

CronoSTAR™ 96 Real-Time PCR Systemシリーズ

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)変異検出検査のための操作マニュアル —新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 変異検出用プライマー・プローブ各種専用—

本マニュアルでは、CronoSTAR 96 Real-Time PCR Systemを用いて、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 変異検出用プライマー・プローブ各種を使用したリアルタイムPCRを実施する際の操作方法を説明します。

本マニュアルを使用する際の注意点

- ・ 本マニュアルに従ったCronoSTAR 96 Real-Time PCR SystemによるSARS-CoV-2変異検出※では、適切な変異解析結果を取得するためのCt値検出用閾値をRun終了後自動的に設定します(※対象製品は次ページをご覧ください)。本機能を有効にするために、「ランファイルの作成とランの開始」ステップ4. (5ページ) に従い、各サンプルの情報を設定して下さい。
- ・ 同一サンプルでWild検出系とMutant検出系のいずれについてもCt値が得られた場合には、「補足②」(17ページ) に従ってコントロール反応の結果を参考にして、Ct値検出の閾値を適切な位置に設定して下さい。(変異2種の検出用試薬についても、同一サンプルにおいてWild検出系とMutant検出系1、Mutant検出系2のいずれか2つ、またはすべてでCt値が得られた場合には、同様に閾値を適切な位置に設定して下さい。)
- ・ 本マニュアルの対象製品の実験操作は、各製品の取扱説明書に従ってください。
- ・ CronoSTAR 96 Real-Time PCR Systemは研究用機器であり、医薬品医療機器等法に定められる医療機器ではありません。

本マニュアルの対象製品

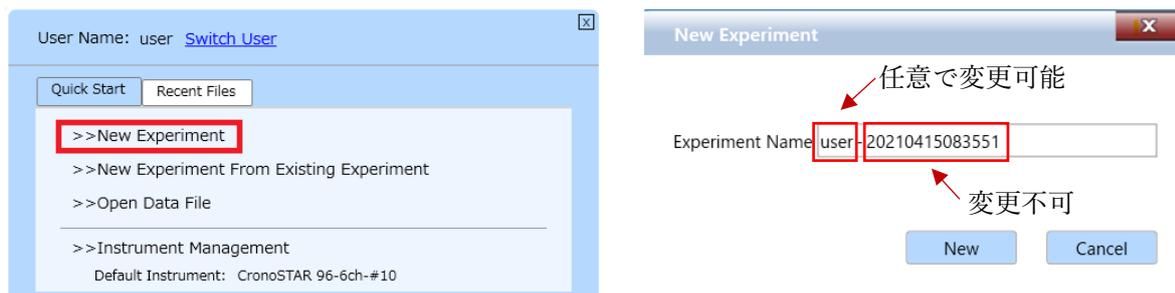
製品コード	製品名
RC330A	SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Core Kit
RC344A	Primer/Probe N501Y (SARS-CoV-2)
RC345A	Primer/Probe E484K (SARS-CoV-2)
RC346A	Primer/Probe L452R (SARS-CoV-2) Ver.2
RC349A	Primer/Probe E484K/E484Q (SARS-CoV-2)
RC347A	Primer/Probe T478K (SARS-CoV-2)
RC348A	Primer/Probe F490S (SARS-CoV-2)
RC343A	Primer/Probe L452R/L452Q (SARS-CoV-2)
RC321A	Primer/Probe P681R/P681H (SARS-CoV-2)
RC322A	Primer/Probe E484A (SARS-CoV-2)
RC323A	Primer/Probe G339D (SARS-CoV-2)
RC324A	Primer/Probe ins214EPE (SARS-CoV-2)
RC325A	Primer/Probe G339N/G339H (SARS-CoV-2)
RC371A	Positive Control RNA Set (N501Y)
RC372A	Positive Control RNA Set (E484K)
RC374A	Positive Control RNA Set (E484K/E484Q)
RC373A	Positive Control RNA Set (L452R)
RC376A	Positive Control RNA Set (L452R/L452Q)
RC375A	Positive Control RNA Set (T478K)
RC377A	Positive Control RNA Set (F490S)
RC378A	Positive Control RNA Set (P681R/P681H)
RC379A	Positive Control RNA Set (Omicron)
RC311A	Positive Control RNA Set (BA.2.24)
RC312A	Positive Control RNA Set (BA.2.75)

CronoSTAR 96 リアルタイムPCR装置とソフトウェアの起動

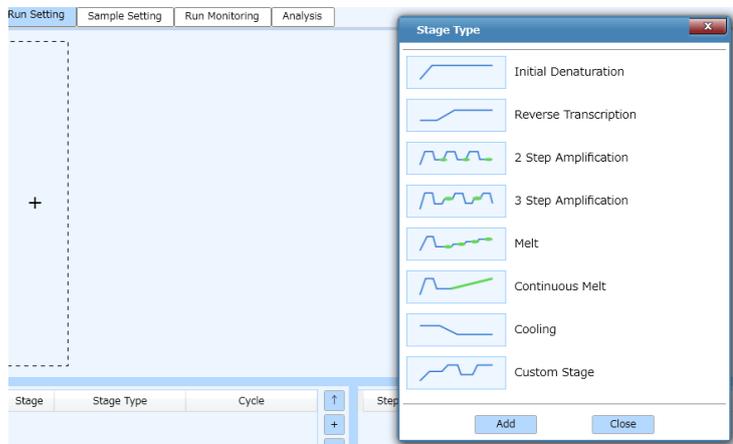
1. リアルタイムPCR装置本体の電源をONにする。
2. コンピューターの電源をONにする。
3. CronoSTAR 96ソフトウェアを起動する。

ランファイルの作成とランの開始

1. New Experimentをクリックし、名前を入力してランファイルを作成する。



2. Run Settingタブの[+]を押し[Reverse Transcription]、[2 Step Amplification]、[Cooling]を追加する。



2.1. [Reverse Transcription]の設定

- 2.1.1. Step1は、52°C、5分、Ramp 6.1°C/sの設定にする。
- 2.1.2. Step2は、95°C、10秒、Ramp 6.1°C/sの設定にする。

2.2. [2 Step Amplification]の設定

- 2.2.1. Step1は、95°C、5秒、Ramp 6.1°C/sの設定にする。

2.2.2. Step2は、各試薬の条件に設定にする。

製品コード	製品名	Step2 の条件
RC344A	Primer/Probe N501Y (SARS-CoV-2)	60°C、30 秒、Ramp 6.1°C/s
RC346A	Primer/Probe L452R (SARS-CoV-2) Ver.2	
RC349A	Primer/Probe E484K/E484Q (SARS-CoV-2)	
RC347A	Primer/Probe T478K (SARS-CoV-2)	
RC348A	Primer/Probe F490S (SARS-CoV-2)	
RC321A	Primer/Probe P681R/P681H (SARS-CoV-2)	
RC322A	Primer/Probe E484A (SARS-CoV-2)	
RC323A	Primer/Probe G339D (SARS-CoV-2)	
RC324A	Primer/Probe ins214EPE (SARS-CoV-2)	
RC325A	Primer/Probe G339N/G339H (SARS-CoV-2)	
RC345A	Primer/Probe E484K (SARS-CoV-2)	
RC343A	Primer/Probe L452R/L452Q (SARS-CoV-2)	

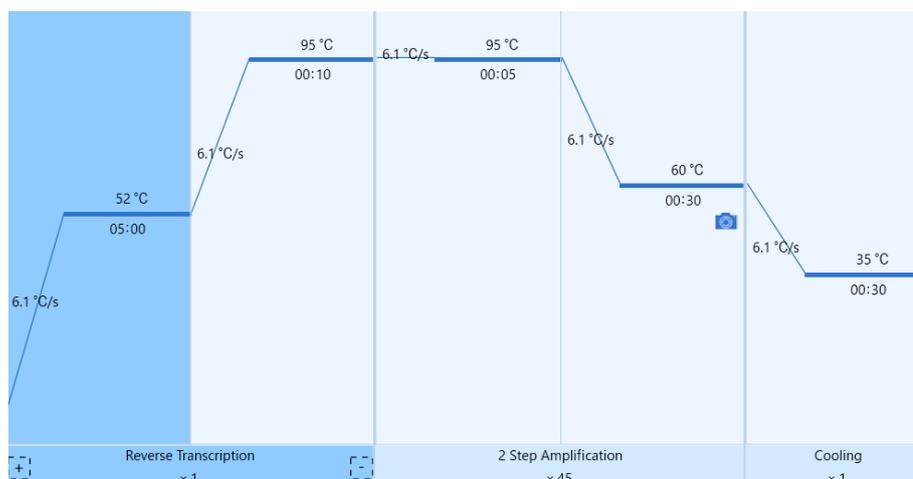
2.2.3. サイクル数を×40から×45に変更する。

2.3. [Cooling]の設定

2.3.1 Step1は、35°C、30秒、Ramp 6.1°C/sの設定にする。

※設定例を以下に示す。

RC344A、RC346A、RC349A、RC347A、RC348A、RC321A、RC322A、RC323A、RC324A、RC325A の場合



RC345AおよびRC343Aの場合



3. ExperimentのTube Type [Clear]、Reaction Volume [30 μL]、Lid Heating[105°C]に設定する。

※ 他のランファイルからの設定を読み込む場合

以前と同じPCR条件でランを行う場合には、**New Experiment From Existing Experiment**をクリックし参照したいファイルを選択、名前を入力してランファイルを作成する。

4. **Sample Setting** タブでサンプルの情報を入力する（後で入力可）。

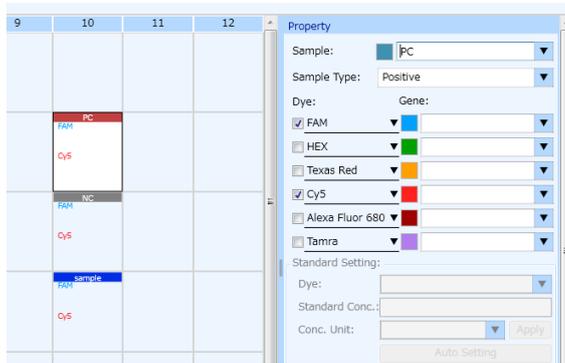
該当するウェルを選択し、「**Sample**」にサンプル名、「**Sample Type**」を下記より選択する。

- ・ 陰性コントロール ⇒ 「**Negative**」
- ・ 陽性コントロール ⇒ 「**Positive**」
- ・ 検査対象サンプル ⇒ 「**Unknown**」

また、「Dye」については、「FAM」と「Cy5」(RC349A、RC343A、RC321Aを使用する場合は「FAM」「HEX」「Cy5」)にチェック✓をいれ、対応する「Gene」の名称を各試薬にあわせて設定する。

例：RC344Aを使用する場合

- FAM ⇒ 501N Wild
- Cy5 ⇒ N501Y Mutant

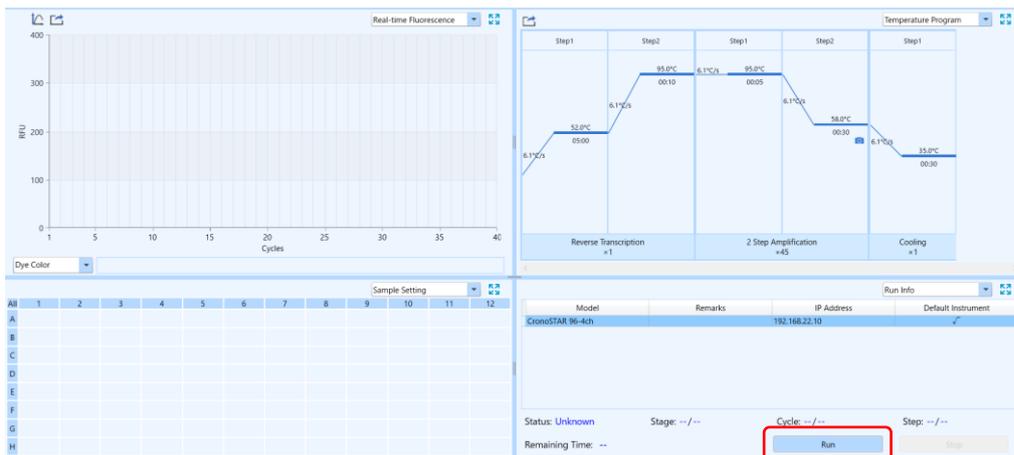


※ 適切な変異解析結果を取得するためのCt値検出用閾値を自動的に設定するためには、必ず、陰性コントロール、陽性コントロール、検査対象サンプルのすべてのサンプルで「FAM」「Cy5」(RC349A、RC343A、RC321Aを使用する場合は「FAM」「HEX」「Cy5」)の「Gene」の名称をそれぞれ共通のものに設定してください。

※ コントロールキーを押しながら複数のウェルを選択することで、複数ウェルで共通の項目を同時に選択/入力することが可能です。

5. 装置にサンプルをセットする。

6. Run MonitoringタブのRunをクリックしてランを開始する。



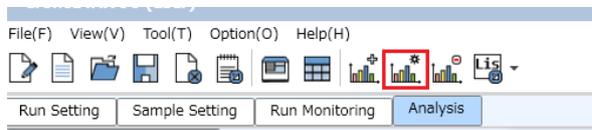
結果の解析

※ 反応例として、SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Core Kit（製品コード RC330A）と Primer/Probe N501Y (SARS-CoV-2)（製品コード RC344A）を用い、鋳型として Twist Bioscience 社の Control 2 (MN908947.3、501N Wild Template) および Control 16 (B.1.351, EPI_ISL_678597、N501Y Mutant Template)を使用した場合の結果を示す。

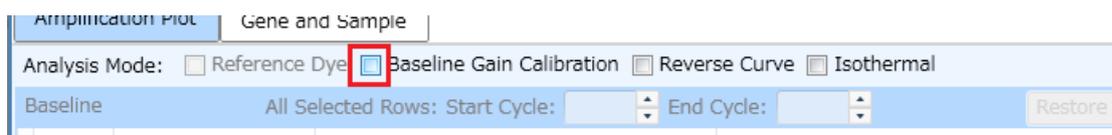
1. Analysisタブで測定結果を確認する。



2. Analysis settingボタンを押すとウィンドウが表示される。



3. Analysis settingウィンドウのBaseline Gain Calibrationのチェックを外す。

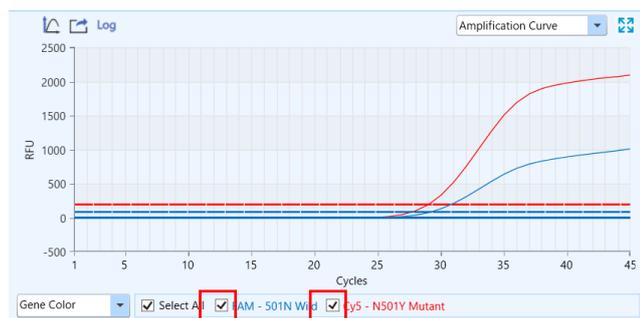


4. [OK]をクリックしAnalysis Settingウィンドウを閉じる。

5. 陰性、陽性コントロールのウェルを選択し、**Amplification Curve**および**Raw Curve**画面にて画面下部の**FAM**と**Cy5**にチェック✓を入れ**FAM**と**Cy5**の増幅曲線を表示し（**RC349A**、**RC343A**、**RC321A**を使用する場合は、**FAM**、**Cy5**、**HEX**の全てにチェック✓を入れ、これら3波長の増幅曲線を同時に表示）、下記の点を確認する。

- 陰性コントロールで明らかな増幅が得られてないこと。
- **Wild Template (FAM)**、**Mutant Template (Cy5)**（実験例では、それぞれ、**501N**、**N501Y**。**RC349A**、**RC343A**、**RC321A**を使用する場合は、**Wild Template (FAM)**、2種の**Mutant Template (Cy5**または**HEX)**）の陽性コントロールのそれぞれで、検出対象に設定された波長のみが増幅すること。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
All												
A					NEG	NEG						
B					UNK	UNK						
C					UNK	UNK						
D					UNK	UNK						
E					UNK	UNK						
F					UNK	UNK						
G					POS	POS						
H					POS	POS						



結果の判定方法（詳細はキットの説明書を参照）

① RC344A、RC345A、RC346A、RC347A、RC348A、RC322A、RC323A、RC324Aを使用する場合

※ RC349A、RC343A、RC321Aを使用する場合は②（3ページ）を、RC325Aを使用する場合は③（13ページ）を、それぞれご覧下さい。

※ 以下文中の“Wild”と“Mutant”の表記については、使用するPrimer/Probe製品毎に下記表に従い読み替えて下さい。

製品コード	製品名	“Wild”	“Mutant”
RC344A	Primer/Probe N501Y (SARS-CoV-2)	501N	N501Y
RC345A	Primer/Probe E484K (SARS-CoV-2)	484E	E484K
RC346A	Primer/Probe L452R (SARS-CoV-2) Ver.2	452L	L452R
RC347A	Primer/Probe T478K (SARS-CoV-2)	478T	T478K
RC348A	Primer/Probe F490S (SARS-CoV-2)	490F	F490S
RC322A	Primer/Probe E484A (SARS-CoV-2)	484E	E484A
RC323A	Primer/Probe G339D (SARS-CoV-2)	339G	G339D
RC324A	Primer/Probe ins214EPE (SARS-CoV-2)	Wild	ins214EPE

【コントロール反応の判定】

結果が以下の条件を満たすことを確認する。条件を満たさない場合は再測定を推奨する。

	FAM (Wild 検出系)	Cy5 (Mutant 検出系)
Negative Control	不検出	不検出
Wild Template	Ct ≤ 30	不検出
Mutant Template	不検出	Ct ≤ 30

※ コントロール反応に以下を使用した場合の判定基準。

- Positive Control RNA Set (N501Y) (製品コードRC371A)
- Positive Control RNA Set (E484K) (製品コードRC372A)
- Positive Control RNA Set (L452R) (製品コードRC373A)
- Positive Control RNA Set (T478K) (製品コードRC375A)
- Positive Control RNA Set (F490S) (製品コードRC377A)
- Positive Control RNA Set (Omicron) (製品コードRC379A)

- Negative Controlは、不検出であることを確認する。[*1]

*1: 少なくともCy5またはFAMの何れか一方でCt値が算出された場合には、「補足③」（19ページ）に従いCt値算出の原因を確認する。また、Ct値算出の原因としてコンタミネーションの疑いがある場合は、反応液の調製場所や器具類を除染したうえで再反応を行う。

- Wild TemplateはFAMで検出され、Cy5で検出されないことを確認する。[*2]
*2: Cy5でCt値が得られた場合、「補足②」(17ページ)に従い、Ct値検出用閾値を手動で再設定する。
- Mutant TemplateはCy5で検出され、FAMで検出されないことを確認する。[*3]
*3: FAMでCt値が得られた場合、「補足②」(17ページ)に従い、Ct値検出用閾値を手動で再設定する。
- Wild Template や Mutant Template が正しい波長で検出されない場合、何らかの原因でリアルタイム RT-PCR が正常に行われていない。再反応を行う。

【サンプルの測定結果の判定】

算出された Ct 値を用いて以下の判定表に従って陽性/陰性を判定する。

FAM (Wild 検出系)	Cy5 (Mutant 検出系)	判定
Ct > 40 または不検出	Ct ≤ 40	変異あり※
Ct ≤ 40	Ct > 40 または不検出※	変異なし※
Ct > 40 または不検出	Ct > 40 または不検出	判定不能

※ FAMとCy5両方ともCt ≤ 40の場合は「ランファイルの作成とランの開始」ステップ4.(5ページ)に従い陰性コントロール、陽性コントロール、検査対象サンプルのすべてのサンプルでFAM、Cy5の「Gene」の名称をそれぞれ共通のものに設定されていることを確認してください。

② **RC349A、RC343A、RC321A** を使用する場合

※ RC344A、RC345A、RC346A、RC347A、RC348A、RC322A、RC323A、RC324Aを使用する場合は①（9ページ）を、RC325Aを使用する場合は③（13ページ）をそれぞれご覧ください。

※ 以下文中の“Wild”、“Mutant(1)”、“Mutant(2)”の表記については、使用するPrimer/Probe製品毎に下記表に従い読み替えて下さい。

製品コード	製品名	“Wild”	“Mutant(1)”	“Mutant(2)”
RC349A	Primer/Probe E484K/E484Q (SARS-CoV-2)	484E	E484K	E484Q
RC343A	Primer/Probe L452R/L452Q (SARS-CoV-2)	452L	L452R	L452Q
RC321A	Primer/Probe P681R/P681H (SARS-CoV-2)	681P	P681H	P681R

【コントロール反応の判定】

結果が以下の条件を満たすことを確認する。条件を満たさない場合は再測定を推奨する。

	FAM (Wild 検出系)	Cy5 (Mutant(1)検出系)	HEX (Mutant(2)検出系)
Negative Control	不検出	不検出	不検出
Wild Template	Ct≤30	不検出	不検出
Mutant(1) Template	不検出	Ct≤30	不検出
Mutant(2) Template	不検出	不検出	Ct≤30

※ コントロール反応に以下を使用した場合の判定基準。

- Positive Control RNA Set (E484K/E484Q) (製品コードRC374A)
- Positive Control RNA Set (L452R/L452Q) (製品コードRC376A)
- Positive Control RNA Set (P681R/P681H) (製品コードRC378A)

- Negative Controlは、不検出であることを確認する。[*4]
*4: 少なくともCy5、HEXまたはFAMの何れか一つでCt値が算出された場合には、「補足③」（19ページ）に従いCt値算出の原因を確認する。また、Ct値算出の原因としてコンタミネーションの疑いがある場合は、反応液の調製場所や器具類を除染したうえで再反応を行う。
- Wild TemplateはFAMで検出され、Cy5とHEXで検出されないことを確認する。[*5]
*5: FAM以外の波長でCt値が得られた場合、「補足②」（17ページ）に従い、Ct値検出用閾値を手動で再設定する。
- Mutant(1) TemplateはCy5で検出され、FAMとHEXで検出されないことを確認する。[*6]
*6: Cy5以外の波長でCt値が得られた場合、「補足②」（17ページ）に従い、Ct値検出用閾値を手動で再設定する。
- Mutant(2) TemplateはHEXで検出され、FAMとCy5で検出されないことを確認する。[*7]
*7: HEX以外の波長でCt値が得られた場合、「補足②」（17ページ）に従い、Ct値検出用閾値を手動で再設定する。

- Wild Template や Mutant Template が正しい波長で検出されない場合、何らかの原因でリアルタイム RT-PCR が正常に行われていない。再反応を行う。

【サンプルの測定結果の判定】

算出された Ct 値を用いて以下の判定表に従って陽性／陰性を判定する。

FAM (Wild 検出系)	Cy5 (Mutant(1)検出系)	HEX (Mutant(2)検出系)	判定
Ct > 40 または不検出※	Ct ≤ 40	Ct > 40 または不検出※	Mutant(1)変異あり※
Ct > 40 または不検出※	Ct > 40 または不検出※	Ct ≤ 40	Mutant(2)変異あり※
Ct ≤ 40	Ct > 40 または不検出※	Ct > 40 または不検出※	変異なし
Ct > 40 または不検出	Ct > 40 または不検出	Ct > 40 または不検出	判定不能

※ FAM、Cy5、HEXの何れか2つ以上の波長でCt ≤ 40の場合は「ランファイルの作成とランの開始」ステップ4.(5ページ)に従い陰性コントロール、陽性コントロール、検査対象サンプルのすべてのサンプルでFAM、Cy5の「Gene」の名称をそれぞれ共通のものに設定されていることを確認してください。

③ RC325A を使用する場合

※ RC344A、RC345A、RC346A、RC347A、RC348A、RC322A、RC323A、RC324A を使用する場合は①（9 ページ）を、RC349A、RC343A、RC321A を使用する場合は②（3 ページ）をそれぞれご覧ください。

※ 以下文中の“Mutant(1)”、“Mutant(2)”の表記については、使用するPrimer/Probe製品毎に下記表に従い読み替えて下さい。

製品コード	製品名	“Mutant(1)”	“Mutant(2)”
RC325A	Primer/Probe G339N/G339H (SARS-CoV-2)	G339N	G339H

【コントロール反応の判定】

結果が以下の条件を満たすことを確認する。条件を満たさない場合は再測定を推奨する。

	Cy5 (Mutant(1)検出系)	FAM (Mutant(2)検出系)
Negative Control	不検出	不検出
Wild Template	不検出	不検出
Mutant(1) Template	Ct ≤ 30	不検出
Mutant(2) Template	不検出	Ct ≤ 30

※ コントロール反応に以下を使用した場合の判定基準。

- Positive Control RNA Set (BA.2.24) (製品コードRC311A)
- Positive Control RNA Set (BA.2.75) (製品コードRC312A)

- Negative Controlは、不検出であることを確認する。[*8]
*8: 少なくともCy5、FAMの何れか一つでCt値が算出された場合には、「補足③」（19ページ）に従いCt値算出の原因を確認する。また、Ct値算出の原因としてコンタミネーションの疑いがある場合は、反応液の調製場所や器具類を除染したうえで再反応を行う。
- Wild TemplateはCy5とFAMで検出されないことを確認する。[*9]
*9: 少なくともCy5、FAMの何れか一つでCt値が得られた場合、「補足②」（17ページ）に従い、Ct値検出用閾値を手動で再設定する。
- Mutant(1) TemplateはCy5で検出され、FAMで検出されないことを確認する。[*10]
*10: FAMでCt値が得られた場合、「補足②」（17ページ）に従い、Ct値検出用閾値を手動で再設定する。
- Mutant(2) TemplateはFAMで検出され、Cy5で検出されないことを確認する。[*11]
*11: Cy5でCt値が得られた場合、「補足②」（17ページ）に従い、Ct値検出用閾値を手動で再設定する。
- Wild Template や Mutant Template が正しい波長で検出されない場合、何らかの原因でリアルタイム RT-PCR が正常に行われていない。再反応を行う。

【サンプルの測定結果の判定】

算出された Ct 値を用いて以下の判定表に従って陽性／陰性を判定する。

Cy5 (Mutant(1)検出系)	FAM (Mutant(2)検出系)	判定
Ct ≤ 40	Ct > 40 または不検出※1	Mutant(1)変異あり※1
Ct > 40 または不検出※1	Ct ≤ 40	Mutant(2)変異あり※1
Ct > 40 または不検出※2	Ct > 40 または不検出※2	判定不能※2

- ※1. Cy5、FAM両方とも Ct ≤ 40 の場合は「ランファイルの作成とランの開始」ステップ4. (5ページ)に従い陰性コントロール、陽性コントロール、検査対象サンプルのすべてのサンプルでFAM、Cy5の「Gene」の名称をそれぞれ共通のものに設定されていることを確認してください。
- ※2. Mutant(1)検出系、Mutant(2)検出系共に Ct > 40 または不検出であった場合は、野生型あるいは他の変異の可能性があります。

解析結果の出力

1. Result Table 画面の Export Excel をクリックして名前を付けて保存する。

Well	Sample ID	Sample	Sample Type	Dye	Gene	Ct	Concentration	Concentration Unit	Standard Conc.	Referen
A3		NC	Negative	FAM	501N Wild	-	-	IU/ml	-	
A3		NC	Negative	Cy5	N501Y Mutant	-	-	IU/ml	-	
H3		PC	Positive	FAM	501N Wild	29.676	-	IU/ml	-	
H3		PC	Positive	Cy5	N501Y Mutant	-	-	IU/ml	-	
A4		NC	Negative	FAM	501N Wild	-	-	IU/ml	-	
A4		NC	Negative	Cy5	N501Y Mutant	-	-	IU/ml	-	
H4		PC	Positive	FAM	501N Wild	-	-	IU/ml	-	
H4		PC	Positive	Cy5	N501Y Mutant	29.547	-	IU/ml	-	

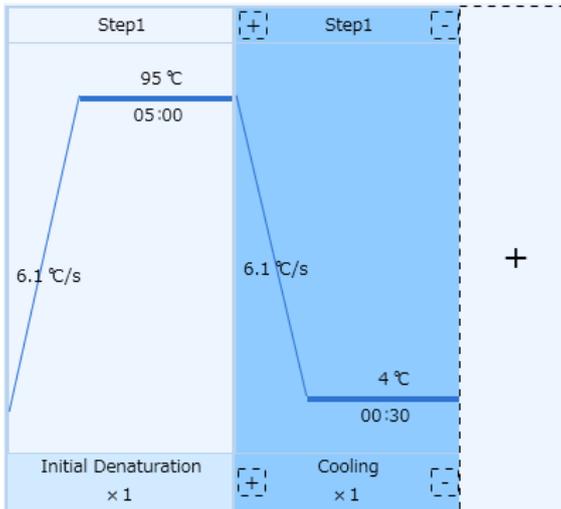
※図は RC344A を用いた場合

ソフトウェアと装置の終了

1. ソフトウェアを終了させる。
2. コンピューターを終了させて電源を切る。
3. 本体画面上でシャットダウンを押す。
4. 本体の電源を切る。

【補足①】 前処理（核酸の簡易抽出）をリアルタイム PCR 装置で実施する場合

1. New Experimentをクリックし名前を入力してランファイルを作成する。
2. Run Settingタブの[+]を押し[Initial Denaturation]、[Cooling]を追加する。
3. Initial Denaturation Step1は、95°C、5分、Ramp 6.1°C/sの設定にする。
4. Cooling Step1は、4°C、30秒、Ramp 6.1°C/sの設定にする。



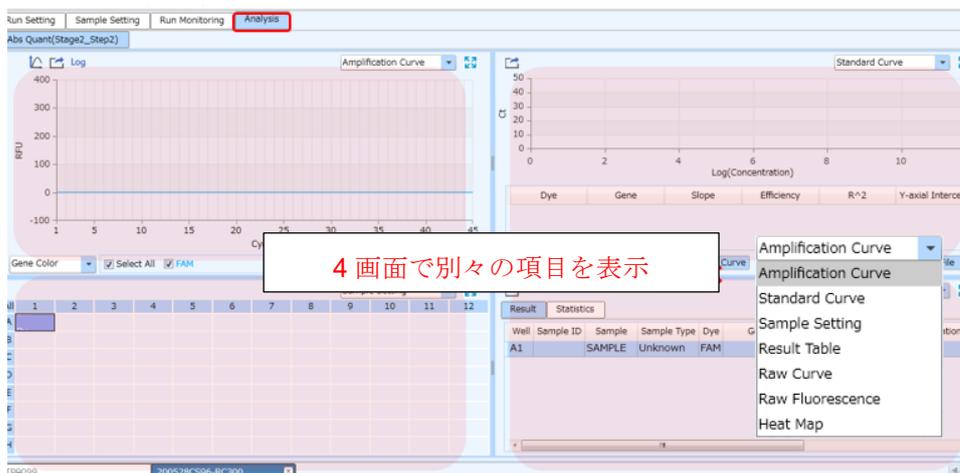
5. 装置にサンプルをセットする。
6. Start ボタンを押しランを開始する。

【補足②】 Ct値検出用閾値の手動での設定方法

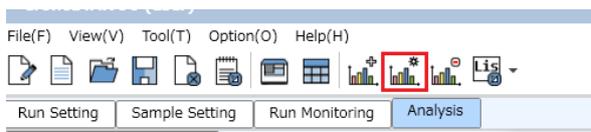
本機器の Run が終了すると、Ct 値検出用閾値の設定と Ct 値の算出が自動で行われます。そのため、陽性コントロールや検査対象で FAM と Cy5 の両波長 (RC349A、RC343A、RC321A の場合は、FAM、Cy5、HEX の何れか 2 波長以上) で Ct 値が得られた場合には、下記の操作に従い Ct 値検出用閾値を手動で再設定したのち「結果の判定方法」(9 ページ)に進んでください。

※ 反応例として、SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Core Kit (製品コード RC330A) と Primer/Probe N501Y (SARS-CoV-2) (製品コード RC344A) を用い、鋳型として Twist Bioscience 社の Control 2 (MN908947.3、501N Wild Template) および Control 16 (B.1.351, EPI_ISL_678597、N501Y Mutant Template)を使用した場合の結果を示す。

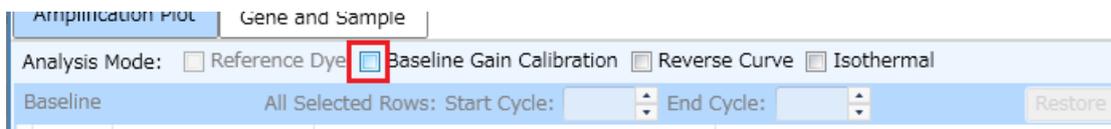
1. Analysisタブを表示する。



2. Analysis setting ボタンを押すとウィンドウが表示される。

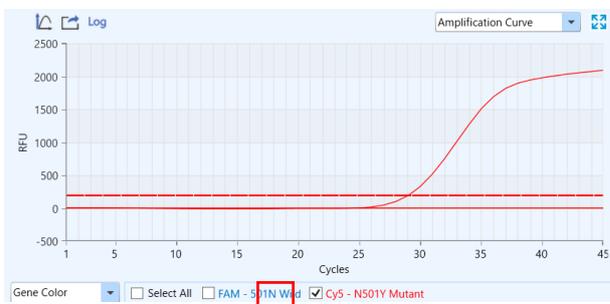


3. Analysis setting ウィンドウの Baseline Gain Calibration のチェックを外す。



4. [OK] をクリックし Analysis Setting ウィンドウ を閉じる。

5. Wild Template (FAM)、Mutant Template (Cy5) (実験例では、それぞれ、501N、N501Y。RC349A、RC343A、RC321Aを使用する場合は、Wild Template (FAM)、2種のMutant Template (Cy5またはHEX)) の陽性コントロールの全てのウェルを表示し、検出対象の波長のいずれか一つを選択する。



6. Analysis setting ウィンドウの Manual Threshold を選択し、Manual Threshold の値を Wild Template と Mutant Template を明確に識別できる値に変更する。

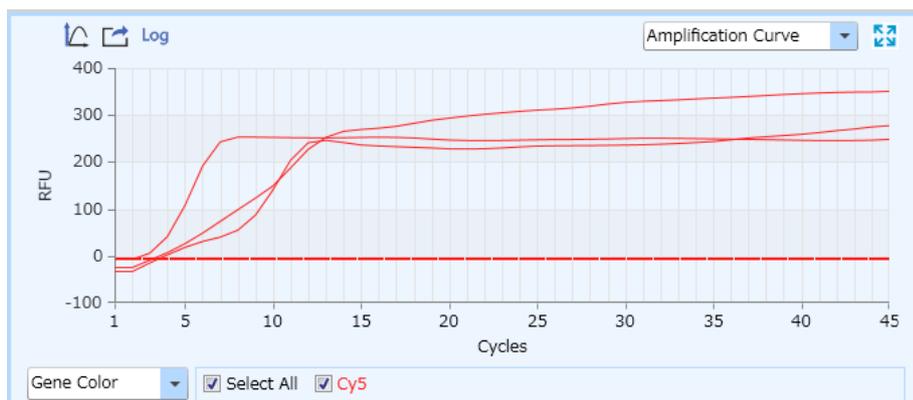
Analytical Method: <input type="radio"/> Auto Threshold <input checked="" type="radio"/> Manual Threshold <input type="radio"/> Normalization Method Restore				
Dye	Gene	Test Name	Auto Threshold	Manual Threshold
FAM	501N Wild		90.65	90.65
Cy5	N501Y Mutant		200.92	200.92

7. [OK] をクリックし Analysis Setting ウィンドウ を閉じる。
8. 検出対象に設定された残りの波長についても同様に Manual Threshold の値を変更する。

【補足③】 判定の際の注意

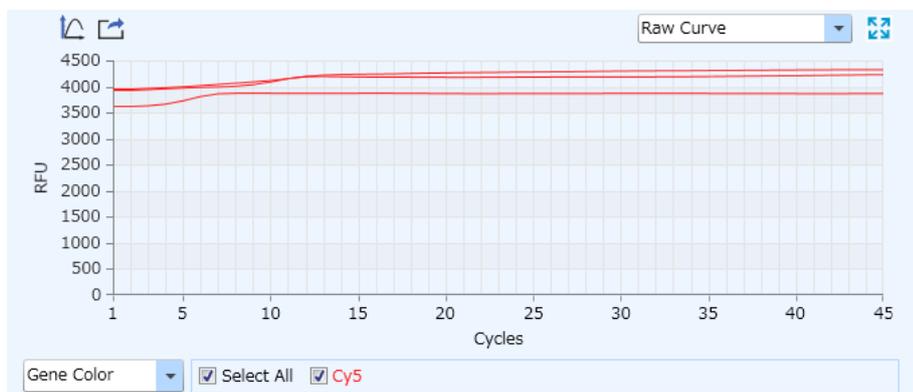
本機器はRunが終了すると、自動解析によりベースライン補正を行います。サイクル初期は蛍光値が揺らぎやすく、自動解析によりこの区間がベースライン範囲に指定されてしまうと、不適切な補正により増幅していない反応があたかも増幅したような曲線に補正されCt値が算出される場合があります。そのため、判定の際には、以下の手順にしたがって、上述の自動補正による影響の有無を必ずご確認ください。

Amplification Curve の結果



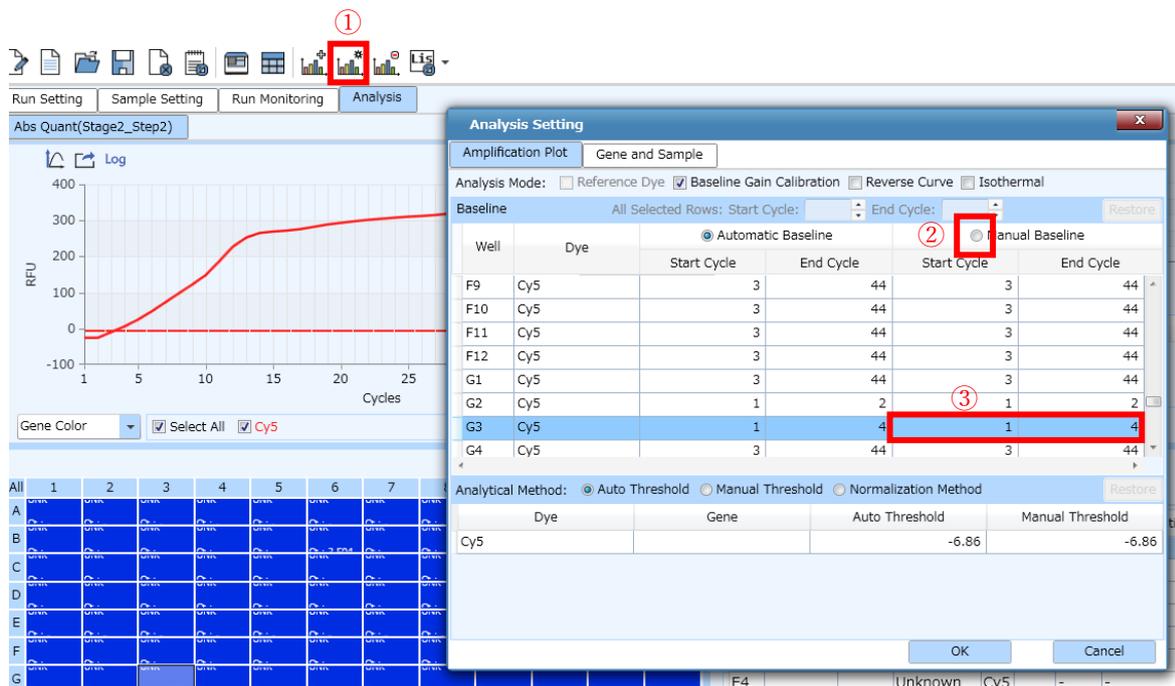
サイクル初期で Ct 値が算出されている事例。Raw Curve でも増幅が見られるか確認する。

Raw Curve の結果



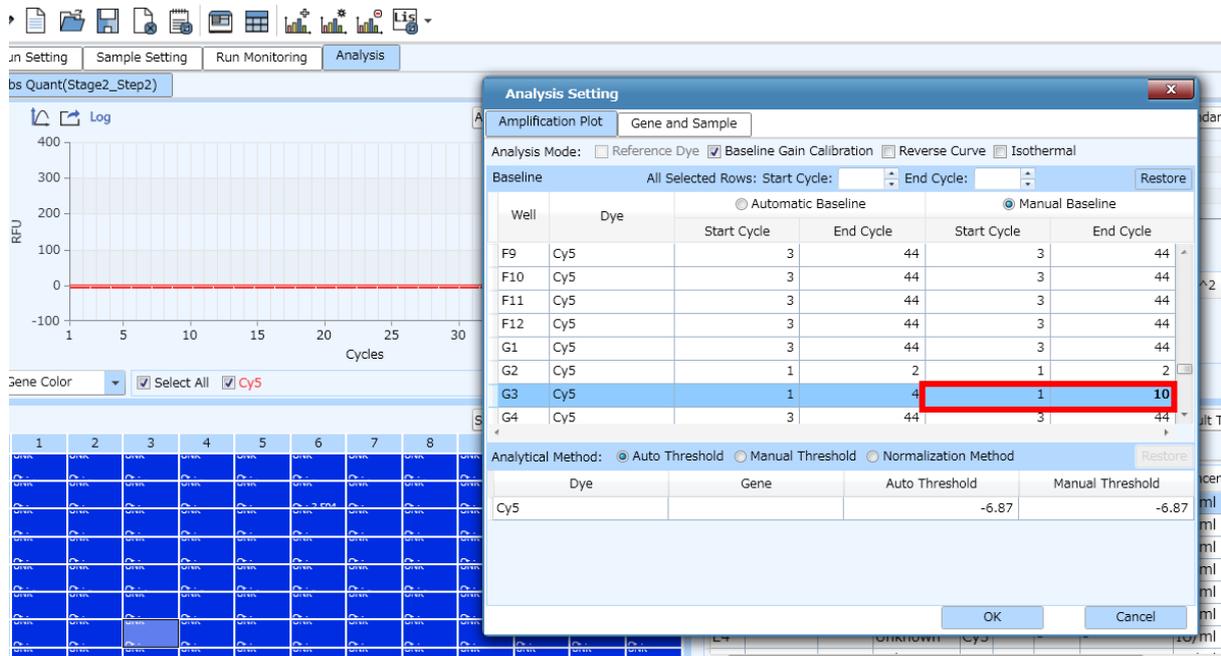
サイクル初期 10 サイクル目くらいまでは蛍光値が揺らぎやすいため、どの区間をベースライン範囲として認識しているか確認する。

ベースラインの確認と変更方法



- ①Analysis Setting アイコンをクリックする。
- ②Analysis Setting の変更したい Well と Manual Baseline を選択する。
- ③Start Cycle と End Cycle の数値を変更して OK をクリックする。

ベースラインの変更後



End Cycle を 4 から 10 に変更すると Ct 値が算出されなくなる。