

-LAMP 法乾燥試薬-
ファイトプラスマユニバーサル検出キット

取扱説明書

version 2.0.0



ニッポンジーン マテリアル

1. キット内容

-LAMP 法乾燥試薬- ファイトプラズマユニバーサル検出キット 48 テスト用

試薬名（頭部ラベル表記）	頭部ラベル色	内容量	本数	保存温度
Phytoplasma 検出用乾燥試薬	-	8 well	6 本	室温 (20-25°C)
Phytoplasma 試薬溶解液（試薬溶解液）	橙色	400 µL	6 本	
Phytoplasma 抽出液（抽出液）	白色	1 mL	48 本	
Phytoplasma 陽性コントロール（陽性コントロール）	灰色	-	6 本	
Phytoplasma 陽性コントロール溶解液（PC 溶解液）	緑色	400 µL	1 本	
Phytoplasma 陰性コントロール（陰性コントロール）	水色	400 µL	6 本	
ミネラルオイル（ミネラルオイル）	青色	400 µL	6 本	

取扱説明書（本紙） 1 部

取り扱い上の注意

- ◆ 本キットは室温（20-25°C）で安定に保存できます。
- ◆ 試薬は元のアルミパックに入れて保管し、納品後 1 年以内に使用してください。特に、**Phytoplasma 検出用乾燥試薬**と**Phytoplasma 陽性コントロール**は吸湿による劣化を防止するために、同封の乾燥剤と共に元のアルミパックに入れ、チャックを完全に閉じてください。
- ◆ 本キットでは、1 回の検査に 8 well（8 テスト分）使用することで、6 回分の検査反応を行うことが可能です。核酸の混入による誤判定を防ぐために、**Phytoplasma 試薬溶解液**、**Phytoplasma 陽性コントロール**、**Phytoplasma 陰性コントロール**、**ミネラルオイル**は検査毎の使い捨てを推奨します。1 回の検査が 8 well 以下となる場合には、必要に応じて試薬を小分けして保管、使用してください。
- ◆ **Phytoplasma 検出用乾燥試薬**は 8 連チューブに分注されていますので、反応数に応じて乾燥試薬に衝撃を与えない様、はさみ等を用いて切り分けてご使用ください。
- ◆ 溶解後の**Phytoplasma 陽性コントロール**や抽出後の**Phytoplasma 抽出液**を保管する場合は、他の試薬と隔離してください。
- ◆ 誤判定を防ぐため、溶解後の**Phytoplasma 検出用乾燥試薬**を室温あるいは冷蔵庫等に長時間放置したり、過度の冷却で凍結させたりしないようご注意ください。
- ◆ **Phytoplasma 陽性コントロール**は、ファイトプラズマのゲノムDNAに特徴的な配列を含む DNA です。検査環境への汚染を防ぐため、使用の際には溶液を飛散させたり、溶液に触れたフィルター付マイクロチップが他の器具や試薬に接触したりしないようご注意ください。
- ◆ 連続分注を行うと試薬への汚染が発生する可能性がありますので、フィルター付マイクロチップは 1 回分注するごとに使い捨てとして使用してください。

2. キット使用方法

ここではココヤシ検体からファイトプラズマを検出する一例を示しています。

下記の工程 (A, B, C) の内、鑄型 DNA のコンタミネーションを避けるために、「鑄型 DNA を調製 (A, B) する部屋」と「検査溶液を調製 (C) をする部屋」を分けて実施してください。

簡易プロトコル (ココヤシ検体の例)

※各工程の同時進行は避け、**A→B→C の順に実施**してください

※各工程を実施する際は手袋を着用し、次工程に入る前に新しい手袋に付け替えてください

<A. DNA サンプルの調製>

A-1. Phytoplasma 抽出液のチューブを必要本数取り出す

※取り出した後、スピンドウンしてからチューブのフタを開けてください

A-2. ココヤシ幹の粉末 0.005 g を量り取り、Phytoplasma 抽出液に浸す

※ドリルを用いて対象とするココヤシ樹木から幹の材片を採取します

A-3. 転倒混和した後、95°C で 10 分間保温する

※転倒混和により粉末と抽出液をなじませてから保温してください

A-4. 転倒混和した後、水冷して室温程度まで冷却する (DNA サンプルとする)

※10 分間の保温直後に必ず転倒混和し、DNA サンプルを均一化させてください

※必ず冷却してから検査溶液に添加してください

<B. Phytoplasma 陽性コントロール溶液の調製>

B-1. Phytoplasma 陽性コントロールのチューブを 1 本取り出す

※チューブを取り出した後、試薬の吸湿を避けるため、残りの試薬は直ちに元のアルミパックで密封してください

B-2. Phytoplasma 陽性コントロール溶解液 10 μ l を添加する

B-3. スピンドウンした後、室温に 5 分間静置する

※乾燥化された Phytoplasma 陽性コントロールはチューブの底部に付着しているため、Phytoplasma 陽性コントロール溶解液と確実に接触させてください

B-4. ボルテックスした後、スピンドウンする (Phytoplasma 陽性コントロール溶液とする)

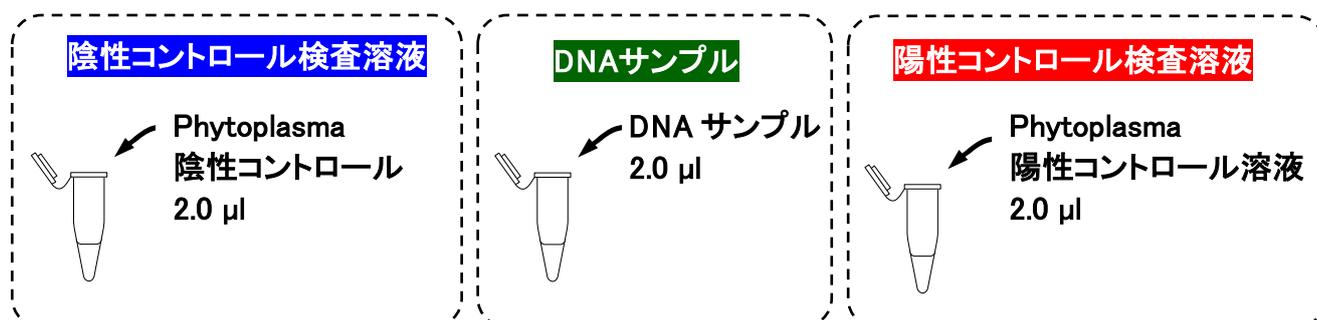
<C. 検査溶液の調製と LAMP 反応>

C-1. Phytoplasma 検出用乾燥試薬を必要本数取り出す

※必要本数（検体数+コントロール数）のチューブを、
氷上（アルミブロックあるいはプレートラック使用）に立ててください

※取り出した後、試薬の吸湿を避けるため、
残りの試薬は直ちに元のアルミパックで密封してください

※乾燥試薬がチューブ上方に付着していた場合、チューブを軽く振って、乾燥試薬をチューブ底に落としてからキャップを開ける様にしてください

C-2. 各チューブに Phytoplasma 試薬溶解液 23.0 μ l を添加するC-3. サンプル 2.0 μ l を添加した後、キャップを閉じてスピンドウンする

※サンプルの添加は必ず、①陰性コントロールサンプル、②DNA サンプル、
③陽性コントロールサンプル、の順に行ってください

※DNA サンプル溶液の下方には大きめの木くず、水面には細かい木くずがありますので、
中間あたりの木くずが無い溶液を添加してください

※試薬溶解後、細かい気泡が生じますが、検査反応には影響ありません
気になる場合には、2 分間経過後、5 回転倒混和してからスピンドウンしてください

C-4. 2 分間経過後、ミネラルオイル 20.0 μ l を重層する

※乾燥状態の試薬とミネラルオイルが接触した場合、不溶化する可能性があります
ミネラルオイルを添加する場合は、必ず試薬溶解後に実施してください

C-5. 64°C、60 分間

C-6. 80°C、2 分間

C-7. 判定

