この説明書をよく読んでから使用して下さい。

研究用試薬

血中 Glyceraldehyde 由来 AGE 測定試薬

Glyceraldehyde 由来 AGE ELISA

【特　長】

１．放射性廃棄物の心配のいらない EIA(酵素免疫測定)法です。

２．操作が簡単なマイクロプレートを用いた高感度１ステップインヒビション EIA 法です。

３．測定時間は約２．５時間です。

【原　理】

本法は、１ステップインヒビション EIA 法により検体（血清）中の Glyceraldehyde 由来 AGE を測定するものです。Glyceraldehyde 由来 AGE を固相化したプレートに、酵素標識抗 Glyceraldehyde 由来 AGE モノクローナル抗体と検体を入れて反応させます。酵素標識抗 Glyceraldehyde 由来 AGE モノクローナル抗体はプレートに固相化された Glyceraldehyde 由来 AGE と抗原抗体反応を起こし免疫複合体を形成しますが、検体中に Glyceraldehyde 由来 AGE が存在すると酵素標識抗体を取り合うことにより反応阻害(インヒビション)が起こりプレート上の免疫複合体の量は減少していきます。免疫反応後にプレートを洗浄し酵素基質を加えて酵素反応を行うと、プレート上の免疫複合体に含まれる酵素量に応じて発色します。この発色は、上述の免疫阻害反応によって検体中の Glyceraldehyde 由来 AGE 量に反比例しますので、マイクロプレート用比色計で吸光度を測定し、検量線より検体中の Glyceraldehyde 由来 AGE 濃度を測定します。

【試薬の内容】

１）Glyceraldehyde 由来 AGE 固相化プレート――――――――――――――８穴×１２
　・Glyceraldehyde 由来 AGE 抗原
２）酵素標識抗体液――――――――――――――――――――――――――７mL×１
　・HRP 標識抗 Glyceraldehyde 由来 AGE モノクローナル抗体（マウス）
３）呈色液Ⅰ――――――――――――――――――――――――――――――７mL×１
　・過酸化水素 ……１６m mol／L
４）呈色液Ⅱ――――――――――――――――――――――――――――――７mL×１
　・TMBZ ……４．３m mol／L
５）反応停止液――――――――――――――――――――――――――――７mL×１
　・硫酸 ……０．５mol／L
６）洗浄液（原液）――――――――――――――――――――――――１００mL×１（５倍濃縮）
　・Tween20 ……０．２５％
７）AGE 標準液（５μｇ／mL 原液）――――――――――――――――１mL×１
８）検体希釈液――――――――――――――――――――――――――１００mL×１

【用法・用量】

●検体の調製法

検体（血清）を検体希釈液にて１０倍（または２０倍）希釈して用いる。

●試薬の調製法

１）AGE 標準品の調製

検体希釈液にて AGE 標準品（５μｇ／mL 原液）を段階的に２倍希釈してよく混和し２^{n}系列とする。また０μｇ／ｍＬは検体希釈液のみとする。

＊希釈標準液　５．０、２．５、１．２５、０．６３、０．３１、０．０（μｇ/mL）

２）洗浄液の希釈調製

精製水で５倍にして希釈する。〔洗浄液（原液）１本に精製水を加えて５００mL とする〕

３）その他の試薬

そのまま使用する。

●操作方法

	試薬ブランク	希釈標準液	検体
	・検体数に応じて抗 Glyceraldehyde 由来 AGE 固相化プレートを準備する。		
検体	検体希釈液 １００μL	―	５０μL
Glyceraldehyde 由来 AGE 希釈標準液（各濃度）	―	５０μL	―
酵素標識抗体	―	５０μL	５０μL
	・シールでプレートをカバーする。 ・室温にて振とうしながら２時間放置する。 ・放置後、反応液を除き洗浄液約４００μLで５回洗浄する。 ・洗浄液は充分に取り除く。		
呈色液Ⅰ	５０μL	５０μL	５０μL
呈色液Ⅱ	５０μL	５０μL	５０μL
	・振とう混和する。 ・室温にて１５分放置する。		
反応停止液	５０μL	５０μL	５０μL
	・反応停止液を分注後３０分以内に、試薬ブランクを対照に波長 450nm（主）／550～650nm（副）で測定する。		

●算出・判定方法

グラフ用紙を用い、横軸に AGE 濃度、縦軸に吸光度を取り、各 AGE 標準液の吸光度をプロットし、滑らかな曲線で結び検量線とし、この検量線から検体の AGE 濃度を求めます。

【実施例】

１．感度試験
検体希釈液（０μｇ/mL 標準液）を比色試験すると O.D. 450nm（主）/562nm（副）の吸光度は 0.80～2.00Abs である。

２．特異性試験
既知濃度（１μｇ／mL）の管理検体を測定すると、既知濃度の±10%以内にある。

３．再現性試験
１μｇ／mL の希釈標準液を 8 回同時に測定するとき、吸光度の C.V.値は 10%以下である。

【操作上の注意】

１）使用期限の過ぎた製品は使用しないで下さい。

２）製造ロットの異なるキットの試薬は、組み合わせて使用しないで下さい。

３）測定に使用しないプレートは、アルミの袋に密封し 2～10℃保存して下さい。

４）呈色液や反応停止液は、皮膚や衣類に触れないように取り扱いに注意して下さい。

５）洗浄操作は、指定回数を守り入念に行って下さい。

６）キャップを混同しますと試薬間コンタミの原因になりますので注意して下さい。

７）反応時間は定められた時間で行い、操作開始後は速やかに全操作を行って、各検体の反応時間が一定になるように操作して下さい。

８）検体は、血清を添付の検体希釈液にて希釈して使用して下さい。

９）検量線は、測定ごとプレートごとに作成して下さい。

【貯法・有効期間】

・貯　　法：２～１０℃

・有効期間：製造後６ヶ月間

【発売元】株式会社　アップウェル

〒830－0042
福岡県久留米市荘島町８－５－１０１
TEL：0942-32-4906　　FAX：0942-32-4909
e-mail：upwell@ktarn.or.jp
http://www2.ktarn.or.jp/~upwell/