

イムノアフィニティークロマトグラフィーを用いる 活性型ビタミンD₃分析法の開発

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-07-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Kobayashi, Norihiro メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00066595

This work is licensed under a Creative Commons
Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0
International License.



イムノアフィニティークロマトグラフィーを用いる活性型ビタミンD₃分析法の開発

研究課題

サマリー

研究課題/領域番号

05771953

研究種目

奨励研究(A)

配分区分

補助金

研究分野

物理系薬学

研究機関

金沢大学

研究代表者

小林 典裕 金沢大学, 薬学部, 助手 (90205477)

研究期間 (年度)

1993

研究課題ステータス

完了 (1993年度)

配分額 *注記

900千円 (直接経費: 900千円)

1993年度: 900千円 (直接経費: 900千円)

キーワード

ビタミンD / 活性型ビタミンD₃ / イムノアフィニティークロマトグラフィー / 抗体 / ラジオレセプターアッセイ

研究概要

【目的】 活性型ビタミンD₃ (1,25(OH)₂D₃) の血中レベルは、ビタミンD代謝異常を伴う各種疾患の診断指標として重要である。従来その測定は、主に二フトリ小腸あるいは受精卵十二指腸レセプターを用いるラジオレセプターアッセイ(RRA)により行われてきた。しかし、HPLCを含む多段階のクリーンアップ操作が不可欠で検体処理能力に難がある。この問題を解決するために、"タンデム"イムノアフィニティークロマトグラフィー(IAC)を新規な前処理法として開発し、そのヒト血漿RRAにおける有用性を検討した。

【実験・結果】 11alpha-Hemiglutaryloxy-25(OH)D₃(1)又は25(OH)D₃₃-hemisuccinate(2)をハプテンとして得られた抗体を不溶化し、選択性の異なるイムノカラム2種(1及び2)を調製した。ヒト血漿のエーテル抽出物をカラム1にアプライし、25%MeCN溶出画分をカラム2に適用した。20%アセトンで洗浄後、95%MeOHで吸着物を溶出し、本画分における1,25(OH)₂D₃,D₃,25(OH)D₃,24,25(OH)₂D₃の回収率を求めた。その結果、それぞれ68,0.6,2.6,1.1%の値が得られ、本IACが十分な選択性を有することが示された。そこで、健康人血漿を本IACで前処理したのち十二指腸レセプターを用いるRRAに付したところ、従来の報告と符合する値(33.5±8.9pg/ml)が得られた。また、添加回収、段階希釈などの試験結果も良好で、本IAC/RRA法の信頼性が確認された。さらに、慢性腎不全患者血漿についても良好な測定値が得られ、本症の鑑別診断に有用なことが確認された。

【考察】 今回開発した"タンデム"IACの導入により、HPLCの不必要な1,25(OH)₂D₃のRRAを開発することができた。本IACは精製効率と検体処理能力に優れ、RIA,GC-MSによる1,25(OH)₂D₃分析法の開発にも有用と期待される。

報告書 (1件)

1993 実績報告書

研究成果 (5件)

すべて	その他
すべて	文献書誌 (5件)

- [文献書誌] Norihiro Kobayashi: "Production and specificity of antisera raised against 25-hydroxyvitamin D₃-[C-3]-bovine serum albumin conjugates" Steroids. 57. 488-493 (1992) ▼
- [文献書誌] Norihiro Kobayashi: "Evaluation of solubilizing agents for 25-hydroxy-vitamin D₃ immunoassays" Clin.Chim.Acta. 209. 83-88 (1992) ▼
- [文献書誌] Norihiro Kobayashi: "Enzyme immunoassay for plasma 25-hydroxyvitamin D₃ employing immunoaffinity chromatography as a pretreatment method" J.Steroid Biochem.Mol.Biol.44. 93-100 (1993) ▼
- [文献書誌] Norihiro Kobayashi: "Syntheses of novel 25-hydroxyvitamin D₃ haptens having chemical bridges at the C1-1alpha position" J.Chem.Soc.,Perkin Trans.1. 31-37 (1993) ▼
- [文献書誌] Norihiro Kobayashi: "Specificity of the polyclonal antibodies raised against a novel 25-hydroxyvitamin D₃-bovine serum albumin conjugate linked through the C-11alpha position" J.Steroid Biochem.Mol.Biol.(in press). ▼

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-05771953/>

公開日: 1993-03-31 更新日: 2018-06-07