

人载脂蛋白 A I 羊多抗血清制备技术规程

Technical regulations for production of sheep anti-human

apolipoprotein A I polyclonal antiserum

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由江苏丘陵地区镇江农业科学研究所提出。

本文件由江苏省畜牧业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：江苏丘陵地区镇江农业科学研究所、句容市农业农村局、江苏大学、江苏省农科院。

本文件主要起草人：徐志伟、姚明霞、徐一然、温小林、邓碧华、于建宁、李云、胡强、张兆丽、谭圣伟、盛媛媛。

人载脂蛋白 AI羊多抗血清制备技术规程

1 范围

本文件运用于人载脂蛋白 AI羊多抗血清制备中羊品种选择和饲养要求、免疫佐剂选用、抗原乳化、抗原接种、抗体效价评估、抗血清制备的步骤和方法。

2 规范性引用文件

本文件无规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

载脂蛋白 AI Apolipoprotein AI

用于运输血液中脂类的高密度主要载脂蛋白，AI是载脂蛋白A族中最多的一种组分，约占HDL颗粒的65%，主要在肝脏、部分在小肠合成。

4 羊的选择和饲养要求

选用体重30kg—40 kg生长发育良好、10月龄左右的健康羊。采用群养放牧，适当补饲方式，每天早晚观察羊的健康状况。

5 抗原要求

人血清通过优化PEG沉淀、离子交换吸附的方法，纯度达96%。

6 免疫佐剂选用

首次免疫佐剂采用弗氏完全佐剂，从第二次免疫开始，采用弗氏不完全佐剂。

7 抗原乳化

采用高速剪切法乳化抗原。乳化容器需放置在降温夹套中，将佐剂按需要量置于乳化容器中，用吸管以60滴/min的速度缓慢加入载脂蛋白AI抗原溶液，用漩涡混合器以1.5万

rpm/min混合均匀，抗原溶液全部加完后，再持续混合15min。

8 抗原接种免疫剂量和部位

每只羊免疫抗原剂量为 1mg，抗原浓度为 1mg/ml,为各部位平均接种。不同免疫次数间的间隔天数和部位，见表 1。

表 1 免疫剂量和部位

次数	间隔天数 (d)	免疫接种部位
第 1 次	0	腹股沟、肘部、耳后、额下、背侧和足窝
第 2 次	15	腹股沟、肘部、耳后、额下、背侧和腹股沟 淋巴结
第 3~9 次	9	腹股沟、肘部、耳后、额下和背侧

9 抗体效价评估

在第 7 次免疫后动脉采血检测抗体水平，采用琼脂扩散法进行效价测定，效价不低于 1：16，可以判定为合格，可以采血。

10 抗血清制备

10.1 采血

在检测抗体水平达到效价要求后，采用动脉一次性采血。血液用 250 mL 玻璃瓶收集，血液占玻璃瓶的 1/5。

10.2 血清制备

把收集好血液的玻璃瓶，放在 37℃恒温水浴锅中 1h 后，把玻璃瓶从水浴锅中取出；再把血清从玻璃瓶中吸出；用低速离心机 4500 rpm/min，离心 15 min，取上清液，颜色为乳白色或微黄色，去掉沉淀物杂质。

10.3 外观质量

血清应呈黄色或微红色血清状液体，允许少量的絮状物或沉淀。

10.4 血清保存

血清用灭菌处理的塑料瓶保存。在-20℃保存 3 年，或-70℃保存 6 年。

10.5 记录

对生产全过程、血清保存和使用情况记录、归档。
