

段,用厚度为3毫米的0.5—0.7%琼脂糖凝胶无论于较低电压或于10伏/厘米的较高电压均得到较好结果(图2)。

胶桥水平板型凝胶电泳,一般于较低电压(5伏/厘米)进行电泳,用较高电压结果往往欠佳。这主要是由于暴露的凝胶表面水分蒸发所致。无桥水平凝胶电泳(是在两个平板之间成胶并进行电泳)解决了凝胶表面水分蒸发问题,此外它缩短了凝胶长度,简化了电泳装置的构造及实际操作。

## 参 考 文 献

- [1] Bartlett, R. C.: *Clin Chem.*, 9, 317, 1963.
- [2] Hoppe H. H. et al.: *Humangenetik*, 14, 224, 1972.
- [3] Kaplan, D. et al.: *Anal. Biochem.*, 78, 235, 1977.
- [4] Kaplan, D. et al.: *ICN-UCLN Symposium on Molecular and Cellular Biology*, Vol. 8, (Eds. Wilcox, G. et al.), Academic Press, p. 103, 1977.

[本文于1979年10月19日收到]

# 茶叶中咖啡碱的快速测定法

聂洪勇 僮稚新 董健纯

(长沙药品检验局)

咖啡碱是茶叶中主要成分之一,测定方法较多,但各有不足之处。我们通过反复比较、试验,提出一种简便快速的氧化镁浸提-紫外分光光度法,现将测定方法介绍如下:

(1) 咖啡碱标准液: 无水咖啡碱(卫生部药检所),熔点 237℃,配制成 20 微克/毫升水液,在岛津 LLV-200 型双光束分光光度计上测定 273nm 处吸收值— $A_0$ 。

(2) 茶叶中咖啡碱测定: 茶叶 0.5000 克(过 20 目)加入氧化镁(分析纯)5 克,蒸馏水 40 毫升,搅匀;微热 20 分钟,冷却后转入 100 毫升容量瓶中,加水至刻度后,再加蒸馏水 20 毫升;摇匀;过滤,取滤液 5 毫升于 50 毫升容量瓶中,加入硫酸:水(1:3)1 滴,加水

至刻度以蒸馏水为参比测 273nm 处的吸收值— $A$ ,茶叶中咖啡碱含量计算如下:

$$\text{咖啡碱} = \frac{(A - 0.050) \times C_0}{0.952 \times C \times A_0} \times 100\%$$

$C$ : 测试液浓度;

$C_0$ : 标准液浓度; 0.952, 0.050 为校正值

(3) 测定结果 用此法测定红茶、绿茶、乌龙茶中咖啡碱的含量并与 AOAC-紫外法比较,其结果基本一致,标准偏差为 0.055,平均回收率达 95.2%。

此法操作简便、快速,消耗试剂少,测定结果准确,重现性好,实为一种简便可行的测定咖啡碱方法。

[本文于1980年5月15日收到]

# 光学衍射技术分析生物样品的电镜照片

管汀鹭 惠虎雄

(中国科学院生物物理研究所)

光学衍射技术在当前已成为生物电子显微术中一个重要的组成部分,它不仅是高分辨率电镜工作所不可缺少的手段,而且还可以用来帮助处理电镜照片,分析样品的结构。

我们利用自己改装的光学衍射仪<sup>[1]</sup>观察分析了一些生物样品,充分显示了这种技术的优点。下面举例说明:

## 一、测量间距简便而准确

牛肝过氧化氢酶是一种含血红素的蛋白,分子量为 250,000,它催化过氧化氢分解成水和氧。由于它的辐射抗性较强,较易长成大晶体。已对它进行了较彻底的研究,现在已成为一种标准样品。已知晶格间距为 84.4 埃,晶格线上点间距为 33.9 埃( $\text{\AA}$ )<sup>[2]</sup>或

67.0 埃 ( $\text{\AA}$ ) (约为 33.9 埃 ( $\text{\AA}$ ) 的两倍)。

图 1 是在 HO-11A 电镜上拍摄的牛肝过氧化氢酶晶体 (1,0,0) 的电镜照片 (本文插图均见封三)。由图上可见到晶格条纹。若根据照片的放大倍数 (假定电镜的放大倍数已校正好), 求晶格间距  $d$ , 需要先数出几十甚至上百条晶格线, 再测出其总空间距离, 用距离除以条数和放大倍数, 便可得到晶格间距平均值。它的准确性随所取晶格线的数目增加而增加。然而在图 1(b) 上, 因为未经光学放大, 不仅晶格线上的点几乎看不见, 就连晶格线的辨认也十分困难。放大后的照片上虽然可以见到晶格线上的点, 但是点时断时续, 这样即使算出点的间距也必会有很大的误差。图 1(a) 是晶体电镜照片 (b) 的光学衍射图, 图上衍射点距中心点的距离本身就是平均值, 因而通过测量衍射点的距离来进行计算, 显然十分简便。衍射图上两个强衍射点代表晶格线的周期, 其方向与过中心的两点连线垂直, 取它为基准 (它代表 84.4 埃 ( $\text{\AA}$ )), 则立即可以算出晶格线上点间距为 70.3 埃 ( $\text{\AA}$ ), 它的纵向排列与晶格线约成  $89^\circ$  (指两个强衍射点连线与和它近乎垂直的两点连线的夹角)。此外还可算出在大约  $\pm 70^\circ$  的方位上晶格点的间距为 63.8 埃 ( $\text{\AA}$ )。 (晶格线上点的间距比文献报道的略宽, 可能是制样过程中晶体发生一些变化)。由此可见, 它远比直接从电镜照片上进行计算方便得多。

## 二、易于辨认出周期性特征

康氏木霉  $\beta$ -葡萄糖苷酶, 是一种能够水解全糖苷和配糖苷的糖苷酶, 其结晶的电镜照片及其光学衍射图如图 2、3 所示。这两张照片是在不同晶体上拍摄的。若只用肉眼观察, 不容易判断它们对称特性和彼此之间的区别。然而分析它们的光学衍射图却可以得到更多的信息。例如, 图 2 的光学衍射图具有很好的对称性, 基本上排列为六角形 (这与它的电子衍射图相似), 说明晶体具有很好的对称性。进而, 若以金 (晶格间距 2.34  $\text{\AA}$ ) 等作标准样品, 还可分析算出二维晶格参数。又如, 图 3 和图 2 从表面上看不出有太大的差别, 然而图 3 的光学衍射图上六角对称排列基本上见不到, 但仍存在少数几个对称点, 这说明图 3 中的晶体结构保存得不如图 2 的好。由此可以看出光学衍射能

在细节的保存好坏方面提供客观的标准。这个特点在进行三维重构时非常重要。

## 三、可以对结构作进一步的分析

图 4 是大肠杆菌 *E. coli* RNA 球形噬菌体的电镜照片, 噬菌体表面的蛋白质亚基结构也可见到。照片上还可见到一些未知的管状结构。文献曾报道 DNA 噬菌体中的突变能导致产生管状结构。因为管的直径和菌体头部大小相似, 所以又称为聚合头部 (poly-heads)<sup>[1]</sup>; 但是尚没有人报道过 RNA 噬菌体是否也会发生这类突变 (单靠电镜照片不足以说明这儿的管状结构类似于聚合头部的结构)。从图 4 上可算出 RNA 球形噬菌体的直径 23—27 毫微米; 管状物直径略小, 为 15—23 毫微米。根据图 4 看不出管状物的细结构。图 5 是管状物的高倍放大照片以及它的光学衍射图。在放大近 60 万倍的电镜照片上似乎可见到管状物上的亚基排列 (箭头所指)。然而由于管状物在制样过程中变平而使上下两侧结构发生重叠, 因而结构的图象很模糊, 有些地方几乎无法分辨。图 5 右下角所示的光学衍射图反映出管状物具有螺旋对称特性, 而管状物上下两侧表现为两组分开的衍射点。只要经过光学滤波处理, 可以重构出一个侧面的结构。根据衍射图上两个分开得最远的点, 以过氧化氢酶为标准样品, 可以算出在与管状物的长轴约成  $30^\circ$  的方向上横纹线的周期间距约是 40 埃 ( $\text{\AA}$ )。

本文所用的牛肝过氧化氢酶照片, 康氏木霉  $\beta$ -葡萄糖苷酶晶体照片和 *E. coli* RNA 球形噬菌体分别由科学院微生物所李钦、王大受和贾盘兴同志提供, 在此一并致谢。

## 参 考 文 献

- [1] 杨振藩、慈虎雄、管汀鹭:《生物化学与生物物理进展》, 1980 年, 2 期, 47 页。
- [2] G. A. 米克:“生物学工作者实用电子显微术”, 318 页, 1976。
- [3] De Rosier, D. J. and Klug, A.: *J. Mol. Biol.*, **65**, 49, 1972。

[本文于 1979 年 11 月 26 日收到]

## 《中华物理医学杂志》

这是一份以现代物理学理论与技术在医学上应用为内容的全国性综合性期刊。它从 1979 年 9 月创刊以来至今年底已出五期。该刊辟有临床研究、实验研究、技术交流、综述、译文、资料及消息等栏, 主要报道用于医学的超声诊断、激光、荧光、红外、液晶、生物磁、电子技术 (电子计算机、电镜、生物电、心脏起搏以及有

关新技术) 等国内外实验研究新进展。

该刊为季刊, 每季度出版, 向国内外公开发行人。全年订费两元, 欲订者可向各地邮局办理手续。创刊以来出版各期尚有部分存书, 需要者可向该刊编辑室 (河北石家庄河北医学院转) 函购。

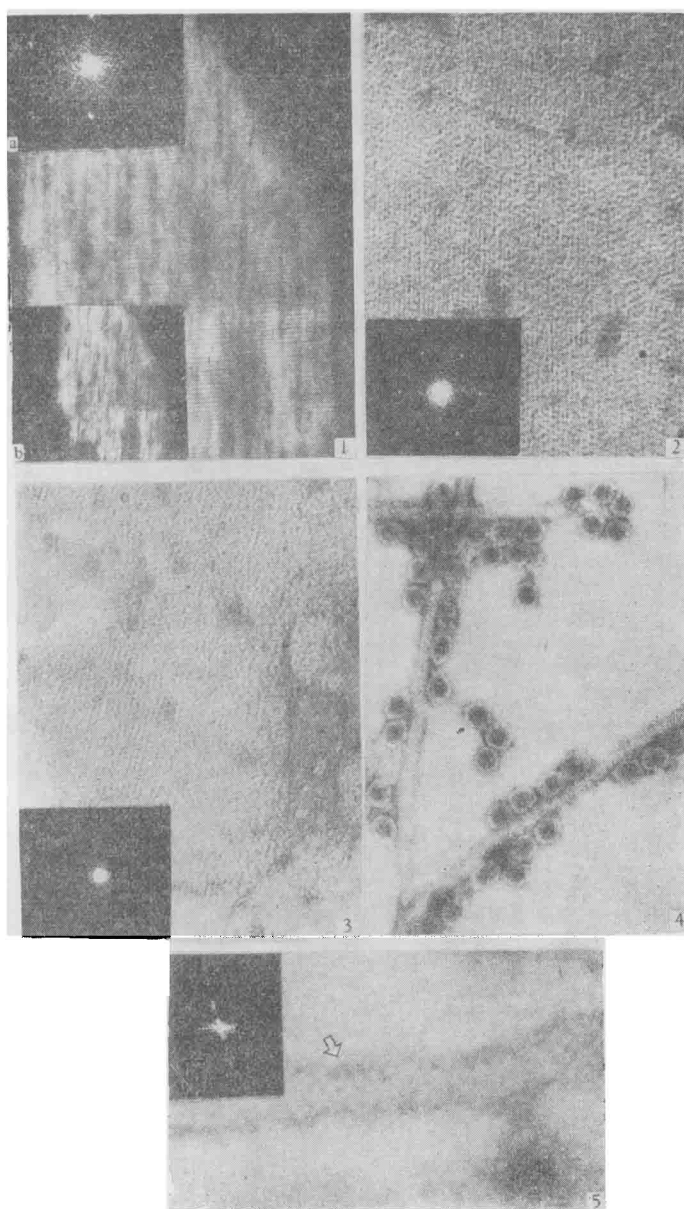


图 1 牛肝过氧化氢酶晶体电镜照片 ( $30000\times 3$ )

(a) 光学衍射图, (b) 原照 ( $30000\times$ )

图 2 康氏木霉 $\beta$ -葡萄糖苷酶晶体电镜照片 ( $81700\times 2$ ) 及其光学衍射图

图 3 同图 2

图 4 *E. coli* RNA 球形噬菌体电镜照片

照片上长条为未知管状物, 2% 乙酸双氧铀负染,  $84000\times 2$

图 5 图 4 中管状物的高倍电镜照片 ( $84000\times 7$ ) 及其光学衍射图