

大肠杆菌溶菌物的羟基磷灰石柱层析分离

中国科学院上海生物化学研究所代谢调节控制组

我们在进行脱氧核糖核酸 (DNA) 复制的调节控制研究时,感到有必要建立某些分离 DNA 与 RNA、蛋白质的技术,特别是小量实验材料中各种生物大分子物质的分离,以提供对它们的进一步分析和其相互之间的关系探讨。利用羟基磷灰石柱直接层析大肠杆菌 15T⁻(555-7) 的溶菌物,经递增浓度的磷酸钾缓冲液顺序洗脱,将 DNA, RNA 和蛋白质分离获得 RNA、蛋白质含量很少的较纯的 DNA。本文叙述了羟基磷灰石的制备,细菌溶菌物的 HA 柱层析分离,以及放射性同位素标记的细菌 DNA 的 HA 柱层析分离等方法及结果。方法简易,为 DNA 复制调节控制研究提供有利条件。

材料与方 法

一、大肠杆菌 15T⁻(555-7)(meth⁻, Arg⁻, try⁻, thy⁻)。

Mg 培养基 Na₂HPO₄ 0.7%; KH₂PO₄ 0.3%; NaCl 0.05%; NH₄Cl 0.1%; CaCl₂ 0.002%; MgSO₄ 0.02%; 葡萄糖 0.4%。

小牛胸腺 DNA, 酵母 RNA, 牛血清白蛋白皆为本所东风厂产品。

5[¹³¹I] 尿嘧啶 上海试剂一厂产品;放射性比强度 1—4 毫居里/毫升。

甲基 [³H] 胸腺嘧啶 自制; 1 毫居里/毫升;放射性比强度 3.8 居里/mM。

双光束多用分析仪 本所仪器组制。

核酸蛋白分析仪 本所仪器组制。

NZ-125Gamma 井型计数仪。

ACEC 液体闪烁计数仪。

二、细菌的培养与溶菌物的制备

大肠杆菌 15T⁻(555-7) 从斜面接种到 Mg 培养基补以精氨酸 100 微克/毫升、甲硫氨酸 20 微克/毫升、色氨酸 20 微克/毫升及胸腺嘧啶 4 微克/毫升、37°C 静止培养过夜。次日,以 10% 接种量扩大培养于同样培养基内,37°C 振荡培养 2 小时,使 OD₄₈₀ 约达 0.6 左右,离心收集菌体。菌体用生理盐水-EDTA 溶液(含 NaCl 0.15 M, EDTA 0.1M, pH8.0) 洗涤,离心,称菌体湿重。于每克湿菌体加入 1 毫升溶菌酶溶液(2 毫克/毫升生理盐水-EDTA 溶液, pH8.0), 37°C 保温半小时。慢慢滴加 Tris-SDS 缓冲液(Tris 0.1M, NaCl 0.1M, 1% SDS pH9.0), 并轻轻搅匀,得到 20 毫升澄清均一的溶菌物。

三、HA 柱层析

1. HA 的制备

0.5M CaCl₂·2H₂O 和 0.5M Na₂HPO₄·12H₂O 各 2 升 (I) 于 25°C 室温条件下各以每小时 250 毫升的速度滴到盛有 200 毫升 1M NaCl 的大烧杯内,并不断搅拌之,搅拌速度以生成的 CaHPO₄·2H₂O 沉淀不沉积在容器底部为宜。滴加完毕后,再继续搅拌 1 小时,然后静置使沉淀完全沉积下来。吸去上层液,沉淀用 4 升蒸馏水洗两次。再将沉淀悬浮在 4 升蒸馏水中,搅拌滴加 100 毫升 40% NaOH(W/W), 于 40

本文所用某些名词缩写如下: 羟基磷灰岩=HA; 磷酸钾缓冲液=KPB; 磷酸钠缓冲液=NaPB; 5[¹³¹I] 尿嘧啶=5[¹³¹I]u; 甲基 [³H] 胸腺嘧啶=Me[³H]T; 2,5 二苯基噁唑=PP; 1,4 双 [2-(4 甲基-5 苯基噁唑基)] 苯=POP

—50 分钟内将此悬浮液迅速加热至沸腾,并使沸腾持续半小时至 1 小时。然后静置使沉淀自然沉下,吸去上层液。再用 4 升蒸馏水洗涤,静置使沉淀自然沉下,当容器沉淀沉积达 2 厘米厚度时,迅速吸去上层含细颗粒的上层液,再用 4 升蒸馏水同法洗涤两次。沉淀悬浮于 4 升, 10mM NaPB(pH6.8) 中,迅速加热至沸腾,立即停止加热。静置使沉淀沉下,吸去上层液。用 1mM NaPB(pH6.8) 悬浮洗涤沉淀三次。沉淀再悬浮于 4 升 1mM NaPB(pH6.8) 中,加热至沸腾,停止加热。静置使沉淀沉下,吸去上层液,再用 4 升 1mM NaPB(pH6.8) 洗涤沉淀两次,测试 pH 为 6.8,最后悬浮于 1mM NaPB(pH6.8) 中,存放冰箱内可用数月。所得 $\text{HA}[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ 结晶,见图 1。在使用过程中,因多次搅动,HA 结晶较易破碎而产生过多细颗粒会影响层析流速,因此,可以用 1mM NaPB(pH6.8) 浮选除去细颗粒。

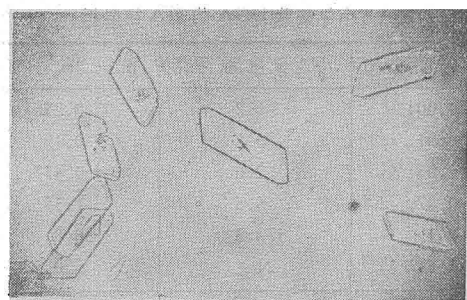


图 1 羟基磷灰石结晶($\times 80 \times 2$)

2. 柱层析分离

(1) 为了考验制备的各批 HA 的分离性能,用纯化的牛胸腺 DNA 进行柱层析分离。取 1×16 厘米具砂芯滤板(2—3 号)的层析柱夹住出口,注入 KPB(pH6.8),然后慢慢加入 HA 悬浮液,使自然沉积于底部达 1 厘米高度。此时开启出口夹,使缓冲液自然滴下,并不断加入 HA 悬浮液,待 HA 达所需高度(约 4—6 厘米),将柱连接在双光束多用分析仪上,波长调至 260 毫微米。用 0.5M KPB(pH6.8) 洗至仪器基线,再用 0.001M KPB(pH6.8) 洗至仪器基线,即可加样进行柱层析。小牛胸腺 DNA 为 100 微克/毫升水溶液,加样量 10 毫

升,用 0.001M, 0.01M, 0.05M, 0.07M, 0.1M, 0.2M KPB(pH6.8) 顺序分部洗脱。流速用微量泵控制在每分钟 1 毫升,收集各 KPB 浓度的洗脱峰,记下体积,分别测定 DNA 含量。

(2) 大肠杆菌溶菌物的 HA 柱层析分离

选用内径 1.5 厘米或 2 厘米的层析柱,同上法装柱。

大肠杆菌溶菌物用蒸馏水稀释 10 倍。稀释时注意慢慢滴加,并轻缓摇匀,防止产生泡沫,以获得澄清均一的稀溶菌液。柱层析加样量约 5—10 毫升,视 HA 柱大小而定。用递增浓度的 KPB(pH6.8) 顺序洗脱,用微量泵控制流速为每分钟 1 毫升,收集各 KPB 浓度的洗脱峰,记下体积,分别测定 DNA、RNA 及蛋白质含量。同时测定稀溶菌液内 DNA、RNA 及蛋白质含量。

四、放射性同位素标记实验

大肠杆菌 15-T(555-7) 经扩大培养(OD_{490} 达 0.6 左右),微孔滤膜(孔径 0.45 微米)过滤, Mg 培养基洗涤两次,菌体悬浮于 Mg 培养基补以葡萄糖 0.4%、精氨酸 100 微克/毫升,甲硫氨酸 20 微克/毫升及色氨酸 20 微克/毫升,然后加入 $5[^{131}\text{I}]\text{u}$ (0.5 微居里/毫升)或 $\text{Me}[^3\text{H}]\text{T}$ (8 微居里/毫升)。37°C 振荡保温 150 分钟,离心收集菌体, Mg 培养基洗两次,生理盐水-EDTA (pH8.0) 洗两次,然后将菌体制成溶菌物。将溶菌物进行 HA 柱层析,用递增浓度的 KPB (pH 6.8) 顺序洗脱,收集洗脱液(3 或 4 毫升/管)。

直接用井型计数仪测定 $[^{131}\text{I}]$ 标记 DNA 的放射性。层析洗脱完毕后,将层析柱内的 HA 取出,测定遗留于 HA 颗粒上的放射性。同时测定溶菌物的放射性,以计算回收量。

测定 $[^3\text{H}]$ 标记 DNA 0.2M KPB 洗脱液的 260 毫微米光密度值,并分别取洗脱液 0.1 毫升加到 10 毫升闪烁液中(每升甲苯闪烁液含有 4 克 PPO, 0.6 克 POPOP; 25 克萘; 300 毫升乙二醇二甲醚),用液体闪烁仪进行测定。

$[^3\text{H}]$ 标记 DNA 比放射性的测定 取 25 微升样品溶液于闪烁杯内,加 0.2 毫升 HClO_4

(60%), 0.2% H_2O_2 , 80℃ 水浴加热 1 小时, 冷却后加 6 毫升乙二醇乙醚, 再加 10 毫升闪烁液 (二甲苯闪烁液含 1% PPO) 摇至均一澄清, 次日, 测定放射性, 再加内标准源测放射性, 计算比放射性。

五、DNA, RNA 及蛋白质的测定

DNA 测定采用 Richards 方法^[1], 用小牛胸腺 DNA 做标准, 相应的 KPB(pH6.8) 作为试剂空白。同时测小牛胸腺 DNA 溶液测 260 毫微米光密度做纯度校正。

RNA 测定采用 3,5-二羟基甲苯- $FeCl_3$ 法^[2,3]。用酵母 RNA 做标准, 同时测 260 毫微米光密度做纯度校正。

蛋白质测定采用 Lowry 法^[4]。用牛血清白蛋白做标准, 相应的 KPB(pH6.8) 作为试剂空白。

六、电泳样品的制备方法

基本上按照 D. Lang (1970) 等人方法。大肠杆菌 15T⁻(555-7) 溶菌物经 HA 柱分离的样品, 对蒸馏水透析并稀释至 OD_{260} 0.3 左右 (DNA 为 10—12 微克/毫升)。再用 0.15M 醋酸铵稀释 10 倍, 取 35 微升稀释液直接滴于 Teflon (聚四氟乙烯) 的板上, 然后用微量注射器把 4 微升细胞色素 c (16 微克/毫升) 和 1 微升 8% 甲醛加在液滴表面。静止 15—30 分钟待单分子膜形成。用载有火棉胶-碳膜的铜网, 使支持膜向下, 并用镊子即刻捞起单分子膜, 吸附于支持膜上的多余液体可用小滤纸片吸去, 也可将铜网直接浸于 95% 的酒精或无水酒精 10 秒或 30 秒。然后用铂铱合金丝 (直径为 0.1 毫米) 进行金属投影, 样品和金属蒸发源之间的投射角约 7 度, 距离在 6 厘米以上, 投影中间将样品转动 90°, 成为二次垂直投影, 然后用日立 Hu-11 电镜观察。

结果与讨论

小牛胸腺 DNA 经 HA 柱层析分离, 递增浓度的 KPB(pH6.8) 顺序洗脱, 在 0.1M KPB 处出现一主要的紫外吸收峰。其 DNA 含量约占总加样量的 85% 以上。柱层析 DNA 总洗

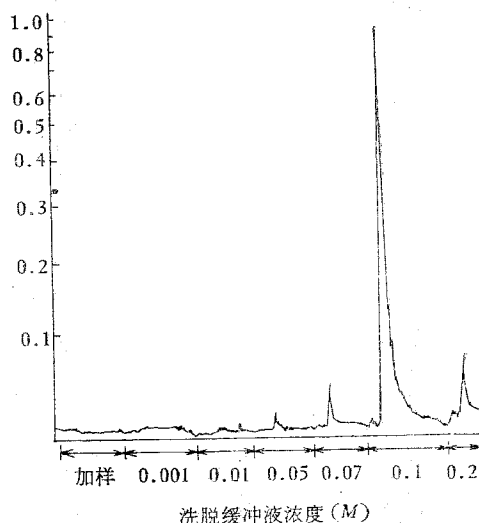


图 2 小牛胸腺 DNA 的 HA 柱层析图谱

HA 批号: 740712 层析柱: 1×4 (厘米)
小牛胸腺 DNA 溶液: 100 微克/毫升 (含量为 42%)
加样量: 10 毫升
双光束多用分析仪: 比色杯宽度 0.3 毫米
纵坐标为 260 毫微米光吸收

表 1 小牛胸腺 DNA 的 HA 柱层析

KPB 浓度 (M)	DNA 测出量 (微克)	洗脱回收率 (%)
0.001	1.2	0.286
0.01	0.8	0.19
0.05	2.0	0.477
0.07	6.5	1.55
0.1	372.8	88.8
0.2	21	5.0
总 计	404.3	96.3

HA 批号: 740712 层析柱: 1×4 (厘米)
小牛胸腺 DNA 溶液: 100 微克/毫升
含量为 42% 即 42 微克/毫升
加样量: 10 毫升

脱回收率达 95% 左右 (图 2, 表 1)。

大肠杆菌 15T⁻(555-7) 溶菌物经 10 倍稀释后可直接进行 HA 柱层析分离。经递增浓度的 KPB(pH6.8) 顺序洗脱, 在双光束多用分析仪记录仪图纸上可见五个较大的紫外吸收峰 (图 3)。DNA、RNA 及蛋白质测定数据证明 DNA 集中在 0.2M KPB(pH6.8) 洗脱下来。0.2 M KPB 洗脱峰内 DNA 的电镜观察见图 4 (见铜版 IV, 6)。故溶菌物内 DNA 可直接用 HA 柱层析方法与 RNA, 蛋白质分离开来。DNA

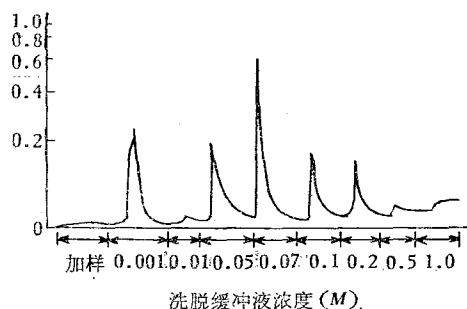


图3 大肠杆菌 15T⁻(555-7)溶菌物的 HA 柱层析图谱

HA 批号: 740917 层析柱: 1.5 × 4(厘米)

稀溶菌液加样量: 5 毫升

核酸蛋白分析仪: 比色杯宽度 0.3 毫米

纵坐标为 260 毫微米光吸收

表2 大肠杆菌 15T⁻(555-7) 溶菌物的 HA 柱层析

KPB 浓度(M)	DNA 测出量(微克)	RNA 测出量(微克)	蛋白质 测出量(微克)
0.001	6.13	82.3	350
0.01	0	7	33
0.05	0	348	725
0.07	0	604	134
0.1	11	106.7	73.7
0.2	58.5	42.3	119.7
0.5	0	9.1	32.5
1.0	0	11	77.4
加 样 量	255	1950	4550
柱洗脱总量	75.63	1210.4	1545.3
总洗脱回收率	29.6%	62.1%	33.96%

HA 批号: 740917 层析柱: 1.5 × 4(厘米)

稀溶菌液加样量: 5 毫升

集中存在的洗脱峰内 RNA 及蛋白质含量很少。HA 柱层析洗脱下来的 DNA 总洗脱回收量约在 30% 左右, RNA 总洗脱回收量约为 60—70% 左右, 蛋白质总洗脱回收量约为 30—40% 左右(表 2)。为了探讨 DNA 洗脱回收率低的原因, 我们将大肠杆菌 15T⁻(555-7) 溶菌物的稀释液进行超声波处理后再进行 HA 柱层析分离。结果证明 DNA 仍集中在 0.2M KPB 处, 但 DNA 的总洗脱回收量增至 70% 以上, 表 3 列出超声波处理前后大肠杆菌 15T⁻(555-7) 稀溶菌液 DNA 的 HA 柱层析分布及洗脱回收率的比较, 这些结果说明在溶菌物内可能有一部分较大的 DNA 分子或处于结合状态的 DNA, 也可能与膜物质相结合, 因此留在 HA 颗粒上

表3 大肠杆菌 15T⁻(555-7) 溶菌物超声波处理前后 HA 柱层析行为的比较

KPB 浓度(M)	DNA 测出量(微克)	
	未经超声波处理	超声波处理
0.001	6.38	14
0.05	0	0
0.07	0	8.7
0.2	45.1	86.04
0.5	5.1	5.4
加 样 量	160	160
柱洗脱总量	56.58	114.14
总洗脱回收率	35.3%	71.3%

HA 批号: 741022 层析柱: 2 × 2(厘米)

加样量: 稀溶菌液 5 毫升

超声波处理条件: 150 瓦 800 千赫 2 分钟

不能被洗脱下来。经超声波处理可使 DNA 大分子断裂而被洗脱下来。0.2M KPB 洗脱下来的 DNA 仍含有少量蛋白质及 RNA。可能这些是与 DNA 结合比较紧密的蛋白质与 RNA, 不能用 HA 柱层析予以分离。这些少量的与 DNA “共洗脱”的蛋白质与 RNA, 和那些能用 HA 柱层析与 DNA 分离开来的蛋白质与 RNA 和 DNA 之间的相互关系尚待进一步探讨。

为了进一步验证以上结果, 我们将大肠杆菌 15T⁻(555-7) 用含有放射性同位素标记前体的培养基进行培养, 以标记其 DNA, 然后制成溶菌物进行 HA 柱层析分离, 观察标记 DNA 的层析行为。本组曾报道 5[¹³¹I]u 可代替 Me[³H]T 掺入细菌 DNA, 方法简便易行(待发表)。我们用 5[¹³¹I]u 代替胸腺嘧啶培养大肠杆菌 15T⁻(555-7), 收集菌体制成溶菌物进行 HA

表4 5[¹³¹I]u 标记的 15T⁻(555-7) DNA 的 HA 柱层析

KPB 浓度(M)	[¹³¹ I] DNA 测出量(cpm)	回收率 (%)
0.001	3716	0.77
0.07	2541	0.53
0.2	226109	46.87
0.5	9828	2.04
柱洗脱总量	242194	50.21
HA 颗粒上遗留量	198300	41.1
总洗脱回收量	440494	91.31

HA 批号: 740917 层析柱: 2 × 2(厘米)

加样量: 2 毫升 482368 cpm

柱层析, 结果与上述结果一致, 放射性集中在 0.2M KPB 洗脱峰, 余者遗留在 HA 颗粒上(表 4, 图 5)。用化学法测各洗脱峰的 RNA 及蛋白质含量, 证明在放射性集中的 DNA 部位两者含量都很少。进一步验证了 HA 柱层析的分离效果。将 $[^{131}\text{I}]$ 标记样品经超声波处理再进行 HA

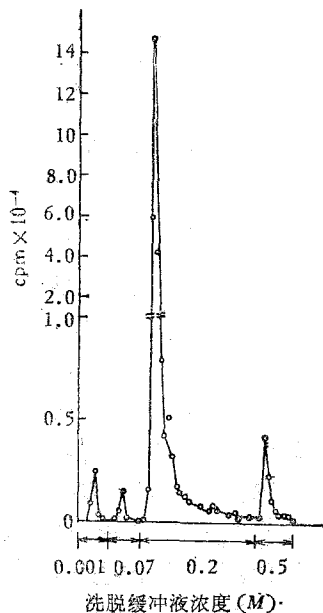


图 5 5 $[^{131}\text{I}]$ u 标记大肠杆菌溶菌物的 HA 柱层析图谱

HA 批号: 740917 层析柱: 2×2(厘米)
稀溶菌液加样量: 2 毫升 482368cpm

表 5 超声波处理的 $[^{131}\text{I}]$ 标记的样品的 HA 柱层析

KPB 浓度(M)	$[^{131}\text{I}]$ DNA 测出量			
	未经超声波处理		超声波处理	
	cpm	回收率 (%)	cpm	回收率 (%)
0.001	976	1.83	852	1.28
0.07	219	0.41	923	1.38
0.2	23184	43.37	58883	88.12
0.5	5787	10.83	853	1.28
加 样 量	53450		66810	
柱 洗 脱 总 量	31019	58.03	60658	90.79
HA 颗粒上遗留量	20538	38.42	237	0.35
总 洗 脱 回 收 量	51557	96.45	60895	91.14

HA 批号: 740917 层析柱: 2×2(厘米)
加样量: 0.5 毫升

柱层析实验, 表 5 结果再次证明超声波处理能将大分子或结合状态的 DNA 断裂或折离, 而由 HA 柱上洗脱下来。

为了进一步说明 0.2M KPB 洗脱峰是否 DNA 集中部位, 用 $\text{Me}[^3\text{H}]\text{T}$ 代替胸腺嘧啶培养 15T⁻(555-7) 使之掺入细菌 DNA, 收集菌体制成溶菌物进行 HA 柱层析, 先用 0.07M KPB 洗脱至 OD_{260} 达零值, 然后用 0.2M KPB 洗脱, 收集洗脱液(4 毫升/管), 分别测 OD_{260} 及放射性, 光密度测定结果与放射性测定结果相一致(表 6)。将放射性最高的一管测定计算比放射性, 得到比放射性为 1.16 微居里/0.505 OD_{260} 的较纯的 $[^3\text{H}]$ 标记 DNA。

表 6 $[^3\text{H}]$ 标记 15T⁻(555-7) DNA 的 HA 柱层析 0.2 M KPB 洗脱部分

管 号	OD_{260}	$[^3\text{H}]$ DNA 测出量 cpm/0.1 毫升
1	0	314
2	0.505	40434
3	0.235	10308
4	0	1516
5	0.002	1418
6	0	600

HA 批号: 741022 层析柱: 2×2(厘米)
加样量: 5 毫升

HA 柱层析分离 DNA (或 RNA、蛋白质) 时, 加样后有时在记录仪图纸上会出现不规则的峰形, 并影响后面洗脱峰, 检查其原因, 发现在收集液中有时存在眼所能见的 HA 细颗粒。如将收集液做 DNA 比色测定, 有时可测出微量 DNA, 但有时测不出, 我们估计这些不规则的峰形可能就是这些 HA 细颗粒及吸附在 HA 细颗粒上的 DNA (或 RNA, 蛋白质) 所造成。因此 HA 柱装好后用 0.5M 及 0.001M KPB 彻底洗涤至记录仪基线, 排除可能漏出的细颗粒及其他紫外吸收物质; 减低样品溶液粘度, 适当控制流速即可避免实验假象。

细菌 DNA 的抽提纯化已有不少报道。般手续皆较繁杂, 如欲从小量实验材料中分离 DNA、RNA 及蛋白质, 较难做到。而且提纯 DNA 后, RNA 及蛋白质已被酶水解或变性, 不

(下转第 62 页)

外,尚广泛地用来探讨在止血和血栓形成中起着重大作用的血小板的表面电荷和表面分子结构与血小板的粘附和凝集的关系;了解各种物理因素、各种化学物质和药物、代谢抑制剂和代谢产物等对血小板的表面电荷和表面分子结构的影响,以及阐明存在于血小板表面上的各种活性化学基团,其中主要是巯基($-SH$)和磷酸基($-OPO_3H^-$)在血小板的粘附和凝集中的作用。

结 束 语

综上所述,近十余年来,由于深入研究细胞表面的结构和功能的需要,细胞电泳不论在测量装置和测定方法的改进及其应用范围的扩大方面,均取得了较快的进展。目前,它已开始深入到生物学和医学研究的更多领域中,成为从分子水平上探讨细胞表面在各种生命活动中的作用的有力武器。

由于细胞电泳技术能够使细胞处于完整无损的自然状态下进行研究,而且可在正常状态和病理状态以及机体的免疫状态下对细胞作出鉴定,从而来诊断疾病和判断药物的疗效,这就

为细胞电泳技术在医学临床中的应用开辟了广阔的前景。但是,直到目前为止,细胞电泳技术在应用上,尚局限于一般生物学的实验研究上,在医学临床中的应用尚不够广泛,仅处于开始的阶段。这主要是由于细胞电泳的测量装置比较复杂、制作比较困难、样品用量大、影响因素比较多、操作比较烦、不易掌握以及数据分析复杂费时的缘故。由此可见,进一步改进细胞电泳技术的测量装置和测定方法,使它成为诊断和防治疾病以及病因学研究的有力工具,也是促使生物物理学密切结合医学临床实践的一个重要方面,同时也是摆在生物物理工作者以及临床工作者面前的一项重要任务。

参 考 资 料

- [1] Тарусов, В. Н.: *Практикум по общ. биофизике*, 1, 1959.
- [2] Piper, W.: *Acta Haemat.*, 18, 414, 1957.
- [3] Eylar, E. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 237, 1962, 1962.
- [4] Seaman, G. V. F.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 100, 493, 1963.

[本文于 1974 年 11 月 1 日收到]

(上接第 28 页)

能做进一步的分析。本文用 HA 柱层析直接分离大肠杆菌溶菌物,不但能获得较纯的 DNA,而且分离出来的 RNA 及蛋白质还可以进行测定及进一步的分析。例如不同浓度 KPB 洗脱峰的蛋白质经透析浓缩后可以进一步进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,便于研究各种蛋白质与 DNA 的亲合程度,与 DNA 复制的关系等。此外,从放射性同位素标记前体培养的细菌中可以分离获得放射性标记的 DNA。如用放射性同位素标记的 RNA 或蛋白质前体培养细菌,亦能分

离出放射性标记的 RNA 或蛋白质。对于进行 DNA 复制的调节控制研究提供了有利条件。有关这方面的工作正在进行中。

参 考 资 料

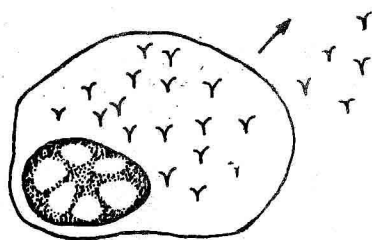
- [1] Richards, G. M.: *Anal. Biochem.*, 57, 369—376, 1974.
- [2] Schneider, W. C.: *Methods in Enzymology*, 3, 680—681, 1957.
- [3] Meibbaum, M.: *Z. Physiol. Chem.*, 258, 117, 1939.
- [4] Lowry, O. H., et al.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265—275, 1951.

[本文于 1975 年 3 月 29 日收到]

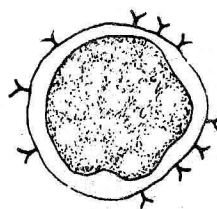
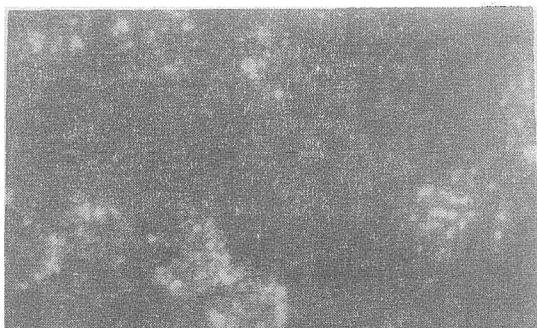
(上接第 30 页)

(如结构蛋白等)与细胞核、细胞质的合成产物得以迅速起作用。换言之,延伸结构的末端可能象是一个“船坞”,在这里通过核-质-线粒体

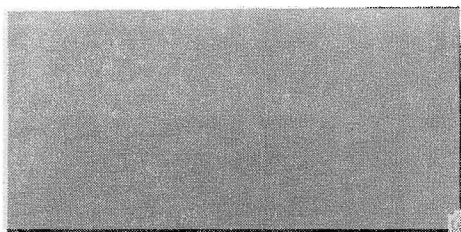
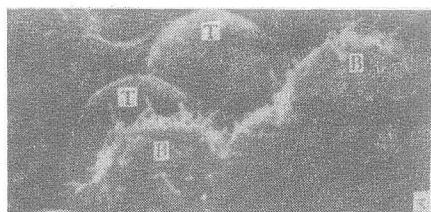
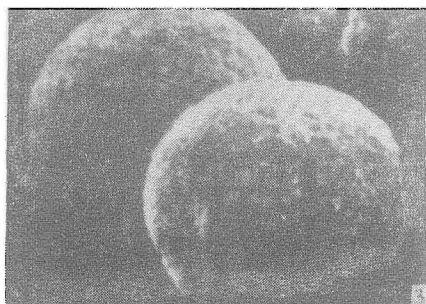
系统的协同作用,逐步装配成一个新的线粒体。这种假说还需通过生物化学、细胞化学等方面的研究加以验证。



1



2



铜 版 IV

图 1 浆细胞 左: 荧光染色, 示细胞体内的抗体; 右: 模式图, Y 表示抗体

图 2 淋巴细胞 左: 荧光染色, 示细胞膜表面的抗体; 右: 模式图, Y 表示抗体

图 3 T 淋巴细胞 扫描电子显微镜观察, 放大 11,500 倍

图 4 B 淋巴细胞 扫描电子显微镜观察, 放大 18,000 倍

图 5 T 淋巴细胞 (T) 与 B 淋巴细胞 (B), 扫描电子显微镜观察, 放大 8,600 倍

图 6 大肠杆菌 15T⁻(555-7) 溶菌物 HA 柱层析 0.2M KPB 洗脱峰内 DNA 的电镜图 (×30,000)