



Application

ベロ毒素遺伝子 VT1/VT2の定量

製品名

モバイル リアルタイムPCR装置 (PicoGene® PCR1100)

メーカー名

日本板硝子株式会社

下記のデータは、国内食品関連企業のお客様のご厚意により掲載させて頂きました。

実験概要

迅速検査法を検討中で、微生物検査の公定法と相関があるか確認するため実験を行った。

実験材料

ウシの生肉を一晚培養した菌体培養液を、98℃/8分加熱後、遠心処理し上清2.5 μLを試料として用いた。

● 反応組成

PCR grade water	1.1 μL
Template	2.5 μL
VT1 F Primer (バイアルP1)	0.65 μL
VT1 R Primer (バイアルP2)	0.65 μL
VT2 F Primer (バイアルP4)	0.65 μL
VT2 R Primer (バイアルP5)	0.65 μL
VT1 F Probe (バイアルP3)	0.85 μL
VT1 R Probe (バイアルP6)	0.85 μL
2x KAPA Plant PCR Buffer	8.5 μL
KAPA 3G Plant DNA polymerase	0.6 μL
Total	17 μL

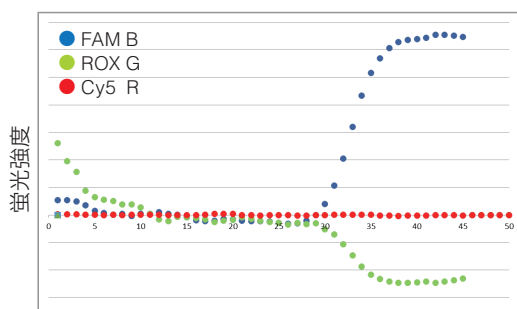
● 使用したプライマーとプローブ

VT1・VT2 遺伝子検出用セット 陽性Ctrl 付
(日本遺伝子研究所 Cat.No.200203)

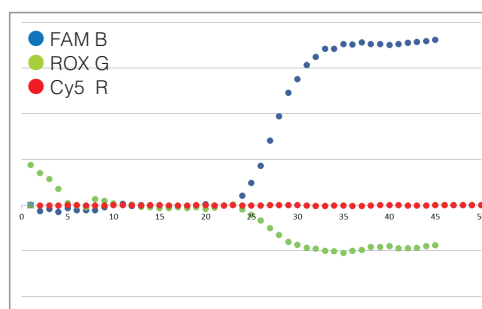
● 反応プログラム

Hot Start	95℃ / 15 sec
Denature	95℃ / 5 sec
Annealing	62℃ / 20 sec
Cycles	50 cycles

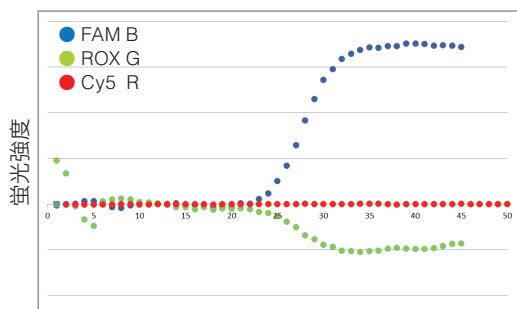
結果



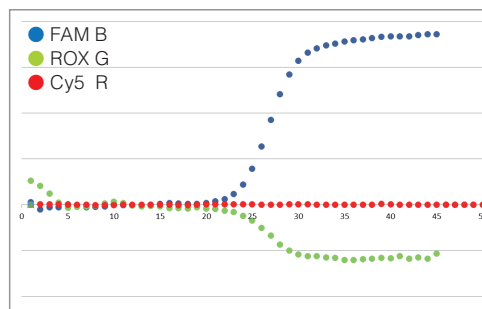
計測時間
21 min 49 sec



計測時間
21 min 44 sec



計測時間
21 min 47 sec



計測時間
21 min 40 sec



お客様のコメント

いずれの検体も、公定法による他測定方法で陽性と判定されており、本装置を用いた検出でも同様に陽性と判定されたため公定法での他測定方法と相関があると判断できた。



日本ジェネティクスからの補足説明

今回使用されたプローブは公定法記載の配列でVT1 遺伝子、VT2 遺伝子どちらもFAM-TAMRA 標識プローブとなります。

Point 1 :

マルチプレックス反応ですが、この検出系はVT1/VT2 遺伝子を区別せず、何らかの遺伝子が存在したら陽性判定できる系になっています。本結果でも青色チャンネルのグラフ (FAM) が上昇しています。

Point 2 :

FAM-TAMRA プローブはFAMが受けた励起エネルギーをFRET現象によりTAMRAに移すため、分解される前はTAMRAが光り緑色チャンネルで検出されます。(この値でベースラインはノーマライズされます。) そのためプローブが分解されるに伴い緑色チャンネルの光量が減少し、緑色チャンネルのグラフがベースラインより下に下降します。

