

# 单克隆抗体制备方法

单克隆抗体指由单一的浆细胞克隆所产生的高度均一、仅针对某一抗原表位的抗体。当机体受到抗原刺激后，B 淋巴细胞被抗原决定簇激活，增殖分化出大量的浆细胞，而后由浆细胞分泌出特异性抗体。单克隆抗体制备常用兔和小鼠作为免疫动物。与鼠单克隆抗体相比，兔单克隆抗体具有亲和力高、识别的抗原表位更加丰富，能够识别在小鼠体内没有免疫原性抗原的突出优点。

## 制备步骤

鼠单克隆抗体制备步骤可以简单描述为正常小鼠用抗原免疫后，脾脏的 B 淋巴细胞(浆细胞)将产生特异性抗体，但这些细胞在体外不能长期存活。为了能使这些细胞可以在体外长期存活，并利用其产生抗体，可将免疫脾细胞与能无限培养、但不分泌抗原的小鼠骨髓瘤细胞进行细胞融合，之后在培养基上选择培养，得到既具有免疫脾细胞分泌特异性抗体功能、又具有细胞迅速无限制繁殖特性的 B 淋巴细胞杂交瘤，取杂交瘤细胞进行筛选，得到杂交瘤细胞的阳性克隆，然后进行大量培养或接种到同系小鼠腹腔内，培养液、腹水或血清中就会产生大量高度的特异性抗体，即小鼠单克隆抗体。

兔单克隆抗体制备可以借助噬菌体展示技术平台，噬菌体展示系统是在大肠杆菌中实现的，而兔 Fab 抗体片段对大肠杆菌却是有毒性的。通常为避免兔 Fab 抗体片段在细菌细胞中表达的毒性、不溶性以及表达量低的问题，链接兔源抗体可变区(V<sub>L</sub>, V<sub>K</sub>, and V<sub>H</sub>)来制造兔人嵌合 Fab 抗体库，并筛选高亲和力兔单链抗体。具体步骤前面与鼠单抗制备方法是一样的，获取抗原蛋白的编码核苷酸序列并优化密码子，基于优化了密码子的抗原蛋白编码核苷酸序列合成抗原基因 A；将合成的抗原基因 A 插入载体中，制备出重组质粒；将所述重组质粒注射入动物体内，进行基因免疫(免疫家兔)，收集血 B 淋巴细胞或骨髓脾脏，提取 mRNA，逆转录制备 cDNA，采用 PCR、酶切连接方法，将抗体基因连入噬菌粒载体，转化细菌，构建抗体库，采用固相筛选等多种方式，进行亲和筛选，筛选高亲和力兔单抗，采用高效真核表达系统，分泌表达兔单抗，然后鉴定兔抗体对抗原的结合活性。

## 单克隆抗体优点

- (1) 制得的杂交瘤细胞为持续且可再生产的单克隆抗体来源，而且所有批次均相同，有助于实验结果的一致性。
- (2) 单克隆抗体只检测每个抗原上的一个表位，特异性高。
- (3) 切片和细胞染色产生的背景信号更少，不易与其它蛋白质发生交叉反应。
- (4) 单克隆抗体非常适合作实验中的一抗，其产生的背景染色信号通常显著低于多克隆抗体。

(5) 单克隆抗体的同质性非常高。在相同的实验条件下，单克隆抗体实验之间的结果重现性非常高。

### 单克隆抗体缺点

(1) 特异性过高，以致于无法进行跨物种的检测。

(2) 与多克隆抗体相比，更易受化学处理造成的抗原表位丢失的影响。这可通过合并靶抗原相同的两种或多种单克隆抗体进行补偿。

### 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](mailto:info@biotyscience.com)

Tel 010-5365 2239