

抗原, 抗体および補体の物理化学的研究

第 2 篇

濾紙電気泳動法による抗体局在の研究

岡山大学医学部衛生学教室 (指導: 緒方教授)

望 月 義 夫

〔昭和 31 年 2 月 25 日受稿〕

1 緒 言

A. Tiselius によつて完成された Tiselius 電気泳動法, および Consden 等によつて始めて試みられた Paper Chromatography の両法の併用によつて発展した濾紙電気泳動法は Haugaard¹⁾ 等によつて Amino 酸の研究に用いられ, その後 Durrum²⁾, Cremer³⁾, Grassmann⁴⁾, Kunkel⁵⁾, Flynn⁶⁾, 小林⁷⁾⁸⁾ 等によつて蛋白質その他の研究に応用された。

一方抗体の局在に関しては 1927 年⁹⁾ Selter は Forssman 抗体は Euglobulin 中に, 又蛋白質に対する抗体は Pseudoglobulin 中に含有されると述べている。さらに 1939 年 Tiselius¹⁰⁾ は電気泳動法により血清は Albumin, α -, β -, γ -Globulin より成り, 特に γ -Globulin は免疫学上重要な成分である事を認めた。又 1941 年 Van der Scheer¹¹⁾ 等は抗肺炎菌馬血清を電気泳動および超遠沈法にて研究し, 免疫によつて正常 γ -Globulin と易動度および分子量の異なる T-成分の出現する事を認めた。緒方¹²⁾ は 1952 年 Tiselius 電気泳動装置により, 各種家兎抗血清を電気泳動し, 上昇脚より Albumin 分層, および Albumin + α - + β -Globulin 分層を, 下降脚より γ -Globulin 分層をピペットにより採取し, その抗体価を測定する方法を用いて抗体の局在について研究し, 抗体は主として γ -Globulin 分層に存在する事を認めた。又太藤, 阿部¹³⁾ は 1953 年, 同様の方法を用いて梅毒患者血清および梅毒接種家兎血清の各成分をピペットにて採取し

Wasserman 抗体は β -, および γ -Globulin 附近に局在するとしている。1955 年中村, 曾良¹⁴⁾ は澱粉を支持体とした Zone Electrophoresis 装置により Diphtheria 毒素および抗毒素 Pseudoglobulin を電気泳動し抗毒素成分である T-成分の精製分離を行つている, 同年 C. A. Williams および P. Graber¹⁵⁾ は Agar Gel 中において馬, 家兎, 驢馬の抗血清を電気泳動し, その抗体の局在について研究を行つている。

筆者は濾紙電気泳動法によつて血清が完全に分離し, 又 Tiselius 電気泳動装置により分離採集した試料と異り, 各成分の混在が僅かであり且, 抽出が非常に容易で, 所要血清も微量で済む事を利用し, 各種抗血清中の抗体の局在を明確にする為に本研究を行つた。

2 実験材料および実験方法

1) 抗血清

①抗結晶卵白 Albumin 家兎血清

Keckwick¹⁶⁾ の方法により 3 回結晶した鶏卵白 Albumin を 2600~3000g の家兎に, Kabat の方法にしたがつて明礬に吸着し, 14 回静脈注射し, 全採血して実験に供した。

② 抗山羊血球凝集素

10%山羊血球生理的食塩水浮遊液を 3 日間隔で数回静脈注射し, 注射量は 1cc より 5cc 迄漸次増量し抗体価を測定後使用した。

③ 抗大腸菌凝集素。

Bacillus Coli Communis を斜面寒天に 18 時間培養後, 1 斜面に 10cc の生理的食塩水を加

えて浮遊液とし、60°C 1 時間殺菌後、家兎耳静脈より 3 日間隔で増量法により数回免疫した。

④ Forssman 抗体.

海猿を失血死させた後、腎を取り、生理的食塩水にて十分残留血液を洗滌した後、10 倍量の生理的食塩水を加えてホモナイザーにより磨碎し、遠心沈澱により粗大粒子を除去後、この腎臓乳剤を 5cc ずつ、7 日間隔で 3 回家兎耳液脈より注射し、全採血後 56°C 15 分間非動化を行い使用した。

⑤ 抗鶏血球凝集素

10% 鶏血球生理的食塩水浮遊液を家兎耳静脈より 1cc より 5cc まで漸次増量して 3 日間隔で注射し、数回免疫後使用した。

2) 濾紙電気泳動法.

泳動装置は小林式濾紙電気泳動装置を用い、電源は、定電流整流装置を使用した。

濾紙は東洋濾紙 No. 50, および No. 51 を用いた。

緩衝液は磷酸緩衝液, pH 8.0, イオン強度 0.045 および、ペロナールソーダ-酢酸ソーダ-酢酸緩衝液 pH 8.5, イオン強度 0.045 を使用した。電流は 0.3mA/cm を用いた。

3) 泳動図測定法.

泳動後の濾紙を 100°C, 5 分間乾燥し、Durrum による Bromphenol-Blue, 酢酸, 昇汞混合液にて 30 分固定染色し、2% 酢酸にて余剰色素を脱色乾燥した。流動パラフィン法により半透明とし直接法により光電比色計にて測定し、各成分比%はプランメーターにより測定した。

4) 抗体抽出法.

抗体抽出に際しペロナール緩衝液を用いた場合には抽出後の溶液の pH がアルカリ性に傾き、特に血球凝集反応において溶血を起すため、磷酸緩衝液を使用した。抗血清を泳動後の濾紙を乾燥前に、1/2 に縦断し、その一部を 1cm 巾に泳動方向に直角に横断し 1cc の生理的食塩水を入れた試験管に入れ、2 時間室温 (30°C) 1 夜氷室に置き、振盪しつつ抽出する。十分抽出した後、遠心して濾紙屑を除

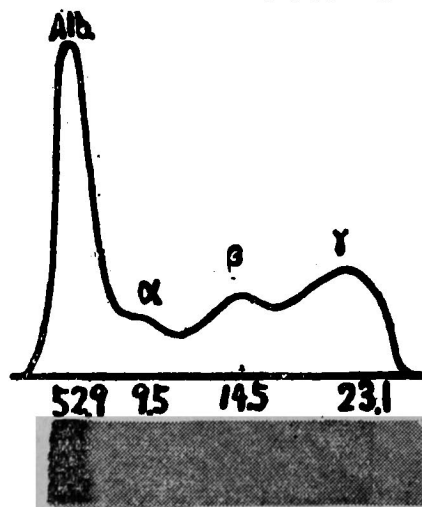
去し、これを抗体抽出液とする。沈降抗体価測定の際には 10% アラビヤゴム生理的食塩水液を抽出液の 1/10 量入れ、緒方法により抗体価を測定した。又細菌および血球凝集素価測定の際には抗体抽出液を生理的食塩水にて倍数稀釈し、抗体液 0.5cc に対して抗原として、細菌凝集反応の場合には、10cc の生理的食塩水に大腸菌を 30 秒 浮遊させたものを 2 滴々下し、血球凝集反応の場合には 2.5% 血球浮遊液を 2 滴添加する。混和後、37°C の孵卵器に 2 時間入れ、更に 24 時間氷室に放置した後、成績を判定した。溶血素価測定の際には、抗体液 0.5cc に対して、海猿補体 2 単位、および 2.5% 山羊血球浮遊液を 0.5cc 加え、37°C の孵卵器に 2 時間置き、更に氷室に 24 時間放置して溶血価を測定し完全溶血を (H) とし、溶血の程度に応じて (H) (++) (+), 完全な不溶血を (-) とした。尚残部の濾紙は対照として染色定量した。

3 実験結果および考按

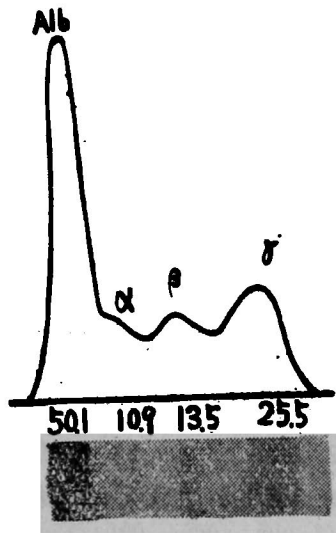
1. 家兎血清分屑および抗体価の免疫経過における変動について:

体重 2200 g の家兎に明礬吸着を行つた結晶卵白 Albumin 9mg を 1 回量とし、4 日毎に免疫し次回注射の直前に、耳静脈より一部採血して血清を分離した。これを濾紙電気泳動法により成分分屑を、又、緒方氏抗原抗体稀釈法により抗体価を測定した。電気泳動図および抗体価を図 1 (A)~(F) に示し、且これらの

第 1 図 (A) 正常家兎血清



㊸ 抗結晶卵白 Albumin 家兔血清
1 回 免 疫

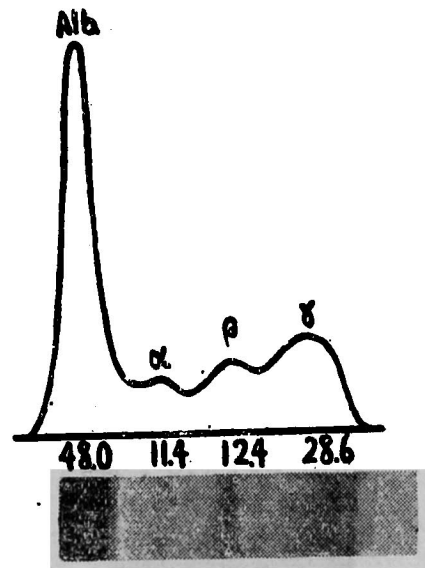


AG \ AK	25	50	100	250
100	+++	+++	++	—
500	+++	+++	++	—
1000	+++	+++	(++)	—
2500	+++	+++	++	—
5000	+++	+++	+	—

AG=抗原稀释

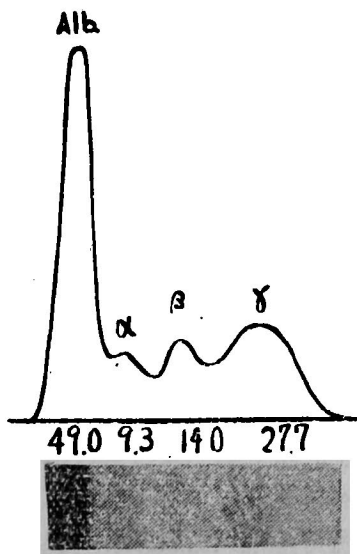
AK=抗体稀释

㊹ 4 回



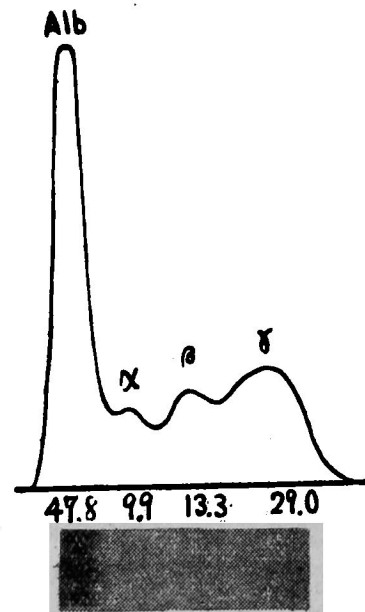
AG \ AK	50	100	250	500	1000
500	+++	+++	++	++	—
1000	+++	+++	++	(++)	—
2500	+++	+++	++	—	—

㊺ 2 回

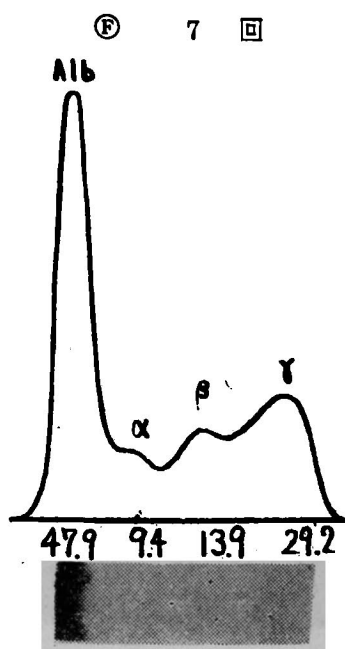


AG \ AK	50	100	250	500
500	+++	++	+	—
1000	+++	++	(+)	—
2500	+++	++	+	—

㊻ 6 回



AG \ AK	100	250	500	1000
500	+++	+++	++	—
1000	+++	+++	++	(+)
2500	+++	+++	++	—



AG	AK	100	250	500	1000	2500
500	+++	+++	+++	++	—	—
1000	+++	+++	+++	(+++)	—	—
2500	+++	+++	+++	++	—	—
5000	+++	+++	+++	++	—	—

U 氏価1:250000 混合法 1:250

補体結合法1:2500 沈降抗体量 0.68 mgN/cc

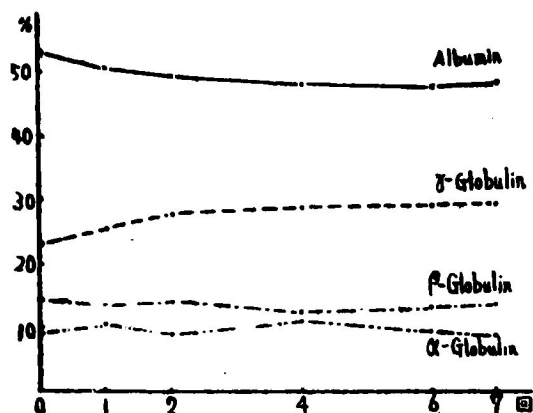
結果を総括して、表1および図2に示す。

表1 免疫経過による家兎血清分層
及び抗体価

注射回数	Albumin	α-Globulin	β-Globulin	γ-Globulin	抗体価
0	52.9	9.5	14.5	23.1	0
1	50.1	10.9	13.5	25.5	100
2	49.0	9.3	14.0	27.7	250
4	48.0	11.4	12.4	28.6	500
6	47.8	9.9	13.3	29.0	1000
7	47.9	9.4	13.9	29.2	1000

以上の結果より、免疫経過中の血清蛋白分層の変動は抗体価の増加と共に Albumin 分層は減少の傾向を示し、その値は正常家兎血清における 52.9% が 7 回免疫後 47.9% に減少した。抗体価と α-Globulin の関係は不定であり、又 β-Globulin との関係も不定であつて、α-Globulin は 9.3~11.4%, β-Globulin は 12.4~14.5% の範囲で変動した。

第2図 免疫経過による家兎血清分層変動図



抗体価と γ-Globulin との関係は抗体価の増加と共に 23.1% より 29.2% に増加し、特に免疫初期において増加が大きい様に思われる。

免疫と γ-Globulin の関係について、A. Tiselius¹⁰⁾ は電気泳動法により血清が Albumin, α-, β-, γ-Globulin よりなる事を認め γ-Globulin が免疫学的に極めて大きな意義を持つ事を述べている。又 Van der Scheer¹¹⁾ 等は免疫によつて家兎抗血清の場合には正常家兎血清の γ-Globulin と同型の γ-Globulin が増加し、一方抗肺炎菌馬血清の場合には正常馬血清に見られない Globulin が出現し、更に抗原抗体反応によつて特異的にその成分が吸収される事を電気泳動法および超遠心法によつて研究している。更に緒方は 1952 年抗鶏血球家兎抗体¹²⁾ を電気泳動し、免疫経過によつて、抗体価の増加とともに γ-Globulin が増加する事を認めて居る。

筆者の濾紙電気泳動法による上述の結果もこれらの研究者の実験結果とよく一致する。尚濾紙電気泳動法による結果の再現性について小林⁷⁾⁸⁾ は条件を一定にすれば十分実用出来ると述べて居り、筆者も蛋白量、濾紙、緩衝液、電流等の電気泳動条件および染色条件を出来得る限り一定にして定量を行つた。

2. 各種家兎抗血清の抗体局在について

1) 濾紙よりの抗体抽出収量に関する実験

抗血清を電気泳動後、果して抗体が完全に抽出されるか、又緩衝液による反応阻止を受

けるか否かを知る為、緩衝液に浸した濾紙に抗結晶卵白 Albumin 家兎血清 0.05cc をつけ、この濾紙を 1cc の生理的食塩水を入れた 3 本の試験管に 1 枚ずつ入れ、室温 (30°C)、40°C、50°C の温浴中に置いて 2 時間時々振盪抽出し、更に 24 時間氷室に入れて抽出した。又同じ抗血清 0.05cc を 1cc の生理的食塩水に稀釈し (原血清の 20 倍稀釈)、これら抽出液および対照液に 10% アラビヤゴム生理的食塩水液を 10 量加えて比重を増した後、重層法により結合帯濃度抗原を加えて抗体価を比較した。この結果を表 2 に示す。表中 (卅) は 15 分以

第 2 表 抗体抽出予備実験

抗体価	100	250	500	1000	2500
原血清	卅	卅	卅	+	—
30°C (室温)	卅	卅	卅	+	—
40°C	卅	卅	卅	+	—
50°C	卅	卅	卅	+	—

内に、(卅) は 30 分以内に、(卅) は 1 時間以内に、(+) は 2 時間以内に反応を示したものをあらわす。本表の結果は室温 (30°C)、40°C、は何れも原血清と変化なく、又緩衝液による反応阻止もない事を示す。但し、50°C における抽出液の抗体価は僅かではあるが弱る傾向がある様に思われた。従つて以下の抗体抽出の実験は室温抽出法を用いた。

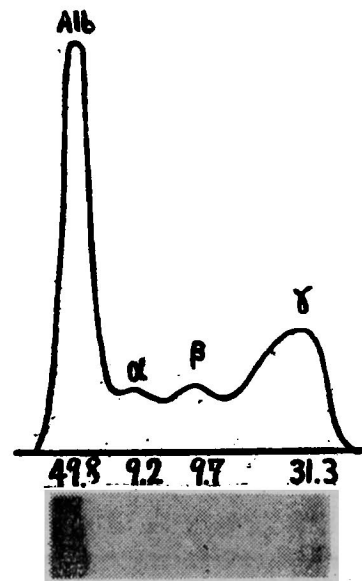
2) 抗体抽出法による各種家兎抗血清の抗体局在について

抗結晶卵白 Albumin 家兎血清 3 例、抗山羊血球凝集家兎血清 3 例、抗鶏血球凝集家兎血清 2 例、家兎 Forssman 抗体 2 例、抗大腸菌凝集家兎血清 2 例を濾紙電気泳動し、泳動方向に直角に切つた濾紙より各分屑を生理的食塩水に抽出し、これに抗原を加える事によつて抗体の局在について研究を行つた。

(1) 抗結晶卵白 Albumin 家兎血清.

これ等抗体の濾紙電気泳動図を図 3, ④ ⑤ ⑥ に示し、各分屑抽出液の抗体価を泳動図の下表に示す。図中の横軸は泳動距離 (cm) を示し、縦軸は蛋白結合色素の吸光度を示す。各抗血清の緒方氏法による稀釈沈降素価は、

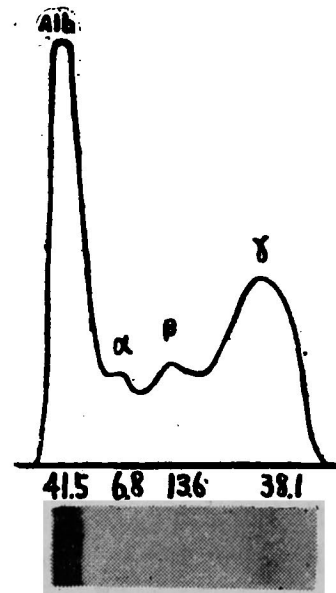
第 3 図 ④ 抗卵白 Albumin 家兎血清 (1) 白



稀釈抗体価 1 : 500

抗体稀釈	1	2.5	5	10	20	50
Albumin	+	—	—	—	—	—
α-Globulin	—	—	—	—	—	—
β-Globulin	+	—	—	—	—	—
γ-Globulin	卅	卅	卅	+	+	—

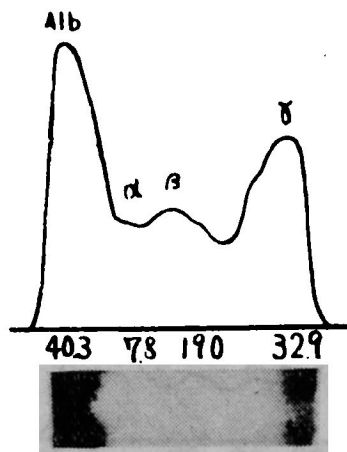
⑤ 抗卵白 Albumin 家兎血清 (2) 赤



稀釈抗体価 1 : 500

抗体稀釈	1	2.5	5	10	20	50
Albumin	—	—	—	—	—	—
α-Globulin	±	—	—	—	—	—
β-Globulin	+	+	—	—	—	—
γ-Globulin	卅	卅	卅	卅	卅	±

© 抗卵白 Albumin 家兎血清 (3)



稀釈抗体価 1:1000

抗体稀釈	1	2.5	5	10	20	50
Albumin	+	—	—	—	—	—
α-Globulin	—	—	—	—	—	—
β-Globulin	+	+	—	—	—	—
γ-Globulin	+++	+++	+++	++	+	—

1%の結晶卵白 Albumin を基準として, 1:500, 1:500, および 1:1000 であった。抗体は殆ど γ-Globulin に含有されるが, β-Globulin にも極微量に存在するものと思われる。即ち, γ-Globulin 分屑の抽出液の抗体価は夫々 1:20, 1:50 および 1:20 であり, β-Globulin 分屑抽出液の抗体価は 1:1, 1:2.5 および 1:2.5 であった。

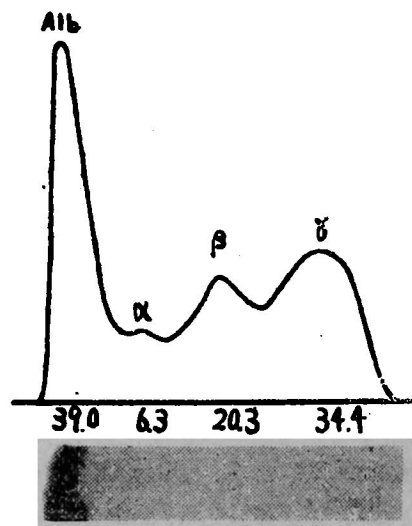
(2) 抗山羊血球凝集および溶血家兎血清。

抗血清 3 例の血球凝集価は夫々, 1:1000, 1:2500 および 1:3200 であり, 第 3 例の溶血価は 1:6400 であった。これら抗血清の電気泳動図および抽出抗体価を図 4 ④⑤⑥に示す。即ち, γ-Globulin 分屑抽出液の凝集価は夫々 1:8, 1:16 および 1:4 であり, 第 3 例の溶血素価は 1:8 であった。これに比して, β-Globulin 分屑抽出液の抗体価は第 2 例において 1:2 まで反応したが, 他の例では抗体の存在は見られず, これらの結果より抗山羊血球凝集および溶血性抗体は殆ど, γ-Globulin のみに含まれるものと思われる。

(3) 抗鶏血球凝集家兎血清。

抗血清の血球凝集価は 1:1024 および 1:

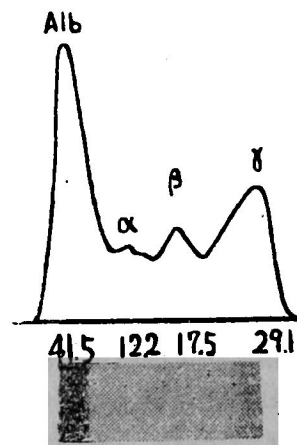
第 4 図 ④ 抗山羊血球凝集家兎血清(1)



凝集素価 1:1000

抗体稀釈	1	2	4	8	16
Albumin	—	—	—	—	—
α-Globulin	±	—	—	—	—
β-Globulin	±	—	—	—	—
γ-Globulin	+++	+++	++	+	±

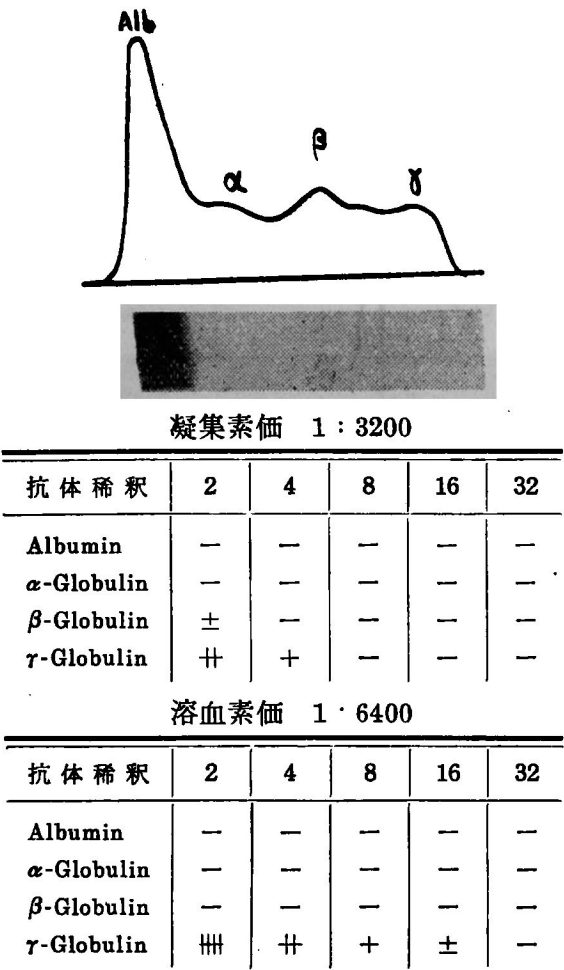
⑤ 抗山羊血球凝集家兎血清 (2)



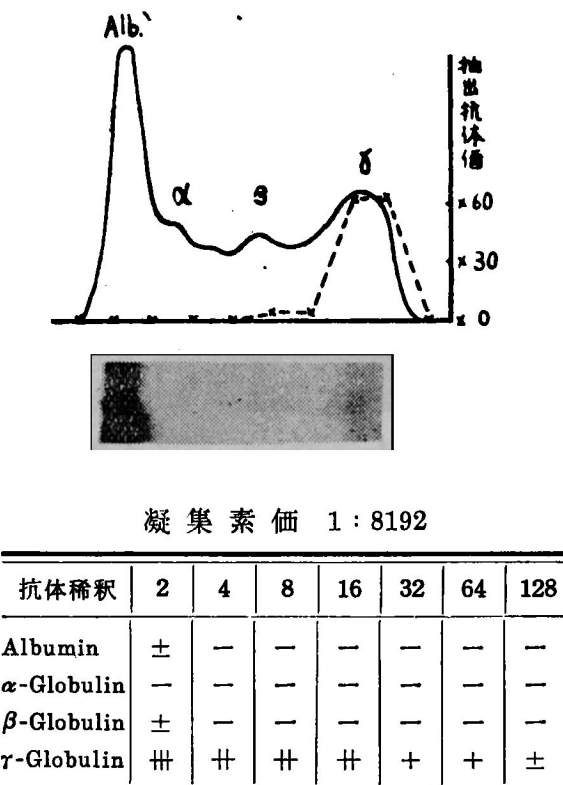
凝集素価 1:2500

抗体稀釈	1	2	4	8	16	32
Albumin	±	—	—	—	—	—
α-Globulin	—	—	—	—	—	—
β-Globulin	+	+	—	—	—	—
γ-Globulin	++	+++	++	+	+	±

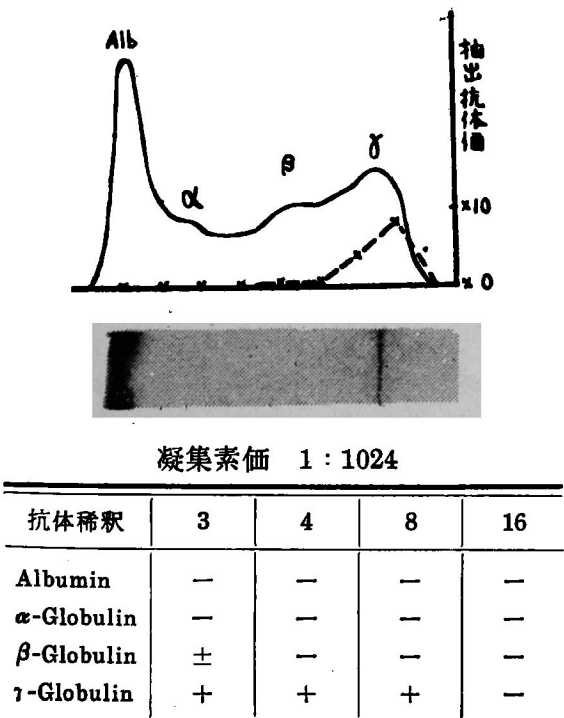
㉔ 抗山羊血球凝集及び溶血家兔血清 (3)



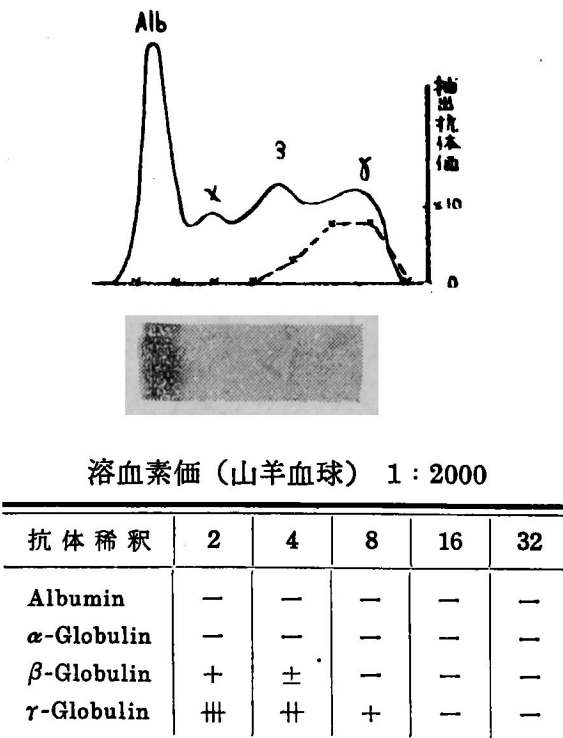
㉕ 抗鶏血球凝集家兔血清 (2)



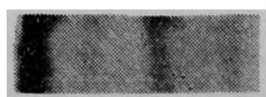
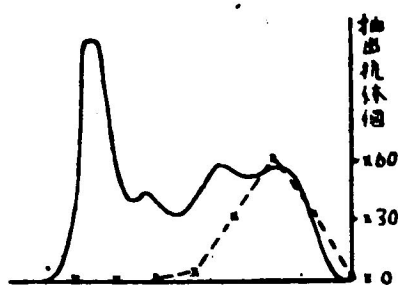
8192であり、これらの電気泳動図および抽出抗体価を図5、㉔㉕に示す。電気泳動図中の第5図 ㉔ 抗鶏血球凝集家兔血清 (1)



第6図 ㉔ Forssman 抗体 (1)



⑧ Forssman 家兎血清 (2)



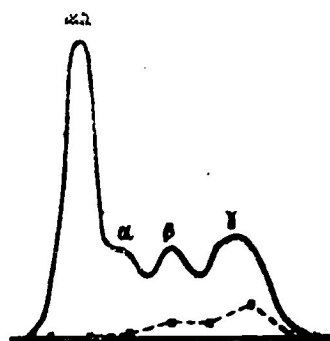
溶血素価 (山羊血球) 1 : 8000

抗体希釈	2	4	8	16	32	64
Albumin	—	—	—	—	—	—
α -Globulin	—	—	—	—	—	—
β -Globulin	+	±	—	—	—	—
γ -Globulin	+++	+++	+++	+++	++	±

点線は抽出抗体価を示している。これらの結果は γ -Globulin 分層のみに抗体が含まれている事を示すものである。即ち、抽出抗体価は γ -Globulin 分層のみに含まれ 1 : 8 および 1 : 64 を示した。

(4) 家兎 Forssman 抗体。

第7図 ④ 抗大腸菌凝集家兎血清 (1)

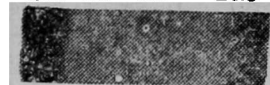
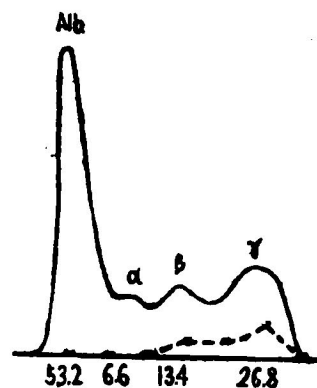


凝集素価 1 : 1000

抗体希釈	2	4	8	16	32
Albumin	±	—	—	—	—
α -Globulin	—	—	—	—	—
β -Globulin	+	—	—	—	—
γ -Globulin	+	±	—	—	—

抗血清の山羊血球に対する溶血価は 1 : 2000, および 1 : 8000 を示し、凝集価は 1 : 2000 および 1 : 2000, である。電気泳動図および抽出抗体価を図 6, ④⑧ に示す。これ等

⑨ 抗大腸菌凝集家兎血清 (2)



凝集素価 1 : 500

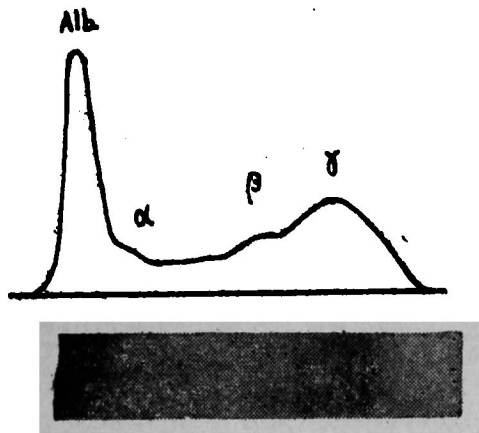
抗体希釈	2	4	8	16	32
Albumin	±	—	—	—	—
α -Globulin	—	—	—	—	—
β -Globulin	+	—	—	—	—
γ -Globulin	++	+	—	—	—

の結果より Forssman 抗体は γ -Globulin, (γ_1 -Globulin), に主として含有され一部は β -Globulin 分層に含有されるものと思われる。図中点線は抽出抗体価を示すが、抗体の局在は抗鶏血球凝集家兎血清に比して広く分布し γ -Globulin および γ -Globulin と β -Globulin との中間の易動度を有する部分 (γ_1 -Globulin 相当部) にも可成り存在する様に思われる。

(5) 抗大腸菌凝集家兎血清。

抗血清の電気泳動図を図 7 ④, ⑨ に示す。抗体価は失々 1 : 1000 および 1 : 500 であつた。原血清の凝集価が低いために、明確な結果は得られなかつたが γ -Globulin および一部 β -Globulin に抗体が含まれるものと思われる。

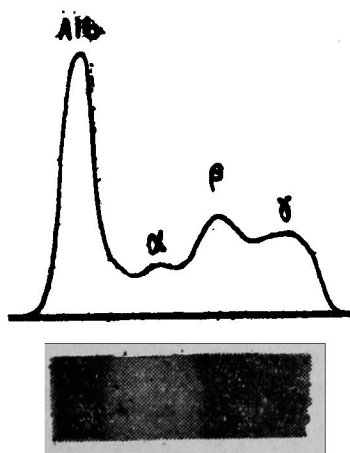
第8図 ① 抗A標準人血清



凝集価 1:1024

抗体希釈	2	4	8	16	32
Albumin	±	—	—	—	—
α-Globulin	—	—	—	—	—
β-Globulin	—	—	—	—	—
γ-Globulin	+	+	±	—	—

② 抗B標準人血清



凝集価 1:2048

抗体希釈	2	4	8	16	32	64
Albumin	—	—	—	—	—	—
α-Globulin	—	±	—	—	—	—
β-Globulin	—	—	—	—	—	—
γ-Globulin	++	+	+	±	±	—

(6) 塩析法による Forssman 抗体および抗鶏血球凝集抗体局在の差異について.

1927 年 Selter⁹⁾ は Forssman 抗体は Euglobulin 中に，又蛋白質に対する抗体は Pseudoglobulin 中に含有されていると述べている.

筆者は Lipoid に対する抗体と蛋白質に対する抗体の局在の差異について興味を感じ濾紙泳動法および塩析法によつて検討しようとした.

一方血清の塩析法に関しては Howe¹⁷⁾ によつて塩析に要する芒硝の濃度により Euglobulin, Pseudoglobulin の名称が与えられ，その後 Keckwick¹⁸⁾, Majoor¹⁹⁾, Milne²⁰⁾, Kibrick²¹⁾ 等によつて血清の芒硝塩析法と電気泳動による血清成分分層濃度との関係が研究された. Majoor は芒硝濃度 18.5%，26.8% で夫々 Eu- および Pseudoglobulin が沈澱し，Euglobulin は主として γ-Globulin, Pseudoglobulin は α-+β-Globulin に一致すると述べ，Milne は芒硝濃度 19.6%，26.3% で夫々 Eu- および Pseudoglobulin が沈澱し，前者は β-+γ-Globulin，後者は α₁-+α₂-Globulin と一致すると述べている. 更に菅野²²⁾ は以上の研究を参照して人血清を芒硝で分画し各分画を電気泳動により検討している. 即ち，芒硝濃度 15% における分画の成分比は α-Globulin=8.0%，β-Globulin=10.3%，γ-Globulin=81.7% であり，19.6% 濃度では Albumin=15.2%，α-Globulin=20.9%，β-Globulin=43.0%，γ-Globulin=20.9%，26.8% 濃度では Albumin=19.1%，α-Globulin=61.7%，β-Globulin=19.2%，γ-Globulin=0%，更に 26.8% 濃度の上清では Albumin=100% であると述べている.

又緒方²³⁾ は Keckwick の方法および電気泳動分離法により，馬血清を分画し，更に各分画の成分比を電気泳動法により研究している. この結果によると 14% 濃度の分画では β-Globulin=3.0%，γ-Globulin=97%，18% 濃度では Albumin=1.3%，α-Globulin=18.0%，β-Globulin=59.2%，γ-Globulin=21.6% であり，又 pH 4.9 において 32% と 20% 濃度の間の分画は Albumin=40.6%，α-Globulin=59.4% である.

筆者は γ-Globulin および β-Globulin に主眼をおき，Forssman 家兎抗体および抗鶏血球凝集家兎血清を芒硝濃度 14%，20% およ

びその上清の三分屑に分画し、各塩析濃度芒硝溶液で沈澱物を洗滌した後、生理的食塩水に透析脱塩した。各分屑の蛋白濃度を一定として（1%）各分屑の溶血素価および凝集素価を測定した。又濾紙泳動法により各分屑の成分比を求めた。この結果により、14%芒硝濃度における沈澱物は殆ど γ -Globulin のみよりなり、20%における沈澱物は各成分を含

むが、その成分比は Albumin=19.9%, α -Globulin=24.2%, β -Globulin=43.3%, γ -Globulin=12.6% 含まれる事が認められた。20%における上清は γ -Globulin 以外の各成分を含み、Albumin=63.8%, α -Globulin=20.7%, β -Globulin=15.5% であつた。更に表3, ④⑤には各分屑の抗体価を測定した結果が示される。

第3表 塩析法による Forssman 抗体および抗雞血球凝集素局在の差異について。

④ Forssman 抗体

1) 溶血反応（山羊血球）

稀 釈 倍 数	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120
分 屑	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
芒硝濃度 20% 上清 (Albumin 相当部)	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
芒硝濃度 14~20% 沈澱 (Pseudo-globulin 相当部)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
芒硝濃度 14% 沈澱 (Euglobulin 相当部)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	—

原血清溶血価 1:4000 (反応限界 1:8000)

2) 凝集反応（山羊血球）

稀 釈 倍 数	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
分 屑	1	1	1	1	1	1	1
芒硝濃度 20% 上清 (Albumin 相当部)	—	—	—	—	—	—	—
芒硝濃度 14~20% 沈澱 (Pseudo-globulin 相当部)	++	++	++	+	±	±	—
芒硝濃度 14% 沈澱 (Euglobulin 相当部)	++	++	++	+	+	+	—

原血清凝集素価 1:2000

⑤ 抗雞血球凝集家兔血清

稀 釈 倍 数	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
分 屑	1	1	1	1	1	1	1	1
芒硝濃度 20% 上清 (Albumin 相当部)	+	±	—	—	—	—	—	—
芒硝濃度 14~20% 沈澱 (Pseudo-globulin 相当部)	+++	+++	+++	+	+	±	±	—
芒硝濃度 14% 沈澱 (Euglobulin 相当部)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+

原血清凝集素価 1:16000

即ち Forssman 抗体においては14%芒硝濃度の沈澱、および14~20%濃度における沈澱の抗体価は殆ど変化なく20%濃度以上の分画

には殆ど抗体は存在しなかつた。又山羊血球に対する凝集反応についても同様であつた。更に Forssman 抗体局在の対照として、抗雞

血球凝集家兎血清を同様分画し、各分層の抗体価を測定したところ 14%濃度分層の抗体価は 1:1280 であり、14%~20%濃度における分層は 1:160 を示し、又 20%濃度以上の分層は 1:10 まで反応した。又既述の濾紙電気泳動後抽出法により測定した抗体分布を Forssman 抗体と抗鶏血球凝集素とについて比較すると、Forssman 抗体の分布は γ -Globulin, (γ_1 -Globulin) および β -Globulin まで広く存在するが、抗鶏血球凝集素は殆ど γ -Globulin のみに存在する事が認められた。

(7) 抗 A 型、および抗 B 型血球人血清。

人血清中に存在する抗体の局型を検討する為に北陸血清製造所製の抗 A および抗 B 人血清を濾紙泳動し対応する人血球の 2.5%浮游液を抗原として、濾紙抽出液の凝集価を測定した。その結果を図 8 (A) (B) に示す。これらの結果より血液型抗体は抗 A、および抗 B とも γ -Globulin に含有される事を認めた。尚抗 A および抗 B 型血球人血清の電気泳動像が正常に比して特異と思われる。この原因に関しては本血清が 5000 倍のマーゾニンが添加されてあるのではないと思われる。最近荒木²⁴⁾もマーゾニンを 1000 倍に加え 37°C, 2 時間置いた場合の人血清が正常人血清に比して大きい γ -Globulin を示すと述べている。

結 論

濾紙電気泳動法により抗血清を電気泳動し、抗体を抽出する方法によつてその局在を研究

し、次の結果を得た。

1) 抗結晶卵白 Albumin 家兎血清の抗体は殆ど γ -Globulin に含有され極微量が β -Globulin に含まれる傾向がある。

2) 抗山羊血球家兎血清の凝集素および溶血素は γ -Globulin のみに含まれる。

3) 抗鶏血球凝集家兎血清の抗体は γ -Globulin のみに含有される。

4) 家兎 Forssman 抗体は γ -Globulin および γ -Globulin と β -Globulin の中間部 (γ_1 -Globulin), 極一部は β -Globulin にも含まれる様に思われる。

5) 抗大腸菌凝集家兎血清の抗体は主として γ -Globulin に、一部は β -Globulin に存在する。

6) 塩析法によつて抗鶏血球凝集素と Forssman 抗体の局在を研究し、抗鶏血球凝集素は主として Euglobulin に Forssman 抗体は Euglobulin, Pseudoglobulin 分層に涉つて存在する事が認められた。

7) 抗 A 型および抗 B 型血球人血清の抗体は γ -Globulin に含有される。

(本論文要旨は昭和30年6月、岡山医学会第469回通常例会、および昭和30年11月、東京における第6回電気泳動研究会総会において発表した。)

稿を終るに当り、御懇篤なる御指導および御校閲を賜つた恩師緒方益雄教授に深く感謝致します。又有益な御助言を戴きました公衆衛生学教室緒方正名講師に感謝致します。

文 献

- 1) Haugaard, G. & Kroner, T.: J. Am. Chem. Soc., **70**, 2135 (1948)
- 2) Durrum, E. L.: J. Am. Chem. Soc., **72**, 2943 (1950)
- 3) Cremer, H., & Tiselius, A.: Biochem. Z. **320**, 273 (1950)
- 4) Grassmann, W., & Hannig, K.: Naturwissenschaften, **37**, 397 (1950)
- 5) Kunkel, H. G., & Tiselius, A.: J. Gen. Physiol., **35**, 89 (1951)
- 6) Flynn, F. V., & De Mayo, P.: Lancet **261**,

- 235 (1951)
- 7) 小林茂三郎: 生物物理化学, **2**, No. 1, 3 (1954)
- 8) 小林茂三郎, 森五彦: 濾紙電気泳動法の実際, 南江堂 (1955)
- 9) Selter, Z. schr. f. Immunitätsf., **53**, 113 (1927)
- 10) Tiselius, A., Kabat: J. Exp. Med., **69**, 119 (1939)
- 11) Van der Scheer, J., Lagsdin, J. B. & Wyckoff, R. W. G.: J. Immunol. **41**, 209 (1941)

- 12) 緒方正名 : 生物物理化学, 1, No. 2, 21 (1952)
- 13) 太藤重夫, 阿部長雄 : 生物物理化学, 1, No. 3, 78 (1953)
- 14) 中村弘, 曾良忠雄 : 生物物理化学, 2, No. 4, 68 (1955)
- 15) Williams, C. A., Graber, P. : J. Immunol., 74, 397, 404 (1955)
- 16) Kekwick, R. A., Cannan, R. K. : Biochem. J., 30, 232 (1936)
- 17) Howe, P. E. : J. Biol. Chem., 49, 93, 109 (1921)
- 18) Kekwick, R. A. : Biochem. J., 32, 552 (1938)
- 19) Majoor, C. L. H. : J. Biol. Chem., 169, 583 (1947)
- 20) Milne, J. : J. Biol. Chem., 169, 595 (1947)
- 21) Kibrick, A. C., Blonstein, M. : J. Biol. Chem., 17, 983 (1948)
- 22) 菅野浩 : 生物物理化学, 1, No. 3, 63 (1953)
- 23) 緒方正名 : 生物物理化学, 2, No. 2, 21 (1955)
- 24) 荒木仁 : 最新医学, 10, No. 10, 148 (1955)

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

Studies on the Distribution of Antibodies by Filter-Paper Electrophoresis.

By

Yoshio Mochizuki

The procedures of filter-paper electrophoresis and extraction from it, were employed to determine the distribution of antibodies.

The following results were obtained :

- 1) Antibodies of anti-crystalline hen's egg albumin rabbit sera were found in γ -globulin fraction and slightly in β -globulin fraction.
 - 2) Antibodies of anti-goat red blood cells rabbit sera were found in γ -globulin fraction.
 - 3) Antibodies of anti-hen's red blood cells rabbit sera were found in γ -globulin fraction.
 - 4) Forssman's antibody of rabbit sera was found in γ -globulin (γ_1 -globulin) fraction, and slightly in β -globulin fraction. These facts were also demonstrated by salting-out method.
 - 5) Antibodies of anti- "bacillus coli communis" rabbit sera were found in γ -globulin and somewhat in β -globulin fraction.
 - 6) Antibodies of anti-A and anti-B blood cells human sera were found in γ -globulin fraction.
-