

ジャガイモ Y ウィルス N 系統 測定試薬

製品番号：309401

PVY-N ELISA ホクドー

*Hokudō***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
反応用緩衝液 (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、反応用緩衝液、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 405nm 付近) ・遠心機 (3000rpm, 4°Cが可能なもの)
- ・マイクロピペット (可変式 200, 1000 μ L) ・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 μ L) ・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応用緩衝液を用いて、100 倍希釈し使用する。

例：6列 48 ウェル = 120 μ L + 11.88mL (反応用緩衝液)

2. 磨砕液の調製：濃縮磨砕液 100mL に精製水 400mL 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。

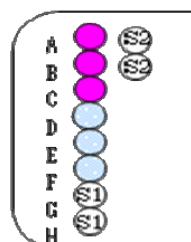
測定方法 **注意：各試薬は、室温に戻してから使用して下さい。**

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 5mL を添加し洗い、洗浄液も同じチューブに移す。
- 5) 3000rpm 10min 4°C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 μ L 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リ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405nm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1.5以上であることを確認しサンプルの吸光度を判定する。

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して下さい。
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下さい。

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して下さい。
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）

株式会社 **赤カドリー**

〒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