

<研究用試薬>

品番 AB12

「AB12 ラット用」

MCK AB12 2-1

企画：コラーゲン技術研修会

〒204 清瀬市上清戸1-10-1

「MCK」ラット・抗GAD65抗体測定用 ELISA

はじめに

本キットは、抗原にリコンビナントヒトGAD65を使用した。

酵素GADがブタ・ラット・ヒト間で、相同性を持つこと及びヒト用キットとあわせ基礎・臨床の両面から、IDDMの解明を進めるためである。

1 測定の概要

- ・ラットの血清又は血漿中の抗GAD (Glutamic Acid Decarboxylase, 65 kDa) 抗体を、サンドイッチ法で測定。

2 キットの内容

A) 抗原固相化プレート	1枚	抗原：リコンビナントヒトGAD65
B) 酵素標識抗体（ラット用）	10ml	褐色瓶
C) 検体希釈液（濃縮）	20ml	
D) 発色基質液	10ml	黒色瓶
E) 洗浄液（濃縮）	20ml	
F) 反応停止液	5.0ml	

3 試薬の調製

- ・「検体希釈液」20mlは、精製水80mlで希釈して用いる。
2-8℃で10日間保存可。
- ・「洗浄液」20mlは、精製水280mlで希釈して用いる。
2-8℃で、10日間保存可。

4 検体の取扱い

- ・検体には、血清又は血漿を用いる。
- ・長期保存は、-70℃。数日の保存は、凍結で。24時間以内の使用は、2-8℃保存で可。
- ・検体は、あらかじめ所要量を分割して保管する。凍結／融解を繰り返さない。融解は、室温以下で行う。

5 操作上の留意点

- ・二重測定で行う。
- ・インキュベーションは、室温下、ゆっくり水平振蕩（150rpm）で行う。
- ・「検体」は、使用時に、各10μlを、調製済みの「検体希釈液」1000μlで100倍に希釈する。
- ・抗体価の設定は、各施設にて任意に行う。例えば、あらかじめ健常群ラットのプール血清を用意し、この平均OD値を、「1」とし、+2SDまでを、正常域とする。



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

6 操作手順

*全試薬と検体を室温に戻し、静かに、又、浮遊・沈殿物が無くなるよう完全に、混和。

*プレートの各ウェルに、「洗浄液」300 μ lを加え、20秒放置後、溶液除去し以下の操作を行う。

1) 抗原固相化プレート「プール血清+検体数」を用意。

 *残りのウェルは、ホルダーより外し、2-8℃で保存。

2) プール血清、検体の順に、各100 μ lを、分注。

 *プレートを、緩やかに、15秒以上振とうし、充分混和。

3) カバーし、インキュベーション（120分）

4) 上清を吸引除去し、洗浄（「洗浄液」300 μ l×3回）

 *洗浄後、ペーパータオル上にプレートを伏せ、水分を吸取る。

5) 「酵素標識抗体」100 μ lを分注。

6) カバーし、インキュベーション（60分）

7) 洗浄

 *4)に同じ。

8) 「発色基質液」100 μ lを分注。

9) 室温にて、15分間放置。

10) 全ウェルに、「反応停止液」50 μ lを分注。

 *分注後、プレートを軽く揺すり混和。

11) 速やかに、450nmにて吸光度を測定。

 *「検体」の濃度を、30分以内に読み取る。

