

qPCR Subtyping Primer Set for HA of Avian Influenza

Code No. 6640

容量： 100 μ l each

濃度： 5 \times

●製品説明

本製品は、鳥インフルエンザウイルスのHA (Hemagglutinin) 遺伝子の塩基配列から設計されたプライマーのセットである。¹⁾ 逆転写反応試薬として PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time) (製品コード RR037A/B)、qPCR 試薬として TB Green *Premix Ex Taq* (Tli RNaseH Plus) (製品コード RR420S/A/B) *1 を組み合わせてリアルタイム RT-PCR で検出を行うことにより、鳥インフルエンザウイルスのHA 亜型判定が可能である。^{*2}

* 1 : タカラバイオでは、インターカレーター法のリアルタイム PCR (qPCR) 試薬の製品名を 2017 年 10 月下旬より順次、「TB Green シリーズ」に名称変更いたします。製品コードや試薬の性能に変更はありません。これまで通りご使用ください。

* 2 : プライマー配列は、HA 遺伝子の亜型を判定できるように最適化されていますが、遺伝子によっては判定が困難な可能性があります。

●保存 - 20℃

●対象となる亜型 H1 ~ H16

●検出対象領域

1 ~ 22. HA (Hemagglutinin) gene
23. NP (Nucleoprotein) gene

●内容 (各プライマー 25 反応分)

以下の 23 種類のプライマー溶液 (Forward & Reverse primer mix, 5 \times conc.) が含まれる。(各 100 μ l)

[形状] TE Buffer : 10 mM Tris-HCl (pH8.0), 0.1 mM EDTA に溶解

1. H1 Subtype Eu Lineage Primer
2. H1 Subtype Am Lineage Primer
3. H2 Subtype Eu/Am Lineage Primer
4. H3 Subtype Eu/Am Lineage Primer
5. H4 Subtype Eu/Am Lineage Primer
6. H5 Subtype Eu/Am Lineage Primer
7. H6 Subtype Eu Lineage Primer
8. H6 Subtype Am Lineage Primer
9. H7 Subtype Eu Lineage Primer
10. H7 Subtype Am Lineage Primer
11. H8 Subtype Eu/Am Lineage Primer
12. H9 Subtype Eu Lineage Primer
13. H9 Subtype Am Lineage Primer
14. H10 Subtype Eu Lineage Primer
15. H10 Subtype Am Lineage Primer
16. H11 Subtype Eu/Am Lineage Primer
17. H12 Subtype Eu Lineage Primer
18. H12 Subtype Am Lineage Primer
19. H13 Subtype Eu/Am Lineage Primer
20. H14 Subtype Eu/Am Lineage Primer
21. H15 Subtype Eu/Am Lineage Primer
22. H16 Subtype Eu/Am Lineage Primer
23. NP Eu/Am Lineage Primer

Eu : ユーラシア系統の HA 遺伝子検出用

Am : 北米系統の HA 遺伝子検出用

Eu/Am : ユーラシア系統および北米系統の HA 遺伝子検出用

●使用例

= 逆転写反応 : PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time) を使用 =

○反応液組成	5 \times PrimeScript Buffer (for Real Time)	2 μ l
	PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5 μ l
	Random 6 mers (100 μ M)	0.5 μ l
	total RNA	
	RNase Free dH ₂ O	
Total		10 μ l*3

* 3 : 10 μ l の反応液で逆転写できるのは、およそ 500 ng までの total RNA である。逆転写反応は、必要に応じてスケールアップすることも可能。

○逆転写反応条件	37℃	15分
	85℃	5秒
	4℃	

= qPCR 反応 : TB Green *Premix Ex Taq* (Tli RNaseH Plus) を使用 =

○反応液組成

各プライマー溶液ごとに別々に下記反応液を調製してください。

TB Green <i>Premix Ex Taq</i> (Tli RNaseH Plus)	10 μ l
Primer	4 μ l
RT 反応液 (cDNA 溶液)	1 μ l
滅菌精製水	5 μ l
Total	20 μ l

○qPCR 条件	95℃	30秒	} 30 cycles
	95℃	30秒	
	50℃	20秒	
	72℃	32秒	
	融解曲線分析		

注意 : Applied Biosystems のリアルタイム PCR 装置の場合、反応液に ROX Reference Dye/ROX Reference Dye II の添加が必要です。詳細は、TB Green *Premix Ex Taq* (Tli RNaseH Plus) の取扱説明書をご参照ください。

●反応結果例

各プライマーでの反応結果例をタカラバイオウェブカタログで紹介しています。

●使用に際して

本製品は遺伝子検出であるため、不活化されたウイルスも検出されます。また、設計した Primer の配列内に遺伝子の変異や欠損/挿入が生じた際には、検出できない場合があります。(検査結果判定により発生する問題に関して、タカラバイオ株式会社は一切の責任を負いません。)

●参考文献

Tsukamoto K, Javier PC, Shishido M, Noguchi D, *et al.*
J Clin Microbiol. (2012) **50**: 37-45.

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。