

Naica Systemアプリケーションノート

Naica SystemによるSARS-CoV-2の定量

SARS-CoV-2の測定プロトコール

2020年1月より全世界に新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)のアウトブレイクが起こった。その原因ウイルスであるSARS-CoV-2を、デジタルPCRであるNaica Systemを用いて定量した。SARS-CoV-2のサンプルについては、国立感染症研究所 (NIID)より提供頂いた。

定量用試薬についてはNaica System用のCOVID-19 kit (Apexbio: N領域, ORF1ab領域を検出)と、SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit* (富士フイルム和光純薬(株), 286-32851: N1, N2領域を検出)およびSARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit Ver.2** (富士フイルム和光純薬(株), 285-33801: N3, N4領域を検出)のプライマーおよびプローブを用いた。

* :国立感染症研究所の病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1に記載されているプライマーおよびプローブ配列

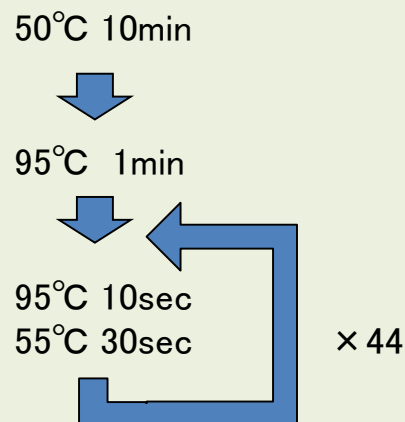
** :富士フイルム和光純薬(株)独自のプライマーおよびプローブ配列

COVID-19 kit (Apexbio)

サンプル調製

SARS-CoV-2 Sample	5.0 μ L
dPCR MasterMix1	12.5 μ L
dPCR Mix	1.0 μ L
COVID-19 Assay	1.0 μ L
Water	5.5 μ L

PCR条件

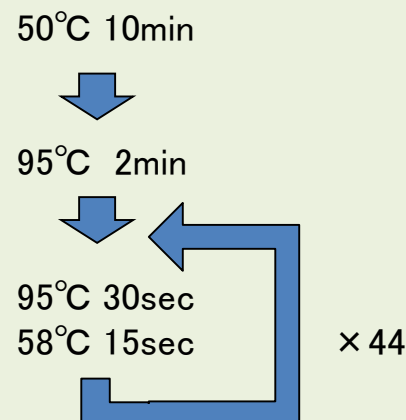


SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit (富士フイルム和光純薬(株))

サンプル調製

SARS-CoV-2 Sample	5.0 μ L
Primers and Probe Mix	2.0 μ L
Fluorescein (1 μ M)*	2.5 μ L
qScript XLT 1-Step RT-qPCR ToughMix	12.5 μ L
Water	3.0 μ L

PCR条件



Naica SystemによるSARS-CoV-2の定量

SARS-CoV-2の濃度が500~5コピー / サンプルとなるように調製したものを、それぞれのプローブおよびプライマーを用いて検出感度の比較を行った。病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1に記載されているN1領域をターゲットにした検出では理論値のコピー数を下回ったが、それ以外の検出では500~5コピーと理論値通りのコピー数を定量できた。

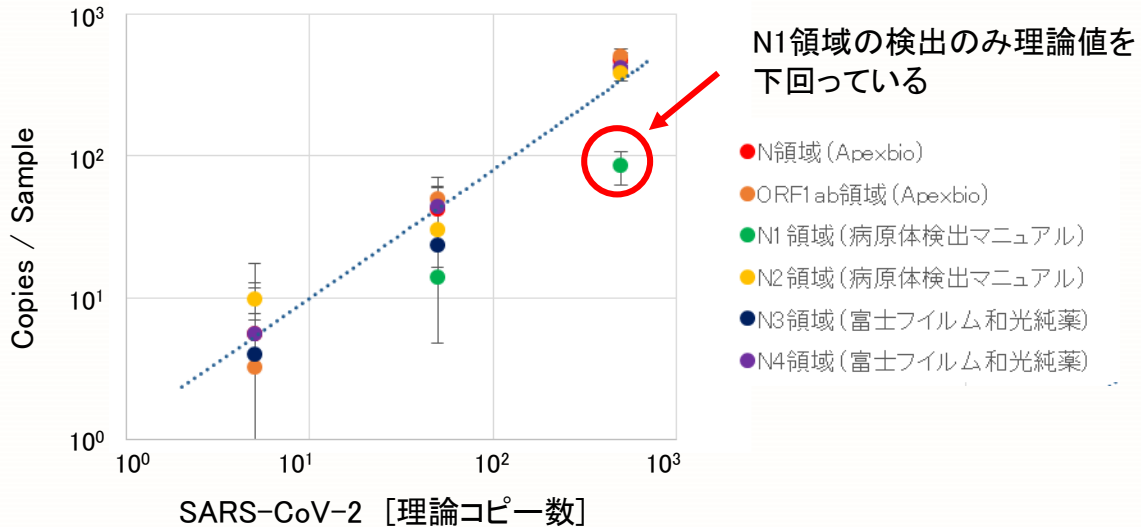


図: Naica Systemを用いたSARS-CoV-2の定量

まとめ

サンプルとしてSARS-CoV-2を用い、Naica Systemにより定量を行った。現在販売されているキットのプローブおよびプライマーを用いて定量を行い、全てのキットでSARS-CoV-2を定量することができた。しかし、病原体検出マニュアルに記載のN1領域をターゲットとした配列でのみ検出感度が理論値を下回っており、SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit Ver.2 (富士フイルム和光純薬(株)、285-33801)に付属のプローブおよびプライマーまたは、COVID-19 kit (Apexbio)を用いることで、正確にSARS-CoV-2を定量することができる。

今回はSARS-CoV-2の定量を行ったが、他のRNAウイルスについても同様に、適切なプローブおよびプライマーを設計することで検出が可能であり、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)などの微量なターゲットに対する検出も可能である。

常温…2~10℃保存 F…-20℃保存 80…-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。
 特定 I…特定毒物 II…毒物 III…劇物 毒薬 劇薬 危険物 向精神薬 特定麻薬向精神薬原料 カルタヘナ法
 1…化審法 第一種特定化学物質 2…化審法 第二種特定化学物質 化武1…化学兵器禁止法 第一種指定物質 化武2…化学兵器禁止法 第二種指定物質
 覚せい剤取締法…「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。
 国民保護法…生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。
 上記以外の法律及び最新情報は、弊社試薬サイト (<https://labchem-wako.fujifilm.com>)をご参照下さい。

- 本文に記載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所
- 中国営業所
- 東海営業所
- 横浜営業所
- 筑波営業所
- 東北営業所
- 北海道営業所

フリーダイヤル 0120-052-099
 試薬URL: <https://labchem-wako.fujifilm.com>

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation
 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA
 TEL: +1-804-714-1920 FAX: +1-804-271-7791

■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH
 Fuggerstr 12, 41468 Neuss, Germany
 TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100