

Kyorin 

製品コード GSC0RC0131

研究用

 **GeneSoC[®]** 専用

インフルエンザウイルス A/B・A 群β溶血性連鎖球菌
検出キット

取扱説明書

管理番号:GSC0RC0131Rv3

インフルエンザウイルスおよび A 群β 溶血性連鎖球菌は、ともに 11 月下旬頃から流行が始まり、3 月から 5 月にかけて収束するパターンを取る呼吸器感染症の原因となるウイルスおよび細菌です¹⁾。

本製品は、A 型および B 型インフルエンザウイルス(Influenza A/B virus)、ならびに A 群β 溶血性連鎖球菌(Group A *Streptococcus pyogenes*)を特異的に検出することを目的とした GeneSoC[®]および GeneSoC[®] mini R 専用検出キットです。A 型および B 型インフルエンザウイルスではマトリクス蛋白をコードする M 遺伝子を、また、A 群β 溶血性連鎖球菌では TetR/AcrR family transcriptional regulator をコードする SPy1285 遺伝子をターゲットとして、リアルタイム PCR 法により検出を行います²⁾。本製品には、M 遺伝子および SPy1285 遺伝子とは別に、PCR 反応を確認するための内部標準遺伝子が含まれております。

【検出対象遺伝子】

検出対象	検出対象遺伝子	レポーター色素/クエンチャー色素
A 群β 溶血性連鎖球菌	SPy1285	Cyanine5 / Black Hole Quencher 3
A/B 型インフルエンザウイルス	M	FAM / Black Hole Quencher 1
内部標準	内部標準用人工配列	HEX / Black Hole Quencher 1

【引用文献】

- 1) 国立感染症研究所ホームページ
- 2) Abraham T, Sistla S. J. Clin. Diagn Res. 2016; 10: DC01-DC03.

I. 内容 (40 回分)

PCR 反応試薬

● 1. PCR Buffer* ¹		320 μL
● 2. Enzyme Mix* ²		80 μL
● 3. Primer Probe Mix * ³		200 μL

陽性コントロールおよび希釈用バッファー

● 4. Positive Control DNA(Flu A)* ⁴	1×10 ⁴ copies/μL	40 μL
● 5. Positive Control DNA(Flu B)* ⁵	1×10 ⁴ copies/μL	40 μL
● 6. Positive Control DNA(GAS)* ⁶	1×10 ⁴ copies/μL	40 μL
○ 7. PC Dilution Buffer		1 mL

*1 PCR 反応に必要な dNTP Mixture、Mg²⁺等を含む

*2 RNase Inhibitor 含む

*3 遮光保存のこと

*4 A 型インフルエンザウイルス M 遺伝子検出系の増幅領域を含む Positive Control DNA であるため、他の試薬へのコンタミネーション防止に留意すること。

*5 B 型インフルエンザウイルス M 遺伝子検出系の増幅領域を含む Positive Control DNA であるため、他の試薬へのコンタミネーション防止に留意すること。

*6 Spy1285 遺伝子検出系の増幅領域を含む Positive Control DNA であるため、他の試薬へのコンタミネーション防止に留意すること。

II. 保存

-20℃

III. 本製品以外に必要な試薬、機器 (主なもの)

【器具】

・GeneSoC[®]または GeneSoC[®] mini 専用測定チップ(以下、専用測定チップ)

・各種マイクロピペット

・マイクロピペット用フィルター付チップ

* マイクロピペットチップの先端形状が専用測定チップの試料導入口に適合することを確認の上ご使用ください。

・試薬調製用マイクロチューブ

【機器】

- ・リアルタイム PCR 装置： マイクロ流路型遺伝子定量装置 GeneSoC[®]
- ・リアルタイム PCR 装置： 超高速リアルタイム PCR 装置 GeneSoC[®] mini R
 - * 本製品は GeneSoC[®]および GeneSoC[®] mini R 専用検出試薬であり、他のリアルタイム PCR 装置には対応していません。
- ・微量簡易遠心機
- ・ボルテックスミキサー

【試薬】

- ・核酸抽出・精製キット
- 検体に応じて核酸抽出・精製を行ってください。

IV. 使用上の注意

本製品を使用する際の注意事項です。使用前に必ずお読みください。

1. 使用目的： 本製品は研究用の製品です。
2. 測定結果： ターゲット遺伝子の Primer および Probe が結合する領域の塩基配列内に変異や欠失/挿入が生じた際には、検出できない場合があります（検査結果判定により発生する問題に関して、杏林製薬株式会社は一切の責任を負いません）。
3. 廃棄： 試料は感染性を有するものとして、各施設の安全規定に従って廃棄してください。作業区域は常に清潔に保ち、検査に用いた器具等は高圧蒸気滅菌器を用いて 121℃で 20 分間以上高圧蒸気滅菌処理、または次亜塩素酸ナトリウム液等で処理を行った上、各施設の感染性廃棄物処理マニュアルに従って処理してください。PCR 反応後の専用測定チップは、高圧蒸気滅菌処理は行わないでください。処理を行うと PCR 増幅産物によるコンタミネーションの原因となりますので、密閉したまま廃棄してください。試薬を廃棄する際は多量の水で流してください。試薬容器、専用測定チップならびに器具は、廃棄物の処理および清掃に関する法律に従って処理してください。

V. 操作上の注意

1. 試薬は解凍後氷上で保存し、PCR 反応液の調製、分注などの操作は氷上で行ってください。
2. Enzyme Mix を使用する際には、泡立てないように穏やかに転倒混和し、試薬を均一にしてから使用してください。ボルテックスミキサーによる混和は行わないでください。
3. 試薬の分注を行う際は、必ずディスポーザブルチップを用い、サンプル間のコンタミネーションを防止してください。
4. 核酸分解酵素の混入にご注意ください。作業過程ごとにディスポーザブルマスクやグローブなどの个人防护具を着用するなど、操作には細心の注意を払ってください。

5. 試薬調製から検体サンプルの添加まで、次の3つのエリアを設定し、物理的に隔離することを推奨します。

① エリア 1: PCR 反応試薬を調製するエリア

リアルタイム PCR 反応液の調製、分注を行います（鋳型となる検体や核酸は持ち込まないでください）。

② エリア 2: 検体を取扱うエリア

検体の取扱いや核酸抽出・精製を行います。

③ エリア 3: PCR 反応液に検体サンプルを添加するエリア

分注された PCR 反応液への検体（鋳型核酸）の添加を行います。標準核酸サンプルの希釈もこのエリアで実施します。

※ 本製品では、反応終了後の増幅産物を電気泳動などで解析する必要はございません。実験室内の核酸のコンタミネーションの原因となりますので、増幅産物を専用測定チップから取り出すことは避けてください。

6. 測定時の GeneSoC[®]および GeneSoC[®] mini R の操作については、各取扱説明書に従ってください。

7. 非特異的な反応による増幅が認められることから、【測定結果のデータ解析上の注意】の項を参照し、M 遺伝子 (FAM) の増幅曲線に対する適切な判定しきい値、カットオフ Ct 値を設定した上で解析を行ってください。

VI. 操作

VI-1. 検体サンプルの調製（エリア 2 で実施。必要に応じて、安全キャビネット内で実施する）

- ・市販の核酸抽出・精製キットなどを使用して検体サンプルを調製します。
- ・喀痰を検体とする場合には、スプタザイム（極東製薬工業株式会社）などの喀痰処理剤を用いて均質化させてから核酸抽出・精製を行ってください。

VI-2. リアルタイム PCR 反応液の調製と反応開始

1. PCR 反応液を調製する（エリア 1 で実施）

必要数+ α 分の反応液をまとめて調製し、リアルタイム PCR 用反応チューブに 15 μ L ずつ分注します。必要本数は、サンプル数に陽性コントロール、陰性コントロール分を加え、定量解析を行う場合には、スタンダード核酸の反応数を追加します。

【1 反応分の PCR 反応液の組成】

● PCR Buffer	8 μ L
● Enzyme Mix	2 μ L
● Primer/Probe Mix	5 μ L
Total	15 μ L

VI-3. 判定

【検出対象遺伝子と蛍光検出の設定】

検出対象	検出対象遺伝子	蛍光検出
A 群β溶血性連鎖球菌	SPy1285 遺伝子	R: Cyanine5
A/B 型インフルエンザウイルス	M 遺伝子	B: FAM
内部標準	内部標準用人工配列	G: HEX

【コントロール反応の確認】

- ・ 陽性コントロール(鋳型 DNA 濃度 10^4 copies/ μ L)で SPy1285、M 各遺伝子が検出されない場合には、何らかの原因で PCR 反応や検出が正常に行われていないため、再測定を実施してください。
- ・ 陰性コントロールで内部標準が検出されない場合には、何らかの原因で PCR 反応や検出が正常に行われていません。また、SPy1285、M 各遺伝子が検出された場合はコンタミネーションの疑いがあります。調製場所や器具類を除染した上で、再測定を実施してください。
- ・ 各検出対象遺伝子のコピー数が非常に多い場合には、内部標準の検出が遅れる、あるいは減弱することがありますが、これはマルチプレックス PCR 反応に基づく事象であり、PCR 反応の不具合ではありません。

【測定結果のデータ解析上の注意】

- ・ M 遺伝子(FAM)の増幅曲線では、カットオフ Ct 値を 40~45 サイクルに設定し、カットオフ Ct 値以降の Ct 値は採用しないでください。

VII. 関連製品

- ・ GeneSoC[®]専用 肺炎球菌・インフルエンザ菌 検出キット（製品コード GSC0RC0101）
- ・ GeneSoC[®]専用 肺炎マイコプラズマ・百日咳菌 検出キット（製品コード GSC0RC0111）
- ・ GeneSoC[®]専用 MRSA 検出キット（製品コード GSC0RC0121）

VIII. 注意

- ・ 本製品は研究用試薬です。ヒト、動物等の医療・臨床診断には使用しないでください。
- ・ 杏林製薬株式会社の承認を得ずに製品を再販・譲渡すること、再販・譲渡のために改変すること、あるいは商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ・ GeneSoC[®]は杏林製薬株式会社の登録商標です。その他、本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品に関するお問い合わせ

杏林製薬株式会社 くすり情報センター

TEL: 0120-952956

受付時間: 9:00~17:00 (月~金 ※土日祝除く)

製造販売元: 杏林製薬株式会社

住所: 〒101-8311 東京都千代田区神田駿河台四丁目 6 番地

URL: <https://www.kyorin-pharm.co.jp/>

GeneSoC 製品 Web サイト

URL: <https://www.genesoc.jp/>

管理番号:GSC0RC0131Rv3

作成年月:2023 年 4 月