

簡介

RADIOIMMUNOASSAY

王 明 仁

Radioimmunoassay 簡單的說即是將放射性同位素和免疫化學測定法的二種新技術結合以測定微量蛋白性賀爾蒙的新方法。自一九五六年即有人對 ACTH 及 Insulin 做實驗，到了一九六五年 Wilde 開始對 Gonadotropin 應用，以後陸續有 Bagshaw, Midgley Odell, 谷澤 修等人對於胎兒血清中 LH, HCG 很成功的研究出定量測定法。由於方法不斷的改良今後臨床應用可能性極大，簡單將此方法和原理介紹。

I 利用放射性碘標識賀爾蒙 (Hormone)

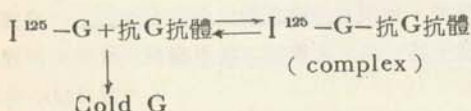
自 1923 年 Hevesy, 首次利用放射對同位素做生化實驗以來，放射性同位素很廣泛的被用在各種生化學的實驗。在 Radioimmunoassay 中是利用同位素碘使蛋白質 iodination, 然後用 Scintillation counter 測定法追蹤同位素所放的 γ 線。

Iodination 的方法是將 5 μ g 微量精製 Hormone 和 I^{131} 混合加上 Chloramine T 使 $Na I^{131}$ 氧化後與 Hormone 作用。另外再加 Na_2SO_3 還原劑使作用停止。把這種混合劑經過 Sephadex G-50 過濾，除去沒有和 Hormone 結合的碘。最近已經利用半衰期比較長的 I^{125} (60日) 取代半衰期只有八天的 I^{131} 使實驗更方便。

II 利用放射性同位素的抗原抗體反應

要將蛋白質 Iodination 時假如限制一分子蛋白質加上 I^{131} 一分子的話已知對於抗原或是抗體免疫化學的性質沒有什麼影響。

本法的原理是將 I^{125} 標識過的 Gonadotropin (以下簡稱 G) 和稀釋到一定量抗 G 抗體作用則生成抗原抗體結合物 (Complex), 假如在這個反應體系內加入沒有被標識的 Gonadotropin (我們叫做 Cold G) 則 I^{125} -G 與 Cold-G 今依兩者的濃度的比例與抗 G 抗體結合。Cold-G 增加則 Complex 中的 I^{125} -G 會減少。化成公式則如下列方程式：



根據此原理用已知濃度的標準 Gonadotropin 做標準曲線，然後測定被驗血清中的結合減少率與標準曲線比較即可算出被驗血清中的濃度。

在這種測定中抗原抗體非常的稀釋，Complex 不能沉澱須要利用二重抗體法分離 Free 的 I^{125} -G 和 complex 中的 I^{125} -G。所謂二重抗體法是利用做成抗 G 抗體的 r-globulin 在別的動物體中做成 anti-r-globulin 利用這個抗體使 Complex 沉澱。

III Radioimmunoassay 的特色及將來性

本方法雖然可以測量微量但不是極敏感。在測定 HCG 方面與過去的方法比較則進步的多。Friedmann 反應只可以測到 50 Rabbit Unit (約 250 - 500 iu/l), 血球凝集反應約可以測量到 1000 iu/l, 但本方法可測定到 1.0 - 0.1 iu/l, 所以將來也許可用本方法測定現今還沒有辦法測量的有關 Gonadotropin 的下垂體機能。在絨毛性腫瘤患者管理方面本測定法也可以大大的利用。例如葡萄胎娩出後尿中的 HCG 利用老方法測定則 2 - 3 週間就會陰性化，在這個時期應用 Radioimmunoassay 來追蹤則病人仍然排泄大量的 HCG 的病例。所以假如能利用本測定法則可使病人的追蹤趨於完善。

自 1960 年發展的 Radioisotope 加入 Immunoassay 中技術至今已幾乎完全完成。當然 FSH, HCG, LH 精製或是抗原的精製還是一個大問題。將來或許能够利用 C^{14} 或是 H^3 標識過的 Aminoacid 來合成 Gonadotropin。

筆者自日本國立大阪大學婦產科研究室學了 Radioimmunoassay 返台後一直因為材料未能齊全無法展開工作，其中尤其是放射性同位素幾乎不能入手。日本的放射性同位素也是自美國採購。在美國本身對於放射性同位素管理非常嚴格，他們比喻放射同位素為傳染病的細菌一不小心散開即可影響公眾的健康。雖然在台灣還沒有辦法實驗，但翻查文獻我們可知 Radioimmunoassay 是六十年代的新法寶。許多生命的秘密必定會被此法寶解開。寄望有志於研究的青年朋友們不妨對這方面多加探討和研究。