

凝胶免疫电泳技术





凝胶免疫电泳技术

电泳分析与**沉淀**反应的结合产物，是直流电场作用下的凝胶扩散试验，是将抗原抗体反应的**高度特异性**与电泳技术的**高分辨率**及**快速**、**微量**等特性相结合的一种免疫化学技术。



优点

- 1) 加快了沉淀反应的速度
- 2) 提高了灵敏度
- 3) 分析更细微

动画：为什么凝胶免疫电泳技术优于凝胶内沉淀试验？



哪一个孔里的抗原 (Ag) 先找到抗体？

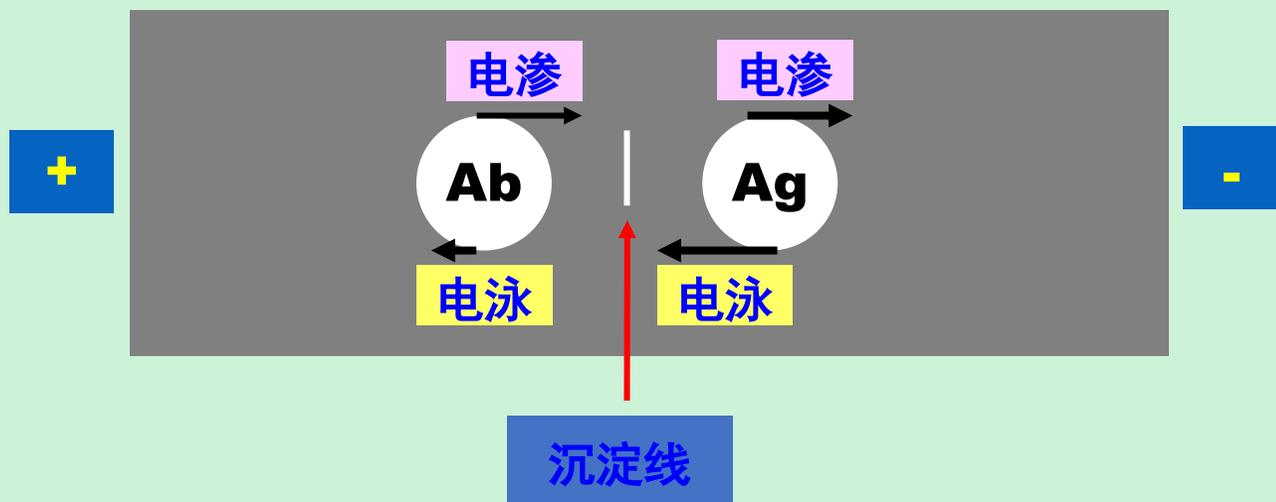


试验类型

- 1、**对流免疫电泳（双扩+电泳，同时进行）**
- 2、**火箭免疫电泳（单扩+电泳，同时进行）**
- 3、**免疫电泳（先电泳，后双扩）**
- 4、**免疫固定电泳（先电泳，后沉淀反应）**



试验类型1 对流免疫电泳

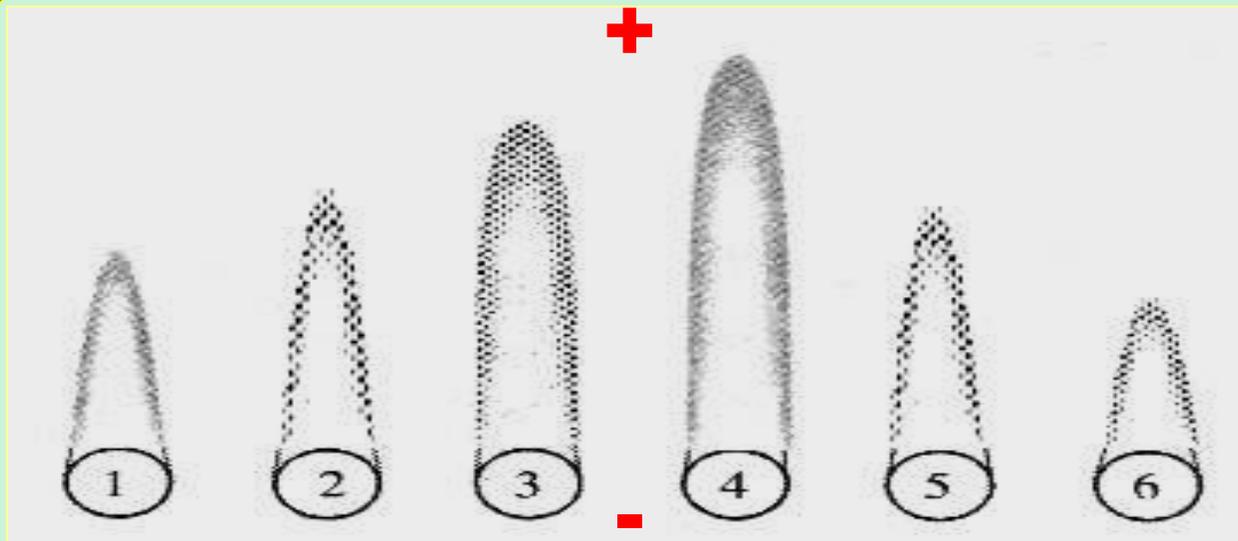


动画：对流免疫电泳是怎样对流的？



试验类型2 火箭免疫电泳

峰形高低
(H) 与Ag
量成正比

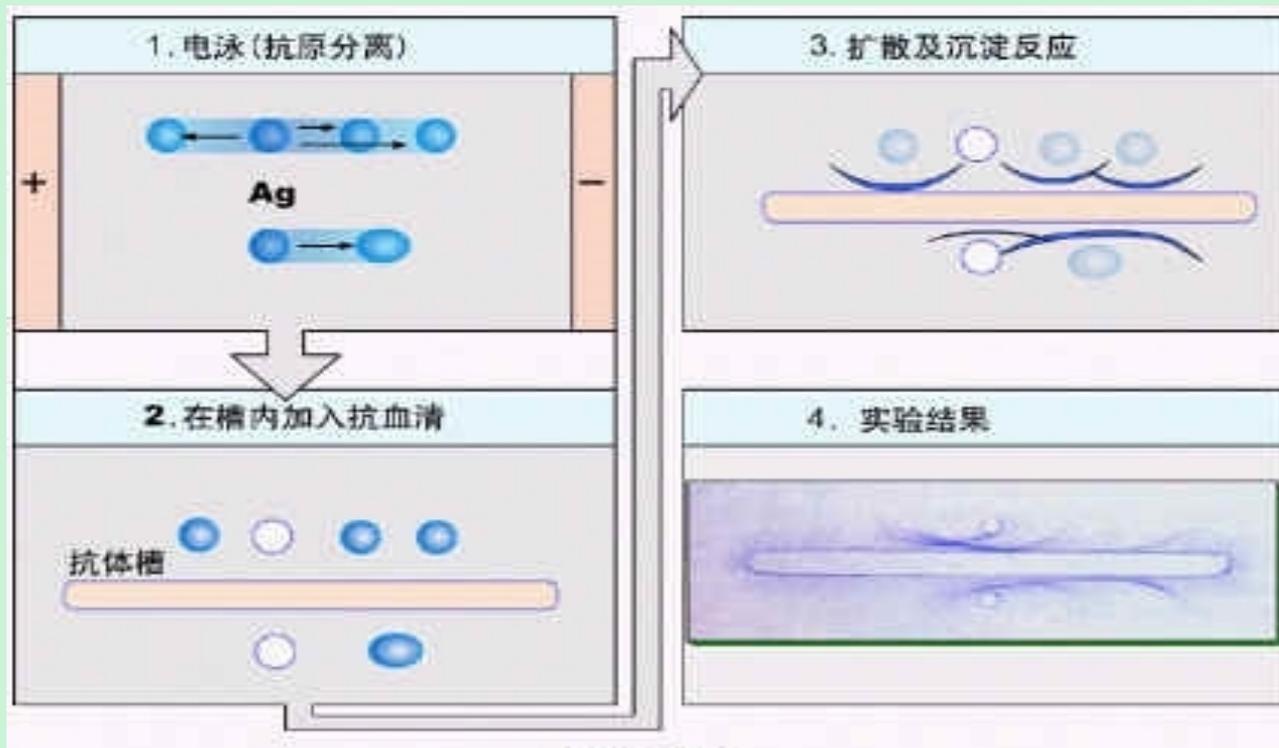


火箭免疫电泳图
①②③④为标准抗原；⑤⑥为标本



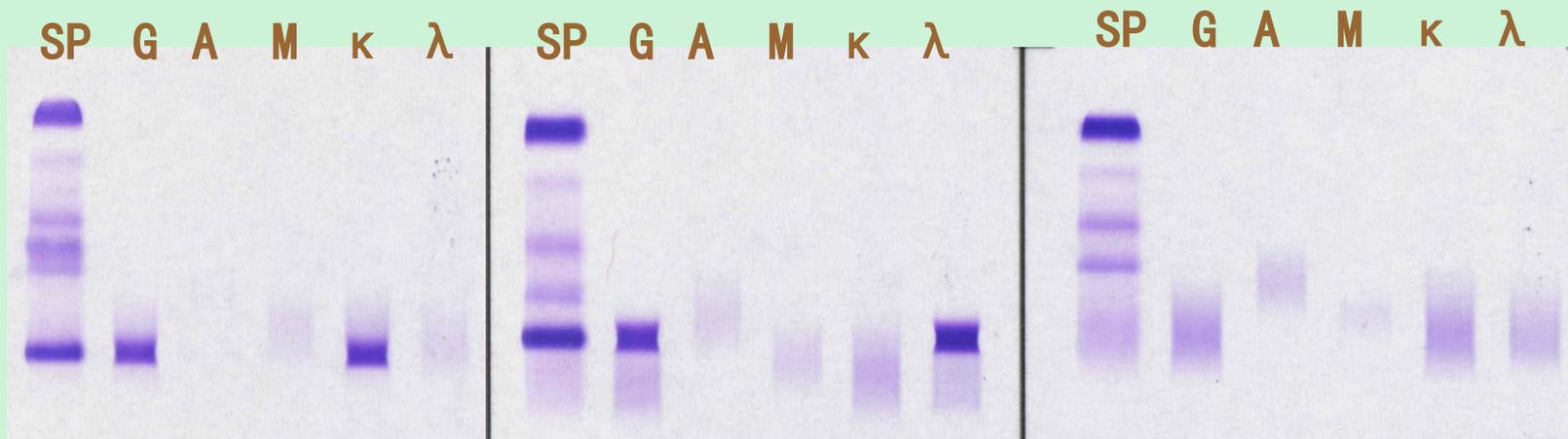
试验类型3 免疫电泳

动画：免疫电泳技术检测纯化抗原是否成功





试验类型4 免疫固定电泳



动画：多发性骨髓瘤M蛋白的产生

动画：免疫固定电泳测M蛋白的基本过程

凝胶内沉淀试验





凝胶内沉淀试验

指可溶性抗原、抗体在含有电解质的凝胶内自由扩散形成浓度梯度，二者在比例合适的位置形成肉眼可见的沉淀线或沉淀环。



常用凝胶

琼脂、琼脂糖、葡聚糖、聚丙烯酰胺凝胶（PAGE）

试验类型

双向琼脂扩散试验（双扩）；单向琼脂扩散试验（单扩）



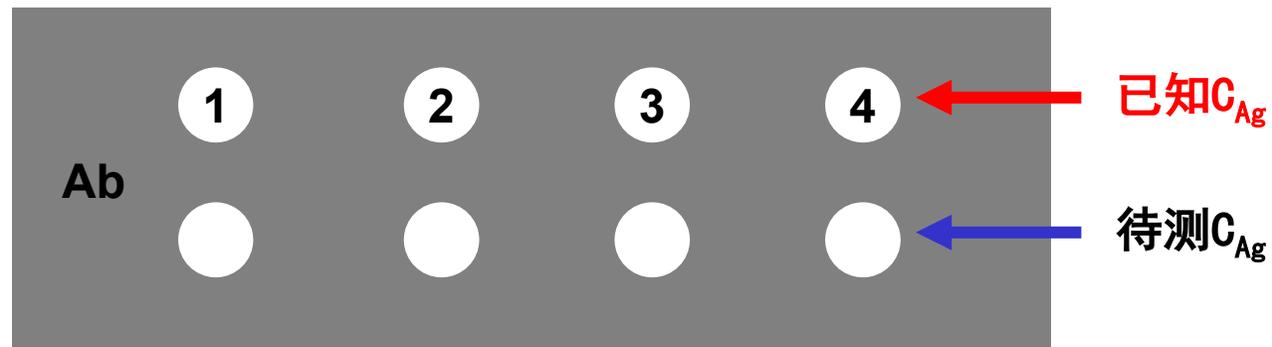
单向琼脂扩散试验

将**定量抗体**混匀在**琼脂**中，继而加入**待测抗原**溶液使其在凝胶内局部**向周围自由扩散**，抗体与待测的抗原，在两者**比例合适**的部位结合形成**白色沉淀环**，环的大小（ d ）与抗原的浓度**成正比**（**可定量**）。



单向琼脂扩散试验基本过程

准备一张洁净载玻片→配琼脂（先加热溶解，然后冷却至50°C左右时加入已知Ab）→制板→打孔→1、2、3、4孔加已知浓度Ag→下一排孔加待测Ag→37°C，16h→量出各沉淀环直径d→ $d-C_{Ag}$ 绘制标准曲线→查得待测Ag含量

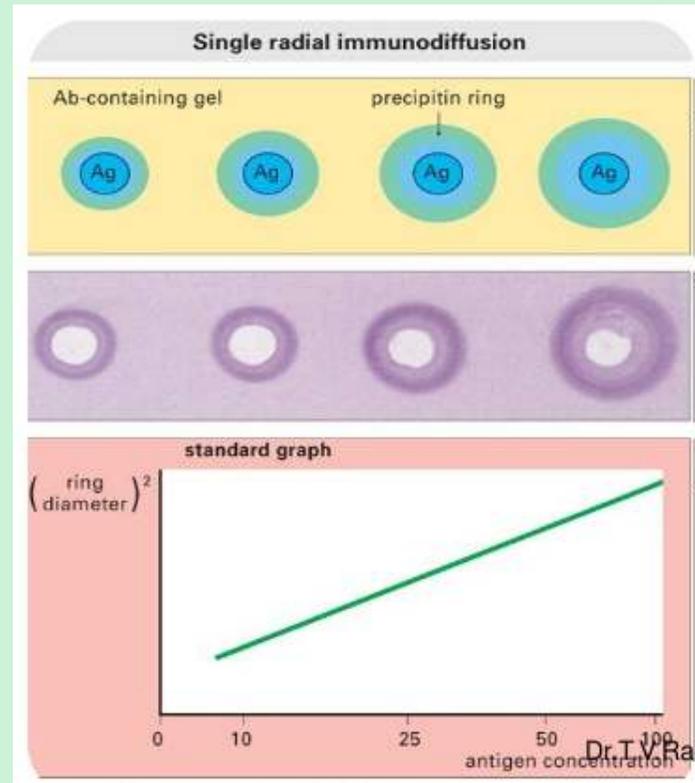




单向琼脂扩散试验形成的沉淀环及标准曲线

环的大小 (d) 与抗原的浓度
(C) 成正相关 (可定量)

动画：单向琼脂扩散试验是怎样
对抗原进行定量的？





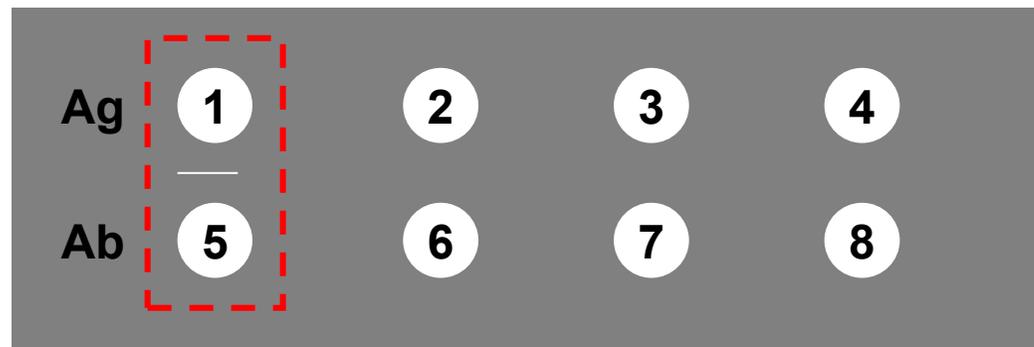
双向琼脂扩散试验

将**抗原抗体**分别加在琼脂糖不同的对应孔中，两者在**凝胶中自由扩散**，在比例合适处形成**白色沉淀线（可定性、半定量）**。



双向琼脂扩散试验基本过程

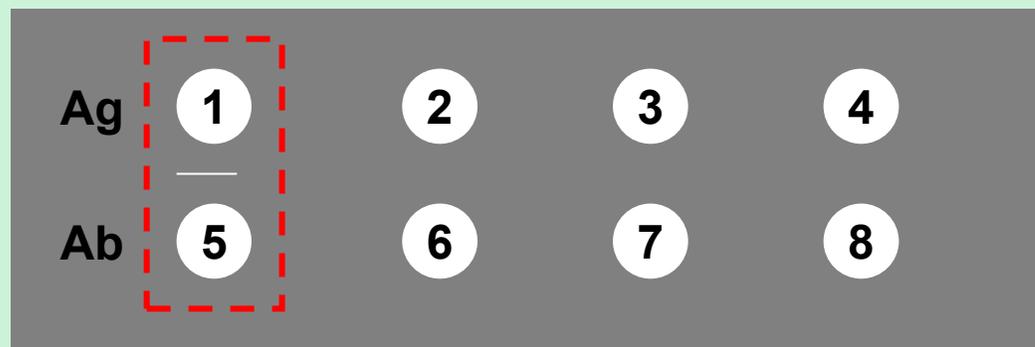
准备一张洁净载玻片→配琼脂（先加热溶解，然后冷却至50℃）→制板→打孔→1、2、3、4孔加Ag→5、6、7、8孔加Ab→37℃，16h→观察每对Ag和Ab间沉淀线形成情况





双向琼脂扩散试验的应用

1、抗原或抗体的定性分析（有无沉淀线）



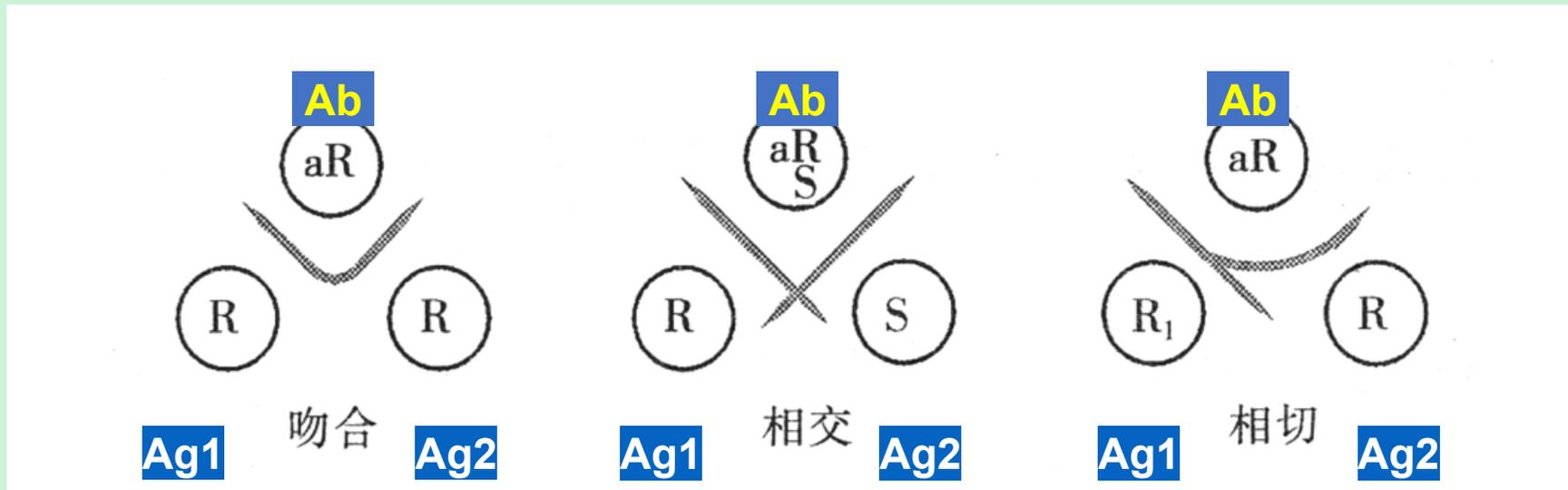
2、抗原或抗体的相对分子量和相对浓度的分析

动画：怎样解读双向琼脂扩散试验形成的沉淀线？



双向琼脂扩散试验的应用

3、分析抗原的性质 (完全相同 “√” ; 部分相同 “√上一点” ; 完全不同 “×”)





双向琼脂扩散试验的应用

4、抗体效价测定

出现沉淀线最高的抗体稀释度

5、抗原或抗体纯度鉴定

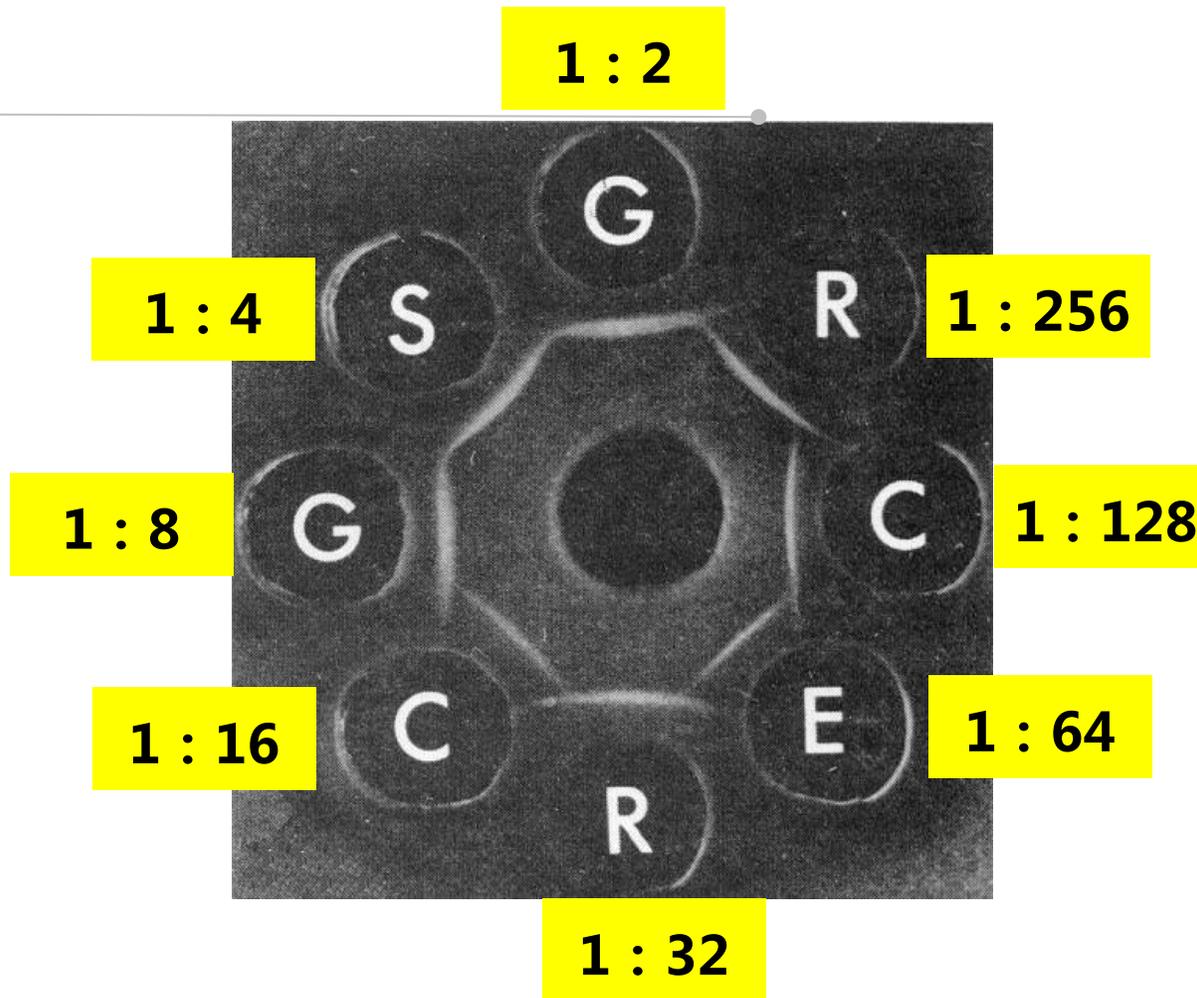
微课：双向琼脂扩散试验测效价（走迷宫2）



● 提问

右图中抗体的效价为多少？

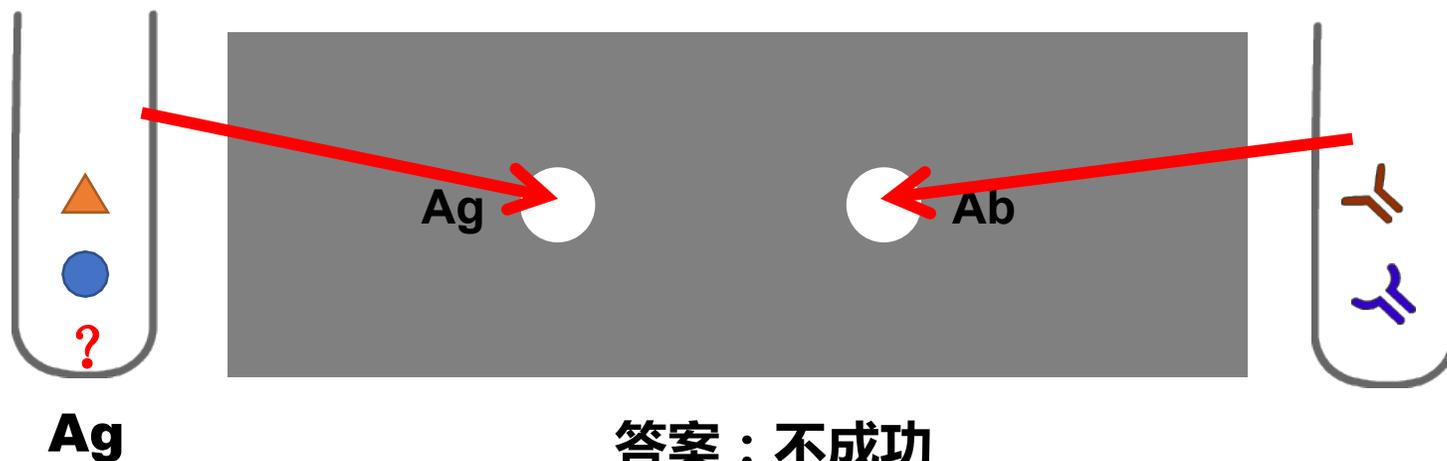
答案：效价大于等于1 : 256





提问

将试管中的三角形抗原进行提纯后，用双扩检查纯化效果，结果如下图所示，请问纯化的操作是否成功？



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：
<https://d.book118.com/278113036075007000>