

Antibody 是

最方便取得之

專一性探針與

多樣操作平台

莊榮輝部份課程

- (1) 共上課三次 9/20, 10/4, 10/18 (隔週上)
- (2) 一次上完 100 min 可以自行安靜出入
- (3) 禁止出現手機，講課期間不需要筆電
- (4) 上網以『莊榮輝單株抗體』搜尋講義
- (5) 下載兩次上課講義：mAb 及 Ana 8.3
- (6) 上課可隨時發問另以抽籤請同學回答
- (7) 第三週解題 Ana 8.3，課前先自行解題
- (8) 假設同學都未修過免疫學之相關課程
- (9) 把握機會把免疫化學基礎徹底弄清楚

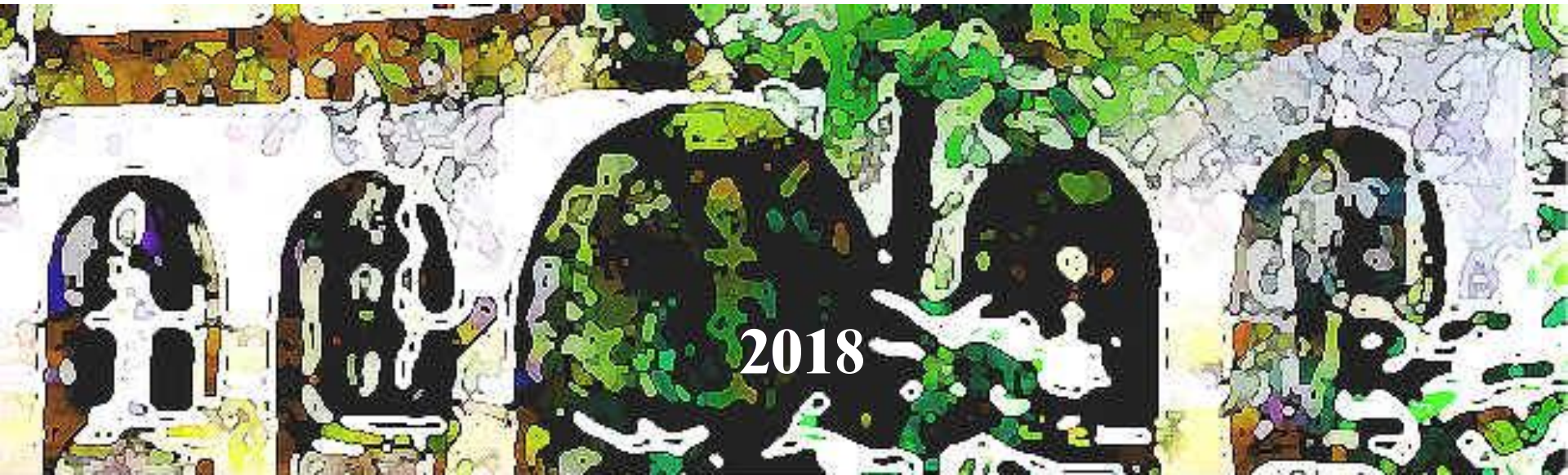
基礎免疫化學與單株抗體

Monoclonal Antibody

單株抗體 (奈米探針)

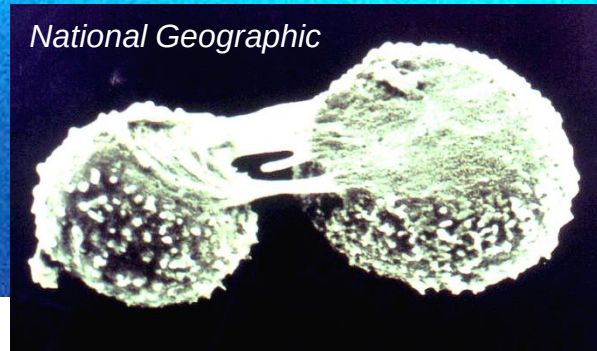
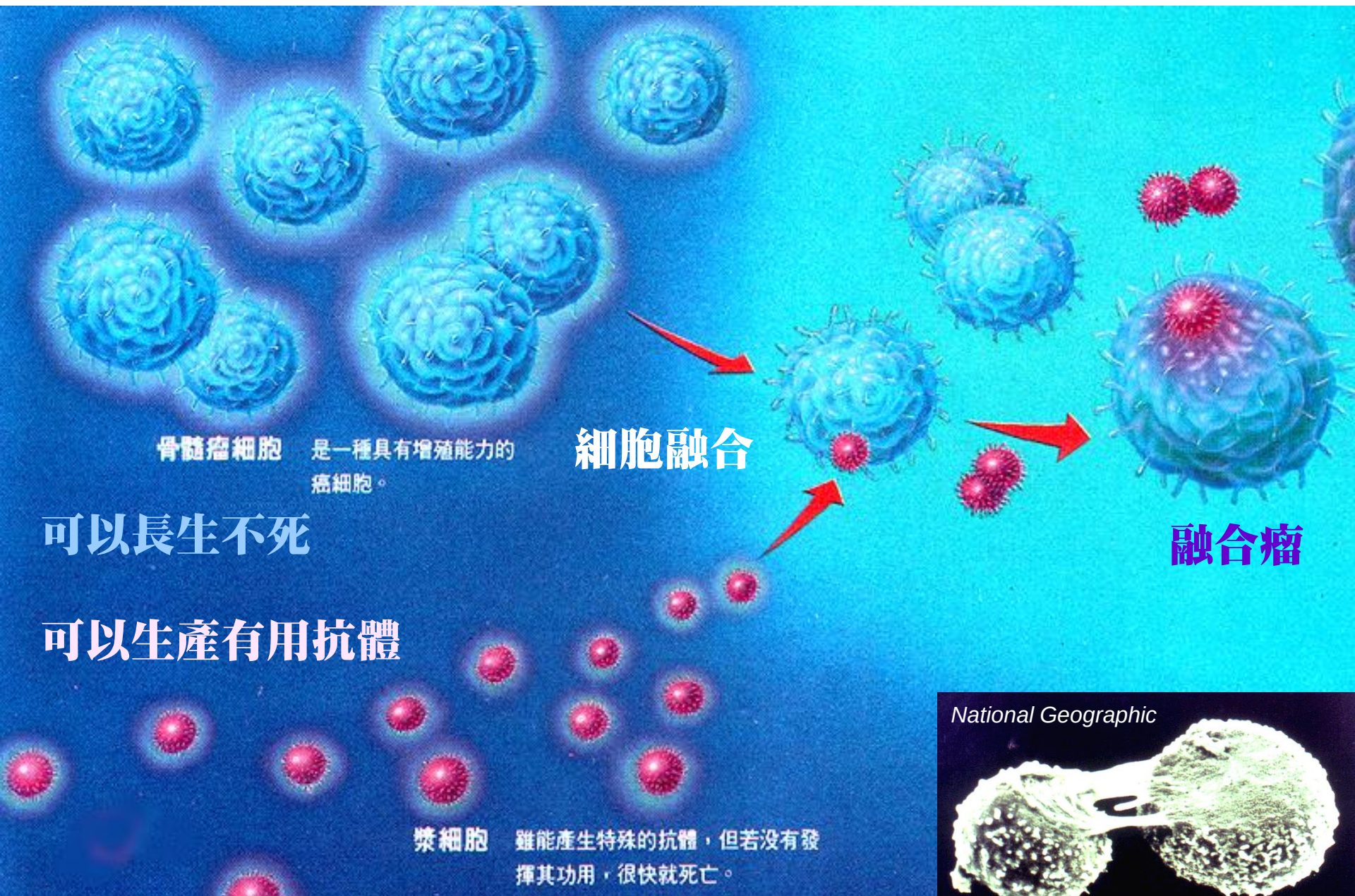
(1) 基礎免疫化學 (2) 抗體專一性 (3) 細胞融合法

國立臺灣大學 生化科技學系 莊榮輝



一張圖秒懂單株抗體技術

2



許多環境物質引發免疫反應

3

過敏

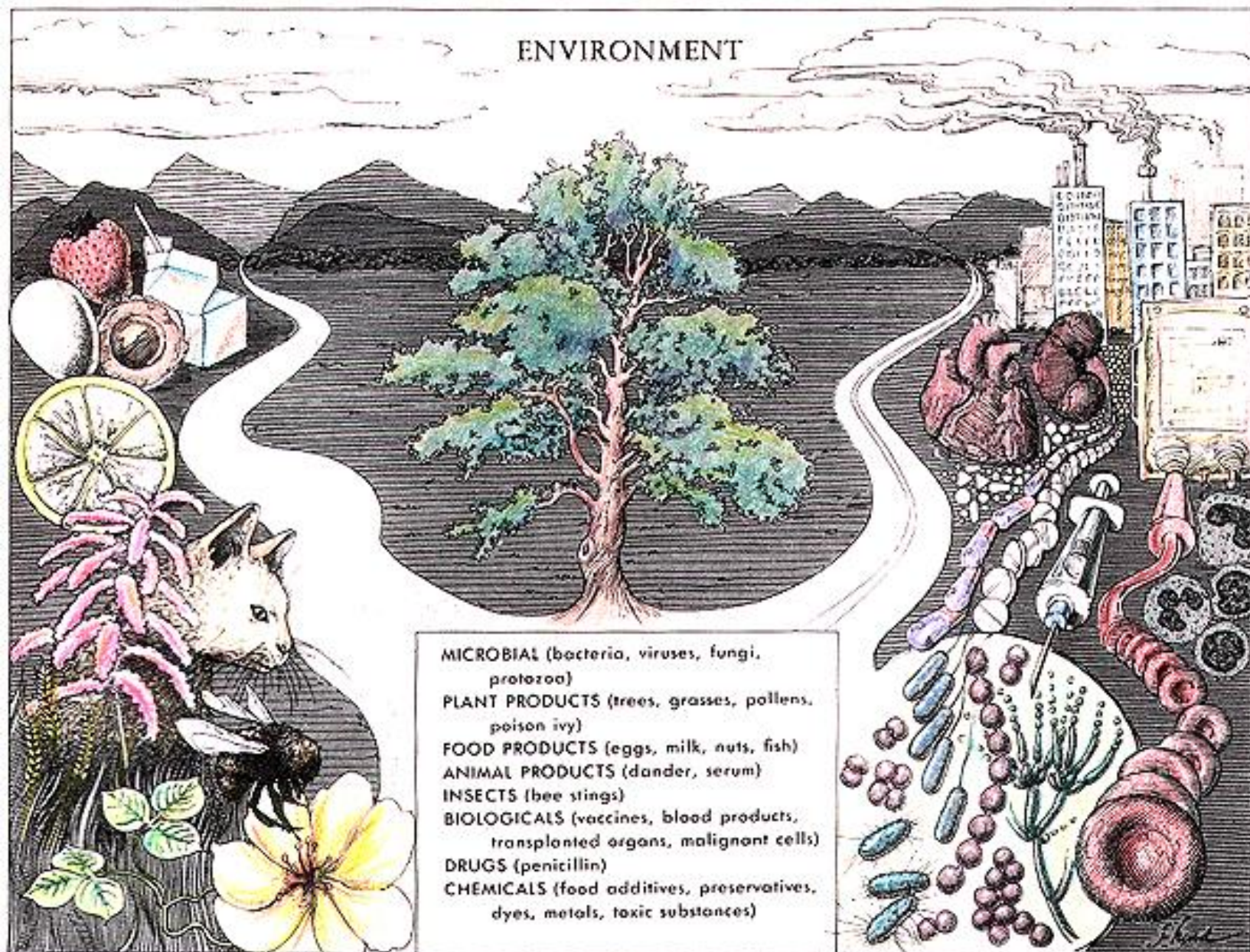
食物

動物

植物

花粉

昆蟲



污染

移植

藥物

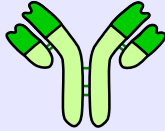
輸血

細菌

病毒

免疫系統

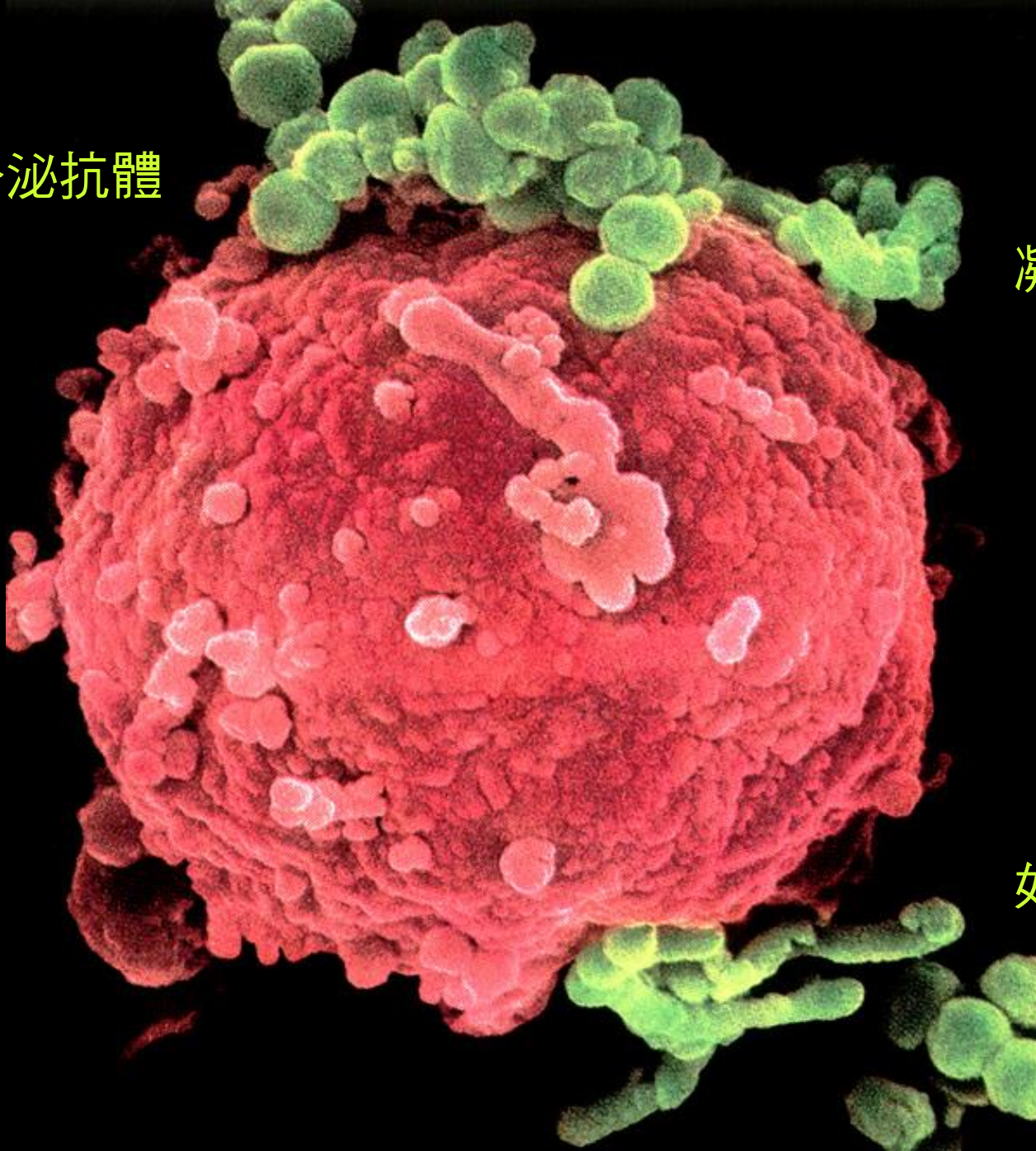
脊椎動物體內有催毀外來入侵物體的免疫系統

兩大系統 →		先天免疫系統	後天免疫系統
兩種方式	細胞	 巨噬細胞 (Macrophage, $m\phi$) 自然殺手細胞 (Natural killer cell, NK)	T 細胞 (T_H , T_S , T_K) ↓ B 細胞
	分子	干擾素 (Interferon) 溶菌酶 (Lysozyme)	生產 抗体 (Antibody, Ab) 
兩大系統 →		警察系統 (+ 調察局)	軍事系統

B 細胞分泌抗體

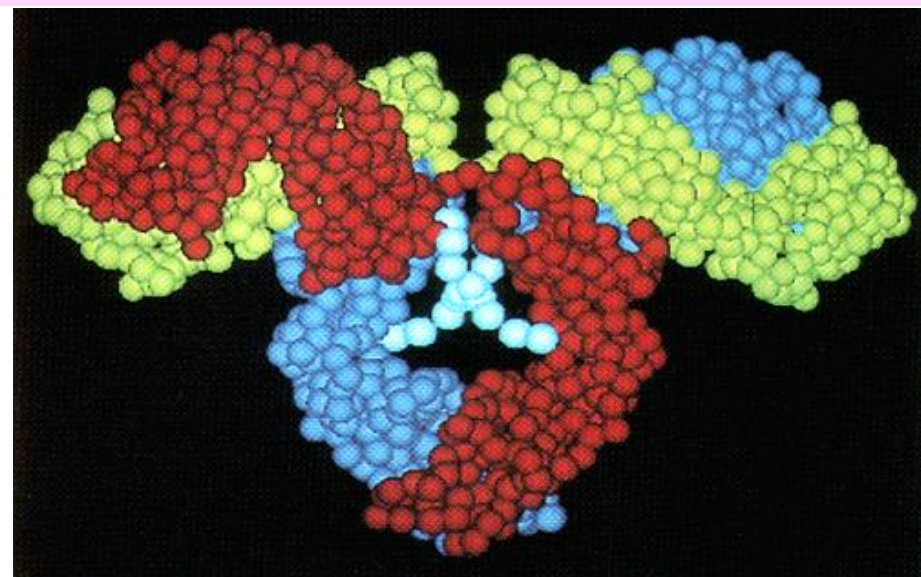
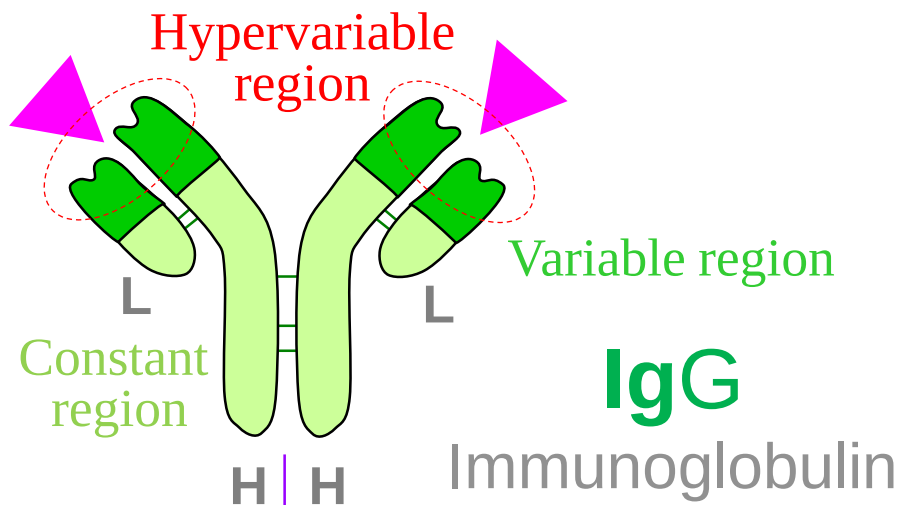
凝集細菌

如何凝集？

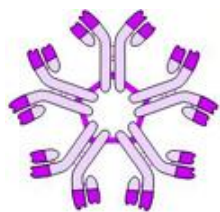


抗體 是一種蛋白質

6



Davies et al (1977) PNAS / Roitt et al (2001) *Immunology*. p.73



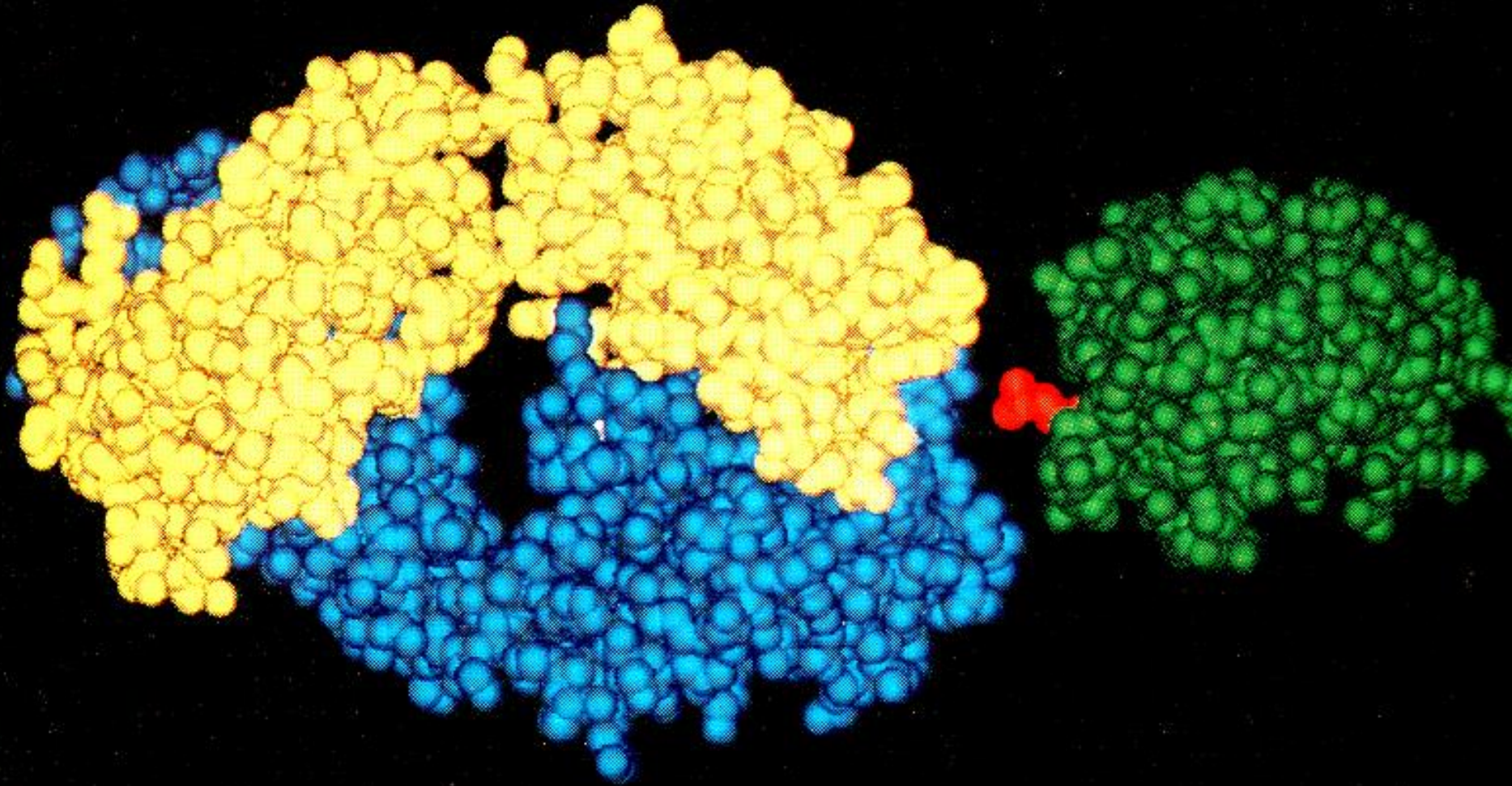
非常
強悍

- 抗體由四條 蛋白質 長短鍊所組成 (2H2L)
- 抗體分子有兩個 抗原結合區 (二者相同) ▼
- 抗體與抗原結合是專一性的 (lock & key)

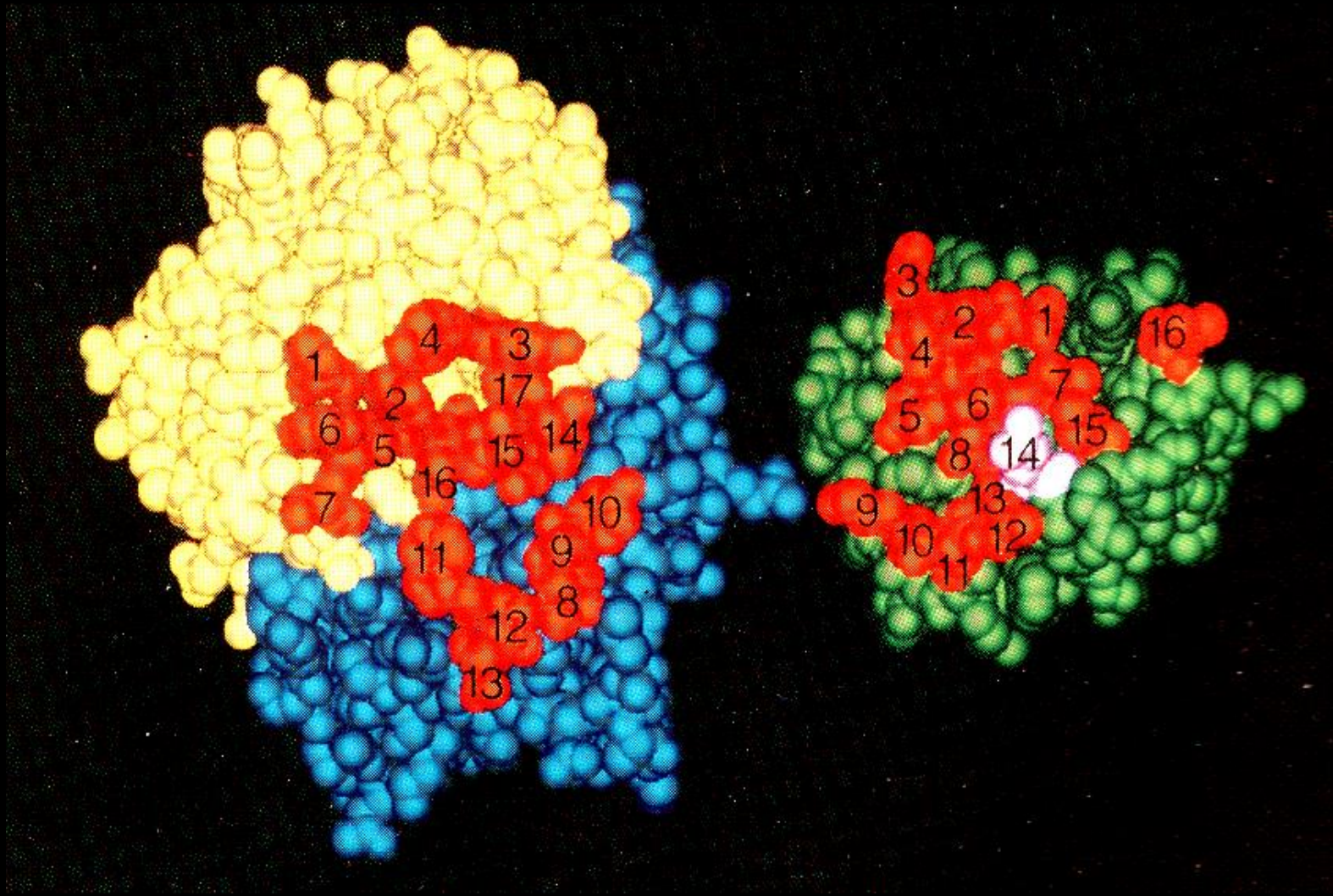
● IgG 是單一個抗體分子，另有 IgM (五元體) 及 IgA (二元體)

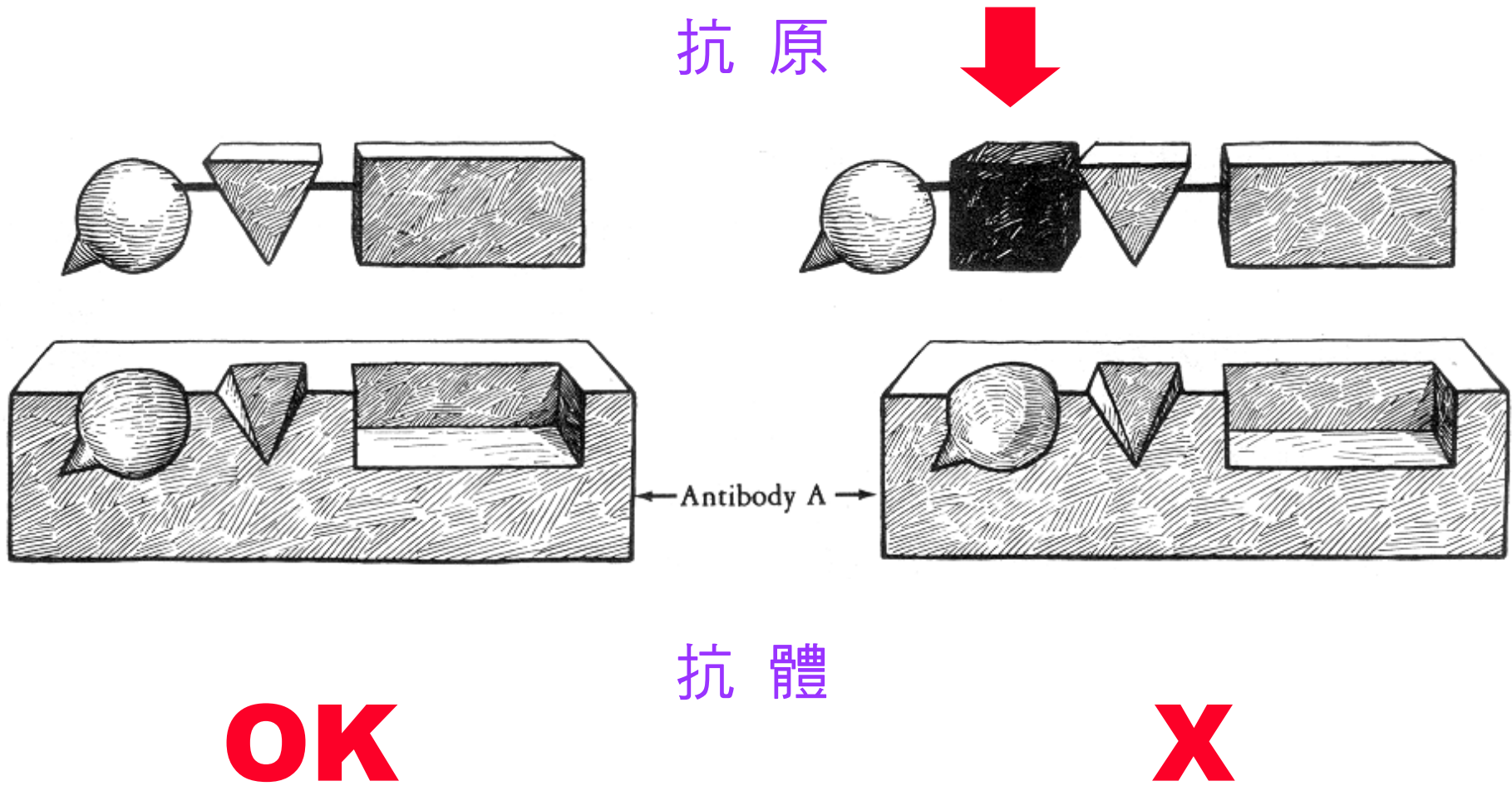
步兵單兵 裝甲兵 兩棲部隊

抗體結合區



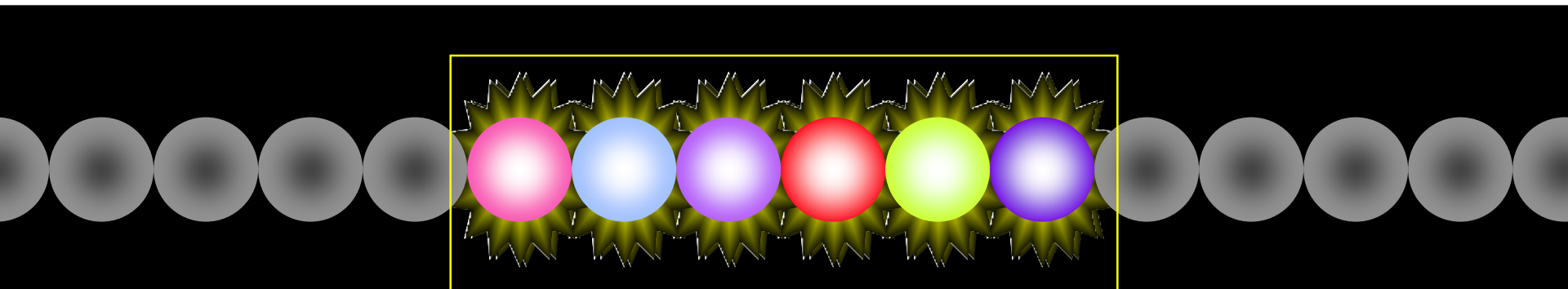
抗體結合區 (hypervariable region)





抗原決定基

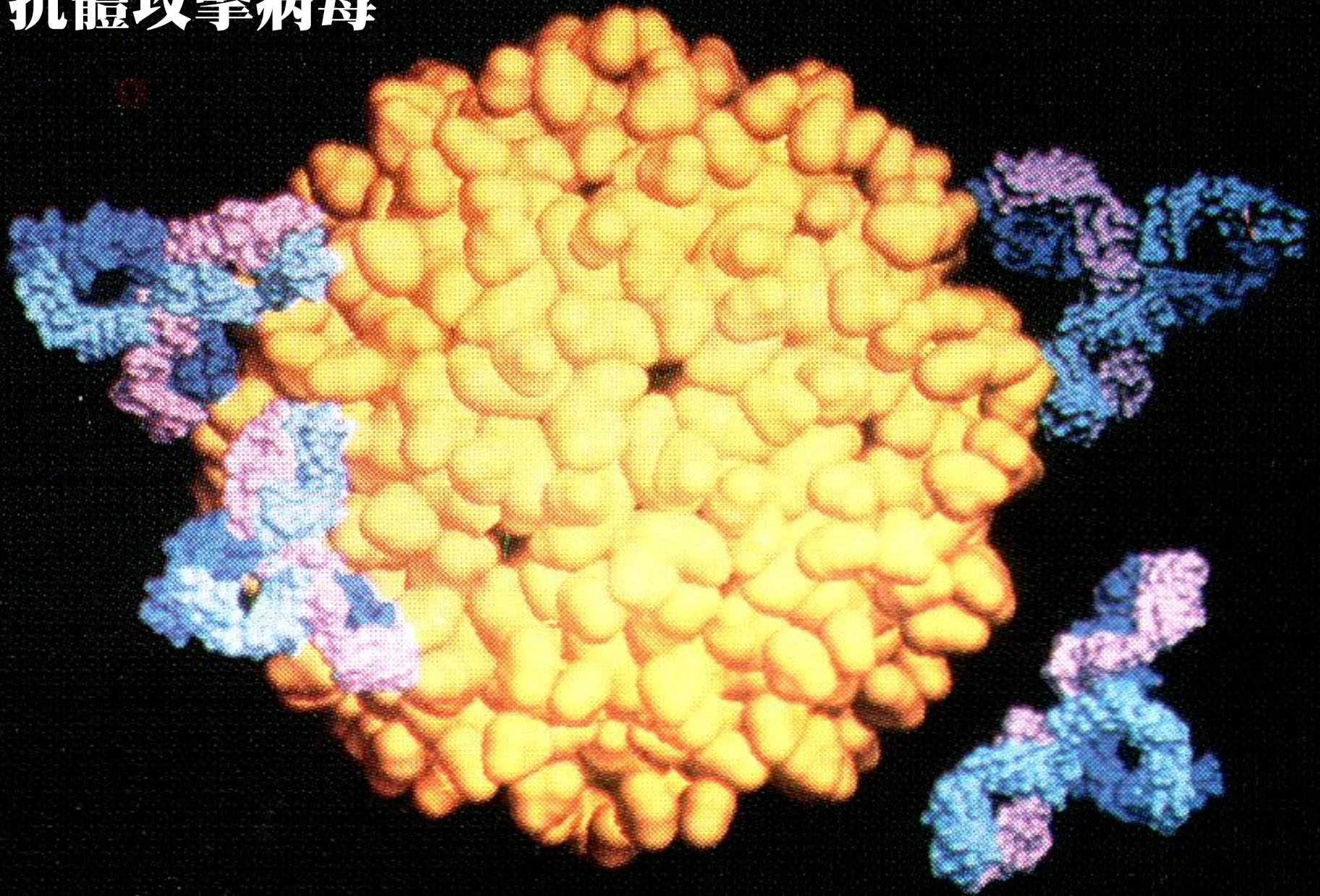
- 抗原決定基是抗原上可以誘導抗體的位置
- 一個抗原分子上可能含有數個 抗原決定基
- 每個 抗原決定基 至少誘生一種專一性抗体



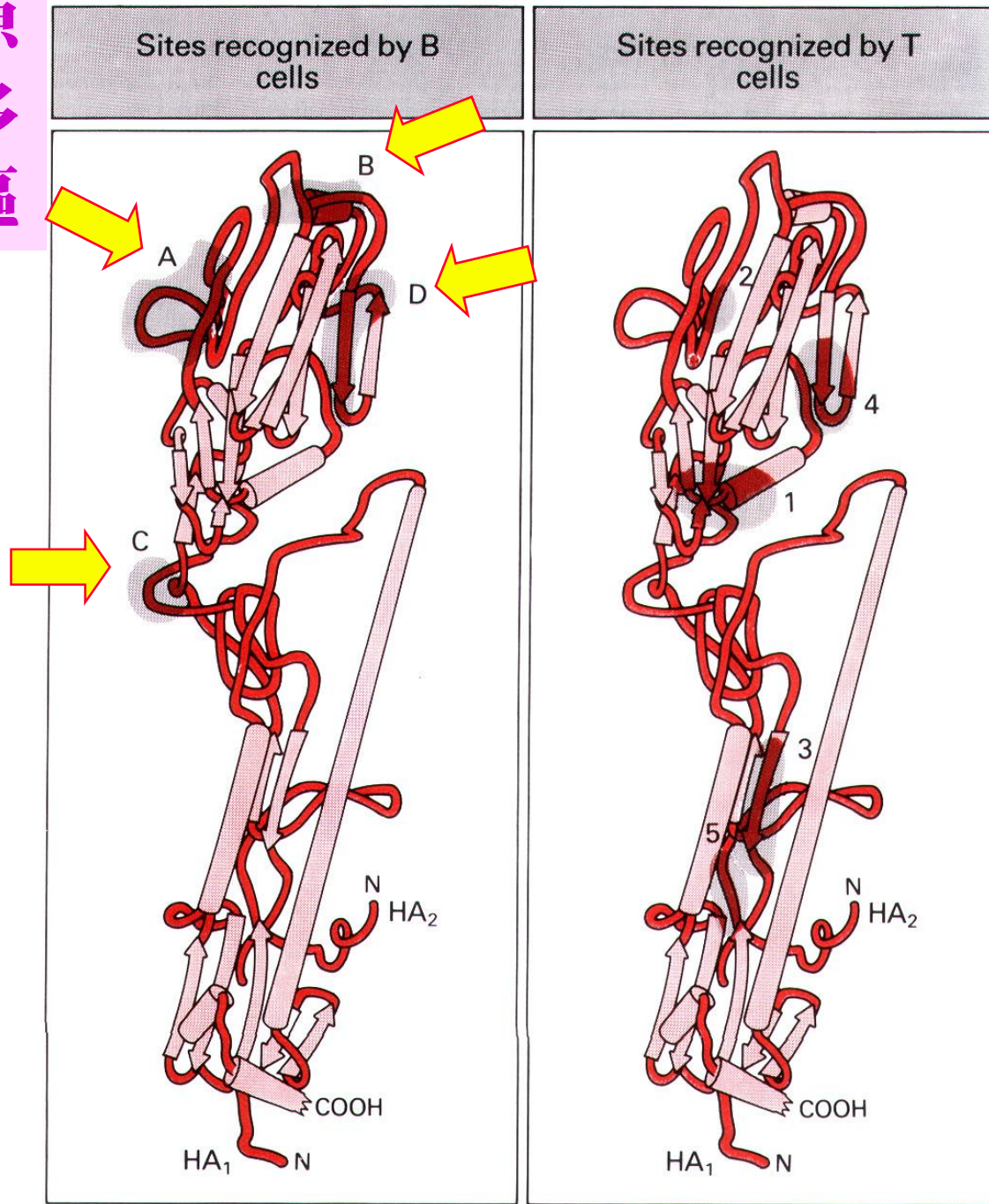
- 蛋白質性 抗原決定基 含有六到十個胺基酸

抗體攻擊病毒

11



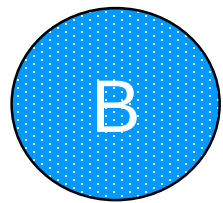
病毒表面抗原 分子上有許多 處抗體結合區



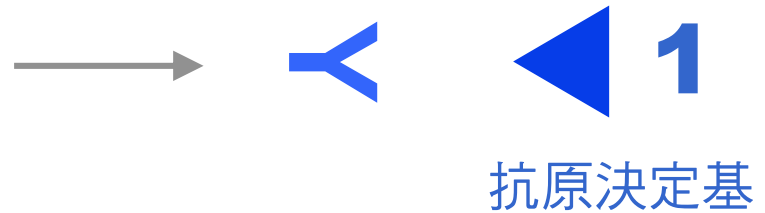
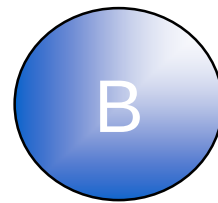
● 一個 B 細胞只能生產一種抗体，對付某一 抗原決定基。

剛開始產生的 B 細胞

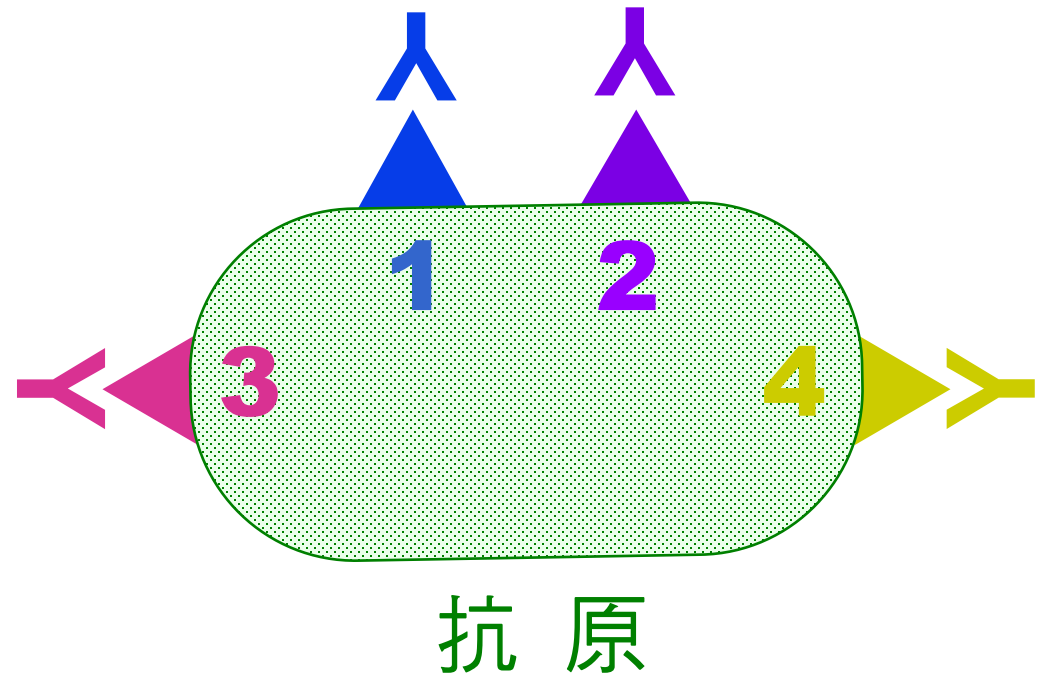
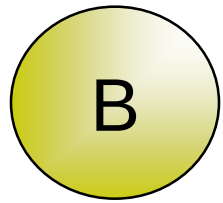
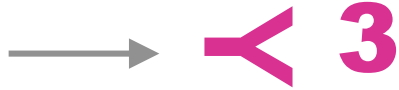
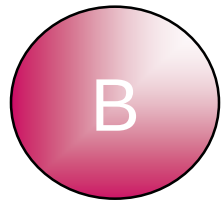
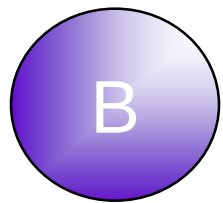
成熟的 B 細胞



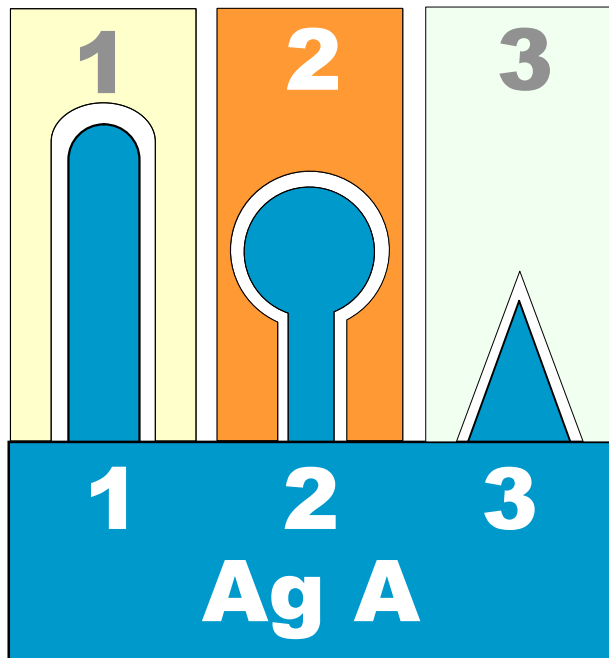
持續受抗原刺激
親和力成熟



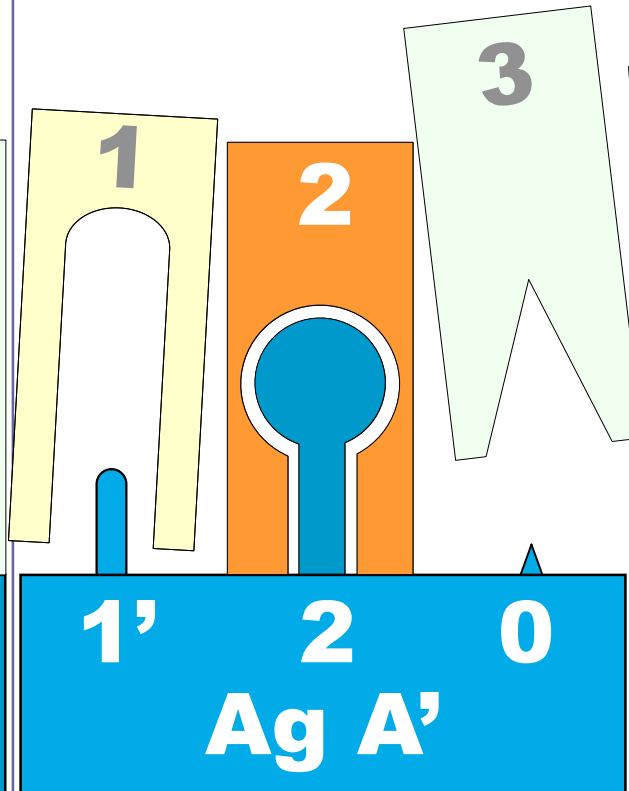
● 若有許多抗原決定基，則需許多株 B 細胞分別生產許多抗体。



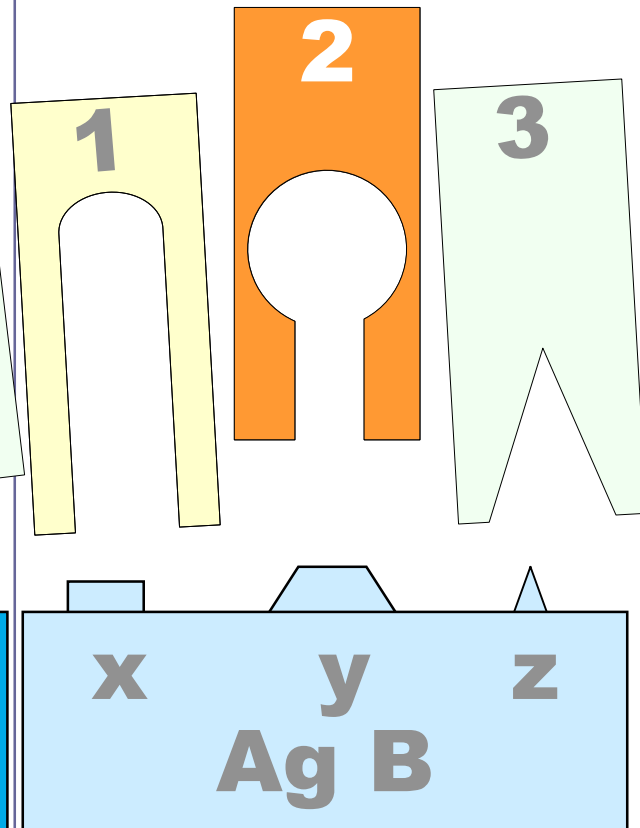
專一性反應



交叉反應



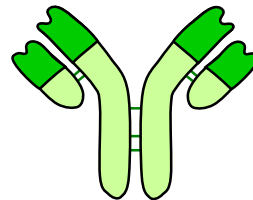
沒有反應



實驗步驟

細胞融合法

Cell Fusion



細胞融合 → 初步篩選 → 專一性篩選 → 單株化 → 抗体生產

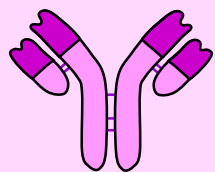
PEG

HAT

ELISA

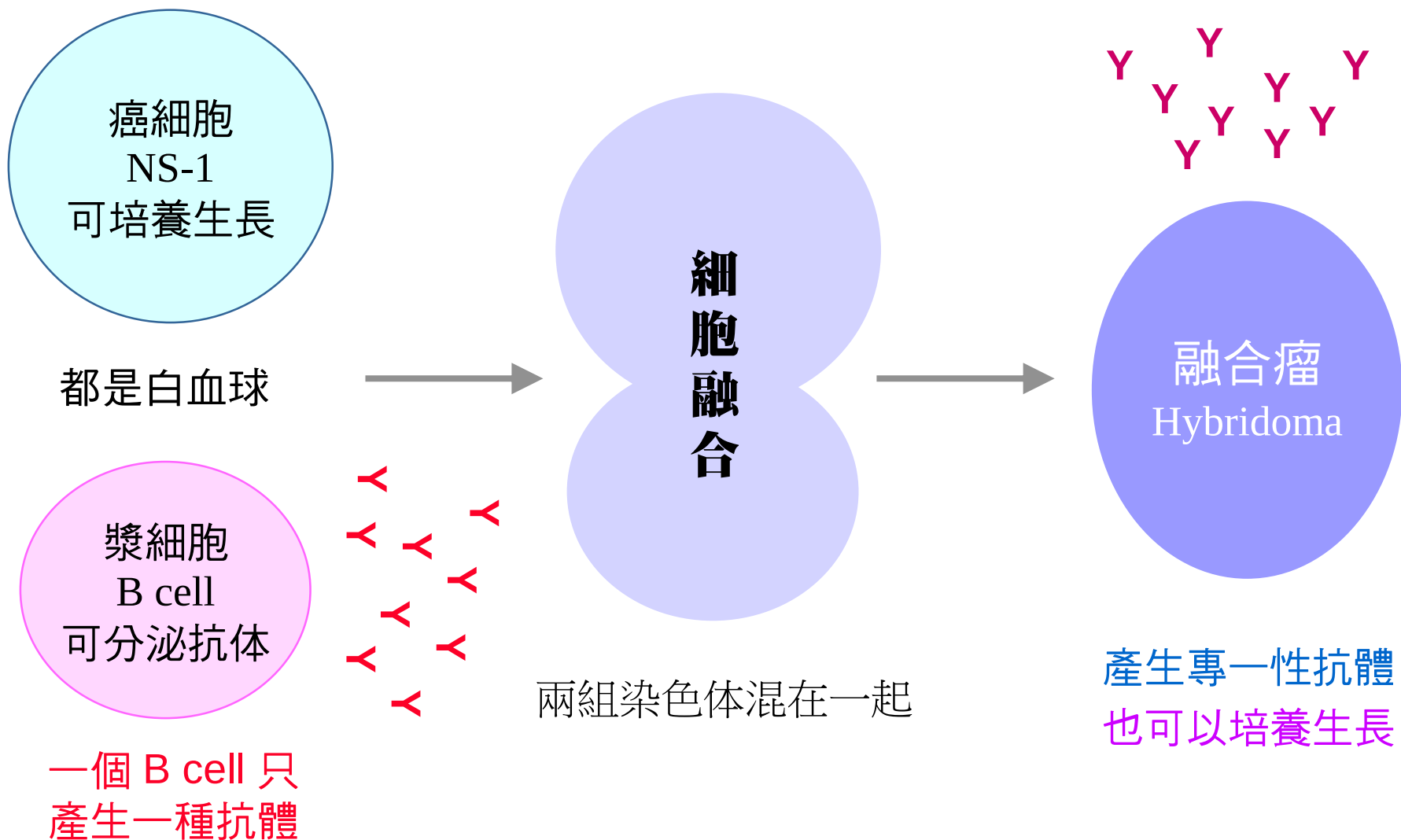
Limiting
dilution

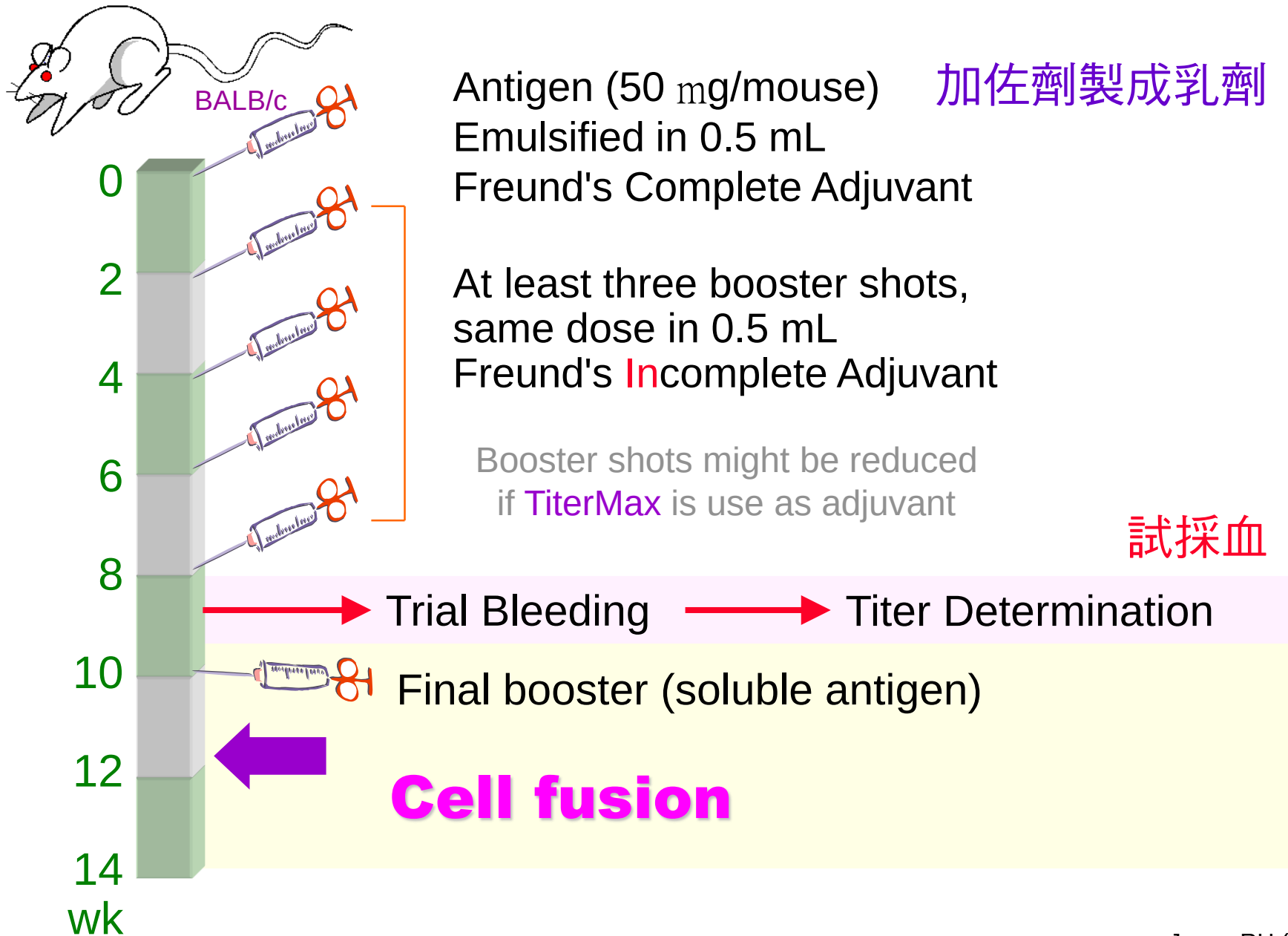
Ascites
fluid



單株抗體

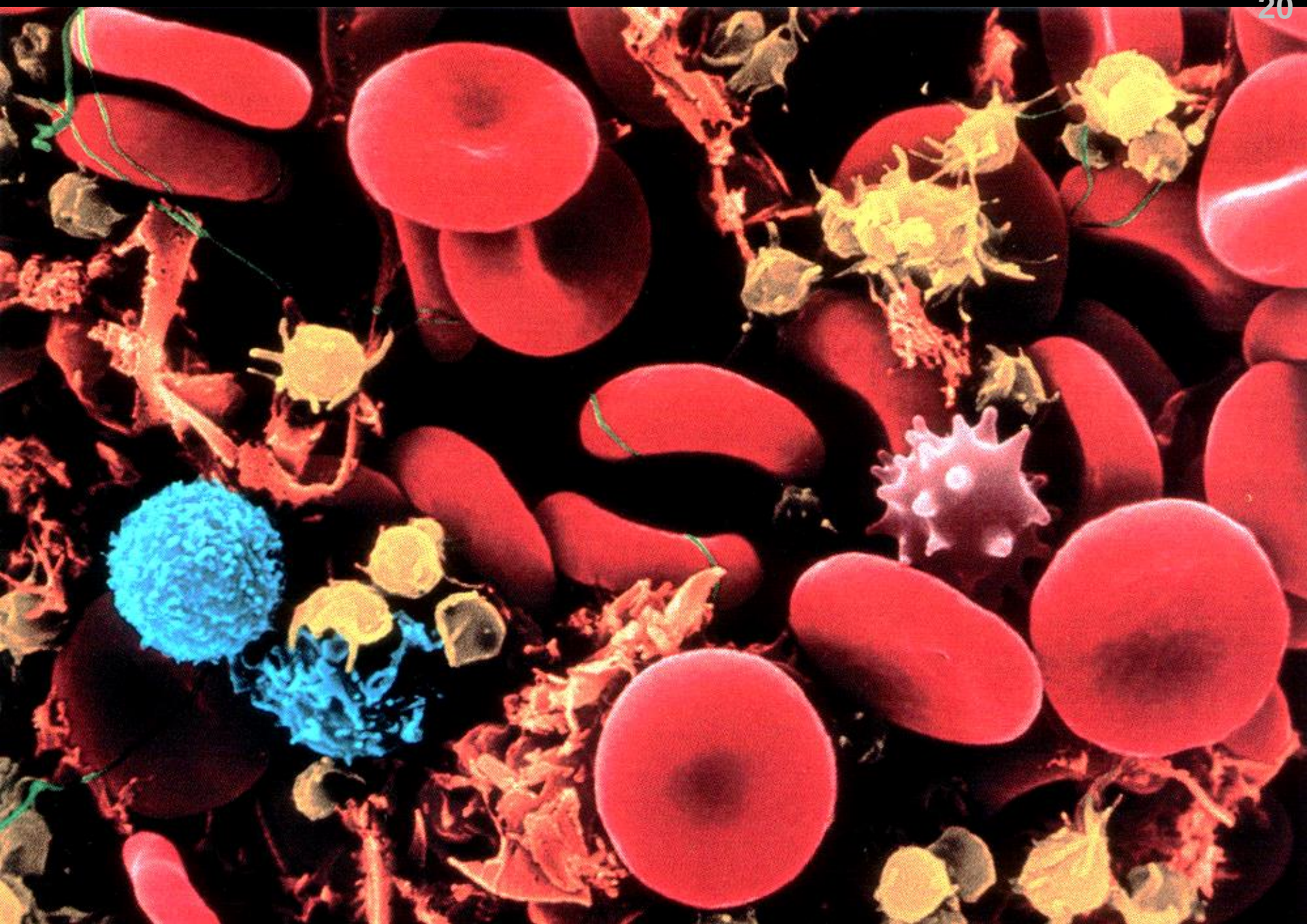
可生產有用抗體的 **淋巴細胞** 若與 **癌細胞** 融合，則形成穩定而可培養的細胞株。



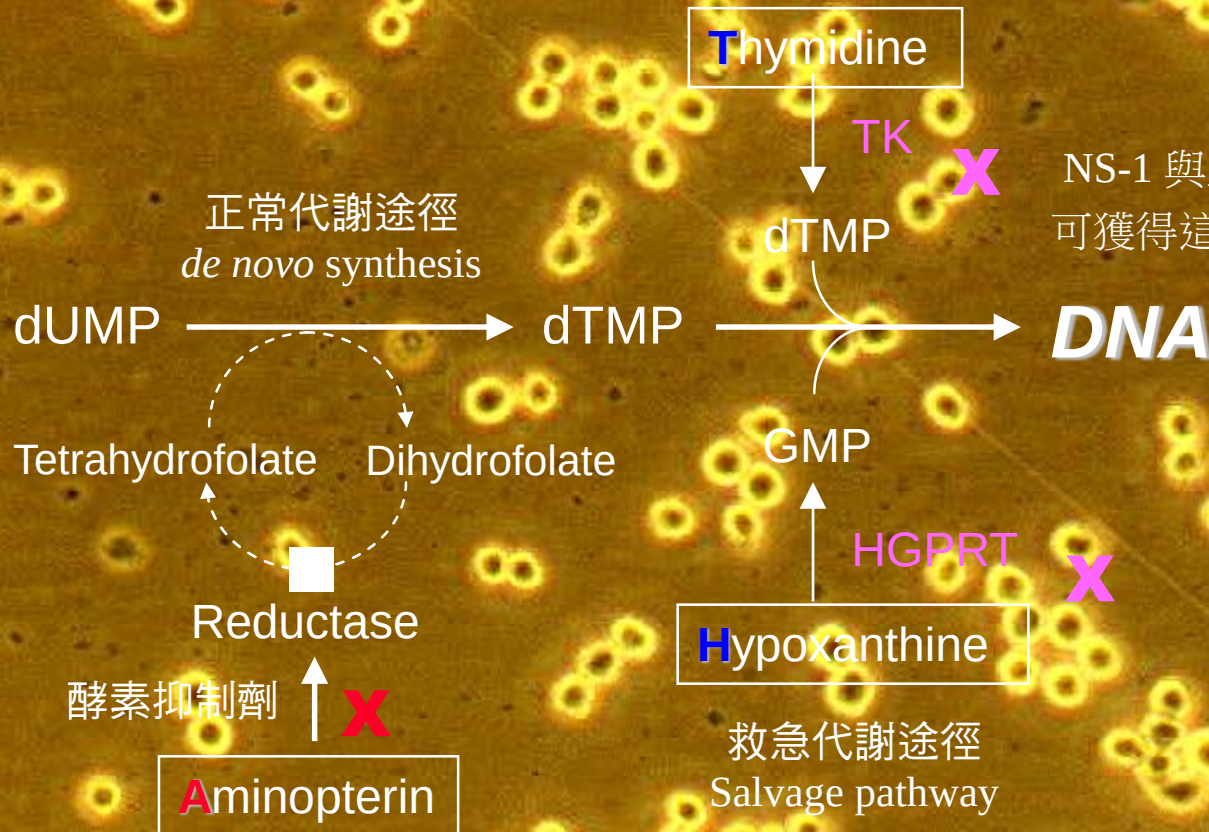


取出脾臟內細胞





但是骨髓癌細胞 NS-1 無法在 **HAT** 中生長



NS-1 與正常細胞融合後
可獲得這兩個基因而存活

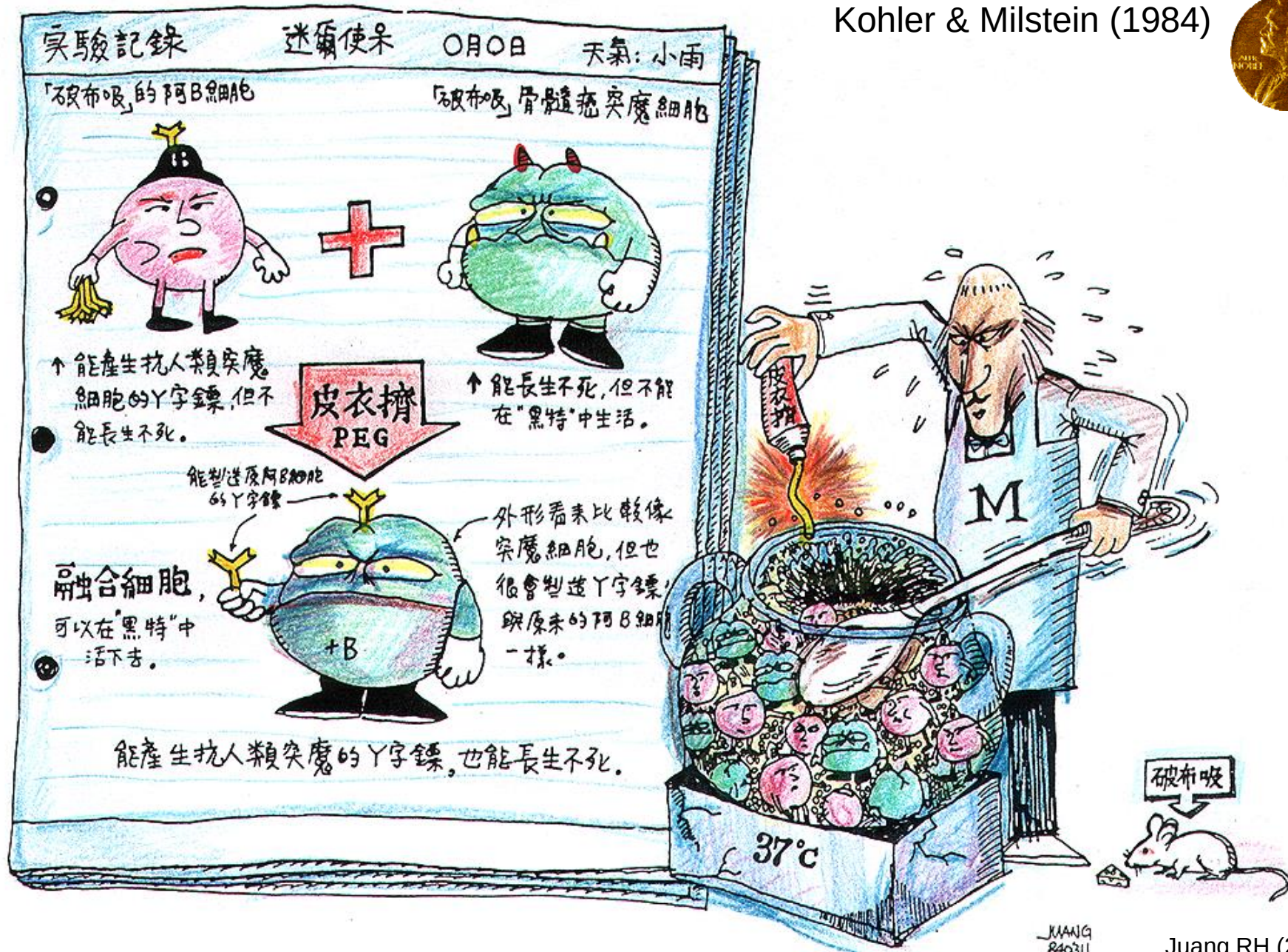
加入 PEG

細胞融合
2 min

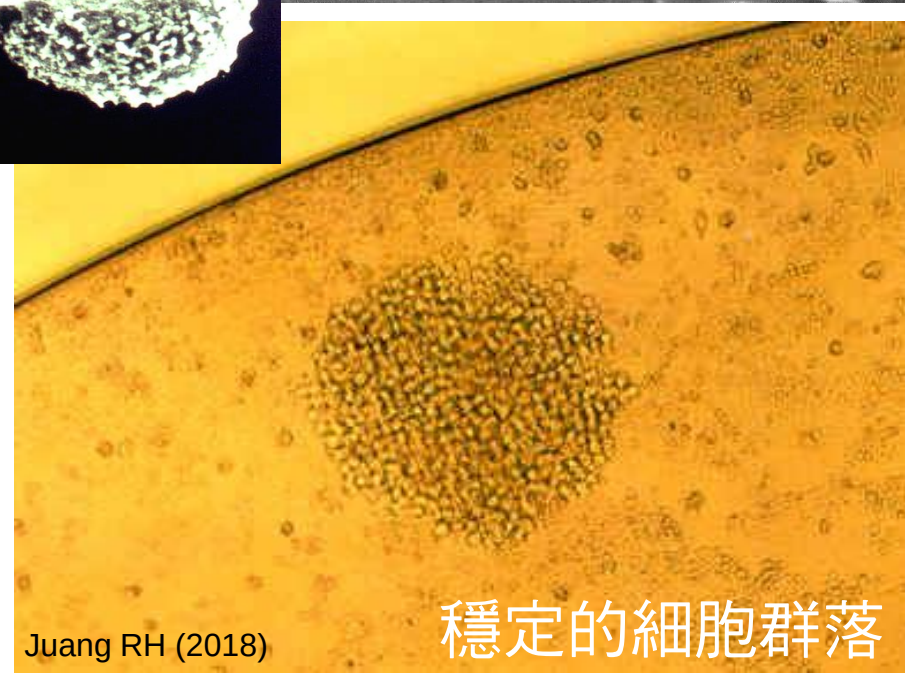
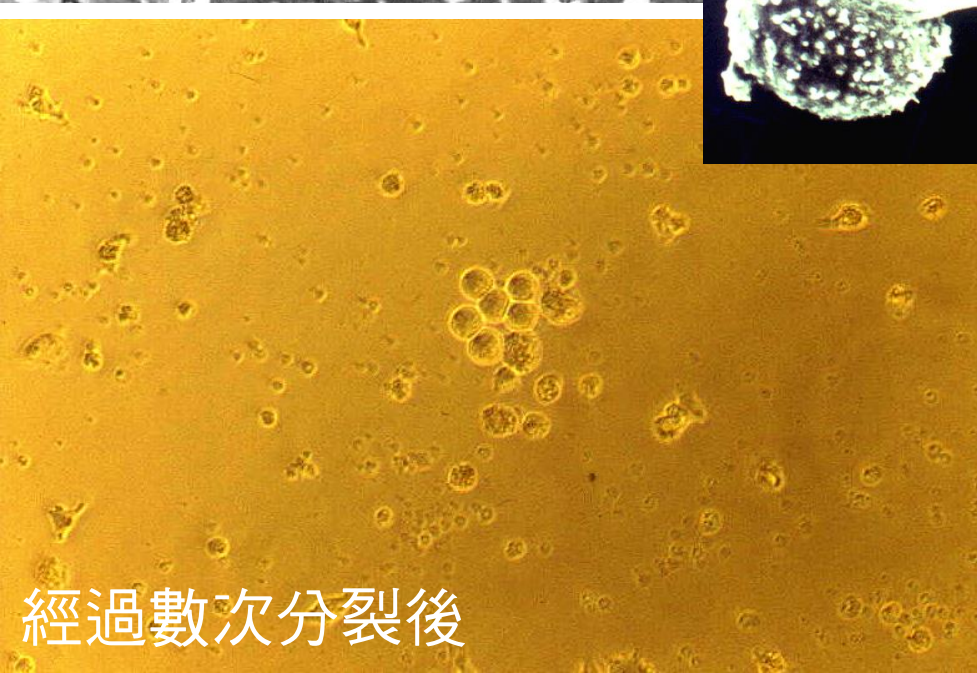
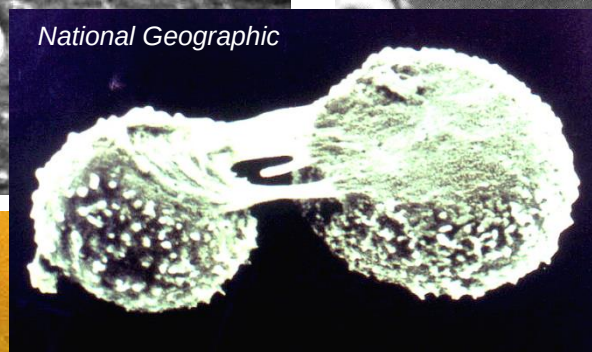
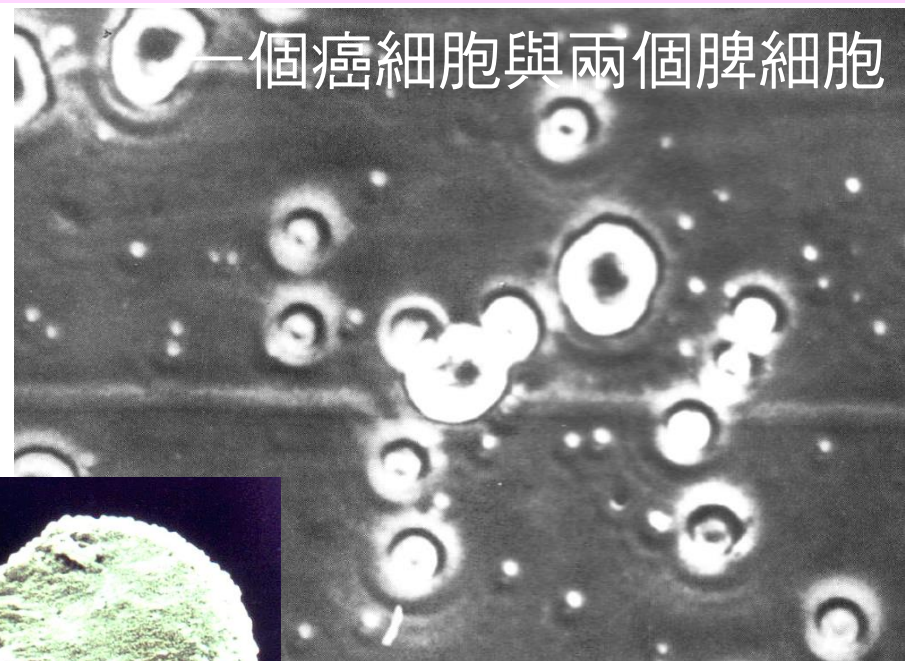
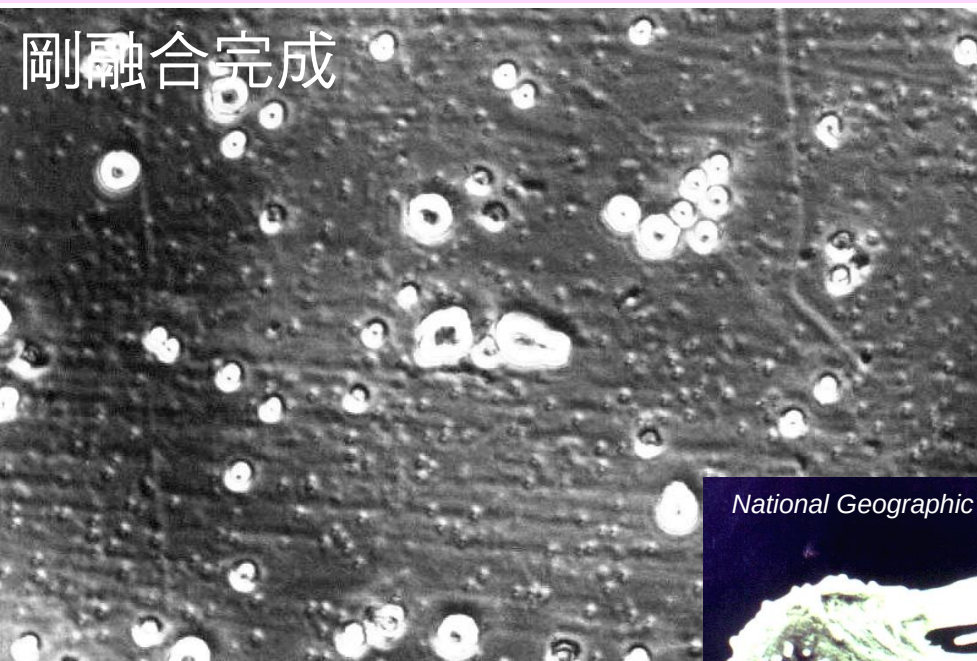
成功關鍵：

- (1) 細胞要健康
- (2) 融合要精確
- (3) 適當離心力
- (4) 融合後觀察

Kohler & Milstein (1984)



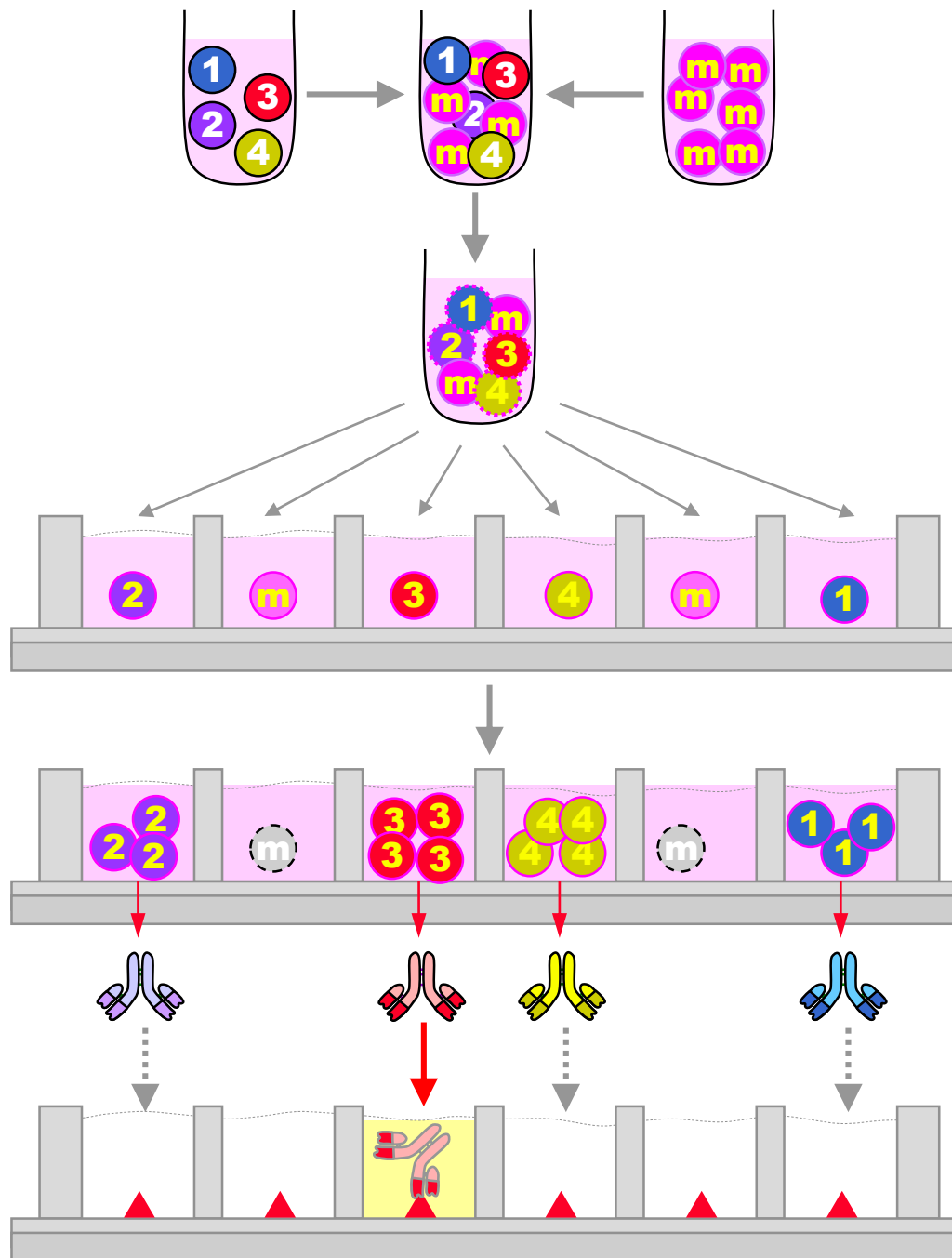
融合後的細胞生長

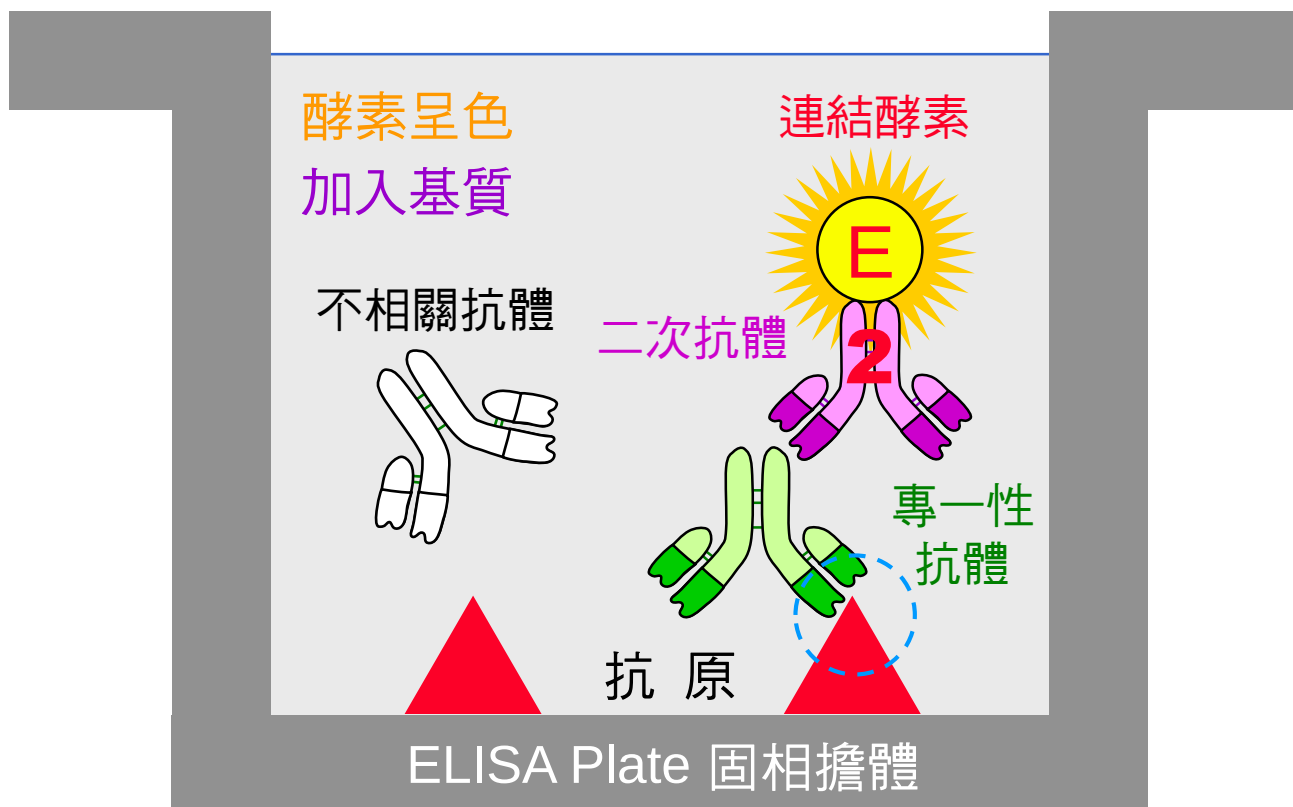
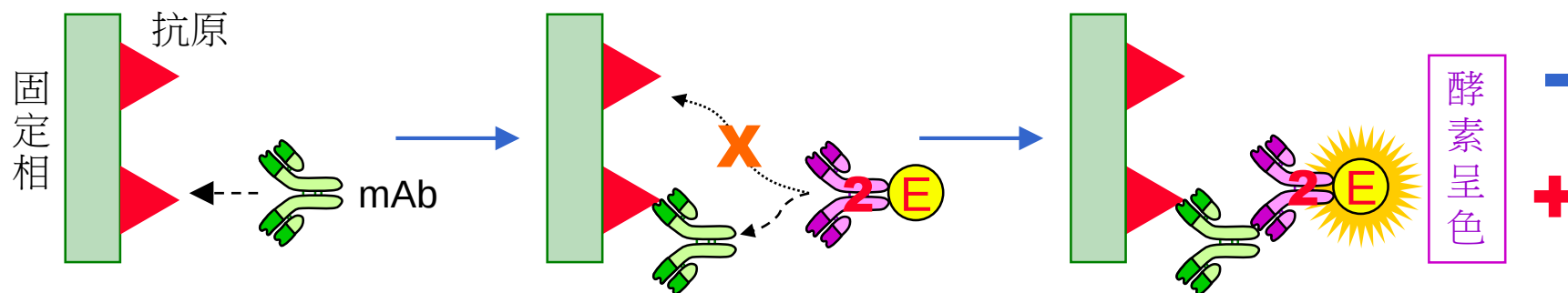


脾細胞

癌細胞

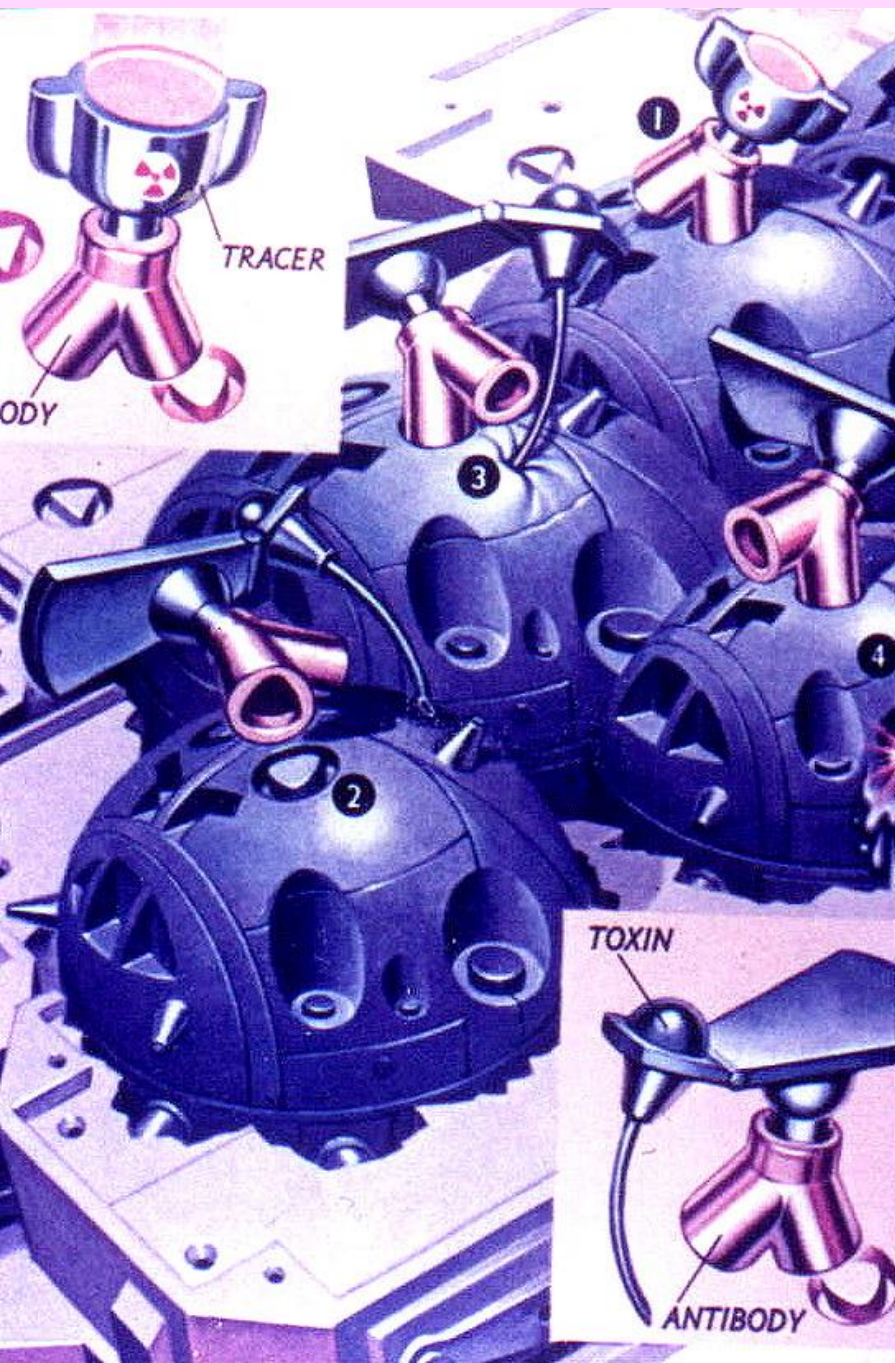
細胞融合

HAT
初步篩選ELISA
抗體篩選

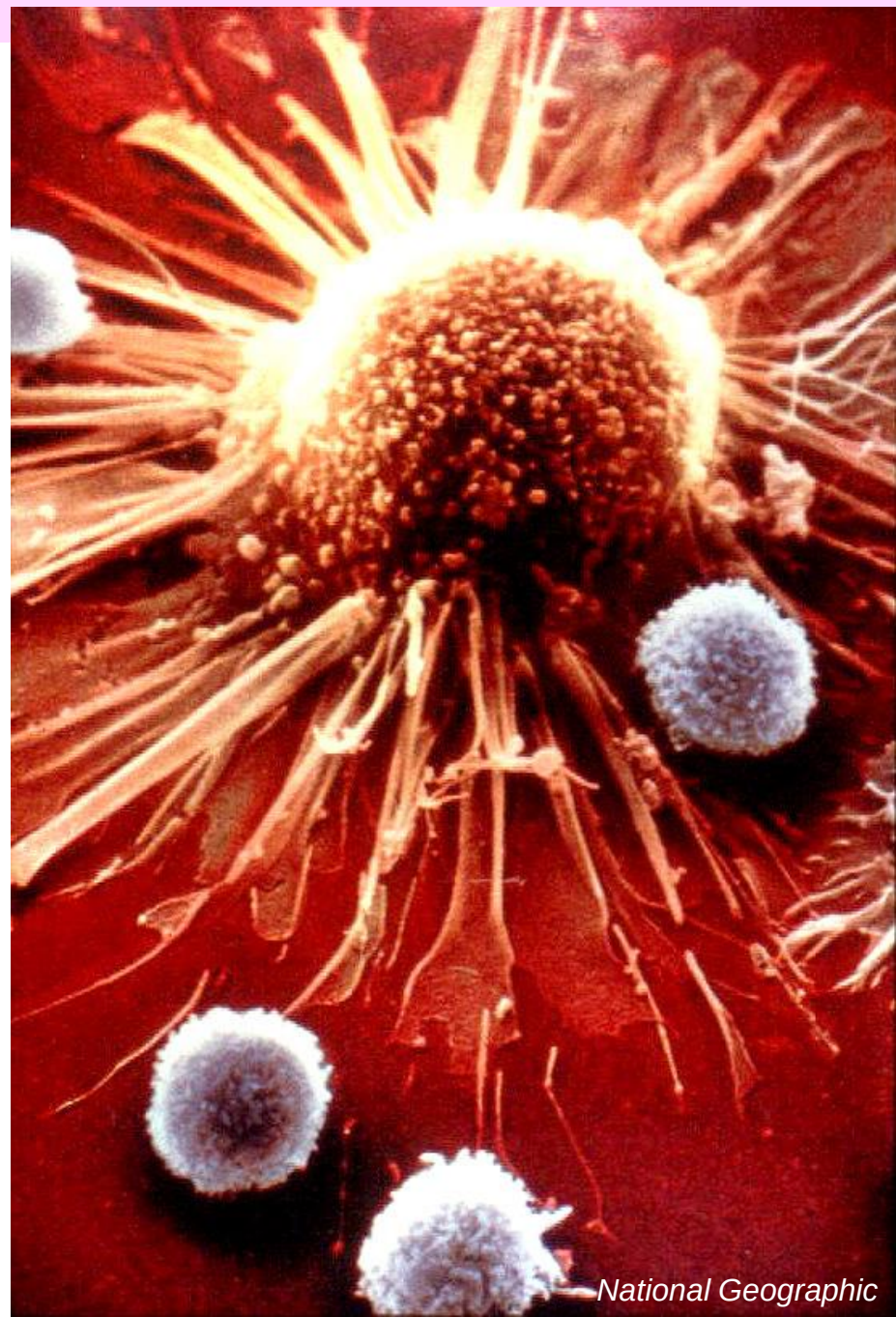




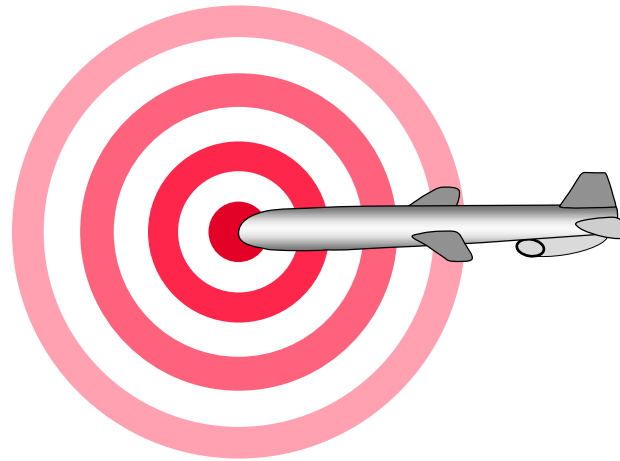
在 T-75 培養小瓶中擴大細胞數目



以單株抗體來清除體內癌細胞



單株抗体 是對其抗原有極強 專一性 的
魔彈 (Magic bullet) 或 巡弋飛彈



研 究
醫 療
檢 驗

以免疫轉印法可偵測 特定抗原
以毒素連結抗体攻擊 病變細胞
以 ELISA 大量偵測特定 病原体

魔彈 再起

30

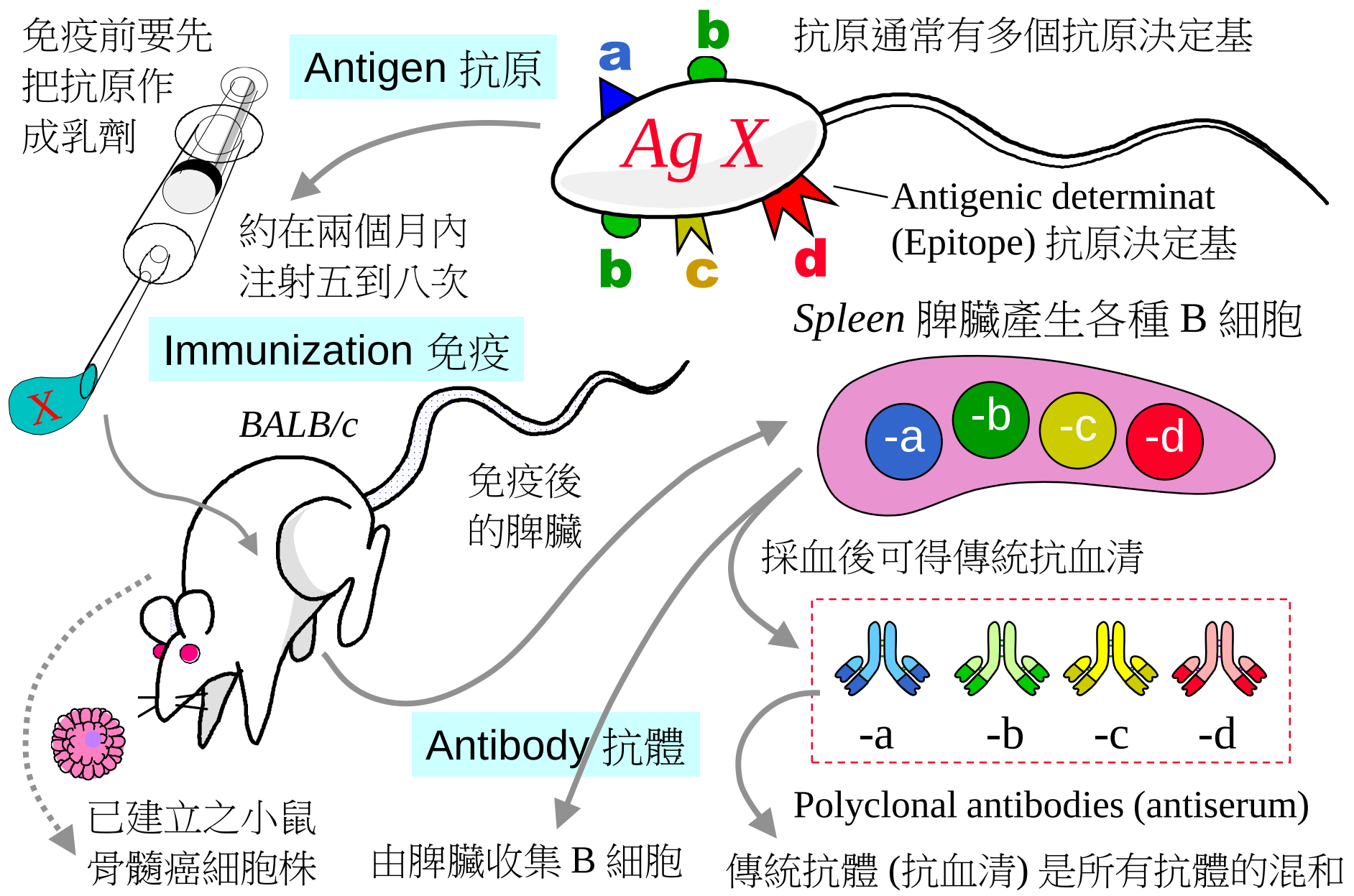
MAGIC BULLETS *Fly Again*

Efalizumab
Rozrolimupab

Molecular guided missiles called monoclonal antibodies were poised to shoot down cancer and a host of other diseases—until they crashed and burned. Now a new generation is soaring to market

By Carol Ezzell

Summary 以抗原免疫小白鼠



Summary 如何製備單株抗體

