

17th JBF Symposium, 2026.03.05

LBAの基礎講座

Basic Course on LBA

メディフォード株式会社 垣外 梢



mediford
A Member of PHC Group

メディフォード株式会社

はじめに

バイオ医薬品の研究開発が進む中、薬物濃度測定、抗薬物抗体（ADA）測定、バイオマーカー測定などにLigand Binding Assay（LBA）を用いる機会が増えています。LBA測定系は単純なものから複雑なものまで多岐にわたり、工程が長くなるほど結果に作用する要因が増え、精度の高い結果を継続的に得ることが難しくなります。手技や知識の習熟度が高いほど再現性の高い結果を得ることができるため、LBAアナリストの育成が重要となります。

- これからLigand Binding Assay（LBA）や分析法開発を始める方、経験の浅い方、LBAの教育担当をされる方に向けた基礎講座です。
- LBAの手順や各工程での注意点、測定法開発における留意点など基礎的な部分の説明とともに、LBAアナリストの教育方法について紹介致します。

発表内容に関連し、開示すべき COI 関係にある
企業、組織、団体等はありません。
発表内容は個人の考えを示すものであり、
所属企業の考えを示すものではありません。

— 本日の発表内容 —

LBA アナリストの育成

1

座 学

ELISAの原理を
理解しよう

2

実験準備

アッセイを
イメージしよう

3

タイムトライアル

プレートに
サンプリング
してみよう

4

アッセイデビュー

市販キットで
チャレンジ

5

ELISAの流れをマスター

検証済みレディメイド系で
スキルチェック

- ① 分析法検討： 分析条件を構築・最適化してみよう
- ② バリデーション： 分析法の妥当性を検証しよう
- ③ 検体の測定： 複数プレートを精度よく測定（品質維持）

—本日の発表内容—

LBA アナリストの育成

座 学

ELISAの原理を
理解しよう

1

実験準備

アッセイを
イメージしよう

2

タイムトライアル

プレートに
サンプリング
してみよう

3

アッセイデビュー

市販キットで
チャレンジ

4

ELISAの流れをマスター

検証済みレディメイド系で
スキルチェック

5

- ① 分析法検討： 分析条件を構築・最適化してみよう
- ② バリデーション： 分析法の妥当性を検証しよう
- ③ 検体の測定： 複数プレートを精度よく測定（品質維持）

LBA：特異的な結合反応を利用して分析物を検出・定量する手法

ELISA：酵素結合免疫吸着測定法

_____ (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

- 結合試薬として分析対象に特異的な結合反応を示す抗体が用いられる
- 分析対象に酵素標識された抗体を反応させて発色反応を起こし、その発色強度から濃度を定量する

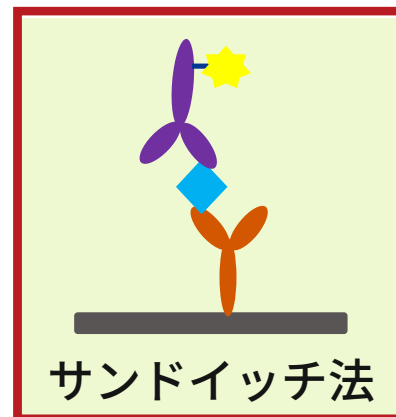
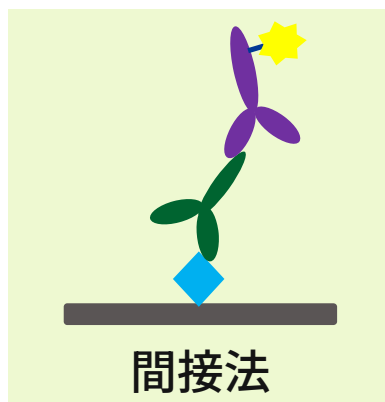
- **ELISAの長所**
 - ・ 測定対象物質に対する特異性が高い
 - ・ 測定感度が良好
 - ・ 測定精度が高い
 - ・ 操作が簡単
 - ・ 費用が安い（一度に多数の試料を扱える）
 - ・ 安全（vs RIA）

LBA：特異的な結合反応を利用して分析物を検出・定量する手法

ELISA：酵素結合免疫吸着測定法

_____ (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

- 結合試薬として分析対象に特異的な結合反応を示す抗体が用いられる
- 分析対象に酵素標識された抗体を反応させて発色反応を起こし、その発色強度から濃度を定量する



ELISAに必要な試薬、器材、機器

- 抗体
- コーティング液
- 洗浄液
- 基質
- 停止液
- ブロッキング溶液等
- プレート（96ウェル, 384ウェル）
- マイクロピペット（シングル, マルチチャンネル）
- プレートウォッシャー
- マイクロプレートリーダー
- プレートシェーカー、インキュベーター等

ELISAの実験操作（例）

- ① 96ウェルプレートに Capture 抗体を固定化 → インキュベート
→ 内容物廃棄
- ② ブロッキング溶液を添加 → インキュベート → 内容物廃棄
- ③ サンプルを添加 → インキュベート → 洗浄
- ④ 標識された Detection 抗体を添加 → インキュベート → 洗浄
- ⑤ 基質添加 → 遮光／インキュベート → 反応停止液添加
- ⑥ 吸光度測定

座学：ELISAの原理を理解しよう

ELISA実施にあたり、計画書／記録用紙を作成、実験操作の流れを理解しましょう

(1) 計画書を作成（記載内容例）

- 測定対象物質
- 標準物質
- 抗体
- マトリックス
- 購入試薬
- 調製試薬
- サンプル調製方法、検量線、QC、試料
- 使用器具
- 使用機器
- アッセイ手順
- データ処理方法
- 精度管理基準
- 再測定基準

(2) 記録用紙を作成（例）

- ASSAY LIST（サンプルの並びを決定）
- 使用材料の記録（融解操作含む）
- 検量線調製記録
- QCサンプル調製試薬
- 試料希釈の記録
- アッセイフローの記録

(3) 解析ソフトウェアのTemplateを作成

- ASSAY LIST（サンプルの並びを決定）
- 測定波長を設定
- 検量線及びQCの濃度入力
- プロット方法、回帰式を設定
- 統計算出方法を入力（CV, RE等）

— 本日の発表内容 —

LBA アナリストの育成

1

座 学

ELISAの原理を
理解しよう

2

実験準備

アッセイを
イメージしよう

3

タイムトライアル

プレートに
サンプリング
してみよう

4

アッセイデビュー

市販キットで
チャレンジ

5

ELISAの流れをマスター

検証済みレディメイド系で
スキルチェック

- ① 分析法検討： 分析条件を構築・最適化してみよう
- ② バリデーション： 分析法の妥当性を検証しよう
- ③ 検体の測定： 複数プレートを精度よく測定（品質維持）

実験準備：アッセイをイメージしよう
スムーズに実験を進めるために

計画書／記録用紙をもとに実験準備をしましょう。

(1) 使用試薬の状態を確認

保管温度は適切か、使用期限内であるか、必要量確保できているか

(2) 使用消耗品の在庫を確認

プレート、ピペットチップ、リザーバー、プレートシール等

(3) 測定機器の状態を確認

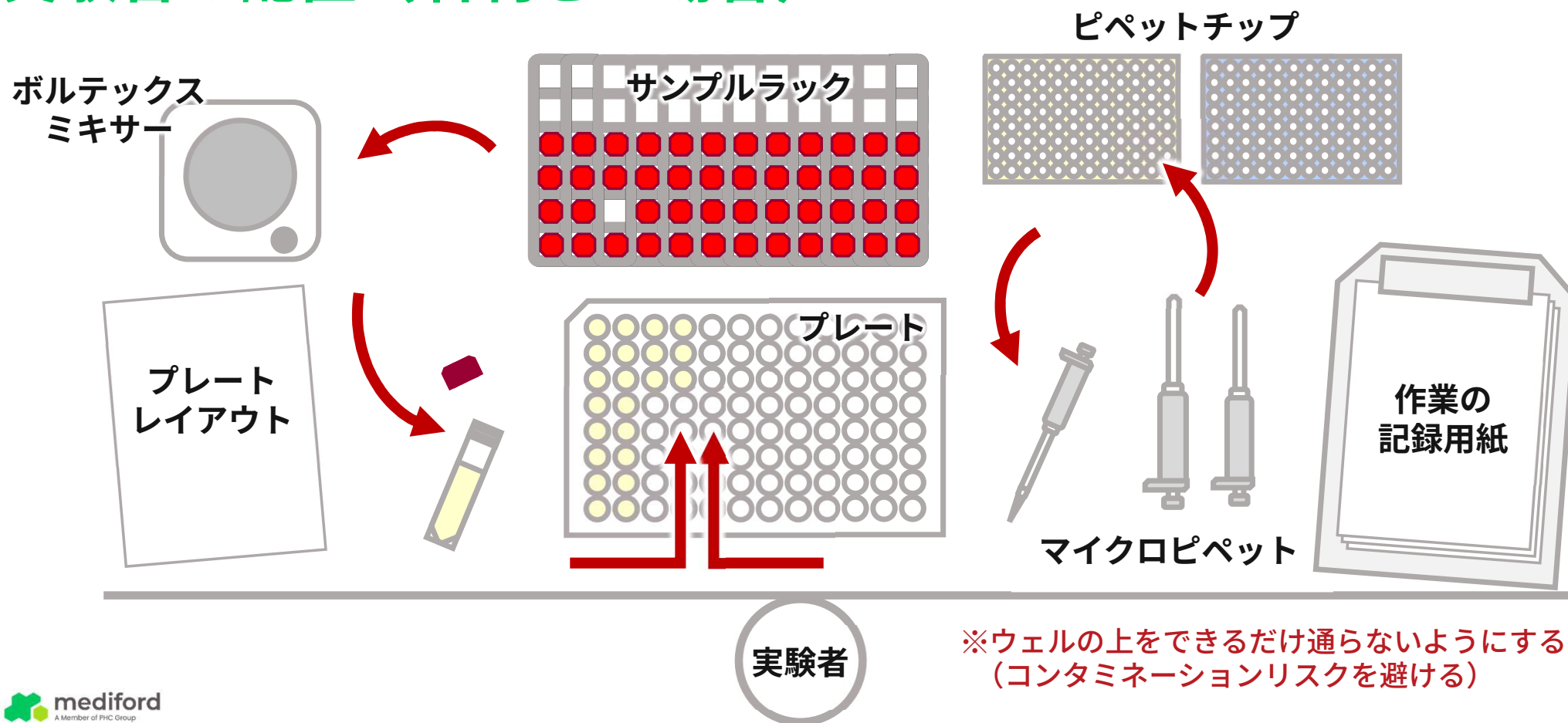
適切な点検がされているか、電源が入り接続に問題がないか

(4) その他機器の状態を確認

マイクロピペットの使用時点検（実験で使うチップを用いて実施）が合格基準を満たしているか／プレートウォッシャーの電源が入り、流路が洗浄液で満たされ、適切にプレートへ添加されるか／インキュベータが設定温度に到達し、安定しているか

実験準備：アッセイをイメージしよう
スムーズに実験を進めるために

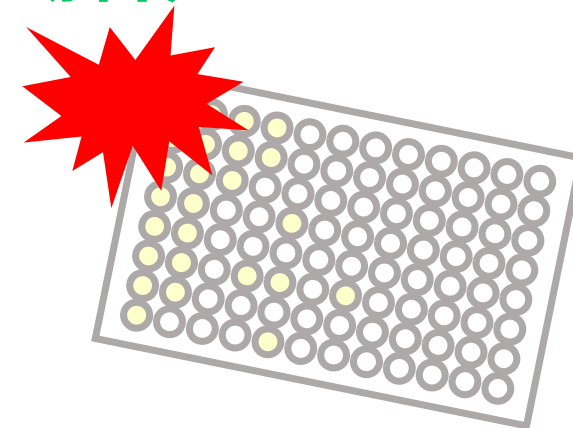
実験台の配置（右利きの場合）



実験準備：アッセイをイメージしよう
スムーズに実験を進めるために

アッセイ環境（室温インキュベーションの場合）

- 温度、湿度、空調（エアコン）の向き、遮光
- 試薬の温度、実験者の体温、実験台の温度



機器の配置

- 作業スペース ⇔（動線確保）⇔ 使用機器
【プレートシェーカー、プレートウォッシャー、プレートリーダー等】

※他のアッセイスペースから距離をおく、他の作業動線と交差しないようにする

実験準備：アッセイをイメージしよう
スムーズに実験を進めるために

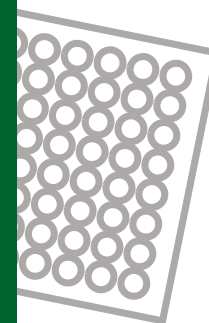
アッセイ環境（室温インキュベーションの場合）

- 温度、
- 試薬の

機器の

- 作業ス
【プレ
※他のア

アッセイの成功は
整理整頓から



【プレート等】

—本日の発表内容—

LBA アナリストの育成

1

座 学

ELISAの原理を
理解しよう

2

実験準備

アッセイを
イメージしよう

3

タイムトライアル

プレートに
サンプリング
してみよう

4

アッセイデビュー

市販キットで
チャレンジ

5

ELISAの流れをマスター

検証済みレディメイド系で
スキルチェック

- ① 分析法検討： 分析条件を構築・最適化してみよう
- ② バリデーション： 分析法の妥当性を検証しよう
- ③ 検体の測定： 複数プレートを精度よく測定（品質維持）

タイムトライアル：プレートにサンプリングしてみよう

96 well plate に慣れる・スピーディなサンプリングができるようになる

色水を用いた模擬サンプリングで練習してみる

同時に複数枚処理するためにはよりスピーディに精度よくサンプリングする必要があります。最終的には精度を保ったまま1プレートを10分以内でサンプリングできるよう練習を継続するとよいでしょう。

方法： 濃度勾配をつけた色水（例：トリパンブルーを水で希釈して作成、6 or 7 ポイント）を準備シングルピペットを用いて96ウェルプレートにDuplicateでサンプリングする。

- 一般的にELISAのサンプリングは最初のウェルと最後のウェルにタイムラグが発生しないよう、20分以内に完了できるようになるのが理想
- Duplicateの吸光度の CV がすべて20%以内、同一サンプルの吸光度の CV が20%以内か（スピードだけでなくバラつきも出さないことが重要）

タイムトライアル：プレートにサンプリングしてみよう

96 well plate に慣れる・スピーディなサンプリングができるようになる

色水を用いた模擬サンプリングで練習してみる

ミス（例）

- ・サンプリングするウェルを間違える
- ・バラつきがみられる
- ・プレートを落としてしまった
- ・規定時間内にサンプリングが終わらない

※リズムがつかめるようになるまで練習を繰り返しましょう

Tips

- チップがきちんとマイクロピペットに装着できているか必ず確認する
- プレウェットして採取、チップの先端に液だれがないことを確認し
リピート法で Duplicate で添加する
- ウェルにチップを入れる角度/深さ/操作スピード（リズム）を一定に保つ
- サンプルの蓋を片手で開閉できるようになると時間短縮できる

タイムトライアル：プレートにサンプリングしてみよう

96 well plate に慣れる・スピーディなサンプリングができるようになる

色水を用いた模擬サンプリングで練習してみる

ミス（例）

- ・ サンプ
- ・ プレー

らない

正確さだけでなく
スピードも必要要件

Tips

- チップ
- プレウ
- リピー
- ウェルにチップを入れる角度/深さ/操作スピード（リズム）を一定に保つ
- サンプルの蓋を片手で開閉できるようになると時間短縮できる

— 本日の発表内容 —

LBA アナリストの育成

1

座 学

ELISAの原理を
理解しよう

2

実験準備

アッセイを
イメージしよう

3

タイムトライアル

プレートに
サンプリング
してみよう

4

アッセイデビュー

市販キットで
チャレンジ

5

ELISAの流れをマスター

検証済みレディメイド系で
スキルチェック

- ① 分析法検討： 分析条件を構築・最適化してみよう
- ② バリデーション： 分析法の妥当性を検証しよう
- ③ 検体の測定： 複数プレートを精度よく測定（品質維持）

アッセイデビュー：市販キットでアッセイチャレンジ
プロトコールを遵守し、安定した反応を維持できるようになる

市販キットを用いて練習してみる

市販キットは固相化済みプレートが付属されていることが多く、乾燥しにくく操作のスピードが影響しにくい印象があり、初心者でも再現のある結果が得られやすく、手技確認に適しています。

方法： 検量線、再現性試料（ $n=3\sim6$ ）を調製し、測定する。

- Duplicate の吸光度の CV がすべて 20% 以内か
- 検量線が市販キットのマニュアル通りの吸光度、線形で作成できているか
- 検量線の逆回帰濃度、再現性試料の Accuracy が $100\pm25\%$ %（LLOQ/ULOQ）または 20% %（LQC/MQC/HQC）となっているか
- 再現性試料の測定値の CV が 25%（LLOQ/ULOQ）または 20%（LQC/MQC/HQC）以内か

アッセイデビュー：市販キットでアッセイチャレンジ
プロトコールを遵守し、安定した反応を維持できるようになる

市販キットを用いて練習してみる

ミス（例）

- ・ 吸光度が明らかに低い
（対データシート）
- ・ サンプルングミス
- ・ 洗浄時 Strip がばらばらに外れる
- ・ $n=3\sim6$ でバラつきがみられる
- ・ バックグラウンドが高値
（対データシート）
- ・ キット添付の試薬をこぼした
- ・ バイアルを破損した
- ・ Accuracyが基準外

Tips

- 試薬類は室温に戻して使用したか、反応条件[温度]/反応時間はマニュアル通りか確認
- Plate stripが外れる場合は、Strip No.を油性ペンなどで事前に記入しておく
- 使用機器は使用に問題なく、正しく設定（回転数/温度/測定波長等）されていたか確認
- サンプルの調製方法（容量）やピペッティング操作など正しく実施できているか確認
- 解析方法が正しいかマニュアルを見ながら確認

アッセイデビュー：市販キットでアッセイチャレンジ
プロトコールを遵守し、安定した反応を維持できるようになる

市販キットを用いて練習してみる

ミス（例）

- ・吸光度が不安定
- （対データ）
- ・サンプル間のバラつき
- ・洗浄時の残留
- ・ $n=3\sim6$

Tips

- 試薬類のロット番号を確認
- Plate readerの校正を確認
- 使用機器は使用に問題なく、正しく設定（回転数/温度/測定波長等）されていたか確認
- サンプルの調製方法（容量）やピペッティング操作など正しく実施できているか確認
- 解析方法が正しいかマニュアルを見ながら確認

安定した反応維持を達成
難易度の高い測定系にトライ

—本日の発表内容—

LBA アナリストの育成

1

座 学

ELISAの原理を
理解しよう

2

実験準備

アッセイを
イメージしよう

3

タイムトライアル

プレートに
サンプリング
してみよう

4

アッセイデビュー

市販キットで
チャレンジ

5

ELISAの流れをマスター

検証済みレディメイド系で
スキルチェック

- ① 分析法検討： 分析条件を構築・最適化してみよう
- ② バリデーション： 分析法の妥当性を検証しよう
- ③ 検体の測定： 複数プレートを精度よく測定（品質維持）

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック
試薬・資材管理を含めたアッセイマネジメントができるようになる

検証済みレディメイド系で 一連のELISA技術が習得できたか確認してみる

固相化から開始するレディメイド測定系は、乾燥に弱く洗浄やサンプリング過程における操作スピードが重要となる場合や発色度合いを確認しながら反応を停止する場合もあり、市販キットに比べ難易度が高く、ELISA技術の習得確認に適しています。

方法： 検量線、再現性試料（ $n=3\sim6$ ）を調製し、測定する。

- Duplicate の吸光度の CV がすべて 20% 以内か
- 検量線が既存担当者のと同等の吸光度、線形で作成できているか
- 逆回帰濃度、再現性試料の Accuracy が $100\pm20\%$ となっているか
- 再現性試料の測定値の CV が 25%（LLOQ/ULOQ）または 20%（LQC/MQC/HQC）以内か

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック 試薬・資材管理を含めたアッセイマネジメントができるようになる

検証済みレディメイド系で 一連のELISA技術が習得できたか確認してみる ミスやトラブル（例）

- ・ 吸光度が全体的に低値
- ・ 日によって反応が変わる
- ・ 担当者間でばらつきがみられる
- ・ バックグラウンドが高値
- ・ 発色不要
- ・ n=3～6でバラつきがみられる
- ・ Accuracyが基準外

Tips：試薬調製なども含めた管理の徹底が求められる

- 試薬調製方法、保存方法、使用時の状態、測定の反応条件[温度]・反応時間は正しいか確認
- Plate washerの針の高さ/液量/回数、Plate shakerの回転数/設定は正しいか確認
- 手洗浄とした場合は洗浄操作に時間を要していないか、洗浄が十分であるか確認
- サンプルや抗体調製方法（希釈段階含む）は適切か、適切な資材を使用しているか確認
- 重要試薬のLot変更などなかったか、それにより濃度の変更が生じていないか確認
- 日間でアッセイ環境（湿度・気温・風量）は変わったか、不具合の要因を是正できるか確認
- 担当者間で操作時間やピペッティング方法など異なる点はないか確認し、手技を統一

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック 試薬・資材管理を含めたアッセイマネジメントができるようになる

検証済みレディメイド系で 一連のELISA技術が習得できたか確認してみる ミスやトラブル（例）

- ・ 吸光度が全体的に低値
- ・ 日によって反応が変わる
- ・ 担当者間でばらつきがみられる
- ・ バックグラウンドが高値
- ・ 発色不要
- ・ $n=3\sim6$ でバラつきがみられる
- ・ Accuracyが基準外

Tips：試薬調製なども含めた管理の徹底が求められる

- 試薬調製方法、保存方法、使用時の状態、測定の反応条件[温度]・反応時間は正しいか確認
- Plate washerの針の高さ/液量/回数、Plate shakerの回転数/設定は正しいか確認
- 手洗浄とした場合は洗浄操作に時間を要していないか、洗浄が十分であるか確認
- サンプルや抗体調製方法（希釈段階含む）は適切か、適切な資材を使用しているか確認
- 重要試薬のLot変更などなかったか、それにより濃度の変更が生じていないか確認
- 日間でアッセイ環境（湿度・気温・風量）は変わったか、不具合の要因を是正できるか確認
- 担当者間で操作時間やピペッティング方法など異なる点はないか確認し、手技を統一

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック 試薬・資材管理を含めたアッセイマネジメントができるようになる

検証済みレディメイド系で
一連のELISA技術が習得できたか確認してミス

ミス（例

- ・吸光度が
- ・日によっ
- ・担当者間

みられる

安定した実験操作を確立 条件比較も可能に

Tips：記

- 試薬調製
- Plate w
- 手洗浄
- サンプ
- 重要試薬のLot変更などなかったか、それにより濃度の変更が生じていないか確認
- 日間でアッセイ環境（湿度・気温・風量）は変わったか、不具合の要因を是正できるか確認
- 担当者間で操作時間やピペッティング方法など異なる点はないか確認し、手技を統一

か確認

確認

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック

① 分析法検討：分析条件を構築・最適化してみよう

分析法検討で検討手順、試薬等の選定、アッセイ結果の解釈について学び、経験を積む

手順（例: タンパク濃度測定）

- (1) 分析対象に特異的に結合するリガンド（抗原/抗体等）の作成または選定
- (2) 検量線の作成、感度確認
- (3) MRD・選択性確認
- (4) 測定系の検証（バリデーション）

ミス（例）

- 市販抗体に含まれる成分の影響で標識ができていなかった
- 反応性が確認できる抗体が入手できなかった
- 日間差でどの結果が正しいか判断できない
- 健常者と患者間でマトリックス差があった
- 検討の堂々巡り…

Tips

- LBAでは重要試薬の入手が肝心
- 様々な条件下での反応の違いを経験、データを正しく理解し、比較して仮説を立て、測定系を確立していくプロセスを経験する
- マトリックスによりMRDや適切な濃度が異なる
- 感度を高める必要がある場合は、測定プラットフォームを変えてみるのもよい

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック

② バリデーション：分析法の妥当性を検証しよう

バリデーションを実施し、ガイドライン等の理解を深め、
分析法の妥当性を正しく評価する

要確認事項（例：PK測定）

- 検量線・選択性・フック効果・希釈直線性・真度及び精度・安定性
- ※各項目に判定基準がある

ミス／トラブル（例）

- 日間差、担当者間差が確認された
- 定量上限/下限が基準を満たさない
- 安定性が基準を満たさない
- 希釈直線性が基準外
- 選択性が基準を満たさない

対応（例）

- 担当者間で試料調製方法・測定操作の統一する
- 設定濃度を変更する、感度不足の場合は再検討
- 再現するか確認、再現したら保存条件を変更する
- 希釈方法を変えても再現するか確認、再現したら再検討
- 個体数を増やして確認、それでもだめなら再検討
MRDが最適でない？ Bufferを変える？

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック

② バリデーション：分析法の妥当性を検証しよう

バリデーションを実施し、ガイドライン等の理解を深め、
分析法の妥当性を正しく評価する

要確認事項

- 検量線
※各項目

ミス／ト

- 日間差、
- 定量上限
- 安定性が
- 希釈直線
- 選択性が基準を満たさない

構築した分析法がバリデート
検体の測定にトライ

→ 個体数を増やして確認、それでもためなら再検討
MRDが最適でない？ Bufferを変える？

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック

③ 検体の測定：複数プレートを精度よく測定（品質維持）

検体測定において長期的に安定的な品質管理のされた測定結果を取得する

精度管理方法（例：PK測定）

- すべてのDuplicateの吸光度CVが20%以内
- 検量線のAccuracyが25%（LLOQ/ULOQ）または20%（左記以外）以内
BLの吸光度が定量下限の吸光度未満
- 検体の前後に各n=1で配置したQCサンプル（LQC/MQC/HQC/DQC）のAccuracy 20%以内

ミス／トラブル（例）

- 期限切れ試薬使用による結果棄却
- 遠心分離作業ミスによるサンプル欠損
- サンプルング誤り（試薬添加/試料添加等）
- 容量変更時の計算誤りによる調製ミス
- 反応ラグによるプレート間差
- 複数担当者間の連携ミス

Tips

- 複数プレート実施の場合、プレート処理間隔の設定、各工程のタイミングを事前にイメージしておくことが大切
- 調製容量を変更する際は、変更後の数値に誤りがないか第三者に確認をとる
- 複数担当者で試験材料のライフサイクルマネジメントを徹底、スケジュール含めこまめに情報共有

ELISAの流れをマスター：検証済みレディメイド系でELISAスキルチェック

③ 検体の測定：複数プレートを精度よく測定（品質維持）

検体測定において長期的に安定的な品質管理のされた
測定結果を取得する

精度管理

- すべての
- 検量線の
- BLの吸分
- 検体の前

ミス／ト

- 期限切れ
- 遠心分離
- サンプル
- 容量変更時の計算誤りによる調製ミス
- 反応ラグによるプレート間差
- 複数担当者間の連携ミス

試験を通して手技向上
品質の均一化

以内

間隔の設
ジしておく

- 調製容量を変更する際は、変更後の数値に誤りがないか第三者に確認をとる
- 複数担当者で試験材料のライフサイクルマネジメントを徹底、スケジュール含めこまめに情報共有

最後に

LBAの手順や各工程での注意点、測定法開発における留意点など基礎的な部分の説明とともに、LBAアナリストの教育方法について紹介しました。

経験がなくLBAや分析法開発を始めることに不安があっても大丈夫！
測定原理を理解し、手技を習得し、経験を積むことで習熟したLBAアナリストに成長できます。

入社して初めてLBAを経験したという担当者も基礎教育と実践経験を通して、複数プレートを同時に測定し精度の良い結果を継続して得られるようになっていきます。5年以上にわたる長期試験も、担当者間で連携して安定した結果を精度よく得られる体制を整えています。

ミス／トラブルは完全には避けられませんが、適宜対処法策定、定着させることで減らすことはできます。

トラブル事例を用いた定期教育と対策定着度確認の継続が大切と感じます。

「生きていく」を明るく、前向きにする。



mediford

A Member of PHC Group