

511 血中遊離型トリヨードチロニン (フリーT3) 測定キット「アマレックスフリーT3」の検討

伊藤正三、滝本徹男、宮崎多美子、高津秋彦
(アマシャム薬品株式会社)

チロキシン(T4)、トリヨードチロニン (T3) のいずれもほとんどがTBG, TBPA, Albuminに結合して存在しているが、約0.03%のT4、約0.3%のT3は遊離型で循環し、これらが甲状腺ホルモンとしての生理作用を有していると言われている。今回、Amersham International (英国) より開発された血中フリーT3測定キット「アマレックスフリーT3」の検討を行ったのでその成績を報告する。

アマレックスフリーT3は、アマレックスフリーT4と同様の原理に基づくキットで、被検血清100 μ lにTBG等に結合しない125-T3誘導体液500 μ l、微小粒子に固相化した高親和性のT3抗体(アマレックス抗T3抗体懸濁液)500 μ lを加え、37 $^{\circ}$ Cで2時間反応させた後、遠心分離して上澄液を除去し、沈殿物の放射能を計測する。

本キットの測定範囲は0~40pmol/lである。測定内の再現性はC.V.で3.2~5.7%、測定間の再現性は3.0~5.7%で、正常域付近で優れていた。本キットによる正常者のフリーT3濃度は2.5~7.4pmol/l(mean $\pm$ 2SD)であった。

512 ヒトレニンのラジオイムノアッセイ

森 一峰、高徳桂三、小川 弘 (第一ラジオアイソトープ研究所) 檜垣実男、荻原俊男、熊原雄一 (大阪大学医学部 四内) 広瀬茂久、村上和雄 (筑波大学応用生物化学系)

血圧調節や腎性高血圧の成因として重要な働きを演ずる酵素レニンは、単離することのきわめてむづかしい酵素の一つである。我々は高純度に純化されたヒト腎レニンを用いるヒトレニンの直接ラジオイムノアッセイについて検討したので報告する。

ヒト腎レニンはHaasらの標品をアフィニティカラムなどを用いて腎レベルより数十万倍に純化したものを用いた。抗血清はレニンをComplete Freund's adjuvantと共に家兎に感作し作製、最終希釈30,000倍で使用し、また標識抗原はCT法により作製、Sephadex G75で精製して用いた。測定はdelayed addition法により、B.F分離は二抗体法を用いた。

本測定系の最少検出感度は0.2ng/mlで、8ng/mlまで良好な標準曲線を示した。本測定系により求められた血漿レニン値およびレニン活性(PRA)との相関は、相関係数 $r=0.779$ ($n=55$)であった。

513 合成ヒト副甲状腺ホルモン PTH (1-84) を用いるラジオイムノアッセイ

笠原裕之、西浦 克、小川 弘 (第一ラジオアイソトープ研究所) 河野弘司、大西利夫、熊原雄一 (大阪大学医学部 四内) 木村皓俊、榊原俊平 (蛋白質研究奨励会ペプチド研究所)

近年血中PTHの測定はCa代謝異常を呈する疾患の病態解明に必須となつていゝ。一方副甲状腺から分泌されたPTHは血中で免疫学的多様性を示し、抗体の特異性によりその測定値も異なることが知られていゝ。我々は合成ヒトPTH (1-84)を用いるRIA系について検討したので報告する。

抗血清はPTH (1-84)をComplete Freund's adjuvantと共に家兎に免疫して作製、最終希釈20,000倍で使用し、標識抗原はCT法により作製、Qusoにて精製した。また、測定はdelayed addition法により、B.F分離は二抗体法を用いた。

本測定法の最少検出感度は約0.4ng/mlで、25ng/mlまで良好な標準曲線を示した。更に各種PTHフラグメントによる交差反応試験から、本測定系はC端、N端および中間部の各フラグメントとはほとんど交差反応を示さず、PTH (1-84)とこれに近いフラグメントを主に認識した。またRIA mat PTH (C端特異) キットとの相関は、相関係数0.78であつた。

514 固相法によるプロラクチンRIA (プロラクチンリアビーズ) の検討

ダイナボットRI研究所 研究開発部

日常検査では、多数検体を簡便、迅速かつ精度、再現性良く測定される事が要求される。今度、我々は、これらの要求を満たす固相法によるRIAを開発した。

測定方法は、検体50 μ l、標識物100 μ l、抗プロラクチン抗体100 μ lを加え、室温で1時間反応し、その後第二抗体固相化ビーズを1個加え、室温で3時間攪拌し、反応終了後、1mlのH₂Oを加え、ビーズを洗浄し、ビーズ表面の抗原抗体結合物をカウントする。このように操作は、遠心分離を必要とせず、反応時間は4時間と短い特徴をもつ迅速かつ簡便な方法である。一方、精度、再現性においては、intraassayの変動係数(cv%)は、4.5-7.0%、interassayのcv%は、6.6-9.5%と良好である。五種のヒト血清を用いた回収率試験は、平均回収率99%と良好であり、三種のヒト血清を用いた希釈試験は、いずれも直線性を示し良好である。また、当社プロラクチンリアキットとの相関は、相関係数0.99、回帰直線は、 $y=0.97x$ (プロラクチンリアキット)+3.3と良い相関を示す。本固相法は、従来法と同様に、血中プロラクチン測定法として、精度、再現性の良いものであり、さらに手技の簡素化がなされ、施設毎、施設間での精度、再現性の向上が期待される。