

DG2017-34

市販イムノアッセイキットを用いたLBA

Ligand binding assay using commercial immunoassay kits



DG members

Name	Company
清水 浩之 Hiroyuki Shimizu	田辺三菱製薬株式会社 <i>Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation</i>
小山 泰永 Yasunori Oyama	積水メディカル株式会社 <i>SEKISUI MEDICAL CO., LTD.</i>
木下 誠司 Seiji Kinoshita	株式会社LSIメディエンス <i>LSI Medience Corporation</i>
笹原 里美 Satomi Sasahara	東和薬品株式会社 <i>TOWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.</i>
白井 雅子 Masako Shirai	株式会社住化分析センター <i>Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.</i>
高木 秀行 Hideyuki Takagi	科研製薬株式会社 <i>KAKEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.</i>
西松 妙 Tae Nishimatsu	株式会社新日本科学 <i>Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.</i>
美濃部 こころ Kokoro Minobe	アステラス製薬株式会社 <i>Astellas Pharma Inc.</i>
横田 喜信 Yoshinobu Yokota	SNBL USA, Ltd. (株式会社新日本科学より出向, 2016/1/11～現在)

活動の内容 (Contents of our activity)

- ◆ 2017年5月 May 2017
 - ✓ DGサポーターからDGメンバー募集
Member recruitment
- ◆ 2017年7月11日 Jul 11, 2017
 - ✓ キックオフ会議 Kick off meeting
- ◆ 2017年8月～12月 Aug to Dec 2017
 - ✓ Web会議(平均月1回)及びメールによる議論
Monthly teleconferences and e-mail conversations
- ◆ 2017年12月～2018年1月 Dec 2017 to Jan 2018
 - ✓ 議論のまとめ及びシンポジウム発表準備
Summary of discussion and poster preparation

- ◆ Ligand binding assay (LBA)による生体試料中薬物濃度分析及び内因性物質の定量には、市販イムノアッセイキットが用いられることがある。
- ◆ 特に、内因性物質の定量においては、市販キットが多く用いられており、2016年のDG2016-26「内因性化合物の定量(LBA)-LBAによる内因性物質測定におけるバリデーション試験実施法-」において、市販キットを用いるLBAに関連した質問もあった。

- ◆ In the quantitative analysis of biotechnology-based drugs and endogenous substances in biological samples by ligand binding assay (LBA), commercial immunoassay kits may be used.
- ◆ Commercial kits are especially used for the quantitative analysis of endogenous substances, and we have been asked some questions related to using commercial kits with LBA in DG2016-26 “Quantitative analysis of endogenous substances (LBA) -Validation of LBA for the analysis of endogenous substances-”.

- ◆ 市販キットには、LBAガイドライン等の規制下のバイオアナリシスにそのまま適合するような仕様となっていないものもあり、市販キットを分析の目的に適合させ、使用前にパフォーマンスを評価する必要がある。
- ◆ そのため、本DGでは、分析法開発、バリデーション試験及び実試料分析、また、マルチプレックス分析も含め、市販キットを用いた際に想定される課題や対応方法等をテーマとしてDGメンバーで議論した。
- ◆ 本発表ではDGの議論内容の概要を紹介し、市販キットを用いたLBAによる定量の議論の一助としたい。

- ◆ Because some commercial kits are not ready-to-use for regulated bioanalysis, users may need to optimize them for the specific purpose of analysis and evaluate their performance prior to use.
- ◆ Therefore, this DG mainly focused on method development, method validation, analysis of study samples and multi-plex assays using commercial kits. The expected issues and approaches for resolution were discussed.
- ◆ This presentation provides an overview of our discussion to facilitate an efficient analysis by LBA using commercial kits.

議論の内容-1 (Contents of discussion)

◆ 分析法開発 (Method development)

- ✓ キット選定のポイント
- ✓ 分析法開発時の予備検討について
- ✓ 特異性, 回収率, 交差性等
- ✓ ロット間比較
- ✓ キット付属の緩衝液, Quality Controlについて

◆ バリデーション (Method validation)

- ✓ キット付属の緩衝液, Quality Control, 標準品について
- ✓ バリデーション実施中のロット変更
- ✓ トラブル事例

議論の内容-2 (Contents of discussion)

- ◆ 実試料分析 (Analysis of study samples)
 - ✓ 実試料分析中のロット変更
 - ✓ 使用期限が切れた場合の対応
 - ✓ ISRへの対応
 - ✓ トラブル事例
- ◆ マルチプレックス分析 (Multi-plex assays)
 - ✓ ECL法 (電気化学発光法), 蛍光マイクロビーズ法
 - ✓ 分析対象物質の成分ごとの基準設定, 採用, 不採用
 - ✓ 分析法の適合基準と感度, QC試料の調製

語句	説明
LBAガイドライン (LBA guideline)	医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法(リガンド結合法)のバリデーションに関するガイドライン
MRD (Minimum required dilution)	リガンド結合法での分析用に調製された試料において、緩衝液により生体試料が希釈されている倍率。MRDは、必ずしも試料を分析できる最小の希釈倍率である必要はないが、検量線用標準試料やQC試料も含め、すべての試料で同一でなければならない。
希釈直線性 (Dilutional linearity)	マトリックスに標準品等を添加した高濃度試料(検量線の上限を超える濃度)がフック効果又はプロゾンの影響を受けずに適切に分析できること、及び、検量線内においても定量値に希釈による影響がないことを示す指標。直線性が得られる希釈倍率までが実試料の希釈可能倍率となる。
希釈平行性 (Dilutional parallelism)	実試料の希釈系列における用量反応曲線と検量線系列の用量反応曲線が平行であり、実試料の数段階の希釈における換算値に希釈倍率による差が認められないとき、平行性が成立していると定義される。内因性物質の分析において、平行性が得られる希釈倍率までが実試料の希釈可能倍率となる。



分析法開発

Method development

キット選定のポイント-1

◆ 分析目的への適合性

- ✓ 定量範囲が目的に合っているかどうか
- ✓ 使用可能なマトリックスかどうか
- ✓ キット添付の標準品濃度

◆ キットの信頼性

- ✓ 使用経験から信頼度の高いメーカーかどうか
- ✓ 交差性, 選択性, 回収率等のデータの有無
- ✓ 健康成人等の測定データの有無

キット選定のポイント-2

◆ その他

- ✓ 納期(輸入品の場合)
- ✓ まとまった数を購入できるか(ロットを揃えることができるか)
- ✓ キット構成が別売りされているか
- ✓ ストリップタイプかどうか(コスト削減のために、分けて使用できるため)
- ✓ 法規制(カルタヘナ, 毒物指定等)の要否

分析法の出来栄えは標準品, 重要試薬(抗体)の性能に依存するため, 信頼度の高いメーカーであることが重要.

分析法開発時の予備検討について

- ◆ 分析対象物質が投与した医薬品であるか，内因性物質であるかによって実施項目が異なる。

実施項目	
医薬品（内因性物質のRecombinant protein等） の場合（TK/PK）	内因性物質の場合 （Biomarker）
MRD	MRD
選択性	選択性
再現性	再現性
希釈直線性，プロゾン	希釈平行性又は希釈直線性，プロゾン
内因性レベルの確認	内因性レベルの確認



- ・内因性レベルの違い（高いか低い）により，予備検討内容が変わる。
- ・キット付属の標準品で高濃度のQC試料を調製できるか要考慮。

分析法開発時の予備検討の必須項目-1

<分析対象物質:医薬品>

- ◆ 内因性レベルの確認は, 10例以上という意見がDG内では多かった.
- ◆ 内因性レベルが検量線のLLOQより十分に低い場合は, マトリックスに標準品を添加してQC試料を調製
- ◆ 内因性レベルが高い場合は, 検量線のLLOQ以下となるようなMRDを設定する. その際の, LLOQ試料とULOQ試料の調製は代替マトリックスを使用
- ◆ 内因性除去マトリックスを使用するとの意見もあり

分析法開発時の予備検討の必須項目-2

<分析対象物質:内因性物質>

- ◆ 内因性レベルの確認は, 6~10例という意見がDG内では多かった.
- ◆ 内因性レベルが検量線のLLOQより十分に低い場合は, マトリックスに標準品を添加してQC試料を調製する.
- ◆ 内因性レベルが高い場合は, 標準品を添加しないマトリックスをQC試料として用いることを考慮する(内因性レベルの高低にもよる).

分析法開発時の予備検討の必須項目-3

<分析対象物質:内因性物質>

◆ 内因性濃度が高い場合

- ✓ 希釈平行性確認によりMRD決定
 - ✓ 代替マトリックス(キット付属の緩衝液)で調製したQCを使用する.
 - 5濃度(検量線のLLOQ, LQC, MQC, HQC及びULOQ)又は2濃度(検量線のLLOQ及びULOQ)との意見あり.
 - ✓ 内因性濃度が高い試料をQCとして使用する.
 - 3濃度程度(LQC, MQC及びHQC)との意見あり.
- ⇒代替マトリックスの使用については, DG2015-15資料(P10-11)参照

分析法開発時の予備検討の必須項目-4

<分析対象物質:内因性物質>

◆ 内因性濃度が低い場合

- ✓ 選択性評価によりMRD決定
- ✓ 選択性はブランクマトリックスに標準品を添加して実施
⇒ブランクマトリックスの内因性濃度が検量線のLLOQ未
満であるが, LLOQに近い場合は低濃度の標準品を添加
して対応するとの意見あり.
- ✓ ブランクマトリックスで調製したQCを使用する.
 - 5濃度(検量線のLLOQ, LQC, MQC, HQC及びULOQ)と
の意見あり.

特異性の確認

- ◆ LBAガイドラインに記載されている特異性に対する対応
 - ✓ キットの説明書に記載されている特異性の情報を参考にし、必要に応じて実施(DG内では実施経験者は少ない)
 - ✓ キットの性能が疑わしい場合、同じ分析対象物質を別メーカーから追加購入して特異性を評価(検量線作成等)
 - ✓ IgE測定の際に、類似物質としてIgGを用いて特異性を評価

基本的には実施しないとの意見が多かった。類似物質や共投与物質が入手できる場合は要考慮。

- ◆ キットの説明書通りの回収率が得られない場合の対応
 - ✓ MRDが十分ではない可能性が疑われるため、MRD検討
 - ✓ 分析法開発時には回収率の基準を設けてはいないが、バリデーション実施において問題ない範囲であることを確認
 - 内因性物質の場合：20%（LLOQ及びULOQの場合：25%）
又は25%（LLOQ及びULOQの場合：30%）
 - 医薬品の場合：20%（LLOQ及びULOQの場合：25%）

キットの説明書記載のMRDにこだわることなく、回収率の結果が向上するようにMRD等を検討。

キットのロット間比較-1

- ◆ 分析法開発時におけるロット間比較の実施
 - ✓ ロット違いの入手が困難なため、可能であれば実施
 - ✓ ロット変更時にバリデーション等で、確認することで問題ない。
 - ✓ 分析対象物質：医薬品の場合は、重要試薬の適用濃度変更等で対応できる可能性があるため、実施しない。
⇒実施しない又は実施できない場合が多い。ただし、ロット変更に対する懸念は大きい。
- ◆ ロット変更における懸念事項
 - ✓ ロット間で、ActivityやAffinityに大きな差があるものもある（事例経験あり）。
 - ✓ キット付属の標準品のロット差

キットのロット間比較-2

◆ 対応策

- ✓ ロット間差による結果への影響が大きい場合、以下のよう
な対策を講じるとの意見があった。
 - 実試料分析前にロット間差の有無を判断できず、実試
料分析実施中に判明することが多い。
 - そのため、可能な限り、1ロットで実試料分析を実施でき
るよう対応したい。
 - 1ロットで実試料分析を実施できない場合、SOPでロット
間差についての検討手順を定めているケースもあり。

キットのロット間比較-3

◆ 対応策(続き)

- キット購入前に, 事前にメーカーにActivityやAffinityのデータを問い合わせしてみる(内因性物質の場合は, 標準品となるRecombinant proteinを含む).

⇒ただし, 添付のデータシート又はWeb上からの情報確認のみ. それ以外の詳細な情報は得られない場合が多い.

⇒ロット間差を示す情報を提供されたケースあり.

分析法開発時から, ロット間差が生じることを想定し, その対策を用意しておく必要がある.

キット付属のQuality Control

◆ キット付属のQuality Controlの使用の有無, 目的について

✓ DGでの使用経験者は50%であった.

- キットの反応性が問題ないかの確認に使用
- 内因性物質の測定において, 内因性レベルが高い場合にQC試料として使用(マトリックスでQC試料を調製できる濃度ポイント又は, 実試料で対応できる場合は使用しない)
- 参考程度に使用
- 検討初期段階で使用

キットの性能確認などに使用するのが主目的で, マトリックスベースでQCを調製できる場合は使用しない.

キット付属の緩衝液を使用しなかった経験

- ◆ キット付属の緩衝液は以下のような課題があることがある。
 - ✓ キット付属の緩衝液の量が十分ではなかった。
 - ✓ プレートウォッシャー使用に十分な洗浄液がなかった。
 - ✓ 選択性, 再現性等の項目の基準を満たさなかった。
 - ✓ うまくいかなかったキットの緩衝液組成が非開示だった。
- ◆ 対応策
 - ✓ 自家調製又は市販の緩衝液を使用
 - ✓ DGでのキット付属の緩衝液以外の使用経験者は63%であった。

自家調製又は市販の緩衝液を使用しても, 各項目の基準を満たせば問題ないと考えられる。

キット推奨のMRDで対応できない場合

◆ 対応策

- ✓ MRDを上げる.
- ✓ キット付属の緩衝液, ブロッキング液の検討
 - 付属の緩衝液に添加剤(界面活性剤やHBR等)を使用
 - 付属の緩衝液は使用せず, 自家調製又は市販の緩衝液へ変更
- ✓ 定量範囲の変更. キット自体の変更
- ✓ 良質な抗体が入手できる場合は, 自前で分析法構築

上記対応でも, 各項目の基準を満たせば問題ないと考えられる. 説明書のシグナルが再現できない場合も上記と同様の対応が考えられる.

キットの説明書に推奨MRDの記載がない場合

◆ 対応策

- ✓ 特に、キットの説明書に推奨MRDの記載がない場合は、個別マトリックスを用いた希釈平行性によるMRDの最適化を行う必要がある。

キット指定外のマトリックスでの測定経験

- ◆ キットの説明書に、適用できるマトリックスとして血清、血漿、細胞抽出液等が記載されている場合が多い。
- ✓ キットの説明書記載以外のマトリックス(鼻汁、涙液、喀痰等)の使用経験者は50%であった。

分析法開発時に、反応性、再現性、添加回収率等のバリデーション評価項目が基準を満たすような分析法を確立できれば、問題ない。

交差性が認められるキットの使用経験-1

- ◆ キットの説明書に交差性のデータがある場合があるが、どの程度まで許容できるか。
 - ✓ 交差性が認められるキットのDG内での使用経験者は33%であった。以下のような意見あり。
 - 交差性1%, 5%未満で測定に影響がない, 20-30%で影響がある印象
 - 交差性があるキットを使用せざるを得ない際に, 交差する非分析対象物質を別途測定し, 差し引く対応もある。
 - 交差性が1%であっても分析対象物質より高濃度で試料中に存在する際には, 交差性が低くても影響が大きい
ため留意する。

交差性が認められるキットの使用経験-2

◆ 交差性の注意点

- ✓ 可能な限り, 交差性の情報入手が必要.
- ✓ 交差性が低い場合でも, 交差する非分析対象物質の内因性濃度が高い場合は, 測定結果に大きく影響する可能性がある.
- ✓ 交差する非分析対象物質についても, ブランクマトリックスの内因性濃度及び疾患患者における内因性濃度について, 確認しておくことがベター

感度向上のための試料濃縮等の経験

- ◆ キットの説明書に試料濃縮操作が含まれる場合があるが、その経験の有無、注意点について
 - ✓ 試料濃縮等の経験者は25%であった。以下のような意見あり。
 - ペプチド測定において、固相抽出→乾固→再溶解による濃縮を実施（補正係数によって測定値を補正）
 - アフィニティーカラム等を使用した濃縮方法もあるが、分析対象物質のロスも考えられ、バラツキが大きくなることが想定される。



バリデーション

Method validation

キット付属の標準品について-1

- ◆ LBAガイドラインには、「ロット番号, 含量(物質質量, 純度又は力価), 保存条件等を明らかにした分析証明書又はそれに代わる文書が必要であり, 有効期限等を明らかにしておくことが望ましい」と記載されている.
- ✓ 標準品情報の入手
 - 基本的にはキットの説明書の情報のみを使用.
 - 情報が足りない場合は, メーカーに問い合わせるとの意見あり(DG内で55%).

キット付属の標準品について-2

◆ 使用期限について

キット付属の標準品が粉末で、説明書に溶解した後の安定性期間が記載されている場合……

- ・ その期間内に使用する？
- ・ 改めて標準溶液(溶解後)の安定性を確認する？

⇒原則キットの説明書の期限内に使用という意見が多かった。

なお、キット付属の標準品を使用するのは分析対象物質が内因性物質の場合が多いと考えられる。

キット付属の標準品以外の使用経験

<分析対象物質:医薬品>

- ◆ 基本的に被験物質を標準品とする.

<分析対象物質:内因性物質>

- ◆ キット付属以外の標準品(メーカーで販売している Recombinant protein等)を使用した経験があると回答したのはDG内で22%であった.
 - ✓ メリットは, キット付属の標準品の濃度や量に関係なく, 高濃度サンプルの調製がしやすいこと
 - ✓ デメリットは, 付属の標準品との濃度や反応性の違いにより, キットが保証している定量範囲で測定できない可能性があること

キット付属の緩衝液, 標準品が足りない場合

◆ ほぼ以下の3通りで対応

- ✓ 緩衝液, 標準品が単品で購入可能かを確認し, 可能であれば購入する.
- ✓ 単品購入不可の場合は, 緩衝液, 標準品を使用する目的のみで余分にキットを購入する.
- ✓ 自家調製も含め, 代替品を検討する.

上記対応は, 分析法開発時から考慮に入れておく必要がある.

キット付属のQuality Control

- ◆ キット付属のQuality Controlの使用の有無, 目的について
 - ✓ DGでの使用経験者は50%であった.
 - 測定毎のデータの信頼性の簡易的な担保に使用
 - キットのロット変更に伴う精度管理に使用

キットの性能確認などに使用するのが主目的で, マトリックスベースでQCを調製できる場合は使用してしない.

バリデーション中のキットのロット変更-1

<分析対象物質:医薬品>

- ◆ 新旧2ロットが利用可能な場合, 2ロットのキットを用いたブリッジングアッセイを, マトリックスに標準品を添加したQC試料を用いて実施する.
- ◆ その際はシグナルではなく濃度値で確認する. 新ロットしか利用できない場合は, それのみで評価する.
- ◆ 標準品のロット変更は分析証明書等で担保する.

バリデーション中のキットのロット変更-2

<分析対象物質:内因性物質>

- ◆ DG内では, 経験がないという回答が多かったが, 医薬品と同様の対応を想定している.
- ◆ 標準品のロット変更に対応する必要がある.
- ◆ 標準品を含めたロット間差がないことを担保する例として, 以下の意見あり.
 - ✓ 旧ロットの標準品で調製した検量線用標準試料
 - ✓ 新ロットの標準品で調製したQC試料
 - ✓ QC試料の真度を確認

長期保存安定性の実施中にキットのロット変更がある場合も想定して, 対応を考慮する必要がある.

LLOD, LLOQ, 真度の基準

- ◆ DG内で考え方に違いがあるか？
 - ✓ LLOD (Lower limit of detection)がキットの説明書に記載されている場合があるが、あまり意識したことはなく、参考程度とするのみ.
 - ✓ 分析対象物質：医薬品の場合のLLOQの真度は、LBAガイドラインに従う(±25%).
 - ✓ 分析対象物質：内因性物質の場合のLLOQの真度は、基本的にはLBAガイドラインに従うが(±25%), 使用目的によって±30%とすることもある.

バリデーション試験におけるトラブル事例-1

【事例】

キットのロット変更に伴い、バックグラウンド値が上がり、検量線のシグナルが全体的に低下し、検量線の傾きが著しく低下した。

【対応策】

ロット毎に検量線範囲が変わる煩雑な分析法となったが、そのロットで定量できる検量線範囲で再バリデーションを実施した。

バリデーション試験におけるトラブル事例-2

【事例】

キット付属の抗体，試薬自体の変更で，同じキットが供給されなくなった。

【対応策】

新たなキットで再検討，再バリデーションを実施した。QC試料の濃度ポイントを多めにとり，基準を満たした濃度で定量範囲を決めたこともある。

バリデーション試験におけるトラブル事例-3

【事例】

キット付属のQuality Controlが、ロットの変更で精度管理範囲内に入らなかった。

【対応策】

該当ロットを棄却，測定前に，Quality Controlを用いたロット確認実施を規定した。

バリデーション試験におけるトラブル事例-4

その他市販試薬を組み合わせたキットによる測定での事例

- ◆ 標準品として用いていた市販のRecombinant Proteinにロット間差が認められ、同一試料の測定濃度がロット変更前と比較して2倍程度変化してしまった。
- ◆ バリデーション試験で使用した抗体が製造中止になり、急ぎよ別の抗体を購入して再度バリデーションを実施した。

バリデーション試験におけるトラブル事例（まとめ）

- ◆ トラブルがキットのロット変更起因するものが多い。
- ◆ バリデーション前の分析法開発において、ロット間比較の検討、1ロットで実施できるキット数の確保、ロット変更時に実施すべきこと等、事前に対応策を準備しておくことが望ましい。



実試料分析

Analysis of study samples

実試料分析中のキットのロット変更

- ◆ 分析対象物質：医薬品，内因性物質とも，バリデーション時と同様にブリッジングアッセイを実施する。
- ◆ 内因性物質の場合は，実試料をコントロールサンプルとして用いることもできる。
- ◆ 実試料を用いた評価経験者はDG内では33%

長期の臨床試験も想定して，対応を考慮する必要がある。

実試料分析中にキットの使用期限が切れた場合

- ◆ 基本的には使用しない.
- ◆ どうしてもロット間差を許容できない場合は、あらかじめ手順を定めておくことで、使用期限を超えての使用が可能と判断する.
 - ✓ ただし、標準品は使用期限内の必要がある.
 - ✓ 重要試薬は使用期限を超えても、標準品を添加したQC試料を用いた評価等を行い、使用期限を延長する.

どうしてもロット間差を許容できない場合を除き、極力、使用期限が切れたキットを使用しないような対策が必要.

ISRへの対応

- ◆ ISRの基準を満たさなかった場合の対応は、キットと言えども、LBAガイドラインに従う(その原因を調査し、改善策を講じる)。
- ◆ ただし、初回の定量値を得た試料とISR試料の分析に用いるキットのロットを揃える工夫が考えられる。
- ◆ もし、ロットが異なる場合は、ISRよりも前に新旧ロットのブリッジングアッセイが必要

初回分析, ISRに用いるキットのロットを揃えるためのマネジメント(キットの残数, 使用期限, ISR試料選択等)が重要.

実試料分析におけるトラブル事例

【事例】

- ◆ ロット間差の問題を解決できず、再バリデーションを行った。
- ◆ 同一ロットであっても、1プレート内でのウェル間のバラつきが認められ、再バリデーションを行った。
- ◆ キットの販売が中止された。

【対応策】

- ◆ 新たなキットの再バリデーションは安定性を除くフルバリデーションとなる。キットの販売中止は実試料分析にとっては影響大きいと考えられ、分析法開発時に信頼度の高いメーカーを選びたい。



マルチプレックス分析

Multi-plex assays

申請資料用試験に使用できるか？

- ◆ 使用可能ではある.
- ◆ ただし, LBAガイドライン記載の分析法バリデーションに当てはめた時の難易度の高さから, 実質的に非GXPLレベルでの実施となっている施設もある.

ECL法における同時分析対象物質の適切な数は？

- ◆ 分析対象物質が多ければ多いほど，MRDと感度のバランスで折り合いをつけるのが難しい。
- ◆ また，ウェル内での相互作用に懸念があり，スポット数が増えれば増えるほど，定量値が安定しないリスクもあるかもしれない。
- ◆ DG内では，4-7 plexが適切との意見があった。

蛍光マイクロビーズ法による測定における注意点

- ◆ ロット間差が小さくない可能性も考えられ、ロットを揃えて分析することが重要.
- ◆ また、同一被験者の実試料は全てのサンプリングポイントの試料が揃ってから同一ロットで測定することが多い.
- ◆ ファクターを用いてロット変更時に補正する、初期値からの変化率を求める等の対応も考えられる.
- ◆ ただし、分析対象物質が複数あると、ファクター補正の考え方が適用しにくい(全ての分析対象物質で異なるファクターを設定する必要があるため).

分析対象物質の成分ごとの基準設定

- ◆ 分析対象物質の成分によって基準を変更するか？
 - ✓ LBAガイドラインの基準より緩める場合は、全ての分析対象物質について一律同じ基準とする場合が多かった。
 - ✓ その場合は、真度の基準は±30%にすることが多い。

分析対象物質の成分ごとの採用, 不採用

- ◆ 分析対象物質の成分によって結果が大きく異なる場合, 基準を満たした結果は採用できるか?
- ◆ 不採用結果の内容によっては, 全成分不採用にもなるか?
 - ✓ 基本的に基準を満たした結果は採用すべきとする意見が多かった.
 - ✓ ただし, あらかじめそのような事態を想定して, 採用, 不採用手順を定めている場合は, 全成分不採用とすることも可能であるとの意見もあった.

分析法の適合基準と感度について

- ◆ 基本的には、単一の内因性物質測定と同様.
- ◆ ただし、結果の使用目的により施設によって対応は様々であった.
 - ✓ 二重測定の精度確認のみ
 - ✓ 真度±30%, 精度30%以下
 - ✓ 初回測定時にLLOQ, ULOQが基準を満たしたポイントを定量範囲と設定

MRDと感度は、分析対象物質の最大公約数的に決まることに留意したい。

実試料分析時のQC試料の調製

- ◆ 結果の使用目的により施設によって対応は様々であった.
 - ✓ QC試料を設定しない
 - ✓ 緩衝液で調製したQC試料のみ
 - ✓ キット付属のコントロールのみ

バリデーションで、選択性、希釈直線性又は希釈平行性を担保する必要がある。

- ◆ 市販キットに添付されている分析法を，分析の目的及び規制下のバイオアナリシスに適合させ，モディファイする必要がある。
- ◆ 分析法開発，バリデーション試験，実試料分析までロット変更を考慮した分析のマネジメントが必要である。
- ◆ マルチプレックス分析は，網羅的な内因性物質の分析を目的とすることもあり，評価方法は様々である。

- ◆ Analytical methods described in commercial kits need to be optimized for regulated bioanalysis and the specific purpose of analysis.
- ◆ Management for analysis in consideration of a Lot change of commercial kits is necessary through method development, method validation and analysis of study samples.
- ◆ There are various evaluation methods for comprehensive analysis of endogenous substances.