

# 各種沈降反応系の比較研究

## (重層法, 混合法, 新混合法及補体結合法)

(抗原抗体稀釈法の研究, 第1報)

岡山大学医学部衛生学教室 (指導 緒方益雄教授)

副手 井上邦彌

[昭和29年4月5日受稿]

### 第1章 緒言

抗原抗体反応に於ける抗体測定法には in vivo test と in vitro test がある

in vitro test の内, 厳密な測定法は Heiderberger, Kendall<sup>1)</sup> により開拓された化学定量法であるが, 実用的にも博く用いられる方法は稀釈法である

昭和2年, 緒方教授が抗原抗体稀釈法<sup>2)</sup> を発表されて以来, 結合帯に於ける抗体価を測定する事により, 沈降反応及び補体結合反応には定量的に抗体測定が可能となつた。

其後, 広田は<sup>3)</sup> 結合帯と Dean a Webb<sup>4)</sup> の Optimal proportions method との関係を明かにした。

従来沈降反応の混合法による抗体価は重層法の抗体価に比べ, 略一稀釈劣つたが, 後述の新混合法では重層法に一致させる事が出来た。

依つて私は緒方氏法により, 沈降反応の重層法, 混合法, 新混合法及び補体結合法を, 結合帯を中心に, 蛋白, Lipoid, 多糖類反応系に就き比較し, 併せて補体結合法の抗体価を, 重層法と一致させる為に, 補体結合の時間を検討した

### 第2章 実験材料及び実験方法

#### 第1節 実験材料

##### 第1項 免疫血清

使用抗血清は, 人血清, 牛血清, 卵白 albumin, 海狸腎抽出液, 酵母菌, Proteus X<sub>19</sub> 菌の家兎抗体である。

#### 第2項 免疫方法

免疫原の注射は次の如く行つた

注射量は人血清及び牛血清の 0.5cc, 1% 卵白 Albumin 溶液 1cc, 10% 海狸腎乳剤生理的食塩水 1cc, 10% 乾燥酵母食塩水 3cc を夫々 3~4 日間隔で 7~15 回免疫し, 又 P. X<sub>19</sub> 菌では食塩水 5cc に 1 öse 懸濁し, 60°C 30 分加熱後 0.5~3cc を漸増的に 3 日毎に 15 回, 家兎耳静脈に注射し, 何れの場合も最終注射日より 10 日後全採血, 血清を分離した。

#### 第3項 反應用抗原

人血清及牛血清は, 56°C 30 分非働化したものを原液として使用した。

卵白 Albumin は Cole<sup>5)</sup> 法により精製し, 酵母菌多糖類 (Hefegummi) は橋谷氏法<sup>6)</sup>, P X<sub>19</sub> 菌多糖類は Heiderberger の C-Polyoaccharid 抽出法<sup>7)</sup> を用い, 夫々抽出乾燥し, 食塩水に溶解して使用した

又 Forssman Lipoid は海狸腎より奥氏法<sup>8)</sup> に従い調製し, 特に Cholesterin を加えずに用いた。

#### 第2節 実験方法

同一免疫血清につき沈降反応の重層法, 混合法, 新混合法及び補体結合法の各々に付緒方氏法を用い, 結合帯を中心として, 反応価及び反応域を比較した。

##### 1) 重層法

免疫血清の稀釈には 1% アラビアゴム食塩水溶液を用い, 成績の判定は重層後 15 分以内に白輪の生じたものを  $\equiv$ , 30 分以内を  $\equiv$ , 1 時間以内を  $\equiv$ , 24 時間以内を  $\equiv$ , とした

##### 2) 混合法

普通の抗原抗体容量の等量混合法を用い、混合後、37°C 孵卵器に2時間、更に氷室に24時間後判定し、濁濁度より、卍, 卍, 卍, +と記録し、Flockg の著明なものは、gross, mittel, fein の順として、g. F., m. F., fF と記載した。

3) 新混合法

反応系内の抗原及抗体絶対量は、混合法と同一であるが、抗原の注入容量が異なる

10倍濃厚抗原を 1/10 量注入する。即ち抗体容量を1とすれば、一般混合法の反応系容量は2であるが、新混合法では1.1となる。

判定、其他は、普通法と同一である。

4) 補体結合反応

当教室の方法<sup>1)</sup>に従い、37°C 孵卵器1時間で補体を結合させた後、山羊溶血系を加え、2時間、37°C で反応させて、氷室一夜保存し、成績を判定した。

溶血阻止程度により、結合の強さを卍, 卍, 卍, +と成績を記載した。

尚、結合帯は図表中に、ゴジック体として表示した。

第3章 実験成績

第1節 蛋白反応系

第1項 牛血清系

第1表の如く、新混合法では抗原価及抗体価共に、混合法より一稀釈強く、その為に重

第1表 牛血清系

反応別	抗原	抗体稀釈					
		25	50	100	250	500	1000
重層法	100	卍	卍	卍	--	--	--
	250	卍	卍	卍	上	--	--
	500	卍	卍	卍	±	--	--
	1000	卍	卍	卍	+	--	--
	2500	卍	卍	卍	+	+	--
	5000	卍	卍	卍	+	+	--
	10000	卍	卍	卍	±	--	--
	25000	卍	卍	卍	+	--	--
	50000	+	+	--	--	--	--
	100000	+	±	--	--	--	--
250000	--	--	--	--	--	--	

混合法	100	卍	卍	+	--	--
	250	卍	卍	+	--	--
	500	卍	卍	卍	--	--
	1000	卍	卍	卍	±	--
	2500	卍	卍	卍	+	--
	5000	卍	卍	+	+	--
	10000	卍	卍	±	±	--
	25000	卍	±	--	--	--
	50000	+	--	--	--	--
	100000	--	--	--	--	--
250000	--	--	--	--	--	
新混合法	100	卍	卍	卍	--	--
	250	卍	卍	卍	--	--
	500	卍	卍	卍	±	--
	1000	卍	卍	卍	卍	--
	2500	卍	卍	卍	卍	±
	5000	卍	卍	卍	卍	+
	10000	卍	卍	卍	+	±
	25000	卍	卍	+	+	--
	50000	卍	+	±	--	--
	100000	+	±	--	--	--
250000	--	--	--	--	--	
補体結合反応	100	卍	卍	--	--	--
	250	卍	卍	--	--	--
	500	卍	卍	--	--	--
	1000	卍	卍	--	--	--
	2500	卍	卍	卍	--	--
	5000	卍	卍	卍	±	--
	10000	卍	卍	卍	卍	--
	25000	卍	卍	卍	+	--
	50000	卍	卍	+	--	--
	100000	卍	卍	+	--	--
250000	卍	+	+	--	--	

層法とは、結合帯、抗原価及抗体価共に略々一致した併し新混合法に於いても、抗原過剰域の反応阻止帯は、重層法に於けるより著明であつた

補体結合法では、抗体価は重層法より一稀釈劣り、結合帯は一稀釈程抗原稀薄側に現れ全体的に、抗原稀薄域の反応は、沈降反応に比べ強度であつた。

第2項 人血清系

第2表の如く、牛血清系と同様、結合帯、抗原価、抗体価共に、新混合法と重層法は一致した。

本例も補体結合法の抗体価は、重層法より一稀釈劣り、結合帯は重層法、新混合法に一致した。

第2表 人血清系

反応別	抗原	抗体稀釈				
		10	25	50	100	250
重層法	50	+++	++	++	+	-
	100	+++	++	++	+	-
	250	+++	++	++	+	-
	500	++	+	+	-	-
	1000	+	+	+	-	-
	2500	+	+	-	-	-
	5000	+	-	-	-	-
	10000	+	-	-	-	-
	25000	±	-	-	-	-
	50000	-	-	-	-	-
混合法	50	+++	+	±	-	-
	100	+++	++	+	-	-
	250	++	+	±	-	-
	500	+	+	±	-	-
	1000	+	±	-	-	-
	2500	+	-	-	-	-
	5000	±	-	-	-	-
	10000	±	-	-	-	-
	25000	-	-	-	-	-
	50000	-	-	-	-	-
新混合法	50	+++	++	±	-	-
	100	+++	++	++	-	-
	250	+++	++	++	+	-
	500	+++	++	+	±	-
	1000	++	++	+	±	-
	2500	++	++	±	-	-
	5000	+	+	-	-	-
	10000	+	-	-	-	-
	25000	±	-	-	-	-
	50000	-	-	-	-	-
補体結合法	50	+++	++	-	-	-
	100	+++	++	-	-	-
	250	+++	+++	++	-	-
	500	+++	+++	+	-	-
	1000	+++	+++	+	-	-
	2500	+++	+++	-	-	-
	5000	+++	++	-	-	-
	10000	+++	+	-	-	-
	25000	++	+	-	-	-
	50000	+	-	-	-	-

第3項 卵白 Albumin 系

第3表に示す実験例では、各種沈降反応及補体結合反応の結合帯、抗体価は総て一致した。

第3表 卵白 Albumin 系

反応別	抗原	抗体稀釈				
		5	10	25	50	K
重層法	2500	+++	++	±	-	-
	5000	+++	+++	+	-	-
	10000	+++	+++	+	-	-
	25000	+++	+++	+	-	-
	50000	+++	+++	+	-	-
	100000	+++	++	+	-	-
	250000	+	+	-	-	-
	500000	+	±	-	-	-
	1000000	-	-	-	-	-
	混合法	2500	+	+	-	-
5000		++	+	±	-	-
10000		+++	++	±	-	-
25000		+++	++	±	-	-
50000		++	++	+	-	-
100000		++	+	±	-	-
250000		++	+	±	-	-
500000		-	-	-	-	-
1000000		-	-	-	-	-
新混合法		2500	++	+	±	-
	5000	++	±	++	-	-
	10000	+++	++	+	-	-
	25000	+++	+++	+	-	-
	50000	+++	+++	++	-	-
	100000	+++	+++	++	-	-
	250000	++	++	+	-	-
	500000	+	+	+	-	-
	1000000	-	-	-	-	-
	補体結合法	2500	+++	++	-	-
5000		+++	+++	++	-	-
10000		+++	+++	+++	-	-
25000		+++	+++	+++	-	-
50000		+++	+++	+++	-	-
100000		+++	+++	+++	-	-
250000		+++	+++	+++	-	-
500000		+++	+++	+++	-	-
1000000		+++	+++	+++	-	-

乍併、混合法の抗原価は、重層法及新混合法より一稀釈弱く、亦補体結合法の抗原稀薄

域は、複合蛋白系と同様、沈降反応より反応が強度であつた。

**第2節 Lipoid 系及び蛋白-多糖類の複合系**

**第1項 Lipoid 反応系**

第4表 Forssman-Lipoid.  
(海狸腎酒精エキス)

反応別	抗原	抗体稀釈			
		10	25	50	100
重層法	100	卅	卅	-	-
	250	卅	卅	+	-
	500	卅	卅	+	-
	1000	+	+	±	-
	2500	±	±	-	-
混合法	100	+	-	-	-
	250	卅	±	-	-
	500	卅	+	-	-
	1000	±	±	-	-
	2500	-	-	-	-
新混合法	100	+	+	-	-
	250	卅	+	±	-
	500	卅	卅	+	-
	1000	卅	卅	+	-
	2500	+	+	±	-
補体結合反応	100	卅	卅	±	-
	250	卅	卅	±	-
	500	卅	卅	±	-
	1000	卅	卅	-	-
	2500	卅	+	-	-
5000	+	-	-	-	

Forssman-Lipoid (海狸腎) による成績は、第4表の如くであつた。

新混合法の抗原価、抗体価は重層法に略々一致し、混合法の反応価より、略々一稀釈づつ強く発現し、是迄の蛋白反応系と、同様な成績を得た。

本例では抗体の性質上、牛血球溶血系で、補体結合法を行つたが、抗体価は重層法に近似した。

**第2項 酵母菌食塩水浸出液反応系**

フライシュマン乾燥酵母0.5gを、食塩水50ccで60°C30分浸出し Bekfeld 濾過器による濾液を100倍液とした。

本浸出液は、次表に示す酵母の組成より、蛋白及多糖類の混成溶液と考えられる

乾燥酵母の乾燥物の組成<sup>10)</sup>

粗蛋白質	35 ~ 65 %
粗脂肪	3 ~ 7
無窒素エキス	20 ~ 63
グリコゲン	8 ~ 36
酵母ゴム	6 ~ 7
ペントーザン	2 ~ 3
灰分	5 ~ 11

本液による成績は、第5表の如く、新混合法と重層法の結合帯、抗体価及抗原価は総て一致した。

混合法及び補結法は共に抗体価は低く、混合法の結合帯は、抗原濃厚部に、補結法では抗原稀薄部に出現した。

又、蛋白反応系と同様、抗原稀薄域の反応は補結法では、比較的強度であつた

第5表 酵母菌浸出液系

反応別	抗原	抗体稀釈				
		25	50	100	250	500
重層法	100	卅	卅	卅	-	-
	250	卅	卅	卅	-	-
	500	卅	卅	卅	±	-
	1000	卅	卅	卅	卅	-
	2500	卅	卅	卅	卅	-
	5000	卅	卅	卅	卅	卅
	10000	卅	+	+	+	±
	25000	+	±	±	-	-
	50000	-	-	-	-	-
	混合法	100	卅	+	+	-
250		卅	卅	卅	-	-
500		卅	卅	卅	±	-
1000		卅	卅	卅	+	-
2500		卅	卅	卅	+	-
5000		卅	卅	+	±	-
10000		+	+	±	±	-
25000		-	-	-	-	-
50000		-	-	-	-	-

新 混 合 法	100	卅	卅	+	-	-
	250	卅	卅	卅	-	-
	500	卅	卅	卅	+	±
	1000	卅	卅	卅	卅	卅
	2500	卅	卅	卅	卅	卅
	5000	卅	卅	卅	+	卅
	10000	卅	卅	+	±	±
	25000	+	+	-	-	-
補 体 結 合 反 応	100	卅	卅	+	-	-
	250	卅	卅	卅	-	-
	500	卅	卅	卅	+	-
	1000	卅	卅	卅	卅	-
	2500	卅	卅	卅	卅	-
	5000	卅	卅	卅	卅	-
	10000	卅	卅	卅	卅	-
	25000	卅	卅	卅	卅	-
50000	卅	卅	卅	±	-	

第3節 多糖類反応系

第1項 Proteus X<sub>19</sub> 菌多糖類系

第6表に示す如く、本実験の成績は蛋白及び Lipoid 系と稍々趣きを異にした。

即ち重層法は、是迄の例とは逆に、混合法より反応域が狭く、結合帯も抗原濃厚側に偏した。

新混合法と混合法の関係は、他の反応系と同様、新混合法の反応価は一稀釈強く発現し、絮状形成も新法は著明であつた。

補体結合法では、抗体価は新混合法より劣つたが、結合帯は比較的、抗原高稀釈側に現れた。

第6表 Proteus X<sub>19</sub> 菌多糖類系

反 応 別	抗 原	抗 体 稀 釈				
		50	100	250	500	1000
重 層 法	1 <sup>万</sup>	卅	卅	+	-	-
	2.5	卅	卅	卅	-	-
	5	卅	卅	卅	±	-
	10	卅	卅	+	+	-
	25	卅	卅	±	-	-
	50	卅	+	-	-	-
	100	±	±	-	-	-
	250	-	-	-	-	-
500	-	-	-	-	-	

反 応 別	抗 原	抗 体 稀 釈				
		100	250	500	1000	2500
混 合 法	1 <sup>万</sup>	g. F	卅	-	-	-
	2.5	g. F	卅	卅	-	-
	5	g. F	卅	卅	-	-
	10	g. F	卅	卅	+	-
	25	g. F	卅	卅	+	-
	50	f. F	卅	卅	±	-
	100	卅	+	+	±	-
	250	±	±	±	-	-
新 混 合 法	1 <sup>万</sup>	g. F	m. F	-	-	-
	2.5	g. F	m. F	卅	-	-
	5	g. F	m. F	卅	-	-
	10	g. F	m. F	f. F	-	±
	25	g. F	f. F	m. F	+	±
	50	m. F	卅	m. F	+	±
	100	m. F	卅	f. F	±	-
	250	+	+	+	-	-
500	-	-	-	-	-	
補 体 結 合 反 応	1 <sup>万</sup>	卅	-	-	-	-
	2.5	卅	卅	卅	-	-
	5	卅	卅	卅	-	-
	10	卅	卅	卅	±	-
	25	卅	卅	卅	±	-
	50	卅	卅	卅	+	-
	100	卅	卅	卅	±	-
	250	卅	卅	+	-	-
500	卅	+	-	-	-	

第2項 酵母菌多糖類 (Hefegummi) 系

第7表の如く、本例でも PX<sub>19</sub> 菌多糖類系

第7表 酵母菌多糖類系

反 応 別	抗 原	抗 体 稀 釈					
		10	25	50	100	250	500
重 層 法	5000	卅	卅	-	-	-	-
	10000	卅	卅	-	-	-	-
	25000	卅	卅	+	±	-	-
	50000	卅	卅	+	+	-	-
	100000	卅	卅	卅	+	-	-
	250000	卅	卅	卅	+	-	-
	500000	卅	卅	+	±	-	-
	1000000	卅	+	±	-	-	-
2500000	+	±	-	-	-	-	
5000000	-	-	-	-	-	-	

混 合 法	5000	m. F	±	-	-	-	-
	10000	m. F	卅	-	-	-	-
	25000	g. F m. F	+	-	-	-	-
	50000	g. F m. F	卅	±	-	-	-
	100000	m. F m. F f. F	+	-	-	-	-
	250000	f. F m. F f. F	卅	-	-	-	-
	500000	卅 f. F f. F	卅	±	-	-	-
	1000000	卅 卅 f. F	卅	±	-	-	-
	2500000	+	卅	+	±	-	-
5000000	-	±	±	-	-	-	
新 混 合 法	5000	m. F	+	-	-	-	-
	10000	g. F	卅	±	-	-	-
	25000	g. F m. F	卅	-	-	-	-
	50000	g. F m. F f. F	±	-	-	-	-
	100000	m. F m. F f. F	+	-	-	-	-
	250000	f. F m. F f. F	卅	+	-	-	-
	500000	f. F f. F f. F f. F	+	-	-	-	-
	1000000	f. F 卅 卅 卅	卅	+	±	-	-
	2500000	卅 卅 卅 卅	卅	+	±	-	-
5000000	卅 卅	+	±	-	-	-	
10000000	± 士 士 士	±	-	-	-	-	

補 体 結 合 反 応	5000	• 卅	-	-	-	-
	10000	• 卅	-	-	-	-
	25000	• 卅 卅	-	-	-	-
	50000	• 卅 卅 卅	卅	-	-	-
	100000	• 卅 卅 卅	卅	-	-	-
	250000	• 卅 卅 卅	卅	+	-	-
	500000	• 卅 卅 卅	卅	卅	-	-
	1000000	• 卅 卅 卅	卅	卅	-	-
	2500000	• 卅 卅 卅	卅	卅	-	-
5000000	• 卅 卅 卅	卅	-	-	-	

の場合と類似の結果を得た。

即ち混合法の反応域は重層法より広く、新混合法は、各反応系の成績と同様反応価は混合法に優り、補体結合法と混合法の関係は他の反応系に於けると、同様であつた。

第4節 第1～第3節の概括

以上、各種反応系の抗体価及び結合帯の成績を一覧表にすれば第8表の如くであつた。

新混合法は、抗原価及び抗体価共に、混合

第 8 表

	重 層 法		混 合 法		新 混 合 法		補 結 法	
	抗体価	結合帯	抗体価	結合帯	抗体価	結合帯	抗体価	結合帯
牛 血 清 系	500	5000	250	2500	500	5000	250	5000
”	160	1600	80	1600	160	1600~ 3200)	80	3200
人 血 清 系	100	250	50	100	100	250	50	250
”	100	5000	50	5000	100	5000	100	5000
(卵 白 Albumin.)	25	50000	25	50000	25	50000	25	50000
海 狸 腎 酒 精 エ キ ス	50	500	25	500	50	500	50	500
酵 母 浸 出 液	500	500	250	2500	500	5000	250	10000
Hefe-gummi	100	250000	250	1000000	500	2500000	250	1000000
”	100	50000	250	250000	500	500000		
PX <sub>19</sub> 菌 多 糖 類	500	100000	1000	250000	2500	500000	1000	500000
(牛 血 清 Globulin.)	500	1000~ 2500)	250	1000~ 2500)	500	2500~ 5000)	250	2500
(馬 血 清 Albumin.)	1000	2500~ 5000)	500	2500~ 5000)	1000	5000	500	2500

法より一稀釈強く現れ、重層法と一致したが、抗原過剰阻止帯現象は著明であつた。

亦結合帯は、重層法と新混合法とは、略々一致するが、重層法では少々抗原濃厚側へ現れる傾向があつた。

本実験による補体結合法では、抗体価は、混合法と大体一致したが、結合帯は、沈降反応に於けるより、抗体価の割には抗原高稀釈

側に現れ、同時に抗原稀薄域の陽性度は強度であつた。

多糖類反応系は、蛋白、リポイド反応系と異なり、重層法より混合法が、比較的陽性度が強く現れた。

第5節 沈澱子量による混合法と新混合法の比較

鳥瀉氏プレチピノメータで、人血清系及び

酵母多糖類系の結合帯部を混合法（抗原 2 cc + 抗体 2 cc）と新混合法（10倍濃厚抗原 0.2 cc + 抗体 2 cc）及び新混合法の反応 24 時間後、0.8 cc 食塩水を追加し、30 分後遠沈した。

第 9 表の人血清系は、毎分 3000、15 分間遠沈し、第 10 表の酵母多糖類系は、毎分 3000、

第 9 表 人血清系 混合法及、新混合法に於ける沈澱子量比較（反応 24 時間後）

	抗体		抗原					
	× 2500	× 10000	× 10	× 20	× 40	× 80	× 160	× 320
(混合法)	× 2500	× 10000	18.0	10.0	2.0	0.7	S. p.	0
	× 10000	× 25000	4.3	2.5	1.2	0.4	S. p.	0
	× 25000		2.0	1.0	0.8	0.3	S. p.	0
(新混合法)	(× 2500)	(× 10000)	25.0	18.0	4.3	1.2	0.3	S. p.
	(× 10000)	(× 25000)	6.0	4.0	2.0	1.0	0.3	S. p.
	(× 25000)		3.2	2.6	1.5	0.8	0.2	S. p.

（新混合法の反応 24 時間後、普通混合法の反応メチウムと同量となる様食塩水を追加し、30 分後、遠心した沈澱子量 ↓

	抗原					
	× 10	× 20	× 40	× 80	× 160	× 320
× 2500	19.0	14.0	2.5	0.5	S. p.	
× 10000	4.5	2.5	1.1	0.5	S. p.	
× 25000	1.4	1.0	1.0	0.4	S. p.	

第 10 表 酵母多糖類系

(抗原, 25000 倍)	× 5	× 10	× 25	× 50	× 100
(混合法)	8.1	5.4	1.8	S. p.	S. p.
(新混合法)	9.7	6.9	2.8	2.0	0.9
(新混合法反応終了後、食塩水追加)	7.6	6.0	2.2	S. p.	S. p.

30 分間遠沈成績で、何れも注入抗原抗体絶対量は同一であるが、沈澱子量は新混合法によれば混合法より多く、一方、新混合法で、反応後食塩水を追加し、混合法のメチウムと同量とする事により、沈澱子量は混合法と差を認めなかつた。

第 6 節 補体結合反応に於ける感作（補体結合期の）時間の検討

是迄の成績より、補体結合法の抗体価は沈降反応に比べ一稀釈劣る事が多い。

大田原教授は、抗原-補体-抗体を 37°C に 1 時間後更に低温 24 時間の結合法を<sup>11)</sup>、提唱

されたが同法では、時に抗体価が上昇し過ぎる事があつた。

従つて私は、結合時間を、37°C、1 時間と 0°C に 6 時間及び 24 時間の三法を、沈降反応と共に比較した。

第 1 項 人血清系

沈降反応の成績は重層法 = 250 : 250（抗体価 : 結合帯）新混合法 = 250 : 500 で、補体結合反応の比較成績は、第 11 表の如くである。

第 11 表 人血清系補体結合反応

時間	抗原	抗体稀釈					
		50	100	250	500	1000	K
1 時間	250	+++	++	-	-	-	-
	500	+++	++	-	-	-	-
	1000	+++	++	-	-	-	-
	2500	+++	+	-	-	-	-
	5000	+++	±	-	-	-	-
	10000	+++	±	-	-	-	-
	K	-	-	-	-	-	-
6 時間	250	+++	++	-	-	-	-
	500	+++	++	+	-	-	-
	1000	+++	++	+	-	-	-
	2500	+++	++	±	-	-	-
	5000	+++	+	±	-	-	-
	10000	+++	±	-	-	-	-
	K	-	-	-	-	-	-
24 時間	250	+++	++	+	-	-	-
	500	+++	+++	++	±	-	-
	1000	+++	+++	++	+	-	-
	2500	+++	+++	++	+	-	-
	5000	+++	+++	++	±	-	-
	10000	+++	+++	+	-	-	-
	K	-	-	-	-	-	-

第 2 項 牛血清系

沈降反応の成績は 重層法 = 500 : 5000 新混合法 = 500 : 5000 で、補体結合反応の比較成績は第 12 表の如くである。

以上人血清系及び牛血清系による補結法低温 6 時間で結合させた成績は沈降反応抗体価に一致し、結合帯も略々一致したが、この事は単一系に属する馬血清 Albumin, 牛血清 Globulin 系に於いても、同様な結果を得た。

第12表 牛血清系補体結合反応

時間	抗原	抗体稀釈					
		100	250	500	1000	2250	K
1時間	2500	—	—	—	—	—	—
	5000	卅	卅	—	—	—	—
	10000	卅	卅	—	—	—	—
	25000	卅	+	—	—	—	—
	50000	+	—	—	—	—	—
	100000	—	—	—	—	—	—
	K	—	—	—	—	—	—
6時間	2500	卅	卅	—	—	—	—
	5000	卅	卅	—	—	—	—
	10000	卅	卅	+	—	—	—
	25000	卅	卅	卅	—	—	—
	50000	卅	卅	+	—	—	—
	100000	卅	卅	—	—	—	—
	K	—	—	—	—	—	—
24時間	2500	卅	卅	卅	—	—	—
	5000	卅	卅	卅	—	—	—
	10000	卅	卅	卅	+	—	—
	25000	卅	卅	卅	卅	—	—
	50000	卅	卅	卅	卅	—	—
	100000	卅	卅	卅	卅	—	—
	K	—	—	—	—	—	—

#### 第4章 総括並に考按

私は緒方氏法に依る抗原抗体稀釈法を用い、蛋白質、Lipoid、多糖類系に就いて、沈降反応の重層法、混合法、新混合法及補体結合反応の抗体量測定を行い、同時に結合帯、反応域を比較した。

一方、沈澱子測定法に依り、混合法、新混合法の相互関係を明かにし又、補体結合反応に於ける補体結合時間の検討を行つた。

混合法の抗体価が重層法及新混合法より劣るのは比較的大容量の反応相内で反応が起こり、沈降物は反応媒に分散し一部は溶解する為と考えられる。

新混合法では混合法に於けると同数の抗原及び抗体分子が、略半量の反応媒中で、結合を起す為、より大なる絮状物を、速かに形成し、単位溶媒中の密度大となり、為に反応価は、混合法より殆ど2倍近くの強度で発現す

る。

一方重層法では反応が狭い界面部で互に対流接触して起り、沈降物は其所に集積し反応初期には拡散が殆どない為、混合法より反応価が強く出る。

亦補体結合法の抗体価は抗原-補体-抗体の感作が長時間である程、高く出る故 37°C, 1時間の感作では補体の結合が、不充分であると考えられる。

尚、補体結合反応の結合帯が沈降反応に比し抗原高稀釈側へ偏するのは、補体結合の性質上抗原稀薄域の結合が比較的強度に起こる為、結合帯の位置にも影響あるものと推定する。

従つて、各検査法の条件を、夫々適当にする事により、實際上抗体価は各法共一致させる事が出来る。

其れ故、本論文に記載された条件を用いる限り、各法の抗体価は略々一定である故、一法を以て他を推定出来る為、実用上至便な方法と考える。

#### 第5章 結 論

1) 新混合法を考案した。本法によれば抗原価及抗体価は、通常の混合法より一稀釈強く現れ、重層法の価と殆ど一致する。

2) 補体結合法は、補体感作を低温6時間とする事により、結合力の弱い抗体の場合には、抗体価を重層法と、一致させる事が出来る。

3) 同一免疫血清で、沈降反応の各法及び補体結合法の抗体価を一致させた場合には、結合帯は略一致する。

4) 結合帯は、蛋白質系、Lipoid系及び多糖類系共に、且単一系、複合系何れの場合も存在し、一方、稀釈法による抗体測定には、結合帯に於ける抗体価を以て標示すべきである。

5) 多糖類の沈降反応は蛋白質系、Lipoid系と趣きを異にし、混合法が重層法に比べ、比較的反応が強く、判定が容易と思われる。

終りに臨み終始御鞭撻御指導並に御校閲を賜つた



恩師緒方教授に対し、満腔の謝意を表す。  
尚、併せて種々御援助を頂いた岡大公衆衛生学教室緒方正名先生に深謝す。

本論文要旨は昭和26年及び昭和27年第61回及び第62回岡山医学会総会に於て発表した。

### 文 献

- |  |   |
|--|---|
| 1) Heiderberger, Kendall . J. Exp. Med, <b>50</b> , 809 (1929)             | 6) 橋谷：酵母学 103 頁 (昭 24)  |
| 2) 緒方益雄：第 1 回衛生学，微生物学，寄生虫病学，聯合会講演 (昭和 2)                                   | 7) Heiderberger, Kendall & Scharp J, Exp. med. <b>64</b> , 557 (1936) |
| 3) 広田：岡山医学会雑誌 50 年, 1 号, 11 (昭 13)   | 8) 奥：岡山医学会雑誌 53 年, 312 (昭 16)   |
| 4) Dean a Welb : J. path. Bact. <b>29</b> , 473 (1926)                     | 9) 内藤：岡山医学会雑誌 48 年, <b>12</b> , 2829 (昭 11)                           |
| 5) Arther G. Cole . Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. <b>30</b> , 1162 (1933) | 10) 橋谷：酵母学 98 頁 (昭 24)  |
|  | 11) 大田原：岡山医学会雑誌 51 年, 5 号, 1002 (昭 14)                                |

Department of Hygiene, Okayama University Medical School.  
(Director : Prof. M. Ogata)

## The Comparative Studies on Various Kinds of Antigen Antibody Reactions.

BY

Kuniya Inoue.-

The author studied relations among the antibody titer as well as reaction area in precipitin ring test, precipitin mixture test, new precipitin mixture test and complement-fixation test with various antigen antibody systems. The results were as follows .

- 1) The antigen titer and antibody titer by new method of precipitin mixture test are higher than that by usual method and equal to that of ring test.
- 2) The antibody titer of complement-fixation test incubated in refrigerator at 4°C. for 6 hours is nearly equal to that of ring test.
- 3) The "Bindungs Zone" never fails to appear in every antigen antibody reactions. (e. g. protein, lipid polysaccharide systems, simple and compound antigen systems.)
- 4) In polysaccharide system the antibody titer of precipitin mixture test proves higher than that of precipitin ring test in most cases.