

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

総カルニチン カイノス

【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す。この反応は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る必要がありますが、遊離の脂肪酸はミトコンドリア膜を通過できません。カルニチンはミトコンドリア膜において脂肪酸の担体として機能しています。

**【一般的な注意】

- 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。

【形状・構造等(キットの構成)】

- 1) 反応試液 (I) :
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⁺)
アシルカルニチンエステラーゼ (ACE)
アジ化ナトリウム
- 2) 溶解液 :
緩衝剤
アジ化ナトリウム
- 3) 反応試薬 (II) :
カルニチンデヒドロゲナーゼ (CDH)
β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元型 (NADH)
- 4) 標準液 :
L-カルニチン (50 μmol/L)
アジ化ナトリウム

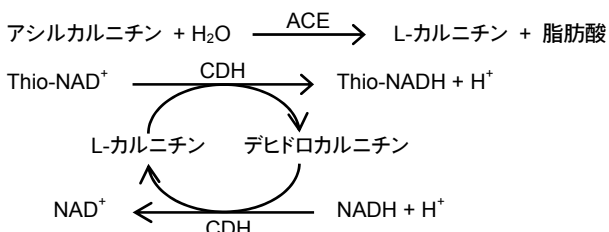
**【使用目的】

血清、血漿又は尿中の総カルニチンの測定

**【測定原理】

1. 原理

本法は酵素サイクリング法に基づく測定法です。検体中のアシルカルニチンはアシルカルニチンエステラーゼ (ACE) の作用によりカルニチンとなります。このL-カルニチンは、カルニチンデヒドロゲナーゼ (CDH) 及び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⁺) により特異的に酸化され、デヒドロカルニチン及び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) を生じます。さらに生成したデヒドロカルニチンはCDH及びβ-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元型 (NADH) の存在下でL-カルニチン及び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Thio-NADHの生成速度は検体中のカルニチン濃度に比例するので、Thio-NADHの吸光度変化を測定して総カルニチン (アシルカルニチン + 遊離カルニチン) 濃度を求めます。

2. 特徴¹⁾

- 1) 酵素サイクリング法を用いており、高感度で操作性に優れています。
- 2) 基質特異性の高い酵素を用いているので、類似物質の影響を受けません。

**【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、検体として血清、血漿又は尿を使用してください。
- 2) 新鮮な検体を使用してください。検体を長期保存する場合は、凍結保存してください。

2. 妨害物質・妨害薬剤²⁾

- 1) アスコルビン酸 (100 mg/dLまで)、ビリルビン (50 mg/dLまで)、イントラリピッド (5%まで)、乳び (3000濁度まで)、ヘモグロビン (400 mg/dLまで) は測定値に影響を与えません。
- 2) 抗凝固剤 (EDTA2Na、ヘパリン、NaF、クエン酸3Na) は通常使用濃度では、測定値に影響を与えません。
- 3) 各種防腐剤は、通常使用濃度では測定値に影響を与えません。

3. その他

- 1) 各種ディスクリット方式臨床化学自動分析装置に使用できます。装置ごとにパラメータを準備していますので、別途ご請求ください。
- 2) 使用前に測定装置を十分洗浄した後、必ずキャリブレーション (プランク及びスタンダード) を行ってください。
- 3) 精度管理用のコントロールとして以下の製品をご使用ください。
RK2200 : カルニチンコントロール血清

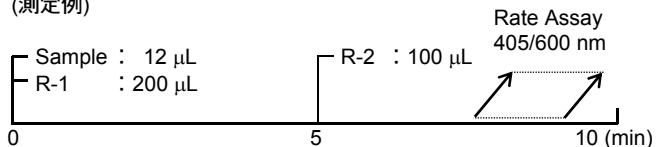
【用法・用量 (操作法)】

1. 試薬の調製方法

- 反応試液 (I) : そのまま使用してください。
反応試液 (II) : 反応試薬 (II) を溶解液で溶解してください。

2. ディスクリット方式臨床化学自動分析装置による操作法

(測定例)



**【測定結果の判定法】

1. 判定法

$$\text{総カルニチン濃度} (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{検体の1分間あたりの吸光度変化}}{\text{標準液の1分間あたりの吸光度変化}} \times \text{標準液の表示値} (\mu\text{mol/L})$$

2. 判定上の注意

- 1) 検体の濃度が測定範囲を越える場合は、検体を生理食塩水で希釈して再測定してください。
- 2) 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。

【性能】

1. 性能

1) 感度

ア) 生理食塩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、0.020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、0.020～0.030です。

2) 正確性

既知濃度の管理用検体を測定するとき、既知濃度の90～110%の範囲内です。

3) 同時再現性

同一検体を5回同時に測定するとき、測定値のC.V.値は、5.0%以下です。

4) 測定範囲

0.4～200 $\mu\text{mol/L}$

2. 相関性試験成績

1) 血清検体 (x: 弊社従来品 y: 本製品)

例数 : n = 50

相関係数: $r = 0.997$ 回帰式 : $y = 0.978x - 0.367$

**【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) 血清等の検体はHIV、HBV、HCV等の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) 本製品にはアジ化ナトリウムが含有されています。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等を受けてください。

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) 開封後の反応試液は、蓋をしめて2～10℃遮光保存で1ヵ月使用できます。

3) 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ください。

4) 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。

5) ロットの異なる構成試薬を混合して使用しないでください。また、試薬を継ぎ足して使用しないでください。

3. 廃棄上の注意

1) 検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等は感染の危険があるものとして処理してください。

2) 使用後の容器を廃棄する場合は、貴施設の廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物等を区別して処理してください。

3) 本製品を廃棄する場合は、水質汚染防止法等の関連法規に従って処理してください。

4) 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。

5) 本製品には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ください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法 : 2～10℃ 遮光保存

有効期間 : 24ヶ月 (使用期限は容器ラベル及び外箱に表示)

【包装単位】

製品名		管理コード	包装
総カルニチン カイノス	反応試液 (I) 溶解液	RK-2500	20 mL×1
	反応試薬 (II) 標準液		10 mL×1 10 mL用×1 5 mL×1

**【主要文献】

1) Takahashi, M., et al : Clin. Chem., 40:817 (1994)

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

* 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

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

Read carefully before using the product

Research use only

Total Carnitine “KAINOS”

【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.

【CAUTION】

- 1) The kit is intended only for research purposes, not for use in diagnostic procedures.
- 2) The reliability of results cannot be guaranteed if the kit is used with a method or for a purpose other than those stipulated.
- 3) This product is warranted to perform as described in its labeling and literature when used in accordance with all instructions.

【COMPONENTS】

- 1) **Reagent 1** :
1 bottle containing 20 mL of oxidized β -Thionicotinamide adenine dinucleotide (Thio-NAD⁺), acylcarnitine esterase (ACE) with sodium azide.
- 2) **Reagent 2A**
1 bottle containing 10 mL of buffer with sodium azide.
- 3) **Reagent 2B** :
1 vial containing 10 mL lyophilized platelets of carnitine dehydrogenase (CDH), NADH.
- 4) **Standard Solution** :
1 bottle containing 5 mL of L-carnitine (50 μ mol/L) with sodium azide.

【INTENDED USE】

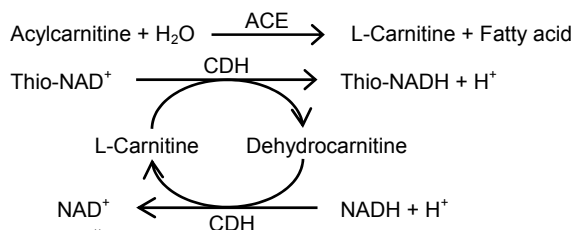
Measurement of total carnitine in serum, plasma or urine

【PRINCIPLE OF THE EXAMINATION METHOD】

1. Principle

The assay principle is enzymatic cycling method.

Acylcarnitine in a given sample is converted to carnitine by Acylcarnitine Esterase (ACE). The generated carnitine 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, Total carnitine (acylcarnitine and free carnitine) concentration can be determined by the specific absorption of Thio-NADH.



2. Feature ¹⁾

- 1) High sensitivity and accuracy based on an enzymatic cycling method.
- 2) High substrate specificity of the enzyme used. Unwanted interference by other similar substances is eliminated.

【LIMITATIONS OF THE EXAMINATION PROCEDURE】

1. Samples

- 1) Serum, plasma, or urine sample is used for measurement.
- 2) After sampling, measure as soon as possible. If samples must be stored, freeze at -20°C or lower.

2. Interference ²⁾

- 1) Hemoglobin (400 mg/dL or lower), bilirubin (50 mg/dL or lower), and chylomicrons (3000 formazine turbidity units or lower) each have almost no effect on measurements.
- 2) Anticoagulants (EDTA, heparin, sodium fluoride, sodium citrate) that are within normal usage concentration ranges do not affect the assay.
- 3) Preservatives are within normal usage concentration ranges do not affect the assay except for 5% formalin.

3. Others

- 1) Before performing an assay, rinse the measurement apparatus well and calibrate using both blank and standard.
- 2) Analyze control materials are as follows:
Catalog No. RK-2200 (Carnitine Control serum)

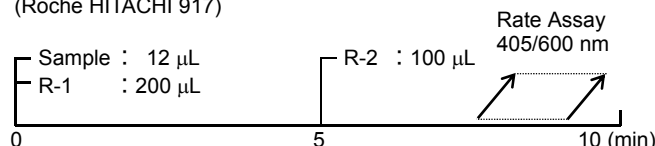
【EXAMINATION PROCEDURE】

1. Preparation of Reagents

- 1) Reagent 1 (R-1): Ready to use.
- 2) Reagent 2 (R-2): Dissolve reagent 2B in reagent 2A.

2. Assay Method

(Roche HITACHI 917)



【RESULTS】

1. Calculation of the Carnitine Concentration

$$\text{Total carnitine concentration } (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{The absorbance variation of the sample per 1 minute}}{\text{The absorbance variation of the standard per 1 minute}} \times \text{Concentration of the standard } (\mu\text{mol/L})$$

2. Notes

- 1) In case carnitine concentration in the sample exceeds the measurable range, dilute the sample with saline and repeat the assay.
- 2) Some samples may cause reaction with other substances and interfere with the assay. When measured value and result have question, confirm the results in retest or other method.

【PERFORMANCE CHARACTERISTICS】**1. Performance**

- 1) Sensitivity
 - A) Change in the O.D. of saline as the sample is within 0.020/minute.
 - B) Change in the O.D. of 50 $\mu\text{mol/L}$ standard solution as the sample is in the range of 0.020-0.030/minute.
- 2) Specificity
The specificity is within 90-110% of the known concentration sample.
- 3) Reproducibility
The C.V. of measured values is less than 5.0%.
- 4) Measurement Range
0.4~200 $\mu\text{mol/L}$

2. Correlation

- 1) Sample Number: $n = 50$ (Serum samples)
Correlation: $r = 0.997$
Regression formula: $y = 0.978x - 0.367$
(x: previous kit, y: current kit)

【WARNINGS AND PRECAUTIONS】**1. Warnings**

- 1) Serum or other blood samples should be handled as potentially infectious as they may contain infectious agents including HBV, HCV, HIV, etc.
- 2) Any instruments that have come to contact samples should also be treated potentially infectious.
- 3) Wear protective gloves to avoid infection.
- 4) 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.

2. Handling Procedures

- 1) Do not freeze.
- 2) The shelf life is 1 month after opening if stored at 2-10°C in dark.
- 3) This kit contains two reaction mixtures. Care must be taken during measurement not to mix up these reagents.
- 4) The kit should be used before the expiration date printed on the product label.
- 5) Do not pool reagents even if the Lot No. of kits are the same.
Do not combine reagents from different kits.

3. Disposal Procedures

- 1) Dispose of used reagent bottles as medical waste or industrial waste according to the rules stipulated for waste materials.
- 2) Wipe off if the released amount is small. Flush with copious amount of water if a large volume is released.
- 3) Reagents in this kit contain sodium azide as preservatives.
Since sodium azide reacts with lead tubing and copper tubing to generate metal azides which can explode, use a large quantity of water when disposing of it.

【STORAGE】

Store at 2-10°C in dark.

【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.

【LITERATURE REFERENCES】

- 1) Takahashi, M., et al : Clin. Chem., 40 : 817 (1994)
- 2) In-house data

【CUSTOMER SERVICE】

KAINOS LABORATORIES, INC.

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

e-mail : carnitine@kainos.co.jp

IN TECHNICAL COOPERATION

AsahiKASEI

ASAHI KASEI PHARMA

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

MANUFACTURER



KAINOS LABORATORIES, INC.

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