

《技術報告》

イムノラジオメトリックアッセイによる 血中 β hCG 測定法に関する基礎的検討

尾森 春艶* 末廣美津子* 福地 稔*

要旨 IRMA による血中 β hCG 測定法エルザ・F- β hCG・キットにつき基礎的検討を行った。本法の最小検出感度は 0.05 ng/ml で、インキュベーション時間および温度を変えても標準曲線に対する有意の影響はなかった。本法に対する交差率は LH 0.13%, FSH 0.02%, TSH 0.02% そして hCG 2.5% であった。さらにエルザチューブを用い hCG 中の α hCG から遊離した β hCG を吸収して同様の検討を行ったところ、交差率は 0.14% であった。従来の β hCG RIA キットと本法との測定値の比較では、両者はよく相関($r=+0.961$)したが、絶対値は、本法で低値($y=0.35x+0.26$)であった。その他、希釈試験、回収試験、精度再現性の結果も良好であることから、B., F. 分離を必要としない簡便な本法は、より β hCG に特異的な測定法として臨床的に有用と考えられた。

(核医学 29: 709-716, 1992)

I. はじめに

ヒト絨毛性ゴナドトロピン (human chorionic gonadotropin, hCG) の測定は、妊娠の確認、異常妊娠や絨毛性疾患、とりわけ絨毛性腫瘍の早期発見や治療方針の決定、さらにその治療効果の評価などで臨床的意義は大きい。hCG の測定法としては、初期には生物学的測定法が利用されたが、やがて免疫学的測定法に関心が向けられるようになり^{1,2)}、そして、1965年 Wilde ら³⁾により hCG の radioimmunoassay (RIA) の確立が報告された。しかし、hCG は LH と免疫学的に交差性を有し、実際の測定では LH の影響を除外できなかった。hCG は α -subunit と β -subunit の非共有結合から成り⁴⁻⁶⁾、 α -subunit は他の糖蛋白ホルモンとアミノ酸配列が類似し、とりわけ LH の α -subunit とはきわめて類似の構造である^{7,8)}。一方、

hCG の β -subunit は、比較的 hCG 固有の構造であることから、 β hCG の RIA を確立することによって hCG を特異的に測定できると期待された⁹⁾。ところが、 β hCG も β LH と類似のアミノ酸の配列を有し、唯一、 β hCG の C 端から 30 個のアミノ酸の配列が異なっているだけである。したがって、この部位が hCG と LH の抗原性の差を生じさせると考えられる。一方、現在まで利用されてきた二抗体法による β hCG RIA は、第一抗体の hCG の β -subunit に対する親和性が、intact hCG における β -subunit と、 α hCG から遊離した β -subunit とでは異なるため、得られた測定値を評価する上で問題があった¹⁰⁾。近年、モノクローナル抗体作製技術の進歩に伴い、 β hCG の測定でもモノクローナル抗体の利用が可能となった。今回、著者らはより β hCG に特異的なモノクローナル抗体を用い、intact hCG における β -subunit との交差が少なく、 α hCG から遊離した β hCG のみをより特異的に測定できるとされる¹¹⁾ immunoradiometric assay (IRMA) につき、その基礎的検討を行った。

* 兵庫医科大学核医学科

受付: 4年2月20日

最終稿受付: 4年4月15日

別刷請求先: 兵庫県西宮市武庫川町 1-1 (☎ 663)

兵庫医科大学核医学科

尾森 春艶

II. 方法および材料

1. 検討キットと測定原理

検討にはシーアイエスバイオインターナショナルが開発したエルザ・F- β HCG・キットをシーアイエスダイアグノスティック株式会社から提供を受け使用した。本法の測定原理は IRMA 法で、測定試験管(エルザチューブ)に固相化されたモノクローナル抗体(抗体名 FBT11)と、 ^{125}I 標識抗体に用いられているモノクローナル抗体(抗体名 FBT10)との2種類のモノクローナル抗体が用いられている。これら抗体のおおのの認識部位は異なり、その認識領域についてもある程度明らかにされているが、アミノ酸構造上の部位など精細については不明である。なお、実際の測定は Fig. 1 に示す手順で行った。

2. 検討方法および材料

1) インキュベーション条件

(1) インキュベーション時間

キット添付の標準 β hCG 溶液を用い、インキュベーション温度を室温 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) と一定にして、

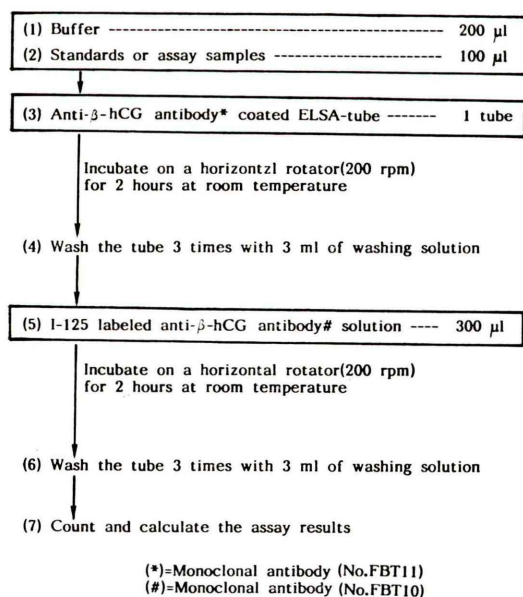


Fig. 1 Assay procedure of ELSA-F- β HCG kit for measurement of serum β hCG.

インキュベーション時間につき、first incubation をおのおの 30 分, 60 分, 120 分, 240 分と変えた際のカウント数 (cpm) と、second incubation をおのおの 60 分, 120 分, 240 分, 360 分と変えた際のカウント数 (cpm) につき比較することにより、本法の標準曲線に及ぼすインキュベーション時間の影響を検討した。

(2) インキュベーション温度

キット添付の標準 β hCG 溶液を用い、インキュベーション時間を first incubation 1 時間, また second incubation 2 時間と一定にして、first および second incubation ともおのおの 4°C , 25°C , 37°C と変えた際のカウント数 (cpm) につき比較することにより、本法の標準曲線に及ぼすインキュベーション温度の影響を検討した。

2) 最小検出感度

本法の最小検出感度の検討を目的に、キット添付の標準 β hCG 最小濃度溶液 (0.2 ng/ml) を、標準 β hCG 0 ng/ml 溶液で、0.1, 0.05, 0.025, 0 ng/ml と段階的に希釈して測定 ($n=10$) し、測定結果の平均 \pm 標準偏差を求め、0 ng/ml との間の有意差検定 (Student's t test) および $\text{Mean} \pm 2 \text{ S.D.}$ 間の重なりの有無を指標に検討した。

3) 回収試験

β hCG 濃度の異なる 3 種類の血清試料 A (2.3 ng/ml), B (9.6 ng/ml), C (14.5 ng/ml) に、5 種類の標準 β hCG 溶液 (0.1, 1.0, 5.0, 12.5, 25.0 ng/ml) を添加した際の回収率につき検討した。

4) 希釈試験

β hCG 濃度の異なる 3 種類の血清試料 A (44.5 ng/ml), B (21.0 ng/ml), C (10.1 ng/ml) を用い、キット添付の標準 β hCG 溶液 0 ng/ml で 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 と段階的に希釈して測定し得られた測定値を基に評価した。

5) 精度再現性

再現性の検討を目的に、 β hCG 濃度の異なる 3 種類の血清試料 A (1.1 ng/ml), B (4.3 ng/ml), C (45.5 ng/ml) を用い、同一測定内 ($n=10$)、および異なる 10 回の測定間の再現性をおのおの変動係数 (C.V.) を指標に評価した。

6) 交差試験

本法の特異性の検討を, バイオプロダクト社製のhCG (10,769 ng/ml まで添加), LH (1,333 ng/ml まで添加), FSH (3,333 ng/ml まで添加), およびTSH (1,667 ng/ml まで添加) で検討した. なお, hCG についてはさらにエルザチューブにより α hCG から遊離した β hCG をあらかじめ吸収して intact hCG の形として同様の検討を行った.

7) β hCG・キット-CIS との測定値の比較

同一血清試料 76 検体を用い, 本法と β hCG・キット-CIS とで同時に血中 β hCG 値を測定し, 得られた測定値を比較した.

III. 結 果

1. インキュベーション条件

1) インキュベーション時間

First incubation 時間および second incubation 時間に関する検討結果を Table 1 に示す. Table 1 でも明らかなごとく, C.V. で評価すると first in-

cubation で, 3.0% から 10.7% (平均 5.99%), second incubation で, 3.5% から 10.8% (平均 7.44%) となり, incubation 時間を変えてもカウント数 (cpm) には有意の影響はみられなかった.

2) インキュベーション温度

First incubation 温度および second incubation 温度に関する検討結果を Table 2 に示す. Table 2 でも明らかなごとく, C.V. で評価すると first incubation で 1.5% から 11.3% (平均 5.36%), second incubation で 1.3% から 24.4% (平均 8.86%) となり, incubation 温度を変えてもカウント数 (cpm) には有意の影響はみられなかった.

2. 最小検出感度

本法の代表的標準曲線を Fig. 2 に示す. 標準 β hCG 溶液 0.18 ng/ml から 50 ng/ml まで直線性を示す良好な標準曲線が得られた. 最小検出感度は, 有意差検定法で, 標準 β hCG 0 濃度溶液と 0.025 ng/ml との間でカウント数 (cpm) に有意差 ($p < 0.01$) を認めた. また, Mean \pm 2 S.D. 間の重

Table 1 Effect of first and second incubation times on standard curves of ELSA \cdot F- β HCG kit

1) First incubation time

Sample	Incubation time				Mean (cpm)	S.D. (cpm)	C.V. (%)
	0.5 hr	1 hr	2 hrs	4 hrs			
STD 1 (0.18 ng/ml)	427	426	448	530	458	49	10.7
STD 2 (2 ng/ml)	5,664	6,036	5,632	6,189	5,880	276	4.7
STD 3 (10 ng/ml)	27,659	28,864	29,342	30,379	29,061	1,128	3.9
STD 4 (25 ng/ml)	66,143	70,566	67,780	69,972	68,615	2,036	3.0
STD 5 (50 ng/ml)	114,815	124,518	123,298	123,738	121,592	4,549	3.7
Serum A	2,628	2,734	2,609	3,061	2,758	209	7.6
Serum B	39,025	41,805	45,501	46,995	43,331	3,606	8.3

2) Second incubation time

Sample	Incubation time				Mean (cpm)	S.D. (cpm)	C.V. (%)
	1 hr	2 hrs	4 hrs	6 hrs			
STD 1 (0.18 ng/ml)	424	426	347	414	403	37	9.2
STD 2 (2 ng/ml)	5,996	6,036	5,864	5,141	5,759	419	7.3
STD 3 (10 ng/ml)	30,684	28,864	28,912	24,826	28,321	2,480	8.8
STD 4 (25 ng/ml)	71,530	70,566	68,075	58,595	67,191	5,912	8.8
STD 5 (50 ng/ml)	115,951	124,518	123,065	117,127	120,165	4,255	3.5
Serum A	2,495	2,734	2,613	2,634	2,619	98	3.7
Serum B	35,980	41,805	46,683	43,823	42,073	4,528	10.8

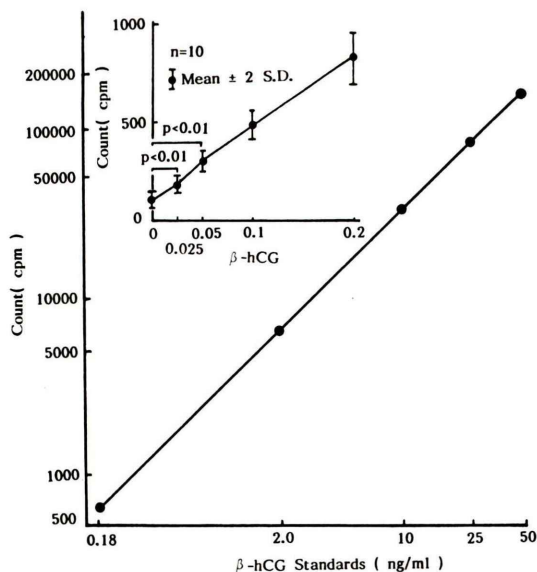
Table 2 Effect of first and second incubation temperature on standard curves of ELISA-F- β HCG kit

1) First incubation temperature

Sample	Incubation temperature			Mean (cpm)	S.D. (cpm)	C.V. (%)
	4°C	25°C	37°C			
STD 1 (0.18 ng/ml)	674	578	636	629	48	7.6
STD 2 (2 ng/ml)	6,019	6,384	6,305	6,236	192	3.1
STD 3 (10 ng/ml)	29,716	30,476	30,486	30,226	443	1.5
STD 4 (25 ng/ml)	68,731	69,261	70,803	69,598	1,077	1.5
STD 5 (50 ng/ml)	109,193	118,428	116,850	114,824	4,939	4.3
Serum A	2,890	2,721	3,199	2,937	242	8.2
Serum B	35,080	39,573	43,991	39,548	4,455	11.3

2) Second incubation temperature

Sample	Incubation temperature			Mean (cpm)	S.D. (cpm)	C.V. (%)
	4°C	25°C	37°C			
STD 1 (0.18 ng/ml)	454	579	741	591	144	24.4
STD 2 (2 ng/ml)	5,933	6,384	5,936	5,904	494	8.4
STD 3 (10 ng/ml)	30,612	30,476	26,514	29,200	2,328	8.0
STD 4 (25 ng/ml)	70,871	69,261	62,849	67,660	4,244	6.3
STD 5 (50 ng/ml)	115,947	118,428	115,598	116,658	1,553	1.3
Serum A	2,688	2,721	2,218	2,542	281	11.0
Serum B	37,900	39,573	39,720	39,064	1,011	2.6

**Fig. 2** Sensitivity of ELISA-F- β HCG kit.

複では、標準 β hCG 0 ng/ml と、0.05 ng/ml との間で重複はみられなかった (Fig. 2).

3. 回収試験

回収試験の結果を Table 3 に示す. 平均回収率は、血清 A で 95.3%, 血清 B で 98.7%, 血清 C で 100.2% であった.

4. 希釈試験

希釈試験の結果を、Fig. 3 に示す. 血清 A, 血清 B, 血清 C のいずれも 0 点に集束する直線が得られた.

5. 精度再現性

精度再現性に関する検討結果は Table 4 に示すごとくで、再現性の C.V. は、同一測定内 (n=10) が血清 A で 5.5%, 血清 B で 4.0%, 血清 C で 2.6%, また異なる 10 回の測定間が血清 A で 9.2%, 血清 B で 7.2%, 血清 C で 3.6% であった.

6. 交差試験

交差試験の結果を Fig. 4 に示す. この成績を基におおのこの物質との交差率を求めたところ hCG

Table 3 Recovery test of β hCG added to serum samples measured by ELSA-F- β HCG kit

		Added β hCG (ng/ml)						Mean recovery (%)
		0	0.1	1.0	5.0	12.5	25.0	
Serum A	Measured	2.3	2.4	3.1	7.1	14.8	27.4	95.3
	Recovered	—	0.1	0.8	4.8	12.5	25.1	
	Recovery	—	100.0	80.0	96.0	100.0	100.4	
Serum B	Measured	9.6	9.7	10.6	14.2	22.1	35.0	98.7
	Recovered	—	0.1	1.0	4.6	12.5	25.4	
	Recovery	—	100.0	100.0	92.0	100.0	101.6	
Serum C	Measured	14.5	14.6	15.5	19.3	27.3	40.2	100.2
	Recovered	—	0.1	1.0	4.8	12.8	25.7	
	Recovery	—	100.0	100.0	96.0	102.4	102.8	
Total mean recovery: 98.1%								

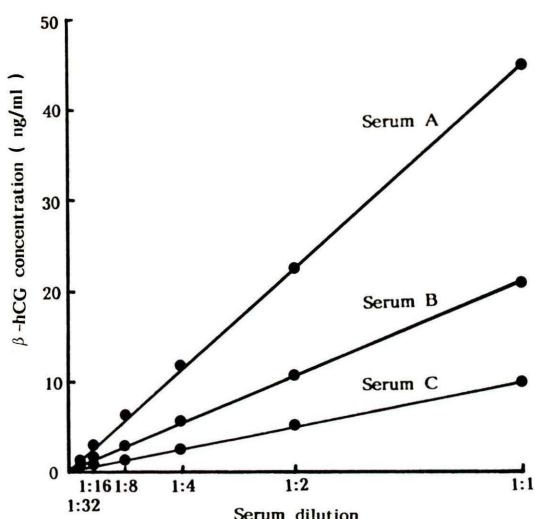


Fig. 3 Dilution test of serum β hCG measured by ELSA-F- β HCG kit.

が 2.5%, LH が 0.13%, FSH が 0.02%, TSH が 0.02% であった。hCG については、さらにエルザチューブを用い α hCG から遊離した β hCG を吸収した後に intact hCG につき同様の検討を行ったところ交差率は 0.14% であった。

7. β hCG・キット-CIS との測定値の比較

本法と β hCG・キット-CIS との測定値を比較した成績を Fig. 5 に示す。両者の間には相関係数 $r=+0.961$, 回帰直線 $y=0.35x+0.26$ と良好な相関が認められたが、絶対値についてみると本法で低値であった。

Table 4 Interassay and intraassay reproducibility of ELSA-F- β HCG kit

1) Intraassay reproducibility

	n	Mean (ng/ml)	S.D. (ng/ml)	C.V. (%)
Serum A	10	1.1	0.06	5.5
Serum B	10	4.3	0.17	4.0
Serum C	10	45.5	1.17	2.6

2) Interassay reproducibility

	n	Mean (ng/ml)	S.D. (ng/ml)	C.V. (%)
Serum A	10	1.2	0.11	9.2
Serum B	10	4.3	0.31	7.2
Serum C	10	44.5	1.59	3.6

IV. 考 察

hCG の一次構造が明らかとなるにつれ^{4,5)}, 尿素処理により、さらに α -subunit と β -subunit とに分離可能となった。ホルモンとしての生物活性を有する hCG (intact hCG) は、 α -subunit と β -subunit の非共有結合から成り⁶⁾, アミノ酸残基は 237 個、分子量は約 38,000 である。hCG の α -subunit は、LH, FSH, TSH などの糖蛋白ホルモンとアミノ酸配列が類似し、とりわけ LH の α -subunit とは、ほとんど同じ構造である^{7,8)}。ところが、hCG の β -subunit は比較的 hCG 固有の構造を有するため、 β hCG の RIA を確立することにより、hCG を特異的に測定できると期待された⁹⁾。しかし、 β hCG も β LH と類似のアミノ

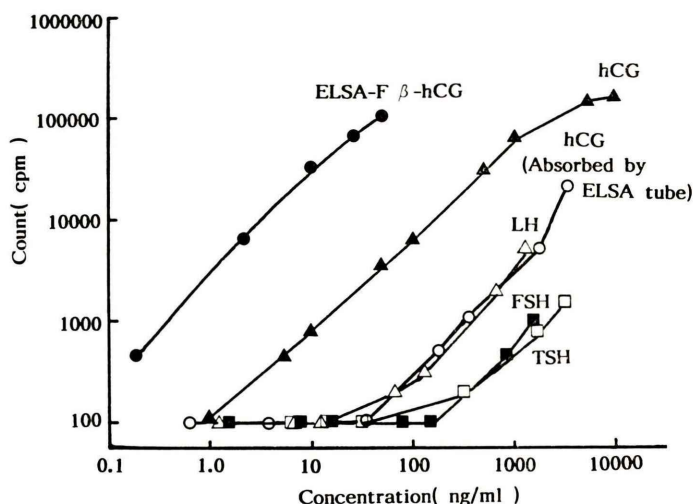


Fig. 4 Specificity of ELSA-F-βHCG kit. Effect of hCG, LH, FSH, and TSH on assay system.

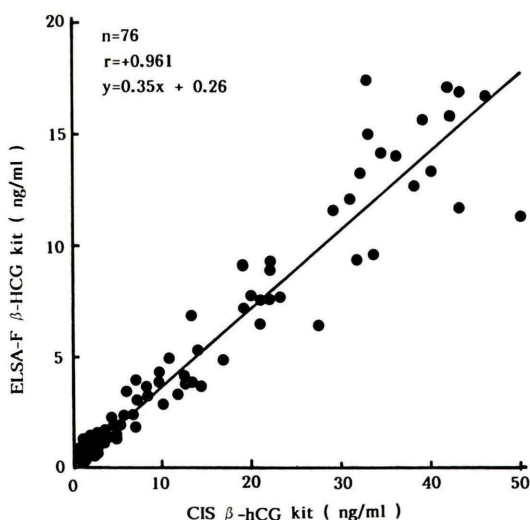


Fig. 5 Correlation of assay results between ELSA-F-βHCG kit and βHCG kit-CIS.

酸配列を有し、β hCG の C 端から 30 個のアミノ酸配列だけが β hCG 固有であることが明らかとなった。したがって、β hCG の C 端から 30 個のアミノ酸に特異的な抗体を用いた RIA 系の確立が待たれていた。近年、モノクローナル抗体作製技術の進歩普及に伴い、これらの課題に対しても

技術的に対応できるようになった¹¹⁾。今回、著者らが検討した IRMA による血中 β hCG の測定法は、チューブ固相化抗体 (抗体名 FBT11) と、¹²⁵I 標識抗体 (抗体名 FBT10) とが hCG の β-subunit の異なるエピトープを認識するモノクローナル抗体を用いた測定法である。アミノ酸構造上の部位など精細な認識部位については不明であるが、認識領域については ¹²⁵I 標識抗体は一般的な抗 hCG が認識するエピトープであり、固相化抗体は intact hCG で分子の内側に存在するエピトープを認識するとされている。したがって、これらの抗体を組み合わせることにより、理論的には α hCG から遊離した β hCG に、より特異的な測定法を確立することが可能となるため、本法は、intact hCG における β-subunit とは交差がなく、α hCG から遊離した β hCG をより特異的に測定するとされている¹¹⁾。近年、hCG の測定における α hCG から遊離した血中 β hCG 濃度測定の臨床的意義が強調されているが、その点で注目される測定キットと考えられる。特異性に関する著者らの検討では、FSH、TSH、LH との交差率は低いことが確かめられたが、市販の hCG とは交差率 2.5% であった。市販の hCG には α hCG か

ら遊離した β hCG の混在が推測されたため、さらにエルザチューブを用いてあらかじめ α hCG から遊離した β hCG を吸収して intact hCG により近い形にして同様の検討を行ったところ、hCG との交差率は 0.14% と低値であることが確かめられた。この成績から、本法が intact hCG の β -subunit とは交差性がきわめて低く、 α hCG から遊離した β hCG をより特異的に測定していることが示唆された。また、本法と β hCG・キット-CIS との測定値の比較では、両者の間に良好な相関関係($r=+0.961$)が認められたが、絶対値については $y=0.35x+0.26$ と本法による測定値が低値となる結果であった。従来用いられてきた β hCG・キット-CIS の抗体が、intact hCG の β -subunit と交差性を有し、しかもその親和性は intact hCG の β -subunit と α hCG から遊離した β hCG とでは異なる¹⁰⁾ことが指摘されていたことから、 β hCG・キット-CIS が intact hCG の β -subunit の影響を受けるのに対し、本法では α hCG から遊離した β hCG のみをより特異的に測定しているため、測定値に差異を生じさせたものと推測された。しかし、その確認のためには、エルザチューブであらかじめ α hCG から遊離した β hCG を吸収して β hCG・キット-CIS で測定する必要があるが、現在、 β hCG・キット-CIS は市販されていないため、検討が不可能であった。近年、 α hCG から遊離した血中 β hCG 値を測定することが、精巣腫瘍や絨毛性疾患などの hCG 産生腫瘍の治療効果の評価や鑑別診断、さらには予後予測などで臨床的意義が大きいことが強調されている。その点からも、本法の臨床的意義は大きいと考えられた。測定法としての本法に関する今回の著者らの評価でも、従来の β hCG RIA キットに比べ B, F 分離を必要としないため簡便で、感度、精度に優れた測定法であることが確かめられた。測定操作に要する時間も、従来の β hCG・キット-CIS が最低 25 時間必要であったのに対し、本法では最低 4 時間でよく、しかも、incubation 時間や温度を変えても得られるカウント数 (cpm) に有意の差が生じなかったことから、一段と安定

した測定法であることが確認できた。本法の最小検出感度は有意差検定法で 0.025 ng/ml であり、Mean \pm 2 S.D. の重複で見ても 0.05 ng/ml まで測定が可能であった。これは従来の β hCG・キット-CIS の最小検出感度が 0.2 ng/ml であることを考えるとき、一段と感度に優れた測定法だといえる。そのほか、回収試験、希釈試験、精度再現性、などに関する検討でも満足できる成績が得られ、本法は測定法に要求される諸条件を満足していた。ただ、測定原理上の宿命として hook effect は避けられないが、著者らの今回の検討では 3,653 ng/ml 以下の濃度では大丈夫であるとの成績を得た。したがって、本法は β hCG、とりわけ α hCG から遊離した血中 β hCG の測定法として今後臨床的に広く活用されるものと思われる。

V. むすび

IRMA による血中 β hCG 測定法エルザ・F- β HCG・キットの基礎的検討を行い以下の成績を得た。

1. 本法の測定手順は従来の β hCG 測定法に比べ一段と簡便迅速で、インキュベーション時間および温度の変化による影響をほとんど受けなかった。

2. 特異性の検討では LH, FSH, TSH との交差率はきわめて低く、hCG とは交差率 2.5% であった。さらに、hCG 中の α hCG から遊離した β hCG を吸収した後の検討では交差率は 0.14% となり、本法が β hCG により特異的であると考えられた。

3. 本法の最小検出感度は、有意差検定法で 0.025 ng/ml, Mean \pm 2 S.D. 間の重複で 0.05 ng/ml で、従来の β hCG 測定法に比べて一段と優れていた。

4. 本法は回収試験、希釈試験、精度再現性の検討成績から測定法に要求される諸条件を満足していた。

5. 本法と従来の β hCG 測定法との測定値の比較では相関係数 $r=+0.961$ と良好な相関が得られたが、絶対値の比較では $y=0.35x+0.26$ と、

本法の測定値が低値であった。

稿を終えるにあたりエルザ・F- β HCG・キットを提供いただいたシーアイエスダイアグノスティック株式会社に謝意を表します。

文 献

- 1) Wide L, Gemzell CA: An immunological pregnancy test. *Acta Endocr* **35**: 261-267, 1960
- 2) Brody S, Carlstrom G: Estimation of human chorionic gonadotropin in biological fluids by complement fixation. *Lancet* **2**: 99, 1960
- 3) Wide CE, Orr AH, Bagshawe KD: A radioimmunoassay for human chorionic gonadotropin. *Nature* **205**: 191-192, 1965
- 4) Swaminathan N, Bahl OP: Dissociation and recombination of the subunit of human chorionic gonadotropin. *Bioch Biophys Res Comm* **40**: 422-427, 1970
- 5) Morgan FJ, Canfield RE: Nature of the subunits of human chorionic gonadotropin. *Endocrinol* **88**: 1045-1053, 1971
- 6) Tyrey L: Human chorionic gonadotropin: Structural, biologic, and immunologic aspects. *Seminars Oncology* **9**: 163-173, 1982
- 7) Bahl OP, Carlson RB, Bellisario R, Swamination N: Human chorionic gonadotropin: Amino acid sequence of the A and B subunit. *Bioch Biophys Res Comm* **48**: 416-422, 1972
- 8) Sairam MR, Papkoff H, Li CH: Human pituitary interstitial cell stimulating hormone: Primary structure of the α subunit. *Bioch Biophys Res Comm* **48**: 530-537, 1972
- 9) 福地 稔, 木戸 亮, 森田俊孝, 佐竹秀逸, 永井清保: β -hCG の radioimmunoassay——測定法の基礎的検討と臨床応用——. *ホルモンと臨床*, **28**: 121-126, 1980
- 10) 萩原正通, 中村 薫, 橋 政昭, 小山雄三, 出口修宏, 村井 勝, 他: 辜丸腫瘍の組織型診断における血中 HCG および AFP 測定の意味について. *臨泌* **36**: 265-269, 1982
- 11) Armstrong EG, Ehrlich PH, Birken S, Schlatterer JP, Siris E, Hembress WC, et al: Use of highly sensitive and Specific immunoradiometric assay for detection of human chorionic gonadotropin in urine of normal, nonpregnant, and pregnant individuals. *J Clin Endocr Metab* **59**: 867-874, 1984

Summary

Fundamental Evaluation of ELSA・F- β HCG Kit as an Immunoradiometric Assay Specific for Serum β HCG

Shunen OMORI, Mitsuko SUEHIRO and Minoru FUKUCHI

Department of Nuclear Medicine, Hyogo College of Medicine

We evaluated ELSA・F- β HCG kit as an immunoradiometric assay (IRMA) specific for serum β human chorionic gonadotropin (β hCG). This IRMA was found to be highly sensitive to serum β hCG; the minimum detectable concentration of β hCG was 0.05 ng/ml. No significant effects on the standard curves were observed when first and second incubation time and temperature were varied from 30 min to 240 min and from 4°C to 37°C, respectively. Commercial LH, FSH, and TSH had little effect on the assay system; the cross-reactivity of commercial hCG was 2.5%, and 0.14% after unconjugated β hCG with α -subunit was absorbed with ELSA-tube. Multiple dilutions of sera of pregnancy resulted in curves paralleling

that obtained using standard β hCG; the recovery of β hCG added to the serum was $98.1 \pm 2.5\%$ (mean \pm SD), and mean coefficient of variation of the interassay reproducibility of serum β hCG (n=10) was 6.7 ± 2.8 (SD)%. Serum β hCG concentration measured using ELSA・F- β HCG kit was well correlated with that measured using conventional β hCG RIA kit ($r = +0.961$, $p < 0.01$), although values were lower than those measured with the latter ($y = 0.35x + 0.26$). Our results suggest that ELSA・F- β HCG kit is a useful assay system for serum β hCG.

Key words: β hCG, IRMA, Monoclonal antibody.