

《解 說》

# 放射性同位元素標識化合物的 體外 診斷的 利用

(放射리간드測定을 中心으로)

金 載 祿

韓國原子力研究所

(집수 : 1978. 5. 18)

## 1. 序 論

極微量物質의 含量을 測定하는 技術은 近來에 와서 크게 發達하여 여러가지 分析機器를 利用하는 機械的 方法이 많이 알려졌다. 그러나 그 銳敏度에 있어서는 그 동안 檢出能이 優秀한 檢出法의 開發에도 不拘하고 아직 限界性을 지니고 있을뿐만 아니라 試料가 特異한 境遇에는 그 限界性이 더 뚜렷하여 바라는 만큼의 正確한 檢出과 定量이 어려운 것이 事實이다. 예를 들어 血清과 같은 蛋白質試料中の 微量 蛋白質호르몬 量을 正確히 測定하려고 할 때에 通常의 機械的 方法을 그 때로 適用하기에는 호르몬量이 너무 微量(普通 pg 範圍)이며 또 熱이나 빛에 매우 弱한 여러가지 蛋白質들의 混合物이므로 그 分離定量에 큰 어려움이 따르게 된다. 生物學的 測定法(bioassay)으로 여러가지 호르몬類의 濃度測定을 일부나마 할 수 있으나 그 方法이 너무 煩雜하며 測定에서 考慮해야할 因子 또한 너무 많아 通常적으로 많은 試料에 對해 適用하기가 어렵다.

R. S. Yallow 및 S. A. Berson 이 처음 血清中の 인 슈린 測定을 放射免疫測定(radioimmunoassay, RIA)으로 試圖한 以來 RIA는 內分泌學 研究에 新紀元을 가져왔다. 오늘날에는 RIA와 關聯된 方法으로써 競爭的蛋白質結合測定(Competitive protein binding assay, C. P. B. A.), 放射收容體測定 (radioreceptor assay, R. R. A.), 放射酵素測定(radioenzymatic assay, REA) 및 免疫放射測定(immunoradiometric assay, IRA), 등이 모두 利用되며 이들의 特徵은 여러가지 複雜한 混合物中에서 어느 特定成分만이 活性物質과 作用하여 리간드를 만든다는데 있다.

그렇게 함으로써 그 特定成分物質은 周圍의 다른 物

質에 依한 影響이나 干涉을 받지 않게 되어 測定이 容易해진다.

더구나 그와같은 測定系에 定量하려는 物質과 같은 微量의 放射性追跡子를 加할 境遇 리간드形成部分과 非形成部分의 放射能을 따로 따로 計測할 수 있어 測定の 銳敏度나 正確度를 向上시킬 수 있다. 追跡子는 原來 그 化學的量이 無視되면서 放射能 計測은 可能해야 함으로 添加하는 追跡子의 比放射能(specific activity)은 높아야 한다. 放射리간드測定에는 리간드의 種類에 따라 그것이 免疫學的인 것이면서 標識抗原을 쓰면 RIA 標識抗體를 쓰면 IRA, 特殊한 生物學的 收容體인 境遇는 RRA, 單純한 特殊蛋白質인 境遇는 CPBA 등으로 불리우는 여러가지가 있다.

어느 物質의 濃度가 너무 작아서 生物學的, 化學的, 또는 機械的方法으로는 測定이 안될 境遇 이들 放射리간드測定技術이 쓰여질 수 있다는 것은 그만큼 이 方法이 優秀함을 말해준다. 오늘날 放射리간드測定 對象이 되는 것은 주로 體內 微量物質들이지만 그 밖의 여러 다른 對象物에 對해서도 測定이 可能하다. 體內 微量物質로는 蛋白質 및 非蛋白質 호르몬類, 비타민類, 核酸들, 酵素類, 藥品類, 代謝物質들, 癌抗原(cancer antigen), 바이러스抗原 및 抗體類 等이다.

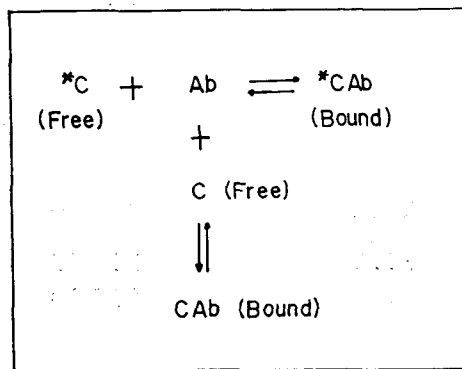
## 2. 原理와 實際

RIA, RRA, IRA, CPBA REA 등은 그 리간드의 特性이 다를 뿐 測定原理에는 何等的 差異가 없으므로 RIA를 例로써 說明한다. Fig. 1이 보이는 바와 같이 測定하려는 物質(C)과 그 物質을 放射性同位元素로 標識한 追跡子(\*C)가 一定量의 抗體(Ab)와 競爭的으로 結合하게 되는데 이 때에 C가 많을수록(即 濃度가 클

**Table 1.** Preparation of Incubation Mixture for Plot of a Standard Dose-Response Curve

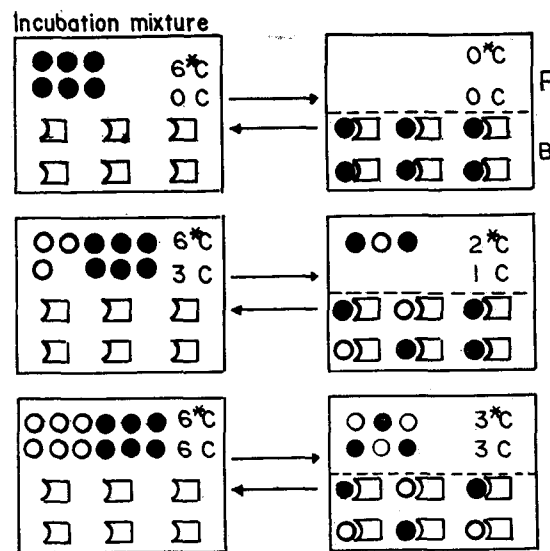
Tube No.	Buffer a) (ul)	Labelled Ag b) (ul)	Standard Ag c) (ul)	Patient's serum (ul)	Ab d) (ul)	DCC after incubation at 4°C (ml)
1	700	100	0	0	0	0.3
1'	700	100	0	0	0	0.3
2	600	100	0	0	100	0.3
2'	600	100	0	0	100	0.3
3	500	100	100(2.5)	0	100	0.3
3'	500	100	100(2.5)	0	100	0.3
4	500	100	100(5.0)	0	100	0.3
4'	500	100	100(5.0)	0	100	0.3
5	500	100	100(10.0)	0	100	0.3
5'	500	100	100(10.0)	0	100	0.3
6	500	100	100(20.0)	0	100	0.3
6'	500	100	100(20.0)	0	100	0.3
10	500	100	100(320.0)	0	100	0.3
10'	500	100	100(320.0)	0	100	0.3
sample	500	100	0	100	0	0.3
	500	100	0	100	100	0.3

a) 0.05M phosphate buffer, pH 7.4 b) labelled antigen expressing  $2 \times 10^5$  cpm/ml c) standard antigen of definite potency (uU/mg) but different concentrations d) antiserum of definite titer to show B/F value of 1.0 at the blank



**Fig. 1.** Principle of radioimmunoassay

수록) \*C가 Ab와 結合하여 \*C·Ab를 만들 確率은 작아지므로 一定量의 抗體에 一定量의 追跡子 \*C를 넣은 다음 C의 濃度가 各各 다르게 하여 定溫維持하고 \*C·Ab 및 C·Ab(抗原抗體錯物, bound, B)와 \*C 및 C(抗體와 結合하지 않은 遊離抗原, free, F)를 簡便分離하여 그 各各의 放射能을 計測함으로써(Fig 2, Table 1) 標準投與應答曲線(standard dose response curve)(Fig. 3)을 얻게 된다. 未知試料에 對한 抗原量의 測定을 爲해서는 標準C를 加하는 代身 測定試料溶液—

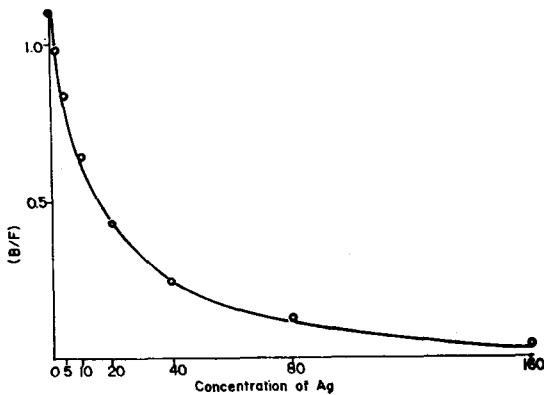


**Fig. 2.** Schematic representation of radioimmunoassay principle

定量을 加해 위와같이 操作한 다음 얻게되는 값으로부터 標準曲線에 따라 읽으면 된다. 다만 이 때에는 血清蛋白質濃度가 標準投與應答曲線作成에 쓰이는 標準

**Table 2.** Scope of the RIA Applications

1. Protein hormones	Insulin, Glucagon, Growth hormone, Luteinizing hormone, FSH (Follicle stimulating hormone), Adrenocorticotropin, TSH (Thyroid stimulating hormone), Alpha, and Beta-melanocyte stimulating hormone, Placental lactogen (chorionic somatomammotropin), Chorionic gonadotropin, Vasopressin, Oxytocin, Bradykinin, Gastrin, Secretin, Pencreozymmin, Cholecystokinin, Calcitonin, Parathyroid hormone, Thyroglobulin etc.
2. Steroid hormones	Aldostrone, Cortisol, Deoxycorticosterone, Androstenedione, Testosterone, Dihydrotestosterone, Progesterone, 17-Hydroxyprogesterone, Estrone, Estradiol, 2-Hydroxyestrone etc.
3. Other nonpeptides and drugs	Prostaglandins, Thyroid hormones, Cyclic nucleotides, Digoxin, Digitoxin, Medroxyprogesterone, Methylprednisolone, Morphine, Lysergic acid diethylamide, Barbiturate etc.
4. Enzymes	Carbonic anhydrase, Fructose-1, 6-diphosphatase, Carboxypeptidase, Chymotrypsin, Trypsin, Elastrase etc.
5. Structural proteins	Albumin, Globulins, CEA (Carcinembryonic antigen), Alpha-feto protein, Hepatitis associated antigen, Tumor antigen etc.



**Fig. 3.** A typical dose-respones curve for radioimmunoassay

體的蛋白質濃도보다 크기 때문에 생기는 測定誤差를 없애기 爲해 標準曲線 點示用 定溫維持混合物에 試料 血清의 蛋白質濃도와 같도록 代替蛋白質을 넣어주면가 아니면 測定血清試料마다 抗體 blank 를 만들어 抗體 blank 아닌 血清試料의 B/F 값을 補正하는 方法이 講究되어야 한다. 어떠한 因子도 서로 그 影響이 消去되도록 모두 可能한 限 같은 條件으로 맞추어주면서 그 影響을 調査하고 補正토록 해야한다.

測定試料가 많을 때에는 標準曲線點示때에 蛋白質을

加하는 것이 便利한 反面 試料가 적을 때에는 試料에 對한 抗體 blank 를 만드는 것이 便利하다. 標準曲線點 示方法은 Fig. 3처럼 B/F 값을 y軸에, 抗原濃도를 x軸에 取해 나타내는 것이 普通인데 抗原濃도가 작은 領域에서 더욱 正確한 값을 읽도록 하기 爲하여 y軸에 logit % B를, x軸에 抗原濃도의 log 值를 取해 點示 하기도 하는데 이 때에는 一定한 기울기를 가진 緩慢한 曲線이 얻어진다.

$$\text{logit \% B} = \ln \frac{\% B}{(100 - \% B)} \quad (1)$$

RIA 를 動力學的으로 考察할 때에 抗原抗體間의 正確한 內容은 아직 確實하지 않으나 (2)式에 나타낸 平衡反應에 따라 일어난다고 본다.



따라서 平衡恒數 K는  $K = \frac{k_1}{k_{-1}}$

$$\text{곧 } K[\text{Ag}][\text{Ab}] = [\text{Ag} \cdot \text{Ab}] \quad (3)$$

$$\text{한편 } B/F = \frac{[\text{Ag} \cdot \text{Ab}]}{[\text{Ag}]} \quad (4)$$

定溫維持過程에서는 遊離抗原과 抗體의 濃도가 減少하게 되므로

$$[\text{Ag}] = [\text{Ag}_i - \text{Ag} \cdot \text{Ab}] \quad (5)$$

$$[\text{Ab}] = [\text{Ab}_i - \text{Ag} \cdot \text{Ab}] \quad (6)$$

여기서  $[\text{Ag}_i]$ ,  $[\text{Ab}_i]$ 는 各各 抗原과 抗體의 初期濃

**Table 3.** RIA's Major Clinical Interests

RIA test	Clinical significance and primary use	
Digoxin Digitoxin Renin activity (Angiotensin 1) Aldosterone	Cardiovascular function	Monitoring; digoxin therapy Monitoring; digitoxin therapy Evaluating; renovascular hypertension Evaluating; primary aldosteronism
Insulin HGH T <sub>4</sub> T <sub>3</sub> TSH Parathormone ACTH Cortisol	Metabolic function and growth	Evaluating; diabetic state, diabetes Evaluating; pituitary function and growth Evaluating; thyroid function Evaluating; thyroid function Evaluating; pituitary thyroid axis Evaluating; parathyroid function Evaluating; pituitary adrenal axis Evaluating; adrenal function and corticoid concentration
FSH LH Testosterone Estrogen Progesterone HPL	Reproductive function	Evaluating; pituitary gonadal axis Evaluating; pituitary gonadal axis Evaluating; testicular functions, adrenal function(virilizing syndrome) Evaluating; fertility, ovarian function Evaluating; ovarian function, pregnancy, fertility Evaluating; fetal well being
Vit-B <sub>12</sub> Folate Immunoglobulins	Hematopoetic function	Evaluating; B-12 levels, pernicious anemia, Evaluating; folate levels, and anemia Evaluating; immunoproliferative function

度이다. 따라서

$$B/F = [Agi - Ag \cdot Ab] = [Ag \cdot Ab] \text{ 또는 } [Ag \cdot Ab] = [Agi] \times (B/F) / (B/F + 1) \quad (7)$$

위의 (3)(5)(6) 및 (7)식을 綜合 整理하여

$$K([Agi] - [Agi](B/F)/(B/F + 1) \cdot [Abi] - [Agi](B/F)/(B/F + 1)) = [Agi](B/F)/(B/F + 1) \quad (8)$$

(8)식을 再整理하여

$$(B/F)^2 + B/F[1 + KAgi - KAbi] - KAbi = 0 \quad (9)$$

即 B/F 에 對한 二次式이므로 (B/F)를 抗原濃度에 對해 點示하면 雙曲線의 一部를 얻게 된다.<sup>3)</sup>

### 3. RIA 의 基本要件

#### 3.1. 抗 原

標識反應用 및 標準體로 쓰는 抗原은 力價가 높도록 純粹하게 精製된 것이어야 한다.

#### 3.2. 抗 體

抗原을 動物에 注射하여 抗體를 生産해야 한다. 抗

原(antigen, ...特殊抗體와 結合하는 物質)과 免疫原(immunogen, ...免疫反應을 보이는 物質)은 區別해야 하는데 흔히 分子量이 5000 以上인 蛋白質은 抗原이자 免疫原이다. 그러나 分子量이 작은 peptide, 藥品, 非蛋白質호르몬 등은 抗原성이긴 하나 그것이 免疫原성이려면 알부민과 같은 큰 分子量을 가진 蛋白質 carrier와 結合시켜 hapten conjugate 를 만들어야 한다. 抗體는 特異성과 力價가 높을수록 좋다.

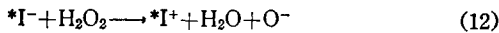
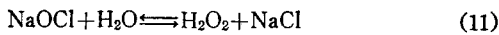
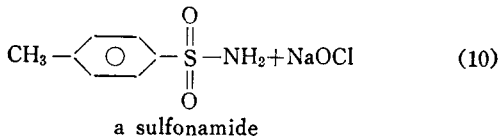
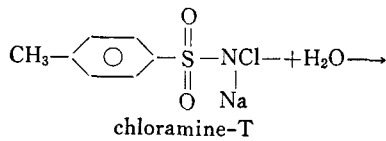
#### 3.3. 放射性同位元素標識抗原

RIA用 放射性追跡子 製造에 있어서는 特히 標識收率提高와 抗體와의 結合能維持라는 두 相反된 因子를 함께 考慮하여 最適條件을 取하는 것이 매우 重要하다 特히 放射性요오드를 蛋白質分子中の tyrosine ring 에 親電子置換機作으로 標識하는데 이때에 放射性요오드陰이온을 酸化해야한다. 酸化劑로는 흔히 chloramine-T가 使用되며 아래와 같은 機作으로 酸化力을 發揮한다.

Table 4. Normal human values of insulin measured by insulin RIA

Tissue	Subjects			Normal value (uU/ml)		Special conditions
	state	number	age	mean	range	
plasma	normal	14		29.5±3.3		fasting* GTT 59g, 60 min
	mild diabetes	16		19.3±4.5		fasting GTT 59g, 60 min
	moderate diabetes	9		22.6±4.9		fasting, GTT 50g, 60 min
	severe diabetes	11		10.0±2.1		fasting, GTT 50g, 60 min
plasma	normal	29	33.6(13-64)	16.7±1.0	6-26	fasting
	non obese diabetes		32.6( 7-72)	10.9±0.9	2-20	plus ketonuria
	non obese diabetes		32.5( 6-63)	14.1±0.9	4-21	minus ketonuria
	obese diabetes		54.6(15-72)	24.6±2.0	7-53	

\*fasting overnight, also see reference of 12 and 13



放射性요오드中 <sup>131</sup>I는 carrier free가 아니라는點, <sup>125</sup>I에 비해 計測効率が 낮고 半減期도 짧다는點 등으로 <sup>125</sup>I보다 못하다. 追跡子の 比放射能은 大略 100μCi/μg程度가 適合하다. 너무 比放射能이 낮으면 RIA의 測定銳敏度(assay sensitivity)가 낮아지며 또 너무 比放射能이 높으면 抗體와의 結合能이 低下될 念慮가 있다.

蛋白質호르몬 標識反應때에는 普通 2μg의 호르몬에 600μCi程度의 <sup>125</sup>I를 使用한다.

反應時間은 數秒 내지 1分程度이다.

還元劑인 sodiummetabisulfite 溶液을 加하여 反應을 終結시키며 標識호르몬을 保護하기 爲해 反應終結即時 BSA等 蛋白質을 添加하고 分離操作을 거친다. 放射化學的純度는 99% 以上이어야 한다.

3.4. 定溫維持(incubation)

測定感도에 影響을 주는 두 因子는 抗血清의 性質과

標識抗原의 比放射能이다. 萬若 이 두 因子가 어쩔수 없이 固定된 境遇에는 抗血清이나 標識抗原을 稀釋할 수록 더 낮은 濃度の 測定이 可能해진다. 한편 標識抗原과 抗血清이 稀釋될수록 抗原抗體間 反應速度가 작아지므로 定溫維持時間이 길어져야 한다. 한편 定溫維持時間이 길어질에 따라 抗原의 器壁에 對한 吸着 血清蛋白質에 依한 抗原抗體反應의 妨害, 標識抗原의 不安定性에 起因한 損傷等이 不可避하게 되므로 이들 여러 因子들이 綜合的으로 考慮된 最適條件을 確立하는 것이 重要하다. 普通 4°C定溫을 24 또는 48時間 維持하여 定溫維持混合液에서의 微生物成長을 抑制하면서 比較的 큰 反應自由에너지를 갖도록 하는데 境遇에 따라 B/F의 相對的 크기만을 알고 싶을 때에 37°C로 짧은 時間 定溫維持하는수가 있다. 이런 境遇에는 反應混合物的 濃度を 높이기 爲해, 加하는 緩衝溶液의 부피를 줄여 相對的으로 抗原抗體의 濃度を 크게하면 效果의이다.

3.5. 分離手段

Ag·Ab 錯物(B)을 非結合 Ag(F)와 迅速正確하게 分離하는 手段은 RIA 遂行上 重要하다. 二重抗體法(double antibody method)과 맥스트란·탄소가루法(dextran coated charcoal, DCC法)이 代表的인 것이다.

3.5.1. 二重抗體法

페지인슈린을 제니아피에 免疫하여 얻은 antiporcine

insulin guinea pig serum 은 인슈린과 錯物을 만들것 이나 그 分子量은 그리 크지 않아 相當한 條件이 아니면 沈澱分離되지 않을 것이다. 그런데 게니아피의  $\gamma$ 글로브린을 염소에 注射하여 얻은 抗血清, antiguinea pig  $\gamma$ -globulin goat serum 은 앞의 antiporcine insulin guinea pig serum(第1 抗體)와 結合하여 錯物을 만든다. 그런데 第1 抗體는 이미 抗原인 porcine insulin 과 錯物을 만들고 있으므로 結果적으로 抗原·第1·第2 抗體錯物이 되어 相對遠心力(relative centrifugal force, R.C.F) 1200g 程度에서 沈澱된다. RCF 는 (13)式과 같이 表示되며 回轉半徑이 20cm 程度라면 大略 3000rpm 에서 1200g 와 相當하게 된다.

$$RCF=N^2 \times r \times 1.118 \times 10^5 (g) \quad (13)$$

N: rpm, r: 回轉半徑(cm)

### 3.5.2. DCC 法

抗體와 結合하지 않은 抗原은 非特異的으로 탈크, 실리카겔粉末, 纖維素粉末, 陰이온交換樹脂, 活性炭粉末等에 잘 吸着된다. 이 가운데서 普遍的인 吸着劑는 活性炭粉末(norit)을 맥스트란으로 被覆한 懸濁液(dextran coated charcoal suspension)이다. DCC 에서 맥스트란은 sieve 로 作用하여 分子量이 작은 抗原은 맥스트란層을 透過하여 炭素粉末에 吸着되나 抗體처럼 큰 分子는 透過되지 않아 炭素粉末에 吸着되지 않는다. 따라서 인슈린等과 같이 分子量이 比較的 작은 抗原인 境遇에 限하여 DCC 法을 適用할 수 있다.

DCC 에 依해 吸着된 것은

再次 遊離되지 않는다. 抗原抗體錯物은 그 밖에도 硫酸암모늄, 硫酸소오다, 三鹽化食酢酸 다이옥산에틸알코올, 아세톤, 폴리에틸렌글라이콜 등에 依해 非特異的으로 沈澱될 수 있지만 定量的 沈澱分離는 어렵고 操作이 煩雜하므로 오늘날에는 抗體를 固相의 膨潤된 겔에 吸着시켜 抗原과 함께 定溫維持後 B,F 의 分離가 容易하도록한 固相抗體法(solid phase antibody method)도 一部 實用化되었다.

## 4. 그 밖의 放射리간드測定法들

### 4.1. CPBA

活性物質은 호르몬類等 測定對象物에 特異한 親和性을 보이는 非免疫性 글로브린이다 親和性을 보이는 호르몬들은 스테로이드類, 타이록신(T<sub>4</sub>), 비타민 D<sub>3</sub> 와 그 대사物質들 및 비타민 B<sub>12</sub> 等이다.

### 4.2. REA

酵素를 活性物質로 使用하며 酵素에 依해 生成된 放射放射性物質을 原來의 放射性物質로부터 分離하여 測定한다. 例로써 葉酸의 測定을 들 수 있는데 이때 酵素로써 葉酸還元酵素(folic acid reductase)를 使用한다.

### 4.3. RRA

이 境遇에는 部分精製한 組織收容體(tissue receptor)를 活性物質로 使用한다. 이 方法에 따르는 例로써는 ACTH, Cyclic AMP, cyclic GMP 等の 測定이다.

### 4.4. IRA

RIA 와 같으나 의예에는 抗原代身 잘 精製된 抗體를 標識하여 使用한다는 點만이 다르다. 이 方法의 例로써는 인슈린, 성장호르몬, 칼시토닌, 파라타이로이드 호르몬 等이다.

以上の 方法들中에서 RIA 가 一般的으로 가장 많은 長點을 갖고 있다. 優先 CPBA 와 比較할 때 測定の 感度나 特異性(specificity)面에서 斷然 RIA 가 優秀하며 또 測定試料들은 크로마토그래피나 그밖의 精製操作等이 必要없게 된다. 그래서 T<sub>4</sub> 測定에 있어서도 近來 CPBA 에서 RIA 로 바뀌는 趨勢에 있다.

RRA 에 있어서는 비록 이 方法이 免疫學的 活性을 測定하는 것이 아니고 生物學的 活性을 測定한다는 한 가지 利點이 있기는 하나 組織收容體를 同定分離할 수 있는것에 限定되는 制限點을 갖고 있다.

REA 는 抗體生産이 어려운 物質에 對해서도 測定이 可能하다는 長點은 있으나 測定時 構造와 크기가 類似한 두 化合物을 分離해야 하는 短點을 免치 못한다.

IRA 에 있어서는 RIA 에서의 blank 問題는 없지만 抗原과 抗體使用에 더 많은 費用이 들며 最初 測定方法 確立이 어려운 것이 短點이다.

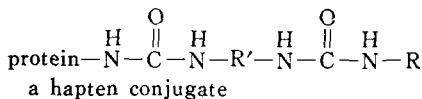
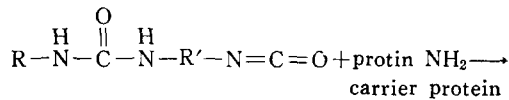
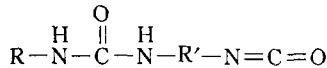
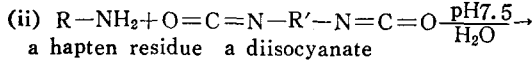
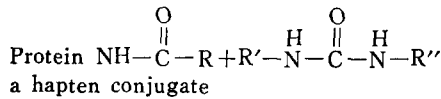
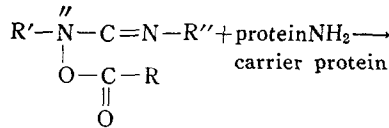
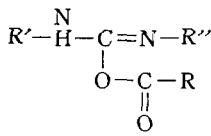
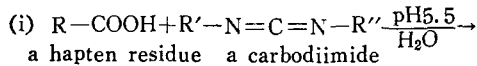
## 5. RIA 對象 擴大를 爲한 研究開發

RRA 를 爲한 收容體의 精製, 收容能의 點檢 等은 勿論이고 REA 를 爲해서도 여러가지 酵素系가 檢討되었다. 特記할만한 것은 작은 分子量을 가진 物質의 RIA 를 爲한 試圖이다.

### 5.1. Hapten Conjugate 製造研究

分子量이 작은 polypeptide (MW. 1000~5000)나 octapeptide 의 免疫能(immunogenicity)은 매우 낮아서 그들 hapten 에 對해서는 合成 peptide 나 自然生成蛋白質分子와 結合시켜 抗原應性(antigenic response)을 갖도록 해야 한다. ACTH, angiotensin II, deoxycorticosterone 等を 사람의  $\gamma$ -globulin 과 結合

시켜 hapten conjugate 를 만들면 그 抗體를 얻을 수 있으며<sup>3)</sup> 그 밖에도 human, bovine, rabbit 等の albumin 이나 合成 Peptide (poly-L-lysine<sup>4,5)</sup> poly-vinylpyrrolidone<sup>6)</sup> 等)도 hapten 의 carrier 로 사용된다. 또한 steroid hapten 에 對한 Coujugate 製造方法도 여러가지가 알려져 있다.<sup>7-11)</sup> Coupling agent 로 代表的인 것은 Carbodiimide 와 isocyanate 이며 아래와 같이 反應한다.



5.2. 抗體生産과 保存

抗原이나 hapten conjugate 를 動物에 免疫하여 抗體를 生産하는데 이 때 抗原은 普通 Complete Freund's adjuvant 와 섞어서 1~2週 間隔으로 3~6個月間 4~6회에 걸쳐 皮下注射한다. 免疫하는 物質과 같은 것을 動物體가 갖고 있으면 抗體生産이 안되며 免疫하려는 物質이 動物體內 物質과 判異할수록 抗體生成은 容易하다. 分子量이 작은 hapten 은 위에서와 같이 conjugate 로 만들어 注射하면 効果的이다. 돼지인슈린은 사람인슈린이나 토끼인슈린과 모두 類似하지만 게니아아퀸인슈린과는 매우 다르다. 돼지인슈린 抗體를 얻을 목적으로 토끼에다 그것을 注射하면 無意味하며 抗體는

生成되지 않으므로 반드시 게니아아퀸을 利用해야 한다. 動物은 個體老가 甚하므로 抗體生成이 잘되는 動物은 繼續 飼育하면서 booster injection 하여 抗體를 얻고 그 特異性, 親和性, 抗體價 等を 調査해야 한다.

抗體等 蛋白質은 얼렸다 녹이는 操作을 反復할 境遇 變成하므로 絶對로 避하여야 하며 可能하면 一旦 녹인 것은 쓰고 남아도 버리던가 4°C로 保管한 채로 試驗 하도록 한다. sodium azide 를 0.1%되게 添加하여 細菌汚染을 막도록 한다.

6. RIA 의 應用範圍와 臨床的 價値

오늘날 RIA 는 抗原을 純粹하게 얻을 수 있고 또 그것을 放射性同位元素로 標識할 수 있으며 免疫原으로 만들어 그 抗體를 生産할 수 있으면 어떤 微量物質이 體內에 測定이 可能하다. Table 2에 그 應用範圍를 紹介한다. 體內 微量物質과 疾病과의 相關關係가 立證됨에 따라 그 體內 微量物質의 濃度를 正確하게 測定하려는 努力이 繼續되어온 結果로 오늘날 RIA 는 疾病의 診斷, 治療經過의 追跡, 評價等に 重要한 資料를 주게 되었다. 이들 새롭고 正確한 情報을 얻으면 診斷은 매우 確實해진다. 特別한 入院手續이 必要없이 短時間에 患者의 症狀를 알아내고 그 疾病의 原因을 밝히는 RIA 는 이제 臨床家들에게 必須不可缺한 診療手段이 되었다. Table 3에 몇가지 RIA 의 重要性을 紹介하였다. 또 Table 4에는 RIA 의 한 例로써 인슈린 RIA 에 의한 糖尿病의 診斷 데이터를 紹介하였다.<sup>12,13)</sup>

7. 結 論

放射線同位元素의 體外 診斷的 利用은 주로 放射리간드測定을 통하여 이루어지고 있으며 그중에서도 放射免疫測定이 大宗을 이루고 있다. 測定對象은 주로 體內 微量物質인바 測定の 銳敏度 正確度 精密度 再現性 등에서 斷然 다른 方法보다 優秀하므로 醫療的 價値는 매우 크다. 測定結果는 直接 疾病의 診斷, 治療經過의 追跡等 科學的 診療를 爲해 活用되고 있다.

放射免疫測定이 確立되려면 純粹抗原, 放射性同位元素標識抗原, 抗體等 몇가지 基本要件이 갖추어진 위에 測定法確立을 爲한 技術的 問題가 따르게 되는데 이런 것들이 滿足된다면 放射免疫測定은 診療를 爲한 더 없이 훌륭한 tool 이 된다. 우리나라에서도 放射免疫測定이 普偏化되어 不可缺한 診療手段으로 活用됨으로써 迅速히 醫療技術의 發展이 이루어지기를 바라는 바이다.

## 참 고 문 헌

- 1) Berson, S. A. and Yalow, R. S.; Quantitative aspects of the reaction between insulin and insulin-binding antibody. *J. Clin. Invest.* **38**, 1966 (1959)
- 2) D. S. Skelley, L. P. Brown, and P. K. Besch; Radioimmunoassay. *Clin. Chem.* **19**(2); 146—186 (1973)
- 3) Rose, J. C. and Newsom, H. H. Jr.; The rapid production of antisera to ACTH, angiotensin II, and deoxycorticosterone with sufficient sensitivity for use in radioimmunoassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **35**, 469 (1972)
- 4) Haber, E., Koerner, T., Page, L. B., Kliman, B., and Purnode, A.; Application of radioimmunoassay for angiotensin I to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **29**, 1439 (1969)
- 5) Haber, E., Page, L. B., and Jacoby, G. A.; Syntheses of antigenic branchchain copolymers of angiotensin and poly-L-lysine. *Biochem.* **4**, 693 (1965)
- 6) Assan, R., Rosselin, G., Drouet, J., Dolais, J., and Tchobroutsky G.; Glucagon antibodies. *Lancet* II. 590(1965); Nonake, K., and Foa, P. P.; A radioimmunoassay of glucagon. In *Laboratory Diagnosis of Endocrine Diseases*, F. W. Sunderman and F. W. Sunderman Jr. Eds., Warren H Green Inc., St. Louis, Mo. (1971) p. 378
- 7) Goodfriend, L., and Schon, A.; Early approaches to production, analysis, and use of steroid specific antisera. In *immunologic methods in steroid determination*, F. G. Peron, and B. V. Coldwell Eds., Appleton-Century Crofts, New York, N. Y., 1970 p. 15
- 8) Gross, S. J.; Specificities of steroid antibodies. In *immunologic methods in steroid determination*, F. G. Peron and B. V. Coldwell Eds., Appleton-Century-Crofts, New York, N. Y. 1970 p. 41
- 9) Lieberman, S. Erlanger, B. F., Baiser, S. M., and Agate F. J. Jr.; Steroid-protein conjugates; their chemical, immunochemical, and endocrinological properties. *Recent Progr. Horm. Res* **15**, 165 (1959)
- 10) Niswender, G. D., and Midgley, A. R. Jr.; Hapten radioimmunoassay for steroid hormones. In *immunologic methods in steroid determinations*, G. G. Peron, and B. V. Coldwell Eds., Appleton-Century-Crofts, New York, N. Y. 1970. p. 149
- 11) Thorneycroft, I. H., Tillson, S. A., Abraham, G. E., Scaramuzzi, R. J., and Coldwell, B. V.; Preparation and purification of antibodies to steroids. In *immunologic methods in steroid determinations*. F. G. Peron and B. V. Coldwell Eds., Appleton-Century-Crofts, New York, N. Y., 1970 p. 63
- 12) Ohneda A., Toyota, T., Sato, S., and Yamagata, S.; *Tohoku J. Expt. Med.*, **100**, 75 (1970)
- 13) Jorgensen, K. R.; Radioimmunoassay of insulin in plasma and urine in obese subjects and in diabetes patients. *Acta Endocrinol.*, **60**, 719 (1969)