



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



高等农林教育“十三五”规划教材

第2版

动物免疫学实验教程

Dongwu Mianyixue Shiyān Jiaocheng

郭鑫 主编



中国农业大学出版社

CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY PRESS

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

高等农林教育“十三五”规划教材

动物免疫学实验教程

第2版

郭 鑫 主编

中国农业大学出版社

• 北京 •

内 容 简 介

动物免疫学实验教程(第2版)作为一本供兽医学及相关专业本科生和研究生使用的实验课教材,注重对实验原理的解析,强调关键技术及注意事项,通过分析操作中可能引起失败的原因,引导学生在实验过程中深入思考。为了使免疫学理论与实验内容衔接一致,本书的编写顺序按照实验技术的性质进行分类和排列,全书共包括8章51个实验,既有传统的动物免疫学实验技术,又突出了新的免疫学检测方法。每类实验技术包括若干实验项目,便于各层次的学生选用。

图书在版编目(CIP)数据

动物免疫学实验教程/郭鑫主编.—2版.—北京:中国农业大学出版社,2017.2
ISBN 978-7-5655-1781-5

I. ①动… II. ①郭… III. 动物学-免疫学-实验-教材 IV. S852.4-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 012536 号

书 名 动物免疫学实验教程(第2版)

作 者 郭 鑫 主编

策划编辑 潘晓丽

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路2号

电 话 发行部 010-62818525,8625

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2017年2月第2版 2017年2月第1次印刷

规 格 787×1092 16开本 15.5印张 380千字

定 价 34.00元

责任编辑 潘晓丽

责任校对 王晓凤

邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

出 版 部 010-62733440

E-mail cbsszs@cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

第2版编者名单

主 编 郭 鑫(中国农业大学)

副主编 陈金顶(华南农业大学)

彭远义(西南大学)

编写人员 (以姓氏拼音为序)

陈金顶(华南农业大学)

盖新娜(中国农业大学)

郭 鑫(中国农业大学)

姜世金(山东农业大学)

李 影(吉林农业大学)

廖 明(华南农业大学)

刘大程(内蒙古农业大学)

穆 杨(西北农林科技大学)

潘树德(沈阳农业大学)

潘子豪(南京农业大学)

彭远义(西南大学)

单 虎(青岛农业大学)

石德时(华中农业大学)

闫 芳(山西农业大学)

主 审 杨汉春(中国农业大学)

廖 明(华南农业大学)

第1版编者名单

主 编 郭 鑫 (中国农业大学)

副主编 廖 明 (华南农业大学)

彭远义 (西南大学)

编写人员 (以姓氏拼音为序)

陈金顶 (华南农业大学)

陈艳红 (中国农业大学)

盖新娜 (中国农业大学)

郭 鑫 (中国农业大学)

姜世金 (山东农业大学)

刘大程 (内蒙古农业大学)

李 影 (吉林农业大学)

廖 明 (华南农业大学)

潘树德 (沈阳农业大学)

彭远义 (西南大学)

单 虎 (莱阳农学院)

石德时 (华中农业大学)

闫 芳 (山西农业大学)

主 审 杨汉春 (中国农业大学)

第2版前言

2005年我们组织中国农业大学、华南农业大学、西南大学、华中农业大学、吉林农业大学、沈阳农业大学、山西农业大学等10所农业院校从事动物(兽医)免疫学教学工作的教师编写了《动物免疫学实验教程》,2007年出版以来已第4次印刷,在多所农业院校做为本科生和研究生实验课教材使用。随着免疫学的快速发展,动物免疫学实验新技术也层出不穷,涉及免疫学检测的内容也越来越多,越来越深入,使我们迫切感到本教程的内容需要更新、调整和充实。新版教程编写的主导思路是继续保持原版“重视对实验原理和注意事项的解析,强调关键技术及操作中可能引起失败的原因”的写作风格,新增了来自西北农林科技大学和南京农业大学的一线教师参与编写,在第1版的基础上完善了部分原有实验内容,使全书更具可操作性和示范性;顺应国内外免疫学技术发展趋势,增加了一些新的实验内容或检测方法,以便于更好地服务于教学和生产。修订后的教程包括8章51个实验,比第1版增加了15个实验。为了使理论与实验内容衔接一致,本书的编写顺序仍然按照实验技术的性质进行分类和排列,既包含传统的动物免疫学实验技术,又突出了新的免疫学检测方法。每类实验技术包括若干实验项目,便于各层次的学生选用。由于各项实验之间存在内在联系,建议教学组织者可将相关实验组合成一个综合性实验进行教学。

本书编写过程中,恰逢中国农业大学出版社组织开展高等农林教育“十三五”规划教材建设工作,并有幸入选。全书定稿后,承蒙中国农业大学杨汉春教授和华南农业大学廖明教授审阅,提出了宝贵意见,在此深表谢意。

科学发展日新月异,由于我们水平有限,书中不足之处,敬请师生和同行不吝指正。

编者

2016年12月

第1版前言

《动物免疫学实验教程》是面向兽医专业专科生、本科生和研究生的实验参考书,是在学生已初步掌握兽医免疫学基础理论知识后,进一步指导学生学习和应用免疫学实验技术的一门实验课程教学用书。本实验教程通过详细介绍各类免疫学实验操作,使学生加深对免疫学基本理论的理解,培养学生正确掌握免疫学常用实验技术,使学生学会正确记录、处理和分析实验数据,培养实事求是、严肃认真的科学作风和认真细致整洁的实验习惯,为今后从事兽医学和免疫学相关工作打下良好基础。

本书涉及的内容与《动物免疫学》教材相匹配,由全国10所农业高等院校多名从事兽医免疫学教学的教师参与编写。本书的编写大纲是在对全国主要农业高等院校动物医学专业研究生和本科生的兽医免疫学实践教学进行调研的基础上制定的,编写内容涵盖面广、重点突出、实用性强。为了使理论与实验内容衔接一致,本书编写时的实验顺序是按照实验技术的性质进行分类和排列的,全书共分为7章36个实验,既包含传统的动物免疫学实验技术,又突出了新的免疫学检测方法。每类实验技术包括若干实验项目,便于各层次的学生选用。由于各项实验之间存在内在联系,故教学组织者可将相关实验组合成一个综合性实验进行教学。编写过程中有意识地突出了实验原理和注意事项的分量,强调了关键技术及操作中可能引起失败的原因,便于学生独立完成实验和更好地对结果进行科学分析,也有利于学生自行设计实验,发挥能动性和创造性,满足教学改革的要求。

本书编写过程中,在中国农业大学出版社的组织下申报了教育部“十一五”规划教材,并喜获批准。全书定稿后,承蒙中国农业大学杨汉春教授审阅,杨教授提出了非常中肯的意见,在此深表谢意。

由于编写时间较为仓促,加之能力有限,书中定有不妥之处,真诚希望广大读者给予批评指正。

编者

2006年12月

动物免疫学实验目的和要求

动物免疫学实验课的目的是训练学生掌握免疫学最基本的操作技能,加强和巩固免疫学的基本知识,加深对课堂讲授的基本理论的理解和体会。通过实验培养学生观察、思考、分析问题和解决问题的能力,树立实事求是、严肃认真的科学态度以及勤俭节约、爱护公物的良好作风,为今后的实际工作和科学研究打下基础。为上好动物免疫学实验课,要求同学做到如下几点:

1. 在实验课前应对实验内容进行充分预习,明确实验目的、内容,了解实验原理,熟悉所要使用的仪器、药品的性质及操作程序,做到心中有数。
2. 在实验进程中认真听讲,仔细观察教师演示,严格按照实验规定步骤和要求进行操作,坚持实验的严肃性、严格性、严密性,积极思考实验中的每一个环节。
3. 必须真实地记录实验结果,在认真观察并分析实验结果的基础上得出结论,努力训练自己的科学思维能力。实验完成后,及时写出实验报告并交给老师批改。
4. 实验中既要独立操作,又要与同学互相配合,不得随意挪用他人的实验材料。
5. 严格遵守实验室规则,防止各种事故发生。

实验室规则

免疫学实验所用到的材料有可能含有病原微生物,在实验中操作不慎和防护不善便有发生人身感染或环境污染的可能,所以要求同学进入实验室后必须遵守以下规则:

1. 进入实验室先把个人书包放到指定地点,穿好白大衣,实验台上只放实验指导、记录本和文具。
2. 实验室内严禁吸烟,不允许吃食品、饮水,不能用手抚摸头和面,不能用嘴接触吸管及湿润标签,以防感染。
3. 实验室内必须安静、遵守纪律,不得大声喧哗、随便走动、拆卸仪器。
4. 实验须按教师要求操作,如发生割破皮肤、被动物咬伤或抓破及实验材料破损等意外事故时,应立即报告教师,进行紧急处理。皮肤破伤可用 2% 红汞或 2% 碘酒消毒,污染的桌面、地面和物品可用 3% 来苏儿消毒。
5. 爱护公共财物,节约试剂材料,不得将实验室内物品私自带走。如有仪器、用品损坏,应及时报告教师并按规定处理。
6. 易燃物品(酒精、二甲苯等)不准接近火源,如遇火险,先关掉电源,再用湿布和沙土覆盖灭火。
7. 实验结束后,整理实验用品并清理台面,实验废弃物(如实验动物尸体等)应放入或倒入指定的地点,需冲洗者按要求冲洗,需收回者按要求摆放整齐收回。实验操作者需洗手消毒后离去。
8. 服从卫生值日安排,认真负责地做好清洁卫生。离开前仔细检查水、电、门、窗等是否关好,防止发生安全事故。

实验记录与实验报告撰写要求

(一) 实验记录

对于实验过程中原始数据和现象的记录是写好实验报告的前提和保证,在作实验记录时应做到以下几点:

1. 实验记录应及时、准确、真实、详细、清楚。回顾性的记录容易造成无意或有意的失真,故实验中应及时将观察到的现象、结果等记录在笔记本或实验指导的合适位置上。
2. 完整的实验记录应包括题目、日期、主要操作步骤、实验现象及结果。使用特殊仪器时还应该记录仪器的型号。
3. 实验结果的记录不可掺杂任何主观因素,不能受现成资料或他人实验结果的影响。若出现预期不符的现象或结果,更应如实详细记录。
4. 表格式的记录方式简练而清楚,值得提倡使用。
5. 记录时字迹必须清楚,最好用钢笔或签字笔记录,不建议用铅笔、圆珠笔等记录。
6. 实验结束后应及时整理实验记录,对实验结果进行分析和总结,撰写实验报告。

(二) 实验报告格式

实验(编号)(实验名称)

1. 实验目的和要求
2. 实验原理
3. 实验操作方法或步骤
4. 实验结果
5. 分析与讨论

(三) 实验报告撰写要求

1. 实验目的和要求:要按照本次实验的实际操作内容和授课教师的要求填写。
2. 实验原理:要根据自己的理解用简单的语言描述本次实验的基本原理。
3. 实验操作方法或步骤:要按照本次实验的实际操作过程,不能盲目抄书。
4. 实验结果:根据实验记录真实填写本次实验所得结果。
5. 分析与讨论:包括对实验方法,操作注意事项等问题的小结,对实验结果的分析与讨论,对思考题的回答,对实验中遇到的问题的描述及思考,以及对实验课改进的建议等。
6. 实验报告必须独立完成,严禁抄袭。

目 录

第一章 免疫制备技术

概述	2
实验一 抗原的制备	3
实验二 多克隆抗体的制备	9
实验三 卵黄抗体的制备	14
实验四 单克隆抗体的制备	17
实验五 抗体的纯化	25
实验六 荧光抗体的制备	31
实验七 酶标抗体的制备	37
实验八 T、B淋巴细胞的制备	43
实验九 NK 细胞的分离	46

第二章 凝集实验

概述	50
实验十 直接凝集实验	51
实验十一 间接凝集实验	58
实验十二 乳胶凝集实验	65
实验十三 血凝和血凝抑制实验	68

第三章 沉淀实验

概述	74
实验十四 环状沉淀实验	75
实验十五 絮状沉淀实验	77
实验十六 琼脂免疫扩散实验	79
实验十七 免疫电泳	85
实验十八 对流免疫电泳	89
实验十九 火箭免疫电泳	92

第四章 免疫标记技术

概述	96
实验二十 免疫荧光抗体技术	97
实验二十一 荧光偏振免疫分析技术	101
实验二十二 酶联免疫吸附实验(ELISA)	105

实验二十三	酶联免疫斑点实验(ELISPOT)	108
实验二十四	斑点-酶联免疫吸附试验(Dot-ELISA)	111
实验二十五	免疫酶组化实验	114
实验二十六	放射免疫技术	116
实验二十七	化学发光免疫分析	123
实验二十八	免疫胶体金标记技术	126
实验二十九	生物素-亲和素免疫检测技术	131
实验三十	免疫印迹技术	134
实验三十一	免疫核酸探针技术	140
实验三十二	免疫电镜技术	145

第五章 补体参与的实验

概述	152
实验三十三 补体结合实验	153
实验三十四 溶血空斑实验	160
实验三十五 补体活性测定实验	163

第六章 中和实验

概述	168
实验三十六 终点法中和实验	169
实验三十七 空斑减少法中和实验	172
实验三十八 细菌毒素中和实验	174

第七章 细胞免疫检测技术

概述	178
实验三十九 E-玫瑰花环形成实验	179
实验四十 T淋巴细胞亚群检测技术	182
实验四十一 淋巴细胞转化实验	186
实验四十二 酸性 α -醋酸萘酯酶的测定	191
实验四十三 白细胞移动抑制实验	194
实验四十四 混合淋巴细胞实验	197
实验四十五 B淋巴细胞功能检测	200
实验四十六 细胞毒性T淋巴细胞活性测定	203
实验四十七 巨噬细胞吞噬功能和杀伤功能检测	206
实验四十八 细胞凋亡的检测技术	209

第八章 细胞因子及其受体检测技术

概述	214
实验四十九 细胞因子转录水平的mRNA检测	215

实验五十 细胞因子翻译水平的蛋白质检测(ELISA 方法)	219
实验五十一 干扰素诱导的抗病毒活性检测	223
附录	227
附录一 常用溶液的配制及注意事项	227
附录二 实验动物采血方法	231
参考文献	236

第一章

实验动物制备技术

第一章

免疫制备技术

概 述

免疫制备技术是指制备与免疫检测有关制剂的各种技术,包括抗原制备、抗体制备、抗体纯化及抗体标记等技术。免疫制备技术是免疫检测技术的第一步,正是由于免疫制备技术的发展,才使免疫检测技术日新月异,层出不穷,因此免疫制备技术是免疫技术不可缺少的一部分。

在免疫制备技术中,最为主要的是单克隆抗体制备技术,它大大提高了免疫检测技术的特异性和敏感性,推动了免疫检测试剂的标准化,使免疫检测技术进入了一个新的时代。

实验一 抗原的制备

【实验目的和要求】

熟悉颗粒性抗原、可溶性抗原及半抗原的制备方法和基本思路。

【实验原理】

能刺激机体免疫系统使之产生特异性免疫应答,并能与相应免疫应答产物(即抗体和致敏淋巴细胞)在体内外发生特异性反应的物质称为抗原或免疫原。诱导抗体发生免疫应答的反应称为免疫原性,诱导致敏淋巴细胞的反应称为反应原性。凡是具有这两种性质的物质称为完全抗原,如大多数蛋白质、细菌和病毒等。只具备反应原性而无免疫原性的物质称为半抗原或不完全抗原,如大多数多糖、类脂和某些药物等。抗原按其来源可分为外源性抗原和内源性抗原。外源性抗原又可分为天然抗原、人工抗原、合成抗原与基因工程重组抗原。绝大多数天然抗原不是单一成分,在制备抗体时可按需要进行纯化。将半抗原或合成肽通过与载体蛋白连接制备成具有免疫原性的化合物,分别称之为人工抗原和合成抗原。

抗原的制备包括完全抗原的制备和人工抗原的制备,主要用于制造免疫用疫苗或进行抗体的检测。针对不同的抗原特性可以选择不同的制备方法。抗原的制备工作涉及物理学、化学和生理学等许多领域的知识。根据抗原的物理或化学特性建立起来的分离、纯化方法的主要原理不外乎以下 2 个方面:①利用混合物中几个组分分配率的差别,将它们分配到可用机械方法分离的 2 个或几个物相中,如盐析、有机溶剂抽提、层析和结晶等;②把混合物置于单一物相中,通过物理力场的作用使各组分分配于不同的区域而达到分离的目的,如电泳、超速离心和超滤等。

由于组织细胞内存着许多分子结构和理化性质不同的抗原物质,其分离方法也不一样,即使是同一类大分子物质,因选材不同,所使用的方法也存在很大差别,因此很难有一个通用的标准方法供提取任何生物活性物质使用,所以在提取前必须针对所欲提取的物质,充分查阅文献资料并选用合适的方法。如果要提取一个结构及性质未知的抗原物质,更需要经过各种方法的比较探索,才能找到一些工作规律,进而获得预期的效果。

下面仅以点带面地介绍一些常用抗原的制备过程。

【操作方法】

一、颗粒性抗原的制备

颗粒性抗原主要包括各种动物细胞抗原以及各种细菌抗原,有些细胞膜亦可制成颗粒性抗原。通常颗粒性抗原悬液呈浑浊状或乳浊状。

1. 绵羊红细胞抗原的制备

(1)取抗凝或脱纤维蛋白的绵羊血液,加等量生理盐水,2 000 r/min 离心 5 min,吸弃上清液。

(2)再加 2~3 倍生理盐水,用毛细滴管反复吹吸混匀,2 000 r/min 离心 5 min,吸弃上清

液,如此一共连续洗涤 3 次。

(3)最后一次可离心 10 min,红细胞密集于管底,上清液呈无色透明。

(4)弃去上清液,管底即为洗涤过的红细胞,再根据需要配成不同浓度的红细胞悬液。

2. 伤寒杆菌菌体抗原的制备

(1)取伤寒杆菌标准菌株的光滑型菌落,接种于普通琼脂培养基(或 SS 琼脂平板培养基),均匀涂布,37℃温箱培养 24 h 后取出。

(2)用适量生理盐水洗下菌苔,移入含无菌玻璃珠的三角烧瓶中,充分振摇使菌体均匀分布,置 100℃水浴 2~2.5 h 杀菌及破坏鞭毛抗原。

(3)把菌悬液移入离心管,4 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液。

(4)菌体再用无菌生理盐水洗涤,4 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,将该步骤重复 3 次。

(5)沉淀做无活菌检测,合格后再用无菌生理盐水稀释成每毫升 10 亿个细菌的菌悬液,加 5%石炭酸,即成菌体抗原,于冰箱中 4℃保存备用。

3. 伤寒杆菌鞭毛抗原的制备

(1)在鞭毛典型的伤寒杆菌标准菌株划线接种培养的平板上,挑选典型的光滑型菌落接种于普通培养基,均匀涂布,置 37℃温箱培养 24 h 后取出。

(2)用适量含 0.4%甲醛的生理盐水洗下菌苔,移入无菌三角烧瓶中,置 37℃水浴 24 h(或 4℃3~5 h 固定杀菌)。

(3)将处理过的菌液进行无活菌检验,证实无活菌存在。

(4)用生理盐水稀释成每毫升 10 亿个细菌的菌悬液,即成鞭毛抗原,于冰箱中 4℃保存备用。

4. 大肠杆菌菌毛抗原的制备

(1)将可产生肠毒素的大肠杆菌 K88 标准菌株先接种于胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB)内,37℃培养 18 h。

(2)取上述培养物再接种于装有胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)的容器中,37℃培养 18 h。

(3)用 0.1 mol/L pH 7.0~7.2 的 PBS 将菌苔洗下,制成较浓的菌液。

(4)62℃水浴中加热 20~30 min,不时振荡,使 K88 菌毛从菌细胞上脱落。

(5)8 000 r/min 离心 20~25 min,取上清置 4℃保存 2 天。

(6)再以 8 000 r/min 离心 20~25 min,去除沉淀,边搅拌边滴加 10%醋酸溶液于上清液中,将 pH 调至 4.5,此时可见液体呈混浊状态。

(7)4℃下静置过夜,使 K88 菌毛呈絮状沉淀。

(8)次日,将上述液体用 8 000 r/min 离心 30 min,取沉淀物用 pH 4.5 生理盐水离心洗涤 2~3 次,最后一次离心沉淀物用少量 0.01 mol/L pH 7.0 的 PBS 溶解。

(9)经 8 000 r/min 离心 20~25 min 后,取出上清液即为粗制的 K88 抗原液。

(10)将粗制抗原液经预先用 0.01 mol/L pH 7.0 的 PBS 平衡的 Sephadex G 200 柱进一步层析纯化,用平衡柱床的 PBS 作为洗脱液,流速为 1 mL/min,以紫外吸收仪及自动电位差记录仪检测并记录洗脱的蛋白质峰。将第一峰的各管蛋白洗脱液合并,即为纯化的 K88 抗原。

二、可溶性抗原的制备

糖蛋白、酶类、脂蛋白、脂多糖、细菌外毒素、补体等可溶性抗原大部分来自于组织和细胞,其成分比较复杂,通常需要将组织和细胞破碎,再经过一定的方法纯化,才能获得所需的可溶性抗原。

1. 组织和细胞粗抗原的制备

该类抗原主要来源于动物的组织或细胞,这些材料在提取可溶性抗原之前,必须先进行预处理,以适合于进一步纯化。

(1)组织细胞抗原的制备:在该类抗原的制备过程中,所用组织必须是新鲜的或低温保存的。取得器官或组织材料后应立即去除表面的包膜或结缔组织以及一些大血管。脏器需用生理盐水进行灌洗,以去除血管内残留的血液及有形成分,再用 0.5 g/L NaN_3 生理盐水洗去血迹及污染物。将洗净的组织在冰浴中剪成小块,然后进行粉碎。粉碎的方法有如下 2 种:

①高速组织捣碎机法:将小块组织加一定量的生理盐水(约 1/2)装入捣碎机内,用 1 000 r/min 间断进行破碎,每次 30~60 s。破碎时间过长会导致产热。

②研磨法:可用玻璃匀浆器或乳钵研磨,主要经过旋转、挤压将组织粉碎。该方法可用于韧性较大的组织,如空腔器官、皮肤等。有时在研磨时加入淘洗过的海砂能更有效地研磨组织。

(2)组织匀浆液通过 2 000~3 000 r/min 离心 10 min 后可分为 2 个部分,沉淀物内含有大量的组织细胞和碎片,上清液内含有可溶性抗原。

(3)上清液在提取前还必须进行 10 000~20 000 r/min 离心 20~30 min,以去除微小的细胞碎片及微小组织,使上清液澄清透明。

2. 组织细胞或培养细胞可溶性抗原的制备

制备抗原的细胞包括正常细胞、传代细胞或病理细胞(如肿瘤细胞)。组织细胞的制备一般通过上述机械捣碎后获取,也可通过胃蛋白酶或胰蛋白酶消化细胞间质蛋白,从而获取游离的单个细胞。细胞抗原一般分为 3 种组分:膜蛋白抗原、细胞质抗原(主要为细胞器)、细胞核与核膜抗原。3 种抗原的制备均需要将细胞破碎,其基本方法有如下几种:

(1)酶处理法:可用溶菌酶、纤维素酶、蜗牛酶等,在一定条件下能消化细菌和组织细胞,如溶菌酶在碱性条件下对革兰氏阳性菌细胞壁有溶解作用。酶破坏细胞具有作用条件温和,细胞壁破坏的程度可以控制,内含物成分不易受到破坏等特点。该法适用于多种微生物。

(2)反复冻融法:将细胞或整块组织置冰箱内冻结,然后置室温融化,如此反复 2~3 次,大部分组织细胞及细胞内的颗粒可被冻融破碎,其原理是细胞突然冷冻,使细胞内水分结晶以及细胞内外溶剂浓度突然改变而导致细胞膜和颗粒破坏。该法适用于对组织细胞的处理。如要提取病毒蛋白质或核酸,可用类似的冷热交替法,先将待破碎物投入沸水中,约在 90℃ 维持数分钟后,立即移至冰浴中迅速冷却,同样可使大部分微生物细胞破坏。

(3)超声破碎法:是利用超声波的机械振动而使细胞破碎的一种方法。由于超声波发生的空化作用,使得液体形成局部减压引起液体的内部发生流动,漩涡生成与消失时,产生很大的压力使细胞破碎。超声波所使用的频率为 1~20 kHz 不等,应间歇进行,避免因长时间处理导致温度升高而破坏抗原。通常一次超声 1~2 min,总时间为 10~15 min。该法具有操作简