

Primers for the *ipaH* gene of *Shigella* sp. and EIEC

Primer Set IPA-1, IPA-2

Code No. S017 Size: 1,000 pmol each
Conc.: 19 pmol/μl

Supplied Reagents:
10X PCR Buffer 600 μl

Detectable Gene :

ipaH gene of *Shigella* sp. and enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

Amplified Fragment : 242 bp

Form : Solution in sterile water

Storage : -20°C

Application Example :

1. Reaction mixture for PCR (total 50 μl)

<i>TaKaRa Taq</i> TM *1 (5 U/μl)	0.25 μl
10X PCR Buffer*2	5 μl
dNTP Mixture*3 (2.5 mM each)	4 μl
Template*4	5 μl
Primer IPA-1	0.5 μl
Primer IPA-2	0.5 μl
Sterile purified water	34.75 μl
Total	50 μl

(Reaction mixture should be prepared on ice.)

- * 1 *TaKaRa Taq* Hot Start Version (Cat. #R007A) besides *TaKaRa Taq* (Cat. #R001A) can also be used.
- * 2 Supplied with the Primer Set
- * 3 Supplied with *TaKaRa Taq* (Cat. #R001A)
- * 4 Purified DNA or heat extracted sample can be used as the template. Preparation of heat extracted sample ; Culture the bacteria in L-broth medium at 37°C for over night. Add 90 μl of sterile water into 10 μl of the culture broth, and heat at 95°C for 5 min. Centrifuge to remove the residue of bacteria and use the supernatant as a sample. When higher sensitivity is required to detect from low population sample, centrifuge 1 ml of the culture broth at 5,000 rpm for 5 min and discard the supernatant. Suspend the precipitated bacteria in 100 μl of sterile water. Heat at 95°C for 5 min, centrifuge to remove the residue, and use the obtained supernatant as a sample.

2. PCR Condition

94°C	1 min	} 35 cycles
55°C	1 min	
72°C	1 min	

Precautions before use:

This product is designed for detection of the target gene DNA, and detects not only living bacteria but also inactivated bacteria.

The target gene may not be detected when there is mutation, deletion, or insertion in the genomic sequences correspond with the primers.

Confirm positive samples with another microbiological method. (Takara Bio is not responsible for any actions taken as a result of analytical determinations made with this product.)

References :

- 1) Hartman A B, Venkatesan M, Oaks E V, and Buysse J M. Sequence and molecular characterization of a multicopy invasion plasmid antigen gene, *ipaH*, of *Shigella flexneri*. *J Bacteriol.* (1990) **172**: 1905-1915.
- 2) Watanabe H, Arakawa E, Ito K, Kato J, and Nakamura A. Genetic analysis of an invasion region by use of a Tn3-lac transposon and identification of a second positive regulator gene, *invE*, for cell invasion of *Shigella sonnei*: Significant homology of *invE* with parB of plasmid Pl. *J Bacteriol.* (1990) **172**: 619-629.

Manufactured by SHIMAZU CORPORATION.

TaKaRa Taq is a trademark of Takara Bio Inc.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

Primers for the *ipaH* gene of *Shigella* sp. and EIEC

Primer Set IPA-1, IPA-2

(赤痢菌および腸管侵入性大腸菌 (EIEC) *ipaH* 遺伝子検出用)

Code No. S017 容量：1,000 pmol each
濃度： 19 pmol/ μ l

添付試薬：
10 \times PCR Buffer 600 μ l

ウェブサイトに掲載している bacteria_primer_set の参考資料もあわせてご確認ください。

●検出遺伝子 赤痢菌および腸管侵入性大腸菌 (EIEC) *ipaH* 遺伝子

●増幅産物 242 bp

●形状 滅菌水溶液

●保存 - 20 $^{\circ}$ C

●使用例

1. 反応液組成

TaKaRa Taq * ¹ (5 U/ μ l)	0.25 μ l
10 \times PCR Buffer * ²	5 μ l
dNTP Mixture * ³ (2.5 mM each)	4 μ l
Template * ⁴	5 μ l
Primer IPA-1	0.5 μ l
Primer IPA-2	0.5 μ l
滅菌精製水	34.75 μ l
Total	50 μ l

(反応液は氷冷下で調製する)

* 1 : TaKaRa Taq (製品コード R001A) のほか、TaKaRa Taq Hot Start Version (製品コード R007A) も使用できる。

* 2 : 本 Primer Set に添付している。

* 3 : TaKaRa Taq (製品コード R001A) に添付している。

* 4 : 精製 DNA または熱抽出サンプルを使用。なお、熱抽出サンプルは、菌体を L-broth 培地中で 37 $^{\circ}$ C 一晚培養した培養液 10 μ l に、滅菌水 90 μ l を加え、95 $^{\circ}$ C、5 分間加熱後、遠心分離により菌体の残渣を除いた上清液を使用する。さらに感度が要求される場合は、同培養液 1 ml を遠心 (5,000 rpm、5 分間) 後上清を除き、菌体を 100 μ l の滅菌水に懸濁する。これを 95 $^{\circ}$ C、5 分間加熱後、遠心分離により残渣を除いた上清を使用する。

2. PCR 条件

94 $^{\circ}$ C	1 min.] 35 cycles
55 $^{\circ}$ C	1 min.	
72 $^{\circ}$ C	1 min.	

●使用に際して

- ・本キットは遺伝子検出であるため、不活化された細菌も検出し、生菌のみを検出対象とするものではありません。また、設計した Primer の配列内に遺伝子の変異や欠損/挿入が生じた際には、検出できない場合があります。(検査結果判定により発生する問題に関して、タカラバイオ株式会社は一切の責任を負いません。)
- ・判定の確定には、遺伝子検査だけではなく、培養検査などの結果も併用の上、ご判断ください。

●参考文献

- 1) Hartman A B, Venkatesan M, Oaks E V, and Buysse J M. Sequence and molecular characterization of a multicopy invasion plasmid antigen gene, *ipaH*, of *Shigella flexneri*. *J Bacteriol.* (1990) **172**: 1905-1915.
- 2) Watanabe H, Arakawa E, Ito K, Kato J, and Nakamura A. Genetic analysis of an invasion region by use of a Tn3-lac transposon and identification of a second positive regulator gene, *invE*, for cell invasion of *Shigella sonnei*: Significant homology of *invE* with parB of plasmid Pl. *J Bacteriol.* (1990) **172**: 619-629.

本製品は、株式会社島津製作所で製造されたものです。

●注意

本製品は食品分析および環境分析用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v201812