

新しい簡易迅速測定原理のクレチン症スクリーニングへの応用（試案）

藤村有信¹、川村正彦²、土平一義¹

（¹名古屋市衛生研究所 ²名城病院）

クレチン症のマス・スクリーニングの酵素免疫法はほぼ完成されたといっても過言でない。しかしまだ反応時間と操作の短縮化や測定時間の迅速化及びキット試薬単価の高価のことなどまだ解決すべき問題が残されている。我々はそれらの諸点を解決する糸口として、新しい測定原理に基づいて、数百件の試料をわづか数分間で測定出来るコロナ電気の蛍光々度計に着目し、マイクロプレート方式及び迅速試験管キュベット連続移動方式（試作段階）を用いるクレチン症への応用とその方法論を考察したい。

〔方 法〕

(1)マイクロプレート方式MTPF 12と試験管キュベット方式FPM-11を従来の測定法の測定部分にだけ迅速かつ簡便に利用。(2)本装置の特徴を生かして新しい方法論を導入する。後者にはニトロセルロース膜を固相法として用い、例えばミリポア社HAトレーとミリタイター装置やBio Rad社のニトロセルロース膜シートやZeta probeをマイクロフィルトレーション装置と共に用いることが出来、又試験管やマイクロプレート中でニトロセルロースのdiscとしても実施出来る（ディスク法）。

〔方 法 論〕

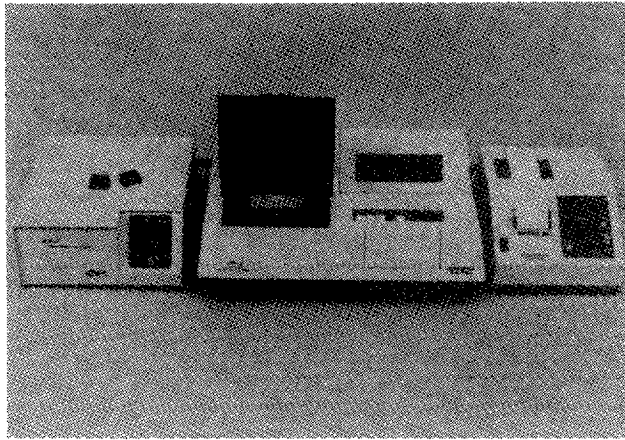
4つのタイプが考えられる。1)膜に血液TSH抗原を結合させる。ブロッキング後、酵素標識第1抗体を加え反応洗滌後、基質を加えて反応液を別のウェルに移転する。2)膜に第1抗体を結合させてブロッキング後、1)の操作を行う。3)上の2)のブロッキング後血液TSH試料、次いで酵素標識TSH抗原を添加し、以後基質添加する。4)辻・成瀬らの方法を一部Beadの代わりに膜discを用いる方法で、この方法は反応液の少量化とBeadの他の試験管への移行の不要と洗滌液が残らない利点がある。

〔メンブレン固相法の利点〕

①非標識第1抗体を除去することも出来る。②洗滌が簡単で数百件同時に実施出来、省力化となる。③反応と操作時間の短縮化。④試薬の節約化、コストの低下につながる。⑤反応液のトランスファが可能などである。

【実験結果】

第1の方法と第3の方法は今回実験条件下ではTSHの0と $160\mu\text{U}/\text{ml}$ との差が小さかった。第2の方法ではHAタイターを用い、標識抗体 $150\mu\text{l}$ 、 37°C 一夜反応ではTSH0と $160\mu\text{U}/\text{ml}$ との差も大きく使用出来るが曲線はS字曲線にならなかった。又同じ方法でBio Radのニトロセルロースを使い、標識抗体 $200\mu\text{l}$ 、 37°C 1時間反応ではTSH $40\mu\text{U}$ 以上ではきれいにS字曲線に乗ったが $40\mu\text{U}$ 以下ではブロッキングが不十分のためか乗らなかった。又第4の方法でZeta probe discを直接そのまま使うか山羊第2抗体吸着後使用する場合はTSH $40\mu\text{U}$ 以下はきれいに富士レビオのキットと同様に曲線に乗ったが $40\mu\text{U}$ 以上では前と同じ理由で曲線からはずれた。又第2の方法で条件を多少変えてやった場合にブロッキングに10%BSAと4%BSAを用いると栄研キット同様の曲線を得た。本来第2の方法は富士レビオキットのタイプの曲線になるべきで、理由は不明であるが、いつも一定した値が出ればこの条件も使用出来るかも知れない。いづれにしてもまだいろいろの条件の検討が必要であるが、これらの方法論と装置は他の分野の測定にも有力な方法となりうるのではないと思われる。





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



クレチン症のマス・スクリーニングの酵素免疫法はほぼ完成されたといっても過言でない。しかしまだ反応時間と操作の短縮化や測定時間の迅速化及びキット試薬単価の高価の事などまだ解決すべき問題が残されている。我々はそれらの諸点を解決する糸口として、新しい測定原理に基づいて、数百件の試料をわづか数分間で測定出来るコロナ電気の蛍光々度計に着目し、マイクロプレート方式及び迅速試験管キュベット連続移動方式(試作段階)を用いるクレチン症への応用とその方法論を考察したい。