

ABI PRISM[®] 7900HTシステム

トラブルシューティングガイド (データトラブル)

Rev. A

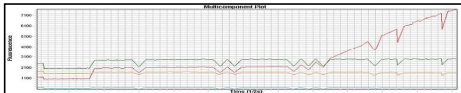
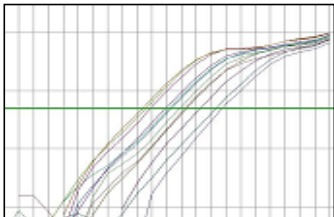
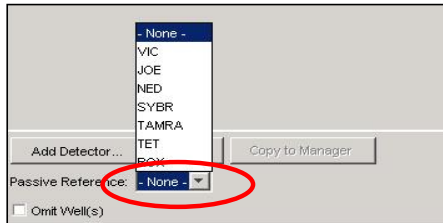
詳細に付いては、添付のユーザーマニュアルを参照ください。

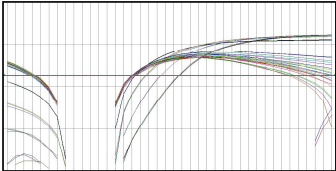
記載の内容は必要に応じて予告無く変更することがあります。

© 2006 Applied Biosystems Japan Ltd.,. All rights reserved.

目次

明らかに異常な形の増幅曲線、解離曲線が得られたケース	・ ・ ・ ・ 3
----------------------------	-----------

症状:	対応:
Amplification Plot及びMulticomponentにノイズ(スパイク)が入る 	スキャンヘッドやCCDカメラにガタがあるとスパイクノイズが入る頻度が高くなります。multicomponentにノイズがある場合、異音がする場合は注意が必要です。 反応ボリュームが極端に少ない場合、Amplification plotがノイズのようになることがあります。 最近の実験データを見直し、コンスタントに出ているようならサービスエンジニアによる点検が必要です。
増幅曲線がおかしい → 蛍光データはきちんと回収されていて、Multicomponentでは増幅が検出されている、もしくはMulticomponent画面上の表示がおかしい場合 Amplification Plotのプラトーが波打つ ばらつきが大きい 	以下の項目を確認して下さい。 1) リポーター蛍光色素、クエンチャー蛍光色素及びパッシブリファレンスの設定 (Well Inspectorで確認します) 2) Baselineが正しく設定されているか 3) 反応ボリュームおよびABの純正試薬を使用しているかどうか 反応ボリュームを減少し、さらに純正試薬をご利用でない場合はROX補正設定が必要になることがあります。Setupタブ内の一番下に表示されているPassive ReferenceをROXからnoneに変更し、再解析を行って下さい。 

症状:	対応:
増幅曲線がおかしい → 増幅曲線が放物線状、二分割 	Baselineの範囲指定が適切でない場合に起こる現象です。Baselineの指定範囲をPCRの蛍光が増加していない領域に設定しなおすか、Auto baselineを用いて再解析してください。
増幅はするものの、だらだらと増え続けてしまう	Multicomponentを確認します。リポーターの蛍光強度が増えている場合は非特異的な増幅が起きている可能性が高いです。無視できる場合は無視して下さい。できない場合はプライマーの再設計が必要になるケースもあります。 ROXシグナルがPCR反応中に低下している場合、補正がうまくかからずにデータへの影響が出ます。反応系に依存すると思われる現象ですので、Core kitをご利用の場合はMaster Mixタイプの試薬へ変更してみてください。Master Mixタイプの試薬をご利用いただいている場合はプライマーの再設計で改善することがあります。
No Template Controlで増幅する	Baseline設定を確認して下さい。 PCRがかかっている場合はmulticomponentでリポーター蛍光がはっきり増加します。この場合は何らかの増幅が起きていることを示しています。 電気泳動でPCRプロダクトの有無及びサイズを確認します。サイズが同じ場合はtemplateのコンタミの可能性がありま。 サイズが違場合はプライマーダイマーやプライマーとプローブの相互作用の可能性がありま。再設計が必要となるかもしれま。 prokaryoteの遺伝子がターゲットの場合、DNA polymerase中にごく微量存在している可能性あるE.coli由来DNAからの増幅も考慮に入れる必要があります。

症状:	対応:
全く増幅しない → 蛍光データはきちんと回収されているが、 Multicomponentでリポーター蛍光が全く増加していない 場合	電気泳動でプロダクトの有無及びサイズを確認して下さい。 ターゲットと同じサイズのプロダクトを電気泳動で確認した場合、プローブがワークしていない可能性があります。プローブが分解してしまっていたり、プローブ自身の設計に問題がある可能性があるため、再設計もしくは再合成します。 まったく増幅していない、もしくは全く関係ないものが増幅している場合、プライマーがワークしていない可能性があります。プライマーを再設計してみてください。