



国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材
全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材
科研人员核心能力提升导引丛书
供研究生及科研人员用

第**2**版

医学免疫学实验技术

Medical Immunological Techniques

主 编 柳忠辉 吴雄文
副主编 王全兴 吴玉章 储以微



人民卫生出版社



国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材
全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材
科研人员核心能力提升导引丛书
供研究生及科研人员用

医学免疫学实验技术

Medical Immunological Techniques

第 2 版

主 编 柳忠辉 吴雄文

副 主 编 王全兴 吴玉章 储以微

编 者 (按姓氏笔画排序)

于益芝 (第二军医大学免疫学研究所)

马远方 (河南大学医学院)

王全兴 (第二军医大学免疫学研究所)

王迎伟 (南京医科大学基础医学院)

王宏林 (上海交通大学医学院)

台桂香 (吉林大学基础医学院)

杨 琨 (第四军医大学基础医学院)

李晋涛 (第三军医大学免疫学研究所)

吴长有 (中山大学中山医学院)

吴玉章 (第三军医大学免疫学研究所)

吴雄文 (华中科技大学同济医学院)

宋文刚 (泰山医学院)

张学军 (天津医科大学基础医学院)

陈 全 (重庆医科大学基础医学院)

陈雪玲 (石河子大学医学院)

周 洪 (南京医科大学基础医学院)

柳忠辉 (吉林大学基础医学院)

夏 圣 (江苏大学基础医学与医学技术学院)

徐 薇 (苏州大学医学部)

曹雪涛 (中国医学科学院)

崔雪玲 (吉林大学基础医学院)

储以微 (复旦大学基础医学院)

鲁林荣 (浙江大学免疫学研究所)

熊思东 (苏州大学)

颜卫华 (浙江省台州医院)

魏海明 (中国科技大学生命科学学院)

编写秘书 葛敬岩 (吉林大学基础医学院)



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

图书在版编目 (CIP) 数据

医学免疫学实验技术 / 柳忠辉, 吴雄文主编. —2 版.
—北京: 人民卫生出版社, 2014
ISBN 978-7-117-18565-3

I. ①医… II. ①柳…②吴… III. ①医学-免疫学-实验
技术-医学院校-教材 IV. ①R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 015644 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数 据库服务, 医学教育资 源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

医学免疫学实验技术
第 2 版

主 编: 柳忠辉 吴雄文

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 850×1168 1/16 印张: 15 插页: 2

字 数: 454 千字

版 次: 2008 年 3 月第 1 版 2014 年 4 月第 2 版

2014 年 4 月第 2 版第 1 次印刷 (总第 2 次印刷)

标准书号: ISBN 978-7-117-18565-3/R · 18566

定 价: 59.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

主编简介



柳忠辉, 博士, 教授, 博士生导师, 现在吉林大学基础医学院免疫学系工作, 兼吉林省神经免疫与临床免疫重点实验室主任。被聘为国家留学基金委、国家自然科学基金委专家评审组成员, 担任中华医学会微生物学与免疫学分会基础免疫组副组长、中国免疫学会移植免疫分会委员、吉林省免疫学会常务理事。担任 *World J Hepatology* 杂志以及《中华微生物学和免疫学杂志》编委, 以及 *J Leukocyte Biol*、*Cell Immunol* 及 *Neurosci Lett* 等 8 部 SCI 杂志审稿人。

在教学方面, 先后主编教材 3 部, 分别由人民卫生出版社、高等教育出版社以及科学出版社发行出版, 获吉林大学教学成果一等奖、三等奖及吉林省高教学会优秀教学成果三等奖等多项教学奖励。在科研方面, 主要从事激活素 (activin) 神经免疫调控作用及其信号传导机制研究, 承担国家及省部级课题 20 余项, 获吉林省科学技术进步二等奖 3 项, 代表性论文先后在 *J Cell Sci*、*Int J Cardiol*、*J Neuroendocrinol* 以及 *J Biol Chem* 等 SCI 收录杂志发表。



吴雄文, 博士, 教授, 博士生导师, 华中科技大学同济医学院基础医学院副院长、中国免疫学会基础免疫专业委员会委员、湖北省免疫学会常务理事兼秘书长、武汉免疫学会副理事长兼秘书长。

从事医学免疫学教学科研工作, 研究领域为 MHC 的结构与功能, 发表相关论文 60 余篇, 曾获国务院政府特殊津贴 (1992) 和第六届高等教育国家级教学成果二等奖 (2009) 等奖励。

全国高等学校医学研究生规划教材

第二轮修订说明

为了推动医学研究生教育的改革与发展,加强创新人才培养,自2001年8月全国高等医药教材建设研究会和原卫生部教材办公室启动医学研究生教材的组织编写工作开始,在多次大规模的调研、论证的前提下,人民卫生出版社先后于2002年和2008年分两批完成了第一轮五十余种医学研究生规划教材的编写与出版工作。

为了进一步贯彻落实第二次全国高等医学教育改革工作会议精神,推动“5+3”为主体的临床医学教育综合改革,培养研究型、创新性、高素质的卓越医学人才,全国高等医药教材建设研究会、人民卫生出版社在全面调研、系统分析第一轮研究生教材的基础上,再次对这套教材进行了系统的规划,进一步确立了以“解决研究生科研和临床中实际遇到的问题”为立足点,以“回顾、现状、展望”为线索,以“培养和启发研究生创新思维”为中心的教材创新修订原则。

修订后的第二轮教材共包括5个系列:①科研公共学科系列:主要围绕研究生科研中所需要的基本理论知识,以及从最初的科研设计到最终的论文发表的各个环节可能遇到的问题展开;②常用统计软件与技术介绍了SAS统计软件、SPSS统计软件、分子生物学实验技术、免疫学实验技术等常用的统计软件以及实验技术;③基础前沿与进展:主要包括了基础学科中进展相对活跃的学科;④临床基础与辅助学科:包括了临床型研究生所需要进一步加强的相关学科内容;⑤临床专业学科:通过对疾病诊疗历史变迁的点评、当前诊疗中困惑、局限与不足的剖析,以及研究热点与发展趋势探讨,启发和培养临床诊疗中的创新。从而构建了适应新时期研究型、创新性、高素质、卓越医学人才培养的教材体系。

该套教材中的科研公共学科、常用统计软件与技术学科适用于医学院校各专业的研究生及相应的科研工作者,基础前沿与进展主要适用于基础医学和临床医学的研究生及相应的科研工作者;临床基础与辅助学科和临床专业学科主要适用于临床型研究生及相应学科的专科医师。

全国高等学校第二轮医学研究生规划教材目录

- | | | |
|----|----------------------|---------------------------------------|
| 1 | 医学哲学 | 主 编 柯 杨 张大庆
副主编 赵明杰 段志光 罗长坤
刘 虹 |
| 2 | 医学科研方法学(第2版) | 主 编 刘 民
副主编 陈 峰 |
| 3 | 医学统计学(第4版) | 主 编 孙振球 徐勇勇 |
| 4 | 医学实验动物学(第2版) | 主 编 秦 川
副主编 谭 毅 张连峰 |
| 5 | 实验室生物安全(第2版) | 主 审 余新炳
主 编 叶冬青 |
| 6 | 医学科研课题设计、申报与实施(第2版) | 主 审 龚非力
主 编 李卓娅
副主编 李宗芳 |
| 7 | 医学信息搜集与利用(第2版) | 主 编 代 涛
副主编 赵文龙 张云秋 |
| 8 | 医学实验技术原理与选择(第2版) | 主 编 魏于全
副主编 向 荣 郭亚军 胡 汛
徐宁志 |
| 9 | 统计方法在医学科研中的应用 | 主 编 李晓松
副主编 李 康 |
| 10 | 医学科研论文撰写与发表(第2版) | 主 编 张学军
副主编 王征爱 吴忠均 |
| 11 | IBM SPSS 统计软件应用(第3版) | 主 编 陈平雁 黄浙明
副主编 安胜利 欧春泉 陈莉雅 |
| 12 | SAS 统计软件应用(第3版) | 主 编 贺 佳
副主编 尹 平 |

- | | | |
|----|------------------|---------------------------------------|
| 13 | 医学分子生物学实验技术(第3版) | 主 编 药立波
副主编 韩 骅 焦炳华 常智杰 |
| 14 | 医学免疫学实验技术(第2版) | 主 编 柳忠辉 吴雄文
副主编 王全兴 吴玉章 储以微 |
| 15 | 组织病理技术(第2版) | 主 编 李甘地 |
| 16 | 组织和细胞培养技术(第3版) | 主 审 宋今丹
主 编 章静波
副主编 张世馥 连小华 |
| 17 | 组织化学与细胞化学技术(第2版) | 主 编 李 和 周 莉
副主编 周德山 周国民 肖 岚 |
| 18 | 人类疾病动物模型(第2版) | 主 审 施新猷
主 编 刘恩岐
副主编 李亮平 师长宏 |
| 19 | 医学分子生物学(第2版) | 主 审 刘德培
主 编 周春燕 冯作化
副主编 药立波 何凤田 |
| 20 | 医学免疫学 | 主 编 曹雪涛
副主编 于益芝 熊思东 |
| 21 | 基础与临床药理学(第2版) | 主 编 杨宝峰
副主编 李学军 李 俊 董 志 |
| 22 | 医学微生物学 | 主 编 徐志凯 郭晓奎
副主编 江丽芳 龙北国 |
| 23 | 病理学 | 主 编 来茂德
副主编 李一雷 |
| 24 | 医学细胞生物学(第3版) | 主 审 钟正明
主 编 杨 恬
副主编 易 静 陈誉华 何通川 |
| 25 | 分子病毒学(第3版) | 主 编 黄文林
副主编 徐志凯 董小平 张 辉 |
| 26 | 医学微生态学 | 主 编 李兰娟 |
| 27 | 临床流行病学(第4版) | 主 审 李立明
主 编 黄悦勤 |
| 28 | 循证医学 | 主 编 李幼平
副主编 杨克虎 |

- | | | |
|----|-------------|---|
| 29 | 断层影像解剖学 | 主 编 刘树伟
副主编 张绍祥 赵 斌 |
| 30 | 临床应用解剖学 | 主 编 王海杰
副主编 陈 尧 杨桂姣 |
| 31 | 临床信息管理 | 主 编 崔 雷
副主编 曹高芳 张 晓 郑西川 |
| 32 | 临床心理学 | 主 审 张亚林
主 编 李占江
副主编 王建平 赵旭东 张海音 |
| 33 | 医患沟通 | 主 编 周 晋
副主编 尹 梅 |
| 34 | 实验诊断学 | 主 编 王兰兰 尚 红
副主编 尹一兵 樊绮诗 |
| 35 | 核医学(第2版) | 主 编 张永学
副主编 李亚明 王 铁 |
| 36 | 放射诊断学 | 主 编 郭启勇
副主编 王晓明 刘士远 |
| 37 | 超声影像学 | 主 审 张 运 王新房
主 编 谢明星 唐 杰
副主编 何怡华 田家玮 周晓东 |
| 38 | 呼吸病学(第2版) | 主 审 钟南山
主 编 王 辰 陈荣昌
副主编 代华平 陈宝元 |
| 39 | 消化内科学(第2版) | 主 审 樊代明 刘新光
主 编 钱家鸣
副主编 厉有名 林菊生 |
| 40 | 心血管内科学(第2版) | 主 编 胡大一 马长生
副主编 雷 寒 韩雅玲 黄 峻 |
| 41 | 血液内科学(第2版) | 主 编 黄晓军 黄 河
副主编 邵宗鸿 胡 豫 |
| 42 | 肾内科学(第2版) | 主 编 湛贻璞
副主编 余学清 |
| 43 | 内分泌内科学(第2版) | 主 编 宁 光 周智广
副主编 王卫庆 邢小平 |

- | | | | |
|----|------------|-----|--------------------|
| 44 | 风湿内科学(第2版) | 主 编 | 陈顺乐 邹和健 |
| 45 | 急诊医学(第2版) | 主 编 | 黄子通 于学忠 |
| | | 副主编 | 吕传柱 陈玉国 刘 志 |
| 46 | 神经内科学(第2版) | 主 编 | 刘 鸣 谢 鹏 |
| | | 副主编 | 崔丽英 陈生弟 张黎明 |
| 47 | 精神病学(第2版) | 主 审 | 江开达 |
| | | 主 编 | 马 辛 |
| | | 副主编 | 施慎逊 许 毅 |
| 48 | 感染病学(第2版) | 主 编 | 李兰娟 李 刚 |
| | | 副主编 | 王宇明 陈士俊 |
| 49 | 肿瘤学(第4版) | 主 编 | 曾益新 |
| | | 副主编 | 吕有勇 朱明华 陈国强
龚建平 |
| 50 | 老年医学(第2版) | 主 编 | 张 建 范 利 |
| | | 副主编 | 华 琦 李为民 杨云梅 |
| 51 | 临床变态反应学 | 主 审 | 叶世泰 |
| | | 主 编 | 尹 佳 |
| | | 副主编 | 洪建国 何韶衡 李 楠 |
| 52 | 危重症医学 | 主 编 | 王 辰 席修明 |
| | | 副主编 | 杜 斌 于凯江 詹庆元
许 媛 |
| 53 | 普通外科学(第2版) | 主 编 | 赵玉沛 姜洪池 |
| | | 副主编 | 杨连粤 任国胜 陈规划 |
| 54 | 骨科学(第2版) | 主 编 | 陈安民 田 伟 |
| | | 副主编 | 张英泽 郭 卫 高忠礼
贺西京 |
| 55 | 泌尿外科学(第2版) | 主 审 | 郭应禄 |
| | | 主 编 | 杨 勇 李 虹 |
| | | 副主编 | 金 杰 叶章群 |
| 56 | 胸心外科学 | 主 编 | 胡盛寿 |
| | | 副主编 | 孙立忠 王 俊 庄 建 |
| 57 | 神经外科学(第2版) | 主 审 | 周良辅 |
| | | 主 编 | 赵继宗 周定标 |
| | | 副主编 | 王 硕 毛 颖 张建宁
王任直 |

- | | | |
|----|----------------|---|
| 58 | 血管淋巴管外科学(第2版) | 主 编 汪忠镐
副主编 王深明 俞恒锡 |
| 59 | 小儿外科学(第2版) | 主 审 王 果
主 编 冯杰雄 郑 珊
副主编 孙 宁 王维林 夏慧敏 |
| 60 | 器官移植学 | 主 审 陈 实
主 编 刘永锋 郑树森
副主编 陈忠华 朱继业 陈江华 |
| 61 | 临床肿瘤学 | 主 编 赫 捷
副主编 毛友生 沈 铿 马 骏 |
| 62 | 麻醉学 | 主 编 刘 进
副主编 熊利泽 黄宇光 |
| 63 | 妇产科学(第2版) | 主 编 曹泽毅 乔 杰
副主编 陈春玲 段 涛 沈 铿
王建六 杨慧霞 |
| 64 | 儿科学 | 主 编 桂永浩 申昆玲
副主编 毛 萌 杜立中 |
| 65 | 耳鼻咽喉头颈外科学(第2版) | 主 编 孔维佳 韩德民
副主编 周 梁 许 庚 韩东一 |
| 66 | 眼科学(第2版) | 主 编 崔 浩 王宁利
副主编 杨培增 何守志 黎晓新 |
| 67 | 灾难医学 | 主 审 王一镗
主 编 刘中民
副主编 田军章 周荣斌 王立祥 |
| 68 | 康复医学 | 主 编 励建安
副主编 毕 胜 |
| 69 | 皮肤性病学 | 主 编 王宝玺
副主编 顾 恒 晋红中 李 岷 |
| 70 | 创伤、烧伤与再生医学 | 主 审 王正国 盛志勇
主 编 付小兵
副主编 黄跃生 蒋建新 |

全国高等学校第二轮医学研究生规划教材 评审委员会名单

顾 问

韩启德 桑国卫 陈 竺 赵玉沛

主任委员

刘德培

副主任委员 (以汉语拼音为序)

曹雪涛 段树民 樊代明 付小兵 郎景和 李兰娟 王 辰
魏于全 杨宝峰 曾益新 张伯礼 张 运 郑树森

常务委员 (以汉语拼音为序)

步 宏 陈安民 陈国强 冯晓源 冯友梅 桂永浩 柯 杨
来茂德 雷 寒 李 虹 李立明 李玉林 吕兆丰 瞿 佳
田勇泉 汪建平 文历阳 闫剑群 张学军 赵 群 周学东

委 员 (以汉语拼音为序)

毕开顺 陈红专 崔丽英 代 涛 段丽萍 龚非力 顾 晋
顾 新 韩德民 胡大一 胡盛寿 黄从新 黄晓军 黄悦勤
贾建平 姜安丽 孔维佳 黎晓新 李春盛 李 和 李小鹰
李幼平 李占江 栗占国 刘树伟 刘永峰 刘中民 马建辉
马 辛 宁 光 钱家鸣 乔 杰 秦 川 尚 红 申昆玲
沈志祥 谌贻璞 石应康 孙 宁 孙振球 田 伟 汪 玲
王 果 王兰兰 王宁利 王深明 王晓民 王 岩 谢 鹏
徐志凯 杨东亮 杨 恬 药立波 尹 佳 于布为 余祥庭
张奉春 张 建 张祥宏 章静波 赵靖平 周春燕 周定标
周 晋 朱正纲

前 言

《医学免疫学实验技术》第1版在15所院校同仁的共同努力下,于2008年刊印。经过近5年的应用,得到国内同行的认可和多方面建议,虽然该书具有较强的科学性和实用性,但由于编撰时间较早,一些新的免疫学技术未能容纳进去。为适应新的免疫学技术发展,我们再次组织20所院校的同仁,在第1版书的基础上,重新编写,希望本次编写的书籍更能适应现代免疫学实验技术教学与科学研究。

由于现代免疫学技术的快速发展,使人们很难在短时间内掌握和运用相应的免疫学技术。因此,一本好的实验教程,不仅要阐述实验的基本理论知识、介绍实验操作流程,更要具有举一反三的实用性及指导科学研究的作用。本次教材编写,不仅添加了新的免疫学技术内容,并对新的实验方法进行了补充,更秉承了前一版书举一反三的实用性及科学性等特点。本书的编者均是工作在科研与教学一线的人员,每个实验内容都结合了作者自身的经验和体会,不仅讲述了基本的实验过程,更详细阐明了每个实验的影响因素,在不同条件下如何改进实验方法,提出了实验中可能出现的问题及解决策略,尽可能使每个实验都具有可操作性及指导性。因此,本书既适合研究生免疫学实验技术教学,也可供免疫学相关研究者作为参考书籍。

由于编写时间仓促,作者在书写、语言和见解上存在差异,本书存在问题在所难免,希望广大读者在使用实践中,提出宝贵意见,并对不足之处给予批评指正。最后,对参与本书第1版编写的各位同仁表示深深的谢意和祝福,也对第2版各位同仁的努力和支持表示诚挚的谢意。

柳忠辉

内 容 简 介

本书秉承前一版编写时强调的科学性与实用性特点,对新的免疫学技术加以补充,在兼顾广泛应用的免疫学基本技术的同时,更融入了近年出现的新技术、新方法,使本书更能适应现代免疫学实验技术教学与科学研究。全书共包括 23 章及附录,分别叙述了抗原-抗体技术、细胞免疫学技术、常用免疫动物模型以及免疫学常用试剂的配制及其适用范围。本书在讲述实验原理和实验流程的同时,分别列举了各类典型实验,并重点阐述每种实验技术可能遇到的问题及解决策略。本书集免疫学实验技术教学的实用性和科学性于一体,既适合研究生免疫学教学,也可作为生命科学领域相关研究人员的参考书籍。

目 录

第一章 抗体制备..... 1	三、 ¹²⁵ I 标记抗原的分离.....31
第一节 多克隆抗体的制备及鉴定..... 1	第二节 放射免疫分析技术.....31
一、抗原制备..... 1	一、实验原理.....31
二、动物免疫..... 2	二、主要技术条件.....32
三、抗体纯化及鉴定..... 3	第三节 免疫放射分析.....32
四、实验举例..... 6	第四节 免疫细胞受体放射分析.....33
第二节 单克隆抗体的制备及鉴定..... 7	第五节 应用举例..... 34
一、单克隆抗体制备原理..... 7	第四章 免疫细胞化学技术.....37
二、免疫方案..... 7	第一节 免疫细胞化学基本原理.....37
三、细胞融合..... 9	一、免疫细胞化学技术基本流程.....37
四、融合细胞的选择性培养.....11	二、抗体的选择.....39
五、单克隆细胞株的筛选与克隆化.....11	第二节 实验操作和常见问题.....41
六、单克隆抗体鉴定.....13	一、细胞样本的制备.....41
七、单克隆抗体的大量制备.....16	二、固定.....42
八、单克隆抗体的纯化.....16	三、免疫染色及检测.....43
九、单克隆抗体制备的影响因素.....19	第三节 免疫细胞化学的衍生技术.....45
第二章 非放射性免疫标记技术.....21	第四节 应用举例.....46
第一节 酶免疫测定.....21	第五章 T 细胞表位的预测与鉴定.....49
一、实验原理.....21	第一节 细胞毒性 T 细胞表位的鉴定.....49
二、试剂与材料.....22	一、抗原特异性细胞毒性 T 细胞的获得.....49
三、实验流程.....22	二、抗原多肽片段的获得.....49
四、问题及解决策略.....23	三、多肽亲和力和测定.....50
第二节 免疫荧光.....23	四、效应性细胞毒性 T 细胞的体外诱导.....51
第三节 免疫胶体金.....24	五、细胞毒性 T 细胞活性检测.....52
一、实验原理.....24	第二节 Th 细胞表位的鉴定.....53
二、胶体金标记技术在免疫学中的应用.....24	一、抗原特异性 CD4 ⁺ T 细胞克隆的建立.....54
三、应用举例.....25	二、抗原多肽片段的获得.....54
第四节 化学发光.....26	三、肽结合实验.....54
一、化学发光原理.....26	四、肽特异性 CD4 ⁺ T 细胞的诱导.....55
二、化学发光免疫分析类型.....27	五、细胞增殖实验.....55
三、应用举例.....28	六、MHC 限制性确定.....55
第三章 放射性标记技术.....30	七、IFN- γ 细胞因子分析.....55
第一节 放射性同位素标记抗原.....30	第三节 MHC 分型.....56
一、氯胺 T 标记法.....30	一、血清学方法.....56
二、Iodogen 标记法.....30	二、聚合酶链反应 - 序列特异性引物法.....56

第四节 应用举例	56	第三节 中性粒细胞分离	86
第六章 免疫印迹	60	一、材料和仪器	86
第一节 免疫印迹基本原理	60	二、实验流程	86
一、蛋白印迹	60	第四节 小鼠骨髓造血干细胞及基质	
二、DNA 印迹	60	干细胞分离	86
三、RNA 印迹	61	一、材料和仪器	87
第二节 蛋白质印迹实验流程	61	二、实验流程	87
一、蛋白质电泳分离	61	三、问题与解决策略	87
二、蛋白质印迹	63	第五节 免疫磁珠分选免疫细胞及其	
三、免疫检测目的蛋白	65	亚群	87
第三节 核酸印迹的免疫检测	66	一、材料和仪器	88
一、DNA 印迹	66	二、实验流程	88
二、RNA 印迹	68	三、问题与解决策略	88
第四节 免疫印迹技术的应用	68	第九章 树突状细胞功能研究	90
第五节 应用举例	69	第一节 树突状细胞分离纯化	90
第七章 免疫沉淀技术	71	一、小鼠脾脏树突状细胞的分离	90
第一节 免疫沉淀与免疫共沉淀	71	二、人外周血树突状细胞的分离	91
一、实验材料	72	第二节 树突状细胞的培养	93
二、实验方法	72	一、小鼠骨髓前体细胞培养树突状细胞	93
三、技术关键	73	二、人树突状细胞的培养	93
第二节 沉降技术	75	第三节 树突状细胞表型和功能检测	95
一、实验方法	75	一、表型检测	95
二、技术关键	75	二、吞噬功能检测	95
第三节 串联亲和纯化技术	76	三、一氧化氮分泌能力检测	96
一、实验材料	76	四、细胞因子产生能力检测	96
二、实验方法	77	五、抗原提呈功能检测	97
三、技术关键	78	六、混合淋巴细胞反应	97
第四节 DNA 沉淀	78	第十章 T 细胞亚群的诱导分化	99
一、实验材料	78	第一节 Th1 和 Th2 细胞的分化诱导	99
二、实验方法	79	第二节 Th17 细胞的诱导分化	100
三、技术关键	80	第三节 调节性 T 细胞的诱导分化	101
第五节 RNA 结合蛋白免疫共沉淀	80	第四节 滤泡辅助性 T 细胞的诱导	
一、实验试剂	80	分化	102
二、实验方法	80	第十一章 B 淋巴细胞分离及功能检测	104
第八章 常用免疫细胞分离	83	第一节 B 淋巴细胞的分离	104
第一节 外周血单个核细胞的分离	83	一、尼龙棉柱法分离 B 淋巴细胞	104
一、材料和仪器	83	二、T 细胞清除法分离 B 淋巴细胞	104
二、实验流程	83	三、免疫磁珠法分离 B 淋巴细胞	104
三、问题与解决策略	84	四、流式细胞术分选 B 淋巴细胞	105
第二节 T、B 淋巴细胞及其亚群分离	84	第二节 B 细胞表型及初始和记忆性	
一、尼龙棉柱法富集 T 淋巴细胞	84	B 细胞的检测	105
二、补体介导细胞毒剔除 B 细胞及辅佐		一、B 细胞的表型特征	105
细胞富集 T 细胞	85	二、初始和记忆性 B 细胞的表型特征	106
三、通过补体细胞毒剔除 T 淋巴细胞		三、B 细胞表型检测	106
或其亚群	86	第三节 B 细胞功能亚群的鉴定	107

第四节 B 淋巴细胞迁移的检测	108	四、检测结果的分析系统	133
第五节 B 淋巴细胞功能的检测	108	五、细胞分选系统	134
一、B 细胞的活化	108	第二节 流式细胞术的应用	136
二、B 细胞增殖的检测	108	一、免疫细胞的表型分析	136
三、免疫球蛋白类别转换的诱导和检测	109	二、免疫细胞的分选	136
第十二章 自然杀伤细胞功能检测	111	三、细胞内细胞因子的检测	136
第一节 自然杀伤细胞的分离纯化	111	四、可溶性分子的检测	136
一、不连续密度梯度分离人外周血 NK		五、细胞增殖检测	137
细胞	111	六、其他应用	138
二、补体裂解法分离小鼠脾脏 NK 细胞	112	第三节 应用实例	139
三、磁性细胞分选器分离	112	一、小鼠胸腺细胞表面 CD4 及 CD8	
第二节 自然杀伤细胞活性测定	114	分子检测	139
一、效应细胞的制备	114	二、小鼠脾脏淋巴细胞胞内 IFN- γ 检测	140
二、靶细胞的制备	114	三、CFSE 标记法检测淋巴细胞增殖	141
三、效 - 靶细胞作用及检测方法	115	第十六章 免疫细胞增殖实验	143
第三节 小鼠体内自然杀伤细胞清除	119	第一节 细胞培养与冻存	143
第十三章 巨噬细胞功能检测	121	一、细胞传代培养	143
一、小鼠腹腔巨噬细胞分离及纯化	121	二、冻存与复苏	143
二、人血源性单核巨噬细胞的诱导及		第二节 细胞增殖检测	144
分离	122	一、直接计数法	144
三、小鼠巨噬细胞极化的诱导及鉴定	123	二、BrdU 检测法	145
四、吞噬功能测定	124	三、荧光染料 CFSE 染色法检测细胞增殖	146
五、趋化功能测定	125	四、 $^3\text{H-TdR}$ 掺入法	146
六、体内活化巨噬细胞	125	五、噻唑蓝比色法	146
第十四章 母胎界面细胞分离培养	127	第三节 T、B 淋巴细胞增殖实验	147
第一节 人蜕膜免疫细胞的分离及纯化	127	一、T 淋巴细胞增殖实验	147
一、实验原理	127	二、B 淋巴细胞增殖实验	147
二、实验试剂与材料	127	第四节 免疫相关细胞的增殖实验	148
三、实验方法	128	一、细胞因子依赖的细胞株增殖	148
四、关键问题和解决策略	129	二、混合淋巴细胞培养	148
第二节 人蜕膜基质细胞分离及培养	129	三、细胞因子依赖的其他免疫细胞增殖	148
一、实验原理	129	第五节 三维细胞培养技术	149
二、实验试剂与材料	129	第六节 应用举例	150
三、实验方法	130	一、植物血凝素诱导 T 淋巴细胞增殖	150
四、关键问题和解决策略	130	二、混合淋巴细胞培养	150
第三节 人绒毛外滋养细胞分离与培养	130	第十七章 细胞毒实验技术	152
一、实验原理	130	第一节 补体依赖细胞毒实验	152
二、实验试剂与材料	130	第二节 细胞毒性 T 细胞功能测定	153
三、实验方法	131	一、效应细胞诱导和制备	153
四、关键问题和解决策略	131	二、靶细胞的制备	154
第十五章 流式细胞术	132	三、特异性抗原诱导的细胞毒性 T 细胞	
第一节 流式细胞仪的原理	132	功能测定	154
一、流动室和液流驱动系统	132	第三节 应用举例	157
二、激光光源及光学系统	132	一、LDH 法检测人外周血 CTL 细胞	
三、检测信号的存储和放大系统	133	杀伤活性	157

二、 ⁵¹ Cr 释放法检测人抗原特异性细胞 毒性 T 细胞功能	157	第二十一章 光学成像技术在免疫学的 应用	189
第十八章 免疫细胞吞噬功能测定	159	第一节 活细胞成像技术	189
第一节 单核巨噬细胞吞噬功能测定	159	一、荧光标记和检测	189
一、吞噬实验类型	159	二、图像数据采集和分析	190
二、巨噬细胞的制备	160	三、活细胞成像技术应用实例	191
三、吞噬微粒的选择	160	第二节 动物活体成像技术	192
四、吞噬效率的测定	161	一、动物活体光学成像技术的原理	192
第二节 中性粒细胞吞噬功能测定	163	二、动物活体光学成像系统的构成	194
一、中性粒细胞的制备	163	三、动物活体成像的操作流程	194
二、吞噬效率的测定	163	四、动物活体成像在免疫学中的应用实例	195
第三节 应用举例	163	第二十二章 免疫相关动物模型建立	198
一、巨噬细胞体内吞噬鸡红细胞实验	163	一、炎症性肠道疾病动物模型	198
二、中性粒细胞吞噬功能检测	164	二、I 型超敏反应动物模型	199
第十九章 免疫细胞凋亡	166	三、多发性硬化症动物模型	200
第一节 细胞凋亡的形态学检测方法	166	四、类风湿关节炎动物模型	202
一、凋亡细胞直接观察	166	第二十三章 经典免疫学实验	204
二、苏木精 - 伊红染色法	167	第一节 凝集反应	204
三、Hoechst 33258 染色法	168	一、直接凝集反应	204
第二节 细胞凋亡的生物化学研究方法	169	二、间接凝集实验	204
一、凋亡细胞的 DNA 断裂检测	169	三、应用举例	205
二、免疫印迹检测凋亡信号转导分子	170	第二节 沉淀反应	205
第三节 流式细胞术检测细胞凋亡	171	一、液体内沉淀反应	205
一、亚二倍体分析法	171	二、凝胶内沉淀反应	206
二、Annexin V/PI 双染法	172	三、应用举例	207
三、线粒体膜电位检测	173	第三节 补体测定	208
四、TUNEL 法	175	一、补体总活性测定	208
第二十章 细胞因子检测	178	二、脂质体均相免疫溶破实验	210
第一节 检测方法概述	178	三、补体旁路途径溶血活性的测定	210
一、生物活性检测法	178	四、单个补体成分的测定	211
二、免疫学检测法	178	第四节 循环免疫复合物的测定	211
三、分子生物学检测法	179	一、抗原特异性检测方法	211
第二节 常见细胞因子生物学活性检测	179	二、抗原非特异性检测方法	211
一、白细胞介素 1 生物学活性检测	179	第五节 B 细胞溶血空斑实验	213
二、白细胞介素 2 生物学活性检测	180	一、琼脂溶血空斑法	213
三、白细胞介素 10 生物学活性检测	181	二、液相单层溶血空斑法	214
四、白细胞介素 17 生物学活性检测	181	附录: 常用试剂配制及应用	216
五、肿瘤坏死因子生物学活性检测	182	一、常用缓冲液、试剂的配制	216
第三节 细胞内细胞因子检测法	182	二、酶免疫检测常用试剂配制	218
第四节 可溶性细胞因子的蛋白定量 检测	184	三、细胞相关试剂配制	219
一、酶联免疫吸附实验	184	四、染色液配制	220
二、微量样本多指标流式蛋白定量技术	184	五、固定剂	221
三、Luminex- 液相芯片分析系统	185	六、蛋白电泳相关试剂	221
第五节 ELISPOT 技术	186	七、淋巴细胞分离液	222
		八、其他试剂	222