

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 $F(ab)_2$ 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]

经验交流

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70ml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°C 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 $9.5\text{cm} \times 8.5\text{cm}$ 大小的15mm的厚胶,一般需加入1g左右的活性炭粉末,于常温下(10°C),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,0.5g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]