

アルカリ性フォスファターゼアインザイムキット

クイックEP BAP-IF試薬

【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。
5. 本試薬は各ALPアインザイムの反応性がIFCC法での総活性測定に近似しています¹⁾。従って各分画の定量には、IFCC法で測定したALP総活性値が必要です。あらかじめ測定し、検体属性の活性値の欄に入力してください。

**【用法・用量(操作方法)】

1. エパライザ2 ジュニア
2. エパライザ3
3. エパライザ2
4. 用手法

【形状構造等(キットの構成)】

Cat.No.J891 クイックEP BAP-IF試薬 (20 枚用)

- | | | |
|-----------------------------|------------------|-----------|
| 1. 基質剤 | 2.0mL 用 4 本 | |
| 5-ブromo-3-インドリルりん酸 p-トルイジン塩 | | 1.9mmol/L |
| 2. 基質溶解液 | 8mL 1 本 | |
| 3. 発色試液 | 3mL 4 本 | |
| NTB(ニトロテトラゾリウムブルー) | | 2.7mmol/L |
| 4. 前処理剤 | 1.5mL 用 2 本 | |
| プロテアーゼ | | 300U/mL |
| 5. セパレーター | 0.5mL 1 本 | |
| ノイラミニダーゼ | | |

※ 濃度は全て試薬調製後の終濃度

【使用目的】

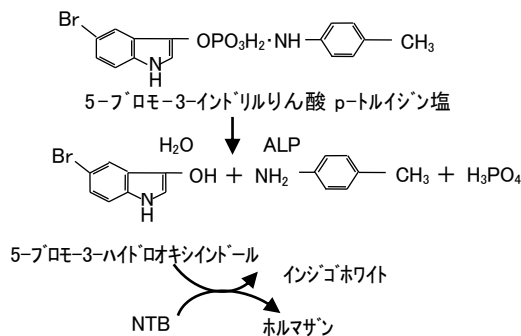
血清中のアルカリホスファターゼ (ALP) アインザイム (骨型ALPを含む) の測定

【測定原理】

血清に対し異なる 2 種類の前処理①②を行う。

- ① 血清と前処理剤を反応させ、高分子サイズの小腸由来ALP (HIAP) を通常分子サイズの小腸由来ALP (NIAP) に変換する²⁾。
- ② ①の血清とセパレーターを反応させ、電気泳動時のALP2とALP3の分離を明瞭にする³⁾。

アガロースプレートを支持体として、電気泳動法により前処理後の試料中のALPアインザイムを分離する。試薬を泳動後のアガロースプレートに含ませて反応させ、次の反応系から生成されたホルマザンを測定する。2 処理の測定結果をもとに各ALPアインザイムの値を求める。



【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法

- (1) 試料は血清とする。採血から血清分離までの操作を迅速に行い、分離操作後の試料は 2~8℃の冷蔵庫に入れ、できるだけ早く測定する。やむを得ない場合は、凍結(-80~-20℃)で保存する。
- (2) 採血時期は早朝空腹時を原則とする(食後採血はALP5の出現率を高めることがある)。
- (3) 試料の凍結、融解の繰り返しを避ける。

2. 妨害物質等

- (1) シュウ酸、クエン酸、EDTA、シアン化合物、リン酸及びグリシンは、ALP活性を阻害する⁴⁾。
- (2) 正常人血清においてもALP1の陽極側にアルブミンの発色がみられることがある。

1. エプライザ2 ジュニア

エプライザ2 ジュニア(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の塗布、電気泳動、試薬の展開・反応、測定、分画値の算出まで自動で行います。

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EP BAP-IF試薬	(20 枚用)	J891
クイックジェル ALP	(10 枚)	J713
ジェルALPコントロール	(2mL×1 本)	5104
REP-prep	(240mL×1 本)	J409
	(240mL×4 本)	J3100
クイックジェル ALP固定液	(250mL×1 本)	J878
	(250mL×4 本)	J850

(2) 機器

エプライザ2 ジュニア
マイクロピペット

2. 電気泳動パラメータ

検査項目名にマウスカーソルを合わせると表示されます。

処理モード	処理3
検体数/列	5 検体
塗布列	2 列塗布
塗布位置	No.4
塗布回数	3 回
サンプリング時間	00 分 05 秒
採取量	ふつつ
塗布時間	
--- 20%	01 分 20 秒
20.1% --- 40%	01 分 40 秒
40.1% --- 60%	02 分 20 秒
60.1% ---	03 分 00 秒
泳動時間	23 分 00 秒
泳動電圧	230V
泳動温度	15°C
冷風ファン	ON
冷風時間	
--- 20%	00 分 40 秒
20.1% --- 40%	01 分 00 秒
40.1% --- 60%	01 分 20 秒
60.1% ---	01 分 40 秒
試薬展開数	12 回
試薬展開停止時間	00 分 01 秒
試薬展開温度(°C)	45°C
反応・染色時間	18 分 00 秒
反応・染色温度(°C)	45°C
脱色・固定時間	10 分 40 秒
注入時間	00 分 40 秒
放置時間	01 分 20 秒
排出時間	00 分 40 秒
サイクル	4 回
脱色・固定容器	3 番
乾燥(4)時間	14 分 00 秒
乾燥(4)温度(°C)	70°C

3. 検体の前処理

(1) 前処理剤の溶解

前処理剤を、バイアルラベルに記載された所定量の精製水で溶解する。
2~8°Cで遮光して保存する時 1 ヶ月間安定であるが、ピペット等による汚染に注意する。

※ 溶解後速やかに 1 枚当たりの使用量に小分けし-20°C以下で凍結保存する時、バイアルに記載の有効期限まで使用可能である。

(2) 前処理液の調製

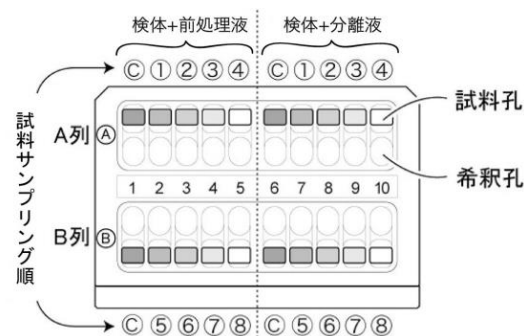
(1)で溶解した前処理剤 50 μ L と精製水 25 μ L を混合し、前処理液とする。

* (3) 分離液の調製

(1)で溶解した前処理剤 50 μ L とセパレーター 25 μ L を混合し、分離液とする(用時調製)。採取時がピペット等による汚染に注意する。

(4) 試料の調製

サンプルプレートの試料孔 No.1~5 は前処理液処理を、No.6~10 は分離液処理をA列,B列共に行う。



- (2)で調製した前処理液を、サンプルプレートA列,B列の試料孔 No.1~5 に 6 μ L ずつ採る。
- (3)で調製した分離液を、サンプルプレートA列,B列の試料孔 No.6~10 に 6 μ L ずつ採る。
- ジェルALPコントロール 30 μ L を、A列,B列の試料孔 No.1 に採って前処理液と混合して試料とする。次に、A列,B列の試料孔 No.6 に採って分離液と混合して試料とする。
- 同様に、検体 30 μ L を前処理液と分離液がベアになる様子に採って混合して試料とする。
- 試料を採ったサンプルプレートと乾燥防止板を重ね、室温で 30 分間反応させる。反応終了後は速やかに検査を開始する。

◇活性が測定範囲以上の検体は、各処理液との反応後に生理食塩水で希釈して試料とし、速やかに検査を開始します。希釈はサンプルプレートの希釈孔(最大 50 μ L)を用いると便利です。

4. 準備

検査項目リストから『骨型ALP』を選択し、「スタート前の準備リスト」に従って準備を行う。

(1) サンプルプレート&番号

「3. 検体の前処理」で反応が終了したサンプルプレートと乾燥防止板を重ねた状態で搬送台にセットし、サンプルプレート番号を入力する。

(2) チャンバー蓋

ステーション 1 奥の泳動カバートレイに泳動カバーがセットされている事を確認する。
(泳動カバーはホルダーの上にセットしてスタートすることも可能です。)

(3) アプリケーターチップ

アプリケーターチップ 2 枚をアプリケーターユニットにセットする。

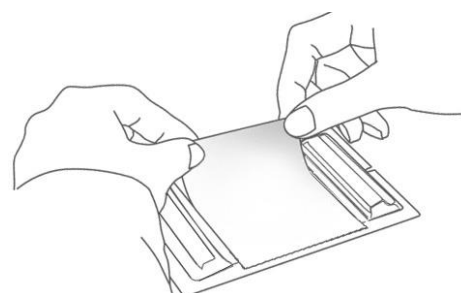
(4) 試薬&ローラー

- 基質剤を、バイアルラベルに記載された所定量の基質溶解液で溶解し、基質試液とする。2~8°Cで遮光して保存する時、1 ヶ月間安定であるが、ピペット等による汚染に注意する。
- 発色試液はそのまま使用する。
- 基質試液と発色試液を試薬カップに 350 μ L ずつ採って混合し、反応試液とする。試薬台“2”の穴にセットする。
- 試薬展開ローラーをセットする。

(5) ホルダー

クイックジェルを冷蔵している場合は室温に戻してから操作を行ってください。

- ステーション 1 の冷却盤の上に REP-prep を約 0.5mL のせる。
- クイックジェルをアルミ袋から取り出し、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)。
プロッターFを泳動面にのせて表面の余分な水分を吸い取り、直ぐに取り除く。



- 3) アガロース面を下に向け、プレートホルダーにセットし、プラスチック面についている余分なバッファーを濡れたペーパータオル等で拭き取る。



- 4) アガロース面を上に向けて冷却皿との間に気泡が入らない様にゆっくりと置く。

- 5) 必要に応じて QG 認識番号を入力する。

(6) 容器 3 (固定)

クイックジェル ALP 固定液を精製水で 80 倍に希釈して反応停止液とし、容器 3 に入れる (例: クイックジェル ALP 固定液 50mL に精製水を加え 4L にする)。

5. 測定

全ての準備が完了すると「スタート」が表示されるので、クリックして検査を開始する (塗布から測定まで自動で行う)。

$$\text{骨型ALP(U/L)} = \text{ALP3分画値(\%)} \times \text{総ALP活性(U/L)}^{**}$$

※ 総活性は FCC 法で測定した値を使用してください。

◇測定後のクイックジェルを保存する場合

クイックジェル両極のバッファースリッジを取り除き、6 分間水洗後に乾燥させてください (経時的にバックグラウンドが染まるのを防止します)。

2. エパライザ3

エパライザ3(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、試料の塗布、電気泳動、試薬の展開・反応、測定、分画値の算出まで自動で行います。

機器の操作方法・塗布からのスタート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EP BAP-IP試薬	(20 枚用)	J891
クイックジェル ALP	(10 枚)	J713
ジェルALPコントロール	(2mL×1 本)	5104
REP-prep	(240mL×1 本)	J409
	(240mL×4 本)	J3100
クイックジェル ALP固定液	(250mL×1 本)	J878
	(250mL×4 本)	J850

(固定は70%メタノールで行うことも可能です)

(2) 機器

エパライザ3		
クイックジェル プロッターB	(480 枚)	J645
マイクロピペット		

2. 泳動関連パラメータ(サンプラーは使用しません)

検査項目名 : 骨型ALP

電気泳動パラメータ

処理モード	3
QG 分類コード	4
ブレードタイプ	10
塗布列数	2
ろ紙の使用/時間	使用する/05
塗布前待機時間	0:00
塗布位置	4
塗布回数	3
サンプリング時間	0:05
採取量	標準
塗布時ウェイトの使用	使用する
塗布時間 --- 20%	0:30
(湿度) 21% --- 40%	0:30
41% --- 60%	0:30
61% ---	0:30
塗布後吸収時間	0:00
泳動時間	23:00
泳動電圧	230
泳動温度	15
ろ紙時間 ※1	0:00
前乾燥温度	-
前乾燥時間 --- 20%	0:00
(湿度) 21% --- 40%	0:00
41% --- 60%	0:00
61% ---	0:00
試薬処理	Mix
試薬番号(発/基)	3/2
試薬量	300
試薬展開数	8
試薬展開停止時間	0:01
試薬展開温度 ※2	25
染色・反応・乾燥時間	18:00
染色・反応・乾燥温度	45
脱色・固定回数	4
容器番号(槽-容器)	1-2
乾燥時間	10:00
乾燥温度	65

※1 使用しません。

※2 試薬展開は室温(15~30℃)で行います。

3. 準備

(1) 機器の準備

- 必要な付属品、消耗品等をセットし、全初期化を行う。
- 検査項目リストから『骨型ALP』を選択し、表示された準備を行う。
- サンプラー連携を OFF にする。

(2) 試料

1) 前処理液の溶解

前処理液を、バイアルラベルに記載された所定量の精製水で溶解する。
2~8℃で遮光して保存する時1ヶ月間安定であるが、ピペット等による汚染に注意する。

※ 溶解後速やかに1 枚当たりの使用量(最小分画)を-20℃以下で凍結保存する時、バイアルに記載の有効期限まで使用可能である。

2) 前処理液の調製

1) で溶解した前処理液50 μ L と精製水25 μ L を混合し、前処理液とする。

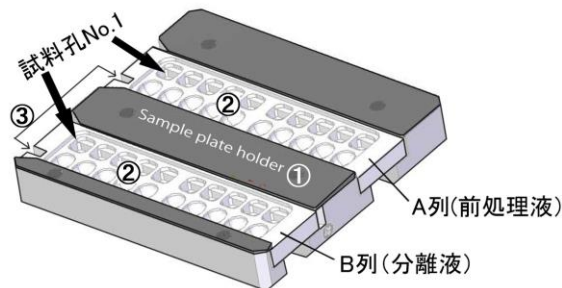
3) 分離液の調製

1) で溶解した前処理液50 μ L とセパレーター25 μ L を混合し、分離液とする(用時調製)。採取時スピペット等による汚染に注意する。

4) 試料の調製

サンプルプレートのA列は前処理液処理を、B列は分離液処理を行う。

- サンプルプレートホルダー①にサンプルプレート②を差しこむ。(切り欠き③を左側にして両端がホルダーからはみ出さないようにセットしてください。)



b. 2) で調製した前処理液を、サンプルプレートA列の試料孔に 6 μ L ずつ採る。

c. 3) で調製した分離液を、サンプルプレートB列の試料孔に 6 μ L ずつ採る。

d. ジェルALPコントロール 30 μ L を、A列の試料孔No.1 に採って前処理液と混合して試料とする。次に、B列の試料孔No.1 に採って分離液と混合して試料とする。

e. 同様に、検体 30 μ L を前処理液と分離液が1ペアになる様に採って混合して試料とする。

f. 試料を採ったサンプルプレートホルダーを湿潤箱に入れ、室温で30分間反応させる。反応終了後、速やかに塗布スタートを開始する。

◇活性が測定範囲以上の検体は、各処理液との反応後に生理食塩水で希釈して試料とします。

(3) 試薬

1) 基質剤を、バイアルラベルに記載された所定量の基質溶解液で溶解し、基質試液とする※。試薬庫の‘2’にセットする。

※ 2~8℃で遮光して保存する時、1ヶ月間安定であるが、ピペット等による汚染に注意する。

2) 発色剤はそのまま使用する。試薬庫の‘3’にセットする(基質試液と発色試液は、泳動終了時に自動で等量混合され、反応試液となる)。

(4) ろ紙

プロッターB(約20 枚)を、ろ紙1 ケースにセットして所定の位置へ置く。

(5) 支持体

クイックジェルをアルミ袋から取り出し、カセット側を上にして必要枚数を重ねる。

バーコード側を手前にしてクイックジェルプレート庫にセットする。

(6) ALP固定液

クイックジェル ALP固定液を精製水で 80 倍に希釈して反応停止液とし、ALP固定液容器に入れる(例:クイックジェル ALP固定液 50mL に精製水を加え 4L にする)。

4. 測定

準備が完了したら、**泳動(塗布~)スタート**をタップして検査を開始する(試料の塗布から測定まで自動で行う)。

◇編集作業について

測定結果は**編集**から呼び出し、コントロール波形を参考にして編集を行います。必要に応じて分画点の位置、ベースラインの修正を行い、余剰分画やテーリング等が確認されアノマリーバンドの疑いがある場合は報告書にコメントを記入します。

泳動面上にゴミ等が認められた場合は波形からの削除、又は取り除いて再測定を行います。泳動パターンが測定枠から外れている場合は再検査又は再測定を行います。また、分画のピークが潰れている場合は検体を希釈して再検査を行ってください。

◇測定後のクイックジェルを保存する場合

6 分間水洗後に乾燥させてください(経時的にバックグラウンドが染まるのを防止します)。

3. エパライザ2

エパライザ2(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、試料の塗布、電気泳動、試薬の展開・反応、測定、分画値の算出まで自動で行います。

機器の操作方法及び設定条件(泳動パラメータ)等の入力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EP BAP-IF試薬	(20 枚用)	J891
クイックジェル ALP	(10 枚)	J713
ジェルALPコントロール	(2mL×1 本)	5104
エパライザープレップ	(240mL×1 本)	J416
	(240mL×4 本)	J417
クイックジェル ALP固定液	(250mL×1 本)	J878
	(250mL×4 本)	J850

(2) 機器

エパライザ2
マイクロピペット

2. 電気泳動パラメータの確認

ホルダー番号欄に当てをクリックし、『骨型ALP』の泳動パラメータの確認を行う。

処理動作	処理2
1 列当たりの検体数	5
塗布列	2
塗布位置(位置情報)	No.4(D320)
塗布回数	3
サンプリング時間 (mm:ss)	00:05
試料採取具合	ふつつ
塗布時間 (mm:ss)	湿度で可変
---	20%
20.1% ---	40%
40.1% ---	60%
60.1% ---	03:00
泳動時間 (mm:ss)	23:00
泳動電圧(V)	230
泳動温度(°C)	15
冷風時間 (mm:ss)	04:00
試薬量(μL)	300
試薬番号	Mix
Mix 処理 試薬番号	3 and 4
試薬滴下回数	1
試薬展開数	20
染色時間 (mm:ss)	---
反応時間 (mm:ss)	24:00
反応温度(°C)	45
脱色・固定液タイプ	脱色2
脱色・固定時間 (mm:ss)	12:30
注入時間 (mm:ss)	00:07
放置時間 (mm:ss)	01:00
排出時間 (mm:ss)	00:15
サイクル	10
乾燥時間 (mm:ss)	12:00
乾燥温度(°C)	75

3. 試薬及び試料の準備

(1) 試薬の調製

- 1) 基質剤を、バイアルラベルに記載された所定量の基質溶解液で溶解し、基質試液とする。2~8℃で遮光して保存する時 1 ヶ月間安定であるが、ピペット等による汚染に注意する。
- 2) 発色試薬をそのまま使用する。
- 3) 試薬庫の試薬番号“3”の位置に発色試液、“4”の位置に基質試液、“Mix”の位置にミックスカップをセットする(基質試液と発色試液は、泳動終了時に自動的に等量混合され、反応試液となる)。

(2) 前処理剤の溶解

- 前処理剤を、バイアルラベルに記載された所定量の精製水で溶解する。2~8℃で遮光して保存する時 1 ヶ月間安定であるが、ピペット等による汚染に注意する。
- ※ 溶解後速やかに 1 枚当たりの使用量に小分けし-20℃以下で凍結保存する時、バイアルに記載の有効期限まで使用可能である。

(3) 前処理液の調製

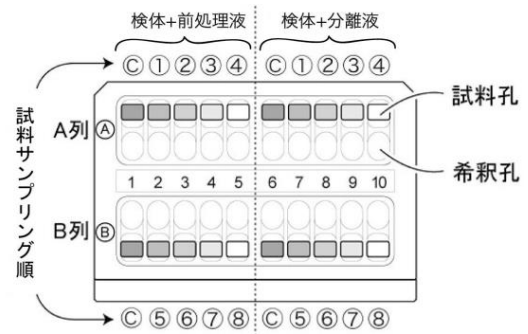
- (2)で溶解した前処理剤 50 μL と精製水 25 μL を混合し、前処理液とする。

* (4) 分離液の調製

- (2)で溶解した前処理剤 50 μL とセロレーター 25 μL を混合し、分離液とする(用時調製)。採取時よびペット等による汚染に注意する。

(5) 試料の準備

サンプルプレートの試料孔 No.1~5 は前処理液処理を、No.6~10 は分離液処理をA列、B列共に行う。



- 1) (3)で調製した前処理液を、サンプルプレートA列、B列の試料孔 No.1~5 に 6 μL ずつ採る。
 - 2) (4)で調製した分離液を、サンプルプレートA列、B列の試料孔 No.6~10 に 6 μL ずつ採る。
 - 3) ジェルALPコントロール 30 μL を、A列、B列の試料孔 No.1 に採って前処理液と混合する。次に、A列、B列の試料孔 No.6 に採って分離液と混合する。
 - 4) 同様に、検体 30 μL を前処理液と分離液がベアになる様に採って混合する。
 - 5) 試料を採ったサンプルプレートに乾燥防止用プレートを重ね、室温で 30 分間反応させる。反応終了後、サンプルウェルプレート庫(未検査)にセットする。
- ◇ 活性が測定範囲以上の検体は、各処理液との反応後に生理食塩水で希釈して試料とし、速やかに検査を開始します。希釈はサンプルプレートの希釈孔(最大 50 μL)を用いると便利です。

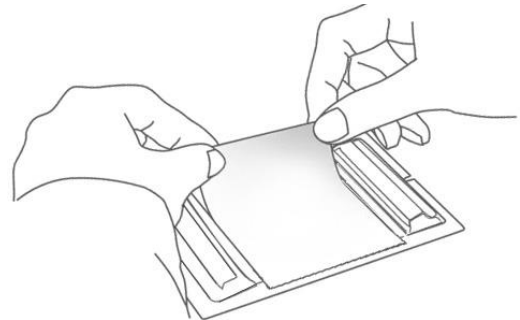
(6) 反応停止液の準備

クイックジェル ALP固定液を精製水で 80 倍に希釈して反応停止液とし、脱色 2 容器に入れる(例:クイックジェル ALP固定液 10mL に精製水を加え 800mLにする)。

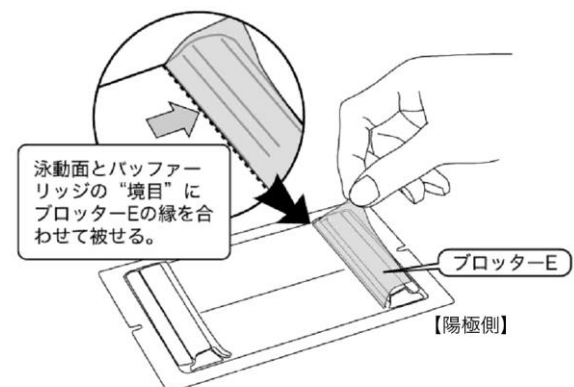
4. 支持体の準備

クイックジェルを冷蔵している場合は室温に戻してから操作を行ってください。

- (1) 必要な枚数分のクイックジェルをアルミ袋から取り出し、カセットからゆつくりと剥がす(注入孔2ヶ所の突起状のゲルは取り除いてください)。
- 1 枚目等、カセットから剥がして直ぐに使用する場合は、プロッターFを泳動面にのせて表面の余分な水分を均一に吸い取り、直ぐに取り除く。



- (2) 陽極側のバッファリーッジに、プロッターEを気泡が入らないように貼り付ける。



(3) アガロース面を下に向け、プレートホルダーにセットし、プラスチック面についている余分なバッファーを濡れたペーパータオル等で拭き取る。



(4) アガロース面を上に向け、プレートホルダーを重ねる。

(5) プレートホルダーの番号を手前に向けてホルダー庫の中にセットする(複数枚セットする場合は、乾燥防止のため一番上にホルダーカバーを重ねてください)。

5. 測定

(1) **スタート前確認**画面を表示する。検査項目『骨型ALP』を選択し、画面に従って確認を行う。

(2) 全ての準備が完了すると、**スタート**が表示されるので、クリックして検査を開始する(塗布から測定まで自動で行う)。

$$\text{骨型ALP(U/L)} = \text{ALP3分画値(\%)} \times \text{総ALP活性(U/L)}^{**}$$

※ 総活性はIFCC法で測定した値を使用してください。

◇測定後のクイックジェルを保存する場合

クイックジェル両極のバッファーリッジを取り除き、6分間水洗後に乾燥させてください(経時的にバックグラウンドが染まるのを防止します)。

4. 用手法

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EP BAP-IF試薬	(20 枚用)	J891
クイックジェル ALP	(10 枚)	J713
ジェルALPコントロール	(2mL×1 本)	5104
REP-prep	(240mL×1 本)	J409
	(240mL×4 本)	J3100
メタノール		

(2) 機器		Cat.No.
クイックスキャン		
I.O.D.		J160
タイタンプラス パワーサプライ		1504
クイックジェル チャンバー P		J678
クイックジェル アプリケーター		J653
アプリケーターチップ		J636
サンプルプレート E2		J637
クイックジェル 試薬展開ローラー		J657
クイックジェル 湿潤箱		J4062
クイックジェル 染脱色容器		J656
展開板		J670
マイクロピペット		

2. 測定操作法

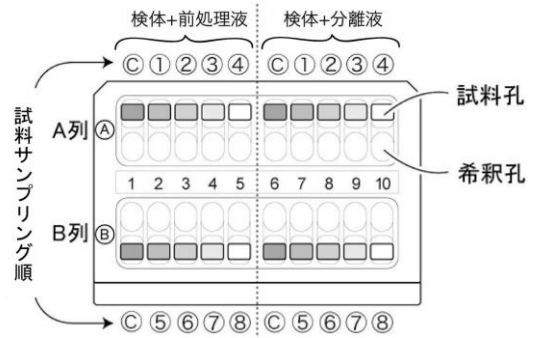
試料量	30 μ L
塗布位置	3
塗布回数	3 回
泳動電圧	250V
泳動温度(電子冷却式チャンバー使用時)	20℃
泳動時間	20 分間
試薬量	600 μ L
反応温度	37℃
反応時間	25 分間
固定時間	5 分間
水洗時間	20 分間
乾燥温度	約 55℃
乾燥時間	約 20 分間

3. 準備

- (1) 反応停止液の準備
70%(v/v)メタノールを調製し、染脱色容器に約 250mL 入れる(液温が下がってから使用する)。
 - (2) I.O.D.の用意
I.O.D.のドライヤー部を 55℃、インキュベーター部を 37℃にセットする。
 - (3) 試薬の調製
 - 1) 基質剤を、バイアルラベルに記載された所定量の基質溶解液で溶解し、基質試液とする。2～8℃で遮光して保存する時、1 ヶ月間安定であるが、ピペット等による汚染に注意する。
 - 2) 発色試液はそのまま使用する。
 - (4) 前処理剤の溶解
前処理剤を、バイアルラベルに記載された所定量の精製水で溶解する。2～8℃で遮光して保存する時 1 ヶ月間安定であるが、ピペット等による汚染に注意する。
※ 溶解後速やかに 1 枚当たりの使用量に小分けし、-20℃以下で凍結保存する時、バイアルに記載の有効期限まで使用可能である。
 - (5) 前処理液の調製
(4)で溶解した前処理剤 50 μ L と精製水 25 μ L を混合し、前処理液とする。
- * (6) 分離液の調製
(4)で溶解した前処理剤 50 μ L とセパレーター 25 μ L を混合し、分離液とする(用時調製)。採取時ピペット等による汚染に注意する。

(7) 試料の準備

サンプルプレートの試料孔 No.1～5 は前処理液処理を、No.6～10 は分離液処理を A 列、B 列共に行う。



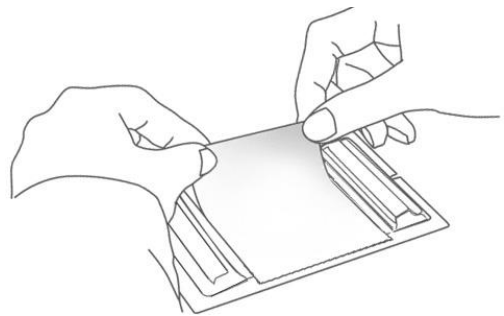
- (5)で調製した前処理液を、サンプルプレート A 列、B 列の試料孔 No.1～5 に 6 μ L ずつ採る。
- (6)で調製した分離液を、サンプルプレート A 列、B 列の試料孔 No.6～10 に 6 μ L ずつ採る。
- ジェルALPコントロール 30 μ L を、A 列、B 列の試料孔 No.1 に採って前処理液と混合する。次に、A 列、B 列の試料孔 No.6 に採って分離液と混合する。
- 同様に、検体 30 μ L を前処理液と分離液が 1:1 になる様に採って混合する。
- 試料を採ったサンプルプレートに乾燥防止用プレートを重ね、室温で 30 分間反応させる。

◇活性が測定範囲以上の検体は、各処理液との反応後に生理食塩水で希釈して試料とし、速やかに検査を開始します。希釈はサンプルプレートの希釈孔(最大 50 μ L)を用いると便利です。

4. 電気泳動

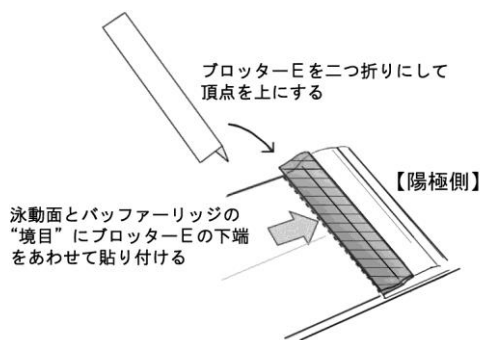
クイックジェルを冷蔵している場合は室温に戻してから操作を行ってください。

- (1) クイックジェル チャンバー P の電源を入れ、温度切替スイッチが OFF であることを確認する。
- (2) クイックジェルとチャンバーの密着を良くするため、チャンバーの上に REP-prep を約 0.5mL のせる。
- (3) クイックジェルをアルミ袋から取り出してカセットからゆっくりと剥がし、陰極側(－)が左側になるようにチャンバーにセットする。チャンバーとの間に気泡が入らないようゆっくりと置き、余分な REP-prep はペーパータオル等で拭き取る。
- (4) プロッター F を泳動面にのせて表面の余分な水分を均一に吸い取り、直ぐに取り除く。



- (5) クイックジェルアプリケーターの塗布位置を“3”に合わせる。
- (6) アプリケーターに、試料を採取したサンプルプレートとアプリケーターチップをセットし、チャンバーにのせる。
- (7) アプリケーターの取っ手を左に動かし、チップを試料に 5 秒間浸す。取っ手を右に動かしてチップを引き上げ、さらに右に動かして試料を塗布する。
※ チップを試料から引き上げる速さは塗布量に影響します。常に一定の速さで操作するように注意してください。
- (8) 2 分間静置後、取っ手を左に動かしスタンバイ位置に戻す。この操作を繰り返し、3 回塗布する。
- (9) アプリケーターをチャンバーから取り外す。

- (10) プロッター-Eを二つ折りにし、折り目の頂点を上にして陽極側のバッファーリッジ内側に貼り付ける。



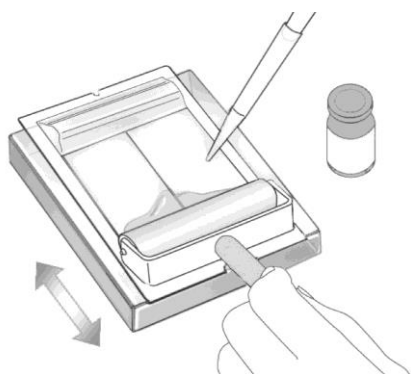
- (11) 電極棒をセットしてチャンバーの蓋を閉め、温度切替スイッチを20℃にする。表示が20℃になったのを確認し、250Vで20分間泳動する。

クイックジェル チャンバー(蓄冷剤式)を使用する場合
チャンバーに凍結した蓄冷剤をセットし、速やかに(2)以降の操作を行う。

◇泳動終了後、温度切替スイッチをOFFにする(又は蓄冷剤を取り外す)。連続して泳動する場合は、チャンバーが室温に戻っていることを確認してから使用する。

5. 反応

- (1) 泳動が終了する直前に、3.(3)で調製した基質試液と発色試液を300μLずつ採って混合し、反応試液とする。
- (2) 泳動終了後プロッター-Eを取り除き、バッファーリッジに溶出したバッファーをペーパータオル等でそっと吸い取る。
- (3) I.O.D.のインキュベーター部にクイックジェルを入れ、扉を開けた状態で温風を2〜3分間あてる。
- (4) I.O.D.からクイックジェルを取り出し、展開板の上に置く。
- (5) 反応試液600μLをピペットに取り、泳動面の一極側から試薬展開ローラーを動かしながら滴下する。試薬が完全に吸収されるまで展開する(約10往復)。



- (6) クイックジェルを展開板から剥がして湿潤箱に入れ、I.O.D.のインキュベーター部で25分間反応させる。

6. 反応停止及び乾燥

- (1) 反応終了後、湿潤箱からクイックジェルを取り出し、3.(1)で調製した反応停止液に入れて5分間静置する。
- (2) 染脱色容器に水を約300mL入れ、クイックジェルを入れて20分間洗浄する(その間2〜3回水を交換する)。
- (3) 洗浄後、クイックジェル両極のバッファーリッジを取り除く。
- (4) アガロース面を上にしてI.O.D.のドライヤー部で完全に乾燥させる。

7. 測定

乾燥が終了したクイックジェルをクイックスキャンの試料台にセットし、検査項目『骨型ALP』で測定する。

$$\text{骨型ALP(U/L)} = \text{ALP3分画値(\%)} \times \text{総ALP活性(U/L)}^{**}$$

※ 総活性はIFCC準拠法で測定した値を使用してください。

【測定結果の判定法】

基準範囲(正常参考値)

216名の集団検診受診者、総活性が基準範囲内(IFCC法測定値:38〜113U/L)の場合(当社データ)

	分画値(%)	活性値U/L)
ALP1(高分子肝型)	0.0〜5.3	0.0〜4.0
ALP2(肝型)	29.3〜67.9	16.0〜56.3
ALP3(骨型)	26.9〜67.6	15.4〜58.4
ALP5 ^{※1} (小腸型)	0.0〜18.1	0.0〜11.9

この値を参考に、あらかじめ各施設で設定してください。

※ 血液型B又はO型で分泌型の人では、ALP総活性値の上昇及びALP5の出現率が高くなることがあります^{※1)}。また、高分子小腸ALPの泳動位置は前処理剤(プロテアーゼ)や抗胎盤血清等で処理しないとALP3に重なり誤差を与えますが、本キットは前処理剤で高分子小腸ALPを通常サイズの小腸ALPに変換して測定するため、骨型が正確に測定できます^{※2)6)}。

◇胎盤型ALP(ALP4)や免疫結合性ALP等のアノマーバンドが出現することがあります。その場合、正確な骨型ALPの定量値は求められません。アノマーバンドの同定については、別紙「ALPアイソザイムの検索(QG)」を当社までご請求ください。

【性能】

1. 感度

精製水を試料として測定する時、ALPアイソザイム分画は検出されない。総活性27U/L^{※1}の検体を試料として測定する時、ALPアイソザイム分画が測定できる。また、単一の染色帯として、13U/L^{※1}から測定できる。

2. 正確性

ALP2、ALP3が出現する正常ヒトコントロール血清を測定する時、測定値は既知分画値のALP2が80〜110%、ALP3が90〜120%である。

3. 同時再現性

ALP2、ALP3が出現する正常ヒト血清を8回同時に測定する時、分画値のCV値はALP2、ALP3とも5%以下である。

4. 測定範囲

基準値の上限が113U/L^{※1}の時、本法におけるALPアイソザイムの測定範囲は、27〜420U/L^{※1}である。

5. 相関性

(1) 本法と、タイタンALPアイソザイム試薬^{※2}との相関性を検討したところ、回帰式及び相関係数rは以下の通りであった。

ALP1	Y = 1.08X + 2.21	r = 0.98
ALP2	Y = 0.95X - 1.81	r = 0.94
ALP3	Y = 0.98X + 0.57	r = 0.96
ALP5	Y = 1.08X + 1.38	r = 0.94

X: タイタンALPアイソザイム試薬

Y: クイックEP BAP-IF試薬 (n=53)

(2) 本法で測定したALP3(骨型ALP)と、クイックジェル ALP試薬^{※3}で測定したALP3(骨型ALP)との相関性を検討したところ、回帰式及び相関係数rは以下の通りであった。

ALP3(骨型ALP)	Y = 1.01x - 4.82	r = 1.00
-------------	------------------	----------

X: クイックジェル ALP試薬

Y: クイックEP BAP-IF試薬 (n=59)

※1 活性値はIFCC法で表示

※2 5-ブロモ-3-インドリルりん酸-p-トルイジン塩を基質とする試薬

※3 3-インドキシリルりん酸二ナトリウム塩を基質とする試薬

【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は使用しない。
- (2) 試薬は冷蔵庫(2～8℃)で保存する。
- (3) ロットの異なる試薬を組み合わせ使用しない。また、同一ロットの試薬であつても試薬を注ぎ足すことは行わない。
- (4) クイックジェル ALP 1袋に、クイックジェルが2枚入っている。開封後の未使用品は、アルミ袋に精製水 0.5mL を注入した後セロハンテープ等で密封して所定の条件で保存し、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)による滅菌処理を行う。
- (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行う。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法 2～8℃で保存
2. 有効期間 9ヶ月(期限は外箱に表示)

【包装単位】

クイックEP BAP-IF試薬 (Cat.No.J891) 20枚用

【主要文献】

1. 星野忠, 他. IFCC 法に対応した新規ALPアイソザイム活性染色試薬の開発. 臨床化学 48 補冊 1, 229(2019).
2. 松下誠, 他. アガロースゲル電気泳動法によるALPアイソザイム分析の改良. 臨床病理 52 補冊, 232(2004).
3. 深津俊明. アルカリホスファターゼ(ALP). 臨床病理レビュー特集第116号, 27-35(2001).
4. Young DS, et al. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. *Clin Chem* 21, 246D-248D(1975).
5. 服部幸子, 他. ABO式血液型とLewis血液型別によるアルカリ性ホスファターゼ活性値とアイソザイム. 医学検査 49, 397(2000).
6. 星野忠, 他. 臨床検査における汎用電気泳動支持体を用いた小腸ALPおよび血液型依存性高分子小腸ALPの泳動位置についての再評価. 生物物理化学 42, 161-167(1998).

【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