

## 47.

612.017.12 : 615.761.61

## 免 疫 反 應 ニ 及 ボス 尿 素 ノ 影 韻

(第 4 報)

## 尿 素 溶 液 ニ 於 ケ ル 抗 體 分 離 ニ 就 テ

岡山醫科大學衛生學教室(主任緒方教授)

醫 學 士 松 葉 章 一

## 第1章 緒 言

免疫血清中ヨリ各種抗體ヲ純粹ノ状態ニ於テ取り出ス事ハ免疫體ノ性狀攻克ハ勿論、實地治療上ニ於テモ必要ニシテ往古ヨリ抗體ノ分離ニ關シテハ幾多ノ研究、業績ノ發表セラレタル所ナリ。1897年 Widal u. Sicard<sup>1)</sup>ハ細菌凝集素血清ヲ硫酸「アンモン」ニテ處置スルトキハ、沈降セル血清「グロブリン」中ニ多量ノ抗體ノ含有セラルルヲ認メ。1900年 Landsteiner<sup>2)</sup>ハ蛋白沈降剤ニヨリテ血清「グロブリン」ト共ニ溶血素ヲ沈澱セシムルコトニ成功セリ。然レドモ蛋白沈降剤ヲ以テ抗體ヲ純粹ノ状態ニ得ルコトハ困難ナルヲ以テ有形ノ抗原ニ抗體ヲ結合セシメ然ル後抗體ヲ分離スル生物學的分離法企圖セラレ此處ニ抗體分離上一大進歩ヲ來セリ。現今分離「メデウム」トシテ蒸溜水、蔗糖、葡萄糖ノ如キ無鹽「メデウム」及ビ高張或ハ低張ノ鹽「メデウム」使用セラレ満足スペキ結果續々發表セラレタリ。而シテ各種抗體ノ分離「メデウム」トシテハ無鹽「メデウム」ハ鹽「メデウム」ヨリ好適ナルガ如シ。余ハ生理的食鹽水及ビ5%高張食鹽水ヲ以テ諸種ノ尿素溶液ヲ作リ分離「メデウム」トシテ各種免疫體ヲ分離セルニ満足スペキ成績ヲ得タルヲ以テ茲ニ報告セント欲ス。

## 第2章 文 獻

1897年 Widal u. Sicard ハ細菌凝集素血清ニ

「硫酸アンモン」ヲ加ヘテ「アルブミン」ト「グロブリン」トニ分チ、此際沈降セル血清「グロブリン」中ニ多量ノ凝集素ノ存在セルヲ發見セリ。次ニ Winterberg<sup>3)</sup>ハ前記兩氏ノ實驗ヲ追試シテ同一成績ヲ得タリト報告セリ。又 Pick<sup>4)</sup>及ビ Gibson<sup>5)</sup>ハ抗腸「チフス」菌免疫血清ヲ硫酸「アンモン」ニテ處置セルニ抗腸「チフス」菌凝集素ヘ主トシテ「ブソイドグロブリン」ト共ニ沈降スル事ヲ認メタリ。1900年 Landsteiner ハ溶血素ヘ「グロブリン」部中ニ存在スト述べ Meyer<sup>6)</sup>ハ血清ノ「グロブリン」部ニ溶血素ハ附着ス。而シテ透析ニヨリテモ又「硫酸アンモン」ニヨリテモ「グロブリン」ノ一定部分ニ制限スルコトハ不可能ナリトイヘリ。Arlo<sup>7)</sup>ハ之ニ反シテ炭酸ヲ用キテ溶血素ハ「グロブリン」沈澱物中ニ溶血素ヲ證明セズト述べタリ。Liebemann u. Fenyvesy<sup>8)</sup>ハ抗豚溶血素血清3ccヲ56°Cニテ非酶性トナシ 5%豚血球6ccト混ジ45分間37°Cニ加温シ遠心沈澱シタルモノヲ生理的食鹽水ヲ以テ凝集セル塊リヲ振盪スルコトナク洗ヒ N/100ノ酸3ccヲ加ヘ分離シ N/100苛性「ソーダ」ヲ以テ中和シ溶血素分離ニ成功セリ。而シテ分離液ハ Biuret 氏反應及ビ Sulfosalicylsäure, Ferrocyanikaliumヲ以テ檢セルニ蛋白反應ナシトイヒ、分離液ハ透析ニヨリテ純粹化セリ。濃厚ナル酸ハ溶血素ヲ破壊ストイヘリ。然ルニ Pietro Rondoni<sup>9)</sup>ハ Liebermann u. Fenyvesy<sup>8)</sup>

ノ方法ニヨルト鹽酸ハ血球ヲ破壊スト述べ又抗體ヲモ破壊スルヲ以テ眞ノ意味ノ抗體分離ニハ非ズトシ氏ハ生理的食鹽水=「稀苛性ソーダ」ヲ添加シテ溶血素ヲ分離セリ。以上ノ如ク抗體分離ハ始メAusfällungsmethode ナリシモ Ausziehungs-methode トナリ分離「メデウム」モ酸、「アルカリ」ナリシモ 1918年小酒井氏<sup>10</sup>ニヨリテ分離「メデウム」トシテ 10% ノ蔗糖溶液ヲ使用セラレシヨリ抗體分離法ハ一大進歩ヲ來セリ。小酒井氏ハ Piero Rondoni ノ方法ハ「アルカリ」モ亦酸同様溶血反應=影響シ分離セル溶血素ヲ純粹化シ能ハザリキト述べ抗山羊溶血素ヲ 10% 蔗糖溶液ヲ用キテ溫度及ビ分離時間ヲ種々ニ變化シテ溶血素ノ殆ド全量ヲ分離セリ。次テ古畠氏<sup>11</sup>ハ血球凝集素ノ分離緒方氏<sup>12</sup>ハ抗大腸菌凝集素ノ分離ニ成功セラレタリ。最近我が教室ニ於ケル抗體分離ニ關スル業績ヲ觀ルニ景山氏<sup>13</sup>ハ小酒井氏法ニ則リ Forssman 氏抗體ノ分離ヲ試ミテ成功シ、須之内氏<sup>14</sup>ハ蒸溜水「メデウム」ニヨリテ血清沈降素ヲ分離シ、更ニ生理的食鹽水「メデウム」ニヨリテ各種抗體ノ分離セラルルコトヲ發表セリ。次テ白玖氏<sup>15</sup>ハ抗大腸菌血清ヲ以テ感作セル大腸菌ヨリ細菌沈降素ヲ分離シ同時ニ凝集素、溶菌素、補體結合性抗體、過敏性抗體ヲ分離シ得コルトヲ認メタリ。藤間氏<sup>16</sup>ハ海猿免疫血清中ノ細菌沈降素ヲ分離シ大岩氏<sup>17</sup>ハ補體ノ分離ニ成功セリ。桑名氏<sup>18</sup>ハ高張食鹽水 8.5% ヲ用キテ溶血素ヲ分離セシニ高張食鹽水ハ分離「メデウム」トシテ沈降素、細菌凝集素ノ分離ニ適スルモ溶血素、F. 氏抗體、血球凝集素ノ分離ニハ適セズトイヘリ。之等先學者ノ研究ニヨレバ抗體分離ニ際シテハ分離「メデウム」ト分離時溫度ガ重大ナル意義ヲ有スルコトヲ知レリ。而シテ分離「メデウム」トシテハ蔗糖溶液又ハ蒸溜水ノ如キ無鹽「メデウム」ガ最適ナルモノノ如ク、食鹽水及ビ酸又ハ「アルカリ」、「メデウム」モ亦分離可能ナルヲ知ル。然ノ抗體分離ニ及ボス影響ニ就テハ各研究者ノ成績必ズシモ一致セズ。又分離「メデウ

ム」ノ異ナルニ從ヒテ溫熱モ其ノ適度ヲ異ニス。 Pietro Rhndoni ハ「アルカリ」、「メデウム」ニ依ル抗體分離ニ際シテハ 0°C—37°C 迄ハ其ノ分離度ニ差異ヲ認メズトナシ、之ニ反シテ Landsteiner 及ビ小酒井氏ノ如キハ抗體分離度ニ分離「メデウム」加溫ニ正比例スルモノナリト云ヘリ。緒方教授ハ N/100「ナトロンラウゲ」ヲ添加セル 10% 蔗糖溶液「メデウム」トスルトキハ其ノ分離度ハ 37°C—55°C = 於テ著明ナル差異ヲ認メズ。42°C—45°C ガ最適ナリト。古畠氏モ血球凝集素分離ニ際シ加溫ノ抗體分離ニ關スル影響ヲ検シタルニ緒方教授ト同様ナル成績ヲ得タリ。須之内氏ハ蒸溜水「メデウム」ニ於ケル血清沈降素分離ニ際シテ分離時「メデウム」ノ溫度ニ 53°C—55°C ガ最適ナリト認メ食鹽水「メデウム」ニ於テハ抗體ノ分離度ハ「メデウム」ノ加溫度ト共ニ上昇シ 65°C ノ場合ガ分離度最大ナリトイヘリ。桑名氏ハ高張食鹽水及ビ蒸溜水ヲ分離「メデウム」トシテ使用セルニ沈降素血清ニ於テハ 65°C = 於テ高張食鹽水及ビ生理的食鹽水ハ分離度最大ニシテ蒸溜水ハ著シク不良ナルヲ認メタリ。安原氏<sup>19</sup>ハ「アルカリ性」「メデウム」ニ於テハ分離溫度ハ 45°C ガ最適ナリト述べタリ。次ニ抗體分離ニ於ケル最適當抗原量モ亦分離度ニ重大ナル意義ヲ有スルモノニシテ須之内氏ハ血清、沈降素ノ分離ニ際シ抗原タル血清粉末量ハ分離抗體量ニ著シク關係ヲ有スルモノナルヲ述べ、白玖氏ハ細菌沈降素及ビ細菌凝集素ノ分離ニアタリ抗原最適當量ヲ各血清ニ就テ案出セリ。桑名氏ハ沈降素ノミナラズ、凝集素、溶血素、F. 氏抗體等ノ分離ニ就テ抗原量ノ影響ヲ精査シ各種抗體共ニ抗原量ハ分離抗體量ニ著シキ關係ヲ有スルコトヲ實證シ最適當抗原量ヲ一定方式ニヨリテ算出セリ。余ハ本研究ニ於テ抗體ト結合スペキ最適當抗原量ハ略ボ桑名氏ノ一定方式ニ則リ生理的食鹽水尿素「メデウム」及ビ 5% 食鹽水尿素「メデウム」ヲ使用シ各種ノ溫度ヲ作用セシメ各溫度ニ於ケル抗體分離度ヲ相比較シ併セテ從來賞用セラレタル無鹽

「メヂウム」ヲ以テスル分離法トノ間ニ於ケル優劣ニツキ論及セリ。

### 第3章 實驗材料並ニ方法

#### 第1節 免疫及ビ實驗材料

免疫動物トシテハ體重 2,000—2,500 g の健康ナル家兎ヲ選ビ免疫元トシテハ牛血清、大腸菌、山羊血球、豚血球、海猿腎ヲ用キ、免疫元注射ハ總テ耳靜脈ニ行ヘリ、牛血清ハ新鮮ナルモノヲ使用シ、1回量 1—2 cc ヲ 3 日ノ間隔ヲ置キテ數回注射シ、免疫價ノ上昇ヲ待チ最後ノ注射ヨリ 6—8 日頃ニ全採血シ血清ヲ分離シ氷室ニ貯ヘ、常ニ清澄ナルモノヲ使用セリ。山羊血球及ビ豚血球ハ脱纖維後數回生理的食鹽水ヲ以テ洗滌シ 10% 生理的食鹽水浮游液ヲ作リ、1回量 2—3 cc ヲ 3 日ノ間隔ヲ置キテ數回免疫シ最後ノ注射ヨリ 6—8 日後全採血ヲナシ血清分離後 56°C 30 分間加溫、非効性トナシ氷室ニ保存セリ。大腸菌ハ 18 時間寒天斜面培養ノモノ 3 白金耳ヲ生理的食鹽水 10 cc = 浮游セシメ、60°C 2 時間加溫殺菌セルモノヲ 1 回ノ注射量 2—3 cc ヲ 3 日ノ間隔ヲ置キテ注射シ十數回免疫セリ。F. 氏抗體ヲ得ルタメニハ全滲血セル海猿腎ノ皮膜脂肪ヲ除去シ 10%，生理的食鹽水乳剤ヲ作リ「ガーゼ」ニテ濾過シ濾液 2—3 cc ヲ 3 日ノ間隔ヲ置キテ數回注射セリ。尿素ハ日本第 2 藥局方ノ純尿素ヲ使用セリ。

#### 第2節 反應検査法

##### 第1項 沈降反應検査法

余ハ總テ本實驗ニ於テヘ緒方氏抗體稀釋法ヲ用キ、結合帶ニ於ケル沈降素ノ結合並ニ分離度ヲ検セリ。沈降反應検査時間ハ抗原重疊後 15 分、30 分、1 時間、2 時間ニ於テ行ヒ、15 分後白色輪環ヲ形成セルモノヲ（卅）30 分後形成セルモノヲ（卅）1 時間後及ビ 2 時間後ニ形成セルモノヲ夫々（+）、（+）然ラザルモノヲ（—）トナセリ。

##### 第2項 溶血反應

溶血原トシテハ新鮮ナル山羊血球ヲ脱纖維後生

理的食鹽水ヲ以テ 5 回洗滌シタルモノヲ用キ、補體ヘ新鮮ナル海猿補體ヲ用キ、溶血素血清ヲ遞降的ニ稀釋シ、之ト平行シテ溶血原及ビ補體ノ濃度ヲ遞降的ニ稀釋セル場合最モヨク反應スル所謂結合帶ヲ以テ結合並ニ分離度ヲ検シタリ。而シテ溶血素、補體、溶血原ヘ各 1 cc ヲ混和振盪シ、37°C ノ孵卵器中ニ 2 時間置キテ後氷室ニ入レ 24 時間後其ノ成績ヲ判定シ其ノ溶血ノ程度ニヨリ（卅）、（卅）、（+）、（+）、（—）ヲ以テ表シタルモ結合並ニ分離度ハ完全溶血（卅）ヲ以テ標準トシタリ。

#### 第3項 血球凝集反應

血球凝集反應トシテハ豚血球ヲ用キ、溶血反應同様結合帶ニ於テ血球凝集素及ビ凝集原ヲ各々 1 cc 混和振盪シ 2 時間 37°C = 保チ一晝夜氷室ニ入レテ後成績ヲ判定シ、各凝集程度ニヨリテ（卅）、（卅）、（+）、（+）、（—）ヲ以テ表シタルモ血球凝集反應ニ於テハ結合並ニ分離度ハ（+）迄ヲ以テセリ。

#### 第4項 細菌凝集反應

18 時間寒天培養ノ大腸菌 3「ノルマルエーゼ」ヲ採リ之ヲ 10 cc ノ生理的食鹽水中ニ浮游セシメ 60°C ノ重湯煎中ニテ 2 時間殺菌シタル後遠心沈澱シ上清 4 滴宛ヲ免疫血清ノ遞降的稀釋液ヲ盛レル試驗管ニ滴加シ 37°C ノ孵卵器中ニ入レ居ル事 2 時間ノ後取り出シ翌朝迄氷室ニ入レ然ル後成績ヲ判定セリ。

### 第4章 實驗

#### 第1節 抗體ノ結合及ビ分離方法

沈降素、細菌凝集素、溶血素、血球凝集素、F. 氏抗體ノ分離ニアタリテハ一定量ノ抗原ト抗血清ヲ混合後一定時間 37°C ノ孵卵器ニ納メ抗原、抗體ヲ結合セシメ遠心沈澱シ、上清ト沈澱トニ分チテ上清ニ就キテハ殘存セル抗體量ヲ測定シ沈澱ハ生理的食鹽水ヲ以テ 3 回洗滌シ免疫血清ノ殘存ヲ無カラシメ、次デ沈降物ニ最初結合時ニ使用シタル免疫血清量ト等シキ量ノ分離「メヂウム」ヲ加ヘ

種々の温度に於て一定時間浸出し強力遠心沈澱上清ニ就キテ分離抗体量ヲ測定セリ。溶血素及ビ血球凝集素分離ニ當リテハ抗原、抗體ノ結合ニ長時間ヲ與フレバ分離時溶血ヲ起シ易キヲ以テ能フ限リ短縮シ又感作血球ヲ洗滌スルニ際シテハ血球凝集塊ヲ強力振盪シテ細粉スルヲ避ケ、又加温セルトキハ之ガ冷却スルヲ待チテ遠心沈澱セリ。蓋シ比較的高濃度ノ尿素加血球ハ強振、加熱、遠心迴轉等ノ機械的操作乃至物理的操作ニヨリテ溶血ヲ起シ易キヲ以テナリ。實驗ニ於テ原血清ノ抗體量ニ對スル結合抗體量ノ比ヲ以テ結合度トシ、結合抗體量ハ分離抗體量ノ比ヲ以テ分離率トシテ表示セリ。

### 第2節 抗體分離ト抗原量トノ關係

抗體分離ニアタリテハ分離抗體量ノ絶對價ヲシテ大ナラシメ、且分離液中ノ含有蛋白量及ビ抗原含有量ヲシテ可及的少量トヘルヲ以テ理想トベ。然レドモ諸家ノ實驗ニ於テハコノ方面ニ關スル業績ノ見ル可キモノ無キモ我が教室桑名氏ハ詳細ニ研究シテ公式ヨリ算出スルヲ明示シタリ。依テ余ハ沈降素分離ニ於テハ氏ノ公式ヲ用キ、他ノ場合ニ於テモ大體氏ノ標準ニ從ヒテ抗原量ヲ決定セリ。

### 第3節 沈降素ノ分離

實驗ニ使用セル抗牛血清免疫家兔血清ハ第1表

第1表 分離ニ使用セル沈降素血清

抗原稀釋	抗體稀釋									
	10	25	50	100	250	500	1:1,000	1:2,500	1:10,000	1:25,000
1: 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 250	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 1,000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 2,500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 5,000	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 10,000	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 25,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

ニ示セル如ク、繕方氏抗體稀釋法ニヨル結合帶1:250繕方氏抗體稀釋沈降素價1:1000ナルヲ以テ桑名氏ニヨル抗血清1ccノ結合セシムベキ抗原ノ最適當量ハ $0.025 \times \text{沈降素價}/\text{結合帶}$ ナルヲ以テ0.05ccナリ。依テ免疫血清2ccノ生理的食鹽水ヲ以テ稀釋セル5%牛血清2ccト結合セシメタリ。

### 1) 尿素「メヂウム」ト蒸溜水「メヂウム」ノ分離比較

上述ノ血清沈降素2ccト牛血清5%溶液2ccトヲ混和シ2時間孵卵器中ニ收メ遠心沈澱シ上清ノ抗體含有量ヲ測定シ沈降物ヲ3回生理的食鹽水ヲ以テ遠心洗滌シ最後ノ洗滌液ニ抗體ノ殘存ヲ無カラシメ、次ニ斯人如ク純粹トナサレタル沈降物ヲ最初結合時ニ使用シタル免疫血清量ト等シキ量ノ蒸溜水及ビ5%尿素「メヂウム」中ニ浮游セシメ45°、53°、60°Cノ溫度ニ於テ30分加温シ直チニ強力遠心沈澱シ上清ト沈澱トニ區別ス。コノ上清ニツキテ沈降素量ヲ比較セルニ第2表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第2表 5%尿素「メヂウム」Aト蒸溜水「メヂウム」Bノ分離比較

分離溫度	分離度	抗體稀釋										
		2	4	8	10	20	40	80	100	200	400	800
45°	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45°	B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
53°	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
53°	B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60°	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60°	B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
原免疫血清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
結合上清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

備考 結合度 1/5

上表ニ示スガ如ク蒸溜水「メヂウム」ニ於テ最モ分離良好ナル53°Cニ於テ比較スルニ蒸溜水「メヂウム」ニ於テハ分離度1/20ナルニ尿素「メヂウム」ニ於テハ分離率1/10ニシテ尿素「メヂウム」ハ蒸

溜水「メヂウム」ヨリ優秀ナルヲ認メタリ。

而シテ尿素「メヂウム」=於テ 53°C 及ビ 60°C =  
於ケル分離率ハ共=1/10 ナルモ沈降反応速度 60°C =  
=於ケル方速ナルヲ認メタリ。即チ尿素「メヂウム」=於テハ加溫度ト共=分離良好トナル。

### 2) 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト食鹽水「メヂウム」ノ分離比較

次ニ生理的食鹽水ヲ以テ 5% 尿素溶液ヲ作リ生理的食鹽水「メヂウム」ト分離温度 45°, 50°, 60°C =  
=於テ比較スルニ次ノ如キ成績ヲ得タリ。

第3表 5% 尿素食鹽水「メヂウム」A ト  
食鹽水「メヂウム」B ノ分離比較

分離温度	分離度	抗體稀釋										分離度
		2	4	8	10	20	40	80	100	200	400	
45°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/20
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/100
50°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/10
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/20
60°	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/10
	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/20
原免疫血清		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
結合上清		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

### 備考 結合度 %

上表ニ示スガ如ク 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ニ  
於テモ 5% 尿素「メヂウム」ト同様ニ「メヂウム」ノ  
加溫度ト共=抗體ノ分離良好トナル。45°C =於テハ  
分離度 1/20 ナルモ 50°C, 60°C =於テハ共=1/10  
ナルモ 50°C =於ケルヨリモ 60°C =於ケル方ガ沈  
降反応速度速ナリ。而シテ食鹽水「メヂウム」=於  
テハ最高分離度 1/20 ナルヲ以テ分離「メヂウム」ト  
シテハ 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ヨリ劣ルヲ認メ  
タリ。而シテ須之内氏ニヨレバ生理的食鹽水「メ  
ヂウム」=於テハ 65°C =於テ分離度最大ナレドモ  
尿素「メヂウム」=於テハ 60°C 以上ノ加溫ハ沈降  
物ノ多少共溶解スル傾向アルヲ以テ比較スル能ハ  
ザリキ。

### 3) 種々ナル温度ニ於ケル 5% 尿素「メヂウム」

#### ノ分離比較

次ニ 5% 尿素「メヂウム」ト蒸溜水「メヂウム」ト  
ノ分離度ヲ温度ニ種々ニシテ比較セリ。即チ分離  
温度ヲ 37°, 42°, 45°, 50°, 53°, 60°C トセシ=第4  
表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第4表 種々ナル温度ニ於ケル 5% 尿素

「メヂウム」ノ分離比較

B 蒸溜水「メヂウム」

分離温度	分離度	抗體稀釋										分離度
		2	4	8	10	20	40	80	100	200	400	
37°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
42°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
45°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
50°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/25
53°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/25
60°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
原免疫血清		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
結合上清		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

### 備考 結合度 %

第4表ニ示スガ如ク 5% 尿素「メヂウム」ニ於テハ  
37°C =於テ分離度 1/25 =シテ温度 45°C 迄ハ變化  
ナキモ 50°C =於テ 1/13 トナリ、60°C 迄ハ分離度  
變化ナキモ沈降反応速度ハ 60°C =於テ最モ速カ  
ナリ。蒸溜水「メヂウム」=於テハ 53°C =於テ分  
離度 1/25 =シテ最大ナルヲ認メ須之内氏ノ實驗  
ト同一ナリキ。而シテ 5% 尿素「メヂウム」ハ蒸溜  
水「メヂウム」ヨリ分離「メヂウム」トシテ優秀ナル  
ヲ知ル。

### 4) 種々ナル温度ニ於ケル 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離比較

5% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離温度ニ種々ニ

變化シテ食鹽水「メヂウム」ト比較セル=第5表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第5表 種々ナル溫度ニ於ケル 5%尿素食鹽水「メヂウム」Aノ分離度比較 B食鹽水「メヂウム」

分離溫度	分離度	抗體稀釋								分離度
		10	20	40	80	100	250	500	1,000	
37°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
42°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
45°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
50°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
55°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
60°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/6
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
原免疫血清		++	++	++	++	++	++	++	++	
結合上清		++	++	++	++	++	++	++	++	

第5表ニ於テ 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ニ於テ  $\sim 37^{\circ}\text{C}$  = 於テ分離度 1/13 = シテ  $55^{\circ}\text{C}$  迄ハ分離度共 = 1/13 = シテ  $60^{\circ}\text{C}$  = 於テ 1/6 ナリ。食鹽水「メヂウム」ニ於テハ  $60^{\circ}\text{C}$  = 於テ分離最モ良好ニシテ分離度 1/13 ナリ。  $60^{\circ}\text{C}$  迄ノ分離ニ於テハ尿素食鹽水「メヂウム」ハ食鹽水「メヂウム」ヨリ優秀ナリ。

#### 第4節 溶血素分離

溶血素分離ニ當リテ尿素食鹽水ヲ分離「メヂウム」トシテ使用スルニ際シテ注意スペキコトハ高濃度ノ尿素食鹽水溶液ハ赤血球ヲ破壊スルコトナリ。尿素溶液ハ赤血球ヲ完全溶血スルモノナレドモ尿素食鹽水溶液ハ比較的の低濃度例ヘバ尿素濃度 10%位ニテハ全然溶血ヲ認ムル能ハズ。依テ余ハ本實驗ニ於テハ「メヂウム」ノ尿素濃度 10%ヲ以テ限度トセリ。

桑名氏ノ研究ニヨレバ血球 0.1 cc = 結合セシム

ベキ抗體ノ溶血價ハ 1,000—2,000 ナリ。依テ余ハ生理的食鹽水ヲ以テ稀釋セル 20% 山羊血球浮游液 2 cc = 溶血價 1,000—2,000 ナルモノ 2 cc ノ割 = 等量混和シ、結合時間ヲ 30 分トシ分離時間ハ 15 分トセリ。

#### 1) 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト食鹽水「メヂウム」トノ分離比較

抗山羊溶血素ノ結合帶(血球濃度 0.25%, 補體濃度 0.5%), 溶血價 1:1,000 ナルモノニ就テ實驗セルニ第6表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第6表 5% 尿素食鹽水「メヂウム」Aト生理的食鹽水「メヂウム」Bノ分離比較

分離溫度	分離度	抗體稀釋								分離度
		10	20	40	80	100	250	500	1,000	
37°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/250
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
42°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/250
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
45°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
50°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/250
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
55°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/3,500
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/3,000
60°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	1/250
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
原免疫血清		++	++	++	++	++	++	++	++	
結合上清		++	++	++	++	++	++	++	++	
原免疫血清		++	++	++	++	++	++	++	++	
結合上清		++	++	++	++	++	++	++	++	

備考 原免疫血清ノ溶血價 1:1,000  
結合帶(血球 0.25% 補體 0.5%)  
結合度 %

第6表ニ示ス如ク、尿素食鹽水「メヂウム」ニ於テハ  $37^{\circ}\text{C}$ ,  $42^{\circ}\text{C}$  = 於テ分離度 1/25 = シテ  $45^{\circ}\text{C}$  = 於テハ 1/13 トナリ、 $50^{\circ}$ ,  $55^{\circ}$ ,  $60^{\circ}\text{C}$  = 於テハ 1/25 ナリ。即チ  $45^{\circ}\text{C}$  = 於テ分離度最大トナル。コレヲ食鹽水「メヂウム」ニ比較スルニ食鹽水「メヂウム」ニ於テハ最大分離度 1/25 = シテ尿素「メヂウム」ニ比シテ著シク劣ル。而シテ  $60^{\circ}\text{C}$  以上 = 於テハ兩

「メデウム」共ニ溶血ヲ起シ分離液着色スルヲ以テ比較スル能ハズ。

2) 10% 尿素食鹽水「メデウム」ト生理的食鹽水「メデウム」トノ分離比較

次=抗山羊溶血素ノ結合帶(血球濃度 0.5%, 溶體 1%) 溶血價 1:1,000 ナルモノニツキテ 10% 尿素食鹽水「メデウム」ト生理的食鹽水「メデウム」トノ分離度ヲ比較スルニ第7表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第7表 10% 尿素食鹽水「メデウム」A ト 生理的食鹽水「メデウム」B ト 分離比較

分離溫度	分離度	抗體稀釋						分離度
		10	20	40	80	100	250	
37°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	0
42°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	0
45°	A	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	1/25
50°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	1/25
55°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	1/50
60°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	1/25
原免疫血清		++	++	++	++	++	++	++
結合上清		++	++	++	++	++	++	++

備考 原免疫血清溶血價 1:1,000  
結合帶(血球 0.5% 溶體 1%)  
結合度 %

第7表ニ示ス如ク 10% 尿素食鹽水「メデウム」=於テモ 45°C =於テ分離度 1/13 =シテ最モヨク生理的食鹽水「メデウム」=比シテ著シク分離良好ナルヲ認メタリ。

3) 5% 尿素食鹽水「メデウム」ト 10% 蔗糖「メデウム」トノ分離比較

溶血素ノ結合帶(赤血球濃度 0.5%, 溶體 1%)ノ

溶血價 1:2,000 ナルモノヲ用キテ分離度ヲ比較セル=第8表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第8表 5% 尿素食鹽水「メデウム」A ト 10% 蔗糖「メデウム」B 分離度比較

分離溫度	分離度	抗體稀釋						分離度
		10	20	40	80	100	250	
37°	A	++	++	++	++	++	++	1/50
	B	++	++	++	++	++	++	1/50
42°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	1/25
45°	A	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	1/25
50°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	1/25
55°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	1/25
60°	A	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	1/13
原免疫血清		++	++	++	++	++	++	++
結合上清		++	++	++	++	++	++	++

第8表ニ示ス如ク 5% 尿素食鹽水「メデウム」=於テハ 45°C =於テ分離度最モヨク 1/13 =シテ 10% 蔗糖溶液=於テハ 60°C =於テ分離度最モヨク 1/13 ナリ。即チ 5% 尿素食鹽水「メデウム」ノ 45°C 分離度ハ從來稱用セラレタル 10% 蔗糖「メデウム」分離法=ヨル分離度ト殆ド優劣ナシ。

4) 10% 尿素食鹽水「メデウム」ト 10% 蔗糖「メデウム」トノ分離比較

溶血素ノ結合帶(赤血球濃度 0.5%, 溶體 1%) 溶血價 1:1,500 ナルモノヲ用キテ分離度ヲ比較セル=第9表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第9表ニ示ス如ク 10% 尿素食鹽水「メデウム」=於テモ 45°C =於テ分離最モヨク分離度 1/13 =シテ 10% 蔗糖「メデウム」=於テハ 60°C =於テ分離度 1/13 =シテ分離最モ良好ナリ。

即チ 45°C 分離法=ヨル 10% 尿素「メデウム」ノ

分離度ト 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度ト優劣ヲ認メ難シ。

第9表 10%尿素食鹽水「メヂウム」A ト 10%蔗糖「メヂウム」B ノ分離比較

分離溫度	分離度	抗體稀釋					分離度
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	
37°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
42°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
45°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
50°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
55°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
60°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/25
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
原免血清		+++	+++	+++	+++	+++	
結合上清		+++	+++	+++	+++	+++	

備考 原免疫血清溶血價 1:1,500  
結合帶 (血球 0.5% 準體 1%)  
結合度 5%

#### 第5節 血球凝集素分離

溶血素分離ト同様 = 20% 豚血球浮游液 2cc ト抗豚血球凝集素 2cc トア混和シ結合時間ア 15 分トシ分離時間ア 15 分トシテ實驗セリ。

1) 種々ナル溫度ニ於ケル 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト食鹽水「メヂウム」ノ分離比較

抗豚血球凝集素ノ結合帶 (血球濃度 0.5%) 凝集價 1:3,000 ナルモノヲ用キテ 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト生理的食鹽水「メヂウム」ノ分離度ヲ比較セル = 第10表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第10表 = 示スガ如ク 37°, 42°C = 於テハ分離度 1/50 = シテ 45°C = 於テハ 1/13, 50°C = 於テハ 1/25 = シテ 55°, 60°C = 於テハ共 = 1/50 ナリ。即チ 45°C = 於テ分離度最大ナリ。而シテ食鹽水「メヂウム」 = 於テハ 50°—60° = 於テ分離度最大ニシ

第10表 種々ナル溫度ニ於ケル 5% 尿素食鹽水「メヂウム」A ト生理的食鹽水「メヂウム」B ノ分離比較

分離溫度	分離度	抗體稀釋					分離度
		1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	
37°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/50
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/100
42°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/50
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/100
45°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/13
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/100
50°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/25
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/50
55°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/50
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/50
60°	A	+++	+++	+++	+++	+++	1/50
	B	+++	+++	+++	+++	+++	1/50
原免血清		+++	+++	+++	+++	+++	
結合上清		+++	+++	+++	+++	+++	

原免疫血清凝集價 1:3,000

結合帶 0.5% 結合度 5%

テ 1/50 = シテ分離度著シク 5% 尿素「メヂウム」 = 比シテ省ルヲ認メタリ。溶血素分離ニ於ケル同様 60°C 以上ノ分離溫度ヘ血球ヲ溶血スル恐レアルニヨリ實驗セザリキ。

2) 種々ナル溫度ニ於ケル 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ト生理的食鹽水「メヂウム」トノ分離比較

次ニ結合帶 (血球濃度 0.5%) 凝集價 1:4,000 ナル抗豚血球凝集素ヲ用キテ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ト生理的食鹽水「メヂウム」トノ分離度ヲ比較スル = 第11表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第11表 = 示スガ如ク 37°, 42°C = 於テハ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度 1/25 = シテ 45°C = 於テハ 1/13 = シテ最大トナリ 50°—60°C = 於テハ 1/25 トナリ。即チ 45°C = 於テ分離度最大ナリ。食鹽水「メヂウム」 = 於テハ 45°C 乃至 60° = 於テ分離度 1/25 トナリ尿素「メヂウム」 = 比シテ分離度劣ルヲ認メタリ。

第11表 種々ナル溫度ニ於ケル 10% 尿素食鹽水「メヂウム」A ト生理的食鹽水「メヂウム」B ノ分離比較

分離溫度	分離度	分離度	抗體稀釋														
			1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:250	1:500	1:1,000	1:1,500	1:2,000	1:2,500	1:3,000	1:3,500	1:4,000	1:4,500
37°	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25 1/50
42°	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25 1/50
45°	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13 1/25
50°	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25 1/25
55°	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25 1/25
60°	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25 1/25
原免疫血清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
結合上清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

原免疫血清 凝集價 1:4,000 結合帶 0.5% 結合度 1/4

## 3) 尿素食鹽水「メヂウム」ト 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離比較

5% 及ビ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ト 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度  $\neq$  40°C 乃至 55°C ノ分離溫度ニ於テ比較スル = 第12表  $\neq$  如キ成績ヲ得タリ。

第12表 = 示スガ如ク 40°C = 於テハ 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」共ニ分離度 1/10 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 1/100 ナリ。45°C = 於テハ 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度共ニ  $\neq$  5% = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度ハ 1/50 = シテ 50°C = 於テハ 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度共ニ 1/25 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 1/50 ナリ。55°C = 於テハ 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度 1/50 = シテ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ハ 1/25  $\neq$  シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 1/25 ナリ。以上ニヨリ 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ間ニハ餘り差異ヲ認メ難ク、45°C = 於テ分離度最大ニシテ 55°C 迄ノ分離

第12表 5%, 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ト 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離比較

分離溫度	分離度	抗體稀釋													分離度
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,000	1:1,500	1:2,000	1:2,500	1:3,000	
40°	5%尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	10%尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/100
45°	5%尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/5
	10%尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/5
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
50°	5%尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	10%尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/50
55°	5%尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/50
	10%尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
原免疫血清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
結合上清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

原免疫血清凝集價 1:2000  
結合帶 0.25% 結合度 1/4

温度ニ於テハ 10% 蔗糖「メヂウム」ハ尿素食鹽水「メヂウム」ニ比シ分離度著シ劣ルモノノ如シ。

#### 第6節 細菌凝集素分離

大腸菌 18 時間培養ノモノ 5 容天斜面ヲ白金耳ニテ丁寧ニ採リ、之ヲ生理的食鹽水中ニ平等ニ浮游セシメ、60°C ノ重湯煎中ニテ 2 時間滅菌シタル後生理的食鹽水ヲ以テ 3 回遠心洗滌シタル菌ヲ抗大腸菌凝集素 5cc トヨク混和シ 37°C ノ孵卵器中ニ 2 時間納メタル後取り出シ強力遠心沈澱シ上清ト沈澱物ニ分チ上清ニツキテ凝集價ヲ計リ沈澱物ヲ生理的食鹽水ニテ數回遠心洗滌シ残液ニ免疫血清ノ存在ヲ無カラシメタル後沈澱物ヲ最初結合時ニ使用シタル免疫血清ト等シキ量ノ分離「メヂウム」ヲ加ヘ各種温度ノ重湯煎中ニ入レ時々振盪シ 30 分ノ後取り出シ強力遠心沈澱シ上清ニツキテ凝集價ヲ測定セリ。

1) 各種温度ニ於ケル 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト 5% 尿素「メヂウム」ノ分離度比較

凝集價 1:2,000 ナル抗大腸菌凝集素ヲ用キテ 40°, 45°, 50°, 55°C = 於ケル分離度ヲ比較セルニ第 13 表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 13 表 各温度ニ於ルケ 5% 及ビ 10% 尿素「メヂウム」ノ分離比較

分離温度	分離度	抗體稀釋										分離度
		10	20	40	80	100	250	500	1,000	1,500	2,000	
40°	5% 尿素	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	1/2.5
	10% 尿素	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	1/12.5
45°	5% 尿素	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	1/10
	10% 尿素	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	1/10
50°	5% 尿素	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	1/10
	10% 尿素	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	1/10
55°	5% 尿素	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	1/12.5
	10% 尿素	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	1/12.5
原免疫血清												
結合上清												

#### 結合度 %

第 13 表ニ示スガ如ク 40°C = 於テハ兩「メヂウム」共ニ分離度 1/12.5 = シテ、45°, 50°C = 於テハ 1/10 トナリ、55°C = 於テハ 1/12.5 トナル。即チ 5% 尿素食鹽水及ビ 5% 尿素「メヂウム」ニ於テハ 45°-50°C = 於テ分離度最大トナルモノノ如シ。而シテ兩「メヂウム」ノ間ニハ分離度ニ於テ認ムベキ差異ナシ。

第 14 表 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト生理的食鹽水「メヂウム」ノ分離比較

分離温度	分離度	抗體稀釋													分離度
		10	20	40	80	100	250	500	1,000	1,500	2,000	2,500	3,000	3,500	
45°	5% 尿素食鹽水	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/13 1/25
	原免疫血清	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—
	結合上清	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—

#### 結合度 %

2) 45°C = 於ケル尿素食鹽水「メヂウム」ト生理的食鹽水「メヂウム」ノ分離度比較

凝集價 1:4,000 ナル免疫血清ヲ用キテ 45°C = 於ケル分離度ヲ比較セルニ第 14 表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 14 表ニ示スガ如ク生理的食鹽水「メヂウム」

ニ於テハ分離度 1/25 ナリ。而シテ尿素食鹽水「メヂウム」ニ於テハ分離度 1/13 ナリ。即チ尿素食鹽水「メヂウム」ハ生理的食鹽水「メヂウム」ニ比シテ分離「メヂウム」トシテ優秀ナリ。

3) 45°C = 於ケル 5% 尿素「メヂウム」ト蒸溜水「メヂウム」トノ分離度比較

凝集價 1:3,000 ナルモノヲ用キテ 45°C = 於ケリ。

ル分離度ヲ比較セルニ第15表ノ如キ成績ヲ得タ

第15表 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト蒸溜水「メヂウム」ノ分離比較

分離溫度	分離「メヂウム」	抗體										分離度	
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:250	1:500	1:1,000	1:1,500	1:2,000	1:2,500	
45°	5% 尿素 蒸溜水	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1/13 1/25
	原免疫血清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	結合上清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	結合度 %												

第15表ニ示スガ如ク 5% 尿素「メヂウム」= 於テハ分離度 1/13 = シテ蒸溜水「メヂウム」= 於テハ分離度 1/25 ナリ。即チ 5% 尿素「メヂウム」ハ蒸溜水「メヂウム」ヨリ優秀ナリ。

4) 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト 10% 蔗糖「メヂウム」トノ分離度比較

45°C = 於テ 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト 10% 蔗糖「メヂウム」ニツキテ凝集價 1:3,000 ナルモノニツキテ分離度ヲ比較セルニ第16表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第16表 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離比較

分離溫度	分離「メヂウム」	抗體										分離度	
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:250	1:500	1:1,000	1:1,500	1:2,000	1:2,500	
45°	5% 尿素 10% 蔗糖	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	1/13 1/10
	原免疫血清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	結合上清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	結合度 %												

備考 結合度 %

第16表ニ示スガ如ク 5% 尿素食鹽水「メヂウム」= 於テハ分離度 1/13 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」= 於テハ分離度 1/10 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」稍々勝ルレフ認メタリ。

#### 第7節 Forssman 氏抗體分離

太田氏<sup>20)</sup>ハ「コレラ」菌ヲ用キテ蛋白嗜好性沈降素ノ尿素=對スル抵抗ハ類脂體嗜好性沈降素=比シテ弱シト述べタリ。

依テ余ハ F. 氏抗體=及ボス尿素ノ影響ヲ検シタルニ其ノ影響ハ極メテ微弱ナルヲ認メ得タルヲ以テ、本實驗ニ於テ尿素食鹽水「メヂウム」ヲ以テ、

F. 氏抗體ヲ分離セリ。

F. 氏抗體ハ海狼腎臓ヨリ作リ、溶血價 1:500, 1:1,000, 1:4,000 ノモノヲ用キ、生理的食鹽水ヲ以テ 20% = 稀釋セル山羊血球 2cc ト免疫血清 2cc トヲ混和シ、結合時間ヲ 30 分、分離時間ヲ 30 分、分離溫度ヲ 45°C トナセリ。

實驗、5% 及ビ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ト生理的食鹽水及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」ノ 45°C 分離法ニ於ケル分離度比較

溶血價 1:500, 1:1,000, 1:4,000 ナルモノニ就キテ 45°C = 於ケル 5%, 10% 尿素食鹽水及ビ生理的

食鹽水, 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度ヲ比較セル  
= 第 17 表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 17 表  $45^{\circ}\text{C}$  = 於ケル 5%, 10% 尿素食鹽水, 生理的食鹽水, 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離比較

血清番號	分離度 メヂウム	抗體稀釋						分離度
		10	20	40	80	100	250	
1	食鹽水	++	—	—	—	—	—	1/50
	5% 尿素	++	—	—	—	—	—	1/50
	10% 尿素	++	—	—	—	—	—	1/50
	10% 蔗糖	++	++	++	—	—	—	1/13
原免疫血清								
結合上清								
2	食鹽水	++	—	—	—	—	—	1/50
	5% 尿素	++	—	—	—	—	—	1/50
	10% 尿素	++	—	—	—	—	—	1/50
	10% 蔗糖	++	++	++	—	—	—	1/10
原免疫血清								
結合上清								
3	食鹽水	++	++	++	++	++	++	1/36
	5% 尿素	++	++	++	++	++	++	1/36
	10% 尿素	++	++	++	++	++	++	1/36
	10% 蔗糖	++	++	++	++	++	++	1/9
原免疫血清								
結合上清								

備考 結合度 血清番號 Nr. 1 1/2  
Nr. 2 500/500  
Nr. 3 9/10

第 17 表ニ示スガ如ク血清番號 Nr. 1 = 於テハ 5%, 10% 尿素食鹽水「メヂウム」及ビ生理的食鹽水「メヂウム」ノ分離度 1/50 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度ハ 1/13 ナリ。即チ 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度最モ良好ナリ。

Nr. 2 = 於テハ 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水及ビ 生理的食鹽水「メヂウム」ノ分離度ハ 1/50 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度ハ 1/10 ナリ。

Nr. 3 = 於テハ生理的食鹽水及ビ 5%, 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度 1/36 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度ハ 1/9 ナリ。

以上ニヨリ F. 氏抗體分離「メヂウム」トシテハ 10% 蔗糖「メヂウム」最モ良好ニシテ生理的食鹽水及ビ 5%, 10% 尿素「メヂウム」ハ劣ルモノノ如シ。

#### 第 8 節 尿素加 5% 食鹽水「メヂウム」ニヨル溶血素及ビ血球凝集素ノ分離ニ就テ

桑名氏ハ 8.5%ノ高張食鹽水ニヨリテ沈降素, 細菌凝集素, 溶血素, F. 氏抗體, 血球凝集素ノ分離セルニ沈降素, 細菌凝集素ハ分離ニ適スルモ, 溶血素, F. 氏抗體, 血球凝集素ハ分離ニ適セズト發表セリ。コレ高張食鹽水ハ滲透壓ノ關係上血球ニ破壊作用ヲ及ボシ且分離時ノ振盪ナリ機械的作用ト相俟テ溶血ヲ起シ, 且 55°C 以下ノ低温ニアリテハ抗體分離ニ不適當ナル「メヂウム」ニヨルト述べタリ。Nolf<sup>(21)</sup>ハ赤血球ノ生理的食鹽水浮游液ヲ作リ 2 群ノ試驗管ニ入レ一方ニハ水, 一方ニハ 1% 尿素ヲ何レモ同容遞次增加シテ加ヘタルニ兩方トモ溶血ヲ起ス有様ハ同様ナリキ。即チ尿素ハ水ノ作用ト同ジ。又 10% 食鹽水中ニ尿素ノ大量 (15, 20, 30%) ヲ加ヘルト直チニ溶血ヲ起スモ 5% 食鹽水デハ起サズ。故ニ尿素ハ食鹽ノ細胞破壊限度ヲ低下セシムルト述べタリ。以上ノ如ク高張食鹽水尿素「メヂウム」ハ血球ヲ破壊スレドモ 5% 食鹽水尿素「メヂウム」ハ 10%—30% = 於テニ溶血ヲ起サズ。余ハ 5% 食鹽水尿素「メヂウム」ヲ分離「メヂウム」トシテ溶血素, 血球凝集素ノ分離セルニ甚ダ満足スベキ結果ヲ得タリ。

然レドモ溶血素, 血球凝集素ノ分離ニアタリテ生理的食鹽水以外ノ血球ト滲透壓ノ異ナレル「メヂウム」ヲ分離ニ使用スルニ際シテハ高温加温竝ニ振盪ノ機械的作用ハ溶血因子トナルベキヲ以テ注意セザル可カラズ。依テ分離温度ハ 55°C 迄トシ又加温分離ニ際シテハ結合物ヲ強ク振盪セズ, 結合物ヲ遠心沈澱シ抗體ヲ分離スルニ際シテハ結合物ノ冷却スルヲ待チテ行ヘリ。直チニ遠心沈澱スレバ容易ニ溶血ヲ起スフ以テナリ。

## 第1項 溶血素分離

抗山羊血球溶血素ヲ用キ, 免疫血清 2cc ト 20% 山羊血球 2cc ト  $37^{\circ}\text{C}$  15分間結合セシメ, 分離 温度  $40^{\circ}$ — $55^{\circ}\text{C}$  トナシ分離時間 15分トセリ。

1) 5% 食鹽水 10% 尿素「メヂウム」ヲ用キテ 分離温度 = ケル溶血素ノ分離

抗山羊血球溶血素ノ結合帶 (血球濃度 0.5%, 補體濃度 1%) 溶血價 1:3,000 ナルモノニツキ  $40^{\circ}$ ,  $45^{\circ}$ ,  $50^{\circ}$ ,  $55^{\circ}\text{C}$  = 於テ分離度ヲ測定セルニ第18表ノ如キ成績ヲ得タリ。對照トシテハ生理的食鹽水及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」ヲ使用セリ。

第18表ニ示スガ如ク分離抗體ハ尿素「メヂウム」= 於テハ  $40^{\circ}\text{C}$  = 於テ抗體稀釋 1:100 迄完全溶血ヲ起シ分離度 1/10 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 1:80 迄完全溶血 = シテ分離度 1/13 ナリ。食鹽水「メヂウム」ハ 1:40 迄完全溶血ニシテ分離度 1/25 ナリ  $45^{\circ}\text{C}$  = 於テハ食鹽水「メヂウム」及ビ 蔗糖「メヂウム」分離度夫々 1/25, 1/13 = シテ尿素「メヂウム」ハ  $50^{\circ}\text{C}$  = 於テハ食鹽水、蔗糖

第19表 20% 尿素, 5% 食鹽水「メヂウム」Aヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル分離比較  
B 生理的食鹽水「メヂウム」 C 10% 蔗糖「メヂウム」

分離温度	分離度	抗體稀釋										分離度			
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,000	1:2,000	1:3,000	1:4,000	1:5,000	1:6,000
$40^{\circ}$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
$45^{\circ}$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/5
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
$50^{\circ}$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
$55^{\circ}$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
原免疫血清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
結合上清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

第18表 10% 尿素, 5% 食鹽水「メヂウム」  
Aヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル分離比較  
B 生理的食鹽水「メヂウム」  
C 10% 蔗糖「メヂウム」

分離温度	分離度	抗體稀釋										分離度			
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,000	1:2,000	1:3,000	1:4,000	1:5,000	1:6,000
$40^{\circ}$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
$45^{\circ}$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/5
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
$50^{\circ}$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
$55^{\circ}$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
原免疫血清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
結合上清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

備考 原免疫血清溶血價 1:3,000  
結合帶(血球 0.5% 補體 1%)  
結合度 %

「メヂウム」夫々 1/25, 1/13 = シテ尿素「メヂウム」ハ 1/10 トナリ, 55°C = 於テハ蔗糖「メヂウム」ノ分離度 1/10 トナリ, 食鹽水「メヂウム」ハ 1/13 トナリ, 尿素「メヂウム」ハ 1/13 トナル. 即チ 5% 食鹽水 10% 尿素「メヂウム」ハ 45°C = 於テ分離度最大ニシテ之ヲ生理的食鹽水及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」ニ比スルニ著シク分離ニ適スルヲ認メタリ.

2) 5% 食鹽水 20% 尿素「メヂウム」ヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル溶血素ノ分離

抗山羊血球溶血素ノ結合帶(血球濃度 0.5%, 極濃度 1%) 溶血價 1:4,000 ナルモノニツキテ 5% 食鹽水 20% 尿素「メヂウム」ヲ以テ種々ナル溫度ニ於ケル分離度ヲ測定セル = 第 19 表(前頁參照)ノ如キ成績ヲ得タリ.

第 19 表 = 示ス如ク尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度ハ 40°C = 於テ 1/10, 45°C = 於テ 1/5, 50°C = 於テ 1/13, 55°C = 於テ 1/13 = シテ 45°C = テ最大トナル. 之ヲ食鹽水「メヂウム」及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」ニ比較スルニ食鹽水「メヂウム」ハ 55°C = 於テ最大トナリ 1/13, 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 55°C = 於テ最大 1/10 ナルヲ以テ共ニ尿素食鹽水「メヂウム」ニ比シテ分離度劣ルヲ認メタリ.

3) 5% 食鹽水 30% 尿素「メヂウム」ヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル溶血素ノ分離

抗山羊血球ノ結合帶(血球濃度 0.5%, 極濃度 1%) 溶血價 1:3,000 ナルモノヲ用キテ 5% 食鹽水 30% 尿素「メヂウム」ノ分離度ヲ測定セル = 第 20 表ノ如キ成績ヲ得タリ.

第 20 表 = 示スガ如クノ場合ニ於テモ 5% 食鹽水 30% 尿素「メヂウム」ノ分離度ハ 45°C = 於テ最大トナリ 1/5 ナリ食鹽水「メヂウム」ハ 55°C = 於テ最大 1/25 = シテ 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 55°C = 於テ最大 1/10 ナルヲ以テ共ニ尿素食鹽水「メヂウム」ニ比シテ分離度劣ル.

第 20 表 30% 尿素, 5% 食鹽水「メヂウム」  
A 用キテ種々ナル溫度ニ於ケル分離比較  
B 生理的食鹽水「メヂウム」  
C 10% 蔗糖「メヂウム」

分離溫度	分離度	抗體稀釋										分離度
		10	20	40	80	100	200	400	800	1,000	2,000	
40°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
	C	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
45°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/5
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
	C	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
50°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/10
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/50
	C	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/13
55°	A	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/25
	B	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/25
	C	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1/10
原免疫清		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
結合上清		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

備考 原免疫清溶血價 1:3,000

結合帶(血球 0.5% 極濃度 1%)

結合度 1/3

#### 4) 分離ニ及ボス尿素濃度ノ影響

5% 食鹽水尿素「メヂウム」ニ於テハ 45°C = 於テ最モ溶血素分離ニ適スルヲ以テ次ニ 45°C = 於ケル尿素濃度ノ分離ニ及ボス影響ヲ觀察セリ. 即チ 5% 食鹽水ヲ以テ 10%, 20%, 30% 尿素溶液ヲ作り對照トシテ生理的食鹽水ヲ以テ 5% 及ビ 10% 尿素溶液, 10% 蔗糖溶液ヲ用キ, 45°C = 於ケル分離度ヲ比較セル = 第 21 表(次頁參照)ノ如キ成績ヲ得タリ.

第 21 表 = 示スガ如ク 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水ノ分離度ハ 45°C = 於テハ共ニ 1/13 = シテ 5% 食鹽水 10% 尿素「メヂウム」ノ分離度ハ 2/5 ニシテ尿素濃度 20%—30% トナルモ分離度ニ影響無ク, 10% 蔗糖「メヂウム」ハ分離度ハ 1/13 ナリ. 即チ尿素食鹽水「メヂウム」ニ於テハ尿素濃度ニヨリテ

分離度=大ナル影響ナク、食鹽水濃度=ヨリテ影響セラレ、生理的食鹽水ヨリ5%食鹽水溶液ヲ用キル方分離良好ナリ。而シテ5%食鹽水尿素「メ

デウム」ノ分離度最ヨク、10%蔗糖「メデウム」之ニ次ギ、生理的食鹽水尿素「メデウム」ノ分離度最劣ル。

第21表 分離=及ボス尿素濃度ノ影響

分離温度	分離「メデウム」	抗體稀釋												分離度	
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,000	1:2,000	1:2,500	1:3,000	1:2,500	
45°	5%尿素食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
	10%尿素食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
	10%尿素5%食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2/5
	20%尿素5%食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2/5
	30%尿素5%食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2/5
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/13
	原免疫血清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	結合上清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

備考 原免疫血清 溶血價1:2,500 結合帶(血球0.25% 準體0.5%) 結合度%

## 5) 分離=及ボス時間ノ影響

溶血素、凝集素ノ分離ニ際シテハ比較的低温ニ於テハ長時間ノ加温ニヨリテ溶血ヲ起スコトナキモ高溫ニ於テ長時間加温スレバ溶血ヲ促進スル恐

レアリ。依テ余ハ溶血素、凝集素ノ分離ニ際シテハ分離時間ハ能フ限り短時間トセリ。余ハ2種ノ抗山羊血球溶血素ヲ用キ、分離時間15分ヨリ2時間迄變化セシメタルニ第22表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第22表 分離=及ボス時間ノ影響

分離時間	分離「メデウム」	抗體稀釋												分離度			
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,000	1:2,000	1:2,500	1:3,000	1:3,500	1:4,000	1:4,500	1:5,000
15分	20%尿素5%食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
30分	20%尿素5%食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
1時間	20%尿素5%食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
1時間30分	20%尿素5%食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
2時間	20%尿素5%食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10
	10%蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/25
原免疫血清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
結合上清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

備考 分離温度40°C 原免疫血清溶血價1:3,000 結合帶(血球0.5% 準體1%) 結合度%

第22表ニ示スガ如ク15分ヨリ2時間迄ノ範囲響ハ認メ難シ。

内ニ於テハ40°Cノ分離温度ニテハ分離時間ノ影

## 6) 分離液ノ蛋白含有量ニ就テ

10%「ズルフォ、ザリチル」酸ニヨリテ蛋白含有量ヲ測定セリ。生理的食鹽水「メヂウム」、10%蔗糖「メヂウム」及ビ5%食鹽水10%乃至20%尿素「メヂウム」ヲ以テ40°、45°、50°、55°C=於ケル分離液蛋白含有量ヲ比較セル=略ボ1/600乃至1/300蛋白量ノ含有シ認ムベキ差異ナカリキ。

## 第2項 血球凝集素分離

抗牛血球免疫家兔血清ヲ使用セリ。20%牛血球2ccト血球凝集素2ccトヲ混和37°C=於テ15分間結合セシメ分離時間ヲ30分トセリ。

1) 5%食鹽水10%尿素「メヂウム」ヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル血球凝集素ノ分離

免疫血清ノ結合帶(血球濃度0.25%)凝集價1:250ナルモノニツキ40°C、45°C、50°C、55°Cニ於ケル分離度ヲ測定セル=第23表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第23表 5%食鹽水、10%尿素「メヂウム」  
Aヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル凝集素分離  
B 10%蔗糖「メヂウム」  
C 生理的食鹽水「メヂウム」

分離溫度	分離度	抗體稀釋									
		2	4	8	10	15	20	50	100	250	500
40°	A	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
45°	A	+++	+++	++	++	++	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
50°	A	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
55°	A	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-
原免疫血清		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
結合上清		+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-

備考 原免疫血清凝集價1:250

結合帶0.25% 結合度4/5

## 第23表ニツキテ見ル=40°Cニ於テハ5%食鹽

水10%尿素「メヂウム」ノ分離度ハ1/25=シテ45°Cニ於テハ1/10トナリ、50°Cニ於テハ1/20、55°Cニ於テハ1/25トナル。即チ45°Cニ於テ分離度最大ナリ。之ヲ生理的食鹽水及ビ10%蔗糖「メヂウム」ニ比較スルニ生理的食鹽水「メヂウム」ニ於テハ40°-50°Cニ於テハ分離度1/50=シテ55°Cニ於テ最大1/25トナル。10%蔗糖「メヂウム」ニ於テハ抗體ノ分離スル能ハザリキ。凝集價低キ抗牛血球凝集素分離ニ際シテハ5%食鹽水10%尿素「メヂウム」最モ分離「メヂウム」トシテ良好ナルモノノ如シ。

2) 5%食鹽水20%尿素「メヂウム」ヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル血球凝集素ノ分離

抗牛血球凝集素ノ結合帶0.5%、凝集價1:250ナルモノニツキテ5%食鹽水20%尿素「メヂウム」ヲ用キテ40°、45°、50°、55°Cニ於ケル分離度ヲ比較セル=第24表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第24表 5%食鹽水、20%尿素「メヂウム」  
Aヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル凝集素分離  
B 10%蔗糖「メヂウム」  
C 生理的食鹽水「メヂウム」

分離溫度	分離度	抗體稀釋									
		2	4	8	10	15	20	25	50	100	250
40°	A	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
45°	A	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
50°	A	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
55°	A	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-
原免疫血清		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
結合上清		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

備考 原免疫血清凝集價1:250

結合帶0.5% 結合度4/5

第24表ニツキテ見ルニコノ場合ニ於テモ 45°C  
ニテ 5% 食鹽水 20% 尿素「メヂウム」ノ分離度ハ  
最大ニシテ 1/10 トナリ、生理的食鹽水「メヂウム」  
ハ 55°C = 於テ最大 1/20 トナリ、10% 蔗糖「メヂウム」= 於テハ抗體ヲ分離スル能ハザリキ。

3) 5% 食鹽水 30% 尿素「メヂウム」ヲ用キテ  
種々ナル溫度ニ於ケル血球凝集素ノ分離

抗牛血球凝集素ノ結合帶 0.5%，凝集價 1:100 ナ  
ルモノニツキ 5% 食鹽水 30% 尿素「メヂウム」ノ  
分離度ヲ 40°, 45°, 50°, 55°C = ツキ測定セルニ  
第25表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第25表ニツキテ見ル = 45° = 於テ 5% 食鹽水  
30% 尿素「メヂウム」ノ分離度ハ最大トナリ  $\frac{1}{4}$  ナ  
リ、生理的食鹽水「メヂウム」= 於テハ 50°-55°C =  
於テ最大 1/20 ナリ。コノ場合ニ於テモ 10% 蔗糖  
「メヂウム」= 於テハ抗體ヲ分離スル能ハザリキ。

#### 4) 分離ニ及ボス尿素濃度ノ影響

5% 食鹽水ヲ以テ 10%, 20%, 30% 尿素溶液  
ヲ作リ抗牛血球凝集素ノ結合帶 0.5% ノ凝集價  
1:250 ナルモノニツキ分離度ヲ測定比較セルニ第  
26表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第25表 5% 食鹽水、30% 尿素「メヂウム」  
A ヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケ  
ル凝集素分離  
B 10% 蔗糖「メヂウム」  
C 生理的食鹽水「メヂウム」

分離 溫度	分離 「メヂウム」	抗體稀釋										分離 度
		2	4	8	10	15	20	25	50	100	250	
40°	A	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	1/8
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
45°	A	++	++	++	++	++	+	+	-	-	-	1/4
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	C	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/40
50°	A	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	1/8
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1/20
55°	A	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	1/8
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	C	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1/20
原免疫血清		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結合上清		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

備考 原免疫血清凝集價 1:100  
結合帶 0.5% 結合度 4/5

第26表 分離ニ及ボス尿素濃度ノ影響

分離 溫度	分離「メヂウム」	抗體稀釋										分離 度
		2	4	8	10	15	20	25	50	100	250	
45°	5% 食鹽水 10% 尿素	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	1/20
	5% 食鹽水 20% 尿素	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	1/10
	5% 食鹽水 30% 尿素	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	1/10
	生理的食鹽水	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/100
原免疫血清		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結合上清		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

備考 免疫血清凝集價 1:250 結合帶 0.5% 結合度 4/5

第28表ノ示スガ如ク 45°C = 於テハ 5% 食鹽水  
10% 尿素「メヂウム」ノ分離度ハ 1/20 = シテ 20%  
及ビ 30% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度ハ共ニ  
1/10 ナリ。即チ凝集價低キ凝集素分離ニ於テハ尿  
素濃度濃厚ナルモノ分離度ヨシ。

#### 5) 分離ニ及ボス時間ノ影響

抗牛血球凝集素ノ結合帶 0.5%，凝集價 1:250 ナ  
ルモノヲ用キテ分離時間ヲ 15 分、30 分、1 時間、  
1 時間 30 分、2 時間トシ 5% 食鹽水 20% 尿素「メ  
ヂウム」ヲ用キテ分離溫度ヲ 40°C トシ分離ニ及ボ

又時間ノ影響ヲ観察セルニ第27表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第27表 分離ニ及ボス時間ノ影響

分離時間	分離「メヂウム」	抗體稀釋										分離度
		2	4	8	10	15	20	25	50	100	1250	
15分	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的食鹽水	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	1/250
30分	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的食鹽水	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	1/20 1/100
1時間	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的食鹽水	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	1/20 1/100
1時間30分	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的食鹽水	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	1/20 1/100
2時間	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的食鹽水	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	1/20 1/100
原免疫血清		++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-
結合上清		++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-

備考 原免疫血清凝集價 1:250 結合帶 0.5% 結合度 4/5

第27表ニ示スガ如ク 15分ニ於テハ分離度 1/25  
ニシテ 30分乃至2時間迄ノ範囲内ニ於テハ 1/20  
ニシテ差異ナシ。

## 第5章 総括並ニ考按

感作抗原ヨリ、抗體ヲ分離スル Entziehungs-methode = 於テ分離「メヂウム」ノ異ルニ從ヒテ、或ハ又同一「メヂウム」ニ於テモ分離温度ノ變化スルニヨリテ分離抗體量ノ増減スルハ先人諸家ノ承認スル所ナリ。始メ分離「メヂウム」トシテハ弱「アルカリ」或ハ弱酸性溶液ヲ作用セシメタルモ、更ニ研究ノ結果抗原、抗體ノ結合ニハ鹽類ヲ必要トスルノ原側ヨリ無鹽「メヂウム」ヲ使用シ次デ蒸溜水中ニテ温ヲ作用セシメ多量ノ抗體分離ニ成功セリ。最近ニ至リ生理的食鹽水及ヒ高張食鹽水溶液モ分離「メヂウム」トシテ優秀ナリト發表セラレタリ。而シテ分離温度モ抗體分離ニ必要ナル要素ニシテ最適分離温度ハ各「メヂウム」ニ於テ必ズシモ一定セザルミノノ如ク抗體ノ異ナルニヨリテ變

化スルモノノ如シ。之ヲ例ヘバ蔗糖「メヂウム」ニ於テ、小酒井氏ハ清血素分離ニハ分離抗體量ハ分離「メヂウム」ノ加溫度ニ正比例スルト述べ、繕方教授ハ大腸菌分離ニハ 42°C—45°C ガ最適ナリトサレ、古畑氏モ血球凝集素ノ分離ニ於テ繕方教授ト同様ニ成績ヲ得ラレタリ。

余ハ分離「メヂウム」トシテ尿素食鹽水「メヂウム」及ヒ 5% 食鹽水尿素「メヂウム」ヲ使用シテ從來先人ノ發表セル 10% 蔗糖「メヂウム」、蒸溜水「メヂウム」生理的食鹽水「メヂウム」等ト分離度ヲ比較シ各抗體ニ於ケル最適分離温度ヲ求メタリ。生理的食鹽水尿素「メヂウム」ニ於テハ比較的の低濃度ノ尿素(5% 及ヒ 10%)ヲ、5% 食鹽水尿素「メヂウム」ニ於テハ比較的の高濃度(10%、20%、30%)ノ尿素ヲ使用セリ。蓋シ高濃度ノ尿素ハ高温加温ニヨリテ血清蛋白ヲ除去セル感作抗原ヲ溶解セントヘル傾向アリ。元來尿素ハ如何ナル濃度ニ於テモ血球ヲ溶解スルモノナルヲ以テ尿素「メヂウム」ハ溶血素、血球凝集素ノ分離ニハ使用スル能ハズ。

然レドモ生理的食鹽水尿素「メヂウム」ニ於テハ尿素濃度 10% 迄ハ血球溶解ヲ顧慮スルノ要ナシ。又 5% 食鹽水ヲ以テ 10% 乃至 30% ノ尿素溶液ヲ作リ血球ヲ加フルモ溶解セザルコトハ Nolfi ノ證明スル所ナリ。余ハ依テ 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水ヲ以テ沈降素、細菌凝集素、F. 氏抗體、溶血素、血球凝集素ヲ分離シ 5% 食鹽水、10%—30% 尿素「メヂウム」ニヨリテ血球凝集素、溶血素ヲ分離セリ。而シテ可及的血球ノ溶解ヲ恐レ振盪、高溫、加溫等ノ溶血因子タルベキモノヲ避ケタリ。而シテ從來抗原、抗體ノ結合ニ關シテハ抗體ト結合スペキ抗原ノ適量ニ一定ノ規準ナカリシモ桑名氏ハ最適抗原量ヲ一定ノ方式ニヨリテ求メタリ。余ノ實驗ニ於テハ略ボ桑名氏ノ方式ニ從ヒテ行ヘリ。分離度ハ緒方教授提唱ノ結合帶ニ於テ分離抗體量ヲ求メ抗原ト結合セル抗體量トノ比ヲ以テ表セリ。

沈降素分離ニハ抗牛血清免疫家兔血清ヲ使用シ結合時間 2 時間、分離時間 30 分トシテ 5% 尿素「メヂウム」ト蒸溜水「メヂウム」、5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト食鹽水「メヂウム」トヲ比較セルニ 5% 尿素「メヂウム」ハ蒸溜水「メヂウム」ヨリ、5% 尿素食鹽水「メヂウム」ハ食鹽水「メヂウム」ヨリ 45°C 乃至 60°C ノ分離溫度ニ於テハ優秀ナルヲ認メタリ。更ニ 37°C 乃至 60°C ノ分離溫度ニ於テハ 5% 尿素「メヂウム」及ビ 5% 尿素食鹽水「メヂウム」共ニ溫度ノ上昇ニ從ヒテ分離良好トナルモノノ如シ。

次ニ溶血素分離ニ於テハ抗山羊血球免疫家兔血清ヲ使用シ結合時間 2 時間トシテ分離時間 15 分トシテ 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ト食鹽水「メヂウム」及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」トヲ 37°C 乃至 60°C ノ分離溫度ニ於テ比較セルニ食鹽水「メヂウム」ニヨル分離最モ惡ク 5%、10% 尿素「メヂウム」ト 10% 蔗糖「メヂウム」トハ殆ド優劣ヲ認メ難シ。而シテ 5%、10% 尿素「メヂウム」ハ 45°C = 於テ分離最モ良好ナリ。

血球凝集素分離ニ於テハ抗豚血球免疫家兔血清ヲ使用シ結合時間 2 時間トシテ分離時間 15 分トシテ溶血素分離ト同様ナル實驗ニ行ヘルニ食鹽水「メヂウム」ニヒル分離最モ惡ク、5% 及ビ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ間ニハ大ナル差異ナク 10% 蔗糖「メヂウム」ニ比シテ著シク良好ナルヲ認メタリ。

次ニ細菌凝集素分離ニ於テハ抗大腸菌免疫家兔血清ヲ用キ結合時間 2 時間トシテ分離時間 30 分トシテ 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ヲ用キテ種々ナル溫度ニ於ケル分離度ヲ求メタルニ 45°C = 於テ分離最モ良好ナルヲ認メタリ。依テ 45°C = 於テ食鹽水「メヂウム」及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」、蒸溜水「メヂウム」トノ分離度ヲ比較セルニ 10% 蔗糖「メヂウム」ト 5% 尿素食鹽水「メヂウム」トノ間ニハ差異ナク、生理的食鹽水「メヂウム」及ビ蒸溜水「メヂウム」ヨリ分離度良好ナルヲ認メタリ。F. 氏抗體分離ニ於テハ抗海猿腎免疫家兔血清ヲ用キ、結合時間 30 分、分離時間 30 分トシテ 45°C = 於テ 5%、10% 尿素食鹽水「メヂウム」及ビ生理的食鹽水「メヂウム」及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」ト分離度ヲ比較セルニ 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離最モ良好ニシテ、尿素食鹽水「メヂウム」ト生理的食鹽水「メヂウム」トノ間ニハ差異ナシ。

次ニ 5% 食鹽水ヲ以テ 10%、20%、30% ノ尿素「メヂウム」ヲ作リ抗山羊血球免疫家兔血清ヲ使用シテ結合時間 2 時間トシテ分離時間 15 分トシテ、種々ナル溫度ニ於テ溶血素ヲ分離セルニ 45°C = 於テ分離最モ良好ニシテ之ヲ生理的食鹽水及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」ニ比較セルニ著シク優秀ナルヲ認メタリ。而シテ 5% 食鹽水尿素「メヂウム」ニ於ケル尿素濃度ハ大ナル影響ナキモノノ如シ。分離時間 2 時間ノ影響ヲ検シタルニ 40°C ノ分離溫度ニ於テハ時間ノ影響ニ認メザリキ。分離液ノ蛋白含有量ハ生理的食鹽水「メヂウム」及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」ト略ボ同様ナルモノノ如ク 10% 「ズル

「オ,ザリチル」酸ニヨリテ 1/600 乃至 1/300 ナリキ。

次=抗牛血球免疫家兔血清ヲ使用シ 5% 尿素「メデウム」ニヨリ結合時間ヲ 15 分, 分離時間ヲ 30 分トシ凝集素ヲ分離セルニ, コノ場合ニ於テモ 45°C = 於テ分離最モ良好ニシテ生理的食鹽水「メデウム」及ビ 10% 蔗糖「メデウム」= 比シテ著シク優秀ナルヲ認メタリ, 而シテ尿素濃度ハ濃厚ナルモノ程分離度良好ナリ. コレ溶血反應ハ(卅)即チ完全溶血ヲ以テ成績トナセルニ凝集反應ニ於テハ(+)ヲ以テ成績トナセル差異ニヨリテ分離度異ナルニヨルモノナリ. 次= 40°C = 於テ 15 分乃至 2 時間ノ範囲ニ於テ分離ニ及ボス時間ノ影響ヲ検シタルニ 15 分ニ於テハ分離多少劣ルモ 30 分以上ニ於テハ差異認メ難シ, 以上ニヨリ尿素食鹽水「メデウム」ハ分離「メデウム」トシテ優秀ナルモノニシテ之ヲ 10% 蔗糖「メデウム」= 比スルニ溶血素分離ニ於テハ劣ルモ血球凝集素分離ニ於テハ勝ルモノノ如シ, コレ F. 氏抗體分離ニ尿素食鹽水「メデウム」ハ適サザルノ結果ニヨルモノナラン. 桑名氏ニヨリテ高張食鹽水「メデウム」ハ分離「メデウム」トシテ優秀ナルモ溶血素, 血球凝集素ノ分離ニハ適サズト發表セラレタルモ 5% 食鹽水「尿素」(10%, 20%, 30%)「メデウム」ハ溶血ヲ起サズ, 分離「メデウム」トシテ最モ優秀ナルモノナリ.

## 第6章 結論

1) 感作抗原ヨリ抗體ヲ分離スル場合, 「メデウム」トシテ 5% 尿素食鹽水及ビ 5% 尿素溶液ヲ

使用シテ沈降素, 細菌凝集素ヲ分離スル時ハ夫々 60°C 及ビ 45°C—50°C ガ最適ナリ.

2) 總テノ溫度=於テ, 5% 尿素食鹽水及ビ 5% 尿素溶液ハ分離「メデウム」トシテ生理的食鹽水及ビ蒸溜水ニ勝ル.

3) 5% 尿素食鹽水「メデウム」ト 5% 尿素「メデウム」ハ分離「メデウム」トシテ大ナル差異ナシ.

4) 5% 尿素食鹽水及ビ 10% 尿素食鹽水ヲ分離「メデウム」トシテ血球凝集素, 溶血素, F. 氏溶血素ヲ分離スル場合ハ 45°C ガ最モ分離ニ適ス.

5) 5%—10% 尿素食鹽水溶液ハ分離「メデウム」トシテ 10% 蔗糖溶液ヨリ稍々劣ルモノノ如シ.

6) 5% 尿素食鹽水「メデウム」ハ 10% 尿素食鹽水「メデウム」トノ間ニハ大ナル差異ナシ.

7) 5% 食鹽水 10%—30% 尿素溶液ヲ分離「メデウム」トシテ溶血素, 血球凝集素ヲ分離スル場合ハ 45°C ガ最モ分離ニ適シ 10% 蔗糖「メデウム」= 比シテ著シク優秀ナリ.

擱筆ニ當リ恩師緒方教授ノ御指導ト御校閲ニ對シ満腔ノ謝意ヲ表シ, 併セテ御指導ヲ賜リタル大川講師ニ深謝ス.

(本論文ノ要旨ハ昭和 15 年 9 月第 12 回日本聯合衛生學會ニ於テ發表セリ)

本研究ハ一部文部省科學研究費ニ負フ所アリ

## 文

- 1) Widal u. Sicard, Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 100, 1897.
- 2) Landsteiner, Zeitschr. f. Bakteriol. 1900, Bd. 27, S. 357.
- 3) Winterberg, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, S. 3-5, 1899.
- 4) Pick,

## 獻

- Beit. Z. Chem. Physiol. u. pathol., 1901, 1, 351.
- Gibson, Journ. of Biol. Chemie, 1906, 1, 161.
- Meyer, Ab. Hyg., 1908, Bd. 67, S. 1140, 1908.
- Arlo, C. R. Soc. Biol. 1913, Bd. 75, S. 88.

- Liebermann u. Fenyvesy, Journ. of Inf. die, 1924, Bd. 34, S. 103.* 9) *Pietro Rondoni, Zeitschr. f. Immunf., 1910, 7, 515.* 10) 小酒井, *Journ. of Immunology, V. 3, P. 17, 1918.* 11) 古畠, *Japan Med. World, No. 6, P. 17, 1921.* 12) 緒方, *Zeitschr. f. Immunf., Bd. 39, S. 270, 1924.* 13) 景山, *岡醫雜, 第437號, 1926.* 14) 須之内, *醫學中央雜誌, 第511號, 昭和3年.* 15) 白玖, *岡醫雜,* 第485號, 1382頁, 1930. 16) 藤間, *岡醫雜, 第503號, 3189頁, 1931.* 17) 大岩, *岡醫雜, 第43回總會講演.* 18) 桑名, *岡醫雜, 第498號, 1931.* 19) 安原, *岡醫雜, 第534號.* 20) 大田, *細菌學雜誌, 第336號.* 21) *Nolf, Zit. nach. 朝鮮化學會報, 第7卷, 第7號.*
- (特掲昭和14年5月5日受稿)

*Aus dem Hygienischen Institut der Med. Fakultät Okayama*

*(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata)*

**Der Einfluss des Harnstoffs auf die serologische Reaktion.**

**(IV. Mitteilung.)**

**Die Isolierung des Antikörpers im Harnstoffmedium.**

Von

Dr. Schoichi Matsuba.

*Eingegangen am 5. Mai. 1943.*

Über das Isolierungsmedium des Antikörpers, der aus gebundenem Antigen befreit wird, wurden schon verschiedene Angaben veröffentlicht, z. B. salzfreie Medien, Physiologische oder hypertonische Kochsalzlösung. Wie schon in den vorigen Mitteilungen (1-3) berichtet, hat Verfasser die hemmende Wirkung des Harnstoffs auf die serologische Reaktion sowohl *in vitro* als auch *in vivo* nachgewiesen. Deshalb untersuchte er weiter die Wirkung des Harnstoffs auf gebundenes Antigene und den Antikörper, wobei er als Isolierungsmedium diese Stoffe benutzte. Die folgenden Antikörper, wie Präzipitine, Hämoagglutinine, Hämolysine und Bakterienagglutinine wurden mit entsprechenden Antigenen eine halbe Stunde lang im Brutfen (37°C) digeriert. Die Mengenverhältnisse der zugesetzten Antigene wurden nach der Kuwana'schen Formel (18) genau bestimmt. Dieses Gemisch wurde abzentrifugiert und der Titer des nicht gebundenen Antikörpers gemessen. Damit kann man den Bindungsquotienten angeben. Dann wurden das gebundene Antigen und der Antikörper 3 mal mit Kochsalzlösung abzentrifugiert, um zurückbleibendes Antiserum zu befreien. Nach dieser Behandlung wurden die verschiedenen Harnstoffmengen den Isolierungsmedien

zugesetzt. Dabei untersuchte Verfasser das geeignete Mengenverhältnis des Harnstoffs und der Kochsalzlösung sowie die nötige Zeitdauer, besonders den Wärmeeinfluss bei der Isolierung des Antikörpers. Als Kontrollversuch benutzte er die vorher angegebenen Methoden zur Isolierung des Antikörpers und wandte die beste Methode für jede Antikörpertart zur Isolierung an.

Verfasser benutzte als Isolierungsmedium erst den Harnstoff in dest. Wasser und dann Harnstoff in Kochsalzlösung und erzielte mit diesem letzteren Medium bessere Resultat als mit ersterem.

Die Resultate lassen sich folgenderweise kurz angeben :

1) Präzipitinisolierung wurde in dest. Wasser und 5-10% Harnstofflösung bei verschiedenem Wärmegrad (37°C-60°C) ausgeführt und durch Harnstoffzusatz die vermehrte Präzipitinbefreiung aus dem Präzipitat gefunden. (bei 53°C aqua dest. Isolierungsquotient 1/20. bei 5% Harnstoffmedium 1/10). In physiologischer Kochsalzlösung zeigt auch der Isolierungsquotient 1/20 bei 60°C, dagegen 5% Harnstoffkochsalzlösung 1/10 bei 60°C.

2) Bei Hämoagglutinine erzielte Verfasser ein besseres Isolierungsverfahren durch Harnstoffzusatz sowohl bei Kochsalzlösung wie bei aqua dest. als auch bei 10% Rohrzuckermedium.

3) Bei Bakterienagglutinine zeigt sich kein grosser Unterschied zwischen 10% Rohrzuckermedium und Harnstoff und physiologischer Kochsalzlösung, doch zeigt der Harnstoffzusatz bei Isolierung in Kochsalzlösung einen besseren Isolierungsquotienten.

4) Bei Hämolsinisolierung muss man die schädigende Wirkung des Harnstoffs auf Roteblutkörperchen berücksichtigen, doch kann man bis 10% Harnstofflösung in Kochsalzlösung benutzen. Dabei ergab der Isolierungsquotient gleiches Resultat nach Kosakai 10% Rohrzuckermedium (1/13) mit 5% Harnstofflösung.

5) Bei Isolierung des Forssmanschen Antikörpers, der durch Immunisierung des Kaninchens mit Meerschweinchennieren hergestellt wurde, ergibt sich auch das gleiche Resultat mit 5% igem Harnstoffmedien und 10% Rohrzuckermedien. Doch zeigt sich mit 5% igem Harnstoff in physiologischer Kochsalzlösung ein besseres Resultat als mit Zuckermedium.

Im ganzen kann man schliessen, dass der Harnstoffzusatz des Wiederfreiwerden des Antikörpers aus gebundenem Antigen stark beeinflusst und diese Wirkung bei obigem Versuch mit dem Temperaturanstieg beinahe parallel geht.

(Autoreferat)