

腸内細菌遺伝子検出キットー蛍光検出ー

NEW

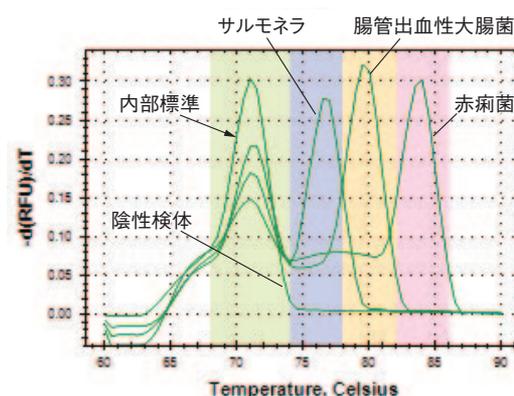
検便検体から食中毒原因菌をマルチプレックスPCR法で、融解曲線解析により検出するキットです。

腸内細菌遺伝子検出キットー蛍光検出ーは、食中毒原因菌として知られるサルモネラ、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、赤痢菌の遺伝子を、マルチプレックスPCRにて増幅し、EvaGreen® 蛍光色素を用いる融解曲線解析により検出するキットです。リアルタイムPCR装置を使用することで、PCRから蛍光検出までをチューブを開けることなく、1チューブで検出することが可能です。



特長1 簡便

- ・サンプルの調製は検便懸濁液を加熱・遠心分離するだけです。弊社独自技術で核酸精製不要のPCRを実現しました。検便検体を水に懸濁し、加熱処理と遠心分離を行ったものをPCRに使用します。面倒なDNA精製は必要ありません。
- ・リアルタイムPCR装置に反応液をセットするだけで、チューブを開けることなく、1チューブで検出することが可能です。
- ・菌の種類と存在を判別できます。マルチプレックスPCRにより、3菌種を一つの反応で検出します。それぞれの菌種で、検出されるピーク温度 (Tm値) が異なります。融解曲線解析によりピーク温度を判定して、菌種を判別します。専用の判定ソフトを用いて陽性または陰性を判定するため、難しいコロニー判定の必要はありません。



陰性検体とサルモネラ、腸管出血性大腸菌O157、赤痢菌の陽性検体を、本キットを用いて解析したイメージです。融解曲線解析により、陽性検体の場合、図に示したような陽性ピークが検出され、陰性では、内部標準のピークのみが検出されます。

特長2 迅速

- ・弊社独自技術により、高い感度と特異性を維持しつつ、解析時間の短縮が可能になりました。リアルタイムPCR装置に反応液をセットしてから、約2時間15分で結果を確認することができます。
- ※解析時間は、リアルタイムPCR装置の種類によって若干異なります。

特長3 検便検体のスクリーニングに利用可

- ・本製品は、50検体からプールした糞便検体の腸内細菌を検出が可能な感度を有しているため、検便検査のスクリーニングに使用することができます。本製品によるスクリーニングを実施する利点として下記の3点が挙げられます。

1) 検査当日に90~95%の陰性検体を判定できます。

本製品での陰性率は90~95%です。スクリーニングは数時間で完了するため、検査当日に陰性を判定することができます。陽性となったプールに含まれる検体は、個別に培養法にて検査します。

2) 塗抹培養の検体数を10分の1以下に低減できます。

培養に先立ち90~95%の陰性検体を排除できるため、培養を実施する検体数を全検体の約10分の1以下に低減できます。

3) 判定が簡便です。

本製品では、ピークの検出により判定を行います。そのため、コロニーの色や形状による判定に比べ判定が簡便です。



特長4 必要な試薬をすべて添付

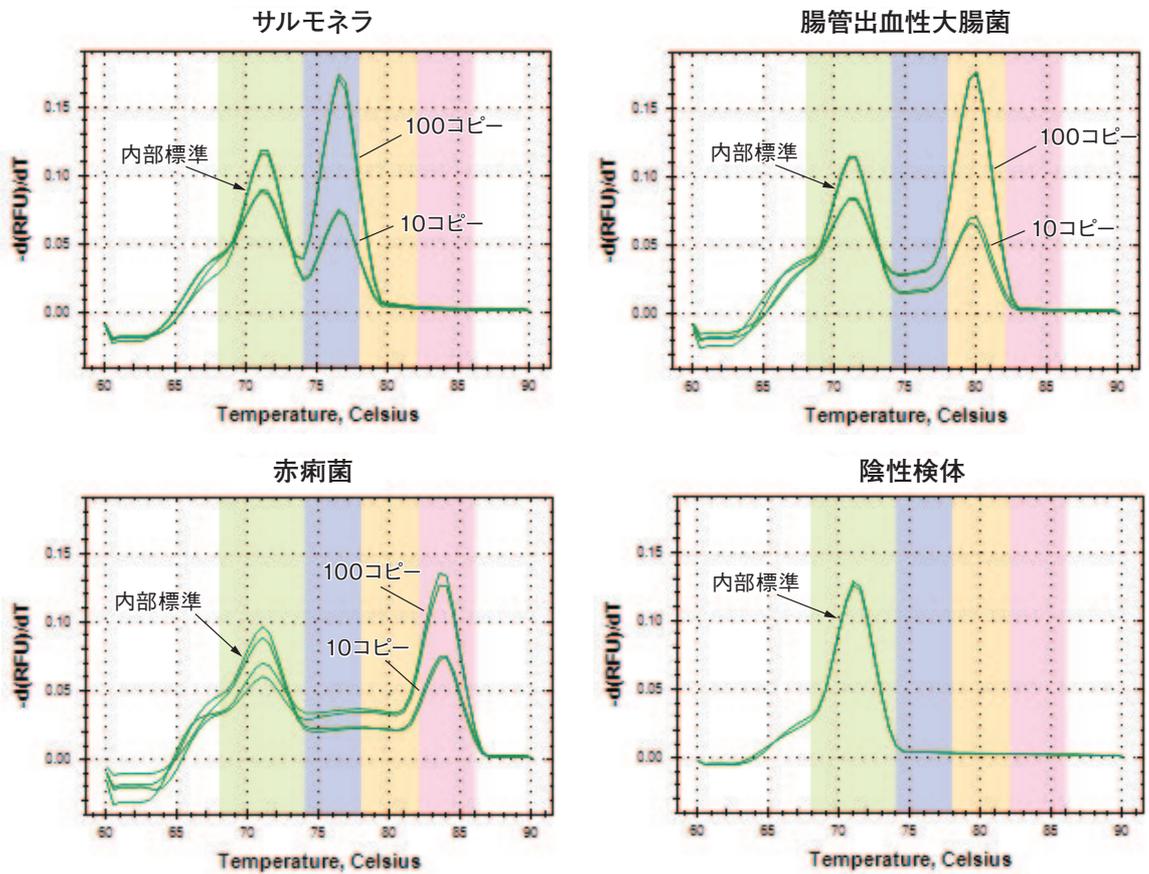
・本製品には、解析に必要なすべての試薬が含まれています。融解曲線解析に使用するインターカレーション蛍光色素 EvaGreen® も含まれますので、本製品に含まれるすべての試薬を混合し、糞便熱処理液を添加するのみで解析が可能です。
 ※東洋紡は、米国 Biotium Inc. とのライセンス契約のもと EvaGreen® をキットに使用しています。そのため、お客さまでのライセンス契約は必要ありません。

特長5 キャリーオーバー汚染のリスクを低減

・偽陽性の発生原因として、キャリーオーバー汚染があります。本製品は、PCRから蛍光検出までをチューブを開けることなく、1チューブで検出することができるため、キャリーオーバーのリスクが低減しています。さらに、本製品は、混入した増幅産物を分解することが可能な Uracil-DNA Glycosylase を含むため、 $10^3 \sim 10^4$ コピー/反応程度の混入したPCR増幅産物を分解し偽陽性を防止することが可能です。

実施例 検出感度の確認

サルモネラゲノムDNA、腸管出血性大腸菌ゲノムDNA、赤痢菌ゲノムDNAをそれぞれ100コピー、10コピー/反応になるように陰性糞便の熱処理液に添加したものをサンプルとして、本製品を用いてPCRを行った後、融解曲線解析により検出を行いました。解析にはBio-Rad® MiniOpticon™を用いました。その結果、いずれの遺伝子も100コピー、10コピーにおいて明確なピークが認められました。また、陰性糞便の場合は、内部標準（インターナルコントロール）のピークのみが検出され、陰性と判定されました。



品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格
腸内細菌遺伝子検出キット-蛍光検出- ・PCR Master Mix ・10xPrimer Mix ・UNG (Uracil-DNA Glycosylase)	480回用*	-20℃	FIK-301	¥240,000

※PCR 480回分、50検体プール時検便検体24,000検体を処理可能です。

※EvaGreen は、Biotium, Inc. の登録商標です。Bio-Rad およびMiniOpticon は、Bio-Rad Laboratories, Inc. の登録商標または商標です。