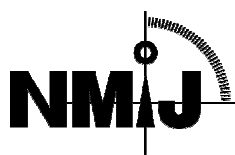


独立行政法人 産業技術総合研究所
計量標準総合センター 標準物質認証書



認証標準物質

NMIJ CRM 6201 - b
No. +++

C 反応性蛋白溶液

C-reactive Protein Solution

本標準物質は、ISO GUIDE 34:2009 および ISO/IEC 17025:2005 に適合するマネジメントシステムに基づき生産された、遺伝子組換えヒト C 反応性蛋白溶液である。C 反応性蛋白の各種定量分析における分析機器の校正、精度管理及び分析試薬の値付けに用いることができるほか、アミノ酸分析によるタンパク質量における分析方法や分析装置の妥当性確認に用いることができる。血清試料等の分析や値付けに用いる際には、コンピュータビリティを確認する必要がある。

【認証値】

C 反応性蛋白の単量体としての濃度の認証値は以下の通りである。認証値の拡張不確かさは、合成標準不確かさと包含係数 $k=2$ から決定された値であり、約 95 % の信頼の水準をもつと推定される区間の半分の幅を表す。

物質名	CAS 番号	認証値 濃度 ($\mu\text{mol/kg}$)	拡張不確かさ 濃度 ($\mu\text{mol/kg}$)
C 反応性蛋白	99401-15-7	40.0	1.6

【認証値の決定方法】

本標準物質の認証値は、以下に示す加水分解と同位体希釈-液体クロマトグラフィー質量分析法を組み合わせた、2 種類のアミノ酸分析により得られた C 反応性蛋白濃度の重み付き平均値より求めた。

- 1) 130 °C、24 時間気相での塩酸加水分解を行ったのち、誘導体化を行うことなく、親水性相互作用クロマトグラフィーによりアミノ酸を分離し、アラニン、アルギニン、イソロイシン、ロイシン、リシン、フェニルアラニン、プロリン、バリンを定量した。
- 2) マイクロ波加熱加水分解装置を用いて 150 °C、3 時間液相での塩酸加水分解を行ったのち、*N*-ブチルニコチン酸スクシンイミドエステルをプレカラム誘導体化試薬として用い、逆相クロマトグラフィーによりアミノ酸を分離し、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシン、ロイシン、リシン、フェニルアラニン、プロリン、バリンを定量した。

それぞれのアミノ酸分析においては、各アミノ酸の定量値と C 反応性蛋白 1 分子に含まれる各アミノ酸の個数をもとに、単量体としての C 反応性蛋白濃度を算出した。

【計量計測トレーサビリティ】

本標準物質の認証値は、NMIJ アミノ酸認証標準物質 (L-アラニン (NMIJ CRM 6011-a)、L-アルギニン (NMIJ CRM 6017-a)、L-アスパラギン酸 (NMIJ CRM 6027-a)、L-グルタミン酸 (NMIJ CRM 6026-a)、L-イソロイシン (NMIJ CRM 6013-a)、L-ロイシン (NMIJ CRM 6012-a)、L-リシン-塩酸塩 (NMIJ CRM 6018-a)、L-フェニルアラニン (NMIJ CRM 6014-a)、L-プロリン (NMIJ CRM 6016-a)、L-バリン (NMIJ CRM 6015-a)) を用いて標準液を作製し、一次標準測定法である同位体希釈質量分析法を用いたアミノ酸分析により求めたものであり、国際単位系 (SI) にトレーサブルである。

【参考値】

認証値をもとに、質量分析により求めた平均分子質量と密度測定の結果 (参考情報を参照のこと) を用いて算出した、20 °C での質量濃度を参考値として以下に示す。参考値の不確かさは、認証値の不確かさをもとに算出した。

物質名	参考値 質量濃度 (g/L)	拡張不確かさ 質量濃度 (g/L)
C 反応性蛋白	0.926	0.035

【安定性】

-80℃および4℃での保存について安定性試験を行い、安定性を確認している。評価した安定性に起因する不確かさは、認証値の不確かさに含まれている。NMIJにおいては、1年に1回安定性のモニタリングを実施する。

【有効期限】

有効期限は未開封で下記の保存条件のもとで、出荷日の6ヶ月後である。

【形状等】

本標準物質は、常温では無色透明の液体で、約2 mL ずつ半透明プラスチックバイアルに封入され、アルミニウムラミネート袋に密封されている。

【均質性】

小分けした100本の試料を調製順に層化し、10本をサンプリングした。ゲルろ過クロマトグラフィーを用いてピーク面積測定を行い、測定値について分散分析から均質性に起因する不確かさを求めた。求めた不確かさは、認証値の不確かさに含まれており、本標準物質は認証値の不確かさの範囲で均質である。

【保存に関する注意事項】

本標準物質は到着後、冷蔵温度（4℃程度）で清浄な場所に保存する。凍結はさせないこと。

【使用に関する注意事項】

10回程度転倒混和してから使用すること。開栓後はすみやかに使用すること。C反応性蛋白は実験器具類に吸着しやすい性質があるため、低吸着性の器具の使用や希釈時にキャリアタンパク質等の使用を推奨する。試験研究用以外には使用しないこと。生体を用いた試験研究には使用しないこと。

【取り扱いにおける注意事項】

MSDSに従って取り扱うこと。

【製造方法等】

本標準物質はオリエンタル酵母工業株式会社が製造した遺伝子組換えヒトC反応性蛋白溶液を同社にて小分けしたものである。

【参考情報】

- ① 翻訳後修飾（N末端グルタミンのピログルタミル化、および1対のジスルフィド結合）を考慮したアミノ酸配列から求められた、C反応性蛋白の分子量は23028.1である。また、質量分析により求められた平均分子量（分子量の推定値）は23026.4であった。
- ② 20℃における本標準物質の密度は、1.0055 g/cm³であった。20℃から4℃に変化させた場合、密度は約0.2%大きくなる。
- ③ 溶液組成は、0.14 mol/L NaCl、2 mmol/L CaCl₂、0.05% NaN₃を含む20 mmol/L トリスヒドロキシメチルアミノメタン-塩酸緩衝液（pH 7.5）である。

【生産担当者】

本標準物質の生産に関する技術管理者は高津章子、生産責任者は加藤愛、値付け担当者は加藤愛、絹見朋也、藤井紳一郎、吉岡真理子、後藤麻里である。

【情報の入手】

本標準物質に関して認証値の変更等、重要な改訂があった場合は購入者に通知する。購入者は下記ホームページから「標準物質ユーザー登録」を行うことにより、上記の通知を入手できる。なお、本標準物質に関する技術情報は、下記連絡先より入手できる。

【認証書の複製について】

本認証書を複製する場合は、複製であることが明瞭にわかるようにしなければならない。

【付記】

本標準物質は、日本、韓国、中国の国家計量標準機関（それぞれ NMJJ, KRISS, NIM）において構築された“ACRM (Asian Collaboration on Reference Materials)”で実施された共同分析試験 (Co-validation of C-reactive protein CRM) において、認証値の妥当性が確認されている。

2012年 8月 29日

独立行政法人 産業技術総合研究所

理事長 野間口 有

本標準物質に関する質問等は以下にご連絡ください。

独立行政法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター

計量標準管理センター 標準物質認証管理室

〒305-8563 茨城県つくば市梅園 1-1-1

電話 : 029-861-4059、ファックス : 029-861-4009、ホームページ : <http://www.nmij.jp/service/C/>