

# Thermal Cycler Dice Real Time Systemシリーズ

## ノロウイルス検便検査のための操作マニュアル

—TaKaRaノロウイルスGI/GII検出キットVer.4（製品コードRC130A）および  
TaKaRaノロウイルスGI/GII検出キット（1液タイプ）Ver.2（製品コードRR204A） 用—

このマニュアルでは、TaKaRa ノロウイルス GI/GII 検出キット Ver.4(製品コード RC130A) および TaKaRa ノロウイルス GI/GII 検出キット (1液タイプ) Ver.2 (製品コード RR204A) 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。

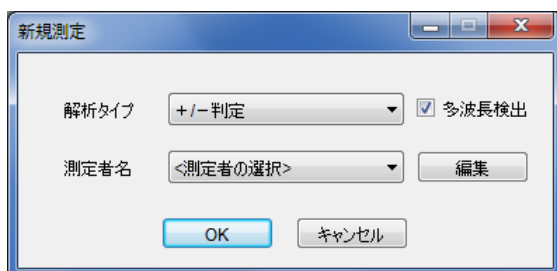
※本製品を弊社リアルタイム PCR 装置 Thermal Cycler Dice Real Time System シリーズで  
ご使用になる場合には、装置にデフォルトで設定されている正規化補正を解除したのち  
解析を行ってください。正規化補正を設定している場合と解除した場合では、増幅曲線の  
形状や Ct 値にわずかに差が生じることがあります。  
解除方法は巻末の「Appendix : Thermal Cycler Dice Real Time System シリーズの正規化  
補正解除方法」をご確認ください。

### 装置とソフトウェアの起動

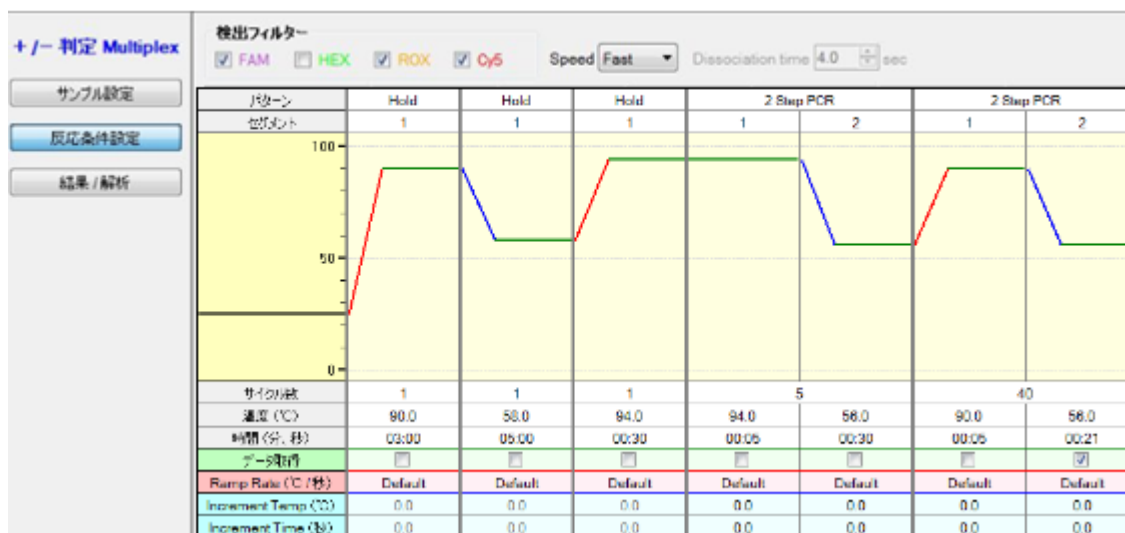
- 1 Thermal Cycler Dice Real Time System 本体の電源を ON にする。
- 2 コンピューターの電源を ON にする。
- 3 食品環境検査用ソフトウェアを起動する。

### 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+/-判定を選択する。
  - 1.2 多波長検出にチェック✓を入れる。
  - 1.3 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、ROX、Cy5 にチェック✓を入れる  
(4色搭載機の場合は、HEX のチェック✓を外す)。
  - 2.2 Hold のパターンを 2 つ追加する。
  - 2.3 1 つ目の Hold は、90℃、3 分の設定にする。
  - 2.4 2 つ目の Hold は、58℃、5 分の設定にする。
  - 2.5 3 つ目の Hold は、94℃、30 秒の設定にする。
  - 2.6 3 Step PCR のパターンを削除して、2 Step PCR のパターンを追加する。
    - 2.6.1 サイクル数は 5 にする。
    - 2.6.2 セグメント 1 は、94℃、5 秒の設定にする。
    - 2.6.3 セグメント 2 は、56℃、30 秒の設定にする。
    - 2.6.4 セグメント 2 のデータ取得のチェック✓をはずす。
  - 2.7 2 step PCR パターンを追加する。
    - 2.7.1 サイクル数は、40 にする。
    - 2.7.2 セグメント 1 は、94℃、5 秒の設定にする。
    - 2.7.3 セグメント 2 は、56℃、21 秒の設定にする
    - 2.7.4 セグメント 2 のデータ取得にチェック✓が入っていることを確認する。
    - 2.7.5 Speed の設定は、Fast を選択する。



※上図は、Thermal Cycler Dice Real Time PCR System III の設定例です。

### ■他のランファイルからの設定読み込み

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）。

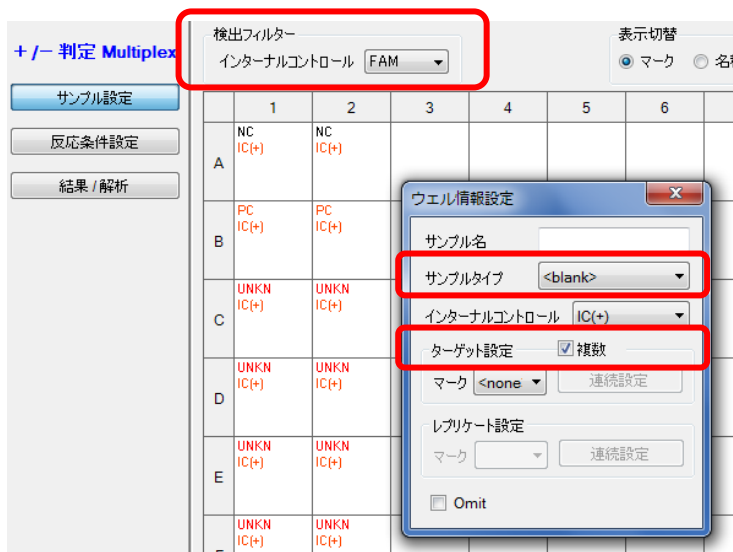
- 3.1 インターナルコントロールとして FAM を選択する。
- 3.2 画面右上の入力ボタンをクリックする。
- 3.3 該当するウェルを選択し、サンプルタイプを選択する。

NC : 陰性コントロール

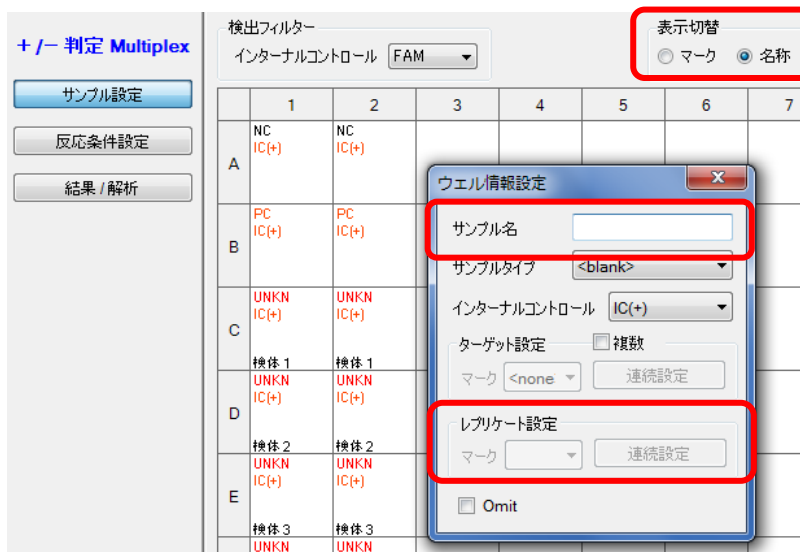
PC : 陽性コントロール

UNKN : 検査対象サンプル

- 3.4 ターゲット設定の複数のチェック✓を外す。



- 3.5 必要に応じてレプリケート設定を行う（省略可能）。
- 3.6 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」を選択すると次のような表示になる。



#### ■他のランファイルからの設定読み込み

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。



#### ★テンプレートファイルの利用も可能です。

上記の PCR 反応条件設定、サンプル設定を行った状態のファイルを「テンプレートファイル」としてデスクトップに保存しておくとう便利です。



新規ランファイルを作成する際は、まずテンプレートファイルを開き、ファイルメニューから「別名で保存」を選択し、適切な保存先とファイル名を入力して保存してください。

必要に応じて設定を変更したうえでランを開始します。



※テンプレートファイルは、使用する Thermal Cycler Dice Real Time System を制御する PC のみで利用可能です。別の装置制御用の PC へのファイル移動は避けてください。

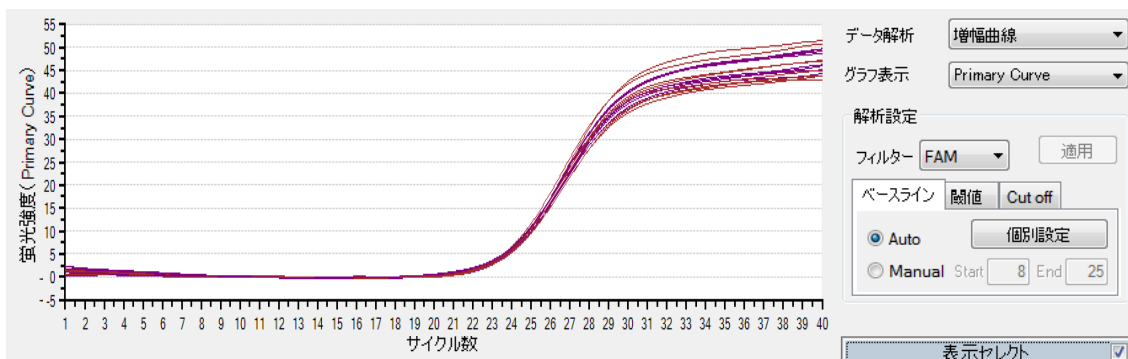
- 4 反応条件設定画面でランを開始する。
  - 4.1 反应用的チューブ（またはプレート）を本体にセットする。
  - 4.2 画面右下の反応開始ボタンをクリックしてランを開始する。

## 結果の解析

### 解析パラメーターの確認

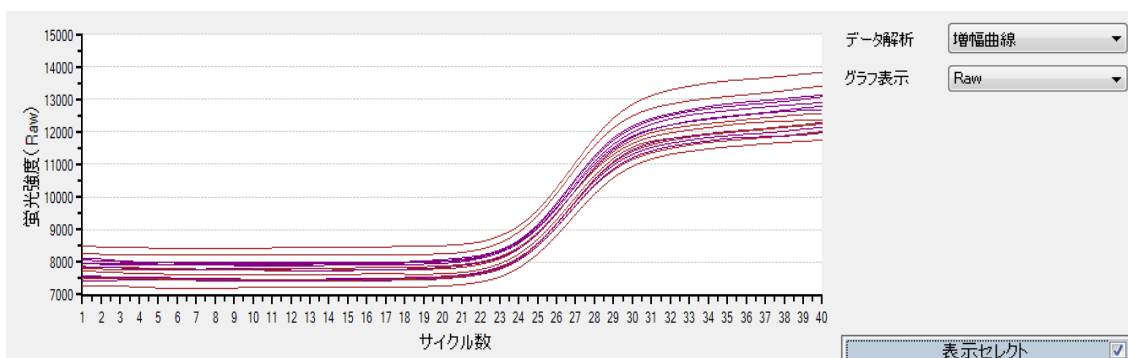
#### 1 増幅曲線を表示させる

- 1.1 検出フィルターの **FAM** ボタンをクリックする。
- 1.2 データ解析から増幅曲線を選択する。
- 1.3 表示セレクトで解析対象のウェルを選択する。

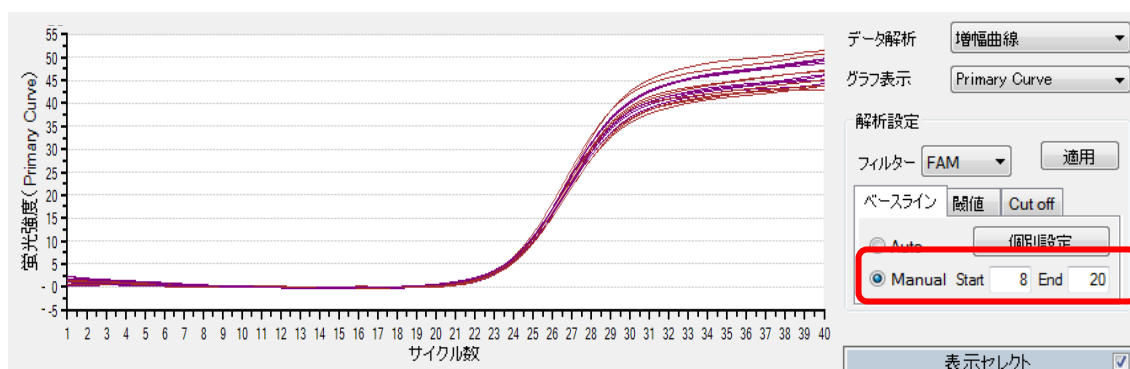


#### 2 ベースライン領域の確認

- 2.1 ベースライン領域が適切に設定されていることを確認する。
- 2.2 ベースライン領域が不適切と思われる場合には、グラフ表示から **Raw** を選択し、正しいベースライン領域を確認する。



- 2.3 グラフ表示を **Primary Curve** に戻し、ベースラインタブの **Manual** をクリックして適切なベースライン領域を設定し、適用ボタンをクリックする。

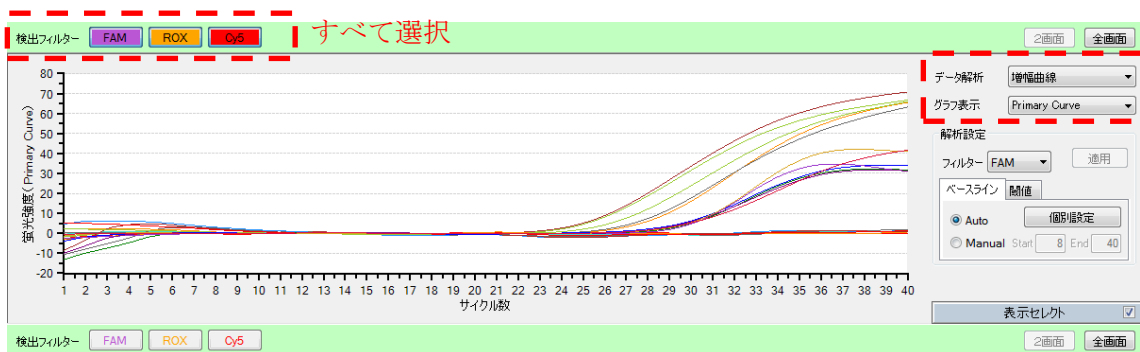


- 3 ROX と Cy5 の結果についても同様に確認、設定する。

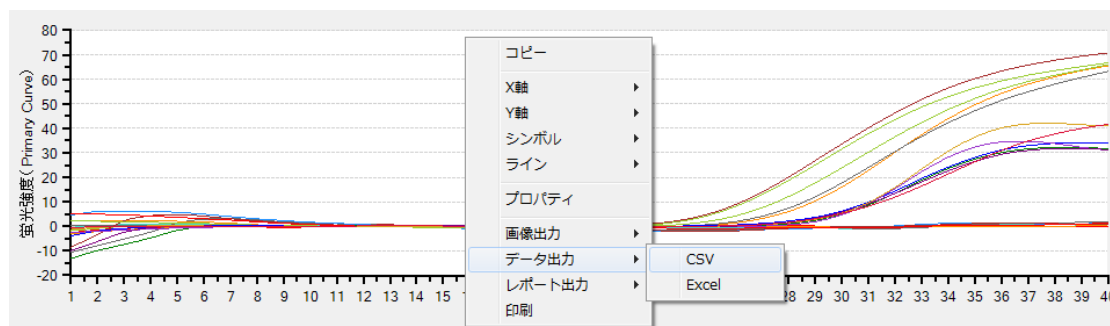
## 解析結果の出力

タカラバイオ遺伝子検査キット判定ツールに読み込ませるための Amplification Plot データを出力します。

- 1 表示されているすべての検出フィルターのボタンをクリックする。
- 2 データ解析から増幅曲線を選択する。



- 3 「表示セレクト」から出力するウェルを選択する（測定時に使用していないウェルは omit しておく）
- 4 表示されたグラフ画面上で右クリックする。
- 5 データ出力から CSV を選択する。



- 6 保存場所とファイル名を指定して保存する。

## ソフトウェアと装置の終了

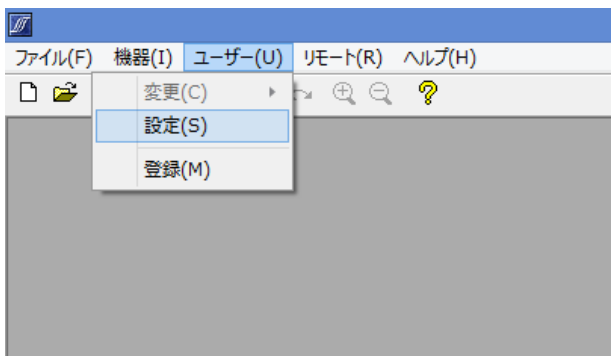
- 1 食品環境検査用ソフトウェアを終了させる。
- 2 コンピューターを終了させて、電源を切る。
- 3 Thermal Cycler Dice Real Time System 本体の電源を切る。



## Appendix : Thermal Cycler Dice Real Time System シリーズの正規化補正解除方法

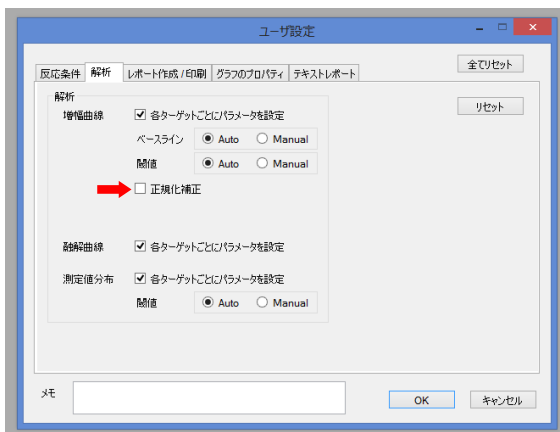
### A. Thermal Cycler Dice Real Time System III の場合 (Software Ver. 3.01C/3.10A)

1. ソフトウェア画面左上のユーザー(U) → 設定(S)をクリックする。

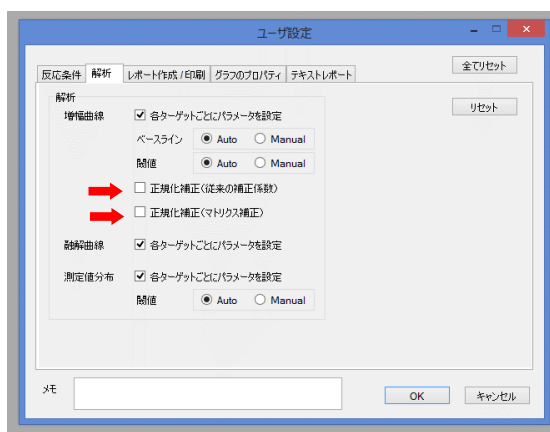


2. ユーザ設定内の解析タブを選択し、正規化補正のチェックを外す (赤矢印)。

#### Software Ver. 3.01C



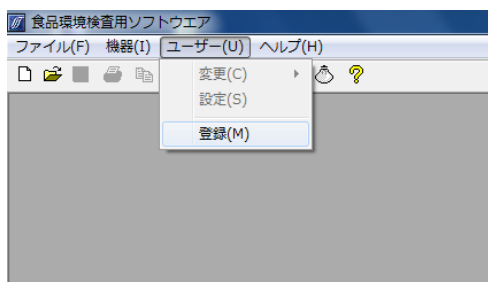
#### Software Ver. 3.10A



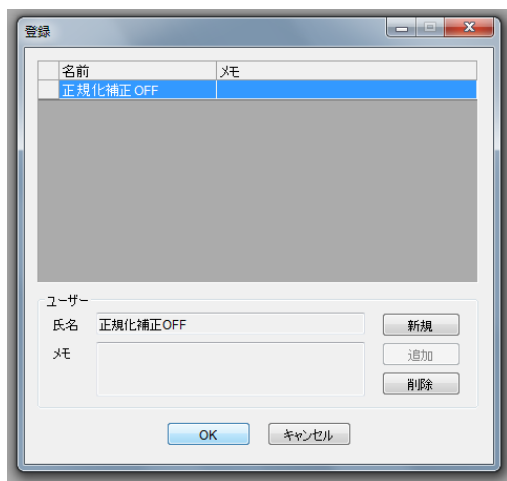
3. 右下の OK をクリックしウインドウを閉じる。

## B. Thermal Cycler Dice Real Time System II/Lite の場合 (Software Ver. 2.11C)

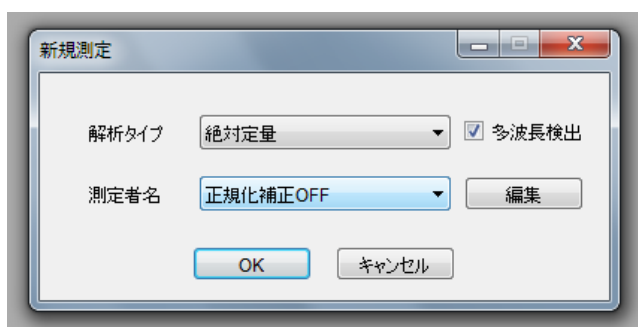
1. ソフトウェア画面左上のユーザー(U) → 登録(M)をクリックする。



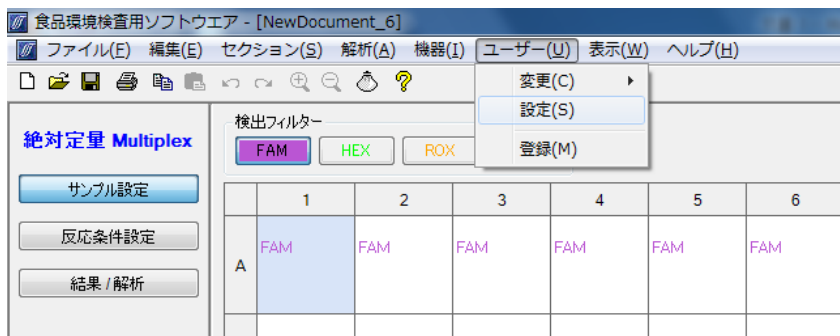
2. 新規 → 適当なユーザー名を入力 (例：正規化補正 OFF) → 追加の順に操作し、上部リストにユーザー名が追加されたのを確認したのち、下部の OK をクリックしウインドウを閉じる。



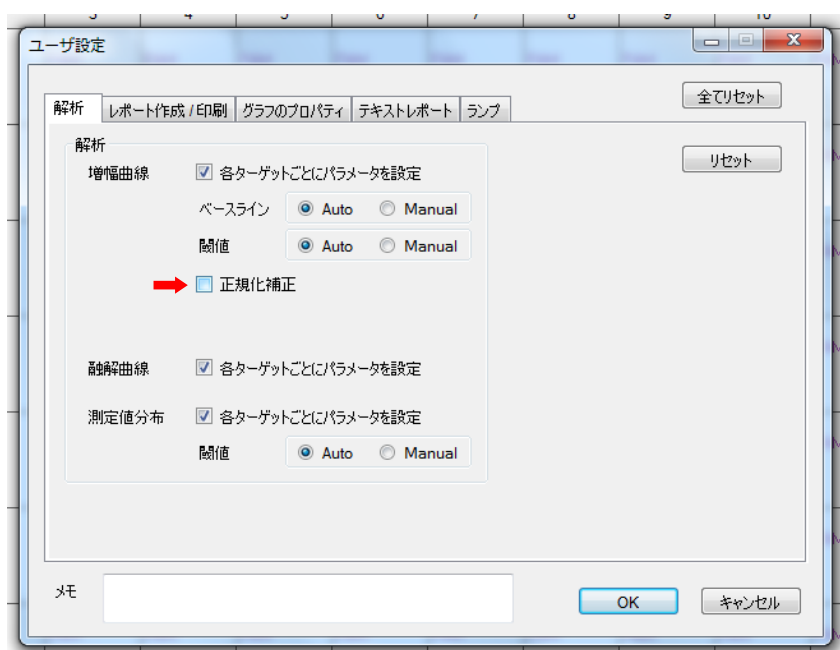
3. 新規 Run file を作成する際に、前項で登録したユーザー名を選択し OK をクリック。



4. ソフトウェア画面上部のユーザー(U) → 設定(S)をクリックする。



5. ユーザ設定内の解析タブを選択し、正規化補正のチェックを外す (赤矢印)。

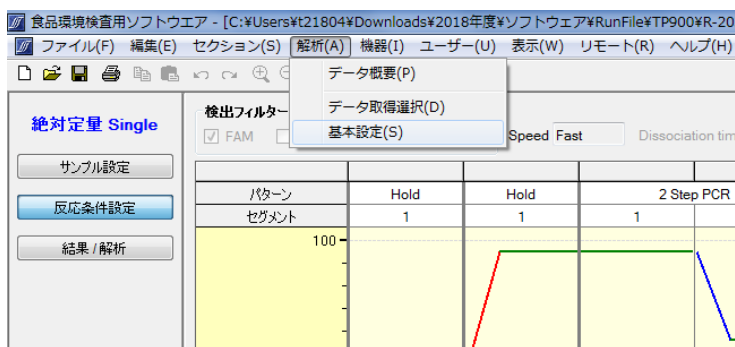


6. 右下の OK をクリックしウインドウを閉じる。これ以降は Run file を作成または解析する際に、同じユーザー名を選択すれば、常に正規化補正が解除された状態となる。

### C. 上記以外の Software Ver.の場合 (III/II/Lite 共通)

※Software Ver. 2.11C/3.01C/3.10A 以外は Run file ごとに正規化補正を解除する必要がある。

1. Run file を開いた状態で、解析(A) → 基本設定(S)をクリックする。



2. 正規化補正のチェックを外す (赤矢印)。



3. 左下の OK をクリックしウインドウを閉じる。