

## 1 試薬（品番K71／液型／97／8）

A	ヒト用タイプ2コラーゲン	100 $\mu$ l / V	-20 C 保存
B	コラーゲン溶解剤	15 m l	
C	酵素標識抗体（ヒト用）	10 m l	遮光保存
	C Ig G測定用    (C2 Ig A測定用    C3 Ig M測定用    もあります)		
D	検体希釈液（ $\times 5$ 倍）	20 m l	
E	発色基質液	10 m l	遮光保存
F	反応停止液	5 m l	
G	洗浄剤（ $\times 15$ 倍）	20 m l	

\* 保存温度は「A」を除き、4～8 C。

「A」は使用時、4～8 Cで溶解させる。

## 2 試薬の調整          用時に行なう。

### 1) コラーゲン液

- ・「B コラーゲン溶解剤」9.9 m lに、「A ヒト用タイプ2コラーゲン」100  $\mu$  lを加え、4～8 Cで攪拌する。

\* 逆の手順で加えない。

### 2) 洗浄液

- ・「G 洗浄剤（ $\times 15$  倍）」1容に、精製水14容を加える。

### 3) 検体希釈液

- ・「D 検体希釈液」1容に、精製水4容を加える。2～8 Cで10日間保存可。

### 4) 使用時

- ・全試薬と検体を室温に戻し、浮遊・沈殿物が完全に無くなるよう、静かに混和。

## 3 検体の調整

- 1) ヒト血清（又はヒト関節液）10  $\mu$  lに、検体希釈液1000  $\mu$  lを加え、混和。

### 2) その他

- ・検体の希釈剤として、異種動物血清（ラット、マウス、ウサギ、ニワトリ、ウシ他）の濃度を工夫し、用い得る。
- ・検体の比較には、健常群を用いる。

\* 試薬、検体の取扱いに際しては、皮膚、衣服に付着しないよう、充分留意する。

万一、付着した時は、直ちに大量の水で洗い流し、専門家の処置を受ける。



#### 4 操作手順

マイクロプレート (96well) を用意。

|

コラーゲン液  $100\mu\text{l}$  / well を加える。

|

| 1夜放置 (4℃、16時間) 後、上清を吸引除去。

|

| 洗浄 ( $300\mu\text{l} \times 1$ 回) 後、ペーパータオル上にプレートを伏せ、

| 水分を吸い取る (以下同)。

|

ブランクを除き、各ウェルに検体  $100\mu\text{l}$  を加える。

| \*プレートを、緩やかに、15秒間、混和。

|

| 室温で2時間放置後、上清を吸引除去。続いて洗浄 ( $300\mu\text{l} \times 3$ 回 以下同)

|

「酵素標識抗体」  $100\mu\text{l}$  を加え、軽く混和。

|

|

| カバーし、室温で1時間放置後、上清を吸引除去。続いて洗浄。

|

「発色基質液」  $100\mu\text{l}$  を加え、軽く混和。

|

| カバーなしで、室温で30-15分放置。(青色の強さを目安にする)

|

「反応停止液」  $50\mu\text{l}$  を加え、軽く揺すって混和。直ちに、450nmで測定。

#### 5 非特異反応について

マイクロプレート法は、多くの利点があるが、固相法の為反応表面積が狭いとか、固相面が下部の為異物が沈着し易い等の短所を持つ。

それ故、抗体価が低いヒト血清の時には、非特異的反応が、おこり易い。

非特異反応の影響を除去するには、検体中の交叉性物質が反応し難い程度に、検体を適当な希釈剤で希釈するか、検体毎に非特異反応を差引く方法がある。

希釈については、「3 検体の調整」中で述べてあり、ここでは後者について述べる。

先ず、「コラーゲン液」  $100\mu\text{l}$  を「検体希釈液」  $1\text{ml}$  に加え、混和後

この液で「ヒト血清」を100倍に希釈する。

これを、非特異反応を差引く為の「検体」とし、「4 操作手順」通りに扱えば

抗体は検出されない。この時、検出された吸光度は非特異反応である。

以上の操作を、各検体毎に行ない、バックグラウンドとして差引けば、真の抗体の吸光度が得られる。



## 6 キットの貯法と有効期限

- ・未開封時、遮光下2-8℃で10カ月。

## 7 問合せ先

- ・コラーゲン技術研修会 (Fax. 0424-95-1990) 又は、お近くの試薬販売店へ。
- ・万全を期して出荷しておりますが、万一、構成試薬の不足、変質等が有りましたら、直接ご連絡下さい (Tel. 0424-95-1995)。
- ・特種項目の開発、製造にも、安価で応じています。ご相談下さい。

## 8 製品のご紹介

- ・「MCK」マウス インターロイキン1 $\beta$ 測定用ELISA (本邦で最初の上市品), IL6, IL10, TNF $\alpha$ , 特注品IL2, 4。  
\*使用血清は、わずか50 $\mu$ l, 試薬は全て溶液 (除標準) で、扱いやすく、価格は、最も廉価 (¥54,000, H7.12現在)。  
ヒト 全て特注により製造。上記の他に、FGFbasicも即可。
- ・「K11」コラゲノキット  
東京医科歯科大学永井裕教授、テネシー大学K. Terato助教授のご指導、ご助言により、世界で最初に開発されたコラゲナーゼ活性測定試薬。  
発売以来10余年、国内外での使用例、記載文献多数。
- ・「K41」「K42」タイプIIコラーゲン (ウシ由来)  
リウマチ関節炎を研究目的に、1982年、世界で最初に製品化され、この分野での標準品として、使用されています。
- ・独自の精製法による各種動物由来のタイプIIコラーゲン  
免疫用に、K40 (ラット), K43 (ニワトリ), K44 (ブタ)。  
ELISA に、K45 (ラット), K46 (ウシ), K47 (ニワトリ), K48 (ブタ), K49 (ヒト)。
- ・「K71」「K72」「K73」抗タイプIIコラーゲン抗体検索システム  
ヒト用、ラット用及びマウス用の3種。
- ・世界で最初の蛍光標識コラーゲン各種  
タイプI (ウシ), タイプII (ウシ関節), タイプIV (ヒト胎盤)。  
MMP活性の測定用基質に、代謝研究に。
- ・培養用タイプIVコラーゲン (ヒト由来)  
ザイモグラムにも、お試し下さい。分子サイズは、再精製で、均一化。  
国内で最もお使い易い価格 (1mg/ ¥34,000)。
- ・抗GAD抗体測定用ELISA (本邦最初の上市品)  
糖尿病の研究に。ラット用及びヒト用の2種。

