

この添付文書をよく読んでから使用してください。

研究・産業分野用試薬

※※2014年 4 月改訂（第 5 版）
※2012年 5 月改訂（第 4 版）

※※品番 **25200**

api[®] ZYM（アピザイム）

酵素活性研究用システム

■概要

アピザイムは酵素活性の研究を目的にデザインされた微量標準化半定量性酵素活性キットです。あらゆる種類の検体（微生物、細胞溶液、組織、生物製剤溶液など）に応用でき、しかも極めて少量の検体で19種類の酵素反応を迅速に試験することができます。本試薬は、20のマイクロウェル（カップ状）で構成されており、各ウェルには酵素基質及び緩衝剤が含まれており、酵素と基質との反応を行います。アピザイムは、スペクトロフォトメーターや電気泳動による精密な分析には対応していませんが、精製されていない複合検体から酵素活性の検出を主に行うことができます。スペクトロフォトメーターや電気泳動などで詳細な試験を行っていくため、先ず広い範囲での酵素の検出など検体のスクリーニングに使用することができます。

■原理

アピザイムは、20のマイクロウェル（カップ）で構成されており、特に酵素反応試験に使用できます。マイクロウェルには合成基質が含まれており、またウェル自体は不織繊維で作られています。これにより、難溶解性の基質であっても酵素反応が行われます。実際に濃厚菌液が接種されると酵素基質が再溶解され、培養の間代謝物質が生産され、添加試薬を加えることで発色させその検出を行うことができます。反応は、判定表に従って読取ります。

■包装内容（25回用）

- －アピザイム プレート…………… 25枚
- －培養容器…………… 25組
- －成績記入用紙…………… 25枚
- －添付文書…………… 1部

■プレートの組成

アピザイムプレートの組成は、本添付文書内の判定表を参照して下さい。

■本キットを使用する際に必要な器具及び試薬

試薬

- －サスペンションメディウム2mL（品番70700）または0.85%滅菌生理食塩液2mL（品番20070）
- －ZYM A試薬（品番70494）

- －ZYM B試薬（品番70493）
- －マクファーランドスタンダード（品番70900）またはデンシマット（品番99234）

器具

- －アピピペット（品番70250）などの菌液接種用滅菌ピペット
- －アンプル立て（品番70200）
- －アンプルプロテクター
- －微生物試験用実験器具類

■取扱い注意事項

- ・本システムは酵素活性の研究のみにご使用ください。診断には使用しないで下さい。
- ・専門の研究者によって行って下さい。
- ※・検査材料、細菌培養、および接種検体はすべて感染性があるものとして、適切に取り扱う必要があります。検査全体を通じて、細菌を扱う際には無菌操作の実施と通常の注意を払う必要があります。“CLSI[®] M29-A, *Protection of Laboratory Workers from; Occupationally Acquired Infectious; Approved Guideline - Current revision*”を参照して下さい。取扱注意事項の追加情報としては、“Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Latest edition ”または各国で現在使用されている規程に準拠して下さい。
- ・使用期限切れ試薬を使用しないで下さい。
- ・使用する前に、各試験用試薬及び包装に破損がないことを確認して下さい。
- ・カップなどの変形が見られるプレートは使用しないで下さい。
- ※・新しいZYM B試薬を使用するときは、品質管理試験を実施することをお勧めします。

※※・下記のように、注意してアンプルを開けて下さい。

- －アンプルをアンプルプロテクターに差し込んで下さい。
- －アンプルプロテクターに入ったアンプルを片手で垂直に持って下さい（白色プラスチックキャップが上になるように立てます）。
- －キャップをできる限り下向に押します。
- －キャップの溝部分に親指を置き、前に押出してアンプル先端部を折ります。
- －アンプルをアンプルプロテクターから取り出し、次の使用のため近くに置きます。
- －キャップを注意深く取り除きます。

■貯法

アピザイムプレートは、2～8℃で保存して下さい。使用期限は、プレートのパッケージ及び外箱に記載してあります。

■試料の調製

検体を2mL以上の滅菌精製水又は滅菌生理食塩水（緩衝液を含まないもの）に希釈します。

- ・微生物
- サスペンションメディウム（“取扱注意事項”に従ってアンプルを開けます）、滅菌精製水又は等張培地などにマクファーランド濁度5～6になるように菌液を調製

します。斜面寒天培地の純培養菌または液体培地を遠心分離して得られた沈降物を用いて菌液を調製します。比較検討する微生物について再現性の高い成績を得るためには、同一の分離培地、同一の希釈液、同一の濁度の菌液を用います。本品は構成酵素を試験するキットであるため、誘導酵素を試験するためには培養培地に被験菌に対応する誘導因子を添加して行います。

- ・その他の試料（細胞懸濁液、組織、生物製剤溶液など）

各文献を参照するか独自の調製方法を構築して下さい。

用途に応じ、試験条件の設定やアピザイムで得られた結果の判断については各ユーザーで決定して下さい。

■操作方法

プレートの準備

- ・培養容器（トレイと蓋）を用意します。

※・培養中の湿潤状態を保つためトレイの底のくぼみに約5 mLの蒸留水または脱イオン水（またはCl₂、CO₂などのガスを放出する可能性のある添加物や化合物を含有しない水）を入れます。

- ・トレイのフラップ部分に、試験に用いる菌株の情報（検体番号等）を記載します。（操作中に蓋がプレート間で入れ替わることがあるため、蓋に記入することは避けて下さい。）
- ・アピザイムのプレートをパッケージから取り出します。
- ・プレートを培養容器に入れます。

プレートへの接種

- ・各カップに試料を65μLずつ（アピピペットなら4滴）分注します。
- ・接種後トレイに蓋をし、一般的には37℃（最適温度）で4～4.5時間培養します。培養時間と温度は試験する検体によって異なる場合がありますが、検体を比較検討するときは、すべての試験条件（時間、温度、増殖培地、懸濁液の濃度）を同じにして下さい。なお接種済みのプレートは強い光にあてないで下さい。

■判定及び解析

プレートの判定

培養後：

※・ZYM A試薬及びZYM B試薬を1滴ずつ加えます。界面活性剤であるZYM A試薬を加えることでカップ内のZYM B試薬*の溶解を容易にします。

*：最初に使用する前にZYM B試薬の各アンプルの品質管理試験を実施することをお勧めします。変質している試薬を除くために、品質管理の項目に記述されている酵素β-グルコシダーゼ Sigma G0395又はATCC[®] 27853[™]株を使用して下さい。

- ・添加試薬を加えた後、発色がおきるまで少なくとも5分間待ちます。
- ・なお、可能であれば、電球をカップの上に近づける（約10cm）ようにして、プレートに強い光源（1000ワット）を10秒間あてることにより、ZYM B試薬の成分であるファストブルーBBに起因する過剰な黄色を排除できます。光照射後、陰性反応は無色となります。2～3分間プレートを自然光下に置くことで成績を読み取ることができます。

成績の記録

判定表に従って、読み取った成績を成績記入用紙に記入します。反応の強度を0～5段階で表示します。：0を陰性、5を最も強い色調変化を示した反応、その中間を反応の強度に応じて1～4とします。反応強度3、4、5は陽性反応として考慮します。添加試薬を加えた後は、数時間色調は安定しています。24時間後以降から色調が劣化することがあり、反応の読取りに影響を及ぼすことがあります。

■品質管理

アピザイムを使用する前に、全てのアプリケーションで、試験に用いる検体や操作手順などの品質管理を行うことを強くお勧めします。弊社で提供しているアピザイム、サスペンションメディウム、添加試薬は製造上のいくつかの段階で品質管理が行われています。また、アピザイムは下記で示された菌株や精製酵素を用いて品質管理が行われています。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	－	＋	＋	＋	＋	＋	－	－	－	－	V	－	－	－	－	－	－	－	－	－
2	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋	－	－	＋	＋	＋	－
3	－	－	＋	V	－	－	－	－	V	＋	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－

※ 1. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC[®]*27853[™]（トリブケースソイ寒天培地上で18～24時間培養したものをマクファーランド濁度5～6に調製したものを使用）

2. β-グルコシダーゼ Sigma G0395（0.2 g/Lの濃度を使用）

3. α-キモトリプシン Sigma G4129（1 g/Lの濃度を使用）

- ・読取りは添加試薬を加えた後7～10分後に判定する。

※*： ATCC: American Type Culture Collection, 1081 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA

■使用制限

- ・本キットは同定用キットとして考慮されておられません。
- ・本キットは研究用キットとして開発されたもので、臨床検査用に対応したものではありません。
- ・すべてのアプリケーションで、ピオメリュー社で行っている品質管理以外は、使用者の責任の元で行って下さい。アピザイムの操作及び精度の検証は、各施設の基準に従って行うことをお勧めします。
- ・アピザイムで得られた試験結果について弊社では一切対応することはできません。

■判定表

No	酵素	基質	pH	成績	
				陽性	陰性
1	陰性コントロール			無色または サンプル本来の色	
2	アルカリフォスファターゼ	2-ナフチルホスフェイト	8. 5	紫色	無色または 薄い黄色*
3	エステラーゼ (C4)	2-ナフチルブチレイト	6. 5	紫色	
4	エ ス テ ラ ー ゼ リ パ ー ゼ (C8)	2-ナフチルカプリレイト	7. 5	紫色	
5	リパーゼ (C14)	2-ナフチルミリステイト	7. 5	紫色	
6	ロイシンアリルアミダーゼ	L-ロイシル-2-ナフチルアミド	7. 5	オレンジ色	
7	バリンアリルアミダーゼ	L-バリル-2-ナフチルアミド	7. 5	オレンジ色	
8	シスチンアリルアミダーゼ	L-シスチル-2-ナフチルアミド	7. 5	オレンジ色	
9	トリブシン	N-ベンゾイル-DL-アルギニン-2-ナフチルアミド	8. 5	オレンジ色	
10	α-キモトリブシン	N-グルタリル-フェニルアラニン-2-ナフチルアミド	7. 5	オレンジ色	
11	酸性フォスファターゼ	2-ナフチルホスフェイト	5. 4	紫色	
12	ナフトール-AS-BI-フォスフォヒドロラーゼ	ナフトール-AS-BI-ホスフェイト	5. 4	青色	
13	α-ガラクトシダーゼ	6-Br-2-ナフチル-α-D-ガラクトピラノシド	5. 4	紫色	
14	β-ガラクトシダーゼ	2-ナフチル-β-D-ガラクトピラノシド	5. 4	紫色	
15	β-グルクロニダーゼ	ナフトール-AS-BI-β-D-グルクロニド	5. 4	青色	
16	α-グルコシダーゼ	2-ナフチル-α-D-グルコピラノシド	5. 4	紫色	
17	β-グルコシダーゼ	6-Br-2-ナフチル-β-D-グルコピラノシド	5. 4	紫色	
18	N-アセチル-β-グルコサミニダーゼ	1-ナフチル-N-アセチル-β-D-グルコサミド	5. 4	茶色	
19	α-マンノシダーゼ	6-Br-2-ナフチル-α-D-マンノピラノシド	5. 4	紫色	
20	α-フコシダーゼ	2-ナフチル-α-L-フコピラノシド	5. 4	紫色	

* 添加試薬を加えた後、光照射を行った場合は無色またはサンプル本来の色を示しますが、光照射を行わなかった場合は、薄い黄色を示すことがあります。

■主要文献

1. MONGET D.
Mise au point d’une micromethode de detection et de mesure d’activites enzymatiques (API ZYM). Resultats obtenus dans differents domains d’application. (1978) These de Docteur-Ingenieur. Lyon.
2. WASHINGTON II J.A., WARREN.,KARLSON A.G.
Stability of Barium Sulfate turbidity standards (McFarland scale). (1972) Appl.Microbiol.,24,6,1013.

(微生物関連)

1. DEL CORRAL F., BUCHANAN R.L. Evaluation of the API-ZYM system for identification of *Listeria*. (1990) Food Microbiology, 7, 99-106.
2. GRUNER E., VON GRAEVENITZ A., ALTWEGG M. The API ZYM system: a tabulated review from 1977 to date. (1992) J. Microbiol. Methods, 16, 101-118.
3. HOFSTAD T. Evaluation of the API ZYM System for identification of *Bacteroides* and *Fusobacterium* Species. (1980) Med. Microbiol. Immunol., 168, 173-177.
4. HUMBLE M.W., KING A., PHILLIPS I. API ZYM : a simple rapid system for the detection of bacterial enzymes. (1977) J. Clin. Path., 30, 275-277.
5. MARLER L., ALLEN S., SIDERS J. Rapid Enzymatic Characterization of Clinically Encountered Anaerobic Bacteria with the API ZYM System. (1984) Eur. J. Clin. Microbiol., 3, 4, 294-300.
6. POH C.L., LOH G.K. Enzymatic Characterization of *Pseudomonas cepacia* by API ZYM Profile. (1988) J. Clin. Microbiol., 26, 3, 607-608.
7. UNAOGU I.C., GUGNANI H.C., BOIRON P. The enzymatic profile of some pathogenic aerobic actinomycetes as determined by API-ZYM method. (1999) J. Mycol. Med., 9, 235-236.
8. WAITKINS S.A., BALL L.C., FRASER C.A. Use of the API-ZYM system in rapid identification of alpha and non-haemolytic streptococci. (1980) J. Clin. Path., 33, 53-57.

(生物製剤関連)

1. BAUDON D., RODAL., FIERRE D.
Serum enzymes profile in human acute myeloblastic leukaemia: preliminary results. (1977) Biomedicine, 27, 324-326.
2. BRETON B., MENEZO Y., BILLARD R.
Mise en evidence de quelques enzymes dans le sperme de la carpe et de la truite et dans le liquide coelomique de la truite. (1974) C.R. Acad. Sci. Paris, 278, 1285-1288.
3. MENEZO Y., LAVIOLETTE P.
Les constituents amines des secretions tubaires chez la lapine. (1972) Ann. Biol. Anim. Biophys., 12, 3, 383-396.
4. MENEZO Y., FLECHON J.E.
Utilisation d’une micromethode pour la determination des activites enzymatiques des spermatozoides et du plasma seminal chez le lapin et le taureau. (1973) C.R. Acad. Sci. Paris, 1037-1040.
5. MENEZO Y., TESTART J.
Etude du serum sanguin et du liquide folliculaire preovulatoire chez la vahe. (1975) Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 15, 1, 1-8.
6. MONGET D., LAVIOLETTE P.
Mise au point de microtests “phosphatase alkaline” et “peroxydase” pour le controle de la pasteurization du lait de vache. (1978) Le Lait, 58, 579-580, 595-605.

(細胞関連)

1. MENEZO Y., GERARD M., SZOLLOSI D., THIBAUT C.
In vitro exchange between the follicle and its culture medium. (1978) Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 18, (2B), 471-476.
2. MONGET D.
Comparaison des profils enzymatiques de deux lignees cellulaires d’insectes *Antheraea eucalypti* et *Malacosoma disstria* (Lepidoptera). (1975) C.R. Acad. Sci. Paris, 281, 651-657.

3. NARDON P., MONGET D., DIDIER-FICHET M.L., de THE G.
Comparison of zymogram of three lymphoblastoid cell lines with a new microtechnique. (1976) Biomedicine, 24, 3, 183-190.
- (組織関連)
1. BOUSQUET J., MARTY J.P., COULOMB Y., ROBINET-LAVY M., COUR P., MICHEL F.B.
Enzyme determination and rast inhibition assays for orchard grass (dactylic glomerata): A comparison of commercial pollen extracts. (1978) Ann. Allergy, 41, 164-169.
2. BOUSQUET J., MARTY J.P., CLAUSS C., MICHEL F.B.
Enzyme of bee venom, sac and whole body. (1979) Ann. Allergy, 43, 110-114.
3. CECCALDI H.J., TRELLU J.L.
Apparition des activites enzymatiques digestives dans les oeufs de Palaemon serratus Pennant (Crustace Decapode) au cours de l’embryogenese. (1975) C.R. Seances Soc. Biol., 169, 5, 1249-1255.
4. DAVID A., FIASSON J.L.
Specification dans le genre gleophyllum karst (polyporaceae): Utilisation des pigments, recherché d’enzymes interfertilites. (1977) Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon, 9, 304-320.
5. GRENIER S., DELOBEL B., BONNOT G., LAVIOLETTE P.
Persistence des activites enzymatiques du corps adipeux de Galleria mellonella en milieux defines. (1974) C.R. Acad. Sci. Paris, 278, 2545-2548.
6. SEVILLA C., LAGARRIGUE J.G.
Etude compare des zymogrammes du tube digestif chez les Isopodes (Crustaces Peracarides). (1975) C.R.Acad. Sci. Paris, 281, 715-718.
7. TRELLU J., CECCALDI H.J.
Caracterisation de quelques activites enzymatiques digestives de Palaemon serratus Pennant (Crustace Decaponde), après electrophotese sur gel en gradient de polyacrylamide. (1976) C.R. Seances Soc. Biol., 170, 3, 364-368.
8. VOULOT C., LAVIOLETTE P.
Les Tyrosinases des parties parties pigmentees de l’oeil chez quatre especes de rongeurs. (1976) C.R. Acad. Sci. Paris, 283, D, 79-81.

※記号

記号	内容
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号
	添付文書を参照
	〈n〉回分の試験を含む

■問い合わせ先

シスメックス株式会社 科学計測事業部
〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階
TEL 0120-022-328

シスメックス・バイオメリュウ株式会社
〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階
TEL 03-6834-2666 (代表)

■製造販売業者の氏名または名称及び住所

シスメックス・バイオメリュウ株式会社
〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階

製造販売元

シスメックス・バイオメリュウ株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階



07883F – en – 2014/01