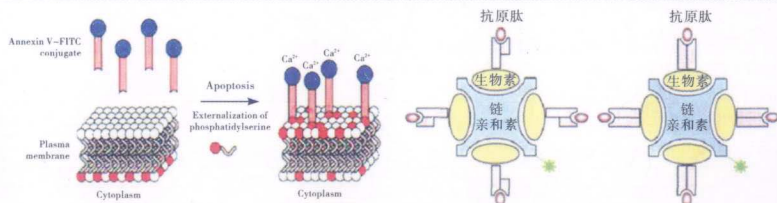


基 | 础 | 医 | 学 | 实 | 验 | 技 | 术 | 系 | 列 | 丛 | 书

细胞和分子免疫学 实用实验技术

主 编 张 贇 温 伟 红



第四军医大学出版社

013064087

R392.1
02

细胞和分子免疫学 实用实验技术

主 编 张 贇 温伟红

编 者 (以姓氏笔画排序)

马 樱	王 芳	王 哲	王 磊
王 曦	王丽娟	方 亮	方丹乐
史圣甲	白文栋	任君琳	庄 然
刘 蓓	刘志佳	刘蓉蓉	闫 博
孙元杰	苏燕胜	李 伟	李 琦
杨 韬	宋朝君	张宇丝	张春梅
陈汉勇	欧阳清	易 静	周 幸 春
郑国旭	孟艳玲	胡金涛	皇甫罗锴
徐竹蔚	郭张燕	席文锦	曹 云 新
龚玫瑜	谢桥生	翟明珠	魏 玉 英

第四军医大学出版社·西安



北航

C1671125

R392.1
02

013084087

图书在版编目 (CIP) 数据

细胞和分子免疫学实用实验技术/张贇, 温伟红主编. —西安: 第四军医大学出版社, 2013. 4

(基础医学实验技术系列丛书)

ISBN 978 - 7 - 5662 - 0332 - 8

I. ①细… II. ①张… ②温… III. ①细胞免疫学 - 实验 ②分子免疫 - 实验 IV. ①R392. 1 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 080090 号

xibao he fenzi mianyixue shiyong shiyang jishu

细胞和分子免疫学实用实验技术

出版人: 富 明 责任编辑: 相国庆 责任校对: 杜亚男

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.sn.cn>

制版: 新纪元文化传播

印刷: 西安永惠印务有限公司

版次: 2013 年 4 月第 1 版 2013 年 4 月第 1 次印刷

开本: 850 × 1168 1/32 印张: 10.75 字数: 278 千字

书号: ISBN 978 - 7 - 5662 - 0332 - 8/ R · 1189

定价: 30.00 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

前 言

在医学和生命科学中，免疫学已发展成为一门重要学科。特别是随着医学免疫学与细胞生物学、分子生物学、临床医学和预防医学中多学科交叉渗透，细胞和分子免疫学实验技术已在各领域被广泛应用。这些研究技术为我们在分子水平加深对机体免疫系统和免疫应答本质的认识、探索临床相关疾病发病机制，以及免疫相关疾病的诊断、预防和治疗提供了有力的工具。这些年来，细胞和分子免疫学技术的发展突飞猛进，新知识、新理论、新技术层出不穷，它带动了生命科学一次又一次划时代的进步。

“工欲善其事，必先利其器”。为了使研究者能够快速了解并掌握常用的细胞和分子免疫学实验技术，更为了使初学者能够迅速熟悉并进行研究设计和实验操作，我们组织工作在实验室一线的副教授、博士研究生和资深实验人员，编写了这本《细胞和分子免疫学实用实验技术》，其中部分编者具有国外留学经历，部分编者曾得到国外著名大学教授的悉心指导。我们的目标是使这本书成为免疫学及相关专业研究人员的实验好帮手，使他们感觉到“一册在手，方法全有”。

本书共分二十五章，全面讲述了从基础免疫学到应用免疫学以及分子免疫学的常用实验技术，其中基础免疫学技术包括抗体的制备、纯化与标记等，应用免疫学技术包括免疫组织化学、免疫荧光染色及显微镜观察和细胞功能学实验等，分子免疫学技术包括常用的 PCR 技术、免疫共沉淀、ChIP 技术等，特别加入了

激光共聚焦显微镜以及目前广泛开展的小分子 RNA 研究技术，以及越来越得到广泛应用的生物信息学研究策略。另外，本书还介绍了几种常用的动物模型及研究方法。

本书是全体同仁共同努力的结晶，编写过程中融入了大家多年来在实验操作中获得的宝贵经验，在内容上我们力求简明、实用和新颖。但是由于水平有限，时间仓促，编者的文笔也存在较大差异，难免有不足或错误之处，真诚希望广大读者提出宝贵意见，以便再版时补充修改。

杨安钢

(第四军医大学免疫学教研室主任，教授，博士生导师)

2013 年 3 月

目 录

第一章 多克隆血清的制备	(1)
第二章 单克隆抗体技术	(7)
第一节 免疫方案	(7)
第二节 细胞融合及杂交瘤选择培养	(9)
第三节 阳性杂交瘤的筛选	(14)
第四节 杂交瘤的克隆化和建系	(15)
第五节 单克隆抗体的大量生产	(17)
第六节 单克隆抗体的鉴定	(18)
第七节 影响因素及分析	(19)
第三章 免疫球蛋白纯化技术	(21)
第一节 饱和硫酸铵法纯化单克隆抗体	(21)
第二节 辛酸 - 硫酸铵法纯化单克隆抗体	(23)
第三节 Q Sepharose Fast Flow 柱层析纯化小鼠腹腔积液 IgG1	(25)
第四节 Protein A/G 亲和层析柱纯化单克隆抗体	(27)
第四章 免疫球蛋白标记技术	(30)
第一节 辣根过氧化物酶(HRP)标记抗体技术	(30)
第二节 异硫氰酸荧光素(FITC)标记抗体技术	(36)
第三节 藻红蛋白(PE)标记抗体技术	(37)
第四节 生物素标记抗体技术	(40)
第五章 酶联免疫吸附试验	(44)
第一节 酶联免疫吸附测定	(44)
第二节 生物素 - 亲合素放大的 ELISA	(49)
第三节 荧光素 - 抗荧光素抗体放大的 ELISA	(53)
第四节 化学发光免疫分析	(55)
第五节 磁分离酶免疫技术	(60)

第六章	细胞分离技术	(64)
第一节	Ficoll - Hypaque 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞	(64)
第二节	免疫磁珠法分离细胞	(66)
第七章	免疫荧光染色与显微镜观察	(69)
第一节	免疫荧光染色标本制备	(69)
第二节	荧光显微镜观察	(72)
第三节	激光共聚焦显微镜观察	(72)
第八章	流式细胞术	(84)
第一节	细胞膜表面分子免疫标记方法	(84)
第二节	细胞周期的检测分析	(91)
第三节	CFSE 检测人外周血 T 细胞体外扩增	(93)
第四节	正常人外周血滤泡辅助性 T 细胞 (T _{fh}) 细胞染色技术	(95)
第五节	正常人外周血 Treg 细胞染色技术	(97)
第九章	免疫组织化学技术	(99)
第一节	亲和免疫化学技术	(99)
第二节	碱性磷酸酶 - 抗碱性磷酸酶免疫组化技术	(101)
第三节	组织芯片的免疫组化染色	(101)
第十章	淋巴细胞功能测定	(103)
第一节	淋巴细胞增殖检测	(103)
第二节	杀伤细胞功能测定	(109)
第三节	酶联免疫斑点实验	(116)
第四节	人白细胞抗原 (HLA) 的分型	(118)
第五节	HLA/抗原肽多聚体的制备和检测	(122)
第六节	趋化实验和侵袭实验	(126)
第七节	树突状细胞的分离、培养与功能检测	(129)
第十一章	人脐静脉血管内皮细胞的分离培养与功能实验	(133)
第一节	人脐静脉内皮细胞的分离培养	(133)

第二节	内皮细胞的通透性检测	(135)
第三节	内皮细胞迁移能力的检测	(138)
第四节	Matrigel 成管法检测药物对内皮细胞成管能力的 影响	(140)
第十二章	细胞因子检测	(141)
第一节	细胞因子的定量检测	(142)
第二节	细胞因子的生物学活性测定	(147)
第十三章	分子克隆常用技术	(149)
第一节	感受态的制备	(149)
第二节	转化	(151)
第三节	质粒提取	(153)
第四节	琼脂糖凝胶电泳	(154)
第五节	凝胶回收	(157)
第六节	重组 DNA 的构建	(158)
第十四章	蛋白原核表达和纯化技术	(162)
第一节	His 标签融合蛋白的原核表达和亲和层析纯化 ..	(162)
第二节	GST 融合蛋白的原核表达和亲和层析	(166)
第三节	凝胶过滤层析技术	(171)
第四节	离子交换色谱技术	(174)
第十五章	免疫学中常用的 PCR 技术	(179)
第一节	逆转录 PCR	(179)
第二节	荧光定量 PCR	(194)
第十六章	蛋白与蛋白相互作用分析	(202)
第一节	免疫共沉淀	(202)
第二节	GST pull-down	(205)
第十七章	免疫印迹技术	(208)
第一节	蛋白样品的制备和浓度测定	(208)
第二节	聚丙烯酰胺凝胶电泳	(211)
第三节	免疫印迹	(216)
第十八章	常用细胞培养技术	(224)
第一节	细胞计数及活性测定	(224)

第二节	基因转染	(226)
第三节	慢病毒包装和细胞感染	(229)
第十九章	小分子 RNA 研究技术	(233)
第一节	siRNA 研究技术	(233)
第二节	microRNA 研究技术	(238)
第二十章	蛋白的亚细胞定位分析	(247)
第一节	细胞分步分离法	(247)
第二节	免疫荧光结合激光共聚焦显微镜分析	(249)
第二十一章	细胞凋亡的检测方法	(254)
第一节	细胞凋亡的形态学检测	(254)
第二节	细胞凋亡的流式细胞仪检测	(255)
第三节	DNA ladder 检测	(260)
第四节	TUNEL 检测	(263)
第五节	Caspase -3 活性检测	(265)
第二十二章	蛋白与 DNA 相互作用分析	(269)
第一节	ChIP Assay(染色质免疫共沉淀)	(269)
第二节	双荧光素酶报告基因检测	(275)
第二十三章	动物模型的建立与常用实验方法	(279)
第一节	自身免疫病动物模型建立	(279)
第二节	转基因动物和基因敲除动物	(282)
第三节	常用动物实验方法	(284)
第二十四章	肿瘤相关的动物模型及检测	(287)
第一节	皮下荷瘤裸鼠模型	(288)
第二节	肝原位癌裸鼠模型	(289)
第二十五章	生物信息学	(291)
第一节	常用的蛋白数据库	(291)
第二节	常用的核酸数据库	(298)
第三节	microRNA 研究中常用的数据库	(303)
附录	(311)

第一章 多克隆血清的制备

多克隆抗体 (polyclonal antibody, pAb) 指用一种包含多种抗原决定簇的抗原免疫动物, 可刺激机体多个 B 细胞克隆产生针对多种抗原表位的不同抗体。所获得的免疫血清实际上是含有多种抗体的混合物, 即多克隆抗体。本章主要介绍抗原免疫家兔或小鼠制备多克隆血清的实验方法, 即传统的动物免疫血清 (也称抗血清) 的制备。

一、实验目的

制备高效价、高特异性的免疫血清可为免疫学诊断、特异性免疫治疗和免疫学实验提供常用的试剂 (如用于制备免疫标记抗体等)。

二、实验原理

将具有免疫原性的抗原注射入实验动物体内时, 可刺激机体相应 B 细胞增殖、分化形成浆细胞并分泌特异性抗体。由于抗原分子表面的不同抗原决定簇为不同特异性的 B 细胞克隆所识别, 因此由某一抗原刺激机体后产生的抗体, 实际上为针对该抗原分子表面不同抗原决定簇的抗体混合物, 即多克隆抗体。多克隆抗体中不同的抗体分子可以以不同的亲合力与抗原分子表面不同的部分——抗原决定簇相结合。

将抗原注射入敏感动物体内后, 可刺激网状内皮细胞系统, 尤其是淋巴结和脾脏中的淋巴细胞大量增殖。实验动物对初次免疫和二次免疫的应答有明显的不同, 通常初次免疫应答比较弱, 尤其

是针对于易代谢、可溶性的抗原。首次注射后大约 7d, 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, 在大约 10d 左右抗体的滴度会达到最大值。但同种抗原注射而产生的二次免疫应答的结果明显不同, 通常在二次抗原注射 1~2 周后会产生具有高亲合力的抗体。与初次免疫应答相比, 抗体的合成速度明显增加并且保留时间长; 抗体的滴度明显增加并且血清中抗体的种类和性质发生了改变, 这种改变被称为抗体亲和力成熟和类别转换, 具有重要的实际意义。通常, 我们会进行第 3 次加强免疫以保证所产生的抗体效价持续维持在较高水平。

三、实验材料

1. 抗原

一般来说, 任何一种抗原均可用于动物免疫。实际应用中的抗原性质多种多样, 按化学成分分类, 有蛋白质抗原, 类脂抗原, 多糖类抗原和核酸抗原等; 按抗原性质分类, 有完全抗原和不完全抗原(即半抗原, haptens)。不同种类的抗原其免疫原性强弱也不同, 取决于该抗原的分子质量、化学活性基团、立体构象和物理性状等。一般的, 蛋白质抗原的免疫原性较强, 容易获得较好的抗血清。

用于免疫的抗原剂量是依抗原种类、免疫动物种类、免疫方案以及所要求的抗原特性等不同而不同, 其中主要的影响因素是抗原的种类和免疫方案。剂量过低, 不能引起足够强的免疫刺激; 剂量过大, 有可能引起免疫耐受。在一定范围内, 抗体的效价是随注射剂量的增加而增高。抗原的用量一般以体重计算。在使用佐剂的情况下, 免疫的剂量以每次 0.1~0.2mg/kg 为宜, 若不加佐剂, 剂量可加大 10 倍。另外, 免疫周期长者可少量多次注射, 免疫周期短者可较大量但减少注射次数。

2. 动物

供免疫的动物主要是哺乳类动物, 具体的选择常根据欲获得抗体的用途和抗体量来决定, 另外也与抗原的性质有关。如需获

得大量抗体,可选用山羊、绵羊或者马;如需抗体量较小可选用家兔、豚鼠或大鼠。一般制备抗 γ 免疫球蛋白抗血清,多用家兔和山羊,因动物反应良好,而且能够提供足够数量的血清,用于免疫的动物应适龄、健壮、无感染性疾患,最好为雄性,避免使用妊娠动物制备抗体。另外,由于免疫应答的个体差异,免疫时应同时选用至少两只以上的动物进行免疫。

3. 佐剂

对可溶性抗原而言,为了达到增强免疫原性或改变免疫应答类型、节约抗原等目的,常采用添加免疫佐剂的方法,以刺激机体产生较强的免疫应答。常用的免疫佐剂有弗氏完全佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)和弗氏不完全佐剂(incomplete Freund's adjuvant, IFA)。初次免疫时,采用弗氏完全佐剂,以刺激机体产生较强的免疫应答;再次免疫时,则采用弗氏不完全佐剂。免疫前,抗原与免疫佐剂混合的过程称为乳化。抗原乳化的方法较多,可用注射器、研钵、旋涡振荡器、组织捣碎器或超声乳化。抗原的乳化要完全,达到“油包水”的状态,取一滴乳化剂滴入水中,若呈现球形浮在液面上而不分散,说明乳化良好。本实验室采用的是POLYTRON PT 1600E 匀浆机,于冰上研磨抗体与佐剂混合物20min,即可达到“油包水”状态。

四、实验方法(以家兔的免疫为例)

1. 抗原的制备

抗原制备的主要目的在于在免疫动物体内产生最强、最适当的抗体。由于纯化的抗原适合产生抗体,因此在注射前通常采用一些经典的方法,比如柱层析、分级萃取、亚细胞分离等进行抗原的分离和纯化。小分子质量的抗原常与KLH或BSA耦联提高其免疫原性。

2. 采集对照用正常兔血清

选2只2月龄、体重2.0kg左右的健康雄性日本大耳白家兔或

者新西兰大白兔。新购家兔建议适应性喂养 1 周,使其适应食物、气温及新的生活环境。每只动物免疫前先于一侧耳缘抽取 2~5ml 静脉血,收集的血液在 37℃ 恒温箱中放置 30min 以防止激活补体系统,然后 4℃ 静置过夜,取血清作阴性对照。取血时可用棉球蘸二甲苯涂擦耳缘静脉,扩张血管,有利于采血。

3. 乳化抗原

每只动物取抗原浓度为 0.5~2.0mg/ml 的抗原 300 μ g,稀释于生理盐水中(每只 1ml),与等体积的弗氏完全佐剂(第 1 次免疫)或弗氏不完全佐剂(第 2 次免疫)充分乳化。

4. 免疫

采用四肢皮下多点注射法。从笼中取出兔子使其仰卧在平坦处,固定其头部和四肢,在腋窝和腹股沟淋巴结富集处进行皮下注射。拨开注射处的兔毛并用乙醇消毒暴露的皮肤,捏住皮肤,将针头以相对皮肤 15°角进针,进针深度为 1~2cm,小心不要刺入肌肉中,在 4 个不同部位各注射约 0.5ml 抗原乳化液。注射结束后,将针在注射处放置几秒钟后再轻轻拔出,并用乙醇在注射处消毒。在 4 个部位重复上述操作。用相同方法免疫另一只家兔。

一般需在第 5 周和第 8 周时分别进行第 2 次和第 3 次加强免疫。第 3 次免疫不需乳化抗原,抗原稀释于生理盐水中(每只 0.5~1.0ml),于耳缘静脉注射即可。

注意每次免疫尽可能不要选择与前次免疫相同或邻近的位点,否则易形成溃疡。家兔的免疫期间,要监测其健康状态,保证其充分的营养。

5. 效价测定

(1)第 3 次免疫后第 7 天按照步骤 2 收集血液。将收集的血液与注射前收集的血液进行比较,检查是否有抗体产生并检测抗体效价。

(2)抗血清效价的测定采用间接 ELISA 测定。将抗原稀释于包被缓冲液(0.1M Na_2CO_3 , pH9.6)中,终浓度为 5ng/ μ l,每孔加

100 μ l。并设立空白对照(只加包被缓冲液),于4 $^{\circ}$ C包被过夜。

(3)用1 \times PBST(1 \times PBS + 0.1% Tween 20)于室温下洗涤3次,每次5min。然后每孔加200 μ l 封闭液(10%的小牛血清溶于1 \times PBS中),37 $^{\circ}$ C 封闭1h。

(4)1 \times PBST 洗涤3次。加入待测血清,血清样品按1:1000,1:2000,1:4000……倍比稀释于抗体稀释液(5%的BSA溶于1 \times PBS中)中,每孔100 μ l,阴性孔加入100 μ l 1:2000 稀释的阴性血清,空白孔加入100 μ l 1:1000 样品血清。37 $^{\circ}$ C 孵育1h。

(5)1 \times PBST 洗涤3次,加入酶标二抗。酶标二抗按说明书,1:2500稀释于抗体稀释液中,每孔100 μ l,37 $^{\circ}$ C 1h。

(6)ABTS 显色,每孔100 μ l,37 $^{\circ}$ C 15min,至阴性孔显色时,酶标仪上405nm 处判读结果。

6. 大量采血

当免疫家兔血清抗体效价达到要求后,即可采血。采用颈动脉放血法具体操作步骤如下:家兔麻醉后仰卧于兔架上固定头部及嘴部,用绳子固定四肢,头部略低以暴露颈部。剃毛并消毒皮肤。沿颈部中线用手术刀切开皮肤约10cm,分离皮下结缔组织,直至暴露气管两侧的胸锁乳突肌。用止血钳分离胸锁乳突肌和气管间的颈三角区疏松结缔组织,暴露出颈总动脉,钝性分离神经和结缔组织。于动脉下套入两根黑丝线,分别置于远心及近心端。结扎远心端丝线,近心端的动脉用血管夹夹住。用尖头眼科手术剪从两根丝线间的动脉上剪开,近心端插入50ml 离心管。此时松开血管夹,使血液流入容器中。一般一只家兔可放血100~120ml。实验后的家兔耳缘静脉注射空气处死。

7. 血清的分离

收集的血液倾斜置于37 $^{\circ}$ C 烘箱2h,再置4 $^{\circ}$ C 过夜,析出血清,4000r/min 离心10min。吸出血清,分装(0.05~0.2ml),贮于-20 $^{\circ}$ C 以下冰箱。

五、注意事项

1. 抗原的质量很关键,与 KLH 及 BSA 偶联的氨基酸的位置也很重要,增强抗原的免疫原性不能破坏其本身的抗原表位。
2. 免疫方法也可采用皮下多点注射法,即于家兔脊柱旁选 4~6 点皮下注射,同时于两侧肩部(或臀部)和鼠蹊部各注射 1 处,每点注 0.2ml,间隔 2 周后,再于上述部位选不同点同上所述注射。
3. 若血清抗体效价检测结果达不到要求,可再加强免疫 1 次。
4. 免疫后的动物要密切监测其身体的健康状况,若出现超敏反应,皮肤溃烂等问题要及时处理。加强实验动物的营养,可在饲料喂养的前提下辅助给予家兔萝卜,给予小鼠生瓜子等,并和实验动物管理人员做好沟通。
5. 小鼠的多抗制备方法为前 2 次免疫为背部皮下 4 点注射抗原的乳化液,第 3 次免疫为腹腔注射抗原的生理盐水稀释液。
6. 实验中应注意遵守实验动物的操作规范,实验完成后,遵照使动物最小痛苦的原则处死动物。

六、个人心得

1. 由于多抗的制备时间较长(需 3 个多月的时间),所以实验前应对抗原和实验动物等进行充分的准备,以保证实验的顺利进行。
2. 购买商品化的弗氏完全佐剂与弗氏不完全佐剂(本实验采用的是 sigma 公司的 F5881 及 F5506)可保证实验的质量,也免去了自己配制的麻烦。
3. 抗原的剂量还取决于抗原的种类与质量,免疫原性强的抗原所用剂量相应减少。本实验室曾采用每只每次 50 μ g 的抗原剂量免疫家兔,仍可获得较高的抗体效价。

(张宇丝 zhangyusi_scu@163.com)

第二章 单克隆抗体技术

1975年, Köhler 和 Milstein 创立了单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)杂交瘤技术,这一技术上的突破不仅为生命科学的研究开创了新纪元,也为临床疾病的诊断、预防和治疗提供了新的工具。

mAb 的制备包括动物免疫、细胞融合、杂交瘤选择性培养、阳性克隆筛选、杂交瘤细胞的克隆化、杂交瘤细胞的稳定建系以及单克隆抗体的大量生产,要经过几个月的连续的实验,实验周期较长,环节较多,每一个实验细节均需格外谨慎,一旦失败,常常需要从头再来。下面按照制备单克隆抗体的流程顺序,逐一介绍其实验方法和注意事项。

第一节 免疫方案

免疫方案对于细胞融合的成功,获得高质量的 mAb 至关重要。一般要在融合前 2 个月左右确立免疫方案开始初次免疫,免疫方案应根据抗原的特性不同而定。

一、实验目的

选择合适的免疫方案,并对动物进行免疫。

二、免疫方案的制订及操作步骤

1. 颗粒性抗原

颗粒性抗原免疫性较强,不加佐剂就可获得很好的免疫效果。

下面以细胞为例详述,每只小鼠免疫细胞数为 $1 \times 10^6 \sim 10^7$,以 0.5ml 生理盐水或 PBS 重悬,腹腔注射。初次免疫后间隔 4 周进行第 2 次免疫,第 2 次免疫 3 周后进行第 3 次免疫,第 3 次免疫 10d 后取血测效价。

2. 可溶性抗原

可溶性抗原免疫原性弱,一般要加佐剂,常用佐剂为弗氏佐剂(完全佐剂和不完全佐剂)。要求抗原和佐剂等体积混合在一起,研磨成油包水的乳糜状。商品化福氏完全佐剂(Sigma)在使用前须振摇,使沉淀的分枝杆菌充分混匀。抗原剂量及时间间隔如下:

- ①初次免疫 每只小鼠抗原 $10 \sim 50 \mu\text{g}$,加弗氏完全佐剂充分乳化后皮下多点注射,一般每只小鼠 $0.8 \sim 1.0 \text{ml}$,每点 $0.2 \sim 0.3 \text{ml}$;
- ②第 2 次免疫 初次免疫后 4 周进行第 2 次免疫,剂量途径同上,抗原特别少时也可减半,加弗氏不完全佐剂充分乳化;
- ③第 3 次免疫 第二次免疫后 3 周进行第 3 次免疫,剂量同上,不加佐剂,抗原溶于生理盐水中腹腔注射,7~10d 后采血测其效价。

三、检测效价

参见第一章“四、实验方法”。

四、增强抗原免疫原性的方法

目前,用于可溶性抗原(特别是一些弱抗原如蛋白多糖等)的免疫方案也不断有所更新。

1. 将可溶性抗原颗粒化或固相化,一方面增强了抗原的免疫原性,另一方面可降低抗原的使用量。
2. 改变抗原注入的途径,基础免疫可直接采用脾内注射。
3. 使用细胞因子或新型免疫佐剂(CpG DNA 等)作为佐剂,提高机体的免疫应答水平,促进免疫细胞对抗原反应性。

五、个人心得

小鼠是最常用的制备单抗的动物,常选用 6~8 周龄雌性