

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

グルカゴンキット

Glucagon ELISA「コスミック」

全般的な注意

1. 本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. 本品は既承認品（RIA法）と比較し測定値が低値であるため、測定値の取扱いには注意して下さい。
3. 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。
4. 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。
5. 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	96テスト用
1	固相化ウエル：Coated Plate [抗グルカゴンモノクローナル抗体（マウス）固相]	96ウエル×1包 (8ウエル×12ストリップ)
2	標準溶液0：Calibrator 0	5mL×1本
3	標準溶液1, 2, 3, 4, 5： Calibrator 1, 2, 3, 4, 5 ※各濃度はキット添付の標準溶液濃度換算表に記載する	各1.0mL分×1本
4	酵素標識抗体： Enzyme Conjugate 11× [ペルオキシダーゼ標識抗グルカゴンモノクローナル抗体（マウス）含有]	2.2mL×1本
5	酵素標識抗体希釈液： Enzyme Conjugate Buffer	22mL×1本
6	濃縮洗浄液：Wash Buffer 21×	50mL×1本
7	基質液：Substrate TMB [テトラメチルベンチジン含有]	22mL×1本
8	停止液：Stop Solution	7mL×1本

使用目的

血漿中のグルカゴンの測定

測定原理

本品は、ELISA法による血漿中のグルカゴンの測定用キットである。抗グルカゴンモノクローナル抗体（マウス）が予め固相化されたウエルに検体を入れ、検体中のグルカゴンと反応させる。ペルオキシダーゼ標識抗グルカゴンモノクローナル抗体（マウス）を加え、固相化された抗体に結合している検体中のグルカゴンと反応させる。洗浄後、基質液（テトラメチルベンチジン）により発色させ、吸光度を測定することにより検体中のグルカゴンを測定する。

操作上の注意※

1. 検体
 - ① 検体は、EDTA血漿（アプロチニン入り）を用いること。
 - ② 検体は採血後直ちに冷却遠心にて血漿分離し、分離後すぐに凍結保存（-20℃以下）すること。
 - ③ 冷凍保存されていた検体は、融解後直ちに使用すること。
 - ④ 凍結融解を複数回繰り返さないこと。凍結融解を繰り返すと測定値が変動し、試験結果に影響を与える可能性がある。
 - ⑤ 溶血した検体、溶血が疑われる検体または高脂血漿の使用は避けることが望ましい。
2. 妨害物質の影響¹⁾
 - ① ビリルビンC（抱合型）は20.8mg/dL、ビリルビンF（遊離型）は18.9mg/dL、リウマチ因子は1000IU/mL、乳ビ（脂質）は1410度数まで影響は受けない。ヘモグロビンについては測定値への影響が認められるため、溶血血漿は用いないことが望ましい。なお、ヘモグロビン200mg/dLまでは影響が見られなかった。
 - ② インスリンは、血中インスリン量として100μU/mLまで影響を受けない。

3. 交差反応性²⁾

Glucagon	100%	Oxyntomodulin	6.5%
Glucagon (3-29)	4.6%	Glicentin (1-61)	6.3%
Glucagon (19-29)	<1%	Glicentin (1-69)	4.7%

用法・用量(操作方法)

1. 必要な機器類

メスシリンダー、精製水、マイクロピペット (25 μ L)、チップ、連続分注器 (50 μ L、200 μ L、300 μ L)、インキュベーター、マイクロタイタプレートリーダー (450 nm)

2. 試薬の調製

① 固相化ウエル

必要な数だけ固相化ウエルを取り出す。

② 標準溶液1～5

各標準溶液1パイアルにつき精製水1mLを加えて溶解し、標準溶液1～5とする。溶解後は栓をして2～8℃で4週間保存できる。

③ 酵素標識抗体

酵素標識抗体2mLにつき酵素標識抗体希釈液20mLを加えて希釈し、酵素標識抗体液とする。使用前に希釈して使用すること。残った液は保存できない。

④ 濃縮洗浄液

濃縮洗浄液50mLにつき精製水1000mLを加えて希釈し、洗浄液とする。希釈後は栓をして2～8℃で8週間保存できる。

⑤ その他の試薬

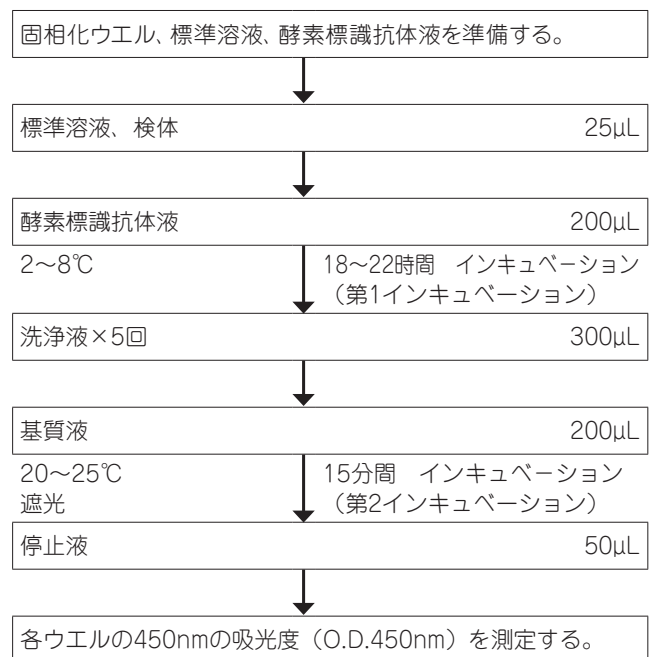
調製済みであるので、そのまま穏やかに混和して均一な溶液とし、室内温度に戻してから使用する。

3. 測定法

- ① 検体及び標準溶液を25 μ Lずつ、各ウエルに分注する。
- ② 酵素標識抗体液を200 μ Lずつ各ウエルに分注し、2～8℃で18～22時間インキュベーションする。(第1インキュベーション)
- ③ 内容液を除去後、洗浄液を300 μ Lずつ各ウエルに入れる。洗浄液を除去した後は清潔で乾燥した吸収紙上で軽く叩き、水滴が残らないようにする。
- ④ ③の操作を4回繰り返す。(合計5回)
- ⑤ 基質液を200 μ Lずつ各ウエルに分注し、遮光し20～25℃で15分間発色させる。(第2インキュベーション)
- ⑥ 基質液を捨てずに、停止液を50 μ Lずつ各ウエルに分注する。この際、基質液を入れた順番と速度にならって分注する。
- ⑦ プレート側面を軽く叩くかプレートシェーカーで混合する。
- ⑧ ELISA用プレートリーダーで各ウエルの450 nmの吸光度を測定する。
- ⑨ 各ウエルの吸光度を記録する。
- ⑩ 片対数グラフの横軸に標準溶液の濃度、縦軸に吸光度をとり、標準曲線例に従って標準曲線を作成する。

- ⑪ 検体のグルカゴン値を標準曲線から読み取る。

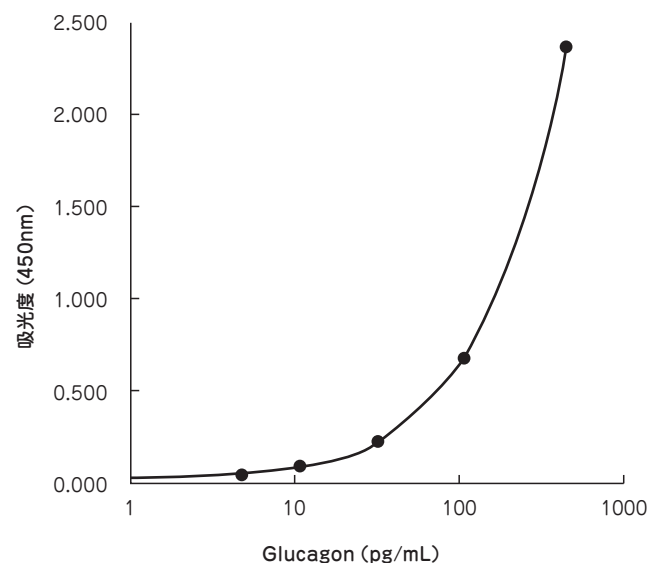
※ 反応停止後は30分以内で測定すること。



測定結果の判定法¹⁾

1. 健康成人により設定したグルカゴンの参考基準範囲は5.4～55.0pg/mL (空腹時)であったが、基準範囲は対象とする母集団等により変動することが考えられ、また、基準範囲付近における既承認品との相関性が良好でなく、低値であることから、本品における基準範囲は施設ごとに設定すること。
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。

標準曲線例



性能¹⁾

1. 感度試験

- ① 標準溶液0を測定するとき、その吸光度は0.11以下である。
- ② 標準溶液5 (400~505pg/mL) を測定するとき、その吸光度は1.50以上である。

2. 正確性試験

管理検体 (3.5~20pg/mL、20~50pg/mL、50~400 pg/mL) を測定するとき、その測定値は既知濃度の±25%以内である。

3. 同時再現性試験

管理検体 (3.5~20pg/mL、20~50pg/mL、50~400 pg/mL) を5回同時に測定するとき、そのC.V.値は15%以下である。

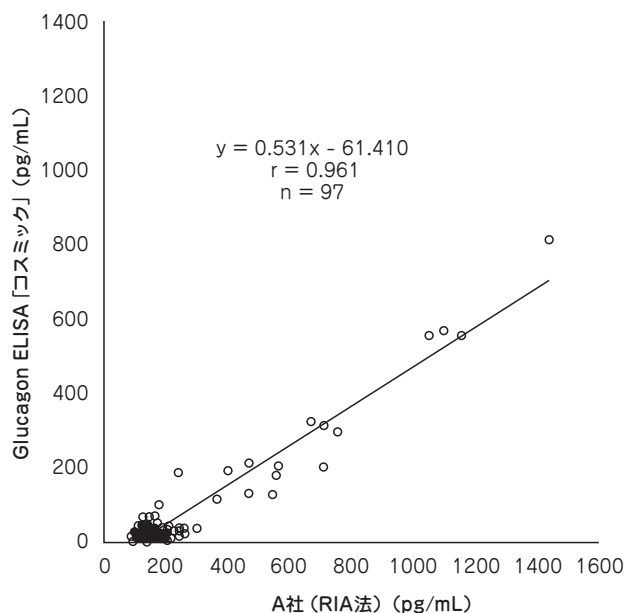
4. 測定範囲

3.5~400pg/mL (モレキュラーデバイス社「Emax」を使用した場合)

5. 校正用基準物質

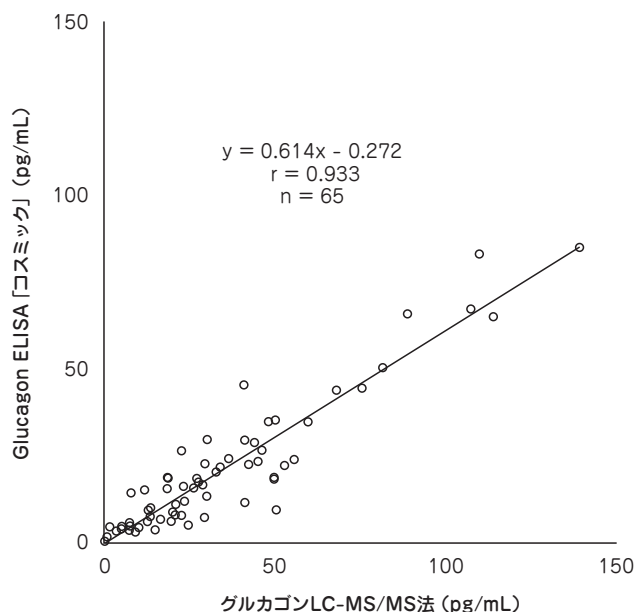
NIBSCの標準物質 (WHO International Standard Glucagon, Porcine NIBSC code: 69/194)

さらに、高値領域検体を含めた97検体について相関性試験を行ったところ、 $y = 0.531x - 61.410$ 、 $r = 0.961$ を示した。



2. LC-MS/MS法との相関性試験

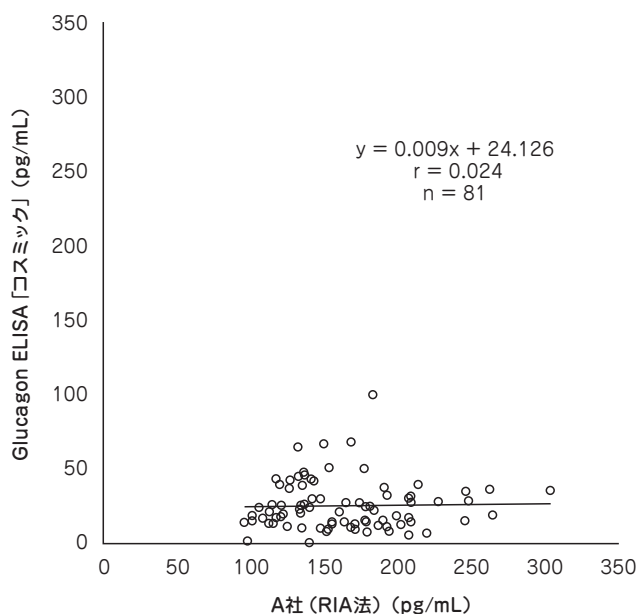
本品とLC-MS/MS法との相関性試験を65検体について行ったところ、 $y = 0.614x - 0.272$ 、 $r = 0.933$ を示した。



相関データ¹⁾

1. 比較対照品 (RIA法) との相関性試験

本品と比較対照品 (RIA法) との相関性試験を81検体について行ったところ、 $y = 0.009x + 24.126$ 、 $r = 0.024$ を示した。



また、健康成人29検体について相関性試験を行ったところ、 $y = 0.177x - 16.895$ 、 $r = 0.620$ を示し、2型糖尿病52検体においては $y = 0.182x + 3.656$ 、 $r = 0.270$ を示した。

使用上または取扱い上の注意

1. 取り扱い上の注意事項

- ① 本試薬には、ヒト由来成分は含まれないが、感染の恐れがあるものとして検体と同様に扱うこと。
- 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、または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 停止液には硫酸が含まれており、皮膚等を刺激する恐れがある。停止液を含め、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 身体の汚染及び感染防止のため、作業室内では使い捨て手袋、専用の実験衣を着用すること。また、口によるピペティングを行わないこと。
- ⑤ 試薬、血漿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、標準溶液等を分注する際、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、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程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。

貯蔵方法

2～8℃で保存すること。

有効期間

12ヶ月間

(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
F9037B81	96テスト用

主要文献※

- 1) 社内資料
- 2) 菊池 唯史, 北村 忠弘, 難波 光義. グルカゴンELISA測定キットの性能評価. 医学と薬学. 2018; 75(4): 417-424.

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

Mercodia AB
Sylveniusgatan 8A, 75450 Uppsala, Sweden

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)