

EasyAmp *Kudoa septempunctata* Detection Kit (Code No. 391-5210)

蛍光検出装置の詳細な設定方法

LightCycler[®] 96 の設定方法例

装置の取扱説明書に従って操作を行って下さい。

1. 装置の設定 (Software version 1.01.01.0050)

- (1) LightCycler 96 を起動後、「New」を選択し、「Create New Experiment」を選択した後、「Create」を押す。
- (2) Detection Format の「エンピツマーク」を押し、「ResoLight」を選択します。
(Quant Factor:20.00, Melt Factor:1.20)
- (3) Integration Time で「Dynamic」を選択し、「Back」を押して元の画面に戻ります。
- (4) Reaction Volume の欄を選択し、25 μ L と設定します。
- (5) profile のタブを選択し、Program の「+マーク」を押します。
- (6) 「2 Step Amplification」を選択し、「Add」を押し、「Melting」選択後「Add」で融解曲線解析の工程を加えます。その後、「Back」で元の画面に戻ります。
- (7) Program の「2 Step Amplification」を選択し、「エンピツマーク」を押し、サイクル数の欄を 30 に設定します。その後、「Back」で元の画面に戻ります。
- (8) Step の「95°C for 10s」を選択し、「-マーク」を押してこの工程を削除します。
- (9) Step の「60°C for 30s」を選択し、「エンピツマーク」を押し、Ramp:2.2°C/s, Duration: 60s, Target: 63°C, Mode: Standard, Acquisition Mode: Single に設定します。その後、「Back」で元の画面に戻ります。

2. 反応の開始

- (1) 「Eject」を押して、ドロワーを開き、サンプル (LightCycler[®] 480 Multiwell Plate 96, white もしくは LightCycler[®] 8-Tube Strips white) をセットした後、ドロワーを閉じます。
- (2) 「Start」を押して、LAMP 反応を開始します。

3. 判定の方法

- (1) 付属の解析ソフトウェア上にて使用していないウェルを選択し、「Clear Wells」を押して解析から削除します。
- (2) Reaction Properties でサンプルの情報を入力、Type で、positive control, negative control, Unknown を選択することができます。
- (3) Analysis のタブを選択し、Add Analysis を押します。その後、Abs Quant を選択し、OK を押します。
- (4) 再度、Add Analysis を押し、Tm Calling を選択し、OK を押します。
- (5) Abs Quant のタブで増幅が確認出来、Tm Calling にて融解温度が確認できます。
- (6) 増幅が認められ、融解曲線解析の結果、サンプルの Tm 値が Kudoa 陽性コントロールの Tm 値 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ の範囲の場合、陽性と判定する。