

# モノクローナル抗体の作製 － 免疫 －

2014.10.14

大阪バイオメディカル専門学校  
バイオ学科

# モノクローナル抗体 (monoclonal antibody)

- ただ一種類のB細胞 (モノクローン) から産生された混じりのない抗体。1つの抗原に対してのみ結合する。
- 実用化されている技術
  - 抗体製剤 (抗がん剤)
  - 免疫抑制剤 (抗耐性剤)
  - 妊娠検査薬 など

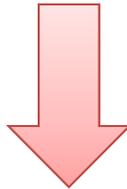


# 抗体作製の流れ



# 免疫抗原 (OVA) の試薬調製

- 200 $\mu$ g/mL OVA/DPBS(-) 750  $\mu$ L
- Freund's Complete Adjuvant 750  $\mu$ L



5 mL テストチューブ中で懸濁

## エマルジョンを作製

(白濁し、粘性が高くなったら完成)

アジュバント(免疫賦活剤)は、抗原と共に投与することで免疫原性を増強する役割を果たす。Complete Adjuvantはマイコバクテリアを含み、マクロファージや他の細胞を活発化させることで免疫原性を増強させる。<sup>1)</sup>

初回免疫は、Complete Adjuvantを使用し、2回目からは、Incomplete Adjuvantを使用する。

1) Santa Cruz Biotechnology社HPより引用

<http://www.scbt.com/datasheet-3727-freunds-complete-adjuvant.html>

# 抗原投与 (priming)



Fig.1 マウスの皮下注射の方法

(1) テルモシリンジ(18G)に抗原を0.2 mL以上充填する。

(2) タップして空気を抜き、0.2 mLまで減らす。

(3) 注射針を27Gに交換する。

(4) マウスを保定し、背中を消毒する。

(5) 注射針を皮膚に沿うように浅く刺し、抗原を緩やかに打ち込む。

(※) 必ず皮下であることを確認する。

# 採血



Fig.2 マウスの保定方法

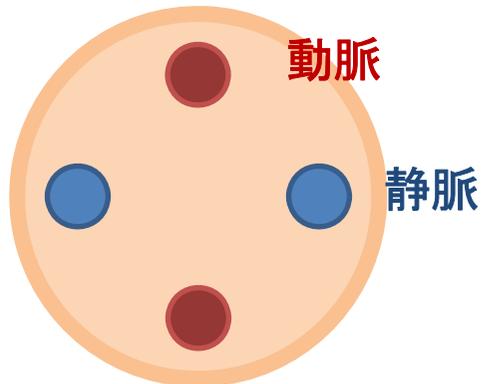
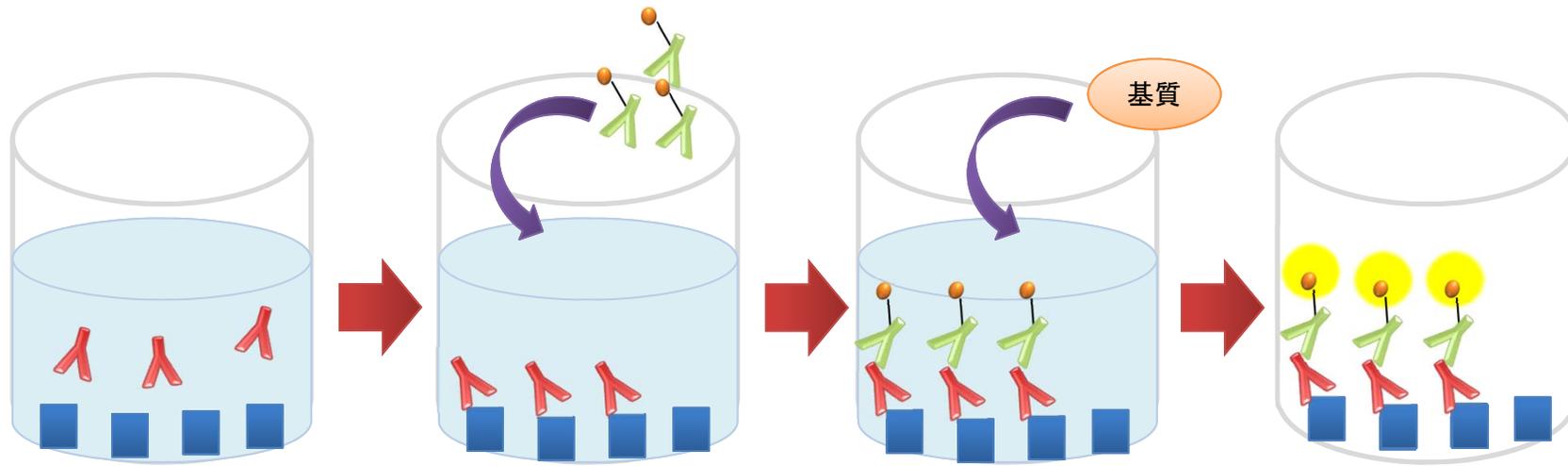


Fig.3 マウス尾部の断面

- (1) マウスを保定する。
  - (2) 尾部を親指と人差し指で鬱血させる。(Fig.2)
  - (3) アルコール綿で消毒し、グリースを塗布する。
  - (4) 尾を斜め45°Cに傾け、カミソリで血管を切る。
  - (5) 5  $\mu$ Lの血液を採取し、1.0 mL DPBS(-)の入った1.5 mLチューブへ移す。
- このサンプルは抗体価チェックへ

# 抗体価測定 (ELISA)



抗原を固相化し、  
検体を添加。

酵素標識抗体を添加。  
抗原・抗体反応(一次反応)

酵素基質と反応  
させる。

発色。  
吸光度を測定して、検体  
中の抗体価を測定する。

■ 抗原(OVA)

Y 検体(血液)

Y 酵素標識二次抗体

● 酵素反応

最終免疫後に血中抗体価の測定を行い、十分な力価であることが確認できれば、免疫マウスの脾臓を摘出し、ミエローマ(P3U1)と細胞融合させる。