

NoV Probe Ver.2 2-color

ノロウイルス検出試薬キットVer.2 ーブローブ法ー 2色
Norovirus Detection Kit Ver.2 -Probe-

研究用試薬

P/N:241-09765-91

取扱説明書

この文書をよく読んで正しくご使用ください。
いつでも使用できるように大切に保管してください。

特長

- 厚生労働省通知法と同じ原理で検出し(ブローブ検出法)、1step RT-PCR でノロウイルス G1 および G2 を同時に検出することができます。2 色の蛍光フィルター(FAM/ROX)のリアルタイム PCR 装置に対応 (G1 または G2 遺伝子型の識別は不可) しています。
- 1 本のチューブで検体処理から RT-PCR までのトータルな操作ができます。処理試薬に糞便検体を加えるだけで直接、Reverse Transcription (RT) -PCR ができます。
- 偽陰性対策として内部コントロール DNA (I.C.) を含んでいます。
- キャリアオーバー汚染による偽陽性対策として、UNG(Uracyl-N-Glycosidase)を採用しています。

試薬キット構成

No 試薬名称	本数	液量
① Sample Treatment Reagent	1 本	400 μ L
② NoV Reagent A	1 本	1000 μ L
③ NoV Reagent B	1 本	1000 μ L
④ NoV Reagent C	1 本	25 μ L

使用回数：100 tests

使用期限：包装袋のラベルに記載

保存温度：-20℃

キット以外に必要な機器・消耗品

- リアルタイム PCR 装置:
FAM および ROX 蛍光フィルター対応
- 高速遠心機:10,000 rpm で遠心可能なもの
- マイクロピペットおよびフィルター付チップ
- 小型遠心機(スピンドウン用)
- ボルテックスミキサー
- クラッシュアイスや市販の保冷材などの冷媒
- チューブ冷却用アルミブロック
- リアルタイム PCR 用反応チューブ
- 糞便懸濁液調製用チューブ(1.5 mL~2 mL)
- 反応液調製用チューブ (0.5 mL~2 mL)
- 蒸留水(糞便懸濁液調製用)

操作方法

使用上の注意

- ・本試薬キットは**冷凍 (-20 ℃)** で保存してください。
- ・反応試薬調製以降の操作は全て氷冷下 (クラッシュアイスなどの冷媒で冷却したアルミブロック上) で実施してください。
- ・①Sample Treatment Reagent を室温にて解凍後、**ボルテックスミキサーでしっかり混和**・スピンドウンし、**使用時まで室温保存**してください。
- ・②NoV Reagent A、③NoV Reagent B を室温にて解凍後、**ボルテックスミキサーでしっかり混和**・スピンドウンし、**使用時まで冷却下**で保存してください。
- ・④NoV Reagent C は**使用時まで冷凍 (-20℃) 保存**してください。

1 検体処理

- (1) 糞便検体を蒸留水または生理食塩水に 5 ~ 10 % (W/V) の濃度で懸濁します (0.1 ~ 1 mL 程度/検体)。
- (2) 高速遠心機で、10,000rpm・5 分間の遠心分離を行います。
- (3) PCR 反応チューブに① Sample Treatment Reagent 4 μ L および糞便懸濁液の遠心上清 1 μ L を添加します。
- (4) **室温**で、3 分間放置します※1。
- (5) その後、氷冷します。

※1 放置時間は1時間程度でも問題ありませんが可能な限り速やかに反応液を添加してください。糞便乳剤を添加した前処理液は保存はできません。

2 反応試薬調製

- (1) 反応液調製用チューブでリアルタイム RT-PCR 反応液を調製します※2。

【1テスト分】

：必要な反応数を掛けて使用量を計算してください。

② NoV Reagent A	10 μ L
③ NoV Reagent B	10 μ L
④ NoV Reagent C	0.25 μ L
Total	20.25 μ L

※2：NoV Reagent C は微量のため取扱いに注意してください。

各試薬を混ぜた後は、ボルテックスで 5 秒間しっかりと混合してください。

ピペッターの分注誤差を考慮し 1 割増の反応数での調製をお勧めします。

- (2) **1** で前処理した検体 5 μ L の入った PCR 反応チューブに、(1) の RT-PCR 反応液 20 μ L を添加します。
- (3) ボルテックスミキサーで 5 秒間しっかりと混合し、スピンドウンし、リアルタイム PCR 装置にて直ちに反応を開始します。

3 リアルタイム RT-PCR 反応

- (1) リアルタイム RT-PCR の設定条件は以下のとおりです。

【設定条件】

島津製作所製 GVP-9600 使用の場合

温度	時間
45℃	5 分
↓	
95℃	3 分
↓	
[95℃ 1 秒 $\Rightarrow$ 56℃ 10 秒※3]	×45 サイクル(測光)

※3: 56℃のステップで FAM および ROX 蛍光フィルターで測光します。
使用する装置によって、RT-PCR 増幅条件や光学設定 (ゲインなど) の最適化が必要な場合があります。十分な検証を行ってからご使用ください。装置は製品に付属する取扱説明書に従って、正しくご使用ください。

- (2) FAM および ROX 蛍光フィルターによる増幅曲線を確認し、判定します。

【判定例】

判定	G1,G2(FAM)	I.C.(ROX)
ノロウイルス陽性	○	○※4
陰性	×	○
判定不能※5	×	×

※4: ノロウイルスが高濃度の場合、I.C.増幅が抑えられる場合があります。

※5: いずれの増幅曲線も確認できないときは、再解析が必要です。

注意事項

1. 試薬に関する注意事項

- ・ **本製品は研究用です。**医薬品医療機器法に基づく体外診断用医薬品あるいは医療機器として承認・認証等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。
- ・ 本取扱説明書および SDS に従って正しくご使用ください。SDS の入手は当社までお問合せください。
- ・ 本試薬キットはノロウイルスの完全な検出を保証するものではありません。サンプル中のウイルス量や夾雑物の多寡などや、変異株によっては、検出されない場合があります。

2. 廃棄に関する注意事項

- ・ 増幅産物による汚染を防ぐため、PCR 後の反応チューブはふたを開けしないで廃棄してください。廃棄の際にオートクレーブは行わないでください。DNA はオートクレーブでは分解されません。エアロゾルが発生して汚染原因となる可能性があります。
- ・ 廃棄物は法令や自治体等の条例・規制等に従って適切に廃棄してください。

3. その他

- ・ 本取扱説明書の著作権は(株)島津製作所が保有します。当社の許可無く内容の一部または全部を転載・複製することはできません。
- ・ 本取扱説明書に記載の会社名・商品名は各社の商標の場合があります。本文中では一部®・TM を省略しています。
- ・ Ampdirect®は(株)島津製作所の登録商標です。

保証について

1. 保証内容

- ・ 取扱説明書に記載した性能を保証します。使用期限内に品質に異常が生じた場合は、無償で製品を代替します。使用期限は包装袋のラベルに記載しています。使用期限内にご使用ください。

2. 責任の制限

- ・ どのような場合にも、お客様の逸失利益、間接的損害、派生的な損害について、当社は一切責任を負いません。第三者からお客様に対してなされた損害賠償に基づく損害についても、当社は一切責任を負いません。また、お客様の操作方法、計測装置により反応の有無が変わる場合があります。誤判定が発生した場合でも発生した損害についても、当社は一切責任を負いません。如何なる場合にも、当社の損害賠償責任は本製品の代金相当額をもってその上限とします。

3. 保証除外事項

- ・ 使用期限内に品質に異常が生じた場合でも以下の場合は保証対象から除外いたします。(1)誤って使用された場合、(2)保存方法が適切でなかった場合、(3)本製品に因らない理由で異常が生じた場合

© 2022 Shimadzu Corporation. All rights reserved.

技術的な内容に関するお問合せ窓口

株式会社島津製作所

分析計測事業部 バイオ・臨床ビジネスユニット TEL : 075-823-1351
<https://www.an.shimadzu.co.jp/general/contact/contact.htm>