

****使用に際してはこの電子添文をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。**

5 D X 0 3 T

体外診断用医薬品

製造販売認証番号：303AAEZ00053000

**2022年 4月改訂（第3版）

*2021年11月改訂（第2版）

リン酸化タウ蛋白キット

ルミパルス® リン酸化タウ181

■全般的な注意

1. 本試薬は、体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 診断の際は、本測定値以外に他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、総合的に判断してください。
3. 本書以外の使用方法については保証を致しません。
4. 本試薬および検体は、感染の危険性があるものとして十分に注意して取扱ってください。
5. 本試薬の基質液、洗浄液および検体希釈液には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。
- **6. 本試薬の使用に際しては、本書とあわせ、各試薬の添付文書、使用する測定システムの電子添文および取扱説明書をご参照ください。

■形状・構造等（キットの構成）

1. 抗体結合粒子^{注1)}（使用時液状、150μL/免疫反応カートリッジ）
抗181位リン酸化タウ蛋白モノクローナル抗体（マウス）結合フェライト粒子を含みます。
2. 酵素標識抗体（液状、320μL/免疫反応カートリッジ）
アルカリホスファターゼ（ALP）標識抗タウ蛋白モノクローナル抗体（マウス）を含みます。

免疫反応カートリッジ



3. 標準リン酸化タウ181溶液（3濃度×1）
 - (1) 0pg/mL 標準リン酸化タウ181溶液（液状、1.5mL×1）
 - (2) 40pg/mL 標準リン酸化タウ181溶液（液状、1.5mL×1）
 - (3) 400pg/mL 標準リン酸化タウ181溶液（液状、1.5mL×1）
4. 基質液（液状、100mL×6、50mL×6）
基質としてAMPPD^{注2)}を含みます。
ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。
5. 洗浄液（濃縮液、1000mL×1）
6. 検体希釈液（液状、300mL×4、80mL×4）
ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。

注1) 15℃以下の温度ではゲル化しています。

注2) AMPPD：3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3''-phosphoryloxy)phenyl-1,2-dioxetane disodium salt/3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-ホスホリルオキシ)フェニール-1,2-ジオキセタン・2ナトリウム塩

■使用目的

脳脊髄液中の181位リン酸化タウ蛋白の測定（アルツハイマー型認知症及び軽度認知機能障害（MCI）に限る）

■測定原理

本試薬は2ステップサンドイッチ法に基づいた化学発光酵素免疫測定法による181位リン酸化タウ蛋白測定試薬です。

<反応プロトコール；2ステップモード>

試薬・検体のセット

第一反応

抗体結合粒子に結合した抗181位リン酸化タウ蛋白モノクローナル抗体（マウス）と検体中に含まれる181位リン酸化タウ蛋白による免疫複合体が形成されます。

抗体結合粒子150μLに検体または標準リン酸化タウ181溶液30μLが混合されます。反応液は、攪拌後37℃で10分間インキュベートされます。

洗浄

反応液除去の後、抗体結合粒子の洗浄が行われます。

粒子は磁石によって集められ、反応液が除去されます。洗浄液注入、洗浄液の除去が繰り返され、粒子が洗浄されます。

第二反応

抗181位リン酸化タウ蛋白モノクローナル抗体（マウス）を介して結合した検体中の181位リン酸化タウ蛋白とアルカリホスファターゼ（ALP）標識抗タウ蛋白モノクローナル抗体（マウス）（酵素標識抗体）による免疫複合体が形成されます。

酵素標識抗体250μLと抗体結合粒子が混合されます。反応液は37℃で10分間インキュベートされます。

洗浄

再び反応液除去の後、抗体結合粒子の洗浄が行われます。

粒子は磁石によって集められ、反応液が除去されます。洗浄液注入、洗浄液の除去が繰り返され、粒子が洗浄されます。

酵素反応

基質液200μLを粒子に加え攪拌後、37℃で5分間反応させます。

測光

波長477nmに発光極大を持つ光の発光量を測定します。
基質液に含まれるAMPPDは、抗体結合粒子に間接的に結合したアルカリホスファターゼの触媒作用により分解します。分解に伴って放出される光は、粒子に結合した181位リン酸化タウ蛋白量を反映するため、これを測定することによって181位リン酸化タウ蛋白濃度の測定を行うことができます。

検体中の181位リン酸化タウ蛋白濃度が測定範囲を超えた場合は、必要に応じて検体希釈液を用いて検体を希釈し、再測定してください。

■操作上の注意

1. 測定検体の性質、採取法

- (1) 検体の採取および保存は関連学会等のガイドライン、指針等に従った方法で実施してください。
- *(2) 可能な限り新鮮な検体を用いてください。
文献によると、25℃で保存した場合は2日間¹⁾、2～8℃で保存した場合は15日間¹⁾、-20℃で保存した場合は2ヵ月間^{2)、3)}まで検体の安定性が認められています。
- (3) 検体を繰り返し凍結融解することは避けてください。
- (4) 有形成分、沈殿物、浮遊物が含まれている検体では、測定値に影響を与える場合があります。正しい結果が得られるように遠心または除去した後使用してください。
- (5) 検体間の汚染が生じないように検体は注意して取扱ってください。
- (6) 血液の混入した脳脊髄液は使用しないでください。

2. 妨害物質・妨害薬剤

検体に以下の物質を添加して試験した結果、記載の濃度まで測定値に影響は認められませんでした。

添加物質	添加濃度
全血	0.1%
ヘモグロビン	12.5mg/dL
HAMA	5ng/mL
トリグリセリド	40mg/dL
ビリルビンF/C	0.5mg/dL
乳び	18.4FTU
リウマトイド因子	15.8IU/mL
ヒトアルブミン	0.18g/dL
ヒトIgG	0.06g/dL
ヒトIgM	0.0037g/dL
ヒトIgA	0.0022g/dL
アセトアミノフェン	1324μmol/L
アセチルサリチル酸	3.62mmol/L
アンピシリン	152μmol/L
アスコルビン酸	342μmol/L
カフェイン	308μmol/L
クロラムフェニコール	155μmol/L
ジゴキシン	7.8nmol/L
ヒドロクロチアジド	20.2μmol/L
メトプロロール	18.7μmol/L
テオフィリン	222μmol/L
ウルファリン	32.5μmol/L
ドネペジル	30mg/L
リバスチグミン	45mg/L
ガランタミン	250mg/L
メマンチン	250mg/L
アリピプラゾール	45mg/L
クエチアピン	900mg/L
ピオチン	19.7mg/dL

3. 交差反応性

交差反応性について検討した結果、以下の結果が得られました。

添加物質	添加濃度	交差反応率
タウ蛋白	2 0 0 0 p g / m L	−0. 0 7〜0. 0 1 %

4. その他

本試薬は全自動化学発光酵素免疫測定システム
(代表例：ルミパルス G 1 2 0 0) 用試薬です。

■用法・用量（操作方法）

1. 試薬の調製法

- (1) 抗体結合粒子および酵素標識抗体
免疫反応カートリッジには、抗体結合粒子および酵素標識抗体が充填されています。
カートリッジケースの透明フィルムを剥がし、そのまま使用します。
・免疫反応カートリッジを取扱う際に、振動を加えたり、逆さまにしたりしないでください。
・免疫反応カートリッジを装置にセットする際は、カートリッジケースの透明フィルムを必ず剥がしてください。剥がし忘れや剥がし残りがあつた場合、装置の動作異常の原因となります。
・試薬項目および試薬ロットはカートリッジケースのバーコードによって管理されています。カートリッジケース間の免疫反応カートリッジの入れ替えは試薬の誤認識に繋がる可能性がありますので行わないでください。
- (2) 標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液
常温（1 5〜2 5℃）に戻してから軽く転倒混和して使用します。
デッドボリウムを考慮して、サンプルカップに必要な量を滴下します。
・溶液 1 滴あたりのおよその滴下量は 4 0 μ L です。滴下量は容器を押す強さや気泡の混入によって変動します。滴下の際に液滴の中に気泡が多量に混入する場合は、残量が僅かですので新しい試薬を使用してください。サンプルカップに泡が残りますとサンプリング不良の原因になる場合があります。
・デッドボリウムはご使用の測定システムによって異なりますので各測定システムの取扱説明書をご覧ください。
一例としてルミパルス G 1 2 0 0 でサンプルカップをご使用の場合、デッドボリウムは 1 0 0 μ L となります。
- (3) 基質液
冷蔵庫から出してそのまま使用します。
・基質液の漏れがないように装置にセットしてください。
・基質液を装置にセットした後は、基質液交換時まで取外しは避けてください。基質液の注ぎ足しはしないでください。基質液がアルカリホスファターゼ（ALP）に汚染されますと使用できません。手指が直接基質液に触れた場合は、廃棄してください。
- (4) 洗浄液
濃縮液のため精製水で 1 0 倍に希釈し、よく攪拌します。希釈した洗浄液は、常温（1 5〜2 5℃）に戻してから使用します。
- (5) 検体希釈液
1 5〜3 0℃に戻してからそのまま使用します。
ルミパルス G 1 2 0 0 にセットする場合は、冷蔵庫から出してそのまま使用してください。

2. 必要な器具・器材・試料等

- (1) マイクロピペット、サンプリングチップおよびサンプルカップ
- (2) 全自動化学発光酵素免疫測定システム
- (3) L P コントロール・リン酸化タウ 1 8 1（別売品）
精度管理用試料として、L P コントロール・リン酸化タウ 1 8 1 を推奨いたします。
使用に際しては、L P コントロール・リン酸化タウ 1 8 1 の取扱説明書を参照してください。

3. 測定法

- (1) 測定システムの取扱説明書を参照し、検体および測定に必要な試薬を所定の位置にセットしてください。（サンプルの最少必要量は、使用する容器や測定システムによって異なりますので、各測定システムの取扱説明書をご覧ください。）
- (2) 標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液および検体の測定依頼内容をそれぞれ入力します。
- (3) 測定を開始する前に、免疫反応カートリッジ、基質液、洗浄液、検体希釈液、サンプリングチップの残量を確認します。
- (4) スタートキーを押し、測定を開始します。装置内で自動的に実行される動作については測定原理の「反応プロトコル」の項をご参照ください。

4. 濃度の算出法

検体中の 1 8 1 位リン酸化タウ蛋白濃度は、標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液の発光量をもとに作成された検量線から自動的に算出されます。また複数装置をお使いの場合は 1 台ごとに検量線を作成してください。

標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液の測定は以下の場合に行います。
・免疫反応カートリッジが、新しいロットに切り替わつた場合。
・検量線を更新後、3 0 日が経過した場合。
上記以外にも必要が生じた場合は、標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液を測定し検量線を更新してください。

検体中の 1 8 1 位リン酸化タウ蛋白濃度が 4 0 0. 0 p g / m L を超えた場合は、必要に応じて検体希釈液を用いて検体を希釈し、再測定してください。なお、用手法で希釈する場合には 2 0 倍までの範囲内で行ってください。

■測定結果の判定法

*1. 参考基準範囲

認知機能の正常な健常人 1 2 1 例から採取した脳脊髄液中の 1 8 1 位リン酸化タウ蛋白濃度を測定した結果について、ノンパラメトリック・ブートストラップ法により参考基準範囲を 1 0〜9 0 パーセンタイル値で算出したところ、2 1. 5 p g / m L（9 0 % C I：1 9. 6〜2 4. 1 p g / m L）〜5 9. 0 p g / m L（9 0 % C I：5 3. 4〜7 6. 1 p g / m L）となりました。

2. 判定上の注意

- (1) 基準範囲は、測定条件や検体によって異なることがありますので、各施設に適した基準範囲を設定してください。
- (2) リウマトイド因子や異好性抗体の影響を受ける可能性があります。
- (3) 検体中に存在する未同定の非特異反応性物質の影響により、まれに測定値が正確に得られない場合がありますので、他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、総合的に判断してください。

■臨床的意義

1 8 1 位リン酸化タウ蛋白の上昇とアルツハイマー病（AD）は強い関連が指摘されています。脳脊髄液中の 1 8 1 位リン酸化タウ蛋白の測定は、AD の診断の補助となるバイオマーカーとして有用です。^{4）、5）、6）}

本試薬は、化学発光基質（AMP P D）を用いた化学発光酵素免疫測定法^{7）}（C L E I A；chemiluminescent enzyme immunoassay）に基づく試薬です。

■性能

1. 性能

- (1) 感度
標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液を所定の操作で測定するとき、4 0 p g / m L 標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液と 0 p g / m L 標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液の発光量の比は 8 以上になります。
- (2) 正確性
自家管理検体 3 例を所定の操作で測定するとき、測定値は各管理値に対して ± 2 0 % 以内になります。
- (3) 同時再現性（併行精度）
自家管理検体 3 例を所定の操作で 6 回繰り返し測定するとき、測定値の変動係数（C V 値）は 1 0 % 以下になります。
- (4) 測定範囲
本試薬の測定範囲は 1. 1〜4 0 0. 0 p g / m L です。
- (5) 検出限界
C L S I ガイドライン E P 1 7 − A 2^{8）}に従って検出限界（L o D）の算出を行った結果、値は 0. 2 8 2 p g / m L となりました。
- (6) 定量限界
C L S I ガイドライン E P 1 7 − A 2^{8）}に従って定量限界（L o Q）の算出を行った結果、値は 1. 0 5 8 p g / m L となりました。

2. 関連性試験成績

- (1) 脳脊髄液検体 1 1 6 例を使用し、既存体外診断用医薬品（酵素免疫測定法）との関連性を検討した結果、以下に示す成績が得られました。
測定例数：n = 1 1 6
相関係数：r = 0. 9
回帰式：y = 0. 9 x − 3. 8
（x；既存酵素免疫測定法（A 社）、y；本品）
- (2) 脳脊髄液検体 1 1 6 例を使用し、既存体外診断用医薬品（酵素免疫測定法）との関連性を検討した結果、以下に示す成績が得られました。
測定例数：n = 1 1 6
相関係数：r = 1. 0
回帰式：y = 1. 1 x − 5. 6
（x；既存酵素免疫測定法（B 社）、y；本品）

3. 校正用の基準物質（標準物質）

社内調製品

■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) 検体は H I V、H B V、H C V 等の感染の恐れがあるものとして取扱ってください。
- (2) 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
- (3) 基質液はアルカリ性溶液（p H 1 0）です。使用に際しては、液が皮膚についたり、目に入らないように注意してください。
- (4) 試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。

2. 使用上の注意

- ** (1) 使用に際しては本書、使用する測定システムの電子添文および取扱説明書に従ってください。
- (2) 免疫反応カートリッジ（抗体結合粒子・酵素標識抗体）、標準リン酸化タウ 1 8 1 溶液、基質液、洗浄液および検体希釈液は個別に包装されていますので、ご使用の測定システムに合わせ、組み合わせて使用してください。
 - (3) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。各構成試薬外箱および容器の表示をご確認のうえ使用してください。
 - (4) サンプリングチップ、サンプルカップは、使用する測定システム指定のものを使用してください。
 - (5) サンプリングチップ、サンプルカップは常に新しいものを使用してください。
 - (6) 試薬は保存条件を守って使用してください。特に凍結しないように注

意してください。

- (7) 保管に冷蔵庫をご使用の場合、庫内のファンからの風が直接あたる場所および庫内最下部での保管は、温度変化により水分蒸発の原因となりますので避けてください。
- (8) 検体および標準リン酸化タウ181溶液は蒸発による濃縮を考慮し、サンプルの準備後は速やかに測定を開始してください。
- (9) 正確な測定を行うために、精製水は常に新しいものを使用してください。
- (10) ソーダライムは交換せずに長期間使用を続けると、二酸化炭素の吸収力が低下します。また基質キャップパッキンも交換せずに長期間使用を続けると密閉性が失われ基質液を劣化させる原因となります。ソーダライムと基質キャップパッキンの交換時期についてはご使用の測定システムの取扱説明書をご覧ください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 各試薬には保存剤として以下のとおりアジ化ナトリウムが含まれています。廃棄する際は爆発性の金属アジドが生成されないように多量の水とともに流してください。また、酸と反応して有毒性のガスを発生する恐れがありますので、酸との接触を避けて廃棄してください。
洗浄液：1.0%（希釈調製前）、基質液：0.05%
検体希釈液：0.1%
- (2) 試薬および容器等を廃棄する場合は、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してください。
- (3) 廃液の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法などの規制に従って処理してください。
- (4) 使用した器具（ピペット、試験管等）、廃液、サンプリングチップ等は、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1000ppm、1時間以上浸漬）、グルタルアルデヒド（2%、1時間以上浸漬）等による消毒処理あるいは、オートクレーブ（121℃、20分以上）による滅菌処理を行ってください。
- (5) 検体、廃液等が飛散した場合には次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1000ppm、1時間以上浸漬）、グルタルアルデヒド（2%、1時間以上浸漬）等によるふき取りと消毒を行ってください。
- (6) 消毒処理に使用する次亜塩素酸ナトリウム溶液、グルタルアルデヒド溶液が、皮膚についたり、目に入らないように注意してください。

■貯蔵方法・有効期間

** 抗体結合粒子	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月
** 酵素標識抗体	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月
** 標準リン酸化タウ181溶液	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月
基質液	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月
洗浄液	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月
検体希釈液	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月

使用期限については、各構成試薬の外箱および容器の表示をご参照ください。

■包装単位

個別包装

ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。

コードNo.	品名	包装
** 230350	ルミパルス リン酸化タウ181 免疫反応カートリッジ (抗体結合粒子・酵素標識抗体)	14テスト×3
260227	ルミパルス リン酸化タウ181 標準リン酸化タウ181溶液	3濃度×1 (各1.5mL×1)
219973	ルミパルス 基質液 (共通試薬)	100mL×6
292600	ルミパルス 基質液 (共通試薬)	50mL×6
219942	ルミパルス 洗浄液 (共通試薬)	1000mL×1
219935	ルミパルス 検体希釈液 (共通試薬)	300mL×4
292617	ルミパルス 検体希釈液 (共通試薬)	80mL×4

その他

LPコントロール・リン酸化タウ181
3濃度×1（各1.5mL×1）（コードNo. 260234）

■主要文献

- Hansson O, et al. Pre-analytical protocol for measuring Alzheimer's disease biomarkers in fresh CSF. DADM. 12.1: e12137. 2020.
- *2. Lachno, DR, et al. Validation and Clinical Utility of ELISA Methods for Quantification of Amyloid-β of Peptides in Cerebrospinal Fluid Specimens from Alzheimer's Disease Studies. J Alzheimers Dis. 45: 527-542. 2015.
- *3. Vanderstichele H, et al. Alzheimer's disease biomarkers: from concept to clinical utility. BioMarkers for Early Diagnosis of Alzheimer's Disease, 81-122, 2008.
- Hulstaert F, et al. Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid (1-42) and tau levels in CSF. Neurology, 52: 1555-1562, 1999.
- Engelborghs S, et al. Diagnostic performance of a CSF-biomarker panel in autopsy-confirmed dementia. Neurobiol Aging, 29: 1143-1159, 2008.
- Shaw LM, et al. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. Ann Neurol, 65: 403-413, 2009.
- Nishizono I, et al. Rapid and Sensitive Chemiluminescent Enzyme Immunoassay for Measuring Tumor Markers. Clin Chem, 37: 1639-1644, 1991.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline - Second Edition. CLSI Document EP17-A2.

■問い合わせ先

富士レビオ株式会社 お客様コールセンター
TEL：0120-292-832

■製造販売元

富士レビオ株式会社
**神奈川県相模原市中央区田名塩田1丁目3番14号

