

岐阜県臨床検査技師会  
令和6年 新人サポート研修会 御中

## 免疫測定法の基礎

---

2024年 6月 2日

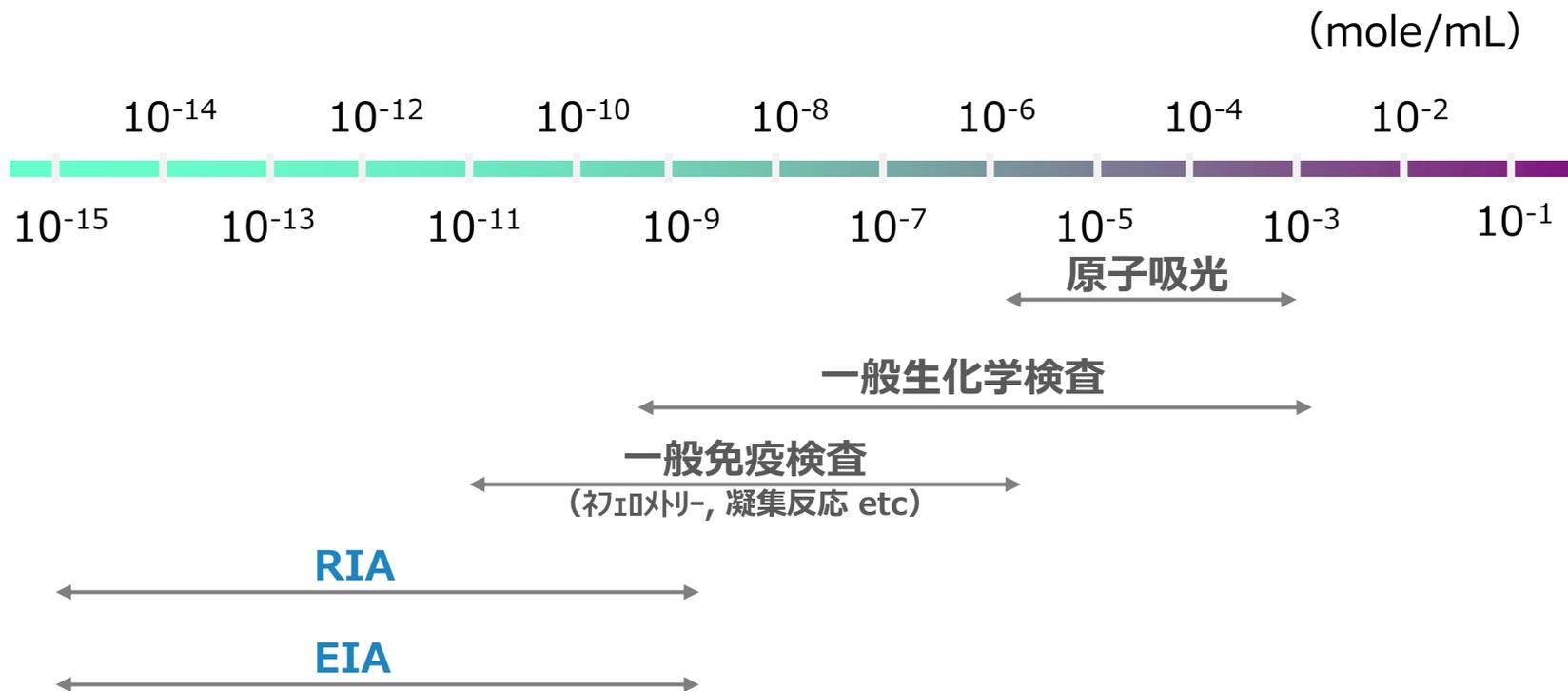
富士フイルム和光純薬株式会社  
西日本学術部 小形 聡

1. 免疫測定法とは
2. 免疫測定法の分類
3. 免疫検査に求められること
4. まとめ

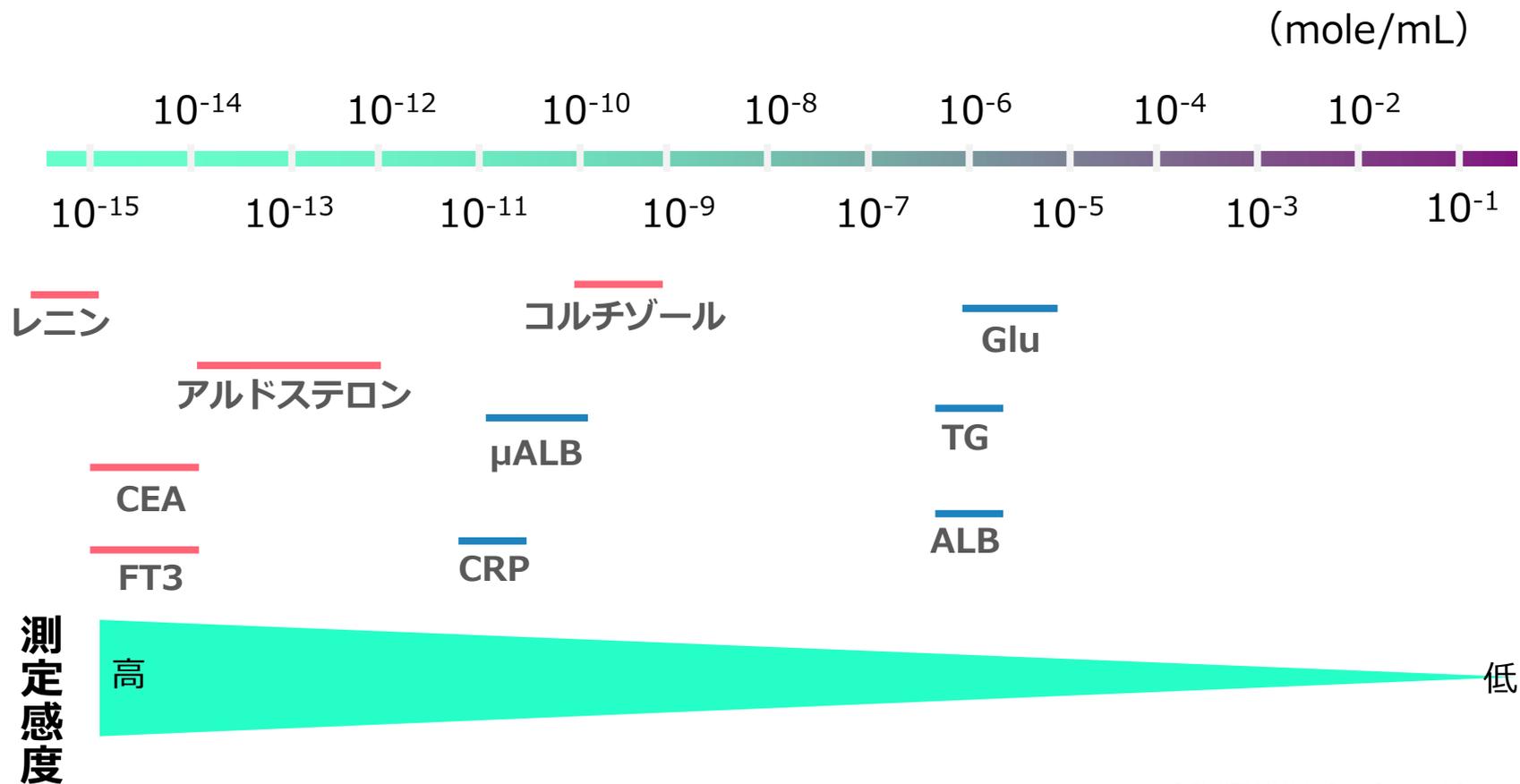


## 免疫測定法とは

# 免疫測定法とは



# 免疫測定法とは



## 主な免疫測定項目一覧

### 腫瘍

AFP、CEA、CA19-9、  
CA125、CA15-3、PSA など

### 糖尿病

Cペプチド、インスリン など

### 甲状腺

TSH、FT3、FT4、T3、T4、  
T3接種率、抗TG抗体、抗TPO抗体 など

### 敗血症

PCT など

### 感染症/ウイルス

HA-IgG抗体、HA-IgM抗体、HBs抗原、HBs抗体、HBs抗原確認、HBe抗原、  
HBe抗体、HCV抗体、HIV、抗TP抗体、Toxo IgG、Toxo IgM、  
Rub IgG、Rub IgM、CMV IgG、CMV IgM など

### ホルモン

LH、FSH、プロラクチン、E2、プロゲステロン、総テストステロン、  
コルチゾール、インタクトPTH など

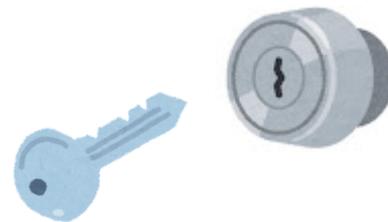
## 抗原と抗体の反応を利用した検査

鍵と鍵穴の関係 特異的で結合の親和力も大きい

→ごく微量の標的物質を極めて

特異的に容易に測定できる

高分子物質～低分子物質



抗原検査：

ホルモン、血漿タンパク、病原体の抗原 etc

抗体検査：

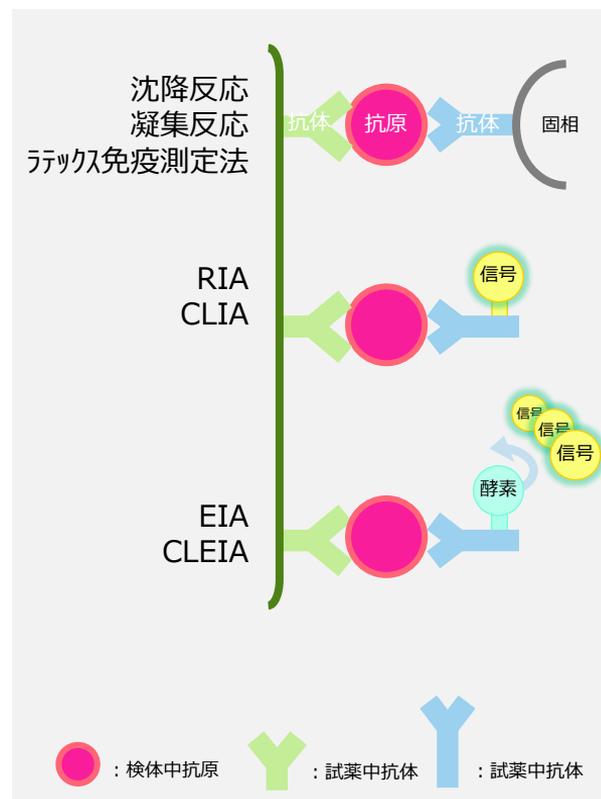
各種病原体に対する抗体、自己に対する抗体 etc



## 免疫測定法の分類

# 免疫測定法の分類

分類	測定法	標識	検出	
標識法 (定量)	RIA	放射性免疫測定法	ラジオアイソトープ	放射能
	EIA	酵素免疫測定法	酵素	発色
	CLIA	化学発光免疫測定法	化学発光物質	発光強度
	CLEIA	化学発光酵素免疫測定法	酵素-化学発光物質	発光強度
	ECLIA	電気化学発光免疫測定法		
	FIA	蛍光免疫測定法	蛍光物質	蛍光強度
			金コロイド	
	ラテックス免疫測定法	ラテックス粒子	濁度、粒子量	
沈降反応	NIA	比ろう法		
	TIA	比濁法		
		ラテックス免疫比濁法		
凝集反応		ラテックス凝集		
		赤血球凝集		



- ◆ 反応の様式

  - 競合法、サンドイッチ法 1ステップ/2ステップ

- ◆ 洗浄

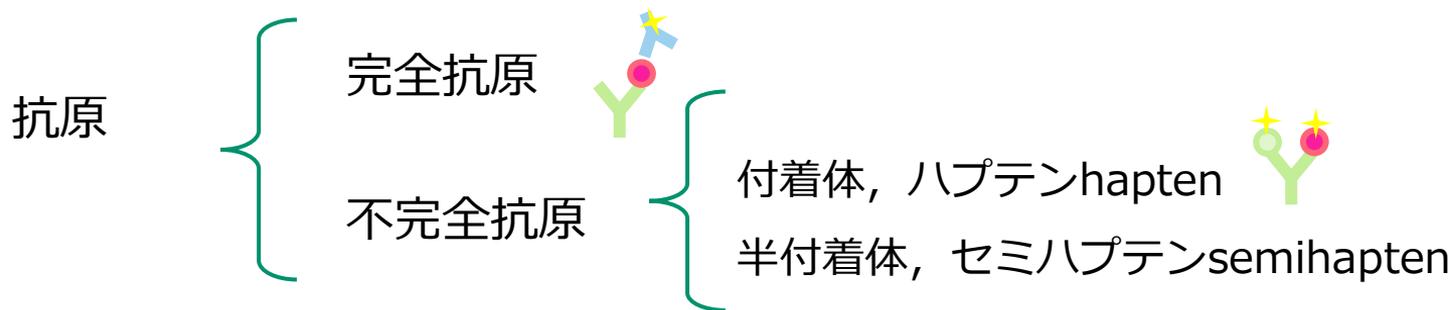
  - B/F分離の有無・回数

- ◆ シグナル物質による標識が必要か

- ◆ 抗体の種類

  - モノクローナル抗体・ポリクローナル抗体

# 抗原の分類



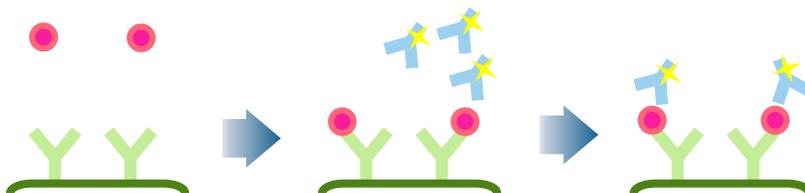
完全抗原 : 抗原として二つの働きを発揮するもの、すなわち生体内では抗体を産生させる能力をもち、試験管内では産生された抗体と反応する。

不完全抗原 : 完全抗原の二つの特性のうちいずれかを欠くもの。ハプテンはその物質単独では抗体を作る能力は持たないが、抗体と反応する。

# 反応の様式

## ◆ サンドイッチ法(非競合法)

固相抗体による抗原量の測定

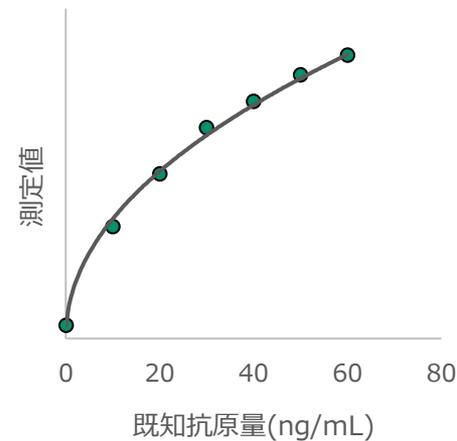


固相抗原による抗体量の測定



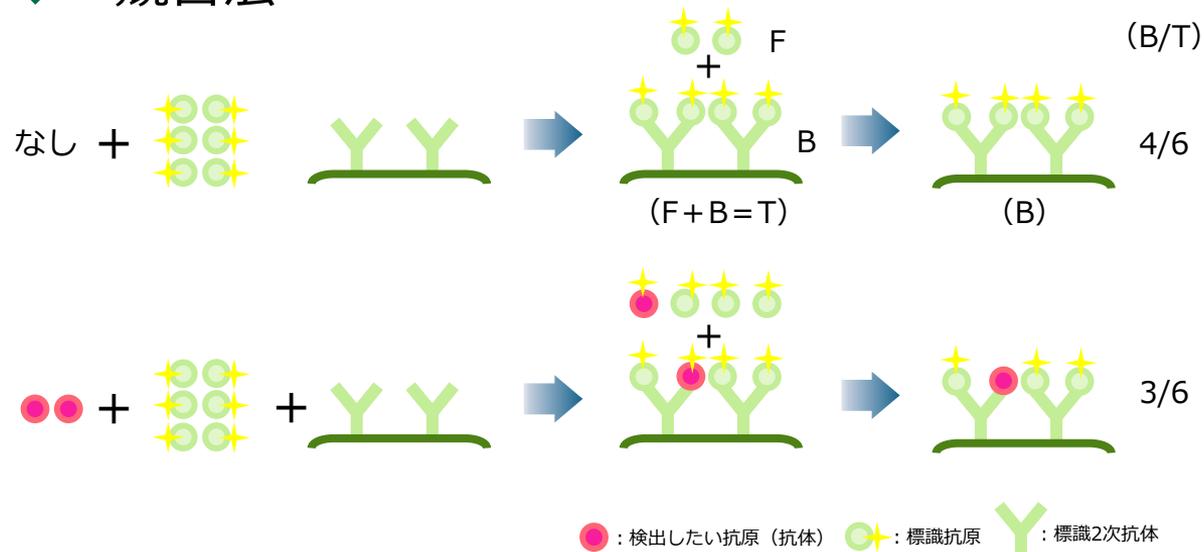
Y● : 検出したい抗原 (抗体)    Y : 標識抗体    Y : 標識2次抗体    ★ : 標識物質    ● : 抗原

サンドイッチ法による  
標準曲線の一例

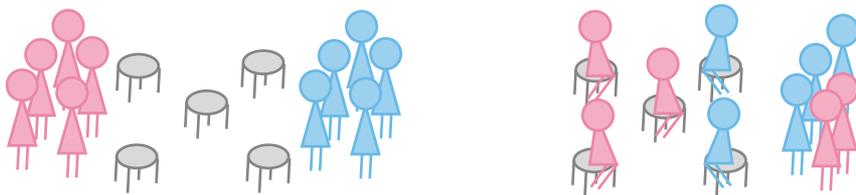
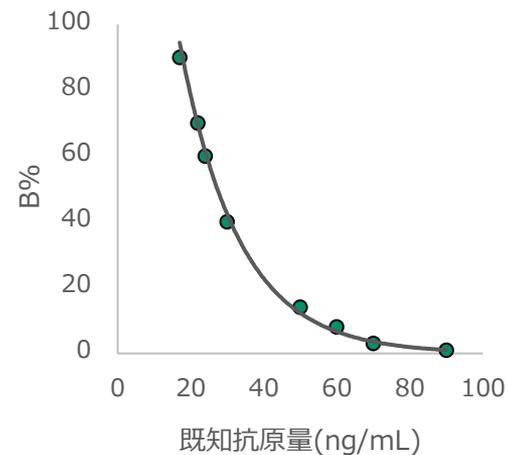


# 反応の様式

## ◆ 競合法

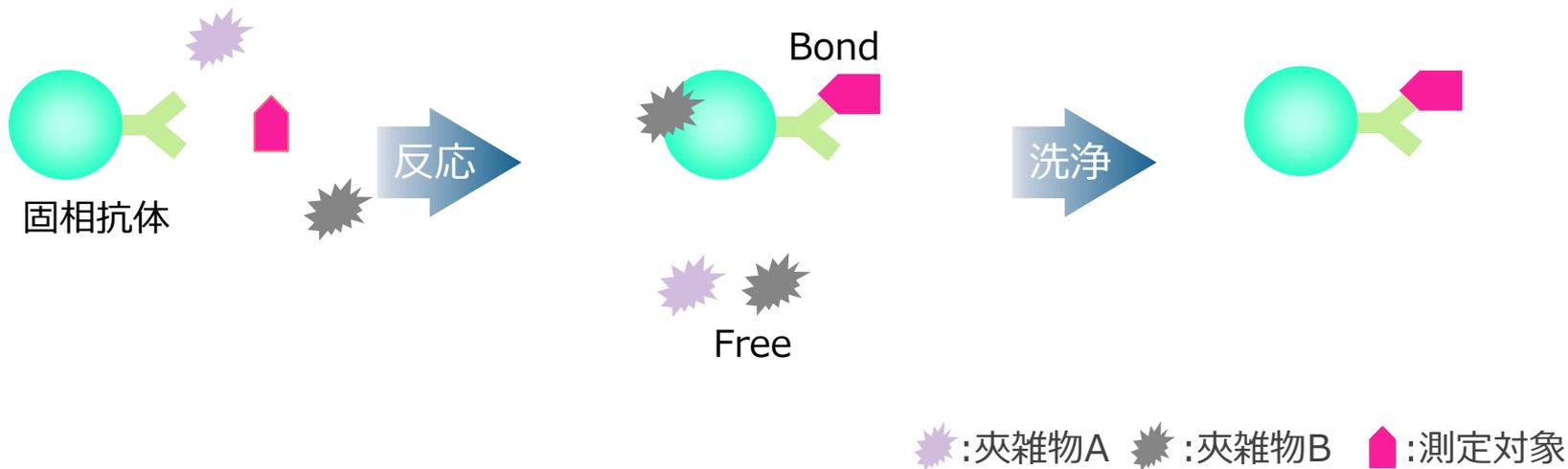


競合法による標準曲線の一例



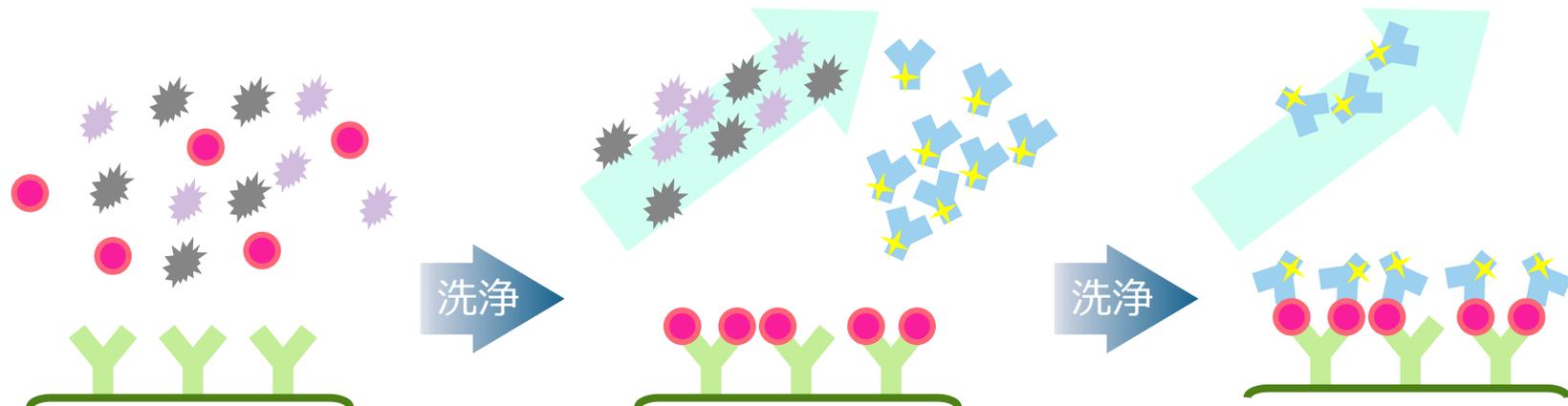
## B/F分離（洗淨）

- ・微量物質を高感度に測定するためには、B/F分離(洗淨)によって、夾雑物や非特異反応物質を取り除かなければならない。
- ・固相は、B/F分離の際に目的物を逃がさないようにする。礎のようなもの。



## 2ステップ法 (B/F分離)

- ・ 微量物質を高感度に測定するためには、B/F分離(洗浄)によって、夾雑物や非特異反応物質を取り除かなければならない。
- ・ 固相は、B/F分離の際に目的物を逃がさないようにする。礎のようなもの。



Y:抗体 + :標識抗体 \* :夾雑物A \* :夾雑物B ●:測定対象

## 免疫検査に求められること

---

### ◆ 臨床的有用性

診断の一助になる検査  
投薬量を変える指標 etc

### ◆ 高感度、精確性

特定の疾患の可能性の確認

### ◆ 迅速性

迅速な対応が必要な疾患の診断

パターン①：病院

- ・ 治療の一助になる検査結果が出せる
- ・ 待ち時間が減る
- ・ 結果を聞くための来院が減る

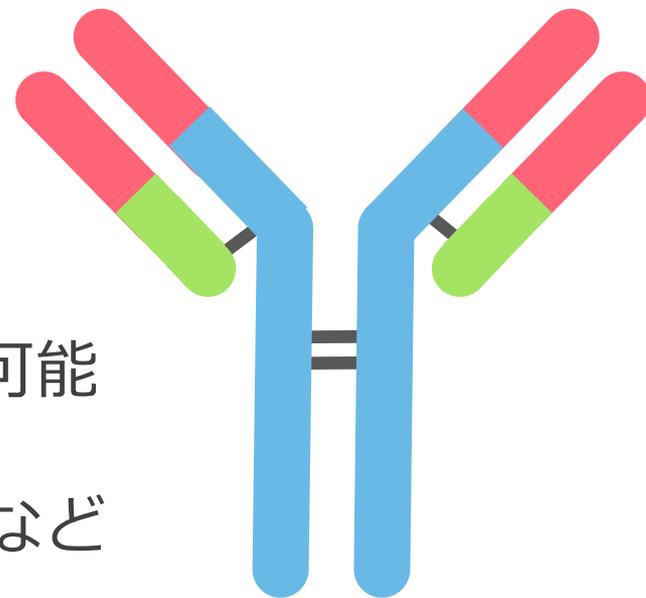
パターン②：検診

- ・ 当日結果報告(受診者へのサービス)

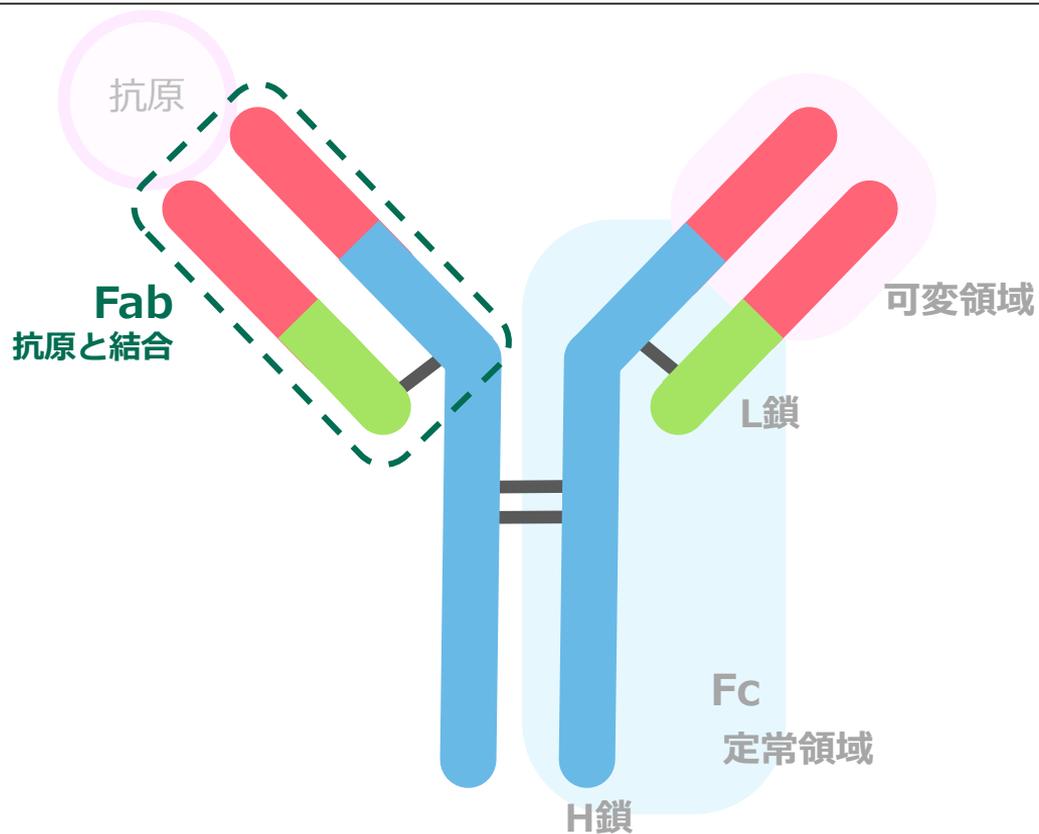
## 抗体の条件

- ◆ 特異性が高い
- ◆ 一定品質品の安定的入手が可能

など



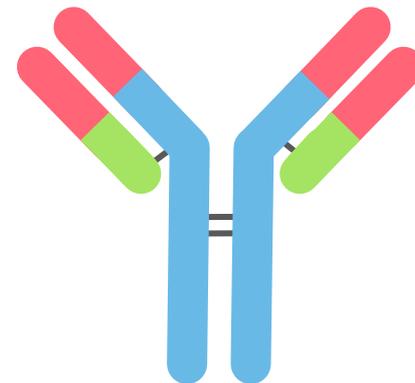
# 測定試薬使用抗体



## 測定試薬使用抗体

例) PCT試薬

	抗カルシトニン抗体	抗カタカルシン抗体
A試薬	<b>ポリクロ</b> (ヒツジ由来)	<b>モノクロ</b> (マウス由来)
B試薬	<b>モノクロ</b> (マウス由来)	<b>モノクロ</b> (マウス由来)



	<b>ポリクローナル抗体</b>	<b>モノクローナル抗体</b>
作成	精製抗原をその都度動物に免疫して得る	抗原を免疫し、ハイブリドーマが樹立すれば以降は不要
抗原結合の特異性	原則高いが交差反応性の可能性がある	高い
抗原結合力	高い	低い～高い



## EIA法について

## EIAの特徴

---

- ◆  $(10^{-15} \text{ mole/mL})$  の物質の定量も可能
- ◆ 感度はRIA法と同等
- ◆ Non-isotopicなため、取り扱いが容易
- ◆ RI 用の特別な装置・設備が不要
- ◆ 放射能障害や廃棄の心配がない
- ◆ 酵素試薬はアイソトープに比べ安定で長期間保存可能

- ① 酵素
- ② 抗体
- ③ 酵素標識抗体
- ④ 固相抗体
  
- ③ 酵素標識抗体（標識抗体に用いられる酵素の条件）
  - 測定及び保存状態が安定
  - 安価に入手可能
  - 酵素活性測定の簡便性、高感度、速度
  - 簡単に抗原・抗体に標識可能で、活性の低下・失活がおこらない

## よく使用されている酵素

---

酵素	SOURCE
ペルオキシダーゼ	西洋わさび
アルカリフォスファターゼ	牛腸粘膜または大腸菌
B-ガラクトシダーゼ	大腸菌
グルコアミラーゼ	くものすかび
グルコースオキシダーゼ	黒カビ

## 免疫検査は新たなステージへ

自動化学発光酵素免疫分析装置  
**Accuraseed®**

**全項目10分の迅速測定**を実現



・180テスト/hの処理速度

**FUJIFILM**  
Value from Innovation