

BIOSENSOR TSBAb YAMASA

【全般的な注意】

1. 本製品は研究用試薬であり、研究以外の目的に使用しないでください。
2. 取扱説明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はしないでください。
3. 使用する機器については、そ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）】

A セット

- | | |
|---------|-----------------|
| 1. 細胞液 | 2 バイアル（0.5 mL） |
| 2. 発光基質 | 1 バイアル（0.24 mL） |

B セット

- | | |
|-------------|-----------------|
| 3. 正常コントロール | 1 バイアル（0.15 mL） |
| 4. TSH 液 | 1 バイアル（1.5 mL） |
| 5. 緩衝液 | 1 バイアル（24 mL） |

【使用目的】

血清中の甲状腺刺激阻害抗体 (TSBAb) 活性 (TSBAb%) の測定

【測定原理】

本製品は、ヒト由来 TSH 受容体及び、cAMP 結合ドメイン挿入改変型ルシフェラーゼを発現させたヒト胎児腎臓由来細胞と TSH を用い、生物発光を利用したバイオアッセイにより検体中の TSBAb 活性を測定するキットです。細胞に検体共存下で TSH を反応させると、TSH の刺激活性により細胞内で cAMP が産生されます。cAMP と結合した cAMP 結合ドメイン挿入改変型ルシフェラーゼは活性型へと変換され、添加した発光基質である D-ルシフェリンを酸化することにより発光が生じます。このときの発光強度をルミノメーターで測定します。添加した検体に TSBAb が含まれていると、検体の TSBAb 活性に応じて細胞内の cAMP 産生が抑制され、発光強度が低下します。同時に測定した正常コントロール共存下での TSH の刺激活性による発光強度と、検体および正常コントロールの TSH 非存在下での発光強度をもとに TSBAb 活性を算出します。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法
 - 1) 検体は血清を使用してください。
 - 2) 血清検体を長期保存する場合は、凍結して -20℃ 以下で保存してください。
 - 3) 凍結融解を繰り返した検体は使用しないでください。
 - 4) 溶血した検体は使用しないでください。溶血検体では測定値が高値となる可能性が有ります。
 - 5) 沈殿物や不溶物を含む検体は、使用前に遠心分離または濾過により除去した後、使用してください。
2. 妨害物質
 - 1) 下記の成分は本製品の測定値に影響を与えません。

遊離型ビリルビン	20.8 mg/dL 以下
抱合型ビリルビン	20.7 mg/dL 以下
溶血ヘモグロビン	100 mg/dL 以下
乳び	1,730 ホルマジン濁度以下
リウマチ因子	500 IU/mL 以下
ヒト甲状腺刺激ホルモン	100 µIU/mL 以下
ヒト絨毛性ゴナドトロピン	25,000 mIU/mL 以下
ヒト黄体形成ホルモン	500 mIU/mL 以下
ヒト卵胞刺激ホルモン	500 mIU/mL 以下
ヒトプロラクチン	500 ng/mL 以下
ヒトサイロキシン結合グロブリン	50 µg/mL 以下
cAMP	5,000 pmol/mL 以下

- 2) 下記の薬剤は本製品の測定値に影響を与えません。

プロピルチオウラシル	400 µg/mL 以下
チアマゾール	80 µg/mL 以下
レボチロキシン	10 µg/mL 以下
リオチロニン	500 ng/mL 以下

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製

細胞液は使用の直前に調製し、調製した細胞液は 2 時間以内に使用してください。細胞液以外の使用する全ての試薬は、あらかじめ室温に戻して使用します。

1) 緩衝液及び発光基質

緩衝液 12 mL を遠沈管等に移し、発光基質 240 µL を加え混合し発光基質含有緩衝液とします。

2) 細胞液

細胞液の入ったバイアルを、25℃の水浴に 10 分間つけながら内容物を解凍します。

解凍した細胞液 0.5 mL を発光基質含有緩衝液に加え、ボルテックスミキサー等で良く攪拌し、調製済み細胞液とします。

※ 上記の調製済み細胞液の調製量は、48 テスト分（96 ウェルプレート 1 枚分）です。必要に応じて、この比率（緩衝液 12 mL : 発光基質 240 µL : 細胞液 0.5 mL）に従って調製量を変更してください。

3) その他の試薬

室温に戻して攪拌し、使用します。

2. 必要な器具、装置

白色プレート（発光測定用、96 ウェル）、ルミノメーター、ピペット又はマルチチャンネルピペット（25、50、100、150、240、500 µL、12 mL）、遠沈管（15 mL 等）、ボルテックスミキサー、インキュベーター（25℃に設定可能なもの）、水浴、プレートミキサーなど

3. 操作方法

- 1) 検体もしくは正常コントロールに緩衝液を 1 : 3 の割合（例えば 50 µL : 150 µL）で加え混合し、調製済み検体もしくは調製済み正常コントロールとします。
- 2) 調製済み正常コントロールを 25 µL ずつ白色プレートの 2 ウェルに分注します。調製済み検体も同様に 2 ウェルに分注します。
- 3) 調製済み正常コントロールを分注した 2 ウェルのうち、片方に TSH 液を、もう片方に緩衝液を 25 µL 分注します。調製済み検体を分注したウェルも同様に TSH 液または緩衝液を 25 µL 分注します。
- 4) プレートミキサーで 30 秒間、800 rpm で攪拌します。
- 5) ついで、各ウェルに調製済み細胞液 100 µL を分注します。
- 6) プレートミキサーで 30 秒間、800 rpm で攪拌します。
- 7) 25℃にて 30 分間遮光静置します。
- 8) ルミノメーターで発光強度 (RLU) を測定します。

4. TSBAb 活性 (%) の算出

正常コントロールと緩衝液を加えたウェルの発光強度 (RLU) を NB、正常コントロールと TSH 液を加えたウェルの RLU を NT、検体と緩衝液を加えたウェルの RLU を SB、検体と TSH 液を加えたウェルの RLU を ST とするとき、検体の TSBAb 活性 (%) は、下式より算出されます。

$$\text{TSBAb 活性 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{ST} - \text{SB}}{\text{NT} - \text{NB}} \right) \times 100$$

5. Stimulation Index (SI)の算出

本製品における、検体中の成分による TSH 受容体への刺激活性を評価する指標として、SI を算出することができます。正常コントロールと緩衝液を加えたウェルの発光強度 (RLU) を NB、検体と緩衝液を加えたウェルの RLU を SB とするとき、SI は下式より算出されます。

※ 甲状腺刺激性自己抗体 (TSAb) 活性の測定値とは異なります。

$$SI = \frac{SB}{NB}$$

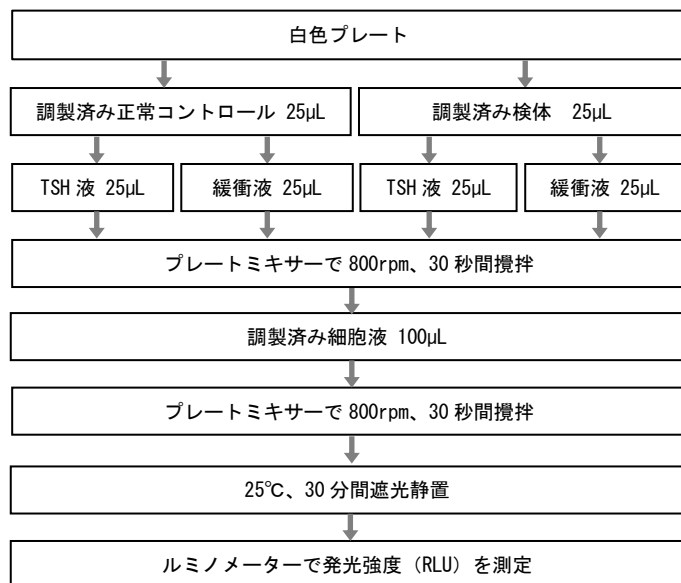
* 6. Blocking Index (BI)の算出

TSAb 活性 (%) と SI を用いて、BI は下式より算出されます。

$$BI = \frac{TSAb \text{ 活性} (\%)}{SI}$$

BI は刺激活性の影響を排除した TSAb 阻害活性の指標として有用である可能性が報告されています。¹⁾

【測定法概略図】



【使用上または取扱上の注意】

1. 取扱上の注意

- 1) 検体は、HIV、HBV、HCV 等の感染性のものを含んでいる場合がありますので、感染の危険があるものとして取り扱いには十分注意してください。
- 2) 本製品の正常コントロールには、ヒト血清成分が含まれています。万一の場合を考えて、感染性があるものとして検体と同様に注意して取り扱いしてください。
- 3) 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、水で十分洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

2. 使用上の注意

- 1) 一度融解した細胞液は、再利用しないでください。
- 2) 使用期限を過ぎたキットは、使用しないでください。
- 3) 異なるロットの構成試薬を組み合わせ使用しないでください。

** 4) 本品は入手後、直ちに開梱しドライアイスと分け、A セットは -77~-83℃、B セットは -17~-23℃で保存してください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 使用後の容器は、廃棄物に関する規定に従って、医療用廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。
- 2) 検体および試薬に接触した器具及び試薬容器等は、感染の危険性があるものとして、オートクレーブ等で滅菌処理するか、または 1%次亜塩素酸等の消毒薬に浸して処理してください。
- 3) 試薬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定に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法：A セットは -77℃から -83℃で保存、B セットは -17℃から -23℃で保存
2. 有効期間：製造日から 14 ヶ月
(使用期限は外箱に表示)

【包装単位】

1 キット (48 テスト)
製品コード：80139

* 【参考文献】

- 1) 保科元気 他 医学と薬学 80 (1) : 101-113, 2023

【問い合わせ先】

ヤマサ醤油株式会社 診断薬事業部
〒103-0014 東京都中央区日本橋蛸殻町 1-23-8
TEL 03-3668-8558 FAX 03-3668-8407

【製造販売】



ヤマサ醤油株式会社
千葉県銚子市新生町2-10-1

※本製品には、Promega Corporation よりライセンスを受けた GloSensor™ テクノロジーが含まれます。

GloSensor™ Patents

- ・ Japanese Patent No. 5684984
- ・ Japanese Patent No. 5781789
- ・ Japanese Patent No. 5746125

※※本製品の細胞液に用いているヒト胎児腎臓由来細胞は Advec 社からライセンス許諾を得て使用しております。本製品における使用以外は許諾対象外ですので、細胞を増殖したり、他の目的に使用したり、他者に譲渡したりしないでください。