

牛ラクトフェリンSRID定量測定キット

(単円免疫拡散法)

<使用説明書>

ラクトフェリンは、1分子当たり2分子の3価鉄イオン結合能を有した、分子量約80,000の糖蛋白質で、ヒト及び動物の乳中に主に含まれている。ラクトフェリンは鉄の運搬体を始めとして、静菌作用、鉄吸収促進、細胞増殖能、抗酸化能、抗炎症作用、ヒスタミン誘発の抑制による抗アレルギー作用等、極めて多彩な生理活性を有した、生体にとって重要な成分である。このラクトフェリンに異常を期すと、種々の疾病を起こす事が知られている。事実乳房炎、感染症では極度にラクトフェリンの量が乳中で減少している事が知られている。

本測定キットは、単円免疫拡散法(SRID)による測定方法で、特別の施設や分析機器等が必要無く、手軽に誰でも何処でも簡便に分析出来る利点を有す。本測定キットは牛のミルク・分泌液中等のラクトフェリンを、再現性良く短時間に定量測定可能です。

[I]. <キットの内容>

1. 牛ラクトフェリン抗体ゲルプレート(17穴).....3枚
2. 希釈溶液.....20ml 1本
3. 純水.....3ml 1本
4. 牛ラクトフェリン標準溶液(0.125・0.25・0.5・1.0・2.0, mg/ml).....各20μl各1本
5. グラフ用紙.....2枚
6. 使用説明書.....1部

[II]. <測定原理>

牛ラクトフェリン抗体を混合したアガロスゲルプレートを作製、この抗体含有ゲルプレートに一定の大きさのウェールを作製、このホールに牛血清や体液等の検体を添加し密封後、37℃の恒温器に入れ24時間インキュベーションを行う。この操作により検体に含まれているラクトフェリン抗原のゲル内拡散が起こり、ゲル内に含有している抗体と抗原抗体反応が起こる。この抗体と抗原の結合反応により不溶性の化合物が生成し、検体を入れたウェールを中心に白いリングが形成される。この円の大きさの直径の二乗が抗原蛋白の濃度に比例するので、各濃度の標準ラクトフェリンの円の大きさをグラフ用紙にプロットした検量線から、未知の検体に含まれているラクトフェリン含有量の定量測定が可能である。

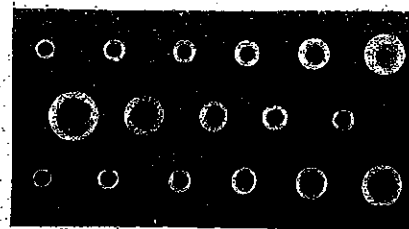
[III]. <使用目的>

正常な牛及び、感染症・腫瘍等の各種疾病疾患牛の血清・体液・分泌液等に含有する、ラクトフェリン定量による、健康状態、更には、疾病との関連性についての研究等。

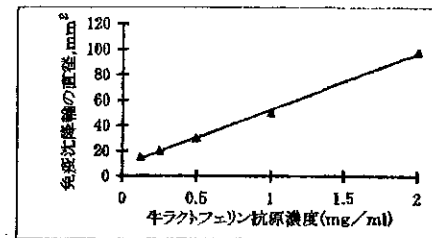
[IV]. <使用器具器材>

1. 恒温器(インキュベーター、37℃使用可能)
2. パスツールピペット
3. マイクロチューブ(1~2ml)又は1~2ml試験管
4. マイクロピペット(1~5μl)
5. スケールルーペ又はスケール(物差)

[V]. <参考資料>



SRID法によるラクトフェリン免疫拡散ゲルプレート



SRID法による牛ラクトフェリンの検量線

[VI]. <牛ラクトフェリンSRID定量測定方法>

1. ゲルプレートのテープを取り除き、プレートの蓋をとる。
2. ゲルプレートのウェールにマイクロピペットで検体3μlを滴加する。尚、希釈液として、標準ラクトフェリンの倍々希釈溶液の5滴を、ゲルプレートの真中列5ホールの各々に、各濃度の標準希釈ラクトフェリン溶液の3μlずつ入れる。
3. 次にゲルプレートの周りの溝に、純水をパスツールピペットを用い満たす。
4. ゲルプレートに蓋をし、更にゲルの乾燥を防止するためテープでプレートの周りを密封する。
5. このプレートを恒温器に水平に入れ、37℃で24時間静置状態で免疫拡散反応を行う。
6. 反応終了後スケールルーペで(円形)の直径を測定し、その乗算検量線より滴加の検体のラクトフェリンを定量する。
7. もし、恒温器無き場合は室温で反応させる。この場合は、抗原抗体反応が若干低下しますが測定可能です。

[VII]. <蛋白量算出方法及び測定範囲>

1. ラクトフェリン量の算出法:
反応終了後ゲルプレートに生成した、免疫沈降輪の直径を測定。この直径の二乗値を検量線より読み取り値を測定
2. ラクトフェリン量の測定範囲: 0.125~2mg/ml (最大沈降輪の直径1.2mm以内)
3. 正常な牛血清の希釈: 原血清・ミルク検体を希釈し、そのまま測定しない(且、直径1.2mm以上を認)

[VIII]. <使用上の注意点>

1. 検量線が出来るだけ測定ごとに作成して下さい。
2. 検体の濃度範囲を超える場合には、添付希釈溶液で希釈し測定して下さい。
3. 反応中ゲルプレートを密封し、乾燥しないようにして下さい。
4. 反応中は、ゲルプレートを水平に保ち静置状態で反応して下さい。
5. ゲルプレートは絶対に凍結しないで下さい、使用不能になります。
6. 保管中ゲルプレートを乾燥させないように、1~6℃で冷蔵保管下さい。

[IX]. <保存方法>

保存条件: 1~6℃で冷蔵保管(早めのご使用をお勧め致します)
有効期限: 製品に記載

製造元: 有限会社ライフ研究所

〒990-0832 山形県山形市城西町三丁目8番3号

TEL: 023-645-1392 FAX: 023-645-1392