

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Revised: March 10, 2015 ver. 8

Quantitative test kit for Mouse IL-18

## **Mouse IL-18 ELISA Kit**

**CODE No. 7625**

CONTENTS

1. Intended Use ----- 1

2. Summary and Explanation----- 1

3. Principle-----2

4. Materials and provided----- 2

5. Materials and equipment required-----2

6. Procedure----- 3

7. Precaution-----6

8. Storage and Stability----- 6

9. Performance Characteristics-----7

10. References -----9

**Before use, thoroughly read these Instructions.**

### **Intended Use**

The Mouse IL-18 ELISA Kit is based on sandwich ELISA and capable of measuring mouse IL-18.

**For research use only. Not for use in diagnostic procedures.**

### **Summary and Explanation**

Interleukin 18 (IL-18) is an 18 kDa cytokine which is identified as a costimulatory factor for production of interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) in response to toxic shock. It shares functional similarities with IL-12. IL-18 is synthesized as a precursor 24 kDa molecule without a signal peptide and must be cleaved to produce an active molecule. IL-1 converting enzyme (ICE, caspase-1) cleaves pro-IL-18 at aspartic acid in the P1 position, producing the mature, bioactive peptide that is readily released from the cells. It has been reported that IL-18 is produced from Kupffer cells, activated macrophages, keratinocytes, intestinal epithelial cells, osteoblasts, adrenal cortex cells and murine diencephalons. IFN- $\gamma$  is produced by activated T and NK cells and plays critical roles in the defense against microbial pathogens. IFN- $\gamma$  activates macrophages, enhances NK activity and B cell maturation, proliferation and Ig secretion, induces MHC class I and II antigens expression, and inhibits osteoclast activation.

IL-18 acts on T helper 1-type (Th1) cells, and in combination with IL-12 strongly induces production of IFN- $\gamma$  by these cells. Pleiotropic effects of IL-18 have also been reported, including enhancement production of IFN- $\gamma$  and GM-CSF in peripheral blood mononuclear cells, production of T helper type 1 cytokines, IL-2, GM-CSF and IFN- $\gamma$  in T cells, enhancement of Fas ligand expression by Th1 cells.

“Mouse IL-18 ELISA Kit” is the reagent for measuring mouse IL-18 specifically with high sensitivity by ELISA.

1 ng/ml of various cytokines, such as mouse IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, GM-CSF and human IL-18 were not measured by this ELISA. The results were all below the detection limit of 25.0 pg/ml.

## **Principle**

The Mouse IL-18 ELISA Kit measures Mouse IL-18 by sandwich ELISA. This assay uses two monoclonal antibodies against two different epitopes of Mouse IL-18.

In the wells coated with anti-Mouse IL-18 monoclonal antibody, samples to be measured or standards are incubated. After washing, a peroxidase conjugated anti-Mouse IL-18 monoclonal antibody is added into the microwell and incubated. After another washing, the peroxidase substrate is mixed with the chromogen and allowed to incubate for an additional period of time. An acid solution is then added to each well to terminate the enzyme reaction and to stabilize the developed color. The optical density (O.D.) of each well is then measured at 450 nm using a microplate reader. The concentration of Mouse IL-18 is calibrated from a dose response curve based on the reference standards.

## **Materials provided**

Materials	Quantity
	96 wells
Microwell Strips coated with anti-Mouse IL-18 antibody (8 well strip)	12 strips
Mouse IL-18 Calibrator ( <b>Lyophilized</b> )	2 vials
Conjugate Reagent ( <b>X 101</b> ) (Peroxidase conjugate anti-mouse IL-18 monoclonal antibody)	0.2 ml x 1 vial
Conjugate Diluent (Ready to use)	24 ml x 1 vial
Assay Diluent (Ready to use)	30 ml x 1 vial
Wash Concentrate (10x)	100 ml x 1 vial
Substrate (Tetramethylbenzidine/Hydrogen Peroxide) (Ready to use)	20 ml x 1 vial
Stop Solution (0.5mol/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , irritant) (Ready to use)	20 ml x 1 vial

## **Materials and equipment required**

- ◆ Microplate reader
- ◆ Plate washer or washing bottle
- ◆ Adjustable micropipette
- ◆ Multichannel micropipette
- ◆ 96-well polyvinyl plate
- ◆ Microplate holder
- ◆ Uncoated microwell strips (for using an Auto washer)
- ◆ Reagent vessel
- ◆ Distilled water

## **Procedure**

### ◆ Preparation of Reagents

#### 1. Wash solution

Prepare 1:10 dilution of the Wash Concentrate, prior to use. (ex. add 50 ml of Wash Concentrate to 450 ml of distilled water). The diluted wash solution is stable for 2 weeks at 4°C.

#### 2. Conjugate solution

Peroxidase conjugated anti-mouse IL-18 monoclonal antibody must be diluted prior to use. Dilute the Peroxidase conjugated anti-mouse IL-18 monoclonal antibody 1:101 with Conjugate Diluent. e.g. by adding 10 µl of the Peroxidase conjugated anti-mouse IL-18 monoclonal antibody to 1,000 µl of the Conjugate Diluent.

\*Prepare only a sufficient amount of the conjugate solution for the assay because the diluted conjugate is not stable.

\*Use disposable new pipette and vessel to avoid contamination of microbe.

#### 3. Standards

Reconstitute with the volume of Assay Diluent, and dilute the reconstituted calibrator as indicated in "preparation of Standards".

\*If reconstituted calibrator is needed to store, prepare appropriate aliquots and freeze them below -20°C. Avoid repeated freezing and thawing.

#### **4. Other reagents are ready-to-use.**

### ◆ Preparation of samples

#### 1. Dilution

##### 1) Dilute each sample with Assay Diluent.

e.g. Mouse serum

1:5 with Assay Diluent, e.g. by adding 50 µl of sample to 200 µl of Assay Diluent. Sample dilution may vary between different specimens. Appropriate sample dilution should be established by each investigator.

**Since Mouse IL-18 calibrator contains FCS, any sample which does not contain serum component (such as FCS) may result different reactivity from the sample that contains serum component (e.g. mouse serum, mouse plasma and mouse derived cell culture supernatant containing FCS). Thus, this kit IS NOT SUITABLE FOR MEASURING THE SAMPLE WHICH DOES NOT CONTAIN ANY SERUM COMPONENT.**

##### 2) Add 150 µl of prepared samples and standards to 96-well polyvinyl plate as the same order of assay run.

## 2. Storage

Fresh samples should be used. Aliquote each sample into new plastic tube and store below -20°C if necessary. Avoid repeated freezing and thawing.

### ◆ Assay procedure

Duplicate assay will be recommended.

#### STEP 1. (Sample incubation)

- 1) Transfer 100 µl of each sample to Mouse IL-18 antibody coated microwells simultaneously using multichannel pipette.  
\*Reaction starts on pipetting to Mouse IL-18 antibody coated microwell. Pipetting should be completed as quickly as possible.
- 2) Incubate for 60 minutes at room temperature (20-25°C).

#### STEP 2. (Washing)

Aspirate or discard the well contents. Fill the wells with Wash solution and then completely aspirate or discard the contents. Wash the well 4 times with wash solution using washing bottle. When autowasher is used, wash 4 times.

\*Each laboratory is recommended to confirm its own appropriate washing times and set-up.

\*Washing buffer should be used at room temperature (20-25°C).

#### STEP 3. (Conjugate incubation)

- 1) Pour conjugate solution into the vessel. After removing wash solution remained completely, pipette 100 µl of conjugate solution to each well with multichannel pipette.  
\*To avoid dry up microwells, the conjugate solution must be dispensed into the microwells as soon as remove the wash solution
- 2) Incubate for 60 minutes at room temperature (20-25°C).

#### STEP 4. (Washing)

Wash the microplate again following the STEP 2 procedure.

STEP 5. (Substrate incubation)

1) Pour Substrate reagent into the vessel. Add 100  $\mu$ l of Substrate reagent to each well.

\*Substrate reagent should be used at room temperature (20-25°C).

\*This vessel should be different from the one which was used for pouring conjugate solution.

\*Use disposable new pipette and vessel, as Substrate reagent is easy to be oxidized by metal ions and be contaminated by microbes.

\*If Substrate reagent is poured into the vessel from the bottle, do not return to the bottle.

**\*To avoid dry up microwells, the Substrate reagent must be dispensed into the microwells as soon as remove the wash solution.**

2) Incubate for 30 minutes at room temperature (20-25°C).

STEP 6. (Stopping reaction)

Pour Stop solution into the vessel. Pipette 100  $\mu$ l of Stop solution to each well with multichannel pipette.

◆ Reading

Read the absorbance of each well at 450 nm. If a dual wavelength plate reader is available, set the test wave length at 450 nm and the reference at 620 nm.

\*Reading should be done within 30 minutes after stopping the reaction.

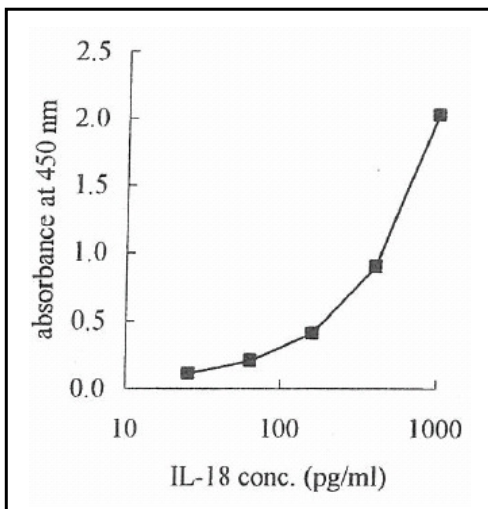
◆ Calculation of results

Calculate the mean absorbance value of each standard. Plot on the semi-log graph paper and construct a standard curve (Absorbance on the vertical axis, concentration (in pg/ml) on the horizontal axis)

Report the IL-18 concentration of samples by multiplying the value read from the standard curve by dilution factor (e.g. Mouse sera; x 5)

\*If absorbance of sample exceeds the one of the 1,000 pg/ml standard, dilute the sample and measure again.

◆ Example of Standard curve



**Precaution**

1. Allow all the components to come to room temperature (20-25°C) before use.
2. All microwell strips which are not immediately required should be returned to the ziplock pouch, which must be carefully resealed to avoid moisture absorption.
3. Fresh samples should be used. Aliquot each sample and store below -20°C if necessary. Avoid repeated freezing and thawing. Never store the samples at 4°C, as samples are affected by storage of this temperature.
4. Assay diluent contains sodium azide (0.09%) as preservative. Azide may react with copper or lead in plumbing system to form explosive metal azide. Therefore, always flush with plenty of water into a drain when disposing materials containing azide.
5. Stop solution is 0.5mol/L sulfuric acid. As it is corrosive product, protect eyes and skin and handle with care.
6. **This kit is intended for research use only. Not for use in diagnostic procedure.**

**Storage and Stability**

All kit components must be stored at 2-8°C. All reagents are stable for 12 months after manufacturing when stored at the conditions indicated.



## **Performance Characteristics**

### ◆ Sensitivity

The sensitivity of the assay is 25.0 pg/ml.

The minimum detection limit estimated by serial dilution was 25.0 pg/ml since the mean +2 S.D. of the 12.5 pg/ml was lower than the mean -2 S.D. of the 25.0 pg/ml.

### ◆ Reproducibility

#### 1. Intra-assay

Intra-assay reproducibility was determined by assaying the sera 8 times.

IL-18 concentrations of the serum samples were calculated as described in calculation of results in assay procedure.

Sample	serum 1	serum 2	serum 3	serum 4	serum 5	serum 6
Number of replicates	8	8	8	8	8	8
Mean (pg/ml)	3554.4	3285.9	2791.7	2212.8	992.3	625.3
C.V. (%)	2.5	2.0	5.8	5.3	3.1	3.8

#### 2. Inter-assay

Inter-assay reproducibility was determined by 5 independent assays of the sera.

IL-18 concentrations of the serum samples were calculated as described in calculation of results in assay procedure.

Sample	serum 1	serum 2	serum 3	serum 4	serum 5
Number of determinations	5	5	5	5	5
Mean (pg/ml)*	3500.2	3241.7	2557.9	2066.8	842.6
C.V. (%)	7.4	4.4	3.8	5.4	8.5

\*From duplicate of each serum sample in five (5) separate assays.

## ◆ Recovery test

Recombinant mouse IL-18 was added to sample at different concentrations.  
IL-18 concentrations of the serum samples were calculated as described in calculation of results in assay procedure.

**Serum 1**

(A) Additional rmIL-18* (pg/mL)	IL-18 concentration observed (pg/mL)	(B) recovery (pg/mL)	(B/A) recovery (%)
0.0	956.0	-	-
536.0	1497.3	541.3	101.0
960.5	1873.3	917.3	95.5

\* rmIL-18 is abbreviation of recombinant mouse IL-18.

**Serum 2**

(A) Additional rmIL-18* (pg/mL)	IL-18 concentration observed (pg/mL)	(B) recovery (pg/mL)	(B/A) recovery (%)
0.0	742.0	-	-
536.0	1279.0	537.0	100.2
960.5	1594.0	852.0	88.7

\* rmIL-18 is abbreviation of recombinant mouse IL-18.

**Serum 3**

(A) Additional rmIL-18* (pg/mL)	IL-18 concentration observed (pg/mL)	(B) recovery (pg/mL)	(B/A) recovery (%)
0.0	1397.3	-	-
536.0	1921.8	524.5	97.9
960.5	2213.0	815.8	84.9

\* rmIL-18 is abbreviation of recombinant mouse IL-18.

**Serum 4**

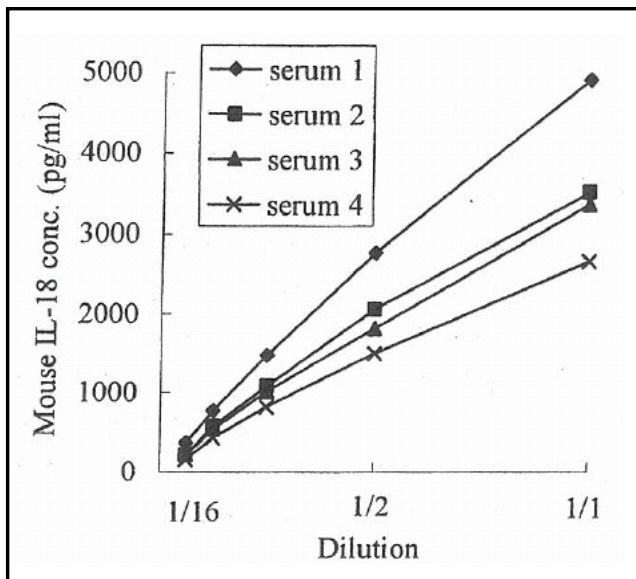
(A) Additional rmIL-18* (pg/mL)	IL-18 concentration observed (pg/mL)	(B) recovery (pg/mL)	(B/A) recovery (%)
0.0	340.8	-	-
536.0	884.5	543.8	101.4
960.5	1278.8	938.0	97.7

\* rmIL-18 is abbreviation of recombinant mouse IL-18.

◆ Dilution test

Samples were diluted with Assay diluent.

IL-18 concentrations of the serum samples were calculated as described in calculation of results in assay procedure.



**REFERENCES:**

- Okamura H., et al. Nature 378, 88-91 (1995)  
 Ushio S., et al. J. Immunol. 156, 4274-4279 (1996)  
 Micallef M., et al. Eur. J. Immunol. 26, 1647-1651 (1996)  
 Tao D., et al. Cell Immunol. 173, 230-235 (1998)  
 Taniguchi M., et al. J. Immunol. methods 206, 197-113 (1997)

## **はじめに**

インターロイキン18 (IL-18) は、エンドトキシンショックにおいてインターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生を刺激する因子として発見された分子量18 kDaのタンパク質で、IL-12と機能的な共通性を持っています。IL-18はシグナルペプチドを持たない24 kDaの前駆体として合成され、活性化型になるには切断を受ける必要があります。IL-1変換酵素 (ICE; IL-1 converting enzyme) がP1ポジションのアスパラギン酸でpro-IL-18を切断して活性のある成熟型IL-18を作り、それが細胞から放出されます。IL-18を産生する細胞として、クッパー細胞、活性化マクロファージ、ケラチノサイト、血管内皮細胞、骨芽細胞、副腎皮質細胞、そしてマウス間脳が報告されています。IFN- $\gamma$ は活性化T細胞、活性化NK細胞によって産生され、微生物による疾患の防御に決定的な役割を果たします。IFN- $\gamma$ はマクロファージを活性化し、NK活性やB細胞の成熟と増殖およびIg分泌をエンハンスし、クラスIおよびクラスII MHC抗原を誘導し、破骨細胞の分化を抑制します。

IL-18はIL-12と相乗的に1型ヘルパーT細胞 (Th1) に働き、IFN- $\gamma$ 産生を誘導します。IL-18には多面的な効果が報告されています。たとえば、抹消血単核球に対するIFN- $\gamma$ およびGM-CSF産生増強効果、T細胞に対するIL-2、GM-CSF、IFN- $\gamma$ といったTh1サイトカイン産生誘導作用、Th1細胞に対するFasリガンドの発現誘導作用などです。

Mouse IL-18 ELISA Kitは異なるエпитオプを認識する2種のモノクローナル抗体を用いて、マウスIL-18を測定する試薬です。

また、本試薬では、1 ng/mLの濃度の各種サイトカイン (マウスIFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IFN- $\beta$ 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、GM-CSFおよびヒトIL-18) は、検出されません。

## **測定原理**

Mouse IL-18 ELISA Kit は、異なるエピトープを認識する2種のモノクローナル抗体を用いたサンドイッチELISA法によって、マウスIL-18を測定するキットです。

抗マウスIL-18モノクローナル抗体を感作したマイクロカップに、サンプルを添加し、抗原-抗体反応をさせます。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗マウスIL-18モノクローナル抗体を添加して反応させ、抗体-抗原-標識抗体の複合物を形成させます。洗浄後、テトラメチルベンチジンと過酸化水素の溶解液を基質溶液として添加し、酵素 (ペルオキシダーゼ) により発色させ、反応停止後、吸光度 ( $A_{450}$ ) を測定してマウスIL-18を検出します。

**キット構成**

Code No. 7625 96wells

Materials	Quantity
	96 wells
Microwell Strips coated with anti-Mouse IL-18 antibody (8 well strip)	12 strips
Mouse IL-18 Calibrator ( <b>Lyophilized</b> )	2 vials
Conjugate Reagent ( <b>X 101</b> ) (Peroxidase conjugate anti-mouse IL-18 monoclonal antibody)	0.2 ml x 1 vial
Conjugate Diluent (Ready to use)	24 ml x 1 vial
Assay Diluent (Ready to use)	30 ml x 1 vial
Wash Concentrate (10x)	100 ml x 1 vial
Substrate (Tetramethylbenzidine/Hydrogen Peroxide) (Ready to use)	20 ml x 1 vial
Stop Solution (0.5mol/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , irritant) (Ready to use)	20 ml x 1 vial

**操作法**

## □ 準備するもの

- ・ マイクロプレートリーダー
- ・ プレートウォッシャーまたは洗浄ビン
- ・ マイクロピペット
- ・ マルチチャンネルマイクロピペット
- ・ 一次反応準備用マイクロプレート
- ・ マイクロカップ専用ホルダー
- ・ ダミーのマイクロカップ（自動洗浄機使用時）
- ・ リザーバー
- ・ 精製水

## □ 試薬の調製法

## 1) 洗浄液の調製

Wash Concentrate 50 mLに精製水450 mLを加えて希釈し、洗浄液とします。

洗浄液は2～8℃で2週間安定です。

## 2) Conjugate solution の調製（操作前に実施）

Peroxidase conjugated anti-mouse IL-18 monoclonal antibodyはConjugate diluentで101倍希釈してConjugate solutionとします。

※注意：Conjugate solutionは保存できませんので、必要量を用時調製して下さい。

コンタミネーションを防ぐため、Conjugate solution の調製には、ディスポーザブルの新しい器具を使用してください。

3) Standards の調製（操作直前に実施）

IL-18 Calibrator は、Assay diluent で溶解します。

Standards の調製はキット添付の「Standars の調製方法」に従って調製してください。

※注意：IL-18 Calibrator は、操作直前に溶解して使用してください。

溶解後のIL-18 Calibrator を保存する場合には、適当に小分けして-20℃以下で凍結保存してください。また、凍結融解の繰り返しは避けて下さい。

4) その他の試薬はそのままお使い下さい。

□ 操作法

(1) 検体の準備

1) サンプルは、Assay diluent を用いて希釈してください。

(例) 血清を測定する場合には、5倍希釈して測定してください。

(Assay diluent 200  $\mu$ l に対し、検体50  $\mu$ l を加え5倍希釈します。)

※注意：検体希釈倍数は用いるサンプルによって異なります。最適な検体希釈倍数は各研究室毎に設定して下さい。

※注意：検体は新鮮なものを用いて下さい。検体を保存する場合は、小分けして-20℃以下で凍結保存して下さい。また、凍結融解の繰り返しは避けて下さい。

※注意：Mouse IL-18 calibratorにはFCSが含まれています。従ってFCS等の血清成分を含まないサンプルは、血清成分を含むサンプル（例えばマウス血清、マウス血漿、FCSを含む細胞培養上清など）と異なった反応性を示します。従って、本キットは血清成分を含まないサンプルの測定には適しません。血清成分を含まないサンプルを測定した場合の定量値は参考値として扱って下さい。

2) 希釈調製したStandards 及び検体を 150  $\mu$ l ずつ、一次反応準備用マイクロプレートに実際と同じように添加します。

(2) 一次反応

1. マルチチャンネルピペットを用い、一次反応準備用マイクロプレートに添加したStandards 及び検体を 100  $\mu$ l ずつ抗体感作マイクロカップに移します。

※注意：マイクロカップに検体を添加した時点から反応が始まりますので、操作は短時間のうちに行ってください。

2. 室温（20～25℃）で1時間静置反応させます。

(3) 洗浄

自動洗浄機（マイクロプレート専用機）または洗浄ビンを用いて洗浄液でマイクロカップを洗浄します。

洗浄回数： 自動洗浄機・・・4回                      洗浄ビン・・・4回

※注意：自動洗浄機を用いた場合、使用する自動洗浄機によって最適洗浄回数が異なる場合があります。あらかじめ各施設で用いる自動洗浄機の最適洗浄回数を確認することをお勧めします。

洗浄液は必ず室温（20～25℃）のものを使用して下さい。

(4) 二次反応

1. マイクロカップに残った洗浄液を完全に除去した後、リザーバーに移した **Conjugate solution** をマルチチャンネルピペットで、100  $\mu$ lずつ添加します。
2. 室温（20～25℃）で1時間静置反応させます。

※注意：マイクロカップの乾燥を避けるため、**Conjugate solution** のマイクロカップへの分注は洗浄液除去後直ちに行ってください。

(5) (3)と同様にマイクロカップを洗浄します。

(6) 酵素反応

1. マイクロカップに残った洗浄液を完全に除去した後、**Substrate reagent** をリザーバーに移し、マルチチャンネルピペットで、100  $\mu$ lずつ添加します。
2. 室温（20～25℃）で30分間静置反応させます。

※注意：**Substrate reagent** は必ず室温（20～25℃）に戻した後、使用して下さい。

**Conjugate solution** を入れたリザーバーと **Substrate reagent** を入れるリザーバーは、必ず別のものを使用して下さい。

**Substrate reagent** は金属イオンにより参加されやすいのでディスポーザブルの新しい器具を使用して下さい。

金属イオンや微生物などによるコンタミネーションを防ぐため、試薬ボトルからリザーバーへ **Substrate reagent** を移す際にもディスポーザブルのピペットを使用して下さい。また、一度リザーバーに移した **Substrate reagent** は試薬ボトルに戻さないで下さい。

※注意：マイクロカップの乾燥を避けるため、**Substrate reagent** のマイクロカップへの分注は洗浄液除去後直ちに行ってください。

(7) 反応停止

リザーバーに移した **Stop solution** をマルチチャンネルピペットで、100  $\mu$ lずつ添加し、反応を停止します。

(8) 吸光度測定

自動分光光度計（マイクロプレート専用機：垂直透過型）にマイクロカップをセットして、波長 450 nm の吸光度（副波長 620 nm）を測定します。

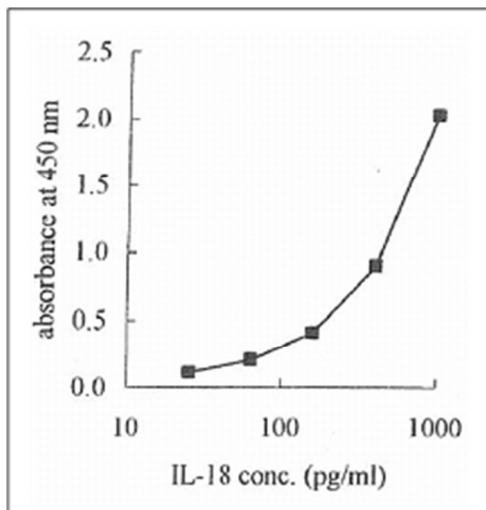
※注意：吸光度測定は反応停止後 30 分以内に行ってください。

□濃度算出

片対数グラフ用紙の横軸に IL-18 の濃度 (pg/ml)、縦軸に吸光度をとります。この標準曲線を用いて検体の吸光度の平均値から濃度を読み取り、検体の希釈倍率を乗じた値を測定結果とします。

※検体の吸光度が、1,000 pg/ml Standard の吸光度を超えた場合、あるいは分光光度計の信頼範囲を超えた場合には、検体をさらに希釈して再測定して下さい。

◆ 標準曲線の例



**操作上の留意点**

- (1) キットの構成品は、室温（20～25℃）に戻してから使用して下さい。
- (2) 抗体感作マイクロカップは湿気をきらいますので、十分室温（20～25℃）に戻してから開封して下さい。また、開封後はアルミ袋のチャックを確実に締めて保存して下さい。
- (3) 検体は新鮮なものを用いて下さい。検体を保存する場合は、小分けして-20℃以下で凍結保存して下さい。また、凍結融解の繰り返しは避けて下さい。



- (4) 本試薬の構成品のうち、Assay diluent には 0.09%アジ化ナトリウム ( $\text{NaN}_3$ ) を添加しています。濃度は 0.09% ですので毒物には該当しませんが、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば、医師の手当てを受けて下さい。また、アジ化ナトリウムは、配管中で爆発性のアジ化銅やアジ化鉛を形成することが報告されています。これらの物質の形成を防ぐため、アジ化ナトリウムを含んだ廃液は十分量の水で洗い流して下さい。
- (5) 本試薬の構成品のうち、Stop solution には、0.5 mol/L 硫酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) を用いています。使用の際には十分注意して取り扱いして下さい。
- (6) 本試薬は研究用試薬です。ヒトの体内に用いたり、診断の目的に使用しないで下さい。

## 性能

### □感度

最小検出感度は、25.0 pg/ml です。

リコンビナント IL-18 を希釈して測定したとき、12.5 pg/ml 測定値の平均 + 2S.D. が、25.0 pg/ml 測定値の平均 - 2S.D. より小さくなりました。

### □再現性

#### 1. 同時再現性試験

血清6例を用いて、同時に8回測定したところ、下表の結果が得られました。

血清サンプルのIL-18濃度は「濃度算出」で示されている方法に従って求めました。

Sample	serum 1	serum 2	serum 3	serum 4	serum 5	serum 6
Number of replicates	8	8	8	8	8	8
Mean (pg/ml)	3554.4	3285.9	2791.7	2212.8	992.3	625.3
C.V. (%)	2.5	2.0	5.8	5.3	3.1	3.8

#### 2. 日差再現性試験

血清5例を用いて、測定日を変えて5回測定したところ、下表の結果が得られました。

血清サンプルのIL-18濃度は「濃度算出」で示されている方法に従って求めました。

Sample	serum 1	serum 2	serum 3	serum 4	serum 5
Number of determinations	5	5	5	5	5
Mean (pg/ml)*	3500.2	3241.7	2557.9	2066.8	842.6
C.V. (%)	7.4	4.4	3.8	5.4	8.5

各血清サンプルは2重測定しました。

## □ 添加回収試験

血清4例を用いて、添加回収試験を行ったところ、下表の結果が得られました。

血清サンプルのIL-18濃度は「濃度算出」で示されている方法に従って求めました。

**Serum 1**

(A) Additional mLIL-18 (pg/mL)	IL-18 concentration observed (pg/mL)	(B) recovery (pg/mL)	(B/A) recovery (%)
0.0	956.0	-	-
536.0	1497.3	541.3	101.0
960.5	1873.3	917.3	95.5

\* rmIL-18 is abbreviation of recombinant mouse IL-18.

**Serum 2**

(A) Additional mLIL-18 (pg/mL)	IL-18 concentration observed (pg/mL)	(B) recovery (pg/mL)	(B/A) recovery (%)
0.0	742.0	-	-
536.0	1279.0	537.0	100.2
960.5	1594.0	852.0	88.7

\* rmIL-18 is abbreviation of recombinant mouse IL-18.

**Serum 3**

(A) Additional mLIL-18 (pg/mL)	IL-18 concentration observed (pg/mL)	(B) recovery (pg/mL)	(B/A) recovery (%)
0.0	1397.3	-	-
536.0	1921.8	524.5	97.9
960.5	2213.0	815.8	84.9

\* rmIL-18 is abbreviation of recombinant mouse IL-18.

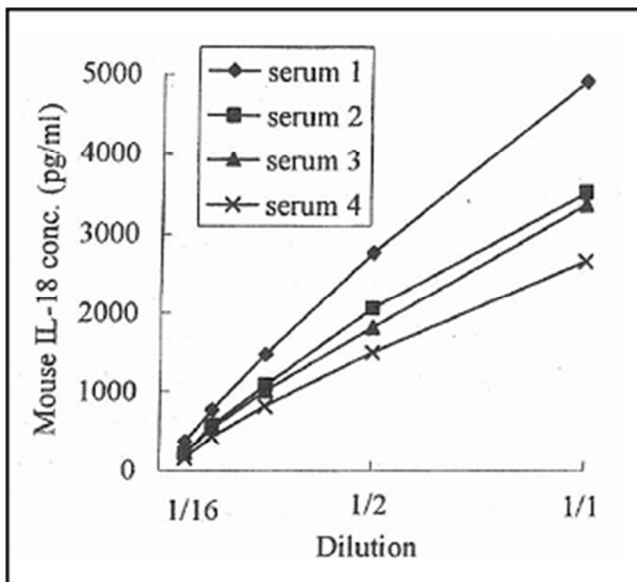
**Serum 4**

(A) Additional mLIL-18 (pg/mL)	IL-18 concentration observed (pg/mL)	(B) recovery (pg/mL)	(B/A) recovery (%)
0.0	340.8	-	-
536.0	884.5	543.8	101.4
960.5	1278.8	938.0	97.7

\* rmIL-18 is abbreviation of recombinant mouse IL-18.

## □ 希釈試験

血清を Assay diluent で希釈し測定したところ、下表の結果が得られました。  
(測定結果は、検体希釈倍数を乗じた後の値です。)

**包装**

96 ウェル

**貯法**

2～8℃にて保存

**有効期間**

製造後12か月

**参考文献**

- Okamura H., et al. Nature 378, 88-91 (1995)  
 Ushio S., et al. J. Immunol. 156, 4274-4279 (1996)  
 Micallef M., et al. Eur. J. Immunol. 26, 1647-1651 (1996)  
 Tao D., et al. Cell Immunol. 173, 230-235 (1998)  
 Taniguchi M., et al. J. Immunol. methods 206, 197-113 (1997)

## **問合せ先**

株式会社 医学生物学研究所

URL <http://ruo.mbl.co.jp>

e-mail [support@mbi.co.jp](mailto:support@mbi.co.jp)

TEL 052-238-1904