

#### エンゾライフサイエンス社

# ELISAキットカタログ





# Detect Small and Large Analytes Accurately & Efficiently

エンゾライフサイエンス社では、イムノメトリックアッセイと競合アッセイを用いたELISAキットを数百ほど提供しています。

サイエンティストとして、また製造業者として、エンゾライフサイエンス社はお客様の研究の重要性を理解しています。各酵素免疫測定法は、高精度、高正確度、高感度、高特異性を確実なものにするべく厳密なテストを経て販売されています。

お客様には、ロットが変わっても、再現性が得られることを確信いただけると思います。

# What are the Differences Between ELISA Assay Types?

### 10 Tips for Successful ELISA Assays

### In-depth Insights on ELISA:

- ・ELISAにおける %CV: 低減方法と重要性
- ・ELISAにおける希釈直線性、平行性、添加回収:結果の QC 方法
- ・新しいサンプルタイプにおけるサンプル希釈の検証方法と直線性の確立方法

# ELISA アッセイタイプの違い



Morgan Mathieu Applications Scientist Manager

### ELISAテクノロジーの概要

酵素免疫測定法(ELISA)は生体サンプル中に存在する目的マーカーの定量を可能にする方法です。 マーカーとして、抗体、ホルモン、ペプチド、タンパク質があります。 ELISA ベースの方法を利用した特 異的マーカーの定量は、ウェスタンブロットのような、より定性的で半定量的な手法に比べて大きな利 点があります。ELISAは多様な起源の様々なサンプルタイプを分析する能力を持ち、迅速、高感度、ハ イスルプット、再現性、柔軟性を兼ね備えた方法です。

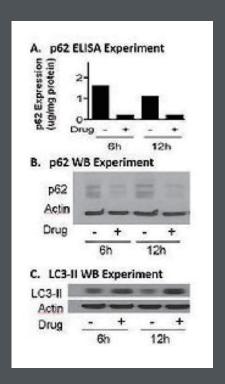
	Western Blot	ELISA
Quantitative	Semi	Yes
Sensitivity	μg to ng	ng to pg
Time	1 day(minimum)	2~3 hours
Throughput	Low	High
Sample Types	Lysates or purified sample	Various (lysates, tissues, plasma, serum, urine etc.)
Consistency	Low	High

ELISAは、かつて報告された研究結果をさらにサポートし、強化する他の方法(活性アッセイやウェスタンブロット)とは全く異なるアッセイフォーマットです。以下は、マクロオートファジーの誘導をモニターする際、p62 ELISAキットがどのようにして利用されたかを示す例です。

MDA-MB-231 ヒト乳がん細胞をオートファジー誘導剤である witharefin A (WA、2 μM) で処理し、6時間~12時間後に回収します。その後、サンプルを溶解し、p62 ELISA キットで解析するとともに、ウェスタンブロットで p62 及び LC3-IIを解析しています。p62 レベル(A、B)の減少、LC3-II(C)レベルの上昇から薬剤処理がオートファジーの誘導と相関していることが分かります。

ELISAには以下 3つの必須要素があります。

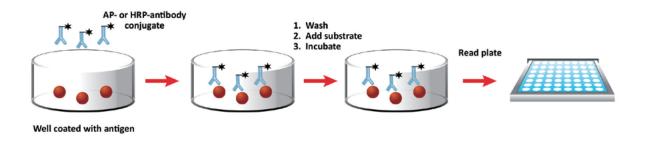
- ① 検出、定量するための抗原
- ② 抗原に対する特異的抗体
- ③ サンプル中の抗原量を測定するシステム



ELISAベースの検出や定量の重要要素は、目的マーカーと抗体間の相互作用の特異性です。本カタログには、バイオプロセス、ヒートショック応答、炎症、酸化ストレス、シグナル伝達、ステロイド、ペプチドホルモンといった分野の関連マーカーに対して高感度、特異性、信頼性をもつELISAキットが300種類ほど紹介されています。以降では、一般的に使用されているELISAアッセイについてハイライトを当て、どのELISAがお客様の研究ニーズに適しているかを判断するための利用例を紹介しています。

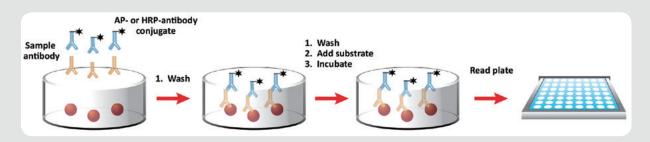
### 直接法 ~ Direct ELISA~

この方法は、Perlmann氏およびEngvall氏によって開発されたELISAです。サンプルで直接コーティングされているプレート表面を酵素標識した抗体で測定します。インキュベーション後に洗浄し、結合しなかった抗体を培地から除去します。次いで、適切な基質を培地に加え、サンプル中の抗原量に比例するシグナルを生成させます。この相関関係は、スタンダードカーブからサンプル中の抗原濃度を推定するために利用されています。直接ELISA法では、ELISAの中でも最も簡易的なタイプで、他のタイプのELISAよりも迅速さを求めるために必要工程が少なく、二次抗体の交差反応が省かれています。しかしながら、一次抗体への直接的な標識には時間やコストがかかり、標的抗原と抗体との免疫反応性に悪影響を及ぼす可能性があります。



### 間接法 ~Indirect ELISA~

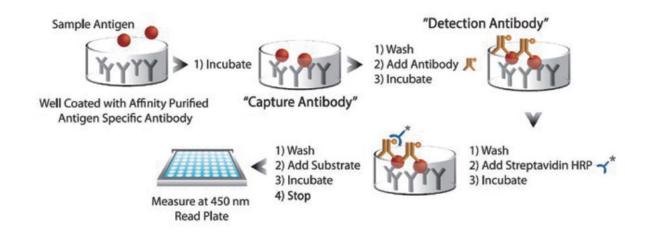
間接ELISA法は、一次抗体と標識二次抗体を使った二段階の結合工程があります。この方法では、抗原をコーティングしたウェルに一次抗体を添加・インキュベートし、続いて一次抗体を認識する標識二次抗体を添加します。この二次抗体には、抗種由来特異的ポリクローナル抗体がよく使われ、多様な標識二次抗体が容易に入手可能です。次に、シグナル増幅のために基質をウェルに添加します。この方法は、細菌、ウイルスあるいは寄生虫などの感染を診断し、外来抗原に対する抗体を定量するために一般的に利用されています。間接ELISA法は、異なる標識抗体を同じ一次抗体に用いることができるので用途が広い検出法です。1つの抗体ターゲットに対して2つ以上の標識抗体が結合するので、直接ELISA法よりも高感度で柔軟性が高いと考えられます。しかしながら、二次抗体に起因する想定外の交差反応性や非特異的シグナルが生じてしまう可能性があります。

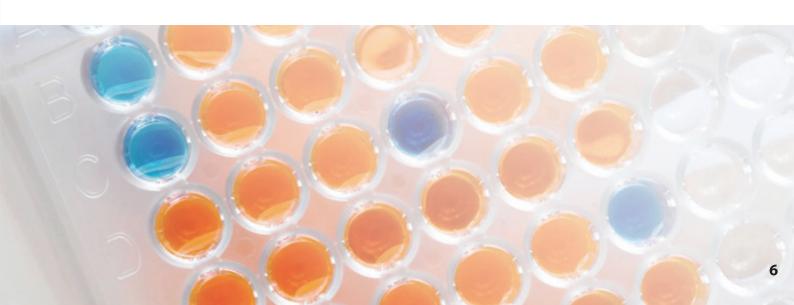


### イムノメトリック / サンドイッチ ELISA

#### ~Immunometric/Sandwich ELISA~

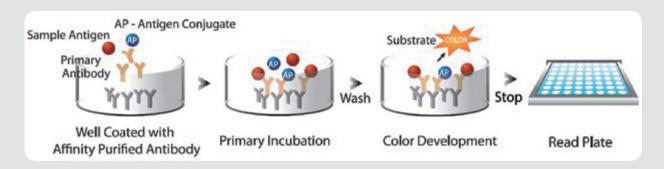
サンドイッチ ELISA としても知られるイムノメトリックアッセイは、検出時に、ウェル中の抗原を捕捉、あるいは挟み込む(サンドイッチ)ために 2種類の特異的抗体を使用し、抗原濃度と基質応答の間に直接的な相関が表れます。イムノメトリックアッセイでは、一般的に、目的抗原に結合させるためにプレートにコーティングした捕捉抗体を使用します。2回目のインキュベーション時に、第二の抗原特異的検出抗体で抗原を捕捉します。この検出抗体は、酵素標識二次抗体と結合させるか、もしくは検出抗体自体に酵素標識されているかのどちらかになります。次いで、発色基質をアッセイに添加すると、サンプル中の抗原量に比例し、高濃度の抗原を含むサンプルでは低濃度の抗原よりも強いシグナルが生じます。この相関関係は、スタンダードカーブからサンプル中の抗原濃度を推定するために利用されています。このアッセイは、一般的に、Endotherin-1(Endotherin-1 ELISA キットなど)や HSP70(AMP'D HSP70 high sensitivity ELISA キットなど)、Survival Motor Neuron(SMN ELISA キット)といった低分子量から高分子量のタンパク質に対して使用されています。イムノメトリックELISA法は、捕捉抗体と検出抗体のペアに依存する、特異性が高い方法です。解析前にサンプルを抽出する必要がなく、複雑なサンプルと互換性があるとも言われています。





### 競合法 ~ Competitive ELISA ~

競合酵素免疫アッセイは、サンプル中の抗原に、抗体の限られた結合部位をレポーター酵素標識抗 原と競わせる方法です。そのため、抗原濃度と基質反応の間に反比例の関係が生じます。競合ELISA 法は、一般的に、低分子量抗原(10,000ダルトン以下)に対して 1種類の抗体のみを使用します。抗 原含有量の高いサンプルでは、インキュベーション中に標識抗原よりも多く抗体と結合することになり、 発色基質をアッセイに添加すると、サンプル中の抗原量に反比例して、弱いシグナルが生じます。この 相関関係は、スタンダードカーブからサンプル中の抗原濃度を推定するために利用されています。小 分子(例: Direct cAMP ELISA キット)やペプチド(例: Oxytocin ELISA キット)、ステロイド(例: Corticosterone ELISAキット)など、限られた数のエピトープまたは抗体結合部位しか持たない低 分子量抗原の定量を可能にする数少ない方法の1つです。



"何十年もの間、Enzo社のELISAは研究者から信頼されてきました。私たちは長い間、 サンプルあたりの費用対効果が高い価格で適切な結果をもたらす、一貫性のある信頼性 の高い機能的免疫アッセイの製造業者です。"



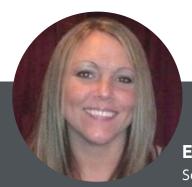
Jonathan Weinreich **Product Manager** 

# **Did You Know?**

Enzo Life Sciences社 ELISAキットの バルク数量の見積依頼は コスモ・バイオ (株) へお気軽に! mail@cosmobio.co.jp



# 高品質データのための基礎知識



**Erica Brooks**Scientist

エンゾライフサインス社は、40年以上にわたる経験から、キットや生化学物質、プローブを提供しています。"Scientists Enabling Scientists™"として、私たちは、発見から開発に至るまでの情報をお客様に提供することに価値を感じています。お客様の研究全体のクオリティーのみならず、日常的な作業を改善する、シンプルではありますが役立つヒントを喜んで提供いたします。これを踏まえ、ここでは高品質のELISAデータを得るためのヒントをご紹介します。



#### 1. 一貫性はあらゆるアッセイの鍵

### ~Consistency is Key to Any Assay~

一貫性は、一見当たり前のことのように思われますが、プレート間の一貫性に影響を与える些細な懸念事項がいくつかあります。その1つとして、ロット間の混合が挙げられます。試薬を節約する無難な方法ですが、ロット違いの構成品を混在させるべきではありません。各アッセイはロット特異的であり、指定された有効期限よりも前に使用することで、定義されたレベルのパフォーマンスが得られるように設計されています。ロットを混合してしまうと、劣化しているかもしれない試薬を取り入れてしまうことになり、最適なアッセイ結果が得られなかったり、無効な結果をもたらしてしまう恐れがあります。ロット毎の一貫性は、毎回プロトコールに記載されている使用上の注意に従ってアッセイ試薬を取り扱い、指示されたインキュベーション時間に確実に従うことで保証されます。基本的に一貫性は、最良かつ最も相関のあるデータを得るためにできる限り守ってください。一貫性が崩れてしまうと、プレート間での結果を比較する際に、正確性が低下し、そして同じサンプルを使用しているにも関わらず、説明が難しい矛盾したデータになってしまう恐れがあります。

### 2. 再現性を追求 ~ Strive for Reproducibility ~

ELISAを使用するお客様にとって、再現性は信頼性につながります。再現性は、キット試薬やサンプルの取り扱いが誤っていたり、調製方法の変更によって影響を受けます。毎回、アッセイ前に全てのキット試薬を約30分間室温に置き、確実に室温に戻しておくことが重要です。多くの試薬には、低温時に析出してしまうような温度依存性の成分を含んでいます。試薬を室温で使用することで、アッセイ間での結合速度と発色が一貫していることを確認できます。温度変化がアッセイに影響を与え、その結果、データの再現性が失われる恐れがあります。サンプルの取り扱いに関しても、再現性を追求することは重要です。サンプルは常に研究者自身によって一貫した方法で管理・取り扱いを行ってください。これは、一貫したプロトコールでサンプルを収集し、凍結融解サイクルを最小限に留め、サンプルグループの希釈を前もって最適化することで可能になります。そうすることで、サンプルの大部分が標準曲線の最も直線性のある部分に当てはまるということをお客様自身で確信されることでしょう。

### 3. アッセイの正確性を確保 ~Ensure Assay Accuracy~

アッセイ中の全てのポイント(バックグラウンドやスタンダード、サンプル)を重複して行うことで正確性を高めます。全てのポイントで二重測定する(n=2)ことを研究室で習慣化すれば、平均値に影響を及ぼす明らかな異常値をすぐに発見できます。たとえば、n=1のサンプルでピペット操作を誤った場合、間違いなくOD値に影響を与え、標準曲線から不正確な補間を導き出し、それをもとに計算された平均値に影響が出てしまいます。

言うまでもなく、研究者にとって正確性が高いデータは、絶対的な信頼につながり、他者から公表された調査結果と積極的に照らし合わせることができるため極めて重要なことです。

#### 4. コンタミネーションを避ける ~ Avoid Contamination ~

同じサンプルを複数設定した場合、その変動係数(%CV)が低いことが良好なアッセイ結果を得る鍵となります。各溶液を添加する時は、その都度、新しいピペットチップを使用し、重複データ間の %CVを低く維持してください。新しいチップは、ウェル間のクロスコンタミネーションを防ぎ、バックグラウンドの低減や低%CVを維持し、データの信頼性を向上させます。また、リザーバーから元のボトルへ試薬を戻すことは、汚染を不用意に引き起こす可能性があるため、おすすめできません。全ての研究者が %CVを計算し、確認するわけではありませんが、一貫性と信頼性を判断する上で非常に役立ちます。

# 信頼性のあるスタンダードカーブを作成 ~ Produce Reliable Standard Curves ~

再現性のあるスタンダードカーブを得るために、アッセイマニュアルで指定されている濃度範囲に従って連続希釈し、スタンダードカーブを作成してください。曲線の両端のいずれかにポイントを追加しても感度は上がりませんし、高濃度を検出できるようになることもありません。曲線の上方・下方漸近線は、アッセイプレートへ結合させる抗体の特徴に制限されるため、曲線を拡大してもそのような制限は変わりません。アッセイ / プレートごとにスタンダードカーブを作成することが重要であることにご留意ください。ほとんどのアッセイには、新しく作成したスタンダードカーブを利用できる時間が示されています。スタンダードカーブの作成に関わる全ての推奨事項と注意事項に従うことが重要です。

#### 6. 正確なサンプル分析を保証

### ~Guarantee Accurate Sample Analysis~

最も正確なサンプル解析を行うためには、検出したい生物学的マーカーのレベルが潜在的なマトリックス干渉によって変動されないように、各サンプルの希釈を最適化することが非常に重要です。そのため、サンプル集団がスタンダードカーブ上に点在することを確認するだけでなく、サンプルの希釈系列を作製し、直線性があることを確認することも重要です。使用するサンプルのマトリックスの推奨希釈率が文献等に掲載されている場合がありますが、必ずキットプロトコールの推奨事項を参考にし、サンプルごとに希釈率を最適化してください。サンプルによっては、抽出、追加希釈などが必要になることがありますが、希釈の最適化のみが、マトリックス干渉の予防策になります。この最適化プロセスの重要性を過小評価する研究者もいますが、場合によっては、直線性のない、スタンダードカーブから外れてしまっているデータや変動が激しく使用できないデータになることもあります。

#### 7. バックグラウンドとコントロールを必ず置く

### ~Be Sure to Include All Background and Control Wells~

アッセイがうまく機能するように、また問題が生じた場合に適切なトラブルシューティングができるように、アッセイで推奨されているバックグラウンドウェルを全て取り入れることが重要です。

アッセイによっては、複数のコントロールウェルやバックグラウンドウェルを必要としますが、それぞれ少しずつ目的が異なります。目的が不明なバックグラウンドウェルやコントロールウェルがあった場合は、明確にするためにテクニカルサポートへご連絡ください。

# 8. 提供されている / 推奨されている希釈液やバッファーを使用する ~ Use the Provided/Recommended Diluents and Buffers ~

最良の結果を得るために、スタンダードカーブやサンプル調製に用いる希釈液は推奨されている溶液のみをご使用ください。アッセイの開発過程で製品開発者は曲線性能だけでなくサンプル検出の最適条件も同定しています。界面活性剤、イオン強度、pH などは全て、良い結果をもたらす環境を見つける上で決定的な役割を担います。最良の結果を得るために、希釈液の推奨事項に従ってください。

### 9. 推奨インキュベーション時間、温度、コンディションに従う ~Follow the Recommended Incubation Times, Temperatures and Conditions~

完全な発色を得るために、アッセイマニュアルに示されているインキュベーションガイドラインに必ず従ってください。指示されている温度、時間、および振とう(必要に応じて)条件に従わない場合、アッセイ状況に大きな影響を与える可能性があります。インキュベーション時間を短縮すると、反応が平衡状態になる前に次のステップに進んでしまう恐れがあります。また、大きな温度変化も結合動態に影響を与えてしまう可能性があります。振とうが推奨されている場合は、そのガイドラインに常に従ってください。アッセイによっては、得られる OD 値に差が生じてしまいます。プレートインキュベーションに関する取り扱いの正確性と一貫性が間違いなくアッセイパフォーマンスを向上させます。



#### 10. 最適な検出とデータ解析

### ~Obtain Optimal Detection and Data Analysis~

最適な検出のために、アッセイマニュアルに示されている波長でプレートを読み取り、推奨されているデータ解析ソフトウェアをご使用ください。最も正確なサンプルデータを取得するために、データ分析に4パラメーター(4P)ロジスティックカーブフィット(4係数ロジスティック曲線)の使用をおすすめします。ほとんどのプレートリーダーには、予め4Pソフトウェアが導入されています。ご使用のプレートリーダーに4Pソフトウェアが搭載されているかどうかわからない場合は、プレートリーダーの製造元にお問い合わせください。お客様がこのソフトウェアを持っている場合、該当のソフトにアクセスし、プレート読み取り用にプレートテンプレートをセットアップしてください。読み取り直後にデータ解析が開始されます。

# ELISA における %CV:低減方法と重要性



**Brian Conrad**Sales Support Specialist

酵素免疫測定法(ELISA)は、生体サンプル中の目的マーカーを定量化する方法です。ELISAで高品質の定量化データを得ることは、IHCやウエスタンブロッティングのような、より定性的な方法に比べて非常に利点があります。ELISAの使用者にとって、重複したサンプル間の変動係数(CVもしくは%CV)が低値であるということは、アッセイがうまく機能し、得られたデータが正確かつ高精度であることを実証する上で極めて重要になってきます。信頼できるアッセイ結果は、変動係数などの標準化された尺度によって評価されます。

変動係数は、独立した母集団ごとのばらつき度合を表す数値 比率です。数値データの統計分析では、絶対値が類似している 場合、サンプル母集団は標準偏差で評価することができます。絶 対値が大きく異なる場合は、実験技術の精度を評価するために、% CV などのより標準化されたアプローチの使用を検討する必要 があります。CV は、測定値の標準偏差  $(\sigma)$  をその平均値  $(\mu)$ で割ることによって計算されます。これは、平均値に対する変動 のパーセンテージとして表されます (図1)。

$$C_v = \frac{\sigma}{\mu}$$

図1.変動係数 (%CV) の一般的な数式

ELISAのデータ解釈において、%CV はアッセイ後に読み出された吸光度(OD)のばらつきとして重複サンプル間の不一致を強調することができます。これらはエンドユーザーによるアッセイパフォーマンスを直接反映しています。免疫アッセイ結果の精度を表すために使用される %CV には 2つのタイプ、intra-assay CV と inter-assay CV があります。intra-assay CV はアッセイ内の各データポイント間のばらつきを測り、重複したサンプルを同じプレートで測定したことを意味します。inter-assay CV は異なるプレートで測定した重複サンプル間のばらつきを測り、プレート間の一貫性を評価するために用いられます。一般的なガイドラインとして、inter-assay %CV は 15%未満、intra-assay %CV は 10%未満であることが免疫アッセイ結果の全体的な信頼性につながります。

ELISAで高い %CV の原因を特定することは重要です。不正確なピペッティング技術やウェル間の 試薬のしぶき、ウェルの過乾燥、サンプル処理の不一致(サンプル間の凍結融解サイクルによる変動)、 間違ったフィルター設定など、人為的な操作エラーが原因になることがあります。さらに、未較正の自動式ピペットやプレートリーダーの使用、不適切なプレートリーダーソフトウェア設定などの機械的なエラーも原因になります。そのほか、プレートやサンプル、試薬のコンタミネーションが %CV の高値をもたらす可能性があります。試薬間のクロスコンタミネーションは不完全な滅菌操作エラーによる細菌・真菌汚染が原因です。重複サンプル間の %CV を低減することは、これら一般的なエラー原因の発生を減らすことです。

不正確なピペッティングとコンタミネーションを防ぐには、一般的に添加ごとに新しいピペットチップを使用することです。各試薬の添加時に新しいチップに交換することで、重複したサンプル間のバックグラウンドや %CV を低く維持することができ、ウェル間のクロスコンタミネーションを防ぐことができます。また、余った試薬をリザーバーから元のボトルに戻すこともおすすめできません。これは意図せずにストック溶液を汚染し、読み取りデータに反映され、高い %CV を生じさせる可能性があるためです。技術に関しては、ピペットチップを、使用する溶液に予め 2~3回ピペッティングして濡らしておくと、%CV の改善につながります。

メカニカルピペットを使用する場合は、適切な取り扱い方を練習することが %CV を最小限に抑える上で重要です。一般的な方法としては、ピペットを斜めではなく垂直に持つことや、ゆっくりと滑らかに吸引すること、チップの外側に余分な液体がつかないように、引き抜く時にチップが容器に触れるようにすることなどがあります。また分注時には、チップがリザーバー内の液体表面のすぐ下にくるようにしてください。リザーバーでの吸入操作の一貫性が、%CV の低減につながる可能性があります。

また、エンドユーザー自身による、あるいはサービス技術者による定期的なパフォーマンスチェックも優先して行うほか、メカニカルピペットと電動ピペットが較正されていることも確認してください。この確認は %CV の低減に非常に役立ちます。その他、CV に影響を与える可能性があるプレートウォッシャーやリーダーといった機器の定期的な再較正も機械エラーによる変動を減らすために行ってください。

Group:	Unknown Run 1							
Sample	Wells	Values	Net OD	%Bound	Result	Mean Result	Std. Dev.	CV%
100	G4	0.541	0.543	58.68	18.449	17.172	1.806	10.5
	H4	0.565	0.567	61.276	15.894			
102	E4	0.531	0.533	57.599	19.626	21.196	2.22	10.5
	F4	0.507	0.509	55.003	22.766			
103	C4	0.399	0.401	43.321	45.333	41.39	5.576	13.5
	D4	0.428	0.43	46.458	37.447			
141	A4	0.451	0.453	48.945	32.312	31.709	0.852	2.7
	B4	0.457	0.459	49.594	31.106			
150	G3	0.471	51.109	28.482	26.733	2.473		9.3
	НЗ	0.492	0.494	53.38	24.985			
151	E3	0.45	0.452	48.837	32.518	34.155	2.315	6.8
	F3	0.435	0.437	47.215	35.792			
152	С3	0.357	0.359	38.778	60.662	57.035	5.129	9
	D3	0.375	0.377	40.725	53.408			
157	АЗ	0.362	0.364	39.319	58.529	60.036	2.132	3.6
	В3	0.355	0.357	38.561	61.543			
159	G2	0.425	0.427	46.133	38.184	35.664	3.563	10
±1 Aldostor	H2	0.447	0.449	48.513	33.144	) ( life on 17)		

表1. Aldosterone EIA キットを使って得られたデータからの高・低 intra-assay %CV 値の例 赤色太字は、重複サンプル間で見られた高 %CV 値(10 を超える)を示し、緑色太字は、低 %CV 値(10 またはそれ以下)を示す。

# **Did You Know?**

コスモ・バイオ (株) の webサイトには Enzo Life Sciences社 ELISAキット の 専用サイトがあります。

記事ID検索 ▶▶▶ 35239



# ELISA における希釈直線性、 並行性、添加回収:結果の QC 方法



**Michael Yan**Sales Support Specialist

#### なぜ ELISA の検証が重要なのか

酵素免疫測定法(ELISA)は、抗体-分析対象物間の結合親和性および比色現象を介し、分析対象物の系統的な定量化を行います。サンプルを検証するELISAには、分析物の定量化における高い精度と信頼性が期待されます。しかしながら、検証したことがないサンプルでは、同じような信頼性を示さない場合があり、抗体-分析対象物間の結合特性に影響を与え、干渉効果をもたらす何かが、サンプルマトリックスに存在していることがあります。このことは、新しいサンプルでは、分析対象物の正確な測定にELISA検証が極めて重要であることを例示しています。そして、ELISAの検証結果がサンプル適合性のほか、アッセイの最適化において今後影響を及ぼすと考えられる干渉原因の確認の必要性を示すでしょう。

# 希釈直線性 ~ Dilutional Linearity ~

希釈直線性は、サンプルマトリックスに検出限界を超える量の検出分析物を添加し、スタンダードカーブ範囲内に希釈された後も信頼性のある定量化が実施できるかどうかを決定します。倍数希釈後の濃度に全く偏差が生じないサンプルは直線性を示すことが知られています。そのため、直線性はアッセイの高い正確性を裏付け、そして種々の希釈に対して柔軟性があることを示します。このことはまた、希釈の必要がない低濃度サンプルに高濃度の分析物を添加・希釈後、同様の濃度を示すかどうかも明確にします。希釈直線性試験を実施するために種々の考察や検討がされますが、基本原理は同じです。

#### プロトコール例:

- ・サンプルマトリックスにスタンダードカーブの検出上限を超える既知量の標準分析物を添加します。 一般的に使用されるマトリックスは、実際に使用するサンプルマトリックスと同じもの、もしくは検出 分析物が入っていない、あるいは低濃度の検出分析物が含まれているサンプルマトリックスを用い ます。
- ・スタンダードカーブの定量下限まで添加サンプルマトリックスを 1:2 の割合で段階希釈します。
- ・吸光度を求め、スタンダードカーブの下限と上限範囲内のサンプルについてのみ平均濃度を計算します。

理想的な直線性を示すサンプルでは、倍数希釈し、最終濃度にした分析物と比較しても測定する分析物でも変化なく検出されるはずです。ただし、サンプル回収率が予測値の 80~120% の範囲内であれば直線性に問題はありません。この範囲内のうち最も高い希釈率を、希釈限界と呼ぶことがあります。この 20% のしきい値を外れると直線性が悪くなり、サンプルマトリックスやスタンダード希釈液による干渉の可能性が考えられます。この矛盾に対する一般的な原因は、塩、pH、界面活性剤、タンパク質相互作用、またはマトリックス内にある抗体結合を妨げるその他要素にあります。このことから、より良好なアッセイ適合性のためには、最適希釈内での作業や試料もしくは試料希釈液の可能な最適化が必要と考えられます。

Dilution	Expected (pg/ml)	Observed (pg/ml)	Recovery (%)
Neat	-	390.8	-
1:2	195.4	194.6	100%
1:4	97.7	105.1	108%
1:8	48.8	67.0	137%
1:16	24.4	27.9	114%
1:32	12.2	12.1	99%

表2. バソプレシンを含むバッファーサンプルをキット (品番: ADI-900-017A) に添付されているアッセイバッファーで 1:2 の 割合で 5回段階希釈し、アッセイを実施した。「測定したバソプレシン濃度」に対する「予測バソプレシン濃度」としてデータをグラフにプロットできる。 得られた直線は、傾きが 1.0162、相関係数が 0.9895 であった。

### 平行性 ~ Parallelism ~

平行性は、高濃度の内因性分析物を含む実際のサンプルが、希釈後にスタンダードカーブに当てはめて同程度検出されるかどうかを決定します。これは、内因性分析物と標準/較正分析物に対する抗体結合親和性の違いを表しています。平行性は、通常、テストサンプルの検証中に行われます。平行性と希釈直線性の主な違いは、平行性検証では高レベルの内因性分析物と高濃度の添加標準分析物を含むサンプルを用いることです。低レベルの検出に近いサンプル濃度では真の平行性を検出できないため、高濃度のサンプルを使用することが重要です。希釈直線性と同様に、平行性テストを一度に実行・解釈する方法はありません。ただし、以下の一般原則は、殆どの平行性テストに当てはまります。

#### プロトコール例:

- ・スタンダードカーブの定量の上限を超えない程度の高濃度内因性分析物が存在するサンプルを少なくとも 3つ用意します。
- ・スタンダードカーブの定量下限を下回るまで、サンプル希釈液を 1:2 の割合で段階希釈します。
- ・未希釈サンプルおよび希釈したサンプルの OD を求め、スタンダードカーブの範囲内のサンプルの みを採用します。
- ・希釈したサンプルの平均濃度を求め、%CV を計算します。

予測値の 20~30% 以内の %CV は、一般的に平行性に問題はないとされていますが正確なパーセンテージはお客様自身によって算出してください。平行性を示すマトリックスは、内因性サンプルおよび標準/較正分析物に由来する分析物と抗体間の選択性が同等であることを示しています。通常の許容値より高い %CV は、平行性の喪失を意味し、そしてこれら 2つの分析物間の免疫反応性に有意な違いがあることを示唆します。これは、翻訳後修飾の存在または分析物に影響を与える不特定のマトリックス効果による可能性があります。

	Corticosterone (pg/ml)	Intra-assay %CV	Inter-assay %CV
Low	171	8.0	
Medium	403	8.4	
High	780	6.6	
Low	174		13.1
Medium	415		8.2
High	780		7.8

表3. Intra-assay の精度は、低、中、高濃度のコルチコステロンを含むサンプルを使用し、このサンプルを同一アッセイで複数回 (n=16) アッセイすることで決定した。Inter-assay の精度は、低、中、高濃度のコルチコステロンを含む 3つのサンプルを複数のアッセイ (n=8) で決定した。

精度の数値は、4パラメータロジスティック曲線フィッティングプログラムにより計算され、コルチコステロン濃度に対する変動係数のパーセントを表す。 (品番:ADI-900-097; Corticosterone ELISA キット)

# 添加/回収~Spike/Recovery~

添加回収試験は、サンプルマトリックスとスタンダード希釈液間での回収率の違いを求めるためによく利用されています。スタンダード希釈液から得られる回収率と、全く同じ回収率を示すと予想されているサンプルマトリックスでの実際の回収率とが一致するかどうかが問題になります。スタンダードカーブ内に収まる既知量の標準分析物を、目的のサンプルマトリックス、スタンダード希釈液に添加して行われます。両サンプルを分析し、濃度を求めた後に、回収率を計算します。

回収率 = (添加サンプルの実測値-未添加サンプルの実測値) サンプルに添加された実際の量 ×100

Sample	Spike Concentration,	% Recovery	Minimum Recommended Dilution
	2	102	
Human Serum Extracted	1	83	Neat
Extractor	0.5	124	
	2	101	
Human EDTA Plasma Extracted	1	90	Neat
	0.5	112.2	
	1	89.7	
Rat Serum Extracted	0.5	99.6	Neat
2711 00100	0.25	112.4	
	1	90.9	
Mouse Serum Extracted	0.5	105.8	1:2
271.00100	0.25	115.6	
	3	102.8	
Porcine Serum Extracted	0.6	107.8	1:2
Extractor	0.12	112.5	
	5	83.3	
Human Saliva Extracted	2.5	98.7	1:2
ZXII dotod	1.25	108.4	
	5	100.9	
Banana Extracted	2.5	115.7	1:2
	1.25	87.6	
	5	100.1	
Plum Extracted	2.5	108.0	1:2
	1.25	96.4	

表4.3つの濃度に分けた精製メラトニンを必要最小限希釈したヒト、ラット、マウス、ブタ、および果物由来のマトリックスにそれぞれ添加した。添加した値からマトリックスのバックグラウンドを差し引き、必要最小限希釈した各マトリックスの平均回収率を示す。これらの結果は、必要最小限に希釈したテストマトリックスが、メラトニンELISAアッセイ(品番:ENZ-KIT150)には干渉しないことを示している。

理想的なサンプルマトリックスでは 100% の回収率が得られるはずです。ただし、20% 以下の偏差であれば許容範囲と考えます。この範囲内の回収率は、使用するサンプルの ELISA 適合性がより高いことを示します。そして、この閾値を超える回収率では、サンプルマトリックスと標準希釈液には潜在的な有意差があることを意味します。回収率を改善させるためにできる調整は、使用するサンプルマトリックスに類似した代替の希釈液を見つけることです。あるいは、異なる比率のサンプル希釈液をサンプルマトリックスに用いることもまた、回収率の改善につながります。

# **Did You Know?**

Enzo Life Sciences社 ELISAキットの質問はコスモ・バイオ (株) へお気軽に!

mail@cosmobio.co.jp



# 新しいサンプルタイプにおける サンプル希釈液の検証および希釈直線性の 確立方法



**Brian Conrad**Sales Support Specialist

### 免疫アッセイサンプルの検証試験―マトリックス干渉とは?

酵素免疫測定法(ELISA)は、様々な生体サンプル中に存在する少量の目的分析物を検出・定量するためによく使用されるマイクロプレートベースの技術です。

この技術は以下 2つの要素に依存します:

- (1) 酵素標識した二次検出抗体と相補的な色素基質との相互作用によって生じる、比色産物を介して 測定される非常に特異的な抗体-抗原相互作用
- (2) スタンダードカーブを作成するために用いられるリファレンススタンダードとしてのリコンビナント タンパク質と生体サンプル中の分析物に対する抗体・検出作用の正確な比較

市販のELISAキットを使用する際、製造元では検証していない独自のサンプルタイプを正確に測定するためには検証が必要です。サンプルがキットに使用されている抗体で検出・定量できるかを実証する必要がありますが、抗体・分析物の結合特性の違いやバックグラウンドに存在する内因性物質の違いにより、最初は難しい場合があります。これはサンプルマトリックス干渉として知られています。

これらの干渉物質は、化学的な違いはあるものの、目的分析物に対する抗体と交差反応を起こしてしまう構造的類似性を持つ化合物です。この分析干渉では、サンプルマトリックス内に内在する干渉性を示す内因性物質または外因性の汚染物質が、分析物濃度を反映する吸光度(OD)に誤った増減をもたらします。タンパク質が豊富なサンプルやマトリックス干渉の可能性があるサンプルの例としては、尿、細胞溶解物、血清や血漿などの血液成分があります。

サンプルに内在する内因性物質や人的エラーによって生じる外因性汚染物質のほかに、潜在的な分析干渉の原因となるアッセイ希釈液やバッファーの適合性を評価する必要があるかもしれません。また、干渉要素として、pH 依存性、界面活性剤、有機溶媒、そしてバッファーの適合性を決定づける緩衝塩の組成や濃度が挙げられます。干渉を解消し、サンプル中の真の分析物濃度を検出するためには緩衝液を交換する必要性が出てくるかもしれません。一方で、分析物レベルがアッセイの定量限界(LOQ)を著しく超えて上昇する場合、サンプルの希釈率を最適化することがこの干渉を解消する手段となります。サンプル中の正確な検出と定量を確実にし、サンプルマトリックス効果を軽減するために、添加回収試験と希釈直線性試験によるサンプル検証を行う必要があります。

### 添加回収試験 ~Spike-And-Recovery Experiments~

添加回収試験の第一目的は、分析物の検出がスタンダードカーブ作成時に使用するアッセイ希釈液 /バッファーとサンプルマトリックスとの違いによって影響を受けるかどうかを判断することです。サンプルマトリックスは、未処理(希釈されていない)の生体サンプルまたはアッセイ希釈液で希釈された生体サンプルの可能性があります。実際には、既知量の標準リコンビナントタンパク質をテストサンプル及びアッセイ希釈液に加え、その反応(回収率)を見ます。濃度は添加した標準リコンビナントタンパク質の OD値をスタンダードカーブに当てはめて算出します。2組の反応系(既知量の標準リコンビナントタンパク質を添加したテストサンプル / 未添加サンプル、既知量の標準リコンビナントタンパク質を添加したアッセイ希釈液 / 未添加アッセイ希釈液)を測定し、スタンダードカーブから濃度を算出した後、未添加サンプルの実測値と添加サンプルの実測値の偏差率を特定することで回収率を計算し、アッセイ希釈液とサンプルマトリックスの適合性を決定します。

お客様は、サンプルマトリックスとアッセイ希釈液/バッファーに含まれる特定量の目的分析物に対して、全く同じ反応が起こることを望みます。全く同じ反応が起こるということは、つまり、添加した分の回収は、アッセイ希釈液およびサンプルマトリックスの両方で得られる回収と同じなので、完全に適合性のあるサンプルマトリックスでは 100% 回収されるということです。ただし、回収率には最大 20%の偏差があります。もし回収された値が予想される量(既知量を添加)と著しく異なる場合、回収率100%からの偏差は、サンプルマトリックスに対するアッセイ希釈液の不適合度/不一致の度合を示唆し、その場合は、偏差を最小限に抑えるように調整しなければなりません。サンプル回収率が非常に低い場合は、サンプルマトリックスに厳密に適合する別のアッセイ希釈液を使用しなければならないことを示唆しています。

### 希釈直線性試験 ~Linearity-of-Dilution Experiments~

ある範囲の希釈率で希釈直線性を示さないサンプルは、マトリックス成分がその希釈範囲において目的分析物の正確な検出を干渉していることを示しています。干渉が見られなくなるまでサンプルを希釈する場合、希釈直線性試験を行い、希釈率の補正が必要になります。希釈直線性試験は、定量上限を超える分析物濃度を添加したサンプルが、定量可能なスタンダードカーブ範囲まで希釈され、正確かつ信頼性のある結果を出すということを実証するために行われます。

フック効果による低い直線性は、希釈直線性を行うことで軽減されます。フック効果は分析物濃度が 抗体量を超えはじめると見られます。この状況下では、用量反応曲線がプラトーになり、さらに増加す るにつれてマイナスに傾斜し始め、潜在的なマトリックス干渉が起こるためサンプルマトリックス中の 真の分析物濃度の定量精度が低下します。

検定済みアッセイ希釈液を使ってアッセイ分析範囲内で段階希釈したサンプル希釈系列をテストします。希釈直線性が見られる場合は、段階希釈系列の OD値は直線上の希釈ポイント間にほぼ反映されます。もしくはサンプル濃度が各希釈ポイントに希釈係数を掛けた後の計算濃度とほぼ同じになります。例えば、もし 2倍の段階希釈を行う場合、各ポイント間の OD値に約2倍の差が生じるはずです。

最小必要希釈度(MRD)がわかっている検証済みサンプルでは、この値を理想的な出発点とし、出発点が適切であれば希釈範囲を決定できます。サンプルが検証されていない場合は、直線性を得るために、より広範囲の希釈液を調整し、MRDを同定する必要があります。希釈直線性が得られれば、様々な希釈率でアッセイの高正確度を確認し、柔軟性を実証します。希釈直線性試験の実証は、低濃度の分析物を含むいくつかのサンプル希釈液を調整し、テスト前に各希釈液に同じ既知量の分析物を添加し、未添加および未希釈の両方またはいずれか一方の実測値と予測値を比較してアッセイ回収率を評価します。理想的な直線性を示すサンプルでは、段階希釈後の最終分析物濃度に対する実測値に変化が見られないはずです。サンプル回収率の直線性は予測値の80%~120%の範囲内なら問題ありません。アッセイの定量限界の2倍を下回る値を示す場合、アッセイ範囲の下限のため、統計学上の限界からその希釈データは除外したほうがよいでしょう。

# **Did You Know?**

コスモ・バイオ (株) の webサイトには Enzo Life Sciences社 ELISAキット の 専用サイトがあります。

記事ID検索 ▶▶▶ 35239



# ELISA キットラインアップ REPID:35239

Enzo Life Sciences,Inc. メーカー略号: ENZ

### バイオプロセス

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
CHO host cell prote	in ELISA kit	ENZ-KIT128-0001	¥124,000
_	CHO発現システムで発現させた産物	10 ng/ml	3~810 ng/ml
E. coli host cell pro	tein ELISA kit	ENZ-KIT127-0001	¥124,000
_	E. coli発現システムで発現させた産物	30 ng/ml	3~810 ng/ml
HEK293T host cell	protein ELISA kit	ENZ-KIT162-0001	¥121,000
_	HEK293発現システムで発現させた産物	37 ng/ml	37~27,000 ng/ml
PEGylated protein B	ELISA kit	ADI-900-213-0001	¥101,000
種問わず	P/S/TX	<1 ng/ml	1.75~225 ng/ml
Protein A ELISA kit		ADI-900-057	¥89,000
種問わず	プロテインA 精製したIgG調製液	9.01 pg/ml	15.63~1,000 pg/ml

### がん

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
Hepsin ELISA kit		ADI-900-220-0001	¥114,000
HU	P/S	0.2 U/ml	16~256 U/ml
Kallikrein-6 ELISA k	kit	ADI-900-217-0001	¥114,000
HU	S	1 ng/ml	5~280 ng/ml
Kallikrein-7 ELISA k	kit	ADI-900-218-0001	¥114,000
HU	S	0.5 ng/ml	35~560 ng/ml
Kallikrein-8 ELISA k	kit	ADI-900-219-0001	¥114,000
HU	S	0.1 ng/ml	35~560 ng/ml
Matriptase ELISA ki	t	ADI-900-221-0001	¥116,000
HU	S/P	1 ng/ml	5~280 ng/ml
Methotrexate ELISA	A kit	ENZ-KIT142-0001	¥95,000
HU/MS/RAT	P/S/U	0.087 ng/ml	0.13-1,000 ng/ml
Microcystins (Adda	specific) ELISA kit	ALX-850-319-KI01	¥133,000
_	water sample	0.1 ng/ml	0.15~5ng/ml
p53 ELISA kit		ALX-850-057-KI01	¥131,000
HU	CS/S/P/other biological fluid	0.5 U/ml	0.78~50 U/ml
Pin1 ELISA kit		ADI-900-146	¥123,000
HU/MS	CL	15.5 pg/ml	62.5~2,000 pg/ml
SLPI ELISA kit		ADI-900-222-0001	¥114,000
HU	S	1 ng/ml	10~160 ng/mℓ
Survivin ELISA kit		ADI-900-111	¥131,000
HU	CL/CS/S/P/U	4 pg/ml	31.25~1,000 pg/ml
TIMP-1ELISA kit		ENZ-KIT147-0001	¥48,000
HU	P/S/SA/TM/U	≦30 pg/ml	0.049~12 ng/ml
Total PSA ELISA kit		ENZ-KIT146-0001	¥38,000
HU	S/P/TM/U	0.287 pM or 0.024 ng/ml	333~1.37 pM or 28~0.12 ng/ml

交差性略号 BOV:ウシ、CAN:イヌ、EQ:ウマ、HU:ヒト、MKY:サル、MS:マウス、POR:ブタ、RAB:ウサギ、RAT:ラット サンプルタイプ略号 AF:羊水、BALF:気管支肺胞洗浄液、CE:細胞抽出液、CL:細胞ライセート、CM:細胞培養培地、CS:細胞培養上清、 CSF:脳脊髄液、D:透析液、F:糞便、FUVB:胎児臍静脈血、GCSF:歯肉溝滲出液、M:ミルク、NL:鼻洗浄液、P:血漿、 PE:腹腔滲出液、S:血清、SA:唾液、SF:滑液、TH:組織ホモジネート、TM:組織培養培地、TX:組織抽出液、U:尿、 WB:全血

### 心臓血管

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
Angiotensin A ELISA	A kit	ADI-900-207	ご照会
種問わず	P/S	8.3 pg/ml	9.8~10,000 pg/ml
Angiotensin I ELISA	kit	ADI-900-203	¥82,000
種問わず	P/S	4.3 pg/ml	3.9~10,000 pg/ml
Angiotensin II ELISA	\ kit	ADI-900-204	¥88,000
種問わず	P/S	4.6 pg/ml	3.9~10,000 pg/ml
Annexin V ELISA kit	t	ALX-850-049-KI01	¥133,000
HU	CS/S	0.33 ng/ml	0.8~50 ng/ml
Anti-Annexin V ELIS	SA kit	ALX-850-040-KI01	¥96,000
HU	body fluids/CS/S	1.18 ng/ml	6.25~400 ng/ml
Big Endothelin-1 EL	ISA kit	ENZ-KIT151-0001	¥98,000
HU	P/S	0.02 pmol/ <i>l</i>	0~3 pmol/ <i>l</i>
BNP Fragment ELIS	A kit	ENZ-KIT152-0001	¥98,000
HU	P/S	171 pmol/ <i>l</i>	0~6,400 pmol/ℓ
Bradykinin ELISA ki	t	ADI-900-206	¥87,000
種問わず	P/S/U	24.8 pg/ml	11.7~30,000 pg/ml
Endothelin-1 ELISA	kit	ADI-900-020A	¥99,000
HU/MS/RAT/BOV/ CAN/POR/RAB	CS/P/S/CL*/TH*	0.4 pg/ml	0.78~100 pg/ml
Fibrinogen ELISA ki	t	ADI-900-230-0001	¥108,000
HU	CL/P/S	<7.63 ng/ml	15.6~1,000 ng/ml
Fibronectin ELISA k	it	ENZ-KIT135-0001	¥115,000
HU	CS/P/S	<10 pg/ml	156~10,000 pg/ml
Haptoglobin ELISA I	kit	ADI-900-229-0001	¥108,000
HU	CL/P/S	<0.78 pg/ml	0.78~50 ng/ml
Plasminogen ELISA	kit	ADI-900-231-0001	¥108,000
HU	CL/P/S	<2.01 ng/ml	1∼64 ng/ml
Transferrin ELISA k	it	ENZ-KIT143-0001	¥79,000
HU/CAN (serumのみ)	P/S	4.6 ng/ml	4.9~5,000 ng/ml
Troponin I ELISA kit	:	ADI-900-228-0001	¥108,000
HU	CL/P/S	<0.38 ng/ml	0.38~25 ng/ml
VEGF165 ELISA kit		ENZ-KIT156-0001	¥85,000
HU	CS/P/S	4.712 pg/ml	8~2,000 pg/ml
VEGF-C ELISA kit		ALX-850-306-KI01	¥103,000
HU	body fluids/CS/S	0.057 ng/ml	0.23~15 ng/ml

<sup>\*</sup>文献に掲載されているサンプルタイプであり、ENZ社では確認していません。

**<sup>※1</sup>**: 包装1×96 wellの希望販売価格です。商品によっては5×96 well 包装もございますが価格についてはお問い合わせください。

# ELISA キットラインアップ

Enzo Life Sciences,Inc. メーカー略号: ENZ

# 細胞死

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
Akt1/2, phospho Se	er473/474 ELISA kit	ADI-900-162	¥98,000
HU/MS/RAT	CL	5.5 pg/ml	17.5~560 pg/ml
ApoE ELISA kit		ENZ-KIT134-0001	¥115,000
HU	CS/P/S/TH	14.063 ng/ml	23.438~1,500 ng/ml
ApoStrand™ ELISA	apoptosis detection kit	BML-AK120-0001	¥113,000
種問わず	С	500 apoptotic cells/well	500~5,000 apototic cells
Bax ELISA kit		ADI-900-138	¥114,000
HU	CL	10.1 pg/ml	62.5~2,000 pg/ml
Bcl-2 ELISA kit		ADI-900-133	¥114,000
HU	CL	3.8 pg/ml	18.8~1,200 pg/ml
FasL, soluble ELISA	kit	ALX-850-246-KI01	¥114,000
HU	CS/S	0.07 ng/ml	0.16~10 ng/ml
p62 ELISA kit		ADI-900-212-0001	¥106,000
HU/MS/RAT	CL/PBMCライセート*	100 pg/ml	625~40,000 pg/ml
XIAP ELISA kit		ADI-900-124	ご照会
HU	CL	90.6 pg/ml	312.5~10,000 pg/ml

# 細胞シグナリング

商品名		品番	希望販売価格 <sup>※1</sup>
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
β-Catenin ELISA kit		ADI-900-135	¥107,000
HU/MS/RAT	CL	26.8 pg/ml	125~8,000 pg/ml
Dkk-1 ELISA kit		ADI-900-151	¥76,000
HU	CS/P/S	0.98 pg/ml	7.81~500 pg/ml
Dkk-1 ELISA kit		ADI-900-171	¥95,000
RAT	CS/P/S	26.1 pg/ml	39.1∼1,250 pg/ml
Erk1/2 ELISA kit		ADI-900-152	¥70,000
HU/MS/RAT	CL	22.9 pg/ml	156~20,000 pg/ml
Erk1/2, phospho Th	r202/Tyr204 ELISA kit	ADI-900-098A-0001	¥121,000
HU/MS/RAT	CL	2.67 pg/ml	62.5~2,000 pg/ml
IGF-1 ELISA kit		ADI-900-150	¥102,000
HU	P/S/CS*/M*	34.2 pg/ml	187~6,000 pg/ml
Jnk1/2, phospho Th	nr183/Tyr185 ELISA kit	ADI-900-106	¥95,000
HU/MS/RAT	CL	75.8 pg/ml	125~4,000 pg/ml
MEK1 ELISA kit		ADI-900-122A	¥93,000
HU/RAT	CL	139.0 pg/ml	312.5~10,000 pg/ml
MEK1, phospho Ser	218/Ser222 ELISA kit	ADI-900-119	¥98,000
HU/MS/RAT	CL	85.2 pg/ml	187.5~6,000 pg/ml
Osteopontin ELISA I	kit	ADI-900-142	¥96,000
HU	CS/M/P/U/S*	0.110 ng/ml	2~32 ng/ml
Osteopontin ELISA I	kit	ADI-900-090A	¥97,000
MS/RAT	CS/P/U/CSF*	3.03 ng/ml	3.13~100 ng/ml

交差性略号 BOV:ウシ、CAN:イヌ、EQ:ウマ、HU:ヒト、MKY:サル、MS:マウス、POR:ブタ、RAB:ウサギ、RAT:ラット サンプルタイプ略号 AF:羊水、BALF:気管支肺胞洗浄液、CE:細胞抽出液、CL:細胞ライセート、CM:細胞培養培地、CS:細胞培養上清、 CSF:脳脊髄液、D:透析液、F:糞便、FUVB:胎児臍静脈血、GCSF:歯肉溝滲出液、M:ミルク、NL:鼻洗浄液、P:血漿、 PE:腹腔滲出液、S:血清、SA:唾液、SF:滑液、TH:組織ホモジネート、TM:組織培養培地、TX:組織抽出液、U:尿、 WB:全血

- \*文献に掲載されているサンプルタイプであり、ENZ社では確認していません。
- **※1**: 包装1×96 wellの希望販売価格です。商品によっては5×96 well包装もございますが価格についてはお問い合わせください。

商品名		品番	希望販売価格 <sup>※1</sup>
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
p38, phospho Thr18	30/Tyr182 ELISA kit	ADI-900-101	¥115,000
HU/MS	CL	52.1 pg/ml	156~5,000 pg/ml
Sclerostin ELISA kir	t	ENZ-KIT155-0001	¥118,000
HU	P/S	$3.2~{ m pmol}/\ell$	0~240 pmol/ℓ
sVEGFR-1 ELISA kit	t	ALX-850-264-KI01	¥110,000
HU	body fluids/CS/S	0.06 ng/ml	0.16~10 ng/ml
VE-cadherin ELISA	kit	ALX-850-059A-KI01	¥104,000
HU	body fluids/CS/P/S/TH/U	0.15 ng/ml	0.156~10 ng/ml

### サイクリックヌクレオチド

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
cAMP complete ELI	SA kit	ADI-900-163	¥79,000
種問わず	CL/CS/S/SA/TX	アッセイバッファー: 0.30 pmol/ml (非アセチル化)、 0.039 pmol/ml (アセチル化) HCI: 0.39 pmol/ml (非アセチル化)、 0.037 pmol/ml (アセチル化)	0.78~200 pmol/ml (非アセチル化)、 0.078~20 pmol/ml (アセチル化)
Direct cAMP ELISA	kit	ADI-900-066	¥73,000
種問わず	CL/TX/TM*	0.39 pmol/ml (非アセチル化)、 0.037 pmol/ml (アセチル化)	0.78〜200 pmol/ml (非アセチル化)、 0.078〜20 pmol/ml (アセチル化)
cAMP ELISA kit		ADI-900-067	¥68,000
種問わず	CS/S/SA/CL*/TX*/U*	0.30 pmol/ml (非アセチル化)、 0.039 pmol/ml (アセチル化)	0.78~200 pmol/ml (非アセチル化)、 0.078~20 pmol/ml (アセチル化)
cGMP complete ELI	SA kit	ADI-900-164	¥80,000
種問わず	CL/CS/S/SA/P/TX/U	アッセイバッファー: 0.42 pmol/ml (非アセチル化)、 0.043 pmol/ml (アセチル化) HCI: 0.604 pmol/ml (非アセチル化)、 0.059 pmol/ml (アセチル化)	0.8~500 pmol/ml (非アセチル化)、 0.08~50 pmol/ml (アセチル化)
Direct cGMP ELISA	kit	ADI-900-014	¥74,000
種問わず	CL/TX/CSF*/Microdialysate*	0.604 pmol/ml (非アセチル化)、 0.025 pmol/ml (アセチル化)	0.8~500 pmol/ml (非アセチル化)、 0.08~50 pmol/ml (アセチル化)
cGMP ELISA kit		ADI-900-013	¥68,000
種問わず	CS/P/S/SA/U	0.37 pmol/ml (非アセチル化)、 0.088 pmol/ml (アセチル化)	0.16~500 pmol/ml (非アセチル化) 0.16~100 pmol/ml (アセチル化)

# ELISA キットラインアップ

Enzo Life Sciences,Inc. メーカー略号: ENZ

# 内分泌学/ホルモン

商品名		品番	希望販売価格*1
交差性	サンプルタイプ		測定範囲
ACTH ELISA kit		ENZ-KIT138-0001	¥94,000
HU	Р	0.46 pg/ml	0.5~165 pg/ml
Aldosterone ELISA	kit	ADI-900-173	¥59,000
種問わず	P/S/U	4.7 pg/ml	3.9~250 pg/ml
Corticosterone ELIS	SA kit	ADI-900-097	¥66,000
種問わず	CS/F/P/S/SA/CL*/U*/WB*	27 pg/ml	32~20,000 pg/ml
Cortisol ELISA kit		ADI-900-071	¥64,000
種問わず	CS/P/S/SA/U/F*	56.72 pg/ml	156~10,000 pg/ml
DHEA ELISA kit		ADI-900-093	¥66,000
種問わず	CS/P/S/SA/U	2.9 pg/ml	12.21~50,000 pg/ml
17β-Estradiol ELISA		ADI-900-008	¥51,000
種問わず	CS/SA	28.5 pg/ml	29.3~30,000 pg/ml
	sensitivity ELISA kit	ADI-900-174	¥56,000
<u>種問わず</u>	P/S	14 pg/ml	15.6~1,000 pg/ml
Estriol ELISA kit		ADI-900-100	¥51,000
種問わず	CS/P/S/SA/U	59.6 pg/ml	122~500,000 pg/ml
FSH ELISA kit		ENZ-KIT108-0001	¥39,000
HU	P/S/TM	0.5 mIU/ml	0.78~100 mIU/ml
Growth hormone EL		ENZ-KIT148-0001	¥84,000
HU/CAN	P/S/SA/TM	0.93 pg/ml	3.91~250 pg/ml
Histamine ELISA kit		ENZ-KIT140-0001	¥97,000
HU/MS/RAT/CAN (serumのみ)	P/S/TM/U	0.03 ng/ml	0.098~25 ng/ml
Insulin ELISA kit		ENZ-KIT141-0001	¥66,000
HU/POR	P/S/TM	15.5 pg/ml	15.6~500 pg/ml
LH ELISA kit		ENZ-KIT107-0001	¥39,000
HU/RAT	P/S/TM	5.2 mIU/ml	1.2~280 mIU/ml
Melatonin ELISA kit	Τ	ENZ-KIT150-0001	¥95,000
種問わず	fruit/P/S/SA	0.162 ng/ml	0.08~50 ng/ml
NT-proCNP ELISA k		ENZ-KIT154A-0001	¥101,000
HU	P/S	0.7 pmol/l	0~128 pmol/l
Oxytocin ELISA kit	00 /84 /D /0 /005+ /0 8+ /TV+ /I I+	ADI-900-153A-0001	¥84,000
種問わず	CS/M/P/S/CSF*/SA*/TX*/U*	15 pg/ml	15.6~1,000 pg/ml ¥115,000
Peptide YY ELISA k	CS/P/S/TH	ENZ-KIT133-0001	
proANP ELISA kit	C3/P/3/1H	18.75 pg/ml ENZ-KIT153-0001	31.25~2,000 pg/ml ¥98,000
HU	CS/P/S/U	$0.05  \text{nmol}/\ell$	0~10 nmol/ℓ
Progesterone ELISA	l.	ADI-900-011	¥56,000
種問わず	CS/S/SA/P*	8.57 pg/ml	15.62~500 pg/ml
Proinsulin ELISA kit	<u>L</u>	ENZ-KIT149-0001	¥95,000
HU	P/S	0.17 pM	1.56~50 pM
Prolactin ELISA kit		ENZ-KIT161-0001	¥53,000
HU	P/S	19.2 pg/ml	31.3~2,000 pg/ml
Serotonin ELISA kit		ADI-900-175	¥103,000
 種問わず	P/Platelets/S/U/CS*	0.293 ng/ml	0.49~500 ng/ml

交差性略号 BOV:ウシ、CAN:イヌ、EQ:ウマ、HU:ヒト、MKY:サル、MS:マウス、POR:ブタ、RAB:ウサギ、RAT:ラット サンプルタイプ略号 AF:羊水、BALF:気管支肺胞洗浄液、CE:細胞抽出液、CL:細胞ライセート、CM:細胞培養培地、CS:細胞培養上清、 CSF:脳脊髄液、D:透析液、F:糞便、FUVB:胎児臍静脈血、GCSF:歯肉溝滲出液、M:ミルク、NL:鼻洗浄液、P:血漿、 PE:腹腔滲出液、S:血清、SA:唾液、SF:滑液、TH:組織ホモジネート、TM:組織培養培地、TX:組織抽出液、U:尿、 WB:全血

- \*文献に掲載されているサンプルタイプであり、ENZ社では確認していません。
- **※1**: 包装1×96 wellの希望販売価格です。商品によっては5×96 well 包装もございますが価格についてはお問い合わせください。

商品名		品番	希望販売価格 <sup>※1</sup>
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
TSH ELISA kit		ENZ-KIT131-0001	¥49,000
HU	S	0.5 µIU/ml	0.5~40 µIU/ml
Testosterone ELISA kit		ADI-900-065	¥61,000
種問わず	CS/P(ヒト以外)/S(ヒト以外)/SA/ F*TX*	5.67 pg/ml	7.81~2,000 pg/ml
Testosterone high s	sensitivity ELISA kit	ADI-900-176	¥66,000
HU	P/S/U	2.6 pg/ml	3.9~1,000 pg/ml
Arg <sup>8</sup> -Vasopressin E	LISA kit	ADI-900-017A	¥74,000
HU	P/S/TM	2.84 pg/ml	4.1~1,000 pg/ml

### エピジェネティクス

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
5-Methylcytosine D	NA ELISA kit	ADI-900-224A-0001	¥94,000
種問わず	DNA	100 ng ssDNAあたり ~0.5% 5-メチルシトシン	5~100% (100 ng/µl)
5-Hydroxymethylcytosine DNA ELISA kit		ADI-900-225-0001	¥91,000
種問わず	DNA	100 ng インプットDNAあたり <0.02% 5-ヒドロキシ メチルシトシン	0.03~0.55% (100 ng/µl)

### 免疫/炎症シグナリング

商品名		品番	希望販売価格 <sup>※1</sup>
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
CD14, soluble ELISA	A kit	ALX-850-302-KI01	¥133,000
HU	CM/P/S	_	5~50 ng/ml
CD14, soluble ELIS	A kit	ALX-850-303-KI01	¥205,000
MS	CM/P/S	_	5~50 ng/ml
CD40L, soluble ELIS	SA kit (high sensitivity)	ALX-850-311-KI01	¥133,000
HU	body fluids/CS/S	0.005 ng/ml	0.08~5 ng/ml
sCD44std, soluble E	ELISA kit	ALX-850-053-KI01	¥103,000
HU	body fluids/CS/S	0.015 ng/ml	0.12~4 ng/ml
Complement C3a de	es Arg ELISA kit	ADI-900-058	¥103,000
HU	Р	0.120 ng/ml	0.313~20 ng/ml
Complement C4a de	es Arg ELISA kit	ADI-900-059	¥93,000
HU	Р	0.76 ng/ml	0.78~200 ng/ml
CRP ELISA kit		ENZ-KIT102-0001	¥57,000
HU	P/S	8.876 ng/ml	10~810 ng/ml
GRO/CINC-1 ELISA	kit	ADI-900-074	¥143,000
RAT	CS/P/S	1.99 pg/ml	4.7~300 pg/ml
sHLA-G ELISA kit		ALX-850-309-KI01	¥287,000
HU/BOV/CAN/ goat/MKY/RAB/ sheep	AF/CS/P	0.6 U/ml	3.91~125 U/ml

# ELISA キットラインアップ

Enzo Life Sciences,Inc. メーカー略号: ENZ

商品名		品番	希望販売価格 <sup>※1</sup>
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
IgG1 ELISA kit		ADI-900-109	¥72,000
MS	CS/S	0.064 ng/ml	7.81~250 ng/ml
lgG2a ELISA kit		ADI-900-113	¥66,000
MS	CS/S	318.8 pg/ml	7.81~250 ng/ml
IgG2b ELISA kit		ADI-900-110	¥72,000
MS	CS/S	1.05 ng/ml	7.81~250 ng/ml
IgM ELISA kit		ADI-900-120	¥66,000
MS	AF/CS/S	0.6 ng/ml	3.91~250 ng/ml
LBP, soluble ELISA	kit	ALX-850-305-KI01	¥153,000
MS/RAT	CM/P/S	_	1~50 ng/mℓ
LBP, soluble ELISA	kit	ALX-850-304-KI01	¥166,000
HU/CAN/POR/ RAB/BOV/EQ	CM/P/S	_	5~50 ng/ml
NF k B p65 (Total/Phospho) ELISA kit		ADI-EKS-446A	¥110,000
HU/MS/RAT	CL	_	_
PMN-Elastase ELISA	4 kit	ALX-850-265-KI01	¥133,000
HU	body fluids/CS/P	1.98 ng/ml	0.16~10 ng/ml
RANKL (total), soluble ELISA kit		ALX-850-019-KI01	¥174,000
HU	CS/P/S	~1.56 pg/ml	2.2~60 pmol/l

# サイトカイン

商品名		品番	希望販売価格*1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
IFN-γ ELISA kit		ADI-900-136	¥104,000
HU	CS/P/S/U	<2 pg/ml	25.6~1,000 pg/ml
IFN-γ ELISA kit		ADI-900-137	¥100,000
MS	CS/P/S/U	<10 pg/ml	37~3,000 pg/ml
IL-1β ELISA kit		ADI-900-130A	¥103,000
HU	CS/P/S/U	1 pg/ml	0~250 pg/ml
IL-1β ELISA kit		ADI-900-131A	¥110,000
RAT	CS/S	4 pg/ml	31.3~2,000 pg/ml
IL-2 ELISA kit		ADI-900-118A	¥83,000
HU	CS/P/S	6.6 pg/ml	7.81~500 pg/ml
IL-2 ELISA kit		ADI-900-042	¥92,000
MS	CS/S	3.12 pg/ml	7.81~1,000 pg/ml
IL-4 ELISA kit		ADI-900-145A	¥93,000
HU	CS/P/S	<2 pg/ml	10.24~400 pg/ml
IL-4 ELISA kit		ADI-900-043	¥57,000
MS	CS/S/P*	4.34 pg/ml	7.81~1,000 pg/ml
IL-5 ELISA kit		ENZ-KIT139-0001	¥120,000
HU	CS/P/S/U	<2 pg/ml	7.8~500 pg/ml
IL-6 ELISA kit		ADI-900-045	¥86,000
MS	CS/S/TX*	1.01 pg/ml	7.81~1,000 pg/ml
IL-6, high sensitivity	/ ELISA kit	ENZ-KIT178-0001	¥95,000
HU	CS/P/S/U	0.057 pg/ml	1.56~50 pg/ml

交差性略号 BOV: ウシ、CAN: イヌ、EQ: ウマ、HU: ヒト、MKY: サル、MS: マウス、POR: ブタ、RAB: ウサギ、RAT: ラット サンプルタイプ略号 AF: 羊水、BALF: 気管支肺胞洗浄液、CE: 細胞抽出液、CL: 細胞ライセート、CM: 細胞培養培地、CS: 細胞培養上清、 CSF: 脳脊髄液、D: 透析液、F: 糞便、FUVB: 胎児臍静脈血、GCSF: 歯肉溝滲出液、M:ミルク、NL: 鼻洗浄液、P: 血漿、 PE: 腹腔滲出液、S: 血清、SA: 唾液、SF: 滑液、TH: 組織ホモジネート、TM: 組織培養培地、TX: 組織抽出液、U: 尿、 WB: 全血

- \*文献に掲載されているサンプルタイプであり、ENZ社では確認していません。
- **※1**: 包装1×96 wellの希望販売価格です。商品によっては5×96 well包装もございますが価格についてはお問い合わせください。

商品名		品番	希望販売価格 <sup>※1</sup>
交差性	サンブルタイプ	感度	測定範囲
IL-8 ELISA kit		ADI-900-156	¥99,000
HU	CS/P/S	0.64 pg/ml	7.8~1,000 pg/ml
IL-10 ELISA kit		ADI-900-036	¥93,000
HU	CS/P/S	3.75 pg/ml	7.81~500 pg/ml
IL-12p70 ELISA kit		ADI-900-202	¥94,000
HU	CS/P/S	0.9 pg/ml	7.81~500 pg/ml
IL-13 ELISA kit		ADI-900-208	¥86,000
HU	CS/P/S	1.71 pg/ml	1.56~100 pg/ml
IL-17A ELISA kit		ADI-900-177	¥99,000
HU	CS/P/S	0.2 pg/ml	2.34~75 pg/ml
IL-33 ELISA kit		ADI-900-201	¥92,000
HU	CL/CS/P/S/SF	1.7 pg/ml	7.8~500 pg/ml
Osteoprotegerin EL	ISA kit	ALX-850-280A-KI01	¥248,000
HU	P/S	1.4 pg/ml	0~500 pg/ml
TGF-α ELISA kit		ENZ-KIT132-0001	¥115,000
HU	CS/P/S/TH	9.375 pg/ml	1.563~100 pg/ml
TGF-β1 ELISA kit		ADI-900-155	¥93,000
HU/MS/RAT/BOV	CS/P/S	3.3 pg/ml (アッセイバッファー13) 10.8 pg/ml (アッセイバッファー30)	31.25~1,000 pg/ml
TL1A, soluble ELISA	A kit	APO-54N-027-KI01	¥140,000
HU	CS/S	15 pg/ml	$39\sim2,500~\mathrm{pg/ml}$
TNF-R1, soluble ELI	SA kit	ALX-850-047-KI01	¥134,000
HU	body fluids/CS/S	53 pg/ml	0.08~5 ng/ml
TNF-α ELISA kit		ADI-900-099	¥90,000
HU	CS/P/S	8.43 pg/ml	15.63~1,000 pg/ml
TNF-α ELISA kit		ADI-900-047	¥90,000
MS	CS/S/P*/TH*	3.9 pg/ml	31.25~2,000 pg/ml
TNF-α ELISA kit		ADI-900-086A	¥103,000
RAT	CS	12 pg/nl(アッセイバッファー) 26.7 pg/nl (10%FBS入り培養培地)	31.3~2,000 pg/ml

# ELISA キットラインアップ

Enzo Life Sciences,Inc. メーカー略号: ENZ

### エイコサノイド

商品名		品番		希望販売価格 <sup>※1</sup>
交差性	サンプルタイプ		感度	測定範囲
Cysteinyl leukotrie	ne ELISA kit	ADI-900-070		¥72,000
種問わず	CS/U	6	26.6 pg/ml	78.1~2,500 pg/ml
12(S)-HETE ELISA	kit	ADI-900-050		¥82,000
種問わず	CS/P/Renal Intertitial fluid*/S*/TH*		146 pg/ml	195~50,000 pg/ml
15(S)-HETE ELISA	kit	ADI-900-051		¥68,000
種問わず	CS/P/S/U	69	9.21 pg/ml	78.1~20,000 pg/ml
13(S)-HODE ELISA	kit	ADI-900-108		¥78,000
種問わず	CL/CS/S/SA/TX/U/P*		1.6 ng/ml	3.9~1,000 ng/ml
LTB₄ ELISA kit		ADI-900-068		¥66,000
種問わず	CS/P/SA/U/BALF*/CL*/crevicular fluid*/S*/TX*/WB*	Ę	5.63 pg/ml	11.7~3,000 pg/ml
PGE₁ ELISA kit		ADI-900-005		¥72,000
種問わず	CS/P/S/SA/U/Lung fluid*	Ę	5.58 pg/ml	4.88~5,000 pg/ml
PGE <sub>2</sub> ELISA kit		ADI-900-001		¥70,000
種問わず	CS/S/SA/U/WB/CSF*/D*/GCSF*/ P*/PE*/TX*		13.4 pg/ml	39.1~2,500 pg/ml
PGE <sub>2</sub> high sensitivit	ty ELISA kit	ADI-930-001		¥73,000
種問わず	CS/S/SA/U/WB/P*	3	8.26 pg/ml	$7.8\sim1,000  \mathrm{pg/ml}$
6-keto-PGF <sub>1</sub> α ELISA	A kit	ADI-900-004		¥66,000
種問わず	CS/S/SA/U		1.4 pg/ml	$3.2\sim50,000 \text{ pg/ml}$
PGF <sub>2</sub> α ELISA kit		ADI-900-069		¥66,000
種問わず	CS/P/S/SA/U/CL*/WB*	6	6.71 pg/ml	$3.05\sim50,000 \text{ pg/ml}$
PGF <sub>2</sub> α high sensitiv	ity ELISA kit	ADI-930-069		¥68,000
種問わず	CS/M/P/S/SA/U	(	0.98 pg/ml	$1.95\sim2,000  \mathrm{pg/ml}$
8-iso-PGF <sub>2</sub> a ELISA kit		ADI-900-010		¥66,000
種問わず	CS/TX/U/P*	-	16.3 pg/ml	$6.1 \sim 100,000 \text{ pg/ml}$
Direct 8-iso-PGF₂α ELISA kit		ADI-900-091		¥72,000
種問わず	P/S/TX/CL*/U*		40 pg/ml	160~100,000 pg/ml
15-deoxy-Δ <sup>12,14</sup> -PG	J₂ ELISA kit	ADI-900-023		¥82,000
種問わず	CS/P/SA/U	3	36.8 pg/ml	195~200,000 pg/ml
TXB <sub>2</sub> ELISA kit		ADI-900-002		¥66,000
種問わず	CS/P/S/SA/U/CL*/Coronary Effluent*/Liver Perfusate*/ Platelets*/WB*	10	0.54 pg/ml	13.7~10,000 pg/ml
11-dehydro-TXB <sub>2</sub> E	LISA kit	ADI-900-092		¥68,000
種問わず	CS/U/S*		4.31 pg/ml	9.8~10,000 pg/ml
Urinary prostacycli	n ELISA kit	ADI-900-025		¥72,000
種問わず	CS/U	(	6.58 pg/ml	7.81~2,000 pg/ml

交差性略号 BOV:ウシ、CAN:イヌ、EQ:ウマ、HU:ヒト、MKY:サル、MS:マウス、POR:ブタ、RAB:ウサギ、RAT:ラット サンプルタイプ略号 AF:羊水、BALF:気管支肺胞洗浄液、CE:細胞抽出液、CL:細胞ライセート、CM:細胞培養培地、CS:細胞培養上清、 CSF:脳脊髄液、D:透析液、F:糞便、FUVB:胎児臍静脈血、GCSF:歯肉溝滲出液、M:ミルク、NL:鼻洗浄液、P:血漿、 PE:腹腔滲出液、S:血清、SA:唾液、SF:滑液、TH:組織ホモジネート、TM:組織培養培地、TX:組織抽出液、U:尿、 WB:全血

- \*文献に掲載されているサンプルタイプであり、ENZ社では確認していません。
- ※1: 包装1×96 wellの希望販売価格です。商品によっては5×96 well包装もございますが価格についてはお問い合わせください。

### 代謝

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
25(OH) Vitamin D E	LISA kit	ADI-900-215-0001	¥119,000
HU	P/S	1.98 ng/ml	0.5~1,010 ng/ml
Adiponectin ELISA	kit	ALX-850-377-KI01	¥120,000
HU	CSF/M/P/S/U	0.156 ng/ml (CSF、尿) 0.47 ng/ml (血漿、血清)	1~150 ng/ml
Gastrin I ELISA kit		ADI-900-026	¥76,000
HU	CS/P/S	7.27 pg/ml	39.1~10,000 pg/ml
Gastrin I ELISA kit		ADI-900-149	¥76,000
RAT	CS/P/S	78.1 pg/ml	78.1~5,000 pg/ml
KIM-1 ELISA kit		ADI-900-226-0001	¥81,000
HU	U	1.279 pg/ml	7.813~500 pg/ml
Leptin ELISA kit		ADI-900-028A	¥76,000
HU	CS/P/S	23.4 pg/ml	31.3~2,000 pg/ml
Leptin ELISA kit		ADI-900-019A	¥76,000
MS	CS/P/S/TX*	25.4 pg/ml	50~3,200 pg/ml
Leptin ELISA kit		ADI-900-015A	¥93,000
RAT	CS/P/S	67.2 pg/ml	100~6,400 pg/ml
Nampt (Visfatin/PB	EF) Intracellular ELISA kit	AG-45A-0006EK-KI01	¥165,000
HU	CL	30 pg/ml	0.25~16 ng/ml
Nampt (Visfatin/PB	EF) Dual ELISA kit	AG-45A-0007EK-KI01	¥173,000
MS/RAT	S	50 pg/ml	0.5~32 ng/ml
NGAL ELISA kit		BPD-KIT-036	¥133,000
HU	CS/P/S/TX/U	4 pg/ml	10~1,000 pg/ml
NGAL ELISA kit		BPD-KIT-042	¥123,000
MS	CS/P/S/TX/U	0.75 pg/ml	10~1,000 pg/ml
NGAL ELISA kit		BPD-KIT-046	¥133,000
RAT	CS/P/S/TX/U	0.5 pg/ml	4~400 pg/ml
NGAL ELISA kit		BPD-KIT-043	¥151,000
CAN	CS/P/S/TX/U	0.56 pg/ml	4~400 pg/ml
NGAL ELISA kit		BPD-KIT-044	¥147,000
POR	CS/P/S/TX/U	1 pg/ml	10~400 pg/ml
NGAL ELISA kit		BPD-KIT-045	¥264,000
MKY	CS/P/S/TX/U	1.5 pg/ml	10~200 pg/ml

# ELISA キットラインアップ

Enzo Life Sciences,Inc. メーカー略号: ENZ

### 神経科学

商品名		品番	希望販売価格 <sup>※1</sup>
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
APP ΔC31 ELISA ki	t	ADI-900-227-0001	¥101,000
HU(配列アライメント では複数種と交差性を 示す)	CL/CSF/P/S	0.92 pM	11.72~1,500 pM
Dopamine ELISA kit		ENZ-KIT188-0001	¥124,000
種問わず	biological fluids/P/S/TH	0.938 ng/ml	1.56~100 ng/ml
24(S)-Hydroxychol	esterol ELISA kit	ADI-900-210-0001	¥99,000
種問わず	CSF/TH/TX/CS	0.78 ng/ml	0.39~100 ng/ml
LVV Hemorphin 7 E	LISA kit	ADI-900-205	¥74,000
種問わず	S/TH	6.1 pg/ml	9.8~10,000 pg/ml
SMN ELISA kit		ADI-900-209	¥100,000
HU/MS	CL	50 pg/ml	50~3,200 pg/ml
Substance P ELISA	kit	ADI-900-018	¥72,000
種問わず	CS/P/S/SA/U/TH*	8.04 pg/ml	9.76~10,000 pg/ml

## 酸化ストレス

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
ADMA ELISA kit		ALX-850-323-KI01	¥246,000
HU	P/S	0.05 μmol/ <i>l</i>	expected value: 0.45 ± 0.19 μmol/ℓ (rangeは無し)
ADMA direct ELISA	kit	ALX-850-327-KI01	¥266,000
MS/RAT	P/S/CS	0.05 µmol/l	_
Cytochrome c ELISA	A kit	ADI-900-141	¥110,000
HU	CL	6.03 pg/ml	28.13~900 pg/ml
DNA damage ELISA	kit	ADI-EKS-350	¥142,000
種問わず	S/SA/U/CL*/CS*/DNA*/P*/Seminal Fluids*	0.59 ng/ml	1.875~60 ng/ml
HO-1 ELISA kit		ADI-EKS-800	¥123,000
HU	CL/TX/P*/S*	0.78 ng/ml	0.78~25 ng/ml
HO-1 ELISA kit		ADI-EKS-810A	¥123,000
RAT	CL/P/S/TX/BALF*	0.036 ng/ml	0.195~12.5 ng/ml
Myeloperoxidase El	LISA kit	ADI-900-115	¥86,000
HU	CS/NL/P/Sputum supernatant/U	0.028 ng/ml (アッセイバッファー13) 0.019 ng/ml (アッセイバッファー31)	0.195~12.5 ng/ml
Protein carbonyl EL	_ISA kit	ALX-850-312-KI01	¥133,000
種問わず	body fluids/P/TX		_
SDMA ELISA kit		ALX-850-331-KI01	¥228,000
HU	P/S	0.05 µmol/l	0.1~2 μmol/ <i>l</i>
Superoxide Dismuta	ase (Cu/Zn) SOD ELISA kit	ALX-850-033-KI01	¥140,000
HU	AF/CS/FUVB/P/S/U	0.04 ng/ml	0.08~5 ng/ml

交差性略号 BOV:ウシ、CAN:イヌ、EQ:ウマ、HU:ヒト、MKY:サル、MS:マウス、POR:ブタ、RAB:ウサギ、RAT:ラット サンプルタイプ略号 AF:羊水、BALF:気管支肺胞洗浄液、CE:細胞抽出液、CL:細胞ライセート、CM:細胞培養培地、CS:細胞培養上清、 CSF:脳脊髄液、D:透析液、F:糞便、FUVB:胎児臍静脈血、GCSF:歯肉溝滲出液、M:ミルク、NL:鼻洗浄液、P:血漿、 PE:腹腔滲出液、S:血清、SA:唾液、SF:滑液、TH:組織ホモジネート、TM:組織培養培地、TX:組織抽出液、U:尿、 WB:全血

\*文献に掲載されているサンプルタイプであり、ENZ社では確認していません。

※1: 包装1×96 wellの希望販売価格です。商品によっては5×96 well包装もございますが価格についてはお問い合わせください。

### プロテオスタシス/シャペロン

商品名		品番	希望販売価格**1
交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲
Grp78/BiP ELISA ki	t	ADI-900-214-0001	¥104,000
HU/MS/RAT	CL/S	8.4 ng/ml	1.4~4,500 ng/ml
HSF1 ELISA kit		ADI-900-198	¥99,000
HU	CL/TX	35 pg/ml	0.39~12.5 ng/ml
HSF1, phospho Ser	326 ELISA kit	ADI-900-199	¥89,000
HU/MS	CL/TX	61 pg/ml	0.39~12.5 ng/ml
HSP27 ELISA kit		ADI-EKS-500	¥123,000
HU	CL/P/S/TX	0.39 ng/ml	0.39~25 ng/ml
HSP27, phospho Se	er15 ELISA kit	ADI-900-170	¥97,000
HU	CL/P/S	10.15 pg/ml	31.25~1,000 pg/ml
HSP27, phospho Se	er78 ELISA kit	ADI-900-165	¥66,000
HU	CL/P/S	4.30 pg/ml	31.25~1,000 pg/ml
HSP60 ELISA kit		ADI-EKS-600	¥131,000
HU	CL/S/TX	3.125 ng/ml	3.125~100 ng/ml
HSP60 (Anti IgG/A/	M) ELISA kit	ADI-EKS-650	¥131,000
HU	S/P*	2.88 ng/ml	7.81~250 ng/ml
HSP70 ELISA kit		ADI-EKS-700B	¥108,000
HU/MS/RAT	CL/TX	200 pg/ml	780~50,000 pg/ml
HSP70 high sensitiv	vity ELISA kit	ADI-EKS-715	¥109,000
HU/MS/RAT	P/S/CL*/U*/canine S*	90 pg/ml	0.20~12.5 ng/ml
AMP'D® HSP70 high	sensitivity ELISA kit	ENZ-KIT-101-0001	¥114,000
HU/MS/RAT	P/S	7 pg/ml	0.039~5 ng/ml
HSP70 (Anti IgG/A/	M) ELISA kit	ADI-EKS-750	¥122,000
HU	S/P*	6.79 ng/ml	31.25~1,000 ng/ml
HSP70B' ELISA kit		ADI-EKS-725A	¥140,000
HU	CL/S/TX	62 pg/ml	0.156~10 ng/ml
HSP90α, ELISA kit		ADI-EKS-895	¥148,000
HU	CL/S/TX	50 pg/ml	62.5~4,000 pg/ml
Proteasome ELISA I	kit	BML-PW0575-0001	¥82,000
HU	CL/P/S	1.6 µg/ml	0.025~1.6 μg/ml

# よくあるご質問 RA (





# サイクリックヌクレオチド (cAMP/cGMP) ELISA kit

## 共通Q&A **III**DI11315

該当品番: ADI-900-163、ADI-900-164、ADI-900-066、ADI-900-014、ADI-900-067、ADI-900-013

- プレートは抗ウサギ IgG でコートされていますが、 ウサギ血清中の cAMP/cGMP レベルを測定することはできますか。
- これらキットで使用するプレートには cAMP もしくは cGMP 特異的抗体を捕捉する抗体でコー トしてあります。抗体はヤギ抗ウサギ IgG 抗体のため、高い内在性 IgG レベルのウサギサンプ ルは、cAMP/cGMPアッセイに干渉する可能性があります。こういったサンプルを使用する場合 は、アッセイを行う前に、干渉する IgG を MWCOフィルターや IgG removal キットで除去す ることをおすすめします。ただし、Enzo Life Sciences社ではこの点を検討しておらず、お客様 ご自身で最適化していただく必要がございます。
- サンプル中の期待される cAMP/cGMP 濃度はどの程度でしょうか。
- サンプル中の cAMP と cGMP 量は、サンプルタイプ、由来、または処理によっても異なります。 残念ながら予測はできません。お客様ご自身で、同様のサンプルタイプ、条件、アッセイ技術を

用いて検討した参考文献などをお探しいただき、ご確認ください。

Q3 サンプルの乾燥方法を教えて下さい。

A3 サンプルは、吸引遠心器(SpeedVac など)や窒素やアルゴンの緩やかな気流で乾燥させます。サンプル数が多い場合、吸引遠心器の方がよいかもしれません。

サンプルを室温で一晩、SpeedVac に入れて放置します。翌日には乾燥し、吸引中は環境下に晒されていないため、サンプルの完全性は損なわれていないはずです。

緩やかな窒素の気流を使って乾燥させる場合、ガス供給部の下にガラスピペットを装着し、ピペットをサンプルチューブ内底部に吊るします。この方法を用いる場合、まずは石油エーテルを入れたチューブでまずは練習し、どのくらい時間がかかるか確認してください。サンプルをフード内に放置して乾燥させることはおすすめしません。サンプルが酸化し、わずかに残った溶剤が EIA に影響を及ぼす可能性があるためです。

- Q4 アセチル化工程は必ず必要ですか。
- #常に低濃度の cAMP もしくは cGMP しか含まないサンプルの場合や、より高感度が求められる場合にはサンプルをアセチル化する必要があります。アセチル化による感受性は、アセチル化されていないものに比べて 10倍程度高くなります。サンプル内の環状ヌクレオチドレベルが不明な場合、まずはあまり重要でないサンプルを用いてアセチル化せずにアッセイを行い、この過程が必要かどうかをご判断ください。
- Q5 アセチル化標準物質とサンプルへの最大結合量が 50%しかありませんでした。 なぜでしょうか。
- 標準物質とサンプルがアセチル化されているものの B0 標準物質がアセチル化されていないと、 このようになります。この場合でも、データは使えます。光学濃度曲線からサンプル濃度を算出し、 %B/B0 分析は行いません。

- Q6 受容体活性化作用と拮抗作用研究にこれらのキットは使用できますか。
- 実験デザインが構築されていて、最終サンプルを提案通りにアッセイに組込むことができ、またキットが検出できる十分量の cAMP/cGMP が存在するのであれば、これらのキットを使って受容体活性化作用や拮抗作用により生ずる様々な変化を検出できるでしょう。もちろん、サンプル中の cAMP/cGMP 検出限界はお客様が構築する必要があり、また対象アゴニスト/アンタゴニスト処理の最適化も必要です。

### Direct cAMP/cGMP ELISA + y ト

該当品番: ADI-900-066、ADI-900-014

- Q7 Direct ELISA キットで細胞質の cAMP/cGMP を検出できますか。
- 本品は、細胞種に依存せず、細胞・組織ライセートの細胞内 cAMP/cGMP を比色定量できます。
- cAMP Direct ELISA キットの Assay Buffer で希釈したサンプルは cGMP direct ELISA キットで使用できますか。また、その逆はどうでしょうか。
- A8 これらの 2つのキットの Assay Buffer は同一カタログ番号であり、同一商品ですのでご使用いただけます。ただし他の試薬はそれぞれの Direct ELISA キットの使用方法に従ってご利用ください。

# Direct もしくは Standard cAMP/cGMP ELISA キット共通Q&A

該当品番: ADI-900-066、ADI-900-014、ADI-900-067、ADI-900-013

- Q9
- どの程度の細胞数を使用するべきですか。
- (使用する組織量や細胞数は実験条件によります。初期実験は、1、2種類の代表的なサンプルを用いて、およそ2~5百万細胞/ml-HCl から始めることをおすすめします。その試験結果をうけて、以後のサンプルを適切に推測できるでしょう。濃縮ストックを希釈して使用する方が、実験を最初からやり直すよりも容易です。
- Q10 独自の可溶化バッファーを使用してもよいでしょうか。
- 本キットは標準物質とサンプルの可溶化と希釈に、中和試薬との組み合わせで HCl を使用するよう最適化されています。もし異なるバッファーで可溶化し、その後 HCl で希釈すると、pH が異なってしまいます。(他のバッファーを使用すると HCl を中和するようデザインされた中和試薬のモル濃度が異なってしまう可能性があります。)そのため、最適な結果を得るためにも、HCl を可溶化と希釈の両方にご利用ください。
- Q11 0.1M HCl 添加後も細胞が可溶化しない場合はどうすればよいですか。
- 使用前に 0.1~1%トリトンX100 を 0.1 M HCl に添加することで細胞や組織の可溶化を促進できます。この濃度域で使用する場合は、界面活性剤がアッセイのアセチル化や結合部分を妨害しません。ただし、OD値が若干増加する可能性があります。正確な判定を行うために、トリトンX100 を含むサンプルを同じトリトンX100 含有バッファーで希釈した検量線を用いて評価してください。



細胞での検出で、一貫性のあるデータが得られません。 細胞が透過性になったのでしょうか。



一貫性のある結果を得るため、アッセイで使用する前に細胞を完全に破壊させることをおすす めします。細胞の耐久力は細胞株によって異なるため、顕微鏡で確認して細胞破壊をご確認くだ さい。

# Standard cAMP/cGMP ELISA + y > Q&A

該当品番: ADI-900-067、ADI-900-013



これらのELISAキットで細胞質の cAMP/cGMP を検出できますか。



いいえ、できません。これらは動物種によらず、培養上清、血清、唾液の細胞外 cAMP/cGMP を比色定量します。細胞内 cAMP/cGMP を定量する場合、Enzo Life Sciences社の Direct ELISA キット (cAMP は品番: ADI-900-066、cGMP は品番: ADI-900-014) をご利用くだ さい。細胞内外の cAMP/cGMP 濃度両方を測定したい場合は、cAMP は品番: ADI-900163、cGMP は品番: ADI-900-163をご利用ください。



cAMP ELISA キットの Assay Buffer で希釈したサンプルは cGMP ELISA キットで使用できますか。また、その逆はどうでしょうか。



これらの 2つのキットの Assay Buffer は同一カタログ番号であり、同一商品ですのでご使用 いただけます。ただし他の試薬はそれぞれの ELISA キットの使用方法に従ってご利用ください。

# Complete もしくは Standard cAMP/cGMP ELISAキット共通Q&A

該当品番: ADI-900-163、ADI-900-164、ADI-900-067、ADI-900-013

- Q15
- 血清サンプルの再調製に必要な Assay Buffer 量を教えて下さい。
- A15

サンプルを再調製するために必要なアッセイバッファー量は、実験条件に依存します。血清 1 ml に対しアッセイバッファー 1 mlで再懸濁することをおすすめします。それからいくつか希釈倍率を振ってみてください。

- Q16 どの程度のサンプルが必要ですか、また推奨希釈率を教えて下さい。
- 必要なサンプル量と希釈率はサンプルに含まれる cAMP/cGMP 量によって決まります。お 客様ご自身で、同様のサンプルタイプ、条件、アッセイ技術を用いて検討した参考文献などをお 探しいただき、ご確認ください。
- Q17 アッセイバッファーに再溶解後、サンプルはどれくらい保存できますか。
- 再溶解後のサンプルの長期安定性は、Enzo Life Sciences社では確認していませんが、なるべく早くご使用になることをおすすめします。長期保存を行う場合は、-80℃で保存して下さい。
- 培養上清中の cAMP/cGMP を cAMP/cGMP ELISA キットと cAMP/cGMP Complete ELISA キットを使って測定する時、 どのような培地でも測定できますか。
- A18 プロトコールに記載されている通り、分泌型 cAMP/cGMP が含まれるサンプルの培養培地と同じものを使って検量線を作製していれば、光学密度(OD)に多少の変化があっても比較す

ることができます。本キット開発時に、cAMP/cGMPを添加したフェノールレッド含有 RPM1640 と DMEM+Glutamax を使用したことがありますが、若干の OD 上昇は見られたものの、この影響は標準物質とサンプル双方に影響を及ぼしていました。Enzo Life Sciences 社ではお客様ご自身でサンプルの希釈最適化を行い、またご自身のサンプルで添加回収試験を行って良好なサンプル回収と線形データが得られることをご確認頂くようおすすめしています。



# 内分泌/ホルモン

## Corticosterone ELISA kit RED: 14255

該当品番: ADI-900-097、ADI-901-097

- Q1 どの動物種にも使えますか。
- A1 コルチコステロンは全動物種で保存されており、本キットで使用する抗体は動物種に関わらずコルチコステロンに結合します。従って、本製品は基本的に「動物種非依存性」です。ただし、もしヒツジ由来のサンプルで IgG を含む場合 (血清や血漿サンプルのように)、注意が必要です。ご提供するプレートはヒツジ IgG 捕捉抗体でコートしていますので、サンプルに内在性ヒツジ IgG が含まれる場合は干渉することが考えられます。
- ©22 プロトコールに自分が対象とするサンプルタイプが記載されていませんでした。 どうしたら使えますか。
- A2 Enzo Life Sciences 社ウェブサイトの「Application」及びキットのプロトコールに、本品を用いて良好に試験が行えたサンプルタイプをリスト化しています。サンプル内に十分量の分析物が存在し、マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後もその濃度が検量線範囲内であれば、リスト以外のサンプルタイプでもアッセイできるはずです。もしEnzo Life

Sciences 社で検証していないサンプルタイプをご使用になる場合は、既報論文に詳細が記載されていないかご確認ください。

Q3 自分で使用するサンプルタイプの最適な希釈率を教えて下さい。

A3 マニュアルの "Sample recoveries" セクションに推奨希釈率を記載しています。この値は、Enzo Life Sciences社にてマトリックス干渉を除くために必要だと決定した希釈率です。ただし、お客様ご自身で、対象サンプルにおける最適希釈率を決定されることをおすすめします。そのため、Enzo Life Sciences社の推奨希釈率は "出発点" としてご理解ください。

②4 糞便中のコルチコステロンレベルの定量を考えています。 本アッセイに適したサンプル調製方法を教えて下さい。

キットのマニュアルには、動物園と提携してマウスやサイの糞便サンプルを採取・試験した結果 の推奨希釈率を掲載しています。以下は糞便抽出プロトコールの一案です。

- 1.16×125 mmポリプロピレンチューブに抽出番号を記載する。
- 2. わらや細片を注意して取り除き、0.5 g(+/-0.05) の混合した解凍糞便サンプルを対応 するチューブに量り入れる。
- 3. 糞便抽出シートに重量を記載し、状態(いつもよりも湿っているもしくは乾燥状態、毛玉など)を記録する。
- 4. 必要に応じて、今後使用するためのサンプル用に、12 × 75 mmポリプロピレンチューブ に動物 ID(名前)、サンプル番号、日付を記載したラベルをし、サンプルを入れ凍結保存 しておく。
- 5. dH<sub>2</sub>O で調製した 80% EtOH を 5 ml 加え、直ちにチューブに蓋をする。
- 6. 全ボトルを十分にボルテックスし、サンプルをばらばらにする。
- 7. チューブを試験管立てに立てて、ローター上に水平方向に設置し、14~18時間混合する (一晩)。
- 8. チューブを 1,500 rpmで 15分間遠心する。
- 9. サンプル分の 12 × 75 mmポリプロピレンチューブを用意し、動物 ID(名前)、サンプル 番号、日付及び 1:10 と希釈率を記載したラベルをし、1 mlアッセイバッファーをいれ、 1 ml上清を対応するチューブに入れた後、蓋をして冷凍保存する。

10. 糞便と希釈物を格子箱に入れて保存する。箱には、動物種、動物 ID (名前と番号)、性別 (0.1 か 1.0)、糞便、希釈率 1:10、動物園名、サンプル番号のはじめと終わり、日付を 明記する。

本プロトコールは 10倍希釈です。EtOH 中に 5倍、当初の容量が 5 mlでバッファーで 2倍希釈しているためです。

- Q5 最少サンプル量を教えてください。
- A5 アッセイにはウェルごとに 100 μl の希釈サンプルが必要です。そのためサンプル希釈率やサンプル数によってご判断ください。サンプルは 2ウェルを用いて (duplicate) 試験します。
- キットマニュアルの "Sample Handling" で、"サンプルによっては分析物の存在レベルが非常に低く、正確に測定するためには抽出が必要となる場合があります"とあります。どの濃度範囲のことを示しているのでしょうか。
- A6 サンプル中の分析物濃度がアッセイの検出限界未満である場合にのみ抽出が必要です。マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後でもサンプルから分析物が検出できるのであれば、抽出は必要ありません。試験の結果、ステロイドが読み取り不可であった場合、抽出が必要です。
- Q7 Steroid displacement reagent (SDR) のメカニズムを教えて下さい。
- A7 血液中のほとんどのステロイドはアルブミンや、より特異的な結合タンパク質などの担体タンパク質にイオン結合しています。サンプルを Steroid Displacement Reagent で処理することで、ステロイドと担体タンパク質問の電荷相互作用を破壊します。これによりサンプル中に存在するステロイド全量を測定することができます。

# Steroid displacement reagent (SDR) による サンプル処理方法を教えて下さい。



以下に従い、Steroid displacement reagent でサンプルを処理してください。

- ・サンプル 97.5 μl ごとに 2.5 μl の SDR を添加する。
- ・ボルテックスに短時間掛け、室温で5分静置する。
- ・その後、サンプル希釈を行う。

血清や血漿以外のサンプルを使用する場合、SDR 処理は必要ありません。抽出物サンプルの場合も SDR 処理の必要はありません。

- Q9 なぜサンプル希釈が必要なのですか。
- A9 希釈することにはいくつかの理由があります。サンプルが検量線を超える場合、本アッセイの 検量線内で測定できるように希釈が必要となる場合があります。また、サンプルによってはマトリックス干渉を防ぐために希釈が必要な場合があります。
- Q10 サンプルマトリックス干渉はどうすれば防ぐことができますか。
- 410 サンプルマトリックス干渉を防ぐ最も簡単な方法は、アッセイバッファーでサンプルを希釈することです。最低必要希釈率を決定するには、1つのサンプルを2分割します。1つには既知量の標準物質を加えます。2分割とも、アッセイバッファーを用いて段階希釈系列をとります(1:2、1:4、1:8、1:16 など)。その後、これらのサンプル全てを本品で分析し、各希釈サンプルに対して濃度と回収率を決定します。回収率が添加分析物の量に対して80%~120%になった段階が最低必要希釈率です。

もし、サンプルを希釈後、分析物濃度が本アッセイでの分析範囲内に入るような場合は、その 希釈率が最良です。もし、そうならなかった場合は、マニュアルに沿って抽出作業が必要になります。 Q11

自分のサンプルにマトリックス干渉の可能性があるかを 確認する方法を教えて下さい。



マトリックス干渉とは、サンプルマトリックス(バッファー、pH、界面活性剤や溶剤などの添加物、タンパク質など)がアッセイを妨害し、不正確な結果を導くことを示します。このような干渉は分析結果として現れます。

マトリックス干渉を試験する方法として、添加回収率の確認があります。代表とするサンプル(1つか 2つ)を2分割します。1つには既知量の分析物(標準物質)を添加します。このサンプルは"添加サンプル(spiked sample)"と呼びます。同時に、添加サンプルと添加していないサンプルをアッセイします。添加物の回収率は、内在性寄与物(添加していないサンプルにおける測定濃度)を添加サンプルの全分析物濃度から減算し、添加サンプルに添加した標準物質濃度で割った後 100倍します。許容できる回収率は添加サンプルの 80% から 120% です。

# Q12

#### 希釈率で結果を掛け算すべきでしょうか。

- A12
- はい。算出したデータに希釈率を掛け合わせ、サンプル中に存在する生物マーカー存在量の 正しい値を算出します。
- Q13

他のステロイドとの交差反応は確認してありますか。

A13

はい。関連するステロイド化合物に関する交差性を評価し、キットマニュアルに記載しています。

Q14

ステロイドが対象のELISAキット用陽性コントロールは販売していますか。



陽性コントロールの提供はしていません。もし特定サンプルタイプから分析物を正確に回収できているかを確認する場合、既知量の標準物質をサンプルに添加し、キットを使ってアッセイを行い、回収率を評価して下さい。

## Cortisol ELISA kit 記事D:34481

該当品番: ADI-900-071、ADI-901-071



#### どの動物種に対しても使用できますか。

まれる場合は干渉することが考えられます。

- A15 コルチゾールは全動物種で保存されており、本キットで使用する抗体は動物種に関わらずコルチゾールに結合します。従って、本製品は基本的に「動物種非依存性」です。ただし、もしマウス由来のサンプルで IgG を含む場合 (血清や血漿サンプルのように)、注意が必要です。ご提供するプレートはマウス IgG 捕捉抗体でコートしていますので、サンプルに内在性マウス IgG が含
- プロトコールに自分が対象とするサンプルタイプが記載されていませんでした。 どうしたら使えますか。
- Enzo Life Sciences 社ウェブサイトの「Application」及びキットのプロトコールに、本品を用いて良好に試験が行えたサンプルタイプをリスト化しています。サンプル内に十分量の分析物が存在し、マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後もその濃度が検量線範囲内であれば、リスト以外のサンプルタイプでもアッセイできるはずです。もしEnzo Life Sciences 社で検証していないサンプルタイプをご使用になる場合は、既報論文に詳細が記載されていないかご確認ください。
- Q17 自分で使用するサンプルタイプの最適な希釈率を教えて下さい。
- マニュアルの "Sample recoveries" セクションに推奨希釈率を記載しています。この値は、Enzo Life Sciences 社にてマトリックス干渉を除くために必要だと決定した希釈率です。ただし、お客様ご自身で、対象サンプルにおける最適希釈率を決定されることをおすすめします。そのため、Enzo Life Sciences 社の推奨希釈率は "出発点" としてご理解ください。

# Q18 最少サンプル量を教えてください。

- A18
- アッセイにはウェルごとに 100 μl の希釈サンプルが必要です、従って、サンプル希釈率やサンプル数によってご判断ください。サンプルは 2ウェルを用いて(duplicate)試験します。
- キットマニュアルの "Sample Handling" で、"サンプルによっては分析物の存在レベルが非常に低く、正確に測定するためには抽出が必要となる場合があります" とあります。どの濃度範囲のことを示しているのでしょうか。
- 419 サンプル中の分析物濃度がアッセイの検出限界未満である場合にのみ抽出が必要です。マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後でもサンプルから分析物が検出できるのであれば、抽出は必要ありません。試験の結果、ステロイドが読み取り不可であった場合、抽出が必要です。
- Q20 Steroid displacement reagent (SDR) のメカニズムを教えて下さい。
- 血液中のほとんどのステロイドはアルブミンや、より特異的な結合タンパク質などの担体タンパク質にイオン結合しています。サンプルを Steroid Displacement Reagent で処理することで、ステロイドと担体タンパク質間の電荷相互作用を破壊します。これによりサンプル中に存在するステロイド全量を測定することができます。
- Steroid displacement reagent (SDR) で サンプルを処理する方法を教えてください。
- A21

以下に従い、Steroid Displacement Reagent でサンプルを処理してください。

- ・99  $\mu$ l のサンプルごとに 1  $\mu$ l の SDR を添加する。
- ・ボルテックスに短時間掛け、室温で5分静置する。
- ・その後、サンプル希釈を行う。

抽出サンプルの場合は、SDR 処理の必要はありません。



#### なぜサンプル希釈が必要なのですか。



希釈することにはいくつかの理由があります。サンプルが検量線を超える場合、本アッセイの 検量線内で測定できるように希釈が必要となる場合があります。また、サンプルによってはマトリックス干渉を防ぐために希釈が必要な場合があります。

# Q23

#### サンプルマトリックス干渉はどうすれば防ぐことができますか。



サンプルマトリックス干渉を防ぐ最も簡単な方法は、アッセイバッファーでサンプルを希釈することです。最低必要希釈率を決定するには、1つのサンプルを2分割します。1つには既知量の標準物質を加えます。2分割とも、アッセイバッファーを用いて段階希釈系列をとります(1:2、1:4、1:8、1:16 など)。その後、これらのサンプル全てを本品で分析し、各希釈サンプルに対して濃度と回収率を決定します。回収率が添加分析物の量に対して80%~120%になった段階が最低必要希釈率です。

もし、サンプルを希釈後、分析物濃度が本アッセイでの分析範囲内に入るような場合は、その 希釈率が最良です。もし、そうならなかった場合は、マニュアルに沿って抽出作業が必要になります。



#### 自分のサンプルにマトリックス干渉の可能性があるかを 確認する方法を教えて下さい。



マトリックス干渉とは、サンプルマトリックス(バッファー、pH、界面活性剤や溶剤などの添加物、タンパク質など)がアッセイを妨害し、不正確な結果を導くことを示します。このような干渉は誤った抑制、または誤った分析物レベルの上昇として現れます。

マトリックス干渉を試験する方法として、添加回収率の確認があります。代表とするサンプル(1つか 2つ)を 2分割します。1つには既知量の分析物(標準物質)を添加します。このサンプルは "添加サンプル (spiked sample)" と呼びます。同時に、添加サンプルと添加していないサンプルをアッセイします。添加物の回収率は、内在性寄与物(添加していないサンプルにおける測定濃度)を添加サンプルの全分析物濃度から減算し、添加サンプルに添加した標準物質濃度で割った後 100倍します。許容できる回収率は添加サンプルの 80% から 120% です。



#### 希釈率で結果を掛け算すべきでしょうか。



はい。算出したデータに希釈率を掛け合わせ、サンプル中に存在する生物マーカー存在量の 正しい値を算出します。

- Q26
- 他のステロイドとの交差反応は確認してありますか。
- A26

はい。関連するステロイド化合物に関する交差性を評価し、キットマニュアルに記載しています。

- Q27
- ステロイドが対象のELISAキット用陽性コントロールは販売していますか。
- A27

陽性コントロールの提供はしていません。もし特定サンプルタイプから分析物を正確に回収できているかを確認する場合、既知量の標準物質をサンプルに添加し、キットを使ってアッセイを行い、回収率を評価して下さい。

# 17β-Estradiol ELISA kit EFID:34492

該当品番: ADI-900-008、ADI-901-008



#### どの動物種由来のサンプルにも使えますか。



 $17\beta$ -Estradiol は全動物種で保存されており、本キットで使用する抗体は動物種に関わらず  $17\beta$ -Estradiol に結合します。従って、本製品は基本的に「動物種非依存性」です。ただし、もし ウサギ由来のサンプルで IgG を含む場合 (血清や血漿サンプルのように)、注意が必要です。 ご提供するプレートはウサギ IgG 捕捉抗体でコートしていますので、サンプルに内在性ウサギ

IgG が含まれる場合は干渉することが考えられます。



プロトコールに自分が対象とするサンプルタイプが記載されていませんでした。 どうしたら使えますか。



Enzo Life Sciences社ウェブサイトの「Application」及びキットのプロトコールに、本品を用いて良好に試験が行えたサンプルタイプをリスト化しています。サンプル内に十分量の分析物が存在し、マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後もその濃度が検量線範囲内であれば、リスト以外のサンプルタイプでもアッセイできるはずです。もしEnzo Life Sciences社で検証していないサンプルタイプをご使用になる場合は、既報論文に詳細が記載されていないかご確認ください。

Enzo Life Sciences 社の研究室で検証済みのサンプルタイプは、培養上清と唾液です。 血清と血漿サンプルは、品番:ADI-900-174(17 $\beta$ -Estradiol high sensitivity ELISA キット)のご利用をおすすめします。

# Q30

#### 自分で使用するサンプルタイプの最適な希釈率を教えて下さい。



マニュアルの "Sample recoveries" セクションに推奨希釈率を記載しています。この値は、Enzo Life Sciences 社にてマトリックス干渉を除くために必要だと決定した希釈率です。ただし、お客様ご自身で、対象サンプルにおける最適希釈率を決定されることをおすすめします。そのため、Enzo Life Sciences 社の推奨希釈率は "出発点" としてご理解ください。

# Q31

#### 最少サンプル量を教えてください。



アッセイにはウェルごとに 100 μl の希釈サンプルが必要です。そのためサンプル希釈率やサンプル数によってご判断ください。サンプルは 2ウェルを用いて(duplicate)試験します。

- キットマニュアルの "Sample Handling" で、"サンプルによっては分析物の存在レベルが非常に低く、正確に測定するためには抽出が必要となる場合があります" とあります。どの濃度範囲のことを示しているのでしょうか。
- 432 サンプル中の分析物濃度がアッセイの検出限界未満である場合にのみ抽出が必要です。マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後でもサンプルから分析物が検出できるのであれば、抽出は必要ありません。もし試験の結果、ステロイドが読み取り不可であった場合、抽出が必要です。
- Q33 Steroid displacement reagent (SDR) のメカニズムを教えて下さい。
- A33 血液中のほとんどのステロイドはアルブミンや、より特異的な結合タンパク質などの担体タンパク質にイオン結合しています。サンプルを Steroid Displacement Reagent で処理することで、ステロイドと担体タンパク質間の電荷相互作用を破壊します。これによりサンプル中に存在するステロイド全量を測定することができます。
- ②34 どのようにサンプルを Steroid displacement reagent (SDR) 処理すればよいですか。
- 以下に従い、Steroid Displacement Reagent でサンプルを処理してください。
  - ・99  $\mu$ l のサンプルごとに 1  $\mu$ l の SDR を添加する。
  - ・ボルテックスに短時間掛け、室温で5分静置する。
  - ・その後、サンプル希釈を行う。

抽出サンプルの場合は、SDR 処理の必要はありません。

- Q35 なぜサンプル希釈が必要なのですか。
  - 和35 希釈することにはいくつかの理由があります。サンプルが検量線を超える場合、本アッセイの 検量線内で測定できるように希釈が必要となる場合があります。また、サンプルによってはマトリックス干渉を防ぐために希釈が必要な場合があります。



#### サンプルマトリックス干渉はどうすれば防ぐことができますか。



サンプルマトリックス干渉を防ぐ最も簡単な方法は、アッセイバッファーでサンプルを希釈することです。最低必要希釈率を決定するには、1つのサンプルを2分割します。1つには既知量の標準物質を加えます。2分割とも、アッセイバッファーを用いて段階希釈系列をとります(1:2、1:4、1:8、1:16 など)。その後、これらのサンプル全てを本品で分析し、各希釈サンプルに対して濃度と回収率を決定します。回収率が添加分析物の量に対して80%~120%になった段階が最低必要希釈率です。

もし、サンプルを希釈後、分析物濃度が本アッセイでの分析範囲内に入るような場合は、その 希釈率が最良です。もし、そうならなかった場合は、マニュアルに沿って抽出作業が必要になりま す。



#### 自分のサンプルにマトリックス干渉の可能性があるかを 確認する方法を教えて下さい。



マトリックス干渉とは、サンプルマトリックス(バッファー、pH、界面活性剤や溶剤などの添加物、タンパク質など)がアッセイを妨害し、不正確な結果を導くことを示します。このような干渉は誤った分析結果として現れます。

マトリックス干渉を試験する方法として、添加回収率の確認があります。代表とするサンプル(1つか 2つ)を 2分割します。1つには既知量の分析物(標準物質)を添加します。このサンプルは "添加サンプル (spiked sample)" と呼びます。同時に、添加サンプルと添加していないサンプルをアッセイします。添加物の回収率は、内在性寄与物(添加していないサンプルにおける測定濃度)を添加サンプルの全分析物濃度から減算し、添加サンプルに添加した標準物質濃度で割った後 100倍します。許容できる回収率は添加サンプルの 80% から 120% です。



#### 希釈率で結果を掛け算すべきでしょうか。



はい。算出したデータに希釈率を掛け合わせ、サンプル中に存在する生物マーカー存在量の 正しい値を算出します。

- Q39
- 他のステロイドとの交差反応は確認してありますか。
- A39

はい。関連するステロイド化合物に関する交差性を評価し、キットマニュアルに記載しています。

- Q40
- ステロイドが対象のELISAキット用陽性コントロールは販売していますか。
- A40

陽性コントロールの提供はしていません。もし特定サンプルタイプから分析物を正確に回収できているかを確認する場合、既知量の標準物質をサンプルに添加し、キットを使ってアッセイを行い、回収率を評価して下さい。

# Oxytocin ELISA kit EFID:12819

該当品番: ADI-900-153A-0001、ADI-901-153A-0001

- Q41
- 動物種に依存しますか。
- A41

単一アミノ酸置換を持つ新規のオキシトシンフォームでは、抗体結合親和性に影響を及ぼす可能性があり、実際にいくつかの霊長類でその報告があります(Lee AG et al., 2011)。一方で、オキシトシン分子配列はほとんどの哺乳動物種間で相違がみられないことから、本キットは「動物種非依存性」と言えます。本キットを使用した論文報告で使用された動物種には、ヒヒ、ヒト、マウス、ブタ、ラット、アカゲザル、タマリンなどがあります。ウサギ血清を使用する場合には問題が生じる場合があるため、ご留意下さい。これはオキシトシン自身の問題ではなく、本キットで使用している抗体が抗ウサギ IgG であるため、高シグナルバックグラウンドが生じてしまう可能性があるからです。



#### ウサギ血清を使用しています。サンプルのオキシトシン検出に問題はありますか?



本キットでは抗ウサギ IgG を使用しているため、ウサギサンプルは問題になる可能性があります。アッセイを行う前に、内在性ウサギ IgG を MWCO フィルターで除去するか、IgG 除去キットで除去すれば、本品を使用できる可能性があります。ただし、Enzo Life Sciences 社ではこの点を検討しておらず、お客様ご自身で最適化して頂く必要があります。

- Q43
- 培養上清、母乳、血漿、及び血清の他のサンプルタイプにも使えますか。
- A43

脳脊髄液、唾液、組織、及び尿にも使えます。

# Q44

#### 唾液サンプルにも使えますか。



本キットの開発中に唾液サンプルは試していませんが、唾液中のオキシトシン検査の需要が増えています。こちらの報告(Holt-Lunstad J et al., 2008)では、本キットを用いて、唾液サンプルの測定が行われています。他の研究者も、以下のプロトコールで使用しています。ただし、このプロトコールは、お客様がご利用のサンプルにあわせて最適化ください。

- 1.1 ml以上(3~5 ml以上を推奨)の唾液サンプルを回収する。保存する場合は -20 ℃ で保存。
- 2. 遠心分離により微粒子や粘液を沈殿させる。
- 3. 上清を回収し、1 m2ずつに分注する。
- 4. SpeedVacのような遠心エバポレーターで水分を蒸発させる。
- 5. 乾燥させたサンプルを 250 μl のアッセイバッファーに溶解する (オキシトシン濃度によって適宜アッセイバッファーの量を調製する)。



どれくらいのサンプルが必要ですか。また、推奨希釈率を教えて下さい。



必要なサンプル量と希釈率はサンプルに含まれるオキシトシンレベルに依存します。お客様ご

自身で、同様のサンプルタイプ、条件、アッセイ技術を用いて検討した参考文献などをお探しい ただき、ご確認ください。

Q46

#### オキシトシンの抽出は必要ですか。



Enzo Life Sciences 社のオキシトシンELISA キットでは、血清や血漿からの抽出が必要です。 この抽出は、血清や血漿のマトリックス干渉を防ぐために必要です。他のサンプルタイプでは抽 出は必要ありません。

Q47

#### 血清や血漿サンプル中のオキシトシン抽出プロトコールに代替法はありますか。



水溶性サンプルからオキシトシンを抽出する代替法は以下の通りです。

- 1. 2倍量の氷冷アセトンをサンプルに添加し、ボルテックスする。
- 2. 12,000 × gで 20分間遠心する。
- 3. 上清を新しいチューブに入れ替える。
- 4. 5倍量の氷冷石油エーテルを添加し、ボルテックスする。
- 5. 10,000 × gで 10分間遠心する。
- 6. 上部のエーテル相を廃棄する。残りの水相を慎重にガラスチューブに取り出し、窒素ガスまたはアルゴンガス下で乾燥させる。
- 7. アッセイバッファーに再懸濁する。

抽出過程からのペプチド回収率は異なります。過程を最適化させ、至適回収率を得ることが重要です。抽出効率は、放射性ペプチドの利用またはペア標本を添加し、既知オキシトシン量の回収率を決定するなど、種々の手法で決定することができます。



#### オキシトシン抽出にはどのようなカラムが使えますか。



200 mg の吸着剤を含み容積容量 3.5 ml の逆相 C18 カラムを用いた固相抽出 (SPE) が可能です。より低容量の血清/血漿を使用する場合は、小さいカートリッジも使用できます。



#### オキシトシンと Arg<sup>8</sup>-バソプレシン ELISA キットで 分析する場合のサンプルの乾燥方法を教えて下さい。



サンプルは、吸引遠心器 (SpeedVacなど) や窒素やアルゴンの緩やかな気流で乾燥させます。 サンプル数が多い場合、吸引遠心器の方がよいかもしれません。

サンプルを室温で一晩、SpeedVac に入れて放置します。翌日には乾燥し、吸引中は環境下に晒されていないため、サンプルの完全性は損なわれていないはずです。

緩やかな窒素の気流を使って乾燥させる場合、ガス供給部の下にガラスピペットを装着し、ピペットをサンプルチューブ内底部に吊るします。この方法を用いる場合、まずは石油エーテルを入れたチューブで練習し、どのくらい時間がかかるか確認してください。サンプルをフード内に放置して乾燥させることはおすすめしません。サンプルが酸化し、わずかに残った溶剤がEIAに影響を及ぼす可能性があるためです。

# Progesterone ELISA kit ■ ■ 134158

該当品番: ADI-900-011、ADI-901-011



どの動物種由来サンプルにも使えますか。



プロゲステロンは全動物種で保存されており、本キットで使用する抗体は動物種に関わらずプロゲステロンに結合します。従って、本商品は基本的に「動物種非依存性」です。ただし、もしマウス由来のサンプルで IgG を含む場合 (血清や血漿サンプルのように)、注意が必要です。ご提供するプレートはマウス IgG 捕捉抗体でコートしていますので、サンプルに内在性マウス IgG が含まれる場合は干渉することが考えられます。

- プロトコールに自分が対象とするサンプルタイプが記載されていませんでした。 どうしたら使えますか。
- Enzo Life Sciences 社ウェブサイトの「Application」及びキットのプロトコールに、本品を用いて良好に試験が行えたサンプルタイプをリスト化しています。サンプル内に十分量の分析物が存在し、マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後もその濃度が検量線範囲内であれば、リスト以外のサンプルタイプでもアッセイできるはずです。もしEnzo Life Sciences 社で検証していないサンプルタイプをご使用になる場合は、既報論文に詳細が記載されていないかご確認ください。
- Q52 自分で使用するサンプルタイプの最適な希釈率を教えて下さい。
- マニュアルの "Sample recoveries" セクションに推奨希釈率を記載しています。この値は、Enzo Life Sciences 社にてマトリックス干渉を除くために必要だと決定した希釈率です。ただし、お客様ご自身で、対象サンプルにおける最適希釈率を決定されることをおすすめします。そのため、Enzo Life Sciences 社の推奨希釈率は "出発点" としてご理解ください。
- Q53 最少サンプル量を教えてください。
- A53 アッセイにはウェルごとに 100 μl の希釈サンプルが必要です。そのためサンプル希釈率やサンプル数によってご判断ください。サンプルは 2ウェルを用いて (duplicate) 試験します。
- キットマニュアルの "Sample Handling" で、"サンプルによっては分析物の存在レベルが非常に低く、正確に測定するためには抽出が必要となる場合があります"とあります。どの濃度範囲のことを示しているのでしょうか。
- A54 サンプル中の分析物濃度がアッセイの検出限界未満である場合にのみ抽出が必要です。マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後でもサンプルから分析物が検出できるのであれば、抽出は必要ありません。試験の結果、ステロイドが読み取り不可であった場合、抽出が必要です。

- Q55
- Steroid displacement reagent (SDR) のメカニズムを教えて下さい。
- A55

血液中のほとんどのステロイドはアルブミンや、より特異的な結合タンパク質などの担体タンパク質にイオン結合しています。サンプルを Steroid Displacement Reagent で処理することで、ステロイドと担体タンパク質間の電荷相互作用を破壊します。これによりサンプル中に存在するステロイド全量を測定することができます。

Q56

どのようにサンプルを Steroid displacement reagent (SDR) 処理すればよいですか。

A56

以下に従い、Steroid Displacement Reagent でサンプルを処理してください。

- ・99  $\mu$ lのサンプルごとに1  $\mu$ l の SDR を添加する。
- ・ボルテックスに短時間掛け、室温で5分静置する。
- ・その後、サンプル希釈を行う。

抽出サンプルの場合は、SDR処理の必要はありません。

Q57

#### なぜサンプル希釈が必要なのですか。

A57

希釈することにはいくつかの理由があります。サンプルが検量線を超える場合、本アッセイの 検量線内で測定できるように希釈が必要となる場合があります。また、サンプルによってはマトリックス干渉を防ぐために希釈が必要な場合があります。

Q58

サンプルマトリックス干渉はどうすれば防ぐことができますか。

A58

サンプルマトリックス干渉を防ぐ最も簡単な方法は、アッセイバッファーでサンプルを希釈することです。最低必要希釈率を決定するには、1つのサンプルを2分割します。1つには既知量の標準物質を加えます。2分割とも、アッセイバッファーを用いて段階希釈系列をとります(1:2、1:4、1:8、1:16 など)。その後、これらのサンプル全てを本品で分析し、各希釈サンプルに対

して濃度と回収率を決定します。回収率が添加分析物の量に対して 80%~120%になった段階 が最低必要希釈率です。

もし、サンプルを希釈後、分析物濃度が本アッセイでの分析範囲内に入るような場合は、その 希釈率が最良です。もし、そうならなかった場合は、マニュアルに沿って抽出作業が必要になりま す。



#### 自分のサンプルにマトリックス干渉の可能性があるかを 確認する方法を教えて下さい。



マトリックス干渉とは、サンプルマトリックス(バッファー、pH、界面活性剤や溶剤などの添加物、タンパク質など)がアッセイを妨害し、不正確な結果を導くことを示します。このような干渉は誤った分析結果として現れます。

マトリックス干渉を試験する方法として、添加回収率の確認があります。代表とするサンプル (1つか 2つ) を 2分割します。1つには既知量の分析物 (標準物質) を添加します。このサンプルは "添加サンプル (spiked sample)" と呼びます。同時に、添加サンプルと添加していないサンプルをアッセイします。添加物の回収率は、内在性寄与物 (添加していないサンプルにおける測定濃度) を添加サンプルの全分析物濃度から減算し、添加サンプルに添加した標準物質濃度で割った後 100倍します。許容できる回収率は添加サンプルの 80% から 120% です。

# Q60

#### 希釈率で結果を掛け算すべきでしょうか。



はい。算出したデータに希釈率を掛け合わせ、サンプル中に存在する生物マーカー存在量の正しい値を算出します。



他のステロイドとの交差反応は確認してありますか。



はい。関連するステロイド化合物に関する交差性を評価し、キットマニュアルに記載しています。



#### ステロイドが対象のELISAキット用陽性コントロールは販売していますか。



陽性コントロールの提供はしていません。もし特定サンプルタイプから分析物を正確に回収できているかを確認する場合、既知量の標準物質をサンプルに添加し、キットを使ってアッセイを行い、回収率を評価して下さい。

# 

該当品番: ADI-900-175



どの動物種に対しても使えますか。



セロトニンは全動物種で保存されており、本キットで使用する抗体は動物種に関わらずセロトニンに結合します。従って、本商品は基本的に「動物種非依存性」です。ただし、もしウサギ由来のサンプルで IgG を含む場合は注意が必要です。ご提供するプレートはウサギ IgG 捕捉抗体でコートしていますので、サンプルに内在性ウサギ IgG が含まれる場合は干渉することが考えられます。



どのような血漿サンプルを推奨されますか。



本キットはクエン酸血漿サンプルを用いて検証しています。EDTA 血漿も最終 EDTA 濃度が 10 mM を超えなければ使用できると思われますが、これを超える場合、コンジュゲートの活性 に影響を及ぼす可能性があります。ヘパリン化血漿サンプルはおすすめしません。



#### 再懸濁した標準物質、抗体、及びコンジュゲートの保存方法を教えて下さい。



標準物質、抗体、及びコンジュゲートは 1回の使いきりで、-20℃ で保存して下さい。余りは破棄してください。キットに添付している 2本目のバイアルは他のアッセイ時にご利用ください。

- Q66
- 陽性コントロールは販売していますか。または何が適当でしょうか。
- A66

Enzo Life Sciences 社では陽性コントロールのご提供はしていません。もし特定サンプルタイプにおいてセロトニンが正確に回収できていることを確認する場合、既知量の標準物質をサンプルに添加し、キットを使ってアッセイを行い、回復率を評価して下さい。

### 

該当品番: ADI-900-065、ADI-901-065



どの動物種にも使えますか。



テストステロンは全動物種で保存されており、本キットで使用する抗体は動物種に関わらずテストステロンに結合します。従って、本商品は基本的に「動物種非依存性」です。ただし、もしマウス由来のサンプルで IgG を含む場合 (血清や血漿サンプルのように)、注意が必要です。ご提供するプレートはマウス IgG 捕捉抗体でコートしていますので、サンプルに内在性マウス IgG が含まれる場合は干渉することが考えられます。

- プロトコールに自分が対象とするサンプルタイプが記載されていませんでした。 どうしたら使えますか。
- Enzo Life Sciences 社ウェブサイトの「Application」及びキットのプロトコールに、本品を用いて良好に試験が行えたサンプルタイプをリスト化しています。サンプル内に十分量の分析物が存在し、マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後もその濃度が検量線範囲内であれば、リスト以外のサンプルタイプでもアッセイできるはずです。もしEnzo Life Sciences 社で検証していないサンプルタイプをご使用になる場合は、既報論文に詳細が記載されていないかご確認ください。
- Q69 ヒト血漿や血清サンプルを使えますか。
- Enzo Life Sciences 社のウェブサイトの「Application」及びキットのマニュアルに、本品を使って検証済みのサンプルタイプをリスト化しています。ヒト血清や血漿サンプルには、品番:ADI-900-176(Testosterone hight sensitivity ELISAキット)のご使用をおすすめします。
- Q70 自分で使用するサンプルタイプの最適な希釈率を教えて下さい。
- マニュアルの "Sample recoveries" セクションに推奨希釈率を記載しています。この値は、Enzo Life Sciences社にてマトリックス干渉を除くために必要だと決定した希釈率です。ただし、お客様ご自身で、対象サンプルにおける最適希釈率を決定されることをおすすめします。そのため、Enzo Life Sciences社の推奨希釈率は "出発点" としてご理解ください。
- Q71 最少サンプル量を教えてください。
- A71 アッセイにはウェルごとに 100 μlの希釈サンプルが必要です。そのためサンプル希釈率やサンプル数によってご判断ください。サンプルは 2ウェルを用いて (duplicate) 試験します。

- キットマニュアルの "Sample Handling" で、"サンプルによっては分析物の存在レベルが非常に低く、正確に測定するためには抽出が必要となる場合があります"とあります。どの濃度範囲のことを示しているのでしょうか。
- A72 サンプル中の分析物濃度がアッセイの検出限界未満である場合にのみ抽出が必要です。マトリックス干渉を除去するために十分な希釈を行った後でもサンプルから分析物が検出できるのであれば、抽出は必要ありません。試験の結果、ステロイドが読み取り不可であった場合、抽出が必要です。
- Q73 Steroid displacement reagent (SDR) のメカニズムを教えて下さい。
- 血液中のほとんどのステロイドはアルブミンや、より特異的な結合タンパク質などの担体タンパク質にイオン結合しています。サンプルを Steroid Displacement Reagent で処理することで、ステロイドと担体タンパク質間の電荷相互作用を破壊します。これによりサンプル中に存在するステロイド全量を測定することができます。
- どのようにサンプルを Steroid displacement reagent (SDR) 処理すればよいですか。
- 以下に従い、Steroid Displacement Reagent でサンプルを処理してください。
  - ・ボルテックスに短時間掛け、室温で5分静置する。

・99  $\mu$ l のサンプルごとに 1  $\mu$ l の SDR を添加する。

・その後、サンプル希釈を行う。

抽出サンプルの場合は、SDR 処理の必要はありません。

- Q75 なぜサンプル希釈が必要なのですか。
  - 希釈することにはいくつかの理由があります。サンプルが検量線を超える場合、本アッセイの 検量線内で測定できるように希釈が必要となる場合があります。また、サンプルによってはマトリッ クス干渉を防ぐために希釈が必要な場合があります。



#### サンプルマトリックス干渉はどうすれば防ぐことができますか。



サンプルマトリックス干渉を防ぐ最も簡単な方法は、アッセイバッファーでサンプルを希釈することです。最低必要希釈率を決定するには、1つのサンプルを2分割します。1つには既知量の標準物質を加えます。2分割とも、アッセイバッファーを用いて段階希釈系列をとります(1:2、1:4、1:8、1:16 など)。その後、これらのサンプル全てを本品で分析し、各希釈サンプルに対して濃度と回収率を決定します。回収率が添加分析物の量に対して80%~120%になった段階が最低必要希釈率です。

もし、サンプルを希釈後、分析物濃度が本アッセイでの分析範囲内に入るような場合は、その 希釈率が最良です。もし、そうならなかった場合は、マニュアルに沿って抽出作業が必要になりま す。



自分のサンプルにマトリックス干渉の可能性があるかを 確認する方法を教えて下さい。



マトリックス干渉とは、サンプルマトリックス(バッファー、pH、界面活性剤や溶剤などの添加物、タンパク質など)がアッセイを妨害し、不正確な結果を導くことを示します。このような干渉は誤った分析結果として現れます。

マトリックス干渉を試験する方法として、添加回収率の確認があります。代表とするサンプル(1つか 2つ)を 2分割します。1つには既知量の分析物(標準物質)を添加します。このサンプルは "添加サンプル (spiked sample)" と呼びます。同時に、添加サンプルと添加していないサンプルをアッセイします。添加物の回収率は、内在性寄与物(添加していないサンプルにおける測定濃度)を添加サンプルの全分析物濃度から減算し、添加サンプルに添加した標準物質濃度で割った後 100倍します。許容できる回収率は添加サンプルの 80%から 120% です。



希釈率で結果を掛け算すべきでしょうか。



はい。算出したデータに希釈率を掛け合わせ、サンプル中に存在する生物マーカー存在量の 正しい値を算出します。

- Q79
- 他のステロイドとの交差反応は確認してありますか。
- A79

はい。関連するステロイド化合物に関する交差性を評価し、キットマニュアルに記載しています。

- Q80
- ステロイドが対象のELISAキット用陽性コントロールは販売していますか。
- A80

陽性コントロールの提供はしていません。もし特定サンプルタイプから分析物を正確に回収できているかを確認する場合、既知量の標準物質をサンプルに添加し、キットを使ってアッセイを行い、回収率を評価して下さい。

# Arg<sup>8</sup>-Vasopressin ELISA kit ₽₽₽ 15129

該当品番: ADI-900-017A、ADI-901-017A

- Q81
- 動物種非依存性でしょうか。
- A81

バソプレシン分子配列は哺乳動物種間で保存されており、本商品は基本的に「動物種非依存性」です。使用文献に掲載されている動物種として、ヒト、マウス、ラットがあります。ウサギ血清を用いる場合は問題となる場合があります。これはバソプレシン自身の問題ではなく、本キットで使用している抗体が抗ウサギ IgG であるため、バックグラウンドシグナルが高くなる可能性があります。

- Q82
- ウサギ血清を使用しています。 このキットを使ってサンプル中のバソプレシンを検出できますか。
- A82

本キットでは抗ウサギ IgG を使用するため、ウサギサンプルは問題になる可能性があります。アッ

セイを行う前に、内在性ウサギ IgG を MWCO フィルターで除去するか、IgG removal キットで除去すれば、本品を使用できる可能性があります。ただし、Enzo Life Sciences社ではこの点を検討しておらず、お客様ご自身で最適化していただく必要があります。

# Q83

#### 培養上清以外のサンプルタイプに使えますか。

- A83
- 使用文献から血漿や尿も使えます。一般に、マトリックス干渉を防ぐためにサンプルを希釈して も、十分量の分析物が存在しその濃度が検量線の範囲内であるならば、アッセイは可能です。
- Q84

#### 唾液サンプルにも使えますか。

A84

Enzo Life Science 社では唾液サンプルでの試験は行っていません。しかし、唾液サンプルを使用した研究者がプロトコールを共有しています。本プロトコールはお客様のサンプルタイプによってはさらに最適化が必要であることをご留意下さい。

- 1. 少なくとも 1 № の唾液を回収する。サンプルは使用するまで -20℃ で保存する。
- 2. 遠心して粒子を沈殿させ、粘膜をチューブの底に落とす。
- 3. 上清を回収し、1 mlずつ分注する。
- 4. 遠心蒸発器 (SppedVac など) で 1 ml を蒸発させて乾燥させる。
- 5. 乾燥サンプルを 250 µ2アッセイバッファーで再懸濁する。

これらのサンプルは4倍濃縮されており、干渉因子を含まないようになっているはずです。

# Q85

#### バソプレシン抽出は必要ですか。



Enzo Life Sciences 社の Vasopressin ELISAキットには、どのサンプルタイプであっても正確な判定にバソプレシン抽出は必要ありません。



#### 血清や血漿サンプル中のバソプレシン抽出プロトコールの代替法はありますか。



以下が水溶性サンプルからのバソプレシン抽出の代替法です。固相抽出ステップがあります。

- 1. サンプルに等量の 0.1%トリフルオロ酢酸水溶液(TFA- $H_2$ O)を添加する。 $17,000 \times g$  で 15分間、<math>4% で遠心する。上清を回収する。
- 2. 200 mg C18 Sep-Pak カラムを 1 ml のアセトニトリルで平衡化し、さらに  $10\sim25$  ml の 0.1% TFA-H $_2$ O で平衡化する。
- 3. 上清を Sep-Pak カラムに通し、 $10\sim25~\text{ml}$  の  $0.1\%~\text{TFA-H}_2\text{O}$  で洗浄する。洗浄した 液は廃棄する。
- 4. 3 ml の溶出溶液(アセトニトリルが 60%、0.1% TFA- $H_2$ O が 40%)をゆっくり注ぎ、サンプルを溶出し、プラスチックチューブに回収する。
- 5. 吸引遠心蒸発器で乾燥させる。低温での乾燥を推奨。-20℃で保存。
- 6. アッセイバッファーに再懸濁し、すぐに測定する。サンプルによっては、再懸濁後、不溶性物質がみられることもあるのでサンプルをプレートに加える際、不溶性物質は入れないよう注意する。

抽出作業からのペプチド回収率は様々です。高い回収率を得られるよう作業の最適化が重要です。抽出効率がわかる方法は、放射性ペプチドの利用や添加回収試験などいくつかあります。



#### オキシトシンと Arg<sup>8</sup>-バソプレシン ELISA キットで分析する場合の サンプルの乾燥方法を教えて下さい。



サンプルは、吸引遠心器(SpeedVac など)や窒素やアルゴンの緩やかな気流で乾燥させます。サンプル数が多い場合、吸引遠心器の方がよいかもしれません。

サンプルを室温で一晩、SpeedVac に入れて放置します。翌日には乾燥し、吸引中は環境下に晒されていないため、サンプルの完全性は損なわれていないはずです。

緩やかな窒素の気流を使って乾燥させる場合、ガス供給部の下にガラスピペットを装着し、ピペットをサンプルチューブ内底部に吊るします。この方法を用いる場合、まずは石油エーテルを入れたチューブで練習し、どのくらい時間がかかるか確認してください。サンプルをフード内に放置して乾燥させることはおすすめしません。サンプルが酸化し、わずかに残った溶剤が EIA に影響を及ぼす可能性があるためです。

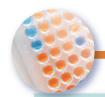


# エイコサノイド

# Urinary prostacyclin ELISA kit ■■D:12293

該当品番: ADI-900-025

- プロスタサイクリンの測定に 6-keto-PGF1α ELISA キットが使用できるのであれば、Urinary prostacyclin ELISA キットの目的は何ですか。
- 尿中では、プロスタサイクリンは 6-keto-PGF1 $\alpha$  に分解され、これがさらに分解されて 2, 3-dinor-6-keto-PGF1 $\alpha$  となります。従って、尿中の真のプロスタサイクリン量を概算する には、6-keto-PGF1 $\alpha$  と 2, 3-dinor-6-keto-PGF1 $\alpha$  の両方を測定する必要があります。 Urinary Prostacyclin ELISA キットでは、この両方を測定することができます。プロスタサイク リンの分解は別のマトリックスでは同じではありません。



### 代謝

### NGAL ELISA kit 記事D:12293

該当品番: BPD-KIT-036

- Q1 通常のELISAと rapid ELISAキットの違いは何ですか。
- Q2 ヒト以外にも使えますか。
- 本キットはヒトサンプルのみに対して開発され、検証されています。Enzo Life Sciences社では他に動物種に特化した NGAL ELISA キットも提供しています。これらはマウス、ラット、サル、ブタ、及びネコのサンプルに対して検証されています。
- Q3 血漿サンプルはどのように調製すればよいですか。
- A3 市販の抗凝固剤処理チューブ(EDTA 処理(ラベンダートップ)やクエン酸処理(薄青色トップ)など)に全血を回収します。ヘパリン処理したチューブ(緑色トップ)はいくつかのアプリケーションで使用が推奨されていますが、ヘパリンはしばしばエンドトキシン汚染されており、白血球を刺激してサイトカインが放出されることがあります。冷却遠心器で 1,000~2,000 × g、10分間遠心し、血漿から細胞を除去します(遠心ブレーキは使用しないこと)。2,000 × gで 15分間遠心することで血漿サンプルから血小板を分離できます。

得られた上清が血漿です。遠心後、直ちに液相(血漿)を新しいポリプロピレンチューブにパスツールピペットで移しとります。サンプルは操作中 2~8℃ に置いてください。もしすぐに血漿を使用しない場合は、0.5 mℓ ずつに分注し、-20℃以下で保存します。凍結解凍サイクルを繰返さないことが重要です。溶血、黄疸性、脂肪血症のサンプルはいくつかのテストには使えません。

- Q4 血清サンプルはどのように調製すればよいですか。
- 市販の採血チューブに全血を回収します。チューブは Becton Dickinson (BD) 社で [Vacutainer] という商品名で販売されています。全血回収後、室温で4時間、もしくは 4℃ で 24時間静置します。冷却遠心器で1,000~2,000 × g、10分間遠心し、クロットを除去します(遠心ブレーキは使用しないこと)。得られた上清が血清です。遠心後、直ちに液相(血清)を新しいポリプロピレンチューブにパスツールピペットで移しとります。サンプルは操作中 2~8℃ に置いてください。もしすぐに血清を使用しない場合は、0.5 ㎡ ずつに分注し、−20℃ 以下で保存します。 凍結解凍サイクルを繰返さないことが重要です。溶血、黄疸性、脂肪血症のサンプルはいくつかのテストには使えません。
- Q5 尿サンプルの調製方法を教えて下さい。
- A5 もし尿路に炎症や感染がある場合は、多形核好中球や他の細胞デブリを除去するために遠心が必要になります。しかし正常な尿サンプルも血清サンプルと同様に、遠心し、取り扱うことをおすすめします。
- Q6 サンプルタイプによってアッセイ結果は変わりますか。
- 血清、EDTA 血漿、クエン酸血漿、ヘパリン血漿、または尿のサンプルを使って分析する場合、添加回収率、直線性、精度に顕著な相違は見られませんでした。ただし、NGAL 濃度は、しばしば血漿に比べて血清中で高く、おそらく血液凝固における好中球の放出によるものだと思われます。



#### 調製したサンプルの保存方法を教えて下さい。



すぐにアッセイを行う場合は、サンプルを分注後、 $2\sim8^\circ$  で保存してください。または、 $-20^\circ$ で 2ヶ月以内、長期保存する場合は、 $-80^\circ$ 以下で保存してください。



### 酸化ストレス

## HO-1, ELISA kit RIFID:16555

該当品番: ADI-EKS-800



ヒト血漿と血清は使えますか。



本キットは細胞ライセートと組織抽出物の細胞内 HO-1 の測定を検証しています。プロトコールではこれらのサンプルタイプのみについて提言しています。HO-1 の血液中のレベルは通常低いと考えられていますが、本キットを利用してヒト血清や血漿の HO-1 検出を行っている研究者もいます。Enzo Life Sciences 社ウェブサイトの商品ページ下部にある「Product Literature References」より使用文献をご確認ください。血漿や血清に本キットをご利用になる場合、添加回収試験を行い、サンプルのパラメータを最適化することを強くおすすめします。この実験を行う場合、1~2種類の代表的なサンプルを、2群に分け、一方には既知濃度の HO-1スタンダード(キット添付)を添加し、もう一方には添加せず、両方に対して段階希釈系列をとります。これにより内在性と添加したものを比較して最適化することができます。添加回収試験では、どの希釈率で最適な直線性が得られるかわかるだけでなく、各希釈率における回収率が算出でき、どの希釈率で最も精度の高いデータが得られるかを確認できます。サンプル中に十分な HO-1が存在し、マトリックス干渉が除去可能な十分な希釈を行った後もデータの読み取りが可能な場合は、信頼して本キットを使用できます。

- Q2 細胞ライセートをすぐに使わない場合、 どのように取り扱い、保存すればよいですか。
- HO-1 分解を防ぐために、マニュアルに記載しているように、溶解バッファーにプロテアーゼインヒビターを添加してください。もしすぐに解析できない場合は、-80℃で保存して下さい。凍結融解を防ぐため、サンプルを分注しておくことを強くおすすめします。
- TMB 基質溶液は透明だと思っていましたが、緑青色がかっていました。 なぜ色が変わったのでしょうか。
- A3 TMB 基質に色がついたのはコンジュゲートによる汚染です。汚染を防ぐには、使い捨てピペットチップを各試薬の添加ごとに交換し、試薬を小分けしておくことが大切です。使い残りの溶液は、元の容器に決して戻さないで下さい。残りの試薬も汚染してしまう可能性があります。
- Q4 HO-2 や HO-3 と交差反応しますか。
- 本アッセイはヒト HO-1 に特異的であり、他のアイソトープであるヒト HO-2 や HO-3 とは交差性を示しません。
- Q5 本キットに含まれる、組換え型 HO-1 スタンダードの詳細を教えて下さい。
- A5 本スタンダードは *E.coli* で発現させた組換え型ヒト HO-1(UniProt ID:P09601)です。



# その他ELISAキット

# E. coli Host Cell Protein ELISA Kit RED:14138

該当品番: ENZ-KIT127-0001

- Q1 E.coli 宿主細胞タンパク質スタンダードはどのようにして産生されたものですか。
- 企業で使用されていて、生物製剤の製造に使用されているほとんどの E.coli 株は K12株由来です。E.coli 宿主細胞タンパク質 ELISAは 2種の E.coli K 12株から抽出した水溶性タンパク質を使って製造しています。Enzo Life Sicences 社で作製した 2種の抗体を用いた交差性カバー試験では、80%以上のカバー率でした。言い換えると、株1 の抗体で株2 の宿主細胞タンパク質の 80% が検出でき、その逆も同様でした。E.coli 宿主細胞タンパク質の免疫原性が高いことから、E.coli HCP ELISAがほとんどの E.coli 株を網羅できると見込んでいます。
- Q2 E.coli やCHO 宿主細胞タンパク質に対するポリクローナル抗体は 精製されていますか。またその精製方法を教えて下さい。
- これらの抗体は GE Healthcare 社のMabSelect™(Protein A affinity column) を用いて精製しています。
- E. coli 宿主細胞由来タンパク質 (HCP) ELISA キット (品番: ENZ-KIT-127-0001) と CHO 宿主細胞由来タンパク質 (HCP) ELISA キット (品番: ENZ-KIT-128-0001) に含まれる抗体は、なぜ HCP アフィニティカラムではなく プロテイン A アフィニティカラムを使用しているのですか。
- A3 一番の理由は、商品の一貫性のためです。プロテインA アフィニティカラムの歴史は古く、非常によく開発されたカラムで、信頼性も十分あり、多くの巨大バイオ技術企業や製薬会社に抗体

精製用として使用されています。またロットが変わっても抗体の品質は同じままです。一方で、HCPアフィニティカラムは何度かカスタム構築され、あまり強靭なものではありません。時間が経つと、HCPアフィニティカラムは変質し、抗体の品質が悪くなります。HCPアフィニティカラムよりプロテインAアフィニティカラムを選ぶことは、感度を犠牲にすることになります。しかし、FDAでは HCPレベル 1~100 ppmの生物製剤であれば容認できるとしています。キットの感度限度は 2.5 ppm(検量線の 10 ng/ml データポイントをもとに、4 mg/ml の薬物基質を添加した場合)です。この値は HCP分析に対する規制上の要求事項を満たしています。

# CHO host cell protein ELISA kit EFED:14130

該当品番: ENZ-KIT-128-0001

- Q4 CHO宿主細胞タンパク質スタンダードはどのように産生されたものですか。
- A4 CHO宿主細胞タンパク質スタンダードは複数の CHO K1細胞株を既知組成培地で浮遊培養 し、調製しています。細胞培養条件は、実際の条件を模倣しています。馴化培地から宿主細胞タンパク質を回収し、濃縮後、スタンダードとして使用し、また抗 CHO宿主細胞タンパク質抗体産 生における免疫原として使用しています。
- Q5 E.coli や CHO 宿主細胞タンパク質に対するポリクローナル抗体は 精製されていますか。またその精製方法を教えて下さい。
- これらの抗体は GE Healthcare社のMabSelect™ (ProteinA affinity column) を用いて精製しています。

Q6

E. coli 宿主細胞由来タンパク質 (HCP) ELISA キット (品番: ENZ-KIT-127-0001) と CHO 宿主細胞由来タンパク質 (HCP) ELISA キット (品番: ENZ-KIT-128-0001) に含まれる抗体は、なぜ HCP アフィニティカラムではなくプロテイン A アフィニティカラムを使用しているのですか。

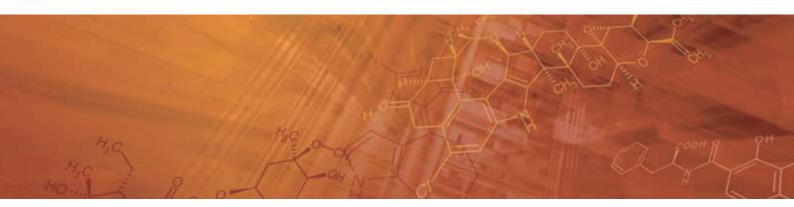


一番の理由は、商品の一貫性のためです。プロテインA アフィニティカラムの歴史は古く、非常によく開発されたカラムで、信頼性も十分あり、多くの巨大バイオ技術企業や製薬会社に抗体精製用として使用されています。またロットが変わっても抗体の品質は同じままです。一方で、HCPアフィニティカラムは何度かカスタム構築され、あまり強靭なものではありません。時間が経つと、HCPアフィニティカラムは変質し、抗体の品質が悪くなります。HCPアフィニティカラムよりプロテインA アフィニティカラムを選ぶことは、感度を犠牲にすることになります。しかし、FDA では HCP レベル 1~100 ppmの生物製剤であれば容認できるとしています。キットの感度限度は 2.5 ppm(検量線の 10 ng/ml データポイントをもとに、4 mg/ml の薬物基質を添加した場合)です。この値は HCP分析に対する規制上の要求事項を満たしています。



# **SCREEN-WELL® COMPOUND LIBRARIES**

SCREEN-WELL® 化合物ライブラリ



### **Toxicity**

心毒性

肝毒性

造血毒性

筋毒性

腎毒性

### **Drug Repurposing**

FDA 承認薬

# **Cancer Inhibitor Screening**

がん

### **Pathway Targeting**

オートファジー エピジェネティクス Wnt パスウェイ

### **Chemical Genomics**

ICCB 既知生理活性 イオンチャネルリガンド キナーゼ ホスファターゼインヒビター プロテアーゼインヒビター REDOX

## **Receptor De-Orphaning**

神経伝達物質 生理活性脂質 オーファンリガンド 内在性カンナビノイド 脂肪酸 核内受容体リガンド

### **Lead Screening**

天然物

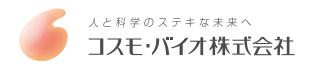
Stem cell regulatory/ Signaling pathway screening

幹細胞

#### 記事ID 12110

詳しい情報はコスモ・バイオ Web サイトへ

本商品はすべてお見積りが必要な商品です。お見積りにあたって注意事項がいくつかございますのでお見積り依頼書に添付してある注意事項をご一読いただきますようお願い申し上げます。 なお、お見積り依頼書は、当社 WEB よりダウンロード可能です。



取扱店

お願い / 注音事項

記載の社名・商品名等の名称は、弊社または各社の商標または登録商標です。

(希望販売価格) 記載の希望販売価格は 2019 年 10 月 1 日現在の価格で、予告なく改定される場合があります。また、「希望販売価格」「キャンペーン中の参考価格」は参考価格であり、販売店様からの実際の販売価格ではございません。ご注文の際には販売店様へご確認くださいますようお願い申し上げます。表示価格に消費税は含まれておりません。

使用範囲)記載の商品およびサービスは全て、「研究用」です。人や動物の医療用 臨床診断用・食品用等としては使用しないよう、十分ご注意ください。



人と科学のステキな未来へ

## コスモ・バイオ株式会社

— 商品の価格・在庫・納期に関するお問い合わせ —

TEL: 03-5632-9630(受付時間 9:00 ~ 17:30)

FAX: 03-5632-9623

— 商品に関するお問い合わせ -

TEL: 03-5632-9610(受付時間 9:00 ~ 17:30)

FAX: 03-5632-9619

本社所在地 〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル

http://www.cosmobio.co.jp/