

# Easy Directシリーズ トラブルシューティング

Q. 以下のようなケースの対処法は？

- ・従来の検出系から切替えたところ、検出不良（感度低下）となった。
- ・新たに設計したprimer/probeを使用し、EasyDirectシリーズと組み合わせて評価したところ、検出不良（感度低下）となった。

A. まずは、「①qPCR検出」と「②前処理」、いずれの工程に課題があるのかを確認いただくことをお勧めいたします。

次のページにて、評価方法の詳細をご紹介します。

## 製品一覧とキットの内容

### RNA検出用

#### 製品一覧

製品タイプ	製品名	製品コード
① Direct	One Step Easy Direct RT-qPCR Kit (Non-treatment)	RC805S/A
② 室温処理	One Step Easy Direct RT-qPCR Kit (Non-heat-treatment)	RC801S/A
③ 熱処理	One Step Easy Direct RT-qPCR Kit (Heat-treatment)	RC803S/A

#### キットの内容

	① Direct (RC805S/A)	② 室温処理 (RC801S/A)	③ 熱処理 (RC803S/A)
前処理試薬			
● Easy Direct Buffer (室温処理用)	—	○	—
● Easy Direct Solution (熱処理用)	—	—	○
リアルタイムPCR試薬			
● 1-Easy Direct RT-qPCR Mix 1 w/UNG	—	○	○
● 1-Easy Direct RT-qPCR Mix 2 w/UNG	○	—	—
○ RNase Free H2O	○	○	○
● ROX Reference Dye	○	○	○
● ROX Reference Dye II	○	○	○

### DNA検出用

#### 製品一覧

製品タイプ	製品名	製品コード
① Direct	Easy Direct qPCR Kit (Non-treatment)	RC804S/A
② 室温処理	Easy Direct qPCR Kit (Non-heat-treatment)	RC800S/A
③ 熱処理	Easy Direct qPCR Kit (Heat-treatment)	RC802S/A

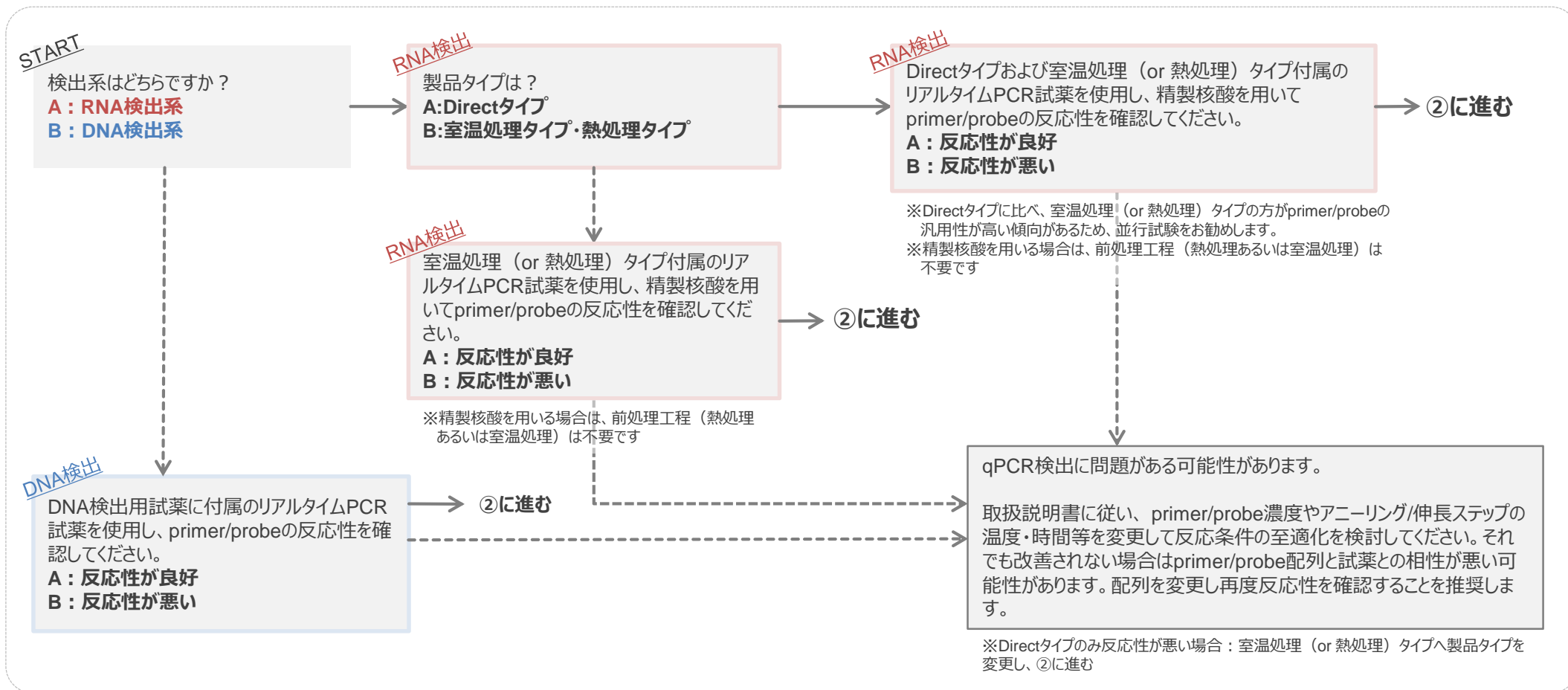
#### キットの内容

	① Direct (RC804S/A)	② 室温処理 (RC800S/A)	③ 熱処理 (RC802S/A)
前処理試薬			
● Easy Direct Buffer (室温処理用)	—	○	—
● Easy Direct Solution (熱処理用)	—	—	○
リアルタイムPCR試薬			
● Easy Direct qPCR Mix w/UNG	○	○	○
○ RNase Free H2O	○	○	○
● ROX Reference Dye	○	○	○
● ROX Reference Dye II	○	○	○

## ①「qPCR検出」のチェック

EasyDirectシリーズのリアルタイムPCR試薬とお手持ちのprimer/probeを組合せ、問題なくワークするかどうかを確認してください。陽性検体からの精製核酸を用い、以下のような手順でご検討いただくことをお勧めいたします。

A (実線) →  
B (破線) →



## ②「前処理」のチェック

精製核酸にてprimer/probeが問題なくワークすることを確認できれば、実検体からの簡易抽出も含めた全体的な評価を実施してください。

### 【評価方法】

精製核酸と前処理済み検体 (Directタイプの場合は検体) の反応性を比較し、反応性(Ct値)が検体の持ち込み量に準じた差であるかどうかを確認する。(核酸精製において濃縮を行った場合はその分検出感度は高くなります。)

精製核酸と比較して前処理済み検体 (Directタイプの場合は検体) での反応性が低い場合、前処理方法が目的ターゲットの検出に適していない可能性があります。異なる前処理タイプでの検討を推奨します。(※ただしDNA検出用の場合、Directタイプへの変更は効果が見込めない可能性が高く推奨しません)