

この添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

* 2018 年 3 月改訂 (第 2 版)
2016 年 11 月作成 (第 1 版)

クラスⅡ免疫検査用シリーズ

ダコ 抗ヒト特異抗体

構成製品名 *	クラス	一般的名称	製造販売届出番号
IgG (γ鎖)・ウサギ	I	血液検査用免疫グロブリン G キット	13E1X00006000001
IgA (α鎖)・ウサギ	I	血液検査用免疫グロブリン A キット	13E1X00006000001
IgM (μ鎖)・ウサギ	I	血液検査用免疫グロブリン M キット	13E1X00006000001
IgD (δ鎖)・ウサギ	I	免疫グロブリン D キット	13E1X00006000001

構成製品名 *	クラス	一般的名称	承認番号
L 鎖 (κ)・ウサギ	Ⅱ	免疫グロブリンカップパ/ラムダ鎖キット	20400AMY00109000
L 鎖 (λ)・ウサギ	Ⅱ	免疫グロブリンカップパ/ラムダ鎖キット	20400AMY00109000

【全般的な注意】

1. 本製品は、体外診断用医薬品でありそれ以外の目的に使用しないこと。
2. 検出結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果、最新の所見等と併せて、担当医師が総合的に判断すること。
3. 添付文書に記載された使用方法及び使用目的以外の使用については、検出結果の信頼性を保証できないので、記載内容に従って使用すること。
4. 診断には他の検査も併用すること。
5. 一種類の一次抗体で判定のつかない場合は、複数の項目による検査も行うこと。

【形状・構造等（キットの構成）及び使用目的】 *

シリーズ品の構成製品

抗ヒト抗体	成分	使用目的
IgG (γ鎖)・ウサギ	ポリクローナル抗ヒト IgG (γ鎖)・ウサギ抗体	血清蛋白中の IgG の同定
IgA (α鎖)・ウサギ	ポリクローナル抗ヒト IgA (α鎖)・ウサギ抗体	血清蛋白中の IgA の同定
IgM (μ鎖)・ウサギ	ポリクローナル抗ヒト IgM (μ鎖)・ウサギ抗体	血清蛋白中の IgM の同定
IgD (δ鎖)・ウサギ	ポリクローナル抗ヒト IgD (δ鎖)・ウサギ抗体	血清蛋白中の IgD の同定
L 鎖 (κ)・ウサギ	ポリクローナル抗ヒト L 鎖 (κ)・ウサギ抗体	血清蛋白中の L 鎖 (κ) の同定
L 鎖 (λ)・ウサギ	ポリクローナル抗ヒト L 鎖 (λ)・ウサギ抗体	血清蛋白中の L 鎖 (λ) の同定

【検出原理】

本品の操作原理は支持体電気泳動法と、免疫沈降反応を組合わせた定性的分析法である。まず、免疫電気泳動用ゲルプレートに検体（抗原）を所定量注入し、電流を通して電気泳動を行う（免疫支持体電気泳動法）。次に各抗原成分が適度に分離したところで、抗体溝に抗ヒト抗体を所定量注入する。

そのプレートを湿潤状態で所定時間インキュベートすると、各抗原タンパクと抗ヒト抗体がプレート上のそれぞれの抗原成分の位置に対応して抗原抗体反応が生じ、沈降線が現れる（免疫沈降反応）。脱タンパク及び脱塩後、染色し、乾燥することにより、より明確な染色像が得られ、保存も可能となる。得られた染色像を観察することにより、検体中の各々の血清タンパク成分が同定できる。

【操作上の注意】

1. 検体は新鮮なものを使用すること。
2. 寒天ゲルを使用する場合、ゲルの表面を傷つけないこと。
3. 免疫電気泳動法の場合、孔の大きさ、溝の幅及び溝と孔の距離は、検体の量、抗体の量及び力価で異なってくるので、あらかじめ用いる検体、抗体について検討し、最適の条件を決めておくこと。
4. 免疫電気泳動法の場合、検体孔と抗体溝の位置により、反応時に沈降線の出現位置、沈降線の出方などが異なり、沈降線の判読を行うことが困難となるので、検体孔は抗体溝と抗体溝の中央に位置させること。
5. 免疫電気泳動法の場合、抗体溝は必ず直線に切ること。
6. 抗体を抗体溝に注入する際は、抗体が溝からはみ出したり、飛び散らないよう注意し、万が一そのような時には濾紙片でゲルを傷つけないよう吸い取る。
7. 同一の寒天板には対照として正常コントロール血清を用い、これに微量のプロムフェノールブルーの粉末を混ぜ、アルブミンの泳動距離の目印とすると良い。この場合結合したアルブミンは、結合しないアルブミンよりもわずかに早く泳動される。
8. 同一緩衝液を数回の泳動に使用する場合は、泳動ごとに電極の位置を逆にして、緩衝液の pH の変化を避けるようにすること。
9. 脱タンパクの際、生理食塩水による洗いが短いと、染色後、バックグラウンドの脱色が悪くなるので良く洗うこと。
10. 脱塩の際、精製水による洗いが短いと、染色後、沈降線以外のバックグラウンドの脱色が悪く観察の妨げとなるのでよく洗うこと。
11. 乾燥時に急激に温度を変化させると、寒天の乾燥にむらが生じ、表面に凸凹が起こるため、沈降線の同定を誤る事があるので注意すること。
12. 緩衝液のイオン強度が低い場合には、寒天ゲルにイオン交換体としての性質が現れ、IgA や IgG の一部の分子が寒天ゲルと静電的相互作用をして易動度が遅くなったり、時にはほとんど動かない場合さえある。
13. 泳動中に発生するジュール熱は、寒天ゲルの水分を蒸発させ、粘性を増し、分離を著しく妨げ、時には寒天を乾燥させて亀裂を生ずることがある。この変化は特に陽極側に強く見られる。

【用法・用量（操作方法）】

1. 必要な器具及び試薬

- (1) 泳動装置（泳動槽、電源装置）
- (2) 緩衝液：一般的にはペロナル緩衝液（バルビタール緩衝液）やトリス塩酸緩衝液が用いられる。
注）ペロナル緩衝液で用いられる 5・5-ジエチルバルビツール酸と 5・5-ジエチルバルビツール酸ナトリウムは向精神薬に指定されているので、取扱い及び保管の際は麻薬及び向精神薬取締法に従うこと。
- (3) 支持体：寒天、アガロースゲルなど。
- (4) 正常コントロール血清：指示薬として微量のブロムフェノールブルーを混ぜたもの。
- (5) 染色液：アミドブラック 10B やクマシーブリリアンドブルーなどの染色液を含む 5%酢酸液。
- (6) 0.85%生理食塩水
- (7) マイクロシリンジまたはマイクロピペット
- (8) 湿潤箱
- (9) 水平台
- (10) コンテナ（ボックス）：洗浄、染色、脱色用（支持体より大きなもの）
- (11) 約 1 kg の重り
- (12) ガラス板：1 kg 重量に耐えるもの
- (13) ヘアードライヤーまたはオーブン

2. 検体の取扱い

血清及び血漿は、遠心分離（3000 rpm, 15 分間）など通常検査室で行われる方法で分離する。

3. 試薬の調製法、安定性

- (1) 試薬は使用前に常温にもどすこと。
- (2) 試薬はそのまま希釈せずに用いること。

4. 操作法

《免疫電気泳動法の場合》

- (1) 検体の注入
免疫電気泳動用プレート上の所定の検体孔に、マイクロピペットで 1~2 μ L の検体を注入する。
同一のプレートには対照として指示薬を加えた正常コントロール血清を注入して、泳動距離の目印とする。
- (2) 電気泳動
泳動用緩衝液を入れた泳動槽にプレートをセットし、正常コントロール血清中の指示薬に結合したアルブミンが 2.5~3.0 cm くらい泳動されるまで、電気泳動を行う。プレートが寒天板の場合、1 cm に対して 2~3 mA の割合で 90~120 分間の通電を目安とする。
- (3) 抗ヒト抗体の注入
プレートを泳動槽から取出し、プレート上の所定の抗体溝にマイクロピペットで、抗ヒト抗体 20~40 μ L を注入する。
プレートを水平状態で湿潤箱に入れ、常温で 20~24 時間インキュベートする。
- (4) ゲルの密着
プレート上に濾紙を数枚重ね、その上にガラス板を置き、その上から約 1 kg の重りを 10 分間置き、ゲルを密着させる。
- (5) 水洗
プレートを生理食塩水につけ、余分の蛋白質を洗い流し、抗原抗体反応を止める。この操作を約 5 分間ずつ 2~3 回繰り返す。
- (6) 脱塩
プレートを 30 分間精製水に浸し、塩分を洗い出し、オーブン等でよく乾燥させる。
- (7) 染色
プレートを染色液中に浸し、染色する。
- (8) 脱色
プレートを脱色液中に浸し、プレート上の背景が十分脱色されるまでよく脱色し、オーブン等で乾燥後、プレート上の染色像を観察する。

《免疫固定法の場合》

- (1) 検体の注入
免疫固定法用プレート上の所定の検体孔或いは直接プレート上にマイクロピペットで、1~2 μ L の検体を注入、或いは塗布する。
同一プレート上には対照として指示薬を加えた正常コントロール血清を注入して、泳動距離の目印とする。
- (2) 電気泳動
泳動用緩衝液を入れた泳動槽にプレートをセットし、正常コントロール血清中の指示薬に結合したアルブミンが 2.5~3.0 cm 位泳動されるまで、電気泳動を行う。プレートが寒天板の場合、1 cm に対して、2~3 mA の割合で 90~120 分間の通電を目安とする。
- (3) 抗ヒト抗体の注入
プレートを泳動槽から取出し、プレート上の泳動された蛋白の各レーンの上にマイクロピペットで抗ヒト抗体 40~100 μ L を塗布する。このときレーンで隣り合う抗体が混合しないように注意する。
プレートを水平状態で湿潤箱に入れ、30~60 分間インキュベートする。
- (4) ゲルの密着
プレート上に濾紙を数枚重ね、その上にガラス板を置き、その上から約 1 kg の重りを 10 分間置き、ゲルを密着させる。
- (5) 水洗
プレートを生理食塩水につけ、余分の蛋白質を洗い流し、抗原抗体反応を止める。この操作を約 5 分間ずつ 2~3 回繰り返す。
- (6) 脱塩
プレートを 30 分間精製水に浸し、塩分を洗い出し、オーブン等でよく乾燥させる。
- (7) 染色
プレートを染色液中に浸し、染色する。
- (8) 脱色
プレートを脱色液中に浸し、プレート上の背景が十分脱色されるまでよく脱色し、オーブン等で乾燥後、プレート上の染色像を観察する。

【検出結果の判定法及び判定に係る注意事項】

1. 検出結果の判定法

対象血清の沈降線と比較し、プレート上に生じた沈降線の位置、太さ、濃さ、長短、欠如などにより、それぞれの抗原成分の同定を行い判定を下す。

2. 判定上の注意

- (1) 沈降線を読む場合は、必ず正常コントロール血清の免疫電気泳動パターンやセルロースアセテート膜電気泳動パターンと対比させること。
- (2) 血漿の使用は、フィブリノーゲンのバンドが判定を誤らせる可能性があることに留意すること。

【性能】 *

1. 感度試験

下表の血清を管理血清とし、この血清の 2 の累乗による希釈系列を作成したものを各々所定量ずつ検体孔に注入し、抗ヒト抗体を抗体溝に所定量入れて、免疫電気泳動を行うとき、下記の希釈まで、沈降線が確認される。

抗ヒト抗体	管理血清	希釈
IgG（ γ 鎖）・ウサギ	IgG 型 M-タンパク血症患者血清	2 ⁶
IgA（ α 鎖）・ウサギ	IgA 型 M-タンパク血症患者血清	2 ⁷
IgM（ μ 鎖）・ウサギ	IgM 型 M-タンパク血症患者血清	2 ⁵
IgD（ δ 鎖）・ウサギ	IgD 型 M-タンパク血症患者血清	2 ⁵
L 鎖（ κ ）・ウサギ	κ 型ベンスジョンズタンパク血症患者血清	2 ⁵
L 鎖（ λ ）・ウサギ	λ 型ベンスジョンズタンパク血症患者血清	2 ⁷

2. 正確性試験

- 下表の血清を管理血清として、検体孔に所定量注入し、抗ヒト抗体を抗体溝に所定量入れて、免疫電気泳動を行うとき、各々の抗体に対してそれぞれ特有の単一な沈降線を認め、他の成分に対する沈降線を認めない。

抗ヒト抗体	管理血清
IgG (γ 鎖) ・ウサギ	正常ヒト血清, IgG 型 M-タンパク血症患者血清, 高免疫グロブリン血症患者血清
IgA (α 鎖) ・ウサギ	正常ヒト血清, IgA 型 M-タンパク血症患者血清
IgM (μ 鎖) ・ウサギ	正常ヒト血清, IgM 型 M-タンパク血症患者血清
L 鎖 (κ) ・ウサギ	正常ヒト血清, κ 型ベンスジョンズタンパク血症患者血清
L 鎖 (λ) ・ウサギ	正常ヒト血清, λ 型ベンスジョンズタンパク血症患者血清

- IgD (δ 鎖) ・ウサギ

正常ヒト血清及び IgD 型 M-タンパク血症患者血清を管理血清として、検体孔に所定量注入し、抗ヒト抗体を抗体溝に所定量入れて、免疫電気泳動を行うとき、IgD 型 M-タンパク血症血清患者の管理血清は IgD に対する特有の単一な沈降線を認め、他の成分に対する沈降線を認めない。また、正常血清とはいかなる沈降線も認めない。

3. 同時再現性試験

- 下表の血清を管理血清とし、同一管理血清を各々3 個の検体孔に所定量注入し、抗ヒト抗体を抗体溝に所定量入れて、免疫電気泳動を行うとき、同一管理血清との反応は常に同様の沈降線を示す。

抗ヒト抗体	管理血清
IgG (γ 鎖) ・ウサギ	正常ヒト血清, IgG 型 M-タンパク血症患者血清
IgA (α 鎖) ・ウサギ	正常ヒト血清, IgA 型 M-タンパク血症患者血清
IgM (μ 鎖) ・ウサギ	正常ヒト血清, IgM 型 M-タンパク血症患者血清
L 鎖 (κ) ・ウサギ	正常ヒト血清, κ 型ベンスジョンズタンパク血症患者血清
L 鎖 (λ) ・ウサギ	正常ヒト血清, λ 型ベンスジョンズタンパク血症患者血清

- IgD (δ 鎖) ・ウサギ

同一の正常ヒト血清及び同一の IgD 型 M-タンパク血症患者血清を管理血清として、各々3 個の検体孔に所定量注入し、抗ヒト抗体を抗体溝に所定量入れて免疫電気泳動を行うとき、IgD 型 M-タンパク血症患者の管理血清との反応は常に同様の沈降線を示す。また、正常血清との反応に対してはいかなる沈降線も認めない。

4. 相関性試験

各々の抗ヒト抗体と同一原理を採用している市販品とを比較した場合、50 例以上の検体に於いて、同等の沈降線が得られた。

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上（危険防止）の注意

1. 検体には、HBV, HIV など、感染のおそれのあるものもあるので、取扱いには十分注意すること。
2. 検査にあたっては感染の危険を避けるため、使い捨て手袋を着用すること。
3. 試薬を口で吸い上げないこと。
4. 試薬が皮膚や粘膜に直接接触することを避けること。万一触れた場合は、多量の水で洗い流すこと。
5. 製品中の容器・付属品等は他の目的に転用しないこと。
6. 試薬はアジ化ナトリウムを含んでいる。アジ化ナトリウムは鉛や銅と反応して起爆性の高い金属化合物を生成するため、容器の落下・衝撃による破損がないように丁寧に扱うこと。

使用上の注意

1. 試薬は 2～8℃で保存すること。
2. 試薬はなるべく早く使用し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないこと。
3. 試薬は直射日光に当てないこと。
4. 試薬は微生物に汚染されないよう注意すること。
5. 異なるロットの試薬や他社品の試薬を混ぜて使用しないこと。
6. 同一ロットの試薬であっても試薬を注ぎ足さないこと。
7. 使用後は、キャップを強く締めておくこと。

廃棄上の注意

1. 検体に接触した器具・試薬及び試薬容器等は感染の危険性があるものとし、オートクレーブで 121℃20 分間滅菌処理するか、または 1vol%次亜塩素酸などの消毒液に浸して一晩処理すること。
2. 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物処理及び清掃に関する法律等の規定に従って処理すること
3. 試薬はアジ化ナトリウムを含んでいる。アジ化ナトリウムは鉛や銅と反応して起爆性の高い金属化合物を生成するため、廃棄の際は多量の水で希釈して廃棄すること。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法：2～8℃で保存

有効期間：6 年

【包装単位】 *

ダコ 抗ヒト特異抗体	Code No.	容量
IgG (γ 鎖) ・ウサギ	A0424	2mL
IgA (α 鎖) ・ウサギ	A0092	2mL
IgM (μ 鎖) ・ウサギ	A0426	2mL
IgD (δ 鎖) ・ウサギ	A0093	2mL
L 鎖 (κ) ・ウサギ	A0192	2mL
L 鎖 (λ) ・ウサギ	A0194	2mL

【主要文献】

1. A manual of Quantitative Immuno-electrophoresis Methods and Applications Edited by N.H.Axelsen et al. Blackwell Scientific Publications, England.
2. Quantitative immunoelectrophoretic Methods: A Literature Survey. Ronald Verbruggen. Clin. Chem. 21/1, 5 - 43 1975.
3. Clinical applications of immunofixation: A more sensitive technique for the detection of Bence Jones protein. JT Whicher, L. Hawkins, and J. Higginson. Journal of Clinical Pathology 1980; Vol 33: 779 - 780.
4. Immunofixation electrophoresis and electrofocusing. Johanson AM. Clin Chem 1982; 28: 1797 - 800.
5. Usefulness of immunofixation electrophoresis in the clinical laboratory. Roberts RT. Clin Lab Med 1986; 6: 601 - 5.

【問い合わせ先】

アジレント・テクノロジー株式会社 カスタマーサポート
〒108-0023
東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号住友芝浦ビル
TEL : 03-5232-9968

【製造販売業者の名称及び住所】

アジレント・テクノロジー株式会社
〒108-0023
東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号住友芝浦ビル
TEL : 03-5232-9970 FAX : 03-5232-9969