

异、因溶血程度不同而异。当淋巴细胞含量相对少，溶血不充分时，淋巴细胞群的显示区往往不清晰，难以把握是否抓准了淋巴细胞群。这时，可用两个方法帮助判断：(1) 将 90° LS 的 PMT 的高压调高，观察拟为淋巴细胞群的左侧是否还有别的细胞群，若无，则对，因为在 90° LS 上，淋巴细胞处最左侧；在 FLS 上则在红细胞的上方。(2) 试测实验组 T 细胞亚群，若峰形和百分率与预期的相似，则说明已抓准了淋巴细胞群。

**2. 用 bitmap 划好分析区** 从图 2 可见，分析区的大小直接影响分析结果。分析区过大，使某些单核细胞或红细胞计入总数，则阳性细胞百分率相应降低，造成伪值。Bitmap 划在淋巴细胞富集区为宜。每份标本均应观察 Bitmap 是否合适，不合适者应重划。

**3. 保证分析条件相一致** T 亚群的分析是基于对细胞表面特异抗原的 FITC 荧光染色，在 EPICS 上反映为 LGFL 参量。设置对照组的目的是以此调出作为本底扣除的非特异荧光的强度，使之在大于频道 60 以上的荧光量小于 5%，若大于 5%，应缩小 LGFL 的 PMT 或 Gain，反之，应扩大二者之一。一旦完成阴性对照组 LGFL 的 PMT 和 Gain 设置，则在分析各实验组时不得改动。若遇个别病例阴性

对照的 LGFL 在计算区中的百分率过高，可以右移该例计算区下限游标，使非特异荧光的百分率降低，在染色条件和分析条件一致时，各亚群有各自特征性峰形和峰值道数，若有变化则应视为所分析样品的固有变化，努力寻求其有价值的含义。

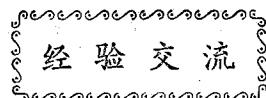
**4. 选用好荧光第二抗体** 由于细胞表面有大量 Fc 受体，第一抗体和第二抗体的 Fc 段都有可能与 Fc 受体结合，干扰分析。选用 F/P 值较高的荧光二抗或 F(ab)<sub>2</sub> 段，有利于降低噪音。

**5. 尽早测定标本** 随着放置时间延长，膜蛋白的脱落和荧光的淬灭是不可避免的，故样品应尽早分析，最好不超过 24 小时，48 小时后分析的结果已不太可信，72 小时后的应弃去。

## 参 考 文 献

- [1] Salzman, G. C. et al.: *Acta Cytologica*, 1975, **19**, 374.
- [2] Hoffman, R. A. et al.: *Immunology*, 1980, **77**(8), 4914.
- [3] Renzi, P. et al.: *Immunol. Methods*, 1987, **98**, 53.
- [4] Walstra, K. et al.: *J. Immunol. Meth.*, 1985, **97**, 143.
- [5] Iwatani, Y. et al.: *J. Immunol. Meth.*, 1982, **54**, 31.

[本文于 1988 年 2 月 22 日收到]



## 改进的凝胶脱色方法

王 大 坤

(南京医学院)

SDS-PAGE 已成为分析蛋白质组分的一种常用方法。电泳后的凝胶需先染色显带，再行脱色处理，为促进脱色，常需多次更换脱色液。为了能省去换液步骤和节省试剂，可采取下面改进的脱色方法。

**方法** 于脱色平皿内较均匀地撒入适量 (0.5—1g) 的活性炭粉末，上覆盖一层新华滤纸，在倒入 70 ml 左右的脱色液后，即可将经自来水稍稍冲洗后的染色凝胶转入脱色平皿内，于常温或 37℃ 温箱内脱色，在脱色过程中可偶尔摇动一下脱色平皿。

**结果** 由于经脱色液脱下的染料能被滤纸下的活

性炭粉末吸附，因此，可达到省去换脱色液步骤和节省脱色液的目的。一块 9.5 cm × 8.5 cm 大小的 15 mm 厚胶，一般需加入 1 g 左右的活性炭粉末，于常温下 (10℃)，过夜脱色，可达到较满意的效果。若是薄胶，活性炭粉末的用量可相对少一些，0.5 g 就足够了。在采用该法脱色时须注意一点，即铺滤纸于活性炭粉末上时，滤纸的边缘最好与平皿口的上沿相齐，以免活性炭粉末随液溢出或荡出而沾到凝胶上，影响外观。

[本文于 1988 年 2 月 8 日收到]