

图3 喷嘴半堵塞时的细胞畸形分布

插刷喷嘴,一般细胞团块可被捅开而恢复流通;(2)间歇性按压 Flush 钮,产生一股冲击力,以冲开堵塞物。(3)打开 Sorting 控制屏,使高频振荡器工作,以震散堵塞团块。(4)卸下喷嘴,从出口用吸球反吹气,使堵塞物离开喷嘴口的狭窄处,见图4。(5)若为硅化管道或金属针管堵塞,则接上注射器,用洗洁精(2%)液加压冲洗,至流出液呈直线状、阻力小为止。防止样品流堵塞的方法有:(1)样品液一律经 $40\mu\text{m}$ 尼龙膜滤入样品室。(2)细胞浓度过高的样品必须再稀释。(3)

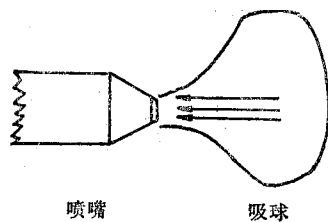


图4 吸球反吹喷嘴,去除堵塞物

每日开机时、关机时各用1小瓶洗洁精(2%)液,象样品一样流过管道,清洗管道残留的细胞和蛋白质,防止长菌成团。(4)鞘压与样品压之间的压力差不宜过大。(5)保证鞘液洁净而无颗粒杂质。

3.保证分析结果具有连续可比性 由于参量(如 Bitmap、PMT、Gain 等)的改变,可使分析结果之间无法比较而得不出结论,因此,在调好适当的分析参量后,必须将这些参量以新的程序(Profile)名称存贮起来,在以后的同实验分析中固定使用之,只有这样,所得的资料才有连续可比性。

[本文于1988年2月22日收到]

Sephadex G200 柱层析提取 BALB/C 小鼠血性腹水 IgG 单克隆抗体 (McAb)

蒋作君

(南京医学院)

在免疫学实验中,饱和硫酸铵法和 DEAE 纤维素离子交换法是提取 IgG 的常规方法。然而,对于溶血样品 IgG 的提取, Sephadex G200 柱层析法 (G200 法)有其独到之处,现将实验报告如下。

将经处理的 Sephadex G200 装柱 ($2.6 \times 50\text{cm}$), 用 pH7.4、0.1mol/L PBS 平衡过夜。次日加 BALB/C 小鼠血性腹水 (含 IgG, McAb) 4ml, 用 PBS 洗脱。洗脱速度为 10~15 滴/min。每管收集 4ml 洗脱液,共收集 13 管。各管洗脱液在 $A_{280\text{nm}}$ 读取光密度值。洗脱液在 $A_{280\text{nm}}$ 处呈现三个蛋白质吸收峰。第一峰为 IgG, 第二峰主要为血红蛋白 (Hb), 第三峰为白蛋白 (图1)。G200 法分离 IgG 依赖其分子筛效应, IgG 分子量为 150~160 千道尔顿 (kD), Hb 分子量为 66kD, 故该法能将 IgG 与 Hb 有效地分离。Hb 在层析中不但指示着进程,而且指示着该重点保护的洗脱组分——Hb 之前的洗脱组分 IgG。一旦 Hb 层析至柱的下端,则提取 IgG 的实验便可结束,这可节省约

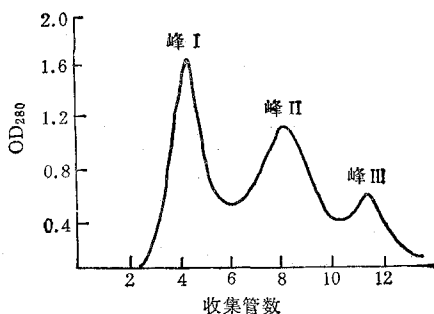


图1 BALB/C 小鼠血性腹水 Sephadex G200 柱层析洗脱峰

三分之二的时问。Hb 不污染葡聚糖,用后葡聚糖可完全再生。笔者认为,在提取非溶血样品 IgG 时,亦可用加适量 Hb 作为指示剂的 G200 法。

[本文于1987年10月28日收到]