

ノロウイルス検出試薬キットを用いた RT-PCR 増幅産物の検出

Detection of Norovirus RT-PCR Amplification Products with "Norovirus Amplification Kit"

DNA-500

DNA-1000

DNA-2500

RNA

MCE-202 "MultiNA" とノロウイルス検出試薬キットの組合せにより、前処理・検出操作が簡便化され、正確、省力、ハイスループットなノロウイルス遺伝子検出を実現します。

K. Suzuki

はじめに

ノロウイルス (Norovirus) はウイルス性急性胃腸炎の主原因とされるウイルスで、検出には RT-PCR などの遺伝子増幅法が一般に用いられます。しかし生体サンプル中には RNA を強力に分解する酵素 (RNase) や RT 反応、PCR 反応を阻害する物質が多量に存在するため、ノロウイルス RNA 遺伝子を増幅する前に、まずウイルスを分離し、そこに含まれる RNA を抽出・精製する工程が必要となります。加えて検出にアガロース電気泳動などのさらなる操作が必要となり、遺伝子増幅法の迅速性を著しく損なう原因となっていました。ここでは、DNA/RNA 分析装置 MCE-202 "MultiNA" により、RNA 精製不要のノロウイルス検出試薬キットを用いて得られた RT-PCR 増幅産物を検出した例を紹介します。

結果

ノロウイルス G1 検出試薬キット / G2 検出試薬キットで処理したサンプルを MCE-202 "MultiNA" で分析した結果を Fig.1 に示します。ノロウイルス G1 陽性試料では 86bp と 142bp (内部標準) に由来する増幅産物が、また G2 陽性試料では 98bp と 205bp (内部標準) に由来する増幅産物が検出されました。

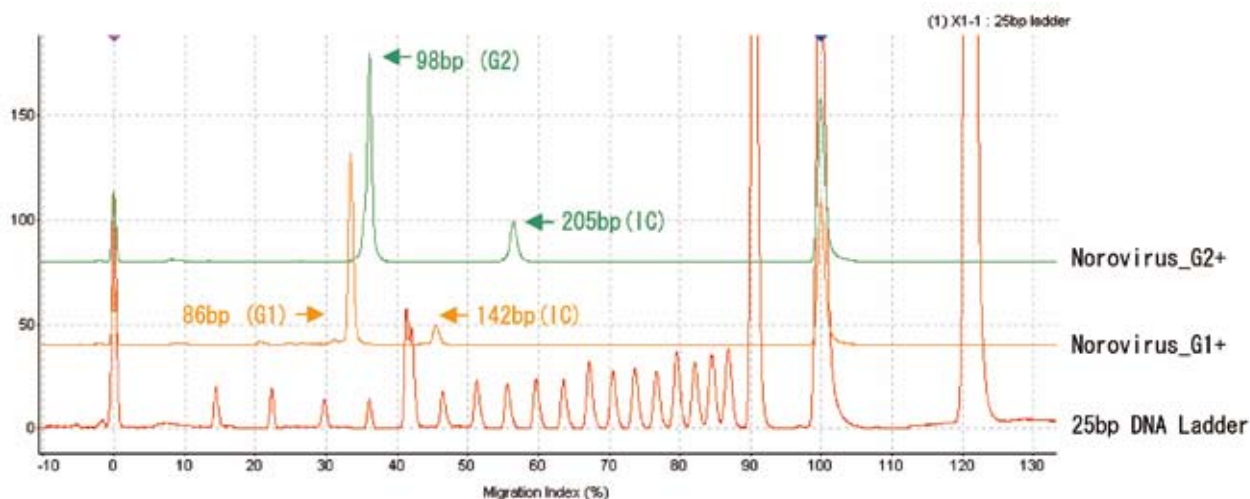


Fig. 1 ノロウイルス G1 検出試薬キット / G2 検出試薬キット処理サンプルのエレクトロフェログラム
Electropherogram of the Sample Amplified with Norovirus G1/G2 Amplification Kit

● 分析手順

分析装置： MCE-202 "MultiNA"

分析モード： DNA-500 オンチップ混合

サンプル：

G1+： ノロウイルス G1 陽性試料を G1 検出キット処理

G2+： ノロウイルス G2 陽性試料を G2 検出キット処理

試薬：

- ノロウイルス G1 検出試薬キット
(島津製作所) P/N 241-08905-91
- ノロウイルス G2 検出試薬キット
(島津製作所) P/N 241-08905-92
- DNA-500 Reagent Kit for MultiNA
(島津製作所) P/N 292-27910-91
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain
(インビトロジェン) S-11494
- 25bp DNA ラダー
(インビトロジェン) 10597-011

(注) ノロウイルス G1 検出試薬キット /G2 検出試薬キットに関する詳細な情報は、各キットの取扱説明書をご参照ください。

実験フロー：

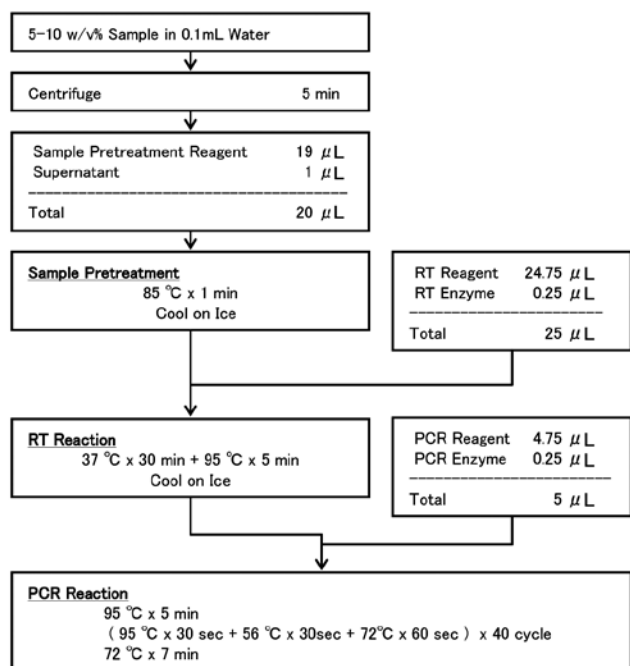


Fig. 2 サンプル調製
Sample Preparation

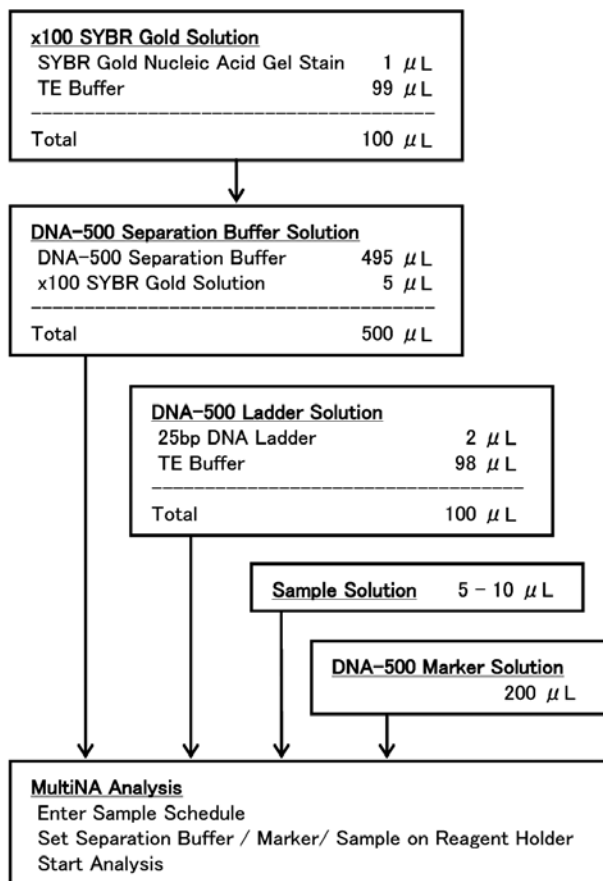


Fig. 3 実験手順 (サンプル数 8ヶの場合)
Experimental Procedure (for 8 Samples)

(注) MCE-202 "MultiNA" の分析詳細に関しては、MCE-202 "MultiNA" の取扱説明書をご参照ください。

● 参考データ

アガロースゲル電気泳動によるノロウイルス検出例 (Fig. 4)



Fig. 4 ノロウイルス G1/G2 検出試薬キット処理
- アガロースゲル電気泳動によるノロウイルス検出例
Norovirus Detection by Norovirus G1 / G2
Amplification Kit - Agarose Gel Electrophoresis