

抗体及び抗原の実験的研究

第 2 篇

糖類の大腸菌免疫抗体加熱に依る抗体破壊阻止作用及び 大腸菌抗原加熱に依る影響について

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 緒論並びに文献	第 3 章 実験成績
第 2 章 実験材料及び実験方法	第 1 節 抗体加熱の場合
第 1 節 免疫抗体	第 1 項 凝集反応
第 2 節 反応抗原	A) 大腸菌 O H 原免疫血清
第 1 項 凝集反応原	B) 糖類溶解大腸菌 O H 免疫血清
第 2 項 沈降反応原	第 2 項 沈降反応
第 3 節 凝集反應用抗体稀釈メヂウム	A) ウーレンフート氏法
第 1 項 生理的食塩水	B) 緒方氏抗体稀釈法
第 2 項 葡萄糖水溶液	第 2 節 抗原加熱の場合
第 3 項 蔗糖水溶液	第 1 項 大腸菌 O H 原免疫血清
第 4 節 沈降反應用稀釈メヂウム	第 2 項 糖類溶解大腸菌 O H 免疫血清
第 1 項 抗原稀釈メヂウム	A) 6% 葡萄糖末溶解大腸菌 O H 免疫血清
第 2 項 抗体稀釈メヂウム	B) 9% 蔗糖末溶解大腸菌 O H 免疫血清
第 5 節 凝集反応	第 4 章 考察及び総括
第 6 節 沈降反応	第 5 章 結 論
第 1 項 ウーレンフート氏法	
第 2 項 緒方氏抗体稀釈法	

第 1 章 緒論並びに文献

血清蛋白は加熱すると凝固する。而して之を冷却しても凝固した蛋白は再び溶解する事はない。此の様な凝固現象を昔から蛋白質の変性と呼んでいる。然し蛋白質の凝固が必ずしも蛋白質変性の本質ではなく寧ろ凝固が起る前に何か本質的な変性が起る事が知られている。而して蛋白変性と抗体の破壊とはその間に密接な関係がある。

Chick and Martin (1912 年) や Lewis

(1926—b) は蛋白質変性の度合は pH. 中性に於て最小である。即ち 7.0 附近が最小であると報告している。

一方蛋白の加熱変性は塩類 (Jordan-Lloyd 1926 年) や高濃度のグリセリン及び蔗糖 (Beilinson 1929 年) によつて阻止される事が分つた。Streng (1909 年) は 2N 以上の塩類の濃度で凝集素の破壊を阻止し又 Silber や Demidowa (1932 年)¹⁾ は普通の濃度のグリセリン、高濃度の蔗糖で抗体の破壊を阻止している²⁾。

緒方教授³⁾等は蔗糖添加により補体は56°C 1時間加熱に於ても非働化しない事を報告している。血清蛋白の熱凝固を葡萄糖が阻止する事に関しては Silber u. schafraan⁴⁾等及び永田⁵⁾の報告があり、更に緒方一望月⁶⁾の比濁計を用いての業績がある。又波多野⁷⁾も補体について各種糖類及び高級アルコールを添加する事に依つて補体を高温に加熱しても其の非働化が阻止される事を証明している。

抗原加熱に於ては Eisenberg u. Volk⁸⁾はチフス菌を加熱して凝集反応を検し60°C~62°Cにて破壊する作業簇と少くとも165°Cにては不変の耐熱性結合簇を区別し、加熱菌の凝集力の減退を作業簇の破壊に帰した。Schaller⁹⁾は95°C以上の加熱チフス菌は寧ろ被凝性の回復する事を報告し世の視聽を惹いた。Porges¹⁰⁾¹¹⁾も亦同事実を証明し其の原因を70°C~80°Cにては菌体は「プロテイン」膨化の為菌液の安定性著しく高まり、従つて菌の被凝性は減弱するも再び100°C加熱により「プロテイン」の加水分解の為安定性を減じ被凝性を回復するものとした。

然し Shiga¹²⁾ u. Neißer¹³⁾等はチフス菌加熱による被凝性の減弱を菌体より受体の遊離に帰し、100°C加熱により再び上昇するは遊離受体の破壊する為とした。

本邦に於ても松井¹⁴⁾は60°C加熱菌は既に其の被凝性を減じ80°Cに於て最も其の度著しく、100°C一時間加熱に至れば却つて少く回復する事を述べたるも、守家¹⁵⁾は70°C~80°C加熱チフス菌は凝集反応を呈さず、90°C加熱により稍々発現し125°Cに至り更に増強し、被凝性減弱の理を阻止性物質の阻止作用と凝集原の結合能力減弱に帰した。

尚渡辺、杉田¹⁶⁾、山口¹⁷⁾、河野¹⁸⁾、佐藤¹⁹⁾、中本²⁰⁾等も同様60°C加熱にては変化なきも65°Cより被凝性減じ、80°C最も著しく、90°Cより回復し始め、100°C2~3時間が最もよく回復すると云つている。而してこの原因としては凝集原には耐熱性と非耐熱性があり、後者は加熱に依り変化し粘液状物質と

なり保護膠質作用により耐熱性凝集原の被凝作用を阻止し加熱100°C1時間に依り之等の性質を失うものとせり。

細菌性沈降原の加熱による被沈降性の変化に関する研究は凝集原のそれに比し著しく少く、Winterberg²¹⁾はチフス菌肉汁培養の無菌性濾液を煮沸水中に20~30分間加熱せば、沈降性著しく減じ、又同濾液に20倍の無水アルコールを加えて濾過し其の濾紙を生食水を以てよく洗滌し、後アルコールを蒸発せしめ、之を抗原として沈降性を検するに是亦減弱する²²⁾。

余は先に抗体加熱に於て抗体破壊の態度を研究したが今回は糖類の熱による抗体破壊阻止作用及び抗原加熱の影響について実験を行つたので茲に報告する次第である。

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 免疫抗体

免疫元としては Kaufmann-Knipschild-Vahlne の抗原構造として No. 5 に相当する Coli-Strains の S 型 O H 菌の生食水浮游液を60°30分加熱して型の如く家兎に免疫して生じた血液より分離した血清を免疫抗体として使用した。

本実験にはこの原血清と、原血清中に6%の割に葡萄糖末、9%の割に蔗糖末を溶解した血清を使用した。

第2節 反応抗原

第1項 凝集反応原

1. o 抗原

上記免疫元を0.1%石炭酸加寒天培地に培養したる人工的O型菌の60°30分加熱の食塩水浮游液を使用した²³⁾。

2. h 抗原

Craigie の方法で得た鞭毛を豊富に有するS型H型菌の60°30分加熱の生食水浮游液を使用した²⁴⁾。

第2項 沈降反応原

1. o 抗原

上記凝集反応o抗原を濾過した濾液をo沈降原として使用した。

2. h 抗原

上記凝集反応 h 抗原を濾過した濾液を h 沈降原として使用した。

第3節 凝集反应用抗体稀釈メヂウム

第1項 生理的食塩水

食塩水をメヂウムとする時は生理的食塩水を使用す。

第2項 葡萄糖水溶液

葡萄糖水溶液をメヂウムとする時は略々等調となる様 6% 葡萄糖水溶液を使用す。

第3項 蔗糖水溶液

蔗糖水溶液をメヂウムとする時は略々等調となる様 9% 蔗糖水溶液を使用す。

第4節 沈降反应用稀釈メヂウム

第1項 抗原稀釈メヂウム

抗原稀釈には生食水を使用した。

第2項 抗体稀釈メヂウム

1. 食塩水

0.85% 食塩水に 1% の割にアラビアゴムを加えたものを使用す。

2. 葡萄糖水溶液

6% 葡萄糖水溶液に 1% の割にアラビアゴムを加えたものを使用す。

3. 蔗糖水溶液

9% 蔗糖水溶液に 1% の割にアラビアゴムを加えたものを使用す。

第5節 凝集反応

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夫々稀釈用水を等量に用い、37°C に 2 時間放置後 H 凝集を、室温に 1 夜放置後 O 凝集を判定する。

第6節 沈降反応

第1項 ウーレンフート氏法

沈降原を生食水で倍数稀釈し、之を生食水、6% 葡萄糖水溶液、9% 蔗糖水溶液で 2 倍に稀釈した免疫血清に重層し白濁輪を判定する。

第2項 緒方氏抗体稀釈法

緒方教授²⁵⁾の発表せられた方法で免疫血清を 1% の割にアラビアゴムを加えた生食水、6% 葡萄糖水、9% 蔗糖水溶液を以て倍数稀

釈し、之に対し沈降原を上記の如く稀釈重層し白濁輪を判定する。

第3章 実験成績

大腸菌 O H 原免疫血清、及びこの中に葡萄糖、蔗糖を夫々 6%、9% の割に溶解せる免疫血清を 65°C、75°C、85°C、90°C に重層煎中で夫々 20 分加熱して抗体稀釈メヂウムを生食水、6% 葡萄糖水溶液、9% 蔗糖水溶液並びに此等メヂウム中に 1% の割にアラビアゴムを溶解した溶液として凝集反応、沈降反応を行つた成績及びこの際抗原を加熱した場合の実験成績を以下記述する。

第1節 抗体加熱の場合

第1項 凝集反応

A) 大腸菌 O H 原免疫血清

1) 稀釈メヂウム；生理的食塩水

抗体は大腸菌 O H 原免疫血清、抗原は o 抗原として大腸菌 O 型菌生食水浮游液、h 抗原として H 型菌生食水浮游液を夫々 60°30 分加熱した溶液、抗体稀釈メヂウムは生食水とする。

この場合の凝集反応の成績は第 1 表の通りで o 抗原に反応する O 凝集素は 75°C で破壊されるも、h 抗原に反応する H 凝集素は 90°C に於ても尚抗体の残存を認める。

2) 抗体稀釈メヂウム；6% 葡萄糖水溶液

抗体、抗原は共に A) 1) と同じであるが稀釈メヂウムを 6% 葡萄糖水溶液とした場合は O 凝集素は 85°C 加熱に於ても尚残存し、H 凝集素は 90°C 加熱に於ても凝集力価が前者に比へ 10 倍上昇したがその成績は第 2 表の通りである。

3) 抗体稀釈メヂウム；9% 蔗糖水溶液

抗体、抗原は共に A) 1) と同じであるが稀釈メヂウムを 9% 蔗糖水溶液とした場合も A) 2) と略々同様抗体破壊を阻止しているが幾分低い様である。成績は第 3 表の通りである。

B) 糖類溶解大腸菌 O H 免疫血清

1) 抗体稀釈メヂウム；生理的食塩水

抗体は大腸菌 O H 原免疫血清に 6% の割に

第1表 凝集反応(原免疫血清)(抗体稀釈メヂウム生理的食塩水)

抗原	抗体稀釈			抗体加熱												対照
	無	加	熱	5	10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	
o h	無	加	熱	+	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-
				++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+	-
o h	65°C	20'	"	+	+	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
				+	+	++	++	+++	++	+	+	+	+	-	-	-
o h	75°C	20'	"	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				+	+	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
o h	85°C	20'	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
o h	90°C	20'	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第2表 凝集反応(原免疫血清)(抗体稀釈メヂウム6%葡萄糖水溶液)

抗原	抗体稀釈			抗体加熱												対照	
	無	加	熱	5	10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800		25600
o h	無	加	熱	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-	-
				++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	±	-
o h	65°C	20'	"	++	++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
				++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-
o h	75°C	20'	"	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-	-	-
o h	85°C	20'	"	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				++	++	++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
o h	90°C	20'	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第3表 凝集反応(原免疫血清)(抗体稀釈メヂウム9%蔗糖水溶液)

抗原	抗体稀釈			抗体加熱												対照	
	無	加	熱	5	10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800		25600
o h	無	加	熱	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-	-
				++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	±	-
o h	65°C	20'	"	++	++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
				++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-
o h	75°C	20'	"	++	++	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-	-
o h	85°C	20'	"	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				++	++	++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
o h	90°C	20'	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				++	++	++	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-

葡萄糖末を加えた血清, 抗原はo抗原として
大腸菌O型菌生食水浮游液, h抗原として

大腸菌H型菌食塩水浮游液を夫々60°30分加
熱した溶液, 抗体稀釈メヂウムは生食水とす

る。この場合の凝集反応は A) 1) に比べ O H 凝集力価は 90°C 加熱に於て 2 倍上昇した凝集力価は抗体加熱 75°C に於て 2 倍上昇し、
H 凝集力価は 90°C 加熱に於て 2 倍上昇したがその成績は第 4 表の通りである。

第 4 表 凝集反応 (6% 葡萄糖添加免疫血清) (抗体稀釈メヂウム生理的食塩水)

抗 原	抗体稀釈			抗体加熱												対照
	5	10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800				
o h	無	+	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-		
	加 熱	+	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+	-		
o h	65°C 20'	+	+	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
	"	+	+	++	++	+++	++	+	+	+	+	-	-	-		
o h	75°C 20'	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	+	+	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
o h	85°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-		
o h	90°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

2) 抗体稀釈メヂウム; 6% 葡萄糖水溶液
抗体, 抗原は共に B) 1) に同じ, 抗体稀
釈メヂウムは 6% 葡萄糖水溶液, この場合は
A) 2) に比べ O 凝集素は 85°C 加熱に於て 2
倍, H 凝集素は 90°C に於て 2 倍上昇したが
其の成績は第 5 表の通りである。

第 5 表 凝集反応 (6% 葡萄糖添加免疫血清) (抗体稀釈メヂウム 6% 葡萄糖水溶液)

抗 原	抗体稀釈			抗体加熱												対照
	5	10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600			
o h	無	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-	-		
	加 熱	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	±	-	-		
o h	65°C 20'	++	++	+++	+++	+++	++	+	+	±	-	-	-	-		
	"	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-		
o h	75°C 20'	++	++	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-		
	"	++	++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-		
o h	85°C 20'	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	++	++	++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-		
o h	90°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-		

3) 抗体稀釈メヂウム; 生理的食塩水
抗体は大腸菌 O H 原免疫血清に 9% の割に
蔗糖末を加えた血清, 抗原は B) 1) に同じ。
抗体稀釈メヂウムは生理的食塩水。
この場合の凝集反応の凝集力価は B) 1) と
殆んど同じであるが若干低い様である。
その成績は第 6 表の通りである。

4) 抗体稀釈メヂウム; 9% 蔗糖水溶液
抗体, 抗原は共に B) 3) と同じで抗体

稀釈メヂウムは蔗糖水溶液。

この場合の凝集反応の力価は B) 2) と殆
んど同等なるも若干低い様である。
その成績は第 7 表の通りである。

第 2 項 沈降反応

A) ウーレンフト氏法

ウ氏法に於ては抗体を夫々異なる稀釈メヂ
ウムで 2 倍に稀釈して実験した。

1) 抗体稀釈メヂウム; 生理的食塩水

第6表 凝集反応(9%蔗糖添加免疫血清)(抗体稀釈メヂウム生理的食塩水)

抗原	抗体稀釈			抗体加熟												対照
	5	10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800				
o h	無	+	++	+++	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-		
	加熟	+	++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	-		
o h	65°C 20'	+	+	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
	"	+	+	++	++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-		
o h	75°C 20'	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	+	+	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
o h	85°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
o h	90°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

第7表 凝集反応(9%蔗糖添加免疫溶血清)(抗体稀釈メヂウム9%蔗糖水溶液)

抗原	抗体稀釈			抗体加熟												対照
	5	10	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600			
o h	無	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	-	-		
	加熟	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	±	-		
o h	65°C 20'	++	++	+++	+++	+++	++	+	+	±	-	-	-	-		
	"	++	++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	-	-	-		
o h	75°C 20'	++	++	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-		
	"	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-	-		
o h	85°C 20'	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	++	++	++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-		
o h	90°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	"	++	++	++	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-		

抗体は大腸菌OH原免疫血清, 抗原は凝集ムは生理的食塩水.
 反作用のOH両抗原の濾液, 抗体稀釈メヂウム この場合の沈降反応は第8表の通りで。抗

第8表 沈降反応(ウ氏法)(原免疫血清)

抗体稀釈	抗体加熟	抗原稀釈						対照
		抗原	2	4	8	16	32	
生理的食塩水 2倍稀釈	無	o	+++	++	+	-	-	
	加熟	h	+++	+++	++	+	-	
"	65°C 20'	o	+++	++	+	-	-	
	"	h	+++	+++	++	±	-	
"	75°C 20'	o	-	-	-	-	-	
	"	h	±	±	-	-	-	
"	85°C 20'	o	-	-	-	-	-	
	"	h	-	-	-	-	-	
"	90°C 20'	o	-	-	-	-	-	
	"	h	-	-	-	-	-	

原に反応するO沈降素は75°Cで破壊されるも、h抗原に反応するH沈降素は75°Cで尚抗体が残存する。

2) 抗体稀釈メヂウム; 6%葡萄糖水溶液
この沈降反応の成績は第9表の通りで A) 1) に比べO, H沈降素価は共に上昇する。

第9表 沈降反応(ウ氏法)(原免疫血清)

抗体稀釈	抗体加熱	抗原稀釈		2	4	8	16	32	64	対照
		抗原	抗体							
6%葡萄糖水 2倍稀釈	無 加熱	o	+	+++	+++	++	±	-	-	-
		h	+	+++	+++	++	±	-	-	-
"	65°C 20'	o	+	+++	+++	+	-	-	-	-
		h	+	+++	+++	+	+	±	-	-
"	75°C 20'	o	+	+	±	-	-	-	-	-
		h	+	+	±	-	-	-	-	-
"	85°C 20'	o	-	-	-	-	-	-	-	-
		h	-	-	-	-	-	-	-	-
"	90°C 20'	o	-	-	-	-	-	-	-	-
		h	-	-	-	-	-	-	-	-

3) 抗体稀釈メヂウム; 9%蔗糖水溶液
抗体抗原共に A) の 1) 2) と同じであるが抗体稀釈メヂウムは9%蔗糖水溶液。

この場合の沈降反応の成績は第10表の通りで A) 2) に比べ沈降素の耐熱性は若干低い様である。

第10表 沈降反応(ウ氏法)(原免疫血清)

抗体稀釈	抗体加熱	抗原稀釈		2	4	8	16	32	64	対照
		抗原	抗体							
9%蔗糖水 2倍稀釈	無 加熱	o	+	+++	++	++	±	-	-	-
		h	+	+++	+++	++	±	-	-	-
"	65°C 20'	o	+	+++	++	+	-	-	-	-
		h	+	+++	+++	+	+	±	-	-
"	75°C 20'	o	+	+	±	-	-	-	-	-
		h	+	+	±	±	-	-	-	-
"	85°C 20'	o	-	-	-	-	-	-	-	-
		h	-	-	-	-	-	-	-	-
"	90°C 20'	o	-	-	-	-	-	-	-	-
		h	-	-	-	-	-	-	-	-

B) 緒方氏抗体稀釈法
ウーレンフト氏法では凝集反応に比べ糖類の抗体破壊阻止力が明瞭でないので緒方氏法を用いて沈降反応を行った。抗体稀釈は夫々の抗体稀釈メヂウムで稀釈し、抗原は共に生食水で稀釈した。

1) 抗体稀釈メヂウム; 1%アラビアゴム加生理的食塩水

抗体は原血清、稀釈メヂウムは1%アラビアゴム加生食水、抗原はウ氏法抗原を共通に用い、稀釈メヂウムは生理的食塩水を用いる。

この沈降反応は術式に於て凝集反応と同じ方法であるのでO凝集反応に於ては抗体加熱75°Cに於て尚若干抗体の残存を認め、H凝集反応に於て90°C加熱に於て軽微ながら抗体の残存を認める様である。その成績は第11

85°C 20'	2	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	4	-	-	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-
"	8	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90°C 20'	2	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第2節 抗原加熱の場合

大腸菌O型菌及び大腸菌H型菌の60°30分加熱した生食水浮游液を無加熱の抗原と見做し、之等を夫々60°C 2時間、80°C 1時間、100°C 1時間、100°C 2時間加熱した場合の加熱抗原の抗体に及ぼす影響を実験したが、O抗原を加熱した時は80°C 1時間以上の加熱によりその被凝性を減弱し、100°C 2時間加熱にて回復するも、h抗原を加熱した時は温度の上昇と共に被凝性を減弱するものゝ様である。

抗体は第1節に於て述べたる如き大腸菌

O H原免疫血清、及びこの中に糖類を溶解せる免疫血清を各温度に加熱せるものを使用した。

第1項 大腸菌 O H 原免疫血清

1) 抗体稀釈メヂウム；生理的食塩水

成績は第14表の通りで、O抗原は無加熱の場合最も良く被凝性を有し60°C 2時間加熱に於て稍々減弱し、80°C 1時間、100°C 1時間共に減弱するも100°C 2時間に於てその被凝性を回復する。

然れどもh抗原は加熱温度の上昇及び時間の延長と共に減弱する一方である。

第14表 凝集反応(大腸菌OH原免疫血清)(抗体稀釈メヂウム生理的食塩水)

抗原 \ 抗体	無 加 熱		60°C 2時間		80°C 1時間		100°C 1時間		100°C 2時間	
	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h
無 加 熱	3200(+)	6400(+)	1600(+)	3200(+)	400(+)	1600(±)	400(+)	400(+)	1600(+)	200(+)
65°C 20'	400(+)	1600(+)	400(±)	400(+)	100(±)	100(+)	100(±)	50(+)	400(±)	25(+)
75°C 20'	25(+)	400(+)	10(+)	200(+)	5(±)	50(+)	5(±)	25(+)	10(±)	10(±)
85°C 20'	5(-)	100(+)	5(-)	50(±)	5(-)	25(±)	5(-)	10(±)	5(-)	5(±)
90°C 20'	5(-)	10(+)	5(-)	5(+)	5(-)	5(-)	5(-)	5(-)	5(-)	5(-)

2) 抗体稀釈メヂウム；6%葡萄糖水溶液
抗体稀釈メヂウムを6%葡萄糖水溶液とせる場合抗体無加熱の場合に於てもその凝集力価が稍々上昇する様である。加熱の場合に於

ても抗体破壊を阻止する力を現わしている。

抗原加熱の場合には1)に記す如き影響を全般的に及ぼしている。成績は第15表の通りである。

第15表 凝集反応(大腸菌OH原免疫血清)(抗体稀釈メヂウム6%葡萄糖水溶液)

抗原 \ 抗体	無 加 熱		60°C 2時間		80°C 1時間		100°C 1時間		100°C 2時間	
	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h
無 加 熱	6400(+)	12800(±)	3200(+)	6400(±)	800(+)	3200(±)	800(+)	800(+)	3200(+)	400(+)
65°C 20'	800(+)	3200(+)	400(+)	1600(+)	100(+)	400(+)	100(+)	200(+)	400(+)	100(+)
75°C 20'	100(+)	1600(+)	50(+)	400(+)	25(±)	200(+)	25(+)	50(+)	50(+)	25(+)
85°C 20'	10(+)	800(+)	5(+)	400(±)	5(-)	100(+)	5(-)	25(+)	5(±)	10(+)
90°C 20'	5(-)	100(+)	5(-)	50(±)	5(-)	10(+)	5(-)	5(+)	5(-)	5(-)

3) 抗体稀釈メヂウム; 9%蔗糖水溶液 及び抗原の熱に対する態度は 2) と殆んど同成績は第16表の通りで糖の抗体破壊阻止力 様である。

第16表 凝集反応(大腸菌OH原免疫血清)(抗体稀釈メヂウム 9%蔗糖水溶液)

抗原 抗体	無 加 熱		60°C 2時間		80°C 1時間		100°C 1時間		100°C 2時間	
	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h
無 加 熱	6400(±)	12800(±)	3200(±)	6400(±)	800(+)	3200(±)	800(±)	800(±)	3200(±)	400(±)
65°C 20'	800(+)	3200(+)	400(+)	1600(+)	100(+)	400(+)	100(+)	200(±)	400(+)	100(±)
75°C 20'	100(±)	1600(+)	50(±)	400(+)	25(±)	200(+)	25(+)	50(+)	50(±)	25(±)
85°C 20'	10(±)	800(+)	5(±)	400(±)	5(-)	100(+)	5(-)	25(±)	5(±)	10(±)
90°C 20'	5(-)	100(±)	5(-)	50(±)	5(-)	10(±)	5(-)	5(±)	5(-)	5(-)

第2項 糖類溶解大腸菌OH免疫血清

成績は第17表の通りであり第1項 1) に比べ抗原の熱に対する態度も糖類の抗体破壊阻止力に依り影響を被っている。即ち幾分被凝性の上昇を現わしている。

A) 6%葡萄糖末溶解大腸菌OH免疫血清
大腸菌OH原免疫血清中に6%の割に葡萄糖末を溶解した。

1) 抗体稀釈メヂウム; 生理的食塩水

第17表 凝集反応(6%葡萄糖添加免疫血清)(抗体稀釈メヂウム 生理的食塩水)

抗原 抗体	無 加 熱		60°C 2時間		80°C 1時間		100°C 1時間		100°C 2時間	
	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h
無 加 熱	3200(+)	6400(+)	1600(+)	3200(+)	400(+)	1600(±)	400(+)	400(+)	1600(+)	200(+)
65°C 20'	400(+)	1600(+)	400(±)	400(+)	100(±)	100(+)	100(+)	50(+)	400(±)	25(+)
75°C 20'	50(+)	400(+)	25(+)	200(+)	10(+)	100(±)	10(+)	25(+)	25(+)	10(±)
85°C 20'	5(-)	200(±)	5(-)	100(±)	5(-)	50(±)	5(-)	25(±)	5(-)	5(+)
90°C 20'	5(-)	25(+)	5(-)	10(+)	5(-)	5(+)	5(-)	5(-)	5(-)	5(-)

2) 抗体稀釈メヂウム; 6%葡萄糖水溶液 成績は第18表の通りであり第1項 2) に比べ被凝性の上昇を現わしている。

第18表 凝集反応(6%葡萄糖添加免疫血清)(抗体稀釈メヂウム 6%葡萄糖水溶液)

抗原 抗体	無 加 熱		60°C 2時間		80°C 1時間		100°C 1時間		100°C 2時間	
	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h
無 加 熱	6400(±)	12800(±)	3200(+)	6400(±)	1600(±)	3200(+)	1600(±)	1600(±)	3200(+)	800(±)
65°C 20'	1600(±)	3200(+)	800(±)	1600(+)	200(±)	800(±)	200(±)	400(+)	800(±)	200(±)
75°C 20'	200(±)	1600(+)	100(±)	800(±)	25(+)	400(±)	25(+)	200(±)	100(±)	50(±)
85°C 20'	25(+)	800(+)	10(+)	400(+)	5(+)	100(+)	5(+)	50(±)	10(±)	25(±)
90°C 20'	5(-)	200(+)	5(-)	100(±)	5(-)	25(±)	5(-)	10(±)	5(-)	5(-)

B) 9%蔗糖末溶解大腸菌OH免疫血清
大腸菌OH免疫血清中に9%の割に蔗糖末を溶解した。

成績は第19表の通りで第1項 1) に比べ幾分被凝性の上昇を来し第2項 A) 1) と略々同じ成績である。

1) 抗体稀釈メヂウム; 生理的食塩水

第19表 凝集反応(9%蔗糖添加免疫血清)(抗体稀釈メヂウム生理的食塩水)

抗原 抗体	無 加 熱		60°C 2時間		80°C 1時間		100°C 1時間		100°C 2時間	
	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h
無 加 熱	3200(+)	6400(+)	1600(+)	3200(±)	400(+)	1600(±)	400(+)	400(+)	1600(+)	200(+)
65°C 20'	400(+)	1600(+)	400(±)	400(+)	100(±)	100(+)	100(±)	50(±)	400(±)	25(±)
75°C 20'	50(±)	400(+)	25(±)	200(+)	10(+)	100(±)	10(+)	25(±)	25(±)	10(±)
85°C 20'	5(-)	100(+)	5(-)	50(+)	5(-)	25(±)	5(-)	10(+)	5(-)	5(+)
90°C 20'	5(-)	25(±)	5(-)	10(±)	5(-)	5(±)	5(-)	5(-)	5(-)	5(-)

2) 抗体稀釈メヂウム; 9%蔗糖水溶液 凝性の上昇を見る。第2項 A) 2) と略々同成績は第20表の通りで第1項 3) に比べ被じ成績である。

第20表 凝集反応(9%蔗糖添加免疫血清)(抗体稀釈メヂウム 9%蔗糖水溶液)

抗原 抗体	無 加 熱		60°C 2時間		80°C 1時間		100°C 1時間		100°C 2時間	
	o	h	o	h	o	h	o	h	o	h
無 加 熱	6400(±)	12800(±)	3200(+)	6400(±)	1600(±)	3200(+)	1600(±)	1600(±)	3200(+)	800(±)
65°C 20'	1600(±)	3200(+)	800(±)	1600(+)	200(±)	800(±)	200(±)	400(+)	800(±)	200(±)
75°C 20'	200(±)	1600(+)	100(±)	800(±)	25(+)	400(±)	25(+)	200(±)	100(±)	50(±)
85°C 20'	25(±)	800(+)	10(+)	400(+)	5(+)	100(+)	5(+)	50(±)	10(±)	25(±)
90°C 20'	5(-)	200(±)	5(-)	100(±)	5(-)	25(±)	5(-)	10(±)	5(-)	5(-)

第4章 考察及び総括

1925年 Grineff²⁶⁾は腸チフス菌及び其の免疫血清を以て実験し凝集反應用メヂウムとして非電解質たる含水炭素溶液を食塩水メヂウムに代用し得ると主張し、青井²⁷⁾は凝集反應用メヂウムとして含水炭素溶液を使用する場合は特に生菌を反応原とせば非特異性沈澱を生ずるが故に凝集反応は被覆せらるゝ事あるを以て生食水に代うるを得ず、然れどもメヂウム中に塩類を含有する糖液は非特異性沈澱を惹起せずと云えり²⁸⁾。

抗体に糖類溶液を加えて加熱した場合は之等糖類溶液が保護膠質として作用し変性により蛋白分子のペプチッド結合がほぐれて互に側鎖の活性基によつて重合する事を阻止し其の結果膠質粒子の聚合状態の変化を或る程度迄阻止するものと考えられ²⁹⁾、惹いては免疫素の破壊を阻止するものと考えられる。

波多野³⁰⁾は糖類の補体非働化阻止作用は一見其の分子中に含まれる炭素分子の数に比例して強くなる様に考えられるが、其の溶解度にも比例する傾向があると述べている。余の

場合に於ては9%蔗糖水より6%葡萄糖水が幾分抗体破壊阻止力が強い様であつた。

抗原を加熱した場合にあつてはo抗原は無加熱の場合最も良く被凝性を有し60°C 2時間加熱に於て稍々減弱し、80°C 1時間、100°C 1時間共に減弱するも100°C 2時間に於てその被凝性を回復した。

然し乍らh抗原に在つては加熱温度の上昇及び時間の延長と共に減弱する一方である。

第5章 結 論

1. 各種糖類を加えて抗体を加熱した場合糖類は保護膠質として加熱により血清蛋白が変性重合して膠質粒子の聚合状態に変化が起る事を阻止し、抗体の破壊を阻止するものと思われる。

2. 糖類の抗体破壊阻止作用は9%蔗糖水より6%葡萄糖水の方が強い様である。

3. 抗体を糖水溶液で稀釈して加熱するより予め抗体に糖類を添加溶解して加熱する方が一段と阻止作用を有する様である。

4. 抗原を加熱しての凝集反応に於てはo抗原は80°C以上の加熱により其の被凝性を

減弱し100°C 2時間加熱にて其の被凝性を回復するがh抗原は加熱温度の上昇、加熱時間の延長と共に減弱する。

5. 凝集反応、沈降反応に於て抗体稀釈メヂウムは生理的食塩水に代うるに糖水溶液を

以てする事が出来る。

擧筆に臨み恩師緒方教授の御懇篤なる御指導と御校閲の労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) Silber u. Demidowa Ebenda. Bd. 77, S. 514, 1932.
- 2) J. R. Marrach Medical research council. The chemistry of Antigens and Antibodies.
- 3) 緒方, 大川, 緒方(正): 岡山医学会雑誌, 59年, 23号, 昭和22年.
- 4) Silber u. Schafran Zeitschr. f. Imm. Bd. 77, S. 514, 1932.
- 5) 永田: 第54回岡山医学会総会演説, 昭和18年2月.
- 6) 緒方(正), 望月 岡山医学会雑誌, 60年, 148頁, 昭和23年.
- 7) 29) 30) 波多野: 広島医学, 6巻, 11号, 618頁, 1953年.
- 8) Eisenberg u. Volk Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 155, 1902.
- 9) Schaller Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, S. 694, 1904.
- 10) Porges . Ebenda , Bd. 41, S. 466, 1906.
- 11) Porges · Wien. med. Wochensch., No. 23, 1927.
- 12) Shiga Zeitschr. f. Hyg ; Bd. 41, S. 355, 1902.
- 13) Neisser : Centralbl. f. Bakt ; Bd. 36, 1904.
- 14) 松井: 東京医事新誌, 大正7年.
- 15) 守家: 日本微生物学会雑誌, 第15巻, 353頁, 大正10年.
- 16) 杉田: 細菌学雑誌, 大正11年.
- 17) 山口: 千葉医専校雑誌, 第147号, 大正11年.
- 18) 河野: 滿洲医学雑誌, 第3巻, 大正14年.
- 19) 佐藤: 衛生学伝染病学雑誌, 第19, 20巻, 大正14年.
- 20) 中本: 衛生学伝染病学雑誌, 第20巻, 大正14年.
- 21) Winterberg : Zeitschr. f. Hyg ; Bd. 32, S. 375, 1899.
- 22) 白玖: 岡山医学会雑誌, 41年, 1号, 昭和4年.
- 23) 24) 佐々木: 第63回岡山医学会総会演説. 昭和28年.
- 25) 緒方 · 第1回衛生学, 微生物学, 寄生虫学会演説, 昭和2年.
- 26) Grineff Centralbl. f. Bakt. Ref ; Bd. 79, S. 350, 1925.
- 27) 青井: 細菌学雑誌, 395号, 51頁, 昭和4年.
- 28) 桑名: 第40回岡山医学会総会演説, 昭和4年.

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

Experimental study of Antibody and Antigen.

Report II. The inhibitory action of various saccharides on the destruction of antibody for collibacillus by heating and the effect of antigen for collibacillus by heating.

By

K. Sasaki

It seems to me that when antibody was heated after various saccharides was added to it, saccharides inhibit the change of gathering condition of kolloid particle after the dena-

turation and heaping up of serum protein and therefore inhibit the destruction of antibody.

It seems that in the intensity of the inhibitory action of destruction of antibody of saccharides, 6% glucose water solution is stronger than 9% sugar water solution.

It seems that it has stronger inhibitory action to heat antibody after adding sugar to it beforehand than to heat antibody after dilute it with sugar water solution.

In agglutination after heating of antigen, o antigen diminishes its agglutination's titer in overheating than 80°C and recovers its strength in 2 hours heating at 100°C, while h antigen diminishes its agglutination's titer in ascending of heating temperature and together with prolonging the heating hour.
