pagina 134](#).

Apertura di un nuovo file piastra nell'editor piastra

CFX Maestro Dx SE offre più opzioni per aprire un nuovo file piastra:

- Dalla finestra Home
- Dalla finestra di dialogo Startup Wizard (Procedura guidata di avvio)
- Dalla finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi)

Per aprire un nuovo file piastra dalla finestra Home

- ▶ Selezionare File > New > Plate (File > Nuovo > Piastra).

Viene visualizzata la finestra Plate Editor (Editor piastra) con il file piastra predefinito per lo strumento selezionato.

Suggerimento: per informazioni sull'impostazione del file piastra predefinito, vedere [Modifica delle impostazioni file predefinite a pagina 85](#).

Per aprire un nuovo file piastra dalla procedura guidata di avvio

1. Nella finestra Home, eseguire una delle seguenti operazioni per aprire la procedura guidata di avvio se non è già visualizzata:
 - Selezionare View > Startup Wizard (Visualizza > Procedura guidata di avvio).
 - Fare clic su Startup Wizard (Procedura guidata di avvio) nella barra degli strumenti.
2. Se necessario, selezionare il tipo di strumento dall'elenco a discesa.
3. Per creare una nuova piastra, fare clic su User-defined (Definito dall'utente) come tipo di analisi.
Si apre la finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi) che visualizza la scheda Protocol (Protocollo).
4. Fare clic sulla scheda Plate (Piastra) e fare clic su Create New (Crea nuovo).
Si apre la finestra dell'editor piastra, che visualizza la disposizione predefinita della piastra per lo strumento selezionato.

Per aprire un nuovo file piastra dalla finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi)

1. Nella finestra Home, eseguire una delle seguenti operazioni per aprire la finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi):
 - Selezionare Run > User-defined Run (Analisi > Analisi definita dall'utente).
 - Fare clic su User-defined Run Setup (Impostazione analisi definita dall'utente) nella barra degli strumenti.Si apre la finestra di dialogo Run Setup (Impostazione analisi) nella scheda Protocol (Protocollo).
2. Per creare una nuova piastra, fare clic sulla scheda Plate (Piastra) e fare clic su Create New (Crea nuovo).
Si apre la finestra dell'editor piastra, che visualizza la disposizione predefinita della piastra per lo strumento selezionato.

Apertura di un file piastra esistente nell'editor piastra

CFX Maestro Dx SE fornisce i file piastra campione che è possibile modificare e salvare come nuove piastre. È inoltre possibile creare un nuovo file piastra da un file piastra salvato in precedenza.

Per aprire un file piastra del campione

1. Nella finestra Home, selezionare File > Open > Plate (File > Apri > Piastra).
Windows Explorer (Esplora risorse) viene aperto nel percorso della cartella dei file Sample (Campione) del sistema CFX Opus Dx.
2. Aprire la cartella dei file Sample (Campione), quindi la cartella Plates (Piastra).
3. Selezionare un file piastra e fare clic su Open (Apri).
Il file piastra del campione si apre nella finestra Plate Editor (Editor piastra).
4. Selezionare File > Save As (File > Salva con nome) e salvare il file piastra con un nuovo nome o in una nuova cartella.

Per aprire un file piastra salvato in precedenza

1. Nella finestra Home, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Selezionare File > Open > Plate (File > Apri > Piastra), accedere alla piastra target e selezionarla, quindi fare clic su Open (Apri).
 - Aprire la procedura guidata di avvio ed eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per modificare un file piastra esistente, fare clic su Select Existing (Seleziona esistente) e accedere al file target.
 - Per modificare il file piastra visualizzato, fare clic su Edit Selected (Modifica selezione).Il file piastra target viene aperto nella finestra Plate Editor (Editor piastra).
2. Selezionare File > Save As (File > Salva con nome) e salvare il file piastra con un nuovo nome o in una nuova cartella.

Impostazione di un nuovo file piastra

Suggerimento: se il file piastra include i parametri richiesti (ad esempio, se si sta modificando un file piastra esistente o di esempio), è possibile ignorare questo paragrafo. Procedere a [Assegnazione di parametri opzionali al file piastra a pagina 143](#).

I nuovi file piastra richiedono i seguenti parametri:

- Plate size (Dimensioni piastra)
- Plate type (Tipo di piastra)
- Scan mode (Modalità di scansione)
- Un fluoroforo (colorante)
- Un tipo campione

Selezione delle dimensioni e del tipo di piastra

Importante: è necessario selezionare le dimensioni della piastra durante l'impostazione della stessa. Non è possibile modificare la dimensione della piastra durante o dopo l'analisi.

Il software applica la dimensione e il tipo di piastra a tutti i pozzetti durante l'analisi. Assicurarsi che le dimensioni della piastra selezionate corrispondano a quelle della piastra che si utilizzerà nell'analisi.

I sistemi CFX Opus DxBio-Rad vengono calibrati in fabbrica per molte combinazioni di coloranti fluorescenti e piastre. La calibrazione è specifica per strumento, colorante e tipo di piastra. Assicurarsi che il fluoroforo che si intende utilizzare sia calibrato per il tipo di piastra selezionato.

Suggerimento: per calibrare una nuova combinazione di colorante e tipo di piastra su uno strumento, selezionare Tools > Dye Calibration Wizard (Strumenti > Calibrazione guidata colorante). Per ulteriori informazioni sulla calibrazione di coloranti e tipi di piastre, vedere [Calibrazione di nuovi coloranti a pagina 77](#).

Selezione della modalità di scansione

I sistemi CFX Opus 96 Dx e CFX Opus Deepwell Dx eccitano e rilevano i fluorofori in cinque canali (più FRET). Il sistema CFX Opus 384 Dx eccita e rileva i fluorofori in quattro canali (più FRET). Tutti i sistemi utilizzano diverse modalità di scansione per l'acquisizione dei dati per raccogliere i dati di fluorescenza durante un'analisi.

CFX Maestro Dx SE fornisce tre modalità di scansione:

- All Channels (Tutti i canali)
 - Esegue la scansione dei canali da 1 a 5 sui sistemi CFX Opus 96 Dx e CFX Opus Deepwell Dx
 - Esegue la scansione dei canali da 1 a 4 sui sistemi CFX Opus 384 Dx

- SYBR®/FAM
 - Esegue la scansione solo del canale 1
 - Fornisce una scansione rapida
- FRET
 - Esegue la scansione solo del canale FRET
 - Fornisce una scansione rapida

Selezione dei fluorofori

Importante: prima di iniziare l'analisi, i sistemi CGFX verificano che i fluorofori specificati dall'utente nella piastra siano calibrati su quello strumento. Non è possibile eseguire una piastra se include fluorofori che non sono stati calibrati su tale strumento.

È necessario caricare almeno un fluoroforo per il layout della piastra prima dell'analisi. A questo punto della procedura è possibile aggiungere la quantità di fluorofori necessaria, ma la piastra deve contenere almeno un fluoroforo. I fluorofori selezionati vengono visualizzati come opzioni per i target nel campo Target Names (Nomi target).

Utilizzare la finestra di dialogo Select Fluorophores (Seleziona fluorofori) per caricare i fluorofori (o i coloranti piastra) nei controlli di carico pozzetto dell'editor piastra. I fluorofori visualizzati nella finestra di dialogo Select Fluorophores (Seleziona fluorofori) dipendono dalla modalità di scansione selezionata:

- All Channels (Tutti i canali)

Vengono visualizzati tutti i fluorofori disponibili.

Suggerimento: è possibile aggiungere la quantità necessaria di fluorofori, ma è possibile caricare solo un fluoroforo per canale in ciascun pozzetto.

- SYBR®/FAM

Vengono visualizzati solo i fluorofori del canale 1.

- FRET

Viene visualizzato solo il fluoroforo del canale 6.

Suggerimento: il fluoroforo FRET del canale 6 viene visualizzato solo quando la modalità di scansione selezionata è FRET. Non è disponibile per la modalità di scansione All Channels (Tutti i canali).

Nota: non è possibile aggiungere né rimuovere direttamente i fluorofori dalla finestra di dialogo Select Fluorophore (Seleziona fluoroforo). È necessario calibrare i nuovi fluorofori in uno strumento utilizzando la procedura guidata di calibrazione del colorante. Al termine della calibrazione, il nuovo

fluoroforo viene automaticamente aggiunto a questo elenco. Per ulteriori informazioni, vedere [Calibrazione di nuovi coloranti a pagina 77](#).

Selezione dei tipi di campione

Importante: è necessario selezionare almeno un tipo di campione da assegnare ai pozzetti della piastra prima di eseguire l'analisi.

CFX Maestro Dx SE offre cinque tipi di campione:

- Unknown (Sconosciuto)
- Standard
- NTC (controllo senza template)
- Positive Control (Controllo positivo)
- Negative Control (Controllo negativo)
- NRT (senza trascrittasi inversa)

Selezionare i tipi di campione per i pozzetti della piastra.

Impostazione di una nuova piastra

Per impostare una nuova piastra

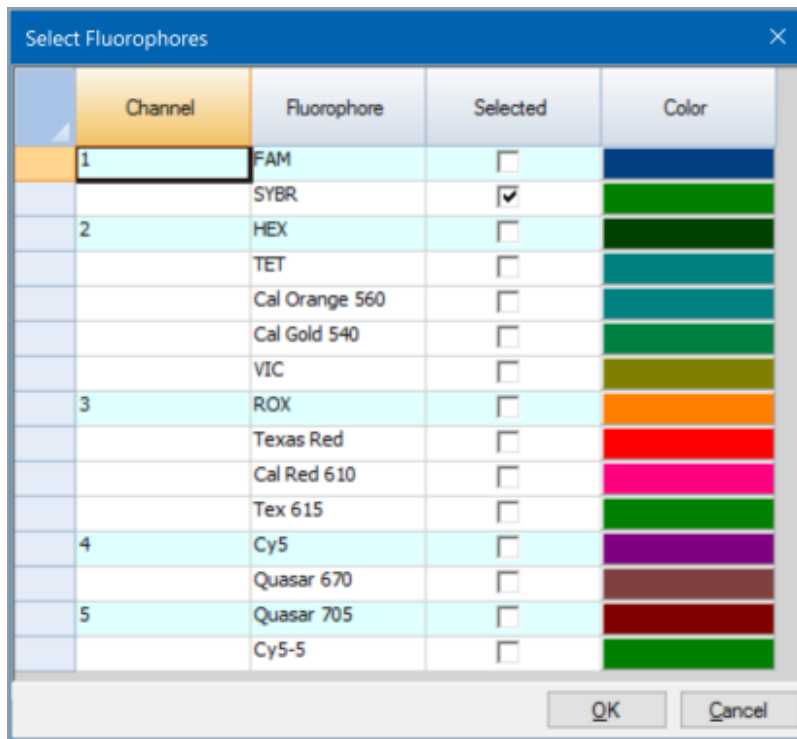
1. Aprire una nuova piastra nella finestra Plate Editor (Editor piastra).
2. Per impostare le dimensioni della piastra, selezionare Settings > Plate Size (Impostazioni > Dimensioni piastra) e selezionare le dimensioni appropriate della piastra dal menu a discesa.
3. Per impostare il tipo di piastra, selezionare Settings > Plate Type (Impostazioni > Tipo di piastra) e selezionare BR White (BR bianco) o BR Clear (BR trasparente) dal menu a discesa.
4. Facoltativamente, dal menu Settings (Impostazioni), è possibile modificare la convenzione numerica e le unità di visualizzazione:
 - Per modificare la convenzione numerica, selezionare Settings > Number Convention (Impostazioni > Convenzione numerica) e selezionare Scientific Notation (Notazione scientifica).

Suggerimento: per impostazione predefinita, viene selezionata la notazione scientifica. In questo caso, selezionando la notazione scientifica si annulla l'impostazione predefinita e si imposta la convenzione numerica sul formato standard.

 - Per cambiare le unità di visualizzazione, selezionare Settings > Units (Impostazioni > Unità) e selezionare un nuovo valore di unità.

5. Per impostare la modalità di scansione, selezionare la modalità appropriata dall'elenco a discesa Scan Mode (Modalità di scansione) nella barra degli strumenti della finestra Plate Editor (Editor piastra).
6. Selezionare i fluorofori necessari per la piastra:
 - a. Nel riquadro di destra, fare clic su Select Fluorophores (Seleziona fluorofori).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Select Fluorophores (Seleziona fluorofori). Vengono visualizzati i fluorofori disponibili per il tipo di modalità di scansione selezionato nella [Fase 5](#), ad esempio:



- b. Per selezionare un fluoroforo, fare clic sulla relativa casella di controllo Selected (Selezionato).

Suggerimento: per rimuovere un fluoroforo dall'elenco, deselectionarne la casella di controllo Selected (Selezionato).

- c. Per cambiare il colore di visualizzazione del fluoroforo, fare clic sulla relativa casella Color (Colore).

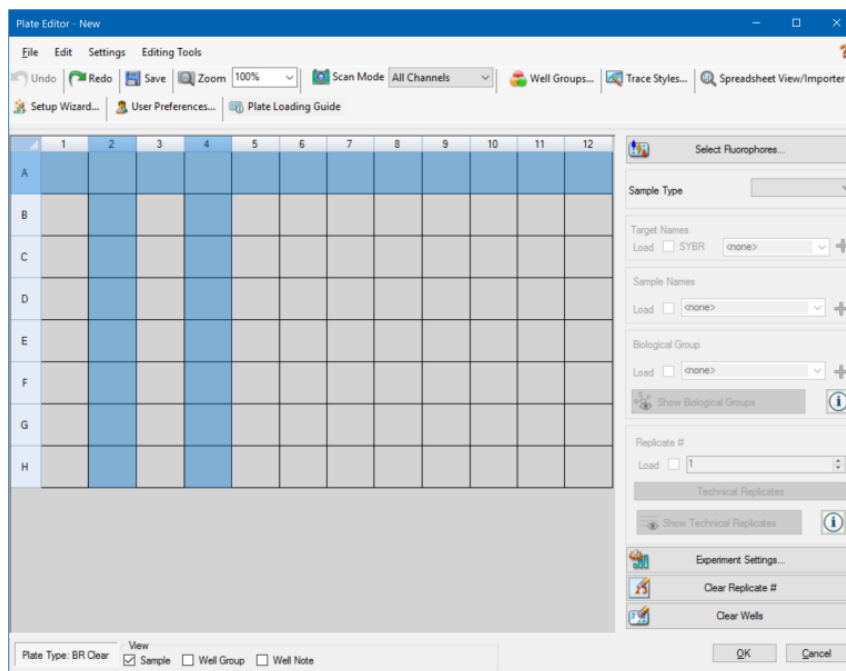
Nota: il colore selezionato rappresenta il fluoroforo sia nella finestra Plate Editor (Editor piastra) sia nei grafici Data Analysis (Analisi dei dati).

- d. Nella finestra di dialogo Color (Colore), selezionare il colore desiderato oppure fare clic su Define Custom Colors (Definisci colori personalizzati) e creare un nuovo colore per rappresentare il fluoroforo.
 - e. Fare clic su OK per salvare le modifiche e uscire dalla finestra di dialogo Select Fluorophores (Seleziona fluorofori).
7. Occorre selezionare almeno un pozzetto in cui caricare un tipo di campione. Per impostazione predefinita, viene selezionato il pozzetto A1.

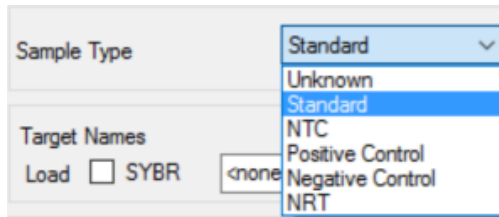
Nel riquadro della piastra, eseguire una delle seguenti operazioni:

- Per caricare più pozzetti adiacenti, fare clic su un pozzetto e trascinare la selezione fino al pozzetto target.
- Per caricare più pozzetti non adiacenti, tenere premuto il tasto Control (Ctrl) e fare clic su ciascun pozzetto.
- Per caricare una colonna intera con lo stesso tipo di campione, fare clic sul numero della colonna.
- Per caricare una riga intera, fare clic sul numero di riga corrispondente.
- Per caricare l'intera piastra, fare clic nell'angolo in alto a sinistra della piastra.

Ad esempio:



8. Assegnare un tipo di campione al pozzetto o ai pozzetti selezionati dal menu a discesa Sample Type (Tipo campione).

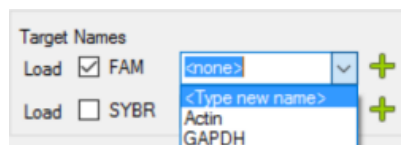


9. Assegnare almeno un fluoroforo a tutti i pozzetti che contengono il tipo di campione. È possibile assegnare più di un fluoroforo al pozzetto o al gruppo di pozzetti.

Nota: è possibile assegnare solo un fluoroforo per canale. Non è possibile assegnare più di un fluoroforo dello stesso canale allo stesso pozzetto.

Suggerimento: a questo punto della procedura è possibile associare un target al fluoroforo oppure assegnare solo il fluoroforo al pozzetto e associare un target al fluoroforo dopo l'esecuzione dell'esperimento.

- Per assegnare solo un fluoroforo ai pozzetti selezionati, nella sezione Target Names (Nomi target) presente nel riquadro di destra, selezionare la casella di controllo Load (Carica) per il fluoroforo specifico.
- Per associare un target a un fluoroforo, nella sezione Target Names (Nomi target) selezionare un nome target dall'elenco a discesa per il fluoroforo specifico. Il software seleziona automaticamente la casella di controllo Load (Carica) corrispondente.



10. Per i pozzetti contenenti un tipo di campione Standard, occorre caricare una concentrazione. Ciascun pozzetto può avere un valore di concentrazione diverso. Per impostazione predefinita, CFX Maestro Dx SE carica la concentrazione 1.00E+06 per tutti i pozzetti con il tipo di campione Standard. Se necessario, è possibile modificare il valore.
- Nel riquadro della piastra, selezionare un pozzetto o gruppo di pozzetti Standard:
 - Nella sezione Concentration (Concentrazione), fare clic su Load (Carica) per caricare il valore nel pozzetto o nei pozzetti selezionati.
 - (Facoltativo) Per caricare un'altra concentrazione, digitare il nuovo valore nella casella di testo Concentration (Concentrazione) e premere Enter (Invio).

- d. Eseguire questo passaggio per tutti i pozzetti con tipo di campione Standard.

Suggerimento: per caricare la stessa concentrazione per tutti i pozzetti Standard, assicurarsi che nell'elenco a discesa sotto il valore della concentrazione venga visualizzata la voce <All> (Tutti). Per caricare lo stesso valore di concentrazione per tutti i pozzetti con un determinato fluoroforo, fare clic sull'elenco a discesa e selezionare il fluoroforo.

11. Fare clic su OK per salvare la nuova piastra.

Voci del menu di scelta rapida per lo strumento Plate Editor (Editor piastra)

Nella [Tabella 9](#) vengono elencati gli elementi del menu disponibili nello strumento Plate Editor (Editor piastra) quando si fa clic con il pulsante destro del mouse su uno dei pozzetti dello strumento. Questo menu viene visualizzato anche in Spreadsheet View/Importer (Vista foglio di calcolo/Programma di importazione).

Tabella 9. Elementi del menu di scelta rapida disponibili nello strumento Plate Spreadsheet View/Importer (Vista foglio di calcolo piastra/Programma di importazione)

Elemento	Funzione
Copy (Copia)	Copia tutto il foglio di calcolo.
Copy as Image (Copia come immagine)	Copia il foglio di calcolo come file immagine.
Print (Stampa)	Stampa il foglio di calcolo.
Print Selection (Stampa selezione)	Stampa solo le celle selezionate.
Export to Excel (Esporta in Excel)	Esporta il file in un foglio di calcolo di Excel.
Export to CSV (Esporta in CSV)	Esporta il file come file .csv.
Export to Xml (Esporta in Xml)	Esporta il file come file .xml.
Export to Html (Esporta in Html)	Esporta il file come file .html.
Find (Trova)	Cerca un testo specifico.
Sort (Ordina)	Ordina il foglio di calcolo selezionando fino a tre colonne di dati nella finestra Sort (Ordina).

Assegnazione di parametri opzionali al file piastra

Un file piastra contiene le informazioni sul contenuto di ciascun pozzetto caricato con il campione per un'analisi. Dopo l'analisi, CFX Maestro Dx SE collega il contenuto del pozzetto ai dati di fluorescenza raccolti durante il protocollo e applica l'analisi appropriata nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).

In CFX Maestro Dx SE, è possibile assegnare parametri a ciascun pozzetto nella piastra prima, durante o persino dopo l'esecuzione degli esperimenti. È possibile assegnare i parametri a un file piastra esistente o a un file piastra nuovo. Questi parametri includono:

- **Target names** (Nomi target): il target o i target di interesse (geni o sequenze) in ciascun pozzetto caricato.
- **Sample names** (Nomi campione): la caratteristica di identificazione o la condizione che corrisponde al campione in ciascun pozzetto caricato, come mouse1 (topo1), mouse2 (topo2) o mouse3 (topo3).
- **Biological groups** (Gruppi biologici): la caratteristica di identificazione o la condizione che corrisponde a un gruppo di pozzetti, ad esempio 0Hr, 1Hr o 2Hr.

Suggerimento: i nomi di target, campioni e gruppi biologici tra i pozzetti devono coincidere per poter confrontare i dati nella scheda Gene Expression (Espressione genica) della finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Ciascun nome deve contenere le stesse caratteristiche in termini di maiuscole/minuscole, punteggiatura e spaziatura. Ad esempio, "Actin" (Actina) non è uguale a "actin" (actina), "2Hr" non è uguale a "2 hr" e "Mouse 1" (Topo 1) non è uguale a "mouse1" (topo1). Per garantire la coerenza dei nomi, immettere i nomi nella sezione Libraries (Librerie) in User > User Preferences > Plate (Utente > Preferenze utente > Piastra), disponibile nella finestra Home.

- **Technical replicates** (Replicati tecnici): ogni pozzetto che viene usato per analizzare la stessa combinazione di campione e target, ovvero le reazioni qPCR di replicati.
- **Dilution series** (Serie di diluizione): la quantità con cui cambiare la concentrazione del tipo di campione Standard all'interno di un gruppo di replicati per creare dati della curva standard da analizzare.

Assegnazione di un target ai pozzetti

Suggerimento: è possibile assegnare lo stesso nome target a un solo pozzetto o a più pozzetti. Inoltre, è possibile assegnare più target allo stesso pozzetto.

Importante: facendo clic su OK dopo aver assegnato un target, le modifiche vengono salvate e l'opzione Undo (Annulla) viene disabilitata sulla barra degli strumenti dell'editor piastra. Procedere con cautela quando si fa clic su OK.

Per assegnare un target ad un pozzetto o ad un gruppo di pozzetti

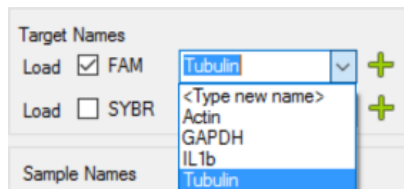
1. Nell'editor piastra, verificare che al pozzetto o al gruppo di pozzetti sia stato assegnato un tipo di campione.

Per ulteriori informazioni sull'assegnazione dei tipi di campione ai pozzetti vedere [Selezione dei tipi di campione a pagina 137](#).

2. Nel riquadro della piastra, selezionare il pozzetto o il gruppo di pozzetti:

- Per selezionare un solo pozzetto, fare clic sul pozzetto.
- Per selezionare più pozzetti adiacenti, fare clic su un pozzetto e trascinare la selezione fino al pozzetto target.
- Per selezionare più pozzetti non adiacenti, tenere premuto il tasto Control (Ctrl) e fare clic su ciascun pozzetto.
- Per selezionare una colonna intera con lo stesso tipo di campione, fare clic sul numero della colonna.
- Per selezionare una riga intera, fare clic sul numero di riga corrispondente.

3. Nel riquadro a destra, selezionare un nome dall'elenco a discesa Target Name (Nome target) per ciascun fluoroforo selezionato.



4. Ripetere la [Fase 3](#) per ciascun pozzetto o gruppo di pozzetti cui è necessario assegnare un target.

Suggerimento: è possibile assegnare lo stesso nome target o un nome target diverso per ciascun fluoroforo selezionato.

5. Fare clic su OK per accettare le modifiche e salvare la piastra.

Nota: se per errore è stata modificata la piastra, fare clic su Undo (Annulla) nella barra degli strumenti dell'editor piastra prima di fare clic su OK per accettare le modifiche.

Per rimuovere un nome target

- Per rimuovere un nome target dal pozzetto o dal gruppo di pozzetti selezionato, deselegionare la casella di controllo Load (Carica) corrispondente.

Importante: la rimozione di un nome target da un pozzetto rimuove anche il relativo fluoroforo associato. Prestare attenzione durante la rimozione di un nome target da un pozzetto.

Per aggiungere un nome target all'elenco

- ▶ Per aggiungere un nome target all'elenco a discesa, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Digitare un nome nell'elenco a discesa Target Name (Nome target) e premere Enter (Invio).

Suggerimento: i nomi target che vengono aggiunti a un elenco vengono visualizzati in tutti gli altri elenchi target.
 - Fare clic sul simbolo + verde a destra dell'elenco a discesa, digitare un nome per il target e premere Enter (Invio).
 - Fare clic su User Preferences (Preferenze utente) nella barra degli strumenti e aggiungere il nome alla libreria Target Names (Nomi target) nella scheda Plate (Piastra).

Importante: i nomi target che vengono aggiunti nell'elenco a discesa sono disponibili solo per la piastra corrente e solo se si assegna il nome a un pozzetto e si salva il layout della piastra. Se non si assegna il nome a un pozzetto e non si salva il layout della piastra, il nome non viene salvato e non sarà disponibile per utilizzi futuri. Per aggiungere un nome target in modo permanente, aggiungerlo anche alla libreria Target Names (Nomi target) usando la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente). I nomi che vengono aggiunti alla libreria sono disponibili solo dopo aver riaperto l'editor piastra. Per ulteriori informazioni, vedere [Impostazione dei parametri predefiniti della piastra a pagina 88](#).

Per eliminare un nome target dall'elenco

1. Fare clic su User Preferences (Preferenze utente) sulla barra degli strumenti.

Viene visualizzata la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente) con la scheda Plate (Piastra).
2. Nella libreria Target Names (Nomi target) della scheda Plate (Piastra), selezionare il nome da eliminare e premere il tasto Delete (Elimina).
3. Fare clic su OK per salvare le modifiche e uscire dalla finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).

Importante: non è possibile eliminare i nomi target che sono stati salvati con un file piastra. I nomi personalizzati che vengono aggiunti all'elenco a discesa Target Names (Nomi target) e non vengono utilizzati e salvati con la piastra, vengono automaticamente rimossi dall'elenco. I nomi che vengono eliminati dalla libreria Target Names (Nomi target) vengono rimossi in modo permanente dal software e non sono più disponibili per gli utenti. Procedere con cautela quando si eliminano i nomi target.

Assegnazione di un nome campione ai pozzetti

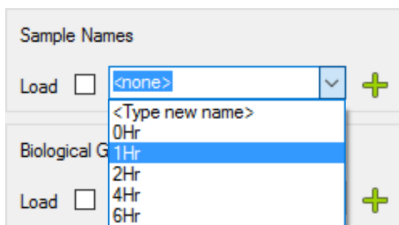
Nota: per assegnare un nome campione, ai pozzetti selezionati è necessario assegnare almeno un fluoroforo. Se ai pozzetti selezionati non viene assegnato alcun fluoroforo, l'elenco a discesa Sample Names (Nomi campione) è disabilitato. Per ulteriori informazioni sull'assegnazione di fluorofori, vedere [Assegnazione di un target ai pozzetti a pagina 143](#).

Suggerimento: a ciascun pozzetto o gruppo di pozzetti è possibile assegnare un solo nome campione.

Per assegnare un nome campione ad un pozzetto o gruppo di pozzetti

1. Nell'editor piastra, verificare che al pozzetto o al gruppo di pozzetti sia stato assegnato un fluoroforo.
2. Nel riquadro della piastra, selezionare il pozzetto o il gruppo di pozzetti.
3. Nel riquadro a destra, selezionare un nome nell'elenco a discesa Sample Names (Nomi campione).

Il software seleziona automaticamente la casella di controllo Load (Carica) corrispondente.



4. Ripetere la [Fase 3](#) per ciascun pozzetto o gruppo di pozzetti a cui è necessario assegnare un nome campione.
5. Fare clic su OK per accettare le modifiche e salvare la piastra.

Nota: se per errore è stata modificata la piastra, fare clic su Undo (Annulla) nella barra degli strumenti dell'editor piastra prima di fare clic su OK per accettare le modifiche.

Per rimuovere un nome campione

- Per rimuovere un nome campione da un pozzetto o da un gruppo di pozzetti selezionato, deselegnare la casella di controllo Load (Carica) corrispondente.

Per aggiungere un nome campione all'elenco

- Per aggiungere un nome campione all'elenco a discesa, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Digitare un nome nell'elenco a discesa Sample Names (Nomi campione) e premere Enter (Invio).
 - Fare clic sul simbolo + verde a destra dell'elenco a discesa e digitare un nome per il campione.

- Fare clic su User Preferences (Preferenze utente) nella barra degli strumenti e aggiungere il nome alla libreria Sample Names (Nomi campione) nella scheda Plate (Piastra).

Importante: i nomi campione che vengono aggiunti nell'elenco a discesa sono disponibili solo per la piastra corrente e solo se si assegna il nome a un pozzetto e si salva il layout della piastra. Se non si assegna il nome a un pozzetto e non si salva il layout della piastra, il nome non viene salvato e non sarà disponibile per utilizzi futuri. Per aggiungere un nome campione in modo permanente, aggiungerlo anche alla libreria Sample Names (Nomi campione) usando la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente). I nomi che vengono aggiunti alla libreria sono disponibili solo dopo aver riaperto l'editor piastra. Per ulteriori informazioni, vedere [Impostazione dei parametri predefiniti della piastra a pagina 88](#).

Per eliminare un nome campione dall'elenco

1. Fare clic su User Preferences (Preferenze utente) sulla barra degli strumenti.
Viene visualizzata la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente) con la scheda Plate (Piastra).
2. Nella libreria Sample Names (Nomi campione) della scheda Plate (Piastra), selezionare il nome da eliminare e premere il tasto Delete (Elimina).
3. Fare clic su OK per salvare le modifiche e uscire dalla finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).

Importante: non è possibile eliminare i nomi campione che sono stati salvati con un file piastra. I nomi personalizzati che vengono aggiunti all'elenco Sample Names (Nomi campione) e non vengono utilizzati e salvati con la piastra, vengono automaticamente rimossi dall'elenco a discesa. I nomi che vengono eliminati dalla libreria Sample Names (Nomi campione) vengono rimossi dal software e non sono più disponibili per gli utenti. Procedere con cautela quando si eliminano i nomi campione.

Assegnazione di gruppi biologici ai pozzetti

Nota: per assegnare un gruppo biologico, è necessario assegnare almeno un fluoroforo ai pozzetti selezionati. L'assegnazione di un fluoroforo abilita l'elenco a discesa Biological Groups (Gruppi biologici). Per ulteriori informazioni sull'assegnazione di fluorofori, vedere [Assegnazione di un target ai pozzetti a pagina 143](#).

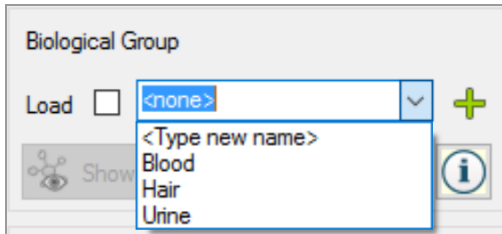
Suggerimento: a ciascun pozzetto o gruppo di pozzetti è possibile assegnare un gruppo biologico.

Per assegnare un gruppo biologico a un pozzetto o gruppo di pozzetti

1. Nell'editor piastra, verificare che al pozzetto o al gruppo di pozzetti sia stato assegnato un fluoroforo.
2. Nel riquadro della piastra, selezionare il pozzetto o il gruppo di pozzetti.

3. Nel riquadro di destra, effettuare una selezione dall'elenco a discesa Biological Group (Gruppo biologico).

CFX Maestro Dx SE seleziona automaticamente la casella di controllo Load (Carica) corrispondente.



4. Ripetere la **Fase 3** per ciascun pozzetto o gruppo di pozzetti cui è necessario assegnare un gruppo biologico.
5. Fare clic su OK per accettare le modifiche e salvare la piastra.

Nota: se per errore è stata modificata la piastra, fare clic su Undo (Annulla) nella barra degli strumenti dell'editor piastra prima di fare clic su OK per accettare le modifiche.

Per rimuovere un gruppo biologico

- Per rimuovere un gruppo biologico dal pozzetto o dal gruppo di pozzetti selezionato, deselegionare la casella di controllo Load (Carica) corrispondente.

Per aggiungere un gruppo biologico all'elenco

- Per aggiungere un gruppo biologico all'elenco a discesa, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Digitare un nome nella casella a discesa Biological Group (Gruppo biologico) e premere Enter (Invio).
 - Fare clic sul simbolo + verde a destra dell'elenco a discesa e digitare un nome per il gruppo biologico.
 - Fare clic su User Preferences (Preferenze utente) nella barra degli strumenti e aggiungere il nome alla libreria Biological Group Names (Nomi gruppi biologici) nella scheda Plate (Piastra).

Importante: i nomi dei gruppi biologici che vengono aggiunti nell'elenco a discesa sono disponibili solo per la piastra corrente e solo se si assegna il nome a un pozzetto e si salva il layout della piastra. Se non si assegna il nome a un pozzetto e non si salva il layout della piastra, il nome non viene salvato e non sarà disponibile per utilizzi futuri. Per aggiungere un nome del gruppo biologico in modo permanente, aggiungerlo anche nella libreria Biological Group Names (Nomi gruppi biologici) attraverso la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente). I nomi che vengono aggiunti alla libreria sono disponibili solo dopo aver riaperto l'editor piastra.

Per ulteriori informazioni, vedere [Impostazione dei parametri predefiniti della piastra a pagina 88](#).

Per eliminare il nome di un gruppo biologico dall'elenco

1. Fare clic su User Preferences (Preferenze utente) sulla barra degli strumenti.

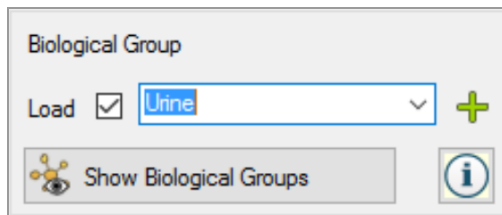
Viene visualizzata la finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente) con la scheda Plate (Piastra).

2. Nella libreria Biological Group Names (Nomi gruppi biologici) della scheda Plate (Piastra), selezionare il nome da eliminare e premere il tasto Delete (Canc).
3. Fare clic su OK per salvare le modifiche e uscire dalla finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente).

Importante: non è possibile eliminare i nomi dei gruppi biologici che sono stati salvati con un file piastra. I nomi personalizzati che vengono aggiunti nell'elenco a discesa Biological Group Names (Nomi gruppi biologici) e che non vengono utilizzati e salvati con la piastra, vengono automaticamente rimossi dall'elenco. I nomi che vengono eliminati dalla libreria Biological Group Names (Nomi gruppi biologici) vengono rimossi in modo permanente dal software e non sono più disponibili per gli utenti. Prestare attenzione durante l'eliminazione dei nomi dei gruppi biologici.

Per visualizzare tutti i gruppi biologici sulla piastra

- Fare clic su Show Biological Groups (Mostra gruppi biologici) per visualizzare tutti i gruppi biologici sulla piastra.



Ogni gruppo viene identificato con un colore specifico e il pulsante Show Biological Groups (Mostra gruppi biologici) diventa Hide Biological Groups (Nascondi gruppi biologici).

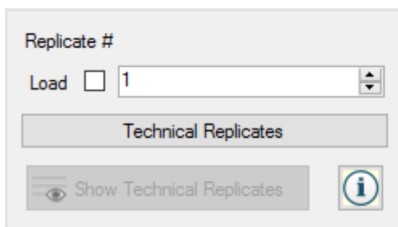
Fare clic su Hide Biological Groups (Nascondi gruppi biologici) per cancellare il colore nei pozzetti. In alternativa, è possibile fare clic su un pozzetto qualsiasi nella piastra per nascondere i gruppi biologici.

Assegnazione dei numeri di replicati tecnici ai pozzetti

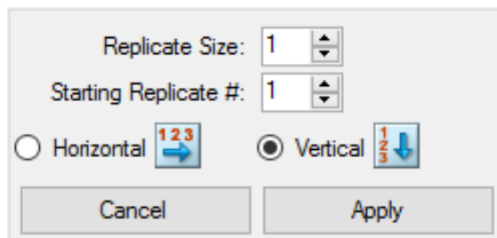
Importante: per assegnare numeri di replicati tecnici, il contenuto dei pozzetti selezionati deve essere identico. Ciò significa che i pozzetti selezionati devono avere lo stesso tipo di campione e fluoroforo. Se appropriato, devono essere assegnati anche gli stessi nomi di target e campione e lo stesso gruppo biologico. Se non sono uguali, CFX Maestro Dx SE non abilita questa opzione.

Per assegnare numeri di replicati tecnici a un gruppo di pozzetti

1. Nell'editor piastra, assicurarsi che il contenuto del gruppo di pozzetti sia identico.
2. Nel riquadro della piastra, selezionare il gruppo di pozzetti target.
3. Per assegnare lo stesso numero di replicati a tutti i pozzetti selezionati, nella sezione Replicate # (N. replicati), che si trova nel riquadro di destra, digitare il numero di replicati nella casella e quindi selezionare Load (Carica).



4. (Facoltativo) Per applicare una serie di replicati a un insieme di pozzetti selezionati:
 - a. Fare clic su Technical Replicates (Replicati tecnici). La sezione Replicate # (Replicato n.) cambia per visualizzare le seguenti opzioni:



- **Replicate size** (Dimensione replicati): un numero che rappresenta il numero di pozzetti in ciascun gruppo di replicati
- **Starting replicate #** (N. iniziale replicati): il primo numero della serie di replicati per il gruppo di replicati selezionato

Nota: per impostazione predefinita, CFX Maestro Dx SE visualizza il numero iniziale dei replicati come numero successivo all'ultimo numero di replicati tecnici assegnato nella

piastra. Ad esempio, se l'ultimo numero di replicati tecnici nella piastra è cinque, il successivo numero iniziale sarà sei. È possibile modificare il numero iniziale con un numero qualsiasi che non sia stato già assegnato.

- Direzione di caricamento (orizzontale o verticale)
 - b. Fare clic su Apply (Applica) per applicare i parametri alla serie e tornare alla visualizzazione Replicate # (Replicato n.).
5. Fare clic su OK per accettare le modifiche e salvare la piastra.

Nota: se per errore è stata modificata la piastra, fare clic su Undo (Annulla) nella barra degli strumenti dell'editor piastra prima di fare clic su OK per accettare le modifiche.

Per rimuovere un pozzetto da una serie di replicati

- ▶ Selezionare il pozzetto o il gruppo di pozzetti da rimuovere e deselezionare la casella di controllo Replicate # Load (Replicato n. da caricare).

In alternativa, è possibile fare clic su Clear Replicate # (Cancella n. replicati) per cancellare il numero di replicati dal pozzetto o gruppo di pozzetti selezionato.

Per visualizzare tutti i replicati tecnici sulla piastra

- ▶ Fare clic su Show Technical Replicates (Mostra replicati tecnici) per visualizzare tutti i replicati tecnici presenti nella piastra.

Ciascun gruppo è identificato con un colore specifico e il pulsante Show Technical Replicates (Mostra replicati tecnici) diventa Hide Technical Replicates (Nascondi replicati tecnici).

Fare clic su Hide Technical Replicates (Nascondi replicati tecnici) per cancellare il colore nei pozzetti. In alternativa, è possibile fare clic su un pozzetto qualsiasi nella piastra per nascondere i replicati tecnici.

Assegnazione di una serie di diluizione ai tipi di campione standard

Come indicato in precedenza, a tutti i pozzetti con il tipo di campione Standard (Standard) deve essere assegnato un valore di concentrazione. È possibile assegnare una serie di diluizione a più pozzetti con il tipo di campione Standard.

Nota: per assegnare una serie di diluizione a un gruppo di pozzetti, i pozzetti devono essere inclusi in una serie di replicati tecnici. Per informazioni sull'aggiunta di pozzetti ad una serie di replicati, vedere [Assegnazione dei numeri di replicati tecnici ai pozzetti a pagina 150](#).

Per assegnare una serie di diluizione a un gruppo di pozzetti campione Standard

1. Nell'editor piastra, verificare che vengano soddisfatti i seguenti requisiti:
 - Il tipo di campione per il gruppo di pozzetti è Standard.
 - A tutti i pozzetti nel gruppo è stato assegnato almeno un fluoroforo e tutti contengono gli stessi fluorofori.
 - Tutti i pozzetti nel gruppo sono inclusi nella stessa serie di replicati tecnici.

Nota: CFX Maestro Dx SE abilita l'opzione Dilution Series (Serie di diluizione) solo quando tutti i pozzetti selezionati soddisfano questi criteri.
2. Nel riquadro della piastra, selezionare il gruppo di pozzetti target.
3. Nella sezione Concentration (Concentrazione) nel riquadro a destra, fare clic su Dilution Series (Serie di diluizione). La sezione Concentration (Concentrazione) cambia per visualizzare le seguenti opzioni:

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

- **Starting concentration** (Concentrazione iniziale): il valore di concentrazione da cui inizia la serie
 - **Replicates from and to** (Replicati da e a): i replicati nella serie cui sarà applicato il fattore di diluizione
 - **Dilution factor** (Fattore di diluizione): la quantità per modificare la concentrazione all'interno di ciascun gruppo di replicati
4. Impostare i valori per le opzioni o accettare le impostazioni predefinite.
 5. Per impostazione predefinita, la serie di diluizione diminuisce in base al fattore di diluizione. Selezionare Increasing (In aumento) per aumentare la serie di diluizione.
 6. (Opzionale) Per impostazione predefinita, il fattore di diluizione si applica a tutti i fluorofori nella serie di replicati. Se la serie contiene più di un fluoroforo e si desidera applicare la diluizione ad un solo fluoroforo, selezionarla dall'elenco a discesa.

7. Fare clic su Apply (Applica) per applicare la serie di diluizione al gruppo di pozzetti e tornare alla vista Concentration (Concentrazione).
8. Fare clic su OK per accettare le modifiche e salvare la piastra.

Copia del contenuto del pozzetto in un altro pozzetto

È possibile copiare il contenuto di un pozzetto e incollarlo in un solo pozzetto o in più pozzetti. Tuttavia, è possibile copiare il contenuto di un solo pozzetto. Non è possibile selezionare più pozzetti e copiarne il contenuto.

Per copiare il contenuto del pozzetto in un altro pozzetto

1. Nel riquadro della piastra, selezionare il pozzetto da copiare.
2. Fare clic con il pulsante destro del mouse sul pozzetto e selezionare Copy Well (Copia pozzetto).
3. Selezionare il pozzetto o i pozzetti in cui incollare il contenuto:
 - Per selezionare un solo pozzetto, fare clic sul pozzetto.
 - Per selezionare più pozzetti adiacenti, fare clic su un pozzetto e trascinare la selezione fino al pozzetto target.
 - Per selezionare più pozzetti non adiacenti, tenere premuto il tasto Control (Ctrl) e fare clic su ciascun pozzetto.
4. Con i pozzetti target selezionati, fare clic con il pulsante destro del mouse e scegliere Paste Well (Incolla pozzetto).

CFX Maestro Dx SE incolla il contenuto del primo pozzetto nei pozzetti selezionati.

Aggiunta di una nota ad un pozzetto

È possibile aggiungere una nota descrittiva ad un pozzetto. È possibile visualizzare le note pozzetto nella scheda Quantification (Quantificazione) della finestra Data Analysis (Analisi dei dati).

Per aggiungere una nota ad un pozzetto

1. Nel riquadro della piastra, selezionare il pozzetto o i pozzetti a cui si intende aggiungere una nota.
2. Nella sezione View (Visualizza) nel riquadro inferiore, selezionare Well Note (Nota pozzetto).

L'area Well Note (Nota pozzetto) viene visualizzata nel riquadro a destra.



3. Digitare il contenuto della nota nella casella di testo e premere Enter (Invio).

Il testo viene visualizzato nella parte inferiore dei pozzetti selezionati.

Suggerimento: se in precedenza è stata creata una nota relativa ai pozzetti, può essere selezionata dall'elenco a discesa e applicata ai pozzetti selezionati.

Cancellazione di tutto il contenuto dei pozzetti

È possibile cancellare il contenuto di un singolo pozzetto, di un gruppo di pozzetti o di un'intera piastra. La cancellazione dei pozzetti non rimuove i dati di fluorescenza raccolti durante la lettura della piastra.

Importante: la cancellazione di un pozzetto rimuove definitivamente il contenuto dal pozzetto. Se si fa clic su OK e si salva la piastra dopo avere eliminato un pozzetto, non è possibile annullare l'operazione di cancellazione. Prestare attenzione durante la cancellazione dei pozzetti.

Per cancellare tutte le impostazioni dei pozzetti

1. Nella finestra Plate Editor (Editor piastra), selezionare il pozzetto o il gruppo di pozzetti nel riquadro della piastra:
 - Per selezionare un solo pozzetto, fare clic sul pozzetto.
 - Per selezionare più pozzetti adiacenti, fare clic su un pozzetto e trascinare la selezione fino al pozzetto target.
 - Per selezionare più pozzetti non adiacenti, tenere premuto il tasto Control (Ctrl) e fare clic su ciascun pozzetto.
 - Per selezionare una colonna intera con lo stesso tipo di campione, fare clic sul numero della colonna.
 - Per selezionare una riga intera, fare clic sul numero di riga corrispondente.
2. Nel riquadro di destra, fare clic su Clear Wells (Cancella pozzetti).
CFX Maestro Dx SE cancella tutte le impostazioni dei pozzetti selezionati.
3. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Se per errore sono stati cancellati dei pozzetti, fare clic su Undo (Annulla) nella barra degli strumenti dell'editor piastra prima di fare clic su OK per accettare le modifiche.
Importante: se si fa clic su OK prima di aver selezionato Undo (Annulla) le modifiche verranno salvate e il comando Undo (Annulla) sulla barra degli strumenti dell'editor piastra risulterà disabilitato.
 - Fare clic su OK per accettare le modifiche e salvare la piastra.

Modifica delle impostazioni dell'esperimento

Usare la finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento) per visualizzare o modificare l'elenco di target, campioni o gruppi biologici, oppure per impostare il gruppo dei campioni di analisi dell'espressione genica per analizzare se sono stati assegnati gruppi biologici ai pozzetti nella piastra.

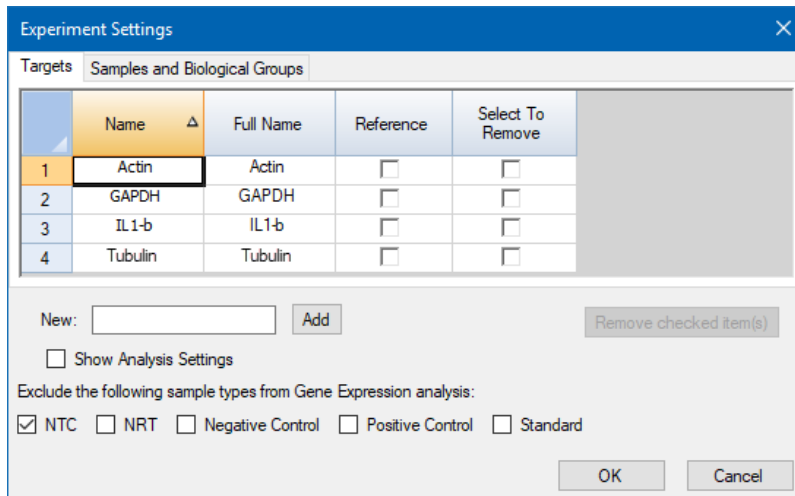
Nella finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento), la scheda Targets (Target) visualizza un elenco dei nomi target per ciascuna reazione PCR, come il gene target o le sequenze geniche di interesse.

La scheda Samples and Biological Groups (Campioni e gruppi biologici) visualizza un elenco di nomi di campioni e gruppi biologici che indicano l'origine del target, come un campione prelevato a 1 ora (1Hr) o da un individuo specifico [(mouse1) (topo 1)].

Per cambiare le impostazioni della piastra usando la finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento)

1. Per aprire la finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Nel riquadro a destra dell'editor piastra, fare clic su Experiment Settings (Impostazioni esperimento).
 - Nella scheda Gene Expression (Espressione genica) della finestra Data Analysis (Analisi dei dati), fare clic su Experiment Settings (Impostazioni esperimento).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento) con il contenuto della scheda Targets (Target).



2. Per aggiungere un nuovo nome di target, campioni o gruppi biologici, nella scheda appropriata digitare un nome nella casella di testo New (Nuovo) e fare clic su Add (Aggiungi).
3. Per rimuovere uno o più nomi di target, campioni o gruppi biologici dall'elenco, nella scheda appropriata selezionare la casella di controllo dell'elemento nella colonna Select to Remove (Seleziona per rimuovere) e fare clic su Remove checked item(s) (Rimuovi elementi selezionati).
4. CFX Maestro Dx SE esclude il tipo di campione NTC (controllo senza template) dall'analisi dell'espressione genica.

Per includere i tipi di campione NTC, deseleggerla la casella di controllo corrispondente nella sezione Exclude the following sample types (Escludi i seguenti tipi di campione). Selezionando la casella di controllo appropriata, è possibile scegliere di escludere i seguenti tipi di campione:

- NRT (senza trascrittasi inversa)
- Negative Control (Controllo negativo)
- Positive Control (Controllo positivo)
- Standard

5. Nella scheda Targets (Target):
 - a. Per selezionare un target come riferimento per l'analisi dei dati dell'espressione genica, selezionarlo nella colonna Reference (Riferimento).
 - b. Per nascondere le impostazioni dell'analisi che saranno applicate nella scheda Gene Expression (Espressione genica) della finestra Analysis Settings (Impostazioni analisi), deseleggerla Show Analysis Settings (Mostra impostazioni analisi).

Il software nasconde le seguenti colonne:

- Color (Colore)
 - Show Chart (Mostra grafico)
 - Auto Efficiency (Efficienza automatica)
 - Efficiency (%) [Efficienza (%)]
- c. Per cambiare il colore del target quando viene tracciato nel grafico dell'espressione genica, fare clic sulla relativa cella nella colonna Color (Colore), selezionare un nuovo colore nella finestra di dialogo Color (Colore) che viene visualizzata e fare clic su OK.
 - d. Per visualizzare il target nel colore selezionato all'interno del grafico dell'espressione genica, selezionare la casella di controllo corrispondente nella colonna Show Chart (Mostra grafico).

- e. Per impostazione predefinita, CFX Maestro Dx SE calcola automaticamente l'efficienza relativa per un target se i suoi dati includono una curva standard.

Per usare un valore di efficienza determinato in precedenza, digitare il valore nella relativa cella della colonna Efficiency (%) [Efficienza (%)] e premere il tasto Enter (Invio). CFX Maestro Dx SE deselecta la casella di controllo Auto Efficiency (Efficienza automatica).

6. Nella scheda Samples and Biological Groups (Campioni e gruppi biologici):
 - a. Per selezionare un campione o un gruppo biologico come campione di controllo per l'analisi dei dati dell'espressione genica, selezionare la relativa casella di controllo nella colonna Control (Controllo).
 - b. Per assegnare la condizione di controllo a un campione o a un gruppo biologico di un'analisi, fare clic sulla relativa casella di controllo nella colonna Control (Controllo).
 - c. Se non è già selezionata, fare clic sull'opzione Show Analysis Settings (Mostra impostazioni analisi) per visualizzare o modificare i parametri di analisi che verranno applicati nella scheda Gene Expression (Espressione genica). Il software nasconde le colonne Color (Colore) e Show Chart (Mostra grafico).
7. Fare clic su OK per salvare i parametri nella finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento) e tornare alla finestra dell'editor piastra.

Creazione di gruppi di pozzetti

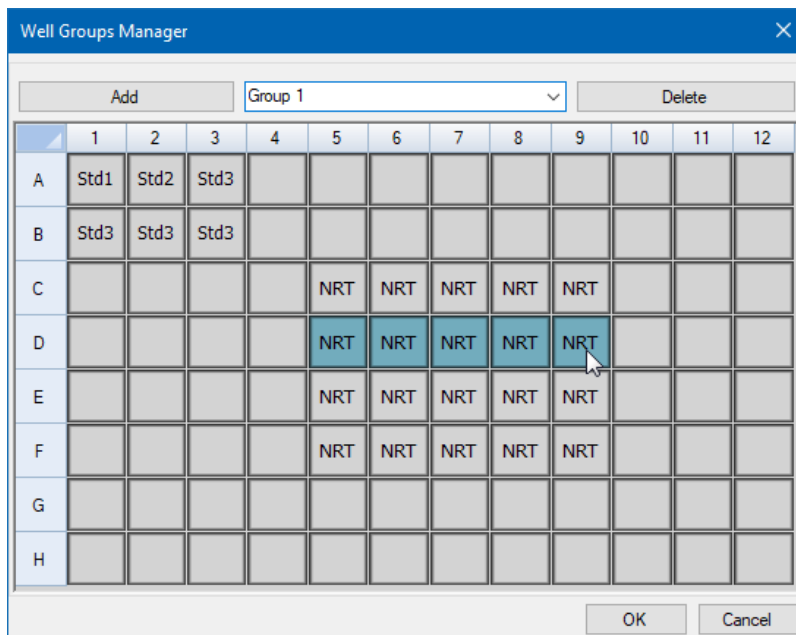
I gruppi di pozzetti dividono una piastra singola in sottoinsiemi di pozzetti che possono essere analizzati in modo indipendente nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Una volta impostati i gruppi di pozzetti, selezionarne uno nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati) per analizzare i dati come gruppo indipendente. Ad esempio, impostare i gruppi di pozzetti per analizzare più esperimenti eseguiti in una sola piastra o per analizzare ciascun gruppo di pozzetti con una curva standard diversa.

Nota: il gruppo di pozzetti predefinito è All Wells (Tutti i pozzetti).

Per creare dei gruppi di pozzetti

1. Per aprire Well Groups Manager (Gestione gruppi di pozzetti), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Nella barra degli strumenti dell'editor piastra, fare clic su Well Groups (Gruppi di pozzetti).
 - Nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), fare clic su Manage Well Groups (Gestisci gruppi di pozzetti).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Well Groups Manager (Gestione gruppi di pozzetti).



2. Fare clic su Add (Aggiungi) per creare un nuovo gruppo. Il menu a discesa visualizza il nome gruppo come Group 1 (Gruppo 1) per il primo gruppo.

3. Selezionare i pozzetti per il gruppo di pozzetti nella vista della piastra, facendo clic e trascinando attraverso il gruppo di pozzetti. I pozzetti selezionati sono visualizzati in blu nel Manager (Gestore).
4. (Opzionale) Per cambiare il nome del gruppo, selezionare il nome nel menu a discesa e digitare un nuovo nome.
5. (Opzionale) Per eliminare un gruppo di pozzetti, selezionarne il nome nell'elenco a discesa e fare clic su Delete (Elimina).
6. Fare clic su OK per finire e chiudere la finestra, oppure fare clic su Cancel (Annulla) per chiudere la finestra senza apportare modifiche.

Elementi del menu di scelta rapida per la finestra di dialogo Well Groups Manager (Gestione gruppi di pozzetti)

Nella [Tabella 10](#) sono elencati gli elementi del menu disponibili nella finestra Well Groups Manager (Gestione gruppi di pozzetti) quando si fa clic con il pulsante destro del mouse su un pozzetto.

Tabella 10. Elementi del menu di scelta rapida nella finestra di dialogo Well Groups Manager (Gestione gruppi di pozzetti)

Elemento	Funzione
Copy (Copia)	Copia il contenuto del pozzetto, che può quindi essere incollato in un altro pozzetto o pozzetti.
Copy as Image (Copia come immagine)	Copia la visualizzazione del selettore pozzetto come un'immagine.
Print (Stampa)	Stampa la visualizzazione del selettore pozzetto.
Print Selection (Stampa selezione)	Stampa solo le celle selezionate.
Export to Excel (Esporta in Excel)	Esporta i dati in un foglio di calcolo Excel.
Export to CSV (Esporta in CSV)	Esporta i dati come documento con valori separati da virgole.
Export to Xml (Esporta in Xml)	Esporta i dati come un documento .xml.
Export to Html (Esporta in html)	Esporta i dati come un documento .html.

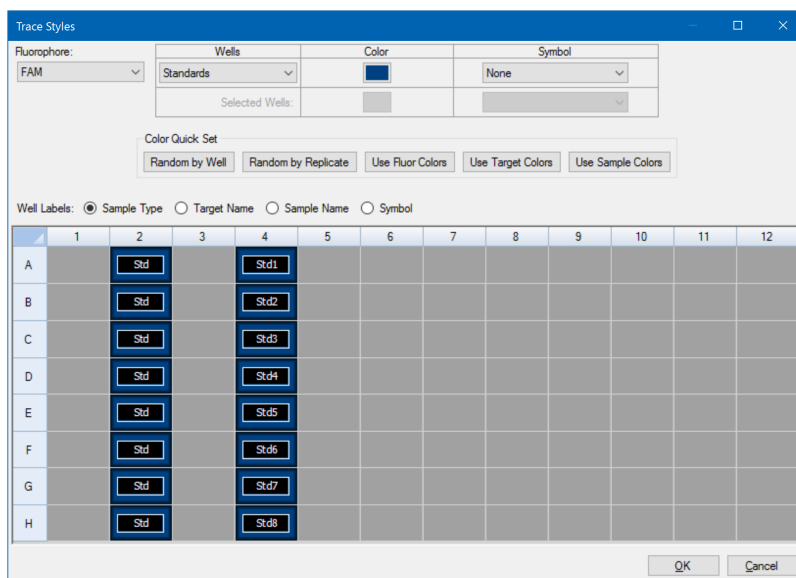
Modifica degli stili tracce

Durante l'impostazione della piastra e mentre è in corso l'analisi, è possibile modificare il colore e lo stile delle tracce di amplificazione. Si possono quindi visualizzare facilmente le tracce nella finestra di stato Real-Time mentre vengono raccolti i dati.

Per modificare gli stili tracce

1. Fare clic su Trace Styles (Stili tracce) nella barra degli strumenti dell'editor piastra.

Viene visualizzata la finestra di dialogo Trace Styles (Stili tracce) per la piastra aperta, ad esempio:



2. Per visualizzare gli stili tracce per un particolare fluoroforo, selezionarlo dall'elenco a discesa Fluorophores (Fluorofori).
3. Per modificare la visualizzazione della traccia:
 - a. Selezionare il tipo di traccia dall'elenco a discesa Wells (Pozzetti).
 - b. Fare clic sul relativo colore nella colonna Color (Colore).
 - c. Nella finestra di dialogo Color (Colore) che viene visualizzata, scegliere un altro colore per la traccia e fare clic su OK.
 CFX Maestro Dx SE visualizza il cambio di colore per il tipo di pozzetto nella griglia.
 - d. (Facoltativo) Dall'elenco a discesa Symbols (Simboli), selezionare un simbolo per la traccia.
4. Per cambiare rapidamente l'assortimento di colori, fare clic sulla scelta desiderata nella sezione Color Quick Set (Impostazione rapida colore).

5. Per visualizzare le etichette dei pozzetti nella griglia, selezionare il tipo di etichetta nella sezione Well Labels (Etichette pozzetto).
6. Fare clic su OK per salvare le modifiche o su Cancel (Annulla) per annullarle.

Visualizzazione, esportazione e importazione della piastra in formato foglio di calcolo

Lo strumento Spreadsheet View/Importer (Vista foglio di calcolo/Programma importazione) visualizza il contenuto di una piastra in formato foglio di calcolo. Il visualizzatore consente di visualizzare, importare ed esportare i dati dei pozzetti come descritto di seguito.

Utilizzo del visualizzatore di fogli di calcolo per esportare e importare i dati della piastra

Dal visualizzatore del foglio di calcolo, è possibile esportare il nome target, il nome del campione, il nome del gruppo biologico e le note del pozzetto come modello in un formato delimitato da tabulazioni in un'applicazione come Microsoft Excel. Tali dati possono essere importati anche da un'applicazione delimitata da tabulazioni in una piastra predefinita da un file di informazioni sull'esperimento.

Per usare lo strumento Spreadsheet View/Importer (Vista foglio di calcolo/Programma importazione)

1. Creare e salvare un file piastra (vedere [Creazione di un file piastra usando l'editor piastra](#)).
2. Nella barra degli strumenti dell'editor piastra, fare clic sulla scheda Spreadsheet View/Importer (Vista foglio di calcolo/Programma importazione) per aprire la finestra di dialogo Plate Spreadsheet View (Vista foglio di calcolo piastra).

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. (Facoltativo) Fare clic sulle caselle Show Biological Set Name (Mostra nome set biologico) e Show Well Note (Mostra nota pozzetto) per visualizzare le colonne in Spreadsheet View (Vista foglio di calcolo) e nel file esportato.
4. Fare clic sul pulsante Export Template (Esporta modello) per creare un modello vuoto in un file Excel (formato .csv). Il file esportato visualizzerà lo stesso layout della piastra.

Suggerimento: quando si salvano i file piastra, utilizzare il nome del file piastra per identificare facilmente il file.

5. Popola le celle del file Excel con il contenuto del pozzetto.

Nota: è possibile modificare solo il contenuto di una cella all'interno di una colonna che presenta un asterisco (*) accanto al nome della colonna (*Nome target, *Nome campione, *Nome gruppo biologico, *Nota pozzetto).

Nota: non è possibile aggiungere valori alle colonne Standard Curve (Curva standard) e Quantity (Quantità) nel file Excel esportato. Per modificare quei dati, tornare all'editor piastra e selezionare Settings > Units (Impostazioni > Unità) nella barra dei menu. Al termine dell'analisi della piastra, i dati di questi standard vengono visualizzati nel grafico della curva standard della scheda Quantification (Quantificazione) nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati) con le unità selezionate.

6. Importare nuovamente il file Excel popolato nell'editor piastra facendo clic sul pulsante Import (Importa). I dati della piastra importati vengono visualizzati nella finestra Plate Spreadsheet View (Vista foglio di calcolo piastra).

Importante: se si dispone di più fluorofori, sarà necessario eseguire le fasi da 3 a 5 per ciascun fluoroforo utilizzando il menu a discesa Fluors List (Elenco fluorofori) in Plate Spreadsheet View (Vista foglio di calcolo piastra).

7. Fare clic sul pulsante OK. I nuovi dati della piastra ora vengono visualizzati nella finestra Plate Editor (Editor piastra).

Suggerimento: è possibile visualizzare le voci di menu disponibili nello strumento Spreadsheet View/Importer tool (Vista foglio di calcolo/Programma importazione) facendo clic con il pulsante destro del mouse su qualsiasi pozzetto dello strumento o su una qualsiasi delle intestazioni di tabella della finestra Plate Spreadsheet View (Vista foglio di calcolo piastra).

Creazione di una disposizione piastra usando la procedura di impostazione guidata

È possibile usare la procedura guidata di impostazione per inserire le informazioni sul layout della piastra necessarie per l'analisi dell'espressione genica normalizzata, fra cui:

- Nomi target
- Nomi campione
- Posizione dei target e del campione sulla piastra
- Geni di riferimento
- Campione di controllo

È possibile usare la procedura di impostazione guidata prima, durante o dopo un'analisi.

Utilizzo della procedura di impostazione guidata della piastra

In questo paragrafo si spiega come creare una disposizione piastra utilizzando la procedura di impostazione guidata piastra. Per visualizzare più facilmente il contenuto di ogni pozzetto nella piastra, fare clic su Zoom plate (Ingrandisci piastra) nella parte superiore della procedura guidata di impostazione.

Importante: se si torna alla scheda Auto layout (Layout automatico) mentre si è in un'altra scheda della procedura guidata di impostazione, viene ripristinato il layout della piastra. Prestare attenzione durante la selezione di questa scheda.

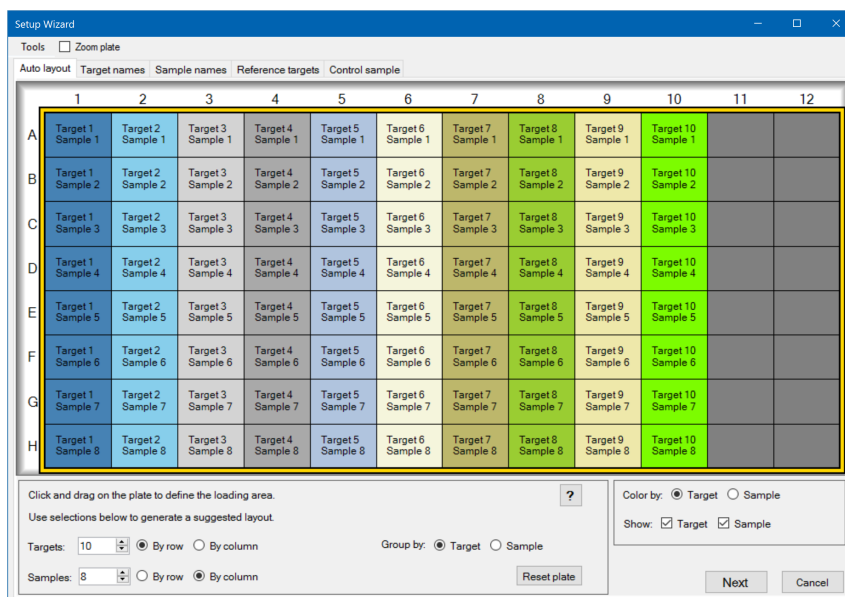
Suggerimento: è possibile ripristinare il layout selezionando Tools > Clear Plate (Strumenti > Cancella piastra) nella procedura guidata di impostazione.

Per utilizzare la procedura guidata di impostazione piastra

1. Aprire l'editor piastra.
2. Per aprire la procedura guidata di impostazione, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Scegliere Editing Tools > Setup Wizard (Strumenti di modifica > Procedura guidata di impostazione).
 - Fare clic su Setup Wizard (Procedura guidata di impostazione) nella barra degli strumenti dell'editor piastra.

Appare la procedura guidata di impostazione con la scheda Auto layout (Disposizione automatica).

Creazione di una disposizione piastra usando la procedura di impostazione guidata



3. Nella scheda Auto layout (Layout automatico), procedere come segue:

- Fare clic su un pozzetto nella griglia e trascinarlo verso il basso per specificare l'area della piastra in cui si intende caricare il campione.
- Inserire il numero di target e campioni da caricare.

Suggerimento: il numero di target e campioni deve essere uguale al numero di celle selezionate. Se i numeri immessi non si adattano all'area selezionata, modificare i numeri o l'area di selezione della piastra. È possibile specificare l'orientamento degli elementi sulla piastra e il loro raggruppamento.

- (Facoltativo) Cambiare l'orientamento della piastra. Ad esempio, è possibile impostare i target nelle colonne e i campioni in file o gruppi di campioni.
- Fare clic su Next (Avanti) per passare alla scheda Target names (Nomi target).

Nota: se il layout della piastra non presenta uno schema regolare, utilizzare la scheda Target names (Nomi target) per posizionare manualmente i target o la scheda Sample names (Nomi campione) per posizionare manualmente i campioni sulla piastra. Fare clic e trascinare per selezionare più pozzetti.

4. Nella scheda Target names (Nomi target), definire i nomi target dei gruppi target:

- Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per rinominare i target per gruppo, impostare Select by (Seleziona per) su Target.
 - Per rinominare i target per pozzetto, impostare Select by (Seleziona per) su Well (Pozzetto).

- b. Selezionare un gruppo di target o il pozzetto nella griglia e digitare un nome nell'elenco a discesa Target name (Nome target).

Suggerimento: premere il tasto Tab per selezionare il gruppo o pozzetto successivo immediatamente a destra oppure premere Enter (Invio) per selezionare il gruppo o pozzetto successivo immediatamente sotto. In alternativa, nelle schede Target name (Nome target) e Sample name (Nome campione), tenere premuto il tasto Control (Ctrl) e fare clic su un pozzetto per selezionare più pozzetti non adiacenti.

- c. Fare clic su Next (Avanti) per passare alla scheda Sample Names (Nomi campione).
5. Nella scheda Sample names (Nomi campione), definire i nomi campione per i gruppi di campioni.
6. Fare clic su Next (Avanti) per passare alla scheda Reference targets (Target di riferimento).
7. Nella scheda Reference targets (Target di riferimento), selezionare uno o più target da utilizzare come riferimenti per l'espressione genica normalizzata e fare clic su Next (Avanti) per passare alla scheda Control sample (Campione di controllo).
8. Nella scheda Control sample (Campione di controllo), selezionare un campione da utilizzare come controllo per i calcoli della rispettiva espressione genica.
9. Fare clic su OK per salvare il layout della piastra e tornare all'editor piastra dove è possibile definire altri parametri della piastra. Per maggiori informazioni, vedere [Assegnazione di parametri opzionali al file piastra a pagina 143](#).

In alternativa, fare clic su Previous (Precedente) per tornare alla scheda precedente e apportare eventuali modifiche.

Nota: se si torna alla scheda Auto layout (Layout automatico), la piastra viene automaticamente ripristinata. Procedere con cautela quando si fa clic su Previous (Precedente).

Capitolo 9 Esecuzione di esperimenti

In questo capitolo viene spiegato come eseguire esperimenti di dosaggio personalizzati (definiti dall'utente) o PrimePCR utilizzando il Software CFX Maestro Dx, Security Edition.

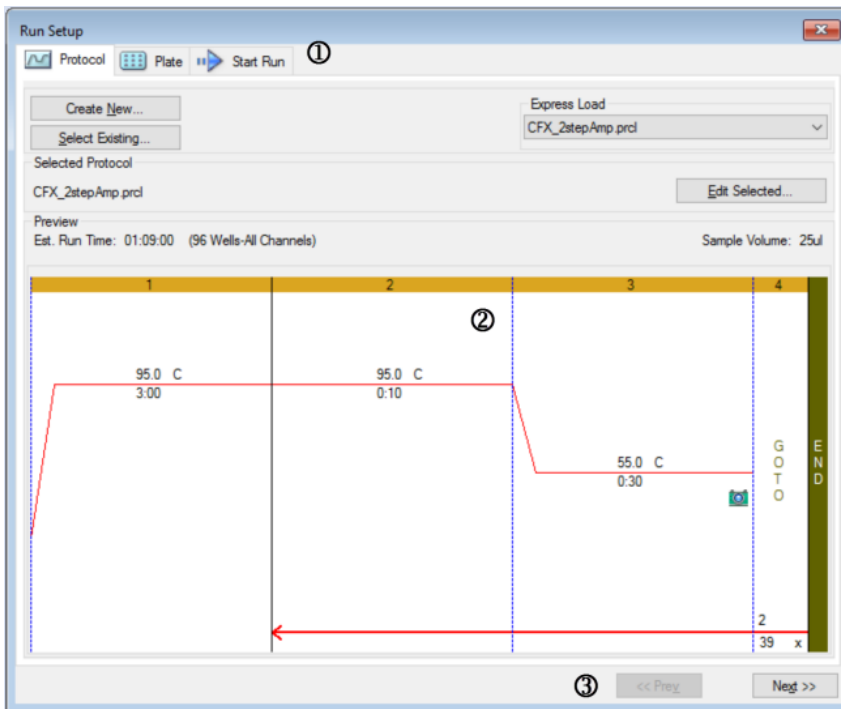
Un file di dati dell'analisi contiene informazioni relative al protocollo e alla piastra per l'analisi. Il file contiene anche i dati delle analisi che CFX Maestro Dx SE esegue al termine dell'analisi.

CFX Maestro Dx SE semplifica la configurazione e l'esecuzione di esperimenti definiti dall'utente o PrimePCR. La finestra Run Setup (Impostazione analisi) guida l'utente attraverso le fasi comuni della configurazione di un esperimento fino alla finestra di dialogo Start Run (Avvia analisi) da cui si avvia l'analisi.

Finestra Run Setup (Impostazione analisi)

La finestra Run Setup (Impostazione analisi) fornisce un accesso rapido ai file e alle impostazioni necessarie a impostare ed eseguire un esperimento. Quando si sceglie di eseguire un esperimento definito dall'utente, si apre la finestra Run Setup (Impostazione analisi) che mostra la scheda Protocol (Protocollo). Quando si sceglie di eseguire un esperimento PrimePCR, si apre la finestra Run Setup (Impostazione analisi) che mostra la scheda Start run (Avvia analisi).

Suggerimento: per informazioni su PrimePCR, vedere [Esecuzione di esperimenti PrimePCR a pagina 186](#); per informazioni sulla scheda Start run (Avvia analisi), vedere [Scheda Start Run \(Avvia analisi\) a pagina 176](#).



LEGENDA

1. Le schede guidano l'utente attraverso la procedura di impostazione ed esecuzione di un esperimento:
 - Scheda Protocol (Protocollo): consente di selezionare un protocollo esistente da eseguire o modificare, oppure di creare un nuovo protocollo nell'editor protocollo.
 - Scheda Plate (Piastra): consente di selezionare una piastra esistente da eseguire o modificare, oppure di creare una nuova piastra nell'editor piastra.
 - Scheda Start Run (Avvia analisi): consente di visualizzare le impostazioni dell'esperimento, di selezionare uno o più blocchi dello strumento e avviare l'analisi.

2. La finestra principale visualizza le opzioni per ciascuna scheda quando vengono applicate.

3. I pulsanti di navigazione danno accesso alla scheda Start Run (Avvia analisi).

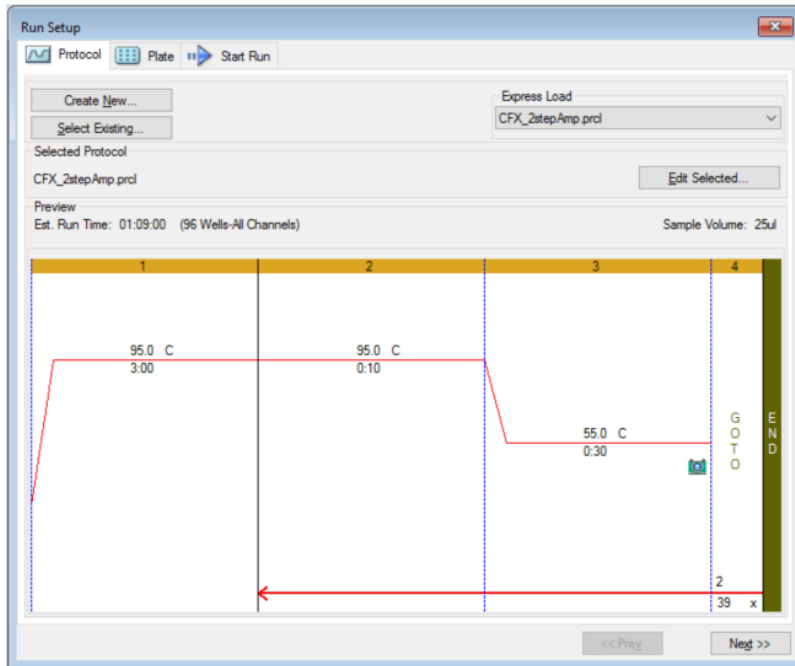
Accesso alla finestra Run Setup (Impostazione analisi)

Per accedere alla finestra Run Setup (Impostazione analisi)

- ▶ Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Nella scheda Run setup (Impostazione analisi) della procedura guidata di avvio, fare clic su User-defined (Definita dall'operatore) o PrimePCR.
 - Nella finestra Home, fare clic su User-defined Run Setup (Impostazione analisi definita dall'utente) o su PrimePCR Run Setup (Impostazione analisi PrimePCR) nella barra degli strumenti.
 - Nella finestra Home, selezionare Run > User-defined Run (Analisi > Analisi definita dall'utente) oppure Run > PrimePCR Run (Analisi > Analisi PrimePCR).

Scheda Protocol (Protocollo)

La scheda Protocol (Protocollo) visualizza un'anteprima del file protocollo che si pianifica di eseguire. Un file di protocollo contiene le istruzioni per le fasi di temperatura dello strumento, nonché le opzioni strumento che controllano velocità di rampa, volume campione e temperatura del coperchio.



Come impostazione predefinita, il software visualizza il protocollo definito nella selezione file della sezione Run Setup (Impostazione analisi) nella scheda Files (File), nella finestra di dialogo User > User Preferences (Utente > Preferenze utente). Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), è possibile modificare il protocollo predefinito. Per ulteriori informazioni, vedere [Modifica delle impostazioni file predefinite a pagina 85](#).

La scheda Protocol (Protocollo) consente di effettuare le seguenti operazioni:

- Creare un nuovo protocollo da eseguire
- Selezionare un protocollo esistente da eseguire o modificare

Per maggiori informazioni su come creare e modificare i protocolli, fare riferimento al [Capitolo 7, Creazione di protocolli](#).

Per creare un nuovo protocollo

1. Nella scheda Protocol (Protocollo), fare clic su Create New (Crea nuovo).
Viene visualizzato l'editor protocollo.
2. Utilizzare l'editor protocollo per creare un nuovo protocollo.
3. Fare clic su OK per salvare il protocollo e tornare alla scheda Protocol (Protocollo) in Run Setup (Impostazione analisi).
4. Esaminare i dettagli del protocollo ed eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Se i dettagli sono corretti, fare clic su Next (Avanti) per passare alla scheda Plate (Piastra).
 - Se i dettagli non sono corretti, fare clic su Edit Selected (Modifica selezione) per tornare alla finestra dell'editor protocollo. Riesaminare il protocollo, salvare le modifiche, quindi fare clic su Next (Avanti) nella scheda Protocol (Protocollo) per procedere alla scheda Plate (Piastra).

Selezione di un protocollo esistente

1. Nella scheda Protocol (Protocollo), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Fare clic su Select Existing (Seleziona esistente) e accedere a un protocollo esistente.
 - Fare clic su Express Load e selezionare un protocollo dall'elenco a discesa dei protocolli.
Suggerimento: nell'elenco a discesa Express Load è possibile aggiungere o rimuovere protocolli. Per maggiori informazioni, fare riferimento ad [Aggiunta e rimozione di protocolli di Express Load](#) riportato di seguito.
2. Esaminare i dettagli del protocollo ed eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Se i dettagli sono corretti, fare clic su Next (Avanti) per passare alla scheda Plate (Piastra).
 - Se i dettagli non sono corretti, fare clic su Edit Selected (Modifica selezione) per aprire l'editor protocollo. Riesaminare il protocollo, salvare le modifiche, quindi fare clic su Next (Avanti) nella scheda Protocol (Protocollo) per procedere alla scheda Plate (Piastra).

Aggiunta e rimozione di protocolli di Express Load

È possibile modificare il contenuto dell'elenco a discesa di Express Load che appare nell'editor protocollo. I protocolli in questo elenco vengono salvati nella seguente cartella:

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX_MDX\Users\<nome_utente>\ExpressLoad\

Per modificare l'elenco di protocolli Express Load

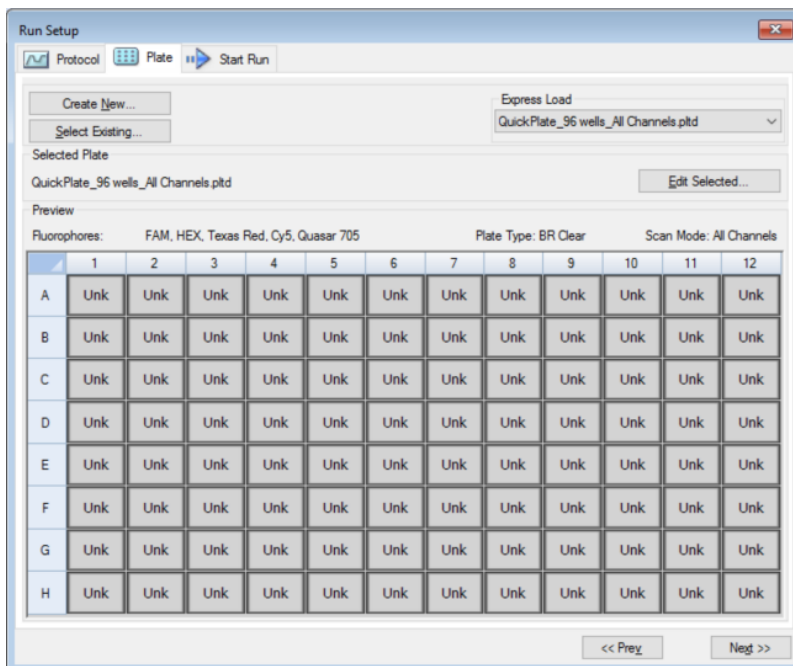
1. Navigare fino alla cartella ExpressLoad e aprirla.
2. Esaminare i file dei protocolli (.pcri) nella cartella.

3. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Eliminare i protocolli dalla cartella per rimuoverli dall'elenco a discesa.
 - Copiare i protocolli nella cartella per aggiungerli all'elenco a discesa.

Scheda Plate (Piastra)

Nota: se il protocollo selezionato nella scheda Protocol (Protocollo) non include una fase di lettura piastra per l'analisi PCR in tempo reale, la scheda Plate (Piastra) viene nascosta. Per visualizzare la scheda Plate (Piastra), aggiungere almeno una lettura piastra al protocollo.

La scheda Plate (Piastra) visualizza un'anteprima del file di piastra che si prevede di caricare. In un'analisi PCR in tempo reale, il file della piastra contiene una descrizione del contenuto di ciascun pozzetto, inclusi i relativi fluorofori, la modalità di scansione e il tipo di piastra. CFX Maestro Dx SE utilizza queste descrizioni per la raccolta e l'analisi dei dati.



Per impostazione predefinita, il software visualizza la piastra definita nella sezione File Selection for Run Setup (Selezione file per l'impostazione dell'analisi) della scheda Files (File) nella finestra di dialogo User > User Preferences (Utente > Preferenze utente). Nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente), è possibile modificare la piastra predefinita. Per ulteriori informazioni, vedere [Modifica delle impostazioni file predefinite a pagina 85](#).

Nella scheda Plate (Piastra), è possibile:

- Creare una nuova piastra da caricare.
- Selezionare una piastra esistente da caricare o modificare.

Per ulteriori informazioni sulla creazione e sulla modifica delle piastre, vedere il [Capitolo 8, Preparazione delle piastre](#).

Per creare una nuova piastra

1. Nella scheda Plate (Piastra) fare clic su Create New (Crea nuovo).
Viene visualizzato l'editor piastra.
2. Usare l'editor piastra per creare una nuova piastra.
3. Fare clic su OK per salvare la piastra e tornare alla scheda Plate (Piastra) in Run Setup (Impostazione analisi).
4. Esaminare i dettagli della piastra ed eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Se i dettagli sono corretti, fare clic su Next (Avanti) per passare alla scheda Start Run (Avvia analisi).
 - Se i dettagli non sono corretti, fare clic su Edit Selected (Modifica selezione) per tornare all'editor piastra. Revisionare il file piastra, salvare le modifiche, quindi fare clic su Next (Avanti) sulla scheda Plate (Piastra) per procedere alla scheda Start Run (Avvia analisi).

Per selezionare un file piastra esistente

1. Nella scheda Plate (Piastra), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Fare clic su Select Existing (Seleziona esistente) e accedere a un file di piastra esistente.
 - Fare clic su Express Load e selezionare un file di piastra dall'elenco a discesa.
Suggerimento: è possibile aggiungere o rimuovere piastre dall'elenco a discesa Express Load. Per ulteriori informazioni fare riferimento al capitolo [Aggiunta e rimozione di file piastra di Express Load](#) riportato di seguito.
2. Esaminare i dettagli della piastra ed eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Se i dettagli sono corretti, fare clic su Next (Avanti) per passare alla scheda Start Run (Avvia analisi).
 - Se i dettagli non sono corretti, fare clic su Edit Selected (Modifica selezione) per aprire la finestra dell'editor piastra. Revisionare il file piastra, salvare le modifiche, quindi fare clic su Next (Avanti) per procedere alla scheda Start Run (Avvia analisi).

Aggiunta e rimozione di file piastra di Express Load

È possibile modificare il contenuto dell'elenco a discesa di Express Load che appare nell'editor piastra. Le piastre visualizzate in questo elenco vengono salvate nella seguente cartella:

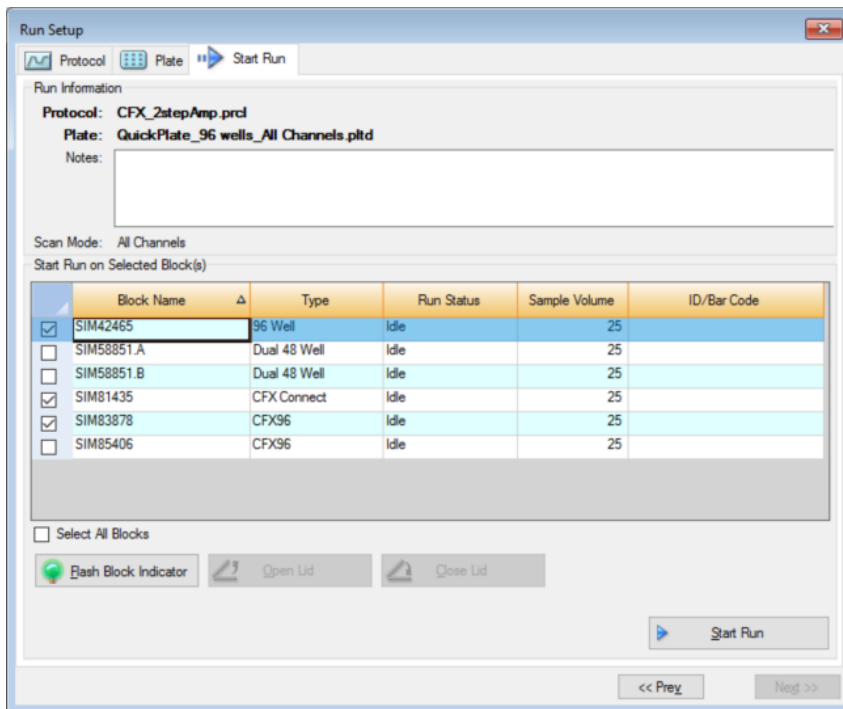
c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx\Users\

Per modificare l'elenco di file di piastra dell'elenco Express Load

1. Navigare fino alla cartella ExpressLoad e aprirla.
2. Esaminare i file piastra (.pltd) nella cartella.
3. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Eliminare i file di piastra dalla cartella per rimuoverli dall'elenco a discesa.
 - Copiare i file di piastra nella cartella per aggiungerli all'elenco a discesa.

Scheda Start Run (Avvia analisi)

La scheda Start Run (Avvia analisi) visualizza le informazioni relative all'esperimento da eseguire. Visualizza anche il blocco o i blocchi di strumenti collegati sui quali è possibile eseguire l'esperimento.



La scheda Start Run (Avvia analisi) consente di effettuare le seguenti operazioni:

- Visualizzare informazioni dettagliate sull'analisi, incluso il file del protocollo selezionato, il file piastra e la modalità di scansione.
- Aggiungere note relative all'analisi.
- Visualizzare i dettagli relativi a tutti gli strumenti collegati, incluso il relativo stato di esecuzione (in corso o inattivo), il volume del campione in μl , la temperatura del coperchio, la modalità di emulazione e l'ID o il codice a barre, se disponibile.

Nota: è possibile modificare le colonne visualizzate nella tabella Start Run on Selected Block (Avvia analisi sui blocchi selezionati). Per ulteriori informazioni, vedere [Modifica dei dettagli nella tabella dei blocchi selezionati a pagina 177](#).

- Selezionare il blocco o i blocchi in cui eseguire l'analisi.
- Aprire o chiudere da remoto il coperchio di ogni strumento selezionato.

- Avviare l'analisi.

Modifica dei dettagli nella tabella dei blocchi selezionati

È possibile modificare le colonne che sono visualizzate nella tabella Start Run on Selected Blocks (Avvia analisi nei blocchi selezionati). Nella tabella si può anche modificare il volume del campione predefinito e i valori della temperatura del coperchio. Le modifiche dell'impostazione vengono applicate all'analisi che deve essere effettuata.

Per aggiungere colonne nella tabella Start Run on Selected Blocks (Avvia analisi nei blocchi selezionati)

- ▶ Con il pulsante destro del mouse, fare clic sulla tabella e scegliere un'opzione nel menu visualizzato.

Per rimuovere colonne nella tabella Start Run on Selected Blocks (Avvia analisi nei blocchi selezionati)

- ▶ Con il pulsante destro del mouse, fare clic sulla tabella e deselezionare l'opzione nel menu visualizzato.

Per modificare il volume campione o i valori della temperatura del coperchio per un blocco

- ▶ Selezionare la cella del volume campione o della temperatura del coperchio per il blocco target e digitare un nuovo valore nella cella.

Per aggiungere un ID o un codice a barre dell'analisi per un blocco

- ▶ Selezionare la cella ID/Bar Code (ID/codice a barre) per il blocco target e digitare un ID oppure eseguire la scansione del blocco con un lettore di codici a barre.

Esecuzione di un esperimento

Importante: prima di eseguire un esperimento, verificare che il software anti-virus del computer in uso non avvii una scansione durante l'analisi. Per ulteriori informazioni, vedere [Installazione del software CFX Maestro Dx SE a pagina 34](#) e rivolgersi all'amministratore di sistema.

Per eseguire un esperimento

1. Nella scheda Start Run (Avvia analisi), verificare i dettagli della piastra e del protocollo nella sezione Run Information (Informazioni analisi).
2. (Opzionale) Aggiungere note relative all'analisi o l'esperimento nella casella di testo Notes (Note).
3. Selezionare la casella di controllo di uno o più blocchi sui quali eseguire l'analisi.

Suggerimento: per eseguire l'esperimento su tutti i blocchi, selezionare Select All Blocks (Seleziona tutti i blocchi), che si trova sotto la tabella Selected Blocks (Blocchi selezionati).

4. (Opzionale) Fare clic su Flash Block Indicator (Lampeggio indicatore di blocco) per far lampeggiare il LED di indicazione sui blocchi strumento selezionati.
5. Inserire le piastre dell'esperimento nel blocco:
 - a. Fare clic su Open Lid (Apri coperchio). Il coperchio motorizzato di ciascun blocco selezionato si apre.
 - b. Inserire una piastra dell'esperimento in ogni blocco selezionato.
 - c. Fare clic su Close Lid (Chiudi coperchio).

Suggerimento: nel sistema CFX Opus Dx, toccare Open Lid (Apri coperchio) o Close Lid (Chiudi coperchio) nella schermata Home.
6. Fare clic su Open Lid (Apri coperchio) e Close Lid (Chiudi coperchio) per aprire e chiudere il coperchio motorizzato di ogni blocco dello strumento selezionato.
7. Esaminare i dettagli dell'analisi ed eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Se i dettagli sono corretti, fare clic su Start Run (Avvia analisi).
 - Se i dettagli non sono corretti:
 - Correggere i dettagli nella tabella Selected Blocks (Blocchi selezionati) e fare clic su Start Run (Avvia analisi).
 - Tornare alla scheda corretta ed eseguire le modifiche necessarie, salvare le modifiche, quindi fare clic su Next (Avanti) per tornare alla scheda Start Run (Avvia analisi) e avviare l'analisi.

Per avviare una nuova analisi da un'analisi precedente

- ▶ Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Selezionare File > Repeat a Run (File > Ripeti un'analisi) nella barra dei menu principale del software; individuare e fare doppio clic sul file di dati dell'analisi che si desidera ripetere.
 - Selezionare la scheda Repeat Run (Ripeti analisi) della procedura guidata di avvio, quindi fare doppio clic sul file di dati dell'analisi che si desidera ripetere.
- Opzionalmente, nella scheda Repeat Run (Ripeti analisi), fare clic su Browse (Sfogliare), quindi navigare e fare doppio clic sul file di dati dell'analisi che si desidera ripetere.

Finestra di dialogo Run Details (Dettagli analisi)

Quando si fa clic su Start Run (Avvia analisi), CFX Maestro Dx SE chiede di salvare il file di dati (.pcrd), avvia l'analisi e apre la finestra di dialogo Run Details (Dettagli analisi). La finestra di dialogo Run Details (Dettagli analisi) comprende tre schede di stato:

- **Run Status** (Stato analisi): utilizzare questa scheda per visualizzare lo stato corrente del protocollo, aprire o chiudere il coperchio, mettere in pausa un'analisi, aggiungere ripetizioni, saltare fasi o arrestare l'analisi.
- **Real-time Status** (Stato in tempo reale): utilizzare questa scheda per visualizzare i dati di fluorescenza della PCR in tempo reale a mano a mano che vengono raccolti.
- **Time Status** (Stato tempo): utilizzare questa scheda per visualizzare un timer di conto alla rovescia a schermo intero per il protocollo.

Queste schede sono spiegate nel dettaglio nei paragrafi che seguono.

Scheda Run Status (Stato analisi)

La scheda Run Status (Stato analisi) visualizza lo stato attuale di un'analisi in corso. In questa schermata è inoltre possibile controllare il coperchio e modificare l'analisi in corso.

Run Details - CFX Run [SIM83878] - admin_2017-07-31 17-10-48_SIM83878.pcrd

Run Status | Realtime Status | Time Status

Run Status

Step 1 of 4	95.0 °C for 00:02:45	Sample: 95.0 °C
Repeat 1 of 1	Remaining 01:05:45	Lid 105 °C

Running

Open Lid | Close Lid | Add Repeats | Skip Step | Flash Block Indicator | Pause | Resume | Stop

Run Information

Protocol:	CFX_2stepAmp.prcf
Plate:	QuickPlate_96_wells_All
Sample Volume:	25ul
Scan Mode:	All Channels
Data File Name:	admin_2017-07-31 17-10-48_SIM83878.pcrd
Notes:	
ID:	

LEGENDA

1. Riquadro dello stato dell'analisi: visualizza lo stato di avanzamento corrente del protocollo.
2. Comandi Run Status (Stato analisi): consentono di utilizzare lo strumento o interrompere il protocollo attuale.
3. Riquadro Run Information (Informazioni analisi): visualizza i dettagli dell'analisi.

Comandi di stato dell'analisi

Utilizzare i comandi della scheda Run Status (Stato analisi) per far funzionare lo strumento dal software o cambiare un'analisi in corso.

Nota: apportare modifiche al protocollo durante l'analisi, come aggiungere ripetizioni, non modifica il file del protocollo associato all'analisi. Tali azioni sono registrate nel registro dell'analisi.



: apre il coperchio motorizzato sugli strumenti selezionati.

Importante: l'apertura del coperchio durante un'analisi mette in pausa l'analisi durante la fase corrente e potrebbe alterare i dati. [Comandi di stato dell'analisi a pagina 180.](#)



: chiude il coperchio motorizzato sugli strumenti selezionati.



: aggiunge più ripetizioni alla fase GOTO corrente del protocollo. Questa opzione è disponibile solo quando è in corso una fase GOTO.

Nota: è possibile aggiungere ulteriori ripetizioni durante un ciclo GOTO quando il protocollo è in corso. Tuttavia, CFX Maestro Dx SE riconosce la modifica più recente del numero di ripetizioni. Ad esempio, se si aggiungono 10 ulteriori ripetizioni durante un ciclo GOTO, il software cambierà il numero totale in $n + 10$. Se successivamente si aggiungono altre cinque (5) ripetizioni durante lo stesso ciclo, CFX Maestro cambierà il numero totale di ripetizioni in $n + 5$. La prima modifica (10 ripetizioni) viene ignorata. Per garantire che il software esegua il numero di ripetizioni desiderato, immettere il numero totale (in questo caso, 15 ripetizioni).



: esclude la fase corrente del protocollo.

Nota: se si avvia un comando di esclusione durante una fase GOTO, il sistema passa al ciclo successivo nel loop GOTO. Se al momento del comando di esclusione era in corso l'ultimo ciclo della fase GOTO, il sistema passa alla fase successiva.



: fa lampeggiare il LED sullo strumento selezionato per identificare i blocchi selezionati.



: mette in pausa il protocollo.

Nota: questa azione viene registrata nel registro dell'analisi.



: riprende un protocollo messo in pausa.

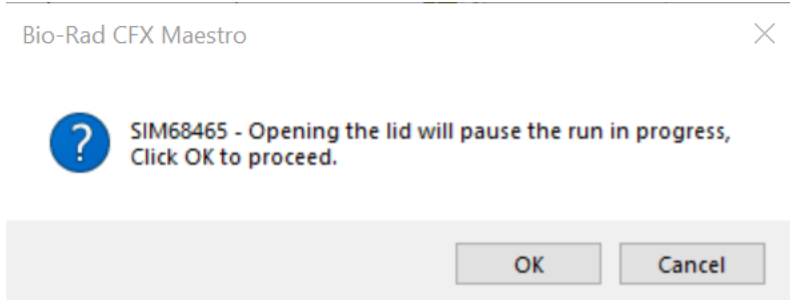


: interrompe l'analisi prima che termini il protocollo.

Nota: interrompere un'analisi prima della fine del protocollo potrebbe alterare i dati.

Apertura del coperchio dello strumento durante un'analisi PCR

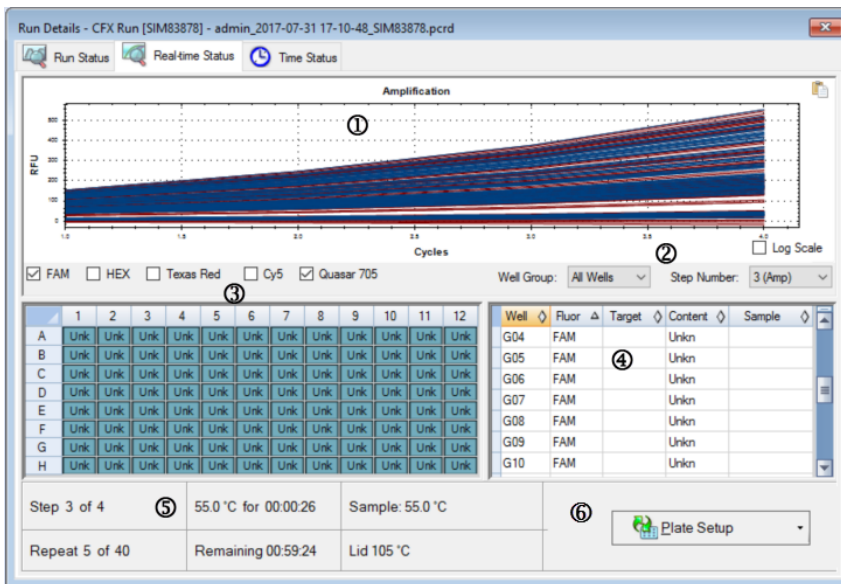
Se il coperchio di uno strumento viene aperto durante un'analisi PCR, CFX Maestro Dx SE visualizzerà la seguente finestra di dialogo di conferma:



Mentre viene visualizzata la finestra di dialogo, lo strumento continua a eseguire il protocollo. Il pulsante OK mette in pausa l'analisi e il coperchio dello strumento si sblocca e si apre. Il pulsante Cancel (Annulla) consente di chiudere la finestra di dialogo e riprendere l'analisi.

Scheda Real-time Status (Stato in tempo reale)

La scheda Real-time Status (Stato in tempo reale) visualizza i dati della PCR in tempo reale raccolti ad ogni ciclo durante l'analisi dopo le prime due letture piastra.



LEGENDA

1. Riquadro delle tracce di amplificazione: consente di visualizzare i dati dell'amplificazione in tempo reale durante l'analisi.
2. Well group identifier (Identificativo gruppo di pozzetti): se durante l'impostazione piastra i gruppi di pozzetti sono stati identificati, gli utenti possono selezionare un gruppo di pozzetti per visualizzarne le tracce, i pozzetti e le informazioni tabulari.
Step number identifier (Identificativo numero di fase): se il protocollo raccoglie i dati in più di una fase (per esempio durante l'amplificazione e la curva di fusione), gli utenti possono selezionare una specifica fase e visualizzare le tracce raccolte durante tale fase.
3. Well selector pane (Riquadro selettore pozzetto): visualizza i pozzetti attivi, inattivi e vuoti della piastra.
4. Plate setup table pane (Riquadro tabella di impostazione piastra): visualizza l'impostazione piastra in formato tabulare.

5. Riquadro dei dettagli dell'analisi: consente di visualizzare lo stato in tempo reale dell'analisi tra cui
 - Fase corrente
 - Ripetizione corrente
 - Temperatura corrente
 - Tempo residuo
 - Temperatura del campione
 - Temperatura del coperchio

6. Plate Setup (Impostazione piastra): consente di aprire la finestra di dialogo Plate Setup (Impostazione piastra) nella quale gli utenti possono modificare l'impostazione della piastra corrente durante un'analisi.

Nella scheda Real-time Status (Stato in tempo reale), è possibile:

- Mostrare o nascondere le tracce in tempo reale selezionandole nel riquadro del selettore di pozzetti o nella tabella di impostazione piastra.
- Visualizzare tracce singole o gruppi di tracce selezionandole nella casella a discesa del gruppo di pozzetti.
- Modificare la piastra o sostituire il file piastra.
- Applicare un file PrimePCR all'analisi.

Mostrare o nascondere le tracce in tempo reale

Per impostazione predefinita, tutti i pozzetti riempiti sono attivi e compaiono nella tabella di configurazione della piastra. I pozzetti attivi sono visualizzati in blu nel riquadro del selettore pozzetto. I pozzetti nascosti vengono visualizzati in grigio chiaro, mentre i pozzetti inutilizzati vengono visualizzati in grigio scuro nel riquadro del selettore di pozzetti.

È possibile nascondere le tracce dai pozzetti attivi durante l'analisi. CFX Maestro Dx SE continua a raccogliere dati per tutti i pozzetti; quando si nascondono i pozzetti, i relativi dati non vengono visualizzati nella tabella di impostazione della piastra.

Per nascondere le tracce in tempo reale

- ▶ Nel riquadro del selettore di pozzetti, fare clic sui pozzetti attivi (blu) che si desidera nascondere.

Per mostrare le tracce in tempo reale

- ▶ Nel riquadro del selettore di pozzetti, fare clic sui pozzetti nascosti (grigio chiaro) che si desidera visualizzare.

Per maggiori informazioni sul selettore pozzetto, vedere [Selettore pozzetto a pagina 205](#).

Modifica di un'impostazione piastra

Per modificare un'impostazione della piastra

- ▶ Fare clic su Plate Setup (Impostazione piastra), quindi selezionare View/Edit Plate (Visualizza/Modifica piastra).

Viene visualizzata la finestra dell'editor piastra, in cui è possibile modificare la piastra durante l'esecuzione dell'analisi. Per ulteriori informazioni sulla modifica delle piastre, vedere il [Capitolo 8, Preparazione delle piastre](#).

Nota: è inoltre possibile modificare gli stili della traccia dalla finestra dell'editor piastra. Le modifiche vengono visualizzate nel grafico della traccia di amplificazione nella scheda Real-time Status (Stato in tempo reale).

Sostituzione di un file piastra

Suggerimento: la sostituzione di un file piastra è particolarmente utile se si avvia un'analisi con un file Quick Plate nella cartella ExpressLoad.

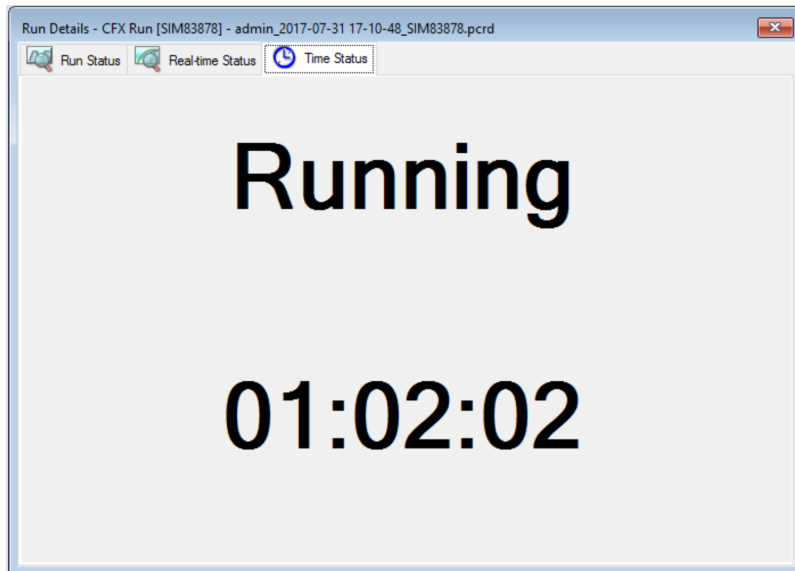
Per sostituire un file piastra

- ▶ Fare clic su Plate Setup (Impostazione piastra) e selezionare una delle seguenti opzioni:
 - Replace Plate file (Sostituisci file piastra): selezionare il nuovo file piastra dall'elenco nella finestra del browser
 - Apply PrimePCR file (Applica file PrimePCR): cercare il file di un'analisi da cui si otterrà il layout della piastra utilizzando la funzione di ricerca intelligente oppure fare clic su Browse (Sfoglia) per individuare un file che è stato scaricato dal sito web Bio-Rad e che non si trova nella cartella PrimePCR

Nota: CFX Maestro Dx SE controlla la modalità di scansione e le dimensioni della piastra per il file piastra, che devono corrispondere alle impostazioni con cui è stata avviata l'analisi.

Scheda Time Status (Stato tempo)

La scheda Time Status (Stato tempo) visualizza il tempo rimanente per completare l'analisi in corso.



Esecuzione di esperimenti PrimePCR

Gli esperimenti PrimePCR utilizzano dosaggi specifici per pathway o malattia che Bio-Rad ha convalidato e ottimizzato in wet-lab e che sono disponibili nei seguenti formati:

- Pannelli prepiastrati: piastre contenenti i dosaggi specifici per un pathway biologico o una malattia; includono controlli PrimePCR e geni di riferimento.
- Piastre configurate personalizzate: piastre che possono essere impostate in un layout definito dall'utente con la possibilità di scegliere dosaggi per target di interesse, controlli e riferimenti.
- Dosaggi individuali: le provette contenenti i singoli set di primer per l'uso nelle reazioni in tempo reale.

Per ridurre il tempo di analisi complessivo, è possibile rimuovere la fase di fusione nel protocollo. Bio-Rad raccomanda vivamente di non apportare altre modifiche ad un protocollo di analisi PrimePCR. Il protocollo predefinito è quello usato per la convalida del dosaggio. Qualsiasi deviazione da tale raccomandazione può alterare i risultati. I cambiamenti al protocollo vengono annotati nella scheda Run Information (Informazioni analisi) del file di dati risultante e in qualsiasi report creato.

Per avviare un'analisi PrimePCR

- ▶ Per avviare un'analisi PrimePCR, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Nella procedura guidata di avvio, selezionare PrimePCR nella scheda Run Setup (Impostazione analisi), quindi selezionare la chimica appropriata (SYBR[®] o probe).
 - Selezionare un'analisi PrimePCR dall'elenco Recent Runs (Analisi recenti) nella scheda Repeat run (Ripeti analisi) della procedura guidata di avvio.
 - Selezionare File > Open > PrimePCR Run File (File > Apri > File di analisi PrimePCR) nella finestra Home.
 - Selezionare e trascinare un file di analisi PrimePCR nella finestra Home.

Dopo aver selezionato un'analisi PrimePCR, si apre la finestra Run Setup (Impostazione analisi) nella scheda Start Run (Avvia analisi) con la disposizione piastra PrimePCR predefinita, caricata in base allo strumento selezionato.

Per rimuovere la fase di fusione nel protocollo

- ▶ Nella scheda Protocol (Protocollo), deselezionare la casella vicino a Include Melt Step (Includi fase di fusione).

Per importare le informazioni target per le piastre PrimePCR in un layout della piastra

1. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Nella scheda Real-time Status (Stato in tempo reale) nella finestra di dialogo Run Details (Dettagli analisi), selezionare Plate Setup > Apply PrimePCR File (Impostazione piastra > Applica file PrimePCR).
 - Nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), selezionare Plate Setup > Apply PrimePCR File (Impostazione piastra > Applica file PrimePCR).
2. Nella finestra di dialogo PrimePCR Run File (File di analisi PrimePCR), fare clic su Browse (Sfoggia) per accedere al file PrimePCR appropriato (.csv).
3. Selezionare il file PrimePCR target e fare clic su Open (Apri).

Il sistema CFX Opus Dx importa le informazioni target nel layout della piastra.

Trasferimento dei dati stand-alone per l'analisi

Importante: quando si trasferiscono file di dati dal sistema CFX Opus Dx a CFX Maestro Dx SE, vengono trasferiti tutti i file salvati nel sistema. Verificare che lo spazio su disco sia sufficiente per trasferire i dati in sicurezza.

Al termine dell'analisi, CFX Maestro Dx SE analizza i dati di fluorescenza. Se l'analisi viene eseguita in modalità stand-alone e salvata sul sistema CFX Opus Dx stesso, i dati devono essere trasferiti nel computer CFX Maestro Dx SE per l'analisi.

Il sistema CFX Opus Dx può memorizzare fino a 100 analisi PCR in tempo reale. Al termine dell'analisi, è possibile trasferire i file di dati stand-alone nel computer CFX Maestro Dx SE tramite e-mail, unità USB o tramite il software stesso.

In questo paragrafo viene spiegato come trasferire i file di dati stand-alone nel computer CFX Maestro Dx SE.

Trasferimento di dati tramite e-mail

Per inviare un file di dati al termine di un'analisi

1. Impostare le notifiche e-mail per lo strumento.

Vedere [Impostazione delle notifiche e-mail a pagina 81](#) o il manuale operativo del sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Dx.

2. Quando si impostano le notifiche e-mail, assicurarsi che sia selezionata l'opzione Attach Data File (Allega file di dati).

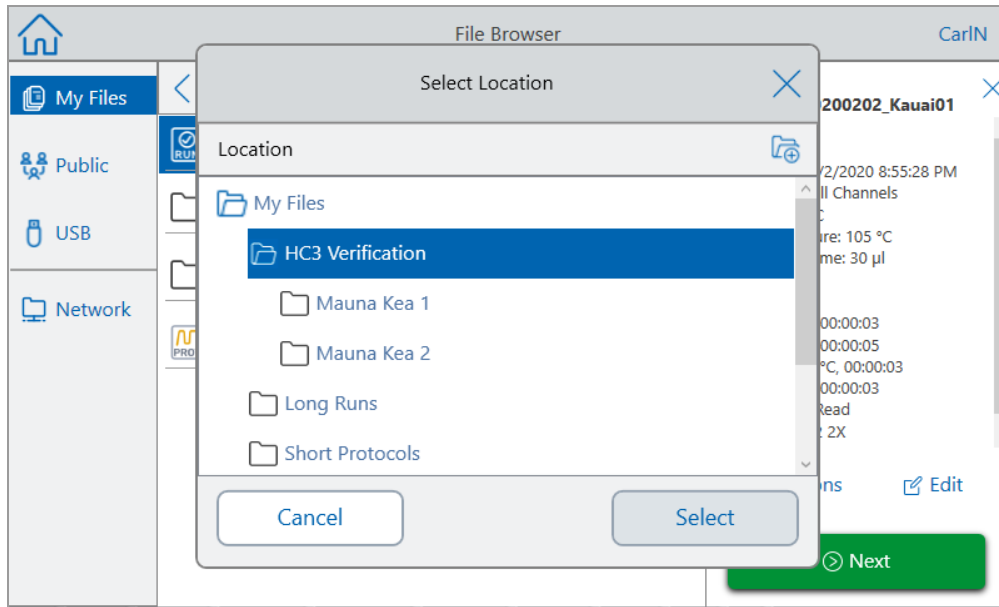
I dati dell'analisi vengono inviati tramite e-mail come file .pcrd.

Trasferimento di dati dal sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Dx


Tramite la funzionalità File Browser (Browser file) del sistema CFX Opus Dx, è possibile trasferire file di dati a un'unità USB collegata o a una cartella di rete condivisa. È inoltre possibile trasferire file di protocollo CFX Maestro Dx SE da un'unità USB o un'unità di rete condivisa nella cartella utente o nella cartella pubblica del sistema CFX Opus Dx ed eseguirli sul sistema CFX Opus Dx.

Suggerimento: in questo paragrafo viene spiegato come trasferire i dati. Per informazioni sulla configurazione della connessione Ethernet, vedere il manuale operativo del sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Dx disponibile nel menu Help (Guida) del software CFX Maestro Dx SE.

1. Nella schermata Home del sistema CFX Opus Dx, toccare Files (File) per visualizzare la schermata File Browser (Browser file).
2. Nella schermata File Browser (Browser file), individuare il file che si desidera copiare, quindi toccare il file per visualizzare il riquadro dei dettagli.
3. Nel riquadro dei dettagli del file, toccare Options (Opzioni), quindi Copy (Copia).



Viene visualizzata la finestra di dialogo Select Location (Seleziona percorso).

4. Nella finestra di dialogo Select Location (Seleziona percorso), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Individuare una cartella esistente.
 - Scegliere il percorso in cui creare una cartella all'interno della quale salvare il file, quindi toccare Create Folder (Crea cartella)  per creare una nuova cartella in quella posizione.
5. Toccare Select (Seleziona) per copiare il file nel percorso selezionato o Cancel (Annulla) per tornare alla schermata File Browser (Browser file).

Nota: se nel percorso selezionato esiste un file con lo stesso nome, viene visualizzata una finestra di messaggio. Toccare Yes (Sì) per sovrascrivere il file esistente o No per tornare alla schermata File Browser (Browser file).

Quando il file viene copiato correttamente, sul sistema CFX Opus Dx viene visualizzato un messaggio di conferma.

Trasferimento dei dati tramite il Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Per trasferire i dati tramite CFX Maestro Dx SE

1. Nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati) della finestra Home, fare clic con il pulsante destro sullo strumento target e scegliere Retrieve Data Files (Recupera file di dati).

CFX Maestro Dx SE visualizza la finestra di dialogo Browse For Folder (Sfogliare cartella).

2. Nella finestra di dialogo Browse For Folder (Sfogliare cartella), accedere al percorso in cui si intende salvare i file di dati e fare clic su OK.

Il processo di trasferimento crea una cartella chiamata Real-Time Data (Dati in tempo reale) nella posizione selezionata. I dati dell'analisi sono salvati nella cartella Real-Time Data (Dati in tempo reale) come file .zpcr separati.

Trasferimento dei dati con un'unità USB

Se si inserisce un'unità USB nella porta USB dello strumento, il file di dati viene automaticamente salvato nella directory principale dell'unità USB una volta completata l'analisi. È inoltre possibile individuare i file di dati salvati in precedenza e salvarli su un'unità USB collegata.

Per trasferire file di dati su un'unità USB su sistema CFX Opus Dx

- Nella finestra di dialogo Select Location (Seleziona percorso), toccare USB e accedere alla cartella di destinazione in cui copiare il file oppure Cancel (Annulla) per tornare alla schermata File Browser (Browser file).

Nota: se nel percorso selezionato esiste un file con lo stesso nome, viene visualizzata una finestra di dialogo. Toccare Yes (Sì) per sovrascrivere il file esistente o No per tornare alla schermata File Browser (Browser file).

Quando il file viene copiato correttamente, sul sistema CFX Opus Dx viene visualizzato un messaggio di conferma.

Trasferimento dei dati tramite un'unità di rete condivisa utilizzando il sistema per PCR in tempo reale CFX Opus Dx

Suggerimento: è possibile trasferire dati da e verso un'unità di rete condivisa solo tramite il sistema CFX Opus Dx.

Il sistema CFX Opus Dx consente di collegarsi a un'unità di rete condivisa tramite Ethernet. Una volta stabilita la connessione, è possibile trasferire file di dati da e verso una cartella sull'unità di rete condivisa.

Per trasferire dati da e verso un'unità di rete condivisa

- ▶ Nella finestra di dialogo Select Location (Seleziona percorso), toccare Network (Rete) e accedere alla cartella di destinazione in cui copiare il file oppure Cancel (Annulla) per tornare alla schermata File Browser (Browser file).

Nota: se nel percorso selezionato esiste un file con lo stesso nome, viene visualizzata una finestra di dialogo. Toccare Yes (Sì) per sovrascrivere il file esistente o No per tornare alla schermata File Browser (Browser file).

Quando il file viene copiato correttamente, sul sistema CFX Opus Dx viene visualizzato un messaggio di conferma.

Creazione di un file di dati

Per analizzare i dati trasferiti dallo strumento al computer CFX Maestro Dx SE, il file di dati compressi (file .zpcr) deve essere convertito in un file di dati (file .pcrd). CFX Maestro Dx SE converte il file .zpcr in un file .pcrd, quindi seleziona un file di piastra caratterizzato dalla stessa modalità di scansione e dimensioni di piastra e lo applica al file .pcrd.

Per creare un file di dati da un file di dati stand-alone

1. In CFX Maestro Dx SE, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Individuare il file .zpcr target e trascinarlo nella finestra Home di CFX Maestro Dx SE.
 - Selezionare File > Open > Stand-alone Run (File > Apri > Analisi stand-alone), accedere al file target e selezionarlo.

CFX Maestro Dx SE visualizza la finestra di dialogo Save As (Salva con nome).

2. Accedere alla cartella in cui si intende salvare il file .pcrd e fare clic su Save (Salva).

Dopo aver salvato il file .pcrd, CFX Maestro Dx SE apre la finestra Data Analysis (Analisi dei dati) e visualizza i dati risultanti.

Capitolo 10 Descrizione generale della finestra Data Analysis (Analisi dei dati)

Il Software CFX Maestro Dx, Security Edition elabora i dati della PCR in tempo reale automaticamente al termine di ciascuna analisi e apre la finestra Data Analysis (Analisi dei dati) per visualizzarne i dati (il file .pcrd).

- Trascinare un file di dati (estensione .pcrd) nella finestra Home e rilasciarlo.
- Selezionare File > Open > Data File (File > Apri > File di dati) nella finestra Home e accedere al file .pcrd target.
- Selezionare File > Recent Data Files (File > File di dati recenti) nella finestra Home per effettuare la selezione dall'elenco degli ultimi dieci file di dati aperti più di recente.
- Scegliere la scheda Analyze (Analizza) nella procedura guidata di avvio e selezionare un file da Recent Files (File recenti) oppure fare clic su Browse (Sfogliare) per individuare il file di dati.

Finestra Data Analysis (Analisi dei dati)

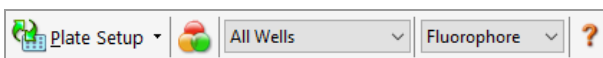
La finestra Data Analysis (Analisi dei dati) visualizza più schede; ciascuna scheda mostra i dati analizzati per un metodo di analisi specifico o le informazioni specifiche dell'analisi. Le schede vengono visualizzate solo se i dati raccolti nell'analisi sono disponibili per quel tipo di analisi.



Suggerimento: per scegliere le schede da visualizzare, selezionarle dal menu a discesa View (Visualizza) nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Per tornare nel layout della scheda originale, selezionare Settings > Restore Default Window Layout (Impostazioni > Ripristina layout predefinito della finestra).



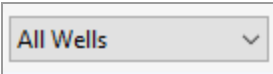
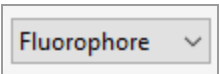

Barra degli strumenti Data Analysis (Analisi dei dati)

La barra degli strumenti della finestra Data Analysis (Analisi dei dati) fornisce rapido accesso a importanti funzioni dell'analisi dei dati.



La [Tabella 11](#) elenca le funzioni dei pulsanti nella barra degli strumenti.

Tabella 11. Barra degli strumenti della finestra Data Analysis (Analisi dei dati)

Pulsante	Nome	Funzione
	Plate Setup (Impostazione piastra)	View/Edit plate (Visualizza/Modifica piastra): consente di aprire l'editor piastra per visualizzare e modificare il contenuto dei pozzetti. Replace Plate (Sostituisci piastra): consente di selezionare un file piastra per sostituire il layout della piastra. Apply PrimePCR file (Applica file PrimePCR): consente di selezionare un file di analisi per sostituire il layout piastra per un'analisi PrimePCR.
	Manage Well Groups (Gestisci gruppi di pozzetti)	Apri la finestra Well Groups Manager (Gestore gruppi di pozzetti) per creare, modificare ed eliminare i gruppi di pozzetti.
	Gruppo di pozzetti	Selezionare il nome di un gruppo di pozzetti esistente dal menu a discesa. La selezione predefinita è All Wells (Tutti i pozzetti). Questo pulsante viene visualizzato solo quando si creano dei gruppi di pozzetti.
	Analysis Mode (Modalità di analisi)	Analizza i dati in modalità Fluorophore (Fluoroforo) o Target (Target).
	Help (Guida)	Consente di aprire la guida del software da cui è possibile trovare la guida in linea e una copia digitale di questo manuale in formato PDF Acrobat.

Barra dei menu Data Analysis (Analisi dei dati)

Nella [Tabella 12](#) sono elencate le voci della barra dei menu disponibili nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).

Tabella 12. Voci della barra dei menu disponibili nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati)

Voce di menu	Comando	Funzione
File (File)	Save (Salva)	Salva il file.
	Save as (Salva con nome)	Consente di salvare il file con un nuovo nome.
	File Passwords (Password dei file)	Consente agli utenti di impostare password per il salvataggio e l'apertura di file.
	Sign (Firma)	Consente agli utenti di firmare il file di dati.
	Repeat Run (Ripeti analisi)	Consente di estrarre il file di protocollo e piastra dall'analisi corrente per rieseguirlo.
	Close (Chiudi)	Chiude la finestra Data Analysis (Analisi dei dati).
View (Visualizza)	Run Log (Registro analisi)	Consente di aprire la finestra Run Log (Registro analisi) per visualizzare il registro dell'analisi del file di dati corrente.
	Audit Trail	Consente di aprire l'audit trail per il file.
	Quantification, Melt Curve, Gene Expression, End Point, Custom Data View, QC, Run Information (Quantificazione, Curva di fusione, Espressione genica, Punto finale, Visualizzazione dati personalizzata, CQ, Informazioni analisi)	Visualizza i dati analizzati nelle schede selezionate della finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Deve essere selezionata almeno una scheda.

Tabella 12. Voci della barra dei menu disponibili nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), continua

Voce di menu	Comando	Funzione
Settings (Impostazioni)	C _q Determination Mode (Modalità di determinazione C _q)	Consente di selezionare la modalità Regression (Regressione) o Single Threshold (Soglia singola) per determinare come vengono calcolati i valori C _q per ogni traccia.

Tabella 12. Voci della barra dei menu disponibili nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), continua

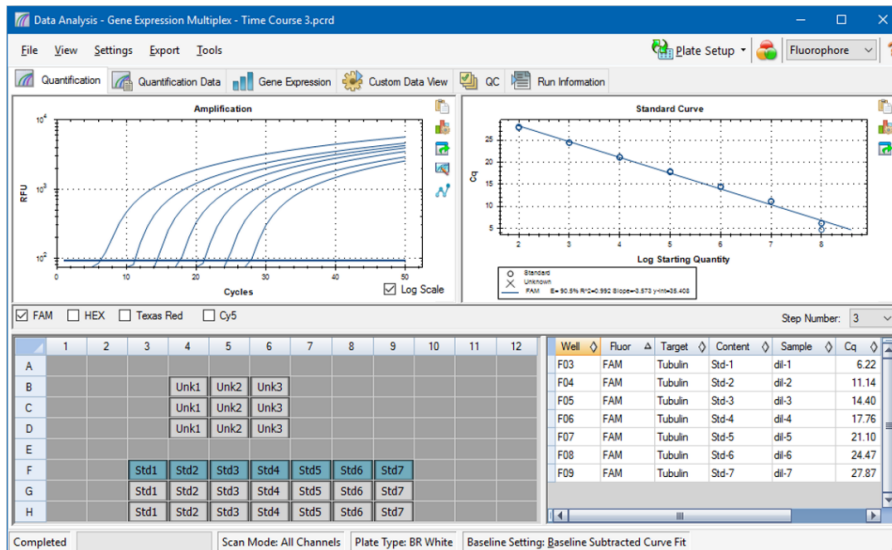
Voce di menu	Comando	Funzione
	Baseline Setting (Impostazione linea basale)	Consente di selezionare il metodo di sottrazione della linea basale per i gruppi di pozzetti selezionati.
	Analysis Mode (Modalità di analisi)	Consente di analizzare i dati in base al fluoroforo o in base al target.
	Cycles to Analyze (Cicli da analizzare)	Consente di selezionare i cicli da analizzare.
	Baseline Threshold (Soglia linea basale)	Consente di aprire la finestra Baseline Threshold (Soglia linea basale) per regolare la linea basale o la soglia.
	Trace Styles (Stili tracce)	Apri la finestra di dialogo Trace Styles (Stili tracce).
	Plate Setup (Impostazione piastra)	Apri l'editor piastra per visualizzare e modificare la piastra; sostituire la piastra attuale con una del file piastra definito dall'utente o un file di analisi PrimePCR.
	Include All Excluded Wells (Includi tutti i pozzetti esclusi)	Includi tutti i pozzetti esclusi nell'analisi.
	Mouse Highlighting (Evidenziazione mouse)	Consente di attivare o disattivare l'evidenziazione simultanea dei dati con il puntatore del mouse. Suggerimento: se la funzione Mouse Highlighting (Evidenziazione mouse) è disattivata, premere il tasto Control (Ctrl) per attivare temporaneamente l'evidenziazione.
	Restore Default Window Layout (Ripristina layout finestra predefinito)	Ripristina l'impostazione predefinita per la disposizione delle finestre.

Tabella 12. Voci della barra dei menu disponibili nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), continua

Voce di menu	Comando	Funzione
Export (Esporta)	Export All Data Sheets (Esporta tutte le schede dati)	Consente di selezionare se esportare tutte le visualizzazioni del foglio di calcolo da ogni scheda in un file .csv, .txt, Excel o .xml.
	Export RDML File (Esporta file RDML)	Consente di selezionare la versione 1.1 o 1.0 di RDML in cui esportare il file.
	Custom Export (Esportazione personalizzata)	Apre la finestra Custom Export (Esportazione personalizzata) in cui è possibile specificare i file da esportare e il formato file.
	Export to LIMS Folder (Esporta nella cartella LIMS)	Apre una finestra per salvare i dati in un formato prestabilito nella cartella LIMS.
	Manual Export (Esportazione manuale)	Consente di aprire una finestra per identificare il percorso in cui salvare i dati di tutte le visualizzazioni del foglio di calcolo in file Excel strutturati specificatamente per essere utilizzati da Seegene, Inc. e Bio-Rad Laboratories. Suggerimento: è inoltre possibile avviare automaticamente il visualizzatore Seegene durante l'esportazione. Per ulteriori informazioni, vedere Comandi del menu Tools (Strumenti) a pagina 67 .
Tools (Strumenti)	Reports (Report)	Apre il Report per questo file di dati.
	Well Group Reports (Report gruppo pozzetti)	Apre la finestra Well Group Report (Report gruppo pozzetti) per i gruppi di pozzetti specificati.
	Import Fluorophore Calibration (Importa calibrazione fluoroforo)	Selezionare un file di calibrazione da applicare al file di dati attuale.
	qbase+	Se installato, avvia qbase+ v2.5 direttamente dal file .pcrd corrente.
	Generate LIMS PLRN file (Genera file PLRN LIMS)	Consente di salvare il file di dati come file .plrn formattato LIMS.

Dettagli scheda

In ciascuna scheda della finestra Data Analysis (Analisi dei dati) sono visualizzati i dati dei grafici e dei fogli di calcolo per una specifica metodologia di analisi ed è incluso un selettore pozzetto per selezionare i dati che si desiderano mostrare. Per impostazione predefinita, la finestra Data Analysis (Analisi dei dati) visualizza la scheda Quantification (Quantificazione) quando si apre. È possibile utilizzare i dati del grafico di amplificazione nella scheda Quantification (Quantificazione) per determinare le impostazioni di analisi appropriate per l'analisi.

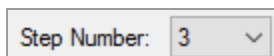


Nota: il software collega i dati nei riquadri di ciascuna scheda Data Analysis (Analisi dei dati). Ad esempio, quando si evidenzia un pozzetto mettendo il puntatore del mouse sopra il pozzetto nel selettore pozzetto si mettono in evidenza i dati in tutti gli altri riquadri.

Selettore del numero di fase

I sistemi CFX Opus Dx possono acquisire dati di fluorescenza in più fasi del protocollo; il software mantiene i dati acquisiti in ogni fase in modo indipendente. CFX Maestro Dx SE visualizza il selettore del numero di fase sotto il grafico della curva standard nella scheda Quantification (Quantificazione). Quando un protocollo contiene almeno una fase di raccolta dati, CFX Maestro Dx SE visualizza i dati della prima fase di raccolta.

Se il protocollo contiene più fasi di raccolta, è possibile selezionare un'altra fase dall'elenco a discesa, ad esempio:



Quando si seleziona una fase, il software applica tale selezione a tutti i dati mostrati nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).

Visualizzazione dei gruppi di pozzetti nell'analisi dei dati

I pozzetti nella piastra possono essere raggruppati in sottoinsieme per l'analisi indipendente utilizzando i gruppi di pozzetti. Quando si creano gruppi di pozzetti, i rispettivi nomi gruppo sono visualizzati nell'elenco a discesa Well Groups (Gruppi pozzetti) della finestra Data Analysis (Analisi dei dati) sulla barra degli strumenti.

Se si creano gruppi di pozzetti, il software visualizza il gruppo di pozzetti predefinito All Wells (Tutti i pozzetti) quando si apre la finestra Data Analysis (Analisi dei dati), visualizzando i dati in tutti i pozzetti con contenuto nei grafici e nei fogli di calcolo. Solo i pozzetti di quel gruppo di pozzetti caricato con il contenuto viene visualizzato nel selettore di pozzetti e solo i dati di tali pozzetti sono inclusi nei calcoli dell'analisi dei dati.

Suggerimento: per creare, modificare ed eliminare gruppi di pozzetti, fare clic su Manage Well Groups (Gestisci gruppi di pozzetti) nella barra degli strumenti.

Nota: se non si creano gruppi di pozzetti, nella barra degli strumenti non viene visualizzato l'elenco a discesa Well Groups (Gruppi di pozzetti).

Modifica del contenuto dei pozzetti dopo l'analisi

La modifica della modalità di visualizzazione dei dati durante l'analisi dei dati apportata cambiando il contenuto dei pozzetti nell'editor piastra non comporta cambiamenti ai dati della fluorescenza raccolti da ogni pozzetto durante l'analisi. Dopo che il modulo ha raccolto i dati della fluorescenza, non è possibile eliminare tale dati anche se si può scegliere di rimuovere i dati dalla visualizzazione e dall'analisi.

Per cambiare il contenuto dei pozzetti dopo un'analisi

- ▶ Nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), fare clic su Plate Setup (Impostazione piastra), quindi selezionare una delle seguenti opzioni:
 - **Edit/View Plate** (Modifica/Visualizza piastra): consente di aprire l'editor piastra in cui è possibile apportare modifiche manuali al layout.
 - **Replace Plate file** (Sostituisci file piastra): consente di aprire il browser Select Plate (Seleziona piastra), in cui è possibile accedere a un file piastra precedentemente salvato con cui sostituire il layout della piastra corrente.
 - **Replace PrimePCR File** (Sostituisci file PrimePCR): consente di aprire la finestra di dialogo Select PrimePCR file (Seleziona file PrimePCR) in cui è possibile accedere a un file di analisi PrimePCR e applicarlo al layout della piastra.

Suggerimento: è possibile aggiungere o modificare le informazioni sul contenuto del pozzetto prima o durante un'analisi, oppure dopo il completamento di un'analisi di PCR. Occorre assegnare la modalità di analisi e la dimensione della piastra prima dell'analisi. Tali parametri non possono cambiare dopo l'analisi.

Impostazioni dell'analisi dei dati

I dati del grafico di amplificazione nella scheda Quantification (Quantificazione) mostrano l'unità di fluorescenza relativa (RFU) per ciascun pozzetto ad ogni ciclo. Ogni traccia presente nel grafico rappresenta i dati di un singolo fluoroforo in un pozzetto. Questi dati vengono utilizzati per determinare i valori C_q per ogni pozzetto sulla base di ciascun fluoroforo. Il software utilizza una delle due modalità per determinare i valori C_q :

- **Regression** (Regressione): applica un modello di regressione non lineare multivariabile alle singole tracce dei pozzetti e utilizza tale modello per calcolare un valore C_q ottimale.
- **Single Threshold** (Soglia singola): utilizza un valore singolo di soglia per calcolare il valore C_q in base al punto di attraversamento della soglia delle singole tracce della fluorescenza.

Per scegliere la modalità di determinazione C_q , selezionare Settings > C_q Determination Mode (Impostazioni > Modalità di determinazione C_q).

Regolazione della soglia

Nella modalità Single Threshold (Soglia singola), è possibile regolare la soglia per un fluoroforo facendo clic sulla linea di soglia nel grafico di amplificazione e spostando il cursore del mouse in verticale. In alternativa, è possibile specificare una soglia di attraversamento esatta per il fluoroforo selezionato.

Impostazioni della linea basale

Il software imposta automaticamente la linea basale per ogni singolo pozzetto. L'impostazione della linea basale determina il metodo della sottrazione della linea basale per tutte le tracce di fluorescenza. Il software fornisce tre opzioni di sottrazione della linea basale:

- **No Baseline Subtraction** (Nessuna sottrazione linea basale): consente di visualizzare i dati come tracce di fluorescenza relativa. Alcune analisi non sono possibili in questa modalità e, pertanto, il software non visualizza le schede Gene Expression (Espressione genica), End Point (Punto finale) e Allelic Discrimination (Discriminazione allelica).
- **Baseline Subtracted** (Linea basale sottratta): consente di visualizzare i dati come tracce sottratte alla linea basale per ciascun fluoroforo in un pozzetto. Il software deve eseguire la sottrazione della linea basale dai dati al fine di determinare i cicli di quantificazione, costruire curve standard e determinare la concentrazione di campioni sconosciuti. Per generare una traccia con sottrazione della linea basale, il software adatta la migliore linea retta attraverso la fluorescenza registrata di ciascun pozzetto durante i cicli della linea basale, quindi sottrae i migliori dati di adattamento dai dati di fondo sottratti in ciascun ciclo.
- **Baseline Subtracted Curve Fit** (Adattamento curva con sottrazione della linea basale): consente di visualizzare i dati come tracce sottratte della linea basale e il software rende uniforme la curva

sottratta alla linea basale usando un filtro di media centrata. Questo processo viene eseguito in modo che ciascuna C_q rimanga invariante.

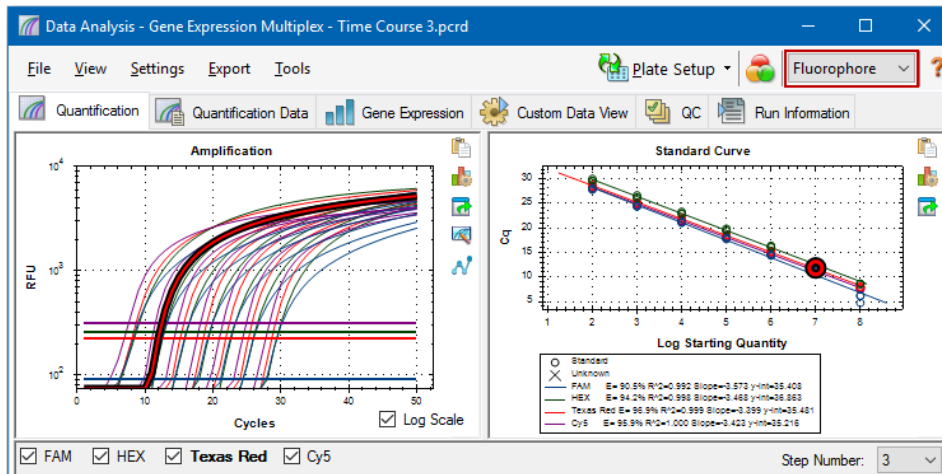
Oltre a queste opzioni, è inoltre possibile selezionare Apply Fluorescent Drift Correction (Applica correzione deriva fluorescente). Per i pozzetti che hanno valori RFU in deriva in modo anomalo durante i pochi cicli iniziali di un'analisi, il software deriva una linea basale stimata dai pozzetti vicini per cui è stata generata correttamente una linea basale orizzontale.

Per cambiare l'impostazione della sottrazione della linea basale

- Selezionare Settings > Baseline Setting (Impostazioni > Impostazione linea basale).

Modalità di analisi

I dati possono essere raggruppati e analizzati tramite fluoroforo o nome target. Quando raggruppati per fluoroforo, le tracce dei dati vengono visualizzate tramite fluoroforo come indicato nell'impostazione della piastra per tale analisi. I dati del singolo fluoroforo sono visualizzati nel grafico di amplificazione e della curva standard (se disponibile) quando vengono selezionate le caselle di controllo appropriate del selettore di fluoroforo, che si trovano sotto il grafico di amplificazione.



Quando raggruppati per target, le tracce dei dati vengono visualizzate tramite nome target come inserito nell'impostazione della piastra per tale analisi.

Per scegliere una modalità di analisi dei dati

- Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Selezionare Settings > Analysis Mode (Impostazioni > Modalità di analisi).

- Scegliere una modalità dal menu a discesa Analysis Mode (Modalità di analisi) nella barra degli strumenti.

Cicli da analizzare

È possibile limitare il numero di cicli da analizzare. È possibile analizzare i dati anche da una determinata serie di cicli. Il numero massimo di cicli che è possibile analizzare è 50.

Nota: la rimozione dei cicli dall'inizio di un'analisi può avere un impatto significativo sulla definizione della linea di base.

Per limitare l'analisi dei dati a una determinata gamma di cicli

1. Selezionare Select Settings > Cycles to Analyze (Seleziona impostazioni > Cicli da analizzare).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Cycles to Analyze (Cicli da analizzare).

2. Immettere i valori del ciclo di inizio e del ciclo di fine e quindi fare clic su OK.

Per tornare ai cicli inizialmente usati per l'analisi, fare clic su Restore Defaults (Ripristina valori predefiniti) nella finestra di dialogo Cycles to Analyze (Cicli da analizzare).

Selettore pozzetto

Utilizzare il selettore pozzetto per visualizzare o nascondere i dati del pozzetto nei grafici o nei fogli di calcolo in tutta la finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Nel selettore pozzetto possono essere selezionati solo i pozzetti caricati con il campione. Il software colora i pozzetti nel selettore dei pozzetti:

- **Blu:** indica i pozzetti selezionati. I dati dei pozzetti selezionati vengono visualizzati nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).
- **Grigio chiaro:** indica i pozzetti non selezionati. I dati dei pozzetti non selezionati non vengono visualizzati nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).
- **Grigio scuro:** indica i pozzetti vuoti.

	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			

Per visualizzare o nascondere i dati del pozzetto

- ▶ Nel selettore dei pozzetti, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per nascondere un pozzetto, fare clic sul singolo pozzetto. Per visualizzare tale pozzetto, fare di nuovo clic sul pozzetto.
 - Per nascondere più pozzetti, trascinare il cursore del mouse sui pozzetti che si intende selezionare. Per visualizzare tali pozzetti, trascinare di nuovo il cursore del mouse su quei pozzetti.
 - Fare clic nell'angolo in alto a sinistra della piastra per nascondere tutti i pozzetti. Fare di nuovo clic nell'angolo in alto a sinistra per visualizzare tutti i pozzetti.
 - Fare clic sull'inizio di una colonna o riga per nascondere tali pozzetti. Fare di nuovo clic sulla colonna o riga per visualizzare di nuovo i pozzetti.

Elementi del menu di scelta rapida del selettore dei pozzetti

La [Tabella 13](#) elenca le opzioni selezionabili con il pulsante destro del mouse, disponibili nella visualizzazione del selettore dei pozzetti.

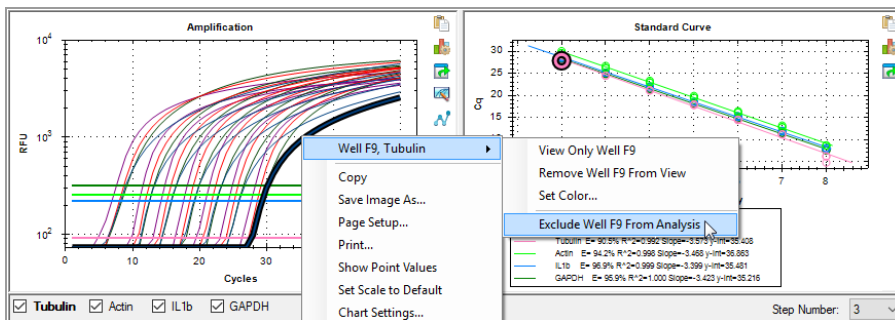
Tabella 13. Elementi del menu di scelta rapida nella visualizzazione del selettore dei pozzetti

Elemento	Funzione
Well XX (Pozzetto XX)	Visualizza solo questo pozzetto, rimuove questo pozzetto dalla visualizzazione, imposta il colore per questo pozzetto o esclude questo pozzetto dall'analisi.
Pozzetti selezionati (facendo clic con il tasto destro del mouse e trascinando il cursore)	Visualizza solo questi pozzetti, rimuove questi pozzetti dalla visualizzazione, imposta il colore per questi pozzetti o esclude questi pozzetti dall'analisi.
Copy (Copia)	Compia il contenuto del pozzetto negli appunti, incluso il tipo di campione e il N. replicato.
Copy as Image (Copia come immagine)	Copia la visualizzazione del selettore pozzetto come un'immagine.
Print (Stampa)	Stampa la visualizzazione del selettore pozzetto.
Print Selection (Stampa selezione)	Stampa la selezione corrente.
Export to Excel (Esporta in Excel)	Esporta i dati in un foglio di calcolo Excel.
Export to CSV (Esporta in CSV)	Esporta i dati come documento .csv.
Export to Xml (Esporta in Xml)	Esporta i dati come un documento .xml.
Well Labels (Etichette pozzetto)	Cambia le etichette pozzetto con Sample Type (Tipo di campione), Target Name (Nome target) o Sample Name (Nome campione).

Esclusione provvisoria dei pozzetti dall'analisi

Per escludere provvisoriamente i pozzetti dall'analisi dei dati

1. Fare clic con il pulsante destro del mouse sul pozzetto nel selettore dei pozzetti, su una traccia di fluorescenza o su un punto tracciato sulla curva standard. Per escludere più pozzetti, fare clic con il tasto destro del mouse e trascinare il cursore per evidenziare più pozzetti, tracce o punti.
2. Dal menu di scelta rapida, scegliere l'opzione appropriata:
 - Well > Exclude Well (Pozzetto > Escludi pozzetto)
 - Selected Wells > Exclude from Analysis (Pozzetti selezionati > Escludi da analisi)
 - Selected Traces > Exclude these wells from Analysis (Tracce selezionate > Escludi questi pozzetti dall'analisi)



In alternativa, per rimuovere definitivamente i pozzetti dall'analisi, cancellare il contenuto dei pozzetti nell'editor piastra facendo clic sul pulsante Clear Wells (Cancella pozzetti).

Importante: è necessario immettere nuovamente qualsiasi contenuto del pozzetto cancellato.

Per includere un pozzetto escluso

- ▶ Con il tasto destro del mouse, fare clic sul pozzetto appropriato nel selettore dei pozzetti e selezionare Well > Include Well in Analysis (Pozzetto > Includi pozzetto nell'analisi).

Grafici

Ogni grafico della finestra Data Analysis (Analisi dei dati) visualizza i dati in un grafico diverso e include opzioni che consentono di regolare ed esportare i dati o i grafici.

Strumenti dei grafici

Nella [Tabella 14](#) vengono elencate le opzioni selezionabili con il pulsante destro del mouse, disponibili nella maggior parte dei grafici.

Tabella 14. Elementi del menu di scelta rapida comuni alla maggior parte dei grafici

Elemento	Funzione
Copy (Copia)	Copia il grafico negli appunti.
Save Image As... (Salva immagine con nome)	Salva il grafico come file immagine. Impostare la risoluzione e le dimensioni dell'immagine, quindi selezionare il tipo di file (PNG, GIF, JPG, TIF o BMP).
Page Setup... (Impostazione pagina)	Seleziona le impostazioni di una pagina per la stampa.
Print... (Stampa)	Stampa il grafico.
Set Scale to Default (Imposta scala su predefinito)	Mostra tutti i dati nel grafico a barre. Le barre di scorrimento visualizzano se sono presenti troppi punti dati/campioni da visualizzare nella struttura del grafico.
Chart Settings (Impostazioni grafico)	Consente di aprire la finestra di dialogo Chart Settings (Impostazioni grafico) in cui è possibile modificare le opzioni di visualizzazione del grafico fra cui: <ul style="list-style-type: none"> ■ Titoli del grafico e degli assi ■ Font e dimensioni del grafico e degli assi ■ Scala degli assi ■ Posizione della legenda

Gli strumenti del grafico vengono inoltre visualizzati in ciascun grafico nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Tutti i grafici mostrano questi strumenti:

Copy to Clipboard (Copia negli Appunti): consente di copiare il contenuto della visualizzazione a grafico negli Appunti.

Chart Settings (Impostazioni grafico): consente di aprire la finestra di dialogo Chart Settings (Impostazioni grafico) in cui è possibile modificare le opzioni di visualizzazione del grafico.

Export (Esporta): consente di aprire la finestra di dialogo Export Options (Opzioni esportazione), da cui è possibile modificare la risoluzione e le dimensioni del grafico e salvarlo in un percorso specificato in uno dei seguenti tipi di file:

- .bmp
- .jpg
- .png

Strumenti del grafico a barre

Oltre agli strumenti del grafico, nei grafici a barre vengono visualizzati i seguenti strumenti:

Sort (Ordina): consente di ordinare i target e i campioni in ordine alfabetico diretto o inverso.

Color Settings (Impostazioni colore): consente di aprire la finestra di dialogo Color Settings (Impostazioni colore), in cui è possibile cambiare il colore dei target e dei campioni.

Per ulteriori informazioni su questi strumenti, vedere [Modifica e annotazione della vista grafico a pagina 270](#).

Strumenti del grafico di amplificazione

Oltre a quelli elencati sopra, nei grafici di amplificazione vengono visualizzati i seguenti strumenti:

Trace Styles (Stili traccia): consente di aprire la finestra di dialogo Trace Styles (Stili traccia), in cui è possibile modificare l'aspetto delle tracce nel grafico di amplificazione.

Baseline Threshold (Soglia linea di base): consente di aprire la finestra di dialogo Baseline Threshold (Soglia linea di base), in cui è possibile modificare la linea di base predefinita per i pozzetti selezionati o modificare la soglia per ogni curva di fluorescenza nel grafico di amplificazione.

Copia dei dati del grafico negli Appunti

È possibile copiare il contenuto della vista a grafico e incollarlo in qualsiasi applicazione che accetta file immagine bitmap.

Per copiare i dati del grafico negli Appunti

1. Dagli strumenti del grafico, selezionare l'icona Copy to Clipboard (Copia negli Appunti).
2. Aprire un'applicazione che accetta immagini bitmap, ad esempio Microsoft Word.
3. Fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare Paste (Incolla) per incollare l'immagine bitmap dagli appunti nell'applicazione.

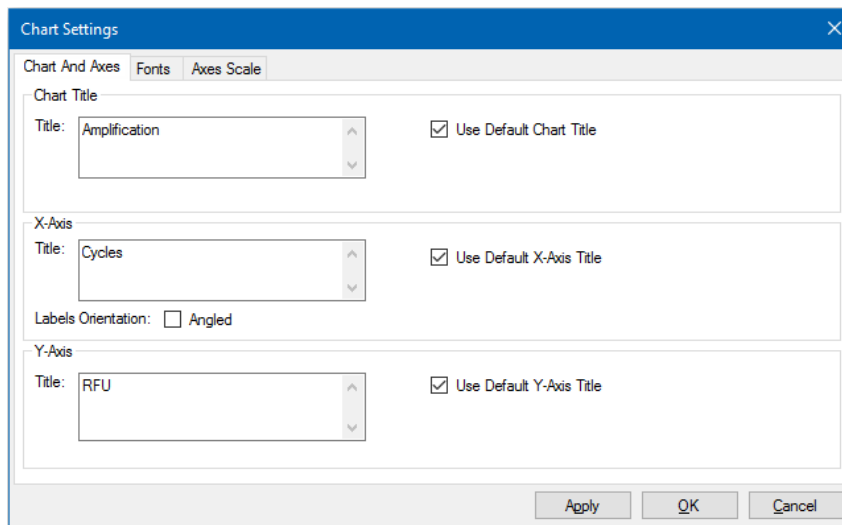
Modifica delle impostazioni di visualizzazione grafico

Usare la finestra di dialogo Chart Settings (Impostazioni grafico) per modificare i titoli, i font e le dimensioni, la scala degli assi e la posizione della legenda per il grafico visualizzato. Le modifiche apportate si applicano solo al grafico visualizzato e vengono salvate con il grafico.

Per cambiare le impostazioni di visualizzazione grafico

1. Dagli strumenti del grafico, fare clic su Chart Settings (Impostazioni grafico).

Appare la finestra di dialogo Chart Settings (Impostazioni grafico).



2. Selezionare la scheda Chart And Axes (Grafico e assi) per:
 - Digitare un titolo per il grafico.
 - Digitare un nuovo titolo per l'asse x e regolare l'angolazione delle etichette.
 - Digitare un nuovo titolo per l'asse y.
3. Selezionare la scheda Fonts (Font) per cambiare il font del grafico e le dimensioni del font.

Suggerimento: per impostazione predefinita, le dimensioni del font vengono automaticamente scalate quando cambia la dimensione del grafico. Selezionare Change Font Size (Cambia dimensione font) per impostare una dimensione font statica per ciascun tipo di etichetta.

4. Selezionare la scheda Axes Scale (Scala assi) per:
 - Deselezionare la scala automatica degli assi x e y e specificare i valori di scala minimo e massimo.
 - Scegliere di visualizzare le linee della griglia o i simboli di punta sul grafico.

5. Selezionare la scheda Legend (Legenda) per:
 - Scegliere di nascondere la legenda del grafico.
 - Cambiare la posizione predefinita della legenda del grafico.

Nota: quando la legenda viene posizionata a destra o a sinistra del grafico, consente di visualizzare solo i primi dieci fluorofori nel grafico.

6. Fare clic su Apply (Applica) in qualsiasi momento per visualizzare le modifiche delle impostazioni grafico senza salvare le modifiche.
7. Fare clic su OK per salvare le modifiche e tornare al grafico.

Esportazione del grafico

Utilizzare questa finestra di dialogo per modificare la larghezza, l'altezza e la risoluzione del grafico ed esportarlo in uno dei seguenti formati file:

- .bmp
- .jpg
- .png

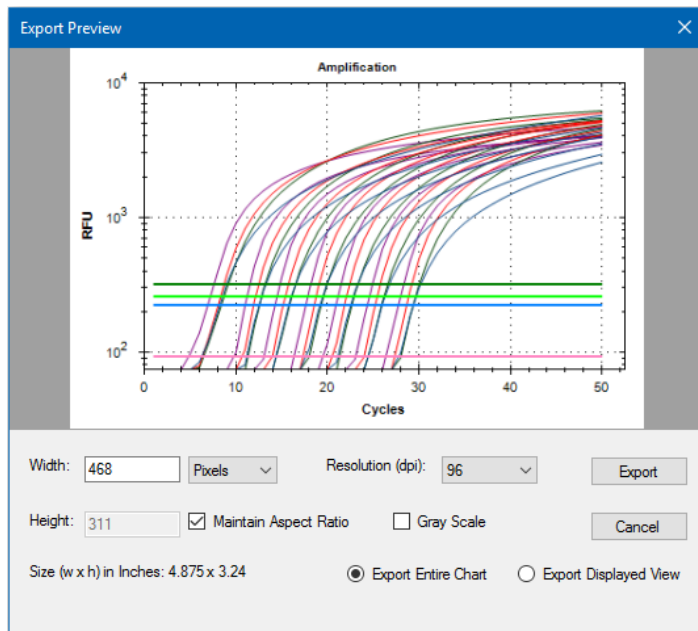
È possibile utilizzare il grafico esportato per visualizzare i risultati nelle sessioni di anteprima, nelle presentazioni di Microsoft PowerPoint e nelle riviste specializzate.

Nota: prendere in considerazione quanto segue quando si modificano le impostazioni:

- Limiti massimo e minimo di larghezza e altezza
 - A 72 dpi: 0,1 - 83 pollici
 - A 96 dpi: 0,1 - 62 pollici
 - A 150 dpi: 0,1 - 40 pollici
 - A 300 dpi: 0,1 - 20 pollici
 - A 600 dpi: 0,1 - 10 pollici
 - A tutte le risoluzioni: 2 - 6.000 pixel
- Le proporzioni si basano sulla larghezza.

Per esportare il grafico

1. Dagli strumenti del grafico, fare clic su Export (Esporta).
Viene visualizzata la finestra di dialogo Export Preview (Anteprima dell'esportazione).



2. Modificare le impostazioni per la visualizzazione secondo necessità.
3. Fare clic su Export (Esporta).
4. Nella finestra di dialogo Export (Esporta), procedere come segue:
 - a. (Facoltativo) Accedere alla cartella in cui salvare il file del grafico.
 - b. Digitare un nome per il file e scegliere un tipo di file dall'elenco a discesa.
5. Fare clic su Save (Salva) per salvare il file del grafico.

Modifica delle impostazioni della soglia della linea basale

Nella modalità Single Threshold (Soglia singola), è possibile regolare la soglia per un fluoroforo facendo clic sulla linea di soglia nel grafico di amplificazione e spostando il cursore del mouse in verticale. In alternativa, è possibile specificare una soglia di attraversamento esatta per il fluoroforo selezionato.

Suggerimento: è possibile specificare un intervallo di cicli per determinare la linea basale per tutti i file di dati nella scheda Data Analysis (Analisi dei dati) in User > User Preferences (Utente > Preferenze utente).

Per regolare il ciclo di inizio e di fine della linea basale per ciascun pozzetto

1. Nella scheda Quantification (Quantificazione), selezionare un singolo fluoroforo sotto il grafico di amplificazione.
2. Dagli strumenti del grafico, selezionare Baseline Threshold (Soglia linea basale).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Baseline Threshold (Soglia linea basale).

3. Nella sezione Baseline Cycles (Cicli linea basale), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per selezionare un pozzetto, fare clic sul rispettivo numero di riga.
 - Per selezionare più pozzetti adiacenti, fare clic sul numero di riga del primo pozzetto e trascinare la colonna verso il basso fino all'ultimo pozzetto.
 - Per selezionare più pozzetti non adiacenti, premere il tasto Control (Ctrl) e fare clic sul numero di riga di ciascun pozzetto target.
 - Per selezionare tutti i pozzetti, fare clic in alto a sinistra sulla tabella.
4. Regolare il Baseline Begin cycle (Ciclo di inizio linea basale) e il Baseline End cycle (Ciclo di fine linea basale) per tutti i pozzetti selezionati, oppure modificare il numero del ciclo di inizio e di fine nella parte inferiore del foglio di calcolo.

Suggerimento: per ripristinare gli ultimi valori salvati delle impostazioni, fare clic su Reset All User Defined Values (Ripristina tutti i valori definiti dall'utente).
5. Fare clic su OK per salvare le modifiche e tornare al grafico.

Per specificare un intervallo di cicli per tutti i file

- Nella finestra Home o Plate Editor (Editor piastra), selezionare User > User Preferences (Utente > Preferenze utente) e scegliere la scheda Data Analysis (Analisi dei dati).

Ordinamento dei dati di target, campioni e gruppi biologici

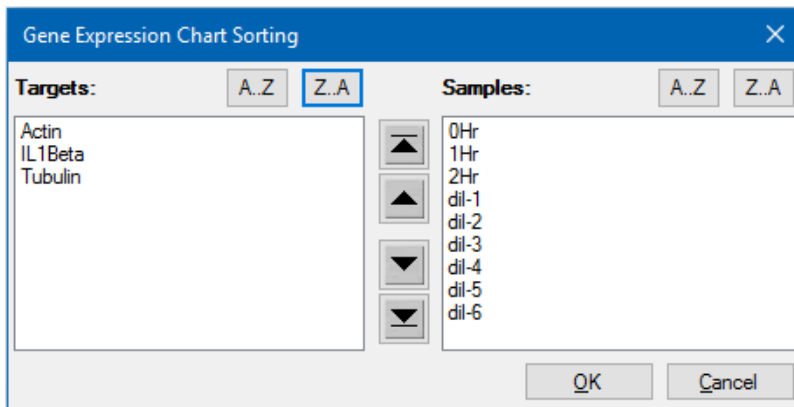
Nota: questa opzione è disponibile solo nei grafici dell'espressione genica.

Per impostazione predefinita, gli elenchi Targets (Target), Samples (Campioni) e Biological Groups (Gruppi biologici) vengono visualizzati in ordine alfabetico. Usare la finestra di dialogo Sort (Ordina) per ordinare la visualizzazione in ordine alfabetico inverso o per spostare manualmente un termine in un'altra posizione dell'elenco.

Per ordinare i dati di target, campioni e gruppi biologici

1. Dagli strumenti del grafico, fare clic su Sort (Ordina).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Gene Expression Chart Sorting (Ordinamento grafico dell'espressione genica).



2. Nella finestra di dialogo, fare clic su Z-A per ordinare l'elenco nell'ordine alfabetico inverso.
3. Per spostare un termine manualmente, selezionarlo e fare clic sul pulsante appropriato tra i grafici:
 - Fare clic sulla freccia Su o Giù per spostare il termine selezionato di una posizione.
 - Fare clic sulla freccia della barra Su o Giù per spostare il termine selezionato in alto o in basso nell'elenco.
4. Fare clic su OK per salvare le modifiche e tornare alla scheda Gene Expression (Espressione genica).

Modifica delle impostazioni di colore del target e del campione

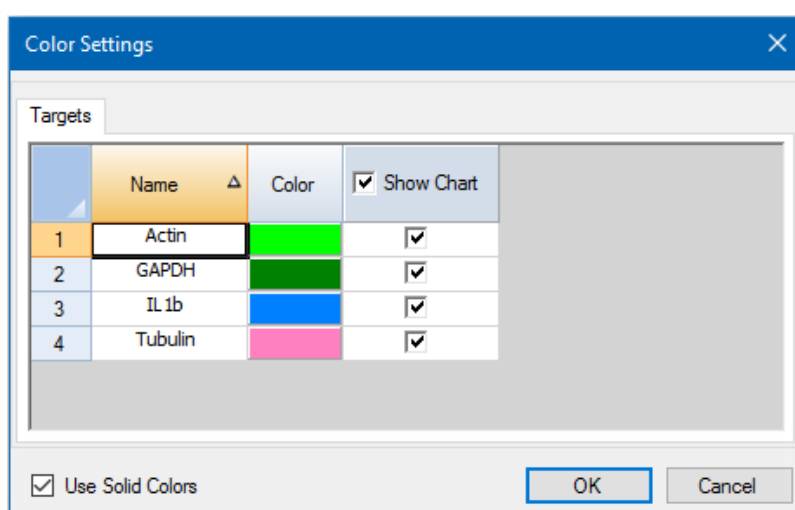
Nota: questa opzione è disponibile solo nei grafici dell'espressione genica.

Usare la finestra di dialogo Color Settings (Impostazioni colore) per cambiare il colore di un target o un campione, o per rimuovere l'elemento dal grafico.

Per cambiare le impostazioni di colore

1. Dagli strumenti del grafico, selezionare Color Settings (Impostazioni colore).

Appare la finestra di dialogo Color Settings (Impostazioni colore).



2. Per cambiare il colore di visualizzazione per un target o un campione, fare clic sul suo colore nella colonna Color (Colore).
3. Nella finestra di dialogo Color (Colore) che viene visualizzata, selezionare un nuovo colore e fare clic su OK.
4. Per rimuovere l'elemento dal grafico dell'espressione genica, deselegionare la relativa casella di controllo nella colonna Show Chart (Mostra grafico).

Suggerimento: per cancellare tutti gli elementi dal grafico dell'espressione genica, deselegionare la casella di controllo Show Chart (Mostra grafico) nell'intestazione della colonna.

5. (Opzionale) Per impostazione predefinita, il colore del grafico a barre è visualizzato sotto forma di gradiente. Per visualizzare il colore in tinta unita, selezionare Use Solid Colors (Usa colori in tinta unita).
6. Fare clic su OK per salvare le modifiche e tornare alla scheda Gene Expression (Espressione genica).

Ingrandimento di un'area nel grafico

Per ingrandire un'area del grafico

- Fare clic e trascinare il cursore sul grafico, quindi fare clic su Zoom. Il software ridimensiona il grafico e lo centra sull'area selezionata.

Nota: il grafico a barre non richiede l'uso del comando popup Zoom.

Per ripristinare la visualizzazione completa del grafico

- Fare clic con il pulsante destro del mouse sul grafico e scegliere Set Scale to Default (Imposta scala su predefinito).

Copia di grafici in un file Microsoft

È possibile copiare i grafici dei dati in documenti Microsoft Word, Excel o PowerPoint. La risoluzione dell'immagine corrisponde a quella della schermata da cui è stata ottenuta l'immagine.

Per copiare i grafici in un file Microsoft

1. Nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), fare clic su Copy To Clipboard (Copia negli Appunti) nell'angolo in alto a destra del riquadro del grafico.
2. Aprire un file Microsoft vuoto e incollare il contenuto dagli Appunti.

Elementi comuni del menu di scelta rapida per i grafici

La [Tabella 15](#) elenca gli elementi del menu selezionabili con pulsante destro del mouse e che sono disponibili nei grafici. Alcuni degli elementi sono presenti per tutti i grafici, inclusi gli elementi per modificare la modalità di visualizzazione dei dati o per esportare facilmente i dati da un grafico.

Tabella 15. Elementi del menu di scelta rapida per i grafici

Elemento	Funzione
Copy (Copia)	Copia il grafico negli appunti.
Save Image As (Salva immagine con nome)	Consente di salvare l'immagine con una dimensione, una risoluzione e un tipo di file specificati, inclusi PNG (predefinito), JPG e BMP.
Page Setup (Imposta pagina)	Consente di visualizzare le opzioni di impostazione della stampa.
Print (Stampa)	Stampa il grafico.

Elemento	Funzione
Set Scale to Default (Imposta scala su predefinito)	Riporta il grafico alla sua visualizzazione predefinita dopo averlo ingrandito.
Chart Options (Opzioni grafico)	Consente di aprire la finestra Chart Options (Opzioni grafico) per modificare il grafico, ad esempio cambiando il titolo, selezionando i limiti per gli assi x e y, mostrando le linee della griglia e i segni di graduazione secondari negli assi.

Nota: gli elementi del menu che si applicano a determinati grafici sono descritti nel [Capitolo 11, Dettagli dell'analisi dei dati](#).

Fogli di calcolo

I fogli di calcolo visualizzati in Data Analysis (Analisi dei dati) includono opzioni per l'ordinamento e il trasferimento dei dati. Ordinare le colonne in base a uno dei seguenti metodi:

- Fare clic e trascinare una colonna in una nuova posizione nella tabella selezionata.
- Fare clic sull'intestazione della colonna per ordinare i dati in ordine crescente e decrescente.

Per ordinare fino a tre colonne di dati nella finestra Sort (Ordina)

1. Fare clic con il tasto destro sul foglio di calcolo e selezionare Sort (Ordina).
2. Nella finestra di dialogo Sort (Ordina), selezionare il primo titolo colonna da ordinare. Ordinare i dati in ordine crescente e decrescente.
3. Selezionare una seconda o terza colonna da ordinare e scegliere Ascending (Crescente) o Descending (Decrescente).
4. Fare clic su OK per ordinare i dati oppure fare clic su Cancel (Annulla) per interrompere l'ordinamento.

Suggerimento: evidenziare i dati sui grafici associati e sul selettore dei pozzetti mantenendo il cursore del mouse su una cella. Fare clic in una cella per copiare e incollare il suo contenuto in un altro programma software.

Elementi comuni del menu di scelta rapida per i fogli di calcolo

La [Tabella 16](#) elenca gli elementi del menu di scelta rapida in una qualunque visualizzazione del foglio di calcolo.

Tabella 16. Elementi del menu di scelta rapida per i fogli di calcolo

Elemento	Funzione
Copy (Copia)	Copia il contenuto dei pozzetti selezionati negli appunti, quindi lo incolla in un foglio di calcolo come Excel.
Copy as Image (Copia come immagine)	Copia la vista del foglio di calcolo come file di immagine e la incolla in un file che accetta un file di immagine, come ad esempio i file di testo, di immagine o di foglio di calcolo.
Print (Stampa)	Stampa la visualizzazione corrente.
Print Selection (Stampa selezione)	Stampa la selezione corrente.

Tabella 16. Elementi del menu di scelta rapida per i fogli di calcolo, continua

Elemento	Funzione
Export to Excel (Esporta in Excel)	Esporta i dati in un foglio di calcolo Excel.
Export to Text (Esporta in formato testo)	Esporta i dati in un editor di testo.
Export to CSV (Esporta in CSV)	Esporta i dati in un file .csv.
Export to Xml (Esporta in Xml)	Esporta i dati in un file .xml.
Export to Html (Esporta in Html)	Esporta i dati in un file .html.
Find (Trova)	Cerca un testo.
Sort (Ordina)	Ordina i dati selezionando fino a tre colonne.
Select Columns (Seleziona colonne)	Seleziona le colonne che saranno visualizzate nel foglio di calcolo.

Export (Esporta)

CFX Maestro Dx SE offre diverse opzioni di esportazione dal menu a discesa Export (Esporta):

- Export All Data Sheets (Esporta tutte le schede dati)
- Export RDML Files (Esporta file RDML)
- Custom Export (Esportazione personalizzata)
- Export to LIMS Folder (Esporta nella cartella LIMS)
- Manual Export (Esportazione manuale)

Esportazione di tutte le schede di dati

È possibile esportare tutte le viste dei fogli di calcolo da ogni scheda di CFX Maestro Dx SE in singoli file.

Per esportare tutte le schede di dati

- ▶ Selezionare Export > Export All Data Sheets (Esporta > Esporta tutte le schede dati), quindi selezionare il tipo di file desiderato:

- CSV (*.csv)
- Testo (*.txt)
- Cartella di lavoro di Excel (*.xlsx)

Le analisi esportate vengono salvate in più file della cartella di lavoro di Excel con una scheda del foglio di lavoro dei dati di analisi per file. Quando un'analisi include più fluorofori, i dati di ciascun fluoroforo vengono esportati in una scheda del foglio di lavoro separata.

- Cartella di lavoro Excel - combinata (*.xlsx)

Le analisi esportate vengono salvate in un singolo file della cartella di lavoro di Excel che include più schede del foglio di lavoro, una per ogni set di dati di analisi.

- Excel 97 - 2003 (*.xls)

Importante: sul computer in uso deve essere installato Microsoft Excel per poter esportare i dati in un foglio di calcolo Microsoft Excel.

- Xml (*.xml)

Esportazione dei file RDML

RDML è uno standard universale di dati strutturati per lo scambio dei dati della PCR quantitativa (qPCR). Lo standard per lo scambio dei dati è un file di testo in formato .xml (Extensible Markup Language). Per ulteriori informazioni sul formato per lo scambio dei dati RDML, fare riferimento al sito web del consorzio internazionale RDML (www.rdml.org).

Importante: i file RDML esportati includono dati di analisi con le impostazioni di base applicate nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Per ulteriori informazioni sulle impostazioni di base, vedere [Impostazioni della linea basale a pagina 202](#).

Nota: se si utilizza la versione 2.3 o una versione successiva del software qbase+, salvare il file RDML come versione 1.1.

Per esportare un file RDML

1. Selezionare Export > Export RDML Files (Esporta > Esporta file RDML) e selezionare RDML v1.1 o RDML v1.0 dall'elenco che appare.

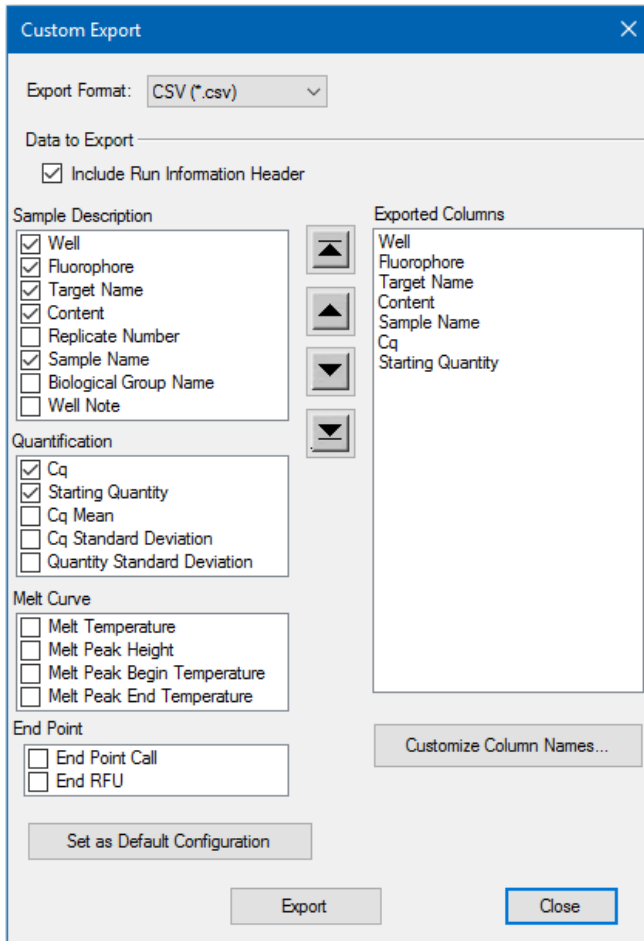
Viene visualizzata la finestra di dialogo Save As (Salva con nome).

2. Nella finestra di dialogo Save As (Salva con nome), specificare un nome file e la posizione in cui salvare il file RDML.
3. Fare clic su OK per salvare il file di esportazione.

Creazione di un file di esportazione personalizzato

Per creare un file di esportazione personalizzato

1. Selezionare Export > Custom Export (Esporta > Esportazione personalizzata). Viene visualizzata la finestra di dialogo Custom Export (Esportazione personalizzata).



2. Selezionare il formato di esportazione dall'elenco a discesa che viene visualizzato.
3. Selezionare le caselle di controllo per gli elementi da esportare.
4. (Opzionale) Fare clic su Customize Column Names (Personalizza nomi colonna) per cambiare i nomi delle colonne.
5. Fare clic su Export (Esporta). Viene visualizzata la finestra di dialogo Save As (Salva con nome).

6. Nella finestra di dialogo Save As (Salva con nome), specificare un nome file e la posizione in cui salvare il file esportato.
7. Fare clic su OK per salvare il file di esportazione.

Esportazione in una cartella LIMS

È possibile esportare i dati in un formato file compatibile con LIMS. Per ulteriori informazioni sulla creazione, gestione e utilizzo di file LIMS, vedere l'[Appendice C, Integrazione LIMS](#).

Per esportare i dati in formato LIMS

1. Selezionare Export > Export to LIMS Folder (Esporta > Esporta nella cartella LIMS).
Viene visualizzata la finestra di dialogo Save As (Salva con nome).
2. Nella finestra di dialogo Save As (Salva con nome), specificare un nome file e la posizione in cui salvare il file esportato.
3. Fare clic su OK per salvare il file di esportazione.

Esportazione dei dati con formattazione Seegene

È possibile esportare i dati da tutte le visualizzazioni del foglio di calcolo in file Excel strutturati specificatamente per essere utilizzati da Seegene, Inc.

Suggerimento: è inoltre possibile avviare automaticamente il visualizzatore Seegene al termine dell'esportazione. Per ulteriori informazioni, vedere [Comandi del menu Tools \(Strumenti\) a pagina 67](#).

Per esportare i dati nel formato specifico di Seegene

1. Selezionare Export (Esporta) > Manual Export (Esportazione manuale).
Viene visualizzata la finestra di dialogo Browse For Folder (Sfoglia per cartelle).
2. Nella finestra di dialogo Browse For Folder (Sfoglia per cartelle), specificare un percorso di cartella in cui salvare i file Excel con formattazione Seegene (.xlsx) esportati.

Le analisi vengono esportate in più file della cartella di lavoro di Excel con una scheda del foglio di lavoro dei dati di analisi per file.
3. Fare clic su OK per salvare i file di esportazione.

Capitolo 11 Dettagli dell'analisi dei dati

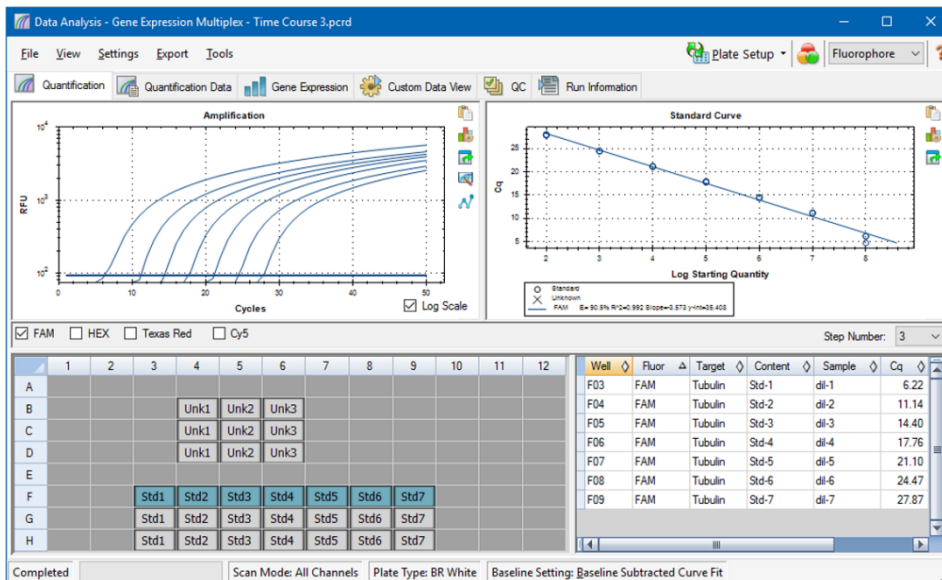
La finestra Data Analysis (Analisi dei dati) del Software CFX Maestro Dx, Security Edition comprende diverse schede da cui visualizzare i dati, spiegate nel dettaglio in questo capitolo.

Suggerimento: è possibile scegliere quali schede visualizzare nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati) utilizzando il menu View (Visualizza). Il layout personalizzato viene salvato nel file di dati.

Scheda Quantification (Quantificazione)

Utilizzare i dati della scheda Quantification (Quantificazione) per impostare le condizioni di analisi dei dati, tra cui le impostazioni della linea basale per i singoli pozzetti e le impostazioni di soglia. La scheda Quantification (Quantificazione) visualizza i dati in queste quattro visualizzazioni:

- **Grafico di amplificazione:** consente di visualizzare le unità di fluorescenza relativa (RFU) per ciascun pozzetto in ogni ciclo. Ogni traccia presente nel grafico rappresenta i dati di un singolo fluoroforo in un pozzetto.
- **Curva standard:** viene visualizzata solo se l'analisi include pozzetti indicati come standard per il tipo di campione (Std). La curva standard visualizza il ciclo di soglia tracciato sul registro della quantità iniziale. La legenda visualizza l'efficienza di reazione (E) per ciascun fluoroforo nei pozzetti con un tipo di campione standard.
- **Well selector (Selettore di pozzetti):** consente di selezionare i pozzetti con i dati della fluorescenza che si desidera mostrare.
- **Foglio di calcolo:** consente di visualizzare un foglio di calcolo dei dati raccolti nei pozzetti selezionati.



Opzioni fluoroforo

Per visualizzare i dati del fluoroforo nei grafici e nei fogli di calcolo della scheda Quantification (Quantificazione), selezionare i fluorofori target sotto il grafico di amplificazione. Per nascondere i dati del fluoroforo nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati), selezionare la casella di controllo corrispondente.

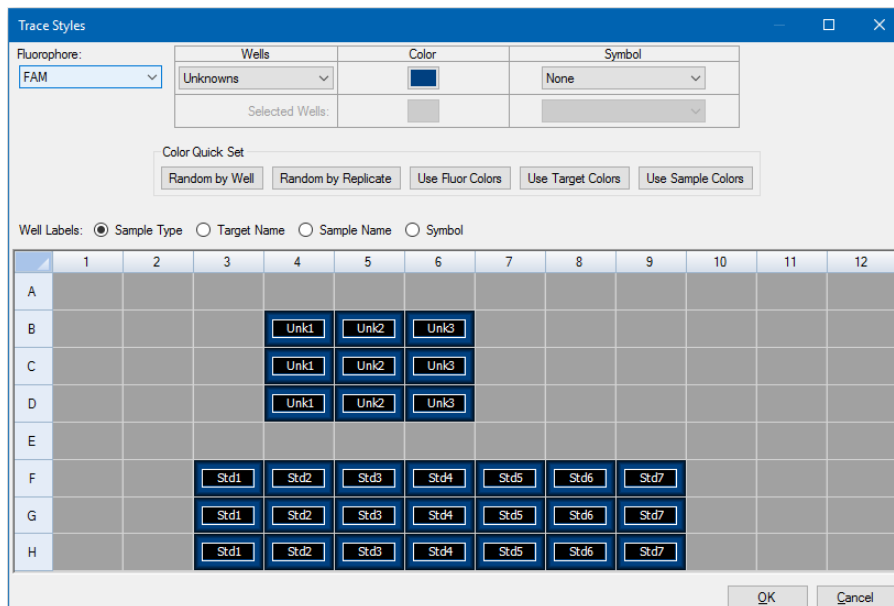
Finestra di dialogo Trace Styles (Stili traccia)

Utilizzando la finestra di dialogo Trace Styles (Stili traccia) è possibile modificare l'aspetto delle tracce nei grafici di amplificazione e curva di fusione nelle schede Quantification (Quantificazione) e Melt Curve (Curva di fusione). È possibile poi visualizzare in anteprima le modifiche nel selettore pozzetto che appare nella finestra di dialogo Trace Styles (Stili traccia).

Modifica degli stili traccia

1. Selezionare un unico fluoroforo nel grafico di amplificazione.
2. Per aprire la finestra di dialogo Trace Styles (Stili traccia), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Fare clic su Trace Styles (Stili traccia) nel grafico di amplificazione.
 - Selezionare Settings > Trace Styles (Impostazioni > Stili traccia) nella barra dei menu Data Analysis (Analisi dei dati).
 - Fare clic con il pulsante destro e scegliere Trace Styles (Stili traccia).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Trace Styles (Stili traccia).

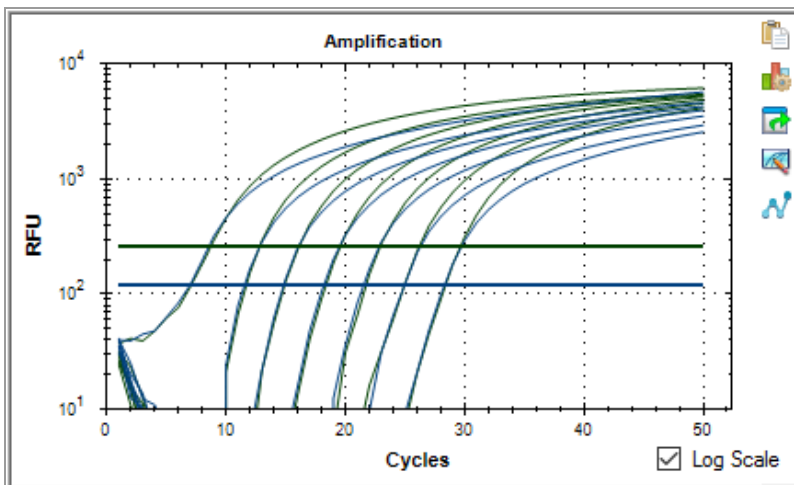


3. Nella finestra di dialogo Trace Styles (Stili traccia), selezionare un gruppo di pozzetti specifico nel selettore pozzetto nel riquadro inferiore. In alternativa, selezionare i pozzetti che contengono un tipo di campione nel menu a discesa nella colonna Wells (Pozzetti).
4. Eseguire una delle seguenti operazioni:

- Per scegliere un colore per i pozzetti selezionati, fare clic sulla casella nella colonna Color (Colore).
- Per assegnare un simbolo ai pozzetti selezionati, selezionare un simbolo dall'elenco a discesa Symbol (Simbolo).
- Per colorare rapidamente i pozzetti in base all'etichetta del pulsante, fare clic sull'impostazione rapida appropriata:
 - Random by Well (Casuale in base al pozzetto)
 - Random by Replicate (Casuale in base al replicato)
 - Use Fluor Colors (Utilizza colori fluoroforo)
 - Use Target Colors (Utilizza colori target)
 - Use Sample Colors (Utilizza colori campione)
- Per assegnare le etichette dei pozzetti, scegliere Sample Type (Tipo campione), Target Name (Nome target), Sample Name (Nome campione) o Symbol (Simbolo).

Opzione Log Scale (Scala logaritmica)

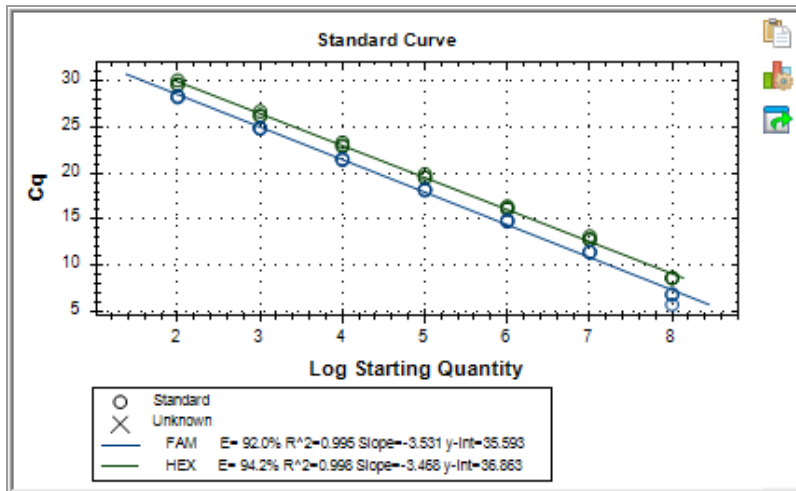
Selezionare Log Scale (Scala logaritmica) sotto il grafico di amplificazione per visualizzare le tracce della fluorescenza in una scala semilogaritmica:



Suggerimento: per ingrandire un'area del grafico, trascinare il cursore sull'area desiderata. Per tornare alla visualizzazione completa, fare clic con il pulsante destro del mouse sul grafico e selezionare Set Scale to Default (Imposta scala predefinita).

Grafico della curva standard

Il software crea un grafico della curva standard nella scheda Quantification (Quantificazione) se i dati includono i tipi di campione definiti come Std per almeno un fluoroforo nell'analisi.



Nel grafico della curva standard vengono visualizzate le seguenti informazioni:

- Nome per ciascuna curva (il fluoroforo o il target).
- Il colore di ogni fluoroforo o target.
- L'efficienza della reazione (E). Utilizzare questa statistica per ottimizzare una reazione multiplex e per equalizzare i dati per una curva standard.

Nota: l'efficienza della reazione descrive quanto del target viene prodotto con ogni ciclo del protocollo. Un'efficienza del 100% indica che si sta raddoppiando il target con ogni ciclo.

- Coefficiente di determinazione, R^2 (scritto come R^2). Utilizzare questa statistica per determinare il livello di correttezza della descrizione dei dati da parte della linea (bontà di adattamento).
- Pendenza
- Intercetta y

Opzioni del menu del grafico di amplificazione

Oltre alle comuni opzioni del menu di scelta rapida per i grafici (vedere [Elementi comuni del menu di scelta rapida per i grafici a pagina 216](#)), nella [Tabella 17](#) vengono elencate le opzioni di menu disponibili solo per il grafico di amplificazione.

Tabella 17. Voci di menu selezionabili con il pulsante destro e sinistro nel grafico di amplificazione

Opzione di menu	Funzione
Well XX, Fluor Target (Pozzetto XX, Fluoroforo target)	Visualizza solo questo pozzetto, rimuove questo pozzetto dalla visualizzazione, imposta il colore per questa traccia o esclude questo pozzetto dall'analisi.
Selected Traces (Tracce selezionate)	Visualizza solo questi pozzetti, rimuove questi pozzetti dalla visualizzazione, imposta il colore per queste tracce o esclude questi pozzetti dall'analisi.
Show Threshold Values (Mostra valori soglia)	Visualizza il valore della soglia per ogni curva di amplificazione nel grafico.
Trace Styles (Stili tracce)	Apri la finestra Trace Styles (Stili tracce) per modificare gli stili delle tracce che appaiono nelle tabelle Quantification (Quantificazione) e Melt Curve (Curva di fusione).
Baseline Thresholds (Soglie linea basale)	Apri la finestra Baseline Thresholds (Soglie linea basale) per modificare la linea basale o le soglie di ogni fluoroforo (le modifiche sono visualizzate nel grafico di amplificazione nella scheda Quantification (Quantificazione)).

Foglio di calcolo della scheda Quantification (Quantificazione)

Nella [Tabella 18](#) vengono definiti i dati visualizzati nel foglio di calcolo della scheda Quantification (Quantificazione).

Tabella 18. Contenuto del foglio di calcolo della scheda Quantification (Quantificazione)

Informazione	Descrizione
Well (Pozzetto)	Posizione del pozzetto nella piastra
Fluor (Fluoroforo)	Fluoroforo rilevato
Target (Target)	Nome target caricato nei pozzetti dell'editor piastra

Informazione	Descrizione
Content (Contenuto)	Una combinazione di tipo campione (necessario) e N. replicato (opzionale) caricati nell'editor piastra
Sample (Campione)	Nome campione caricato nei pozzetti dell'editor piastra
C _q	Ciclo di quantificazione per ciascuna traccia

Modifica dei dati del target, del contenuto o del campione

È possibile cambiare i dati nelle colonne Target (Target), Content (Contenuto) e Sample (Campione) modificando il file piastra usando l'editor piastra anche dopo aver eseguito l'esperimento.

Per modificare i dati nelle colonne Content (Contenuto), Target e Sample (Campione)

- Fare clic su Plate Setup (Impostazione piastra) e selezionare View/Edit Plate (Visualizza/Modifica piastra) per aprire l'editor di piastre.

Scheda Quantification Data (Dati di quantificazione)

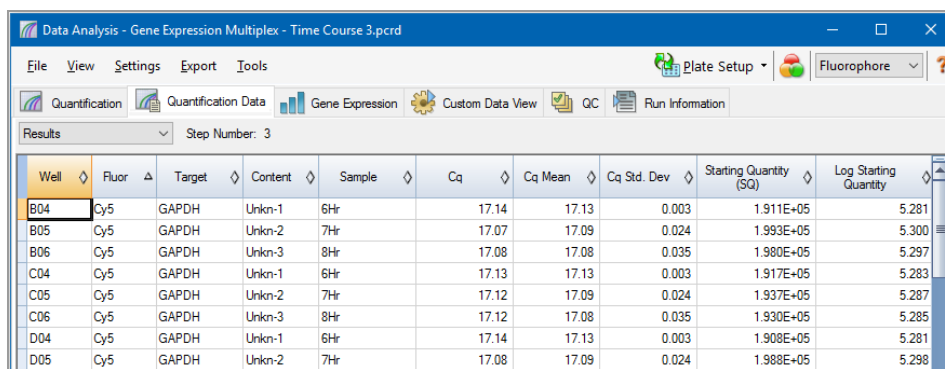
La scheda Quantification Data (Dati di quantificazione) mostra i dati di quantificazione raccolti in ogni pozzetto. CFX Maestro Dx SE mostra i dati in quattro diverse visualizzazioni del foglio di calcolo:

- **Results (Risultati):** consente di visualizzare un foglio di calcolo dei dati. Questa è la visualizzazione predefinita.
- **Standard Curve Results (Risultati curva standard):** consente di visualizzare un foglio di calcolo dei dati della curva standard.
- **Plate (Piastra):** consente di visualizzare i dati in ciascun pozzetto come mappa della piastra.
- **RFU:** consente di visualizzare le quantità di RFU in ciascun pozzetto per ogni ciclo.

Selezionare ogni foglio di calcolo dall'elenco a discesa che è visualizzato sotto la scheda Quantification Data (Dati di quantificazione).

Foglio di calcolo Results (Risultati)

Nel foglio di calcolo Results (Risultati) vengono visualizzati i dati di ciascun pozzetto della piastra.



Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity
B04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.911E+05	5.281
B05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.07	17.09	0.024	1.993E+05	5.300
B06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.08	17.08	0.035	1.980E+05	5.297
C04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.13	17.13	0.003	1.917E+05	5.283
C05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.12	17.09	0.024	1.937E+05	5.287
C06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.12	17.08	0.035	1.930E+05	5.285
D04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.908E+05	5.281
D05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.08	17.09	0.024	1.988E+05	5.298

Nota: tutti i calcoli della deviazione standard sono validi per i gruppi di replicati assegnati nei pozzetti della finestra dell'editor piastra. I calcoli stabiliscono la media del valore C_q per ciascun pozzetto presente nel gruppo di replicati.

Nella [Tabella 19](#) vengono definiti i dati visualizzati nel foglio di calcolo Results (Risultati).

Tabella 19. Contenuto del foglio di calcolo Results (Risultati)

Informazione	Descrizione
Well (Pozzetto)	Posizione del pozzetto nella piastra
Fluor (Fluoroforo)	Fluoroforo rilevato
Target (Target)	Nome del target di amplificazione (gene)
Content (Contenuto)	Tipo di campione e n. di replicati
Sample (Campione)	Descrizione del campione
Biological Set Name (Nome set biologico)	Nome del set biologico
C_q	Ciclo di quantificazione
C_q Mean (Media C_q)	Media del ciclo di quantificazione per il gruppo di replicati
C_q Std. Dev (Dev. std. C_q)	Deviazione standard del ciclo di quantificazione per il gruppo di replicati
Starting Quantity (SQ, Quantità iniziale)	Stima della quantità iniziale del target
Log Starting Quantity (Registro quantità iniziale)	Registro della quantità iniziale
SQ Mean (Media SQ)	Media della quantità iniziale
SQ Std. Dev (Dev. std. SQ)	Deviazione standard della quantità iniziale nei replicati

Foglio di calcolo dei risultati della curva standard

Il foglio di calcolo Standard Curve Results (Risultati della curva standard) mostra i parametri calcolati per la curva standard.

Fluor	Efficiency %	Slope	Y-Intercept	R ²
Cy5	95.93	-3.423	35.216	1.000
FAM	91.97	-3.531	35.593	0.995
HEX	94.24	-3.468	36.863	0.998
Texas Red	96.86	-3.399	35.481	0.999

Nella [Tabella 20](#) vengono definiti i dati visualizzati sul foglio di calcolo Standard Curve Results (Risultati della curva standard).

Tabella 20. Contenuto del foglio di calcolo Standard Curve Results (Risultati della curva standard)

Informazione	Descrizione
Fluor (or Target) [Fluoroforo (o target)]	Fluoroforo (o target) rilevato
Efficiency (%) (Efficienza %)	Efficienza della reazione
Slope (Pendenza)	Pendenza della curva standard.
Y-intercept (Intercetta y)	Punto nel quale la curva intercetta l'asse y
R ²	Coefficiente di determinazione

Foglio di calcolo Plate (Piastra)

Il foglio di calcolo Plate (Piastra) visualizza una mappa delle piastre con i dati di un fluoroforo alla volta.

The screenshot shows the 'Plate' calculation sheet in the software. The interface includes a menu bar (File, View, Settings, Export, Tools), a toolbar with 'Plate Setup' and 'Fluorophore' options, and a 'Quantification Data' tab. The 'Plate' dropdown is set to '3' and 'Step Number' is '3'. The 'Output' section has checkboxes for 'Content', 'Sample', 'Cq', and 'Starting Quantity', all of which are checked. The main data table is a 3x9 grid with columns 1-9 and rows A-C. 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 bottom status bar shows 'Completed', 'Scan Mode: All Channels', and 'Plate Type: BR White'.

Per visualizzare i dati di un determinato fluoroforo

- Fare clic sulla scheda nella parte inferiore del foglio di calcolo.

Foglio di calcolo RFU

Nel foglio di calcolo RFU sono visualizzate le letture in unità di fluorescenza relativa (RFU) di ogni pozzetto, acquisite durante ciascun ciclo dell'analisi. Il numero del pozzetto appare in cima a ciascuna colonna e il numero del ciclo appare a sinistra di ogni riga.

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

Scheda Melt Curve (Curva di fusione)

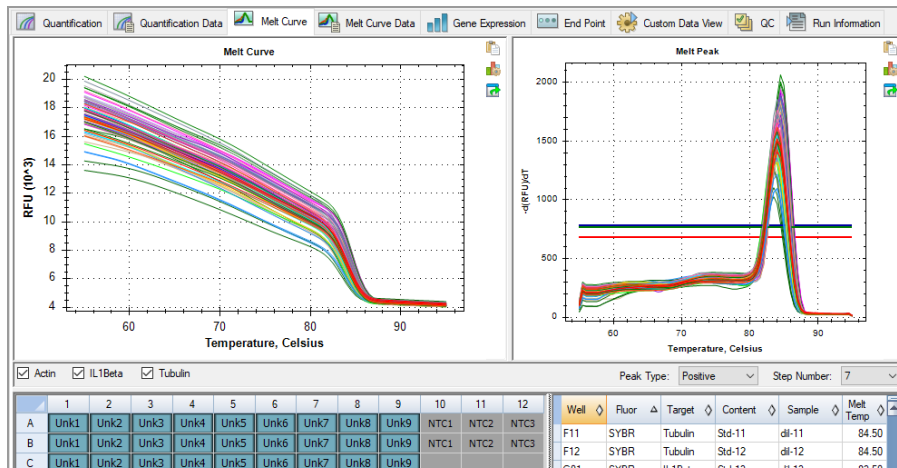
Per coloranti che legano il DNA e sonde di ibridazione non scindibili, la fluorescenza è più brillante quando i due filamenti di DNA si appaiano. Tuttavia, se la temperatura aumenta verso la temperatura di fusione (T_m), la fluorescenza diminuisce a una velocità costante (pendenza costante). Alla T_m si osserva una drastica riduzione della fluorescenza con una notevole variazione della pendenza. La velocità di questa variazione viene determinata tracciando la prima regressione negativa della fluorescenza rispetto alla temperatura ($-d(\text{RFU})/dT$). La velocità più elevata di variazione della fluorescenza determina picchi visibili e rappresenta la T_m dei complessi di DNA a doppia elica.

CFX Maestro Dx SE traccia i dati RFU raccolti durante una curva di fusione in funzione della temperatura. Per analizzare i dati del picco di fusione, il software assegna a ogni picco una temperatura iniziale e finale muovendo la barra della soglia. Il piano dell'area del picco è specificato dalla posizione della barra della soglia di fusione. Un picco valido deve avere un'altezza minima rispetto alla distanza tra la barra della soglia e l'altezza del picco più alto.

La scheda Melt Curve (Curva di fusione) visualizza la T_m (temperatura di fusione) dei prodotti di PCR amplificati, in quattro visualizzazioni:

- Melt Curve (Curva di fusione): consente di visualizzare i dati in tempo reale per ogni fluoroforo come unità RFU per temperatura per ogni pozzetto.
- Melt Peak (Picco di fusione): consente di visualizzare la regressione negativa dei dati RFU per temperatura per ogni pozzetto.
- Well selector (Selettore di pozzetti): consente di visualizzare i pozzetti per i quali mostrare o nascondere i dati.
- Peak spreadsheet (Foglio di calcolo del picco): consente di visualizzare i dati raccolti nel pozzetto selezionato.

Nota: questo foglio di calcolo visualizza fino a due picchi per ogni traccia. Per visualizzare più picchi, fare clic sulla scheda Melt Curve Data (Dati curva di fusione).



Nella [Tabella 21](#) vengono definiti i dati visualizzati nel foglio di calcolo della curva di fusione.

Tabella 21. Contenuto del foglio di calcolo Melt Curve (Curva di fusione)

Informazione	Descrizione
Well (Pozzetto)	Posizione del pozzetto nella piastra
Fluor (Fluoroforo)	Fluoroforo rilevato
Content (Contenuto)	Una combinazione di tipo di campione e numero del replicato
Sample (Campione)	Nome del campione caricato nell'editor piastra.
Melt Temp (Temperatura di fusione)	La temperatura del picco di fusione per ogni pozzetto Nota: in questo foglio di calcolo vengono visualizzati solo i due picchi più alti.

Correzione dei dati della curva di fusione

Per correggere i dati della curva di fusione

- ▶ Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Fare clic e trascinare le barre della soglia nel grafico Melt Peak (Picco di fusione) per includere o escludere i picchi nell'analisi dei dati.
 - Selezionare Positive (Positivo) nel menu a discesa Peaks (Picchi) per visualizzare i dati del foglio di calcolo per i picchi al di sopra della linea della soglia di fusione o selezionare Negative (Negativo) per visualizzare i dati del foglio di calcolo per i picchi al di sotto della linea della soglia di fusione.
 - Aprire la finestra Trace Styles (Stili traccia) per cambiare il colore delle tracce nei grafici Melt Curve (Curva di fusione) e Melt Peak (Picco di fusione).
 - Selezionare un numero nel selettore Step Number (Numero fase) per visualizzare i dati della curva di fusione in un'altra fase del protocollo. L'elenco mostra più di una fase se il protocollo include letture piastra in più di una fase della curva di fusione.
 - Selezionare i pozzetti nel selettore di pozzetti per concentrarsi sui sottoinsiemi dei dati.
 - Selezionare un gruppo di pozzetti per visualizzare e analizzare un sottoinsieme dei pozzetti nella piastra. Nel menu a discesa Well Group (Gruppo di pozzetti) presente nella barra degli strumenti, selezionare ogni gruppo di pozzetti per nome.

Scheda Melt Curve Data (Dati curva di fusione)

La scheda Melt Curve Data (Dati curva di fusione) mostra i dati della scheda Melt Curve (Curva di fusione) in più fogli di calcolo che includono tutti i picchi di fusione per ciascuna traccia. CFX Maestro Dx SE offre quattro opzioni di foglio di calcolo in cui visualizzare i dati della curva di fusione:

- Melt Peaks (Picchi di fusione): consente di visualizzare tutti i dati, compresi tutti i picchi di fusione, per ciascuna traccia. Questa è la visualizzazione predefinita.
- Plate (Piastra): consente di visualizzare una vista dei dati e i contenuti di ciascun pozzetto nella piastra.
- RFU: consente di visualizzare le quantità RFU a ciascuna temperatura per ciascun pozzetto.
- $-d(\text{RFU})/dT$: consente di visualizzare la velocità di variazione negativa nella RFU al variare della temperatura (T). Si tratta di un primo grafico di regressione per ciascun pozzetto nella piastra.

Selezionare ogni foglio di calcolo dall'elenco a discesa che è visualizzato sotto la scheda Melt Curve Data (Dati curva di fusione).

Foglio di calcolo dei picchi di fusione

Il foglio di calcolo dei picchi di fusione visualizza tutti i dati della curva di fusione.

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

La [Tabella 22 a pagina 241](#) definisce i dati che vengono visualizzati nel foglio di calcolo dei picchi di fusione.

Tabella 22. Contenuto del foglio di calcolo Melt Peaks (Picchi di fusione)

Informazione	Descrizione
Well (Pozzetto)	Posizione del pozzetto nella piastra
Fluor (Fluoroforo)	Fluoroforo rilevato
Content (Contenuto)	Tipo di campione elencato nella finestra dell'editor piastra
Target (Target)	Target di amplificazione (gene)
Sample (Campione)	Nome del campione elencato nella finestra dell'editor piastra
Melt Temperature (Temperatura di fusione)	La temperatura di fusione di ciascun prodotto, elencata come un picco (massimo) per riga nel foglio di calcolo
Peak Height (Altezza picco)	Altezza del picco
Begin Temperature (Temperatura iniziale)	Temperatura all'inizio del picco
End Temperature (Temperatura finale)	Temperatura alla fine del picco

Foglio di calcolo Plate (Piastra)

Il foglio di calcolo Plate (Piastra) visualizza i dati della curva di fusione in formato piastra.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3								
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr								
	Peak 1	84.00	84.00	84.00								
	Peak 2	None	None	None								
B	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3								
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr								
	Peak 1	84.00	84.00	84.00								
	Peak 2	None	None	None								
C	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3								
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr								
	Peak 1	84.00	84.00	84.00								
	Peak 2	None	None	None								

Nota: per regolare il picco che richiama il software, regolare la linea di soglia nel grafico del picco di fusione sulla scheda Melt Curve (Curva di fusione).

Nella [Tabella 23 a pagina 242](#) vengono definiti i dati visualizzati nel foglio di calcolo della piastra.

Tabella 23. Contenuto del foglio di calcolo Plate (Piastra)

Informazione	Descrizione
Content (Contenuto)	Combinazione di tipo di campione (necessario) e del n. di replicati (facoltativo)
Sample (Campione)	Descrizione del campione
Peak 1 (Picco 1)	Primo picco di fusione (massimo)
Peak 2 (Picco 2)	Secondo picco di fusione (inferiore)

Foglio di calcolo RFU

Il foglio di calcolo RFU visualizza la fluorescenza per ciascun pozzetto durante ogni ciclo acquisito durante la curva di fusione.

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

Nella [Tabella 24](#) sono definiti i dati visualizzati nel foglio di calcolo RFU.

Tabella 24. Contenuto del foglio di calcolo RFU

Informazione	Descrizione
Numero di pozzetto (A1, A2, A3, A4, A5)	Posizione del pozzetto nella piastra per i pozzetti caricati
Temperatura	Temperatura di fusione del target amplificato, tracciata come unico pozzetto per fila e vari pozzetti per più prodotti nello stesso pozzetto

Foglio di calcolo -d(RFU)/dT

Il foglio di calcolo -d(RFU)/dT visualizza la velocità di variazione negativa nella RFU al variare della temperatura (T).

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	105	95.0	101	99.5	119	115	107	125	120	77.8	104	103	121	114
55.50	227	206	219	215	258	249	231	271	260	169	225	224	263	246
56.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
56.50	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.50	209	189	202	198	238	229	213	250	239	154	206	206	242	227
58.00	214	193	204	202	242	232	215	253	243	164	214	210	245	231
58.50	222	200	210	209	247	237	221	260	249	184	228	219	249	237

Nella [Tabella 25](#) vengono definiti i dati visualizzati sul foglio di calcolo -d(RFU)/dT.

Tabella 25. Contenuto del foglio di calcolo -d(RFU)/dT

Informazione	Descrizione
Numero di pozzetto (A1, A2, A3, A4, A5)	Posizione del pozzetto nella piastra per i pozzetti caricati
Temperatura -d(RFU)/dT	Tasso negativo di cambio in RFU quando cambia la temperatura (T)

Scheda End Point (Punto finale)

Aprire la scheda End Point (Punto finale) per analizzare le unità di fluorescenza relativa (RFU) finali per i pozzetti di campione. Il software confronta i livelli RFU per i pozzetti con campioni sconosciuti con i livelli RFU per i pozzetti con controlli negativi e “richiama” il valore positivo o negativo sconosciuto. I campioni positivi hanno un valore RFU maggiore del valore RFU medio dei controlli negativi più il valore di cutoff.

Well	Fluor	Content	Sample	End RFU	Call
C03	HEX	Std-1		15271	(+) Positive
C04	HEX	Std-2		10788	(+) Positive
C05	HEX	Std-3		6245	(+) Positive
C06	HEX	Std-4		4035	(+) Positive
C07	HEX	Neg Cnt		1887	
D03	HEX	Std-1		15193	(+) Positive
D04	HEX	Std-2		10781	(+) Positive
D05	HEX	Std-3		6294	(+) Positive
D06	HEX	Std-4		4013	(+) Positive
D07	HEX	Neg Cnt		1882	
E03	HEX	Std-1		14530	(+) Positive
E04	HEX	Std-2		10240	(+) Positive
E05	HEX	Std-3		5838	(+) Positive
E06	HEX	Std-4		3896	(+) Positive
E07	HEX	Neg Cnt		1882	
F03	HEX	Std-1		14055	(+) Positive
F04	HEX	Std-2		9932	(+) Positive
F05	HEX	Std-3		5826	(+) Positive
F06	HEX	Std-4		3964	(+) Positive
F07	HEX	Neg Cnt		1883	

Per analizzare i dati del punto finale, la piastra deve contenere i controlli negativi; altrimenti il software non può effettuare la chiamata.

- Eseguire un protocollo di quantificazione: impostare un protocollo standard. Al termine dell'analisi, aprire la finestra Data Analysis (Analisi dei dati), modificare le impostazioni di analisi dei dati nella scheda Quantification (Quantificazione), quindi fare clic sulla scheda End Point (Punto finale) per scegliere un ciclo del punto finale.
- Eseguire un protocollo End Point Only (Solo punto finale): caricare il protocollo End Point Only (Solo punto finale) nella scheda Plate (Piastra) della finestra Run Setup (Impostazione analisi), selezionare o creare una piastra e avviare l'analisi.

Nella scheda End Point (Punto finale) sono visualizzati i valori medi RFU per determinare se il target è stato amplificato dall'ultimo ciclo (finale). Utilizzare questi dati per stabilire se è presente (positivo) una

particolare sequenza target in un campione. I target positivi hanno valori RFU maggiori del livello di cut-off definito dall'utente.

Suggerimento: per creare un protocollo end point, aprire la scheda Protocol (Protocollo) nella finestra Run Setup (Impostazione analisi) e selezionare Run > End Point Only Run (Analisi > Analisi solo punto finale).

Al termine dell'analisi, il file di dati si apre nella scheda End Point (Punto finale), che comprende le seguenti sezioni:

- Settings (Impostazioni): consente di modificare le impostazioni dell'analisi dei dati.
- Results (Risultati): consente di visualizzare i risultati immediatamente dopo avere modificato le impostazioni.
- Well Selector (Selettore pozzetti): consente di selezionare i pozzetti con i dati al punto finale che si intende visualizzare.
- RFU spreadsheet (Foglio di calcolo RFU): consente di visualizzare il valore RFU finale rilevato nei pozzetti selezionati.

Dati relativi ai risultati

Nella sezione Results (Risultati) vengono visualizzati i seguenti dati:

- Lowest RFU value (Valore RFU minimo): il valore RFU minimo nei dati
- Highest RFU value (Valore RFU massimo): il valore RFU massimo nei dati
- Negative Control Average (Media controlli negativi): RFU media per i pozzetti che contengono controlli negativi
- Cut Off Value (Valore di cut-off): calcolato aggiungendo la tolleranza (RFU o percentuale di intervallo elencate nelle impostazioni) e la media dei controlli negativi. I campioni con RFU maggiori del valore di cut-off verranno chiamati "Positive" (Positivi). Per regolare il valore di cut-off, modificare RFU o Percentage of Range (Percentuale di intervallo)

Il valore di cut-off viene calcolato utilizzando questa formula:

$$\text{Valore di cutoff} = \text{media dei controlli negativi} + \text{tolleranza}$$

Selezionare una tolleranza utilizzando uno di questi metodi:

- RFUs (RFU) (impostazione predefinita): selezionare questo metodo per utilizzare un valore RFU assoluto per la tolleranza. Il valore di tolleranza RFU minimo è 2. Il valore massimo è il valore assoluto del valore RFU massimo, meno il valore assoluto del valore RFU minimo. Il valore di tolleranza RFU predefinito è il 10% dell'intervallo RFU totale.

- Percent of Range (Percentuale di intervallo): selezionare questo metodo per utilizzare una percentuale dell'intervallo RFU per la tolleranza. La percentuale di intervallo minima è 1%. La percentuale di intervallo massima è 99%. La percentuale di intervallo predefinita è 10%.

Regolazione dell'analisi dei dati del punto finale

Per modificare i dati nella scheda End Point (Punto finale)

- ▶ Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Scegliere un fluoroforo dall'elenco a discesa.
 - Scegliere un valore End Cycle to Average (Cicli finali per media) per impostare il numero di cicli con cui calcolare la RFU media al punto finale.
 - Selezionare RFUs (RFU) per visualizzare i dati in unità di fluorescenza relativa.
 - Selezionare Percentage of Range (Percentuale di intervallo) per visualizzare i dati come percentuale dell'intervallo RFU.
 - Selezionare i pozzetti nel selettore di pozzetti per concentrarsi sui sottoinsiemi dei dati.
 - Selezionare un gruppo di pozzetti per visualizzare e analizzare un sottoinsieme dei pozzetti nella piastra. Nel menu a discesa Well Group (Gruppo di pozzetti) presente nella barra degli strumenti, selezionare ogni gruppo di pozzetti per nome.

Foglio di calcolo RFU per l'analisi al punto finale

Nella [Tabella 26](#) vengono definiti i dati visualizzati nel foglio di calcolo RFU della scheda End Point (Punto finale).

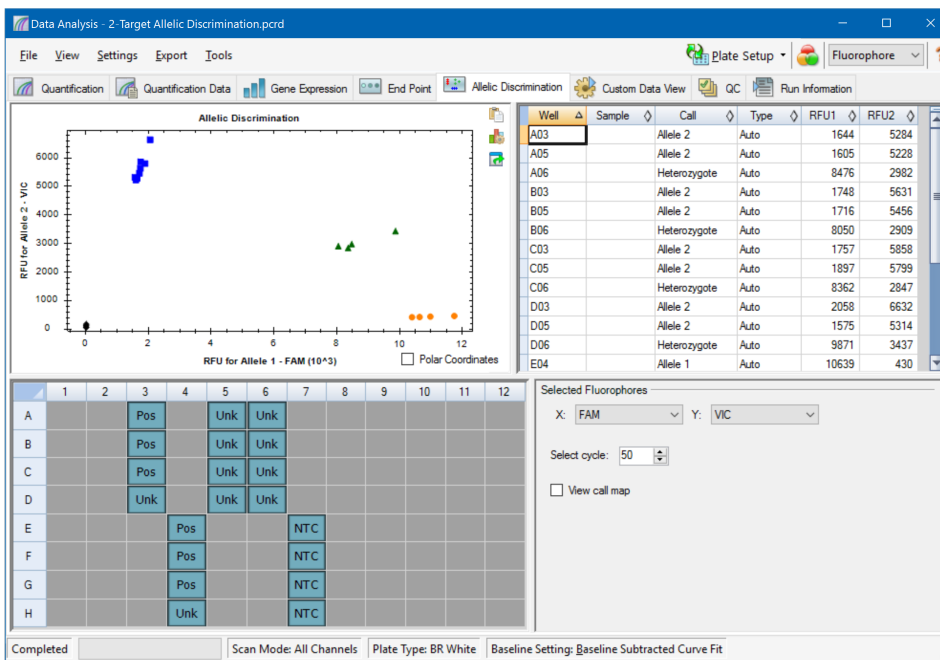
Tabella 26. Contenuto del foglio di calcolo del punto finale della RFU

Informazione	Descrizione
Well (Pozzetto)	Posizione del pozzetto nella piastra
Fluor (Fluoroforo)	Fluoroforo rilevato
Content (Contenuto)	Combinazione del tipo di campione e del n. di replicati
End RFU (RFU finale)	RFU nel ciclo del punto finale
Call (Richiamo)	Positivo o negativo, dove i campioni positivi hanno un valore RFU maggiore della media RFU dei controlli negativi più il valore di cutoff
Sample (Campione)	Nome del campione caricato nell'editor piastra

Scheda Allelic Discrimination (Discriminazione allelica)

La scheda Allelic Discrimination (Discriminazione allelica) assegna i genotipi ai pozzetti con campioni sconosciuti. Usare questi dati per identificare i campioni con genotipi diversi, fra cui Allele 1 (Allele 1), Allele 2 (Allele 2), Heterozygote (Eterozigote), No Call (Nessuna chiamata) (senza amplificazione) o Undetermined (Indeterminato).

Nota: i dati per la discriminazione allelica devono derivare dalle analisi multiplex con almeno due fluorofori. Ciascun fluoroforo identifica un allele in tutti i campioni.



L'analisi della discriminazione allelica richiede il seguente contenuto minimo del pozzetto:

- Due fluorofori in ciascun pozzetto
- Campioni NTC (No Template Control) per l'analisi ottimizzata dei dati

CFX Maestro Dx SE offre quattro opzioni in cui visualizzare i dati della discriminazione allelica:

- Grafico della discriminazione allelica: consente di visualizzare i dati in un grafico della RFU per Allele 1/Allele 2. Ciascun punto del grafico rappresenta i dati di entrambi i fluorofori in un pozzetto. È possibile passare tra le coordinate cartesiane e quelle polari selezionando e deselezionando la casella di controllo Polar Coordinates (Coordinate polari). Le coordinate cartesiane rappresentano la RFU per Allele 1 sull'asse x e la RFU per Allele 2 sull'asse y. Le coordinate polari rappresentano l'angolo sull'asse x e la distanza tra l'origine e la RFU sull'asse y (mediana di tutti gli NTC).

- Foglio di lavoro del pozzetto: consente di visualizzare i dati della discriminazione allelica raccolti in ciascun pozzetto della piastra.
- Selettore pozzetto: consente di selezionare i pozzetti con i dati allelici che si desidera mostrare.
- Pannello Selected Fluorophores (Fluorofori selezionati): consente di modificare le etichette dell'asse x e dell'asse y nel grafico della discriminazione allelica, il ciclo da analizzare e se visualizzare la mappa delle chiamate.

Regolazione dei dati per la discriminazione allelica

Il software assegna automaticamente un genotipo ai pozzetti con campioni sconosciuti, in base alle posizioni degli NTC e all'angolo e alla distanza dei punti dati sconosciuti rispetto agli NTC.

Per modificare i dati della discriminazione allelica

- ▶ Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per visualizzare le coordinate polari, selezionare la casella di controllo nel grafico della discriminazione allelica.
 - Per visualizzare un altro fluoroforo, sceglierlo dall'elenco a discesa nel pannello Selected Fluorophores (Fluorofori selezionati).
 - Per modificare una chiamata, trascinare il cursore sui punti dati nel diagramma della discriminazione allelica e scegliere un'opzione dall'elenco Selected Wells (Pozzetti selezionati):
 - Allele 1 (Allele 1)
 - Allele 2 (Allele 2)
 - Heterozygote (Eterozigote)
 - Undetermined (Indeterminato)
 - No Call (Nessuna chiamata)
 - Auto Call (Chiamata automatica)

Suggerimento: selezionare Auto Call (Chiamata automatica) per tornare alla chiamata predefinita.

Opzioni di menu dei grafici

Oltre alle opzioni comuni del menu di scelta rapida per i grafici (vedere [Elementi comuni del menu di scelta rapida per i grafici a pagina 216](#)), la [Tabella 27](#) elenca le opzioni di menu disponibili nel grafico Allelic Discrimination (Discriminazione allelica).

Tabella 27. Opzioni di menu selezionabili con il pulsante destro e sinistro del mouse del grafico Allelic Discrimination (Discriminazione allelica)

Opzione di menu	Funzione
Zoom	Focalizza la visualizzazione del grafico nell'area selezionata (facendo clic e trascinando il cursore nel grafico). Suggerimento: per ripristinare lo zoom e mostrare tutti i punti dei dati, fare clic con il pulsante destro del mouse e scegliere Set Scale to Default (Imposta scala su predefinito).
Well (Pozzetto)	Le opzioni disponibili per il pozzetto selezionato sono: Display only this well (Visualizza solo questo pozzetto), Remove this well from view (Rimuovi questo pozzetto dalla visualizzazione), Set color for this trace (Imposta colore per questa traccia) o Exclude this well from analysis (Escludi questo pozzetto dall'analisi).
Selected Wells (Pozzetti selezionati)	Le opzioni disponibili per i pozzetti selezionati (selezionati facendo clic e trascinando il cursore nel grafico) sono: Display only these wells (Visualizza solo questi pozzetti), Remove these wells from view (Rimuovi questi pozzetti dalla visualizzazione), Set color for these traces (Imposta colore per queste tracce) o Exclude these wells from analysis (Escludi questi pozzetti dall'analisi).

Foglio di calcolo della discriminazione allelica

La [Tabella 28](#) definisce i dati visualizzati sul foglio di calcolo della discriminazione allelica.

Tabella 28. Contenuto del foglio di calcolo della discriminazione allelica

Informazione	Descrizione
Well (Pozzetto)	Posizione del pozzetto nella piastra
Sample (Campione)	Descrizione del nome campione

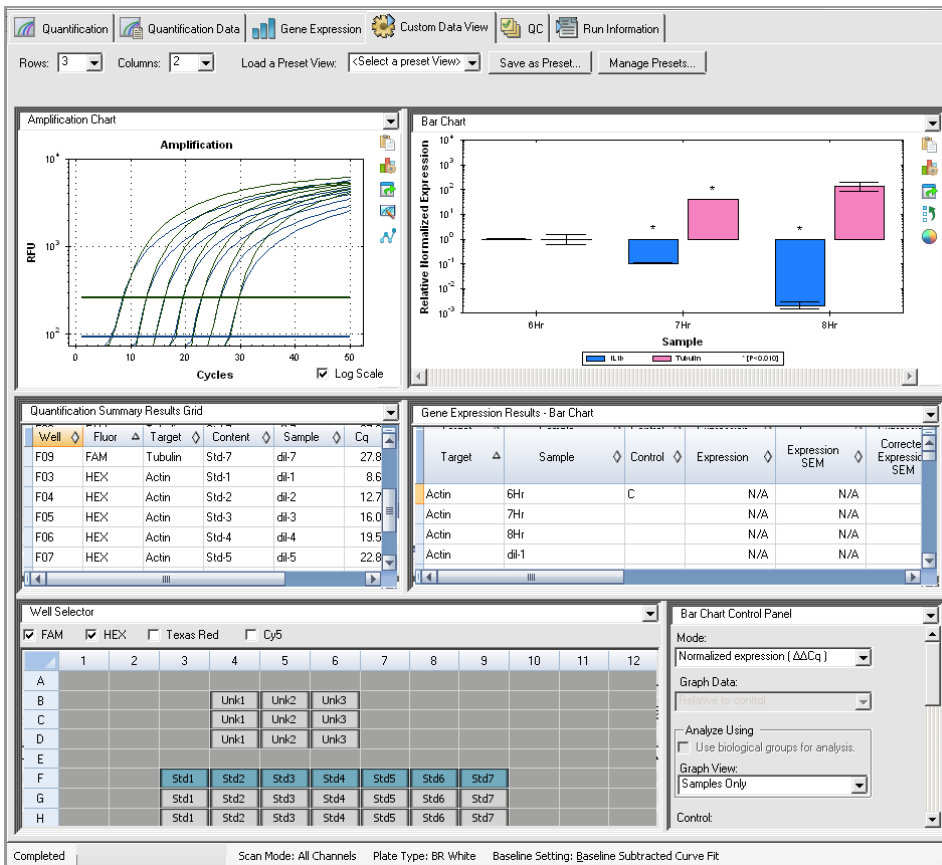
Tabella 28. Contenuto del foglio di calcolo della discriminazione allelica, continua

Informazione	Descrizione
Call (Richiamo)	Identità dell'allele, fra cui Allele 1 (Allele 1), Allele 2 (Allele 2), Heterozygote (Eterozigote), No Call (Nessun richiamo) o Undetermined (Indeterminato)
Tipo	Auto (Automatico) o Manual (Manuale), descrive come è stato effettuato il richiamo. Automatico indica che il richiamo è stato selezionato dal software. Manuale indica che il richiamo è stato scelto dall'operatore.
RFU1	RFU per Allele 1
RFU2	RFU per Allele 2

Scheda di visualizzazione personalizzata dei dati

La scheda Custom Data View (Visualizzazione personalizzata dei dati) visualizza più riquadri in un formato personalizzabile.

L'elenco a discesa Load a Preset View (Carica vista predefinita) offre una scelta di modelli di formati di visualizzazione. La vista predefinita visualizzata dipende dal file analizzato. Ad esempio, se sono presenti i dati della curva di fusione, appare la vista predefinita Amp+Melt.



Creazione di una vista personalizzata dei dati

Per creare una vista personalizzata dei dati

- ▶ Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Dall'elenco a discesa, selezionare una vista preimpostata alternativa.
 - Dall'elenco a discesa che si trova nella parte superiore di ciascun riquadro, selezionare un'altra vista del grafico.
 - Cambiare il numero di righe e colonne nella scheda.
 - Modificare le dimensioni dei singoli riquadri. Trascinare le barre verso il bordo di ciascun riquadro.

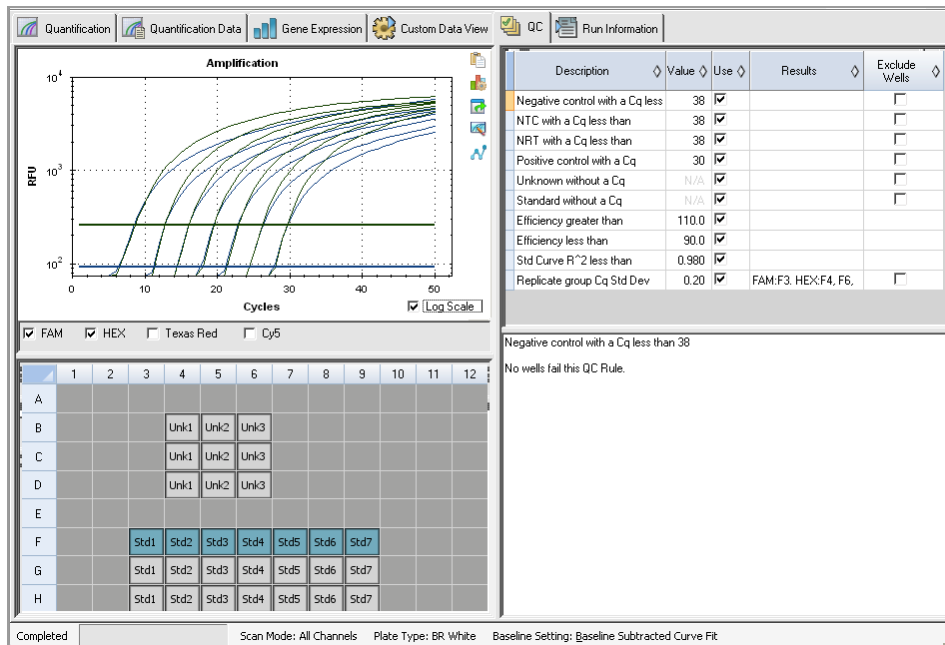
Fare clic su **Save as Preset** (Salva come preimpostato) per salvare la vista personalizzata come modello preimpostato. Fare clic su **Manage Presets** (Gestisci preimpostazioni) per eliminare, rinominare o ripristinare le viste preimpostate esistenti.

Scheda QC (CQ)

Utilizzare la scheda QC (CQ) per valutare velocemente la qualità dei dati dell'analisi in base alle regole definite nella scheda QC (CQ) della finestra User Preferences (Preferenze utente).

CFX Maestro Dx SE offre quattro opzioni in cui visualizzare i dati del CQ:

- **Amplification chart** (Grafico di amplificazione): consente di visualizzare la RFU per ciascun pozzetto a ogni ciclo. Ogni traccia presente nel grafico rappresenta i dati di un singolo fluoroforo in un pozzetto.
- **QC rules table** (Tabella delle regole CQ): consente di visualizzare le regole di CQ e le impostazioni che definiscono ogni regola. Le regole di CQ applicate sono indicate da un segno di spunta.
- **Well selector** (Selettore di pozzetti): consente di selezionare i pozzetti con i dati della fluorescenza che si desidera mostrare.
- **QC rule summary pane** (Riquadro di riepilogo della regola di CQ): consente di visualizzare la regola di CQ selezionata ed evidenzia i pozzetti che non soddisfano tale regola.



Modifica dei criteri CQ

Per modificare i criteri CQ

- ▶ Selezionare o deselezionare la casella di controllo Use (Utilizza) per la regola da includere o escludere dal controllo qualità.

Esclusione dei pozzetti che non superano il CQ

CFX Maestro Dx SE visualizza i pozzetti che non superano i criteri di CQ nella colonna Results (Risultati) presente nella tabella delle regole di CQ e nel riquadro di riepilogo.

Per escludere i pozzetti che non soddisfano i criteri di CQ

- ▶ Selezionare Exclude Wells (Escludi pozzetti) per ogni pozzetto da escludere.

Scheda Run Information (Informazioni analisi)

Nella scheda Run Information (Informazioni analisi) sono indicati il protocollo e altre informazioni su ciascuna analisi. Utilizzare questa scheda per eseguire quanto segue:

- Visualizzare il protocollo.
- Immettere o modificare note sull'analisi.
- Immettere o modificare l'ID o il codice a barre per l'analisi.
- Visualizzare gli eventi che potrebbero essersi verificati durante l'analisi. Utilizzare questi messaggi per contribuire alla risoluzione di errori in un'analisi.

Suggerimento: con il pulsante destro del mouse, fare clic sul protocollo per copiarlo, esportarlo o stamparlo. Con il pulsante destro del mouse, fare clic sui riquadri Notes (Note), ID/Bar Code (ID/Codice a barre) o Other (Altro) per annullare, tagliare, copiare, incollare, eliminare o selezionare il testo.

The screenshot shows the 'Run Information' tab in the CFX Maestro software. The protocol editor displays a protocol named 'Protocol: CFX_2stepAng50 1 min.prl' with four steps:

Step	Temperature (C)	Time
1	95.0	3:00
2	95.0	0:10
3	55.0	1:00
4	GOTO 2, 49 more times	

The graph shows a temperature profile that starts at 95.0°C for 3 minutes, drops to 95.0°C for 0.10 minutes, then drops to 55.0°C for 1.00 minute, and finally loops back to step 2. The 'Notes' section contains the following text:

Notes:
Multiplex Gene Expression Example
Artificial Time course in which
Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/hxn
Cyt5 (Gapdh) is constant at ~ 1e5 cps/hxn
Fam (Tubulin) increases 4 fold with time
Texas Red (H1b) decreases 4 fold with time

The 'Other' section contains the following information:

Other:
Run Started : 12/13/2007 12:31:47 PM
User : admin
Run Type: User-defined
Plate File: Multi GE.pld
Sample Vol : 25
Lid Temp : 105
Optical Head Serial Number :
Base Serial Number : CC001095
CFX Manager Version : 1.0.956.1212.

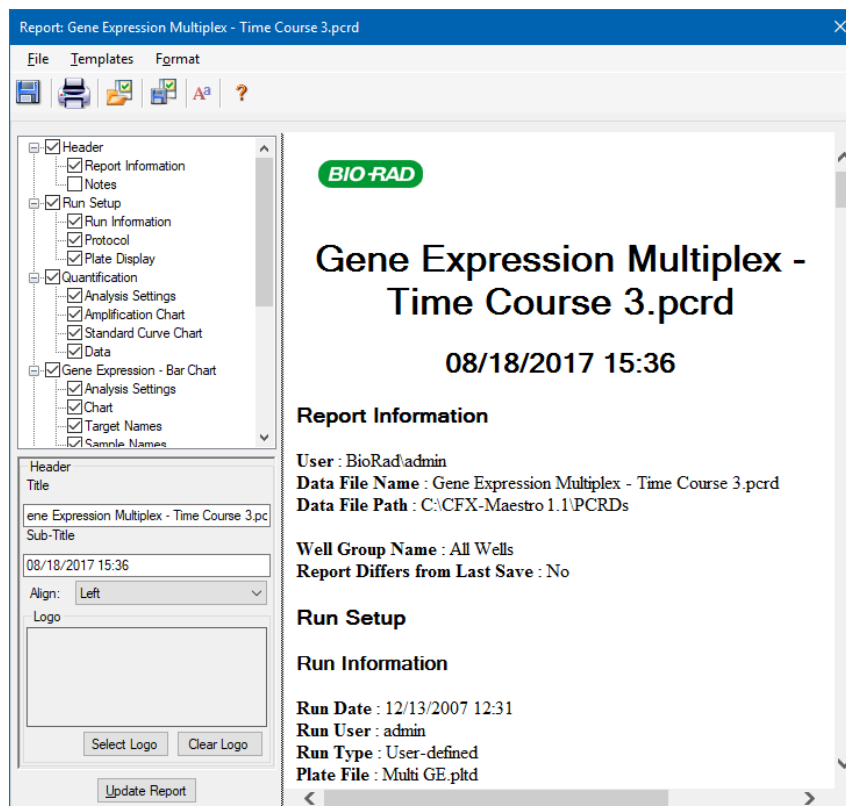
At the bottom of the window, the status bar shows: Completed, Scan Mode: All Channels, Plate Type: BR White, Baseline Setting: Baseline Subtracted Curve Fit.

Report di analisi dei dati

Nella finestra di dialogo Report vengono visualizzate le informazioni sul file di dati corrente della finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Per aprire un report, selezionare Tools > Reports (Strumenti > Report) oppure fare clic su Reports (Report) sulla barra degli strumenti.

Nella finestra di dialogo Report sono incluse le seguenti sezioni:

- Menu e barra degli strumenti: fornisce le opzioni per formattare, salvare e stampare il report o il modello.
- Elenco delle opzioni (in alto a sinistra della finestra di dialogo): fornisce le opzioni da visualizzare nel report.
- Riquadro delle opzioni (in basso a sinistra della finestra di dialogo): consente di visualizzare le caselle di testo in cui è possibile immettere informazioni relative all'opzione selezionata.
- Riquadro di anteprima (a destra della finestra di dialogo): consente di visualizzare l'anteprima del report corrente.



Categorie dei report di analisi dei dati

Nella [Tabella 29](#) vengono elencate tutte le opzioni disponibili per un report di analisi dei dati, a seconda del tipo di dati presenti nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).

Tabella 29. Categorie dei report di analisi dei dati nell'elenco delle opzioni

Categoria	Opzione	Descrizione
Intestazione		
		Titolo, sottotitolo e logo per il report
	Report Information (Informazioni sul report)	Data di analisi, nome utente, nome file di dati, percorso file di dati e gruppo di pozzetti selezionato
	Audit Information (Informazioni audit)	Informazioni aggiuntive richieste per l'audit, tra cui le firme
	Notes (Note)	Note sul report di dati
Impostazione dell'analisi		
	Run Information (Informazioni analisi)	Data di analisi, nome utente, nome file di dati, percorso file di dati e gruppo di pozzetti selezionato
	Protocol (Protocollo)	Visualizzazione del testo delle fasi e delle opzioni del protocollo
	Plate Display (Display piastra)	Visualizzazione delle informazioni della piastra in ciascun pozzetto della piastra.
Quantificazione		
	Analysis Settings (Impostazioni dell'analisi)	Numero di fasi per la raccolta dei dati, modalità di analisi, e metodica di sottrazione della linea basale
	Amplification Chart (Grafico dell'amplificazione)	Grafico dell'amplificazione per le analisi che includono i dati di quantificazione
	Standard Curve Chart (Grafico della curva standard)	Grafico della curva standard

Tabella 29. Categorie dei report di analisi dei dati nell'elenco delle opzioni, continua

Categoria	Opzione	Descrizione
	Data (Dati)	Foglio di calcolo che elenca i dati in ciascun pozzetto
Espressione genica – Grafico a barre		
	Analysis Settings (Impostazioni dell'analisi)	Modalità di analisi, dati del grafico, opzione di messa in scala ed errore grafico
	Chart (Grafico)	Copia del grafico a barre
	Target Names (Nomi target)	Grafico dei nomi target
	Sample Names (Nomi campione)	Grafico dei nomi campione
	Data (Dati)	Foglio di calcolo che elenca i dati in ciascun pozzetto
	Target Stability (Stabilità target)	Grafico dei valori della stabilità target
	Box-and-Whisker Chart (Diagramma a scatola e baffi)	Diagramma a scatola e baffi
	Dot Plot Chart (Grafico a punti)	Grafico a punti
Espressione genica - Diagramma di gruppo e grafico di dispersione		
	Analysis Settings (Impostazioni dell'analisi)	Impostazioni per ciascun tipo di grafico
	Chart (Grafico)	Copia del grafico
	Data (Dati)	Foglio di calcolo che elenca i dati in ciascun target
Espressione genica – dati ANOVA		
	ANOVA Settings (Impostazioni ANOVA)	Soglia del valore P usata nell'analisi
	ANOVA Results (Risultati ANOVA)	Tabella dei risultati dall'analisi ANOVA e post-hoc HSD di Tukey

Tabella 29. Categorie dei report di analisi dei dati nell'elenco delle opzioni, continua

Categoria	Opzione	Descrizione
Curva di fusione		
	Analysis Settings (Impostazioni dell'analisi)	Numero fase di fusione e impostazione della barra di soglia
	Melt Curve Chart (Grafico curva di fusione)	Grafico curva di fusione
	Melt Peak Chart (Grafico picco di fusione)	Grafico picco di fusione
	Data (Dati)	Foglio di calcolo che elenca i dati in ciascun pozzetto
Discriminazione allelica		
	Analysis Settings (Impostazioni dell'analisi)	Fluorofori, ciclo e visualizzazione della mappa delle chiamate
	Allelic Discrimination Chart (Grafico discriminazione allelica)	Copia del grafico di discriminazione allelica
	Data (Dati)	Foglio di calcolo che elenca i dati in ciascun pozzetto
Punto finale		
	Analysis Settings (Impostazioni dell'analisi)	Fluoroforo, media cicli di fine, modalità, valore RFU più basso, valore RFU più alto e valore di cut-off
	Data (Dati)	Foglio di calcolo che elenca i dati in ciascun pozzetto
Parametri CQ		
	Data (Dati)	Foglio di calcolo che elenca i parametri per ciascuna regola CQ

Creazione di un report di analisi dei dati

È possibile salvare il layout del report come modello da utilizzare nuovamente per report simili.

Per creare un report di analisi dei dati

1. Prima di creare il report, apportare le modifiche finali al contenuto dei pozzetti, ai pozzetti selezionati, ai grafici e ai fogli di calcolo nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).
2. Selezionare Tools > Reports (Strumenti > Report) nella barra del menu Data Analysis (Analisi dei dati) per aprire la finestra di dialogo Report (Report).
3. Scegliere le opzioni che si desidera includere nel report. Il report si apre con le opzioni predefinite selezionate. Selezionare o deselezionare le caselle di controllo per modificare intere categorie o singole opzioni all'interno di una categoria.

Nella [Tabella 29 a pagina 258](#) vengono elencate le opzioni disponibili da visualizzare.

Nota: i dati che vengono visualizzati nel report dipendono dalle selezioni correnti effettuate nelle schede della finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Ad esempio, un'analisi di quantificazione potrebbe non contenere una curva standard e, pertanto, tali dati non vengono visualizzati nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati) o nel report dei dati.

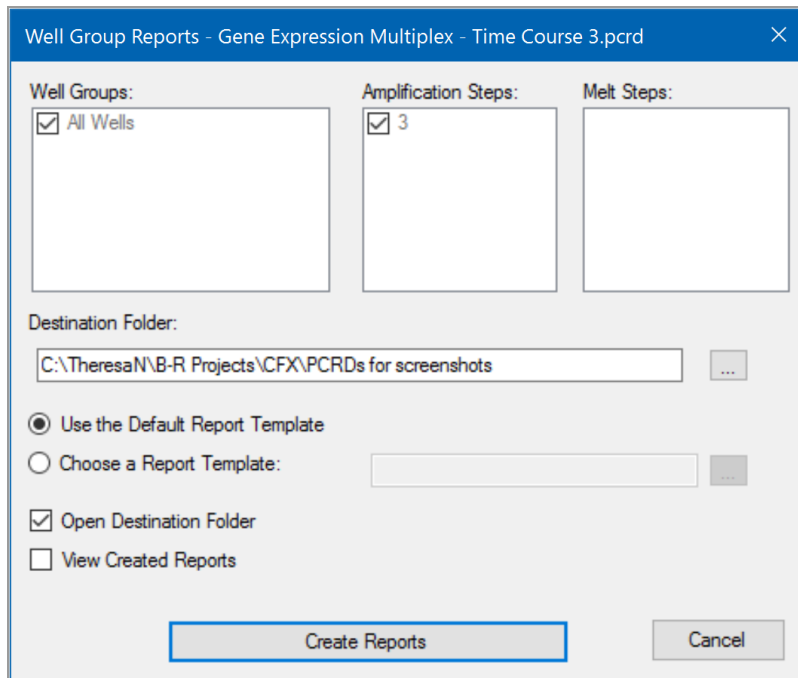
4. Cambiare l'ordine delle categorie e degli elementi in un report. Trascinare le opzioni nella relativa posizione. Gli elementi possono essere riordinati solamente all'interno delle categorie a cui appartengono.
5. (Facoltativo) Nel riquadro Report Options (Opzioni report), inserire le informazioni relative all'opzione selezionata:
 - Scegliere un sottoinsieme di informazioni da visualizzare nel report.
 - Scegliere impostazioni specifiche per l'opzione selezionata.
 - Modificare il testo da visualizzare per l'opzione selezionata.
6. Fare clic su Update Report (Aggiorna report) per aggiornare l'anteprima del report con tutte le modifiche.
7. Stampare o salvare il report:
 - a. Fare clic sul pulsante Print Report (Stampa report) nella barra degli strumenti per stampare il report corrente.
 - b. Selezionare File > Save (File > Salva) per salvare il report in formato file PDF (file Adobe Acrobat Reader), MHT (documento Microsoft) o MHTML (documento Microsoft).
 - c. Selezionare un percorso in cui salvare il file.

- d. Selezionare File > Save As (File > Salva con nome) per salvare il report con un nuovo nome o in un nuovo percorso.
8. (Facoltativo) Creare un modello di report con le informazioni desiderate. Per salvare le impostazioni del report attuali in un modello, selezionare Template > Save oppure Save As (Modello > Salva/Salva con nome). Caricare il modello di report la volta successiva in cui si desidera creare un nuovo report.

Creazione di report sul gruppo di pozzetti

Per creare un report del gruppo di pozzetti

1. Selezionare Tools > Well Group Reports (Strumenti > Report gruppo di pozzetti) nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).



2. Nella finestra di dialogo Well Groups Reports (Report gruppi di pozzetti), selezionare tutti i gruppi di pozzetti, le fasi di amplificazione e le fasi di fusione da includere nel report.
3. Inserire il percorso o navigare fino alla cartella di destinazione in cui salvare il report.
4. (Opzionale) Selezionare Choose a Report Template (Scegli un modello di report) e navigare fino alla cartella del file modello.
5. (Opzionale) Selezionare Open Destination Folder (Apri cartella di destinazione) per aprire la cartella e visualizzare i report dopo che sono stati generati.
6. Fare clic su Create Reports (Crea report).

Capitolo 12 Analisi dell'espressione genica

Con l'utilizzo di controlli rigorosamente qualificati nelle reazioni, è possibile utilizzare il Software CFX Maestro Dx, Security Edition per eseguire l'analisi dell'espressione genica al fine di normalizzare le differenze relative in una concentrazione target tra i campioni. Generalmente vengono utilizzati i livelli di espressione per uno o più geni di riferimento per normalizzare i livelli di espressione di un gene d'interesse. I geni di riferimento prendono in considerazione il carico di differenze o altre variazioni rappresentate in ciascun campione e i rispettivi livelli di espressione non dovrebbero essere pregiudicati nel sistema biologico studiato.

Scegliere la scheda Gene Expression (Espressione genica) nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati) per valutare differenze relative tra le reazioni PCR in due o più pozzetti. Ad esempio, si possono valutare numeri relativi di genomi virali o numeri relativi di sequenze transfettate in una reazione PCR.

L'applicazione più comune per lo studio dell'espressione genica è il confronto della concentrazione cDNA in più di una reazione per stimare i livelli dell'RNA messaggero di stato stazionario.

Il software calcola il livello relativo di espressione di un target con uno di questi scenari:

- Il livello relativo di espressione di una sequenza target (Target 1) rispetto a un altro target (Target 2); ad esempio, la quantità di un gene rispetto a un altro gene in condizioni di trattamento del campione identiche.
- Livello relativo di espressione di una sequenza target in un campione rispetto allo stesso target in condizioni di trattamento del campione diverse; ad esempio, la quantità relativa di un gene rispetto a se stesso in condizioni temporali, geografiche o di sviluppo differenti.

Impostazione della piastra per l'analisi dell'espressione genica

Per eseguire l'analisi dell'espressione genica, il contenuto dei pozzetti deve includere quanto segue:

- Due o più target: i due target che rappresentano diverse sequenze o geni amplificati nei campioni.
- Uno o più target di riferimento: almeno un target deve essere un target di riferimento per l'espressione normalizzata. Assegnare tutti i target di riferimento nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento) per analizzare i dati in modalità Normalized Expression (Espressione normalizzata) ($\Delta\Delta C_q$). Le analisi che non contengono un riferimento devono essere analizzate usando la modalità Relative Expression (Espressione relativa) (ΔC_q).

- **Campioni comuni:** le reazioni devono includere campioni comuni (almeno due) per visualizzare i dati tracciati nella scheda Gene Expression (Espressione genica). Questi campioni devono rappresentare vari trattamenti o condizioni per ciascuna delle sequenze target. Assegnare un campione di controllo (opzionale) nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento). Se non si seleziona alcun controllo, il software utilizza il valore C_q minimo come controllo.

I requisiti per l'impostazione Gene Expression (Espressione genica) nell'editor piastra dipendono dal fatto che il contenuto della reazione sia PCR singleplex, con un fluoroforo nelle reazioni, o PCR multiplex, con più di un fluoroforo nelle reazioni.

Impostazione guidata della piastra

Se l'impostazione piastra di un file di dati non contiene le informazioni richieste per l'analisi ed è selezionata la scheda Gene Expression (Espressione genica), lo spazio normalmente occupato dal grafico a barre conterrà le istruzioni per inserire queste informazioni. Per l'espressione genica normalizzata, completare le seguenti fasi:

1. Definire i nomi target e campione usando una delle seguenti opzioni:
 - **Plate Setup (Impostazione piastra):** consente di aprire la finestra dell'editor piastra.
 - **Replace Plate File (Sostituisci file piastra):** consente di aprire il browser Select Plate (Seleziona piastra), in cui è possibile accedere a un file piastra precedentemente salvato con cui sostituire il layout della piastra corrente.
 - **Replace PrimePCR File (Sostituisci file PrimePCR):** consente di aprire la finestra di dialogo Select PrimePCR file (Seleziona file PrimePCR), in cui è possibile accedere a un file di analisi PrimePCR™ e applicarlo al layout della piastra.
2. Selezionare uno o più target di riferimento a un campione di controllo usando la finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento).







Se la disposizione della piastra contiene già le informazioni sul target e sul campione, è necessario eseguire solo la seconda fase che è evidenziata in arancione. Questa fase deve essere completata prima di poter eseguire l'analisi dell'espressione genica normalizzata.

Nota: i dati per il grafico di dispersione e il diagramma di gruppo vengono visualizzati solo se vengono soddisfatti tutti i requisiti per l'espressione genica normalizzata elencati in Plate Setup (Impostazione piastra) per Gene Expression Analysis (Analisi espressione genica).

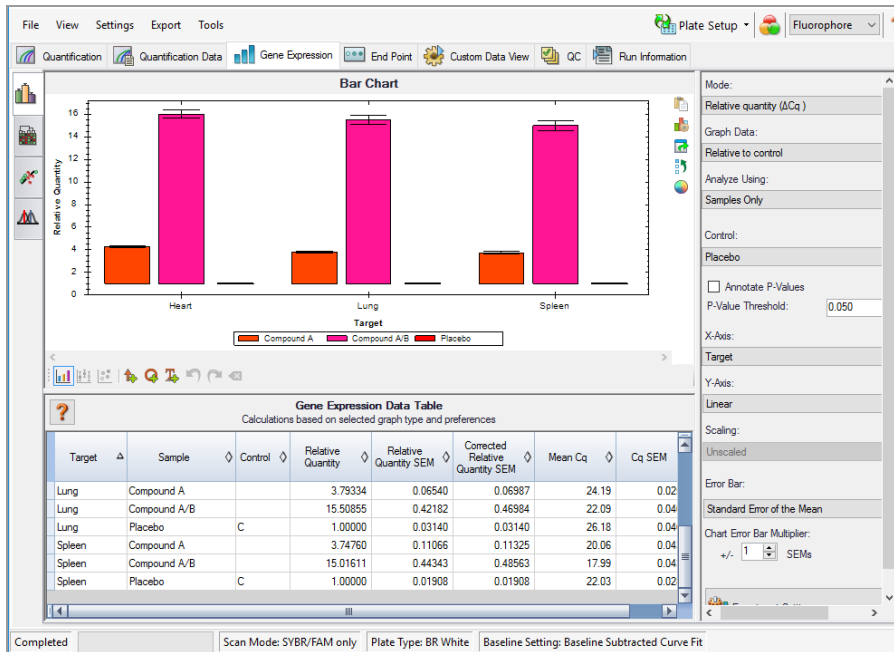
Grafici dell'espressione genica

CFX Maestro Dx SE visualizza i dati dell'espressione genica in più viste. Nella [Tabella 30](#) sono elencate le opzioni di rappresentazione grafica disponibili nel software.

Tabella 30. Opzioni del grafico dell'espressione genica

Pulsante	Nome	Funzione
	Rappresentazione grafica	Consente di visualizzare i dati dell'espressione genica normalizzata in una delle seguenti visualizzazioni: <ul style="list-style-type: none"> ■ Grafico a barre (impostazione predefinita) ■ Diagramma a scatola e baffi ■ Grafico a punti
	Diagramma di gruppo	Visualizza i dati dell'espressione normalizzata in una gerarchia basata sul grado di similitudine dell'espressione per i vari target e campioni.
	Grafico di dispersione	Visualizza l'espressione normalizzata dei target per un controllo rispetto ad un campione sperimentale.
	ANOVA	Visualizza i risultati di un'analisi ANOVA a un criterio di classificazione sui dati dell'espressione genica utilizzando i seguenti pacchetti R per eseguire l'analisi ANOVA e determinare i risultati del Tukey test: <ul style="list-style-type: none"> ■ Companion to Applied Regression (car) ■ Medie ai minimi quadrati (lsmeans)
	Strumento di selezione del gene di riferimento	(Disponibile nella scheda Study Analysis (Analisi dello studio) della finestra Gene Study (Studio dei geni)) Identifica i geni di riferimento analizzati e li classifica come Ideal (Ideal), Acceptable (Accettabile) o Unstable (Instabile) in base alla loro stabilità.
	Analisi dei controlli PrimePCR	(Disponibile nella scheda Study Analysis (Analisi dello studio) della finestra Gene Study (Studio dei geni)) Visualizza i risultati dei campioni analizzati.

Rappresentazione grafica



L'espressione relativa dei target viene rappresentata in queste due viste:

- Grafico dell'espressione genica: consente di visualizzare i dati di PCR in tempo reale con uno dei seguenti valori:
 - $\Delta\Delta C_q$ - espressione normalizzata relativa calcolata usando i campioni di controllo e i target di riferimento.
 - ΔC_q - quantità relativa del gene target in un campione rispetto a un campione di controllo.

Per ulteriori informazioni sulla visualizzazione dei dati, vedere [Modifica e annotazione della vista grafico a pagina 270](#).

- Foglio di calcolo: consente di visualizzare un foglio di calcolo dei dati dell'espressione genica.

Suggerimento: fare clic con il pulsante destro del mouse su qualsiasi grafico o foglio di calcolo per visualizzare le opzioni. Selezionare View/Edit Plate (Visualizza/Modifica piastra) dal menu a discesa Plate Setup (Impostazione piastra) per aprire l'editor piastra e cambiare il contenuto dei pozzetti nella piastra.

Suggerimento: dal menu di scelta rapida, selezionare Sort (Ordina) per riorganizzare l'ordine dei nomi target e campione nel grafico.

Espressione genica normalizzata

Per normalizzare i dati, usare il livello di espressione misurato di uno o più geni di riferimento come fattore di normalizzazione. I geni di riferimento sono target che non sono regolati nel sistema biologico studiato, come *actina*, *GAPDH* o *tubulina*.

Per impostare l'analisi dell'espressione genica normalizzata ($\Delta\Delta C_q$)

1. Aprire il file di dati (estensione .pcrd).
2. Revisionare i dati nella scheda Quantification (Quantificazione) della finestra Data Analysis (Analisi dei dati). Regolare i dati, cambiando ad esempio la soglia e la modalità di analisi.
3. Scegliere la scheda Gene Expression (Espressione genica).
4. Nella scheda Gene Expression (Espressione genica), fare clic su Experiment Settings (Impostazioni esperimento).
5. Nella finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento), procedere come segue:
 - a. Scegliere la scheda Samples (Campioni) e selezionare un controllo. Quando si assegna un controllo, CFX Maestro Dx SE normalizza le quantità relative per tutti i geni rispetto alla quantità di controllo, impostata su 1.
 - b. Scegliere la scheda Target e selezionare i geni di riferimento. L'analisi dell'espressione genica richiede un riferimento fra i target nei campioni.
6. Selezionare Normalized Expression (Espressione normalizzata) ($\Delta\Delta C_q$) se non è già stata selezionata, quindi visualizzare i livelli di espressione nella scheda Gene Expression (Espressione genica).

Nota: è inoltre possibile usare la procedura di impostazione guidata per impostare il layout della piastra per l'analisi dell'espressione genica normalizzata.

Quantità relativa

Per definizione, i dati della quantità relativa (ΔC_q) non sono normalizzati. Questo metodo viene utilizzato per quantificare i campioni che non includono geni di riferimento (target). Tipicamente, i ricercatori confidano in una delle seguenti considerazioni quando approntano la propria analisi:

- Ogni campione contiene la stessa quantità di RNA o cDNA in ogni pozzetto.
- Ogni variazione nella quantità di campione biologico caricato sarà normalizzata dopo l'analisi con un metodo utilizzato nell'analisi dei dati esterno al software. Ad esempio, un ricercatore potrebbe scegliere di dividere il valore della quantità relativa per il fattore di normalizzazione, possibilmente la massa di acido nucleico caricata per ciascun campione o il numero di cellule da cui è stato isolato l'acido nucleico.

Per eseguire un'analisi della quantità relativa (ΔC_q)

- Nella scheda Gene Expression (Espressione genica), selezionare Relative Quantity (Quantità relativa) (ΔC_q) dall'elenco a discesa Mode (Modalità) che si trova nel riquadro di destra.

Suggerimento: per confrontare i risultati con i dati di altre analisi di espressione genica, aprire un nuovo studio dei geni o aggiungere un file di dati a uno studio dei geni esistente.

Modifica e annotazione della vista grafico

Usando i comandi del menu della barra degli strumenti dei grafici e gli strumenti del grafico per l'analisi dei dati, è possibile modificare la vista grafico, annotare ciascun grafico e cambiare la visualizzazione del grafico. La barra degli strumenti dei grafici viene visualizzata tra il grafico e il foglio di calcolo dell'analisi dei dati nella parte inferiore dello schermo.

Strumenti della barra degli strumenti del grafico

Suggerimento: per informazioni sugli strumenti del grafico visualizzati a destra dei grafici di analisi dei dati, vedere il paragrafo [Grafici a pagina 208](#).

La barra degli strumenti sotto i grafici offre un accesso rapido agli strumenti di annotazione.





La [Tabella 31](#) elenca le funzioni dei pulsanti nella barra degli strumenti dei grafici.

Tabella 31. Barra degli strumenti dei grafici

Pulsante	Nome	Funzione
	Bar chart (Grafico a barre)	Visualizza l'espressione relativa dei target.
	Box and Whisker chart (Diagramma a scatola e baffi)	Visualizza i dati come intervalli di quartile (per maggiori dettagli sul calcolo, vedere Calcoli del diagramma a scatola e baffi a pagina 309). Nota: disponibile solo se l'opzione Analyze Using (Analizza con) è impostata su Biological Groups Only (Solo gruppi biologici).

Tabella 31. Barra degli strumenti dei grafici, continua

Pulsante	Nome	Funzione
	Dot Plot Chart (Grafico a punti)	Visualizza i punti dati dei singoli campioni per ogni target. Nota: disponibile solo se l'opzione Analyze Using (Analizza con) è impostata su Biological Groups Only (Solo gruppi biologici).
	Add Arrow (Aggiungi freccia)	Traccia una freccia sul grafico attivo.
	Add Circle (Aggiungi cerchio)	Traccia un cerchio sul grafico attivo.
	Add Text (Aggiungi testo)	Inserisce una casella di testo nel grafico attivo in cui è possibile aggiungere testo per identificare elementi di interesse nel grafico.
	Undo (Annulla)	Elimina o annulla l'ultima annotazione fatta sul grafico attivo.
	Redo (Ripeti)	Ripristina l'ultima azione di annullamento eseguita sul grafico attivo.
	Clear All (Cancella tutto)	Cancella tutte le annotazioni sul grafico attivo.

Ordinamento dei dati di target, campioni e gruppi biologici

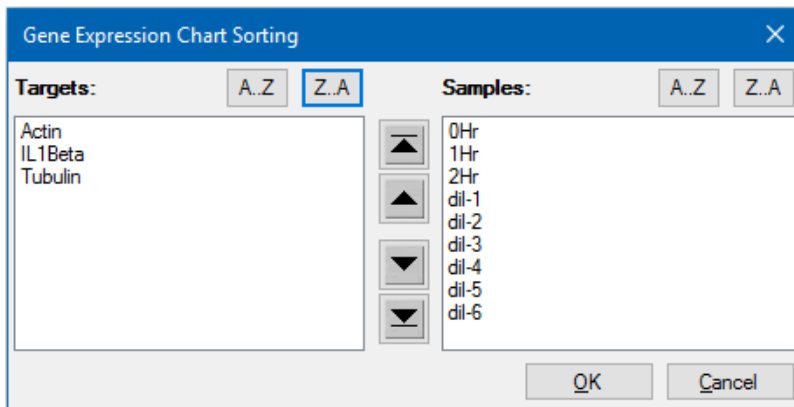
Nota: questa opzione è disponibile solo nei grafici dell'espressione genica.

Per impostazione predefinita, gli elenchi Targets (Target), Samples (Campioni) e Biological Groups (Gruppi biologici) vengono visualizzati in ordine alfabetico. Usare la finestra di dialogo Sort (Ordina) per ordinare la visualizzazione in ordine alfabetico inverso o per spostare manualmente un termine in un'altra posizione dell'elenco.

Per ordinare i dati di target, campioni e gruppi biologici

1. Dagli strumenti del grafico, fare clic su Sort (Ordina).

Viene visualizzata la finestra di dialogo Gene Expression Chart Sorting (Ordinamento grafico dell'espressione genica).



2. Nella finestra di dialogo, fare clic su Z-A per ordinare l'elenco nell'ordine alfabetico inverso.
3. Per spostare un termine manualmente, selezionarlo e fare clic sul pulsante appropriato tra i grafici:
 - Fare clic sulla freccia Su o Giù per spostare il termine selezionato di una posizione.
 - Fare clic sulla freccia della barra Su o Giù per spostare il termine selezionato in alto o in basso nell'elenco.
4. Fare clic su OK per salvare le modifiche e tornare alla scheda Gene Expression (Espressione genica).

Modifica delle impostazioni del target, del campione e del colore gruppo biologico

Usare la finestra di dialogo Color Settings (Impostazioni colore) per cambiare il colore di un target, di un campione o di un gruppo biologico, oppure per rimuovere l'elemento dal grafico.

Per cambiare le impostazioni di colore del target

1. Nel riquadro di destra della finestra di dialogo Gene Expression (Espressione genica), verificare che nell'elenco a discesa X-Axis (Asse X) venga visualizzato Sample (Campione).
2. Selezionare Color Settings (Impostazioni colore) dagli strumenti del grafico.
Appare la finestra di dialogo Color Settings (Impostazioni colore).
3. Per cambiare il colore di visualizzazione per un target, fare clic sul suo colore nella colonna Color (Colore).
4. Nella finestra di dialogo Color (Colore) che viene visualizzata, selezionare un nuovo colore e fare clic su OK.
5. Per rimuovere un target dal grafico dell'espressione genica, deselezionare la relativa casella di controllo nella colonna Show Chart (Mostra grafico).

Suggerimento: per cancellare tutti i target, deselezionare Show Chart (Mostra grafico) nell'intestazione della colonna.

6. (Facoltativo) Per impostazione predefinita le barre appaiono in tinta unita. Per visualizzare le barre in colori sfumati, deselezionare Use Solid Colors (Usa tinte unite).
7. Fare clic su OK per salvare le modifiche e tornare alla scheda Gene Expression (Espressione genica).

Per cambiare le impostazioni di colore del campione o del gruppo biologico

1. Nel riquadro di destra della finestra di dialogo Gene Expression (Espressione genica), verificare che nell'elenco a discesa X-Axis (Asse X) venga visualizzato Target.
2. Eseguire la procedura descritta nel paragrafo [Per cambiare le impostazioni di colore del target a pagina 273](#).

Modifica della vista a grafico

Per cambiare la vista attuale del grafico

- Selezionare il comando del menu della barra degli strumenti per la vista target.

Nota: la scheda Gene Expression (Espressione genica) apre sempre la visualizzazione dei dati nella vista predefinita Bar Chart (Grafico a barre).

Esclusione dei punti dati dei valori erratici

Nel diagramma a punti, è possibile visualizzare ed escludere facilmente i valori erratici dall'analisi.

Per escludere i punti dati dei valori erratici

- ▶ Nel grafico a punti, fare clic con il pulsante destro del mouse sul valore erratico desiderato e scegliere Exclude Well from Analysis (Escludi pozzetto dall'analisi).

Il punto dati viene rimosso dal grafico a punti e il pozzetto diventa grigio nel selettore pozzetto della scheda Quantification (Quantificazione).

Per includere un punto dati del valore erratico escluso

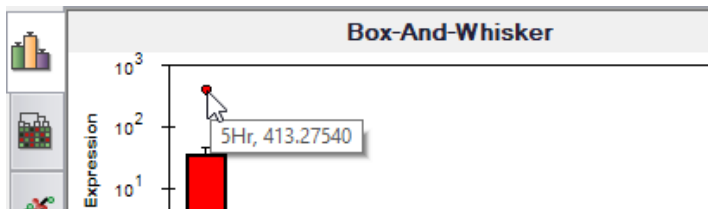
- ▶ Nella scheda Quantification (Quantificazione), fare clic con il pulsante destro del mouse sul pozzetto nel selettore di pozzetti e scegliere Well > Include in Analysis (Pozzetto > Includi nell'analisi).

Visualizzazione dei dettagli sui punti dati

Per visualizzare i dettagli dei punti dati

- ▶ Nel diagramma a scatola e baffi o nel grafico a punti, fermare il cursore su un singolo punto dati.

Viene visualizzato un tooltip che mostra il nome campione e la sua espressione (quantità relativa o espressione normalizzata, in base alla modalità selezionata).



Annotazione dei grafici

È possibile aggiungere frecce, cerchi e testo alla visualizzazione di ogni grafico a barre per comunicare in modo chiaro i dati. Le annotazioni vengono salvate con il grafico a barre e appaiono nel file esportato e stampato. Le annotazioni fatte alla visualizzazione di un grafico non vengono tuttavia aggiunte alle visualizzazioni degli altri grafici.

Per tracciare una freccia o un cerchio nel grafico

1. Nella barra degli strumenti del grafico a barre, fare clic sullo specifico strumento.
2. Fare clic nel grafico a barre e trascinare il cursore nel grafico secondo necessità.

Per aggiungere il testo al grafico

1. Nella barra degli strumenti del grafico a barre, fare clic su Add Text (Aggiungi testo).
2. Fare clic nel grafico a barre. Appare una casella di testo in quella posizione.
3. Aggiungere il testo nella casella.
4. Fare clic in qualsiasi punto del grafico per uscire dalla casella di testo.

Suggerimento: premere Enter (Invio) per aggiungere più righe alla casella di testo.

Per spostare un'annotazione

1. Passare il puntatore sopra l'annotazione. L'icona diventa un indice che punta e il bordo dell'annotazione viene evidenziata.
2. Fare clic sull'annotazione e trascinarla in un'altra posizione.
3. Rilasciare l'annotazione per fissarne la posizione.

Per annullare un'annotazione

- ▶ Fare clic su Undo (Annulla).

Viene rimossa l'annotazione aggiunta più di recente.

Suggerimento: è possibile annullare le dieci annotazioni più recenti (una alla volta).

Per ripristinare un'annotazione

- ▶ Fare clic su Redo (Ripristina).

Viene ripristinata l'annotazione rimossa più di recente.

Suggerimento: è possibile ripristinare le dieci annotazioni più recenti (una alla volta).

Per eliminare un'annotazione

- ▶ Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'annotazione e scegliere Delete (Elimina).

Rettifica dei dati di espressione genica

Dopo aver selezionato la modalità di analisi, ossia espressione normalizzata ($\Delta\Delta Cq$) o quantità relativa (ΔCq), rettificare i dati visualizzati nella scheda Gene Expression (Espressione genica) modificando le opzioni delle impostazioni a destra del grafico.

Suggerimento: le opzioni predefinite dei dati dell'espressione genica vengono impostate nella finestra di dialogo User Preferences (Preferenze utente) (vedere [Impostazione dei parametri predefiniti del file di dati dell'espressione genica a pagina 93](#)).

Dati su grafico

Impostare il valore dell'asse delle ordinate su Linear scale (Scala lineare) per attivare le opzioni dei dati su grafico. Le opzioni per i dati su grafico permettono di presentare i dati nel grafico con una di queste opzioni:

- Relative to control (Rispetto al controllo): consente di diagrammare i dati con l'asse scalato da 0 a 1. Se si assegna un controllo nell'analisi, selezionare questa opzione per visualizzare rapidamente la up-regulation e la down-regulation del target.
- Relative to zero (Rispetto a zero): consente di diagrammare i dati con l'origine a zero.

Analyze Using (Analizza con)

Usare il menu a discesa per selezionare il modo in cui vengono analizzati e tracciati i dati. Le opzioni sono:

- Samples Only (Solo campioni): i dati vengono analizzati e tracciati in base al campione.
- Biological Groups Only (Solo gruppi biologici): i dati vengono analizzati e tracciati per i gruppi biologici. L'espressione visualizzata per il gruppo biologico è la media geometrica dei campioni di tale gruppo.
- Sample Biological Group (Gruppo biologico campione): i dati vengono analizzati e tracciati in base al campione con il gruppo biologico aggiunto dopo il nome del campione. I valori P mostrati vengono calcolati in base al gruppo biologico.
- Biological Group Sample (Campione gruppo biologico): i dati vengono analizzati e tracciati in base al campione con il gruppo biologico aggiunto prima del nome del campione. I valori P mostrati vengono calcolati in base al gruppo biologico.

Utilizzare il menu a discesa per selezionare un campione che verrà utilizzato per normalizzare la quantità relativa:

Annotazione del p-value (Valore P) e della soglia dei p-values (Valori P)

Quando si seleziona Annotate P-Values (Annota valori P), il software visualizza un asterisco (*) sul grafico a barre sopra un target se il suo valore P è inferiore alla soglia selezionata. Il software calcola automaticamente il valore P confrontando il livello di espressione del campione con il livello di espressione del campione di controllo selezionato usando un test t standard. L'intervallo di soglia del valore P è 0,000–1,000.

Opzioni per l'asse X

L'opzione per l'asse x permette di selezionare i dati dell'asse x del grafico dell'espressione genica:

- Target: permette di rappresentare graficamente i nomi target sull'asse x.
- Sample (Campione): permette di rappresentare graficamente i nomi campione sull'asse x.

Opzioni per l'asse Y

L'opzione per l'asse y permette di mostrare il grafico dell'espressione genica in una di queste tre scale:

- Linear (Lineare): selezionare questa opzione per mostrare una scala lineare.

Suggerimento: l'impostazione dell'asse y su Linear (Lineare) attiva l'elenco a discesa Graph Data (Dati su grafico) da cui è possibile scegliere di diagrammare i dati rispetto al controllo o a zero.
- Log 2: selezionare questa opzione per valutare i campioni in base a un'ampia gamma dinamica.
- Log 10: selezionare questa opzione per valutare i campioni in base a una gamma dinamica molto ampia.

Opzioni di scala

Per abilitare le opzioni di scala nel grafico dell'espressione genica, selezionare Normalized Gene Expression (Espressione genica normalizzata) ($\Delta\Delta C_q$) e impostare su None (Nessuno). Selezionare una di queste opzioni di scala per calcolare e presentare i dati nella maniera migliore per il modello di analisi:

- Unscaled (Non scalato): presenta l'espressione genica normalizzata non scalata.
- Highest (Più alto): scala l'espressione genica normalizzata per ciascun target dividendo il livello di espressione di ogni campione per il livello di espressione più alto in tutti i campioni.

Questa opzione di scala utilizza la formula scalata rispetto al valore più alto.
- Lowest (Più basso): scala l'espressione genica normalizzata per ciascun target dividendo il livello di espressione di ogni campione per il livello di espressione più basso in tutti i campioni.

Questa opzione di scala utilizza la formula scalata rispetto al valore più basso.

- **Average (Media):** scala l'espressione genica normalizzata per ciascun target dividendo il livello di espressione di ogni campione per la media geometrica dei livelli di espressione per tutti i campioni.

Questa opzione di messa in scala utilizza la formula scaled-to-average (rapportato alla media).

Selezionare un'opzione per il tipo di calcolo degli errori (barre di errore) nel grafico Gene Expression (Espressione genica):

Moltiplicatore per le barre di errore del grafico

Selezionare un moltiplicatore per le barre di errore nel grafico Gene Expression (Espressione genica). Selezionare uno di questi numeri interi:

- +/- 1 (predefinito)
- 2
- 3

Il tipo di moltiplicatore cambia quando si seleziona la barra di errore:

- SEM per errore standard della media
- Std Devs per deviazioni standard

Impostazioni dell'esperimento

Suggerimento: questa finestra di dialogo è disponibile anche nell'editor piastra. Per ulteriori informazioni, vedere [Modifica delle impostazioni dell'esperimento a pagina 155](#).

Nella finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento), è possibile visualizzare o modificare l'elenco di target, campioni o gruppi biologici, selezionare i geni di riferimento, selezionare i controlli oppure impostare il gruppo di analisi dell'espressione genica da analizzare se i gruppi biologici sono stati aggiunti ai pozzetti.

Per aprire la finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento)

- ▶ Nella scheda Graphing (Rappresentazione grafica), fare clic su Experiment Settings (Impostazioni esperimento) nella parte inferiore del riquadro di destra.

Viene visualizzata la finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento) che mostra la scheda Targets (Target).

Per modificare le impostazioni Targets (Target)

- ▶ Nella scheda Targets (Target), eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per selezionare un target come riferimento per l'analisi dei dati dell'espressione genica, selezionare il nome nella colonna Reference (Riferimento).

- Per cambiare il colore del target, fare clic sulla relativa cella nella colonna Color (Colore) e cambiare il colore nella finestra di dialogo Color (Colore) visualizzata.

Il cambio di colore viene mostrato nei grafici dell'espressione genica.

- Per usare un valore di efficienza precedentemente determinato, deselezionare la casella di controllo del target nella colonna Auto Efficiency (Efficienza automatica) e immettere un numero per la percentuale di efficienza di un target.

Il software calcola l'efficienza relativa per un target utilizzando la funzione Auto Efficiency (Efficienza automatica) se i dati per un target includono una curva standard.

Per modificare le impostazioni del campione

- ▶ Nella scheda Samples (Campioni), eseguire una delle seguenti operazioni:

- Per selezionare un campione come controllo per l'analisi dei dati dell'espressione genica, selezionare il nome nella colonna Control (Controllo).
- Per cambiare il colore del gruppo del campione, fare clic sulla relativa cella nella colonna Color (Colore) e cambiare il colore nella finestra di dialogo Color (Colore) visualizzata.

Il cambio di colore viene mostrato nei grafici dell'espressione genica.

- Per visualizzare il campione nei grafici dell'espressione genica, selezionarlo nella colonna Show Chart (Mostra grafico).
- Per rimuovere il campione dai grafici dell'espressione genica, deselezionarlo nella colonna Show Chart (Mostra grafico).

Suggerimento: i dati del gruppo del campione rimangono nella tabella dei risultati.

Per escludere un tipo di campione dai calcoli dell'analisi

- ▶ Selezionare la relativa casella di controllo nella parte inferiore della finestra di dialogo Experiment Settings (Impostazioni esperimento).

Nota: in tal modo si escludono i controlli e/o gli standard dall'analisi dell'espressione genica.

Opzioni del menu di scelta rapida

Fare clic con il pulsante destro del mouse sul grafico dell'espressione genica per selezionare gli elementi mostrati nella [Tabella 32](#).

Tabella 32. Elementi del menu di scelta rapida per l'espressione genica

Elemento	Funzione
Copy (Copia)	Copia il grafico negli appunti.
Save Image As (Salva immagine con nome)	Consente di salvare il grafico come file immagine. Impostare la risoluzione e le dimensioni dell'immagine, quindi selezionare il tipo di file (PNG, JPG, o BMP).
Page Setup (Imposta pagina)	Seleziona le impostazioni di una pagina per la stampa.
Print (Stampa)	Stampa il grafico.
Set Scale to Default (Imposta scala su predefinito)	Show All (Mostra tutto) visualizza tutti i dati nel grafico a barre. Scroll Bar (Barra di scorrimento) visualizza una barra di scorrimento se sono presenti troppi campioni da visualizzare nella struttura del grafico, mantenendo un'ampiezza di barra minima.
Chart Settings (Impostazioni grafico)	Consente di aprire la finestra Chart Settings (Impostazioni grafico) per regolare il grafico.
Sort (Ordina)	Mette in ordine i campioni o i target che sono visualizzati sull'asse x del grafico.
Use Corrected Std Devs (Usa deviazioni standard corrette)	Calcola le barre di errore usando la formula delle deviazioni standard corrette.
Use Solid Bar Colors (Usa tinte unite per barra)	Visualizza le barre in tinta unita nel grafico.
X-Axis Labels (Etichette asse x)	Visualizza le etichette dell'asse x in orizzontale o inclinate.

Foglio di calcolo dei dati

La **Tabella 33** definisce i dati visualizzati nella tabella dei dati dell'espressione genica.

Nota: i valori nella tabella vengono calcolati in base al tipo di grafico e alle preferenze selezionate nel riquadro di destra.

Tabella 33. Descrizione delle informazioni incluse nel foglio di calcolo della scheda

Informazione	Descrizione
Target	Nome target (gene amplificato) selezionato nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento).
Biological Group (Gruppo biologico) Sample Biological Group (Gruppo biologico campione) Biological Group Sample (Campione gruppo biologico)	Nome del campione e/o del gruppo biologico selezionato nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento).
Control (Controllo)	Nome del controllo selezionato nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento). Quando l'opzione Analyze Using (Analizza con) è impostata su Samples Only (Solo campioni), il controllo è il campione selezionato nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento). Quando si seleziona Biological Groups Only (Solo gruppi biologici), Sample Biological Group (Gruppo biologico campione) o Biological Group Sample (Campione gruppo biologico), il controllo corrisponde al gruppo biologico selezionato nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento).
Relative Quantity (Quantità relativa) o Expression (Espressione)	Relative Quantity (Quantità relativa) (ΔC_q) o Normalized Gene Expression (Espressione genica normalizzata) ($\Delta\Delta C_q$), a seconda della modalità selezionata.
Relative Quantity (Quantità relativa) o Expression SEM (SEM espressione) (o SD)	Errore standard della media (SEM) o deviazione standard (SD) della quantità relativa o dell'espressione normalizzata, a seconda dell'opzione selezionata. Disponibile solo se Analyze Using (Analizza con) è impostato su Samples Only (Solo campioni), Sample Biological Group (Gruppo biologico campione) o Biological Group Sample (Campione gruppo biologico).

Informazione	Descrizione
Corrected Relative Quantity (Quantità relativa corretta) o Expression SEM (SEM espressione) (o SD)	Calcolo del valore corretto per SEM o SD della quantità relativa o dell'espressione normalizzata, a seconda dell'opzione selezionata. Disponibile solo se l'opzione Analyze Using (Analizza con) è impostata su Samples Only (Solo campioni), Sample Biological Group (Gruppo biologico campione) o Biological Group Sample (Campione gruppo biologico).
Mean C _q (Media C _q)	Media del ciclo di quantificazione (non visualizzato se Analyze Using (Analizza con) è impostato su Biological Groups Only (Solo gruppi biologici)).
C _q SEM (SEM C _q) (o SD)	SEM o SD del ciclo di quantificazione, in base all'opzione selezionata (non visualizzato se Analyze Using (Analizza con) è impostato su Biological Groups Only (Solo gruppi biologici)).

Opzione Show Details (Mostra dettagli)

Nella [Tabella 34](#) sono definiti i dati visualizzati quando si seleziona Show Details (Mostra dettagli) dal menu di scelta rapida del foglio di calcolo del grafico a barre.

Tabella 34. Informazioni disponibili nel foglio di calcolo del grafico a barre con l'opzione Show Details (Mostra dettagli) selezionata

Informazione	Descrizione
Data Set (Serie dati)	Dati di fluorescenza di un fluoroforo nel file di dati
Relative Quantity (Quantità relativa)	Quantità relativa calcolata dei campioni
Relative Quantity SD (DS quantità relativa)	Deviazione standard del calcolo della quantità relativa
Corrected Relative Quantity SD (DS quantità relativa corretta)	Deviazione standard calcolata della quantità relativa corretta
Relative Quantity SEM (SEM quantità relativa)	Errore standard della media del calcolo della quantità relativa
Corrected Relative Quantity SEM (SEM quantità relativa corretta)	Errore standard calcolato della media della quantità relativa corretta
Relative Quantity(lg) (Quantità relativa, lg)	\log_2 della quantità relativa che viene usata per l'analisi statistica
SD RQ(lg) (DV QR, lg)	Deviazione standard della quantità relativa (\log_2)
SEM Expression(lg) (Espressione SEM, lg)	Errore standard della media dell'espressione (\log_2)
Unscaled Expression (Espressione non scalata)	Espressione non tarata calcolata
Unscaled Expression SD (DS espressione non tarata)	Deviazione standard calcolata dell'espressione non tarata
Corrected Unscaled Expression SD (DS espressione non tarata corretta)	Deviazione standard calcolata dell'espressione non tarata corretta

Tabella 34. Informazioni disponibili nel foglio di calcolo del grafico a barre con l'opzione Show Details (Mostra dettagli) selezionata, continua

Informazione	Descrizione
Unscaled Expression SEM (SEM espressione non tarata)	Errore standard calcolato della media dell'espressione non tarata
Corrected Unscaled Expression SEM (SEM espressione non tarata corretta)	Errore standard calcolato della media dell'espressione non tarata corretta
Unscaled Expression(Ig) (Espressione non scalata, Ig)	Log ₂ dell'espressione non tarata
SD Unscaled Expression(Ig) (Espressione non scalata DS, Ig)	Deviazione standard dell'espressione non tarata (log ₂)
SEM Unscaled Expression(Ig) (Espressione non scalata SEM, Ig)	Errore standard della media dell'espressione non tarata (log ₂)
Expression (Espressione)	Espressione genica normalizzata
Corrected Expression SD (DS espressione corretta)	Deviazione standard calcolata dell'espressione corretta
Expression SEM (SEM espressione)	Errore standard della media dell'espressione
Corrected Expression SEM (SEM espressione corretta)	Errore standard calcolato della media dell'espressione corretta
Expression(Ig) (Espressione, Ig)	Log ₂ dell'espressione (espressione normalizzata) che viene usata per l'analisi statistica
SD Expression(Ig) (Espressione DS, Ig)	Deviazione standard dell'espressione (log ₂)
SEM Expression(Ig) (Espressione SEM, Ig)	Errore standard della media dell'espressione (log ₂)
Mean C _q (Media C _q)	Media del ciclo di quantificazione
C _q SD (SD C _q)	Deviazione standard del ciclo di quantificazione
C _q SEM (SEM C _q)	Errore standard della media del ciclo di quantificazione

Diagramma di gruppo

Il diagramma di gruppo visualizza i dati in una gerarchia basata sul grado di similitudine dell'espressione per diversi target e campioni.

Nota: è necessario scegliere un target di riferimento per visualizzare uno dei grafici di dati diversi dall'espressione relativa per i grafici a barre.

L'immagine del diagramma di gruppo illustra l'espressione relativa di un campione o target come segue:

- Up-regulation (rosso): espressione più alta
- Down-regulation (verde o blu): espressione più bassa
- Nessuna regolazione (nero)
- Nessun valore calcolato (nero con una X bianca)

Più chiara è la sfumatura del colore, maggiore sarà la differenza di espressione relativa. Se non è possibile calcolare alcun valore C_q normalizzato, il quadrato sarà nero con una X bianca.

Sui bordi esterni del grafico dei dati un dendrogramma indica la gerarchia di raggruppamento. I target o i campioni che hanno pattern di espressione simili avranno diramazioni vicine, mentre quelli con pattern diversi saranno più distanti.

Impostazioni

È possibile impostare le seguenti opzioni:

- Cluster By (Raggruppa per): scegliere tra Targets (Target), Samples (Campioni), Both (Entrambi) o None (Nessuno).
- Size (Dimensioni): consente di regolare le dimensioni dell'immagine e di cambiare la percentuale di ingrandimento del grafico .
- Split Out Replicates (Dividi replicati): consente di visualizzare i valori per i singoli replicati.

Suggerimento: è possibile cambiare la combinazione colori da rosso/verde predefinito a rosso/blu selezionando questa opzione dal menu di scelta rapida su questi grafici.

Opzioni del menu di scelta rapida

Le opzioni del menu di scelta rapida per il diagramma di gruppo sono uguali a quelle disponibili per il grafico a barre. Per le opzioni disponibili, vedere la [Tabella 32 a pagina 280](#). Inoltre, selezionare Color Scheme (Combinazione di colori) per cambiare l'espressione della down-regulation da rosso/verde predefinito a rosso/blu sul grafico.

Foglio di calcolo dei dati

Il foglio di calcolo visualizza i valori per il target, il campione e l'espressione normalizzata.

Grafico di dispersione

Il grafico di dispersione visualizza l'espressione normalizzata dei target per un controllo rispetto a un campione dell'esperimento. Le linee nel grafico indicano la soglia di fold change. I punti dati tra le linee indicano che la differenza nell'espressione per il target (gene) è irrilevante tra i campioni. I punti dati al di fuori delle linee superano la soglia di fold change e potrebbero essere di interesse.

L'immagine del grafico mostra i seguenti cambiamenti nell'espressione del target in base alla soglia di fold change:

- Up-regulation (cerchio rosso): espressione relativamente più alta
- Down-regulation (cerchio verde o blu): espressione relativamente più bassa
- Nessun cambiamento (cerchio nero)

Fare clic e trascinare una linea di soglia per regolare il valore di soglia di fold change.

Impostazioni

È possibile impostare le seguenti opzioni:

- Control Sample (Campione di controllo)
- Experimental Sample (Campione sperimentale)
- Fold Change Threshold (Soglia fold change) Quando si aumenta o si diminuisce il valore di fold change, le linee di soglia nel grafico si spostano di conseguenza.

Opzioni del menu di scelta rapida

Le opzioni del menu di scelta rapida per il grafico di dispersione sono uguali a quelle disponibili per il grafico a barre. Per le opzioni disponibili, vedere la [Tabella 32 a pagina 280](#). Selezionare inoltre Symbol (Simbolo) per cambiare il simbolo utilizzato nel grafico (cerchio predefinito) in uno dei seguenti:

- Triangolo
- Croce
- Quadrato
- Rombo

Foglio di calcolo dei dati

Il foglio di calcolo visualizza i valori per il target e l'espressione normalizzata per i campioni sperimentali e di controllo. Indica anche se i target mostrano up- o down-regulation rispetto alla regolazione target.

Foglio di calcolo Results (Risultati)

Il foglio di calcolo Results (Risultati) riassume i dati di tutti i grafici. Nella [Tabella 35](#) sono definiti i dati visualizzati nel foglio di calcolo Results (Risultati).

Tabella 35. Informazioni nella scheda Results (Risultati)

Informazione	Descrizione
Target (Target)	Nome target (gene amplificato)
Sample (Campione)	Nome del campione
Mean C _q (Media C _q)	Media del ciclo di quantificazione
Mean Efficiency Corrected C _q (Media C _q con efficienza corretta)	Media del ciclo di quantificazione dopo la correzione dell'efficienza della reazione
Espressione normalizzata	Espressione target normalizzata in base al target di riferimento ($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (Espressione normalizzata relativa)	Espressione normalizzata relativa ad un campione di controllo; chiamata anche Fold Change
Regulation (Regolazione)	Cambiamento nell'espressione relativa ad un campione di controllo
Compared to Regulation Threshold (Rispetto alla soglia di regolazione)	Upregulation o downregulation di un campione sperimentale in base all'impostazione della soglia

Nota: i dati per i replicati sono reperibili solo nei fogli di calcolo delle schede di analisi dei dati in cui è stata selezionata l'opzione Split Out Replicates (Dividi replicati) (ossia, diagramma di gruppo). Potrebbe esserci una discrepanza tra i dati dell'espressione nei fogli di calcolo dell'analisi dell'espressione genica se è stata selezionata l'opzione "none" (nessuno) per il campione di controllo nel grafico a barre.

Studio dei geni

Creare uno studio dei geni per confrontare i dati dell'espressione genica di uno o più esperimenti di real-time PCR utilizzando un calibratore inter-serie per la normalizzazione tra gli esperimenti. Creare uno studio dei geni aggiungendo i dati da uno o più file di dati (estensione .pcrd) allo studio dei geni. Il software li raggruppa in un unico file (estensione .mgxd).

Nota: il numero massimo di campioni che è possibile analizzare in uno studio dei geni è limitato dalle dimensioni della RAM e della memoria virtuale del computer.

Calibrazione inter-analisi

La calibrazione inter-analisi viene tentata automaticamente in ogni studio dei geni per ciascun target al fine di normalizzare le variazioni inter-analisi tra i target determinate tramite analisi PCR in tempo reale separate (ossia, file .pcrd differenti generati da piastre differenti).

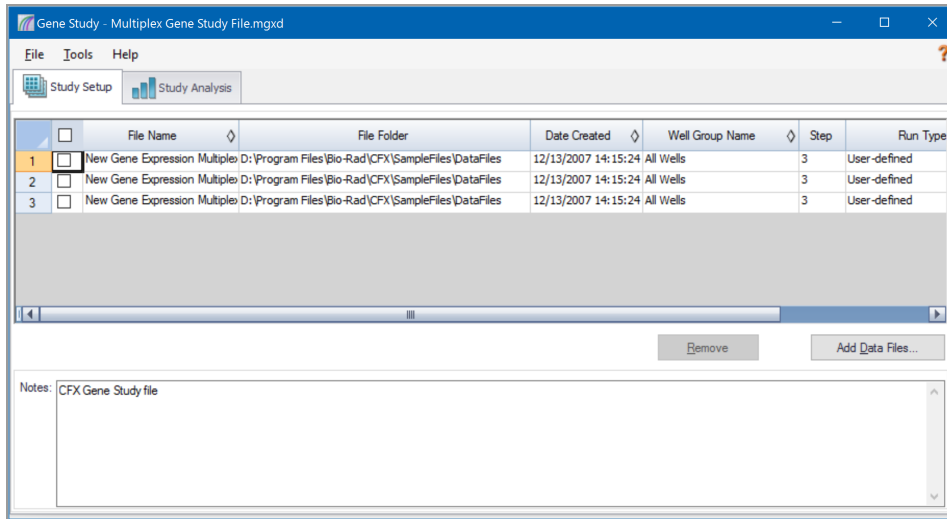
Affinché il software possa riconoscere un campione come calibratore inter-analisi, deve condividere lo stesso nome target, nome campione e, se utilizzato, nome del set biologico per ogni piastra che viene confrontata.

Nota: per consentire la calibrazione inter-analisi, nello studio dei geni deve essere presente almeno un campione di calibrazione inter-analisi. I target senza campioni di calibratori inter-analisi appropriati saranno elaborati senza correzione nello studio dei geni (sconsigliato).

I calibratori inter-analisi possono essere applicati in due modi:

- Per target (Per target): diversi primer PCR possono avere efficienze diverse. Per impostazione predefinita, il calibratore inter-analisi viene applicato a tutti i pozzetti della stessa piastra che hanno lo stesso nome target, ad esempio il C_q generato con lo stesso dosaggio.
- Entire study (Intero studio): un calibratore inter-analisi viene selezionato dall'utente e applicato all'intero studio dei geni.

Finestra di dialogo Gene Study (Studio dei geni)



La finestra di dialogo Gene Study (Studio dei geni) include due schede:

- Scheda Study Setup (Impostazione studio): consente di gestire le analisi nello studio dei geni.
 - Importante:** l'aggiunta o la rimozione di file di dati in uno studio dei geni non cambia i dati nel file originale.
- Scheda Study Analysis (Analisi dello studio): consente di visualizzare i dati dell'espressione genica per le analisi combinate.

Scheda Study Setup (Impostazione studio)

La [Tabella 36](#) definisce i dati visualizzati nella scheda Study Setup (Impostazione studio).

Tabella 36. Scheda Study Setup (Impostazione studio) nella finestra di dialogo Gene Study (Studio dei geni)

Titolo della colonna	Descrizione
File Name (Nome file)	Nome del file di dati dell'analisi (estensione .pcrd)
File Folder (Cartella file)	Directory che memorizza il file di dati di ciascuna analisi nello studio dei geni
Date Created (Data di creazione)	Data di raccolta dei dati dell'analisi

Tabella 36. Scheda Study Setup (Impostazione studio) nella finestra di dialogo Gene Study (Studio dei geni), continua

Titolo della colonna	Descrizione
Well Group Name (Nome gruppo di pozzetti)	Nome del gruppo di pozzetti che è stato selezionato quando il file è stato aggiunto allo studio dei geni Suggerimento: per analizzare un gruppo di pozzetti nello studio dei geni, occorre selezionare il gruppo di pozzetti nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati) prima di importare il file di dati nello studio dei geni.
Step (Fase)	Fase del protocollo che include la lettura piastra per raccogliere i dati della real-time PCR
Run Type (Tipo di analisi)	Analisi PrimePCR o definita dall'utente
Protocol Edited (Protocollo modificato)	Se questo parametro è selezionato, indica che il protocollo usato per l'analisi PrimePCR è stato modificato
View Plate (Visualizza piastra)	Apri una mappa della piastra con i dati di ciascuna analisi inclusa nello studio dei geni

Preparazione di uno studio dei geni

Per preparare uno studio dei geni

- Prima di importare i dati in uno studio dei geni, procedere come segue nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati):
 - Verificare che i campioni con lo stesso contenuto abbiano lo stesso nome. In uno studio dei geni, il software presume che i pozzetti con lo stesso nome target o campione contengano gli stessi campioni.
 - Regolare la linea basale e la soglia (C_q) nella scheda Quantification (Quantificazione) per ottimizzare i dati in ciascuna analisi.
 - Selezionare il gruppo di pozzetti che si desidera includere nello studio dei geni.

Al fine di visualizzare i dati da un gruppo di pozzetti nello studio dei geni, tale gruppo deve essere selezionato prima di importare i file di dati.

La scheda Study Setup (Impostazione studio) mostra un elenco di tutte le analisi nello studio dei geni.

- Nella finestra di dialogo Gene Study (Studio dei geni), scegliere la scheda Study Setup (Impostazione studio).

3. Fare clic su Add Data Files (Aggiungi file di dati) per selezionare un file da una finestra del browser.

Suggerimento: per aggiungere rapidamente analisi a uno studio dei geni, trascinare i file di dati (estensione .pcrd) nella finestra di dialogo Study Setup (Impostazione studio).

4. CFX Maestro Dx SE esegue automaticamente l'analisi dello studio dei geni quando si aggiungono i file di dati. Scegliere la scheda Study Analysis (Analisi dello studio) per visualizzare i risultati.

Per rimuovere analisi dallo studio dei geni

- ▶ Selezionare uno o più file nell'elenco e fare clic su Remove (Rimuovi).

Per aggiungere note sullo studio dei geni

- ▶ Inserire note sui file e sull'analisi nella casella di testo Notes (Note).

Scheda Study Analysis (Analisi dello studio)

La scheda Study Analysis (Analisi dello studio) visualizza i dati di tutte le analisi dello studio dei geni. Le opzioni di analisi dei dati dell'espressione genica sono uguali a quelle usate per un singolo file di dati con le seguenti eccezioni:

- Per i grafici a barre, i valori di calibrazione inter-analisi (se calcolati) vengono visualizzati quando si fa clic su Inter-run Calibration (Calibrazione inter-analisi).

Nota: solo i seguenti tipi di campione possono essere usati come calibratore inter-analisi:

- Unknown (Sconosciuto)
- Errore
- Positive Control (Controllo positivo)

I tipi di campione Negative control (Controllo negativo), No template control (NTC, controllo senza template) e No reverse transcriptase control (NRT, senza trascrittasi inversa) non possono essere usati come calibratore inter-analisi.

- Lo strumento di selezione del gene di riferimento identifica i geni di riferimento analizzati e li classifica come Ideal (Ideale), Acceptable (Accettabile) o Unstable (Instabile) in base alla loro stabilità:
 - I geni di riferimento ideali sono stabili e rappresentano variazioni minime attraverso i campioni testati.
 - I geni di riferimento accettabili non sono idealmente stabili e rappresentano una variazione moderata attraverso i campioni testati. Usare questi geni di riferimento nell'analisi se non sono presenti geni di riferimento ideali.

- I geni di riferimento non stabili rappresentano una variazione eccessiva attraverso i campioni testati. Si raccomanda di escludere questi geni dalle analisi.
- Lo strumento dei controlli di analisi PrimePCR visualizza i risultati dei campioni testati in una tabella:
 - La scheda Summary (Riepilogo) visualizza un riepilogo di tutti i campioni testati. I campioni che hanno superato tutti i dosaggi di controllo sono visualizzati in verde. I campioni che non hanno superato uno o più dosaggi di controllo vengono visualizzati in giallo.
 - La scheda PCR visualizza i risultati del dosaggio di controllo PCR positivo. Questo test rileva i problemi sperimentali o di inibizione che influenzano l'espressione genica.
 - La scheda RT visualizza i risultati del dosaggio di controllo della retrotrascrizione. Questo dosaggio valuta qualitativamente le prestazioni RT e identifica i campioni in cui è probabile che le prestazioni RT compromettano l'espressione genica.
 - La scheda gDNA visualizza i risultati del dosaggio di controllo della contaminazione del DNA. Questo dosaggio determina se il DNA genomico (gDNA) è presente in un campione a un livello che potrebbe influenzare i risultati qPCR.
 - La scheda RQ (QR) visualizza i risultati dei dosaggi di qualità dell'RNA (RQ1 e RQ2). Questi dosaggi valutano qualitativamente se l'integrità dell'RNA potrebbe interessare negativamente l'espressione genica.

Categorie di report dello studio dei geni

Usare la finestra di dialogo Gene Study Report (Report dello studio dei geni) per organizzare i dati dello studio dei geni in un report. La [Tabella 37](#) elenca tutte le opzioni disponibili per un report dello studio dei geni.

Tabella 37. Categorie per un report dello studio dei geni

Categoria	Opzione	Descrizione
Intestazione		
		Titolo, sottotitolo e logo per il report
	Report Information (Informazioni sul report)	Data, nome utente, nome file di dati, percorso file di dati e il gruppo di pozzetti selezionato
	Gene Study File List (Elenco dei file dello studio dei geni)	Elenco di tutti i file di dati nello studio dei geni
	Notes (Note)	Note sul report di dati

Tabella 37. Categorie per un report dello studio dei geni, continua

Categoria	Opzione	Descrizione
Analisi dello studio: grafico a barre		
	Analysis Settings (Impostazioni dell'analisi)	Elenco dei parametri di analisi selezionati
	Chart (Grafico)	Grafico a barre dell'espressione genica, che visualizza i dati
	Target Names (Nomi target)	Elenco dei target nello studio dei geni
	Sample Names (Nomi campione)	Elenco dei campioni nello studio dei geni
	Data (Dati)	Foglio di calcolo che mostra i dati
	Target Stability (Stabilità target)	Dati di stabilità target
	Inter-run Calibration (Calibrazione inter-analisi)	Dati di calibrazione inter-analisi
	Box-and-Whisker Chart (Diagramma a scatola e baffi)	Diagramma a scatola e baffi dell'espressione genica
	Dot-Plot Chart (Diagramma a punti)	Grafico a punti dell'espressione genica
Analisi dello studio: diagramma di gruppo e grafico di dispersione		
	Analysis Settings (Impostazioni dell'analisi)	Impostazioni per ciascun tipo di grafico
	Chart (Grafico)	Grafico dell'espressione genica, che visualizza i dati
	Data (Dati)	Foglio di calcolo in cui sono elencati i dati in ciascun target
Analisi dello studio: dati ANOVA		

Tabella 37. Categorie per un report dello studio dei geni, continua

Categoria	Opzione	Descrizione
	ANOVA Settings (Impostazioni ANOVA)	Soglia del valore P usata nell'analisi
	ANOVA Results (Risultati ANOVA)	Tabella dei risultati dall'analisi ANOVA e post-hoc HSD di Tukey
	Shapiro-Wilk Normality Test (Test di normalità di Shapiro-Wilk)	Gruppo biologico, conteggio, valore P e qualsiasi errore che si verifica per ciascun target nell'analisi
	ANOVA Errors (Errori ANOVA)	Errori identificati durante i calcoli ANOVA

Creazione di un report dello studio dei geni

Per creare un report dello studio dei geni

1. Prima di creare un report, modificare i dati e i grafici del report dello studio dei geni secondo necessità.
2. Selezionare Tools > Reports (Strumenti > Report) nel menu Gene Study (Studio dei geni) per aprire la finestra di dialogo Report (Report).
3. Scegliere le opzioni che si desidera includere nel report. Il report si apre con le opzioni predefinite selezionate. Selezionare o deselezionare le caselle di controllo per modificare intere categorie o singole opzioni all'interno di una categoria.

Le [Categorie di report dello studio dei geni a pagina 293](#) elencano le opzioni disponibili da visualizzare.

4. Cambiare l'ordine delle categorie e degli elementi in un report. Trascinare le opzioni nella posizione richiesta. Gli elementi possono essere riordinati solamente all'interno delle categorie a cui appartengono.
5. Fare clic su Update Report (Aggiorna report) per aggiornare l'anteprima del report con tutte le modifiche.
6. Stampare o salvare il report. Fare clic sul pulsante Print Report (Stampa report) nella barra degli strumenti per stampare il report corrente. Selezionare File > Save (File > Salva) per salvare il report in formato PDF (file Adobe Acrobat Reader) e selezionare un percorso in cui salvare il file. Selezionare File > Save As (File > Salva con nome) per salvare il report con un nuovo nome o in un nuovo percorso.
7. (Facoltativo) Creare un modello di report con le informazioni desiderate. Per salvare le impostazioni del report attuali in un modello, selezionare Template > Save oppure Save As (Modello > Salva/Salva con nome). Caricare il modello di report la volta successiva in cui si desidera creare un nuovo report.

Appendice A Calcoli dell'analisi dei dati

Il Software CFX Maestro Dx, Security Edition calcola automaticamente le formule e visualizza i risultati nelle schede Data Analysis (Analisi dei dati). In questa appendice viene spiegato nel dettaglio in che modo CFX Maestro Dx SE calcola le formule.

Efficienza della reazione

L'evidenza suggerisce che utilizzando una misura accurata delle efficienze per ciascun primer e set di sonde si otterranno risultati più accurati quando si analizzano i dati dell'espressione genica. Il valore predefinito dell'efficienza utilizzato nei calcoli dell'espressione genica è 100%. Per valutare l'efficienza della reazione, generare una curva standard utilizzando diluizioni seriali di un campione rappresentativo in tutta la gamma dinamica pertinente e quindi registrare l'efficienza per la successiva analisi dell'espressione genica. Se l'analisi include una curva standard, il software calcola automaticamente l'efficienza e la visualizza sotto la curva standard della scheda Quantification (Quantificazione) quando è selezionata l'opzione Auto Efficiency (Efficienza automatica) nella scheda Targets (Target) della finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento).

L'efficienza (E) nelle formule di efficienza fa riferimento alle "efficienze" secondo quanto descritto da Pfaffl (2001) and Vandesompele et al. (2002). In queste pubblicazioni, un'efficienza pari a 2 (perfetto raddoppiamento con ogni ciclo) equivale al 100% dell'efficienza in questo software. È possibile convertire i calcoli di efficienza in quelli usati nel software utilizzando le seguenti relazioni matematiche:

- $E = (\% \text{ di efficienza} * 0,01) + 1$
- $\% \text{ di efficienza} = (E - 1) * 100$

Quantità relativa

La formula per la quantità relativa (ΔC_q) per un campione (GOI) è:

$$\text{Quantità relativa}_{\text{campione (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{campione})})}$$

Nota: questa formula viene utilizzata per calcolare la quantità relativa quando non vi è alcun campione di controllo definito.

Dove:

- E = Efficienza di primer e probe set. Questa efficienza viene calcolata con la formula (% di efficienza * 0,01) + 1, dove 100% di efficienza = 2
- $C_{q(\min)}$ = C_q medio per il campione con il più basso C_q medio per il GOI
- $C_{q(\text{campione})}$ = C_q medio per il campione
- GOI = Gene di interesse (un target)

Quantità relativa quando si seleziona un controllo

Quando viene assegnato un campione o gruppo biologico di controllo, la quantità relativa (RQ) di ogni campione con un gene di interesse (GOI) viene calcolata con la seguente formula:

$$\text{Quantità relativa}_{\text{campione (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left(C_{q(\text{controllo})} - C_{q(\text{campione})} \right)$$

Dove:

- E = Efficienza di primer e probe set. Questa efficienza viene calcolata con la formula (% di efficienza * 0,01) + 1, dove 100% di efficienza = 2
- $C_{q(\text{controllo})}$ = C_q medio per il campione di controllo
- $C_{q(\text{campione})}$ = C_q medio per ogni campione con un GOI
- GOI = Gene di interesse (un target)

Deviazione standard della quantità relativa

Importante: questo calcolo è applicabile solo quando l'opzione Analyze Using (Analizza con) è impostata su Samples Only (Solo campioni), Sample Biological Group (Gruppo biologico campione) o Biological Group Sample (Campione gruppo biologico).

La formula per la deviazione standard della quantità relativa è:

$$\text{SD Quantità relativa} = \text{SD } C_{q\text{GOI}} \times \text{Quantità relativa}_{\text{campione (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

Dove:

- SD quantità relativa = Deviazione standard della quantità relativa
- $\text{SD } C_{q\text{GOI}}$ campione = Deviazione standard del C_q per il campione (GOI)
- Quantità relativa = Quantità relativa del campione
- E = Efficienza di primer e probe set. Questa efficienza viene calcolata con la formula (% di efficienza * 0,01) + 1, dove 100% di efficienza = 2

- GOI = Gene di interesse (un target)

C_q con correzione d'efficienza (C_{qE})

La formula per il valore C_q con correzione d'efficienza è

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

Dove:

- E = Efficienza

C_q medio con correzione d'efficienza (MC_{qE})

La formula per il valore C_q medio con correzione d'efficienza è

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE} (Rep 1) + C_{qE} (Rep 2) + \dots + C_{qE} (Rep n)}{n}$$

Dove:

- C_{qE} = C_q con correzione d'efficienza
- n = Numero di replicati

Espressione normalizzata

L'espressione normalizzata ($\Delta\Delta C_q$) è la quantità relativa del target (gene) normalizzata con le quantità dei target di riferimento (geni o sequenze) nel sistema biologico. Per selezionare i target di riferimento, aprire la finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento) e fare clic sulla colonna Reference (Riferimento) per ciascun target che funge da gene di riferimento.

La formula per l'espressione normalizzata, che utilizza il calcolo della quantità relativa (RQ), è

$$\text{Espressione normalizzata}_{\text{campione (GOI)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{campione (GOI)}}}{(\text{RQ}_{\text{campione (Rif 1)}} \times \text{RQ}_{\text{campione (Rif 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{campione (Rif n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

Dove:

- RQ = Quantità relativa di un campione
- Rif = Target di riferimento in un'analisi che include uno o più target di riferimento in ogni campione
- GOI = Gene di interesse (un target)

A condizione che i target di riferimento non cambino il livello d'espressione nel sistema biologico, il calcolo dell'espressione normalizzata rappresenterà le differenze o le variazioni di carico nel numero di cellule che sono rappresentate in ciascun campione.

Espressione e quantità relativa per i gruppi biologici

Quando Analyze Using (Analizza con) viene impostato su Biological Groups Only (Solo gruppi biologici), il software visualizza l'espressione media (espressione normalizzata o quantità relativa, in base alla selezione della modalità) dei campioni all'interno del gruppo biologico. Poiché l'espressione di solito viene distribuita con logaritmo normale, viene calcolata la media dell'espressione usando la media geometrica:

$$\text{Expression biological group} = \sqrt[n]{\text{Exp}_1 \cdot \text{Exp}_2 \cdot \dots \cdot \text{Exp}_n}$$

Dove:

- $\text{Exp}_1, \text{Exp}_2, \text{Exp}_n$ = Quantità relativa o espressione normalizzata dei campioni nel gruppo biologico
- n = Numero di campioni nel gruppo biologico

Espressione normalizzata quando si seleziona un controllo

Quando si seleziona un campione di controllo nella finestra Experiment Settings (Impostazioni esperimento), il software imposta su 1 il livello di espressione del campione di controllo. In questa situazione, il software normalizza le quantità relative di tutta l'espressione target (gene) in base alla quantità di controllo (un valore di 1). Questa espressione normalizzata è equivalente all'analisi dell'espressione normalizzata non scalata quando si sceglie un controllo.

Nota: questo valore è noto anche come espressione normalizzata relativa (RNE) e fold change.

Deviazione standard per l'espressione normalizzata

La rimessa in scala del valore dell'espressione normalizzata viene eseguita dividendo la deviazione standard dell'espressione normalizzata con il valore dell'espressione normalizzata per il livello più alto o più basso dell'espressione, in base all'opzione scelta di messa in scala. La formula per la deviazione standard (SD) del fattore di normalizzazione è

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{\text{campione}}\ (Rif\ 1)}{n \times RQ_{\text{campione}}\ (Rif\ 1)}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{campione}}\ (Rif\ 2)}{n \times RQ_{\text{campione}}\ (Rif\ 2)}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{campione}}\ (Rif\ n)}{n \times RQ_{\text{campione}}\ (Rif\ n)}\right)^2}$$

Dove:

- RQ = Quantità relativa di un campione
- SD = Deviazione standard
- NF = Fattore di normalizzazione
- Rif = Target di riferimento
- n = Numero di target di riferimento

Quando viene assegnato un campione di controllo, non è necessario eseguire questa funzione di nuova messa in scala sulla deviazione standard, come mostrato nella seguente formula.

$$SD\ NE_{\text{campione}}\ (GOI) = NE_{\text{campione}}\ (GOI) \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{\text{campione}}}{NF_{\text{campione}}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{campione}}\ (GOI)}{RQ_{\text{campione}}\ (GOI)}\right)^2}$$

Dove:

- NE = Espressione normalizzata
- RQ = Quantità relativa di un campione
- SD = Deviazione standard
- GOI = Gene di interesse (un target)

Espressione normalizzata rapportata al livello più alto di espressione

Quando l'analisi non include controlli, mettere in scala l'espressione normalizzata (NE) per ciascun target (gene) dividendo il livello di espressione di ogni campione per il livello più alto di espressione in tutti i campioni. Il software imposta il livello più alto di espressione sul valore di 1 e rimette in scala tutti i livelli di espressione dei campioni. La formula per la scala rispetto al livello più alto è

$$\text{Espressione normalizzata}_{\text{campione}} (\text{GOI}) = \frac{\text{Espressione normalizzata}_{\text{campione}} (\text{GOI})}{\text{Espressione normalizzata}_{\text{più alta campione}} (\text{GOI})}$$

Dove:

- GOI = Gene di interesse (target)

Espressione normalizzata rapportata al livello più basso di espressione

Quando l'analisi non include controlli, mettere in scala l'espressione normalizzata (NE) per ciascun target (gene) dividendo il livello di espressione di ogni campione per il livello più basso di espressione in tutti i campioni. Il software imposta il livello più basso di espressione sul valore di 1 e rimette in scala tutti i livelli di espressione dei campioni. La formula per la scala rispetto al livello più basso è

$$\text{Espressione normalizzata}_{\text{campione}} (\text{GOI}) = \frac{\text{Espressione normalizzata}_{\text{campione}} (\text{GOI})}{\text{Espressione normalizzata}_{\text{più bassa campione}} (\text{GOI})}$$

Dove:

- GOI = Gene di interesse (target)

Espressione normalizzata rapportata al livello di espressione medio

Quando l'analisi non include controlli, rapportare l'espressione normalizzata (NE) per ciascun target (gene) dividendo il livello di espressione di ogni campione per il livello medio geometrico di espressione in tutti i campioni. Il software imposta il livello medio di espressione sul valore di 1 e rimette in scala tutti i livelli di espressione dei campioni. La formula per la scala rispetto al livello medio è:

$$\text{Espressione normalizzata}_{\text{campione}} (\text{GOI}) = \frac{\text{Espressione normalizzata}_{\text{campione}} (\text{GOI})}{\text{Espressione normalizzata}_{\text{GM}} (\text{GOI})}$$

Dove:

- GOI = Gene di interesse (target)

- GM = Media geometrica dell'espressione normalizzata per tutti i campioni

Deviazione standard per l'espressione normalizzata rapportata

La nuova messa in scala del valore dell'espressione normalizzata (NE) scalata viene eseguita dividendo la deviazione standard (SD) dell'espressione normalizzata per il valore dell'espressione normalizzata relativo al livello di espressione più alto (MAX) o più basso (MIN), a seconda dell'opzione di scala scelta.

Nota: quando viene assegnato un campione di controllo, non è necessario eseguire questa funzione di nuova messa in scala sulla deviazione standard.

Il calcolo per questa formula è:

$$SD\ NE\ scalata_{campione\ (GOI)} = \frac{SD\ NE_{campione\ (GOI)}}{NE_{MAX\ o\ MIN\ (GOI)}}$$

Dove:

- NE = Espressione normalizzata
- SD = Deviazione standard
- GOI = Gene di interesse (target)
- MAX = Livello di espressione più alto
- MIN = Livello di espressione più basso

Barre di errore per deviazione standard (lg) ed errore standard della media (lg)

Oltre ad utilizzare gli intervalli di confidenza, le barre di errore possono essere visualizzate per gruppi biologici in base alla deviazione standard o all'errore standard della media del \log_2 di espressione. Le barre di errore vengono calcolate come segue:

$$\text{Barra di errore inferiore RQ} = 2^{\text{RQ}(\text{lg}) - \text{SD RQ}(\text{lg})} \text{ o } 2^{\text{RQ}(\text{lg}) - \text{SEM RQ}(\text{lg})}$$

$$\text{Barra di errore superiore RQ} = 2^{\text{RQ}(\text{lg}) + \text{SD RQ}(\text{lg})} \text{ o } 2^{\text{RQ}(\text{lg}) + \text{SEM RQ}(\text{lg})}$$

Dove:

- $\text{RQ}(\text{lg})$ = Log_2 della quantità relativa per il gruppo biologico
- $\text{SD RQ}(\text{lg})$ = Deviazione standard della quantità relativa (\log_2)
- $\text{SEM RQ}(\text{lg})$ = Errore standard della media della quantità relativa (\log_2)

$$\text{Barra di errore inferiore espr.} = 2^{\text{Exp.}(\text{lg}) - \text{SD Exp.}(\text{lg})} \text{ o } 2^{\text{Exp.}(\text{lg}) - \text{SEM Exp.}(\text{lg})}$$

$$\text{Barra di errore superiore espr.} = 2^{\text{Exp.}(\text{lg}) + \text{SD Exp.}(\text{lg})} \text{ o } 2^{\text{Exp.}(\text{lg}) + \text{SEM Exp.}(\text{lg})}$$

Dove:

- $\text{Exp.}(\text{lg})$ = Log_2 dell'espressione (espressione normalizzata) per il gruppo biologico
- $\text{SD RQ}(\text{lg})$ = Deviazione standard dell'espressione (\log_2)
- $\text{SEM RQ}(\text{lg})$ = Errore standard della media dell'espressione (\log_2)

Fold change

Il fold change è una misura dell'aumento o della diminuzione dell'espressione di un target per un campione sperimentale rispetto a un campione di controllo o gruppo biologico e viene determinato come segue:

Se Espressione (sperimentale) > Espressione (controllo):

$$\text{Fold Change} = \frac{\text{Espressione (sperimentale)}}{\text{Espressione (controllo)}}$$

Se Espressione (sperimentale) < Espressione (controllo):

$$\text{Fold Change} = -1 / \left(\frac{\text{Espressione (sperimentale)}}{\text{Espressione (controllo)}} \right)$$

Nota: per la rappresentazione grafica, il valore *Espressione* si basa sulla quantità relativa o sull'espressione normalizzata, a seconda della modalità selezionata (vedere [Rappresentazione grafica a pagina 268](#)). Tuttavia, per il grafico di dispersione e il diagramma di gruppo, il fold change viene sempre calcolato dall'espressione normalizzata.

Formule dei valori corretti

Importante: questi calcoli sono applicabili solo quando l'opzione Analyze Using (Analizza con) è impostata su Samples Only (Solo campioni), Sample Biological Group (Gruppo biologico campione) o Biological Group Samples (Campioni gruppo biologico).

Una differenza tra i valori corretti e i valori non corretti si vede solo se viene creata una curva standard come parte dell'analisi PCR in tempo reale. Il software utilizza tre equazioni per determinare la propagazione dell'errore:

- Errore standard
- Errore standard per l'espressione normalizzata
- Errore standard per il gene di interesse normalizzato (target)

La formula per l'errore standard è

$$\text{Errore standard} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Dove:

- n = Numero di target di riferimento (geni)
- SD = Deviazione standard

L'errore standard per il fattore di normalizzazione nella formula dell'espressione normalizzata è

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{\text{campione (Rif 1)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{campione (Rif 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{campione (Rif 2)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{campione (Rif 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{campione (Rif n)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{campione (Rif n)}}}\right)^2}$$

Dove:

- n = Numero di target di riferimento
- SE = Errore standard
- NF = Fattore di normalizzazione
- RQ = Quantità relativa

L'errore standard per la formula del gene di interesse normalizzato (GOI) è

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

Dove:

- SE = Errore standard

- GOI = Gene di interesse (un target)
- NF = Fattore di normalizzazione
- n = Numero di target di riferimento

Calcolo dell'intervallo di confidenza per l'analisi del gruppo biologico

Quando si esegue un'analisi dei gruppi biologici (Analyze Using (Analizza con) è impostato su Biological Groups Only (Solo gruppi biologici)), gli intervalli di confidenza vengono calcolati per la quantità relativa e l'espressione normalizzata relativa.

Gli intervalli di confidenza vengono calcolati in scala logaritmica in base alla distribuzione t usando la seguente formula:

$$CI = \bar{X} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Dove:

- \bar{X} = Espressione media dei livelli di espressione della scala logaritmica dei campioni nel gruppo biologico
- SD = Deviazione standard dei livelli di espressione della scala logaritmica dei campioni nel gruppo biologico
- n = Numero dei campioni nel gruppo biologico
- t = Valore ottenuto dalla distribuzione t in base ai gradi di libertà e del livello alfa

Nota: il livello alfa può essere impostato usando il campo P-value threshold (Soglia valore P) nella scheda Graphing (Rappresentazione grafica).

Dopo aver calcolato gli intervalli di confidenza, vengono convertiti in scala lineare e presentati nella tabella dei dati dell'espressione genica e nel grafico a barre della scheda Graphing (Rappresentazione grafica).

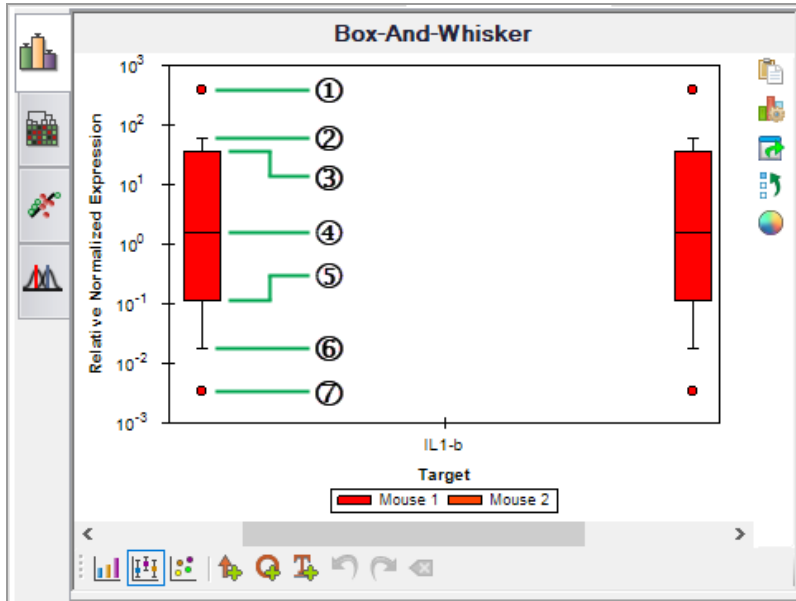
Calcoli del diagramma a scatola e baffi

Il diagramma a scatola e baffi mostra la distribuzione dei valori di espressione all'interno di un gruppo biologico tracciando i dati come quartili. Il 1° e il 3° quartile sono rappresentati rispettivamente dai limiti inferiore e superiore della scatola. La mediana viene visualizzata come una linea continua attraverso la

scatola. I baffi rappresentano i valori minimi e massimi non esterni nella serie di dati. I valori erratici aberrazioni sono dei valori che superano il 1° e il 3° quartile di 1,5 volte l'intervallo inter-quartile.

Nota: se nel gruppo biologico è presente un solo campione, viene mostrato come un singolo cerchio, indicante un singolo punto dati.

Il seguente diagramma a scatola e baffi dimostra come vengono rappresentati questi dati.



LEGENDA

1. Valore erratico. Il valore di questo valore erratico è $> Q3 + (1,5 \times [Q3 - Q1])$
Nota: posizionare il cursore sul cerchio per visualizzare una descrizione comando che mostra il nome del campione e la quantità relativa o le informazioni sull'espressione normalizzata, a seconda della modalità selezionata.

2. Demarcazione massima dei valori non erratici

3. Quartile superiore/3° (Q3). Il 75% dei valori dell'espressione è inferiore al Q3.

4. Mediana, o valore intermedio, dei valori dell'espressione ordinati per rango

5. Quartile inferiore/1° (Q1). Il 25% dei valori dell'espressione è inferiore al Q1.

6. Demarcazione minima dei valori non erratici

7. Valore erratico. Il valore di questo valore erratico è $< Q1 - (1,5 \times [Q3 - Q1])$

Appendice B Audit Trail

Il Software CFX Maestro Dx, Security Edition crea audit trail per file di dati e di studio dei geni (rispettivamente file .prcd e .mgxd). Eventuali modifiche o azioni eseguite sui file di dati e di studio dei geni protetti vengono acquisite nell'audit trail durante il salvataggio del file. CFX Maestro Dx SE crea un audit trail separato per ogni file.

Dal percorso File > Save As (File > Salva con nome), è possibile salvare i file di dati o di studio dei geni protetti con o senza firma in un'altra cartella o con un altro nome. Il nuovo file eredita l'audit trail dal file originale. L'audit trail per il nuovo file include anche l'attività Save As (Salva con nome). Le modifiche o le azioni eseguite sul nuovo file vengono acquisite nel relativo audit trail. Il file originale conserva il proprio audit trail, in cui vengono acquisite ulteriori attività.

Nel paragrafo [Eventi controllabili a pagina 313](#) vengono elencati gli eventi controllabili che il software acquisisce.

Visualizzazione degli audit trail

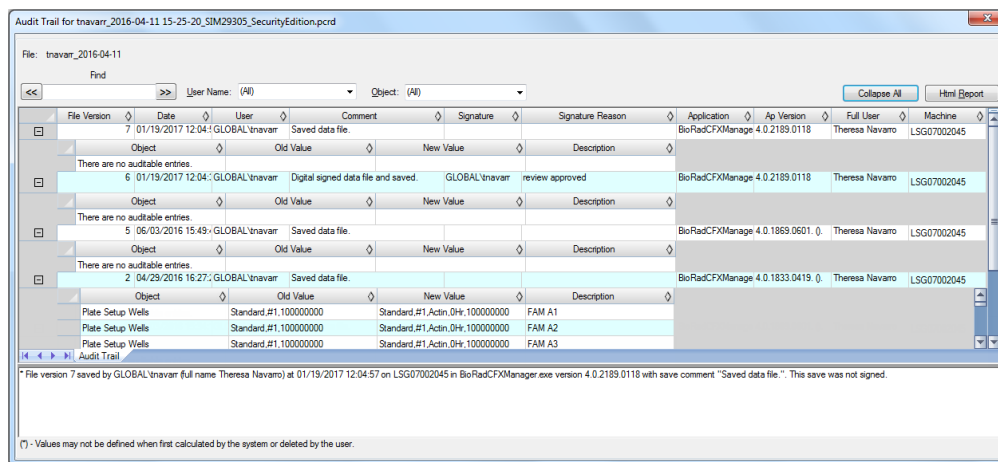
Ciascun audit trail mostra le seguenti informazioni:

- Dettagli intestazione audit
 - File version (Versione file): la versione salvata del file
 - Date (Data): la data dell'evento controllabile corrente
 - User (Utente): il dominio Windows e il nome utente dell'utente connesso
 - Comment (Commento): l'ultimo commento salvato
 - Signature (Firma): la firma elettronica dell'ultima persona che ha firmato il file
 - Signature reason (Motivo della firma): il motivo della firma
 - Application (Applicazione): CFX Maestro Dx SE
 - Application version (Versione dell'applicazione): la versione corrente di CFX Maestro Dx SE
 - Full user (Utente completo): il nome completo dell'utente connesso
 - Machine (Computer): il computer su cui CFX Maestro Dx SE è installato
- Dettagli della modifica dell'audit

- ❑ Object (Oggetto): l'elemento che è stato modificato (l'elemento controllato)
- ❑ Old value (Vecchio valore): il valore precedente
- ❑ New value (Nuovo valore): il nuovo valore
- ❑ Description (Descrizione): la descrizione della modifica

Per visualizzare l'audit trail

- ▶ Nel file di dati o di studio dei geni aperto, selezionare View > Audit Trail (Visualizza > Audit Trail). Viene visualizzato l'audit trail del file.



Per impostazione predefinita, i dati vengono ordinati per data e ora e tutti gli eventi vengono visualizzati nella vista espansa. È possibile filtrare la visualizzazione per nome utente e oggetto e comprimere la visualizzazione espansa per ordinarla in tutta semplicità in base a qualsiasi campo di intestazione. È inoltre possibile visualizzare l'audit trail come report html.

Per ordinare per nome utente

- ▶ Dall'elenco a discesa User Name (Nome utente), selezionare l'utente di destinazione.

Per ordinare per oggetto

- ▶ Dall'elenco a discesa Object (Oggetto), selezionare la destinazione.

Per nascondere la descrizione completa degli eventi

- ▶ Fare clic su Collapse All (Comprimi tutto).

Per ordinare i dati nella tabella dei dettagli delle modifiche

- ▶ Fare clic sul simbolo del rombo nell'intestazione della colonna di dati per eseguire un ordinamento crescente (dalla A alla Z, dal numero più piccolo al più grande o dal meno recente al più recente).

Per stampare l'audit trail

1. Fare clic su HTML Report (Report HTML) per visualizzare l'audit trail in un browser web.
2. Nella finestra del browser, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Selezionare File > Print (File > Stampa).
 - Fare clic con il pulsante destro del mouse sul report e scegliere Print (Stampa).

Eventi controllabili

CFX Maestro Dx SE acquisisce i seguenti eventi controllabili nei file di dati e di studio dei geni.

Eventi controllabili durante l'esecuzione

- Orario di inizio esecuzione
- Modifiche del tempo di esecuzione piastra
- Modifiche del tempo di esecuzione protocollo
- Orario di fine esecuzione

Eventi controllabili quando viene creato un file di dati

- File di dati creato
- Letture interpolate piastra aggiunte dal sistema

Eventi controllabili quando viene salvato un file di dati

- General (Generale)
 - Name (Nome)
 - Signing (Firma)
 - Plate Setup (Impostazione piastra)
 - Display Wells (Visualizza pozzetti)
 - Analyzed fluorophores (Fluorofori analizzati)
 - Plate edits (Modifiche alla piastra)
 - Analysis Mode (Modalità di analisi)

- PCR Active Well Group (Gruppo pozzetti attivi PCR)
- Scheda Quantification (Quantificazione)
 - Active step (Fase attiva)
 - Settings (Impostazioni) - C_q Determination mode (Modalità di determinazione C_q)
 - Settings (Impostazioni) - Baseline Setting (Impostazione linea basale).
 - Drift correction applied (Correzione della deriva applicata)
 - Settings (Impostazioni) - Cycles to Analyze (Cicli da analizzare)
 - Settings (Impostazioni) - Analysis Mode (Modalità di analisi)
 - Settings (Impostazioni) - Baseline Threshold (Soglia linea basale)
- Scheda Melt Curve (Curva di fusione)
 - Active step (Fase attiva)
 - Peak type displayed (Tipo di picco visualizzato)
 - Peak analysis threshold (Soglia di analisi del picco)
- Scheda End Point (Punto finale)
 - Active fluorophore/target (Fluoroforo attivo/target)
 - End cycles to average (Cicli finali per media)
 - Tolerance calculation method (Metodo di calcolo della tolleranza)
 - Percentage of range (Percentuale di intervallo)
- Scheda Allelic Discrimination (Discriminazione allelica)
 - X- and Y-axis fluorophore (Fluoroforo assi X e Y)
 - Select cycle number (Seleziona numero di ciclo)
 - View call map (Visualizza mappa delle chiamate)
- Scheda Gene Expression (Espressione genica) - All plots (Tutti i grafici)
 - Experiment Settings (Impostazioni esperimento) - Target reference (Riferimento target)
 - Experiment Settings (Impostazioni esperimento) - Sample control (Controllo campione)
 - Experiment Settings (Impostazioni esperimento) - Auto efficiency (Efficienza automatica)
 - Experiment Settings (Impostazioni esperimento) - Efficiency (Efficienza)

- Scheda Gene Expression (Espressione genica) - Graphing (Rappresentazione grafica)
 - Analysis Mode (Modalità di analisi)
 - Graph data (Dati su grafico)
 - X-axis (Asse X)
 - Y-axis (Asse Y)
 - Opzione Scaling (Scala)
 - Error bar (Barra di errore)
 - Error bar multiplier (Moltiplicatore barre di errore)
 - P-Value Threshold (Soglia valore p)
- Scheda Gene Expression (Espressione genica) - Clustergram (Diagramma di gruppo)
 - Cluster By (Raggruppa per)
 - Split out replicates (Dividi replicati)
- Scheda Gene Expression (Espressione genica) - Scatter Plot (Grafico di dispersione)
 - Control biological group (Gruppo biologico di controllo)
 - Experimental biological group (Gruppo biologico sperimentale)
 - Fold change threshold (Soglia fold change)
- Scheda Gene Expression (Espressione genica) - ANOVA
 - P-Value Threshold (Soglia valore p)
- Plate Setup (Impostazione piastra) - View/Edit Plate (Visualizza/Modifica piastra)
 - Settings (Impostazioni) - PlateType (Tipo piastra)
 - Settings (Impostazioni) - Units (Unità)
 - Editing Tools (Strumenti di modifica) - Flip Plate (Capovolgi piastra)
 - Well groups (Gruppi di pozzetti)
 - Plate fluorophores (Fluorofori piastra)
- Plate Setup (Impostazione piastra) - Replace Plate (Sostituisci piastra) e Apply PrimePCR File (Applica file PrimePCR)
 - Plate Setup Import (Importazione impostazioni piastra)

Modifiche di audit per i file di studio dei geni

General (Generale)

- Name (Nome)
- Scheda Study Setup (Impostazione studio)
 - Add/Remove data files (Aggiungi/Rimuovi file di dati)
- Scheda Study Analysis (Analisi dello studio)

Appendice C Integrazione LIMS

È possibile configurare il Software CFX Maestro Dx, Security Edition per l'uso con un sistema di gestione delle informazioni di laboratorio (LIMS, Laboratory Information Management System). Per l'integrazione LIMS, CFX Maestro Dx SE richiede le informazioni di impostazione piastra generate dalla piattaforma LIMS (un file LIMS, *.plrn), un file di protocollo creato usando CFX Maestro Dx SE (*.prcl), un percorso di esportazione dati definito e un formato di esportazione definito.

Al termine dell'analisi, CFX Maestro Dx SE genera un file di dati (.pcrd) e lo salva in un percorso della cartella di esportazione dei dati definita. CFX Maestro Dx SE può anche creare un file di dati compatibile con LIMS in formato .csv e salvarlo nello stesso percorso.

Creazione di file di dati compatibili con LIMS

In questa appendice viene spiegato come impostare CFX Maestro Dx SE per creare, salvare ed esportare file di dati compatibili con LIMS.

Impostazione della cartella LIMS e delle opzioni per l'esportazione dei dati

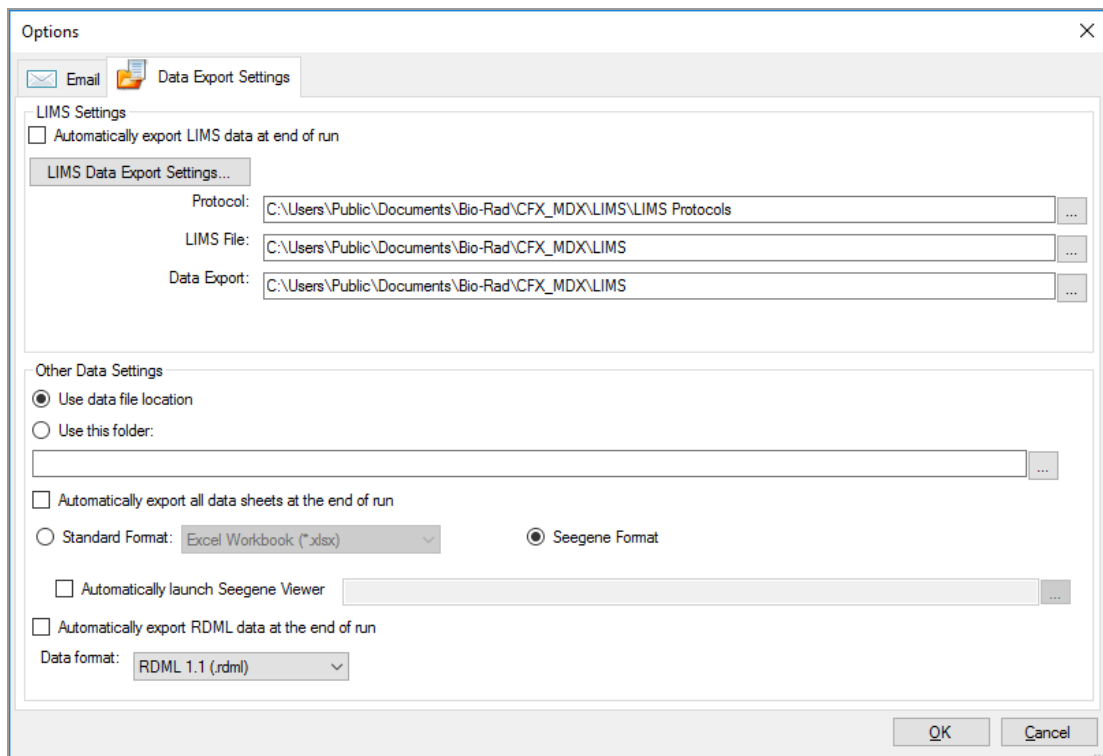
Per impostazione predefinita, CFX Maestro Dx SE salva i protocolli LIMS, i file e i file di esportazione dati in questa cartella:

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

È possibile configurare CFX Maestro Dx SE per salvare i file in un'altra cartella e modificare le opzioni di esportazione per i dati LIMS.

Per impostare la cartella LIMS e le opzioni di esportazione dati

1. Nella finestra Home (Home), selezionare Tools > Options (Strumenti > Opzioni).
2. Nella finestra di dialogo Options (Opzioni), selezionare Data Export Settings (Impostazioni esportazione dati).



3. (Opzionale) Selezionare Automatically export LIMS data at end of run (Esportare automaticamente i dati LIMS al termine dell'analisi).

Il software esporterà automaticamente i dati LIMS dopo ogni analisi e li salverà nella posizione specificata.

4. Per modificare le opzioni di esportazione predefinite per i dati LIMS, fare clic su LIMS Data Export Settings (Impostazioni esportazione dati LIMS).

Importante: solo i dati LIMS esportati come file .csv possono essere reimportati in CFX Maestro Dx SE.

5. Nella finestra di dialogo LIMS Data Export Format Settings (Impostazioni formato esportazione dati LIMS), selezionare le opzioni di esportazione desiderate, quindi fare clic su OK.
6. Nella finestra di dialogo Options (Opzioni), navigare e selezionare una cartella predefinita nella quale si desidera selezionare il file di dati LIMS. È possibile selezionare un percorso diverso per ciascun tipo di file:

- Protocol (Protocollo)
- File LIMS

- Esportazione dati

7. Fare clic su OK per salvare le modifiche e chiudere la finestra di dialogo Options (Opzioni).

Creazione di un protocollo LIMS

Per avviare un'analisi LIMS, creare un file di protocollo CFX Maestro Dx SE (*.prcl) e salvarlo nel percorso della cartella del protocollo LIMS designato.

Per ulteriori informazioni, vedere il [Capitolo 7, Creazione di protocolli](#).

Creazione di un file LIMS

Un file LIMS (*.plrn) include i dettagli di impostazione della piastra e il nome file del protocollo. Questo file viene generato dal proprio LIMS interno. CFX Maestro Dx SE utilizza il file LIMS per creare un file piastra da utilizzare con un file protocollo.

CFX Maestro Dx SE fornisce modelli di file di importazione piastra che è possibile modificare per creare file piastra LIMS personalizzati.

Suggerimento: tale attività deve essere eseguita da personale esperto di LIMS.

Per creare un file LIMS

1. Nella finestra Home, selezionare View > Show > LIMS File Folder (Visualizza > Mostra > Cartella file LIMS).
2. Aprire la cartella dei modelli LIMS e selezionare un file .csv da importare nel LIMS interno.
3. Modificare il file modello compilando i campi obbligatori elencati nella [Tabella 38](#).
4. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Per salvare le modifiche per un utilizzo futuro, salvare il file come file .csv.
 - Per salvare le modifiche e utilizzare il file immediatamente, salvare il file con l'estensione .plrn.
 - Salvare il modello con l'estensione nome file .plrn nella cartella dei file LIMS.

Importante: CFX Maestro Dx SE può aprire solo il file .plrn. È necessario salvare il file .csv come .plrn per avviare l'analisi LIMS.

Tabella 38. Definizione del contenuto del file .csv LIMS

Colonna	Riga	Descrizione	Contenuto	Scopo
A	1	Plate Header (Intestazione piastra)	Non modificare	Predefinito
A,B,C	2	Field/Data/Instruction (Campo/Dati/Istruzione)	Non modificare	Predefinito
B	3	Version (Versione)	Non modificare	Predefinito
B	4	Plate Size (Dimensione piastra)	Non modificare	Predefinito
B	5	Plate Type (Tipo di piastra)	Inserire "BR White", "BR Clear" o un altro tipo di piastra calibrata	Obbligatorio
B	6	Scan Mode (Modalità di scansione)	Inserire "SYBR/FAM Only:" (Solo SYBR/FAM), "All Channels" (Tutti i canali) o "FRET" (FRET)	Obbligatorio

Tabella 38. Definizione del contenuto del file .csv LIMS, continua

Colonna	Riga	Descrizione	Contenuto	Scopo
B	7	Units (Unità)	Inserire una delle seguenti voci "copy number" (numero di copie), "fold dilution" (diluizione fold), "micromoles" (micromoli), "nanomoles" (nanomoli), "picomoles" (picomoli), "femtomoles" (femtomoli), "attomoles" (attomoli), "milligrams" (milligrammi), "micrograms" (microgrammi), "nanograms" (nanogrammi), "picograms" (picogrammi), "femtograms" (femtogrammi), "attograms" (attogrammi) o "percent" (percentuale)	Obbligatorio
B	8	Run ID (ID analisi)	Inserire una descrizione breve o il codice a barre che identifichi questa analisi (massimo 30 caratteri, non sono consentite virgole)	Facoltativo

Tabella 38. Definizione del contenuto del file .csv LIMS, continua

Colonna	Riga	Descrizione	Contenuto	Scopo
B	9	Run Notes (Note analisi)	Inserire una descrizione per l'analisi	Facoltativo
B	10	Run Protocol (Protocollo analisi)	Inserire il nome file protocollo esattamente come elencato.	Obbligatorio
A	11	Data File (File di dati)	Inserire il nome file di dati	Facoltativo
A	12-15	TBD/Empty (TBD/Vuoto)	Non modificare	Predefinito
A	16	Plate Data (Dati piastra)	Non modificare	Predefinito
A	17-113	Well Position (Posizione pozzetto)	Non modificare	Predefinito
B-G		Ch1 Dye (Colorante Ch1), Ch2 Dye (Colorante Ch2), Ch3 Dye (Colorante Ch3), Ch4 Dye (Colorante Ch4), Ch5 Dye (Colorante Ch5), FRET	Inserire un nome colorante calibrato (per esempio, "FAM") per ciascun canale usato	Obbligatorio
H		Sample Type (Tipo campione)	Inserire uno dei seguenti tipi di campione: "Unknown" (Sconosciuto), "Standard" (Standard), "Positive Control" (Controllo positivo), "Negative Control" (Controllo negativo), "NTC" (Nessun controllo modello) o "NRT" (Nessun controllo di trascrittasi inversa)	Obbligatorio

Tabella 38. Definizione del contenuto del file .csv LIMS, continua

Colonna	Riga	Descrizione	Contenuto	Scopo
I		Sample Name (Nome del campione)	Inserire il nome campione	Facoltativo
J-O		CH1 Target (Target CH1), CH2 Target (Target CH2), CH3 Target (Target CH3), CH4 Target (Target CH4), CH5 Target (Target CH5), FRET Target (Target FRET)	Inserire il nome target per ciascun canale usato	Facoltativo
P		Collection Name (Nome raccolta)	Inserire il nome del set biologico	Facoltativo
Q		Replicate (Replicato)	Inserire un valore intero positivo per ciascun set di replicati. Il valore non può essere zero.	Facoltativo
R-W		CH1 Quantity (Quantità CH1), CH2 Quantity (Quantità CH2), CH3 Quantity (Quantità CH3), CH4 Quantity (Quantità CH4), CH5 Quantity (Quantità CH5), FRET Quantity (Quantità FRET)	Inserire i valori relativi alle quantità per ogni standard. Inserire la concentrazione in forma decimale.	Obbligatorio per tutti gli standard

Tabella 38. Definizione del contenuto del file .csv LIMS, continua

Colonna	Riga	Descrizione	Contenuto	Scopo
X		Well Note (Nota pozzetto)	<p>Inserire la nota pozzetto (massimo 20 caratteri)</p> <p>Nota: sebbene CFX Maestro Dx SE abbia un limite di 20 caratteri per l'inserimento di note in Well Note (Nota pozzetto) tramite il software, il campo Well Note (Nota pozzetto) può contenere fino a 500 caratteri se incluso in un file .plrn importato. Tuttavia, CFX Maestro Dx SE visualizzerà solo i primi 20 caratteri. Il file .pcrd esportato conterrà tutti i caratteri nel campo Well Note (Nota pozzetto); nessun dato andrà perso.</p>	Facoltativo

Tabella 38. Definizione del contenuto del file .csv LIMS, continua

Colonna	Riga	Descrizione	Contenuto	Scopo
Y-AD		Ch1 Well Color (Colore pozzetto Ch1), Ch2 Well Color (Colore pozzetto Ch2), Ch3 Well Color (Colore pozzetto Ch3), Ch4 Well Color (Colore pozzetto Ch4), Ch5 Well Color (Colore pozzetto Ch5), FRET Well Color (Colore pozzetto FRET)	Inserire un colore stile tracce definito dall'utente in formato decimale (argb) intero a 32 bit	Facoltativo

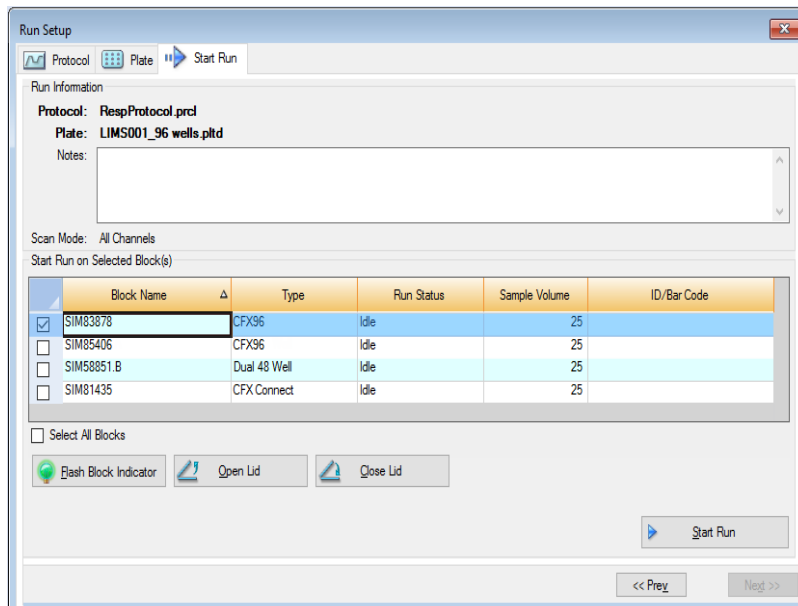
Avvio di un'analisi LIMS

Per avviare un'analisi LIMS

- Per aprire un file LIMS .plrn, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Nella finestra Home, selezionare View > Show > LIMS File Folder (Visualizza > Mostra > Cartella file LIMS) e aprire il file .plrn target.
 - Nella finestra Home, selezionare File > Open > LIMS File (File > Apri > File LIMS) e aprire il file .plrn target.

Il file viene aperto nella scheda Start Run (Avvia analisi) nella procedura guidata Run Setup (Impostazione analisi). La scheda Start Run (Avvia analisi) visualizza le informazioni relative all'esperimento da eseguire. Visualizza anche il blocco o i blocchi di strumenti collegati sui quali è possibile eseguire l'esperimento.

- Nella scheda Start Run (Avvia analisi), selezionare uno strumento e fare clic su Start Run (Avvia analisi).



Esportazione dei dati in un LIMS

Una volta completata l'analisi, CFX Maestro Dx SE genera un file di dati (.pcrd) e lo salva nel percorso della cartella di esportazione dei dati definita.

Per esportare il file di dati in un LIMS

- Aprire il file .pcrd e selezionare Export > Export to LIMS Folder (Esporta > Esporta nella cartella LIMS).

Suggerimento: se si seleziona Automatically Export Data after Run (Esporta automaticamente i dati dopo l'analisi) nelle opzioni LIMS, CFX Maestro Dx SE crea un file di dati compatibile con LIMS in formato .csv e lo salva nella stessa cartella.

Appendice D Risoluzione dei problemi del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

In questa appendice vengono forniti suggerimenti per la risoluzione dei problemi che potrebbero verificarsi durante l'aggiornamento o l'esecuzione del Software CFX Maestro Dx, Security Edition.

File e cartelle del Software CFX Maestro Dx, Security Edition consentiti

Per la protezione da virus e malware, il reparto IT potrebbe aver implementato misure di sicurezza software molto rigide. Queste misure potrebbero influire sul tempo di aggiornamento o esecuzione di CFX Maestro Dx SE.

Per migliorare le prestazioni di CFX Maestro Dx SE, Bio-Rad consiglia al reparto IT di inserire nell'elenco degli elementi consentiti i seguenti file e cartelle nelle impostazioni del firewall del software antivirus installato sul computer CFX Maestro Dx SE:

Cartelle

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\ProgramData\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx

File

- Tutti i file .exe che si trovano nella cartella C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- R.exe e Rscript.exe (che si trovano nella cartella C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx\R\R-3.3.1\bin)

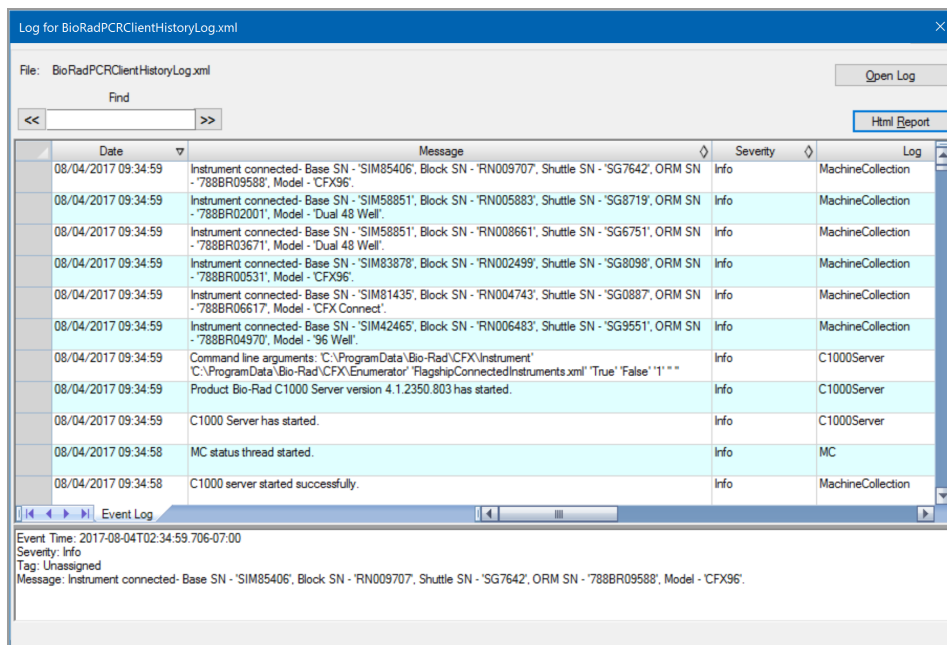
Registro dell'applicazione

Prima di iniziare una nuova analisi, il sistema CFX Opus Dx avvia un test di autodiagnostica per verificare che stia funzionando secondo le specifiche. Il software registra i risultati di questo test nel file di registro dell'applicazione e dell'analisi. Se si nota un problema in uno o più esperimenti, aprire i registri dell'analisi e dell'applicazione per individuare l'origine del problema.

CFX Maestro Dx SE Dx tiene traccia delle informazioni sullo stato di uno strumento durante un'analisi nel registro dell'applicazione. Utilizzare questi registri per tenere traccia degli eventi che si verificano sugli strumenti e nel software e per la risoluzione dei problemi.

Per aprire il registro dell'applicazione

- Nella finestra Home, selezionare View > Application Log (Visualizza > Registro applicazione).



Per visualizzare il registro dell'applicazione come file HTML, fare clic sul pulsante HTML Report (Report HTML).

Recupero dei file di registro dell'applicazione e del firmware

I registri dell'applicazione e del firmware contengono informazioni che descrivono in dettaglio le azioni eseguite durante l'uso del software e le prestazioni delle analisi. Questi registri registrano anche eventuali errori software o firmware che si verificano durante il funzionamento del software o dello strumento.

Per accedere ai file di registro dell'applicazione e del firmware:

1. Nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati), fare clic con il pulsante destro del mouse sullo strumento.
2. Selezionare Retrieve Log Files (Recupera file di registro).
3. Nella finestra di dialogo Browse for Folder (Sfoglia per cartelle), selezionare la cartella di destinazione sulla rete o un'unità locale in cui si desidera salvare i file di registro.

Nota: la cartella è denominata "Logs" (Registri).

4. Fare clic su OK per salvare i file.

Importante: il salvataggio di un file di registro con lo stesso nome di un file di registro esistente sovrascriverà il file di registro esistente.

Risoluzione dei problemi

I problemi di comunicazione tra software e strumento possono essere risolti tipicamente riavviando il computer e il sistema. Assicurarsi di salvare il lavoro in corso prima di eseguire il riavvio.

Nota: verificare che sul computer siano disponibili RAM e spazio libero su disco sufficienti. Lo spazio libero minimo per la RAM è 4 GB e quello per il disco rigido è 128 GB.

Interruzione di alimentazione

In caso di interruzione dell'alimentazione, lo strumento e il computer si spegneranno. Se l'interruzione di alimentazione è breve, lo strumento riprenderà ad eseguire un protocollo, ma nel registro di applicazione sarà annotata l'interruzione di alimentazione. In base alle impostazioni del computer e alla durata dell'interruzione dell'alimentazione, lo strumento e il software tentano di riprendere a funzionare in base alla fase del protocollo:

- Se il protocollo è in una fase che non prevede alcuna lettura piastra, il protocollo riprende a funzionare non appena viene ripristinata l'alimentazione.
- Se il protocollo è in una fase che prevede una lettura piastra, lo strumento attende che il software si riavvii e riprenda la comunicazione per raccogliere i dati. In questa situazione, il protocollo continua

solo se il software non viene spento dal computer. Quando il computer e il software vengono riavviati, il protocollo riprende.

Trasferimento di file nel computer CFX Maestro Dx SE

È possibile trasferire file di dati e di registro presenti nello strumento sul disco rigido di un computer CFX Maestro Dx SE collegato.

Suggerimento: tutti i file presenti nella cartella dei dati in tempo reale della base dello strumento vengono trasferiti nel computer.

Nota: dagli strumenti CFX Opus Dx, è possibile trasferire solo i file di registro. Tutti i file di registro sullo strumento vengono trasferiti nel computer.

Per recuperare i file dallo strumento

1. Nel riquadro Detected Instruments (Strumenti rilevati) della finestra Home, fare clic con il pulsante destro del mouse sullo strumento desiderato e selezionare Retrieve Log Files (Recupera file di registro).
2. Scegliere un percorso della cartella in cui salvare i file recuperati.
3. Fare clic su OK.

Installazione manuale del Software CFX Maestro Dx, Security Edition

Per installare manualmente CFX Maestro Dx SE

1. Se necessario, scollegare dal computer tutti gli strumenti collegati.

Individuare e scollegare il cavo USB dello strumento sul computer CFX Maestro Dx SE. L'estremità collegata allo strumento può rimanere inserita.
2. Accedere al computer CFX Maestro Dx SE con i privilegi amministrativi.
3. Inserire l'unità USB di CFX Maestro Dx SE nella porta USB del computer.
4. In Windows Explorer (Esplora risorse), accedere e aprire l'unità USB di CFX Maestro Dx SE.
5. Aprire la cartella CFX e fare doppio clic su CFXMaestroDxSetup.exe per installare CFX Maestro Dx SE.
6. Seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo per installare il software.

Al termine, sullo schermo del computer viene visualizzata la schermata iniziale del Software CFX Maestro Dx, Security Edition Bio-Rad e sul desktop viene visualizzata l'icona del Software CFX Maestro Dx, Security Edition Bio-Rad.

7. Rimuovere in sicurezza l'unità USB del software e avviare CFX Maestro Dx SE.

Reinstallazione dei driver

Per reinstallare i driver dello strumento

- Nella finestra Home, selezionare Tools > Reinstall Instrument Drivers (Strumenti > Reinstalla driver strumento).

Nota: in caso di problemi di comunicazione del software con un sistema in tempo reale dopo avere reinstallato i driver e aver controllato la connessione USB, contattare l'assistenza tecnica di Bio-Rad.

Appendice 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!

Appendice F Bibliografia

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.).

Avviso di copyright Minpack (1999) Università di Chicago. Tutti i diritti riservati.

La redistribuzione e l'utilizzo nei formati sorgente e binario, con o senza modifiche, sono consentiti purché vengano soddisfatte le seguenti condizioni:

1. La redistribuzione in formato sorgente deve mantenere l'avviso sul copyright riportato sopra, il presente elenco di condizioni e la seguente dichiarazione di non responsabilità.
2. La redistribuzione in formato binario deve riprodurre l'avviso sul copyright riportato sopra, il presente elenco di condizioni e la seguente dichiarazione di non responsabilità nella documentazione e/o in qualsiasi altro materiale fornito con la distribuzione.
3. La documentazione per l'utente finale inclusa con la redistribuzione, se esistente, deve includere la seguente citazione:

“Questo prodotto include il software sviluppato dalla University of Chicago, come Operator of Argonne National Laboratory.”

Appendice F Bibliografia



Bio-Rad Laboratories, Inc.
4000 Alfred Nobel Drive
Hercules, CA 94547



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette, Francia
Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00
Fax: +33 (0)1 47 41 91 33
bio-rad.com



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399
Canada 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23
France 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050
Italy 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670
The Netherlands 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23
Switzerland 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

