DryADD™
サツマイモ基腐病検出 LAMP キット
Code No. DR-010-01

【はじめにお読みください】

このたびは、**DryADD™ サツマイモ基腐病検出 LAMP キット**をお買い上げいただき、誠にありがとうございます。この製品説明書をよくお読みの上、正しい方法で試薬を使用してください。

使用上の注意

1. 本キットは、LAMP 法を用いてヒルガオ科植物に感染する糸状菌（カビ）の一種である *Diaporthe destruens*（旧学名； *Plenodomus destruens*）を検出することにより、サツマイモ基腐病の検査を行うための試験研究用試薬です。医療行為および臨床診断等の目的では使用できません。

2. 本キットの保存方法は、**【製品内容】**（3 ページ）に記載していますのでご確認ください。各試薬は適切な条件下にて保存し、製品ラベルに記載された有効期限（Exp）内に使用してください。

3. 本キットを使用する際は、この**製品説明書**の記載内容に従ってください。記載内容と異なる使用方法および使用目的により発生するトラブルに関しましては、株式会社ニッポンジーンでは一切の責任を負いかねますので、あらかじめご了承ください。

4. 本キットによる判定結果を二次利用する場合は、必ず使用者の責任の下で行ってください。製品性能の異常によって発生するトラブルの場合を除き、株式会社ニッポンジーンでは一切の責任を負いかねますので、あらかじめご了承ください。

5. 検査環境の汚染を防ぐため、LAMP 法反応後サンプルおよび **Dd 陽性コントロール**の電気泳動法等による操作やオートクレーブ高圧滅菌処理は行わないでください。

6. 本キットに含まれていない化合物を併用する場合は、使用する化合物の危険性に関して十分な知識が必要です。また、本キットに含まれている試薬に他の化合物を混合しないでください。本キットの安全な取り扱いについては株式会社ニッポンジーンホームページにて安全データシート（SDS）を公開していますので、ご参照ください。
   株式会社ニッポンジーン； https://www.nippongene.com/kensa/list.html

7. 本キットは食べ物ではありません。飲み込んだり、目に入れたりしないようご注意ください。検査中は皮膚等に試薬が触れないよう、白衣、手袋等で身体を保護してください。

8. LAMP（Loop-mediated Isothermal Amplification）法は、栄研化学株式会社により開発された日本産の等温遺伝子増幅法です。

I 製品説明

【DryADD™ サツマイモ基腐病検出 LAMP キットの概要】

本キットは LAMP 法を利用してサツマイモ基腐病の病原体である *Diaporthe destruens*（旧学名；*Plenodomus destruens*）を検出するキットです。LAMP 法はインフルエンザウイルス感染およびノロウイルス、レジオネラ属菌、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌等の検査にも用いられている迅速、簡便な DNA 増幅技術であり、その優れた特異性と高い感度を最大の特長としています。本キットでは、LAMP 法により *Diaporthe destruens* ゲノム DNA の一部を増幅し、増幅の有無から *Diaporthe destruens* の存在を判定します。

検出に必要な操作は、**【検査手順】**（6 ページ）に記載の方法でサツマイモ検体から抽出した *Diaporthe destruens* ゲノム DNA を検査溶液（**Dd 検出用乾燥試薬を Dd 試薬溶解液**で溶解）に加えて 65°C に 40 分間保温するのみであり、きわめて簡便です。サツマイモ検体中に *Diaporthe destruens* が存在する場合、本キットに含まれている LAMP プライマーセットによって、*Diaporthe destruens* ゲノム DNA に特徴的な配列が増幅されます。一方で、サツマイモ検体中に *Diaporthe destruens* が存在しない場合には、DNA 増幅は起こりません。

判定にはDNA増幅の有無を蛍光発色の有無によって確認する目視判定法を採用しており、DNA増幅反応から検出までを完全閉鎖系（同一反応チューブ内）で行うため、検査のコンタミネーションリスクが少なく、安全に短時間で*Diaporthe destruens*ゲノムDNAの検出を行うことが可能です。

【LAMP（Loop-mediated Isothermal Amplification）法】

LAMP法は、一定温度でDNA増幅反応が進行する画期的な技術です。従来の方法と比較して特異性に優れ、またその高いDNA増幅反応効率から、短時間反応および簡易検出が可能である等の利点を有しています。LAMP法の原理の詳細については、栄研化学株式会社ホームページをご参照ください。

栄研化学株式会社

Eiken GENOME SITE； https://loopamp.eiken.co.jp/

【*Diaporthe destruens* とその検出について】

Diaporthe destruens はヒルガオ科植物に感染する糸状菌（カビ）の一種です。サツマイモに感染した場合、植物全体が萎凋、枯死する症状を示し、生育不良となります。また、感染した種芋から苗、周囲にも感染が広がり、土壌中では植物残渣上で越冬できることが報告されています。

Diaporthe destruens が感染した場合、サツマイモの栽培において、品質・収量の低下など多大な被害をもたらすとされるきわめて重要な植物病原体です。本キットに含まれる LAMP プライマーセットを用いた *Diaporthe destruens* 検出技術は東京大学 植物病院®により開発されました。

東京大学 植物病院®； https://park.itc.u-tokyo.ac.jp/ae-b/hospital/
住所： 東京都文京区弥生1-1-1
TEL： 03-5841-0567
E-mail： byoin@todaiagri.jp

II 製品内容

【製品内容】

DryADD™ サツマイモ基腐病検出 LAMP キット
48 テスト用

試薬名（頭部ラベル表記）	頭部ラベル色	内容量	本数	保存温度
Dd 検出用乾燥試薬	–	48 チューブ	8 wells x 6 本	室温（20–25°C）
Dd 試薬溶解液（試薬溶解液）	橙色	400 µL	6 本	
Dd 陽性コントロール（陽性コントロール）	灰色	–	6 本	
Dd 陽性コントロール溶解液（PC 溶解液）	緑色	400 µL	1 本	
ミネラルオイル（ミネラルオイル）	青色	400 µL	6 本	

製品説明書（本紙）　1 部

重要

DNA 簡易抽出試薬（0.5 N NaOH、100 mM Tris-HCl（pH8.0））はキットに含まれておりませんので、別途ご用意ください。
DNA 簡易抽出試薬の使用方法に関しましては、【検査手順】（6 ページ）をご確認ください。
また、EDTA（エチレンジアミン四酢酸）等のキレート化合物が存在すると検査反応の進行に関わらず検査溶液が蛍光を発色しますので使用しないでください。

取り扱い上の注意

- 本キットは室温（20–25°C）で安定に保存できます。
- 試薬は元のアルミパックに入れて保管し、製品ラベルに記載された有効期限（Exp）内に使用してください。特に、**Dd 検出用乾燥試薬**と **Dd 陽性コントロール**は吸湿による劣化を防止するために、同封の乾燥剤と共に元のアルミパックに入れ、チャックを完全に閉じてください。
- 本キットでは、1 回の検査に 8 wells（8 テスト分）使用することで、6 回分の検査反応を行うことが可能です。核酸の混入による誤判定を防ぐために、**Dd 試薬溶解液**、**Dd 陽性コントロール**、**ミネラルオイル**は検査毎の使い捨てを推奨します。1 回の検査が 8 wells 以下となる場合には、必要に応じて試薬を小分け保管、使用してください。
  ※**Dd 検出用乾燥試薬**は 8 連チューブに分注されていますので、反応数に応じて乾燥試薬に衝撃を与えない様、はさみ等を用いて切り分けてご使用ください。
- 誤判定を防ぐため、溶解後の **Dd 検出用乾燥試薬**を室温あるいは冷蔵庫等に長時間放置したり、過度の冷却で凍結させたりしないようご注意ください。
- **Dd 陽性コントロール**は、*Diaporthe destruens* ゲノム DNA に特徴的な配列を含む DNA です。検査環境への汚染を防ぐため、使用の際には溶液を飛散させたり、溶液に触れたフィルター付きマイクロチップが他の器具や試薬に接触したりしないようご注意ください。
- 連続分注を行うと試薬への汚染が発生する可能性がありますので、フィルター付マイクロチップは 1 回分注するごとに使い捨てとして使用してください。

III 必要な器具、機器、試薬

- DNA 抽出用チューブ（1.5 mL あるいは 2.0 mL）
- ピンセット（核酸の汚染がないもの）
- マイクロピペット（0.5–10 µL、10–100 µL、100–1,000 µL）
- フィルター付マイクロチップ（滅菌済）
- チューブラック
- アルミブロック（あるいはプレートラック）
- ボルテックスミキサー
- 遠心分離機（16,200 x g を設定可能なもの）
- 簡易遠心機（1.5 mL チューブ用および PCR 用 0.2 mL 反応チューブ用）
- UV 照射装置（240–260 nm あるいは 350–370 nm の範囲の波長を出力するもの）
- インキュベーター（ウォーターバス、ヒートブロック、サーマルサイクラー、エアーインキュベーター等、65°C を保持する機器）
- 保護ゴーグル
- 使い捨て手袋
- 使い捨てカミソリ
- ペッスル
- 0.5 N 水酸化ナトリウム（NaOH）
- 100 mM Tris-HCl (pH 8.0)
- 氷（クラッシュアイス）

IV 使用方法

【検査を行う前の準備および注意】

器具の準備

■ **器具**

器具	使用方法
マイクロピペット	原則として各区域専用とし、もし他の区域で使用した場合は核酸除去操作を施してから元の場所に戻してください。
チューブラック	原則として各区域専用とし、もし他の区域で使用した場合は核酸除去操作を施してから元の場所に戻してください。
チューブ	市販のガンマ線滅菌済チューブ等、核酸フリー、ヌクレアーゼフリーのグレードを選択してください。
フィルター付マイクロチップ（滅菌済）	市販のガンマ線滅菌済疎水性フィルター付チップ等、核酸フリー、ヌクレアーゼフリーのグレードを選択し、各区域にて開封してください。また、連続分注を行うと試薬への汚染が発生する可能性がありますので、1 回ごとに使い捨てとして使用してください。
筆記用具	各区域専用とし、持込書類を置く専用のスペースを確保してください。
手袋	使い捨てとし、汚染が疑われる場合はすぐに手袋を交換してください。
白衣	各区域専用とし、袖口からの汚染に注意してください。

検査環境

LAMP 法は高感度な DNA 増幅技術であるため、検査環境に LAMP 反応後の増幅産物等、鋳型となる核酸の汚染が発生すると、以降正確な検査を行うことが困難になります。サンプルの取り扱いにおいては、作業用の着衣および器具への付着に十分注意し、着衣の交換を徹底してください。以後の検査における誤判定を防止するため、使用済みのチップ、チューブ、検査後サンプルは二重にしたビニール袋にまとめて廃棄してください。また、LAMP 反応後の増幅産物の電気泳動等による操作およびオートクレーブ高圧滅菌処理は行わないでください。

核酸抽出および核酸増幅を実施していない（核酸による汚染が存在しない）クリーンベンチあるいは作業台を試薬調製作業区域とし、マスターミックスは試薬調製作業区域にて作製してください。試薬調製作業区域では LAMP 法において鋳型となる核酸を含む溶液、試薬類の取り扱いは行わないでください。マスターミックスへのサンプル添加を行うスペースは試薬調製作業区域と区分し、専用の核酸取扱区域を設けてください。

■ 核酸除去操作

器具は常に清潔に保ってください。洗浄が可能である器具は大量の水道水でよく濯ぐことにより、付着した核酸を希釈、除去できます。

高濃度の核酸を取り扱った場合など、核酸による汚染が疑われるような場合には、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて検査環境中に存在する核酸の除去操作を行います。次亜塩素酸ナトリウム水溶液は塩素ガスを発生するので、使用の際には換気に十分注意してください。また、金属に対する腐食性があるため、金属に対して使用する際は、迅速に塩素成分を拭き取る等の対応が必要です。高温環境下における劣化が著しいため、1%水溶液調製後の経過日数や保存温度に注意してください。

非金属の器具は次亜塩素酸ナトリウム水溶液に 1 時間以上浸し、よく濯いで乾燥します。作業台、器具は常に清潔に保ち、定期的に次亜塩素酸ナトリウム水溶液による拭き取り清掃を行います。

＜詳細な核酸除去方法＞

i) 使い捨て手袋を装着します。
ii) 有効塩素濃度 10,000 ppm（1%）の次亜塩素酸ナトリウム水溶液を準備します。
iii) 次亜塩素酸ナトリウム水溶液を含ませたペーパータオルで作業台、器具を丁寧に拭き、5 分間そのまま放置します。
iv) 5 分間の処理が終了したら塩素成分をペーパータオルで拭き取り、その後、蒸留水等核酸の混入がない水を含ませたペーパータオルで確実に塩素成分を除去します。

【検査手順】

※下記工程（A, B, C）の内、核酸の混入による誤判定を防ぐために、
「鋳型 DNA を調製（A, B）する部屋」と「検査溶液を調製（C）する部屋」を分けて実施してください。
※各工程の同時進行は避け、A→B→C の順に実施してください。
※各工程を実施する際は手袋を着用し、次工程に入る前に新しい手袋に付け替えてください。

工程 A: サツマイモからの DNA サンプル調製

簡易抽出試薬の準備

A-1. 以下のチューブを準備します。
① 0.5 N NaOH 150 µL が入った 1.5 mL チューブ: 検体と同数
② 100 mM Tris-HCl (pH 8.0) 150 µL が入った 1.5 mL チューブ: 検体数+追加 1 本
※追加した 100 mM Tris-HCl (pH8.0) は「**Dd 陰性コントロール溶液**」とします。

サツマイモ検体の採取

A-2. カミソリを使って検体の植物から 0.2 x 1 cm を切り出し（厚さ 0.1～0.2 cm)[※1]、①に入れます。
（サンプルが複数ある場合は、その都度、手袋・カミソリを交換します。）

※1: 切り出し部位について
【塊根】
・外観で腐敗が認められる場合: 腐敗して柔らかくなっている部分を用います。
・腐敗が認められない場合: いもの基部（つるに繋がっている側）を厚さ約 1 cm の輪切りにし、内部で腐敗が疑われる部分（腐敗していなければ中心部分）を用います。
【つる】
・外観で黒色～黒褐色の変色が認められる場合: その部分を用います。
・変色が認められない場合: 地際部を用います。

DNA 抽出

A-3. チューブ内の植物体をペッスルで磨砕し、16,200 x g で 5 分間常温にて遠心します。
A-4. 上清 15 µL を回収し、②に加えた後、ボルテックスミキサーにて数秒間撹拌し、スピンダウンします。
A-5. 1 µL を LAMP 反応の「**DNA サンプル**」として使用します。

工程 B: Dd 陽性コントロール溶液の調製

試薬の溶解

B-1. **Dd 陽性コントロール**を取り出します。
※チューブを取り出した後、試薬の吸湿を避けるため、残りの試薬は直ちに元のアルミパックで密封してください
B-2. 上記チューブに **Dd 陽性コントロール溶解液** 10 µL を添加した後、スピンダウンをします。
※乾燥化された **Dd 陽性コントロール**はチューブの底部に付着（赤色試薬）しているため、**Dd 陽性コントロール溶解液**と確実に接触させてください。
B-3. 室温で 5 分間、静置します。
B-4. タッピングあるいはボルテックスした後、スピンダウンし、「**Dd 陽性コントロール溶液**」とします。

工程 C: 検査溶液の調製と LAMP 反応

試薬の準備

C-1. ピンセットを用いて **Dd 検出用乾燥試薬**を必要本数（検体数+コントロール数）取り出します。
※チューブ上方に乾燥試薬が付着していた場合には、チューブを軽く振って乾燥試薬を
チューブ底に落としてから、アルミブロックあるいはプレートラックに立て、氷上に静置します。
※試薬の吸湿を避けるため、残りの試薬は直ちに元のアルミパックで密封してください。

C-2. **Dd 試薬溶解液、ミネラルオイル**を取り出します。チューブをタッピングあるいはボルテックス
ミキサーにて 1 秒間 x 3 回の撹拌により混合し均一にした後、スピンダウンを行います。

検査溶液の作製

C-3. **Dd 検出用乾燥試薬**のキャップを開け、**Dd 試薬溶解液** 24.0 µL を添加して、キャップを閉じます。
2 分間静置して、乾燥試薬を溶解させます。これを**検査溶液**とし、氷上に静置しておきます。
※乾燥試薬と試薬溶解液の間に気泡が見られる場合には、スピンダウンにより気泡を除去し、
乾燥試薬と試薬溶解液が確実に触れる様にしてください。

DNA サンプルの添加

C-4. 陰性コントロール用チューブに **Dd 陰性コントロール溶液**を 1.0 µL 添加してキャップを閉じます。
次に、サンプル反応用チューブに **DNA サンプル**を 1.0 µL 添加してキャップを閉じ、
最後に、陽性コントロール用チューブに **Dd 陽性コントロール溶液**を 1.0 µL 添加して
キャップを閉じます。
※蒸発による検査溶液の濃縮が起こると検査反応の効率が著しく低下しますので、必要に応じて
ミネラルオイルを 20.0 µL 添加してください。インキュベーター（恒温器）として、
ホットボンネット機能を有するサーマルサイクラーを使用する場合には、
ミネラルオイルの添加は不要です。
※**ミネラルオイル**を添加する場合、必ず乾燥試薬の溶解を確認した後に実施してください。
溶解前の乾燥試薬に**ミネラルオイル**が触れた場合、乾燥試薬が不溶化することがあります。

検査反応

C-5. 全てのキャップを閉じた状態で転倒混和して均一にした後、スピンダウンを行い、
インキュベーター（恒温器）を用いて 65°C で 40 分間、保温します。
※混合の際は気泡が発生しないよう、ボルテックスミキサーによる撹拌は行わないでください。

C-6. 80°C で 2 分間の熱処理により、検査反応を停止させます。

サンプルの判定

色の変化の有無を確認してください。陽性の場合は検査溶液が鮮明な黄緑色に変化し、
陰性の場合は淡い赤色のまま変化しません。色の変化が認められる場合、サンプル中に目的の検体が存在する可能性があります。この発色は蛍光に由来しているため、UV を照射することでより正確な判定が可能です。この場合は、別途 UV 照射装置（波長: 240–260 nm あるいは 350–370 nm）およびゴーグルあるいはフェイスシールドが必要になります。

コントロールを使用されている場合は、最初に陽性コントロール検査溶液が鮮明な黄緑色に変化し、陰性コントロール検査溶液は淡い赤色のまま変化していないことを確認してください。
これを満たしていない場合は検査結果を無効とし、原因を追究してください。

重要

本キットの判定結果に関わらず、*Diaporthe destruens* の感染が疑われる場合には、お近くの植物病院（例: 東京大学 植物病院®）までご相談ください。

V トラブルシューティング

本キットの使用において何らかの問題が発生した場合は、以下の項目に従って対処してください。その他の不明な点については株式会社ニッポンジーンまでお問い合わせください。

問題点	原因および対処法
検査溶液が正確な発色を示さない	**A. 検査反応終了後、速やかに判定を行ってください。** 検査溶液は長時間放置すると検査反応の進行に関わらず蛍光の発色あるいは消光が起こり、誤判定の原因となりますので、判定は検査反応終了後速やかに行ってください。 **B. 試薬あるいは検査環境に汚染が存在する。** 陰性コントロール検査溶液が発色している場合、鋳型となる核酸の混入が疑われます。試薬および検査環境の汚染モニタリング、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液による検査器具、機器類の拭き取り操作を行い、汚染を完全に除去した後に検査を実施してください。 **C. 反応温度、操作手順に誤りがある。** 検査の工程で問題が発生していないか確認してください。
検査溶液が蒸発した	**A. 反応チューブが均一に加熱されていない。** ウォーターバス、ヒートブロックを使用する場合に、反応チューブが均一に加熱されないと蒸発による検査溶液の濃縮が起こり、検査反応の効率が低下します。本キットに添付の**ミネラルオイル**を必ず添加してください。
蛍光の発色の有無を判断しにくい	**A. 励起波長が合っていない。** 240 –260 nm あるいは 350 – 370 nm の波長を出力する UV 照射装置が必要です。波長が 320 nm 付近の場合、陰性でも蛍光を発する場合がありますので、ご注意ください。

VI 参考文献・資料

1. 前島　健作、山次　康幸（2019）サツマイモに甚大な被害を与える侵入病害「基腐病」の超高感度・簡易・迅速診断 砂糖類・でん粉情報 2019 年 10 月号: 55

2. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. (2000) Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* **28** (12): e63

3. Prince AM, Andrus L. (1992) PCR: how to kill unwanted DNA. *Biotechniques.* **12** (3): 358

- 記載内容や製品仕様、価格に関しては予告無しに変更する場合があります。
- 本製品説明書の記載内容は2026年6月現在のものです。最新の製品説明書は株式会社ニッポンジーンホームページからダウンロードしてください。
- 「ニッポンジーン」および「NIPPON GENE」は、株式会社ニッポンジーンの日本における登録商標です。
- その他、製品名等の固有名詞は各社の商標あるいは登録商標です。
- 記載内容の複製、転載を禁止します。

本品に関するお問い合わせ先

株式会社ニッポンジーン

TEL 076-451-6548

URL https://nippongene-analysis.com

お問い合わせは、お電話もしくはWEBフォームより承っております。

Copyright © 2026 Nippon Gene Co., Ltd.