

# 実施例

機種: CFX96 (BIO-RAD社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 10コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

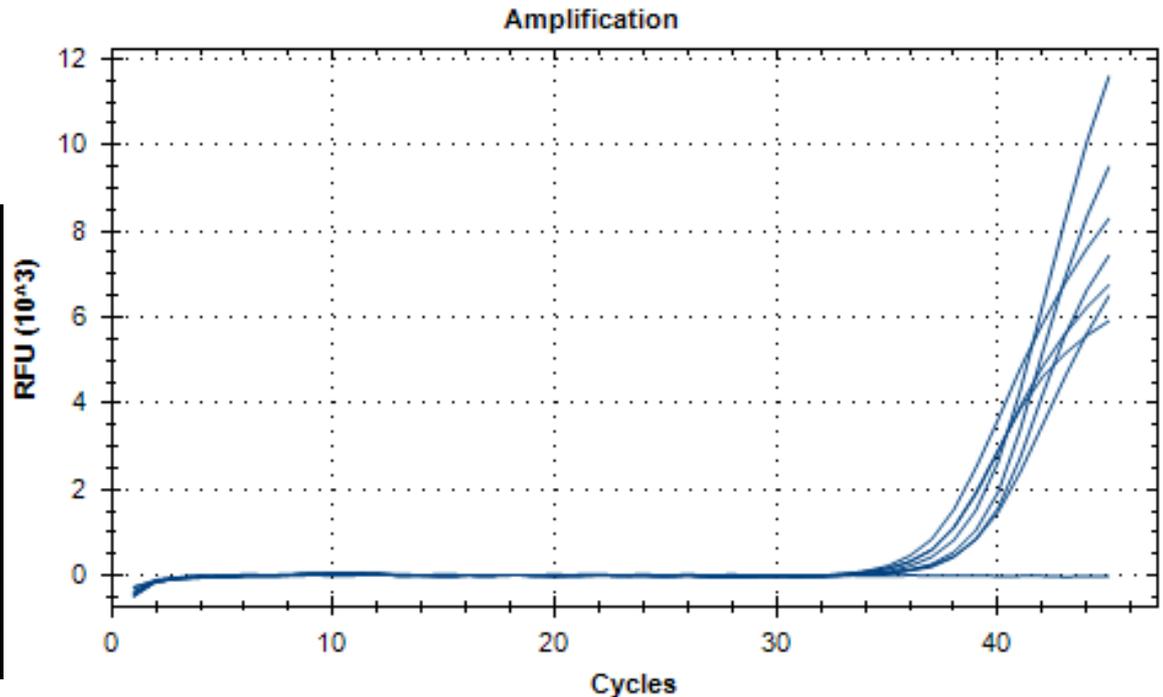
98°C 3sec

60°C 1sec X 45 cycle

## 解析法

2<sup>nd</sup> derivative max

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	37.66	0.76
<i>Mycoplasma arginini</i>	37.39	0.49
<i>Mycoplasma fermentans</i>	35.60	0.22
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	36.91	1.00
<i>Mycoplasma orale</i>	36.50	0.38
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	37.17	0.31
<i>Mycoplasma salivarium</i>	36.42	0.86
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: CFX96 (BIO-RAD社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 10コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

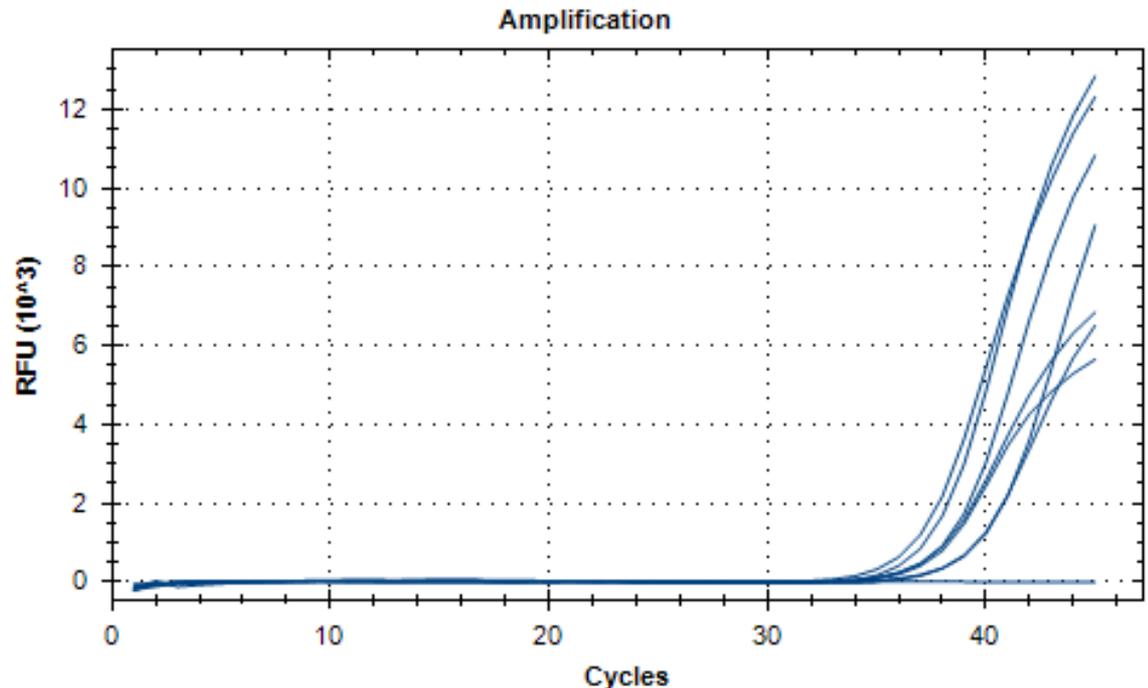
95°C 5sec

60°C 5sec X 45 cycle

## 解析法

2<sup>nd</sup> derivative max

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	38.14	1.22
<i>Mycoplasma arginini</i>	36.58	0.09
<i>Mycoplasma fermentans</i>	35.53	0.42
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	37.11	0.50
<i>Mycoplasma orale</i>	36.74	0.08
<i>Mycoplasma hyorhinitis</i>	36.51	0.32
<i>Mycoplasma salivarium</i>	37.04	0.91
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: CFX96 (BIO-RAD社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

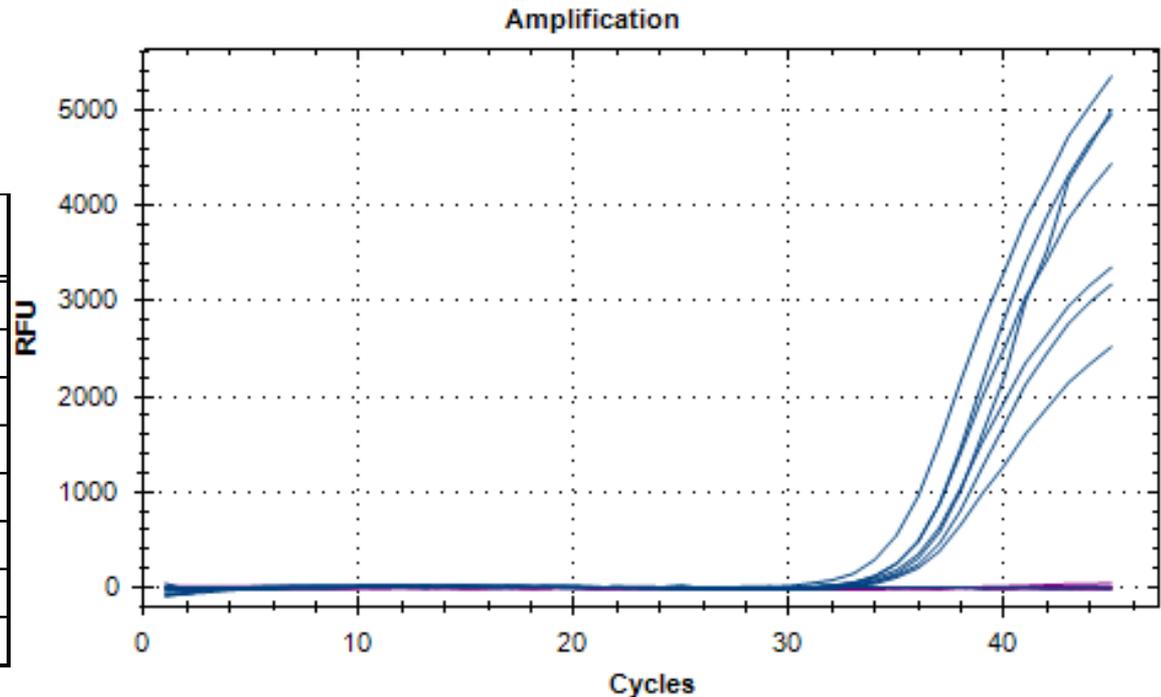
98°C 3sec

60°C 1sec X 45 cycle

## 解析法

2<sup>nd</sup> derivative max

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	36.24	0.48
<i>Mycoplasma arginini</i>	34.25	0.08
<i>Mycoplasma fermentans</i>	33.53	0.27
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	35.13	0.58
<i>Mycoplasma orale</i>	35.55	0.60
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	34.98	0.13
<i>Mycoplasma salivarium</i>	34.56	0.18
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: CFX96 (BIO-RAD社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

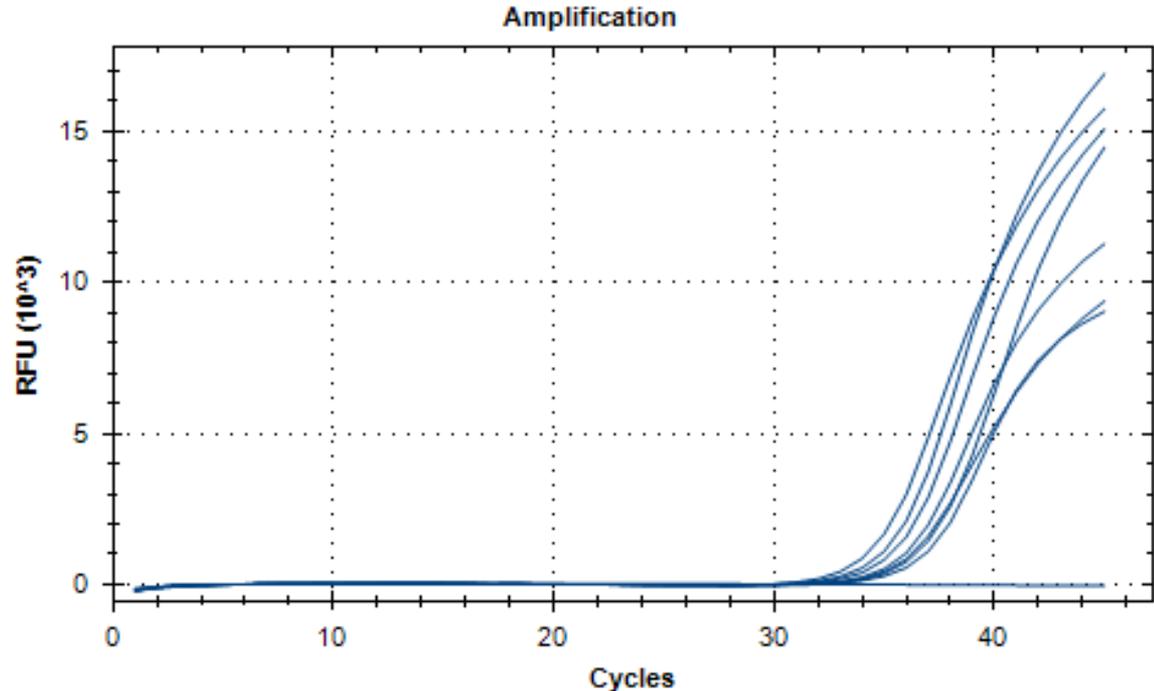
95°C 5sec

60°C 5sec X 45 cycle

## 解析法

2<sup>nd</sup> derivative max

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	36.08	0.52
<i>Mycoplasma arginini</i>	34.90	0.31
<i>Mycoplasma fermentans</i>	33.51	0.19
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	34.78	0.20
<i>Mycoplasma orale</i>	34.76	0.09
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	35.26	0.58
<i>Mycoplasma salivarium</i>	34.52	0.52
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: GVP9600 (SHIMADZU社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

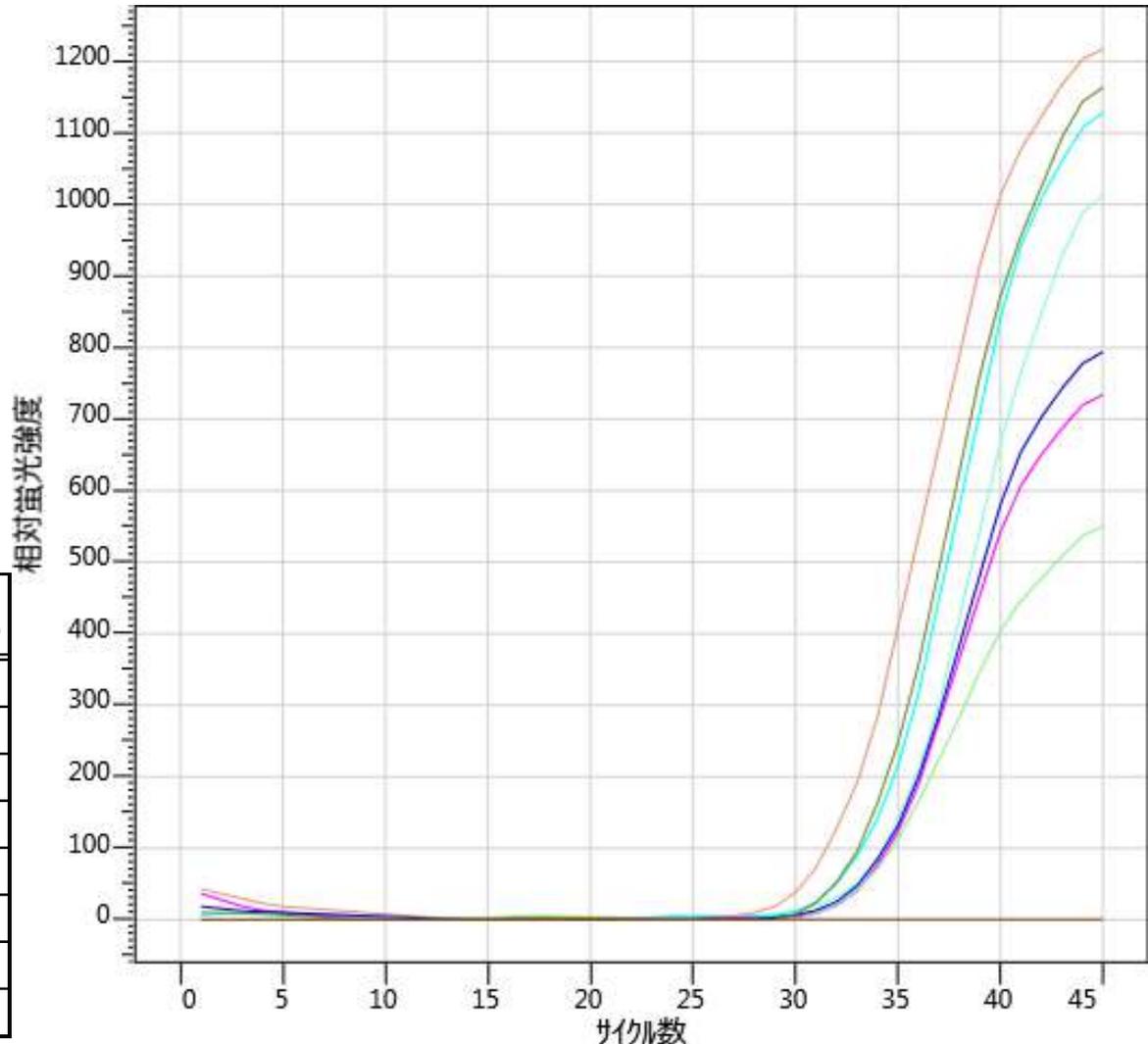
95°C 1sec

60°C 5sec X 45 cycle

## 解析法

2<sup>nd</sup> derivative max

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	34.68	0.05
<i>Mycoplasma arginini</i>	33.94	0.29
<i>Mycoplasma fermentans</i>	31.91	0.05
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	34.62	0.88
<i>Mycoplasma orale</i>	35.07	0.10
<i>Mycoplasma hyorhinitis</i>	34.77	0.36
<i>Mycoplasma salivarium</i>	32.99	0.44
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: GVP9600 (SHIMADZU社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 10コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

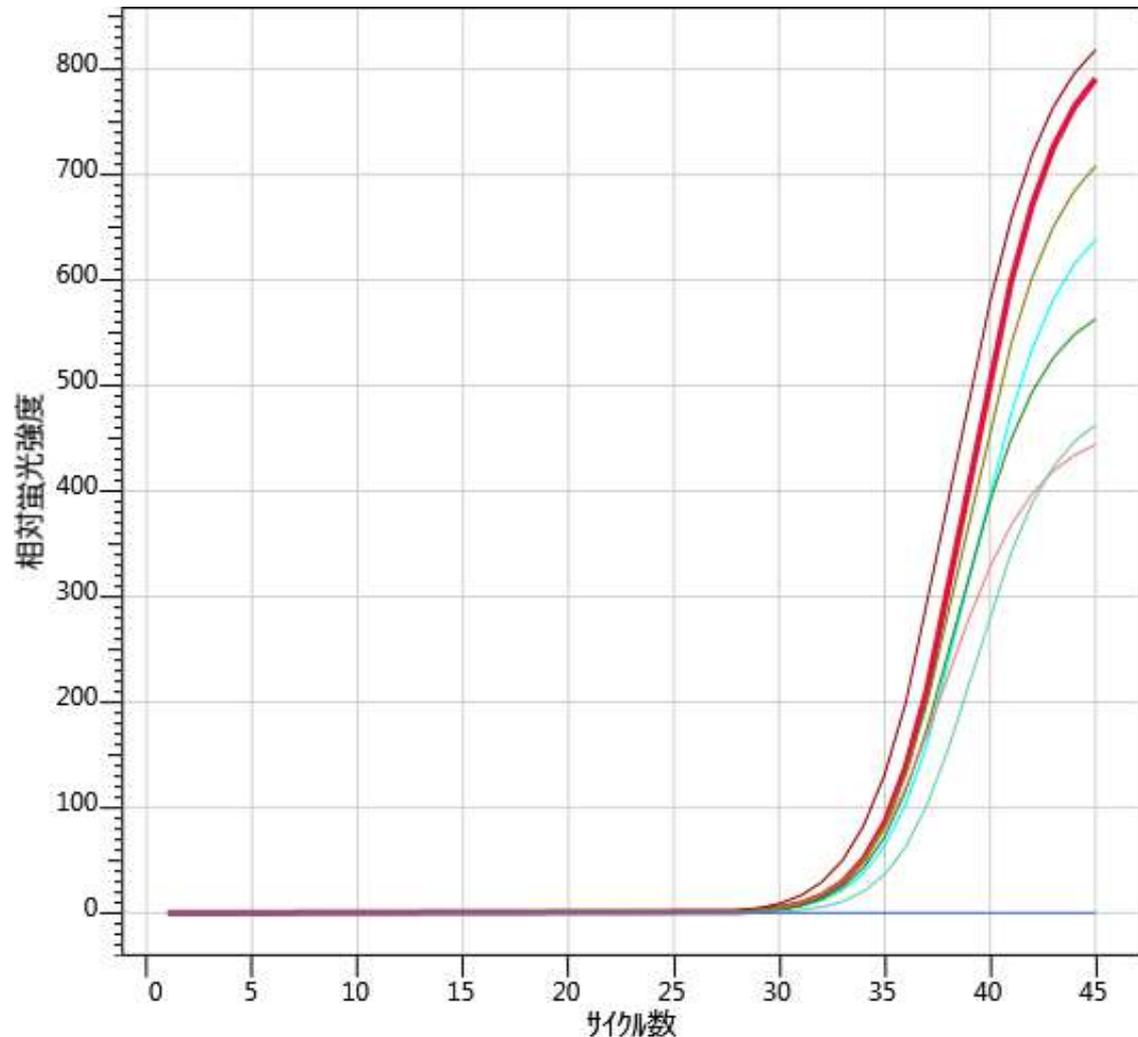
95°C 5sec

60°C 5sec X 45 cycle

## 解析法

2<sup>nd</sup> derivative max

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=4)	Cq値SD (N=4)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	36.82	0.36
<i>Mycoplasma arginini</i>	36.22	0.17
<i>Mycoplasma fermentans</i>	35.16	0.26
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	35.78	0.24
<i>Mycoplasma orale</i>	35.53	0.60
<i>Mycoplasma hyorhinitis</i>	36.48	0.57
<i>Mycoplasma salivarium</i>	35.97	0.65
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: LightCycler96 (ROCHE社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

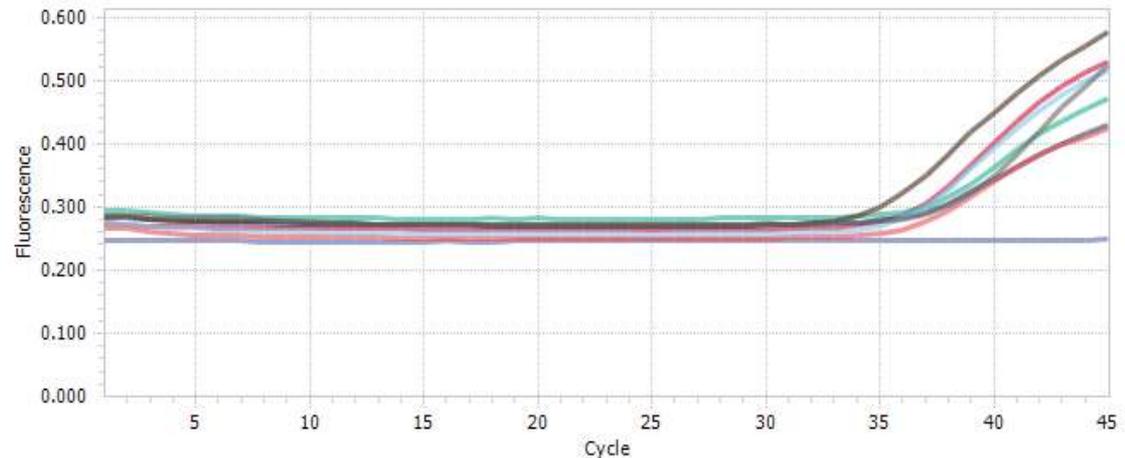
95°C 5sec

60°C 5sec X 45 cycle

## 解析法

Single Threshold

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	34.29	5.93
<i>Mycoplasma arginini</i>	34.70	0.29
<i>Mycoplasma fermentans</i>	33.58	0.37
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	35.91	0.36
<i>Mycoplasma orale</i>	36.18	0.31
<i>Mycoplasma hyorhinitis</i>	36.04	0.34
<i>Mycoplasma salivarium</i>	34.89	0.61
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: LightCycler480 (Roche社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

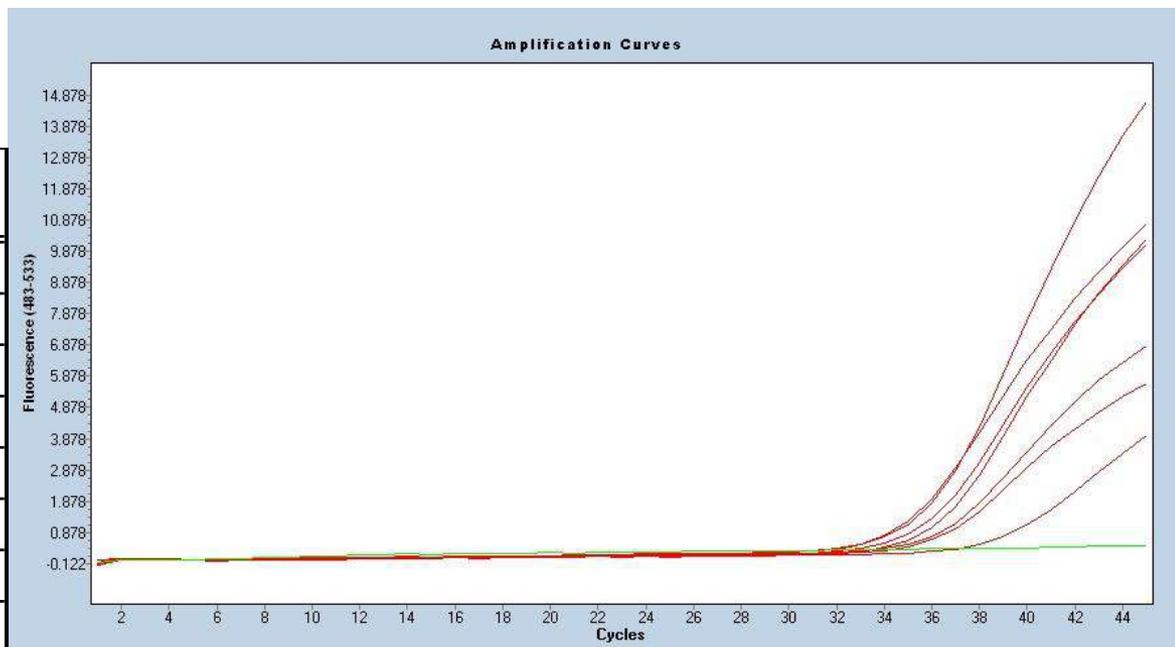
95°C 5sec

60°C 5sec X 45 cycle

## 解析法

2<sup>nd</sup> derivative max

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	35.72	0.17
<i>Mycoplasma arginini</i>	35.65	0.40
<i>Mycoplasma fermentans</i>	34.72	0.15
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	35.70	0.42
<i>Mycoplasma orale</i>	37.14	1.67
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	36.08	0.39
<i>Mycoplasma salivarium</i>	35.32	0.42
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種 : LightCycler480 (Roche社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

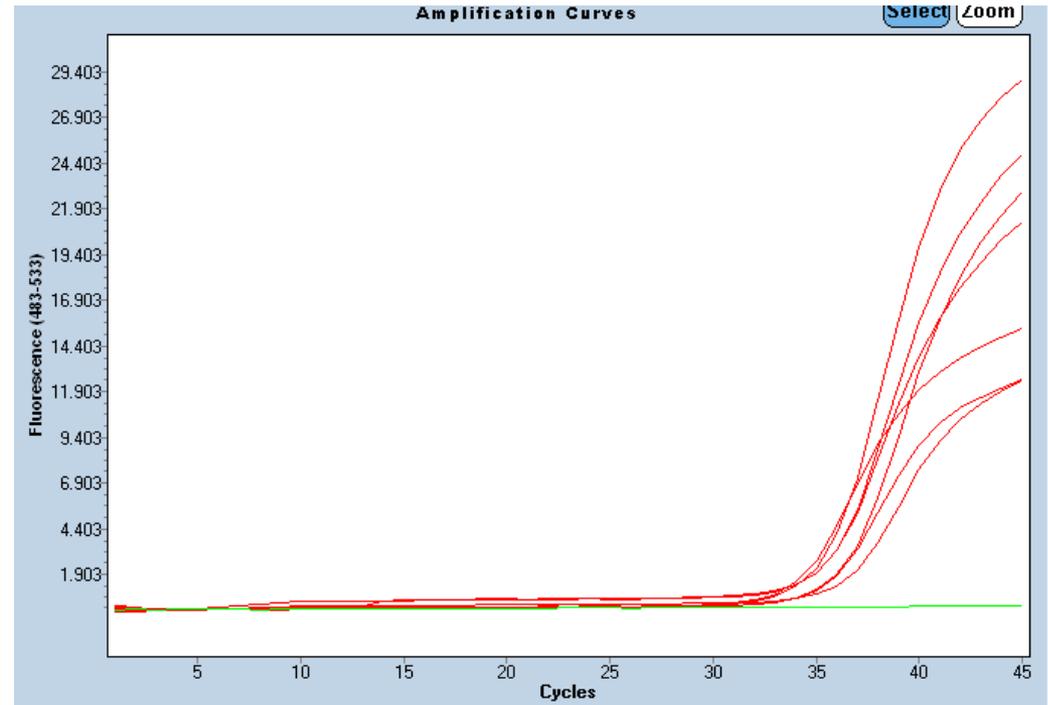
95°C 5sec

60°C 30sec X 45 cycle

## 解析法

2<sup>nd</sup> derivative max

Mycoplasma set	Ct Mean (N=3)	Ct SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	35.09	0.19
<i>Mycoplasma arginini</i>	35.28	0.35
<i>Mycoplasma fermentans</i>	35.01	0.23
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	33.59	0.18
<i>Mycoplasma orale</i>	36.65	0.50
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	35.39	0.21
<i>Mycoplasma salivarium</i>	36.07	0.31
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: ABI 7500 FAST (Thermo Fisher社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

95°C 5sec

60°C 25sec X 45 cycle

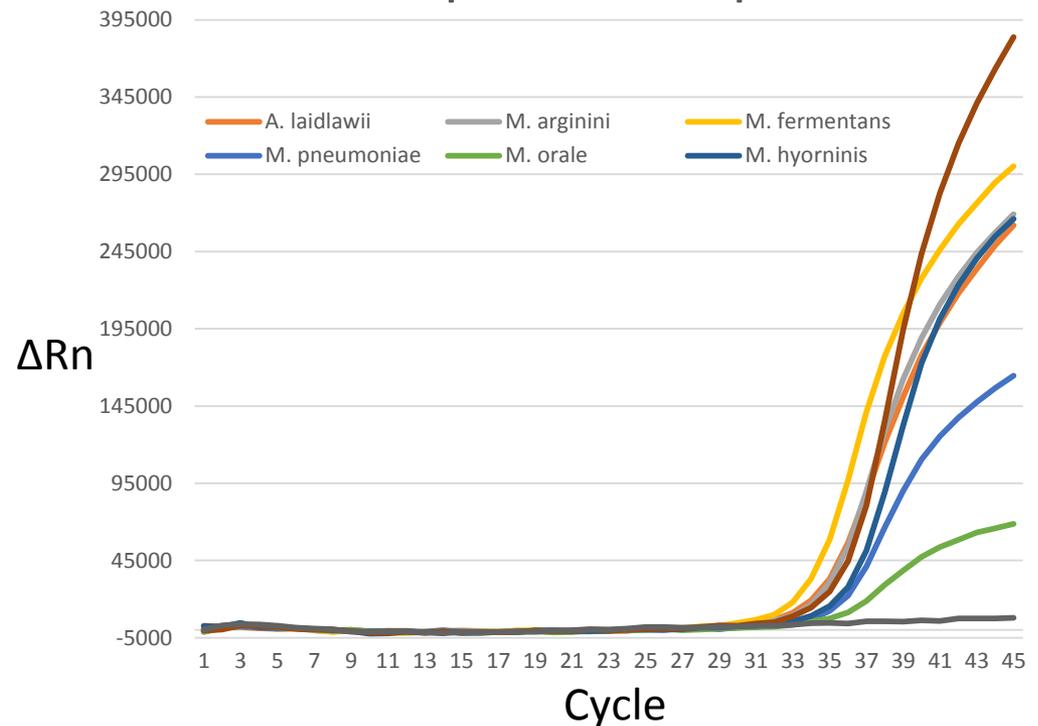
## 解析法

Single Threshold

Sample Name	C <sub>T</sub> Mean	C <sub>T</sub> SD
<i>A. laidlawii</i>	32.33387	1.403156
<i>M. arginini</i>	32.6103	0.837221
<i>M. fermentans</i>	31.63796	0.999736
<i>M. pneumoniae</i>	34.29044	0.649584
<i>M. orale</i>	35.16909	0.987106
<i>M. hyorninis</i>	33.80061	0.590391
<i>M. salivarium</i>	32.77864	0.863554
Negative control	-	

N=3

## Amplification plot



# 実施例

機種: StepOne Plus (Thermo Fisher社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

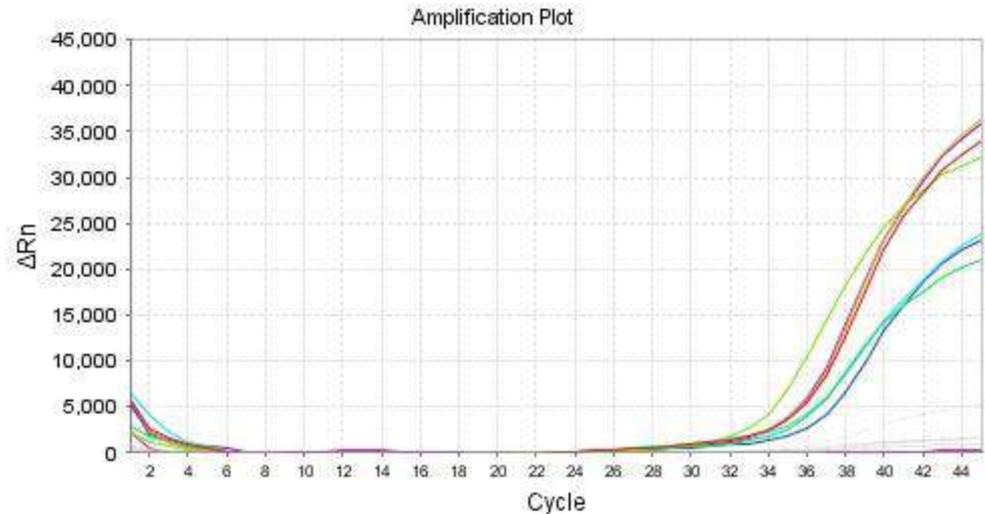
98°C 3sec

60°C 10sec X 45 cycle

## 解析法

Single Threshold

Mycoplasma set	C <sub>T</sub> Mean (N=3)	C <sub>T</sub> SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	35.18	0.18
<i>Mycoplasma arginini</i>	35.07	0.32
<i>Mycoplasma fermentans</i>	34.02	0.16
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	36.18	0.32
<i>Mycoplasma orale</i>	36.46	0.46
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	36.89	0.29
<i>Mycoplasma salivarium</i>	35.34	0.26
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: ABI7500 (Thermo Fisher社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載予定 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 10コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

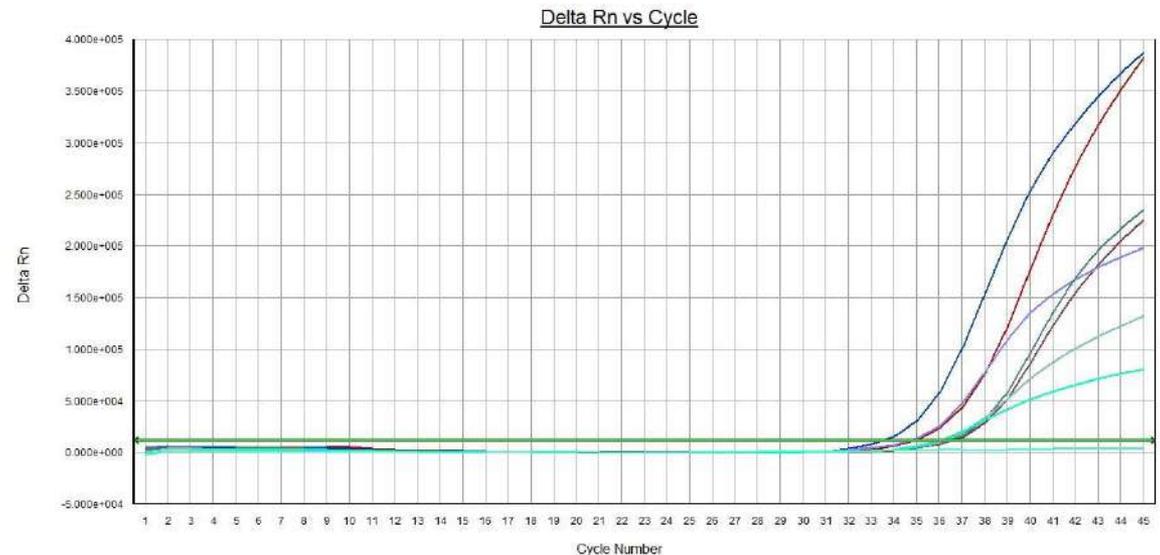
95°C 5sec

60°C 32sec X 45 cycle

## 解析法

Single Threshold

Mycoplasma set	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
Acholeplasma laidlawii	34.63	0.26
Mycoplasma arginini	35.14	1.27
Mycoplasma fermentans	33.20	0.32
Mycoplasma pneumoniae	34.62	0.26
Mycoplasma orale	36.05	0.42
Mycoplasma hyorhinis	36.30	0.82
Mycoplasma salivarium	35.72	0.53



Selected Detector: Myco1; Start: (Auto); End: (Auto); Threshold: 11967.20019631  
Well(s): A1,B1,C1,D1,E1,F1,G1,H1  
Document: 20170306-Mycfinder-test2 (Standard Curve)

# 実施例

機種 : QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific社)

## サンプル

第17改正 日本薬局方記載 マイコプラズマ 7菌株 標準DNA 50コピー/rxn

## PCRプログラム

95°C 10sec

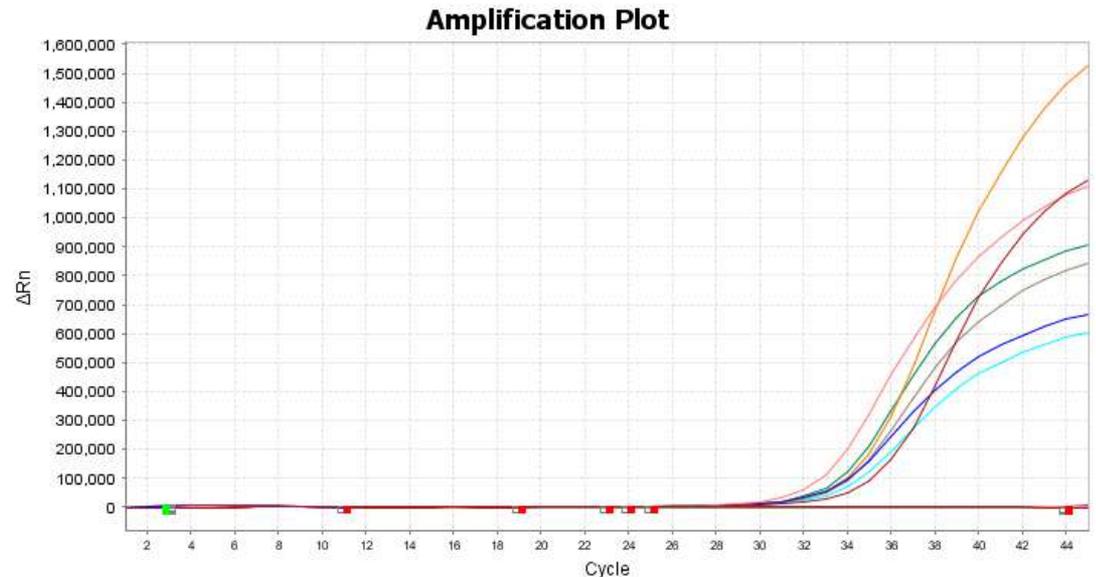
98°C 3sec

60°C 15sec X 45 cycle

## 解析法

Single Threshold

Mycoplasma set	C <sub>T</sub> Mean (N=3)	C <sub>T</sub> SD (N=3)
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	34.70	0.43
<i>Mycoplasma arginini</i>	32.11	0.33
<i>Mycoplasma fermentans</i>	33.41	0.51
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	33.39	0.19
<i>Mycoplasma orale</i>	33.34	0.26
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	32.73	0.13
<i>Mycoplasma salivarium</i>	33.47	0.24
Negative control	0.00	0.00



# 実施例

機種: CFX Connect (BIO-RAD社)

## サンプル

第18改正 日本薬局方記載 マイコプラズマ 7菌株

10 CFU/mL マイコプラズマ添加 細胞懸濁液からの核酸抽出液

## PCRプログラム

95°C 10sec

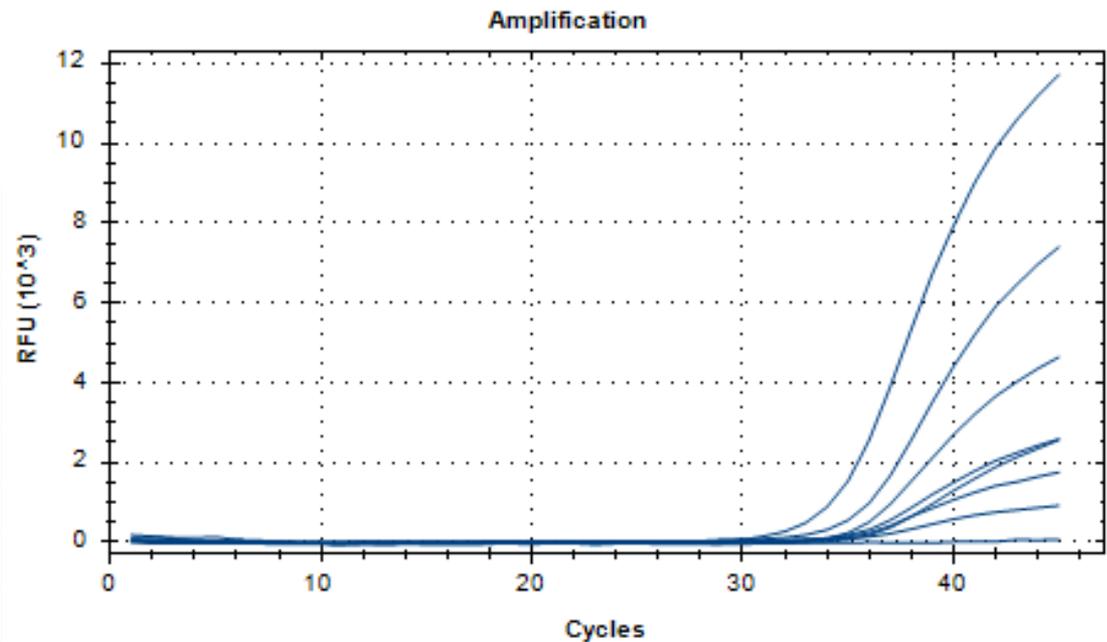
98°C 3sec

60°C 1sec X 45 cycle

## 解析法

Regression

Mycoplasma	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Mycoplasma arginini</i>	34.24	0.32
<i>Mycoplasma orale</i>	34.18	0.39
<i>Mycoplasma salivarium</i>	35.07	0.59
<i>Mycoplasma hyorhinitis</i>	34.76	1.48
<i>Mycoplasma fermentans</i>	34.52	0.19
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	35.06	0.82
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	33.69	0.47
Negative control	N/A	N/A



# 実施例

機種: CFX Opus 96 (BIO-RAD社)

## サンプル

第18改正 日本薬局方記載 マイコプラズマ 7菌株

10 CFU/mL マイコプラズマ添加 細胞懸濁液からの核酸抽出液

## PCRプログラム

95°C 10sec

98°C 3sec

60°C 1sec X 45 cycle

## 解析法

Regression

Mycoplasma	Cq値平均 (N=3)	Cq値SD (N=3)
<i>Mycoplasma arginini</i>	32.45	0.70
<i>Mycoplasma orale</i>	31.67	0.80
<i>Mycoplasma salivarium</i>	30.69	0.94
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	33.12	0.33
<i>Mycoplasma fermentans</i>	30.39	0.37
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	33.56	0.28
<i>Achoreplasma laidlawii</i>	31.82	1.78
Negative control	N/A	N/A

