

酵素組織化学的 acid β -galactosidase 活性検出法 の出生前診断への応用

岡 田 伸 太 郎
豊 徹
乾 幸 治
加 藤 伴 親
(大阪大学医学部小児科)

研 究 目 的

先天性代謝異常症の羊水診断に際して、培養期間の短縮を可能にする為、単一細胞レベルでの酵素活性測定を、酵素組織化学的手法を用いて検討し、 β -galactosidase 欠損症の出生前診断に実際に応用した。

方 法

- 1) Preconfluent or confluent monolayer culture in a 6 cm plastic dish containing one coverslip, 24×32 mm in size.
- 2) Rinse with Hanks' BSS three times.
- 3) Fix *in situ* in cold Lillie's neutral formalin for 30 minutes.
- 4) Rinse twice in cold Holt's gum sucrose and keep overnight at 4 °C.
- 5) Incubate for 5 hours at 37 °C in Lojda's medium.
- 6) Rinse twice with distilled water.
- 7) Counterstain with nuclear fast red for 10 minutes.
- 8) Rinse well with distilled water.
- 9) Mount with glycerin jelly.

Composition of Lojda's medium :

5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside	3 mg
Dissolve in N,N-dimethylformamide	0.3 ml
0.1 M citric acid phosphate buffer, pH 5.0	7 ml
1.65% potassium ferricyanide	0.5 ml
2.11% potassium ferrocyanide	0.5 ml
Mix well and filter	about 8 ml

材 料

第1子が GM₁-gangliosidosis と診断され、第2子の妊娠に際し、妊娠16週に羊水穿刺を行い、羊水細胞培養を開始した。対照として、同時期に採取した羊水細胞、および凍結保存していた正常培養羊水細胞を用いた。酵素染色は培養開始後1週で、通常の酵素活性測定は、4 MU 化合物を用いて培養開始後1ヵ月で行った。

結 果

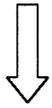
対照羊水細胞では、いずれにおいてもブルーの明らかな陽性反応が得られたが、検索例では反応なく、 β -galactosidase 欠損症と考えられた。通常の酵素活性測定でも β -galactosidase 欠損が認められ、妊娠20週に人工妊娠中絶を行った。

結 論

酵素組織化学的 β -galactosidase 活性検出法は定性的なものであるが、手技は簡単であり、少数の生細胞があれば実施可能である点で、 β -galactosidase 欠損症の出生前診断において、有用な補助診断法の一つになると考えられた。



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



研究目的

先天性代謝異常症の羊水診断に際して、培養期間の短縮を可能にする為、単一細胞レベルでの酵素活性測定を、酵素組織化学的手法を用いて検討し、 β -galactosidase 欠損症の出生前診断に実際に応用した。