

国立研究開発法人 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 6202-a
No. +++

ヒト血清アルブミン

Human Serum Albumin

本標準物質は、ISO 17034 及び ISO/IEC 17025 の要求事項に適合するマネジメントシステムに基づき生産された、ヒト血清アルブミン水溶液である。アミノ酸分析、クロマトグラフィー、吸光度分析等の機器分析によるアルブミンの定量分析における分析機器の校正、精度管理、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。

【認証値】

本標準物質の20℃におけるアルブミンの認証値は以下のとおりである。認証値の不確かさは、合成標準不確かさと包含係数 $k=2$ から決定された拡張不確かさであり、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。認証値は以下の通りである。

物質名	CAS番号	認証値 質量濃度 (g/L)	拡張不確かさ 質量濃度 (g/L)
アルブミン	70024-90-7	74.3	2.1

【認証値の決定方法】

試料を塩酸加水分解し同位体希釈質量分析法を用いたアミノ酸分析を行った。本標準物質の認証値はアミノ酸分析の結果に密度と分子量による換算を行い決定した。

タンパク質の加水分解とアミノ酸分析は、下記の2つの方法により行った。

- (1) マイクロ波加熱液相加水分解とプレカラム誘導体化法による逆相クロマトグラフィー/質量分析法：
マイクロ波加熱により160℃ 3時間塩酸による液相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、アスパラギン酸、グルタミン酸、プロリン、リシン、バリン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニンを定量した。
- (2) 気相加水分解とプレカラム誘導体化法による逆相クロマトグラフィー/質量分析法：
気相による130℃ 24時間塩酸加水分解を行ったのち、1-プロモブタンにより誘導体化し(1)と同じアミノ酸を定量した。

【計量計測トレーサビリティ】

本標準物質の認証値は、L-アスパラギン酸認証標準物質 (NMIJ CRM 6027-a)、L-グルタミン酸認証標準物質 (NMIJ CRM 6026-a)、L-プロリン認証標準物質 (NMIJ CRM 6016-a)、L-リシン塩酸塩認証標準物質 (NMIJ CRM 6018-a)、L-バリン認証標準物質 (NMIJ CRM 6015-a)、L-イソロイシン認証標準物質 (NMIJ CRM 6013-a)、L-ロイシン認証標準物質 (NMIJ CRM 6012-a)、L-フェニルアラニン認証標準物質 (NMIJ CRM 6014-a) を用いて調製した標準液を用い、一次標準測定法である同位体希釈質量分析法による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】

米国標準技術研究所 (NIST) より頒布されているウシ血清アルブミン標準物質 (Bovine Serum Albumin, NIST SRM 927d) を標準液として、ビウレット法¹⁾により決定された濃度を参考値として以下に示す。本参考値はNIST SRM 927dへのトレーサビリティが求められるビウレット法による各種タンパク質定量分析に使用できる。参考値の不

確かさは、値付けの不確かさ、均質性の不確かさ、安定性の不確かさ、標準液に起因する不確かさを合成して求めた合成標準不確かさと包含係数 $k=2$ から決定された拡張不確かさであり、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。

1) Doumas BT., Bayse DD., Carter RJ., Peters T Jr, Schaffer R. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin. Chem. (1981) 27, 1642-50.

物質名	参考値 質量濃度 (g/L)	拡張不確かさ 質量濃度 (g/L)
アルブミン	77.3	3.2

【有効期間】

本標準物質が下記の【保存に関する注意事項】の条件で保存された場合、本認証書は出荷日から1年間有効である。

【形状等】

本標準物質は無色透明の液体で、約1 mLがガラスアンプルに封入されている。このアンプルはさらにプラスチックバッグに封入し、ポリスチレン製容器にアンプルカッターとともに納めてある。

【均質性】

小分けした430本の試料から調製順に層化し10本を層別ランダムに取り出し均質性試験に用いた。各アンプルから0.1 gの溶液を用いて逆相クロマトグラフィーによりアルブミンのピークを測定し均質性を確認した。評価した均質性に起因する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内で均質である。

【安定性】

安定性を確認し、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。

【保存に関する注意事項】

本標準物質は4℃程度の冷蔵庫に保管すること。凍結させないこと。

【使用に関する注意事項】

本標準物質は試験研究用であり、生体を用いる試験研究には使用しないこと。転倒混和し十分均一化したのちに使用すること。開封後はすみやかに使用すること。希釈して用いる際は実験器具への吸着に注意すること。各臨床検査キットにおけるコミュニティビリティは確認していない。

【取り扱いにおける注意事項】

本標準物質はヒトプール血清を原料としている。HBs抗原、HCV抗体、HIV-1抗体およびHIV-2抗体の検査、およびこれらの遺伝子検査は全て陰性であった。しかし、感染性は否定できないため、感染の恐れがあるとみなし、**取扱いには保護手袋の使用やアルブミンの付着した器具等の滅菌を行うなど患者検体と同様の注意が必要である。**安全データシート（SDS）を参考にして使用すること。

【製造等】

本標準物質はヒトプール血清から製造された市販の高純度ヒト血清アルブミン（Sigma-Aldrich社製、fatty acid free and globulin free）を原料とし、和光純薬工業（株）により溶液を調製しガラスアンプルに小分け、封入されたものである。

【参考情報】

- (1) 本標準物質の溶液組成は、20 mmol/L NaCl、0.05% NaN₃（pH 6.7）である。
- (2) 本標準物質の20℃および25℃における密度はそれぞれ1.0201 g/cm³、1.0190 g/cm³である。
- (3) ヒト血清アルブミンの分子量として66 402を用いた。この値は、ヒトアルブミンのアミノ酸配列（UniProt、accession # P02768）の25-609アミノ酸に相当する分泌型の配列に対し、17対のジスルフィド結合を考慮して

求めた。質量分析によって得られた本標準物質の相対分子質量は、上記の分子量近傍の値であった。

- (4) 本標準物質の分子量、密度を参照しない濃度は $(1098 \pm 31) \mu\text{mol/kg}$ (±以下の数値は包含係数 $k=2$ とする拡張不確かさを表す。) である。
- (5) 本標準物質はアルブミンの単量体の他、二量体、三量体を含んでおり、吸光光度検出によるゲル濾過クロマトグラフィーによって求めたピークの面積百分率は認証時点で以下のとおりである。(±以下の数値は測定の標準偏差を表す。) これらの値はそれぞれの質量での割合を反映していると考えられる。
- 単量体： $(89.6 \pm 0.02) \%$
二量体： $(9.42 \pm 0.02) \%$
三量体： $(1.00 \pm 0.01) \%$

なお、4℃での保存時、単量体は増加し、二量体、三量体は減少する。同様の検出用試料を用いたとき、単量体の割合は1年で約3%増加した。

【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、生産責任者は絹見朋也、値付け担当者は絹見朋也、坂口洋平、水野亮子である。

【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、下記ホームページから「標準物質ユーザー登録」を行った購入者に通知する。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。

2020年 4月 1日

国立研究開発法人 産業技術総合研究所
理事長 石村 和彦

本標準物質に関する質問等は以下にご連絡ください。

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター
計量標準普及センター 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：<https://unit.aist.go.jp/qualmanmet/refmate/>

改訂履歴

2015.04.01 組織名称等の変更に伴い、関連する記載内容を変更した。