科 技 消 息

从国内现有菌株制备磷酸转乙酰酶

磷酸转乙酰酶(PTA)，最早由 Stadtman 用克氏梭状孢子杆菌制备，但菌体培养颇难。1967 年和 1970年，Abiko 报道了由大肠杆菌 B 制备 PTA，并用以测定辅酶 A。我们在 Abiko 工作的基础上，用大肠杆菌 1.505 制备 PTA，获得较好的结果。

大肠杆菌 1.505 菌种，是由中国科学院微生物研究所提供的。菌体培养条件如下：斜面培养基的成分是：1% 蛋白胨，0.5% 氯化钠，2% 琼脂加蒸馏水至 1,000 毫升，趁热用绢布或纱布过滤分装，121℃，15磅灭菌 30 分钟，在无菌操作下将大肠杆菌 1.505-环接种到斜面培养基上，37℃ 培养 15 小时。种子培养基的成分是 1% 葡萄糖，0.4% 酵母膏，0.4% 蛋白胨，0.8% K_2HPO_4，加蒸馏水搅拌溶解，绢布或数层纱布过滤，调 pH 7.0—7.5，分装于三角瓶中 (750 毫升的三角瓶装 100 毫升)，121℃，灭菌 30 分钟。每瓶接入斜面菌体一环，37℃ 摇床培养 6 小时作为种子瓶。发酵培养基的成分同种子培养基，接种量 5—10%，37℃ 振荡培养 6.5 小时，4,000 r.p.m 离心 10 分钟，所得菌体用无盐水洗涤 2—3 次。

酶的抽提方法是：2 升发酵液的菌体悬浮于 40 毫升 0.02*M* $KHCO_3$ (pH 8.0) 中，在 4℃ 以下用 20—25KC 超声波处理 25 分钟，10,000 r.p.m 离心 10 分钟，弃去沉淀，上清液的酶活约 50 单位/毫升。

酶精制的主要目的是去除酶液中内生的辅酶 A，以排除对辅酶 A 测定的干扰。精制的方法有二：一是 Abiko 法 (Abiko, Y. 1967, Abiko, Y. 1970) 用经典的饱和硫酸铵沉淀法；二是深冻沉淀法，这是我们改良的方法。取 47 毫升抽提液在 −20℃ 以下深冻 24 小时后，10,000 r.p.m 离心，上清液在 4℃ 添加饱和硫铵 11.5 毫升，使成 20% 饱和液，再加酸性饱和硫铵 15 毫升，使溶液成 35% 饱和度，10,000 r.p.m 离心 10 分钟，取沉淀溶于 8 毫升 0.1*M* pH 8.0 的 ris 缓冲液中。该酶液在 −4℃ 以下可保存三个月，冻干品在 4℃ 左右的冰箱中放置六个月亦不见酶活有显著变化。

酶活的测定按照 Stadtman 的方法进行，即用氧肟酸测定乙酰磷酸二锂盐的剩余量 (Stadtman, ER, 1951)。

(河北大学生物系张光兴、刘喜明、刘宏迪供稿)

超薄切片玻璃"废刀"的再用

目前国内外电镜实验室在制作超薄切片时，绝大多数用玻璃刀。一般在切过一个组织块后，玻璃刀就不能再用。因此，制刀玻璃的耗量较大，且不易寻找合用的玻璃。

四川医学院电镜室用"废刀"制成重制刀，方法较简便。现将重制方法及效果介绍如下：

1.方法

(1) 去蜡　除去玻璃刀上的胶布，将刀立放在几层柔软的纸上(斜面向下)，置于约 80℃ 烤箱中，使熔化的蜡被纸吸去。取出后再用软纸除去玻璃刀上残留的石蜡(斜面一定要清洁干净)。

(2) 粘合　将环氧树脂(最好在半聚合状态，并加入适量的滑石粉作填充剂)涂在玻璃刀的斜面上，使相对粘合成一方块，用软纸将挤压出粘合缝外的环氧树脂除去。将方块平放在预先做好的架子上(架子表面一定要平坦，中间有一个 4 毫米左右的间隙)，使方块的粘合线与架子中间的间隙平行，粘合线不能与架子的表面接触，以免树脂聚合后将方块与架子粘在一起不易取下。

(3) 聚合　置于 80°—120℃ 烤箱中聚合(80℃聚合 24 小时或 120℃ 聚合 4 小时)。

(4) 重制刀　制刀前先用刀片将方块表面的树脂除去，作刀时划痕与原来的斜线垂直(作刀口的侧面一定要清洁)。

2.试验结果

(1) 此种重制的刀在暗视野下检查；刀口的可用段与一般制的新刀相似。

(2) 在电镜下观察，用重制刀所切的超薄切片与新刀切的超薄切片在质量上没有明显差别。我们试切了用环氧树脂 618 以及 600 包埋的组织块(有心、肝、肺、肾、肿瘤等组织)，效果满意。

根据试验的结果，初步认为切超薄切片用过的废玻璃刀，经树脂粘合后可以再用，质量与新刀无明显差别。

(四川医学院电镜室供稿)