

Control RNA, SARS-CoV-2 (N gene)

Code No. 318-09331

保存:

-80°C

製品説明:

本品は、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の Nucleocapsid Protein 遺伝子 (N 遺伝子) の全長配列を含む合成 RNA で、N 遺伝子を標的配列とする検出系の陽性コントロール RNA として使用できます。また、配列内部に HindIII サイトが挿入されているため、実験室内でコンタミネーションが発生した場合に、増幅産物が本品由来か、他の鑄型由来かを判別することができます。

製品内容:

構成品	容量	備考
Control RNA, SARS-CoV-2 (N gene) (40,000 copies/μL) ^{*1)}	150 μL × 1	陽性 コントロール
Water, Nuclease free ^{*2)}	1 mL × 1	陰性 コントロール

*1) 陽性コントロール RNA の溶媒組成は、10 倍希釈した RTmate (Code No. 315-05941) です。RTmate の配列情報はニッポン・ジーンのホームページ (<https://www.nippongene.com/siyaku/>) から入手可能です。

*2) 構成品の Water, Nuclease free は陰性コントロール (No Template Control) として使用してください。陽性コントロール希釈用の水は別途ご用意ください。

使用上の注意:

- ・ 本品を融解した後、ボルテックスミキサーでしっかり混合しスピンドアウンしてから使用してください。
- ・ 本品の凍結融解は、15 回以内としてください。
- ・ 操作は全て氷上で実施してください。
- ・ コンタミネーションの原因となるため、本製品で実験台や器具を汚染しないように注意してください。
- ・ 増幅産物による汚染を防ぐため、PCR 後の反応チューブの蓋は開けないでください。また、蒸気により増幅産物が拡散するおそれがあるため、オートクレーブ処理等を行わないでください。
- ・ 本品が付着したりこぼれたりした場合は、1% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液を含ませたウェスで汚染箇所を拭き取ってください。
- ・ 本品は、お客様のお手元に到着後 1 年以内にご使用ください。
- ・ **本品は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。治療診断目的での使用はできません。**

関連製品:

品名	Code No.	包装単位
RTmate	311-05943	25 μl
RTmate	315-05941	500 μl
Water, Nuclease free	314-09291	1 ml x 100
HindIII (high conc.)	311-01761	12,000U

**使用例:**

- (1) 本品を室温で融解した後、ボルテックスミキサーで数秒間混合し、スピンドアウンする。
- (2) 別途用意した希釈溶媒(1/10 濃度 RTmate^{*3})またはヌクレアーゼフリー水など) 90 μL に本品 10 μL を添加し混和する(10 倍希釈溶液となる)。次に 10 倍希釈した陽性コントロール RNA 溶液 10 μL を希釈溶媒 90 μL に添加し、100 倍希釈陽性コントロール RNA 溶液(400 copies/μL)を調製する。
[注意]
陽性コントロール RNA は用時希釈して使用してください。一度希釈したコントロール RNA 溶液は保管および再利用をしないでください。
- (3) 鑄型 RNA 以外のプレミックス(RT-PCR 混合液)を必要反応数分まとめて調製し、20 μL ずつ小分けする。
- (4) 最初に陰性コントロールとして製品構成品の Water, Nuclease free、次に検体から抽出した RNA サンプル、最後に陽性コントロールとして(2)で調製した 100 倍希釈陽性コントロール RNA 溶液(400 copies/μL)の順番で、鑄型溶液を 5 μL ずつ (3)で調製したプレミックス 20 μL に添加し、RT-PCR を行う(25 μL 反応系)。

*3) 1/10 濃度 RTmate は、水で 10 倍希釈した RTmate (Code No. 315-05941)です。

希釈溶媒として、ヌクレアーゼフリー水よりも 1/10 濃度 RTmate を使用した方が、希薄なコントロール RNA でも安定して調製することができます。

備考:

○本品は、SARS-CoV-2 の N 遺伝子の全長を含みます (Accession Number: NC_045512 Region: 28274..29533)。配列情報はニッポンジーンズのホームページ (<https://www.nippongene.com/siyaku/>) から入手可能です。

○本品は国立感染症研究所「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1」に記載されている検出系(N セットおよび N2 セット)の増幅領域に HindIII 認識配列が挿入されるよう、一部配列が改変されております。増幅産物を HindIII で制限酵素処理し、切断の有無を確認することで、増幅産物が本品由来か、他の鑄型由来かを判別することができます。

<反応例>

PCR 産物	20 μL
HindIII (high conc.) ^{*4}	200 units

↓ 37°C、30 分間(制限酵素処理)

アガロースゲル電気泳動

- * N セットで増幅した PCR 産物(本品由来)
128 bp の場合: 77 bp と 51 bp に切断
- * N2 セットで増幅した PCR 産物(本品由来)
158 bp の場合: 126 bp と 32 bp に切断

*4) PCR 産物(未精製)への制限酵素添付バッファへの添加は不要です。グリセロールの混入量を少なくするため、必ず高濃度品(50-200 units/μL)の HindIII [Code No. 311-01761]を使用してください。

なお、アメリカ疾病予防管理センターなどの検出系を使用した場合、増幅産物を HindIII で切断することはできません。

参考文献:

- 1) アメリカ疾病予防管理センター(CDC)
「2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time-RT-PCR Panel primers and Probes」
- 2) 国立感染症研究所(NIID)
「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1」

本品は、試薬(試験研究用)として販売しているものです。
医薬品の用途には使用しないでください。