

表 1 三组实验动物抗体效价的比较

组 别	动物只数	抗 体 效 价	每兔接受 IgG 总量
第一组	10	64,32,32,32,32,16,16,16,8,4	2.4 毫克
第二组	9	1024,256,256,256,256,256,128,64,32	7.5 毫克
第三组	4	512,128,64,32	5.0 毫克

记化合物,有必要提高抗血清的效价。第二组和第三组均用数次肌肉注射,并改用弗氏不完全佐剂。我们通常以 1:20 稀释的混合小鼠血清作效价测定时效果最好。

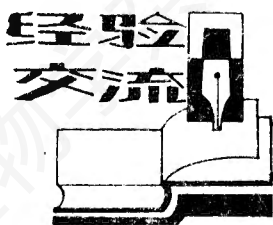
用荧光标记的兔 Ig 抗鼠 IgG 染活细胞,膜荧光清晰可见。

(参加本工作的还有车裕芳、章应慧、王润田、张

建伟和吴夏君等同志。)

## 参 考 文 献

- [1] 江世益等 1982. 上海免疫学杂志 2(2): 11-14.  
 [2] 陈登鸿等 1983. 上海免疫学杂志 3(4): 223-227.  
 [3] 孔宪涛 1980. 上海第二军医大学长征医院 159~161.



## 鱼类外周血染色体的简易制备法

王 绳 琦

(江西大学生物系细胞室)

在制作鱼类外周血细胞染色体时,通常需采用 Ojima 等和 Heckman 等建立的淋巴细胞培养法。最近,我们未采用淋巴细胞体外培养,制得了尼罗罗非鱼、草鱼、江西万安玻璃鲤鱼等数种鱼类外周血淋巴细胞的染色体中期分裂相(图略)。具体方法如下:

1. 将预先饲养在池塘网箱或室内水族箱中的成鱼自水中提出,用布包住鱼体(臀鳍以下裸露),使仰卧,然后用碘酒和 70% 酒精消毒臀鳍基部皮肤。将吸有用鱼类生理盐水稀释的 2% 植物血球凝集素(广州市医药工业研究所出售的 PHA 冻干注射剂)液的注射器的针头沿鱼体中线、臀鳍基部后鳞下刺入锥体腹部血管弧

中,轻抽注射器,有血液涌入即证明已插入。注射 PHA 液(用量见表 1)。

2. 把鱼放回,继续饲养 2—3 天后提出水,仿 1 法向血管弧中注入 0.2% 的秋水仙素液(用量见表 1)。4 小时后即可采血。

3. 用预先经肝素(500 单位/毫升)浸润过的洁净注射器自鱼体尾动脉中抽取血液 1 毫升左右,注入小试管中。加入 0.5 毫升鱼类生理盐水溶液,混匀,静置 30—60 分钟。

4. 用吸管吸取富含白细胞的上、中层液体约 0.5—0.6 毫升,移入另一试管中,加入 0.06 M 氯化钾液 1 毫升,低渗处理 10—20 分钟。然后,取一大型培养皿,底部平行放置二

表 1 注射药剂用量表

成鱼体重(克)	150-200	200-250	250-300	300-350	350-400	400-500
植物血球凝集素(毫升数)	0.15-0.20	0.20-0.26	0.26-0.32	0.32-0.40	0.40-0.48	0.48-0.65
秋水仙素(毫升数)	0.12-0.16	0.16-0.20	0.20-0.26	0.26-0.33	0.33-0.40	0.40-0.50

根直径相等的粗玻璃棒，将洁净的载玻片放于玻棒上。滴加数滴血细胞悬液，使铺展，再滴加干净的 0.06 M 氯化钾低渗液至充满整张载玻片，盖好培养皿，继续低渗 10 分钟。

5. 沿培养皿壁缓缓地倒入 50% 酒精和冰醋酸(1:2)组成的混合固定液，注意不要浸着载玻片，盖上培养皿，蒸气固定 60—90 分钟。吸去混合固定液，加入无水酒精，蒸气固定 10 分钟。从培养皿中取出载玻片，倾去上面的低渗液，略为干燥，将无水酒精和冰醋酸(1:3)混合固定液滴满载玻片上，固定 5—10 分钟。倾去固定液，然后将载玻片倾斜约 30 度，吸取新配固定液自载玻片高端滴下，如此反复 3—4 次。空气干燥。

6. 在一块洁净的玻璃板上平放一玻片作支架，将染色体制片有细胞的一面朝下，架一端于玻片上。用 pH 6.8 的磷酸缓冲液稀释的

(1:10)Giemsa 染液充满于玻片与玻板之间的空隙处，染色 30 分钟，用蒸馏水冲洗，除去过剩的染液，阴干。取 24 × 50 mm 的盖玻片，用加拿大树胶封片，即可长期保存。

本法操作简便，所用仪器极其简单，药品价格便宜、容易购买，普通实验室和水产养殖单位就可开展工作。此外，该法可避免体外培养中常出现的细菌侵染，由于关键步骤在体内生理条件下进行，减少了体外因素对染色体形态可能产生的影响。

### 参 考 文 献

- [1] Ojima, Y. S. Hitotsumachi and M. Haya-shi: 1970. *Japan J. Genetics*, 45 (2): 161—162.
- [2] Heckman, J. R. and P. E. Brubaker: 1970. *Progressive Fish Culturist*, 32: 206—208.

## 讲 座

### 用于纯化抗原性物质的单克隆抗体亲和层析术(一)

黄 嘉 陵

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

Köhler 和 Milstein 于 1975 年创建的淋巴细胞杂交瘤技术<sup>[1]</sup>，之所以能够导致免疫学乃至整个生物学领域中的一场革命，其关键就在于单克隆抗体所特有的高度专一性。这一特性，不仅已使其成为一种可对生物体系中存在的各种抗原或抗原决定簇进行探测、鉴别、定位、跟踪以及结构与功能研究的精确工具。而且，还可使其与固相载体偶联，制成具高度专一性的免疫吸附剂，而成为一种几乎可用以分离纯化任何抗原性物质的有效手段<sup>[2]</sup>。

由于单抗亲和层析术具有简便、快速、产率高、容量大、以及特别适于含量极微又不甚稳定而难以借常规方法提纯的生物活性物质的纯化等优点，而最早用于细胞膜蛋白的纯化。

1979 年，Sunderland 等和 Parham 报道<sup>[3,4]</sup>，分别采用此术，由大鼠胸腺细胞和人淋巴细胞，分离纯化大鼠白细胞共同抗原(L-C)、及人 HLA-A<sub>2</sub> 和 HLA-B<sub>7</sub> 抗原，获得成功。嗣后，Dalchau 等又报道了<sup>[5,6]</sup>，采用此术分离得到人白细胞专一的膜糖蛋白抗原，和人脑-粒细胞-T 淋巴细胞抗原的结果。直至 1980 年，Secher 和 Burke<sup>[7]</sup>采用抗干扰素单抗亲和层析柱，经过一步简单的吸附和洗脱程序，便将干扰素纯化了 5000 倍，从而进一步显示了单抗亲和层析术的威力之后，始被广泛地用于纯化淋巴因子、生长因子、凝血因子、激素、酶、糖蛋白、毒素、受体、癌胚抗原、病毒抗原、细胞抗原、寄生虫抗原等不同类型的抗原