

# ELISA — A to Z —

## 目 次

### 序論—イムノアッセイについて—

- A. 測定とは何か ..... 1  
定性的検出、定量的測定、絶対量の測定と相対量の測定、  
標準物質(標準品)について
- B. 測定法の評価 ..... 3  
診断マーカーとしての有用性から見た検討と評価  
正しくかつ精密に測定できるかどうかという性能を検討、評価する
- C. 免疫学的測定法とは何か? ..... 5  
抗体とは何か?  
免疫学的測定法の歴史  
どのような種類の測定法があるのか?
- D. 免疫学的測定は有用か? ..... 16  
特徴と問題点  
免疫学的測定法のライバルは?

### I. ELISA 入門 ..... 21

ELISA では抗体をどう利用するのか?  
シバヤギキットで使用している酵素と色原性基質  
最後のステップ—吸光度の測定

### II. ELISA の実技

- A. シバヤギ製キット操作法の手ほどき ..... 25
  - 1. プレート, 標準液, 試料溶液, 試薬溶液は室温に戻してから添加・分注
  - 2. 試薬溶液の調製法
  - 3. 抗体固相化プレートの構造と使用方法について
  - 4. プレートの洗浄法
  - 5. 標準液と試料の採取と加え方  
ピペットの許容される誤差について、「プレウェットティング」法、「共洗い」法
  - 6. 試薬溶液の加え方  
マルチペットの使い方
  - 7. 攪拌操作
  - 8. プレート・リーダーと吸光度測定
  - 9. 1 試料 1 ウェルではなぜいけないのか?
  - 10. キット使用上の全般的注意事項
- B. ピペットの種類と注意事項 ..... 38  
プランジャー往復—空気介在型、プランジャー漸進型、  
プランジャー往復—空気不介在型、ピペットの繰り返し精度のテスト、  
その他ピペット操作で注意したいこと
- C. ピペットの精度と測定精度との関係 ..... 44  
—ELISA が有利な理由—
- D. 使用済み試薬等の処理方法 ..... 45

### III. もっと ELISA

A. 誤差について .....	47
偶然誤差あるいは確率誤差、系統誤差、ひどい誤り ELISA の各過程について偶然誤差（バラツキ）の生じる要因を考える 系統誤差：偏りについて—なぜ偏った測定値が出るのか	
B. 求められる分析法バリデーション項目 .....	49
C. ELISA での検量線と測定値の計算 .....	50
1. ELISA の指標	
2. ELISA では測定値をどう計算するか マニュアル計算、回帰曲線による計算機処理、回帰と計算の具体例 EXCEL による ELISA 計算	
3. 検量線の吟味	
4. ELISA の吸光度のバラツキは測定値にどう反映するか	
5. 結合量と検量線のシミュレーション	
D. 精度（precision）に関するパラメータと計算 .....	72
1. 併行精度（repeatability）と室内再現精度（intermediate precision）の計算	
2. 室間再現精度（reproducibility）	
E. 真度（accuracy, trueness）を評価する試験法の実際 .....	77
1. 希釈試験（特に血液成分の影響の有無）（dilution linearity test）	
2. 添加回収試験（recovery test, spike recovery test）	
3. 他のアッセイ系との相関性試験	
F. 測定試料の安定性 .....	80
G. 測定系の頑健性（robustness） .....	83
H. 精度管理 — 管理図による毎回のアッセイの評価 .....	84
I. ELISA の performance を改善する .....	86
1. 試料の繰り返しの数と測定平均値の信頼性について	
2. エッジ現象とその対策	
3. 試料中の血液成分の影響と対策	
4. 血液試料の pH について	
5. ピペットとピペッティングで注意すること	
6. 試料とキットの適合性テストについて	
7. Blank の非特異的吸着による吸光度の増大を洗浄法の改善で低下させる	
8. ELISA 施行上の留意事項のまとめ	
9. 技能検定で腕を磨く	

### IV. 付録

付録 1：血液試料の採取法 .....	93
血清試料の採取法、血漿試料の採取法	
付録 2：ペプチド溶液、試薬溶液の調製に関してあれこれ .....	94
ペプチド・タンパク質の保存・秤量と溶液の調製、 保存法、秤量と溶解、ペプチドやタンパク質が溶けない場合 緩衝液などの調製、結晶水にご注意！ 古い重曹は重曹ではない pH メータについて、電極のゴム栓を外せ！ pH 基準緩衝液をけちるな！	
もっと詳しく知りたい人のために .....	98
日英術語対照表及び索引 .....	100