

略号 FKA

カタログ番号 FKA-502

品名 抗 コール酸

本製品は Cholic acid-24-BSA をウサギに免疫して得たポリクローナル抗体です。ヒト ウマ ウシ その他哺乳動物 と反応する。

内容 : 1バイアル中にRIAで2000 tubeの測定が可能な

抗体を含む 凍結乾燥品。

本バイアルに蒸留水を 1ml 加えて溶解調整して下さい。

更に使用時緩衝液で希釈 (抗体0. 1ml : 緩衝液19. 9ml)

調整 : 0. 25% BSA 10mM PBS (pH7, 8)
抗体 防腐剤を含まず。

保存法 : 製品並びに溶解液は4Cで保存して下さい、溶解液を
長期保存する場合は、分注して-20C以下にて保存し、
凍結融解を繰り返さないで下さい。

The Cross reactivities of antisera against

GCA-BSA and CA-BSA

抗原	GCA-BSA	CA-BSA
GCA	100%	100%
TCA	50%	110%
CA	26. 3%	51%
GCDCA	43. 8%	15%
TCDCA	12. 5%	18%
CDCA	7. %	6. 5%
GDCA	0. 4%	---
TDCA	1. 8%	---
DCA	0. 3%	2. 4%

表のように CA-BSAの抗体は CAの conjugate (GCAと TCA) はほぼ同じに また GCA-BSAの抗体のCAの交叉が26. 3%に対して 51%と反応しており、CDCA系に対してはGCAの抗体より反応しなくて良いと思います。

胆汁酸の抗体とその特異性及び
 応用について

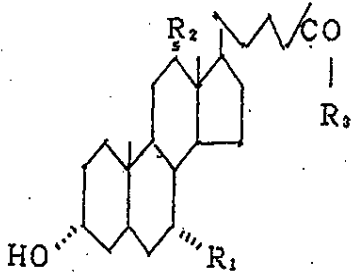
<はじめに>

クロマトグラフィとか抽出することなく血清を希釈するだけでELISAを行うことができるように
 努力しております。

96穴のマイクロプレートを用いると 呈色度の測定とコンピュータをつなげば極めて簡単に測定が出来ます。
 1次胆汁酸 CA, DCA, 2次の CDCA と LCA, 及び これらの conjugate (glyco
 と tauro) をはかる訳ですが、抗体は胆汁酸のカルボン酸に抗原性蛋白 (BSA) を化学的に結合させた
 ものを抗原として家兎に注射して抗体を作りました。

抗体の一般的特性

胆汁酸の抗体は Glyco, Tauro 及びフリーの胆汁酸は お互いに交叉があります, 即ち
 Glycocholic acid だけを測る抗体はなく, Taurocholic acid や
 Cholic acid が 交叉率の割合で測りこまれます。



R₁ = H R₂ = H Litho CA
 R₁ = OH R₂ = H CDCA
 R₁ = H R₂ = OH DCA

R₃ = OH₂ free bile acid

R₃ = N-CH₂-COOH glyco bile acid

R₃ = N-CH₂-CH(S-OH) tauro bile acid

即ち BSA を結合させた所の抗体の認識は甘くなっています,

抗 コール酸 はグリコール酸も タウロコール酸も測り込んでいます, また グリコール酸の抗体は
 コール酸と タウロコール酸を測り込みますが, グリコール酸が一番に測れる事は当然です,

抗体がよく出来るものは体内に無いか少量のものです cholic acid 類が一番多く作られますので
 抗体が出来ても 中和されて高い抗体が作りにくい。

血中には GCA やTCA のように結合物が多いので GCAの抗体で測るのが良いと思います,

なお ELISAによる GCA の測定には抗体とペルオキシダーゼ標識した抗原が必要でございますが
 当社で特別に受注生産を致しております。抗体と同額でお分けいたします。

又マイクロプレート (第二抗体固相化) もご相談に応じます。

帝京大学助教授
 神戸川 明

3.4.3 交差反応性

交差反応性を検討するために15種胆汁酸標準溶液 (0~60ng/assay) を100 μ lずつ加え、そこへ抗GCA抗血清No. 550、No. 551、No. 552を5000倍希釈液をそれぞれ50 μ l加え、酵素標識抗原1000倍希釈液を100 μ lずつ加えて検量線の50%阻止量で比較した。(Table. 2)

15種類の胆汁酸中で比較的交差反応性が高かったのは、GCDCa、Ca、CDCA、TCDCa、TCAであった。

これらのうちTCA、CaはGCAと同様に3, 7, 12位の炭素に α 水酸基を持ちグリシン結合部分がタウリンに変わったものや結合を受けていないものである。またGCDCaは、GCAの12 α 水酸基がないもので、その構造は15種胆汁酸中でもGCAによく似ているため比較的高い交差反応性を示すものと思われる。

TCDCa、CDCAは、GCAと構造の似ているCaやTCAの12 α 水酸基がないものでこれらも交差反応してくると思われた。

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

法によるグリココール酸 (GCA) の測定

○大熊 博、池田ひろみ、前田昌子、辻 孝夫、
神戸川 明*、松井 陽**

(昭和大・薬、帝京大・医*、自治医大・
小児科**)

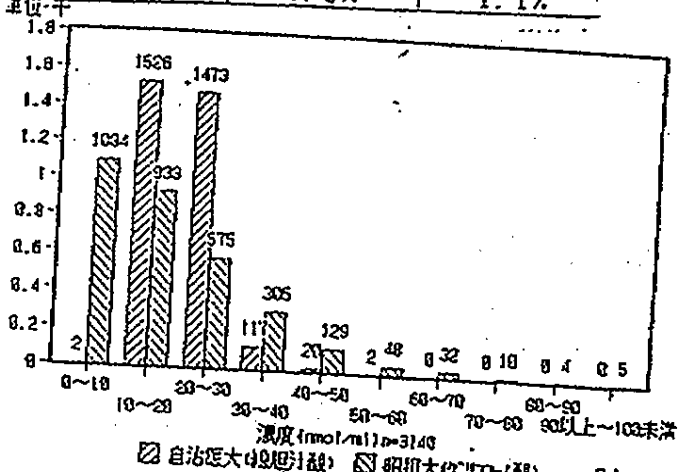
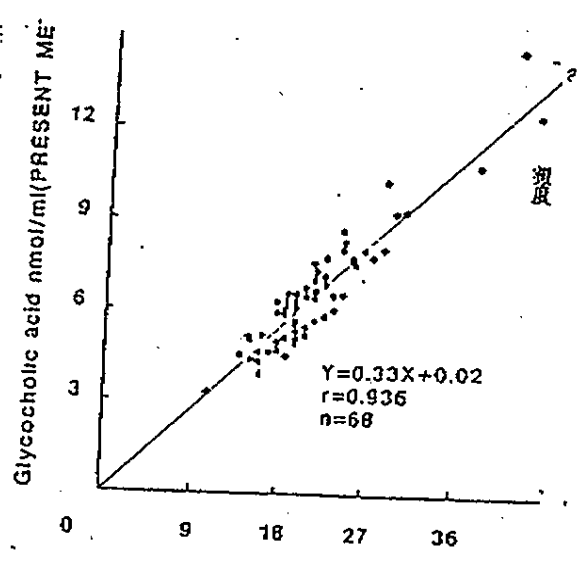
【目的】胆道閉鎖症は、何らかの原因によって肝外胆管が閉鎖、破壊及び欠如したために胆汁を腸管に全く分泌できない状態である。これらは、予後が不良のために小児肝疾患の中でも、最も重要な疾患の一つと言われている。そこで我々は、特定の設備や放射性廃棄物の処理を必要としない酵素を標識物質に用い、またマイクロタイタープレートを用いることで一度に多数検体の処理が可能なELISA法の開発を行った。

【方法】第二抗体固相化プレートに、抗GCA抗血清、ペルオキシダーゼ標識体、標準血液及び検体discを加え、室温で3時間反応する。次に、洗浄によりB/F分離し、ABTS/H₂O₂溶液を加え一定時間酵素反応後、反応を停止して吸光度を測定する。

【結果】乾燥血液disc1枚を用いてGCAの測定を行った。検量線の検量域は、2~32nmol/mlであった。精度は、日内で平均7.7% (n=5)、日間で6.9% (n=5)であった。また検体数3140での測定値の平均は、15.4nmol/mlであり、酵素法による総胆汁酸との相関は、相関係数r=0.936で有意な相関が得られた。

【考察】本法で用いた抗体は、若干の交差反応性はあるものの、GCAのスクリーニングに使用可能であった。比較的操作の簡単な本法を用いれば多数検体を一度に処理できることから、本法は胆道閉鎖症のスクリーニングに有用であると思われる。なお、現在は正常検体の測定ではあるが、今後、胆道閉鎖症の疑いのある検体の測定を行い、本法の有用性を確かめれば、スクリーニングの新たな項目として追加検討されるであろう。

各種胆汁酸	抗体 No. 550	抗体 No. 551	抗体 No. 552
Glycocholic acid	100.0%	100.0%	100.0%
Glycodeoxycholic acid	0.6%	0.4%	0.5%
Glycoursodeoxycholic acid	0.0%	0.0%	0.0%
Glycochenodeoxycholic acid	47.7%	43.8%	123.5%
Glycolithocholic acid	0.4%	0.1%	0.4%
Cholic acid	26.3%	11.7%	36.1%
Deoxycholic acid	0.2%	0.3%	0.5%
Ursodeoxycholic acid	0.0%	0.0%	0.0%
Lithocholic acid	0.2%	0.0%	0.2%
Chenodeoxycholic acid	17.5%	7.0%	25.3%
Taurolithocholic acid	3.5%	0.4%	1.1%
Taurochenodeoxycholic acid	30.4%	12.5%	21.3%
Taurocholic acid	50.0%	53.9%	20.0%
Taurodeoxycholic acid	4.4%	1.8%	1.9%
Tauroursodeoxycholic acid	0.6%	0.5%	1.1%



略尚、GCA-BSA 抗体は GCDCA、TCGCA、ホスロCDCA と Cross があるが尚 TCA のみとあり、GCA 中に GCDCA が含まれてい

3.4.4 応用

自治医科大学小児科松井らの測定した総胆汁酸値と本法によるGCAの測定値を比較するために、Fig. 35にヒストグラムを作成した。総胆汁酸及びGCAの正常平均値は33±15nmol/ml、12±7nmol/mlと言う報告がある¹⁹⁾。検体数n=3140でそれぞれの平均値は自治医科大学で20.34nmol/ml、本法で18.25nmol/mlであった。また、本法の検量域から若干外れていると思われるGCA40nmol/ml以上の値を除いた平均値は15.43nmol/mlであった。また、自治医科大学の測定値と本法によるGCAの測定値の相関をFig. 36に示した。結果、検体数n=68で $Y=0.33X+0.02$ 相関係数 $r=0.936$ と有意な相関が得られた。直線式のXの係数が0.33というのは生体内において、GCAは総胆汁酸のおよそ30~40%を占めると言われていることと一致した。尚、本研究は自治医科大学小児科の松井らとの共同研究であるので、更に本年度も新生児検体の測定を続行中である。

Fig. 35