

プラムポックスウイルス イムノクロマト**Version 3.0****研究用試薬****取扱説明書****はじめに**

本キットは、金コロイドイムノクロマト法の原理に基づいた、プラムポックスウイルス抗原検出試薬です。

プラムポックスウイルス(plum pox virus: PPV)は、モモ、スモモ、アンズ、ウメなどの *Prunus* 属(サクラ属)の植物に広く感染する *Potyvirus* 属の植物ウイルスで、1915年に欧州で発見されて以来、世界各地で確認されています。感染した樹木では葉に退緑斑点や輪紋が生じる他、果実の表面にも斑紋が現れることがあります。

2009年3月、東京大学植物病院[®]において、これまで日本で発生の報告が無かったPPVがウメから検出されました。PPVのまん延防止には、発生範囲を特定し、封じ込めを行うことが重要です。この重要病害の発生という事態を受けて、本キットは、日本で確認されたPPVの検査を目的として緊急に開発されました。

ご使用前に

重要 本キットでの検査にあたっては、下記項目について十分ご理解の上、使用してください。

1. 本キットの性能は、ウメ葉の実検体試験でのみ確認されています。これは、2009年7月現在において、日本国内ではウメのみでPPV感染例が報告されており、それ以外の実検体が入手できないことに起因しています。
2. 本キットは、東京大学植物病院[®]で開発された抗PPV抗体を使用しております。
3. 本キットに使用している抗PPV抗体は、日本国内で検出されたPPV由来のタンパク質を抗原として開発されました。
4. 本キットはPPV抗原検出のための研究用試薬であり、PPV感染の確定診断キットではありません。
5. PPV感染の確定診断には、葉・果実・花などに現れる病徴や他の検査法の結果を合わせた、総合的な判断が必要です。
6. 本キットでの検査結果に関わらず、PPV感染が疑われる場合には、東京大学植物病院[®]または各地域の植物防疫所^(注1)までご相談ください。
7. 本キットは研究用試薬です。試薬の取り扱いに関して専門的な知識がない方は、ご使用にならないでください。

注1:連絡先は4ページに記載しています。

キットの内容

包装単位:50テスト/キット

	名 称	数量
A	テストストリップ(ボトル包装、乾燥剤入り)	50本
B	抽出液(50mL)	2本
C	サンプルチューブ	50個
D	サンプルチューブスタンド	1個
E	スポイト	50個
F	抽出用袋	50枚
G	取扱説明書	1部

性能

本キットは、東京大学植物病院[®]でPPV感染が認められた新鮮なウメ葉病徴部の抽出試料で、陽性を示すことを確認しています。また、ウメ健全葉の抽出試料では、陰性を示すことを確認しています。

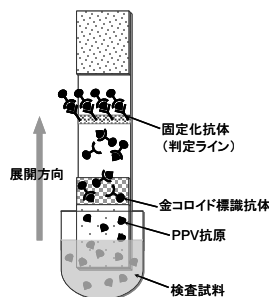
原理

本キットは、抗 PPV 抗体を用いた、金コロイドイムノクロマト法に基づいた PPV 抗原検出試薬です。

PPV 抗原を含む検査試料へテストストリップを浸すと、検査試料が展開し、PPV 抗原と金コロイド標識抗体が複合体を形成します。

さらにこの複合体が展開し、判定面に固定化された抗体に捕捉され、赤紫色の判定ラインが出現します。

なお、検査試料中に PPV 抗原が含まれない場合は、複合体が形成されないため、判定ラインは出現しません。



操作方法 1: 検査試料の調製

注意 抽出液を冷蔵保存している場合には、室温に戻してから使用してください。

- (1) 重さが0.05～0.07gになるように切り出した葉(2×2 cm相当)、もしくは葉柄を抽出用袋へ入れます^(注2)。
- (2) 付属のスポイトを用いて約 1.3mL^(注3)の抽出液を(1)の抽出用袋へ入れ、しっかりと封をします。抽出用袋の上から、堅いなめらかなもので強く擦るようにして検体を磨り潰し、検査試料を均一にします。
- (3) 均一にした検査試料を(2)で使用したスポイトを用いて、サンプルチューブへ移し換えます^(注4)。

注2: 葉に病徴が見られる場合は、病徴部を切り出してください。

注3: スポイト標線までの容量が約 0.65mL ですので、2 回繰り返して抽出液を入れてください。

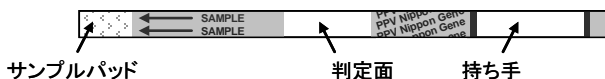
注4: 必要な検査試料の液量はスポイト 1 回分(約 0.65mL)です。1つの検査試料の調製に 1 個のスポイトを使用してください。スポイトの使い回しは絶対に避けてください。

2 × 2 cm

操作方法 2: テストストリップの操作

注意 テストストリップを冷蔵保存している場合には、ボトルのまま室温に戻してから使用してください。

- (1) テストストリップをボトルから取り出します^(注5)。



- (2) テストストリップを検査試料が入ったサンプルチューブへ挿入し、そのまま静置します^(注6)。
- (3) 15 分後、判定します^(注7)。

注5: テストストリップは、使用直前にボトルから必要数量を取り出してください。テストストリップは、持ち手を持ってください。ボトルのふたは、きちんと閉めてください。

注6: サンプルパッドの先端がきちんとチューブの底につくように入れてください(右図)。

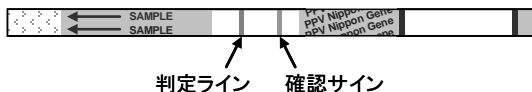
注7: ピンク色の確認サインが着色していることを確かめてから判定してください。



判定

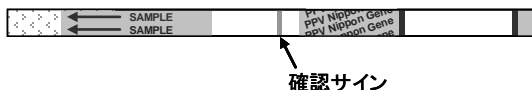
陽性

判定面に判定ライン(赤紫色)および確認サイン(ピンク色)がともに出現した場合、陽性と判定してください(注8)。



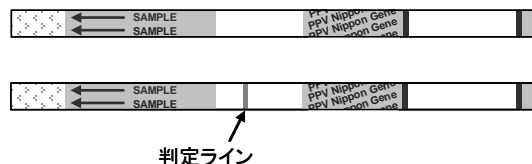
陰性

判定面に確認サイン(ピンク色)のみが出現した場合は、陰性と判定してください(注9)。



再検査

判定面に確認サイン(ピンク色)が出現しない場合は、正しく検査が行われなかった可能性が考えられます。判定を保留し、新しいテストストリップで再度検査を行ってください。



注8: 検査試料中に、検出感度以上のPPV抗原が含まれている可能性があります。

注9: 検査試料中には、PPV抗原が含まれていないが、含まれている場合でも検出感度以下であると推測されます。

判定上の注意

1. 判定時間は15分です。判定時間を過ぎた場合は、非特異的反応が起こる可能性が高くなりますので、判定ラインが認められても判定はしないでください。
2. 調製した検査試料の粘性が高い場合、テストストリップ上で展開不良が発生し、正しく判定できない場合があります。このような場合は、調製した検査試料を抽出液で適宜希釈し、新しいテストストリップで再度検査を行ってください。ただし、判定時には検査試料全体の濃度が下がっていることを考慮してください。
3. 判定ラインが部分的に出現した場合は判定を保留し、新しいテストストリップで再度検査を行ってください。
4. PPVの存在が疑われる検査結果が得られた場合は、必ず別途精密な検査を行ってください。本キットの検査結果のみでPPV感染の確定診断を行わないでください。

使用上または取扱い上の注意

1. 一般的な注意

- (1) 本キットはPPV検査以外の目的に使用しないでください。
- (2) 使用期限が過ぎた試薬は使用しないでください。
- (3) 本キットは直射日光や熱源を避け、室温(2~30℃)で保存してください。
- (4) 正しい判定ができなくなりますので、テストストリップの加工は絶対にしないでください。

2. 操作上の注意

- (1) テストストリップは、使用直前にボトルから取り出し、取り出し後は直ちにボトルのふたを閉めてください。ボトルのふたがきちんと閉まっていない場合は、テストストリップの品質が変化して正しい検査結果が得られないことがありますので、使用しないでください。
- (2) テストストリップのサンプルパッドには直接手を触れないでください。
- (3) 使用前に判定面が濡れると正しく判定できません。その際は使用を中止し、新しいテストストリップを用いて検査してください。

3. 危険防止上の注意事項

- (1) 本キットの試薬類は、皮膚や粘膜、衣類等に付けないように注意してください。
- (2) 抽出液には、アジ化ナトリウムが含まれています。廃棄の際には、大量の水と一緒に流してください。
- (3) 誤って試薬が目や口に入った場合には、直ちに水道水で十分に洗い流す等の応急処置を行い医師の手当てを受けてください。

4. その他

- (1) PPV感染については、本キットの検査結果だけでなく、他の方法による検査結果ともあわせて総合的に判断してください。
- (2) 本キットによる検査結果を元に発生した損害および損失については、責任を負いかねます。

貯法・使用期限

貯法 高温高湿を避けて室温(2~30℃)で保存してください。

使用期限 外箱およびボトル等に表示

東京大学植物病院[®]、植物防疫所の連絡先

名称	住所	電話	E-mail / URL / 担当部署
東京大学 植物病院 [®]	東京都文京区弥生 1-1-1	03-5841-0567	byoin@todaiagri.jp http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/cps/hospital/
横浜植物防疫所	横浜市中区北仲通 5-57	045-211-7155	業務部輸出及び国内検査担当
名古屋植物防疫所	名古屋市中区入船 2-3-12	052-651-0114	輸出及び国内検査担当
神戸植物防疫所	神戸市中央区波止場町 1-1	078-331-2384	業務部輸出及び国内検査担当
門司植物防疫所	北九州市門司区西海岸 1-3-10	093-321-2809	輸出及び国内検査担当
那覇植物防疫事務所	那覇市港町 2-11-1	098-868-1679	輸出及び国内検査担当

製造販売元: 株式会社ニッポンジーン

お問い合わせ先: 株式会社ニッポンジーン 診断試薬部 企画開発課

E-mail: ppv-immuno@nippongene-analysis.com TEL:076-442-3611 FAX:076-444-1501