

46. ヒトプロラクチンの Radioimmunoassay

大阪大学 中央臨床検査部

大西 利夫 宮井 潔 熊原 雄一

われわれは NIH よりヒトプロラクチン (HPr) および抗血清の提供をうけ HPr の radioimmunoassay について検討を加えた。

標識はクロラミンT法を用い、Bio-gel P60 の column (20cm) にて1%酢酸で精製した。得られた標識 HPr の比放射能は 80mCi/mg 前後で測定使用前に Quso G32を用いて再精製を行った。

測定は phosphosaline buffer (0.01M, PH7.8, 2% BSA 含) 500 μ l, 標準 HPr100 μ l と Pr free serum 100 μ l または試料血清100 μ l と buffer100 μ l, 抗 HPr 家兎血清 ($\times 30000$) 100 μ l を加え48時間 4°C でインキュベーションのあと抗兎 γ -gl 山羊血清 ($\times 15$) 100 μ l, 正常家兎血清 ($\times 100$) 100 μ l を加えて 4°C 24時間のインキュベーション後遠沈, 沈渣をガンマーカウンターでカウントした。

Pr free serum (下垂体摘出患者血清)を加えた時と加えない時とで標準曲線に差が生じるため, 標準 HPr には Pr free serum の添加が必要であった。

妊娠末期婦人血清, 臍帯血および下垂体腫瘍, Chiari-Frommel 症候群など血中 Pr 値高値を示した患者血清の稀釈曲線は標準曲線と平行した。また他の前葉ホルモンの影響をみたところ 1000ng 以下では交叉反応を示さなかった。血清に添加した標準 HPr の回収率は97%~112%であった。最小検出量は0.1ng/tubeであり同一血清試料を異なる assay で測定した際の変動係数は20%, 同一 assay 内では10%以内であり特異性, 再現性ともに満足できるものであった。

47. Arginine vasopressin のラジオイムノアッセイに関する研究

自治医科大学 内科

斉藤 寿一 吉田 尚

東京大学 第三内科 村勢 敏郎

〔目的〕イムノアッセイによる血中 Arginine vasopressin (AVP) 濃度測定系を開発する目的で, 二抗体法により検討を加えた。

〔方法〕抗血清作製は, 合成 Lysine vasopressin (LVP, Sandoz) を用い, XE-64カラムにて純化後, 10mg をウシ血清アルブミン (BSA) 20mg と Carbodiimide 法により結合, 感作抗原とした。家兎1羽宛抗原 0.5mg を完全フロイントアジバントと共に2~3週おき, 計3~5回皮下注射し, 血清を採取した。125I-標識ホルモンは合成 AVP (Sigma)を用い, Chloramin T法で Sephadex G25 カラムにより標識ホルモンと未反応ヨードを分離した。測定系は, 1%卵アルブミン, 0.9%食塩含有0.01Mリン酸緩衝液 (PH7.4)を用い, 検体, 標識ホルモン及び8000倍希釈抗血清の各300, 100 100 (μ l) を混和, 4°C で36時間反応, 次いで第二抗体, 希釈正常家兎血清各 50 μ l を加えて更に36時間孵置後遠沈, 沈渣の放射能を測定した。

〔結果〕標識操作時, カラムよりの放射能溶出は三峰 (I, II 及び III) を示し, I は Void volume, II は無機ヨードに各一致し, 実験は III を用いて行った。合成 AVP を標品とした標準曲線は 1 pg/tube と優れた感度を示し, 又, 500pg の Oxytocin は有意の交叉反応をしめさなかった。人血漿 AVP 測定は, ヘパリン加採血後冷凍遠心分離した血漿を凍結保存, 7日以内に抽出を行った。血漿 2ml に冷アセトンを加え除蛋白, 上清に冷石油エーテルを加えて振盪後, 下層中のアセトンを空気流下で蒸散, 総量を 1.2ml とした後検体として使用した。尿崩症患者4名において, 水溶性ピトレスシン 100 mU を静注測定した血漿 AVP 値は, 前値, 1, 5, 10, 20分で各2以下, 70.4 $\pm$ 3.4, 35.4 $\pm$ 2.6, 25.6 $\pm$ 7.0 及び11.8 $\pm$ 7 pg/ml で半減期は8分を示した。

〔結論〕LVP-BSA 結合物を用いて高力価の血清を作製, これを用いて血中 AVP 測定系を確立した。