使用の前に本電子化された添付文書をよく読んでください。

**2024年5月改訂（第5版）
*2023年2月改訂（第4版）
承認番号：第30400EZX00002000号

体外診断用医薬品

Y染色体微小欠失検出キット

MEBGEN™ AZF Deletion キット

［全般的な注意］

1. 本品は体外診断用です。それ以外の目的で使用しないでください。
2. 本品は、全血から抽出したゲノムDNA中のY染色体微小欠失の有無を判定する試薬です。本品の判定に使用するSTS（sequence tagged-site）マーカーが日本人男性における研究[1),2)]に基づいて選択されていることを理解した上で使用してください。
3. 本品の判定対象外の欠失やプライマー、プローブ領域に遺伝子多型などを有する場合、正しく判定されない可能性があります。また、結果に基づく治療方針の決定は、他の関連する検査結果や臨床症状などとあわせて担当医師が総合的に判断してください。
4. 添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。また、使用する機器の添付文書や取扱説明書をよく読んでから使用してください。測定に使用するための器具・装置は適正に整備されたものを使用してください。なお、本品はLuminex®100/200™システム（以下、Luminexシステム）の専用試薬ですので、測定にはLuminexシステムを使用してください。記載された方法及び目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証いたしません。
5. マスターミックス、ビーズミックス、ハイブリダイゼーション緩衝液、洗浄用緩衝液（10倍濃縮品）、SA－PE希釈液及びSA－PEには、0.05％のアジ化ナトリウムが含まれています。目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流すなどの応急措置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。
6. 試薬の使用時には、保護眼鏡と使い捨て手袋（パウダーフリー）を着用し、試薬が目、皮膚、粘膜に触れないように注意してください。もし、このようなことが起きた場合は、大量の水で十分に洗い流してください。また必要があれば医師の手当てなどを受けてください。こぼした場合は、水で希釈してから拭き取ってください。

［形状・構造等（キットの構成）］

構成試薬	24回包装	
	容量	数量
①マスターミックス	0.5 mL	1
AZF01-F、AZF01-R、AZF02-F、AZF02-R、AZF03-F、AZF03-R、AZF04-F、AZF04-R、AZF05-F、AZF05-R、AZF06-F、AZF06-R、AZF07-F、AZF07-R、AZF08-F、AZF08-R、AZF09-F、AZF09-R、AZF10-F、AZF10-R、AZF11-F、AZF11-R、AZF12-F、AZF12-R、AZF13-F、AZF13-R、AZF14-F、AZF14-R、AZF15-F、AZF15-R、AZF16-F、AZF16-R、AZF17-F、AZF17-R、AZF18-F、AZF18-R、AZF20-F、AZF20-R、AZF21-F、AZF21-R、AZF23-F、AZF23-R、dATP、dCTP、dGTP、dUTP、dTTP		
②ビーズミックス	0.13 mL	1
NC-1、sY757-1、sY757-2、sY14-1、sY14-2、sY3118-1、sY3118-2、sY1251-1、sY1251-2、sY1324-1、sY1324-2、sY1316-1、sY1316-2、sY1714-1、sY1714-2、sY1024-1、sY1024-2、sY1967-1、sY1967-2、sY1309-1、sY1309-2、sY3199-1、sY3199-2、sY1233-1、sY1233-2、sY3010-1、sY3010-2、sY2990-1、sY2990-2、sY1197-1、sY1197-2、sY1191-1、sY1191-2、sY1291-1、sY1291-2、sY1307-1、sY1307-2、sY1206-1、sY1206-2、sY2858-1、sY2858-2、sY3159-1、sY3159-2		
③ハイブリダイゼーション緩衝液	1 mL	1
④洗浄用緩衝液（10倍濃縮品）	25 mL	1
⑤SA－PE希釈液	2 mL	1
⑥SA－PE	15 μL	1
フィコエリスリン標識ストレプトアビジン		
⑦Taq DNAポリメラーゼ	5 μL	1
Taq DNAポリメラーゼ		
⑧ウラシルDNAグリコシラーゼ	4 μL	1

①、⑦、⑧は－15～－35℃保存品。
②～⑥は2～8℃保存品。
②、⑥は遮光保存品。

［使用目的］

全血から抽出したゲノムDNA中のY染色体微小欠失の検出（造精機能障害の診断の補助）

［測定原理］

本品はPCR-rSSO（polymerase chain reaction-reverse sequence specific oligonucleotide）法に基づいて、Y染色体の微小欠失の有無を判定する試薬です。

全血から抽出したゲノムDNAを検体として、ビオチン標識プライマーを含むマスターミックスとTaq DNAポリメラーゼによってY染色体のAZF（azoospermia factor）領域等を増幅します。続いて、PCR増幅産物とビーズミックスを反応させ、ビーズミックスに含まれる蛍光ビーズ上のプローブとPCR増幅産物をハイブリダイズさせます。ビーズミックスには、Y染色体に存在するSTSマーカー等を検出するためのプローブを固相したビーズが含まれています。ビーズを洗浄した後、蛍光標識タンパク質であるSA－PE（フィコエリスリン標識ストレプトアビジン）とビーズ・PCR増幅産物複合体を反応させ、PCR増幅産物を蛍光標識します。Luminexシステムを用いてビーズとPEの蛍光を測定し、各STSマーカーの有無を判定します。判定したSTSマーカーのパターンに基づいてY染色体微小欠失の有無や種類を判定します。

本品が検査対象とするSTSマーカーは、Y染色体のSTSマーカー（sY14、sY3118、sY1251、sY1324、sY1316、sY1714、sY1024、sY1967、sY1309、sY3199、sY1233、sY3010、sY2990、sY1197、sY1191、sY1291、sY1307、sY1206、sY2858、sY3159）及び陽性コントロールとするX染色体のsY757です。

［操作上の注意］

1. コンタミネーションの防止方法

本品はPCR増幅を伴うため、コンタミネーションに注意する必要があります。コンタミネーションは、主にエアロゾル、検体などで汚染されたピペットの使用が原因となりますので、検査区域の分割やピペットの専用化がコンタミネーションの防止に効果的です。更に、紫外線照射や0.1％次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度約1,000 ppm）などを用いて作業環境を清浄化することで、コンタミネーションの危険を最小限にすることができます。

本品はPCR増幅反応前にウラシルDNAグリコシラーゼ（UDG）を用いてウラシルを含むDNAを分解し（UDG反応）、PCR増幅産物のキャリーオーバーコンタミネーションによる偽陽性を防止します。しかし、検体由来のコンタミネーションは防止することができませんので、十分な注意が必要です。したがって、次の事項に従うことを推奨します。

(1) 操作を行う場所は、エリア1、エリア2及びエリア3の3区域に分けてください。各エリア専用のピペットとチップなどの器具を用意し、他のエリアとの共用はしないでください。

(2) エリア1では、PCR増幅に用いる試薬の調製と分注を行います。紫外線照射可能なクリーンベンチなどをエリア1として利用すると便利です。

(3) エリア2では、測定試料からのDNA抽出と調製を行います。検体を扱うチップはフィルター付きのものを用いてください。

(4) エリア3では、ハイブリダイゼーション反応及びSA－PE反応に用いる試薬の調製と分注、PCR増幅及び検出を行います。このエリアで使用する器具や保護衣及びPCR増幅産物は、他のエリアに持ち込まないでください。

(5) 実験台、使用器具などが検体やPCR増幅産物で汚染された場合は、用時調製した0.1％次亜塩素酸ナトリウム溶液でよく拭き取ってください。ピペットなどの器具外部の汚染には、0.1％次亜塩素酸ナトリウム溶液による拭き取り、あるいは紫外線照射を行ってください。ピペットなどの内部が汚染された場合は、直ちに使用を中止してください。

(6) 使い捨ての手袋はパウダーフリーの製品を使用してください。手袋のパウダーには酵素反応を阻害する物質を含むものがあり、反応溶液中に混在すると判定結果に影響を及ぼす可能性があります。

2. 測定試料

(1) 検体

全血から抽出したゲノムDNAを検体として用います。全血は、感染性があるものとして注意して取り扱ってください。抗凝固剤としてヘパリンNaを含む採血管は測定結果に影響を与える可能性がありますので、EDTAを含む採血管を使用してください。

(2) 検体（DNA）抽出

遺伝子検査に適したDNA抽出試薬を用いてください。本品での測定にはDNA溶液を5 μL使用します。DNA濃度は、10～20 ng/μLを推奨します。

3. 検体の保管法

抽出したDNAは、DNaseなどのコンタミネーションを避け、－20℃以下で凍結して保管し、1箇月以内に使用してください。

4. PCR増幅産物の取扱い

PCR増幅産物を一時的に保存する場合は、4℃で保存し、できるだけ速やかにハイブリダイゼーション反応に使用してください。4℃での保存は16時間以内としてください。室温で保管すると、わずかに残存するUDG活性によってPCR増幅産物が分解される可能性があります。PCR増幅産物を保存する場合は、－20℃以下で凍結し、1箇月以内に使用してください。凍結保存したPCR増幅産物を使用する際は、できる限り短い時間で融解させ、よく混和してください。

5. 妨害物質

全血に抗凝固剤の成分（EDTA・2Na、EDTA・2K、EDTA・3K、ヘパリンNa）を添加した後に抽出したDNAを測定した結果、ヘパリンNa添加血液から抽出したDNAでは一部のビーズでの結果が陰性化しました。したがって、ヘパリンNa採血管は本品の結果に影響を与える可能性があります。

6. 交差反応性

本品のプライマー、プローブ配列を用いてBLAST検索を行い、交差反応の可能性を検討しました。プライマーとプローブの特異性が低い場合のシミュレーションとして、プライマー領域に3塩基以内のミスマッチがあるときにDNA増幅する可能性、増幅DNAがプローブと反応する可能性を検討した結果、誤判定が生じる可能性は極めて低いと判断しました。

7. その他

ハイブリダイゼーション工程において、油性ペンを用いてプレート上面に着色すると、ウェル内にインク成分が混入して非特異蛍光が生じる場合があります。その結果、偽陽性が生じたり、ビーズアドレスが誤って認識されることがありますので、油性ペンによるプレートの着色は避けてください。やむを得ず使用する場合は、ウェルから十分に離れた場所に着色し、ウェル内やウェル縁に着色しないようにしてください。

［用法・用量（操作方法）］

注意：本品は、Luminexシステムの専用試薬です。Luminexシステムの操作方法に従って測定してください。

また、本検査は熟練を要するため、検体の調製及び操作法を十分に修得するまでは2重測定することをお薦めします。なお、エリア1～3については［操作上の注意］を参照してください。

1. 本品以外に必要な器具・器材・試薬

(1) DNA抽出

1) DNA抽出用試薬
2) DNA抽出に必要な器具・器材
3) 滅菌精製水又はDNA溶解液（1 mmol/L Tris-HCl（pH 8.0）、0.1 mmol/L EDTA）

(2) PCR
1) クリーンベンチ（溶液調製用）
2) マイクロピペット、フィルター付きチップ
3) 増幅反応用PCRプレート（#）
4) プレートシール（#）
5) サーマルサイクラー（アプライドバイオシステムズVRTi Dx（ライフテクノロジーズジャパン株式会社）など）

(3) 検出
1) マイクロピペット（検体が多い場合、5 μL、50 μLを量り取れるマルチチャンネルピペットがあると便利です。）
2) ディスペンサートレイ
3) プレートシール
4) プレートミキサー又はボルテックスミキサー
5) Luminexシステム（一般的名称：遺伝子解析装置）
6) Luminexシステム測定用プレート
7) プレートカバー
8) サーマルサイクラー（アプライドバイオシステムズVRTi Dx（ライフテクノロジーズジャパン株式会社）など）
9) プレート遠心機（Plate Spin Ⅱ（久保田商事株式会社）など）
10) 洗浄機（405プレートウォッシャー（BioTek社)など）
※洗浄機を使用する場合は［問い合わせ先］にお問い合わせください。

(4) その他
1) 紫外線照射箱（コンタミネーション防止用）
2) 0.1％次亜塩素酸ナトリウム溶液（コンタミネーション防止用）

（#）使用するリアルタイムPCR装置のメーカーが推奨するものを使用してください。
必要な器材・試薬の詳細については［問い合わせ先］にお問い合わせください。

2. 試薬の調製法
本品の構成試薬のうち、ハイブリダイゼーション緩衝液、洗浄用緩衝液（10倍濃縮品）及びSA－PE希釈液は室温（20～30℃）に戻してから使用してください。ハイブリダイゼーション緩衝液及び洗浄用緩衝液（10倍濃縮品）は析出する場合がありますので、使用前に完全に溶解していることを確認してください。
マスターミックスは、使用前に完全に融解していることを確認してください。
ビーズミックス中のビーズは沈殿するため、使用前によく混和してください。ビーズミックス、SA－PE及びこれらを用いて調製した試薬は光によって退色するため、試薬調製時以外は遮光してください。

(1) PCR溶液の調製［用時調製］（エリア1で調製してください。）
1テストあたり、マスターミックス20 μLにTaq DNAポリメラーゼ0.15 μL及びウラシルDNAグリコシラーゼ0.125 μLを加えてよく混和します。調製後はすぐに使用してください。

(2) ハイブリダイゼーション溶液の調製［用時調製］（エリア3で調製してください。）
1テストあたり、ハイブリダイゼーション緩衝液20 μLにビーズミックス5 μLを加えてよく混和します。調製後はすぐに使用してください。

(3) 洗浄液の調製［用時調製］（エリア3で調製してください。）
洗浄用緩衝液（10倍濃縮品）を、精製水を用いて10倍に希釈します。

(4) SA－PE溶液の調製［用時調製］（エリア3で調製してください。）
1テストあたり、SA－PE希釈液50 μLにSA－PE 0.5 μLを加えてよく混和します。調製後はすぐに使用してください。

3. 検体の調製
本品は、［操作上の注意］2. 測定試料の注意事項に留意して抽出したDNAを検体として用います。
DNAは遺伝子検査に適した方法で抽出してください。
抽出DNAは、滅菌精製水又はDNA溶解液で10～20 ng/μLに調製します。コンタミネーションを防止するため、エリア2で調製してください。

4. 操作法
注意：本品はPCR増幅を伴うため、検体やPCR増幅産物のコンタミネーションに注意してください。

(1) 増幅反応用PCRプレートの各ウェルにPCR溶液20 μLを分注します。この操作はエリア1で行います。

(2) 各ウェルに検体5 μLを加え、蓋をしてよく混和し、軽い遠心などで溶液をプレートの底に集めます。この操作はエリア2で行います。

(3) 次の条件でPCR増幅を行います。以降の操作はエリア3で行います。
（例示：アプライドバイオシステムズVRTi Dx［9700 Max］の場合）
Hold　40℃ 5分
Hold　95℃ 10分
Cycle　93℃ 30秒、59℃ 30秒、70℃ 1分（45サイクル）
Hold　70℃ 5分
Hold　94℃ 10分
増幅後は、次の操作まで4℃で冷蔵（Hold 4℃ forever）します。16時間以内に次の操作を開始してください。

(4) 新たに準備したLuminexシステム測定用プレートの各ウェルにハイブリダイゼーション溶液25 μLを分注します。

(5) ハイブリダイゼーション溶液分注後の各ウェルにPCR増幅産物5 μLを加え、ピペッティングなどでよく混和し、プレートシールなどで蓋をします。

(6) プレートカバーでプレートと蓋を密着させ、次の条件でハイブリダイゼーション反応を行います。
（例示：アプライドバイオシステムズVRTi Dx［9700 Max］の場合）
Hold　95℃ 2分
Hold　52℃ 30分
反応終了後、速やかに次の操作に移ってください。
サーマルサイクラーのプログラムは、Hold 52℃ 30分の後に、Hold 52℃ forever※を設定してください。
※foreverの段階は放置可能という意味ではありません。

(7) 溶液が飛び散らないように注意して蓋を外し、洗浄操作を行います。

【洗浄機による洗浄】
ハイブリダイゼーション反応後のプレートを洗浄機にセットし、指定のプログラムによって洗浄操作を行います。
※詳細は[問い合わせ先]にお問い合わせください。
【用手法による洗浄】
各ウェルに洗浄液50 μLを加えます。プレート遠心機を用いて2,000×gで1分間又は1,000×gで5分間遠心した後、各ウェルの上清を除去します。この一連の操作を2回行います。

(8) 各ウェルにSA－PE溶液50 μLを加え、ピペッティングなどで混和し、プレートシールなどで蓋をします。プレートカバーでプレートと蓋を密着させ、次の条件でSA－PE反応を行います。
（例示：アプライドバイオシステムズVRTi Dx[9700 Max]の場合）
Hold　52℃ 15分
反応終了後、速やかに次の操作に移ってください。サーマルサイクラーのプログラムは、Hold 52℃ 15分の後に、Hold 37℃ forever※を設定してください。
※foreverの段階は放置可能という意味ではありません。

(9) Luminexシステムにセットし、測定します。

[測定結果の判定法]

判定は、以下のように行います。

1. Index値の算出
NC-1ビーズ以外の判定にはIndex値を用います。Index値は、各ビーズの測定値からNC-1ビーズの測定値を引いて算出してください。

2. ビーズの陽性、陰性判定
NC-1ビーズ以外のビーズは、Index値とカットオフ値を比較し、カットオフ値以上を陽性、カットオフ値未満を陰性と判定してください。
NC-1ビーズは、測定値とカットオフ値を比較し、カットオフ値以上を陽性、カットオフ値未満を陰性と判定してください。

＜カットオフ値＞
以下の3種類のビーズのカットオフ値は750です。
NC-1、sY3199-2、sY1291-1

以下の40種類のビーズのカットオフ値は500です。
sY757-1、 sY757-2、 sY14-1、 sY14-2、 sY3118-1、sY3118-2、sY1251-1、sY1251-2、sY1324-1、sY1324-2、sY1316-1、sY1316-2、sY1714-1、sY1714-2、sY1024-1、sY1024-2、sY1967-1、sY1967-2、sY1309-1、sY1309-2、sY3199-1、sY1233-1、sY1233-2、sY3010-1、sY3010-2、sY2990-1、sY2990-2、sY1197-1、sY1197-2、sY1191-1、sY1191-2、sY1291-2、sY1307-1、sY1307-2、sY1206-1、sY1206-2、sY2858-1、sY2858-2、sY3159-1、sY3159-2

3. 判定パターンへの該当性判定
NC-1ビーズが陽性の場合、当該検体は検査不成立とします。
sY757-1、sY757-2ビーズのいずれか1つ以上が陰性となった場合、当該検体は検査不成立とします。
上記のいずれにも当てはまらない場合、各ビーズの陽性・陰性パターンと判定パターンを比較し、一致するパターンがあるときに当該検体の判定結果を該当パターンとします。一致するパターンが無い場合は判定不能とします。
判定例及びその詳細に関しては、別紙目視判定表を参照してください。
判定の補助として解析ソフトウェア「Luminex解析ソフトウェアUniMAG v2」を使用することで、迅速に判定結果を得ることも可能です。対応可能な解析ソフトウェアのバージョンについては［問い合わせ先］にお問い合わせください。

「判定上の注意」

1. Luminexシステムでの測定が正常に終了していることを確認してから判定してください。Sample emptyなどのエラー表示がある場合、正しい判定結果を得られない可能性があります。
2. プライマーやプローブ結合領域に遺伝子多型がある場合、当該STSマーカーを検出するビーズのみが陰性化する可能性があります。
3. 本品の判定対象外の欠失パターンを有する場合、判定結果が得られない可能性があります。
4. 検査不成立となった場合は、本添付文書の［全般的な注意］及び［操作上の注意］を確認し、必要に応じて再検査を行ってください。

[臨床的意義]

近年、挙児を希望するカップルの約15%が不妊症と言われています。世界保健機関（WHO）は、不妊症の約50%は男性に原因がある（男性のみに原因がある場合が24%、男女ともに原因がある場合が24%）と報告しています。男性不妊症の原因は、造精機能障害、精路通過障害、性機能障害に大別されます。造精機能障害に起因する無精子症や乏精子症では、顕微鏡下精巣内精子採取術（micro-TESE）を用いて精巣から精子を採取し、顕微授精（ICSI）などに用いることがあります。このような治療によって無精子症や乏精子症でも挙児が可能となる一方で、micro-TESEは、侵襲性が高いことや必ずしも精子を得られない場合があることが課題となっています。

micro-TESEで精子を得られない理由の一つとして、Y染色体微小欠失が知られています。本邦の生殖医療ガイドラインには「顕微鏡下精巣内精子採取術前にはY染色体微小欠失検査を行う」と記載されており、micro-TESEを実施する前にY染色体微小欠失検査を行うことが強く推奨されています[3)]。

Y染色体の長腕にはAZF（Azoospermia Factor）領域と呼ばれる領域があり、精子形成に重要な遺伝子がコードされています。AZF領域は大きく3つの領域に分類され、歴史的にAZFa、AZFb、AZFc（AZFbとAZFcは一部重複）と呼ばれています[4)]。AZF領域が欠失すると精子形成に関連する遺伝子が失われて造精機能に影響が及ぶため、一部のAZF領域欠失症例では、micro-TESEによる精子回収の見込みが限りなく低いことが知られています。そのため、AZF領域の欠失はmicro-TESEによる精子回収の予測因子として有用であり、micro-TESEを検討する際に、STSマーカーを用いたY染色体微小欠失検査を行ってAZF領域の欠失

の有無や欠失の種類を確認することが推奨されています[3)]。

Y染色体微小欠失検査の結果、AZFa欠失、AZFb欠失、AZFb+c欠失を含む欠失と判定された場合、micro-TESEによる精子の回収が期待できないため、侵襲及び医療コストの観点からmicro-TESEは推奨できないと考えられています[3)]。一方で、AZFc欠失や、日本人男性の約1/3に認められるAZFc部分欠失（gr/gr）の場合は、micro-TESEによる精子採取が期待できると考えられています。

本品は、日本人男性のY染色体微小欠失検査に有用なSTSマーカーを検出する試薬であり、AZF欠失の有無や欠失の種類を判定することができます。micro-TESEによる精子回収が難しい欠失である場合は、侵襲性の高いmicro-TESEを回避することが可能となります。一方で、micro-TESEによる精子回収の可能性があるAZF欠失の場合は、精子回収の期待値やAZF欠失が子孫に伝播するリスクを認識した上で、micro-TESEの実施判断が可能となり、無精子症や乏精子症の治療方針の決定に有用な情報を提供することができます。

［性能］

1. 性能試験には以下の管理検体を用いました。

管理検体の名称	判定結果
管理検体1	検査対象欠失なし
管理検体2	AZFa欠失
管理検体3	AZFb欠失（P5/proximal P1）
管理検体4	AZFb+c欠失（P5/distal P1）
管理検体5	AZFb+c欠失（P5/distal P1）
管理検体6	AZFc欠失（b2/b4）
管理検体7	AZFc欠失（b2/b4）
管理検体8	Y染色体欠失
管理検体9	Y染色体長腕欠失
管理検体10	Y染色体長腕部分欠失Ⅰ
管理検体11	Y染色体長腕部分欠失Ⅱ
管理検体12	Y染色体長腕部分欠失Ⅲ
管理検体13	Y染色体長腕部分欠失Ⅳ
管理検体14	Y染色体長腕部分欠失Ⅴ
管理検体15	Y染色体長腕部分欠失Ⅵ
管理検体16	AZFc部分欠失（gr/gr）
管理検体17	検査対象欠失なし
管理検体18	Y染色体欠失
管理検体19	判定不能

管理検体19は全てのビーズが陰性となる検体であり、判定上は検査不成立ですが検査自体は成立しているため、判定不能と記載します。

各管理検体における各ビーズの反応性は下表のとおりです。

ビーズ名称	NC-1	sY757-1	sY757-2	sY14-1	sY14-2	sY3118-1	sY3118-2	sY1251-1	sY1251-2	sY1324-1	sY1324-2	sY1316-1	sY1316-2	sY1714-1	sY1714-2	sY1024-1	sY1024-2	sY1967-1	sY1967-2	sY1309-1	sY1309-2	sY3199-1	sY3199-2
カットオフ値	750	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	750
管理検体1		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体2		■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■	□
管理検体3		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体4		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□
管理検体5		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□
管理検体6		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体7		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体8		■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体9		■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体10		■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体11		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体12		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□
管理検体13		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□
管理検体14		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体15		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体16		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体17		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体18		■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体19		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

■ 陽性　□ 陰性

ビーズ名称	sY1233-1	sY1233-2	sY3010-1	sY3010-2	sY2990-1	sY2990-2	sY1197-1	sY1197-2	sY1191-1	sY1191-2	sY1291-1	sY1291-2	sY1307-1	sY1307-2	sY1206-1	sY1206-2	sY2858-1	sY2858-2	sY3159-1	sY3159-2	判定結果
カットオフ値	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	750	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
管理検体1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	検査対象欠失なし
管理検体2	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	AZFa欠失
管理検体3	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	□	□	■	■	■	■	AZFb欠失（P5/proximal P1）
管理検体4	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	□	□	■	■	■	■	AZFb+c欠失（P5/distal P1）
管理検体5	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	□	□	■	■	■	■	AZFb+c欠失（P5/distal P1）
管理検体6	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	■	■	□	□	■	■	AZFc欠失（b2/b4）
管理検体7	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	■	■	■	■	■	■	AZFc欠失（b2/b4）
管理検体8	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体欠失
管理検体9	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体長腕欠失
管理検体10	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体長腕部分欠失Ⅰ
管理検体11	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体長腕部分欠失Ⅱ
管理検体12	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体長腕部分欠失Ⅲ
管理検体13	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体長腕部分欠失Ⅳ
管理検体14	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体長腕部分欠失Ⅴ
管理検体15	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体長腕部分欠失Ⅵ
管理検体16	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■	AZFc部分欠失（gr/gr）
管理検体17	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	検査対象欠失なし
管理検体18	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	Y染色体欠失
管理検体19	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	判定不能

（1）感度試験

管理検体を測定するとき、下表に示す全ての陽性ビーズのIndex値がカットオフ値以上となり、全ての陰性ビーズのIndex値（NC-1ビーズは測定値）がカットオフ値未満を示します。

ビーズ名称	NC-1	sY757-1	sY757-2	sY14-1	sY14-2	sY3118-1	sY3118-2	sY1251-1	sY1251-2	sY1324-1	sY1324-2	sY1316-1	sY1316-2	sY1714-1	sY1714-2	sY1024-1	sY1024-2	sY1967-1	sY1967-2	sY1309-1	sY1309-2
カットオフ値	750	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500
管理検体1		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体2		■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	■	■	■
管理検体3		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□
管理検体4		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□
管理検体5		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□
管理検体6		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体7		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体8		■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体9		■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体10		■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体11		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□
管理検体12		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□
管理検体13		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体14		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体15		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体16		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体17		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体18		■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体19		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

■ 陽性　□ 陰性

ビーズ名称	sY3199-1	sY3199-2	sY1233-1	sY1233-2	sY3010-1	sY3010-2	sY2990-1	sY2990-2	sY1197-1	sY1197-2	sY1191-1	sY1191-2	sY1291-1	sY1291-2	sY1307-1	sY1307-2	sY1206-1	sY1206-2	sY2858-1	sY2858-2	sY3159-1	sY3159-2
カットオフ値	500	750	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	750	500	500	500	500	500	500	500	500	500
管理検体1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体2	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体3	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体4	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体5	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体6	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	■	■
管理検体7	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	□	□	■	■	■	■
管理検体8	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体9	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体10	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体11	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体12	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体13	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体14	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体15	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体16	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体17	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体18	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体19	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

(2) 正確性試験

管理検体を測定するとき、下表に示す全ての陽性ビーズが陽性となり、全ての陰性ビーズが陰性を示します。また、各ビーズの陽性・陰性の組合わせパターンから決定する判定結果が正しい結果を示します。

ビーズ名称	NC-1	sY757-1	sY757-2	sY14-1	sY14-2	sY3118-1	sY3118-2	sY1251-1	sY1251-2	sY1324-1	sY1324-2	sY1316-1	sY1316-2	sY1714-1	sY1714-2	sY1024-1	sY1024-2	sY1967-1	sY1967-2	sY1309-1	sY1309-2	sY3199-1	sY3199-2
カットオフ値	750	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	750
管理検体1		■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体2		■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体3		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体4		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体5		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□
管理検体6		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体7		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体8		■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体9		■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体10		■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体11		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体12		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□	□	□
管理検体13		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□
管理検体14		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体15		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体16		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体17		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
管理検体18		■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
管理検体19		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

■陽性
□陰性

ビーズ名称	sY1233-1	sY1233-2	sY3010-1	sY3010-2	sY2990-1	sY2990-2	sY1197-1	sY1197-2	sY1191-1	sY1191-2	sY1291-1	sY1291-2	sY1307-1	sY1307-2	sY1206-1	sY1206-2	sY2858-1	sY2858-2	sY3159-1	sY3159-2	判定結果
カットオフ値	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	750	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
管理検体1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■		検査対象欠失なし
管理検体2	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■		AZFa欠失
管理検体3	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	■	■	■		AZFb欠失（P5/proximal P1）
管理検体4	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	■	■	■		AZFb+c欠失（P5/distal P1）
管理検体5	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	■	■	■		AZFb+c欠失（P5/distal P1）
管理検体6	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	■		AZFc欠失（b2/b4）
管理検体7	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	□	□	■	■	■		AZFc欠失（b2/b4）
管理検体8	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体欠失
管理検体9	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体長腕欠失
管理検体10	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体長腕部分欠失Ⅰ
管理検体11	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体長腕部分欠失Ⅱ
管理検体12	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体長腕部分欠失Ⅲ
管理検体13	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体長腕部分欠失Ⅳ
管理検体14	■	■	□	□	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体長腕部分欠失Ⅴ
管理検体15	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体長腕部分欠失Ⅵ
管理検体16	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□	□	■	■	■	■	■	■	■		AZFc部分欠失（gr/gr）
管理検体17	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■		検査対象欠失なし
管理検体18	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□		Y染色体欠失
管理検体19	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□		判定不能

(3) 同時再現性試験

管理検体を3回同時に測定するとき、全て正しい判定結果を示します。

2. 最小検出感度

50 ng/反応

3. 較正用基準物質

自社調製品

4. 臨床性能試験成績

本品は主要文献1）及び2）で使用されたY染色体AZF領域の欠失を調べる試薬「GENOSEARCH™ AZF Deletion」と同一のSTSマーカーを対象とし、同等の性能を有します。

そのため、「GENOSEARCH™ AZF Deletion」の文献報告を本品の臨床性能を示す参考データと位置付け、以下に本品が検査対象とするY染色体微小欠失と臨床情報との関連を示します。

(1) 対照法[†1]との相関

欠失の種類	本品	対照法	一致率
AZFa欠失	7例	7例	100%
AZFb欠失（P5/proximal P1）	1例	1例	100%
AZFb+c欠失（P5/distal P1）	12例	12例	100%
AZFc欠失（b2/b4）	63例	63例	100%
Y染色体構造異常[†2]	22例	22例	100%

†1：主要文献1）のin-house kit（PCR法）又は染色体核型分析

†2：Y染色体長腕欠失、Y染色体長腕部分欠失Ⅰ～Ⅵ

(2) Y染色体微小欠失の出現頻度

欠失の種類	出現頻度
AZFa欠失	0.36%（11例/3046例）
AZFb欠失（P5/proximal P1）	0.16%（5例/3046例）
AZFb+c欠失（P5/distal P1）	0.72%（22例/3046例）
AZFc欠失（b2/b4）	3.8%（115例/3046例）
Y染色体欠失	0.07%（2例/3046例）
Y染色体長腕欠失	0.13%（4例/3046例）
Y染色体長腕部分欠失Ⅰ	0.33%（10例/3046例）
Y染色体長腕部分欠失Ⅱ	0.30%（9例/3046例）
Y染色体長腕部分欠失Ⅲ	0.30%（9例/3046例）
Y染色体長腕部分欠失Ⅳ	0.26%（8例/3046例）
Y染色体長腕部分欠失Ⅴ	0.13%（4例/3046例）
Y染色体長腕部分欠失Ⅵ	0.13%（4例/3046例）
AZFc部分欠失（gr/gr）	33.9%（1033例/3046例）
検査対象欠失なし	55.8%（1699例/3046例）
判定不能	3.6%（111例/3046例）

(3) Y染色体微小欠失と顕微鏡下精巣内精子採取術結果の関係

欠失の種類	顕微鏡下精巣内精子採取術の結果	
	精子回収できた頻度	95%信頼区間
AZFb+c欠失（P5/distal P1）	0%（0例/1例）	-
Y染色体長腕部分欠失Ⅰ	0%（0例/1例）	-
Y染色体長腕部分欠失Ⅱ	0%（0例/1例）	-
Y染色体長腕部分欠失Ⅴ	0%（0例/1例）	-
AZFc欠失（b2/b4）	60.0%（6例/10例）	26.2～87.8%
AZFc部分欠失（gr/gr）	18.7%（17例/91例）	11.2～28.2%
検査対象欠失なし	28.7%（39例/136例）	21.2～37.1%

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 取扱い上の注意
   (1) 本品に用いる検体は全血由来のDNAです。全血はHIV、HBV、HCV等の感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。
   (2) コンタミネーションを防止するために紫外線を照射する場合は、紫外線ランプを直視したり、照射したまま作業しないでください。
   (3) 試薬が目や口に入った場合は、水で十分に洗い流すなどの応急措置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。
   (4) 試薬及び検体を調製する際に、口でピペットを扱わないでください。
   (5) ハイブリダイゼーション緩衝液には特異臭があります。強く吸い込まないように注意してください。

2. 使用上の注意
   (1) 外箱記載の使用期限を過ぎた試薬は、測定値及びIndex値の信頼性を保証できませんので、使用しないでください。
   (2) 異なる製品ロットの試薬を混合したり、組み合わせたりして使用しないでください。また、同一の製品ロットであっても試薬を注ぎ足すことはしないでください。
   (3) 開封後はなるべく早く使用し、保存する場合は蓋を閉めて指定の方法で保存してください。マスターミックスは－15～－35℃で保存できますが、凍結融解回数は6回以内としてください。Taq DNAポリメラーゼ及びウラシルDNAグリコシラーゼは室温に放置すると失活する可能性がありますので、－15～－35℃で保存してください。
   (4) 試薬の調製に使用する容器や器具は、清浄なものを使用してください。
   (5) ヒトゲノムDNAを含まないサンプルの結果については、測定値及びIndex値の信頼性を保証いたしません。

3. 廃棄上の注意
   (1) 検体は感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。検査に使用した器具は、次のいずれかの方法で処理してください。
   ・2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸漬する。
   ・0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸漬する。
   試薬及び器具などを廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法などの規定に従って処理してください。
   (2) マスターミックス、ビーズミックス、ハイブリダイゼーション緩衝液、洗浄用緩衝液（10倍濃縮品）、SA－PE希釈液及びSA－PEには、0.05%のアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは、鉛管、銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成することがありますので、これらの試薬を廃棄する際は大量の水と共に流してください。

[貯蔵方法・有効期間]

構成試薬のうち
①マスターミックス
⑦Taq DNAポリメラーゼ
⑧ウラシルDNAグリコシラーゼ
は－15～－35℃で保存してください。
その他の試薬は凍結を避けて2～8℃で保存してください。
②ビーズミックス
⑥SA－PE
は遮光保存してください。

*有効期間はキットとして12箇月です（使用期限は外箱に記載されています）。

[包装単位]

1キット24回包装

製品コード	製品名
GS-N0211	MEBGEN AZF Deletion キット（冷凍品）
GS-N0212	MEBGEN AZF Deletion キット（冷蔵品）

[主要文献]

1）Iijima, M. et al. Int J Urol. 2014, vol. 21, p. 910-916.
2）Iijima, M. et al. Asian J Androl. 2020, vol. 22, p. 368-371.
3）一般社団法人　日本生殖医療学会. 生殖医療ガイドライン
4）Vogt, P. H., et al. Hum Mol Genet. 1996, vol. 5, p. 933-943.

[問い合わせ先]

株式会社医学生物学研究所　学術部
〒105-0012　東京都港区芝大門二丁目１１番８号
住友不動産芝大門二丁目ビル
TEL：03-6854-3613　E-mail：kensa@mbl.co.jp

**[製造販売元]

株式会社医学生物学研究所
〒105-0012　東京都港区芝大門二丁目１１番８号
住友不動産芝大門二丁目ビル
TEL：03-6684-6860　FAX：03-6854-3615

下記は株式会社医学生物学研究所の登録商標です。
「MEBGEN」（登録商標　第5350681号）
「UniMAG」（登録商標　第5521789号）

別紙：目視判定表

判定結果	ビーズ名称																																										
	NC−1	sY757−1	sY757−2	sY14−1	sY14−2	sY3118−1	sY3118−2	sY1251−1	sY1251−2	sY1324−1	sY1324−2	sY1316−1	sY1316−2	sY1714−1	sY1714−2	sY1024−1	sY1024−2	sY1967−1	sY1967−2	sY1309−1	sY1309−2	sY3199−1	sY3199−2	sY1233−1	sY1233−2	sY3010−1	sY3010−2	sY2990−1	sY2990−2	sY1197−1	sY1197−2	sY1191−1	sY1191−2	sY1291−1	sY1291−2	sY1307−1	sY1307−2	sY1206−1	sY1206−2	sY2858−1	sY2858−2	sY3159−1	sY3159−2
検査対象欠失なし		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
AZFa欠失		■	■	■	■	■	■	■	■							■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			■	■	■	■	■	■	■	■
AZFb欠失（P5/proximal P1）		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																					■	■	■	■	■	■	■	■
AZFb+c欠失（P5/distal P1）		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																									■	■	■	■
AZFb+c欠失（P5/distal P1）		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																							■	■	■	■
AZFc欠失（b2/b4）		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■												■	■
AZFc欠失（b2/b4）		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■										■	■	■	■
Y染色体欠失		■	■																																								
Y染色体長腕欠失		■	■	■	■	■	■																																				
Y染色体長腕部分欠失Ⅰ		■	■	■	■	■	■	■	■																																		
Y染色体長腕部分欠失Ⅱ		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																												
Y染色体長腕部分欠失Ⅲ		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																										
Y染色体長腕部分欠失Ⅳ		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																						
Y染色体長腕部分欠失Ⅴ		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																		
Y染色体長腕部分欠失Ⅵ		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■													
AZFc部分欠失（gr/gr）		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■

■ 陽性　□ 陰性　▒ 陽性又は陰性

測定フローチャート MEBGEN™ AZF Deletion キット

PCR溶液調製 ☆

マスターミックス	20.0 µL/reaction
DNAポリメラーゼ	0.15 µL/reaction
ウラシルDNAグリコシラーゼ	0.125 µL/reaction

PCR溶液
20 µL/well 分注

＜エリア1＞
PCR増幅に用いる試薬の調製と分注
紫外線照射可能なクリーンベンチなどをご利用ください。
このエリア専用のピペットを用意し、
フィルター付きチップを使用してください。

☆ 各数値は1反応あたりの必要量です。複数検体分の溶液を調製する際は、チップやチューブ等に残存する分を考慮して調製することをお薦めします。

マスターミックスは、使用前に完全に融解していることを確認してください。

検体(抽出DNA)調製
10～20 ng/µL推奨

検体
5 µL/well 添加

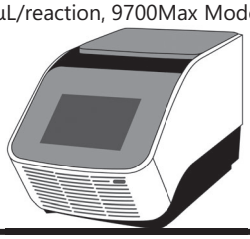
＜エリア2＞
測定試料からのDNA抽出と調製
このエリア専用のピペットを用意し、
フィルター付きチップを使用してください。

蓋をしてよく混和し、軽い遠心などで溶液をプレートの底に集めてください。

PCR増幅

40℃, 5 min
↓
95℃, 10 min
↓
【93℃, 30 sec → 59℃, 30 sec → 70℃, 1 min】×45 cycles
↓
70℃, 5 min
↓
94℃, 10 min
↓
4℃, forever ※

アプライドバイオシステムズVRTi Dx
25 µL/reaction, 9700Max Mode



＜エリア3＞
検出反応に用いる試薬の調製と分注、
PCR増幅及び検出操作
このエリア専用のピペットご用意ください。
このエリアで使用する器具や保護衣及び
PCR増幅産物は他のエリアに持ち込まないでください。
(コンタミネーションの原因になります)

※ forever の段階は、放置可能という意味ではありませんのでご注意ください。

ハイブリダイゼーション溶液調製 ☆

ハイブリダイゼーション緩衝液 20 µL/reaction	ビーズミックス 5 µL/reaction

成分が析出する場合がありますので、
完全に溶解していることを確認し、室温
(20℃～30℃)に戻してから使用してください。

ビーズは沈殿するため、
使用前によく混和してください。
残りのビーズミックスは遮光して保存してください。

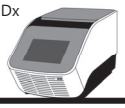
ハイブリダイゼーション溶液
25 µL/well 分注

PCR増幅産物
5 µL/well 添加

ピペッティングもしくはプレートミキサーで混和してください。

ハイブリダイゼーション反応
95℃, 2 min
↓
52℃, 30 min
↓
52℃, forever ※

アプライドバイオシステムズVRTi Dx
30 µL/reaction,
9700Max Mode



ハイブリダイゼーション反応終了後、速やかに洗浄操作を行ってください。

**Luminex®
システムの起動
スタートアップ**

起動後4時間以上放置すると
レーザー消えウォームアップに30分かかります。



用手法による洗浄操作の場合

洗浄液
50 µL/well 添加

洗浄液調製 ☆

洗浄用緩衝液 (10倍濃縮品) 10 µL/reaction	精製水 90 µL/reaction

成分が析出する場合がありますので、完全に溶解していることを確認し、
室温(20℃～30℃)に戻してから使用してください。

遠心分離
2000×g, 1 min
もしくは
1000×g, 5 min

上清除去

洗浄液
50 µL/well 添加

遠心分離
2000×g, 1 min
もしくは
1000×g, 5 min

上清除去

ハイブリダイゼーション反応終了前に調製し遮光してください。

SA-PE溶液調製 ☆

SA-PE 0.5 µL/reaction	SA-PE 希釈液 50 µL/reaction

残りのSA-PEは遮光保存してください。

室温(20℃～30℃)に戻してから
使用してください。

SA-PE溶液
50 µL/well 添加

SA-PE溶液添加後、ピペッティングもしくはプレートミキサーで混和し、速やかにSA-PE反応を行ってください。

**スタートアップ終了確認
Batch 作成**

SA-PE反応
52℃, 15 min
↓
37℃, forever ※

アプライドバイオシステムズVRTi Dx
50 µL/reaction,
9700Max Mode



Luminex®システムでの測定

結果の判定

Luminex®解析ソフトウェアUniMAG™ v2によって迅速な判定が可能です。