



使用に際してはこの取扱説明書をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。

AT04T
研究用試薬

*2013年 2月改訂(第2版)
2007年10月作成(第1版)

化学発光酵素免疫測定法試薬 アポ蛋白B-48測定キット

本試薬は研究用試薬ですので、診断目的に使用することはできません。
本試薬使用に際しては、測定システムの取扱説明書を参照してご使用ください。

■はじめに

ヒトアポリポ蛋白B-48(アポ蛋白B-48)は小腸から分泌されるアポリポ蛋白Bの一種で、カイロミクロンおよびカイロミクロンレムナント中に存在しています。近年、カイロミクロンレムナント代謝異常と冠動脈疾患¹⁾、食後高脂血症²⁻³⁾の関連性が数多く報告され、血中アポ蛋白B-48がレムナント代謝異常の指標として注目されています。

アポ蛋白B-48測定キットは、外因性リポ蛋白に存在するアポ蛋白B-48を測定する試薬で、一次抗体としてアポ蛋白B-48のC末端領域を認識する抗アポ蛋白B-48抗体を使用し、二次抗体として抗アポ蛋白B抗体を使用することにより、血清または血漿中のアポ蛋白B-48を精密に測定することができます。

本試薬は、化学発光酵素免疫測定法(CLEIA; chemiluminescent enzyme immunoassay)⁴⁾に基づくアポ蛋白B-48測定用の試薬です。使用にあたっては、弊社で販売している全自動化学発光酵素免疫測定システムが必要です。別売の標準アポ蛋白B-48セットと組み合わせて使用してください。

■特徴

固相にフェライト粒子を用いており、B/F分離が容易で迅速測定が可能です。

■原理

本試薬は、2ステップサンドイッチ法を原理とする化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)によるアポ蛋白B-48測定用試薬です。

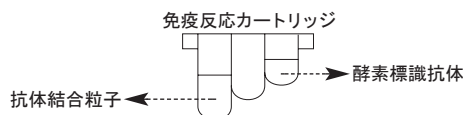
試料を界面活性剤を主成分とするアポ蛋白B-48用処理液で処理し、カイロミクロンおよびカイロミクロンレムナント中のアポ蛋白B-48を露出させます。

次にこの処理済試料を、抗アポ蛋白B-48モノクローナル抗体(マウス)結合粒子(固相; 第一抗体)に加え反応させ、洗浄後アルカリホスファターゼ標識抗アポ蛋白Bモノクローナル抗体(マウス)(第2抗体)を加えて反応させますと、試料中のアポ蛋白B-48を介した3者のサンドイッチ複合体が形成されます。未反応のアルカリホスファターゼ標識抗体を磁気分離器によりB/F分離して除去した後に、化学発光基質(AMPPD)^{注1)}を加えて酵素反応を行います。固相に結合した試料中のアポ蛋白B-48量は、AMPPDの分解に伴う発光量に反映されますので、これをルミノメーターで測定することによりアポ蛋白B-48の濃度を求めることができます。

注1) AMPPD: 3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3''-phosphoryloxy)phenyl-1,2-dioxetane disodium salt / 3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-ホスホリロキシ)フェニール-1,2-ジオキセタン-2ナトリウム塩

■試薬構成

- 抗体結合粒子^{注2)}(使用時液状、250μL/免疫反応カートリッジ)
抗アポ蛋白B-48モノクローナル抗体(マウス)結合フェライト粒子を含みます。
注2) 15°C以下の温度ではゲル化しています。
- 酵素標識抗体(液状、350μL/免疫反応カートリッジ)
アルカリホスファターゼ(ALP)標識抗アポ蛋白Bモノクローナル抗体(マウス)を含みます。



- アポ蛋白B-48用処理液(液状、25mL×2)

■操作上の留意事項

- サンプリングチップ、サンプルカップは、使用する測定システム指定のものを使用してください。
- サンプリングカップ、サンプリングチップは常に新しいものを使用してください。
- 試料は不活性化(非働化)しないで使用してください。
- 試料は可能な限り新鮮な血清または血漿を用い、保存する場合は-20°C以下で凍結保存してください。
- 試料に抗凝固剤(EDTA-ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ヘパリンナトリウム)を添加して試験した結果、それぞれ1.0mg/mL、3.8mg/mL、100U/mLまで測定値に影響は認められませんでした。液状の抗凝固剤を用いる場合は、試料の希釈率にご注意ください。
- 試料にビリルビンF、ビリルビンC、ヘモグロビンを添加して試験した結果、それぞれ19.4mg/dL、20.9mg/dL、523mg/dLまで測定値に影響は認められませんでした。
- 試料の凍結融解の繰り返しは避けてください。
- 試料に赤血球・その他の有形成分、沈殿物が含まれている場合はサンプリングの際に吸引しないよう注意してください。
- 試料および標準アポ蛋白B-48溶液(別売の標準アポ蛋白B-48(凍結乾燥)にアポ蛋白B-48用溶解液を加えて復元した標準溶液)は蒸発による濃縮を考慮し、装置セット後の経過時間に注意してください。
- 正確な測定を行うために、用いる精製水は常に新しいものを使用してください。
- 基質液はアルカリ性溶液(pH10)です。測定システムにセット後は、なるべく空気に触れないよう、基質液交換時まで取外しは避けてください。
- 基質液の操作取扱いには、十分注意してください。基質液がアルカリホスファターゼ(ALP)に汚染されますとご使用になれません。手指が直接基質液に触れた場合は廃棄してください。
- 標準アポ蛋白B-48溶液は調製後速やかに使用してください。残った標準アポ蛋白B-48溶液は2~10°Cで保存し、調製後12時間以内に使用してください。調製後12時間以降に使用する場合は凍結して保存してください。融解後の再凍結はできません。

■使用方法

I. 使用装置および使用器具

- 全自動化学発光酵素免疫測定システム
- マイクロピペット
- サンプリングチップ
- サンプルカップ
- プラスチック容器

II. 操作方法

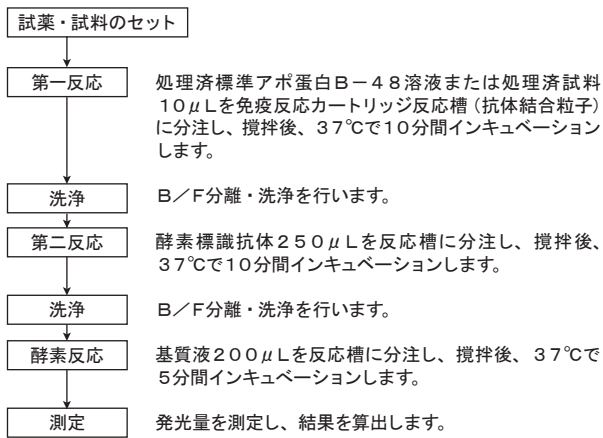
<試薬の調製法>

- 抗体結合粒子および酵素標識抗体
免疫反応カートリッジには抗体結合粒子および酵素標識抗体が充填されています。カートリッジカセットの透明フィルムを剥がし、そのまま使用します。
- 標準アポ蛋白B-48
常温(15~25°C)に戻してから使用します。
各濃度の標準アポ蛋白B-48(凍結乾燥)に、アポ蛋白B-48用溶解液を正確に0.3mL加え、標準アポ蛋白B-48溶液を調製します。
- アポ蛋白B-48用処理液
常温(15~25°C)に戻してから使用します。
- アポ蛋白B-48用溶解液
常温(15~25°C)に戻してから使用します。

<操作手順>

- 全自動化学発光酵素免疫測定システムの取扱説明書を参照し、標準アポ蛋白B-48溶液および試料の測定依頼内容を入力します。
- 標準アポ蛋白B-48溶液と試料の処理を以下の手順でおこないます。
まずプラスチック容器にアポ蛋白B-48用処理液380μLを分取し、次いで標準アポ蛋白B-48溶液を20μL添加します。混合した溶液はピペット操作によりまたはミキサーを用いてよく混和し、処理済標準アポ蛋白B-48溶液とします。試料についても、同様の順序で処理済試料を調製します。処理後は速やかに測定に用いてください。
- 処理済標準アポ蛋白B-48溶液および処理済試料をサンプルカップに分注し、所定の位置にセットします(使用する測定システムのデッドボリュームを考慮してください)。
- スタートキーを押し、測定を開始します。
- 反応プロトコルに示す動作が装置内で自動的に進行し、測定結果がプリントアウトされます。

<反応プロトコール；2ステップモード>



Ⅲ. アポ蛋白B-48濃度の算出法

- 各標準アポ蛋白B-48溶液の発光量より検量線を作成し、試料中のアポ蛋白B-48濃度を算出します。
- 試料中のアポ蛋白B-48濃度が40μg/mLを超える場合は、試料を別売のルミパルス検体希釈液で希釈して再測定してください。

■測定範囲

1. 測定範囲

本試薬の測定範囲は、0.2~40μg/mLです。

2. 検出限界

標準アポ蛋白B-48溶液(濃度1)と希釈したアポ蛋白B-48溶液を所定の操作で20回繰り返し測定し、標準アポ蛋白B-48溶液(濃度1)の平均値+3SDと、希釈したアポ蛋白B-48溶液の平均値-3SDが区別できる最小濃度を検出限界として求めたとき、値は0.02μg/mLとなりました。

■使用上又は取扱い上の注意

- * 1. 本試薬および試料は、感染の危険性があるものとして十分に注意して取扱ってください。
- 2. 基質液はアルカリ性溶液(pH10)です。使用に際しては、液が直接皮膚についたり、目に入ったりしないよう注意してください。
- 3. 試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。
- 4. 試料中のフィブリノゲンや赤血球等の有形成分の存在、試料間の汚染、非特異反応等の要因により測定値に影響を受ける場合があります。
- 5. 本試薬の保存条件は厳守してください。
- 6. 本試薬の抗体結合粒子、酵素標識抗体およびアポ蛋白B-48用処理液には保存剤として0.1%のアジ化ナトリウムが含まれています。廃棄する際には爆発性の金属アジドが生成されないよう多量の水で流してください。また別売の標準アポ蛋白B-48(凍結乾燥)には保存剤として2.2%(w/w)のアジ化ナトリウムが含まれています。凍結乾燥品は医薬用外毒物に該当しますので、廃棄する際にはアジ化ナトリウムの濃度が0.1%以下になるように希釈してください。廃棄する際には爆発性の金属アジドが生成されないよう多量の水で流してください。
- 7. 試料中にはHBV、HIV、HCVなどが存在する場合がありますので、試料の取扱いには十分注意してください。また、使用した器具(ピペット、試験管等)、廃液、サンプリングチップなどは、次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度1000ppm、1時間以上浸漬)、グルタルアルデヒド(2%、1時間以上浸漬)などによる消毒、オートクレーブ(121℃、20分以上)による滅菌処理を行ってください。
- 8. 試薬および容器等を廃棄する場合は、廃棄物に関する規程に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。
- 9. 廃液の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法などの規制に従って処理してください。

■特異性

ヒトアポ蛋白B-100との反応性は定量限界以下でした。

■保存方法

2~10℃に保存してください。

■使用期限

外箱の表示をご参照ください。

■包装単位

コードNo.	品名	包装
219874	アポ蛋白B-48測定キット (抗体結合粒子・酵素標識抗体、アポ蛋白B-48用処理液)	42テスト×2

■別売品

コードNo.	品名	包装
219782	標準アポ蛋白B-48セット (アポ蛋白B-48測定専用試薬：研究用試薬) ◇ 標準アポ蛋白B-48 ◇ アポ蛋白B-48用溶解用液	4濃度×1

■主要文献

- Meyer E, et al. Abnormal postprandial apolipoprotein B-48 and triglyceride responses in normolipidemic women with greater than 70% stenotic coronary artery disease: a case-control study. *Atherosclerosis*. 124 (2) : 221-35, 1996.
- Simpson HS, et al. Postprandial lipemia, fenofibrate and coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 85 (2-3) : 193-202, 1990.
- Karpe F, et al. Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 106 (1) : 83-97, 1994.
- Bronstein I, et al. 1,2-Dioxetanes : Novel Chemiluminescent Enzyme Substrates. Applications to Immunoassays. *J. Biolumin. Chemilumin.* Vol.4 : 99-111, 1989.

■問い合わせ先

富士レリオ株式会社 お客様コールセンター
TEL : 0120-292-832
FAX : 03-5695-9234

* ■製造・発売

富士レリオ株式会社
東京都新宿区西新宿 2-1-1



AT04T