

## 注意事項

- \* 本プロトコールは簡易版です。初めてご使用の際は必ず取扱説明書をご確認ください。
- \* 試料は新鮮なもの又は -20°C 以下で保存したものを使用して下さい。保存料は使用しないでください。
- \* 試薬及びプレートは、ご使用前に必ず室温 (20~25°C) に戻して下さい。

## 1. 試薬の調製

- (1) **WR1** (Working Reagent 1: ビオチン標識抗 CK-MB 抗体試薬) の調製
  - ① ビオチン標識抗 CK-MB 抗体 (100×) 全量を **R-1** のボトルへ添加する。
  - ② **R-1** のボトルラベルのチェックボックスへ印 (**R-1** ) を付け、これを **WR1**: Working Reagent 1 とする。
- (2) **WR2** (Working Reagent 2: HRP 標識ストレプトアビジン試薬) の調製
  - ① HRP 標識ストレプトアビジン (100×) 全量を **R-2** のボトルへ添加する。
  - ② **R-2** のボトルラベルのチェックボックスへ印 (**R-2** ) を付け、これを **WR2**: Working Reagent 2 とする。
- (3) **WB** (Wash Buffer: 洗浄液) の調製  
 洗浄液 (10×) 全量を精製水で 10 倍に希釈し、**WB**: Wash Buffer とする。
- (4) **STD** (Standard: 検量線標準試料) の調製
  - ① 標準試料のボトルに、ボトルラベルに記載された量の **Diluent** を添加し、15 分間静置して完全に溶解させる。これを **STD** (200 ng/mL) とする。(溶解させた後は冷蔵保存し、当日中に使用すること)
  - ② **STD** (200 ng/mL) を **Diluent** にて希釈し、各濃度の **STD** を調整する。

STD の希釈例

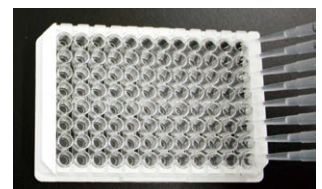
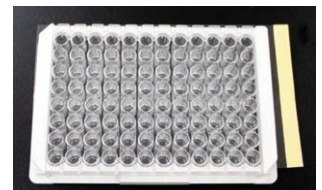
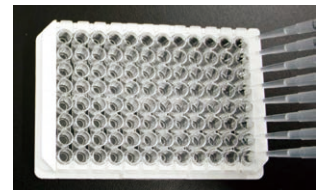
希釈前		Diluent 量		希釈後		
開始濃度 (ng/mL)	STD 量 (μL)		Diluent 量 (μL)		STD 量 (μL)	終濃度 (ng/mL)
200	75	+	75	=	150	<b>100</b>
100	75	+	75	=	150	<b>50</b>
50	75	+	225	=	300	<b>12.5</b>
12.5	75	+	75	=	150	<b>6.25</b>
6.25	75	+	75	=	150	<b>3.125</b>
3.125	75	+	75	=	150	<b>1.56</b>

## 2. 測定試料の調製

血清、もしくは血漿を測定試料とする。

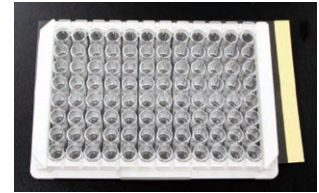
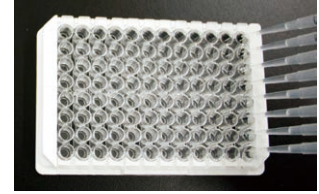
## 3. 測定

- (1) 抗体固相化プレートに、**Diluent**、各濃度の **STD**、測定試料を 25 μL/ ウェル分注する。(各試料 2 ウェルずつ)
- (2) (1) のウェルに、**Diluent** を 100 μL/ ウェル分注し、軽く手で振とうする。
- (3) 抗体固相化プレートにプレートシールを貼り、室温で 1 時間反応させる。
- (4) 反応液を捨て、抗体固相化プレートを洗浄する。(WB 300 μL/ ウェル × 3 回)
- (5) 抗体固相化プレートに、**WR1** を 100 μL/ ウェル添加する。

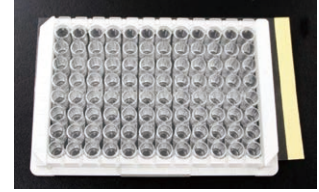
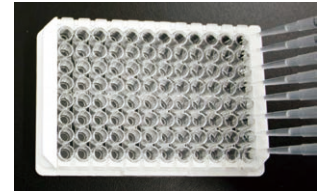


(前ページからの続き)

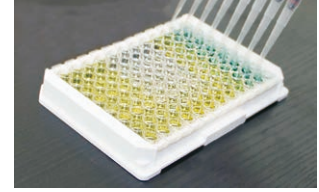
(6) 抗体固相化プレートにプレートシールを貼り、室温で 1 時間反応させる。

(7) 反応液を捨て、抗体固相化プレートを洗浄する。(WB 300  $\mu$ L/ ウェル  $\times$  3 回)(8) 抗体固相化プレートに、WR2 を 100  $\mu$ L/ ウェル添加する。

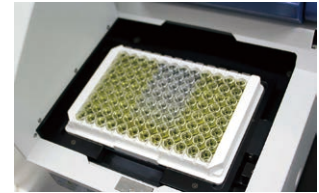
(9) 抗体固相化プレートにプレートシールを貼り、室温で 30 分間反応させる。

(10) 反応液を捨て、抗体固相化プレートを洗浄する。(WB 300  $\mu$ L/ ウェル  $\times$  3 回)(11) 抗体固相化プレートに、R-3 を 100  $\mu$ L/ ウェル添加する。

(12) 抗体固相化プレートを、マイクロプレートシェーカーなどで振とうし、遮光して室温で 30 分間反応させる。

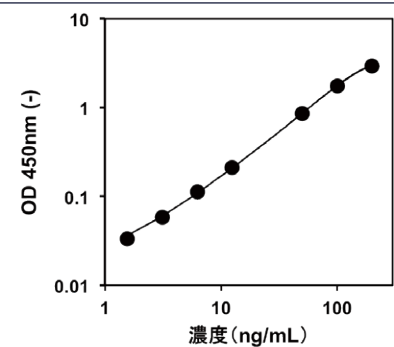
(13) 抗体固相化プレートに、R-4 を 100  $\mu$ L/ ウェル添加する。

(14) 450 nm の吸光度を測定する。



#### 4. 測定値の算出

- (1) 試料毎に吸光度の平均値を求める。
- (2) 検量線試料の CK-MB 濃度に対する吸光度をプロットし、検量線を作成する。
- (3) 検量線より試料中の CK-MB 濃度を読み取る。



製造販売業者  
問い合わせ先

セルスペクト株式会社 〒020-0857 岩手県盛岡市北飯岡 1-10-82 ※クオンテスタは、セルスペクト株式会社の試薬キットの名称です。

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 e-mail : sales@ak-j.com

FAX : 043-227-6768 URL : http://metallogenics.co.jp/