

レプチン測定キット 操作マニュアル

検体5 μ Lで測定する場合

- ・測定は二重測定でおこなってください。
- ・すべての試薬は常温に戻してから使用してください。
- ・標準曲線用レプチン溶液および検体を分注する際、ピペティング容量にばらつきが生じないように注意してください。

1日目

1. 洗浄液、レプチン標準溶液の希釈系列及び検体を取扱説明書の「試薬の調製法」を参考に調製しておきます。

1次反応

2. A 抗体固相化プレートを常温に戻した後、アルミ袋から取り出し、プレート用フレームにセットします。

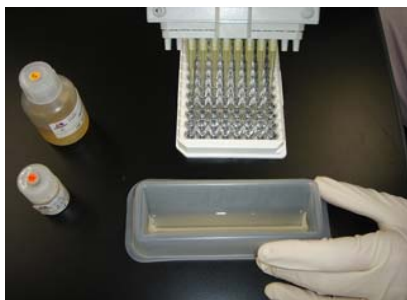
3. 各ウェルに洗浄液を300 μ L分注します。



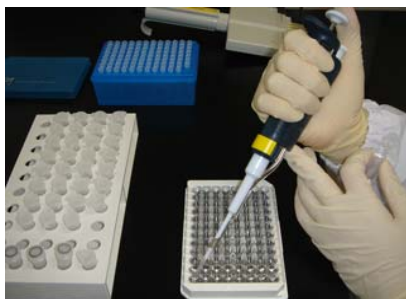
4. アスピレーターで洗浄液を吸引除去してウェルの洗浄を行います。3. の操作とこの操作をもう一度繰り返します。



5. 各ウェルにC 検体希釈液を $45\mu\text{L}$ ずつ分注します。
更に各ウェルにD モルモット抗マウス（ラット）レプチン血清を $50\mu\text{L}$ ずつ分注します。



6. 各ウェルに標準曲線用マウス（ラット）レプチン溶液、または検体を $5\mu\text{L}$ ずつ分注します。
（一次反応の全液量は $100\mu\text{L}$ /ウェルとなります。）



7. 付属のプレート用ふたをして、 4°C で一晩（16～20時間）静置して反応させます。

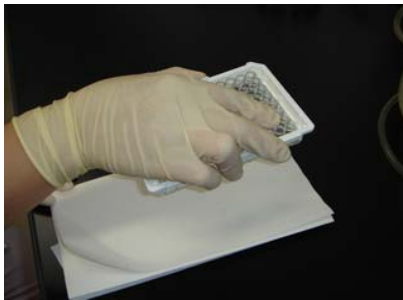
2日目

2次反応

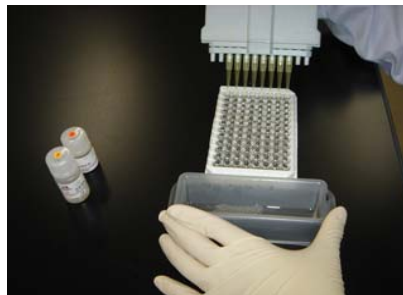
8. ウェル内の溶液を完全に除去し、各ウェルあたり300 μ L ずつの洗浄液で5回洗浄します



9. 最後の洗浄でウェル内に残った溶液を完全に除くため、洗浄が終了したら、完全に緩衝液を除去するためにきれいなペーパータオル上でプレートを叩きます。



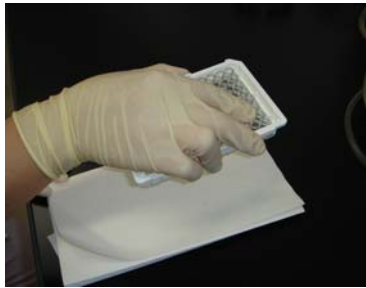
10. 酵素標識抗モルモットIgG抗体溶液（「試薬の調製法」に従い調製したもの）を各ウェルに100 μ L ずつ分注します。



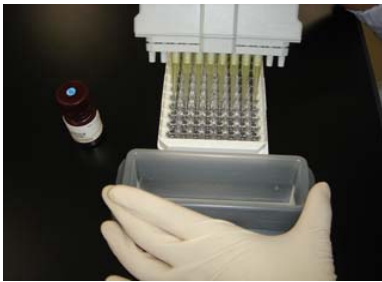
11. プレート用ふたをして4°Cで3時間静置して反応させます。

酵素反応

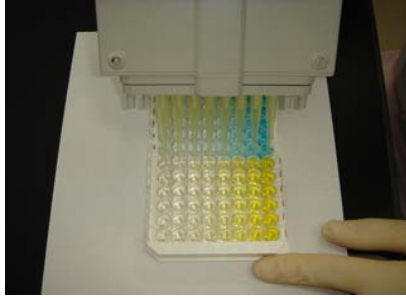
12. ウェル内の溶液を完全に除去し、各ウェルあたり $300\ \mu\text{L}$ ずつの洗浄液で7回洗浄し、最後は叩きます。



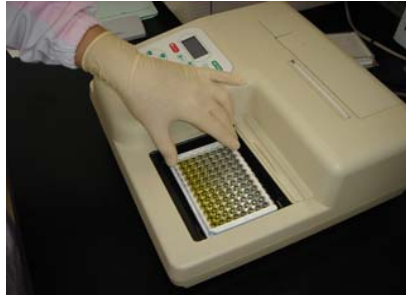
13. G 酵素基質溶液を各ウェルに $100\ \mu\text{L}$ ずつ分注し、遮光下常温で正確に30分間静置して反応させます。



12. H 反応停止液を各ウェルに100 μ Lずつ分注して、酵素反応を停止させます。
* 酵素反応停止後30分以内に吸光度を測定してください。



13. プレートリーダーで450nm (副波長630nm) の設定で吸光度を測定します。



23. 標準曲線用レプチン溶液の吸光度より標準曲線を作成し、検体中のレプチン濃度を求めます。
* 詳しくは、取扱説明書の「レプチン濃度の算出法」をご覧ください。

標準曲線例

