

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 徹 浜田 哲 鳥塚 莞爾

ヒト TSH の測定は現在2抗体法が一般に行なわれているが 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入の容量を有する) 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.

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済み, 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 処理ヒト血清, ウシ原血清, パ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 徹

(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 2ml から, 飽和硫酸と 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— \rightarrow 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抗体反応においても, 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.