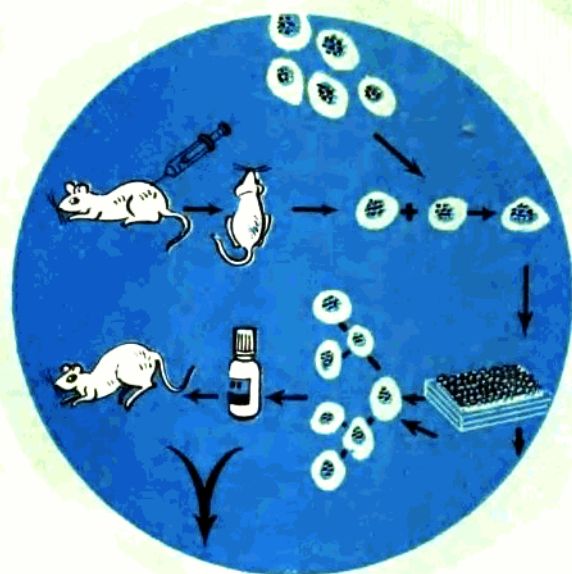


张和君等 编译

DANKELONGKANGTI  
JI  
XIBAOMIANYI  
SHIYANJISHU



# 单克隆抗体及细胞免疫实验技术

云南科技出版社

87  
R730.3  
7  
3

# 单克隆抗体及细胞免疫实验技术

张和君 许以盛 石连发 郭仁 编译  
徐芸 陈宜峰 张枫

云南科技出版社



B.0.416

责任编辑： 单沛尧  
封面设计： 苏 定

**单克隆抗体细胞免疫实验技术**

张和君 石连发 张 枫 郭 仁 编译  
徐 芸 陈宜峰 许以盛

---

云南科技出版社出版发行（昆明市书林街100号）  
云南新华印刷厂印装 云南省新华书店经销

---

开本：787×1092 1/16 印张：27 字数：580,000  
1986年12月第一版 1986年12月第一次印刷  
印数：1—3,800

---

统一书号：14466·11 定价：6.75 元

## 前 言

免疫学是生物学领域中当今非常活跃的一个分支、吸取了生物化学,生物物理学、细胞生物学、分子生物学及医学微生物学许多方面的研究成就,迅速地向前发展、涌现出许多新的理论,新的技术和新的成果。免疫学发展的成就,不仅在防病治病中起了重大作用,而且也推动着生物学领域中多种学科的发展。单克隆抗体就是非常生动的例子。近二十年来,细胞生物学家进行了很多有关细胞杂交的试验研究,将具有不同遗传特性的两种动物细胞进行融合,形成一种新的杂交细胞,用来进行特定基因在染色体上的定位、基因表达以及动物细胞其它遗传特性变化等方面的研究。在观察免疫球蛋白产生的遗传控制研究中,köhler和Milstein (1975)发现,培养的小鼠骨髓瘤细胞能够同用羊红细胞免疫了的动物脾细胞发生融合,从中选择出少量的杂交瘤细胞,它可在体外连续传代培养,并产生大量的抗羊红细胞的同源抗体,于是创立了这种新的淋巴细胞杂交瘤技术,也称为单克隆抗体技术。这项技术一出现,立刻得到生物学界的重视,在免疫学的许多方面得到了应用,并将成为推动医学生物学发展的重要力量。

正是为了适应免疫学技术发展的需要,张和君等同志根据1980年出版的Barbara B. Mishell和Stanley M. Shiigi合著的《*Selected Methods in Cellular Immunology*》为主要蓝本,综合了一些近年来的文献资料,编译了这本《单克隆抗体和细胞免疫实验技术》,目的在于较详细地介绍这些新的实验技术的基本原理和操作方法,以供同事们、免疫学的实践工作者,医药院校及农业研究工作者、农业院校及综合大学生物专业有关师生参考。鉴于这些实验技术主要是在国外实验室的条件下总结起来,某些方面在国内推广应用起来还有一定困难,我们希望读者能注意掌握技术要领,善于根据自己实验室的条件,创造性地加以应用,这样就将有助于我国科学技术的发展,并为祖国四个现代化建设做出贡献。

由于我们的业务水平有限,不妥与谬误之处,敬请专家和读者们批评指正。

郭 仁

1985年2月

## 术 语 缩 写

Ab	抗体 antibody
Ag	抗原 antigen
AO	吖啶橙 acridine orange
AO/EB	吖啶橙-溴乙锭 acridine orange-ethidium bromide
Ars	砷酸偶氮苯或对氮苯基砷酸 azophenyl arsonate or arsanilic acid
Ars-HB	砷酸偶氮苯联甲基羟苯酰亚胺 azophenyl arsonate coupled to methyl- <i>p</i> -hydroxybenzimidate
Ars-HGG	砷酸偶氮苯修饰的人丙种球蛋白 human gamma globulin modified with azophenyl arsonate
Ars-KLH	砷酸偶氮苯修饰的钥孔血蓝蛋白 keyhole limpet hemocyanin modified with azophenyl arsonate
Ars-MB	砷酸偶氮苯修饰的分枝杆菌 <i>Mycobacterium</i> modified with azophenyl arsonate
BBS	硼酸缓冲盐 borate-buffered saline
BDB	二重氯化联苯胺 bis-diazotized benzidine
BDF <sub>1</sub>	C57BL/6×DBA/2杂交小鼠 C57BL/6×DBA/2 hybrid mice
BGG	牛丙种球蛋白 bovine gamma globulin
BSA	牛血清蛋白 bovine serum albumin
BSS	平衡盐液 balanced salt solution
BSS-FCS	含胎牛血清的平衡盐液 balanced salt solution containing fetal calf serum
BUdR	5-溴-2-尿苷 5-bromo-2-deoxyuridine
°C	摄氏温度 degree Celsius
CFA	完全福氏佐剂 complete Freund's-adjuvant
Ci	居里 curie
CM	羧甲基 carboxymethyl
CMC	细胞介导的细胞毒作用 cell-mediated cytotoxicity
Con A	刀豆球蛋白A concanavalin A
cpm	每分钟计数 counts per minute
CR	补体受体 complement receptor
DEAE	二乙氨基 diethylaminoethyl
DMSO	二甲亚砜 dimethyl sulfoxide

DNP	二硝基苯 dinitrophenyl
DNP-BGG	用二硝基苯修饰的牛丙种球蛋白 bovine gamma globulin modified with dinitrophenyl hapten
2-D PAGE	双相聚丙烯酰胺凝胶电泳 two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis
DTT	二硫苏糖醇 dithiothreitol
ε	消光系数 extinction coefficient
E	红细胞 erythrocytes
EA	抗体包被的红细胞 erythrocytes coated with antibodies
EAC	非溶血 IgM 包被并与小鼠补体反应的红细胞 erythrocytes coated with non-hemolytic IgM antibodies and reacted with mouse complement
EB	溴乙锭 ethidium bromide
ECDI	盐酸 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-1-羰二酰亚胺 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride
EDTA	乙二胺四乙酸 ethylenediamine tetraacetic acid
FCS	胎牛血清 fetal calf serum
FITC	异硫氰酸荧光素 fluorescein isothiocyanate
g	克 gram
g	重力加速度 acceleration of gravity
GAMB	山羊抗小鼠脑 goat anti-mouse brain
Glu	偶氮苯糖苷 azophenyl glucoside
Glu-KLH	用偶氮苯糖苷修饰的钥孔血蓝蛋白 keyhole limpet hemocyanin modified with azophenyl glucoside
Glut	偶氮苯谷氨酸 azobenzoyl glutamate
Glut-HB	偶氮苯联甲基羧苯酰亚胺 azobenzoyl glutamate coupled to methyl- <i>p</i> -hydroxybenzimidate
Gly	偶氮苯甘氨酸 azobenzoyl glycine
G-PBS	葡萄糖磷酸缓冲盐 glucose-phosphate-buffered saline
GRBC	山羊红细胞 goat red blood cells
HAT	次黄嘌呤-氨基喋呤-胸腺嘧啶 hypoxanthine-aminopterin-thymidine
HB	盐酸甲基对羧苯酰亚胺 methyl- <i>p</i> -hydroxybenzimidate hydrochloride
HBSS	Hank氏平衡盐液 Hanks' balanced salt solution
HEPES	[磺酸 4-2(羟乙基)-1-哌嗪乙烷] 4-2(hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
HGG	人丙种球蛋白 human gamma globulin

HPBS	高磷酸缓冲盐 high-phosphate-buffered saline
HPBS-FCS	含胎牛血清的高磷酸缓冲盐溶液 high-phosphate-buffered saline solution containing fetal calf serum
HRBC	马红血球细胞 horse red blood cells
HT	次黄嘌呤-胸腺嘧啶 hypoxanthine-thymidine
HuRBC	人红血球细胞 human red blood cells
Ia	I 区相关抗原 I region associated (antigen)
IEF	等电聚焦 isoelectric focusing
Ig	免疫球蛋白 immunoglobulin
KLH	钥孔血蓝蛋白 keyhole limpet hemocyanin
Lac	偶氮苯糖甙 azophenyl lactoside
Lac-BGG	用偶氮苯糖甙修饰的牛丙种球蛋白 bovine gamma globulin modified with azophenyl lactoside
Lac-KLH	用偶氮苯糖甙修饰的钥孔血蓝蛋白 keyhole limpet hemocyanin modified with azophenyl lactoside
Lac-KLH-Ars	用偶氮苯糖甙和砷酸偶氮苯修饰的钥孔血蓝蛋白 keyhole limpet hemocyanin modified with both azophenyl lactoside and azophenyl arsonate
LPS	脂多糖 lipopolysaccharide
M	摩尔浓度 (摩尔/升) molar (moles/liter)
mA	毫安 milliamper
mCi	毫居里 millicurie
2-ME	2-巯基乙醇 2-mercaptoethanol
MEM	Eagle氏基础培养基 Eagle's minimum essential medium
mg	毫克 milligram
min	分钟 minute
ml	毫升 milliliter
MLR	混合淋巴细胞反应 mixed lymphocyte response
mmol	毫摩尔 millimole
mol	摩尔 (克分子) mole
mOsm	毫渗透压克分子 milli Osmole
Mr	分子量 molecular weight
mS	毫西门 milli Siemen
μCi	微居里 microcurie
μl	微升 microliter
μm	微米 micrometer
NCS	新生小牛血清 newborn calf serum
NEPHGE	不平衡pH梯度电泳 nonequilibrium pH gradient electrophoresis

NIP	硝基-碘酚酞 nitro-iodophenyl
nm	毫微米 nanometer
NP40	NP40 Nonidet P40
NS-1	P3-NS 1-1骨髓瘤细胞系 P3-NS 1-1 myeloma cell line
OD	光密度 optical density
PAGE	聚丙烯酰胺凝胶电泳 polyacrylamide gel electrophoresis
PBS	磷酸缓冲盐 phosphate-buffered saline
PEG	聚乙二醇 polyethylene glycol
PFC	斑块形成细胞 plaque-forming cells
PHA	植物血凝素 phytohemagglutinin
PMSF	氟化苯甲磺酸 phenylmethyl sulfonyl fluoride
PNA	花生凝集素 peanut agglutinin
POPOP	POPOP (对苯撑双) <i>p</i> -bis-[2-(5-phenyloxazolyl)] benzene
PPC	每份培养物中的斑块细胞 plaque-forming cells per culture
PPM	每百万恢复的细胞中的斑块形成细胞 plaque-forming cells per million cells recovered
PPO	PPO (2, 5-二苯基恶唑) 2, 5-diphenyloxazole
PVP	聚丙烯吡咯酮 polyvinylpyrrolidone
R	伦琴 roentgen
RAMB	兔抗小鼠脑(血清) rabbit anti-mouse brain (serum)
RBC	红细胞 red blood cells
RIA	放射免疫 radioimmunoassay or radioimmune assay
rpm	每分钟转速 revolutions per minute
RPMI 1640	RPMI 1640 Roswell Park Memorial Institute medium number 1640
RPMI-FCS	含胎牛血清RPMI 1640 RPMI 1640 containing fetal calf serum
RPMI-NCS	含新生小牛血清的RPMI 1640 RPMI 1640 containing newborn calf serum
S	西门子(电脑单位) siemens
SaC	金色葡萄球菌考文斯(Cowans)株吸收数 <i>Staphylococcus</i> Cowans strain adsorbent
SAS	饱和硫酸铵 saturated ammonium sulfate
SBA	大豆凝集素 soybean agglutinin
SDS	十二烷基硫酸钠 sodium dodecyl sulfate
SRBC	绵羊红细胞 sheep red blood cells
Sulf	偶氮苯磺酸 azophenyl sulfonate
TCA	三氯醋酸 trichloroacetic acid
TEMED	N, N, N', N'-四甲基-1, 2-二氨基乙烷 N, N, N', N'



	-tetramethyl- 1, 2-diamminoethane
TNBS	2, 4, 6-叠氮苯磺酸 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid
TNP	叠氮苯 trinitrophenyl
TNP-KLH	用叠氮苯半抗原修饰的钥孔血蓝蛋白 keyhole limpet hemocyanin modified with trinitrophenyl hapten
TNP-SRBC	用叠氮苯半抗原修饰的绵羊红细胞 sheep red blood cells modified with trinitrophenyl hapten
Tris	三羟甲基氨基甲烷 tris (hydroxymethyl) aminomethane
TRITC	四甲基若丹明异硫氰酸 tetramethylrhodamine isothiocyanate
UV	紫外线 ultraviolet
V	伏特 volt
v/v	体积/体积 volume/volume, concentration of a solution based on, $\frac{\text{number of milliliters of solute}}{100 \text{ milliliters of solution}} \times 100\%$
w/v	重量/体积 weight/volume, concentration of a solution based on, $\frac{\text{number of grams of solute}}{100 \text{ milliliters of solution}} \times 100\%$

# 目 录

## 前 言

## 术语缩写

## 第一篇 体外免疫反应

第一章 小鼠细胞悬液的制备.....张 枫 (2)	
§ 1-1 前言..... (2)	
§ 1-2 脾细胞的制备..... (2)	
§ 1-3 正常腹腔细胞的制备..... (4)	
§ 1-4 经硫乙二醇刺激的腹腔细胞的制备..... (4)	
§ 1-5 胸腺细胞的制备..... (6)	
§ 1-6 驯化的胸腺细胞..... (7)	
§ 1-7 可的松耐性胸腺细胞的制备..... (7)	
§ 1-8 骨髓细胞的采取..... (7)	
§ 1-9 淋巴结细胞的制备..... (8)	
§ 1-10 用血细胞计数板计数细胞..... (10)	
§ 1-11 用台盼蓝染色排斥试验决定细胞成活率..... (12)	
§ 1-12 伊红-Y染色排斥试验决定细胞成活率..... (12)	
§ 1-13 用苯胺黑染色决定活细胞百分率..... (13)	
§ 1-14 A. 用二乙酸荧光素计数活细胞百分率..... (14)	
B. 用二乙酸荧光素及蕊香红结合的抗细胞表面抗体来计数活细胞的百分率..... (14)	
§ 1-15 用吖啶橙-溴乙啶 AO/EB 染色计数活性细胞百分率..... (15)	
§ 1-16 低张力休克溶解红细胞..... (16)	
§ 1-17 用Tris 氯化铵缓冲液溶解红细胞..... (17)	
§ 1-18 用Gey's 溶血液溶解红细胞..... (17)	
§ 1-19 通过Ficoll-Hypaque液离心沉淀分离细胞..... (18)	
§ 1-20 死细胞的凝集反应..... (19)	
§ 1-21 通过玻璃棉滤去死细胞及其碎片..... (20)	
§ 1-22 经过FCS离心法除去死细胞..... (20)	
第二章 体液反应的诱导.....许以盛、徐 芸 (21)	
§ 2-1 引言..... (21)	
§ 2-2 悬浮培养细胞的初次免疫反应..... (22)	

§ 2-3	扩散培养物的初次免疫反应.....	(27)
§ 2-4	对异种红细胞的二次免疫反应.....	(31)
§ 2-5	对硝基苯半抗原的二次免疫反应.....	(32)
§ 2-6	对偶氮苯半抗原的二次免疫反应.....	(39)
§ 2-7	微量悬浮培养物中的免疫反应 (100 微升) .....	(43)
§ 2-8	微量扩散培养物中的免疫反应 (100 微升) .....	(44)
§ 2-9	微量悬浮培养物中的免疫反应 (100 微升) .....	(47)
<b>第三章 溶血空斑测定法.....许以盛、徐芸(50)</b>		
§ 3-1	前言.....	(50)
§ 3-2	载玻片法 (GEL) .....	(51)
§ 3-3	平皿法 (凝胶法) .....	(55)
§ 3-4	染色和固定.....	(59)
§ 3-5	液体基质 (载玻片法) .....	(61)
§ 3-6	液体基质 (微孔法) .....	(63)
§ 3-7	消除IgM空斑后测定 IgG 反应 .....	(64)
§ 3-8	抗半抗原空斑.....	(67)
§ 3-9	用空斑测定亲和力.....	(71)
§ 3-10	抗蛋白质空斑.....	(72)
§ 3-11	多克隆反应的测定法.....	(77)
§ 3-12	重复性铺板法.....	(80)
§ 3-13	测定抗有核细胞表面抗原的IgM空斑形成细胞.....	(81)
<b>第四章 细胞介导的溶细胞反应.....许以盛、徐芸(89)</b>		
§ 4-1	前言.....	(89)
§ 4-2	溶细胞淋巴细胞的体外生成法.....	(90)
§ 4-3	铬释放测定法.....	(91)
<b>第五章 有限稀释分析法.....许以盛、徐芸(99)</b>		
§ 5-1	前言.....	(99)
§ 5-2	B淋巴细胞前体的频度测定.....	(102)
§ 5-3	反应性B细胞前体细胞克隆的平均规模.....	(103)
§ 5-4	辅助T细胞的频度.....	(103)
§ 5-5	溶细胞T细胞前体细胞的频度.....	(104)
<b>第六章 细胞增生反应.....许以盛、徐芸(109)</b>		
§ 6-1	前言.....	(109)
§ 6-2	有丝分裂因子诱导的反应.....	(110)

§ 6—3	混合淋巴细胞反应.....	(115)
§ 6—4	抗原诱导性T细胞增生反应.....	(116)
§ 6—5	脾细胞培养物的放射自显影术.....	(118)

## 第二篇 细胞分离法

第七章	粘着法.....	陈宜峰(126)
§ 7—1	前言.....	(126)
§ 7—2	葡聚糖G—10 (Sephadex G—10) .....	(126)
§ 7—3	羰基铁粉.....	(129)
§ 7—4	尼龙纤维.....	(130)
第八章	大小和密度.....	陈宜峰(134)
§ 8—1	前言.....	(134)
§ 8—2	牛血清蛋白 (BSA) 线性密度梯度.....	(135)
§ 8—3	牛血清蛋白 (BSA) 非连续密度梯度.....	(138)
§ 8—4	胶体二氧化硅密度梯度法.....	(141)
§ 8—5	1 × g 的速度沉降法.....	(143)
§ 8—6	低速离心速度沉降法.....	(144)
§ 8—7	形成玫瑰花结细胞的一步密度梯度分离法.....	(147)
第九章	细胞表面标记.....	陈宜峰(149)
§ 9—1	前言.....	(149)
§ 9—2	利用特异性抗血清和补体的方法.....	(150)
§ 9—3	半抗原—夹心片玫瑰花结法.....	(151)
§ 9—4	用凝集法除去玫瑰花结的方法.....	(154)
§ 9—5	Fc和补体受体.....	(155)
§ 9—6	花生凝集素和大豆凝集素.....	(160)
§ 9—7	用抗Ig抗体覆盖的塑料表面, 分离T细胞和B细胞的方法 (“淘洗”法) .....	(162)
第十章	灭活增生性细胞进行功能分离.....	陈宜峰(167)
§ 10—1	放射性胸苷脉冲标记法.....	(167)
§ 10—2	5—溴—2—脱氧尿苷 (BUdR) 脉冲标记法.....	(169)
§ 10—3	丝裂霉素C法.....	(170)
§ 10—4	放射线照射法.....	(171)

### 第三篇 细胞学研究的免疫球蛋白的制备

#### 第十一章 抗血清的制备和检测.....石连发(175)

- § 11—1 异种抗小鼠脑血清.....(175)
- § 11—2 小鼠抗淋巴细胞抗原同种异体血清.....(182)
- § 11—3 抗半抗原血清.....(184)
- § 11—4 用于间接溶血空斑试验的免抗小鼠免疫球蛋白血清.....(185)
- § 11—5 用于研究半抗原玫瑰花结形成、荧光标记及放射免疫沉淀的特异性免抗小鼠Ig血清.....(187)
- § 11—6 放射免疫沉淀及荧光标记法检测抗鼠Ig血清的特异性试验.....(190)
- § 11—7 微量细胞毒性试验.....(193)
- § 11—8 半微量沉淀反应.....(194)
- § 11—9 抗血清的贮存.....(195)

#### 第十二章 Ig及其片段的纯化.....石连发(196)

- § 12—1 前言.....(196)
- § 12—2 用硫酸铵沉淀Ig.....(196)
- § 12—3 DEAE柱层析.....(197)
- § 12—4 亲和层析法提纯抗半抗原抗体.....(198)
- § 12—5 活性抗体片段的制备.....(200)

#### 第十三章 抗体的标记和使用.....石连发(203)

- § 13—1 前言.....(203)
- § 13—2 半抗原夹心法.....(203)
- § 13—3 荧光抗体.....(206)
- § 13—4 荧光染色及观察.....(210)
- § 13—5 抗体结合于其他大分子.....(214)

### 第四篇 单克隆抗体及其他方法

#### 第十四章 双抗体放射免疫测定用于定量细胞蛋白质.....石连发(217)

- § 14—1 前言.....(217)
- § 14—2  $^{125}\text{I}$ 的安全防护.....(217)
- § 14—3  $^{125}\text{I}$ 标记蛋白质.....(218)
- § 14—4 检测方法.....(224)

#### 第十五章 免疫学外科手术.....张和君(229)

- § 15—1 前言.....(229)

§ 15—2	胸腺摘除术	(229)
§ 15—3	皮肤移植	(235)
§ 15—4	脾脏摘除	(237)
§ 15—5	阉割	(238)
§ 15—6	动物去嗅觉术 Induction of Anosmia	(240)
<b>第十六章 半抗原修饰蛋白质抗原的制备</b> .....张和君 (242)		
§ 16—1	前言	(242)
§ 16—2	氮酚类半抗原修饰钥孔贼血蓝蛋白	(242)
§ 16—3	三硝基苯半抗原修饰钥孔贼血蓝蛋白	(243)
§ 16—4	用二硝基苯半抗原修饰牛丙种球蛋白	(245)
<b>第十七章 杂交瘤细胞株及培育技术</b>		
<b>一、产生免疫球蛋白的杂交瘤细胞株</b> .....张和君 (248)		
§ 17—1	前言	(248)
§ 17—2	细胞融合的准备	(250)
§ 17—3	NS—1 细胞与免疫脾细胞的融合	(252)
§ 17—4	杂交瘤细胞株的选择培养 (HAT 选择作用)	(254)
§ 17—5	杂交细胞初筛确定是否产生特异性抗体	(257)
§ 17—6	转种于 1 毫升培养孔 (转种板) 和杂交细胞的冰冻保存	(257)
§ 17—7	有限稀释法进行克隆	(259)
§ 17—8	抗体生产	(260)
§ 17—9	抗体的纯化	(261)
§ 17—10	抗体的检定	(263)
§ 17—11	细胞分发中心	(263)
<b>二、杂交细胞瘤培育技术</b> .....张和君 (264)		
§ 17—12	前言	(264)
§ 17—13	细胞融合前的准备工作	(265)
	A. 实验室基本装备	(265)
	B. 动物的选择	(265)
	C. 免疫	(266)
	D. 骨髓瘤细胞株的选择	(266)
§ 17—14	培养液的成分 培养液和细胞悬液的制备	(267)
	A. 100× 的次黄嘌呤、氨基嘌呤和胸腺嘧啶贮存液 (100×HAT) 的配制	(267)
	B. 营养液的配制	(267)
	C. 聚乙二醇 (PEG) 的配制	(267)

	D. 细胞悬液的配制	(267)
§ 17—15	PEG作细胞融合剂	(268)
§ 17—16	融合细胞的产物	(269)
	A. 特异性抗体的检测	(269)
	B. 抗体的贮存	(271)
	C. 抗体的纯化	(271)
	D. 琼脂双向扩散法(Ouchterlony Test), 测定免疫球蛋白的类和亚类	(273)
§ 17—17	杂交瘤细胞株的冷冻保存和复苏	(273)
	A. 细胞冷冻	(273)
	B. 细胞复苏	(273)
	参考文献	(273)

### 三、生产单克隆抗体的战略与战术问题·····张和君、郭仁(274)

§ 17—18	前言	(275)
§ 17—19	材料与方法	(275)
	a. 盐溶液	(275)
	b. 骨髓瘤细胞株	(275)
	c. 小鼠免疫	(276)
	d. 腹腔内巨噬细胞的采取	(276)
	e. 大孔培养	(276)
	f. 微量培养法	(276)
	g. 放射标记法	(276)
	h. 电泳	(276)
§ 17—20	结果	(277)
	a. 实验结果不一致的原因和防止方法	(277)
	b. 巨噬细胞在培养杂交瘤细胞株的作用	(278)
	c. 不同源的巨噬细胞	(279)
	d. 细胞加入的量	(280)
	e. 骨髓瘤细胞株的比较	(280)
	f. 融合剂的比较	(282)
	g. 最好的细胞融合温度	(283)
	h. 营养液的比较	(283)
	i. 细胞换液的方案	(284)
	j. 微量培养	(285)
	k. 无血清培养液	(286)
§ 17—21	结论	(286)

## 参 考 文 献

- 四、人单克隆抗体的研究.....张和君、傅家忠(288)
- § 17-22 前言.....(288)
- § 17-23 建立人~人杂交瘤技术.....(289)
- § 17-24 EB病毒转化与克隆筛选建立人单克隆抗体生产细胞系.....(291)
- § 17-25 人单克隆抗体研究中的有关技术.....(292)
- 第十八章 固相放射免疫测定.....石连发...(297)
- § 18-1 前言.....(297)
- § 18-2 同位素标记物的制备.....(299)
- § 18-3 固相RIA一步法： $^{125}\text{I}$ 标记抗同种异型抗体的特异性试验.....(301)
- § 18-4 固相RIA两步法：抗体反应中的同型抗体及同种异型抗体的检测  
——对载体蛋白上二硝基苯(DNP)半抗原的反应.....(302)
- § 18-5 放射免疫阻断法——Ig的定量测定.....(306)
- § 18-6 细胞结合测定法——淋巴细胞的细胞表面抗原.....(308)
- 第十九章 用单相或双相聚丙烯酰胺凝胶电泳分析放射性标记的淋巴细胞蛋白质  
.....石连发(311)
- § 19-1 前言.....(311)
- § 19-2 细胞蛋白质的标记和提取.....(312)
- § 19-3 细胞蛋白质的免疫沉淀法.....(317)
- § 19-4 样品的制备.....(319)
- § 19-5 双相聚丙烯酰胺凝胶电泳(2-D PAGE).....(323)
- § 19-6 单相SDS板型凝胶电泳.....(337)
- § 19-7 放射自显影.....(338)
- 附 录.....许以盛 徐 芸(341)
- 附录A 试剂的制备及测试法.....(341)
- A-1 胎牛血清(FCS).....(341)
- A-2 补体：豚鼠和家兔血清.....(342)
- A-3 平衡盐溶液(BSS).....(343)
- A-4 HEPES缓冲的平衡盐溶液.....(345)
- A-5 营养合剂.....(346)
- A-6 2-巯基乙醇(2-ME).....(346)
- A-7 非缓冲平衡盐溶液.....(347)
- A-8 磷酸缓冲盐水(PBS), pH7.2-7.4  $10\times$ 贮存液.....(347)



A-9	硼酸缓冲盐水 (BBS) 0.17M 硼酸盐, 0.12M NaCl, pH8.0	(348)
A-10	1.0M 磷酸缓冲液, pH7.6	(348)
A-11	葡萄糖磷酸缓冲盐水 (G-PBS) pH7.6	(348)
A-12	0.15M 磷酸缓冲液 pH7.2-7.4	(348)
A-13	0.28M 二甲磷酸缓冲液 pH6.9	(348)
A-14	Alsever 氏溶液	(348)
A-15	Click 氏改良培养剂	(349)
A-16	火棉胶-龙胆紫溶液	(350)
A-17	酸化水	(350)
<b>附录B</b>	<b>实验室玻璃器皿的清洗和消毒</b>	(350)
B-1	用于组织培养工作的玻璃器皿的清洗	(351)
B-2	实验室玻璃器皿的消毒	(351)
<b>附录C</b>	<b>液体试剂的消毒</b>	(352)
C-1	高压消毒法消毒	(352)
C-2	用膜过滤法除菌	(352)
<b>附录D</b>	<b>透析袋的制备</b>	(353)
<b>附录E</b>	<b>同种异体条件培养液的制备</b>	(354)
<b>附录F</b>	<b>福氏佐剂</b>	(355)
<b>附录G</b>	<b>制造和批发厂商</b>	(356)