



“十二五”江苏省高等学校重点教材



医学检验技术实验系列教程

丛书主编 邵启祥 许文荣

丛书主审 郑铁生 柴顺根 周天戟

Medical Laboratory Experiments Series of Tutorials

# 临床免疫学检验技术 实验指导

主 编 夏 圣 杨曙梅

副主编 何春燕 朱晓霞



江苏大学出版社  
JIANGSU UNIVERSITY PRESS



“十二五”江苏省高等学校重点教材（编号：2013-2-053）

医学检验技术实验系列教程

# 临床免疫学检验技术 实验指导

丛书主编 邵启祥 许文荣

丛书主审 郑铁生 柴顺根 周天戟

本书编委会

主 编 夏 圣 杨曙梅

副主编 何春燕 朱晓霞

编 者 （按姓氏笔画排序）

丁建霞（江苏大学医学院）

朱晓霞（南通大学公共卫生学院）

刘 霞（江苏大学医学院）

杨曙梅（南通大学附属医院）

何春燕（苏州大学第二附属医院）

张苗苗（江苏大学医学院）

陈建平（南通大学附属医院）

祝文彩（南通大学附属医院）

夏 圣（江苏大学医学院）

 江苏大学出版社  
JIANGSU UNIVERSITY PRESS

镇 江

## 图书在版编目(CIP)数据

临床免疫学检验技术实验指导 / 夏圣, 杨曙梅主编  
—镇江: 江苏大学出版社, 2014. 8  
ISBN 978-7-81130-802-0

I. ①临… II. ①夏… ②杨… III. ①免疫学—医学  
检验—高等学校—教学参考资料 IV. ①R446.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 183546 号

### 临床免疫学检验技术实验指导

LINCHUANG MIANYIXUE JIANYAN JISHU SHIYAN ZHIDAO

丛书主编/邵启祥 许文荣

本书主编/夏 圣 杨曙梅

责任编辑/常 钰

出版发行/江苏大学出版社

地 址/江苏省镇江市梦溪园巷 30 号(邮编: 212003)

电 话/0511-84446464(传真)

网 址/http://press. ujs. edu. cn

排 版/镇江文苑制版印刷有限责任公司

印 刷/句容市排印厂

经 销/江苏省新华书店

开 本/787 mm×1 092 mm 1/16

印 张/5.75

字 数/140 千字

版 次/2014 年 8 月第 1 版 2014 年 8 月第 1 次印刷

书 号/ISBN 978-7-81130-802-0

定 价/16.00 元

如有印装质量问题请与本社营销部联系(电话:0511-84440882)

# 序 言

医学检验技术专业的培养目标是培养牢固掌握基础医学和医学检验基本理论知识、基本技能和技能,熟悉临床医学知识,适应社会主义市场经济和社会发展要求的,具有一定创业意识和创新能力的医学检验及医学研究的复合人才。2012年教育部调整了普通高等学校本科专业的设置,将五年制授医学学位的医学检验专业更改成四年制授理学学位的医学检验技术专业,更加突出了对检验技术相关知识的要求。临床检验诊断学是临床医学的重要组成部分,近年来随着生命科学和相关科学的不断发展,临床检验诊断学迅猛发展,相关的技术也得到了飞速发展,因此对医学检验教育也提出了更高的要求。实验教学是医学检验技术专业教学的重要组成部分。

江苏大学是国内最早开设医学检验本科专业的五所高校之一,在40余年的医学检验教学工作中,针对医学检验人才培养过程中存在的问题,学校一代代医学检验人倾注了毕生的精力,积累了丰富的教学经验,形成了以优质师资队伍、精品课程和特色教材为一体化的多维教学体系;构建了以新生研讨一本、硕、博联动—教学法改革—国际化培养为基础,推动全局、想象、求异和批判的多元思维模式体系;以实验教学示范中心、省重点实验室和优势学科一体化建设促进教学资源的共享,提升学生实践创新能力,先后荣获多项江苏省教学成果奖。在医学检验技术实验教学改革中,构建了通用技术、课程内验证性实验、课程内综合性实验和专业设计性与创新性实验四位一体的模块化体系。在此基础上,为了使我们的教学成果能更好地服务和辐射省内医学检验技术教学,我们申请并获批了“2013年度江苏省高等学校重点教材建设项目”,并联合了我省南通大学、苏州大学、徐州医学院和扬州大学等高校,编写了“医学检验技术实验系列教程”。本教程共分13个分册,覆盖了医学检验技术所有专业课程的实验教学内容。从体例方面充分体现了我们的实验教学改革成果,设置了医学检验通用技术分册和专业课分册。在各个专业课程的实验课程中包含了课程内验证性实验和综合性、设计性实验,最后还设置了医学检验技术专业综合性实验分册和临床案例实验诊断分析分册。通过这个系列教程的教学,学生能在早期较为系统地掌握医学检验专业通用技术,并能将这些技术应用于课程内实验教学。在全面掌握了各个专业课程的技术以后,我们希望经过专业综合性实验训练和临床诊断案例分析,使学生对临床疾病的复杂性有较为全面的整体性认识,以提高临床适应能力,为随后开展临床实践奠定良好的基础。

本教程是教学改革的一次初步尝试,在体例、内容安排上不一定能完全适应现代医学检验教学改革和人才培养的需求,还需要不断完善。希望各位专家、教师、检验界同行和同学在使用本教程过程中多提宝贵意见,以便我们进一步提高教程的质量,为广大师生提供优质的实验教学用书,共享我们教学改革的成果。

在此特别感谢 BD 公司对本系列教程出版的大力支持。

邵启祥 许文荣

2014 年 6 月于江苏大学医学院

# 前 言

根据《教育部关于印发〈普通高等学校本科专业目录(2012年)〉〈普通高等学校本科专业设置管理规定〉等文件的通知》(教高〔2012〕9号)精神,自2013年起全国医学检验专业的本科教学学制由“五年制”的医学检验专业改变为“四年制”的医学检验技术,专业属性由“医科”门类改为“理科”门类。这一变革对医学检验技术本科教育的影响深远,并对医学检验技术专业的相关教学体系和内容提出了新的要求。

临床免疫学检验技术是医学检验技术专业的主干专业课之一,而实验教学是其重要的组成部分。近年来,随着生命科学和其他相关科学的革命性发展,基础免疫学技术和临床免疫学技术呈现同步快速发展的态势。为适应教学体系的变革和免疫技术的进步,我们此次以江苏大学、南通大学和苏州大学为主体,合作编写了主要针对“四年制”医学检验技术专业的《临床免疫学检验技术实验指导》。考虑到国内各高校医学检验技术专业的教学条件,同时,要体现实验教程的实用性和指导性,在参照以往国内外已出版的《临床免疫学检验实验指导》和其他相关教材的基础上,并结合编者一线教学的经验与体会,本教材的编写体现了以下三个特点:(1)将实验内容分为验证性实验和与免疫性疾病相关的综合性实验两部分。(2)将传统的凝集、沉淀实验及酶标记技术等与抗体制备技术相结合,组合成系列实验,使学生在学相应免疫技术原理和方法的同时,也能系统、直观地体会到各免疫技术间的关联应用。(3)增加了肿瘤和移植免疫模型制备及免疫功能检测的内容,以拓展学生的研究视野。本教材中的大多数实验都结合了编写者的亲身体会,对有关的实验条件进行了优化,尽可能与临床应用相结合,使每个实验都有可操作性和指导性,并有“问题与思考”帮助学生理解、掌握相关实验内容。

本教材主要供高等医学检验技术专业作为教材使用,亦可供临床医学专业本科生和研究生作为必修课或选修课教材,还可作为临床检验工作者、参加继续教育和职称考试人员的参考用书。

由于编写时间仓促和作者专业能力水平所限,本书在语言书写、专业知识见解上可能存在不足。希望同仁和同学们在使用过程中,对不足之处给予批评指正,并提出宝贵意见,以便再版时修订完善。最后,对参与本教程编写的各位同仁表示诚挚的谢意,感谢大家在百忙之中抽出时间合作完成本教程。

夏 圣

2014年5月于江苏大学医学院



# 目 录

## 第一篇 验证性实验

|  |    |
|--|----|
| 第一章 多克隆抗体的制备及鉴定 .....                  | 3  |
| 实验一 抗沙门菌 O 抗原特异性多克隆抗体的制备 .....         | 3  |
| 实验二 抗人 C-反应蛋白特异性多克隆抗体的制备 .....         | 7  |
| 实验三 凝集反应鉴定抗沙门菌 O 抗原特异性多克隆抗体 .....      | 10 |
| 实验四 凝胶内免疫沉淀反应鉴定抗人 C-反应蛋白特异性多克隆抗体 ..... | 14 |
| 第二章 单克隆抗体制备及其在免疫标记技术中的应用 .....         | 19 |
| 实验一 人 C-反应蛋白的纯化和制备 .....               | 19 |
| 实验二 抗人 C-反应蛋白单克隆抗体制备 .....             | 25 |
| 实验三 免疫浊度法检测人高敏 C-反应蛋白含量 .....          | 29 |
| 实验四 酶联免疫吸附试验检测人高敏 C-反应蛋白的含量 .....      | 31 |
| 实验五 胶体金免疫标记技术检测人高敏 C-反应蛋白的含量 .....     | 34 |
| 第三章 补体活性测定技术 .....                     | 36 |
| 实验一 经典途径血清补体总活性测定 .....                | 36 |
| 实验二 旁路途径血清补体总活性测定 .....                | 40 |
| 第四章 固有免疫细胞的分离和免疫功能检测技术 .....           | 43 |
| 实验一 吞噬细胞吞噬功能测定 .....                   | 43 |
| 实验二 吞噬细胞趋化功能测定 .....                   | 47 |
| 实验三 硝基四氮唑蓝(NBT)还原试验 .....              | 51 |

|  |    |
|--|----|
| <b>第五章 获得性免疫细胞的分离及免疫功能检测技术</b> .....       | 53 |
| 实验一 外周血单个核细胞的分离 .....                      | 53 |
| 实验二 抗体标记特定细胞的磁分选技术 .....                   | 56 |
| 实验三 淋巴细胞转化实验 .....                         | 59 |
| 实验四 淋巴细胞的细胞毒功能检测 .....                     | 62 |
| 实验五 溶血空斑形成实验 .....                         | 64 |
| 实验六 T 细胞亚群的流式细胞术分析 .....                   | 66 |
| 实验七 IL-2 的生物活性检测(细胞增殖检测法) .....            | 69 |
| 实验八 IFN- $\gamma$ 的生物活性检测(酶联免疫斑点检测法) ..... | 71 |

## 第二篇 课程内综合性、设计性实验

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| <b>第六章 免疫相关性疾病的实验室诊断</b> .....    | 77 |
| 实验一 SLE 临床案例分析及其免疫相关性指标的检测 .....  | 77 |
| 实验二 移植排斥反应动物模型的建立及其免疫功能测定 .....   | 79 |
| 实验三 荷瘤动物模型的制备及其免疫功能测定 .....       | 82 |
| 实验四 过敏性疾病的临床病例讨论及临床免疫相关指标分析 ..... | 84 |



# 第一篇

## 多克隆抗体的制备及鉴定

### 验证性实验

#### 实验一 抗沙门菌O抗原特异性多克隆抗体的制备

【目的】

【原理】

抗原刺激机体免疫系统，使免疫系统产生特异性抗体，因此多克隆抗体的制备原理是：将抗原与佐剂混合，注射到小鼠腹腔，使小鼠产生多克隆抗体。本实验采用沙门菌O抗原与佐剂混合，注射到小鼠腹腔，使小鼠产生多克隆抗体。本实验采用沙门菌O抗原与佐剂混合，注射到小鼠腹腔，使小鼠产生多克隆抗体。





# 第一章 多克隆抗体的制备及鉴定

抗体指机体的免疫系统在抗原刺激下,由初始 B 淋巴细胞或记忆性 B 淋巴细胞增殖分化成的浆细胞所产生的、可与相应抗原发生特异性结合的免疫球蛋白。天然抗原表面往往存在多个抗原决定簇,由一种抗原决定簇刺激机体一个 B 淋巴细胞克隆接受所产生的抗体称之为单克隆抗体(monoclonal antibody, McAb)。由多种抗原决定簇刺激机体 B 淋巴细胞,可相应地产生多种单克隆抗体,这些单克隆抗体混合在一起即多克隆抗体(polyclonal antibody, PcAb)。本章以制备抗沙门菌 O 抗原以及抗人 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)特异性多克隆抗体为例进行实验。

## 实验一 抗沙门菌 O 抗原特异性多克隆抗体的制备

多克隆抗体是针对多个抗原决定簇产生的抗体混合物,因此在免疫学诊断中可能出现交叉反应。但由于多克隆抗体具有较高的亲和力,并且针对多个抗原决定簇,在免疫学检测中具有很好的灵敏度,因此目前仍有许多检测诊断试剂盒中使用多克隆抗体。此外,由于多克隆抗体制备时间短、免疫大动物后可批量生产以及成本低等原因,一些治疗性抗体也采用多克隆抗体,如抗蛇毒血清、多肽抗毒素以及精制抗破伤风抗体等。本节以制备抗沙门菌 O 抗原以及抗人 CRP 特异性多克隆抗体为例进行实验。

### 【目的】

利用沙门氏菌菌体抗原免疫实验动物,制备抗沙门菌 O 抗原特异性多克隆抗体。

### 【原理】

将具有多个抗原决定簇的抗原注射入实验动物体内时,可刺激机体相应 B 淋巴细胞增殖、分化成浆细胞,并分泌特异性多克隆抗体。由于抗体的产生具有再次免疫应答的规律性,可以利用此规律来获得高效价和高亲和力的多克隆抗体。

### 【实验材料】

1. 免疫抗原:伤寒沙门菌 O 诊断菌液(可购买商品化的试剂,或采用 O901 菌种制备)。
2. 动物:健康纯种新西兰兔,雄性,兔龄 9~24 个月,体重 2~3kg。
3. 试剂和器材:无菌生理盐水、消毒酒精及碘酒、2% 叠氮钠、3% 戊巴比妥钠、5mL 无菌注射器、兔固定架、灭菌三角烧瓶、低温高速离心机。

### 【步骤】

1. 从兔耳静脉采血 2mL,待血清析出后分离血清。取 0.5mL 的血清与伤寒沙门菌 O 诊断菌液按本章实验三的方法进行凝集实验,观察有无天然抗体。如不凝集说明该动物适宜制备抗体。剩余血清作为阴性对照血清, -80℃ 保存。
2. 将经石碳酸灭菌处理的伤寒沙门菌 O 诊断菌液浓度调整至  $7 \times 10^8$  /mL,按表 1-1 进行家兔耳静脉注射免疫。

表 1-1 兔伤寒沙门菌 O 诊断菌液免疫程序

| 免疫程序 | 第 1d  | 第 5d  | 第 10d | 第 15d | 第 20d |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 免疫剂量 | 0.5mL | 1.0mL | 1.5mL | 2.0mL | 2.5mL |

3. 第 5 次免疫 7d 后,从家兔耳静脉采血 1mL,分离血清。取其中 0.5mL 与伤寒沙门菌 O 诊断菌液按本章实验三的方法进行凝集实验滴定,如凝集效价  $\geq 1:2560$ ,即为免疫成功。若效价  $< 1:16$ ,则还需要继续免疫 1~2 次,直至达到理想效价。

4. 经效价滴定合格后即可放血。放血前动物应禁食 12h,以减少血清中的脂肪含量。如拟保留该免疫动物,可切开耳静脉滴血或心脏穿刺采血。采血后由静脉缓缓注入等量 5% 葡萄糖溶液以补足失血量。采血的动物经 2~3 个月休息,可再次加强免疫后采血。如拟一次放血致死,可用颈动脉放血的方法。各种采血方法如下。

(1) 心脏采血:固定动物于仰卧位置,用食指探明心脏搏动最强部位(在胸骨左侧,由下向上数第 3 与第 4 肋骨之间),剪去少许毛,用 2.5% 碘酒和 75% 酒精消毒后,以 9# 针头在预定位置与胸部呈 45° 角刺入心脏,微微上下移动针头,待见血液进入针筒后,即将注射器位置固定采血。2.5kg 体重的家兔 1 次可采血 20~30mL。

(2) 耳静脉滴血:先将耳静脉附近的毛剪去,用 2.5% 碘酒和 75% 酒精消毒(待酒精挥发后操作,避免溶血)。用台灯照射耳部使血管因温度增高而扩张,然后用无菌刀片将耳静脉切一长 0.5cm 的纵切口。第一次切口应从耳尖部开始,以后再切时,逐步向耳根方向移动。用无菌试管或平皿收集流出的血液。如切口凝血,血流不畅时,可用无菌棉棒轻轻将切口外血凝块擦去(注意勿使切口损伤太大),血流仍可继续流出,直至达到所需要的血量为止。采血后用无菌棉球压迫切口止血。耳静脉采血 1 次可达 50mL 左右。

(3) 颈动脉放血:使动物仰卧于兔固定架,固定四肢,用 6mL/kg 1.0% 戊巴比妥钠对家兔施行麻醉。颈部剪毛、消毒后纵向切开前颈部皮肤长约 10cm,用止血钳将皮肤分开夹住,剥离皮下组织,显露出肌层,用刀柄加以分离,即见搏动的颈动脉。小心将颈动脉和迷走神



经剥离长约5cm,选择血管中段,用止血钳夹住血管壁周围的筋膜。远心端用3号丝线结扎,近心端用动脉钳夹住,用酒精棉球消毒血管周围,用无菌眼科剪剪一个V形缺口。取长2.5cm、直径1.6mm 无菌动脉插管,插入颈动脉中,另一端放入200mL 无菌三角瓶内,然后放开止血钳,血即流入三角瓶内,直至动物失血死亡。2.5kg 家兔可放血80~100mL。

5. 分离血清。必须在无菌条件下进行,待收集于平皿或三角瓶内的血液凝固之后,用无菌滴管在无菌环境(如超净工作台)中把血块与瓶壁剥离后,37℃静置1~2h,后放入4℃冰箱过夜,使血清充分析出(不能冰冻,否则产生溶血),经离心分出血清。经过鉴定合格后再分装于-80℃冰箱中保存备用。

#### 6. 抗血清的保存

(1) 经鉴定合格后的抗血清,以1:100比例加入1%的硫柳汞或5%的叠氮钠,使其最终浓度分别为0.01%或0.05%。

(2) 用无菌滴管将抗血清分装小管,每管装1mL左右。

(3) -80℃以下保存,可保存2年以上。

如有条件可将血清冷冻干燥保存于4℃以下,保存时间更久。

7. 抗体鉴定。以凝集反应滴定所获得免疫血清的抗体效价,鉴定方法的具体步骤参见本章实验三。

#### 【结果】

实验动物采血顺利,血清分离、保存得当,获得效价为1:2560的抗沙门菌O抗原特异性多克隆抗体的血清。

#### 【临床意义】

沙门菌是自然界普遍存在的一种食源性致病菌,常引起人类伤寒、副伤寒以及急性胃肠炎等疾病。因此,非常有必要建立诊断伤寒、副伤寒以及检测食物、水等是否被沙门菌污染的方法。免疫学方法具有快速、灵敏和方便的特点,而制备敏感度高、特异性强的抗体可以为进一步建立合适的沙门菌检测方法奠定良好基础。

#### 【注意事项】

实验动物必须健康,且以雄性为佳。由于实验动物产生抗体的能力存在个体差异,最好选择3只以上实验动物。获得多克隆血清后应分别鉴定抗体效价再混合。如果动物血清抗体效价不够理想应加强免疫。

通常初次免疫应答比较弱,尤其是针对易代谢、可溶性抗原。首次注射大约7d后,在血清中可以检测到抗体,但抗体的浓度维持在一个较低的水平。将同种抗原再次免疫后产生二次免疫应答的结果明显不同。由于记忆性B淋巴细胞的参与,二次免疫时抗体合成速度明显增快,并且抗体持续高水平表达的时间也明显延长,抗体亲和力也逐步提高。通常在抗原注射4~6w后会产生高亲和力的抗体。一般在制备时常采用3~4次免疫,以便在短时间内获取高亲和力抗体。

### 【问题与思考】

1. 为什么颗粒型抗原可以直接通过静脉注射免疫,而可溶性抗原要与佐剂一同免疫?
2. 在动物体内制备免疫血清时为什么要多次注射?

(何春燕)



## 实验二 抗人 C-反应蛋白特异性多克隆抗体的制备

一般情况下,颗粒性抗原具有较强的免疫原性,不使用免疫佐剂也可取得较好的免疫效果。对于可溶性抗原,初次免疫时必须使用免疫佐剂才能获得较好的免疫效果。常用于动物免疫的佐剂是弗氏佐剂,分为弗氏完全佐剂和弗氏不完全佐剂。弗氏完全佐剂由弗氏不完全佐剂加入不同浓度的卡介苗(2~20mg/mL)混合而成,弗氏不完全佐剂由油剂和乳化剂混合而成。现在已有商品化的弗氏佐剂出售。一般情况下,首次免疫时用1/2体积的弗氏完全佐剂加入1/2体积的抗原进行乳化,加强免疫时使用弗氏不完全佐剂或不使用佐剂,如不加佐剂抗原剂量需加大10~20倍。

### 【目的】

通过充分乳化人 C-反应蛋白(CRP)与弗氏佐剂获得理想的乳剂,并用此抗原乳剂免疫实验动物获得抗人 CRP 特异性多克隆抗体。

### 【原理】

将可溶性蛋白抗原与佐剂共同免疫动物,可刺激机体 B 淋巴细胞增殖、分化成浆细胞,并分泌特异性多克隆抗体。多次重复免疫可增强机体的免疫应答,产生更高亲和力和效价的多克隆抗体。

### 【实验材料】

1. 免疫抗原:人 CRP 抗原(可自制或购买商品化试剂)。
2. 动物:健康纯种新西兰兔,雄性,兔龄9~24个月,体重2~3kg。
3. 试剂和器材:弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂、玻璃注射器、三通阀、无菌生理盐水、消毒酒精及碘酒、2%叠氮钠、3%戊巴比妥钠、1mL和5mL无菌注射器、兔固定架、灭菌三角烧瓶、低温高速离心机。

### 【步骤】

1. 从兔耳静脉采血2mL,待血清析出后分离血清,作为阴性对照血清。
2. 将人 CRP 用无菌生理盐水稀释至1mg/mL,取所需体积与等体积的弗氏佐剂充分混合形成乳剂。具体操作方法如下:将所需的 CRP 溶液以及佐剂同时吸入5mL玻璃注射器中,用三通阀将该注射器和另一个相同的注射器相连,在冰上反复推捻(约500次)以充分混合。取一定量混合后的乳剂滴入冰冷的清水中,10min内不扩散说明佐剂和抗原已经形成油包水状态,可以用于免疫动物。



3. 第一次免疫:人 CRP 抗原加弗氏完全佐剂形成乳剂,剂量为 1.0mL/只(含 0.5mg CRP)。注射部位为两只后脚垫的皮内,各注射 0.2mL,其余 0.6mL 分多点注入脊柱两侧、颈部、腹股沟和腋窝等处淋巴结附近部位皮内,每点可注入 0.05mL,分 12 点注入。

4. 第二次免疫:初次免疫后 20d 左右,人 CRP 抗原加弗氏不完全佐剂形成乳剂,剂量为 1.0mL/只(含 0.25mg CRP)。注射部位在腹部皮下,多点注射,每点注入 0.1mL。

5. 第三次免疫:第二次免疫后 14d 内进行,注射剂量和部位同第二次免疫,免疫后第 7~14d 采集少许静脉血,分离血清,滴定血清中抗 CRP 抗体的效价。

6. 试血、滴定抗体效价  
一般在第三次免疫后第 7~10d 即可于兔耳静脉采血 1mL,分离出血清之后进行滴定。免疫双扩散法是最常用的试血方法,具体方法是:

在玻片上制备琼脂凝胶,打梅花孔。中间孔加稀释的抗原(1mg/mL)10 $\mu$ L,周围孔顺时针方向加稀释的抗血清,其稀释度分别为 1:2,1:4,1:8,1:16,1:32 和 1:64(用生理盐水或 PBS 稀释)。经 37 $^{\circ}$ C 保温 24h 后观察结果,效价在 1:16 以上即可决定放血(具体实验步骤参照本章实验四)。

7. 放血、分离血清以及血清保存参照本章实验一。

8. 抗体效价鉴定参照本章实验四。

### 【结果】

实验动物采血顺利,血清分离、保存得当,获得含高效价抗人 CRP 抗原特异性多克隆抗体的血清。

### 【临床意义】

CRP 是最早发现的急性时相蛋白之一。CRP 的检测在临床应用相当广泛,包括急性感染性疾病的诊断和鉴别诊断;手术后感染的监测;抗生素疗效的观察;病程检测及预后判断等。制备高度特异性的抗 CRP 抗体是建立检测 CRP 方法的重要步骤之一。

### 【注意事项】

1. 可溶性抗原与弗氏佐剂混合研磨时需充分乳化后才能免疫动物,否则难以达到预期的免疫效果。

2. 免疫佐剂可提高免疫效果,获得高效价的免疫血清。但若抗原不纯时,可使抗原中极其微量的杂蛋白刺激机体产生抗体,以致所得多克隆抗体成分变得复杂。

3. 可溶性蛋白抗原免疫动物制备特异性多克隆抗体,需要选择合理的免疫原剂量以及恰当的免疫途径。免疫原的注射剂量应考虑其抗原性的强弱、分子量大小、动物的个体状态和免疫时间。对于纯的可溶性抗原的免疫剂量,小鼠首次抗原剂量为 50~100 $\mu$ g/次,大鼠为 0.1~1mg/次,兔为 0.5~1mg/次。如需制备高度特异性的抗血清,可选用低剂量抗原短程免疫法;如需制备高效价的抗血清,宜采用大剂量抗原长程免疫法。抗原注射途径可根据不同抗原及试验要求,选用皮内、皮下、肌肉、静脉或淋巴结内等不同途径注入抗原进





行免疫。一般常采用背部、足垫、耳后等处皮内或皮下多点注射。初次免疫与第二次免疫的间隔时间多为2~4w。

【问题与思考】

1. 为什么第一次免疫使用弗氏完全佐剂,第二次免疫改用弗氏不完全佐剂?
2. 佐剂增强免疫效果的作用机制有哪些?