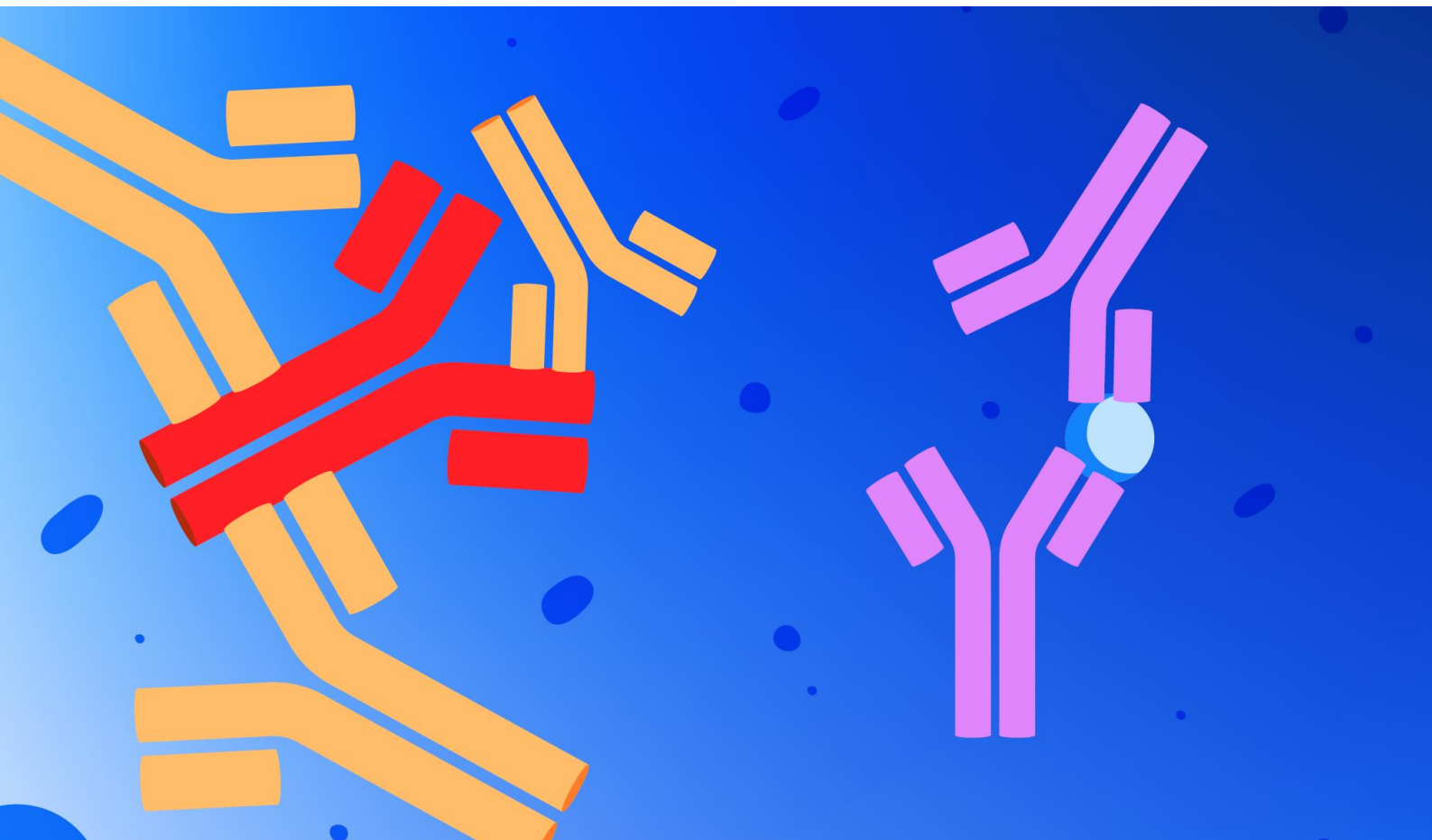


免疫診断における正確性と品質向上のために Immunoassay Interference Blocker (IIB)

免疫干渉反応ブロッキング剤 Vol. 1

固相表面における干渉(非特異的干渉)の阻害

および 抗体における特異的干渉の阻害(特化版)



ロシュ カスタムバイオテックが提供する 免疫干渉反応ブロッキング剤



ロシュ カスタムバイオテックの免疫干渉反応ブロッキング剤を使用することで、非特異的干渉およびHAMA抗体特異的干渉の両方において、優れた感度、精度、ハンドリングを実現します。

干渉の排除は、最先端のイムアッセイ開発およびキット製造において、重要な差別化要因であり、かつ完全な克服が困難な、永遠の課題です。

当社の強力な免疫干渉反応ブロッキング剤は、お客様の厳格な検査アプリケーションにおいて不可欠なコンポーネントとなります。



最終段階の結晶化用
GMP製造 backmix reactor

For further processing only.

COBAS and ELECSYS are trademarks of Roche.
Other brands or product names are trademarks of their respective holders.

目次

非特異的干渉	3
抗体における特異的干渉: ヒト抗マウス抗体 (HAMAs)	4
MAB33 ファミリー: 製品特性	6
陽性コントロール: HAMA Serum Type 1 および 2	7
比較試験	8
各IIB(免疫干渉反応ブロッキング剤)の効果	9
各種アッセイにおけるロシュIIBの組み合わせ	10
個別の天然血清 (native sera) での検討	11
参考文献および特許	11

非特異的干渉

非特異的干渉(バックグラウンドの上昇)は、主にアッセイの構成物が固相表面に非特異的に結合することによって引き起こされ、すべてのイムノアッセイで発生する可能性があります。相互作用の性質は多価または単価です。非特異的干渉を効率的にブロッキングすることで、以下が可能になります：

- バックグラウンドシグナルの低減
- アッセイの感度とダイナミクスの向上
- 試薬の安定性の改善

ロシュ・カスタムバイオテックの製品群は、ロシュ・ダイアグノスティックスの免疫検査プラットフォーム（エクルーシス試薬、コバスシリーズ）向けに開発し、その効果を実証済みで、最も一般的な干渉タイプに対応する3つのクラスの特異的な免疫干渉反応ブロッキング剤（IIB）で構成されています：

- すべてのアッセイ向けの基本原料
- より高度なアッセイ向けのプレミアム原料
- 感染症アッセイにおいても低バックグラウンドを実現するプレミアム多価原料

要求されるアッセイパフォーマンスに応じて、ロシュのIIBは単独の試薬として、あるいは組み合わせて使用可能です。

製品情報:

プレミアム非特異的多価干渉阻害剤

Poly BSA, Type I	Poly BSA, Type II
11 866 737 103	11 816 438 103
直径30 nm。 重合およびアセチル化。 負に帯電。疎水性相互作用を回避。多価干渉（多価抗体/コンジュゲートまたは抗原）の排除に適応。 感染症アッセイで優れた結果を提供。	直径40 nm。 重合およびスクシニル化。 負に帯電。疎水性相互作用を回避。多価干渉（多価抗体/コンジュゲートまたは抗原）の排除に適応。 感染症アッセイで優れた結果を提供。

プレミアム非特異的干渉阻害剤

BPLA Type I	BPLA Type IV
11 726 536 103	11 726 544 103
BSA Vよりも高純度グレード（HPLCで95%以上）。 感度への要求が高いアッセイ（甲状腺、腫瘍マーカーなど）で使用。 T3,T4, Estradiol, Testosterone, Progesterone 濃度試験済み	BSA Vよりも高純度グレード（HPLCで95%以上）。 感度への要求が高いアッセイ（甲状腺、腫瘍マーカーなど）で使用。

ベーシック非特異的干渉阻害剤

BSA V	Bovine IgG (PAB\leftrightarrow R-IgG)	Sheep IgG (PAB\leftrightarrow S-IgG)	Rabbit IgG (PAB\leftrightarrow K-IgG)
10 738 328 103	11 293 621 103	10 717 606 103	10 912 280 103
固相表面上の未結合部位を飽和させる。	抗体の固相への非特異的吸着や、その他の交差反応性・非特異的な抗体相互作用を回避。5%の凝集IgGを含む。	羊抗体を使用したアッセイにおける非特異的な抗体干渉を低減。	ウサギ抗体を使用したアッセイにおける非特異的な抗体干渉を低減。

特異的干渉： ヒト抗マウス抗体 (HAMAs)

偽陽性または偽陰性のアッセイ結果を招く可能性がある特異的なアッセイ干渉は、被験者サンプルの最大30~40%で報告されているヘテロ親和性抗体(ヒト抗動物抗体)によって引き起こされます(図1参照)。ヘテロ親和性抗体は、IgA、IgE、IgG、IgM、またはIg(n)として分類されま

す。これらは多価または一価の特異性を持ち、様々な濃度範囲で発生し、アッセイシステムの特定の抗体に向けられます。ほとんどの診断用イムノアッセイはマウスモノクローナル抗体を使用しているため、ヒト抗マウス抗体(HAMA)がアッセイ干渉の主な原因となります。レベルの異なる干渉阻害剤は、特定のアッセイデザインに対する詳細な知識と、より適切な試薬の選択に依存します(表1参照)。

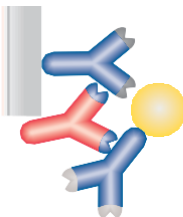
アッセイフォーマット	IgG ₁ /IgG ₁	IgG ₁ /Fab ₁	IgG _{2a} /IgG _{2b}
標準的な干渉阻害剤	MAB33 IgG ₁	MAB33 IgG ₁	MAB 33 IgG _{2a/2b} Poly
より優れたレベルの干渉阻害剤	MAB33IgG ₁ /IgG ₁ Poly	MAB33 IgG ₁ /Fab ₁ Poly	
最高レベルの干渉阻害剤	Framework IgG	Framework IgG	

表1: 特異的干渉阻害剤のレベル

誤った結果

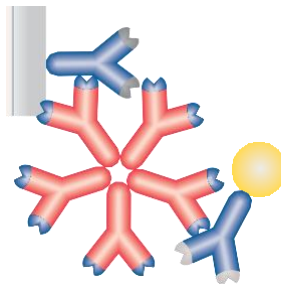
疑陽性結果:

干渉IgG抗体を伴うサンドイッチアッセイ



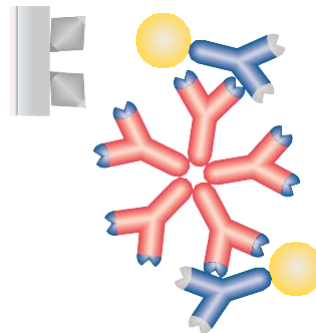
疑陽性結果:

干渉IgM抗体を伴うサンドイッチアッセイ



偽陰性結果:

検出抗体が干渉IgM抗体によってブロックされている



正しい結果

干渉抗体のないサンドイッチアッセイ

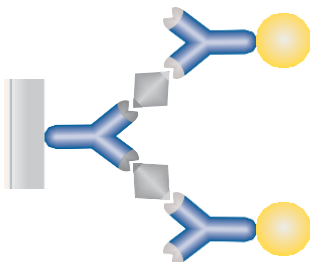


図1: 特異的干渉の例

ロシユのIIB 製品群は、必須の干渉要因を考慮することで、効果的かつ高度に特異的なHAMA干渉阻害のソリューションを提供します：

1. 特異的なサンプルの干渉

(一価 または 多価)

自然発生的なHAMAは、主に合理的な説明がつかない高いHAMA力価を持つ人々に見られます。これらのHAMAは特異性が低く、多価です（HAMA Serum Type 1 に該当）。

免疫応答性のHAMAは、主に治療目的でモノクローナル抗体を使用した結果として生じます。通常、結果として生じるHAMAは特異的であり、一価または二価です（HAMA Serum Type 2 に該当）。

詳細なアッセイフォーマットに応じて、基本的な一価の IIB の使用で十分な場合があります。多価因子が存在する場合は、さらなる特異的試薬の添加が必要になる場合があります。

2. HAMA攻撃ポイントの特定

アッセイデザインは、干渉阻害剤の性質に強く影響します。IgG1 アッセイには IgG1 への干渉阻害が必要であり、IgG2a アッセイには IgG2a への干渉阻害が必要です。さらに、抗体の断片化(フラグメント化)も重要です。Fab 断片が関与している場合、干渉阻害剤の一部としてもFab 断片を構成する必要があります。加えて、高感度アッセイでは、特定のフレームワーク領域を考慮しなければなりません(図2参照)。

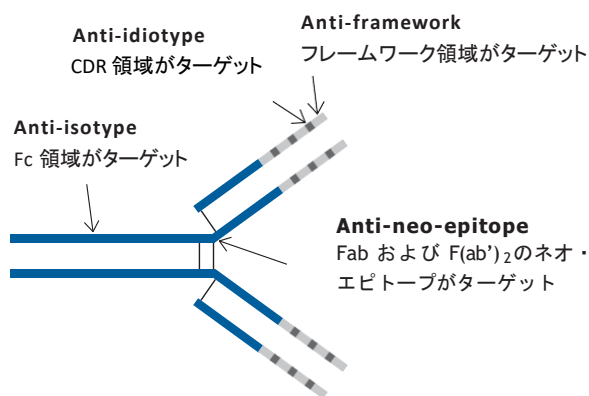


図2: 特定の抗体領域をターゲットとする HAMA 干渉

製品情報：基本的な特異的干渉阻害剤

一価のIIB		多価のIIB		
MAB33 IgG ₁	Framework IgG	MAB33 IgG ₁ /IgG ₁ Poly	MAB33 IgG ₁ /Fab ₁ Poly	MAB IgG _{2b} /Fab _{2a} Poly
11 200 941 103	03 369 846 103	11 939 661 103	09 458 808 103 (0.25g) 09 458 816 103 (2g)	11 355 830 103
インタクトな IgG1 を採用するアッセイへの処方用。一価/二価干渉の阻害に特に適している。	抗体のフレームワーク領域に影響を与える、モノマーかつ高度に特異的な干渉を阻害する。	インタクトな IgG1 を採用するアッセイ処方において、多価干渉の面でより効果的。	Fabコンジュゲートを使用するアッセイ用。	主に IgG2a および/または IgG2b 抗体、および Fab ネオ・エピトープに対する多価干渉をカバーする。

MAB33 ファミリー: 製品特性

	MAB33 IgG ₁	MAB33 IgG ₁ /IgG ₁ Poly	MAB33 IgG ₁ /Fab ₁ Poly	MAB IgG2b/Fab _{2a} Poly	Framework IgG
カタログ番号	11 200 941 103	11 939 661 103	09 458 808 103	11 355 830 103	03 369 846 103
免疫源	h CK-MM	h CK-MM	h CK-MM	DPH (2b), S-AMY (2a)	PTH
Spleen Donor	Mouse balb/c	Mouse balb/c	Mouse balb/c	Mouse balb/c	Mouse balb/c
抗体クラス	IgG ₁ , kappa	IgG ₁ , kappa	IgG ₁ , kappa	IgG _{2b} , kappa/ IgG _{2a} , kappa	IgG ₁ , kappa
分子構造	IgG ₁ , モノマー	IgG ₁ と重合した IgG ₁ ; 規定された分子量分布	IgG ₁ と重合した IgG ₁ -Fab; 規定された分子量分布	IgG _{2b} と重合した IgG _{2a} -Fab; 規定された分子量分布	IgG ₁ , モノマー
外観	白色の凍結乾燥品	凍結した液体	白色の凍結乾燥品	白色の凍結乾燥品	白色の凍結乾燥品
調整方法	カリウムリン酸、NaCl、およびシヨ糖 6% を含む溶液から凍結乾燥	カリウムリン酸、NaCl、およびシヨ糖 4% を含む、黄色で澄明からわずかに乳白色を呈する溶液	カリウムリン酸、NaCl、およびシヨ糖 6% を含む溶液から凍結乾燥	カリウムリン酸、NaCl を含む溶液から凍結乾燥	カリウムリン酸、NaCl を含む溶液から凍結乾燥
溶解性 (凍結乾燥品を再構成した後)	0.9% NaCl 中で無色澄明からわずかに乳白色を呈する溶液 (c = 10 mg/ml)	(液体のため再構成不要)	0.9% NaCl 中で無色澄明からわずかに乳白色を呈する溶液 (c = 10 mg/ml)	0.9% NaCl 中で無色澄明からわずかに乳白色を呈する溶液 (c = 5 mg/ml)	0.9% NaCl 中で無色澄明からわずかに乳白色を呈する溶液 (c = 10 mg/ml)
純度 (HPLC/Mono Q)	≥90 area% IgG	≥90 area% IgG	-	ラベルを参照	≥90 area% IgG
機能活性	≥80% (マスターロットに基づくMTP アッセイによる相対力価)	≥80%	≥80%	≥80%	≥80%
安定性	-25 to -15° C 24 カ月	-90 to -60° C 36 カ月	-25 to -15° C 24 カ月	-25 to -15° C 24 カ月	-25 to -15° C 24 カ月
	凍結融解の繰り返しを避けること				
使用濃度	50– 5000 µg/ml Incubation buffer	0.5– 500 µg/ml incubation buffer	0.5– 500 µg/ml incubation buffer	0.5– 500 µg/ml incubation buffer	20– 5000 µg/ml incubation buffer
	凍結融解の繰り返しを避けること				
使用できない測定系	CK-MM および CK-MB	CK-MM および CK-MB	CK-MM および CK-MB	Diphenylhydantoin, ヒト腓液アミラーゼ	副甲状腺ホルモン (PTH)

陽性コントロール: HAMA Serum Type 1 および Type 2

ロシュ・カスタムバイオテックは、異好抗体による干渉に対するアッセイの精度評価用に、再現性のある2種類のHAMA干渉の血清を提供しています。

これらの血清は、アッセイの開発や、品質管理に使用可能です。どちらも強い干渉を引き起こすため、日常のルーチン分析用に最大1:20まで希釈して使用できます。

各個人の免疫システムに応じて、自然発生的なHAMAおよび免疫応答性のHAMAの両方のタイプの干渉は、広い範囲で変動する可能性があります。

製品情報: HAMA Sera

	HAMA Serum, Type 1	HAMA Serum, Type 2
カタログ番号	11 767 275 103	05 167 060 103
溶解性	凍結乾燥品1パイアルを1 mlの水を添加して元に戻してください。	
調整方法	正常範囲内の血清成分を含む凍結乾燥血清です。保存剤は添加されていません。	
干渉活性	健康なドナーに発生するHAMA Type 1の干渉を示します。 主に多価です。	モノクローナル抗体による治療後に発生するHAMA Type 2の干渉を示します。 主に一価または二価です。
感染項目		
HBsAg	陰性	陰性
Anti HIV 1+2	陰性	陰性
Anti HCV	陰性	陰性
HIV 1 Ag	陰性	陰性
分析対象物の濃度	ロシュのエクルーシスで測定	
AFP	2.0 IU/ml	3.5 IU/ml
CEA	1.3 ng/ml	1.2 ng/ml
FSH	10.0 mIU/ml	7.0 mIU/ml
HCG	2.8 mIU/ml	3.0 mIU/ml
LH	8.1 mIU/ml	6.7 mIU/ml
Prolactin	160.7 µIU/ml	114 µIU/ml
PSA total	0.3 ng/ml	0.3 ng/ml
PSA free	0.06 ng/ml	0.05 ng/ml
TSH	2.5 µIU/ml	1.6 µIU/ml
TN-T	検出限界以下	0.01 ng/ml
安定性	-25°Cから-15°Cで24ヶ月間保存可能。凍結融解の繰り返しは避けてください。	
備考	原料のヒトドナー血清は、FDAで承認された方法に従って試験されており、HBsAg、HbC、抗HIV 1+2、およびHCVが陰性であることが確認されていますが、本製品は患者検体と同様に注意深く取り扱う必要があります。HAMA Serum, Type 2は、IgG2aまたはIgG2b抗体に基づくイムノアッセイにおいて、IgG2aまたはIgG2b抗体が干渉阻害剤として使用されている場合に、HAMAコントロールとして使用できます。	

比較試験

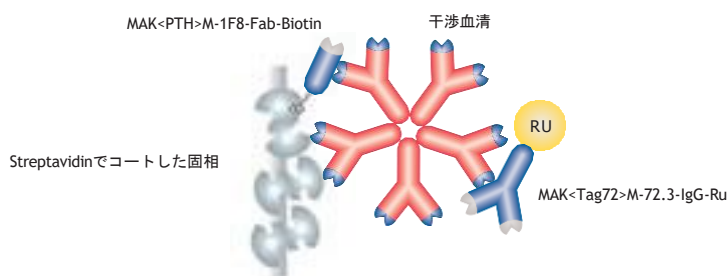
ロシュの免疫干渉反応ブロッキング剤(IIB)の阻害効率を、競合製品と比較して、様々な濃度および混合状態で試験しました(図3参照)。

広範な比較データを生成するために、多数の干渉サンプルを測定しました：

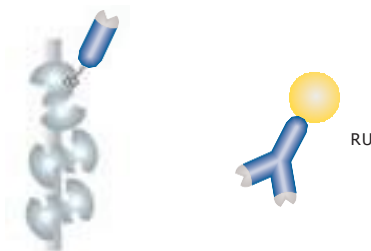
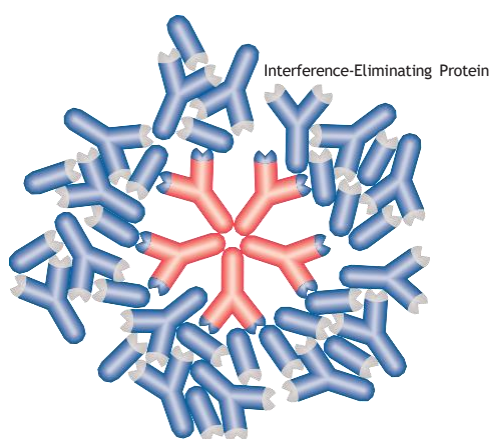
- ・ロシュのHAMAコントロール血清2種 (Type 1 および Type 2)
- ・23種類の個別のネイティブHAMA干渉サンプル
- 1種類の正常ヒト血清

ネイティブHAMA血清はすべて、通常の測定において信頼性の低い結果を示しました。

すべてのデータは COBAS および エクルーシスのプラットフォームで生成されました。



IIBを添加しないアッセイ：アッセイデザインは、サンプル中に干渉が存在する場合にのみシグナルを生成する2つの異なるIgG1抗体に基づいています。



IIBを添加したアッセイ：免疫干渉反応ブロッキング剤(IIB)を添加することにより、干渉が阻害され、サンドイッチの形成が遅くなります。IIBの効果が高いほど、アッセイ(B)におけるシグナルは低くなります。

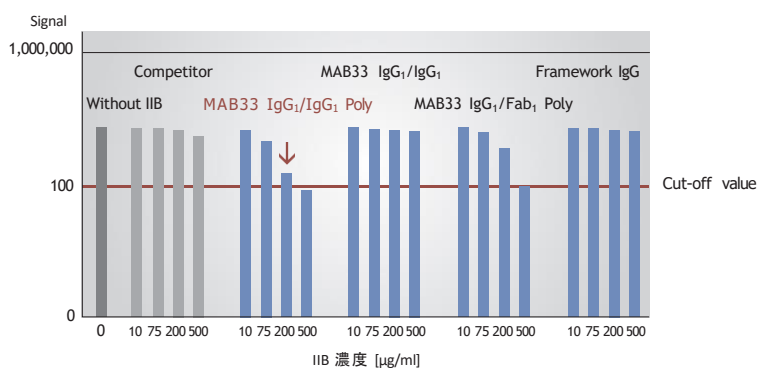
図3：競合的なアッセイの原理

IIB（免疫干渉反応ブロッキング剤）の効果

HAMA Serum Type 1 および Type 2 をコントロールとして用いて、異なるIIBを比較しました。IIBなし、競合他社のIIB、およびロシュの4種類のIIBを使用して、試薬バッファー中で 10 - 500 $\mu\text{g/ml}$ の範囲の濃度でデータを取得しました（図4参照）。

その結果、効果とコストの面で、最適なIIB濃度範囲は、試薬バッファー中で 75 - 200 $\mu\text{g/l}$ であることが示されました。

HAMA Serum Type 1: 一般的な多価の干渉を示し、MAB33 IgG₁/IgG₁ Polyによって最もよく阻害されます。



HAMA Serum Type 2: 高度に特異的で一価の干渉に関連しています。Framework IgG が干渉阻害の最適なソリューションを提供します。

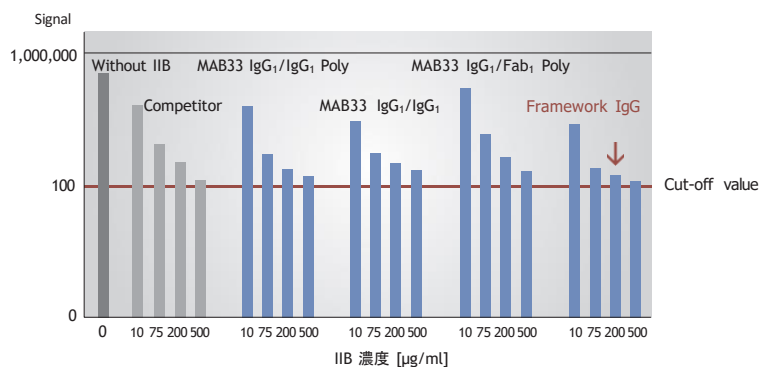


図4: 異なるタイプの干渉と、様々なIIBによる影響

本データにより、サンプル干渉のタイプと、効果的な干渉阻害ソリューションの間には、強い相関関係があることが示されました。

それぞれの正常血清では、カットオフ値は1000 RUに設定されています。

様々なアッセイにおけるロシュ IIB の組み合わせ

MAB33 IgG₁/Fab₁ Poly の効果

MAB33 IgG₁、MAB33 IgG₁/IgG₁ Poly および MAB33 IgG₁/Fab₁ Poly の干渉阻害の強さを、Fab エピトープを含む通常の CEA アッセイで比較しました。

HAMA Serum Type 1 を干渉サンプルとして使用しました。各試薬は6.25 – 400 µg/ml の濃度で CEAアッセイバッファーに添加されました (図 6 および 表 2 参照)。

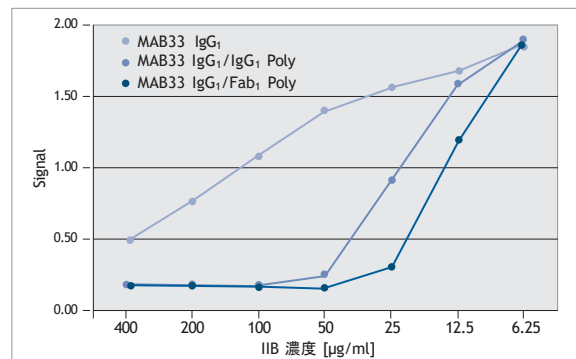


図 6: CEA アッセイ IgG₁/Fab₁

HAMA Serum Type 1 は最も一般的な多価干渉を表します。このアッセイフォーマットでは、

MAB33 IgG₁/Fab₁ Poly は、MAB33 IgG₁/IgG₁ Poly よりも効果的でした。

アッセイ抗体	免疫干渉反応ブロッキング剤 (IIB)	IIB 濃度 [µg/ml 試薬バッファー]
IgG _{2a} - IgG ₁	MAB33 IgG ₁ Poly + MAB33 IgG _{2b} /Fab _{2a} Poly	50 + 50
IgG _{2a} - IgG _{2b}	MAB33 IgG _{2b} /Fab _{2a} Poly	100
IgG ₁ - IgG ₁	MAB33 IgG ₁ /IgG ₁ Poly or MAB33 IgG ₁ /IgG ₁ Poly + MAB33 IgG ₁	100 50 + 50
IgG ₁ - 高度に特異的な IgG ₁	MAB33 IgG ₁ /IgG ₁ Poly + Framework IgG	50 + 50
IgG ₁ - Fab ₁	MAB33 IgG ₁ /Fab ₁ Poly	100

表2: 異なるアッセイフォーマットにおける効果的なIIB製品群の組み合わせ例

IIB濃度は、試薬バッファー中の抗体濃度 100 µg/ml に基づく概算値です。すべてのデータと事例はコバスおよびエクルーシスのプラットフォームでの結果に基づいています。IIBの組み合わせは、個別のテストの要件に合わせて最適化する必要があります。

Products are for further processing only.

個別のネイティブ血清の検討

ロシュ IIB のパフォーマンスは、23種類のネイティブ干渉血清の検討によって実証されました(図5参照)。

競合他社の干渉阻害剤(IIB)、ロシュのIIB (3種類)、ロシュIIBの組み合わせ (2種類) を、すべて100 µg/ml 試薬バッファーで試験しました。

- IIB の添加無し
- MAB33 IgG₁/IgG₁ Poly
- MAB33 IgG₁
- Framework IgG
- MAB33 IgG₁/IgG₁ Poly + MAB33 IgG₁ (50+50)
- MAB33 IgG₁/IgG₁ Poly + Framework IgG (50+50)
- 競合他社の干渉阻害剤

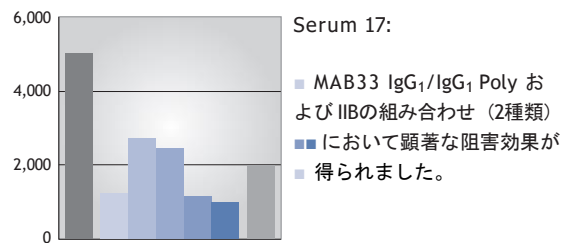
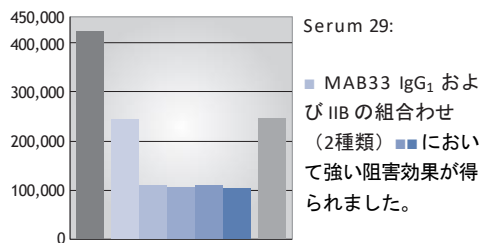
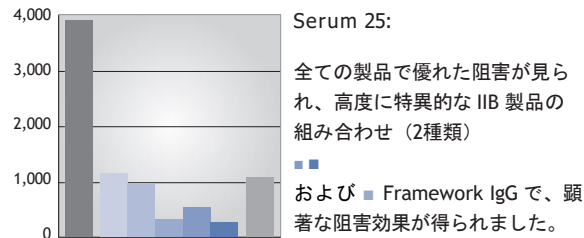
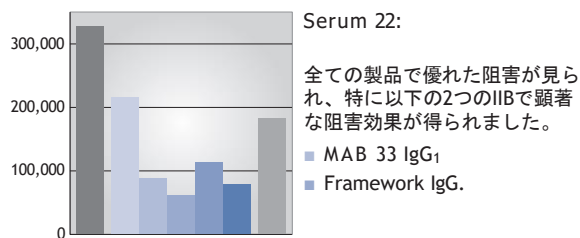


図5: 選択した4種類の血清における結果

参考文献

- 1) J. Bjerner, K. Nustad, L.F. Norum, K.H. Olsen, O.P. Borner, Clin. Chem. 2002; 48(4): 613-21
- 2) L.J. Kricka, Clin. Chem. 2000; 46: 1037-8
- 3) L.J. Kricka, Clin. Chem. 1999; 45(7): 942-56
- 4) C. Selby, Ann. Clin. Biochem. 1999; 36: 704-21
- 5) S. Nussbaum, H.J. Roth, Anticancer Res. 2000; 20 (6D): 5249-52
- 6) F. Adair, Drug discovery world 2002; 53-9
- 7) M.J. Glennie, P.W.M. Johnson, Immunology today; 21(8): 403
- 8) L.M. Boscato, M.C. Stuart, Clin. Chem. 1986; 32: 1491-5
- 9) H. Baumgarten, K. Kürziger, J. of Immunological Methods 1989; 122: 1-5

特許

Application of polymerized or aggregated antibodies and framework IgG used for interference elimination is protected for Roche by the patents mentioned below.

- 1) National equivalents of EP 0 974 841,
- 2) US 6,331,402

免責事項

製造用途に限定

免責事項 (Poly BSA Type I および Poly BSA Type II に関して)

体外診断用医薬品および医療機器製造用途に限定

custombiotech.roche.com

お問い合わせ先

ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーフロント本部 第5統括
カスタムバイオテックグループ

電話 03 6634 1046
Fax 03 5479 0585

japan.custombiotech@roche.com

2026.05 version Roche Diagnostics K.K.

製品ラインナップの
詳細はこちら



Roche Custom Biotech Japan
LinkedInアカウントはこちら



LinkedIn