

ANALYSIS REPORT

サイトカイン 検査結果報告書

成長因子 ELISA 定量分析

PRP・ARC上清液・サイトカインカクテル上清液

HGF

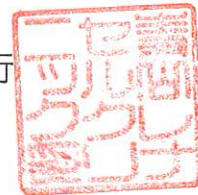
VEGF

TGF- β 1

PDGF

NGF

2026年7月21日 発行
品質検査部



I. 試験概要

1.1 試験名

歯髄由来間葉系幹細胞培養上清液及び PRP の ELISA 測定試験

1.2 試験番号

RN-2606-01

1.3 試験実施施設

一般社団法人輝実会 青山レナセルクリニック

長谷川 世納 様

1.4 試験目的

ヒト脂肪歯髄由来幹細胞培養上清液及び PRP の ELISA 測定試験を行う。

2. HGF 操作手順

キット基本情報

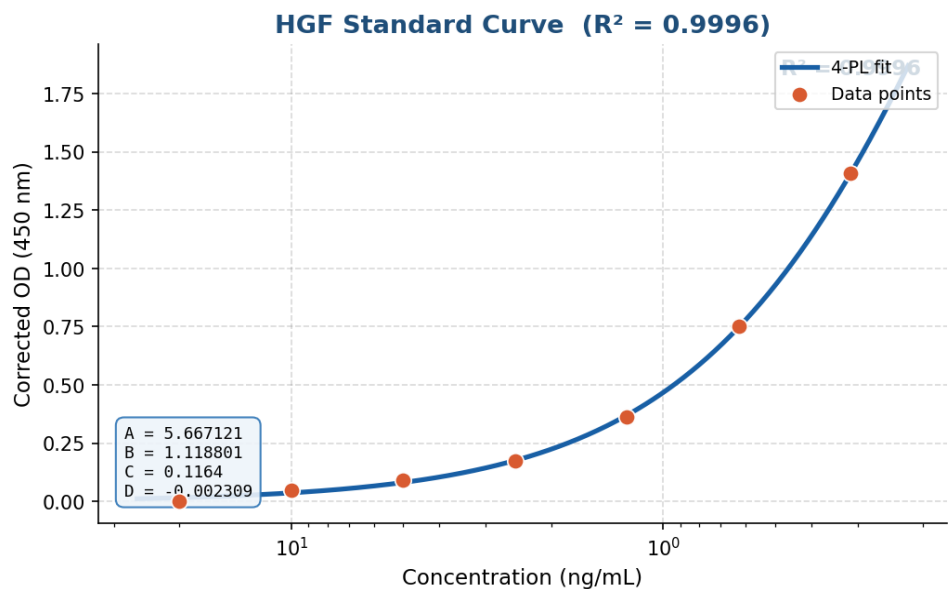
カタログ番号	KE00168	検出方式	HRP 直結型（2 ステップ）
感度	0.26 ng/mL	希釈液	PT 1-ac（血清・血漿）/ PT 1-ec（上清）
スタンダード	40 ng/bottle	推奨希釈倍率	1:2 または 1:4

2. 操作手順

- 2.1 必要枚数のストリップを取り出し、余ったものは直ちに 4℃で保管。開封後 1 週間以内に使用。
- 2.2 各ウェルに標準品またはサンプルを 100 μ L 添加。5～10 分以内に完了。デュプリケートで測定推奨。
- 2.3 カバーシールで封じ、37℃で 120 分インキュベート。
- 2.4 洗浄（4 回）：1×ウォッシュバッファー350～400 μ L/ウェルで 4 回洗浄。最終洗浄後タオルに 10 回たたきつけて残液除去。
- 2.5 1×検出抗体・HRP 標識溶液を 100 μ L 添加。カバーシールで封じ、37℃で 40 分インキュベート。
【HGF：40 分】
- 2.6 3.4 の洗浄を繰り返す。
- 2.7 TMB 基質を 100 μ L 添加。遮光・37℃で 15～20 分インキュベート。
- 2.8 ストップ溶液を 100 μ L 添加。TMB と同じ順序で添加。プレート側面を軽くたたいて混和。
- 2.9 ストップ溶液添加直後に 450 nm（補正 630 nm）で測定。5 分以内に完了。
- 2.10 デュプリケートの平均 OD 値を算出しゼロ標準の値を差し引く。4-PL 解析で標準曲線を作成。希釈倍率を乗じる。

2. HGF 標準曲線データ

測定範囲：0.313～20 ng/mL



スタンダードデータ

番号	濃度 (ng/mL)	平均 OD 値	補正 OD 値
sd7 (20 ng/mL)	20	0.082	-
sd6	10	0.131	0.049
sd5	5	0.173	0.091
sd4	2.5	0.254	0.172
sd3	1.25	0.444	0.362
sd2	0.625	0.835	0.753
sd1	0.313	1.488	1.406
Blank (0)	0	2.343	2.261

4-PL パラメーター

A (最小漸近値)	0.016748	B (傾き)	1.132286
C (EC50)	214.1913 ng/mL	D (最大漸近値)	4.028857

逆算式: $x = 214.1913 \times ((0.016748 - 4.028857) / (y - 4.028857) - 1)^{(1/1.132286)}$

3. VEGF 操作手順

キット基本情報

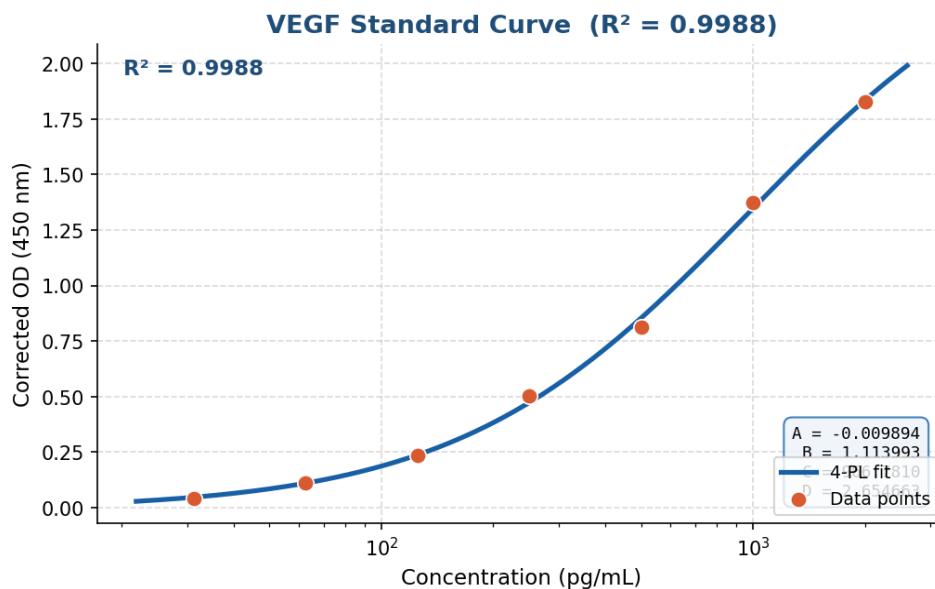
カタログ番号	KE00216	検出方式	HRP 二次抗体型 (3 ステップ)
感度	1 pg/mL	希釈液	PT 4B1 (共通)
スタンダード	4000 pg/bottle	推奨希釈倍率	1:2 または 1:4

3. 操作手順

- 3.1 必要枚数のストリップを取り出し、余ったものは直ちに 4℃で保管。開封後 1 週間以内に使用。
- 3.2 各ウェルに標準品またはサンプルを 100 μ L 添加。5～10 分以内に完了。デュプリケートで測定推奨。
- 3.3 カバーシールで封じ、37℃で 120 分インキュベート。
- 3.4 洗浄（4 回）：1×ウォッシュバッファー350～400 μ L/ウェルで 4 回洗浄。最終洗浄後タオルに 10 回たたきつけて残液除去。
- 3.5 1×検出抗体溶液を 100 μ L 添加。カバーシールで封じ、37℃で 60 分インキュベート。
- 3.6 3.4 の洗浄を繰り返す。
- 3.7 1×HRP 標識二次抗体溶液を 100 μ L 添加。カバーシールで封じ、37℃で 40 分インキュベート。
- 3.8 3.4 の洗浄を繰り返す。
- 3.9 TMB 基質を 100 μ L 添加。遮光・37℃で 15～20 分インキュベート。
- 3.10 ストップ溶液を 100 μ L 添加。TMB と同じ順序で添加。プレート側面を軽くたたいて混和。
- 3.11 ストップ溶液添加直後に 450 nm（補正 630 nm）で測定。5 分以内に完了。
- 3.12 デュプリケートの平均 OD 値を算出しゼロ標準の値を差し引く。4-PL 解析で標準曲線を作成。希釈倍率を乗じる。

3. VEGF 標準曲線データ

測定範囲 : 31.25~2000 pg/mL



スタンダードデータ

番号	濃度 (pg/mL)	平均 OD 値	補正 OD 値
sd7 (2000 pg/mL)	2000	1.827	-
sd6	1000	1.374	-
sd5	500	0.8119	-
sd4	250	0.5036	-
sd3	125	0.2341	-
sd2	62.5	0.1113	-
sd1	31.25	0.0424	-

4-PL パラメーター

A (最小漸近値)	-0.00984716	B (傾き)	1.11416
C (EC50)	966.984 pg/mL	D (最大漸近値)	2.65531

逆算式: $x = 966.984 \times ((-0.00984716 - 2.65531) / (y - 2.65531) - 1)^{1/1.11416}$

4. TGF- β 1 操作手順

キット基本情報

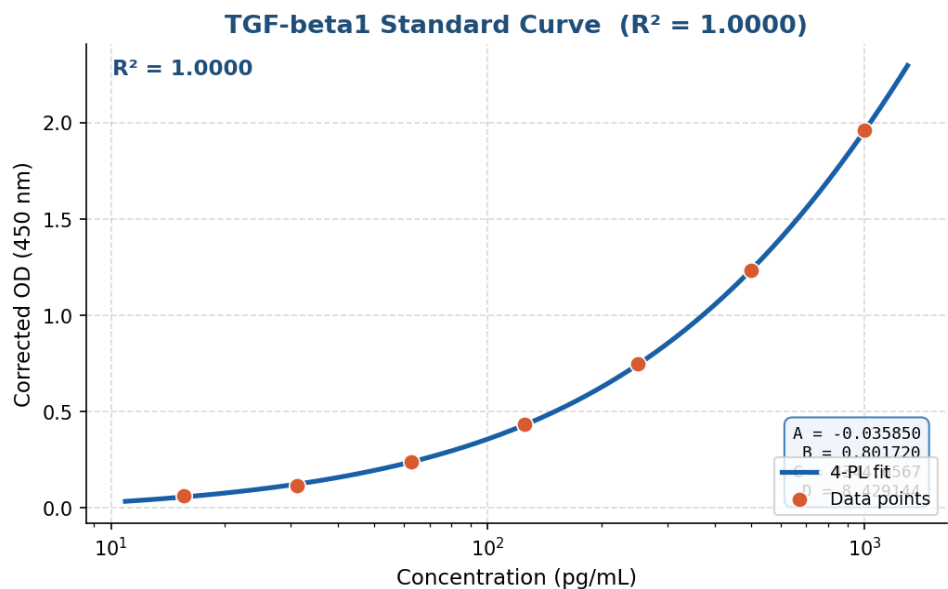
カタログ番号	KE00002	検出方式	ビオチン+Streptavidin-HRP (3 ステップ)
感度	3.3 pg/mL	希釈液	PT 1-ec (酸活性化処理後)
スタンダード	2000 pg/bottle	推奨希釈倍率	1:10～1:20 (血清・血漿) / 1:2～1:4 (上清)

4. 操作手順

- 4.1 【TGF- β 1 専用・事前処理】酸活性化処理を行う。血清・血漿：50 μ L + 1N HCl 25 μ L → 室温 10 分 → 1.2N NaOH/0.5M HEPES 25 μ L 中和（希釈係数 $\times$ 2）。細胞培養上清・尿：100 μ L + 1N HCl 20 μ L → 室温 10 分 → 1.2N NaOH/0.5M HEPES 20 μ L 中和（希釈係数 $\times$ 1.4）。中和後 pH 7.2～7.6 を確認。
- 4.2 必要枚数のストリップを取り出し、余ったものは直ちに 4℃で保管。開封後 1 週間以内に使用。
- 4.3 各ウェルに活性化済み標準品またはサンプルを 100 μ L 添加。5～10 分以内に完了。デュプリケートで測定推奨。
- 4.4 カバーシールで封じ、37℃で 120 分インキュベート。
- 4.5 洗浄（4 回）：1 $\times$ ウォッシュバッファー350～400 μ L/ウェルで 4 回洗浄。最終洗浄後タオルに 10 回たたきつけて残液除去。
- 4.6 1 $\times$ 検出抗体（ビオチン標識）を 100 μ L 添加。カバーシールで封じ、37℃で 60 分インキュベート。
- 4.7 4.5 の洗浄を繰り返す。
- 4.8 1 $\times$ Streptavidin-HRP 溶液を 100 μ L 添加。カバーシールで封じ、37℃で 40 分インキュベート。
- 4.9 4.5 の洗浄を繰り返す。
- 4.10 TMB 基質を 100 μ L 添加。遮光・37℃で 15～20 分インキュベート。
- 4.11 ストップ溶液を 100 μ L 添加。TMB と同じ順序で添加。プレート側面を軽くたたいて混和。
- 4.12 ストップ溶液添加直後に 450 nm（補正 630 nm）で測定。5 分以内に完了。
- 4.13 デュプリケートの平均 OD 値を算出しゼロ標準の値を差し引く。4-PL 解析で標準曲線を作成。希釈倍率 $\times$ 希釈係数を乗じる。

4. TGF-β1 標準曲線データ

測定範囲：15.6～1000 pg/mL



スタンダードデータ

番号	濃度 (pg/mL)	平均 OD 値	補正 OD 値
sd7 (1000 pg/mL)	1000	1.9795	1.958
sd6	500	1.254	1.2325
sd5	250	0.7675	0.746
sd4	125	0.453	0.4315
sd3	62.5	0.2575	0.236
sd2	31.25	0.1375	0.116
sd1	15.6	0.083	0.0615
Blank (0)	0	0.0215	-

4-PL パラメーター

A (最小漸近値)	-0.0372703	B (傾き)	0.815751
C (EC50)	3178.37 pg/mL	D (最大漸近値)	4.98226

逆算式: $x = 3178.37 \times ((-0.0372703 - 4.98226) / (y - 4.98226) - 1)^{(1/0.815751)}$

5. PDGF-BB 操作手順

キット基本情報

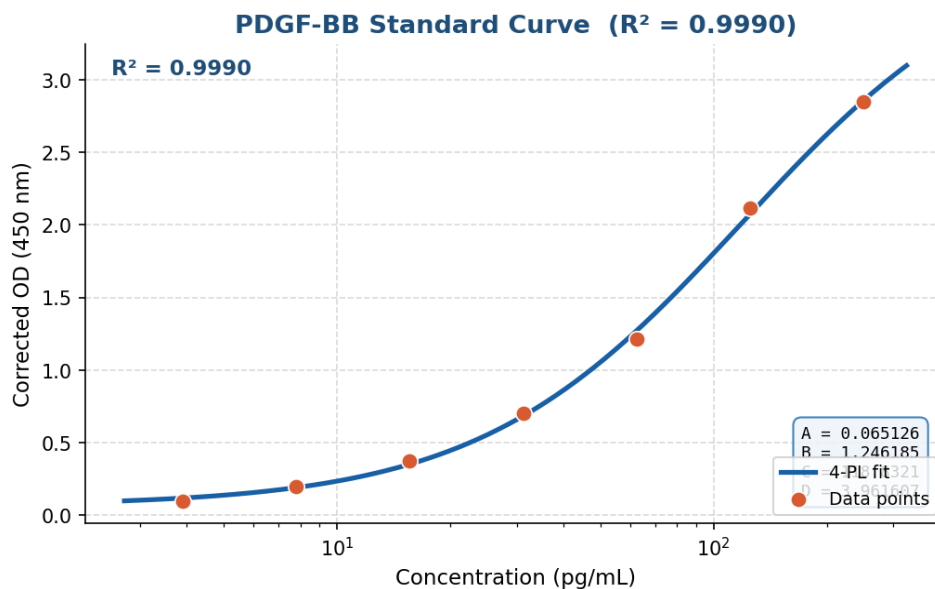
カタログ番号	KE00161	検出方式	ビオチン+Streptavidin-HRP（3ステップ）
感度	0.5 pg/mL	希釈液	PT 1-ef（共通）
スタンダード	500 pg/bottle	推奨希釈倍率	1:10～1:20（血清・血漿）/ 1:2～1:4（上清）

5. 操作手順

- 5.1 必要枚数のストリップを取り出し、余ったものは直ちに 4℃で保管。開封後 1 週間以内に使用。
- 5.2 各ウェルに標準品またはサンプルを 100 μ L 添加。5～10 分以内に完了。デュプリケートで測定推奨。
- 5.3 カバーシールで封じ、37℃で 120 分インキュベート。
- 5.4 洗浄（4 回）：1×ウォッシュバッファー350～400 μ L/ウェルで 4 回洗浄。最終洗浄後タオルに 10 回たたきつけて残液除去。
- 5.5 1×検出抗体（ビオチン標識）を 100 μ L 添加。カバーシールで封じ、37℃で 60 分インキュベート。
- 5.6 6.4 の洗浄を繰り返す。
- 5.7 1×Streptavidin-HRP 溶液を 100 μ L 添加。カバーシールで封じ、37℃で 40 分インキュベート。
- 5.8 6.4 の洗浄を繰り返す。
- 5.9 TMB 基質を 100 μ L 添加。遮光・37℃で 15～20 分インキュベート。
- 5.10 ストップ溶液を 100 μ L 添加。TMB と同じ順序で添加。プレート側面を軽くたたいて混和。
- 5.11 ストップ溶液添加直後に 450 nm（補正 630 nm）で測定。5 分以内に完了。
- 5.12 デュプリケートの平均 OD 値を算出しゼロ標準の値を差し引く。4-PL 解析で標準曲線を作成。希釈倍率を乗じる。

5. PDGF-BB 標準曲線データ

測定範囲：3.9～250 pg/mL



スタンダードデータ

番号	濃度 (pg/mL)	平均 OD 値	補正 OD 値
sd7 (250 pg/mL)	250	2.864	2.845
sd6	125	2.135	2.115
sd5	62.5	1.290	1.217
sd4	31.25	0.725	0.705
sd3	15.6	0.398	0.378
sd2	7.8	0.215	0.196
sd1	3.9	0.116	0.097
Blank (0)	0	0.020	-

4-PL パラメーター

A (最小漸近値)	-0.0098939	B (傾き)	1.11399
C (EC50)	966.781 pg/mL	D (最大漸近値)	2.65466

逆算式: $x = 966.781 \times ((-0.0098939 - 2.65466) / (y - 2.65466) - 1)^{1/1.11399}$

6. NGF 操作手順

キット基本情報

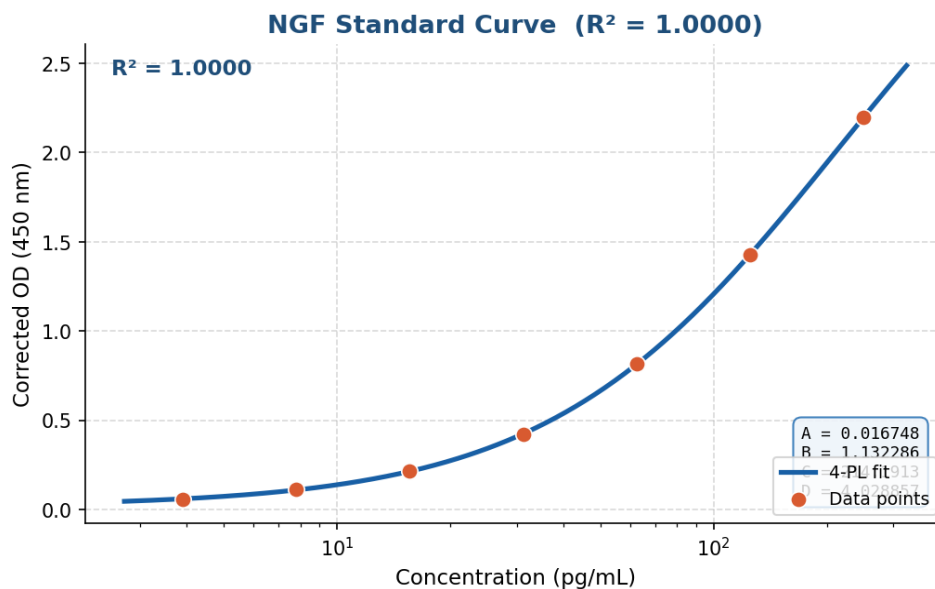
カタログ番号	KE00174	検出方式	HRP 直結型 (2 ステップ)
感度	0.1 pg/mL	希釈液	PT 1B1 (共通)
スタンダード	500 pg/bottle	推奨希釈倍率	1:2 (血清・血漿) / 1:2~1:4 (上清)

6. 操作手順

- 6.1 必要枚数のストリップを取り出し、余ったものは直ちに 4℃で保管。開封後 1 週間以内に使用。
- 6.2 各ウェルに標準品またはサンプルを 100 µL 添加。5~10 分以内に完了。デュプリケートで測定推奨。
- 6.3 カバーシールで封じ、37℃で 120 分インキュベート。
- 6.4 洗浄 (4 回) : 1×ウォッシュバッファー350~400 µL/ウェルで 4 回洗浄。最終洗浄後タオルに 10 回たたきつけて残液除去。
- 6.5 1×検出抗体・HRP 標識溶液を 100 µL 添加。カバーシールで封じ、37℃で 60 分インキュベート。
【NGF : 60 分】
- 6.6 6.4 の洗浄を繰り返す。
- 6.7 TMB 基質を 100 µL 添加。遮光・37℃で 15~20 分インキュベート。
- 6.8 ストップ溶液を 100 µL 添加。TMB と同じ順序で添加。プレート側面を軽くたたいて混和。
- 6.9 ストップ溶液添加直後に 450 nm (補正 630 nm) で測定。5 分以内に完了。
- 6.10 デュプリケートの平均 OD 値を算出しゼロ標準の値を差し引く。4-PL 解析で標準曲線を作成。希釈倍率を乗じる。

6. NGF 標準曲線データ

測定範囲：3.9～250 pg/mL



スタンダードデータ

番号	濃度 (pg/mL)	平均 OD 値	補正 OD 値
sd7 (250 pg/mL)	250	2.237	2.198
sd6	125	1.468	1.429
sd5	62.5	0.854	0.815
sd4	31.25	0.462	0.423
sd3	15.6	0.252	0.213
sd2	7.8	0.150	0.111
sd1	3.9	0.097	0.058
Blank (0)	0	0.039	-

4-PL パラメーター

A (最小漸近値)	0.016748	B (傾き)	1.132286
C (EC50)	214.1913 pg/mL	D (最大漸近値)	4.028857

逆算式: $x = 214.1913 \times ((0.016748 - 4.028857) / (y - 4.028857) - 1)^{(1/1.132286)}$

7. 測定結果

7.1 ARCカクテル

	[pg/mL]				
	VEGF	HGF	TGF- β	PDGF	NGF
ARC-EI-UG10%	11385	5715	21975	23.95	20.22
ARC-EI-UG20%	10071	3036	18314	52.55	12.33
ARC-EI-UG30%	8758	1362.5	14654	212.6	17.94
ARC-MU-UG10%	7523	9452.5	23144	31.30	12.88
ARC-MU-UG20%	7906	6339	19356	23.80	14.36
ARC-MU-UG30%	6483	4021	15567	56.95	14.98

7.2 PRP (当院の患者様)

PRP-KT(33M)-J	54.15	最小未満	5887.7	787	24.64
PRP-KS(50M)-J	72.18	344.5	6487.6	864	30.76
PRP-SY(55F)-J	129.0	821.3	2429.0	686	15.84
PRP-YN-(60F)-J	82.75	500.1	3518.2	1712	14.95
PRP-MC(63M)-C	92.51	最小未満	7190.75	384.8	5.65
PRP-YK(66M)-J	143.1	最小未満	5316.5	1055	14.86
PRP-YH(71F)-J	80.18	最小未満	7263.9	435.7	592
PRP-YT(76M)-J	69.18	最小未満	6874	657	5.31
PRP-OK(80F)-J	158.7	556.4	5833.0	4063	59.48
PRP-SW(86M)-J	56.85	最小未満	6545.0	203.5	2.78

<参考資料：ARCカクテルとPRPの比較グラフ>

