

臨床化学検査で用いられる色素と色原体

山舘周恒*†

*人間総合科学大学 埼玉県さいたま市岩槻区馬込1288 (〒239-8539)

† Corresponding Author, E-mail: shukoh_yamadate@human.ac.jp

(2017年5月29日受付, 2017年7月3日受理)

要 旨

臨床化学検査で最も利用されている測定法は吸光度法であることから、その測定試薬には色素や色原体が多く利用されている。血清タンパクの電気泳動では支持体上に分離されたアルブミンと $\alpha 1 \cdot \alpha 2 \cdot \beta \cdot \gamma$ -グロブリンの染色色素にボンソー Sやボンソー 3Rが使われている。また、総コレステロールや尿酸など多くの血清成分の測定では、試薬として酸化酵素を作用させて生じる H_2O_2 の発色にペルオキシダーゼの共存下で4-アミノアンチピリンとフェノールをはじめとした色原体が利用されている。さらに、酵素活性の測定では、吸光度法で検知するために二段、三段の共役反応系を組まれている。

臨床化学検査では、試薬を多量に使うことから毒性や発がん性がなく特殊な廃液処理を必要としないことが絶対条件である。またビリルビンや酸化ヘモグロビンなどの共存色素物質が存在する。この共存物質の影響を回避する目的で二波長測光が行われるが、反応生成物と共存物質の吸収帯が異なっている必要がある。このため長波長領域に吸収帯があって安定な発色を得る反応系が研究されている。

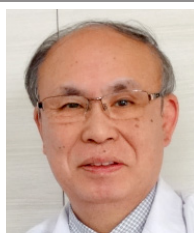
キーワード：臨床化学、キレート結合、POD反応、反応指示物質

1. はじめに

臨床化学検査の分析法の主流は吸光度法であるが、利用されている色素や色原体は意外と少ない。その理由の一つに、生化学自動分析装置での測定が広く普及していることが深く関わっている。たとえば、色素などの有色試薬は吸光度法で試薬盲検の吸光度が高く反応セルや試薬分注ノズル（ピペット）内に付着しやすく、コンタミネーションを引き起こす危険性が高い¹⁾。理想的には、無色透明な溶液試薬で長期安定であり、共存物質と吸収極大波長が重ならず長波長側で安定な発色が望まれる。

2. 色素の利用

臨床化学検査に用いられているおもな色素を表-1に示す。色素は病理標本の染色には多用されているが、それ自体が色を有していることから吸光度の測定を行う臨床化学検査では使用頻度は低下傾向にある。測定成分の反応形態から分類すると、最も一般的な色素結合、ほかにキレート結合、ジアゾニウム反応などに分けられる。



〔氏名〕 やまだて しゅうこう
 〔現職〕 人間総合科学大学人間科学部 特任教授
 〔趣味〕 旅行
 〔経歴〕 1981年東京理科大学理学部II部化学科卒業。
 1997～2004年藤田保健衛生大学大学院医学研究科生化学講座研究生（博士（医学）取得）。1981～2015年日本大学医学部附属板橋病院。2016年新渡戸文化短期大学客員教授。小島三郎記念技術賞（2004年）、緒方富雄賞（2007年）。

2.1 色素結合反応

生体成分はタンパクが15～20%、脂肪が13～20%、ミネラル5～6%、糖1%の構成であるが、この最も多く存在する血清タンパクは電気泳動法による分画でボンソー 3R（CAS番号：3564-09-8, CI番号：16155）やボンソー S（CAS番号：6226-79-5, CI番号：27195）で染色される。さらに、脂質分画では染色にオイルレッドO（CAS番号：1320-06-5, CI番号：27195）やズダンIII（CAS番号：85-86-9, CI番号：26100）が用いられる。最初、セルローズアセテート膜を用いた電気泳動法による血清タンパク分画が報告されたときボンソー Sが使われたが、わが国に導入された際はボンソー Sが入手困難であったことから食用赤色色素1号（ボンソー 3R）を用いることになった経緯がある²⁾。

血清アルブミンの定量にはプロモクレゾールグリーン（BCG, CAS番号：76-60-8）やプロモクレゾールパープル（BCP, CAS番号：115-40-2）が使われている。このBCGとBCPはともにサルトン系のpH指示薬であり、表-1の構造式に示すようにBCGのベンゼン環の一か所のBrがメチル基に置換されたのがBCPである。BCGは非イオン性界面活性剤のBrij 35の存在下でアルブミンと結合すると、溶液のpH変化なしで色調が変わる。この現象を“タンパク誤差（メタクロマジー）”と呼び、血清アルブミンの測定に古くから利用されている。このBCG法に代えてBCPを利用すると感度は若干低下するが、アルブミンとの反応の特異性が高いことからわが国では広く利用されるようになってきている。

2.2 キレート結合

基本構造がエチレンジアミン四酢酸（EDTA）に類似し、金