

ラット S100A9 アッセイキット

【全般的な注意】

1. 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。
2. 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。

【形状・構造等(キットの構成)】

① 抗体固相プレート	1枚	(96 ウェル)
② S100A9 標準液 1 (3.75 ng/mL)	1 バイアル	(0.5mL)
③ S100A9 標準液 2 (15 ng/mL)	1 バイアル	(0.5mL)
④ S100A9 標準液 3 (60 ng/mL)	1 バイアル	(0.5mL)
⑤ S100A9 標準液 4 (240 ng/mL)	1 バイアル	(0.5mL)
⑥ 希釈液(3 倍濃縮液)	1 バイアル	(50mL)
⑦ 洗浄原液(5 倍濃縮液)	1 バイアル	(50mL)
⑧ 酵素標識抗体	1 バイアル	(0.15mL)
⑨ 発色液 A	1 バイアル	(11mL)
⑩ 発色液 B	1 バイアル	(0.5mL)
⑪ 反応停止液	1 バイアル	(11mL)

【使用目的】

ラット S100A9 の測定

【測定原理】

本製品は、マイクロプレート固相法を用いた酵素免疫測定法(EIA)により、ラット S100A9 を測定するキットです。抗ラット S100A9 モノクローナル抗体をマイクロプレートに固相し、試料中のラット S100A9 を結合させます。次に、西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼ標識抗ラット S100A9 モノクローナル抗体を反応させることにより、固相抗体-ラット S100A9-標識抗体複合体を形成させます。酵素-基質反応(発色反応)の吸光度(450nm)を測定することで、ラット S100A9 量を定量することができます。

【操作上の注意】

1. ラット由来の試料を使用してください。他動物種の S100A9 は測定できません。
2. すぐに測定しない場合、試料は-20℃以下で保存してください。
3. 凍結融解を繰り返した試料は使用しないでください。
4. ラット糞便中の S100A9 を測定する場合、抽出操作が必要です。「糞便からの抽出方法例」をご参照ください。
5. 測定の際は、血清および糞便抽出液を添付の希釈液にて、10 倍以上に希釈してから測定してください。測定範囲を超えた場合には、適宜希釈してください。

【使用方法】

1. 試薬の調製

試薬は室温に戻してから使用してください。

- 1) 希釈液
精製水で3 倍希釈し、調製済み希釈液として使用します。調製済み希釈液は 2~8℃で保存し、28 日以内に使用してください。
- 2) 酵素標識抗体
使用時に酵素標識抗体および調製済み希釈液を 1:100 の割合で混合し、必要量の調製済み酵素標識抗体として使用します。
- 3) 発色液
使用時に、発色液 A および発色液 B を 100:1 の割合で混合し、必要量の調製済み発色液として使用します。
- 4) 洗浄原液
精製水で5 倍希釈し、調製済み洗浄液として使用してください。調製済み洗浄液は 2~8℃で保存し、28 日以内に使用してください。
- 5) その他の試薬
そのまま使用します。

2. 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(10、100、300 μL)、ボルテックスミキサー、メスシリンダーまたはメスピペット、マイクロプレートリーダー、アスピレーターまたはプレートウォッシャー、紙タオルなど

3. 操作方法

- 1) 希釈液(S100A9 濃度 0ng/mL)、各標準液または希釈済み検体 100 μL を抗体固相プレートの所定のウェルに分注します。
- 2) 室温で2 時間静置します。
- 3) 各ウェルの反応液をアスピレーター等で吸引除去後、調製済み洗浄液 300 μL を各ウェルに分注します。
この操作をさらに2 回行います。
- 4) 抗体固相プレートを紙タオル等の上で逆さにして軽くたたき、残った液を取り除きます。
- 5) 調製済み標識抗体 100 μL を各ウェルに分注します。
- 6) 室温で1 時間静置します。
- 7) 3)~4)と同様の操作を行います。
- 8) 調製済み発色液 100 μL を各ウェルに分注します。
- 9) 室温で20 分間静置します。
- 10) 反応停止液 100 μL を各ウェルに分注します。
- 11) 各ウェルの 450nm での吸光度を測定します。

4. 濃度の算出

S100A9 濃度の算出

- 1) 片対数グラフ用紙を用意し、横軸に各 S100A9 標準液の濃度を、縦軸に各標準液の吸光度をとり、標準曲線を作成します。
- 2) 各反応液の吸光度を用いて、標準曲線から反応液中の S100A9 濃度を求めます。

※検体が糞便抽出液の場合には、「糞便からの抽出方法例」をご参照し、濃度を算出してください。

【糞便からの抽出方法例】

下記は弊社での検討で用いた方法です。ご参考の上、目的にあった抽出方法をご検討ください。

1. 抽出用希釈液の調製

調製済み希釈液に最終濃度 0.5%(w/v)となるように Triton X-100 を加え、抽出用希釈液として使用します。

2. 使用器具

ペッスル、糞便回収用チューブ(ペッスルを差し込める口径の物)など

3. 抽出方法

- 1) 予め各糞便回収用チューブの重量を測定しておきます。
- 2) 200mg 前後の便を糞便回収用チューブに回収します。
- 3) 回収後重量を測定し、チューブの重量を差し引き、便の重量を算出します。
- 4) 糞便回収用チューブに抽出用希釈液を 500 μL 加えて、15 分静置します。
- 5) ペッスルを使用し、便を粉砕して良く攪拌します。
- 6) 抽出用希釈液 500 μL でペッスルを洗いながら、全ての残物を回収します。
- 7) 4℃、12,000×g で 5 分間遠心し、上清を別チューブに回収します。
- 8) 上清は抽出用希釈液を使用して 10 倍以上に希釈します。
- 9) 標準操作法により上清中の S100A9 濃度を求め、下記式により糞便 1mg 当たりの S100A9 を算出します。

$$\text{便中 S100A9 量 (ng/mg)} = \frac{\text{上清中の S100A9 濃度 (ng/mL)} \times \left[\frac{\text{添加した抽出用希釈液量 (mL)}}{\text{糞便量 (mg)}} \right]^*}{}$$

*:ここに示した例では抽出用希釈液を 1mL 使用しています。抽出用希釈液の量を変更した場合は、添加した抽出用希釈液量 (mL) にて S100A9 量を算出してください。

【使用上または取扱上の注意】

1. 取扱上の注意

- 1) 検体は、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。
- 2) 本製品の反応停止液には硫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。
- 3) 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。

2. 使用上の注意

- 1) 調製した試薬は、定められた方法で保存し、定められた期間内に使用してください。
- 2) 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。
- 3) 使用期限を過ぎたキットは、使用しないでください。
- 4) 試薬の注ぎ足しは行わないでください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 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。
- 2) 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。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法: 2~8℃
2. 有効期間: 製造日から24ヶ月（使用期限は外箱に表示）

【包装単位】

1 キット (96 テスト用)
製品コード: 80126

【主要文献】

1. 村山 寛, 関屋 俊介他: J Toxicol Sci. Vol. 42:Supplement P.S190
2. Sekiya S et al. J Immunol Methods. 439: 44, 2016

【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
TEL 0479-22-0095