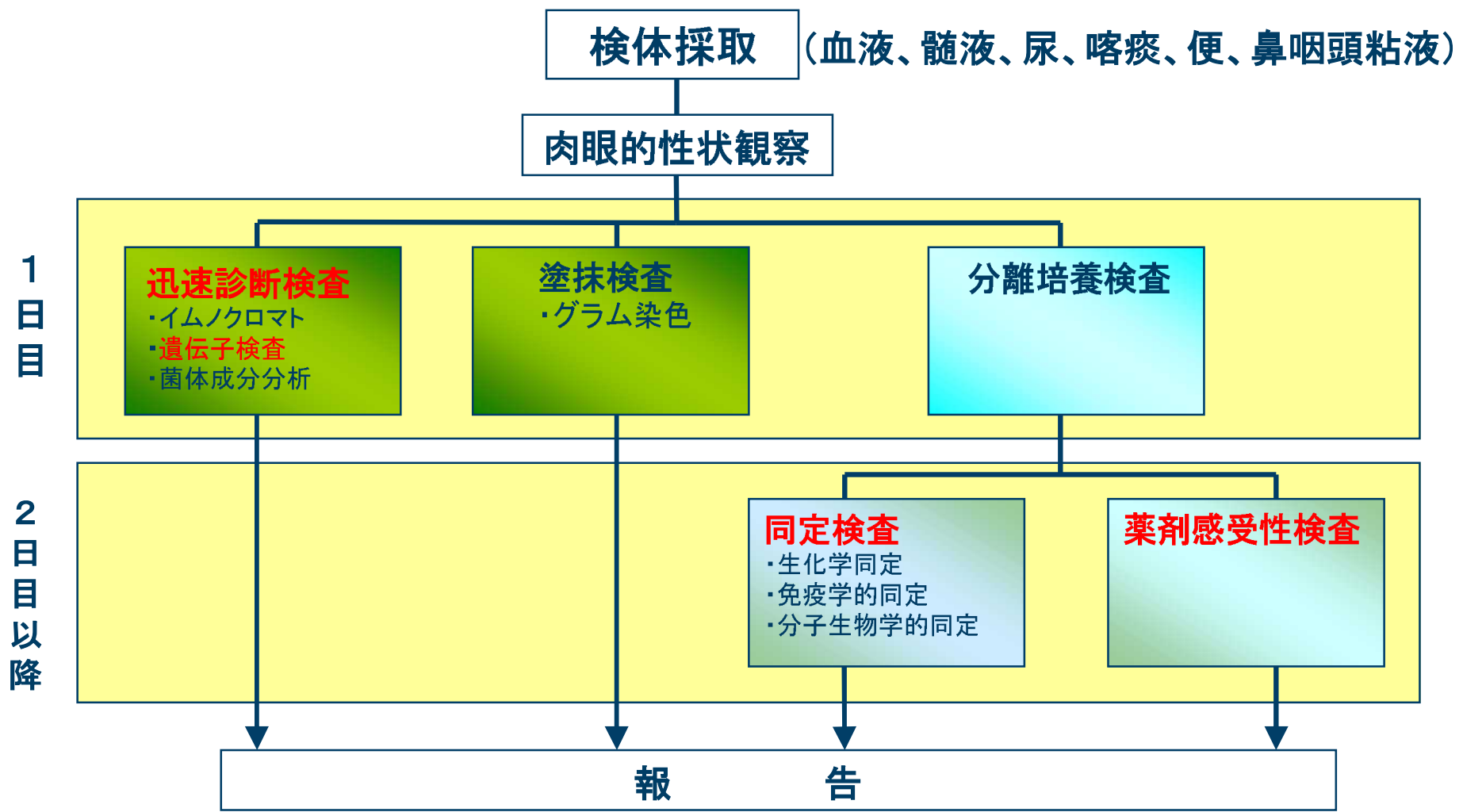


微生物の遺伝子検査と全自動遺伝子解析装置 「GENECUBE」のご紹介



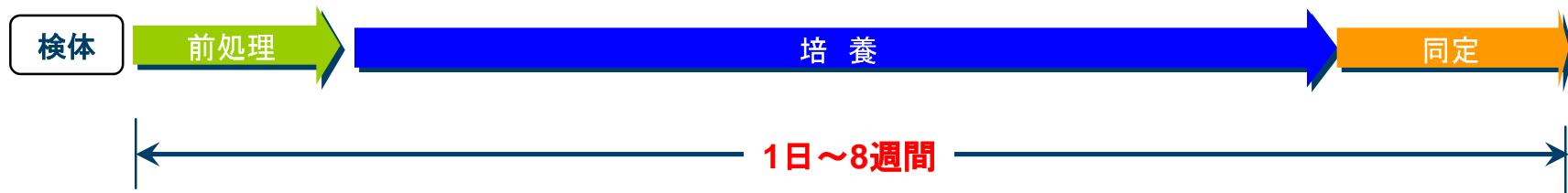
東洋紡績株式会社
診断システム事業部

微生物検査の現状

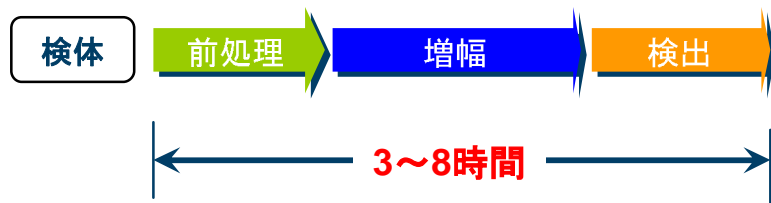


TATの短縮

培養法



遺伝子解析法



遺伝子検査の作業工程

臨床検体

夾雑物

細菌

検査対象
遺伝子

1. 操作に熟練を要する

2. 結果を得るまで時間がかかる

3. 部屋の区分が必要

① 検体溶解
夾雑物を溶解
遺伝子を露出

② 試薬調製
濃縮
成分を除去
遺伝子を濃縮

③ 試薬調製
反応液を調製
反応容器に充填

④ 増幅検出
遺伝子を増幅
遺伝子を検出

検査結果
陽性／陰性

全自動遺伝子解析装置「GENECUBE」の特徴

GENECUBE[®]

迅速遺伝子検査装置(迅速・簡便・高感度)
核酸抽出～試薬調製～増幅検出までを自動化
遺伝子検査の施設間差の縮小



臨床検査

「迅速性」

- ・ 簡易前処理で十分な検体では**約30分**で結果がわかる。


「簡便性」

- ・ 検体前処理～分注～容器充填～増幅・検出～廃棄までを**全自動化**。

「拡張性」

- ・ 最大16サンプルを測定可能。4項目同時測定にも対応。
- ・ 迅速検出系の設計がシンプルなため、**様々な項目に適用しやすい**。

研究



核酸抽出工程

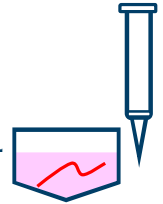
抽出工程の特徴



← 核酸吸着用担体

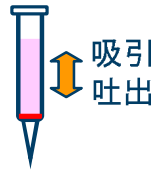
溶解処理

溶解液を添加し細胞を溶解します



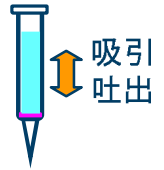
核酸吸着

核酸を担体に吸着させます



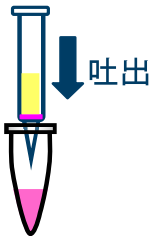
洗浄処理

核酸以外の成分を洗浄します



核酸溶出

担体に吸着した核酸を溶出します



前処理完了

10分で完了

シリンジの吸引・吐出を利用して自動的に核酸を抽出・濃縮を行います

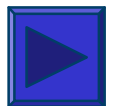
試薬と試料の混合

分注ノズル



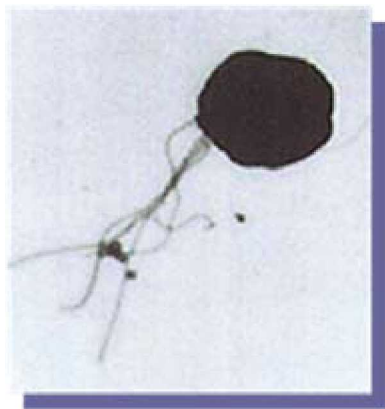
遠心ユニット

増幅検出
ユニット



增幅工程

増幅酵素 (KOD DNA Polymerase)



Thermococcus kodakaraensis KOD1

Growth temperature 60~100°C
(optimum:85°C)

Obligatory anaerobic
Heterotrophic nutrition



KOD DNA Polymeraseの立体構造

鹿児島県小宝島の海底火山の硫気孔より単離した超好熱Archaea:
Thermococcus kodakaraensis KOD1株由来のDNA ポリメラーゼ

KOD DNA Polymeraseの酵素特性

	KOD	Pfu	Taq
Species	<i>Thermococcus kodakaraensis</i> KOD1	<i>Pyrococcus furiosus</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
Molecular weight	90.0kDa	90.1kDa	93.9kDa
Thermostability (half-life period)	95 °C, 12hr	95 °C, 6hr	95 °C, 1.6hr
3'-5'exonuclease activity	+	+	—
Terminal transferase activity	—	—	+
Processivity (bases)	> 300	< 20	ND
Elongation rate (bases/sec)	約130	約25	約61
Fidelity	約50	約12	1

熱安定性、伸長性、DNA合成速度、及び、正確性が、優れている
酵素MasterMIXは、冷蔵(2~8°C)保存1年安定

高速増幅反応

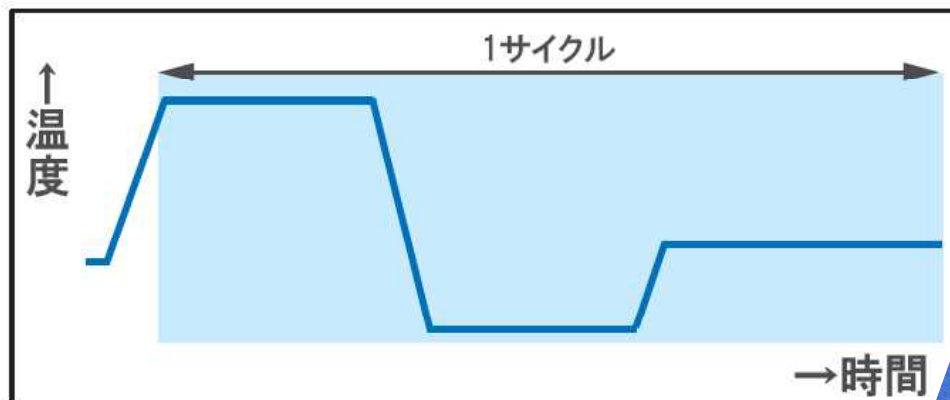
従来法の増幅サイクル

<条件例>

94℃ 45秒

60℃ 45秒

72℃ 60秒 35サイクル



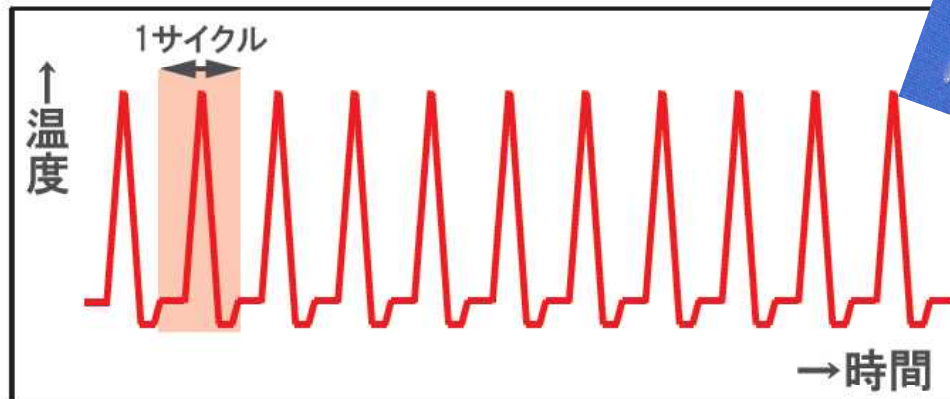
GENECUBEの増幅サイクル

<条件例>

97℃ 1秒


60℃ 3秒

63℃ 5秒 50サイクル



専用容器と熱媒体に空気を使用することで、従来よりも高速な温度上昇・冷却が可能です

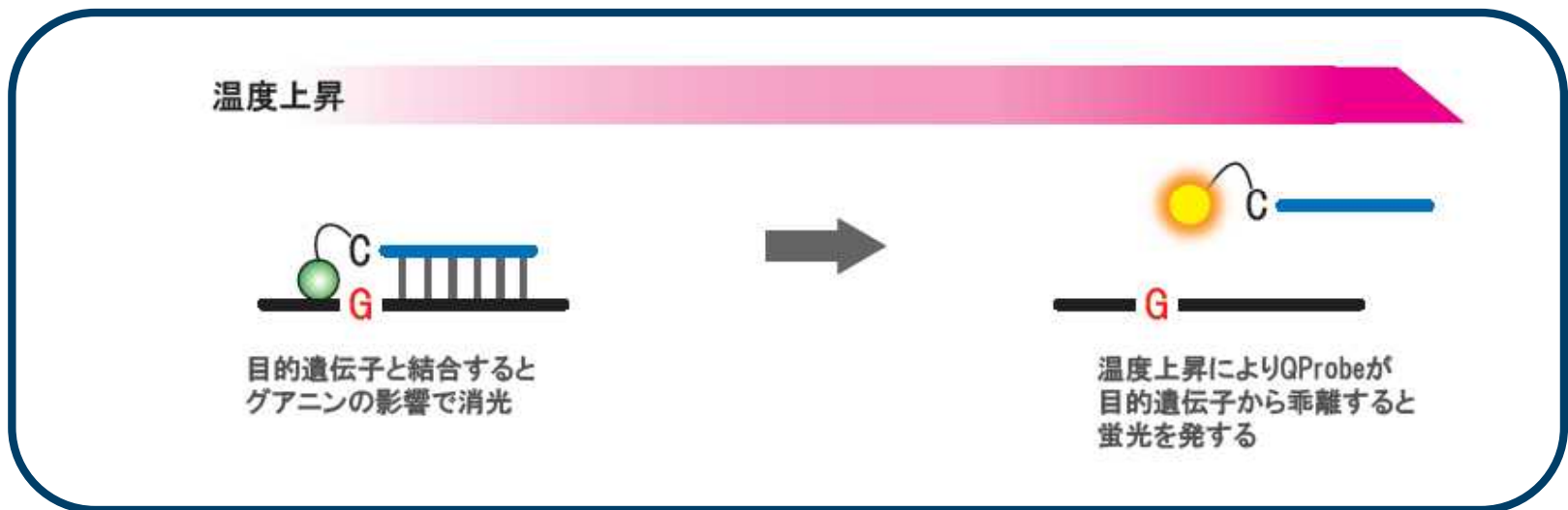




検出工程

(1) QProbe法の特長

QProbe法は、目的遺伝子に結合しグアニン(G)との相互作用により消光していたQProbeが、温度を徐々に上げると解離し蛍光を発するようになる現象を利用し、蛍光シグナルを測定することで目的遺伝子の有無を検出する方法です。

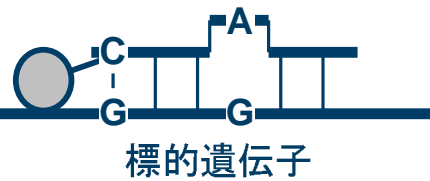


QProbe法は特異的なプローブを用いて、目的遺伝子を検出する方法であるため、プライマー・ダイマーなどの非特異産物の影響がない高感度な手法です。

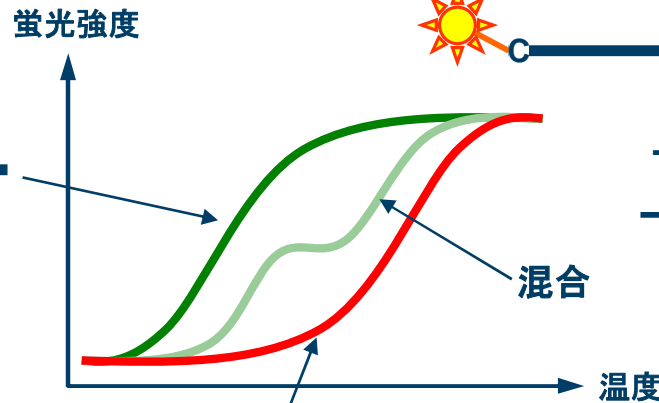


QProbe法による融解曲線解析法

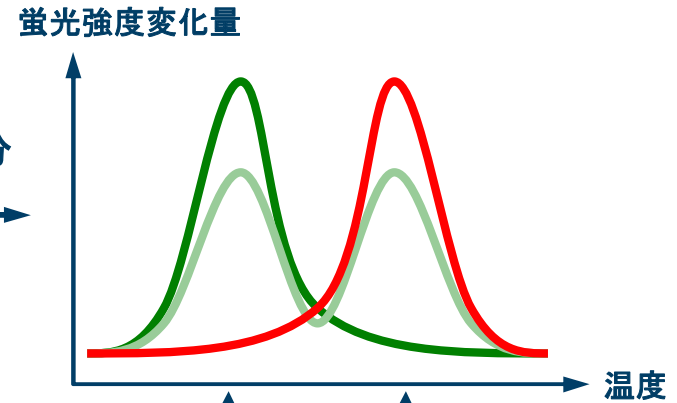
乖離すると蛍光を発する



ミスマッチがあると低い
温度でプローブが乖離



パーフェクトマッチは
ミスマッチよりも高い
温度でプローブが乖離



ピーク温度の違いで、
1塩基の違いを判別できる。

QProbe法は1塩基の違いも検出可能な高感度な手法です。

抗酸菌群 核酸同定検査キット

結核菌群核酸同定検査キット

ジーンキューブ® MTB

体外診断用医薬品承認番号22200AMX00914000

マイコバクテリウムアビウム・イントラセラー核酸同定検査キット

ジーンキューブ® MAC

体外診断用医薬品承認番号22200AMX00913000

結核菌群・MACの遺伝子検査を

全自動の迅速検査に変える



試薬の特徴

1. 標的遺伝子には、配列保存性の高い **dna J 1** 遺伝子を選定
2. **NaLC** 処理後から約 **40min** で報告。（抽出～検出）
3. 増幅検出試薬は、**調製作業が不要、冷蔵保存** で安定
（抽出試薬は室温保存）
4. 試薬・消耗品のロスなく、**1サンプルごとの測定** が可能
5. 結核菌群検出、**MAC** 検出には、配列の異なる **Primer** を用いているため、**共感染における検出率への影響が少ない**
6. 各テストに内部標準コントロールを同時に検出することによって、**増幅不良による偽陰性を防止**

試薬の構成および使用方法

試薬の構成 (96テスト)

1. 酵素試薬 KOD mix	140 μ L	× 6本
2. プライマー・プローブmix (PPmix)	140 μ L	× 6本
3. 内部コントロール試薬	300 μ L	× 1本
4. 陰性コントロール	300 μ L	× 1本
5. 陽性コントロール	300 μ L	× 1本

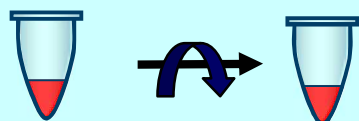
保存温度 (2~8°C)



使用方法

(1) 試料の調製

NaLC処理後試料



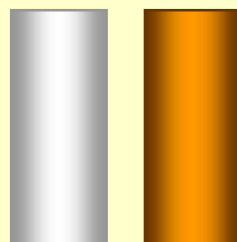
遠心
1500G
5min

上清を
GENECUBEへ

(2) 試薬の調製

KOD
mix

PP
mix



冷蔵庫から
GENECUBEへ

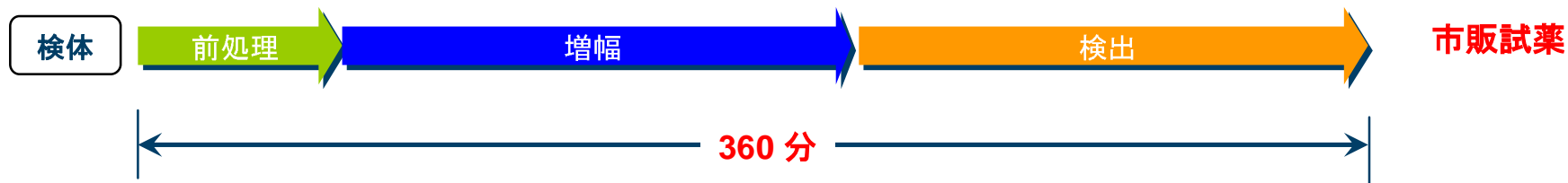
(3) 分析



約40min
抽出~検出

結果
報告

GENECUBE導入による効果



前処理 増幅 検出

検体 GENECUBE

抽出15分
増幅17分
検出 8分

1. 工程の自動化 : 作業者の感染防止と負担軽減
検出精度の向上、測定の迅速化、
2. 検出の迅速化 : 感染拡大防止。感染源の早期究明



All Rights Reserved