

PicoGene® PCR1100

デモ操作ガイド Ver.202511

サンプルの準備

各サンプルの前処理の最初のステップは細胞や組織から遺伝物質（DNAやRNA）を抽出することです。脂質やタンパクなどの混入物があると増幅を妨げるため、できるだけ除去する事をお勧め致します。

核酸抽出例 ① スピнкаラム抽出Kit（細胞・組織用など）



FastGene™ RNA Premium Kit

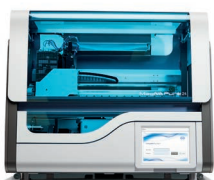
一般的な抽出方法で、シリカメンブレンにDNA・RNAを結合させて遠心操作により夾雑物を除去して目的の核酸を回収する方法。

核酸抽出例 ② 破碎法



乳鉢などですり潰して物理的に破碎してDNAを抽出する。

核酸抽出例 ③ 磁気ビーズ法



MagNA Pure 24 System

カオトロピック条件下で磁性シリカビーズに破碎した核酸を吸着させて磁石を近づけてDNA・RNAを回収する。

核酸抽出例 ④ 溶液タイプの粗抽出Kit



FastGene™ DNA Releasy Advance

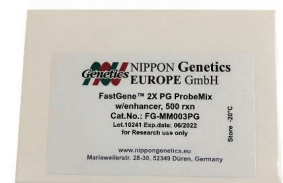
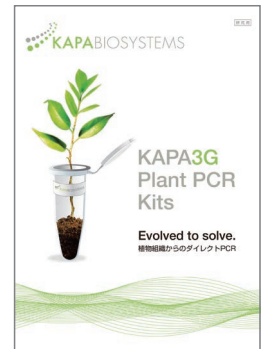


KAPA Express Extract

操作は熱処理と遠心分離のみでDNAの粗抽出が可能。ワンチューブで抽出することができ、短い時間で抽出できる。

デモ時にご用意いただくもの

- サンプル：** お客様ご準備
各抽出方法にて前処理を行ったサンプルをご準備ください。
- Primer：** お客様ご準備
終濃度が500 nM~700 nMとなるように調整ください。
- Probe：** お客様ご準備
終濃度が200 nM以上となるように調整ください。
本装置では、FAM、ROX、Cy5の3色を検出することができます。
1色で 사용되는場合は、必ずFAM標識のプロープを使ってください。
(送液が正常にされているかをFAMで検出するためです)
- 酵素 & Buffer：**
 - KAPA 3G Plant PCR Kit (推奨)
増幅反応スピードが非常に早く、本装置の反応速度に適應する酵素です。
 - FastGene™ 2X PG Probe Mix (推奨)
PCR1100用に開発された、安価で便利なマスターミックスタイプのPCR酵素です。
- 水：** お客様ご準備
反応に影響のない水
- 測定チップ：** PicoGene® PCR1100用測定チップ (MCP2000) をを測定予定のサンプル数分



ご自身で品種ファイルを設定する場合、本装置の特性上、

- 初期変性 (Hot start time)は最大30秒以内
- PCR反応の変性時間 (Denature time)は5秒以内で設定してください。

推奨反応条件

Primerの終濃度は500 nM~700 nM以上

Probeの終濃度は200 nM以上

RT-リアルタイムPCR

反応組成

Template RNA	2.4 μ L
2x KAPA 3G Plant Buffer	10.0 μ L
KAPA 3G Plant	1.2 μ L
FastGene™ Scriptase II	1.2 μ L
F-Primer (final 700 nM)	適宜
R-Primer (final 700 nM)	適宜
Probe (final 200 nM)	適宜
PCR Grade Water	適宜
	20.0 μ L

推奨品種ファイル (RT-リアルタイムPCR)

Reverse Transfection	42 $^{\circ}$ C	180 s
Initial Denature	95 $^{\circ}$ C	15 s
Denature	95 $^{\circ}$ C	5 s
Annealing/Extension	60 $^{\circ}$ C	20 s

45cycles

リアルタイムPCR

反応組成

Template DNA	2.4 μ L	Template DNA	2.4 μ L
2x KAPA 3G Plant Buffer	10.0 μ L	FastGene™ 2X PG Probe Mix	10.0 μ L
KAPA 3G Plant	1.2 μ L	F-Primer (final 700 nM)	適宜
F-Primer (final 700 nM)	適宜	R-Primer (final 700 nM)	適宜
R-Primer (final 700 nM)	適宜	Probe (final 200 nM)	適宜
Probe (final 200 nM)	適宜	PCR Grade Water	適宜
PCR Grade Water	適宜		20.0 μ L
	20.0 μ L		

推奨品種ファイル (リアルタイムPCR)

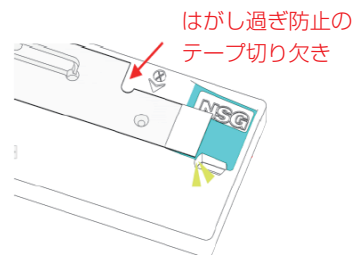
Default	60 $^{\circ}$ C	1 s
Initial Denature	95 $^{\circ}$ C	15 s
Denature	95 $^{\circ}$ C	5 s
Annealing/Extension	60 $^{\circ}$ C	20 s

45cycles

サンプルアプライ

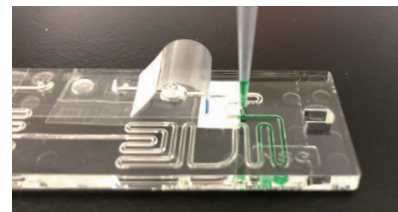
- ① 測定チップを準備し、注入口が露出するまでシールをめくります。（矢印の位置を目安にしてください）

※完全にシールを剥がさないでください。



- ② 注入口から調整済のサンプルを20 μ L注入します。

※測定チップにサンプルをアプライする際はブローアウトしないでください。
測定チップのサンプル注入口に対して真上からサンプルチップを挿入しゆっくり吐き出すことでサンプル溶液は毛細管現象で測定チップにアプライされます。



ポイント!!

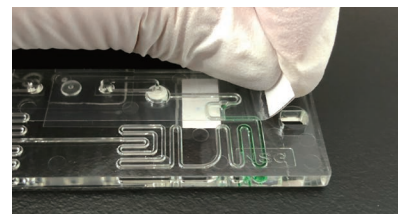


アプライに使用するチップは先端が太い Watson #124P-20S がおすすめです。
先端が細いチップはサンプルが逆流する場合があります。

推奨チップ【Watson #124P-20S】

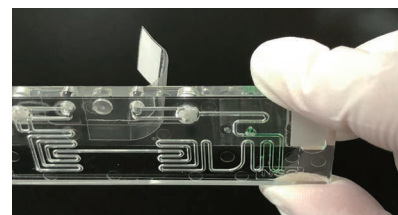


- ③ 剥がしたおもて面テープを元の位置に貼り直します。



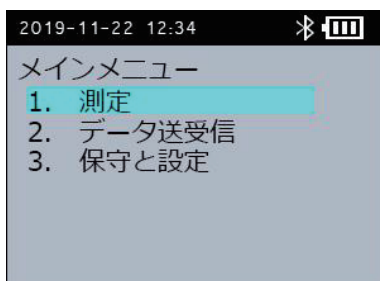
- ④ うら面テープをすべてはがします。

これで測定チップの準備は完了です。



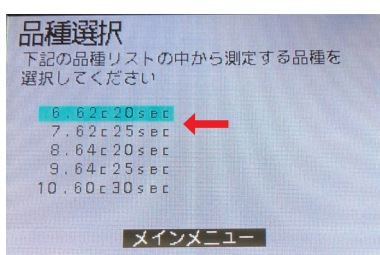
コントロールサンプルを用いたデモンストレーションの実施

- ① 本体の電源を入れ、測定メニューを開く



[メインメニュー]画面で [1. 測定]を選択し、[OK]ボタンを押します。
[サンプル番号入力]画面で [2. なし] (必要な場合は入力)を選択し、[OK]ボタンを押すと、品種 (プロトコル) 選択画面となります。

- ② 品種ファイルを選択する



適切な品種ファイルにカーソルを合わせて選択し、OKボタンを押す。
選択した品種ファイルが表示され、[1.はい]をにカーソルを合わせてOKボタンを押す。

本装置には、以下の品種ファイルがあらかじめ保存されています。測定する対象に合わせて、適切な品種ファイルを選択してください。いずれの品種ファイルもホットスタートは15秒、変性温度は95℃です。

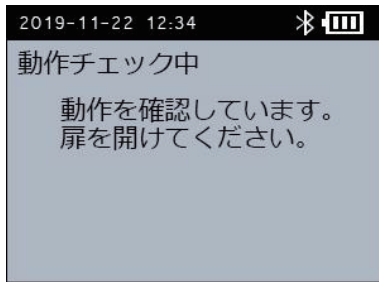
ファイル名	アニール・伸長温度 (℃)	アニール・伸長時間 (秒)	変性時間 (秒)	サイクル数	測定時間目安 (分)
60c07sec	60	7	3	40	10
60c10sec	60	10	3.5	45	14
60c15sec	60	15	4	45	18
62c12sec	62	12	3.5	45	15
62c15sec	62	15	4	45	18
62c20sec	62	20	5	45	23
62c25sec	62	25	5	45	26
64c20sec	64	20	4	45	22
64c25sec	64	25	5	45	26
64c30sec	64	30	5	45	30

上記の品種ファイル以外を使用する場合は、ラン開始時に品種ファイルの内容変更を行っていただくか、パソコンで品種ファイルを調整します。

品種ファイルの内容変更については本操作ガイドP.11の「品種ファイルの変更方法」を参照してください。

パソコンで品種ファイルを調整する場合は、本操作ガイドP.13の「品種ファイルの作成」、またはユーザーズマニュアルの「3.4 品種ファイルの調整」を参照してください。

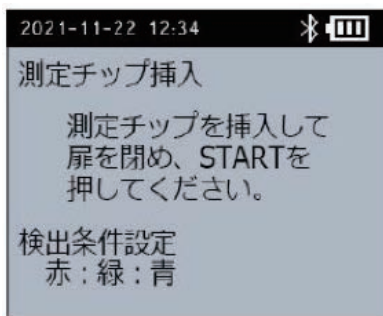
- ③ 品種の選択が完了すると、以下の画面が表示され、動作確認が開始します。



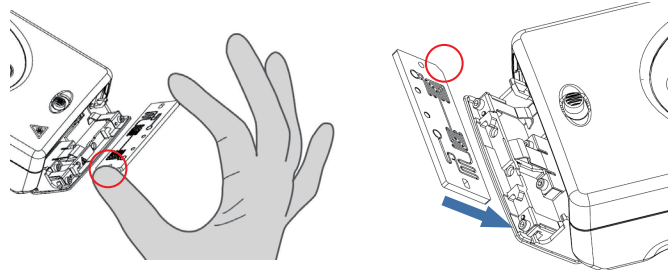
挿入扉を開けて動作確認を行います。

挿入扉を閉めていても動作は完了しますが、開けた状態で動作確認することを推奨します。

- ④ 測定チップを挿入します



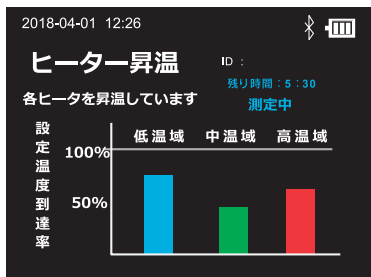
〔測定チップの挿入〕画面が表示されたら、調整したサンプルを注入した測定チップを本装置に挿入します。



注意！

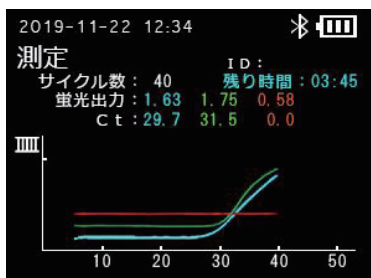
○で囲った欠けた箇所が左下になるように差し込んでください。

- ⑤ 〔START〕ボタンを押し、測定を開始します。



〔ヒーター昇温〕画面が表示されます。

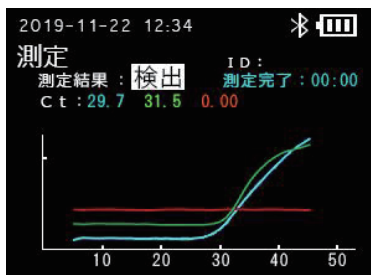
※ヒーターが上がるまで2分ほどかかります。



ヒーターが目標温度に達すると、〔測定〕画面が表示され、測定が開始されます。

※測定途中でも、検出すると「Ct値」が表示されます。

- ⑥ Runの終了



〔測定〕画面に〔測定結果〕が表示されたら測定は完了です。

PCRソフトウェアのインストール / 起動



ソフトウェアの動作環境は以下のとおりです。

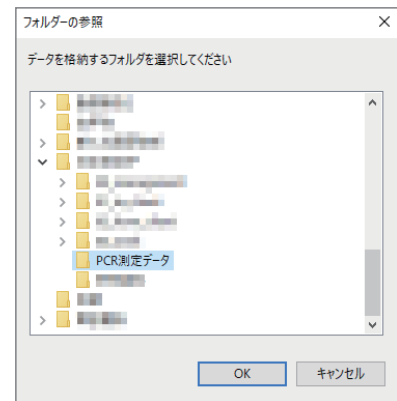
OS : Windows 8/8.1/10/11

Bluetooth : Bluetooth SPPプロファイルに対応している製品やアダプターが必要です。

ソフトウェアは、株式会社ゴーフォトンの製品サイト (<https://www.pcr.gofoton.co.jp>)より会員登録を実施頂き、会員サイトからダウンロードしてください。

(デモ機の場合は、専用USBメモリの中にソフトウェアがごさいます。)

1.  **PcrApr.exe** をPCの任意の場所にコピーします。
2.  **PcrApr.exe** をダブルクリックして起動します。
* 「通信ポート取得：通信ポート番号の取得に失敗しました」のエラーメッセージが表示されますが、OKをクリックします。
3. 各種データの保存先となる任意のフォルダを選択します。
* 事前にフォルダを作成しておくとう便利です。(後で変更も可能です)
4. OKをクリックすると完了です。



データ保存フォルダの設定・変更方法

1. ソフトウェアの [メインメニュー]画面で、[メンテナンスメニュー]ボタンをクリックします。
2. [保存フォルダ変更]ボタンをクリックします。
3. 各種データの保存先となる任意のフォルダを選択し、OKボタンを押します

Bluetooth接続方法

本装置はBluetoothと専用USBでの接続が可能です。(PC接続はBluetoothのみとなります。)

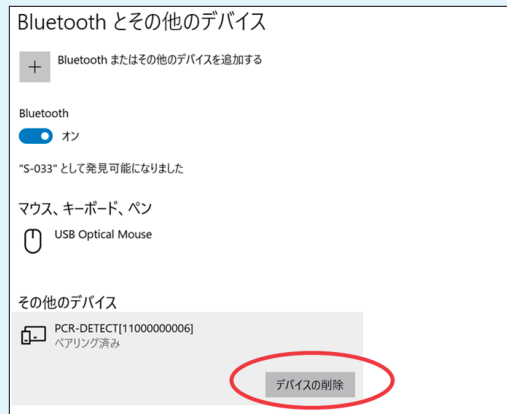
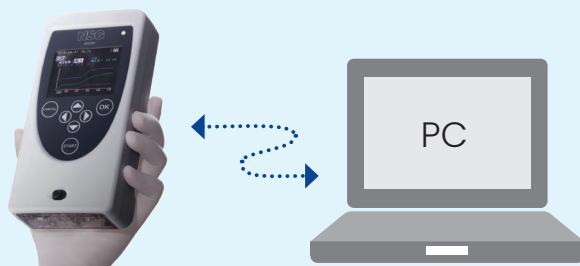
Bluetooth未搭載のPCの場合、市販のBluetoothアダプタ等をご利用ください。

なお、法人等のネットワーク管理下のPCでご利用の場合は、事前にシステム管理者にもご相談いただくことをお奨めいたします。

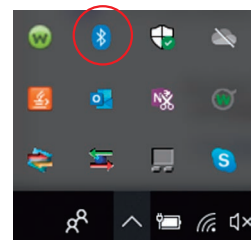
複数台のPicoGeneを使用する場合の注意！

別シリアル番号のPico GeneをPCと接続する場合は、前のシリアル情報が残っていると、通信がうまくいかないことがあります。

一旦PC内の古いシリアル情報を削除し、実際に使用する機器シリアルを改めて登録してください。



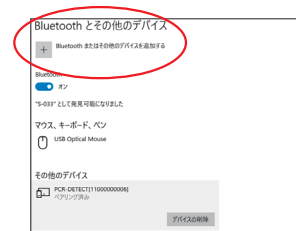
1. パソコン画面右下の [通知領域] のBluetoothアイコンを右クリックし、[Bluetoothデバイスの追加] をクリックします。



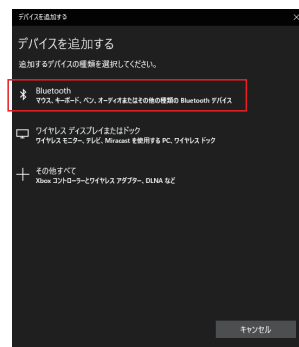
2. 機器本体に電源を入れ、[3. 保守と設定] > [2. BTペアリング] > [1. PC] を選択します。
* 装置の画面に「ペアリング待ち」と表示されます。



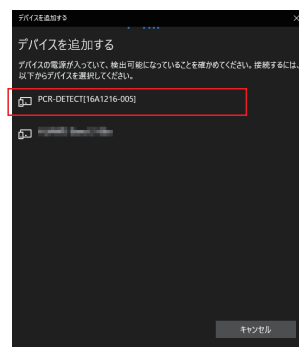
3. PCの [Bluetoothまたはその他のデバイスを追加する] をクリックします。



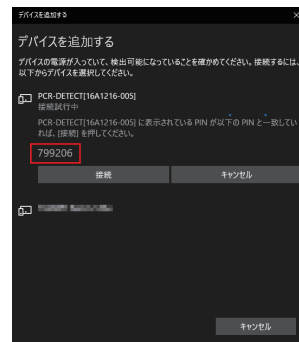
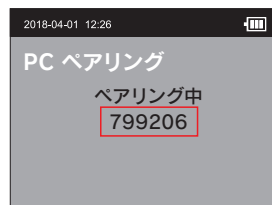
4. [Bluetooth]をクリックする。



5. 接続できる機器一覧が表示されるので、接続したい装置名をクリックする。



6. パソコンと装置の両方に同じペアリングコードが表示されていることを確認する。



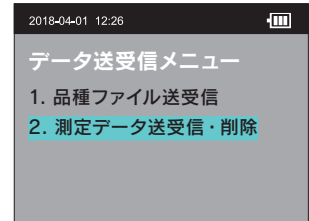
7. [接続]をクリックする。

* ドライバーのインストールが始まります。インストールには数分かかる場合があります。

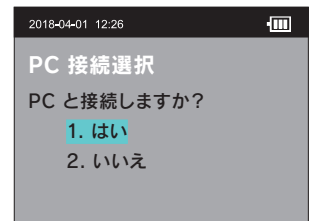
8. ドライバーのインストールが完了したら、Bluetoothの接続は完了です。

Bluetooth接続での測定データのPCへの送信

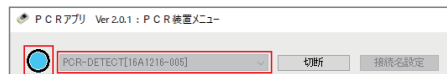
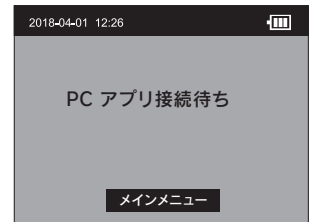
1. Bluetoothがペアリングされた状態でPCのソフトウェアを起動します。
2. 機器本体の〔メインメニュー〕画面より、「2.データ送受信」を選択し、〔OK〕ボタンを押す。
3. 〔2.測定データ送受信・削除〕を選択し、〔OK〕ボタンを押す



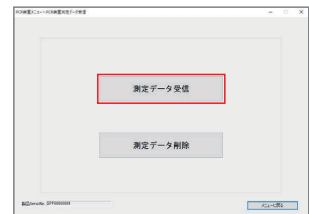
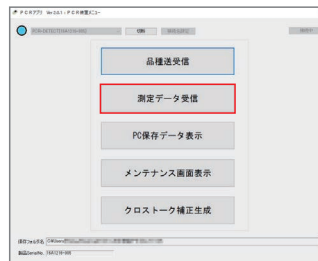
4. 〔1.はい〕を選択し、〔OK〕ボタンを押す



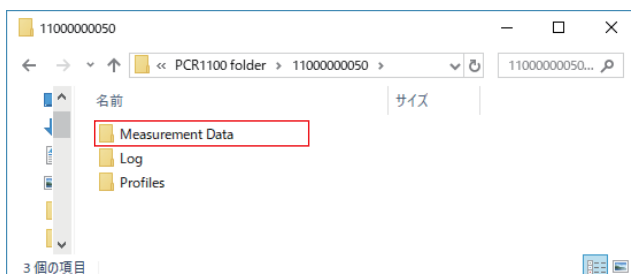
5. 接続に成功すると、PCアプリ接続待ち → PCアプリ接続中に機器本体の画面が変わります。PCのソフトウェア上では左上のマークが水色に変わり、接続中の装置の名称が表示されます。



6. PCのソフトウェアより、「測定データ受信」 → 「測定データ受信」を選択する。



7. 「測定データ受信が完了しました。」のメッセージが表示されたら、〔OK〕ボタンをクリックします。あらかじめ指定したフォルダー内の〔Measurement Data〕フォルダーに、本装置に保存されている測定データがCSV形式で全件保存されます。

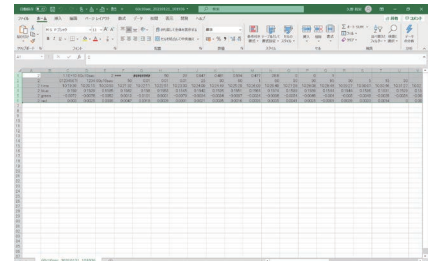


Important

- 測定データは、以下の構成で保存されます。
〔Measurement Data〕フォルダー > 〔品種名〕フォルダー > 〔YYYYMMDD〕フォルダー > ファイル名.csv
- ファイル名は「品種名_測定日 (YYYYMMDD)_測定開始時刻 (hhmmss).csv」の形式で保存されます。

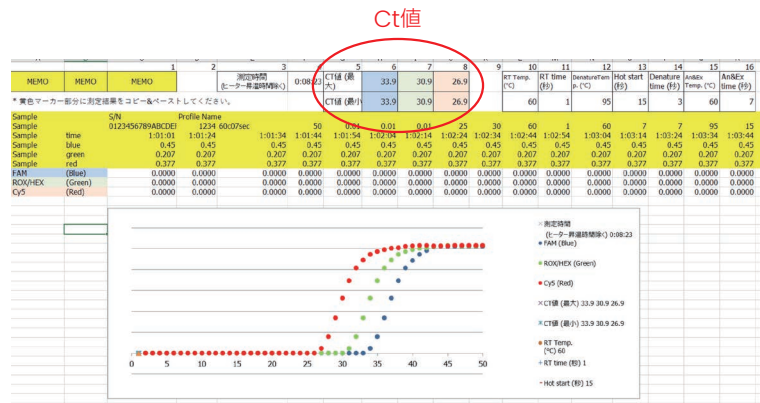
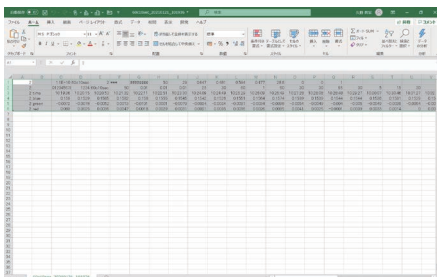
PCでのデータ解析方法

1. データは、ソフトウェアインストール時に設定したフォルダ内に「機器シリアル番号」→「測定データ」→「プロトコルの内容」→「Measurement Data」→「プロトコル」→「日付」のフォルダに、CSVファイルで保存されています。該当のCSVファイルを開きます。



2. 解析用のエクセルは、株式会社ゴーフォトンの会員サイトよりダウンロードしてください（デモ機の場合は専用USBメモリ内にございます）。
「CT_Analyse_Graph」のエクセルを開きます。

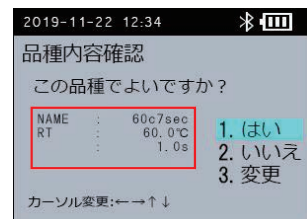
3. 1.で開いたCSVファイルのグレー部分を全てコピーし、2.で開いたグラフ作成エクセルの黄色い部分に貼り付けます。
Ct値の算出とグラフ作成が実施されます。



品種ファイルの変更方法

本体装置上で品種ファイルの条件を変更する事が可能です。

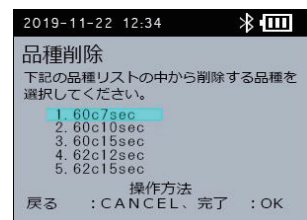
1. 測定開始時の品種ファイル選択時に、「3.変更」を選択し、OKボタンを押します。



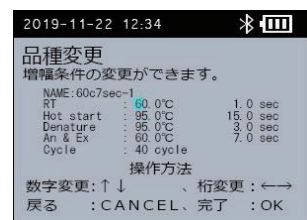
2. PINの入力画面で、999を入力し、OKボタンを押します。



3. 品種ファイルがすでに15種類登録済みの場合は、品種削除画面で不要な品種ファイルを選択し、OKボタンにて削除を実施します。
(登録が14種類以下の場合はこの操作はありません。)

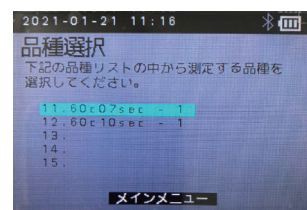


4. 品種変更画面にて、矢印ボタンでプログラムの変更を行い、完了したらOKボタンを押します。



5. 本体の開閉ボタンをスライドし、扉を開けて数秒間待ちます。

6. 「測定チップ挿入」画面が表示されたら、チップを挿入し、扉を閉め、STARTボタンを押します。
* ラン終了後、変更元の品種ファイル名に枝番（-1）が付属した形で、変更した内容の品種ファイルが本体内に保存されます。

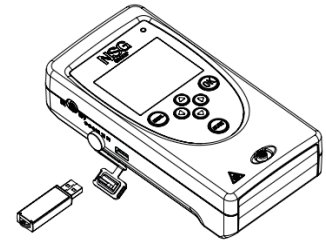


専用USBを用いた測定データの回収

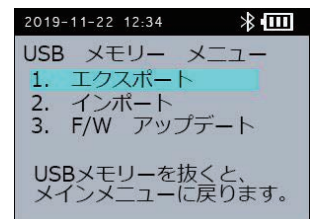
注意!!

USBポートに専用USBメモリー以外の機器やケーブルを接続しないでください。故障の原因となります。

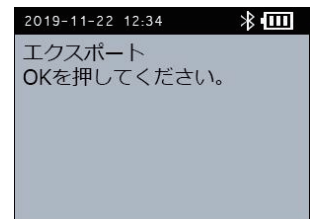
1. 電源を入れた機器本体に専用USBメモリ挿すと、USBメモリメニューが開きます。



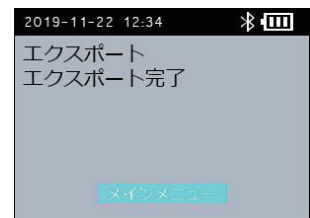
2. 「1. エクスポート」を選択し、OKボタンを押します。



3. エクスポート画面でOKボタンを押すと、本体内のデータがエクスポートされます。



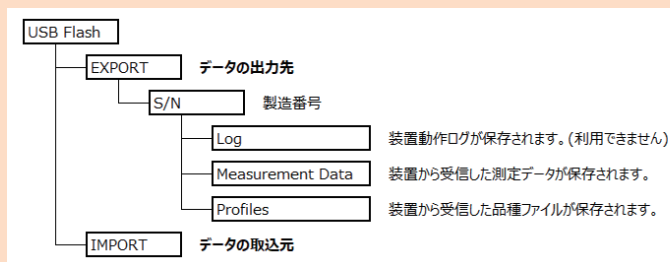
4. エクスポートが完了しましたら、OKボタンを押してUSBメモリメニューに戻り、USBメモリを抜いてください。



5. USBメモリ → EXPORT → 機器シリアル番号 → Measurement Dataフォルダ → プロトコル → 日付のフォルダにデータがございます。

Important

- エクスポート後、USBメモリーのルートに「IMPORT」と「EXPORT」のフォルダが作成されます。
- 本ソフトウェアで設定した保存フォルダと同様に、「EXPORT」フォルダ内には以下のフォルダが作成されます。



- 「Profile」フォルダ：本装置から受信した品種ファイルが保存されます。
- 「Measurement Data」フォルダ：本装置から受信した測定データがCSV形式で保存されます。
- 「Log」フォルダ：本装置から取得したログファイルが保存されます。

品種ファイルの作成

装置にあらかじめ保存されている品種ファイル以外を使用する場合、温度やサイクル数を変更する事が可能です。

注意!!

品種ファイルの数値は初期値に戻せません。品種ファイルの数値を変更する前に、必ずバックアップを取るなどして元のファイルを保存してください。

1. 品種ファイル作成用のエクセルは、株式会社コーフォトンの会員サイトよりダウンロードしてください（デモ機の場合は専用USBメモリ内にございます）。
「Profile Creation」のエクセルを開きます。

2. MATRIXタブのエクセルの黄色の部分に変更するパラメータを入力すると、CSVタブのパラメータが変更されます。

The image shows two screenshots of an Excel spreadsheet. The left screenshot shows the 'Profile Creation_V2.3.0_JP' spreadsheet with a form for entering profile parameters. The right screenshot shows the same spreadsheet with a table of parameters. The 'MATRIX' and 'CSV' tabs are visible at the bottom, with 'MATRIX' selected.

項目	値	判定
Device No. (装置番号)	0123456789ABCDEF	OK
Profile No. (品種番号)	1234	OK
Profile name (品種名)	60c7H3	OK
RT temp. (低温域設定温度)	60.0 °C	OK
RT time (低温域待機時間)	1.0 秒	OK
Denature temp. (高温域設定温度)	95.0 °C	OK
Hot start time (高温域冷却待機時間)	15.0 秒	OK
Denature temp. (高温域設定温度)	95.0 °C	OK
Denature time (高温域待機時間)	3.0 秒	OK
An&Ex temp. (中温域設定温度)	60.0 °C	OK
An&Ex time (中温域待機時間)	7.0 秒	OK
Cycle (測定完了回数)	40 回	OK

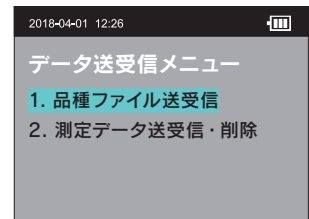
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
Device No.	Profile No.	Profile name	Cycle	Det. sens.	RT temp.	RT time	An&Ex temp.	An&Ex time	Denature temp.	Hot start time	Denature time	Pump Lv.	Predetection Lv.	File rev.	
0123456789ABCDEF	1234	60c7H3	40	1	60	1	60	7	95	15	3	M	50		

3. CSV形式で別名保存します。

品種ファイルの送受信

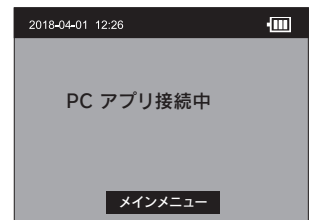
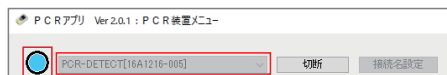
装置にあらかじめ保存されている品種ファイル以外を使用する場合、温度やサイクル数を変更する事が可能です。

1. 機器本体の〔メインメニュー〕画面より、「2.データ送受信」を選択し、〔OK〕ボタンを押す。
2. 〔2.品種ファイル送受信〕を選択し、〔OK〕ボタンを押す



3. 〔1.はい〕を選択し、〔OK〕ボタンを押す

4. 接続に成功すると、PCアプリ接続待ち → PCアプリ接続中に機器本体の画面が変わります。PCのソフトウェア上では左上のマークが水色に代わり、接続中の装置の名称が表示されます。

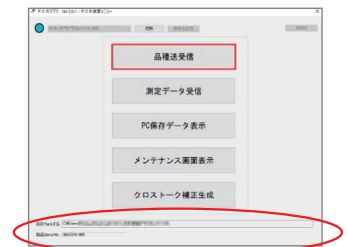


5. ソフトウェアの〔メインメニュー〕画面で、〔品種送受信〕をクリックする。

保存フォルダ C:\Users\Whisano\Desktop\NSG_qPCR\1100000011

製品 SerialNo 1100000011

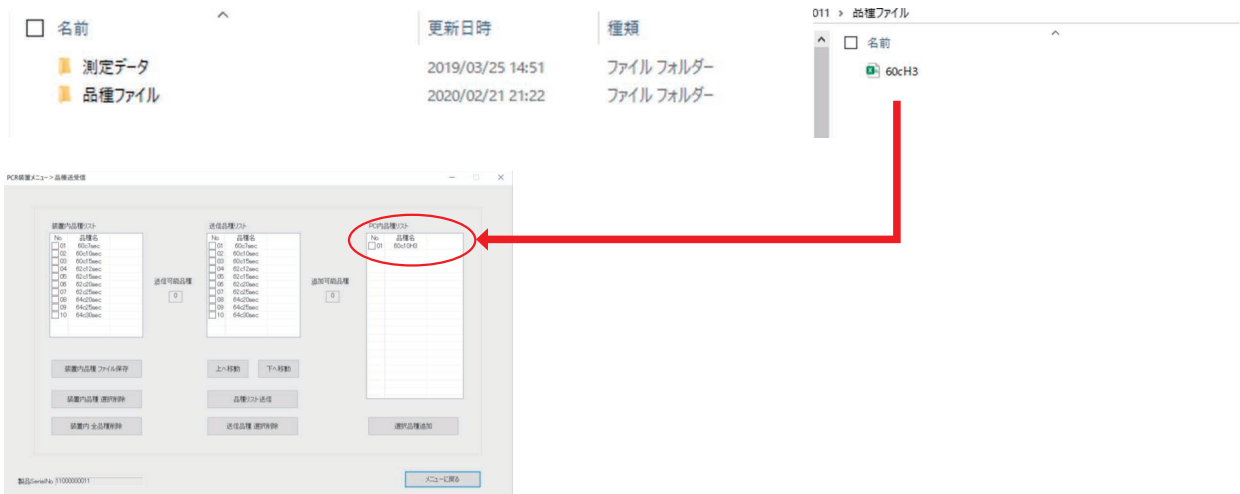
※あらかじめ指定したフォルダに「品種ファイル」フォルダがある事を確認してください。



6. 〔品種送受信〕画面が表示されます



7. [PC内品種リスト]に [品種ファイル]に保存したCSVが表示されます。

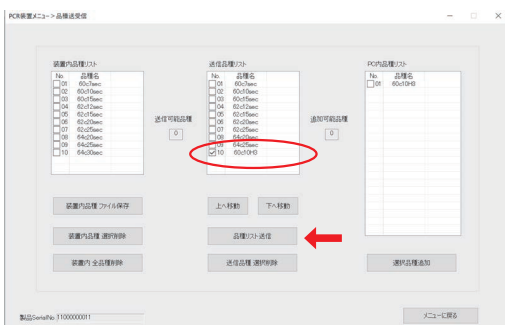


8. 送信する品種ファイルにチェックを付け、[選択品種種類追加]をクリックする。



※送信品種リストには15個のファイルまで送信することができます。
既に15個のファイルが装置内に入っている場合は削除してください。

9. 追加したい品種ファイルが入っていることを確認し、[品種リスト送信]をクリックする。

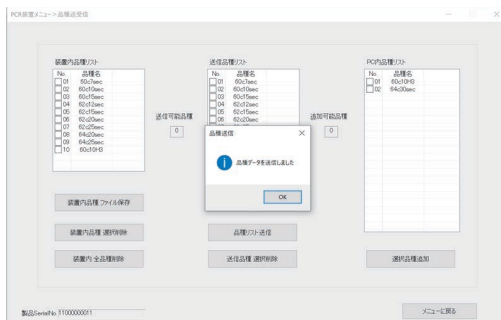


注意!!

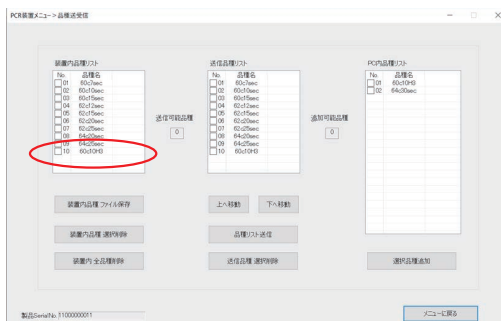
[品種リスト送信]をクリックすると、装置内の品種ファイルが全て削除され、[送信品種リスト]に表示されているファイルに置き換わります。

品種リストを装置に送信する前に、[送信品種リスト]に表示されていない品種ファイルは必ずバックアップを取ってください。

10. 「品種データを送信しました」と表示され、〔OK〕を押します。



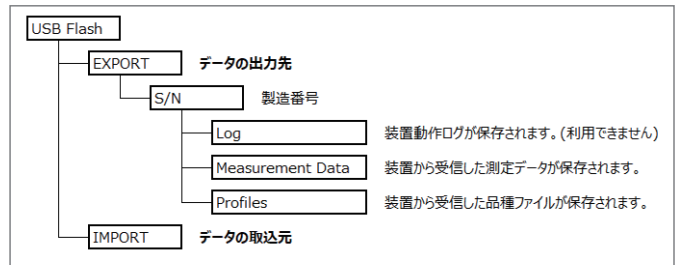
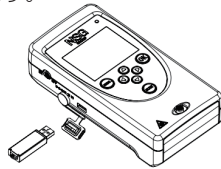
11. 装置内品種ファイルに新しい品種ファイルが追加されます。



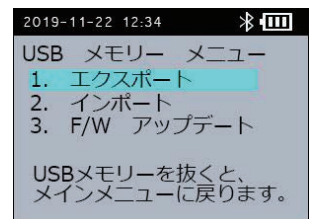
専用USBから品種ファイルを送信する

1. 機器付属のUSBメモリの「IMPORT」のフォルダに、「Profile Creation」のエクセルで作成した品種ファイル（CSV形式で保存したものを）を保存します。

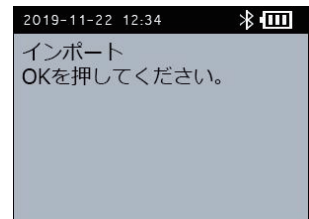
※ USBメモリを機器本体に挿し、インポートやエクスポートなどの通信を実施すると「EXPORT」と「IMPORT」のフォルダが自動で作成されます。



2. 本体の電源を入れ、[メインメニュー]画面で、専用USBメモリーをUSBポートと接続します。
電源を入れた機器本体に専用USBメモリー挿すと、USBメモリーメニューが開きます。



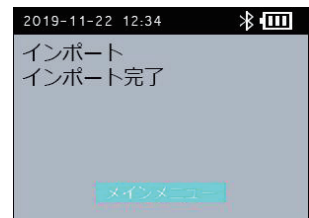
3. [USBメモリーメニュー]画面で [2. インポート]を選択し、[OK]ボタンを押します。



4. [インポート]画面で [OK]ボタンを押します。
[インポート]画面に、「インポート中」と表示されます。



処理が終わると、[インポート]画面に、「インポート完了」と表示されます。



5. [インポート]画面で [OK]ボタンを押すと [USBメモリーメニュー]画面に戻ります。
6. [USBメモリーメニュー]画面で、専用USBメモリーをUSBポートから抜きます。
[メインメニュー]画面に戻ります。これで、インポート作業は完了です。

Important

- USBメモリーにエクスポートした品種ファイルは、USBメモリーからインポートする品種ファイルとして利用できません。
- 「IMPORT」フォルダーには、パソコンで調整した品種ファイルごとのファイルを保存します。一方、「EXPORT」フォルダーには、装置内のすべての品種ファイルを1ファイルで保存されます。

注意!

装置内の品種ファイルがすべて削除され、USBメモリーから送信された品種ファイルのみに書き換えられます。(複数同時送信可能です)
USBの品種ファイルを入れ替える前に、必ずバックアップを取るなどして元のファイルを保存してください。

検出条件を設定する

装置の検出条件を設定します。検出条件は、試料に内部コントロールを含む場合に、常に機器本体上での測定結果が [検出] になることを防止するために使用します。通常はすべての蛍光色素に「有効」を選択してください。

1. 装置の [メインメニュー] 画面で [3. 保守と設定] を選択し、[OK] ボタンを押します。
2. [保守と設定] 画面で [6. 検出条件設定] を選択し、[OK] ボタンを押します。
3. 検出条件設定] 画面で対象の蛍光色素の [無効] / [有効] を選択し、[OK] ボタンを押します。
試料に内部コントロール含む場合：
内部コントロールに該当する色（蛍光色素）を [無効] に変更してください。
試料に内部コントロールを含まない場合：
すべて [有効] に設定をしてください。
4. [保守と設定] 画面に戻ります。
選択した設定が反映されます。

