HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	馬鈴薯ウイルス病の免疫学的研究 （第８報）：血清蛋白質に関する研究
Author(s)	村山, 大記; 伊藤, 時哉; 犬養, 勝一
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 3(2), 128-135
Issue Date	1959-06-15
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11681
Type	bulletin (article)
File Information	3(2)_p128-135.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

馬鈴薯ウイルス病の免疫学的研究（第 8 報）

血清蛋白質に関する研究

村山大記*
伊藤時哉**
犬養勝一**

Immunological studies on the potato virus diseases

VIII. Studies on the serum protein

By

Daiki MURAYAMA, Tokiya ITO and Katsuichi INUKAI

I. 緒　言

馬鈴薯Xウイルス汁液を家兎に反覆注射することによつてその血清中にXウイルスに対する抗体の産生することが知られている（Gratia and Manil, 1934; Bawden, 1935; Chester, 1935, a, b, c, 1937; Spooner and Bawden, 1935; Bawden and Pirie, 1936, 38; Bawden, Pirie and Spooner, 1936; 村山・山田・松宮, 1949, 50, 51; その他)。かかる抗血清において抗体が蛋白成分中どの部分に含まれているかについて Tiselius 電気泳動装置により電気泳動的に研究すると共に Biuret 法（亜硫酸ソーダ塩析法）を用いて研究を行つた。次にかかる抗血清より抗体を純粋に取出す為に特異的方法として Chester (1936) による酸処理加温の方法並びに非特異的方法として Cohn 等 (1940) による方法を用いて研究を行つた。

本文を草するに当り御教示を頂いた北大低温研究所林喬義助教授及び種々御援助を頂いた北大獣医学部助手太田義夫氏並に農林省胆振馬鈴薯原々種農場谷津繁氏に対し厚く謝意を表する次第である。

II. 実験材料並に実験方法

抗血清

Xウイルス汁液は Bawden and Pirie (1938) の方法により精製し，抗Xウイルス血清は精製ウイルスを毎回 2 cc 宛家兎（3～4 kg）の耳静脈に 4 日間隔にて注射し約 1 ケ月乃至 1 ケ月半後 1 部採血し力価の充分高まつたのを確めた後，最後の注射から 10 日目に全採血を行つた。血清は 0～3°C にて保存した。

沈降反応

前報告（村山・山田・松宮, 1949, 50, 51）と同様である。

吸収血清

抗血清に精製濃縮したXウイルス汁液を階段的に増量したものを夫々加え，よくまぜて 37°C に 2 時間加温後 1 夜冷蔵庫中に放置し，後取出して遠心分離を行つた。かかる上清について，沈降反応を行い完全吸収に要するウイルス汁液の適量を求めた。かくして吸収を行つた血清を用いた。

II. 抗Xウイルス血清における各蛋白の動き

同一家兎の正常血清，抗Xウイルス血清並にXウイルス汁液を以て吸収した血清における各蛋白の動きを電気泳動的方法並に亜硫酸ソーダによる Biuret 法によつて研究を行つた。

A. 電気泳動的研究

同一家兎よりの正常血清，抗血清並に吸収血清を用い，Tiselius 電気泳動製置（micro-cell）により 10°C にて燐酸緩衝液（pH 7.8, μ=0.144）を以て泳動時間 50 分にて測定し得た泳動図について比較研究を行

* 北海道大学農学部植物学教室
** 北海道大学獣医学部生化学教室

第1表　血清蛋白分屑の電気泳動的分布（%）

家兎番号	血清	albumin	globulin			A/G
			α	β	γ	
A−1	正常血清	66.57	6.10	10.12	17.20	1.99
	抗血清	55.94	8.68	11.19	24.20	1.27
	吸収血清	62.88	8.07	8.14	20.91	1.69
A−2	正常血清	64.86	6.66	10.22	18.27	1.85
	抗血清	38.03	7.20	10.64	44.13	0.61
	吸収血清	61.84	10.20	7.86	20.10	1.62
A−3	正常血清	60.88	7.20	8.95	23.16	1.56
	抗血清	45.83	6.03	8.47	39.66	0.85
	吸収血清	55.57	8.67	10.80	24.96	1.25
S−1	正常血清	61.07	7.38	9.43	22.12	1.57
	抗血清	51.75	8.57	10.80	28.88	1.07
	吸収血清	55.00	11.94	9.59	23.47	1.22
S−2	正常血清	58.38	8.53	10.37	22.72	1.40
	抗血清	52.38	9.77	10.40	27.45	1.10
	吸収血清	56.73	10.10	12.94	20.23	1.31
S−3	正常血清	62.68	6.14	12.60	18.58	1.68
	抗血清	50.51	9.39	13.73	26.37	1.02
	吸収血清	57.37	11.48	12.20	18.95	1.35
S−6	正常血清	58.46	8.21	10.56	22.77	1.41
	抗血清	49.80	9.41	11.43	29.36	0.99
	吸収血清	60.33	7.39	10.65	21.63	1.52

つた。電気泳動にて得たる pattern について血清蛋白分屑の濃度比（%）を示すと次表の如くである。（第1表）

以上の実験結果を見るに，電気泳動的分布に於て抗血清は正常血清に比して albumin が減少し，γ-globulin はかなりの増加が認められ，A-1 血清にては約4割，A-2 血清にては約 14 割，A-3 血清にては約7割の増加が認められた。又 S-1, S-2, S-3 及び S-6 血清にても夫々約 3, 2, 4 及び3割の増加が認められた。α 並びに β-globulin は γ-globulin に比べればその増減の差異は著しくなく，殆ど同等と認められるものも見られた。また A/G にては正常血清に比較すると抗血清は減少を示した。

然るに吸収血清にては抗血清に比較して albumin は増加し，γ-globulin は減少して正常血清のそれの値に近似した数値を示し，A/G も亦増加した。

即ち以上の結果より考察し抗体は γ-globulin の部分に含まれているものと思惟される。各血清における泳動図は図版に示す如くである。即ちこの泳動図において γ-globulin の増減が著明に認められる。

B. Biuret 法による研究

28, 21 及び 16.3% 亜硫酸ソーダ溶液を血清に加え，混和後混濁液及び濾液に Biuret 試薬（0.2 規定苛性ソーダ，酒石酸カリソーダ，硫酸銅，ヨードカリ）を加えて発色せしめて後光電比色計（標準型光電比色計—伊藤研究所製及び Erma 光電比色計）を用いて比色を行つた結果は次表の如くである。尚数値は同一試料につき数回実験を反覆し，その平均をとつたものである。（第2表）

以上の結果を見るに抗血清に比して吸収血清は albumin が増加し，γ-globulin の減少が認められた（濃度比）。また A/G が増加した。以上の結果から考察し前法によると同様に抗体は γ-globulin の部分に含まれていると考えられるが，数値の上からは前法程明瞭ではなかつた。これは本法はかなり種々の条件によつて影響を受け易い為と考えられる。また前法による各蛋白分屑の濃度比と本法のそれとは一般に多少数値の異なることが認められている。

第 2 表 Biuret 法による血清蛋白分屑

家兎番号	血清	albumin	globulin			A/G
			α	β	γ	
A−1	抗血清	42.70	15.90	15.70	25.70	0.75
	吸収血清	46.00	18.00	16.00	20.00	0.85
A−2	抗血清	40.13	16.77	10.80	32.30	0.67
	吸収血清	44.00	22.00	12.00	22.00	0.79
B−2	抗血清	44.70	22.12	13.07	24.11	0.69
	吸収血清	44.56	21.66	15.00	18.78	0.80
S−1	抗血清	38.88	24.87	11.88	24.37	0.64
	吸収血清	45.24	22.43	13.28	19.05	0.83
M−35	抗血清	38.38	22.23	10.10	29.29	0.62
	吸収血清	45.86	25.16	10.61	18.37	0.85
U−5	抗血清	39.46	23.68	12.05	24.81	0.65
	吸収血清	45.45	21.00	15.37	18.18	0.83

波長：540 mμ, cuvette：2 cc.

IV. 抗体の精製

抗体価の低い抗血清ではウイルスの検出，ウイルスの諸性状の検索その他の研究にかなりの困難を感ずることがある。かかる抗血清の抗体価を高める方法として免疫原に対する種々の処理が考えられるが，また一方抗血清の精製濃縮も亦その1方法であると考えられる。それで先ず抗体の精製を目的として次の実験を行つた。

前述の実験より抗血清の γ-globulin 中に抗体が含まれていると考えられるので次の如く特異的方法と非特異的方法とによつて抗体 globulin を得んと試みた。

A. 特異的方法による抗体の解離 (liberation)

実験第 1

抗Xウイルス血清（原液）に精製濃縮したXウイルス汁液を充分に加え，37°C に2時間加温後1夜実験室内に静置し絮状沈降物を充分に生ぜしめた。該液を遠心分離（3,500 r.p.m., 20 分）した後上清を捨て，沈渣を生理食塩水にて 2, 3 回洗つた後，沈渣を生理食塩水（原量の約 1/2 量）にとかし，N/20 HCl を用いて pH 7.0〜pH 2.0 とし，37°C, 2時間加温後 pH 7 に調整し，後遠心分離を行つた。その上清に等量のXウイルス汁液（Xウイルス罹病トマトの搾汁），抗Xウイルス血清，健全トマト搾汁及び正常血清を加え，37°C, 2時間加温後沈降物の有無を検した。対照として抗血清にXウイルス汁液を，Xウイルス汁液に抗血清を加え，また沈渣を洗滌した液にもウイルス汁液，抗Xウイルス血清，健全トマト搾汁及び正常血清を加え，沈降反応を行つた。

実験結果は次表の如くである。

第 3 表 特異的沈降物より抗体の解離

pH	沈降物	沈降反応			
		ウイルス汁液	抗血清	トマト搾汁	正常血清
7.0	++	−	−	−	−
6.6	++	−	−	−	−
6.0	++	−	−	−	−
5.4	++	−	−	−	−
5.0	++	−	−	−	−
4.4	(+)	++	−	−	−
4.0	(+)	++	−	−	−
3.4	(+)	++	−	−	−
3.0	(+)	++	−	−	−
2.4	(+)	++	−	−	−
2.0	(+)	++	−	−	−
対照	ウイルス	−	++	−	−
	抗血清	++	−	−	−
洗滌液	1	−	−	−	−
	2	−	−	−	−

以上のごとく pH 変更後 37°C, 2時間加温した液における沈降物を見るに pH 7〜5 迄のものには著明な絮状沈降物が見られたが，pH 5 以下のものでは沈

降物が殆ど見られなかつた。かかる液を pH 7 に調整し後遠心分離したるに pH 7～5 の区では著しい沈澱を生じたが，pH 5 以下の区では試験管底に極めて少量の固い沈澱物が認められたに過ぎなかつた。遠心分離を行つた液の上清に等量のウイルス汁液，抗Xウイルス血清，健全トマト搾汁及び正常血清を加え，37°C に 2 時間加温を行つた結果では，X ウイルス汁液を加えた場合，pH 4.4 以下に処理加温した区（pH 修正前）に著しい反応が認められた。抗血清，健全トマト搾汁及び正常血清を加えたものには反応が認められなかつた。

以上の結果から pH 5 以下にて 37°C に 2 時間加温すれば抗体が解離するものと考えられる。また洗滌液中には抗体もウイルスも認められなかつた。

実験第 2

前実験において抗原抗体の結合物を酸処理加温することによつて抗体が解離することが判明したので抗体の精製濃縮を試みた。

先ず抗原量を変えることにより抗原抗体の結合を充分に生ぜしめるに要する適量を調べ，後かかる抗原量を加えて抗原と抗体とを充分に結合せしめて後遠心分離を行い生理食塩水にて 2, 3 回沈渣を洗滌した。後抗血清の原量の約 1/2 量の生理食塩水にとかし，N/10 HCl を添加して pH 3 とし，37°C，2 時間加温後 pH 7 に調整し遠心分離した上清を用いた。かかる上清（解離抗体を含む）と抗 X ウイルス血清とを用いて沈降反応を行つて夫々の力価を比較した。実験結果は次表の如くである。

第 4 表　抗血清及び解離抗体の力価

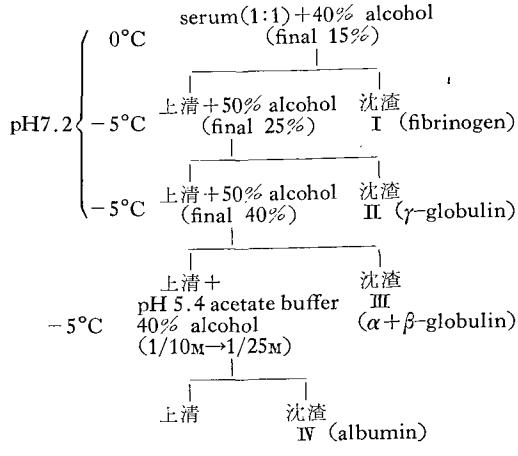
供試材料	抗血清（解離抗体）終末稀釈倍数 2^n										対照
	$n=3$	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
解離抗体	++	++	++	++	+	+	+	−	−	−	−
抗血清	++	++	++	++	++	+	+	+	±	−	−

以上のごとく解離抗体（抗血清原量の約 1/2 量の生理食塩水にとかす）の力価は抗血清のそれに比して稍低かつた。解離抗体の力価を高めるには更に濃縮が必要であろう。解離抗体並に対照抗血清の電気泳動図は図版に示す如くである。

この泳動図より見るに γ-globulin の部分に peak が見られ，解離抗体は γ-globulin と考えられる。

B. 非特異的方法による抗体の精製（Cohn 等 (1940) による低温低イオン強度アルコール分別法）

血清量の関係から Cohn 等 (1940) による低温 ethanol 分画法により血清蛋白の分画を行つた。本法を簡単に示すと次の如くである。



以上の実験は全て低温室内にて行い，ガラス器具その他の器具は全て前以て −5°C の部室にて冷したものを使用し，ethanol は攪拌しつつある液中に細管を有する分液漏斗より滴下した。沈渣 I, II, III 及び IV は全て凍結乾燥し，後抗血清の原量と等量の生理食塩水にとかした。

第 5 表　各分画にての沈降反応

分画	分画溶液終末稀釈倍数 2^n									対照
	$n=3$	4	5	6	7	8	9	10	11	
I	+	+	+	±	−	−	−	−	−	−
II	+	+	+	+	+	+	+	+	±	−
III	+	+	+	+	+	±	−	−	−	−
IV	±	±	−	−	−	−	−	−	−	−

階段稀釈した各分画溶液に等量のウイルス汁液を加えて沈降反応を行つた結果は次表の如くである。

以上の結果より見るに第II分画の反応最も著しく，II分画に抗体（γ-globulin）が最も多く含まれていると考えられる。本法にてはI分画に fibrinogen, II 分画に γ-globulin, III 分画に α＋β-globulin, IV 分画には albumin が最も多く含まれているものと考えられているが，本実験にてもII分画に最も反応が強く，IV分画には殆ど反応が認められなかつたがI及びIII分画にも反応が認められた。

V. 論議及び結論

Xウイルス汁液を家兎に反覆注射することによつてその血清中にXウイルスに対する抗体の産生することが知られている。(Gratia and Manil, 1934; Bawden, 1935; Chester, 1935, a, b, c, 1937; Spooner and Bawden, 1935; Bawden and Pirie, 1936, 38; Bawden, Pirie and Spooner, 1936; 村山・山田・松宮, 1949, 50, 51; その他)。抗体の存在は最初その作用によつてのみ認められたが, 蛋白化学の進歩に伴つてその性状が次第に明かとなつて来た。Tiselius (1937, a) によつて血清蛋白質では易動度の順に albumin, α, β, γ の3種の globulin の存在することが明かにされた。fibrinogen (ϕ) は β- と γ-globulin の中間の易動度を示し, 条件によつては α, β-globulin は更に α_1, α_2, β_1, β_2 に分離される。次に抗体がこれらの成分の中のどの部分に含まれているかは正常血清, 抗血清及び吸収血清 (抗血清に抗原を加えて抗体を吸収した血清) の電気泳動図を比較することによつて察知される。即ち同一家兎の正常血清, Xウイルス汁液を注射して得たる抗血清並にXウイルスを加えて吸収した吸収血清における各蛋白の動きを電気泳動的に研究した。

本実験の結果電気泳動的分布に於て正常血清に比べ抗血清は albumin が減少したが γ-globulin は増加し, A/G は減少した。一方吸収血清は抗血清に比較して albumin の増加を見たが γ-globulin は減少して正常血清のそれに近い値を示し, A/G は増加した。即ち γ-globulin は抗血清において正常血清より著しい増加を見ると共に吸収血清において減少した。このことより抗血清の正常血清に比して増加した γ-globulin の大部分は沈降物となつて除かれたことが分る。この結果より考察して抗体が γ-globulin の部分に含まれていることが推察される。家兎ではいかなる抗原を用いてもそれに対する抗体は殆ど常に γ-globulin に属する Tiselius, 1937, b, c) が, 稀にはに β-globulin に属するものもある (Seibert and Nelson, 1942; Koprowski, Richmond and Moore, 1947)。伊藤時哉 (1953) はジフテリヤ抗毒素の電気泳動について研究し, 初期に形成される抗毒素は主に γ-globulin であり, 完成期のものは β_2-globulin であると述べている。また亜硫酸ソーダも血清蛋白分画に応用されている。吉川及び斉藤 (1948, a, b, c, d; 1949) は亜硫酸ソーダによる塩析法を検討した結果, 15, 21 及び 28% の3カ所に critical zone を認め, にその分画値が電気泳動分析値に近似することを報じた。本塩析法による分画名は電気泳動分画名と同様, albumin, α, β, γ globulin と呼ばれているが定量している蛋白質は同一のものではないので, 両法にて得られる各分画は夫々異なる成分である。本実験にて斉藤 (1955) 及び柳沢 (1955) の方法 (Biuret 法) によつて同一家兎の抗血清及び吸収血清の血清蛋白の動きについて実験を行つた。その結果抗血清に比較して吸収血清は albumin が増加し, γ-globulin の減少が認められ (濃度比), A/G は増加した。即ち Biuret 法によつても抗体は γ-globulin の部分に含まれていると認められた。以上によつて抗体の所在が明かとなつたので血清中から抗体を取出すことを試みた。

その1つは特異的方法であつて抗原抗体反応の特異性を利用して特異的沈降物から抗体を解離する方法であり, 第2は非特異的方法であつて低温 ethanol による分別沈澱を抗体作用の変化をきたさぬ条件で行つた。特異的方法としては Chester (1936) による酸処理, 加温の方法を用いた。抗原量を変えることにより抗原抗体の結合を充分に生ぜしめるに要する適量を調べ, 後該抗原量を加えて充分特異的沈降物を生ぜしめた。本実験の結果から特異的沈降物を pH 5 以下となし, 37°C に2時間加温したるものでは抗体の解離が認められた。かかる解離抗体の力価は抗血清のそれと比較すると少しく低いようであつた。解離抗体では力価の高いものを得るにはかなり濃縮しなければならぬと考えられる。解離抗体の電気泳動図にては γ-globulin の部分に peak が認められた。

次に非特異的方法によつて抗体の精製を行つた。即ち Cohn 等 (1940) の方法により低温 ethanol 分画法を行つた。ethanol は蛋白質を沈澱せしめると共に不可逆の強い蛋白質の変性を伴うが, 低温によつてこの変性を防ぐことが出来, また変性しても有機溶媒を去れば再びもとの蛋白質に戻る。即ち可逆的な変性ですむ。本法はかかる点より低温下に ethanol の濃度を加減しつつ血清蛋白質の分画を行う方法である。

また分離した分画からの ethanol 除去には凍結乾燥法を用いた。Cohn 等 (1946) は人血漿大量処理のため第6法と呼ばれるものを用い, Oncley 等 (1949) は第9法を, 更に Cohn 等 (1950) は第10法に発展せしめた。

本分画法により得た各分画 (I, II, III, IV) を用

いてXウイルスと沈降反応を行つた結果，II分画に最も多く抗体成分の含まれているのが認められた。I分画は fibrinogen, III分画は $\alpha+\beta$-globulin, IV 分画は albumin に富む分画と考えられているが，各分画には各成分が多少の差はあれ含まれていることが知られている（Cohn 等 1940, 46）。

VI. 摘　　要

1. 同一家兎の正常血清，抗Xウイルス血清並にXウイルスを以て吸収した吸収血清における各蛋白の動きを電気泳動的方法並に亜硫酸ソーダ塩析による Biuret 法によつて研究した。

2. 以上3種血清の Tiselius 電気泳動装置による泳動図について各血清蛋白分屑の濃度比を比較検討した。抗血清は正常血清に比して albumin が減少し，γ-globulin が増し A/G が減少した。一方吸収血清は抗血清と比較すれば albumin が増加し，γ-globulin が減少して A/G が増加した。α- 及び β-globulin は γ-globulin に比較すれば著しい増減の差異が認められなかつた。以上の結果から抗体は γ-globulin の部分に含まれているものと思察された。

3. 光電比色計を用い，Biuret 法によつて同一家兎の抗Xウイルス血清並にXウイルスを以て吸収した吸収血清の血清蛋白分屑についてその濃度比を比較した結果，吸収血清は抗血清に比べ albumin の増加と γ-globulin の減少及び A/G の増加が認められ，本法にても抗体は γ-globulin の部分に含まれているものと思考された（但し両法による各蛋白分屑の成分は同一ではない）。

4. 抗体の精製を行うために特異的方法と非特異的方法とを行つた。

5. 特異的方法は抗原抗体結合物を酸処理（pH 5 以下），加熱（37°C, 2時間）によつて抗体の解離を行つた。解離抗体の力価は対照抗血清のそれより稍低かつたが，電気泳動図にては γ-globulin の位置に peak が認められた。

6. 非特異的方法として Cohn 等による低温低イオン強度アルコール分別法を用いた。本法にて得られた各分画にて沈降反応を行うとII分画において最も反応強く，該分画に抗体が最も多く含まれていることが認められた。I及びIII分画にも反応は弱かつたが抗体が含まれていることが認められた。

文　　献

1) Bawden. F.C.: The relationship between the serological reactions and the infectivity of potato virus 'X'. Brit. Journ. Exp. Path. 16: 435–443, 1935.

2) —— & N. W. Pirie: Experiments on the chemical behaviour of potato virus 'X'. Ibid. 17: 64–74, 1936.

3) —— & ——: Liquid crystalline preparations of potato virus 'X'. Ibid. 19: 66–82, 1938.

4) ——・—— & E.T.C. Spooner: The production of antisera with suspensions of potato virus X inactivated by nitrous acid. Ibid. 17: 204–207, 1936.

5) Chester, K. S.: Serological evidence in the study of the relationships of certain plant viruses. (abst.) Phytop. 25: 10, 1935, a.

6) ——: Serological evidence in plant-virus classification. Ibid. 25: 686–701, 1935, b.

7) ——: The antigenicity of the plant viruses. Ibid. 25: 702–714, 1935, c.

8) ——: Liberation of neutralized virus and antibody from antiserum-virus precipitates. Ibid. 26: 949–964, 1936.

9) ——: Serological studies of plant viruses. Ibid. 27: 903–912, 1937.

10) Cohn, E.J., J.A. Leutscher, Jr., J.L. Oncley, S.H. Armstrong, Jr., and B. D. Davis: Preparation and properties of serum and plasma proteins. III. Size and charge of proteins separating upon equilibration across membranes with ethanol-water mixtures of controlled pH, ionic strength and temperature. Journ. Am. Chem. Soc. 62: 3396–3400, 1940.

11) ——, L.E. Strong, W.L. Hughes, Jr., D.J. Mulford, J. N. Ashworth, M. Melin and H.L. Taylor: Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. Ibid. 68: 459–474, 1946.

12) ——, F.R.N. Gurd, D.M. Surgenor, B.A. Barnes, R.K. Brown, G. Derouaux, J.M. Gillespie, F.W. Kahnt, W.F. Lever, C.H. Liu, D. Mittelman, R.F. Mouton, K. Schmid & E. Uroma: System for the separation of the components of human blood: quantitative procedures for the separation of the protein components of human plasma. Ibid. 72: 465-474, 1950.

13) Gratia, A. & P. Manil: Différenciation sérologique des virus X et Y de la Pomme de terre chez les plantes infectées ou porteuses de ces virus. Comptes Rendus Soc. Biol., 117: 490-492, 1934.

14) 伊藤時哉：ジフテリヤ抗毒素の電気泳動・医学と生物学，27: 135-137, 1953.

15) Koprowski, H., G. Richmond & D.H. Moore: Electrophoretic study of antiviral serum. Journ. Exptl. Med 85: 515-530, 1947.

16) 村山大記・山田守英・松宮英視：馬鈴薯バイラス病の免疫学的研究　第1報．X及びYバイラス抗原の抵抗性．北海道馬鈴薯採種組合連合会資料 No. 8, 13 頁, 1949; 京大植物病害研究第4集：71～80, 1951, a.

17) ——・——・——：馬鈴薯バイラス病の免疫学的研究　第2報．所謂健全馬鈴薯におけるXバイラスの検出．北海道馬鈴薯採種組合連合会資料 No. 12, 29 頁, 1950; 農業及園芸 26: 269, 1951, b; 日.植.病.報. 15: 55～60, 1951, c.

18) Oncley, J. L., M. Melin, D. A. Richert, J.W. Cameron & P.M. Gross, Jr.: Plasma proteins. LXXIII. Preparation and properties of serum and plasma proteins. XIX. Separation of the antibodies, isoagglutinins, prothrombin, plasminogen, and β_1-lipoprotein into subfractions of human plasma. Journ. Am. Chem. Soc. 71: 541-550, 1949.

19) 斎藤正行：光電比色計による臨床化学検査．南山堂，1955.

20) Seibert, F.B. & J.W. Nelson: Electrophoretic study of the blood-protein response in tuberculosis. Journ. Biol. Chem. 143: 29-38, 1942.

21) Spooner, E.T.C. & F.C. Bawden: Experiments on the serological reactions of potato virus 'X'. Brit. Journ. Exp. Path. 16: 218-230, 1935.

22) Tiselius, A.: Electrophoresis of serum globulin. I. Biochem. Journ. 31: 313-317, 1937, a.

23) ——: Electrophoresis of serum globulin. II. Electrophoretic analysis of normal and immune sera. Ibid. 31: 1464-1477, 1937, b.

24) ——: Electrophoresis of purified antibody preparations. Journ. Exptl. Med. 65: 641-646, 1937, c.

25) 柳沢文正編：光電比色計の実際．共立出版株式会社，1955.

26) 吉川春寿・斎藤正行：血液蛋白質特にその臨床的定量法に就いて
(1) 日本医事新報 1277: 1229-1231, 1948,a.
(2) 同 1278: 1268-1269, 1948,b.
(3) 同 1279: 1311, 1948, c.

27) ——・——：比色，比濁による血漿蛋白質定量法の展望．アメリカ医学 3: 335, 410, 1948, d.

28) ——・——：血清 ア/グ 比の求め方に就いて．日本医事新報，1296: 371-372, 1949.

Résumé

In this paper there are reported experiments concerning the serum protein.

The *normal serum*, *anti-X virus-serum*, and anti-X virus-serum absorbed by X virus, of the same rabbit, were studied electrophoretically by means of the Tiselius apparatus. The albumin of the antiserum decreased compared with that of the normal serum, while γ-globulin of the antiserum increased over normal serum and A/G was decreased. The albumin of the absorbed serum increased, while γ-globulin decreased and A/G increased, compared with those of the antiserum. It was found that α-and β-globulin showed no notable variations among these three sera. From the results above stated, it was considered that the antibody was contained in γ-globulin.

The fractions of serum protein in the antiserum of X virus and the antiserum absorbed by X virus were studies by the Biuret method using sodium sulfite by means of the electrophotometer. The albumin of the absorbed serum increased, while γ-globulin decreased, over those of the antiserum (in ratio). But the differences of each protein in each

図　版　I

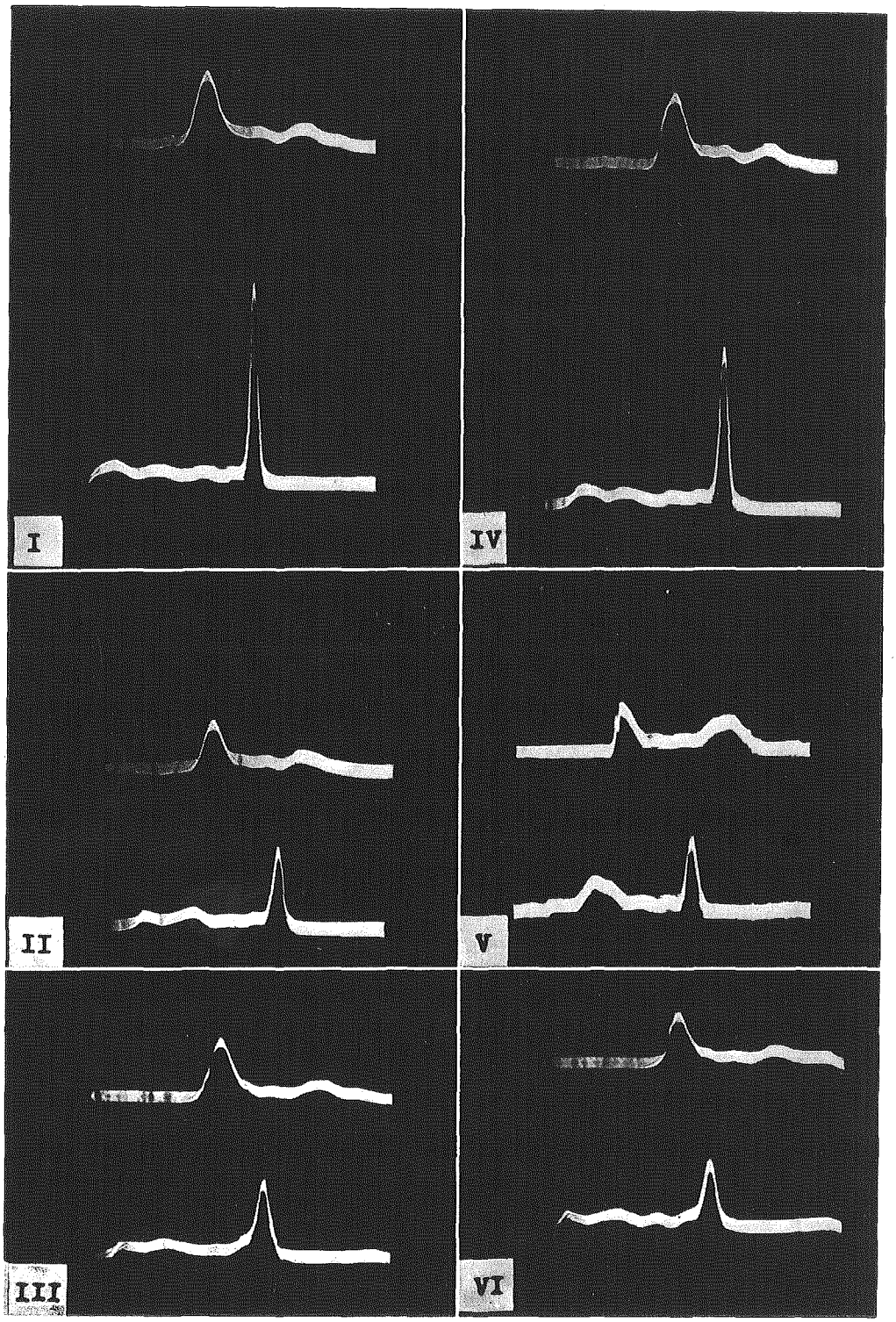
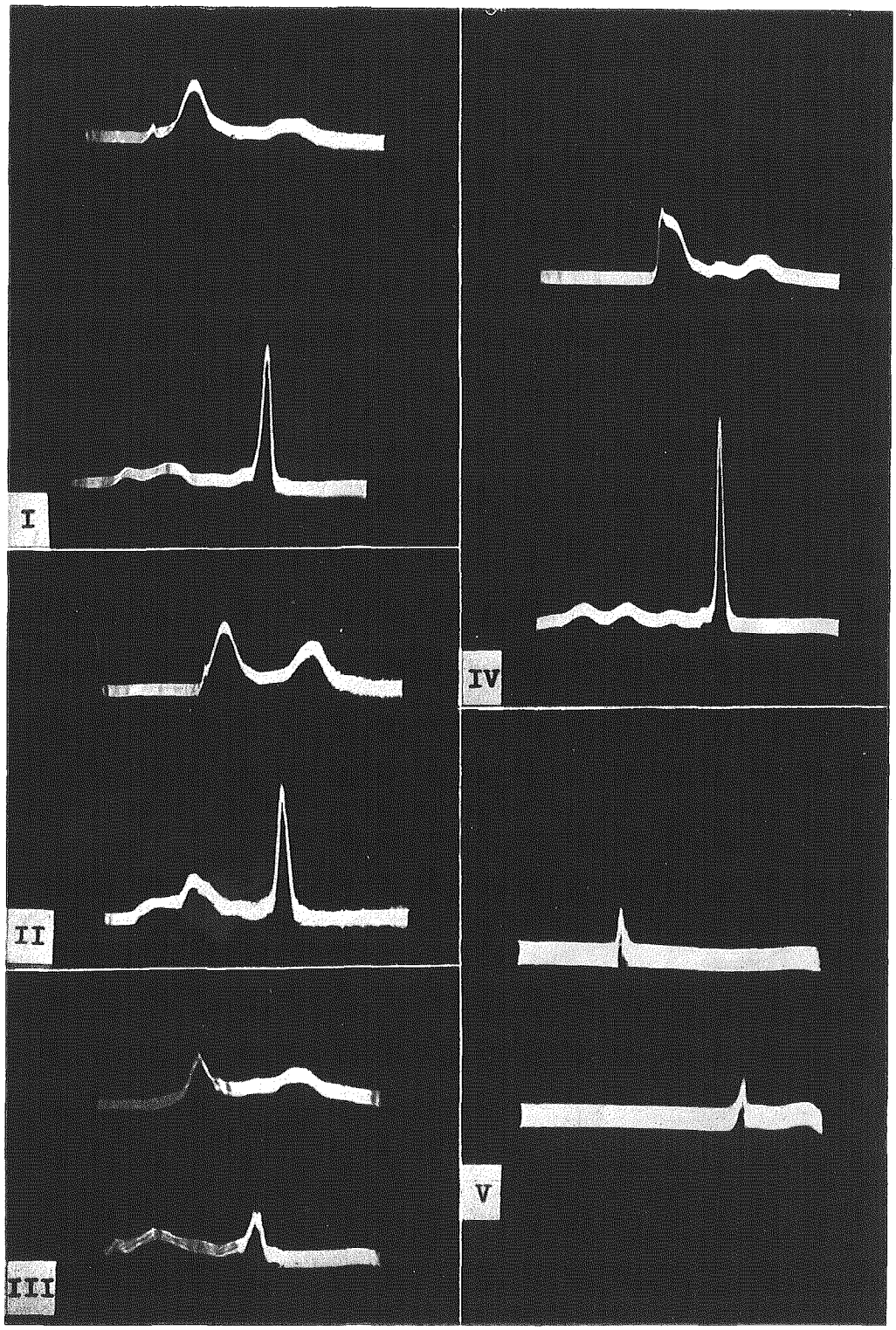


図　版　II



serum as estimated by this method were not so remarkable as were found by the former method.

Purifications of the antibody were made by specific and nonspecific methods. The antibody was separated from the antigen and antibody complex by treatment with acid (pH 4.4−2.0) and heating (37°C. for 2 hours). The reaction of the antibody was lower than that of the original antiserum. The peak of the electrophoretic pattern was shown at the situation of γ-globulin.

As a nonspecific method, Cohn's method was used in this experiment. Using four fractions secured by this method, the precipitation reaction was shown to be most apparent in fraction II and it was found that most of the γ-globulin was contained in fraction II.

図　版　説　明

図　版　I

1. 正常血清（A-1 家兎） 2. 抗Xウイルス血清（A-1 家兎） 3. 吸収血清（A-1 家兎）
4. 正常血清（A-2 家兎） 5. 抗Xウイルス血清（A-2 家兎） 6. 吸収血清（A-2 家兎）

図　版　II

1. 正常血清（A-3 家兎） 2. 抗Xウイルス血清（A-3 家兎） 3. 吸収血清（A-3 家兎）
4. 抗Xウイルス血清（5の対照血清） 5. 解離抗体