

# 微量定量法による遺伝性疾患の 診断法に関する研究

鈴木 義 之  
(東大小児科)

先天性代謝異常診断法の改良の目的のために、微量定量法の臨床化学への応用を試みた。これらの疾患は乳幼児期に発症することが多く、患者から得られる試料の量は限られており、より高感度且つ正確な定量法が必要である。本研究では酵素的サイクリング法を利用したガラクトース定量法を確立し、Krabbe 病の欠損酵素であるガラクトセレブロシダーゼ活性測定を試みた。

Krabbe 病の診断には、これまでのところラジオアイソトープ標識生体内基質（ガラクトセレブロシド）を用いた酵素測定が必要である。ラジオアイソトープ使用による環境汚染の問題もあり、われわれはそのおそれのない酵素的サイクリング法を用いることとした。従来の条件による酵素測定インキュベーション後、遊離したガラクトースは、ガラクトース脱水素酵素によりガラクトノラクトンに変え、その際発生する NADH を NAD サイクリングの系（アルコール脱水素酵素、リンゴ酸脱水酵素によるサイクル反応）に導入し、5,000～10,000 倍に増幅した。最後に NADH は蛍光比色により測定した。

この方法により  $10^{-13}$  モル程度のガラクトースは確実に定量できることが分った。次いで反応混液を  $50 \mu\text{l}$  としたガラクトセレブロシダーゼ測定をおこない、脳、肝、腎、白血球について、Krabbe 病の診断を再確認した。さらに微量の試料についての測定をこころみ、白血球、線維芽細胞、羊水細胞を用いて、 $5 \mu\text{l}$  の測定混液（試料  $0.4 \mu\text{l}$ ）から開始し、再現性のある結果を得た。この操作のためには、水分の蒸発による容量の減少を防ぐための特別の工夫が必要であった。さらにオイルウエルもこころみたが、この方法によると活性が著しく低下し、少くともガラクトセレブロシダーゼ測定には用いることができないことが分った。

本法は今後、患児の臨床診断、出生前診断にも応用可能であり、広く用いられることが期待される。また、他の物質の定量法も工夫したい。



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



先天性代謝異常診断法の改良の目的のために、微量定量法の臨床化学への応用を試みた。これらの疾患は乳幼児期に発症することが多く、患者から得られる試料の量は限られており、より高感度且つ正確な定量法が必要である。本研究では酵素的サイクリング法を利用したガラクトース定量法を確立し、Krabbe 病の欠損酵素であるガラクトセレブロシダーゼ活性測定を試みた。