

表 3

Comp.	¹ H-NMR (DMSO)	IR (cm ⁻¹)	mp (°C)
13b	7.47 (s, 1H, Ar-H), 7.42 (s, 1H, Ar-H), 7.39 (s, 1H, Ar-H), 7.20 (d, J = 2.0, 1H, CH=CCH ₃), 1.76 (d, J = 2.0, 3H, CH=CCH ₃)	2922, 1686, 1567, 1482, 1442, 1305, 1262, 1107, 867, 782, 442	268-266.5
13c	7.74 (s, 1H, Ar-H), 7.40 (s, 1H, Ar-H), 7.38 (dd, J = 15.0, 6.0, 1H, Ar-CH=CH-CH=CH), 7.37 (s, 1H, Ar-H), 7.34 (d, J = 15.0, 1H, Ar-CH=CH-CH=CH), 7.10 (dd, J = 15.0, 6.0, 1H, Ar-CH=CH-CH=CH), 6.35 (d, J = 15.0, 1H, Ar-CH=CH-CH=CH)	2922, 1684, 1616, 1567, 1440, 1305, 1108, 866	247-250

表 2

Comp.	¹ H-NMR (DMSO)	IR (cm ⁻¹)	mp (°C)
9a	7.02 (s, 1H, Ar-H), 6.98 (s, 1H, Ar-H), 6.45 (s, 1H, Ar-H), 4.31 (brs, 1H, NH), 4.28 - 4.16 (m, 2H, NHCO-CH ₂ -CH ₂), 2.82 - 2.71 (m, 2H, NHCO-CH ₂ -CH ₂)	3228, 1724, 1669, 1484, 1168, 1106, 868	251-253
9b	12.18 (brs, 1H, COOH), 9.81 (s, 1H, NH), 7.43 (s, 1H, Ar-H), 7.39 (s, 1H, Ar-H), 7.34 (s, 1H, Ar-H), 2.44 - 2.32 (m, 4H, NHCO-CH ₂ CH ₂ -), 1.85 (quint, J = 7.3, 2H, CH ₂ -CH ₂ CH ₂)	3228, 1706, 1668, 1449, 1317, 1268, 1107, 870	247.5 - 249
9c	12.10 (brs, 1H, OH), 9.81 (s, 1H, NH), 7.43 (s, 1H, Ar-H), 7.40 (s, 1H, Ar-H), 7.33 (s, 1H, Ar-H), 2.37 (t, J = 6.8, 2H, NHCO-CH ₂), 2.28 (t, J = 6.8, 2H, CH ₂ -CO ₂ H), 1.79 - 1.48 (m, 4H, CH ₂ -CH ₂)	3400, 3226, 1702, 1668, 1464, 1319, 1261, 1107, 870	>300

3) 測定機器

¹H-NMR スペクトル: JEOL JMN-GSX270 NMR-Spectrometer. (ケミカルシフトは parts per million(ppm)で表示し, テトラメチルシラン(TMS)を内部標準物質として用い, 低磁場から TMS へ δ 値で記録した. また, 結合定数(J)は Hz で表示した. 以下に示す略語を用いた.

s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, quint = quintet, m = multiplet, brs = broad singlet.

IR スペクトル: Jasco A-102 Infrared Spectrometer. (すべて KBr 法による測定).

融点はすべて未補正.

D. 考察

今回合成したダイオキシンハブテンは, いずれも 2,3,7,8-TeCDD 検出を目的としたものであったが, その構造からして, 実用化には溶解性の改善検討が不可欠だと考えられる.

最近開発されたいくつかの生物学的定量分析法によって, 2,3,7,8-TeCDD に対して pg の範囲の検出限界が達成されているが, これらの方法でいずれも指摘されているのは, 培養媒体中での PCDD/PCDF の高ハロゲン化同骨格体の溶解度が低いということである.

よって, 今回合成したハブテンも何らかの工夫を施す(たとえば, 側鎖末端をアジ化した後アルギニン等を導入し溶解性を高める)ことを検討する必要があると考えられる.

E. 結論

今回合成した検体のスクリーニング結果を指標とし, さらに高特異性を持ったハブテン抗原が設計できると期待される.

また, 高ハロゲン置換ダイオキシンハブテン作製を, これまで得られた知見をもとに作製することにより, ヒト生体試料中のダイオキシン測定に資することが可能であると期待される.

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

平成 11 年度 厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
研究報告書

生体試料中ダイオキシンの酵素イムノアッセイ法の開発研究
—ウサギポリクロナル抗体を用いる酵素イムノアッセイ法の開発—

主任研究者 松木 容彦 (財)食品薬品安全センター 秦野研究所 研究部長
分担研究者 安生 孝子 (財)食品薬品安全センター 秦野研究所 室長
研究協力者 奥山 光伸 (財)食品薬品安全センター 秦野研究所 研究員

研究要旨

ダイオキシン類の簡便で迅速なモニタリング法が求められているため、特に毒性の強いダイオキシン同族体を特異的に測定できる酵素イムノアッセイ法 (ELISA) を検討した。6 種のダイオキシン誘導体ハプテン抗原でウサギ (各 3 匹) に免疫し、18 匹分の抗ダイオキシン抗血清を得た。2,3,7-trichloro-8-methyl-dibenzo-*p*-dioxin (TMDD) を代替標準物質として ELISA を検討し、最適な系を確立した。2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (2378TCDD) 1~625 pg/well で感度、精度及び真度の良好な検量線が得られた。また、この抗体は毒性等価係数 (TEF) の大きなダイオキシン同族体に対して親和性が強く、ダイオキシン毒性等量 (TEQ) のモニタリングに使用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

現在、化学物質による環境汚染とそれらのヒトへの健康への影響の観点から、環境水、大気、焼却灰、排気ガス、土壌、食物等に含まれるダイオキシンは社会的な関心事である。従来、その測定には主として高分解能ガスクロマトグラフィー/マススペクトロメトリー (GC/MS) が用いられている。しかし、GC/MS による測定法においては、いずれの試料についても多段階で複雑なクリーンアップ操作を必要とするため、測定に要する時間と経費は著しく高価なものとなっている。一方、現社会情勢において環境、食物やヒトの汚染実態の把握は行政上の重要かつ急務な課題である。今後、測定の

対象種と試料数は益々増大することが予測されることから、簡便、迅速でかつ高感度な測定法を確立し、安価なスクリーニング法を早急に提供することが強く望まれている。

このような観点から、本研究においてはヒトの生体試料中のダイオキシン類の簡便かつ高感度なイムノアッセイ法を確立し、特に、ヒトでのダイオキシンによる汚染のモニタリングや状況調査に資することを目的とした。本年度は、生体試料中ダイオキシンのアッセイに焦点を当てウサギポリクロナル抗体を用いる酵素イムノアッセイ法の検討を実施した。

B. 研究方法

1. 実験材料及び機器

1) ウサギ

雄性ウサギ（日本白色種、購入時体重約 3 kg）はオリエンタル酵母(株)より購入した。

2) 試薬

抗ウサギ IgG ヤギ抗体：Cortex Biochem Inc. CB1136

ウシ血清アルブミン (BSA)、*o*-フェニレンジアミン、Tween 20 及び Triton X-100：Sigma Chemicals

ポリビニルアルコール (PVA、Mw 9000~10000)：Aldrich Chemical

ゼラチン：半井化学(株)

スキムミルク：雪印乳業(株)

2,3,7-trichloro-8-methyl-dibenzo-*p*-dioxin(TMDD), 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-

dioxin(2378TCDD), 1,2,3,7,8-pentachloro-dibenzo-*p*-

dioxin(12378PeCDD), 1,2,3,4,7,8-hexachloro-dibenzo-*p*-dioxin

(123478HxCDD), 1,2,3,6,7,8-hexachloro-dibenzo-*p*-dioxin

(123678HxCDD), 1,2,3,7,8,9-hexachloro-dibenzo-*p*-dioxin

(123789HxCDD), 1,2,3,4,6,7,8-heptachloro-dibenzo-*p*-dioxin

(1234678HpCDD),

1,2,3,4,6,7,8,9-octachloro-dibenzo-*p*-dioxin

(12346789OCDD),

2,3,7,8-tetrachloro-dibenzofuran (2378TCDF),

1,2,3,7,8-

dibenzofuran(12378PeCDF),

2,3,4,7,8-pentachloro-

dibenzofuran (23478PeCDF),

1,2,3,4,7,8-hexachloro-

dibenzofuran (123478HeCDF),

1,2,3,6,7,8-hexachloro-

dibenzofuran (123678HxCDF),

1,2,3,7,8,9-hexachloro-

dibenzofuran (123789HxCDF),

2,3,4,6,7,8-

hexachloro-dibenzofuran

(234678HxCDF), 1,2,3,4,6,7,8-

heptachloro-dibenzofuran

(1234678HpCDF), 1,2,3,4,7,8,9-

heptachloro-dibenzofuran

(1234789HpCDF) 及び

1,2,3,4,6,7,8,9-octachloro-

dibenzofuran(12346789OCDD) :

Wellington Laboratories

3) 器材

ELISA 用マイクロタイタープレート：Nunc 4-39454

4) 機器

マイクロプレートリーダー (BL 312e)：Bio-Tek Instrument Inc.

2. 抗ダイオキシン抗血清の調製

(帝国臓器製薬(株)に依頼)

図 1 に合成して得られたハプテン構造を示した。また、これらの中から表 1 に示したハプテン-BSA 結合物 6 種 (研究協力者 神戸川 明より提供された) を免疫原として用いた。BSA 結合物と同容量のフロイントの完全アジバントとを混合してエマルジョンとし、雄性ウサギ (各

免疫原 3 匹) 1 匹当たり 1 mg/1 mL を背部皮内 (10~20 個所) に 3 週間毎、5 回投与した。2~4 回目の投与後 10 日に耳介静脈より約 5 mL 採血し、室温で 3 時間静置した後、3,000 rpm で 15 分間遠心分離して抗血清を得た。尚、採血前の 1 晩を絶食とした。5 回目の投与後 10 日に頸動脈より全採血し、同様にして抗血清 (no.1~18) 約 60 mL を得た。

3. 酵素免疫アッセイ法 (ELISA)

0.9% NaCl 添加 50 mmol/L リン酸緩衝液 pH 7.3 (PBS) で希釈した抗ウサギ IgG ヤギ抗体 (5 μ g/mL) 100 μ L を ELISA 用マルチプレートの各 well に加え、4 $^{\circ}$ C で一晩放置した。ヤギ抗体溶液を捨て、0.5% BSA の PBS 溶液 150 μ L を加えて室温で 2~3 時間放置した。この液を捨て、抗血清/ペルオキシダーゼ (HRP) 標識ハプテン混液の 0.1%ゼラチン PBS 溶液 100 μ L を各 well に加えて 4 $^{\circ}$ C で一晩放置した。PBS で well を 3 回洗浄後、0.05% α -フェニレンジアミン及び 0.01% H_2O_2 を含む 50 mmol/L クエン酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) 100 μ L を各 well に加えた。室温で 60 分間反応後、3 mol/L 硫酸 50 μ L を加えて反応を止め、波長 490 nm の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

4. 抗ダイオキシン抗体価の測定

抗血清 (2~5 回投与後 no.1~18、200,000~250,000 倍希釈) /HRP ハプテン (0.5 μ g/mL) 混液を用いて 3. と同様に操作して測定した。

5. 抗血清及び HRP ハプテンの組み合わせ

抗血清 (5 回投与後 no.4,5,6,7,8,11,13 : 1,000,000 倍希釈) /HRP ハプテン (I-3,I-5,I-6 : 0.2 μ g/mL ; II-6:0.4 μ g/mL) 混液に TMDD のメタノール溶液 10 μ L を加えて 3. と同様に操作して測定した。

6. 抗血清/HRP ハプテン混液の濃度

抗血清 (5 回投与後 no.5 : 800,000~1,500,000 倍希釈) /HRP ハプテン (II-6-HRP : 0.4~1 μ g/mL) 混液を用い、5. と同様に操作して測定した。

7. ブロッキング液及び反応液

抗血清 (5 回投与後 no.5 : 800,000~1,500,000 倍希釈) /HRP ハプテン (II-6-HRP : 0.4~1 μ g/mL) 混液、ブロッキング液及び反応液に BSA、ゼラチンまたはスキムミルクの PBS 溶液を使用し、反応液に Tween 20、Triton X-100 または PVA を添加して 5. と同様に操作して測定した。

8. 被験物質溶液の影響

抗血清 (5 回投与後 no.5 : 800,000 倍希釈) /HRP ハプテン (II-6-HRP : 1 μ g/mL) 混液に TMDD のメタノール、エタノールまたはジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液 5~30 μ L を加えて 3. と同様に操作して測定した。

9. ダイオキシン標準曲線及び同族体との交差反応性

抗血清 (5 回投与後 no.5 : 800,000 倍希釈) /HRP ハプテン (II-6-HRP : 1 μ g/mL) 混液にダイオキシン同族体 17 種のメタノール溶液 10 μ L を加えて 3. と同様に操作して測定した。

交差率は、2378TCDD の検量線から求め

た同族体の測定値をその添加量で除して算出した。

C. 研究結果

1. 抗ダイオキシン抗血清の親和性及び抗体価の推移

1位スパーサー(I-1,I-2,I-5)の BSA 結合物で免疫したウサギの抗血清 (no. 1~9) と 2位スパーサー(II-4)での抗血清 no.16 は I-3-HRP、I-5-HRP 及び II-6-HRP と強く反応した。一方、2位スパーサー(II-1,II-2)での抗血清 (no. 10~15) は II-4-HRP とのみ強く反応した (図 2-1、2-2)。また、その抗体価は免疫回数に応じて上昇した (図 3-1、3-2)。

2. 抗血清及び HRP ハプテンの組み合わせ

TMDD の結合阻害効果は抗血清 no.5 と II-6-HRP の組み合わせがもっとも良く、次いで抗血清 no. 5,6,8 と I-5-HRP の組み合わせであった。また、II-4-HRP との組み合わせではいずれの抗血清でも TMDD による結合阻害はみられなかった (表 2)。

3. 抗血清/HRP ハプテン混液の濃度

800,000 倍希釈の抗血清 no. 5 と II-6-HRP 1 μ g/mL の組み合わせが吸光度が高く、TMDD の結合阻害効果も強かった (表 3、図 4)。

4. ブロッキング液及び反応液

ブロッキング液には 0.5% BSA 溶液、反応液には界面活性剤を含まない 0.1%ゼラチン溶液を用いた時に吸光度が高く、かつ TMDD による結合阻害効果が強かった。スキムミルク、Tween 20 及び Triton X-100 は

HRP ハプテンと抗体の結合や TMDD の結合阻害を妨害した (表 4、図 5)。

5. 被験物質溶液の影響

メタノール、エタノール及び DMSO の 3種の溶媒の中でメタノール溶液 10 μ L を用いた時に HRP 活性阻害や HRP ハプテンと抗体の結合の妨害が最も少なく、TMDD による結合阻害効果も良好にみられた。(表 5、図 6)。

6. ダイオキシンの標準曲線及び同族体との交差反応性

TMDD 及び 2378 TCDD はほぼ同様な標準曲線を示した (図 7)。また、2378TCDD の検量線は 1~625 pg/well の範囲で良好な精度及び真度を示した (表 6、図 8)。

抗血清 no.5 は TMDD、2378TCDD、12378PeCDD 及び 23478PeCDF の他、123478HxCDD とともに良く反応したが、その他の同族体とはほとんど交差反応を示さなかった (図 9)。

D. 考察・結論

本研究で選択したウサギポリクロナル抗体の親和性は、ホモログスなスパーサーHRP (I-2) よりもヘテロログスなスパーサー HRP (I-5、II-6) に対して強いため、競合法による酵素イムノアッセイ法に適していた。その結果、サイトヘテロログスなアッセイ系 (I-2-BSA で免疫したウサギの抗体と II-6-HRP との組み合わせ) で、高感度なダイオキシンの測定法が確立できた。

反応液中のスキムミルク、Tween 20 及び Triton X-100 は抗体への HRP ハプテンの結合や TMDD の結合阻害効果を妨害した。ダイオキシン類は親水性が低いいため、スキム

ミルク中の蛋白質（主にカゼイン）や界面活性剤と結合し、抗原-抗体反応に寄与する非結合型のハプテン抗原濃度が減少するためと推測される。しかし、乳汁や血液などの生体試料を測定する場合は、種々の夾雑物との非特異的な反応を抑えるために、界面活性剤等の添加は必須となる。その際は PVA が最適な添加剤となる可能性が示唆された。

本酵素イムノアッセイ法を用いて 2378TCDD 1~625 pg/well の範囲を精度及び真度とも良好に測定できた。また、毒性等価係数（TEF）の大きな同族体（12378PeCDD、23478PeCDF）とも交差することから、生体試料中のダイオキシン毒性等量（TEQ）のモニタリング法として使用できる可能性が示された。今後、本イムノア

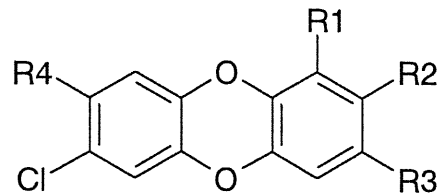
ッセイ法により実試料を測定していくために、中澤らが研究した前処理法を含め、簡便でかつ回収率の高い前処理法を検討する必要がある。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし



ハプテン誘導体	R1	R2	R3	R4
I-1	NHCO(CH ₂) ₂ COOH	H	Cl	Cl
I-2	NHCO(CH ₂) ₃ COOH	H	Cl	Cl
I-3	NHCO(CH ₂) ₄ COOH	H	Cl	Cl
I-5	CH=CHCOOH	Cl	Cl	Cl
I-6	CH=C(CH ₃)COOH	Cl	Cl	Cl
II-1	H	OCH ₂ COOH	Cl	Cl
II-2	H	O(CH ₂) ₃ COOH	Cl	Cl
II-4	H	CH=CHCOOH	Cl	Cl
II-6	H	CH=CHCOOH	H	Cl
II-6M	H	CH=CHCOOH	H	CH ₃
II-6B	H	CH=CHCOOH	H	C(CH ₃) ₃

図1 免疫原及び酵素標識体の調製に用いたダイオキシンのハプテン誘導体

I-1~I-6は佐藤 雅之、II-1~II-6Bは神戸川 明が合成した。

表1 ウサギ個体と免疫原

免疫原	ウサギ個体
I-1-BSA	1, 2, 3
I-2-BSA	4, 5, 6
I-5-BSA	7, 8, 9
II-1-BSA	10, 11, 12
II-2-BSA	13, 14, 15
II-4-BSA	16, 17, 18

免疫原は神戸川 明が調製した。

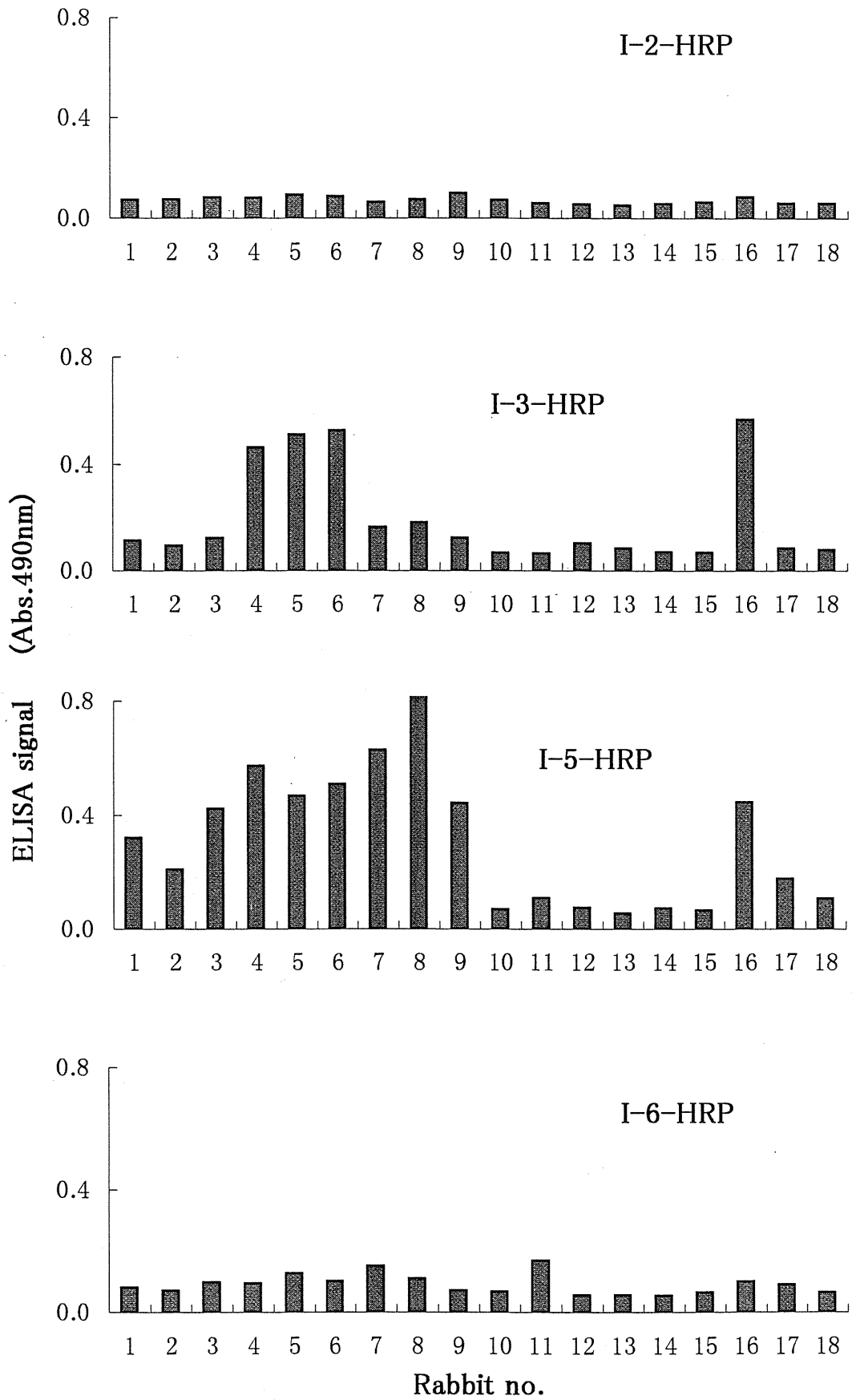


図 2-1 ウサギ血清中の抗ダイオキシン抗体価 (I-HRP)
 抗血清 (5 回投与後) 250,000 倍希釈、HRP 0.5 μ g/mL

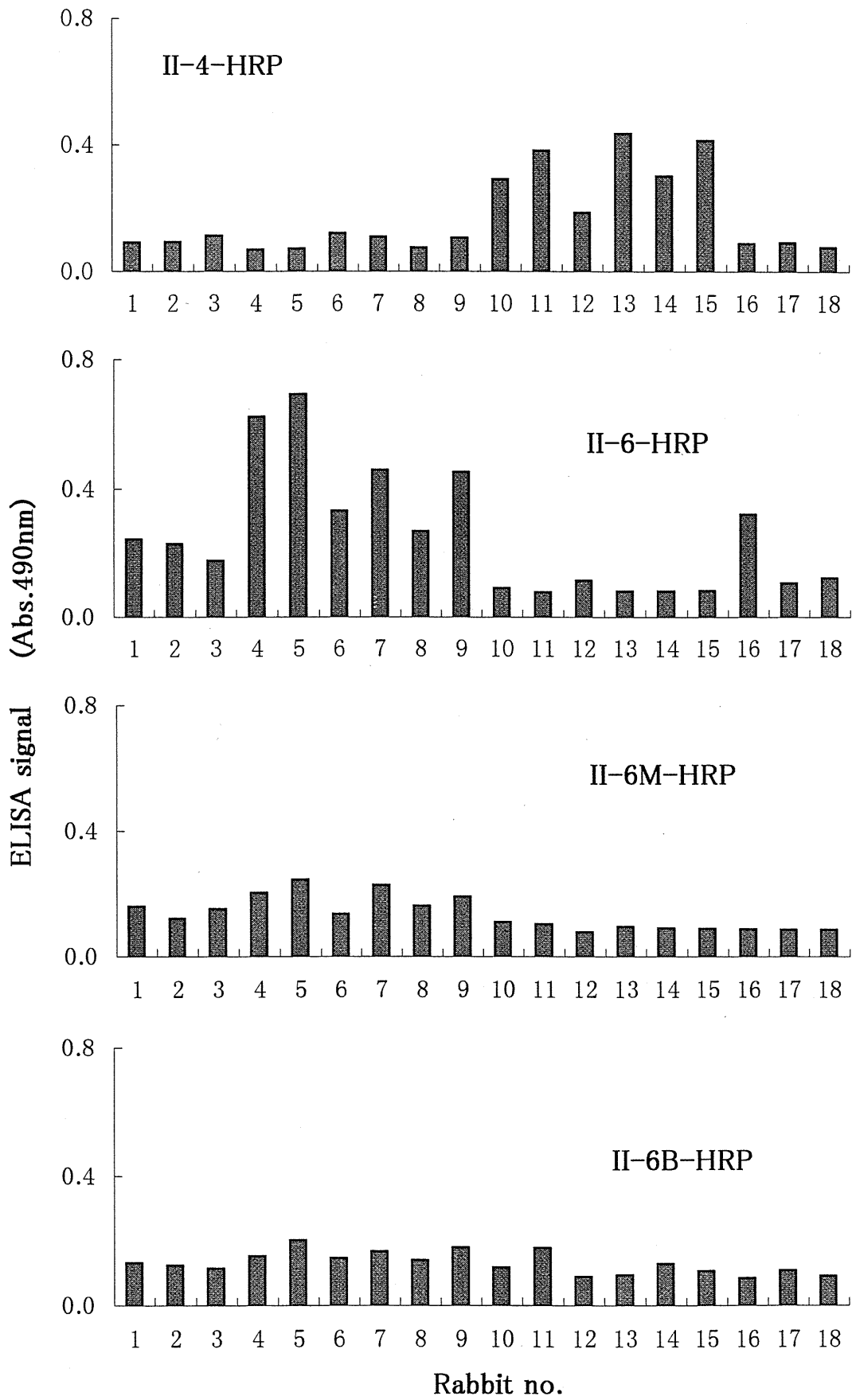


図 2-2 ウサギ血清中の抗ダイオキシン抗体価 (II-HRP)
 抗血清 (5 回投与後) 250,000 倍希釈、HRP 0.5 μ g/mL

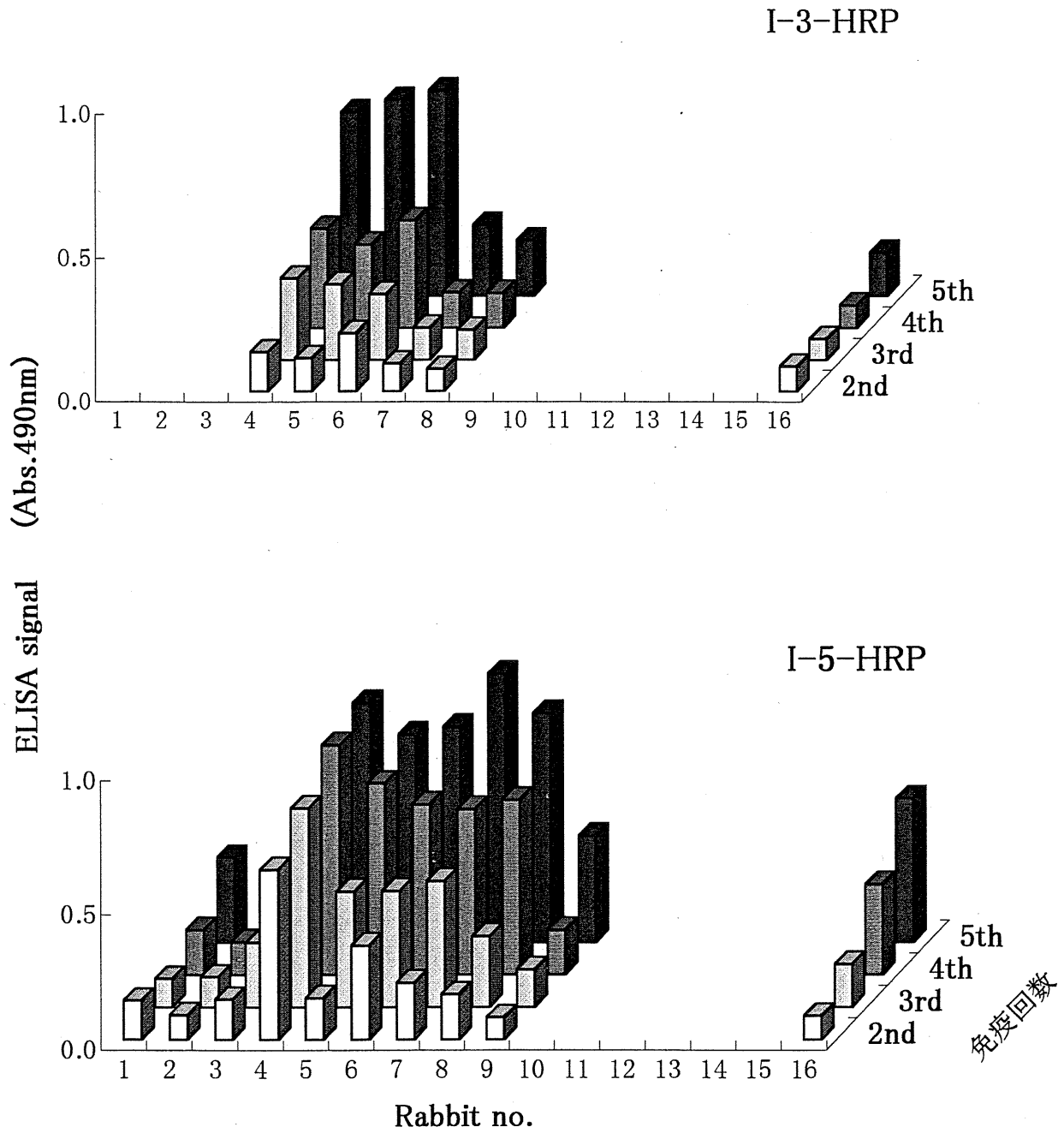


図 3-1 ウサギ血清中の抗ダイオキシン抗体価の推移 (I-HRP)
 抗血清 (2,3,4,5 回投与後) 200,000 倍希釈、HRP 0.5 μ g/mL

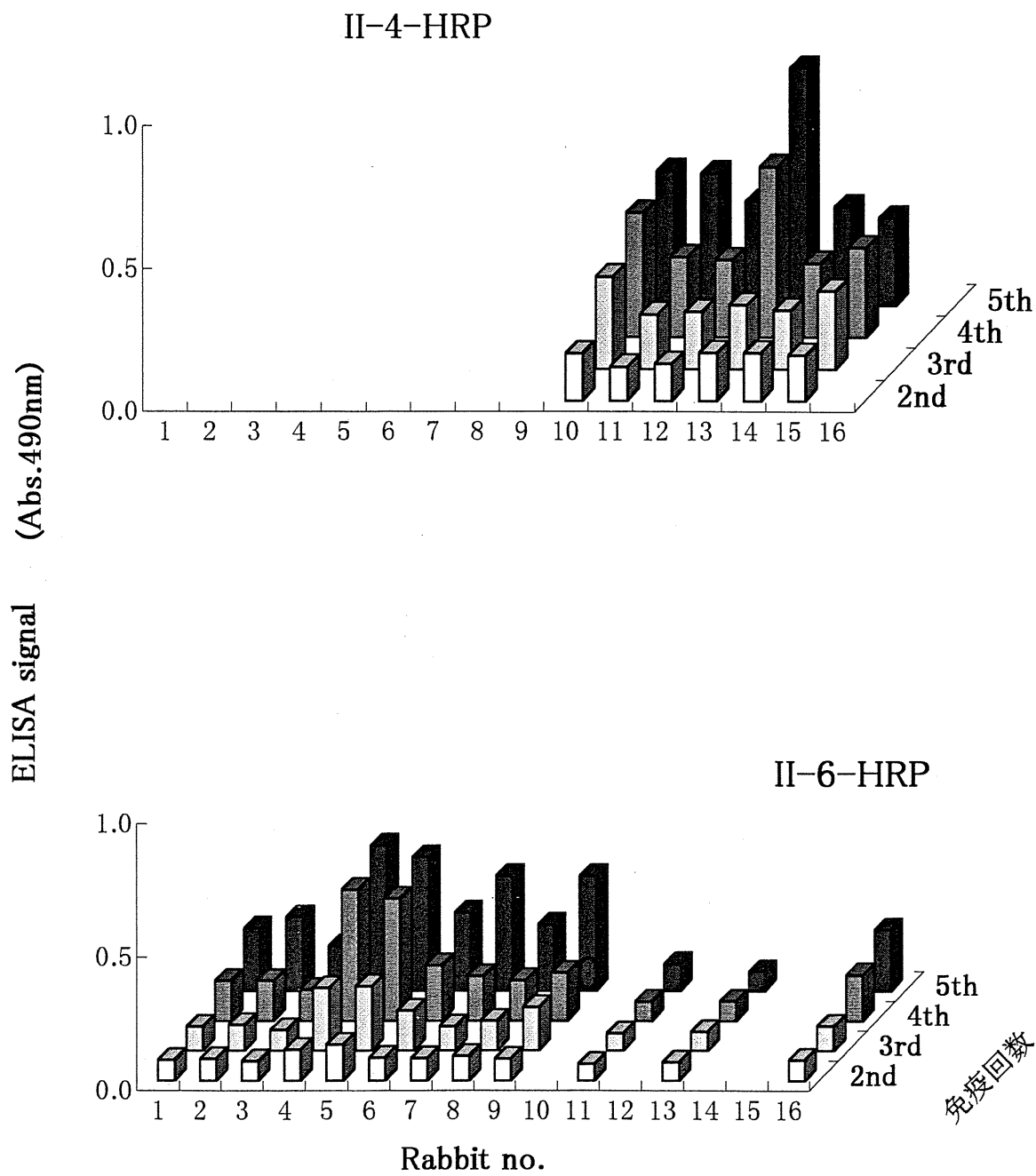


図 3-2 ウサギ血清中の抗ダイオキシン抗体価の推移 (II-HRP)
 抗血清 (2,3,4,5 回投与後) 200,000 倍希釈、HRP 0.5 μ g/mL

表 2 TMDD の結合阻害に及ぼす抗血清／HRPハプテンの組み合わせの影響

HRP (μ g/mL)	Serum (*10 ⁴ 倍希釈)	ELISA signal (Abs.490nm) (B ₀)	B/B ₀ (%)			
			TMDD (pg/10 μ L methanol/well)			
			0.4	2	10	50
I-3 (0.2)	no.4 (100)	0.681	98	97	95	83
	no.5 (100)	1.148	105	103	95	81
	no.6 (100)	0.908	102	101	95	82
I-5 (0.2)	no.4 (100)	0.777	97	99	94	82
	no.5 (100)	0.803	100	94	84	71
	no.6 (100)	0.683	101	95	82	65
	no.7 (100)	0.922	98	102	98	87
	no.8 (100)	0.721	99	99	88	69
II-4 (0.2)	no.11 (100)	0.300	98	102	101	101
	no.13 (100)	1.098	96	101	105	101
II-6 (0.4)	no.5 (100)	0.537	100	93	79	56

B/B₀ : 各 Abs.490nm(B) の溶媒対照の Abs.490nm(B₀) に対する %

表 3 TMDD の結合阻害に及ぼす抗血清／HRPハプテン 濃度の影響

HRP ($\mu\text{g/mL}$)	Serum (* 10^4 倍希釈)	ELISA signal		B/B ₀ (%)				
		(Abs.490nm) (B ₀)	TMDD (pg/10 μL メタノール/well)					
			0.4	2	10	50	250	
1.0	80	0.991	96	89	67	47	29	
0.5	80	0.583	96	90	65	43	30	
0.4	80	0.538	95	88	66	44	32	
1.0	150	0.692	100	93	72	50	36	
0.5	150	0.443	95	85	77	50	34	

B/B₀ : 各 Abs.490nm(B) の溶媒対照の Abs.490nm(B₀) に対する %

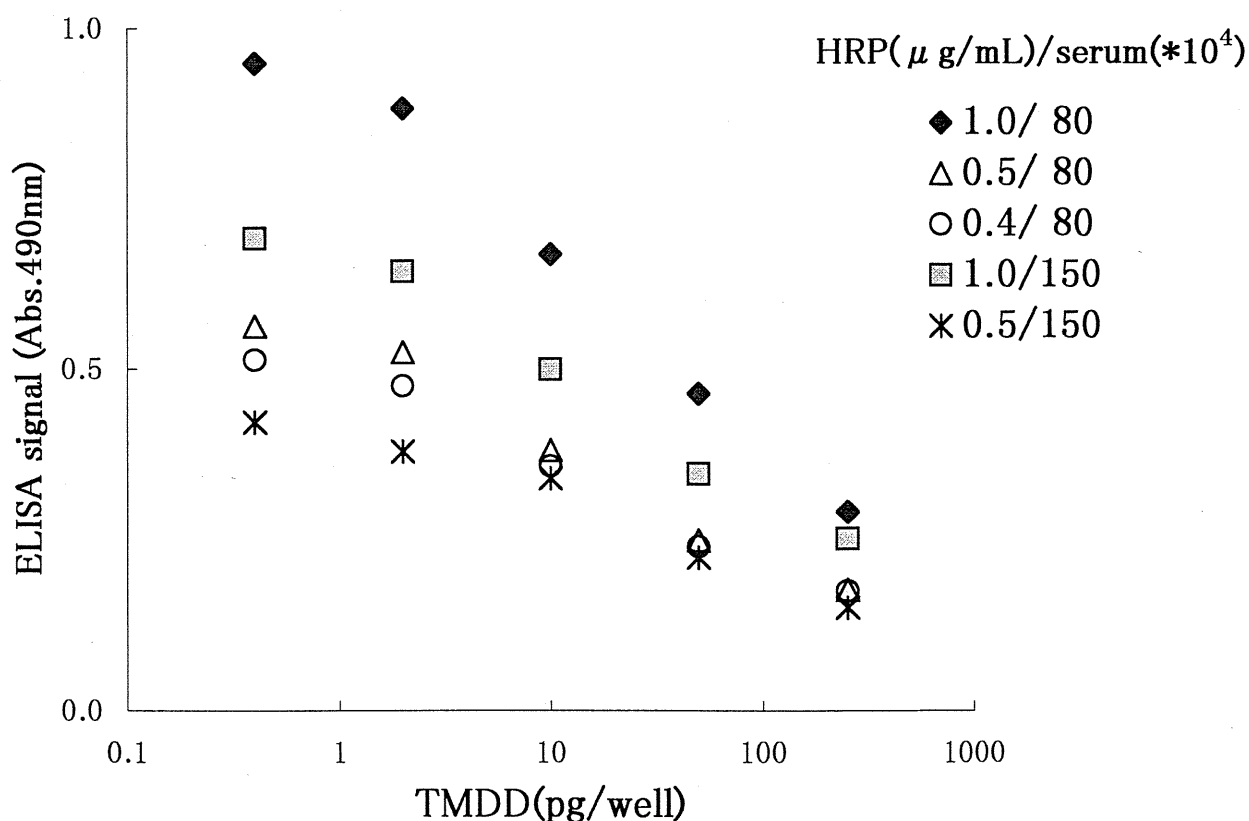


図 4 TMDD の結合阻害に及ぼす抗血清／HRPハプテン 濃度の影響
抗血清 (5回投与後 no.5) : 800,000倍希釈、II-6-HRP:1 $\mu\text{g/mL}$

表 4 TMDD の結合阻害に及ぼすブロッキング液および反応液の影響

	ブロッキング液	反応液		ELISA signal	B/B ₀ (%)		
		蛋白質	界面活性剤	(Abs.490nm) (B ₀)	TMDD (pg/10 μ L methanol/well)	0.4	2
A	5% スキムミルク		-	0.574	101	81	78
B	0.5% ゼラチン		-	0.754	100	97	73
C		0.1% ゼラチン	-	0.908	99	88	69
D			0.02% Tween 20	0.440	87	91	85
E	0.5% BSA		0.02% Triton X-100	0.631	87	80	77
F			0.2% PVA	0.700	91	85	65
G	5% スキムミルク		-	0.560	108	93	104
H	0.5% ゼラチン	0.1% BSA	-	0.771	101	91	78
I	0.5% BSA		-	0.950	99	91	75
J	5% スキムミルク		-	0.535	92	86	92
K	0.5% ゼラチン	0.1% スキムミルク	-	0.586	110	91	87
L	0.5% BSA		-	0.611	107	104	84

抗血清 (5回投与後 no.5): 800,000倍希釈、II-6-HRP: 1 μ g/mL

B/B₀ : 各 Abs.490nm(B) の溶媒対照の Abs.490nm(B₀) に対する %

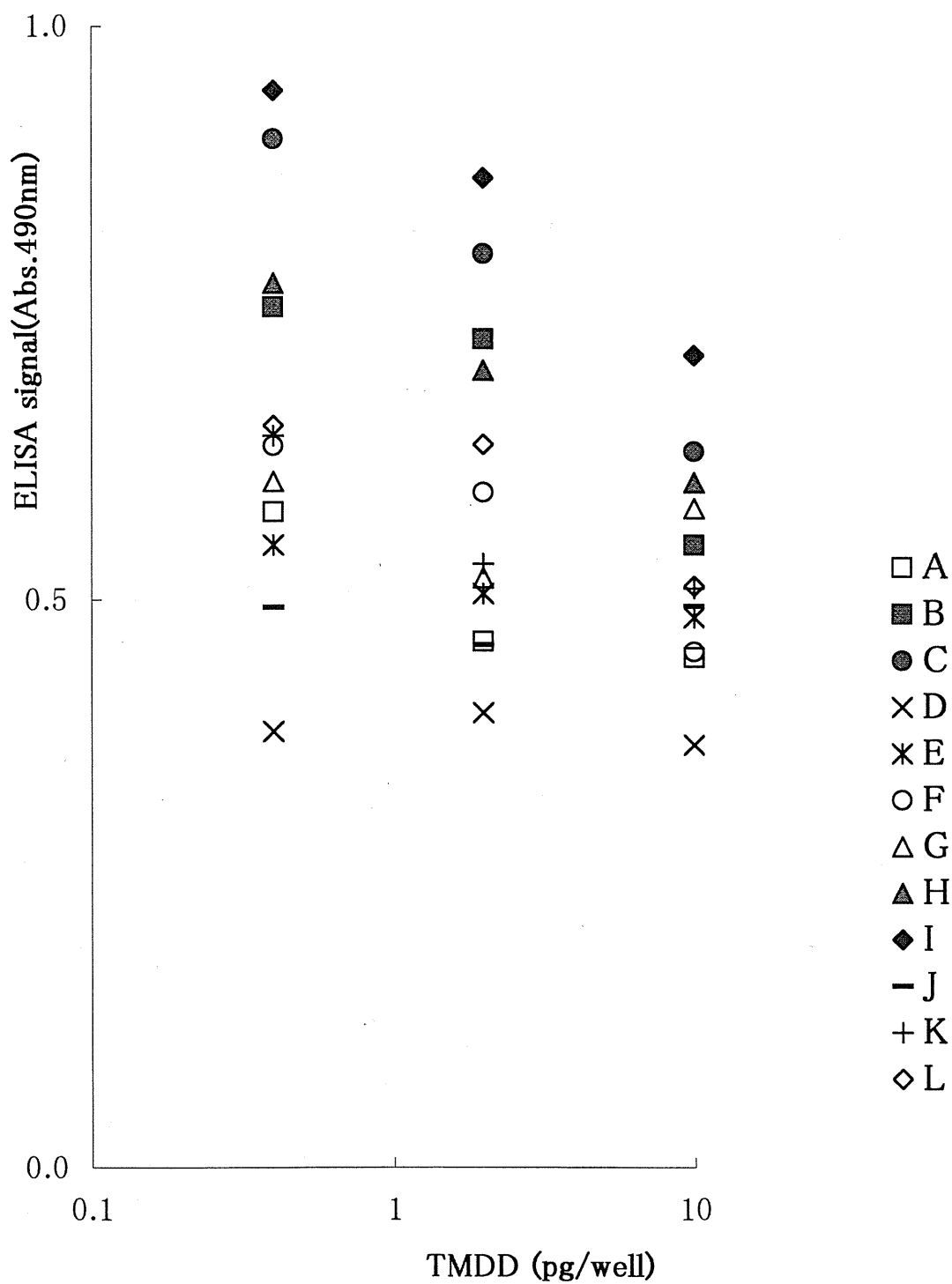


図 5 TMDD の結合阻害に及ぼすブロッキング液および反応液の影響

抗血清 (5回投与後 no.5):800,000倍希釈、II-6-HRP:1 μ g/mL

A,B...L:表4のA,B...Lに対応

表 5 TMDD の結合阻害に及ぼす被験物質溶液の影響

被験物質溶液	容量 (μ L/well)	ELISA signal		B/B ₀ (%)		
		(Abs.490nm) (B ₀)	TMDD (pg/well)			
			0.4	2	10	
DMSO	5	0.639	100	84	65	
	10	0.515	96	86	62	
メタノール	10	0.895	88	81	67	
	20	0.696	92	88	70	
	30	0.541	95	89	78	
エタノール	10	0.745	96	86	72	
	20	0.521	100	90	75	

抗血清 (5回投与後 no.5) : 800,000倍希釈、II-6-HRP : 1 μ g/mL

B/B₀ : 各 Abs.490nm(B) の溶媒対照の Abs.490nm(B₀) に対する %

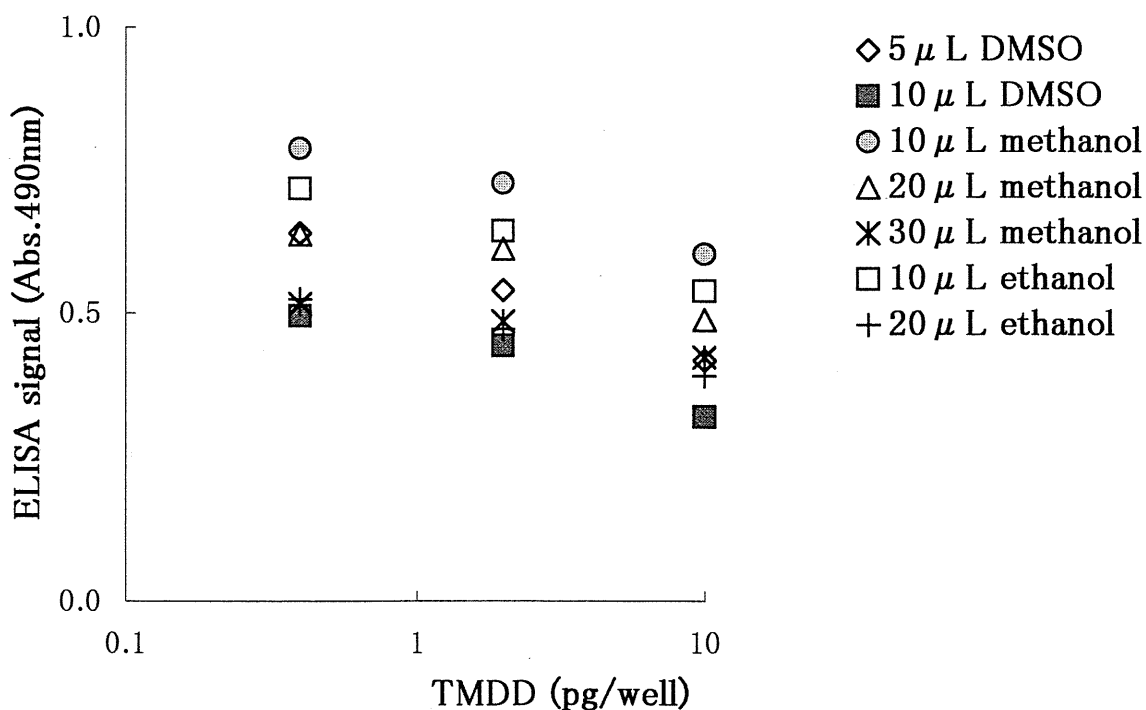


図 6 TMDD の結合阻害に及ぼす被験物質溶液の影響

抗血清 (5 回投与後 no.5) : 800,000倍希釈、II-6-HRP : 1 μ g/mL

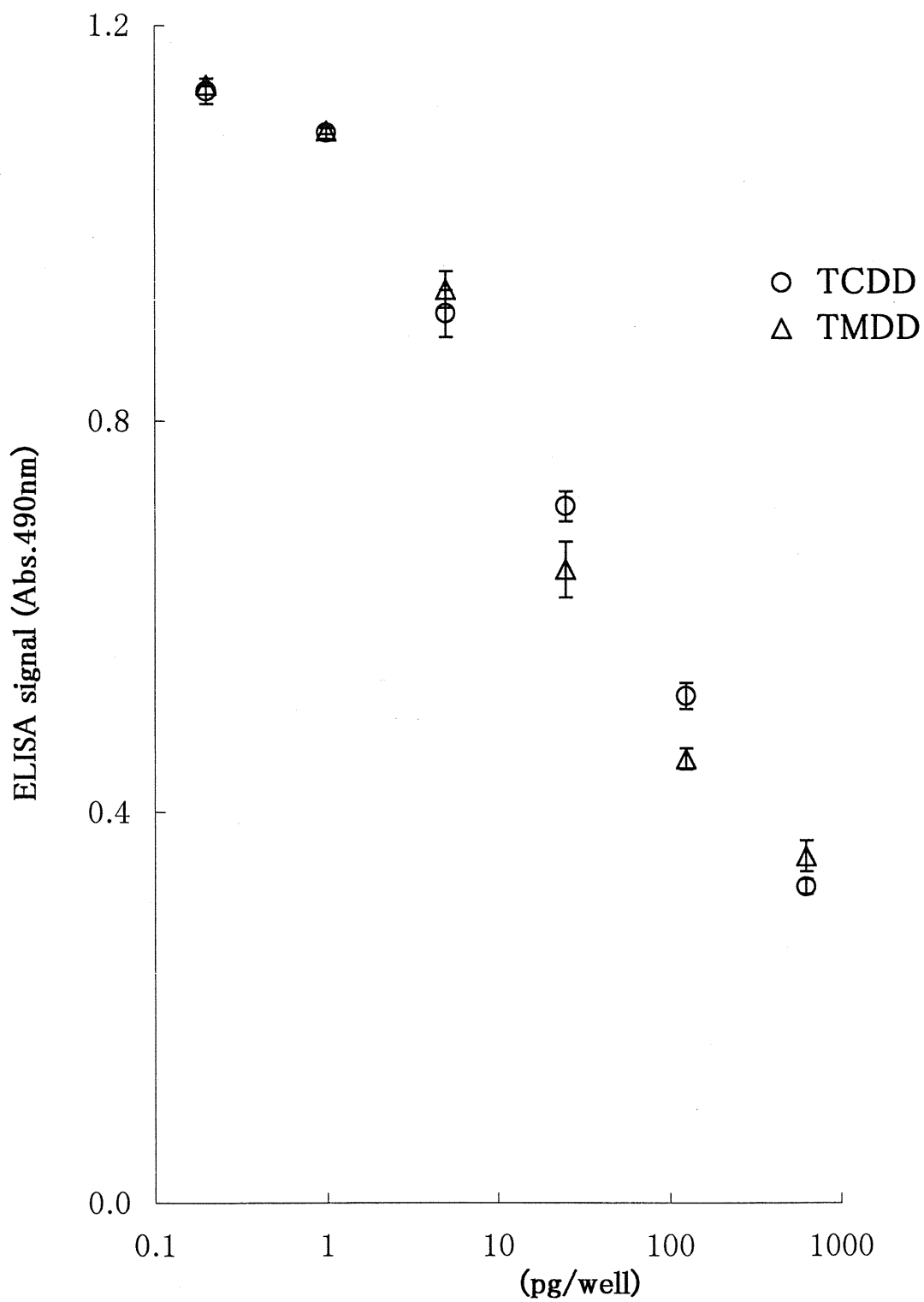


図 7 TMDD および 2378TCDD の標準曲線

抗血清 (5回投与後 no.5) : 800,000倍希釈、II-6-HRP: 1 μ g/mL

各点は 3回の平均値と標準偏差を示す。

表 6 2378TCDD 検量線の精度および真度

添加 TCDD (pg/well)	ELISA signal (Abs.490nm)			算出 TCDD (pg/well)		精度 (CV,%)	真度 (%)
	mean	SD	(CV,%)	mean	SD		
0	1.154	0.035	3.1				
0.2	1.133	0.013	1.2	0.2	0.1	54.3	109
1	1.091	0.006	0.6	1.0	0.1	5.3	104
5	0.908	0.024	2.6	4.9	1.0	20.5	97.2
25	0.713	0.016	2.2	24.8	3.2	13.0	99.1
125	0.519	0.013	2.6	125.0	14.4	11.5	100
625	0.324	0.007	2.3	638.5	38.8	6.1	102

精度：算出量の平均値で標準偏差 (SD) を除して求めた。

真度：添加量で算出量を除して求めた。

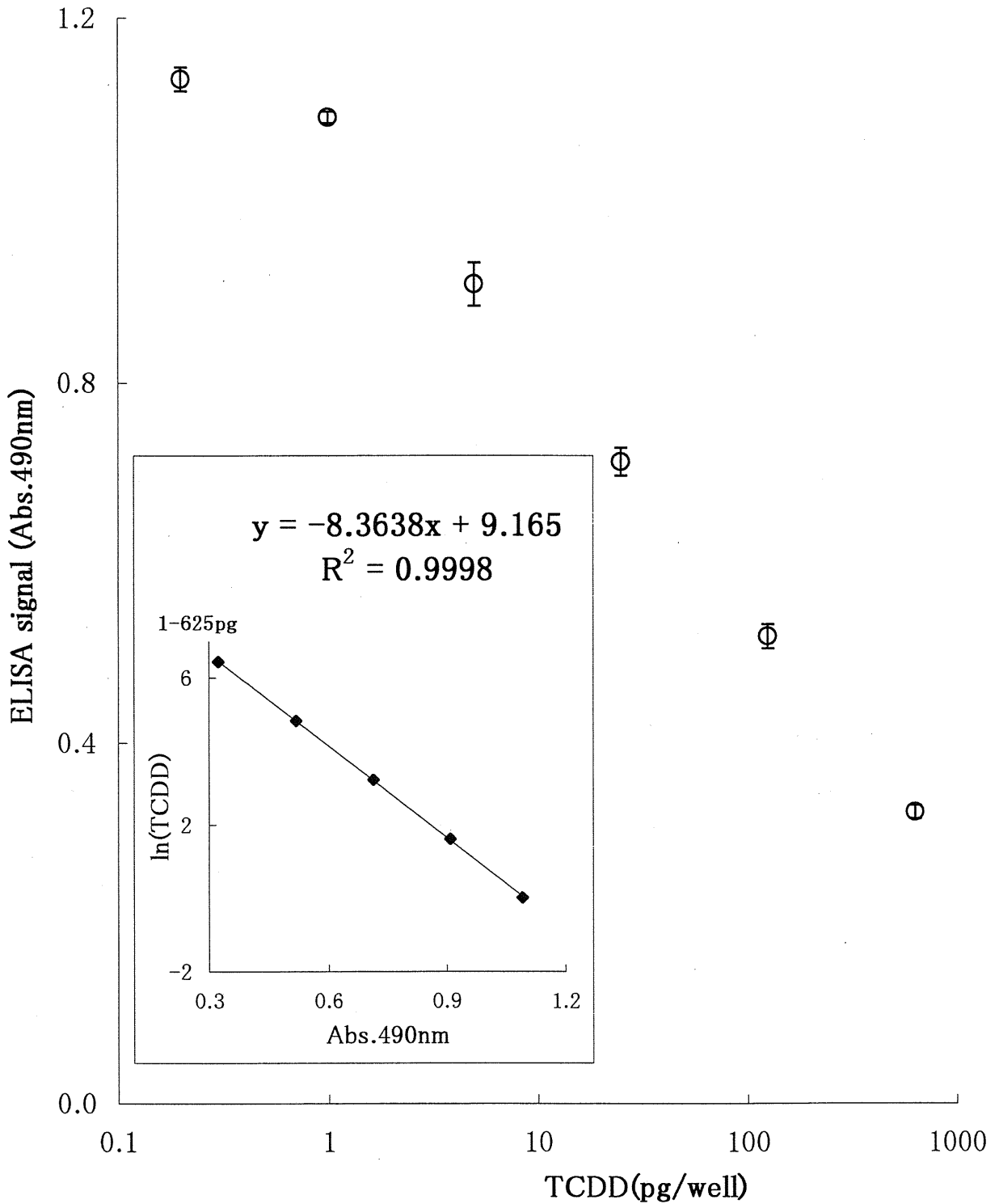


図 8 2378TCDD 検量線の精度および真度

抗血清 (5回投与後 no.5) : 800,000倍希釈、II-6-HRP: 1 μ g/mL

各点は 3回の平均値と標準偏差を示す。