

植物血凝素的快速定性测定——玻璃表面固着法

谢 继 锋

(安徽大学生物学系, 合肥)

植物血凝素常规是用 96 孔凝聚盘测定^[1,2], 比较繁琐。Fountain 等人^[3]介绍一种滤纸定性法, 虽然免去了凝聚盘, 但所用血量太多, 不节约。作者兹报道一种更为快速简单的载玻片定性法。

1. 血细胞的制备

试管收取医院门诊处测定血沉后的废弃血液一份, 依据 Anderson^[4]采用的方法, 以最终浓度为 10% 福马林(用 0.9% NaCl 配制)固定过夜, 次日吸去上清液, 此时血细胞的容积约为一毫升, 加入 9 毫升生理盐液, 摇匀静置过夜, (不宜用离心机, 因为容易使血细胞破裂) 第三日再以生理盐液洗一次, 作成 10% 的血细胞悬液, 盛于玻璃瓶中, 置冰箱 2℃ 保存, 如此制成的红细胞, 至少可以使用一个月。

2. 植物血凝素的制备

Fountain 等人的研究^[3], 发现黄豆种子吸水时释放出凝素, 作者据此即以生理盐水浸泡蚕豆 (*Vicia faba*)、赤豆 (*Phaseolus angularis*) 及花生 (*Arachis hypogaea*), 得到三种粗制血凝素。如浸泡液不清, 可以 1000 r/min 离心五分钟, 使用其上清液。

3. 测定方法

取清洁载玻片平置桌上, 滴 9 滴生理盐液(每滴约为 0.03 ml) 及一滴血液(取血前将瓶底血细胞摇起摇匀)成为 1% 血悬液, 混匀后静置 10 分钟, 让血细胞下沉, 然后轻轻滴入一滴粗制血凝素, 再静置 10 分钟, 拿起载片轻轻侧动, 令细胞浮动起来, 然后倾斜玻片让溶液流失。如为阳性结果, 则玻片中心留有圆形红斑, 直径约一厘米(图 1a)。作者所用蚕豆、赤豆、花生的血凝素都为阳性。对照玻片用生理盐水代替血凝素则无红斑(图 1b)。

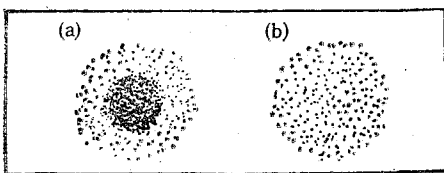


图 1

4. 讨 论

Spalding 和 Metcalf^[5] 根据 Castaneda 的表面固定法^[6]发展成为滤纸固着法来检测抗原抗体反应。作者这种载玻片测定法原理与上述相同。不过它的仪器要求不高, 而且极为快速, 在室温 22—28℃ 时, 15 分钟即可得出结果, 在远离实验室的野外都可进行。

目前已知有 800 余种植物具有血凝素, 其中豆科占 600 多种^[7], 仅菜豆一属就有 200 多种^[7]。血凝素各方面的研究均有进展^[8], 例如 Fountain 报道^[9], 各种动植物的粘质粘液中也有血凝素。在动物方面, 从海绵动物到棘皮动物都有血凝素的存在^[4,10-13]。

作者曾取环棱螺 (*Bellamya* sp.) 及蚯蚓 (*Eisenia* sp.) 的体外粘液依上法测定, 结果为阴性。Fountain 所报道的阳性反应都是与兔红细胞反应。而对牛和人的红细胞无效应。

因为血凝素对动物红细胞有专一性, 有的只能凝聚某种红细胞, 对其他却不能, 这使血凝素的定性工作变得复杂, 必须制备几种哺乳类的红细胞备用。上述载片法测定血凝素只用一种人类红细胞, 显然有其局限性, 这也是其他方法共有的缺点。

参 考 文 献

- [1] Kaus, H.: *Plant Carbohydrates*, II (Tanner, W. & F. A. Loewus Eds) Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, 1981.
- [2] Lis, H. & N. Sharon: *The Biochemistry of Plants*, (Marcus, A. Ed.) Academic press, N. Y. etc., 1981, 6, 374.
- [3] Fountain, D. W. et al.: *Science*, 1977, **197**, 1185.
- [4] Anderson, R. S.: *Biol. Bull.*, 1980, **159**, 259.
- [5] Spalding, D. H. & T. G. Metcalf.: *J. Bacteriol.* 1954, **68**, 160.
- [6] Castaneda, M. R.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1950, **73**, 46.
- [7] Liener, I. E.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1976, **27**, 291.
- [8] Goldstein, I. J.: *Recent advance in phytochemistry* (Loewus, F. A. & C. A. Ryan Eds.) Plenum press, NY & Lond. 1981, Vol. 15: 25—35.
- [9] Fountain, D. W.: *Naturwissenschaften*, 1982, **69**,

(下转第 133 页)

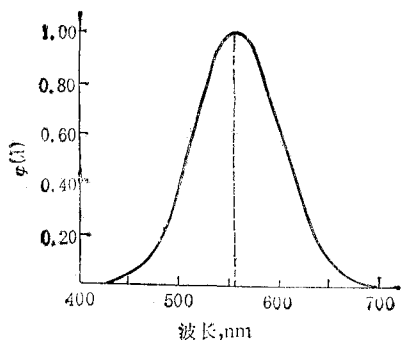


图7 人眼的光见度函数

绿色。

从图1、4可见,绿叶在680 nm处出现一个很明显的吸收峰,吸收比高达90%以上,和能级理论相对应,在植物叶绿素中,应存在相应的吸收能级。

文献[4]指出:“光合作用所利用的那部分太阳辐射在400到700 nm之间,这范围内的辐射称为光合有效辐射”。和图1、4对照,在190—860 nm之间,400—700 nm段的吸收比也高于700—860(190—400 nm的紫外光除外),因此,绿叶的吸收特性有利于自身的光合作用。不难看出,在400—700 nm段,上述绿叶在400至500 nm和680 nm附近的光合作用最强,555 nm处最弱。

在图1、4中,750—860 nm的近红外光和710—750 nm段的红光对绿叶的反射比都相当高,在遥感技术中,可利用这些波段来测定植物的覆盖面积。

我们所做的植物叶片的吸收比曲线和英国人所做的菠菜叶和豆叶的吸收比曲线很类

似^[5],和苏联人所做的水金凤、白睡莲、紫苏、马蹄纹天竺葵、西伯利亚白杨、蒿苳和无花果等叶片的吸收曲线也大致类同^[7]。因此我们所做曲线的变化趋势对植物绿叶来说,具有某种较普遍的规律性。

国外对植物叶片及其色素(叶绿素、类胡萝卜素)的光学性质已有许多研究^[4-10],光合作用领域最近进展十分迅速^[4]。我国未见这方面的研究论文。本文和国外不同的是我们测定了叶片的透射比曲线,并将多片叶子重迭起来进行反射、透射比测试,发现了一些有趣的结果。但是,我们的工作仅仅是开始。

我们认为,上述实验曲线对研究我国绿叶的光合作用、植物的生长、发育、向光性、色彩和光学性质等,将提供有用的参数。

参 考 文 献

- [1] 唐建民,傅昌余:《激光杂志》,1986,7(4)213。
- [2] 唐建民,傅昌余:《中国激光》,1987,14(7),440。
- [3] 傅昌余,唐建民:《应用激光》,1987,7(6),278。
- [4] J. 库姆斯等《生物生产力和光合作用测定技术》,科学出版社,北京,1986,28。
- [5] L. O. 布琼:《光与生命》,科学出版社,北京,1984,7, 11, 31, 55。
- [6] R. 希尔等:《光合作用》,科学出版社,北京,1960,19, 27—29, 118—119。
- [7] A. Ф. 克列什宁:《植物与光》,科学出版社,北京,1963,7—15。
- [8] D. W. 琼斯《生物聚合物波谱学导论》,科学出版社,北京,1983。
- [9] Mayhew, P. W. et al.: *An inexpensive and simple spectrophotometer for measuring grass biomass in the field*, *Oikos* 1984, 43, 62—67。
- [10] Steven, M. D.: *Int. J. Remote sensing*, 1983, 4 (2), 325。

[本文于1988年2月13日收到]

(上接第164页)

450。

- [10] Bretting, H. et al.: *Comp. Biochem. Physiol.*, 1981, 70B, 69。
- [11] Canicatti, C. & N. Parrinello: *Experientia*, 1983, 39, 764。

- [12] Michelson, E. H. et al.: *Biol. Bull.*, 1977, 153, 219。

- [13] Vasta, G. R. et al.: *Experientia*, 1983, 39, 721。

[本文于1988年1月4日收到]