

Mouse/Rat Intact Proinsulin CLEIA Kit - IBL

96 Well

ご使用の際はこの添付文書をよく読んでから使用してください。

全般的な注意

本キットは、研究用試薬です。診断等に用いることはできません。

形状 構造等 (キットの構成)

1 抗体プレート (Anti-Human Proinsulin 9F5 Mouse IgG MoAb.固相)	96Well x 1
2 標識抗体濃縮液 (50 倍濃度) (ALP 標識 Anti- Insulin 13G4m1 Mouse IgG Fab')	0.15mL x 1
3 標準物質 (Mouse Proinsulin (Synthetic peptide))	0.5mL x 2
4 希釈用緩衝液	30mL x 1
5 標識抗体用溶解液	12mL x 1
6 濃縮洗浄液	100mL x 1
7 化学発光基質液	6mL x 1
8 プレートシール	x 1

測定対象

マウスおよびラットの血清、EDTA 血漿、ヘパリン血漿

測定原理

本製品は、サンドイッチ法によるCLEIA (Chemiluminescent Enzyme Immunoassay)キットです。1次抗体はプレートに固相されていますので、検体および標準物質を加え1次反応をおこないます。その後、ALP標識された2次抗体を加え2次反応をおこない、反応後過剰の2次抗体を洗浄除去した後、発光基質により発光させ、化学発光強度を測定します。

操作上の注意

- 1 検体は、採取後速やかに測定してください。保存する場合は、凍結保存とし、検体の凍結融解を繰り返さないでください。また、融解は低温でおこない測定前に十分混和してください。
- 2 検体は希釈用緩衝液で希釈してください。
- 3 検体や標準物質は、二重測定することをおすすめします。
- 4 測定に当たってはその都度検量線を作成してください。
- 5 検体は、中性域のものを使用してください。また、有機溶媒等の混入も反応に障害がありますので注意してください。
- 6 試薬は使用前に常温に戻し、数回静かに転倒混和し変化のないことを確かめてください。
- 7 抗体プレートの洗浄は必ず付属の洗浄液を使用してください。不十分な洗浄は、測定誤差の原因となりますので正確におこなってください。
- 8 洗浄操作を規定回数おこなった後に、プレートをペーパータオルの上でたたいて、完全に水分を除去してください。この時ペーパータオルがウェルの中に入らないよう注意してください。
- 9 使用しないウェルはプレートシールで保護して操作してください。未使用ウェルは後日使用することができます。
- 10 化学発光強度測定は基質液添加後 20~30 分の間におこなってください。

用法および用量 (操作方法)

- 1 **必要な器具 器材**
 化学発光プレートリーダー マイクロピペットおよびチップ
 希釈用テストチューブ メスシリンダーおよびビーカー
 精製水 ペーパータオル
 プレートウォッシャー又は洗浄瓶 採取用容器 (清潔な試験管など)
 冷蔵庫
- 2 **準備**
 - (1) 濃縮洗浄液の希釈方法
 濃縮洗浄液を精製水で 20 倍希釈してください。これを洗浄液とします。必要量を調製してください。
 - (2) 標識抗体濃縮液の希釈方法
 標識抗体濃縮液を別に用意した採取用容器にて、標識抗体用溶解液で 50 倍希釈してください。これを標識抗体とします。
 希釈例)
 1 スリット (8 ウェル) 使用する場合=400μL 必要(最低量)
 (標識抗体濃縮液を 10 μL とり、標識抗体用溶解液 490 μL を加え良く和し、50 μL ずつ使用します。)
 この操作は、標識抗体添加の直前におこなってください。
 標識抗体濃縮液の残りは、蓋をしっかりと閉め冷蔵にて保存してください。
 有効期限内に再度使用できます。

(3) 標準物質の希釈方法

標準物質バイアル瓶に精製水を 0.5 mL 加えて完全に溶解します。この時標準物質濃度は 6,480 pg/mL となります。凍結融解の繰り返しはできません。
 希釈用テストチューブに希釈用緩衝液 200μL と 6,480 pg/mL の標準物質溶液を 100μL 加え混和し 2,160 pg/mL に調整します。その溶液を順次 3 倍連続希釈をおこない 6,480 pg/mL~9 pg/mL まで 7 点を希釈標準品とします。標準物質は溶解後-20°C以下の冷凍庫で保存できます。凍結融解の繰り返しはできません。

バイアル瓶	6,480	pg/mL
Tube-1	2,160	pg/mL
Tube-2	720	pg/mL
Tube-3	240	pg/mL
Tube-4	80	pg/mL
Tube-5	27	pg/mL
Tube-6	9	pg/mL

3 測定操作方法 (測定操作一覧 参照)

- (1) Pre 洗浄 (操作上の注意 8 参照)
 ウェルのコーティングを除去します。洗浄液を加え除去します。
- (2) 希釈用緩衝液の添加(※)
 全てのウェルに希釈用緩衝液 40μL を添加します。
- (3) 検体、希釈標準品の添加(※)
 検体 10μL および希釈標準品各 10μL をそれぞれのウェルに入れます。
- (4) プレートカバーをして第 1 反応
- (5) 洗浄 (操作上の注意 8 参照)
 ウェルの反応液を除去します。洗浄液を加え除去します。
- (6) 標識抗体の添加
 標識抗体を 50μL 添加します。
- (7) プレートカバーをして第 2 反応
- (8) 洗浄 (操作上の注意 8 参照)
 ウェルの反応液を除去します。洗浄液を加え除去します。
- (9) 基質液の添加
 基質液を 50μL 添加します。
- (10) 遮光して発光反応
- (11) 化学発光強度測定

測定操作一覧

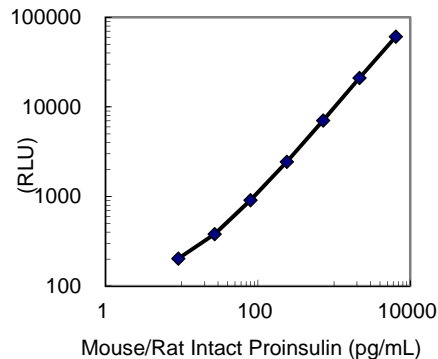
	検 体	標 準
Pre 洗浄	3 回 (洗浄液 350μL 以上) (操作上の注意 8 参照)	
希釈用緩衝液	40μL	
試 料	検体 10μL	希釈標準品 10μL
第 1 反応	プレートカバーをして 2~8°C一晩反応。	
洗 淨	5 回 (洗浄液 350μL 以上) (操作上の注意 8 参照)	
標識抗体	50μL	
第 2 反応	常温 120 分間反応	
洗 淨	5 回 (洗浄液 350μL 以上) (操作上の注意 8 参照)	
基質液	50μL	
発光反応	遮光常温 20 分間反応	
測 定	化学発光強度(RLU)	

測定結果の算出方法

1. グラフのX軸に標準物質濃度を、Y軸にその発光強度をプロットします。各プロットに適当な回帰曲線を当てはめ(解析ソフトを用いる場合はSpline Curveを推奨します)、検量線を作成します。
2. 検体の発光強度を検量線に当てはめ、濃度を読みとります。示される値が検体中濃度となります。

測定値と検量線作成例

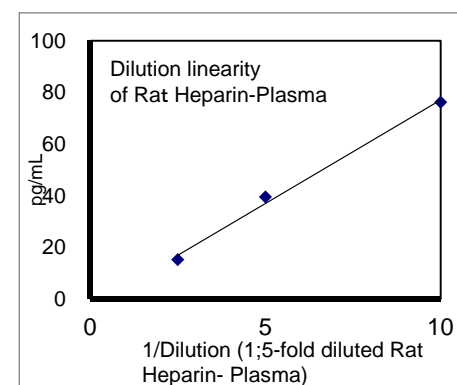
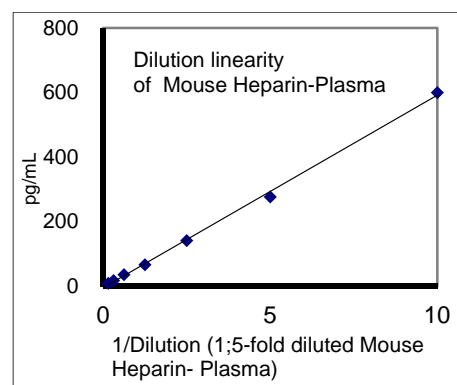
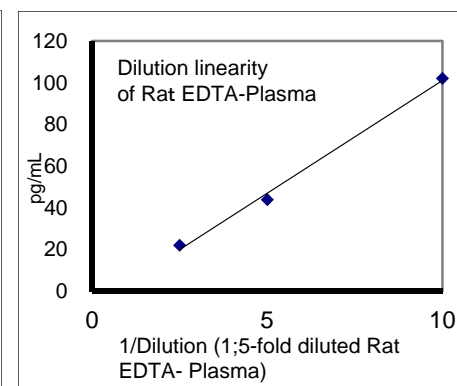
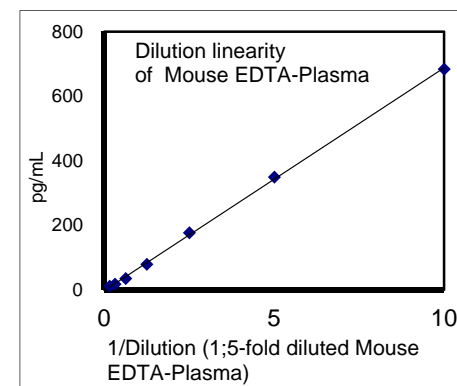
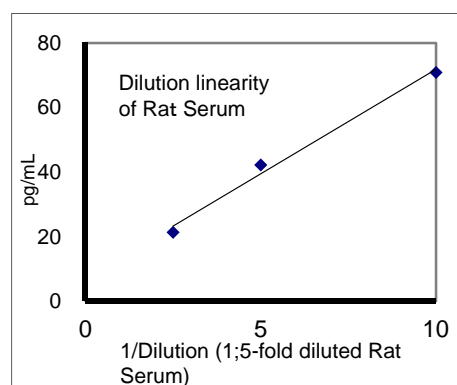
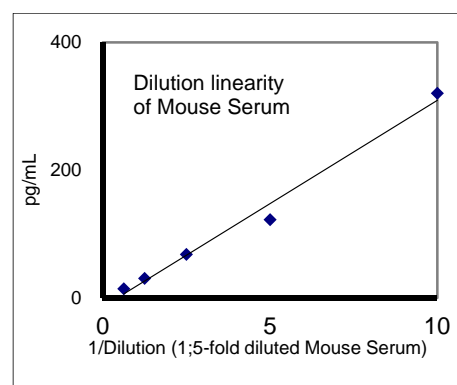
標準品濃度 (pg/mL)	化学発光強度(RLU)
6,480	60,938
2,160	21,118
720	7,063
240	2,443
80	911
27	382
9	203



※使用機器 : Synergy HTX(Bio Tek instruments)

性能
1 測定範囲

9 ~ 6,480 pg/mL (1~720 pmol/L)

2 希釈直線性

3 同時再現性

測定値(pg/mL)	SD(pg/mL)	CV (%)	n
449.40	19.84	4.4	7
61.59	3.59	5.8	7

4 測定間再現性

測定値(pg/mL)	SD(pg/mL)	CV (%)	n
522.50	43.96	8.4	7
74.87	8.37	11.2	7

5 特異性

測定物質	交差率 (%)
Mouse Insulin	0.1

6 妨害物質の影響

溶血ヘモグロビン	365 mg/dL	
遊離ビリルビン	100 mg/dL	
抱合型ビリルビン	100mg/dL	
乳ビ	7050 (ホルマジン濁度)	まで測定値に影響ありません。

使用上または取り扱い上の注意
1 取り扱い上(危険防止)の注意

- (1) 構成試薬には動物血液成分を含む物があります。取り扱いに注意し使用後は手洗いなどをおこなってください。

2 使用上の注意

- (1) 標準物質は、凍結乾燥品です。開封は、十分注意しゆっくりとおこなってください。
- (2) 保存は、2~8°Cとしてください。
- (3) 希釈用緩衝液、標識抗体濃縮液および濃縮洗浄液は、まれに析出を認める場合がありますが、性能に問題はありません。
- (4) ロットが異なる製品の構成試薬や他のキットの構成試薬を混ぜたり、交換したりして使用しないでください。
- (5) 期限切れの試薬は、使用しないでください。

3 廃棄上の注意

使用後の抗体プレートや試薬は多量の水で洗い流してから廃棄してください。

貯蔵方法 有効期間

 2~8°C 保存
 使用期限は外箱に記載

包装単位および製品番号

 96 Well
 製品番号 27708

問合せ先

 株式会社 免疫生物研究所
 〒375-0005 群馬県藤岡市中 1091-1
 電話 : 0274-22-2889
 FAX : 0274-23-6055