

ヒト免疫不全ウイルス 1 型(HIV-1)の逆転写酵素  
(RT)を抗原とした、高感度酵素免疫検定法(免疫複  
合体移動酵素免疫検定法)による検出

広田晃一\*<sup>1</sup>、橋田誠一\*<sup>1</sup>、橋中一也\*<sup>1</sup>、河野武幸\*<sup>1</sup>、斎藤 敦\*<sup>2</sup>、  
品川日出夫\*<sup>2</sup>、中田篤男、岡 真一\*<sup>3</sup>、島田 馨\*<sup>3</sup>、石川栄二\*<sup>1</sup>

Clin. Chem. Enzym. Comms., 6:175-184(1993)

**Sensitive Enzyme Immunoassay (Immune Complex  
Transfer Enzyme Immunoassay) for Antibodies  
to Reverse Transcriptase (RT) of Human  
Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Using  
Recombinant RT of HIV-1 as Antigen**

Kouichi Hirota\*<sup>1</sup>, Seiichi Hashida\*<sup>1</sup>, Kazuya Hashinaka\*<sup>1</sup>,  
Takeyuki Kohno\*<sup>1</sup>, Atushi Saitoh\*<sup>2</sup>, Hideo Shinagawa\*<sup>2</sup>,  
Atsuo Nakata, Shinichi Oka\*<sup>3</sup>, Kaoru Shimada\*<sup>3</sup> and Eiji Ishikawa\*<sup>1</sup>

**ABSTRACT** Two enzyme immunoassay methods (immune complex transfer enzyme immunoassay methods) for antibodies to reverse transcriptase (RT) of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) using recombinant RT of HIV-1 as antigen are described. In Method I, anti-HIV-1 antibodies were reacted simultaneously with 2,4-dinitrophenyl-bovine serum albumin-recombinant RT conjugate and recombinant RT-peroxidase conjugate. The complex formed of the three components was trapped onto polystyrene balls coated with (anti-2,4-dinitrophenyl group) IgG, eluted with  $\epsilon$  N-2,4-dinitrophenyl-L-lysine and transferred to polystyrene balls coated with (anti-human IgG  $\gamma$ -chain) IgG. Bound peroxidase activity was assayed by fluorometry. In Method II, 2,4-dinitrophenyl-biotinyl-bovine serum albumin-recombinant RT conjugate and streptavidin-coated polystyrene balls were substituted for the corresponding conjugate and polystyrene balls in Method I. Method I detected only antibody IgG, and Method II detected antibodies of all the immunoglobulin classes. The two

assays were equally sensitive and 10 to 100-fold more sensitive than the conventional ELISA using five recombinant proteins of HIV-1 as antigens and gelatin particle agglutination using a lysate of the whole virus as antigen, when tested using urine samples from seropositive subjects. Usefulness of the two assays for diagnosis of HIV-1 infection was suggested.

組換え遺伝子操作法によって作成したHIV-1(ヒト免疫不全ウイルス)の逆転写酵素を抗原として、それに対する抗体を検出するための酵素免疫検定法(免疫複合体移動酵素免疫検定法)の二方法を試みた。第一の方法は、抗HIV-1抗体を、2,4-ジニトロフェニルとウシ血清アルブミンと逆転写酵素との結合体と逆転写酵素とペルオキシダーゼとの結合体と同時に反応させるものである。これら三構成要素からできた複合体は、免疫グロブリン-G(抗2,4-ジニトロフェニルグループ)でコートしたポリスチレン球に一旦吸着させ、 $\epsilon$ N-2,4-ジニトロフェニル-L-リジンで溶出した後、グロブリン-G(抗ヒト免疫グロブリン-Gの $\gamma$ -鎖)でコートしたポリスチレン球に結合させた。結合したペルオキシダーゼ活性は蛍光定量法で検定した。第二の方法は、2,4-ジニトロフェニルとビオチンとウシ血清アルブミンと逆転写酵素との結合体とストレプトバリンでコートしたポリスチレン球とをそれぞれ第一の方法に用いた結合体と置き換えたものを用いた。第一の方法では、抗体免疫グロブリン-Gだけが検出されたが、第二の方法では、すべての抗体免疫グロブリンが検出された。血清学的に陽性のヒトの尿でテストすると、二検定法は同程度に感度が高く、5種類のヒト免疫不全ウイルス-1のタンパクを抗原として用いる従来からのELISA法(固層酵素免疫測定法)やウイルス粒子の破砕物を抗原として用いるゲラチン粒子凝集法よりも10倍から100倍の高感度であった。ヒト免疫不全ウイルス-1の感染の診断にこの二方法が利用できることを示唆している。

\*1 Medical College of Miyazaki 宮崎医科大学

\*2 Osaka University 大阪大学

\*3 University of Tokyo 東京大学