Au 抗原感作血球調製における感作方法の比較検討

滝 本 義 一

(エーザイ株式会社研究所)

(受付: 昭和49年1月8日)

THE COMPARISON OF THE SENSITIZATION PROCEDURES FOR THE ATTACHMENT OF AU ANTIGEN TO ERYTHROCYTES

by

Giichi TAKIMOTO

(Research Laboratories, Eisai Co., Ltd.)

Eight modifications of hemagglutination technique were applied to the sensitization of sheep erythrocytes with Au antigen; these included tannic acid (TA)¹⁾, bis-diazotized benzidine (BDB)²⁾, tolylene - 2,4 - diisocyanate (TDIC)³⁾, difluorodinitrobenzene⁴⁾, tetraazotized O-dianisidine (TOD)⁵⁾, cyanulic chloride⁶⁾, glutaraldehyde⁶⁾ and chromic chloride (CrCl₃)⁷⁾ method.

The sensitized cells could be obtained only using TA, BDB, TDIC or TOD in the glutaraldehyde-treated cells and CrCl₃ in the native cells, if the concentration of Au antigen in the reaction solution was limited to about 25 γ/ml. Among these reagents the best result was obtained with BDB.

The coupling of Au antigen to erythrocytes with these reagents seems not significantly to

inactivate the antigenic groups of Au antigen.

The cells coated with the aid of BDB, TDIC or TA could be used again without any appreciable loss of hemagglutination titer for 4 months when preserved at 4°C.

References

- 1) Imai, M., et al.: *Igaku no Ayumi* **78**: 759-760, 1971.
- 2) Herbert, W.J.: *Handbook of Immunology* (Ed. by P.M. Weir), Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1967, P. 720-744.
- 3) Gyenes, L., et al.: *Immunochemistry*, **1**: 43-48, 1964.
- 4) Ling, N.R.: *Immunology*, **4**: 49-54, 1961.
- 5) Avrameas, S., et al.: *Immunochemistry*, **6**: 67-76, 1969.
- 6) Onkelinx, E., et al.: *Immunology*, **16**: 35-43, 1969.
- 7) Vyas, G.N., et al.: *Science*, **170**: 332-333, 1970.

はじめに

受身赤血球凝集反応法は、極めて感度よく抗体を検出する方法として知られているが、その抗体検出感度は感作血球の品質により大きく影響される。感作血球の調製法としては、一般にタンニン酸法 (TA法)¹⁾ および Bis-diazotized benzidine

法 (BDB法)²⁾ がよく用いられているが、その他に、Tolylene-2,4-diisocyanate 法 (TDIC法)³⁾, 1,3-difluoro-4,6-dinitrobenzene 法 (DFDNB法)⁴⁾, Glutaraldehyde 法 (GA法)⁵⁻⁷⁾, Cyanulic chloride 法 (CyCl法)⁷⁾, Tetraazotized O-dianisidine 法 (TOD法)⁷⁾, 1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-

propyl) carbodiimide 法 (E C D I 法)⁸⁾, Chromic chloride 法 (CrCl_3 法)⁹⁾, などが知られている。そして、各感作方法の感作成績は感作抗原の種類によって大きく変わることがあり、したがって、どの感作法が優れているかを一概に論ずることはできない。B 型肝炎との関連において大きな注目を浴びているオーストラリア抗原 (Au 抗原) については、グルタルアルデヒド固定ヒツジ赤血球に T A 法を応用した報告¹⁰⁾, およびヒト O 型生赤血球に CrCl_3 法を応用した報告¹¹⁾がある。この報告では、ヒツジ生血球および固定血球を用いて前記の各種感作法を応用し、その感作成績を比較した。

実験材料と方法

1) ヒツジ赤血球：前報¹²⁾によると、感作血球の品質は感作に使用する血球のロットによってかなりの差を生ずる。そのため感作法の比較実験では、使用血球の条件をなるべく同等にすることが必要である。今回の実験では、固定血球は、すべて同一ロットを使用し、生血球は同一ロットではないが採血 7 日目の血球を用いた。

2) 血球の固定法：今井らの報告¹⁰⁾に準拠した。すなわち、採血 7 日目のヒツジ赤血球を、生理食塩水で 3 回洗浄したのち、比色法¹³⁾により 5% 血球液を調製した。つぎに市販のグルタルアルデヒド液 (24~26%) を 10 倍希釈 (希釈液は、0.15M リン酸緩衝液 (pH 7.2) と生理食塩水の等容混合液：P B S と略) したのち、血球液の 1/5 相当量を添加して、室温、60 分間搅拌した。つぎに、生理食塩水で 4 回洗浄したのち、前記 P B S に懸濁して 5% 血球液として保存した。

3) 感作用 Au 抗原：Gerin らの報告¹⁴⁾に準拠して、高度精製したものをを用いた。この精製 Au 抗原液は原液の $\text{OD}_{280} = 3.0$ (約 1 mg/ml) において一元免疫拡散法でヒト血清成分を検出できなかった。なお、感作時には、原液の 20 倍希釈液 (約 50 γ /ml) をを用いた。

4) T A 法：今井らの報告¹⁰⁾に準拠して以下のように実施した。5% 血球液 1.5 ml (P B S) とタンニン酸液 (2.5~20 mg/100 ml, P B S) 1.5 ml を混合し、37°C, 15 分間搅拌したのち、生理食塩水で 1 回洗浄した。つぎに、2.5% タンニン酸処理血球液 3.0 ml と Au 抗原液 3.0 ml を混合し、室温、30 分間搅拌したのち、P B S で 3 回洗浄し、最後に、2% 正常ウサギ血清含有 P B S に懸濁し 1% 血球濃度として使用した。なお正常ウサギ

血清は、あらかじめ固定ヒツジ血球で吸収処理したもの (N R S と略) をを用いた。

5) B D B 法：Herbert の報告¹⁵⁾に準拠して以下のように実施した。2.5% 血球液 1.5 ml (P B S) と Au 抗原液 1.5 ml の混合液にあらかじめ調製しておいた B D B 液 (原液の 3.5~10 倍希釈液, P B S) 0.5 ml を加えて、37°C, 15 分間搅拌した。感作後、0.5% N R S 含有 P B S で 3 回洗浄し、最後に、2% N R S 含有 P B S に懸濁して 1% 血球濃度として使用した。

6) T D I C 法：Gyenes らの報告³⁾に準拠し以下のように実施した。2.5% 血球液 1.5 ml (生理食塩水) と Au 抗原液 (生理食塩水) 1.5 ml の混合液に、各種濃度の T D I C 液 (0.02~0.10 g/10 ml, dioxane) 0.2 ml をくわえて、室温、30 分間搅拌する。0.5% N R S 含有 P B S で 3 回洗浄したのち、2% N R S 含有 P B S に懸濁して 1% 血球濃度として使用した。

7) D F D N B 法：Ling の報告⁴⁾に準拠して以下のように実施した。10% 濃度血球液 0.5 ml (EDTA 緩衝液, pH 8.4), 各種濃度の D F D N B 液 (0.01~0.08 g/ml, EDTA 緩衝液 pH 8.4) 0.015 ml, および E D T A 緩衝液 (pH 8.4) 1.0 ml とを混合し、37°C, 30 分間搅拌した。同緩衝液で 1 回洗浄後、同液にて 2.5% 血球液とした。処理血球液 1.5 ml と Au 抗原液 1.5 ml とを混合し、37°C, 60 分間搅拌した。E D T A 緩衝液 (pH 7.5) で 3 回洗浄したのち、2% N R S 含有 P B S で 1% 血球濃度として使用した。

8) G A 法：Onkelinx らの報告⁵⁾に準拠して以下のように実施した。2.5% 血球液 1.5 ml (P B S) と、Au 抗原液 1.5 ml (P B S) の混合液に、各種濃度の G A 液 (0.25~10%, P B S) を加えて、室温、60 分間搅拌をおこない、生理食塩水で 4 回洗浄後、2% N R S 含有 P B S にて 1% 血球濃度として使用した。

9) T O D 法：Avrameas らの報告⁷⁾に準拠して以下のように実施した。5% 血球液 0.75 ml (P B S) と、Au 抗原液 1.5 ml (P B S) の混合液に各種濃度の T O D 液 (0.03~1 mg/ml, 0.15 M KCl 液) 0.3 ml を加え、室温、40 分間搅拌した。P B S で 3 回洗浄後、2% N R S 含有 P B S にて 1% 血球濃度として使用した。

10) C y C l 法：Avrameas らの報告⁷⁾に準拠して以下のように実施した。5% 血球液 0.75 ml (P B S) と、Au 抗原液 1.5 ml (P B S) の混合液に各種濃度の C y C l 液 (0.031~1 mg/ml, acetone) 0.5 ml を加え、室温、30 分間搅拌した。P B S で 3 回洗浄後、2% N R S 含有

PBSにて1%血球濃度とし使用した。

11) CrCl₃ 法：Vyas らの報告¹¹⁾に準拠して以下のよう
に実施した。2.5%血球液 1.5ml (生理食塩水) と
Au 抗原液 1.5ml (生理食塩水) の混合液に、各種濃度
のCrCl₃ 液 (1.0~10.0mM, 生理食塩水) 0.5ml を加
え、室温、30分間撹拌した。生理食塩水で4回洗浄した
のち、2%NRS含有PBSにて1%血球濃度とし使用
した。

12) 感作血球の検定：Microtitration 法¹⁶⁾によった。
実施詳細は前報¹²⁾に記載した。

Au 抗原の抗原決定基に対する特異抗体は、自治医大
Au 抗原グループより分与を受けた。

実験結果

感作血球の血球凝集価や凝集像は、感作処理を
おこなうときの感作抗原の質や濃度、および結合
剤の濃度に大いに影響される。そのため、感作法

表1 T A法による感作成績

T A 濃度	血球凝集価		陰性像*	備考
	F	N-357		
20mg/100ml	200	0	A	陽性像弱い "
10	200	0	A	
5	200	0	A	
2.5	200	0	A	

* 陰性像は、鮮明さにもとづきA, B, C, Dの
4段階に分けた。Aが最も鮮明とし、Dが最も
不鮮明として、その中間像をB, Cとした。

の比較は、同一ロットの精製 Au 抗原のはほぼ同一
濃度 (最終濃度約25γ/ml) を感作抗原とし、結合
剤の濃度を種々に変えておこなった、感作成績の
結果についておこなった。感作成績は、おもに、
ヒト由来の抗 Au 陽性血清 “F” の示す血球凝集
価、ヒト由来の抗 Au 陰性血清 “N-357” の示す
抗 Au によらない血球凝集価、ならびに凝集陰性
像の鮮明さなどについて評価した。

1) 固定血球を用いた場合の感作方法の比較

実施した8種類の感作法のうち被検条件におい
て感作できたのは、T A法、B D B法、T D I C
法T O D法の4種であった。それらの感作成績を
(表1) ~ (表4) にてしめす。これらのうち、最
も感作成績の優れていたのはB D B法であった。

表2 B D B法による感作成績

B D B 濃度 (原液の 希釈倍数)	血球凝集価		陰性像
	F	N-357	
3.5×	N.S.A*	N.S.A	D
5	1600	2	A
7.5	800	2	A
10	800	0	A

* 抗 Au 抗体によらない非特異的凝集

表3 T D I C法による感作成績

T D I C 濃度	血球凝集価		陰性像
	F	N-357	
0.10 g/10ml	400	8	C
0.08	800	8	C
0.06	800	8	B
0.04	0	4	B
0.02	0	4	A

表4 T O D法による感作成績

T O D 濃度	血球凝集価		陰性像
	F	N-357	
1 mg/ml	50	2	B
0.5	0	2	A
0.25	0	2	A
0.125	0	2	A
0.6	0	2	A
0.3	0	2	A

表5 CrCl₃ 法による感作成績

CrCl ₃ 濃度	血球凝集価		陰性像
	F	N-357	
10 mM	0	2	A
7.5	0	2	A
5.0	0	2	A
2.5	1600	8	C
1.0	1600	4	B
0.5	800	2	A

すなわちB D B濃度3.5×(原液より希釈倍数)
では非特異凝集のため凝集の判定が不可能であっ
たが、5×では “F” に対する血球凝集価が被検

条件中で最も高く、一方、N-357 の示す非特異的凝集性は低く、陰性像も鮮明であった。T D I C 法は、T D I C 濃度 0.06~0.10g/10ml において F に対する見かけ上の血球凝集価が高かったが、しかし、N-357 に対する非特異的凝集性や陰性像の鮮明さにおいて著るしく劣っていた。T A 法は、被検 T A 濃度の範囲において F の血球凝集価に差がみられず、そしていずれの条件にても血球凝集価は比較的低かった。しかし、N-357 に対する非特異凝集性が全くなく、陰性像も鮮明であった。T O D 法は、前述の 3 つの方法にくらべて、感作成績は著しく悪かった。その他の 4 方法は、抗 Au 抗血清に対して特異的凝集性を示さなかった。

2) 生血球を用いた場合の感作成績の比較

8 種類の感作法のうち被検条件において感作が成功したのは CrCl₃ 法のみであった。その成績を表 5 に示す結果より、CrCl₃ 濃度 1.0~2.5mM で感作した血球は血球凝集価が高く、固定血球の場合の B D B 法に匹敵した。しかし、N-357 の非特異凝集性や陰性像の鮮明さにおいて、やや悪かった。その他の方法では、条件によって F に対し 2~16× の血球凝集価を示す場合があったが、これらの凝集は精製 Au 抗原(約 10γ/ml 濃度) による凝集阻止を全く受けなかった。また、生血球では、感作処理中に溶血がおこる場合が多く、B D B 法、D F D N B 法、C y C l 法にその傾向が著しかった。

3) Au 抗原の抗原決定基への影響

Au 抗原には、いくつかの抗原決定基が知られているが^{17,18)}、感作方法によってはこれらの抗原決定基が失活される可能性がある。この点を確認する為、T A 法、B D B 法、CrCl₃ 法、T D I C 法によって調製した感作血球について、各抗原決定基の特異抗体にたいする血球凝集価を比較した。表 6 の結果より、いずれの感作血球においても、ある特異抗体の血球凝集価が著しく低下することは認められなかった。しかし、抗 Au 抗血清 F および S に対し高い血球凝集性を示す T D I C 感作血球は、他の方法にくらべて、Anti-R、

Anti-S₂、Anti-Os に対する血球凝集価が低い傾向があり、特に Anti-Os に著しかった。また、B D B 感作血球の F および S に対する血球凝集価は、他の場合と傾向が異なり、F の方が S よりも、高い凝集価を与えた。

4) 感作血球の保存性

各感作法によって調製した感作血球を 4℃ 冷蔵庫に 4 カ月保存したのちの血球凝集価を調べた。表 7 の結果より、B D B 法、および T D I C 法の

表 6 Au 抗原の抗原決定基への影響

被検抗体	感作方法			
	T A 法	B D B 法	T D I C 法	CrCl ₃ 法
F	7/4	8/3	8/2	6/2
S	8/4	7/3	9/2	7/3
Anti-R	5/1	5/0	4/0	4/0
Anti-S ₁	7/3	6/2	6/2	5/2
Anti-S ₂	6/2	5/0	4/0	3/0
Anti-S ₃	7/3	6/1	7/1	5/2
Anti-Os	7/3	6/1	4/2	6/2

表中の数値は被検抗体の 2 倍希釈系列において凝集を認めた最終希釈管数を示し、そして、凝集阻止用 Au 抗原 (精製 Au 約 10γ/ml) を加えない場合と加えた場合の結果が対になっている。

表 7 感作血球の保存性

感作方法	F に対する血球凝集価	
	調製直後	4 カ月後
T A 法	200	200
B D B 法	1600	1600
T D I C 法	1600	1600
CrCl ₃ 法	1600	800

感作血球は、全く血球凝集価の低下がみられなかった。T A 感作血球は使用直前 1 回洗浄操作をおこなうと、調製直後と全く変らない血球凝集価が得られた。CrCl₃ 感作血球は、保存中に相当な溶血があったが、やはり使用直前に 1 回洗浄したのち、1% 血球濃度に再調製使用すると、わずかに 1 管の力価低下を認めたにすぎなかった。

考案

タンパク質を感作抗原とする感作血球調製法

は、血球と抗原との結合機作に基づき2つに大別される。1つは単なる吸着による場合で、T A法およびCrCl₃法がこれに属する。他は血球の表面物質と抗原とが、化学的共有結合で結ばれる場合で、B D B法、T D I C法、G A法、DFDNB法、CyCl法、T O D法、などがこれに属すると考えられる。これらの感作法による感作成績は、感作抗原の種類や感作時の抗原濃度などに大きく左右されることがわかっており、どの感作法が優れているかを一概に論ずることはできない。この報告では、過去の文献に記載のあった感作法のうち、8種類の方法について、文献記載の至適条件付近の条件を用いてAu感作血球の調製を試みた。ただし、抗原濃度は、反応液中の最終濃度として約25γ/mlを用い、それ以上の濃度条件ではおこなわなかった。これは、おもに、高度精製したAu抗原を大量に得る事が困難であることによる。結果は前項に詳述したが、G A法、DFDNB法、CyCl法の3方法は、生血球および固定血球のいずれを用いても感作が成功しなかった。その原因は、おそらく感作抗原の濃度によると考えられる。すなわち、これら感作法の文献記載上における至適感作抗原濃度は、反応液中の最終濃度として、G A法では、B S A 3~4 mg/ml (このとき血球濃度 1.5%)、DFDNB法ではHuman γ-globulin 28mg/ml (血球濃度 10%)、CyCl法では、1 mg/ml (血球濃度 2.5%)である。固定血球と生血球では、ほぼ同一条件で感作をおこなっても、感作成績は大きく異っていた。すなわちT A法やT D I C法では、固定血球では高い血球凝集価を示す感作血球を得るが、生血球では感作が成功しなかった。B D B法では、固定血球では被検方法のうち最も良い感作成績を得るのに、生血球では感作処理中の溶血がひどく感作血球の調製ができなかった。CrCl₃法では、逆に、生血球では感作が効果的におこなわれたのに、固定血球では感作不可能だった。このように生血球と固定血球の感作成績が異なるのは、おもに固定処理により、血球表面の荷電状態や血球表面の物質構造が変化^{19,20)}するためであろう。なお、Polysaccharidesや

Lipopolysaccharidesなどを抗原とする場合、結合剤なしに感作血球を得られることが知られているが、約20%のLipidを含む²¹⁾とされるAu抗原では、このような直接感作法は成功しなかった。

とくに化学的共有結合を感作機作とするいくつかの感作方法を用いて感作血球を調製し、同一の抗血清に対する血球凝集価を比較すると、ある種の抗原に対する抗血清では同等であるのに、他の抗原に対する抗血清では大きな差を示す場合が知られており、その原因として結合試薬により抗原決定基が破壊される可能性が推論⁸⁾されている。Au抗原にはいくつかの抗原決定基が知られているが、感作方法によってはある抗原決定基が失活する可能性が考えられる。この点を確認するために各抗原決定基の特異抗体に対して、感作方法を異にする感作血球を用いて血球凝集価を調べたが、T A法、CrCl₃法、B D B法およびT D I C法のいずれも、ある抗原決定基の特異抗体に対する血球凝集価が完全になくなることはなかった。しかし、T D I C法では、抗Au抗血清FおよびSに対する血球凝集価が相当高いのに、他の感作法にくらべてAnti-R、Anti-S₂、Anti-Osに対する血球凝集価が比較的低かったことから、これらの抗原決定基が部分的に失活された可能性がある。芳香族isocyanateは、おもにタンパクのfree-NH₂基と反応するとされる²²⁾が、AuR、S₂、Osなどの抗原決定基の抗原活性にはfree-NH₂基が関与していることが考えられる。一方、B D B法は、T D I C法と同様に共有結合を感作機作とするが、特異抗体に対する血球凝集価の傾向は、ほぼT A法やCrCl₃法と同じであった。Diazonium化合物は、おもにタンパクのHistidine残基やTyrosine残基と反応するとされる²²⁾が、これら残基の化学変化は、Au抗原の抗原性にあまり影響しないのかも知れない。これらの知見から、抗原に化学変化をもたらす感作法はnativeな抗原活性を失活させたり、modifyする可能性が考えられるため、今後さらに発見されるかも知れないAu抗原決定基の検索には、T A法やCrCl₃法などの感作血球を用いる方が望ましいと考えられる。

感作血球の保存性に関しては、共有結合を機作とする B D B 法および T D I C 法の感作血球は 40°C 4 カ月保存で、全く力価低下を認めなかった。一方、吸着を感作機作とする T A 法および CrCl₃ 法においても、使用直前に血球を 1 回洗浄処理することにより、少なくとも、4 カ月間は調製直後の力価を保っていた。

むすび

Au 抗原の感作血球調製のために 8 種類の感作法を試みた。すなわち、タンニン酸法 (TA), bis-diazotized denzidine 法 (B D B), tolylene-2,4-diisocyanate 法 (T D I C), difluorodinitrobenzene 法, tetraazotized O-dianisidine 法 (TOD), cyanulic chloride, glutaraldehyde, および塩化クロム法 (CrCl₃ 法) である。感作液中の Au 抗原濃度を、約 2.5γ/ml として感作すると、グルタルアルデヒド処理血球では T A, B D B, T D I C, TOD, の各法により感作血球を得ることが可能であり、生血球では CrCl₃ 法によってのみ感作が可能であった。これらの感作法のうち最も感作成績が優れていたのは B D B 法であった。これらの感作法は、Au 抗原の抗原決定基を著しく不活化することはなかった。B D B, T D I C, T A の各方法で調製した感作血球は、4°C に保存して 4 カ月間は血球凝集価の低下を認めなかった。

本研究にあたり貴重なご助言をいただいた自治医大免疫教室の真弓助教授、ご鞭撻いただいた内藤専務取締役はじめ関係者各位に厚く感謝する。

文献

- 1) Boyden, S.V.: The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J. Exp. Med.* **93**: 107-120, 1951.
- 2) Stavitsky, A.B. & Arquilla, E.R.: Micro-methods for the study of proteins and antibodies III. Procedure and applications of hemagglutination and hemagglutination inhibition reactions with bis-diazotized benzidine and protein-conjugated red blood cells. *J. Immunol.* **74**: 306-312, 1955.
- 3) Gyenes, L. & Sehon, A.H.: The use of tolylene-2,4-diisocyanate as a coupling reagent in the passive hemagglutination reaction. *Im-*

munochemistry **1**: 43-48, 1964.

- 4) Ling, N.R.: The coupling of protein antigens to erythrocytes with difluorodinitrobenzene. *Immunology* **4**: 49-54, 1961.
- 5) Onkelinx, E., Meuldermans, W., Joniau, M. & Lontie, R.: Glutaraldehyde as a coupling reagent in passive hemagglutination. *Immunology* **16**: 35-43, 1969.
- 6) Tokuda, G. & Warrington, R.E.: Detection of Foot-and-mouth disease virus antibodies. *Applied Microbiol.* **20**: 35-39, 1970.
- 7) Avrameas, S., Taudou, B. & Chuilon, S.: Glutaraldehyde, cyanuric chloride and tetraazotized O-dianisidine as coupling reagents in the passive hemagglutination test. *Immunochemistry* **6**: 67-76, 1969.
- 8) Johnson, H.M., Brenner, K. & Hall, H.E.: The use of a water-soluble carbodiimide as a coupling reagent in the passive hemagglutination test. *J. Immunol.* **97**: 791-796, 1966.
- 9) Gold, E.R. & Fudenberg, H.H.: Chromic Chloride: A coupling reagent for passive hemagglutination reactions. *J. Immunol.* **99**: 859-866, 1967.
- 10) 今井光信, 高橋 隆, 真弓 忠, 大河内一雄: 受身赤血球凝集反応による Au 抗体の検出. 医学のあゆみ, **78**: 759-760, 昭46.
- 11) Vyas, G.N. & Shulman, N.R.: Hemagglutination assay for antigen and antibody associated with viral hepatitis. *Science* **170**: 332-333, 1970.
- 12) 滝本義一: 固定ヒト O 型赤血球を用いた Au 抗原感作血球の作製とそれによる抗 Au 抗体の検出測定. 本誌, **19**(4・5・6): 135-141, 1973.
- 13) 西岡久寿弥, 岡田英親: 免疫の生化学, 共立出版, 東京, 昭44. 102-107頁.
- 14) Gerin, J.L., Holland, P.V. & Purcell, R.H.: Australia antigen: Large-scale purification from human serum and biochemical studies of its proteins. *J. Virol.* **7**: 569-576, 1971.
- 15) Herbert, W.J.: Passive hemagglutination. *Handbook of Immunology* (Ed. by P.M. Weir), Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1967. P. 720-744.
- 16) 木村義民: Microtitration と Hemagglutination. 免疫実験操作法 (免疫学会編), 67-70頁.
- 17) 今井光信, 猪股みな子, 山下寛ほか. オーストラリア抗原の抗原性, 臨床科学, **9**: 347-352, 1973.
- 18) 津田文男, 今井光信: 供血者におけるオーストラリア抗原の Subgroup について. 第21回日本輸血学会総会 (札幌), 昭48.
- 19) Weiss, L., Zeigel, R., Jung, O.S. & Bross,

- I.D.J.: Binding of positively charged particles to glutaraldehyde-fixed human erythrocytes. *Exp. Cell Res.* **70**: 57-64, 1970.
- 20) Ling, N.R.: The attachment of proteins to aldehyde-tanned cells. *Brit. J. Haemat.* **7**: 299-302, 1961.
- 21) 高橋 隆, 橋本 喬: オーストラリア抗原の脂質組成. *Proc. Jap. Conf. Biochem. Lipids* **14**: 169-172, 1972.
- 22) 赤堀四郎: 蛋白質化学, II. 共立出版, 東京, 1954, 25-47頁.

L 型必須アミノ酸製剤

ハイ・プレアミン

注射液

合理的な配合比ノ必須アミノ酸8種を国連FAO基準にもとづいて配合し、更に Vuj-N処方に準拠してアルギニン、ヒスチジン、グリシンを附加した合理的の配合比です。

適応症…蛋白減少に起因する疾患、蛋白消耗を伴う疾患即ち栄養失調症、外科手術前後、ネフローゼ、初期肝硬変症、貧血症、消耗性疾患、消化性潰瘍

△全品種確保採用▽

	アミノ酸	ソルビット	包	装
ハイ・プレアミン注	12%		20ml 10A 50A	100ml 2A 10A 30A
ハイ・プレアミン注 *10%	10%		20ml 10A50A	100ml 2A10A 30A 200ml 2V
ハイ・プレアミンS注	10%	5%	20ml 10A50A	100ml 2A10A 30A 200ml 2V
等張ハイ・プレアミン注	3%			100ml 2A 30A 500ml 1V
ハイ・プレアミンST注	3%	5%		500ml 1V

大阪 扶桑薬品工業株式会社 道修町