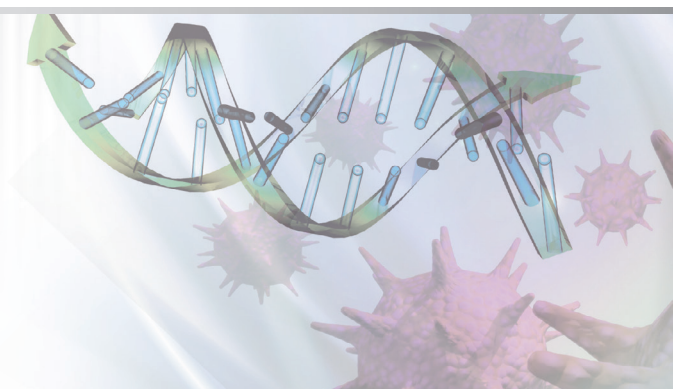


Solutions for the Detection of Infectious Disease Pathogens

感染症病原体の遺伝子分析

—Seeplex-MultiNA 多項目同時病原体遺伝子検出システム—

Pathogen



Innovative Molecular Technologies for the Multiple Detection of Pathogens

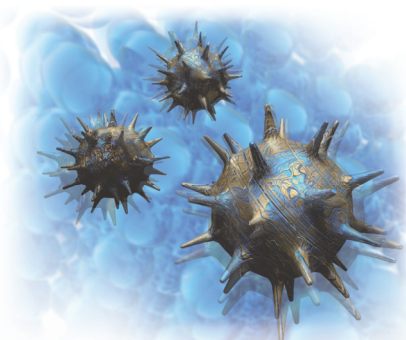
Best Combination of Seegene's
DPO™-based Multiplex PCR
Amplification Technology
& Shimadzu's Automated Microchip Electrophoresis System

多種多様な感染症病原体を検出する新しい遺伝子分析をサポートします。

'09-'10年に流行した新型インフルエンザは、世界的な流行（パンデミック）に対する警戒のニュースが新聞紙上などでも連日取り上げられ、記憶に新しいところです。ウイルスや細菌、真菌などのヒトへの感染が原因で生じる多くの感染症は、医学・医療の進歩した現在でも国や地域によっては死亡率の上位を占めるなど、依然として医学分野における重要な研究対象の一つです。（厚労省発表 平成21年原因別死亡者数で肺炎は第4位）

日本のような医療先進国においても、MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）やMDRP（多剤耐性緑膿菌）など抗菌薬に耐性を示す薬剤耐性菌による院内感染が問題となるなど、感染症関連研究が改めて重視されるようになってきています。

Seegene社（韓国）は、2007年にウイルスや細菌などの異なる複数の遺伝子を同時に検出可能にする革新的な新技術DPO™（Dual Priming Oligonucleotide）を開発し、研究用感染症研究試薬Seeplexシリーズとして販売してきました。本カタログで後述するとおり、既に多数の感染症研究用Seeplexキットを開発し、国内外の多くの感染症関連研究室でその性能とコストパフォーマンスが認められています。特に海外においては ISO13485を取得、いくつかの製品に関してはCE marking, Health Canada等の認証を取得し、研究から臨床への展開が図られつつあります。



島津製作所は、繰り返し利用が可能な複数のマイクロチップを搭載したDNA/RNA分析用マイクロチップ電気泳動装置MCE-202 MultiNAを2007年に開発・発売しました。これまでに、国内外の多くの遺伝子関連研究室に導入され、自動・高速・高感度と低ランニングコストを両立した電気泳動装置として高い評価を得ています。また、遺伝子研究や感染症関連の分野では、遺伝子増幅における鋳型DNAの抽出精製を不要にしたAmpdirect、食中毒原因の一つであるノロウイルスを糞便検体から直接増幅・検出するノロウイルスG1/G2検出キットなど、独自の試薬開発と遺伝子検査市場への参入を進めてきました。

島津製作所とSeegene社は両社の先進的な技術を結合することで、SeeplexによるMultiplex PCR反応を用いた感染症関連ウイルスや細菌遺伝子の選択的増幅と、MultiNAによる高速・高感度かつ低ランニングコストでの遺伝子検出を実現し、感染症遺伝子研究のお役に立ちたいと考えています。



Seeplex kit



MultiNA



SLEEVE INFO	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
DMG							
ECI							
DMG							
Description	ica A/B	ica A/B	ica A/B	ica A/B	ica A/B	ica A/B	ica A/B
Internal Control	865.45	1512.66	204.34	286.63	1772.21	1126.26	1600.00
Human FluA-H1	460.62	419.08					
FluA			326.30				
Swine FluA-H1				427.62		403.49	
FluA	405.30	492.76		411.01	426.16	422.02	
Unidentified							

Seegene Viewer

High Sensitivity
High Specificity
Automated Multiple Detection

Seeplex-MultiNA多項目同時病原体遺伝子検出システム

感染症病原体の検出にはイムノクロマト法による抗原迅速検査、リアルタイムPCR法などがありますが、1回に検出できる病原体の種類に限りがありました。そのため、詳細な疫学研究や多種類病原体の網羅的検出、あるいは多検体の処理に時間も費用も要することが課題でした。

Seegene社のマルチプレックスPCRに適したSeeplexキットと島津製作所の高速全自動マイクロチップ電気泳動システムの組み合わせにより、感染症病原体の遺伝子を多種類同時に、特異性高く、かつ迅速簡便に検出できます。また、1回の分析で多種類の標的遺伝子を検出できるため、標的遺伝子1項目あたりの分析コストが大幅に低減します。

Seeplex-MultiNA多項目同時病原体遺伝子検出システムは、遺伝子検査/研究部門や感染制御研究部門等におけるウイルスや細菌などの各種感染症関連病原体の検出を強力にサポートします。

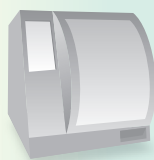
Seeplex-MultiNA 多項目同時病原体遺伝子検出システムの特長

- ・Seeplexキットにより、多数の標的遺伝子を高感度かつ高い特異性で同時に増幅できます。内部標準試料、陽性対照試料より、マルチプレックスPCRの増幅結果を正確に評価できます。
- ・MultiNAは、PCR増幅産物を高感度かつ高い分離能と再現性で分析できる高速全自動の電気泳動装置です。繰り返し使用できるマイクロチップにより分析コストを大幅に低減できます。
- ・MultiNAにより得られる電気泳動分析データを、専用解析ソフトウェア (Seegene Viewer) に直接エクスポートすることができます。標的遺伝子の有無の判定、レポート作成を簡便に行うことができます。

試料



DNA抽出 RNA抽出



PCR増幅



PCR装置



Seeplex kit

検出・解析



MultiNA

判定・レポート



Seegene
Viewer

Seeplex-MultiNA多項目同時病原体遺伝子検出システム

注:本システムにはPCR装置(サーマルサイクラ)は含まれません

Contents

参照ページ

Seeplex-MultiNA遺伝子検出システム	P.4
呼吸器感染症	P.6
髄膜炎起因病原体検出	P.10
下痢症	P.11
ヒトパピローマウイルス	P.12
性感染症、薬剤耐性遺伝子検出	P.14
SNP(一塩基多型)検出、アクセサリ試薬	P.15

注) 日本国内において、本試薬および装置等は試験研究用です。臨床診断用途には使用することはできません。
注) Seeplex, DPO™はSeegene社の登録商標です。

Seeplex-MultiNA遺伝子検出システムによる遺伝子分析のワークフロー

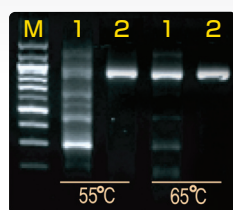


主な作業の流れ

1. 鼻咽頭ぬぐい液、尿、子宮頸部スワブなどの試料検体を常法により採取します。
2. 採取検体より市販のキットを用いて核酸を抽出精製します。
3. 標的の感染症病原体遺伝子を検出するSeeplexキットによりマルチプレックスPCR増幅反応を行います。
4. 増幅後、MultiNAを用いて増幅DNA断片を分離検出します。泳動後に専用解析ソフトウェア Seegene ViewerにMultiNA分析データを取り込んで標的遺伝子を解析・判定します。



Seeplex試薬キット



M: 分子量マーカー
1: 従来型プライマー
2: DPOプライマー

精度の高いマルチプレックスPCRを実現するSeeplexキット

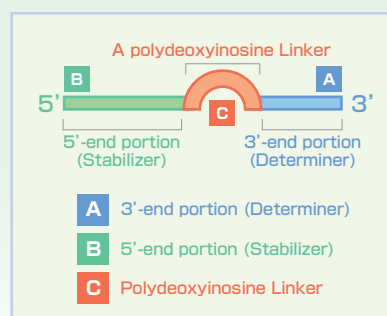
特殊なプライマー構造を有するDPO技術 (Dual Priming Oligonucleotide)により、鋳型DNAとプライマーとの非特異的な結合とPCR反応の伸長を抑えることができ、非常に選択性高く目的遺伝子のみを増幅できます。

- ・従来のプライマーで見られていたような目的以外の増幅断片の生成を、効果的に抑制できます。
- ・感染症病原体の特徴的な遺伝子を、多数同時にPCR (マルチプレックスPCR) 反応が可能です。
- ・呼吸器感染症、ヒトパピローマウイルス、性感染症、下痢症、結核菌、薬剤耐性遺伝子などを検出できるキットを約50種類ラインアップしています。

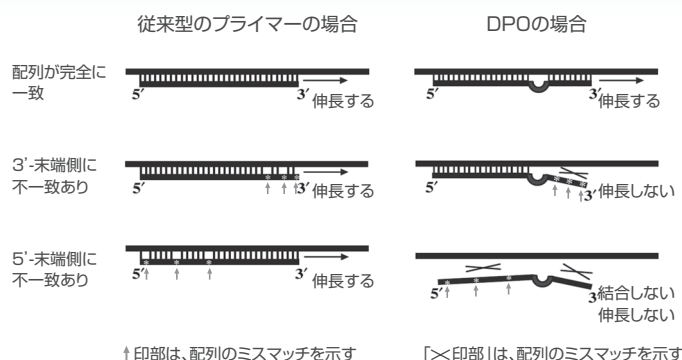
異なるアニーリング温度(55℃、65℃)における従来型とDPOプライマーの非特異増幅比較
参照: http://www.seegene.com/jp/research/core_Q20.php

DPO技術とは

DPOプライマーは、ポリデオキシイノシンリンカーを挟んで2つの異なる機能を有する領域、即ち、5'-末端側のスタビライザーと3'-末端側のデターミナーから構成されます。中央部のリンカーを構成しているイノシン塩基は、DNAを構成する通常の4種の塩基であるアデニン、グアニン、シトシン、チミンと比べて弱い水素結合力であるために熱的安定性が若干低く、ある温度条件下ではこのリンカー部のみが鋳型DNAから離れてバブル状の構造を形成します。この特殊なプライマーの構造が、目的遺伝子のみを選択的に増幅することを可能にします。



従来型のプライマーの場合、鋳型とプライマーの塩基配列中に多少の配列不一致があっても鋳型に結合したプライマーからの鎖伸長反応が起こりますが、DPOの場合は3'-末端側に配列不一致があると伸長反応が起こらず、また、5'-末端側に配列不一致があれば鋳型と安定して結合することができないことから、やはり伸長反応が進みません。DPO技術により、プライマーと完全に配列が一致した目的遺伝子のみが選択的に増幅でき、従来見られていたような目的以外の増幅断片の生成を効果的に抑制することが可能になります。





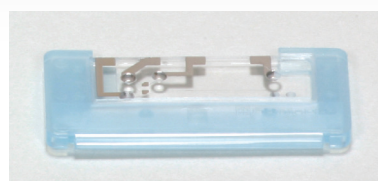
マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA

高速全自動マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA

煩雑でデータが曖昧なアガロースゲル電気泳動に代わる、新しい高速全自動のマイクロチップ電気泳動装置です。

- ・マイクロチップへ分離バッファを充填しサンプルを分注する泳動前処理から分離波形のデジタルデータ処理まで全自動で行います。省力化と同時に、高いデータの再現性を実現します。
- ・蛍光検出のため、高感度な分離分析ができます。
- ・マイクロチップを再利用することで、泳動に関わる分析コストを大幅に低減できます。

参照: <http://www.an.shimadzu.co.jp/bio/mce/multina/index.htm>



MultiNA用マイクロチップ

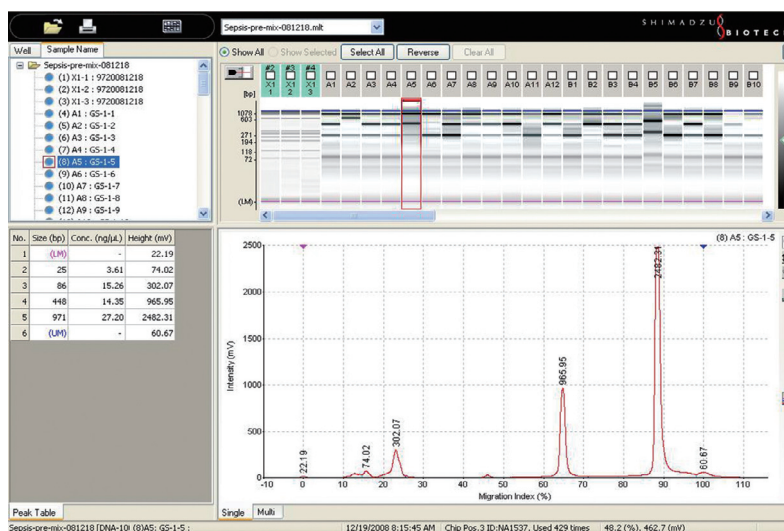
石英製、装置には最大4枚搭載可能



MultiNA専用試薬キット

電気泳動用試薬キット

(分離バッファ、泳動マーカーがキットに含まれる)



MultiNAの分析結果表示例

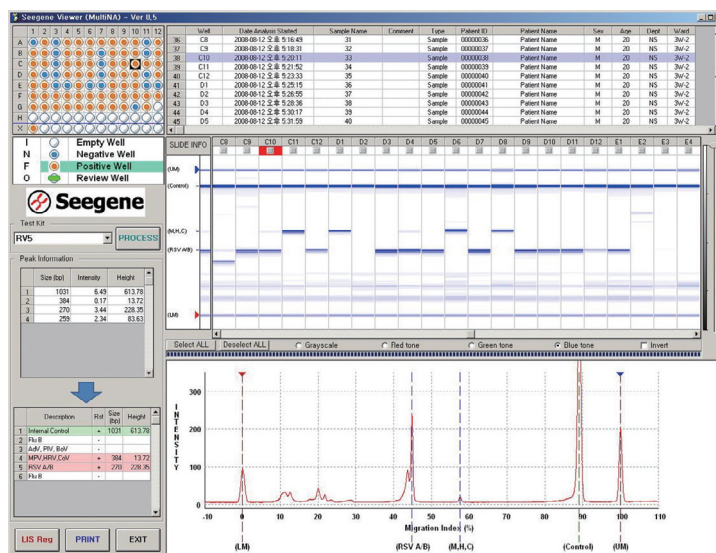
MultiNA分析データ
(CSV形式)をエクスポートして
取り込む

Seeplexキット専用の解析ソフトウェア Seegene Viewer

感染症病原体遺伝子の解析をサポートするSeeplexキット専用の解析ソフトウェアです。

※Seegene Viewerはご要望により無償で提供致します。

- ・ゲルイメージを中心とした見やすくわかりやすい表示GUIおよびレポート機能を搭載。
- ・各Seeplexキットが標的とする遺伝子増幅断片サイズの情報が登録されており、検出閾値の設定が可能です。
- ・MultiNAからCSV形式でエクスポートされる電気泳動分析データを取り込むだけで解析作業を行うことができます。



Seegene Viewerによる病原体遺伝子の検出表示例

呼吸器感染症における遺伝子分析

呼吸器感染症は、風邪やインフルエンザなどを代表とする日常的によくある病気の一つです。呼吸器感染症の起因ウイルス、起因菌の検出では、病原体特異的抗原を認識する抗体によるイムノクロマト法などを用いる迅速検査法が臨床の現場において多数利用されています。イムノクロマト法では一度に一種の病原体抗原の有無を判定しますが、Seeplexを用いるマルチプレックスPCRでは同時に複数の検出対象を判別することができるため、呼吸器感染症研究におけるウイルスや菌の検出・スクリーニングを効率的に低コストで行うことが可能です。

Seeplexシリーズ呼吸器感染症用キットには、新型インフルエンザ(A/H1N1 pdm)や季節性インフルエンザの判別・タイピングができるキットの他、ライノウイルスやコロナウイルス、アデノウイルス、パラインフルエンザウイルスなどの主要な呼吸器感染症関連ウイルス検出用キット、肺炎球菌、マイコプラズマ、肺炎クラミジアなどを対象とした肺炎主要起因菌検出用キットなど、研究目的に合わせた複数のキットが揃っています。

Influenza A/B One Step Typing キットの特長

- ・インフルエンザA型、B型のウイルスを判別します。
- ・季節性インフルエンザA型のサブタイピング(H1、H3)が可能です。
- ・季節性(A香港型/H3、Aソ連型/H1)と新型(A/H1N1 pdm)インフルエンザウイルスを識別します。
- ・逆転写反応(cDNA合成)とマルチプレックスPCRを1ステップの反応で行うことができます。
- ・反応系に8-MOP(メキシブソラレン)を含み、万一PCR産物が混入した場合に偽陽性となる増幅を抑制します。
- ・内部コントロール、陽性マーカーを含み、増幅結果の正確な評価が可能です。

<検出対象>

Influenza B
Influenza A virus (Common)
Influenza A/H1N1 pdm (新型)
Human Seasonal Influenza A/H1 (Aソ連型)
Human Seasonal Influenza A/H3 (A香港型)

<対象試料>

鼻咽頭スワブ (Nasopharyngeal swab)
鼻咽頭吸引試料 (Nasopharyngeal aspirate)
気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid)

呼吸器感染症用キット

品 名	テスト数	備考 (品番 P/N)
Seeplex® RV15 OneStep ACE	50	主要な呼吸器系ウイルス15種が検出可能 (アデノウイルス A/B/C/D/E、コロナウイルス229E/NL63、同OC43、パラインフルエンザウイルス-1、同-2、同-3、同-4、ライノウイルス A/B、インフルエンザウイルスA型、RSウイルス A、RSウイルス B、ボカウイルス1/2/3/4、インフルエンザウイルスB型、メタニューモウイルス、エンテロウイルス) 本キットのみで逆転写反応とPCRが可能な1 Step RT-PCR キット (SSOT-AG699-04070-000)
Seeplex® RV12 ACE Detection	50	主要な呼吸器系ウイルス12種が検出可能 (メタニューモウイルス、アデノウイルスA/B/C/D/E、コロナウイルス229E/NL63、同OC43、パラインフルエンザウイルス-1、同-2、同-3、インフルエンザウイルスA型、RSウイルスA、RSウイルスB、インフルエンザウイルスB型、ライノウイルス A/B) ※注1 (SSOT-AG699-04010-000)
Seeplex® influenza A/B OneStep	100	インフルエンザウイルスA型、同B型およびA型3種サブタイピングが可能 (A/H3N2 = A香港型、A/H1N1 = Aソ連型、A/H1N1 pdm = 新型-2009年パンデミックを引き起こした当時の新型インフルエンザ) 本キットのみで逆転写反応とPCRが可能な1 Step RT-PCR キット (SSOT-AG699-04012-000)
Seeplex® PneumoBacter ACE Detection	50	肺炎主要起因菌6種が検出可能 (肺炎球菌、百日咳菌、マイコプラズマ、肺炎クラミジア、インフルエンザ菌、レジオネラ菌) (SSOT-AG699-04027-000)
Seeplex® MTB ACE Detection	50	結核菌ゲノム内のIS6110に加えて、MPB遺伝子を標的とすることで、偽陰性を解決しました (SSOT-AG699-04017-000)
※注1:本キットは、cDNA合成用にRT試薬を別途用意していただく必要があります		

呼吸器感染症の遺伝子分析のワークフロー



主な作業の流れ

1. 鼻咽頭ぬぐい液・鼻咽頭吸引試料、気管支肺胞洗浄液の各種検体試料を常法により採取します。
2. 市販の核酸抽出用キットを用いて核酸抽出します。
3. 標的の感染症病原体遺伝子を検出するSeeplexキットによりマルチプレックスPCR増幅反応を行います。
4. 増幅後、MultiNAを用いて増幅DNA断片を分離検出します。泳動分離後に専用解析ソフトウェアSeegene ViewerにMultiNA分析データを取り込んで標的遺伝子を解析・判定します。

Data

分析検出例 (Influenza A/B One Step Typing キット)

ウイルスタイプ毎にマルチプレックスPCRで増幅されるDNA断片サイズが異なるため、一度の分析でインフルエンザウイルスの正確なタイピングが可能です。また、内部コントロールの増幅によって、PCR反応の阻害状況も確認できます。

下記検出例では、インフルエンザウイルスのMP(マトリクス蛋白)領域を認識することで、A型あるいはB型を判定します。同時にHA(ヘマグルチニン)領域を認識し、季節性H1、H3、新型H1それぞれの特異的なDNA増幅断片が検出されるため、ウイルスのタイピング結果が明確に判定できます。

判定例：試料A1→ A/季節性H1 (Aソ連型)
試料A4・A6→ A/H1N1 pdm (新型)

検出対象DNA断片のサイズ	(bp)
内部コントロール (IC)	850
インフルエンザA型季節性H3 (A香港型)	590
インフルエンザA型季節性H1 (Aソ連型)	474
インフルエンザB型	347
インフルエンザA/H1N1 pdm (新型)	262
インフルエンザA型 (共通)	206

データ例でのタイピング結果

試料A1 インフルエンザA型季節性H1 (Aソ連型)
試料A2 インフルエンザA型季節性H1 (Aソ連型)
試料A3 インフルエンザB型
試料A4 インフルエンザA/H1N1 pdm (新型)
試料A5 インフルエンザA型季節性H3 (A香港型)
試料A6 インフルエンザA/H1N1 pdm (新型)
A7：陰性対照

Seeplex® Influenza A/B OneStep Typing

SLIDE INFO	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
(UM)							
(IC)							
(UM)							
Description	12a A/B	12a A/B	12a A/B	12a A/B	12a A/B	12a A/B	12a A/B
Internal Control	1455.45	1512.66	1204.34	1266.63	1372.23	1126.26	1600.80
Human FluA-H3	460.62	419.86			319.92		
FluB			926.30				
Swine FluA-H1				427.62		403.49	
FluA	405.20	492.76		411.01	420.16	422.02	
= Unidentified =							

A1~A6: Clinical samples, A7: Negative control

典型的なPCR増幅条件例

<逆転写>
50℃ 30min
94℃ 15min
<PCR増幅>
94℃ 0.5min
60℃ 1.5min
72℃ 1min
72℃ 10min
45サイクル

MultiNAの分析条件例

<使用チップ、キットおよび試薬類>
マイクロチップ
DNA-1000キット
SYBR Gold (Invitrogen)
分子量ラダー
(φx174 / Hae III 消化断片)

呼吸器感染症における病原体遺伝子検出実施例 ー 東京慈恵会医科大学、Seegene社との共同研究 ー

東京慈恵会医科大学/Seegene社/島津製作所の3者で共同研究を行い、その成果を「呼吸器感染症の起因病原体遺伝子同時検出」および「病原体遺伝子同時検出を用いた冬季の小児感染症の起因病原体検索の試み」として、第59～第61回日本感染症学会東日本地方学術集会(2010～2012年10月)にて発表しました。

インフルエンザ抗原迅速検査では、A型あるいはB型のインフルエンザウイルスの型判定が可能です。Seegene社試薬とMultiNAを組合せることにより、インフルエンザA型、B型およびA型サブタイピング、15種の呼吸器感染症起因ウイルスの遺伝子、さらに6種肺炎起因菌を網羅的に検出することが可能です。

東京慈恵会医科大学附属柏病院小児科にご協力頂き、冬季(12月～3月)に38℃以上の発熱を主訴とする小児患者から鼻腔ぬぐい液(小児608例)を採取しました。下記、ワークフローにしたがって、呼吸器感染症の起因病原体遺伝子の同時検出を行いました。

呼吸器感染症の遺伝子分析のワークフロー



図1 主な作業の流れ

主な作業の流れ

1. 鼻腔ぬぐい液を常法により採取し、インフルエンザ抗原迅速検査を実施、その残液を検体とします。
2. 自動核酸抽出装置を用いて核酸抽出します。
3. 標的の感染症病原体遺伝子を検出するSeeplexキットによりマルチプレックスRT-PCR/PCR増幅反応を行います。
4. 増幅後、MultiNAを用いて増幅DNA断片を分離検出します。
泳動分離後に専用解析ソフトウェアSeegene ViewerにMultiNA分析データを取り込んで標的遺伝子を解析・判定します。

今回、共同研究で使用したSeeplexキット3種

- ・ Influenza A/B OneStep typing インフルエンザA/Bタイピングに加えて、A型のうち、新型インフル(A/H1N1 pdm)と季節性2種のA型(A香港型: A/H3、Aソ連型:A/H1)のサブタイピング可能
- ・ RV15 OneStep ACE Detection アデノウイルス、コロナウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、RSウイルス、ライノウイルスを含む主要な呼吸器系ウイルス15種が検出可能
- ・ PneumoBacter ACE Detection 肺炎球菌、インフルエンザ菌、肺炎クラミドフィラ、百日咳菌、レジオネラ菌、肺炎マイコプラズマ6種の主要肺炎起因菌が検出可能

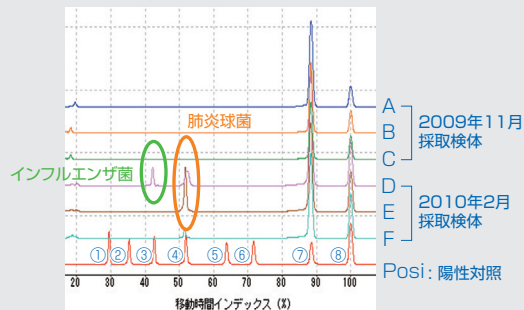
*データご提供および学会発表 東京慈恵会医科大学小児科学講座 和田 靖之 准教授

【参考文献】感染症学雑誌 2011.1 第85巻 第1号, P.130

Data

PneumoBacterキット 検出結果

< MultiNA エレクトロフェログラム >



< MultiNA ゲルイメージ >

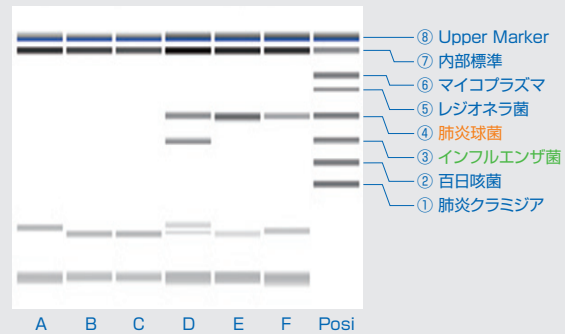


図1 採取時期の異なる検体中の検出結果例 (PneumoBacter ACE Detectionキット)

東京慈恵会医科大学小児外来患者における呼吸器系起因病原体遺伝子の検出結果

2009-2012年の3シーズンで実施したところ、その年に流行したインフルエンザウイルス型と正確に一致する検出結果が得られました。

また、呼吸器感染症の原因ウイルス11種、肺炎起因菌4種を検出し、冬季流行の病原体傾向を把握するのに本システムが有用であることが示唆されました。

< シーズン > 2009-2010 2010-2011 2011-2012

< 病原体名 >

対象サンプル数

30

185

393

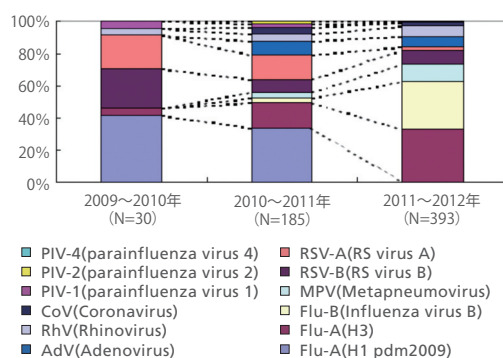
【ウイルス】

Flu-A(Influenza virus A)	11	45	62
A/H1pdm2009	10	31	0
A/H3	1	14	62
Flu-B(Influenza virus B)	0	3	56
MPV(Metapneumovirus)	0	3	21
RSV-B(RS virus B)	6	7	16
RSV-A(RS virus A)	5	14	4
AdV(Adenovirus)	0	8	12
RhV(Rhinovirus)	1	4	12
CoV(Coronavirus)	0	4	4
PIV-1(parainfluenza virus1)	1	2	0
PIV-2(parainfluenza virus2)	0	1	1
PIV-4(parainfluenza virus4)	0	0	1

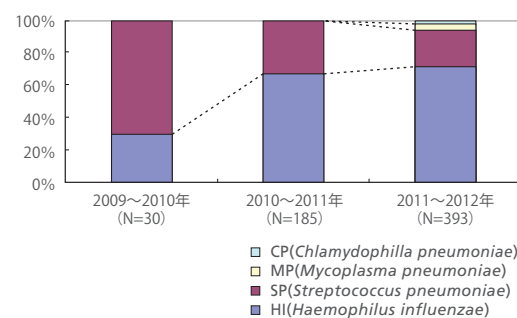
【細菌】

HI(Haemophilus influenzae)	6	38	104
SP(Streptococcus pneumoniae)	14	19	32
MP(Mycoplasma pneumoniae)	0	0	8
CP(Chlamydia pneumoniae)	0	0	2

感染ウイルスの検出[年次推移]



感染細菌の検出[年次推移]



2009~2012年
小児外来608名での評価

- ・インフルエンザウイルスの流行タイプと正確に一致
- ・呼吸器感染症の原因ウイルス11種、肺炎起因菌4種を検出
- ・病原体の流行を網羅的に把握可能

図2 共同研究における病原体遺伝子の検出結果まとめ

髄膜炎起因病原体の遺伝子分析

抗菌薬療法の発達した現代にあっても、髄膜炎は発症すれば致死率は高く、また救命できても重篤な後遺症を残すことがあり、特に小児においては注意が必要な感染症です。迅速な診断と適切な治療の早期開始が重要です。

髄膜炎には、細菌性髄膜炎と無菌性髄膜炎とがあり、本キットではこれら2種の髄膜炎の起因病原体遺伝子検出が可能です。細菌性髄膜炎の主な起因菌として、肺炎球菌、インフルエンザ菌、リステリア菌、B群レンサ球菌、髄膜炎菌などがあり、無菌性髄膜炎の主な起因病原体として、ポリオ、エコー、コクサッキーウイルスを含むエンテロウイルス属、単純ヘルペスウイルス (HSV1/2)、EBウイルス、サイトメガロウイルス (CMV)、水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV)、ヒトヘルペスウイルス (HHV6) などがあります。

髄膜炎起因病原体検出キットの特長

- ・脳脊髄液を臨床材料として抽出精製した核酸検体を用いて、細菌性髄膜炎の主要起因菌である5種の細菌と無菌性髄膜炎の主要起因ウイルスである7種のウイルスの検出が可能です。
- ・検体採取から病原体遺伝子検出まで約6時間です。

髄膜炎起因病原体の遺伝子分析のワークフロー



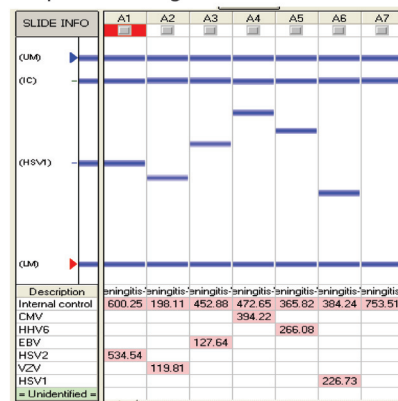
Data

分析検出例 (Meningitis-V1 ACE Detectionキット)

データ例でのタイピング結果

試料 1	単純ヘルペスウイルス2型
試料 2	水痘・帯状疱疹ウイルス
試料 3	EBウイルス
試料 4	サイトメガロウイルス
試料 5	ヒトヘルペスウイルス
試料 6	単純ヘルペスウイルスI型
試料 7	陰性対照

Seeplex® Meningitis-V1 ACE Detection



典型的な増幅条件例

<PCR増幅>		40サイクル
94℃	15min	
94℃	0.5min	
60℃	1.5min	
72℃	1.5min	
72℃	10min	

MultiNAの分析条件例

<使用チップ、キットおよび試薬類>
 マイクロチップ
 DNA-1000キット
 SYBR Gold (Invitrogen)
 分子量ラダー
 (φx174 / Hae III 消化断片)

髄膜炎起因病原体検出用キット

品 名	テスト数	備考 (品番 P/N)
Seeplex® Meningitis-V1 ACE Detection	50	単純ヘルペスウイルス(HSV1/2)、EBウイルス、サイトメガロウイルス(CMV)、水痘・帯状疱疹ウイルス(VZV)、ヒトヘルペスウイルス(HHV6)の検出が可能 (SSOT-AG699-04042-000)
Seeplex® Meningitis-V2 ACE Detection	50	ポリオ、エコー、コクサッキーウイルスを含むエンテロウイルス属の検出が可能 (SSOT-AG699-04043-000)
Seeplex® Meningitis-B ACE Detection	50	肺炎球菌、インフルエンザ菌、リステリア菌、B群レンサ球菌、髄膜炎菌の検出が可能 (SSOT-AG699-04044-000)

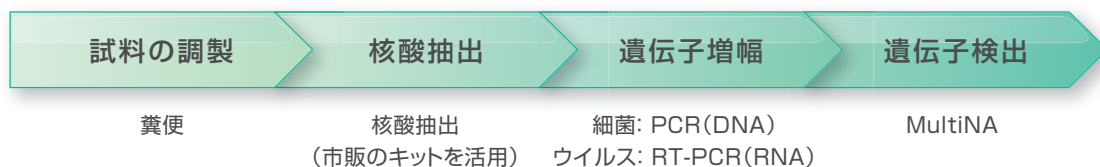
下痢起因病原体の遺伝子分析

下痢は、感染性胃腸炎・腸管感染症の主症状として、様々な病原体により引き起こされる感染症であり、細菌性のものでは腸炎ビブリオ、病原性大腸菌、サルモネラ、カンピロバクターなど、ウイルス性のもものではノロウイルス、ロタウイルス、腸管アデノウイルスなどが起因病原体として報告があります。急性の経過をたどり、通常抗菌薬投与により症状の改善がみられますが、薬剤耐性菌による下痢の場合、重篤な症状となることがあります。電顕、ELISA、糞便培養などの従来の診断法では制約がありましたが、Seeplexを用いるマルチプレックスPCRでは4種類のウイルスや10種類の細菌の下痢起因病原体を6時間以内に検出することが可能です。

下痢起因病原体検出キットの特長

- ・10種類の細菌性下痢の主要起因菌検出が可能です。(サルモネラ菌、赤痢菌、腸炎ビブリオ、カンピロバクター、クロストリジウム・ディフィシル、ウェルシュ菌、エルシニア・エンテロコリチカ、アエロモナス菌、O157、出血性大腸菌)
- ・4種類の非細菌性下痢の主要ウイルス検出が可能です。(ロタウイルス、ノロウイルスGI/GII、アデノウイルス、アストロウイルス)

下痢起因病原体の遺伝子分析のワークフロー

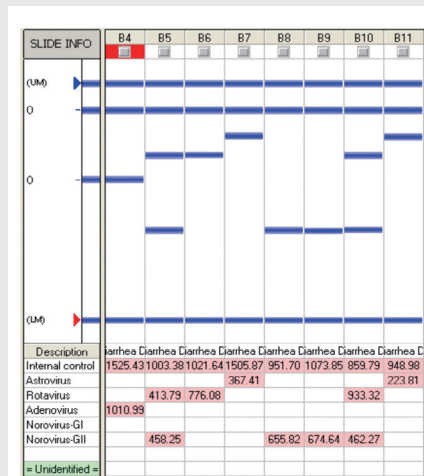


Data

分析検出例 (Diarrhea-V ACE Detectionキット)

データ例でのタイピング結果

試料B4	アデノウイルス
試料B5	ロタウイルス、ノロウイルスGⅡ
試料B6	ロタウイルス
試料B7	アストロウイルス
試料B8	ノロウイルスGⅡ
試料B9	ノロウイルスGⅡ
試料B10	ロタウイルス、ノロウイルスGⅡ
試料B11	アストロウイルス



典型的な増幅条件例

<PCR増幅>
 94℃ 15min
 94℃ 0.5min
 60℃ 1.5min
 72℃ 1.5min
 72℃ 10min
 40サイクル

MultiNAの分析条件例

<使用チップ、キットおよび試薬類>
 マイクロチップ
 DNA-1000キット
 SYBR Gold (Invitrogen)
 分子量ラダー
 (φx174 / Hae III 消化断片)

下痢症用キット

品 名	テスト数	備考 (品番 P/N)
Seeplex® Diarrhea-V ACE Detection	50	4種類の下痢起因ウイルス(ロタウイルス、ノロウイルスGⅠ/GⅡ、アデノウイルス、アストロウイルス)の検出が可能 ※注1 (SSOT-AG699-04046-000)
Seeplex® Diarrhea-B1 ACE Detection	100	5種類の下痢起因細菌(サルモネラ菌、赤痢菌、腸炎ビブリオ、カンピロバクター、ディフィシル菌)の検出が可能 (SSOT-AG699-04047-000)
Seeplex® Diarrhea-B2 ACE Detection	100	5種類の下痢起因細菌(ウェルシュ菌、腸炎エルシニア、アエロモナス菌、O157、出血性大腸菌)の検出が可能 (SSOT-AG699-04048-000)

※注1:本キットは、cDNA合成用にRT試薬を別途用意していただく必要があります

ヒトパピローマウイルスの遺伝子分析

ヒトパピローマウイルスは、子宮頸癌の主要な危険因子として知られています。ヒトパピローマウイルス遺伝子には多くの型が存在し、病理学的には高リスク型と低リスク型に分けられます。高リスク型ヒトパピローマウイルスは子宮頸癌の予測因子として、子宮頸部細胞診やコルポスコピーと共に、子宮頸癌検診の検査対象にもなっています。

Seeplexを用いるマルチプレックスPCRでは、同時に複数の検出対象を判別することができ、子宮頸部スワブや液状細胞診試料から高リスク型のHPV 16、HPV 18のタイピングと、他の16種の高リスクグループ、2種の低リスクグループ(HPV 6/11)のスクリーニングを同時に行うことが可能です。

HPV4A ACE Detectionキットの特長

- ・高リスク型のHPV 16、HPV 18のタイプ判別が可能です。
- ・他の高リスク型(26、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82)のスクリーニングが可能です。
- ・低リスク型のHPV 6、HPV 11のスクリーニングが可能です。
- ・反応系に8-MOP(メキシプソラレン)を含み、万一PCR産物が混入した場合に偽陽性となる増幅を抑制します。
- ・内部コントロール、陽性マーカーを含み、増幅結果の正確な評価が可能です。

<検出対象>

HPV 16

HPV 18

高リスク型 HPV (16種) *1

低リスク型 HPV (2種) *2

*1 高リスク型 : HPV 26、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82

*2 低リスク型 : HPV 6/11

<対象試料>

子宮頸部スワブ (Cervical brush/swab)

液状細胞診試料 (Liquid-based cytology specimen)
(Thin Prep®オリンパス社)

MultiNA対応のヒトパピローマウイルス検出用キット

品 名	テスト数	備考 (品番 P/N)
Seeplex® HPV4A ACE Screening	50	HPV 16、HPV 18の型判定および高リスク型HPV群16種と低リスク型HPV 6/11のスクリーニング検出が可能 (SSOT-AG699-04025-000)

子宮頸がんとHPV

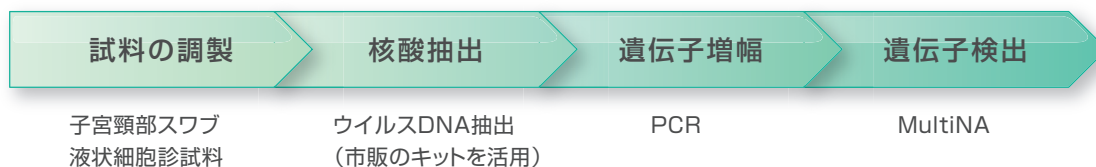
子宮頸がんの発生には、その多くにヒトパピローマウイルス(Human Papillomavirus:HPV)の感染が関連しています。HPVは、性交渉で感染することが知られているウイルスです。子宮頸がんの患者さんの90%以上からHPVが検出されることが知られています。HPV感染そのものはまれではなく、感染しても、多くの場合、症状のないうちにHPVが排除されることが考えられています。HPVが排除されず感染が続くと、一部に子宮頸がんの前がん病変や子宮頸がんが発生すると考えられています。

子宮頸がんにかかる人は、全体として年間約8,900人(2007年罹患数・率報告)、また、子宮頸がん で亡くなる方は、全体として年間約2,700人となっています(ー人口動態統計2011年)。

年齢別にみた子宮頸がんの罹患率は、20歳代後半から40歳代前半まで増加し、70歳ころ再び増加します。近年、罹患率、死亡率ともに若年層で増加傾向にあります。

(国立がんセンターがん対策情報センター)

HPV4A ACE Screeningキットによるヒトパピローマウイルスのスクリーニング



主な作業の流れ

1. 子宮頸部スワブ、液状細胞診試料 (ThinPrep® オリンパス社) などの検体を常法により採取します。
2. 市販の核酸抽出用キットを用いて核酸抽出します。
3. 標的の感染症病原体遺伝子を検出するSeeplexキットによりマルチプレックスPCR増幅反応を行います。
4. 増幅後、MultiNAを用いて増幅DNA断片を分離検出します。泳動分離後に専用解析ソフトウェア Seegene ViewerにMultiNA分析データを取り込んで標的遺伝子を解析・判定します。

Data

分析検出例 (HPV4A ACE Screeningキット)

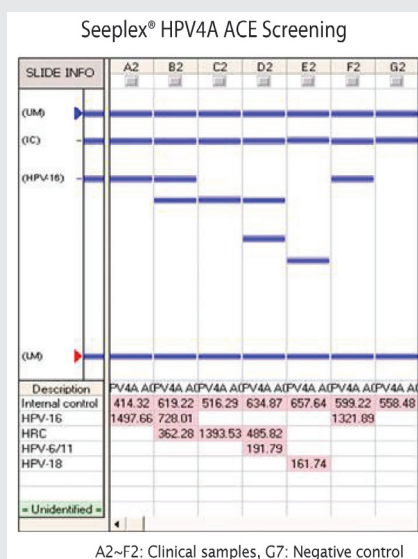
本キットによるヒトパピローマウイルスの検出例を示しています。検出対象によってマルチプレックスPCRで増幅されるDNA断片のサイズが異なるため、一度の分析で高リスク型のタイピングと、高リスク型および低リスク型の複数種のスクリーニングを同時に行うことが可能です。内部コントロールの増幅によってPCR反応の阻害は生じていないことがわかり、複数の型のウイルスが混在している場合にはそれぞれ対応したサイズのDNA増幅断片が同時検出されます。

例) 試料B: HPV 16 および 高リスク型HPV (16種のいずれか)、
試料D: 高リスク型HPV および HPV 6/11

検出対象DNA断片のサイズ	(bp)
内部コントロール(IC)	1000
HPV 16	588
高リスク型 HPV	465
低リスク型 HPV 6/11	302
HPV 18	230

データ例でのタイピング結果

試料A	HPV 16
試料B	HPV 16/高リスク型 HPV
試料C	高リスク型 HPV
試料D	高リスク型 HPV 低リスク型 HPV 6/11
試料E	HPV 18
試料F	HPV 16
試料G	陰性対照



典型的な増幅条件例

<PCR増幅>	
94℃	15min
94℃	0.5min
60℃	1.5min
72℃	1.5min
72℃	10min

40サイクル

MultiNAの分析条件例

<使用チップ、キットおよび試薬類>
マイクロチップ
DNA-1000キット
SYBR Gold (Invitrogen)
分子量ラダー
(φx174 / Hae III 消化断片)

性感染症における遺伝子分析

性感染症は、主に性的接触を伴う原因による感染症 (Sexually Transmitted Infection) の総称であり、STDあるいはSTIなどと呼ばれています。性感染症の感染・病原因子は幅広く、トリコモナスのような原生生物、マイコプラズマやクラミジアなどの細菌、真菌の一種であるカンジダ、サイトメガロウイルス、ヘルペスウイルスのようなウイルスに起因するものなど様々です。培養法による従来の分析法には数日を要しますが、Seeplexを用いるマルチプレックスPCRでは同時に複数の検出対象を半日で判別することができ、尿や尿道スワブ試料などからの25種類の性感染症起因微生物の検出を効率的に行うことが可能です。

STI Master ACE Detectionキットの特長

- ・性感染症の起因微生物25種 (トリコモナス、マイコプラズマ、クラミジア、カンジダなど) を検出します。
- ・尿や尿道スワブ、膣/子宮頸部スワブ、液状細胞診試料からの分析が可能です。
- ・対象別に6種類のパネル (STI Master Panel 1~6) で構成されています。
- ・反応系に8-MOP (メキシプソレン) を含み、万一PCR産物が混入した場合に偽陽性となる増幅を抑制します。
- ・内部コントロール、陽性マーカーを含み、増幅結果の正確な評価が可能です。

<対象試料>

尿、尿道スワブ (Urethral swab)、膣スワブ (Vaginal swab)、子宮頸部スワブ (Cervical brush/swab)

生殖器病変部スワブ (Genital lesion swab)、液状細胞診試料 (Liquid-based cytology specimen ex: Thinprep®)

性感染症 (淋菌やクラミジアなど) 用キット

品 名	テスト数	備考 (品番 P/N)
Seeplex® STI Master Panel 1, Panel 2, Panel 3, Panel 4, Panel 5, Panel 6	各100	STI Masterキットにおける病原体毎のパネル別キット、病原体を限定して検出することが可能。 (Panel 1:SSOT-AG699-04004-000, Panel 2:SSOT-AG699-04005-000, Panel 3:SSOT-AG699-04006-000, Panel 4:SSOT-AG699-04007-000, Panel 5:SSOT-AG699-04008-000) Panel 6は提供予定

薬剤耐性遺伝子の分析

医療現場での抗生物質や抗菌剤などの使用増加を一因とした、特定の薬剤に対して耐性・抵抗性を獲得した薬剤耐性菌の出現は、大学病院などの大規模な医療機関における院内感染対策上大きな問題となっています。代表的な薬剤耐性病原体として、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)、多剤耐性緑膿菌 (MDRP) などがよく知られています。近年、このような薬剤耐性菌による院内感染への対策が多くの大規模医療機関で重要視されてきており、薬剤耐性菌の検出ニーズがより高まっています。

薬剤耐性遺伝子検出キットの特長

- ・Seeplexを用いるマルチプレックスPCRでは、同時に複数の薬剤耐性遺伝子を判別することができます。
- ・VREなどの院内感染関連を含めた薬剤耐性遺伝子検出用のキットをラインアップしています。

薬剤耐性遺伝子検出用キット

品 名	テスト数	備考 (品番 P/N)
Seeplex® VRE ACE Detection	50	腸球菌培地上で増殖した腸球菌からバンコマイシン耐性遺伝子 (<i>vanA</i> , <i>vanB</i>) の検出が可能 (SSOT-AG699-04022-000)
Seeplex® <i>ClarH</i> - <i>H.pylori</i> ACE Detection	25	胃生検試料からヘリコバクター・ピロリ菌とクラリスロマイシン耐性型の遺伝子変異 (A2142G, A2143G) の検出が可能 (SSOT-AG699-04028-000)

Seeplexキットは病原体を標的とするキット以外に、検査需要のある遺伝子を標的として、特異性認識に優れたDPO技術によりSNP(一塩基多型)を正確に検出するキットも取り揃えています。

SNP検出(CYP2C19 遺伝子多型)

ヒトゲノムには様々な遺伝子変異(塩基配列の違い)が存在し、その中で1%以上の変異が観察されるものを遺伝子多型といい、特に、一塩基の変異を一塩基多型(SNP: single nucleotide polymorphism)といいます。SNPには体質の違いと関連するものが報告されており、ある遺伝子に関連するSNPを調べることで、薬に対する体質の違いを予測したり、副作用の無い薬を選択することによって、患者ひとりひとりに適した治療を選択する個別化医療が始まっています。

Seeplexキットでは、同時に複数の検出対象を判別することができ、変異型と野生型2種のSNPをそれぞれ特異的に増幅し、判別することが可能です。

SNP検出用キット

品 名	テスト数	備考 (品番 P/N)
Seeplex® CYP2C19 ACE Genotyping	25	CYP2C19のSNP(*1、*2、*3 genotyping)を検出するキット (SSOT-AG699-04020-000)

アクセサリー試薬・キット

アクセサリー試薬・キットとして、Seeplex試薬に最適なBuffer、dNTP、Taq polymeraseを含むMultiplex Master Mixと各種病原体の核酸抽出・精製に特化したRibospin vRDキットをご用意しております。

Ribo-spin vRDキットは、シリカメンブレンを利用した核酸精製用スピナラムです。カオトロピックな条件下で核酸を選択的に捕捉するシリカの特性を活かし、簡便な操作で優れた洗浄効率・乾燥特性を有します。

特に呼吸器感染症のような多種多彩な各種病原体(RNAウイルスおよび細菌)の核酸抽出に最適です。

Ribo-spin vRDキットにより抽出した核酸は、RV(Respiratory virus；ウイルスRNA)15 OneStepキットおよびPB(PneumoBacter；細菌DNA)キットの両方で使用可能です。

Seeplex キット・アクセサリー試薬 (PCRマスターミックス、核酸抽出キット)

品 名	テスト数	備考 (品番 P/N)
2X Multiplex Master Mix	0.5ml	Multiplex PCRに最適なbuffer、dNTP、Taq polymeraseを含み、プライマー・DNAを合わせて遺伝子増幅可能な試薬。 (with dye: SSOT-AG699-04065-000、w/o dye: SSOT-AG699-04066-000)
Ribo-spin vRD (Gene All)	50	病原体RNAおよびDNA抽出に最適な核酸抽出・精製キット (SSOT-AG699-04069-000)

遺伝子分析・微生物分析関連製品



遺伝子増幅用試薬
Ampdirect Plus 酵素セット

遺伝子増幅用試薬 Ampdirect® Plus 酵素セット

Ampdirect Plus (PCRバッファー)と、増幅効率の高いホットスタート型PCR酵素「BIOTAQ™ HS DNA Polymerase」をセットにした試薬キットです。Ampdirect Plusには、生体由来のタンパク質や糖質等によるPCR阻害を抑制する効果があるので、煩雑なDNA精製をせずにPCRが行えます。

- 簡単かつ迅速なPCRが可能になりました。
- DNA精製が不要なため、サンプルロスがなく微量サンプルからのPCRに最適です。
- サンプル中の夾雑物によるPCR阻害を抑制し、安定したPCRが可能です。
- DNA抽出キットや装置が不要となり、ランニングコストを抑えられます。

詳細カタログ C297-0334

※Ampdirect Plus単品もございます。



ノロウイルスG1&G2
検出試薬キット

研究用試薬 ノロウイルスG1&G2検出試薬キット

1検体1反応でノロウイルスG1 (Genogroup I) およびG2 (Genogroup II) 遺伝子を同時検出し、ノロウイルスの有無を判定できます。糞便からの面倒なRNA抽出・精製なしで、ダイレクトにノロウイルスの遺伝子をRT-PCRで増幅・検出することが可能な研究用試薬キットです。

- 糞便処理から増幅までのトータルの過程が1本のチューブで行えます。
- 増幅はRT-PCR、検出はアガロースゲル電気泳動、もしくは融解温度(Tm)解析のどちらかを選択できます。
- キット内の試薬に偽陰性を防ぐためのインターナルコントロールDNAが入っています。

詳細カタログ C297-0432

※G1またはG2遺伝子の検出を個別に行える試薬キットもございます。



Seegene

<http://seegene.com/en/>

本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。

なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

本製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器として承認・認証を受けておりません。

治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。

トラブル解消のため補修用部品・消耗品は純正部品をご採用ください。

外観および仕様は、改良のため予告なく変更することがありますのでご了承ください。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部 604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1

東京支社 101-8448 東京都千代田区神田錦町1丁目3
(03) 3219-(官公庁・大学担当) 5631・(会社担当) 5616・(会社担当) 5685

関西支社 530-0012 大阪市北区芝田1丁目1-4 阪急ターミナルビル14階
(06) 6373-(官公庁・大学担当) 6541・(会社担当) 6556

札幌支店 060-0807 札幌市北区北七条西2丁目8-1 札幌北ビル9階 (011) 700-6605

東北支店 980-0021 仙台市青葉区中央2丁目9-27 プライムスクエア広瀬通12階 (022) 221-6231

郡山営業所 963-8877 郡山市堂前町6-7 郡山フコク生命ビル2階 (024) 939-3790

つくば支店 305-0031 つくば市吾妻3丁目17-1
(029) 851-(官公庁・大学担当) 8511・(会社担当) 8515

北関東支店 330-0843 さいたま市大宮区吉敷町1-41 明治安田生命大宮吉敷ビル8階
(048) 646-(官公庁・大学担当) 0095・(会社担当) 0081

横浜支店 220-0004 横浜市中区北幸2丁目8-29 東武横浜第3ビル7階
(045) 311-(官公庁・大学担当) 4106・(会社担当) 4615

静岡支店 422-8062 静岡市駿河区稲川1丁目1-1 伊伝静岡駅前ビル2階 (054) 285-0124

名古屋支店 450-0001 名古屋市中村区那古野1丁目47-1 名古屋国際センタービル19階

(052) 565-(官公庁・大学担当) 7521・(会社担当) 7531

京都支店 604-8445 京都市中京区西ノ京徳大寺町1

(075) 823-(官公庁・大学担当) 1604・(会社担当) 1603

神戸支店 650-0033 神戸市中央区江戸町9-3 栄光ビル9階 (078) 331-9665

岡山営業所 700-0826 岡山市北区磨屋町3-10 岡山ニューシティビル6階 (086) 221-2511

四国支店 760-0017 高松市番町1丁目6-1 高松NKビル9階 (087) 823-6623

広島支店 732-0057 広島市東区二葉の里3丁目5-7 GRANODE広島5階 (082) 236-9652

九州支店 812-0039 福岡市博多区冷泉町4-20 島津博多ビル4階

(092) 283-(官公庁・大学担当) 3332・(会社担当) 3334

島津コールセンター (操作・分析に関する電話相談窓口)

0120-131691

IP電話等: (075) 813-1691

<https://www.an.shimadzu.co.jp/>