

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

FGF-23 測定試薬

FGF-23 ELISA Kit

【はじめに】

FGF23 (Fibroblast Growth factor 23) は、主に骨細胞 (オステオサイト) から分泌されるホルモンであり、腎臓からのリン排泄促進、ビタミンD活性化の抑制、副甲状腺ホルモン (PTH) の分泌や合成の抑制などの作用を有し、心不全、鉄代謝、造血などに関与します。251のアミノ酸からなる32kDaのタンパク質で、生体内ではN末端の24残基がシグナルペプチドとして脱落した活性体 (Intact FGF23) として存在し、Arg179とSer180の間で切断されることで、不活化されます。

FGF23の異常が関係する疾患として、ビタミンD抵抗性くる病/骨軟化症 (腫瘍性骨軟化症、X染色体優性低リン血症性くる病・骨軟化症、常染色体優性低リン血症性くる病・骨軟化症など) やCKD (Chronic Kidney Disease) などが報告されています。

【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。

** 【形状・構造等 (キットの構成)】

1. 抗体固相化プレート (FGF-23 Microplate)
マウスモノクローナル抗ヒト FGF23 抗体
2. 酵素標識抗体液 (FGF-23 Conjugate)
ペルオキシダーゼ結合マウスモノクローナル抗ヒト FGF23 抗体
3. 標準溶液
リコンビナントヒト FGF-23
 - 1) 標準溶液1 (FGF-23 Std 1): 0 pg/mL
 - 2) 標準溶液2 (FGF-23 Std 2): 10 pg/mL
 - 3) 標準溶液3 (FGF-23 Std 3): 50 pg/mL
 - 4) 標準溶液4 (FGF-23 Std 4): 100 pg/mL
 - 5) 標準溶液5 (FGF-23 Std 5): 250 pg/mL
 - 6) 標準溶液6 (FGF-23 Std 6): 500 pg/mL
 - 7) 標準溶液7 (FGF-23 Std 7): 800 pg/mL
4. 希釈液 (Assay Diluent)
5. 発色液 (Substrate)
3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMBZ), 尿素過酸化水素
6. 洗浄原液 (FGF-23 Wash Buffer): 10倍濃縮液
7. 反応停止液 (Stop Solution): 0.5 mol/L 硫酸
8. プレートシール (Plate Sealer)

【使用目的】

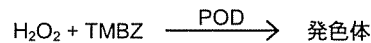
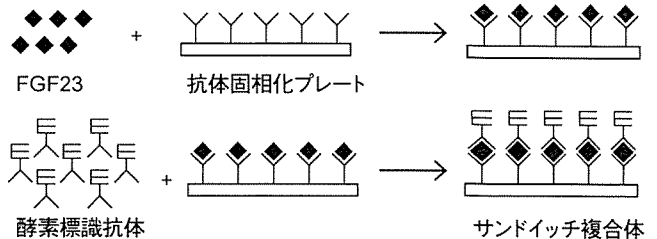
血清中のIntact FGF23の測定

【測定原理】

1. 原理

本法は固相サンドイッチ法に基づいています。
検体中にFGF23が存在すると、マイクロプレートに固相化されているマウスモノクローナル抗ヒトFGF23抗体と結合します。さらにペルオキシダーゼ結合マウスモノクローナル抗ヒトFGF23抗体 (酵素標識抗体) と反応させると、抗原をはさんだサンドイッチ複合体が形成されます。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比例するので、尿素過酸化水素 (H₂O₂) 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FGF23濃度を求めます。



2. 特徴

- 1) 生理活性を持つIntact FGF23を特異的に測定します。
- 2) 最小検出感度は3 pg/mLと高感度です。

【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、検体として血清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) 測定動物種として、ヒト以外にマウス、ラット、及びサルについて測定することができます。
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)、乳び (3000濁度まで)、リウマチ因子 (500 IU/mLまで) は測定値に影響を与えません。
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 (FGF-23 Std 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)】

*

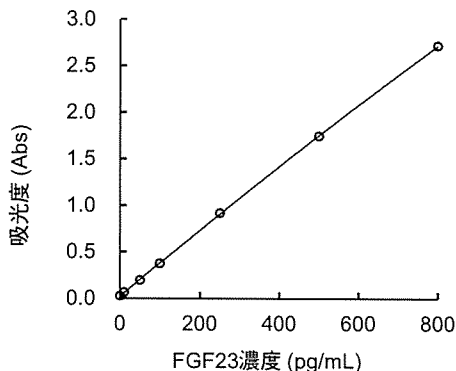
1. 試薬の調製方法
 - 1) 洗浄液
精製水を用いて洗浄原液 (FGF-23 Wash Buffer) を10倍希釈してください。
 - 2) 上記以外の試薬:
そのまま使用してください。
2. 必要な器具・器材・試料等
 - 1) マイクロピペット, マルチチャンネルピペット, 分注器
 - 2) プレートミキサー
 - 3) マイクロプレート用分光光度計 (波長:450, 600~650 nm)

3. 測定操作

- 1) 抗体固相化プレート (FGF-23 Microplate) の各ウェルに希釈液 (Assay Diluent) を50 μL ずつ加えます。
- 2) 各ウェルに標準溶液 (FGF-23 Std 1~7) 又は検体を50 μL ずつ加えます。
- 3) プレートにシールをして、室温で120分間攪拌します。
- 4) 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4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けないように注意してください。
- 5) 各ウェルに酵素標識抗体液 (FGF-23 Conjugate) を100 μL ずつ加え、プレートにシールをして、室温で60分間攪拌します。
- 6) 4)と同じ操作を繰り返します。
- 7) 各ウェルに発色液 (Substrate) を100 μL ずつ加え、室温で30分間遮光して静置します。
- 8) 各ウェルに反応停止液 (Stop Solution) 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で吸光度を測定します。

4. 濃度算出

- 1) 濃度0~800 pg/mLの標準溶液 (FGF-23 Std 1~7) より作成した検量線から、検体のFGF23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650 nm)



【性能】

1. 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.は10.0%以下です。
2. 測定範囲 3~800 pg/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) 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) 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。開封後の未使用ウェルは乾燥剤入りのアルミ袋に入れ、2~10°Cで保存し、使用期限までに使用してください。希釈調製後の洗浄液は、2~10°Cで保存し、4週間以内に使用してください。
- 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るので、異なるロットの構成試薬を組み合わせ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) 本製品にはケーンソン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。

【保管方法・有効期間】

保管方法 : 2~10°C 遮光保存

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
CY-4000	FGF-23 Microplate	8 × 12 well × 1
	FGF-23 Conjugate	12 mL × 1
	FGF-23 Std 1	12 mL × 1
	FGF-23 Std 2~7	各0.5 mL × 1
	Assay Diluent	12 mL × 1
	Substrate	12 mL × 1
	FGF-23 Wash Buffer	53 mL × 1
	Stop Solution	12 mL × 1
	Plate Sealer	3枚
CY-4012	FGF-23 Wash Buffer	53 mL × 1

[注3] 洗浄原液 (FGF-23 Wash Buffer) には補充用の別売品があります。


【主要文献】

- 1) Yuji Yamazaki : J Clin Endocrinol Metab, 87, 11 : 4957-4960 (2002)
- 2) 株式会社カインス 社内データ

【問い合わせ先】

株式会社カインス 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】


株式会社カインス

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