

研究用

Takara

**Human/Pig Osteonectin
EIA Kit**

説明書

オステオネクチン (Osteonectin ; ON) は分子量 43 kDa の酸性リン酸化糖タンパク質です。タンパク質部分は、17 アミノ酸のシグナル配列に続いて 283 ~ 287 アミノ酸 (動物種により異なる) からなる 1 本のポリペプチドで、4 つの機能ドメイン (I ~ IV) から構成されています。ドメイン I は酸性アミノ酸を多く含む領域で、数個の低親和性カルシウム結合ドメインが存在し、ドメイン II は 10 個のシステイン残基を保有しています。ドメイン III はプロテアーゼ感受性部位を持ち、ドメイン IV には一ヶ所の低親和性カルシウム結合部位が含まれます。

オステオネクチンは、SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine) あるいは BM-40 (Basement Membrane 40 kDa Molecule) とも呼ばれ、最初は骨組織に含まれる非コラーゲン性タンパク質として見出されましたが、その後の解析では、軟組織や血小板、血管内皮細胞にも存在し、各種培養細胞によっても分泌されることがわかり、細胞外マトリックスと細胞との結合調節や、細胞増殖にも関与している多機能性タンパク質と考えられています。

また、リウマチ患者の関節液には高レベルのオステオネクチンが存在し、関節炎の病態の新しいマーカーとして診断に役立つことが示唆されています。

本キットは、ウシおよびヒトのオステオネクチンを抗原として取得した 2 種のモノクローナル抗体により構築したサンドイッチタイプのオステオネクチン定量系です。ヒトおよびブタ、ウシ、ウサギ抗原を対象に、*in vitro* および *in vivo* でのオステオネクチンの簡易定量が可能です。

[各動物のオステオネクチンのアミノ酸配列]

		シグナル配列 (1 ~ 17)					I					II					III					IV						
		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	151	160	170	180	190	200						
Human ON	1	MRAWIFFLLC	LAGRALAAPQ	DEALPDETEV	WEETVAEVEE	V---SVGANP	50	51	WQVEVGEFDD	GAEETEEVEW	RENPCQNHC	KHGKVCGLDE	NNTPMCVCCQ	100	101	PTSCPAPIGE	FEKVCSDNKK	TFDSSCHFFA	TKCTLEGTKK	GHKLHLDYIG	150	151	PCKVIIPCLD	SELTEFFPLM	RDNLKNVLYT	LVERDEDNHL	LTEKQKLRVK	200
Monkey ON	1	MRAWIFFLLC	LAGRALAAPQ	DEALPDETEV	WEETVAEVEE	V---SVGANP	50	51	WQVEVGEFDD	GAEETEEVEW	RENPCQNHC	KHGKVCGLDE	NNTPMCVCCQ	100	101	PTSCPAPIGE	FEKVCSDNKK	TFDSSCHFFA	TKCTLEGTKK	GHKLHLDYIG	150	151	PCKVIIPCLD	SELTEFFPLM	RDNLKNVLYT	LVERDEDNHL	LTEKQKLRVK	200
Bovine ON	1	MRAWIFFLLC	LAGRALAAPQ	DEALPDETEV	WEETVAEVEE	V---PVGANP	50	51	WQVEVGEFDD	GAEETEEVEW	RENPCQNHC	KHGKVCGLDE	NNTPMCVCCQ	100	101	PTSCPAPIGE	FEKVCSDNKK	TFDSSCHFFA	TKCTLEGTKK	GHKLHLDYIG	150	151	PCKVIIPCLD	SELTEFFPLM	RDNLKNVLYT	LVERDEDNHL	LTEKQKLRVK	200
Pig ON	1	MRAWIFFLLC	LAGRALAAPQ	DEALPDETEV	WEETVAEVEE	V---PVGANP	50	51	WQVEVGEFDD	GAEETEEVEW	RENPCQNHC	KHGKVCGLDE	NNTPMCVCCQ	100	101	PTSCPAPIGE	FEKVCSDNKK	TFDSSCHFFA	TKCTLEGTKK	GHKLHLDYIG	150	151	PCKVIIPCLD	SELTEFFPLM	RDNLKNVLYT	LVERDEDNHL	LTEKQKLRVK	200
Rabbit ON	1	MRAWIFFLLC	LAGRALAAPQ	DEALPDETEV	WEETVAEVEE	VAEVMPVGANP	50	51	WQVEVGEFEE	VVEETEEVEW	RENPCQNHC	KHGKVCGLDE	NNTPMCVCCQ	100	101	PTSCPAPIGE	FEKVCSDNKK	TFDSSCHFFA	TKCTLEGTKK	GHKLHLDYIG	150	151	PCKVIIPCLD	SELTEFFPLM	RDNLKNVLYT	LVERDEDNHL	LTEKQKLRVK	200
Rat ON	1	MRAWIFFLLC	LAGRALAAPQ	DEALPDETEV	WEETVAEVEE	V---GLPVGANP	50	51	WQVEVGEFEE	GAEETVEEVEW	RENPCQNHC	KHGKVCGLDE	SNTPMCVCCQ	100	101	PTSCPAPIGE	FEKVCSDNKK	TFDSSCHFFA	TKCTLEGTKK	GHKLHLDYIG	150	151	PCKVIIPCLD	SELTEFFPLM	RDNLKNVLYT	LVERDEDNHL	LTEKQKLRVK	200
Mouse ON	1	MRAWIFFLLC	LAGRALAAPQ	DEALPDETEV	WEETVAEVEE	V---GVPVGANP	50	51	WQVEVGEFDD	GAEETVEEVEW	RENPCQNHC	KHGKVCGLDE	SNTPMCVCCQ	100	101	PTSCPAPIGE	FEKVCSDNKK	TFDSSCHFFA	TKCTLEGTKK	GHKLHLDYIG	150	151	PCKVIIPCLD	SELTEFFPLM	RDNLKNVLYT	LVERDEDNHL	LTEKQKLRVK	200
Goat ON	1	MRAWIFFLLC	LAGRALAAPQ	DEALPDETEV	WEETVAEVEE	V---PVGANP	50	51	WQVEVGEFDD	GAEETVEEVEW	RENPCQNHC	KHGKVCGLDE	SNTPMCVCCQ	100	101	PTSCPAPIGE	FEKVCSDNKK	TFDSSCHFFA	TKCTLEGTKK	GHKLHLDYIG	150	151	PCKVIIPCLD	SELTEFFPLM	RDNLKNVLYT	LVERDEDNHL	LTEKQKLRVK	200

MMP cleavage site

IV

Human ON	201	K I H E N E K A L E	A G - D H P V E L L	A R D F E K N Y N M	Y I F P V H W Q F G	Q L D Q H P I D G Y	250
Monkey ON	201	K I H E N E K A L E	A G - D H P V E L L	A R D F E K N Y N M	Y I F P V H W Q F G	Q L D Q H P I D G Y	250
Bovine ON	201	K I H E N E K A L E	A G C D H P V E L L	A R D F E K N Y N M	Y I F P V H W Q F G	Q L D Q H P I D G Y	250
Pig ON	201	K I H E N E K A L E	A G - D H P V E L L	A R D F E K N Y N M	Y I F P V H W Q F G	Q L D Q H P I D G Y	250
Rabbit ON	201	K I H E N E K A L E	A G - D H P V E L L	A R D F E K N Y N M	Y I F P V H W Q F G	Q L D Q H P I D G Y	250
Rat ON	201	K I H E N E K A L E	A G - D H P V E L L	A R D F E K N Y N M	Y I F P V H W Q F G	Q L D Q H P I D G Y	250
Mouse ON	201	K I H E N E K A L E	A G - D H P V E L L	A R D F E K N Y N M	Y I F P V H W Q F G	Q L D Q H P I D G Y	250
Goat ON	201	K I H E N E K A L E	A G - D H P V E L L	A R D F E K N Y N M	Y I F P V H W Q F G	Q L D Q H P I D G Y	250
210 220 230 240 250							
Human ON	251	L S H T E L A P L R	A P L I P M E H C T	T R F F E T C O L D	N D K V I A L D E W	A G C F G I K Q K D	300
Monkey ON	251	L S H T E L A P L R	A P L I P M E H C T	T R F F E T C O L D	N D K V I A L D E W	A G C F G I K Q K D	300
Bovine ON	251	L S H T E L A P L R	A P L I P M E H C T	T R F F E T C O L D	N D K V I A L D E W	A G C F G I K E K D	300
Pig ON	251	L S H T E L A P L R	A P L I P M E H C T	T R F F E T C O L D	N D K V I A L D E W	A G C F G I K E K D	300
Rabbit ON	251	L S H T E L A P L R	A P L I P M E H C T	T R F F E T C O L D	N D K V I A L D E W	A G C F G I K E K D	300
Rat ON	251	L S H T E L A P L R	A P L I P M E H C T	T R F F E T C O L D	N D K V I A L D E W	A G C F G I K E K D	300
Mouse ON	251	L S H T E L A P L R	A P L I P M E H C T	T R F F E T C O L D	N D K V I A L D E W	A G C F G I K E K D	300
Goat ON	251	L S H T E L A P L R	A P L I P M E H C T	T R F F E T C O L D	N D K V I A L D E W	A G C F G I K E K D	300
260 270 280 290 300							
Human ON	301	I D K D L V I	350
Monkey ON	301	I D K D L V I	350
Bovine ON	301	I D K D L V I	350
Pig ON	301	I D K D L V I	350
Rabbit ON	301	350
Rat ON	301	350
Mouse ON	301	I D K D L V I	350
Goat ON	301	I D K D L V I	350
310 320 330 340 350							

ドメイン I : 酸性アミノ酸領域

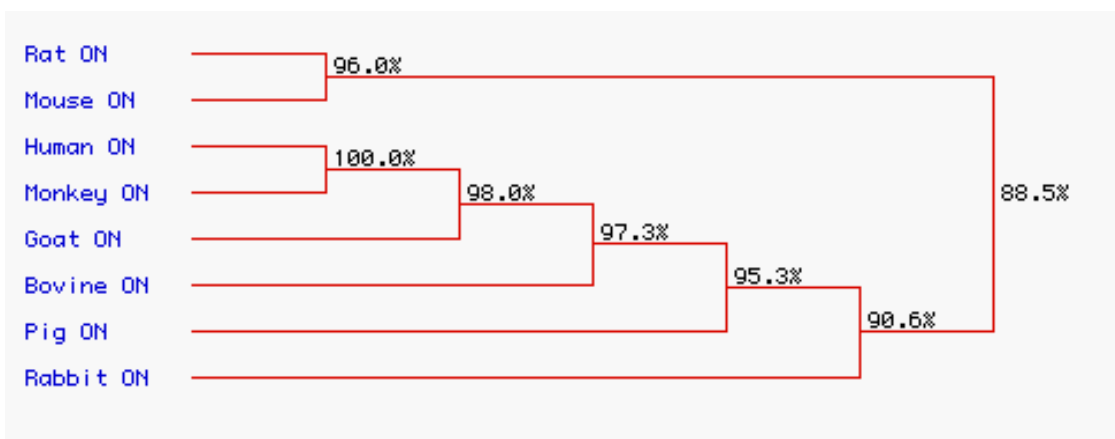
ドメイン II : シス테인リッチ部位

ドメイン III : EF ハンドモチーフ、 α ヘリカルドメインと酵素感受性部位を含む

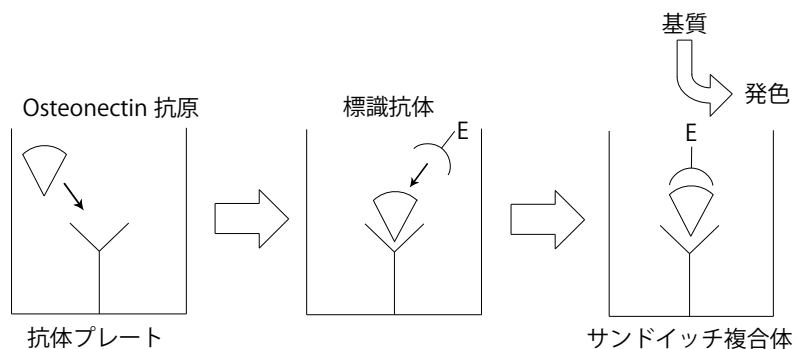
ドメイン IV : EF ハンドモチーフと α ヘリカルドメインを含む

* : 銅イオン結合部位 (KGHK)

[各動物のオステオネクチンアミノ酸配列のホモロジー比較]



I. 測定原理



II. 内容 (96 回用)

- | | |
|---|-----------|
| (1) Antibody Coated Microtiter plate
抗 ON モノクローナル抗体コーティングプレート (96 well : 8 well × 12 strips) | 1 plate |
| (2) Antibody-POD Conjugate (凍結乾燥品)
ペルオキシダーゼ標識抗 ON モノクローナル抗体 | 11 ml 用 |
| (3) Standard Osteonectin (凍結乾燥品)
Recombinant human Osteonectin (<i>E. coli</i> 由来) 160 ng | 1 ml 用 |
| (4) Sample Diluent
25% ブロックエース含有 PBS 含防腐剤 | 11 ml × 2 |
| (5) Substrate Solution (TMBZ)
3,3',5,5'- テトラメチルベンジジン溶液 | 12 ml |

III. 保存 4°C

IV. キット以外に必要な試薬および器具 (主なもの)

- Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021)
洗浄液成分 (10 × PBS ; 50 ml × 5 本、Tween 20 ; 3 ml) と反応停止液 (60 ml) のセットです。
※ 本品は、1 N 硫酸を含まないペルオキシダーゼ反応停止液です。
※ 反応停止液として 1 N 硫酸も使用できます。1 N 硫酸の取扱いには十分にご注意ください。
- ピペット、マイクロピペットおよびチップ
- マイクロプレートリーダー (450 nm 設定で吸光度 3.5 まで測定可能なもの)
- 蒸留水

V. 使用目的

細胞中およびその培養上清中、体液中のオステオネクチン量の測定

※本キットは研究用です。人や動物の診断目的には使用できません。

VI. 使用方法

1. 検体

- 培養細胞抽出液、細胞培養上清および血漿（クエン酸血漿、ヘパリン血漿）、血清等を用いる。
- ヒト、ブタ、ウシ、ウサギ抗原の測定が可能であることを確認している。サル抗原については、配列上ヒトと相同であることから測定できる可能性は示唆されるが未確認である。
- マウス、ラット抗原には反応しない。
- 検体は 2～10℃に保存し、12 時間を過ぎて測定する場合は凍結保存する。
- 抗凝固剤を使用する場合、EDTA 血漿は数値が低くなる傾向がみられるので使用しない。
- 検体を原液で測定すると、血液成分のマトリックス効果により低値となる場合がある。（2 倍希釈からの測定を推奨する。）
- 希釈が必要な場合は検体希釈液（(4) Sample Diluent）を用いて希釈する。
- 凍結している検体は、測定前に室温にて溶かしゆるやかに転倒混和する。
- サンプルの過剰な凍結融解は避ける。
- 細胞抽出液を調製する場合は、以下の組成の抽出液の使用を推奨する。
1% NP-40、1 mM EDTA、1 mM PMSF（水溶性）を含む中性領域の緩衝液
（例：PBS、pH7.4）

2. 試薬調製

- 抗体プレート [(1) Antibody Coated Microtiterplate]
使用前に室温に戻してから開封する。
- 標識抗体液
(2) Antibody-POD Conjugate を蒸留水 11 ml で溶解する。
溶解後、4℃で 1 週間は安定である。それ以上保存する場合には -20℃で凍結する。
この状態で 1 カ月安定である。ただし、凍結融解は一度までにとどめる。
- Osteonectin 標準液
(3) Standard Osteonectin に蒸留水を 1 ml 加え溶解し、Osteonectin 標準液 (160 ng/ml) を調製する。これを (4) Sample Diluent で用時段階希釈して、160.0、80.0、40.0、20.0、10.0、5.0、2.5 ng/ml の各濃度の標準液を調製しておく。ゼロ濃度は (4) Sample Diluent を用いる。Osteonectin 標準液 (160 ng/ml) は 4℃保存では 1 週間安定で、-20℃保存では 1 カ月安定である。ただし、凍結融解は一度までにとどめる。
- 基質液 [(5) Substrate Solution (TMBZ)]
反応に用いる前に室温にもどし、そのまま使用する。
使用前に基質液が濃い青色に変色していないか確認する。金属イオンと反応すると呈色するおそれがあるので、特に水道水が混入しないよう注意する。数回に分けて使用する場合はあらかじめ必要量を取り分けるようにする。
- 反応停止液 (Stop Solution)
Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021) の Stop Solution をそのまま用いる。
※ 粘度の高い溶液であるため、投入後プレートミキサー等で十分に攪拌してください。
- 洗浄用 0.1% Tween 20 含有 PBS
Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021) の 10 × PBS 1 本 (50 ml) を蒸留水で 500 ml に希釈し、さらに Tween 20 を 500 μl 添加する。十分に混合後、洗浄用バッファー (0.1% Tween 20/PBS) として使用する。

3. 操作法

測定は二重測定で行う。

キット中の各試薬ならびにサンプルは使用前に室温にもどし、泡立てないように混和し、液を均一にしてから用いる。

1. 各濃度の Osteonectin 標準液およびサンプルを 100 μ l ずつマイクロピペットで各ウェルに 2 連ずつ加え、室温 (20 ~ 30 $^{\circ}$ C) で 1 時間反応させる。(第一反応)
※ 標準液およびサンプルはあらかじめ別の 96 穴プレート等を利用して用意し、8 連ピペットなどですみやかに (5 分以内に) 投入する。プレート内の測定値の信頼を高めるためにも、1 列目と 12 列目に標準液の希釈系列をおくとよい。
2. 反応液を捨て、0.1% Tween 20/PBS で 3 回洗浄後、標識抗体液を 100 μ l ずつ 8 連ピペットで各ウェルに加え、室温 (20 ~ 30 $^{\circ}$ C) で 1 時間反応させる。(第二反応)
3. 反応液を捨て、0.1% Tween20/PBS で 4 回洗浄後、(5) Substrate Solution (TMBZ) を 100 μ l ずつ 8 連ピペットで各ウェルに加え、室温 (20 ~ 30 $^{\circ}$ C) で 15 分反応させる。(第三反応)
4. 反応停止液 (Stop Solution)* を 100 μ l ずつ、(5) Substrate Solution (TMBZ) を入れた順番に各ウェルに加え、反応を停止させた後よく混和する。
* : 反応停止液 (Stop Solution) は粘度の高い溶液であるため、投入後プレートミキサー等で十分に攪拌してください。
5. 蒸留水を対照としてゼロ調整し、波長 450 nm で吸光度を測定する。発色は反応停止後 1 時間までは安定である。
6. グラフ用紙の横軸に各標準液の濃度を、縦軸に対応する吸光度をプロットして標準曲線を作成し、検体の吸光度から対応する Osteonectin 濃度を読み取る。

<添加回収試験>

さまざまな濃度の検体サンプルを等量ずつ混合し、予想される理論値と実測値から回収率を調べた。

サンプル A	サンプル B	理論値 (A+B)/2	実測値	添加回収率 (%)
72.3	22	47.2	43.8	92.9
72.3	5.4	38.9	36.9	95.0
22	5.4	13.7	13.0	94.9
160	80	120.0	108.5	90.4
80	40	60.0	54.3	90.5
40	20	30.0	27.2	90.6
72.3	10	41.2	39.0	94.8
5.4	5	5.2	5.4	103.6

(単位：ng/ml)

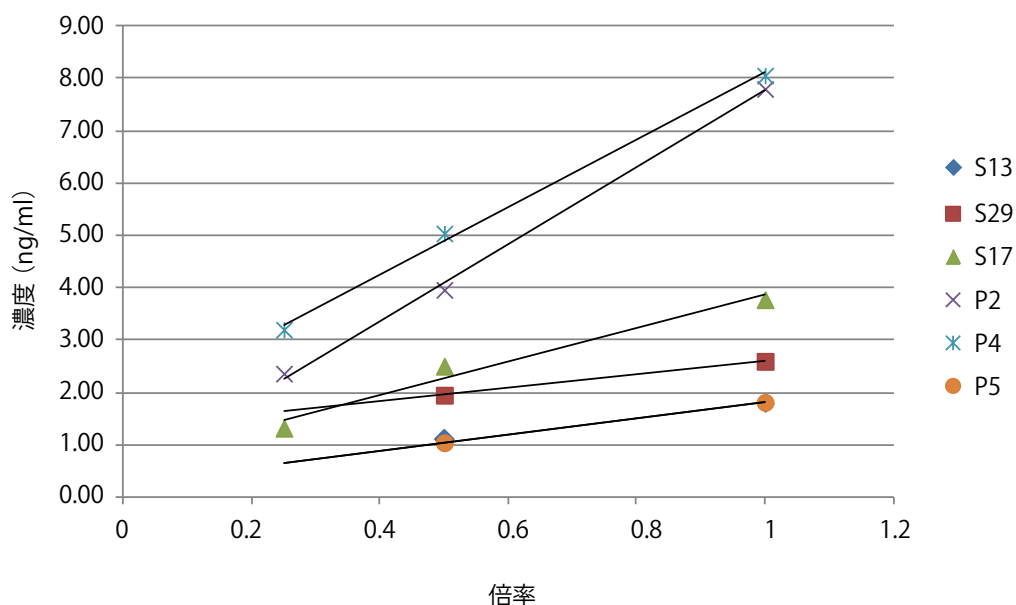
結果：90.5～103.6%と良好な回収率であった。

VIII. 性能

1. 血液サンプルの希釈直線性

<ヒト血液サンプル>

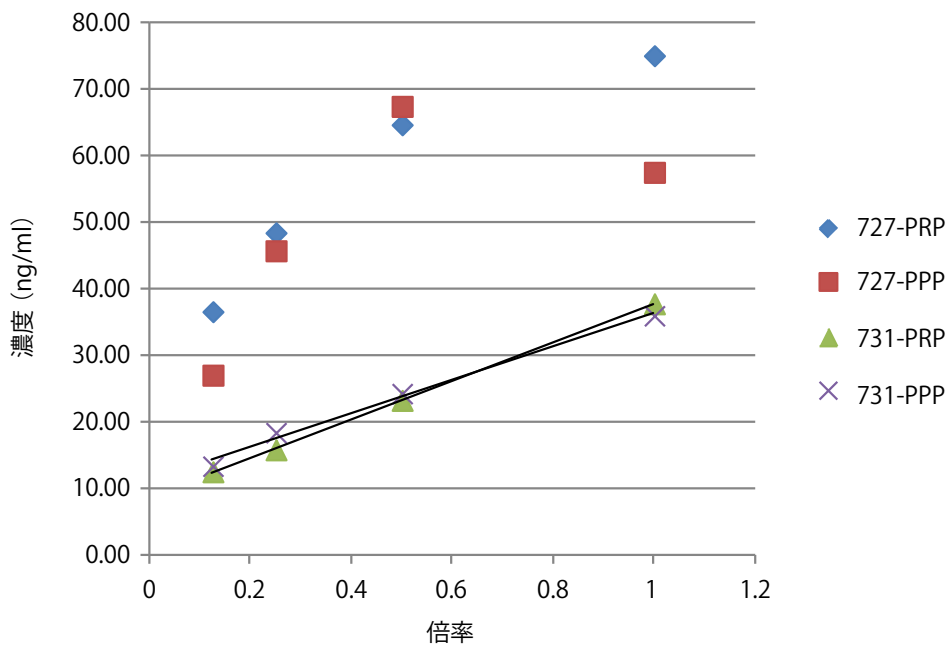
倍率		血清 (ng/ml)			クエン酸血漿 (ng/ml)		
		S13	S29	S17	P2	P4	P5
原液	1	1.80	2.60	3.78	7.81	8.06	1.81
× 2	0.5	1.13	1.95	2.50	3.96	5.04	1.04
× 4	0.25	-	-	1.32	2.36	3.20	-



<ミニブタ血液サンプル>

		クエン酸血漿 (ng/ml)			
		No.727		No.731	
倍率		727-PRP	727-PPP	731-PRP	731-PPP
原液	1	75.16	57.62	37.83	36.03
× 2	0.5	64.77	67.54	23.30	24.31
× 4	0.25	48.51	45.81	15.86	18.44
× 8	0.125	36.64	27.09	12.55	13.39

PRP : Platelet Rich Plasma (多血小板血漿)
 PPP : Platelet Poor Plasma (乏血小板血漿)

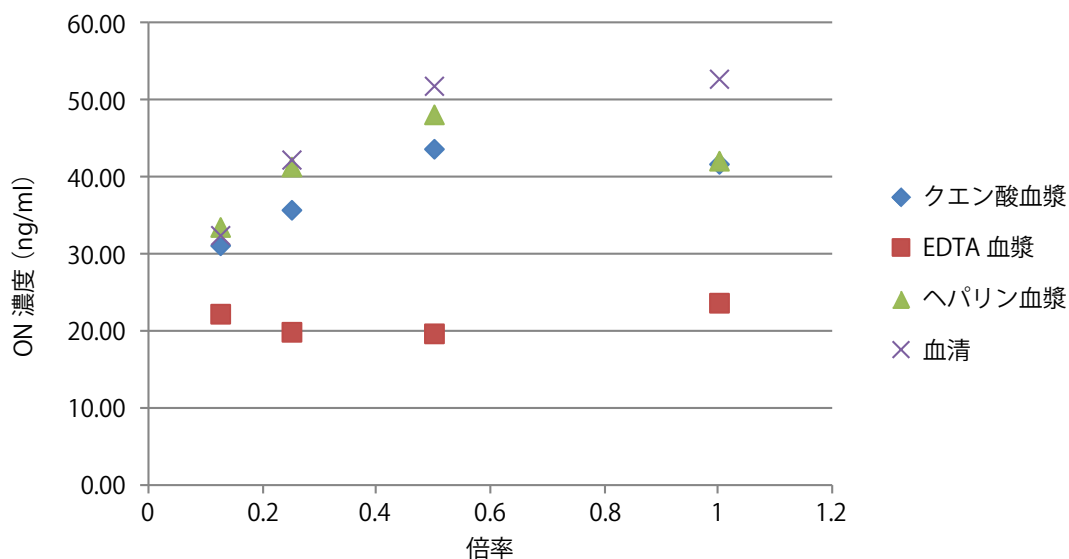


結果：血液サンプル測定において、原液測定値が低値になるサンプルがあるため、2倍希釈以上での測定が好ましいと思われる。

2. 抗凝固剤の影響

正常ウサギ 1 個体から、同日 3 種類の抗凝固剤を使用してそれぞれ採血を行い、さらに血清も採取した。これらの 4 サンプル中のオステオネクチン量を比較した。

倍率		ウサギ オステオネクチン濃度 (ng/ml)			
		クエン酸血漿	EDTA 血漿	ヘパリン血漿	血清
原液	1	41.77	23.73	42.18	52.83
× 2	0.5	43.73	19.75	48.20	51.91
× 4	0.25	35.80	19.95	41.42	42.33
× 8	0.125	31.19	22.30	33.57	32.51



結果：原液測定はいずれも低値の傾向がみられた。また、抗凝固剤としてカルシウムをキレートする EDTA の使用は好ましくないという結果を得た。

3. サンプルの凍結融解の影響

凍結融解によるオステオネクチン濃度に対する影響を調べた。ウシ胎児血清を 3 段階に希釈して作製したサンプルを用いて、25℃⇄-80℃を繰り返して、その融解ごとにサンプリングを行った。最終サンプルを得たのち、すべてのサンプルを同時に定量した。

融解回数	オステオネクチン濃度 (ng/ml)		
	高	中	低
1	84.95	37.22	17.14
2	89.11	38.71	17.06
3	91.76	40.87	17.90
4	89.21	40.51	18.07
5	87.65	38.98	17.39
6	85.41	39.35	17.26
7	84.32	35.78	17.20
CV (%)	2.89	4.27	2.10

結果：表に示す結果から、サンプルの凍結融解の影響を比較的受けにくい測定系であると考えられる。

IX. 測定例

1. ウサギ血清中のオステオネクチンと Gla 型オステオカルシンの測定

抗体作製用に飼育しているウサギの血清を経時的に採血し、測定時まで-20℃に凍結保存した。これらを対象サンプルとして、本キットを用いてオステオネクチンを、また Gla-Type Osteocalcin (Gla-OC) EIA Kit (Precoated) (製品コード MK111) を用いて Gla 型オステオカルシンを同時に測定した。

Age (day)	ウサギ AS449 (ng/ml)		
	オステオネクチン	Gla 型オステオカルシン	
63	17.5	46.5	
73	17	34.5	
80	14.4	44	
87	-	28.5	
93	11.6	24.5	
101	15.7	21	
108	16	27.5	
115	11.7	20.5	
122	15.9	13	
129	12.1	7.5	
136	10.2	8	
143	14.5	8.5	
150	10.1	5.5	
157	10.4	4	
164	12.4	8.5	
199	42.9	8.5	←免疫
220	164.7	15.5	←免疫
241	246.9	18.4	←免疫
262	92.6	13.5	←免疫
283	21.2	10.3	←免疫
293	13.1	8	

結果：Gla 型オステオカルシンは、幼年で高値であり、加齢とともに値が低下した。オステオネクチンにはその傾向は見られず、加齢とは関係なくほぼ一定であった。途中でフロイント完全アジュバントを含む抗原を免疫したところ、血清中のオステオネクチン量が急激に上昇した。この結果の原因のひとつは、免疫操作による炎症の影響によるものと考えられる。

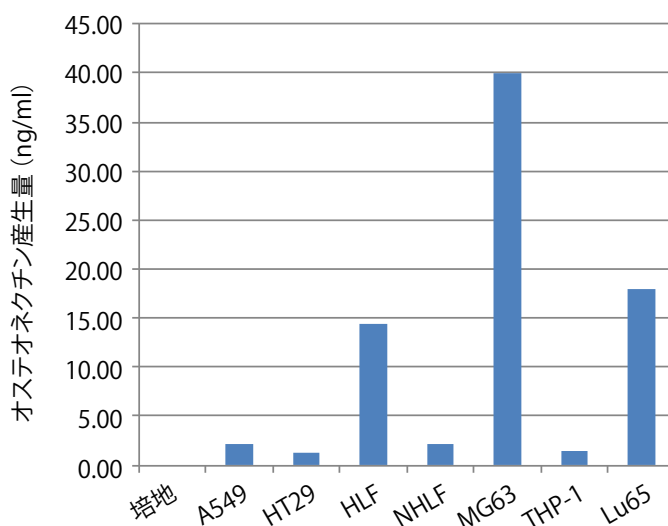
2. 各種ヒト培養細胞上清中のオステオネクチン産生量

φ 10cm 培養ディッシュに培地を 30 ml 添加して飽和培養した各種細胞の上清をサンプルとして、オステオネクチン濃度を測定した。培地中には、10% ウシ胎児血清 (非働化済み) が含まれており、ウシ抗原が測定に及ぼす影響を調べる目的で培地のみの測定も行った。使用した細胞株は以下のとおりである。

細胞名	由来	培養形態
A549	ヒト肺がん細胞	接着
HT29	ヒト結腸腺癌	接着
HLF	ヒト肝癌由来細胞	接着
NHLF	正常ヒト肺線維芽細胞	接着
MG63	ヒト骨肉腫	接着
THP-1	ヒト単球 (急性白血病)	浮遊
Lu65	ヒト肺がん細胞	浮遊
(培地)	10% FCS/DMEM	

		各上清中のオステオネクチン濃度 (ng/ml)							
倍率	培地	A549	HT29	HLF	NHLF	MG63	THP-1	Lu65	
原液	1	2.73	4.85	4.05	17.08	4.78	42.77	4.18	20.66
× 2	0.5	0.00	3.21	2.35	12.53	2.91	21.65	2.76	8.11
× 4	0.25	0.00	1.36	0.46	8.25	1.01	11.83	1.54	3.34

		オステオネクチン産生量 (ng/ml) : (各上清の濃度) - (培地の濃度)							
倍率	培地	A549	HT29	HLF	NHLF	MG63	THP-1	Lu65	
原液	1	0.00	2.12	1.32	14.35	2.05	40.04	1.45	17.93



結果：培地 (10% ウシ血清含) 中のオステオネクチン濃度は、原液測定において 2.73 ng/ml と算出され、測定感度とほぼ同等のところに検出された。各種ヒト培養細胞の培養上清中のオステオネクチン量を測定する上で、妨害になる濃度ではないと判断された。測定結果をみると、同じ肺癌細胞に分類される A549 と Lu65 細胞において、オステオネクチン産生量に大きな差がみられたところは興味深い。骨肉腫細胞 MG63 は群を抜いて高値であった。

X. 参考文献

- 1) Termine JD., *et al.* (1981) *Cell*. **26**:99-105.
- 2) Romberg RW., *et al.* (1985) *J Biol Chem*. **260**(5):2728-2736.
- 3) Bolander ME., *et al.* (1988) *Proc Natl Acad Sci USA*. **85**(9):2919-2923.
- 4) Shiba H., *et al.* (1995) *Dev Biol*. **170**:457-466.
- 5) Nakamura S., *et al.* (1996) *Arthritis & Rheum*. **39**(4):539-551.

XI. 関連製品

Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021)
Anti-Osteonectin/SPARC, Monoclonal (OSN4-2) (製品コード M124)
Anti-Osteonectin/SPARC, Monoclonal (ON1-1) (製品コード M125)
Osteonectin (SPARC; *E. coli*-derived), rHuman (製品コード C-67540)
Gla-Type Osteocalcin (Gla-OC) EIA Kit (製品コード MK111)

XII. 使用上の注意

1. ロット番号の異なるキットおよび試薬を混ぜて使用しないでください。
2. 保存もしくは反応中に試薬を強い光に当てないでください。
3. (5) Substrate Solution (TMBZ) および反応停止液 (Stop solution) に用いるピペット等は金属が使われていないものを用いてください。
4. (5) Substrate Solution (TMBZ) や反応停止液 (Stop solution) は手や粘膜につかないようご注意ください。
5. 着色した (5) Substrate Solution (TMBZ) は使用しないでください。
6. 各反応は時間、温度の影響を受けるので測定ごとに標準曲線を作成してください。
7. 血液検体の取り扱いには十分注意してください。

XIII. 注意

- 本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- 本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

タカラバイオ株式会社