

65. Radioimmunoassay kit による Adenosine 3', 5'-Cyclic monophosphate (CAMP) の測定経験

信州大学 順応内科

小谷 雅宣 女屋 敏正 大竹 正夫
佐藤 晁 山田 隆司

研究目的：CAMP の定量法については多数の方法が発表されてきたが、近年 Radioimmunoassay による測定法が確立され、感度のよさ、操作の簡単なこと、妨害物質に対しては感度が低いこと等の点ですぐれている。われわれは Collaborative Research, INC. より発売された CAMP の Radioimmunoassay Kit を使用し各種組織中の CAMP 含量の測定を行なったのでその概要を報告する。

方法：Kit の構成は Steiner らの方法により作製された CAMP 抗体 (家兎), ^{125}I -Succinyl CAMP-tyrosine methyl ester (^{125}I -SCAMP-TME), 抗家兎 IgG 抗体 (羊) よりなり、組織より抽出した nucleotide 分画は凍結乾燥し適宜稀釈して用いた。測定法は Competitive binding assay で B-F 分離は二重抗体法である。

成果：Standard Curve は各バッチにより多少の変動はみられたが、大差はなく 2 picomoles から 50 picomoles の間はほぼ直線となった。イ) 下垂体および甲状腺：ラットに TSH (20mU) を投与後、経時的に甲状腺を摘出し CAMP 含量を測定すると、8.3 p. m./mg protein だった CAMP 量は TSH 投与後著明に増加し 5分以内に 51 p. m./mg protein と6倍以上となったが、この増加も一過性で30分後には減少低値を示した。また、合成 TRH によりマウスおよびブタの下垂体の CAMP 含量は増加し、Prostaglandin, TSH によりヒト甲状腺スライスの CAMP 含量は増加した。ロ) 脂肪組織：摘出副腎丸脂肪組織 (ラット) は 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のエピネフリンに反応し、10分間の incubation で前値 0.3 ~ 0.5 p. m./mg wet Wt の10倍以上に達し、20分後には急速に減少した。ハ) その他各種疾患の血清および尿中 CAMP を測定した。

結論：1) 微量を測定可能とした RIA によってホルモン作用を CAMP の変動としてとらえることが出来た。2) CAMP の Radioimmunoassay Kit は感度、再現性共にきわめて良好であり、多数サンプルの測定に有力な方法である。

66. TIBC の測定法のキット化の試み

第1ラジオアイソトープ研究所

中沢 信彦 牧 健太郎 新田 一夫

小川 弘

名古屋大学 放射線科 齊藤 宏

<目的>

血清をアスコルビン酸酸性にしてトランスフェリンから血清鉄を遊離させ、これをイオン交換樹脂で吸着除去し、中性にもどして放射性鉄を結合させると UIBC 同様に TIBC を測定できる方法が開発された。しかし、アスコルビン酸は次第に経時変化をするので、そのつど試薬をつくる不便がある。アスコルビン酸に代る酸と、それに組合わせるイオン交換樹脂の選択によりキット化してルーチン検査向きにしたい。

<材料ならびに方法>

塩酸、酢酸は不適當であることがはっきりしたので主にクエン酸について試験した。

イオン交換樹脂としてはアンバーライト IRA 400 ビーズよりも細かい CG 400 などを用いた。

正常人血清、各種疾患々者血清につき TIBC を測定し、他の方法による値と比較した。

<結果>

クエン酸は 0.6% が適当な濃度であり、5分以内に、血清鉄の96%を CG 400 レジンの力で除去することができた。15分かければ97%以上を除きえた。この間ローテートしてもよいことがわかった。鉄液として ^{59}Fe クエン酸第1鉄アンモンを用いるが、これに重曹を加えておけば、中和の手間が省けた。結合しないで残った鉄イオンを除去するためには UIBC 同様に操作可能であった。

時間をかければレジストリップも使用可能であった。

かくて測定した TIBC 値は再現性を有していたし、他の方法による値と比較して満足すべき成績を示した。

クエン酸には経時変化はみられず、キット化に好都合であることがわかった。