

塩基性胎児蛋白キット
 <血清中塩基性フェトプロテイン(BFP)測定用>
ラナザイム® BFPプレート

[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こと。
- 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、担当医師が総合的に判断すること。
- 3)添付文書以外の使用方法については保証しない。
- 4)使用する機器の添付文書及び取扱い説明書をよく読んでから使用すること。

[形状・構造等(キットの構成)]

| | | |
|---|--|--|
| 1 | 抗体結合プレート モノクローナル抗塩基性フェトプロテイン抗体(マウス) 結合プレート | 8 ウエル× 12ストリップ |
| 2 | 緩衝剤(凍結乾燥品) | 10mL用×2本 |
| 3 | 酵素標識抗体(凍結乾燥品) 西洋わさびペルオキシダーゼ標識モノクローナル 抗塩基性フェトプロテイン抗体(マウス)0.4μg/mL | 10mL用×2本 |
| 4 | 溶解液(共通) | 10mL×4本 |
| 5 | 発色液 3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン(TMB) 0.20mg/mL 尿素過酸化水素 0.20mg/mL | 15mL×1本 |
| 6 | 反応停止液 硫酸 0.5mol/L | 15mL×1本 |
| 7 | 7-1 標準液1(0ng/mL) 7-2 標準液2(20ng/mL)* 7-3 標準液3(40ng/mL)* 7-4 標準液4(80ng/mL)* 7-5 標準液5(160ng/mL)* 7-6 標準液6(480ng/mL)* | 1.5mL×1本 0.3mL×1本 0.3mL×1本 0.3mL×1本 0.3mL×1本 0.3mL×1本 |
| 8 | 濃縮洗浄液 | 50mL×1本 |

*標準抗原：ヌードマウス移植ヒト肝細胞癌から抽出し、アフィニティークラムにより精製¹⁾

[使用目的]

血清中の塩基性フェトプロテイン(BFP)の測定

[測定原理]

BFPはヒト胎児の血清、腸及び脳組織抽出液を用いて同定した分子量5.5万の癌胎児性蛋白である。ラナザイム BFPプレートは、ヌードマウス移植精製BFPを免疫原に作製されたモノクローナル抗BFP抗体(マウス)(K1)を固相化抗体に、モノクローナル抗BFP抗体(マウス)(5C2)を標識抗体として使用し、マイクロプレートに固相に用いたEIAサンドイッチ法により、血清中のBFPを測定するものである。

はじめに、マイクロプレートのウエル内で、固相化抗体に検体中のBFPを反応させる。次に固相化抗体が捉えたBFPに酵素標識した抗体を反応させることにより、固相化抗体-抗原-酵素標識抗体のサンドイッチ複合体を形成させる。この複合体の酵素量は抗原の量を反映するので、その酵素活性を測定することにより血清検体中のBFP濃度を求めることができる。

[操作上の注意]**1. 測定試料の性質、採取法**

- 1)検体には血清を使用すること。
- 2)検体は冷蔵(2～8℃)で1週間保存できる。それ以上の期間では-80℃に保存すること。また凍結融解は繰り返さないこと。
- 3)BFPは赤血球に存在するため溶血した検体ではBFP値が上昇することがある。赤血球からのBFPの溶出を避けるため、血清分離は採血後2時間以内に行うこと。

- 4)分離剤入りの真空採血管によって採取された検体はBFP値が上昇する可能性がある。
- 5)濁りのある検体は乳び3000ホルマジン濁度までは測定に影響がない。但し、検体採取時や測定時の作業に影響を及ぼすような場合には400Gで10分間遠心分離を行い除去してから使用すること。
- 6)冷蔵又は冷凍保存していた検体を測定する場合は、室温に戻してから測定すること。
- 7)検体ごとに新しいチップを使用すること。

2. 妨害物質・妨害薬剤

- 1)ビリルビン(抱合型)40mg/dL、アスコルビン酸50mg/dL、乳び3000ホルマジン濁度、リウマチ因子500IU/mLまで影響は認められない。
- 2)抗凝固剤(EDTA、クエン酸ナトリウム、シュウ酸カリウム、ヘパリン)は通常の使用量では影響を受けない。

3. その他

- 1)標準液は、二重測定を行うこと。
- 2)標準曲線は測定ごとに作成すること。
- 3)検体中のBFP濃度が標準液の最高濃度(480ng/mL)を超え、再測定する場合は、検体を0ng/mLの標準液で希釈して測定すること。
- 4)各ウエルの反応時間が異なると測定値がばらつく原因になる。各ウエルの分注から洗浄あるいは反応停止までの時間が一定になるように操作すること。
- 5)分注及び洗浄操作中にウエルを傷つけないように注意すること。また、洗浄中及び洗浄後にウエルが乾燥しないよう注意すること。
- 6)インキュベータは蒸発の起こらないものを使用すること。蒸発の起こるインキュベータを使用する場合には蒸発を防止するためにプレートシールでシールしてからインキュベータに入れること。また、水浴を使用する場合にもプレートシールを使用すること。

[用法・用量(操作方法)]**1. 試薬の調製方法****1)抗体結合プレート**

そのまま使用する。

なお、使用しない抗体結合プレートのストリップは測定前にプレートから取り外してチャック付ラミネート袋に乾燥剤と共に戻し、密封して2～8℃で保存すること。また、一度開封したプレート(ストリップ)は、1ヶ月以内に使用すること。

2)緩衝液

緩衝剤1本に溶解液(共通)1本全量(10mL)を加えて溶解する。調製後は2～8℃保存で1週間安定である。

3)酵素標識抗体液

酵素標識抗体1本に溶解液(共通)1本全量(10mL)を加えて溶解する。調製後は2～8℃保存で1週間安定である。

4)洗浄液

濃縮洗浄液1本(50mL)全量を精製水で1000mL(20倍)に希釈する。調製後は2～8℃保存で1週間安定である。

5)発色液

そのまま使用する。

6)反応停止液

そのまま使用する。

7)標準液1～6

そのまま使用する。

○すべての試薬は室温に戻してから使用すること。

2. 必要な器具、器材、試料等

マイクロピペット及びチップ(15、100、150μL)

マイクロプレート振とう器

インキュベータ(37℃)

マイクロプレート洗浄装置

マイクロプレート比色計

メスシリンダ(1000mL)

精製水

検体希釈用の試験管

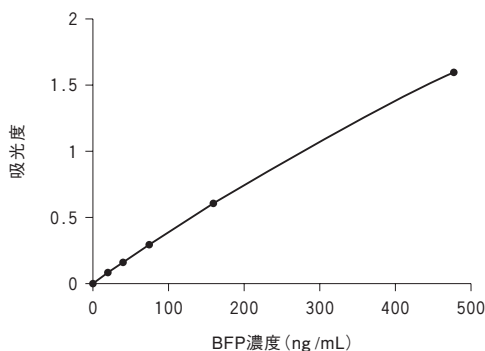
3. 測定法

- 1) 検体及び標準液(1~6)をそれぞれ15 μ Lずつ試験管にとり、さらに緩衝液を150 μ Lずつ加えてよく混合し、検体及び標準液(1~6)の11倍希釈液をつくる。
 - 2) 検体及び標準液の11倍希釈液を、抗体結合プレートのウェルに100 μ Lずつ分注する。
 - 3) プレートを軽く振とうした後、37 $^{\circ}$ Cで60分間反応させる。(第一反応)
 - 4) 第一反応終了後、ウェル内の液を吸引除去する。さらに、洗浄液をウェルに350 μ Lずつ分注した後、洗浄液を吸引除去する。この操作を3回繰り返す。
 - 5) 酵素標識抗体液をウェルに100 μ Lずつ分注した後、プレートを軽く振とうし、37 $^{\circ}$ Cで30分間反応させる。(第二反応)
 - 6) 第二反応終了後、4)と同様の操作でウェルを洗浄する。
 - 7) 発色液をウェルに100 μ Lずつ分注した後、プレートを軽く振とうし、20~37 $^{\circ}$ Cで30分間反応させる。(発色反応)
 - 8) 発色反応終了後、反応停止液をウェルに100 μ Lずつ分注し、さらに、プレートを振とうしてウェル内の液を良く混合する。
 - 9) 反応停止後15分以内に、マイクロプレート比色計を用いて波長450nm、二波長測定の場合は副波長610~690nmでウェルの吸光度を測定する(標準液は二重測定をする)。
- 本試薬を「全自動マイクロプレートEIA測定装置」を用いて測定する場合は、測定装置の推奨測定条件に従い測定すること。

4. BFP濃度の求め方

- 1) グラフ用紙の横軸にBFP濃度 (ng/mL) を、縦軸に吸光度をとる。
- 2) 標準液を測定して得られた吸光度(二重測定の平均値)をプロットして、標準曲線を作成する。
- 3) この標準曲線により、検体の吸光度に対するBFP濃度(ng/mL)を求める。

BFP標準曲線例



[測定結果の判定法]

参考正常値(基準範囲): 75ng/mL未満²⁾。

但し、正常域は種々の要因から若干変動することがある。

<判定上の注意>³⁾

- (1) 若年女性では月経周期に一致して変動する場合がある。
- (2) 慢性肝炎、急性感染症等でBFP値が上昇する場合がある。

[性能]

1. 性能

1) 感度

0 ng/mLの標準液を試料として操作する場合の吸光度は0.15以下であり、480ng/mLの標準液の吸光度は1.1~2.0の範囲にある。

2) 正確性

濃度既知の管理用血清を5回同時に測定するとき、その平均値は既知濃度の $\pm 15\%$ 以内にある。

3) 同時再現性

同一検体を5回同時に測定するとき、測定値のCV値は15%以下である。

4) 測定範囲

2~480ng/mL

この測定範囲を超えた検体は0 ng/mLの標準液で希釈して再測定すること。

2. 相関性

134例の血清検体について、本キット「ラナザイム BFPプレート」と同測定法の日本化薬株式会社製「ラナザイム BFP」との相関性を検討したところ、相関係数 $r=0.984$ 、回帰式 $y=0.995x-3.08$ と良好な相関性が

得られた。

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 取扱い上の注意

- 1) 検体は、HIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるので、取扱いには十分に注意し、検査にあたっては感染の危険を避けるために使い捨て手袋を着用し、口によるピペティングを行わないこと。
- 2) 反応停止液は、皮膚や粘膜に付かないように注意し、誤って接触した場合には、すばやく大量の水で洗い流すこと。
- 3) 試薬を口に含んだり、皮膚や粘膜に付かないように取扱いには十分に注意すること。誤って付着させた場合には、直ちに大量の水で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こと。

* 2. 使用上の注意

- 1) 試薬は凍結を避け、貯法に従って保存すること。凍結させた試薬は品質が変化して正しい結果が得られないことがあるので使用しないこと。
- 2) 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。
- 3) 本試薬は製造番号ごとに正確な測定が行えるように管理されているので、異なった製造番号の試薬を組み合わせたり、混ぜ合わせたりして使用しないこと。また同一の製造番号であっても試薬のつぎ足しは行わないこと。
- 4) 試薬の取扱い時には汚染に注意し、濁り等の異常が生じた場合には使用しないこと。
- 5) 補充用として個別に入手できる構成試薬がある。

3. 廃棄上の注意

- 1) 試料(検体)中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済みの器具等は次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度1000ppm、1時間以上浸漬)また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 $^{\circ}$ C、30分以上)による滅菌処理を行うこと。
- 2) 検体、試薬等で汚染された場所は次亜塩素酸ナトリウム等で消毒すること。
- 3) 使用済みの検体、試薬、器具等を廃棄する場合には、「医療廃棄物処理マニュアル」や水質汚濁防止法等の規定に従って、処理すること。

** 4. その他の注意

- 1) 本製品には、化学物質排出把握管理促進法で規制される第一種指定化学物質が含有されている。化学物質の名称、含有量等の詳細については、本製品の製品安全データシート(MSDS)を参照すること。(MSDSは弊社へご請求ください。)

[貯蔵方法・有効期間]

貯蔵方法: 2~8 $^{\circ}$ Cで保存

有効期間: 1年間

(使用期限は容器及び外装に表示)

* [包装単位]

96テスト(8ウェル \times 12ストリップ)

補充用の構成試薬(別売品)については、弊社にお問い合わせ下さい。

[主要文献]

- 1) 石井 勝: 臨床検査 28(9), 1025-1032, 1984
- 2) 石井 勝: 癌と化学療法 15(7), 2107-2113, 1988
- 3) 大倉久直: 内科 71(6), 1432-1433, 1993

[文献請求先・製品情報お問い合わせ先]

日本化薬株式会社 医薬事業本部 診断薬室

〒102-8172 東京都千代田区富士見1-11-2

TEL: 03-3237-5225

株式会社カインス

〒113-0033 東京都文京区本郷2-38-18

TEL: 03-3816-4480

[製造販売業者の氏名又は名称及び住所]

発売元

製造販売元



株式会社 カインス

〒113-0033 東京都文京区本郷2-38-18



日本化薬株式会社

〒102-8172 東京都千代田区富士見1-11-2