

60.

612.11:619.1

抗體ノ結合竝ニ分離ニ關スル研究補遺

(第 2 報)

抗體分離液へノ抗原移行抑止ト
分離抗體量増加ニ就テ

岡山醫科大學衛生學教室 (主任緒方教授)

大 岩 博 雅

[昭和 8 年 8 月 12 日受稿]

*Aus dem Hygienischen Institut der Okayama Medizinischen Fakultät
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).*

Beiträge zum Studium über Bindung und Isolierung der Antikörper.

(2. Mitteilung.)

**Die Antikörperisolierung aus hyper- oder wiederholt
sensibilisierten Antigenen.**

Von

Hiromasa Ohiwa.

Eingegangen am 12. August 1933.

Da Verfasser in der vorigen Mitteilung feststellte, dass sowohl in vitro als auch in vivo das Antigen in der isolierten Antikörperlösung, von der das sensibilisierte Antigen reversibel frei gelassen wurde, immer noch vorhanden war, so wollte er eine möglichst antigenfreie Antikörperlösung darstellen, indem er den Übergang der Antigene zur Isolierungslösung durch wiederholte Sensibilisierung oder durch physikalische Behandlung des Antigens vermied. Durch 3-mal wiederholte Antigensensibilisierung mit dem entsprechenden Antikörper konnte er bei der Isolierung des Bakterienpräzipitins, Bakterienagglutinins, Serumpräzipitins, Hämogglutinins, Hämolytins, des Forssman'schen Antikörpers und des Bakteriolytins die zur Isolierungslösung übergehende Antigenmenge minimal halten und die isolierte Antikörpermenge umgekehrt steigern. Damit

konnte er die Antikörperbildung bei Immunisierung des Kaninchens nicht mehr beobachten. Durch Wiedergebrauch des isolierten Antigens, auch durch Anwendung des Rückstandes der Isolierungslösung als Antigen zur Sensibilisierung hat er bei der Isolierung aller Antikörper ebenfalls gute Resultate erzielt, ganz besonders bei der Isolierung des Bakterienpräzipitins oder -agglutinins. Bei dieser Wiederholung des Isolierungsverfahrens ging das Antigen nicht mehr in die isolierte Lösung über, und man fand in der Isolierungslösung nur die Antikörper, die viel mehr als bei frischem Antigen frei geworden waren, weil sich die Antikörperverbindungskraft des alten Antigens nicht so stark vermindert.

Wenn man gekochte Rote-Blutkörperchen oder mit Formalin behandelte Rote an Stelle der frischen Rote-Blutkörperchen benutzt, so ist das für den Isolierungszweck sehr günstig, weil dann keine Hämolyse bei der Sensibilisierung und Isolierung herbeigeführt wird und die Antikörperverbindungskraft erhalten bleibt.

Als Isolierungsmedium hat Verfasser mit Rücksicht auf die Antigenlöslichkeit physiologische Kochsalzlösung empfohlen. Bei Aq. dest. oder Rohrzuckermedium gehen in das isolierte Medium sowohl die Antikörper als auch die Antigene in starker Masse über.

Durch Isolierung der Hämoagglutinine konnte Verfasser bei gleichem Titer die hemmende Erscheinung des konzentrierten Serums vermeiden.

Bei Anwendung zur Bindung und Isolierung von Antigen und Antikörper kam er zu dem Schluss, dass das Komplement die Bindung zwischen Antigen und Antikörper etwas verstärkt, dass aber bei Isolierung die letzteren viel mehr gegenseitig auf einander einwirken.

Statt der Blutkörperchen zeigt sich das gekochte eiweissartige Antigen oder das Antigen mit zugesetztem Formalin viel schlechter zur Antikörperbindung und damit werden die isolierten Antikörper auch geringer als bei frischen oder wiederholt sensibilisierten Antigenen. (Autoreferat.)

内 容 目 次

第1章 緒言	第2項 抗原
第2章 文獻	第3項 分離法
第3章 細菌沈降素分離液及ビ血清沈降素分離液ノ抗原含量ト其ノ分離方法就中分離「メヂウム」及ビ分離溫度トノ關係ニ就テ	第4項 分離液含有抗原ノ測定法
第1節 實驗材料並ニ實驗方法	1. 沈降反應
第1項 免疫血清	2. 補體結合反應
	第2節 實驗成績
	第4章 細菌沈降素及ビ細菌凝集素ノ分離ニ就テ

第 1 節 實驗材料並ニ反應検査法

第 1 項 實驗材料

第 2 項 反應検査法

1. 沈降反應
2. 凝集反應
3. 補體結合反應

第 2 節 實驗並ニ其ノ成績

第 1 項 抗體ヲ以テスル抗原ノ重複感作後ノ分離

1. 重複感作ハ幾何適當ナリヤ
 - a. 抗原トシテ大腸菌浸出液ヲ使用スル場合
 - b. 抗原トシテ大腸菌菌體ヲ使用スル場合
2. 各感作ハ幾何時間適當ナリヤ
3. 各感作ニ使用スル免疫血清ノ異同ト分離成績トノ關係
 - u. 同一抗血清ノ各種稀釋ヲ以テスル重複感作
 - b. 別個家兎ヨリ得タル抗血清ヲ以テスル重複感作
4. 重複感作ニヨリ分離液含有抗原量ノ減少スル理由如何

第 2 項 抗原ノ理化學的處置

1. 抗原ノ蒸餾水及ビ生理的食鹽水「メヂウム」加熱浸出
2. 分離抗原ノ再用
3. 抗原ノ「フォルマリン」處置
4. 抗原ノ「アルコール」處置

第 3 項 沈降反應、凝集反應及ビ補體結合反應ノ相互關係

第 3 節 提 要

第 5 章 血清沈降素ノ分離ニ就テ

第 1 節 實驗材料並ニ反應検査法

第 1 項 實驗材料

第 2 項 反應検査法

第 2 節 實驗並ニ其ノ成績

第 1 項 抗原ノ重複感作後ノ分離

第 2 項 抗原ノ理化學的處置

1. 分離抗原ノ再用
2. 抗原ノ加熱

u. 85°C 1 時間加熱

b. 100°C 30 分加熱

(イ) 牛血清ヲ食鹽水ヲ以テ 10 倍ニ稀釋シタル後加熱シタル場合

(ロ) 牛血清ヲ稀釋セズ其ノ儘加熱シタル場合

3. 抗原ノ「フォルマリン」處置

4. 抗原ノ「アルコール」處置

第 3 項 分離液ノ抗原含量ト其ノ U₁ 氏法沈降素價トノ關係

第 3 節 提 要

第 6 章 血球凝集素ノ分離ニ就テ

第 1 節 實驗材料並ニ反應検査法

第 1 項 實驗材料

1. 免疫血清

2. 抗原

u. 血 球

b. 加熱血球

u. 「フォルマリン」固定血球

第 2 項 反應検査法

第 2 節 實驗並ニ其ノ成績

第 1 項 抗原ノ重複感作後ノ分離

1. 抗原トシテ洗滌血球ヲ使用シタル場合

2. 抗原トシテ加熱血球ヲ使用シタル場合

3. 抗原トシテ「フォルマリン」血球ヲ使用シタル場合

第 2 項 分離抗原ノ再用

第 3 項 原血清、結合上清及ビ分離液ノ血球凝集反應阻止帶ニ就テ

第3節 提要

第7章 溶血素ノ分離ニ就テ

第1節 實驗材料並ニ反應検査法

第1項 實驗材料

第2項 反應検査法

第2節 實驗並ニ其ノ成績

第1項 抗原ノ重複感作後ノ分離

1. 抗原トシテ洗滌血球ヲ使用シタル場合
2. 抗原トシテ加熱血球ヲ使用シタル場合
3. 抗原トシテ「フォルマリン」血球ヲ使用シタル場合

第2項 分離抗原ノ再用

第3項 溶血素ノ結合及ビ分離ニ及ボス補體ノ影響

第4項 分離溶血素ノ補體需要量ニ就テ

第3節 提要

第8章 Forssman氏抗體ノ分離ニ就テ

第1節 實驗材料並ニ反應検査法

第1項 實驗材料

第2項 反應検査法

第2節 實驗並ニ其ノ成績

第9章 溶菌素ノ分離ニ就テ

第1節 實驗材料並ニ反應検査法

第1項 實驗材料

第2項 反應検査法

第2節 實驗並ニ其ノ成績

第1項 抗原ノ重複感作後ノ分離

第2項 分離抗原ノ再用

第3項 分離溶菌素ノ反應阻止帶ニ就テ

第4項 分離液ノ溶菌價、沈降素價及ビ凝集價ノ相互關係ニ就テ

第3節 提要

第10章 總括並ニ考按

第11章 結論

文獻

第1章 緒言

1897年Widal et Sicard氏ガ「チフス」凝集素ノ分離ヲ試ミシ以來各種抗體ノ分離ハ諸學者ニヨリ研究セラレ其ノ方法漸次改良セラレルニ至レリ。蓋シ之ガ純粹分離ハ其ノ性狀研究上極メテ重要ニシテ興味アル問題タルニ止マラス實地應用上裨益スルトコロ頗ル大ナルハ言テ俟タザル所ナリ。

而シテ抗體分離ハ細菌凝集素ニ始マリ其ノ分離方法タルヤ Hahn u. Trommsdorff氏ノ創メシ Ausziehungsmethode ハ最初Widal et Sicard氏ノ行ヒシ Ausfällungsmethodeニ代ハルニ至リ爾來 Ausziehungsmethodeモ次第ニ改良セラレ分離「メヂウム」トシテ最

初ハ「アルカリ」ヲ作用セシメタルモ後蔗糖液蒸餾水使用セラレ更ニ生理的食鹽水或ハ高張食鹽水ヲ使用シテ良好ナル成績ヲ得ルニ至レリ、

又分離抗體ニアリテモ細菌凝集素ノ外血球凝集素、溶血素、溶菌素、補體結合性抗體、細菌沈降素、Forssman氏抗體、血清沈降素、Bakteriotropin等ノ業績相次デ發表セラレタリ、

曩ニ余ハ須之内氏ノ發表セシ生理的食鹽水分離法ヲ細菌沈降素及ビ血清沈降素ニ就キ施行シ沈降反應及ビ補體結合反應ニヨリ分離液内抗原移行ヲ檢出シ更ニ分離液ヲ以テ家兎及

ビ海異ヲ免疫シ分離液内含有抗原ニ對スル免疫體ノ多量產生セラルルヲ觀タリ。然リ而シテ分離液ノ抗原含有ハ抗體分離ノ目的ヲ減殺スルヤ明カナリ。依テ余ハ緒方教授指導ノ下

ニ分離液内抗原移行ノ防止ヲ企圖シ尙ホ且分離率ノ向上ヲ計リ略ボ所期ノ成績ヲ擧ゲ得タルヲ以テ茲ニ之ヲ報告セントス。

第 2 章 文 獻

Widal et Sicard¹⁾ 氏ハ抗腸「チフス」菌家兎免疫血清ニ硫酸「アンモン」ヲ作用セシメ細菌凝集素ヲ「グロブリン」ト共ニ沈降セシメ次テ Winterberg²⁾, Pick³⁾ 氏等モ亦蛋白沈降劑ヲ用ヒテ凝集素ヲ分離セリ。更ニ Hahn u. Trommsdorff⁴⁾ 氏ハ凝集素ヲ抗原タル細菌ト結合セシメ生ジタル沈澱物ニ「アルカリ」ヲ作用セシメテ凝集素ニ分離シ Landsteiner u. Jagic⁵⁾ 氏ハ同様ナル方法ヲ用ヒ血球凝集素ヲ分離シ、Lieberman u. Fenyvessy⁶⁾ 氏ハ稀鹽酸ヲ作用セシメテ赤血球ニ結合セル凝集素吸ビ溶血素ヲ分離セリ。松井⁷⁾ 氏ハ酸、「アルカリ」ヲ以テ「チフス」凝集素ヲ分離シ Israel u. Weinstein⁸⁾ 氏ハ「チフス」菌浸出液ヲ抗原トシテ生ジタル沈降物ヲ弱「アルカリ」溶液中ニテ 42°C ニ加温シ凝集素補體結合性抗體ヲ分離セリ。

1918 年小酒井⁹⁾ 氏ハ 10% 蔗糖溶液ヲ「メヂウム」トシテ温度ヲ作用セシメ溶血素分離ニ好成績ヲ收メ、次テ古畑¹⁰⁾ 氏ハ血球凝集素分離ニ、緒方教授¹¹⁾ ハ細菌凝集素分離ニ蔗糖液ヲ用ヒ共ニ良好ナル成績ヲ得タリ。更ニ Hunton¹²⁾ 及ビ三輪¹³⁾ 氏等ハ單ニ蒸留水「メヂウム」ヲ以テ 56°C ニ加温シ凝集素分離ヲ行ヒ多量ノ免疫體ヲ分離スルヲ得タリ。

1926 年景山¹⁴⁾ 氏ハ Forssman 氏抗體ヲ、其ノ翌年須之内¹⁵⁾ 氏ハ血清沈降素ヲ蒸留水「メヂウム」ヲ以テ分離ニ成功シ且分離ニ當リ抗體ノ結合ニ使用スル抗原量ハ直接抗體分離成績ニ大ナル影響ヲ與フルヲ注意セリ。

1928 年白玖¹⁶⁾ 氏ハ大腸菌又ハ其ノ浸出液ト免疫血清トノ混合ニヨリ生ジタル結合物ヨリ蒸留水「メヂウム」ヲ用ヒ細菌沈降素ノミナラズ凝集素及ビ補體結合性抗體過敏性抗體ヲ各同一比例ニ多量ニ分離シ而シテ其ノ際同氏ハ結合ニ使用スル抗原量ハ分離度ニ著シキ關係ヲ有スルヲ認め且其ノ最適當量ハ各免疫血清ニ依リ異リ沈降素價ニ比例シ結合帶ニ逆比例スルヲ述ベタリ。

次テ須之内¹⁷⁾ 氏ハ抗原抗體結合物ヲ生理的食鹽水中ニテ 65°C ノ高温ヲ作用セシメ、桑名¹⁸⁾ 氏ハ高張食鹽水ヲ用ヒ各種抗體分離ニ極メテ好結果ヲ得、新宮¹⁹⁾ 氏ハ細菌凝集素ノ分離ニ「フォルマリン」ヲ以テ固定シタル菌ヲ使用スレバ著シク良好ナル成績ヲ得ルコトヲ報ゼリ。

又近時抗體分離ニ Electrolyse nach Pauli (Rappel, Ornstein, Carl u. Lasch²⁰⁾ 氏) 及ビ Electroultrafiltration (nach Bechhold²¹⁾) ノ應用ヲ見ルニ至リ Euler u. Brunius²²⁾ 氏ハ抗體分離「メヂウム」ニ於テ劇然タル最適水素「イオン」濃度ノ存在ヲ注意シ溶血素ヲ「アンモニア」ノ作用ニヨリ分離セシメ、次テ透析乾燥等ノ操作ヲ經テ抗體ヲ 300 倍純粹タラシメ得タルヲ報告セリ。尙ホ同氏等ハ分離抗體ノ蛋白含量ヲ減ゼシムル爲メ溶血素分離ニ際シ結合抗原トシテ血球基質「リポイド」ノ使用ヲ試ミタリ。最近渡邊²³⁾ 氏ハ感作菌ヲ加熱シ或ハ「アンチフォルミン」ヲ以テ處置シテ細菌凝集素ヲ分離シ該分離ノ重要因子トシテ菌 Receptor ノ破壊ヲ擧ゲタリ。

第3章 細菌沈降素分離液及ヒ血清沈降素分離液ノ抗原含量ト其ノ分離方法就中分離「メヂウム」及ヒ分離溫度トノ關係ニ就テ

抗原ヲ含有セザル抗體分離液ノ取得ヲ志シタル余ハ種々分離法研究ニ當リ先ヅ豫備試驗トシテ鑿ニ須之内、桑名諸氏ノ發表セン分離法ニ從ヒ其ノ分離「メヂウム」及ヒ分離溫度ト分離液含有抗原量トノ關係ヲ檢索セリ。

第1節 實驗材料並ニ實驗方法

第1項 免疫血清

免疫動物トシテハ體重 2000—3000g ノ健康家兎ヲ使用シ免疫原トシテハ細菌沈降素血清ニアリテハ 18 時間寒天斜面培養ノ大腸菌ヲ 10 cc = 3 Öse ノ割合ニ生理的食鹽水ニ浮遊セシメ 6°C 2 時間加熱殺菌セルモノヲ使用シ之ヲ 3 日ノ間隔ヲ置キ 1.0—5.0 cc 宛漸次會電シツツ數回以上耳脈靜内ニ注入免疫シテ得タル家兎血清ニシテ稀釋沈降素價 1:250 以上ノモノヲ使用セリ。

血清沈降素血清ニアリテハ牛血清 1.0 cc ヲ生理的食鹽水ヲ以テ 5 倍ニ稀釋シ之ヲ 1 回量トシテ 3 日ノ間隔ヲ置キ數回以上耳脈靜内ニ注入免疫シテ得タル家兎血清ニシテ稀釋沈降素價 1:250 以上ノモノヲ使用セリ。

第2項 抗原

細菌沈降素ニアリテハ結合抗原トシテ大腸菌培養液ヲ使用セリ。即チ 18 時間 Kolle 氏 Agarplatte ニ培養セル大腸菌ヲ 20 cc ノ殺菌蒸餾水ニ浮遊セシメ 60°C ニ 1 時間加熱シ、次デ 43 時間 37°C 解籠内ニ放置シタル後 17% 食鹽水 1.0 cc ヲ加ヘテ等張液ヲラシメ Berkefeld 濾過器ヲ以テ濾過シ得タル淡黃色透明ノ液ニシテ其ノ蛋白含量ハ大約血清ノ 1/1,000 ナリ。血清沈降素ニアリテハ結合抗原トシテ新鮮天然牛血清ヲ使用セリ。

第3項 分離法

互ニ結合セシムベキ免疫血清ト抗原トノ割合ハ桑名氏ノ研究ニヨリ血清 1.0 cc ニ對シ分離ニ最適ノ抗原量トセラレタル $0.025 \times \frac{\text{Titer}}{\text{Zone}}$ ヲ以テ算出セリ。

此割合ヲ以テ混和振盪シタル抗體抗原ハ 2 時間 37°C 解籠内ニ放置シテヨク結合セシメタル後取り出シ強力ナル遠心沈澱器ニヨリテ上清ト沈降物トニ區別シ該沈降物ヲ生理的食鹽水ヲ以テ 3 回遠心沈澱シ以テ免疫血清ノ殘存ナキニ至ラシメ、次デ斯クシテ得タル沈澱物ニ最初用ヒシ免疫血清ト等量ノ蒸餾水、生理的食鹽水或ハ高張食鹽水ヲ加ヘ攪拌シテ平等濁濁液ヲラシメ 45°C、55°C 或ハ 65°C 重湯煎中ニ入レ時々攪拌シ 30 分ノ後取り出シ直ニ強力遠心沈澱シテ上清ト沈澱トニ區別ス、此上清ハ即チ求ムル所ノ分離液ナリ。

第4項 分離液含有抗原ノ測定法

斯クシテ得タル分離液ハ緒方氏新法及ヒ U. 氏舊法ニ從ヒ其ノ沈降素價ヲ檢定スルト共ニ次ノ如キ方法ヲ以テ施行セル沈降反應及ヒ補體結合反應ニヨリ其ノ抗原含有量ヲ測定セリ。

1. 沈降反應

分離液ヲ抗原トシ分離操作ニ於テ結合ニ用ヒシ抗原ニ對スル抗血清ニシテ U. 氏法沈降素價高キモノヲ抗體トスル U. 氏沈降反應法ニヨリ分離液含有抗原量ヲ血清學的ニ檢索セリ。即チ抗大腸菌或ハ抗牛血清沈降素分離液ヲ生理的食鹽水ヲ以テ順次稀釋シ之ヲ抗原トシテ高價 U. 氏法沈降素價ヲ示ス抗大腸菌家兎免疫血清或ハ抗牛血清家兎免疫血清ニ對シテ夫々 U. 氏法沈降反應ヲ行ヒ同一抗血清ニ對シ反應ヲ呈スル分離液ノ最高稀釋度ト

大腸菌浸出液或ハ牛血清ノ最高稀釋度トノ比ヲ求メ分離液含有抗原量ヲ推測シタルモノナリ。

2. 補體結合反應

上記沈降反應ト全ク同一形式ニヨリタルモノニシテ、大腸菌沈降素分離液ニアリテハ同一抗大腸菌血清ト共ニ補體ヲ結合シ得ル分離液及ビ大腸菌浸出液ノ各最高稀釋度ヲ求メ、抗牛血清沈降素分離液ニ於テハ同一抗牛血清家兔免疫血清ト共ニ補體ヲ結合シ得ル分離液及ビ牛血清ノ各最高稀釋度ヲ求メ兩者ノ比ヨリ分離液含有抗原量ヲ測定セリ。但シ此際抗血清ハ Pro-Zone ノ現象ヲ認ムルモノヲ選ビ其ノ適當稀釋液ヲ使用シ、ソレノミニテ補體作用ヲ阻止スルガ如キコトナキヲ確メ置キタルハ勿論ナリ。

第 2 節 實驗成績

第 1—第 3 表ニヨリ明カナル如ク沈降素ノ抗大腸菌性ナルト、抗牛血清性ナルトヲ問ハズ 45°C 分離ニ於テハ分離率大ナルハ蒸餾水及ビ高張食鹽水ニシテ、生理的食鹽水最モ劣ルモ抗原移行少キハ生理的及ビ高張食鹽水ニシテ蒸餾水ニ多シ。

55°C 分離ニアリテハ分離抗體量多キハ蒸餾水及ビ高張食鹽水ニシテ生理的食鹽水ニ少キモ抗原移行ハ蒸餾水ニ最モ多シ。

65°C 分離ニ於テハ蒸餾水ハ抗體分離率最モ小ナルノミナラズ、而モ抗原ノ移行最モ大ニシテ甚ダ不適當ナルモノナリ。而シテ生理的及ビ高張ノ兩食鹽水間ニハ抗體分離率竝ニ抗原移行量共ニ優劣ヲ認メズ。又蒸餾水「メヂウム」分離ハ 55°C ヲ比較の有利トシ生理的食鹽水及ビ高張食鹽水「メヂウム」分離ハ 55°C—65°C ヲ適當トス又蒸餾水、生理的食鹽水及ビ高張食鹽水ノ各「メヂウム」共ニ分離温

度ノ高キニ從ヒ分離液含有抗體量増加スルモノナリ。

次ニ「メヂウム」トノ關係ヲ觀ルニ以上 3 者中蒸餾水ニ抗原移行量大ニシテ生理的食鹽水及ビ高張食鹽水ニ小ナリ、而シテ兩食鹽水間ニハ殆ド差異ヲ認メズ。

移行抗原量ト分離抗體量トノ間ニハ分離「メヂウム」ヲ異ニセルトキハ勿論、之ヲ等シクセル場合ト雖モ必ズシモ平行セザルモノナリ、是分離溫度ノ上昇ト共ニ假令抗體ノ分離及ビ抗原ノ移行共ニ増加スト雖モ兩者ハ多少其ノ分散速度ヲ異ニシ、又兩物質分散度ヲ大ナラシムル最適「メヂウム」及ビ溫度ハ全然同一ニハアラザルガ爲ナルベシ。

分離液ニ就キ測定シタル抗原含量ハ沈降反應ヲ以テスルモ、亦補體結合反應ヲ以テスルモ、共ニ同價ヲ示シタリ。是同一抗體ノ同一抗原ニ對スル反應度ハ兩反應ニ於テ全然相一致スルニハアラザルモ 2 種抗原ニ對スル反應度ノ比ハ兩反應ニ於テ相等シキヲ以テナリ。

第 1 表ニ就キ仔細ニ觀察スルニ分離抗體量ヲ可及の大ニ、移行抗原量ヲ可及の小ニスル爲ニハ、55°C 高張食鹽水分離最適ナルガ如シ、然レドモ高張食鹽水ハ沈降反應ニ際シ反應ヲ抑制スルヲ以テ、含有抗原量小ニシテ分離液ヲ稀釋セバ、其ノ抗原濃度モハヤ反應域ニ達セザル場合ニハ直チニ沈降反應ニヨリ之ヲ證明スルコト能ハズ。先ヅ分離液ヨリ食鹽除去ノ方法ヲ特ニ施行スルノ煩ヲ重ネザルベカラズ、而モ他ノ「メヂウム」ニ比シ優越スルノ成績ハ必ズシモ正規的ナラザルノミナラズ優レル場合ト雖モ其ノ差ハ極メテ僅微ニ過ギザルヲ以テ余ハ爾後ノ實驗ニ於テハ、高張食

鹽水分離ヲ放棄シ主トシテ操作簡單ナル生理的食鹽水「メヂウム」分離ヲ採リ、時トシテハ蒸餾水「メヂウム」分離ヲ行ヒタルモノナリ。

尙ホ細菌沈降素分離ニ於テ1%澱粉溶液ヲ「メヂウム」トセバ移行抗原量ヲ減少セシムト、ノ白致氏ノ報告ニ倣ヒ本法ヲモ追試シタルモ澱粉液ハ沈降反應ニ際シ屢々偽反應ヲ呈シ抗原含量測定ヲ惱マシメタルヲ以テ同「メヂウム」ノ使用ヲモ中途ニシテ廢棄セリ。

又分離溫度ニ關シテハ高溫短時間分離ヲモ試ミタリ。即チ100°C或ハ80°Cニ保テル熱湯中ニ分離スベキ材料ヲ容レタル試験管ヲ没入シ内容溫度ノ沈降素ヲ破壞スルニ至ラザルニ先チ之ヲ取り出シ直チニ強力遠心沈澱シテ上清ヲ分チタルモノナリ、此際沈降素ノ尙ホ侵害セラルルニ至ラザル安全指標トシテ分離

材料中ニ「ステリール」ヲ投入シ置キ其ノ變色シ始ムルヲ合圖ニ試験管ヲ熱湯中ヨリ引キ出セリ、余ノ使用シタル「ステリール」ハ69°Cニ達セバ灰白色ヨリ青色ニ變ズルモノニシテ分離材料ノ69°Cニ達スルニハ試験管及ビ内容量ノ如何ニヨリ一定セザルハ勿論ナルモ中等壁ノ尖端試験管ヲ用ヒ内容2.0ccナル時ハ100°C熱湯中ニテハ1秒80°Cニテハ約1分ヲ要シタリ。

高溫短時間分離ニ於テハ100°C及ビ80°C共55°C30分分離ニ比シ分離液ヘノ移行抗原量僅ニ増加シ且分離抗體量ハ微量ナガラ減少スルノ傾向ヲ認メタリ。即チ高溫短時間分離ニ於テ特ニ優秀ナル成績ヲ收ムルコト能ハザリキ。

第1表 各溫度及ビ「メヂウム」ニ於ケル分離成績

分離溫度	分離「メヂウム」	抗大腸菌沈降素分離液				- 抗牛血清沈降素分離液 -			
		沈降素價		分離率	抗原價	沈降素價		分離率	抗原價
		稀釋法	U. 氏法			稀釋法	U. 氏法		
45°C	蒸 餾 水	1:10	1:50	1:25	10:100	1:25	1:10.000	1:20	50:100.000
	0.85% 食鹽水	1:5	1:50	1:50	5:100	1:10	1:10.000	1:50	25:100.000
	8.5% 食鹽水	1:10	1:100	1:25	5:100	1:25	1:25.000	1:20	25:100.000
55°C	蒸 餾 水	1:25	1:100	1:10	10:100	1:50	1:10.000	1:10	100:100.000
	0.35% 食鹽水	1:25	1:100	1:10	5:100	1:25	1:25.000	1:20	50:100.000
	8.5% 食鹽水	1:25	1:100	1:10	5:100	1:50	1:25.000	1:10	50:100.000
65°C	蒸 餾 水	1:10	1:50	1:25	10:100	1:25	1:5.000	1:20	250:100.000
	0.85% 食鹽水	1:25	1:100	1:10	10:100	1:50	1:10.000	1:10	100:100.000
	8.5% 食鹽水	1:25	1:100	1:10	10:100	1:50	1:10.000	1:10	100:100.000

原抗大腸菌血清稀釋沈降素價 1:500

U. 氏法沈降素價 1:250

原抗牛血清稀釋沈降素價 1:1.000

U. 氏法沈降素價 1:50.000

第 2 表 大腸菌沈降素分離液ヲ抗原トスル沈降反應及ビ補體結合反應

反應別	分離液稀釋		分 離 別						
	1:2	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	
沈 降 反 應	45°C 蒸 餾 水 分 離	卅	卅	+	-				
	55°C 蒸 餾 水 分 離	卅	卅	+	-				
	65°C 蒸 餾 水 分 離	卅	卅	卅	-				
	45°C 生 理 的 食 鹽 水 分 離	卅	+	-					
	55°C 生 理 的 食 鹽 水 分 離	卅	+	-					
	65°C 生 理 的 食 鹽 水 分 離	卅	卅	+	-				
	45°C 8.5% 食 鹽 水 分 離	卅	+	-					
	55°C 8.5% 食 鹽 水 分 離	卅	+	-					
	65°C 8.5% 食 鹽 水 分 離	卅	+	+	-				
	大 腸 菌 浸 出 液	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	
補 體 結 合 反 應	45°C 蒸 餾 水 分 離	+	+	+	+	-			
	55°C 蒸 餾 水 分 離	+	+	+	+	-			
	65°C 蒸 餾 水 分 離	+	+	+	+	-			
	45°C 生 理 的 食 鹽 水 分 離	+	+	+	-				
	55°C 生 理 的 食 鹽 水 分 離	+	+	+	-				
	65°C 生 理 的 食 鹽 水 分 離	+	+	+	+	-			
	45°C 8.5% 食 鹽 水 分 離	+	+	+	-				
	55°C 8.5% 食 鹽 水 分 離	+	+	+	-				
	65°C 8.5% 食 鹽 水 分 離	+	+	+	+	-			
	大 腸 菌 浸 出 液	+	+	+	+	+	+	+	-

第3表 抗牛血清沈降素分離液ヲ抗原トスル沈降反應及ビ補體結合反應

反應別	分離液稀釋 分 離 別	25	50	100	250	500	1,000	10,000	100,000	200,000	400,000
		1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
沈 降 反 應	45°C 蒸 餾 水 分 離	卅	+	-							
	55°C 蒸 餾 水 分 離	卅	卅	+	-	-					
	65°C 蒸 餾 水 分 離	卅	卅	卅	+						
	45°C 生理的食鹽水分離	卅	-								
	55°C 生理的食鹽水分離	卅	卅	-							
	65°C 生理的食鹽水分離	卅	卅	+	-						
	45°C 8.5%食鹽水分離	+	-								
	55°C 8.5%食鹽水分離	卅	+	-							
	65°C 8.5%食鹽水分離	卅	卅	+	-						
		牛 血 清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+
補 體 結 合 反 應	45°C 蒸 餾 水 分 離	+	+	+	-						
	55°C 蒸 餾 水 分 離	+	+	+	+	-					
	65°C 蒸 餾 水 分 離	+	+	+	+	+	-				
	45°C 生理的食鹽水分離	+	+	-							
	55°C 生理的食鹽水分離	+	+	+	-						
	65°C 生理的食鹽水分離	+	+	+	+	-					
	45°C 8.5%食鹽水分離	+	+	-							
	55°C 8.5%食鹽水分離	+	+	+	-						
	65°C 8.5%食鹽水分離	+	+	+	+	-					
		牛 血 清	+	+	+	+	+	+	+	+	+

第 4 章 細菌沈降素及ビ細菌凝集素ノ分離ニ就テ

各種免疫體ノ異同ニ關シテハ古來盛ニ論ゼラレ細菌沈降素ト同凝集素トノ同一ナリヤ、將又別物ナリヤニ就テモ或ハ一方ノ抗原ヲ以テ抗體ヲ吸收後他ノ殘留抗體ノ量ノ關係ヨリ (Faul²⁴), Landyschewsky 及ビ原田²⁵氏) 或ハ免疫ニ當リ兩抗體ノ動物體內發現時期ヨリ (Gnetgen²⁶, 福原²⁷) 及ビ天兒²⁸氏等) 或ハ兩抗體ノ理化學的抵抗ノ差異 (Pick, 天兒氏等) 等ヨリ甲論乙駁未ダ決定ヲ見ルニ至ラズ。然レドモ曩ニ白臥氏ハ細菌沈降反應ニ免疫體稀釋法ヲ用フレバ沈降素價ノ消長ハ凝集價ノソレト全然並行スルヲ實驗シ細菌沈降素ト同凝集素トハ恐ラク同一物ナラント言ヘル外、最近伊東氏ノ抗過敏症ニ關スル實驗成績ニ於テモ沈降素過敏性抗體並ニ補體結合性抗體ノ同一物ナリトノ說ニ一根據ヲ與ヘ居レリ。

依テ余ハ以下記載ノ各分離試驗ニ於テ得タル同一分離液ニ就キ沈降反應ト共ニ凝集反應。時ニハ補體結合反應ヲ合併セ行ヒタルニ分離試驗時結合ニ使用スル抗原ノ菌體ナルト將又菌浸出液ナルトヲ問ハズ常ニ各抗體價ノ消長ヲニセルヲ實驗セリ。即チ細菌沈降素ノ分離ハ是ヤガテ細菌凝集素ノ分離タルナリ。

曩ニ余ハ從來ノ分離法ヲ以テシテハ分離液內向ホ相當量ノ抗原含有セラルルヲ知りタルヲ以テ次デ之ヲ除去シテ分離液ヲシテ一層純粹タラシメ、且分離率ノ向上ヲ期シ種々實驗ノ結果、抗體ヲ以テスル抗原ノ重複感作ニヨリ又抗原ノ理學的處置ニヨリ所期ノ成績ニ到達スルヲ得タリ。

第 1 節 實驗材料並ニ反應檢査法

第 1 項 實驗材料

前章記載ノ實驗材料ト全ク同一物ナリ。即チ免疫血清トシテハ抗大腸菌家兔血清ニシテ、稀釋沈降素價 1:500 以上ノモノヲ使用セリ而シテカカ

ル沈降素價ヲ有スルモノハ總テ凝集價 1:10,000 以上ヲ示シタリ。

抗原トシテハ 18 時間寒天斜面培養ノ大腸菌及ビ同菌浸出液ヲ使用セリ。

第 2 項 反應檢査法

1. 沈降反應

可檢液ノ沈降素量測定ノ場合ハ總テ免疫體稀釋法ヲ主トセリ。即チ可檢液ヲ抗體トシ此結合帶ニ於ケル沈降素ト反應シ得ル最高稀釋度ヲ求メタルモノナリ。分離液ノ抗原含量測定ノ目的ヲ以テ行ヒタル沈降反應ハ U. 氏法ニヨリタルモ、此場合ハ可檢液ヲ抗原トシ可檢抗原ニ對スル抗血清ニシテ U. 氏價高キモノヲ選ビテ抗體トシ、之ニ對シ原抗原ノ反應シ得ル最高稀釋度ト可檢液ノ反應シ得ル最高稀釋度トノ比ヲ求メ、以テ可檢液內含有抗原量ヲ測定セリ。

2. 凝集反應

18 時間寒天斜面培養大腸菌 3 Öse ヲ生理的食鹽水 10 cc ニ浮游セシメ 60°C ニ 2 時間加熱シ之ヲ可檢凝集素液ノ遞降の稀釋液 1.0 cc ニ對シ 4 滴宛滴下シ 37°C 解菌ニ 2 時間置キ、次デ室溫ニ一夜置キタル後「アグルチノスコープ」ヲ以テ檢シ良ク對照ト比較シテ其ノ成績ヲ判定セリ。

3. 補體結合反應

沈降反應ニ於ケルト同一形式ニ從ヘリ。即チ可檢液ノ補體結合性抗體量測定ノ目的ニハ沈降反應ニ於ケル免疫體稀釋法ノ法式ニヨリ、含有抗原量ノ測定ニハ U. 氏反應法ニ準シタリ、而シテ使用補體量ハ常ニ 1.2 單位ニ一定セリ。

第 2 節 實驗並ニ其ノ成績

第 1 項 抗體ヲ以テスル抗原ノ重複感作後ノ分離

曩ニ飯島²⁹氏ハ抗牛溶血素ニテ飽和感作セ

ラレタル牛血球及ビ「フ」氏抗体ニテ飽和感作セラレタル海猿腎臟細胞ハ家兎ニ對シ特異抗原性ノ微弱ナルヲ報シ、西澤³⁰⁾氏モ亦飽和感作セラレタル特異沈降物及ビ細菌ノ抗原的作用ヲ檢シ、カカル抗原ヲ以テ家兎ヲ免疫スル際ハ抗体ノ產生極メテ不良ナルヲ報告セリ。

然レドモ抗体分離ニ於テ重複感作ノ方法ヲ用ヒタルハ未ダ之有ルヲ聞カズ。余ハ抗体ヲ以テスル抗原ノ重複感作ニヨリ抗原ニ過剩ノ抗体ヲ結合セシメ、然後比較的低温ニテ抗原ヲ愛護シツツ穩和ニ分離セバ抗原ノ移行ヲ見ズシテ多量抗体ノ得ラルベキヲ豫想シ、反覆實驗シタルニ所期ノ良好成績ヲ得タリ。

1. 重複感作ハ幾回適當ナリヤ

a. 抗原トシテ大腸菌浸出液ヲ使用スル場合

抗原及ビ抗体ハ沈降素價及ビ結合帶ヲ根據トスル桑名¹⁸⁾氏ノ算定法(免疫血清 1.0cc ニ對スル抗原量 $0.025 \text{cc} \times \frac{\text{Titer}}{\text{Zone}}$)ニヨリ最適當量ヲ求メ兩者ヲ混和振盪シテ2時間孵籠ニ後翌日マデ氷室ニ放置シ、互ニ良好結合セシメ然後遠心沈澱シテ上清ト沈澱トニ分テ、上清ニツキテハ結合セラレザル殘存沈降素價ヲ測定ス、沈澱ハ洗滌スルコトナク更ニ最初結合ニ用ヒシ免疫血清ト同一血清ヲ最初ト同量加ヘ攪拌混和シテ孵籠ニ2時間次デ氷室ニ翌日マデ置キ、以テ抗体ヲシテ更ニ抗原ニ結合セシメタル後、遠心沈澱シ、沈澱ニ更ニ血清ヲ加ヘ、同一操作ヲ反覆スルコト數回、最後ノ沈澱物ハ生理的食鹽水ヲ以テ3回洗滌シ以テ游離血清ノ殘存ナキニ至ラシメ、55°C, 15分生理的食鹽水「メヂウム」ヲ以テ分離セリ。是分離溫度及ビ「メヂウム」ニ關シテハ、余ノ

彙ニ試ミタル實驗成績ニヨリ上記ノモノヲ適當ト認メタルヲ以テナ。

リ感作回数ハ1回ヨリ7回ニ互リテ實驗セリ。其ノ成績第4表ノ如ク1回ヨリ3回ニ至ルマデハ分離液沈降素價(稀釋法及ビ U₁ 氏法共)漸次上昇シ且移行抗原量漸次減少スト雖モ4回以上感作ハ沈降素價ニ於テハ、何等差異ヲ認メズ、只移行抗原量ニアリテハ回ヲ重ナルニ從ヒ減少シ或ハ根絶セシメ得ルヲ知ル、3回以上ノ感作ニ於テハ、モハヤ夫レ以上ノ沈降素價上昇ヲ來サザル成績ハ上清ノ殘存沈降素價測定ニ際シ第1回及ビ第2回上清ニアリテハ感作前ニ比シ沈降素價共ニ約半減シ、第3回上清ニテハ極メテ僅微ナル減少ニ過ギズ、第4回以上ニ於テハ感作前ト毫モ差異ヲ認メザル事實ト符合スル所ナリ。

上記ノ重複感作實驗ニ於テハ1回感作時間ヲ孵籠2時間、後氷室ニ放置シテ都合24時間トセリ。故ニ感作回数ヲ重ナルニ從ヒ抗原抗体ノ接觸著シク長時間トナルヲ以テ、對照トシテ1回感作ノモノヲ同様長時間放置シタル後、分離シテ比較實驗セリ。サレド單ニ兩者ノ接觸ニ長時間ヲ與フルノミニテハ分離抗体及ビ移行抗原量ニ特別ノ影響ヲ認ムル能ハザリキ。

b. 抗原トシテ大腸菌菌體ヲ使用スル場合

寒天斜面 18 時間培養ノ大腸菌ヲ生理的食鹽水ニ浮游セシメ 60°C, 1時間加熱シタル後、數回食鹽水ヲ以テ遠心洗滌シ抗原トシテ使用セリ。使用量ハ白玖氏ノ實驗ニヨリ、分離ニ最適當量トセラレタル血清 1.0cc ニ對シ菌體 100 mg ノ比ヲ以テセリ。抗原トシテ菌體ヲ

使用セバ分離液ノ抗原含有量多キコトハ、白
 玖氏ノ既ニ報告セル所ニシテ余ノ實驗ニ於テ
 モ全ク同一成績ヲ齎シ、且此場合ニハ分離抗
 體少量ナリキ、而シテ3回感作ニヨリ分離液
 抗原含量ヲ著明ニ減少セシメ得ルモ之ヲ根絶
 スルコトハ、ソレ以上ノ感作ニ於テモ稍々困
 難ナリ(第5表)。

抗原抗體ヲ結合セシメタル後上清中ニ殘存
 スル沈降素量ハ使用抗原量ニ應ジ著シク變動
 スルモノナルコトハ勿論ナルモ上記白玖氏及
 ビ桑名氏ニヨリ分離上最適當量ソセラレタル
 菌量竝ニ浸出液量ヲ選ブ時ハ抗原トシテ菌體

ヲ使用スルモ將又菌浸出液ヲ使用スルモ大差
 ナク菌體ハ抗體トノ結合率サホド菌浸出液ニ
 優ルニハ非ザルガ如キモ兩者ノ結合ハ浸出液
 ニ比シ一層強固ニシテ分離ニ難ク、又菌體成
 分ハ容易ニ分離液内ニ移行スルモノニシテ、
 菌體ハ其ノ儘ニテハ分離用抗原トシテハ不適
 當ナルモ後記ノ如ク之ニ一定ノ處置ヲ加ヘ且
 使用久シキニ互レバ結合鬆粗トナリ、分離容
 易ニシテ從テ大イニ分離率ノ向上ヲ來シ、而
 モ菌體成分ノ移行ヲ見ザルニ至リ結合抗原ト
 シテ極メテ優良ナル分離成績ヲ擧ゲ得ルモノ
 ナリ。

第4表 大腸菌沈降素分離液ニ於ケル感作回数ト沈降素價及ビ抗原含量トノ關係
 (大腸菌浸出液ヲ抗原トシテ使用セル場合)

感作回数	區分 分離液稀釋	沈降素價					抗 原 價					U.氏法 沈降 素價
		1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:1	1:2	1:5	1:10	1:25	
1 回		卅	卅	+	-		卅	卅	卅	±	-	1:50
2 回		卅	卅	卅	+	-	卅	+	±	-		1:50
3 回		卅	卅	卅	+	-	+	±	-			1:100
4 回		卅	卅	卅	+	-	+	±	-			1:100
5 回		卅	卅	卅	+	-	+	±	-			1:100
6 回		卅	卅	卅	+	-	+	-				1:100
7 回		卅	卅	卅	+	-	+	-				1:100

原血清沈降素價 稀釋法 1:500 U.氏法 1:100
 抗原價ハU.氏法沈降素價1:100ノ大腸菌沈降素血清ヲ以テ檢ス

第5表 大腸菌沈降素分離液ニ於ケル感作回数ト沈降素價及ビ抗原含量トノ關係
 (大腸菌菌體ヲ抗原トシテ使用セル場合)

感作回数	區分 分離液稀釋	沈降素價					抗 原 價					U.氏法 沈降 素價	
		1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:1	1:2	1:5	1:10	1:25		1:50
1 回		卅	+	-			卅	卅	卅	卅	+	-	1:25
2 回		卅	卅	-			卅	卅	卅	+	-		1:50
3 回		卅	卅	+	-		卅	卅	+	-			1:100
4 回		卅	卅	+	-		卅	卅	+	-			1:100
5 回		卅	卅	+	-		卅	+	+	-			1:100
6 回		卅	卅	+	-		卅	+	-				1:100
7 回		卅	卅	+	-		卅	+	-				1:100

原血清沈降素價 稀釋法 1:500 U.氏法 1:100
 抗原價ハU.氏法沈降素價1:100ノ大腸菌沈降素血清ヲ以テ檢ス

2. 各感作ハ幾時間適當ナリヤ

從來慣用セラレタル分離法ニ於テハ混和セラレタル, 抗原及ビ抗体ハ2時間孵籠内ニ, 後翌日マデ水室ニ放置セラレダリ是抗原ヲシテ可及的多量ノ抗体ヲ結合セシメ, 以テ多量ノ分離抗体ヲ得ンガ爲ナリ. 然レドモ兩者ノ結合ニカク長時間ヲ與フルトキハ, 假令抗原ハ多量ノ抗体ヲ結合スルトモ, 其ノ結合強固緊密トナリ却テ分離抗体量ノ減少ヲ來スコトナキヤヲ憂ヘ感作時間ト分離抗体及ビ移行抗原量トノ關係ニ就キ實驗ニ第6表ノ如キ成績

ヲ得タリ.

各感作時間 30分, 1時間, 2時間及ビ24時間ニ就キ觀察シタルニ 30分ニテハ分離液内抗原ノ減少充分ナラズ, 且分離抗体モ稍々少キ感アリ, 1時間, 2時間ニテハ抗原ノ減少24時間ノ夫レト大差ナク, 分離抗体量ハ其ノ間劇然タル相違ハ認メザルモ1時間及ビ2時間ノ方 24時間ノモノヨリ多少優ルガ如ク觀察セラレタリ. 即チ抗体分離ノ目的ニハ抗原抗体ノ結合ニハ孵籠1時間ノミニテ充分ナルモノト認メラル.

第6表 感作時間ト分離抗体及ビ移行抗原トノ關係

感 作 時 間	分 離 液 沈 降 素 價					分 離 液 抗 原 價				
	1:2	1:5	1:10	1:25	1:50	1:1	1:2	1:5	1:10	1:25
30 分 宛 3 回	卅	卅	卅	—	—	卅	卅	卅	+	—
1 時 間 宛 3 回	卅	卅	卅	卅	—	卅	卅	+	—	—
2 時 間 宛 3 回	卅	卅	卅	卅	—	卅	卅	+	—	—
24 時 間 宛 3 回	卅	卅	卅	+	—	卅	卅	+	—	—

原血清沈降素價 1:500

抗原トシテ大腸菌菌體ヲ使用ス

抗原價測定ハU. 氏法沈降素價 1:100ノ血清ヲ以テ檢ス

3. 各感作ニ使用スル免疫血清ノ異同ト分離成績トノ關係

a. 同一抗血清ノ各種稀釋ヲ以テスル重複感作

先ヅ同一血清ノ一定量ト大腸菌浸出液ノ同一量トヲ以テ等量ノ沈降物ヲ作り置キ, 之ヲ同血清原液, 同2倍稀釋液, 4倍稀釋液, 10倍稀釋液, 或ハ100倍稀釋液ヲ以テ重複感作シ, 次デ分離試験ヲ行フニ分離液ノ沈降素價ハ第7表ニ示スガ如ク, 原血清及ビ $\frac{1}{2}$ 血清感作ニ於テハ沈降物ハ更ニ抗体ヲ附着セシムルモノノ如ク, 分離液沈降素價ハ1回感作ノミノモノヨリ高く, $\frac{1}{4}$ 血清感作ニテハ1回感作

ト同一沈降素價ヲ示シ, $\frac{1}{10}$ 血清以下ニアリテハ1回感作ノミノモノヨリモ更ニ沈降素價低シ, 由是觀之, 沈降物ハ尙ホ抗体吸著性ヲ有シ, 夫レヲ附着セシムル餘地ヲ存シ原血清ノ $\frac{1}{2}$ 濃度以上ノモノナラバ之ヲ附着セシムベク, 又抗体ト抗原トノ結合ハサノミ強固ナルモノニ非ズシテ, 高度稀釋抗体ニアリテハ之ヲ結合セザルノミナラズ, 却テ結合抗体ヲ擴散分離セシムルモノナルガ如シ.

分離液含有抗原量ニ就テ觀ルニ何レノ抗体濃度ニ於テモ, 3回感作ハ1回感作ニ比シ大イニ抗原含量ヲ減少セシム, 只濃度高キ抗体感作ニ於テ, 其ノ低キモノヨリ抗原ノ減少著

明ナルヲ認ム。 清ヲ以テ感作スト雖モ一定限度ヲ超エテハ抗
 反之最初稀釋低價抗體ト抗原トヲ以テ沈降 體ヲ結合セシムベキ餘地ナクサホド分離液沈
 物ヲ作ル時ハ沈降物少量ナルヲ以テ後高價血 降素價上昇セザルモノナリ。

第 7 表 免疫血清ノ各種稀釋液ヲ以テスル重複感作

結 合		重 感 作		分 離 液 沈 降 素 價					分 離 液 抗 原 價				
抗 體	抗 原	第 1 回	第 2 回	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:1	1:2	1:5	1:10	
原血清 1.0cc	大腸菌浸出液 1.25cc	/	/	+++	++	+	-		++	++	++	±	-
◇	◇	原血清 0.5cc	原血清 0.5cc	+++	++	++	+	-	+	±	-		
◇	◇	1/2 血清0.5	1/2 血清0.5	+++	++	+	+	-	+	±	-		
◇	◇	1/4 血清0.5	1/4 血清0.5	+++	++	+	-		+	±	-		
◇	◇	1/10 血清0.5	1/10 血清0.5	+++	++	-			+	±	-		
◇	◇	1/100血清0.5	1/100血清0.5	+++	+	-			+	±	-		
1/2 血清 1.0cc	◇	原血清 0.5	原血清 0.5	+++	++	+	-		+	-			
1/4 血清 1.0cc	◇	◇	◇	++	+	-			±	-			

原血清沈降素價 稀釋法 1:500 U.氏法 1:100

分離液抗原價ハU.氏法沈降素價 1:100 ノ抗大腸菌沈降素血清ヲ以テ檢ス

b. 別個家兎ヨリ得タル抗血清ヲ以テスル重複感作

先ヅ同一沈降物ヲ作り置き之ヲ感作スルニ別個家兎ヨリ得タル血清ニシテ結合帶ハ相等シク沈降素價ハ同一ナルモノ、其ノ高キモノ及ビ低キモノヲ以テスルニ分離液沈降素價ニ及ボス影響ハ前記同一血清ノ各種稀釋液ヲ以テスル感作ト何等異ル所ナカリキ。即チ結合帶及ビ沈降素價同一ナラバ家兎個體ノ差異ハ結合及ビ分離ニ認ムベキ影響ナキモノナリ。

分離液含有抗原ノ減少狀況モ亦第 1 ノ場合ト同様重複感作セバ總テノ場合(正常血清ヲ以テ處置スルモ)減少スルモ沈降素價高キモノニ於テ減少ノ度大ナリ。

4. 重複感作ニヨリ分離液含有抗原量ノ減少スル理由如何

余ガ純粹分離ノ目的ヲ以テ重複感作ノ方法ヲ採リタル所以ハ抗原周圍ニ過剩ノ抗體ヲ附著セシメ、此過剩抗體ノミヲ穩ニ分離シ以テ分離液内ヘノ抗原移行ヲ阻止セントシタルモノナリ。實驗ノ結果ハ豫期ノ成績ヲ擧ゲ得タルモ其ノ理由タルヤ果シテ余ノ初メ想像セシ如ク

1. 分離ニ際シ抗原外層ノ過剩抗體ノミヲ遊離シ來リ、抗原ト直接親密ニ結合セル抗體ヲ強テ分散セシムルニ至ラズ、從テ抗原ノ侵襲セラルル事少キヲ以テナルカ

2. 或ハ重複感作ニヨリ抗原成分ハ免疫血清中ニ浸出排除セラレ又ハ漸次免疫血清成分ヲ以テ置換セラレ沈降物中抗原ノ絕對量減少スル爲メナルカ

3. 以上 1, 2 兩因ノ共立ニヨルカ

余ハ上記3者中ニ其ノ理由存スルモノナラント推定シ、依テ之ヲ窺フ爲メ大腸菌浸出液ヲ結合抗原トシテ使用シ1度分離セル残渣沈澱物ニ就キ更ニ分離操作ヲ重ネ行ヒ(此場合得タル分離液ヲ假ニ第2分離液ト記ス)前後

ニ於ケル抗原ノ移行状態ヲ比較測定シ、又正常血清ヲ以テ沈降物ヲ處置シ以テ抗原増減トノ關係ヲ觀察セリ。其ノ成績ハ第8及第9表ニ之ヲ示セリ。

第8表 第1分離液及ビ第2分離液ノ沈降素價及ビ抗原價比較

分離「メヂウム」	感 作 回 數	分 離 液 別	稀 釋 沈 降 素 價	U. 氏 法 沈 降 素 價	抗 原 價
生理的食鹽水	3 回	第1分離液	1:50	1:100	1:100
		第2分離液	1:5	1:25	2:100
	1 回	第1分離液	1:25	1:50	5:100
		第2分離液	1:2	1:10	5:100
蒸 餾 水	3 回	第1分離液	1:50	1:100	2:100
		第2分離液	1:5	1:25	1:100
	1 回	第1分離液	1:25	1:50	10:100
		第2分離液	1:2	1:10	5:100

原血清稀釋沈降素價 1:500 U. 氏法沈降素價 1:100

第9表 沈降物ノ正常血清處置ト分離液ノ沈降素價及ビ抗及ビ抗原價トノ關係

沈 降 物		分 離 液			
感 作 回 數	處 置	稀 釋 沈 降 素 價	U. 氏 法 沈 降 素 價	抗 原 價	
3 回	／	1:50	1:100	1:100	
1 回	／	1:25	1:25	5:100	
1 回	2回正常血清處置	1:5	1:25	2:100	

原血清稀釋沈降素價 1:500 U. 氏法沈降素價 1:100

第8表ニ就テ觀ルニ3回感作後食鹽水分離ニ於テハ第1分離液ト第2分離液トノ關係沈降素價ニ於テハ50:5ナルニ抗原價ニ於テハ反對ニ1:2トナリ第2分離液ニ抗原絕對的ニモ増加シ、抗體トノ比例ニ於テハ更ニ著シク増加セルヲ認ム。即チ上記第1理由ノ眞ニ近キヲ思ハシムルガ如シ。然レドモ臍テ仔細ニ分離「メヂウム」トノ關係ヲ觀察シ且抗原總

量ヲ推測スルリ生理的食鹽水分離ト蒸餾水分離トニ於テ第1分離液ト第2分離液トノ抗原量ノ比相反シ、抗原總量ニ於テ相等シキヲ想像セシム、此關係ハ1回感作後ノ分離試驗ニ於テモ略ボ同様ナリ。而モ1回感作ト3回感作トニ於テハ抗原量ニ霄壤ノ差アリ。之等各般ノ成績ヲ綜合考察スレバ、上記第3ノ理由ニ基クモノナルベク、感作ヲ反覆スルコト

ニヨリ抗原ハ漸次免疫血清成分ト置換セラレ
大イニ其ノ絶對量ヲ減ジ、カク減量セル抗原
ハ抗体ヲ以テ過剩ニ負荷セラルルモノナルベ
シ。

囊ニ西澤氏ハ感作抗原ノ抗原的作用ニ關シ
詳細ナル實驗ヲ行ヒ飽和感作抗原ノ抗原性甚
ダ微弱ナルコト及ビ此關係ハ抗原ガ細菌ナル
時ハ、血清蛋白ナル時ノ如ク著明ヲラザルコ
トヲ報告セリ。余ハ私カニ上記余ノ實驗成績
ハ西澤氏ノ夫レニ一致シタルモノト思考スル
モノニシテ、氏ノ實驗ニ於テ飽和感作血清抗
原ノ抗原的作用極メテ微弱ナルハ飽和感
作處置ニ因リ抗原ノ絶對量減少セルニモヨル
モノナルベク、而シテ血清ニ比シ「メヂウム」
ニ對スル安定度高カルベキ細菌抗原ニアリテ
ハ飽和感作處置ニヨルモ抗原成分ノ減少、血
清抗原ノ夫レニ比シ小ナルヲ以テ從ツテ飽和
感作スルモ抗原的作用ノ減弱著大ナラザルモ
ノナラント解セントス。

更ニ第9表ニ於テ知ル如ク沈降物ヲ正常血
清ヲ以テ、處置シタルモノニアリテモ一定度
マデ抗原量ヲ減ゼシメ、又重複感作ニ於テ新
血清ト交換ノ前其ノ度毎ニ生理的食鹽水ヲ以
テ沈降物ヲ細碎洗滌スレバ是亦分離液抗原量
ヲ減少セシムルコトモ、上記理由ノ一證左ト
見做シ得ベシ、但シ之等ノ場合ニ分離抗体價
ノ著明ナル減少モ亦免レズ且抗原減少ノ程度
モ免疫血清處置ノモノニハ及バザリキ。

尙ホ重複感作抗原ノ抗原的作用ニ關スル動
物實驗ヲ行ヒ、上記理由ニ一根據ヲ與フベキ
成績ヲ得タリ、該實驗ハ感作牛血清沈降物ニ
就キ施行シタルヲ以テ次章ニ記載スベシ。

第2項 抗原ノ理化學的處置

抗原分離ニ使用スル抗原ハ抗体ト結合強固ナ
ルヲ要セズ、却テ鬆組ニシテ容易ニ分離シ、且含
有成分ノ分離液中ニ浸出移行スルコト少キヲ以テ
得策トス、

余ハ此意味ニ於テ下記各項ノ處置ヲ試ミタルナ
リ。

細菌沈降素及ビ同凝集素分離ニ使用スル抗原ノ
處置ニ關シテハ、新宮¹⁹⁾氏ハ細菌凝集素ノ分離ニ
當リ「フォルマリン」ヲ以テ固定シタル菌ヲ使用
シ、良好ナル成績ヲ擧ゲタルヲ報ゼルモ、渡邊²⁰⁾
氏ハ反對ニ同處置菌ノ分離成績不良ナルヲ實驗セ
リ。反應用凝集素及ビ沈降素ノ加熱及ビ藥物作用
ニヨル變化ニ關シテハ文献少カラズ。

細菌性沈降素ノ理化學的處置ニヨル被沈降性ノ
變化ニ關スル研究ヲ一瞥スルニ 1899年 Winter-
be.g²¹⁾氏ハ「チフス」菌肉汁培養ノ無菌性濾液ヲ煮
沸水中ニ 20—30分加熱セバ、沈降性著シク減ジ又
同濾液ニ 20倍ノ無水酒精ヲ加ヘテ濾過シ、其ノ濾
紙ヲ生理的食鹽水ヲ以テヨク洗滌シ、後、酒精ヲ
蒸發セシメ之ヲ抗原トシテ、沈降反應ヲ檢スルニ
是亦減弱セルヲ實驗セリ。烏洞²¹⁾氏ハ細菌濾液ヲ
一定時間煮沸シ、同氏ノ所謂「インペヂン」ヲ破却
消滅セシメ抗原トシ、沈降反應ヲ施行シテ沈降物
ノ増加セルヲ證明シ、沈降反應「インペヂン」現象
ト稱セリ。本現象ハ烏洞氏ニヨリ屬「チフス」菌、
「パラチフス」A, B 菌、肺炎菌及ビ腦膜炎菌ニ就キ
上田²²⁾氏ニヨリ「コレラ」菌ニ就キ、片岡²³⁾氏ニヨ
リ鼠「チフス」菌ニ就キ證明セラレタリ。高木²⁴⁾氏
ハ大正 13年夏期我が國ニ多發セル流行性腦炎ノ
免疫關係試驗ニ於テ、本病感染腦組織ヲ 10% 乳劑
トシ 30分煮沸シタルモノヲ更ニ濾過シ、之ヲ抗原
トシ感染家兔血清ト間ニ輪環試驗ニヨル沈降
反應ヲ試ミ、多數ニ於テ著明ナル陽性成績ヲ擧ゲ
タリ。白玖氏ハ大腸菌浸出液ヲ 60—100°Cニ 1—4

時間加熱シ沈降原トシテ稀釋法及ビU.氏法ニヨリ沈降反應ヲ檢シ、U.氏法ニアリテハ抗原ノ100°C 2時間加熱ニ於テ、明カニ沈降素價ノ上昇シ其ノ他ノ溫度ニテハ全ク變化ナキヲ認メ稀釋法ヲ以テ檢セバ75°C、1時間加熱ニ於テ既ニ沈降素價稍々下降シ、爾後100°C、2時間加熱ニ至ルマデ同價ヲ保持シ10°C、3時間及ビ4時間加熱ニヨリ、尙ホ少シク下降スルモ結合帶ハ各溫度ニ於テ移動ナキヲ報告セリ。

凝集原ノ理化學的處置ニヨル變化ノ研究ハ甚メ多ク、1897年Widal et Seignard¹⁾氏ハ「チフス」菌ニ1/4定規鹽酸或ハ10%鹽酸ヲ37°Cニテ1時間作用セシムルカ或ハ15°C以上ノ加熱ニヨリ其ノ被凝性ヲ失フコトヲ報告シ、Eiserberg u. Volk²⁾氏ハ「チフス」菌ヲ加熱シテ凝集反應ヲ檢シ60—62°Cニテ破壊セラルル作業族ト少クトモ165°Cニテハ不變ノ耐熱性結合簇トヲ區別シ加熱菌ノ凝集力ノ減退ヲ作業族ノ破壊ニ歸セリ。次デJoos³⁾氏モ亦「チフス」菌ニツキ60—62°Cニテ破壊スルα凝集原ト耐熱性β凝集原トヲ區別セリ。柴山⁴⁾氏ハ「チフス」菌ニ對シ熱、酸、「アルカリ」、酒精及ビ「エーテル」等ヲ作用セシメ菌ノ被凝性ハ熱ニアリテハ60°C、30分ニテハ變化ナキモ70°C、3分、100°C、30分乃至7時間13°C、1時間加熱ニヨリ著シク減退スルヲ認メ、尙ホ「アルカリ」ニテハ全ク消失シ酸及ビ酒精ニテハ減ジ、「エーテル」ニテハ全ク影響ナキヲ觀タリ。

1904年Scheller⁵⁾氏ハ95°C以上ノ加熱「チフス」菌ハ學ロ被凝性回復スルコトヲ報告シ、世ノ視聽ヲ惹ケリ。次デPorges⁶⁾氏亦同事實ヲ證明シ其ノ原因ヲ70—80°Cニテハ菌體ハ「プロテイン」膨化ノ爲メ菌液ノStabilität著シク高マリ、從ツテ菌ノ被凝性ハ減弱スルモ100°C加熱ニヨリ再「プロテイン」ノ加水分解ノ爲メStabilität減ジ被凝性ヲ回復スルモノナリトセリ、然レドモShigu⁷⁾

及ビNeiser⁸⁾氏等ハ「チフス」菌加熱ニヨル被凝性ノ減弱ヲ菌體ヨリ受體ノ游離ニ歸シ、100°C加熱ニヨリ再上昇スルハ游離受體ノ破壊スル爲メナリトセリ。Jobling⁹⁾氏ハ「チフス」菌、「バラチフス」菌、豚「コレラ」菌及ビ豚「ベスト」菌等ニ就キ、Hirschfeld¹⁰⁾氏ハ「チフス」菌ニ就キ檢査シ、概ネPorges氏ノ說ニ贊セリ。

大正7年松井¹¹⁾氏ハ60°C加熱菌ハ既ニ其ノ被凝性ヲ減ジ、80°Cニ於テ最も其ノ度著シク、100°C1時間加熱ニ至レバ却テ少シク回復スルヲ述ベタルモ、守家¹²⁾氏ハ70—80°C加熱「チフス」菌ハ凝集反應ヲ呈セス、90°C加熱ニヨリ稍々發現シ125°Cニ至リ更ニ増強シ酸ノ作用ニヨリテモ亦減弱ヲ認メ被凝性減弱ノ理ヲ阻止性物質ノ阻止作用ト凝集原ノ結合能力減弱ニ歸セリ。渡邊¹³⁾氏ハ「チフス」菌、「バラチフス」菌、赤痢菌及ビ「コレラ」菌等ニ於テ各菌種ニヨリ多少ノ差アルモ65—90°Cニテハ被凝性減ジ、「チフス」菌、「バラチフス」菌及ビ「コレラ」菌ハ100°C、1時間加熱ニ於テ之ヲ回復セルヲ實驗シ、其ノ原因ニ就テハJoos氏ノ說ニ贊セリ。次デ古川¹⁴⁾氏ハ「チフス」菌加熱ニヨリ同一ノ成績ヲ得、尙ホ藥物ノ作用ヲ精査シ「フォルマリン」、「チモール」及ビ沃度ハ何等ノ影響ヲ及ボサザレドモ石炭酸、「クロロフォルム」、「エーテル」、「トルオール」、「クロール」及ビ「ブローム」等ハ何レモ主及ビ副凝集原ニ對シ障碍ヲ與フルヲ證明セリ。杉田¹⁵⁾氏ハ「チフス」菌及ビ「バラチフス」A菌ニ於テ、加熱ニ對シ抵抗力強キモノト、凝集原性ノ減少スルモノトノ2種アルヲ報告セリ。又山口¹⁶⁾氏、河野¹⁷⁾氏及ビ佐藤¹⁸⁾氏等モ或ハ「チフス」菌ニ就キ、或ハ赤痢菌ニ就キ加熱ニヨリ減退セル被凝性ノ100°C加熱ニヨリ再び回復スルヲ認メ、中本¹⁹⁾氏ハ精細ナル研究ノ結果「チフス」菌ハ60°C、1時間加熱ニヨリ變化ナキモ67°Cヨリ被凝性減ジ80°C、1時間最も著シク90°Cヨリ回復シ始

メ、100°C、3時間最モヨク回復シ、同5時間ニ至レバ再ビ稍々低下スルヲ觀察シ、「バラチフス」B菌亦概ネ同様ノ成績ヲ得タリ。而シテ其ノ原因トシテ凝集原ニハ耐熱性ト非耐熱性ノモノアリテ、後者ハ加熱ニヨリ變化シ粘液狀物質トナリ、保護膠質作用ニヨリ耐熱性凝集原ノ被凝作用ヲ阻止シ加熱100°C、1時間ニヨリ、之等ノ性質ヲ失フモノナリトセリ。窪田⁽⁶⁾氏モ亦「チフス」菌凝集原ノ耐熱性ニ就テ研究シ略ボ同一ナル成績ヲ得タリ。

白次氏ハ大腸菌ヲ60—80°Cニ1—4時間加熱シテ凝集原性ノ變化ヲ檢シ75°C加熱ニヨリ既ニ被凝性減退シ80°C、1時間、同2時間及ビ100°C、1時間ニ至ルマデ減弱程度ニ變化ナク、100°C、2時間加熱ニヨリ却テ被凝性ノ回復シ、次デ100°C、3時間、同4時間加熱ニヨリ再ビ逐次凝集價ノ一層下降スルヲ認メタリ。

余ハ大腸菌菌體ヲ種々ノ温度及ビ「メヂウム」ニテ浸出シタル後、抗原トシテ使用シタルニ移行抗原ノ減少、分離抗體ノ増加ヲ結果セリ。更ニ又分離後ノ残渣沈澱物ヲ加熱洗滌シテ幾回モ抗原トシテ使用シ、終ニ分離液内ニ抗原ノ移行ヲ見ザルニ至リ抗體ノ分離ヲシテ益々容易ナラシムルノ良好

ナル成績ニ到達スルヲ得タリ。

1. 抗原ノ蒸餾水及ビ生理的食鹽水「メヂウム」加熱浸出

18時間寒天斜面培養大腸菌ヲ生理的食鹽水ヲ以テ數回遠心洗滌シ、之ヲ100mg宛秤量分割シ同一物3個ヲ作り、1ニハ5ccノ蒸餾水ヲ、2ニハ同量ノ生理的食鹽水ヲ加ヘ60—70°Cニテ1時間加熱浸出シ遠心沈降後上清ヲ捨テ「メヂウム」ヲ更新シ同一操作ヲ3回反覆ス。3ヲバ對照トシ加熱浸出セス。加熱浸出シテ遠心沈澱シ浸出液ヲ排除スル際少量ノ浮游菌體之ト共ニ失ハルルヲ以テ、對照3ヲバ其ノ都度單ニ食鹽水ヲ加ヘ攪拌シタル後直チニ遠心沈澱シテ、少量ノ菌體ヲ含有スル上液ヲ排除シ以テ3者ノ菌量ヲ可及的同一ニ保タシメタリ。カクノ如ク各異リテ處置シタル抗原ヲ以テ、1回感作及ビ3回重複感作、分離試驗ヲ併セ行ヒ成績ヲ比較スルニ第10表ノ如シ。本分離試驗ヒ於テハ分離「メヂウム」トシテハ蒸餾水ヲ使用セリ。

第10表 抗原ノ加熱浸出ト分離液沈降素價及ビ抗原價トノ關係

抗 原	感 作 回 次	上 清			分 離 液			
		稀 釋 沈 降 素 價	U. 氏 法 沈 降 素 價	抗 原 價	稀 釋 沈 降 素 價	U. 氏 法 沈 降 素 價	抗 原 價	蛋 白 量 (血清ニ對スル比價)
蒸餾水 Medium 加熱大腸菌	1	1:250	1:100	5:100	1:50	1:50	5:100	1/100
	2	1:250	1:100	2:100				
	3	1:500	1:100	2:100	1:100	1:100	1:100	
生理的食鹽水 Medium 加熱大腸菌	1	1:250	1:100	5:100	1:50	1:50	10:100	1/50
	2	1:250	1:100	1:100				
	3	1:500	1:100	1:100	1:100	1:100	2:100	
正常大腸菌	1	1:250	1:50	10:100	1:25	1:25	25:100	1/50
	2	1:250	1:100	5:100				
	3	1:500	1:100	2:100	1:50	1:50	5:100	
大腸菌浸出液	1	1:250	1:25	50:100	1:25	1:50	5:100	1/100
	2	1:250	1:100	1:100				
	3	1:500	1:100	0:100	1:50	1:100	1:100	

原血清稀釋沈降素價 1:500 U. 氏法沈降素價 1:100 分離 55°C, 15分 Medium 蒸餾水

即チ蒸餾水「メヂウム」加熱ノ大腸菌抗原ニ於テハ、正常大腸菌抗原ニ比シ分離液ヘノ抗原移行量ハ減ジ、生理的食鹽水「メヂウム」加熱抗原ニアリテハハ減ズ、仔細ニ上清中ヘノ抗原移行状態ヲモ併セ觀察スルニ、3回重複感作ニ於ケル移行抗原總量ニ於テハ兩處置抗原間ニ大差ナク、共ニ正常抗原ニ比シハ減ズ。即チ蒸餾水處置ニアリテハ同ジク蒸餾水ナル分離液ヘノ移行少キ代リニ食鹽含有ノ上清中ヘノ移行多ク、食鹽水處置ニアリテハ同ジク食鹽含有ノ上清中ヘノ移行少キ代リニ、蒸餾水ナル分離液ヘノ移行多シ。據ツテ蒸餾水及ビ食鹽水ノ、兩「メヂウム」中ニ加熱浸出セバ分離「メヂウム」ノ蒸餾水ナルト食鹽水ナルトニ關係ナク常ニ良好ナル成績ノ得ラルベキヲ豫想シ更ニ實驗ヲ重ネタルニ豫期ノ結果ヲ觀タリ。而シテ抗原ニ對シカカル處置ヲ施スモ、其ノ抗體結合率ニハ殆ド不良ノ影響ヲ認メズ、而モ分離率ヲ著シク向上セシメ得タリ。是各處置ニヨリ抗原ハ其ノ成分抽出

排除セラレ、蛋白含量ヲ減ジ、抗體トノ結合鬆粗トナリ分離容易トナルニ因ルモノナルベシ。即チ抗原處置ニヨリ分離液含有抗原量ノ減少ト分離率ノ向上ヲ招來シ、一舉兩得ノ結果ヲ齎シ得ルモノト謂フベシ。

2. 分離抗原ノ再用

重複感作後ノ分離液ニ於テ含有抗原量少キハ一ツハ抗原ノ血清浸出ニヨリ成分ノ抽除セラルルガ其ノ原因ナルコトハ前項第4ノ實驗ニヨリ明カナリ。分離抗原即チ分離後ノ殘渣沈澱物カ抗原性ヲ失ハズシテ、能ク抗體ヲ結合シ得タランニハ之即チ血清、食鹽水等ヲ以テ浸出セラレタル抗原ニ外ナラザルヲ以テ、良好ノ分離成績ノ得ラルベキヲ期待シ大腸菌ニ就キ先ヅ蒸餾水及ビ食鹽水ヲ以テ處置シ、分離試驗ニ使用シタル後ノ殘渣ヲ更ニ結合抗原トシテ、反覆使用シテ分離試驗ヲ行ヒタルニ極メテ優良ノ分離成績ヲ收メ得タリ、而シテ分離抗原ハ頻回使用陳舊ナルモノ程成績益良好ナリ。

第 11 表 陳舊分離抗原ヲ結合抗原トシテ使用シタル分離成績

抗原別	分離液沈降素價 及ビ 抗 原 價	稀 釋 沈 降 素 價						分 離 率	抗 原 價					U. 氏 法 沈 降 素 價				
		1: 5	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250		1: 2	1: 5	1: 10	1: 25	1: 50	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250
正常抗原 (大腸菌)	1時間1回	卅	卅	+	-			1/10	卅	卅	卅	+	-	卅	卅	+	-	
陳舊 分離抗原 (大腸菌)	1時間1回	卅	卅	卅	卅	+	-	1/25	-					卅	卅	卅	+	-
	24時間1回	卅	卅	卅	卅	±	-	1/5	-					卅	卅	卅	+	-
	1時間3回	卅	卅	卅	卅	+	-	1/5	-					卅	卅	卅	+	-

原血清沈降素價 稀釋法 1:500 U. 氏法 1:100
抗原價ハ U. 氏法沈降素價 1:100 ノ抗大腸菌血清ヲ以テ檢ス

陳舊分離抗原ヲ使用セバ感作ハ重複行ハズトモ、1回ニテ抗原ヲ移行セシメズ且多量ノ

分離抗體ヲ得ルモノナリ。是前記ノ抗原ヲ蒸餾水或ハ生理的食鹽水中ニ加熱浸出シタル場

合ト、其ノ理由ヲ同ジクスルモノニシテ、抗原ノ蛋白含量減少ト共ニ抗體トノ結合鬆粗トナリ、分離シ易キニ至ルモノト認メラル、又感作時間ニアリテハ、重複感作ニ於ケルト同ジク1—2時間感作最適當ニシテ、24時間放置スル時ハ却テ分離率ノ低下ヲ招來スルモノナリ。是1—2時間ニテハ兩者ノ結合尙ホ鬆粗ナルモ、24時間放置ニヨリ結合多少緊密トナルニ因ルモノナルベシ。之等ノ關係ハ第11表ニ明カナリ。

残渣沈澱物ヲ再用スルニ當リテハ分離試験成績ヲ確實ニスル爲メ、沈澱物ヲ食鹽水ヲ以テ洗滌シ、80°C、1時間加熱シテ前回ノ殘存抗體ヲ破壊シ置キタリ。

カカル抗原ヲ使用スルコトニヨリ分離液ノ抗原ヲ含有セザルハ、沈降反應及ビ補體結合

反應ニヨリ證明シ得ルモ、尙ホ更ニ動物實驗ヲ行ヒタルニ、夫レニ對スル免疫體ノ產生ナキヲ確認シ得タリ。

動物試験

免疫材料ハ反覆使用シタル陳舊分離抗原(大腸菌菌體)ヲ結合抗原トシテ得タル分離液ニシテ、其ノ分離試験成績ハ第12表ニ之ヲ示セリ。

免疫動物トシテハ健康ナル成熟家兎及ビ海獺ヲ使用シ家兎ニハ1回量1.0 cc、海獺ニハ0.5 ccトシ何レモ3日ノ間隔ヲ置キ5回耳靜脈内ニ注射シ、最後ノ注射ヨリ5日ニシテ採血シ、家兎ニアリテハ抗大腸菌沈降素ヲ、海獺ニ就キテハ抗家兎血清沈降素及ビ抗大腸菌沈降素ヲ検査測定セリ。其ノ成績第13表ニ示スガ如シ。

第 12 表 免疫材料分離試験成績

免 疫 回 次	原 血 清 沈 降 素 價				分 離 液 沈 降 素 價					分 離 液 抗 原 價		
	100 1:1	250 1:2	500 1:3	1,000 1:4	10 1:1	25 1:2	50 1:3	100 1:4	250 1:5	1 1:1	2 1:2	5 1:3
第 1 回	卅	卅	卅	—	卅	卅	卅	+	—	+	—	—
第 2 回	卅	卅	卅	—	卅	卅	卅	+	—	—	—	—
第 3 回	卅	卅	卅	—	卅	卅	卅	+	—	—	—	—
第 4 回	卅	卅	卅	—	卅	卅	卅	+	—	—	—	—
第 5 回	卅	卅	卅	—	卅	卅	卅	+	—	—	—	—

第 13 表 抗大腸菌沈降素分離液免疫試験

動物区分	沈降素價	稀 釋 法				U. 氏 法						
		5 1:1	10 1:2	25 1:3	50 1:4	10 1:1	25 1:2	50 1:3	100 1:4	250 1:5	500 1:6	1,000 1:7
家兎 1	抗大腸菌沈降素	—				—						
家兎 2	抗大腸菌沈降素	±	—			±	—					
海獺 1	抗大腸菌沈降素	—				—						
	抗家兎血清沈降素	卅	卅	+	—	卅	卅	卅	卅	卅	+	—
海獺 2	抗大腸菌沈降素	—				—						
	抗家兎血清沈降素	卅	卅	—		卅	卅	卅	卅	卅	+	—

3. 抗原「フォルマリン」處置

抗原ノ分離液内移行ヲ抑止センガ爲メ其ノ「フォルマリン」處置ヲ試ミタリ。即チ18時間寒天斜面培養ノ大腸菌ヲ數回生理的食鹽水ヲ以テ、遠心洗滌シテ200mg宛ヲ分取シ、夫々局方「フォルマリン」原液、同5倍稀釋液及ビ10倍稀釋液(蒸餾水ヲ以テ稀釋ス)ヲ2cc宛加ヘ翌々マデ水室ニ放置シタル後、遠心沈澱シテ上清ノ「フォルマリン」液ヲ除去シ、更ニ3回食鹽水ヲ以テ洗滌シ「フォルマリン」ノ殘存ナカラシメタリ。是「フォルマリン」ハ直接抗體ニ破壞作用ヲ及ボスモノナレバナリ。

夙ニ Eisenberg⁵⁷⁾ 氏ハ「フォルマリン」ノ沈降素ヲ破壞シ沈降物ヲ溶解スルヲ報ジ、Marx, Merkel, Weidanz⁵⁸⁾ 氏等ハ免疫血清ニ防腐劑トシテ「フォルマリン」ヲ加ヘ保存スルノ不適當ナルヲ警告セリ。Eisler u. Löwenstein⁵⁹⁾ 氏ハ細菌沈降素ニ就テ、杉田⁶⁰⁾ 氏ハ抗馬血清家兔血清ニ就テ「フォルマリン」ノ沈降反應ニ對スル影響ヲ檢シテ其ノ阻止作用アルヲ報告シ、Haem, Tschertkow u. Zipp⁶¹⁾ 氏ハ腹水ニ0.5%ノ比ニ「フォルマリン」ヲ加ヘ、48°Cニ6日間放置シタルニ腹水免疫血清ニ對スル沈降原性無處置腹水ニ比シ、約半減シタルヲ述ベタリ。國房⁶²⁾ 氏ハ免疫血清ニ「フォルマリン」ヲ加フレバ、同血清ノ呈セシ沈降反應ヲ阻止スルヲ實驗シ該阻止作用ハ「フォルマリン」ノ添加量及ビ添加後ノ經過時間ニ正比例シ免疫血清ノ之ニ對スル抵抗ハU. 氏法沈降素價トハ殆ド無關係ニシテ、稀釋沈降素價ノ多少ニ正比例シテ増減スルヲ報告セリ。又結合抗原トシテ分離ニ使用スベキ細菌ニ對スル「フォルマリン」ノ影響ニ關シテハ新宮¹⁹⁾ 氏及ビ渡邊²³⁾ 氏ノ相反スル報告ヲ見ル。即チ前者ハ「フォルマリン」處置菌ヲ使用スレバ、然ラザルモノ

ヲ用フルヨリモ凝集素ノ分離容易ナルヲ報ジ、後者ハ「フォルマリン」處置ハ菌ノL-Rezeptorニ一定度ノ耐熱性ヲ與ヘ、其ノ破壞困難トナルヲ以テ從テ之ニ結合セル凝集素ノ分離又不良ナルヲ報ゼリ。蓋シ渡邊氏ハ凝集素ノ分離ト菌 Rezeptorノ破壞トノ間ニ深キ關係ヲ主張スルモノナリ。

「フォルマリン」處置大腸菌ヲ抗原トシテ行ヒタル、分離試驗成績ハ第14表ノ如ク局方「フォルマリン」原液ヲ以テ處置シタルモノハ、結合率分離率共ニ不良ニシテ、分離抗體量ハ正常菌使用ノ場合ニ比シ $\frac{1}{2}$ ニ減少ス。但シ分離液含有抗原量ヲバ正常菌抗原ニ比シ半減セシメタリ5倍稀釋「フォルマリン」處置菌ハ結合率及ビ移行抗原量ヲ共ニ半減セシメ、分離率ニハ増減ナク、即チ正常菌抗原ニ比シ分離抗體量及ビ移行抗原量ヲ何レモ $\frac{1}{2}$ ニ減少セシメタリ。10倍稀釋「フォルマリン」處置ニアリテハ、結合率分離率ニ増減ヲ示サザルト同時ニ移行抗原量ニモ亦影響ヲ及ボサザリキ。

4. 抗原「アルコール」處置

菅ヲ柴山³⁸⁾ 氏ハ「チフス」菌浮游液ニ10倍量ノ無水酒精ヲ加ヘ10日ノ後遠心分離シ、菌體ヲ食鹽水ニテ數回洗滌後生理的食鹽水ニ浮游シ之ヲ凝集原トシテ、凝集反應ヲ檢シ著シク凝集價ノ低下スルヲ見タリ。白吹氏³⁵⁾モ大腸菌浮游液ニ半量若シクハ等量ノ無水酒精ヲ加ヘ、充分振盪混和後密栓シテ20分、3時間及ビ18時間室温ニ放置シ、次デ迅速血清乾燥器ヲ以テ速ニ酒精ヲ蒸發セシメ、生理的食鹽水ヲ加ヘ、原量ニ復シ之ヲ凝集原トシテ凝集反應ヲ檢シ、酒精半量ヲ僅ニ20分作用セシメタルノミニシテ、既ニ被凝性ヲ半減スルモ、酒精ヲ等量ニ増加シ18時間ニ至ルモ夫レ以上ノ減弱ヲ來サザルヲ實驗セリ。

余ハ分離用結合抗原タル大腸菌ヲ種々濃度ノ酒精ヲ以テ處置シ、抗體ノ結合及ビ分離並ニ抗原ノ分離液中移行ノ狀ヲ觀察シタリ。即チ18時間寒天

斜面培養大腸菌ヲ生理的食鹽水ヲ以テ數回遠心洗滌シ 200 mg 宛ヲ分取シ夫々純「アルコール」, 2 倍稀釋「アルコール」, 5 倍稀釋「アルコール」ヲ 2.0cc 宛加ヘ翌日マデ氷室ニ放置シタル後, 遠心沈澱シテ上清ヲ除キ更ニ食鹽水ヲ以テ 3 回洗滌シテ「アルコール」ノ殘存ナカラシメ, 結合抗原トシテ採用シ施行シタル分離試驗成績ハ第 14 表ニ示セリ。即チ純「アルコール」及ビ 2 倍稀釋「アルコール」處

置ニ於テ分離率ニ著變ナキモ, 結合率半減シテ分離抗體量從テ亦半減ス, 移行抗原量ハ純「アルコール」處置菌ニアリテハ, 正常菌抗原ニ比シ半減セシメタルモ, 2 倍稀釋「アルコール」處置ニ於テハ正常菌トノ間ニ差異ヲ認メズ, 又 5 倍稀釋「アルコール」處置ハ結合率分離率及ビ抗原移行量何レニモ何等影響スルトコトナカリキ。

第 14 表 抗原ノ「フォルマリン」及ビ「アルコール」處置ト分離成績トノ關係

抗原處置別	原血清沈降素價				上 清						分 離 液								
	1:100	1:250	1:500	1:1,000	沈降素價			抗原價			沈降素價			抗原價					
					1:50	1:100	1:250	1:500	1:2	1:5	1:10	1:5	1:10	1:25	1:50	1:5	1:10	1:25	1:50
正常大腸菌	+++	+++	++	-	+++	++	-	+++	++	-	+++	++	+	-	+++	++	+	-	
局方「フォルマリン」處置	+++	+++	++	-	+++	++	-	++	-	-	+	-	-	-	++	+	-	-	
5 倍「フォルマリン」處置	+++	+++	++	-	+++	++	-	++	-	-	+++	+	-	-	++	+	-	-	
10 倍「フォルマリン」處置	+++	+++	++	-	+++	++	-	+++	++	-	+++	++	+	-	+++	++	+	-	
純「アルコール」處置	+++	+++	++	-	+++	++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	-	+++	++	-	-
2 倍「アルコール」處置	+++	+++	++	-	+++	++	+	-	+++	+	-	+++	++	-	-	+++	++	+	-
5 倍「アルコール」處置	+++	+++	++	-	+++	++	-	-	+++	++	-	+++	++	+	-	+++	++	+	-

抗原價ハ U. 氏法沈降素價 1:100 ノ抗大腸菌家兔免疫血清ヲ以テ檢ス

第 3 項 沈降反應, 凝集反應及ビ補體結合反應ノ相互關係

既ニ本章頭初ニ記載セルガ如ク之等諸反應ハ常ニ相並行シ必ズ消長ヲ共ニスルハ白玖氏等ノ立證セル所ナリ。

茲ニ 1 回感作後及ビ重複感作後ノ分離液並ニ陳舊分離抗原ヲ再用シテ得タル分離液ニ就キ, 互ニ諸反應ヲ比較セバ第 15 表ノ如シ。

沈降反應ト凝集反應トノ消長必ズシモ劃然正比例的ニアラザルハ, 兩者ノ鋭敏度ニ優劣アルノミナラズ, 其ノ檢査方法ニ於テ相異ア

リ, 凝集反應ニ於テハ常ニ結合帶ノ抗原ヲ使用スルコト困難ナル亦其ノ一因タルベシ。

凝集反應ノ機轉ニ關シテハ古來種々ノ說アリ Gruber 氏ハ免疫血清ノ Glabrificin ノ作用ニヨリ細菌膜膨化ヲ起シ, 粘著性ヲ得ルタメニ起ル現象ナリトシ, Pfeiffer 氏ハ細菌ノ麻痺作用ニ歸シ, Paltauf 氏ハ沈澱物ノ形式ニヨリ菌體ノ夫レニ引キ寄セララルモノナリトイフ, Nicolle 氏ニヨレバ被凝性物質ハ細菌膜及ビ細菌外層ニ存シ, 之ガ凝集素ノ作用ニヨリテ腫脹シ近接菌體相互ニ粘著スルモノ

第 15 表 凝集反應沈降反應及ビ補體結合反應ノ相互關係

分離抗原ハ大腸菌菌體、其ノ他ハ大腸菌浸出液ヲ分離用抗原トス

抗體種類	反應菌類	抗體稀釋											
		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 1:	50,000 1:
原血清	凝集反應	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	沈降反應	+	+	+	+	+	+	-					
	補體結合反應	+	+	+	+	+	-						
3回感作後 分離液	凝集反應	+	+	+	+	+	+	+	+	-			
	沈降反應	+	+	+	-								
	補體結合反應	+	+	-									
1回感作後 分離液	凝集反應	+	+	+	+	+	+	-					
	沈降反應	+	+	-									
	補體結合反應	+	-										
分離抗原(大腸 菌)ヲ再用シテ 得タル分離液	凝集反應	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
	沈降反應	+	+	+	+	-							
	補體結合反應	+	+	+	-								

ナリトシ、Dineur 氏ハ鞭毛ノ存在ヲ重視シ、此處ニ生ゼル粘著性物質ニヨリ互ニ纏レ合ヒテ毯狀物ヲ形成スルモノナリトシ、Ehrlich 氏ハ之ヲ化學的ニ説明セントシ、Bordet 氏ハ單ナル理學的沈澱現象ト見做シ、Joos⁶³⁾ 氏ハ細菌ノ被凝性物質、免疫血清ノ凝集性物質及ビ鹽類ノ化學的結合ニシテ、恐ラク復懸ノ形成セラルルニヨルモノナリトシ、Eagle⁶⁴⁾ 氏ハ一般膠質ノ凝固沈澱機轉ト等シク荷電的關係ヲ以テ説明シ就中最モ肯定セラルル所ナルガ如シ。

余ハ抗體及ビ抗原ノ結合機轉ニ關シテ敢テ論ヲナスモノニアラザルモ、凝集反應ハ抗原ト抗體トノ接觸面タル細菌表面ニ起ル吸著現象即チ沈降反應ノ續發現象ニ外ナラザルモノ

ト推測ス。凝集素即チ沈降素ヲ帶同セル免疫血清成分ハ、抗原ニヨリ其ノ接觸面ニ吸著セラレ、沈降シテ粘著性ヲ賦與シ茲ニ凝集現象ヲ結果スルモノナルベシ。余ハ凝集反應ヲ檢スルニ當リ、之ニ菌液ノ外少量ノ菌浸出液ヲ添加セバ凝集素ノ一部ハ、之ニ誘致セラレ、夫レ丈菌表面ヘノ附著量減少スベキヲ以テ制規ノ如ク菌液ノミヲ滴下セルモノニ比シ、凝集價ノ低下スベキヲ豫想シ、實驗シタルニ豫期ノ成績ヲ得タリ(第16表)是亦沈降反應ト凝集反應トノ本態ヲ同ジクセルニ證左タリ得ルモノナルベク、余ハ之ヲ單ナル一般膠質保護作用ニ歸シ去ルヨリモ、上記ノ如キ免疫性特異反應ト見做サント欲スルモノナリ。

第 16 表 大腸菌浸出液添加ノ凝集反應ニ及ボス影響

抗體稀釋 抗原別	抗體稀釋												
	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	1: 50,000	
大腸菌浮游液 4 滴	卅	卅	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	+	-
大腸菌浮游液 4 滴及 ビ大腸菌浸出液 4 滴	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-		

第 3 節 提要

從來慣用セラレタルEntziehungsmethodeニヨル細菌沈降素分離液ニハ可ナリ多量ノ細菌成分ヲ含有ス。而シテ分離用抗原トシテ菌體ヲ用フルトキハ、浸出液ヲ用フル場合ニ比シ分離液ノ抗原含量更ニ大ナリ。余ハ抗體ヲ以テスル抗原ノ重複感作ニヨリ、移行抗原量ヲ減少セシメントシ、浸出液ヲ抗原トセバ 3 回感作ニテ抗原量ノ著シク減少シ、且分離抗體量ノ増加スルヲ實驗セリ。菌體ハ上記ノ如ク分離液ヘノ移行量大ナルノミナラズ、分離率モ稍々不良ニシテ、其ノ儘ニテハ分離用結合抗原トシテ不適ナルガ如キモ、其ノ理學的處置ニヨリ、成分ヲ抽出除去セルモノハ使用ニ適シ、殊ニ頻回使用シタル陳舊分離抗原

ハ分離液ヘ殆ド全ク移行セザルノミナラズ、分離率 1/25 ニ及ビ而モ殆ド結合率ノ減弱ヲ來サズ、最モ優秀ナル分離用抗原タルモノナリ。

沈降素ノ量ノ測定ニハ緒方氏稀釋法ニヨルベキハ今更贅言ヲ要セズ、U. 氏法沈降素價ハ主トシテ其ノ質的評價ナルハ諸家ノ認メテ疑ナキ所ナリ。然ルニ從來ノ方法ニヨリ得タル分離液ハ原血清ニ比シ、其ノ U. 氏沈降素價モ低キヲ普通トス、是其ノ含有抗原量ニ影響セラルル所ニシテ余ノ分離法ニヨリ得タル抗原殆ドナキ分離液ニ於テハ、常ニ原血清ト等シク反應スルヲ觀タリ。

尙ホ此關係ハ血清沈降素ニツキ實驗シタルヲ以テ、後章ニ詳記スル所アルベシ。

第 5 章 血清沈降素ノ分離ニ就テ

1927 年 須之内¹⁵⁾ 氏ノ初メテ血清沈降素ヲ分離シ得タル當時ハ抗原トシテ粉末血清ヲ用ヒ、其ノ量ハ免疫血清 1.0 ccニ對シ、0.01 g トシ分離「メヂウム」トシテハ蒸餾水ヲ選ビ 55°C, 15 分ニテ分離シ、結合率 $\frac{499}{500}$ 、分離率 $\frac{1}{125}$ ヲ得タリ。其ノ後同氏ハ生理的食鹽水「メヂウム」ヲ使用シ、65°C, 30 分分離ヲ行ヒ $\frac{1}{12}$ ノ分離度ヲ得。最近桑名¹⁶⁾ 氏ハ高張食鹽水「メヂウム」ヲ用ヒ 55°C 及ビ 65°C ニテ分離シ、何レモ $\frac{1}{10}$ ノ分離率ヲ得タリ。

余ハ糞ニ抗牛血清家兔血清ニ就キ之等分離法ヲ行ヒ、分離液中含有抗原ニ關シ實驗研究シタルニ、何レモ稍々多量ノ抗原アリテ動物試驗上ニモ、其ノ抗原的作用大ナルモノアルヲ認メタルヲ以テ、之ガ除去ト分離抗體量ノ増加ヲ企圖シ前章細菌沈降素ニ於ケルト略ボ同様ノ實驗ヲ行ヒ、概ネ同様ノ成績ヲ得タリ、茲ニ重ねテ記スルノ煩ヲ要ヲト雖前章ニ併記スル亦維然タルヲ免ズ依テ章ヲ別チ主トシテ實驗成績ニ就キ略ボ記スルコトセリ。

第1節 實驗材料並ニ反應検査法

第1項 實驗材料

免疫血清トシテハ抗牛血清家兔血清ヲ選ビ、第3章ノ實驗ニ使用シタル材料ト同一方法ヲ以テ產生セシメ、就中稀釋沈降素價 1:500 以上ノモノヲ實驗ニ供シタリ。

抗原トシテハ新鮮牛血清ヲ使用セリ。

第2項 反應検査法

1. 沈降反應

可檢液ノ沈降素量測定ニハ同液ヲ抗體トスル免疫體器釋沈降反應法ニ從ヒ、分離液ノ抗原含量測定ノ目的ニハ、同液ヲ抗原トスルU.氏沈降反應法ニ依レリ。

2. 補體結合反應

沈降反應ニ於ケル同一法式ニ準據シヨルハ前章ノ検査法ト全ク規ヲ一ニス。

第2節 實驗並ニ其ノ成績

第1項 抗原ノ重複感作後ノ分離

1. 感作回数ハ3回適當ナリ。

互ニ結合セシムベキ抗體及抗原ノ量ノ關係ハ、免疫血清 1.0cc ニ對シ牛血清、 $0.025 \times \frac{\text{Titer}}{\text{Zone}}$ ヲ以テセリ。混和セル抗原抗體ハ37°C 孵籠ニ2時間置キ、後翌日マデ氷室ニ放置シタル後、遠心沈澱シテ新血清ト交換感作ス、カク感作ヲ反覆スルコト 1—7 回ニ互リテ實驗シタルニ感作3回ニシテ、分離液含有抗原ヲ著明ニ減少シ分離抗體價ヲ倍加セシムルヲ得タリ。而シテ對照トシテ1回感作ノモノヲ3日放置シ、其ノ間1日1回宛孵籠ニ2時間在ラシメタルニ、分離液ノ抗原量及ビ抗體價ニ特別ノ影響ヲ認メザリキ。之等ノ關係ハ第17表ニ示セリ。

第17表 牛血清沈降素分離液ニ於ケル感作回数ト沈降素價及ビ抗原價トノ關係

感作回数	沈降素價						抗原價						U.氏法沈降素價	
	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:1	1:2	1:5	1:10	1:25	1:50		1:100
1 回	卅	卅	卅	+	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	1:10.000
2 回	卅	卅	卅	卅	-	-	卅	卅	卅	+	-	-	-	1:10.000
3 回	卅	卅	卅	卅	+	-	卅	卅	+	-	-	-	-	1:25.000
4 回	卅	卅	卅	卅	+	-	卅	卅	+	-	-	-	-	1:25.000
5 回	卅	卅	卅	卅	+	-	卅	卅	+	-	-	-	-	1:25.000
6 回	卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	+	+	-	-	-	-	1:25.000
7 回	卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	+	+	-	-	-	-	1:25.000

原血清沈降素價 稀釋法 1:1.000 U.氏法 1:25.000

抗原價ハU.氏法沈降素價 1:50.000ノ抗牛血清家兔免疫血清ヲ以テ檢ス

2. 感作時間ハ1—2時間適當ナリ。

3回感作試験ニ於テ毎回 30分感作ノ成績ハ、分離液抗原量ノ減少1—2時間感作ノモノニ比シ著シク劣ルヲ觀ル、又毎回 24時間感作

ニアリテハ抗原抗體ノ結合緊密トナルモノノ如ク、分離抗體價 1—2時間感作ノモノニ比シ、少シク低シ、即チ第18表ノ如シ。

第 18 表 感作時間ト分離抗体及ビ移行抗原トノ關係

感 作 時 間	分 離 液 稀 釋	分 離 液 沈 降 素 價					分 離 液 抗 原 價					
		1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:1	1:2	1:5	1:10	1:25
30 分 宛 3 回		卅	卅	卅	+	+	-	卅	卅	卅	+	-
1 時 間 宛 3 回		卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	卅	卅	+	-
2 時 間 宛 3 回		卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	卅	卅	+	-
24 時 間 宛 3 回		卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	卅	卅	+	-

原血清沈降素價 1:1,000

抗原價測定ハ U. 氏價 1:50,000 ノ 抗牛血清ヲ以テ檢ス

3. 各感作ニ使用スル免疫血清ノ異同ト分離試験成績トノ關係

a. 同一抗血清ノ各種稀釋ヲ以テスル重複感作

此關係ハ抗大腸菌血清ニ就キテノ實驗成績ト全ク同一ナリ。即チ最初同一沈降物ヲ作り置キ之ヲ感作スルニ同一血清ノ原液 2 倍, 4 倍, 10 倍及ビ 100 倍稀釋液ヲ以テスルニ, 1/2 濃度以上感作ニ於テハ分離抗体價増加シ, 1/4 濃度感作ニテハ増減ナク, 1/10 以下ニアリテハ分離抗体價却テ減少ス。反之分離液含有抗原量ハ總テノ場合ニ於テ減少ス。但シ其ノ減少ノ程度ハ抗体價高キモノノ感作ニ於テ著明ナリ。

b. 別個家兔ヨリ得タル抗血清ヲ以テスル重複感作

結合帶相等シキモノニ於テハ其ノ關係同一血清ニ於ケルト差異ナク重複感作血清ノ沈降素價ニシテ, 最初使用血清ノ夫レニ比シ 1/2 以上ナル時ハ分離抗体價増加シ, 1/4 ナル時ハ増減ナク, 1/10 以下ナル時ハ却テ減少ス。抗原含量ハ總テノ場合ニ於テ減少スルモ其ノ程度ハ高價血清處置ノモノニ著明ナリ。

4. 重複感作ニヨリ分離液含有抗原量ノ減少スル理由

前章細菌沈降素ニ於ケルト同一實驗ヲ行ヒ同一成績ヲ得タリ。即チ分離液沈降物ニツキ重ネテ分離操作ヲ試ムルニ, 抗原ノ出現多カラズ, 又沈降物ヲ正常血清ヲ以テ處置スルモ, 分離液ノ抗原含量ヲ減少セシメタリ。尙ホ又海狸ヲ使用シテ動物實驗ヲ行ヒ, 抗牛血清家兔血清ヲ以テ 3 回感作セラレタル牛血清沈降物ト, 1 回感作沈降物トニツキ抗原的作用ヲ比較シタルニ, 前者ヲ以テ免疫セラレタル海狸ハ後者免疫ノモノニ比シ, 抗家兔血清沈降素ニ於テ増強シ, 抗牛血清沈降素ニ於テ反對ニ減弱スルヲ觀察セリ。由是重複感作後ノ分離液ニ抗原少キハ沈降物中ノ抗原成分漸次減少シ, 此減少シタル抗原ハ抗体ヲ以テ過剩ニ負荷セラルルモノト推定ス。

第 2 項 抗原ノ理化學的處置

血清抗原ノ理化學的處置ハ之ニ一程度ノ狀態特異性ヲ與ヘ抗原的作用ニ影響ヲ及ボスコトアルハ周知ノ事實ニシテ之ニ關スル文獻少カラズ。即チ Smith 氏ハ血清ヲ徐々ニ熱シ 64°C ニ至レバ 3 分間ニシテ沈降原性ヲ失フト云ヒ, Schmidt⁽⁶⁵⁾ 氏ハ馬

血清蛋白ハ70°C加熱ニヨリ、天然血清免疫血清ニ對シ反應遅ルモ尙ホ良好ナル沈降現象ヲ現ハシ90°C、1時間加熱ニ於テモ尙ホ反應シ得ルモ、100°C30分加熱セバ、モハヤ反應セズト言フ。Doerr u. Russ⁶⁶⁾氏ハ緬羊血清ハ90°C以上ノ加熱ニヨリテ緬羊天然血清免疫血清ニ對シ、反應セサルヲ實驗シ、Obermayer u. Pick⁶⁷⁾氏ハ天然血清ヲ以テ得タル高價沈降素ト雖モ加熱血清ヲ沈降セシメズト唱フ。反之Fornet u. Müller⁶⁸⁾氏ハ馬血清ヲ煮沸スルモ、馬天然血清ヲ以テ得タル免疫血清ニ對シ尙ホ沈降現象ヲ起シ、加熱蛋白鑑別可能ナリトイヒ、堺⁶⁹⁾氏ハ天然蛋白ニヨリテ得タル抗血清ハ種屬特異性ノミヲ有スルヲ以テ非加熱蛋白鑑別ニ最モ適應スレドモ、高温加熱蛋白鑑別ニ適應セズトイフ、其ノ他Schmidt氏ハ $\frac{1}{2}$ 定規「ナトリウム」液ハ瞬間的ニ $\frac{1}{40}$ 定規「ナトリウム」液ハ7時間ニシテ沈降原性ヲ破壊スルモ、炭酸「ナトリウム」及ビ「アンモニア」ハ沈降原ニ作用スルコトナシトイヒ、Oppenheimer氏ハ「トリプシン」ノ消化作用ニヨリテ蛋白ノ沈降原性ノ消失スルヲ實驗シ、瀧澤⁷⁰⁾氏ハ「フォルマリン」ヲ血清ニ作用セシムルコトニヨリ、其ノ沈降原性ヲ減弱セシメ、其ノ程度ハ「フォルマリン」ノ量並ニ溫度ニ比例スルヲ實驗シ、兒玉氏ハ「アルコール」ヲ抗原ニ作用セシメタル後、補體結合反應ヲ試ミタルニ、其ノ抗原性著シク減弱シ其ノ程度ハ「アルコール」ノ濃度並ニ作用時間ニ關係スルヲ報告セリ。

Obermayer u. Pick氏ハ煮沸牛血清ヲ以テ動物ヲ免疫シタルニ、第1回注射後ニ得タル抗血清ハ煮沸牛血清ニ良ク反應シ、60—80°Cニ加熱セシモノニハ僅ニ反應シ、天然牛血清ニハ全ク反應セズ然レドモ煮沸牛血清ヲ頻回注射、免疫久シキニ互レバ遂ニ天然血清ニモ反應スルニ至ルヲ報告セリSchmidt⁽⁷¹⁾氏ハ70°Cニ30分加熱セル血清ヲ以テ、動物ヲ免疫シテ得タル抗血清ハ當該加熱血清ハ勿

論、煮沸血清並ニ天然血清ニモヨク反應ストイヒ尙ホ同氏ハ長時間血清蛋白ヲ加熱シテ得タル不溶性凝固蛋白ハ其ノ浮游液ヲ以テスルモ、天然血清免疫血清並ニ70°C加熱沈降素ニ對シ全ク反應セザルヲ以テ、カカル凝固蛋白ヲ鑑別セント欲セバ熱「アルカリ」沈降素ヲ用フベキヲ高唱セリ。瀧澤氏ハ加「フォルマリン」加熱血清ヲ以テ動物ヲ免疫シテ、得タル免疫血清ハ加「フォルマリン」加熱血清ニハ勿論、加熱血清ニ對シテモ同様ニ反應スルモ、加「フォルマリン」加熱血清ハ當該免疫血清ニハ強度ニ、加熱血清免疫血清ニハ弱度ニ反應シ、天然血清免疫血清ニハ反應セズト報ズ。堺氏ハ牛、緬羊血清ヲ酒精ニテ處置シ、得タル粉末ヲ以テ動物ヲ免疫シタルニ、其ノ免疫血清ハ天然血清免疫血清ト毫モ差異ヲ認メズト稱フ。牧野⁷²⁾氏ハ天然血清蛋白ヲ以テ動物ヲ處置シテ得タル抗血清ハ種屬特異性ノミヲ有シ、熱「アルコール」及ビ「カルボール」處置血清ニ對シ全ク状態特異性ヲ有スルコトナク、又「アルコール」及ビ「カルボール」處置血清ヲ抗原トシテ得タル免疫血清ハ「アルコール」及ビ「カルボール」處置血清ニ對シ状態特異性ヲ有スルト同時ニ加熱血清ニ對シテモ亦状態特異性ヲ保有スルヲ報ゼリ。余ハ本實驗ニ於テ分離液内抗原ノ證明上必要ナルヤヲ慮リ、85°C、1時間加熱牛血清（生理的食鹽水ヲ以テ10倍ニ稀釋シテ加熱ス）ヲ以テ3回家兎ヲ免疫シ、抗血清ヲ準備シタルニ此モノハ稀釋沈降素價ハ天然牛血清ニ對シテモ、85°C加熱牛血清ニ對シテモ同一ニシテ1:500ヲ示シ、結合帶亦兩者共1:500ナリシモ、U.氏法沈降素價ハ、天然牛血清ニ高價ニシテ之ニ對シテハ1:10,000ナルモ85°C加熱牛血清ニ對シテハ1:5,000ヲ示シタリ。但シ天然牛血清免疫血清ニシテ同血清ニ對シ、稀釋沈降素價1:500、U.氏法沈降素價1:25,000ノモノハ85°C加熱牛血清ニ對シテハ、稀釋價1:100、U.氏價1:5,000ヲ示シタ

リ。斯クノ如ク抗原ノ理化學的處置ハ、其ノ免疫血清ニ一定度ノ狀態特異性ヲ賦與スルハ疑ナキモ是絕對的ノモノニハ非ザルガ如シ。但シ「コード」硝酸ヲ以テ處置セラレタル Jodeiweiss, Nitroeiweiss ノ如キモノニ對スル抗血清ハ完全ナル狀態特異性ノミヲ示スニ至ルト言フ。

余ハ分離液内抗原ノ移行ヲ抑制スル一目的ヲ以テ抗原ニ對シ、諸種ノ處置ヲ施シ以テ分離用結合抗原トシテ使用シ、抗體結合及ビ分離ノ成績竝ニ抗原ノ分離液移行ノ狀況ヲ觀察セリ。

1. 分離抗原ノ再用

重複感作後分離ノ成績ヨリ分離抗原ノ再用

シ得ベキヲ想ヒ、分離抗原即チ分離後ノ残渣沈澱物ヲ食鹽水ヲ以テ洗滌シタル後、結合用抗原トシテ分離試験ニ再使用セリ。

此場合ノ結合、分離ノ狀況ヲ觀ルニカカル残渣沈澱物ト雖モ尙ホ概ネ結合率 7/8 ヲ保持シ、且分離容易ニシテ、其ノ率 7/8 ニ及ブ、尤モ前章分離大腸菌ニ於ケル優秀ナル分離成績ニハ及バザルモ、夫レト同様ノ回感作ノミニテモ同ナリ多量ノ分離抗體ヲ得ラレ、又反覆使用ニ堪ヘ、移行抗原ハ全然證明シ得ザルニ至ルモノナリ、之等ノ關係ハ第 19 表ニ明カナリ。茲ニ一言附加スルハ残渣沈澱物ト雖モ尙ホ沈澱素ノ結合殘存セルハ明カニシテ再ビ使

第 19 表 抗原ノ處置ト沈澱素ノ結合及ビ分離竝ニ抗原移行トノ關係

抗原並ニ感作區分	上清沈澱素價				上清抗原價						結 合 率	分離液沈澱素價					分離液抗原價					分 離 率	
	100	250	500	1,000	10	25	50	100	250	500		1,000	2,500	5,000	5	10	25	50	100	250			
天然血清 1 回	++	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	1/2	+++	+++	+	-	-	-	-	1/10	
天然血清 3 回	++	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	1/2									
	+++	++	+	-	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	0	+++	+++	++	+	-	-	-	-	1/10
分離抗原 1 回	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/2	+++	+++	++	+	-	-	-	-	1/5
分離抗原 3 回	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/2									
	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/2									
	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+++	+++	++	+	-	-	-	-	1/10
天然血清 (2 倍)	+	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	4/5	+++	++	+	-	-	-	-	-	1/16
85°C 加熱血清 (2 倍)	++	+	-	-	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	1/2	++	+	-	-	-	-	-	-	1/50
100°C 加熱血清 (2 倍)	++	+	-	-	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	1/2	++	+	-	-	-	-	-	-	1/50
100°C 加熱凝固血清	+++	++	+	-	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	1/2	++	+	-	-	-	-	-	-	1/50
Formalin 血清	++	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	1/2	±	-	-	-	-	-	-	-	
Alkohol 血清	++	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	1/2	++	±	-	-	-	-	-	-	1/50

原血清沈澱素價 1:500 結合帶 1:500 抗原使用量ハ免疫血清 1.0 cc ニ對シ 0.025 2 倍トアルハ 0.05 凝固血清ハ 200 mg Formalin 血清, Alkohol 血清ハ Formalin 或ハ Alkohol 0.9 ニ牛血清 0.1 ヲ加ヘ得タル沈澱物ヲ用フ。抗原測定ニハ U. 氏法價 1:100,000 ノ抗牛血清, 加熱抗原測定ニハ 85°C 加熱抗原ニ對スル U. 氏法價 1:100,000 ノモノヲ用フ。

用ニ於ケル分離率ヲ明瞭ナラシムルニハ前回感作ノ殘存沈降素ヲ加熱破壊シ去ルニ如カズサレド沈降物ハ、細菌抗原ト異リ 80°C 以上加熱ニヨリ抗體結合力ヲ減却スルヲ實驗シタルヲ以テ、此際ハ高度ニ加熱スルコトナク單ニ食鹽水ヲ以テ良ク洗滌シ可及的前回感作沈降素ヲ洗除シタルニ止メタルモノナリ。

動物試驗

陳舊分離抗原ヲ結合抗原トシテ使用シタル分離液ニハ、抗原移行殆ド全クナキハ沈降反應及ビ補體結合反應ヲ以テ證明シ得タルモ、茲ニ更ニ動物實驗ヲ行ヒ、夫レニ對スル免疫體ノ產生如何ヲ觀察セリ。

免疫材料ハ毎回同一分離成績ヲ得、原血清

モ常ニ同一物ヲ使用シ、其ノ沈降素價 1:500ニ對シ、結合率 $\frac{1}{4}$ 、分離率 $\frac{1}{5}$ ニシテ、分離液ノ沈降素價 1:50 ヲ示シ、含有抗原ハ U. 氏法沈降素價 1:10,000 ノ抗牛血清家兔血清ニテハ證明セザリキ。

免疫動物トシテハ健康ナル成羆家兔並ニ海狸ヲ選ビ、家兔ニハ 1 回量 1.0 cc、海狸ニハ 0.5 cc トシ 3 日ノ間隔ヲ置キ、5 回反覆耳靜脈内ニ注射シ、最後ノ注射ヨリ 5 日ニシテ採血シ、家兔ニ就キテハ抗牛血清沈降素ヲ、海狸ニテハ抗家兔血清沈降素及ビ抗牛血清沈降素ヲ檢索測定セリ。其ノ成績ハ第 20 表ニ之ヲ示セリ。

第 20 表 抗牛血清沈降素分離液免疫試驗

動物別	沈降素別	稀 釋 法				U. 氏 法						
		5	10	25	50	10	25	50	100	250	500	1,000
		1:1	1:10	1:25	1:50	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1,000
家兔 1	抗牛血清沈降素	—				+++	+	—				
家兔 2	抗牛血清沈降素	—				+++	++	—				
海狸 1	抗牛血清沈降素	—				—						
	抗家兔血清沈降素	+++	++	—		+++	+++	+++	++	+	—	
海狸 2	抗牛血清沈降素	—				—						
	抗家兔血清沈降素	+++	++	+	—	+++	+++	+++	+++	++	+	—

2. 抗原ノ加熱

a. 85°C, 1 時間加熱

牛血清ヲ生理的食鹽水ヲ以テ 10 倍ニ稀釋シ 85°C ノ水槽中ニ 1 時間放置セバ乳糜様濁ヲ呈ス、之ヲ抗原トシ免疫血清ニ加ヘ其ノ量ハ血清 1.0cc ニ對シ $0.025 \times \frac{\text{Titer}}{\text{Zone}} \times 2$ トシ (加熱血清ノ結合率不良ナラシコトヲ豫想シ且相互結合率ノ差異ヲ明瞭ナラシメシ爲メ特ニ多量ヲ使用セリ) 孵籠ニ 2 時間放置シタル

後、遠心沈澱スルニ抗原トシテ天然血清同量ヲ使用シタルモノト略ボ同量ノ沈降物ヲ生ズ之ヲ型ノ如ク洗滌シ最初使用ノ血清ト等量ノ生理的食鹽水ヲ加ヘ、60°C, 15 分ニテ分離スルニ第 19 表ニヨリ明カナル如ク、結合率不良ニシテ天然血清ノ約 $\frac{1}{5}$ ニ當リ、分離率亦大イニ劣リ天然血清ノ約 $\frac{1}{5}$ ニ相當ス。カクシテ收得分離抗體ハ結局天然血清ノ $\frac{1}{5}$ ニ過ギズ、サレド同時ニ移行抗原量モ亦 $\frac{1}{4}$ ニ減ズルヲ觀

タリ。之が抗原測定ニハ其ノ状態特異性ヲ顧慮シ加熱血清免疫血清或ハ高價天然血清免疫血清ヲ用ヒタルモ何レモ、豫メ對加熱血清 U. 氏法沈降素價及ビ對天然血清 U. 氏法價ヲ測定シ置キタルハ勿論ナリトス。

b. 100°C, 30分加熱

イ) 牛血清ヲ食鹽水ヲ以テ 10 倍ニ稀釋シタル後加熱シタル場合

此場合ニハ稀釋加熱牛血清ハ 85°C 加熱ニ於ケルヨリモ、更ニ強度ノ乳糜様濁濁ヲ呈スルモ尙ホ沈澱物ヲ生ズルニ至ラズ之ヲ抗原トシタル(使用量ハ 85°C 加熱血清ノ場合ニ同ジ) 分離成績モ前表ニ示セル如ク結合分離共ニ不良ナルコト、85°C 加熱血清ト大差ナク、移行抗原量ノ減少亦相似タリ。

ロ) 牛血清ヲ稀釋セズ其ノ儘加熱シタル場合

此場合ニハ血清ハ凝固物ニ變ズ、之ヲ抗原トシテ血清 1.0 cc ニ對シ 200 mg ヲ使用シテ行ヒタル分離成績モ同表ニヨリ知ラルル如ク結合、分離共ニ前同様不良ナルモ、移行抗原量ノ減少ハ一層著明ニシテ前記濁濁液使用ノ場合ニ比シ更ニ半量以下ニ減少セルヲ觀ル。

3. 抗原「フオルマリン」處置

局方「フオルマリシ」0.9cc ニ牛血清 0.1cc ヲ加ヘ遠心沈澱スルニ白色沈澱物ヲ得、之ヲ 3 回食鹽水ヲ以テ洗滌シタル後抗原トシテ分離試験ヲ行フニ成績第 19 表ニ示セル如ク、結合率ハ $\frac{1}{2}$ ニシテ、サホド不良ニハ非ザルモ(「フオルマリン」ニヨリ牛血清全部沈降シタリトセバ使用抗原量ハ $0.025 \times \frac{\text{Titer}}{\text{Zone}} \times 4$ ナルヲ以テ結合不良) 分離率ハ甚ダ不良ニシテ、僅ニ 1/50 ニ達セズ、但シ同時ニ抗原移行ヲ制

限シ、使用量ノ比較的多量ナルニモ拘ラズ天然血清抗原(使用量 0.05)ニ比シ其ノ 1/10 ニ減少ス。

4. 抗原「アルコール」處置

無水「アルコール」0.9 ニ牛血清 0.1 ヲ加ヘ遠心沈澱スルニ白色ノ沈澱物ヲ得、之ヲ 3 回食鹽水ヲ以テ洗滌シタル後、抗原トシテ分離試験ヲ行フニ成績第 19 表ニ示セル如ク、結合率ハ $\frac{1}{2}$ ニシテ「フオルマリン」處置抗原ト同様ナルモ、分離率ハ夫レニ優リ 1/50 ニ當ル、サレド此場合ニハ分離液内抗原移行遙ニ多ク天然牛血清(使用量ハ 0.05)ヲ用フル場合ト差異ナカリキ。但シ使用量ノ比較的多量ナル點ヲ考慮ニ置クトキハ少シク制限キタルモノト認メ得ベシ。

第 3 項 分離液ノ抗原含量ト其ノ U. 氏法沈降素價トノ關係

分離方法ノ如何ニヨリ假令同一血清ヨリ分離セラレ、且稀釋沈降素價ヲ等シクセル分離液ト雖モ其ノ U. 氏法沈降素價ノ大ニ變動スルコトアルハ、既ニ前章細菌沈降素分離液ニ於テ經驗セル所ニシテ、血清沈降素分離液ニ於テモ亦同一關係ニアルハ勿論ナリトス、實驗的ニ免疫血清ニ種々量ノ抗原ヲ加ヘ血清ニ就キ稀釋沈降素價竝ニ U. 氏法沈降素價ヲ測定スルニ第 21 表ニ示ス如ク、注加抗原量僅少ニシテ之ト抗體トノ結合ニヨリ司見沈降物ヲ生ズルニ至ラザルトキハ稀釋沈降素價ノ減少亦著明ナラズ、倍數釋法ヲ以テシテハ明カニ之ヲ證明セザルニ反シ、U. 氏法沈降素價ハ移々著明ノ低下ヲ示ス即チ抗體ノ微量抗原ニ會ヒテ其ノ抗體價ヲ滅却スルニ當リテハ「U. 氏法價ニ急速ニシテ稀釋法ニ價緩徐ナリ、本

事實ハ動物ヲ反覆免疫中經驗スル少量抗原ノ再注射後稀釋沈降素價ヲ保持シツツ頓ニ「U.」氏法沈降素價ヲ減殺スルノ事實トモ符合スルモノナリ。但シ個々ノ免疫血清ニ就キ微量ノ相當抗原ヲ注加シテ抗體價ノ消長ヲ檢スルニ抗原注加量ト注加後ノ抗體價トノ相互關係ハ各血清ニ於テ必ズシモ一様ナラズ例之第21表ニ示セル如ク「U.」氏法沈降素價 1: 50.000 ナ

ルA血清ハ之ニ抗原ヲ加ヘテ其ノ量1: 50.000タラシメバ、モハヤ最初ノ價ヲ現シ得ザルニ「U.」氏法價 1: 10.000 ナルB血清ニ於テハ抗ヲ原 1: 10.000 ニナヲ如ク注加シタル後モ尙ホ「U.」氏價 1: 10.000ヲ示シ注加抗原量ヲ更ニ 1: 2.500ニ増加スルモ尙ホ同價ヲ保持ス。抗牛血清沈降素分離液ニアリテモ之ニ就キ既知「U.」氏法價抗血清ヲ用ヒ、沈降反應ニヨリ

第 21 表 抗原注加量ト沈降素價トノ關係

A 血清 稀釋沈降素價 1: 1.000 結合帶 1: 500 U. 氏法價 1: 50.000

沈降素價 抗原注加量	U. 氏 法					稀 釋 法				沈 澱 物
	5.000 1:	10.000 1:	25.000 1:	50.000 1:	100.000 1:	250 1:	500 1:	1.000 1:	2.500 1:	
0	卅	卅	卅	卄	一	卅	卅	卄	一	一
1: 100.000	卅	卅	卅	卄	一	卅	卅	卄	一	一
1: 50.000	卅	卅	卄	一	一	卅	卅	卄	一	一
1: 25.000	卅	卅	卄	一	一	卅	卅	卄	一	一
1: 10.000	卅	卅	卄	一	一	卅	卅	卄	一	一
1: 5.000	卅	卄	一	一	一	卅	卅	卄	一	一
1: 2.500	卄	十	一	一	一	卅	卄	十	一	十
1: 1.000	卄	十	一	一	一	卅	卄	十	一	十
1: 500	十	一	一	一	一	卅	卄	十	一	十

B 血清 稀釋沈降素價 1: 1.000 結合帶 1: 250 U. 氏法價 1: 10.000

沈降素價 抗原注加量	U. 氏 法					稀 釋 法				沈 澱 物
	1.000 1:	2.500 1:	5.000 1:	10.000 1:	25.000 1:	250 1:	500 1:	1.000 1:	2.500 1:	
0	卅	卅	卅	卄	一	卅	卄	十	一	一
1: 10.000	卅	卅	卅	卄	一	卅	卄	十	一	一
1: 5.000	卅	卅	卅	卄	一	卅	卄	十	一	一
1: 2.500	卅	卅	卅	卄	一	卅	卄	十	一	一
1: 1.000	卅	卄	卄	一	一	卅	卄	十	一	十
1: 500	卄	卄	一	一	一	卅	卄	十	一	十
1: 250	卄	十	一	一	一	卄	十	一	一	十
1: 100	卄	一	一	一	一	卄	十	一	一	十

稀釋法沈降素價ハ本來ノ結合帶ニ於ケル反應ヲ摘記ス

測定シタル抗原量ト該分離液「U」氏法價トノ關係ハ、決シテ一律ニハ發現セザルモノナリ蓋シ抗原抗體間ノ反應ハ抗體量、「メゾウム」ノ理學的性狀、抗原抗體ノ多種ニ因ル相互親和力ノ優劣其ノ他複雑ナル諸因子ニヨリ影響セラルルモノナルガ故ナルベシ。稀釋沈降素價ノ減少著明ナラザルノミナラズ結合帶ノ移動モサホド甚ダシカラザル所以ハ血清ノ稀釋ニヨリ含有抗原ノ稀釋セラレテ其ノ濃度著シク低減スルト、カカル微力抗原ト結合シタル抗體ハ強力ナル適合抗原ニ對スル反應力ニサノミ影響ヲ蒙ラザルニ因ルモノナルベシ。

第3節 提要

抗體ヲ以テスル抗原ノ3回重複感作ニヨリ分離液ノ抗原含量ヲ著シク減少セシメ、分離抗體量ヲ増加セシムルヲ得タリ。又分離抗原即チ分離後ノ残渣沈澱物ハ尙ホ抗體結合率ヲ

保持シ、加之分離容易ニシテ從テ分離率向上シ且幾回ニテモ使用ニ堪フルノミナラズ、陳腐ナルモノハ全然抗原ヲ移行セシメズ極メテ良好ナル分離用抗原タルモノナリ、之ヲ用ヒテ得タル分離液ハ夫レヲ以テ動物ヲ免疫スルモ、抗原ニ對スル抗體ノ產生殆ドナキヲ實驗セリ。

之等重複感作或ハ分離抗原ノ再用ニヨリ得タル分離液ハ常ニ U. 氏法沈降素價ヲ原血清ノ夫レト等シクス。

加熱抗原ハ結合分離不良ナルモ抗原移行ヲ制限シ得。

「フォルマリン」、「アルコール」處置抗原ハ結合率一層不良ニシテ分離用ニ適セズ。「フォルマリン」處置ノモノハ抗原移行ヲバ制限スルモ分離率最不良、「アルコール」處置ノモノハ抗原移行ヲ抑制スルコト極メテ僅微ナリ。

第6章 血球凝集素ノ分離ニ就テ

第1節 實驗材料並ニ反應検査法

第1項 實驗材料

1. 免疫血清

免疫動物トシテハ健康成熟家兎ヲ使用シ免疫原トシテハ鶏血球並ニ山羊血球ヲ選ビ、各其ノ10%生理的食鹽水浮游液ヲ2—5cc宛5回、3日ノ間隔ヲ置キ耳靜脈内ニ注射シ、最後ノ注射ヨリ5日ニシテ採血シ、抗鶏血球凝集素血清ニアリテハ、凝集價1:5,000ノモノ、抗山羊血球凝集素血清ニテハ凝集價1:2,500ノモノヲ得テ、何レモ56°C、30分加熱非毒性トシテ實驗ニ供セリ。

2. 抗原

a. 血球

鶏血球及ビ山羊血球ヲ3回洗滌シテ血清ヲ除去

シ、各血清1.0ccニ對シテ其ノ0.5ccヲ使用セリ蓋シ桑名¹⁰⁾氏ノ實驗ニヨリ分離ニ最適トセラレタル抗體1,000—2,000單位ニ對シ、血球0.1ニ略ボ標準シタルモノナリ。

b. 加熱血球

除纖維素鶏血液或ハ山羊血液ヲ生理的食鹽水ヲ以テ數回遠心洗滌シテ、血清ヲ除去シタル後、初量10倍ノ生理的食鹽水ヲ加ヘ60—65°Cニ2—3時間加熱スルニ褐色ニシテ稍々膠樣ノ物質ニ變ズ、之ヲ遠心沈澱スルニ上清沈澱共ニ濃褐色ニシテ、多量ノ加熱血色素ヲ含有ス、此沈澱ヲ更ニ反覆蒸餾水ヲ以テ加熱洗滌スルニ、可溶性物質ハ次第ニ浸出除去セラレ沈澱モ漸次色調ヲ減ズ、而シテ洗滌數回ニシテ上清ノ終ニ全ク無色トナルニ至リテ

止ム、斯クシテ得タル加熱血球ヲ結合抗原トシテ使用シ、其ノ量ハ免疫血清 1.0 ccニ對シ鶏或ハ山羊血液 0.5 ccヨリ得タルモノヲ用ヒタリ、斯クノ如ク頻回加熱洗滌シタル所以ハ可溶性物質ヲ可及的浸出除去スルト共ニ、血球ヲ固定シ其ノ物質ノ安定度ヲ高メ以テ抗原ノ分離液内移行ヲ防止セントシタルモノナリ。

0. 「フォルマリン」固定血球

最近 Rubino Montevideo⁷³⁾ 氏ハ「フォルマリン」赤血球ヲ製シ血清學的診斷ニ使用シテ、其ノヨク抗体ヲ結合スルヲ報告ス、同氏ニヨル製法次ノ如シ、即チ洗滌赤血球ヲ生理的食鹽水ヲ以テ原血液ニ復シ、夫レニ對シ 5—10% ノ比ニ「フォルマリン」ヲ注加シ時々振盪シテ 24—48 時間放置後生理的食鹽水ヲ以テ洗滌シ使用ニ供スルモノナリ、余ハ本血球ヲモ成原トシテ分離ニ試用シ以テ余ノ體ニ製造使用シタル加熱血球ト其ノ結合分離狀態ヲ比較セリ、外見的ニ兩者ヲ比較スルニ加熱血球ハ褐色ヲ呈スルモ「フォルマリン」血球ハ黒褐色ニシテ、色素ノ含有量後者ニ大ナルヲ思ハシム、顯微鏡的ニ檢スルニ加熱血球ノ方ニ血球ノ破壊稍大ナルガ如シ、染色ノ關係ハ加熱血球ハ Giemsa 氏液ニヨリ淡赤色ヲ現シ、正常血球染色標本ニ近似スルモ「フォルマリン」血球ハ青色ヲ呈ス。

第2項 反應検査法

血清或ハ分離液等可檢凝集素含有液ノ遞降的稀釋液 1 ccニ對シ 5% 血球浮游液 2 滴ヲ滴下シ、振盪混和シテ 37°C 解電ニ放置スルコト 2 時間、次デ翌朝迄室温ニ放置シタル後肉眼ヲ以テ觀察判定セリ。

分離液ノ抗原含量測定ハ一定ノ抗血球血清ニ對スル沈降原價ノ比較ニヨリタルモノニシテ、此際基準トナシタル 1/10 抗原液ハ洗滌血球ニ最初ノ血液量 10 倍ニナルマデ蒸餾水ヲ加ヘ、完全溶血ヲ起サシメ微量ニ残留スル不溶解物即チ血球基質ヲ

除去シ 0.85%ニナル如ク食鹽ヲ加ヘタルモノナリ即チ主トシテ色素含量ヲ測定シタルモノナリ。

第2節 實驗竝ニ其ノ成績

第1項 抗原ノ重複感作後ノ分離

1. 抗原トシテ洗滌血球ヲ使用シタル場合
洗滌血球 0.5 ccニ對シ感作血清 1 回 1.0 cc 宛 3 回トシ、1 回感作時間ヲ孵籠 30 分トセリ、對照トシタル 1 回感作ノモノハ孵籠内ニ 1.5 時間感作セシムルモ、溶血ヲ起サザルニ重複感作ノモノハ第 2 回感作ニ於テ、既ニ一部溶血ヲ起セリ、感作後ハ 3 回食鹽水ヲ以テ洗滌シ 50°C、15 分生理的食鹽水「メデウム」ヲ以テ分離セリ、其ノ成績第 22 表ニ示ス如ク重複感作ニ於テハ、1 回感作ニ比シ分離抗體量倍加スルト共ニ其ノ色素含量モ亦倍加スルヲ觀タリ。

2. 抗原トシテ加熱血球ヲ使用シタル場合
前記方法ヲ以テ除纖維素血液 0.5 ccヨリ得タル加熱鶏或ハ山羊血球ニ對シ感作血清 1 回 1.0 cc 宛 3 回トシ、1 回感作時間ヲ孵籠 1 時間トシ 60°C、15 分生理的食鹽水「メデウム」ヲ以テ分離セリ、其ノ成績ハ第 22 表ニ明カナル如ク抗原トシテ、加熱血球ヲ使用スルコトニヨリ 1 回感作ニ於テモ、正常血球使用ノ場合ニ比シ分離液ノ色素含量ヲ 1/200ニ減ジ、而モ分離抗體量ハ少シモ減ズルコトナカリキ、3 回重複感作ニアリテハ、分離液ノ色素含量ヲバー層減少セシメ、且分離抗體量ヲバ倍加セシメ得タリ、即チ加熱血球ニ於テモ正常血球ト略ボ同様ノ結合率並ニ分離率ヲ示シ、又重複感作ニヨリ分離抗體ヲ増加セシメ得ルコトハ正常血球ト異ルナキモ正常血球ニ於テハ

重複感作ニヨリ、分離液含有血色素量ヲ著シク増加スルニ反シ加熱血球ニアリテハ却テ之ヲ減少セシムルコト細菌沈降素竝ニ血清沈降素分離試験ニ於テ實驗シタル所ト相似タリ。

3. 抗原トシテ「フォルマリン」血球ヲ使用シタル場合

洗滌血液ニ 10% ノ比ニ局方「フォルマリン」液ヲ加ヘ時々振盪シツツ 24 時間放置シタル後、生理的食鹽水ヲ以テ數回遠心洗滌シ結合抗原トシテ使用セリ。抗原抗體ノ使用量、感作回数、感作時間、分離溫度、「メデウム」等

ハ總テ加熱血球ニ於ケルト同一ニセリ。本抗原ノ示ス結合竝ニ分離ノ狀況モ亦第 22 表ニ併示セリ。即チ結合率、分離率共ニ加熱血球ト全ク同様ナルモ分離液ノ血色素含量ハ稍々多ク 1 回感作後ノ分離ニ於テハ、加熱血球ノ同ジ場合ニ比シ 4 倍、3 回感作後ノ分離ニアリテハ加熱血球使用ノモノニ比シ 5—10 倍多量ナリ。但シ正常血球使用ノ分離液ニ比スレバ極メテ少ク其ノ 1/50, 1/100 或ハ 1/200 ニ當ル、然レドモ結合率竝ニ分離率ハ正常血球ニ劣ルコトナシ。

第 22 表 血球凝集素分離試験成績

凝集素區分 抗原及ビ感作回數別	鶏血球凝集素				山羊血球凝集素			
	血清凝集素價	分離液凝集素價	分離率	分離液抗原價	血清凝集素價	分離液凝集素價	分離率	分離液抗原價
血 球 1 回	1:2.500	1:250	1/10	2500:25.000	1:1.000	1:100	1/15	2500:25.000
血 球 3 回	1:2.500	1:500	1/10	5.000:25.000	1:1.000	1:250	1/12	5.000:25.000
	1:2.500				1:1.000			
	1:5.000				1:2.500			
加熱血球 1 回	1:2.500	1:250	1/10	5:10.000	1:1.000	1:100	1/15	5:10.000
加熱血球 3 回	1:2.500	1:500	1/10	2:10.000	1:1.000	1:250	1/12	2:10.000
	1:2.500				1:2.500			
	1:5.000				1:2.500			
分離加熱血球 1 回	1:2.500	1:250	1/10	1:10.000	1:1.000	1:100	1/5	1:10.000
分離加熱血球 3 回	1:2.500	1:500	1/10	0:10.000	1:1.000	1:250	1/12	0:10.000
	1:2.500				1:1.000			
	1:5.000				1:2.500			
フォルマリン血球 1 回	1:2.500	1:250	1/10	50:25.000	1:1.000	1:100	1/15	50:25.000
フォルマリン血球 3 回	1:2.500	1:500	1/10	25:25.000	1:1.000	1:250	1/12	25:25.000
	1:2.500				1:1.000			
	1:5.000				1:2.500			
分離フォルマリン血球 1 回	1:2.500	1:250	1/10	25:25.000	1:1.000	1:100	1/15	25:25.000
分離フォルマリン血球 3 回	1:2.500	1:500	1/10	10:25.000	1:1.000	1:250	1/12	10:25.000
	1:2.500				1:1.000			
	1:5.000				1:2.500			

原血清凝集價抗鶏血球 1:5.000 抗山羊血球 1:2.500 抗原價測定ニ使用シタル抗鶏血球血清ハ鶏血色素及ビ 10%「フォルマリン」加鶏血色素ニ對シ U. 氏價 1:25.000 加熱鶏血色素ニ對シテハ 1:10.000 ヲ示シ抗山羊血球血清ハ山羊血色素及ビ 10%「フォルマリン」加山羊血色素ニ對シ U. 氏價 1:25.000 加熱山羊血色素ニ對シテハ 1:10.000 ヲ示シタリ

第2項 分離抗原ノ再用

血球ハ感作時並ニ分離時溶血ヲ起シ再用スルコト能ハザルヲ以テ加熱血球及ビ「フオルマリン」血球ニ就キ實驗セリ。其ノ成績ハ第22表ニ併セ掲ゲタル如ク分離抗原ヲ再用セバ、分離液ノ色素含量極メテ少キヲ以テ利點トス、分離率ハ非分離抗原ニ比シ多少優越セルヲ認メシムルモカノ細菌性分離抗原ニ於テ實驗セシ如キ著明ナル向上ハ來サズ、倍數稀釋法ヲ以テシテハ非分離抗原トノ差異ヲ確證スルニ足ラザリキ、而シテ是等ノ關係ハ總テ加熱血球ニ於テモ亦「フオルマリン」血球ニ於テモ同様ニシテ、尙ホ又此兩抗原共ニ反覆使用ニ堪ヘ、其ノ回ヲ重ヌルニ從ヒ益々分離液ノ色素其ノ他抗原成分ノ含有量ヲ減ズルニモ拘ラズ、結合率ハ長時間ト不變ニ之ヲ保持スルモノナリ。

第3項 原血清、結合上清及ビ分離液

ノ血球凝集反應阻止帶ニ就テ

原血清ノ呈スル血球凝集反應ヲ觀ルニ其ノ稀釋度低クシテ凝集素濃厚ナルベキ所ニ於テ著明ナル阻止現象ヲ認ムルヲ普通トス。然ル

ニ同一血清ヲ使用シテ實施シタル分離試驗時ノ結合上清及ビ分離液ニ於テハ、カカル現象ヲ認ムルコト少ク、濃厚部ニ進ムニ從ヒ血球凝塊ノ益々大ナルモノナリ、1例ヲ示スニ第23表ノ如シ。而シテ高價凝集素血清ニシテ其ノ結合上清ト雖モ尙ホ相當高價ヲ保持スル場合ニ於テモ、阻止現象ノ著明ナラザルニモ拘ラズ、原血清ハ假令低下血清ト雖モ顯著ナル阻止現象ヲ呈スルヲ常トス、第23表ニ就テ觀ルモ原血清ハ2,500ノ凝集素價ヲ示スヲ以テ、其ノ25倍稀釋液ハ凝集素100單位ヲ含有シ阻止現象著明ナリ。然ルニ結合上清ハ1,000ノ凝集素ヲ有スルヲ以テ、其ノ10倍稀釋液ハ同ジク100單位ノ凝集素ヲ含有セル筈ナルニモ拘ラズ、阻止現象ヲ認メズ。カカル點ヨリ推論セバ阻止現象ヲ單ニ抗原、抗體ノ量的關係ノミヲ以テ説明スルコト困難ナルガ如シ、然レドモ感作ヲ反覆シ抗原ノ飽和感作セラレテ、モハヤ上清ノ凝集素價減ゼザルニ及ブ時ハ、該上清ノ示ス凝集反應ハ其ノ狀況原血清ト差異ヲ認メザルニ至ルモノナリ。

第23表 原血清、上清及ビ分離液ノ血球凝集反應

抗體別	抗體稀釋										
	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1,000	1:2,500	1:5,000	
原血清	—	—	—	+	++	+++	+++	++	+	—	
上清	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	
分離液	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	

第3節 提要

血球ヲ加熱或ハ「フオルマリン」處置ニヨリ固定スル時ハ之ヲ抗血清ヲ以テ反覆處置スルモ最早溶血ヲ招來セズ。然モ血球凝集素ニ對スル結合カハ殆ト正常血球ニ劣ルコトナク、

之ヲ保有シ血清學的研究上甚ダ便利ナルモノナリ。余ハ本抗原ヲ使用シ血球凝集素ヲ3回反覆結合セシメタル後、分離スルコトニヨリ分離抗體量ノ増加並ニ移行抗原量ノ減少ヲ觀タリ、而シテ抗體ノ結合及ビ分離成績ハ加熱

血球ト「フオルマリン」血球トノ間ニ大差ナク、分離液ヘノ血色素移行ハ抗原トシテ「フオルマリン」血球使用ノ場合ニ比シ、加熱血球使用ニ於テ一層僅少ナルヲ實驗セリ。又上記固定血球ハ分離後再ビ結合抗原トシテ反覆使用スルモ久シク抗體結合カヲ保有スルヲ觀タリ、但シ大腸菌沈原ニ於テハ分離抗原ヲ再用スルコトニヨリ、分離率ヲ著明ニ向上セシメ1回感作ニ於テモ多量ノ抗體ヲ分離收得シタルニ反シ加熱血球及ビ「フオルマリン」血球ニアリテハ分離抗原ヲ再用スルモ分離率ノ向上ハ劇然ト之ヲ認ムル事能ハザリキ、是前者ハ反覆使用ニヨリ成分抽出除去セラレ、抗體トノ結合次第ニ鬆粗トナルニ反シ、後者ハ物質ノ安定度大ニシテ反覆使用スルモ成分ノ抽

出除去セラレル事少ク、從ツテ抗體トノ結合状態ニ變化ヲ來スコトナキニ因ルモノナルベシ。

血球凝集素血清ニアリテハ其ノ稀釋度低ク抗體濃度大ナル所ニ於テ、反應阻止現象極メテ著明ナルヲ常トスルモ、結合上清及ビ分離液ニ於テハカカル現象著明ナラズ、是後者ハ原血清ニ比シ其ノ抗體含量僅少ナルニモ因ルベキナランモ、原血清抗體價極メテ高くシテ、之ヨリ得タル上清及ビ分離液ト雖モ尙ホ相當高價ヲ示ス場合ニ於テモ阻止現象著明ナラザルニモ拘ラズ、原血清ハ極メテ低價ナルモノト雖モ尙ホ日概ニ著明ナル阻止現象ヲ發現スルハ大イニ注目ニ價スルモノナリ。

第 7 章 溶血素ノ分離ニ就テ

1918年小酒井⁹⁾氏ハ分離「メヂウム」トシテ10%蔗糖溶液ヲ使用シ、溶血素感作血球ヨリ感作ニ使用セシ溶血素ノ殆ド全量ヲ分離シ、茲ニ抗體分離上一大進歩ノ基礎ヲ開ケリ。須之内¹⁷⁾氏ハ抗原トシテ血球基質ヲ使用シ、10%蔗糖溶液 53°C 分離ト生理的食鹽水 65°C 分離トヲ比較シ、兩者ニ於テ分離抗體量ニ差異ナキヲ實驗セリ。Euler u. Brunius²²⁾氏ハ血球基質ニ吸着セシメタル溶血素ヲ「アンモニア」ノ作用ニヨリテ分離シ透析、乾燥等ノ操作ヲ經テ溶血素ヲ300倍純粹タラシメ得タリト云フ。尙ホ同氏等ハ分離抗體ノ蛋白含量ヲ減少セシムル爲メ結合抗原トシテ基質「リポイド」ノ應用ヲ試ミタリ。

第 1 節 實驗材料並ニ反應検査法

第 1 項 實驗材料

免疫血清並ニ抗原共ニ前章血球凝集素分離試驗

ニ於テ使用シタル實驗材料中山羊血球ニ由ルモノヲ使用セリ。即チ抗原トシテハ洗滌山羊血球、加熱山羊血球及ビ「フオルマリン」山羊血球ヲ以テ比較實驗セリ。又實驗ニ供シタル抗山羊血球家兔免疫血清ハ前章記載ノ如ク、山羊血球ニ對シ1:2.500ノ凝集價ヲ有スルト共ニ同血球ニ對シ亦1:5.000ノ溶血價ヲ示シタリ。

第 2 項 反應検査法

溶血價ハ使用補體量ニヨリ變動ヲ來スヲ以テ各實驗共ニ補體價ノ2倍量使用ノ事ニ一定セリ。血清或ハ分離液等可檢溶血素液ノ遞降ノ稀釋液 1.0 ccニ補體稀釋液 (1.0 ccニ2單位含有) 及ビ 2.5% 山羊血球浮游液各 1.0 cc 宛ヲ混ジ 37°C 解凍ニ 2 時間放置シタル後、直チニ溶血程度ヲ觀察シ成績ヲ判定セリ。

分離液ノ抗原含量測定法ハ、前章ニ於ケルト全

ク同様ニシテ、分離液ト血球蒸留水浸出液トノ一定抗血清ニ對スル沈降原價ノ比ヲ求メタルモノナリ。

第2節 實驗並ニ其ノ成績

第1項 抗原ノ重複感作後ノ分離

1. 抗原トシテ洗滌血球ヲ使用シタル場合

血球凝集素分離ト同一操作ニヨリ同一比例ノ成績ヲ得タリ。即チ洗滌血球 0.5 cc ニ對シ感作血清 1 回 1.0 cc 宛 3 回トシ 1 回感作時間

ヲ解竈 30 分トセリ。1 回感作ニ於テハ 1 時間餘解竈ニ放置シテ感作セシムルモ溶血ヲ起サザルニ反シ、重複感作ニアリテハ既ニ第 2 回感作ニ際シ一部溶血ヲ起セリ。第 3 回感作後ハ生理的食鹽水ヲ以テ遠心洗滌スルコト 3 回然後 50°C, 15 分生理的食鹽水「メデウム」ヲ以テ分離セリ。分離抗體量ハ重複感作ニ於テハ 1 回感作ニ比シ倍加スルモ分離液内移行血色素量ノ増加モ亦免ルル能ハザリキ、即チ第 24 表ニ表示セル所ノ如シ。

第 24 表 溶血素分離試驗

結合並ニ分離 抗原及ビ感作回數別	原血清溶血價			血清溶血價				結 合 率	分離液溶血價				分 離 率	分離液抗原價
	1: 5,000	1: 10,000	1: 25,000	1: 1,000	1: 2,500	1: 5,000	1: 10,000		1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000		
血 球 1 回	卅	+	-	卅	卅	-		1:2	卅	卅	-		1:10	2,500 : 25,000
血 球 3 回	卅	+	-	卅	卅	-		1:2						
	卅	+	-	卅	卅	+	-	1:2						
	卅	+	-	卅	卅	卅	-	0	卅	卅	卅	-	1:10	5,000 : 25,000
加熱血球 1 回	卅	+	-	卅	卅	-		1:2	卅	卅	-		1:10	5 : 10,000
加熱血球 3 回	卅	+	-	卅	卅	-		1:2						
	卅	+	-	卅	卅	+	-	1:2						
	卅	+	-	卅	卅	卅	-	0	卅	卅	卅	-	1:10	2 : 10,000
分離加熱血球 1 回	卅	+	-	卅	卅	+	-	1:2	卅	卅	+	-	1:10 強	1 : 10,000
分離加熱血球 3 回	卅	+	-	卅	卅	+	-	1:2						
	卅	+	-	卅	卅	卅	-	1:2						
	卅	+	-	卅	卅	卅	-	0	卅	卅	卅	-	1:10	0 : 10,000
「フォルマリン」血球 1 回	卅	+	-	卅	卅	-		1:2	卅	卅	-		1:10	50 : 25,000
「フォルマリン」血球 3 回	卅	+	-	卅	卅	-		1:2						
	卅	+	-	卅	卅	+	-	1:2						
	卅	+	-	卅	卅	卅	-	0	卅	卅	卅	-	1:10	25 : 25,000
分離「フォルマリン」血球 1 回	卅	+	-	卅	卅	+	-	1:2	卅	卅	+	-	1:10 強	25 : 25,000
分離「フォルマリン」血球 3 回	卅	+	-	卅	卅	+	-	1:2						
	卅	+	-	卅	卅	卅	-	1:2						
	卅	+	-	卅	卅	卅	-	0	卅	卅	卅	-	1:10	10 : 25,000

2. 抗原トシテ加熱血球ヲ使用シタル場合

山羊血球 0.5 cc ヨリ得タル加熱血球ニ對シ感作血清量 1.0 cc 宛 3 回, 感作時間毎回孵籠 1 時間トシ 60°C, 15 分生理的食鹽水「メデウム」ヲ以テ分離セリ。此場合ハ洗滌血球使用ノ場合ト異リ分離液内血色素ノ移行僅微ニ止ルモノナルガ, 重複感作ニ於テハ 1 回感作ニ於ケルヨリモ更ニ分離液ノ血色素含量少キハ洗滌血球使用ノ際ト其ノ關係逆轉ス。而モ分離抗體量ハ同様ニ重複感作ニヨリ倍加セシメ得ルモノナリ。

3. 抗原トシテ「フオルマリン」血球ヲ使用シタル場合

加熱血球ヲ以テ試ミタルト全ク同様ニ實驗シタルニ重複感作ニヨリ分離抗體量ヲ倍加セシムルコトハ, 加熱血球使用ノ場合ニ同ジ。分離液ノ血色素含量ハ一般ニ「フオルマリン」血球ニ稍々多キモ重複感作ニヨリ漸次減少スル事實ハ亦異ルトコロナシ。

第 2 項 分離抗原ノ再用

天然血球ハ溶血ヲ起シ再用不能ナルヲ以テ加熱血球及ビ「フオルマリン」血球ニ就キ實驗スルニ其ノ成績, 血球凝集素分離ノ際ニ於ケルト同様ニシテ分離抗原ノ再用ニヨリ抗原成分ノ分離液移行ヲ減少セシムルノミナラズ, 分離率ヲ多少向上セシムルモノナリ。即チ分離抗原ハ相當ノ結合率ヲ保持シツツ分離率ヲ幾分大ナラシメ且抗原移行ヲ減少セシムル點ニ於テ非分離抗原ニ優ルモノト謂フベシ。

第 3 項 溶血素ノ結合及ビ分離ニ及ボス補體ノ影響

血球ニ補體ノ結合スル爲ニハ双攝體ノ介在

ヲ必要トスルモ, 双攝體ハ能ク單獨ニ血球ニ結合シ補體ノ共存ヲ要セザルハ一般ニ承認セラルル事實ナリ。然リト雖モ補體ノ存在スル場合双攝體ト血球トノ結合促進セラルル事ナキヤ, 或ハ双攝體ト補體トノ結合物ハ双攝體單獨ノモノヨリ血球ニ對スル親和力強大ナラザルヤ, 既ニ Ehrlich u. Sachs 氏ハ海狸赤血球ト双攝體トシテ作用スル非働性牛血清トヲ混和シ 37°C ニ靜置シタル後之ヲ遠心シテ上清ト沈澱トニ分チ, 其ノ沈澱ナル海狸赤血球ニ補體トシテ働性馬血清ヲ作用セシムルニ溶血セザルカ或ハ僅ニ溶血ヲ起スニ過ギズ。然ルニ海狸赤血球ト非働性牛血清トヲ接觸セシメタル後, 遠心シテ得タル上清ニ働性馬血清次デ正常海狸赤血球ヲ混加スルトキハ茲ニ溶血現象出現スルヲ實驗シ双攝體一補體群ノ抗原ニ對スル親和力ガ游離ノ狀ニアル双攝體ノ夫レニ比シ強大ナルヲ解セシムルガ如シ。

余ハ血球ニ溶血素ヲ結合セシムルニ當リ溶血ヲ起スニ足ラザル少量ノ補體ノ存在ノ下ニ行ハシメ, 次デ其ノ結合物ヨリ溶血素ノ分離ヲ行ヒ補體共存ノ結合及ビ分離ニ及ボス影響ヲ觀察セリ。其ノ成績ハ第 25 表ニ示ス如ク補體ノ存在ハ幾分溶血素ノ血球ニ結合スルヲ促進スルガ如キ感ヲ懷カシメタルモ補體ノ存否ニヨル差異ヲ判然タラシムル能ハザリキ, サレド此成績ハ共存補體ノ從量ニ過ギタル爲メニアラザルヤヲ想ヒ, 更ニ補體ノ多量ヲ用フルモ溶血ヲ起スコトナキ加熱血球ヲ使用シ補體ヲ稍々多量ニ遞増的ニ加ヘタルニ補體混加量大ナルモノニ於テハ, 其ノ小ナルモノヨリ溶血素ノ結合大ニシテ, 上清ノ残留溶血素價ハ補體混加量少キモノニ大ナリキ。而シテ

加熱分離ニ際シテハ結合ノ大ナルモノニ亦分離溶血素價大ナルヲ實驗セリ。即チ本成維ヨリ推論スレバ補體ノ存在ハ溶血素及ビ血球ノ結合ヲ促進セシムルモノナルガ如シ。但シ本實驗ニ於テ上清溶血價測定ニ際シ豫メ混加補體ノ作用ヲ除外シ置キタルハ勿論ナリトス、何トナレバ溶血價ハ使用補體量ニヨリ變動ス

ルモノナルヲ以テ此際上清ハ先ヅ 60°C, 30分加熱シタル後所定ノ補體價2倍量ヲ以テ溶血價ヲ測定シタルモノナリ。

分離液ハ 60°C 加熱分離ナルヲ以テ補體ハ既ニ破却セラレ、カカル顧慮ノ不要ナル事勿論ナリ。

第 25 表 溶血素ノ結合及ビ分離ニ及ボス補體ノ影響試驗成績

抗 原 種 別	使用量	原 血 清				補 體				上 清 溶 血 素 價				分 離 液 溶 血 素 價			
		溶血價	使用量	補體價	混加量	1:500	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:50	1:100	1:250	1:500				
洗滌血球	0.5	1:5,000	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
洗滌血球	0.5	1:5,000	1.0	0.02	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
加熱血球	0.5	1:5,000	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
加熱血球	0.5	1:5,000	1.0	0.02	0.02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
加熱血球	0.5	1:5,000	1.0	0.02	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
加熱血球	0.5	1:5,000	1.0	0.02	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第 4 項 分離溶血素ノ補體需要量ニ就テ

原溶血素ト分離溶血素トノ間ニ溶血發現ニ要スル補體量ニ差異ナキヤ否ヤ、尙ホ又分離方法ヲ異ニシタル時、各分離液間ニ於テ補體需要量ニ多少アリヤ含ヤニ就キ實驗セリ。

分離法トシテハ小酒井氏ノ方法ニ倣ヒ山羊血球ニ溶血素ヲ結合セシメ、之ヲ 55°C, 15分 10% 蔗糖液「メヂウム」ヲ以テ分離シタルモノ、加熱血球ヲ用ヒ重複過剰感作ノ後 65°C, 15分生理的食鹽水「メヂウム」ヲ以テ分離シタルモノ及ビ「カオリン」ニ吸着セシメタル後 65°C, 15分生理的食鹽水中へ再游離セシメタルモノニ就キ實驗セリ。「カオリン」ハ被吸着性抗體ノ一定濃度ニ於テ或ハ其ノ「メヂウム」中ニ於ケル一定分散度ニ於テ、且其ノ量ト「カオリン」トノ一定量ノ比例ニ於テハ選擇的

抗體吸收ノ事實ヲ證スル能ハズ恰モ「メヂウム」ヲ既存ノ抗體濃度ヲ變ズル事ナク、其ノ儘吸收セルガ如キ觀ヲ呈ス。例之「カオリン」0.2gニ對シ溶血性原血清 1.0ccヲ加ヘタル場合ニ於テハ上清ハ抗體價ヲ減セズ、而モ沈澱物ヨリ抗體ヲ分離シ得ルモノナリ。但シカカル分離液ハ其ノ抗體價ソ蛋白含量トノ比ハ原血清ニ於ケル兩者ノ比ト同一比例ヲ示スヲ常トス。

以上3種ノ分離法ヲ以テ得タル3種ノ分離液及ビ原血清ニ就キ、其ノ最高溶血價ヲ發現セシムルニ要スル最少補體量ニ幾分相違ナキヤヲ檢シタルニ成績第 26 表ノ如ク補體ノ増減ニ伴フ溶血發現、消長ハ各分離液及ビ原血清共ニ全ク同様ニシテ其ノ間毫モ差等ヲ認ムルコト能ハザリキ。

第 26 表 分離溶血素ノ補體需要量試驗成績

溶血素別	使用補體量	溶 血 素 稀 釋						
		1:100	1:250	1:500	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:10,000
原 血 清	0.06	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	0.04	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
	0.02	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
	0.01	+++	+++	+++	+++	++	+	-
洗滌血球 1 回 感作後 10% 蔗糖液分離液	0.06	+++	+++	++	-			
	0.04	+++	+++	++	-			
	0.02	+++	+++	+	-			
	0.01	++	+	-				
加熱血球 3 回 感作後生理的食鹽水分離液	0.06	+++	+++	+++	++	-		
	0.04	+++	+++	+++	++	-		
	0.02	+++	+++	+++	+	-		
	0.01	+++	++	+	-			
「カオリン」吸 着後生理的食鹽水分離液	0.06	+++	++	-				
	0.04	+++	++	-				
	0.02	+++	+	-				
	0.01	+	-					

第 3 節 提要

抗原トシテ加熱血球或ハ「フオルマリン」血球ヲ使用シ、之ヲ溶血素ヲ以テ重複感作シタル後分離シテ分離抗體量ヲ倍加セシメタリ。又カカル抗原ハ分離後ト雖モ尙ホ能ク抗體結合力ヲ保持シ、反覆使用ニ堪フルモノナリ。

溶血素ノ抗原ニ對スル親和力ハ補體ノ共存ニヨリ多少增強セラレ、結合率ヲ少シク大ナラシムルガ如シ、分離度ハ溶血素單獨ニテ結合セシメタルモノト、補體共存ノ下ニ結合セシメタルモノトノ間ニ何等場異ヲ認メズ、即

チ結合抗體量多キモノヨリ從テ亦多量ノ抗體分離セラルルヲ觀タリ。蓋シ補體ノ共存ハ抗原抗體ノ結合ヲ緊密ナラシメ分離ヲ多少困難ナラシムルニアラザルヤヲ推想シタルモ 60°C 加熱分離ナルヲ以テ、補體ノ作用除却セラレ分離率ニ毫モ影響スルトコロナキモノナラン。

溶血素ハ其ノ分離溶血素ナルト、非分離溶血素ナルトヲ問ハズ反應發現ニ要スル補體量ニ何等差異ヲ認メズ、分離方法ヲ異ニシタル各分離液間ニ於テモ亦同様ナリ。

第 8 章 Forssman 氏抗體ノ分離ニ就テ

1926 年 景山¹⁴⁾ 氏ハ山羊血球、海狸腎臟乳劑及ビ馬腎臟乳劑ヲ抗原トシテ使用シ、之ニ對スル Forssman 氏抗體ト山羊溶血素トノ結合及ビ再

分離ヲ比較試驗セシニ、何レノ抗原ヲ使用シタル場合ニ於テモ常ニ Forssman 氏抗體ハ、抗山羊溶血素ヨリモ結合率及ビ分離率共ニ大ナルヲ實驗セ

リ。即チ山羊血球ヲ抗原トシテ免疫血清1.0ccニ對シ其ノ1.0ccヲ使用シタル時ハ、Forssman氏抗體ハ多クノ場合完全ニ結合シ而シテ1/5—1/9ノ分離率ヲ示スニ、抗山羊溶血素ニアリテハ結合率1/2—10/10ノ間ヲ動搖シ分離率ハ僅ニ1/25—1/120ヲ示セリ。但シ分離「メヂウム」トシテハ10%蔗糖溶液ヲ選ビ分離ハ37°Cノ重湯煎ニ30分間加温シタルモノナリ。

海狸腎臟乳劑ヲ抗原トシテ免疫血清1.0ccニ對シ其ノ10%乳劑1.0ccヲ使用シタル際ニハForssman氏抗體ニ於テハ結合率9/10、分離率1/6ヲ示シ、抗山羊溶血素ニアリテハ結合率1/2、分離率1/19ナリシトイフ。但シ分離「メヂウム」ハ同ジク10%蔗糖溶液ナルモ、此際ハ55°Cノ重湯煎ニテ15分間加熱分離シタルモノナリ。又馬腎臟乳劑使用スル時ハ結合分離共ニ海狸腎臟乳劑ニ比シ不良ナルモForssman氏抗體ノ方、抗山羊溶血素ヨリモ良ク結合シ、ヨク分離スルハ規ヲ一ニセリト云フ。

第1節 實驗材料並ニ反應検査法

第1項 實驗材料

1. 免疫血清

免疫動物トシテハ健康成熟家兔ヲ使用シ免疫原ハ全濁血セル海狸ノ腎臟ヲ摘出シ、皮膜脂肪ヲ除去シ、細切シテヨク乾燥シ乳鉢ニテ摺磨シテ保存シ乾燥粉末、0.02gヲ生理的食鹽水5ccニ浮游セシメテ1回注射量トシ4日オキニ3回耳靜脈内ニ注入免疫シ最後ノ注射ヨリ7日ニシテ採血シ山羊血球ニ對スル溶血價1:1,000ノモノヲ得テ實驗ニ決セリ。

分離液ノ抗原(海狸腎臟)含量測定ノ目的ニハ、更ニ反覆免疫ヲ重ネ10%乾燥海狸腎臟食鹽水浸出液ヲ反應原トシテ流行シタルU.氏法沈降素價1:100ノ海狸腎臟沈降素血清ヲ使用セリ。腎臟浸

出液ノ製法次ノ如シ。即チ海狸腎臟ノ乾燥粉末0.5gニ生理的食鹽水5.0ccヲ加ヘ乳鉢ニテ丁寧ニ摺磨シ、60°C重湯煎中ニ2時間加熱浸出シ後水室ニ一夜放置シテ遠心沈澱シ上清ヲ分取シタルニ其ノ蛋白含量ハ血清ノ約1/4ニ當レリ。

2. 抗原

a. 海狸腎臟

上記ノ方法ニテ製セル海狸腎臟ノ乾燥粉末ヲ其ノ儘使用シ、又之ヲ次ノ如ク處理シテ比較實驗セリ。即チ腎臟粉末ヲ生理的食鹽水ヲ加ヘツツ乳鉢内ニ摺磨シ、次デ60°C水槽中ニ2時間加熱浸出シ遠心沈澱シテ上清ヲ除キ、更ニ蒸留水ヲ加ヘツツ摺磨シテ加熱浸出ヲ反覆シ、カクシテ機械的及ビ理學的ニ可及的成分ヲ排除シタルモノヲ再乾燥シテ粉末トナシ置キ何レモ免疫血清1.0ccニ對シ各其ノ0.05gヲ使用セリ。

b. 洗滌山羊血球

免疫血清1.0ccニ對シ其ノ0.5ccヲ使用セリ。

c. 加熱山羊血球

免疫血清1.0ccニ對シ洗滌血球0.5ccヲ加熱シテ得タルモノヲ使用セリ。

d. 「フォルマリン」山羊血球

使用量ハ加熱血球ト同一ナリ。

第2項 反應検査法

前章溶血素分離試驗ニ於テ施行シタルト全く同様ノ方法ニ據リタルモノナリ。

第節 實驗並ニ其ノ成績

第27表ニ示セル如ク抗原ノ重複感作後ノ分離試驗ニ於テ、1回感作ノ場合ニ比シ分離抗體量ヲ増加セシムルハ既述ノ各抗體分離試驗ト共通セル成績ナリ。

乾燥海狸腎臟0.05gハ山羊血球0.5ccニ比シ少シク低キ結合率ヲ示スモ分離率ハ腎臟粉

末ノ方遙ニ大ニシテ且移行抗原量小ナリ。又海猿腎臓中處置セザルモノト、其ノ成分ヲ抽除セルモノトヲ比較スルニ結合率ニ於テハ兩者ニ殆ド差異ヲ認メザルモ、後者ノ方分離率稍々優リ移行抗原量一層少クシテ海猿腎臓浸出液ニ對スル U. 氏法沈降素價 1:100ノ抗血清ヲ以テ檢スルニ、前者即チ處置セザル海猿腎臓抗原使用ノ分離液ハ沈降原性ヲ呈スルモ成分ヲ抽除セル腎臓抗原使用ノモノハ沈降原性ヲ證明セズ。從テ蛋白含量モ後者ニ一層少クシテ家兔血清ニ比シ約 1/120ヲ示スニ、前者

ニアリテハ約 1/60ニ當レリ。即チ Forssman 氏抗體分離用抗原トシテハ海猿腎臓適當シ就中機械的及生理學的處置ニヨリ其ノ成分ヲ抽出除去セルモノハ結合率ヲ減ゼズシテ分離率ヲ多少向上セシメ、抗原ノ移行ヲ抑止シ蛋白含量最モ少キ抗體分離液ヲ得ベシ。

本抗體ノ山羊血球（正常血球，加熱血球，「フォルマリン」血球共）ニ對スル結合率ハ抗山羊溶血素ノ夫レニ比シ一般ニ強大ナルハ景山氏ノ實驗成績ト相通ズル所ナリ。

第 27 表 「フォルスマン」氏抗體分離試驗成績

結合並ニ分離 抗原及ビ感作同數	原血清溶血價			上清溶血價			結 合 率	分離液溶血價				分 離 率	分離液抗原價	
	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:250	1:500	1:1,000		1:2,500	25	50	100			250
海猿腎臓 1 回	冊	+	-	冊	冊	+	-	3:4	冊	冊	-		1:10弱	1:100
海猿腎臓 3 回	冊	+	-	冊	冊	+	-	1:2						
	冊	+	-	冊	冊	冊	-	1:2					1:15強	0:100
	冊	+	-	冊	冊	冊	-	1:2以下	冊	冊	冊	-		
浸出海猿腎臓 1 回	冊	+	-	冊	冊	+	-	1:2	冊	冊	-		1:10	0:100
浸出海猿腎臓 3 回	冊	+	-	冊	冊	+	-	1:2						
	冊	+	-	冊	冊	冊	-	1:2						
	冊	+	-	冊	冊	冊	+	0	冊	冊	冊	-	1:10	0:100
血 球 1 回	冊	+	-	冊	-			3:4	冊	-			1:30	2,500:25,000
血 球 3 回	冊	+	-	冊	-			3:4						
	冊	+	-	冊	冊	-		3:4						
	冊	+	-	冊	冊	-		1:2	冊	冊	-		1:40弱	5,000:25,000
加熱血球 1 回	冊	+	-	冊	-			3:4	冊	-			1:30弱	5:10,000
加熱血球 3 回	冊	+	-	冊	-			3:4						
	冊	+	-	冊	冊	-		3:4						
	冊	+	-	冊	冊	-		1:2	冊	冊	-		1:40弱	2:10,000
「フォルマリン」血球 1 回	冊	+	-	冊	冊	冊	-	3:4	冊	-			1:30	50:25,000
「フォルマリン」血球 3 回	冊	+	-	冊	冊	冊	冊	3:4						
	冊	+	-	冊	冊	冊	冊	3:4						
	冊	+	-	冊	冊	冊	冊	1:2	冊	冊	-		1:40弱	25:25,000

第9章 溶菌素ノ分離ニ就テ

溶菌素ノ分離ニ關スル研究ハ他ノ抗體ノ夫レニ比シ比較的少キモ、既ニ Israel u. Weinstein⁹⁾ 氏ハ「チフス」菌濾液ト其ノ抗血清ヲ以テ形成セシメタル沈降物ヲ弱「アルカリ」ヲ以テ處置シテ得タル液中ニ原血清ニ比シ 5% ノ凝集素 50% ノ溶菌素及ビ 10% ノ補體結合性抗體ヲ證明シ、上田⁷⁴⁾ 氏ハ「コレラ」菌肉汁培養ヲ遠心沈澱シテ得タル液ト「コレラ」菌免疫血清トノ結合沈降物ヲ生理的食鹽水中ニ浮游セシメ、37°C ノ解離ニ 2 時間保存シタル後遠心沈澱シテ得タル液中ニ細菌沈降素、凝集素及ビ溶菌素ノ共存スルヲ證明シ、白吹¹⁰⁾ 氏ハ感作「メチニコフ」氏弧菌ニ就キ蒸餾水「メヂウム」ヲ以テ 56°C ニ加熱シテ抗體分離ヲ行ヒ、分離液中ニ沈降素、凝集素及ビ溶菌素ヲ證明スルノミナラズ、各抗體ノ原血清、上清及ビ分離液ニ於ケル含有比例ハ略ボ同一ナルヲ報告セリ。

第1節 實驗材料並ニ反應檢査法

第1項 實驗材料

1. 免疫血清

免疫動物トシテハ家兎ヲ使用シ、免疫原トシテハ「メチニコフ」氏弧菌ヲ選定セリ。即チ同菌ノ 18 時間寒天斜面培養ヲ生理的食鹽水ニ、10 cc ニ 3 0.5e ノ割合ヲ以テ浮游セシメ、60°C 水槽中ニ 2 時間加熱シテ之ヲ 1—5 cc 宛 4 日間隔ヲ以テ漸次増加シツツ反復 5 回家兎耳靜脈内ニ注入免疫シ最後ノ注射ヨリ 5 日ニシテ採血シ溶菌價 1:10,000 ノモノヲ得テ實驗ニ供セリ。

2. 抗原

18 時間寒天斜面培養ノ「メチニコフ」氏弧菌菌體ヲ使用セリ。

第2項 反應檢査法

溶菌價ハ溶血價ト同様使用補體量ニヨリ變動ヲ

來スヲ以テ同一實驗中ハ終始補體量ヲ一定ナラシムルヲ要ス。然レドモ溶菌性補體價ヲ測定スルハ溶血性補體價ノ夫レノ如ク短時間内ニ行フ事能ハズ、而モ補體ハ短時日内ニ其ノ效價ヲ變ズルヲ以テ像メ補體價ヲ測定シタル後、夫レニ應ジテ使用補體量ヲ定ムルハ本實驗ニ於テハ不適當ナリ。加之海豚血清ハ殆ド補體價一定セルヲ以テ溶菌反應實施ニ當リテハ常ニ 5% 海豚補體使用ノ事ニ定メタリ。即チ可檢溶菌素液ノ遞降的稀釋液 0.5 cc ニ 5% 海豚補體及ビ肉汁 10 cc ニ「メチニコフ」氏弧菌ノ 18 時間肉汁培養 2 滴ヲ混和シタルモノヲ各 0.5 cc 宛加ヘ 37°C 解離ニ 2 時間置キ、次之ヲ「ペトリ」氏「シャーレ」ニ移シ豫メ溶融シテ、45°C 内外ニ保テ爾寒天培養液ヲ注ガシ其ノ固定スルヲ待チテ、再解離ニ納メ翌朝發生菌聚落數ヲ計測シ成績ヲ判定セリ。但シ本實驗ハ總テ無菌的ニ行ヒタルハ勿論ナリトス。

分離液ノ抗原含量測定ハ其ノ沈降原性ニヨリタルモノニシテ「メ」氏弧菌浸出液ニ對シシ、氏法沈降素價 1:100 ノ抗「メチニコフ」氏弧菌家兎血清ヲ以テ施行セリ。「メ」氏弧菌浸出液ノ製法ハ大腸菌浸出液ノ夫レト同様ニ行ヒタルモノニシテ蛋白含量ハ家兎血清ノ約 1/1,000 ナリ。

第2節 實驗並ニ其ノ成績

第1項 抗原ノ重複感作後ノ分離

1. 寒天斜面ノ「メ」氏弧菌ニ對シ感作血清 1 回 1.0 cc 宛反覆 3 回トシ、1 回感作時間ヲ解離 1 時間トセリ。分離ハ生理的食鹽水「メヂウム」ヲ以テ 60°C — 15 分加熱セリ。

成績ハ第 28 表ニ示セル如ク、重複感作ニヨリ分離液ノ抗體價ヲ増加セシメ、含有抗原量ヲ減少セシメタリ。

第2項 分離抗原ノ再用

先ヅ蒸餾水、生理的食鹽水ヲ以テ加熱浸出シ、次デ反覆分離試験ニ使用シタル陳舊分離菌體ヲ使用スル時ハ分離液ニ抗原ヲ移行セシメズ、且相當可良ナル結合率ヲ保持シツツ分

離率ヲ大イニ向上セシメ、1回感作ニ於テモ新鮮抗原使用ノ場合ニ比シ遙ニ多量ノ抗體ヲ分離收得スルコト、大腸菌沈降素分離ニ於テ實驗シタル所ト同様ナリ(第28表);

第28表 感作回數竝ニ抗原ノ種類ト分離液溶菌價及ビ抗原價トノ關係

抗原別	分離液溶菌價 及ビ抗原價	溶 菌 價										抗 原 價											
		5		10		25		50		100		250		500		1,000		2,500		5,000		10,000	
		1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
正 常 抗 原	1	∞	∞	∞	多	少	0	0	少	多	∞	∞	卅	卅	+	-							
正 常 抗 原	3	∞	∞	∞	多	少	0	0	0	少	多	∞	+	-									
陳 舊 分 離 抗 原	1	∞	∞	∞	少	少	0	0	0	多	多	∞	-										

原血清溶菌價 1:10,000

抗原價ハ U. 氏沈降素價 1:100 ノ抗「メチニコフ」氏弧菌沈降素血清ヲ以テ檢ス

第3項 分離液ノ溶菌反應阻止帶ニ

就テ

細菌及ビ血球凝集反應溶血反應、溶菌反應等各種免疫反應ニ於テ、血清ノ稀釋度低キ抗體濃厚部ニ於テ阻止現象ノ存スルハ凡ニ學者ノ注意セル所ニシテ、之ガ本態ニ關スル研究亦少カラズ、或ハ抗體抗原ノ適當量比ニ於テノミ反應發現シ、兩者ノ量ノ關係不適ナル所ハ阻止帶トシテ現ルルヲ主張シ(吉田⁷⁶氏)、或ハ阻止物質トシテ作用差ヲ失ヒタル變性抗體ノ存在ヲ證シ、之ニヨリテ抗原受體ノ閉塞セラレ、爲メニ正常抗體ノ結合スル能ハザルヲ以テ其ノ原因ト認メ、或ハ抗免疫體作用物質ノ增加產生ヲ説クモノアリ(柳橋⁷⁶氏)、又阻止現象ハ各種免疫反應間ニ於テ、其ノ本態ヲ同ジクセルモノナルヲ論ジ、或ハ凝集反應ト溶菌現象間ニ於テハ勿論、溶血反應ト溶菌反應ニ於ケル、阻止現象間ニモ本態的ニ差異ヲ認メントスルアリ(由利⁷⁷氏)、溶菌及ビ溶血反應ニ於ケル阻止帶現象ノ原因トシテハ其ノ他、抗原ノ凝集ニヨル機械

的反應阻止過剩双體ニヨル補體轉向、免疫操作中、菌ノ溶解性蛋白或ハ血球ニ附着殘存セル血清ニ對スル沈降素ノ產生セラレ、之ヨリ形成セラルル沈降素ノ爲メ補體ノ結合固定セラルルニ因ルトシ、又抗原表面ニ生ジタル沈降被膜ニヨル補體侵入阻止、双體體分離、變性補體説、或ハ血清中ノ抗體破壞性物質ノ消失ニ因スル補體破壞性物質ノ作用發露ニ歸スル(鈴木、後藤及ビ平田⁷⁸氏)等1, 2ニシテ止ラズト雖モ、現今最モ肯綮ニ中レル所ノモノハ作用物質間ノ量比發ナルガ如シ。余ハ先ニ行ヒタル血球凝集素分離試驗ニ於テハ結合上清及ビ分離液ノ阻止現象著ク除却セラルルヲ認メ、本現象ハ抗原抗體ノ量ノ關係ノ外、阻止物質ノ存在ヲ想像シ、且阻止物質ハ容易ニ抗原ニヨリ吸收セラレ比較的再分離シ難キガ如ク推想シタルモ、孰中阻止現象特ニ著明ナル溶菌反應ニ於テハ結合上清及ビ分離液ニ於テモ阻止現象顯著ニシテ且阻止帶ハ溶菌價ノ減少ニ伴ヒ縮小セルヲ認メタリ。然レドモ亦一方ニ於テハ重複感作ニヨリ或ハ

分離抗原ノ再用ニヨリ分離溶菌素量ヲ増加シタル時必ズシテ阻止帶ノ擴大ヲ伴ハズ。即チ阻止現象ハ單一ナル機構ニヨリテ成立スルモノニアラズシテ複雑ナル因子ノ臨機錯綜シテ發現スル現象ナルヲ想ハシム。

溶菌素分離液ニ就キ溶菌價ヲ計測スルト共ニ「メ」氏弧菌浸出液ヲ抗原トシテ其ノ稀釋沈降素價ヲ檢定シ、又凝集反應ヲ試驗シテ原血清、上清及ビ分離液ニ就キ互ニ成績ヲ比較スルニ各抗體價ハ常ニ其ノ消長ヲ共ニスルヲ觀タリ。即チ第29表ノ如シ。

第4項 分離液ノ溶菌價、沈降素價及ビ凝集價ノ相互關係ニ就テ

第29表 溶菌、凝集及ビ沈降反應ノ相互關係

溶菌反應

抗體別	抗體稀釋														原血清ニ對スル分離抗體量	
	5	10	25	50	100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000	50,000	100,000		
原血清	8	8	8	8	多	多	少	0	0	0	0	多	8	8	8	
分離液 1 (正常感作)	8	8	8	8	多	少	0	0	少	多	8	8	8	8	8	1:20
分離液 2 (正常感作)	8	8	8	8	多	少	0	0	0	少	多	8	8	8	8	1:10
分離液 3 (陳舊感作)	8	8	8	少	少	0	0	0	多	多	8	8	8	8	8	1:10

凝集反應

抗體別	抗體稀釋														原血清ニ對スル分離抗體量	
	5	10	25	50	100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000	50,000	100,000		
原血清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
分離液 1	+	+	+	+	+	+	+	+	-							1:20
分離液 2	+	+	+	+	+	+	+	+	-							1:10
分離液 3	+	+	+	+	+	+	+	+	-							1:10

沈降反應

抗體稀釋	原血清				分離液 1				分離液 2				分離液 3							
	1:50	1:100	1:250	1:500	1:2	1:5	1:10	1:25	原血清ニ對スル抗體量	1:5	1:10	1:25	1:50	原血清ニ對スル抗體量	1:5	1:10	1:25	1:50	原血清ニ對スル抗體量	
	1:50	1:100	1:250	1:500	1:2	1:5	1:10	1:25	1:25	1:5	1:10	1:25	1:50	1:10	1:5	1:10	1:25	1:50	1:10	
1:2	++	++	+	-	++	++	+	-	++	++	+	-	++	++	+	-	++	++	+	-
1:5	++	++	+	-	++	++	+	-	++	++	+	-	++	++	+	-	++	++	+	-
1:10	++	+	-		++	+	-		++	+	-		++	+	-		++	+	-	
1:25	++	-			+	-			++	-			++	-			++	-		

第 3 節 提要

「メ」氏弧菌ヲ結合抗原トシテ使用シ溶菌素ヲ分離スルニ、重複 3 回感作後分離スルコトニヨリ 1 回感作ノ場合ニ比シ、分離抗體價ヲ増加セシメ移行抗原量ヲ大ニ減少セシム、又菌體ヲ豫メ蒸餾水及ビ食鹽水ヲ以テ加熱浸出シ、更ニ分離試験ニ反覆使用シタル陳舊分離抗原ヲ使用スルトキハ相當可良ノ結合率ヲ保持シツツ分離率ヲ著シク向上セシメ、屢々 1/2 以上ニ及ビ 1 回感作ニ於テモ新鮮抗原使用ノ場合ニ比シ、遙ニ多量ノ抗體ヲ分離收得スルノミナラズ、カカル抗原ハ分離液ヘノ移行殆ド認メラレズ、從テ蛋白含量一層少キ分離

溶菌素液ヲ得ルモノナリ。

分離溶菌素ノ反應阻止帶ハ原血清ニ比シ溶菌價ノ低減セルト相比例シテ縮小スルコトアリ、又分離溶菌素價大ナルニモ拘ラズ、其ノ小ナル場合ニ比シテ阻止帶ノ擴大セザルコトアリテ、常ニ必ズシモ一定ノ成績ヲ得ズ、是等ヲ綜合考察スルニ阻止現象ハ 2 箇以上因子ノ錯綜シテ、種々ニ發現スルモノニシテ單一ナル機轉ニアラザルヲ想ハシム。

溶菌素分離液ハ同時ニ沈降素及ビ凝集素ヲ含有スルノミナラズ、同液原血清及ビ上清中ニ於ケル之等抗體ノ量的比例ハ各抗體ヲ通シ殆ド一致セルヲ認ム。

第 10 章 總括竝ニ考按

感作抗原ヨリ、抗體ヲ再ビ分離スル、Entziehungsmethode ニ於テ從來諸家ニヨリ各種抗體ニ就キ實施セラレタル抗體ヲ以テスル抗原ノ 1 回感作後ノ分離ニ於テハ、分離液中ニ稍々多量ノ抗原移行スルモノナルハ、既ニ先人ノ證認セル所ニシテ、其ノ移行抗原量ハ使用抗原、分離「メヂウム」及ビ分離溫度等ニ關スルモノニシテ例之大腸菌沈降素分離ニ於テ抗原トシテ菌體ヲ使用スル時ハ、菌浸出液ヲ使用スル場合ニ比シ分離液ハ多量ノ抗原ヲ含有シ、又菌體抗原ヲ使用スル際ニハ分離「メヂウム」トシテ 1% 澱粉溶液ヲ選ブ時ハ、分離液ヘノ抗原移行最モ少ク、蒸餾水ハ之ニ次ギ 10% 蔗糖溶液ハ最モ大ナルハ囊ニ白玖氏ノ報告セル所、又須之内氏ハ血清沈降素分離ニ際シ、53°C 蒸餾水分離ト、65°C 生理的食鹽水分離トニ於テ、分離抗體量ニハ殆ド差異

ナキモ移行抗原量ハ、後者ニ少キヲ述ベタルガ如シ。

余ハ蒸餾水、生理的食鹽水及ビ高張(8.5%)食鹽水ヲ「メヂウム」トシ 45°C、55°C 及 65°C 分離ヲ試ミ、抗體分離度及ビ移行抗原量ヲ測定シタルニ、前者ハ分離溫度ノ上昇ト共ニ必ズシモ増加スルトハ限ラズ各「メヂウム」ニヨリ夫々最適分離溫度ヲ異ニシ、後者ハ分離溫度ノ上昇ト共ニ増加シ、且蒸餾水「メヂウム」ニ最大ナルヲ認メ、兩者間ニハ必ズシモ平行成立セザルヲ觀タリ。而シテ分離抗體量ヲ可及の大ニ、移行抗原量ヲ可及の小ニスル爲メニハ 55°C 高張或ハ生理的食鹽水分離最適ナルヲ實驗セリ。

以上ノ實驗ヨリ 55°C 生理的食鹽水分離ニヨリテ、分離液ノ抗原含量ヲ一定程度マデ制限シ得ルヲ知リタルモ、同分離法ニ於テモ大腸

菌沈降素分離液ハ同菌浸出液ニ比シ約 1/20, 牛血清沈降素分離液ハ, 約 1/2,000 ノ抗原ヲ含有スルヲ以テ, 之ガ一層ノ減少, 能フベクンバ其ノ根絶ヲ企圖シ抗體ヲ以テ抗原ヲ重複感作シタル後分離シ, 又分離抗原ノ再用ニヨリ或ハ抗原ノ理學的處置ニヨリ所期ノ目的ヲ達スルヲ得タリ。即チ細菌沈降素, 同凝集素, 血清沈降素, 血球凝集素, 溶血素, Forssman 氏抗體及ビ溶菌素分離ニ於テ, 何レモ抗原ノ 3 回重複感作ニヨリ 1 回感作ノ場合ニ比シ, 分離抗體量ヲ倍加セシメ且移行抗原量ヲ著明ニ減少セシメタリ。又分離抗原ノ再用ニ總テノ抗體分離ニ適用シテ良好ノ成績ヲ得ルモ, 殊ニ細菌抗原ニ於テ, 成績優秀ニシテ反覆使用シタル陳舊分離抗原ハ分離液ヘ移行セザルノミナラズ, 相當可良ノ結合率ヲ保持シツツ分離率ヲ向上セシメ, 1 回感作後ノ分離ニ於テモ多量ノ抗體ヲ收穫スルモノナリ。

血球凝集素, 溶血素及ビ Forssman 氏抗體分離ニ於テ抗原ヲシテ洗滌血球ヲ使用スル時ハ重複感作ニヨリ分離抗體量ヲ増加セシムルモ溶血ヲ起シ分離液ノ抗原含量ハ却テ著シク増加シ, 又分離抗原ノ再用不能ナルモ加熱血球或ハ「フォルマリン」血球ヲ使用セバ, 細

菌或ハ血清抗原ト同様ニ重複感作及ビ分離抗原ノ再用ヲ實施スルヲ得略ボ同様ノ成績ヲ擧ゲ得ルモノナリ。

Forssman 氏抗體ハ抗山羊溶血素ニ比シ, 山羊血球ニ對スル結合率大ナリ。海狸腎臟ノ乾燥粉末ハ之ヲ分離用抗原トシテ使用スルニ分離液ヘ移行スル事極メテ少ク, 且可良ノ分離率ヲ示シ Forssman 氏抗體分離ニ際シ結合抗原トシテ使用ニ適ス, 殊ニ機械的及ビ理學的處置ニヨリ浸出性成分ヲ可及的抽出除去セルモノハ, 結合率ヲ減セズ且分離液中ヘ殆ド全ク移行セズ, 蛋白質含量最モ少キ分離液ヲ得ベシ。

重複感作ニヨリ分離液ノ抗原含量減少シ抗體量ノ増加スルハ, カカル處置ニヨリ抗原ノ移行シ易キ成分ハ, 血清中ニ抽出セラレ上清ト共ニ除去セラルルト, 又抗原ノ抗體ヲ以テ過剩ニ負荷セラルル爲メナルベシ。

分離細菌抗原ノ再用ニヨリ抗原ノ移行セザルノミナラズ, 分離率ヲ向上セシムルハ反覆使用ニ際シ漸次菌體成分抽出除去セラレ, 蛋白質含量減少ヌル爲メ抗體トノ結合鬆粗トナリ從テ分離亦容易トナルモノト推定ス。

第 11 章 結 論

1. 細菌沈降素, 同凝集素及ビ血清沈降素分離ニ於テ分離抗體量ヲ可及的大ニ, 移行抗原量ヲ可及的小ニスル爲メニハ 55°C 高張食鹽水分離適當ナリ。

2. 抗原ヲ重複感作ノ後, 分離セバ移行抗原量ヲ著シク減少セシメ且分離抗體量ヲ増加

セシメ得。

3. 感作分離抗原ハ尙ホ抗體結合力ヲ保有シ再用スルコトヲ得。

4. 感作分離抗原ヲ再用セバ移行抗原量著シク減少ス。

5. 細菌性分離抗原ハ移行抗原量ヲ著シク

減少セシムルノミナラズ、分離率ヲ大イニ向上セシム。

6. 加熱血球及ビ「フオルマリン」血球ハ正常血球ニ比シ結合及ビ分離率ニ大差ナク且重複感作及ビ分離抗原ノ再用ニ適ス。

撰筆ニ當リ恩師緒方教授ノ御指導ト御校閲ニ對シ滿腔ノ謝意ヲ表ス。

(本論文ノ要旨ハ昭和7年4月1日第4回日本聯合衛生學會ニ於テ發表セリ)

文 獻

- 1) *Widal et Sicard*, Ann. Past., T. 100, P. 33. 1897. 2) *Winterberg*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, S. 375, 1899. 3) *Pick*, Handb. von Kraus Levaditi, Bd. 1, S. 331. 4) *Hahn u. Trommsdorff*, Münch. med. W., S. 415, 1900. 5) *Laudsteiner u. Jagic*, ebd., S. 764, 1903. 6) *Liebermann u. Fenyvessy*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 47, S. 274, 1908. 7) 松井, 日本鐵道協會雜誌, 大正6年. 8) *Israel u. Weintin*, Journ. of Imm., V. 3, P. 17, 1918. 9) *Kosakai*, ebd., V. 3, P. 109, 1918. 10) *Furukata*, Japan med World, No. 6, P. 1. 1921. 11) *Ogata*, Zeitschr. f. Imm., Bd. 39, S. 270, 1924. 12) *Huntton*, Journ. of Imm., V. 6, P. 123, 1921. 13) 三輪, 日本衛生學細菌學雜誌, 第17卷, 大正11年. 14) 景山, 岡醫雜, 第437號, 大正15年. 15) *Sunouchi*, Arb. u. d. med. Universität Okuyama, Bd. 1, S. 1, 1928. 16) *Haku*, ebd., Bd. 1, H. 2, S. 246, 1929. 17) 須之内, 岡醫雜, 第475號, 昭和4年. 18) 桑名, 岡醫雜, 第498號, 昭和6年. 19) 新宮, 朝鮮醫學會雜誌, 第19卷, 第2號, 昭和4年. 20) *Ruppel, Ornstein, Carl u. Lasch*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 97, S. 188, 1923. 21) *Bechhold*, Bioch. Zeitschr., Bd. 6, S. 379, 1907. 22) *Fuler u. Bruntius*, Zeitschr. f. Imm., Bd. 68, S. 124, 1930. 23) 渡邊, 細菌學雜誌, 第427號, 昭和6年. 24) *Bail*, Arch. f. Hyg., Bd. 42, S. 307, 1902. 25) 原田, 醫學中央雜誌, 第23卷, 401頁, 大正14年. 26) *Gaetgen*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, S. 223, 1909. 27) *Fukuhara*, Zeitschr. f. Imm., Bd. 2, S. 305, 1909. 28) 天兒, 福岡醫科大學雜誌, 第18卷, 大正14年. 29) 飯島, 實驗醫學雜誌, 第7卷, 第6號, 大正12年. 30) 西澤, 社會醫學雜誌, 第493號, 昭和3年. 31) *Torigata*, Koktopräoipitino gene u. Koktoimmuno gene, 1917. 32) 上田, 日本微生物學會雜誌, 第16卷, 大正11年. 33) 片岡, 東京醫學會雜誌, 第38卷, 大正13年. 34) *Takagi*, Zeitschr. f. Imm., Bd. 47, S. 431, 1926. 35) 白坂, 岡醫雜, 第468號, 昭和4年. 36) *Eisenberg u. Volk*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 155, 1902. 37) *Joos*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, S. 762, 1903. 38) 柴山, 細菌學雜誌, 第85號, 明治35年. 39) *Scheller*, Centralbl. f. Bakt., 36, S. 694, 1904. 40) *Porger*, ebd., Bd. 41, S. 466, 1906. 41) *Derselbe*, Wien. kl. W., S. 749, 1927. 42) *Shiga*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 41, S. 355, 1902. 43) *Neisser*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 1904. 44) *Jobling*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 53, S. 554, 1906. 45) *Härschfeld*, Arch. f. Hyg., Bd. 60, S. 298, 1907. 46) 松井, 東京醫事新誌, 大正7年. 47) 守家, 日本微生物學會雜誌, 第15卷, 大正10年. 48) 渡邊, 細菌學雜誌, 第313號, 大正10年. 49) 古川, 日本微生物學會雜誌, 第15卷, 大正10年. 50) 杉田, 細菌學雜誌, 大正11年. 51) 山口, 千葉醫專校雜誌, 第147號, 大正11年. 52) 河野, 滿洲醫學會雜誌, 第3卷, 大正14年. 53) 佐藤, 衛生學傳染病學雜誌, 第19, 20卷, 大正14年. 54) 中本, 衛生學傳染病學雜誌, 第20卷, 大正14年. 55) 中本, 醫事公論, 第647號, 大正13年. 56) 窪田, 衛生學傳染病學雜誌, 第23卷, 昭和2年. 57) *Eisen-*

- berg, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 31, S. 773, 1902 58) *Müller*, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 66, S. 215, 1910.
Weidans, *Arb. u. d. Kais. Ges.-A.*, Bd. 29, S. 394, 1908. 59) *Eisler u. Löwenstein*, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 63, S. 261, 1912. 60) 杉田, *細菌學雜誌*, 第336號, 大正13年. 61) *Hoem, Tschertkow u. Zipp*, *Zeitschr. f. Imm.*, Bd. 58, S. 143, 1928. 62) 國房, *社會醫學雜誌*, 第533號, 昭和6年. 63) *Joos*, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 40, S. 219, 1902. 64) *Eagle*, *Journ. of Imm.*, V. 18, S. 393, 1930 65) *Schmidt*, *Bioch. Zeitschr.*, Bd. 14, S. 294, 1908. 66) *Doerr u. Russ*, *Zeitschr. f. Imm.*, Bd. 3, S. 706, 1909. 67) *Obermayer u. Pick*, *Wien. kl. W.*, S. 660, 1903; S. 265, 1904. 68) *Fornet u. Müller*, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 66, S. 215, 1910. 69) 堺, *中外醫事新報*, 第1103, 1104號, 大正15年. 70) 瀧澤, *日本微生物學會雜誌*, 第16卷, 大正11年. 71) *Schmidt*, *Zeitschr. f. Imm.*, Bd. 13, S. 166, 1912. 72) 牧野, *岡醫雜*, 第488號, 昭和5年. 73) *Rubino Montevideo*, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 120, S. 378, 1931. 74) 上田, *免疫研究業報*, 第3卷, 大正12年. 75) 吉田, *北海道醫學會雜誌*, 第7卷, 昭和4年. 76) 柳橋, *東北醫學會雜誌*, 第11卷, 昭和3年. 77) 由利, *日本微生物學會雜誌*, 第22卷, 昭和3年. 78) 鈴木, 後藤及平田, *臺灣醫學會雜誌*, 第258號, 大正15年.

