

最近の病気の診断は、患者の血液や尿を検査室で化学分析してから病名を診断する。いわゆるLaboratory diagnosis が主となっている。正確、迅速な病気の診断には採血することは必要であるが、病気で苦しんでいる患者、特に小児や老人からは大量の採血は避けるべきであろう。一滴の血液からできるかぎり多量の情報を得るためには、より高感度の分析法の開発が求められる。最近、高感度な分析法として化学発光や生物発光に基づく分析法が注目され、臨床化学分析の領域での応用が開発されている。臨床化学分析でよく測定される $\text{NAD}^+$ 、 $\text{NADH}$ 、 $\text{ATP}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 及びこれらを生成する系または生成に関与する酵素系との組み合わせにより多数の生体成分が、化学・生物発光分析法によりピコモル ( $10^{-12}$  mol) からフェムトモル ( $10^{-15}$  mol) のレベルで測定できるようになった。

ルミノールは、古くから知られている化学発光物質で、アルカリ性で適当な酸化剤と触媒の共存で強く発光する。Fig.1 に示すように種々の $\text{H}_2\text{O}_2$ 生成酵素系と組み合わせることにより多数の生体成分の化学発光分析が可能である。京大・医学部の村地教授らは、固定化酵素リアクターを用い、フローシステムによる自動測定装置の開発に成功した。我々の研究室では、酵素免疫測定法 (EIA) を高感度化する目的で化学発光法を用いる方法の開発を行ってきた。化学発光法は高感度であるが、発光反応は迅速で、発光寿命が極めて短いので再現性のあるデータを得るためには発光試薬の混合や発光強度の測定を迅速、精密に行わねばならない。したがって、FIA 法が化学発光分析法には最も適した測定システムであろう。

化学発光 EIAを FIAに適した方法とするため標識酵素にグルコースオキシダーゼ (GOD) を選び、グルコースを基質とし、生成する $\text{H}_2\text{O}_2$ をルミノールを用いるFIA により化学発光検出するシステムを開発した。<sup>1)</sup> システムの概要をFig. 2に示す。インスリン、 $\alpha$ -フェトプロテイン、 $17\alpha$ -ヒドロキシprogesteronなど、それぞれRIA より高感度の測定法を開発できた。今後、全システムのフローシステム化を検討する。

ルシゲニンもアルカリ性で触媒の存在下 $\text{H}_2\text{O}_2$ により強く発光し、種々の重金属イオンが分析されている。また、ルシゲニンは $\text{O}_2$ 存在 (溶媒中の溶存分子状 $\text{O}_2$ ) でグルコース、ア

スクロビン酸など還元性物質により、発光する。我々の研究室でこの反応を詳細に検討した。<sup>2)</sup>(1) 還元性の強いホルムアルデヒドでは発光しない。(2) ジヒドロキシアセトングリセルアルデヒド、フェナシルアルコールなどにより強く発光する。(3) グルコースは発光するが2-デオキシグルコースは発光せず、中性で $\text{NaIO}_4$  酸化すると強く発光する。これらのことからFig.3 に示すようにこれらに共通した $\alpha$ -ヒドロキシカルボニル構造がアルカリ性でのルシゲニンの発光に關与しているものと推定している。現在この発光反応に基づく種々の生体成分の化学発光FIA 法の開発を行っている。

一方、ルシゲニンは第4アミンであり、酸性基とイオン対を形成し、有機溶媒に抽出される。そこで、ステロイドや胆汁酸の代謝物である硫酸抱合体についてルシゲニンをを用いるイオン対抽出化学発光分析法を検討し、膜を用いるフェーズセパレーターを用いるFIA のシステムを確立した。<sup>3)</sup>抽出効率は劣っていたが、グルクロン酸抱合体もルシゲニンとイオン対を形成し、抽出された。したがって本法は種々の薬物の代謝物の硫酸又はグルクロン酸抱合体の分析に有効な方法として利用することができると思われる。

Assay based on Chemiluminescence of Luminol

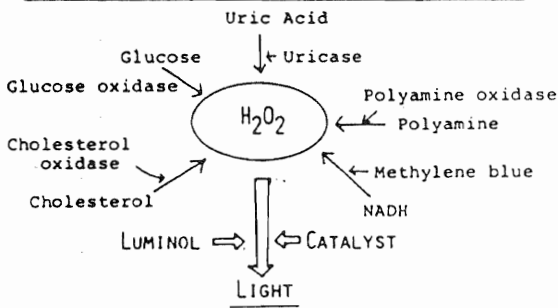


Fig. 1

Assay based on Chemiluminescence of Lucigenin

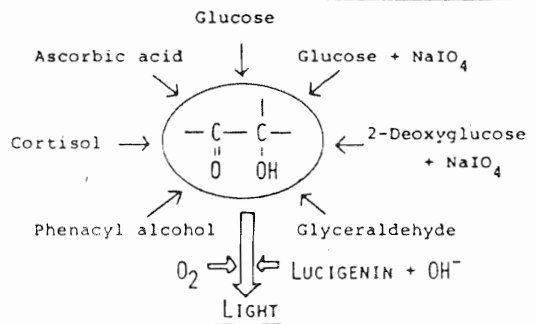
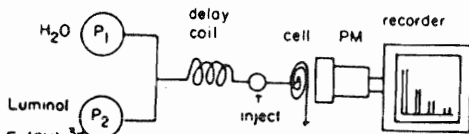


Fig. 3



Manifold for chemiluminescence f.i.a.

Fig. 2

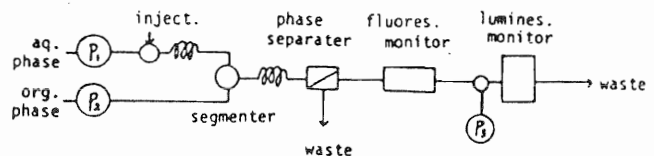


Fig. 4

1. M. Maeda and A. Tsuji, *Anal. Chim. Acta*, **167**, 241 (1985).
2. M. Maeda and A. Tsuji, *J. Pharm. Dyn.*, **7**, s-8 (1984).
3. M. Maeda and A. Tsuji, *Analyst* (in press).