

Thermal Cycler Dice Real Time System シリーズ

腸管系病原細菌検査のための操作マニュアル

—TaKaRa 腸管系病原細菌検出キット Ver.4 (RR177A) 専用—

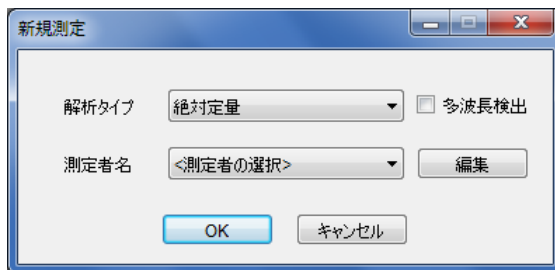
このマニュアルでは、TaKaRa 腸管系病原細菌遺伝子検出キット Ver.4 を用いてリアルタイム PCR を実施する際の操作方法を説明します。

装置とソフトウェアの起動

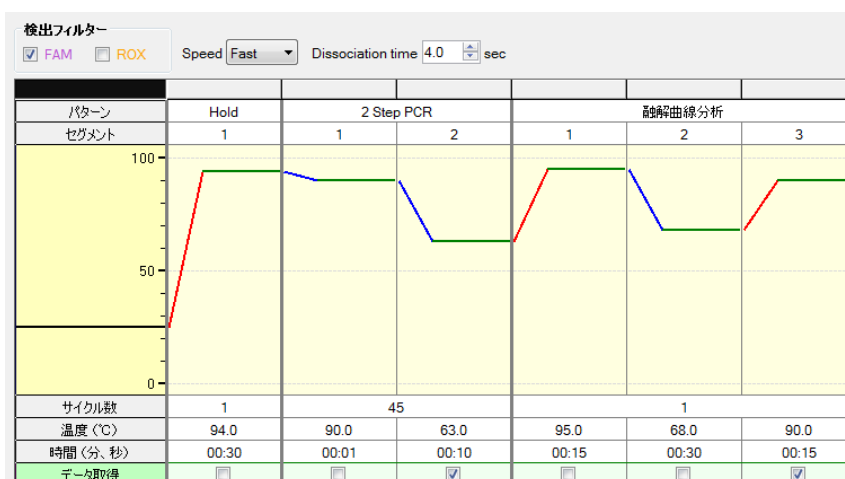
- 1 Thermal Cycler Dice Real Time System 本体の電源を ON にする。
- 2 コンピューターの電源を ON にする。
- 3 食品環境検査用ソフトウェアを起動する。

ランファイルの作成とランの開始

- 1 ランファイルを新規作成する。
 - 1.1 解析タイプから絶対定量を選択する。
 - 1.2 OK ボタンをクリックする。

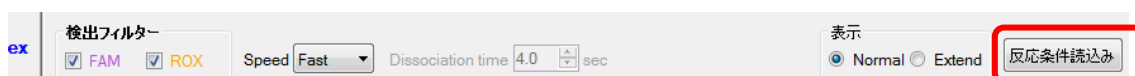


- 2 反応条件設定画面で PCR 条件を設定する。
 - 2.1 検出フィルターの FAM にチェック✓を入れる (ROX のチェック✓を外す)。
 - 2.2 Speed は Fast を選択する。
 - 2.3 Hold は、94℃、30 秒の設定にする。
 - 2.4 2 Step PCR のサイクル数を 45 に変更する。
 - 2.5 2 Step PCR のセグメント 1 を 90℃、1 秒に設定する。
 - 2.6 2 Step PCR のセグメント 2 を 63℃、10 秒に設定し、データ取得の✓を外す。
 - 2.7 融解曲線分析のパターンを追加する。
 - 2.8 融解曲線分析のセグメント 2 の温度を 68℃に変更する。
 - 2.9 融解曲線分析のセグメント 3 の温度を 90℃に変更する。



■他のランファイルからの PCR 条件設定読み込み

以前と同じ PCR 条件でランを行う場合には、他のランファイルから設定を読み込むことができます。画面右上の“反応条件読み込み”ボタンをクリックすると、ランファイルを選択するブラウザが開きますので、目的のファイルを選択して“開く”をクリックします。PCR 条件の他に蛍光フィルターの選択（“データ取得”）なども読み込まれます。



3 サンプル設定画面でサンプル情報を入力する（ラン終了後に行っても良い）。

3.1 画面右上の入力ボタンをクリックする。

3.2 該当するウェルを選択し、サンプルタイプを選択する。

NTC : 陰性コントロール

STD : 陽性コントロール

UNKN : 検査対象サンプル



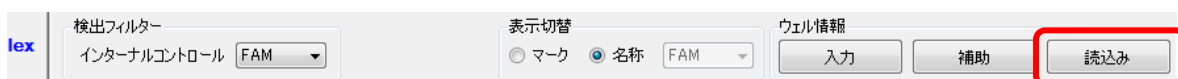
3.3 必要に応じてレプリケート設定を行う（省略可能）。

- 3.4 必要に応じてサンプル名を入力する（省略可能）。
表示切替の「名称」を選択すると下図のような表示になる。



■他のランファイルからのサンプル設定読み込み

以前と同じ条件でサンプル設定をしたい場合は、他のランファイルから設定を読み込むことができます。画面右上の“読み込み”ボタンをクリックすると、ランファイルを選択するブラウザが開きますので、目的のファイルを選択して“開く”をクリックします。



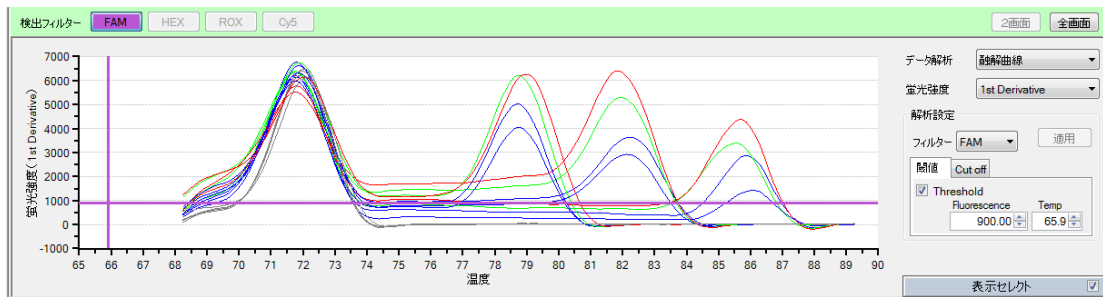
- 4 反応条件設定画面でランを開始する。
- 4.1 反应用的チューブ（またはプレート）を本体にセットする。
 - 4.2 画面右下の反応開始ボタンをクリックしてランを開始する。

～反応時間は、最短 35 分です。～

結果の解析

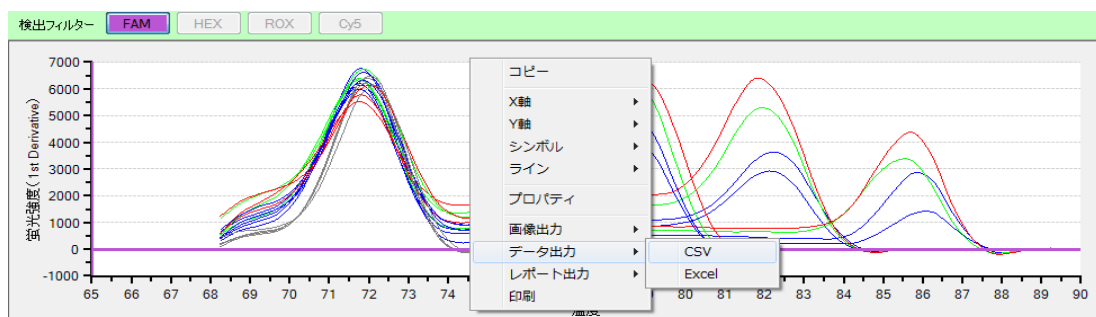
解析パラメーターの確認

- 1 融解曲線を表示させる
 - 1.1 検出フィルターの FAM ボタンをクリックする。
 - 1.2 データ解析から融解曲線を選択する。
 - 1.3 表示セレクトで解析対象のウェルを選択する。
- 2 閾値の設定
 - 2.1 縦と横の閾値をノイズレベルの小さなピークがない範囲に設定する。
 - 2.2 適用ボタンをクリックする。



融解曲線データの出力

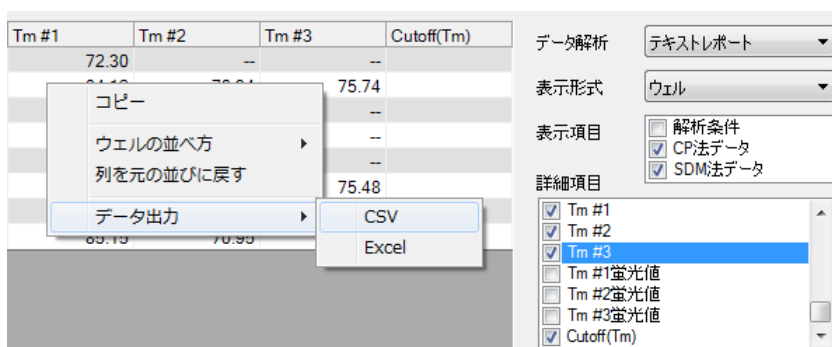
- 1 上記の要領で融解曲線を表示させる。
- 2 融解曲線のグラフ上で右クリックし、データ出力から CSV を選択する。



- 3 保存場所とファイル名を指定して保存する。

テキストレポートの出力

- 1 検出フィルターの FAM ボタンをクリックする。
- 2 データ解析からテキストレポートを選択する。
- 3 詳細項目のサンプル名と Tm #2 と Tm #3 にチェック を入れる (その他は変更不要)。
- 4 テキストレポートの表上で右クリックし、データ出力から CSV を選択する。
- 5 保存場所とファイル名を指定して保存する。



～結果の解析には、専用の解析ツールを使用します。～

ソフトウェアと装置の終了

- 1 食品環境検査用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 Thermal Cycler Dice Real Time System 本体の電源を切る。