



高等医药院校基础医学实验教学系列规划教材

供本、专科医学类相关专业学生使用

# 医学免疫学实验与学习指导

● 主编 马新博 段斯亮



第四军医大学出版社

高等医药院校基础医学实验教学系列规划教材

供本、专科医学类相关专业学生使用

# 医学免疫学实验与 学习指导

主 编 马新博 段斯亮

副主编 李明琦 官 杰 石学魁 刘 云

编 者 (按姓氏笔画排序)

马新博(广西科技大学医学院)

王 琪(齐齐哈尔医学院)

王 慧(齐齐哈尔医学院)

王婷婷(黑龙江中医药大学)

石学魁(牡丹江医学院)

刘 云(广西科技大学医学院)

李明琦(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院)

张凯波(丽水学院医学院)

罗晓庆(齐齐哈尔医学院)

周明谣(哈尔滨市卫生学校)

官 杰(齐齐哈尔医学院)

段斯亮(广西科技大学医学院)

第四军医大学出版社·西安

图书在版编目 (CIP) 数据

---

医学免疫学实验与学习指导/马新博, 段斯亮主编. —西安: 第四军医大学出版社, 2015. 1  
ISBN 978 - 7 - 5662 - 0704 - 3

I. ①医… II. ①马…②段… III. ①医药学 - 免疫学 - 实验 - 高等职业教育 - 教学参考资料 IV. ①R392 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 032466 号

---

yixuemianyixue shiyan yu xuexizhidao

## 医学免疫学实验与学习指导

出版人: 富 明      责任编辑: 朱德强 崔宝莹

---

出版发行: 第四军医大学出版社

地址: 西安市长乐西路 17 号      邮编: 710032

电话: 029 - 84776765      传真: 029 - 84776764

网址: <http://press.fmmu.edu.cn>

---

制版: 新纪元文化传播

印刷: 西安永惠印务有限公司

版次: 2015 年 2 月第 1 版      2015 年 2 月第 1 次印刷

开本: 787 × 1092    1/16      印张: 9.75      字数: 220 千字

书号: ISBN 978 - 7 - 5662 - 0704 - 3/ R · 1515

定价: 24.00 元

---

版权所有 侵权必究

购买本社图书, 凡有缺、倒、脱页者, 本社负责调换

# 高等医药院校基础医学实验教学系列 规划教材建设指导委员会

主任委员 秦海沅

副主任委员 义家运 秦子平

委员 (按姓氏笔画排序)

文玉萍 伍善广 刘珍莲

张安文 陆春 陆桂喜

黄水群 廖春玲

# 前 言

医学免疫学是一门重要的医学基础课。当前免疫学实验技术被广泛应用于临床及科研工作中，成为推动临床及基础医学发展的有力工具。医学免疫学实验课程的开设，不仅有助于医学生更好地理解 and 掌握医学免疫学的基础理论、基本知识和基本技能，更能适应现代高等医药院校实验教学的需要，有助于培养医学生的科学思维、实践及创新等能力。

本书共分三篇：医学免疫学实验指导、医学免疫学学习纲要、医学免疫学习题集。实验指导坚持系统性原则，通过从实验目的、原理、材料、方法、结果、注意事项及临床意义等方面进行全面阐述，有利于学生系统地、全面地掌握实验理论以及技术操作，同时培养学生的实际动手能力，为学生将来的临床及科研工作打下坚实的基础。学习纲要内容有助于学生在学习过程中更具有目的性，做到有的放矢，加深理解和记忆。习题集内容涵盖了医学免疫学各章节的知识点，有利于学生进一步提高学习质量。

本教材适用于本科层次医学类各专业学生，同时亦适用于专科层次医学类各专业学生。

全书由全国多所医学院校教学经验丰富的教师合作编写完成，在编写过程中还得到了黑龙江中医药大学王亚贤教授的悉心指导和帮助，在此表示感谢。

由于编者水平所限，教材中难免存在疏漏和错误之处，诚请广大读者及同行专家提出宝贵意见。

马新博

2014年12月

# 目 录

绪论	( 1 )
第一篇 医学免疫学实验指导	( 1 )
实验一 抗原抗体凝集反应	( 3 )
实验二 抗原抗体沉淀反应	( 3 )
实验三 补体结合试验	( 7 )
实验四 免疫标记技术	( 13 )
实验五 免疫器官形态学观察	( 15 )
实验六 免疫细胞的分离与纯化(外周血单个核细胞的分离)	( 22 )
实验七 免疫细胞形态学观察	( 23 )
实验八 淋巴细胞功能检测	( 25 )
实验九 超敏反应( I 型超敏反应)	( 29 )
实验十 免疫生物制品示教	( 34 )
第二篇 医学免疫学学习纲要	( 37 )
第一章 绪论	( 37 )
第二章 抗原	( 37 )
第三章 免疫球蛋白	( 38 )
第四章 补体系统	( 38 )
第五章 细胞因子	( 38 )
第六章 白细胞分化抗原和黏附分子	( 38 )
第七章 主要组织相容性抗原	( 39 )
第八章 免疫器官的结构与功能	( 39 )
第九章 免疫细胞	( 39 )
第十章 免疫应答	( 39 )
第十一章 免疫调节与免疫耐受	( 40 )
第十二章 超敏反应	( 40 )
第十三章 自身免疫性疾病与免疫缺陷病	( 40 )
第十四章 肿瘤免疫与移植免疫	( 41 )
第十五章 免疫学应用	( 41 )

第三篇 医学免疫学习题集 .....	(42)
第一章 绪论 .....	(42)
第二章 免疫组织和器官 .....	(42)
第三章 抗原 .....	(46)
第四章 免疫球蛋白与抗体 .....	(49)
第五章 补体系统 .....	(53)
第六章 细胞因子、白细胞分化抗原及黏附因子 .....	(58)
第七章 主要组织相容性复合体及其编码分子 .....	(63)
第八章 免疫细胞 .....	(68)
第九章 固有免疫应答 .....	(74)
第十章 抗原提呈细胞与抗原提呈 .....	(79)
第十一章 T淋巴细胞介导的细胞免疫应答 .....	(82)
第十二章 B淋巴细胞介导的体液免疫应答 .....	(86)
第十三章 免疫耐受与免疫调节 .....	(91)
第十四章 超敏反应 .....	(98)
第十五章 自身免疫性疾病与免疫缺陷病 .....	(103)
第十六章 肿瘤免疫与移植免疫 .....	(110)
第十七章 免疫学诊断与防治 .....	(116)
参考答案 .....	(120)
参考文献 .....	(147)

# 绪 论

## 一、免疫学实验目的

免疫学实验室是供学生进行免疫学实验的重要场所。在实验室内,通过实验观察和动手操作,使学生进一步理解和掌握免疫学理论知识,同时掌握免疫学基本操作技术及免疫学检验技术,为今后的临床工作及科研工作打下坚实的基础。

## 二、免疫学实验室规则

免疫学实验过程中,同学们会接触到人或动物的血清及其他血制品,以及具有一定致病力的微生物或有毒制剂等,任何违规的实验操作都可能导致严重的后果。因此同学们必须遵守免疫学实验室规则,同时必须严格贯彻“无菌操作”。具体规则如下:

1. 进入实验室前必须穿好白大衣,离开实验室后立即脱下白大衣并反折好,白大衣应经常清洗并消毒。
2. 非实验物品如书包、衣物等不允许带入实验室。必要的文具、实验用具等物品带入后,应放在指定位置。
3. 进入实验室后,不能高声呼叫、谈笑、喧哗或随意走动,严禁饮食、吸烟,保证实验室的良好秩序。
4. 注意实验安全。使用有毒危险品或具有感染性的病原体时,应严格按照操作规程进行。严禁随意丢弃有毒或有传染性的材料,正确使用各种消毒容器及仪器盒等。
5. 必须小心地避免有毒、有传染性材料的溅出,若不慎污染了工作台、手、眼、衣物和地面等处,应立即报告老师,以便及时作出正确处理。
6. 养成节约习惯,爱护爱惜各种设备、仪器和原材料,如不慎损坏了实验仪器或实验标本等,应及时报告指导老师,按照学校规定记录并处理。
7. 每次实验后均应用肥皂洗手,必要时用消毒液泡手,如实验中使用了传染性或致病性较强的微生物标本,则需用消毒液擦洗工作台面,并用紫外线灯照射处理。
8. 实验完毕后,清理台面,检查标本、器材,并做到“物归原处”。值日生应做好实验室清洁,关好实验室的水、电、门、窗等后方可离开。

## 三、免疫学实验室发生意外情况的紧急处理

在实验操作过程中,要严格按实验要求操作以防事故的发生,如一旦发生意外伤害事



故,应立即报告当时在场的实验老师或实验员,并采取紧急处理办法。

1. 具有传染性液体标本误入口中 应立即将液体吐入消毒容器内,并用3%过氧化氢或1:10 000高锰酸钾溶液漱口,并根据传染性样本种类不同,及时服用相应抗菌药物预防。

2. 液体溅入眼睛 立即用生理盐水连续冲洗至少10分钟,必须迅速,避免揉擦眼睛。

3. 皮肤伤害 尽可能挤出损伤处的血液,用蒸馏水或生理盐水洗净并除去异物,涂2%红汞、75%酒精或2%碘酒等,并包扎伤口。若为烧伤则局部涂凡士林或2%苦味酸。

4. 化学药品腐蚀伤

(1) 强碱:先用大量清水清洗,再用5%醋酸中和。若受伤部位是眼部,经上述步骤处理后,再用液状石蜡或橄榄油1~2滴滴眼并及时到医院处置。

(2) 强酸:先用大量清水反复冲洗,再用5%碳酸氢钠溶液洗涤中和。

5. 具有传染性液体标本污染桌面 将适量的0.1%新洁尔灭或2%~3%来苏水倒在污染处,浸泡30分钟抹去。若手上沾有活菌,亦应浸泡上述消毒液3分钟后,然后再用清水反复冲洗。

6. 毒性物品泄露 立即离开操作台,同时报告老师处理。

7. 火警 如发生火警切勿慌张、保持冷静,应立即关闭电闸。如酒精、乙醚等有机溶液起火,不可以用水扑救,应用沾水的布类覆盖扑火或正确使用实验室灭火器扑灭。

(马新博)

# 第一篇 医学免疫学实验指导

## 实验一 抗原抗体凝集反应

### 一、直接凝集试验

#### 实验目的

1. 掌握玻片凝集和试管凝集试验的原理。
2. 熟悉常见凝集试验方法及临床意义。

#### 实验原理

颗粒性抗原与相应抗体在适当的条件下结合,可出现肉眼可见的凝集物,称直接凝集反应。通过观察是否出现可见的抗原抗体凝集物,用已知的抗体(或颗粒性抗原)检测相应的颗粒性抗原(或抗体)。

#### 实验内容

##### (一) 玻片凝集试验

##### 1. 材料

- (1) 抗体:1:40 抗伤寒杆菌免疫血清。
- (2) 抗原:伤寒沙门菌斜面培养物、大肠杆菌斜面培养物。
- (3) 生理盐水、载玻片、接种环、酒精灯等。

##### 2. 方法

(1) 取玻片1张,右侧加生理盐水1滴,中间及左侧无菌操作各加伤寒沙门菌诊断血清1滴。

(2) 用取菌环无菌操作取伤寒沙门菌培养物少许,分别与生理盐水及中间伤寒沙门菌诊断血清混匀。同法取大肠杆菌培养物与左侧伤寒血清混匀。

3. 结果 轻轻晃动载玻片,1~2分钟后,观察结果,出现细小凝集块者即为阳性,均匀混浊者为阴性反应。

4. 注意事项

(1)在玻片上涂细菌时,注意要先在生理盐水中涂菌,后在血清中涂菌,避免将血清误带入生理盐水中。

(2)操作过程中严格执行无菌操作。

5. 临床意义 玻片凝集试验为定性试验,其操作简便、反应迅速,但敏感性相对较低。玻片凝集试验是常规 ABO 血型鉴定和细菌菌种鉴定的实验。

(二) 试管凝集试验

1. 材料

(1)抗体:1:10 伤寒杆菌“H”抗体(免疫血清)。

(2)抗原(诊断菌液):伤寒杆菌鞭毛(H)抗原、伤寒杆菌菌体(O)抗原(用比浊法调至9亿/毫升)。

(3)生理盐水、小试管、1ml 和 5ml 吸管、56℃ 水浴箱或 37℃ 温箱等。

2. 方法(见附表)

(1)取洁净试管 7 支,排列于试管架上,依次编号;于各试管中均加入生理盐水 0.5ml。

(2)吸取 1:10 稀释的被检血清 0.5ml,加入第 1 管中,充分混合,吸出 0.5ml 放入第 2 管;混合后取出 0.5ml 于第 3 管中;以此类推直至第 6 管,混匀后吸出 0.5ml 弃去。第 7 管不加血清,作为生理盐水对照。第 1 管至第 6 管的血清初始稀释度为:1:20、1:40、1:80、1:160、1:320、1:640。这种稀释方法称为连续倍比稀释法。

(3)每管加入伤寒诊断菌液 0.5ml,至此每支试管内的血清稀释度又增加了 1 倍。

(4)摇匀后,置 56℃ 水浴箱中 2~4 小时、再置 4℃ 过夜,或 37℃ 18~24 小时后观察结果,操作程序见表 1-1-1。

表 1-1-1 试管凝集试验倍比稀释法

试管	1	2	3	4	5	6	7(对照)
生理盐水(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
伤寒诊断血清(ml)	0.5	0.5*	0.5*	0.5*	0.5*	0.5*	弃去 0.5
血清稀释倍数	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	—
诊断菌液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
血清最终稀释倍数	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	—

置 56℃ 水浴箱中 2~4 小时、再置 4℃ 过夜,或置 37℃ 18~24 小时,次日观察结果

注:\*为倍比稀释后血清

3. 结果

(1)抗原对照管:上清液混浊,可有少量细菌沉于管底,呈圆点状,边缘整齐。若轻摇,细菌散开仍呈混浊。

(2)“O、H”凝集特点:“O”凝集为颗粒状凝块,摇匀后分散成颗粒状;而“H”凝集则为絮状凝块,振摇后呈絮状沉淀物。

(3) 根据凝集程度分级,以“+”的多少表示:

- +++ : 细菌全部凝集沉于管底,上层液体澄清透明。
- ++ : 约 75% 的细菌凝集沉于管底,上层液体轻度混浊。
- ++ : 约 50% 的细菌凝集沉于管底,上层液体中度混浊,呈半透明。
- + : 约 25% 的细菌凝集沉于管底,上层液体较混浊。
- : 不凝集,液体混浊度与抗原对照管相同。

(4) 血清效价(滴度):以出现明显凝集(++ )的血清最高稀释倍数为血清的凝集效价。

(5) 报告方式:如实报告“O”和“H”血清效价。如血清最低稀释度仍无凝集现象,报告阴性;如血清最高稀释度显“++”或“++”以上凝集者,则应报告高于 1:1280。

#### 4. 注意事项

(1) 只有当抗原抗体比例适当时才会出现肉眼可见的凝集反应。血清浓度的稀释度越低,凝集反应越弱。反应中如果抗体浓度过高,则不会出现凝集反应,此为前带现象。

(2) 温度、pH 值、电解质等因素对反应结果均有影响。在加入抗原抗体后,要充分混匀以促进抗原抗体间的接触。

5. 临床意义 试管凝集试验是半定量凝集试验,其操作简单,但敏感性较低。临床上试管凝集试验主要用于诊断伤寒和副伤寒病(肥达试验)、诊断斑疹伤寒与恙虫病等立克次体病(外斐反应)。

## 二、间接凝集试验

### 实验目的

1. 掌握间接凝集试验的原理。
2. 熟悉间接凝集试验方法及临床意义。

### 实验原理

可溶性抗原与相应抗体直接反应是不出现凝集现象的,但将可溶性抗原结合在与免疫无关的颗粒载体表面形成致敏颗粒后,再与相应抗体反应,则会出现凝集现象,称为间接凝集反应。如果是将抗体结合于颗粒载体表面从而应用于检测相应抗原,则称反向间接凝集试验,其试验操作与间接凝集试验基本一致。实验室常用的载体有人“O”型红细胞、绵羊红细胞、胶乳颗粒等。如颗粒载体是红细胞,称间接血凝试验;若为乳胶颗粒,则称为乳胶凝集试验。本次试验为乳胶凝集试验。

### 实验材料

待检血清、抗链球菌溶血素“O”试剂盒(溶血素“O”包被的胶乳液 5ml,阳性对照血清 0.5ml,阴性对照血清 0.5ml)。

### 实验方法

1. 试剂使用前,平衡至室温。轻轻混匀胶乳试剂,核对阴性和阳性对照。

2. 在反应板孔中加一滴未稀释血清(50 $\mu$ l),然后加一滴胶乳试剂在血清中,搅匀、轻轻摇动使其充分混合,2分钟观察结果。
3. 阴性和阳性对照同上法操作。

### 实验结果

本试剂胶乳液是由溶血素“O”包被胶乳,并校正测定灵敏度至抗溶血素“O”抗体(ASO) $<200\text{U/ml}$ ,超过上述含量即出现肉眼可见凝集颗粒。出现凝集现象即可判断样本中ASO $>200\text{U/ml}$ 阳性,无凝集出现可判断样本中ASO $<200\text{U/ml}$ 阴性。

### 注意事项

1. 加试剂和阴性、阳性对照,保证液滴大小一致。
2. 试剂盒应贮存于 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ ,受热会导致试剂阳性率偏高,切勿冷冻。
3. 待检血清与阴、阳性对照血清必须按患者样品一样小心处理,严格执行无菌操作。

### 临床意义

间接凝集反应应具有敏感性高、快速、简便等优点,在临床上得到广泛的应用。如用乳胶凝集试验测定相关抗体,可用于辅助诊断类风湿关节炎、钩体病、血吸虫病等。

## 三、间接凝集抑制试验

### 实验目的

1. 熟悉间接凝集抑制试验的原理。
2. 了解间接凝集抑制试验的方法和临床意义。

### 实验原理

间接凝集抑制试验是利用已知抗原致敏的颗粒与待测标本中可溶性抗原竞争有限抗体的经典血清学方法。将可溶性抗原与相应抗体混合,再加入抗原致敏的颗粒性物质(如胶乳),则能抑制原先的凝集现象。间接凝集抑制试验常用于检测抗体、自身抗体、变态反应抗体,也可检测抗原。本次试验以妊娠免疫试验为例。

### 实验材料

人绒毛膜促性腺激素(HCG)致敏的乳胶颗粒、抗人HCG血清、生理盐水及孕妇尿液等。载玻片、滴管、玻棒等。

### 实验方法

1. 所有试剂使用前先平衡至室温。
2. 取一块载玻片,平均分成三个格,同时标记好阳性、阴性及待测标本记号。

3. 吸取尿液标本一滴置于玻片的中央格,两侧分别加一滴生理盐水和阳性对照。
4. 在玻片上的三个格均加抗人 HCG 一滴,轻轻摇动玻片,使其充分混匀,反应 1 分钟。
5. 反应 1 分钟后三个格各滴加 HCG 致敏胶乳一滴。
6. 用玻棒搅动混匀,缓慢摇动玻片 2~3 分钟后观察结果。

## 实验结果

生理盐水及对照侧应出现明显凝集颗粒,而加入尿标本的试验侧若呈现凝集,表明 HCG 阴性,如仍呈均匀乳白状则为 HCG 阳性。

## 注意事项

1. 待检尿液最好为晨尿(晨尿 HCG 含量高),在使用前先经 37℃ 水浴并充分混匀。
2. 吸取样品的吸管及玻璃棒不能交叉使用。
3. 试验过程中严格注意标本及各试剂的加入次序。

## 临床意义

间接凝集抑制试验在临床上常用于疾病早期诊断,如检测血清中的乙型肝炎表面抗原(HbsAg)、甲胎蛋白(AFP)等,同时亦可用于妊娠检测。

(马新博)

# 实验二 抗原抗体沉淀反应

## 一、单向琼脂扩散试验

### 实验目的

1. 掌握单向琼脂扩散试验的原理及用途。
2. 熟悉单向琼脂扩散试验的操作方法与结果观察。

### 实验原理

单向琼脂扩散试验是一种定量试验。将抗体与琼脂混合,浇注于单扩板上打孔。实验时在孔中加入相应可溶性抗原,抗原向四周扩散,与凝胶中的抗体反应。二者在比例适当的位置形成白色沉淀环。

### 实验材料

1. 彩色抗 IgG、IgA、IgM 单扩散板(成品)。
2. 待测人血清(抗原) 待测血清 0.1ml 加生理盐水 0.3ml 混匀。
3. 微量加样器、37℃ 培养箱等。

## 实验方法

1. 加样 用微量加样器加样(勿溢出孔外)。测 IgG 加  $5\mu\text{l}$ ; 测 IgA 加  $10\mu\text{l}$ ; 测 IgM 加  $15\mu\text{l}$ 。

2. 扩散 将琼脂板平放于湿盒内,平置  $37^{\circ}\text{C}$  扩散 24 小时(IgM 含量偏高,沉淀环不清楚,可放置 48 小时),观察结果。

## 实验结果

测量沉淀环:用免疫测量仪或直接以琼脂板的背后印的刻度上读出每孔扩散后的直径,再从 IgG、IgA、IgM 含量表中查出相应的含量(图 1-2-1)。

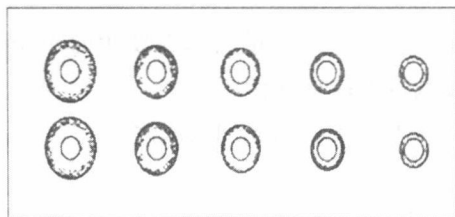


图 1-2-1 单向免疫扩散试验沉淀环模式图

正常血清中免疫球蛋白含量:

1. IgG  $8 \sim 14.5\text{mg/ml}$ 。
2. IgA  $1.1 \sim 2.8\text{mg/ml}$ 。
3. IgM  $0.7 \sim 1.9\text{mg/ml}$ 。

## 注意事项

血清加样时避免污染,同时确保加样数量准确。

## 临床意义

单向琼脂扩散试验操作简便、成本低廉,在临床上主要用于检测标本中各种免疫球蛋白和血清中补体的含量。

## 二、双向琼脂扩散试验

### 实验目的

1. 掌握双向琼脂扩散试验的原理及用途。
2. 熟悉双向琼脂扩散试验的操作方法与结果观察。

### 实验原理

双向琼脂扩散试验是将可溶性抗原与相应抗体,分别加入琼脂板上相邻孔。抗原抗体各自向四周扩散,二者在扩散过程中相遇,在比例适当处形成白色沉淀线。

## 实验材料

AFP 或脐带血、AFP 免疫血清、待检血清、1% 琼脂(生理盐水配制)。玻片、微量加样器、打孔器等。

## 实验方法

1. 浇板 取已溶化的 1% 琼脂(0.05M, pH 8.6 巴比妥缓冲液配制)浇注于玻片上,制成琼脂板。
2. 打孔 使用打孔器在琼脂板上打孔。孔径 3mm, 孔间距 4~6mm。  
A 孔: AFP 诊断血清, a、d 孔: 阳性血清, b、c、e、f 孔: 待检血清。
3. 加样 用微量加样器加 AFP 免疫血清于中央孔, 上下孔加 AFP 诊断血清, 其余 4 孔加待检血清, 每孔量均为 10 $\mu$ l。
4. 将加样琼脂板置于湿盒内, 37 $^{\circ}$ C 24 小时后观察结果。

## 实验结果

琼脂板 a、d 孔为阳性对照。若待检血清标本孔与中央孔间出现沉淀线, 且与阳性对照出现的沉淀线相吻合即为阳性; 若无沉淀线或沉淀线与阳性对照沉淀线交叉, 则为阴性(图 1-2-2)。

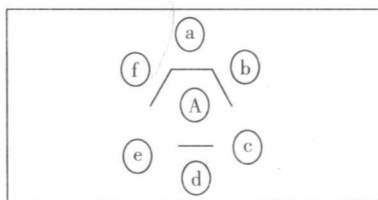


图 1-2-2 双向琼脂扩散实验结果

## 注意事项

血清加样时避免污染并注意避免外溢和出现气泡, 同时确保加样数量准确。

## 临床意义

双向琼脂扩散试验操作简便、成本低廉, 临床上常用于检测甲胎球蛋白(AFP), 辅助诊断原发性肝癌。

## 三、火箭免疫电泳

### 实验目的

1. 掌握火箭免疫电泳的原理及用途。
2. 熟悉火箭免疫电泳的操作方法与结果观察。



### 实验原理

火箭电泳又称电泳免疫分析,是单向琼脂扩散和电泳技术结合的实验。在电场作用下,抗原在含定量抗体的琼脂板中泳动,两者比例合适时,形成火箭形的锥形沉淀线,锥形沉淀线的高度与抗原量呈线性关系(成正比关系);因此用本试验可以测定样品中抗原的含量。此法与单向免疫扩散法比较,优点是精密度较高,耗时较短,但不足之处是操作技术复杂,影响因素较多。

电泳时,琼脂内的抗体不动,而加样孔中的抗原因迁移率不同而发生移动,当抗原分子发生移动时,抗原过量,与抗体分子形成小的可溶性免疫复合物,并以缓慢速度在含有抗体的胶板内移动。电泳持续,抗原分子与抗体分子达到适当比例,形成大的不溶性免疫复合物而发生沉淀,此沉淀不再移动,未与抗体结合的抗原以及较小的可溶性复合物可穿过此沉淀继续向前移动,形成新的沉淀。当全部抗原或抗体被消耗殆尽时,在该处形成一个固定“火箭”样沉淀峰。此时,即使继续电泳它也不再移动。沉淀峰的高度与检样中的抗原含量呈正相关。抗原质量浓度越高,沉淀峰也越高。检样如为 Ig 时,由于 Ig(特别是 IgG)与胶板内所含抗体(一般也是 IgG)电泳迁移率基本相同,以致在加样孔的阳极和阴极侧都会形成沉淀,故被检血清(抗原)或抗体(胶板内的)需做化学处理,以改变其迁移率。

### 实验材料

1. 抗体 抗人 IgG 的免疫血清。
2. 抗原 标准人 IgG 试剂,用缓冲液配制的不同质量浓度的溶液。
3. 琼脂 pH 值 8.6 巴比妥缓冲液配制的 1.5% 琼脂,溶化后于 60℃ 保温。
4. 甲醛-巴比妥缓冲液 甲醛溶液 2.85ml, 0.05mol/L pH 值 8.6 巴比妥-巴比妥钠缓冲液 30ml(电泳槽缓冲液),混合后加蒸馏水 100ml。用火箭免疫电泳技术分析体液中 IgG 含量时,需将检样用此缓冲液处理,使 IgG 增加负电荷,电泳时能向正极泳动,否则因电渗作用,在加样孔正、负极两个方向都会出现沉淀峰。
5. 其他 电泳仪、电泳槽、玻片、吸管、微量加样器、打孔器等。

### 实验方法

#### (一) 抗血清最适稀释度的确定

一般均需经预试验选出。抗血清的双向免疫扩散的效价大致为 1:2:5 的比例关系,如双向扩散效价为 8,火箭免疫电泳时一般可用 1:(16~20) 稀释的抗血清(单向免疫扩散时则大致需要 1:40 稀释)。预试时可围绕此效价做几个(一般 3~4 个)稀释度预试(如 1:10, 1:15, 1:20, 1:25)。最适稀释度的标准为:形成的火箭形沉淀峰峰形尖锐,清晰,用标准抗原参加试品测试时,低质量浓度抗原峰高可达 0.5cm,高质量浓度抗原峰高可达 2.5~3.0cm(根据电泳板的大小、加样孔的直径、加样量的多少可适当调整)。

#### (二) 制板

将 20.0g/L 琼脂糖或琼脂于沸水浴中溶化并冷却到 56℃,加入等容积按效价用电泳缓