

API® ZYM

酵素活性研究用

製品概要

API® ZYM は酵素活性の研究を目的にデザインされた半定量性の微量酵素活性測定法です。本手法はあらゆる種類の検体（微生物、細胞懸濁液、組織、体液など）に使用でき、極めて少量の検体で 19 種類の酵素反応を体系的かつ迅速に試験することができます。

本キットのプレートは、20 のマイクロウェル（カップ）で構成されています。各ウェルには酵素基質および緩衝剤が含まれており、酵素と不溶性基質との反応が行われます。API ZYM は、分光光度計や電気泳動といった手法で得られる精度を目指して開発されたものではなく、主に精製されていない複合検体の酵素活性の検出ができるように開発された製品です。API ZYM をスクリーニングに使用することによって、分光光度計や電気泳動による詳細な試験を行う際に必要な酵素測定範囲の把握が可能で

原理

API ZYM プレートは、20 のカップで構成されており、特に酵素反応試験のためにデザインされています。プレート上の合成基質を含むウェルは不織繊維で作られています。これにより、不溶性の基質であっても酵素反応が進むようになっていきます。濃厚菌液を接種すると、酵素基質が再溶解します。培養期間中に生成された最終代謝産物を添加試薬を使って呈色反応させることにより、酵素反応を検出します。判定表に従って反応を読み取り、判定します。

キットの構成

25 テスト (バイオメリユー品番 20100) :

- API ZYM プレート 25 ストリップ
- 培養容器 (蓋・トレイ) 25 セット
- 成績記入用紙 25 枚
- 使用説明書は当社ウェブサイトからダウンロード可能です。 (<https://resourcecenter.biomerieux.com/>)

プレートの組成

API ZYM プレートの組成は、本使用説明書の判定表を参照してください。

本品を使用の際に必要な試薬及び器具

試薬 :

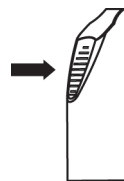
- サスペンションメディア 2 mL (バイオメリユー品番 70700) または 0.85% 滅菌生理食塩液 2 mL (バイオメリユー品番 20070)
- ZYM A 試薬 (バイオメリユー品番 70494) および ZYM B 試薬 (バイオメリユー品番 70493)
- マクファーランドスタンダード (バイオメリユー品番 70900) または デンシマット (バイオメリユー品番 99234)

器具 :

- アピピペット (バイオメリユー品番 234-1S) 又は類似品
- 試験管立て
- アンブルプロテクター
- 一般的な微生物試験に必要な器具

使用上の注意

- 研究・産業分野の試験目的のみにご使用ください。診断目的には使用できません。
- 熟練者がご使用ください。本製品は熟練者による使用を目的としています。
- 検査材料、細菌培養、および接種菌液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一般的な注意を払う必要があります。"CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers from; Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline- Current revision" を参照して下さい。取り扱い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定に準拠して下さい。
- 使用期限が過ぎた製品は使用しないで下さい。
- 使用前に全ての内容物に破損がないか確認して下さい。
- カップが変形しているなど、破損したプレートは使用しないで下さい。
- プレートは、一度のみ使用し、再利用しないで下さい。
- ZYM B 試薬の新しいアンブルを開封したら、品質管理試験を実施することを推奨します。
- 以下のように、注意してアンブルを開けてください。



- アンブルをアンブルプロテクターに差し込んで下さい。
- アンブルプロテクターに入ったアンブルを片手で垂直位置に持って下さい (白い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方方向に押し込みます。
- キャップの溝面部分に親指を置き、前方に押し出してアンブルの先端部を折りま
- す。
- アンブルをアンブルプロテクターから取り出し、次の使用のために近くに置きます。
- キャップを注意深く取り除きます。

保管条件

プレートは 2-8°C で外箱に記載の使用期限まで保管して下さい。

検体の前処理

2 mL 以上の滅菌精製水または緩衝液を含まない希釈液(滅菌生理食塩水など)に、検体を希釈します。

微生物：

サスペンションメディア (2 mL) (“使用上の注意”に従ってアンプルを開けて下さい)、滅菌精製水または等張液に、マクファーランド濁度 5-6 の菌液を調製します。斜面寒天培地に発育した純培養菌または液体培養物を遠心分離して得られた沈降物を菌液調製に使用することができます。

再現性がある結果を得るためには、対象の微生物を同一の条件で取り扱うこと、つまり同一の分離培地、同一の希釈液、同一の濁度の菌液を用いることが重要です。本製品は構成型酵素を対象としています。誘導型酵素の場合は、対応する誘導因子を培養に用いる培地に添加することで検出が可能です。

その他の試料 (細胞懸濁液, 組織, 体液など …)：

各文献を参照するか独自の調製方法を構築して下さい。

適切な試験条件や API® ZYM で得られた結果の解釈については、用途に応じて各ユーザーで決定して下さい。

使用方法

プレートの準備

- 培養容器 (蓋とトレイ) を準備し、湿潤環境を保つためにトレイの穴に約5 mLの蒸留水や脱塩水(またはガス(例えば、Cl₂、CO₂ など)を放出する可能性のある添加物や化学薬品を含まない水)を入れて下さい。
- トレイの端に検体名を記入して下さい (蓋に検体番号を記載した場合、操作中に置き間違える可能性があります)。
- 使用直前にパウチからプレートを取り出します。
- プレートを培養容器に入れます。

プレートへの菌液分注

- アピペレットを使用してプレートのカップに菌液を 65 µL ずつ分注して下さい。
- 菌液の接種後、トレイに蓋をして、一般的には 37°C (至適温度)で 4 - 4.5 時間培養します。培養時間と培養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際には、全ての試験条件 (時間、温度、増殖培地、懸濁液の濃度) を必ず同一にして下さい。接種済みのプレートは明るい光が当たるところに置かないで下さい。

判定と解釈

プレートの判定

培養後：

- 各カップに ZYM A 試薬と 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、ZYM B 試薬の培養液への溶解が促進されます。
(*) ZYM B 試薬の各アンプルを最初に使用する前に、**品質管理試験の実施**を推奨します。変質している試薬を取り除くために、品質管理の項目に記述されている **ATCC® 27853™**株の使用を推奨します。
- 呈色するまで 5 分以上放置します。
- 可能であれば、電球をカップの約 10 cm (4 インチ)上に配置し、プレートを強い光源 (1000W 電球) の下に約 10 秒間置いて下さい。これによりカップ内の未反応の過剰な Fast Blue BB によって呈色した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。数分間プレートを自然光下に置くことで同様の結果が得られます。

反応の記録

判定表に従って反応を読み取り、結果を成績記入用紙に記入します。反応の強度を 0-5 の値に割り当てます。: 0 は陰性、5 は最も強い呈色反応、その中間を反応の強度に応じて 1、2、3 または 4 とします。(反応強度 3、4、5 は陽性反応とします)。

プレートに添加試薬を加えた後、色調は数時間安定しています。24 時間後から色調が劣化することがあり、反応の読取りの妨げとなる場合があります。

品質管理

全てのアプリケーションについて、API ZYM を使用する前に、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推奨します。サスペンションメディア、プレート、添加試薬は製造の様々な段階で体系的に品質管理が行われています。API ZYM の品質管理は以下の表の菌株や精製酵素を用いて実施してください。：

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

- 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、デンシマットでマクファーランド濁度 5-6 に調製した菌液により得られた結果)。
- α -chymotrypsin Sigma C4129 (濃度 1 g/L を使用して得られた結果)。

- 添加試薬の添加して 7-10 分後に結果の読み取りと判定を行った。

* ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

使用制限

- API® ZYM は同定用キットではありません。
- API ZYM は研究用キットであり、臨床検査用にデザインされていません。
- 全てのアプリケーションについて、バイ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ください。API ZYM の操作および精度の検証は、各施設の方針および手順に従って実施することを推奨します。
- 当社は、API ZYM で得られた結果の使用に関する一切の責任を負いません。

廃棄処理

使用済みもしくは未使用の試薬の廃棄に関しては他の汚染した廃棄材料と同様、感染性もしくは感染の危険のある製品の取扱方法に従って行ってください。起こりうる危険を適切に考慮の上、各検査室の責任の元、廃棄産物や流出物はそれぞれの危害毒性や度合いを考慮し、地域の適切な規制に従って廃棄してください。

判定表

No.	酵素アッセイ	基質	pH	判定結果	
				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	Alkaline phosphatase	2-naphthyl phosphate	8.5	紫色	無色 または 薄い黄色*
3	Esterase (C 4)	2- naphthyl butyrate	6.5	紫色	
4	Esterase Lipase (C 8)	2- naphthyl caprylate	7.5	紫色	
5	Lipase (C 14)	2- naphthyl myristate	7.5	紫色	
6	Leucine arylamidase	L- leucyl-2-naphthylamide	7.5	オレンジ色	
7	Valine arylamidase	L- valyl-2-naphthylamide	7.5	オレンジ色	
8	Cystine arylamidase	L- cystyl-2-naphthylamide	7.5	オレンジ色	
9	Trypsin	N- benzoyl -DL- arginine-2-naphthylamide	8.5	オレンジ色	
10	α- chymotrypsin	N- glutaryl-phenylalanine-2-naphthylamide	7.5	オレンジ色	
11	Acid phosphatase	2- naphthyl phosphate	5.4	紫色	
12	Naphthol -AS-BI-phosphohydrolase	Naphthol -AS-BI- phosphate	5.4	青色	
13	α- galactosidase	6-Br-2- naphthyl -αD- galactopyranoside	5.4	紫色	
14	β- galactosidase	2- naphthyl -βD- galactopyranoside	5.4	紫色	
15	β- glucuronidase	Naphthol -AS-BI-βD- Naphthol	5.4	青色	
16	α- glucosidase	2-naphthyl-αD- glucopyranoside	5.4	紫色	
17	β- glucosidase	6-Br-2- naphthyl -βD- glucopyranoside	5.4	紫色	
18	N-acetyl-β- glucosaminidase	1-naphthyl-N- acetyl- βD- glucosaminide	5.4	茶色	
19	α- mannosidase	6-Br-2- naphthyl -αD- mannopyranoside	5.4	紫色	
20	α- fucosidase	2- naphthyl -αL- fucopyranoside	5.4	紫色	

* 添加試薬の添加後、強い光照射を行った場合は無色または陰性コントロールの色を示しますが、光照射を行わなかった場合は薄い黄色に呈色します。

製品に関する保証

当社は当該製品に関する使用方法、保管条件、使用期限および注意事項等のすべての手順が、使用説明書に記載されているとおりに遵守されている限り、用途に明示した性能を保証します。

上記した内容を逸脱し使用された場合は、当社は当該製品の商品性および、特性の目的または使用の適合性に関して保証いたしません。またこのような場合、試薬、ソフトウェア、機器および消耗品に関する一切の責任も負いません。

改訂履歴

改訂カテゴリー

N/A	変更なし(初版)
Correction	誤植の修正
Technical Changes	製品に関連した情報の追加、変更および/あるいは削除
Administrative	技術関連ではない変更

注記: 軽微な誤記、言い回し、フォーマットの変更は改訂履歴には含まれません。

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2022/09	07883G	Administrative	改訂履歴
		Technical Change	判定および解釈 品質管理 シンボルマーク

BIOMÉRIEUX, the BIOMÉRIEUX logo and API are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

The ATCC trademark and trade name and any and all ATCC catalog numbers are trademarks of the American Type Culture Collection.

CLSI is a trademark belonging to Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

参考文献

1. MONGET D.
Mise au point d'une microméthode de détection et de mesure d'activités enzymatiques (API ZYM). Résultats obtenus dans différents domaines d'application. (1978) Thèse de Docteur-Ingénieur. Lyon.
2. WASHINGTON II J.A., WARREN E., KARLSON A.G.
Stability of Barium Sulfate turbidity standards (McFarland scale). (1972) Appl. Microbiol., 24, 6, 1013.

細菌

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.

体液

1. BAUDON D., RODA L., 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 évidence 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 constituants aminés des sécrétions tubaires chez la lapine. (1972) Ann. Biol. Anim. Biophys., 12, 3, 383-396.
4. MENEZO Y., FLECHON J.E.
Utilisation d'une microméthode pour la détermination des activités enzymatiques des spermatozoïdes et du plasma séminal chez le lapin et le taureau. (1973) C.R. Acad. Sci. Paris, 277, 1037-1040.
5. MENEZO Y., TESTART J.
Etude du sérum sanguin et du liquide folliculaire préovulatoire chez la vache. (1975) Ann. Biol. Anim. Biophys., 15, 1, 1-8.
6. MONGET D., LAVIOLETTE P.
Mise au point de microtests "phosphatase alcaline" et "peroxydase" pour le contrôle de la pasteurisation du lait de vache. (1978) Le Lait, 58, 579-580, 595-605.










細胞

1. MENEZO Y., GERARD M., SZOLLOSI D., THIBAUT C.
In vitro exchange between the follicle and its culture medium. (1978) Ann. Biol. Anim. Biophys., 18, (2B), 471-476.
2. MONGET D.
Comparaison des profils enzymatiques de deux lignées 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

1. BOUSQUET J., MARTY J.P., COULOMB Y., ROBINETLAVY M., COUR P., MICHEL F.B.
Enzyme determination and rast inhibition assays for orchard grass (*dactylis glomerata*) : A comparison of commercial pollen extracts. (1978) Ann. Allergy, 41, 164-169.
2. BOUSQUET J., MARTY J.P., CLAUSS C., MICHEL F.B.
Enzymes of bee venom, sac and whole body. (1979) Ann. Allergy, 43, 110-114.
3. CECCALDI H.J., TRELLU J.
Apparition des activités enzymatiques digestives dans les oeufs de *Palaemon serratus* Pennant (Crustacé, Décapode) au cours de l'embryogenèse. (1975) C.R. Séances Soc. Biol., 169, 5, 1249-1255.
4. DAVID A., FIASSON J.L.
Spécification dans le genre *gleophyllum* karst (*polyporaceae*) : Utilisation des pigments, recherche d'enzymes interfertilités. (1977) Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon, 9, 304-320.
5. GRENIER S., DELOBEL B., BONNOT G., LAVIOLETTE P.
Persistence des activités enzymatiques du corps adipeux de *Galleria mellonella* en milieux définis. (1974) C.R. Acad. Sci. Paris, 278, 2545-2548.
6. SEVILLA C., LAGARRIGUE J.G.
Etude comparée des zymogrammes du tube digestif chez les Isopodes (Crustacés, Péracarides). (1975) C.R. Acad. Sci. Paris, 281, 715-718.
7. TRELLU J., CECCALDI H.J.
Caractérisation de quelques activités enzymatiques digestives de *Palaemon serratus* Pennant (Crustacé, Décapode), après électrophorèse sur gel en gradient de polyacrylamide. (1976) C.R. Séances Soc. Biol., 170, 3, 364-368.
8. VOULOT C., LAVIOLETTE P.
Les Tyrosinases des parties pigmentées de l'oeil chez quatre espèces de rongeurs. (1976) C.R. Acad. Sci. Paris, 283, D, 79-81.

シンボルマーク

記号	内容
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号
	取扱説明書を参照
	<n> 回分の試験を含む
	製造日
	再利用禁止

BIOMÉRIEUX
ビオメリュー・ジャパン株式会社

 東京都港区赤坂二丁目 17 番 7 号
 赤坂溜池タワー2 階

 Tel: 03-6834-2666 / Fax: 03-6834-2667
<https://www.biomerieux-industry.com/ja>


bioMérieux SA

 376 Chemin de l'Orme
 69280 Marcy-l'Etoile - France
 RCS LYON 673 620 399
 Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com