

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 (IEP)

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. J855	クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgG血清	2mL	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バグ血清			
Cat.No. J856	クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgA血清	2mL	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バグ血清			
Cat.No. J857	クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgM血清	2mL	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バグ血清			
Cat.No. J862	クイックジェルIFEキット(IEP) 抗κ鎖血清	2mL	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バグ血清			
Cat.No. J863	クイックジェルIFEキット(IEP) 抗λ鎖血清	2mL	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バグ血清			

【使用目的】

血清及び尿中のヒト免疫グロブリン(Ig) G, 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電気泳動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		Cat.No.
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgG血清	(2mL×1本)	J855
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgA血清	(2mL×1本)	J856
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgM血清	(2mL×1本)	J857
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗κ鎖血清	(2mL×1本)	J862
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗λ鎖血清	(2mL×1本)	J863
IEPアンチセラム 抗ヒト血清	(2mL×1本)	9233
免疫電気泳動ゲル/10(IEP)	(10 検体×12枚)	470090
ユニバーサルステイン	(2g×5本)	470120
④ ユニバーサルバッファー	(22g×3袋)	470180
1袋(22g)中の向精神薬相当成分 ...	バルビタール 2.6g バルビタールナトリウム 17.7g	
IEP正常ヒト血清	(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2~4kgの重し)	J513
スポンジウィックスM	J634
クイックジェル 染色容器	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)	
涵潤箱	
脱蛋白用バット	
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分間
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)酒酢を調製する。

(2) 染色液の調製

ユニバーサルステイン 1本を5%(v/v)酒酢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。

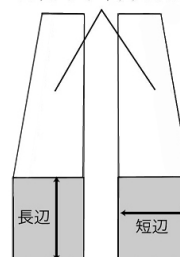
(4) スポンジウィックスMの準備

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。

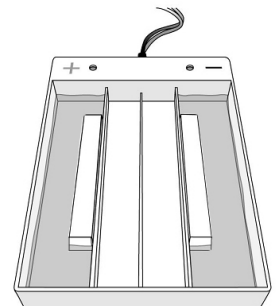
(5) 泳動槽の用意

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。

スポンジウィックス M



長辺を縦にセットする



(6)コントロール血清の調製

IEP正常ヒト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。

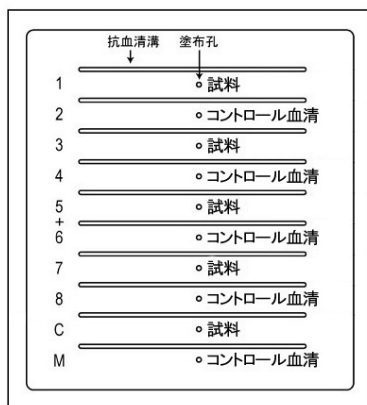
4. 支持体の準備

使用直前にプレートを冷蔵庫から取り出して、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)。



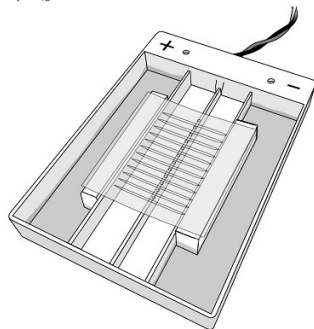
- (2)塗布孔に、試料とコントロール血清を交互に1μLずつ塗布する。



- (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

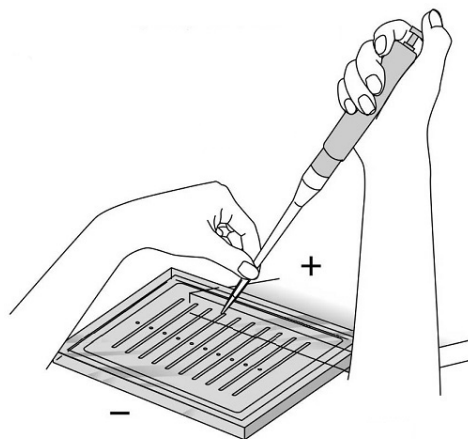
- (1)ゲル面を下にしてスポンジウィックスMの上にプレートを置き、密着させる(プレートが反っていて密着しない場合はスライドガラス等の重しをのせてください)。プレートの+極側がチャンバーと合っていることを確認し、左右に片寄らない様配置。



- (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。

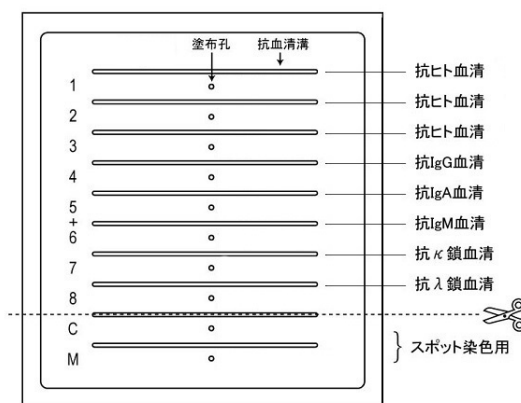
6. 抗血清の塗布

- (1)泳動終了後、チャンバーからプレートを取り出す。平板に精製水を1滴出し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)各特異抗血清(抗IgG、抗IgA、抗IgM、抗κ鎖、抗λ鎖)とIEPアンチセラ抗ヒト血清を、35μLずつピペットを用いて抗血清溝の+極側からゆっくりと注入する(抗血清の偏りや溢れが無いよう注意する)。



◇血清蛋白のスポット電気泳動像

抗血清を注入する前にスポット染色用レーンを切り離し、染色操作(9. 染色及び脱色の項参照)を行うことで、血清蛋白のスポット電気泳動像を確認することができます。



7. 抗原抗体反応

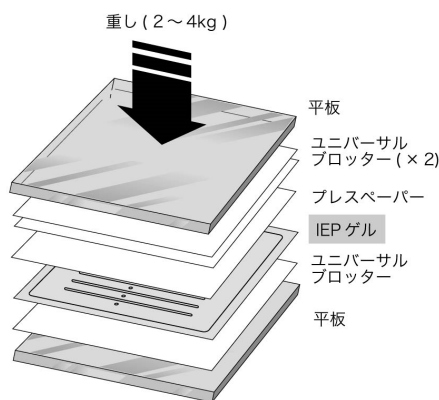
ゲル面を上にして湿潤箱にプレートを入れ、水平を保った状態で所定の条件で抗原抗体反応を行う(例を参考にして、一定の条件で再現性の良い沈降線が得られるようにしてください)。

例	4℃	20 時間
	室温(1 時間)+4℃(16 時間)	17 時間
	20℃	12 時間
	30℃※	8 時間
	37℃※	6 時間

※ 反応が長時間のため、30℃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) プロッター類をそとと取り除き、(2)~(4)の操作をさらに3回繰り返して脱蛋白を行う。
別法として(4)の操作後プロッター類をそとと取り除き、プレートを生理食塩水に浸して室温で6時間以上撪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℃	12時間
	30℃	8時間
	37℃	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) プレートを染色液に入れ、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。
- * 染色前にプレートの脱塩操作(精製水中で1時間撪拌)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、より抗血清用範囲に近い位置に沈降線が形成される。

◇判定上の注意

- * 1. IgMのM蛋白のL鎖を判定する時、正常IgGのL鎖と重なって判定が困難なことがある。その場合は、試料のDTT処理* (又はME処理)をしてから泳動を行う。
- * 0.01mol/L ジチオトレイトール(DTT)と血清を1:1で混合後、37℃で30分間反応させてから試料とする。
- 2. 血清蛋白泳動像にM蛋白が認められるが、抗IgG、抗IgA、抗IgM、及び抗ト血清にM-bowが見られず、抗κ鎖あるいは抗λ鎖血清とのみM-bowが形成される場合がある。その場合はIgD又はEのM蛋白、あるいはベンス・ジョーンズ蛋白(BJP)であることが疑われるため、抗ヒトIgD血清(Cat.No.9249)、抗ヒトIgE血清(Cat.No.9250)、抗ヒト遊離型κ血清(Cat.No.J873)、及び抗ヒト遊離型λ血清(Cat.No.J874)を用いて検索を行う。

【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、染色帯が形成される最小濃度は、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型鎖は4.0倍希釈、λ型鎖は1.0倍希釈で染色帯が形成される。
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鎖、及び抗λ鎖血清は、各々IgG、IgA、IgM、κ型鎖、λ型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)
本キットの検出範囲はIgG 50~6000mg/dL、IgA 50~4500mg/dL、IgM 110~6000mg/dLである。
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型鎖は4.0倍希釈、λ型鎖は1.0倍希釈で染色帯が形成される。
5. 相関性
(1) 本キットとタイタンジェルフE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) 本キットとIEPアンチセラム(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。

【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) 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を注入した後シ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) 試薬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、向精製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、焼却する等)。

【貯蔵方法・有効期限】

1. 貯蔵方法 2～8℃で保存
2. 有効期間 2ヶ年(期限は外箱に表示)

****【包装単位】**

クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgG血清	(Cat.No,J855)	2mL×1本
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgA血清	(Cat.No,J856)	2mL×1本
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗IgM血清	(Cat.No,J857)	2mL×1本
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗κ鎖血清	(Cat.No,J862)	2mL×1本
クイックジェルIFEキット(IEP) 抗λ鎖血清	(Cat.No,J863)	2mL×1本

【主要文献】

1. 櫻林郁之介. 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. Lessard F, et al. Light Chain Disease and Massive Proteinuria. *Clin Chem* 31, 475-477(1985).
4. 山口潜. 多発性骨髄腫とM蛋白血症. 臨床検査 23, 909-916(1979).
5. 大谷英樹, 河合忠. 免疫電気泳動法. 医学書院 51(1977).
- *6. Khodadadi L, et al. Immunoglobulin Class (IgG, IgM) Determination by Dithiothreitol in Sensitized Kidney Transplant Candidates. *Transplantation Proceedings* 38, 2813-2815(2006).

【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