

160. microtiter tray を用いた固相法 radioimmunoassay による血中 testosterone の測定

岡山大学 第三内科

細木 秀美 小川 紀雄 大藤 真

近年, 血中 testosterone の測定は radioimmunoassay の導入により, 高感度に, しかも簡便に大量の sample を同時に測定することが可能となった。我々は radioimmunoassay 操作手技をより一層簡便化し, 又, 測定値のバラツキを最小限にする為に plastic 製 disposable microtiter tray を用いた血中 testosterone の固相法 radioimmunoassay を試み, 満足すべき結果を得たので報告する。

〔方法〕 容量 0.2 ml の cup 96 個を有する plastic 製 disposable microtiter tray に稀釈抗 testosterone 抗体を precorting した後, 同抗体をすてる。sample の抽出は吉見らの方法で行なった後, 乾固した。ついで ^3H -testosterone を含む borate buffer で溶解した標準 testosterone, 又は抽出 sample を precorting した cup の中へ入れ, incubate する。反応液を捨てた後, 各 cup を切り離して counting vial に入れ, toluene scintillator を加えて, 液体 scintillation counter で d. p. m. を測定した。

〔結果〕 抗体の precorting は 24 時間 (室温), incubation も 24 時間 (室温) で満足すべき標準曲線が得られた。

抗体の最終稀釈濃度は京大, 吉見博士より提供された抗血清では 5000 倍, 自家製抗血清では 1000 倍で実用に供し得る標準曲線が得られた。又, 精度, 感度, 回収率等, 共に満足すべき結果を得た。この方法での正常値は正常男子 687.1 ± 48.3 (SE) ng/dl (N=31), 正常女子 46.08 ± 4.3 (SE) ng/dl (N=14) であった。

〔考案〕 抗体濃度は従来の radioimmunoassay に比して高濃度で用いねばならないが, 抗体の回収, 再使用が可能であり, しかも, Bound と Free の分離の際に非特異的な吸着反応を利用しない点, 又, 測定操作の簡便性, 精度等より, 本法は血中 testosterone の radioimmunoassay としてすぐれた方法であると考え

161. 血中 Testosterone の Radioimmunoassay

—Chromatography を省略した

測定法の検討—

東京大学 分院泌尿器科

岩動孝一郎 福谷 恵子

群馬大学 内分泌研ホルモン測定センター

若林 克己

血中テストステロンの測定は睾丸機能の最も直接的な判定法として臨床的にも要請度の高い検査法であるがステロイドホルモンのラジオイミューノアッセイの実用化により満足すべき結果が得られつつある。しかしその簡便性の点ではなお改善の余地があり, 我々はとくにクロマトグラフィーを省略した方法の検討を行なっているので報告する。

標識抗原として比活性度の高い $1, 2\text{-}^3\text{H}$ -テストステロンを, 抗体としてはテストステロン-3-オキシム-BSA 抗体を主として用いた。バッファーはすべて pH 7.5 の 0.01 M PBS を使用した。血漿または血清の抽出は試料 0.1~1.0 ml より 4 倍量のエーテルをドライアイス・アセトンによるスナップフリーズ法にて 3 回抽出した。アッセイは抗原 0.1 ml, 1% BSA-PBS に溶解した試料 0.2 ml, それに抗体 (0.25% 正常家兔血清および 0.05 M EDTA を含む 0.01 M PBS に溶解) 0.2 ml を混じてスタートし 18 時間 4°C にインキュベートしたのちデキストランチャーコール法で遠沈分離し上清を液体シンチレーションカウンターにて測定した。

本測定法の特異性については各種ステロイドによる交叉反応を検討し, またペーパー, 薄層および LH-20 によるカラムクロマトによる分離後とクロマトを省略した場合との比較によりクロマトグラフィーを省略した方法により十分実用性のある結果が得られている。スタンダードカーブは倍々稀釈法により一度に 20~5, 120 pg/ml の濃度をカバーでき, また検体数は一時に約 100 検体をデュプリケート (すなわち 200 チューブおよび標準溶液) で測定することが可能である。

正常男子の平均値および標準誤差は 537 ± 26 ng/dl であった。