この添付文書をよく読んでから使用してください。

ノロウイルス粒子測定キット

Ver 1.3　作成日　2025年1月

■全般的な注意

1. 本キットは研究用の測定試薬です。診断、治療目的には使用できません。
2. この添付文書に記載された操作方法に従って使用してください。それ以外の使用方法で得られた測定値については保証を致しかねます。
3. 検体希釈溶液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は速やかに水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。
5. 品質に関してのお問い合わせの際は、本キット包装などに記載のLot No.をご確認の上、お問い合わせください。

■形状・構造等（キットの構成）

ラベル	構成品	主成分	性 状
A	抗体固相マイクロプレート	抗ノロウイルス抗体	マイクロプレート
B	洗浄原液(X 20)	-	液 状
C	検体希釈溶液	-	液 状
D	標識抗体溶液	抗ノロウイルス抗体	液 状
E	発色液	TMB	液 状
F	反応停止液	2.2 M くえん酸	液 状
G	希釈用マイクロプレート	-	マイクロプレート
H	模擬試料	ノロウイルス粒子	液 状

■使用目的

ノロウイルスは、手指や食品などを介して経口で感染して、おう吐、下痢、腹痛などを引き起こします。ウイルス粒子を構成する主要なタンパク質を発現することによって，人工的に非感染性のノロウイルス粒子を作製することができます。本製品は、（付属の模擬試料に含まれる）ノロウイルス粒子を検出できます。

■測定原理

本キットは、（付属の模擬試料に含まれる）ノロウイルス粒子を酵素免疫測定法（ELISA法）により測定するキットです。下図にその測定法の原理を示します。

抗ノロウイルス抗体(捕捉抗体)を固相したマイクロプレートに検体を添加し免疫反応を行わせます（図1左）。検体中にノロウイルス粒子が存在する場合、固相抗体−抗原（ノロウイルス粒子）の結合体を形成します（図1中）。洗浄後、標識抗ノロウイルス抗体(検出抗体)溶液を添加して、固相抗体−抗原−標識抗体の結合体を形成します（図1右）。再度洗浄後、発色液を添加すると、青色に発色します。反応停止液を加えると、黄色に変化します。この液では、450 nmに最大吸収を持つので、その吸光度を測定します。

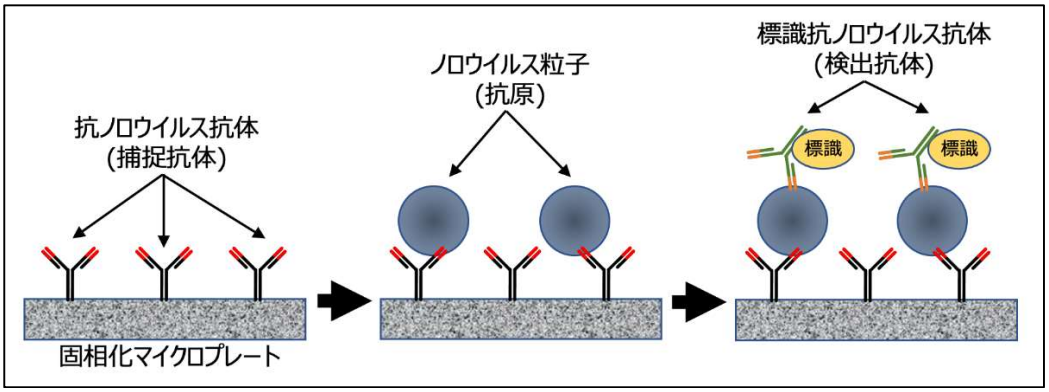


図1：測定原理図

Copyright © 2024 PROTEX All rights reserved

■操作方法

試薬を室温（20～25℃）に戻してから使用してください。

＊**液温**が低いままの場合、測定結果に影響することがあります。

＊試薬ボトルのまま、あるいは、必要な量の試薬を別のチューブ等に移して、20～25℃に設定した恒温水槽に10分以上浸しておくことをお勧めします。恒温水槽を使用しない場合、室温に40分以上放置してください。

1. 使用する機器及び器具
   1) ピペット（2～100μL）
   2) メスシリンダー（1000 mL）
   3) 恒温槽（23～25℃）（温度が一定であれば、室温でも可）
   4) プレートウォッシャー（もしくは、マイクロピペット（300μL））
   5) マイクロプレートリーダー（主波長450 nm、副波長620～650 nm）

2. 試薬の調製方法

ラベル	試 薬	調 製 法	保 存 方 法
A	抗体固相マイクロプレート	検体数に応じて必要数を取り出し、残りを袋に戻して密封保存します。 前洗浄は不要です。	2～10℃
B	洗浄原液(X 20)	洗浄原液を精製水で20倍に希釈し、洗浄液とします。	調製後、室温
C	検体希釈溶液	そのまま使用します。	2～10℃
D	標識抗体溶液	そのまま使用します。	2～10℃
E	発色液	そのまま使用します。	暗所、2～10℃
F	反応停止液	そのまま使用します。	2～10℃
G	希釈用マイクロプレート	そのまま使用します。	
H	模擬試料	模擬試料を希釈してご使用下さい。	-20℃

3. 測定方法
   1) 希釈用マイクロプレート(G)（タンパク質低吸着）や市販のプラスチックチューブ（タンパク質低吸着のものが望ましい）を用いて、模擬試料(H)を検体希釈溶液(C)で希釈して、「希釈検体」を調製してください。
      ＊模擬試料(H)を用いて抗ウイルス処理を行う場合、適宜、検体希釈溶液(C)以外の溶液をご使用して、希釈検体を調製してください。
      ＊検体希釈溶液(C)以外の溶液を希釈のために使用する場合には、その溶液がELISAでのノロウイルス粒子検出に影響しないことを予めご確認ください。
      ＊ノロウイルス粒子の量を調べるための検量線を作成してください。（「検量線の作成」参照）
      ＊ノロウイルス粒子無しの検体ブランクとして、検体希釈溶液のみを100μLずつ加えます。検体希釈溶液以外の溶液(例えば、PBS等)を希釈に使用した場合には、その溶液を検体ブランクとして加えることをお勧めします。
      ＊検体希釈溶液(C)をご使用の場合、ウェルへの入れ忘れを防ぐため、検体希釈溶液の液色は青色に調製されています。異物が混在すると、その影響で検体希釈溶液の液色が紫色に変化することがあります。しかし、液色の変化は、測定結果に影響を与えません。
   2) 抗体固相マイクロプレート(A)の各ウェルに、以下のそれぞれに該当する液を100μLずつ加えます。
      希釈検体数分ウェル :希釈検体
      検量線用ウェル: 既知量のウイルス粒子の希釈系列
      ブランク用ウェル: 希釈に用いた溶液のみ
   3) 23～25℃で60分間、反応を行います。
   4) 各ウェルの反応液を吸引除去またはデカントし、洗浄液で洗浄（300μL以上×5回）します。洗浄後、プレートに残った洗浄液を除去するため吸水紙に軽く叩きつけて、洗浄液を除去してください。
   5) 各ウェルに標識抗体溶液(D)を100μLずつ加えます。
   6) 改めて、23～25℃で60分間、反応を行います。
   7) 各ウェルの反応液を吸引除去またはデカントし、洗浄液で洗浄（300μL 以上×5回）します。洗浄後、プレートに残った洗浄液を除去するため吸水紙に軽く叩きつけて、洗浄液を除去してください。
   8) 各ウェルに発色液(E)を100μLずつ加えます。
   9) 遮光して23～25℃で30分間静置し、反応を行います。
   10) 各ウェルに反応停止液(F)を100μLずつ加えて反応を停止させます。
      ＊液の混合を確かにするため、反応停止液(F)を強めに加える（または、ピペッティングでの混合する）ことをお勧めします。

   11) 反応停止後30分以内に主波長450 nm（副波長620～650 nm)における吸光度を測定します。

■検量線の作成：

希釈検体でのノロウイルス粒子の濃度を算出するために、検量線を作成します。下記は、一例です。

Copyright © 2024 PROTEX All rights reserved

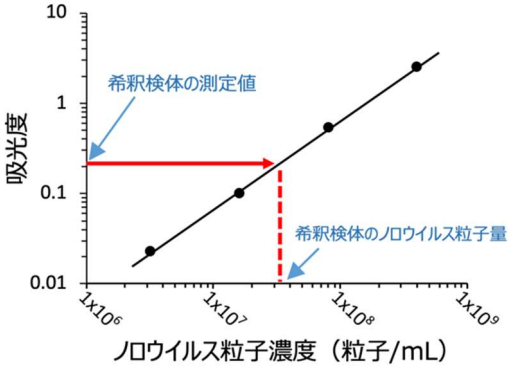
希釈用マイクロプレート(G)(タンパク質低吸着)や市販のプラスチックチューブ（タンパク質低吸着のものが望ましい）を用いて、模擬試料(H)を検体希釈溶液(C)などで希釈して、検量線用で最も高い濃度の液（35.32 ng/mL：2.0 x 10^9 粒子/mL 相当)を調製してください（希釈系列のことを考えて、150 μL くらいで調製する)。」

＊模擬試料の濃度は、模擬試料(H)の容器ラベルに濃度が記載されています。

下図のようにして、標準希釈原液から検体希釈溶液(C)などで 5 倍希釈系列を調製します。「3.測定方法」に記した手順で、抗体固相マイクロプレート（A）のウェルに検量線用検体を 100μL ずつ加えます。

検量線用検体 No	添加する溶液容量	検体希釈液など	濃度(粒子/mL)	濃度(ng/mL)
1			2.0 x 10^9	35.32
2	2.0 x 10^9 粒子/mL の溶液で 30 μL	120 μL	4.0 x 10^8	7.064
3	4.0 x 10^8 粒子/mL の溶液で 30 μL	120 μL	8.0 x 10^7	1.413
4	8.0 x 10^7 粒子/mL の溶液で 30 μL	120 μL	1.6 x 10^7	0.283
5	1.6 x 10^7 粒子/mL の溶液で 30 μL	120 μL	3.2 x 10^6	0.057

検量線は、ノロウイルス粒子の濃度とぞれぞれの濃度で得られた測定値をプロットして得られます。両対数プロットにすることで、(高濃度と低濃度を除く)幅広い濃度の範囲で良好な直線性が得られます(下図(イメージ：測定値ではありません))。



■使用上又は取り扱い上の注意

1.取扱い上の注意

1) 付属の模擬試料(H)は、冷凍保管になります。販売店の指示に従って、十分注意して取り扱ってください。
2) 検査にあたっては使い捨て手袋を着用し、また、いかなる場合でも口によるピペッティングを行わないでください。
3) 試薬を皮膚等につけないように注意してください。
4) 試薬が誤って口や目に入った場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当等を受けてください。

2.注意

1) 模擬試料(H)以外の本試薬を凍結しないように注意してください。保存する場合、指定の貯蔵方法に従って保存してください。
2) 測定に使用しない抗体固相マイクロプレート(A)については、乾燥剤と共にアルミパウチに入れ、封をして冷蔵保存してください。
3) 本キットに付属された構成品(試薬） については、開封後、製品の劣化が始まるため、お早めにご使用ください。
4) 本試薬は、Lotの異なる組み合わせや、試薬を混ぜて使用しないでください。その様な場合、正確な値がえられないことがあります。
5) 発色液については、できるだけ遮光してください。
6) 抗体固相マイクロプレート(A)は、底面に抗ノロウイルス抗体が固相化されています。ピペット等との接触により剥離すると、測定値のばらつきの要因になります。ピペット等がプレートの底面や壁面に触れないようにしてください。
7) 抗体固相マイクロプレート(A)の温度むらは測定値のばらつきの原因となります(エッジ現象)。そのため、試薬およびプレートを必ず室温(20～25℃)に戻してから使用し、23～25℃で反応を行ってください(恒温槽の使用をお勧めします)。
   ＊ 室内でも温度差や風当たりなどで、エッジ現象の生じる箇所があります。エアコンの吹き出し口近辺などの温風や冷風の当たる場所、熱源近辺、窓際などの日光の当たる場所などでは使用しないでください。さらに、操作時に指などで長時間プレートに触れると、プレートが体温によって加温され、プレート内で温度差が生じます。プレートにはなるべく触れないようにしてください。
8) 検体希釈溶液には1%BSAが含まれるため、抗ウイルス処理を行う場合、抗ウイルス製剤の種類によっては効果を阻害する可能性があります。

3.廃棄上の注意

1) 検体および測定により生じた廃液については、消毒などで処理を行ってください。また、これらを廃棄する場合には、廃棄物に関する法律に従って処理してください。
2) 使用後の容器等を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って、産業廃棄物等として処理してください。

Copyright © 2024 PROTEX All rights reserved

■貯蔵方法

1）抗体固相マイクロプレート、洗浄原液(X 20)、検体希釈溶液、標識抗体溶液、発色液、反応停止液、希釈用マイクロプレート
2～10℃（凍結を避けて保存してください）

2）模擬試料
-20℃以下で冷凍保存してください。 ※凍結融解を繰り返すことで、ノロウイルス粒子量が減少する可能性があります。

■有効期間

12ヶ月
使用期限(Exp)は製品ケースに記載してあります。
※各付属品について、保存管理及びご使用状況により、製品の劣化が始まりますので、開封後、お早めにご使用ください。

■包装単位

1キット ： 96回分（1プレート）

■問い合わせ先

株式会社プロテックス
〒351-0104 埼玉県和光市南2-3-13 和光理研インキュベーションプラザ
TEL：048-424-5722
FAX：048-424-5799
e-mail:info@prote.jp
URL:https://prote.jp

Copyright © 2024 PROTEX All rights reserved