

## 免疫学的測定法（イムノアッセイ）

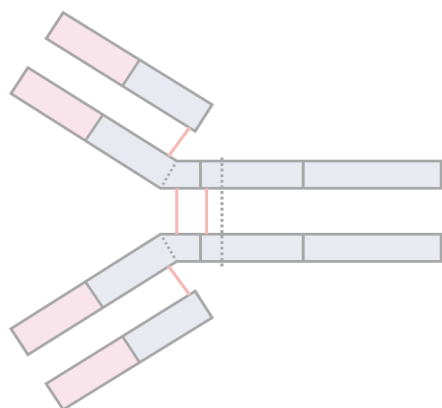
免疫反応を利用して物質を分析する方法

抗体に抗原を認識させる（抗原抗体反応を利用する）ことにより、物質を定量する分析法であり、**多成分一斉解析には不向きであるが、高感度な測定が可能である。**

また、合成医薬品やステロイドホルモンなどの低分子からタンパク質や核酸などの高分子までさまざまな物質の定量に用いられる。

### 抗体

イムノアッセイでは、主に **IgG** が用いられる。



2本の重鎖（H鎖）と2本の軽鎖（L鎖）で構成されている

H鎖とL鎖はそれぞれ**定常部（C領域）**、**可変部（V領域）**に区分される

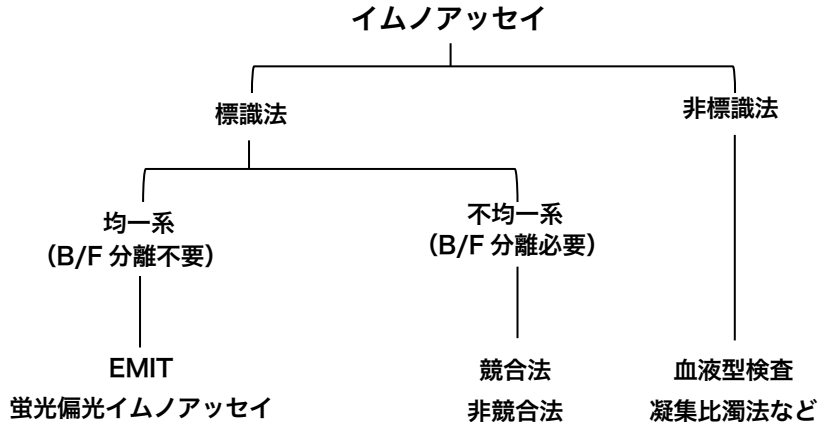
化学構造上の微妙な違い（官能基の位置、立体配置、種類）を認識し、抗原と特異的に結合する抗体と抗原が結合する際には、可変部を構成するアミノ酸の一部が特定の抗原との間に相互作用（水素結合、静電力、ファンデルワールス力、疎水性相互作用など）が働く

#### ●低分子の測定

特異抗体と結合はするが、免疫反応を起こすことができない低分子を**ハプテン**というハプテンに免疫原性を持たせるためには、**タンパク質などの高分子と結合させる必要がある**

1種類のエピトープ（抗原決定部位）に結合するモノクローナル抗体でも、**交差反応（抗体が目的抗原と類似する物質と反応）を示すことがある。**

免疫アッセイの分類



標識法

標識免疫測定法	概要
ラジオ免疫アッセイ (RIA：放射免疫測定法)	抗原（または抗体）を放射性同位元素（ <sup>125</sup> I、 <sup>131</sup> I、 <sup>3</sup> H）で標識 感度が高い B/F 分離を必要とする
酵素免疫アッセイ (EIA：酵素免疫測定法)	抗原（または抗体）を酵素で標識 酵素反応を比色、蛍光、化学発光で追跡 B/F 分離を必要としないものもある（EMIT など）
蛍光免疫アッセイ	標識物質に蛍光色素を用いる
発光免疫アッセイ	標識物質に化学発光物質、生物発光物質を用いる

●ELISA

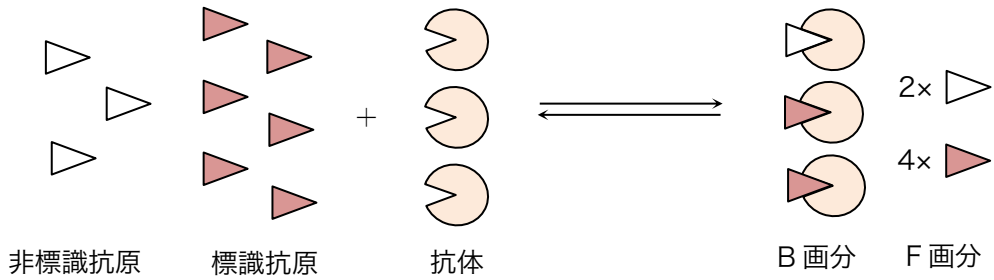
酵素免疫アッセイ（EIA）の一種  
抗体または抗原を固定化した固相（マイクロプレートなど）が用いられる  
プレート専用の洗浄装置があり、多くの試料を簡便にかつ迅速に分析することが可能である  
ため、臨床検査や基礎研究で幅広く利用されている

## B/F 分離する方法 (不均一系)

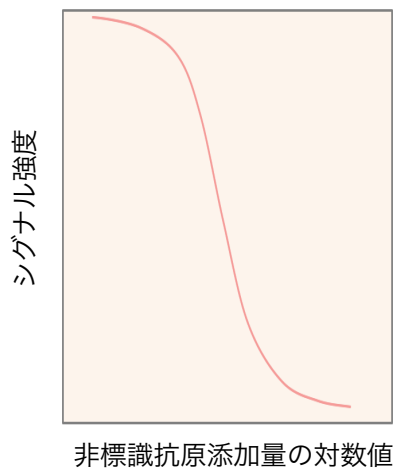
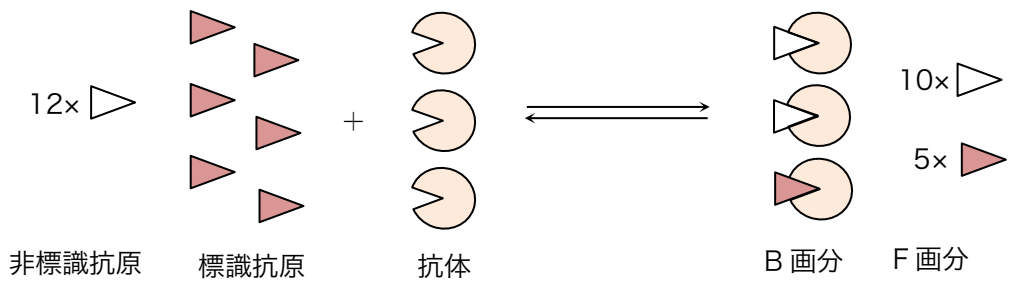
### 競合法の原理

一定量の抗体に対して、一定量の標識抗原 (何らかのシグナルを発する物質を抗原に結合させたもの) と非標識抗原を競合的に反応させる

#### 非標識抗原が少ない場合



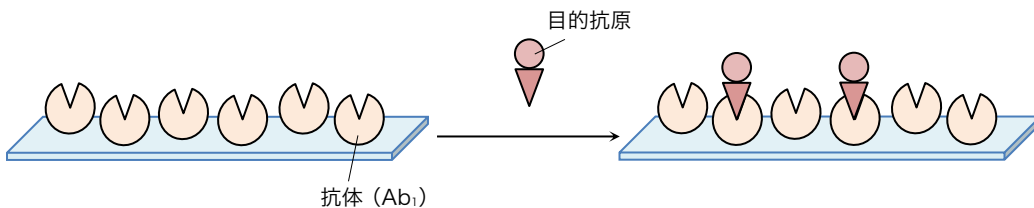
#### 非標識抗原が多い場合



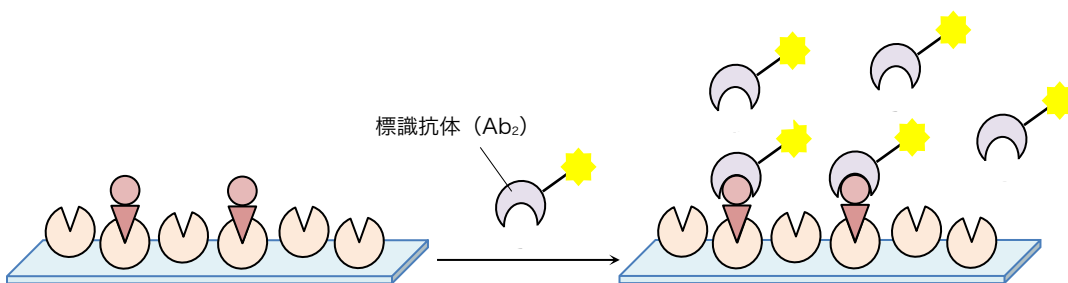
### 非競合法の原理

測定対象の抗原に過剰量の標識抗体を反応させて、形成される免疫複合体の量を標識シグナル強度から求める

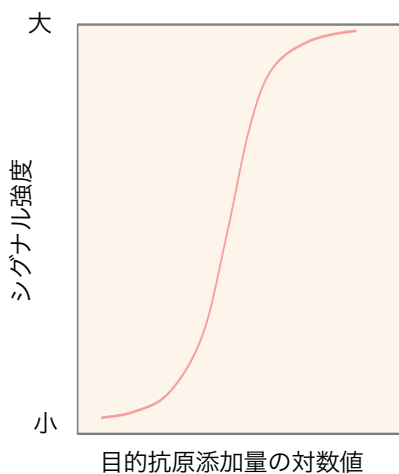
一定過剰量の抗体( $Ab_1$ )を固定化した固相に、目的抗原を添加し補足させる



過量の標識抗体 ( $Ab_2$ ) を添加する



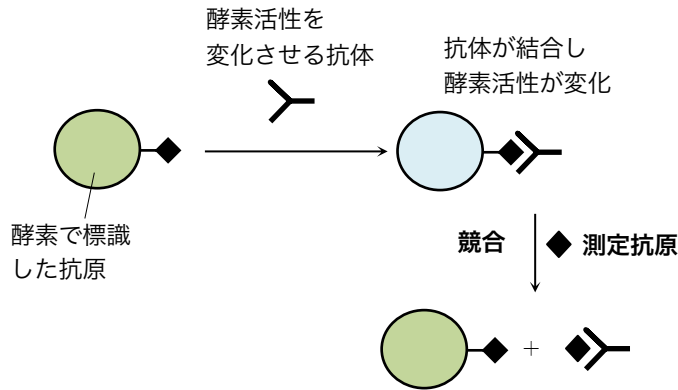
固相を洗浄して B/F 分離した後、固相上に残存する標識が発するシグナルを測定する



## B/F 分離なしに測定する方法 (均一系)

### ●EMIT : enzyme multiplied immunoassay technique

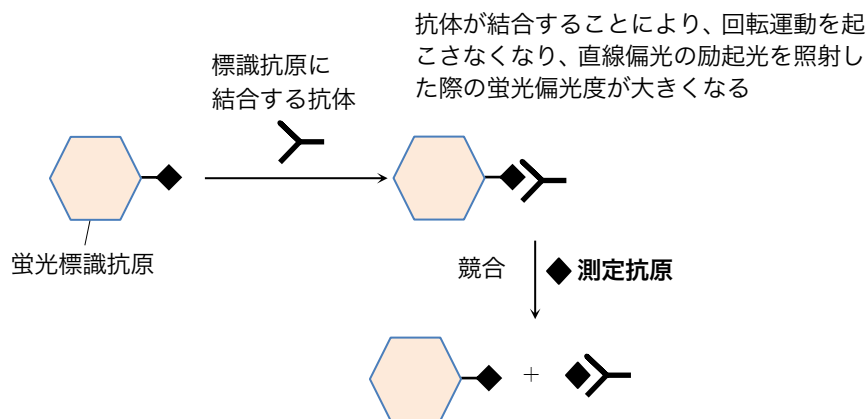
酵素で標識した抗原に抗体が結合すると酵素活性が変化（阻害または活性化）することを利用した方法



測定抗原の添加量に応じて酵素の活性がもともどもどるため、酵素活性を測定することにより、測定したい抗原の量を求めることができる

### ●蛍光偏光イムノアッセイ

蛍光の偏光を利用した方法



測定抗原の添加量に応じて蛍光物質で標識した抗原が遊離し、偏光度の減少が認められる偏光度を測定することにより測定した抗原の量を求めることができる

## 非標識免疫アッセイ

### ●免疫比濁法

