

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

リン酸化タウ蛋白キット
分類コード番号:83014000

pTau タンパク-IBL

【全般的な注意】

1. 本キットは、体外診断用の測定試薬です。それ以外の目的には使用しないでください。
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などと合わせて担当医師が総合的に判断してください。
3. この添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証致しかねます。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

構成試薬名	主成分
1. 抗体プレート	: 抗 Tau441 モノクローナル抗体(ラット)
2. 標識抗体濃縮液	: HRP 標識抗 Tau p181 モノクローナル抗体(ラット)
3. 希釈用緩衝液	: リン酸緩衝液
4. 標識抗体用希釈液	: リン酸緩衝液
5. TMB 基質液	: 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン
6. 停止液	: 硫酸
7. 濃縮洗浄液	: リン酸緩衝液

【使用目的】

ヒト脳脊髄液中の 181 位リン酸化タウ蛋白濃度の測定(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】

本品はヒト脳脊髄液中のリン酸化タウ蛋白濃度を ELISA(酵素免疫測定法)により測定するキットです。抗体プレートに検体を添加することで、検体中のリン酸化タウ蛋白と抗体プレートに固相化された固相抗体(抗 Tau441 モノクローナル抗体(ラット))が抗原抗体反応により固相抗体-リン酸化タウ蛋白の複合体を形成します(一次反応)。洗浄後、標識抗体(HRP(ホースラディッシュ・ペルオキシダーゼ)標識抗 Tau p181 モノクローナル抗体(ラット))を添加することで固相抗体-リン酸化タウ蛋白-標識抗体の複合体が形成されます(二次反応)。再度洗浄後、TMB 基質液を加えて発色させます。停止液にて反応停止後、この発色の吸光度を測定することにより、リン酸化タウ蛋白濃度が求められます。

【特長】

1. 特異性の高いモノクローナル抗体を使用しています。
2. 高い感度を有します。
3. 簡便な操作で、良好な再現性が得られます。
4. 共存物質の影響を受けません。

【操作上の注意】

1. 検体
検体の採取及び保存にはポリプロピレン製の容器を使用してください。ガラス製やポリスチレン製の容器では測定値低下のおそれがあり、正確な測定値が得られません。
検体は、ヒト脳脊髄液を使用してください。また、採取後直ちに測定できない場合は、-80℃以下に保存してください。凍結融解は1回までとしてください。
2. 妨害物質
遊離ビリルビン 19.1mg/dL まで、抱合型ビリルビン 20.7mg/dL まで、ヘモグロビン 490mg/dL、乳ビ 1650FTU、アスコルビン酸 100mg/dL まで測定に影響ありません。
3. その他
測定試料によっては非特異反応が生じる場合があります。診断は他の検査や臨床症状等を考慮して総合的に判断してください。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

- (1) 抗体プレート : そのまま使用します。
- (2) 標識抗体液 : 標識抗体濃縮液を必要量とり、標識抗体用希釈液で 30 倍希釈します。本試薬は用時調製とします。
- (3) 希釈用緩衝液 : そのまま使用します。
- (4) 標識抗体用希釈液 : そのまま使用します。
- (5) TMB 基質液 : そのまま使用します。
- (6) 停止液 : そのまま使用します。
- (7) 洗浄液 : 濃縮洗浄液を必要量とり、精製水で 40 倍希釈します。本試薬は用時調製とします。
- ** (8) 標準液 : 当社別売品の標準品を所定量の希釈用緩衝液で溶解（このときラベル表示濃度となる）することで、各標準液を調製します。

2. 測定（操作）法

- ** (1) 各標準液、標準液 0pg/mL の添加
各標準液 100μL を抗体プレートのそれぞれのウエルに添加します。標準液 0pg/mL として希釈用緩衝液 100μL をウエルに添加します。（二重測定のため各々2 ウエルずつ使用します。）
- (2) 検体の希釈及び添加
希釈用緩衝液 50μL をウエルに添加後、検体 50μL を加えます。この時、検体は 2 倍希釈されます。（二重測定のため 2 ウエルずつ使用します。）
- (3) 一次反応
2~10℃で 17~24 時間放置します。
- * (4) 洗浄
ウエルの反応液を除去後、洗浄液を 350μL 加え除去します。（4 回繰り返す。）（※ 1）
- (5) 二次反応
標識抗体液 100μL を添加後、2~10℃で 30 分間放置します。
- * (6) 洗浄
ウエルの反応液を除去後、洗浄液を 350μL 加え除去します。（5 回繰り返す。）（※ 1）
- (7) 発色反応
TMB 基質液 100μL を添加後、遮光をして 25℃で 30 分間放置します。
- ** (8) 吸光度測定
停止液 100uL を添加後 30 分以内に、抗体プレート底面のよごれや水滴を拭き取り液面に気泡がないことを確認した後、標準液 0pg/mL を対照とした検体および各標準液の 450nm における吸光度を測定してください。

測定操作一覧

	検体	**各標準液・コントロール	標準液 0pg/mL
希釈用緩衝液	50μL/ウエル		100μL/ウエル
試料	50μL/ウエル	100μL/ウエル	
一次反応	2~10℃ 17~24 時間放置		
洗浄	*反応液を除去後、ウエルを洗浄液で 4 回洗浄(※ 1)		
標識抗体液	100μL/ウエル	100μL/ウエル	100μL/ウエル
二次反応	2~10℃ 30 分間放置		
洗浄	*反応液を除去後、ウエルを洗浄液で 5 回洗浄(※ 1)		
TMB 基質液	100μL/ウエル	100μL/ウエル	100μL/ウエル
発色反応	遮光をして 25℃ 30 分間放置		
停止液	100μL/ウエル	100μL/ウエル	100μL/ウエル
吸光度測定	30 分以内に波長 450nm における吸光度を測定		

** (※ 1) 96 ウエル同時洗浄タイプの機械洗浄 (wait time 0 秒) を推奨します。洗浄液はウエルに素早く満たした後、浸漬時間が短くなるよう速やかに洗浄液を除去してください。操作は洗浄むらのないよう十分注意しておこなってください。

3. リン酸化タウ蛋白濃度の算出方法

- (1) グラフの X 軸に標準液濃度を、Y 軸にその吸光度をプロットし、両対数変換等の検量線を作成します。
- (2) 検体の吸光度を検量線に当てはめ、濃度を読みとります。
- (3) 「2.測定（操作）法」に従って操作することで検体は 2 倍希釈されますので、得られた濃度に希釈倍率（2 倍）を乗じて、リン酸化タウ蛋白濃度を求めます。

【測定結果の判定法】

1. 参考基準値範囲
基準範囲値は、様々な要因の影響を受けて、各施設で異なる場合がありますので、各施設で独自に設定してください。例示になりますが、50 pg/mL 未満と報告されています¹⁾。
2. 判定上の注意
検体により、検体中の目的成分以外の物質との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、再検査や希釈再検査、あるいは他の検査方法により確認してください。
3. 測定範囲外の高値検体
測定範囲外の高値検体は、希釈用緩衝液にて適切に希釈をおこなってから再度測定してください。検量線から読み取った値に高値検体の希釈倍率、及び測定操作による希釈の倍率(2 倍)を乗じて検体中のリン酸化タウ蛋白濃度を算出してください。

【性能】

当社試験法による性能は以下の通りです。

1. 感度
標準液 3.6 pg/mL と標準液 0 pg/mL の吸光度差は 0.01 以上です。
2. 正確性
濃度の異なる 3 種類の既知濃度管理検体を測定するとき、既知濃度に対する測定値は、80~120%の範囲です。
3. 同時再現性
濃度の異なる 3 種類の既知濃度管理検体について、4 回同時に測定するとき、変動係数(CV 値)は 15%以下です。
4. 測定範囲（例示）
検量線の範囲：3.6~230 pg/mL(別売品：pTau タンパク-IBL 用 標準品・コントロールセットの濃度による)
検体は測定操作により 2 倍希釈されますので、測定範囲は 2 倍（希釈倍数）を乗じて、7.2~460 pg/mL となります。
5. 相関性試験成績
検体 : 脳脊髄液 (N=70)
相関係数 : $r = 0.9798$
** 回帰式 : $y = 0.9687x - 9.7999$ (x : 対照法、y : 本法)
対照 : 既認証体外診断用医薬品（酵素免疫測定法）
6. 既知濃度管理検体に関する情報
既知濃度管理検体には、CHO(チャイニーズハムスター卵巣)細胞由来リコンビナントリン酸化タウ蛋白をリン酸緩衝液に溶解したものを使用しています。

【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、HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして十分に取扱いに注意してください。
** (2) 試薬には動物由来の物質が含まれております。誤って目や口に入った場合、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置をおこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
(3) 標識抗体濃縮液、希釈用緩衝液、標識抗体用希釈液、濃縮洗浄液には防腐剤としてプロクリン 300 が含まれておりますので、皮膚等を刺激する場合があります。誤って目や口に入った場合、皮膚に付着した場合は速やかに水で十分に洗い流す等の応急措置をおこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
(4) 停止液には硫酸が含まれておりますので目や皮膚につかないように注意してください。誤って目に入った場合は速やかに流水で洗眼した後、医師の手当てを受けてください。皮膚や衣服についた場合は速やかに洗い流してください。
2. 使用上の注意
(1) 使用期限が過ぎた試薬は、測定値の信頼性を保証しかねますので使用しないでください。
(2) 凍結した試薬は使用しないでください。
(3) 異なる製造番号の組み合わせで使用しないでください。
(4) 開封した抗体プレートは、密閉後 2~10℃で保存し、4 週間以内に使用してください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 検体、検査に使用した器具類などを廃棄する前に、0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸すか、又はオートクレーブ（121℃、20分間以上）で処理してください。
- (2) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規制に留意して処理してください。
- (3) 検体又は検体を含む溶液が飛散した場合は、感染を防止するために、0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液等でよく拭き取ってください。

4. その他

- (1) 容器等は他の目的に転用しないでください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法：2～10℃
2. 有効期間：製造後13ヶ月

** 【包装単位】 製品コード：50171
包装：1キット（96テスト）

製品名	構成試薬名	包装
pTau タンパク-IBL	抗体プレート	96 ウエル × 1
	標識抗体濃縮液	0.4mL × 1
	希釈用緩衝液	30mL × 1
	標識抗体用希釈液	12mL × 1
	TMB 基質液	15mL × 1
	停止液	12mL × 1
	濃縮洗浄液	50mL × 1

** 【別売品】 製品コード：50173
包装：1セット

製品名	構成試薬名	包装
pTau タンパク-IBL 用	標準品 1～5	各 0.5mL 用 × 2(濃度はラベルに記載)
標準品・コントロールセット	コントロール H・L	各 1mL 用 × 2(濃度はラベルに記載)

*本品と同一の製造番号のものをご使用ください。


【主要文献】

1. 河月稔：医学検査 Vol.66, 39-46, 2017

【問い合わせ先】

株式会社 免疫生物研究所 営業部
〒375-0005 群馬県藤岡市中 1091-1
電話番号：0274-50-8666
FAX 番号：0274-23-6055
E-mail：do-ibl@ibl-japan.co.jp

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

 株式会社 免疫生物研究所
群馬県藤岡市中 1091-1