

新型コロナウイルス  
**SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit Ver.2**  
**SARS-CoV-2 溶解バッファー**

**NEW**



## SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit Ver.2

- ✓ 従来品のNセット/N2セットより高感度
- ✓ 検体のインターナルコントロールとしてヒトRPL13Aを検出
- ✓ 約50分間の1step RT-qPCR反応\*
- ✓ SARS-CoV-2のポジティブコントロールRNA付属

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）をプローブを用いた1-step RT-qPCR法で検出するキットです。SARS-CoV-2由来RNAのN遺伝子2か所（No.1とNo.2）を標的とした独自のプライマーとプローブを採用することにより、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）由来RNAの高感度検出を実現しました。

2種類のプライマーとプローブセット（No.1とNo.2）には、インターナルコントロールとしてヒト由来ハウスキーピング遺伝子であるRPL13AのRNAを検出するプライマーとプローブセットも含まれています。ヒトRPL13Aを検出することで、検体にRNAが存在することを確認できます。

また、高活性型Hot StartタイプのReverse Transcription DNA Polymeraseを用いた1酵素系RT-qPCR法を採用し、非特異反応を抑制しながらも最短約50分間でRT-PCRが完了します。



本製品は診断薬ではありません。研究用試薬です。公的医療保険適用対象として申請予定です。

\*反応時間は装置によって異なります。

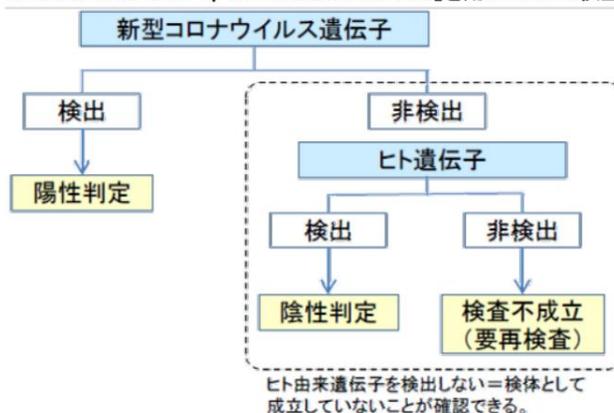
### 検体のインターナルコントロールの重要性

新型コロナウイルスのPCR検査においては、ウイルス由来のRNAが検出されなかった場合に、すなわち陰性と判断することはできません。なぜなら、輸送中・保管中の検体の劣化や採取時のトラブルで検体中にRNAが含まれていなかった可能性があるためです。

そこで、本キットは、ウイルスRNA検出用の2種類のプライマーとプローブセット（No.1とNo.2）に、インターナルコントロールとしてヒト由来ハウスキーピング遺伝子であるRPL13AのRNAを検出するプライマーとプローブを含めています。

ヒトRPL13AのRNAを検出することで、検体中にRNAが存在していたことを確認できます。

#### <「SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit ver2」を用いた PCR 検査>



## キット構成

試薬名	容量
Hot Start Reverse Transcription DNA Polymerase	50 $\mu$ L
Reaction Buffer and dNTPs	1,600 $\mu$ L
Manganese(II) Acetate	200 $\mu$ L
Primers and Probe No. 1	100 $\mu$ L
Primers and Probe No. 2	100 $\mu$ L
Positive Control RNA, N gene	400 $\mu$ L
Distilled Water	1,600 $\mu$ L

2種類のプライマーとプローブセット（No.1とNo.2）には、インターナルコントロールとしてヒト由来ハウスキーピング遺伝子であるRPL13Aを検出するプライマーとプローブセットも含まれています。インターナルコントロールのポジティブコントロールは含まれていません。

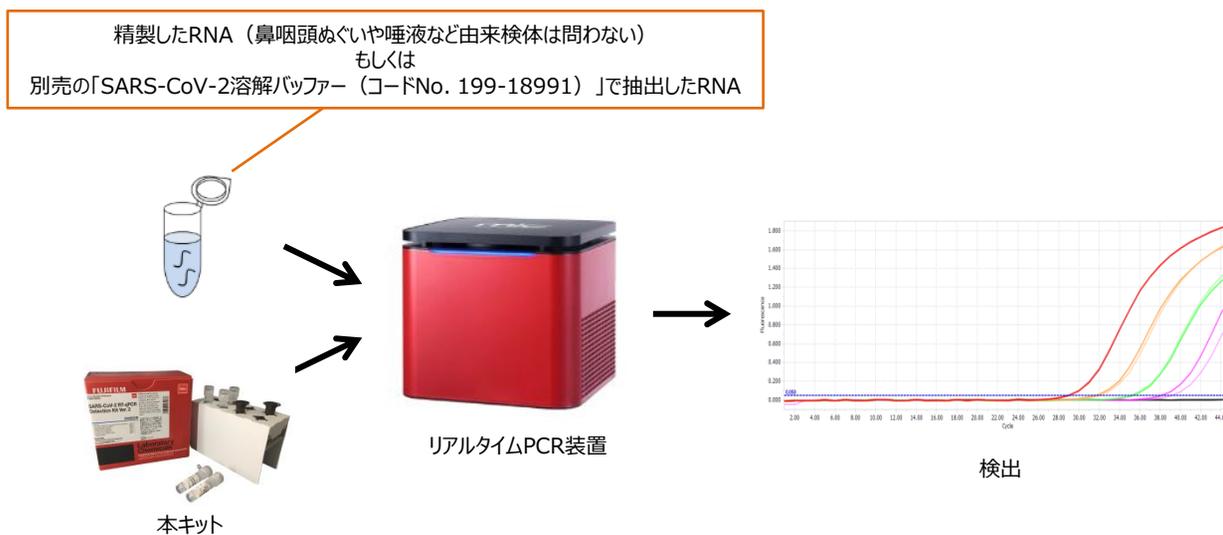
## プローブの蛍光レポーター

試薬名	SARS-CoV-2	インターナルコントロール ヒトRPL13A
Primers and Probe No. 1	FAM	HEX
Primers and Probe No. 2	FAM	HEX

## 必要な器具類

- ◆ qPCR(Real-Time PCR) 装置
- ◆ マイクロピペットおよびマイクロピペットチップ
- ◆ 滅菌済みNucleaseフリー1.5mLチューブ（DNA/RNA低吸着品が望ましい）
- ◆ qPCR(Real-Time PCR) プレートとプレートシール、もしくはqPCR(Real-Time PCR) チューブとキャップ

## 使用の流れ



## NセットおよびNセット2プライマー/プローブとの比較

水に添加したポジティブコントロールRNAと「NセットおよびNセット2」と「本キットのNo.1とNo.2」の感度を比較した。その結果、唾液から添加回収したポジティブコントロールRNAにおいて、「No.1とNo.2」はより低いCt値でRNAを検出できた。

<検体>

- ①精製水に添加したキット付属のポジティブコントロールRNA
- ②唾液中に添加したキット付属のポジティブコントロールを精製したRNA

<リアルタイムPCR装置>

CFX96 Touch リアルタイムPCR解析システム(Bio-Rad社)

<試薬・器具類>

ISOSPIN Viral RNA (コードNo. 310-08931, ニッポンジーン, 検体②のRNA精製に使用)

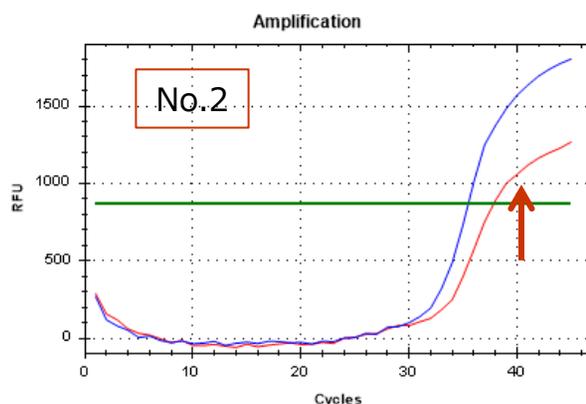
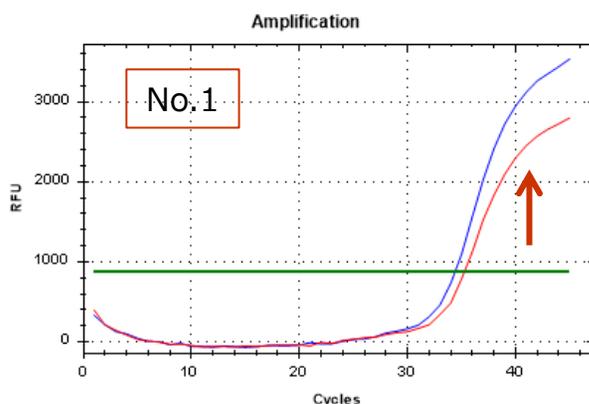
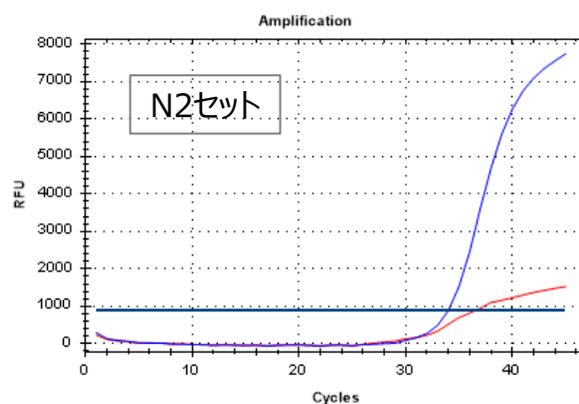
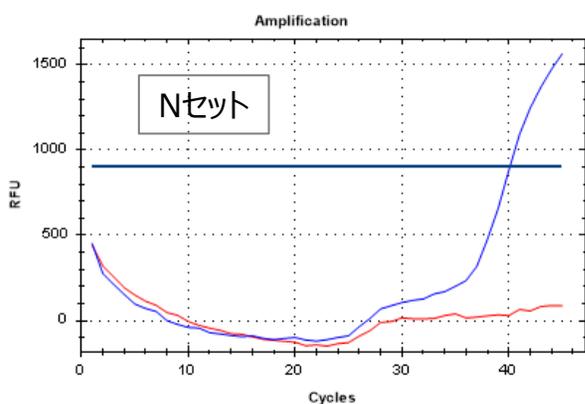
Micro tube 1.5ml DNA LowBind (Sarstedt)

### 【結果のCt値 (50コピー)】

プライマー/プローブ	ポジティブコントロールRNA	唾液精製RNA
Nセット	41.99	N.D
N2セット	34.51	41.47
No.1	34.28	36.70
No.2	35.08	37.87

### 【結果の増幅曲線 (50コピー)】

— ①ポジティブコントロールRNA  
— ②唾液精製RNA



- ✓ RNA精製不要
- ✓ 約10分間で検体処理完了
- ✓ 鼻咽頭ぬぐい液と唾液に適用可能

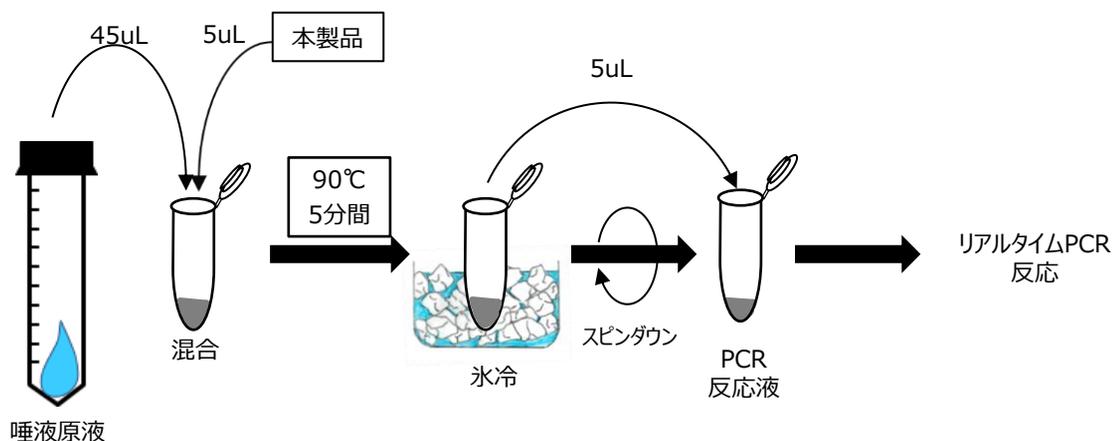
SARS-CoV-2 Lysis Bufferは、唾液および鼻咽頭ぬぐい液に含まれる新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）由来のRNAを抽出する試薬です。

主に界面活性剤と還元剤が含まれ、SARS-CoV-2の構造を壊すことでRNAを抽出します。RNAの精製が不要になり、短時間かつ簡単にウイルスRNAを抽出できるため、作業者の感染リスクを低減します。



抽出したRNA溶液は、SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit Ver.2(コードNo. 285-33801)のテンプレートRNAとして使用してください。  
Ver.1の「SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit (コードNo. 286-32851) とは併用しないでください。

## 使用の流れ



### <RNAの抽出操作>

1. 45 $\mu$ Lの唾液原液をマイクロチューブに移します。マイクロチューブは氷上に置きます。
2. 5 $\mu$ LのSARS-CoV-2 Lysis Bufferをマイクロチューブに添加します。
3. ボルテックスミキサーで混合し、スピンドウンします。
4. ヒートブロックを使用し、チューブを90 $^{\circ}$ Cで5分間加熱します。
5. チューブを氷上に戻して冷却します。
6. チューブを5,000 $\times$ g、室温で1分間遠心し、すぐにチューブを氷上で冷却します。
7. テンプレート（サンプル）RNAの調製は完了です。
8. qPCRプレートを氷上で冷却しながら、テンプレートRNAとPCR Master Mixをアプライします。

