

# ホモシステインアッセイキット

## 【一般的な注意】

- 本製品は研究用試薬であり、それ以外の目的に使用しないでください。
- 取扱説明書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外での使用は避けてください。
- 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。
- 本製品の使用により硫化水素 ( $H_2S$ ) が発生します。本製品の操作はドラフト内で行ってください（調製済み発色液を添加後に  $H_2S$  の発生自体は止まりますが、微量の  $H_2S$  が残存することがありますので十分注意してください）。

## 【形状・構造等（キットの構成）】

- |          |                |
|----------|----------------|
| 1. 前処理液  | 2 バイアル (1.5mL) |
| 2. 酵素液   | 1 バイアル (1.5mL) |
| 3. 標準液   | 1 バイアル (0.5mL) |
| 4. 発色液 A | 1 バイアル (6mL)   |
| 5. 発色液 B | 1 バイアル (6mL)   |
| 6. ブランク液 | 1 バイアル (1.5mL) |

## 【測定原理】

L-メチオニン $\gamma$ -リアーゼ (MGL) は、含硫アミノ酸を標的とし、 $\alpha$ 、 $\gamma$ -脱離や $\alpha$ 、 $\beta$ -脱離反応、 $\gamma$ -置換や $\beta$ 置換反応を行う酵素です。岡山大学 稲垣教授らは、L-メチオニンの分解活性を減少させ、L-ホモシステインに対する活性を向上させた MGL 変異体を作製しました<sup>1)</sup>。本製品はこの MGL 変異体を用い、試料中の L-ホモシステイン量を測定するキットです。MGL はシステインも標的としますが、本製品ではシステインをアラニンに分解する酵素であるシステインデスルフラナーゼ (CsdA) で試料を前処理することによって、ホモシステインを特異的に測定することが可能です。MGL 酵素反応により生成した  $H_2S$  量をメチレンブルー法にて測定することで、L-ホモシステイン量を定量します。

## 【操作上の注意】

- 本製品の使用により  $H_2S$  が発生します。本製品の操作はドラフト内で行ってください（調製済み発色液を添加後に  $H_2S$  の発生自体は止まりますが、微量の  $H_2S$  が残存することがありますので十分注意してください）。
- すぐに測定しない場合、試料は  $-20^{\circ}C$  以下で保存してください。
- 凍結融解を繰り返した試料は使用しないでください。
- 測定範囲を超えた場合には、試料を精製水で適宜希釈してから測定してください。

## 【使用方法】

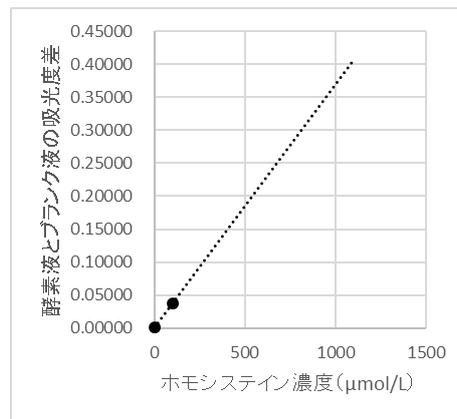
- 試薬の調製  
試薬は室温に戻してから使用してください。
  - 発色液（用時調製）  
使用時に、発色液 A および発色液 B を 1 : 1 の割合で混合し、調製済み発色液として使用します。
  - その他の試薬  
そのまま使用します。
- 必要な器具、装置  
マイクロピペットまたはマルチチャンネルピペット（100、300  $\mu$ L）、吸光度測定用 96 ウェルプレート、ポルテックスミキサー、 $37^{\circ}C$  インキュベーター、マイクロプレートリーダーなど
- 操作方法  
（前処理反応）
  - 前処理液 100  $\mu$ L に精製水（L-ホモシステイン濃度 0  $\mu$ mol/L）、標準液（L-ホモシステイン濃度 100  $\mu$ mol/L）または検体 100  $\mu$ L を添加、混合します。
  - $37^{\circ}C$  で 20 分間静置し、前処理反応液とします。（酵素反応）
  - 酵素液またはブランク液 40  $\mu$ L を 96 ウェルプレートの各ウェルに分注します。

- 前処理反応液 40  $\mu$ L を各ウェルに分注します。
- $37^{\circ}C$  で 10 分間静置します。
- 調製済み発色液 160  $\mu$ L を各ウェルに分注します。
- $37^{\circ}C$  で 10 分間静置します。
- 各ウェルの 670nm での吸光度を測定します。

## 4. 濃度の算出

（ホモシステイン濃度の算出）

- 酵素液を添加したウェルの吸光度からブランク液を添加したウェルの吸光度を差し引きします。
- グラフ用紙を用意し、横軸に標準液の濃度を、縦軸に標準液の吸光度をとり、標準曲線を作成します。
- 1) で求めた吸光度差を用いて、標準曲線から反応液中のホモシステイン濃度を求めます。



測定範囲 20 ~ 2000  $\mu$ mol/L

## 【使用上または取扱上の注意】

- 取扱上の注意
  - 本製品の使用により  $H_2S$  が発生します。本製品の操作はドラフト内で行ってください（調製済み発色液を添加後に  $H_2S$  の発生自体は止まりますが、微量の  $H_2S$  が残存することがありますので十分注意してください）。
  - 試料は、感染性のものを含んでいる場合がありますので、感染の危険があるものとして取扱には十分注意してください。
  - 本製品の発色液 A には塩酸が含まれているため、皮膚との接触を避ける等取扱いに注意してください。
  - 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合には、水で十分洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
- 使用上の注意
  - 異なるロットの構成試薬を組み合わせ使用しないでください。
  - 使用期限を過ぎたキットは、使用しないでください。
  - 試薬の注ぎ足しは行わないでください。
- 廃棄上の注意
  - 使用後の容器は、廃棄物に関する規定に従って、医療用廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。
  - 検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等は、感染の危険性があるものとして、オートクレーブ等で滅菌処理するか、または 1% 次亜塩素酸等の消毒薬に浸して処理してください。
  - 試薬を廃棄する場合には、標準液と他の試薬を混ぜて廃棄しないでください。 $H_2S$  が発生することがあります。
  - 試薬を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

## 【貯蔵方法・有効期間】

- 貯蔵方法：  $-20 \sim -30^{\circ}C$
- 有効期間： 製造日から 3 ヶ月（使用期限は外箱に表示）

**【包装単位】**

1キット (25 テスト用)  
製品コード : 80106

**【主要文献】**

1. Okawa A et al. J Biosci Bioeng. 133 (3) :213-221, 2022

**【問い合わせ先】**

ヤマサ醤油株式会社 診断薬事業部  
〒103-0014 東京都中央区日本橋蛸殻町 1-23-8  
TEL 03-3668-8558 FAX 03-3668-8407

**【製造販売】**



ヤマサ醤油株式会社

千葉県銚子市新生町2-10-1