

この度は弊社製品をご購入いただきましてありがとうございます。ご使用に際してはキットに同梱された取扱説明書に従って測定を実施してください。なお、操作法は弊社 Web サイト[良い結果を出すためのポイント(動画)]、並びに[Q&A]をご参照ください。また、本キットを初めてご使用になられる場合は後述の「◆ご使用前にご確認いただきたい技術上のヒント及び注意事項」をご確認の上ご使用ください。

## 『レビス® プロインスリン - マウス/ラット』取扱説明書

### 1. イントロダクション

プロインスリンはインスリンの前駆体で膵島β細胞内でアミノ酸86個からなる分子量約9400の1本鎖の形で合成された後、分泌顆粒に移行する過程でS-S結合が形成され、さらに酵素分解によりインスリンとC-ペプチドとなります。分泌顆粒には、分解し残りのプロインスリンも10%程度存在し、顆粒が分泌される際に共に血中に放出されます。プロインスリンの生理活性はインスリンの5~10%であると言われております。

血中のインスリンやC-ペプチドをイムノアッセイで測定すると、一般的にはこのプロインスリンも測定してしまうこととなります。プロインスリンのインスリンに対する割合は、インスリン生合成過程の状況を反映している可能性があります。

NIDDM(II型糖尿病)では空腹時やグルコース負荷時、共に血中プロインスリンレベルは健常者に比べて高く、インスリンに対する割合も増加し、空腹時血糖値が高い場合や肥満の際にはこの傾向は顕著となります。高血糖による持続的なインスリンの分泌が未成熟分泌顆粒のままで放出される可能性が考えられます。またインスリノーマでは高プロインスリン血症が歴然と現れます。

家族性高プロインスリン血症では遺伝的にプロインスリンからインスリンへの転換酵素の異常やプロインスリン遺伝子の異常により転換酵素の作用を受けないプロインスリンが作られるなどが原因で、分泌顆粒中のIRIの大半をプロインスリンが占めます。甲状腺機能高進の場合も、甲状腺ホルモン過多による糖新生に伴う血糖上昇がインスリン産生放出を促進し分解し残りのプロインスリン放出も多くなります。

本キットはマウスまたはラットのプロインスリンを定量的に測定するためのサンドイッチ酵素免疫測定法です。本キットは研究のみにご使用ください。

### ◆製品の特長

- 全反応時間は5時間です。
- マウスまたはラットの血清または血漿中のプロインスリンを測定します。
- 微量な検体(標準操作法は10μL)で測定可能です。
- 1キットは96ウェル(測定に使用するのは60ウェル)です。
- 標準品はマウス由来のものです。
- 全ての試薬は溶液タイプです。

### 2. 測定原理

本キットは標準品、検体を抗プロインスリンモノクローナル抗体(インスリン部位認識抗体)固相化マイクロプレートウェル中で2時間インキュベートします。洗浄後、ビオチン結合抗プロインスリン抗体(C-ペプチド部位認識抗体)を加え、2時間インキュベートします。再度の洗浄後、ペルオキシダーゼ・アビジン結合物を加え、捕捉されたプロインスリンとともに30分インキュベートします。洗浄後、ウェルに残ったペルオキシダーゼを発色液(TMB)と反応させます。反応は酸性の溶液の添加で停止され、反応の結果生じた黄色の産物が450nm(副波長620nm)で比色測定されます。吸光度はプロインスリン濃度にほぼ比例します。標準品濃度に対して吸光度をプロットし標準曲線を作成し、この標準曲線から未知検体中の濃度が決定されます。

### 3. キットの保存と使用期限

キットは2℃~8℃で保存してください(凍結厳禁)。この保存条件下でキットは製造月から6ヵ月(外箱のラベルに記載)までは安定です。有効期限の過ぎた試薬は使用しないでください。開封した各試薬につきましては、保管状態により影響を受ける可能性がありますので早めのご使用を推奨します。

### 4. キット以外に必要な器具 □チェックリスト

- 精製水(蒸留水) □標準溶液希釈用試験管 □洗浄液希釈用ガラス器具(メスシリンダー・ビーカー・瓶) □チップ交換型ピペット(使い捨てチップで10μL、20μLを正確にピペッティングできるもの、及び200μL~400μLを正確にピペッティングできるもの) □連続分注ピペット(例Eppendorfのmultipette plus)、50μLを連続分注できるもの □ペーパータオル等の吸水性のあるもの(洗浄後にプレートに残った液を取り除く) □攪拌器(Vortexタイプ) □マイクロプレート振とう器(約600rpm~)

レビス® プロインスリン-マウス/ラット (AKMPI-111)

1200 rpm) □96 ウェルプレート用洗浄機 (あれば好ましい) または噴射ビン □96 ウェルプレートリーダー(450 ± 10 nm、620 nm : 600 nm~650 nm) □データ計算用ソフトウェア

5. 構成品

構成品	状態	容量
(A) 抗体固相化ウェルプレート	洗浄後使用	60wells(6×10)( * ①) / 1 枚
(B) 標準プロインスリン溶液(200 pmol/L)	希釈後使用	100 μL / 1 本
(C) 緩衝液	そのまま使用	60 mL / 1 本
(D) ビオチン結合抗プロインスリン抗体	希釈後使用	100 μL / 1 本
(E) ペルオキシダーゼ・アビジン結合物	希釈後使用	100 μL / 1 本
(F) 発色液(TMB)	そのまま使用	12 mL / 1 本
(H) 反応停止液(1 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) ※取扱注意	そのまま使用	12 mL / 1 本
(I) 濃縮洗浄液(10×)	希釈後使用	100 mL / 1 本
プレートシール		4 枚
取扱説明書		1 部

(\* ①): プレートは 96 ウェル(8×12)がセットされています。ご使用時は外周のウェルを使用しないでください。ワークシート例をご参照ください。抗体の固相化は 96 ウェル全てにされています。

6. 試薬の調製

- \* キットの試薬は使用前に必ず室温(20 °C~25 °C)に戻してください (2 時間位が目安です)。
- \* 5. で「そのまま使用」とある試薬は室温化後そのままの状態で使用できます。「希釈後使用」とあるものについては下記の要領で調製してください。
- \* 測定に必要な分だけ試薬を調製してください (ご不明な際にはお問い合わせください)。

【濃縮された試薬類】

[(B)標準プロインスリン溶液(200 pmol/L)] ; 標準曲線作成用

(B)標準プロインスリン溶液(200 pmol/L) (原液) と(C)緩衝液を使って標準溶液を調製してください。下記は一例です。※換算は 1 ng/mL=106 pmol/L (マウス) で行っております。

標準溶液の容量	緩衝液	濃度(pmol/L)	濃度(pg/mL※)
標準溶液原液 20 μL	380 μL	10	94.3
10 pmol/L 溶液 200 μL	200 μL	5.0	47.2
5.0 pmol/L 溶液 200 μL	200 μL	2.5	23.6
2.5 pmol/L 溶液 200 μL	200 μL	1.25	11.8
1.25 pmol/L 溶液 200 μL	200 μL	0.625	5.89
0.625 pmol/L 溶液 200 μL	200 μL	0.313	2.95
0.313 pmol/L 溶液 200 μL	200 μL	0.156	1.47
0(Blank)	200 μL	0	0

□で囲まれた濃度の標準溶液を使用して測定してください。

[(D)ビオチン結合抗プロインスリン抗体]

100 μL を充分分取できる量をご提供しています。濃縮液を(C)緩衝液で 100 倍に希釈してください。

[(E)ペルオキシダーゼ・アビジン結合物]

100 μL を充分分取できる量をご提供しています。濃縮液を(C)緩衝液で 100 倍に希釈してください。

[(I)濃縮洗浄液(10×)]

濃縮洗浄液(10×)を室温化された精製水 (蒸留水) で 10 倍に希釈してください。

例 : 100 mL の濃縮洗浄液(10×)+900 mL の精製水 (蒸留水) (96 ウェル全てを使用する場合)

【試薬の安定性と保存方法】

(A)抗体固相化 96 ウェルプレート

未使用 (冷蔵状態を保った状態でシールを剥がしていない) 抗体固相化ストリップは同梱のジップシールバックに戻し、そのまま 2 °C~8 °C で保存してください。有効期限内安定性を保ちます。

## レビス® プロインスリン-マウス/ラット (AKMPI-111)

### (B)標準プロインスリン溶液(200 pmol/L)

キットを分割して使用する際は使用する直前に冷蔵庫より取り出し希釈調製し、残りの原液は室温に戻さないで直ちに蓋をしっかりと閉め、2℃～8℃で保存してください。有効期限内安定性を保ちます。希釈した各標準溶液は直ちに使用し、保存はしないでください。

### (C)緩衝液及び(F)発色液(TMB)

一部の溶液を使用する際は必要量より少し多めの量を別の容器に移し、残りは室温に戻さないで直ちに蓋をしっかりと閉め、2℃～8℃で保存してください。有効期限内安定性を保ちます。

### (D)ビオチン結合抗プロインスリン抗体及び(E)ペルオキシダーゼ・アビジン結合物

キットを分割して使用する際は希釈時に冷蔵庫より取り出し希釈調製し、残りの原液は室温に戻さないで直ちに蓋をしっかりと閉め、2℃～8℃で保存してください。有効期限内安定性を保ちます。使用残りの希釈済み液は廃棄してください。

### (H)反応停止液(1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

使用残りを保存する場合は、蓋をしっかりと閉め、2℃～8℃で保存してください。有効期限内安定性を保ちます。

### (I)濃縮洗浄液(10×)

濃縮洗浄液(10×)を保存する場合は、蓋をしっかりと閉め、2℃～8℃で保存してください。有効期限内安定性を保ちます。使用残りの希釈済み洗浄液は廃棄してください。

## 7.検体の調製

本キットはマウスまたはラットの血清または血漿中のプロインスリンを測定します。

●検体は採取後すぐに測定するか、-35℃以下で凍結保存してください。凍結した検体は測定する直前に解凍し十分に攪拌してください。繰り返しの凍結融解は避けてください。正しい結果が得られない原因になります。

●溶血した検体や高脂質検体は異常値の発生原因となりますので避けてください。

※血液成分の影響(高脂質・溶血等)を抑制する為に原検体中の脂質(乳ビ)・溶血が次項写真より高い場合は異常値発生の原因となる場合がありますので測定に使用しないでください。

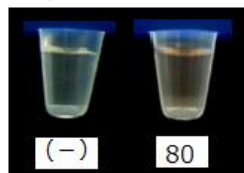
本キットの場合、溶血は80 mg/dL以上で影響が現れます。



正常検体

溶血検体

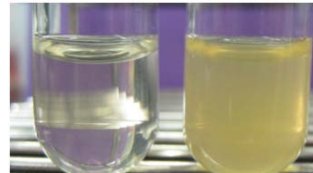
80 mg/dL



正常検体

溶血検体

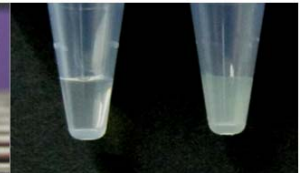
80 mg/dL



正常検体

乳ビ検体

高脂質検体



正常検体

乳ビ検体

高脂質検体

●濁り及び不溶物のある検体は遠心分離等で除去後測定に用いてください。

●妨害物質の影響が疑わしい検体は、同一検体において、異なる2ポイント以上の希釈率で希釈直線性を確認してください。

●検体を希釈する場合は、あらかじめ試験管等を用いて緩衝液で希釈し測定ウェルに分注してください。

●標準操作法では5倍希釈です。また、最小希釈倍率は2.5倍です。濁り及び不溶物のある検体は遠心分離等で除去後測定に用いてください。

### 【検体の安定性と保存方法】

プロインスリン分解酵素等のプロテアーゼの働きを抑えるため、採血時に最終濃度が100 KIU/mL～500 KIU/mLのアプローチンを添加して保管することをお勧めします。また、長期に保管する場合は、-35℃以下での凍結保管を推奨します。繰り返しの凍結融解は避けてください。(KIU: kallikrein inhibitor unit)

## 8.測定操作法

洗浄操作を始める前に次に分注する試薬を前もって用意してください。

抗体固相化プレートのシールは、プレートが十分に室温に戻ってから剥がしてください。

- (1) あらかじめ調製した洗浄液を各ウェルに満たし4回洗浄(\*②)します。その後ペーパータオルなどでプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにしてウェルに残った液を取り除きます。
- (2) 検体測定ウェルに緩衝液を40 µLずつ分注し、さらに検体を10 µL添加します。
- (3) 標準品測定ウェルに各濃度の標準溶液を50 µLずつ分注します。
- (4) マイクロプレート振とう器などを用いて攪拌(\*③)します。
- (5) プレートシールを貼り(\*④)、室温(20℃～25℃)で2時間静置します。
- (6) 反応終了後、反応液を捨て洗浄液を各ウェルに満たし、4回洗浄(\*②)します。その後、ペーパータオルなどでプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにしてウェルに残った液を取り除きます。
- (7) 各ウェルにビオチン結合抗プロインスリン抗体を50 µLずつ分注します。マイクロプレート振とう器などを用いて攪拌(\*③)します。
- (8) プレートシールを貼り(\*④)、室温(20℃～25℃)で2時間静置します。

## レビス® プロインスリン-マウス/ラット (AKMPI-111)

- (9) 反応終了後、反応液を捨て洗浄液を各ウェルに満たし、4回洗浄(\*②)します。その後、ペーパータオルなどの上でプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにしてウェルに残った液を取り除きます。
  - (10) 各ウェルに、ペルオキシダーゼ・アビジン結合物を 50  $\mu$ L ずつ分注します。マイクロプレート振とう器などを用いて攪拌(\*③)します。
  - (11) プレートシールを貼り(\*④)、室温(20  $^{\circ}$ C~25  $^{\circ}$ C)で 30 分間静置します。
  - (12) 反応終了後、反応液を捨て洗浄液を各ウェルに満たし 4 回洗浄(\*②)します。その後、ペーパータオルなどの上でプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにしてウェルに残った液を取り除きます。
  - (13) 各ウェルに発色液を 50  $\mu$ L ずつ分注します。マイクロプレート振とう器などを用いて攪拌(\*③)します。
  - (14) プレートシールを貼り(\*④)、室温(20  $^{\circ}$ C~25  $^{\circ}$ C)で 30 分間静置します。
  - (15) 各ウェルに反応停止液を 50  $\mu$ L ずつ分注し、発色反応を停止します。
  - (16) 攪拌(\*③)後マイクロプレート用分光光度計で 450 nm (副波長 620 nm) での吸光度を測定します。副波長は 600 nm~650 nm の範囲で使用できます。
- (\*②)、(\*③)、(\*④)測定手順概要 (6、7 ページ) をご参照ください。

## 9.計算

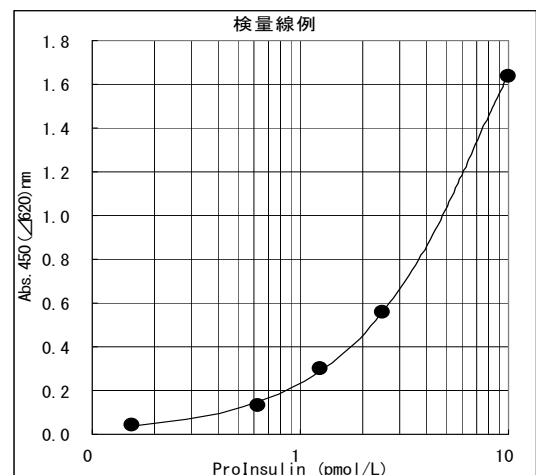
(1)測定毎に標準曲線を作成します。片対数を使用し X 軸(Log 側)を標準溶液濃度(pmol/L)、Y 軸を吸光度の標準曲線グラフを作成してください。

(2)標準曲線より、検体の吸光度に対応する濃度(pmol/L)を読み取ります。読み取った濃度に検体希釈率(本測定法では 5 倍)を乗じ測定値とします。

- 検体の吸光度が標準曲線吸光度より外れた場合は(C)緩衝液にて適当倍率に調製し再度測定を実施してください。
- 演算処理では、3 次多項式または 4 または 5 パラメーターの使用をお勧め致します。
- マウスまたはラットの臨床所見は臨床症状や他の検査結果などを総合的に判断して行う必要があります。
- キット添付標準溶液はマウス由来です。

右のグラフは標準曲線例です(吸光度は、測定環境により変動します)。

\*プレートリーダーは Safire2(TECAN)を使用



## 10.キットの性能

### ●測定範囲

マウスまたはラットプロインスリンを 0.156 pmol/L~10 pmol/L (標準曲線範囲) の範囲で測定できます。標準操作法の 5 倍希釈時は実効測定範囲は 0.78 pmol/L~50 pmol/L となります。

### ●特異性

関連物質を本キットで測定した結果は次表のとおりです。※交差性は、10 pmol/L 濃度時のデータです。

検体名	交差性	検体名	交差性
マウス プロインスリン	100 %	ラット プロインスリン	100%
マウス インスリン	交差無し	ラット インスリン	交差無し
マウス C-ペプチド	交差無し	ラット C-ペプチド	交差無し

●精度試験 (アッセイ内変動) (5 重測定、2 検体)

平均 C.V.値は 10 %未満

●再現性試験 (アッセイ間変動) (2 重測定、3 検体、4 日間)

平均 C.V.値は 10 %未満

●添加回収試験

2 血清検体に異なる 3 濃度のプロインスリンを添加し測定した結果、回収率は 92.5 %から 109 %

●希釈直線性

2 血清検体を連続的に希釈用緩衝液で 3 段階希釈し測定した結果、直線回帰の  $R^2$  は 0.9994 と 0.999

## 11.参考値

マウスプロインスリン測定値 : 平均 2.46 pmol/L、標準偏差 0.598 pmol/L

亜種 : BALB/c、雌、8 週齢、不断給餌、5 匹、血清

ラットプロインスリン測定値 : 平均 3.31 pmol/L、標準偏差 1.48 pmol/L

亜種 : GK、雄、16 週齢、不断給餌、7 匹、血清

飼育条件、採血条件、検体保管条件により測定値は変動します。この測定値は目安としてお使いください。

## 12.トラブルシューティングと Q&A

- すべてのウェルでの反応が弱い  
原因として考えられること

## レビス® プロインスリン-マウス/ラット (AKMPI-111)

- 1) 標準品や検体の入れ忘れ。
  - 2) 発色に関連する試薬溶液の入れ忘れ。
  - 3) 発色に関連する試薬溶液の取り違いや希釈調製不良。
  - 4) 酵素阻害剤の混入。
  - 5) キット保管温度の影響（凍結した場合）。
  - 6) プレートの過剰な洗浄。
  - 7) 発色液の温度が低かった。
- 最小標準溶液濃度(0.156 pmol/L)の OD 値よりブランク OD 値が高くなる  
原因として考えられること  
洗浄が不適當、不完全であった。  
(ペルオキシダーゼ・アビジン結合物と反応後の洗浄回数4回を同じ流速で5回~8回に増やしてください。)
  - 変動係数(CV)が大きい  
原因として考えられること
    - 1) 洗浄が不適當、不完全であった。
    - 2) 標準品や管理血清、または検体の攪拌が不充分であった（凍結検体の攪拌は充分に行ってください）。
    - 3) ピペティング操作が一定ではなかった。
  - Q-1：キットは分割して使用することができますか？  
A-1：できます。プレートに貼られた透明シールをストリップの間にそってカッターなどで切り離してご使用ください。使用しないプレートはシールを貼った状態で冷蔵庫に保管してください。
  - Q-2：プレートを取り出したらウェルの中に液体が入っていましたが何ですか？  
A-2：出荷時には保存安定液が充填してあります。
  - 更に詳しいトラブルシューティングや Q&A は弊社ホームページをご覧ください。

レビス® プロインスリン-マウス/ラット (AKMPI-111)

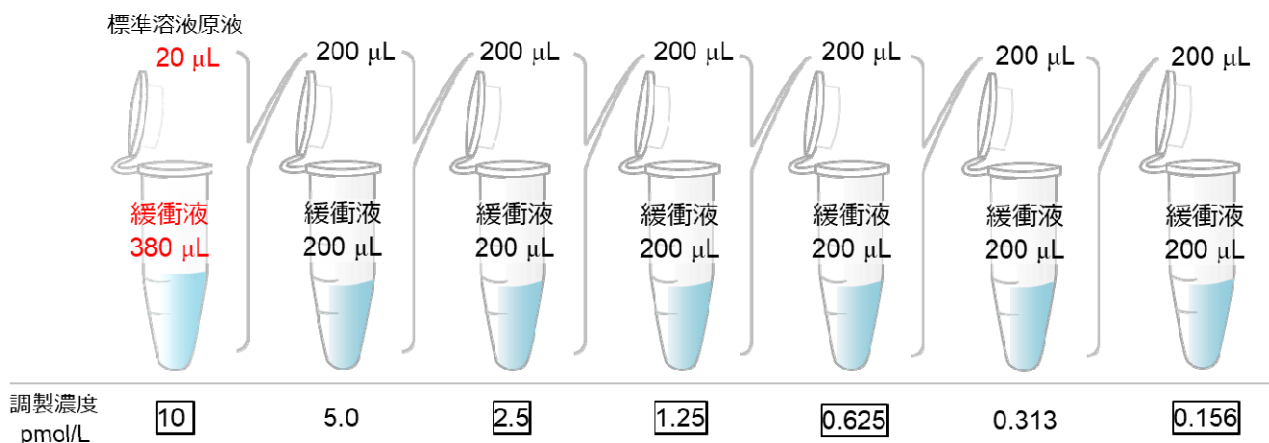
**【測定手順概要とチェックリスト】**

必ず取扱説明書を一読して検体条件、測定条件、測定方法を確認後測定操作を行ってください。  
 操作法は弊社 Web サイト[良い結果を出すためのポイント (動画)]並びに「Q&A」をご参照ください。

- ウェルプレート、試薬類を十分に室温(20 °C~25 °C)に戻してください。室温化には2時間位必要
- 濃縮洗浄液の希釈 : 室温化された精製水で、10倍に希釈してください。
- 標準溶液の希釈 (例) : 室温化された緩衝液で、希釈してください。

濃度(pmol/L)	<u>10</u>	5.0	<u>2.5</u>	<u>1.25</u>	<u>0.625</u>	0.313	<u>0.156</u>	<u>0</u>
標準溶液(μL)	原液:20	200*	200*	200*	200*	200*	200*	0
緩衝液(μL)	380	200	200	200	200	200	200	200

で囲まれた濃度の標準溶液を使用して測定してください。 \* : ひとつ高濃度の標準溶液



各操作注意事項並びに関連情報

<input type="checkbox"/> 抗体固相化ウェルプレート		
<input type="checkbox"/> ↓洗浄4回 (洗浄液除去後、直ちに次の試薬分注)		* ②
<input type="checkbox"/> 希釈検体 (緩衝液 40 μL + 検体 10 μL) または 標準プロインスリン溶液	50 μL	* ⑤
<input type="checkbox"/> ↓攪拌、室温(20 °C~25 °C)、2時間反応、静置		* ③、* ④
<input type="checkbox"/> ビオチン結合抗プロインスリン抗体の希釈。室温化された緩衝液で100倍に希釈してください。希釈溶液の調製は第一反応中に行う。		
<input type="checkbox"/> ↓洗浄4回 (洗浄液除去後、直ちに次の試薬分注)		* ②
<input type="checkbox"/> ビオチン結合抗プロインスリン抗体	50 μL	* ⑤
<input type="checkbox"/> ↓攪拌、室温(20 °C~25 °C)、2時間反応、静置		* ③、* ④
<input type="checkbox"/> ペルオキシダーゼ・アビジン結合物の希釈。室温化された緩衝液で、100倍に希釈してください。希釈溶液の調製は第二反応中に行う。		
<input type="checkbox"/> ↓洗浄4回 (洗浄液除去後、直ちに次の試薬分注)		* ②
<input type="checkbox"/> ペルオキシダーゼ・アビジン結合物	50 μL	* ⑤
<input type="checkbox"/> ↓攪拌、室温(20 °C~25 °C)、30分間反応、静置		* ③、* ④
<input type="checkbox"/> ↓洗浄4回 (洗浄液除去後、直ちに発色液分注)		* ②
<input type="checkbox"/> 発色液(TMB) TMBが室温化されていることを確認分注後、濃度により青色に変色	50 μL	* ⑤
<input type="checkbox"/> ↓攪拌、室温(20 °C~25 °C)、30分間反応、静置		* ③、* ④
<input type="checkbox"/> 反応停止液(1M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) 強酸性につき取扱注意分注後、濃度により黄褐色に変色	50 μL	* ⑤
<input type="checkbox"/> ↓攪拌 (直ちに攪拌)		* ③
<input type="checkbox"/> 吸光度測定 (主波長 450 nm、副波長 620 nm:600 nm~650 nm) 副波長はプレート裏面の汚れ等をキャンセルします		* ⑤

(\* ②)洗浄液をウェルに分注後、手のひらの上で10秒ほど軽く振り廃棄します。4回連続洗浄後、ペーパータ

## レビス® プロインスリン-マウス/ラット (AKMPI-111)

オル上にプレート逆さにして叩き洗浄液を完全に除去します。洗浄液除去後の乾燥に注意して次の溶液を直ちに分注します。洗浄液をピペットで添加する際の液量目安は 300  $\mu$ L/ウェルです。万一、最小標準溶液濃度(0.156 pmol/L)の OD 値よりブランク OD 値が高くなる場合は解決方法の 1 つとして、ペルオキシダーゼ・アビジン結合物と反応後の洗浄回数 4 回を同じ流速で 5 回~8 回に増やしてください。プレート洗浄機ご使用の場合の圧力目安は 5 mL/分~25 mL/分 (ノズルの径により異なります) です。第一反応後の初回の洗浄のみウェル間のコンタミに注意してください。「洗浄操作」の動画をご参照ください。

(\* ③) 攪拌の目安は 600 rpm~1200 rpm-10 秒間、3 回。「攪拌操作」の動画をご参照ください。

(\* ④) 攪拌終了後プレートシールを貼り静置してください。「反応条件」の動画をご参照ください。

プレートシールは保護紙を剥がして、粘着面をプレート側にして貼り付けてください。一度使用したプレートシールは再使用しないでください。

(\* ⑤) ピペッティングに関する注意事項は「ピペッティング」の動画をご参照ください。

ワークシート (例) ; 灰色部分のウェルは測定には使用しないでください。

	Strip 1	Strip 2&3	Strip 4&5	Strip 6&7	Strip 8&9	Strip 10&11	Strip 12
A							
B		10 pmol/L	検体 1	検体 7	検体 13	検体 19	
C		2.5 pmol/L	検体 2	検体 8	検体 14	検体 20	
D		1.25 pmol/L	検体 3	検体 9	検体 15	検体 21	
E		0.625 pmol/L	検体 4	検体 10	検体 16	検体 22	
F		0.156 pmol/L	検体 5	検体 11	検体 17	検体 23	
G		0(Blank)	検体 6	検体 12	検体 18	検体 24	
H							

### ◆ご使用前にご確認頂きたい技術上のヒント及び注意事項

●プロインスリン分解酵素等のプロテアーゼの働きを抑えるため、採血時に最終濃度が 100 KIU/mL~500 KIU/mL のアプロチニンを添加して保管することをお勧めします。また、長期に保管する場合は、-35  $^{\circ}$ C 以下での凍結保管を推奨します。繰り返しの凍結融解は避けてください。(KIU : kallikrein inhibitor unit)

●ELISA 法は測定環境により影響を受けます。測定操作、静置反応場所の室温 : 20  $^{\circ}$ C~25  $^{\circ}$ C (実験台上またはインキュベータ内温度) を厳守してください。また、風速 (エアコンの風も含む) : 0.4 m/sec 以上、湿度 30 %未満の環境下での測定は避けてください。やむを得ず、測定操作を風速 : 0.4 m/sec 以上、湿度 30 %未満の環境下で実施する場合には、各ステップの静置反応時、プレートシールをすることに加え、下記のような方法をご検討ください。

例) インキュベータ内、発泡スチロール製箱内で静置反応させる等。測定室の環境条件により対策方法が異なる場合がありますので、詳細を弊社 Web サイトの動画「反応条件」でご確認ください。

●各ステップでの静置反応時には、ウェルの乾燥、異物の混入、温度の偏り、分注試薬の蒸発を防止する為、必ずプレートシールを貼ってください。

●検体と試薬に不純物が混ざらないように気をつけてください。1 ウェル/1 チップのご使用をお勧めします。

●発色液は 96 ウェルプレートに使用するまでは薄い黄色澄明です。光を避けて保存してください。

●反応停止液は使用するまでは無色です。

●本キットは ELISA 法の研修を終了した方、または指導者のもとでご使用ください。用手法操作で測定する際にはピペッティング操作の再現性が安定した方がご使用ください。

●準備並びに本キット操作中は手袋、眼鏡、保護用着衣を身につけてください。

●試薬類を皮膚に付けないでください。本キットの試薬が誤って、目、口、傷口、皮膚等に付着した場合は直ちに水道水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要な場合は医師の手当てを受けてください。

●本キットを使用している場所では飲食や喫煙をしないでください。

●試薬類は口でピペッティングしないでください。

●ロット番号の違う試薬とは混ぜて使わないでください。

●検体は感染の危険性があるものとして充分注意して取り扱ってください。本キットは動物由来の成分を含んでいます。

●使用済みの検体、使用した消耗品等は 1 %ホルマリン、2 %グルタルアルデヒドまたは 0.1 %以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸けてください。またはオートクレーブ滅菌処理して廃棄してください。使用した消耗品や未使用の薬品類は所属施設の規定並びに各地域の法令に従って廃棄してください。

レビス® プロインスリン-マウス/ラット (AKMPI-111)

**ワークシート** ; 灰色部分のウェルは測定には使用しないでください。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

【測定名】

【所属】

【測定者】

【測定日】

【ロット番号】

【有効期限】

【備考】

【製品名】

レビス® プロインスリン-マウス/ラット

【シバヤギコード】

AKMPI-111

【和光コード】

636-23041

【英語表記】

LBIS Mouse/Rat Proinsulin ELISA Kit  
(AKMPI-111, FUJIFILM Wako Shibayagi, Gunma, Japan)

【お問い合わせ先】

製造

**富士フイルムワコーシバヤギ株式会社**

〒377-0007 群馬県渋川市石原 1062-1 TEL.0279-25-0279 FAX.0279-23-0313

<E-mail>wksb-info@fujifilm.com

<URL><http://www.shibayagi.co.jp>

販売

**富士フイルム 和光純薬株式会社**