

生物样品离子刻蚀法

蔡 继 炯

(浙江省测试技术研究所, 杭州)

早在一个世纪前人们就认识离子的轰击作用,开始在金属学、固体电子学中应用。近年来离子刻蚀技术已成为扫描电镜生物样品制备中的一种新方法。利用高速运动的离子流不断轰击样品表面,使表面的原子和离子发生溅射和剥离。这种溅射一般为物理溅射和化学溅射,其速率取决于刻蚀体和被刻蚀体的性质和刻蚀条件。

生物样品的细胞膜表面结构被一层糖蛋白或糖脂掩盖,有些材料如胃、小肠等表面还附有许多粘液,用常规方法很难洗净,就会影响电镜观察效果。应用超声波方法清洗,由于功率和时间较难控制,一旦掌握不好,细胞表面结构就被破坏。本文应用离子刻蚀法,不但能洗净样品表面污染物而且还能保持细胞表面结构的完整性,获得了令人满意的电镜图像。

一、材料与方 法

取人体胃组织块、大白鼠肝脏,日本血吸虫成虫,用生理盐水洗去表面血污,2.5%戊二醛、1% 锇酸双固定,磷酸缓冲液漂洗、酒精梯度脱水,CO₂ 临界点干燥后,即可在 Eiko IB-5 型离子溅射仪中进行离子刻蚀清洗,为防止样品过热变形,刻蚀时离子溅射仪要通入冷却水。离子刻蚀电压、电流和刻蚀时间视不同样品而改变。一般电压为 2000 伏、电流为 4 毫安,时间 30—45 分钟(每 15 分钟间歇停留 2 分钟,防止样品表面热损伤)。刻蚀清洗后样品表面溅射镀膜 Pt 膜达 200 Å 厚,最后送 S-450 型扫描电镜观察照相,加速电压 20 KV。

二、结果与讨论

人体胃表面有一层胃粘液,较难洗净,因

此用电镜很难看到粘膜上皮细胞(图 1a 见封 2),我们采用离子刻蚀方法,当电压为 1800 伏,电流为 4 毫安,刻蚀 30 分钟后,就可以清晰地看到胃小区粘膜的上皮细胞,且每个细胞排列整齐,大小一致,表面光滑(图 1b 见封 2)。

大白鼠的肝细胞在肝小叶中呈放射状排列,排成一层层一个细胞厚度的砖墙式的板状结构,未经离子刻蚀时,其表面为一层粘胶状物质覆盖,(图 2a 见封 2);经离子刻蚀 40 分钟后,细胞表面一层糖蛋白等粘着物被刻蚀掉,暴露出多面体的肝细胞,中央静脉,其微细结构清晰可见(图 2b 见封 2)。

日皮血吸虫的皮层多皱褶,其上密集地长有刺状的棘,虫体表面还污染许多粘液和血迹,很难洗净,影响电镜观察(图 3a 见封 2)。通过 30 分钟离子刻蚀后(1500V, 3mA),血吸虫表面皮棘的形态清楚地显示出来,具有很强的立体感(图 3b 见封 2)。

离子刻蚀方法是扫描电镜样品制备的新方法,能揭示生物样品内层的细胞结构,只要合理调节电压、电流、时间,就能获得令人满意的结果。

参 考 文 献

- [1] Lewis, S. M. et al., *Scanning Electron Microscopy* 241, 1969.
- [2] 朱丽霞等:《生物学中的电子显微镜技术》248—253, 1983, 北京大学出版社。
- [3] 沈宝镕译:《基础组织学》311—334, 1982 山东科学出版社。

[本文于 1984 年 5 月 23 日收到]

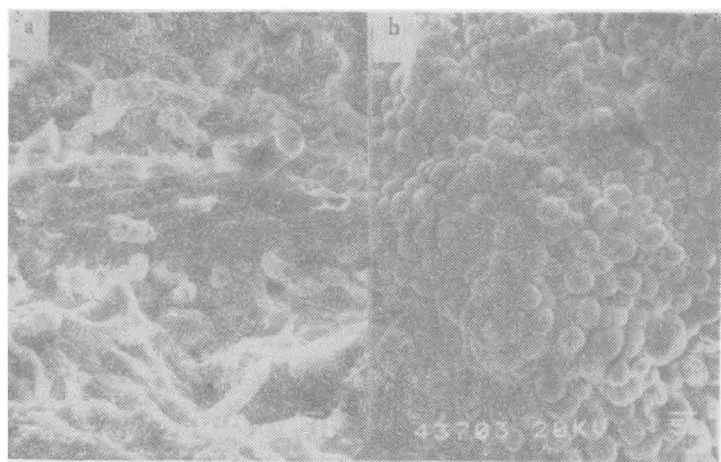


图 1 人体胃组织离子刻蚀前(a)和(b)的 SEM 电镜图 ($\times 1000$)

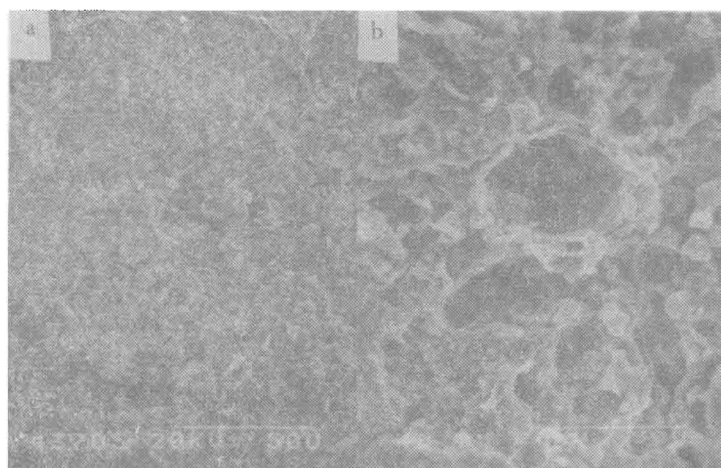


图 2 小白鼠肝组织离子刻蚀前(a)和(b)的 SEM 电镜图 ($\times 500$)

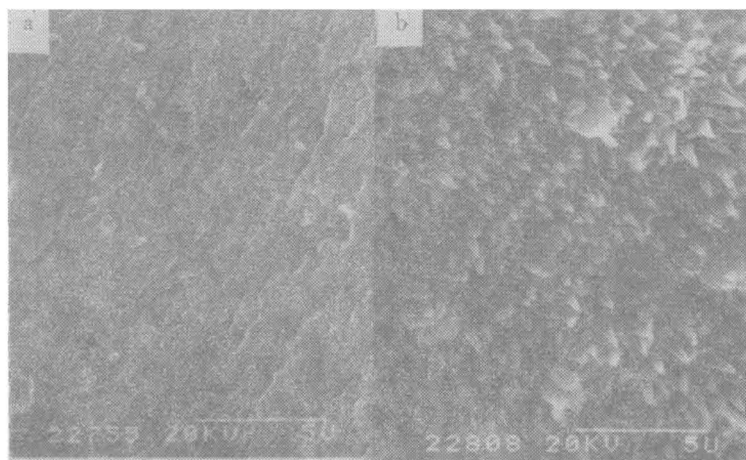


图 3 日本血吸虫离子刻蚀前(a)和后(b)的表面皮棘的 SEM 电镜图 ($\times 5000$)

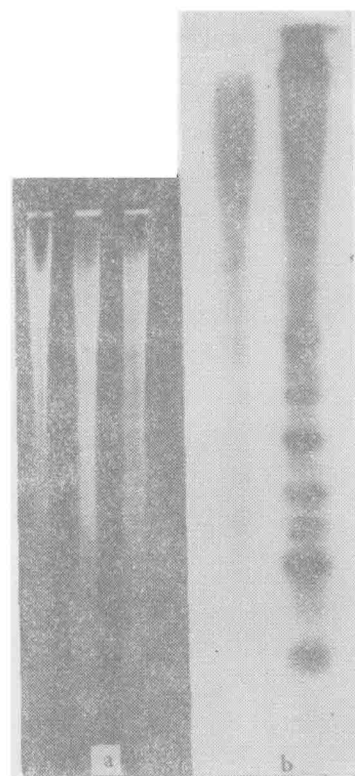


图 4 吸印转移杂交图谱

- a. 人、恒河猴、牛 DNA 经 NbaI 酶切后的图谱 (1.2%琼脂糖胶)
b. 人、恒河猴、牛 DNA 经 NbaI 酶切和电泳吸印转移到硝酸纤维素膜上,然后与人的类 α DNA 顺序的杂交图谱

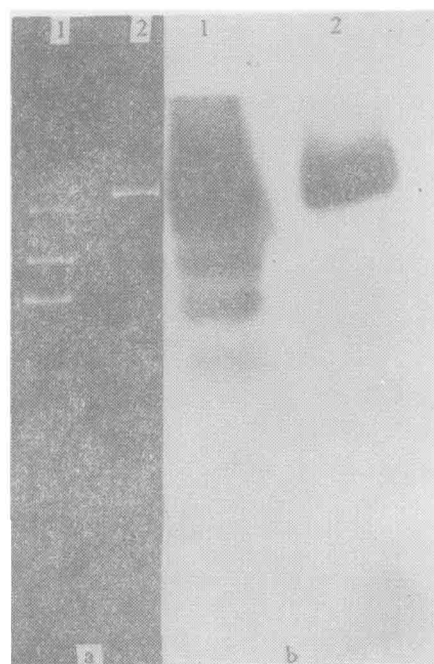


图 5 电转移杂交图谱

- a. 恒河猴类 α DNA (BamHI)-I 片段的电泳图谱 (6% 丙烯酰胺胶)
b. 图 a 的电泳结果经电转移到硝酸纤维素膜后与 ^{32}P 标记的相同 DNA 的杂交图谱 其中: 1. 恒河猴类 α DNA 顺序 (BamHI)-I 片段经 HindIII 酶切后的图谱 (片段长度从上到下为 340, 290, 220, 190, 120, 50bp) 2. 长度为 340bp 的恒河猴类 α DNA 片段