

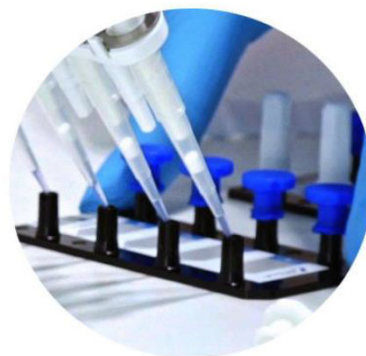
## Stilla NaicaデジタルPCR法を使用したアフリカ豚熱ウイルスASFVの検出

アフリカ豚熱 (ASF、Africa Swine Fever) は、アフリカ豚熱ウイルスによって引き起こされる急性伝染病です。病因と疫学の複雑さ、および伝染病予防のための効果的なワクチンがないため、国際獣疫事務局 (OIE) は、中国における家畜伝染病でリアルタイムに通知が必要なものとしてASFをリストアップしました。



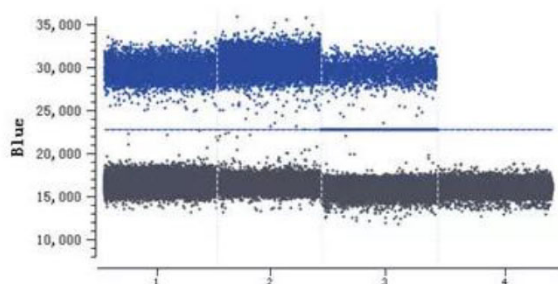
国際連合食糧農業機関の勧告書によると、ASFV (Africa Swine Fever Virus) の主な検査は、ASFVウイルス検出とASFV抗体検出に分けられます。

ASFVウイルス検出は、遺伝子検出、ウイルス分離、抗原検出の3つのタイプに分けられます。遺伝子検出法は、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) です。近年、蛍光定量PCRが広く使用されています。急性、または亜急性のASF感染の場合、qPCRが推奨される検出技術になりました。ウイルス分離および抗原検出法は、蛍光抗体直接法および酵素結合免疫吸着法 (ELISA) です。



デジタルPCRは、一般的なPCRおよびqPCR(リアルタイムPCR)に続く第3世代のPCRテクノロジーです。qPCRと比較して、デジタルPCRの感度は高く、スタンダードは必要ありません。Ct値に依存せず、PCR阻害剤の影響を効果的に克服し、ASFVウイルスを高感度で検出できます。Cycloud Biotechnologyは、アフリカ豚熱ウイルスを迅速に検出し効果的に予防するためのデジタルPCR検出方法を開発しています。

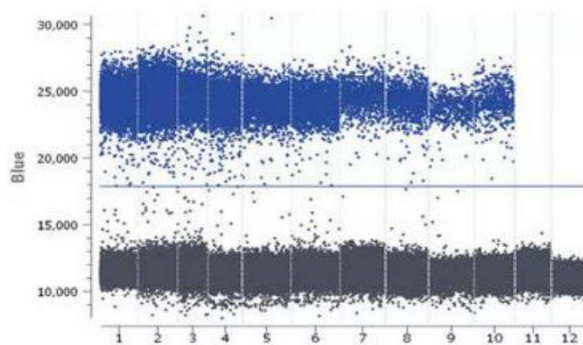
### Sample Detection



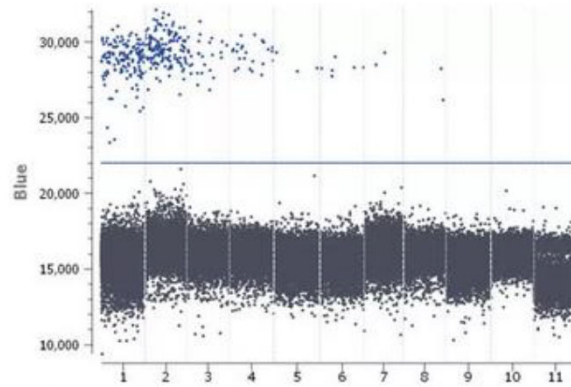
1-3 : 陽性サンプル 4 : 陰性サンプル

プローブ法を使用して、実際のサンプルでデジタルPCRを実行しました。結果は他の検証方法と一致していました。

### Sensitivity



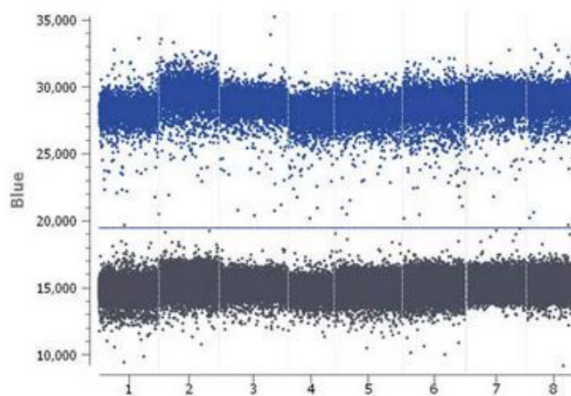
1-10 : 2倍希釈(5濃度)、各濃度ごとに繰り返し数2、 11 : 陰性サンプル、  
12 : ブランクコントロール



1-10 : 5倍希釈 (5濃度)、各濃度ごとに繰り返し数2、 11 : 陰性サンプル

Cycloud Biotechnologyが開発したアフリカ豚熱のデジタルPCR 検出の最小検出限界は、0.13 copies/ $\mu$ L (pre-amplificationなしの真のサンプルテスト値)です。同時に、高濃度でも中濃度でも性能は一定であり、安定しています。

#### Repeatability



同じ濃度で8回の実験の繰り返し結果

Cycloud Biotechnologyによって開発されたアフリカ豚熱のデジタルPCR検出法を同じ濃度のサンプルに対して繰り返し、CV値は4.5%未満でした。

現在、アフリカ豚熱の検出はリアルタイム定量PCRによって定性的に検出し、ウイルスが存在するかどうか判定されますが、正確には定量できません。また、検出感度を向上させるにはpre-amplificationが必要です。Cycloud Biotechnologyのアフリカ豚熱に対するデジタルPCR検出法は、検量線やpre-amplificationを必要とせず、テスト対象のサンプルに含まれるウイルスの絶対量を直接示し、より高い特異性と感度を備えています。正確な予防と管理を実現して損失を減らすために、養豚場の第一線での早期対処と早期隔離を現実化します。冷凍肉、肉製品、およびその他の加工食品における特異性と超高感度検出も期待できます。

フランスのStilla Technologies社が開発したNaica CrystalマイクロドロップデジタルPCRシステムは、唯一の消耗品として革新的なマイクロ流体チップを使用しています。25,000～30000個のドロップレットの2Dアレイが形成され、PCR増幅はドロップレットが単層に敷き詰められた状態で実行されます。反応が完了した後、ドロップレットは3つの蛍光チャンネルでイメージングされます。それにより、正確な核酸量が得られます。また、実験結果は2時間半で取得できます。



[www.stillatechnologies.com](http://www.stillatechnologies.com) / [www.gene-pi.com](http://www.gene-pi.com)

## 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: 06-6203-2759 (機器システム部)  
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: 03-3270-8124 (機器システム部)

- 九州営業所 TEL: 092-622-1005 (代)
- 中国営業所 TEL: 082-569-8095 (代)
- 東海営業所 TEL: 052-772-0788 (代)
- 筑波営業所 TEL: 029-858-2278 (代)
- 東北営業所 TEL: 022-222-3072 (代)
- 北海道営業所 TEL: 011-271-0285 (代)
- 横浜営業所 TEL: 045-225-8041 (代)

URL : <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/kiki/index.htm>

