

166. Radioimmunoassay の標準曲線作成法

Dextran-coated charcoal 法による hormone-free serum を用いての検討

京都府立医科大学 第二内科

越智 幸男 八谷 孝 吉村 学
宮崎 忠芳

Radioimmunoassay (RIA) の標準曲線作成のための hormone-free serum (H.F.S.) を Dextran-coated charcoal (D.C.C) 法で作成し、これを用いて諸種ホルモンの RIA を検討した。正常人ヒト血清 (NHS) から諸種ホルモンの除去率を放射性ラベルホルモンを用いて検討した。NHS 1 ml 中から T_3 , insulin, corticosteron, angiotensin I & II は 20% charcoal と 2% dextran との溶液 0.1 ml を用いると 80% 以上除去され、1 ml を用いると T_4 , GH, ACTH は 80% 以上除去された。しかし TSH や HCG は 75% 以上の除去には 2 ml が必要であった。この方法で作成した HFS は血清蛋白の一部 (主に albumin) も多少除去された。この HFS を用いて二重抗体法で insulin, GH および TSH の RIA の標準曲線を描いた。この何れの場合も Bound % はウシアルブミンを用いた場合よりも多少低値であった。また GH と TSH の標準曲線を沉下垂体機能不全患者血清 (PPS) および PPS を D.C.C. 液で処理した血清 (PPS+D.C.C.) を用いて検討すると、PPS および PPS+D.C.C. では BSA に比べて感度の良好な標準曲線が描かれた (Endocrinologia. Japonica 20 (1), 1973 発表)。また T_3 の RIA の場合、HFS を用いて良好な標準曲線を得ている。

二重抗体法の場合 B% が減少するのは血清中の諸種因子 (補体および γ -glob. 等) が関与するとも推定されている。このため 56°C, 30 分処理した NHS や PPS を D.C.C. 液で処理した血清を用いて、TSH の標準曲線を検討したが、この結果補体は無関係と思われた。

以上は二重抗体法の場合の HFS 作成法であるが、F と B を分離するために繁用されている D.C.C. 法を用いる場合には、上記の方法で作成した HFS に除去された albumin に相当する標準ヒト albumin 製品を加えて蛋白補正を行なったのち使用し、 T_3 の RIA においては良好な結果をえている。これらの事実から理論的にも実験的にもヒト血清を D.C.C. 処理して作った HFS を二重抗体法の場合や D.C.C. による bound と free の分離の場合も RIA の標準稀釈液として用いるのが適当であるとの結論をえた。

167. Solid state competitive binding radioassay の長所及び欠点

京都大学 放射線部

森 徹

放射線科

竹田 洋祐 池窪 勝治 鳥塚 莞爾

Radioimmunoassay を含めて所謂 in vitro の competitive binding radioassay は日々利用度が高まりつつあり、ルチン検査として既に重用されているものも少ない。ルチン検査には簡便性、安全性及び経済性等が要求される。

我々は plastic 製の disposable microtiter plate (米国 Cooke 社製) を用いる solid state competitive binding radioassay によって抗甲状腺抗体、TSH, Thyroglobulin 及び IgG 濃度等の測定を行なっている。これらの経験に基づいて solid 法の長所及び欠点に関して報告する。

1) B と F の分離は水洗と云う簡単な操作で行なえ、一般の遠沈分離に比して極めて有利である。2) incubation の時間は二抗体法に比して短い。例えば TSH では二抗体法では 5 日を要するが、本法では 24 時間で充分である。3) 系内の結合蛋白 (抗体) 量が少なく、従って系内の測定感度が良い。但し、容量に制限があるのでこれは必ずしも実質的な高感度にはつながらない。4) 経済的である。高価な第二抗体を要さず、又 plate の単価も低廉である。5) 操作が簡単である。pipetting が少なく済み、又測定用 tube も汚染しないので繰り返し使用出来る。6) direct 法に応用出来る。被検物が標識により変換する場合や結合蛋白と共存する場合には第 1 反応として標識せずに incubate し、第 2 反応として結合蛋白を標識したものを加え direct saturation analysis にて測定が可能である。我々は Thyroglobulin の定量に用いており、感度も良好である。

以上の如く多くの利点を有し、将来の automation 化にも好都合な方法ではあるが、a) 材質の不均一性から精度が二抗体法に比して劣る。b) 系内の蛋白の質及び量による影響が大きく、carrier protein の添加が不可欠である。c) $B_0\%$ が低い為、測定誤差を少なくするためには多量の標識物質を必要とする。等の欠点を有し、現状では必ずしも満足すべきものとは云えない。