

ご使用前に本電子化された添付文書をよくお読みください

クラスII汎用・生化学・免疫検査用シリーズ
蛋白分画キットI E P アンチセラ 抗ヒト血清
免疫電気泳動法

【全般的な注意】

1. 本製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。
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ください。
3. 添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
4. 使用する機器の取扱説明書をよく読んでから使用してください。
5. 泳動用バッファーには向精神薬に該当する成分が含まれているため、取り扱いには注意してください。

**【形状・構造等(キットの構成)】

Cat.No.9233 IEPアンチセラ 抗ヒト血清 2mL 1本
抗ヒト全血清抗体を含むヤギポリクローナル血清

【使用目的】

血清蛋白及び尿蛋白の検出

【測定原理】

アガープレートを支持体として電気泳動を行い、試料中の蛋白を分離する。分離後、泳動方向と平行な溝に抗血清を注入する。アガー中に試料(抗原)と抗血清(抗体)が拡散し、抗原抗体比が至適になったところに円弧状の沈降線が形成される。沈降線の位置は、抗原の量、拡散の速度(分子量に影響される)などによって決まる。生理食塩水でアガープレートを洗浄して蛋白の拡散を停止し、未反応の蛋白を除去する。次に免疫沈降物を染色し、沈降線を観察する。

【操作上の注意】

測定試料の性質及び検出法

1. 試料は血清又は尿とする。
2. 試料は採得後できるだけ早く測定する。やむを得ない場合は、冷蔵(2~8℃)で保存する。
3. 溶血した試料は用いない。

【用法・用量(操作方法)】

機器及び器具の操作方法については取扱説明書を参照してください。

1. 使用試薬及び機器

** (1) 試薬

IEPアンチセラ 抗ヒト血清	2mL×1本	Cat.No. 9233
免疫電気泳動ゲル/10 (IEP)	(10 検本×12 枚)	470090
ユニバーサルステイン	(2g×5 本)	470120
①ユニバーサルバッファー	(22g×3 袋)	470180
1袋(22g)中の向精神薬成分 ……	バルビタール 2.6g バルビタールナトリウム 17.7g	
IEP正常人血清	(2mL×1 本)	9010
アルブミンマーカー	(2mL×1 本)	9011
0.85%塩化ナトリウム水溶液(生理食塩水) 酢酸		

** (2) 機器

タイタン プラス パワーサプライ(電源)	Cat.No. 1504
タイタンジェル チャンバー(泳動槽)	4063
I.O.D.	J160
ウェイトプラス (又は2~4gの重し)	J513
スポンジウィックスM	J634
クイックジェル 染色色容器	J656
ユニバーサルプロッター	470158
プレスペーパー	470219
ピペット	
マイクロピペット(試料塗布用 1μL)	
湿潤箱	
脱蛋白用パット	
平板	

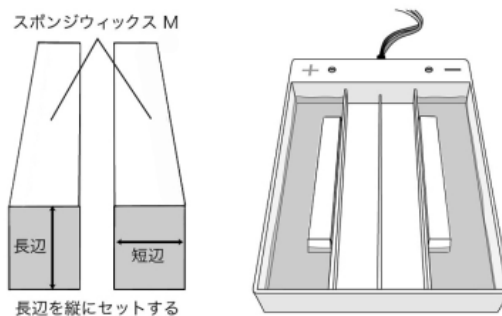
**2. 測定操作法

バッファー量	100mL×2
塗布量	1μL
電圧	90V
泳動時間	約45分間*
反応温度	7. 抗原抗体反応の項参照
反応時間	7. 抗原抗体反応の項参照
脱蛋白時間(プレス法)	60分間(15分間×4回)
染色時間	5~10分間
脱色時間 1	約30秒間
乾燥温度 1	約55℃
乾燥時間 1	20~30分間
脱色時間 2	2分間×2回
洗浄時間	1分間
乾燥温度 2	約55℃
乾燥時間 2	約5分間

※ アルブミンマーカーが、塗布孔から約20mmの位置に来るまで泳動を行う。

3. 準備

- (1) 脱色液の調製
5%(v/v)酢酸を調製する。
- (2) 染色液の調製
ユニバーサルステイン 1本を 5%(v/v)酢酸 1000mL に溶解する。
- (3) 電気泳動用バッファーの調製
ユニバーサルバッファー1袋を精製水 2000mL に溶解し、冷却しておく。
- (4) スポンジウィックスMの準備
乾燥しているスポンジウィックスMを水に浸し、十分吸水させてからきつく絞る。次に、バッファーに浸し共洗いをする。再びきつく絞り、冷却した新しいバッファーに浸しておく。
- (5) 泳動槽の用意
タイタンジェルチャンバーの外側の電極槽に、(3)で調製したバッファーを 100mL ずつ入れる。バッファーに浸したスポンジウィックスMの長辺を縦にしてチャンバーにセットする。



- (6) コントロール血清の調製
IEP正常人血清とアルブミンマーカーを、血清:アルブミンマーカー=20:1の割合で混合し、コントロール血清とする。

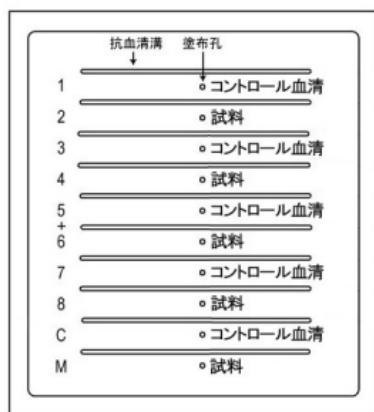
4. 支持体の準備

使用前にプレートを冷蔵庫から取り出し、直ぐにカセットから剥がす。

- (1) 必要な枚数分の免疫電気泳動ゲルをアルミ袋から取り出し、添付のピンを使用してカセットからゆっくりと剥がす（注入孔2ヶ所の突起状のゲルは取り除いてください）。



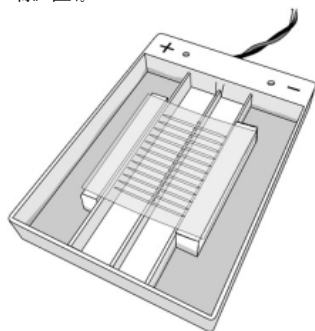
- (2) 塗布孔に、試料とコントロール血清を交互に1μLずつ塗布する。



- (3) 試料が完全にしみ込むまで静置する（約2分間）。

5. 電気泳動

- (1) ゲル面を下にしてスポンジウィックスMの上にプレートを置き、密着させる（プレートが反っていて密着しない場合はスライドガラス等の重しをのせてください）。プレートの+極側がチャンバーと合っていることを確認し、左右に片寄らない様位置を置く。

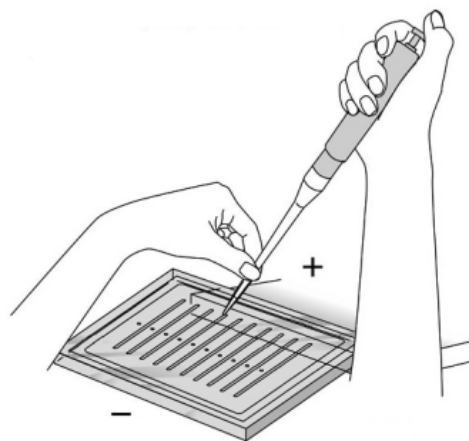


- (2) チャンバーに蓋をして、タイタン プラス パワーサプライに接続し1分間静置する。
- (3) 90Vで約45分間（アルブミンマーカーが塗布孔から約20mmの位置に来るまで）泳動する。

6. 抗血清の塗布

- (1) 泳動終了後、チャンバーからプレートを取出す。平板に精製水を1滴付けてゲル面を上にしてプレートを貼り付け、+極側が上になるように10度くらい傾けて固定する。

- (2) IEPアンチセラム 抗血清を35μLずつピペットを用いて抗血清の+極側からゆっくりと注入する（抗血清の片寄りや溢れが無いよう注意する）。



7. 抗原抗体反応

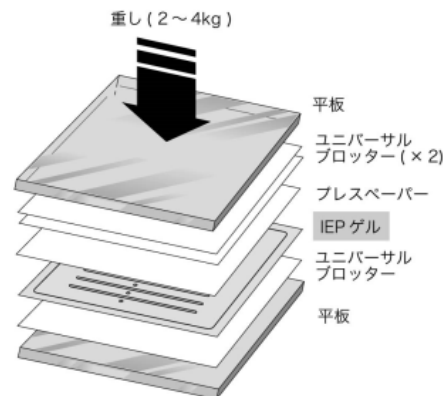
ゲル面を上にして湿潤箱にプレートを入れ、水平を保った状態で所定の条件で抗原抗体反応を行う（例を参考にして、一定の条件で再現性の良い沈降線が得られるようにしてください）。

例	4°C	20時間
	室温(1時間) + 4°C(16時間)	17時間
	20°C	12時間
	30°C*	8時間
	37°C*	6時間

* 反応が長時間のため、30°C以上の温度設定では湿潤箱中の水滴がプレート上に落ちる恐れがあるので注意する。

8. 脱蛋白

- (1) 生理食塩水約250mLを脱蛋白用バットに入れる。
- (2) ゲル面を上にして生理食塩水にプレートを入れる。
- (3) (2)にプレスペーパーを1枚重ねて入れ、プレートとの間に気泡が入らないように生理食塩水から取り出す。
- (4) 平板の上にユニバーサルプロッターを置き、その上にプレスペーパーを重ねたプレートを置く。ユニバーサルプロッター2枚と平板をさらに重ね、ウェイトプラス（又は2〜4kgの重し）をのせて15分間静置する。



- (5) プロッター類をそっと取り除き、(2)〜(4)の操作をさらに3回繰り返す、脱蛋白を行う。
- 別法として(4)の操作後プロッター類をそっと取り除き、プレートを生理食塩水に浸して室温で6時間以上撹拌しながら脱蛋白を行うこともできる。

◇脱蛋白装置 (Cat.No.J423) を使用して反応及び脱蛋白を行う方法		
脱蛋白装置を使用すると、抗原抗体反応から脱蛋白まで自動で行うことができる。		
・抗原抗体反応温度及び時間の設定		
例	20°C	12時間
	30°C	8時間
	37°C	6時間
・脱蛋白(生理食塩水中)		
	室温	6時間以上

＊9. 染色及び脱色

- (1) I.O.D.のドライヤー部を 55℃にセットする。
 - (2) 3. (1) で調製した脱色液約 100mL を染脱色容器 3 個に入れる。
 - (3) 3. (2) で調製した染色液約 100mL を染脱色容器に入れる。
 - (4) プレートに染色液を入れ、5～10 分間染色する※。
 - (5) プレートをピンセット等を用いて取り出し、脱色液に約 30 秒間入れる。
 - (6) 脱色液を切り、I.O.D.のドライヤー部で完全に乾燥させる (20～30 分間)。
 - (7) プレートを脱色液に入れ、2 分間ずつ 2 回 (バックグラウンドが脱色されるまで) 脱色する。
 - (8) プレートを精製水に入れ、1 分間洗浄する。
 - (9) I.O.D.のドライヤー部で完全に乾燥させる (約 5 分間)。
- ※ 染色前にプレートの脱色操作 (精製水中で 1 時間洗浄) を行うと、染色性が良くなる。

＊【測定結果の判定法】

試料による沈降線の形状・位置を、コントロール血清による沈降線と比較する。M 蛋白による沈降線は、M-bow と呼ばれる特有なふくらみを持った形を示す。個々の蛋白の量がコントロールよりも多い場合は、より抗血清用薄に近い位置に沈降線が形成される。

【性能】

1. 感度
正常ヒト血清を試料として操作した時、アルブミン、 $\alpha 1$ アンチトリプシン、 $\alpha 2$ マクログロブリン、ハプトグロビン、セルロプラスミン、 β リボプロテイン、トランスフェリン、ヘモペキシン、C3、IgG、IgA、IgM に対する沈降線を認める。
2. 正確性
正常ヒト血清を試料として操作した時、アルブミン、 $\alpha 1$ アンチトリプシン、 $\alpha 2$ マクログロブリン、ハプトグロビン、セルロプラスミン、 β リボプロテイン、トランスフェリン、ヘモペキシン、C3、IgG、IgA、IgM に対する沈降線を認める。
3. 同時再現性
正常ヒト血清を試料として 3 回操作した時、同一試料はすべて同様の沈降線を示す。
4. 測定範囲 (検出感度)
総蛋白量が 6.0g/dL ($\pm 10\%$) の管理用血清を使用した時、アルブミン、 $\alpha 1$ アンチトリプシン、 $\alpha 2$ マクログロブリン、ハプトグロビン、セルロプラスミン、 β リボプロテイン、トランスフェリン、ヘモペキシン、C3、IgG、IgA、IgM に対する沈降線を認める。
5. 相関性
本品と他社抗血清を用いて 50 検体を同様に操作したところ、測定結果の一致率は 92% であった。

【使用上又は取扱上の注意】

＊1. 使用上の注意

- (1) 有効期限の切れた試薬及びプレートは使用しない。
- (2) 試薬は冷蔵庫 (2～8℃) で保存する。
- (3) 同一ロットの試薬であっても試薬を注ぎ足すことは行わない。
- (4) 本品は、無色～淡黄色の透明な液体である。濁りを生じている場合は、微生物が汚染されている恐れがあるので使用しない。
- (5) 免疫電気泳動ゲル 1 袋にプレートが 2 枚入っている。開封後の未使用品は、アルミ袋にイオン交換水 0.5mL を注入した後セロハンテープ等で密封して所定条件で保存し、2 週間以内に使用する。

＊2. 取扱上の注意

- (1) 試料及びコントロール血清は、HIV、HBV、HCV 等の感染のおそれがあるものとして取り扱う。
- (2) 検査にあたっては感染の危険性をさけるため使い捨て手袋を着用する。
- (3) 試薬が誤って目や口に入った場合には、水で十分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る。

3. 廃棄上の注意

- (1) 廃液、使用済み器具などは感染性産業廃棄物として処理するか、次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度 1000ppm、1 時間以上浸漬) 又はグルタルアルデヒド (2%, 1 時間以上浸漬) による消毒処理、あるいはオートクレーブ (121℃、20 分間以上) による滅菌処理をする。
- (2) 試薬及び器具等を廃棄する場合は、「廃棄物の処理及び清掃に関する法律」に従った適正な処理をする。
- (3) バッファーは、向精神薬成分を回収することができないような処理を行い、廃棄する (大量の水での希釈、焼却等)。

【貯蔵方法・有効期限】

1. 貯蔵方法 2～8℃で保存
2. 有効期限 2 ヶ年 (期限は外箱に表示)

＊【包装単位】

IEP アンチセラ 抗ヒト血清 (Cat.No.9233) 2mL×1 本

＊【主要文献】

1. 櫻井郁之介、免疫電気泳動法、電気泳動法のすべて、医歯薬出版株式会社、126-130(1982)。
2. 金衡仁、免疫電気泳動像の読み方、電気泳動法のすべて、医歯薬出版株式会社、242-253(1982)。
3. 大谷英樹、河合忠、免疫電気泳動法、医学書院、51 (1977)。

【問い合わせ先】

株式会社ヘレナ研究所 営業部又は薬品部
TEL 048 (833) 3208 FAX 048 (833) 3273

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

株式会社ヘレナ研究所
〒330-0061 埼玉県さいたま市浦和区常盤 9-21-19

