

金コロイドを使ったラテラルフローアッセイにおける偽陽性の特定と集約のご提案

偽陽性が起きた時、最も明らかな原因について最初に考える必要があります。コンジュゲートと捕捉抗体の間における相互作用や電荷相互作用、疎水性能、金-硫黄結合などを起因とした問題です。これらは抗体間における非特異的な交差反応であるかもしれませんが、特異的なサンプルの特長やメンブレンの流量特性も観察されることでしょう。適切なコントロールを含めることにより、問題の原因を探る手がかりとなります。

この問題は1つずつパラメータを変えながら消去法を使って、体系的にアプローチする必要があります

以下は問題の解決を考えるための問いかけの順番です。

- 1. 電荷が問題となっている場合：**pHを変化させる（5～11）ことで、正電荷が発生しているか、金ナノ粒子をキャプチャーラインに引き寄せているかどうかを確認することができます。
- 2. 疎水性能が問題となっている場合：**固相、キャプチャーライン、金ナノ粒子コンジュゲートで発生している可能性があります。界面活性剤の濃度を変化させることで、疎水性の問題によるものかどうかを判断することができます。
- 3. 金とチオール基の相互作用が問題となっている場合：**キャプチャーラインに存在するシステインまたはアルギニン基が原因である可能性があります。以下に示すように、さらに検査を行うことで、問題の原因が明らかになるはずですが。

以下のほとんどのテストでは、コンジュゲートとサンプルを適切なバッファーに入れたマイクロプレートウェル内でストリップ試験を実施できます。これによって、複数のテストを迅速かつ簡単に行うことができます。ただし、乾燥工程に問題がある可能性もあり、その場合は完全なテストストリップを組み立てる必要があります。

検査キットの部材と組み立てに関連した4つの大きな問題があります

1. 金ナノ粒子が問題となっている場合

テストコンジュゲートと同じ濃度およびpHの代替コンジュゲート（例えば、BSAウシ血清アルブミン）を使用することによって決定することができます。それでも問題がある場合は、電荷効果である可能性が高いと考えられます。問題が解消した場合は、元のコンジュゲートの問題である可能性が高いと考えられます。その他のコントロールとしては、ポリ抗体とモノクローナル抗体の類似したコンジュゲートなどがあります。

2. 捕捉抗体が問題となっている場合

このテストのコントロールは、同種または異なる種の代替となる捕捉抗体です。しかし、これらを使用する前にBSAのような非特異的なタンパク質でストライピングすることで、問題が他の場所にあるかどうかを判断することができます。また、この問題は抗体そのものではなく、関連する防腐剤に関連している可能性もあります。その場合は適切なバッファー（例として10 mmol PO₄）に対する透析が有効となります。もし、別の抗体を使用しても問題が解決しない場合は、明らかに捕捉抗体の問題であり、交換あるいはクリーンアップが必要です。

3. 添加した化学物質が問題となっている場合

結合体も固相も、テストキットの組み立ての際に化学物質で前処理をすることができます。これらは塩類、界面活性剤、タンパク質、糖類、ポリマーなどです。これらの中には、偽陽性をもたらすものもあります。

問題の根源を突き止めるためにそれぞれの濃度を調整することは非常に簡単なことです。これらの成分の典型的な濃度範囲は、界面活性剤0.1～1%、糖類0.1～5%、タンパク質0.01～1%、高分子0.01～1%、塩類10～100 mmolです。これらの範囲を超える濃度では、問題が発生する可能性が十分にあります。

4. サンプルが問題となっている場合

サンプルはその性質上変動しやすいため、酸性度、試料の汚れ、システイン含有量などの要因により、先に述べたように予測できない偽陽性を引き起こす可能性があります。これが事実かどうかを判断するために、類似のソースや代替ソースのサンプルを多数テストすることをお勧めします。最も簡単な調整はサンプルの酸性度であり、電荷の引き寄せがサンプルの問題であるかどうかをすぐに判断することができます。サンプルによってはプレフィルトレーションステップを別工程として、またはテストに組み込んで行う必要があります。

弊社のウェブサイトもご覧ください www.pall.com/jp/ja/medical

お問合せはこちら www.pall.com/jp/ja/support

Pall Corporation has offices and plants throughout the world. To locate the Pall office or distributor nearest you, visit www.pall.com/contact. The information provided in this literature was reviewed for accuracy at the time of publication. Product data may be subject to change without notice. For current information consult your local Pall distributor or contact Pall directly.
© Copyright 2022, Pall Corporation. Pall,  are trademarks of Pall Corporation. ® Indicates a trademark registered in the USA.

220211.10JP
03/2022