

## Human Apo B-48 ELISA「シバヤギ」測定のパラツキを小さくする為の注意事項

### ●取扱説明書と当注意事項は事前にご一読下さい。

不明な点がありましたら弊社へお問い合わせ下さい。[syc-info@shibayagi.co.jp](mailto:syc-info@shibayagi.co.jp)

### ●キット操作法について

弊社 Web サイトに[\[良い結果を出すためのポイント\(動画\)\]](#)を紹介していますのでご参照下さい。

### ●温度について

測定に使用するすべての試薬溶液とプレートを測定開始までに 20～25℃に戻して下さい。

そのためには測定開始前に試薬溶液等を実験台の上に放置(2 時間位が目安です)して下さい(室温を 22℃として)。反応温度は 20～25℃を厳守して下さい。出来ればこの範囲の温度にセットしたインキュベータの使用をお勧めします。

### ●標準品の溶解について

標準品 Apo B-48(凍結乾燥品)(128 ng/本)に室温化された精製水 400μ l(室温)を加え室温で 10 分間静置。

溶液の泡立ちを防ぐよう注意しながら十分に攪拌(1,800～2,000rpm 10 秒 3 回)して下さい。バイアル中の標準品が完全に溶解し、澄明な溶液となっている事を確認して下さい。

可溶化した標準溶液原液(320 ng/ml)を保存する場合は冷蔵状態を保持し、24 時間以内にご使用下さい。また、保管する場合は可溶化後速やかに-35℃以下で凍結保存して下さい。

ヴォルテックスによる攪拌での注意点:バイアルをまずヴォルテックスに載せ、しかる後にスイッチを入れて攪拌を開始します。回転しているヴォルテックスにバイアルを載せる事は泡立ちの原因となるので避けて下さい。

### ●検体

血漿採血時はヘパリン(最終濃度:10μ g/ml(1.2U/ml)～100μ g/ml)、EDTA-2Na(最終濃度:1.0～1.5mg/ml)、EDTA-2K(最終濃度:1.1～1.7mg/ml)を使用して下さい(クエン酸は使用禁)。

検体は PP 製又は PE 製チューブに分注し冷凍保管して下さい(ガラス製は使用禁)。

### ●標準溶液の調製と検体の希釈について

可溶化した標準溶液原液は大変粘性が強いです。粘性が強い標準溶液のピペッティング操作に慣れてから各標準溶液を作製して下さい。各標準溶液作製の為に最初の 200μ l の正確なピペッティング作業は大変重要なポイントです。

倍々希釈のすべてのステップでヴォルテックスでの十分な攪拌(1,800～2,000rpm 10 秒 3 回)が必要です。緩衝液には界面活性剤が含まれていますので、上記の注意事項を守って攪拌中に泡立ちを起こさぬよう充分注意して下さい。

原則として用時調製です。各標準溶液作製後の保存はしないで下さい。残余溶液は廃棄して下さい。

正しく調整されたマイクロピペットを使用して下さい。正確なピペッティングは良好な測定精度には不可欠です。

チップはピペットメーカー専用チップをご使用下さい。粘性が大変強い標準品溶液を一定量ピペッティングする為に先太チップを使用し、チップの共洗いの回数・ピペッティング動作のスピード・ピペットの傾斜を常に一定にして下さい。

### ●ウェルへの標準品、検体、試薬溶液の添加について

標準溶液や検体、試薬溶液をウェルに加えるにあたっては泡立ちを起さぬよう注意して下さい。泡立ちは測定結果のバラツキを大きくする可能性があります。試薬溶液の添加については、Eppendorf の Multipette Plus のような連続注入用ピペットの使用をお勧めします。また試薬注入の場合ウェル中の液に直接注入しないで、ウェルの壁に向けて軽く注入し、タッチ・アンド・ゴーで分注して下さい。

試薬の注入後、ウェルプレートをプレートシェーカーに載せて攪拌(800rpm 10 秒 3 回)して下さい。回転速度も泡立ちを起さず、かつ均質になるように調整して下さい。

### ●反応時間

反応時間の計測は、最初のウェルにピペティングを開始したときから始めて下さい。しかしながら不慣れなどでピペティングに 15 分以上時間がかかるようなら、最後のウェルに注入し終わったときから計測を開始して下さい。試薬の添加にはマルチピペットのような連続注入ピペットの使用をお勧めします。8 連や 12 連のピペットは平行性に問題がありウェルの底を引き搔く可能性があります。

### ●精度管理用コントロールセットについて

ポジティブコントロールをご用意しております(別売: Code.No.ACHB48-T)。

セットには High と Low が各 1 本入っています(各 250 $\mu$  l/1 本)。

凍結保管品です。融解後原液のまま使用できます。

測定毎の精度管理にお役立て下さい。