

239 ¹²⁵I 標識プローブを用いた HBV-DNA 検出キットの検討

松坂英一郎、船橋洋子、中島俊彦、飯沼一茂、
柳川佳信、茗荷昭男、池田勲夫、倉田邦夫、
(ダイナボット株式会社)

血中 HBV-DNA の検出は、HBV キャリアにおける急性増悪時の HBV 関与の鑑別や、インターフェロン等、抗ウイルス剤の効果判定のより直接的な指標として、近年注目を集めている。HBV-DNA の検出法としては、現在 ³²P 標識プローブを使用する dot hybridization 法が一般に用いられているが、この方法はナイロン膜上での hybridization 後、autoradiography を行い、標準 HBV-DNA と dot の大きさ、濃さを比較する半定量法である。

今回、我々は、¹²⁵I 標識プローブを用い、液相での hybridization 後カラムで分離し、その溶出液のカウントから HBV-DNA を定量するキットの基礎的、臨床的検討を行ったので報告する。

(結果) ① dot hybridization 法、及び DNA ポリメラーゼ活性との間に高い相関が認められた。② 抗ウイルス薬の効果の指標として有用であった。③ 慢性肝疾患で GPT の上昇に先行して、HBV-DNA の増加が認められた。④ HBe 抗体陽性の慢性肝疾患における急性増悪時に、HBV 関与の有無が鑑別できた。

240 遺伝子組換えを用いた抗 DNA 抗体測定法

吉川典孝、川村雅英、(日本 DPC)

血中抗 DNA 抗体の測定は、SLE の鑑別診断及び治療経過観察として有用である。しかし、従来の RIA キットは、感度、特異性、精度、手技の繁雑さなど、必ずしも満足のものではない。今回我々は、組換え DNA をトレーサーとした新しい抗 DNA 抗体の測定系を開発したので、その基礎的検討について報告する。

本キットは硫酸沈澱法による RIA キットで、¹²⁵I-DNA 溶液、抗 DNA 抗体標準溶液、硫酸アンモニウム液よりなる。¹²⁵I-DNA は大腸菌プラスミドを高純度に精製し、制限酵素で一定の長さに切断したものを、¹²⁵I-dCTP を *in vitro* 標識した。インキュベーションは 37°C 2 時間で、検体の前処理は不要である。変動係数は、アッセイ内で 3.4-7.7%、アッセイ間で 7.0-9.5% と良好であった。また、添加回収試験、希釈試験とも良好な結果が得られた。感度は、2 SD 法によれば、1.2 U/ml であった。

健康人血中抗 DNA 抗体は、本キットで全て感度以下 (n=51) であった。SLE 患者では、従来のキットで陰性と考えられたものが本キットで陽性となるものが認められた。これは、本キットの感度、特異性の大巾な上昇によるものと考えられる。

241 シストロンヒトインターロイキン-1β (¹²⁵I) RIA kit の基礎的検討

小林雄一、近藤浩子、佐藤隆、藤岡修二、(トーレ・フジバイオニクス(株))

ヒトインターロイキン-1 (IL-1) は、主にマクロファージから産生されるモノカインの一種で、生体内で極めて多彩な生物活性を示す。B 細胞の活性化などリンパ球に対する作用の他、発熱因子としての作用、また急性相タンパク質合成を誘導することも知られている。ヒトの IL-1 のうち約 9 割は β タイプなので、IL-1β の高感度測定法の確立は、生体内での IL-1 の機能解析に重要な意義をもつといえる。

本キットの測定原理は二抗体法に基づく RIA 法で、検体(血清、体液および培養液)中の IL-1β 濃度を測定する。最低検出感度は 0.25ng/ml で、測定範囲の 0.25~5.0ng/ml において良好な標準曲線を得ることができる。また同時再現性、日差再現性、希釈試験等でも良好な結果が得られた。他の生物活性物質である IL-1α、IL-2、IFN-γ との交差反応もみられなかった。

本キットは、操作が簡便でしかも精度、再現性にすぐれていることから、免疫機構の解析あるいは疾患との関係に関する研究に十分有用性を発揮することができるものと思われる。

242 3 種モノクローナル抗体を用いたエルザ・CEA キットについての基礎的検討

ミドリ十字 R I 本部、能瀬博文、高橋路子、風早康弘、長谷川栄一

近年、単クローン抗体の開発に伴って、CEA 測定の分野でも多くの RIA 法への応用が行なわれている。今回我々は、CIS が開発した 3 種類のモノクローナル抗体を使用し、より特異的で短時間測定可能なエルザ・CEA キットを入手し基礎的検討を行なった。

測定原理は、2 ステップサンドイッチ法である。これに使用している各 3 種類のモノクローナル抗体は、CEA 抗原の異なった部位を認識しており、それらの内 2 種はエルザチューブの固相として、もう 1 種は、¹²⁵I で標識し、トレーサーとして使用する。

インキュベーション時間及び温度の検討においては、第 1 インキュベーション、37°C、3 時間、第 2 インキュベーション、37°C、1 時間で良好であった。

標準検量線の再現性 (C.V.%) は、1.7~6.8% であり、コントロール血清を用いた再現性は、アッセイ内で 2.5~6.0%、アッセイ間で 3.4~7.3% であった。最小検出感度は、0.3 ng/ml であった。添加回収試験において回収率は、平均 107% であった。その他、希釈試験、交叉反応試験及び安定性試験においても良好な結果が得られ、本キットの有用性が示唆された。