

牛トランスフェリンEIA定量測定キット
96テスト用

<使用説明書>

トランスフェリンはヒト及び動物の血清中に、多量に含まれている代表的な血清蛋白質である。この成分は主に肝臓で合成され、ヘモグロビン、ミオグロビン、ビオチン、ヘモジデリン、細胞、骨髄等に鉄イオンを運搬供給する、生体にとって重要な役割を担なつた物質である。又、トランスフェリンは過剰鉄イオンによる鉄中毒の防止や腸管からの鉄吸収促進としても重要である。一方この物質に異常を来すと種々の疾病、疾患を招く。事実鉄欠乏性貧血症、消化管の潰瘍・腫瘍、膀胱癌、血友病、血小板減少症、急性肝硬炎等ではトランスフェリンが増加し、ネフローゼ症候群、慢性活動性肝疾患、低蛋白症、急性及び慢性感染症、肝硬変等で減少する事が知られている。本測定キットは酵素抗体法による免疫学的測定法で、牛の血清、分泌液等のトランスフェリンを微量、簡便そして短時間に定量出来るように開発された製品です。

[I] . <キットの内容>

1. 牛トランスフェリン抗体固定化96穴マイクロプレート	1枚
2. 基質溶液	1ml 1本
3. 酵素標識抗体溶液	5ml 1本
4. T-PBS溶液(10倍濃縮液)	60ml 1本
5. 発色剤溶解液	1ml 1本
6. 発色剤	(96検体相当量粉末) 2本
7. 反応停止液	20ml 1本
8. 牛トランスフェリン標準品	(0.1mg/ml) 1ml 1本
9. プレートシール	1枚
10. 使用説明書	1部

[II] . <使用目的>

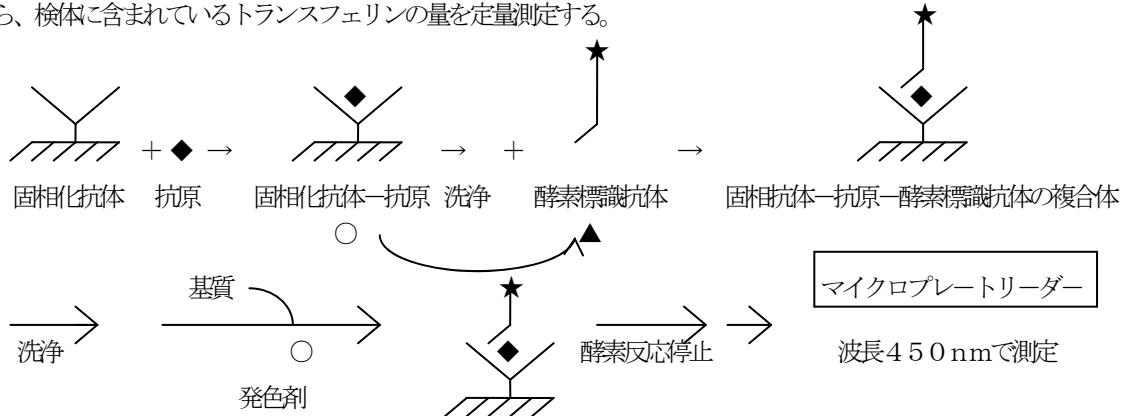
正常な牛及び感染症、腫瘍等の各種疾病、疾患の牛の血清、体液、分泌液、尿等のトランスフェリン含有量の定量測定。

[III] . <使用器具器材>

- ピペット(50μl, 100μl, 150μl, 300μl, 500μl, 1ml, 5ml)
- アスピレーター
- メスリンドー(1,000ml)
- マイクロチューブ(2ml)又は2ml試験管
- マイクロプレートリーダー[光学フィルター: 450nm]
- インキュベーター
- ボルテックスミキサー
- 純水

[IV] . <測定原理>

抗牛トランスフェリン抗体を、96穴マイクロプレートの各ウェルに固定化したものに、牛血清等の検体溶液又は標準の牛トランスフェリン溶液の抗原を特異的に結合させ、未結合成分を洗浄除去する。これに酵素標識抗体を加えることにより、固相抗体-抗原-酵素標識抗体の複合体が形成される。更に未結合の酵素標識抗体を洗浄除去後、発色剤を加える。このものに基質を添加することにより発色させ、その吸光度を450nmで測定する。測定された吸光度は牛トランスフェリンの濃度に依存するので、標準の牛トランスフェリンを用いて作成された、検量線から、検体に含まれているトランスフェリンの量を定量測定する。

**[V] . <使用試薬類の調整法>**

- 希釈T-PBS溶液:添付T-TBS溶液を精製水で10倍希釈。[希釈液の保存期間: 4°Cで1ヶ月]
- 発色液の調製方法:発色剤入のボトルに発色剤溶解液0.3ml加え溶解し、保存液とする[保存期間: 4°Cで1ヶ月]。使用時この保存液の必要量を遮光容器に移し、純水で50倍に希釈し当日以内にご使用下さい。
- 発色液-基質液の混合液:添付各試薬を「発色液:基質=50:1」の割合で混合。[調整後1時間以内にご使用下さい]

[VI] . <牛トランスフェリ定量方法>

- 検体50μlを牛トランスフェリン抗体を固定化した96穴マイクロプレートのウェルに加える。
- プレートに蓋し30°Cで1時間静置反応。
- プレートの蓋をとりウエル中の溶液をピペット等を用いて除去後、各ウェルに希釈したT-PBSの300μlを加え60秒間静置洗浄除去。(同一操作を3回繰りかえし洗浄する)。
- 酵素標識牛トランスフェリン抗体を各ウェルに50μlずつ加える。蓋をし静かに攪拌後、30°Cで1時間静置反応。
- ウェルの溶液を除去後、T-PBS 300μlを各ウェルに加え60秒間静置洗浄除去。(同一操作3回行う)。
- 基質-発色液の混合液を各ウェルに100μl加え(3~7秒間隔で)攪拌し、遮光し30°Cで30分静置反応。
- 反応停止液を各ウェルに150μlずつ加え(3~7秒間隔で)攪拌し酵素反応を停止。(各ウェル同じ30分後)
- 反応停止後30分以内に、マイクロプレートリーダーにて、450nmの波長で吸光度を測定。
- 検量線より牛トランスフェリンを定量。

[VII] . <測定上の注意点>

- 検量線が出来るだけ測定ごとに作成して下さい。尚測定は二本以上で行って下さい。
- 検体の濃度範囲を超える場合には希釈T-PBS溶液で希釈し測定して下さい。
- 多数の検体を測定する場合には、反応時間を同一になるように調整して下さい。
- 検体にはアジ化ナトリウムを添加しないで下さい、酵素反応を阻害します。
- 未使用ウェルがある場合には、添付してあるシートでコンタミしないようにウェルに蓋をして下さい。