

168. RI 標識抗原を用いる Single Radial Immunodiffusion 法

都養育院付属病院 核医学放射線部

山田 英夫 矢田部タミ 飯尾 正宏

日本ヘキスト 新発田杏子

現在行なわれている Radioimmunoassay の大部分は、試験管内で抗原抗体反応を行ない、二抗体法チャコール法等により、抗原抗体複合体と、遊離抗原の分離を行なっている。一方沈降抗体が得られるものでは、免疫拡散法を用いる方法もある。direct or indirect radioactive single radial immunodiffusion と呼ばれている。これらでは、抗体を RI で標識している。今回我々は、標識抗原を用いる免疫拡散法を検討したので報告する。

〔方法〕 対象とした測定物質は、 α -フェトプロテインとヒト成長ホルモンである。これらの抗体を適当に希釈したアガロース平板を作成し、直径 2.5 mm の反応孔をあける。反応孔に 1~2 μ l (tracer レベル) の標識抗原を注入した後、標識液又は抗体血清を 5 μ l 注入する。室温 48 時間放置後生食液で洗滌し、ラジオオートグラフィを行なうと目で見えない沈降輪を抽出する事ができる。

〔結果〕 本法では濃度と沈降輪の容積の間に一定の関係が得られるが、横軸に濃度を取り、直径の 2 乗を縦軸にとった用紙にプロットすると直線状の標準曲線を作成する事が出来る。この方法で作成した平板中での抗体の安定性を検討したが、4ヶ月は安定である事が分った。又標識抗原は沈降輪をマークするものである為放射能は充分高い必要があるが、保管中に多少の分解が起っても、それらは洗滌中に流されてしまうので結果に影響を与えない。

〔まとめ〕 従来の Radioimmunoassay では一般に、主として経済的な理由から、多量の抗体が集積するまで測定できないのが現状である。

本法では平板中で安定であり、標準抗原の純度も余り問題にならない等の利点があるので必要に応じて日々サンプルごとに測定することが可能である。

また RI 使用量も極微量である。

169. $^3\text{H}_2\text{O}$ による脳水分量測定のごころみ

—液体シンチレーション計測における

試料調整法について—

岡山大学 脳神経外科

石光 宏 中山 博雅 鈴木 健二

有光 哲雄 松本 皓 西本 詮

〔目的〕 我々は、脳水分量の増加率を、 $^3\text{H}_2\text{O}$ 液体シンチレーションカウンターを使用して知り得るのではないかと考え、今回は、液体シンチレーション計測の為の試料調整法について検討を加えた。種々の溶媒による溶解度が非常に悪い脳組織の場合、シンチレーターへの処方としては、できるだけ溶解度及び測定効率を高くすると共に、再現性がよい処方が望まれる。そこで、我々は種々のシンチレーターを作り、その効率、figure of merit (FM), 再現性について比較検討を行なったので若干の文献的考察を加え報告する。

〔方法〕 まず、溶解度をよりよくする為、摘出した脳切片を 1 ml のデイスポーサブルの注射器に入れて、あらかじめ一定量のメチルアルコールを注いでおいた遠沈管中に抽出した。そして、超音波を一定時間あてて、脳組織の homogenize を行い $^3\text{H}_2\text{O}$ をメチルアルコールに溶解させた。次いで、シンチレーターとして、1. Toluene+PPO+POPOP, 2. Toluene+PPO+POPOP+Triton \times 100, 3. Toluene+PPO+POPOP+Cab-o-sil を用い、さらに homogenize した脳組織を Soluen 100 にて溶解させて、4. Toluene+PPO+POPOP, 5. Toluene+PPO+POPOP+Triton \times 100, 6. Toluene+PPO+POPOP+Cab-o-sil を用意してそれらの比較を行なった。

〔結果〕 効率、FM 値、再現性の点ですぐれていると思われるシンチレーターは、Cab-o-sil を加えての懸濁計測法のようなものである。 ^3H を使用しての液体シンチレーション計測の場合、一般的に効率が悪く、10%内外での測定の記事が多いが、我々が抽出して試料調整を行なう脳組織 50 mg 程度での効率は、6. の場合 25% 前後のかなり高い効率がえられ、しかも再現性(計数値のばらつき)の点においてもよい結果がえられた。そこで、これらの試料調整法を利用して、浮腫脳と正常脳との水分含有量の比較についても現在、検討中である。