

免疫学常用实验方法

MIANYIXUE CHANGYONG SHIYANFANGFA

朱立平 陈学清 主编

人民军医出版社
北 京

(京)新登字 128 号

图书在版编目(CIP)数据

免疫学常用实验方法/朱立平,陈学清主编. —北京:人民军医出版社,2000.3
ISBN 7-80157-002-2

I. 免… II. ①朱… ②陈… III. 免疫学-实验-方法 IV. R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 46138 号

人民军医出版社出版

(北京市复兴路 22 号甲 3 号)

(邮政编码:100842 电话:68222916)

人民军医出版社激光照排中心排版

空军指挥学院印刷厂印刷

桃园装订厂装订

新华书店总店北京发行所发行

*

开本:787×1092mm 1/16 • 印张:30.5 • 彩页:1 • 字数:730 千字

2000 年 3 月第 1 版 2000 年 3 月(北京)第 1 次印刷

印数:0001~5000 定价:53.00 元

ISBN 7-80157-002-2/R • 002

〔科技新书目:510—144⑤〕

(购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换)

编写人员名单

主 编 朱立平 陈学清
副主编 张建中
编写者 (以姓氏笔划为序)

王 瑾	医学博士, 讲师	湖北医科大学免疫学教研室
王伟岸	医学博士	中国医学科学院北京协和医院
毛 华	医学博士, 讲师	第一军医大学珠江医院
邓子牛	医学硕士, 讲师	湖北医科大学附属第二医院
本立泓	医学硕士	第一军医大学基础部
朱立平	教授, 研究员	中国医学科学院基础医学研究所
孙东旭	医学博士	中国医学科学院北京协和医院 ICU
孙正基	医学博士, 讲师	第一军医大学南方医院
李秀玲	医学硕士, 助理研究员	卫生部北京生物制品研究所
李昌平	医学硕士, 副教授	泸州医学院附院
杨晓鸥	技师	中国医学科学院北京协和医院
杨翠兰	医学博士, 讲师	第一军医大学基础部
苏汉文	医学硕士	湖北医科大学第一附属医院
余保平	医学博士, 教授	湖北医科大学附属第一医院
陆国钧	副研究员	中国协和医科大学北京协和医院
陈学清	医学博士, 讲师	第一军医大学南方医院
张 莉	医学博士, 讲师	北京中医药大学中西医结合研究所免疫研究室
张亚历	医学博士, 教授	第一军医大学南方医院
张国华	医学博士, 讲师	第一军医大学南方医院
张建中	医学博士, 研究员	中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所
张锦宏	医学博士, 讲师	第一军医大学基础部
林 刚	医学硕士, 助理研究员	卫生部武汉生物制品研究所
罗深秋	医学博士, 教授	第一军医大学基础部
李代金	医学硕士, 主治医师	中国人民解放军成都空军医院
封江南	医学博士, 研究员	卫生部武汉生物制品研究所
姜 泊	医学博士, 副教授	第一军医大学南方医院
徐世平	医学硕士, 主治医师	中国人民解放军总医院

浦江	医学硕士,主治医师	中国人民解放军海军总医院
顾东旭	理学博士,副教授	兰州军区兰州总医院
詹玲屏	医学博士,讲师	湖北医科大学附属第一医院
鄢盛恺	医学硕士,助理研究员	中国医学科学院北京协和医院
谭晓华	医学博士,主治医师	北京军区总医院消化科
颜进	医学硕士,讲师	同济医科大学微生物教研室

内 容 提 要

本书主要介绍免疫学的常用实验操作技术,如实验原理、试剂配制及注意事项等。全书共分为 24 章,包括抗体的制备、纯化和鉴定,免疫扩散和免疫电泳技术,免疫比浊法,免疫凝集试验方法,与补体相关的实验方法,免疫细胞的分离、纯化和鉴定,免疫细胞功能检测,常见的细胞因子检测技术,放射免疫检测,酶免疫检测方法,荧光和化学发光免疫技术,免疫组织化学实验方法,原位杂交免疫组织化学和免疫 PCR 技术,免疫微球的应用,免疫电子显微镜实验方法,以及人白细胞抗原(HLA)的分型,细胞凋亡的检测方法,细胞膜受体分析,细胞内 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度的测定和细胞间通讯,流式细胞仪的原理与应用等。内容丰富实用,注重理论和技术密切结合,叙述层次分明,易读易懂。

本书不仅适用于从事生物医学研究的广大青年工作者、研究生、临床医生,对高年科学研究工作者同样也有很大的参考价值。

责任编辑 冯江东 李恩江

前 言

从十九世纪建立了经典免疫学后,随着现代生物学的不断发展,免疫学的研究已进入了一个崭新的时代。现代免疫学的研究和应用涉及到生物医学各个领域。它与分子生物学一样,是生物医学基础研究和临床工作不可或缺的工具。较为系统地介绍免疫学相关技术,特别是常用技术,是十分必要的。

本书共分为 24 章,内容包括抗体的制备、纯化和鉴定,免疫扩散和免疫电泳技术,免疫比浊法,免疫凝集试验方法,与补体相关的实验方法,免疫细胞的分离、纯化和鉴定,免疫细胞功能检测,常见的细胞因子检测技术,放射免疫检测,酶免疫检测方法,荧光和化学发光免疫技术,免疫组织化学实验方法,原位杂交免疫组织化学和免疫 PCR 技术,免疫微球的应用,免疫电子显微镜实验方法,以及人白细胞抗原(HLA)的分型,细胞凋亡的检测方法,细胞膜受体分析,细胞内 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度的测定和细胞间通讯,流式细胞仪的原理及应用等。在编写过程中,强调其实用性和可行性,力求介绍应用价值较大的技术;在文字上力求简明扼要,重点突出,通俗易懂。由于本书为技术性参考书,非学术论文或综述,在引用文献上恕未一一注解出处。

正因为是技术性参考书,在本书的编写过程中要求对实验原理、方法步骤及数字资料等准确无误。但由于技术发展的日新月异,加之个人视野的限制,难免在理论和技术上存在纰漏和不足;在编辑录入等文字处理过程中,也会存在疏漏错误之处。希望广大读者不吝斧正,不足之处将在再版时予以修正和补充。

编 者

1999 年 5 月

目 录

第一章 抗血清的制备	(1)
第一节 抗原的制备	(1)
一、概述	(1)
二、免疫原的制备	(1)
第二节 佐剂	(15)
一、佐剂的概念和作用	(15)
二、常用佐剂的化学组成和制备方法	(17)
第三节 免疫血清制备	(18)
一、概述	(18)
二、免疫血清制备	(19)
第二章 单克隆抗体的制备	(23)
第一节 鼠源性单克隆抗体的制备	(23)
一、基本原理	(23)
二、单克隆抗体杂交瘤的制备	(24)
三、大鼠源性单克隆抗体的制备	(31)
四、主要器材及试剂配制	(31)
第二节 单克隆抗体的大量制备	(33)
一、动物体内诱生单克隆抗体的方法	(33)
二、体外培养生产单克隆抗体的方法	(34)
第三节 人单克隆抗体制备	(34)
一、杂交瘤技术制备人单克隆抗体	(35)
二、转化 B 淋巴细胞制备人单克隆抗体	(35)
三、人单克隆抗体的生产	(36)
四、鼠-人嵌合抗体	(36)
第四节 双特异性抗体的制备	(36)
一、基本原理	(36)
二、双特异性抗体制备	(37)
三、双特异性抗体的大量制备与纯化	(40)
第五节 噬菌体抗体库技术	(41)
一、基本原理	(41)
二、噬菌体抗体库实验方法	(42)
第三章 抗体的纯化及检定	(51)
第一节 单克隆抗体的纯化与鉴定	(51)
一、腹水的预处理	(52)

二、盐析法	(52)
三、硫酸铵盐析法纯化单克隆抗体	(55)
四、低温无水乙醇沉淀法	(55)
五、辛酸提取法	(56)
六、辛酸-硫酸铵盐析法纯化单克隆抗体	(56)
七、缓冲液转换	(56)
八、亲和层析法	(57)
九、免疫球蛋白亚类的分离	(61)
十、离子交换层析	(62)
十一、离子交换层析纯化单克隆抗体	(64)
十二、凝胶过滤	(66)
十三、疏水层析	(68)
十四、其它方法	(69)
第二节 纯化产物纯度的检定及保存	(70)
一、计算蛋白含量	(70)
二、单双体含量检定	(71)
✓ 三、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)检测单克隆抗体纯度	(71)
四、聚丙烯酰胺电聚焦(IEF-PAGE)	(73)
五、单克隆抗体的保存	(74)
第三节 抗血清的吸收纯化与鉴定	(74)
第四章 免疫扩散和免疫电泳技术	(76)
第一节 概述	(76)
第二节 免疫扩散	(77)
一、单向免疫扩散	(77)
✓ 二、双向免疫扩散	(78)
三、逆向免疫扩散	(79)
第三节 免疫电泳	(80)
一、微量免疫电泳	(80)
二、对流免疫电泳	(81)
三、火箭免疫电泳	(82)
四、交叉免疫电泳	(82)
五、亲和免疫电泳	(83)
✓ 第四节 Western 印迹法	(84)
第五章 免疫浊度法	(88)
第一节 免疫浊度法的基本原理	(88)
一、浊度分析的基本理论	(88)
二、免疫浊度法	(89)
第二节 免疫浊度法的主要类型	(90)
第三节 分析仪器与试剂	(91)

一、分析仪器	(91)
二、免疫比浊试剂	(92)
第四节 免疫浊度法的应用	(94)
一、透射比浊法测定	(95)
二、散射比浊法测定	(97)
第六章 免疫凝集试验方法	(99)
第一节 直接凝集反应	(99)
一、玻片凝集反应	(100)
二、试管凝集反应	(100)
第二节 间接凝集反应	(102)
一、间接血凝反应	(102)
二、胶乳凝集试验	(108)
三、明胶凝集试验	(109)
第三节 协同凝集反应	(110)
第四节 抗球蛋白试验	(111)
一、抗人球蛋白试验	(111)
二、抗人球蛋白消耗试验	(113)
第七章 与补体相关的实验方法	(119)
第一节 概述	(119)
第二节 补体活性的测定	(120)
一、血清总补体溶血活性(CH_{50})测定	(120)
二、旁路途径溶血活性(APH_{50})测定	(122)
第三节 补体组分测定	(123)
一、单向免疫扩散法测 C_3 含量	(123)
二、免疫溶血法测 C_4 活性	(124)
三、B 因子测定	(125)
第四节 补体结合试验	(127)
第五节 免疫粘附血凝试验	(131)
第六节 被动免疫溶血试验	(134)
一、PIHT 检测大肠杆菌不耐热肠毒素(LT)	(134)
二、PIHT 检测病毒、细菌及其他微生物抗体	(135)
第七节 单向辐射红细胞溶解试验	(135)
第八节 补体介导的细胞毒试验	(136)
一、形态学方法	(136)
二、MTT 比色法	(137)
三、靶细胞释放同位素法	(137)
第九节 溶血空斑试验	(137)
第八章 免疫复合物的检测方法	(140)
第一节 概述	(140)

一、免疫复合物的形成	(140)
二、免疫复合物的生物学功能	(140)
三、免疫复合物的抗原成分	(141)
第二节 循环免疫复合物的检测	(141)
一、抗原非特异性检测法	(141)
二、抗原特异性检测法	(148)
第三节 组织免疫复合物的检测	(149)
一、免疫荧光法	(149)
二、免疫酶染色法	(150)
第九章 免疫细胞的分离、纯化和鉴定	(151)
第一节 免疫细胞	(151)
一、淋巴细胞	(151)
二、辅佐细胞	(151)
三、其它免疫细胞	(151)
第二节 外周血免疫细胞的分离纯化和鉴定	(151)
一、外周血白细胞的分离和纯化	(152)
二、外周血单个核细胞的分离	(153)
三、淋巴细胞的分离	(155)
四、T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的分离	(156)
五、T 细胞亚群的分离	(159)
六、NK 细胞分离	(162)
七、单核细胞分离	(164)
八、人外周血中性粒细胞制备	(165)
九、树突状细胞(DC)	(166)
十、红细胞的分离	(167)
第三节 分离细胞的保存	(168)
一、概述	(168)
二、红细胞的保存	(168)
三、淋巴细胞的保存	(169)
第四节 组织免疫细胞的分离纯化和鉴定	(170)
一、人体巨噬细胞的分离	(170)
二、豚鼠腹腔巨噬细胞的分离	(170)
三、组织单细胞悬液的制备	(171)
四、骨髓抽吸物中单个核细胞的分离	(172)
五、脾、淋巴结或扁桃体中单个核细胞的分离	(172)
六、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的分离	(173)
第十章 免疫细胞功能测定	(175)
第一节 淋巴细胞功能测定	(175)
一、淋巴细胞计数及其亚群检测	(175)

二、T 淋巴细胞功能的体内试验法	(178)
三、淋巴细胞功能实验室检测法	(179)
第二节 吞噬细胞功能测定	(185)
一、白细胞功能测定	(185)
二、巨噬细胞功能测定	(186)
第三节 红细胞免疫功能检测	(187)
第四节 有关移植免疫的细胞免疫功能测定	(188)
第十一章 体外细胞增殖和细胞毒试验	(191)
第一节 概述	(191)
第二节 细胞增殖的检验方法	(192)
一、 ^3H -TdR 掺入法	(192)
二、MTT 法	(193)
三、XTT 比色法	(194)
四、酸性磷酸酶法	(195)
五、结晶紫法	(196)
六、BrdU 标记法	(196)
七、MTS/PMS 比色法	(197)
第三节 细胞毒试验方法	(198)
一、常用的检测方法	(198)
二、常见的细胞毒试验类型及方法	(200)
三、其它	(205)
第四节 单细胞 DNA 损伤的微凝胶彗星电泳检测法	(206)
第十二章 常见细胞因子检测技术	(209)
第一节 基本原理和方法	(209)
一、生物学方法	(209)
二、免疫学测定法	(212)
三、分子生物学测定法	(214)
第二节 各种细胞因子的生物学检测	(215)
一、IFN- α 微量板染色测定	(215)
二、IFN- γ 生物活性测定	(215)
三、TGF- α 的生物活性测定(琼脂平板法)	(216)
四、TGF- β 生物活性测定	(216)
五、GM-CSF 生物活性测定	(218)
六、IL-1 活性测定	(219)
七、IL-2 活性测定(MTT 法)	(220)
八、IL-3 的生物活性测定	(222)
九、IL-4 的生物活性测定	(223)
十、IL-5 的生物学活性测定	(224)
十一、IL-6 生物活性测定	(224)

十二、IL-7 生物活性测定	(225)
十三、IL-8 生物活性测定	(225)
十四、IL-10 生物活性测定(D36 肥大细胞增殖法)	(227)
十五、IL-11 的生物活性测定	(227)
十六、IL-12 的 CT4S 细胞增殖检测	(228)
十七、IL-13 生物活性测定	(229)
十八、TNF- α 活性测定(结晶紫掺入法)	(229)
第三节 细胞因子受体检测	(230)
第十三章 人白细胞抗原(HLA)的分型	(232)
第一节 血清学分型方法	(232)
一、HLA-ABC 抗原的检测	(232)
二、HLA-DP、DQ 抗原的检测	(233)
第二节 细胞学分型方法	(233)
第三节 基因分型方法	(235)
一、RFLP 法	(235)
二、PCR-RFLP 法	(238)
三、PCR-SSO(ASO)探针法	(241)
四、PCR-SSP 法	(242)
五、PCR-指纹图法	(243)
六、PCR-SSCP 法	(243)
第十四章 细胞凋亡的检测方法	(246)
第一节 根据凋亡形态学特征的检测方法	(246)
一、普通光学显微镜观察方法	(246)
二、透射电子显微镜观察方法	(249)
三、荧光显微镜观察方法	(251)
第二节 根据凋亡的生化特征的检测方法	(252)
一、琼脂糖凝胶电泳	(252)
二、原位末端标记技术	(256)
第三节 细胞凋亡的流式细胞仪检测技术	(259)
一、固定细胞的染色方法	(259)
二、非固定细胞的染色方法	(262)
第四节 细胞凋亡模型的制备	(264)
一、在体细胞凋亡模型的制备	(264)
二、体外细胞凋亡模型的制备	(265)
第十五章 细胞膜受体分析	(268)
第一节 放射受体分析的原理及配体的标记	(268)
第二节 受体的制备	(271)
第三节 受体结合实验	(272)
第四节 结果的计算	(275)

第十六章 细胞内 Ca^{2+}、cAMP 浓度的测定和细胞间通讯	(278)
第一节 细胞内游离钙浓度的测定	(278)
一、荧光分光光度计测定方法	(278)
二、共聚焦激光显微系统检测细胞内游离钙	(280)
第二节 组织和细胞 cAMP 的测定	(281)
一、蛋白结合法	(281)
二、放射免疫分析法	(283)
三、样品中 cAMP 的提取	(283)
第三节 细胞间通讯	(284)
一、细胞通讯的基本概念和分类	(284)
二、直接通讯的机制和检测	(285)
第十七章 免疫微球的应用	(289)
第一节 微球的分类	(289)
一、磁性微球(又称磁珠)	(289)
二、惰性微球	(289)
三、活性微球	(290)
四、乳化微球	(290)
五、标记微球	(290)
六、彩色微球	(290)
七、其它	(290)
第二节 微球的致敏方式	(290)
一、物理吸附法	(291)
二、化学交联法	(291)
三、生物素-亲和素桥联接法	(291)
四、多肽桥联接法	(292)
五、直接组合法	(292)
六、强迫吸附法	(292)
第三节 免疫微球技术的应用	(292)
一、凝集试验	(292)
二、细胞分离和纯化	(293)
三、生物大分子的纯化	(294)
四、微生物的分离	(294)
五、分子生物学领域的应用	(294)
第四节 几种免疫微球应用实例	(294)
一、乳胶微粒物理吸附抗原的免疫凝集反应	(294)
二、免疫磁珠纯化人 B 淋巴细胞	(295)
三、免疫磁珠分离 NK 和 LAK 细胞	(295)
四、免疫磁珠检测 HBsAg	(296)
五、免疫磁珠检测能诱导 T 细胞功能性极化的 CD_3 表面分子	(297)

第十八章 流式细胞仪的原理及应用	(299)
第一节 流式细胞仪原理.....	(299)
一、概述	(299)
二、流式细胞仪的基本工作原理	(299)
第二节 样品的制备.....	(301)
一、培养细胞的样品制备	(301)
二、血液单细胞样品的制备	(301)
三、新鲜实体组织单细胞悬液的制备	(303)
四、石蜡包埋组织单细胞悬液的制备	(305)
五、脱落细胞样品单细胞悬液的制备	(306)
六、单细胞悬液的保存	(307)
第三节 荧光探针及染色.....	(308)
一、DNA、RNA 探针	(308)
二、检测细胞内钙浓度的荧光探针	(311)
三、检测细胞膜电位探针	(312)
四、测试细胞内 pH 值的荧光探针	(313)
五、测量总蛋白含量的探针	(314)
六、免疫荧光探针	(314)
第四节 流式细胞仪资料显示基本形式.....	(317)
一、单参数直方图	(317)
二、双参数直方图	(317)
第五节 流式细胞术的应用.....	(318)
一、流式细胞术在免疫学中的应用	(318)
二、流式细胞术在细胞生物学中的应用	(319)
三、流式细胞术在肿瘤学中的应用	(320)
四、流式细胞术在血液学中的应用	(321)
第十九章 放射免疫分析技术	(322)
第一节 放射免疫分析的基本原理.....	(322)
第二节 放射免疫分析的建立及相关技术.....	(323)
一、抗血清的制备	(323)
二、放射性碘标记	(326)
三、B 和 F 的分离	(329)
四、样品的制备	(331)
五、标准曲线	(331)
第三节 放射免疫分析的质量控制和方法学评价.....	(332)
一、RIA 质量评价的常用指标	(332)
二、影响 RIA 质量的因素	(332)
三、提高 RIA 结果准确度的方法	(333)
四、RIA 的质量控制	(334)

第四节 试管固相放射免疫分析技术	(337)
一、固相载体的选择及预处理	(337)
二、塑料试管活化方法	(337)
三、固相抗体的制备	(338)
四、免疫分析方法的选择	(338)
第五节 放射免疫分析的应用	(339)
第二十章 酶联免疫检测方法	(342)
第一节 基本原理	(342)
一、固相酶免疫测定法的基本原理	(342)
二、均相酶免疫测定法的基本原理	(348)
三、双抗体酶免疫测定法的基本原理	(349)
四、常用酶类及其底物	(349)
五、葡萄球菌 A 蛋白	(350)
六、酶标记物的制备	(351)
第二节 酶联免疫吸附实验(间接法)	(352)
第三节 竞争法	(356)
第四节 双夹心法	(357)
第五节 桥联法	(358)
第六节 均相酶免疫测定	(359)
第七节 其它类型和方法	(360)
一、免疫酶斑点技术(dot-ELISA)	(360)
二、PCR-ELISA	(361)
三、ABC-ELISA	(363)
第二十一章 荧光和化学发光免疫技术	(365)
第一节 荧光免疫技术	(365)
一、原理	(365)
二、荧光抗体的制备	(365)
三、荧光抗体染色方法	(368)
四、荧光抗体技术的应用	(370)
五、荧光偏振免疫分析	(370)
六、时间分辨荧光免疫分析	(372)
第二节 发光免疫分析	(374)
一、发光免疫分析的原理及种类	(374)
二、化学发光免疫分析	(374)
三、电化学发光免疫分析	(378)
四、微粒子化学发光	(379)
五、生物发光免疫分析	(379)
第二十二章 免疫组织化学实验方法	(382)
第一节 免疫组织化学实验方法概况	(382)

一、抗体的制备和配制	(382)
二、组织材料的处理	(383)
三、免疫染色	(388)
四、对照	(389)
五、免疫细胞化学的结果判断	(390)
六、微波与免疫组织化学抗原修复	(390)
七、压力与免疫组化抗原修复	(391)
第二节 免疫荧光细胞组织化学技术	(392)
一、直接法	(392)
二、间接法	(392)
三、补体法	(393)
四、双重免疫荧光标记法	(393)
五、荧光染色注意事项	(393)
六、荧光显微镜标本制作要求	(394)
七、使用荧光显微镜注意事项	(394)
八、荧光图象的记录方法	(394)
第三节 免疫酶细胞组织化学技术	(394)
一、酶标抗体法	(394)
二、非标记抗体酶法	(395)
第四节 亲合组织化学技术	(398)
一、生物素-抗生物素免疫细胞组织化学染色技术	(398)
二、葡萄球菌蛋白 A (SPA)	(401)
三、凝集素	(402)
第五节 光镜免疫金银细胞组织化学技术	(404)
一、光镜免疫金技术	(404)
二、免疫金银法	(405)
三、彩色免疫金银法 (CIGSS)	(407)
第六节 免疫胶体铁细胞组织化学技术	(407)
一、胶体铁的制备方法	(407)
二、抗体的标记和纯化	(408)
三、胶体铁标记抗体的鉴定	(408)
四、免疫胶体铁细胞组织化学染色步骤	(408)
第七节 Envision 免疫组织化学技术与微波 Envision 免疫组织化学技术	(408)
第八节 非特异性染色的处理和染色结果评价	(409)
一、非特异性染色的处理	(409)
二、染色结果的评价	(410)
第九节 抗体的管理和制成标本的摄影技巧	(411)
一、抗体的管理	(411)
二、制成标本的摄影技巧	(411)

第二十三章 电子显微镜免疫细胞化学技术	(413)
第一节 概述.....	(413)
第二节 包埋前免疫电镜技术.....	(415)
一、组织的固定	(415)
二、免疫试剂在组织中的穿透	(417)
三、非特异染色的形成及处理	(417)
四、过氧化物酶的显色	(417)
第三节 包埋后免疫电镜技术.....	(418)
一、组织的固定	(418)
二、组织的脱水、包埋.....	(418)
三、超薄切片	(418)
四、免疫染色	(419)
第四节 免疫铁蛋白技术.....	(419)
一、直接法	(420)
二、间接法	(420)
第五节 免疫酶细胞化学技术.....	(420)
一、PAP 包埋前染色法(实验动物大鼠)	(420)
二、PAP 包埋后染色	(422)
第六节 免疫电镜胶体金技术.....	(422)
一、包埋后染色	(423)
二、电镜免疫金包埋前染色	(424)
三、蛋白 A-金免疫染色方法	(424)
四、免疫金标记定量研究	(424)
五、免疫胶体金标记冷冻劈裂技术	(425)
第七节 胶体金和铁蛋白的标记.....	(425)
一、铁蛋白标记抗体技术	(425)
二、胶体金标记抗体技术	(426)
第二十四章 原位杂交免疫细胞组织化学和免疫 PCR 技术	(431)
第一节 原位杂交组织化学技术的基本方法.....	(431)
一、玻片的预处理	(431)
二、组织取材与固定剂的选择	(432)
三、组织切片的处理	(433)
四、杂交反应	(434)
五、杂交后处理	(435)
六、杂交体的检测	(435)
七、对照实验和 ISH 结果判断	(435)
第二节 组织细胞原位杂交程序.....	(438)
一、细胞和组织片制作	(438)
二、预杂交和杂交	(439)