

牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット（化学発光）

平成 14 年 12 月 24 日（告示第 1896 号） 新規追加

プリオン蛋白に対する抗プリオン蛋白ウサギ血清及び化学発光基質を用いた酵素抗体法により牛海綿状脳症の異常プリオン蛋白を検出するためのキットである。

1 小分製品の試験

1.1 力価試験

1.1.1 試験材料

試験品及び非感染牛延髄（付記 1）を用いる。

1.1.2 試験方法

非感染牛延髄 0.5 ~ 1.0g に、1 g 当たり 15mL の試薬 1（ホモジナイズ用溶液）を加え、2 分間ホモジナイズしたものを陰性組織コントロールとする。遠心プレートの 2 穴以上に陰性組織コントロール 180 μ L を、遠心プレートの別の 4 穴にブランクコントロール 180 μ L をそれぞれ分取する。

遠心プレートを 2,750G で 5 分間遠心し、あらかじめ一穴当たり 20 μ L の試薬 2（プロティナーゼ K 溶液）を分取したアッセイプレートの各穴に、陰性組織コントロール又はブランクコントロールの遠心上清を一穴当たりそれぞれ 100 μ L 分取する。

アッセイプレートを 34℃ で 60 分間、1,400rpm 下で反応させた後、洗浄剤 1 溶液を用いてアッセイプレートを洗浄する。

試薬 3（蛋白変性剤溶液）150 μ L をアッセイプレートの各穴に添加し、34℃ で 15 分間、1,400 rpm 下で反応させた後、洗浄剤 2 溶液を用いてアッセイプレートを洗浄する。

アッセイプレートの空いている 2 穴を取り外し、それぞれ陽性コントロールウエルと置き換える。

抗プリオン蛋白抗体溶液 150 μ L をアッセイプレートの各穴に分注し、34℃ で 40 分間、1,400 rpm 下で反応させる。洗浄剤 2 溶液を用いてアッセイプレートを洗浄する。コンジュゲート溶液 150 μ L をアッセイプレートの各穴に分注し、34℃ で 30 分間、1,400rpm 下で反応させる。洗浄剤 2 溶液を用いてアッセイプレートを洗浄する。基質溶液 150 μ L をアッセイプレートの各穴に加え、アッセイプレートを 34℃ で 10 分間、1,400rpm 下で反応させた後、ルミノメーターを用いて発光強度を測定する。

1.1.3 判定

ブランクコントロールの値（付記 2）は、4.0 LU（付記 3）未満でなくてはならない。

陰性組織コントロールの各測定値からブランクコントロールの値を差し引いた値の平均は、3.0 LU 未満でなくてはならない。また、陰性組織コントロールの個々の値の最大値と最小値の差は、2.0 LU 以下でなくてはならない。

陽性コントロールウエルの各測定値からブランクコントロールの値を差し引いた値の平均は、陽性コントロールウエルのロット毎の管理範囲（付記 4）内でなくてはならない。また、陽性コントロールウエルの個々の測定値は、陽性コントロールウエルの平均値の \pm 30% を越えてはならない。

付記 1 非感染牛延髄

牛海綿状脳症に感染していない牛の延髄に等量の精製水を加えてホモジナイズしたもの

付記 2 ブランクコントロールの値

4 重測定した内の中央値 2 つを用い、この平均値とする。

付記 3 LU

本キットで使用するルミノメーターの測定値の単位

付記4 陽性コントロールウエルのロット毎の管理範囲

新しく調製した陽性コントロールウエル（384 穴）を、抗プリオン抗体溶液とコンジュゲート溶液を用いて測定したとき、この中の最低値の 0.7 倍を下限值とし並びに最高値の 1.3 倍を上限值として設定したもの。ただし、この値は本キットにおける陽性コントロールウエルの規格である 300 ~ 3,400LU の範囲内になくはない。