

The SARS-CoV-2 variant B.1.1.7 lineage

The assay consists of the CDC N1 and human RNase P (RP) primer/probe sets (Lu et al. 2020), which serve as virus and human controls, respectively, in combination with the newly designed Yale_69/70del (drop-out) primer/probe set

SARS-CoV-2 バリエント B.1.1.7 系統は、英国において急速な増加が認められている新たなバリエントです。臨床転帰との関連性はまだ不明であるとされていますが、他の変異型と比較してその伝播性の高さが指摘されており、早急な対応が求められています。

ここでご紹介するのは、研究目的として、英国型バリエント B.1.1.7 系統をスクリーニングするための Multiplex RT-qPCR 手法です。

▶ SARS-CoV-2 B.1.1.7 バリエントのスクリーニングのための Multiplex RT-qPCR: 予備実験結果

Chantal B.F. Vogels, Tara Alpert, Mallery Breban, Joseph R. Fauver, Nathan D. Grubaugh, Yale School of Public Health

筆者らは、B.1.1.7 英国型バリエントが広がり続けるにつれて、ラボではこのウイルスの COVID-19 サンプルを迅速にスクリーニングすることが急務となっているとして、予備実験に基づいて、B.1.1.7 系統ウイルスが低頻度で循環する可能性のある領域でのシーケンスに対するサンプルの優先順位付けに役立つ、研究目的の $\Delta 69/70$ 欠失 RT-qPCR スクリーニングアッセイを提案しています。

このアッセイは、それぞれウイルス、Human のコントロールとして機能する CDC-N1、および Human RNaseP (RP) と、新しく設計された Yale_69/70del (drop-out) のプライマー/プローブの組み合わせで構成されています。(下表に本情報に掲載のプライマー・プローブ配列を示しました。)

プロトコールは最適化に向けて更新があるとされ「dx.doi.org/10.17504/protocols.io.brCRM2v6」に掲載されていますが、現時点での情報を簡易的に以下に示しました。

DISCLAIMER – FOR INFORMATIONAL PURPOSES ONLY; USE AT YOUR OWN RISK

Table 3: Preliminary screening assay to detect SARS-CoV-2 viruses with the $\Delta 69/70$ HV deletion.

Set name	Primer/probe	Sequence
CDC_N1	Forward primer	GACCCCAAATCAGCGAAAT
	Reverse primer	TCTGGTTACTGCCAGTTGAATCTG
	Probe	FAM-ACCCCGCATTACGTTTGGTGGACC-BHQ1
Yale_69/70del	Forward primer	TCAACTCAGGACTTGTCTTACCT
	Reverse primer	TGGTAGGACAGGGTTATCAAAC
	Probe (drop-out)	HEX-TTCCATGCTATACATGTCTCTGGGA-BHQ1
CDC_RP	Forward primer	AGATTTGGACCTGCGAGCG
	Reverse primer	GAGCGGCTGTCTCCACAAGT
	Probe	Cy5-TTCTGACCTGAAGGCTCTGCGCG-BHQ2

Component
CDC_N1_F (400 nM/reaction)
CDC_N1_R (400 nM/reaction)
CDC_N1_P (200 nM/reaction)
Yale_69/70del_F (400 nM/reaction)
Yale_69/70del_R (400 nM/reaction)
Yale_69/70del_P (200 nM/reaction)
CDC_RP_F (200 nM/reaction)
CDC_RP_R (200 nM/reaction)
CDC_RP_P (100 nM/reaction)

Step	Temperature	Time
1	55°C	10 min
2	95°C	1 min
3	95°C	10 sec
4	55°C	30 sec
5	Read plate	
<i>Repeat steps 3-5 for 44 cycles.</i>		