

5. ウェスタンブロット (WB) 法〔免疫ブロット (immunoblot ; IB) 法〕

WB 法は、抗原蛋白を SDS-ポリアクリルアミドゲルで電気泳動した後に、分画された蛋白をゲルからニトロセルロース膜などの担体に電気泳動的に転写させる方法である。担体膜上の蛋白に患者血清など（抗体）を反応させて検出することができる。一般には、特異抗体を用いて免疫学的に検出することが多いため、免疫ブロット法とも呼ばれる。しかし、手技が煩雑なことから、自己抗体のスクリーニング法としては適していない。また、細胞抽出物などの粗抗原を用いた場合には、抗原含有量が少ないと検出できないことが多い。

6. ラインブロット法 (line blot assay)

ニトロセルロース膜などの膜担体上に精製リコンビナント抗原またはペプチドを線上に吸着させ、細いストリップに切断し、一次抗体（希釈患者血清）および二次抗体（酵素標識抗ヒト IgG 抗体）を反応させて基質で発色させ、陽性・陰性を判断する。疾患別の自己抗原を同一膜に多数感作し、疾患特異的自己抗体を一度に測定できる製品が開発されており、専用のリーダーによって発色濃度から半定量する。

7. RNA 免疫沈降法 (RNA-immunoprecipitation ; RNA-IP 法)

アイソトープ標識ヒト培養細胞抽出物を用いる免疫沈降法は、様々な RNA 結合蛋白抗原（リボ核蛋白）に対する抗体を高感度かつ特異的に検出することが可能である。 ^{32}P -リン酸を培地に加えて培養すると、HeLa 細胞の核酸成分が標識される。この標識細胞の超音波破碎遠心上清を抗原に用い、患者血清中の IgG を吸着させたプロテイン A-セファロース粒子と反応させる。形成された免疫沈降物から RNA をフェノール抽出し、尿素-PAG 電気泳動で分画後、オートラジオグラフィで検出するものである。 ^{32}P 標識 HeLa 細胞の代わりに、未標識 HeLa 細胞抽出物を抗原に用い、電気泳動後にゲルの銀染色によって RNA を検出する方法も開発され、スクリーニング検査としてより適している。この方法によって、他法では検出不能の自己抗体が数多く発見された〔抗アミノアシル tRNA 合成酵素、抗 U2RNP、抗 SRP、抗 U3RNP（フィブリラリン）、抗 7-2RNP 抗体など〕。ほぼすべてのリボ核蛋白が自己抗体のターゲットであり、特に臨床的に重要なものが多い。

本法は、①標準血清がなくても沈降する RNA の種類によって抗体のスクリーニングが可能であること、②抗原の分析が可能であること、③未知の新たな自己抗体を検出できること、④感度と特異度が優れていること、などの利点が多い一方、RNA 関連抗原以外の自己抗体が検出できないこと、手技が煩雑で熟練を要することが欠点といえる。

8. 蛋白免疫沈降法 (Protein-immunoprecipitation ; 蛋白-IP 法)

^{32}P の代わりに ^{35}S -メチオニンを用いて培養細胞を標識すると、蛋白成分が ^{35}S 標識される。この標識細胞抽出物を抗原に用いて、患者血清 IgG 吸着プロテイン A-セファロース粒子と反応させ、形成された免疫沈降物を SDS-PAG 電気泳動しオートラジオグラフィにかけると、自己抗体が反応する抗原の蛋白成分を検出することができる。同じく蛋白を検出する免疫ブロット法と異なる点は、本法ではネイティブな条件で抗体と反応させるため、ネイティブ抗原の構成蛋白成分がすべて同時に沈降する。RI を用いるので感度は高いが、手技の煩雑さからスクリーニング法としては不向きである。

抗 RNA ポリメラーゼ抗体は本法でのみ検出可能であったが、現在は ELISA が開発された。また、皮膚筋炎における新たな自己抗体〔抗 CADM-140 (MDA5) 抗体および抗 p155/p140 (TIF-1 γ/α) 抗体〕が本法により検出された。