



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

新世纪(第二版)全国高等中医药院校规划教材



# 免疫学基础与病原生物学实验指导

供中医药类专业用

主编 杨黎青

中国中医药出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

新世纪全国高等中医药院校规划教材

# 免疫学基础与病原 生物学实验指导

(新世纪第二版)

(供中医药类专业用)

主编 杨黎青 (上海中医药大学)

副主编 顾立刚 (北京中医药大学)

关洪全 (辽宁中医药大学)

刘燕明 (天津中医药大学)

主审 章育正 (上海中医药大学)

孙怀宝 (河南中医学院)

中国中医药出版社

李庆生 (中国中医科学院研究员)

李连达 (中国工程院院士)

图书在版编目 (CIP) 数据

免疫学基础与病原生物学实验指导/杨黎青主编. —北京: 中国中医药出版社, 2007. 4

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

ISBN 978 - 7 - 80231 - 185 - 5

I. 免… II. 杨… III. ①医药学: 免疫学 - 实验 - 高等学校 - 教学参考资料②病原微生物 - 实验 - 高等学校 - 教学参考资料 IV. R392 , R37

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 034370 号

中国中医药出版社出版  
北京市朝阳区北三环东路 28 号易亨大厦 16 层  
邮政编码: 100013  
传真: 64405750  
北京市松源印刷有限公司印刷  
各地新华书店经销

\*  
开本 850 × 1168 1/16 印张 4.25 字数 80 千字  
2007 年 4 月第 1 版 2007 年 4 月第 1 次印刷  
书 号 ISBN 978 - 7 - 80231 - 185 - 5 册数 5000

\*  
定价: 5.00 元

网址 [www.cptcm.com](http://www.cptcm.com)

如有质量问题请与本社出版部调换

版权专有 侵权必究

社长热线 010 64405720

读者服务部电话: 010 64065415 010 84042153

书店网址: [csln.net/qksd/](http://csln.net/qksd/)

# 全国高等中医药教材建设

## 专家指导委员会

**名誉主任委员** 李振吉 (世界中医药学会联合会副主席兼秘书长)

邓铁涛 (广州中医药大学 教授)

**主任委员** 于文明 (国家中医药管理局副局长)

**副主任委员** 王永炎 (中国中医科学院名誉院长 教授 中国工程院院士)

高思华 (国家中医药管理局科技教育司司长)

**委员** (按姓氏笔画排列)

马 骥 (辽宁中医药大学校长 教授)

王绵之 (北京中医药大学 教授)

王 键 (安徽中医学院院长 教授)

王 华 (湖北中医学院院长 教授)

王之虹 (长春中医药大学校长 教授)

王乃平 (广西中医学院院长 教授)

王北婴 (国家中医药管理局中医师资格认证中心主任)

王新陆 (山东中医药大学校长 教授)

尤昭玲 (湖南中医药大学校长 教授)

石学敏 (天津中医药大学教授 中国工程院院士)

尼玛次仁 (西藏藏医学院院长 教授)

龙致贤 (北京中医药大学 教授)

匡海学 (黑龙江中医药大学校长 教授)

任继学 (长春中医药大学 教授)

刘红宁 (江西中医学院院长 教授)

刘振民 (北京中医药大学 教授)

刘延祯 (甘肃中医学院院长 教授)

齐 眇 (首都医科大学中医药学院院长 教授)

严世芸 (上海中医药大学 教授)

杜 健 (福建中医学院院长 教授)

李庆生 (云南中医学院院长 教授)

李连达 (中国中医科学院研究员 中国工程院院士)

免

- 李佃贵 (河北医科大学副校长 教授)  
吴咸中 (天津中西医结合医院主任医师 中国工程院院士)  
吴勉华 (南京中医药大学校长 教授)  
张伯礼 (天津中医药大学校长 教授 中国工程院院士)  
肖培根 (中国医学科学院研究员 中国工程院院士)  
肖鲁伟 (浙江中医药大学校长 教授)  
陈可冀 (中国中医科学院研究员 中国科学院院士)  
周仲瑛 (南京中医药大学 教授)  
周然 (山西中医学院院长 教授)  
周铭心 (新疆医科大学副校长 教授)  
洪 净 (国家中医药管理局科技教育司副司长)  
郑守曾 (北京中医药大学校长 教授)  
范昕建 (成都中医药大学校长 教授)  
胡之璧 (上海中医药大学教授 中国工程院院士)  
贺兴东 (世界中医药学会联合会 副秘书长)  
徐志伟 (广州中医药大学校长 教授)  
唐俊琦 (陕西中医学院院长 教授)  
曹洪欣 (中国中医科学院院长 教授)  
梁光义 (贵阳中医学院院长 教授)  
焦树德 (中日友好医院 主任医师)  
彭 勃 (河南中医学院院长 教授)  
程莘农 (中国中医科学院研究员 中国工程院院士)  
谢建群 (上海中医药大学常务副校长 教授)  
路志正 (中国中医科学院 研究员)  
颜德馨 (上海铁路医院 主任医师)  
秘书 长 王 键 (安徽中医学院院长 教授)  
洪 净 (国家中医药管理局科教司副司长)  
办公室主任 王国辰 (中国中医药出版社社长)  
办公室副主任 范吉平 (中国中医药出版社副社长)

普通高等教育“十一五”国家级规划教材  
新世纪全国高等中医药院校规划教材

《免疫学基础与病原生物学实验指导》(新世纪第二版) 编委会

**主 编** 杨黎青 (上海中医药大学)

**副主编** 顾立刚 (北京中医药大学)

关洪全 (辽宁中医药大学)

刘燕明 (天津中医药大学)

**编 委** (以姓氏笔画为序)

丁剑冰 (新疆医科大学)

马 萍 (成都中医药大学)

马彦平 (山西中医学院)

王 易 (上海中医药大学)

仇祯绪 (山东中医药大学)

叶荷平 (江西中医学院)

伍参荣 (湖南中医药大学)

杨秋美 (上海中医药大学)

吴春潮 (浙江中医药大学)

张玲敏 (暨南大学医学院)

罗 晶 (长春中医药大学)

袁嘉丽 (云南中医学院)

席孝贤 (陕西中医学院)

梁裕芬 (广西中医学院)

詹 璞 (南京中医药大学)

**主 审** 章育正 (上海中医药大学)

孙怀宝 (河南中医学院)

**制图兼秘书** 杨秋美 (上海中医药大学)

2005年10月，新教材的修订工作全面启动。修订原则是：①有错必纠。凡第一版中遗留的错别字、标点符号、不规范的计量单位和不规范的名词术语、未被公认的概念表述等，均依据“新世纪全国高等中医药院校规划教材”进行修改。②精益求精。凡表述欠准确的内容，予以修改、精炼、删除。③精简瘦身。针对课时有限，特别是超课时较多的情况，需要增加相应内容。④吸收更多院校的学科专家参加修订，学术覆盖面更广，能够全面反映全国高等中医药院校的需求。⑤语言更加精炼、规范，内容准确，结构合理，教学适应性更强，成为本学科的精品教材。

根据以上原则，各门学科的主编和编委们以极大的热情和认真负责的态度投入到紧张的

# 再版前言

“新世纪全国高等中医药院校规划教材”是全国唯一的行业规划教材。由“政府指导，学会主办，院校联办，出版社协办”。即：教育部、国家中医药管理局宏观指导；全国中医药高等教育学会及全国高等中医药教材建设研究会主办，具体制定编写原则、编写要求、主编遴选和组织编写等工作；全国26所高等中医药院校学科专家联合编写；中国中医药出版社协助编写管理工作和出版。目前新世纪第一版中医学、针灸推拿学和中药学三个专业46门教材，已相继出版3~4年，并在全国各高等中医药院校广泛使用，得到广大师生的好评。其中34门教材遴选为教育部“普通高等教育‘十五’国家级规划教材”，41门教材遴选为教育部“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”（有32门教材连续遴选为“十五”、“十一五”国家级规划教材）。2004年本套教材还被国家中医药管理局中医师资格认证中心指定为执业中医师、执业中医助理医师和中医药行业专业技术资格考试的指导用书；2006年国家中医、中西医结合执业医师、执业助理医师资格考试和中医药行业专业技术资格考试大纲，均依据“新世纪全国高等中医药院校规划教材”予以修改。

新世纪规划教材第一版出版后，国家中医药管理局高度重视，先后两次组织国内有关专家对本套教材进行了全面、认真的评议。专家们的总体评价是：“本次规划教材，体现了继承与发扬、传统与现代、理论与实践的结合，学科定位准确，理论阐述系统，概念表述规范，结构设计合理，印刷装帧格调健康，风格鲜明，教材的科学性、继承性、先进性、启发性及教学适应性较之以往教材都有不同程度的提高。”同时也指出了存在的问题和不足。全国中医药高等教育学会、全国高等中医药教材建设研究会也投入了大量的时间和精力，深入教学第一线，分别召开以学校为单位的座谈会17次，以学科为单位的研讨会15次，并采用函评等形式，广泛征求、收集全国各高等中医药院校有关领导、专家，尤其是一线任课教师的意见和建议，为本套教材的进一步修订提高做了大量工作，这在中医药教育和教材建设史上是前所未有的。这些工作为本套教材的修订打下了坚实的基础。

2005年10月，新世纪规划教材第二版的修订工作全面启动。修订原则是：①有错必纠。凡第一版中遗留的错误，包括错别字、使用不当的标点符号、不规范的计量单位和不规范的名词术语、未被公认的学术观点等，要求必须纠正。②精益求精。凡表述欠准确的观点、表达欠畅的文字和与本科教育培养目的不相适应的内容，予以修改、精练、删除。③精编瘦身。针对课时有限，教材却越编越厚的反应，要求精简内容、精练文字、缩编瘦身。尤其是超课时较多的教材必须“忍痛割爱”。④根据学科发展需要，增加相应内容。⑤吸收更多院校的学科专家参加修订，使新二版教材更具代表性，学术覆盖面更广，能够全面反应全国高等中医药教学的水平。总之，希冀通过修订，使教材语言更加精炼、规范，内容准确，结构合理，教学适应性更强，成为本学科的精品教材。

根据以上原则，各门学科的主编和编委们以极大的热情和认真负责的态度投入到紧张的

修订工作中。他们挤出宝贵的时间，不辞辛劳，精益求精，确保了46门教材的修订按时按质完成，使整套教材内容得到进一步完善，质量有了新的提高。

教材建设是一项长期而艰巨的系统工程，此次修订只是这项宏伟工程的一部分，它同样要接受教学实践的检验，接受专家、师生的评判。为此，恳请各院校学科专家、一线教师和学生一如既往关心、关注新世纪第二版教材，及时提出宝贵意见，从中再发现问题与不足，以便进一步修改完善或第三版修订提高。

全国中医药高等教育学会  
全国高等中医药教材建设研究会

2006年10月

# 修订说明

本实验指导为普通高等教育“十一五”国家级规划教材、新世纪全国高等中医药院校规划教材《免疫学基础与病原生物学》的配套教材。本实验指导包括四部分内容：医学免疫学实验、医学微生物学实验、医学寄生虫学实验和综合性实验。

免疫学基础与病原生物学是临床医学和预防医学的专业基础课，是每位医学院校学生的必修课程。学生在学习系统理论知识的基础上，掌握一些验证性实验和基本技术操作，可为今后从事临床实践和科学研究奠定基础，同时亦可培养独立工作及分析和解决问题的能力。本实验指导最后开设两个综合性实验，学生可综合性地应用前三部分实验内容所学到的知识。

本实验指导供各高等中医药院校中医系、针灸系、推拿系等专业学生使用，各校各专业可根据具体情况选择有关内容进行实验。

# 目 录

实验室规则 .....	1
医学免疫学实验 .....	2
实验一 凝集反应与沉淀反应 .....	2
实验二 补体的溶细胞作用 .....	5
实验三 免疫标记技术 .....	6
实验四 免疫细胞检测 .....	7
医学微生物学实验 .....	9
实验一 细菌的形态观察 .....	9
实验二 细菌的人工培养 .....	11
实验三 细菌的分布、消毒与灭菌 .....	15
实验四 病原性球菌 .....	18
实验五 肠道杆菌 .....	20
实验六 厌氧性细菌、白喉杆菌、结核分枝杆菌 .....	22
实验七 病毒与其他病原微生物 .....	24
医学寄生虫学实验 .....	28
实验一 医学原虫 .....	28
实验二 医学吸虫 .....	32
实验三 医学绦虫 .....	36
实验四 医学线虫 .....	37
实验五 医学节肢动物 .....	42
综合性实验 .....	45
实验一 弓形虫 IgG 抗体 ELISA 测定 .....	45
实验二 环境水中病原菌的 PCR 测定 .....	46

## 实验 室 规 则

- 一、实验前先阅读当次实验内容。
- 二、进入实验室必须穿着实验服，按规定就座，保持肃静。
- 三、上实验课时，禁止吸烟和进食，严格执行实验室安全制度。
- 四、实验时听从教师指导，不擅自移动示教标本，如有不清楚时，请教师调整，以免影响其他同学观察。
- 五、牢固树立无菌概念，严格遵守无菌操作规则。若发生菌液污染、损坏物品等事故，立即报告教师及时处理。
- 六、实验用过的染菌器材如吸管、试管、玻片等应及时放在含消毒液的容器内，不得放在桌上或放在水槽里冲洗。
- 七、作业应在规定时间内完成，实验报告要求简明扼要，字迹清楚，画图力求正确、客观。
- 八、实验完毕，应有清洁值日生，整理器材物品，打扫卫生，关好门窗和水、电、煤气的开关。

# 医学免疫学实验

## 实验一 凝集反应与沉淀反应

### 一、实验目的

- 掌握凝集反应与沉淀反应的基本原理。
- 熟悉凝集反应与沉淀反应的类型及特点。
- 了解凝集反应与沉淀反应在临床检验中的应用及意义。

### 二、实验内容

#### (一) 直接凝集试验——血型鉴定试验

1. 原理 颗粒性抗原(如白细胞、红细胞、细菌等)与相应抗体在体外适当条件下发生特异性结合时,可出现肉眼可见的凝集现象。人类血清中存在着针对同种异型红细胞膜抗原的天然抗体(凝集素),当此抗体与相应的红细胞血型抗原结合后,即可产生肉眼可见的凝集,这种现象称为直接凝集反应。以凝集素与相应血型抗原进行的直接凝集反应可用于检测不同个体的血型或相应的抗血型抗原的抗体。

#### 2. 材料与试剂

- 材料:载玻片、滴管、牙签、记号笔。
- 试剂:抗A标准血清、抗B标准血清、生理盐水、人红细胞悬液。

#### 3. 操作步骤

- 取载玻片1块,用记号笔分别于左右上角标写“A”、“B”。
- 用滴管吸取抗A标准血清1滴置“A”角,用另一滴管吸取抗B标准血清1滴置“B”角。
- 用第三支滴管吸取人红细胞悬液1滴分别滴入载玻片两角的标准血清内,以牙签搅匀混合。
- 手执载玻片前后摇动数分钟,置室温10~15分钟后观察结果。
- 于“A”角出现凝集现象者,血型为A型;于“B”角出现凝集现象者,血型为B型;两角均出现者,为AB型;两角均不出现者,为O型。

#### (二) 间接凝集抑制试验

1. 原理 以可溶性抗原吸附于载体颗粒上而形成的致敏抗原颗粒,可与相应抗体产生间接凝集反应。本实验中的HCG致敏颗粒即为绒毛膜促性腺激素(HCG)吸附于聚苯乙烯

乳胶颗粒所形成。此颗粒与特异性抗体结合，可形成凝集现象。但如一定量的特异性抗体与待检标本内的可溶性抗原（HCG）先行结合，则反应体系中的抗原抗体合适比例遭到破坏，不再出现凝集现象。据此原理设计的实验称为间接凝集抑制试验。这类试验较其他凝集试验更为敏感。其结果观察时须注意，未出现凝集现象的标本为阳性，出现凝集现象的标本为阴性。

## 2. 材料与试剂

- (1) 材料：载玻片、牙签、记号笔。
- (2) 试剂：致敏 HCG 乳胶、抗 HCG 抗体、孕妇尿液、正常人尿液。

## 3. 操作步骤

- (1) 取载玻片 2 块，用记号笔分别标写“孕妇尿液”、“正常人尿液”。
- (2) 各滴孕妇尿液、正常人尿液 1 滴于载玻片上。
- (3) 再各滴抗 HCG 抗体 1 滴，以牙签搅匀混合。
- (4) 然后滴入致敏 HCG 乳胶 1 滴，手执载玻片前后摇动 3~5 分钟。
- (5) 置室温 5~10 分钟后观察结果。
- (6) 滴正常人尿液之载玻片出现细小凝集颗粒，为阴性；滴孕妇尿液之载玻片仍为白色乳剂，不出现细小凝集颗粒，为阳性。

## （三）单向扩散试验

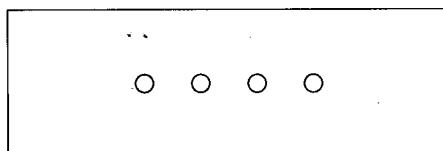
**1. 原理** 以定量的抗体溶液混合于琼脂内，再在琼脂板的小孔内分别加入不同含量之相应抗原稀释液。当抗原按浓度梯度从孔中向四周扩散时，不同浓度的抗原与抗体所形成的沉淀环（适当比例处）距琼脂板小孔中心的距离也会不同，其沉淀环之直径与抗原的浓度成正比。故单向扩散试验可用于抗原的定量检测。

## 2. 材料与试剂

- (1) 材料：载玻片、吸管、洗耳球、打孔器、注射针头、毛细管、记号笔。
- (2) 试剂：1.2% 琼脂、生理盐水、抗原溶液、抗体溶液。

## 3. 操作步骤

- (1) 将确定效价的抗体溶液与已溶化的琼脂液在 56℃ 水浴下混合摇匀。
- (2) 取载玻片 1 块，用吸管吸取含抗体的琼脂液 3.5ml 平铺其上。
- (3) 待琼脂冷凝后，按下图所示以打孔器打孔，并用注射针头挑去孔内琼脂。



- (4) 将不同含量的抗原溶液分别置于孔内。
- (5) 将载玻片置于湿盒内，隔天观察结果。
- (6) 24 小时后，于湿盒内取出载玻片，观察沉淀环的形态并测量其直径。

#### (四) 双向扩散试验

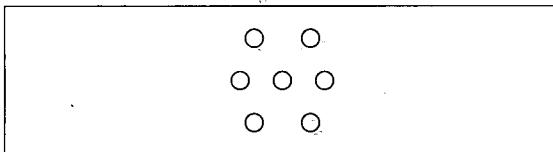
**1. 原理** 当抗原溶液与抗体溶液分别置于半固体琼脂板的小孔内时，可各自借浓度梯度作用向四周扩散。如两者形成特异性结合，即可在合适比例处产生沉淀，并以白色沉淀线显示。故双向扩散试验可用于抗原（抗体）的半定量检测，以及抗原（抗体）的成分、性质分析。

#### 2. 材料与试剂

- (1) 材料：载玻片、吸管、洗耳球、打孔器、注射针头、毛细吸管、试管、记号笔。
- (2) 试剂：1.2% 琼脂、生理盐水、抗原溶液、抗体溶液。

#### 3. 操作步骤

- (1) 取载玻片1块，用吸管取加热溶解琼脂3.5ml平铺其上。
- (2) 待琼脂冷凝后，按下图所示以打孔器打孔，并用注射针头挑去孔内琼脂。



- (3) 将抗体溶液用生理盐水依次稀释成1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64等不同滴度，用毛细吸管将其加入周围孔内。
- (4) 再以另一毛细吸管将抗原溶液加入中央孔内。
- (5) 将载玻片置于湿盒内，隔天观察结果。
- (6) 24小时后，于湿盒内取出载玻片，观察沉淀线的位置、数量、形态。

#### (五) 对流免疫电泳

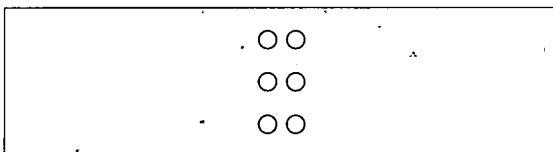
**1. 原理** 半固体琼脂板小孔内的抗原、抗体放置电场中，通过电泳与电渗作用，二者可产生相向运动。通常抗原所带的负电荷较高，受电泳作用，由阴极向阳极运动；而抗体所带的负电荷较低，受电渗作用，由阳极向阴极运动。两者形成对流。当两者于合适比例处产生特异结合反应，就形成白色沉淀线。较之双向扩散试验，对流免疫电泳具有反应时间短、敏感性高等优点。

#### 2. 材料与试剂

- (1) 材料：载玻片、吸管、洗耳球、打孔器、注射针头、毛细吸管、试管、记号笔。
- (2) 试剂：1.2% 琼脂、生理盐水、抗原溶液、抗体溶液。

#### 3. 操作步骤

- (1) 取载玻片1块，用吸管取加热溶解琼脂3.5ml平铺其上。
- (2) 待琼脂冷凝后，按下图所示以打孔器打孔，并用注射针头挑去孔内琼脂。



- (3) 将抗体溶液以生理盐水依次稀释成 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64 等不同滴度，用毛细吸管将其加入右侧（近阳极）孔内。
- (4) 再以另一毛细吸管将抗原溶液加入左侧（近阴极）孔内。
- (5) 将琼脂载玻片按极性所示置于电泳槽内，电泳 30~45 分钟。
- (6) 取出琼脂载玻片，观察结果。

### 【思考题】

1. 试比较凝集反应与沉淀反应之异同。
2. 试比较双向扩散试验与对流免疫电泳的检测敏感性，阐明其差别与原理。

## 实验二 补体的溶细胞作用

### 一、实验目的

1. 掌握补体经典激活途径的激活过程与溶细胞作用的机制。
2. 熟悉补体溶血反应的操作过程。
3. 了解补体溶血反应的临床应用。

### 二、实验内容

#### 补体溶血反应

**1. 原理** 由经典激活途径激活的补体系统可产生溶细胞作用。本实验中，绵羊红细胞与相应抗体（溶血素）产生特异性结合后，可激活补体系统，故在反应体系中，含有补体的实验组可产生溶血现象。

#### 2. 材料与试剂

- (1) 材料：试管、吸管、记号笔。
- (2) 试剂：1% 绵羊红细胞（抗原）、溶血素（抗体）、新鲜豚鼠血清（补体）。

#### 3. 操作步骤

- (1) 取 3 支试管，按下表分别加入不同的试剂组合。

试管	1% SRBC	溶血素 (2U/ml)	补体 (2U/ml)	生理盐水
1	0.25ml	0.25ml	—	0.5ml
2	0.25ml	—	0.5ml	0.25ml
3	0.25ml	0.25ml	0.5ml	—

- (2) 将加完试剂的试管置于 37℃ 水浴 15~30 分钟，观察各试管是否出现溶血现象。

### 【思考题】

1. 本试验中引起溶血现象的参与因素有哪些，其生物学性质有何差别？
2. 试分析本试验中补体的激活过程。

## 实验三 免疫标记技术

### 一、实验目的

1. 掌握酶联免疫吸附试验（ELISA）的基本原理。
2. 熟悉酶联免疫吸附试验（ELISA）的操作过程。
3. 了解各类主要免疫标记技术的原理与应用。

### 二、实验内容

**1. 原理** 酶联免疫吸附试验（间接法）是将已知的抗原结合于固相载体表面，使之与待检抗体结合，抗原抗体结合物再与酶标记的第二抗体（抗抗体）结合，通过酶对底物的呈色反应，显示待检抗体的含量。其呈色反应的强弱与标本内待检抗体成正比。该试验可用于定性、定量测定。

#### 2. 材料与试剂

- (1) 材料：酶标板、烧杯、试管、滴管、微量移液器、移液头。
- (2) 试剂：抗原溶液、洗涤液、待检标本、酶标抗体、底物溶液、终止液。

#### 3. 操作步骤

- (1) 用抗原包被液稀释抗原后，按相应浓度加入酶标板，每孔  $100\mu\text{l}$ ，置  $4^\circ\text{C}$  过夜。
- (2) 取出包被好的酶标板用洗涤液洗涤（将洗涤液注满各孔后放置 3 分钟再弃去，甩干）3 次。
- (3) 按实验要求于各孔内加入待检样品（抗体） $100\mu\text{l}$ ，置  $37^\circ\text{C}$  水浴 1 小时。
- (4) 取出酶标板洗涤 3 次（操作同上）。
- (5) 于各孔内加入酶标抗体  $100\mu\text{l}$ ，置  $37^\circ\text{C}$  水浴  $45\sim60$  分钟。
- (6) 取出酶标板洗涤 3 次（操作同上）。
- (7) 于各孔内加入底物溶液  $100\mu\text{l}$ ，置  $37^\circ\text{C}$  水浴  $10\sim20$  分钟。
- (8) 取出酶标板，于各孔内加入  $50\mu\text{l}$  终止液终止反应。
- (9) 将酶标板置于酶标仪中，读取  $OD$  值，判断结果。

### 【思考题】

1. 常用的免疫标记技术有哪些，与凝集反应及沉淀反应等检测方式相比有何优点？
2. ELISA 的原理如何，可分为哪几种类型，各有哪些特点？

## 实验四 免疫细胞检测

### 一、实验目的

- 掌握淋巴细胞转化试验的原理及结果观察方法。
- 熟悉细胞吞噬功能测试的操作过程及意义。
- 了解免疫细胞检测的基本内容及方法。

### 二、实验内容

#### (一) 淋巴细胞转化试验 (形态学检测)

1. 原理 免疫应答功能正常的 T 淋巴细胞受到抗原 (特异性) 或有丝分裂原 (非特异性) 激活后, 可产生形态学的变化, 即成为淋巴母细胞。通过对被激活后淋巴细胞中淋巴母细胞数量的统计, 可反映 T 淋巴细胞的功能状态。

#### 2. 材料与试剂

- 材料: 试管、吸管、滴管、载玻片。
- 试剂: 细胞培养液、植物血凝素 (PHA)、瑞氏染液。

#### 3. 操作步骤

- 取肝素抗凝血 1~2ml, 用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞。
- 将分离后的淋巴细胞浓度调整为  $2 \times 10^6/\text{ml}$ 。
- 加入 PHA, 使终浓度为 1%。
- 将含 PHA 的细胞悬液置于 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 培养箱中培养 48~72 小时。
- 取出培养细胞离心液, 弃上清液, 以生理盐水洗涤 (1000rpm, 离心 10 分钟) 1 次, 弃上清液。
- 摇匀沉淀细胞, 推片, 晾干, 作瑞氏染色, 镜检观察结果。
- 计数淋巴细胞, 并得出淋巴细胞转化率。

#### [附一] 淋巴细胞转化率的计算

$$\text{淋巴细胞转化率} (\%) = \frac{\text{转化型淋巴细胞}}{\text{转化型淋巴细胞} + \text{未转化淋巴细胞}} \times 100\%$$

#### [附二] 转化淋巴细胞的形态特征

- 细胞体积增大, 可达普通淋巴细胞的 3~4 倍。
- 核膜清晰, 核质疏松成网状, 可见核仁。
- 核区胞浆呈淡染区。
- 胞浆丰富, 有伪足状突起, 呈嗜碱性, 可见空泡。

#### (二) 细胞吞噬功能测试

- 原理 体内巨噬细胞、中性粒细胞等都具有吞噬功能。这些细胞的功能正常与否常