

血型鑑定 & 血液抹片製作

劉佩芬老師

高雄醫學大學
生物醫學暨環境生物學系

實驗背景介紹

人類血型

- ▶ 19世紀初期就有醫師使用輸血的技術拯救失血的病人，但有時卻造成病人的死亡。
- ▶ 西元1900年奧地利醫生蘭德斯坦納（Karl Landsteiner，1868～1943）及其學生，將不同人的血液相混合，發現有些混合的血液會有凝集現象。不同血型間進行輸血時，可因紅細胞表面抗原與血清中天然血型抗體結合產生凝集反應，在補體存在時，可發生溶血現象。故臨床上給病人輸血時，必須先鑑定血型，同時需進行交互配血試驗，以複查有無錯誤或有無亞型存在。

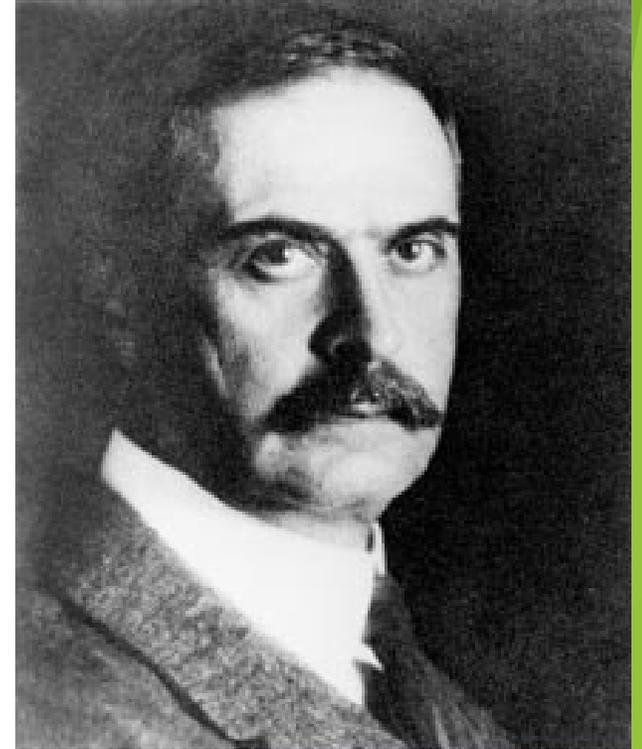


圖6-23 奧地利的醫生蘭德斯坦納



<https://www.youtube.com/watch?v=Dd8GbZZvpVM> (4:44)

血型分型

- ▶ 紅細胞、白細胞、血小板各有自己複雜的抗原系統和血型分類方法，但臨床血型主要指紅細胞血型。
- ▶ 自1901年發現ABO血型系統以來，迄今已發現的人類紅細胞血型系統至少有30個，但在臨床輸血工作中最重要的還是ABO血型系統。
- ▶ ABO血型系統根據人類紅細胞表面A抗原和B抗原的分佈，將人類分為A型、B型、AB型與O型四個血型。

《好奇頻道》 <http://www.ChihChih.net>

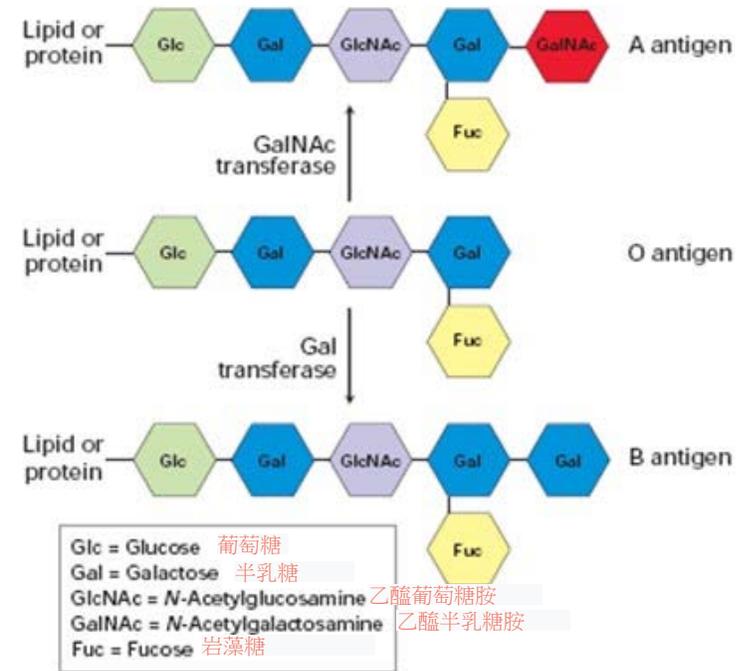
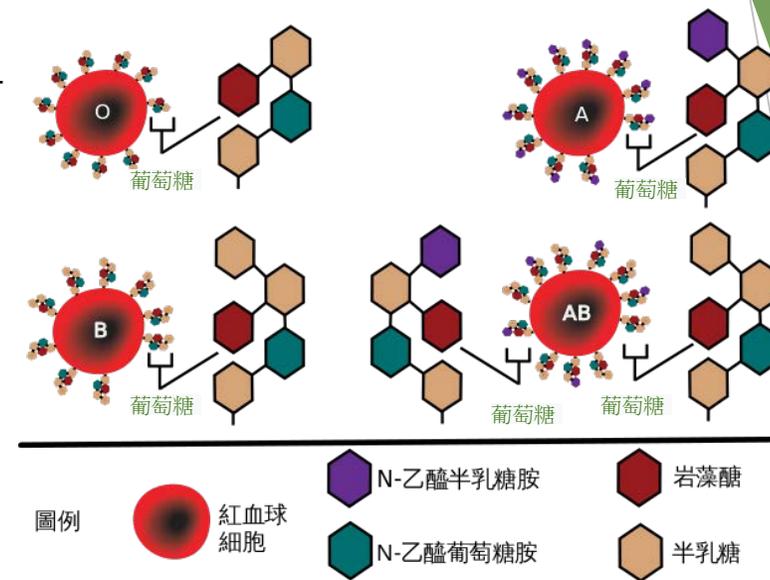


1930年的諾貝爾獎得主合影
側坐者即為發現人類血型的蘭德施泰納醫師

- ▶ 血型的種類是由紅血球細胞的**抗原(antigen)**決定。
- ▶ 每個人的血漿中都不**含**與自身紅血球細胞表面**抗原**相對抗的**抗體**。

- 1) A型者：血漿中只含有抗體B
- 2) B型者：血漿中只含有抗體A
- 3) AB型者：血漿中不含抗體A及抗體B
- 4) O型者：血漿中含有抗體A及抗體B

血型	基因型	表現型	
		紅血球表面抗原	血漿中抗體
A型	$I^A I^A$ 、 $I^A i$	抗原A	抗體B
B型	$I^B i$ 、 $I^B I^B$	抗原B	抗體A
AB型	$I^A I^B$	抗原A和B	—
O型	ii	—	抗體A和B

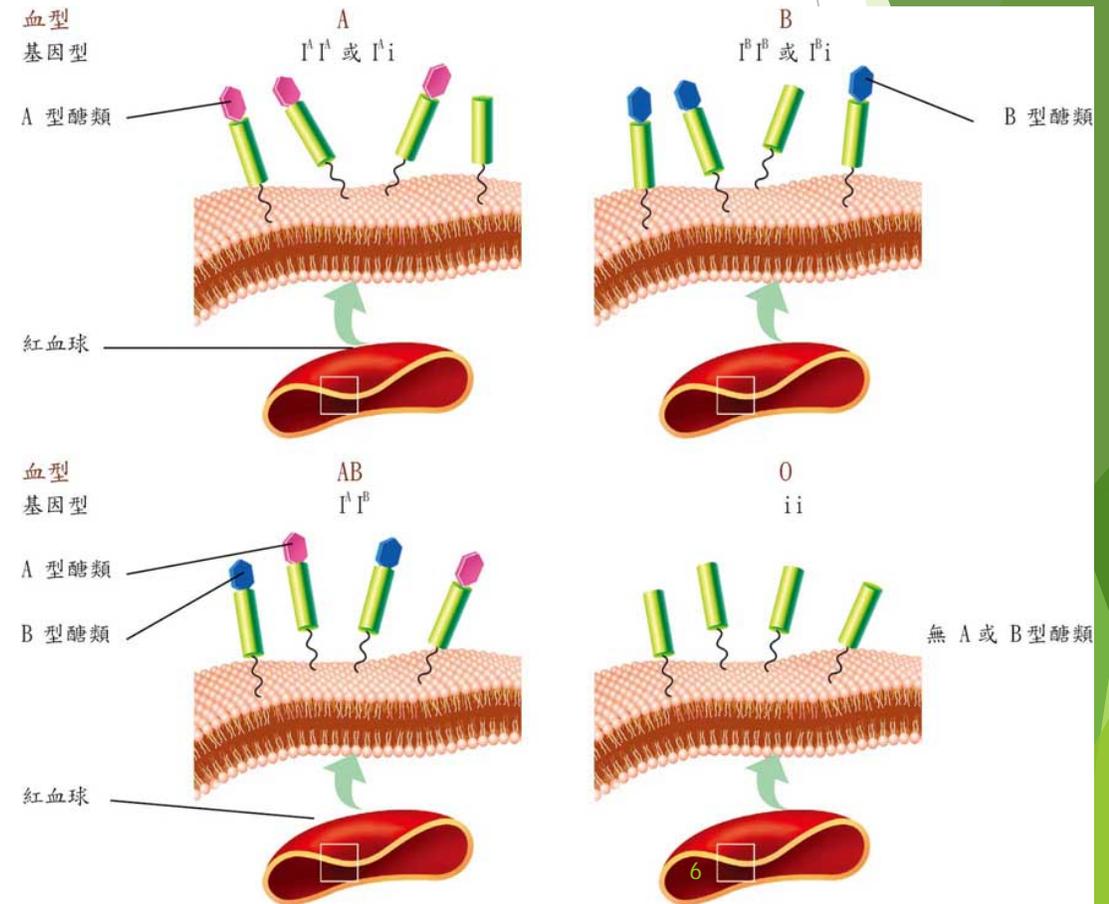


血型遺傳

- ▶ 細胞膜上所含的不同抗原和遺傳基因有關。
- ▶ ABO血型是由三個等位基因 I^A 、 I^B 、 i 決定其性狀。

 表 5.2 血液基因型及其表現型

基因型	表現型
$I^A I^A$	A
$I^B I^B$	B
$I^A I^B$	AB
ii	O
$I^A i$	A
$I^B i$	B



▶ ABO血型的基因位置：

決定ABO血型的基因是位於第九對染色體上，且是由三個等位基因組成，具有六種不同組合的基因型 ($I^A I^A$ 、 $I^A i$ 、 $I^B I^B$ 、 $I^B i$ 、 $I^A I^B$ 及 ii)

▶ 體染色體的遺傳。



知乎 @Dr.GuōZP

例如:

1. A型夫婦 ($I^A i \times I^A i$) 所生的子代

基因型有三種，其比例為 $I^A I^A : I^A i : ii = 1 : 2 : 1$

表現型有兩種，其機率為 A型 : O型 = $3 / 4 : 1 / 4$

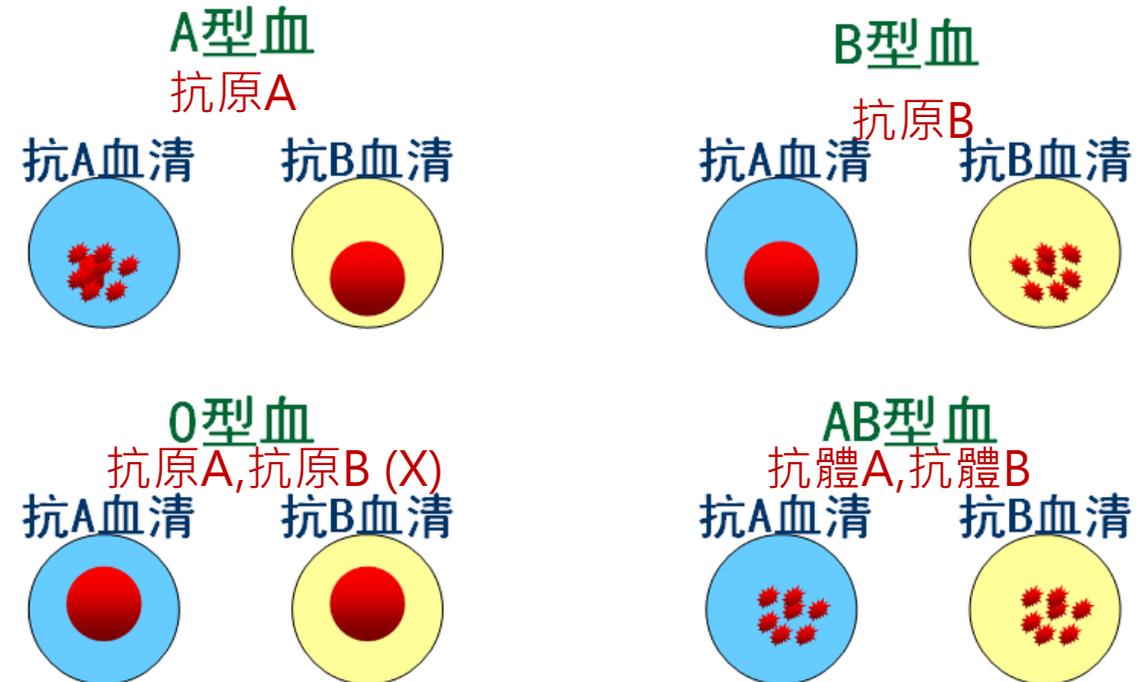
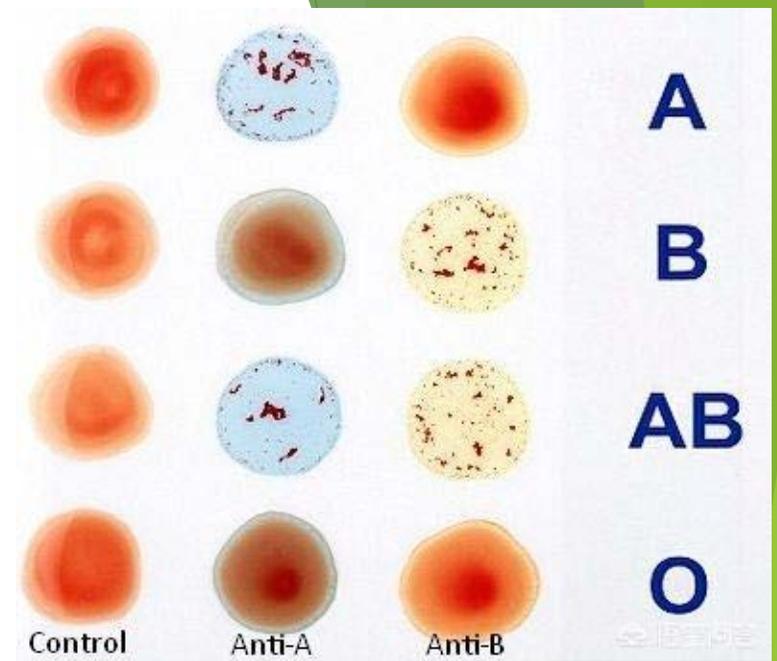
2. 親代 A型($I^A i$) × A型($I^A i$)
配子 I^A i I^A i

子代	♀	I^A	i
	♂	I^A	i
	I^A	$I^A I^A$ (A型)	$I^A i$ (A型)
	i	$I^A i$ (A型)	ii (O型)

圖6-24 人類的血型遺傳：A型父親與A型母親所生子女的可能血型有A型及O型。

血液凝集

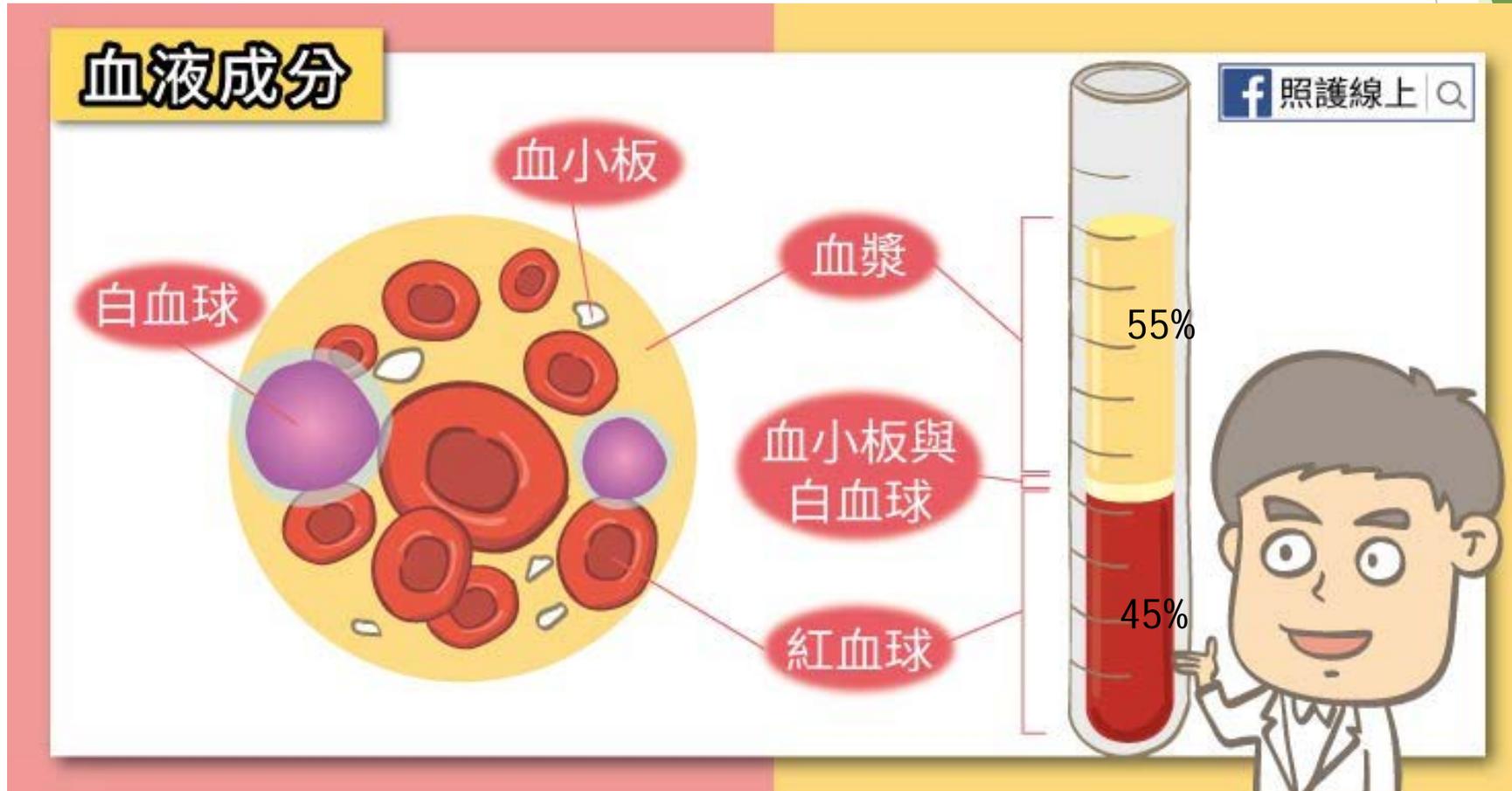
- ▶ 鑑定血型是利用抗原A和抗體A（抗A血清）相遇會凝集，抗原B和抗體B（抗B血清）相遇會凝集的原理。
- ▶ 檢驗情形如下：在一載玻片的兩邊，先分別加上一滴不同的抗體（A、B），再加上受驗者的血液。
- ▶ 每個人的血漿中都不含與自身紅血球細胞表面**抗原**相對抗的抗體。
 - 1) A型者：血漿中只**含有抗體B**
 - 2) B型者：血漿中只**含有抗體A**
 - 3) AB型者：血漿中**不含抗體A及抗體B**
 - 4) O型者：血漿中**含有抗體A及抗體B**



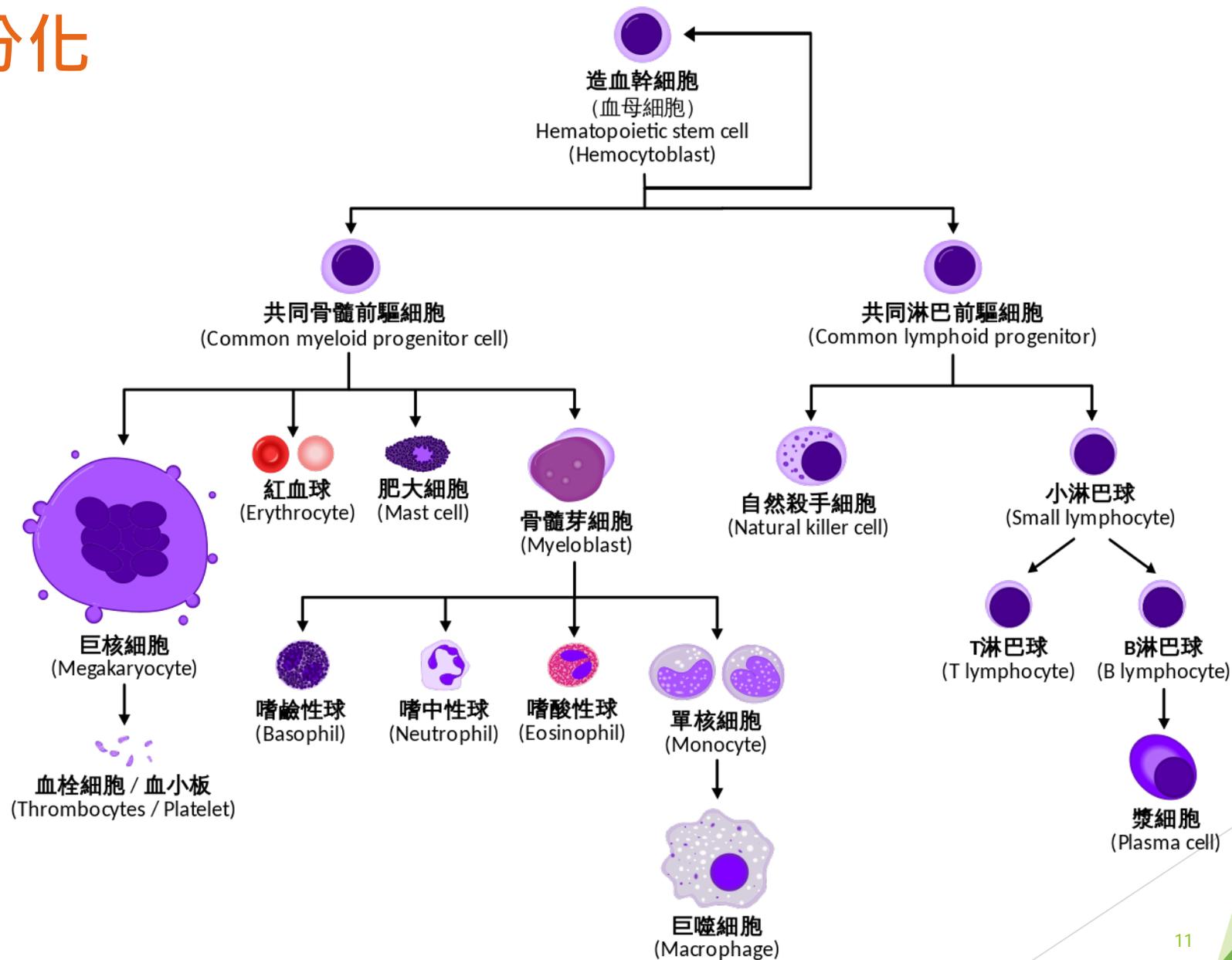
血液

(1) **血球**可分為紅血球、白血球和血小板等，分別具有協助氣體運輸、防禦疾病和血液凝固等功能。

(2) **血漿**略呈淡黃色，其成分中約90%是水，7~8%是血漿蛋白，其餘為養分、廢物或氣體等。血漿中的蛋白質種類繁多，如**抗體**、**激素**、**酵素**等，具有各種重要功能。

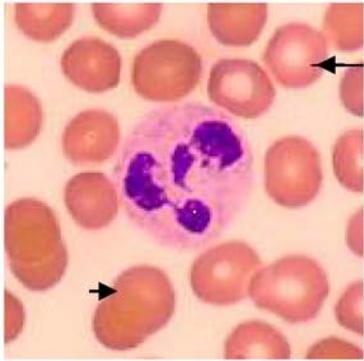
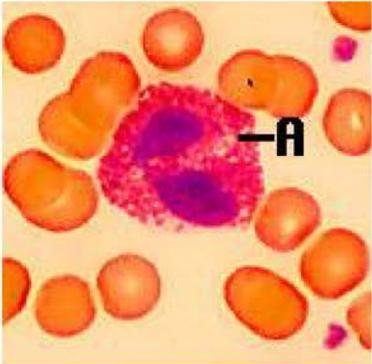
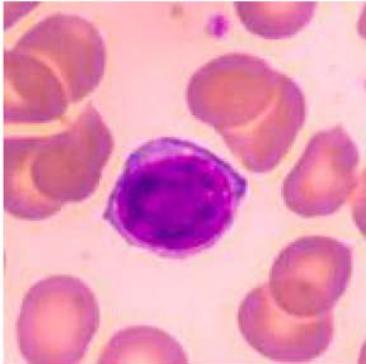
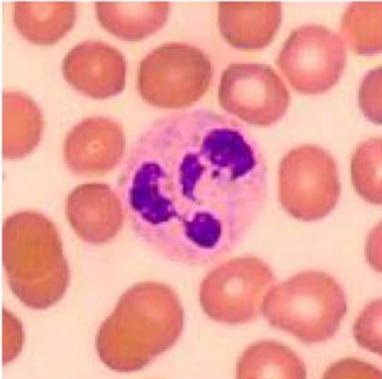


血球分化



血球

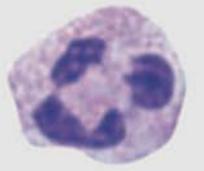
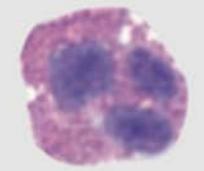
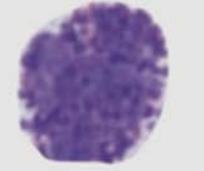
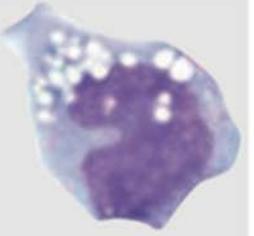
人體的血液由紅血球、白血球、血小板和血漿組成。紅血球為雙凹圓盤狀，無核，直徑約 7-8 μm 。白血球可依其型態與功能分為下列數種：

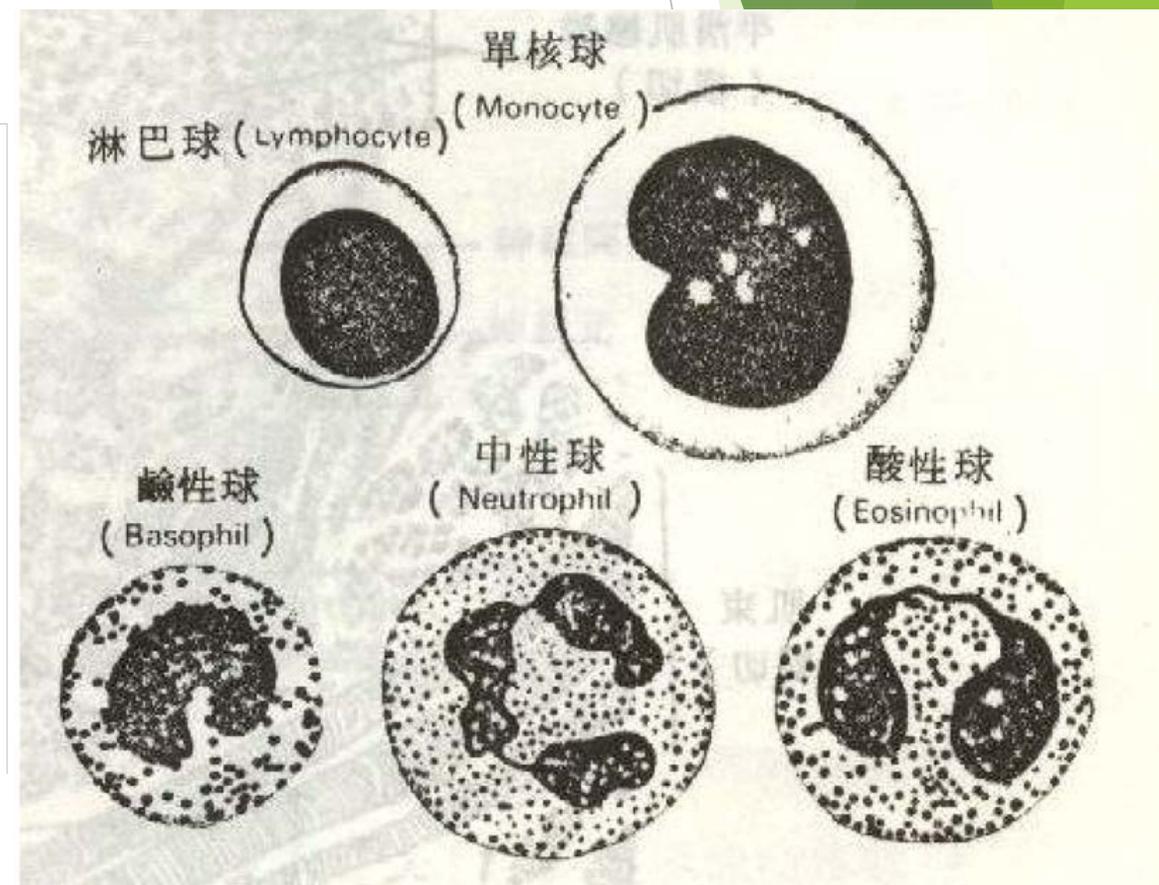
紅血球(erythrocyte)	單核球(monocyte)	嗜鹼性球(basophil)
		
嗜酸性球(eosinophil)	淋巴球(lymphocyte)	嗜中性球(neutrophil)
		

圖片來源: <http://www.unomaha.edu/hpa/blood.html>

出自: 高醫大生物系實驗課講義

白血球

Polymorphonuclear granulocytes			Mononuclear agranulocytes	
Neutrophil	Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lymphocyte
				
60%–70%	1%–4%	0.25%–0.5%	2%–6%	25%–33%



白血球	佔白血球(%)	大小(μm)	核型	顆粒
單核球	3-7	12-20	腎型	無
淋巴球	25-33	7-18	卵型	無
顆粒球	嗜中性球	65-80	3-5 葉	細小淺粉紅色
	嗜酸性球	2-4	2-3 葉	較大圓形紅色
	嗜鹼性球	0.5-1	不規則	大小不一藍色

單核球

多核球

實驗材料與步驟介紹

血型鑑定

實驗材料

載玻片、酒精棉、採血針、抗 A 抗原抗體(anti-A antibody)、
抗 B 抗原抗體(anti-B antibody)



實驗步驟

- ▶ 1. 取酒精棉擦拭、局部消毒指尖採血部位，並待酒精自然揮發
- ▶ 2. 以採血針自消毒指尖採血，由第二指節向指尖方向輕握施壓，使血液自採血處自然滲出，並將流出之第一滴血液拭去不用
- ▶ 3. 分別滴兩滴血液於載玻片上
- ▶ 4. 取一滴anti-A抗體與一滴anti-B抗體分別與上述兩滴血液混合，以牙籤輕微攪拌後，觀察凝集反應，判別血型



實驗原理與技術介紹

血液抹片製作 (免疫血球細胞觀察)

實驗材料

載玻片數片、酒精棉、採血針、顯微鏡、
劉氏染劑(Liu' s stain)

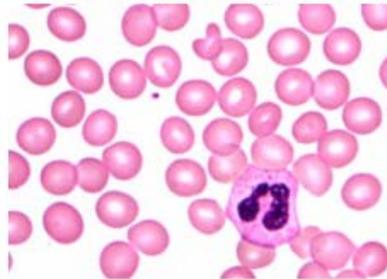
劉氏染劑 (Liu stain):

酸性染料伊紅 (Liu A) → 鹼性染料亞甲藍 (Liu B)

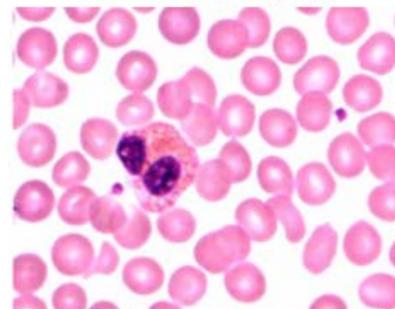
LiuA含有Eosin Y(伊紅)，可將細胞質、血紅蛋白、嗜酸性顆粒(嗜酸性物質)等染成紅色。

LiuB則含有methylene blue (亞甲藍)，可和細胞核蛋白、嗜鹼性白血球與淋巴細胞胞漿(嗜鹼性物質)作用，染成藍紫色。

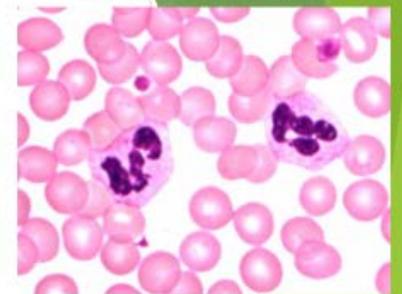
紅血球 (Erythrocyte, RBC)



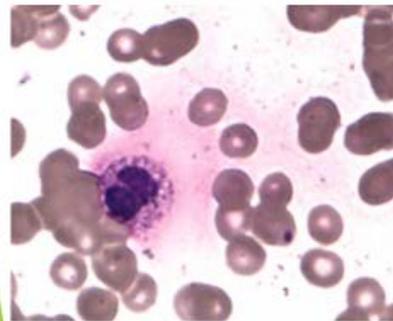
嗜酸性球 (Eosinophil)



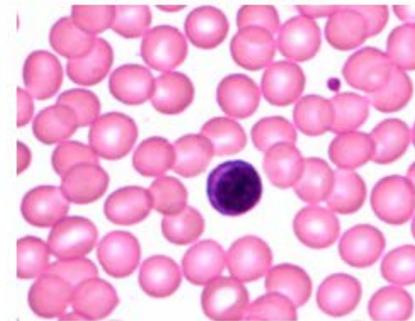
嗜中性球 (Neutrophil)



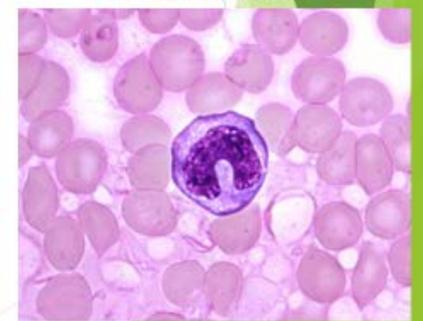
嗜鹼性球 (Basophil)



淋巴球 (Lymphocyte)



單核球 (Monocyte)

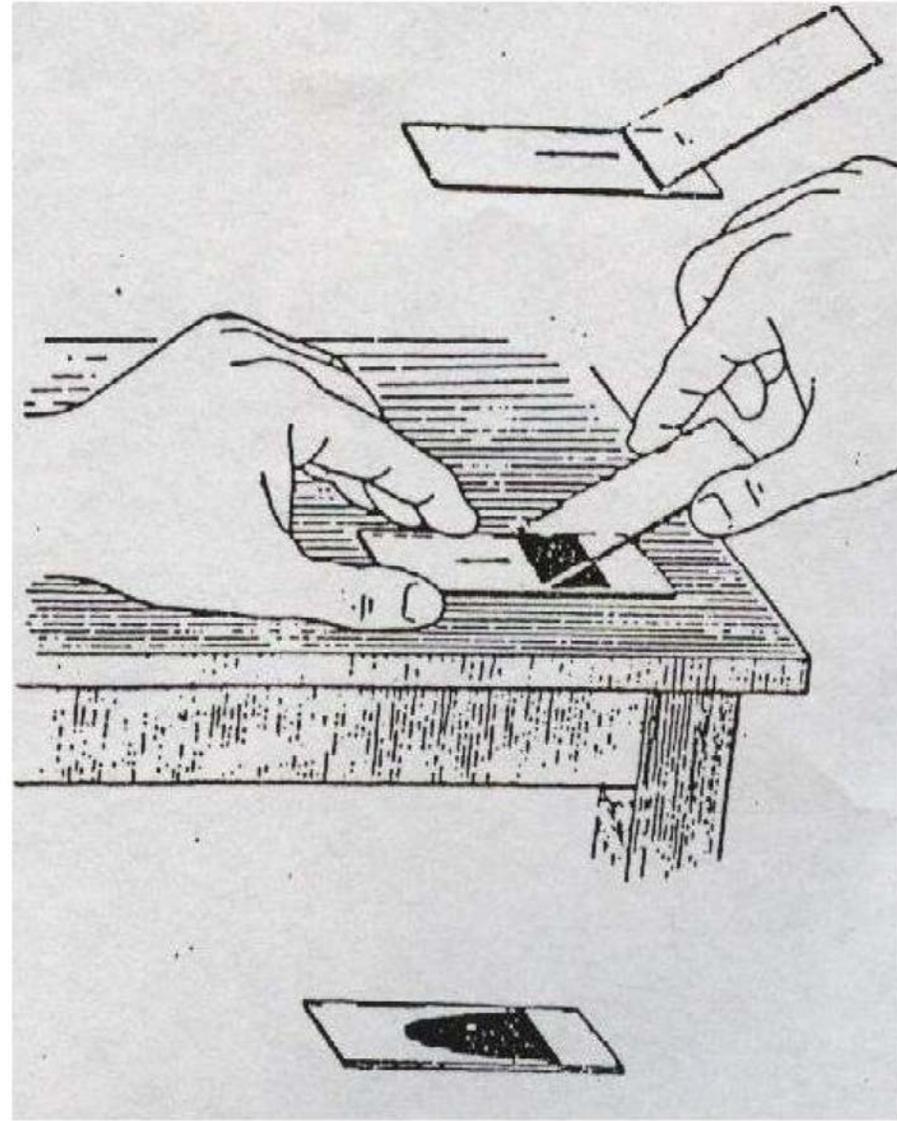


<http://youthyear.blogspot.com/2010/08/liu-stain.html>

實驗步驟

- ▶ 1. 準備乾淨載玻片兩片至數片
- ▶ 2. 取酒精棉擦拭、局部消毒指尖採血部位，並待酒精自然揮發
- ▶ 3. 以採血針自消毒指尖採血，由第二指節向指尖方向輕握施壓，使血液自採血處自然滲出，並將流出之第一滴血液拭去不用
- ▶ 4. 立即將一小滴血液滴於載玻片一側離邊緣約 1公分處

- ▶ 5. 迅速將另一片載玻片以 **40~45**度夾角接觸滴有血液之載玻片中段並向血滴位置移近至接觸血滴為止，此時血液會受到毛細作用牽引而填充於兩載玻片接觸線之間
- ▶ 6. 將上方之載玻片維持傾斜角度朝原相反方向快速而穩定推出，使血液均勻塗抹於載玻片上
- ▶ 7. 將抹片自然陰乾後染色



染色步驟 (Liu stain)

- ▶ 1. 以Liu A 染劑均勻覆蓋於血液抹片30秒
- ▶ 2. 直接加上Liu B染劑，與Liu A 染劑混合均勻後靜置90秒
(Liu B染劑的量需為 Liu A 染劑的兩倍)
- ▶ 3. 以細微流水將抹片上之染劑及沉澱物沖掉
- ▶ 4. 將染色完成之血液抹片陰乾後，即可置於顯微鏡下觀察