

F711-1(Rev.0)

USER MANUAL

RealHelix[™] Rice-22 FMMA Kit (for ABI7500 user)

◈ 설정 파일 버전 : FMMA품종판정-v.7.9.04
품종판정표 : 국립농산물품질관리원 2024.08.01일 개정

1 / 17



RealHelix[™] Rice-22 FMMA Kit (for ABI7500 user)

Kit contents

RealHelix [™] Rice-22 FMMA Kit								
Cat. No.	RFM-100 (100tests)							
2x FMMA Premix	1ml x 2ea							
A-set OM	0.12ml							
B-set OM	0.12ml							
FMMA 8-tube strip (ABI7500)	2packs							
FMMA 8-cap strip (ABI7500)	2packs							
96-well plate for FMMA (ABI7500) -								
RNase-free Water	1.5ml							

Protocol

- 1. Template DNA 준비
- 검사하고자 하는 시료로부터 genomic DNA를 정제하여 Template로 사용한다.
- PureHelix[™] Genomic DNA Prep Kit (Cat # GCTN100)의 사용을 추천한다.

2. PCR Reaction Mixture 제조

● 각각의 시료는 2 세트의 PCR 반응 (A-set, B-set) 으로 분석된다. 따라서 각 실험에서 A-set reaction mix 와 B-set reaction mix 를 다음과 같이 준비한다.

NanoHelix Co., Ltd.



A-set	Volumes	B-set	Volumes
Template	2µl (20~80ng)	Template	2µl (20~80ng)
2x FMMA Premix	7.5µl	2x FMMA Premix	7.5µl
A-set OM	1.0µl	B-set OM	1.0µl
RNase-free Water	4.5µl	RNase-free Water	4.5µl
	15μl total		15µl total

● n개의 시료를 동시 분석할 경우에 n+2개 분량의 Master Mix를 준비하여 분주해서 사 용한다.

(예) 24립의 시료를 동시 분석할 경우 다음과 같이 Master Mix를 제조한다.

A-set Master Mix	Volume.	calculation
2x FMMA Premix	195.0µl	7.5 x 26
A-set OM	26.0µl	1.0 x 26
RNase-free Water	117.0µl	4.5 x 26
Final Volume	338.0µl	13 x 26

B-set Master Mix	Volume.	calculation
2x FMMA Premix	195.0µl	7.5 x 26
B-set OM	26.0µl	1.0 x 26
RNase-free Water	117.0µl	4.5 x 26
Final Volume	338.0µl	13 x 26

- 1) 각각의 8-strip PCR tube에 준비된 Master Mix를 13µl 씩 분주한다.
- 2) 분주된 각 8-strip PCR tube에 Rice gDNA 2µl 씩 넣어준 뒤 조심스럽게 혼합한 후 spin-down한다.

(중요) 키트에서 제공하는 FMMA 전용 tube 와 cap strip 을 사용하여야 합니다. 이외의 다른 tube 및 cap 사용시에는 정확한 결과를 얻을 수 없습니다.

NanoHelix Co., Ltd.

F711-1(Rev.0)



3. Real-Time PCR Run

ABI7500

- 1) ABI7500 software를 실행한다.
- 2) 분주된 8-strip PCR tube를 아래 그림과 같은 배열로 장비 sample block에 장착한다.
 예) A1 well과 A7 well은 동일 시료(S1)를 사용한 A-set PCR mixture와 B-set PCR mixture이다.

			A-:	Set		B-Set						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
А	S1	S9	S17	S25	S33	S41	S1	S9	S17	S25	S33	S41
В	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S2	S10	S18	S26	S34	S42
С	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S3	S11	S19	S27	S35	S43
D	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S4	S12	S20	S28	S36	S44
E	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S5	S13	S21	S29	S37	S45
F	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S6	S14	S22	S30	S38	S46
G	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S7	S15	S23	S31	S39	S47
Н	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S8	S16	S24	S32	S40	S48

3) Template file 지정 및 Run start



4	1	1	7
	-		

NanoHelix Co., Ltd.



2	제공된	"Rice-22	FMMA.edt"	파일을	선택
---	-----	----------	-----------	-----	----





F711-1(Rev.0)









NanoHelix Co., Ltd.

QuantGene 9600

- 1) Gene-9660 software를 실행한다.
- 2) 분주된 8-strip PCR tube를 아래 그림과 같은 배열로 장비 sample block에 장착한다.
 예) A1 well과 A7 well은 동일 시료(S1)를 사용한 A-set PCR mixture와 B-set PCR mixture이다.

			A-:	Set		B-Set						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
А	S1	S9	S17	S25	S33	S41	S1	S9	S17	S25	S33	S41
В	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S2	S10	S18	S26	S34	S42
С	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S3	S11	S19	S27	S35	S43
D	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S4	S12	S20	S28	S36	S44
E	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S5	S13	S21	S29	S37	S45
F	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S6	S14	S22	S30	S38	S46
G	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S7	S15	S23	S31	S39	S47
Н	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S8	S16	S24	S32	S40	S48

- 3) Template file 지정 및 Run start
 - ① Open Template 클릭



_	- 1	_

NanoHelix Co., Ltd.



2	제공된 "Rid	ce-22 FMMA.fqt" 파일 선택	
6		Open Template	00
	Local Template	Local Template/USER(32t	bit)/
	Templates Directory	S Experiment Name	Experiment Date
	📬 FMMA	FMMA_Rice60.lqt	
	FMMA_01		
	nCoV		
	Rice		
	USER(32bit)		
0		Creat Experi	ment Manage Files File Export Run

③ Strip 장착을 확인하고 Start Run 버튼 클릭

6				0	pen T	emplate			00
				Detector	Sample	Plate	Program		
Ex	periment Name:	FMMA_Rice60.	qt_20211025_	122715 Use	r Name: adr	nin			
	Detector	Reporter	Color	Master Mix		rimer	Probe	Supplies	Batch Number
) 8						
	setA_JOE 😰	JOE 💮							
	setA_TEXA	🖉 ROX 🛛 💀							
	setA_CY5 😰								
	setB_FAM 🙆	FAM 😶							
	setB_JOE 🙋								
	setB_TEXA	🖉 ROX 🛛 😳			Ø				
	setB_CY5 🙋								
R					Save	Add Detector	Add Assay	Delete Detector	Delete Assay Start Run

- ④ 파일명을 지정하여 저장
- ⑤ PCR 수행 완료 후 Home > Local Experiments > 결과 파일 선택 > Export > 저장 매체로 저장

	File List	? 😌
Local Experiments	Local Experiment	is/
Experiments Directory	Experiment Name	Experiment Date
cxperiment	RICE.fqt_20210819_163323.fqd	2021-08-19 20:14
	RICE.fqt_20210819_163323.fqt.fqd	2021-06-20 08-28
	RICE.fqt_20210823_153415.fqd	2021-08-23 19:04
	RICE.fqt_20210825_153538.fqd	2021-08-25 15:38
	rice1.fqt_20210817_194041.fqd	2021-08-17 21:16
	RICE60_03.fqt_20210906_150948.fqd	2021-09-06 17:18
	RICE60_03.fqt_20210907_133042.fqd	2021-09-07 16:11
	RICE60_03.fqt_20210928_133152.fqd	2021-09-28 15:39
	RICE61.fqt_20210826_143512.fqd	2021-08-26 16:26
	RICE61.fqt_20210828_101134.fqd	2021-08-28 12:20
	RICEdefault.fqt_20210827_074417.fqd	2021-08-27 07:47
		Export Rename Delete Cancel



F711-1(Rev.0)



4. Data Analysis

ABI7500

1. ABI7500 Software Data Export

- 1) PCR 수행 후 Analysis 버튼을 클릭하여 분석한다.
 - ① Setup > Plate Setup > Assign Targets and Samples > passive reference > None
 - ② Setup > Plate Setup > Assign Targets and Samples > View Plate Layout > 사용하지 않은 빈 셀 드래그하여 선택 > 오른쪽 마우스 클릭 > Clear



Experiment: Untilled	Type: Standard Curve	Reagents: Other	that man (b)
Define Targets and Samples Assign Targets and Samples			
G Instructions: To aid up standards: Obis Torkins and Sol Up Standards." To aid up antenance: Sealed nulls, assign to petic, select 'U' Screeyewo'. To aid up antenance control: Sealed valls, assign topetic), than select 'V'	as the faals for each larget assignment. Free assign a sample, Negative Control as the task for each larget assignment.		
Assign target(s) to the selected wells.	Plate Layout View Well Table		
Assign Target Task Quantity	Select	Halls Wills - Balact Ram - init - Danied Nata - init	
	annuar - El annuar		100 100 CV
Maset in University Standard In Negative Control			
No Techno and Set To Taxoberla			
ssign sample(s) to the selected wetts.			
tologn Sample			
Assign sample(s) of selected well(s) to biological group.			
Assap. Belepcal Group			
belect the dye to use as the passive reference.			
	and Dissing Dissing Dissing Dissingly		States in the local division in the local di
Steve U	and and a standard a forgative Control		
Jane D	and Constant Constant Constant		anda Dianda Ulanda Him - 0 X
Nom	Section Control Control		- 0 ×
hima D s rus sar - 3 Coss & Eyer 2 Porthpor. periment: Untilled	ing of Universe in a transmission of Universe in the Universe in a transmission of Universe in the Universe in the Universe international Control of Universe international Cont	Responds Other	- 0 ×
Imm Imm <td>Type: Standard Curve</td> <td>Heagents: Other</td> <td>- 0)</td>	Type: Standard Curve	Heagents: Other	- 0)
In 199 1 Star - Li Cons (d) East - Li Pathone. generati Li Cons (d) East - Li Pathone. Generati Constantino J. Assign Targets and Eastpile. Li Constantino Li Constantino J. Assign Targets and Eastpile. Li Constantino Li Constantino Li Constantino Li Constantino Li Constantino J. Assign Targets and Eastpile.	Type: Standard Curve	Peagents Officer	anna baile anna anna anna anna anna anna anna an
Even Even	The server of a final server of a server o	Franzen Dienen Dienen D	- O X
test test	Type Standard Curve Type Stan	Negots. Office	in a constant of the second se
Annow Control of Annotation Control of Annotation Annow Control of Annotation Annonotation Annotation Annotation Annotatio Anno	Type: Standard Curve Type: Standar	Respects Officer	
	Type: Standard Curv Type: Standard Curv Type: Standard Curv the Logical Curve the Logical	People: Officer	
	Type Standard Curve Type Stan	Respects Office	
	Type: Standard Curve	Respects Other	
	Type: Standard Curve Type: Sta	Respects: Other	
	Type: Standard Curve	Respects Office Respects Office Respec	
		Respects Other	
	Type: Nandard Curve		
	Type: Standard Curve	Respects Office Respects Office Respec	
	Type: Standard Curve Type: Standar	Respects Other	
	Type: Standard Curre	Hangerts Citer Hangerts Citer	
	Type: Standard Curve	Respects Office Respects Office Respec	
		Respects (Ther Respects (Ther	

9 / 17

NanoHelix Co., Ltd.



③ Analysis > Reanalyse

Experiment Menu «	Experiment: Unit	Evport	Type: Standard Curve	Reagents: Other	Realitaryac	Annyan Letron
Setup	Amphitation Piot	Cond To DownDaint	< View 8	Plate Layout View Well Table	L	1
Run	Phot Settings	Send TO PowerPoint	P	Saled Itels With - Saled It	m Selection	
Analysis	Plot Type (2Rn is Cycle)+	Graph Type Log V Color Well V	0 ss	ow is Wells T		10 E
Augustana bir			*****	2 2 4 6 4	7 8 8	10 11
Mandard Carvo	1000000	Anglification Pat				II
eket Carve	100000					
Advanced For						
Anna Elatio Pict	- 75	AKS PXTAT			U U	
QC Namesary		V / Y				
Margan Plans View	a1		i o 📒			YY
	8.01					-
	5.001		E			YY
	0.00091					
	1.00001 - 1 - 1	Cyste				
		E				
	Options				U SHE U SHE	
	Target all	Threadward, C. Aufer				
	and the second sec		H			

- 2) Export 버튼을 클릭한 후 Export Properties 탭을 설정한다.
 - ① 선택1. Results
 - ② 선택2. Multicomponent Data
 - ③ 선택3. One File
 - ④ 선택4. File Type (*.txt)
 - ⑤ 선택5. File Name, File Location 설정

1. Select data to expo	Sample Setup Raw Data Amplification Data	 ✓ Results ① ✓ Multicomponent Data ② 	
 Select one file or s Enter export file pr 	eparate files: One File	3 Select to export all data in one file or in separate	files for each data type.
Export File Name:	Untitled_data	500)experiments	File Type: 왕(*.xis) 🗸 왕(*.xis)

3) Start Export 버튼을 클릭하여 ABI7500 Data를 TXT파일로 Export 완료한다. "Close Export Tool" 버튼을 클릭하여 창을 닫는다.

Export	Export Completed										
i	Your file has been	Your file has been exported to :									
	D:\work\\york	품종검정₩data₩181220.txt									
	What do you wan	t to do next?									
	Export More Data	Close Export Tool									

NanoHelix Co., Ltd.

10 / 17



QuantGene 9600

- 2. QuantGene 9600 Software Data Export
- 1) Open > 분석할 파일명 선택



2) Setup > Plate > Setup > Plate Setup > 사용하지 않은 빈 셀 드래그하여 선택 > 오른 쪽 마우스 클릭 > Clear Detectors And Samples

PCR Gene-9660 -	FMMA_Rice	60.fqt_20211021_0959	49							-		×
<u>File</u> Ser	rvice	Instrument <u>T</u> o	ols <u>R</u> eport	Data S	ummary	Help						
🗋 New 🕶 🔤	Wizard	📔 🚰 Open 🛛 🗎 Sá	ive 🕶 📔 📑 Expo	rt Experimer	nt • 1	Open/close	Rack					
Home	* FMM	A_Rice60.fc 🛞										
Setup	۲	E	xperiment Typ	e: Absolut	e Exp	eriment Nar	ne: FMMA	_Rice60	fqt_2021102 ⁻	1_09594	9	
Detector	0	Detectors Assay Item Pro	perty Con		Plate Se	tup Well Tab	le m Out Por	unt .	Sample Auto	Arrango	Select	Nolic T
Sample	0	setA_FAM - FAN			1	2 3	4 5	6	7 8 9	9 10	11	12
Plate	0	setA_TEXAS REC			A	U set						
Program	0	setA_CY5 - CY5 Concentration Unit			в	U set/			U sett			
Run	۲	Samples Show	Columns: Sample N Sample Name	lame 🔽	с	U set			U sett			
Analysis	۲	501 502			D	U set/			🛄 setf			
Report		503 504							ant off			
		S05			2	n seu			coti			- 1
		506			-	_						
		S07				U set			ti sett			- 1
		508										
		509			G	U set			U set			-
		513										
		S12			н	U set/			U seti			
												-
		admin	Exit		4	E:\쌸풍종검정\2	11021-NEI14	12-v7.4.14\c	lata\FMMA_Rice6	0.fqt_2021	1021_095	949.fqd

11 / 17

NanoHelix Co., Ltd.F711-1(Rev.0)A-dong and B-dong, 43-15, Techno 5-ro, Yuseong-Gu, Daejeon, 34014, Republic of Korea TEL : 82-42-867-9055, FAX : 82-42-867-9057E-mail : info@nanohelix.net<www.nanohelix.net</td>www.nanohelix.net



3) Analysis > Analysis 버튼 클릭



- 4) Export Experiment 버튼을 클릭한 후 Export to Text 선택
 - ① All items export to one file. Please select file path :

Export Path							
One item export to one file. Please	e select folder path:						
C:#Users#KongSiWon#Documents#Gene9660#FMMA_Rice60.fqt_20211021_095949							
All items export to one file. Please	select file path:						
C:#Users#KongSiWon#Documents	#Gene9660#FMMA_Rice60.fqt_20211021_095949_1.txt						
C:#Users#KongSiWon#Documents	#Gene9660#FMMA_Rice60.fqt_20211021_095949_1.txt						
C:#Users#KongSiWon#Documents Export Items Quan. Raw Data	WGene9660WFMMA_Rice60.fqt_20211021_095949_1.txt						
C:#Users#KongSiWon#Documents Export Items Quan. Raw Data Meit Raw Data	WGene9660WFMMA_Rice60.fqt_20211021_095949_1.txt						
C:#Users#KongSiWon#Documents Export Items Quan. Raw Data Meit Raw Data Quan. Result	WGene9660WFMMA_Rice60.fqt_20211021_095949_1.txt						
C:#Users#KongSiWon#Documents Export Items Quan. Raw Data Meit Raw Data Quan. Result Meit Result	WGene9660WFMMA_Rice60.fqt_20211021_095949_1.txt						

② 경로 설정 > OK

NanoHelix Co., Ltd.



3. FMMA 품종판정 프로그램 실행

- 1) 프로그램 실행 및 설정파일 불러오기
- ① FMMAVIEWER.exe 파일 더블클릭 하여 실행



- ② 설정변경 > 설정파일 불러오기 > 설정파일 선택 > 열기
 - ABI7500 장비 분석 시 설정파일 : ABI7500-7.9.04.conf
 - QuantGene 9600 장비 분석 시 설정파일 : Bioer-7.10.04.conf

*[주의] 설	1성 파일의	버전을 꼭 확인하고 사용하세요!!
설정변경	도움말	
해상도	•	
기본정보 🖁	입력	
설정파일 불	불러오기	

- 2) 데이터 분석
- ① 신규분석
 - 파일 > 신규분석 > 기기선택 > 파일선택
 - ABI7500 장비 분석 시 : ABI7500
 - QuantGene 9600 장비 분석 시 : Bioer



③ 결과 테이블 확인

- RM Number : 마커 번호로 확인 가능
- RM Score : RM score로 확인 가능

13 / 17

NanoHelix Co., Ltd.



- 3) 결과 데이터 내보내기
- ① 분석파일 저장 : 수정된 결과를 포함하여 분석된 결과를 파일로 저장 (.data)
- ② 결과서 내보내기 : 48 립 분석에 대한 결과서를 엑셀 파일로 저장 (.xls)
- ③ Score 테이블 내보내기 : RM Number 또는 RM Score 테이블을 엑셀 파일로 저장 (.xls)
- ④ [참고] 결과 판정 관련
 - Marker 별 Melt Tm이 확인되면 Code가 생성되고, 타이핑 된 Code와 일치하는 품종을 품종판정표 (국립농산물품질관리원 벼(쌀) 품종 검정 매뉴얼에 따름)에 서 찾아 출력한다.
 - ② Code가 중복되는 품종은 4 종류 존재하며 결과 판정 시 해당하는 품종 모두 [/]로 구분하여 표기 된다.

Code	품종명
BCEGHIJKLMOPQT	삼광/참드림
ABFGHJKLOPST	신동진/참동진
BGHIKMQRST	진옥/태봉
BFHIJKQST	
FGJKOPT	호품/예찬

- 3) Melt peak 확인 방법
 - ① 프로그램의 좌측 상단에 96 well plate 모식도가 존재한다.
 - ② 확인하고자 하는 well을 선택하여 셀을 클릭한다.
 - ③ 96 well plate 모식도 우측에 Melt peak chart가 작성된다.
 Set A, Set B 각각에서 dye 별 melt peak 이미지가 생성되어 총 8개의 chart가 나열된다.
 - ④ Algorithm에 의해 peak으로 판정되고 peak height가 최소한의 threshold line을 넘어야 real peak으로 판정된다.



Rice-22 FMMA Kit

100	2171282		1.0.0	-																							-	
		F		٦	C	5																						
(41)	2211	125 A	OM B	DM 4.	txt										FANGe	a) 0	181		108	Settly 0	101		TRUS	16) 0	181	Crister	1 10	
122	2 7.7.0	00																			2							
			Set	Â						Sett			1			1 1 1	1.11.11	-10	-02 -	0-185 A-185	1.0.1		-11-12-		1.01.01.00	-12 -13 -11	(+++=) (+ +	-
piate	1	2:	.3	4	5	6	7		. 3	10	11	12			Maga	99,]	100			Senti -	100		1000	- C	190	0.0040	0.0	
A.	901	s09	\$17	125			101	\$00	9 31	1 12	5				40 -10 -1		1 10 10	60	-00 -	is the st	1101		-12-13	441	1	-01-12-12		à
~	Sec. 1.													1.00	Se	A-FAM- 09 #06	s25 #01		1.00	SetA-JOI	E-425 4 #15		Se Se	A-TEX-	25 13 #12	Set.	1-CY5-s25 05 #22	
	102	\$20	118	125			102	\$20		1 12	5			Le					3,410				1.000		٨	- 1		
с	\$03	\$11	\$19	127			:03	\$1	1 51	9 52	8			1.00					1.00		٨		1.100		A	-	-	
0	104	\$12	\$20	128			104	- 122	2 12	1 12				1.0	t	1			1.000		1		1.000	1	~//			
															1	h	~	~	202	1	H		-	1	444	100	Lun	
£	\$05	\$13	\$21	\$29			105	\$13	3 32	1 52	9				e n					5.5.5		w.	e 15	1.5.0		er 74 7		
r.	105	\$34	\$22	130			106	- 13	i 12	2 53	i.				54	S-FAN-	35			5415-301	-135			HE-TEX-1	25	Set	-513-125	
G	107	\$15	523	\$31			107	\$13	5 52	1 13	r.			1.00		٨.			1,000 1,800 1,800	1	1		1.000 1.000 1.000	Δ		1.000	174 W24 W21	
н.	101	\$16	\$24	\$32			105	1.1	6 52	4 53	2			1.00 L80		M	Δ		100				1.800	Λ		1.220	Λ	
															~	1	L		414	14	11	+	400	-A	-	***	74-	
																				Intel		1	-310	- 1			L	
															6.0			. er.				1				5.0.0		
RM	Number	e ()	RM S	core					-																			
	EM Dave	xse whee	A		0	0	-	-	9	1		10		12	M C	- 14	0	15	17	8. 11	3	1.	U MANO	V.	treat	C005		
	RM Sec	ore.	2	4		16	22	64	224	255	512	1024	2048	4005	8192	16354	32768	65536	131072	262144	124288	1042576	4194304	2097152			100	
01	1			2	3	-	5	-	7	8.	9	10	11	12	13		15	16	17			20			1294252	BCEGHUKLMORQT	41/425	1
02	2			2				б	7			10	11						17		19	20		22	3804356	BFG/RIQSTV	10.0 P	
03	3		1		3	4	5	6				10	11				15		17	18	19	20			2002042	ACDEFHIDQRST		
221	4		1	2	3	4	5	6	7		.9	10				14			17			20	21		5392126	ABCDEFGENQTU	¥212	
04	5		1		3					8	9		11				15			18		20			1346314	ACHINORT	2448	
104	6		1	2	1	4	\$	6			.9	10				14			17			20			1197694	ABCDEFENQT	DARFE	
104 105 106			1	2.				6	7	8.		10	11	12			15	16			19	20			1678790	ABFOHIKLOPST	+#s/u#s	
104 105 106 107	7																								0			
904 905 906 927 908	7																											
404 505 606 627 408 509	7 8 9.			2	3		5		.7	8	9	10	-11	12	13		15	16	17			20.			1294252	ECEGHUKLMOPOT.	49/859	

5. 참고자료

ABI7500 PCR 결과 판정표 •

Step	Co	ndition	Cycle(s)			
Holding Stage		95℃ for 15 min	1			
	Denaturation	95℃ for 20 sec				
	Annaeling & Extension	65℃ for 10 sec	5			
PCR Amplification	Annealing & Extension	61°C for 30 sec				
r en runpinieution	Denaturation	95℃ for 20 sec				
	Annealing & Extension	63°C for 40 sec	32			
		Collect the fluorescence data				
		65°C for 1 min				
Melting Curve	Ctop and Hold	99℃ for 30 sec	1			
stage	Step and Hold	(0.5°C/step)	I			
		10°C for 1 min				

ABI7500 PCR condition

			ABI750	0 PCR 결]과 판정표	± (Melt ⁻	Tm ℃)						
Set		A-set											
Dye		FAM		JC	DE		Texas Rec	ł	C	Y5			
Marker	RM09	RM06	RM01	RM04	RM15	RM11	RM13	RM12	RM05	RM22	1		
Melt Tm (°C)	72-75.5	77-80	82-84.5	78.5~81.5	84.5~87.5	72~75.5	84.5~87.5	91.5-94.5	73.5-76.5	80.5-83.5			
Set						B-	set						
Dye		FAM		JOE				Texas Rec	I		CY5		
Marker	RM08	RM17	RM03	RM02	RM07	RM16	RM19	RM10	RM18	RM14	RM20	RM21	
Melt Tm (°C)	75.5-78.5	79.5-82.5	83.5-86.5	74.5-77.5	81-84	92-95	73-76.5	79.5-83	85.5-89	74.5-78	79-82.5	84.5-87	

15 / 17

NanoHelix Co., Ltd.

F711-1(Rev.0) A-dong and B-dong, 43-15, Techno 5-ro, Yuseong-Gu, Daejeon, 34014, Republic of Korea TEL: 82-42-867-9055, FAX: 82-42-867-9057



Rice-22 FMMA Kit

● ABI7500 결과 판정 예시 (삼광/참드림)



• QuantGene 9600 PCR condition

Step	Co	ndition	Cycle(s)		
Holding Stage		95℃ for 15 min	1		
	Denaturation	95℃ for 20 sec			
	Appealing & Extension	65°C for 10 sec	5		
PCR Amplification	Annealing & Extension	60°C for 30 sec			
	Denaturation	95℃ for 20 sec			
	Annealing & Extension	60°C for 40 sec	32		
		Collect the fluorescence data			
		65°C for 1 min			
Melting Curve	Ctop and Upld	99℃ for 30 sec	1		
stage	Step and Hold	(0.3°C/step)	I		
		10°C for 1 min			

● QuantGene 9600 PCR 결과 판정표

			Bioer	PCR 결고	바 판정표	(Melt Tn	n ℃)					
Set	A-set											
Dye	FAM			JOE		Texas Red			CY5			
Marker	RM09	RM06	RM01	RM04	RM15	RM11	RM13	RM12	RM05	RM22	1	
Melt Tm (°C)	72.5-75.5	77-79.5	82.5-85.5	77~81	84~87	72~75	84.5~87	91-94.5	72.5-76	80-83		
Set	B-set											
Dye	FAM			JOE			Texas Red			CY5		
Marker	RM08	RM17	RM03	RM02	RM07	RM16	RM19	RM10	RM18	RM14	RM20	RM21
Melt Tm (°C)	76-78.5	80-82.5	84-86.5	74-77	80.5-83	92-95	73-76	80-83	85~88	74-77	79-82	83.5-86

16 / 17

NanoHelix Co., Ltd.



Rice-22 FMMA Kit

• QuantGene 9600 결과 판정 예시 (삼광/참드림)



17 / 17

NanoHelix Co., Ltd.