

定出来ぬ低濃度域を除けば本法との相関は比較的良好であった。最近入手した同様の原理に基づく B<sub>12</sub> test kit (Pharmacia, Sweden) による成績も比較し、微生物学的測定法との関係を考察する。

### S-III-11. ヒトおよびラット $\alpha$ -fetoprotein の Radioimmunoassay

—二抗体法および固相法の基礎的検討—

神戸大学 第二内科

石井 勝 馬場 茂明

〔目的〕 ヒト  $\alpha$ -fetoprotein の Radioimmunoassay について感度、精度、特異性などの点から二抗体法および固相法の測定条件とその長短について基礎的検討を行ない、他方  $\alpha$ -fetoprotein ( $\alpha$ f) の基礎的研究に必要なラット  $\alpha$ f の Radioimmunoassay (RIA) 法の確立と測定条件の基礎検討を試みた。

〔材料、方法〕 ヒトおよびラット精製  $\alpha$ f は、肝癌患者腹水およびラット胎児組織抽出液から夾雜蛋白に対する抗体を用いた免疫吸着法で純化した標品を用いた。各特異  $\alpha$ f 抗体は各精製  $\alpha$ f をフロイントアジュバントを用い家兎に免疫し作製した。標識  $\alpha$ f の作製は、各精製  $\alpha$ f 10~50  $\mu$ g に <sup>125</sup>I 1 mCi を Hunter & Greenwood の方法で標識後 Sephadex G-75 カラムクロマトにより

行なった。二抗体法は Morgan らの方法に準じたが、第一抗体濃度、反応時間、標識  $\alpha$ f 量、第二抗体濃度、反応時間などを検討し、一方固相法はポリエスチレンチューブを用いて pH 9.6, 0.1 M 炭酸緩衝液で  $\alpha$ f 抗体をチューブに固着させたが、抗体濃度、固着反応時間、標識  $\alpha$ f 量 incubation 時間について最適条件を検索した。

〔成績〕 ヒトおよびラット  $\alpha$ f の <sup>125</sup>I 標識率はほぼ同率で約 6~10 mCi/mg であった。二抗体法は第一抗体ヒト 5,000 倍、ラット 1,000 倍稀釀液 0.1 ml、標識  $\alpha$ f 量 10,000 cpm.  $\alpha$ f 4 m $\mu$ g、第一、第二反応時間は 48 時間、24 時間が最適で、 $\alpha$ f 8~500 m $\mu$ g/ml で容量反応曲線を示した。 $\alpha$ f 抗体を用いた affinity chromatography で処理した正常ヒトあるいはラット血清添加標準  $\alpha$ f 容量反応曲線は上記曲線とほぼ一致した。固相法は  $\alpha$ f 抗体濃度ヒト 500 倍、ラット 100 倍稀釀液 1 ml、固着反応時間 6 時間、標識  $\alpha$ f 量 50,000 cpm.  $\alpha$ f 20 m $\mu$ g/ml、incubation 時間 24 時間が最適条件で、 $\alpha$ f 1~16 m $\mu$ g/ml で容量反応曲線を示した。二抗体法、固相法の精度は、それぞれ  $\pm$  7%,  $\pm$  20%, 再現性は、 $\pm$  10%,  $\pm$  30% であった。

〔結論〕 ヒト、ラットともに同様の成績を得た。二抗体法に比し固相法は感度が鋭敏で、1 m $\mu$ g/ml の  $\alpha$ f が測定可能であったが、精度、再現性は劣った。両法とも特異性は十分であった。