

抗体及び抗原の実験的研究

第 1 篇

大腸菌 O 並びに H 型菌に依る免疫抗体加熱の影響について

岡山大学医学部衛生学教室 (主任: 緒方教授)

専攻生 佐々木 峻

〔昭和 29 年 5 月 18 日受稿〕

内 容 目 次

第 1 章 緒論及び文献

第 2 章 実験材料及び実験方法

第 1 節 免疫抗原

第 1 項 大腸菌 O 型菌

第 2 項 大腸菌 H 型菌

第 2 節 免疫動物

第 3 節 免疫方法

第 4 節 反応抗原

第 1 項 凝集原

第 2 項 沈降原

第 5 節 凝集反応及び判定方法

第 6 節 沈降反応及び判定方法

第 1 項 ウーレンフト氏法

第 2 項 緒方氏抗体稀釈法

第 3 章 実験成績

第 1 節 原免疫血清

第 1 項 凝集反応

第 2 項 沈降反応

第 2 節 他相の菌又は菌抽出濾液で吸収せる免疫血清

第 1 項 凝集反応

第 2 項 沈降反応

第 3 節 他相の菌で純粋に分離せる凝集素の凝集反応

第 4 節 前記凝集反応, 沈降反応のグラフ

第 4 章 考 察

第 5 章 結 論

第 1 章 緒論及び文献

従来抗原を加熱してその免疫抗体との間の抗原抗体反応は多くの人々に依つて研究されて来た。松井¹⁾, 守家²⁾, 渡辺³⁾, 山口⁴⁾, 河野⁵⁾, 佐藤⁶⁾, 窪田⁷⁾, 鳥瀉⁸⁾, 上田⁹⁾, 片岡¹⁰⁾, 高木¹¹⁾, 白玖¹²⁾, 大岩¹³⁾, 内田, 沼口¹⁴⁾等の報告がある。

他方抗体を加熱して抗原に対する反応についての研究は, 凝集反応について行つた実験として Joos¹⁵⁾, Orcutt¹⁶⁾, Jones¹⁷⁾ を始めとして本邦に於ては遠藤¹⁸⁾, 大和田¹⁹⁾, 日高²⁰⁾, 杉田²¹⁾, 中本²²⁾, 井上²⁶⁾, 窪田²³⁾, 水島²⁴⁾, 牧野²⁵⁾等幾多の報告がある。諸氏は凝集素には耐熱性のものと, 非耐熱性のものがあり, 前者は抗原の非耐熱性部分に反応するもの,

即ち H 凝集素で大体 72°~90°C で破壊され, 後者は耐熱性抗原 (O 抗原) に反応するもの O 凝集素で大体 60°~75°C で破壊されると報告している。然し之等の成績は何れも免疫血清を適当に稀釈して行つた実験結果であるが一方凝集素のみを純粋に分離した後之に就てその耐熱性を検した人々は松井²⁷⁾, 三輪²⁸⁾, 谷田貝²⁹⁾, 須の内³⁰⁾, 内田³¹⁾, 松岡³²⁾, 新宮³³⁾³⁴⁾等がある。上記諸家の成績に依れば分離凝集素の耐熱性も大体に於て免疫血清のそれと同様である。沈降素の耐熱性に関する研究は実に寥々たるものにして F. S. Jones³⁵⁾の成績がある。

即ち彼に依ればコレラ菌を用いて O, H 両家兎免疫抗体を得, この両抗体を加熱して凝集反応, 沈降反応を行つたが O 抗体は 75°C

20分加熱で殆んど免疫素を失い、H抗体は90°C 20分加熱で尚免疫素の残存を証明している。

私も亦大腸菌を用いて家兎を免疫しO、H両抗体を得、更に抗体を吸収或は分離して夫々の抗体の加熱に依る影響及び併せて凝集素、沈降素の呈する血清学的反応の一元性を追求し興味ある成績を得たので報告して大方の御批判を得たいと思う。

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 免疫抗原

免疫抗原は Kaufmann-Knipschild-Vahlue の抗原構造として No. 5 に相当する Coli-Strains を用いた。

第1項 大腸菌O型菌

Braun 及び Salmon³⁶⁾ は変型菌を石炭酸を加えた培養基に数代培養すると自然のO型に一致する人工的O型菌を得た。更に Braun 及び Schaffner³⁷⁾ は変型菌を石炭酸を加えた培養基に培養するか、又は栄養物貧弱なる培養基に培養すると人工的にO型菌を得ている。そこで余は1%石炭酸加寒天培養基に10数代継続培養せるものをO型菌として使用した。

第2項 大腸菌H型菌

Coli-Strains よりH型菌を得るには必ず肉汁で作った培地を用い而も寒天ならば乾燥しない様に厚い培地に培養する。Craigie³⁸⁾ は半流動寒天中に小ガラス管を入れた培地で鞭毛の発育の良い菌を選択する方法を報告している。そこで余は中試験管内に両端の開いている小試験管を入れ半流動寒天を小試験管の上端を越えざる如く分注し Coli-Strains を小試験管内に殖えると運動の強い菌体のみ小試験管を通過し中試験管の上縁迄這い上る。之を10数代継続培養すると Löffler 氏鞭毛染色に依り豊富に鞭毛を認めるH型菌を得た。

第2節 免疫動物

免疫動物としては体重 2.5~3kg の強健なる家兎を使用した。

第3節 免疫方法

第1節に於て得た免疫抗原大腸菌O型並びにH型菌を型の如く生理的食塩水 10cc に3白金耳の割に菌を平等に浮遊せる如き菌浮遊液を作り各々60°C 30分加熱して、最初0.2cc より始め順次増量し最高 4.0cc に達せしめる。4日間の間隔を置き家兎耳静脈内に注射し最後の注射日より8日目に頸動脈より完全滅菌操作の下に全採血し、得たる血清は 56°C 30分加熱非働性となし之に 0.5%の割に石炭酸を加え氷室内に保存した³⁹⁾。

第4節 反応抗原

第1項 凝集原

1. o 抗原

凝集原としての o 抗原を得るには食塩水菌浮遊液或はO型菌1白金耳の20時間ブイオン培養液を 100°C 2.5時間加熱するとか又種々の濃度の酸性アルコールで抽出したり或は石炭酸アルコールで抽出する等色々の方法がある⁴⁰⁾。

余は Coli strains の人工的O型菌を平板寒天上に18~24時間培養し生理的食塩水に濃厚に浮遊した菌液を作り之に1/2容量の無水アルコールを加え更に全量の 0.5%の割に石炭酸を加えて12~24時間 37°C に保つと上液が o 抗原浮遊液となる。之を保存して置き使用時には6倍に稀釈して用いた。

2. h 抗原

反応抗原としての h 抗原を得るには菌体を種々の濃度の酸性アルコールで抽出した分割を除いた菌体を75%の酸性アルコールで抽出しその抽出液を苛性ソーダ溶液中で中和すると蛋白陽性の分割が得られる。之が h 抗原として用いられる⁴⁰⁾。

又S型H型菌の20時間ブイオン培養液或は鞭毛を豊富に有するS型H型菌の食塩水浮遊液に 0.5%の割に局方ホルマリンを加えた菌浮遊液が h 抗原として用いられる。

余は Craigie の方法で得た普通寒天斜面培養基のS型H型菌を生理的食塩水に濃厚に浮遊した菌液に 0.5%の割に局方ホルマリンを加えた菌液を更に 37°C に24時間後更に室温

に1夜放置した菌液を氷室に保存し置き使用時にはo抗原と略々同等の混濁度に稀釈する。

第2項 沈降原

1. o 抗原

第1項1に於て得たo抗原をザイツ濾過器にて濾過した濾液をo沈降原として使用する。

2. h 抗原

第1項2に於て得たh抗原をザイツ濾過器にて濾過した濾液をh沈降原として使用する。

第5節 凝集反応及び判定方法

血清稀釈法は10倍、25倍、50倍の如く以下倍数稀釈を行う。

対照は血清の代りに稀釈用生理食塩水を等量用い、37°Cに2時間でH凝集を判定し後室温に1昼夜放置してO凝集を判定する。

尚本実験に於て卅は菌が完全に凝集沈澱し液が透明となつたもの、卅は凝集沈澱するも液が多少潤濁せるもの、+は凝集沈澱するも液が相当潤濁せるもの、±は辛うじて凝集を認めるもの、-は陰性にして対照と同じものである。

O凝集反応とH凝集反応との相違は次の通りである¹¹⁾。

O凝集反応	H凝集反応
1. 反応迅速に起る	徐々
2. 不均一な粗大雲架状の凝集塊	均一な微細顆粒状の凝集塊
3. 沈澱が多い	少い
4. 上液は潤濁している	透明
5. 軽く振ると沈澱は容易に上液に混入して対照と同じ様になる。即凝集塊が柔い	軽い振盪では仲々沈澱は上液に混入せず沈澱の上層丈が僅かに透明な上液へ移行するのみ凝集塊強固
6. 凝集反応は1夜後が著明	凝集反応は2時間後が著明

第6節 沈降反応及び判定方法

沈降反応検査法としてはウーレンフート氏法、緒方氏法を実施し室温2時間迄の成績により判定した。

第1項 ウーレンフート氏法

沈降原を生理食塩水を以て漸次稀釈し之を免疫血清に重層し接触面の白濁輪の有無を検する。15分以内に白濁輪の現れるを卅、30分以内を卅、1時間以内を卅、2時間以内を+、多少上層が濁つていて白濁輪の形成極めて弱く対照と明に違うものを±、対照と全く違わないものを-とする。以下ウ氏法と称す。

第2項 緒方氏抗体稀釈法

緒方教授¹²⁾が1927年始めて発表せられたる方法にして其の概要を述べれば免疫血清を1%アラビヤゴム生理的食塩水溶液をもつて通減的に稀釈し、其の各稀釈液の少量宛を沈降反應用小試験管に入れたるものを数列作り各列毎に通減的に稀釈度を異にせる沈降原生理的食塩水溶液を重層し、室温2時間の観察を行い接触面の白濁面の有無を検する。判定はウーレンフート氏法と同じ。

第3章 実験成績

第1節 原免疫血清

第1項 凝集反応

A) O型菌免疫抗血清と凝集原 o, h との凝集反応

其の成績は第1表の如くO抗体加熱65°C20分に於ては無加熱の場合に比べ凝集素の大半が破壊され75°Cに於ては殆んど完全に近い程度に於て又、90°C加熱に於ては完全に破壊された。

B) H型菌免疫抗血清と凝集原 o, h との凝集反応

第2表の如くH抗体加熱65°Cに於ては殆んど抗体は破壊されず、75°Cに於ては大半破壊されるも90°Cに於ては尚抗体の残存を認めた。

第2項 沈降反応

A) O型菌免疫抗血清と沈降原 o, h との沈降反応(ウ氏法)

第3表の如く75°C加熱に於ては殆んど破壊された。

B) H型菌免疫抗血清と沈降原 o, h との沈降反応(ウ氏法)

第 1 表 凝集反応 O型菌免疫抗血清

抗原	抗体稀釈		10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	対照
	抗体加熱														
o h	O 無 加熱		++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-
			+	+	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
o h	O 65°C 20' 加熱		+	++	+++	+++	+++	++	+	+	±	-	-	-	-
			+	+	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-
o h	O 75°C 20' 加熱		+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
o h	O 90°C 20' 加熱		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第 2 表 凝集反応 H型菌免疫抗血清

抗原	抗体稀釈		10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	対照
	抗体加熱														
o h	H 無 加熱		++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-
			++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	±	-
o h	H 65°C 20' 加熱		++	++	+++	+++	++	+	+	±	-	-	-	-	-
			++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-
o h	H 75°C 20' 加熱		+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			++	++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
o h	H 90°C 20' 加熱		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第 4 表の如く 75°C 加熱に於ても尚抗体の残存を認めるも 90°C に於ては完全に消失する。

C) O型菌免疫抗血清と沈降原 o, h との沈降反応 (緒方氏抗体稀釈法)

沈降反応ウ氏法に於ては尚 O, H 両抗体の加熱に対する関係が明瞭でないので緒方教授提唱の免疫抗体稀釈法を行つたが該反応に於ては凝集反応の成績と同じく 75°C に於ては殆んど完全に近い程度に又, 90°C 加熱に於ては完全に破壊された。その成績は第 5 表の如し。

D) H型菌免疫抗血清と沈降原 o, h との沈降反応 (緒方氏抗体稀釈法)

該反応に於ては凝集反応と同じく 75°C 加熱に於ては大半破壊されるも 90°C 加熱に於ても尚若干抗体の残存を認めた。その成績は第 6 表の通りである。

第 2 節 他相の菌又は菌抽出濾液で吸收せる免疫血清

第 1 項 凝集反応

A) O型菌免疫抗血清より H型菌で吸收せる残存抗体と凝集原 o, h との凝集反応

第 3 表 沈降反応 (ウ氏法) O 型菌免疫抗血清

抗体加熱	抗原稀釈		2	4	8	16	32	64	128	対 照
	抗 原	抗 原								
O 無 加熱	o		卅	卅	卅	卅	+	+	-	-
	h		卅	卅	卅	+	±	-	-	-
O 65°C 20' 加熱	o		卅	卅	+	+	±	-	-	-
	h		卅	+	+	±	-	-	-	-
O 75°C 20' 加熱	o		±	-	-	-	-	-	-	-
	h		±	-	-	-	-	-	-	-
O 90°C 20' 加熱	o		-	-	-	-	-	-	-	-
	h		-	-	-	-	-	-	-	-

第 4 表 沈降反応 (ウ氏法) H 型菌免疫抗血清

抗体加熱	抗原稀釈		2	4	8	16	32	64	128	256	対 照
	抗 原	抗 原									
H 無 加熱	o		卅	卅	卅	+	+	-	-	-	-
	h		卅	卅	卅	+	+	+	+	-	-
H 65°C 20' 加熱	o		卅	卅	+	±	-	-	-	-	-
	h		卅	卅	卅	卅	+	+	-	-	-
H 75°C 20' 加熱	o		±	±	-	-	-	-	-	-	-
	h		±	±	±	-	-	-	-	-	-
H 90°C 20' 加熱	o		-	-	-	-	-	-	-	-	-
	h		-	-	-	-	-	-	-	-	-

O 型菌免疫抗血清中には O 凝集素と H 凝集素のある事は前記原免疫抗血清の凝集反応より明らかであるので H 凝集素を出来る丈除き純粹なる O 凝集素の加熱による影響を調べんとして吸収試験を行い H 凝集素を除き凝集反応を行つたがその成績は第 7 表の如く H 凝集素は尚完全には吸収されなかつた。

吸収試験の方法は O 型菌免疫抗血清 2cc に H 型菌を 3 白金耳投入し孵甕に 2 時間放置し遠心沈澱し、更にその上清に H 型菌を 3 白金耳投入し、後孵甕に 2 時間放置し氷室に 1 夜保存す。之を毎分 4000 回転 15 分間遠心沈澱を

行いその上清を実験に供した。

B) H 型菌免疫抗血清より O 型菌で吸収せる残存抗体と凝集原 o, h との凝集反応

H 型菌免疫抗血清中には O 凝集素と H 凝集素のある事は前記 O 型菌免疫抗血清と同じであるので O 型菌免疫抗血清と対象的に吸収し実験に供した。その成績は第 8 表の通りである。

第 2 項 沈降反応 (ウ氏法)

A) O 型菌免疫抗血清より精製鞭毛浮游液で吸収せる残存抗体の沈降反応

第 5 表 沈降反応 (緒方氏法) O 型菌免疫抗血清

抗体稀釈度		1:2		1:4		1:8		1:16		1:32		1:64		対照
抗体加熱	抗原 稀釈度	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h	
無加熱	1	卅	卅	卅	卅	+	±	+	-	-	-	-	-	-
	2	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-	+	-	-	-	-
	4	卅	卅	卅	+	+	±	+	-	-	-	-	-	-
	8	卅	卅	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-
65°C20'	1	卅	卅	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	卅	卅	+	±	+	-	±	-	-	-	-	-	-
	4	卅	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75°C20'	1	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90°C20'	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第 6 表 沈降反応 (緒方氏法) H 型菌免疫抗血清

抗体稀釈度		1:2		1:4		1:8		1:16		1:32		1:64		対照
抗体加熱	抗原 稀釈度	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h	
無加熱	1	卅	卅	卅	卅	+	卅	-	+	-	-	-	-	-
	2	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	-	+	-	-	-
	4	卅	卅	+	卅	+	+	-	±	-	-	-	-	-
	8	卅	卅	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
65°C20'	1	卅	卅	卅	卅	±	+	-	±	-	-	-	-	-
	2	卅	卅	卅	卅	+	+	-	+	-	±	-	-	-
	4	卅	卅	+	+	-	+	-	±	-	-	-	-	-
	8	+	卅	-	+	-	±	-	-	-	-	-	-	-
75°C20'	1	±	±	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-
	2	±	±	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90°C20'	1	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

O 型菌免疫抗血清中には O 沈降素と H 沈降素のある事は前記原免疫抗血清の沈降反応より明であるので出来る丈純粋なる O 沈降素と

なし加熱に依る影響を調べるため吸収試験を行い H 沈降素を除いて沈降反応を行つたがその成績は第 9 表の通りである。

第7表 凝集反応(吸収後) O型菌免疫抗血清(H型菌に依り吸収された)

抗原	抗体稀釈		10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	対照
	抗体加熱												
o h	O 無 加熱		++	+	+++	+++	+++	++	+	+	±	-	-
			+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-
o h	O 65°C 20' 加熱		+	++	++	++	+	+	±	-	-	-	-
			+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-
o h	O 75°C 20' 加熱		±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
o h	O 90°C 20' 加熱		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第8表 凝集反応(吸収後) H型菌免疫抗血清(O型菌に依り吸収された)

抗原	抗体稀釈		10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	対照
	抗体加熱													
o h	H 無 加熱		+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
			++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-
o h	H 65°C 20' 加熱		+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			++	++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-	-
o h	H 75°C 20' 加熱		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			+	++	++	+	+	±	-	-	-	-	-	-
o h	H 90°C 20' 加熱		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

吸収試験の方法はO型菌免疫抗血清 1cc にH型菌鞭毛浮游液 1cc 混合, 孵育に2時間投入し氷室に24時間放置後遠心して上清を実験に供した。

H型菌鞭毛浮游液の製法⁴⁰⁾はH型菌18時間培養菌体を生理的食塩水で1回洗滌したものの濃厚な生理的食塩水浮游液を軽くホモゲナイザーにかけ 4000 R. P. M. 30分遠心沈澱した上清を1/2飽和硫酸沈澱を2回行つて蒸留水で透析したものである。

B) H型菌免疫抗血清より大腸菌O型菌の石炭酸アルコール抽出濾液で吸収せる

残存抗体の沈降反応

吸収試験の方法はH型菌免疫抗血清 1cc にO型菌の石炭酸アルコール抽出濾液 1cc を混合, 孵育に2時間投入し氷室に24時間放置後遠心して上清を実験に供した。

その成績は第10表の通りである。

第3節 他相の菌で純粹に分離せる凝集素の凝集反応

第1項 O型菌免疫抗血清よりH菌を用いて純粹に分離した抗体の凝集反応

他相の菌で吸収せる凝集素の中にも尚両相

第9表 沈降反応(吸收後)ウ氏法 O型菌免疫抗血清(鞭毛浮游液にて吸收された)

抗体加熱	抗原稀釈		2	4	8	16	32	64	対 照
	抗原								
O 無 加熱	o		++	++	+	+	±	-	-
	h		+	+	±	-	-	-	-
O 65°C 20' 加熱	o		++	+	+	±	-	-	-
	h		+	±	-	-	-	-	-
O 75°C 20' 加熱	o		-	-	-	-	-	-	-
	h		-	-	-	-	-	-	-
O 90°C 20' 加熱	o		-	-	-	-	-	-	-
	h		-	-	-	-	-	-	-

第10表 沈降反応(吸收後)ウ氏法 H型菌免疫抗血清(石炭酸アルコール抽出濾液にて吸收された)

抗体加熱	抗原稀釈		2	4	8	16	32	対 照
	抗原							
H 無 加熱	o		+	+	±	-	-	-
	h		++	++	+	+	-	-
H 65°C 20' 加熱	o		+	±	-	-	-	-
	h		++	++	+	+	-	-
H 75°C 20' 加熱	o		±	-	-	-	-	-
	h		±	±	-	-	-	-
H 90°C 20' 加熱	o		-	-	-	-	-	-
	h		-	-	-	-	-	-

の凝集素が若干残存しているのを完全に分離し凝集反応を試みた。

その方法は恩師緒方教授⁴⁴⁾に倣いO型菌免疫抗血清 1cc にO型菌18時間培養の寒天斜面培地 5本を生理食塩水中に平等に浮游し60°C 30分加熱後生理食塩水で3回洗滌した最後の沈渣を加えて孵甕に3時間放置しO型菌とO凝集素を結合せしめ、次いで之を遠心沈澱しこの沈渣を3回生理食塩水で洗滌し10%蔗糖液 1cc ^N/₁₀苛性ソーダ溶液 0.1cc を加え、

42°C の重盪煎に保つ事3時間、之を遠心しその上清に0.85%の割に食塩を加えpH. を7.0に修正し之を原液として夫々加温して凝集反応を試みた。その成績は第11表の通りである。

O凝集素のみ完全に分離され65°C 20分加熱に於て原液に比しO凝集素の大半が破壊され75°Cに於ては完全に破壊された。

第2項 H型菌免疫抗血清よりO型菌を用いて純粹に分離した抗体の凝集反応

第1項に於て実施した方法と対象的な方法を以て凝集素を分離した。

その成績は第12表の通りでH凝集素のみ完全に分離され90°C加熱に於ても尚若干凝集素の残存を認めた。

第4節 前記凝集反応、沈降反応のグラフ

前記凝集反応、沈降反応をグラフで図示すれば第13、第14表の通りである。

第4章 考 察

抗体の熱に依る抗体価の変動については熱に依る蛋白の破壊と密接な関係がある。

この事については Chick and Martin (1910年) 及び Lewis (1926-b) に依つて研究されている。

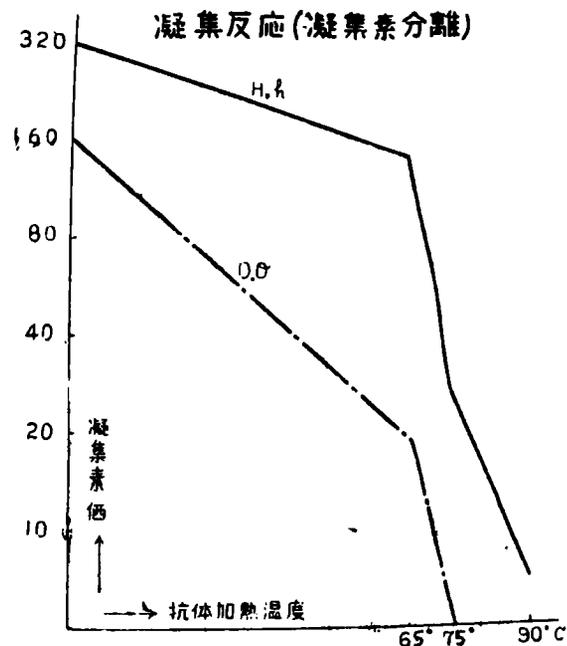
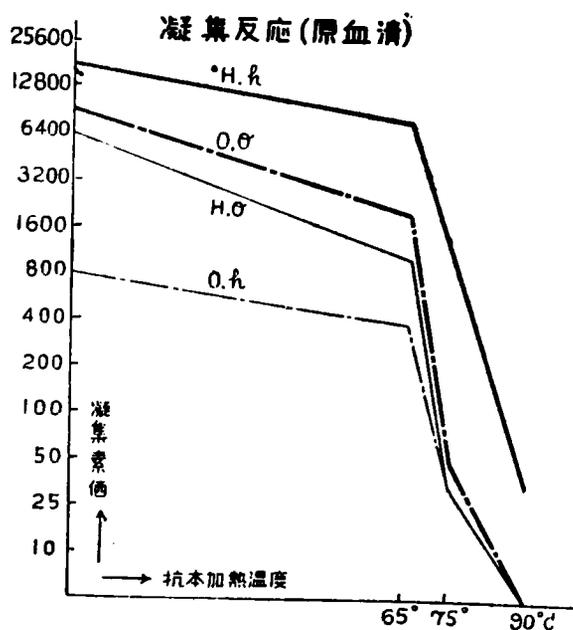
第 11 表 凝集反応（純粋分離後） O 型菌免疫抗血清よりの分離抗体

抗 原	抗体希釈	10	20	40	80	160	320	対 照
	抗体加熱							
o h	O 無 加熱	++	++	++	+	+	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
o h	O 65°C 20' 加熱	++	+	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
o h	O 75°C 20' 加熱	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
o h	O 90°C 20' 加熱	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-

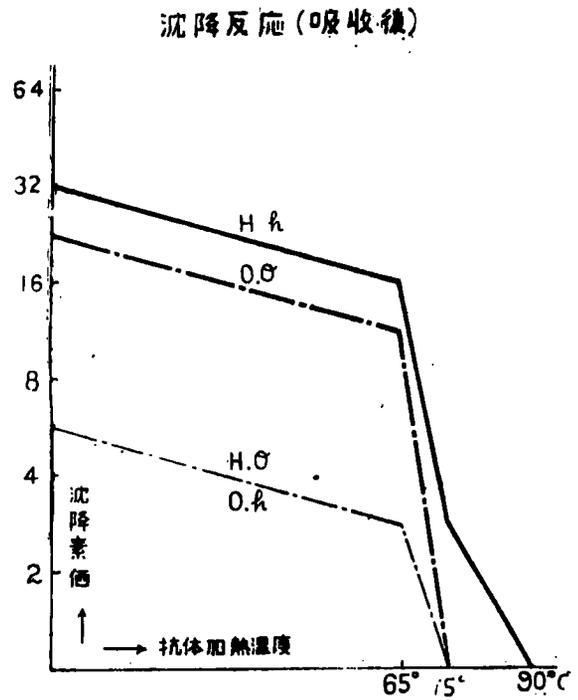
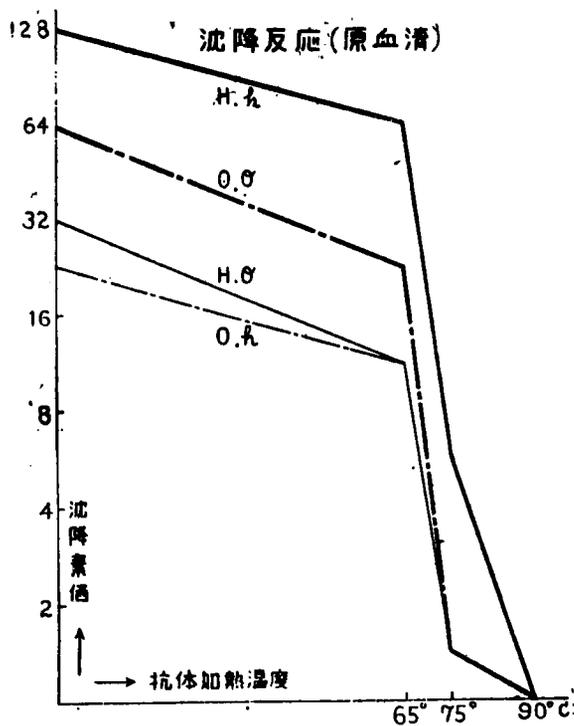
第 12 表 凝集反応（純粋分離後） H 型菌免疫抗血清よりの分離抗体

抗 原	抗体希釈	10	20	40	80	160	320	640	対 照
	抗体加熱								
o h	H 無 加熱	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	++	++	+	+	+	-	-
o h	H 65°C 20' 加熱	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	++	+	+	+	-	-	-
o h	H 75°C 20' 加熱	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	±	-	-	-	-	-	-
o h	H 90°C 20' 加熱	-	-	-	-	-	-	-	-
	±	-	-	-	-	-	-	-	-

第 13 表 凝 集 反 応 (グ ラ フ)



第14表 沈 降 反 応 (グラフ)



尚氏等は蛋白の変性は中性の時が熱に依る影響力が最も少いと報告している⁴⁾。

ともあれ抗体を加熱すると60°C 20分に於て抗体価を減少し75°C 加熱に於てO, H両抗体の間に著明な相違が認められる。

全実験を通じて吾人の看取せらるゝはO凝集素は75°Cで殆んど抗体を消失しH凝集素は90°Cに於ても尚若干の抗体を残存する。

一方ウ氏沈降反応に於てはO, H両抗体に於ても90°C 加熱に於ては全然抗体の残存を認めず。然るに緒方氏法に於てはH抗体に於て極めて軽微なるも抗体の残存を認めた。

即ち凝集素の熱に依る凝集価の消長とウ氏法沈降反応の沈降素価の消長はO凝集価と略々相似の関係を認めるがH凝集価とは平行せず。

然るに凝集反応と検査様式を全く同じうせる緒方氏法沈降反応の沈降素価とは平行するを見た。斯くも其の成績の一致するは凝集素及び沈降素を別物としては到底理解し能わざる所である。由来凝集素と沈降素の異同に就いては盛に論議せられたるも未だ帰一するに至らざるも凝集素、沈降素の熱に対し其の消

長を一にする所より見れば兩者一元のものと思考される。

第5章 結 論

1. 大腸菌抗原には易熱性のものと耐熱性のものがあるが、之等を家兎に免疫して生ずる抗体の熱に対する関係は免疫抗原とは全く逆の関係を示した。

2. 耐熱性抗原を以て免疫して出来た抗体は65°C 20分加熱に於て、その凝集素、沈降素を大半失い、75°C に於ては殆んど破壊され、90°C に於ては完全に破壊された。

3. 易熱性抗原を以て免疫して出来た抗体は65°C 20分加熱に於てその凝集素、沈降素を若干失い、75°C に於ては大半破壊されるも90°C に於ても尚若干の抗体の残存を認める。

4. 尚この両抗体を加熱しての凝集反応、沈降反応(緒方氏法)は抗体の消長が兩者略々平行に認められる。

従つて凝集素と沈降素は恐らく一元的のものと思われる。

(本論文の要旨は昭和28年第63回岡山医学会総会

に於て発表した)

摺筆に臨み恩師緒方教授の御懇篤なる御指導と御

校閲の勞に対し謹んで深謝す。尙御指導御助言を賜
わりたる大田原教授に敬意を表す。

文 献

- 1) 松井：日本鉄道協会雑誌，7巻，38，88，133，大正10年。東京医事新誌，大正7年。
- 2) 守家：日本微生物学会雑誌，第15巻，大正10年。
- 3) 渡辺：細菌学雑誌，第313号，大正10年。
- 4) 山口：千葉医専校雑誌，第147号，大正11年。
- 5) 河野：満洲医学雑誌，第3巻，大正14年。
- 6) 佐藤：衛生学伝染病学雑誌，第19，20巻，大正14年。
- 7) 窪田：衛生学伝染病学雑誌，第23巻，昭和2年。
- 8) 鳥湯：Kotopräcipitinogene und Kotoimmuno-gene 1917.
- 9) 上田：日本微生物学会雑誌，第16巻，大正11年。
- 10) 片岡：東京医学会雑誌，第36巻，大正13年。
- 11) 高木：Zeitschr. f. Immunitätf., Bd. 47, 1926, S. 431.
- 12) 白玖：岡山医学会雑誌，第41年，第1号。
- 13) 大岩：岡山医学会雑誌，第46年，第8号。
- 14) 内田，沼口：岡山医学会雑誌，第63年，第5号。
- 15) Joos · Zbl. Bacter. I orig. 33, 762, 1903.
- 16) Orcutt · J. exper. med. 40, 627, 1924.
- 17) Jones · J. exper. med. 46, 291, 1927.
- 18) 遠藤：細菌学雑誌，32号，415，明治31年。
- 19) 大和田：細菌学雑誌，103号，301，明治39年。
- 20) 日高：細菌学雑誌，132号，737，明治39年。
- 21) 杉田：細菌学雑誌，317号，85，大正11年。
- 22) 中本：衛生学伝染病学雑誌，20巻，515，大正14年。
- 23) 窪田：衛生学伝染病学雑誌，23巻，昭和2年。
- 24) 水島：北海道医学会雑誌，11巻，昭和8年。
- 25) 牧野：朝鮮医学会雑誌，29巻，昭和14年。
- 26) 井上：日本微生物学雑誌，18巻，大正13年。
- 27) 松井：日本鉄道協会雑誌，7巻，38，88，133，大正10年。
- 28) 三輪：衛生学伝染病学雑誌，17巻，179，大正11年。
- 29) 谷田貝：細菌学雑誌，354号，570，大正14年。
- 30) 須之内：岡山医学会雑誌，41年，1740，昭和4年。
- 31) 内田：成医会雑誌，46巻，237，252，昭和2年。
- 32) 松岡：朝鮮医学会雑誌，18巻，昭和3年。
- 33) 新宮：朝鮮医学会雑誌，19巻，249，昭和4年。
- 34) 新宮：朝鮮化学会会報，9巻，7，43，昭和13年。
- 35) F. S. Jones · J. Exp. med. Vol. 46, P. 291, 1927—a.
- 36) Braun u. Salmon · Zitrach Hofmeicer in zeitsch. f. immunitäts. Bd. 50, S. 71, 1927.
- 37) Braun u. Schalffer · Berl. kl. W. Bd. 18, S. 409, 1919.
- 38) Craigie, J.: Studies on the serological reactions of the flagella of *B. typhosus*. Vol. 21, 1931, P. 417 ; 細菌学実習提要 P. 254.
- 39) M. Ogata Zeitschrift für Immunitäts forschung orig. Bd. 39, 1924. Heft 3.
- 40) P. B. White J. path. Bact. Vol. 36, 77, 1932. Vol. 36, 65, 1933.
- 41) 中村 豊：細菌学免疫学検査法，P. 958.
- 42) 緒方：第1回衛生学，微生物学，寄生虫学会演説，昭和2年。
- 43) 福見秀雄，内田久雄：電子顕微鏡，2巻，2号，P. 42.
- 44) J. R. Marrack · Medical research council. The chemistry of Antigens and Antibodies.

Dep. of Hygiene, Okayama University Medical School.
(Director. . Prof. Dr. M. Ogata)

Experimental study of Antibody and Antigen
Report I. The effect of heat on antibody for O and H
formal colibacilli

By

K. Sasaki

There are thermolabile and thermostabile antigen in colibacilli antigen, but the correspondence for heat of antibodies which was obtained from immune rabbit with them was quite contrary when compared with the correspondence for heat of antigens.

Antibody which was immunized with thermostabile antigen lost half its agglutinin and precipitin by heating for 20 minutes at 65°C and these substances were almost destroyed at 75°C and completely at 90°C.

While, antibody which was immunized with thermolabile antigen lost a little their strength by heating for 20 minutes at 65°C and these substances were almost destroyed at 75°C, but were noticed being remained a little even at 90°C.

Agglutination and precipitation (Ogata Method) of O and H antibody were noticed being diminished in parallel with heat.

Therefore, agglutinin and precipitin are considered to be both unitary.
