

山东大学基础医学院

《医学免疫学实验》课程教学大纲

课程名称	医学免疫学实验				
英文名称	Medical Immunology experiment				
课程代码	sd02322660				
开课单位	基础医学院				
课程类别	☒ 专业基础实验 ☐ 专业实验 ☐ 综合实验 ☐ 创新实验 ☐ 开放实验				
实验类别	☒ 独立设课 ☐ 非独立设课				
学分	0.5	总学时	16	实验学时	16
适用专业	预防专业、药学专业				
先修课程	生物学基础、人体结构与功能				
课程网站	虚拟仿真实验： http://mvl.sdu.edu.cn/mengoo/				
课程描述	《医学免疫学实验》是《医学免疫学》课程相配套的实验课程，是预防和药学相关专业本科重要的基础实验技能培训课程，内容涉及三部分内容，第一部分为抗原抗体检测反应，主要包括玻片凝集和试管凝集试验、沉淀反应（双相扩散实验）和补体结合试验。第二部分为细胞实验，包括外周血单个核细胞分离和巨噬细胞吞噬实验；第三部分未涉及实验动物的实验，包括小鼠抗绵羊红细胞抗体的制备和检测（含有小鼠免疫、血清制备和ELISA检测三部分），另外巨噬细胞吞噬实验也涉及动物实验。				
课程性质和教学目标	【课程性质】 医学免疫学实验是利用医学免疫学的基本知识和原理进行免疫学诊断和防治的一门学科。 【教学目标】				

	要求学生通过学习医学免疫学基本实验的原理和方法；掌握医学免疫学基础理论和基本知识；熟悉利用医学免疫学的理论知识解决实际问题的方法。 【培养要求】掌握与健康 and 疾病相关的自然科学、人文社会科学的基础知识与科学方法；掌握医学的基础理论和基本知识，涉及解剖、生理、病理、药理等；熟悉影响健康与疾病的生物、心理、社会因素及其评估和干预方法。
--	--

课程教学内容及学时分配

实验一 凝集反应与抗体制备与检测-1（4 学时）

【教学目标和要求】

1. 掌握抗原抗体反应的特点及影响因素。
2. 颗粒型抗原与相应抗体相遇出现肉眼可见的凝集颗粒。通过玻片凝集检测 ABO 血型（直接凝集），为定性实验；通过试管凝集检测抗血清的效价（滴度），为半定量实验。通过该实验，深入理解抗原特性对抗原抗体反应的影响，掌握检测血型、细菌抗血清滴度的实验方法。
3. 抗体制备进行第一次免疫。

【主要仪器设备和试剂】

设备：试管、水浴箱、滴管、试管架、载玻片、棉棒、采血针、记号笔、注射器、离心机、滴管、剪刀

药品：消毒液、抗 A、B 血清、菌液、抗血清、生理盐水、绵羊红细胞

动物：小鼠

【实验的难点】采血、准确加样、滴度判定、正确抓取小鼠

【实验的重点】孵育时间、观察凝集颗粒、凝集物大小、皮下注射

【实验安全和环保要求】消毒、采血针勿乱扔、血污染物的处理、使用后试管处理、载玻片、注射器针头置于利器桶、勿被小鼠咬伤、晕血的同学注意安全。所有实验废弃物按照医疗垃圾处理。

实验二 沉淀反应、抗体制备与检测-2（4学时）

【教学目标和要求】

- 1.可溶性抗原与抗体在琼脂凝胶中进行双向扩散，抗原抗体相对应在合适的位置形成白色沉淀线。掌握单向琼脂扩散与双向琼脂扩散的原理及应用，理解沉淀线形状与抗原纯度的相关性
- 2.第二次免疫小鼠

【主要仪器设备和试剂】

设备：37℃培养箱、离心机、剪刀、镊子、解剖板、大头针、移液器、载玻片、打孔器、制样板、湿盒、微波炉、滴管、记号笔 药品：抗原、抗体、琼脂粉、示教材料、绵羊红细胞

动物：小鼠

【实验的难点】打孔、淋巴结的识别

【实验的重点】琼脂板的制备、加样及沉淀线的观察

【实验安全和环保要求】融化琼脂勿烫伤、载玻片、注射器针头置于利器桶。所有实验废弃物按照生物垃圾处理。小鼠尸体送动物中心集中处理。

实验三 补体结合实验、PBMC 分离及抗体制备与检测-3 (4 学时)

【教学目标和要求】

1.补体结合试验

(1) 掌握补体结合试验概念：是一种有补体参与，以绵羊红细胞和溶血素（抗 SRBC 的抗体）作为指示系统的抗原抗体反应体系。

(2) 参与补体结合反应的五种成分可分为两个系统：①待检系统：已知抗原（或抗体）、待检抗体（或抗原）②指示系统：SRBC、溶血素。

2.外周血单个核细胞的分离

(1) 掌握密度梯度离心法分离外周血PBMCs的实验原理：本实验利用系统各组分比重不同将其分离的，淋巴细胞和单核细胞比重为 1.070，粒细胞和红细胞比重为 1.092，而淋巴细胞分离液比重为比重为 1.077±0.001，处于二者之间。通过离心，使不同比重的细胞按相应密度梯度分布。

3.抗体制备进行第三次免疫。

【主要仪器设备和药品】

主要仪器设备：水平式离心机、水浴箱、移液器、枪头、滴管、计数板、盖玻片、显微镜。

药品：抗原、待检血清、绵羊红细胞、溶血素、2%绵羊红细胞、补体、生理盐水、淋巴细胞分离液、抗凝绵羊血

动物：小鼠

【实验的难点】

补体结合试验影响因素很多，对照管的反应情况是否正常是判断试验可信的参照。

外周血单个核细胞分离实验：稀释血液一定小心添加至淋巴细胞分离液上方，并形成清晰分界线；要用水平转头的离心机，且离心机转速的增加和减少要均匀、平稳，以保持细胞界面的清晰。

【实验的重点】羊血用前轻轻摇匀，避免剧烈震荡引起溶血。各种试剂的吸管不要混用。补体性质较不稳定，低温保存，加样时再从冰箱取出。水浴时避免水滴进试管。无 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的Hank's 液、血液稀释、离心启动及停止要缓慢。

【实验安全和环保要求】正确抓取小鼠，避免咬伤，注射器针头置于利器桶、所有实验废弃物按照生物垃圾处理。操作全程应尽可能在较短的时间内完成，以减少死细胞的数目。

小鼠尸体送动物中心集中处理。

实验四 免疫标记技术、抗体制备与检测-4 及吞噬细胞吞噬实验（4 学时）

【教学目标和要求】

1.介绍免疫标记技术的类型及原理。

2.掌握小鼠免疫方案及免疫效果评估方式。

3.酶联免疫吸附实验 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay , ELISA),实验原理和实验方法

4.掌握一种激活巨噬细胞和检测其吞噬功能的方法

【主要仪器设备和药品】

设备：酶标板、加样器、注射器、弯镊子、Ep 管、离心机、滴管、37℃孵箱

药品：戊巴比妥钠、包被缓冲液、洗涤缓冲液、底物缓冲液、底物（OPD）、一抗、酶标二抗、抗原、 H_2O_2 。

【实验的难点】免疫方案的优化、血清采集及稀释。

【实验的重点】洗涤彻底、避光显色、避免交叉污染、小鼠免疫剂量、次数。

【实验安全和环保要求】正确抓取小鼠，避免咬伤，所有实验废弃物按照生物垃圾处理。小鼠尸体送动物中心集中处理。