

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
タイタンジェル

クイックジェルIFEキット Dクリーン

【一般的な注意】

- 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。
- 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。
- 添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
- 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 Dクリーン

- Cat.No. J9032 IFE抗血清セット
(1) 抗IgG血清 0.8mL 1本
抗ヒト免疫グロブリンGボリクローナル抗体を含むヤギ血清
(2) 抗IgA血清 0.8mL 1本
抗ヒト免疫グロブリンAボリクローナル抗体を含むヤギ血清
(3) 抗IgM血清 0.8mL 1本
抗ヒト免疫グロブリンMボリクローナル抗体を含むヤギ血清
(4) 抗κ鎖血清 0.8mL 1本
抗ヒト免疫グロブリンκ型L鎖ボリクローナル抗体を含むヤギ血清
(5) 抗λ鎖血清 0.8mL 1本
抗ヒト免疫グロブリンλ型L鎖ボリクローナル抗体を含むヤギ血清
(6) 固定液 1mL 1本
- Cat.No. J9035 前処理Dクリーン
(1) 前処理Dクリーン 200μL 1本
抗ダラツムマブボリクローナル抗体を含むヤギ血清

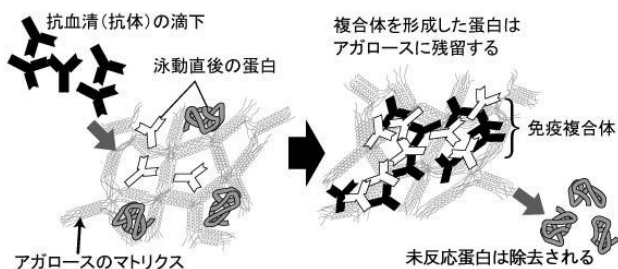
【使用目的】

血清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。



多発性骨髄腫の治療に用いられるダラツムマブ(ヒト型抗CD38モノクローナル抗体)は、血清蛋白分画及び免疫固定法の測定系に干渉し、IgG-κ型のM蛋白として検出されることがある。そのため、IgG-κ型多発性骨髄腫患者の治療効果判定において影響を及ぼす恐れがある。前処理Dクリーンはダラツムマブに特異的な抗体であり、患者血清中のダラツムマブと免疫結合することでその移動度を変化させて影響を回避する。すなわち、本試薬で前処理することにより、ダラツムマブの干渉を受けずに判定を行うことが可能になる。

【操作上の注意】

測定試料の性質及び採取法

- 試料は血清とする。
- 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。
- 溶血した試料は用いない。
- 前処理Dクリーンはダラツムマブ投与患者血清用の前処理試薬である(他の抗体治療薬や、未投与検体の判定には影響しない)。

【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

	Cat.No.
(1) 試薬	
IFE抗血清セット	J9032
前処理Dクリーン	(200μL×1本) J9035
タイタンジェル IFEプレートセット	(10検体用) J723
⑨ IFEバッファー	
1袋(19.1g)中の向精神薬該当成分...	バルビタール 2.7g バルビタールナトリウム 15.5g
0.85%塩化ナトリウム水溶液(生理食塩水)	
酢酸	

	Cat.No.
(2) 機器	
タイタン プラス パワーサプライ	1504
タイタンジェル チャンバー	4063
I.O.D.	J160
ウェイトプラス (又は約3kgの重し)	J513
クイックジェル 染色色容器	J656
展開板	J670
マイクロピペット	

※ ダラツムマブ陽性のコントロールとして、「Daratumumab」(Selleck 社等)をヒト血清に添加したものが使用できます。詳細についてはお問い合わせください。

2. 測定操作法

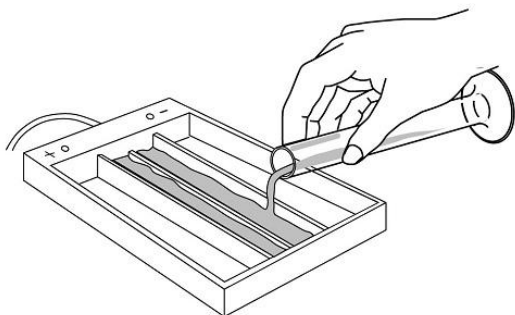
バッファー量	30 mL × 2
塗布量	3μL
塗布時間	5分間
泳動電圧	100V
泳動時間	20分間
抗血清量	2滴(約70μL)
固定液量	2滴(約70μL)
抗原抗体反応時間	10分間
脱蛋白時間	14分間
染色前乾燥温度	約55℃
染色前乾燥時間	約5分間
染色時間	4分間
脱色時間	2分間 × 2回
乾燥温度	約55℃
乾燥時間	約5分間

3. 準備

- 各抗血清及び固定液はそのまま使用する。
- 染色液の調製
IFEステイン(Acid Blue Stain)1本を5%(v/v)酢酸1000mLで溶解し、染色液とする。
- 電気泳動用バッファーの調製
IFEバッファー1袋をラベルに記載された所定量の精製水で溶解する。

(4) チャンバーの用意

IFEプレート1枚につき、タイタンジェルチャンバー1台を使用する。
チャンバーの内側の電極槽に、バッファを30mLずつ入れる。



(5) 試料の調製

血清、生理食塩水及び前処理Dクリーンを以下の通りに混合し、室温で10分以上反応させて試料とします。

	血清	生理食塩水	Dクリーン
SPレーン	3 μ L	3 μ L	-
G・ κ レーン	1 μ L	7 μ L	2 μ L
A・M・ λ レーン	3 μ L	27 μ L	-

(6) 脱色液の準備

5%(v/v)酢酸を染脱色容器2個に約250mLずつ入れる。

(7) 生理食塩水の準備

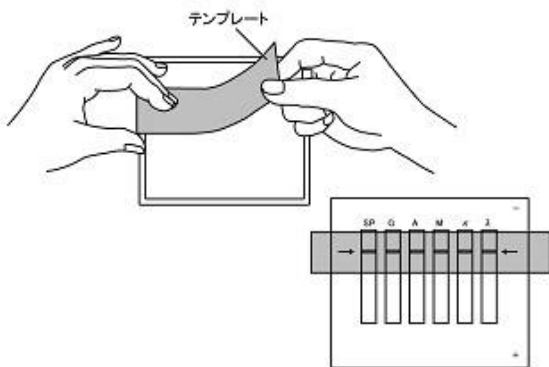
生理食塩水約250mLを染脱色容器に入れる。

(8) I.O.D.の準備

I.O.D.のドライヤー部を55°Cにセットする。

4. 試料の塗布

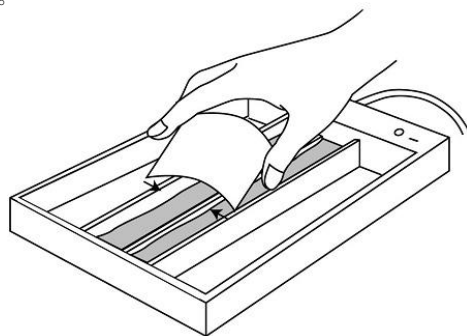
- (1) アルミ袋からプレートが入っているプラスチックケースを取り出す。
- (2) アガロース面に触れないようにしてIFEプレートを取り出し、アガロース面を上にして+極側を手前に向け展開板の上に置く(ケースは抗原抗体反応時に使用するので破棄しないでください)。
- (3) プロッターCをアガロース面全体にのせて表面のバッファを吸い取る。均一に吸い取ったらそっと取り除く。
- (4) プレート両側の矢印とテンプレート両側の短いスリットを合わせるようにテンプレートを置き、気泡が入らないように上から軽く指で押さえる。



- (5) テンプレートの上にプロッターAを重ね、各スリットを指で軽く押さえる。プロッターAをそっと取り除く。
- (6) SPレーン用、G・ κ レーン用及びA・M・ λ レーン用に調製した試料を、対応するスリットに各3 μ L塗布する。
- (7) 5分間静置した後、テンプレートの上にプロッターAを重ねて残った試料を吸い取る。プロッターAとテンプレートをそっと取り除く。

5. 電気泳動

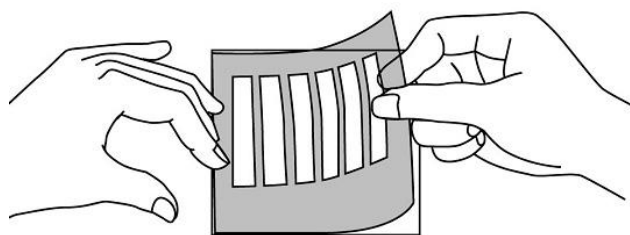
- (1) プレートの+極-極表示を確認してからアガロース面を下にしてアーチ型に持ち、チャンバーの+極-極表示と合わせて内側の電極槽にセットする。



- (2) チャンバーに蓋をして、プレートとバッファをなじませるために1分間静置する。
- (3) 100Vで20分間泳動する。

6. 抗原抗体反応

- (1) 泳動終了後チャンバーからプレートを取り出し、アガロース面を上にしてプレートが入っていたケースに置く(この際、バッファが泳動面にかからないように注意してください)。
- (2) IFE抗血清テンプレートを、プレートに印刷してある枠にスリットを合わせ気泡が入らないようにのせる。



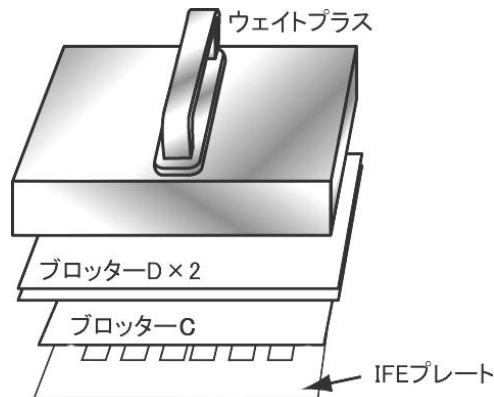
- (3) 固定液の点眼容器を45度に傾けて、SPレーンの-極寄りに2滴塗布する。



- (4) ケースを+極側に傾けて、試薬を枠内に均一に展開する。
- (5) 同様に、抗IgG、抗IgA、抗IgM、抗 κ 鎖及び抗 λ 鎖血清を、それぞれG、A、M、 κ 及び λ レーンに展開する(1レーンごとに行う)。
- (6) ケースの蓋をして、室温(15~30°C)で10分間反応させる。

7. 脱蛋白

- (1) ケースからプレートを取り出し、テンプレートを取り除く。
- (2) プレートを3. (7) で準備した生理食塩水に入れ、ピンセット等を用いて直ぐに取り出して展開板の上にのせる。
- (3) プレートの上にプロッターCを1枚のせる。その上にプロッターDを2枚重ねて置き、さらにウェイトプラス(又は平らな板と約 3kg の重し)のをせ、5分間静置する。



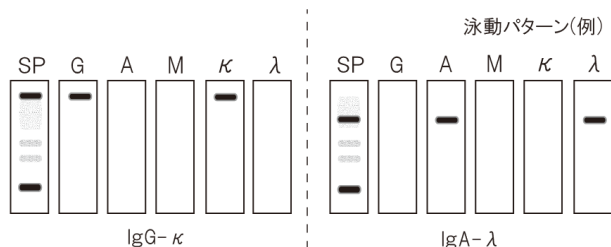
- (4) プロッターを取り除き、プレートを生理食塩水に入れ4分間浸す(容器を振とう器にかけるか、時々振とうしてください)。
- (5) プレートを取り出して生理食塩水をよく切ってから展開板の上に置き、(3)と同様にプロッターとウェイトプラスのをせ、5分間静置する。

8. 染色及び乾燥

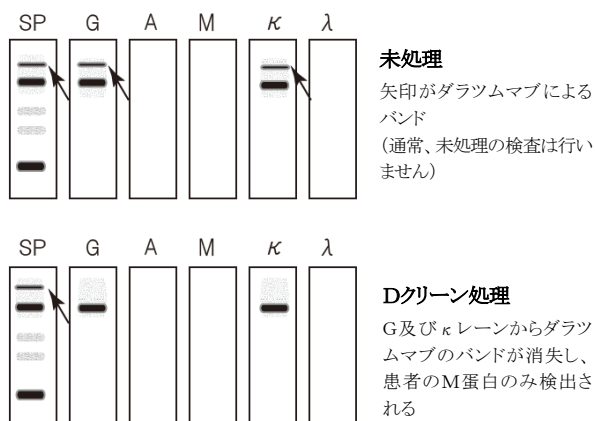
- (1) 脱蛋白終了後プロッターを取り除き、プレートをI.O.D.のドライヤー部に入れて完全に乾燥させる。
- (2) 乾燥が終了したプレートを染色脱色容器に入れ、3. (2) で調製した染色液約 100mL を展開して4分間染色する。
- (3) プレートをピンセット等を用いて取り出し、染色液をよく切る。3. (6) で用意した脱色液に入れて2分間ずつ2回(バックグラウンドが脱色されるまで)脱色する。
- (4) 脱色液をよく切り、I.O.D.のドライヤー部に入れて完全に乾燥させる。

【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。



γ 位に出現するダラツムマップによる IgG-κ 型M蛋白バンドは、本試薬で処理することにより判定に影響がない位置に移動するため、処理後に残存しているM蛋白は患者由来のものとして判定できる。



◇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。

1. 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)。
2. 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)を行うか生理食塩水を約 37℃に温めて用いると、脱蛋白されやすくなる。
3. 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。
4. 血清中のM蛋白が抗L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。
5. M蛋白が抗H鎖血清とのみ反応し、対応する位置に抗L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λ 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。
6. 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。ダラツムマップについては本キットを使用することで影響を回避できる。

【性能】

1. 感度※

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。

また、ダラツムマップを 1mg/mL 含む上記濃度のコントロール血清を試料として前処理Dクリーンを使用して操作したとき、ダラツムマップは判定に影響を与えない。

2. 正確性

免疫グロブリン正常値検体および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、および抗λ 鎖血清は、各々IgG、IgA、IgM、κ 型L鎖、λ 型L鎖とのみ染色帯を認める。また、ダラツムマップを 1mg/mL 含む上記試料に前処理Dクリーンを使用して操作したとき、ダラツムマップは判定に影響を与えない。

3. 同時再現性

免疫グロブリン正常値検体および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。また、ダラツムマップを 1mg/mL 含む上記血清を試料として前処理Dクリーンを使用して3回操作するときダラツムマップは判定に影響を与えず、同一試料はすべて同様の判定を示す。

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

本法と他社製品(免疫沈降反応を用いる試薬)を用いて血清52検体(ダラツムマップ投与患者血清を含む)を測定したところ、両者の一致率は96%であった。

※ 濃度は全て生理食塩水で希釈する前の値です。

【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体は使用しない。
- (2) 試薬及び支持体は、外箱に記載されている温度で保存する。
- (3) ロットの異なる試薬を組み合わせで使用しない。また、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) 溶解後の泳動用バッファーは冷蔵庫で保管し、室温に戻してから使用する。
- (5) 生理食塩水の液温が低いと脱蛋白が不十分になり、アルブミンや未反応蛋白が染色されることがある。液温を 20～37℃にして行くと脱蛋白がよりよくなる。

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) 泳動用バッファーは、向精神薬成分を回収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)。
- (4) 本キット中の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 年(期限は外箱に表示)

【包装単位】

IFE抗血清セット (Cat.No.J9032) 抗血清 各0.8mL
固定液 1mL
前処理Dクリーン (Cat.No.J9035) 200 μ L
※Cat.No.J9032 は、体外診断用医薬品(製造販売承認番号21600AMZ00494000)として別添販売しています。

【主要文献】

1. Ritchie RF, Smith R. Immunofixation. III. Application to Study of Monoclonal Proteins. *Clin Chem* 22, 1982-1985(1976).
2. 中野栄二. 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蛋白の臨牀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. 日本骨髄腫研究会[編]. 多発性骨髄腫の診療指針 第1版. 文光堂, 1-10 (2004).
7. 中野栄二, 大竹皓子. Immunofixation のコツ. 臨床検査. 26, 790-795 (1982).
8. 林田章也, 他. ダラツムマブ治療中患者の免疫固定法における抗ダラツムマブ抗体処理の有用性について. 日本臨床検査医学会誌(臨床病理). 70(補冊), 215(2022).
9. 関田綱基. 薬物および薬物代謝物による検査値への影響 事例2-3:ダラツムマブなどの抗体薬による血清蛋白分画、IFE 上の M 蛋白出現. 医療検査と自動化(日本医療検査科学会誌). 48(Suppl.1), 28-30(2023).
10. 早田峰子, 他. ダラツムマブ投与後の免疫固定電気泳動法における偽陽性バンドの消失期間と「前処理Dクリーン」の有用性についての検討. 日本臨床検査医学会誌(臨床病理). 73, 613-616(2025).
11. Naomi Yasuda, et al. Evaluation of the performance of new daratumumab-specific immunofixation electrophoresis reflex agent and the timing of M-protein measurement. *Journal of clinical and experimental hematopathology*. 65, 276-282(2025).

【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

