FUJIFILM
Value from Innovation

Wako

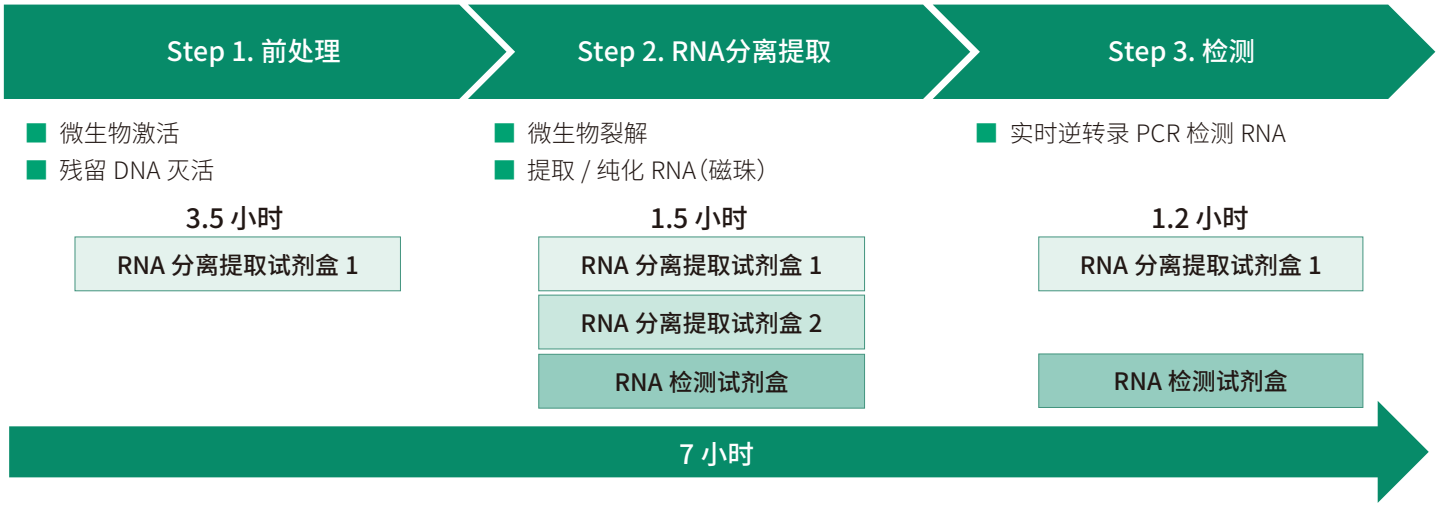
RiboNAT™ 快速无菌检测试剂盒

在注射用药的安全性检测中，多国药典规定的无菌检测法至少需培养 14 天。然而，某些细胞治疗必须在生产后的几天内输注给患者，这使得在给药前完成无菌检测变得困难，这也导致了对能更快提供结果的无菌检测方法的需求日益增长，以提升患者安全性。
RiboNAT™ 是一款采用核酸扩增检测（Nucleic Acid Amplification Test ,NAT）技术的快速无菌检测试剂盒，能够在短短 7 小时内完成检测，与传统方法相比大幅缩短了检测时间。与传统 NAT 检测只针对微生物的基因组 DNA 不同，RiboNAT™ 检测的是核糖体 RNA（rRNA）。由于 rRNA 在微生物中含量较高，这使检测更加灵敏。同时，传统方法容易因死菌残留 DNA 或环境及材料中的污染 DNA 导致假阳性，而 RiboNAT™ 有效减少了这一问题，提高了检测的准确性。

【特点】

- 检测当日即可获取结果（约 7 小时）
- 使用 rRNA 实时逆转录 PCR 法（RT-rt PCR）检测，灵敏度（9 CFU/mL）高于 gDNA 检测
- 降低死菌和残留 DNA 导致的假阳性
- 单次可同时检测多种细菌（需氧和厌氧）和真菌

【实验流程】



【检测试剂盒的规格】

原理	使用荧光探针的One step实时逆转录PCR法
灵敏度	100 RNA copies/reaction
引物/探针序列覆盖率*	细菌：25,748种（95.7%）；真菌：1,683种（92.3%） *_In silico_分析，允许3次错配，数据库：Sliva
目标序列	细菌：23S Ribosomal RNA（检测波长：515-530 nm） 真菌：25/28S Ribosomal RNA（检测波长：675-690 nm） Internal Control（内标）：合成序列（检测波长：560-580 nm）

【检测灵敏度】

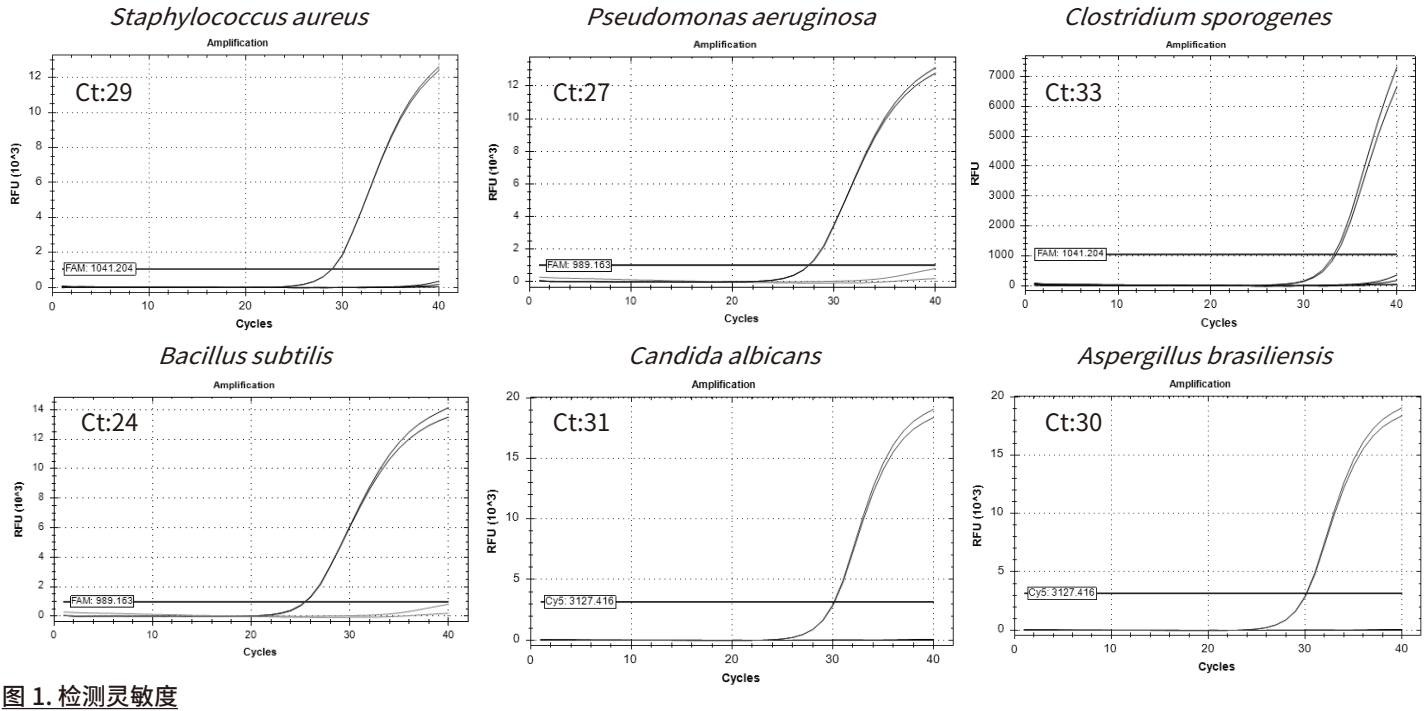


图 1. 检测灵敏度

针对药典规定的六种微生物，制备了浓度为 9 CFU/mL 的微生物悬液。利用 RiboNAT™从这些悬液中提取 RNA，并检测核糖体 RNA（rRNA）。所有微生物的 rRNA 均成功检出，Ct 值均低于 35。

检测灵敏度达 9 CFU/mL

【细胞悬液样品中的检测灵敏度】

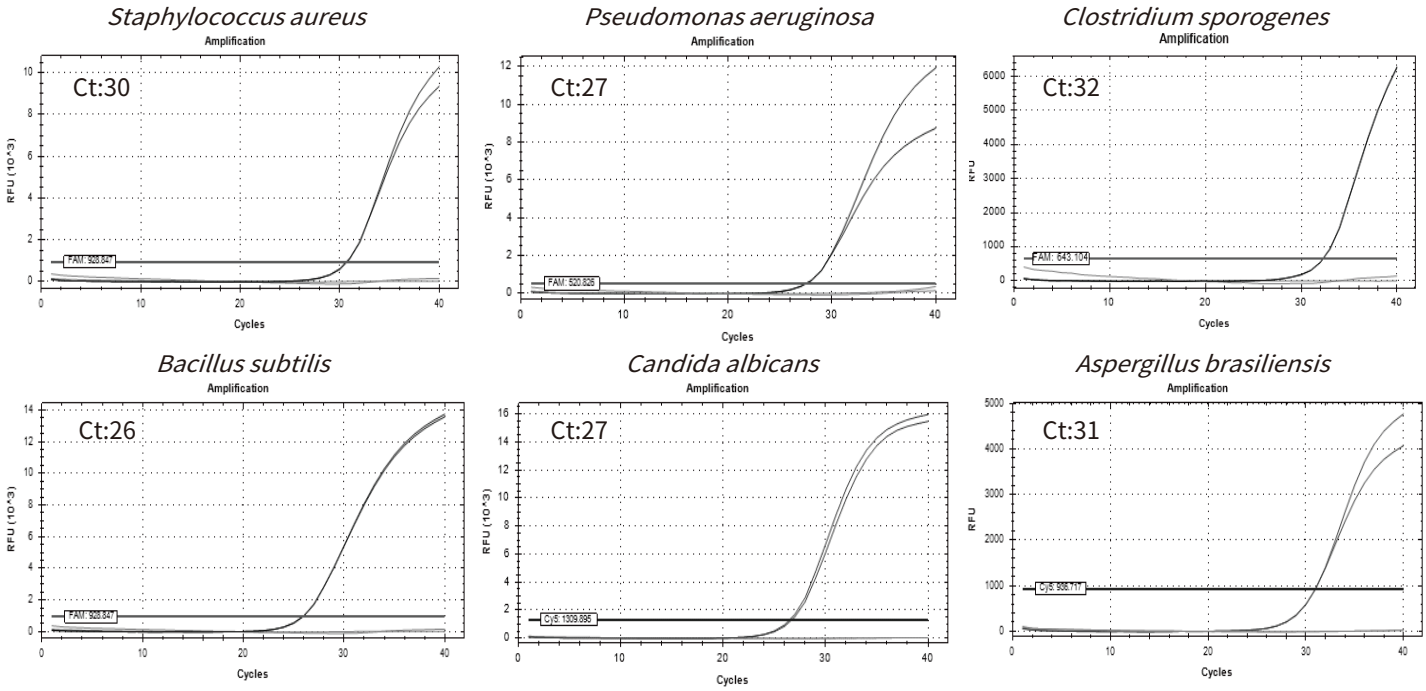


图 2. 细胞悬液样品中的检测灵敏度

针对药典规定的六种微生物，制备了浓度为 9 CFU/mL 的微生物悬液，并分别与 0.25×10^6 cells/mL 的 HEK293 细胞混合。利用 RiboNAT™ 从混合悬液中提取 RNA，并检测 rRNA。所有微生物的 rRNA 均成功检出，Ct 值均低于 35。

此外，所有 6 种菌株在以下条件下也均被检出（数据未显示）：

· 间充质干细胞（MSC）：0.5×10^6 cells/mL

· T-cell：1.0×10^6 cells/mL

细胞悬液样品中的检测灵敏度达 9 CFU/mL

【灵敏度更高的检测方法】

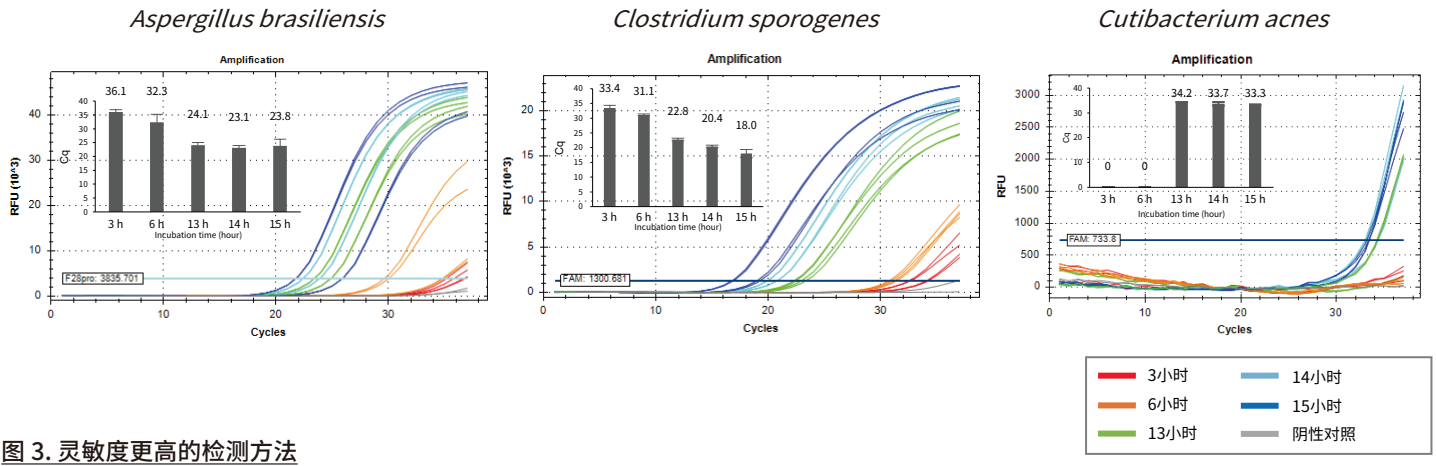


图 3. 灵敏度更高的检测方法

针对巴西曲霉（*Aspergillus brasiliensis*）、产孢梭菌（*Clostridium sporogenes*）和痤疮丙酸杆菌（*Cutibacterium acnes*），制备了浓度为 2 CFU 的微生物悬液。虽然 RiboNAT™ 常规操作流程规定的孵育时间为 3 小时，但该实验将孵育时间延迟至 3-15 小时。孵育结束后，使用 RiboNAT™ 提取 RNA，并检测 rRNA。结果显示，包括严格厌氧菌（产孢梭菌）和生长缓慢的细菌（痤疮丙酸杆菌）在内的三种菌株，在 14 小时或更长时间孵育后均成功检出，Ct 值均低于 35。

经 14 h 孵育，检测灵敏度可达 2 CFU/mL

【降低假阳性】

RiboNAT™ 包含死菌 DNA 灭活试剂以及 DNase 处理步骤，可有效降低样品中残留 DNA 导致的假阳性风险。

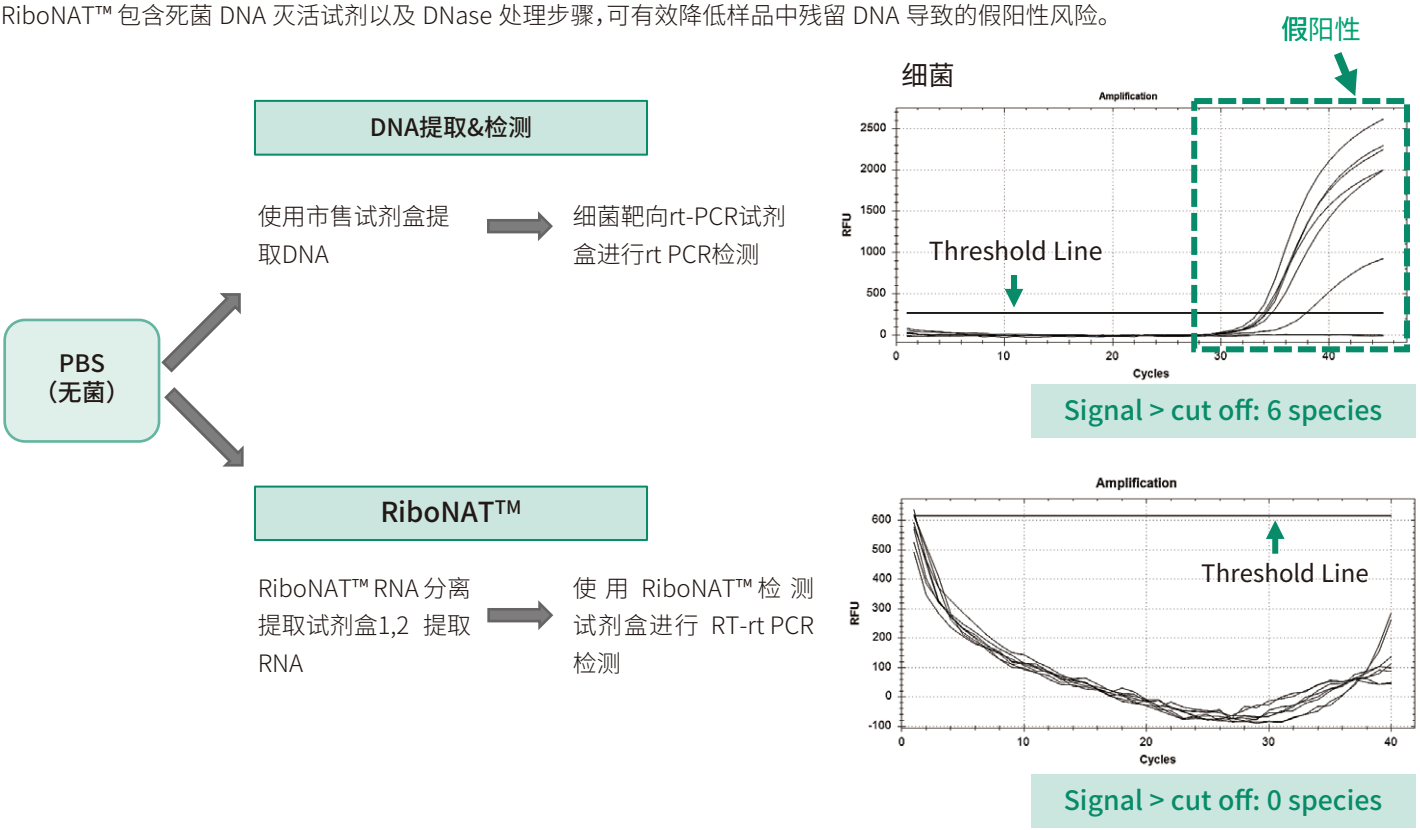


图 4. 降低假阳性

使用商业化的无菌 PBS 作为测试样品，进行细菌核酸检测（NAT）。其中一组实验（上图），使用市售试剂盒提取 DNA，随后进行细菌靶向实时荧光定量 PCR 检测。另一组实验（下图），使用 RiboNAT™ 提取 RNA，随后进行实时逆转录荧光定量 PCR 检测。基于 DNA 的方法中观察到六条扩增曲线，而使用 RiboNAT™ 未检测到任何扩增信号。

RiboNAT™ 可以降低残留 DNA 导致的假阳性

【试剂盒组成】

■ RNA Isolation Kit 1
（RNA 分离提取试剂盒 1）

1. 酶促增强剂
2. 活化剂 1（SCDM）
3. 活化剂 2（TG）×2
4. 核酸灭活剂
5. DNase 溶液
6. 1st-DNase 缓冲液（1）
7. 2nd-DNase 缓冲液（2）
8. 蛋白酶 K 溶液
9. 酶混合液

■ RNA Isolation Kit 2
（RNA 分离提取试剂盒 2）

1. 结合缓冲液
2. 1st- 清洗缓冲液（1）
3. 2nd- 清洗缓冲液（2）
4. 裂解缓冲液
5. 裂解增强剂
6. 洗脱缓冲液 ×3
7. 磁珠
8. 样品管 ×2
9. 洗脱管

■ Detection Kit
（RNA 检测试剂盒）

1. 水
2. 阳性对照 RNA
3. 内标 RNA
4. 检测混合液 ×2

【产品列表】

产品编号	产品名称	产品规格	产品等级	储存温度
291-98401	RiboNAT™ Rapid Sterility Test - RNA Isolation Kit 1 RNA分离提取试剂盒1	50 Tests	微生物检测用	-20°C
297-98001	RiboNAT™ Rapid Sterility Test - RNA Isolation Kit 2 RNA分离提取试剂盒2	50 Tests		室温
293-98101	RiboNAT™ Rapid Sterility Test - Detection Kit RNA检测试剂盒	100 Tests		-20°C

上述试剂仅供实验研究用，不可用作“医药品”、“食品”、“临床诊断”等。

Listed products are intended for laboratory research use only, and not to be used for drug, food or human use. / Please visit our online catalog to search for other products from FUJIFILM Wako: https://labchem-wako.fujifilm.com / This leaflet may contain products that cannot be exported to your country due to regulations. / Bulk quote requests for some products are welcomed. Please contact us.

FUJIFILM

富士胶片和光(广州)贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼3002、3003、3011室

北京 Tel：13611333218　　上海 Tel：021 62884751

广州 Tel：020 87326381　　香港 Tel：852 27999019

询价：wkgz.info@fujifilm.com

官网：labchem.fujifilm-wako.com.cn

官方微信

目录价查询

2510WACT01