

【操作上又は取り扱い上の注意】

- 1) 検体が血清の場合には、血清に含まれる共存物質の影響はほとんどありませんが、新鮮な血清を使用して下さい。
- 2) 各種抗凝固剤は通常使用濃度では、測定値に影響を与えません。
- 3) 尿検体において、ホルマリン（5%）は負の影響を与えません。アジ化ナトリウム、塩酸等は、通常使用濃度では測定値に影響を与えません。
- 4) 試薬は同一ロットの組み合わせで使用して下さい。
- 5) 使用前に測定装置を充分洗浄した後、必ずキャリブレーション（ブランク及びスタンダード）を行ってください。
- 6) 検体の濃度が測定範囲を越える場合には、検体を生理食塩水で希釈して再測定して下さい。
- 7) ヒト血液の取り扱い
血清等の検体はHB抗原等感染性のあるものを含んでいる場合がありますので、感染の危険性があるものとして取り扱いには充分注意して下さい。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り扱って下さい。
- 8) アジ化ナトリウムを含有する試薬の取り扱い
本製品には防腐剤としてアジ化ナトリウムが含有されています。アジ化ナトリウムは鉛、銅等と反応して爆発性の高いアジ化金属を形成することがあるので、廃液等は大量の水で流すよう注意して下さい。また、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。
- 9) 反応試液は2種類あるので、測定時に取り違えないようにして下さい。
- 10) ラベル記載の有効期限内に使用して下さい。
- 11) 本試薬は研究用のみご使用ください。

【性能】

1. 感度及び測定範囲
ア) 精製水を試料として操作した場合の1分間あたりの吸光度変化は、0.02以下です。
イ) 50 $\mu\text{mol/L}$ の標準液を試料として操作した場合の1分間あたりの吸光度変化は、0.02～0.03です。
ウ) 測定範囲は0.5～200 $\mu\text{mol/L}$ まであります。
2. 特異性
既知濃度の90～110%の範囲内にあります。
3. 再現性
測定値のC.V.値は5.0%以下です。
4. 相関性
本品 遊離カルニチン カイノスと自社従来品 遊離カルニチン測定試薬との相関性を検討しました。50例の血清について測定を行ったところ、相関係数 $r=0.997$ 、回帰式 $y=0.980x - 0.652$ と良好な相関性が得られました。

【貯法・有効期間】

貯 法：2～10 で遮光保存
有効期間：製造後2年間

【包装単位】

| 管理コード | 構成試薬 | 表示容量×数 |
|-----------|----------|----------|
| RK - 2400 | 反応試液 () | 20 mL×1 |
| | 溶 解 液 | 10 mL×1 |
| | 反応試薬 () | 10 mL用×1 |
| | 標 準 液 | 5 mL×1 |

【主要文献及び文献請求先】

1. 主要文献
1) TAKAHASHI, M., et al : Clin. Chem., 40 : 817 (1994)
2) 辻彰：細胞工学, 18巻, 11号 : (1999)
3) 河野典夫：日本臨床, 57巻, 増刊号 : (1999)

2. 文献請求先

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

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

技術提携先

旭化成ファーマ株式会社

〒101-8101 東京都千代田区神田神保町一丁目105番地
神保町三井ビルディング ☎03(3296)3617

2008.5 改訂

TRK2400

研究用試薬

遊離カルニチン カイノス

注：この使用説明書をよく読んでから使用して下さい。

【はじめに】

脂肪酸は β 酸化回路にて分解され、ATPを産生するエネルギー源であることはよく知られています。この反応は細胞内のミトコンドリアで行われるため、脂肪酸はミトコンドリア内に輸送されなければなりません。しかし、遊離の脂肪酸はミトコンドリア膜を通過できないことから、何らかの担体が必要となります。ミトコンドリア膜においてこの役割をはたしているのがカルニチンです。

このたび弊社で開発した「遊離カルニチン カイノス」は、酵素サイクリング法に基づき測定する安定性及び操作性に優れた試薬です。

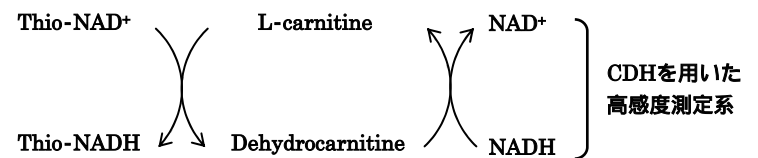
【特 徴】

- 1) 酵素サイクリング法を採用しているため、高感度に精度よく測定できます。
- 2) 使用している酵素は基質特異性が高く、他の類似物質の影響を受けません。
- 3) 自動分析機に適用可能ですから、短時間に多検体を測定できます。

【測定原理】

本法は酵素サイクリング法に基づく測定法です。

検体中のカルニチンは、 β -チオニコチンアミドアデニンジヌクレオチド酸化型 (Thio-NAD⁺) 存在下、カルニチンデヒドロゲナーゼ (CDH) により特異的に酸化され、デヒドロカルニチンと β -チオニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元型 (Thio-NADH) を生成します。また、デヒドロカルニチンは β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元型 (NADH) 存在下、同じくCDHの作用により特異的に還元され、カルニチンと β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド酸化型 (NAD⁺) を生成します。このようにCDHの基質であるカルニチン及びデヒドロカルニチンをサイクリングさせることによりThio-NADHの生成量が増加します。また、このThio-NADHの生成量は検体中のカルニチン濃度に比例します。従って、Thio-NADHに特異的な吸収を比色定量することにより遊離カルニチン値を求めます。



【構成試薬】

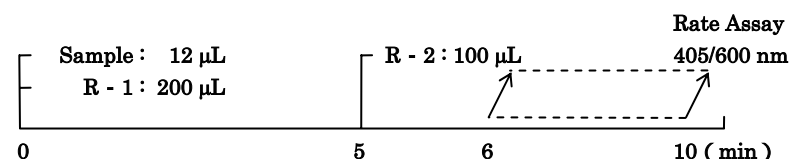
- 1) 反応試液 () : Thio-NAD⁺, アジ化ナトリウム
- 2) 溶 解 液 : アジ化ナトリウム
- 3) 反応試薬 () : カルニチンデヒドロゲナーゼ (CDH), NADH,
- 4) 標 準 液 : 50 $\mu\text{mol/L}$ L-カルニチン, アジ化ナトリウム

【試薬調製法】

- ・反応試液 ()
そのまま使用して下さい。
開封後は蓋をしめて、2～10 遮光保存で1か月間使用できます。
- ・反応試薬 ()
反応試薬 () を溶解液で溶解して使用します。
調製後は蓋をしめて、2～10 遮光保存で1か月間使用できます。

【操作方法】

- (1) 測定操作法 (例：日立7170形自動分析装置)



- (2) カルニチン濃度算出方法

$$\text{遊離カルニチン量} (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{検体の吸光度差} - \text{試薬ブランクの吸光度差}}{\text{標準液の吸光度差} - \text{試薬ブランクの吸光度差}} \times \text{標準液の表示値} (\mu\text{mol/L})$$

$$\text{Free carnitine concentration (}\mu\text{mol/L)} = \frac{\left(\text{Absorbance of the sample} \right) - \left(\text{Absorbance of the reagent blank} \right)}{\left(\text{Absorbance of the standard} \right) - \left(\text{Absorbance of the reagent blank} \right)} \times \text{Concentration of the standard (}\mu\text{mol/L)}$$

Free Carnitine "Kainos"

This product is warranted to perform as described in its labeling and literature when used in accordance with all instructions.

【Performance】

- Sensitivity and measurement range
 - Change in the OD of saline as the sample is within 0.02/minute.
 - Change in the OD of 50 $\mu\text{mol/L}$ standard solution as the sample is in the range of 0.02-0.03/minute.
 - The measurement range is 0.5-200 μmol of carnitine/L.
- Specificity
The specificity is within 90-110% of the known concentration sample.
- Reproducibility
The CV of measured values is less than 5.0%.
- Correlation
This Free Carnitine "Kainos" was evaluated against Kainos's previous free carnitine measurement kit. With 50 serum samples, a good correlation with $r=0.997$ and the good regression formula with $y = 0.980x - 0.652$ were obtained.

【HANDLING and OPERATION PRECAUTION】

- If serum sample is used, use fresh serum even though other substances contained in serum have little effect on the assay.
- Anticoagulants that are within normal usage concentration ranges do not affect the assay.
- Preservatives are within normal usage concentration ranges do not affect the assay except for 5% formalin.
- Make sure to use reagents that are from the same lot.
- Before performing an assay, rinse the measurement apparatus well and calibrate using both blank and standard.
- In case carnitine concentration in the sample exceeds the measurable range, dilute the sample with saline and repeat the assay.
- Handling of human blood:
Serum or other blood samples should be handled as potentially infectious as they may contain infectious agents including HB antigen. Any instruments that have come to contact samples should also be treated potentially infectious.
- Handling of reagents that contain sodium azide:
Reagents in this kit contain sodium azide as preservatives. Because sodium azide may react with metals including lead and copper to produce explosive metal azides, any waste solution should be flushed with copious amount of water. In case any of the reagents contact eyes, mouth and/or skin, immediately flush with copious amount of water then consult a physician as necessary.
- This kit contains two reaction mixtures. Care must be taken during measurement not to mix up these reagents.
- The kit should be used before the expiration date printed on the product label.
- The kit is intended only for research purposes.

【WARRANTY】

This product is warranted to perform as described in its labeling and literature when used in accordance with all instructions. KAINOS LABORATORIES, Inc. DISCLAIMS ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, and in no event shall KAINOS LABORATORIES, Inc. be liable for consequential. Replacement of the product or refund of the purchase price is the exclusive remedy for the purchaser. This warranty gives you specific legal right and you may have other rights which vary from state to state.

【REFERENCES AND CUSTOMER SERVICE】

- REFERENCES
 - Takahashi, M., et al: Clin.Chem., 40: 817 (1994)
 - Tsuji, A: Saibokogaku, 18: 11 (1999) (in Japanese)
 - Kawano, N: Nihon Rinsho, 57: Special Edition (1999) (in Japanese)

2. CUSTOMER SERVICE

Kainos Laboratories, Inc.
38-18, Hongo 2-Chome Bunkyo-ku, Tokyo, Japan 113-0033

Manufacturer

K KAINOS LABORATORIES, INC.

38-18 Hongo 2-Chome Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033 Japan

In technical cooperation

AsahiKASEI
ASAHI KASEI PHARMA

1-105 Kanda Jinbocho Chiyoda-ku, Tokyo 101-8101 Japan

【INTRODUCTION】

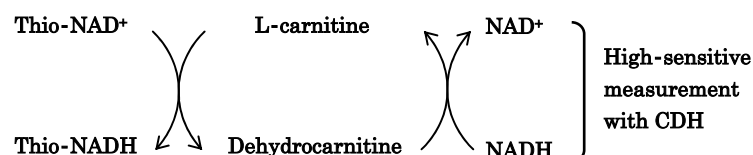
It is well known fatty acids are utilized as energy sources by being broken down through the β -oxidation cycle to generate ATP. Since this reaction takes place within mitochondria, fatty acids must be transported into mitochondria. The transportation of fatty acid may not be direct because the mitochondrial membranes are not permeable to free fatty acids. Fatty acids require some carrier to enter mitochondria, which is the role of carnitine in the mitochondrial membranes.

The Kainos-developed Free Carnitine "Kainos" is a reagent with superior stability and ease of use that measures the level of free carnitine based on an enzymatic cycling method.

【PRINCIPLE OF THE ASSAY】

The assay principle is enzymatic cycling method.

Carnitine in a given sample is specifically oxidized by Carnitine Dehydrogenase (CDH) under the presence of oxidized β -Thionicotinamide Adenine Dinucleotide (Thio-NAD⁺) to dehydrocarnitine and reduced β -Thionicotinamide Adenine Dinucleotide (Thio-NADH). Dehydrocarnitine in turn is specifically reduced by CDH under the presence of reduced β -Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH) to carnitine and oxidized β -Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD⁺). The following enzymatic cycling reaction leads to the accumulation of Thio-NADH. Because the generated amount of Thio-NADH is proportional to the carnitine concentration in the sample, free carnitine concentration can be determined by the specific absorption of Thio-NADH.



【FEATURE】

- High sensitivity and accuracy based on an enzymatic cycling method.
- High substrate specificity of the enzyme used.
(Unwanted interference by other similar substances is eliminated.)
- Adaptable to automated systems.
(Large number of samples can be quickly processed.)

【REAGENTS (Catalog No. RK-2400)】

- | | |
|---|--------------------|
| 1) Reagent 1 Thio-NAD ⁺ , Sodium Azide | :1 bottle(20 mL) |
| 2) Reagent 2A Sodium Azide | :1 bottle(10 mL) |
| 3) Reagent 2B Carnitine Dehydrogenase (CDH) and NADH | :1 vial(for 10 mL) |
| 4) Standard Solution 50 $\mu\text{mol/L}$ L-Carnitine and Sodium Azide | :1 bottle(5 mL) |

* These reagents should be stored at 2-10 °C in dark.

【PREPARATION of REAGENT】

- Reagent 1(R-1)
No preparation is required.
Keep lid closed when not in use. May be kept for 1 month at 2-10 °C in dark.
- Reagent 2(R-2)
Dissolve reagent 2B in reagent 2A.
Keep lid closed when not in use. May be kept for 1 month at 2-10 °C in dark.

【ASSAY PROCEDURE】

- Measurement (Example: Roche HITACHI 917)

