



新しい発色試薬BCMAによるコリンならびにスペルミンテストの検討

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 修, 浅野, 稔 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1782

66

新しい発色試薬BCMAによるコリンならびにスペルミンテストの検討

鈴木 修, 浅野 稔 (浜松医大)

当教室では精液の簡易証明法として、コリン、スペルミンを酵素的に検出する方法を開発し既に報告した。本反応では酸化酵素によって生成する過酸化水素をペルオキシダーゼと発色試薬で呈色させるものであるが、今回の研究では従来使用されてきたフェノール-4-アミノアンチピリン(4AA)系やEMAE-4AA系よりはるかに高濃度とされるBCMAについて検討を行ったので報告する。

〔実験材料と方法〕

試薬1) 0.1 M HEPES 緩衝液 (pH 6.5)

2) ペルオキシダーゼ、0.2 mg/ml 水

3) BCMA (協和メデックス製、可溶化剤入り) / mg/ml 緩衝液

4) コリン酸化酵素、0.5 mg/ml 水

5) カラス麦ポリアミン酸化酵素 0.1 mg/ml 水

コリン定性用には1)~4)をそれぞれ0.25 ml ずつ精液斑に加え30分、37°C 反応させ緑色の色調を観察する。定量用には1)~4)をそれぞれ0.5 ml ずつとり同様に反応させ、755 nm でODを測定する。スペルミン検出には4)の代わりに5)を用いる。

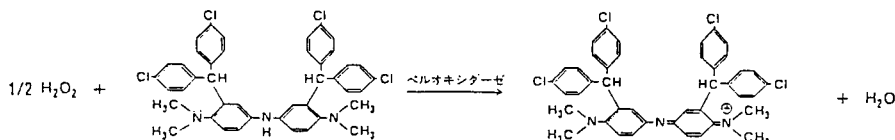
〔結果ならびに考察〕

図に示した様にODを測定した結果BCMA系ではフェノール-4AA系の約10倍以上、EMAE-4AA系の4~5倍の感度を有し、約2 nmolの基質を検出できた。従って、通常の精液斑(5 x 5 mm)においてはコリンの場合、そのODは0.8~1.2となりかなり感度が高く、定量的測定においては8~16倍希釈精液斑で検出可能であった。しかし、肉眼で色調を観察する場合には、赤外色調のため見にくく、かなりの濃度でも緑色色素は強く感じられず、その検出限界は4~8倍希釈であった。肉眼で判定する限りにおいてはむしろEMAE-4AA系の濃紫色が極めて見易く、BCMA系の高感度性が生かされない。

精液斑(5 x 5 mm)中のスペルミンの検出を同様にBCMA系で試みたところ、定量測定ではOD、0.1~0.2を与え定量可能であったが、肉眼判定では色調が弱く、実用には適していなかった。

Bis[3-bis(4-chlorophenyl)methyl-4-dimethyl-aminophenyl]amine

BCMA 分子量 725.6



緑色々素 λ_{max} 755nm

