

# パーソナルコンピュータを用いたELISA法の 抗体価処理・解析システムの開発について

北山 秋雄, 内村真佐子, 市村 博, 太田原美作雄

## Development of the Computerized Data-processing System for Antibody Measurement by ELISA

Akio KITAYAMA, Masako UCHIMURA, Hiroshi  
ICHIMURA, Misao OHOTAWARA

### I はじめに

マイクロプレートを用いた法ELISA (以下、マイクロELISA法と略す)は1975年Voller等<sup>1)</sup>によって開発された。本法は、RIA (radio immunoassay) 法と比較して簡便、安全、安価だけでなく、RIA法によって測定されるほとんど全ての物質の測定感度をカバーし、かつ精度についても遜色ないことが知られている。しかし、わずかな反応条件の違い(温度、洗浄方法等)によって測定値が容易に変動する系であることも血清断上から明らかにされている。既に、各種感染症において術式の標準化が確立されている。従って、マイクロELISA法の課題はわずかに反応条件の違いによる測定値の変動要因を十分よくコントロールする演算法を開発すること、その自動化をいかに行うかという点であった。筆者等は、測定された吸光度から抗原量または抗体量を求める演算法について検討し、既報<sup>2),3)</sup>で、平行線定量法<sup>4)</sup> (parallel line assay method) が最も論理的であると同時に、再現性及び妥当性においても優れた方法であることを報告した。

今回は、平行線定量法によって抗体価を定量するシステム「CDPS (Computerized Data-Processing System)」を開発したので、その概要について報告する。

### II システム設計

#### 1. 平行線定量法について

本法は、生物定量法 (bioassay) において最も広く応用されている分析法の一つである。以下に、その概要

について記載する。

#### 1) 目的

二つ以上の検体の活性の強さの違いを定量的に推定する。通常、この強さの違いは標準品に対する被検体の効力比、即ち相対力価 (relative potency: RP) として表示される。

#### 2) 演算手順

- (1) 標準血清と被検血清の血清希釈倍数及び吸光度を対数変換する。
- (2) 標準血清の直線性の検定を行う。
- (3) 被検血清の直線性の検定を行う。
- (4) 二本の回帰直線の平行性の検定を行う。
- (5) 同一吸光度における二本の回帰直線の距離 (M) を求める。
- (6) 距離のantilog、即ち相対力価を求める。
- (7) 相対力価の信頼区間を求める。

#### 2. 請求要件<sup>5)</sup>

「CDPS」は、次のような事項を主な請求要件として開発された。

1) 本システムは、マイクロELISA法によって得られた吸光度の画像処理及び平行線定量法の自動演算処理を目的とする。

2) 使用するハードウェアは、通常の臨床検査室内に設置できる程度のサイズ・価格のものであり、かつ比較的普及しているものとする。

3) ハードウェア本体とEIA (enzyme immunoassay) 測定機器は、RS232Cを通じて接続され、測定値は一定デザインのデータファイル・データフォーマットで外部記憶装置に保存されるものとする。そして、必要に応じて画像処理及び自動演算が行われるものとする。

4) プログラムは、システム起動後メインメニューによって、データの入力作業とデータ処理による情報の出力作業に分け、簡単な操作構造とする。但し、ディスクの初

期化を行うユーティリティは、MS-DOSのコマンドモードから外部コマンドを直接利用する方式を採用するものとする。

### Ⅲ システム構成

#### 1. 機器構成

##### 1) ハードウェア構成

- (1) 本体→PC-9801vm 2 相当クラス (メインメモリー-384KB以上)
- (2) 日本語カラーシリアルプリンター→PC-PR201HC
- (3) EIA計測器→MR580 (Dynatech社)

##### 2) ソフトウェア構成

本システムの開発に使用したDOS (Disk Operation system) は、国内向けMS-DOS (NEC/Microsoft) Ver 3.1である。

#### 2. 機能<sup>6),7)</sup>

- 1) データの入力/確認・訂正処理
- 2) 画像処理
- 3) 演算結果の作表処理
- 4) 保存処理

### Ⅳ 処理概要

「CDPS」システムの起動は次の通り行う。

ドライブA (または1) に「CDPSシステムディスク」を、ドライブB (または2) に「CDPSデータディスク」を各々マウントし、電源スイッチまたはリセットボタンを操作する。MS-DOSシステム起動後は、図1のような初期画面を経て本システムのメインメニューが図2のように表示される。

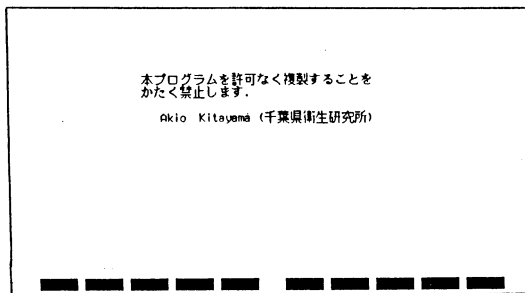


図1

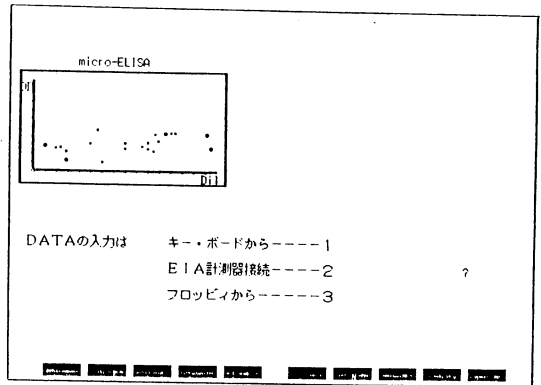


図2

システムのオペレーションは、主としてメインメニューを中心に行われる。処理項目を選択後、必要に応じて各種パラメータを入力する作業を行う。このような一連の作業は、オペレータとシステムのCRT画面表示との対話形式で行われ、選択した項目の作業が終了すると再び元の初期画面に戻る。

図3は、本システムのプロセス・フローチャートである。以下に、その処理項目の概要について説明する。

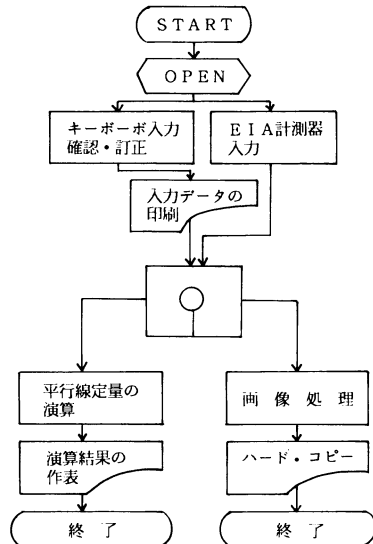


図3. マイクロ-ELISA法における力価検定検定システム処理概要

#### 1. データの入力/確認・訂正処理

データの入力方法は、手動入力と自動入力 (RS232C経由) に大別される。さらに、手動入力は標準的方法と任意の方法に分類されている。確認・訂正は、手動入力の場合のみ、各用量における測定値を入力した直後と全測定値を入力した直後の二回行われる。

2. 画像処理

CRT上の作図は、保存ファイル（拡張子に.D1のついたファイル）を用いて行われる。CRTに登録した全ファイル名が表示されるので、その中から画像処理をするファイルを選択する（図4を参照）。

標準血清の測定値及び回帰直線は赤色（塗り潰し）で表示され、被検血清は水色（白抜き）で各々表示される（図5を参照）。特定の用量における測定値の分散によって、直線性または平行性が棄却された場合には、その用量における全ての測定値を除外して再計算し、新たな分布図を作成する。

3. 演算結果の作表処理

ハードウェア本体とEIA測定機器を接続しないで入力されたデータ及び演算結果のプリントフォームの出力は、オペレータの必要に応じて行われる。また、CRTに表示された画像は、ハード・コピーコマンドによってプリンターに出力される。

一方、ハードウェア本体とEIA測定機器が接続されている場合、測定・保存・演算の過程が自動化され、測定されたデータ及び演算結果が表1のように一定のプリントフォームでプリンターに出力される。（但し、Ver. 2.0以上）

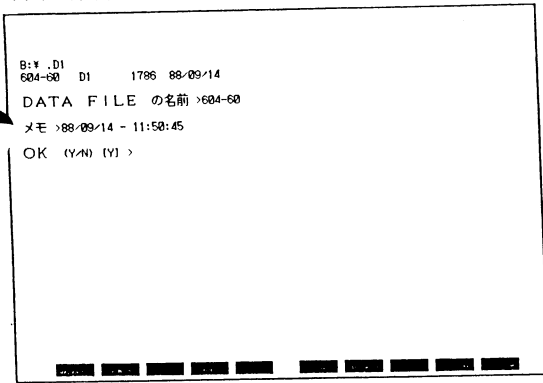


図4

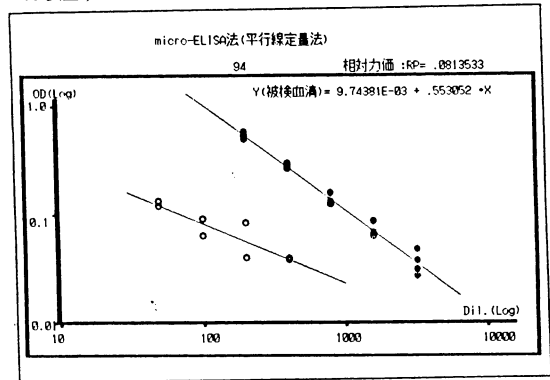


図5

\*\*\* ELISA \*\*\*

年

百日咳抗体測定結果及び検定結果

測定日:

No.	Sample 名	測定値					検査結果					
		x 100	x 200	x 400	x 800	x 1600	直線性	平行性	抗体価 u/ml	b	x	y
	標準品	0	0	0	0	0						
	Lot. _____	0	0	0	0	0						
	u/ml	0	0	0	0	0						
		x 50	x 100	x 200	x 400	x 800						
1		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
3		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
4		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
5		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
6		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
7		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
8		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
9		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						
10		0	0	0	0	0						
		0	0	0	0	0						

Conjugate Lot :  
Plate Lot :

表1

#### 4. 保存処理

ファイル名は、英数字で6文字以内であり、その拡張子は.D1である。ドライブ指定が可能である他、登録日時が自動的に保存される。入力データは、一定デザインのデータファイル・データフォーマットで外部記憶装置に保存される。

#### V まとめ

従来ELISA法では困難とされていた、測定条件の違い（異なる施設、術者等）による抗体価の定量的な比較が平行線定量法の適用によって可能となった。本システムの開発によって、煩雑な平行線定量法の演算が容易に行われるようになり、ELISA法による抗原量または抗体量を表示する方法が標準化されるものと思われる。

#### 文献

- 1) Voller, A., and Bidwell, D. E. (1975). Asymple method for detecting antibodies to rubella. Brit. J. exp. Path., 56, 338-339.
- 2) Kitayama, A., M. Uchimura., Y. Horiuchi. Study on factors of variance derived from micro-ELISA. (投稿予定). J. Biological Standardization.
- 3) 北山秋雄, 春日邦子, 十川知子, 時枝正吉, 市村博, 太田原美作雄, 平山宗宏. (1987). マイクロELISA法によるムンプス抗体測定-第一報 平行線定量法の有効性-臨床とウイルス, 15, 369-372.
- 4) Finny, D.J. (1978). Statistical methods in biological assay. 3rd edition. London. Charles Griffin & Company Ltd.
- 5) 津野正朗, 工藤泰雄, 大橋 誠. (1987). パーソナルコンピュータを用いた腸管感染症検査室情報処理・解析システムの開発. 東京衛研年報, 38, 1-12.
- 6) 一条真琴, 安藤 裕 (1984). 口頭発表のためのパソコングラフィックス, 丸善株式会社
- 7) 森本吉春 (1984). プレイマイコン・シリーズ 5 画像処理・培風館