

应的初速度,少受产物和其它因素的干扰,这一点在研究自由基反应时尤其重要。

(2) 灵敏度高 应用特定的发光测量装置,可以测定微弱的化学冷光,大大提高测量灵敏度。如用 pH10.2 的发光体系,可检测出 10^{-10} — 10^{-11} M 的 SOD。

(3) 专一性较强 luminol 的化学发光受 O_2^- 自由基的激发,特异性较强。而且在测定中不受乙醇、氯仿和丙酮等有机溶剂的影响,适用于粗提取物的测定。我们曾用化学发光法监测从牛血中提取和纯化 SOD 的过程,表明最初的乙醇—氯仿粗提取物就可以被测定。如果可以应用于溶血物中 SOD 的测量,则在临床监测方面将很有价值,这方面的工作尚待进一步研究。

(4) 分析快速,样品用量少 由于化学发光法具有时间响应快,灵敏度高的特点,所以大大

缩短测定时间,样品用量少,这对于常规的重复性测量很有好处,作为相对活力比较时尤为适用。

本法需用高灵敏度的精密发光测量仪器,如发光仪或液体闪烁计数仪,因而其推广应用尚受一定限制。

参 考 文 献

- [1] McCord, J. M. et al.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049, 1969.
- [2] Beauchamp, C. et al.: *Anal. Biochem.*, **44**, 276, 1971.
- [3] Hodgson, E. K. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **430**, 182, 1976.
- [4] 李益新等:《生物化学与生物物理进展》,待发表。
- [5] Massey, V. et al.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 1682, 1969.
- [6] Puget, K. et al.: *Biochimie*, **56**, 1255, 1974.

[本文于 1982 年 8 月收到]

DNA 浮雕图象的电子显微镜方法

钱 力 叶盛钰 徐有成

(中国科学院上海生物化学研究所)

DNA 分子非常细长。双链 DNA 分子的直径约为 $20 \text{ \AA}$, 单链约为 $12 \text{ \AA}$ 。目前用一般的样品制备法在电子显微镜下只能看到 DNA 的平面图象。

随着分子生物学的飞跃发展,在研究 DNA 拓扑异构酶、解链蛋白等酶反应的产物时需要知道核酸分子的空间关系。例如判别联环体(catenate)和重迭的分子,结状分子和无结分子时就必须知道在每个核酸分子链的交叉点上那一条链位于上方,那一条链从下面通过。在研究超螺旋 DNA 的结构时也有必要了解双链与双链之间的盘旋方式。为了能从电镜照片上获得更多的信息,我们改进了电子显微镜样品的制作方法,不但可以看到双链和单链 DNA 的浮雕图象,还可以直接测定质粒 pBR322 DNA 的拓扑环绕数,判明 DNA 分子中两条链的绕向。现将具体方法和操作经验总结如下:

1. DNA 分子的展开 纯净的 DNA 样品可以用水相法或甲酰胺法在细胞色素 C 组成的单分子膜上展开,单链 DNA 则必须用甲酰胺法进行。有关试剂的要求及操作方法见文献 [1,2]。

2. 复膜铜网的准备 在洁净的铜网上,用 3% 火棉胶的醋酸异戊酯或 3% Parlodion 的醋酸戊酯溶液复膜,复火棉胶膜的铜网再喷碳膜强化之。

3. 取样及染色 新鲜制备的复膜铜网从展开有 DNA 分子的细胞色素 C 单分子膜面上取样,用 0.5—2mM 醋酸氧铀的 90% 乙醇染色, 20° — 37°C 干燥后喷涂重金属。

4. 喷涂投影 在旋转真空喷涂仪中,预先将两条直丝形钨丝在高真空中通电流烧灼一次,除去表面的氧化物及其它污染杂质。

将吸附了 DNA 样品的铜网的膜面向上,

放置于旋转平台的中央,调整平台位置和水平状钨丝的高度,使钨丝中央到平台中心的角度为 $\arctg 1/10$ 。在两条钨丝上分别紧紧绕上直径为 0.1mm 的铂铱丝 3.0cm 和 2.0cm,在高真空下旋转平台,并喷涂 3.0 cm 的一段铂铱丝,然后停止旋转平台,单向喷涂 2.0cm 的另一段铂铱丝。

由于从铂铱丝发射处到各个铜网的位置都不完全相同,角度也有一些差异,因此各铜网所得到的铂铱微粒的多少也不同。经多次实践,我们认为铂铱丝太长或从发射处到平台中心的距离太近都会导致投影太深,致使 DNA 分子不易观察到。由于各种喷涂仪的结构有差异,读者可以根据各自的仪器对这二个因素再作选择。

此外,在喷涂时电流应慢慢加大,使喷出的金属微粒比较细,这是获得高质量电镜照片的

关键之一。

由图 1(见封二)可以看到 DNA 分子有的呈左旋的超螺旋状态,也有呈右旋的。图 2(见封二)是 pBR322 DNA 两条链间的氢键完全被破坏后两条互补的环状单链松弛地互相绕在一起,其拓扑环绕数为 1。

在电镜观察螺旋的方向或超螺旋结构时,另一个值得注意的是,复膜铜网必须保持膜面向上,否则会得到不真实 DNA 形态的镜象,从而可能获得错误的结果。为此,在喷涂前,每片铜网的正面要做上记号。

参 考 文 献

- [1] 徐有成等:《生物化学与生物物理进展》,1975年,第2期,第9页。
- [2] 戴培桦等:《生物化学与生物物理进展》,1982年,第1期,第57页。

[本文于 1982 年 8 月 25 日收到]

学术动态

1983 年有关细胞生物学方面国际会议

会议名称	日期地点	联系人及主办单位地点
第一届国际细胞生化与功能会议	23—25/3 英国	J. W. Brieges 教授 工业与环境保健和安全研究所 Surrey 大学, Guildford, Surrey uk.
英国发育生物学会“形态发生”讨论会	19—22/4 英国	M. Balls 博士 人类形态系 Nottingham 大学 Nottingham, uk.
生物标本制备科学	23—28/4 美国	Om Johari 博士 SEMINC. P. O. Box 66507 芝加哥 IL 60666 USA.
细胞增殖欧洲第十二届会议	4—6/5 匈牙利	MOTESZ Congr. Bareau P. O. Box32 布达佩斯, 1361 匈牙利。
致癌剂与促进因子在人类及实验癌生成中作用讨论会	16—18/5 匈牙利	M. Börzsönyi 国立卫生研究所 1966 年布达佩斯匈牙利。
第 8 届细胞学会议	19—23/6 加拿大	A. Meisels, 1050 ch. Ste-Foy 魁北克, PQGIS 4L8 加拿大
第四届国际癌细胞学自动化及细胞图象分析会议	24—25/6 加拿大	P. Bartels 芝加哥大学 H M 449, 5841 maryland Ave. 芝加哥 IL60637, USA.
国际免疫学协会国际会议	8 月日本 京都	Tomio Tada 千叶大学免疫实验室 Inohanacho, Chiba 280 日本。
15 届国际遗传学会议	5—10/12 印度 新德里	V. L. Chopra 教授 P. O. Box 2841, 新德里

[摘自“细胞生物学国际报告” Vol, 6(10), 1982.]

«Ehrlich 腹水癌细胞表面负电荷与 conA 受体分布的
定量电子显微镜研究»一文的照片

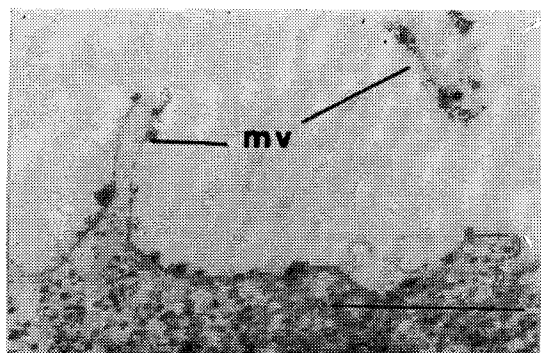


图1 Ehrlich 腹水癌细胞与正电荷铁蛋白(0.2mg/ml)温育后铁蛋白颗粒在细胞表面的分布特点

mV: 微绒毛, 标尺: $0.5\mu\text{m}$.

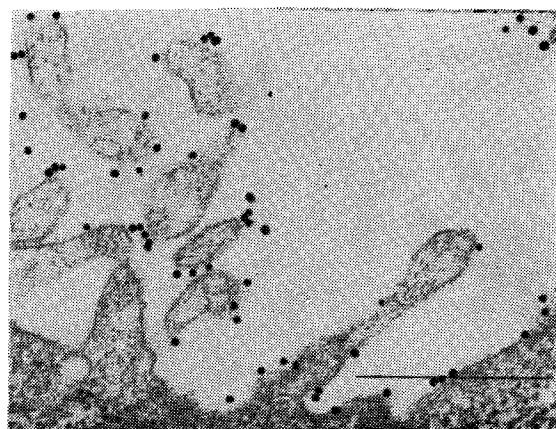


图4 胶体金颗粒在细胞表面的分布
标尺: $0.5\mu\text{m}$.

«DNA 浮雕图象电子显微镜方法»一文的照片

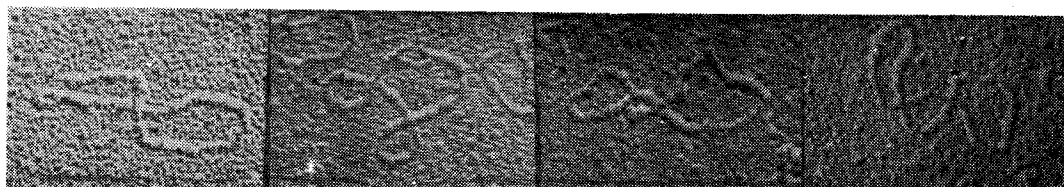


图1 松弛态闭环状 pBR322 DNA 浮雕图象
($\times 60,000$ 倍)

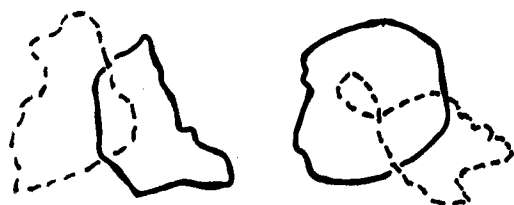
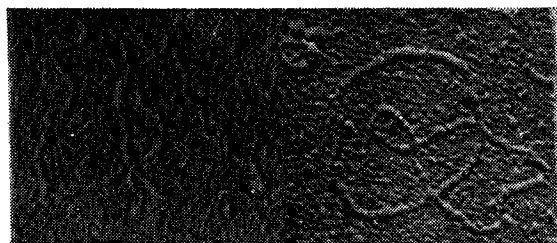


图2 变性的 pBR322 DNA 浮雕图象
($\times 60,000$ 倍)