

2025 年 4 月 24 日

VirFinder 核酸抽出試薬 代替品評価 報告書

島津ダイアグノスティクス株式会社
製品開発部

1. 概要

ウイルス遺伝子検出キット VirFinder で推奨している核酸抽出試薬である QIAamp UltraSens Virus Kit（株式会社キアゲン）が販売終了となった。したがって、核酸抽出試薬の代替品として、キアゲン社より提示された後継製品である QIAamp MiniElute Virus Spin Kit の性能を評価した。

2. 評価実施期間

自 2025 年 3 月 ～ 至 2025 年 4 月

3. 実施場所

島津ダイアグノスティクス株式会社
茨城県結城市北南茂呂 1075 番 2 号

4. 評価実施者

4.1. 研究統括責任者

島津ダイアグノスティクス株式会社 製品開発部 猪井 俊敬

4.2. 評価実施担当者

島津ダイアグノスティクス株式会社 製品開発部 益子 侑里

4.3. 報告書作成担当者

島津ダイアグノスティクス株式会社 製品開発部 益子 侑里

5. 試験条件

リアルタイム PCR 測定条件を表 1、使用したウイルス情報を表 2 および表 3 に示す。

表 1. リアルタイム PCR 測定条件

核酸抽出試薬	QIAamp MiniElute Virus Spin Kit（株式会社キアゲン）：Lot.178040234
PCR 試薬	VirFinder Type-A：Lot.24H448、25B581 VirFinder Type-B：Lot.25B582
PCR 装置	CFX Opus（バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社）
PCR 条件	42℃、10 分 95℃、10 秒 95℃、10 秒 } 5 サイクル 56℃、30 秒 } 95℃、10 秒 } 50 サイクル 56℃、30 秒 } 蛍光検出波長：FAM
測定結果の判定	PCR 装置付属ソフト（CFX Maestro™ ソフトウェア）にて実施 解析法：Regression 法、Baseline Subtracted Curve Fit モード

表 2. ウイルス参照品〔HBV、HCV、HIV-1、HIV-2、PVB19、CMV、EBV（NIBSC）〕

Virus	WHO International Standard	NIBSC Code
HBV	4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT	10/266
HCV	Hepatitis C virus RNA for nucleic acid amplification techniques (6th WHO International Standard)	18/184
HIV-1	HIV-1 RNA (4th International Standard)	16/194
HIV-2	Human Immunodeficiency Virus type 2 RNA (HIV-2) for Nucleic Acid Amplification Techniques (2nd International Standard)	16/296
PVB19	Parvovirus B19 (3rd International Standard)	12/208
CMV	Human Cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification Techniques (1st International Standard)	09/162
EBV	Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (1st International Standard)	09/260

表 3. ウイルス参照品〔HTLV-1、WNV（ZeptoMetrix）〕

Virus	Product Description	Lot No.
HTLV-1	NATtrol Human T Lymphotropic Virus Type I Stock	328887
WNV	NATtrol West Nile Virus (NY2001-6263)	326716

6. QIAamp MiniElute Virus Spin Kit の性能評価

6.1. ウイルス 8 種類（9 項目）の検出性能評価

QIAamp MiniElute Virus Spin Kit を核酸抽出試薬として使用した場合の VirFinder の性能を評価した。

1.0×10⁶ 個のヒト細胞（Jurkat cell：ヒト T 細胞性白血病由来 ECACC No.88042803）および 200 μL のヒト血清（コスモ・バイオ株式会社 Cat#12181201C）にウイルス参照品を 1000 IU もしくは 1000 copies 添加し、被検サンプルとした。核酸を 60 μL で抽出後、得られた核酸抽出液のうち 5 μL を VirFinder に供試し、添加したウイルス参照品が検出可能であるか試験した。

詳細なサンプル調製方法を以下に示す。ウイルス参照品を下記 3 つのグループに分けた。PBS を用いて、それぞれのグループのウイルス参照品を 50 μL あたり 1000 IU もしくは 1000 copies に混合調製した。

ウイルス混合液 A：HBV/HIV-1/PVB19

ウイルス混合液 B：HCV/HIV-2/HTLV-1

ウイルス混合液 C：CMV/EBV/WNV

ヒト細胞サンプルの調製については、予め凍結保存した Jurkat cell（1.0×10⁶ cells/mL）を使用した。凍結細胞を室温にて解凍後、1.5 mL 遠心チューブに 1 mL 分取した。分取後、遠心して細胞を回収し、150 μL の PBS を加えて懸濁した。調製した 1.0×10⁶ cells/150 μL の細胞懸濁液にウイルス混合液を 50 μL 添加し、被検サンプルとした。

ヒト血清サンプルの調製については、150 μL のヒト血清にウイルス混合液を 50 μL 添加して被検サンプルとした。

結果を表 4 に示す。QIAamp MiniElute Virus Spin Kit を使用した場合に、検体に添加した 1000 IU または 1000 copies のウイルス 8 種類（9 項目）が検出可能であることを確認した。

表 4. 測定結果

検体	Type-A								Type-B		
	HBV	HCV	HIV-1			HIV-2	HTLV	PVB19	CMV	EBV	WNV
				HIV-1 LTR	HIV-1 pol						
ヒト細胞	3/3	3/3	3/3	3/3	0/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
ヒト血清	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3

※3/3 は 3 検体中 3 検体すべて陽性となったことを示す。

※HIV-1 については、検査項目とした HIV-1 LTR、HIV-1 pol の陽性数をそれぞれの結果欄に示し、HIV-1 結果欄には LTR、pol のいずれかが陽性であった数を示す。

6.2. HIV-1 の検出性能 追加評価

6.1.において、 1.0×10^6 個のヒト細胞に添加した HIV-1 について LTR は検出されたが pol は不検出となった。そこで、検体の細胞数を 5.0×10^5 個へ変更した場合に pol が検出可能であるか評価した。

サンプルの調製については、予め凍結保存した Jurkat cell (1.0×10^6 cells/mL) を室温にて解凍後、1.5 mL 遠心チューブに 500 μ L 分取した。分取後、遠心して細胞を回収し、150 μ L の PBS を加えて懸濁した。調製した 5.0×10^5 cells/150 μ L の細胞懸濁液に 50 μ L あたり 1000 IU に調製した HIV-1 希釈液を 50 μ L 添加し、被検サンプルとした。核酸を 60 μ L で抽出後、得られた核酸抽出液のうち 5 μ L を VirFinder に供試し、添加した HIV-1 参照品が検出可能であるか試験した。

結果を表 5 に示す。 5.0×10^5 個のヒト細胞に添加した 1000 IU の HIV-1 が LTR と pol の両方で検出可能であることを確認した。

表 5. HIV-1 測定結果（ヒト細胞 5.0×10^5 個）

検体	Type-A		
	HIV-1		
		HIV-1 LTR	HIV-1 pol
ヒト細胞	3/3	3/3	3/3

※3/3 は 3 検体中 3 検体すべて陽性となったことを示す。

※検査項目とした HIV-1 LTR、HIV-1 pol の陽性数をそれぞれの結果欄に示し、HIV-1 結果欄には LTR、pol のいずれかが陽性であった数を示す。

以上