

qPCR Subtyping Primer Set for NA of Avian Influenza

Code No. 6641

Size: 100 μ l each

Conc.: 5X

Description :

This product is a primer set, which is designed based on nucleotide sequence of Avian influenza virus NA (Neuraminidase) gene. Using this set with PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) (Cat. #RR037A/B) and TB Green® *Premix Ex Taq*™ (Tli RNaseH Plus) (Cat. #RR420A/B)*¹ allows analytical determination for NA subtypes of Avian influenza virus by RT-qPCR.*²

- * 1 We have begun the process of changing the names for Takara Bio's intercalator-based real-time PCR (qPCR) products to the "TB Green series". These products can be used the same way as before, as only the names are changing. Catalog number and product performance are unaffected by this transition.
- * 2 There might be genes that could be difficult for this analytical determination, although this product is optimized for many NA subtypes.

Takara Bio received a license from the National Agriculture and Food Research Organization, and commercialized this product.

Storage: -20°C

Subtypes for detection: N1 ~ N9

Target gene :

- 1 - 11. NA (Neuraminidase) gene
- 12. NP (Nucleoprotein) gene

Contents (for 25 reactions in each primer) :

Following 12 primer solutions (Forward & Reverse primer mix) are included. (100 μ l each)

Form: Solution in TE Buffer (10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.1 mM EDTA)

1. N1 Subtype Eu/Am Lineage Primer
2. N2 Subtype Eu/Am Lineage Primer
3. N3 Subtype Eu/Am Lineage Primer
4. N4 Subtype Eu/Am Lineage Primer
5. N5 Subtype Eu/Am Lineage Primer
6. N6 Subtype Eu/Am Lineage Primer
7. N7 Subtype Eu/Am Lineage Primer
8. N8 Subtype Eu Lineage Primer
9. N8 Subtype Am Lineage Primer
10. N9 Subtype Eu Lineage Primer
11. N9 Subtype Am Lineage Primer
12. NP Eu/Am Lineage Primer

Eu: Eurasian lineage
Am: North American lineage
Eu/Am: Eurasian lineage and North American lineage

Precautions before use:

This product is designed for detection of the target gene DNA, and detects not only living virus but also inactivated virus. The target gene may not be detected when there is mutation, deletion, or insertion in the genomic sequences correspond with the primers. (Takara Bio is not responsible for any actions taken as a result of analytical determinations made with this product.)

Application example :

< Reverse transcription reaction >

- Reagent : PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time)
- Reaction mixture components :

5X 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

- * 3 500 ng of total RNA is the maximum amount for the reverse transcription in 10 μ l reaction mixture. It is possible to scale up the reverse transcription reaction as required.

- Reaction condition for reverse transcription :

37°C	15 min
85°C	5 sec
4°C	

< qPCR reaction >

- Reagent : TB Green *Premix Ex Taq* (Tli RNaseH Plus)
- Reaction mixture components :

The reaction mixture has to be prepared for each primer solution.

TB Green <i>Premix Ex Taq</i> (Tli RNaseH Plus)	10 μ l
Primer	4 μ l
RT reaction solution (cDNA)	1 μ l
Sterile purified water	5 μ l
Total	20 μ l

- qPCR condition :

95°C	30 sec	} 30 cycles
95°C	30 sec	
50°C	20 sec	
72°C	32 sec	

Dissociation curve analysis

Note : Addition of ROX Reference Dye is required in reaction mixture when using real-time PCR instruments of Applied Biosystems. Please see the instruction for TB Green *Premix Ex Taq* (Tli RNaseH Plus) for more detail.

Examples for reaction result :

Reaction results (example) using each primer are shown on Takara Bio web catalog.

Reference :

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

TB Green is a registered trademark of Takara Bio Inc.
PrimeScript and *Premix Ex Taq* are trademarks of Takara Bio Inc.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6972 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

qPCR Subtyping Primer Set for NA of Avian Influenza

Code No.6641

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 NA (Neuraminidase) 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 NA 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、NA 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。

本製品は独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構が願した特許を利用し、タカラバイオが製品化しました。

●保存 - 20℃

●対象となる亜型

N1 ~ N9

●検出対象領域

1 ~ 11. NA (Neuraminidase) gene
12. NP (Nucleoprotein) gene

●内容 (各プライマー 25 反応分)

以下の 12 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. N1 Subtype Eu/Am Lineage Primer
2. N2 Subtype Eu/Am Lineage Primer
3. N3 Subtype Eu/Am Lineage Primer
4. N4 Subtype Eu/Am Lineage Primer
5. N5 Subtype Eu/Am Lineage Primer
6. N6 Subtype Eu/Am Lineage Primer
7. N7 Subtype Eu/Am Lineage Primer
8. N8 Subtype Eu Lineage Primer
9. N8 Subtype Am Lineage Primer
10. N9 Subtype Eu Lineage Primer
11. N9 Subtype Am Lineage Primer
12. NP Eu/Am Lineage Primer

Eu : ユーラシア系統の NA 遺伝子検出用

Am : 北米系統の NA 遺伝子検出用

Eu/Am : ユーラシア系統および北米系統の NA 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 (初期変性)
	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。