

59. ヒト TSH の固相法ラジオイムノアッセイ

京都大学 第2内科

竹田 洋祐 池窪 勝治 深瀬 政市
中央放射線部
森 敏 浜田 哲 鳥塚 荘爾

ヒト TSH の測定は現在 2 抗体法が一般に行なわれてゐるが Cooke 社製 microtiter plate を用いた, solid-state ラジオイムノアッセイ法を開発し、その方法の詳細と主として標準 TSH の carrier protein について、若干の検討を加えたので報告する。なお標準 TSH は NIMR より、標識用 TSH および抗ヒト TSH 血清は NIH より提供をうけた。

〔方法〕

3 段階よりなり、第1操作として cup (1枚の plate に 8×12 ヶの cup、約 270 人の容量を有する) 表面に稀釈抗ヒト TSH ウサギ血清、0.05N 炭酸一重炭酸緩衝液、PH9.6 約 10^4 倍を入れ 1 時間後、これを吸引除去、それに 2% 正常ウサギ血清、リン酸緩衝液 PH7.8 を入れる。約 15 分後吸引除去する。

第2操作は、2% 正常ウサギ血清、または標準 TSH 25 λ 、HCG 2U/cup 2% 正常ウサギ血清 100 λ 、被検血清または carrier protein を 100 λ 、標識 TSH 25 λ 、計 250 λ を Incubation Mixture とし各 cup に入れると。

第3操作 約 24 時間の Incubation 後、Mixture を吸引除去水洗によって B と F の分離を行ない、plate より各 cup を切り離して付着した radioactivity を測定、結合%を求めて標準曲線を作製、検体のそれより測定値を得る。

本法の利点は 24 時間の Incubation Time で、Damage の影響が少なく、B と F の分離が吸引除去水洗という簡単な操作ですみ、短時間に結果が得られ、ルーチン検査として優れた方法といえる。

Carrier Protein については 2 抗体法の場合と同様に大きな問題があり、TSH free のヒト血清を得ることが理想であるが、2% ウサギ血清、6% BSA、正常ウサギ原血清、Charcoal 处理ヒト血清、ウシ原血清、バセドウ患者血清にて検討を行ない若干の知見を得たので、その成績も併せて報告する。

60. ACTH の radioimmunoassay——いわゆる paradoxical phenomenon について

京都大学 第2内科

中井 義勝 深瀬 政市
神戸大学 第3内科
井村 裕夫 松倉 茂
京都大学 中央放射線部 森 敏

(研究目的)

われわれは、ACTH の radioimmunoassay について種々の検討を加え、比較的高濃度の抗血清と微量の標識 ACTH を用いると、ある範囲では、非標識 ACTH の増加とともに、標識 ACTH の抗体との結合も増加するという奇異現象が起ることを見出し、この現象を利用すると抽出操作なしにきわめて鋭敏に血漿 ACTH を測定出来ることを報告してきた。又この現象の詳細を第11回核医学会総会において発表したが、今回はこの現象がある種の酵素系にみられるような allosteric 効果と類似の現象によるのか否かを見る目的で、抗血清をパパイン分解して検討を加えたので報告する。

(方法)

抗 ACTH 血清 2 ml から、飽和硫安と DEAE セルローズにより γ -globulin を濃縮分離した。次に γ -globulin 17mg を Porter らの方法に従い消化し、この消化物を DEAE セルローズにより (1×30cm, 0.005M, PH 7.8→0.5M, PH7.8 リン酸緩衝液、mixing chamber 120ml) 各フラグメントを分離した。もとの抗血清、 γ -globulin 分画および Fab 部分を既に報告した。radioimmunoassay の方法により同時に検討した。

(成果)

もとの抗血清および γ -globulin 部分では、非標識ホルモン濃度が 0~500pg の範囲で、非標識ホルモンの増加に伴い B/F が増加し、それ以上の範囲では B/F が低下した。一方 Fab 部分では 0~500pg の範囲で B/F に変化無く、それ以上の範囲では B/F が低下した。これらの結果は抗原体反応においても、特殊な条件下では、ある種の酵素系にみられる allosteric 効果に類似した現象が存在する可能性を示唆する。現在この点について更に検討中である。

(結論)

ACTH の radioimmunoassay の際に認めた奇異な現象について、抗血清をパパイン分解して検討を加えた。特殊な条件下では、抗原抗体反応においても allosteric 効果に類似の現象が存在する可能性が示唆された。