性腺刺激ホルモンの生物-免疫学的方法による 分離測定について

窪道護夫・*猪 貴義・鈴木勝夫

(農林省動物医薬品検査所・*農林省家畜衛生試験場)

妊婦胎盤性性腺刺激ホルモン(HCG)と妊馬血清性性腺刺激ホルモン(PMSG)から成る混合製剤は、HCGおよびPMSGそれぞれ単味製剤では期待できない有効な生殖腺刺激効果を惹起する。

従来、この混合製剤におけるHCG, PMSGの性腺刺激ホルモン(GTH)活性を分離測定する確たる方法はみられず、これら各々のGTH活性を特異的に分離測定することは困難とされていた。また、これら製剤の国家検査法は現在においても作成されていない。

しかしながら、これら製剤の各GTH活性を分離し力価を正しく測定することはホルモン検定の立場から極めて重要である。また、HCGとPMSGを特異的に分離測定することが出来るならば、これらGTHの作用機構を解析する手段としても有用に活用できるものと考えられる。

そこで著者らはこれら混合製剤中のHCG, PMSGのGTH活性を特異的かつ簡易に分離測定する方法を検討するため赤血球凝集抑制反応とdd-マウスの生体内におけるGTHと抗血清との抗原抗体反応について検討した結果、次の成績を得たので報告する。

実験材料と方法

1) ホルモン: HCG, PMSGは国際単位(I.U.)表示の標準品を供試した。なお、各ホルモンの所要濃度は滅菌生理食塩液で溶解、希釈し調製した。

2) 免疫血清: 抗原としてHCG 1mg, 2,500 I.U.の標品、PMSGは1mg, 2,900 I.U.の標品、正常男子血清(HS)、健康な雄ウマ血清(ES)を供試した。免疫ウサギ血清の作製はHCG 1mg, PMSG 1mgの生理食塩

液 1ml, HS 1ml, ES 1ml に対して各々等量の complete Freund's adjuvant, ペニシリン, ストレプトマイシン各 100mg を添加し成熟雄ウサギの腎部筋肉内に注射した。毎週1回, 7回反復注射をおこない最終注射後10日目に試験採血し所定の赤血球凝集反応(HAR)価を示すウサギから全採血した。免疫ウサギ血清(抗血清)は分離後-20°Cに凍結保存した。

3) 赤血球凝集抑制反応(HAIR): 抗原液 0.3ml に対して3%健康ウサギ血清加燐酸緩衝生理食塩液(120°C, 30分処理) 0.3ml を加え順次稀釈液を作成しこれに抗血清(4単位) 0.3ml を加え振盪混合して37°C, 30分反応させる。反応後、抗原感作血球液 0.05ml を滴加し充分混合し5時間後に完全に凝集の抑制されたものを反応陽性とした。

4) 性腺刺激ホルモン活性に対する抗血清の生物反応抑制について: 各抗血清 0.4ml を dd-幼若雌マウスの腹部皮下に注射し1時間後に抗血清に対応する抗原または対応しない抗原を 0.1ml ずつ1日2回2日間 0.4ml を鼠径部皮下に注射した。抗原第1回注射後, 96時間目に解剖をおこない出血卵泡黄体形成反応を観察し、卵巣・子宮重量の測定をおこなった。なお、子宮重量の測定においては周囲の附着組織を除去し子宮内貯溜水を濾紙で吸着した後測定した。

実験結果と考察

1) 交叉赤血球凝集抑制反応(Cross-HAIR)について

HCG 標品には HCG 蛋白の他に HS 成分が不純蛋白質として存在し、PMSG 標品には PMSG 蛋白とウマ体液由来の ES 成分が含まれていることを HAR で検出した¹⁾。そこで、HCG, PMSG の HAIR における特異性およびこれら成分との関係を検討するために Cross-HAIR をおこなった。Table 1 はその結果を示す。表からも明らかなように HCG は抗-HCG, HCG 感作血球の反応系で HAIR は成立したが抗-PMSG, 抗-HS, 抗-ES,

Determination of the Human Chorionic Gonadotropin and Pregnant Mare Serum Gonadotropin mixed preparation by the Bio-Immunological method.

KUBOMICHI, Morio, *Takayoshi Ino & Katsuo Suzuki (National Veterinary Assay Laboratory, Kokubunji, Tokyo 186 & *National Institute of Animal Health, Tokyo)

Jap. J. Animal Reprod., 15 (2), 1969.

Table 1. Cross hemagglutination-inhibition reaction

(1) Human chorionic gonadotropin (HCG)

Antiserum	Dilution of HCG (30 I.U./0.6 ml)								Cells
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
HCG-400	—	—	—	—	—	+	+	+	HCG
PMSG-200	+	+	+	+	+	+	+	+	PMSG
HS-1600	+	+	+	+	+	+	+	+	HS
ES-800	+	+	+	+	+	+	+	+	ES

(2) Pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG)

Antiserum	Dilution of PMSG (30 I.U./0.6 ml)								Cells
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
HCG-400	+	+	+	+	+	+	+	+	HCG
PMSG-200	—	—	—	—	—	—	±	+	PMSG
HS-1600	+	+	+	+	+	+	+	+	HS
ES-800	+	+	+	+	+	+	+	+	ES

(3) Human male serum (HS)

Antiserum	Dilution of HS (1/2500 ml)								Cells
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
HCG-400	+	+	+	+	+	+	+	+	HCG
PMSG-200	+	+	+	+	+	+	+	+	PMSG
HS-1600	—	—	—	±	+	+	+	+	HS
ES-800	+	+	+	+	+	+	+	+	ES

(4) Equine male serum (ES)

Antiserum	Dilution of ES (1/500 ml)								Cells
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
HCG-400	+	+	+	+	+	+	+	+	HCG
PMSG-200	+	+	+	+	+	+	+	+	PMSG
HS-1600	+	+	+	+	+	+	+	+	HS
ES-800	—	—	—	—	±	+	+	+	ES

(5) Normal rabbit serum (NRS)

Antiserum	Dilution of NRS (1/50 ml)								Cells
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
HCG-400	+	+	+	+	+	+	+	+	HCG
PMSG-200	+	+	+	+	+	+	+	+	PMSG
HS-1600	+	+	+	+	+	+	+	+	HS
ES-800	+	+	+	+	+	+	+	+	ES

Hemagglutination-inhibition reaction of HCG plus PMSG

Antiserum	Dilution of HCG (30 I.U./0.3 ml) plus PMSG (30 I.U./0.3 ml)								Cells
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
HCG-400	—	—	—	—	—	+	+	+	HCG
PMSG-200	—	—	—	—	—	—	±	+	PMSG
HS-1600	+	+	+	+	+	+	+	+	HS
ES-800	+	+	+	+	+	+	+	+	ES

との反応は認められなかった。PMSG は抗-PMSG, PMSG 感作血球の反応系で HAIR は成立したが抗-HCG, 抗-ES, 抗-HS との反応は認められなかった。一方, HS, ES, NRS と抗-HCG, 抗-PMSG との Cross-HAIR は成立しなかった。従って, HCG と抗-HCG, PMSG と抗-PMSG の HAIR は HS, ES, NRS によって抑制されない特異的な抗原抗体反応であると認められる。

次いで, HCG 30 I.U./0.3 ml と PMSG 30 I.U./0.3 ml を混合して抗-HCG, 抗-PMSG, 抗-HS, 抗-ES と HAIR をおこなった結果, HCG は抗-HCG で 16 倍稀釈, PMSG は抗-PMSG で 32 倍稀釈まで HAIR が認められた。稀釈度の逆数を力価として算定すると, HCG, PMSG 添加量に等しいと見做される ホルモン量がほぼ定量的に試験管内で分離, 測定できたとみられる。

しかしながら HCG, PMSG は加熱処理によりその生

物学的活性を殆ど失活するに對し, 免疫学的活性は存在する事実²⁾から, HCG, PMSG の生物学的活性と免疫学的活性は分子内の異なった部位に反応基があるとみられる。すでに, ACTH の構造と生物学的活性, 免疫学的活性について N 末端アミノ酸セリンを酸化した場合およびアミノ酸 8~9, 16~17 の間を水解した場合, ステロイド産生活性は失われたが, C 末端アミノ酸を水解した場合にはステロイド産生活性に変化はみられなかったとしている³⁾。また, α_S^{22-29} -ACTH には生物活性は認められないにもかかわらず強い免疫学的活性を有するとしている³⁾。

従って測定するホルモンの分子が完全な場合, 生物学的活性と免疫学的活性は一致するとみられるが, 完全でない場合は両活性値は異なった結果を示すと考えられる。そこで, 次の実験をおこなった。

Table 2. Neutralization of biological activity of HCG and PMSG by each anti-serum in dd mice

Hormone and dilution of anti-serum	No. of mice	Body weight at injection at autopsy		Hem. + C.L.		Ovarian weight	Uterine weight
		(g)	(g)		(%)	(mg)	(mg)
0.85% NaCl	5	8.58 ± 0.84	10.86 ± 0.66	0/5	0	2.86 ± 1.03	11.26 ± 3.77
HCG	5	8.44 ± 0.47	12.34 ± 0.76	5/5	100	3.92 ± 0.43	41.36 ± 5.07
(HCG : A-HCG)*							
1 : 1	4	8.58 ± 0.41	11.45 ± 0.36	0/4	0	3.98 ± 1.40	10.53 ± 0.61
1 : 1/2	5	8.70 ± 0.37	11.34 ± 1.30	0/5	0	3.04 ± 1.39	11.06 ± 3.45
1 : 1/4	5	8.40 ± 0.28	11.02 ± 0.28	0/5	0	2.04 ± 0.87	8.72 ± 1.22
1 : 1/8	5	8.44 ± 0.81	11.36 ± 1.14	0/5	0	2.22 ± 0.82	9.46 ± 2.49
1 : 1/16	5	8.66 ± 0.75	11.40 ± 1.76	0/5	0	3.54 ± 0.54	19.46 ± 7.75
1 : 1/32	5	9.44 ± 0.87	13.06 ± 0.99	0/5	0	5.16 ± 2.05	39.34 ± 10.79
PMSG	5	8.36 ± 0.52	11.62 ± 1.58	5/5	100	11.60 ± 1.83	39.90 ± 12.11
(PMSG : A-PMSG)**							
1 : 1	5	8.52 ± 0.61	11.46 ± 0.47	0/5	0	3.24 ± 1.39	18.28 ± 7.44
1 : 1/2	5	8.78 ± 0.93	11.42 ± 0.40	0/5	0	3.50 ± 0.72	24.82 ± 5.81
1 : 1/4	5	8.36 ± 0.52	11.44 ± 0.98	0/5	0	3.70 ± 1.42	40.10 ± 10.98
1 : 1/8	5	8.96 ± 0.84	10.86 ± 1.60	0/5	0	4.12 ± 1.01	44.84 ± 13.52

Remarks: HCG: 6.0 I.U. PMSG: 12.0 I.U. Hem. + C.L.: Hemorrhagic follicles and corpora lutea

* Anti-HCG sera ** Anti-PMSG sera ± Standard deviation

2) 各抗血清の性腺刺激ホルモン活性に対する生物学的作用について

1) の Cross-HAIR による各 GTH の免疫学的活性に対して各抗血清の GTH 活性に対する生物学的作用について検討を加えた。

HCG 6.0 I.U., PMSG 12.0 I.U. のホルモン用量は dd-マウスの生殖腺反応をほぼ plateau に惹起するに要する用量と認められるので、このホルモン用量に対する各抗血清の生物学的作用について検討した。Table 2 はその結果を示す。HCG, PMSG に対する抗-HCG, 抗-PMSG の原血清は生殖腺刺激効果の完全な抑制を示すことが認められる。しかし、各抗血清の稀釈度が高まるにともない子宮重量反応を抑制する力価の漸減することがみられ、抗-HCG 16~32 倍稀釈、抗-PMSG 4~8 倍稀釈群における子宮重量値は生理食塩群に比較して有意に

増加していることが認められる。しかしながら、卵巣の出血卵泡黄体形成反応の発現は認められない。

次いで、交叉生物反応抑制試験をおこない HCG, PMSG と各抗血清（原血清）との相互の関係について検討した。Table 3, Fig. 1 はその結果を示す。なお、抗-HS, 抗-ES は Cross-HAIR において HCG, PMSG との交叉反応は認められなかったが、HAR において交叉反応の存在が認められたので¹⁾、この試験にくみ入れて検討した。

図表から明らかなように抗-HCG 注射マウス群は HCG の GTH 活性を抑制したが PMSG 活性を抑制しなかった。抗-PMSG 注射マウス群は PMSG に対する GTH 活性を抑制したが HCG 活性は抑制しなかった。また、抗-HS, 抗-ES, NRS は HCG, PMSG の GTH 活性を抑制しないことが認められる。従って、HCG と抗-HC

Table 3. Neutralization of biological activity of HCG and PMSG by each anti-serum in dd mice

Hormone and antiserum	No. of mice	Body weight at injection at autopsy		Hem. +C.L.		Ovarian weight	Uterine weight
			(g)		(%)	(mg)	(mg)
0.85% NaCl	9	8.77±1.27	11.11±1.79	0/ 9	0	3.48±1.24	10.07± 3.11
PMSG	10	8.61±0.83	12.19±1.42	10/10	100	12.92±3.70	39.13±10.23
HCG	9	8.59±0.50	12.46±0.72	8/ 9	89	4.04±0.67	30.86±13.44
HCG+anti-HCG	14	9.14±0.83	11.41±1.08	0/14	0	4.16±1.16	9.42± 2.65
PMSG+anti-PMSG	13	8.85±0.81	11.80±0.76	0/13	0	3.78±1.57	16.20± 8.46
HCG+anti-PMSG	5	9.74±0.44	11.38±1.03	5/ 5	100	7.12±1.84	28.82±11.95
PMSG+anti-HCG	5	8.56±1.09	12.20±1.45	5/ 5	100	10.24±6.61	33.18± 9.40
HCG+PMSG+anti-HCG+anti-PMSG	8	9.21±0.68	12.36±1.40	0/ 8	0	3.58±1.20	16.84±10.28
HCG+NRS	4	9.15±0.56	11.18±1.05	3/ 4	75	3.85±0.85	15.53± 5.94
PMSG+NRS	5	8.44±0.31	10.78±0.24	5/ 5	100	8.72±4.30	32.08± 3.62
HCG+anti-HS	5	8.72±0.30	10.00±0.74	4/ 5	80	3.18±1.05	21.90±13.61
PMSG+anti-ES	5	8.88±0.30	12.38±0.64	5/ 5	100	8.18±4.78	31.60± 9.04

Remarks: Hem.+C.L.: hemorrhagic follicles and corpora lutea forming reaction in ovary
PMSG: 12 IU HCG: 6.0 IU NRS: normal rabbit serum ±: standard deviation

Fig. 1. Neutralization of biological activity of HCG and PMSG by each anti-serum in dd mice.

G, PMSG と抗-PMSG の dd-マウスの生体内における反応は特異反応であるとみられる。また, HCG, PMSG の HAIR と生物反応抑制試験は同一結果を示すことから, これらホルモン蛋白の免疫学的活性と生物学的活性は人工的处理を加えない限りにおいて, 同一か, 極めて近似したものであらうと考える。

3) 生物反応抑制試験による各性腺刺激ホルモンの用量反応について

以上の実験結果から, HCG, PMSG の混合 GTH 活性は抗-HCG 注射マウス群においては PMSG 活性が, 抗-PMSG 注射マウス群においては HCG 活性が生殖腺反応として発現し, 各々単一のホルモン用量反応値に近似する可能性を示唆するものと考ええる。

そこで, HCG と PMSG の各ホルモン用量 (1.5, 3.0,

6.0 I.U.) を混合し, これに対して, 抗-HCG, 抗-PMSG の原血清を用いて, 各ホルモンの用量反応値について検討をおこなった。Table 4, Fig. 2 はその結果を示す。

出血卵泡黄体形成反応について, HCG (I), HCG + NRS (II), HCG + PMSG + 抗-PMSG (III), 群は 1.5 I.U. で 28.8~40.0%, 3.0 I.U. で 50.0~70.0%, 6.0 I.U. で 80.0~90.0% の反応陽性率を示したが, PMSG (IV), PMSG + NRS (V), PMSG + HCG + 抗-HCG (VI) 群では 1.5 I.U. で 0%, 3.0 I.U. で 8~20%, 6.0 I.U. で 30.0~52.0% の反応陽性率を示し, (I), (II), (III) 群と (IV), (V), (VI) 群の間に反応陽性率の差異がみられ, 逆正弦変換による分散分析の結果, F_{cal} は 5.16 で P [0.05] = 3.33 より大きく, 有意差が得られた。しかしながら (I), (II), (III) 群内, (IV), (V), (VI)

Table 4. Neutralization of biological activity of HCG and PMSG by each anti-serum in dd mice

Dose of hormone and anti-sera	No. of mice	Body weight at injection at autopsy		Hem. + C.L.		Ovarian weight	Uterine weight	
		(g)	(g)		(%)	(mg)	(mg)	(mg)
0.85% NaCl	(I.U.)	135	8.75±0.19	11.45±1.37	0/135	0	3.83±1.48	9.82± 3.09
HCG	1.5	132	8.68±0.16	11.49±1.71	38/132	28.8	3.81±1.55	13.67± 5.46
	3.0	131	8.70±0.18	11.46±1.11	89/131	67.9	4.21±1.80	16.79± 6.32
	6.0	132	8.67±0.20	11.60±1.27	118/132	89.4	4.62±2.01	20.99± 8.25
HCG	1.5	10	9.19±0.69	13.01±1.03	3/10	30.0	3.83±1.51	24.40± 6.21
NRS	3.0	10	9.20±0.64	12.39±1.41	5/10	50.0	3.96±0.97	25.13±10.56
	6.0	10	9.25±0.64	12.78±1.02	8/10	80.0	4.22±0.98	31.30±13.11
PMSG	1.5	25	8.70±0.61	11.70±0.74	0/25	0	3.12±0.81	22.06± 9.19
	3.0	25	8.73±0.72	11.82±1.40	2/25	8.0	4.00±1.49	33.19±13.84
	6.0	25	8.51±0.78	11.45±2.49	13/25	52.0	8.12±3.86	32.78± 7.23
PMSG	1.5	10	9.55±0.68	12.44±1.06	0/10	0	3.84±1.62	22.17± 4.04
NRS	3.0	10	9.63±0.42	12.73±0.62	2/10	20.0	5.71±1.68	22.55± 3.97
	6.0	10	9.27±0.68	11.91±1.16	4/10	40.0	7.18±3.61	26.19± 6.44
HCG	1.5	10	8.92±0.51	11.58±0.91	0/10	0	3.78±1.63	26.23± 5.78
PMSG	3.0	10	9.46±0.70	12.82±1.34	2/10	20.0	4.18±1.36	28.46± 6.75
anti-HCG	6.0	10	9.28±0.68	12.17±1.09	3/10	30.0	6.79±2.12	34.10± 7.45
PMSG	1.5	10	8.87±0.61	12.18±1.74	4/10	40.0	3.71±1.17	31.33±13.93
HCG	3.0	10	9.44±0.88	12.12±2.14	7/10	70.0	3.76±1.10	31.10± 6.12
anti-PMSG	6.0	10	9.40±0.72	12.87±1.08	9/10	90.0	4.34±1.13	35.31± 6.42
PMSG	0.25	10	9.51±0.30	11.99±1.12	0/10	0	3.51±1.73	16.64± 5.18
HCG	0.50	10	9.39±0.80	12.17±0.72	1/10	10.0	3.66±1.24	21.48± 5.16
NRS	1.0	10	8.99±0.80	11.62±1.75	6/10	60.0	3.94±1.31	25.99± 5.29
	1.5	10	8.78±0.61	11.59±0.98	8/10	80.0	4.77±1.71	24.11± 4.26
	3.0	10	9.12±0.54	12.31±0.84	9/10	90.0	6.80±2.50	25.82± 5.92

Remarks: ± Standard deviation Hem. + C.L. Hemorrhagic follicles and corpora lutea

Fig. 2. Dose response curve of reaction of reproductive organs in dd mice injected with gonadotropic hormone complex and anti-serum

群内においては各々 F_{cal} は 6.56, 0.08 で $P[0.05]=6.94$ より小さく有意差は得られなかった。従って、(I), (II), (III) 群の反応値は HCG 単味の用量反応値に近似し⁴⁾, (IV), (V), (VI) 群の反応値は PMSG 単味の用量反応値に近似すると認められる⁵⁾。

一方、卵巢重量反応について、(I), (II), (III) 群は 1.5 I.U. で 3.71~3.83 mg, 3.0 I.U. で 3.76~4.21 mg, 6.0 I.U. で 4.22~4.62 mg で HCG 単味の卵巢重量増加曲線に近似した曲線を描いたが、(IV), (V), (VI) 群においては 1.5 I.U. で 3.12~3.84 mg, 3.0 I.U. で 4.00~5.71 mg, 6.0 I.U. で 6.79~8.12 mg と増加しホルモン用量に対する卵巢の重量増加は PMSG 単味に近似した増加曲線を示した。また、ホルモン用量 6.0 I.U. に対する (I), (II), (III) 群と (IV), (V), (VI) 群の卵巢重量平均値について t 検定を行なったところ、 t_{cal} は 7.5, P は 0.01~0.001 で有意差が認められた。しかし、(I), (II), (III) 群内、(IV), (V), (VI) 群内では分散分析の結果、 F_{cal} は各々、3.67, 0.59 で $P[0.05]=6.94$ より小さく有意差は得られなかった。

また、HCG+PMSG+NRS 群は他の群に比較して、低用量で出血卵泡黄体形成反応、卵巢重量反応ともに高まり HCG と PMSG の生殖腺に対する協力作用効果が明らかに確認された。

なお、子宮重量反応は出血卵泡黄体形成反応、卵巢重量反応とは異なり HCG 群を除く他の群間において漸増し、これら群間の反応値に明らかな差異は認められなかった。この事実は抗血清、NRS の子宮重量反応に及ぼす非特異的效果とみられるが、しかし、この子宮重量反

応における、これら物質との協力作用効果発現の機構に関しては詳細な検討を要すると考える。

以上の実験結果から、HAIR と生物反応抑制試験を併用して、力価測定をおこなえば、HCG, PMSG の混合製剤中の各 GTH の活性を特異的且つ簡易に分離測定することが可能であると考えられる。

要 約

HCG と PMSG から成る混合製剤中の各 GTH 活性を特異的に分離測定する可能性について検討したところ次の結果を得た。

1) 交叉赤血球凝集抑制反応において、HCG, PMSG の特異反応が成立し、抗-HS, 抗-ES との反応は成立しなかった。また、HCG と PMSG を混合した検体を用いて HAIR をおこなった結果、HCG, PMSG を各々特異的に分離測定することが可能であった。

2) 各抗血清の GTH 活性に対する生物学的作用を検討した結果、抗-HCG 注射マウス群は HCG 活性を抑制したが、PMSG 活性は抑制せず、抗-PMSG 注射マウス群は PMSG 活性を抑制したが、HCG 活性を抑制しなかった。また、各ホルモン用量と抗血清との用量反応について出血卵泡黄体形成反応、卵巢重量反応で検討した結果、HCG, HCG+NRS, HCG+PMSG+抗-PMSG 群の用量反応は HCG 単味の用量反応に近似した曲線を示し、PMSG, PMSG+NRS, PMSG+HCG+抗-HCG 群においては PMSG 単味の用量反応に近似した曲線を示した。

従って、HAIR と生物反応抑制試験を併用して製剤検

定をおこなえば HCG と PMSG の混合製剤中の各 GTH 活性を特異的に分離測定することが可能であるとみられる。

本研究の機会を与えられた東京農大川島秀雄教授，農林省家畜衛生試験場藤田淳吉場長に感謝いたします。また，ご指導，ご批判を賜わった農林省家畜衛生試験場須藤恒二博士に深謝いたします。

(1969 年 2 月 22 日受付)

文 献

- 1) 窪道 (護)・猪 (貴)・鈴木 (勝): 本誌, **15**, , 1969.
- 2) WIDE, L, C.E. GEMZELL: *Acta Endocri, Suppl*, **70**, 1962.
- 3) 井村 (裕): 日本内分泌学会誌, **41**, 701, 1965.
- 4) 窪道 (護)・猪 (貴)・鈴木 (勝): 本誌, **13**, 103, 1967.
- 5) 窪道 (護)・猪 (貴)・鈴木 (勝): 本誌, **15**, 47, 1969.

Summary

It was investigated the specific estimation of the HCG and PMSG in mixed gonadotropic preparation by the biological neutralization reaction with each antiserum and hemagglutination inhibition reaction (abb. Bio-Immunological method).

In the cross biological neutralization reaction and hemagglutination inhibition reaction of the HCG and PMSG, a specific reaction was induced the HCG against anti-HCG serum and the PMSG against anti-PMSG serum, but not induced between ES, HS, or NRS.

The Bio-Immunological method was possible to estimate specifically the HCG and PMSG activity in the mixed gonadotropic preparation.