

多克隆抗体制备方法

基本原理

当抗原注射入实验动物体内时，刺激网状内皮细胞系统，使淋巴结和脾脏的淋巴细胞大量增殖。第一次注射后大约 7 d，在血清中可以观察到抗体，但抗体的浓度维持在一个较低的水平，大约 10d 抗体的滴度会达到峰值。但同种抗原注射而产生的二次免疫应答的结果明显不同，和初次免疫应答相比抗体的合成速度明显增加并且保留时间也长。进而通过 Elisa 方法检测抗体的效价，通过 Western-blot 方法检测抗体的特异性。

抗原获得方法

原核表达可以在较短的时间内获得基因表达产物，所需成本较低，但是也有些外源基因无法进行原核表达。多肽合成是将分析好的多肽抗原进行固相或液相合成，抗原性高，但成本也高。因此在实际实验过程中应该把原核表达和多肽合成有效结合起来完成多克隆抗体的制备。

免疫动物的选择

所选择的蛋白抗原供体与免疫动物种系不可太接近，亲缘太近不易产生良好抗体，甚至不产生抗体(如兔和大鼠、鸡和鸭)。常用的免疫动物包括家兔、啮齿类、鸡等小型实验动物以及绵羊、马、山羊等大型家畜，其中家兔比较适合制备抗体；小鼠一般用于单克隆抗体制备，在需要大量抗血清时，主要用大型家畜。

在动物性别、年龄以及数量上的选择—一般选用雌性、青壮年期 1 只以上的个体。在实际免疫过程中还需要根据不同性质的免疫原选择使用动物进行免疫，例如胰岛素对家兔、IgE 对绵羊免疫后不容易产生抗体。

免疫方法

(1) 免疫佐剂

免疫过程中需要弗氏完全佐剂和弗氏不完全佐剂。弗氏不完全佐剂一般用液体石蜡与羊毛脂混合而成，在不完全佐剂中加入活卡介苗或死的结核分枝杆菌，即成为弗氏完全佐剂。

(2) 免疫剂量及间隔时间

一般注射后，每次注射间隔 1 周左右，注射 4 次，在采集免疫血清前，必须先对抗体的效价进行测定，达到要求时再进行采血。

(3) 免疫途径

免疫途径包括皮下、静脉注射或皮内注射、肌肉注射、腹腔注射淋巴结注射等。鸡研究显示在腿部肌肉注射抗体效价较高；在奶牛上研究后海穴的注射效价较高；兔子和小鼠一般在腹部注射效果较好。

(4) 免疫血清的采集

在测定抗体效价后，开始采集免疫血清，采集前让动物禁食 24h 以防血脂过高。采血主要包括静脉采血法颈动脉放血法和心脏采血法。

(5) 免疫血清的保存

冻存血清前将血清分装到若干个小瓶内，每次用时取出一瓶，切忌免疫血清反复冻融，造成抗体效价降低。

相关产品推荐

[天然蛋白](#) [重组蛋白](#) [小分子抗原抗体](#)

Order and Inquiry

You can place an order or Inquiry through the following methods, and we will contact you

ASAP:

QQ 499854788; 82458988

Email info@biotyscience.com

Tel 010-5365 2239