

HIV-1(ヒト免疫不全ウイルス)感染の診断のための、尿中のHIV-1に対する抗体免疫グロブリン—Gの、組換えタンパク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

橋田誠一*¹、広田晃一*¹、橋中一也*¹、斉藤 敦*²、
中田篤男、品川日出夫*²、島田 馨*³、深山順一*⁴、
松下修三*⁵、石川栄二*¹

Journal of Clinical Laboratory Analysis 7:353-364(1993)

Detection of Antibody IgG to HIV-1 in Urine by Sensitive Enzyme Immunoassay (Immune Complex Transfer Enzyme Immunoassay) Using Recombinant Proteins as Antigens for Diagnosis of HIV-1 Infection

Seiichi Hashida*¹, Kouichi Hirota*¹, Kazuya Hashinaka*¹,
Atsushi Saitoh*², Atsuo Nakata, Hideo Shinagawa*²,
Shinichi Oka*³, Kaoru Shimada*³, Jun-ichi Mimaya*⁴,
Shuzo Matsushita*⁵, and Eiji Ishikawa*¹

ABSTRACT For diagnosis of HIV-1 infection, attempts were made to detect anti-HIV-1 IgG in urine by sensitive enzyme immunoassay (immune complex transfer enzyme immunoassay) using recombinant reverse transcriptase (RT) and p17 as antigens. Anti-HIV-1 IgG in urine was reacted simultaneously with 2,4-dinitrophenyl-bovine serum albumin-recombinant protein conjugate and recombinant protein-enzyme conjugate. The enzymes used as labels were horseradish peroxidase for RT and *Escherichia coli* β -D-galactosidase for p17. The complex formed, consisting of the three components, was trapped onto polystyrene balls coated with affinity-purified (anti-2,4-dinitrophenyl group) IgG, eluted with ϵ -N-2,4-dinitrophenyl-L-lysine and transferred to polystyrene balls coated with affinity-purified (anti-human IgG γ -chain) IgG. Finally, bound enzyme activity was assayed by fluorometry. Urine samples were collected from 100 seronegative

subjects and 70 seropositive subjects. The sensitivity and specificity were both 100% with unconcentrated urine samples. The positivity was confirmed by preincubation of urine samples with excess of the antigens. The positivity and negativity with one of the two antigens could be confirmed with the other antigen. The positivity with low signals could be confirmed by concentration of urine samples. Detection of anti-HIV-1 IgG in urine by the immune complex transfer enzyme immunoassay using different antigens would make diagnosis of HIV-1 infection possible. © 1993 Wiley-Liss, Inc.

HIV-1(ヒト免疫不全ウイルス-1)の感染を診断するために、高感度酵素免疫検定法によって人の尿から逆転写酵素あるいはp17抗原に対する抗HIV-1免疫グロブリン-Gを検定する方法を試みた。尿中に排出された抗HIV-1免疫グロブリン-Gを、抗原と2,4-ジニトロフェニルとウシ血清アルブミンとの結合体と抗原と酵素との結合体とを同時に反応させた。酵素としては、逆転写酵素の場合は西洋ワサビ大根のペルオキシダーゼを、p17タンパクの場合は大腸菌の β -D-ガラクトシダーゼを用いた。免疫反応複合体は、親和性で精製した免疫グロブリン-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し、 ϵ N-2,4-ジニトロフェニル-L-リジンで溶出し、親和性で精製した免疫グロブリン-G(抗ヒト免疫グロブリン-Gの γ -鎖)でコートしたポリスチレン球に再び結合させた。最後に、結合した酵素活性を蛍光定量法で測定した。試料となる尿は、血清学的に陰性のもの100検体と陽性のもの70検体を用いた。非濃縮尿の試料では、感度、特異性共に100%であった。陽性検体は、あらかじめ過剰の抗原と反応させた試料で確認した。シグナルの弱い陽性検体については、尿を濃縮して確認した。尿中の抗HIV-1免疫グロブリン-Gの免疫複合体移動酵素免疫検定法による検出は、数種類の抗原を用いると、さらにHIV-1感染の診断を可能にするであろう。

*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

*4 Children's Hospital of Shizuoka Prefecture 静岡こども病院

*5 Kumamoto University 熊本大学