

ITEA 構築型 ELISAキット 取り扱い説明書

製品コード： 1-DF2-002

製品名： ITEA ダニアレルゲン (Der f 2) 測定用構築型ELISAキット (ビオチン標識)

アレルゲン概要

コナヒョウヒダニ (※) 第2アレルゲン (Der f 2) はダニ虫体および排泄物に含まれる分子量14 kDaのタンパク質です。このDer f 2に対してダニアレルギー患者の90%以上がIgE抗体を保有することから、アレルゲンとしての重要性はDer f 1と同様と考えられています。Der f 2はDer f 1とは異なり、熱やpH変化に対して抵抗性を示すが、ジスルフィド結合を切断するとIgE抗体との反応性が大きく低下します。このことより、Der f 2のエピトープも高次構造に依存していると推定されています (1)。

(1) 安枝 浩, アレルギー 2008; 57 (7): 807-815.

※学名: *Dermatophagoides farinae*

キット概要

本キットは、サンドイッチELISAによりダニアレルゲン (Der f 2) を測定するために必要な下記の抗体および標準液で構成されています。後述の測定の手順に準じて実施した時、測定範囲は 0.08～10 ng/mLです。なお、本キットは研究用試薬です。

試薬構成

96穴マイクロプレート【3枚分】の下記試薬が含まれています。

記号	内 容	容 量
A	固相化用モノクローナル抗体 (P2A23)	1本 グリセロール50%含有 Tris-Glycine-HCl 緩衝液
B	標準液 (凍結乾燥)	本数はロットによって異なります。
C	ビオチン標識モノクローナル抗体 (P2A91)	1本 グリセロール50%含有 PBS
その他	構成品ロット情報シート 取り扱い説明書	1部 1部

別途必要となる試薬・器具

- ・マイクロプレート（推奨：製品番号442404、Thermo Fisher Scientific）
- ・固相化用希釈液（0.05 M 炭酸 - 重炭酸緩衝液、pH9.6）^{*1}
- ・洗浄液（0.05% Tween 20含有リン酸緩衝生理食塩水（PBS）、pH7.4）
- ・ポストコーティング液（1% 牛血清アルブミン（BSA）含有PBS）
- ・希釈液（1% BSA、0.05% Tween 20含有PBS）
- ・ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼ（推奨：製品番号 S5512、SIGMA-ALDRICH）
- ・発色基質液（3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine（TMB））
（推奨：製品番号002023、Thermo Fisher Scientific）
- ・反応停止液（0.5 M硫酸）
- ・96穴マイクロプレート用シール
- ・各種マイクロピペット
- ・マイクロプレートミキサー
- ・マイクロプレートウォッシャー
- ・マルチチャンネルピペット
- ・吸光マイクロプレートリーダー（波長450 nm）
- ・精製水

*1 0.05 M 炭酸-重炭酸緩衝液が望ましいですが、PBSでも代用可能です。

※ 使用する試薬の作製プロトコルは、当社HPにてご確認ください。

<https://itea-ec.com/pages/elisa-reagent-recipe>



キットの保管温度

-20℃

グリセロールを含むため、-25℃以下では凍結する可能性があります。

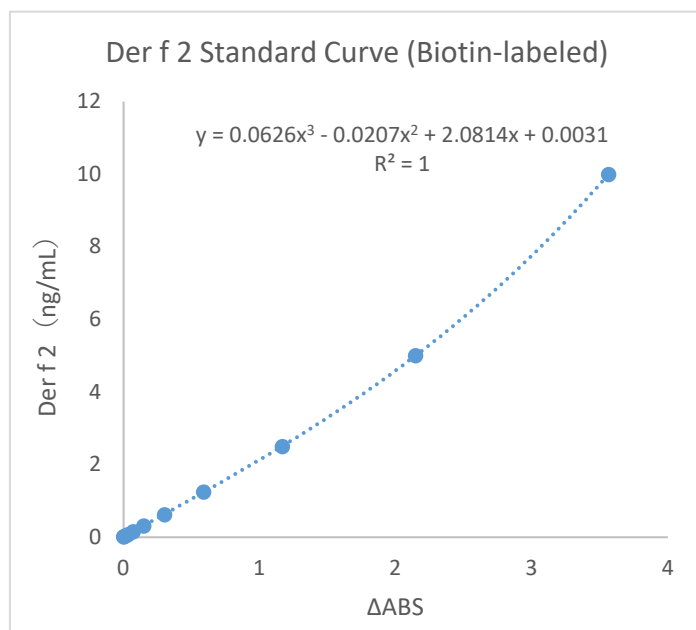
使用上の注意

- ・構成品の各試薬の調整方法はロット毎に異なります。
別紙の構成品ロット情報シートを確認したうえでご使用ください。
- ・（B）標準液（凍結乾燥）
溶解後は2～8℃で保管し、10日以内に使用してください。
アレルギー性がありますので、取り扱う際は、白衣、防護眼鏡、マスク、グローブを使用した上で、皮膚および粘膜に付着しないように注意してください。
- ・本キットはDer f 2およびDer p 2に交差反応を示すので、Der f 2とDer p 2を含む検体中のDer f 2濃度を厳密に定量することはできません。

測定の手順

- ① (A) 固相化用モノクローナル抗体を固相化用希釈液で希釈します。^{*1}
マイクロプレートにウェル当たり100 μ Lずつ分注し、4℃で一晩静置して抗体を吸着させます。
***1 希釈倍率はロット毎に異なります。**
別紙の構成品ロット情報シートをご確認ください。
- ② 洗浄液にてウェルを3回以上洗浄します。
ポストコーティング液をウェル当たり200 μ Lずつ分注し、室温で1時間静置します。
- ③ 検量線用に (B) 標準液 (凍結乾燥) を精製水で溶解し^{*2}、本キットの測定範囲内に入るよう二倍階段希釈列を作製します。
各検体は、検量線範囲に入る濃度になるよう希釈液で適当に希釈します。
***2 溶解する精製水量はロット毎に異なります。**
別紙の構成品ロット情報シートをご確認ください。
- ④ 洗浄液にてウェルを3回以上洗浄します。
③で用意した標準液、希釈検体をそれぞれウェル当たり100 μ Lずつ分注し、ブランクには希釈液を100 μ Lずつ分注します。室温で1時間静置します。
- ⑤ 洗浄液にてウェルを3回以上洗浄します。
希釈液で希釈した (C) ビオチン標識モノクローナル抗体をウェル当たり100 μ Lずつ分注し、室温で1時間静置します。
***3 希釈倍率はロット毎に異なります。**
別紙の構成品ロット情報シートをご確認ください。
- ⑥ 洗浄液にてウェルを3回以上洗浄します。
希釈液で適当な濃度^{*4}に希釈したストレプトアビジン-ペルオキシダーゼをウェル当たり100 μ Lずつ分注し、室温で1時間静置します。
***4 本書 2 ページの推奨メーカーの場合、4000倍希釈。**
- ⑦ 洗浄液にてウェルを3回以上洗浄します。
発色基質液をウェル当たり100 μ Lずつ分注し、遮光し室温で正確に15分間静置します。
- ⑧ 0.5 M硫酸をウェル当たり100 μ Lずつ分注し、プレートミキサーで攪拌します。
- ⑨ マイクロプレートリーダーにて測定波長 450 nm、参照波長 630 nmで吸光度測定します。
(単波長測定では450 nmを使用します。)

検量線の例



SDSについては以下のWebページまたは2次元コードよりご確認ください。

◎ 資料ダウンロード (SDSはこちらから)

<https://www.itea.jp/document-download/>



改定日： 2025年5月7日
ver2025_1.0