

# 关于放射免疫检测 技术



# 基本内容

- 一、放射免疫检测技术的基本原理
- 二、放射免疫分析（RIA）
- 三、免疫放射分析（IRMA）
- 四、RIA与IRMA的比较
- 五、放射免疫分析中造成测量误差的因素
- 六、核废物的处理
- 七、应用
- 八、课堂小结
- 九、作业

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

- 1、7个基本概念
- 2、常用的放射性核素
- 3、放射性核素的选择原则
- 4、放射性标记的抗原或抗体的要求
- 5、制备放射性核素标记物
- 6、放射性标记物的纯化
- 7、理想的分离技术
- 8、免疫复合物分离常用方法
- 9、核射线探测仪器的探测原理

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 1、7个基本概念

(1)**放射性核素**：是指原子核能自发地产生成分或能级的变化，在变化时伴有射线的发射（放射性），然后变成另一种元素的核素。

放射量单位有：

- ①放射性活度
- ②放射性比活度
- ③放射性浓度

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 1、7个基本概念

(2) **放射性活度**：一定量的放射性核素在单位时间内的核衰变数，即每秒核衰变次数。

**单位**：贝可勒尔(Becquerel, Bq)

$$1\text{Ci}=3.7\times 10^{10}\text{Bq}$$

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 1、7个基本概念

(3) **放射性比活度**：是指**固体样品**的放射性活度，即单位质量样品中所含放射性活度，以**Bq/g或Bq/mmol**表示。

(4) **放射性浓度**：是指**液体样品**的放射性活度，即单位体积溶液中所含放射性活度，以**Bq/ml**表示。

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 1、7个基本概念

(5) **比活度**：是**单位质量**标记物的放射强度，单位为**Bq/μg**。

标记抗原的比放射性越高，所需标记抗原量越少，实验系统的敏感度越高。

但过高的比放射性可能会损伤抗原的免疫活性。如碘标记化合物以单碘标记为宜。

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 1、7个基本概念

(6) **放射化学纯度**：是指结合于抗原上的放射强度占总放射强度的百分率。

### 影响因素：

- ① 被标记物不纯，杂质也被放射性核素标记；
- ② 标记后的分离纯化不完全；
- ③ 标记化合物贮存过程中的碘脱落。



# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 1、7个基本概念

(7)免疫活性：指标记抗原结合于抗体的放射强度占总放射强度的百分率。

以检查标记后免疫活性损失情况。



# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 2、常用的放射性核素：

放射性核素依据衰变方式分 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 三种，用于放射性标记的有 $\beta$ 和 $\gamma$ 两类；分别用液体闪烁计数器及 $\gamma$ 计数器测定。

$\beta$ 型： $^3\text{H}$ （最常用）、 $^{14}\text{C}$ 和 $^{32}\text{P}$ 。

$\gamma$ 型： $^{125}\text{I}$ （最常用）、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{51}\text{Cr}$ 和 $^{60}\text{Co}$ 。

# $^{125}\text{I}$ 和 $^3\text{H}$ 标记物特点比较

	$^{125}\text{I}$ 标记物	$^3\text{H}$ 标记物
标记方法	方法简便，易获得高比放射性标记物	方法较难，不易获得高比放射性标记物
对标记化合物影响	标记时以I代替H1改变物质结构，可影响抗原免疫学活性	不改变抗原结构，一般不影响抗原免疫活性
测量方法	方法简便、效率高	方法复杂，效率低
测量仪器	$\gamma$ 计数器	液体闪烁计数器
半衰期	60.2天	约11年
废弃物	处理容易	较难

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 3、放射性核素选择原则

高比活度、适宜半衰期、对抗原或抗体没损害、容易标记。

## 4、放射性标记的抗原或抗体的要求

纯度高、灵敏、有足够或完整的免疫活性、高亲和常数、特异性强、交叉反应率低。

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 5、制备放射性核素标记物

### (1)直接标记法

将 $^{125}\text{I}$ 直接结合在蛋白质侧链的酪氨酸残基苯环上，形成单碘酪氨酸或双碘酪氨酸。操作简便，结合效率高，但只能标记含酪氨酸的化合物，有时可能会损害蛋白质的活性。

### (2)间接标记法

先将放射性碘连接到一个小分子载体上，再将这个小分子载体与蛋白质结合。

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 6、放射性标记物的纯化

可用葡聚糖凝胶过滤法或薄层层析法、纸层析法、电泳法、高效液相层析法等。

理想的放射性标记物：

高放射化学纯度  
适当的比放射性  
高的免疫活性。

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 7、理想的分离技术

- ①简便易行，适于大批量样品分析；
- ②分离效果完全、快速，非特异结合低；
- ③试剂来源容易、价格低廉、稳定性好、可长期保存；
- ④不受外界因素和样品中其他组分的干扰，对标准品和待测抗原分离效果相同；
- ⑤适合自动化分析的要求。

# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 8、免疫复合物分离常用方法

### (1).吸附法

用吸附剂 (如活性炭)吸附小分子的游离。

### (2).化学沉淀法

RIA反应条件接近抗体的等电点, 加入聚乙二醇(PEG)等蛋白质沉淀剂可破坏蛋白分子表面的水化层而使蛋白沉淀, 从而分离B与F。

### (3).双抗体法

利用抗抗体和\*Ag-Ab复合物中的抗体结合, 形成更大免疫复合物, 离心沉淀即可分离B与F。

### (4).PR试剂

将双抗体法和PEG结合起来的沉淀法, 可弥补各自的不足, 分离效果好, 适用范围广。

### (5).固相分离法

将抗体或抗原结合在固相载体 (如磁颗粒、聚苯乙烯管子或珠等) 上, 利用固相抗体或抗原分离B和F, 具有简便、快速、适合于自动化分析等特点, 已逐步取代传统的液相分离方法。



# 一、放射免疫检测技术的基本原理

## 9、核射线探测仪器的探测原理

核射线探测器是个能量转化器，其检测原理是当射线作用于闪烁体，闪烁体吸收了射线的能量而引起闪烁体中的原子或分子激发，当受激的原子或分子退激时，则发出光子进入光电倍增管光阴极，转换为光电子，光电子在光电倍增管电场作用下到达阳极，形成电脉冲。



**转换模式：放射能→光能→电能→脉冲。**

## 二、放射免疫分析（RIA）

### 1、基本原理

抗原抗体竞争性结合反应，即待测抗原 (**Ag**)和定量的标记抗原(**\*Ag**)与限量的抗体 (**Ab**)进行特异性反应，其中**Ab**的结合位点数小于**Ag + \*Ag**的结合位点总数，则**Ag**和**\*Ag**与**Ab**发生竞争性结合。如待测**Ag**含量多，则**Ag-Ab**复合物形成得多，**\*Ag-Ab**复合物 (**B**)形成少，游离的**\*Ag** (**F**)多，反之亦然。

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/718123051017006062>