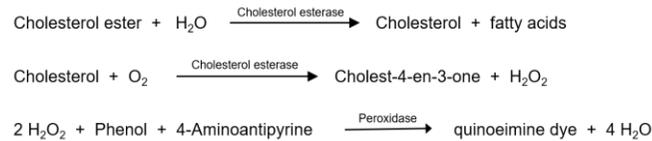


*本製品は研究用キットです。診断、治療目的には使用しないで下さい。
*下記 web 上に記載しているプロトコルの最新版を確認の上、操作してください。
<http://metallogenics.co.jp/>

【測定原理】

本法は酵素法を用いた総コレステロール(T-CHO)定量キットです。
血中総コレステロールにはエステル型(CE)、遊離型(FC)が存在します。まず、エステル型のコレステロール(Cholesterin ester)を Cholesterol esterase によって遊離型コレステロールと脂肪酸に分解します。得られた遊離型コレステロールは初めから血中に存在する遊離型コレステロールと共に、Cholesterol oxidase によって酸化され Cholest-4-en-3-one と H₂O₂ になります。この生成した H₂O₂ により、Peroxidase 存在下で 4-AA と Phenol を酸化縮合させ、赤色キノン色素を生成します。この色素を 546nm の波長で測定することで、総コレステロールの濃度を求めます。



【測定の意義】

血中コレステロールは、主として低比重リポ蛋白(LDL)と高比重リポ蛋白(HDL)、一部超低比重リポ蛋白(VLDL)中に存在し、総コレステロールの約 2/3 がエステル型、1/3 が遊離型です。CE の生成は、血中でレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ(LCAT)の作用によって行われます。生体内の FC は細胞膜、細胞の微細粒子膜、ミエリン鞘などの構成成分をなしている重要な脂質で、体内における総量は体重の 0.2% 程度です。

血中のコレステロール濃度は、肝及び腸管におけるコレステロールの生成、吸収、異化や血中リポ蛋白代謝と密接に関係し、その測定は体内脂質代謝異常の指標として重要なものです。

【キットの内容】

合計 250 測定分 (商品コード: C-C-TC01Q)

1. R-R 発色試液	60 mL×1	●
2. 総コレステロール標準血清*	凍結乾燥品(3 mL)×1	●

*【使用上の注意点】 1. 参照。

【測定試料の注意点】

- 1) 血清、血漿以外の試料には対応しておりません。
- 2) 抗凝固剤は EDTA、ヘパリンを使用してください。
- 3) 採取後の検体は速やかに測定してください。血清・血漿は冷蔵で 12 時間、冷凍でおよそ 1 年間保管が可能です。また、全血のまま検体を放置した場合、測定値が低くなる場合があります。
- 4) 本法は、その得られる数値を保証するものではありません。予め特性を確認した後、応用される

際は最適パラメータを試料種ごとに検討の上、ご使用されることをお奨めいたします。

【必要な器具・器材・試料等】

マイクロプレートリーダー
96 穴プレート
マイクロピペットおよびチップ
生理食塩水もしくは精製水

【オペレーション】

1. 試薬の調製

(1) **R-R 発色試液**: 室温に戻し、そのまま使用してください。

*使用し終わりましたら蓋をきちんと締め、冷暗所に保管してください。

(2) **総コレステロール標準血清**: 内容物が飛散しないよう静かにバイアルのふたを開け、3 mL の精製水を加えます。室温(20~25℃)で 30 分間静置した後泡立たないよう静かに転倒混和し溶解させます。

*総コレステロール標準血清は小分け分注し-20℃以下で保存することで、1ヶ月間使用できます(凍結融解は一回まで)。

2. 測定試料の調製

血清・血漿 : そのまま測定試料として下さい。

*検体の濃度が測定範囲を超える場合は、検体を生理食塩水で希釈して測定してください。

3. 測定

プレートリーダー (紫外可視分光光度計) による測定 (1 検体 202 μL 容量)

以下の用量で測定試料、総コレステロール標準血清、R-R 発色試液を清浄なウエル、セル等へ分注して下さい。

○アッセイ

添加順と添加試薬 (μL)	アッセイ検体		
	試薬ブランク	標準血清	試料
精製水 or 生理食塩水	2	-	-
標準血清	-	2	-
試料 (血清、血漿)	-	-	2
R-R 発色試液	200	200	200

↓
37℃の場合：十分に混合し 10 分間静置後、所定波長の吸光度 OD を測定

25℃の場合：十分に混合し 20 分間静置後、所定波長の吸光度 OD を測定

*ピペティングにより泡が発生しないように丁寧に混合してください。泡が発生した場合はプレートミキサー等により除去してください。プレートミキサーのみによる混合、攪拌では再現性不良が発生する場合があります。
*発色試薬の添加後はただちに攪拌してください。値に負の誤差を与える場合があります。
アッセイボリュームを変更する場合は上記割合でアッセイして下さい。

●測定条件 (マイクロプレートリーダー)

主波長	546 nm
副波長	700 nm
感度のある波長域	500-550 nm
測定温度	25~37℃
ウエル	96 穴ウエル or 分光測定用セル等

*紫外可視分光光度計を使用してキュベットで測定する場合、測定可能な検体数はマイクロプレートリーダー使用時と比較して少なくなります。ダウンサイズされた微量セルを使用することで 96 穴ウエルと同等の測定数を得ることも可能です。微量セルはセルホルダーとのクリアランスの僅差による誤差、再現性の低下などが報告されています。使用時にはセルホルダーへ均一に装着されていることを十分に確認してください。
*タンパク質低吸着タイプのウエルを使用してください。

●濃度の算出

$$\frac{OD_{\text{試料}} - OD_{\text{ブランク}}}{OD_{\text{標準血清}} - OD_{\text{ブランク}}} \times \text{標準血清表示値}^* = \text{総コレステロール濃度 (mg/dL)}$$

OD_{試料} : 測定試料の吸光度

OD_{標準血清} : 総コレステロール標準血清の吸光度

OD_{ブランク} : 試薬ブランク(精製水 or 生理食塩水)の吸光度

*総コレステロール標準血清ボトルに記載された濃度

●計算例

・主波長(546nm)のみの場合、例：96 ウェルリーダー、37℃で測定

アッセイ検体	OD	ΔOD**	T-CHO (mg/dL)
試薬ブランク	0.042	-	-
標準血清	0.146	0.104	-
血清 A	0.108	0.066	100
血清 B	0.161	0.119	181

・補正あり(主波長 546nm/副波長 700nm)の場合、例：96 ウェルリーダー、37℃で測定

アッセイ検体	主波長	副波長	補正值	ΔOD**	T-CHO (mg/dL)
試薬ブランク	0.042	0.026	0.016	-	-
標準血清	0.146	0.028	0.118	0.102	-
血清 A	0.109	0.027	0.082	0.066	102
血清 B	0.162	0.027	0.135	0.119	184

**OD_{試料} or 標準血清 - OD_{ブランク}

【主な仕様と性能】

感度	試薬ブランクを対照として、T-CHO 標準血清 (158 mg/dL) を測定した時の吸光度は 0.10~0.12 です。
正確性	既知濃度の血清標準物質を測定するとき、得られた値は既知濃度の±10%以内です。
同時再現性	同一検体を 5 回同時に測定した時の C.V. は 5%以下です。
測定範囲	3~800 mg/dL
共存物質の参考許容範囲	ビリルビンは 8 mg/dL まで、溶血はヘモグロビン濃度で 450 mg/dL まで影響ありません。

【使用上の注意点】

1. 総コレステロール標準血清には、ヒト由来の成分および感染性を有する可能性のある成分が含まれています。ヒト血液由来の成分は、試験により、HBsAg、抗 HIV 1/2 および抗 HCV に対して非反応性であることが確認されています。既知の試験法で、ヒトや不活性化微生物に由来する製品が非感染性であることを完全に保証できるものは存在しません。そのため、ヒト由来の物質はすべて、感染性を有する可能性があるものとみなし、適切なバイオセイフティー手順に従って取り扱うことを推奨します。
2. 試薬は指定の貯蔵方法で保管し、使用期限の過ぎた試薬は使用しないでください。
3. 凍結した試薬は使用しないでください。
4. 異なるロットの試薬は混合しないでください。

切にご使用下さい。

※ 商品の輸送・取扱い・処理・廃棄については付属の安

【品質保持期限と保存方法】

本品の品質保持期限は製造後 12 ヶ月間です。(冷蔵 2~8℃)

【主要文献】

- 1.) 金井正光, 臨床検査法提要, 改訂 33 版, 金原出版 (2010) : 539-542

【お問い合わせ先】

メタロジェニクス株式会社

〒260-0015 千葉市中央区富士見 1-14-13

千葉大栄ビル

TEL : 043-227-6767

FAX : 043-227-6768

e-mail : sales@ak-j.com

URL : <http://metallogenics.co.jp/>

【製造販売元】

セルスペクト株式会社

岩手県盛岡市北飯岡 1-10-82

※クオンテストは、セルスペクト株式会社の試薬キットの名称です。

※ 取扱説明書、測定プロトコール等、製品に関する最新の情報は下記弊社 web サイトのサポートコーナーでご確認下さい。

<http://metallogenics.co.jp/>

※ 本製品は研究用であり、その数値を完全に保証するものではありません。あらかじめご了承下さい。

※ 表記性能は汎用されているマイクロプレートリーダーを用いた場合の目安です。使用機器の型式によっては完全に一致しない場合があります。あらかじめご了承下さい。

※ 品質に関してのお問い合わせの際は試薬キット包装袋に貼付の Lot No. をご確認の上、お問い合わせ下さい。

※ 商品の仕様・サービス・包装形態・梱包形態・測定プロトコールは予告なく変更する場合があります。本取扱説明書に従い、適