

はじめに

G6PD 異常症 (G6PD Deficiency) とは、グルコース 6 リン酸脱水素酵素 (G6PD) の活性が著しく低いこと、酸化作用を防御する還元型グルタチオン (GSH) の補充が不十分となり、ヘモグロビンの変性による Heinz 小体の形成、細胞膜の透過性異常の結果、主として血管内溶血をきたす疾患である。G6PD 異常症患者は、平素は無症状であるが、マラリア薬として使用されているプリマキンを服用すると、溶血性貧血を引き起こしてしまう。従って、マラリア流行地域における住民の G6PD 異常症診断は、大変重要な課題である¹⁾。

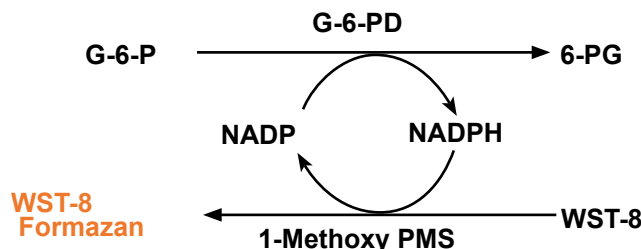


図 1 測定原理

また、WST-8 のホルマザンは水溶性で 460 nm に最大吸収を有し、強い橙色を呈するため目視で発色結果を確認できる。従って、マラリア流行地のような電気が供給されていない地域でも、電源や高価な機器類を一切必要とすることなく、その場で確認ができることになる⁹⁾。更に本法は、MTT ホルマザン法では測定できなかった 20-50% 程度の欠損者に対しても確認できるようになり、少量の試薬で正確な酵素活性を測定することも可能である。

キット内容

- 100 assays
- ・ Substrate mixture 2 mL × 1 本
 - ・ Dye mixture 2 mL × 1 本
- 500 assays
- ・ Substrate mixture 2 mL × 5 本
 - ・ Dye mixture 2 mL × 5 本

保存条件

冷凍、遮光で保存してください。

必要なもの
(キット以外)

- 200 μ L と 1000 μ L のマイクロピペットとチップ
- 1.5 mL マイクロチューブ
- 蒸留水
- 1 mol/L HCl

測定操作

- 1) 1.5 mL マイクロチューブに蒸留水 760 μ L を入れ、これに Substrate mixture 20 μ L と Dye mixture 20 μ L をそれぞれ添加し、よく振り混ぜる。
- 2) 1) のチューブに被験者の血液を 5 μ L 添加し、5 秒間よく振り混ぜる。
- 3) 25-37 $^{\circ}$ C で 20-30 分間インキュベートし、目視で溶液の発色を、ポジティブコントロール溶液^{*1} 及び、ネガティブコントロール溶液^{*2} と比較し、活性を判定する。
- 4) 1 mol/L HCl を 10 μ L 添加すると、反応の停止と測定結果の保存が可能である。

*1 ポジティブコントロール溶液は上記操作の中で操作 2) の血液に正常者 (G6PD の活性が正常値を有する者) の血液を使用して用時調製する。

*2 ネガティブコントロール溶液は上記操作の中で操作 1) で Substrate mixture は添加せずに用時調製する。操作 2) で使用する血液は正常者、被験者の何れでもよい。

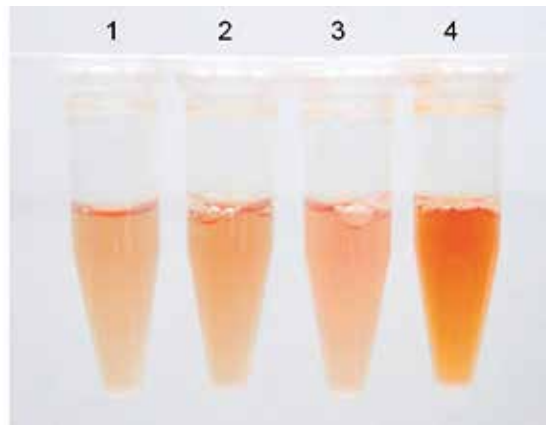


図 2 発色画像 : 25°C , 30 分発色。塩酸含まず。

- 1 ネガティブコントロール
G6PD 活性 0%
基質なし ; 正常血液添加
- 2 男性異常症 G6PD 活性 0%
- 3 女性異常症 G6PD 活性 50%
- 4 正常血液 G6PD 活性 100%

注意事項

- 1) 本キットは、冷凍保存し、購入後 6 ヶ月以内に使用して下さい。品質の劣化を防ぐ為に、融解後は冷蔵の場合は 1 ヶ月以内に、常温の場合は 10 日以内に使用して下さい。
- 2) 多くの検体を測定する場合、操作 1) を簡略化するために Substrate mixture 2 mL と Dye mixture 2 mL を 76 mL の蒸留水で希釈し (Total 80 mL)、1.5 mL のマイクロチューブに 800 μ L ずつ小分けして保存して下さい。希釈後は冷凍・遮光で保存して下さい。冷凍で 2 週間保存可能です。もし、冷蔵で保存する場合は、必ず遮光し、3 日以内に使用して下さい。
- 3) マイクロプレートリーダーを用いれば、450 ~ 460 nm の吸光度を測定することで、「吸光度の変化率」を「活性 %」として数値化することができます。その際、より正確な分析の為に、血液中のヘモグロビン量を測定することをお勧めします。
- 4) 本品は試験研究用です。診断や他の用途で使用しないで下さい。

参考文献

- 1) A. Ishii, *et al.*, *Japanese Journal of Parasitology*, **1994**, 43, 312.
- 2) E. Beutler, *Blood*, **1966**, 28, 553..
- 3) E. Beutler and M. Mitchell, *Blood*, **1968**, 32, 816.
- 4) V. Fairbanks and E. Beutler, *Blood*, **1962**, 20, 591.
- 5) H. Fujii, *et al.*, *Acta Haematologica Japonica*, **1984**, 47, 185.
- 6) A. Hirano, *et al.*, *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.*, **1998**, 26, 1.
- 7) I. S. Tantular, *et al.*, *Trop. Med. Int. Health*, **1999**, 4, 245.
- 8) A. Pujades, *et al.*, *Int. J. Hematol.*, **1999**, 69, 234.
- 9) A. Jalloh, *et al.*, *Trop. Med. Int. Health*, **2004**, 9(5), 615.

本製品は試験・研究用途です。臨床診断用途には使用できません。
ご質問・ご要望は下記までお問い合わせください。

DOJINDO 株式会社同仁化学研究所
 熊本県上益城郡益城町田原 2025-5
 熊本テクノリサーチパーク 〒 861-2202
 Tel:096-286-1515 (代表) Fax:096-286-1525
 E-mail: info@dojindo.co.jp URL: www.dojindo.co.jp

ドージン・イースト (東京)
 東京都港区芝大門 2-1-17 朝川ビル 7F 〒 105-0012
 Tel: 03-3578-9651 (代表) Fax: 03-3578-9650
 フリーダイヤル : 0120-489548
 フリーファックス : 0120-021557