

リパーゼキット S[研究用]

品番:BS-92101

リパーゼキットS [研究用] は、リパーゼと反応性の高い基質として合成された S-アシル化合物 (BALB) を用い、これにSH 基測定用試薬 (DTNB) を組み合わせた、酵素測定法の原理に基づくヒトリパーゼ測定用キットです。

<特徴>

1. 血清又は血漿 50 μ L 中のリパーゼ活性を精度よく、かつ再現性よく測定できる。
2. 抽出又は滴定などの煩雑な操作を必要としない。
3. 多数の検体を短時間で測定できる (50 検体を 1 時間程度で測定できる。)
4. 一般の実験器具で測定でき、生化学自動分析装置等を必要としない。

安全に関する情報

- ・本試薬は研究目的のみに使用して下さい。
- ・手袋、保護用メガネ等により適切な身体保護を施し、試薬類の直接身体への接触を避けて下さい。
- ・試薬が目に入った場合は、直ちに水で洗い流し、必要があれば医師の診断を受けて下さい。
- ・試薬が皮膚に付着した場合は、直ちに水で洗い流して下さい。
- ・試薬が口に入った場合は、すぐに吐き出し口をすすいで、必要があれば医師の診断を受けて下さい。
- ・基質液とエステラーゼ阻害液は引火性の高い液体 (エタノール) を使用しています。蒸気やミストを吸入しないように注意して下さい。容器の蓋は密閉し、火気から遠ざけて利用、保管して下さい。
- ・本試薬の緩衝液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛や銅と反応して爆発性の金属アジドを生成することがあり、廃棄する場合には大量の水とともに流して下さい。
- ・使用後の試薬及び容器等は、地域の条例、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁法等に従って処理して下さい。

<本製品に関するお問い合わせ先>

住友ベークライト株式会社 S-バイオ事業部
TEL 03-5462-4831, FAX 03-5462-4835
E-mail : s-bio@sumibe.co.jp

◆包装単位

リパーゼキット S [研究用] 1 キット (100 回用)

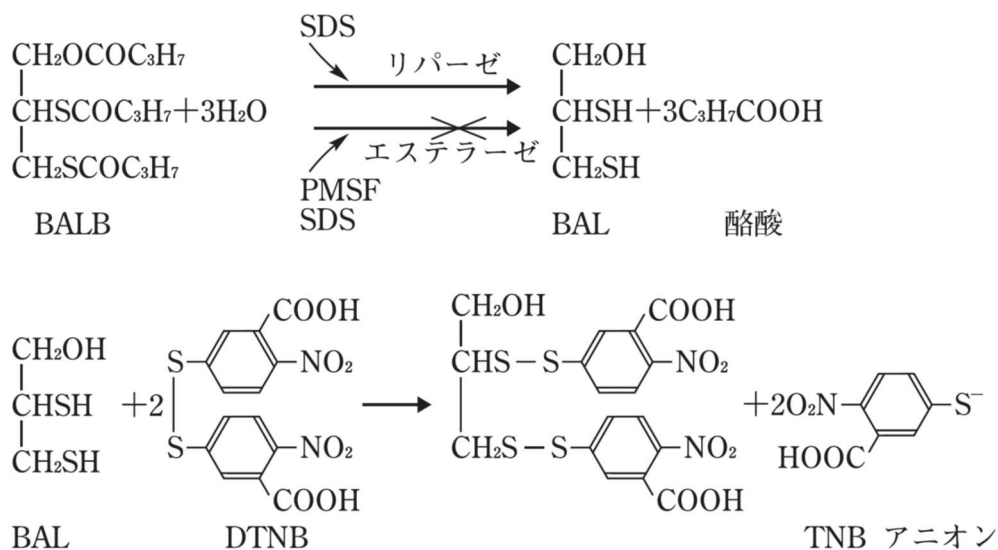
◆キット内容物 (キットの構成)

ご使用前に内容物をご確認下さい。万が一不足や破損などがありましたらご連絡下さい。

- 基質液 1 瓶 (22mL)
 成分：三酪酸ジメルカプロール (BALB)、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)
 エステラーゼ阻害液 1 瓶 (4.4mL)
 成分：フェニルメチルスルホニルフルオリド (PMSF)
 発色剤 1 瓶 (240mg)
 成分：5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸) (DTNB)
 緩衝液 1 瓶 (25mL)
 反応停止原液 1 瓶 (25mL)

◆測定原理

基質 (BALB)、SDS、エステラーゼ阻害剤 (PMSF) を検体に加えて、PMSFと SDS で検体中のリパーゼ以外のエステラーゼを失活させると同時に SDS によって検体中の膜由来リパーゼを活性化させる。活性化されたリパーゼは BALB を水解してジメルカプロール (BAL) を生成させる。生成した BAL は DTNB と定量的に反応し黄色の 5-チオ-2-ニトロ安息香酸 (TNB) アニオンを生成する。反応停止液を加えることにより、リパーゼの反応を停止すると同時に、反応混液を清澄にする。呈色の強さ (吸光度) は検体中のリパーゼ活性を反映するので、吸光度から直接リパーゼ活性を算出することができる。



◆必要な器具・器材・試料等

自動ピペット（20 μ L、50 μ L、100 μ L、1mL）、ホールピペット、メスピペット、メスシリンダー（500mL容）、三角フラスコ（500mL容）、ガラス製試験管（12mm ϕ ×100mm程度）及び試験管立て、恒温槽（30 \pm 1 $^{\circ}$ C）、連続分注器（2mL）等、分光光度計（410nm～420nm）

その他；ストップウォッチ、遮光のための板・箱等

◆操作法に関する注意

1. インキュベーション中及び反応停止後、吸光度測定までの間は、各試験管を遮光すること。また、吸光度測定は反応停止液添加後 1 時間以内に行うこと。なお、遮光は恒温槽や試験管立て全体を板や箱で覆えばじゅうぶんである。
2. 試薬の添加順序は必ず操作法どおりに行うこと。また、検体、盲検とも同一条件で同時に行うこと。
3. 検体や試薬の微生物汚染、試薬間のコンタミネーションを避けること。

◆操作法

➤ 試薬の調製方法

（1）発色原液の調製

発色剤の容器に緩衝液 2.4mL を加えて発色剤を完全に溶解し、さらに精製水 22mL を加えて発色原液を調製する（本発色原液を保存する場合は蓋をしめて凍結保存し、3ヵ月以内に使用すること。使用する時は、用時、融解して使用する。ただし、発色原液調製時の使用状況、凍結までの経過時間、保存温度等により、凍結保存しても着色が強くなることがある。凍結融解の繰り返しは避け、黄色が強くなったもの（412nm における吸光度が 1 以上のもの）は使用しないこと。）。

（2）発色液の調製

下表を参考に検体数によって用時、必要量のみ調製して使用する。すなわち、発色原液 1 容と緩衝液 1 容とを混合し、さらに精製水 8 容を加えて発色液を調製する（本発色液は室温で不安定であるので、使用中は氷冷下に置くこと）。

	10 回分	20 回分	50 回分
発色原液	2.2mL	4.4mL	11mL
緩衝液	2.2mL	4.4mL	11mL
精製水	17.6mL	35.2mL	88mL
調製量	22mL	44mL	110mL
所要量	20mL	40mL	100mL

（3）反応停止液の調製

反応停止原液は、冷所保存下では固化しているので、加温（30 $^{\circ}$ C、5～10 分間）し、融解する。次いで、その全量を 500mL 容のメスシリンダー中に精製水で洗浄しながら流し込

み、精製水で最終容量を 500mL とした後、三角フラスコ等に移す。調製後は、封をして 2～8℃で保存し、3 ヶ月以内に使用すること（本反応停止液を 2～8℃保存すると、結晶が析出することがあるが、このような場合には、用時、加温（30℃、5～10 分間）し、結晶を溶解したのち使用すること。）。

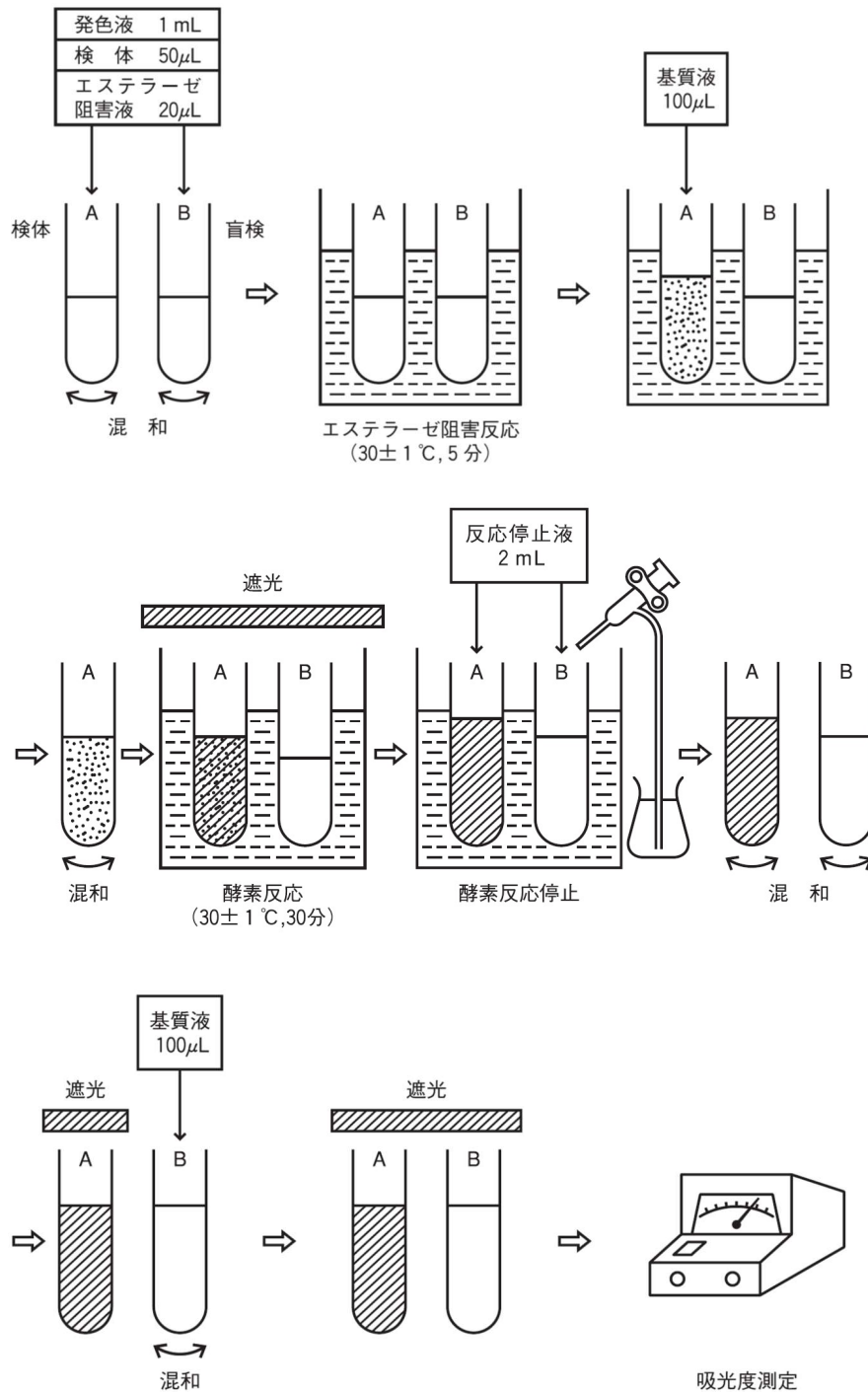
（４）基質液、エステラーゼ阻害液及び緩衝液

そのまま使用する。保存する場合は蓋をしめて 2～8℃で保存する。ただし緩衝液は、発色原液、発色液の調製にも用いる。

◆測定（操作）法

- (1) 1 検体につき、ガラス製試験管を 2 本用意し、1 本を検体用(A)、他の 1 本は盲検用(B)とする。
- (2) A、B 両試験管に、発色液 1mL、検体 50 μ L を入れて混和した後、エステラーゼ阻害液 20 μ L を添加する。
- (3) 混和後、各試験管を恒温槽に入れ 30 \pm 1℃で 5 分間予熱する。〔エステラーゼ阻害反応〕
- (4) 予熱終了後、恒温槽に入れたまま試験管 A にのみ基質液 100 μ L を加え、混和後直ちに 30 \pm 1℃で正確に 30 分間※インキュベートする。〔酵素反応〕（※基質液添加時をインキュベーション開始時刻とする。）なお、測定本数が多い場合には 10 本ずつ数群に分け、各群を 1～2 分ずつずらして操作する（この際、試験管に光が当たらないように恒温槽全体を板などで覆う。）。
- (5) インキュベーション終了後、恒温槽に入れたまま直ちに試験管 A に反応停止液 2mL を連続分注器等を用い、基質液添加と同じ時間間隔で順次添加する。次いで、試験管 B に反応停止液 2mL を添加する。
- (6) 各試験管を恒温槽より取り出し混和した後、試験管 B にのみ基質液 100 μ L を加えてもう一度混和する（各試験管は混和後測定までの間、遮光しておく。）。
- (7) 精製水を対照として、検体(A)及び盲検(B)の吸光度を波長 412nm（410～420nm の間であれば他の波長でもよい）、層長 1cm で測定する（呈色は光に対して不安定で、長時間放置すると退色するので、吸光度の測定は反応停止液添加後 1 時間以内に行うこと。）〔吸光度測定〕

測定操作略図



➤ リパーゼ活性値の計算

- (1) 検体 50 μ L を使用し、前記操作条件で検体(A)と盲検(B)の吸光度差が 0.001 を示した場合を 1BALB 単位と定義する。BALB 単位に 0.147 を乗ることにより、国際単位 IU/L (遊離 SH 基 μ mol/分/L 血清、 30°C) に換算することができる。

計算例

	健常人血清の 1 例	再燃性慢性膵炎患者の血清の 1 例
A	0.152	0.908
B	0.070	0.095
A - B	0.082	0.813
BALB 単位	82	813
国際単位	12	120

(2) 本キットの検出感度（50BALB 単位）以下の値が得られた場合には「50BALB 単位以下」と表示する。

(3) 1,000BALB 単位以上となるような検体では、酵素反応時間〔操作法(4)〕を 15 分間（または 10 分間）に短縮して、得られる吸光度値が 1 以下となるように調整し、操作法(5)以下の操作により得られた値を 2 倍（または 3 倍）する。

◆性能

1. 測定範囲

測定活性範囲はリパーゼ 50BALB 単位から 1,000BALB 単位である。

2. 相関性

本キットの測定値と、RI 法、アルカリ滴定法、比濁法の測定値との相関性をそれぞれ調べた結果を、以下に示す。

他法	本法	例数	相関係数	回帰式
RI 法 (Y) ⁹⁾	(X)	16	0.979	$Y = 17.13X + 386$
アルカリ滴定法 (X) ¹⁰⁾	(Y)	83	0.917	$Y = 152X - 94$
アルカリ滴定法 (X) ¹²⁾	(Y)	89	0.768	$Y = 1.3X - 38$
比濁法 (X)	(Y)	77	0.989	$Y = 233X - 124$
比濁法 (Y) ¹³⁾	(X)	51	0.781	$Y = 0.62X + 69$

◆使用上の注意

1. 測定は、必ず本説明書記載の操作法のとおり実施して下さい。
2. 測定に使用する機器の取り扱い説明書をよく読んでから使用して下さい。
3. 本品は、凍結及び直射日光を避け、貯蔵方法に従い 2～8℃で保存して下さい。
4. 試薬は必ず同一ロットのものを使用し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。

◆貯蔵方法

遮光し、冷所（2～8℃）に保存すること。

◆有効期間

製造後 3 年（使用期限は外箱及びラベルに記載）

◆主要文献

1. 北村次男、ほか：医学のあゆみ、109：587、1979
2. Williamson、T.：Med.Lab.Sci.、33：265、1976
3. Kurooka、S.、et al.：J.Biochem.、81：361、1977
4. Kurooka、S.、et al.：J.Biochem.、84：1459、1978
5. 黒岡繁、ほか：医学のあゆみ、104：39、1978
6. 森下玲児、ほか：内科宝函、24：393、1977
7. 岩崎良文、ほか：医学のあゆみ、117：124、1981
8. 森下玲児、ほか：日消誌、75：686、1978
9. Furukawa、I.、et al.：Clin.Chem.、28：110、1982
10. 樋口秀朗、ほか：神奈川県臨床衛生検査技師会雑誌、67：316、1981
11. 北村次男、ほか：肝胆膵、4：699、1982
12. Rick、W.、et al.：J.Clin.Chem.Clin.Biochem.、20：537、1982
13. 松元喬、ほか：日本臨床検査自動化学会誌、7：273、1982
14. 黒岡繁、ほか：Medical Technology、12：31、1984
15. Kitamura、T.、et al.：Dig.Dis.Sci.、29：600、1984

◆販売元

住友ベークライト株式会社

東京都品川区東品川二丁目 5 番 8 号（天王洲パークサイドビル）