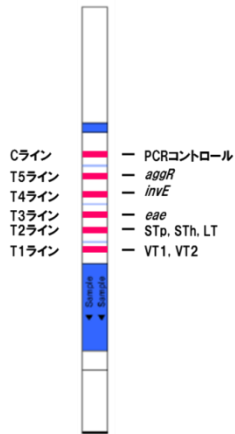


下痢原性大腸菌検出キット 簡易マニュアル

【内容物】

- | | |
|--|-------|
| 1. テストストリップ | 20本 |
| 2. 展開バッファー | 20テスト |
| 3. プライマーミックス1 (VT1, VT2, <i>eae</i> , <i>invE</i> , <i>aggR</i>) | 20テスト |
| 4. プライマーミックス2 (LT, STh, STp) | 20テスト |
| 5. PCR ミックス | 40テスト |

【チップ外観】



【使用法】

検体からのDNA抽出工程

糞便検体を mEC 培地等で増菌培養し、得られた培養液を検体として、市販のDNA抽出キット（カネカ簡易DNA抽出キット version2（カネカ）、DNeasy Blood & Tissue Kit（QIAGEN）など）を用いてDNAを抽出して下さい。熱抽出法やフェノール/クロロホルム法などを用いて抽出/精製したDNAもPCRテンプレートに使用できます。

例) 熱抽出によるDNA抽出

- 増菌培養液 200 μ L を別のチューブに移し、15,000 rpm/3分間/室温の条件で遠心する。
- 遠心後、上清を除き、滅菌水を 1 mL 加え、ピペティングする。
- ヒートブロックで 100°C/10分間加熱する。
- 氷冷したものをPCRテンプレートに使用する。

PCR工程

- プライマーミックス1、プライマーミックス2、増幅酵素ミックスを融解し、転倒混和もしくはピペティングにより、均一にする。
- 下表に従い、氷上にて反応液1, 2を調製する。

反応液1

| | |
|---------------|------------|
| 1. プライマーミックス1 | 8 μ L |
| 2. PCRミックス | 10 μ L |
| 3. 抽出DNA | 2 μ L |

反応液2

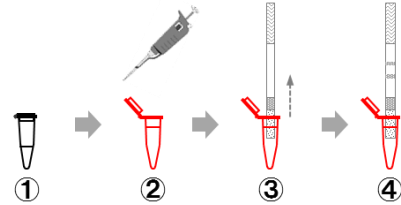
| | |
|---------------|------------|
| 1. プライマーミックス2 | 8 μ L |
| 2. PCRミックス | 10 μ L |
| 3. 抽出DNA | 2 μ L |

③ 下表に従い、PCRを行う。

| Step | 温度/時間 | 回数 |
|--------|------------|----|
| Step 1 | 25°C/10min | 1 |
| Step 2 | 94°C/2min | 1 |
| Step 3 | 94°C/5sec | 35 |
| | 56°C/30sec | |
| | 72°C/20sec | |

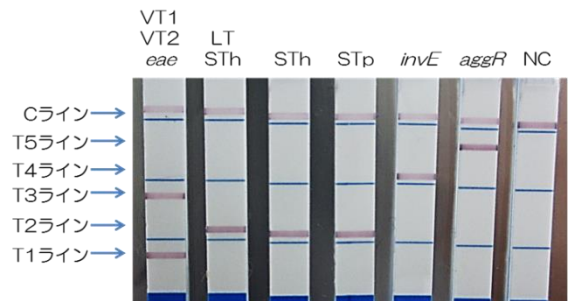
検出工程

- PCR後の反応液1、反応液2を用意する。
反応液1の入ったPCRチューブに反応液2を全量加える（混合不要）。
- 反応液1, 2の入ったPCRチューブに、140 μ Lの展開バッファーを添加する（混合不要）。
- テストストリップを挿入し、室温で静置する。
- 10分後、検出ラインを目視で確認する。



【検出例】

陽性コントロールDNA



NC : Negative Control

【保存方法】

- ・テストストリップ : 常温保存
- ・展開バッファー : 常温保存
- ・プライマーミックス1, 2 : 冷凍保存 (-20°C)
- ・PCRミックス : 冷凍保存 (-20°C)

【注意事項】

- 本品は研究用途でのみ使用し、臨床診断等に使用しないでください。
- 正しい判定結果を得るために、展開を開始してから10分後に判定し、それ以降は判定を行わないでください。
- テストストリップは湿気を含む状態で長時間放置すると性能低下いたしますので、開封後は容器の蓋をしっかりと閉じて吸湿には十分ご注意ください。

ご不明な点がございましたら、株式会社カネカ Medical Devices Solutions Vehicle 新規技術開発グループ革新医療チーム (079-445-2406) までご連絡下さい。