

管理等は二次的となる。

3) 標準曲線の表現方法としては従来用いられている沈澱率を標準インスリン濃度と共に描く方法に比べて 100 / 沈澱率 -I を標準インスリン濃度と共に描く方法 (Stimmler, L.C. 1963) が標準曲線が直線として描かれるために簡明である。

4) 更にその変法として最大沈澱率 / 沈澱率 -I を用いる方が簡明で標準曲線は 0 を通る直線として描かれる。

従って標準曲線は 1 つの係数として表され試料中インスリン濃度は従来のような図を使用せずにこの係数を用いて計算することで求められる。またこの係数はあまり  $^{125}\text{I}$  標識化インスリン量に影響されず製品によりほぼ一定の値が求められた。

5)  $^{125}\text{I}$  標識化インスリン量と試料血清量との関係を追究し最適量を求めた。

6) 50g ブドウ糖負荷時の血中インスリン濃度および血糖量の時間的変化を追究しこの方法の実用的価値を証した。

#### 117. 血清中 Digoxin の Radioimmunoassay

東京大学 第 2 内科

久保田治代 開原 成允

飯尾 正宏 新田 一夫

第一ラジオアイソトープ研究所 黒崎 浩己

Barson らによって確立された Radioimmunoassay は、その特異性、精度、簡便さから、蛋白性ホルモンの定量に広く用いられてきたが、最近では、低分子の非蛋白物質についても高分子蛋白と coupling することによって抗体を作ることが可能となり Radioimmunoassay に応用されるに至った。われわれは Digoxin の血中レベル

測定にこれを応用することを検討した。

Thomas. W. Smith らの方法にならない Digoxin をエタノールとジオキサンで溶解、過ヨウ素酸ナトリウムで酸化開環し、牛血清アルブミンと結合させてジゴキシンアルブミン複合体を作製した。この結果できた最終精製物は、可視部吸収曲線からジゴキシンアルブミン複合体であることを確認した。次いでこの複合体乾燥物 5ml を精製水 2.5ml で溶解し、同量の Freund's complete adjuvant と良く混合してウサギの foot pad または背筋部に 0.4~0.3ml, 1~2 週間隔で計 5 回注射して抗ジゴキシン抗体を作製した。標識 Digoxin は New England Nuclear Corp 製  $^3\text{H}$ -Digoxin。比放射能  $250 \mu\text{C}/\text{mg}$  を生理食塩水で希釈して使用した。免疫後、適時ウサギから採血してその抗体価を調べた結果血清 100 倍希釈で結合率 60% の抗体価の抗血清がえられた。血清中 Digoxin の測定は次の通り行なった。標準曲線は、非放射性標準 Digoxin を 1~50m $\mu\text{g}$  含む標準液を用いて作成した。検体の測定は、血清からジクロールメタンを用いて Digoxin を抽出し、抗血清、 $^3\text{H}$ -Digoxin と共に pH 7.6 phosphate buffer に溶解させ、4°C で overnight incubate し、dextran coated charcoal によって free と bound を分離した。上清を Bray のシンチレーターで溶解させ、加熱後遠心分離して蛋白を除去し、液体シンチレーションカウンターで測定。加えた  $^3\text{H}$ -Digoxin の放射能と上清中の放射能の比率を求め、標準曲線と比較して血清中の Digoxin の濃度を算出した。その結果  $^3\text{H}$ -Digoxin を直接患者に投与して血中 Digoxin 濃度を求めた結果と、本法による血清中の Digoxin の濃度の結果が非常によく一致した。