科技消息

生物素代替放射性同位素标记探针——基因探测技术的新改进

迄今为止，分子生物学家研究人类 DNA 单拷贝基因组织的最灵敏方法是利用 ^{32}P-脱氧核苷三磷酸（^{32}P-dNTP）标记的分子探针，与转移到硝酸纤维素膜上的 DNA 杂交后观察放射自显影条带，进行限制性内切酶图谱分析。^{32}P-dNTP 半衰期短，价格昂贵，使用不太方便；^{32}P-还含有一定的硬 β 射线，对实验者身体有害。

最近美国耶鲁大学医学院 Leary 等用生物素标记探针，并借用免疫学方法，创建了一种快速、灵敏的酶标反应显色技术，（见 Leary J.J. et al: Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 80: 4045, 1983）有可能打破同位素在基因探测领域的垄断地位。

该方法的基本步骤是：首先用丁二酰亚胺辛二酸酯使小牛肠碱性磷酸酶形成交联的聚合物，再与生物素酰-ε-氨基已酸 N-羟基丁酰亚胺酯反应使生物素连接上去。得到的产物与过量的抗生物素蛋白（avidine）混合至少 10 分钟，则可制成生物素化碱性磷酸酶聚合物-抗生物素蛋白的复合物［Apoly（BAP）］。该复合物是用于酶标的关键物质。

分子探针仍用缺口翻译来标记，但标记前体不用 ^{32}P-dTTP，而用嘧啶环 C，位连接了生物素的 dTTP，实验证明它可有效地参入 DNA。用生物素标记的 dTTP 制得之探针做 Southern 印迹杂交，洗去膜上多余的探针，室温下浸泡在 A Poly（BAP）中 5 分钟，再与氮蓝四唑（NBT）和 5-溴-4-氯-3-吲哚磷酸（5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate, BCIP）两种底物保温反应 3—4 小时，此时杂交位置上即形成可见的紫色条带。

从对一些真核基因探测的实际情况来看，本法不仅结果与同位素法相同，而且在技术上还具有下列优点：使用高浓度（250—750ng/ml）生物素标记的探针，可将杂交时间缩短至 1—2 小时，同位素法一般需 20 小时左右；硝酸纤维素膜对此种探针的非特异性结合很少，故本底颜色几近没有，这优于使用 ^{32}P-探针；此法可检测 1—10pg 的靶序列，能达到检出 7.5μg 哺乳类 DNA 中单拷贝基因的水平，灵敏度略高于使用同位素探针；更值得一提的是，生物素标记的探针化学稳定性很高，可保存一至二年而不影响使用效果，弥补了 ^{32}P-半衰期短的缺陷。

此外，由于 NBT/BCIP 底物混合物经酶作用生成的紫色沉淀不溶于迄今所试验过的所有有机溶剂，因此每张印迹硝酸纤维素膜做过一次杂交试验后由于区带上的颜色不能去除而影响与其它探针杂交。

［摘自 Proc. Nat. Acad. Sci.1983,7］

中国医学科学院基础医学研究所

王黎明、方福德

脂质体与细胞的相互作用

近年来，很多人都在进行用脂质体作载体把某些物质（如 EDTA, Ca^{++}、乙酰胆碱、某些药物乃至 DNA、RNA 和全病毒）引入细胞的研究。用脂质体包裹的这些物质对细胞的生理效应均能产生一定的影响，说明这些物质能从脂质体进入细胞。有人提出了脂质体与细胞质膜相熔合的机制对这种现象进行解释。但 F.C. Szoka 等人在他们关于脂质体与细胞相互作用的实验中发现，与脂质体相结合的荧光探针在细胞表面是不动的，并且进入细胞的溶质所占的比例也很小。R. Blumenthal 等人也发现，大部分脂质体是稳定地吸附在细胞表面，同时有相当数量的水溶成分从脂质体渗漏出来。Blumenthal 从他们的实验中得出，类脂浓度在 0.15μM 以下时，用脂质体包裹的染料进入细胞的速率比同样浓度未用脂质体包裹的染料快 9 倍。

这些现象显然不能用脂质体与细胞相熔合的机制圆满解释。Blumenthal 提出了一种新看法，他认为，脂质体与细胞的相互作用，首先是脂质体吸附到细胞表面，然后溶质从脂质体在细胞表面附近渗出，渗出的溶质再部分地进入细胞内。他们还提出了一种"未扰动层机制（unstirred lager mechanism）"试图描述这个过程。

［摘自 *Membrane Biochemistry Vol.* 4, 1982, 283.聂玉生］

（上接第 76 页）

美国，W. Goebel，西德）此外，五个专题是（1）质体克隆载体；（2）质体流行病学；（3）研究较少的质体系统；（4）质体毒力因子；（5）质体转移机制。与此同时，还展出墙报。（柯虽）