

はじめに

小腸に存在するglucagon-like immunoreactivity (GLI)の分離、精製過程で、GLIの約40%を占める69 アミノ酸残基からなるグリセンチンが単離されました。このグリセンチン分子には、グルカゴンの全アミノ酸配列が含まれ、そのグルカゴン配列のC末端に6 アミノ酸残基が、一方、そのN末端に30 アミノ酸残基が、それぞれ塩基アミノ酸対 (-Lys-Arg-) 配列を介して連結しています。その後、遺伝子構造解析法の発展により、各種動物由来のグルカゴン前駆体の全アミノ酸配列が明らかにされましたが、いずれも小腸抽出物から単離されたグリセンチンに相当するアミノ酸配列をそのN端部に含んでおり、膵グルカゴンとそれより大分子型の腸管グルカゴン (GLI) は同一構造の前駆体由来し、そのプロセッシングの相違により生成することが明らかにされました。さらにそのプロセッシングの違いにより、膵と腸管で異なる分子量のグルカゴン関連ペプチドが生成されることが分かりました。膵では主としてグルカゴンが生成されますが、腸ではグリセンチンのほか、GLP-1 やGLP-2 の生成が知られています。

矢内原研究所では同じ前駆体由来する膵および腸管グルカゴン関連物質のすべてを網羅し、それらを分別測定できる一連のキットの開発に取り組んでいますが、既にグルカゴン、GLP-1、GLP-2の測定キットの確立に成功し販売しています。このたびはラットグリセンチン測定系の開発を進めた結果、簡便で、特異性、定量性に優れたアッセイ系を確立することができました。

YK111 Rat Glicentin EIA キット	内容
ラットグリセンチン測定用です	1) 測定プレート
0.206 ~ 50 pmol/mLの範囲で測定できます。	2) 標準品
測定は16 ~ 18時間と1.5時間で終了します。	3) 標識抗原
41検体をduplicateで測定できます。	4) 特異抗体
血漿サンプルの測定ができます。	5) SA-HRP溶液
プレートは1列 (8ウエル) 毎に取り外しできますのでキットの分割使用が可能です。	6) 基質溶解液
同時再現性 ラット血漿 CV(%) 4.56-7.82	7) OPD錠
日差再現性 ラット血漿 CV(%) 3.16-7.59	8) 酵素反応停止液
保存と安定性 2~8 で保存してください。製造日より6ヶ月間は安定です。	9) 緩衝液
	10) 濃縮洗浄液
	11) プレート密閉用シール

特徴

本キットはラット血漿中に含まれるグリセンチンを定量的に測定します。本キットによるラットグリセンチンの測定は簡便でしかも特異性、定量性に優れ、共存する他の生理活性物質や体液成分の影響を受けにくいなどの多くの利点を備えています。なお、添付の標準Rat Glicentinは矢内原研究所において作製した高純度の合成品であり、表示の重量は絶対量を示しています。

< 特異性 >

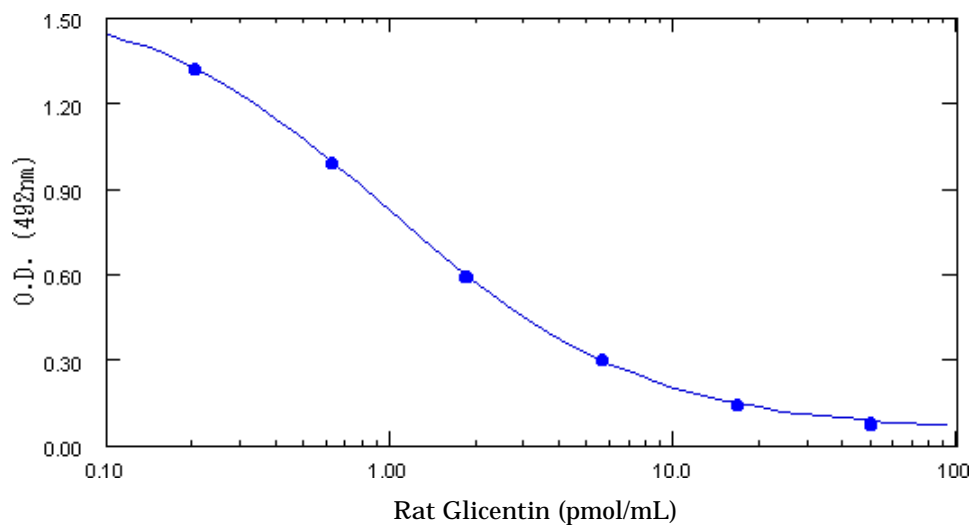
本キットはラットグリセンチンに特異的であり、ラット、マウスおよびヒトGLP-1、ラットGLP-2、ヒトグリセンチン並びにラット、マウスおよびヒトグルカゴンとの交差反応性は認めません。

< 測定原理 >

本アッセイ系は特異性の高いウサギ抗Rat Glicentin抗体 (ポリクローナル抗体) を用いた競合法に、ビオチンとストレプトアビジンの高い親和性を利用した測定法です。

測定プレート (96ウエル) の各ウエルにはヤギ抗ウサギIgG抗体が固定化されており、この各ウエルに標準Rat Glicentin (または検体)、ビオチン化Rat Glicentin及び上記ポリクローナル抗体を順次加えて競合反応させます。これにHRP(horse-radish peroxidase)結合ストレプトアビジンを加え、ウエル上にHRP結合ストレプトアビジン-ビオチン化抗原-抗体複合体を形成させます。最後にこの複合体中の酵素 (HRP) 活性を測定することにより、検体中のラットグリセンチン濃度を求めることができます。測定範囲は、0.206 ~ 50 pmol/mLです。

・ 基本性能



< 添加回収試験 >

ラット血漿A			
Added Glicentin (pmol/mL)	Observed (pmol/mL)	Expected (pmol/mL)	Recovery (%)
10	10.24	10.70	95.72
5	5.37	5.70	94.25
2.5	3.28	3.20	102.36
0	0.70		
ラット血漿B			
Added Glicentin (pmol/mL)	Observed (pmol/mL)	Expected (pmol/mL)	Recovery (%)
10	9.20	10.85	84.80
5	5.51	5.85	94.13
2.5	3.09	3.35	92.34
0	0.85		

< 再現性試験 >

同時再現性

ラット血漿 CV(%) 4.56-7.82

日差再現性

ラット血漿 CV(%) 3.16-7.59

・ 貯蔵法および有効期間

< 貯法 >

遮光し、2-8 にて保存してください。

< 有効期間 >

製造日より6ヶ月間 (使用期限は外箱に表示)

< 包装 >

1キット96テスト分 (標準曲線作成用を含む)

.文献

1. Ohneda, A. et al. : Effect of glicentin-related peptides on glucagon secretion in anaesthetized dogs. DIABETOLOGIA 29: 397-401, 1986
2. Ohneda, A. et al. : Effect of intraluminal administration of amino acids upon plasma glicentin. DIABETES RESEARCH AND CLINICAL PRACTICE 5: 265-270, 1988
3. Ohneda, A. et al.: Insulinotropic action of human glicentin in dogs. METABOLISM, CLINICAL AND EXPERIMENTAL 44: 47-51, 1995
4. Ishihara, S. et al. : Helicobacter pylori infection accelerates gene expression of glicentin in gastric mucosa. DIABETES 32: 460-464, 1997
5. Shibata, C. et al. : Effect of glucagon, glicentin, glucagon-like peptide-1 and -2 on interdigestive gastroduodenal motility in dogs with a vagally denervated gastric pouch. SCANDINAVIAN JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY 36:1049-1055,2001

<お問合せ先>

株式会社 [矢内原研究所](#)

〒418-0011 静岡県富士宮市粟倉2480-1

FAX:0544-22-2770 TEL:0544-22-2771

www.yanaihara.co.jp ask@yanaihara.co.jp

2004年4月23日作成