

先天性代謝異常のマス・スクリーニングに関する研究

名城病院小児科 川 村 正 彦
名古屋市衛生研究所 藤 村 有 信

1. 血液濾紙の血色素変性法について

ガラクトース血症の診断のため galactose-1-phosphate、ガラクトースを血液濾紙上で測定するには血色素を変性させ、溶液の中へ溶出して来ないようにする前処理が必要である。

この前処理として如何なる方法が良いか検討を行った。98% Formate 蒸気法、27% Formaldehyde 蒸気法、70% Aceton法、70% methanol 法、水-Aceton-methanol (30% : 35% : 35%) 法、水蒸気法の6つの変性法の比較検討を行った。

相関係数、回帰直線、t検定、二元配置法などの統計的処理の結果 98% Formate 蒸気法と水-Aceton-methanol (30% : 35% : 35%)、70% methanol、70% Acetonなどの有機溶媒固定法が優れていた。このうち70% Aceton、70% methanolは1週間以上保存に耐えられないため、98% Formate 蒸気法か、水-Aceton-methanol法が最良といえる。

98% Formate法を用いて galactose-1-phosphate を測定すると測定精度も極めて良好となった。98% Formate法の変動係数は5.8%、galactose-1-phosphate の測定精度 $8.0 \pm 0.4 \text{ mg/dl}$ で、原法のKirkman法での $8.0 \pm 1.7 \text{ mg/dl}$ を1の信頼性の高いことが分った。

2. 新しいウロカン酸検出法

— Pauly法に代わる方法の検討 —

ヒスチジン血症のスクリーニングに血液濾紙上にウロカン酸の存在しないことを一つの所見としているが、正常児でも時にウロカン酸のみられない事があり、Pauly試薬の発色感度が問題になっている。このためPauly法によらない敏感な検出法の開発が望まれるのでFluram試薬を用いる蛍光法と、O-phthalaldehydeによる方法を検討した。いずれも特徴のある方法なので、多数の検体により比較検討する価値のあるものとする。

以下に上述の二方法のあらましを述べる。

A) Fluram 試薬による蛍光法

Fluram ロッシュ社 Fluorescamine 15~30mg/Aceton 100

この液 20 μ lをつけて 濾紙にスポットすると

	Hisfidine	urocanicacid	NH ₃ +
ex 入 365 nm	青緑色	—	うすい蛍光
ex 入 253	—	蛍光	—

となることから判定は容易

実際の方法

i) pre-dying 法

血液 disc → 70% EtOH 30 μl にとかす 0~4℃で一夜、Hist 抽出する。
disc をとり除く。

0.01 M phosphate buffer pH 8.0 30 μl

Fluram 溶液 30 μl

↓
TLC

↓
蛍光判定する

ii) post-dying 法

血液 Disc → 70% EtOH で抽出 disc 取り除き TLC で展開

→ 風乾後 (a) FluRAM 液噴霧 → 蛍光をみる

(b) 10% triethylamine-methylene chloride 液噴霧

↓
FluRAM 液噴霧

↓
10% triethylamine-methylene diloride 液噴霧

↓
蛍光 青色蛍光を示す

B) O-phthalaldehyde (OPT) 法

1% OPT 液 - 0.01 N NaOH 液 1:1 を The で展開したものに噴霧

FluRAM 法より感度は悪いが、Hist (imidaole 核をもつアミン) 以外は反応しないので FluRAM 法より clear である。

↓
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
↓

1. 血液濾紙の血色素変性法について

ガラクトース血症の診断のため galactose-1-phosphate、ガラクトースを血液濾紙上で測定するには血色素を変性させ、溶液の中へ溶出して来ないようにする前処理が必要である。

この前処理として如何なる方法が良いか検討を行った。98%Formate 蒸気法、27%Formal-dehyde 蒸気法、70%Aceton 法、70%methanol 法、水 - Aceton-methanol (30%:35%:35%)法、水蒸気法の 6 つの変性法の比較検討を行った。