

1 ヒト下垂体性性腺刺激ホルモン

2 Human Menopausal Gonadotrophin

3 次のように改める。

4 本品は健康な閉経後の婦人の尿からウイルスを除去又は不
5 活化する工程を経て得た性腺刺激ホルモンを乾燥したもので、
6 卵胞刺激ホルモン作用と黄体形成ホルモン(間質細胞刺激ホ
7 ルモン)作用を有する。

8 本品は1 mg当たり40卵胞刺激ホルモン単位以上を含む。

9 **性状** 本品は白色～微黄色の粉末である。

10 本品は水にやや溶けやすい。

11 **水分** (2.48) 5.0%以下(0.2 g, 容量滴定法, 直接滴定)。

12 **エンドトキシン** (4.01) 本品をエンドトキシン試験用水1 mL
13 当たり75卵胞刺激ホルモン単位を溶かし, 試験を行うとき,
14 エンドトキシンとして1卵胞刺激ホルモン単位当たり0.66
15 EU未満である。

16 **黄体形成ホルモン・卵胞刺激ホルモン比** 定量法及び次の方法
17 により試験を行うとき, 黄体形成ホルモン単位の卵胞刺激ホ
18 ルモン単位に対する比率は1以下である。

19 (i) 試験動物 体重約45 ~ 65 gの健康な雄シロネズミを
20 用いる。

21 (ii) 標準溶液 ヒト下垂体性性腺刺激ホルモン標準品を
22 pH 7.2のウシ血清アルブミン・塩化ナトリウム・リン酸塩
23 緩衝液に溶かし, 1.0 mL中に10, 20及び40黄体形成ホルモ
24 ン単位を含む3種の溶液を調製する。この溶液を5匹を1群と
25 する試験動物に(iv)に従って注射し, 精のうの質量を測定す
26 る。試験の結果に基づき精のうの質量が20 ~ 35 mgになる
27 と推定される標準品の濃度を高用量標準溶液 S_H とする。高
28 用量標準溶液にpH 7.2のウシ血清アルブミン・塩化ナトリ
29 ウム・リン酸塩緩衝液を加えて1.5 ~ 2.0倍容量に希釈して
30 低用量標準溶液 S_L とする。

31 (iii) 試料溶液 本品の適量を精密に量り, 高用量標準溶液
32 とほぼ等しい作用を示すようにpH 7.2のウシ血清アルブミ
33 ン・塩化ナトリウム・リン酸塩緩衝液に溶かし, 高用量試料
34 溶液 T_H とする。この高用量試料溶液を高用量標準溶液と同
35 様に希釈して低用量試料溶液 T_L とする。

36 調製した標準溶液及び試料溶液は2 ~ 8°Cに保存する。

37 (iv) 操作法 試験動物を1群10匹以上で各群同数のA, B,
38 C及びDの4群に無作為に分け, 各群にそれぞれ S_H , S_L , T_H
39 及び T_L を1日1回0.2 mLずつ5日間皮下注射し, 第6日に精の
40 うを摘出し, 附着する外液と不要組織を分離し, ろ紙にはさ
41 み手で軽く押しつぶして内容物を出し, 精のうの質量を量る。
42 (v) 計算法 定量法(v)を準用する。ただし, 卵巣質量
43 を精のう質量に, 卵胞刺激ホルモン単位を黄体形成ホルモ
44 ン単位に読み替える。

45 **比活性** 本品につき, 定量法及び次の試験を行うとき, タンパ
46 ク質1 mg当たり50卵胞刺激ホルモン単位以上を含む。

47 (i) 試料溶液 本品約10 mgを精密に量り, 水を加え, そ
48 の1 mL中に正確に200 µgを含むように溶かし, 試料溶液と
49 する。

50 (ii) 標準溶液 ウシ血清アルブミン約10 mgを精密に量り,
51 水に溶かし, 正確に20 mLとする。この液に水を加え, 1

52 mL中にウシ血清アルブミンをそれぞれ正確に300, 200,
53 100及び50 µg含む4種の標準溶液を調製する。

54 (iii) 操作法 内径約18 mm, 長さ約130 mmのガラス試験
55 管に各標準溶液及び試料溶液0.5 mLずつを, 正確にとる。
56 それぞれにアルカリ性銅試液5 mLを正確に加えて振り混ぜ,
57 30°Cの水浴中で10分間加熱した後, 薄めたフォリン試液(1
58 →2) 0.5 mLを正確に加えて振り混ぜ, 30°Cの水浴中で20分
59 間加熱する。これらの液につき, 水0.5 mLを用いて同様に
60 操作して得た液を対照とし, 紫外可視吸光度測定法 (2.24)
61 により試験を行い, 波長750 nmにおける吸光度を測定する。
62 各標準溶液から得た吸光度から, 縦軸を吸光度, 横軸を濃
63 度とする検量線を作成する。これに試料溶液から得た吸光度
64 をあてて試料溶液中のタンパク質量を求め, 検体中の含量を
65 計算する。

66 定量法

67 (i) 試験動物 体重約45 ~ 65 gの健康な雌シロネズミを
68 用いる。

69 (ii) 標準溶液 ヒト下垂体性性腺刺激ホルモン標準品をヒ
70 ト絨毛性性腺刺激ホルモン試液に溶かし, 1.0 mL中に0.75,
71 1.5及び3.0卵胞刺激ホルモン単位を含む3種の溶液を調製す
72 る。この溶液を5匹を1群とする試験動物に, (iv)に従って注
73 射し, 卵巣の質量を測定する。試験の結果に基づき卵巣の質
74 量がほぼ120 ~ 160 mgになると推定される標準品の濃度を
75 高用量標準溶液 S_H とする。高用量標準溶液にヒト絨毛性性
76 腺刺激ホルモン試液を加えて1.5 ~ 2.0倍容量に希釈して低
77 用量標準溶液 S_L とする。

78 (iii) 試料溶液 本品の適量を精密に量り, 高用量標準溶液
79 及び低用量標準溶液と等しい単位数を等容量中に含むように
80 ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン試液を加えて溶かし, これらを
81 それぞれ高用量試料溶液 T_H 及び低用量試料溶液 T_L とする。

82 (iv) 操作法 試験動物を1群10匹以上で各群同数のA, B,
83 C及びDの4群に無作為に分け, 各群にそれぞれ S_H , S_L , T_H
84 及び T_L を第1日の午後1回, 第2日の午前, 正午及び午後
85 の3回, 第3日の午前及び午後2回にわたって1回0.2 mLずつ
86 皮下注射する。第5日に卵巣を摘出し, 附着する脂肪その他不
87 要組織を分離し, ろ紙で附着する水を軽く吸いとり, 直ちに
88 卵巣質量を量る。

89 (v) 計算法 S_H , S_L , T_H 及び T_L によって得た卵巣質量を
90 それぞれ y_1 , y_2 , y_3 及び y_4 とする。さらに各群の y_1 , y_2 , y_3
91 及び y_4 を合計してそれぞれ Y_1 , Y_2 , Y_3 及び Y_4 とする。

92 本品1 mg中の卵胞刺激ホルモン単位数
93
$$= \text{antilog } M \times (S_H \text{ 1 mL中の単位数}) \times b/a$$

94
$$M = IY_a / Y_b$$

95
$$I = \log (S_H / S_L) = \log (T_H / T_L)$$

96
$$Y_a = -Y_1 - Y_2 + Y_3 + Y_4$$

97
$$Y_b = Y_1 - Y_2 + Y_3 - Y_4$$

98 a : 本品の秤取量(mg)

99 b : 本品をヒト絨毛性性腺刺激ホルモン試液に溶かし, 高
100 用量試料溶液を製したときの全容量(mL)

101 ただし, 次の式によって計算される F' は s^2 を計算したと
102 きの n に対する F_1 より小さい。また, 次の式によって L ($P =$
103 0.95)を計算するとき, L は0.3以下である。もし, F' が F_1 を,

104 また、 L が0.3を超えるときは、この値以下になるまで試験
 105 動物の数を増加し、又は実験条件を整備して試験を繰り返す。

$$106 \quad F' = (Y_1 - Y_2 - Y_3 + Y_4)^2 / (4fs^2)$$

107 f : 各群の試験動物の数

$$108 \quad s^2 = \{\Sigma y^2 - (Y/f)\} / n$$

109 Σy^2 : 各群の y_1, y_2, y_3 及び y_4 をそれぞれ2乗し、合計
 110 した値

$$111 \quad Y = Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2 + Y_4^2$$

$$112 \quad n = 4(f - 1)$$

$$113 \quad L = 2\sqrt{(C - 1)(CM^2 + I^2)}$$

$$114 \quad C = Y_b^2 / (Y_b^2 - 4fs^2t^2)$$

115 t^2 : s^2 を計算したときの n に対する次の表の値

n	$t^2 = F_1$	n	$t^2 = F_1$	n	$t^2 = F_1$
1	161.45	13	4.667	25	4.242
2	18.51	14	4.600	26	4.225
3	10.129	15	4.543	27	4.210
4	7.709	16	4.494	28	4.196
5	6.608	17	4.451	29	4.183
6	5.987	18	4.414	30	4.171
7	5.591	19	4.381	40	4.085
8	5.318	20	4.351	60	4.001
9	5.117	21	4.325	120	3.920
10	4.965	22	4.301	∞	3.841
11	4.844	23	4.279		
12	4.747	24	4.260		

116 貯法

117 保存条件 遮光して、冷所に保存する。

118 容器 気密容器。

119