体外診断用医薬品

製造販売承認番号：22400AMX01410000

使用の前に本添付文書をよくお読みください。

** 2018年 5月改訂（第3版）
* 2017年 1月改訂（第2版）

チトクローム P450(CYP)ジェノタイプ解析キット

アイデンシーパック CYP2C19(*2/*3)

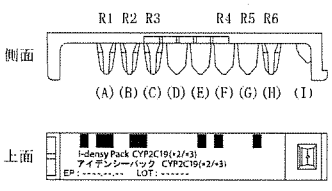
【全般的な注意】
- 本品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないでください。
- 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて、総合的に判断してください。現時点での遺伝子検査は慎重な副作用モニタリングや臨床観察を補助するものであり、決して治療薬等の使用に際し、必須の検査ではありません。
- 本品は既知遺伝子配列にのみ対応した試薬キットです。現在までに報告されていない遺伝子多型が存在する検体の場合、正しい結果が得られない可能性があります。（結果出力の項参照）
- 添付文書に記載された使用方法および使用目的以外での使用については、保証致しません。使用する遺伝子解析装置 アイデンシー IS-5320の添付文書および取扱説明書にしたがって使用してください。
- 検体の測定と同時に、i-densy Check CYP2C19(*2/*3)（別売消耗品、商品コード:76134)を、添付文書にしたがって測定してください。
- 遺伝子型が判定できなかったときは、下記の対策を講じることで正しい判定結果が得られる可能性があります。
  （検体についての項14.参照）
  - 全血で測定していた場合は、ゲノムDNAで再測定する。
  - ゲノムDNAで測定していた場合は、ゲノムDNAの濃度を上げて再測定する。

【形状・構造等（キットの構成）】

＜構成試薬＞

本品の構成は次のとおりです。

(1)試薬パック



(A)R1：ミネラルオイル
(B)R2：プライマー・プローブ液
(C)R3:酵素液(DNAポリメラーゼ)
(D)希釈槽Ⅱ
(E)希釈槽Ⅰ
(F)R4：希釈液Ⅱ
(G)R5：希釈液Ⅰ
(H)R6：緩衝液
(I)検体ウェル

(2)反応チューブ

(3)専用チップ

試薬パックは下記の成分を含有します。

＜反応系に関与する成分＞

R2：CYP2C19*2　フォワードプライマー
　　CYP2C19*2　リバースプライマー
　　CYP2C19*2　プローブ
　　CYP2C19*3　フォワードプライマー
　　CYP2C19*3　リバースプライマー
　　CYP2C19*3　プローブ
R3：DNAポリメラーゼ

【使用目的】

全血または全血より抽出したゲノムDNA中の薬物代謝酵素CYP2C19遺伝子多型CYP2C19*2、CYP2C19*3の判定。（CYP2C19活性の予測の補助に用いる。）

【測定原理】

1. 測定原理

本品は、遺伝子解析装置 アイデンシー IS-5320(以下、装置)を用いて、全血または全血から抽出したゲノムDNA中の薬物代謝酵素遺伝子CYP2C19(*2/*3)の遺伝子型を判定する試薬です。

(1)全血からのゲノムDNAの抽出(全血検体の場合)

界面活性剤による化学的処理により、白血球膜および核膜を溶解してゲノムDNAを遊離させた後、緩衝液で希釈を行い、加熱処理により残存蛋白質を変性させます。

(2)PCRによる増幅

CYP2C19遺伝子の*2および*3を含む領域に対して、それぞれフォワードプライマーとリバースプライマーがハイブリダイズし、DNAポリメラーゼによって2本鎖DNAが合成されます。合成されたDNAおよびゲノムDNAに対して前記反応が繰り返されることにより、CYP2C19遺伝子の*2および*3を含むDNAが増幅されます。

(3)Tm解析(QP法[1])

反応液の温度を下げると、増幅されたDNAにCYP2C19*2および*3のプローブがハイブリダイズして消光します。その後、反応液の温度を徐々に上げて、蛍光が増加する温度(Tm)の違いを読み取ることにより、遺伝子型を判定します。CYP2C19*2および*3のプローブは、それぞれCYP2C19*2 Aタイプ、CYP2C19*3 Aタイプにパーフェクトマッチする配列となっています。

QP(Quenching Probe)法は、日鉄環境エンジニアリング株式会社が特許の実施権を有している技術です。

2. コンタミネーションによる誤判定の防止

測定を行う環境には、コンタミネーションの原因となる核酸分子が存在している可能性があります。このような核酸分子のコンタミネーションが発生すると、検体が誤った遺伝子型と判定されるおそれがあります。本品は、i-densy Check CYP2C19(*2/*3)を検体と同時に測定(チェック測定)することで、核酸分子のコンタミネーションによる測定結果への影響の有無をチェックし、誤判定を防ぎます。（チェック測定でコンタミネーションによる測定結果への影響が確認された場合、そのバッチの測定結果は無効となります。）

【操作上の注意】

本品は遺伝子解析装置 アイデンシー IS-5320専用試薬です。

本品を取り扱う際には使い捨ての手袋を着用するなどして核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる核酸分解酵素が混入しますと、DNAが分解されて正しく測定できない場合があります。

本品に異物が混入した場合は使用しないでください。

＜検体について＞

検体の取り扱いについては、次の点に注意してください。注意を怠ると正しい測定結果が得られなかったり、測定不能の原因となります。

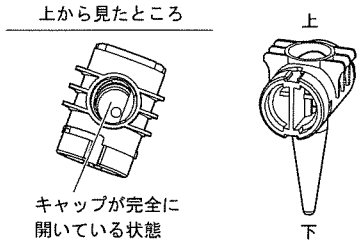
1. 本品は、全血、ゲノムDNAおよびi-densy Check CYP2C19(*2/*3)が測定できます。（全血およびi-densy Checkは検体ウェルに、ゲノムDNAは反応チューブに分注します。）
2. 検体は測定環境温度(10～30℃)になじませてから使用してください。
3. 全血を測定する場合は、採血後すぐに抗凝固剤を添加し、丁寧に撹拌してください。血液が凝固すると正しい測定結果が得られません。採血時の抗凝固剤については、ヘパリンまたはEDTAを使用してください。
4. ゲノムDNAを測定する場合は、DNA抽出キット(推奨キット；QIAamp DNA Mini Kit)のプロトコールに従って抽出してください。濃度が1～10 ng/μL、A260/A280比率が1.7～1.9のゲノムDNAを使用してください。最終濃度が所定の範囲に入らなかった場合は、最終溶媒で希釈して調整してください。検体が適切でない場合、正しく測定できない場合があります。
5. 全血を測定する場合は、白血球数3,000～10,000個/μL の全血を使用してください。検体が適切でない場合、正しく測定できない場合があります。
6. 検体は分注する前に十分に撹拌してください。全血は十分に転倒混和してください。
7. 検体の取り違えには十分ご注意ください。
8. 検体同士が混じらないように十分ご注意ください。
9. 検体を分注するときは、マイクロピペット、フィルター付きチップを使用してください。又は、別売消耗品であるディスポーザブルタイプのポリピペット(商品コード：10716)も使用可能です。フィルター付きチップ、ポリピペットは検体ごとに新しいものを使用してください。
10. 全血を検体ウェルに分注するときは、装置へ飛び散らない場所で行ってください。
11. 全血を分注するときは、全血がウェルからあふれないように注意してください。またウェルの底部に気泡が入らないように分注してください。ゲノムDNAは反応チューブの底部に溜まるように分注してください。
12. 分注した検体の液面に気泡や皮膜ができている場合は、検体を入れなおしてください。
13. ゲノムDNAは、-30℃で9ヶ月間、4℃で90日間、30℃で14日間保存したものが使用できます。全血は、-30℃で9ヶ月間、4℃で30日間、30℃で3日間保存したものが使用できます。いずれの検体も凍結融解は2回まで可能です。（但し、2回目の凍結融解に用いられる検体は、30日間以上保管したものは使用しないでください。）
14. 測定結果に「Amplification error」や「Indistinct differential curve」の異常メッセージが表示され、遺伝子型判定ができなかったときは、下記の対策を講じることで正しい判定結果が得られる可能性があります。
    - 全血で測定していた場合は、ゲノムDNAで再測定する。
    - ゲノムDNAで測定していた場合は、ゲノムDNAの濃度を上げて再測定する。

＜試薬パックについて＞

1. あらかじめアルミシールされているウェルと、シールされていないウェル(検体ウェル)があります。
2. アルミシールは剥がさずに使用してください。また、検体ウェル以外のウェルに検体を分注しないでください。
3. 試薬パックは測定環境温度(10～30℃)になじませたあと、その日のうちに使用してください。

** 4. 希釈液Ⅰ中に結晶が見られる場合は、試薬パックを測定環境温度になじませたあと、かるく左右に動かして溶解させてください。溶解しない場合は、使用しないでください。
5. アルミシール裏側に試薬が付着している場合は、検体を分注する前にかるく上下に動かして、アルミシール裏側の試薬を試薬ウェルの底部へ落としてください。アルミシール裏側に試薬が付着していないことを目視確認したうえで使用してください。
6. ウェル内の試薬中に気泡が入っている場合は、検体を分注する前に試薬パックを振って気泡を除いてください。
7. アルミシールには書き込み等をしないでください。装置でアルミシールのバーコードが読み取れなくなります。

＜反応チューブについて＞



1. ゲノムDNAを分注するときは、反応チューブの底部に溜まるように分注してください。
2. ゲノムDNAを測定するときは、反応チューブに分注したあとに装置にセットしてください。また、必ずキャップを開いた状態で装置にセットしてください。
3. 反応後、反応チューブのキャップは開けないでください。(増幅産物が飛散する可能性があります。)
4. 反応後の反応チューブを廃棄するときは、強い衝撃や圧力を加えないでください。(増幅産物が飛散する可能性があります。)

＜妨害物質・妨害薬剤＞

全血中に含まれる抗凝固剤(ヘパリン、EDTA)、アスコルビン酸、ヘモグロビン、ビリルビン、乳びの影響は受けません。(影響を受けないことを確認済みの濃度は、下表の通り)

物質名	影響を受けないことを確認済みの濃度
アスコルビン酸	50 (mg/dL)
ビリルビン・C	20 (mg/dL)
ビリルビン・F	18 (mg/dL)
乳び	1540 (ホルマジン濁度)
EDTA-2K	100 (mg/dL)
EDTA-2Na	100 (mg/dL)
ヘパリンNa	100 (U/mL)
ヘパリンLi	100 (U/mL)

【用法・用量(操作方法)】

＜試薬の調製方法＞

試薬パックを測定環境温度(10～30℃)になじませ、そのまま用います。アルミシール裏側に試薬が付着している場合は、試薬パックをかるく上下に動かして、試薬ウェルの底部へ落としてから使用します。

＜必要な器具・器材・試料等＞

・マイクロピペット
・フィルター付チップ
・使い捨て手袋

＜操作法(概要)＞

1. 検体測定分とチェック測定に必要な数の試薬パックをアルミパックから取り出し、測定環境温度(10～30℃)になじませます。(アルミパックから取り出した試薬パックは、その日のうちに使用してください。)
2. 必要な数のi-densy Check Ⅰ CYP2C19(*2/*3)とi-densy Check Ⅱ CYP2C19(*2/*3)を冷蔵庫から取り出し、測定環境温度(10～30℃)になじませます。(i-densy Check Ⅰ CYP2C19(*2/*3)とi-densy Check Ⅱ CYP2C19(*2/*3)は、その日のうちに使用してください。)
3. 必要な数の反応チューブ、専用チップを用意します。
4. 以下の操作は遺伝子解析装置 アイデンシー IS-5320を用いて行います。測定方法は、装置の取扱説明書を参照してください。

[全血測定]

(1)付属の反応チューブ、専用チップを装置へセットします。
(2)マイクロピペット、フィルター付チップを使って、70 μLの全血を試薬パックの検体ウェルに分注します。全血が検体ウェルからあふれないように注意してください。
(3)試薬パックを装置の試薬パックセット部へセットします。
(4)測定を開始します。

[精製核酸測定]

(1)上記のピペット等を使って、反応チューブの底に4 μLのゲノムDNAを分注します。
(2)付属の反応チューブ、専用チップを装置へセットします。
(3)試薬パックを装置の試薬パックセット部へセットします。
(4)測定を開始します。

[チェック測定※1]

i-densy Check Ⅰ CYP2C19(*2/*3)とi-densy Check Ⅱ CYP2C19(*2/*3)の2種類によるチェック測定を行います。

①i-densy Check Ⅰ CYP2C19(*2/*3)による測定
(1)付属の反応チューブ、専用チップを装置へセットします。
(2)70 μLのi-densy Check Ⅰ CYP2C19(*2/*3)【別売消耗品】を試薬パックの検体ウェルに分注します。
(3)試薬パックを装置の試薬パックセット部へセットします。
(4)測定を開始します。

②i-densy Check Ⅱ CYP2C19(*2/*3)による測定
(1)付属の反応チューブ、専用チップを装置へセットします。
(2)70 μLのi-densy Check Ⅱ CYP2C19(*2/*3)【別売消耗品】を試薬パックの検体ウェルに分注します。
(3)試薬パックを装置の試薬パックセット部へセットします。
(4)測定を開始します。

※1：測定環境中に、測定結果に影響を及ぼすコンタミネーションの原因となる核酸分子が存在していないか確認するために行う測定。

【測定結果の判定法】

1. 判定法

蛍光が増加する温度(Tm)や蛍光の変化量により、遺伝子型を判定する。励起波長420～485 nm／検出波長520～555 nmにおいて、所定量以上の蛍光変化量が得られた温度(Tm)が、Tm＝51℃のみの場合はCYP2C19*2 G/Gタイプ、Tm＝51℃と59℃の場合はCYP2C19*2 G/Aタイプ、Tm＝59℃のみの場合はCYP2C19*2 A/Aタイプと判定される。また、励起波長520～555 nm／検出波長585～700 nmにおいて、所定量以上の蛍光変化量が得られた温度(Tm)が、Tm＝50℃のみの場合はCYP2C19*3 G/Gタイプ、Tm＝50℃と59℃の場合はCYP2C19*3 G/Aタイプ、Tm＝59℃のみの場合はCYP2C19*3 A/Aタイプと判定される。

2. 結果出力

判定結果は、以下のように出力されます。

CYP2C19	*2(G681A)	*3(G636A)
*1/*1	G/G	G/G
*1/*2	G/A	G/G
*1/*3	G/G	G/A
*2/*3	G/A	G/A
*2/*2	A/A	G/G
*3/*3	G/G	A/A

注1)上記以外のタイプは、「-----/-----」で出力し、結果に「Undefined Type」のフラグが付加されます。
注2)CYP2C19*2：Exon 5領域の遺伝子多型 (681 G>A)
CYP2C19*3：Exon 4領域の遺伝子多型 (636 G>A)
注3)判定演算および装置に異常があった場合、「-----/-----」で出力し、結果に原因となるフラグが付加されます。
注4)i-densy Check CYP2C19(*2/*3)の結果に異常があった場合、「-----/-----」で出力し、結果に「Check meas. error」のフラグが付加されます。この場合、核酸分子のコンタミネーションの可能性があります。
注5)各遺伝子型の組み合わせから予測されるCYP2C19の代謝活性(フェノタイプ)は、*1/*1, *1/*2, *1/*3がExtensive Metabolizerで、*2/*3, *2/*2, *3/*3がPoor Metabolizerとなります。
注6)現在までに報告されていない遺伝子多型が存在する場合、例えば、ピークが得られなかったり、規定外のTm値にピークが出現して判定不能となったり、未知の変異型を野生型と判定するおそれがあります。

【臨床的意義】

本品はCYP2C19の遺伝子多型(CYP2C19*2、CYP2C19*3遺伝子多型)を判定することにより、CYP2C19の薬物代謝活性を予測し、その予測結果に基づき薬物治療を行う際の補助として用います[2,3]。

【性能】

1. 性能

感度

＜CYP2C19*2＞
ア)*2 G/Gタイプの管理用陽性コントロール※2)を測定したとき、*2 G/Gタイプと判定される。
イ)*2 G/Gタイプの管理用検体※3)を測定したとき、*2 G/Gタイプと判定される。

＜CYP2C19*3＞
ア)*3 G/Gタイプの管理用陽性コントロール※4)を測定したとき、*3 G/Gタイプと判定される。
イ)*3 G/Gタイプの管理用検体※5)を測定したとき、*3 G/Gタイプと判定される。

正確性

＜CYP2C19*2＞
ア)*2 G/Gタイプの管理用陽性コントロール※2)を測定したとき、*2 G/Gタイプと判定される。
イ)*2 G/Aタイプの管理用陽性コントロール※6)を測定したとき、*2 G/Aタイプと判定される。
ウ)*2 A/Aタイプの管理用陽性コントロール※7)を測定したとき、*2 A/Aタイプと判定される。

＜CYP2C19*3＞
ア)*3 G/Gタイプの管理用陽性コントロール※4)を測定したとき、*3 G/Gタイプと判定される。

イ)*3 G/Aタイプの管理用陽性コントロール※8)を測定したとき、
*3 G/Aタイプと判定される。
ウ)*3 A/Aタイプの管理用陽性コントロール※9)を測定したとき、
*3 A/Aタイプと判定される。

同時再現性

＜CYP2C19*2＞
ア)*2 G/Gタイプの管理用陽性コントロール※2)を3回測定したとき、
全て*2 G/Gタイプと判定される。
イ)*2 G/Aタイプの管理用陽性コントロール※6)を3回測定したとき、
全て*2 G/Aタイプと判定される。
ウ)*2 A/Aタイプの管理用陽性コントロール※7)を3回測定したとき、
全て*2 A/Aタイプと判定される。

＜CYP2C19*3＞
ア)*3 G/Gタイプの管理用陽性コントロール※4)を3回測定したとき、
全て*3 G/Gタイプと判定される。
イ)*3 G/Aタイプの管理用陽性コントロール※8)を3回測定したとき、
全て*3 G/Aタイプと判定される。
ウ)*3 A/Aタイプの管理用陽性コントロール※9)を3回測定したとき、
全て*3 A/Aタイプと判定される。

※2):*2 G/Gタイプの配列を有するDNA。
※3):*2 G/Gタイプの配列を有する全血。
※4):*3 G/Gタイプの配列を有するDNA。
※5):*3 G/Gタイプの配列を有する全血。
※6):*2 G/Aタイプの配列を有するDNA。
※7):*2 A/Aタイプの配列を有するDNA。
※8):*3 G/Aタイプの配列を有するDNA。
※9):*3 A/Aタイプの配列を有するDNA。

2. 相関性試験成績

表1. CYP2C19*2遺伝子型判定における本法と直接シークエンス法との比較

CYP2C19*2 遺伝子型		直接シークエンス法			計
		G/G	G/A	A/A	
本法	G/G	55	0	0	55
	G/A	0	45	0	45
	A/A	0	0	9	9
計		55	45	9	109

一致率:100%(109例/109例)

表2. CYP2C19*3遺伝子型判定における本法と直接シークエンス法との比較

CYP2C19*3 遺伝子型		直接シークエンス法			計
		G/G	G/A	A/A	
本法	G/G	82	0	0	82
	G/A	0	26	0	26
	A/A	0	0	1	1
計		82	26	1	109

一致率:100%(109例/109例)

3. 検出感度

0.00067 amol/μL(DNAとして)

4. 較正用基準物質

DNA

【使用上又は取扱い上の注意】

＜取扱い上(危険防止)の注意＞

1. 検体はHIV、HBV、HCV等の感染の危険性があるものとして取り扱ってください。
2. 検体を取り扱うときは、感染の危険性を考慮して使い捨ての手袋を着用するなど、慎重に取り扱ってください。また、口によるピペッティングを行わないでください。
3. アルミパックから試薬パックを取り出すときには手を怪我しないように注意してください。
* 4. 試薬の成分にミネラルオイルを含んでいます。試薬パックは施錠して保管してください。使用済みの試薬パック、専用チップなどを取り扱うときはミネラルオイルの危険性(飲み込んで気道に侵入すると生命に危険のおそれ)を考慮して、マスク、ゴム手袋、保護眼鏡または安全ゴーグル、白衣を着用するなど、慎重に取り扱ってください。
* 5. 検体や試薬が皮膚に付着したり、目や口に入ったりしないように注意してください。誤って皮膚に付着したり、目や口に入った場合には、ただちに水で十分に洗浄するなどの応急処置をおこない(試薬を飲み込んだ場合は無理に吐かせないでください)、医師の手当てを受けてください。

＜使用上の注意＞

本品を使用するときは、次のような点に注意してください。注意を怠ると正しい測定結果を得られなかったり、測定不能の原因となります。

1. 試薬パックは必ず2～8℃で保存してください。
2. 使用期限を過ぎたものは使用しないでください。また使用期限内でもアルミシールが破れている等、保存状態の悪いものは使用しないでください。
3. 一度使用した本品は繰り返し使用できません。再度使用しないでください。

＜廃棄上の注意＞

感染性廃棄物は環境省「廃棄物処理法に基づく感染性廃棄物処理マニュアル」にしたがって適切に処理してください。

1. 使用済みの検体、検体が付着した試薬パック、専用チップ、反応チューブなどについては、感染性廃棄物として処理してください。
2. ご使用の環境が増幅産物で汚染されないよう、反応チューブはしっかりとキャップを閉じた状態で廃棄してください。また、試薬パックはビニール袋等に密閉して捨ててください。
3. 使用済みの検体、検体が付着した試薬パック、専用チップ、反応チューブなどについては、廃棄する前にオートクレーブ(121℃、20分間)で処理してください。
4. 全血または全血を含む溶液が飛散した場合、感染を防止するため、0.1%の次亜塩素酸ナトリウム等でよく拭き取ってください。
5. 材質は次のとおりです。
試薬パック　PP
反応チューブ　PP
専用チップ　PP

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法
2～8℃、遮光保存
2. 有効期間
9ヶ月(使用期限はアルミパックおよびパッケージに記載)

【包装単位】

・試薬パック(アルミパック入り)　10個(1箱中)
・反応チューブ　10個(1箱中)
・専用チップ　22本(1箱中)

【主要文献】

1) Shinya K. et al. Nucleic Acids Research 29, 34 (2001)
2) S. M. De Morais et al. Mol Pharmacol 46, 594 (1994)
3) Takahisa Furuta et al. Drug Metab. Pharmacokinet 20, 153 (2005)

** **【問い合わせ先】**

アークレイ お客様相談室
滋賀県甲賀市甲南町柑子1480 〒520-3306
TEL 0120-103-400＜通話料無料＞
(平日 8:30～18:00、土曜日 8:30～12:00)

CP76131-004B

* 販売元
アークレイ株式会社
京都市南区東九条西明田町57 〒601-8045

* 製造販売元
株式会社アークレイ ファクトリー
滋賀県甲賀市甲南町柑子1480 〒520-3306