

5. Adenosine 3', 5'-Cyclic monophosphate (CAMP) の radioimmunoassay

塩野義研究所

岡林 直 三原 伸一 中村 益久
田中 明 相良 文子

研究目的：CAMP の定量法については多くの方法が発表されてきたが、その中近年になって開発された radioimmunoassay および Protein kinase の標品を用いる competitive protein binding assay が感度、操作の簡単さ、妨害物質に対する鈍感さ等の点で断然すぐれている。私達は radioimmunoassay で定量を行なっているが原報の方法よりも更に簡単迅速な実施法の確立を試みた。

方法：Steiner 等の方法によって抗原を作り、4匹の兎に免疫処理を行なった。えられた血漿について CAMP との binding を調べ、解離定数の最も小さいものを使用した。また放射性のハプテンとして ¹²⁵I 化合物を用いる代りに ³H CAMP を用いた。

成果：B·F の分離法として (i) 2重抗体法 (原報の

方法) (ii) 硫安法、(iii) Millpore 法を比較した所、いづれも同じような結果を与えたが、(i) は多量の第2抗体が要る上に操作が面倒で処理に長時間かかるし、(ii) はばらつきが多いという欠点がある。 (iii) は第2抗体が不要で、ばらつきも少なく、操作が簡単で短時間に多数の試料が処理できる。現在 routine assay には適当に混ぜ合わせた反応液を 0°C で 1 hr インキュベートし、緩衝液で浸した Millpore filter で濾過し、洗滌後、濾紙に保持された結合 CAMP の放射能を測定している。私達の実験では非放射性の CAMP の濃度の対数と CAMP 結合の放射能の間には直線関係が事実上成立しないが、次式によって検量曲線を直線に変換できる。

$$Co/Cs = 1 + \frac{S}{k + So}$$

Co : -SonM の ³H CAMP を加えた場合の結合 CAMP の放射能。 Cs : SonM の ³H CAMP と SnM の非放射性 CAMP の混在した時の結合 CAMP の放射能。 K : 一解離定数。

結論：本法では 0.3~50 p mole の CAMP が簡単な操作で定量できる。