



Application

# ベンチトップ型リアルタイムPCR装置を用いた生検体でのFastGene™ VT1/VT2 Detection Kit評価

製品名

FastGene™ VT1/VT2 Detection Kit  
(Cat.No. FG-VT-16, FG-VT-96)

メーカー名

FastGene™



下記のデータは、一般社団法人愛知県食品衛生協会 食品衛生センター 小林慎一様のご厚意により掲載させていただきました。

## 実験概要

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) 感染症は、激しい腹痛を伴う水様便、血便等とともに重篤な合併症を起すことがある感染症である。

原因菌であるEHECは、「ベロ毒素 (Vero toxin: VT) を産生またはVT遺伝子を保有する大腸菌」と定義されており、VTには2種類のサブタイプ (VT1, VT2) が存在する。

FastGene™ VT1/VT2 Detection Kitは、VT1、VT2を迅速に検出することができるキットである。

本アプリケーションノートでは、事前に型が判明している生検体を用い、FastGene™ VT1/VT2 Detection Kitで判定が一致するか検討を行った。

## 検証方法

使用キット： FastGene™ VT1/VT2 Detection Kit (FastGene / Cat.No. FG-VT-16, FG-VT-96)

サンプル： 腸管出血性大腸菌 (O-157, O-111, O-26) の保存株をソルビトール・マッコンキー寒天培地にて24時間培養、分離培養されたコロニーをピックアップ

1コロニーを0.5 mLの滅菌精製水に懸濁し、98℃、8分間加熱処理し、スピンドウン後の上清 2.5 μLをサンプルとした

使用装置： LightCycler® 96 System (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社 / Cat.No. 05815916001)

操作方法： FastGene™ VT1/VT2 Detection Kit のチューブに、サンプルを 2.5 μLを加え、合計 17 μLとした。  
その後、キットのチューブのまま、機器にてPCRを行った

## 反応プログラム

Step	Temp (°C)	Time (sec)
Preincubation	95	15
Amplification	95	5
	60	20

Channel : FAM / Red 610 / Cy5

## 製品紹介

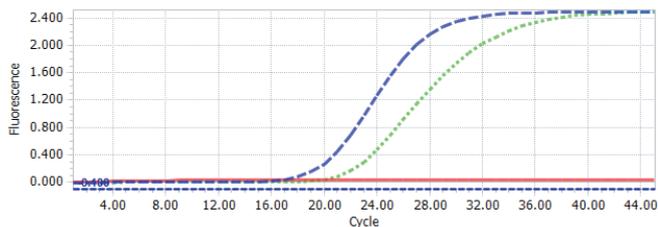
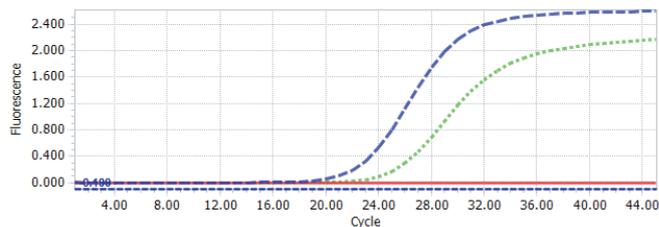
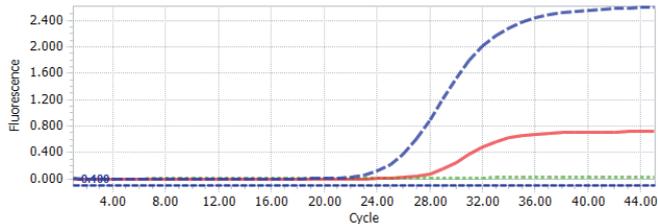
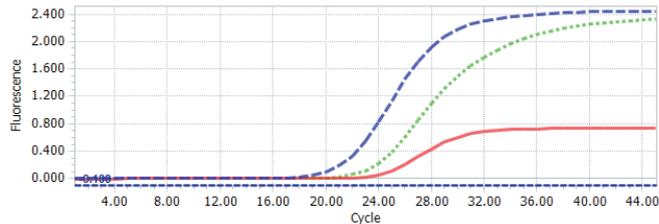
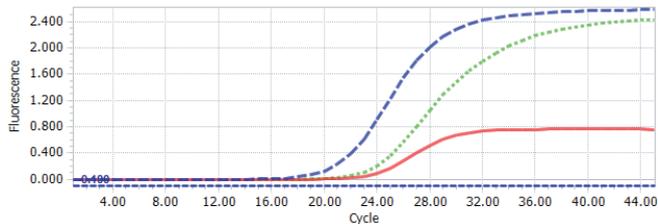
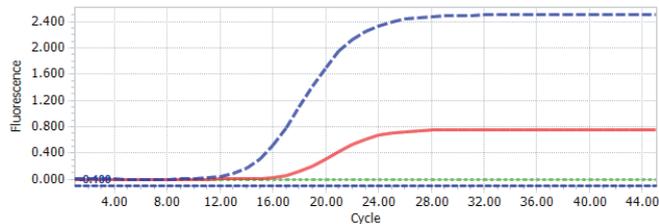
### FastGene™ VT1/VT2 Detection Kit (FastGene / Cat.No. FG-VT-16, FG-VT-96)

腸管出血性大腸菌による食中毒の原因遺伝子であるベロ毒素遺伝子 (VT1, VT2遺伝子) を、リアルタイムPCR (PCR1100だけでなく通常のqPCR装置も含めて) により検出するためのキットです。

プライマー・プローブ配列は通知法通り (厚生労働省医薬食品局食品安全全部監視安全課長通知 (平成26年11月20日)) の物を使用し、蛍光はVT1をFAM、VT2をROX、ICをCy5で標識したマルチカラーディテクションキットとなります。1反応でベロ毒素遺伝子の検出はもちろん、VT1/VT2のタイピングまで可能です。

マスターミックスにはプライマー・プローブを混ぜて供給する為、ユーザーはDNAサンプルを混ぜるだけで測定可能なReady to Useタイプとなっております。

## 結果

**O-26 VT2**

**O-157 VT2**

**O-157 VT1**

**O-111 VT1/2**

**O-157 VT1/2**

**O-26 VT1**


— VT1 (FAM) —●— VT2 (ROX) —●— IC (Cy5)

### Cq値

事前培養結果	VT1 (FAM)	VT2 (ROX)	IC (Cy5)	一致
O-26 VT2	-	20.31	17.34	○
O-157 VT1	27.34	-	22.63	○
O-157 VT1/2	23.07	21.99	18.52	○
O-157 VT2	-	22.94	19.79	○
O-111 VT1/2	23.79	21.76	18.91	○
O-26 VT1	16.61	-	12.18	○

### ● まとめ

FastGene™ VT1/VT2 Detection Kitを使用し検証した結果、すべて事前の培養結果と一致した。これより、FastGene™ VT1/VT2 Detection Kitは、様々なタイプの腸管出血性大腸菌を検出できると考えられる。



### お客様のコメント

本キットでは、ベロ毒素遺伝子の検出に必要な試薬が8連チューブに分注されていますので、熱処理したサンプルと混ぜるだけで、迅速かつ簡便にVT1とVT2遺伝子を型別検出することができました。また、本キットによる検査成績はラテックス凝集法の結果と100%一致しました。食中毒事件の原因調査や食品検査などにも有用な検査キットであると考えられます。