



キッコーマン ATP 標準試薬

「ルシフェール ATP 標準試薬セット」取扱い説明書

商品コード: 60260



注意！

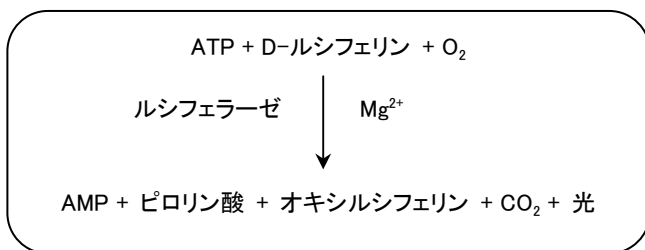
1. キット中の試薬を飲んだり、素手で触れたり、目に入れたりしないで下さい。
2. 取扱い説明書の使用上の注意および取扱い上の注意に従って取扱って下さい。

【用途】

本製品は、ATP(アデノシン三リン酸)の検量線を作成する場合に、ATP 量の標準として使用することができます。

【測定原理】

ホタルルシフェラーゼは、以下の反応により光を発します。



反応の結果生じる光の量は ATP 量に比例するので、発光量を測定することにより ATP が定量できます。

上記反応に用いるルシフェラーゼの種類、濃度によって発光量は異なります。D-ルシフェリンは保存中に酸化されると発光反応を阻害し、発光量を低下させます。また、発光測定器ルミノメーターは機種によって感度が異なり、さらに同じ機種であっても表示される値に個体差があるものもあります。

本製品は、上記のような発光反応条件や測定器の違いを校正するための ATP 標準としてご使用下さい。

【キットの構成】

本製品は以下の試薬より構成されています。

試薬名	主成分	数量
ATP 標準試薬	ATP 硫酸マグネシウム ウシ血清アルブミン	凍結乾燥品 1本
標準試薬溶解希釈液	HEPES 緩衝液	10 mL 2本

【使用上の注意】

本製品の性能を十分に活用していただくため、以下の点にご注意下さい。

- ①品質保持期限が切れた製品は使用しないで下さい。測定が正確に行えないおそれがあります(品質保持期限は外箱に記載してあります)。
- ②発光測定する場合は、必ず推奨機器を用いて発光量を測定して下さい。推奨機器以外を使用すると、正確に測定できないおそれがあります。
- ③本製品は室温(20~30℃)に戻してからご使用下さい。冷えたままで使用すると、測定値が低くなる場合があります。

- ④ATP 標準試薬は凍結乾燥後、陰圧下で封栓してあります。ゴム栓を強い力で開けますと、急激に空気が入り込み、内容物が飛散するおそれがありますので、試薬の調製法に従って開栓して下さい。
- ⑤マイクロピペットチップは滅菌済みのもの、またはポリエチレン手袋などを着用した上でラックに並べオートクレーブしたものをご使用下さい。ATP や微生物が混入するとブランク値が上昇し、測定が正確に行えないおそれがあります。
- ⑥本製品をご使用の際は、容器本体の口やキャップの先端に触らないように注意して下さい。ATP や微生物が混入するとブランク値が上昇し、測定が正確に行えないおそれがあります。
- ⑦発光試薬添加後は、ミキサーなどでよく攪拌した上で 20 秒以内に発光量の測定を開始して下さい。測定が正確に行えないおそれがあります。
- ⑧ホタルルシフェラーゼによる発光反応は、反応液中の様々な物質により影響を受けます。したがって、ATP の検量線は、必ず測定試料の調製に用いる緩衝液で希釈した ATP 溶液を用いて作成して下さい。ATP はガラスに吸着しますので、溶解した ATP 標準溶液はポリプロピレンチューブに分注し、保存して下さい。
- ⑨凍結保存の際は、容器のふたをしっかりと閉めた上で、保存して下さい。水分が蒸発して ATP 濃度が上がり、正確な検量線を作成することができなくなります。
- ⑩繰り返し使用による汚染や精度の低下を防ぐため、凍結保存後融解したものは使い切りにし、再度凍結保存することは避けてください。
- ⑪希釈された ATP 溶液は、分解、吸着、汚染などの影響を受けやすいので、使い切りにし、保存はしないで下さい。

【測定に使用する推奨機器】

ルミテスター C-110、C-100N、C-100
(販売元:キッコーマンバイオケミファ(株))

【本製品の他に準備する器具及び試薬】

ルミノメーター(ルミテスター C シリーズ)、攪拌用ミキサー、ルミチューブ(商品コード:60183)、マイクロピペット、滅菌済みマイクロピペットチップ、ルシフェール 250(商品コード:60311)またはルシフェール 250 プラス(商品コード:60312)、測定試料の調製に用いる緩衝液。

【試薬の調製法】

- ①ATP 標準試薬は凍結乾燥後、陰圧下で封栓してあります。内容物が飛散しないようにゆっくりとゴム栓を持ち上げ、切り込み部分から空気を入れるようにして開栓して下さい。標準試薬溶解希釈液を開栓し、マイクロピペットを使って正確に 4.0 mL 測りとり、開栓した ATP 標準試薬のビンに入れて下さい。泡立たない程度に攪拌して溶解して下さい。2 × 10⁻⁶ M の ATP 標準溶液

となります。調製した ATP 標準溶液はポリプロピレン製の容器に少量ずつ分注して下さい。すぐには使用しないものは、凍結保存(-10°C以下)して下さい。ATP や微生物の汚染がない限り、6 ヶ月間保存できます。なお、保存後融解したものは使い切りにし、再度凍結保存することは避けて下さい。

- ②凍結保存しておいたものは、室温で融解後攪拌し、液を均一にして下さい。管壁に凝結水がついている場合は、軽く遠心して落して下さい。
- ③ルミチューブを 6 本用意し、測定試料の調製に用いる緩衝液を 450 μ L ずつ分注します。
- ④ 2×10^{-6} M の ATP 標準溶液を 50 μ L 取り、測定試料の調製に用いる緩衝液が 450 μ L 入っているルミチューブ 1 本に加えます。攪拌し混合して下さい。 2×10^{-7} M の ATP 溶液ができます。
- ⑤以下、同様にして、6 本目まで希釈すると 2×10^{-12} M までの ATP 溶液ができます。

〔測定例〕

〔例1〕細胞外 ATP 測定用の検量線作成

ルシフェール 250 を使用して、細胞外 ATP または細胞から抽出した ATP を測定する際は、こちらの方法で作成した検量線をご使用下さい。

- ①試薬の調製法に従って作った ATP 溶液を 200 μ L 取り、新しいルミチューブに入れます。
- ②そこに発光試薬を 100 μ L 添加します。ミキサーなどで数秒攪拌した上で 20 秒以内にルミノメーターにて発光量の測定を開始します。

〔例2〕細胞内 ATP の測定用の検量線作成

ルシフェール 250 プラスを使用して、細胞内 ATP を測定する際は、こちらの方法で作成した検量線をご使用下さい。

- ①試薬の調製法に従って作った ATP 溶液を 100 μ L 取り、新しいルミチューブに入れます。
- ②そこに ATP 抽出試薬 100 μ L を入れ、さらに発光試薬を 100 μ L 添加します。ミキサーなどで数秒攪拌した上で 20 秒以内にルミノメーターにて発光量の測定を開始します。

〔データの取扱い〕

ATP 濃度と得られた発光量を両対数グラフにプロットします(図 1、図 2)。ATP 濃度と発光量の間には ATP 濃度で 2×10^{-12} ~ 2×10^{-8} M の範囲において良好な直線関係が認められます。未知のサンプルの ATP 濃度は、得られた発光量をこの検量線に当てはめることにより、求めることができます。

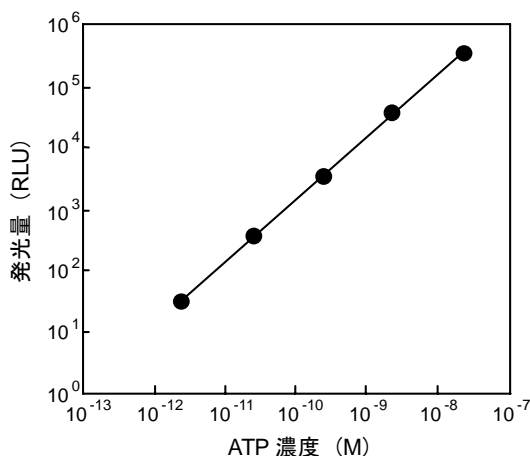


図 1. ATP の検量線(ルシフェール 250 使用時)

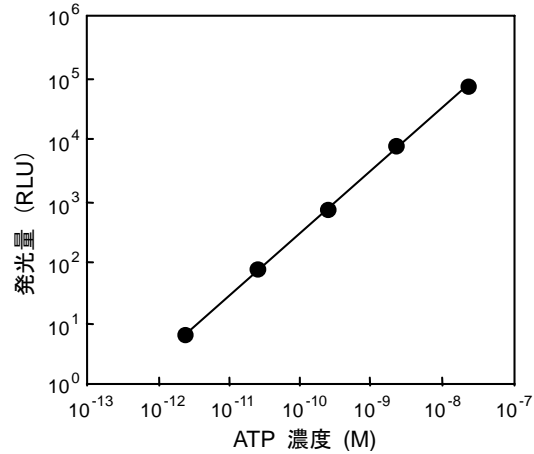


図 2. ATP の検量線 (ルシフェール 250 プラス使用時)

〔廃棄の方法〕

ATP 標準試薬および標準試薬溶解希釈液の容器はガラス、ゴム、アルミの材質からなっています。廃棄の際は、各々を分別して、都道府県・市町村が定める廃棄物の適正処理に従って廃棄処理して下さい。

〔取扱い上の注意〕

本製品を安全にご使用いただくため、以下の点にご注意下さい。

- ①本製品の試薬類を使用前後に口に入れたり、素手で触れたり、目に入れたりしないで下さい。口に入れた場合は口を良くすすいだ後、皮膚についた場合は大量の水で洗浄した後、また目に入れた場合は大量の水で洗浄した後、直ちに医師に連絡を取り、指示を受けて下さい。
- ②本製品の容器および試薬が食品などへ混入しないよう、保管、廃棄に充分ご注意ください。
- ③本製品は幼児の手の届かないところに保管して下さい。

〔保存方法〕

- 1)キットの保存: 冷暗所(2~8°C)にて保存。
- 2)試薬開栓後の保存:
ポリプロピレンチューブに分注した上で、水分が蒸発しないようにしっかりとふたをして凍結保存(-10°C以下)して下さい。ATP や微生物の汚染がない限り、6 ヶ月間保存できます。なお、保存後融解したものは使い切りにし、再度凍結保存することは避けて下さい。ATP 標準試薬調製後に残った標準試薬溶解希釈液は、凍結保存(-10°C以下)することができます。ATP や微生物の汚染がない限り、6 ヶ月間保存できます。
- 3)品質保持期限: 本製品の外箱に記載。

〔保証〕

製造元では、本製品が所期の品質を有することおよび、本製品に不具合があった場合代替の製品を提供することを保証しますが、それ以外の保証は致しません。製造元は、特別な若しくは結果として生じる損害または、本製品の使用から直接的または間接的に生じる費用を含むいかなる損害にも責任を負いません。

製造元

キッコマンバイオケミファ株式会社

〒105-0003 東京都港区西新橋 2-1-1

Tel: 03-5521-5490 Fax: 03-5521-5498

E-mail: biochemifa@mail.kikkoman.co.jp

URL: <http://www.kikkoman.co.jp/bio/>