

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表
○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

(下線部分は改正部分)

| 改正後 | 改正前 |
|---|-------------------------------------|
| <p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p>豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症（酢酸トコフェロール・油性アジュvant加）不活化ワクチン（シード）</p> <p><u>1 定義</u> <u>シードロット規格に適合した組換え豚サーコウイルス 2 型オープンリーディングフレーム 2（以下この項において「PCV2ORF2」という。）遺伝子挿入バキュロウイルスを同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、酢酸トコフェロール及び油性アジュvantを添加したワクチンである。</u></p> <p><u>2 製法</u></p> <p><u>2.1 製造用株</u></p> <p><u>2.1.1 名称</u> <u>PCV2ORF2 遺伝子組換えオートグラファ核多角体ウイルス（AcNPV） BacPCV2-Orf2 ; 98-99 株又はこれと同等と認められた株</u></p> <p><u>2.1.2 性状</u> <u>Sf21 細胞（付記 1）で増殖する。PCV2ORF2 特異的プライマーを用いて増幅した DNA 断片の塩基配列は、核酸を供与した豚サーコウイルス 2 型と同じである。</u></p> <p><u>2.1.3 マスターシードウイルス</u></p> <p><u>2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数</u> <u>マスターシードウイルスは、Sf21 細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。</u> <u>分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -70 ℃以下又は凍結乾燥して 5 ℃以下で保存する。</u> <u>マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。</u> <u>マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5 代以内でなければならぬ。</u></p> <p><u>2.1.4 ワーキングシードウイルス</u></p> <p><u>2.1.4.1 増殖、継代及び保存</u> <u>ワーキングシードウイルスは、Sf21 細胞で増殖及び継代する。</u> <u>ワーキングシードウイルスは、凍結して -70 ℃以下又は凍結乾燥して 5 ℃以下で保存する。</u> <u>ワーキングシードウイルスについて、3.1.2 の試験を行う。</u></p> | <p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p>(新設)</p> |

2.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、Sf21 細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスは、凍結して -70 ℃以下又は凍結乾燥して 5 ℃以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合には、3.1.3 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

Sf21 細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を用いる。

2.2.3 マスターセルシード

2.2.3.1 作製、保存及びプロダクションセルシードまでの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターセルシードは、特定の製造番号又は製造記号を付し、-70 ℃以下で保存する。

マスターセルシードについて、3.2.1 の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20 代以内でなければならない。

2.2.4 ワーキングセルシード

2.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは、凍結して -70 ℃以下で保存する。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.5 プロダクションセルシード

2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して -70 ℃以下で保存する。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 プロダクションセルシードの培養

1回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の製造用細胞に異常を認めてはならない。

2.3.2 ウィルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.1 の細胞で培養し、ウィルスの増殖極期の培養液を超音波処理したものを作成する。

不活化前原液について、3.3 の試験を行う。

2.3.3 不活化

不活化前原液に製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた不活化剤を加えて不活化し、遠心した上清を原液とする。

原液について、3.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に適量のアジュバントを添加し、最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.5の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシードウイルスの試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.3.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、2.1及び2.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

豚コレラウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢－粘膜病ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.1.1.5 組換え遺伝子等安定性確認試験

一般試験法の組換え遺伝子安定性確認試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験

3.1.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.2.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3 プロダクションシードウイルスの試験

3.1.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2 株化細胞の試験

3.2.1 マスターセルシードの試験

3.2.1.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.2 起源動物種同定試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.4 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験

3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2、2.1 及び 2.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験

3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2 及び 3.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験

豚コレラウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢－粘膜病ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7 及び 3.2.9 を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.6.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.7 腫瘍形成性/腫瘍原性試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.7 を準用して試験するとき適合しなければならない。

3.2.2 ワーキングセルシードの試験

3.2.2.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.2.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.3 プロダクションセルシードの試験

3.2.3.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.3.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.3.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.3.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3 不活化前原液の試験

3.3.1 ウイルス含有量試験

3.3.1.1 試験材料

3.3.1.1.1 試料

検体を Sf9 細胞（付記 2）で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.1.1.2 培養細胞

Sf9 細胞を用いる。

3.3.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 96 穴マイクロプレートの 4 穴以上に分注し、28 ℃ で 5 日間培養する。培養後、96vol % 冷エタノールで固定し、蛍光抗体法を用いて特異蛍光の有無を観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.1.3 判定

特異蛍光を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10⁻⁶ TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.4 原液の試験

3.4.1 不活化試験

3.4.1.1 試験材料

3.4.1.1.1 試料

検体を試料とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試料とする。

3.4.1.1.2 培養細胞

Sf9 細胞を用いる。

3.4.1.2 試験方法

試料をローラーボトルに単層を形成した培養細胞に 25mL ずつ接種し、28 ℃ で 60 分間吸着した後、ウイルス増殖用培養液を加え、28 ℃ で 3 ~ 4 日間培養後、接種した培養細胞を継代し、更に 28 ℃ で 10 ~ 11 日間培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.1.3 判定

培養細胞に CPE を認めてはならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

3.4.2 抗原定量試験

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

検体を希釈液（付記 3）で 5,000 倍に希釈し、試料とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試料とする。

3.4.2.2 試験方法

モノクローナル抗体吸着プレート（付記4）に希釈液を $100 \mu\text{L}$ ずつ全穴に加える。試料、参照陽性抗原（付記5）及び参照標準抗原（付記6）各 $200 \mu\text{L}$ を希釈液で1.5倍階段希釈し、 37°C で60分反応させる。一部、希釈液のみのブランク対照を設定する。反応後、洗浄液（付記7）で洗浄し、ビオチン標識化PCV2特異的モノクローナル抗体（付記8） $100 \mu\text{L}$ を各穴に加える。 37°C で60分間反応後、洗浄液で洗浄し、ペルオキシダーゼ標識アビシン液（付記9） $100 \mu\text{L}$ を各穴に加える。 37°C で45分間反応後、洗浄液で洗浄し、基質液（付記10）を各穴に $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、常温で反応させた後、 2 mol/L 硫酸を各穴に $50 \mu\text{L}$ ずつ加え、反応を停止させ、波長 450nm で吸光度を測定する。参照陽性抗原の吸光度から検量線を作成し、これから試料の抗原の単位を算出する。このとき、ブランク対照の平均吸光度は、0.05以下でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.2.3 判定

試料中のELISA抗原価は、5,000単位/mL以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その抗原量とする。

3.4.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5 小分製品の試験

3.5.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、上層は、乳白色、不透明及び水様の懸濁液であり、底面に淡黄褐色の沈殿物を認める。攪拌後は、乳白色、不透明及び水様の懸濁液となる。また、異物及び異臭を認めてはならず、小分容器ごとの性状は均一でなければならない。

3.5.2 pH測定試験

一般試験法のpH測定試験法を準用して試験するとき、pHは固有の値を示さなければならない。

3.5.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.4 アジュバント定量試験

3.5.4.1 酢酸トコフェロール定量試験

日本薬局方のトコフェロール酢酸エステルの定量法を準用して試験するとき、酢酸トコフェロールの含有量は、1mL中 $11.8\text{mg} \sim 13.2\text{mg}$ でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.4.2 軽質流動パラフィン定量試験

試験品の全量を乾燥させた活性アルミナ約50gを充てんしたガラスカラムに吸着させた後、約250mLのn-ヘキサンを流す。n-ヘキサンを留去後、残留分の質量から軽質流動パラフィンの含有量を求めるとき、軽質流動パラフィンの含有量は、1mL中 $155\text{mg} \sim 191\text{mg}$ でなければならない。

3.5.5 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法1を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、試験品の注射量は0.3mLとし、注射後の体重測定は5日目に行う。

3.5.6 力価試験

3.5.6.1又は3.5.6.2のいずれかを実施する。

3.5.6.1 鶏を用いた試験

3.5.6.1.1 試験材料

3.5.6.1.1.1 注射材料

試験品 2 mL をプラセボ（付記 11）で 4 倍に希釈したものを注射材料とする。

3.5.6.1.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 3 ~ 4 週齢の鶏を用いる。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その規格の鶏を用いる。

3.5.6.1.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、5 羽を対照群とする。注射材料 0.1mL を試験群の筋肉内に注射する。対照群にはプラセボを筋肉内注射する。注射時及び注射 28 日後に得られた各個体の血清について ELISA により抗体価を測定する。

抗原吸着プレート（付記 12）の 12 列目を除く各穴に希釈液を $100 \mu\text{L}$ ずつ分注し、非動化した各被検血清を $50 \mu\text{L}$ 加え、3 倍階段希釈する。希釈液で 5 倍に希釈した参考標準血清（付記 13）を $50 \mu\text{L}$ 加え、3 倍階段希釈する。希釈液で 5 倍及び 16 倍に希釈した参考陽性血清（付記 14）及び参考陰性血清（付記 15）をそれぞれ 12 列目の 4 穴に $100 \mu\text{L}$ 加える。11 列目の 2 穴をブランク対照とする。 37°C で 60 分間反応させた後、洗浄液で洗浄し、ビオチン標識化 PCV2 特異モノクローナル抗体を各穴に $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 37°C で 60 分間反応させる。洗浄液で洗浄し、ペルオキシダーゼ標識アビジン液を各穴に $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 37°C で 45 分間反応させる。洗浄液で洗浄し、基質液を各穴に $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、常温、暗所で反応させた後、 2 mol/L 硫酸を各穴に $50 \mu\text{L}$ ずつ加え、反応を停止させる。波長 450nm で吸光度を測定し、以下の式から被検血清及び参考標準血清の抗体価 (\log_2) を求める。

$$50\% \text{ 阻止吸光度} = (\text{参考陰性血清の吸光度の平均} - \text{参考陽性血清の吸光度の平均}) / 2$$

$$\text{カットオフ吸光度} = 50\% \text{ 阻止吸光度} + \text{参考陽性血清の吸光度の平均}$$

$$\text{各血清の抗体価} = \log_2 \{ \text{吸光度 A を示す各血清の希釈倍数} + (\text{カットオフ吸光度} - \text{吸光度 A}) / (\text{吸光度 B} - \text{吸光度 A}) \times (\text{吸光度 B を示す各血清の希釈倍数} - \text{吸光度 A を示す各血清の希釈倍数}) \}$$

吸光度 A 及び吸光度 B：被検血清及び参考標準血清におけるカットオフ吸光度を挟む 2 点（吸光度 A < 吸光度 B）の吸光度

3.5.6.1.3 判定

試験動物の注射 28 日後の抗体価の平均値は $4.5 \log_2$ 以上でなければならない。

対照群の注射 28 日後の抗体価の平均値は $2.0 \log_2$ 以下でなければならない。この際、ブランク対照の平均吸光度は 1.000 以上、参考陽性血清の最小吸光度は 0.200 未満、参考陰性血清の最大吸光度は 1.000 以上でなければならず、参考標準血清の抗体価は $8.0 \log_2$ ~ $10.0 \log_2$ を示さなければならない。

3.5.6.2 モルモットを用いた試験

3.5.6.2.1 試験材料

3.5.6.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.6.2.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

3.5.6.2.2 試験方法

試験動物 10 匹を試験群、5 匹を対照群とする。注射材料 0.25mL ずつを試験群

の筋肉内に注射し、注射 28 日後に得られた各個体の血清について 3.5.6.1.2 を準用した ELISA により抗体価を測定する。対照群は無接種とする。

3.5.6.2.3 判定

試験群の抗体価の平均値は $6.2\log_2$ 以上でなければならない。対照群の抗体価の平均値は $2.0\log_2$ 以下でなければならない。この際、ブランク対照の平均吸光度は 1.000 以上、参照陽性血清の最小吸光度は 0.200 未満、参照陰性血清の最大吸光度は 1.000 以上でなければならず、参照標準血清の抗体価は $8.0\log_2 \sim 10.0\log_2$ を示さなければならない。

付記 1 Sf21 細胞

Spodoptera frugiperda 卵巣由来細胞

付記 2 Sf9 細胞

Spodoptera frugiperda 卵巣由来細胞で Sf21 細胞のサブクローニング

付記 3 希釀液

1,000mL 中

| | |
|--------------------|--------|
| リン酸水素二ナトリウム二水和物 | 35.58g |
| 塩化ナトリウム | 11.69g |
| ポリソルベート 80 | 0.5 g |
| 牛血清アルブミン（カオリン処理済み） | 1.0 g |
| 水 | 残量 |

pH を 7.0 に調整し、ろ過滅菌する。

付記 4 モノクローナル抗体吸着プレート

PCV2 特異的モノクローナル抗体 3/1B4（付記 16）をモノクローナル抗体希釀液（付記 17）で蛋白量として 100ng / mL になるように希釀し、96 穴マイクロプレートの各穴に $135\mu\text{L}$ ずつ分注し、2~8°C で 16~24 時間静置し、洗浄液 $300\mu\text{L}$ で 4 回洗浄後、カゼイン緩衝液（付記 18）を $200\mu\text{L}$ ずつ分注し、37°C で 1~2 時間静置したもの。

付記 5 参照陽性抗原

豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症（酢酸トコフェロール・油性アジュバント加）不活化ワクチン（以下、この項において「ワクチン」という。）と同じ方法で製造した PCV2 の ORF2 蛋白で、PCV2ORF2 抗原の含有量が ELISA 抗原価 5,000 単位/mL 以上のもの

ポリアクリルアミドゲル電気泳動した場合、約 28kDa に特異的なバンドを認め、また、3.3.2.2 を準用した ELISA により波長 450nm の吸光度を測定した場合、吸光度 1.000 以上を示すもの。

付記 6 参照標準抗原

ワクチンと同じ方法で製造した PCV2 の ORF2 蛋白で、PCV2ORF2 抗原の含有量が ELISA 抗原価 5,000 単位/mL と規定したもの。

ポリアクリルアミドゲル電気泳動した場合、約 28kDa に特異的なバンドを認め、また、3.3.2.2 を準用した ELISA により波長 450nm の吸光度を測定

した場合、吸光度 1.000 以上を示すもの。

付記 7 洗浄液

| | |
|---------------|--------|
| 1,000mL 中 | |
| 無水リン酸水素二ナトリウム | 1.15 g |
| リン酸二水素カリウム | 0.2 g |
| 塩化ナトリウム | 37.2 g |
| 塩化カリウム | 0.2 g |
| ポリソルベート 20 | 1.5 g |
| 水 | 残量 |

pH を 7.0 に調整する。

付記 8 ビオチン標識化 PCV2 特異モノクローナル抗体

PCV2ORF2 に特異的モノクローナル抗体 5/6H12 をビオチンで標識したもので、希釈液で希釈して用いる。

付記 9 ペルオキシダーゼ標識アビジン液

ペルオキシダーゼで標識したアビジン液で、希釈液で 2,500 倍に希釈して用いる。

付記 10 基質液

UP 緩衝液、0.6w/v % TMB 溶液及び水を 1、0.185 及び 10 の割合で混合したもの

UP 緩衝液：テトラメチルベンジジン基質液（酢酸ナトリウム三水和物 13.6g を 80mL の水に溶解し、1.5mol/L のケエン酸一水和物で pH 5.5 に調整後、水を加えて 100mL としたもの）に尿素過酸化水素 140mg を加えたもの。

0.6w/v % TMB 溶液：テトラメチルベンジジン 6 g をジメチルスルホキシド 1,000mL で溶解したもの。

付記 11 プラセボ

ワクチンの成分のうち、主剤を基礎培地に置き換え、その他のアジュvant等の添加剤は、ワクチンと同一成分、同一分量に調製したもの。

付記 12 抗原吸着プレート

PCV2 特異的モノクローナル抗体 3/1B4 をモノクローナル抗体希釈液で蛋白量として 100ng / mL になるように希釈し、96 穴マイクロプレートの各穴に $135 \mu \text{L}$ ずつ分注し、2 ~ 8 °C で 16 ~ 24 時間静置し、洗浄液 $300 \mu \text{L}$ で 4 回洗浄後、カゼイン緩衝液を $200 \mu \text{L}$ ずつ分注し、37 °C で 1 ~ 2 時間静置し、洗浄液 $300 \mu \text{L}$ で 4 回洗浄する。さらに、PCV2ORF2 抗原（付記 9）を希釈液で蛋白量として $4 \mu \text{g} / \text{mL}$ になるように希釈し、 $100 \mu \text{L}$ ずつ分注し、37 °C で 1 時間静置し、洗浄液 $300 \mu \text{L}$ で 4 回洗浄したもの。

付記 13 参照標準血清

ワクチンで免疫した SPF 鶏群由来の血清で、PCV2ORF2 に対し抗体陽性のものを非勧化したもので、3.4.7.1.2 を準用した ELISA（以下、この項にお

いて「力価試験の ELISA」という。)で測定したとき、抗体価 $8.0 \log_2 \sim 10.0 \log_2$ を示すもの。

付記 14 参照陽性血清

ワクチンで免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏から得た血清で、PCV2ORF2 に対し抗体陽性のものを非働化したもので、力価試験の ELISA で測定したとき、吸光度 0.200 未満を示すもの。

付記 15 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏から得た血清で、PCV2ORF2 に対し抗体陰性のものを非働化したもので、力価試験の ELISA で測定したとき、吸光度 1.000 以上を示すもの。

付記 16 PCV2 特異的モノクローナル抗体 3/1B4

PCV2ORF2 に特異的なモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ培養細胞の培養上清をアフィニティクロマトグラフィーで精製し、1 mL 中蛋白量として $600 \mu\text{g}$ になるように調整したもの。

付記 17 モノクローナル抗体希釈液

1,000mL 中
炭酸ナトリウム 1.59 g
炭酸水素ナトリウム 2.93 g
水 残量
pH を 9.6 に調整し、ろ過滅菌する。

付記 18 カゼイン緩衝液

1,000mL 中
トリス 4.84g
スクロース 40.0 g
Triton X-100 0.5 g
カゼイン 2.0 g
水 残量

水約 400mL にトリスを加え、溶解し、pH を 7.3 ~ 7.5 に調整した後、残りの試薬を加え、水で 1,000mL とする。ろ過滅菌する。

付記 19 PCV2ORF2 抗原

ワクチンと同じ方法で製造した PCV2ORF2 蛋白抗原を不活化したもので、1 mL 中蛋白量として $200 \mu\text{g}$ になるように調整したもの。ポリアクリルアミドゲル電気泳動した場合、約 28kDa に特異的なバンドを認めるもの。

豚サーコウイルス（2型）感染症不活化ワクチン
(油性アジュバント加懸濁用液) (シード)

(略)

豚サーコウイルス（2型）感染症不活化ワクチン
(油性アジュバント加懸濁用液) (シード)

(略)
