

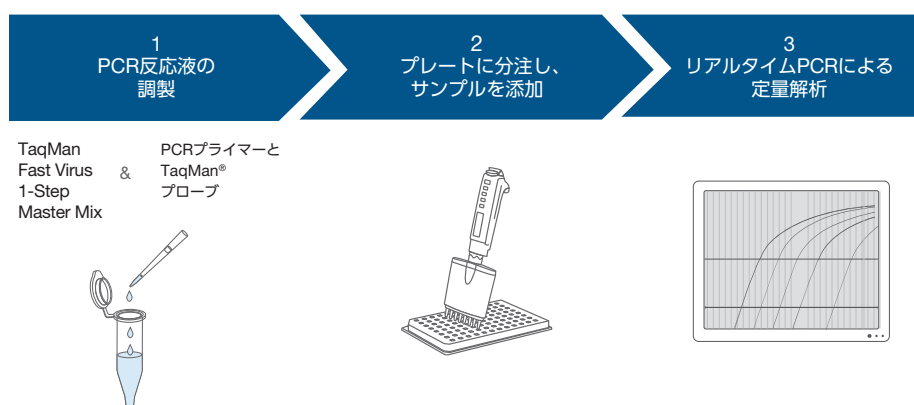
TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix

阻害物質存在下でも RNA/DNA ウイルスを定量

※本製品は、新型コロナウイルス検出用試薬として、国立感染症研究所作成の「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1」に掲載されています。

特長

- 1ステップの4倍濃度のマスターミックスで、RNA/DNAを高感度に検出
- 血液などに含まれるPCR阻害物質を処理する新しい試薬組成
- “Fast”リアルタイムRT-PCRにも対応
- すべての当社リアルタイムPCR装置において、DNA、RNAともに同じプロトコルを採用
- 単一ターゲットのみならず、コントロールを入れたマルチプレックスにも対応
- 逆転写酵素、マスターミックス、パッシブリファレンス (ROX) が1本のチューブに入っており、操作が簡便



はじめに

Applied Biosystems™ TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mixは、一般的なPCR阻害物質存在下でも、高感度なリアルタイムPCRが実現できるよう開発されました。このキットは、典型的なサンプルからのウイルスの検出用に最適化されています。そして1本のチューブに試薬をまとめることで、RNA/DNAウイルスの検出作業を単純化することができます。

組成

TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mixは、逆転写反応とリアルタイムPCRを単一チューブで行うことができます。このキットに含まれるもの：

- 迅速なホットスタートPCRを実現する Applied Biosystems™ AmpliTaq™ Fast DNA Polymerase UP (Ultra Pure)
- ウイルスの核酸を高感度で検出する耐熱性 MMLV逆転写酵素
- 血液や血液の抗凝固剤、土壌などRT-PCRの阻害物質を含むサンプルでも、十分なPCR効率を維持する添加剤
- -20℃でも凍結しないバッファー溶液



高感度

TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix は、非常に少量のウイルス核酸も検出できます。高濃度に濃縮されたマスターミックスは、より少量での反応を可能にします。またスタンダードモードの検出感度と同等のパフォーマンスをもつFastサイクル用プロトコルに対応しているため、高感度かつ迅速にウイルスのRNA/DNAを検出できます。さらに、4Xマスターミックスは反応液中の液量が少なくて済むので、2Xマスターミックス使用時よりも多くのサンプルを反応液に添加することが可能です(図1)。

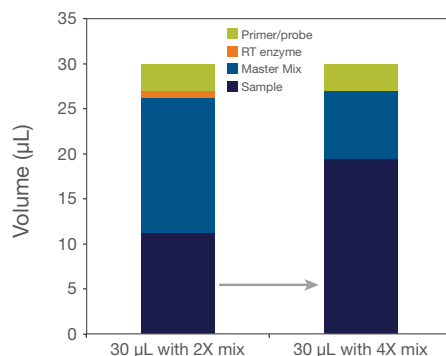


図1 2X マスターミックスと 4X マスターミックスでの反応液中のサンプル容量の比較

4X マスターミックスを採用している TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix の場合、一般的な 2X マスターミックスを使用する場合と比較して、ほぼ 2 倍量のサンプルを添加することができます。これにより、ウイルス濃度の低い検体を使用する場合でも、検出感度を上げることができます。

同量のテンプレートを用いた場合、TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix は、他社のfast用マスターミックスに比べ、高い感度を示しました(図2、当社比較)。

優れたPCR 阻害物質耐性

ウイルス検出用サンプルは、一般的に血液や土壌、組織などを含みます。TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mixに含まれるバッファーおよび添加剤は、阻害物質が存在するサンプルにおいても、その影響を最小限に抑えます(図3)。

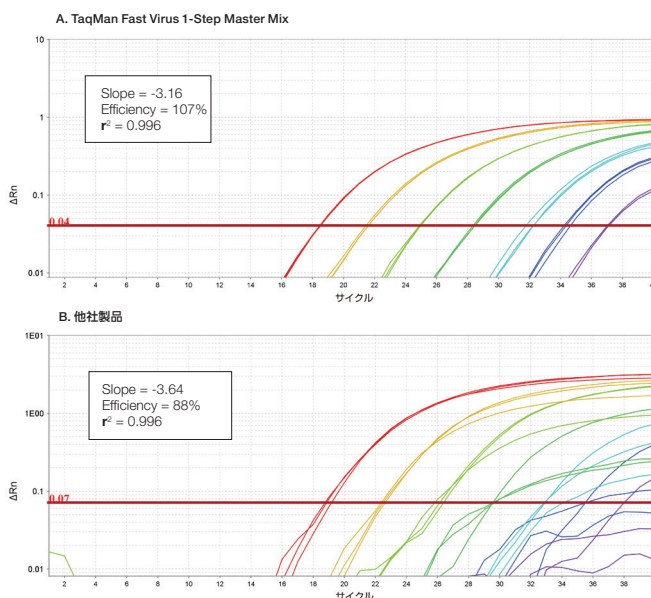


図2 希釈系列を用いた RNA ウイルス検出感度の比較

RNA ウイルスターゲットの希釈系列を使用した場合、TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix (A) と他社の fast 用マスターミックス (B) を比較しました。テンプレート 100 ng から始める、RNA ウイルスの 10 倍の希釈系列を用い、Applied Biosystems™ ViiA™ 7 リアルタイム PCR システムで測定しました。(当社比較)

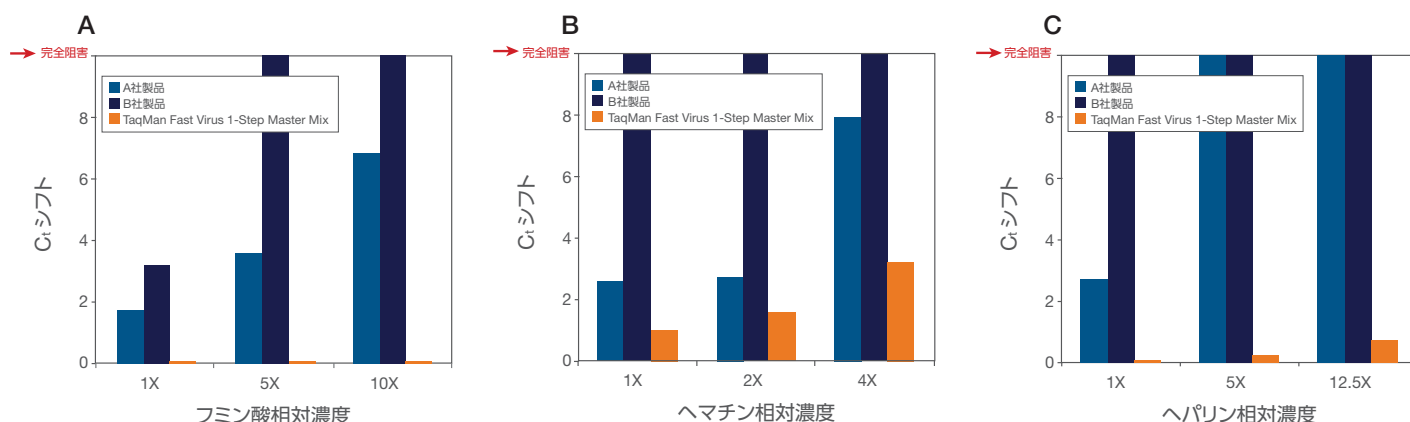


図3 TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix と他社の同様の 1 ステップキットでの PCR 阻害物質耐性の比較

RT-PCRの3つの阻害物質(フミン酸(A)、ヘマチン(B)そしてヘパリン(C))を3種類の濃度で添加し、ウイルスをターゲットにしたリアルタイムPCRを実施し、導かれるCt値のシフト量を比較しました。グラフにおけるベースラインは、阻害物質が非存在下での条件です。TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mixはこれら阻害物質に対して抵抗性を示しました。またフミン酸やヘパリンにおいては、各濃度でリアルタイムPCRによる定量結果への影響を最小限に抑えています。(当社比較)

ターゲットに柔軟に対応

RNA/DNAウイルスを研究する場合、そのサンプルの由来および実験手法も多様です。実験を簡素化するためにTaqMan Fast Virus 1-Step Master Mixのプロトコルは開発されました。RNA/DNAウイルスを同じ作業手順、同一プレートで、さまざまな条件のサンプルを比較することができます(図4)。

さらにウイルス研究は、内部コントロールを同時に検出する必要があるため、マルチプレックス技術にも対応するようにマスターミックスを最適化しました(図5)。

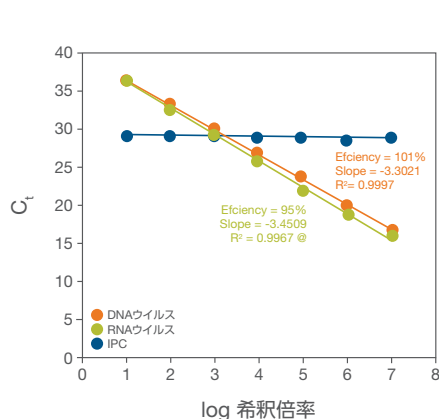


図4 TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix による triplex PCR

RNA ウィルス、DNA ウィルスと RNA をターゲットとした内部コントロール (IPC) を、同一ウェルでリアルタイム PCR 解析をしました。別々のウェルで行うよりも実験効率を上げることができます。

時間の短縮

TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix は、結果を得るまでの時間を最短化するだけでなく、リアルタイム PCR装置を効率的に利用できます。4X マスターミックスは、反応液量を少量にすることができるため、Fastサイクルプロトコルにも対応しています。そして検出感度を維持したまま、高速化および処理能力を向上することができます。(図6)。

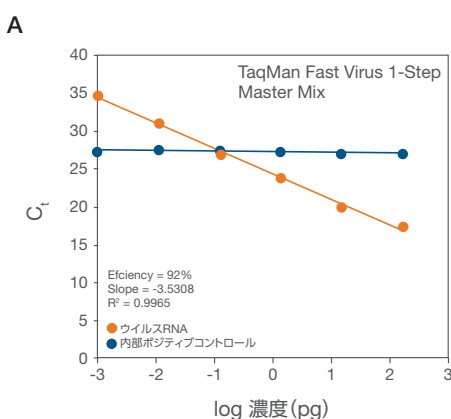


図5 TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix の duplex PCR による検出感度

リアルタイム PCR による定量解析をウィルスと内部コントロール (IPC) の双方をターゲットに行いました。IPC 濃度を一定にしウィルス濃度を段階希釈しました。TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix (A) は、安定した定量結果を示しました。また最も低濃度の条件でも最も低濃度でも検出可能でした。さらに、すべてのウィルス濃度条件において IPC の値は独立的に安定していることから、相互の PCR 効率に影響を与えることなく定量が行われたことが示されました。

結論

TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix は、効率的で、正確にウィルスが検出できるリアルタイムPCR試薬です。サンプル中に阻害物質が存在していても、パフォーマンスを損なうことなく、簡便な作業手順で正確性の高い結果を提供するマスターミックスです。

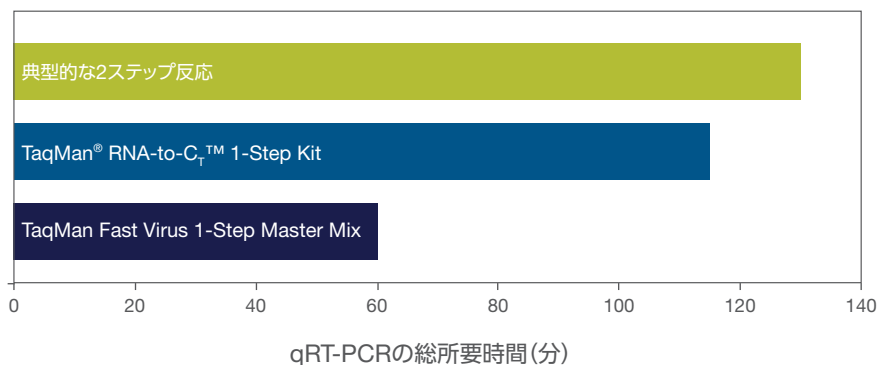
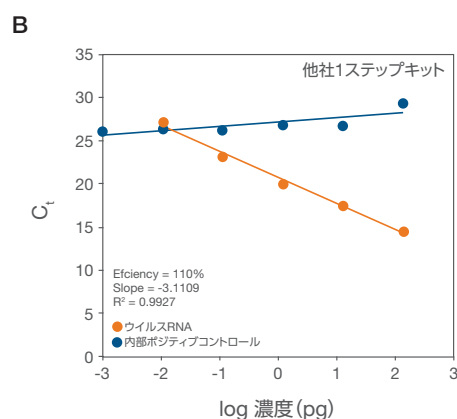


図6 当社キットにおける所要時間の比較

Fast サイクルプロトコル対応の TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix を使用すれば、スタンダードサイクルの試薬と比較して、同一時間内に倍のサンプルを処理できます。さらに他の 1 ステップキットと比べると、1 本のチューブで提供される TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix は、分注誤差と作業時間を最小化できます。

Ordering information

製品名	サイズ	反応数*	製品番号
TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix, 1 ml	1 mL	200	4444432
TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix, 5 × 1 ml	5 mL	1,000	4444434
TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix, 10 ml	10 mL	2,000	4444436

※20 µLの反応系として計算

研究用에만使用できます。診断用には使用いただけません。
記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。
For Research Use only. Not for use in diagnostic procedures. © 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.
All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.
TaqMan is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc., used under permission and license.
実際の販売価格は、当社販売代理店までお問い合わせください。
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。
標準販売条件はこちらをご覧ください。thermofisher.com/jp-tc

販売店

SDR077-B20080B

サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ jptech@thermofisher.com
オーダーサポート TEL : 03-6832-6980 FAX : 03-6832-9584
営業部 TEL : 03-6832-9300 FAX : 03-6832-9580

f facebook.com/ThermoFisherJapan

🐦 @ThermoFisherJP

thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC