

この添付文書をよく読んでから使用して下さい

承認番号 22100AMX00494000

** 2015年1月改訂(第7版)

* 2012年4月改訂(第6版)

Code 463-41591

体外診断用医薬品

アルファフェトプロテインキット アルファフェトプロテインのレクチン反応性による分画比キット

ミュータスワコー AFP-L3

(LBA法)

【全般的な注意】

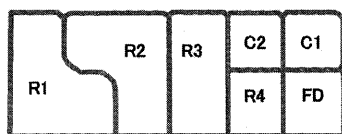
- (1) 本製品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
- (2) この添付文書に記載された使用方法に従って使用して下さい。記載された使用方法および使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証しかねます。
- (3) 測定機器は取扱説明書に従い適切な条件下で使用して下さい。なお、詳細については機器メーカーに問い合わせして下さい。
- (4) 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果と併せて担当医師が総合的に判断して下さい。

【形状・構造等(キットの構成)】

ミュータスワコー AFP-L3 (1カートリッジ(100回用))

- | | |
|------------------------------|---------|
| (1) 泳動緩衝液 1 (R1) | 5.6 mL |
| (2) 泳動緩衝液 2 (R2) | 4.5 mL |
| レンズマメレクチン(LCA) | |
| (3) 泳動緩衝液 3 (R3) | 2.6 mL |
| (4) 泳動緩衝液 4 (R4) | 1.4 mL |
| (5) 標識抗体液 1 (C1) | 0.77 mL |
| アニオン結合抗ヒトAFP抗体(マウスモノクローナル抗体) | |
| (DNA-Fab'(AFP)) | |
| (6) 標識抗体液 2 (C2) | 0.82 mL |
| 蛍光結合抗ヒトAFP抗体(マウスモノクローナル抗体) | |
| (蛍光-Fab'(AFP)) | |
| (7) 蛍光液 (FD) | 1.4 mL |

試薬カートリッジの試薬配置図(上面)



【使用目的】

血清中のα-フェトプロテイン(AFP)のレクチン反応性による分画比(AFP-L3%)及びα-フェトプロテイン(AFP)の測定(悪性腫瘍の診断の補助)

【測定原理】

α-フェトプロテイン(AFP)は、胎児肝あるいは肝細胞癌、ヨークサック腫瘍等の悪性腫瘍で発現される癌胎児性糖タンパク質です。ヒトのAFPには1分子当たり1本のアスパラギン結合型糖鎖が存在し、その糖鎖構造は明らかにされています。また細胞の癌化に伴い糖鎖構造が変化することが判っており、親和性の異なる種々のレクチンを用いて、糖鎖の癌性変化が調べられています。レンズマメレクチンは糖鎖の非還元末端のN-アセチルグルコサミンにα1, 6結合でフコースが付加した糖鎖に親和性を有しています。肝細胞癌に伴う糖鎖構造変化として、主にこのフコースの付加が発現しています。

つまり、α-フェトプロテイン(AFP)は1分子当たり1本のアスパラギン結合型糖鎖を持ち、肝細胞癌に伴う糖鎖構造変化として、フコースが付加された糖鎖を持つAFPと、フコースが付加されていない糖鎖を持つAFPとがあります。フコースが付加された糖鎖を持つAFPはレンズマメレクチン(LCA)と親和性があり(LCA親和性AFP)(AFP-L3)、フコースが付加されていない糖鎖を持つAFPは、LCAと親和性がありません(LCA非親和性AFP)(AFP-L1)。

本品は、反応系に固相を必要とせず液相中で抗原抗体反応後、形成した免疫複合体を分離し測定するLBA法(Liquid-phase Binding Assay)を用いた測定試薬であり、結合部位が異なる蛍光結合抗ヒトAFP抗体(マウスモノクローナル抗体)(蛍光-Fab'(AFP))、及びアニオン結合抗ヒトAFP抗体(マウスモノクローナル抗体)(DNA-Fab'(AFP))と、レンズマメレクチン(LCA)より構成されています。測定原理は以下に示します。

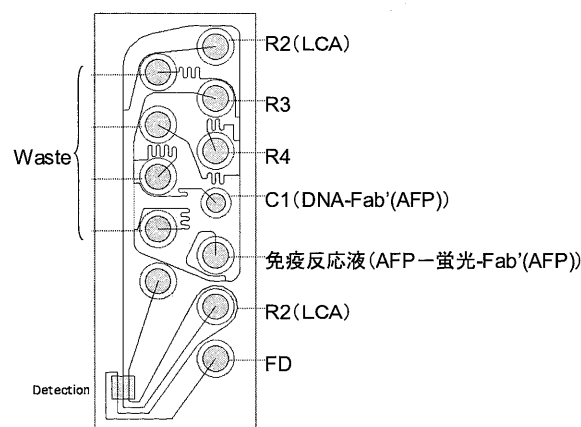
まず、試料中のAFPと標識抗体液2(C2)中の蛍光-Fab'(AFP)とを泳動緩衝液1(R1)液相中で反応させると、AFPは図1のような免疫複合体を形成します(免疫反応液)。

図1

AFP-蛍光-Fab'(AFP)

この免疫反応液を全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i30のチップ上の所定ウェルに分注します。次に、泳動緩衝液2(R2)(LCAを含む)、泳動緩衝液3(R3)、泳動緩衝液4(R4)、標識抗体液1(C1)(DNA-Fab'(AFP)を含む)及び蛍光液(FD)についてもチップ上の所定ウェルに分注します(図2)。

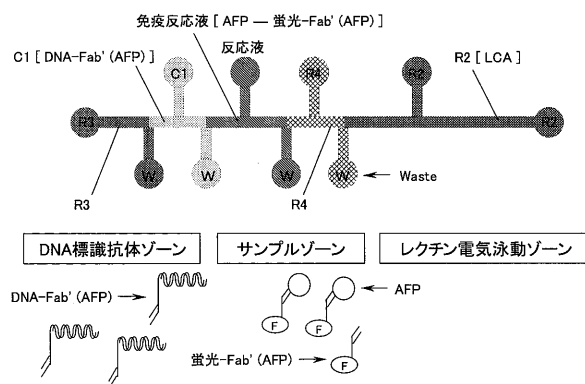
図2



Waste(ウエスト)は、R2、R3、R4、C1及び免疫反応液を分析用流路に導入する際の廃液だめとして使用します。FDは蛍光物質を含有しており、Detection部(測光部)において分析用流路の側面に沿って配置されたフォーカス用流路を流れ、分析用流路の位置を装置の測光部に認識させる役割を持ちます。

試薬を分注後、加圧によりチップの分析用流路に試薬を導入します(図3)。

図3

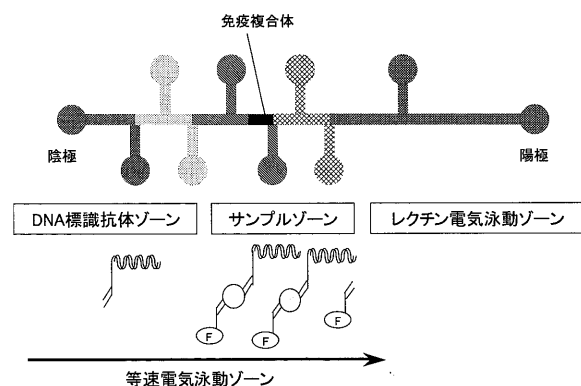


導入後、電圧を掛けるとDNA-Fab'(AFP)は等速電気泳動の原理に従い、陽極方向に濃縮されながら移動します。次に、濃縮されたDNA-Fab'(AFP)は、サンプルゾーンに移動し、図4の複合体が形成されます(図5)。

図4

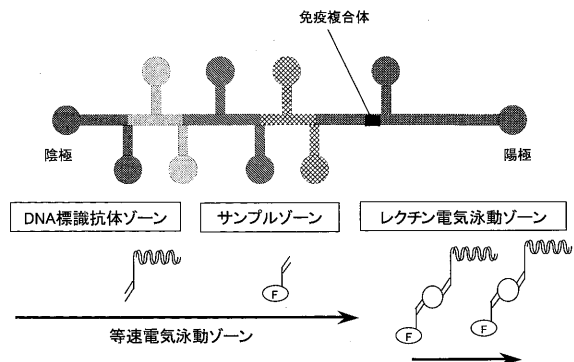
DNA-Fab'(AFP)-AFP-蛍光-Fab'(AFP)

図5



更に、電気泳動を続けると図4の免疫複合体とDNA-Fab'(AFP)は、アニオンの荷電によりレクチン電気泳動ゾーンに移動します。未反応の蛍光-Fab'(AFP)は荷電がないため、レクチン電気泳動ゾーンに移動しません。このため、本測定系では等速電気泳動ゾーンでB/F分離(結合/非結合分離)を行います。また、未反応のDNA-Fab'(AFP)は、蛍光を持たないためB/F分離する必要がありません(図6)。

図 6



次に、レクチン電気泳動ゾーンに移動した図4の免疫複合体中、LCA親和性AFPが結合した複合体は、図7に示すようにゾーン中に含まれるレクチン(LCA)と結合しますが、LCA非親和性AFPが結合した複合体はレクチン(LCA)と結合しません。

図 7

複合体 1 : AFP-L3
(DNA-Fab'(AFP))-(LCA親和性AFP)-(蛍光-Fab'(AFP))
|
(LCA)
複合体 2 : AFP-L1
(DNA-Fab'(AFP))-(LCA非親和性AFP)-(蛍光-Fab'(AFP))

レクチンと反応した複合体1の電気泳動時間は、複合体2と比べて遅れが生じます。レクチン電気泳動により分離された複合体1 (AFP-L3分画)と複合体2 (AFP-L1分画)の蛍光強度のピーク面積を測定します。

複合体1 (AFP-L3分画)と複合体2 (AFP-L1分画)の蛍光強度のピーク面積からAFP濃度およびAFP-L3%を算出します。算出方法は、AFP-L1およびAFP-L3濃度既知の標準液を測定して得られた蛍光強度のピーク面積と、試料を測定して得られた各々の蛍光強度のピーク面積を比較して、試料中のAFP-L1、AFP-L3濃度を求めます。AFP濃度はAFP-L1濃度とAFP-L3濃度の合計値で、AFP-L3%は(AFP-L3濃度)/(AFP-L1濃度+AFP-L3濃度)×100より求められる値です。

〔操作上の注意〕

(1) 測定試料の性質、採取法

(イ)採取後の検体は速やかに測定してください。保存する場合は-20℃以下で凍結保存して下さい。6ヶ月以上保存する場合は-80℃以下で保存し、繰り返し凍結融解することは避けて下さい。

(2) 妨害物質・妨害薬剤

(イ)アスコルビン酸は、50 mg/dLまで測定値に影響を与えません。
(ロ)ビリルビンは、38 mg/dLまで測定値に影響を与えません。
(ハ)溶血は、988 mg/dLまで測定値に影響を与えません。

** (3) その他

(イ)AFP濃度が測定範囲の上限を超える検体については、検体をミュータスワコー AFP-L3用 キャリブレーターセット(別売品)についている、ミュータスワコー AFP-L3用 ブランク又はミュータスワコー 希釈液(別売品)で希釈して測定して下さい。得られた値に希釈倍数を乗じたものが測定値となります。

〔用法・用量(操作方法)〕

* (1) 試薬の調製方法

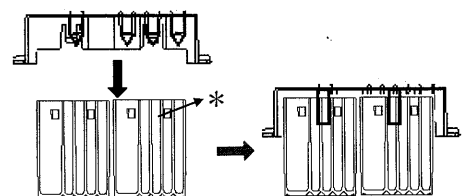
ミュータスワコー AFP-L3(カートリッジ)：そのまま使用して下さい。
使用前には付属品のアダプターを使用して開封して下さい。
開封後装置内(2~10℃保存)で、45日間使用できます。

(2) 付属品

アダプター 1個

使用方法

- ① 付属のアダプターにより、下図に従い、試薬容器に開口部を設けて下さい。
- ② 試薬容器の開口は不安定な場所で行わないように、試薬容器を平らな台の上において、実施してください。
- ③ アダプターが正しく装着され、試薬容器に開口部が7箇所あることを確認してください。
- ④ 開口後は、アダプターを取り外さず、すぐに装置にセットして下さい。
- ⑤ 装置にセット後は、取り出さないで下さい。



容器側面にある爪受け穴(*)に、アダプターについている爪が固定されるまで押し込んで下さい。

※※(3) 必要な器具・器材・試料等

- 自動分析装置：全自動蛍光免疫測定装置 ミュータスワコー i30
- 検量用試料：ミュータスワコー AFP-L3用 キャリブレーターセット(別売品)(使用に際しては、ミュータスワコー AFP-L3用 キャリブレーターセットの現品説明書を参照して下さい。)
- ミュータスワコー AFP-L3用 コントロールL (別売品)
- ミュータスワコー AFP-L3用 コントロールH (別売品)
- ミュータスワコー用 チップカセット(別売品)
- ミュータスワコー 希釈液(別売品)
- ミュータスワコー用 洗浄液(別売品)
- サンプルカップ-S(別売品)

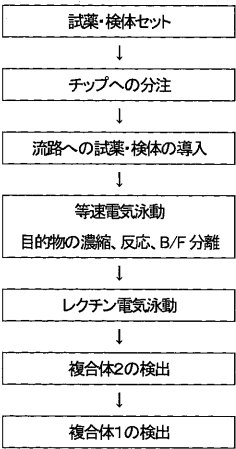
(4) 測定法

測定操作の詳細は「ミュータスワコー i30取扱説明書」を参照して下さい。

- 1) ミュータスワコー i30装置にミュータスワコー用 チップカセットをセットして下さい。
- 2) ミュータスワコー AFP-L3、ミュータスワコー用 洗浄液、イオン交換水をミュータスワコー i30の所定の位置にセットして下さい。また、プリンター用紙の有無、廃液タンクの余裕を確認して下さい。
- 3) キャリブレーションは、ミュータスワコー AFP-L3用 プランク並びにキャリブレーター1及び2をサンプルカップに入れて、液種に対応したバーコードを貼った所定のホルダーにセットして下さい。コントロールの測定は、ミュータスワコー AFP-L3用 コントロールL及びHをサンプルカップに入れて、液種に対応したバーコードを貼った所定のホルダーにセットして下さい。検体の測定は、検体を所定のラックの位置にセットして下さい。
- 4) 「ミュータスワコー i30取扱説明書」を参照し、キャリブレーター、コントロール及び検体測定の準備を行って下さい。
- 5) 測定準備が終わったら、スタートキーを押し、測定を開始して下さい。
- 6) 測定を開始するとチップが、分注ステーションに配置され、チップの所定のウエル位置に試薬がそれぞれR2：10.5μLと10.6μL、R3：11.6μL、R4：5μL、C1：3μLが分注されます。また、チップ上にある混合ウエルでR1：32μL、C2：4μLと検体4μLが混合され、混合液は5μL分注されます。上記試薬が分注されるウエルは分析用流路と接続しています。これとは別にFD7μLがフォーカス用流路と接続しているウエルに分注されます。
- 7) 分注後、チップはプライミングステーションに移動し、チップ流路内に空気圧力により導入されます。
- 8) 続いて、検出ステーションに移動し、まずフォーカス用流路がFDで満たされ、一定流速でFDが流路を流れます。蛍光検出器は、この流路を確認して、正確に分析チャンネルを認識します。次に、分析用流路で電気泳動が行われ、AFPとAFP-L3%の蛍光強度のピーク面積を得ます。蛍光強度のピーク面積はキャリブレーション結果から作成された検量線により測定値に変換されます。測定結果(計算結果)は自動的にプリントアウトされます。

励起波長 640 nm
蛍光波長 670 nm

測定の流れ



〔測定結果の判定法〕

(イ)AFP-L3%

正常または良性疾患(慢性肝炎、肝硬変)での参考値⁽⁹⁾ 10%未満

※(ロ)AFP

基準値^{(10),(11)} 10 ng/mL以下

〈判定上の注意〉

- ※(イ)検体中に非特異反応物質(異好性抗体等)が存在する場合は、正しい測定結果が得られない場合があります。また、検体中に自己抗体のようなAFP結合性物質が存在する場合には、異常ピークが形成される(Aピークエラー)等によりAFP濃度が低値を示す可能性があります。その他にも血清マトリックスの影響により正しくAFP濃度を求めることができない場合があります。判定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果等と合わせて担当医師が総合的に判断してください。
- (ロ)急性肝炎及び劇症肝炎の検体はAFP-L3%及びAFPが高値を示すことがあります。
- (ハ)妊婦検体はAFP-L3%及びAFPが高値を示すことがあります。
- (ニ)肝細胞癌以外のAFP産生性腫瘍ではAFP-L3%あるいはAFPが高値を示すことがあります。

(ホ)AFP-L2分画を含む検体の場合、大部分の検体においてAFP-L2分画はAFP-L3分画として測定されます。しかし他法での測定結果と一致しない場合や、AFP-L2分画の大部分がAFP-L1分画側に含まれAFP-L3分画としては測定されない検体があります。

〔性能〕

〈性能〉

(1) 感度

(イ)AFP 0 ng/mL標準液を3重測定したときのピーク面積の平均値+2SDの値が、AFP-L1 0.3 ng/mL標準液を3重測定したときのピーク面積の平均値-2SDの値とは重なりません。

(ロ)AFP 0 ng/mL標準液を3重測定したときのピーク面積の平均値+2SDの値が、AFP-L3 0.3 ng/mL標準液を3重測定したときのピーク面積の平均値-2SDの値とは重なりません。

(2) 正確性

(イ)AFP

既知濃度の管理用検体を測定するとき、既知濃度の±15%以内です。

(ロ)AFP-L3%

既知AFP-L3%の管理用検体を測定するとき、既知値の±15%以内です。

(3) 同時再現性

(イ)AFP

同一の管理用検体を5回同時に測定するとき、測定値のCV値は10%以下です。

(ロ)AFP-L3%

同一の管理用検体を5回同時に測定するとき、測定値のCV値は10%以下です。

※(4) 測定範囲

(イ)AFP

AFP濃度 0.3~2000 ng/mLです。

(ロ)AFP-L3%

AFP-L3%は、AFP-L3/(AFP-L1+AFP-L3)×100の計算値です。

装置ではAFP-L3% 0.5~99.5%の範囲で出力されます。

測定値が表示されるAFP濃度は、0.3 ng/mL~2000 ng/mLです。

ただし、AFP-L1分画として0.3~2000 ng/mL又はAFP-L3分画として0.3~2000 ng/mLとしての場合です。

(AFP濃度、AFP-L1濃度又はAFP-L3濃度が上記範囲外の場合、AFP-L3%は測定できませんと出力されます。)

〈校正用の基準物質(標準物質)〉

The 1st International Standard for ALPHAFETOPROTEIN Code : AFP (NIBSC)

〈相関性試験成績〉

(イ)AFP

検体	血 清	血 清
相関係数	r = 0.989 (n = 114)	r = 0.993 (n = 114)
回 帰 式	y = 0.955 x + 8.8	y = 0.920 x + 12.1
y	本品 (ng/mL)	本品 (ng/mL)
x	A 社製品 化学発光酵素免疫測定法 (ng/mL)	LBAワコー AFP-L3 LBA法 (ng/mL)

(ロ)AFP-L3%

検体	血 清	血 清
相関係数	r = 0.983 (n = 103)	r = 0.969 (n = 103)
回 帰 式	y = 1.027 x - 3.7	y = 0.933 x + 6.8
y	本品 (%)	本品 (%)
x	AFP-L3テストワコー 電気泳動法及び抗体親和性転写法 (%)	LBAワコー AFP-L3 LBA法 (%)

〔使用上又は取扱い上の注意〕

〈取扱い上(危険防止)の注意〉

- (1) 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、直ちに大量の水で洗い流し、必要があれば医師の手当等を受けて下さい。
- (2) 別売品のミュータスワコー用 洗浄液は、pH 11以上のアルカリ性溶液です。
- (3) 検体はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取り扱って下さい。
- (4) 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用して下さい。

〈使用上の注意〉

- (1) 試薬は指定された条件で保管し、使用期限を過ぎたものは使用しないで下さい。
- (2) 誤って凍結させた試薬は使用しないで下さい。正しい結果が得られないことがあります。
- (3) 試薬の開封後は直ちに装置に設置し、なるべく早く使用して下さい。保存する場合は装置内で保存して下さい。その際、装置の保冷機能は必ず動作させて下さい。
- (4) 本品中の容器、付属品は他の目的に転用しないで下さい。
- (5) 正確な測定値が得られない場合がありますので、サンプルカップ、チップの再使用はしないでください。

〈廃棄上の注意〉

- (1) 廃棄に際しては廃棄物の処理及び清掃に関する法律(廃棄物処理法)及び排水基準に従って適切に処理して下さい。
 - (2) 検体と接触した試薬及び試薬容器等は、感染の危険性があるものとして処理して下さい。
- (処理例)
- オートクレーブ処理：121℃以上で20分間以上高圧蒸気滅菌して下さい。
- 次亜塩素酸剤処理：遊離塩素1,500~2,000 ppm以上の水溶液に60分間以上浸して下さい。

＊〔貯蔵方法・有効期間〕

	(貯 法)	(有効期間)
ミュータスワコー AFP-L3	2～10℃保存	製造後1年2か月間

〔包装単位〕

(コード番号)	(品 名)	(包 装)
463-41591	ミュータスワコー AFP-L3	100 回用

〔主要文献〕

- (1) Taketa K., Endo Y., et al. : Cancer Res., **53**, 5419-5423 (1993).
- (2) Sato Y., Nakata K., et al. : N. Engl. J. Med., **328**, 1802-1806 (1993).
- (3) Shiraki K., Takase K., et al. : Hepatology, **22**, 802-807 (1995).
- (4) Yamashita F., Tanaka M., et al. : E. J. Gastroenterol. Hepatol., **7**, 627-633 (1995).
- (5) Yamashita F., Tanaka M., et al. : Gastroenterol., **111**, 996-1001 (1996).
- (6) 田中正俊, 谷川久一: 肝胆膵, **34**, 713-717 (1997).
- (7) Nakamura K., Imajo N., et al. : Anal. Chem., **70**, 954-957 (1998).
- (8) Katoh H., Nakamura K., et al. : Anal. Chem., **70**, 2110-2114 (1998).
- (9) Oka H., Saito A., et al. : J. Gastroenterol. Hepatol., **16**, 1378-1383 (2001).
- * (10) 青柳 豊, 須田剛士, 河合弘一, 田村 康, 五十嵐正人: 日本臨床, **68**, 665-669 (2010).
- * (11) 中村進一郎, 白鳥康史: 臨床検査ガイド 2011～2012, 887-891 (2011).
- * (12) 岡崎登志夫, 鈴木光行, 長井辰男: 生物試料分析, **27**, 210-214 (2004).
- (13) Kawabata T., Watanabe M., et al. : Anal. Chem., **77**, 5579-5582 (2005).
- (14) Kawabata T., Henry G. Wada, et al. : Electrophoresis, **29**, 1399-1406 (2008).
- (15) Richard K. Sterling, Lennox Jeffers, et al. : Am. J. Gastroenterol., 2196-2205 (2007).
- (16) Richard K. Sterling, Lennox Jeffers, et al. : Clin Gastroenterol Hepatol, 104-113 (2009).

〔問い合わせ先〕

富士フイルム 和光純薬株式会社
臨床検査薬 カスタマーサポートセンター
〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号
Tel : 03-3270-9134(ダイヤルイン)

＊〔別 売〕

(コード番号)	(品 名)	(包 装)
464-48101	ミュータスワコー AFP-L3用 キャリブレーターセット ブランク (2 mL×2) キャリブレーター 1 (2 mL×1) キャリブレーター 2 (2 mL×1)	1 セット
460-49301	ミュータスワコー AFP-L3用 コントロールL	2 mL×4
466-49401	ミュータスワコー AFP-L3用 コントロールH	2 mL×4
450-00921	ミュータスワコー用 チップカセット	20 測定用×5
466-61001	ミュータスワコー 希釈液	10 mL
465-41791	ミュータスワコー用 洗浄液	60 mL×4
452-00501	サンプルカップ-S	1000 個



「本試薬は、マイクロチップ電気泳動に関する Caliper Life Sciences 社の基本技術を元に、和光独自の LBA-EATA 法を利用して開発された製品です」

製造販売元

富士フイルム 和光純薬株式会社
大阪府中央区道修町三丁目1番2号

Wako

18.02.08K10