

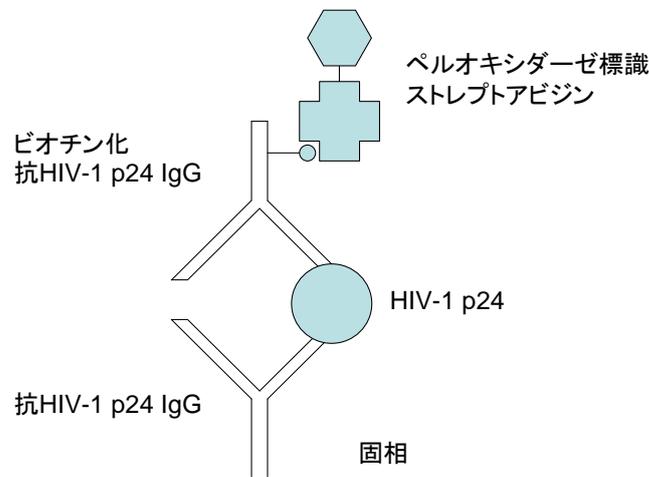
HIV-1 p24 ELISA キット「バイオアカデミア」

80-001 1キット 96アッセイ

本キットは、サンドイッチ ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay)法により、細胞培養液等の HIV-1 Gag p24 抗原量を簡便に測定できるキットです。p24 抗原は HIV-1 ウイルスの構造タンパク質で、このタンパク質を測定することにより試料中のウイルス量を推定することができます。このキットは HIV-1 由来の Lentivirus ベクターの定量にも使えます。

[測定原理]

抗体固相化プレートを固相とし、ビオチン化抗体と酵素標識ストレプトアビジンを用いるサンドイッチ法です。



[このキットの利点]

- アフィニティ精製ポリクローナル抗体(免疫原、全長の組換え体 p24 タンパク質)の使用により、サブタイプ B はもちろん、サブタイプ AE も同じ感度で測定可能です。
- 感染者血清、生ウイルスを使っていないので取り扱いが安全です。
- 室温で測定が可能です。

[保存と使用期限]

貯蔵・・・・・・・・・・2~8℃ (凍結しないで下さい)

使用期限・・・・・・・・・・1年

[キット以外に必要な試薬と器具及び機器]

1. 純水
2. 試験管またはマイクロチューブ (試料調製用)
3. マイクロピペット及びチップ
4. プレートリーダー

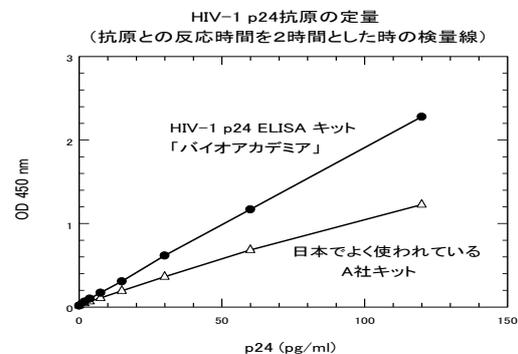


図 抗原との反応時間を2時間としたときの検量線

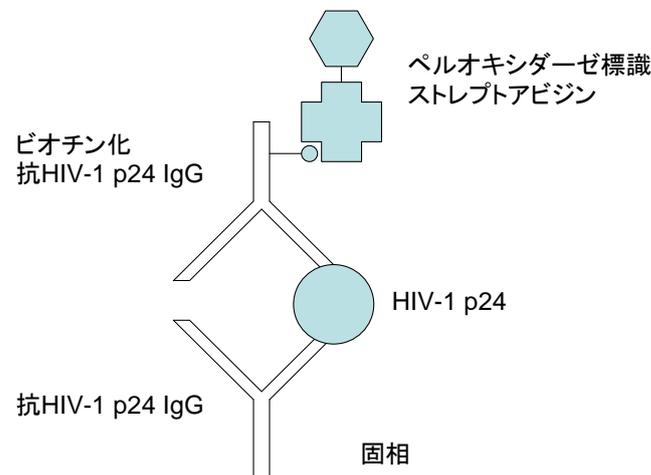
HIV-1 p24 ELISA キット「バイオアカデミア」 取扱い説明書

[用途]

本キットは、サンドイッチ ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay)法により、細胞培養液等の HIV-1 Gag p24 抗原量を簡便に測定できるキットです。p24 抗原は HIV-1 ウイルスの構造タンパク質で、このタンパク質を測定することにより試料中のウイルス量を推定することができます。このキットは HIV-1 由来の Lentivirus ベクターの定量にも使用できます。

[測定原理]

抗体固相化プレートを固相とし、ビオチン化抗体と酵素標識ストレプトアビジンを用いるサンドイッチ法です。



[キットの構成]

- | | | |
|----------------------|----------------------------------|-------------------|
| 1. 標準抗原液 | : リコンビナント HIV-1 p24 (120 pg/ml) | 3 本 (1.0 ml×3) |
| 2. 抗原希釈液 | : リン酸緩衝液 | 1 本 (25 ml) |
| 3. 試料調製液 | : 10% Triton X-100 | 1 本 (25 ml) |
| 4. 洗浄液 | : リン酸緩衝液 (20 倍希釈で使用して下さい) | 1 本 (30 ml) |
| 5. 抗体固相化プレート | : 抗 HIV-1 p24 抗体固相化マイクロプレート | 8 wells×12 strips |
| 6. ビオチン化抗体液 | : ビオチン化抗 HIV-1 p24 抗体 (101 倍濃縮液) | 1 本 (200 μL) |
| | (動物血清を含みます) | |
| 7. ビオチン化抗体希釈液 | : リン酸緩衝液、2%カゼイン | 1 本 (15 ml) |
| 8. 酵素標識体液 (101 倍濃縮液) | : ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン | 1 本 (200 μL) |
| 9. 酵素標識体希釈液 | : HEPES 緩衝液、1% BSA | 1 本 (15 ml) |
| 10. 酵素基質液 | : 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン/過酸化水素 | 1 本 (20 ml) |
| 11. 酵素反応停止液 | : 0.5 M 硫酸 | 1 本 (20 ml) |
| 12. プレートシール | | 3 枚 |

[保存と使用期限]

貯蔵・・・・・・・・・・2～8℃（凍結しないで下さい）

使用期限・・・・・・・・・・1年

[キット以外に必要な試薬と器具及び機器]

1. 純水
2. 試験管またはマイクロチューブ（試料調製用）
3. マイクロピペット及びチップ
4. プレートリーダー

[テスト法]

ステップ1

- 1) 標準抗原液を(120 pg/ml)を抗原希釈液で適宜希釈します。希釈後の好ましい濃度は、0, 7.5, 15, 30, 60 pg/ml です。
- 2) 試料に 1/10 容の試料調製液を加え、p24 抗原を HIV-1 から遊離させた後、抗原が 10 ～ 100 pg/ml 程度になるように抗原希釈液で希釈します。

ステップ2

- 1) 抗体固相化ウェルを洗浄液 350 μ l で2回洗浄します。
- 2) 洗浄したウェルに希釈した標準抗原または試料をそれぞれ 200 μ l 加え、37℃^{注1}で2時間静置します。
- 3) 標準抗原または試料を除去した後、ウェルを洗浄液 350 μ l で3回洗浄します^{注2}。

ステップ3

- 1) ビオチン化抗体液（101 倍濃縮液）を実験ごとに必要な分量を取り、ビオチン化抗体希釈液で 101 倍に希釈します。
- 2) 洗浄したウェルにビオチン化抗体液 100 μ l 加え、37℃^{注1}で1時間静置します。
- 3) ビオチン化抗体液を除去した後、ウェルを洗浄液 350 μ l で3回洗浄します^{注2}。

ステップ4

- 1) 酵素標識体液（101 倍濃縮液）を必要分だけ酵素標識体希釈液で 101 倍に希釈します。
- 2) 洗浄したウェルに希釈済み酵素標識体液 100 μ l 加え、37℃^{注1}で30分間静置します。
- 3) 酵素標識体液を除去した後、ウェルを洗浄液 350 μ l で3回洗浄します^{注2}。

ステップ5

- 1) 洗浄したウェルに酵素基質液 100 μ l 加え、室温で30分間静置します。
- 2) ウェルに反応停止液 100 μ l 加え、10分以内に 450 nm の吸光度をプレートリーダーで測定します。

注1：ステップ5を除き、反応は全て原則として37℃で行ってください。（室温反応においても測定は可能ですが、発色レベルは低くなります。）

注2：洗浄は通常3回で充分ですが、抗原0の測定値が一定しない場合には、試料、ビオチン化抗体あるいは/および酵素標識体とのインキュベーション後の洗浄回数を増してみてください。

注3：長時間のインキュベーションのときには、添付のプレートシールをお使いください。

【使用上の注意】

1. 本キットは研究用であり、診断等には使用できません。
2. 感染性の試料は、使用者が安全を考慮してお取り扱い下さい。
3. 反応停止液は、強酸性ですので、取り扱いや廃棄には十分注意して下さい。

【参考文献】

1. White E L *et al* "Safety factors involved in the extraction of biologically active proteins from human immunodeficiency virus." *J Virol Methods* **70**: 113-115 (1998) PMID: [9506820](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9506820/)

【製造販売元・お問合せ先】

バイオアカデミア株式会社

〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7-7-18

TEL : 06-6877-2335

FAX : 072-643-4701

e-mail : info@bioacademia.co.jp

URL : <http://bioacademia.co.jp/>