

Instructivo de manejo – Scitek RFQ161 Real-Time PCR System

Elaborado por: CCPV, MABP, JDMC. Revisado y aprobado: ISRB Versión (15-Ene-2026).

El Scitek PCR System RFQ161 es un termociclador de PCR en tiempo real con software integrado diseñado para la amplificación y detección de ácidos nucleicos mediante fluorescencia. Este instructivo tiene como finalidad guiar a los investigadores del Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular (LIBM) de la Universidad del Tolima en el uso adecuado del equipo, garantizando resultados confiables, reproducibles y un manejo seguro del instrumento.



Figura 1. Equipo básico para el montaje de qPCR. 1. Termociclador Scitek software qPCR Linux integrado 2. Uninterruptible Power Supply – UPS (Powest, US 1000), fuente de alimentación ininterrumpida. }

Características básicas

Capacidad de muestra	16 x 0.2 ml (2 x 8 pozos, doble bloque)
Consumible	Tubo 0.2 ml para PCR
Volumen de reacción	10-100 ul
Rango de temperatura	0-100 °C
MÁX. Velocidad de rampa	6°C/s
Fluctuación de temperatura	± 0.1°C
Control de temperatura	Bloque/tubo
Longitud de onda de excitación	300-800 nm
Longitud de onda de emisión	500-800 nm
Fluorescencia	F1: FAM/SYBR Green
Rango de dinámica	1-10 ¹⁰ copias
Características funcionales	- Cuantificación relativa/absoluta - Curva melting - Genotipado
Sensibilidad	1 copia

El Scitek PCR System RFQ161 está compuesto por un bloque térmico de alta precisión que permite el control exacto de la temperatura durante los ciclos de amplificación, un sistema óptico integrado para la detección de señales fluorescentes en tiempo real y un software dedicado para la programación, ejecución y análisis de los experimentos. Estos componentes trabajan de manera conjunta para garantizar la correcta amplificación y cuantificación del ADN o ARN objetivo.

Entre los componentes externos del equipo se encuentran la pantalla táctil o panel de control, que permite la supervisión del estado del equipo y del corrido; las tapa o puertas del termociclador, que protege el bloque térmico; el bloque de reacción para placas o tubos de PCR; los puertos de conexión USB para transferencia de datos y el botón de encendido y apagado del sistema.



Figura 2. Componentes externos del termociclador. 1. Pantalla táctil. 2. Puerta del termociclador. 3. Bloque de reacción. 4. Puerto USB lateral. 5. Puerto USB zona posterior. 6. Botón prendido/apagado. 7. Toma de corriente.

Encendido del equipo:

Antes de encender el equipo, se debe verificar que el termociclador esté correctamente conectado a la UPS y que los cables de energía se encuentren firmemente instalados. Se recomienda mantener un espacio libre mínimo de 10 cm alrededor de la parte posterior y lateral del equipo para permitir una adecuada disipación del calor. El botón de encendido se encuentra ubicado en la parte posterior derecha del equipo; una vez presionado, se debe accionar el botón situado en la parte frontal del termociclador.

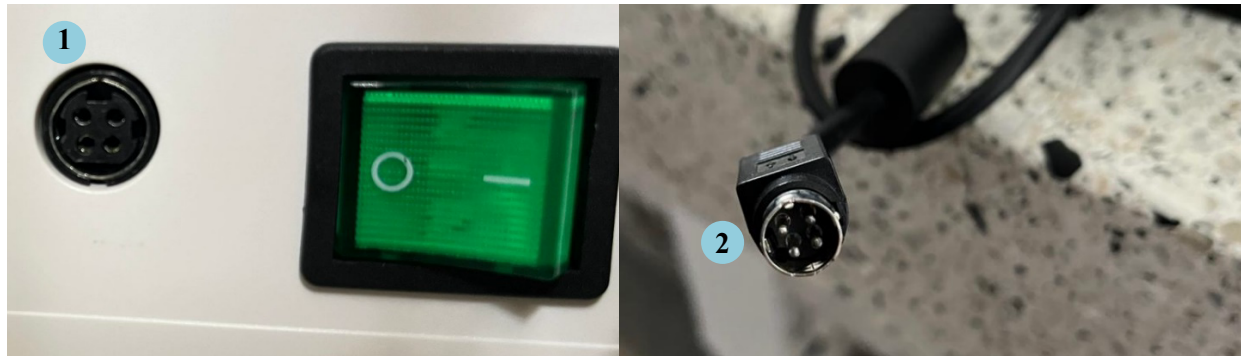


Figura 3. 1. Entrada cable de energía. 2. Cable de energía.

Configuración del experimento:

El Scitek PCR System RFQ161 cuenta con un sistema de control y análisis completamente integrado, por lo que no requiere computador externo para la programación, ejecución ni visualización de los resultados. Todas las operaciones se realizan directamente desde la pantalla táctil incorporada en el termociclador.

Una vez encendido el equipo, en la pantalla principal aparecerán las opciones: Test, File, Tools y Quick. Se debe seleccionar la opción correspondiente a la creación de un nuevo experimento en la opción Test:

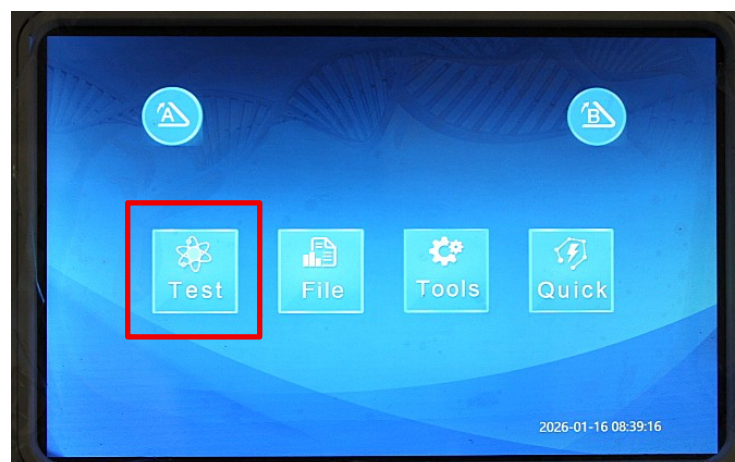
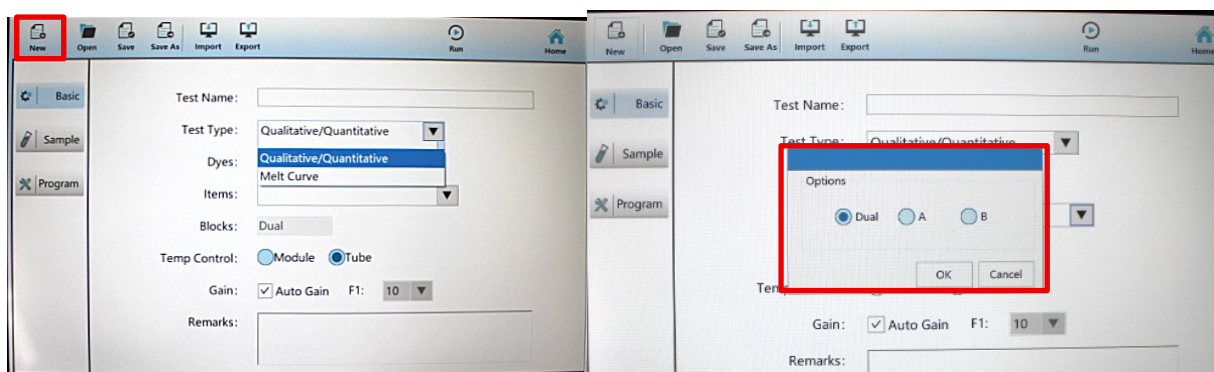


Figura 4. Menú principal de la pantalla táctil

Posteriormente, elija la opción "New" la cual, le dará la opción de elegir si desea usar los dos bloques (Dual) o un solo bloque (A o B). Estas opciones dependerán de su experimento:



En la primera etapa básica (Basic, color negro) de configuración se establecen los parámetros generales del experimento. Estos incluyen el nombre del ensayo (Test Name, color rojo), Tipo de ensayo (Test Type, color amarillo), esta opción estará sujeta a su experimento: Cuantificación absoluta (Qualitative/Quantitative) para detectar presencia o ausencia del gen diana y cuantificar carga genética del mismo, Curva melting (Melting Curve), se utiliza como una herramienta de control y análisis de especificidad de la amplificación cuando se trabaja con químicas intercalantes, principalmente SYBR Green, y genotipado (Genotyping). Modifique el tipo de fluorescencia (Dyes, color verde) según su experimento, ya sea FAM o SYBR Green. Finalmente, la opción Blocks se explica en el paso anterior.

Para la opción temperatura de control (Temp Control, color morado), siempre debe estar en el tubo (Tube, color morado). Auto Gain (color naranja) siempre debe estar activado:

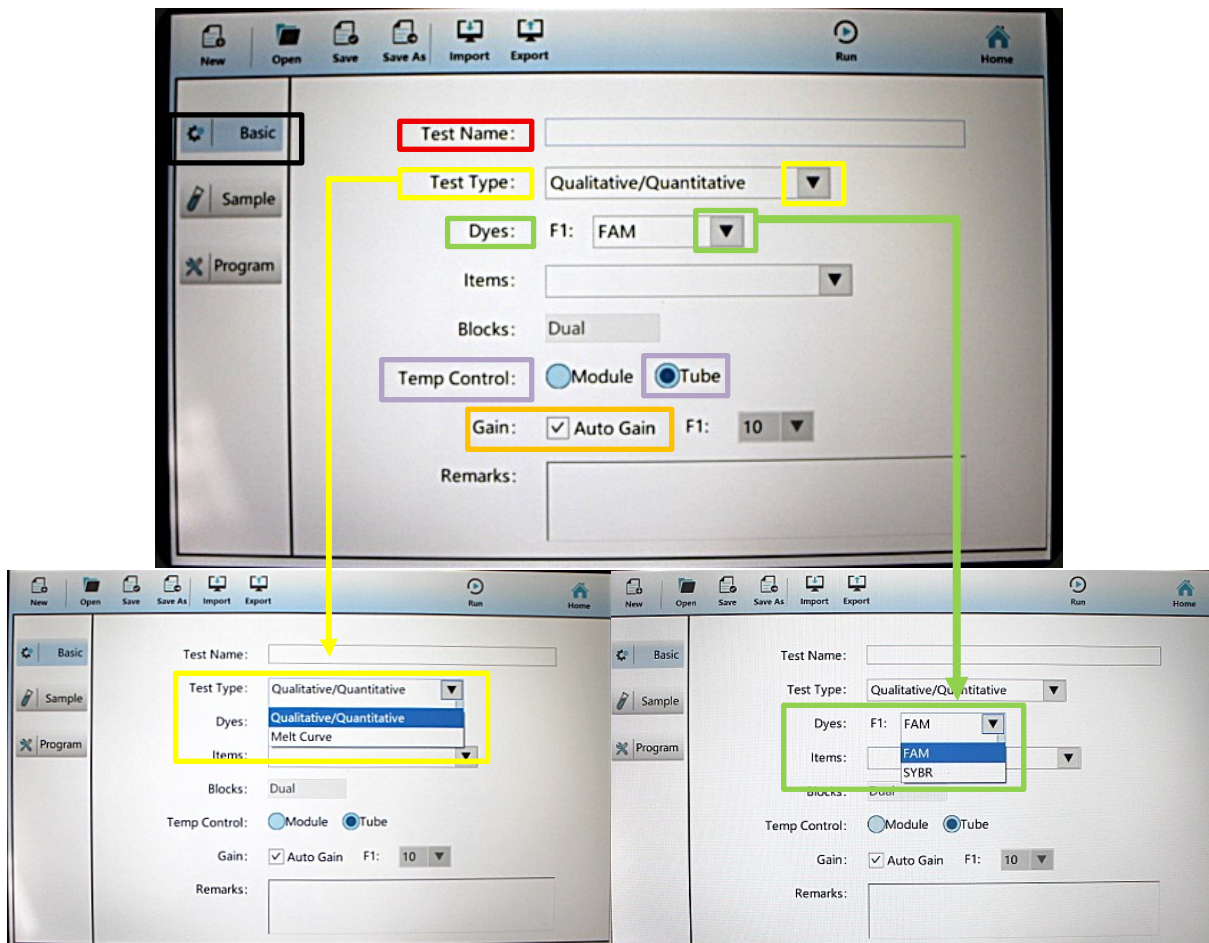


Figura 3. Configuración del experimento

Para elegir el número de muestras haga click en "Sample" (color azul), para visualizar los pozos de ambos bloques y seleccionar en específico cada uno para asignarle el nombre de la muestra correspondiente, además se deben seleccionar en la barra inferior (círculos azules A1, A2, A3...)

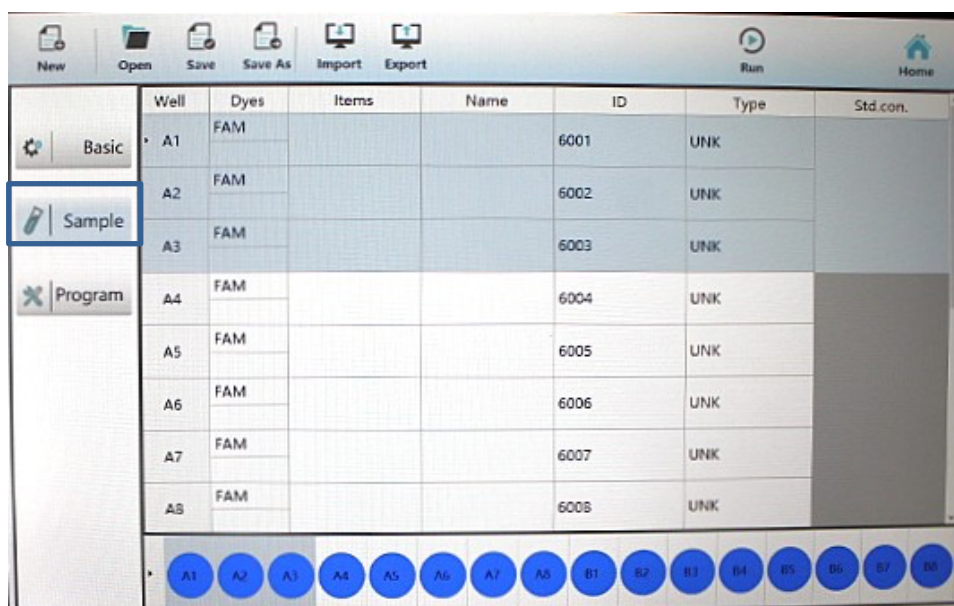


Figura 5. Configuración del experimento, visualización de muestras

Programación del corrido: haga click en "Program" (color rojo), este se modifica de acuerdo a su ensayo, cada sección del corrido se configura seleccionando cada parámetro (temperatura, tiempo y ciclos de cada etapa), además debe asegurarse del volumen correspondiente de cada reacción (color verde) y agregar + melting (curva de disociación Ct, color amarillo) para verificar la especificidad del producto amplificado y su posterior análisis. Finalmente, para que el equipo haga la lectura de la fluorescencia siempre debe estar activados los círculos azules correspondientes a el anillaje y extensión, y Melting (Color naranja)

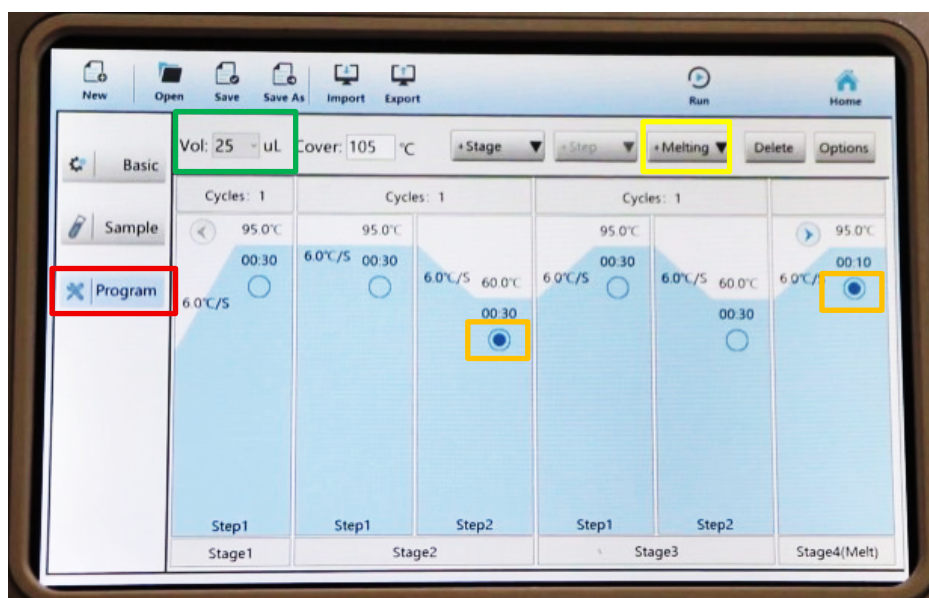


Figura 6. Configuración del experimento, condiciones del corrido por etapa (temperatura, ciclos y tiempo)

Carga de las muestras:

En el montaje experimental las muestras se pueden insertar en el soporte de 8 tubos por bloque (Bloque A y B), ambos ubicados en la parte superior del termociclador, asegurarse de abrir las bandejas desde la pantalla táctil, verificar que los tubos estén completamente tapados y cerrar manualmente cada

bloque.



Figura 7. Bandeja de muestras (bloque a / b)

Una vez ingresadas las muestras, regresamos a la opción de Test e iniciamos con la opción de Run (color rojo), la cual mostrara una gráfica con el corrido de cada muestra, el tiempo estimado y datos propios del corrido en tiempo real.

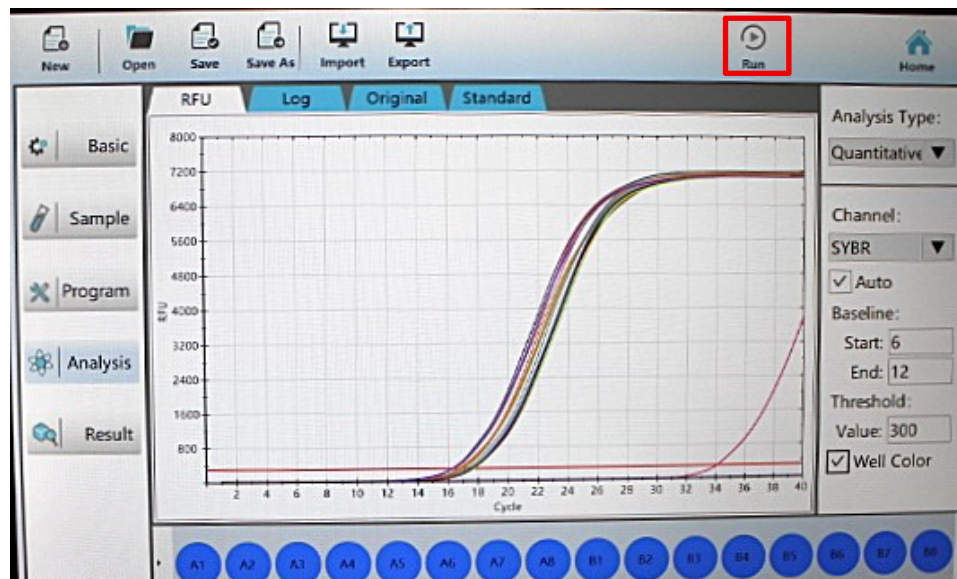


Figura 8. Interfaz del inicio de la prueba qPCR en tiempo real.

Análisis de Resultados

Finalizado el corrido el equipo permite la visualización y análisis de los datos (Analysis, color amarillo). En la gráfica central se representa la fluorescencia relativa (RFU) en función del número de ciclos, lo que permite observar el comportamiento de amplificación de cada muestra, las curvas indican una amplificación exitosa, además permite visualización en otras opciones: Log, Original y Standard (color verde), los cuales facilitan la interpretación de la señal fluorescente y el análisis cuantitativo del experimento. En la parte inferior de la pantalla se muestra el esquema del bloque de reacción, donde cada pozo aparece identificado y coloreado de acuerdo con la muestra asignada. La selección de uno o varios pozos permite visualizar de manera individual o conjunta las curvas de amplificación,

facilitando la comparación entre muestras, controles y réplicas.

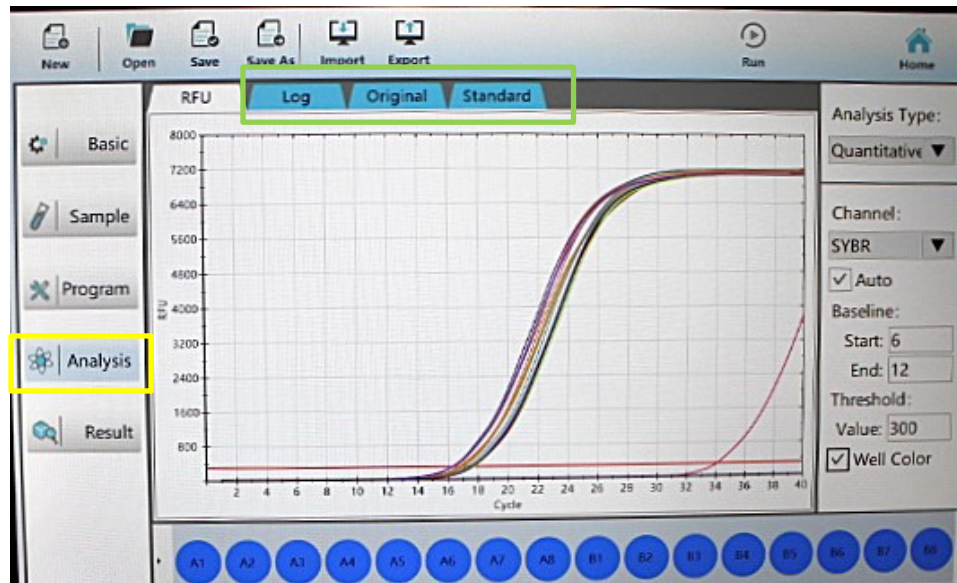
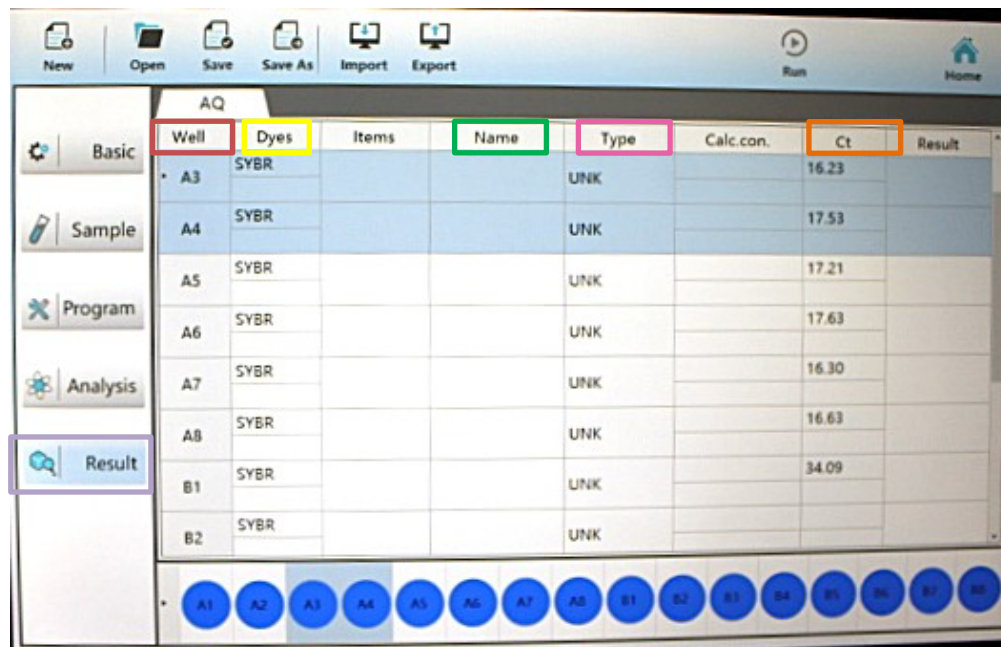


Figura 9. Resultados obtenidos por el termociclador

En la pestaña “Result” (color morado), donde el sistema presenta la información de cada pozo tabulado, se encuentra la identificación del número de muestra (Well, color rojo), el fluoróforo (Dyes) utilizado (color amarillo), el nombre de la muestra (Name, color verde), el tipo de muestra (por ejemplo, UNK para muestras desconocidas, color rosado), el valor de Ct (*cycle threshold*, color naranja) y el resultado correspondiente. Esta disposición facilita la comparación directa entre muestras, réplicas y controles incluidos en el experimento.



Well	Dyes	Items	Name	Type	Calc.con.	Ct	Result
A3	SYBR			UNK		16.23	
A4	SYBR			UNK		17.53	
A5	SYBR			UNK		17.21	
A6	SYBR			UNK		17.63	
A7	SYBR			UNK		16.30	
A8	SYBR			UNK		16.63	
B1	SYBR			UNK		34.09	
B2	SYBR			UNK			

Figura 10. Resultados obtenidos por el termociclador

Para la descarga de las gráficas seleccionamos la opción debe conectar la USB al equipo (en la zona lateral izquierda que se muestra al inicio del instructivo), posteriormente elija la opción Export (color rojo), seguido de tipo de archivo (Color verde) que se quiere guardar ya sea: Test file, Standard Curve O RFU. Luego le da “OK” y guarda los resultados de su experimento en la USB ingresada.

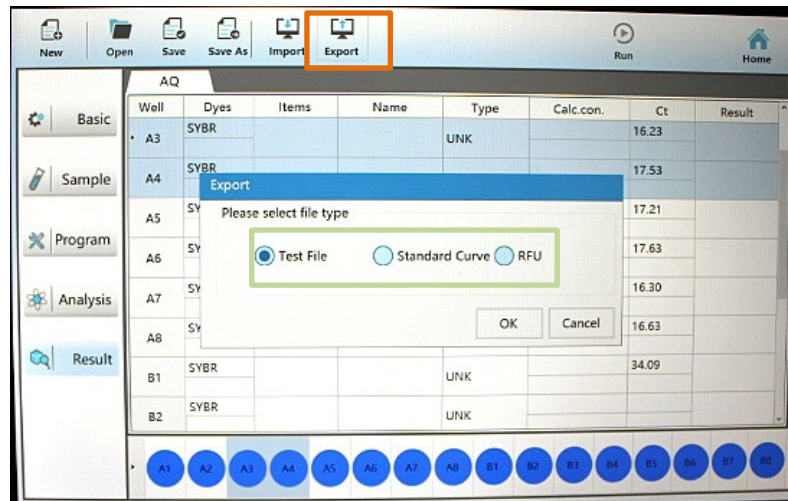


Figura 11. Almacenamiento de gráficas.

Finalmente, debe asegurarse de que el equipo esté completamente apagado y de haber retirado todas las muestras del termociclador. Para apagar el equipo, mantenga presionado el botón ubicado en la parte frontal del termociclador hasta que aparezca el mensaje “Shut Down”. Luego, seleccione “OK” y espere a que la pantalla táctil se apague por completo. Por último, apague totalmente el equipo utilizando el botón situado en la parte posterior derecha del dispositivo.

Cualquier duda puede comunicarla con el director del laboratorio o los asistentes/auxiliares del mismo.