

D-グルコース / 果糖

F-キット(139106)とE-キットLiquid(E8160)の比較

1. 概要

製品	F-キット	E-キット Liquid																																		
製品番号	139 106	E8160																																		
試薬容量	27 テスト	50 テスト																																		
測定原理	ヘキソキナーゼ (HK)、グルコースリン酸イソメラーゼ (PGI)、グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6P-DH) によって生成するNADHを340nmの吸光度によって測定 $D\text{-Fructose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{Fructose-6-Phosphate} + \text{ADP}$ $D\text{-Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{Glucose-6-Phosphate} + \text{ADP}$ $\text{Fructose-6-Phosphate} \xrightarrow{\text{PGI}} \text{Glucose-6-Phosphate} + \text{ADP}$ $G\text{-6-P} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{G6P-DH}} \text{Gluconate-6-P} + \text{NADH} + \text{H}^+$																																			
定量値の計算	エンドポイントの吸光度からランベルト・ベールの式を用いて定量値を求める (*ご希望の方にExcelのテンプレートを提供しています。)																																			
試薬	<ul style="list-style-type: none"> Vial 1 = バッファー (粉末) Vial 2 = HK / G6P-DH (懸濁液) Vial 3 = PGI (懸濁液) 	<ul style="list-style-type: none"> R1 = バッファー (50 ml x 2本) R2 = HK / G6P-DH (12.5 ml x 2本) R3 = PGI (12.5 ml x 2本) 																																		
調製後の試薬の安定性	<ul style="list-style-type: none"> Vial 1 = 4 週間 	すべての試薬は調整済みの溶液で、開封後も安定																																		
コントロール	コントロールはキットに含まれる	コントロールは別売 E8440 マルチ糖類スタンダード(低濃度)																																		
測定手順 (標準法)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ステップ</th> <th>サンプル (またはブランク)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Vial 1</td> <td>1.000 mL</td> </tr> <tr> <td>サンプル (または水)</td> <td>0.100 mL</td> </tr> <tr> <td>水</td> <td>1.900 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">インキュベーション 3分 吸光度(A₁)測定</td> </tr> <tr> <td>Vial 2</td> <td>0.020 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">インキュベーション 15分 吸光度(A₂)測定</td> </tr> <tr> <td>Vial 3</td> <td>0.020 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">インキュベーション 15分 吸光度(A₃)測定</td> </tr> </tbody> </table>	ステップ	サンプル (またはブランク)	Vial 1	1.000 mL	サンプル (または水)	0.100 mL	水	1.900 mL	インキュベーション 3分 吸光度(A ₁)測定		Vial 2	0.020 mL	インキュベーション 15分 吸光度(A ₂)測定		Vial 3	0.020 mL	インキュベーション 15分 吸光度(A ₃)測定		<table border="1"> <thead> <tr> <th>ステップ</th> <th>サンプル (またはブランク)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>R1</td> <td>2.000 mL</td> </tr> <tr> <td>サンプル (または水)</td> <td>0.100 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">インキュベーション 3分 吸光度(A₁)測定</td> </tr> <tr> <td>R2</td> <td>0.500 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">インキュベーション 15分 吸光度(A₂)測定</td> </tr> <tr> <td>R3</td> <td>0.500 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">インキュベーション 15分 吸光度(A₃)測定</td> </tr> </tbody> </table> <p>標準法 (v=0.1mL)での 測定範囲 (推奨) : 20 - 1500 mg/L LoD : 4.0 mg/L、LoQ : 10 mg/L</p>	ステップ	サンプル (またはブランク)	R1	2.000 mL	サンプル (または水)	0.100 mL	インキュベーション 3分 吸光度(A ₁)測定		R2	0.500 mL	インキュベーション 15分 吸光度(A ₂)測定		R3	0.500 mL	インキュベーション 15分 吸光度(A ₃)測定	
ステップ	サンプル (またはブランク)																																			
Vial 1	1.000 mL																																			
サンプル (または水)	0.100 mL																																			
水	1.900 mL																																			
インキュベーション 3分 吸光度(A ₁)測定																																				
Vial 2	0.020 mL																																			
インキュベーション 15分 吸光度(A ₂)測定																																				
Vial 3	0.020 mL																																			
インキュベーション 15分 吸光度(A ₃)測定																																				
ステップ	サンプル (またはブランク)																																			
R1	2.000 mL																																			
サンプル (または水)	0.100 mL																																			
インキュベーション 3分 吸光度(A ₁)測定																																				
R2	0.500 mL																																			
インキュベーション 15分 吸光度(A ₂)測定																																				
R3	0.500 mL																																			
インキュベーション 15分 吸光度(A ₃)測定																																				
	(A ₂ -A ₁)の値からグルコース、(A ₃ -A ₂)の値からフルクトースを個別に定量することができる																																			
直線性	→ 1 g/L (試料 = 0.100 mL)	→ 1.5 g/L (試料 = 0.100 mL)																																		
LoD および LoQ	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ランベルト・ベールより算出</th> <th>F-キット</th> <th>E8140</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>LoD (v = 1 mL, ΔA = 0.010)</td> <td>0.4 mg/L</td> <td>0.5 mg/L</td> </tr> <tr> <td>LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)</td> <td>8.6 mg/L</td> <td>7.4 mg/L</td> </tr> </tbody> </table>	ランベルト・ベールより算出	F-キット	E8140	LoD (v = 1 mL, ΔA = 0.010)	0.4 mg/L	0.5 mg/L	LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)	8.6 mg/L	7.4 mg/L																										
ランベルト・ベールより算出	F-キット	E8140																																		
LoD (v = 1 mL, ΔA = 0.010)	0.4 mg/L	0.5 mg/L																																		
LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)	8.6 mg/L	7.4 mg/L																																		

D-グルコース / 果糖測定における F-キットとE-キット Liquid (E8160) の比較

2. E-キットLiquid D-グルコース / D-フルクトース (E8160) のF-キットに対する評価

a) ラボでの評価手順

E-キットLiquidのバリデーションを行う場合、以下の手順にしたがってください：

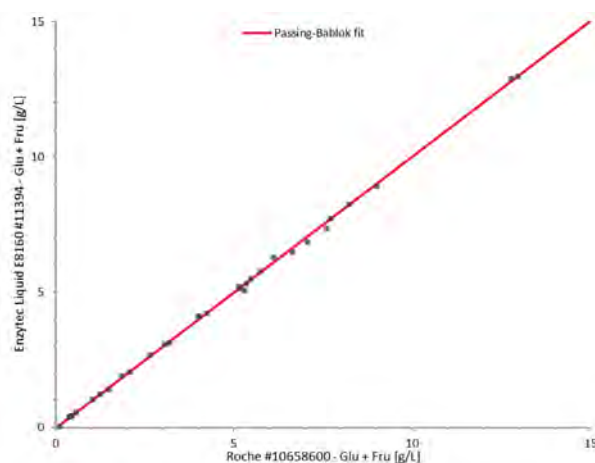
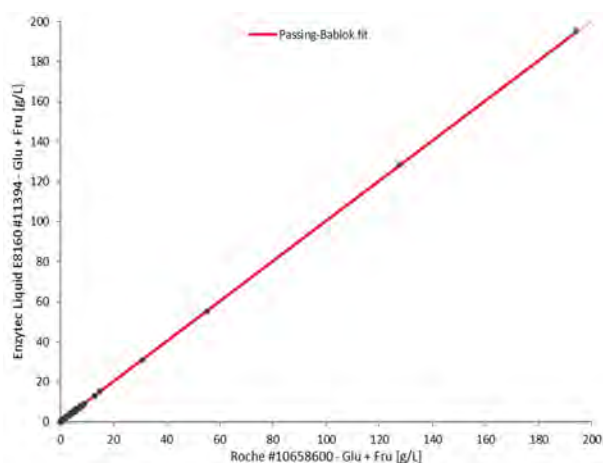
- 同一の試料のD-グルコース / D-フルクトースをF-キットとE-キットliquid (E8160、50テスト) を使って測定する。
- 回収率を求めるには E-キットLiquidマルチ糖類スタンダード (低濃度) (E8440)を使用する。
- ラボで定めたQCサンプルがある場合、それを使って回収率を比較する。
- ルーチン測定している試料を対象に、50テストを使い切るまで両方のキットで測定する (方法間の比較)。
- 試料の前処理はF-キットで測定するときの方法で行い、調製した同一の試料を両方のキットで測定する。(試料量は100 μ L)
- 試料中での安定性による影響を避けるため、両キットによる測定は同時に行う。(特に、アセトアルデヒド、酢酸、アンモニア、アスコルビン酸、エタノール、亜硫酸は試料中の安定性が問題となる。)

その他の項目 (直線性、精度、再現性など) のバリデーションを行う場合、さらにキットを追加する必要があります。

b) R-Biopharm社内における評価結果

E-キットLiquid マルチ糖類スタンダード (低濃度) (E8440) を使って求めた回収率

- 回収率：100 \pm 5 %
- 注意：この回収率は E-キットLiquidの仕様に定められた値であり、すべてのロットで保証されます。



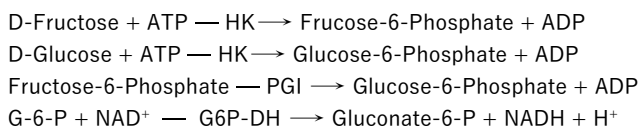
ワインおよびフルーツジュースを試料として測定値 (グルコース+フルクトース合計) を比較した。測定値は $y=x$ の直線に接近して分布し、相関係数は100% (Passing-Bablok fit) でした。なお、相関係数は測定する試料によって異なることがあります。

RIDA® CUBE D-グルコース / D-フルクトース (RCS4160) RIDA® CUBE SCANによる自動測定

1. 概要

バッファーが入ったチューブに試料を分注し、酵素が入ったキャップをしてRIDA CUBE SCANにセットすると、自動的に測定が始まり約15分で定量値が得られます。

- ヘキソキナーゼ (HK)、グルコースリン酸イソメラーゼ (PGI)、グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6P-DH) を用いる酵素法
- 生成するNADHを340nmの吸光度によって測定する



本キットではグルコースとフルクトースの合計値が得られます。個別に濃度を求めるには、RIDA CUBE D-グルコース (RCS4140) でグルコースの値を求め、フルクトースの濃度を計算してください。



2. 測定手順

RFIDカードを機器に置く	
試料情報をタブレットに入力 - 試料名 - 試料量 (20/100µl)	
チューブ (試薬 1) に試料を 20 または 100 µl 分注する	 
チューブにキャップ (試薬 2) をしたのち、機器にセットしてドアを閉める	 
測定範囲 ベーシック測定 (試料量 20 µl) : 50 ~ 2300 mg/l 高感度測定 (試料量 100 µl) : 10 ~ 500 mg/l 注意: 蒸留水を試料として試薬ブランクを測定し、測定値からブランクを差し引く必要がある場合があります。	

RIDA® CUBE D-グルコース/D-フルクトース (RCS4160) キット構成

- # 1: 試薬 1 (バッファー) 約660 µl、32本 (チューブ)
- # 2: 試薬 2 (酵素) 約330 µl、32本 (キャップ)
- # 3: RFIDカード、1枚



RIDA® CUBE SCAN 仕様

寸法: 16 x 13.5 x 14.5 cm (H x W x D)
重量: 2.2 kg
光源: LED
波長選択: フィルター
フォトメーター分解能: 0.0001 ABS
再現性: <1.5% CV at 1 OD
直線性: 0.1000 – 3.0000 OD
± 1.5% または ± 0.01 OD の良い方
温度制御: 37°C ± 2°C
インターフェース: RS232, USB, Bluetooth
電源: 12V DC, 2A