



放射免疫分析法手册

科学技术文献出版社

放射免疫分析法手册

李振甲 蔡荣业 王建勋 编著

科学技术文献出版社

在编写本手册过程中，曾得到了王世真教授的指导，有关章节并经李健斋及蔡醒华教授审阅，杨梅芳、乔伯英两位医生协助整理，在此一并表示感谢！

由于我们的知识和业务水平的限制，经验不足，故错误之处在所难免，诚恳地希望同志们给予批评指正。

编者于1980年元旦

前 言

放射免疫分析法是六十年代发展起来的一项新的超微量分析技术，它是利用免疫学上抗体和抗原之间相互反应的高度特异性和放射性同位素检测技术高度的灵敏性相结合而形成的一门新兴科学。具有专一性强、灵敏度和精确度高、样品用量少、易于标准化等特点。实验证明，其灵敏度可达毫微克至微微克，甚至达到毫微微克级，较化学分析的灵敏度可高一万倍至一百万倍。据统计，被检测的物质已多达 300 多项，其中包括体液及各种组织中的激素、维生素、药物、酶、蛋白质、肿瘤相关抗原、环状核苷酸、病毒、细菌、寄生虫病抗体等。

由于这种检测技术具有独特的优点，所以它的应用越来越受到世界各国普遍的重视，目前已成为基础医学、现代分子生物学、分子药理和临床医学研究中必不可少的重要手段。现已广泛用于诊断内分泌疾病、肝癌及心血管等各种疾病，并用于药物、计划生育、中医基础理论及针刺麻醉等方面的研究。

近年来，我国开展了这方面的工作，并应用于科研和临床工作中，取得了一定效果。现结合我们工作中的初步经验和体会，并参考国内外一些文献编写了这本手册，可供从事核医学专业技术人员、高等医学院校的师生、医生和检验人员参考。

目 录

第一章 总论	(1)
第一节 概述.....	(1)
第二节 基本原理.....	(14)
第二章 放射物理基本知识	(21)
第一节 原子和原子核.....	(21)
第二节 放射性物质.....	(25)
第三节 射线与物质的相互作用.....	(38)
第三章 射线探测仪器	(49)
第一节 闪烁计数器和定标器.....	(51)
第二节 单道 γ 能谱仪.....	(69)
第三节 液体闪烁计数器.....	(77)
第四节 放射性纸层析仪.....	(97)
第五节 射线探测仪器使用中的一些问题.....	(104)
第六节 计数误差和数据处理.....	(119)
第四章 试剂制备	(124)
第一节 抗原纯化.....	(124)
第二节 人工抗原的制备.....	(127)
第三节 抗血清的制备.....	(135)
第四节 特异性结合蛋白质.....	(138)
第五节 放射性碘标记.....	(140)
第六节 分离剂.....	(143)
第七节 闪烁液.....	(146)
第五章 类固醇激素的测定	(152)

第一节	血浆皮质醇的测定·····	(152)
第二节	血浆 11-去氧皮质醇的测定·····	(168)
第三节	尿中游离皮质醇的测定·····	(174)
第四节	血浆醛固酮的测定·····	(179)
第五节	血浆皮质酮的测定·····	(193)
第六节	血浆睾丸酮的测定·····	(199)
第七节	血浆孕酮的测定·····	(208)
第八节	血清去氢异雄酮的测定·····	(216)
第九节	血浆雌三醇的测定·····	(222)
第十节	尿中总雌三醇的测定·····	(229)
第十一节	血浆雌二醇的测定·····	(235)
第十二节	17 α -羟孕酮的测定·····	(244)
第六章	多肽类激素的测定·····	(250)
第一节	血浆胰泌素的测定·····	(250)
第二节	血清胃泌素的测定·····	(256)
第三节	血浆胰岛素的测定·····	(268)
第四节	血浆胰高血糖素的测定·····	(277)
第五节	血清绒毛膜促性腺激素的测定·····	(282)
第六节	血清降钙素的测定·····	(289)
第七节	血清催乳素的测定·····	(295)
第八节	血浆肾素活性的测定·····	(300)
第九节	血浆血管紧张素Ⅱ的测定·····	(308)
第十节	血浆生长激素的测定·····	(316)
第十一节	血浆促肾上腺皮质激素的测定·····	(322)
第十二节	血浆胰多肽的测定·····	(330)
第七章	蛋白质类的测定·····	(337)

第一节	血清肌红蛋白的测定·····	(337)
第二节	血清甲状腺素结合球蛋白的测定·····	(344)
第三节	血清甲胎蛋白的测定·····	(355)
第四节	血清运钴胺素Ⅱ的测定·····	(361)
第五节	血清铁蛋白的测定·····	(368)
第六节	血清孕 β_1 -结合糖蛋白的测定·····	(373)
第八章	环核苷酸及甲状腺激素的测定·····	(379)
第一节	环一磷酸腺苷的测定·····	(379)
第二节	环一磷酸鸟苷的测定·····	(392)
第三节	血清甲状腺素的测定·····	(399)
第四节	血清三碘甲腺原氨酸的测定·····	(414)
第五节	血清游离甲状腺素的测定·····	(420)
第六节	血清反 T_3 (Reverse T_3) 的测定·····	(425)
第七节	血清 3,3'-L-二碘甲腺原氨酸的测定·····	(430)
第九章	药物及其它测定·····	(438)
第一节	血清狄高辛的测定·····	(438)
第二节	血浆地塞咪松的测定·····	(444)
第三节	血清氯林可霉素的测定·····	(450)
第四节	血浆前列腺素的测定·····	(457)
第五节	血清去氧核糖核酸的测定·····	(468)
第六节	血清胰岛素抗体的测定·····	(473)
第七节	血清 25-羟维生素 D_3 的测定·····	(478)
第八节	血清胆酸的测定·····	(483)
第九节	血清抗去氧核糖核酸抗体的测定·····	(490)
第十节	尿中 3-0-甲基肾上腺素的测定·····	(494)
附录	·····	(503)

一、实验室所需器材.....	(503)
二、常用试剂中、英文对照.....	(504)
三、国际通用度量衡名称及符号.....	(510)
四、名词解释.....	(512)
五、[¹²⁵ I]-标记物衰变计算.....	(513)
六、竞争放射分析方法质量鉴定标准.....	(516)

第一章 总 论

第一节 概 述

放射免疫分析检测方法是由美国科学家亚洛 (Yalow R. S.) 于五十年代初期与伯森 (Berson) 开始合作, 经过十餘年的努力共同研制成功的。他们于1959年利用同位素测量的高度灵敏性和免疫学抗原-抗体反应的高度特异性两大特点相结合, 首先成功地用放射免疫分析技术 (Radioimmunoassay, 简称RIA), 测定糖尿病人血浆中胰岛素的浓度。由于这种检测方法可以精确地测定体液中的微量活性物质, 这在定量分析方法上是一次重大突破, 受到各有关基础学科工作者的重视, 推动了这类方法的迅速发展。于1977年荣获诺贝尔生物学医学奖。

1960年Ekins 根据相同原理, 不需要制备抗体, 而利用人血清中甲状腺素结合球蛋白 (TBG) 和甲状腺素 (T_4) 具有特殊结合力的特点, 建立了竞争性蛋白结合分析法 (Competitive protein binding assay) 测定血清中的 T_4 。1963年 Murphy 等人对不同动物血清中的类固醇结合球蛋白 (CBG) 和皮质激素结合力的特异性进行了大量的实验研究工作, 并建立了血清和尿中皮质激素的竞争性蛋白结合法测定。随后, 又有些人相继建立了孕酮、睾丸酮、雌素等多种类固醇激素和环状核苷的测定, 使这类方法得到了很大的

发展，应用范围也日益广泛。

放射受体分析是七十年代发展起来的一项新方法，实际上它也是竞争性蛋白分析的一种，所不同的是它以受体蛋白作为特异性结合剂。

激素受体是细胞内的一种蛋白质，它能特异性地与激素结合，而且对激素有高度的亲和力。含有高浓度激素受体的组织，必定是该激素的靶细胞。

放射受体分析 (Radioreceptor assay, RRA) 又称放射配体受体分析 (Radioligand receptor assay)。这种分析的原理，与放射免疫分析相似，只不过是用组织受体代替抗体，作为结合试剂而已。

和RIA相比，RRA的优点有：（1）激素与受体结合后，将引起一连串的生物效应。所以，RRA所测定者是激素的生物活性；而RIA所测出的激素免疫活性并不一定能代表生物活性；（2）某种激素在一种动物的受体对另一种动物也有类似的结合作用。这样，动物的受体制剂也可用于人的激素测定；（3）由于不同激素可能具有同一靶组织，一种靶细胞的受体制剂，有可能用于多种激素的放射受体分析；（4）RRA比RIA快速，能于几小时内提供结果。

RRA的缺点是：（1）受体的分离往往需要低温高速离心机等设备；（2）操作中，有时须事先除去血清中干扰物质，技术上较困难；（3）受体较不稳定，容易失活，只能保存在冰冻状态。

本法的灵敏度与RIA相近。几乎所有的激素，以及一些神经介质都可用RRA进行定量。

放射免疫分析和竞争性蛋白结合分析同属于放射性体外

测定法。前者需要制备特异性抗体，后者不需要抗体，仅利用某些天然蛋白质作为特异性结合试剂，取材容易，便于推广，但是灵敏度一般低于放射免疫分析法。目前，关于这种分析方法的名称尚未统一，有的称为“饱和分析法”，Murphy 曾称为“放射立体化学分析法”。这些名词是否适当还无定论。我们综合国内有关从事放射医学工作同志们的意见，认为采用“竞争性放射分析”或“竞争放射分析”较为恰当。故本书中将放射免疫法和竞争性蛋白结合分析法（包括放射受体蛋白），总称为“竞争性放射分析法”。

竞争性放射分析法具有特异性强、灵敏度高、准确性和精密度好等优点，是目前其它分析方法中无可比拟的，而且操作简便，应用广泛，便于标准化。其灵敏度（最小检出值）可达到毫微克至微微克级，比一般化学分析法提高了1000~1000,000倍。近年来已向着毫微微克级发展。

竞争性放射分析法的广泛采用，为研究许多含量甚微而又很重要的生物活性物质在机体内的代谢，分布和作用机制提供了新的方法，大大促进了医学和生物学的进展。对生命现象的本质和动态规律的认识得到了新的提高，已成为若干基础学科和临床医学进行实验研究及诊断疾病方面必不可少的手段。特别是在分子生物学、分子药理学、免疫学、生物化学、微生物学、流行病学、寄生虫学、毒理学、临床内分泌学、妇产科学、肿瘤学以及祖国医学等学科内的应用，已取得了不少重要的新成果。

自竞争性放射分析技术问世以来，虽然仅有二十年的历史，但它的进展却是迅速的。许多作者在方法学上进行了不断改进，使之日臻完善。特别是近年来对有关半抗原和适当

载体偶联法的改进。可以预言，凡一切具有生物活性的物质均可用这种方法进行检测。根据国外资料不完全统计，目前此种检测方法已近 300 项。较为常用的见表 1—1 中所列。

表1—1 可用竞争性放射分析测定的一些物质

(1)多肽及蛋白质激素	尿抑胃素(urogastrone)
胰岛素	胃泌素
前胰岛素	缓激肽
生长激素(GH)	胰泌素
黄体生成激素(LH)	肾素
促肾上腺皮质激素(ACTH)	血管紧张素 I
促甲状腺激素(TSH)	血管紧张素 II
促卵泡成熟激素(FSH)	黄体生成激素释放激素
人绒毛膜促性腺激素(HCG)	(LH-RH)
甲状旁腺素(PTH)	促胰酶素-促胆囊运动素
人胎盘催乳素(HPL)	(PZ-CCK)
α 促黑色素细胞激素(α MSH)	松驰激素
β 促黑色素细胞激素(β MSH)	促甲状腺激素释放激素
抗利尿素(ADH)	(TRH)
制尿激素	羧基肽
黄体生成激素释放因子	胃的抑制多肽
(LRF)	7S神经生长因子
抗脂素(LPH)	高血压蛋白原酶
α_1 酸性糖蛋白(α_1 GP)	缩胆囊素
促性腺激素	红血球生成激素
催乳素	促性腺激素释放激素
高血糖素	(GN-RH)
后叶加压素	

(2)非肽激素	PGE
甲状腺素(T_4)	PGF ₂ α
三碘甲状腺原氨酸(T_3)	(3)维生素
孕酮	维生素A
17-羟孕酮	维生素B ₆
	维生素B ₁₂
睾丸酮	叶酸
2-羟睾丸酮	维生素D
二氢睾丸酮	1 α -25-双羟维生素D ₃
雌二醇	25-羟-沉钙固醇
雌三醇	(4)酶
雌酮	胰蛋白酶
2-羟雌酮	糜蛋白酶
皮质醇	C ₁ -酯酶
11-去氧皮质醇	羧肽酶A
皮质酮	胶原酶
醛固酮	凝乳酶
去氧皮质酮	凝乳酶元
去氢皮质酮	胰凝乳蛋白酶
18-羟皮质酮	胰凝乳蛋白酶元
18-羟11-去氧皮质酮	羧基酶
皮质素	多巴脱羧酶
11-去氢皮质素	多巴胺- β -羟化酶
雄固烷二酮	碳酸酐酶 I
去氧表雄酮	碳酸酐酶 II
地塞米松	果糖-1,6-二磷酸酶
强地松	辅酶
前列腺素	碱性磷酸酶
PGA	胶原脯氨酸羟化酶

续表1-1

胞浆素	甲状腺素结合球蛋白(TBG)
胞浆素元	免疫球蛋白
(5) 药物	IgA
阿司匹林	IgD
吗啡	IgE
安非他明	IgG
地戈辛	IgM
毛地黄毒素	凝血酶元
毛地黄糖苷	维生素结合蛋白
青霉素	淋巴球抗原
链霉素 β -内毒素A	本周氏蛋白
链霉素 β -内毒素B	备解素
巴比妥钠	反应素
戊巴比妥钠	Rh因子
人造麻黄素	白血球趋化因子
乌亦盆	(7) 核酸衍生物
乌木箭毒苷	环磷酸腺苷(cAMP)
南美防已碱	环磷酸鸟苷(cGMP)
烟碱衍生物	环磷酸次黄苷(cIMP)
麦角酸衍生物	环磷酸尿苷(cUMP)
大麻素	信使核糖核酸(mRNA)
氯林可霉素	(8) 肿瘤相关抗原
阿糖胞苷	癌胚蛋白抗原(CEA)
(6) 血液成分	甲胎蛋白(α FP)
清蛋白	“异位”激素
纤维蛋白	碱性磷酸酶等同功酶
纤维蛋白元	(9) 病原体
铁蛋白	乙型肝炎抗原(HBAg)
肌红蛋白	哺乳C型病毒蛋白

续表1-1

梭状杆菌A型内毒素	抗大肠杆菌抗体
葡萄球菌内毒素	狂犬病结合抗体
血吸虫抗原	(11)其它
乌RNA肿瘤病毒特异抗原	儿茶酚胺
肉瘤-白血病毒特异抗原	5-羟色胺
(10)抗体	吡哆醛
抗溴抗抗体	内因子
抗D免疫球蛋白	类风湿因子
抗反应素抗体	变态反应原
抗Rh抗体	唾液素
抗真球类病毒抗体	网膜结合蛋白
抗DNA抗体	胶元
抗胰岛素抗体	过敏原
抗地戈辛抗体	肌动素
抗细菌球基底膜抗体	核糖微粒
抗细胞表面抗原抗体	N-乙酰-5-甲氧-色胺
抗百日咳免疫球蛋白	3-0-甲氧基肾上腺素
抗血友病因子	孕 β 结合糖蛋白

下面仅举其中几种有代表性的检测项目简述如下:

在内分泌疾病中的应用

在内分泌疾病中,最常见的疾病是甲状腺机能亢进和减退。以前作这种功能测定通常是让病人作 ^{131}I 碘摄取试验和血浆蛋白结合碘的测定。采用这两种方法都需让病人禁食含碘食物及药物一周。放射性 ^{131}I 碘毕竟是一种有害物质,特别不适用于孕妇和儿童。利用血浆蛋白结合碘测定方法,由于受汞剂

和X射线造影剂等因素的影响，也往往出现假阳性升高，准确率较差。而利用放射免疫方法直接体外测定血清中甲状腺激素的浓度 (T_3 、 T_4)，则不受任何条件的限制，可随时取血，并具有方法简便、准确率高及用血量少等优点，据临床实践，其符合率可达90%以上。

此外，利用放射免疫法还可以测定促甲状腺激素(TSH)和促甲状腺激素的释放激素(TRH)的浓度。这些方法的广泛应用，使人们完全研究清楚了甲状腺激素的合成是受脑垂体前叶所分泌的TSH的控制，而TSH又受下丘脑所分泌的TRH的影响。这些问题在放射免疫技术未问世之前是不可能得到答案的。

近年来，一些国家已开展采用放射免疫技术检测新生儿体液中 T_4 及TSH的含量，用来早期发现先天性甲状腺功能低下而引起的智力发育阻滞。据统计，大约每4000个新生儿中，便有一例患者。如患儿在出生一个月之内适当加以治疗，患儿完全可以得到正常发育。

目前，利用放射免疫方法测定 T_3 、 T_4 、TSH、TRH，不仅可用来诊断原发性和继发性甲状腺疾病，而且对探讨激素的合成、释放、代谢以及探索新的治疗途径均有重要意义。

在诊断和治疗肿瘤方面的应用

目前，诊断肝癌主要的方法有放射性同位素扫描法、超声波诊断法和免疫学方法，其中免疫学方法又可分为琼脂免疫扩散法、对流免疫电泳法、血凝法和放射免疫法四种。利用同位素扫描法及超声波诊断法检出的肝癌大小一般为2厘

米左右，多已为中、晚期肝癌。检测血液中甲胎蛋白浓度的含量是免疫学方法诊断肝癌的主要指标，通常，血液中甲胎蛋白浓度的含量超过 300 毫微克，即可确诊为肝癌。采用琼脂免疫扩散法检测甲胎蛋白的灵敏度为 2 ~ 3 微克/毫升，临床符合率为 65%，对流免疫电泳法的灵敏度平均为 0.6 ~ 1 微克/毫升，临床符合率为 80% 左右，血凝法的灵敏度为 25 ~ 50 毫微克/毫升，虽然血凝法检出率较高，但易出现假阳性，而放射免疫法的灵敏度为 10 毫微克/毫升，临床符合率为 93—95%。我国医务工作者在大量普查工作中，采用放射免疫法检出的肝癌，经手术证实，其最小值仅为 0.5 厘米，患者在临床上无任何症状，为早期诊断、早期治疗提供了重要手段。

采用放射免疫技术测定乳腺癌患者雌二醇的含量，可以判断患者在手术后是否适于使用激素治疗。如原发性或转移性乳癌患者仍有雌二醇受体，癌的生长与功能很可能会受激素的控制，否则，激素不会起到治疗作用。

降钙素为含有 32 个氨基酸组成的多肽，它合成于甲状腺的 C 细胞，并由此细胞分泌到血液中去。甲状腺髓样癌(MC)患者的血液中，降钙素的水平可剧增到每毫升 1000 微微克以上，而正常值不超过 400 微微克/毫升。采用放射免疫技术测定降钙素的含量可以早期发现隐性甲状腺髓样瘤。此外，测定降钙素还可用来观察术后患者是否还存在疾病的残余和复发的可能。

在心血管疾病方面的应用

心肌梗塞与动脉粥样硬化有直接关系。最近通过放射免疫技术使人们进一步认识到，心肌梗塞的形成又与血小板合