	วิธีการปฏิบัติงาน	ครั้งที่แก้ไข	: 00
	หมายเลขเอกสาร	วันที่บังคับใช้	: 9 กรกฎาคม 2563
	WI-RIC-OP02-25	หน้า	: หน้า 1 จาก 10
ชื่อเรื่อง : วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR			




## วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR

### ศูนย์เครื่องมือวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้จัดทำ:	นายต้นกล้า อินสว่าง นักวิชาการวิทยาศาสตร์	นางสาวสาวินี นาสมภ์ดี นักวิชาการวิทยาศาสตร์
ผู้ทบทวน:	นางสาวอิสยาภรณ์ ประสารกุลนันท์ รักษาการผู้จัดการ ศูนย์เครื่องมือวิจัย	ศาสตราจารย์ผิวพรรณ มาลีวงษ์ ผู้ช่วยอธิการฝ่ายวิจัยและบัณฑิตศึกษา
		ศาสตราจารย์ มนต์ชัย ดวงจินดา รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและบัณฑิตศึกษา



	<b>วิธีการปฏิบัติงาน</b>	ครั้งที่แก้ไข	:	00
	<b>หมายเลขเอกสาร</b>	วันที่บังคับใช้	:	9 กรกฎาคม 2563
	<b>WI-RIC-OP02-25</b>	หน้า	:	หน้า 3 จาก 10
<b>ชื่อเรื่อง</b> : วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR				

## 1. วัตถุประสงค์ (OBJECTIVE)

- 1.1 เพื่อเป็นมาตรฐานวิธีปฏิบัติงานในการใช้เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบสภาพจริง (Real-time PCR) รุ่น Biorad CFX96 ให้เป็นไปตามขั้นตอนที่กำหนด
- 1.2 เพื่อเป็นมาตรฐานวิธีปฏิบัติในการบำรุงรักษาเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบสภาพจริง (Real-time PCR) รุ่น Biorad CFX96 เพื่อให้การตรวจวิเคราะห์มีคุณภาพ และเครื่องมือมีอายุการใช้งานที่ยาวนาน

## 2. ขอบเขต (SCOPE)

วิธีปฏิบัติงานนี้ใช้สำหรับการให้บริการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Real-time PCR รุ่น Biorad CFX96 ของศูนย์เครื่องมือวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ครอบคลุมการปฏิบัติงาน โดยเริ่มตั้งแต่ คำจำกัดความ สภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ ขั้นตอนการปฏิบัติงาน การตรวจสอบผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง การรายงานผลการวิเคราะห์ และการดูแลรักษาเครื่องมือให้มีสภาพพร้อมใช้งาน

## 3. เอกสารอ้างอิง (REFERENCE DOCUMENTS)


- 3.1 เอกสารระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การบำรุงรักษาเชิงป้องกัน และสอบเทียบเครื่องมือวิจัย (QP-RIC-OP-01)
- 3.2 เอกสารระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การให้บริการเครื่องมือ วิเคราะห์ตัวอย่าง และรายงานผล (QP-RIC-OP-02)
- 3.3 คู่มือเครื่อง Real-time PCR (SD-RIC-OP02-25)

## 4. คำจำกัดความ (DEFINITIONS)

- 4.1. ตัวอย่าง หมายถึง สารพันธุกรรมตั้งต้นที่นำมาเพิ่มปริมาณด้วยเครื่อง Real-time PCR รุ่น Biorad CFX96
- 4.2. ผลการวิเคราะห์ หมายถึง ค่าหรือผลลัพธ์ของคุณลักษณะเฉพาะที่ได้จากการตรวจวัด หรือวิเคราะห์ โดย Real-time PCR รุ่น Biorad CFX96 ที่เสร็จสมบูรณ์

## 5. สภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ

ต้องเป็นสภาพห้องที่แห้ง อุณหภูมิ 25 องศา

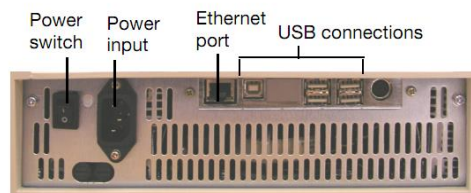
	<b>วิธีการปฏิบัติงาน</b>	ครั้งที่แก้ไข : 00
	<b>หมายเลขเอกสาร</b> <b>WI-RIC-OP02-25</b>	วันที่บังคับใช้ : 9 กรกฎาคม 2563
		หน้า : หน้า 4 จาก 10
<b>ชื่อเรื่อง</b> : วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR		

## 6. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (PROCEDURE)



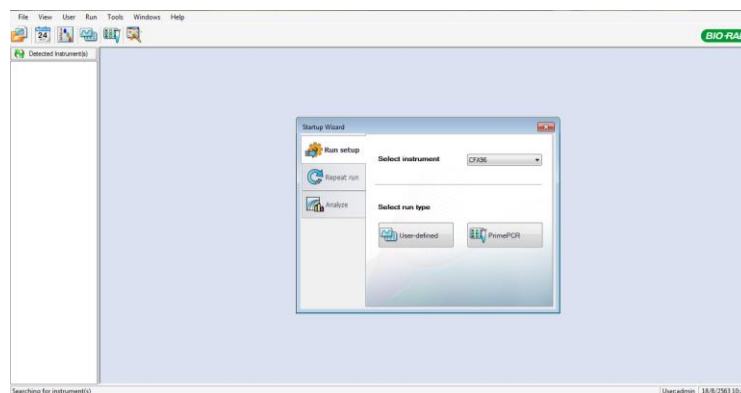
### 6.1. การใช้งานเครื่อง Real-time PCR


- 1) เปิดเครื่อง Real-time PCR (ปุ่มหลังเครื่อง)
- 2) เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ และเปิดโปรแกรม CFX manager จากหน้าจอคอมพิวเตอร์



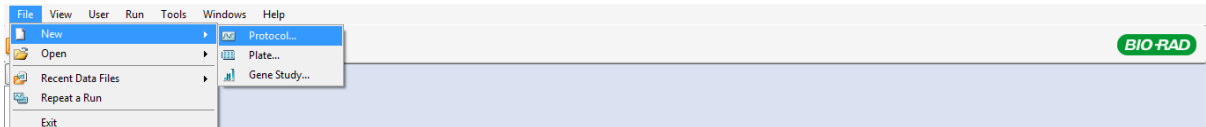
### 6.2. การสร้าง Protocol file

- 1) เมื่อโปรแกรมเปิดขึ้นมา จะแสดงหน้าจอตั้งภาพ

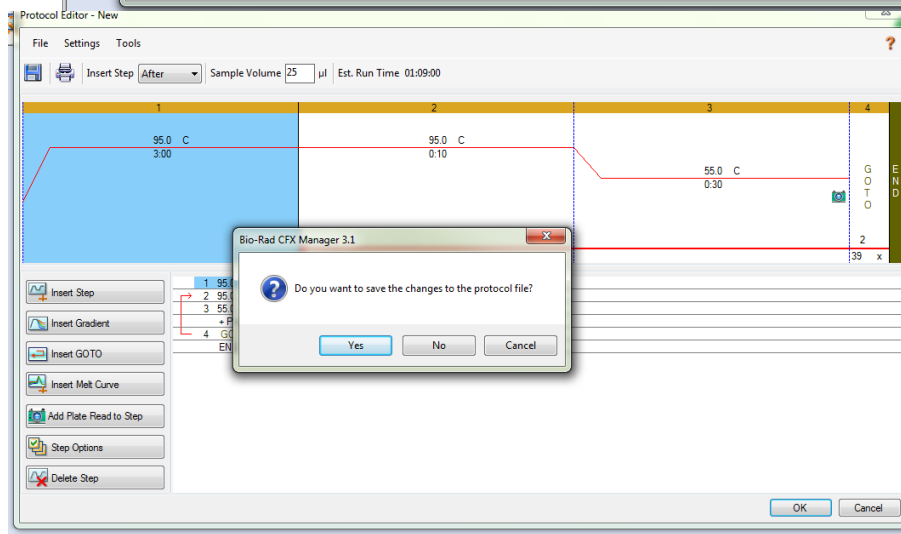
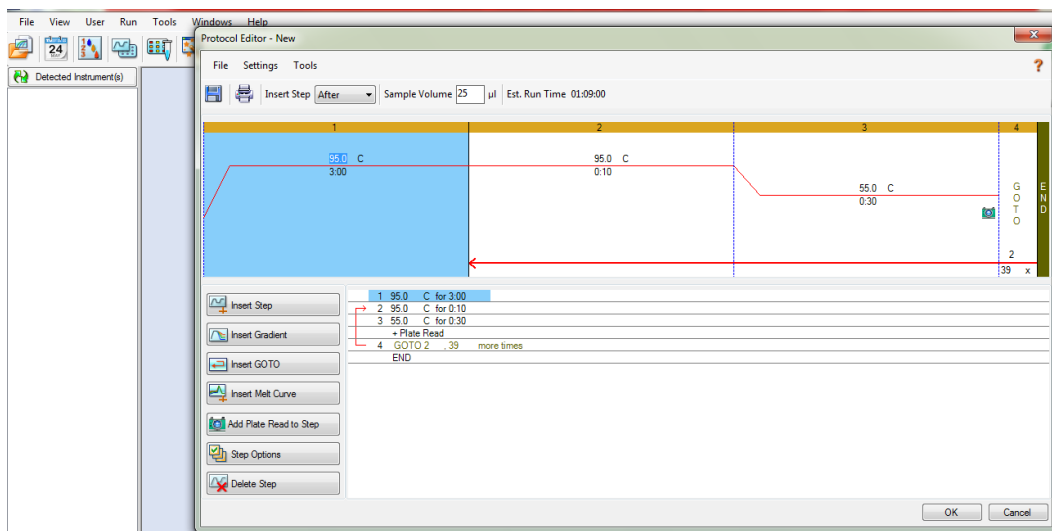


	<b>วิธีการปฏิบัติงาน</b>	ครั้งที่แก้ไข : 00
	<b>หมายเลขเอกสาร</b> <b>WI-RIC-OP02-25</b>	วันที่บังคับใช้ : 9 กรกฎาคม 2563
		หน้า : หน้า 5 จาก 10
<b>ชื่อเรื่อง</b> : วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR		


2) ปิดหน้าต่างเมนูตรงกลาง และ เลือก File แถบ Tool Bar จากนั้นเลือก New เลือกแถบคำว่า Protocol



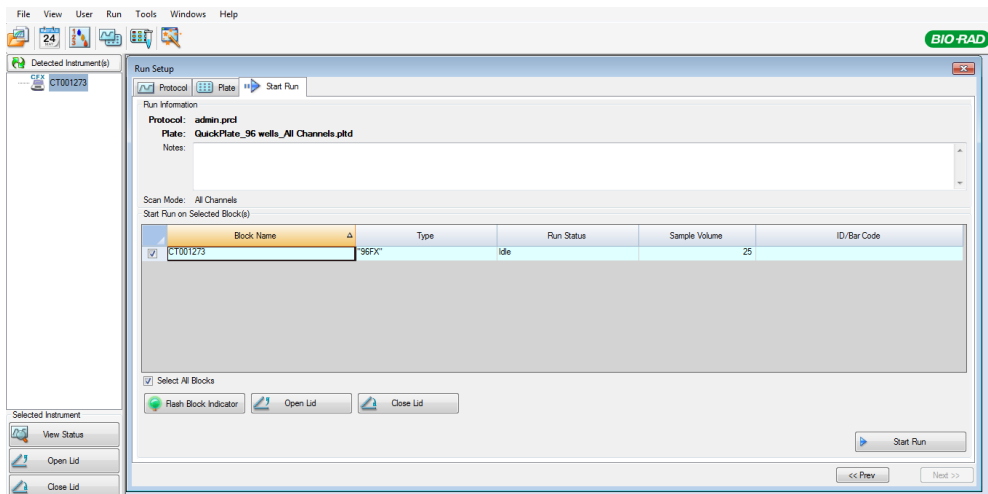
3) จะปรากฏหน้าต่างต่าง Protocol Editor ตั้ง step การ Running ตามต้องการ กด OK จากนั้น กด Save File ตามต้องการ ปิดกล่องข้อความตรงกลาง และ เลือก File แถบ Tool Bar จากนั้นเลือก New เลือกแถบคำว่า Protocol ตั้งชื่อ File ตามต้องการ



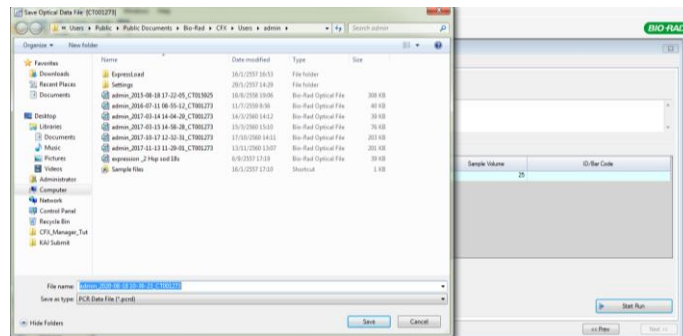


	<b>วิธีการปฏิบัติงาน</b>	ครั้งที่แก้ไข	: 00
	<b>หมายเลขเอกสาร</b> <b>WI-RIC-OP02-25</b>	วันที่บังคับใช้	: 9 กรกฎาคม 2563
		หน้า	: หน้า 7 จาก 10
<b>ชื่อเรื่อง</b> : วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR			

6) จะปรากฏหน้าต่าง Start Run ซึ่งจะมีการแสดง ชื่อเครื่อง รุ่น สถานะของตัวเครื่อง ปริมาณ ตัวอย่าง ดังภาพ หากมีการเชื่อมต่อของเครื่องและคอมพิวเตอร์ สถานะของเครื่องพร้อม Run จะแสดงคำว่า Idle จากนั้น คลิก Start Run



7) เมื่อ คลิก Start Run โปรแกรมจะให้เลือก Save File ผล หลังจากกด Save เครื่องจึงจะเริ่มรันโปรแกรม



8) เมื่อ คลิก Start Run โปรแกรมจะให้เลือก Save File ผล หลังจากกด Save เครื่องจึงจะเริ่มรันโปรแกรม

9) เมื่อเครื่องเริ่มรันโปรแกรม จะปรากฏสถานะ Initializing และแสดงเวลาการรันโปรแกรมในขั้นตอนนี้ ห้ามมีการ ปิดโปรแกรม จนกว่าจะหน้าจอจะแสดงสถานะ Running



### วิธีการปฏิบัติงาน

หมายเลขเอกสาร

WI-RIC-OP02-25

ครั้งที่แก้ไข

: 00

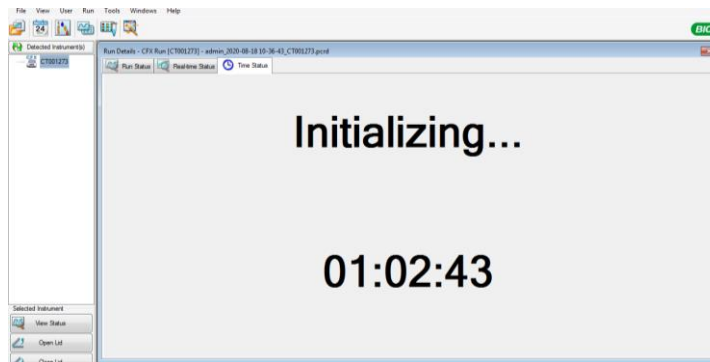
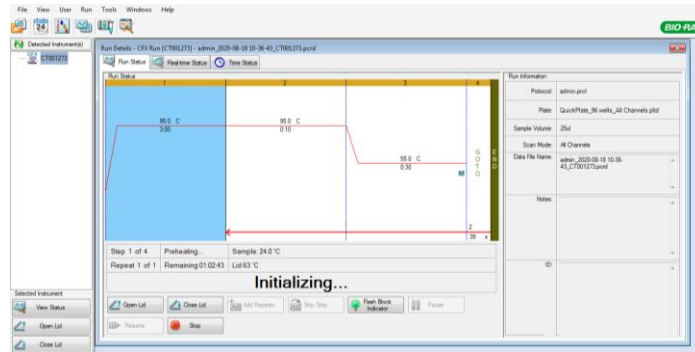
วันที่บังคับใช้

: 9 กรกฎาคม 2563

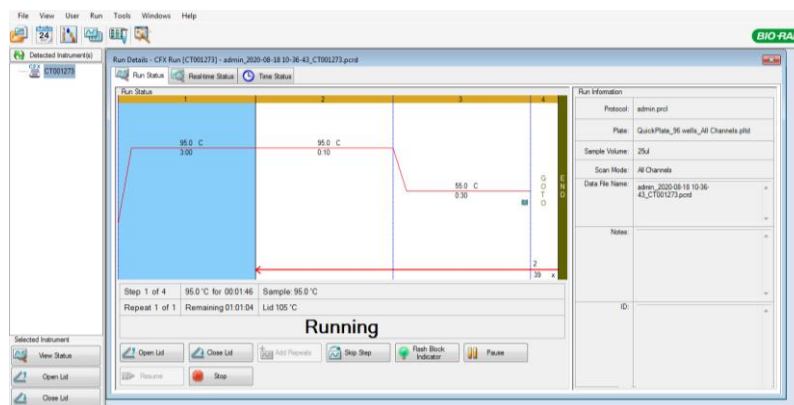
หน้า

: หน้า 8 จาก 10


ชื่อเรื่อง : วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR



7) เมื่อเครื่องขึ้น สถานะ Running หากผู้ใช้งานต้องการแก้ไขการตั้งค่า สามารถกด Stop แก้ไขการตั้งค่า และเริ่มใหม่อีกครั้งได้

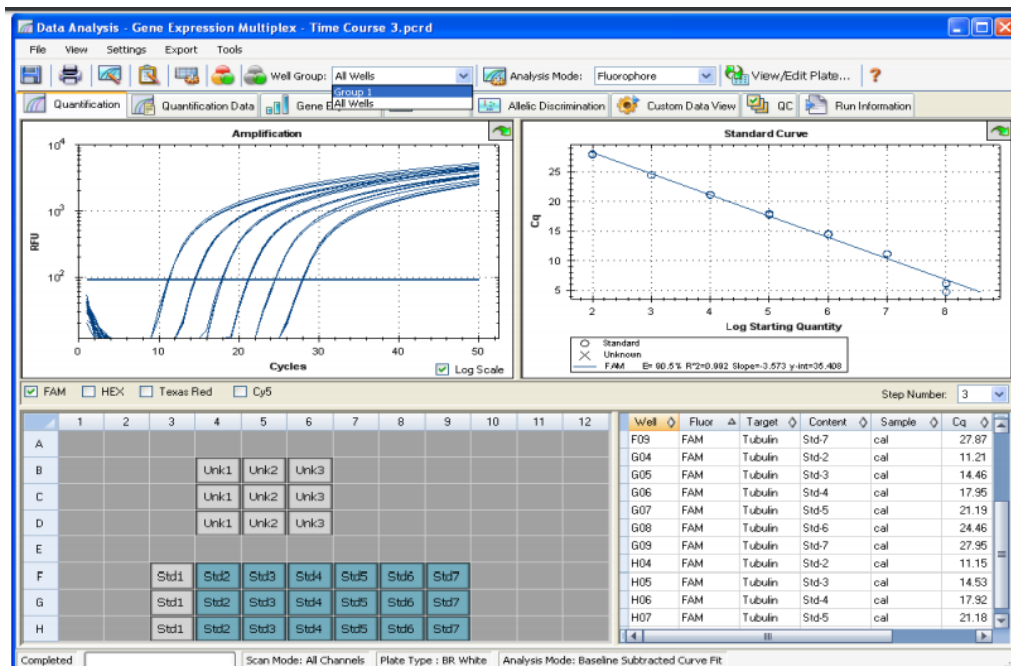




	<b>วิธีการปฏิบัติงาน</b>	ครั้งที่แก้ไข : 00
	<b>หมายเลขเอกสาร</b> <b>WI-RIC-OP02-25</b>	วันที่บังคับใช้ : 9 กรกฎาคม 2563
		หน้า : หน้า 9 จาก 10
<b>ชื่อเรื่อง</b> : วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR		

### 7. การตรวจสอบผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตรวจสอบผลการวิเคราะห์ โดยดูจากค่า Quantification data (Cq) และ ค่า Melting curve ซึ่งโปรแกรมจะรายงานในรูปแบบกราฟและตัวเลข สามารถดูได้จากแถบ custom data view และค่าต่างๆโปรแกรมจะมีการบันทึกผลไว้ในตำแหน่งที่ Save ไว้ ก่อน เริ่มวิเคราะห์ ซึ่งสามารถ export file เป็น .xls เพื่อใช้งานได้ในภายหลัง




### 8. การรายงานผลการวิเคราะห์

ผลการวิเคราะห์ ได้แก่ กราฟ และค่าตัวเลขแสดง Quantification data (Cq) และ ค่า Melting curve โดยบันทึกในรูปแบบฟอร์มรายงานผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง (FM-RIC-OP02-02)

### 9. การดูแลบำรุงรักษาเครื่องมือ

- Avoid contaminating the CFX96 system by following these suggestion;
- Always clean the outside of any containers before placing them in the block
- Never run a reaction with a seal that is open, loose, punctured, or otherwise damaged because you could contaminate the block, inner lid, and optical system
- Never run a PCR or real-time PCR reaction with volatile reagents that could explode and contaminate the block, inner lid, and optical system

	วิธีการปฏิบัติงาน	ครั้งที่แก้ไข	:	00
	หมายเลขเอกสาร <b>WI-RIC-OP02-25</b>	วันที่บังคับใช้	:	9 กรกฎาคม 2563
		หน้า	:	หน้า 10 จาก 10
<b>ชื่อเรื่อง</b> : วิธีการปฏิบัติงานเครื่อง Real-time PCR				

- Clean the block and inner lid periodically to prevent the buildup of dirt, biohazardous material or fluorescent solutions
- Never clean or otherwise touch the optical system behind the heater plate holes are in the inner lid
- Clean the outer lid and C1000 base on a regular schedule