

PVY-N ELISA ホクドー

試薬構成

96 ウェルプレート 1 枚分

(2~8℃ 保存)

構 成 品	包 装	数 量	備 考
抗体固相プレート (Anti PVY IgG 固相プレート)	96 ウェル/プレート	1 プレート	乾燥プレート
酵素標識抗体原液 (ALP 標識 Anti PVY IgG)	0.3mL	1 本	100 倍濃縮液
濃縮磨砕液 (リン酸緩衝液、Tween20)	100mL	1 本	5 倍濃縮液
反应用緩衝液 (PBS、BSA、Tween20)	26mL	1 本	
濃縮洗浄液 (リン酸緩衝液、Tween20)	100 mL	2 本	5 倍濃縮液
酵素基質液 (PNPP 溶液)	26 mL	1 本	
反応停止液 (2mol/L NaOH)	13 mL	1 本	
陽性コントロール	1mL	2 本	
陰性コントロール	1mL	2 本	
プレートシール		2 枚	

*0.1%アジ化ナトリウム含有：酵素標識抗体原液、濃縮磨砕液、反应用緩衝液、濃縮洗浄液、陽性、陰性コントロール

操 作 法

■準備するもの

- ・精製水・マイクロプレートリーダー (主波長 405 nm 付近) ・遠心機 (3000rpm, 4℃が可能なもの)
- ・マイクロピペット (可変式 200, 1000 μL) ・マイクロプレートプレートウォッシャー・リザーバー
- ・マルチチャンネルマイクロピペット (50-200 μL) ・ディスポーザブルチューブ (1.5mL、15mL) ・ペーパータオル

■試薬の調製

1. 酵素標識抗体液の調製：必要ウェル数に応じて酵素標識抗体原液を反应用緩衝液を用いて、100 倍希釈し使用する。
例：6 列 48 ウェル = 120 μL + 11.88mL (反应用緩衝液)
2. 磨砕液の調製：濃縮磨砕液 100 mL に精製水 400 mL を加えて 5 倍希釈し磨砕液とする。
3. 洗浄液の調製：濃縮洗浄液 100mL に精製水 400ml を加えて 5 倍希釈し洗浄液とする。

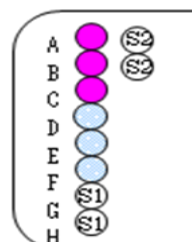
■測定方法 注意：各試薬は、室温に戻してから使用して下さい。

1. 測定サンプル作製

- 1) サンプル各 1g を量り取り、乳鉢内で細かくはさみで裁断。
- 2) 希釈した磨砕液を 5mL 添加し乳鉢で磨砕。
- 3) 磨砕した液を 15mL 遠心チューブに移す。
- 4) さらに乳鉢に磨砕液 5 mL を添加し洗い、洗浄液も同じチューブに移す。
- 5) 3000rpm 10min 4℃遠心し上清を取り、10 倍希釈サンプルとする。

2. 一次反応

- 1) 抗体固相プレート必要数をアルミ袋より取り出す。(コントロールは 3 重測定を推奨。)
- 2) コントロール及びサンプルをマイクロピペットを用いてそれぞれ 200 μL ずつウェルに添加する。



参考) プレート配置例

測定毎に

陽性コントロール (●) を 3 重測定、

陰性コントロール (●) を 3 重測定、

その下から測定したいサンプル (S1~) を添加する (2 重測定以上を推奨)。

- 3) プレートシールを貼り、室温で1時間反応させる。
3. 洗浄 プレートウォッシャーを用いて洗浄液でプレートの各ウェルを5回洗浄する。
4. 二次反応
 - 1) ウェルに残った洗浄液を完全に除去した後（ペーパータオルの上で軽くたたき）、必要量を希釈した酵素標識抗体液をリザーバーに移し、マイクロピペットで 200 μ L ずつ添加する。
 - 2) プレートシールを貼り、室温で1時間反応させる。
5. 洗浄 3. と同様にウェルを洗浄する。
6. 酵素反応
 - 1) ウェルに残った洗浄液を完全に除去した後、必要量の酵素基質液をリザーバーに移し、マイクロピペットで 200 μ L ずつ添加する。
 - 2) 室温で 20 分間反応させる。
※酵素標識抗体液を入れたりザーバーと発色液を入れるリザーバーは、必ず別のものを使用して下さい。
※一度リザーバーへ移した酵素基質液は試薬ボトルへ戻さないで下さい。
7. 反応停止 反応終了後、リザーバーに移した反応停止液をマイクロピペットで 50 μ L ずつ添加し軽く混和する。
8. 吸光度測定 マイクロプレートリーダーで、波長 405 nm の吸光度を測定する。
※吸光度測定は反応停止後すみやかに測定して下さい。
9. 結果の判定
陰性コントロールの吸光度が 0.2 以下、陽性コントロールの吸光度が 1.0 以上であることを確認しサンプルの吸光度から判定する。

操作上の注意

1. 使用前に取扱説明書をよくお読みいただき、十分な理解の上で測定を行ってください。
2. 洗浄後は速やかに酵素標識抗体液または、酵素基質液を添加してください。

使用上の注意

1. 保存及び使用中は、試薬に直射日光を当てないで下さい。
2. 反応温度、反応時間は厳守して下さい。
3. キットの構成は、室温（20～30℃）に戻してから使用して下さい。
4. 洗浄が適当でない場合、結果にばらつきが生じることがありますので十分洗浄を行って下さい。
5. ウェル間のコンタミネーションを防ぐため、液の泡立ちや、周囲への付着が起こらないようにして下さい。
6. 抗体固相マイクロプレート開封後はアルミ袋のチャックを確実に閉めて保存して下さい。
7. サンプル、試薬への微生物の混入や試薬間のコンタミネーションを避けて下さい。
8. 酵素基質液は金属イオンにより酸化されやすいのでディスポーザブルの新しい器具を使用し、試薬ボトルからリザーバーへ酵素基質液を移す際にもディスポーザブルのピペットを使用して下さい。また、一度リザーバーへ移した発色液は試薬ボトルへ戻さないで下さい。
9. 試薬類は眼、皮膚などに付着しないよう注意して取り扱って下さい。万が一、付着した際は大量の水で洗い流し専門医を受診して下さい。

貯 法

2～8℃保存。

製造元

使用期限

製造後 6 ヶ月（外箱、ラベルに記載）

Hokudo 株式会社 **ホクドー**

〒063-0849 札幌市西区八軒 9 条西 10 丁目 4 番 28 号

TEL. 011-641-7507 FAX. 011-644-9209