

2. 脂肪、pH、温度对碘淀粉络合物的影响 软脂酸、油酸、亚油酸与直链淀粉形成络合物,遇碘生成紫蓝色^[1],影响测定结果。由表1结果说明,样品中脂肪的存在对测定结果影响颇大,只有通过样品脱脂的预处理以消除。

同时,我们也研究了 pH 和温度对吸收值影响,发现二者的影响都较大,因此,在测定样品或制备工作曲线时,要严加控制。

3. 回收率 谷物待测液中加入一定量的直链淀粉及支链淀粉纯品,其回收率测定结果为表2。

表4 双波长法与旋光法测定总淀粉结果比较

样品名称	双波长法 (脱脂样品 中淀粉%)	旋光法* (脱脂样品 中淀粉%)	误差	相对误差 %
洁峰	87.3	85.44	+1.86	+2.18
IR24	84.7	86.04	-1.34	-1.56
凌峰	83.3	81.60	+1.70	+2.08
庚湘1号	88.7	84.64	+4.06	+4.79
凌云	86.0	85.00	+1.00	+1.18
光辉	88.2	85.53	+2.67	+3.12
越峰	88.0	85.28	+2.72	+3.18
混合样1	80.2	79.45	+0.75	+0.95
混合样2	81.0	80.43	+0.57	+0.71

* 是修改的埃维尔斯法,现为苏联国家标准法。

4. 样品测定的重复性及准确度

本方法的精密度是通过一系列样品进行多次测定来分析的。(结果见表3)。

由表3可以看出,对于样品中多次测定的直链淀粉,它们的标准差S为0.098(平均),相对偏差在1%以下,而支链淀粉,其标准差S为0.863(平均),相对偏差在2%以下(除一个实验数据外)。说明只要严格控制操作条件,本方法的重现性还是比较好的。

将本法与旋光法^[1]测定总淀粉的结果比较,其相对误差在5%以下(表4)。

本法具有操作简便、快速、经济的优点,因而适用于水稻食味品质研究及育种工作的筛选技术,如有专门的双波长分光光度计,将会使操作和测定结果更令人满意。

参 考 文 献

[1] A. N. 耶尔马科夫等著(吴相钰译):《植物生物化学研究法》科学出版社1956年。
[2] 厦门大学化学系分析化学教研室:《分析化学》1978年,第6卷,3期,224页。
[3] Houston, D. F.,: *Rice: Chemistry and technology*, 33, 1972.
[4] Julion, B. O.,: *Cered Sci. Today*, 16(10), 334, 1971.
[5] Houkawa, T.,: *Anal. Lett.*, 8(12), 901, 1975.
[6] Wilson, E. T.,: *J. Am. Chem. Soc.*, 65, 1380, 1943.

[本文于1980年4月23日收到]

**麦胚无细胞系中豚鼠肝 mRNA 指导的
氨基酸参与的研究**

静国忠 陈建文 陈燕 李跃贞

(中国科学院生物物理研究所)

真核细胞 mRNA 在无细胞蛋白质合成体系中的翻译,对于研究蛋白质合成中的某些调节因素是一个重要的手段。Tse 及 Taylor^[1] 对大鼠肝 mRNA 及鼠肝白蛋白 mRNA 在麦胚无细胞蛋白质合成体系中翻译的最适条件的研究指出,在无细胞体系中各种 mRNA 的翻译需要不同的最适条件,其翻译产物的大小分布及翻译的相对效率由于钾、镁离子的浓度差异

而有明显的改变,即使在同一抽提物中不同的 mRNA 所需要的条件也不同。在分离豚鼠肝白蛋白 mRNA 的过程中,我们以最大的氨基酸参与为标准,对豚鼠肝 mRNA 翻译的最适条件进行了研究。

材 料 和 方 法

1. 豚鼠肝 mRNA 的制备 新鲜豚鼠肝

切成碎块,加入6个体积(W/V)的匀浆缓冲液[50mM Tris-HCl pH7.7, 25mM NaCl, 5mM MgCl₂, 250mM 蔗糖, 640 微克肝素/毫升(130 单位/毫克)] 0℃ 在玻璃匀浆器中匀浆,经 15000 × g 10 分钟4℃离心,清液用 10% Triton X-100 及去氧胆酸钠校正到 1%, 少许匀浆校正到 1% SDS。用等体积酚-氯仿(1:1, 酚预先用 50mM Tris-HCl/25mM NaCl/5mM MgCl₂ pH7.7 饱和),在室温(20—25℃)剧烈振荡,抽提 10 分钟,经 15000 × g, 25℃, 10 分钟离心,水相再抽提三次,加 NaCl 至 0.2M, 用 2 倍体积的乙醇 -20℃ 沉淀 RNA, RNA 沉淀用含 5mM EDTA 的 3M 乙酸钠(pH6)洗四次,再用含 0.2M NaCl 的 70% 乙醇洗二次,沉淀溶于水,再经乙醇/NaCl 沉淀后,溶于 0.01M Tris-HCl pH 7.5, 0.5M KCl 缓冲液中,此时 $A_{260}:A_{280} = 2.3$, 将上述成分上 0.5 克的 Oligo-dT10 纤维素柱,进行亲和层析。mRNA 组份用 2 倍体积的乙醇沉淀,最后溶于适当体积的重蒸水中(视 mRNA 量而定),滴入液氮中保存。经 0.5 克的 Oligo (dT) 10-纤维素层析后,可得 11 A_{260} 单位/的 mRNA, 其 $A_{260}/A_{280} = 2.14$,按 1 A_{260} 单位/为 50 微克计^[2],可得 550 微克肝 mRNA。

2. 麦胚无细胞体系的制备 参照 Marcus 等^[2,3]方法,用农大 139 小麦或 H787F8 小黑麦 500 毫克,加等量玻璃粉,在盐冰浴的研钵中干磨 2 分钟加入 1 毫升缓冲液(20 mM Hepes pH 7.675 mM KCl, 1mM Mg(AC)₂ 1mM DTT, 2mM CaCl₂) 抽提, 26,000 × g 离心 12 分钟(0—2℃),吸取中间黄绿色组份上 Sephadex G25柱(21 × 1 厘米),用缓冲液(20mM Hepes pH7.6, 75 mM KCl, 2.5 mM Mg(AC)₂, 2 mM DTT)洗脱,收集乳白色组份,再经 26,000 × g 离心,于液氮中保存,这样制备的麦胚无细胞系 A_{260}/A_{280} 为 1.67, 一般每毫升含 65 A_{260} 单位。

3. 标准活化体系 反应混合物总体积为 100 微升, pH7.0, 含 30 微升的麦胚抽提物(除另指出外,本实验所用麦胚体系都为农大 139), 28mM Hepes, 2mM DTT, 1mM ATP, 25 μ M

GTP, 8 mM 磷酸肌酸 (CP) 4 微克肌激酶 (CK), 25 μ M 的 19 种未标记的必需氨基酸, ¹⁴C-L-亮氨酸 0.5 微居里 (348 mCi/mM), mRNA 2 微克, 2.5 mM Mg(AC)₂, 75mM KCl。25℃ 保温 120 分, 取 10 微升点于 Whatman 3 号滤纸片 (ϕ 2 厘米)上, 经 10% 三氯醋酸固定,按[3]处理,加入 10 毫升闪烁液(每升甲苯含 PPO 5 克, POPOP 0.5 克),在本所自制的 YSI 型液闪谱仪上测量,计数效率为 50%。

结果与讨论

1. 不同量 mRNA 对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的影响

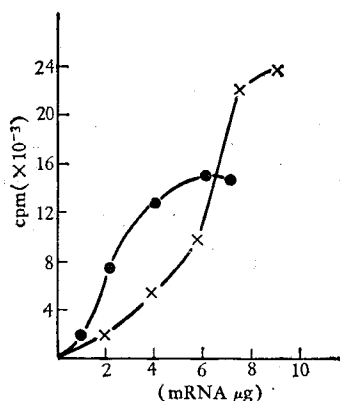


图 1 不同量 mRNA 对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的影响 (条件见“材料和方法”3)

· — · 农大 139 麦胚体系
× — × H787 F8 小黑麦麦胚体系

mRNA 量的增加而增加,当用农大 139 麦胚体系时 mRNA 量加到 6 微克时,其氨基酸参入接近最高值,此时参入值可达对照的 22 倍。我们曾选用小黑麦 H787 F8 麦胚体系, mRNA 量在 6 微克以下时,其参入值比用农大 139 低得多,然而当 mRNA 量增至 7.5 微克时,参入值急剧增加,当增至 4 微克时,参入值可达对照的 26 倍,似乎小黑麦 H787 F8 无细胞系对较低浓度的 mRNA 不敏感,然而确能承受较高浓度的 mRNA 的翻译。这些结果也表明我们所制备的 mRNA 较纯,所含干扰因素较少,所以 mRNA 达到饱和的量相当高。

2. 不同保温时间对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的

影响 如图 2 所示, 开始是按线性增加, 大约 60 分钟之后增加的速率变低, 到 120 分钟达到最高值。这一结果同 Tsc 及 Taylor^[1] 的报道相一致。

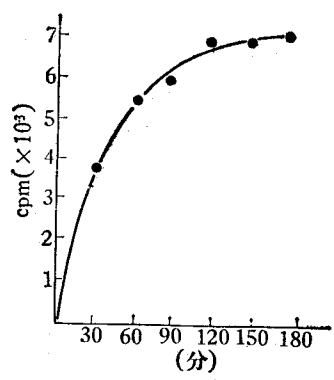


图 2 不同保温时间对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的影响
(条件见“材料和方法”3)
用农大 139 麦胚 A₂₆₀:65/毫升

3. 麦胚体系浓度对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的影响 如图 3 所示, mRNA 所促进的氨基酸参入随麦胚 A₂₆₀ 浓度的增加而增加, 当 A₂₆₀ = 0.2 时, 参入值变得极低。

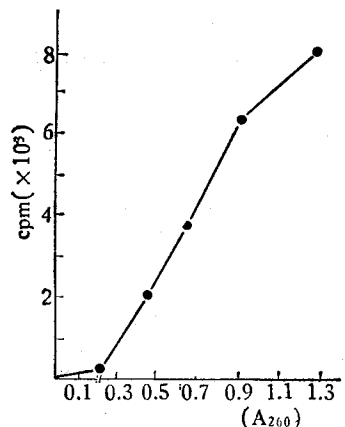


图 3 麦胚体系浓度对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的影响
(条件见“材料和方法”3)
麦胚 A₂₆₀ 为稀释 50 倍后所测的 OD 数

4. pH 值对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的影响: 反应混合物的最终 pH 对豚鼠肝 mRNA 所指导的氨基酸参入有非常大的影响, 与最适 pH 相差 0.5 pH, 其参入值降低约 30% 之多, 如 pH 相差 1, 参入值下降 6—8 倍之多, 从图 4 可见, 其氨基酸参入的最适 pH 为 7.0。这点与 Tsc

及 Taylor 的报道相一致。

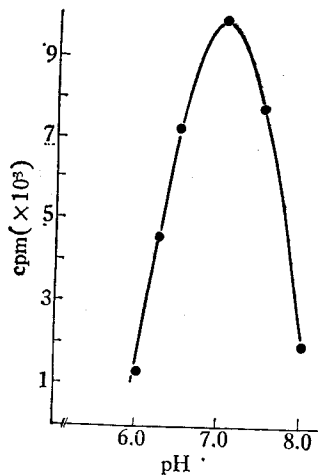


图 4 不同 pH 值对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的影响
(条件见“材料和方法”3) pH 为反应混合物的最终 pH

5. 钾、镁离子浓度对 ¹⁴C-L-亮氨酸参入的影响

(1) 钾离子浓度的影响 从图 5(A) 可见, 在麦胚体系中, 豚鼠肝 mRNA 促进的氨基酸参入的最适钾离子浓度为 75mM, 与最适浓度相差 15 mM 其参入下降 12%, 当钾离子增加到 120mM 时, 其参入值只有最适值的 50%。

(2) 镁离子浓度的影响 从图 5(B) 可见, 在麦胚体系中, 豚鼠肝 mRNA 促进的氨基酸参入的最适镁离子浓度为 2.5 mM。从图 5(B) 可看出氨基酸的参入对较高浓度镁离子 (3 mM) 的改变不如对较低浓度镁离子的改变敏感; 当镁离子在 2mM, 其参入只有最适条件的 50%; 而当镁离子在 3 mM 时, 氨基酸的参入却只有很少的降低。

综上所述, 在麦胚无细胞蛋白质合成体系中, 外源 mRNA 所促进的氨基酸参与与外源 mRNA 量, 保温时间, 反应混合物的 pH 值以及麦胚体系的浓度有着密切的关系。从我们的实验也反映出不同的麦胚体系 (如农大 139 与小黑麦 H787 F8) 对外源 mRNA 的敏感度也不同。整个反应体系中钾、镁离子的浓度对外源 mRNA 指导下的氨基酸参入影响极大, 在实际测活中一定要把各组份中所含的钾、镁离子都考虑进去, 才能得出正确的结果。

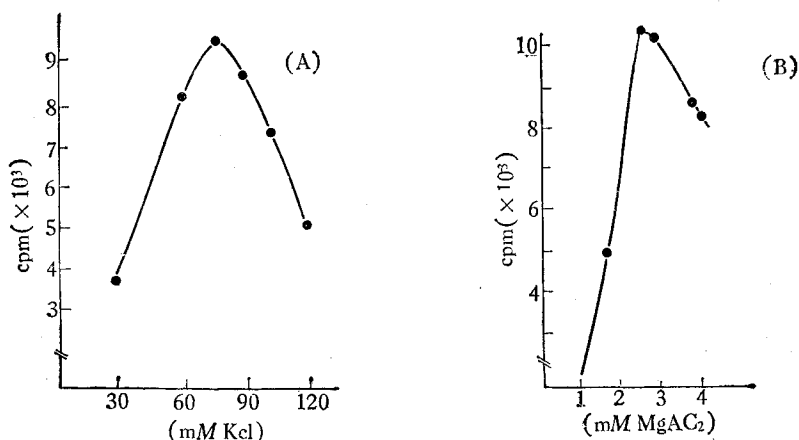


图5 不同钾、镁离子浓度对 ^{14}C -L-亮氨酸参入的影响

(A) 钾离子浓度的影响, (B) 镁离子浓度的影响。(条件见“材料和方法”3)

在用酚-氯仿抽提法提取 mRNA 的过程中, 用 3M 的乙酸钠充分洗去 RNA 沉淀中所含的杂质(如肝素等)非常必要, 否则影响以后的结果。制备好的麦胚无细胞体系和 mRNA 直接滴成小球在液氮中保存, 在我们的实验中, 保存二个月后仍未见活性降低。

参考文献

- [1] Tse, T. P. H & Tayloz, J. M.: *J. Biol. Chem.*, **252**, 1272, 1977.
- [2] Marcus, A. et al.: *Nucleic Acid Res.*, Vol. **1**, 11, 1385, 1974.
- [3] 中国科学院微生物研究所病毒复制组:《生物化学与生物物理学报》, 1976年, 第8卷, 第2期, 第179页。

[本文于 1979 年 12 月 27 日收到]

VAC-60 超速离心机润滑系统的改进

张维明 邢春林 王 斌

(中国科学院新疆化学研究所)

东德 VAC-60 超速离心机是六十年代初产品, 其单一的强迫油润滑循环系统, 经多年使用, 发现有以下设计不合理处:

1. 油箱无油位窗, 无法观察油位变化。
2. 真空泵抽走的油不能及时流回, 使油箱油位低于下限, 不能正常供油, 于是齿轮箱在润滑不好或在无润滑油状态下工作。

3. 只有一套强迫润滑系统, 在停电或油泵有故障时, 即使立即停车, 离心机从最高转速至完全停转, 至少要二十分钟, 此时离心机是在无润滑状态下工作。

由于以上 2, 3 两点, 曾磨坏或烧坏齿轮、轴承和转子轴等部件, 针对这些缺点, 根据有关资料, 参考其他型号离心机润滑系统, 我们做了如下改进:

1. 用有机玻璃(厚 10 毫米)制成润滑油箱, 便于随时观察油位。

2. 真空泵油箱油位窗与润滑油箱间加装连通管($\phi 10$ 毫米), 保证了二者的正常油位。

3. 用自制 2500 毫升的有机玻璃透明重力油杯、铜三通管等, 增加一套重力油杯润滑系统, 解决了中途停

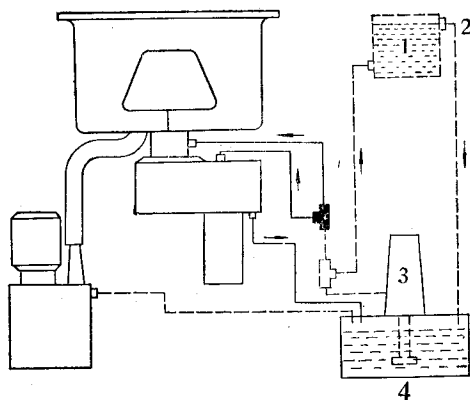


图1 改进后的润滑系统

1. 重力油装(有机玻璃制), 2. 溢流口, 3. 润滑油泵, 4. 润滑油箱(改用有机玻璃制)

—— 原有部分 ----- 改装部分

电或油泵出故障时的润滑问题。

经过以上改进, 多次运转证明效果良好。

[本文于 1980 年 8 月 25 日收到]