

## ITEA ダニアレルゲン (Der f 1) 不活化効果 簡易評価キット 取扱説明書

### 1. はじめに

近年、環境アレルギー対策の一環としてアレルギー不活化効果のある薬剤やその加工品の開発が進められています。これらのアレルギー不活化効果の評価方法には ELISA 法が多く用いられますが、ELISA 法の実施にはマイクロプレートリーダーなどの機器と高い技術が必要であり、また測定開始から終了までに時間がかかるという課題があります。

「ITEA ダニアレルゲン (Der f 1) 不活化効果 簡易評価キット」は、研究開発における試作品のアレルギー不活化効果のスクリーニングなど精度よりも迅速性が重視される局面において使用可能な簡易的な評価系です。最小限の道具と簡単な操作、わずか 30 分以内で結果を判定することが可能です。

なお本キットは、日本の家屋内にもっとも多く生息するダニの種類であるチリダニのうち、ヒョウヒダニ属コナヒョウヒダニ (*Dermatophagoides farinae*) 排泄物由来のアレルゲン Der f 1 の不活化効果を評価することができます。

### 2. 製品概要

製品名 : ITEA ダニアレルゲン (Der f 1) 不活化効果 簡易評価キット  
製品コード : 20001  
保存温度 : 2 °C - 8 °C

### 3. 使用目的

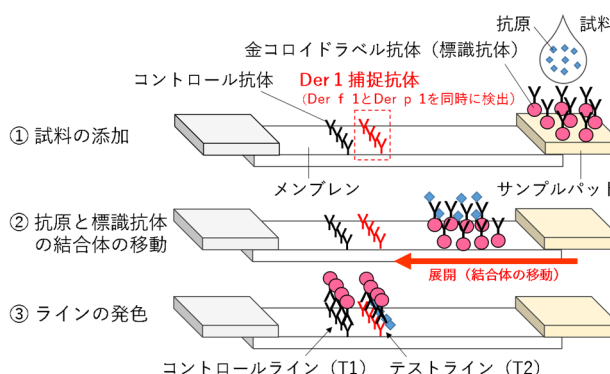
ダニアレルゲン (Der f 1) 不活化効果を有する製品の開発における試作品のスクリーニング 等<sup>\*1</sup>

<sup>\*1</sup> Der f 1 と Der p 1 に交差する抗体を使用しているため、Der p 1 の検出も可能です。ただし、本キットのダニ抽出物には Der f 1 のみを含みます。

### 4. 構造・原理

測定原理はイムノクロマト法を利用したものです。

コントロールライン (T1) : 試料が正常に展開したことの指標。試料中の抗原の有無に関わらず発色。  
テストライン (T2) : 試料中の抗原の有無の指標。抗原濃度が高いほど、ラインの色が濃くなる。



### 5. キット内容物

本キットは、以下の「反応セット」と「展開セット」からなります。

(A) 抽出物溶解液	1 本	反応セット	アレルギー不活化の工程に使用
(B) スポイト 抽出物溶解用	4 本		
(C) ダニ (Der f 1) 抽出物	4 本		
ITEA ダニアレルゲン (Der 1) イムノクロマトテスト	4 袋	展開セット	不活化工程後、イムノクロマトテストでの判定のための試料調整に使用
(D) スポイト 展開液添加用	4 本		
(E) 展開液	4 本		
(F) スポイト サンプル滴下用	4 本		

### 6. 別途必要となる試薬・器具

ダニ (Der f 1) アレルゲン不活化効果を確認したい製品 (以下、検体)	1~3 種
検体の対照となる製品 (以下、対照) <sup>*2</sup>	1 種
タイマー	1 台
マイクロピペット (100 µl を測りとれるもの) <sup>*3</sup>	1 本
マイクロピペット用チップ (マイクロピペットをお持ちの場合)	適量

<sup>\*2</sup> 例) 製品形態が繊維の場合は未加工品、液剤の場合は有効成分を抜いたもの 等

<sup>\*3</sup> マイクロピペットをお持ちの場合は、付属のスポイトに代わりマイクロピペットを使用することをお勧めします。

※その他は、製品の形態に合わせて適宜準備をお願いします。

例 1) 繊維製品の場合

製品をカットするためのハサミ  
製品を扱うためのピンセット など

例 2) 液剤製品の場合

検体・対照を添加するためのピペットやスポイト  
検体・対照を適量取り分けるための容器 など

## 7. 事前準備

- 検体または対照を、(C) ダニ (Der f 1) 抽出物の容器に入るほどの適量・サイズに取り分ける。
- イムノクロマトテストの入ったアルミ袋を水平な場所に置き、常温に戻しておく。
- (A) 抽出物溶解液、(C) ダニ (Der f 1) 抽出物、(E) 展開液をすべて常温に戻しておく。

## 8. 試験の手順

※ マイクロピペットをお持ちの方は、付属のスポイトの代わりにマイクロピペットを使用することをお勧めします。

- ① 常温に戻した (C) ダニ (Der f 1) 抽出物に、それぞれ付属の (B) スポイト 抽出物溶解液を使用して 1 ml の (A) 抽出物溶解液を添加し\*4 (図 1)、完全に溶解する\*5。(以下、ダニ溶液)

\*4 液面 (メニスカス) が容器ラベル上の 1 ml の矢印と合っていることを確認してください。

\*5 濁りを生じることがありますが、品質に問題はありません。

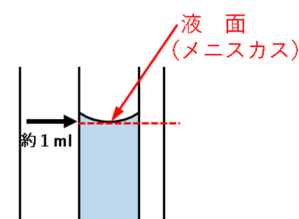


図 1. 液量の確認

- ② 事前準備で適量・サイズに取り分けた検体または対照を各ダニ溶液に添加する\*6 (図 2)。添加する際は、できるだけ各作業に時間差が生じないようにする。

繊維製品や固形製品の場合、検体・対照がダニ溶液に完全に浸っていることを確認する。

\*6 検体が液剤の場合：

- ・ ダニ溶液の体積の 10 分の 1 (100  $\mu$ l) 以下を添加することを推奨します。
- ・ 対照をダニ溶液とする (加工剤を抜いた液を使用しない) 場合でも、アレルギーの濃度をそろえるため、検体と同量の精製水を添加してください。
- ・ 液剤を添加するための専用スポイトは付属していません。

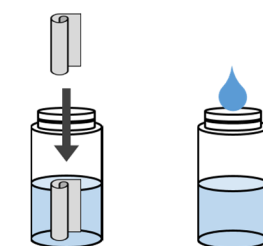


図 2. ダニ溶液への添加例

- ③ ②でダニ溶液に添加した検体・対照は、不活化効果を得るための適当な時間置いておく。
- ④ ③の時間終了前に、事前に常温に戻していたイムノクロマトテストをアルミ袋から取り出し、水平な机の上に並べておく。(E) 展開液も用意しておく。
- ⑤ ③の時間終了後各ダニ溶液を軽く混合し、(D) スポイト 展開液添加用 を使用して以下のとおり (E) 展開液に添加し、攪拌して混合する。

■ (E) 展開液への添加量

(D) スポイト 展開液添加用 の場合 3 滴  
マイクロピペットの場合 100  $\mu$ l

注) スポイトとマイクロピペットは、混同しての使用を控えてください。

■ (D) スポイト 展開液添加用 の使用方法

- ① ダニ溶液が入った容器内にスポイトの先端を入れ、真ん中の線までサンプルを吸い上げる。
- ② 液面が真ん中の線まで到達したら、吸い上げを調整している指の力をそのままにして、ゆっくりとスポイトを移動させる。
- ③ (E) 展開液の瓶口まで移動させたら、指の力を少しずつ加え、サンプルを 3 滴添加する (図 3)。

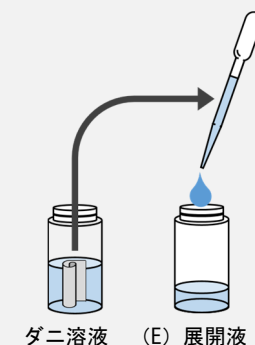


図 3. (E) 展開液への添加

- ⑥ ⑤の(E) 展開液を混合後、各展開液をそれぞれイムノクロマトテストのサンプルパッドに下記のとおりの量を滴下する。(F) スポイト サンプル滴下用 は、(D) スポイト 展開液添加用 と同様の方法にて使用する。

**■ サンプルパッドへの滴下量**

(F) スポイト サンプル滴下用の場合	3 滴
マイクロピペットの場合	100 μl

注) スポイトとマイクロピペットは、混同しての使用を控えてください。

サンプルパッド

図 4. サンプルパッドへの滴下

- ⑦ 水平な状態で 15~30 分間 イムノクロマトテストを静置する。
- ⑧ 15~30 分後\*7、各イムノクロマトテストのコントロールライン (T1) 及びテストライン (T2) の有無を確認する。
- \*7 サンプル滴下後 15 分で判定できますが、30 分後でより明瞭なラインとなります。

## 9. 測定結果の判定法

### 1) イムノクロマトテストの判定

ラインの出現あり → +    ラインの出現なし → -

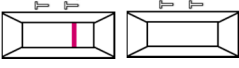
判定	判定部	コントロールライン (T1)	テストライン (T2)
陽性		+	+
陰性		+	-
無効		-	+
		-	-

### 2) 不活化試験結果の見方

不活化効果	対照判定部	検体判定部	説明
あり			検体が陰性、または対照よりもラインが薄い
なし			検体が陽性 (対照と検体でラインの濃さに差がない)

### 3) 判定上の注意

結果	考えられる要因と対策
偽陽性 (++) 	イ) サンプルパッドへの滴下から 30 分以上が経過すると、偽陽性 (Der f 1 が存在しなくてもテストライン (T2) が出現する) が生じる場合があります。 → <u>判定時間 (15~30 分) は厳守してください。</u> ロ) 不活化剤の種類によっては、偽陽性を生じるものがあります。
対照 → 陽性 (++)  検体 → 無効 (-+, --) 	イ) 不活化剤に抗体そのものに影響を与える、または抗体と抗原の結合を阻害するような成分が含まれている。 → <u>イムノクロマトテストに影響が出ないような不活化剤の濃度を検討してください。</u> ロ) 検体のサンプルパッドへの滴下量が多い、または少ない。 → <u>サンプルパッドには、本書で決められた量を滴下するようお願いいたします。</u> ハ) 検体の粘性が高く、展開が正しく行われなかった。 → <u>希釈して粘性を小さくしてから試験を行ってください。</u>

結 果	考えられる要因と対策
<p>検体・対照 → 無効（-+、--）</p> 	<p>イ) 対照と検体のサンプルパッドへの滴下量が多い、または少ない。 → <u>サンプルパッドには、本書で決められた量を滴下するようお願いいたします。</u></p> <p>ロ) 対照と検体の粘性が高く、展開が正しく行われなかった。 → <u>希釈して粘性を小さくしてから試験を行ってください。</u></p>
<p>その他</p>	<p>イ) 検体のダニ溶液に Der f 1 が含まれていても、その濃度が本試薬の検出限界以下の場合には陰性となります。</p> <p>ロ) 不活化剤の種類によっては、金コロイドラベル抗体を凝集させる可能性があります。そのような場合、無効の判定結果となることがあります。</p> <p>ハ) 検体や対照中に、ダニ溶液の pH (pH7.4 付近) を大きく変えるような成分が含まれていると、検出感度が低下したり、偽陽性が生じることがあります。</p> <p>二) 本キットは定性試験用であり、定量目的に開発されたものではありません。定量を目的とする場合は、ELISA 法など他の方法の実施をお願いいたします。</p>

## 10. 性能<sup>\*8</sup>

検出限界値： 5 ng/ml

\*8 弊社試験結果によるものであり、測定条件によって変動する場合があります。

11. **実施例** 別紙の「アプリケーション」を参照ください。

## 12. 注意事項

- 1) 本品は研究用試薬です。それ以外の目的には使用しないでください。
- 2) 本取扱説明書に記載された用法・用量にしたがって使用してください。
- 3) サンプルパッドに溶液を滴下後、ラインが出現するまでの判定時間は本書の時間を守ってください。その時間を逸脱した場合の結果は保証しかねます。
- 4) 本試薬は、吸湿すると品質が劣化し、正確な結果を得られません。アルミ袋開封後はただちに使用してください。
- 5) 本試薬は凍結を避けて保存してください。誤って凍結させた試薬は使用しないでください。
- 6) 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 7) (C) ダニ (Der f 1) 抽出物、ダニ溶液を取り扱う際は、白衣、防護ゴーグル、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。
- 8) 本試薬を廃棄する場合は、当該地域の廃棄物に関する規定にしたがって廃棄してください。
- 9) テストラインに乱れが認められる場合がありますが、性能上問題はありません。
- 10) 製品の仕様は、製品の改良のため予告なく変更される場合があります。ご了承ください。
- 11) 万が一、製品の不具合にお気づきの場合は、使用せずに下記お問い合わせ先に連絡をお願いします。
- 12) その他、ご不明な点がございましたら下記にお問い合わせください。

### ■ お問い合わせ

ITEA 株式会社 事業部門 試薬課

mail : reag-info@itea.jp TEL : 03-3526-2031

発行日：2018年5月11日