

＊＊

ご使用に際しては、本電子添文をよくお読みください

体外診断用医薬品

※※2024年 9 月改訂 (第 8 版)
 ※2015年10月改訂 (第 7 版)

認証番号
 21200AMZ00144000

Ⅳ型コラーゲンキット パナウリア[®] uⅣ・C「プレート」 (尿中Ⅳ型コラーゲン測定用試薬)

[全般的な注意]

1. 本品は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用できません。
 2. 測定結果に基づく臨床判断は、臨床症状や他の検査結果などと合わせて担当医師が総合的に判断してください。
 ＊＊
 3. この電子添文に記載された使用方法に従って使用してください。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、測定値の信頼性を保証しかねます。
 4. 測定には使用目的に記載してある検体種を使用してください。
 5. CL-Ⅳ標準品はヒト由来成分が含まれており、感染の危険性がありますので、使用に際しては感染性のあるものとして十分注意して取扱ってください。

[形状・構造等（キットの構成）]

No.	構成試薬	性状	規 格	備 考
①	抗体結合プレート	乾燥	96ウェル× 1 枚	マウス抗ヒトⅣ型コラーゲンモノクローナル抗体結合プレートです。
②	酵素標識抗体液	液状	20mL× 1 本	ペルオキシダーゼ標識マウス抗ヒトⅣ型コラーゲンモノクローナル抗体（24μg/バイアル）を含みます。
③	発色液	液状	15mL× 1 本	3,3', 5,5'-テトラメチルベンジジン（1.5mg/バイアル）および過酸化水素水（30％）（3.0μL/バイアル）を含みます。
④	停止液	液状	15mL× 1 本	
⑤	緩衝液	液状	10mL× 1 本	
⑥-1	CL-Ⅳ標準品	液状	1 mL× 1 本	0.8ngのヒトⅣ型コラーゲンを含みます。
⑥-2	CL-Ⅳ標準品	液状	1 mL× 1 本	3.2ngのヒトⅣ型コラーゲンを含みます。
⑥-3	CL-Ⅳ標準品	液状	1 mL× 1 本	12.5ngのヒトⅣ型コラーゲンを含みます。
⑥-4	CL-Ⅳ標準品	液状	1 mL× 1 本	50ngのヒトⅣ型コラーゲンを含みます。
⑦	濃縮洗浄液	濃縮液	50mL× 2 本	

付属品：プレートシール 1 枚

[使用目的]

尿中Ⅳ型コラーゲンの測定

[測定原理]

1. 測定原理

パナウリアuⅣ・C「プレート」はヒトⅣ型コラーゲン分子（CL-Ⅳ）上の異なる部位を認識する 2 種類のモノクローナル抗体を用いた 1 ステップサンドイッチ酵素免疫測定法（Enzyme Immunoassay；EIA法）に基づき、尿中Ⅳ型コラーゲン（uⅣ・C）を測定するキットです^{1, 2)}。抗CL-Ⅳ抗体を結合させたプレートと、検体中のuⅣ・Cおよび酵素標識抗体を同時に反応させると、 3 者のサンドイッチ複合体が形成されます。uⅣ・Cを介して抗体結合プレートに結合している酵素量を発色剤の存在下で、過酸化水素を基質として測定します。酵素の量は検体中のuⅣ・C濃度に依存するので、既知濃度の標準液を用いて作成した標準曲線から、検体中のuⅣ・C濃度を求めることができます。

2. 特徴

- (1) 抗体結合プレートおよび酵素標識抗体に用いたモノクローナル抗体は、検体中uⅣ・Cを特異的に認識します。
 (2) 酵素標識抗体は、Fab'ヒンジ領域の－SH基に酵素を標識したものであり、非特異的結合が抑えられています。

[操作上の注意]³⁾

1. 測定試料の性質、採取法

- (1) 検体は新鮮な尿を使用してください。
 (2) 検体を採取後、別売品の専用容器に移し替えてください。冷蔵で 1 週間安定です。
 (3) 検体の凍結は避けてください。

2. 妨害物質

- (1) ビリルビン0.2mg/mLまで測定値に影響は認められません。
 (2) ヘモグロビン4.8mg/mLまで測定値に影響は認められません。
 (3) クレアチニン3mg/mLまで測定値に影響は認められません。

3. その他

- (1) 全ての試薬は、使用前に予め反応温度にしておき、溶解する際は泡立てないように穏やかに混和してください。
 (2) 抗原抗体反応時には、プレートシールをしっかりと貼ってください。蒸発により反応液が濃縮され、吸光度が高くなる場合があります。
 (3) 本品はマイクロプレートリーダー専用品です。
 (4) 吸光度は、ウェル間の誤差を補正するため、対照波長を630nm近辺に設定して測定してください。
 (5) 洗浄操作は中断せず、一連の操作で行ってください。
 (6) 多数検体を測定するときは、各ステップで各ウェルの反応時間が定められた時間に統一できるように留意してください。
 (7) 検体の濃度が測定範囲を超える場合は、検体を緩衝液で希釈して再測定してください。
 (8) 各反応は時間、温度等の影響を若干受けますので、測定の都度、標準曲線を作成してください。

[用法・用量（操作方法）]

1. 使用器具および装置

- (1) メスシリンダー（500mL）
 (2) マイクロピペット（50μL）
 (3) マルチピペット（100、150μL）
 (4) アスピレーター
 (5) マイクロプレートリーダー（垂直透過型、450nm）

2. 試薬の調製法

試 薬	調 製 法	調製後の安定性 ^{※1}
1 洗浄液	精製水450mLに⑦濃縮洗浄液50mLを加えて混和し、洗浄液とします。	2 ～ 8℃ 1 カ月
2 標準曲線用標準液	⑥-1～⑥-4 CL-Ⅳ標準品を、そのまま標準曲線用標準液（0.8, 3.2, 12.5, 50ng/mL）として使用します。0 ng/mLには⑤緩衝液をそのまま使用します。	2 ～ 8℃ 12カ月
上記以外の試薬	①抗体結合プレート、②酵素標識抗体液、③発色液、④停止液、⑤緩衝液をそのまま使用します。	2 ～ 8℃ 12カ月

※1 調製後 2 ～ 8℃で保存した試薬は、使用前に反応温度に戻してから使用してください。また、抗体結合プレート（8ウェル×12ストリップ）は分割できますので、必要数用意し、使用しないストリップは元のアルミシールバッグに戻してください。

3. 測定（操作）法

(1) 操作法一覧表

	検 体	標 準
抗体結合プレート	1ウェル	1 ウェル
酵素標識抗体液	150μL	150μL
サ ン プ ル	50μL	50μL
[抗原抗体反応] (第 1 反 応)	混和後、20～27℃で24時間静置する。	
[洗 浄]	抗原抗体反応液をアスピレーターで吸引除去し洗浄液350μLを用いて 5 回洗浄する。	
発 色 液	100μL	100μL
[酵 素 反 応] (第 2 反 応)	20～27℃で正確に60分間静置する。	
停 止 液	100μL	100μL
[比 色]	波長450nmで吸光度を測定する。	

(2) 反応操作手順

酵素標識抗体液
150 μL

↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓

検体 50 μL

↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓

標準曲線用標準液 50 μL

↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓

20～27℃

↓

24時間

アスピレーター

↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑

↓

洗浄液 350 μL

↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓

アスピレーター

↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑

5 回繰り返す

↑

↓

発色液 100 μL

↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓

20～27℃

↓

60分間

停止液 100 μL

↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓

↓

比色 (450nm)

抗原抗体反応（第 1 反応）

1) ①抗体結合プレートに②酵素標識抗体液 150μLを加えます。
 2) 各濃度の標準曲線用標準液（0～50ng/mL）および検体を50μL加えます。
 3) 混和後、20～27℃で24時間静置します。
 [プレートシールをしっかりと貼ってください]

洗 浄

4) 反応液をアスピレーターで吸引除去し、洗浄液350μLを加えた後、吸引除去します。洗浄液の残りをペーパータオル等で除いてください。
 この操作をさらに 4 回繰り返します。
 (計 5 回)

酵素反応（第2反応）

5) ③発色液100μLを一定時間毎に加え、20～27℃で正確に60分間静置します。
 6) ④停止液100μLを一定時間毎に加え、酵素反応を停止します。

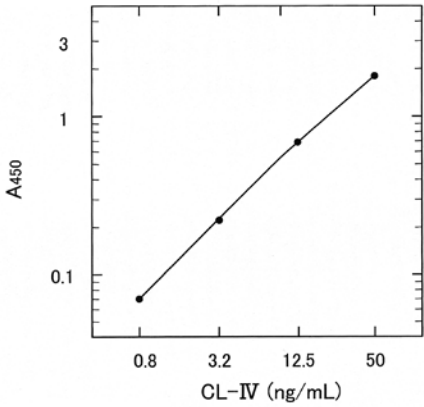
比色

7) 反応停止後30分以内に、波長450nmでの吸光度を測定します。
 [対照波長は630nm近辺に設定してください]

428－B7

4. 濃度の算出法

- (1) グラフ用紙（両対数）の横軸にCL-Ⅳ濃度（0.8～50ng/mL）を、縦軸に450nmの吸光度をとり、各標準曲線用標準液の吸光度から0 ng/mLの吸光度を差し引いた値をプロットします。
- (2) 4点を通るなめらかな標準曲線を作成します。
- (3) 各検体の吸光度から0 ng/mLの吸光度を差し引いた吸光度に対応する濃度を、標準曲線から求めます。



〈標準曲線例〉

〔測定結果の判定法〕

- 1. 早朝第一尿参考基準上限値⁴⁾
40歳以上：4.9μg/g・Cr以下
30歳代：4.0μg/g・Cr以下
- 2. 随時尿（早朝第一尿を除く随時尿）参考基準上限値⁵⁾
7.3μg/g・Cr以下

〔性能〕

所定の操作法に従い測定したとき、以下の性能を示します。

- 1. 感度
標準曲線上0.8ng/mLおよび50ng/mLのA₄₅₀値から0 ng/mLのA₄₅₀値を差し引いた値はそれぞれ0.01～0.06および1.0～3.0です。
- 2. 正確性
濃度既知の管理検体を測定するとき、測定値は既知濃度の±20%以内です。
- 3. 同時再現性
同一検体を二重測定で4回同時に測定するとき、測定値の変動係数（CV値）は、10%以下です。
- 4. 測定範囲
0.8～50ng/mL

* 5. 相関性

本法とパナウリアuⅣ・C（協和ファーマケミカル株式会社）との間で相関性を検討したところ、下記のような結果が得られました。

検 体 数	相 関 係 数	回 帰 式
53	0.994	y = 0.955 x + 0.225

6. 較正用基準物質

精製Ⅳ型コラーゲン（社内標準物質）

〔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、ウイルス感染の危険性を考慮して取扱ってください。
 - (2) CL-Ⅳ標準品はHBs抗原、HIV- 1、2抗体およびHCV抗体がいずれも陰性であることを確認してありますが、使用に際しては一般の患者検体同様十分注意して取扱ってください。
 - (3) 試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
 - (4) 停止液（1 mol/L硫酸）が皮膚や衣服に触れないように取扱いに注意してください。
- * (5) 酵素標識抗体液、緩衝液、CL-Ⅳ標準品、濃縮洗浄液には、防腐剤としてプロクリン300が含まれており、皮膚等を刺激する場合があります。もし、皮膚や衣服についた時は速やかに水で洗い流してください。皮膚に炎症を生じた場合は、医師の手当てを受けてください。
- 2. 使用上の注意
 - (1) 異なるロットの試薬を組合わせて使用しないでください。
- * (2) 貯蔵方法に指定された温度以外で保存すると、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、貯蔵方法に従い保存してください。
- (3) 使用期限を過ぎた試薬は、測定値の信頼性を保証しかねますので使用しないでください。
- 3. 廃棄上の注意
 - (1) 使用後の容器は焼却するか、廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物等区分してください。
 - (2) 試薬の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法等の規制に留意してください。
 - (3) 検体に接触した器具、試薬および試薬容器等は感染の危険があるものとし、オートクレーブ（125℃、1時間）等で滅菌処理するか、又は次亜塩素酸ナトリウム（0.1%）等の消毒液に浸して処理してください。
 - (4) 検体又は検体を含む溶液が飛散した場合には、次亜塩素酸ナトリウム等によるふき取りと消毒を行ってください。
- 4. その他の注意
 - (1) 本キット内の容器、付属品等は他の目的に転用しないでください。
 - (2) 異常な検査結果が得られたときは、ご連絡ください。

〔貯蔵方法、有効期間〕

- * 1. 貯蔵方法 2～8℃
- 2. 有効期間 製造後12カ月間（使用期限は外箱および容器の表示をご参照ください）

〔包装単位〕

1キット 96ウェル

〔主要文献〕

- 1. 小幡賢一他：尿中Ⅳ型コラーゲンの酵素免疫測定法 臨床検査 機器・試薬, 18, 439, 1995
- 2. 東野勲他：尿中Ⅳ型コラーゲン測定 Lab. Clin. Pract., 19, 8, 2001
- * 3. 協和ファーマケミカル株式会社 社内データ
- 4. 横内敬二他：尿中Ⅳ型コラーゲンの健常者基準値の検討 医学と薬学, 42, 139, 1999
- 5. 堺秀人他：尿中Ⅳ型コラーゲン濃度の正常値についての検討 日本腎臓病学会誌, 44, 427, 2002

*〔お問い合わせ先〕

協和ファーマケミカル株式会社 本社
〒933-8511 富山県高岡市長慶寺530番地
電話番号 0766(26)4423
FAX番号 0766(26)4437

〔製造販売業者の氏名又は名称及び住所〕



* 製造販売元

協和ファーマケミカル株式会社
富山県高岡市長慶寺530番地 TEL0766-26-4423