

この添付文書をよく読んでから使用すること。

シアリルLe^x-i 抗原キット

SLX「DP」IRMAキット

【一般的な注意】

1. 本キット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. RIを使用する場合は管理施設内で使用してください。
5. 使用する機器の添付文書及び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）】

1. ヨウ化シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体（¹²⁵I）液
..... 22.0mL 1本
ヨウ化シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体（¹²⁵I）
167kBq（検定日において）
2. シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体ビーズ
..... 100個 1本
シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体
3. シアリルLe^x-i 抗原標準血清 A、B、C、D、E、F
..... 0.5mL 各1本
0、14、28、56、112、224U/mL
4. 希釈用血清..... 1.0mL 1本
5. 緩衝液..... 22.0mL 1本

【使用目的】

血清中のシアリルLe^x-i 抗原の測定

【測定原理】

SLX「DP」IRMAキット（以下、本キット）は、血中癌関連抗原（シアリルLe^x-i 抗原）を特異的なモノクローナル抗体（シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体）を用いて測定するIRMAキットです。

まず、シアリルLe^x-i 抗原標準血清又は検体をシアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体ビーズ（ビーズ）と反応させる（1次反応）と、ビーズ上に抗原-抗体コンプレックスが形成されます。ビーズを洗浄後、次に、ヨウ化シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体（¹²⁵I）液を加えて反応させる（2次反応）と、ビーズ上に¹²⁵I標識抗体-抗原-抗体コンプレックスが形成されます。再度ビーズを洗浄後、ビーズに残った放射能を計測すると、シアリルLe^x-i 抗原濃度に応じた計数値が得られます。シアリルLe^x-i 抗原標準血清で操作したビーズの放射能と検体で操作したビーズの放射能を対比させ、検体中のシアリルLe^x-i 抗原濃度を読みとります。

【操作上の注意】

1. 検体は血清を用いてください。抗凝固剤（EDTA、ヘパリン）を用いた採血による検体は不适当です。また、溶血に注意してください。
2. 検体を保存する場合は、凍結してください。
3. 操作中に唾液が混入しないように注意してください。
4. ビーズの洗浄には、精製水（脱イオン水、蒸留水）を用い、生理食塩水やPBSは使用しないでください。
5. 検体を希釈する場合（224U/mL以上）は、添付の希釈用血清を用いてください。
6. 検体や試薬間のコンタミネーションを避けるため、検体や試薬類の分注に際しては十分注意してください。

【用法・用量（操作方法）】

1. 必要器具、機器等

- 1) マイクロピペット20 μ L（サンプリング用）
- 2) マイクロピペット200 μ L（緩衝液、ヨウ化シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体（¹²⁵I）液分注用）
- 3) プラスチック製ピンセット又はビーズディスペンサー（ビーズ投入用）
- 4) シェーカー（インキュベーション用）
- 5) インキュベーター25℃（インキュベーション用）
- 6) ビーズ洗浄装置
- 7) 精製水（ビーズ洗浄用）
- 8) ガンマカウンター
- 9) その他
トレイ（反応用）、シール、ビーズ移し換え用パック、放射能カウント用チューブ

2. 測定操作

各構成試薬は使用前に室温放置又は水浴中で室温に戻し、泡立えないように均一に混和して使用します。

- 1) 標準血清及び検体のサンプリング（20 μ L）
各濃度のシアリルLe^x-i 抗原標準血清（0、14、28、56、112、224U/mL）及び検体を20 μ Lずつそれぞれ所定のトレイウェルに採取します。
- 2) 緩衝液の添加（200 μ L）
各ウェルに緩衝液を200 μ Lずつ加え、混和します（トレイ全体を手でゆする程度）。
- 3) ビーズの添加
各ウェルにシアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体ビーズを1個ずつ入れます。その後、トレイにシールを貼り付け、軽く混和します（トレイ全体を手でゆする程度）。
- 4) 1次反応
トレイをシェーカーで振とうしながら20～30℃で2時間以上（10時間まで）インキュベーションします。
- 5) ビーズの洗浄
シールをはがし反応液を吸引除去します。1～2mLの精製水を各ウェルに加え吸引除去してビーズを洗浄します。この操作を計3回繰り返します。
- 6) ビーズの移し換え
ビーズ移し換え用パックを用いて、各ビーズを新しい反応用トレイに移します。
- 7) ヨウ化シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体（¹²⁵I）の添加（200 μ L）
各ウェルにヨウ化シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体（¹²⁵I）液を200 μ Lずつ加え、シールを貼り付け軽く混和します（トレイ全体を手でゆする程度）。なお、必要であればトータルカウント用として、ヨウ化シアリルLe^x-i 抗原（SLX）抗体（¹²⁵I）液200 μ Lをカウント用チューブに採取しておきます。
- 8) 2次反応
トレイをシェーカーで振とうしながら25℃で2時間以上（20時間まで）インキュベーションします。25℃で振とうインキュベーションできない場合は、25℃で16～24時間静置インキュベーションします。
- 9) ビーズの洗浄
シールをはがし、上記5）と同様にしてビーズを洗浄します。

- 10) ビーズの移し換え
各ウェルのビーズを放射能カウント用チューブに移します。
- 11) 放射能の計測
ガンマカウンターにて、各ビーズの計数率 (cpm) を測定します。

3. 計算

- 1) 各ビーズの計数率 (cpm) から標準血清Aビーズの計数率 (cpm) を差し引いて、各ビーズのNetバウンド (cpm) を算出します。
- 2) 両対数グラフのX軸に各標準血清の濃度を、Y軸にそのNetバウンド (cpm) をプロットし、標準曲線を作成します (Point to Point又は2次回帰)。
- 3) 検体ビーズのNetバウンド (cpm) を標準曲線に当てはめ、その値を読みとります (図1)。

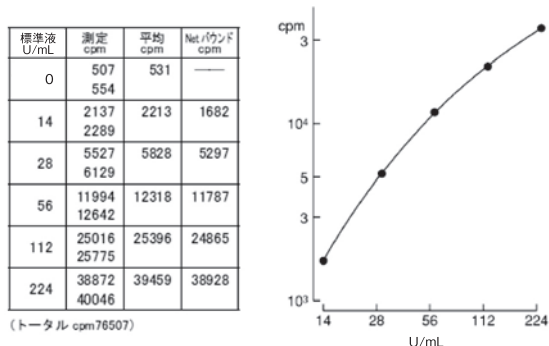


図1 標準曲線作成例

【測定結果の判定法】

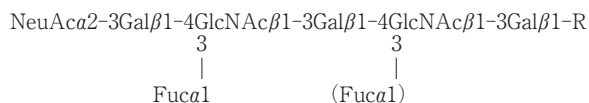
基準範囲は種々の要因により多少異なる可能性がありますので、各施設において正常値を設定することをお奨めします。

参考正常値 (基準範囲) 38U/mL以下¹⁾

【臨床的意義】

シアリルLe^x-i 抗原 (シアリルSSEA-1抗原) は、米国フレッド・ハッチンソン癌研究所の箱守らにより癌関連糖鎖抗原として発見されました²⁻⁵⁾。

このシアリルLe^x-i 抗原は二型糖鎖のLe^xとi 抗原性をもつ図2の糖鎖構造を有し、これを認識するマウス・モノクローナル抗体シアリルLe^x-i 抗原 (SLX) 抗体が富士らにより作製されました⁶⁾。シアリルLe^x-i 抗原は、各種腺癌患者血清中で高値を示すことが報告されており⁷⁾、大塚製薬 (株) にてシアリルLe^x-i 抗原 (SLX) 抗体を利用し、IRMA法による血清中シアリルLe^x-i 抗原測定用試薬である本キットを開発しました。



NeuAc : N-アセチルノイラミン酸 (シアラ酸)
Gal : ガラクトース
GlcNAc : N-アセチルグルコサミン
Fuc : フコース

図2 モノクローナル抗体シアリルLe^x-i 抗原 (SLX) 抗体によって認識されるシアリルLe^x-i 抗原

1. 健康成人血清の測定値 (参考正常値)¹⁾

健康成人1,104名における血清中シアリルLe^x-i 抗原の濃度分布は対数正規分布を示しました (図3)。対数変換した値の平均値+2SDより、正常カットオフ値は38U/mLとするのが適切であると考えられます。

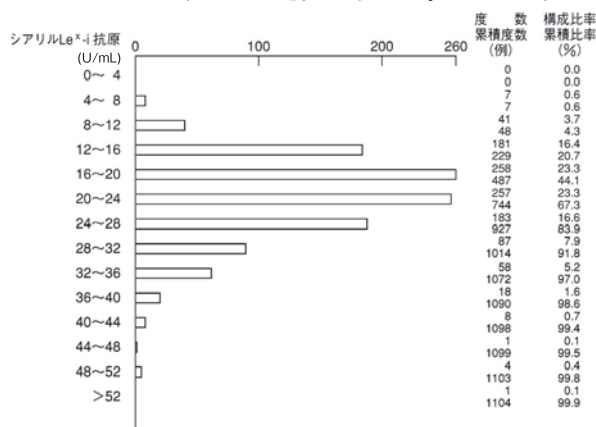


図3 健康成人の分布

2. 悪性腫瘍患者血清の測定値⁸⁾

各種悪性腫瘍患者における血清中シアリルLe^x-i 抗原濃度を図4に示しました。

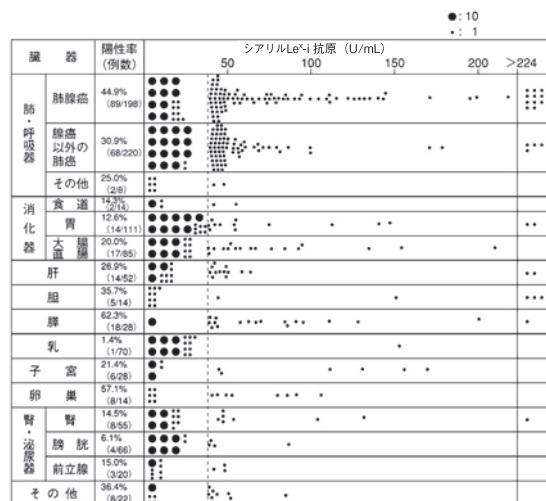
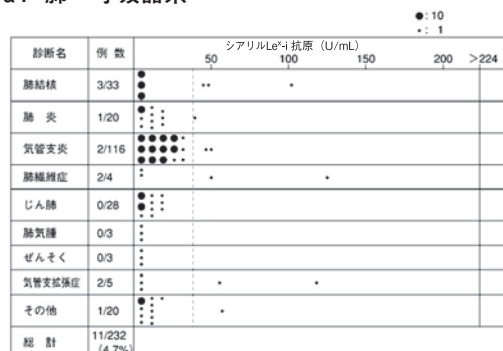


図4 各種悪性腫瘍患者における血清中シアリルLe^x-i 抗原

3. 非悪性腫瘍患者血清の測定値⁸⁾

各種非悪性腫瘍患者における血清中シアリルLe^x-i 抗原濃度を図5に示しました。

a. 肺・呼吸器系



b. その他の器官系

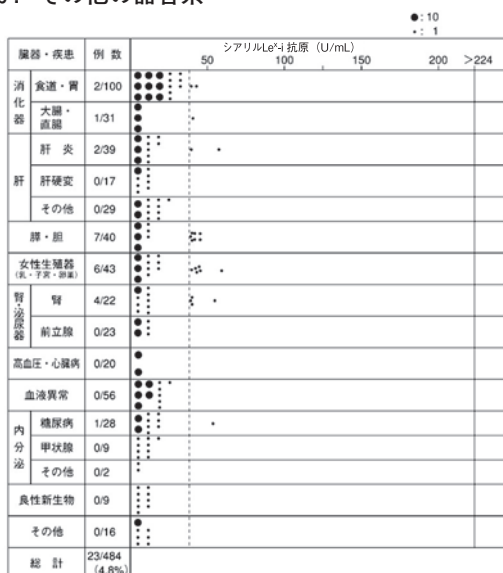


図5 各種非悪性腫瘍患者における血清中シアルルLe^{x-i}抗原

【性能】

1. 感度試験

自社施設における感度試験は、次表に示すとおりでした。

表1 感度試験の規格

項目	結合率
Bmin/T (%)	1.0%以上
Bmax/T (%)	30.0%以上
Bmax/T (%) - Bmin/T (%)	25.0%以上

なお、Bmin/T (%) はシアルルLe^{x-i} 抗原標準血清14U/mLの特異的結合率、Bmax/T (%) はシアルルLe^{x-i} 抗原標準血清224U/mLの特異的結合率、Bmax/T (%) - Bmin/T (%) はこれらの特異的結合率の差です。

2. 正確性試験

自社施設における3種類の管理血清のシアルルLe^{x-i} 抗原量の測定値は、いずれも表示量の±20%以内でした。

3. 同時再現性試験

自社施設において3種類の管理血清を同時に5回ずつ測定するとき、これらの測定値の変動係数 (CV) はいずれも10%以下でした。

4. 測定範囲及び最小検出感度

本キットの測定濃度範囲は14~224U/mLです。また、自社施設における最小検出感度は3.5U/mLでした。なお、シアルルLe^{x-i} 抗原1Uは4ngの6Bフコガングリオシドに相当します。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意

- 1) 身体への汚染防止のため、作業室内ではゴム手袋、専用の実験衣を着用してください。
- 2) 作業中、放射性物質が誤って体内に入るのを防ぐため、作業室内では飲食、喫煙及び化粧等はしないでください。また、ピペットは口で吸わないでください。
- 3) 試薬が誤って目や口に入ったり皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流すなどの応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

2. 使用上の注意

- 1) キットは、-20℃以下で凍結保存してください。
- 2) 使用期限を過ぎたキットは使用しないでください。
- 3) 製造番号の異なるキット中の構成試薬を組み合わせ使用しないでください。
- 4) キット中の容器を他の目的に転用しないでください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 使用後の試薬、器具等を廃棄する場合には、廃棄物の規定に従って、医療廃棄物、産業廃棄物又は放射性廃棄物として処理してください。
- 2) 放射性廃液及び放射性廃棄物は、放射性廃棄物に関する規定に従って廃棄し、他のRI検査の支障にならないように注意してください。また、無用の被ばくを避けるなどの配慮をしてください。
- 3) 本キットのシアルルLe^{x-i} 抗原 (SLX) 抗体ビーズを除く構成試薬には、アジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので、¹²⁵I 標識化合物を含まない廃液を廃棄する際には、多量の水とともに流してください。
- 4) 検体等に接触したチップ等の器具やそれらの残液は、感染の危険性があるものとし、オートクレーブ等で滅菌処理するか、又は次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 1,000ppm以上) に1時間以上浸してから廃棄処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法

-20℃以下で保存

有効期間

製造日より60日間

(使用期限は外箱に記載してあります。)

【包装単位】

100テスト用

【主要文献】

1. 井村裕夫ほか：癌と化学療法, **14**(5), 1315-1321, 1987
2. Davor Solter, et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **75**(11), 5565-5569, 1978
3. 神奈木玲児：Pure Chemicals "Daichi", **16**(2), 29-39, 1985
4. 神奈木玲児ほか：癌と化学療法, **13**(3), 812-825, 1986
5. Reiji Kannagi, et al. : Cancer Res., **46**, 2619-2626, 1986
6. Yasuo Fukushi, et al. : J. Biol. Chem., **259**, 10511-10517, 1984
7. Yasuo Fukushi, et al. : Cancer Res., **45**, 3711-3717, 1985
8. 井村裕夫ほか：癌と化学療法, **14**(5), 1322-1331, 1987

【問い合わせ先】

DENISファーマ株式会社 営業部

〒100-0013

東京都千代田区霞が関三丁目6番7号

TEL : 03-5510-2932 FAX : 03-5510-0130

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

DENISファーマ株式会社

〒285-0802

千葉県佐倉市大作一丁目8番5号

TEL : 043-498-2031