

## 47.

612.017.12:615.761.61

## 免疫反應ニ及ボス尿素ノ影響

(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狀態ニ於テ  
 取り出ス事ハ免疫體ノ性狀攷究ハ勿論、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>ハ蛋白沈降劑ニヨリテ  
 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。然レドモ蛋白沈降劑ヲ以テ抗體ヲ  
 純粹ノ狀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「メヂウム」トシテ蒸溜水、蔗  
 糖、葡萄糖ノ如キ無鹽「メヂウム」及ビ高張或ハ低  
 張ノ鹽「メヂウム」使用セラレ満足スベキ結果續々  
 發表セラレタリ。而シテ各種抗體ノ分離「メヂウ  
 ム」トシテハ無鹽「メヂウム」ハ鹽「メヂウム」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り分離「メヂウ  
 ム」トシテ各種免疫體ヲ分離セルニ満足スベキ成  
 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>ヘ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」菌凝集素ハ主トシテ「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 ハ溶血素ハ「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。  
 Lieberman u. Fenyvessy<sup>8)</sup>ハ抗豚溶血素血清  
 3 cc ヲ 56°C ニテ非働性トナシ 5% 豚血球 6 cc 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ヲ振盪スルコト  
 ナク洗ヒ N/100 ノ酸 3 cc 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 Sulfosalicyl-  
 säure, Ferrocyankalium 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 Lieberman u. Fenyvessy

ノ方法ニヨルト鹽酸ハ血球ヲ破壊スト述ベ又抗體  
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Ausziehungsmethodeトナリ分離「メヂウム」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「メヂウム」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  
應ニ影響シ分離セル溶血素ヲ純粋化シ能ハザリキ  
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。次デ古畑氏<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「メヂウム」ニヨリテ血清沈降素ヲ分離シ、更ニ  
生理的食鹽水「メヂウム」ニヨリテ各種抗體ノ分離  
セラルルコトヲ發表セリ。次デ白玖氏<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  
性抗體ヲモ分離シ得コルトヲ認メタリ。藤間氏<sup>16)</sup>  
ハ海狼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「メヂウム」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「メヂウム」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「メヂウム」トシテハ蔗糖溶液又ハ蒸溜水ノ如キ  
無鹽「メヂウム」ガ最適ナルモノノ如ク、食鹽水及  
ビ酸又ハ「アルカリ」、「メヂウム」モ亦分離可能ナ  
ルヲ知ル。熱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「メヂウ

ム」ノ異ナルニ從ヒテ溫熱モ其ノ溫度ヲ異ニス。  
Pietro Rhndoniハ「アルカリ」、「メヂウム」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ハ分離「メヂウ  
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「メヂウム」トスルトキハ其ノ分離度ハ37°C  
—55°Cニ於テ著明ナル差異ヲ認メズ。42°C—45°C  
ガ最適ナリト。古畑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檢シタルニ緒方教授  
ト同様ナル成績ヲ得タリ。須之内氏ハ蒸溜水「メ  
ヂウム」ニ於ケル血清沈降素分離ニ際シテ分離時  
「メヂウム」ノ溫度ハ53°C—55°Cガ最適ナリト認  
メ食鹽水「メヂウム」ニ於テハ抗體ノ分離度ハ「メ  
ヂウム」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「メヂウム」トシテ使用セルニ沈降素血  
清ニ於テハ65°Cニ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」「メヂウム」  
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ベキ最適當抗原量  
ハ略ボ桑名氏ノ一定方式ニ則リ生理的食鹽水尿素  
「メヂウム」及ビ5%食鹽水尿素「メヂウム」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ノ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、海狸腎ヲ用キ、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り、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、非動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ニ浮游セシメ、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テ數回免疫セリ。F.氏抗體ヲ得ルタメハ全瀉血セル海狸腎ノ皮膜脂肪ヲ除去シ 10%、生理的食鹽水乳劑ヲ作り「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 反應檢査法

##### 第1項 沈降反應檢査法

余ハ總テ本實驗ニ於テハ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檢セリ。沈降反應檢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(卅)、(十)然ラザルモノヲ(一)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、補體ハ新鮮ナル海狸補體ヲ用キ、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檢シタリ。而シテ溶血素、補體、溶血原ハ各 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)、(卅)、(十)、(一)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ニ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)、(卅)、(十)、(一)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(十)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「ノルマルユーゼ」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験管ニ滴加シ 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トヲ混合後一定時間 37°Cノ孵卵器ニ納ム抗原、抗體ヲ結合セシメ遠心沈澱シ、上清ト沈渣トニ分チテ上清ニ就キテハ殘存セル抗體量ヲ測定シ沈渣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

種々ノ温度ニ於テ一定時間浸出シ強力遠心沈澱シ上清ニ就キテ分離抗體量ヲ測定セリ。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り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。蓋シ比較の高濃度ノ尿索加血球ハ強振、加熱、遠心廻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。實驗ニ於テハ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絕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レテ可及的少量トヘルヲ以テ理想トス。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	1,000	2,500
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、緒方氏抗體稀釋法ニヨル結合帶1:250緒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×沈降素價/結合帶ナルヲ以テ0.05 ccナリ。依テ免疫血清2 ccノ生理的食鹽水ヲ以テ稀釋セル5%牛血清2 ccトヲ結合セシメタリ。

### 1) 尿索「メヂウム」ト蒸溜水「メヂウム」トノ分離比較

上述ノ血清沈降素2 ccト牛血清5%溶液2 cc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、次ニ斯ノ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%尿索「メヂウム」中ニ浮遊セシメ45°, 53°, 60°Cノ温度ニ於テ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%尿索「メヂウム」Aト蒸溜水「メヂウム」Bノ分離比較

分離温度	分「メヂウム」	抗 體 稀 釋										分離度
		10	25	50	100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000	
45°	A	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—	—	—	1/ 20 1/100
	B	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
53°	A	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	1/ 10 1/ 20
	B	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	
60°	A	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	1/ 10 1/ 20
	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」ニ於テ最も分離良好ナル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ナルニ尿索「メヂウム」ニ於テハ分離率1/10ニシテ尿索「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」ニ於テ 53°C 及ビ 60°C ニ於ケル分離率ハ共ニ 1/10 ナルモ沈降反應速度 60°C ニ於ケル方速ナルヲ認メタリ。即チ尿素「メヂウム」ニ於テハ加溫度ト共ニ分離良好トナル。

2) 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト食鹽水「メヂウム」トノ分離比較

次ニ生理的食鹽水ヲ以テ 5% 尿素溶液ヲ作り生理的食鹽水「メヂウム」ト分離溫度 45°, 50°, 60°C ニ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

分離溫度	分メヂウム	2	4	8	10	20	40	80	100	200	400	800	1,000	1:2,000	分離度
45°	A B	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/20 1/100
50°	A B	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	1/10 1/20
60°	B A	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	1/10 1/20
原免疫血清結合上清		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—

備考 結合度 1/2

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」ノ加溫度ト共ニ抗體ノ分離良好トナル。45°C ニ於テハ分離度 1/20 ナルモ 50°C, 60°C ニ於テハ共ニ 1/10 ナルモ 50°C ニ於ケルヨリモ 60°C ニ於ケル方ガ沈降反應速度速ナリ。而シテ食鹽水「メヂウム」ニ於テハ最高分離度 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」ニ於テハ 65°C ニ於テ分離度最大ナレドモ尿素「メヂウム」ニ於テハ 60°C 以上ノ加溫ハ沈降物ヲ多少共溶解スル傾向アルヲ以テ比較スル能ハザリキ。

• 3) 種々ナル溫度ニ於ケル 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」トノ分離度ヲ溫度ヲ種々ニシテ比較セリ。即チ分離溫度ヲ 37°, 42°, 45°, 50°, 53°, 60°C トセシニ第4表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第4表 種々ナル溫度ニ於ケル 5% 尿素「メヂウム」ノ分離比較  
B 蒸溜水「メヂウム」

分離溫度	分メヂウム	2	4	8	10	20	40	80	100	200	400	800	1,000	1:2,000	分離度
37°	A B	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/25 1/50
42°	A B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/25 1/50
45°	A B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/25 1/50
50°	A B	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/13 1/25
53°	A B	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/13 1/25
60°	A B	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/13 1/50
原免疫血清結合上清		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—

備考 結合度 1/2

第4表ニ示スガ如ク 5% 尿素「メヂウム」ニ於テハ 37°C ニ於テ分離度 1/25 ニシテ溫度 45°C 迄ハ變化ナキモ 50°C ニ於テ 1/13 トナリ、60°C 迄ハ分離度變化ナキモ沈降反應速度ハ 60°C ニ於テ最モ速カナリ。蒸溜水「メヂウム」ニ於テハ 53°C ニ於テ分離度 1/25 ニ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) 種々ナル溫度ニ於ケル 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」ヲ分離溫度ヲ種々ニ

變化シテ食鹽水「メヂウム」ト比較セルニ第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	分メヂウム離	抗 體 稀 釋										分離度
		5	10	20	40	80	100	250	500	1,000	1,500	
37°	A	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	1/13 1/50
	B	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	
42°	A	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	1/13 1/50
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
45°	A	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	1/13 1/50
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
50°	A	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	1/13 1/50
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
55°	A	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	1/13 1/50
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
60°	A	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	1/6 1/13
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
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」ニ於テハ37°Cニ於テ分離度 1/13ニシテ55°C迄ハ分離度共ニ1/13ニシテ60°Cニ於テ1%ナリ。食鹽水「メヂウム」ニ於テハ60°Cニ於テ分離最も良好ニシテ分離度 1/13ナリ。60°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ベ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低濃度例ハ尿素濃度10%位ニテハ全然溶血ヲ認めル能ハズ。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0.1ccニ結合セシム

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2ccニ溶血價1,000—2,000ナルモノ2ccノ割ニ等量混和シ、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トノ分離比較

分離溫度	分メヂウム離	抗 體 稀 釋										分離度
		10	20	40	80	100	250	500	1,000	1,500	2,000	
37°	A	+++	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	1/25 0
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
42°	A	+++	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	1/25 0
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
45°	A	+++	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	1/13 1/50
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
50°	A	+++	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	1/25 1/50
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
55°	A	+++	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	1/25 1/50
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
60°	A	+++	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	1/25 1/25
	B	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	
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°C, 42°Cニ於テハ分離度 1/25ニシテ45°Cニ於テハ1/13トナリ, 50°, 55°, 60°Cニ於テハ1/25ナリ。即チ45°Cニ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ニシテ尿素「メヂウム」ニ比シテ著シク劣ル。而シテ60°C以上ニ於テハ兩

「メヂウム」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「メヂウム」ト生理的食鹽水「メヂウム」トノ分離比較

次ニ抗山羊溶血素ノ結合帶(血球濃度0.5%, 補體1%)溶血價1:1,000ナルモノニツキテ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ニ第7表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第7表 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 「 メ ヂ ウ ム 」 離	抗 體 稀 釋												分 離 度
		10 1:1	20 1:1	40 1:1	80 1:1	100 1:1	250 1:1	500 1:1	1,000 1:1	1,500 1:1	2,000 1:1	2,500 1:1	3,000 1:1	
37°	A B	+++ +++	+++ +++	++ ++	— —	— —								1/25 0
42°	A B	+++ +++	+++ +++	++ ++	+	—								1/25 0
45°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +	+								1/13 1/50
50°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +	+								1/25 1/50
55°	A B	+++ +++	+++ +++	++ ++	— —	— —								1/50 1/50
60°	A B	+++ +++	+++ +++	++ ++	— —	— —								1/25 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% 補體 1%)  
結合度 3/5

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

3) 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト10% 蔗糖「メヂウム」トノ分離比較

溶血素ノ結合帶(赤血球濃度0.5%, 補體1%)ノ

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

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

分離溫度	分「メヂウム」離	抗 體 稀 釋												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	1:3,000		1:3,500	1:4,000
37°	A B	+++ +++	+++ +++	++ ++	++ ++	++ ++	— —	— —	— —							1/50 1/50
42°	A B	+++ +++	+++ +++	++ ++	++ ++	++ ++	— —	— —	— —							1/25 1/25
45°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ ++	++ ++	++ ++	— —	— —							1/13 1/25
50°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ ++	++ ++	++ ++	— —	— —							1/25 1/25
55°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ ++	++ ++	++ ++	— —	— —							1/25 1/25
60°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	— —							1/25 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「メヂウム」ニ於テハ45°Cニ於テ分離度最モヨク1/13ニシテ10% 蔗糖溶液ニ於テハ60°Cニ於テ分離度最モヨク1/13ナリ。即チ5% 尿素食鹽水「メヂウム」ノ45°C分離度ハ從來稱用セラレタル10% 蔗糖「メヂウム」分離法ニヨル分離度ト殆ド優劣ナシ。

4) 10% 尿素食鹽水「メヂウム」ト10% 蔗糖「メヂウム」トノ分離比較

溶血素ノ結合帶(赤血球濃度0.5%, 補體1%)溶血價1:1,500ナルモノヲ用キテ分離度ヲ比較セルニ第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「メヂウム」ニ於テモ45°Cニ於テ分離最モヨク分離度1/13ニシテ10% 蔗糖「メヂウム」ニ於テハ60°Cニ於テ分離度1/13ニシテ分離最モ良好ナリ。

即チ45°C分離法ニヨル10% 尿素「メヂウム」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	「 メ チ ウ ム 」 離														分 離 度
		10	20	40	80	100	250	500	1,000	1,500	2,000	2,500	3,000	3,500		
37°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +++	++ +++	— +	— +							1/13 1/13	
42°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +++	++ +++	— +	— +							1/13 1/13	
45°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +++	++ +++	— +	— +							1/13 1/13	
50°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +++	++ +++	— +	— +							1/13 1/13	
55°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +++	++ +++	— +	— +							1/13 1/13	
60°	A B	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +++	++ +++	— +	— +							1/25 1/13	
原血	免 疫 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% 補體 1%)  
結合度 1/5

#### 第5節 血球凝集素分離

溶血素分離ト同様ニ20%豚血球浮游液 2ccト  
抗豚血球凝集素 2ccトヲ混和シ結合時間ヲ15分  
トシ分離時間ヲ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」トノ分離比較

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」トノ分離度ヲ  
比較セルニ第10表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第10表ニ示ス如ク 37°, 42°Cニ於テハ分離度  
1/50ニシテ 45°Cニ於テハ 1/13, 50°Cニ於テハ  
1/25ニシテ 55°, 60°Cニ於テハ共ニ 1/50ナリ。即  
チ 45°Cニ於テ分離度最大ナリ。而シテ食鹽水「メ  
ヂウム」ニ於テハ 50°—60°ニ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	メ ヂ ウ ム	抗 體 稀 釋														分 離 度
			5	10	20	40	80	100	250	500	1,000	1,500	2,000	2,500	3,000	3,500	
37°	A B	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++								1/50 1/100	
42°	A B	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++								1/50 1/100	
45°	A B	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++								1/13 1/100	
50°	A B	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++								1/25 1/50	
55°	A B	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++								1/50 1/50	
60°	A B	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++								1/50 1/50	
原 免 疫 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 1/5

テ 1/50ニシテ分離度著シク5%尿素「メヂウム」  
ニ比シテ劣ルヲ認メタリ。溶血素分離ニ於ケルト  
同様 60°C以上ノ分離溫度ハ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  
スルニ第11表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第11表ニ示スガ如ク 37°, 42°Cニ於テハ10%  
尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度 1/25ニシテ 45°C  
ニ於テハ 1/13ニシテ最大トナリ 50°—60°Cニ於テ  
ハ 1/25トナル。即チ 45°Cニ於テ分離度最大ナリ。  
食鹽水「メヂウム」ニ於テハ 45°C乃至 60°ニ於テ  
分離度 1/25トナリ尿素「メヂウム」ニ比シテ分離  
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「メヂウム」離	抗 體 稀 釋														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	1: 3,000	1: 3,500	1: 4,000		1: 4,500
37°	A B	++	++	+	-	-											1/25 1/50
42°	A B	++	++	+	-	-											1/25 1/50
45°	A B	+++	++	++	+	-											1/13 1/25
50°	A B	+++	++	++	-	-											1/25 1/25
55°	A B	+++	++	++	-	-											1/25 1/25
60°	A 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」トノ分離比較

5%及ビ10%尿素食鹽水「メヂウム」ト10%蔗糖「メヂウム」トノ分離度ヲ40°C乃至55°Cノ分離溫度ニ於テ比較スルニ第12表メ如キ成績ヲ得タリ。

第12表ニ示スガ如ク40°Cニ於テハ5%及ビ10%尿素食鹽水「メヂウム」共ニ分離度1/10ニシテ10%蔗糖「メヂウム」ハ1/100ナリ。45°Cニ於テハ5%及ビ10%尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度共ニ1/5ニシテ10%蔗糖「メヂウム」ノ分離度ハ1/50ニシテ50°Cニ於テハ5%及ビ10%尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度共ニ1/25ニシテ10%蔗糖「メヂウム」ハ1/50ナリ。55°Cニ於テハ5%尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度1/50ニシテ10%尿素食鹽水「メヂウム」ハ1/25ニシテ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」ノ間ニハ餘リ差異ヲ認メ難ク、45°Cニ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「メヂウム」離	抗 體 稀 釋										分離度	
		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:
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

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

#### 第 6 節 細菌凝集素分離

大腸菌 18 時間培養ノモノ 5 寒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遊セシメ、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 5 cc 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し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殘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」ヲ加ヘ各種溫度ノ重湯煎中ニ入レ時々振盪シ 30 分ノ後取り出し強力遠心沈澱シ上清ニツキテ凝集價ヲ測定セリ。

1) 各種溫度ニ於ケル 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 1:2,060 ナル抗大腸菌凝集素ヲ用キテ 40°, 45°, 50°, 55°C ニ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 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 溫 度	分 離 「 メ ヂ ウ ム 」	抗 體 稀 釋														分 離 度	
		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 1:
45°	5% 尿素 食 鹽 水	+	+	+	+	—											1/13 1/25
原 免 疫 血 清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
結 合 上 清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	

結 合 度 ¼

2) 45°C ニ於ケル尿素食鹽水「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 ニ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」

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

分離溫度	分離「メヂウム」	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	4,000	
40°	5% 尿素 10% 尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/ 2.5 1/12.5
45°	5% 尿素 10% 尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10 1/10
50°	5% 尿素 10% 尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/10 1/10
55°	5% 尿素 10% 尿素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1/12.5 1/12.5
	原免疫血清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	結合上清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

結合度 ¼

第 13 表ニ示スガ如ク 40°C ニ於テハ兩「メヂウム」共ニ分離度 1/12.5 ニシテ、45°, 50°C ニ於テハ 1/10 トナリ、55°C ニ於テハ 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 ニ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。

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 ニ於ケル 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 ニ於ケリ。  
 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 稀 釋												分 離 度	
		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:
45°	5% 尿 素 蒸 溜 水	+	+	+	+	-	-								1/13 1/25
原 免 疫 血 清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
結 合 上 清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	

結 合 度 1/3

第 15 表ニ示スガ如ク 5% 尿素「メヂウム」ニ於  
 テハ分離度 1/13 ニシテ蒸溜水「メヂウム」ニ於テ  
 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。

「メヂウム」トノ分離度比較

45°C ニ於テ 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。

4) 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト 10% 蔗糖「メ

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 稀 釋												、分 離 度	
		1: 10 1:	1: 20 1:	1: 40 1:	1: 80 1:	1: 100 1:	1: 250 1:	1: 500 1:	1:1,000 1:	1:1,500 1:	1:2,000 1:	1:2,500 1:	1:3,000 1:		1:3,500 1:
45°	5% 尿素 10% 蔗糖	+	+	+	+	+	—	—							1/13 1/10
原 免 疫 血 清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
結 合 上 清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	

備 考 結 合 度 1/3

第 16 表ニ示スガ如ク 5% 尿素食鹽水「メヂウ  
 ム」ニ於テハ分離度 1/13 ニシテ 10% 蔗糖「メヂウ  
 ム」ニ於テハ分離度 1/10 ニシテ 10% 蔗糖「メヂウ  
 ム」稍々勝レルヲ認メタリ。

#### 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  
 素ノ尿素ニ對スル抵抗ハ類脂體嗜好性沈降素ニ比  
 シテ弱シト述ベタリ。

依テ余ハ F. 氏抗體ニ及ボス尿酸ノ影響ヲ檢シ  
 タルニ其ノ影響ハ極メ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. 氏抗體ハ海狸腎臟ヨリ作り、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 2 cc ト免疫血清 2 cc  
 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 ニ於ケル 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ニ第 17 表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 17 表 45°Cニ於ケル 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「メヂウム」離	抗 體 稀 釋										分 離 度	
		10	20	40	80	160	250	500	1,000	2,000	4,000		8,000
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ニ於テハ 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ニシテ 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ニ於テハ 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ニシテ 10% 蔗糖「メヂウム」ノ分離度ハ 1/10ナリ。

Nr. 3ニ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ニシテ 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

ニ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、血球凝集素ヲ分離セルニ沈降素、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」ニヨルト述ベタリ。Nolf<sup>(21)</sup>ハ赤血球ノ生理的食鹽水浮游液ヲ作り 2 群ノ試験管ニ入レー方ニハ水、一方ニハ 1% 尿素ヲ何レモ同容遞次増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ベタリ。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%ニ於テハ溶血ヲ起サズ。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、血球凝集素ヲ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並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く振盪セズ、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ヲ以テナリ。

## 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 トヲ 37°C 15 分間結合セシメ、分離温度 40°—55°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」ヲ用キテ種々ナル温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%, 補體濃度 1%) 溶血價 1:3,000 ナルモノニツキ 40°, 45°, 50°, 55°C ニ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」ニ於テハ 40°C ニ於テ抗體稀釋 1:100 迄完全溶血ヲ起シ分離度 1/10 ニシテ 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 1:80 迄完全溶血ニシテ分離度 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°C ニ於テハ食鹽水「メヂウム」及ビ蔗糖「メヂウム」分離度夫々 1/25, 1/13 ニシテ尿素「メヂウム」ハ 1/5 ナリ。50°C ニ於テハ食鹽水、蔗糖

## 第 18 表 10% 尿素, 5% 食鹽水「メヂウム」

A ヲ用キテ種々ナル温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	分メヂウム離	抗 體 稀 釋														分離度
		10	20	40	80	100	200	400	800	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000	6,000	
40°	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/10
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/25
	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/13
45°	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/5
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/25
	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/13
50°	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/10
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/25
	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/13
55°	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 1/5

## 第 19 表 20% 尿素, 5% 食鹽水「メヂウム」A ヲ用キテ種々ナル温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	分メヂウム離	抗 體 稀 釋														分離度
		10	20	40	80	100	200	400	800	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000	6,000	
40°	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/10
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/25
	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/25
45°	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/5
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/25
	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/13
50°	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/13
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/25
	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+							1/13
55°	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 1:4,000 結合帶(血球 0.5% 補體 1%) 結合度 1/5

「メヂウム」夫々 1/25, 1/13 ニシテ尿素「メヂウム」ハ 1/10 トナリ, 55°C ニ於テハ蔗糖「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 ニ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%, 補體濃度 1%) 溶血價 1:4,000 ナルモノヲ用キテ 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ニ第 19 表(前頁参照)ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 19 表ニ示ス如ク尿素食鹽水「メヂウム」ノ分離度ハ 40°C ニ於テ 1/10, 45°C ニ於テ 1/5, 50°C ニ於テ 1/13, 55°C ニ於テ 1/13 ニシテ 45°C ニテ最大トナル。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 ニ於テ最大トナリ 1/13, 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 55°C ニ於テ最大 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%, 補體濃度 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ニ第 20 表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 20 表ニ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 ニ於テ最大トナリ 1/5 ナリ食鹽水「メヂウム」ハ 55°C ニ於テ最大 1/25 ニシテ 10% 蔗糖「メヂウム」ハ 55°C ニ於テ最大 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 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」

分離溫度	分メヂウム	抗 體 稀 釋											分離度
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	
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	原 免 疫 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 1/5

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 ニ於テ最モ溶血素分離ニ適スルヲ以テ次ニ 45°C ニ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 ニ於ケル分離度ヲ比較セルニ第 21 表(次頁参照)ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 21 表ニ示スガ如ク 5% 及ビ 10% 尿素食鹽水ノ分離度ハ 45°C ニ於テハ共ニ 1/13 ニシテ 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

分離度ニ大ナル影響ナク、食鹽水濃度ニヨリテ影  
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  
ニ劣ル。

第 21 表 分離ニ及ボス尿素濃度ノ影響

分離 溫度	分離「メデウム」	抗 體 稀 釋												分 離 度
		10 1:	20 1:	40 1:	80 1:	100 1:	200 1:	400 1:	800 1:	1,000 1:	2,000 1:	3,500 1:	5,000 1:	
45°	5% 尿素 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/13
	10% 尿素 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/13
	10% 尿素 5% 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	2/5
	20% 尿素 5% 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	2/5
	30% 尿素 5% 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	2/5
	10% 蔗 糖	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/13
	原 免 疫 血 清	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
	結 合 上 清	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	

備考 原免疫血清 溶血價 1:2,500 結合帶(血球 0.25% 補體 0.5%) 結合度 1/3

## 5) 分離ニ及ボス時間ノ影響

溶血素、凝集素ノ分離ニ際シテハ比較的低溫ニ  
於テハ長時間ノ加温ニヨリテ溶血ヲ起スコトナキ  
モ高温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  
分離時間ハ能フ限リ短時間トセリ。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 分離ニ及ボス時間ノ影響

分離 時間	分離「メデウム」	抗 體 稀 釋												分 離 度
		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:	
15 分	20% 尿素 5% 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/10
	10% 蔗 糖	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/25
30 分	20% 尿素 5% 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/10
	10% 蔗 糖	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/25
1 時 間	20% 尿素 5% 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/10
	10% 蔗 糖	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/25
1時間30分	20% 尿素 5% 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/10
	10% 蔗 糖	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/25
2 時 間	20% 尿素 5% 食鹽水	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/10
	10% 蔗 糖	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	1/25
	原 免 疫 血 清	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
	結 合 上 清	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	

備考 分離溫度 40°C 原免疫血清溶血價 1:3,000 結合帶(血球 0.5% 補體 1%) 結合度 1/3

第 22 表ニ示スガ如ク 15 分ヨリ 2 時間迄ノ範圍 響ハ認メ難シ。

内ニ於テハ 40°C ノ分離溫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ニ於ケル分離液蛋白含有量ヲ比較セルニ略ボ1/600乃至1/300蛋白量ヲ含有シ認ムベキ差異ナカリキ。

## 第2項 血球凝集素分離

抗牛血球免疫家兎血清ヲ使用セリ。20%牛血球2ccト血球凝集素2ccトヲ混和シ37°Cニ於テ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ニ第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「メヂウム」離	抗 體 稀 釋										分離度
		2	4	8	10	15	20	50	100	250	500	
40°	A	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	1/250
	B	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	0
	C	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	1/50
45°	A	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	1/100
	B	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	0
	C	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	1/50
50°	A	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	1/200
	B	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	0
	C	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	1/50
55°	A	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	1/250
	B	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	0
	C	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	1/25
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表ニツキテ見ルニ40°Cニ於テハ5%食鹽水10%尿素「メヂウム」ノ分離度ハ1/25ニシテ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ニシテ55°Cニ於テ最大1/25トナル。10%蔗糖「メヂウム」ニ於テハ抗體ヲ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ニ第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「メヂウム」離	抗 體 稀 釋											分離度
		2	4	8	10	15	20	25	50	100	250	500	
40°	A	+++	+++	+++	+++	—	—						1/ 20
	B	+++	+++	+++	+++	—	—						0
	C	+++	+++	+++	+++	—	—						1/100
45°	A	+++	+++	+++	+++	++	+						1/ 10
	B	+++	+++	+++	+++	++	+						0
	C	+++	+++	+++	+++	++	+						1/100
50°	A	+++	+++	+++	+++	++	—	—					1/ 20
	B	+++	+++	+++	+++	++	—	—					0
	C	+++	+++	+++	+++	++	—	—					1/ 50
55°	A	+++	+++	+++	+++	++	—	—					1/ 20
	B	+++	+++	+++	+++	++	—	—					0
	C	+++	+++	+++	+++	++	—	—					1/ 20
原免疫血清		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
結合上清		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—

備考 原免疫血清凝集價 1:250  
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ニ於テ最大1/20トナリ、10%蔗糖「メヂウム」ニ於テハ抗体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ニツキ測定セルニ第25表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第25表ニツキテ見ルニ45°ニ於テ5%食鹽水30%尿素「メヂウム」ノ分離度ハ最大トナリ 1/4ナリ、生理的食鹽水「メヂウム」ニ於テハ50°—55°Cニ於テ最大1/20ナリ、コノ場合ニ於テモ10%蔗糖「メヂウム」ニ於テハ抗体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%尿素溶液ヲ作り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 1:	4 1:	8 1:	10 1:	15 1:	20 1:	25 1:	50 1:	100 1:	250 1:		500 1:
45°	5% 食鹽水	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	1/ 20 1/ 10 1/ 10 1/100
	10% 尿素	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+		
	5% 食鹽水	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+		
	20% 尿素	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+		
原 免 疫 血 清	5% 食鹽水	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	
	30% 尿素	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	
結 合 上 清	生 理 的 食 鹽 水	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

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ニ於テハ5%食鹽水10%尿素「メヂウム」ノ分離度ハ1/20ニシテ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

ス時間ノ影響ヲ觀察セルニ第 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	250	500	
15 分	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的 食鹽水	卅一	卅一	十一	十一	十一							1/ 25 0
30 分	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的 食鹽水	卅十	卅一	十一	十一	十一							1/ 20 1/100
1 時間	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的 食鹽水	卅十	卅一	十一	十一	十一							1/ 20 1/100
1時間30分	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的 食鹽水	卅卅	卅一	十一	十一	十一							1/ 20 1/100
2 時間	20% 尿素 5% 食鹽水 生理的 食鹽水	卅卅	卅一	十一	十一	十一							1/ 20 1/100
原 免 疫 血 清		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	十	一	
結 合 上 清		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	十	一	一	一	

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 時間迄ノ範圍内ニ於テハ 1/20  
ニシテ差異ナシ。

## 第 5 章 總括並ニ考按

感作抗原ヨリ、抗體ヲ分離スル Entziehungs-  
methode ニ於テ分離「メヂウム」ノ異ルニ從ヒテ、  
或ハ又同一「メヂウム」ニ於テモ分離溫度ノ變化ス  
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  
トスルノ原則ヨリ無鹽「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ビ高張食鹽水溶  
液モ分離「メヂウム」トシテ優秀ナリト發表セラレ  
タリ。面シテ分離溫度モ抗體分離ニ必要ナル要素  
ニシテ最適分離溫度ハ各「メヂウム」ニ於テ必ズシ  
モ一定セザルモ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、小酒井氏ハ溶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、緒方  
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緒方教授  
ト同様ノ成績ヲ得ラレタリ。

余ハ分離「メヂウム」トシテ尿素食鹽水「メヂウ  
ム」及ビ 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溫度ヲ求メタリ。  
生理的食鹽水尿素「メヂウム」ニ於テハ比較的低濃  
度ノ尿素 (5% 及ビ 10%) ヲ、5% 食鹽水尿素「メ  
ヂウム」ニ於テハ比較の高濃度 (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  
作り血球ヲ加フルモ溶解セザルコトハ Nolf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  
ベ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兎血清ヲ使用シ  
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兎血  
清ヲ使用シ結合時間ヲ 30 分トシ分離時間ヲ 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」ニヨリ分離最モ惡ク 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ニ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兎血清  
ヲ使用シ結合時間ヲ 15 分トシ分離時間ヲ 15 分ト  
シテ溶血素分離ト同様ナル實驗ヲ行ヘルニ食鹽水  
「メヂウム」ニヨリ分離最モ惡ク、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兎  
血清ヲ用キ結合時間ヲ 2 時間トシ分離時間ヲ 30  
分トシテ 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ヲ用キ種々  
ナル溫度ニ於ケル分離度ヲ求メタルニ 45°Cニ於  
テ分離最モ良好ナルヲ認メタリ。依テ 45°Cニ於  
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狼腎免疫家兎血清ヲ  
用キ、結合時間ヲ 30 分、分離時間ヲ 30 分トシテ  
45°Cニ於テ 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」ヲ作り抗山羊血球免疫家兎血清ヲ使  
用シ結合時間ヲ 15 分、分離時間ヲ 15 分トシ、  
種々ナル溫度ニ於テ溶血素ヲ分離セルニ 45°Cニ  
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。  
分離時間ヲ 15 分乃至 2 時間トシテ分離ニ及ボス  
時間ノ影響ヲ檢シタルニ 40°Cノ分離溫度ニ於テ  
ハ時間ノ影響ハ認メザリキ。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

フオ、ザリチル」酸ニヨリテ 1/600 乃至 1/300 ナリキ。

次ニ抗牛血球免疫家兎血清ヲ使用シ 5% 食鹽水尿素「メヂウム」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 ニ於テ分離最モ良好ニシテ生理的食鹽水「メヂウム」及ビ 10% 蔗糖「メヂウム」ニ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(十)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。次ニ 40°C ニ於テ 15 分乃至 2 時間ノ範圍ニ於テ分離ニ及ボス時間ノ影響ヲ檢シタルニ 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「メヂウム」ハ分離「メヂウム」トシテ優秀ナルモノニシテ之ヲ 10% 蔗糖「メヂウム」ニ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「メヂウム」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「メヂウム」ハ分離「メヂウム」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%)「メヂウム」ハ溶血ヲ起サズ、分離「メヂウム」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、「メヂウム」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) 總テノ溫度ニ於テ、5% 尿素食鹽水及ビ 5% 尿素溶液ハ分離「メヂウム」トシテ生理的食鹽水及ビ蒸溜水ニ勝ル。

3) 5% 尿素食鹽水「メヂウム」ト 5% 尿素「メヂウム」ハ分離「メヂウム」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「メヂウム」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「メヂウム」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「メヂウム」ハ 10% 尿素食鹽水「メヂウム」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「メヂウム」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「メヂウム」ニ比シテ著シク優秀ナリ。

拙筆ニ當リ恩師緒方教授ノ御指導ト御校閱ニ對シ滿腔ノ謝意ヲ表シ、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. Bakt. 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. 5) *Gibson*, Journ. of Biol. Chemie., 1906, 1, 161. 6) *Meyer*, Ab. Hyg., 1908, Bd. 67, S. 1140, 1908. 7) *Arlo*, C. R. Soc. Biol. 1913, Bd. 75, S. 88. 8)

- Liebermann u. Fenyvessy*, Journ. of Inf. dis, 1924, Bd. 34, S. 103. 9) *Pietro Rondoni*, Zeitschr. f. Immf., 1910, 7, 515. 10) 小酒井, Journ of Immunology, V. 3, P. 17, 1918. 11) 古畑, Japan Med. World, No. 6, P. 17, 1921. 12) 緒方, Zeitschr. f. Immf., 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 Antigen 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 Bruttofen (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 Antikörperart 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 Hämolyseisolierung 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 Meerschweinchenriern hergestellt wurde, ergibt sich auch das gleiche Resultat mit 5 % igen 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)