

基酸内标法证明为丙氨酸。根据在层析中的洗脱位置,估计分子量为 1000 左右。

5. 放射免疫测定

我们所使用的 MEK 放射免疫药箱,抗 MEK 血清的特异性较好。它与催产素、加压素、血管紧张素 I、血管紧张素 II、徐缓激肽、促黄体生成释放激素、促甲状腺激素、吗啡、纳洛酮、 β -内啡肽、LEK 等均无交叉免疫,与胰岛素的交叉免疫小于 1%^[9]。所以,我们得到的 MEK 免疫反应物质不是上述几种物质中的一种。

6. 在提取过程中得到的沉淀,相当于 P₂ 组分,含有丰富的神经突触膜,我们用层析分离得到的肽可能是膜本身结合的肽,也可能是与

受体结合的内源性活性物质,经 TritonX-100 的作用而分离出来的。

参 考 文 献

- [1] Lewis, R.V. et al.: *Science*, **208**, 1459, 1980.
- [2] Goldstein, A. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **76**, 6666, 1979.
- [3] Kangawa, K. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **99**, 871, 1981.
- [4] Minamino, N. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **99**, 864, 1981.
- [5] 陆以信等:《生物化学与生物物理学报》, **12**, 115, 1980.

[本文于 1983 年 1 月 3 日收到]

简报

显微分光光度法测定 Co⁶⁰ 辐照后大白鼠外周淋巴细胞核内 DNA 含量变化

陈玉玲 宋兰芳

(中国科学院生物物理研究所)

显微分光光度法是利用分光光度法的原理,以一定波长的单色光在显微镜下对生物样品微细结构中的化学物质进行定量测定。显微分光光度法测定的不是一个细胞,而是一个细胞群体内的某种物质(如 DNA),其中各个细胞内的物质含量不完全相同,然而,一个细胞群体的某物质含量有一定的分布,通常用组织图来表示,正常细胞胞核的 DNA 含量只与染色体的数目有关,如呈规律性的成倍增加,即为 2 倍体、4 倍体等。用这种方法,可以鉴定正常细胞受到某种外界环境刺激后所发生的变化,如癌变等。

我们采用这种技术探测大白鼠受 Co⁶⁰ γ 射线照射后外周血淋巴细胞核内 DNA 含量的变化。

一、材料和方法 选择体重为 150g—200g 的雄性大白鼠,每 16—20 只为一批,进行 Co⁶⁰ γ 照射,剂量为 200r,共做五批。分别在照后 24 小时,72 小时、1 周、2 周各取出 2—3 只大白鼠,抽心血(每次用 2 只未照射的大白鼠作对照,取血量每只为 1ml),2000 转/分离心 20 分钟,弃上清液取中间的白细胞层,用 PBS 缓冲液洗 2—3 次,后放入甲醇-乙酸 3:1 固定液中在冰箱内固定 1 小时。离心后去掉固定液,滴入适量的缓冲液,用滴管吹打均匀滴在冰湿的载玻片上,晾干后

用 Feulgen 染色。为避免误差,我们将各时期制备出的样品同在一个缸内染色。染好后晾干。在显微镜下挑选淋巴细胞分布均匀且分散的片子封固,晾干后用北京市中医研究院的 M,P,V-2 型显微分光光度计测量核内 DNA 含量。

二、结果与讨论 由图可见,大白鼠在未受照射前其外周血淋巴细胞群体分布很集中,核内 DNA 含量较恒定。当大白鼠受 Co⁶⁰ γ 射线 200r 照射 24 小时后,其外周血淋巴细胞核内 DNA 的含量明显下降,但细胞群体分布仍较集中。在受照射 72 小时后,细胞群体的分布很不集中,包含有各种 DNA 含量的细胞。照后 1 周核内 DNA 含量下降,但分布又趋集中。照后 2 周已见有明显恢复,核内 DNA 含量及群体分布趋正常,但还没完全复原。这一测量结果与我们在电镜下所观察的是一致的。在电镜下观察大白鼠照后 72 小时形态发生很大变化;核固缩,核、质比变化明显,照后 2 周时核型见恢复。

我们认为,在上述剂量照射下,一方面射线对机体的外周血淋巴细胞有直接的破坏作用,使其数量急剧减少。这种直接的破坏作用又导致一系列连锁反应,包括代谢紊乱,病理变化。另一方面,射线使造血器官

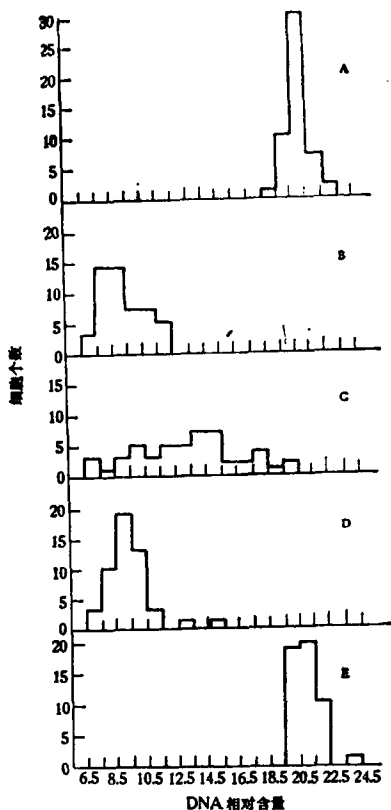


图1 全身照射 200rad 大白鼠外周血淋巴细胞核内 DNA 的含量变化

A. 正常淋巴细胞; B. 照后 24 小时; C. 照后 72 小时;
D. 照后一周; E. 照后 2 周

受到抑制性损伤,使造血机能暂时失调,一时不能补充那么多正常细胞到外周血中,因此,外周血中呈现各种损伤程度不同的细胞,此时细胞群体的 DNA 含量分布不集中。但随时间的延长这种抑制性的损伤可以消除,细胞核内 DNA 含量也趋于正常。辐射可以改变染色体的数目和结构,致使细胞在分裂时染色体的正常分离受到干扰。上述剂量照射下引起的损害是可恢复的,机体的失调是暂时的。

实验由北京市中医研究院实验中心室池旭生、庞大本等同志协助完成,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Leuchten, berger, C.: *Gen. Cytochem. Meth.*, Vol. 1 1958, 219.
- [2] Mendelsohn, M.L.: *J.B.B. C.*, 4, 407, 1958a *ibid.*, 4, 415, 1958b.
- [3] 林波海:《科学仪器》3, 501, 1965.

[本文于 1983 年 3 月 30 日收到]

(上接第 78 页)

时须重复 2—3 次。降介至第 8 步时,改用疏水肽洗涤液(庚烷:乙酸乙酯=3:1)洗涤,否则此 C 端三肽由于疏水性较强进入洗涤废液而被弃去。但是,去 Ile 后的最后 Pro·Pro 二肽又具有亲水性,再改用原来的洗涤液。因此在检定小肽顺序,特别是 C 末端的短肽时,应特别注意肽的极性,从而选择适当的洗涤液。

本工作曾得到本所戚正武教授和罗珊珊的指导,王茂音参加部分工作,一并致谢。

参 考 文 献

- [1] 俞鹤年等:《生物化学与生物物理进展》,1,41,1981.
- [2] Chang, J. Y.: *J. Chromatog.*, 140, 125, 1977.
- [3] 王茂音等:浙江蝮蛇毒舒缓肽增强因子(BPP)的研究待发表。

[本文于 1983 年 1 月 8 日收到]