

## 蛍光・目視検出試薬の適用性確認

Loopamp DNA増幅試薬 D は、別売のLoopamp 蛍光・目視検出試薬と組み合わせて使用することで蛍光目視観察による検出が可能です。既に性能が確認されたLAMPプライマーと Loopamp DNA増幅試薬 D および Loopamp 蛍光・目視検出試薬 (FD)を用いて測定を行い、蛍光目視観察による検出が可能であることを確認しました。

### ● 試験方法

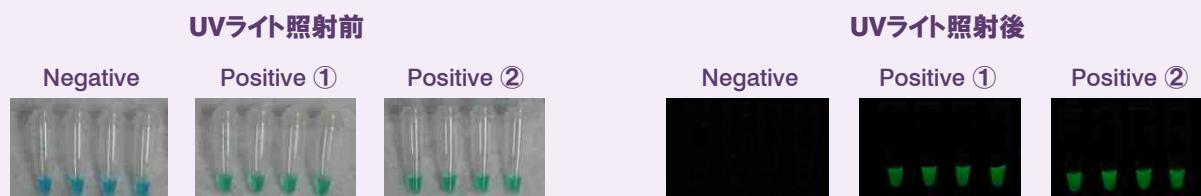
プライマー	検出対象	反応温度	反応時間	AMV添加※
肺炎マイコプラズマ検出用	DNA	66.0 °C	90分	
H1 pdm 2009 インフルエンザウイルス(H1P)検出用	RNA	63.0 °C	90分	○

※反応時に AMV Reverse Transcriptase(1.5 U/μL)を 1.0 μLを添加

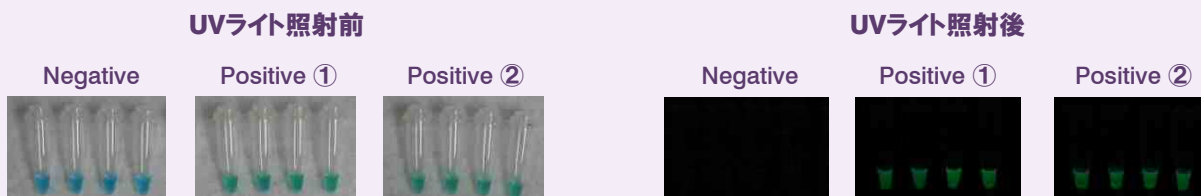
上記のLAMPプライマーを用いて陰性サンプル(Negative)および陽性サンプル2種(Positive①、Positive②)を既定の方法で測定しました。

### ● 測定結果 (社内データ)

#### 肺炎マイコプラズマ検出用プライマー



#### H1P 検出用プライマー



### 操作方法例

- 反応チューブ(Dried DNA Amplification Reagent)にプライマーミックスを15.0 μLずつ分注します※1。
- サンプル溶液 又は コントロールを 10.0 μLずつ添加します※1。
- 既定の方法で乾燥試薬の溶解操作を行った後、増幅反応を行います(60~67°C、30~60分間※2)。
- 増幅反応終了後、紫外線照射装置(波長 240~260nm、350~370nm)を用いて蛍光を確認します。

※1 最終LAMP反応液量が 25.0 μL となるようにプライマーミックスとサンプル溶液の添加量を調整します。

※2 設計したプライマーによって至適条件が異なります。

#### ○ プライマーミックス調製例

Primer: FIP	40 pmol
BIP	40 pmol
LF※3	20 pmol
LB※3	20 pmol
F3	5 pmol
B3	5 pmol
<b>Fluorescent Detection Reagent(FD)</b>	<b>1.0 μL</b>
AMV Reverse Transcriptase(1.5U/μL)※4	(1.0 μL)
Distilled Water	X μL
<b>Total</b>	<b>15.0 μL /テスト</b>

※3 Loop primer を入れることで増幅時間が約1/3に短縮されます。

※4 AMV Reverse Transcriptase は必要に応じて添加してください。

製品の使用上又は取扱い上の注意については、使用説明書をご参照ください。