

この添付文書をよく読んでからご使用下さい。

体外診断用医薬品(放射性)

抗アセチルコリンレセプター抗体キット

AChRAb「コスミック」II

全般的な注意 ※※

1. 本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
2. 疾病の診断は、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下さい。
3. 添付文書に記載された使用方法以外の使用については、測定値の信頼性を保証致しません。
4. 本製品はラジオアイソトープ管理施設内で使用して下さい。
5. 陰性・陽性コントロール、希釈用血清にはヒト由来成分が含まれており、感染の危険があるので、感染性のあるものとして取り扱って下さい。
6. 操作上で機器を使用する際は、機器の添付文書または取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。

形状・構造等(キットの構成) ※※

No.	構成試薬	25テスト用	300テスト用
1	トレーサー(凍結乾燥品) 〔ヨウ化 α -ブングロトキシシン(125 I)ヒトアセチルコリンレセプター γ/ϵ (43kBq/本)〕	1.3mL分×1本	1.3mL分×12本
2	陰性コントロール	100 μ L×1本	100 μ L×12本
3	陽性コントロール	100 μ L×1本	100 μ L×12本
4	抗ヒトIgG 〔抗ヒトIgGヤギポリクローナル抗体〕	1.5mL×1本	1.5mL×12本
5	希釈用血清	1.0mL×1本	1.0mL×12本
6	溶解液	4.0mL×1本	4.0mL×12本
7	緩衝液	60mL×1本	60mL×12本
8	沈殿補助液	1.0mL×1本	1.0mL×12本

使用目的

血清中の抗アセチルコリンレセプター抗体の測定

測定原理

本キットは、RIA法による血清中アセチルコリンレセプター

抗体(AChRAb)測定用キットである。検体血清とAChRに 125 I標識神経毒を結合させたトレーサー(ヨウ化 α -ブングロトキシシン(125 I)・AChR- γ/ϵ)を反応させ、さらに抗ヒトIgGを加え遠心分離によりB/F分離を行う。血清中にAChRAbが存在すると、[125 I標識神経毒・AChR・AChRAb・抗ヒトIgG抗体]の複合体を形成し、沈殿する。沈殿の 125 Iの放射能を計測すれば、 125 I標識神経毒の比放射能より血清中のAChRAb量を算出することができる。

操作上の注意

1. 検体
 - ① 検体は、血清を用いること。
 - ② 検体は分離後直ちに冷蔵保存(2~8℃)すること。分離後すぐに測定しない場合は凍結保存(-20℃以下)すること。
 - ③ 冷蔵または冷凍保存されていた検体は、室内温度(17~28℃)に戻してから使用すること。
 - ④ 検体の凍結融解の繰り返しは避けること。
 - ⑤ 高脂血清、溶血血清の使用は避けることが望ましい。
 - ⑥ 高値検体を希釈する場合は、希釈用血清(キット添付)を用いること。AChRAbの結合親和力に個人差があるため、希釈系列を作成し、定量性(希釈直線性)の得られる範囲で測定することが望ましい。当社のデータでは、大多数の検体は、3nmol/L以下で定量性を示した⁷⁾。
2. 妨害物質の影響⁷⁾
ヘモグロビン、ビリルビン、リウマチ因子、脂質による影響は受けない。

用法・用量(操作方法)

1. 必要な機器類
アッセイ用チューブ(プラスチック製12×75mm等)、チューブ立て、マイクロピペット(5 μ L)、連続分注器(25 μ L、50 μ L、1mL)、ボルテックスミキサー、冷却遠心機、アスピレーター、インキュベーター(2~8℃)、 γ -カウンター(測定値の算出に計数効率が必要)
2. 試薬の調製
トレーサー(赤色)は1バイアルにつき1.3mLの溶解液

(キット添付)を加えて溶解する。調製は用時行い、溶解後は冷蔵(2~8℃)で、14日間保存することができる。その他の試薬は、調製済みである。使用前に室内温度(17~28℃)に戻し、泡立てないように均一に混和して用いる。

開封後は、なるべく早く使用し、保存する場合は、蓋を閉めて、2~8℃で保存すること。

3. 測定法

測定は、二重測定(duplicate)で行う。

- ① 陰性コントロール、陽性コントロール、検体をそれぞれ5μLずつチューブにとる。
- ② トレーサー溶液を50μLずつ各チューブに加えよく混和する。別に用意したチューブに、トレーサー溶液を50μL入れて栓をし、トータルカウント測定に用いる。
- ③ 2~8℃で18~24時間インキュベーション(第1インキュベーション)する。
- ④ 抗ヒトIgGを50μLずつ加えよく混和する。
- ⑤ 室温(20~25℃)で2時間インキュベーション(第2インキュベーション)する。
- ⑥ 使用直前によく混和した沈殿補助液を25μLずつ、および緩衝液を1mLずつ加え混和する。
- ⑦ 2~8℃、1500×gで20分間遠心分離する。
- ⑧ 上清をアスピレートし除去する。
- ⑨ 緩衝液を1mLずつ加え混和する。
- ⑩ ⑦、⑧の操作をもう一度繰り返す。
- ⑪ すべてのチューブの放射エネルギーをγ-カウンターで5分間計測する。
- ⑫ 各チューブの放射エネルギー(cpm)を記録する。
- ⑬ 下記の式より、AChRAb値(nmol/L)を算出する。

$$\text{AChRAb値 (nmol/L)} = \frac{(\text{検体のcpm} - \text{陰性コントロールのcpm}) \times A}{B \times C \times K \times 2.22}$$

A: 減衰補正係数(トレーサーの放射エネルギーの減衰を補正する係数)

トレーサーの製造日、すなわち、AChRにα-ブングアロトキシン(¹²⁵I)を標識した日から実際に測定した日までの期間に減衰した放射エネルギーを補正するために用いる。

減衰補正係数表

標識日から計測日までに経過した週数	減衰補正係数 (A)
製造日~1週	1.0
~2週	1.1
~3週	1.2
~4週	1.3
~5週	1.4
~6週	1.5
~7週	1.6
~8週	1.75

B: 放射エネルギー計測に用いたγ-カウンターの数値効率
数値効率は、測定機種や使用年数によって異なるため、各施設で求めること。

C: 測定に用いた血清量(5μL)

K: AChRが標識された時点におけるα-ブングアロトキシン(¹²⁵I)の比放射能(Ci/mmol)

(数値は添付のカードに記載されている。)

2.22: Ci単位で表現された比放射能(Ci/mmol)

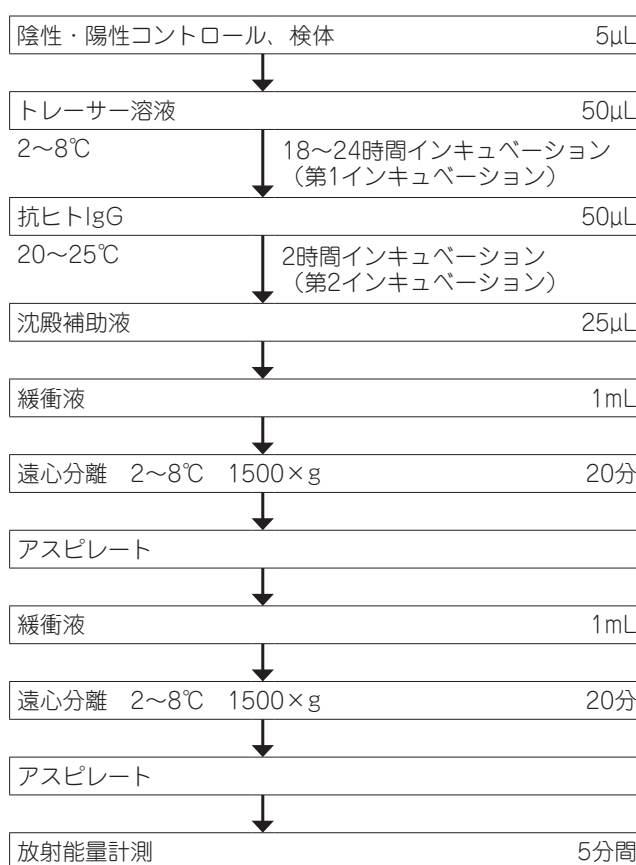
をBqにする際、1分間(60秒)測定の放射エネルギーを秒に変換する係数である。

$$1\text{Ci} = 3.7 \times 10^{10} \text{ Bq}$$

$$1\text{nmol} = 1 \times 10^{-6} \text{ mmol}$$

$$1\mu\text{L} = 1 \times 10^{-6} \text{ L} \quad \text{より、}$$

$$60 \times 3.7 \times 10^{10} \times 10^{-6} \times 10^{-6} = 2.22$$



測定結果の判定法

1. 健常者のAChRAb値は、およそ0.1nmol/L未満と報告されているが⁴⁾、正常基準値は各施設で設定すること。
2. 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合わせて担当医師が総合的に判断すること。

測定結果の参考例

	放射エネルギー(cpm)	AChレセプター抗体値(nmol/L)
陰性コントロール	175	—
陽性コントロール	9912	4.80
検体“a”	8349	4.03
検体“b”	3962	1.87

計算例

検体“a”のAChRAb値(nmol/L)

$$= \frac{(\text{検体“a”のcpm} - \text{陰性コントロールのcpm}) \times A}{B \times C \times K \times 2.22}$$

$$= \frac{(8349 - 175) \times 1.2}{0.8 \times 5 \times 274 \times 2.22}$$

$$= 4.03$$

陰性コントロールのcpm=175(cpm)

検体“a”のcpm=8349(cpm)

A=1.2 (測定日が標識日から15日後の場合：減衰補正係数表より)

B=0.8 (計数効率80%の場合)

C=5 (μL)

K=274(Ci/mmol)

性能⁷⁾

1. 感度

- ① 陰性コントロールのトータルカウントに対する結合率 (B₀/T%) を求めるとき、1.0%以下である。
- ② 陽性コントロールのトータルカウントに対する結合率 (B/T%) を求めるとき、10.2%以上である。

2. 正確性

- ① 1.0nmol/L付近の管理血清を測定するとき、その測定値は既知濃度の±20%以内である。
- ② 3.2nmol/L付近の管理血清を測定するとき、その測定値は既知濃度の±13%以内である。

3. 同時再現性

- ① 1.0nmol/L付近の管理血清を5回同時に測定するとき、そのCV値は10%以下である。
- ② 3.2nmol/L付近の管理血清を5回同時に測定するとき、そのCV値は10%以下である。

4. 測定範囲

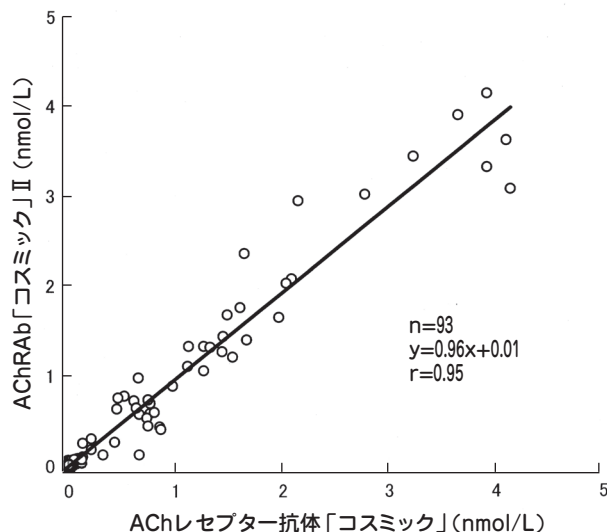
本キットの測定範囲は、0.1~5nmol/Lである。ただし、検体の結合親和力によって測定できる範囲が異なるので、測定に際しては注意を要する（操作上の注意参照）。

5. 校正用基準物質

RSR社内標準品

関連データ⁷⁾

下図に示すように、当社のAChレセプター抗体「コスミック」との相関をとったところ、 $y=0.96x+0.01$ 、 $r=0.95$ と良好な相関が得られた。



使用上または取扱い上の注意

1. 取扱い上の注意事項

- ① 本試薬には、HBs抗原、HIV抗体およびHCV抗体が存在しないことを確認しているが、感染の恐れがあるものとして検体と同様に取扱うこと。
- ② 検体は感染の恐れがあるので、取扱いには十分に注意すること。検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等は感染の危険があるものとし、オートクレーブで121℃、15分間、高圧蒸気滅菌処理するか、又は1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液を調製して、1時間浸した後、多量の水で洗い流すこと。次亜塩素酸ナトリウム溶液を多量に廃棄する際、酸性下で有毒の塩素ガスを発生するので、廃液は中和した後に、多量の水で流す等の配慮をすること。
- ③ 本試薬には防腐剤としてアジ化ナトリウムが含まれており、皮膚等を刺激する恐れがある。アジ化ナトリウムを含む試薬を含め、すべての試薬が誤って目や口に入った場合または身体に付着した場合は、水で十分に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。
- ④ 身体の汚染および感染防止のため、作業室内ではゴム手袋、専用の実験衣を着用すること。また、口によるピペッティングを行わないこと。
- ⑤ 放射性物質、試薬、血清等が誤って体内に入るのを防ぐため、作業室内では飲食、喫煙等はしないこと。

2. 使用上の注意事項

- ① キット内の試薬は正確な反応が得られるように組み合わせるので、ロット番号の異なる試薬を組み合わせず使用しないこと。また、同一ロット番号の試薬であっても試薬の注ぎ足しは行わないこと。

- ② 検体、コントロール等を分注する際、同じチップは使用しないこと。
- ③ 試薬の開封後は使用期限内でなるべく早く使用し、保存する場合は、蓋を閉めて2~8℃で保存すること。
- ④ 使用期限を過ぎた試薬は使用しないこと。

3. 廃棄上の注意事項

- ① キット内の試薬、容器を他の目的に使用しないこと。使用後の容器は、廃棄物に関する規定に従って、放射性廃棄物、医療廃棄物または産業廃棄物等、区別して処理すること。余った試薬を廃棄する場合には、水質汚濁防止法等の規定に従って処理すること。
- ② 検体、試薬、廃液等が飛散した場合、飛散箇所に1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液を塗布し、1時間経過後ふき取りを行うこと。
- ③ 本試薬は微量(0.1%以下)のアジ化ナトリウムを含んでいる。排水管等に用いられている銅や鉛と反応して爆発性の金属アジドを形成する恐れがあるため、多量の水で流す等の配慮をすること。
- ④ トレーサーやチューブの内容物をこぼした場合は速やかに拭き取り、放射性物質として処理すること。

貯蔵方法

2~8℃で保存すること。

有効期間

製造日から8週間

(使用期限については製品包装上面に記載している。)

包装単位

商品コード	包装単位
B0013031	25テスト用
B0013031A	300テスト用

主要文献

- 1) Lindstrom J. M. , et al.
Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis
Neurology 26,1054-1059(1976)
- 2) 太田 光熙 他
抗アセチルコリンレセプター抗体
臨床免疫 12(10),751-758(1980)
- 3) 太田 光熙 他
Radioimmunoassayによる血中アセチルコリンレセプター抗体の測定
ホルモンと臨床 40(7),749-753 (1992)

- 4) Beeson D., et al.

A transfected human muscle cell line expressing the adult subtype of the human muscle acetylcholine receptor for diagnostic assays in myasthenia gravis
Neurology 47,1552-1555 (1996)

- 5) Beeson D., et al.

Stable functional expression of the adult subtype of human muscle acetylcholine receptor following transfection of the human rhabdomyosarcoma cell line TE671 with cDNA encoding the ϵ subunit
Neuroscience Letters 207, 57-60 (1996)

- 6) 太田 光熙 他

新型キットによる血中抗アセチルコリンレセプター(AChR)抗体価の測定
—AChR Ab「コスミック」IIの基礎的および臨床的検討—
ホルモンと臨床 48 (1), 89-93 (2000)

- 7) 社内資料

問い合わせ先

株式会社コスミック コーポレーション 営業部
〒112-0002 東京都文京区小石川2丁目7番3号
電話 03 (5802) 5971
FAX 03 (5802) 5974

製造元*

RSR Limited
Parc Ty Glas, Llanishen, Cardiff, CF14 5DU, UK

製造販売元

株式会社コスミック コーポレーション
〒112-0002 東京都文京区小石川2丁目7番3号 富坂ビル
電話 03 (5802) 5880 (代)