

GenCheck キットシリーズ

***Listeria monocytogenes* 検出キット**

商品コード:GCK002-1F

取扱説明書

I 製品説明

本製品はリアルタイム PCR (qPCR) で *Listeria monocytogenes* を特異的に検出するための試薬です。

食品中の *L. monocytogenes* の検査は、厚生労働省の通知により、酵素基質培地に接種、培養し、平板培地上に形成した定型集落 (ハロー形成コロニー) を計数し、最終的に確認試験 (カタラーゼ試験、CAMP 試験、糖分解試験) を行い、*L. monocytogenes* と確定します。しかしながら、ハローを形成しない *L. monocytogenes* やハローを形成するその他の *Listeria* 属菌が確認されており、正確な確認試験による判定を行うと、定量試験法では約 4 日間、定性試験法では約 7 日間の日数を費やします。

本製品は、公共のデータベースに登録されているゲノム情報から *L. monocytogenes* を特異的に検出するマーカーを選抜しているため、コロニー形成後、約 2 時間で正確に *L. monocytogenes* の判定を行うことができます。

II キット内容

	構成品名	容量	数量
I	GenCheck qPCR Probe Master (dUTP)	各 25 回分	各 1 本
II	LMO Primer Mix (FAM 標識)*		
III	IPC Primer Mix (HEX 標識)*		
IV	IPC control DNA		
V	LMO Positive control DNA		

* 励起波長 (nm)/蛍光波長 (nm) FAM: 494/525, HEX: 535/556

III 保存

- ・ 本製品は冷凍 (-20°C) で保存して下さい。

IV 本製品以外に必要な試薬・機器など

- ・ 滅菌水 (dH₂O)
- ・ マイクロピペット
- ・ PCR チューブまたは 96 ウェルプレート
- ・ qPCR 装置
- ・ ピペットチップ
- ・ 蓋またはプレート用のシール

V qPCR 反応液の調製と反応条件

[反応液の調製① コロニーから qPCR を実施する場合]

GenCheck qPCR Probe Master* ¹	10 μ L
LMO Primer Mix	3 μ L
IPC Primer Mix	3 μ L
IPC control DNA	2 μ L
菌体* ²	-
dH ₂ O	up to 20 μ L

[反応液の調製② 抽出した DNA から qPCR を実施する場合]

GenCheck qPCR Probe Master* ¹	10 μ L
LMO Primer Mix	3 μ L
IPC Primer Mix	3 μ L
IPC control DNA	2 μ L
鋳型 DNA* ³	100 ng
dH ₂ O	up to 20 μ L

[qPCR 条件]

95°C 10 min	x 1 サイクル
95°C 30 sec] x 45 サイクル
60°C 60 sec	

qPCR 反応時の設定等は各機種取扱説明書に従ってください。

励起波長 (nm)/蛍光波長 (nm) FAM: 494/525, HEX: 535/556

- * 1 本製品は dUTP を含んでおります。Uracil N-Glycosylase (UNG)の添加により、キャリーオーバーによるコンタミネーションを防止できます。
- * 2 菌体(コロニー)は、微生物の植菌用具(白金線、白金耳、及び、それに代わる滅菌済み爪楊枝等)で採取してください。
- * 3 鋳型 DNA の代わりに LMO Positive control DNA を添加する場合は 2 μ L を加えてください。

VI 結果判定

ご使用の機種(qPCR 装置)の解析結果に従って、判定を行ってください。

VII 使用上の注意

- (1) 本製品は *L. monocytogenes* を検出するためのキットです。その他の目的にはご使用になれません。
- (2) 試薬についての基礎的な知識のある方以外は、取り扱わないでください。
- (3) 本製品の使用にあたっては、取扱説明書の記載内容どおりに行ってください。
- (4) 取扱説明書記載内容と異なったお取り扱いによるトラブルにつきましては、弊社では責任を負いかねます。
- (5) 黒色のハローを形成するタイプの酵素基質培地 (PALCAM 寒天培地, Oxford 寒天培地など) は、コロニーから qPCR を行なうと反応を阻害する可能性がありますので、抽出した DNA から qPCR を実施する場合で反応液の調製を行なってください。
- (6) 本製品には使用期限が表示されております。使用期限を守ってご使用ください。
- (7) 廃棄方法は各地方自治体の条例に従ってください。

VIII その他

本製品は、株式会社ファスマックが 東京農業大学応用微生物学研究室 五十君静信先生、株式会社ニッポンとの研究により開発したものです。

- ① 第 38 回日本食品微生物学会学術総会 (2017 年 10 月 : 徳島)
『*Listeria monocytogenes* の簡易検出法の開発』
綱 美香, 原田 義孝, 高崎 一人, 布藤 聡, 五十君静信
- ② 第 39 回日本食品微生物学会学術総会 (2018 年 9 月 : 大阪)
『特異性の高い *Listeria monocytogenes* 検出法の開発』
原田 義孝, 綱 美香, 高崎 一人, 布藤 聡, 五十君静信

発売元 : **FASMAC** 株式会社ファスマック

お問い合わせ先 : 株式会社ファスマック 遺伝子検査事業部

〒243-0041 神奈川県厚木市緑ヶ丘 5-1-3 TEL:046-295-8787 FAX:046-294-3738

2021.01