

糞便直接RT-PCR法によるノロウイルスG1&G2遺伝子増幅産物の検出

Detection of Norovirus G1 & G2 Genes in Stool Using Direct RT-PCR Method

ノロウイルスは、国内におけるウイルス性急性胃腸炎の主原因とされるウイルスです。毎年12月、1月をピークに流行し、国内における食中毒の中では多くの感染者が出ています。

ノロウイルスの検査は、正確、簡便かつ迅速に行われる必要があります。その検出には主にノロウイルス遺伝子の一部を増幅するRT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) 法が用いられています。

通常、遺伝子増幅法によるノロウイルス遺伝子の検出

では、サンプルからのRNA抽出・精製などの煩雑な前処理操作が必要です。

弊社の“ノロウイルスG1&G2検出試薬キット”の使用により、糞便サンプルからノロウイルスを簡便に検出することが可能です。

ここでは、本キットを用いて実際のノロウイルス陽性/陰性糞便をサンプルとし、RT-PCRを行い、得られた産物をDNA/RNA分析用マイクロチップ電気泳動装置MCE-202 “MultiNA” により検出した例をご紹介します。

T. Inagaki

分析方法

Analytical Procedure

糞便サンプルは、ノロウイルスG1とG2それぞれの陽性検体と陰性検体を用いました。

糞便サンプルの処理からRT-PCRまでは、弊社の“ノロウイルスG1&G2検出試薬キット” 付属の取扱説明書に準じました。得られたRT-PCR産物について、MultiNAによる分析を行い、ノロウイルス由来の特異的増幅産物を検出しました。(Fig. 1)

試薬 / キット

Reagents / Kits

- ・ノロウイルスG1&G2検出試薬キット (島津製作所) P/N 241-08991-91
- ・DNA-500 キット (島津製作所) P/N 292-27910-91
- ・SYBR® Gold nucleic acid gel stain (インビトロジェン) S11494
- ・25bp DNA ラダー (インビトロジェン) 10597-011

RT-PCR産物分析条件

Analytical Condition of RT-PCR Products

分析装置 : MCE-202 "MultiNA"

分析モード : DNA-500 プレミックスモード

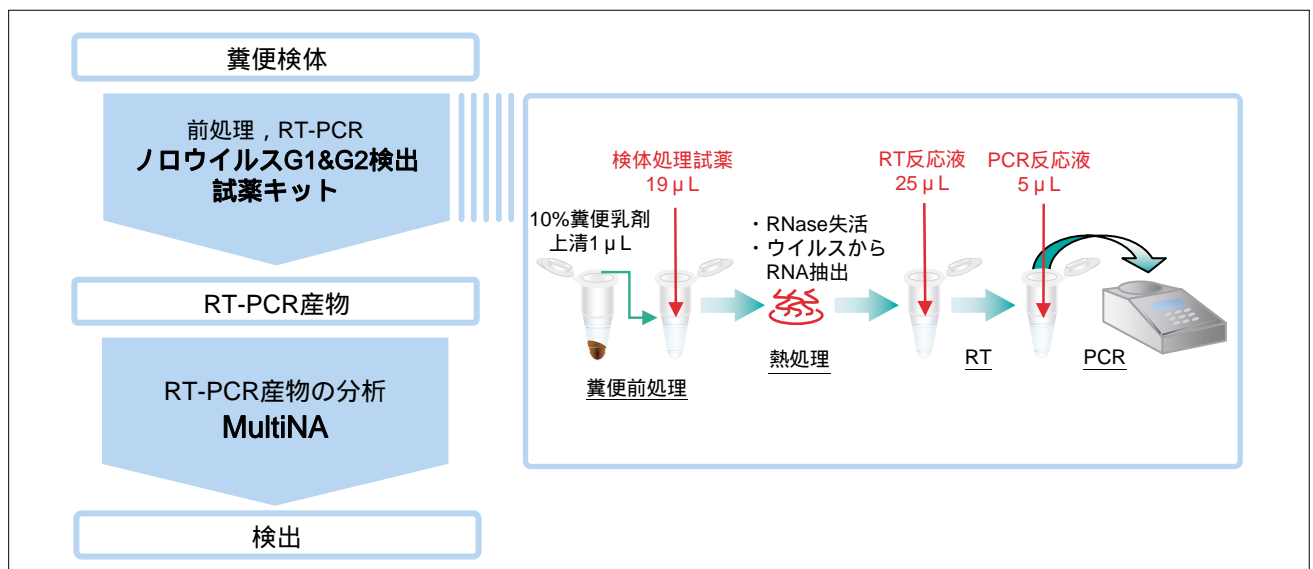


Fig. 1 ノロウイルスG1&G2遺伝子の分析方法
Analytical Procedure of Norovirus G1 & G2 Genes

ノロウイルスG1&G2遺伝子の検出

Detection of Norovirus G1&G2 Genes

ノロウイルスG1&G2遺伝子をFig. 1の手順に従い検出した結果をFig. 2に示します。

ノロウイルスG1陽性糞便検体，G2陽性糞便検体ともそれぞれの特異的増幅産物を明瞭に検出することができました。（図中エレクトロフェログラムのサイズ推定値は本実験によるものです。“ノロウイルスG1&G2検出試験キット”を用いた場合，ノロウイルスG1は85 bp，G2は101 bp，内部コントロールは204-211bpの増幅産物が得られます。）

MultiNAでの測定結果は，電気泳動ゲルイメージとエレクトロフェログラムとして得られます。また，増幅産物のサイズ推定値はサイズ既知の標準サンプル（Ladder）を基準として検量線を算定，濃度推定値は既知濃度の高分子量内部標準マーカ（Upper Marker）を基準として算出されます。そのため，ターゲットとする増幅産物の判定がアガロースゲル電気泳動法よりさらに確実，かつ容易となります。

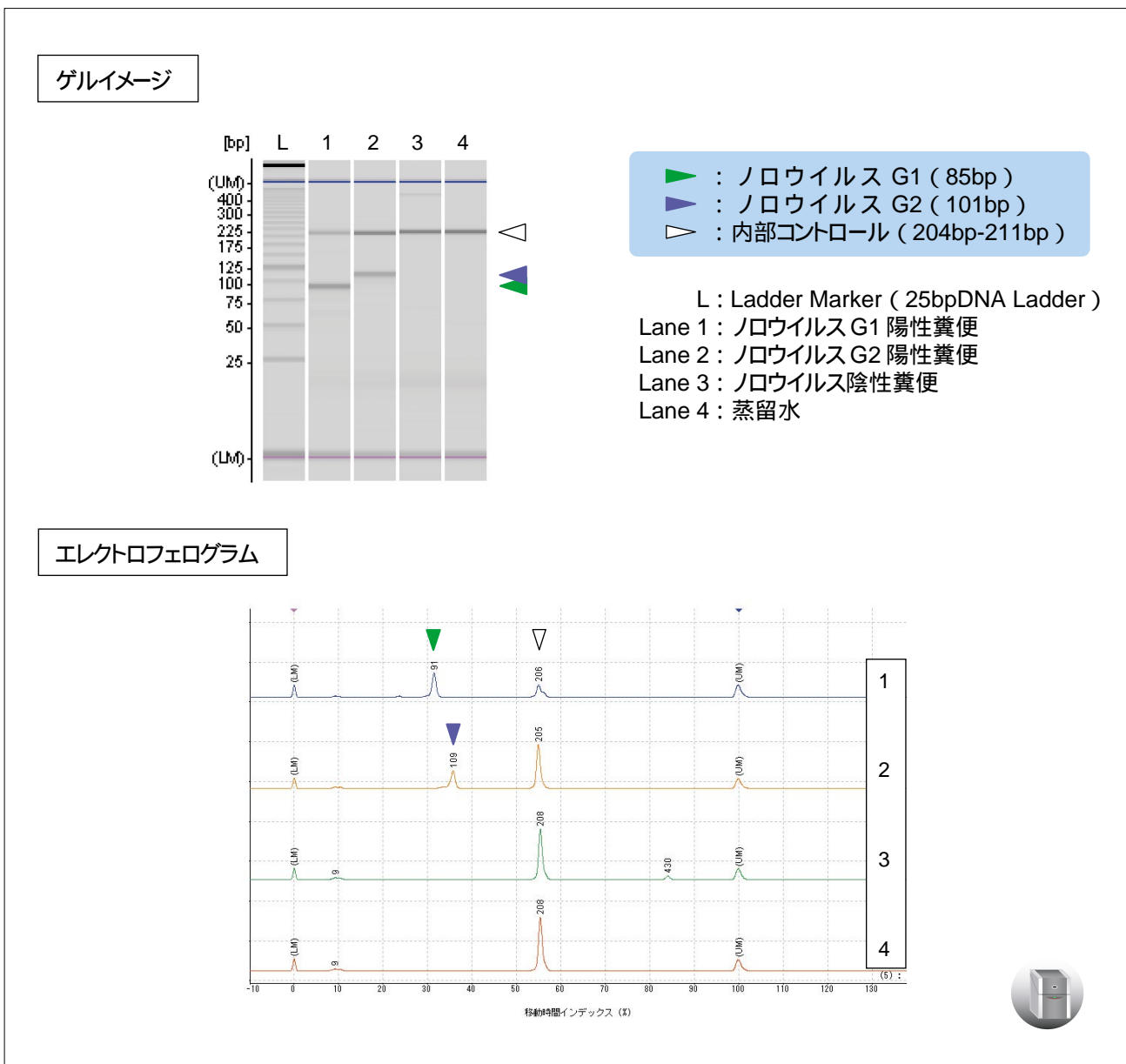


Fig. 2 ノロウイルスG1&G2遺伝子の分析結果
Analytical Results of Norovirus G1&G2 Genes

初版発行：2009年12月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。