DUPAN－2抗原キット

デタミナーDUPAN－2　N

〈ELISAプレート法〉　製造販売承認番号20700AMZ00837000

【全般的な注意】

1. 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下さい。
2. 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下さい。
＊＊3. 電子添文以外の使用方法については保証を致しません。
＊＊4. 使用する機器の電子添文および取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。
5. 標準試薬1～5および検体希釈液はアジ化ナトリウム(使用時に0.1％以下)を含有しております。誤って目や口に入れたり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。
6. 標準試薬1～5はヒト由来成分を含んでいます。感染性のあるものとして取扱って下さい。

【形状・構造等(キットの構成)】

1. 抗体コートプレート
   抗ＤＵＰＡＮ－２マウスモノクローナル抗体
2. 酵素標識抗体
   パーオキシダーゼ標識抗ＤＵＰＡＮ－２マウスモノクローナル抗体
3. 酵素標識抗体溶解液
4. 基質液
   3，3'，5，5'－テトラメチルベンジジン(ＴＭＢ)
5. 標準試薬1
6. 標準試薬2
7. 標準試薬3
8. 標準試薬4
9. 標準試薬5
10. 検体希釈液
11. 反応停止液
12. 濃縮洗浄液

【使用目的】

血清中のヒト癌関連糖鎖抗原(ＤＵＰＡＮ－２抗原)の測定(悪性腫瘍の診断補助等)

【測定原理】

本法はマイクロタイタープレートを固相担体とするサンドイッチEIA法です。抗ＤＵＰＡＮ－２モノクローナル抗体[1)2)]が固相化されたウェルに検体を加えると、ＤＵＰＡＮ－２抗原量に対して抗原－抗体複合物が形成されます。未反応の検体を洗浄除去後、酵素(パーオキシダーゼ)標識抗ＤＵＰＡＮ－２モノクローナル抗体を加え、抗体－ＤＵＰＡＮ－２抗原－酵素標識抗体の免疫複合体を形成します。未結合の酵素標識抗体を洗浄除去後、基質液(TMB)と反応させ発色させます。反応停止後、主波長450nm、副波長610～670nmの吸光度をプレートリーダーを用いて測定します。同時に測定した各種濃度のＤＵＰＡＮ－２標準抗原液の吸光度から作成した検量線を用いて、検体中のＤＵＰＡＮ－２抗原濃度(自社設定単位：U/mL)を算出します。

【操作上の注意】

1. **測定試料の性質、採取法**
   (1)測定試料には、血清を用いて下さい。
   (2)検体は2～8℃で保存し、採血後1週間以内に測定して下さい。長期保存する場合は密栓して－20℃以下で凍結保存して下さい[3)]。
   (3)加熱処理した血清は使用しないで下さい。
2. **妨害物質**
   共存物質の影響は、下記濃度まで認められませんでした。

妨害物質	影響を及ぼさない濃度	妨害物質	影響を及ぼさない濃度
溶血ヘモグロビン	1000mg/dL	乳び	2000FTU
遊離型ビリルビン	40mg/dL	リウマチ因子	500IU/mL
抱合型ビリルビン	40mg/dL	アスコルビン酸	20mg/dL

3. **その他**
   (1)検体測定時にはプレート毎に検量線を必ず作成して下さい。
   (2)良い再現性を得るためには次の事項を守って下さい。
   ①ピペッティングは正確に行って下さい。
   ②洗浄操作は丁寧に行って下さい。また、プレートのウェルが乾燥しないように、洗浄操作や試薬の分注は迅速に行ってください。洗浄時はウェルに傷をつけないよう注意して下さい。
   (3)操作は直射日光等強い光を避けて行って下さい。
   (4)検体は本品の検体希釈液を用いて希釈して下さい。他の検体希釈液を用いると正しい結果が得られない場合があります。
   (5)反応は、恒温槽全体に蓋をするなどしてプレート内の温度と湿度が均一になるようにして下さい。
   (6)吸光度測定前にはウェルの下部をきれいにしておいて下さい。
   (7)クロマト用金属製シリンジは反応を阻害するので、使用しないで下さい。
   (8)試料(検体、標準液など)および試薬用のピペットチップは別々に使用して下さい。これらを共有した場合、クロスコンタミを起こし誤差の原因となります。

【用法・用量(操作方法)】

1. **試薬の調製法**
   測定前に本品を室温に戻してから使用して下さい。
   (1)標準試薬1～5
   標準試薬1～5に0.5mLの精製水を加え標準液1～5とします。また、0U/mLのＤＵＰＡＮ－２標準抗原は検体希釈液を使用します。
   (2)酵素標識抗体
   酵素標識抗体1バイアルに酵素標識抗体溶解液を全量加え溶解し、酵素標識抗体液とします。
   (3)濃縮洗浄液
   精製水1350mLに濃縮洗浄液150mLを加えて均一に希釈し洗浄液とします。
   (4)その他の試薬
   そのままご使用下さい。
2. **必要な器具・器材・試料等**
   (1)20μL・50μL・100μLマイクロピペットおよびチップ
   (2)マイクロタイタープレート用手動または自動洗浄器
   (3)マイクロタイタープレートミキサー
   (4)恒温槽(プレート底面が水浴できるような30℃恒温水槽)
   (5)マイクロタイタープレートリーダー(フィルター：主波長450nm、副波長650nm)
   (6)データ処理用コンピューター
3. **測定法**
   (1)抗体コートプレートの準備
   抗体コートプレートからシールをはがし、全ウェルを350μLの精製水で2回洗浄してください。
   (2)標準液および検体の添加
   ①プレートの各ウェル(標準液ウェルおよび検体ウェル)に検体希釈液を100μLずつ添加します。
   ②各標準液および検体を20μLずつウェルに分注します。
   ③添加後プレートを振盪し、ウェル内の内容液を十分に混和します。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	0	⑤	⑬	㉑	㉙	㊲	㊺	㊸	㊶	㊾	㊼
B	S1	S1	⑥	⑭	㉒	㉚	㊳	㊻	㊹	㊷	㊿	㊽
C	S2	S2	⑦	⑮	㉓	㉛	㊴	㊼	㊺	㊸	㊶	㊾
D	S3	S3	⑧	⑯	㉔	㉜	㊵	㊽	㊻	㊹	㊷	㊿
E	S4	S4	⑨	⑰	㉕	㉝	㊶	㊾	㊼	㊺	㊸	㊶
F	S5	S5	⑩	⑱	㉖	㉞	㊷	㊿	㊽	㊻	㊹	㊷
G	①	③	⑪	⑲	㉗	㉟	㊸	㊶	㊾	㊼	㊺	㊸
H	②	④	⑫	⑳	㉘	㊱	㊹	㊷	㊿	㊽	㊻	㊹

プレートの検体添加方法例
0：ブランク(検体希釈液)
S1～S5：標準液1～5
①～㊹：検体

(3)プレートの底面を30℃恒温槽の水浴上に浸し、恒温槽全体に蓋をするなどして、30℃、2時間反応させます。
(4)洗浄
全ウェルを350μLの洗浄液で3回洗浄します。洗浄後、紙タオル等の上にプレートを逆さにしてたたきつけ、ウェル内水滴を完全に除去します。
(5)酵素標識抗体液の添加
酵素標識抗体液を全ウェルに100μLずつ分注します。
(6)プレートの底面を30℃恒温槽の水浴上に浸し、恒温槽全体に蓋をするなどして、30℃、2時間反応させます。
(7)洗浄
全ウェルを350μLの洗浄液で4回洗浄します。洗浄後、紙タオル等の上にプレートを逆さにしてたたきつけ、ウェル内水滴を完全に除去します。
(8)発色反応
基質液を全ウェルに100μLずつ分注します。
(9)プレートの底面を30℃恒温槽の水浴上に浸し、恒温槽全体に蓋をするなどして(遮光)、30℃、30分間反応させます。
(10)反応停止液の添加
反応停止液を全ウェルに50μLずつ分注します。添加後プレートを振盪し、ウェル内の内容液を十分に混和し、反応を停止させます。
(11)吸光度の測定
反応停止後、マイクロタイタープレートリーダーを用いて、主波長450nm(副波長：650nm)の吸光度を測定します。検量線よりＤＵＰＡＮ－２抗原濃度(U/mL)を算出します。

<全自動マイクプレート分析装置への適用>
全自動マイクロプレート分析装置をご使用になる場合は、測定パラメータ等について当社までお問い合わせください。

【測定結果の判定法】

1. 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果等と合わせて、担当医師が総合的に判断して下さい。
2. ＤＵＰＡＮ－２標準液(0濃度の検体希釈液を含む6濃度)の各濃度における吸光度の平均値を求めます。片対数グラフを使用し、横軸にＤＵＰＡＮ－２標準液の濃度を、縦軸に吸光度の平均値をプロットして検量線を作成します。検体の吸光度を検量線と照合し、検体中のＤＵＰＡＮ－２抗原濃度(U/mL)を求めます。検体の吸光度が、検量線の吸光度の範囲を超えた場合には、検体を検体希釈液でさらに希釈して再測定して下さい。
注　ＤＵＰＡＮ－２抗原構造の多様性により、希釈直線性が不良となる検体が希に存在します。
<参考カットオフ値>
スクリーニング用[4]：150U/mL
鑑別診断(癌と良性疾患)の補助用[5]：400U/mL
3. ＤＵＰＡＮ－２の膵癌・胆道系癌に対する特異性は絶対的なものではなく、他の消化器癌を中心とする悪性疾患や良性の肝疾患(肝硬変、肝炎、胆石など)においてもＤＵＰＡＮ－２の上昇が報告されており、判定には注意が必要です[6)7)8)]。

【性能】

自社施設において、自社試験方法に従い、感度、正確性、同時再現性、測定範囲の試験を行った結果は以下のとおりでした。

1. **感度**
   (1)検体希釈液を試料として操作した場合の吸光度は0.000～0.100でした。
   (2)1600U/mLの標準液を試料として操作した場合の吸光度は1.200～2.000でした。
2. **正確性**
   既知濃度の弱陽性、中陽性、強陽性の管理血清を測定するとき、既知濃度の±15％以内でした。
3. **同時再現性**
   既知濃度の弱陽性、中陽性、強陽性の管理血清を3回同時に測定するとき、濃度の変動係数(CV値)は15％以下でした。
4. **測定範囲**
   既知濃度の高ＤＵＰＡＮ－２検体を検体希釈液を用いて希釈後測定するとき、25～1600U/mLで希釈直線性が得られました。
5. **相関性**
   本品とデタミナーＤＵＰＡＮ－２の相関は、相関係数0.993、回帰式y=0.995x+2.4(y=本品、x=デタミナーＤＵＰＡＮ－２)と良好な相関を示しました。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. **取扱い上(危険防止)の注意**
   (1)検体はHBV、HCV、HIV等による感染の危険性があります。検体の取扱いには、使い捨て手袋・実験着・保護用眼鏡等を着用し､感染防止のため人体に直接触れないように注意して下さい。測定後はよく手を洗って下さい。
   (2)標準試薬1～5はヒト由来成分を含んでいます。HBs抗原、HCV抗体およびHIV抗原・抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていますが、その他の感染因子を含んでいることも考えられます。標準試薬1～5の取扱いには、使い捨て手袋・実験着・保護用眼鏡等を着用し、感染防止のため人体に直接触れないように注意して下さい。測定後はよく手を洗って下さい。
   (3)検体および試薬を扱う場合には、口によるピペッティングを行わないで下さい。
   (4)試薬が誤って目や口に入った場合には、直ちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。
   (5)標準試薬1～5および検体希釈液にはアジ化ナトリウムを含有しております。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。
   (6)試薬をこぼした場合は、水で希釈した後拭き取って下さい。検体、標準試薬1～5および標準液1～５をこぼした場合は、80％アルコールスプレー等を使用し充分に拭き取って下さい。なお、拭き取る際にはゴム製手袋等により手を保護して下さい。
   (7)本品中の酵素標識抗体、標準試薬1～5を開封する場合は、アルミキャップを矢印の方向に溝の片側が切れるまでゆっくり引き、切れた反対側に回転させて取り除いて下さい。アルミ部分が残った場合は、素手で取らずペンチ等で取り除いて下さい。
   (8)検体および本品を取扱う場所では飲食または喫煙をしないで下さい。
2. **使用上の注意**
   (1)ウェルを再使用しないで下さい。
   (2)本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存して下さい。凍結させた試薬は品質が変化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないで下さい。
   (3)使用期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。
   (4)製造番号の異なる試薬を組み合わせて使用しないで下さい。
   (5)試薬の外観に異常がある場合は使用しないで下さい。
   (6)反応停止液は硫酸を含みますので皮膚などに付かないよう取扱いには十分注意して下さい。
3. **廃棄上の注意**
   (1)検体にはHBV、HCV、HIV等の感染性のものが存在する場合があります。また、標準試薬1～5はヒト由来成分を含んでいます。これらを使用した器具、廃液などは次のいずれかの方法で処理するか、各施設の感染性医療廃棄物処理マニュアルに従って処理して下さい。
      ①オートクレーブにより121℃で20分以上滅菌処理すること。ただし、次亜塩素酸ナトリウム溶液を含む廃棄物は、オートクレーブにかけないこと。
      ②次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度1000ppm)またはグルタルアルデヒド(2％)に1時間以上浸漬し消毒処理すること。
   (2)試薬および器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理および清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理して下さい。
   (3)標準試薬1～5および検体希釈液にはアジ化ナトリウムを含有しております。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので、試薬廃棄の際には、排水管に残留しないよう十分量の水で希釈して洗い流してください。
   (4)廃棄処理中に試薬が飛散した場合は、水で希釈してから拭き取って下さい。また検体、標準試薬1～5および標準液1～５が飛散した場合は、80％アルコールスプレー等を使用して充分に拭き取って下さい。なお、拭き取る際にはゴム製手袋等により手を保護して下さい。
   (5)本品中の容器等は他の目的に転用しないで下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2～8℃に保存(冷暗所に保存し、凍結は絶対に避けて下さい。)
有効期間：12ヵ月(使用期限は外箱に記載)

【包装単位】

製品名	包装サイズ	商品コード
デタミナーＤＵＰＡＮ－２　Ｎ	96回用	61342-8

包装形態につきましては弊社までお問い合わせください

【主要文献】

1)Metzger,R.S.Cancer Res.,42,601,1982
2)Lan,M.S.et al.,Cancer Res.,45,305,1985
3)桜林郁之介 他、臨床病理、34、705、1986
4)張正和 他、膵臓、1、69、1986
5)竹森康弘 他、癌と化学療法、14、119、1987
6)高見博 他、癌と化学療法、13、3207、1986
7)市原透 他、膵臓、2、13、1987
8)山本晋一郎 他、胆と膵、10、759、1989

＊＊＊【問い合わせ先】

キヤノンメディカルダイアグノスティックス株式会社　学術担当
〒104-6004　東京都中央区晴海1-8-10
ダイヤルイン 03-6219-7608　FAX 03-6219-7614

＊＊製造販売元
＊キヤノンメディカルダイアグノスティックス株式会社
東京都中央区晴海 1-8-10