

J-Bio 迅速PCRキット SARS-CoV-2 使用ガイド

- 使用にあたっては、必ず添付文書およびユーザーマニュアルをご確認の上ご使用ください。
- 検体採取、取扱いについては必要なバイオハザード対策をとってください。
- テスト行程で使用するすべての検体、コントロールおよび消耗品は、感染の可能性があるものとして取り扱い、各施設の規定に従って廃棄処理を行ってください。

必要な機器および消耗品

- ☐ ボルテックスミキサー ☐ 遠心機 ☐ マイクロピペット
- ☐ ピペットチップ (フィルター付き 10μL、200μL、1000μL)
- ☐ マイクロチューブ (1.5mL) ☐ 氷バケツ

1 検体採取

検体は、鼻咽頭ぬぐい液あるいは唾液です。

検体採取に使用するスワブは、ナイロンフロックスワブまたは他の合成繊維スワブを使用してください。綿棒は推奨されません。

※検査に用いる検体については、厚生労働省より公表されている「新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 病原体検査の指針」を参照してください。

2 試薬の前準備

作業の準備前に、「SARS-CoV-2増幅試薬キット」、「SARS-CoV-2プライマーキット」および「SARS-CoV-2コントロールキット」を保管場所から取り出し解凍してください。融解後、ボルテックスミキサーでよく攪拌し、スピンドアウンしてください。



3 RNA試料の準備

テストを行う前に、検体からウイルスRNAを抽出します。

本品は、RNA抽出キットは含まれておりません。検証済みの以下の市販品を使用することをお勧めします。

- ▶ RNA抽出キット：QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN社製)
- ▶ 自動抽出機械：TANBead 核酸抽出試薬キット (TANBead社製)

1回のテストに必要なRNA試料：51μL

※RNAが不安定なので、氷浴上で操作し、できるだけ早く調製を行ってください。

4 各サンプルの準備

1テストにつき、次の5つのサンプルを準備します。

- N1遺伝子サンプル
- N2遺伝子サンプル
- 陽性コントロール (Positive Control)
- 陰性コントロール (No Template Control)
- 内部コントロール (Internal Control)

試薬は、あらかじめ必要な人数分準備しておくことが可能です。

Step1 各サンプルに共通の試薬をそれぞれ調製する。

- ① 全てに共通の4種類の試薬 試薬調製ガイド 表A
- ② 緑キャップの3種類の試薬 試薬調製ガイド 表B
- ③ 青キャップの3種類の試薬 試薬調製ガイド 表C
- ④ 無色キャップの3種類の試薬 試薬調製ガイド 表D

Step2 調製した試薬にRNA試料・陽性・陰性コントロールを各17 μ L加える。

陰性コントロール	
表 A	28.05
表 B	4.95
陰性コントロール	17
	50

陽性コントロール	
表 A	28.05
表 B	4.95
陽性コントロール	17
	50

N1遺伝子サンプル	
表 A	28.05
表 B	4.95
RNA試料	17
	50

N2遺伝子サンプル	
表 A	28.05
表 C	4.95
RNA試料	17
	50

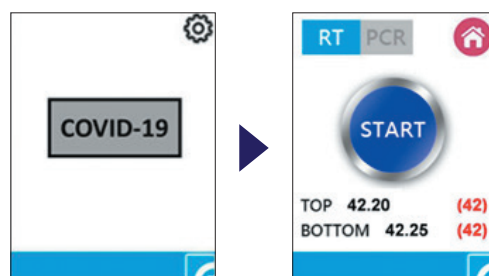
内部コントロール	
表 A	28.05
表 D	4.95
RNA試料	17
	50

1テスト当たりの
サンプルの全量:
50 μ L

- ※ これらの5つのサンプルの準備は、平行して行ってください。
- ※ 調製した試薬はよく混合し、その日のうちに使い切ってください。
- ※ 必要な試薬の量よりも1~2テスト分多い溶液を調製することが推奨されます。
- ※ プライマー及びプローブの分解リスクを低減するため、全ての手順を氷浴上で実施してください。

5 分析装置の予熱

検出前に、本分析装置を予熱します。
電源を接続すると、操作メニューが表示されます。
「COVID-19」表示を押して予熱を開始し、画面中央に「START」ボタンが表示されたら、予熱が完了しテストの準備が整います。



6 キャピラリーチューブの装填準備

④ 各サンプルの準備に従って調製した5つの試験検体を、キャピラリーチューブに注入してください。

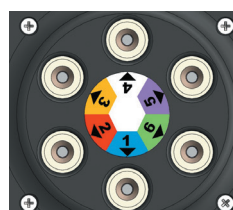
⑦ 反応の開始の表に従って、各キャピラリーチューブに対応した色のキャップをしてください。キャップをした後は、チューブをフリックして液体を底に移動させ気泡を取り除いてください。



7 反応の開始

予熱終了後、キャピラリーチューブを反応ゾーンにマークされた数字に対応する以下のサンプルに従って、1ずつ挿入してください。蓋を閉じて、操作メニューの「START」ボタンを押すと検出を開始します。

1 青	NTC	陰性コントロール
2 赤	PC	陽性コントロール
3 黄	N1	N1遺伝子サンプル
4 白	N2	N2遺伝子サンプル
5 紫		使用しません
6 緑	INC	内部コントロール



8 分析装置のプロセスの表示

① 検出開始後「RT」プロセスを開始しカウントダウンが表示されます。

RT Process

683 sec

TOP : 42.20 (42)
BOTTOM : 42.25 (42)

② 「RT」プロセスが終了後、自動的に「PCR」プロセスに進みます。温度が目標値に達すると、「PCR」プロセスが開始され、カウントダウンが表示されます。

PCR Process

1632 sec

TOP : 56.78 (57)
BOTTOM : 95.63 (95)

9 結果判定

PCRプロセス終了後、結果が表示されます。すみやかに結果を記録してください。

陽性

N1とN2の両方がプラス

陽性

N1とN2のどちらかがプラス

陰性

N1とN2の両方がマイナス

→ 次のテストへ進むには…

- ① 画面右上の「HOME」を押す : この時、「Exit」ボタンを押すと次の検査へ進みます。「Cancel」ボタンを押すとテスト結果に戻ります。
- ② 「COVID-19」を押す : テストを終了すると表示されます。この表示を押すと再び予熱モードになります。
- ③ 「START」ボタンが表示される : 前のテストで高温になっている分析装置が、再び「RT」工程の目標温度に到達すると、「START」ボタンが表示され、次のテストの準備ができていていることを示します。

試薬調製ガイド

まとめて試薬を準備しておくことにより大幅な時間短縮になり、効率よく実施できます

Step1 各サンプルに共通の試薬を各表に従ってそれぞれ調製する。

表A

色	コード	試薬名	試薬の容量 (μL)					
			×1	×5	×10	×20		
赤	MX	2Xマスターミックス	22	110	220	440		
オレンジ	RX	50X RTaseミックス	1	5	10	20		
紫	G	試薬G	1.32	6.6	13.2	26.4		
無色	W	RNaseフリー水	3.73	18.65	37.3	74.6		
			28.05	140.25	280.5	561		

表B

色	コード	試薬名	×1	×5	×10	×20		
緑	N1F	N1-フォワードプライマー	2.2	11	22	44		
緑	N1R	N1-リバースプライマー	2.2	11	22	44		
緑	N1T	N1-Taqman プローブ	0.55	2.75	5.5	11		
			4.95	24.75	49.5	99		

表C

色	コード	試薬名	×1	×5	×10	×20		
青	N2F	N2-フォワードプライマー	2.2	11	22	44		
青	N2R	N2-リバースプライマー	2.2	11	22	44		
青	N2T	N2-Taqman プローブ	0.55	2.75	5.5	11		
			4.95	24.75	49.5	99		

表D

色	コード	試薬名	×1	×5	×10	×20		
無色	RNF	RNase P-フォワードプライマー	2.2	11	22	44		
無色	RNR	RNase P-リバースプライマー	2.2	11	22	44		
無色	RNT	RNase P-Taqman プローブ	0.55	2.75	5.5	11		
			4.95	24.75	49.5	99		

Step2 調製した試薬にRNA試料・陽性・陰性コントロールを各17μL加える。

1. 陰性コントロール

表 A	28.05
表 B	4.95
陰性コントロール	17
	50

2. 陽性コントロール

表 A	28.05
表 B	4.95
陽性コントロール	17
	50

3. N1遺伝子サンプル

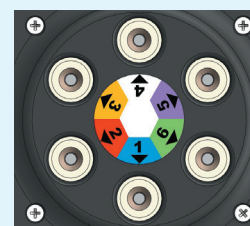
表 A	28.05
表 B	4.95
RNA試料	17
	50

4. N2遺伝子サンプル

表 A	28.05
表 C	4.95
RNA試料	17
	50

6. 内部コントロール

表 A	28.05
表 D	4.95
RNA試料	17
	50



※ 5 紫は使用しません