

体に侵入した分子を認識する抗体

1. はじめに

免疫とは、免疫系や病気の原因のある体外の微生物や分子から自分を守っている仕組みのことです。免疫系には次のような3つの基本的働きがあります。

- ①侵入者（異物）を認識する。
- ②侵入者に対して適切な対応をして体を守る。
- ③次に侵入者と遭遇した場合に素早く対応する。

ホ乳類の免疫系は驚くほどの特異性で侵入分子を認識する「抗体」と呼ばれる分子を産生します（図1）。「抗体」はまるで「魔法の弾丸」のように体中に広がりその標的に結合します。「抗体」は体外からの異物（抗原）と結合することにより、他の細胞と異物を区別し、異物だけを破壊します。「抗体」は極めて重要なハイテクツールとして、バイオテクノロジー研究や病気の診断および治療に用いられています。

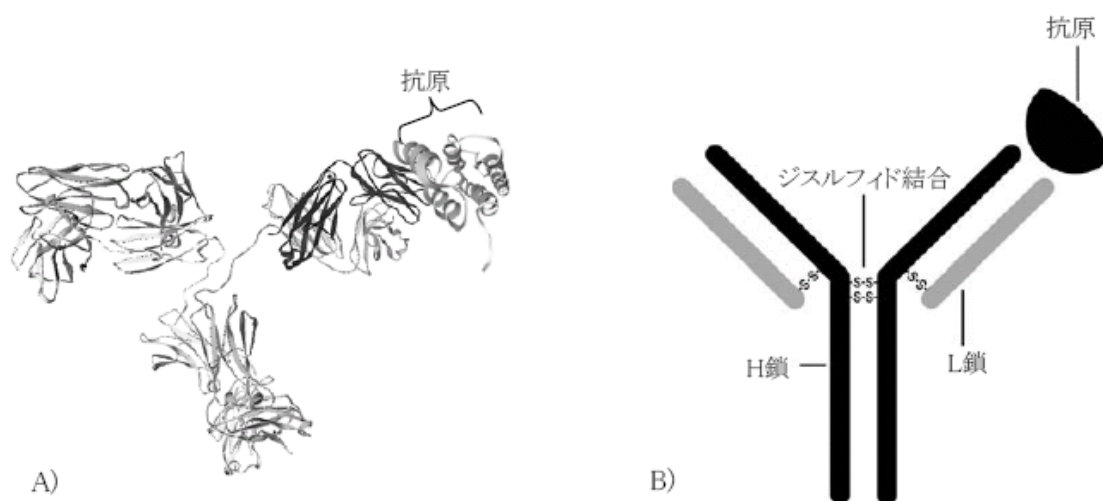


図1 抗体の構造（A）とその模式図（B）

2. 抗体を用いた検査法：ELISA（固相抗体免疫測定法）

これから実施する実験では、「体液（シミュレーション用）」サンプルをクラスメートと交換します。交換してからELISA（固相抗体免疫測定法）という検査法で、伝染性の「病気」に感染しているかどうかを判定します。抗体を

用いるELISAでは、血中またはその他の体液中からウイルス、バクテリア、または寄生虫などの病原体の有無を検出します。次にその病気の発生源をつきとめます。

この抗体をベースとした検査法は、HIV/AIDS（エイズ）などの疾患診断に、また水中・食物中および空気中の病原因子の検出に利用されています。また、遺伝子組換え作物の特定や、食物アレルギーおよび妊娠や薬物使用の検査にも用いられています。

3. 免疫反応

冒頭で述べた様に、人間の身体は病原体に感染すると、免疫反応を開始します。身体が免疫反応を引き起こす物質は抗原と呼ばれています。バクテリアやウイルスおよびカビなどのような感染性物質も含めて、どのような分子でも抗原になりえます。数日間のうちに何百万という「抗体」（抗原を認識して抗原に極めて強力に結合するタンパク質）が体内で産生され、血流中を循環するようになります。抗体は「魔法の弾丸」のように標的である抗原を探し出して結合し、免疫系の細胞がその侵入者を破壊できるように目印をつけます。

血中を循環している数々の抗体の種類は100万から1000億の間であると考えられており、通常どのような抗原に対しても対応できる抗体があります。実際、抗体は身体の血清タンパク質全体の15%を占めています。抗体は極めて特異的であり、1つの抗体は一種類の抗原だけを認識します。

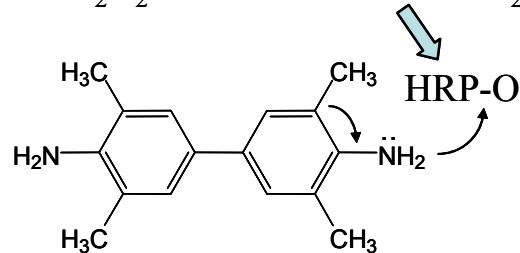
4. 1次抗体

科学者は、病気を診断したり、検出したりする方法としてすでに免疫応答というしくみを利用しています。ニワトリ、ヤギ、ウサギ、およびヒツジなどの動物に抗原を注射すると、一定時間後には血清中にその抗原を特異的に認識する抗体ができます。この抗原が病原体であれば、このようにして作らせた抗体を利用し、その病気の診断検査法を開発できます。免疫測定法において、病原体のような抗原の認識に用いる抗体は1次抗体と呼ばれます。この1次抗体が免疫試験法に特異性をもたらしています。

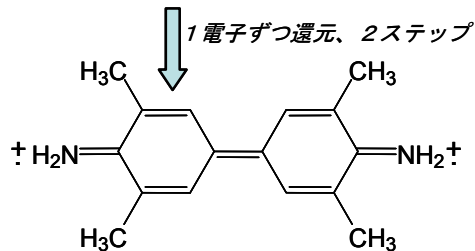
5. 2次抗体

抗体を利用したもう1つの道具である2次抗体も同様な方法で作製されます。免疫測定法の場合、2次抗体は別の動物種から得られた抗体である1次抗体を認識して結合します。2次抗体は、ある動物種で産生された抗体を別の種に注射して作製します。別の動物種から得られた抗体は種類が違っているため、免疫応答を引き起こすこととなります。

例えば、ヒト1次抗体を認識する2次抗体を作製するには、ヒト抗体をウサギなどの動物に注射します。ウサギが免疫応答を開始すると、ウサギの血清にはヒト抗体を認識し結合する抗体が含まれるようになります。2次抗体を西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) のような酵素で標識すると、基質であるTMBの存在下で青色を発色します(図2)。このような抗体と酵素の仕掛けがELISAの原理となっています。



3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMB) <無色>

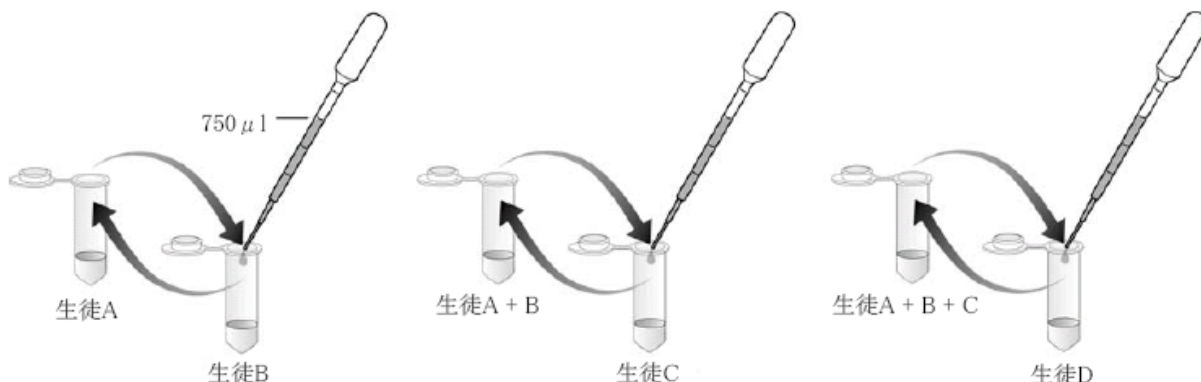


TMBのキノンイミニウムダブルカチオンラジカル<青色>

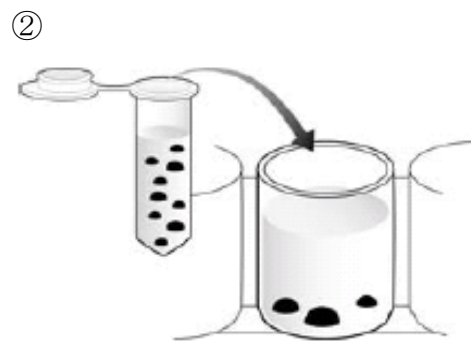
図2 発色検出法：HRPによるTMBの酸化

6. 実験概要

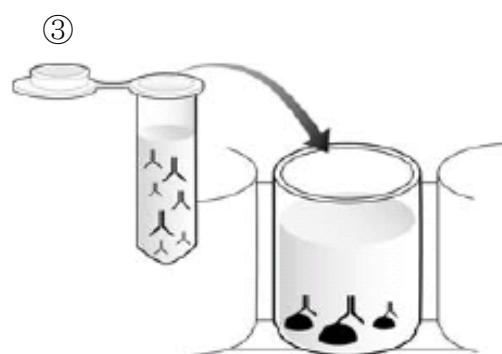
①自分の体液(シミュレーション用)をクラスメートとランダムに交換します。



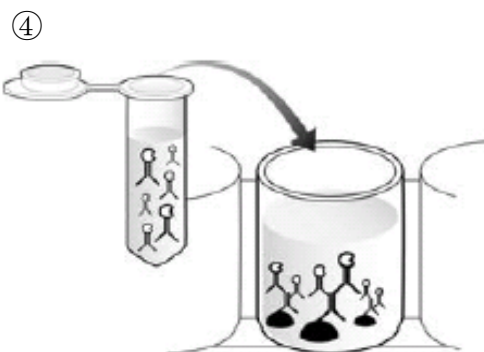
②交換後のサンプルとコントロールサンプルとをマイクロプレートストリップのウェルに入れます。自分のサンプルには沢山のタンパク質、それから病原体（抗原）を含むこともあれば含まない場合もあります。5分間インキュベーションしてサンプル中のタンパク質をプラスチック製のウェルに疎水性相互作用によって吸着させます。



③抗病原抗体（1次抗体）をウェルに加えてインキュベーションします。一次抗体は、ウェルに結合している多くのタンパク質の中から抗原を探し出します。サンプルが「感染」していた場合に、一次抗体はウェル内の病原体（抗原）にしっかりと結合します。



④結合した抗体をHRP標識した2次抗体で検出します。1次抗体が抗原に結合していれば、2次抗体が1次抗体にしっかりと結合します。



⑤酵素基質をウェルに加え、5分間放置し、測定結果を評価します。病気の抗原がサンプル中にあれば、ウェルは青色に変わります。この場合診断は陽性となります。ウェルが無色のままであれば、サンプル中に病気の抗原は存在しておらず、診断は陰性となります。

