

一般演題 XII ラジオイムノアッセイ (112~117)

112. 酵素分解法を用いた人成長ホルモン (HGH) の radioimmunoassay に関する検討

岡山大学 第3内科

○小川 紀雄 高原 二郎 大藤 真

radioimmunoassay における B と F の分離法は多種あるが, Mitchell らにより開発された蛋白分解酵素によりを破壊する特異な方法につき検討した。

〔原理〕 蛋白分解酵素 ficin, papain を用いて遊離の人成長ホルモン (HGH) を分解し, 抗体-HGH 結合物をトリクロル酢酸で沈澱させて B と F を分離する。

〔方法〕 9.5%馬血清加 barbital buffer で希釈した標準 HGH または10倍希釈した検体血清 0.5ml を試験管に入れ, 次いで ^{125}I -HGH 0.1ml を加えて混和し更に10万倍希釈した抗 HGH 血清 0.1ml を加え充分混和する。23~25°C で15~24時間放置後全放射能活性をカウントし, 次いで ficin 液 (ficin 1mg/ml, reduced-L-glutathione 0.5mg/ml) を 0.5ml 加え 37°C で1時間 incubate し ficin で free の HGH を分解させる。1時間後 ficin の作用を止めかつ抗体-HGH 結合物を沈澱さすために20%冷トリクロル酢酸 1ml を加え遠沈し上清を捨て試験管中をまるめた汚紙で拭き, 沈澱放射能活性をカウントする。B/F 比より標準曲線を作成し検体測定に利用する。

〔結果〕 ① 汚紙電気泳動法により本法は F のみでなく B も破壊を受けており, その程度は ficin 濃度に比例した。良好な標準曲線をうるには ficin 1mg/ml 以上の濃度を必要とし, 濃度上昇に反比例して低くなる互に平行な標準曲線がえられた。② 抗血清を入れない場合理論的には B%は0のはずであるが, 実際には蛋白濃度に応じてかなりのカウントがあり, この非特異的な沈澱は ficin の濃度を上げてても不変であり, 測定試験管中の蛋白量の調整が重要となる。③ 末端肥大症患者血清の倍々希釈とその測定値とは直線関係となった。④ 回収実験では HGH 高濃度の部分でやや高目に測定された。⑤ 2抗体法測定値との関係は相関係数 0.85 でよい相関を示したが, この場合も高濃度部分で本法が高目の測定値となった。ただし高目に測定されるのは HGH 20m μ g/ml 以上の部分で臨床応用したる問題はない。

〔結語〕 本法は測定時間が非常に短かくて済み, 2抗体法のように高価な第2抗体を大量に消費することがな

い, また現在最も普及している2抗体法との相関もよかった。

113. $^{75}\text{Selenomethionine}$ の抗体蛋白標識について

昭和大学医学部 放射線科教室

○時田 信彦 平林 晋一 氣駕 正己
石川 信之

〔目的〕 Radioimmunoassay では, 抗体蛋白の標識について, その安定性や標識核種の結合などの点でしばしば問題となる。一般に抗体蛋白の放射性同位元素による標識は, in vitro で行なわれ, その操作は, わづらわしいものである。ここで $^{75}\text{Selenomethionine}$ を利用して in vivo で抗体蛋白に取り込ませることによって Radioimmunoassay を簡略化することを目的とした。

〔材料および方法〕 家兎, 3kg 雄のものを使用した。抗原は1%の BSA で, これを 2ml と $^{75}\text{Selenomethionine}$ 10 μ Ci を隔日に9回から12回耳静脈より静注して抗血清を作り, Ring test によって抗体合成を確認する。電気泳動により血清を各 component に分け, それぞれの cpm を求め, それぞれの蛋白重量より各 component 当りの Radioactivity を求めた。

次に抗体の precipitate を作成して, この cpm を求め, 蛋白重量より抗体に取り込まれた $^{75}\text{Selenomethionine}$ の activity を測定する。

〔結果〕 $^{75}\text{Selenomethionine}$ は γ -globulin 分画にある抗体蛋白に取り込まれる。しかし BSA による immunization の課程で, 非抗体蛋白に trace 程度に入る場合がある。

〔考按〕 in vivo における抗体標識は動物の個体差により影響をうけることがある。しかし Radioimmunoassay において, 例えば peptide hormone 等の測定を行なう場合に, この方法はわづらわしい操作がなく, またこの場合標識核種が γ -emitter で半減期が長い等実際の利点がある。

114. ブドウ糖負荷試験と血中 Insulin の変動について

総合太田病院 内科 下田 新一
放射線科 滝沢 勝右 和多 慎

Radioimmunoassay により血中 Insulin の測定ができ