



FLOCKTYPE® *Salmonella* 使用説明書

- 鶏のサルモネラ抗体検出用 ELISA キット -

アプリケーション

FLOCKTYPE *Salmonella* は、ニワトリ由来の血漿、血清から抗サルモネラ抗体を検出するためのマイクロプレート規格の ELISA キットです。O-抗原 1, 4, 5, 9, 12 (例: *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow*) に対する抗体が検出されます。

検査原理の概要

マイクロプレートは、サルモネラ LPS 混合抗原によりコートされており、サンプル中の特異的な抗サルモネラ抗体が、抗原コートされたウェル中でインキュベーションされることにより、抗原と複合体を形成します。結合しなかったものは、リンスにより除去されます。続けて酵素が付加されている抗体を加え、これが、サンプル中の抗原が結合した抗体に結合します。結合しなかった酵素付加抗体は、リンスにより除去されます。基質溶液を加え、酵素反応により呈色させることで、呈色の程度により、サンプル中の抗サルモネラ抗体の濃度を測定することが可能です。

Kit の内容

サルモネラ LPS 抗原コート 96 穴プレート	2 枚	5 枚
10x Wash Buffer	1x125mL	2x125mL
Dilution Buffer	1x125mL	2x125mL
Negative control	2.5mL	2.5mL
Positive control	2.5mL	2.5mL
anti-IgY-HRP	24mL	60mL
TMB(基質溶液)	24mL	60mL
Stop solution	24mL	60mL

Kit に含まれないその他必要な器具と試薬

- ビーカー
- メスシリンダー
- 分析ピペット
- マルチチャンネルピペット
- ピペットチップ

- ピペット用リザーバー
- マイクロプレート用分光光度計
- チューブまたはサンプル希釈用のプレート
- 滅菌水

試薬の調整

蒸留水のみを使用して下さい wash buffer の調整は、試料の調整後または検査プレートでインキュベーションしている間に行ってください。

Wash buffer : Wash buffer(x10), bottle2 を蒸留水で 10 倍に希釈して下さい。

血清、血漿

検査前に、試料を dilution Buffer で 500 倍に希釈をして下さい。

コントロールはすでに希釈されていますので希釈操作は必要ありません

試験方法

検査を行う前に、全ての試薬を室温に取り出してよく混ぜて下さい。

1. コントロールと試料のプレートでの位置を記録して下さい。
2. 検査プレートに試料を入れて下さい。

100uL の negative と positive control、500 倍希釈した血清、血漿サンプルを各ウェルに加え、プレートに蓋をします

Template for FLOCKTYPE® *Salmonella* ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S53	S61	S69	S77	S85
B	NC	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S54	S62	S70	S78	S86
C	PC	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S55	S63	S71	S79	S87
D	PC	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S56	S64	S72	S80	S88
E	S1	S9	S17	S25	S33	S41	S49	S57	S65	S73	S81	S89
F	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S50	S58	S66	S74	S82	S90
G	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S51	S59	S67	S75	S83	S91
H	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S52	S60	S68	S76	S84	S92

3. 室温で 30 分間、インキュベーション後、ウェル中の溶液を取り除きます
4. 300uL の wash buffer で洗浄後、wash buffer を取り除く操作を 3 回繰り返します
5. 各ウェルに 100uL の anti-IgY HRP を加えます
6. 室温で 30 分間、インキュベーション後、ウェル中の溶液を完全に取り除きます
7. 300uL の wash buffer で 3~4 回洗浄後、wash buffer を完全に取り除きます
8. 各ウェルに 100uL の TMB 基質溶液を加えます
9. 室温暗所で 10 分間、インキュベーションを行います
10. 各ウェルに 100uL の stop solution を加え、反応を止めます
11. 分光光度計を調整し、反応停止後 20 分以内に 450nm の OD 値を測定します

検査バリデーション

検査のバリデーションのため、positive control 値が>0.7、negative control 値が<2.0であることを確認してください

計算

Negative control と positive control の OD 値の平均値を計算します

以下の計算式を用いて、サンプルと Positive control の比を計算します

S/P 比 = (サンプル OD 値 - NC の平均 OD 値) / (PC の平均 OD 値 - NC の平均 OD 値)

結果の評価

ネガティブ : S/P 比が 0.2 より小さい

疑わしい : S/P 比が 0.2 以上で 0.3 より小さい

ポジティブ : S/P 比が 0.3 以上

注意事項

Wash buffer と stop solution 以外はすべて 4℃に保存し、使用直前にのみ室温へ取り出す。10x wash buffer が析出した場合、室温で温めて下さい。析出しないように、室温で保存してください。Stop solution も室温にて保存可能です。

検査後、使用しなかったものは、次の使用までパッケージに入れ、乾燥剤と共に 4℃で保存してください。開封後、6 週間まで保存可能です。

TMB 基質溶液は遮光で保存し、検査中も強い光や太陽光には当てないようにして下さい。検査キットの試薬が、その他のバッチの試薬と混ざらないようにして下さい。使用期限の過ぎた検査キットは使用しないで下さい。

Buffer を希釈するための水、特にイオン交換水の場合、純度が十分でないと反応に影響を与える場合があります。水は、蒸留水または MiliQ をご使用することをお勧めいたします。

実験結果の正確性を保証するためには、ELISA 法における基本的注意事項、汚染されていないガラス器具、正確な実験操作、検査中のリンス、呈色反応の時間など注意することが重要です。キットに含まれる試薬には、危険物も含まれます。

株式会社ベリタス

〒105-0001 東京都港区虎ノ門 2-7-14 八洲ビル

TEL 03-3593-3211 FAX 03-3593-3216

E-mail techservice@veritastk.co.jp