

ノロウイルス (Noro virus) 検出用プライマー&プローブ

国立感染症研究所 病原体検出マニュアルに掲載の PCR 反応系 20 μ L の反応組成、および PCR 反応プログラムは以下となります。

- ◆ 同梱のプライマー & プローブの 500 反応分とは、以下の反応組成で 20 μ L 系のリアルタイム PCR を実施する場合を想定しております。
- ◆ テンプレートの投入量は、前述のマニュアル「6-2. cDNA 合成反応」で作製した cDNA, 2 μ L を想定しております。
- ◆ 異なる反応組成、反応系の場合は、反応数が 500 回から変動する場合があります。

(1) ノロウイルス検出用 G I

プライマー・プローブの 1 反応あたりの使用量

COG1F	CGYTGGATGCGNTTYCATGA	8 pmol/ 1 反応
COG1R	CTTAGACGCCATCATCATTYAC	8 pmol/ 1 反応
RING1-TP(a)	FAM-AGATYGCGATCYCCTGTCCA-TAMRA	6 pmol/ 1 反応
RING1-TP(b)	FAM-AGATCGCGGTCTCCTGTCCA -TAMRA	2 pmol/ 1 反応

20 μ L の PCR 系 1 反応あたりの反応組成の例

国立感染症研究所では Thermo Fisher Scientific の ABI 7500 Fast Real-Time PCR System、TaqMan™ Universal PCR Master Mix 使用する方法が記載されています。

DDW	4.4 μ L
TaqMan™ Universal PCR Master Mix	10.0 μ L
COG1F (10pmol/ μ L)	0.8 μ L
COG1R (10pmol/ μ L)	0.8 μ L
RING1-TP(a) (4 pmol/ μ L)	1.5 μ L
RING1-TP(b) (4 pmol/ μ L)	0.5 μ L
Total	18.0 μ L

(2) ノロウイルス検出用 G II

プライマー・プローブと 1 反応あたりの使用量

COG2F	CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG	8 pmol/ 1 反応
ALPF	TTTGAGTCCATGTACAAGTGGATGCG	8 pmol/ 1 反応
COG2R	TCGACGCCATCTTCATTCACA	8 pmol/ 1 反応
RING2AL-TP	TGGGAGGGSGATCGCRATCT	4 pmol/ 1 反応

20 μ L の PCR 系 1 反応あたりの反応組成の例

国立感染症研究所では Thermo Fisher Scientific の ABI 7500 Fast Real-Time PCR System、TaqMan™ Universal PCR Master Mix 使用する方法が記載されています。

DDW	4.6 μ L
TaqMan™ Universal PCR Master Mix	10.0 μ L
COG2F (10pmol/ μ L)	0.8 μ L
ALPF (10pmol/ μ L)	0.8 μ L
COG2R (10pmol/ μ L)	0.8 μ L
RING2AL-TP (4pmol/ μ L)	1.0 μ L
Total	18.0 μ L

共通 PCR 反応プログラム

(◆ 上記 G I、G II の 2 つの組み合わせに共通の反応プログラムです。)

ABI 7500 Fast Real-Time PCR System の場合

50℃ : 2 min

↓

95℃ : 10 min

↓

95℃ : 15 sec } 45 サイクル
56℃ : 1 min }

◆ 他の機器を使用する場合は、試薬や測定条件の最適化が必要な場合があります。