

ご使用の前に本電子化された添付文書をよくお読みください

多項目免疫グロブリンキット
クイックジェルIFEキット(SPIFE)

【一般的な注意】

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。

**【形状構造等(キットの構成)】

クイックジェルIFEキット

Cat.No. J861 クイックジェルIFEキット(SPIFE) 抗血清

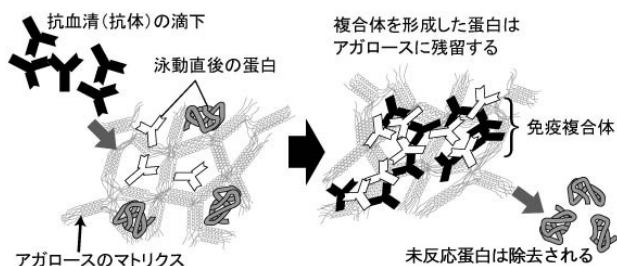
(1) 抗IgG血清	4.5mL	1本
抗ヒト免疫グロブリンGポリクローナル抗体を含むヤギ血清		
(2) 抗IgA血清	4.5mL	1本
抗ヒト免疫グロブリンAポリクローナル抗体を含むヤギ血清		
(3) 抗IgM血清	4.5mL	1本
抗ヒト免疫グロブリンMポリクローナル抗体を含むヤギ血清		
(4) 抗κ鎖血清	4.5mL	1本
抗ヒト免疫グロブリンκ型L鎖ポリクローナル抗体を含むヤギ血清		
(5) 抗λ鎖血清	4.5mL	1本
抗ヒト免疫グロブリンλ型L鎖ポリクローナル抗体を含むヤギ血清		
(6) 固定液	4.5mL	1本

【使用目的】

血清及び尿中のヒト免疫グロブリン(IgG, A, M, κ鎖及びλ鎖)の検出

【測定原理】

本品は電気泳動と免疫沈降反応を組み合わせた方法である免疫固定法を測定原理とした、ヒト免疫グロブリンG、A、M、κ鎖及びλ鎖の検出キットである。アガロース(又はアガー)プレートを支持体として、電気泳動法により試料中の蛋白を分離する。支持体に抗血清を展開すると、抗原抗体反応により免疫沈降物が生じて支持体上に固定される。未反応蛋白を除去した後、免疫沈降物を染色する。



【操作上の注意】

測定試料の性質及び採取法

1. 試料は血清又は尿とする。
2. 試料は採取後できるだけ早く使用する。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)】

スピフィ タッチ(蛋白分画電気泳動分析装置)では、登録したパラメータに従い試料を塗布し電気泳動を行います。抗原抗体反応と脱蛋白操作を用手法で行った後、自動で染色と乾燥を行います。機器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	Cat.No.
クイックジェルIFEキット(SPIFE) 抗血清	J861
SPIFE IFEプレートセット	(9検体用×10枚) J721
REP—prep	(240mL×1本) J409
	(240mL×4本) J3100
酢酸	
0.85%塩化ナトリウム水溶液(生理食塩水)	

** (2) 機器

	Cat.No.
スピフィ タッチ	
SPIFE IFEディスプレイカバー	3363
SPIFE IFEディスプレイトレイ	3378
SPIFE IFE-9 アンチセラテンプレート	3392
IFEアンチセラテンプレート(マルチチャンネルピペット使用時)	3394
SPIFE IFEウェイト	3470
ピペット(10~100μL)	

2. 電気泳動パラメータ

(1) セパレーターユニット

1) 血清を試料とする場合『IFE9』

Load sample	00:30	21℃	SPD=6
Apply sample	00:30	21℃	SPD=1
Electrophoresis	6:30	21℃	650 V
Absorb	10:00	21℃	
Blot 1	3:00	21℃	
Blot 2	5:00	40℃	
Dry	8:00	50℃	

2) 尿を試料とする場合『UrineIFE9』

Load sample (1,2,3*)	00:20	21℃	SPD=6
Apply sample (1,2,3*)	00:20	21℃	SPD=1
Absorb 1	02:00	21℃	
Electrophoresis	6:30	21℃	650 V
Absorb 2	10:00	21℃	
Blot 1	3:00	21℃	
Blot 2	5:00	40℃	
Dry	8:00	50℃	

※ 尿の蛋白濃度によって変更可能です(6回まで)

(2) ステイナーユニット『IFE9』又は『UrineIFE9』(パラメータは共通)

Wash 1	00:03	REC=On	Valve=1
Wash 2	10:00	REC=On	Valve=1
Stain	4:00	REC=Off	Valve=5
Destain 1	1:00	REC=On	Valve=2
Destain 2	1:00	REC=On	Valve=2
Dry 1	8:00	63℃	
Destain 3	1:00	REC=On	Valve=2
Dry 2	5:00	63℃	

3. 準備

- (1) Citric Acid Destain 1袋と11Lのイオン交換水をDestainタンクに入れて溶解する。
- (2) Clear Wash 1袋と8Lのイオン交換水をWashタンクに入れて溶解する。
- (3) 10%(v/v)酢酸1Lを調製し、Acid Violet Stain1個を溶解する。完全溶解後、Stainボトルに入れる。
- (4) 抗血清及び固定液はそのまま使用する。

(5) 試料の調製

- 1) 血清を生理食塩水で希釈して試料とする。尿は全レーンとも原尿、又は2〜3g/dLを目安に濃縮して試料とする。

	血清	生理食塩水	希釈倍率
Sプレーン	20 μ L	40 μ L	3 倍
抗血清レーン	20 μ L	80 μ L	5 倍

- 2) ディスポサンプルカップをディスポカップトレイにセットし、試料をそれぞれの試料孔(小さい方の孔)に17 μ L(尿は20 μ L)ずつ採る。
3) トレイをセパレーターユニット左側にセットする。

4. 電気泳動

- (1) セパレーターユニット操作部の検査項目リストから、『IFE9』(血清)又は『UrineIFE9』(尿)をタップして選択する。
(2) **Start** をタップして作業工程の中から【Load Sample】を選択する。
(3) 泳動カバーを開ける。
Applicator Blade の保護用プラスチックを取り外し、ブレードセット位置のNo.4,10,16 に差し込む。ブレード中央にアプリーケーターウェイトを右側が重くなるようにのせる。
(4) チャンバーブロックの中心にREP-prepを約2mLのせる。
(5) SPIFE IFEプレートをアルミ袋から取り出し、泳動面を覆っているフィルムを取り除きチャンバーにセットする。気泡が入らないようにゆっくりと密着させ、2つの穴を左右のピンに差し込む。余分なREP-prepはペーパータオル等で拭き取る。
(6) 泳動面にプロッターCをのせて表面のバッファーを吸い取る。均一に吸い取ったらそっと剥がす。
(7) 電極棒をマグネット電極の外側にセットする。電極棒を上から軽く押さえ、バッファールリッジに密着させる。
(8) 泳動カバーを開けて **Start** をタップする(試料の塗布と電気泳動を自動で行う)。

※※5. 抗原抗体反応

各工程が終了するとアラームが鳴り、画面に次の工程を表示する。泳動カバーを開けて操作を行い、完了したら泳動カバーを閉め **Continue** をタップして次工程に進む。

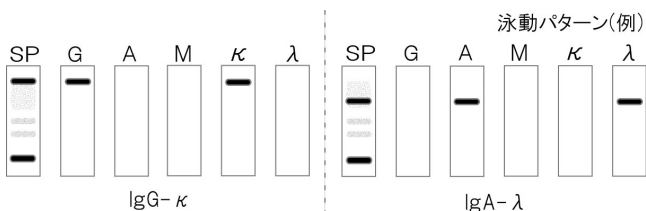
- (1) 電気泳動終了後、電極棒を取り外し、バッファールリッジを取り除く。
(2) 抗血清アプリーケーターを手前のピンに合わせて置き、プレートに密着させる。固定液及び抗血清 50 μ L を各レーンの注入孔(右側の穴)から注入する。[Absorb 2]
(3) 注入孔にプロッターコームを差し込む。[Blot 1]
(4) プロッターコームと抗血清アプリーケーターを取り除く。泳動面にプロッターCをのせて未反応の抗血清を吸い取り、直ぐに取り除く。
(5) 泳動面にプロッターD2枚、抗血清アプリーケーター、ウェイトを順に重ねる。[Blot 2]
(6) ウェイト、抗血清アプリーケーター及びプロッターD2枚を取り除く。[Dry 1]
(7) チャンバーからプレートを取り出す。

6. 染出色及び乾燥

- (1) スтейナーユニット操作部の検査項目リストから、『IFE9』(血清)又は『UrineIFE9』(尿)をタップして選択する。
(2) **Start** をタップして作業工程の中から【Wash 1】を選択し、ジェルホルダーのみを染色槽にセットする。**Start** をタップする。[Wash 1]
(3) ジェルホルダーを取り出し、5. (7) で取り出したプレートをセットする。(プレートの丸穴に、ジェルホルダーの可動する方の金具をはめる)。
(4) プレートをセットしたホルダーをステイナー挿入口に差し込み **Continue** をタップする(検査終了まで自動で行う)。[Wash 2〜Dry 2]

【測定結果の判定法】

蛋白分画 (SP) に出現したM蛋白帯と同じ位置に出現するバンドを観察し、型判定を行う。



※※◇判定上の注意

詳しくは、当社小冊子「免疫固定法の技術と解釈」をご請求ください。

- 健康者血清を試料としたときは、IgG, IgA, IgM, κ 及び λ ともブロードな染色帯となる (IgMは検出されないこともある)。
- IgMのM蛋白は分子量が大きく脱蛋白されにくい。IgM以外の抗血清レーンにおいても染色帯が見られることがある。試料のDTT処理(又はME処理)を行うと、改善される場合がある。
- 抗原が過剰で抗原抗体比が至適でない場合、染色帯の拡散や中抜けが見られることがある。試料の希釈率を上げると鮮明な染色帯が得られるが、同一試料に含まれる微量なM蛋白が検出されにくくなるおそれがある。
- 血清中のM蛋白が抗H鎖血清とのみ反応し、対応する位置に抗IgG, IgA, IgM血清のいずれとも染色帯を認めないことがある。その場合はIgD又はIgEのM蛋白、あるいはペンス・ジョーンズ蛋白(BJP)であることが疑われるため、抗H鎖IgD血清(Cat.No.9249)、抗H鎖IgE血清(Cat.No.9250)、抗H鎖遊離型 κ 血清(Cat.No.J873)、及び抗H鎖遊離型 λ 血清(Cat.No.J874)を用いて検索を行う。
- M蛋白が抗H鎖血清とのみ反応し、対応する位置に抗H鎖血清との反応を認めないことがある。その場合はH鎖病が疑われるが、一部のM蛋白において、L鎖と抗血清との反応性が弱く染色帯が確認できないことがある(一般的に陽極寄りのM蛋白において、特に抗H鎖については反応しにくいとされる)。この場合、血清の希釈倍率を変えて検査を行うことや、DTT処理(又はME処理)を行うことで検出される場合がある。
- 抗体治療薬を投与された患者検体において、治療薬由来のM蛋白様バンドが検出される場合がある。

【性能】

1. 感度※

コントロール血清を試料として操作したとき、染色帯が確認される最小濃度は、IgG 50mg/dL、IgA 50mg/dL、IgM 110mg/dL である。またL鎖は、免疫グロブリンが正常範囲内のコントロール血清を試料とした場合、 κ 型L鎖は4.0 倍希釈、 λ 型L鎖は1.0 倍希釈で染色帯が確認される。

2. 正確性

免疫グロブリン正常値検体及びM蛋白血症(IgG、IgA、IgMのいずれか)患者血清を試料としたとき、抗IgG、抗IgA、抗IgM、抗 κ 、及び抗 λ は、各々IgG、IgA、IgM、 κ 型L鎖、 λ 型L鎖とのみ染色帯を認める。

3. 同時再現性

免疫グロブリン正常値検体及びM蛋白血症(IgG、IgA、IgMのいずれか)患者血清を試料として3回操作するとき、同一試料はすべて同様の染色帯を示す。

4. 測定範囲(検出感度)※

IgG 50〜6000mg/dL、IgA 50〜4500mg/dL、IgM 110〜6000mg/dL。
免疫グロブリンが正常範囲内のコントロール血清を試料とした場合、 κ 型L鎖は4.0 倍希釈、 λ 型L鎖は1.0 倍希釈で染色帯が確認される。

5. 相関性

- (1) 本法とタイタンジェルIFEキット(免疫沈降反応を用いる試薬)を用いて血清58 検体、尿55 検体を測定したところ、両者の一致率は97.3%であった。
(2) 本法とIEPアンチセラ(免疫沈降反応を用いる試薬)を用いて血清50 検体を測定したところ、両者の一致率は98%であった。

※ 濃度は全て生理食塩水で希釈する前の値である。

【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支持材は使用しない。
(2) 試薬は、外箱に記載されている温度で保存する。

2. 取扱上の注意

- (1) 試料は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) 固定液は亜鉛を含有(2.5mg/mL)しているため、大量の水を流しながら廃棄する(地域の排水基準を確認する)。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法 2～8℃で保管(凍結厳禁)
2. 有効期間 2ヵ年(期限は外箱に表示)

***【包装単位】

クイックジェルIFEキット(SPIFE) 抗血清 (Cat.No.J861)
抗血清・固定液 各 4.5mL
(補充品)
クイックジェルIFEキット(SPIFE) 固定液 (Cat.No.J898)
固定液 6.5mL×1本

【主要文献】

1. Ritchie RF, Smith R. Immunofixation. III. Application to Study of Monoclonal Proteins. *Clin Chem* 22, 1982-1985(1976).
 2. 中野榮二. Immunofixation 法 電気泳動法のすべて. 医歯薬出版株式会社, 153-156(1982).
 3. Pascali E, et al. Immunofixation: Application to the Identification of "Difficult" Monoclonal Components. *Clin Chem* 28, 1404-1405(1982).
 4. 佐藤雅志, 他. 微量M-蛋白の臨床的意義についての検討. *生物物理化学*, 32, 255(1988).
 5. 坪茂典, 船渡忠男. 高感度免疫固定法を用いた2峰性Mたん白血症の同定. *衛生検査* 39, 15-20(1990).
 6. 日本骨髓腫研究会[編]. 多発性骨髓腫の診療指針 第1版. 文光堂, 1-10 (2004).
- * * 7. 中野榮二, 大竹皓子. Immunofixation のコツ. *臨床検査* 26, 790-795(1982).

【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

