

# アスペルギルス症TR薬剤耐性菌検出プローブセット

(製品コード：ARA-PPS01)

※ 本製品は帯広畜産大学よりライセンスを受け、  
北海道システム・サイエンス株式会社が製造・販売しています。

## 1. 製品説明

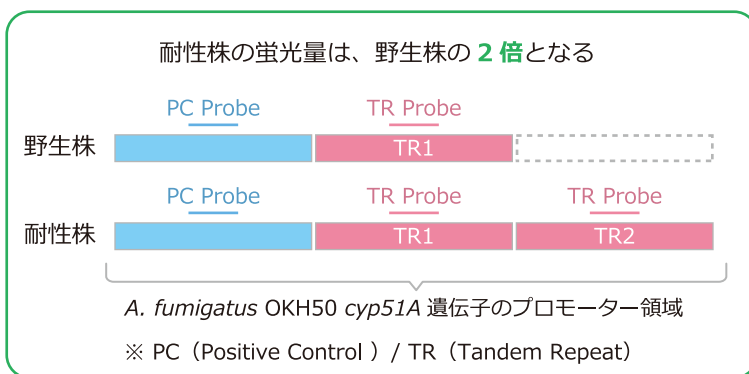
アスペルギルス症の治療薬としてアゾール系の抗真菌薬が用いられていますが、近年ではその原因菌である病原コウジカビ (*Aspergillus fumigatus*) のアゾール系薬剤への耐性菌が世界各地で単離されています<sup>(1,2)</sup>。野外環境中で拡がりを見せているアゾール系薬剤への耐性菌は *cyp51A* 遺伝子のプロモーター領域にリピート配列 (TR) を有することが報告されています。リアルタイム PCR のサイクリングプローブ法にて、*Aspergillus fumigatus* 株の *cyp51A* 遺伝子のプロモーター領域におけるリピート数を検出することで、*Aspergillus fumigatus* 株のアゾール系耐性を判別できることが報告されています<sup>(3)</sup>。本製品は、*Aspergillus fumigatus* 株のアゾール系薬剤への耐性判別をより簡便にするため、測定に必要なプライマーとプローブをミクスチャーにしました。また、陰性および陽性の判別に必要なコントロール DNA をセットにしています。

## 2. 特長

- ・アゾール系薬剤に耐性を有するアスペルギルス菌検出のプライマーとプローブのミクスチャー
- ・耐性株の Positive Control DNA と野生株の Negative Control DNA がセット

※ 真菌の菌体から精製したDNAを対象に本製品の検証試験を実施しています。血液など菌体以外の検体については取扱実績がございません。

## 3. 検出原理



## 4. 製品構成

ラベル	構成物	容量	反応数	備考
●	TR mixture (2.5 X conc.)	480 $\mu$ l	50 反応	プライマーとプローブのミクスチャー
●	Positive Control DNA	30 $\mu$ l	10 反応	耐性株由来 DNA
●	Negative Control DNA	30 $\mu$ l	10 反応	野生株由来 DNA

## 5. 保存

-20℃(遮光) ※ 蛍光標識プローブのため

## 6. 本製品以外に必要な主要試薬・機器

- ・タカラバイオ株式会社 CycleavePCR™ Reaction Mix (CycleavePCR はタカラバイオ株式会社の商標です)
- ・リアルタイム PCR 装置

## 7. 測定サンプル例

- ・ブランク 1 well
- ・Positive Control 2 well
- ・Negative Control 2 well
- ・Sample 3 well

※ 上記は一例です。

## 8. 検出に使用する蛍光チャネル

プローブ	蛍光チャネル
TR Probe	FAM
PC Probe	HEX

上記蛍光を測定できるリアルタイム PCR 装置をご利用ください。

AAGCTTGGAATATTAAGTGAACAGG  
AAAGGATACAACAAAAGGGAAGAAGCTTAG  
ATCTCTATTTCTGATATAATTCTCTAGAA



## 9. 操作手順

検体採取

DNA抽出

リアルタイム PCR

### PCR 溶液例

< 20  $\mu$ l 反応系 >

試薬	使用量
TR mixture (2.5x conc.)	8 $\mu$ l
DNA テンプレート (Positive or Negative Control)	1 $\mu$ l
滅菌精製水	1 $\mu$ l
(別売り) CycleavePCR™ Reaction Mix	10 $\mu$ l
Total	20 $\mu$ l

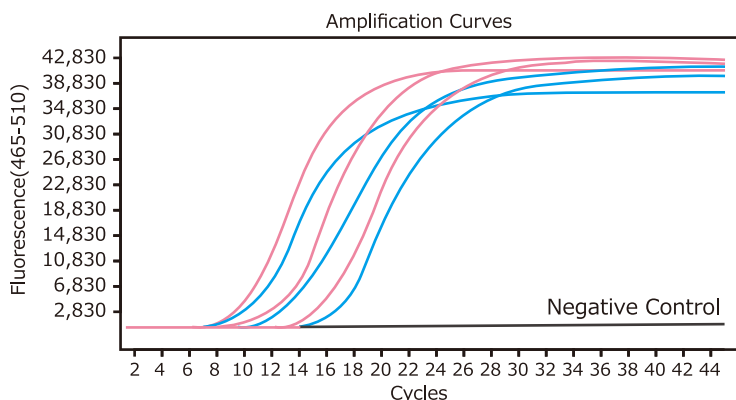
### PCRインキュベーションプログラム

温度 (°C)	時間	サイクル
95°C	30 秒	1
95°C	5 秒	45
55°C	10 秒	45
75°C	15 秒	45

- ※ DNA テンプレート量が 1  $\mu$ l 以上の場合は、テンプレートの添加量に応じて滅菌精製水の添加量を調整してください。
- ※ 調製時には試薬を氷上に置いてください。
- ※ リアルタイム PCR 装置の取扱いは各装置の取扱説明書に従ってください。

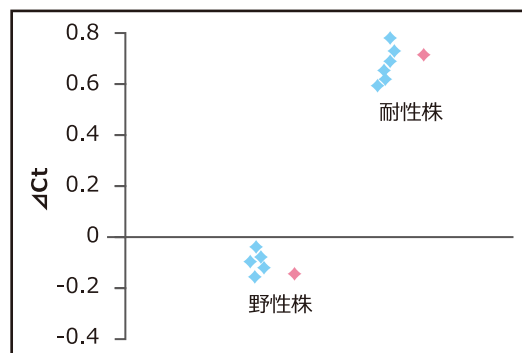
## 10. 測定結果例 (イメージ)

### リアルタイムPCRの増幅曲線



耐性株 (—) は野生株 (—) よりも早くプロブの分解が進む。

### 測定結果の $\Delta$ Ct



計算方法 ...  $\Delta$ Ct = Ct(PC) - Ct(TR)

青点 (◆) ... 野生株由来DNAと耐性株由来DNA

赤点 (◆) ... 菌体から抽出したゲノムDNA

## 11. 参考文献

- (1) Toyotome, Takahito, et al. "First clinical isolation report of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* with TR34/L98H-type mutation in Japan." *Journal of infection and chemotherapy* 23.8 (2017): 579-581.
- (2) Onishi, Kenji, et al. "Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* containing a 34-bp tandem repeat in *cyp51A* promoter is isolated from the environment in Japan." *Medical mycology journal* 58.2 (2017): E67-E70.
- (3) Toyotome, Takahito, et al. "A simple method to detect the tandem repeat of the *cyp51A* promoter in azole-resistant strains of *Aspergillus fumigatus*." *Medical mycology* 56.8 (2018): 1042-1044.

## 12. 注意点

- ・本製品の再販、改変、商用製品の製造をすることは禁止させていただきます。
- ・弊社の許可なく、本製品を第三者に譲渡することは禁止させていただきます。
- ・基礎研究用途以外の目的で本製品のご利用はおやめください。
- ・本製品は遺伝子を検出するため、生菌のみを検出できるものではありません。死菌由来 DNA も検出対象です。
- ・プライマーおよびプロブの設計領域に、遺伝子の変異や欠失 / 挿入がある場合には検出できない場合がございます。また、他の要因による薬剤耐性化については本製品では検出できません。
- ・検査結果判定により発生する問題に関して、北海道システム・サイエンス株式会社は一切の責任を負いません。

 Hokkaido System Science Co., Ltd.

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

URL: <https://www.hssnet.co.jp>

 0120-613-190

TEL: 011-768-5901 FAX: 011-768-5951

E-mail: [goods@hssnet.co.jp](mailto:goods@hssnet.co.jp)