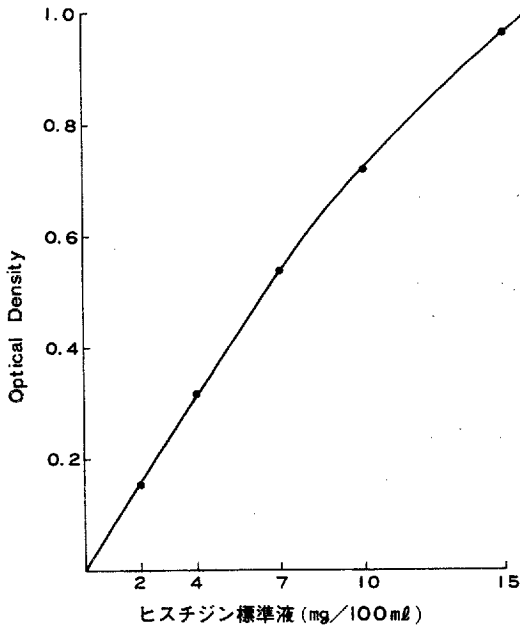


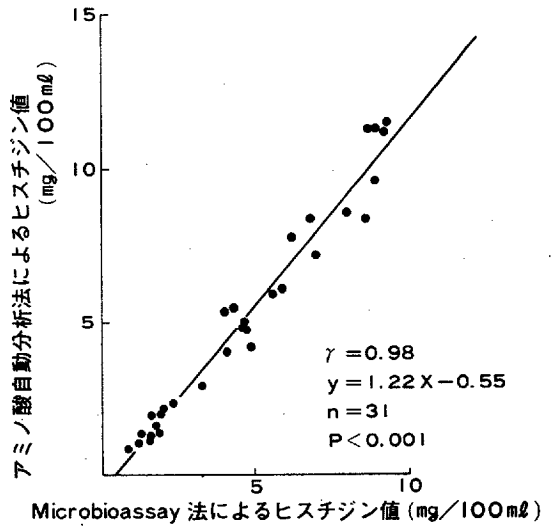
メチオニン及びロイシンに関しても、両測定値間には有意の相関が認められており、今後本法を、高メチオニン血症や楓糖尿症に対するスクリーニングや負荷試験に利用できると考えた。

図 1



24時間培養後のヒスチジン標準曲線 (30μl 使用)

図 2



Microbioassay 法によるヒスチジン値とアミノ酸自動分析法によるヒスチジン値との相関図

## アポ蛋白 B による II 型高脂血症のスクリーニングの試み

熊大小児科 松田 一郎  
太田 孝男

冠動脈への脂質の沈着は、3才頃すでに起っており、年齢が進むにつれて、その程度も強くなっていくことがわかっている。高脂血症の子供では、さらに強い脂質の沈着が起り、早期に、動脈硬化及び虚血性心疾患を発症することが想像できる。我々は II 型高脂血症のスクリーニングの方法として、アポ蛋白 B (低比重リポ蛋白: LDL: の構成蛋白) の定量化を、ロケット免疫電気泳動

によって試みている。

#### (方 法)

- ① LDLの分離： Havelらの方法に従い、超遠心によって行なった。(J. Clin. Invest 34, 1345 (1955))

分離したLDLはまだアポC蛋白を含むため、Con A cepharose カラムに通し、アポC蛋白を除いた。

- ② 抗血清の作成

LDLは等量の Freund の complete adjuvant とよく混和して、ウサギの下腿皮下に、タンパク量として約1mgを注射した。10日毎に1mgを追加免疫として、下腿皮下に注射した。初回注射から4週後に採血し、抗血清を得た。抗血清は56℃、30分インキュベートし、補体を非働化した後、小分けして凍結保存し、使用時に溶解した。

- ③ ロケット免疫電気泳動

##### a) 抗体含有アガロース板の作製

90×180mmのガラス板上に抗体含有(0.5%)アガロースゲル30mlを注ぎ、アガロース板を作製した。アガロース板には8mm間隔で、径3mmの穴を、陰極端より15mmの所にあけた。

##### b) 検体試料の準備

検体として用いる血清及び標準LDLは、まず等量の2M・KCNOと50℃で20分間インキュベートして、タンパクの carbamylation を行なった。サンプルは0.02Mバルビタール緩衝液で一定の希釈を行なった。

##### c) 電 気 泳 動

1枚のアガロース板にあけた、17個の穴のうち3個を標準LDL用とし、3段階に希釈して注入した。検体は6倍に希釈して注入している。注入量は全て9μlである。泳動は100Vで16時間行なった。

#### (結 果)

予備実験で我々は検体を3倍、6倍、12倍に希釈して、泳動を行なったが、6倍希釈でも、充分満足できる結果が得られた。12倍希釈では移動距離が短かすぎた。

又、血液口紙からの抽出を、フォスフェート緩衝液及びアポBの溶解剤であるソディウムデシルサルフェートを用いて試みたが、いずれもまだ成功していないが、検討する余地は残されている。

#### (ま と め)

現在我々は血清50μlを使用して測定しているが、手技が安定すれば、2μlの血清で測定できるはずであり、採血の困難な新生児や乳児では、ヘマトクリット管による採血で測定できスクリー

ニングには最適であると思われる。

## 尿の薄層クロマトグラフィーによる 糖蛋白代謝異常症のスクリーニング

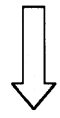
大阪大学医学部小児科 藪内百治  
岡田伸太郎  
児玉浩子

近年ライソゾーム病の酵素療法は長足の進歩をとげつつあり、リポゾームや赤血球膜を使う試みがなされ、ライソゾーム病治療の可能性が開けつつある。今回吾々は、グリコシダーゼ欠損によって発症する糖蛋白代謝異常症の尿を用いてスクリーニングを行う方法の開発を行った。

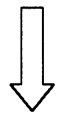
試料としては糖蛋白代謝異常症である mannosidosis, GMI-gangliosidosis, Fucosidosis の患者尿を用い、シリカゲル薄層プレートを用いた。尿 1 ml に等量の Dowex 50×8 イオン交換樹脂を加え、上清液を約 20  $\mu$ l (20  $\mu$ g クレアチニン当量) スポットし、m-propanol/water 8/3 で展開後、mitromethare/n-propanol/water 4/5/3 で再展開し、オルシノール硫酸で発色した。

本法による尿の薄層クロマトは単糖から 8 糖またはそれ以上のオリゴ糖が良好に分離し、テーリングは認めなかった。正常人ではグルコース、ラクトースのほかにもう一つのオリゴ糖がみられるのみで、糖蛋白代謝異常とは明らかに違っており、鑑別が可能であった。なおマンノシスの患者尿でカラムクロマトの成績と比較した結果、5 糖以上と思われるオリゴ糖の分離が極めて良好であった。

従来発表されたオリゴ糖の薄層クロマトグラフィー法はテーリングがあり、各糖の分離が不良であったが、我々の用いた溶媒はオリゴ糖の良好な分離を可能にした。また本法は極めて少量の尿でよいため、尿濾紙からオリゴ糖を抽出して薄層クロマトを行うことも可能であり、糖蛋白代謝異常症のスクリーニングに役立つと思われる。



**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



冠動脈への脂質の沈着は、3才頃すでに起っており、年齢が進むにつれて、その程度も強くなつていくことがわかっている。高脂血症の子供では、さらに強い脂質の沈着が起こり、早期に、動脈硬化及び虚血性心疾患を発症することが想像できる。