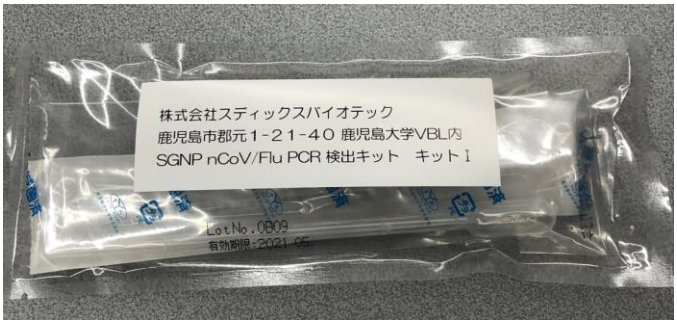
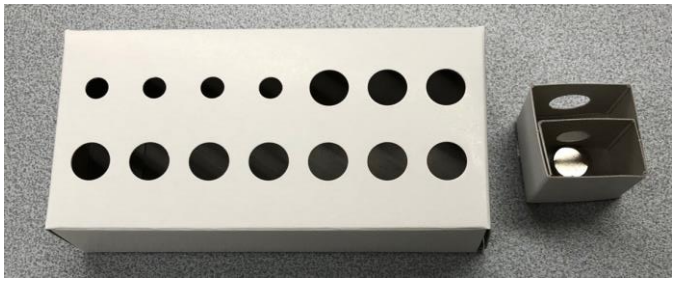
SGNP nCoV／Flu PCR検出キット
クイックプロトコル

ご用意いただくもの

20201204暫定版

- SGNP nCoV／Flu PCR検出キット
- リアルタイムPCR測定機（FAM,Cy5,ROXの３波長検出可能機器）
- 専用反応チューブあるいはプレート
- マイクロピペット（P-100,P-10）と各マイクロピペットに対応する滅菌済みフィルター付きチップ
- 卓上ミニ遠心分離機（チビタンなどのスピンダウン用遠心分離機）
- RNaseフリーが確認されている水または緩衝液
  推奨品
- 200μLおよび1.5mL用サンプルチューブ
  推奨品
- 氷（なければ大きめの保冷剤）





検体採取～前処理

本試薬は唾液検体、鼻咽頭ぬぐい液または鼻腔ぬぐい液を検体として利用可能です。

- 唾液検体採取方法は、国立感染症研究所より発信されている
  「2019-nCoV（新型コロナウイルス）感染を疑う患者の検体採取・輸送マニュアル」をご参照ください。
- 鼻腔ぬぐい液は、採取用滅菌綿棒を約３cm鼻腔に入れて採取してください。
- 鼻咽頭ぬぐい液は、採取用綿棒を約10cm鼻腔から咽頭へ入れて採取してください。

本試薬で測定いただく際に必要な唾液量は、0.3～0.5ｍLです。

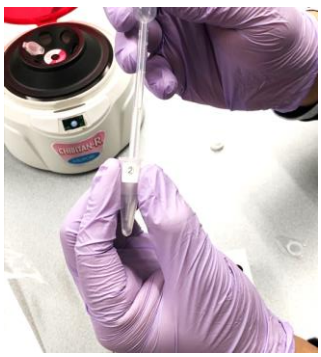
1

検体を②にいれ、スポイトで全量入れ５回ほど出し入れをして混合します。
(粘性の高い検体の場合、混合の数を増やしてください。)

2

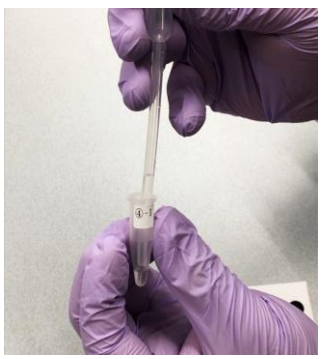
付属の蓋をして、卓上遠心機で２０秒ほど遠心し、食べかす等を沈殿させます。

3



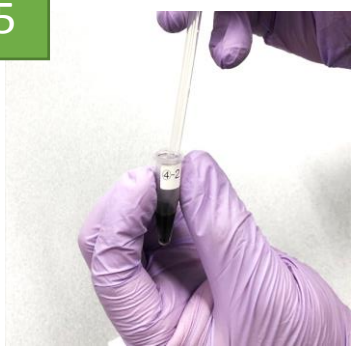
新しいスポイトを使い(以降７までこのスポイトを使います)、食べかすを吸わないように、上清を吸い取ります。

4



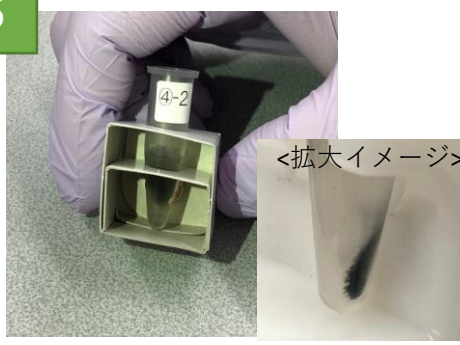
３の上清を④-1にいれ、5回ほど出し入れをして混合します。

5



４の全量を④-2にいれ、5回ほど出し入れをして混合します。

6

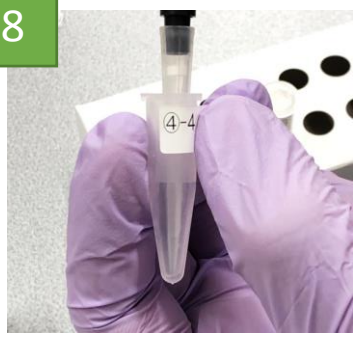


分離用マグネットに立て磁性分離し磁石側に集まっていることを確認し、分離用マグネットに立てたまま、上清を捨てます。

7

④-3全量を④-2のチューブにいれ、5回ほど出し入れをして混合し、６と同様に上清を捨てます。
(できる限り上清を捨ててください)

8



P100(10-100uL用)マイクロピペットを使って、④-4を全量吸い取ります。

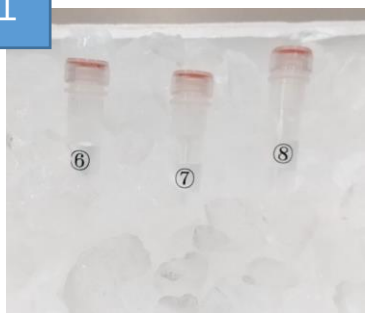
9

全量を④-2のチューブにいれ、黒い残渣と混ぜるように5回ほど出し入れをして混合します。

PCR試薬調整

Master Mix作成

1

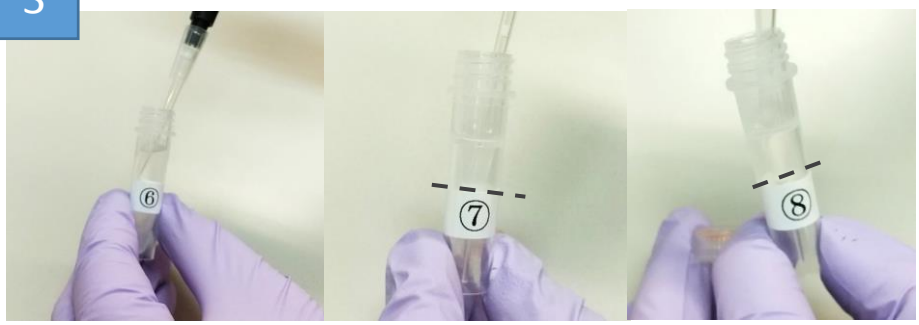


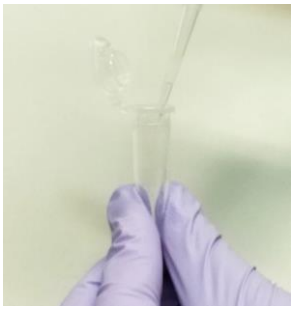
⑥、⑧を室温で溶解させ、溶解後は氷上で保存してください。
⑦は凍らないので、常に氷上に保存してください。
（⑦は酵素なので、室温で放置をすると活性が落ちる可能性がありますのでご注意ください。）

2

卓上遠心機で３秒ほど遠心します。

3





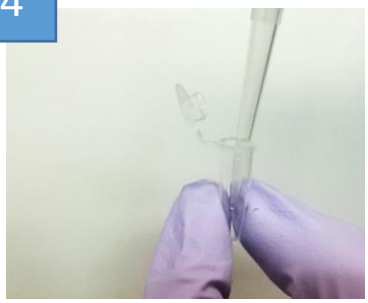
⑥・⑦・⑧をそれぞれ、その日に測定するサンプル数に応じて、
下記表を参考に新しい1.5mLサンプルチューブに計り取り、５回ほど出し入れし、混合します。
（図中の点線はチューブの底を示しております。）
（混合したMaster Mixは冷凍保存し、直ちに使用してください。）

表２　RT-PCR 試薬混合液の調製

測定予定数	5	10	15	20	25
⑥ μL	52.2	104.4	156.6	208.8	261
⑦ μL	9	18	27	36	45
⑧ μL	13.8	27.6	41.4	55.2	69

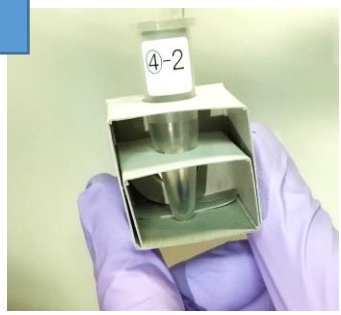
測定サンプル作成

4



Master Mix15μLを新しい200μL用サンプルチューブに分注してください。

5



前処理で作成した④-2を1μLとります。

6

４の200μLサンプルチューブに入れ、５回ほど出し入れし混合します。