

試験研究用試薬(RUO)

(注意) 本使用書(翻訳)は操作手順の参考にして頂き、実際の手技の際は最新の英文マニュアルにて実施ください。


Seeplex<sup>®</sup>

## RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)

マルチプレックス・ワンステップRT-PCRシステムは、以下のウイルスの検出を目的としています。

インフルエンザウイルスA型、インフルエンザウイルスB型、ヒトRSウイルスA型、ヒトRSウイルスB型、ヒトアデノウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ヒトコロナウイルス229E/NL63、ヒトコロナウイルスOC43、ヒトパラインフルエンザウイルス1型、ヒトパラインフルエンザウイルス2型、ヒトパラインフルエンザウイルス3型、ヒトパラインフルエンザウイルス4型、ヒトライノウイルスA/B/C型、ヒトエンテロウイルス、ヒトボカウイルス1/2/3/4型

CE

EU:  (体外診断用)

EU圏内ではIVDとして使用できます。

カナダ:  (体外診断用)

カナダではIVDとして使用できます。

その他の国:  (試験研究用)

その他の国ではRUOとして使用してください。



米国では販売しておりません。

**目次**

注意事項	4
使用目的	5
原理及び操作概要	6
背景情報	8
試薬	13
保管及び取扱い	14
キット以外に必要な物品	14
警告及び注意事項	15
プロトコール	16
結果	29
トラブルシューティング	43
パフォーマンス特性	45
参考文献	49
シンボルマークについて	51
注文情報	52

**注意事項**

本製品を使用される際は、以下にご留意ください。

- 本製品は、EUにおいて、EU指令(98/79/EC)により承認された、IVD CEマークを取得し、カナダにおいては、カナダ保健省より、医療機器規制Section36に基づき認可を受けており、IVD（体外診断用）としてご使用いただけます。その他の国においては、RUO（試験研究用）としてご使用ください。
- 本テストは以下の試料に関して実証済みです。：鼻咽喉吸引液、鼻咽喉ぬぐい液、及び気管支肺胞洗浄液。それ以外の試料に関しては検証されていません。
- 核酸は、ご使用になるまでは-70℃で保管し、ご使用の際は氷冷状態で操作を行ってください。
- 各種の5X RV15 OPMは4℃で保管してください。-20℃で保管した場合、感度が10～100倍低下する恐れがあります。
- PCR産物をアガロースゲルに添加する前に、PCR産物を65℃で5～10分間加温してください。加温により、100-250bpで見られるプライマーによる副産物のバンドを防止できる場合があります。自動キャピラリー電気泳動システムを使用する場合には、加温処理は不要です。
- 長期間保存した試料や、十分なヒト細胞が含まれていない試料ではホールプロセスコントロールのバンドが出現しない場合があります。
- ライノウイルス、及びエンテロウイルスの場合、ウイルス株により感度に差（10～100倍）が見られます。（この問題を解決するには19ページをご参照ください。）
- **Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) は、SEEAMP<sup>™</sup> (Seegene社)、及びGeneAmp<sup>®</sup> 9700 (Life Technologies社) PCR Systemでの使用を想定し、開発、検証を行っています。そのため、本製品をお使いの際は、SEEAMP<sup>™</sup>、またはGeneAmp<sup>®</sup> 9700 PCR Systemの使用を強く推奨しております。**
- 試料を取扱う際には、ラボの安全手順（「微生物学及び生物医学的実験室におけるバイオセーフティ(BMBL)」及び「CLSI(米国臨床検査標準協会)文書」を参照）に従ってください。操作の際に使用する物質表面を、0.5%次亜塩素酸ナトリウム（脱イオン水、または蒸留水で希釈したもの）を使用し、十分に清掃、殺菌してください。
- 本製品の安全性情報については、該当する製品安全データシート(MSDS)をご参照ください。MSDSは弊社ウェブサイト([www.seegene.com](http://www.seegene.com))から、またはe-mail ([info@seegene.com](mailto:info@seegene.com))でご依頼いただけます。

## 使用目的

Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) は、有症者より採取した鼻咽頭吸引液、鼻咽頭ぬぐい液、気管支肺胞洗浄液から、**15種の呼吸器感染症起因病原体を定性的に検出します**。15病原体には以下のものが含まれます。

インフルエンザウイルスA型 (Flu A)、インフルエンザウイルスB型 (Flu B)、ヒトRSウイルスA型 (RSV A)、ヒトRSウイルスB型 (RSV B)、ヒトアデノウイルス (AdV)、ヒトメタニューモウイルス (MPV)、ヒトコロナウイルス229E/NL63 (229E/NL63)、ヒトコロナウイルスOC43 (OC43)、ヒトパラインフルエンザウイルス1型 (PIV1)、ヒトパラインフルエンザウイルス2型 (PIV2)、ヒトパラインフルエンザウイルス3型 (PIV3)、ヒトパラインフルエンザウイルス4型 (PIV4)、ヒトライノウイルスA/B/C型 (HRV)、ヒトエンテロウイルス (HEV)、ヒトボカウイルス1/2/3/4型 (HBoV)

**Flu A:** プライマーは、H5N1 亜型 (高病原性鳥インフルエンザ)、A(H1N1)pdm09亜型 (2009年4月に初めて検出された豚由来インフルエンザ)を含め、インフルエンザウイルスA型のすべての亜型を検出します。

**AdV:** プライマーは、ヒトアデノウイルスB型、C型、E型の殆どを検出することができます。また、A型とD型の一部を検出します。

## 原理及び操作概要

### 1. 原理

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による DNA 増幅法は、感度、特異性に優れています。Seegene 社は、オリゴテクノロジーの新コンセプトである DPO<sup>™</sup> (Dual Priming Oligonucleotide) 技術を開発しました。DPO 技術では、柔軟なプライマー設計と PCR の最適化が可能であり、非特異的プライミングを阻害することで PCR の特異性と感度を最大限に高めることができます。

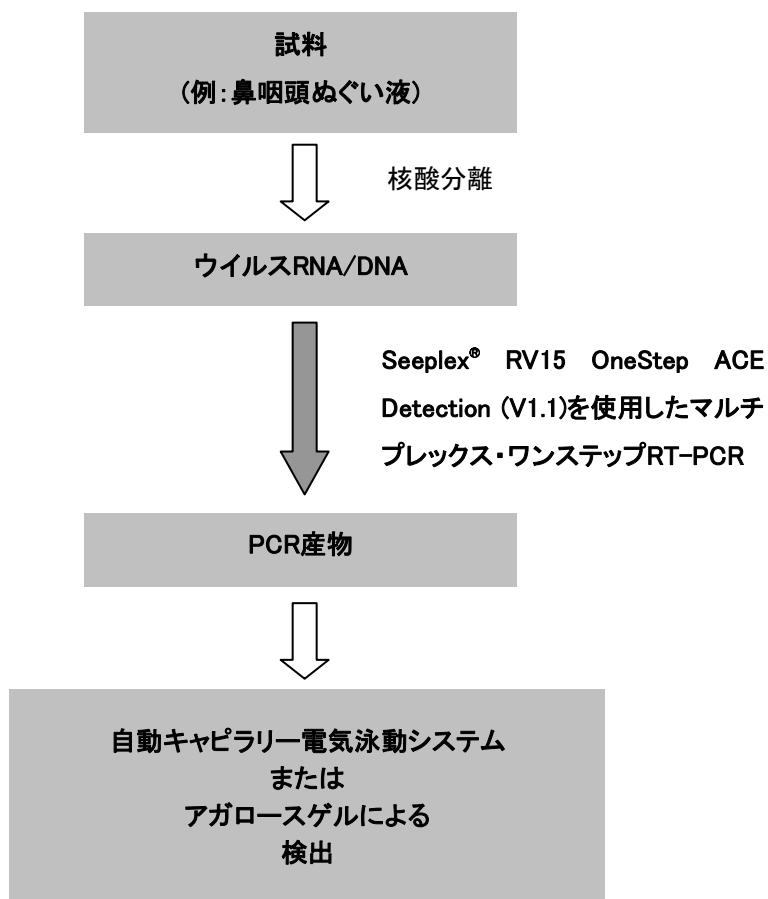
Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)は、DPO<sup>™</sup> 技術をベースとしたマルチプレックスアッセイであり、インフルエンザウイルス A 型(Flu A)、インフルエンザウイルス B 型(Flu B)、ヒト RS ウイルス A 型 (RSV A)、ヒト RS ウイルス B 型 (RSV B)、ヒトアデノウイルス (AdV)、ヒトメタニューモウイルス(MPV)、ヒトコロナウイルス 229E/NL63 (229E/NL63)、ヒトコロナウイルス OC43 (OC43)、ヒトパラインフルエンザウイルス 1 型(PIV1)、ヒトパラインフルエンザウイルス 2 型 (PIV2)、ヒトパラインフルエンザウイルス 3 型 (PIV3)、ヒトパラインフルエンザウイルス 4 型 (PIV4)、ヒトライノウイルス A/B/C 型 (HRV)、ヒトエンテロウイルス(HEV)、ヒトボカウイルス 1/2/3/4 型 (HBoV)、PCR コントロール(PCRC)、ホールプロセスコントロール(WPC)の標的配列を同時に増幅します。

Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)では、逆転写(RT)と、DNA 増幅 (PCR)を 1 本のチューブにセットアップします。この 2 段階の手法を簡素化することで、高い分析再現性と高効率を実現しました。Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)は、①核酸分離、②DPO<sup>™</sup>プライマーを用いたワンステップ RT-PCR による標的配列の増幅、③ 自動キャピラリー電気泳動システム、またはアガロースゲル電気泳動による検出、という主に 3 つのプロセスが基本となっています。

Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)には、2 つのインターナルコントロール —PCR コントロールとホールプロセスコントロール— が含まれています。A セット、及び B セットには PCR コントロールが含まれ、処理試料中の PCR 阻害物質の存在の有無をチェックします。C セットは、インターナルコントロールとしてヒト RNase P ターゲットを含み、核酸抽出から RT-PCR まで実験プロセス全体でのチェックが可能です。

さらに、8-MOP が、混入した DNA のテンプレートとしての活性化を停止します。320-400nm の入射光による光活性化によって、8-MOP 自体が二本鎖 DNA に差し込まれて、共有結合性の鎖間架橋を形成します。使用済みのチューブは、キャリアオーバーコンタミネーション防止のため、廃棄前に 20 分間紫外線照射(365 nm)を行ってください。

## 2. 操作概要



< Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) 操作概要 >

c

## 背景情報

### 1. 感冒

感冒は、上気道のウイルス感染（ライノウイルス、コロナウイルス、ヒトRSウイルス等、最大200種類）により発症する。これまで数百種類の感冒の原因ウイルスが特定されているが、すべてのウイルスを特定するにはさらに時間を要する。これら感冒ウイルスは頻繁に変異するため、感冒に対する完璧な治療法は今だ程遠い話である。

感冒ウイルスは、咳やくしゃみにより飛沫感染する。飛沫を直接吸い込んだり、感染している人との身体的接触（握手など）や物質（ドアノブなど）を介して、飛沫に含まれる核が体内に侵入する。感冒ウイルスは、ペンや本、コーヒーカップなど、物質表面で数時間生存可能なことがわかっている。その後、鼻や目に触った際に鼻腔へと感染する。感冒の症状には、鼻閉、鼻漏、くしゃみ、咽頭痛、嚔声、咳嗽、発熱、頭痛などがある。また、多くの人は倦怠感や筋肉痛を感じる。通常こうした症状は3～10日間持続するが、咳嗽は3週間程度続くことがある。

### 2. 重症呼吸器感染症

感冒は上気道感染によるものであり、より重症な気道ウイルス感染であるインフルエンザとは異なる。インフルエンザでは、さらに、急激な発熱、悪寒、身体の痛みや筋肉痛といった症状が現れる。

RSV、Flu A、Flu B、PIV3、AdV、及びMPVは、特に幼児、高齢者、免疫力の低下した人に重症呼吸器感染症を発症させる。RSVは、世界的にも、乳児及び小児における下気道感染の最大の要因であり、通常秋から冬にかけて発生する。また、医師が注目するほどの深刻な呼吸器症状を伴う小児期の発熱（時に熱性けいれんを伴う）の14%は、インフルエンザウイルスによるものである。新生児期に感染した場合には、発熱の原因が特定できず死に至ることもある。PIV3は、幼児に最も多くみられる急性の下気道感染であるクループ症候群の主な原因ウイルスである。また、AdVは、5歳未満の小児の急性呼吸器疾患の約5%を占め、症状としては鼻閉、鼻かぜ、咳嗽、扁桃炎、発熱があり、筋肉痛が見られることがある。近年発見されたMPVは、幼児の重症下気道感染の原因とみられている。

### 3. インフルエンザウイルスA型/B型 (Flu A及びFlu B)

米国では毎年、インフルエンザによる死亡者が3万人を超え、約25万人が入院し、医療費は数十億ドルに上る(90%は高齢者の治療に使われる)。A型インフルエンザの世界的流行は約10~30年毎に発生し、A型またはB型の地域的流行は毎年発生すると言われている。感染は季節性であり、通常北半球では11月から4月にかけて見られる。小児や高齢者、また循環器や呼吸器系の慢性疾患がある場合に合併症を発症しやすい。

インフルエンザウイルス(オルソミクソウイルス科)は、8本の分節より成るリボ核タンパク質内に一本鎖RNAゲノムを持つ。このような分節構造はウイルスの中では非常に稀であり、このような構造は、同じ細胞に感染している異なるウイルスとの間で遺伝子断片を交換し、短期間に新しい変異株が発生する要因と考えられている。インフルエンザにはA型、B型、C型の3種類があり、これらは内部の核タンパク質及び基質タンパク質抗原の構造に差異が見られる。ヒトA型に対して、鳥や豚に感染するA型が存在する一方、B型とC型はヒトのみに存在することが知られている。A型、B型は共に上気道、及び下気道感染に関連がある、しかし、A型は入院加療となる割合がB型の約4倍であり、一方B型は、一般的に筋炎及び胃腸障害とより関連が深い。C型による下気道感染症は稀であるが、散発的に上気道感染症を起こすことがある。

インフルエンザの呼吸器感染で最も重症なケースは下気道感染症であり、3タイプの肺炎、つまり、原発性ウイルス肺炎、ウイルスと細菌の混合感染による肺炎、インフルエンザ後の続発性細菌性肺炎を引き起こす。インフルエンザ感染による、肺症状以外の臨床症状には、ウイルス血症、心臓及び中枢神経系の合併症、ライ症候群、毒素性ショック等がある。

### 4. RSウイルス (RSV)

RSウイルス(パラミクソウイルス科)は、マイナス一本鎖RNAをもつエンベロープウイルスである。ヒトRSウイルス感染は、乳幼児の下気道疾患において最も重要な原因の一つである。ある研究によれば、米国では5歳未満の子どもの約50%がRSVに感染する。さらに、RSV感染により、毎年9万人の子どもが入院し、4500人が死亡している。また、年長児や成人においても、軽度~重度の呼吸器疾患を引き起こす。感染は季節性であり、例えば温帯性気候におけるRSV感染は、通常冬季に発生する。

RSVにはA型とB型が存在する。A型は、主に乳児、高齢者、免疫力の低下した人に感染し、重度の下気道感染を起こすが、B型感染はあらゆる年齢層で見られ、軽度の上気道感染を起こす。小児の多くは2歳までに一度は感染し、その後生涯を通じて感染を繰り返す。症状は、数日から数週間持続する。初回感染時には、入院加療を必要とする程の重度の呼吸障害を引き起こすことがある。生後6カ月未満の未熟児や、呼吸器系、循環器系、免疫系に問題のある乳児のRSV感染では致死率が高い。

## 5. アデノウイルス (AdV)

アデノウイルス(アデノウイルス科)は、エンベロープを持たない二本鎖DNAウイルスである。49の血清型があり、A～Fの6群に分類されている。6群全てが、上気道炎、及び流行性角結膜炎の原因となる。一般的に成人におけるAdV感染では死亡率が低いが、免疫力の低下した患者や新兵は例外であり、非定型肺炎を発症する場合がある。ここ10年ほどの間に、数種のAdVが、小児の左心室機能不全(LVD)原因となることがわかってきた。

## 6. メタニューモウイルス (MPV)

メタニューモウイルス(パラミクソウイルス科)は、呼吸器感染症起因ウイルスで、無症候性感染から重症細気管支炎まで様々な疾患を引き起こす。MPVは、2001年、気道疾患をもつ小児から採取されたサンプルから初めて発見された。以来、MPVは、重症呼吸器疾患の主要病原体であり、当該疾患の12%を占めると報告されている。また、別の研究では、小児の感冒の15%はMPVによるとの報告がある。感染の臨床的特徴は、世界的に小児の下気道感染の最大の原因となっているRSVのそれと判別しにくい。MPVの発見はごく最近であり、罹患率など、特徴の多くは未だわかっていない。これまでのところ、殆どの研究は入院中の小児を対象としたものであり、そのような入院加療中の小児の症例では、地域や季節に左右されるものの、鼻咽頭検体の10～20%にMPVが存在するとされている。乳児において、インフルエンザウイルス等、他の呼吸器感染症起因ウイルスと同時感染した場合には、細気管支炎を悪化させる要因となることが示唆されている。また、MPVとSARSの関連性については議論のあるところである。SARSの主な原因は、新しく発見されたコロナウイルスであるが、最近の香港での研究によれば、昨年春の大流行の際、検査を受けたSARS患者のうち半数がMPVにも感染していた。

## 7. コロナウイルス (CoV)

コロナウイルス (コロナウイルス科) は、プラス鎖RNAをゲノムにもつエンベロープウイルスである。CoVは主に上気道及び消化管に感染する。現在まで、CoVのうち4~5株がヒトに感染することが報告されている。また、成人の感冒の殆どはCoVが原因であると考えられている。冬季から早春にかけて最も活動性が高い。

## 8. パラインフルエンザウイルス (PIV)

パラインフルエンザウイルス (パラミクソウイルス科) は、一本鎖マイナス鎖RNAをゲノムにもつエンベロープウイルスである。PIVは、乳幼児及び成人の上気道感染症における最も重要な病原体である。RSVと同様、生涯にわたり繰り返し感染する。

PIVには4つの型 (1型~4型) が存在し、型によって異なる臨床的、疫学的特徴を示す。PIV1型及び2型 (検出頻度は多くない) は、咽頭気管支炎 (クループ) の主な原因であり、2~4歳の小児において最も重症化しやすい。また、1型、2型とも、他の上気道・下気道疾患の原因となる。PIV3型感染でもクループを発症することがあるが、注目すべきは、RSVに次いで乳児の細気管支炎及び肺炎の原因となることである。3型感染による症状は1歳未満の乳児で最も深刻である。PIV4型は、軽度な呼吸器疾患と関連があり、これまで、呼吸器感染症の大流行の原因となったという報告はない。

## 9. エンテロウイルス (HEV)

ウイルス性髄膜炎の85%以上がエンテロウイルスによるものである。エンテロウイルスはピコルナウイルス科 (「ピコ (pico)」は「小さい」、「ルナ (rna)」は「リボ核酸」の意味) に属し、エコーウイルス、コクサッキーウイルスA群及びB群、ポリオウイルス、その他番号付けされているエンテロウイルスが含まれる。非ポリオエンテロウイルスは、ライノウイルスと同程度によく見られるウイルスである。髄膜炎症例の大多数がコクサッキーウイルスとエコーウイルスによるものである。コクサッキーウイルス亜群Bのみで、3カ月未満の乳児における髄膜炎症例の60%以上を占める。

通常、エンテロウイルスは糞口経路でヒト宿主に侵入するが、呼吸器系から侵入する場合もある。暖かい時期に最も活動性が高くなるため、夏季から初秋にかけてどこにでも広く存在する。エンテロウイルス感染に関連する臨床症状には、咽頭炎、胸膜痛、発疹、心膜炎等がある。

## 10. ライノウイルス (HRV)

ライノウイルス (ピコルナウイルス科)は、エンベロープを持たない一本鎖プラス鎖RNAウイルスである。感冒の30%以上はHRVが原因である。HRVの感染症状として最も多いのが感冒であり、軽症で自然に治癒する。しかし、頻度は低いものの、乳児では細気管支炎や肺炎などの重症呼吸器疾患を発症することがある。感冒では、発熱、咳嗽、鼻閉といった症状を呈する。

HRVの感染経路は上気道である。通常、ウイルスは、病原体そのものを吸い込んだり、ウイルスの付着した手で鼻に触れたりすることで鼻腔に達する。一旦ウイルスが侵入すると、10～15分のうちに咽頭の奥に運ばれる。あまりにも多くの株・血清型が存在するため、HRV感染に対するワクチンは時代遅れであることが明らかになってきている。

## 11. ボカウイルス (HBoV)

ボカウイルス (パルボウイルス科)は、エンベロープを持たない一本鎖DNAウイルスであり、2005年、スウェーデンにて、呼吸器疾患をもつ幼児の呼吸器から採取されたサンプル中で最初に発見された。以来、HBoVは、急性呼吸器症状を有する患者の呼吸器から採取したサンプル中に、1.5～11.3%の割合で存在すると報告されている。さらに、様々な上気道・下気道疾患との関連性が認められており、下気道疾患(3分の1は肺炎)との関連性がより深い。流行は世界的に広範囲に見られ、季節的には冬季、春季に流行のピークがある。HBoVが乳児、幼児における呼吸器疾患の主な病原体であることが多くのエビデンスにより示唆される一方、胃腸炎の患者からも頻繁に発見されている。

**試薬**

1キットに含まれる試薬は50回検出分です。

Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)をご注文の際はこちらの情報をご参照ください。

(**REF** RV6F01Y)

Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)			
シンボルマーク	内容品	容量	詳細
<b>PRIMER</b>	5X RV15 A OPM	500 µL	ワンステッププライマーミックス(OPM): - Aセットの5病原体に対応するプライマーペア - コントロール用プライマーペア、及び テンプレート
	5X RV15 B OPM	500 µL	- Bセットの5病原体に対応するプライマーペア - コントロール用プライマーペア、及び テンプレート
	5X RV15 C OPM	500 µL	- Cセットの5病原体に対応するプライマーペア - ホールプロセスコントロール用プライマーペア
<b>ENZYME</b>	OneStep RT-PCR Enzyme Mix	100 µL X 3	ワンステップRT-PCR用酵素ミックス
<b>BUFFER</b>	5X OneStep RT-PCR Buffer	500 µL X 3	ワンステップRT-PCR用バッファ - dNTP及び染色剤を含むバッファ
<b>HEXAMER</b>	Random Hexamer	375 µL	ランダムヘキサマー
<b>MOP</b>	8-MOP Solution	500 µL X 3	8-MOP溶液
<b>WATER</b>	RNase-free water	500 µL X 3	超純水レベル、PCRグレード
<b>MARKER</b>	RV15 OneStep A Marker	50 µL	アガロースゲル上で、ターゲットとするPCR産物のおよそのサイズを特定するアンプリコンサイズマーカー
	RV15 OneStep B Marker	50 µL	
	RV15 OneStep C Marker	50 µL	
<b>CONTROL +</b>	RV15 OneStep PC	150 µL	陽性コントロール (PC): - 15病原体のクローンと内部コントロールの混合物
	ユーザーマニュアル		

Seeplex® はSeegene社の商標です。

## 保管及び取扱い

Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)の構成品のうち、各種の5X RV15 OPMIは4°Cで保管し、その他の構成品は-20°Cで保管してください。すべての構成品は、推奨する条件で保管した場合ラベルに記載の使用期限まで安定です。感度が低下する恐れがありますので、凍結融解の繰り返しは避けるようにしてください。試薬を複数回に分けて使用する場合は、等分に分けて保存してください。

## キット以外に必要な物品

- パウダーフリーのラテックス手袋(ディスポーザブル)
- ピペット(調節可能なもの)、及び滅菌ピペットチップ
- マイクロ遠心チューブ(1.5mL)、及びPCRチューブ(0.2mL)
- ウイルスDNA/RNA分離用キット(「核酸分離」の項を参照)
- プロテインナーゼK (20mg/mL)
- 製氷機
- 卓上遠心分離器
- ボルテックスミキサー
- クリーンベンチ
- ゲル電気泳動装置
- ゲルドキュメンテーション/イメージングシステム
- PCR装置(Seegene社 SEEAMP™ PCR System、またはLife Technologies社 GeneAmp® 9700 PCR System)
- ScreenTape® System(「ScreenTape® System」の項を参照)
- MultiNA System(「MultiNA System」の項を参照)
- LabChip® Dx system(専用マニュアルを参照)

**警告及び注意事項**

- 検出結果の信頼性は、試料採取量、輸送、保管、処理手順に左右されます。
- ラボにおけるワークフローを一方向にしてください。
- ラボの作業エリア内では飲食及び喫煙はしないでください。試料及び試薬を取扱う際は、パウダーフリーのディスポーザブル手袋、実験着、保護メガネを着用し、終了後は十分に手を洗ってください。
- 口でピペティングをしないでください。
- 試薬チューブから一定量を取り分ける際には、試薬の微生物汚染を避けてください。ディスポーザブルの滅菌ピペットチップの使用が推奨されます。
- 異なるロットの試薬同士、または同じロットでも別のチューブの試薬同士を混合しないでください。
- 使用期限の過ぎた製品はご使用にならないでください。
- 作業中の試料の飛び跳ねやクロスコンタミネーションを防ぐため、ねじ式キャップのチューブを使用してください。
- 抽出核酸や、PCR産物、陽性コントロールによる試薬のコンタミネーションが起きないようにご注意ください。試薬のコンタミネーションを防ぐため、フィルター付きピペットチップの使用を推奨します。
- 実験ごとに、隔離された別々の作業エリアを使用してください。
- 各作業エリアでは常にパウダーフリーのディスポーザブル手袋を着用し、次のエリアに移動する前に交換するようにしてください。汚染された手袋はすぐに交換するか、核酸除去試薬を使って処理してください。
- 器具や機器は各作業エリア専用とし、作業エリア間で移動しないようにしてください。
- 核酸分離、試薬の混合、核酸テンプレートの添加を行う各エリアごとに、別々のピペットセットを準備し、使用してください。
- 増幅産物によるコンタミネーションを防ぐため、増幅後の反応チューブ、またはストリップの開封は指定されたスペース以外で行わないようにしてください。
- 陽性物質は、キットの試薬と離れたところに保管してください。

## プロトコール

### 1. 試料の採取、保存、及び輸送

試料の採取、輸送、及び保存の際は、必ず下記のルールと手順に従ってください。

#### A. 試料の採取

一般的な呼吸器感染症病原体を調べるには、鼻咽頭吸引液、鼻咽頭ぬぐい液、気管支肺胞洗浄液の検査が繰り返し行われます。

- 呼吸器からの試料採取が困難な患者の場合は、ナイロンフロックスワブ (COPAN社、イタリア) を用いると、簡便かつ効果的に鼻咽頭ぬぐい液を採取できる場合があります。

製造元	試料採取デバイス	品番
COPAN	ESwab	482CE

#### B. 試料の保存

凍結融解の繰り返しや保存期間の長期化により、アッセイの感度が低下する場合があります。

- 処理前の試料は、4℃の冷蔵状態で最大72時間保存することができます。残った試料は-70℃以下で保存してください。
- 核酸の分解や感度低下の原因となりますので、試料の凍結融解を繰り返さないようにしてください。

#### C. 試料の輸送

良質なサンプルを担保するには、試料を指定された温度でできるだけ速やかに輸送してください。

- ヒトの呼吸器より採取した試料を輸送する際は、2~8℃で冷蔵してください。
- ヒトの呼吸器より採取した試料を輸送する際は、病原体の輸送に関するあらゆる関連法規を順守してください。

## 2. 核酸分離

核酸分離用キットは様々なメーカーが発売しています。使用するプロトコールに従い、適切なサンプル量を使用してください。以下の核酸分離用キットは、本キットと組み合わせて使用可能なことが実証されています。

### A. 手動精製用キット

試料量、及び溶出量以外については、製造元が発行する付属説明書に従ってください

核酸分離用キット	製造元	品番	推奨量
QIAamp® MinElute® Virus Spin キット	QIAGEN	57704	試料: 200 µL 溶出: 40 µL
Ribo_spin vRD (ウイルスRNA/DNA抽出キット)	GeneAll	302-150 SG1701*	試料: 300 µL 溶出: 40 µL

### B. 自動核酸抽出システム

自動核酸抽出システム	製造元	品番	推奨量
SEEPREP12™	NorDiag	SPN1200*	
SEEPREP12™ Viral NA キット	NorDiag	SPN1004*	試料: 540 µL 溶出: 60 µL

\*上記製品をSeegene社より購入される場合は上記品番をご使用ください。

### C. SEEPREP12™ プロトコール

- 適切にラベルを貼った、滅菌済み1.5mLサンプルチューブそれぞれに、プロテイナーゼK (20 mg/mL) 10µLを注入します。
- プロテイナーゼKを注入したチューブに試料540µLを移し、チューブを穏やかに振って混合します。
- 1.5mLの溶出チューブを装置にセットします。
- 最初の画面で「Continue」を押すと、装置が初期化されます。
- SEEPREP12™ のメインメニューで、「Start protocol」を押します。
- Select protocol メニューで、「SPN Viral NA v1.1」を押します。
- Select sample volume メニューで「550µL」を、Select elution volume メニューで「60µL」を選択します。
- 画面上の案内に従って器具を取り付けてください。
- すべてのステップが終了したらドアを閉め、運転を開始します。(溶出は54分後に終了します。)

### 3. ワンステップRT-PCR

**注意:** 試料の操作を行う際は、飛び跳ねやクロスコンタミネーションを防ぐため、必ずフィルターチップ、及び密着する手袋を使用してください。選択的増幅を担保するためには細心の注意が必要です。

**注意:** 試薬は氷冷により完全に融解させてください。

**注意:** キャップの内側の滴を取り除くため、試薬チューブを短時間遠心してください。

**注意:** 各サンプルは、それぞれ独立した3つの反応により同時増幅されます。

#### A. ワンステップRT-PCRマスターミックスを準備します。

8 $\mu$ L	RNase-free water
7.5 $\mu$ L	8-MOP Solution
2.5 $\mu$ L	Random Hexamer
10 $\mu$ L	5X RV15 OPM
10 $\mu$ L	5X OneStep RT-PCR Buffer
2 $\mu$ L	OneStep RT-PCR Enzyme Mix
40 $\mu$ L	マスターミックスの総容量

**注意:** 反応回数(サンプル+コントロール)を基に、各試薬の必要量を計算してください。

#### B. 5回の転倒混和、または短時間のボルテックスにより混和した後、短時間遠心してください。

#### C. ワンステップRT-PCRマスターミックス40 $\mu$ Lを、0.2mLのPCRチューブに等分し、チューブのキャップを閉めます。

#### D. 各サンプルの核酸10 $\mu$ Lをチューブに加え、タッピングにより十分に混和します。

40 $\mu$ L	ワンステップRT-PCRマスターミックス
10 $\mu$ L	サンプル核酸
50 $\mu$ L	反応液総量

**注意:** サンプルごとに新しいピペットをご使用ください。

**注意:** 陰性コントロールのPCRには、サンプル核酸ではなく、RNase-free water 10 $\mu$ Lを使ってください。コントロール由来のバンドだけが認められます。(セットA及びB)

**注意:** 陽性コントロールのPCRには、サンプル核酸ではなく、RV15 OneStep PC 10 $\mu$ Lを使ってください。

**注意:** サンプルまたは陽性コントロールによる、ワンステップRT-PCRマスターミックスのクロスコンタミネーションを防止してください。

E. 以下のプログラムを用いて、ワンステップRT-PCR反応をすぐに開始してください。

セグメント	サイクル数	温度	時間
1	1	50°C	30 分
2	1	94°C	15 分
3	45	94°C	0.5 分
		60°C	1.5 分
		72°C	1 分
4	1	72°C	10 分

**注意:** プライマーによる副産物のバンドが出現するのを防止するため、アガロースゲルに添加する前にPCR産物を65°Cで5~10分間加温してください。

**注意:** 検出ステップ終了後、キャリアオーバーコンタミネーション防止のため、PCR産物に20分間紫外線照射(365nm)を行ってください。8-MOPが二本鎖DNAに対して架橋構造を形成することにより、テンプレート活性を停止させます。

**3-1. (オプション) 核酸の加熱処理を含むワンステップRT-PCR**

**注意:** ライノウイルス、及びエンテロウイルスの場合、ウイルス株により感度に差(10~100倍の)が見られます。この問題を解決するため、以下のプロトコールをご利用ください。

**注意:** 試料の操作を行う際は、飛び跳ねやクロスコンタミネーションを防ぐため、必ずフィルターチップ及び密着する手袋を使用してください。選択的増幅を担保するためには細心の注意が必要です。

**注意:** 試薬は氷冷により完全に融解させてください。

**注意:** キャップの内側の滴を取り除くため、試薬チューブを短時間遠心してください。

**注意:** 各サンプルは、それぞれ独立した3つの反応により同時増幅されます。

**A.** 氷冷しながら、以下の試薬をPCRチューブに加えてください。

10 $\mu$ L	サンプルの核酸
2.5 $\mu$ L	Random Hexamer
8 $\mu$ L	RNase-free water
7.5 $\mu$ L	8-MOP Solution
28 $\mu$ L	総容量

**注意:** サンプルごとに新しいピペットをご使用ください。

**注意:** 陰性コントロールのPCRには、サンプル核酸ではなく、RNase-free water 10 $\mu$ Lを使ってください。コントロール由来のバンドだけが認められます。(セットA及びB)

**注意:** 陽性コントロールのPCRには、サンプル核酸ではなく、RV15 OneStep PC 10 $\mu$ Lを使ってください。

**注意:** サンプルまたは陽性コントロールによる、ワンステップRT-PCRマスターミックスのクロスコンタミネーションを防止してください。

**B.** チューブを80°Cで3分間インキュベートします。

**C.** チューブを2分間氷冷した後、軽くスピンドウンします。

**D.** 以下の試薬をステップCのチューブに加えます。

10 $\mu$ L	5X RV15 OPM
10 $\mu$ L	5X OneStep RT-PCR Buffer
2 $\mu$ L	OneStep RT-PCR Enzyme Mix
22 $\mu$ L	総容量

E. 5回の転倒混和、または短時間のボルテックスにより混和した後、短時間遠心してください。

F. 以下のプログラムを用いて、ワンステップRT-PCR反応をすぐに開始してください。

セグメント	サイクル数	温度	時間
1	1	50°C	30 分
2	1	94°C	15 分
3	45	94°C	0.5 分
		60°C	1.5 分
		72°C	1 分
4	1	72°C	10 分

**注意:** プライマーによる副産物のバンドが出現するのを防止するため、アガロースゲルに添加する前にPCR産物を65°Cで5~10分間加温してください。

**注意:** 検出ステップ終了後、キャリアオーバーコンタミネーション防止のため、PCR産物に20分間紫外線照射(365nm)を行ってください。8-MOPが二本鎖DNAに対して架橋構造を形成することにより、テンプレート活性を停止させます。

## 4. 検出

### A. ScreenTape<sup>®</sup> System

- *TapeStation<sup>™</sup>*

ScreenTape<sup>®</sup> Systemでは、マルチプレックスPCRアッセイによる分析が簡単に行えます。付属の試薬と全自動システムによってテスト時間を大幅に短縮することができます。

- *ScreenTape<sup>®</sup>*

ScreenTape<sup>®</sup> はクレジットカードサイズです。ミニゲルが複数個付属しているため、試薬やバッファを別途準備していただく必要はありません。



<ScreenTape<sup>®</sup> System 操作手順>

**注意:** 必ずコレクションチューブを使用してください。ABgene社の8連サーモチューブ (品番: AB-1182)を推奨しています。

a) 0.2mL PCRチューブにラダーを準備します。

8 $\mu$ L	ラダー
8 $\mu$ L	ラダーの総容量

- b) 0.2mL PCRチューブにサンプルを準備します。

2 $\mu$ L	PCR産物
6 $\mu$ L	ローディングバッファ
8 $\mu$ L	サンプルの総容量

**注意:** 最少量8 $\mu$ Lのうち、1 $\mu$ LをTapeStation<sup>™</sup> にロードしてください。ラダー及びサンプルは、気泡が入らないようにチューブまたはウェルの底部に置いてください。

- c) 5秒間ボルテックスで混和した後、短くスピンドウンしてください。

- d) TapeStation<sup>™</sup>にサンプルブロックを差し込み、0.2mLサンプルチューブを加えてください。ラダーはポジション1に、後方に向けてロードしてください。

**注意:** TapeStation<sup>™</sup>には0.2mLチューブか96ウェルプレートのいずれかをご使用ください。

**注意:** チューブのキャップは開けたままにし、隣接するチューブのキャップを開ける際に邪魔にならない位置に調整してください。

- e) ピペットチップをチップホルダに取り付け、TapeStation<sup>™</sup>に差し込みます。

**注意:** 使用済チップがチップホルダ(使用済チップ用の容器)に残っていると、ポップアップウィンドウでチップの除去を求められます。TapeStation<sup>™</sup>はチップホルダが空になるまで運転を開始しません。

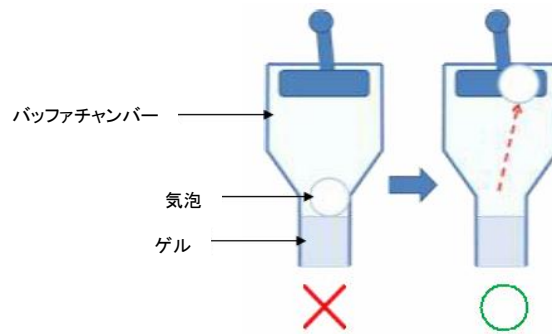
**注意:** 適切なチップを使ってください。合わないチップを使って運転した場合パフォーマンスに影響し、装置が破損する恐れがあります。

- f) デスクトップのTapeStation<sup>™</sup>コントローラーアイコンをダブルクリックします。

- g) ドロップダウンメニューから「Screenplex」を選択します。

- h) ScreenTape<sup>®</sup>を袋から取り出し、装置に取り付けます。ラベルが装置の前面に向くようにし、バーコードが右側になるようにしてください。蓋を閉めます。

**注意:** ゲルインターフェースに気泡があると、ゲル上でのサンプルの泳動に影響し、電気泳動が早く停止してしまう場合があります。こうした気泡は、通常、垂直に保持するとバッファチャンバー上部に移動しますが、移動しない場合はテープを穏やかに振って気泡を移動させてください。テストを行う際には、ScreenTape<sup>®</sup> を振ってから使用する推奨しています。



< ScreenTape<sup>®</sup>内の気泡 >

**注意：** テープが正しく挿入されていない場合、TapeStation<sup>™</sup>は運転を開始しません。

- i) TapeStation<sup>™</sup>は、サンプルプレートとScreenTape<sup>®</sup>を認識して自動的に必要なパラメーターをロードします。
- j) マウスをクリック&ドラッグでサンプルの場所まで移動して、テスト対象のチューブまたはウェルを選択してください。1ウェル単位で選択することができます。
- k) 分析対象として、Seeplex<sup>®</sup> パネルを選択します。
- l) 装置の運転開始前には、特記事項や詳細情報をソフトウェアに入力することができます。この情報は後で分析結果とともに表示されます。
- m) 「Start」ボタンをクリックすると、「Save As」ウィンドウが現れます。デフォルトでは、ファイル名は日付とテスト番号で始まるよう設定されています。
- n) チップ、サンプル、その他アイテムを確認したら蓋を閉め、「OK」をクリックすると分析を開始します。TapeStation<sup>™</sup>はサンプルをロードし、電気泳動を開始します。

**注意：** 運転中はTapeStation<sup>™</sup>の蓋を開けないでください。

**注意：** 何らかの理由により実験を中止したい場合は、ポップアップコントローラーの「Abort」ボタンをクリックしてください。

**注意：** ロードしたサンプルで得られたそれまでの結果は破棄され、復旧することが出来ません。

- o) 終了後、チップバケットとテープを取り外すようメッセージが表示されます。取り外したら「OK」をクリックします。
- p) 使用済チップはチップバケットに格納されます。安全に廃棄してください。
- q) イメージングが終了すると、分析用ソフトウェアが自動的に起動します。結果とサンプルIDが別々のタブに表示されます。

**注意:** 「+」は「検出」、「-」は「未検出」であったことを示します。

**注意:** 「+」の右側に表示される数値は、各レーンのトップマーカールと比較しての蛍光強度を示しています。トップマーカールは、各サンプル内の主要病原体の特定に役立ちます。そのため、他のレーンと比較をすることはできません。

## B. MultiNA System

- *MultiNA* 電気泳動装置

MCE<sup>®</sup>-202 MultiNA (Shimadzu社)

- マイクロチップ

Microchip Type DR-C (品番: 292-27900-91 Shimadzu社)

- 試薬キット

DNA-1000 Kit (品番: 292-27911-91 Shimadzu社)

- 染色試薬

SYBR<sup>®</sup> Gold (品番: S-11494 Invitrogen社)

**注意:** SYBR<sup>®</sup> GoldをTEバッファで100倍希釈した染色溶液を準備してください。

- ラダー

ØX174 DNA/*Hae*III ladder (品番: G1761 Promega社)

**注意:** ØX174 DNA/*Hae*IIIラダーをTEバッファで100倍希釈したラダー溶液を準備してください。

- TEバッファ (pH 8.0)

- サンプルプレートまたはチューブ

MicroAmp<sup>®</sup> 96-Well Reaction Plate (品番: N801-0560 ABI社)

MicroAmp<sup>®</sup> Reaction Tube (品番: N801-0580 ABI社)

96-Well Reaction Plate (品番: AB-0600 ABgene社)

Thermo-strip Tube (品番: AB-0452/AB-1112/AB-0771/AB-0847 Abgene社)

Adhesive PCR Foil Seal (粘着性PCRホイルシール) (品番: AB-0626 ABgene社)

**[分析の準備]**

- a) プロジェクトを選択してください。(オンチップ混合モード)
- b) 選択したプロジェクトに基づいてサンプルシートを作成してください。
- c) ウェル名、サンプル名、コメント、タイプ(ラダーまたはサンプル)を入力してください。
- d) バッファボトルに分離バッファ液を準備してください。

分析数 (ラダー及びサンプル総数)	分離 バッファ	希釈染色溶液	混合溶液
8回以下	495 $\mu$ L	5 $\mu$ L	500 $\mu$ L
9~29回	990 $\mu$ L	10 $\mu$ L	1000 $\mu$ L
30~79回	1980 $\mu$ L	20 $\mu$ L	2000 $\mu$ L
80~120回	2970 $\mu$ L	30 $\mu$ L	3000 $\mu$ L

**注意:** 希釈染色溶液は、SYBR<sup>®</sup> Gold液をTEバッファで100倍希釈したものです。

- e) ボトルのキャップを閉め、少なくとも10秒間溶液をボルテックスしてください。
- f) キャップをはずし、バッファボトルをグリーンを試薬ホルダーの位置に置いてください。(DNA-1000キットのカラーコード)
- g) サンプルプレートまたはチューブにPCR産物を準備します。

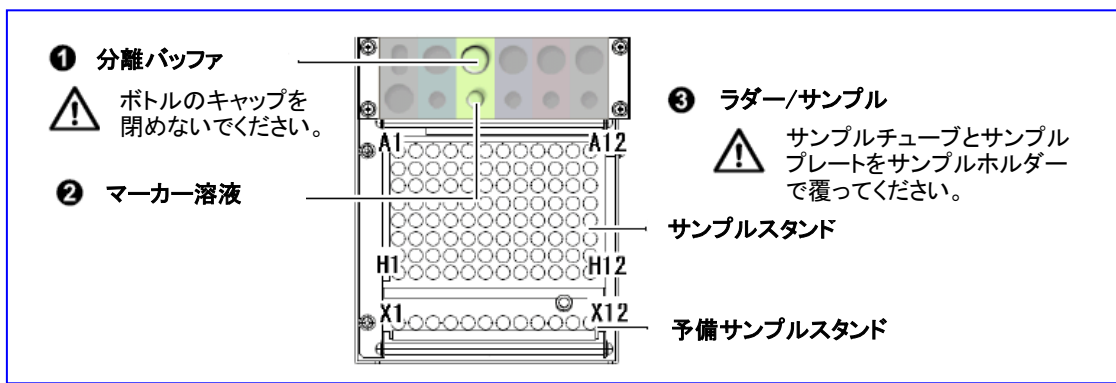
3 $\mu$ L	PCR産物
9 $\mu$ L	TEバッファ
12 $\mu$ L	サンプル総容量

**注意:** サンプルプレートは必ずアルミシールで覆ってください。

- h) シールをしたサンプルプレート/サンプルチューブを、サンプルスタンドに置いてください。
- i) 希釈ラダー溶液12 $\mu$ Lをサンプルチューブに入れ、予備サンプルスタンドにおいてください。

**注意:** 希釈ラダー溶液は、 $\phi$ X174 DNA/*Hae*IIIをTEバッファで100倍希釈したものです。

- j) [Reagent Information] に表示される量よりも多い量のマーカー溶液をバイアル(PP 0.6mL)に分注し、グリーンを試薬ホルダーの位置に置いてください。(DNA-1000キットのカラーコード)
- k) サンプルプレート/サンプルチューブを、サンプルホルダーで覆ってください。
- l) MultiNA Controlソフトウェアの[Start]ボタンをクリックしてください。



### [データ分析]

- a) MultiNA Controlソフトウェアの[View] ボタンから[Data File]サブメニューを選択するか、ツールバー右端の[Display Data File] ボタンを押してください。

**注意:** MultiNA Viewerソフトウェアが起動し、データファイルがサンプルシートに自動的に表示されます。

- b) デスクトップのSeegene Viewerアイコンをダブルクリックしてください。
- c) テストキットを選択し、Seegene Viewerの[PROCESS]ボタンをクリックしてください。

**注意:** 選択したテストキットの結果が自動分析されます。

**注意:** 選択したテストキットが正しくない場合は、正しいテストキットを再選択し、サンプルウェルをドラッグしてください。[APPLY]ボタンをクリックしてください。

d) 結果を確認してください。

#### C. LabChip<sup>®</sup> Dx system

**注意:** 別途専用マニュアルをご参照ください。

#### D. アガロースゲル電気泳動

- a) PCR 産物 5 $\mu$ L、及び RV15 OneStep A Marker、B Marker、または C Marker 5 $\mu$ L を、エチジウムブロマイド (EtBr) を含む 2% アガロースゲル上で電気泳動してください。

**注意:** 陽性コントロール PCR 産物の場合は 2 $\mu$ L を、エチジウムブロマイド (EtBr) を含む 2% アガロースゲル上で電気泳動してください。

**結果**

## 1. 増幅産物について

RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) Aセット	アガロースゲル上での サイズ (bp)
PCRコントロール	850
ヒトアデノウイルス	534
ヒトコロナウイルス229E/NL63	375
ヒトパラインフルエンザウイルス2型	264
ヒトパラインフルエンザウイルス3型	189
ヒトパラインフルエンザウイルス1型	153

RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) Bセット	アガロースゲル上での サイズ (bp)
PCRコントロール	850
ヒトコロナウイルスOC43	578
ヒトライノウイルスA/B/C型	394
ヒトRSウイルスA型	269
インフルエンザウイルスA型	206
ヒトRSウイルスB型	155

RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) Cセット	アガロースゲル上での サイズ (bp)
ヒトボカウイルス1/2/3/4型	579
インフルエンザウイルスB型	456
ヒトメタニューモウイルス	351
ヒトパラインフルエンザウイルス4型	254
ヒトエンテロウイルス	194
ホールプロセスコントロール	153

## 2. 結果の解釈

	ホール プロセス コントロール	PCR コントロール	ターゲット	解釈
ケース1	+	+	+	標的とする病原体が検出されました。
ケース2	+	+	-	病原体は検出されませんでした。 この結果は、次の条件が満たされていることを前提としています。：適切な試料採取及び核酸分離、阻害物質が存在しない、十分な核酸量
ケース3	+	-	+	<b>対象病原体が検出されました。</b> ターゲット核酸を多量にロードした場合、または逆転写反応やDNA増幅に対する阻害物質が存在する場合、コントロールバンドが消失することがあります。本事象は試験が無効であることを示すのではなく、対象病原体が検出されたと解釈されます。
ケース4	-	+	+	
ケース5	-	-	+	
ケース6	-	+	-	<b>病原体は検出されませんでした。</b> 標的とする病原体は検出なかったと推測されます。長期間保存した試料、または十分なヒト細胞を含まない試料、あるいはその両方が当てはまる場合、ホールプロセスコントロールに対応するバンドが観察されないことがあります。
ケース7	+	-	-	<b>試料由来の阻害物質</b> 病原体の核酸が存在したとしても検出することができません。 ※ 再度、原試料の一部を処理し、テストを繰り返してください。阻害物質は不安定である場合が多く、そのため再テストでは反応阻害が起こらない場合があります。さらに、テンプレート核酸をRNase-free waterで2～5倍希釈するとワンステップRT-PCR結果が改善する場合があります。
ケース8	-	-	-	

### 3. 臨床検体への適用

#### ● RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) – Aセット

#### 検出例 (ScreenTape<sup>®</sup> System)

Lane	L9	L10	L11	L12	L13	L14	L15	L16								
Sample ID	A2:	B2:	C2:	D2:	E2:	F2:	G2:	H2:								
PCRC	+	200	+	173	+	156	+	221	+	146	+	166	+	147	+	194
ADV	-	-	-	-	+	222	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
229E/NL63	-	-	-	-	-	-	+	28	-	-	-	-	-	-	-	-
PIV2	+	111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PIV3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	43	-	-	-	-	-	-
PIV1	-	-	+	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Unidentified	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	N
Top Marker	←	←	←	←	←	←	←	←
PCRC	←	←	←	←	←	←	←	←
ADV	←	←	←	←	←	←	←	←
229E/NL63	←	←	←	←	←	←	←	←
PIV2	←	←	←	←	←	←	←	←
PIV3	←	←	←	←	←	←	←	←
PIV1	←	←	←	←	←	←	←	←
Bottom Marker	←	←	←	←	←	←	←	←

サンプルNo.	結果
1	PIV2
2	PIV1
3	陰性
4	AdV
5	陰性
6	229E/NL63
7	PIV3

1-7: 臨床検体

N: 陰性コントロール

図表1A. Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Aセットを使用したScreenTape<sup>®</sup> SystemでのPCR結果

## 検出例 (MultiNA System)

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	N
PCRC	563.19	624.37	516.45	651.14	658.47	488.79	478.49	458.09	620.04	444.01
ADV		178.25				271.72				
229E/NL63	129.54				480.60		412.13			
PIV2									262.94	
PIV3								167.91		
PIV1			61.58							
Unidentified										

サンプルNo.	結果
1	229E/NL63
2	AdV
3	PIV1
4	陰性
5	229E/NL63
6	AdV
7	229E/NL63
8	PIV3
9	PIV2

1-9: 臨床検体

N: 陰性コントロール

図表1B. Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) Aセットを使用したMultiNA SystemでのPCR結果

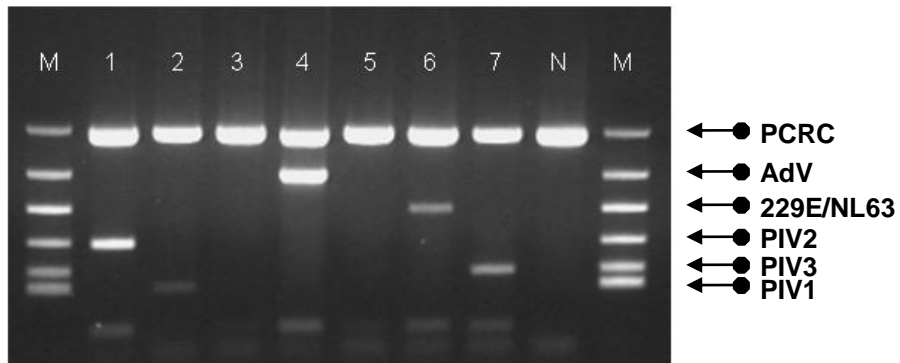
**検出例 (LabChip<sup>®</sup> Dx System)**

	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10	A11
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Patient ID</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>N</b>
<b>PCRC</b>	2630,97	2208,24	2654,31	27,06	2395,53	2045,16	1517,05	1198,44	1745,92	1437,06	784,56
<b>AdV</b>				1741,44	73,80	546,32					
<b>229E/NL63</b>									130,81		
<b>PIV2</b>										523,26	
<b>PIV3</b>	206,44			79,80							
<b>PIV1</b>		44,11					128,04				
<b>Unidentified</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

サンプルNo.	結果
1	PIV3
2	PIV1
3	陰性
4	AdV, PIV3
5	AdV
6	AdV
7	PIV1
8	陰性
9	229E/NL63
10	PIV2

**1-10: 臨床検体**
**N: 陰性コントロール**
**図表1C.** Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) Aセットを使用したLabChip<sup>®</sup> Dx SystemでのPCR結果

検出例 (アガロースゲル電気泳動)



サンプルNo.	結果
1	PIV2
2	PIV1
3	陰性
4	AdV
5	陰性
6	229E/NL63
7	PIV3

M: RV15 OneStep A Marker

1-7: 臨床検体

N: 陰性コントロール

図表1D. Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Aセットを使用したアガロースゲルでのPCR結果

**● RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) – Bセット**
**検出例 (ScreenTape<sup>®</sup> System)**

Lane	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9								
Sample ID	B1:	C1:	D1:	E1:	F1:	G1:	H1:	A2:								
PCRC	+	180	+	195	+	221	+	179	+	153	+	140	+	164	+	164
OC43	-		-		-		+	154	-		-		-		-	
HRV A/B/C	-		-		+	220	-		-		-		-		-	
RSV A	-		-		-		+	13	+	136	-		-		-	
Flu A	+	186	-		-		-		-		-		-		-	
RSV B	-		-		-		-		+	160	-		-		-	
Unidentified	-		-		-		-		-		-		-		-	

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	N
Top Marker	←	←	←	←	←	←	←	←
PCRC	←	←	←	←	←	←	←	←
OC43	←	←	←	←	←	←	←	←
HRV A/B/C	←	←	←	←	←	←	←	←
RSV A	←	←	←	←	←	←	←	←
Flu A	←	←	←	←	←	←	←	←
RSV B	←	←	←	←	←	←	←	←
Bottom Marker	←	←	←	←	←	←	←	←

サンプルNo.	結果
1	Flu A
2	陰性
3	HRV
4	陰性
5	OC43, RSV A
6	RSV A
7	RSV B

**1-7: 臨床検体**
**N: 陰性コントロール**
**図表2A.** Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Bセットを使用したScreenTape<sup>®</sup> SystemでのPCR結果

**検出例 (MultiNA System)**

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	N
PCRC	646.85	762.12	672.42	589.68	710.06	444.01	646.85	804.15	488.28	646.85
OC43	37.31		602.98					335.52		
HRV A/B/C	169.21						169.21			
RSV A						171.37				
Flu A		15.10	19.06							
RSV B				174.71					146.83	
Unidentified										

サンプルNo.	結果
1	OC43, HRV
2	Flu A
3	OC43, Flu A
4	RSV B
5	陰性
6	RSV A
7	HRV
8	OC43
9	RSV B

**1-9: 臨床検体**
**N: 陰性コントロール**
**図表2B.** Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Bセットを使用したMultiNA SystemでのPCR結果

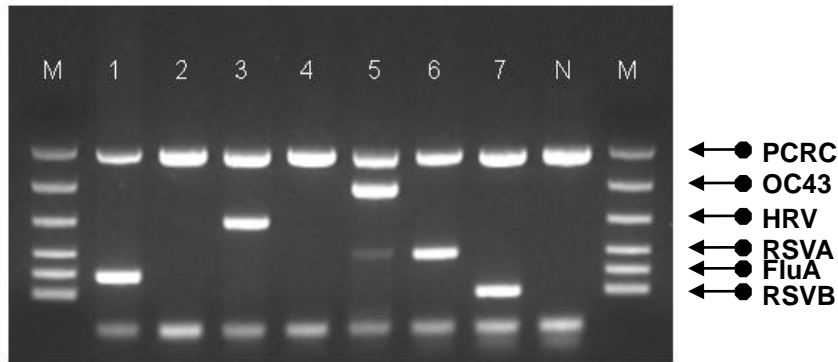
**検出例 (LabChip<sup>®</sup> Dx System)**

	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10	A11
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Patient ID</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>N</b>
<b>PCRC</b>	1747,59	1647,74	1912,66	1091,85	1324,17	897,32	1166,26	1228,58	1180,30	295,91	1154,19
<b>OC43</b>			79,54								
<b>HRV A/B/C</b>				205,58		658,69					
<b>RSV A</b>	72,96	220,02								737,60	
<b>Flu A</b>	275,51										
<b>RSV B</b>							92,15	380,30			
<b>Unidentified</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

サンプルNo.	結果
1	RSV A, Flu A
2	RSV A
3	OC43
4	HRV A/B/C
5	陰性
6	HRV A/B/C
7	RSV B
8	RSV B
9	陰性
10	RSV A

**1-10: 臨床検体**
**N: 陰性コントロール**
**図表2C.** Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Bセットを使用したLabChip<sup>®</sup> Dx SystemでのPCR結果

検出例 (アガロースゲル電気泳動)



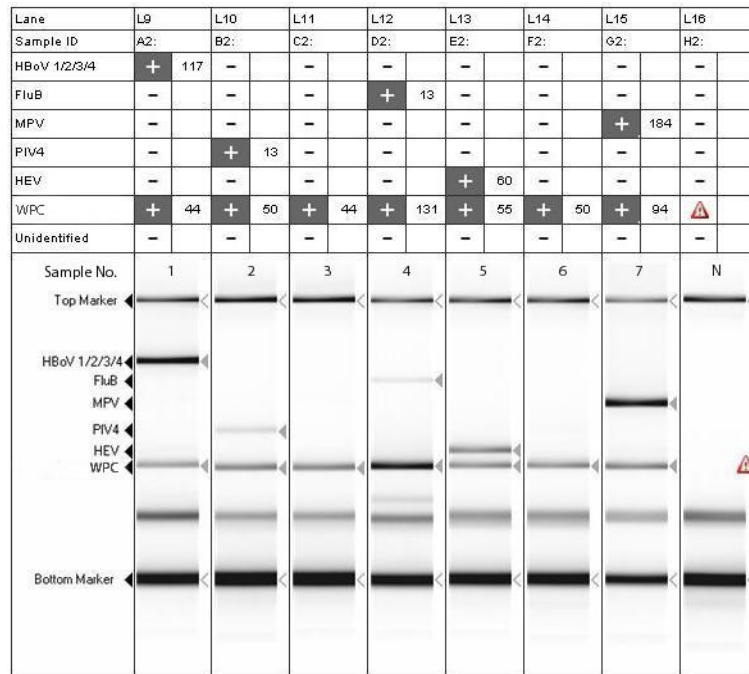
サンプルNo.	結果
1	Flu A
2	陰性
3	HRV
4	陰性
5	OC43, RSV A
6	RSV A
7	RSV B

M: RV15 OneStep B Marker

1-7: 臨床検体

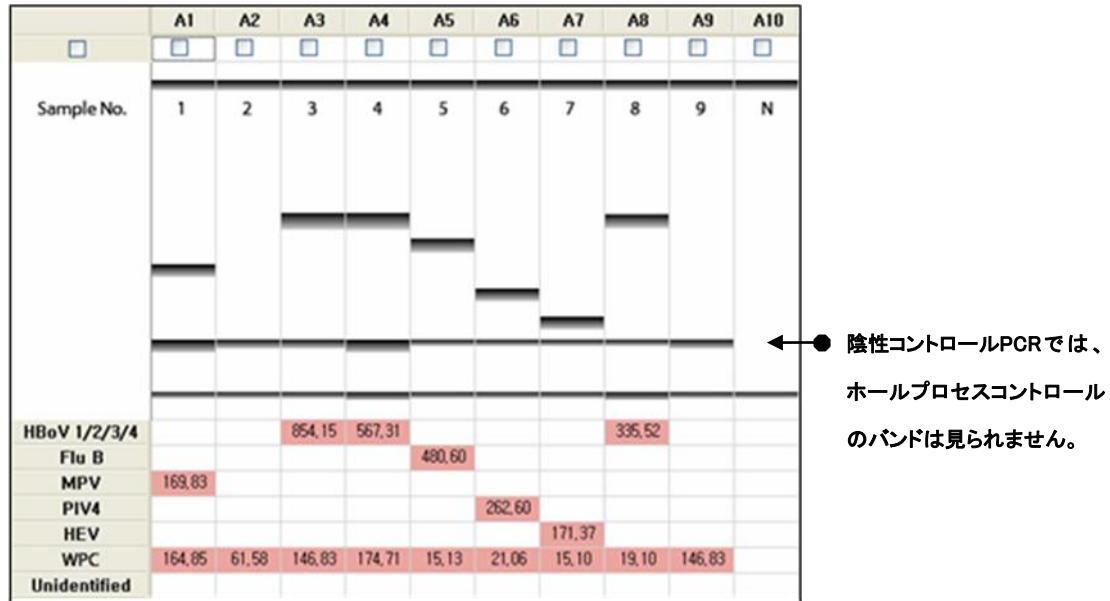
N: 陰性コントロール

図表2D. Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Bセットを使用したアガロースゲルでのPCR結果

**● RV15 OneStep ACE Detection (V1.1) – Cセット**
**検出例 (ScreenTape<sup>®</sup> System)**


サンプルNo.	結果
1	HBoV
2	PIV4
3	陰性
4	Flu B
5	HEV
6	陰性
7	MPV

**1-7: 臨床検体**
**N: 陰性コントロール**
**図表3A.** Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Cセットを使用したScreenTape<sup>®</sup> SystemでのPCR結果

**検出例 (MultiNA System)**


サンプルNo.	結果
1	MPV
2	陰性
3	HBoV
4	HBoV
5	Flu B
6	PIV4
7	HEV
8	HBoV
9	陰性

**1-9: 臨床検体**
**N: 陰性コントロール**
**図表3B.** Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Cセットを使用したMultiNA SystemでのPCR結果

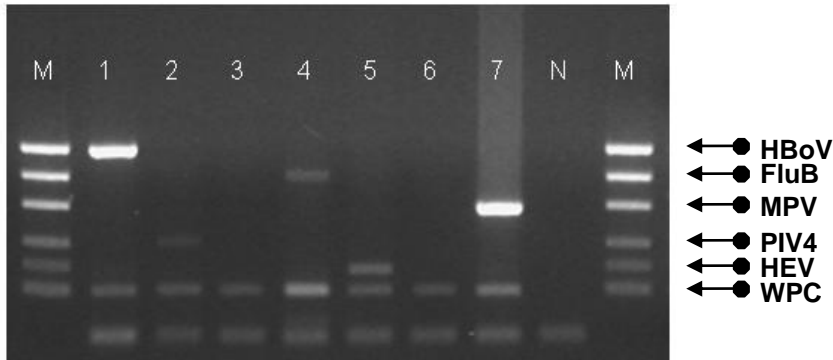
**検出例 (LabChip<sup>®</sup> Dx System)**

	B01	B02	B03	B04	B05	B06	B07	B08	B09	B10	B11
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Patient ID</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>N</b>
<b>HBoV</b>					860,82						
<b>Flu B</b>											
<b>MPV</b>				67,11							
<b>PIV4</b>		1135,57	35,70						757,23		
<b>HEV</b>							1006,07				
<b>WPC</b>	200,11	553,05	297,32	128,04	172,16	128,57	96,02	128,43	332,53	402,42	
<b>Unidentified</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

サンプルNo.	結果
1	陰性
2	PIV4
3	PIV4
4	MPV
5	HBoV
6	陰性
7	HEV
8	陰性
9	PIV4
10	陰性

**1-10: 臨床検体**
**N: 陰性コントロール**
**図表3C.** Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Cセットを使用したLabChip<sup>®</sup> Dx SystemでのPCR結果

検出例 (アガロースゲル電気泳動)



サンプルNo.	結果
1	HBoV
2	PIV4
3	陰性
4	Flu B
5	HEV
6	陰性
7	MPV

M: RV15 OneStep C Marker

1-7: 臨床検体

N: 陰性コントロール

図表3D. Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)Cセットを使用したアガロースゲルでのPCR結果

**トラブルシューティング**

Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)		
事象	考えられる原因	解決方法
PCRバンドが見られない	Seeplex® RV15 OneStep ACE Detectionキットの保管が不適切である。	キットの保管状況を確認してください。必要があれば新しいキットを使用してください。
	ワンステップRT-PCRミックスの準備が不適切である。	すべての構成成分が添加されたことを確認してください。適切な反応ミックスを使用してワンステップRT-PCRを繰り返してください。
	PCR装置の設定に誤りがある。	熱サイクル条件を確認してください。正しい設定でワンステップRT-PCRを繰り返してください。
	アガロースゲルの染色が行われていない。	マーカーが見られるかどうか確認してください。ゲル染色を行ってください。
	アガロースゲルを紫外線に当てすぎている。	紫外線照射時間を確認してください(照射時間は10分を超えないようにしてください)。新しいアガロースゲルで電気泳動を繰り返してください。
PCRバンド、ホールプロセスコントロールバンドのいずれか、または両方が見られない	病原体核酸の負荷量が多い。	RNase-free waterでテンプレート核酸を希釈し、希釈した核酸を使用してワンステップRT-PCRを繰り返してください。
	阻害物質の存在	RNase-free waterでテンプレート核酸を希釈し、希釈した核酸を使用してワンステップRT-PCRを繰り返してください。
	長期間保存された試料	長期間保存した試料では、ホールプロセスコントロールのバンドが見られない場合があります。
	試料に十分な量のヒト細胞が含まれていない。	十分な量のヒト細胞が含まれていない場合は、ホールプロセスコントロールのバンドが見られない場合があります。

Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)		
事象	考えられる原因	解決方法
疑陽性 / 陰性 コントロールでバンドを認める	クロスコンタミネーション	試料の採取から検出まで、全ての手順においてクロスコンタミネーションに注意してください。フィルターチップの使用をお勧めします。
偽陰性 / 陽性 コントロールバンドが見られない	不適切な試料採取	試料の採取方法を確認してください。可能であれば、正しい方法で再度試料の採取を行ってください。
	試料の不適切な保管	試料の採取方法を確認してください。可能であれば、正しい方法で再度試料の採取を行ってください。
	核酸分離の失敗	核酸分離の手順及び核酸濃度を確認のうえ、十分に注意して再度核酸分離を行ってください。
	サンプル核酸が添加されていない	十分に注意してワンステップRT-PCRを繰り返してください。
	サンプル核酸の取り違い	サンプルDNAの取扱いに十分注意してワンステップRT-PCRを繰り返して下さい。
	阻害物質の存在	RNase-free waterでテンプレート核酸を希釈し、希釈した核酸を使用してワンステップRT-PCRを繰り返してください。

**パフォーマンス特性**
**1. 特異性**

Seeplex<sup>®</sup> RV15 One Step ACE Detection (V1.1) の高い特異性は、対象とするターゲットに合わせて設計されたプライマーと、反応条件によって担保されます。本製品について、28の異なる病原体を用いて交差反応試験を行ったところ、標的とする有機体以外においてPCR増幅は認められませんでした。

**- Aセット**

有機体	菌株番号	テスト結果	
		IC	ターゲット
ヒトアデノウイルス C (型1)	ATCC VR-1	+	+++
ヒトアデノウイルス B (型3)	ATCC VR-3	+	+++
ヒトアデノウイルス D (型8)	ATCC VR-1368	+	+++
ヒトアデノウイルス A (型18)	ATCC VR-1095	+	+++
ヒトアデノウイルス E (型23)	ATCC VR-1101	+	+++
ヒトコロナウイルス 229E	ATCC VR-740	+	+++
ヒトパラインフルエンザウイルス2型	ATCC VR-92	+	+++
ヒトパラインフルエンザウイルス3型	ATCC VR-93	+	+++
ヒトパラインフルエンザウイルス1型	ATCC VR-1380	+	+++
ヒトコロナウイルスOC43	ATCC VR-1558	+	-
ヒトライノウイルス A (21)	ATCC VR-1131	+	-
ヒトライノウイルス B (14)	ATCC VR-284	+	-
ヒトライノウイルス C	Korean isolate	+	-
ヒトRSウイルスA型 (Long株)	ATCC VR-26	+	-
インフルエンザウイルスA型 (H1N1)	ATCC VR-546	+	-
ヒトRSウイルスB型 (9320)	ATCC VR-955	+	-
ヒトボカウイルス	Korean isolate	+	-
インフルエンザウイルスB型	ATCC VR-101	+	-
ヒトメタニューモウイルス	Korean isolate	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス4型a	ATCC VR-1378	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス4型b	ATCC VR-1377	+	-
ヒトエコーウイルス 9	ATCC VR-39	+	-

ヒトコクサッキーウイルス B5	KNRRC 35	+	-
ヒトアデノウイルス F (型40)	ATCC VR-931	+	-
マイコプラズマ肺炎	ATCC 15531D	+	-
百日咳菌	ATCC BAA-589D	+	-
インフルエンザ菌	ATCC 51907D	+	-
肺炎レンサ球菌	ATCC BAA-255D	+	-

**- Bセット**

有機体	菌株番号	テスト結果	
		IC	ターゲット
ヒトアデノウイルス C (1型)	ATCC VR-1	+	-
ヒトアデノウイルス B (3型)	ATCC VR-3	+	-
ヒトアデノウイルス D (8型)	ATCC VR-1368	+	-
ヒトアデノウイルス A (18型)	ATCC VR-1095	+	-
ヒトアデノウイルス E (23型)	ATCC VR-1101	+	-
ヒトコロナウイルス 229E	ATCC VR-740	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス2型	ATCC VR-92	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス3型	ATCC VR-93	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス1型	ATCC VR-1380	+	-
ヒトコロナウイルスOC43	ATCC VR-1558	+	+++
ヒトライノウイルス A (21)	ATCC VR-1131	+	+++
ヒトライノウイルス B (14)	ATCC VR-284	+	+++
ヒトライノウイルス C	Korean isolate	+	+++
ヒトRSウイルスA型 (Long株)	ATCC VR-26	+	+++
インフルエンザウイルスA型 (H1N1)	ATCC VR-546	+	+++
ヒトRSウイルスB型 (9320)	ATCC VR-955	+	+++
ヒトボカウイルス	Korean isolate	+	-
インフルエンザウイルスB型	ATCC VR-101	+	-
ヒトメタニューモウイルス	Korean isolate	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス4型a	ATCC VR-1378	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス4型b	ATCC VR-1377	+	-
ヒトエコーウイルス 9	ATCC VR-39	+	-
ヒトコクサッキーウイルス B5	KNRRC 35	+	-
ヒトアデノウイルス F (40型)	ATCC VR-931	+	-
マイコプラズマ肺炎	ATCC 15531D	+	-

百日咳菌	ATCC BAA-589D	+	-
インフルエンザ菌	ATCC 51907D	+	-
肺炎レンサ球菌	ATCC BAA-255D	+	-

**- Cセット**

有機体	菌株番号	テスト結果	
		IC	ターゲット
ヒトアデノウイルス C (1型)	ATCC VR-1	+	-
ヒトアデノウイルス B(3型)	ATCC VR-3	+	-
ヒトアデノウイルス D (8型)	ATCC VR-1368	+	-
ヒトアデノウイルス A (18型)	ATCC VR-1095	+	-
ヒトアデノウイルス E (23型)	ATCC VR-1101	+	-
ヒト ロナウイルス 229E	ATCC VR-740	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス2型	ATCC VR-92	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス3型	ATCC VR-93	+	-
ヒトパラインフルエンザウイルス1型	ATCC VR-1380	+	-
ヒトコロナウイルスOC43	ATCC VR-1558	+	-
ヒトライノウイルス A (21)	ATCC VR-1131	+	-
ヒトライノウイルス B (14)	ATCC VR-284	+	-
ヒトライノウイルス C	Korean isolate	+	-
ヒトRSウイルスA型 (Long株)	ATCC VR-26	+	-
インフルエンザウイルスA型 (H1N1)	ATCC VR-546	+	-
ヒトRSウイルスB型 (9320)	ATCC VR-955	+	-
ヒトボカウイルス	Korean isolate	+	+++
インフルエンザウイルスB型	ATCC VR-101	+	+++
ヒトメタニューモウイルス	Korean isolate	+	+++
ヒトパラインフルエンザウイルス4型a	ATCC VR-1378	+	+++
ヒトパラインフルエンザウイルス4型b	ATCC VR-1377	+	+++
ヒトエコーウイルス 9	ATCC VR-39	+	+++
ヒトコクサッキーウイルス B5	KNRRC 35	+	+++
ヒトアデノウイルス F (40型)	ATCC VR-931	+	-
マイコプラズマ肺炎	ATCC 15531D	+	-
百日咳菌	ATCC BAA-589D	+	-
インフルエンザ菌	ATCC 51907D	+	-
肺炎レンサ球菌	ATCC BAA-255D	+	-

## 2. 感度

Seeplex<sup>®</sup> RV15 One Step ACE Detection (V1.1)の感度を測定するため、クローン化した標的DNAを $10^4 \sim 10^{-1}$  copies/reaction含む系列希釈を準備し、本製品を用いて分析を行いました。本製品の検出限界は100 copies/reactionでした。

## 3. 再現性

再現性試験は、3人の異なる試験者が10日間試験を行い、そのうち異なる3つの時点の結果に対して行いました。その結果、同等の結果が得られたことが判り、製品の再現性が裏付けられました。

**参考文献**

- 1 Jong-Yoon Chun, Kyoung-Joong Kim, In-Taek Hwang, Yun-Jee Kim, Dae-Hoon Lee, In-Kyoung Lee, and Jong-Kee Kim. [Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene] *Nucleic Acids Research* (2007) **35**: e40
- 2 S. Bellau-Pujol, A. Vabret, L. Legrand, J. Dina, S. Gouarin, J. Petitjean-Lecherbonnier, B. Pozzetto, C. Ginevra, and F. Freymuth. [Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses] *Journal of Virological Methods* (2005) **126**: 53-63
- 3 M. T. Coiras, P. Perez-Brena, M. L. Garcia, and I. Casas. [Simultaneous detection of influenza A, B, and C viruses, respiratory syncytial virus, and adenoviruses in clinical samples by multiplex reverse transcription nested-PCR assays] *Journal of Medical Virology* (2003) **69**: 132-144
- 4 M. T. Coiras, J. C. Aguilar, M. L. Garcia, I. Casas, and P. Perez-Brena. [Simultaneous detection of fourteen respiratory viruses in clinical specimens by two multiplex reverse transcription nested-PCR assays] *Journal of Medical Virology* (2004) **72**: 484-495
- 5 A. Purkayastha, S. E. Ditty, J. Su, J. McGraw, T. L. Hadfield, C. Tibbetts, and D. Seto. [Genomic and bioinformatics analysis of HAdV-4, a human adenovirus causing acute respiratory disease: implication for gene therapy and vaccine vector development] *Journal of Virology* (2005) **79**: 2559-2572
- 6 M. W. Symris, D. M. Whiley, M. Thomas, I. M. Mackay, J. Williamson, D. J. Siebert, M. D. Nissen, and T. P. Sloots. [A sensitive, specific, and cost-effective multiplex reverse transcriptase-PCR assay for the detection of seven common respiratory viruses in respiratory samples] *Journal of Diagnostics* (2004) **6**: 125-131
- 7 Y. Jinno, K. Yoshiura, and N. Niikawa. [Use of psoralen as extinguisher of contaminated DNA in PCR] *Nucleic Acids Research* (1990) **18**: 6739
- 8 C. E. Corless, M. Guiver, R. Borrow, V. Edwards-Jones, E. B. Kaczmarski, and A. J. Fox. [Contamination and sensitivity issues with a real-time universal 16S rRNA PCR] *Journal of Clinical Microbiology* (2000) **38**: 1747-1752
- 9 S. Gottlieb. [Metapneumovirus is a leading cause of respiratory tract infection in infants] *BMJ* (2004) **328**: 7434
- 10 M. Hindiyeh, V. Levy, R. Azar, N. Varsano, L. Regev, Y. Shalev, Z. Grossman, and E. Mendelson. [Evaluation of a multiplex real-time reverse transcriptase PCR assay for detection and differentiation of influenza viruses A and B during the 2001-2002 influenza season in Israel] *Journal of Clinical Microbiology* (2005) **43**: 589-595
- 11 A. J. Easton, J. B. Domachowske, and H. F. Rosenberg. [Animal pneumoviruses: molecular genetics and pathogenesis] *Clinical Microbiology Reviews* (2004) **17**: 390-412

- 12 [Medimmune progresses development of respiratory syncytial virus and parainfluenza virus type-3 vaccines] *Pharmaceutical News*. Oct 13, 2004
- 13 [Respiratory syncytial virus] *Microbiology and Bacteriology*. Aug 6, 2000
- 14 CBSNEWS (<http://www.cbsnews.com/stories/2003/09/16/heath/main573644.shtml>)
- 15 Directors of Health Promotion and Education (<http://www.astdhppe.org/infect/rsv.html>)
- 16 Britannica Concise Encyclopedia (<http://www.britannica.com>)

**シンボルマークについて**

表示、及びマニュアルで使用されているシンボルマークの詳細

シンボルマーク	説明
	体外診断用
	試験研究用
	ロット番号
	品番
	使用期限
	許容温度
	注意
	ワンステッププライマーミックス (OPM)
	OneStep RT-PCR Enzyme Mix (ワンステップRT-PCR酵素ミックス)
	OneStep RT-PCR Buffer (ワンステップRT-PCRバッファ)
	Random Hexamer (ランダムヘキサマー)
	8-MOP Solution (8-MOP溶液)
	RNase-free water (RNaseフリーの水)
	マーカー
	陽性コントロール
	製造元
	製造年月日
	使用の際はマニュアルを参照
	EU域内の法定代理人

**注文情報**

品番	品名	内容
<b>Seeplex® RV シリーズ</b>		
RV3210	Seeplex® RV7 Detection	50 テスト
RV6C00Y	Seeplex® RV12 ACE Detection	50 テスト
RV6F00Y	Seeplex® RV15 ACE Detection	50 テスト
<b>Seeplex® RV シリーズ - OneStep RT-PCR</b>		
RV6520X	Seeplex® Influenza A/B OneStep Typing (V2.0)	100 テスト
RV6F01Y	Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection (V1.1)	50 テスト
<b>Anyplex™ RV シリーズ</b>		
RV7310X	Anyplex™ FluA/B Typing Real-time Detection (V1.1)	100 テスト
<b>Anyplex™ II RV シリーズ</b>		
RV7G01Y	Anyplex™ II RV16 Detection (V1.1)	50 テスト
<b>Magicplex™ RV シリーズ</b>		
RV8000Y	Magicplex™ RV Panel Amplification	50 テスト
RV8901Y	Magicplex™ RV Panel Real-time Detection	50 テスト
RV8301Y	Magicplex™ FluA Real-time Subtyping	50 テスト
<b>Seeplex® PBシリーズ</b>		
PB1610Y	Seeplex® PneumoBacter ACE Detection (V3.0)	50 テスト
<b>関連製品</b>		
SG1701	Ribo_spin vRD (ウイルス RNA/DNA 抽出キット)	50 回分
SG1300	cDNA synthesis Kit	100 テスト
<b>自動核酸抽出システム</b>		
SPN1200	SEEPREP12™	1台
SPN1004	SEEPREP12™ Viral NA Kit	96 回分
SPN1101	SEEPREP12™ Tip Set	96 チップ

**ScreenTape<sup>®</sup> System**

---

ST007	TapeStation™	1台
ST105	DS12 ScreenTape (16レーンテープ)	112レーン
ST214	ScreenTape Loading Tips (16レーンテープ)	1パック(3,840チップ)

---