

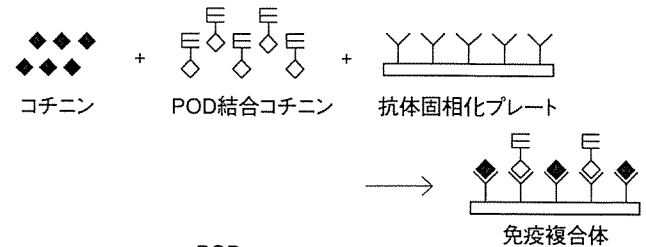
この使用説明書をよく読んでから使用してください

研究用試薬

Cotinine測定試薬

【はじめに】

たばこ煙中の成分であるニコチンは、口腔・気道・胃・腸管などの粘膜でも吸収されますが、肺胞においてその吸収量は最大であり、吸収されたニコチンは血液を介して体内に分布します。タバコ煙中の成分であるニコチンはその半減期が短く、生体内では主代謝産物であるコチニンに速やかに代謝され尿中に排泄されます。一方、コチニンの半減期は20時間と長く、血液、尿及び唾液などに存在します。このため、コチニンを喫煙マーカーとして利用した測定系が構築されています。



【全般的な注意】

1. 本製品は研究用試薬です。診療上の診断に用いることはできません。
2. 使用説明書に記載以外の使用方法については保証を致しません。
3. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。詳細は機器メーカーにお問い合わせください。

2. 特徴

- 1) ニコチンとの交差反応性はほとんどありません。
- 2) 最小検出感度は0.75 ng/mLと高感度です。
- 3) 唾液を検体としているため、非侵襲的に試料を採取できます。

【形状・構造等(キットの構成)】

1. 抗体固相化プレート:
ウサギポリクローナル抗コチニン抗体
2. 酵素標識抗原:
ペルオキシダーゼ結合コチニン
3. 標準溶液
コチニン
 - 1) 標準溶液1 : 0 ng/mL
 - 2) 標準溶液2 : 1 ng/mL
 - 3) 標準溶液3 : 2.5 ng/mL
 - 4) 標準溶液4 : 5 ng/mL
 - 5) 標準溶液5 : 10 ng/mL
 - 6) 標準溶液6 : 25 ng/mL
 - 7) 標準溶液7 : 50 ng/mL
 - 8) 標準溶液8 : 100 ng/mL
 - 9) 標準溶液9 : 200 ng/mL
4. 発色液:
3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMBZ), 尿素過酸化水素
5. 反応停止液 : 0.5 mol/L 硫酸
6. Cotinine 用洗浄原液

【使用目的】

唾液中のコチニンの測定

* 【測定原理】

1. 原理

本法は固相競合法に基づいています。

検体中のコチニン及びペルオキシダーゼ結合コチニンをマイクロプレートに固相化されているウサギポリクローナル抗コチニン抗体と反応させます。

固相に結合するペルオキシダーゼ (POD) の量は測定すべき抗原量に反比例するので、尿素過酸化水素 (H_2O_2) 及び3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMBZ) を基質として用い、遊離するTMBZ酸化物 (発色体) を比色定量することにより、検体中のコチニン濃度を求めます。

** 【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取方法
 - 1) 本製品による測定には、検体として唾液を使用してください。
 - 2) 新鮮な検体を使用してください。検体の保存が必要な場合は凍結保存し、凍結融解の繰り返しは避けてください。
 - 3) あらかじめ唾液から検体を抽出してください。唾液の採取・抽出には、Cotinine用 唾液採取器 (別売品) をご使用ください。唾液採取器を使用する場合は、操作法に従って唾液の採取・抽出を行ってください。
2. 妨害物質・妨害薬剤²⁾
 - 1) 唾液採取時には血液の混入を避けてください。
 - 2) ニコチンとの交差反応性は0.6%、ニコチンアミド及びニコチン酸との交差反応性は0.0%です。
3. その他
 - 1) 検量線は測定毎に作成してください。
 - 2) 多検体を測定する場合は、各試薬の添加間隔を一定にし、各反応時間を定められた時間に統一するよう注意してください。
 - 3) 洗浄操作時にウェルが乾燥しないように注意してください。
 - 4) ウェルの底面を傷付けたり、汚したりしないように注意してください。
 - 5) 検体の濃度が測定範囲を超える場合、検体を標準溶液1で希釈して再測定してください。
 - 6) 検体により、検体中の目的成分以外の物質との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、再検査や希釈再検査、または他の検査方法により確認してください。

** 【用法・用量(操作法)】

1. 試薬の調製方法

- 1) 洗浄液:
精製水を用いて洗浄原液を10倍希釈してください。
- 2) 上記以外の試薬:
そのまま使用してください。

2. 必要な器具・器材・試料等

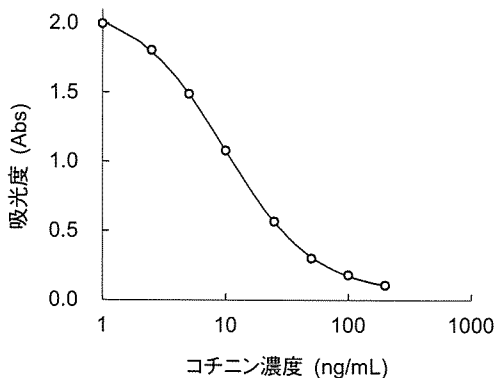
- 1) 唾液採取器
- 2) マイクロピペット, マルチチャンネルピペット, 分注器
- 3) プレートミキサー
- 4) マイクロプレート用分光光度計 (450 nm, 600~650 nm)

3. 測定操作

- 1) 標準溶液1~9及び検体を酵素標識抗原液で21倍希釈します。(例: 標準溶液1~9及び検体10 µL, 酵素標識抗原液200 µL)
- 2) 抗体固相化プレートの各ウェルに希釈した標準溶液1~9及び検体を100 µLずつ加え、室温で1時間静置します。
- 3) 反応液を除去した後、各ウェルに洗浄液を300 µLずつ加え、洗浄液を除去します。この操作を3回行った後、ペーパータオル上で叩くなどしてウェル内に残った水滴を完全に除去します。
[注1] ウェルを乾燥させないように、洗浄液の添加はマルチチャンネルピペット等で迅速に行ってください。
[注2] ウェル内の液を除去する際に、ピペットの先端等でウェルの底を傷付けないように注意してください。
- 4) 各ウェルに発色液を100 µLずつ加え、室温で30分間遮光して静置します。
- 5) 各ウェルに反応停止液を100 µLずつ加え、軽く振とうし、10分以内に主波長450 nm, 副波長600~650 nmで吸光度を測定する。

4. 濃度算出

- 1) 濃度0~200 ng/mLの標準溶液 (標準溶液1~9) より4-Parameter logisticsで作成した検量線から、検体のコチニン濃度を読み取ってください。
- 2) 検量線例 (主波長450 nm, 副波長620 nm)



【性能】

1. 同時再現性
同一検体を8回同時に測定するとき、測定値のC.V.値は10.0%以下です。
2. 測定範囲
0.75~200 ng/mL

** 【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意
 - 1) 唾液からの感染について安全性が確認されていないので、感染の危険性があるものとして取扱いには十分注意してください。また、検体に接触した器具等は検体と同様、感染の危険性のあるものとして取扱ってください。
 - 2) 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用してください。
 - 3) 感染を避けるため、口によるピペッティングを行わないでください。
 - 4) 試薬が誤って眼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を受けてください。特に、反応停止液には0.5 mol/Lの硫酸、発色液には尿素過酸化水素が含有していますので、取扱いには注意してください。

2. 使用上の注意

- 1) 本製品は凍結を避け、貯法に従い保存してください。誤って凍結させた試薬は、品質が変化して正しい結果が得られないことがあるので使用しないでください。
- 2) 開封後の試薬は、蓋をしめて2~10°Cで遮光保存してください。
- 3) ラベルに記載されている使用期限内に使用してください。
- 4) 本製品は正確な値が得られるように組み合わせてあるので、異なるロットの構成試薬を組み合わせて使用しないでください。使用後の残液は使用しないでください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 本製品を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の関連法規に従って処理してください。
- 2) 検査に使用した器具や試薬等は感染の危険があるものとして適切に処理してください。次亜塩素酸ナトリウム (0.1%以上, 1時間以上浸漬)、グルタルアルデヒド溶液 (2%, 1時間以上浸漬) による消毒処理又はオートクレーブ (121°C, 20分以上) による滅菌処理を行ってください。
- 3) 本製品が漏出又は飛散した場合は、少量のときは吸水紙等で拭き取り、大量のときは水で洗い流してください。
- 4) 本製品にはケーンCGを防腐剤として含有しています。廃棄する場合は大量の水と共に流してください。
- 5) 本製品の容器等は他の目的に転用しないでください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法 : 2~10°C 遮光保存
2. 有効期間 : 12ヵ月 (使用期限は容器ラベル及び外箱に表示)

** 【包装単位】

管理コード	製品名	包装
PT-1000	抗体固相化プレート	96 well × 5
	酵素標識抗原液	25 mL × 5
	Cotinine 標準溶液1	5 mL × 1
	測定試薬 標準溶液2~9	各1.0 mL × 1
	発色液	30 mL × 2
	反応停止液	30 mL × 2
PT-1100	Cotinine用 試験管	1000本 × 1
	唾液採取器	1000個 × 1
	綿棒セット	1000個 × 1
PT-1210	Cotinine用 洗浄原液	800 mL × 1

* 【主要文献】

- 1) Neal L. Benowitz: Epidemiol. Rev., 18, 2: 188-204 (1996)
- 2) 株式会社カイノス 社内データ

【問い合わせ先】

株式会社カイノス 学術部
〒113-0033 東京都文京区本郷2-38-18
☎ 03 (3816) 4480 FAX 03 (3816) 6544

製造販売元

株式会社カイノス

〒113-0033 東京都文京区本郷2-38-18 ☎ 03 (3816) 4485