

λ Plac 5 DNA λ DNA

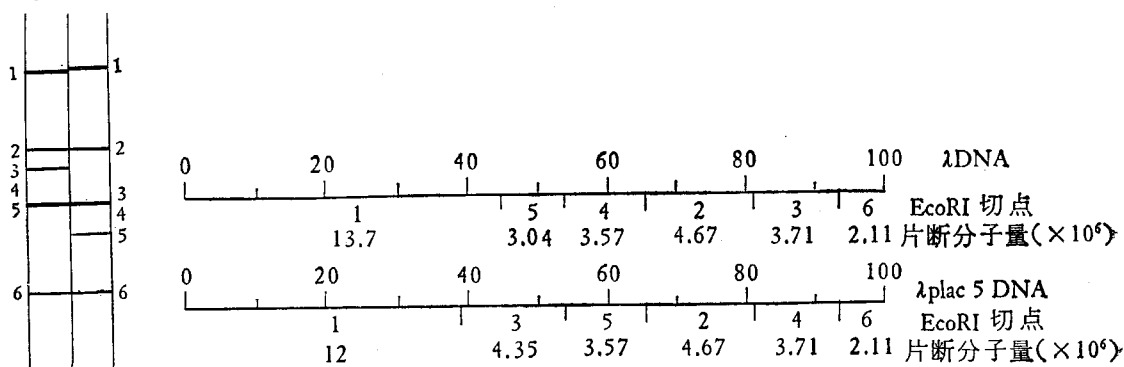


图 2 λplac 5 DNA, λDNA 片断在凝胶柱上的位置和在 DNA 分子上的位置上的示意图

位置(从分子左端始)比 λDNA 的第一个切点向左移,两者其它 E. co. RI 切点位置都相同。凝胶柱上片断位置的变动,反映了第一个切点位置的变化。这种变化,证明 λplac 5 DNA 上的乳糖操纵子是处在第一个和第二个切点之间,即是凝胶柱上的第三片断。

电镜鉴定: 图 3(见封三)为 λplac 5 DNA 分子的电镜照片,长约为 11.4 微米。图 4(见封三)为 λplac 5 DNA 和 λDNA 杂交分子,在杂交分子链长的 40%—50% 之间有一个单链环,其余部分均为同源区;单链环为乳糖操纵子插入到 λDNA 分子的位置。

以上实验结果,可以证明制备的样品与

λplac 5 DNA 的性质符合。

参 考 文 献

- [1] Shopiro, J. et al.: *Nature*, **224**, 768, 1969.
- [2] Miller, T. H.: *Experiments in Molecular Genetics*, p. 133, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1972.
- [3] Robert. B. H. et al.: *Journal of Virology*, **14**, 1235, 1974.
- [4] Ferguson, J. et al.: *Advanced. Techniques in Biological Electron Microscopy*, II, p. 123, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1978.
- [5] 朱以桂、崔道珊、李金照:《病毒学集刊》, 1980。

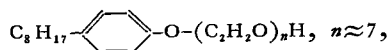
[本文于 1980 年 9 月 23 日收到]

乳化剂 op-115 在液体闪烁计数中的应用*

吴金水 孙耀琛 王遗宝 金亚放 贾文霞 陈 荣

(上海市农科院作物所农业物理研究室)

液体闪烁乳状液测量法已广泛应用于生物学、医学、农业、考古、地质水文等领域中的软 β 放射性同位素水溶性样品测量。国内一直使用进口 Triton X-100 等产品,远不能满足需要。为立足于国内,我们和上海市农药所协作,研制合成了非离子型表面活性剂 op-115,其分子结构式为



与 Triton X-100 相近,苯环一侧为异辛基疏水基团,

另一侧为亲水基团,具有较好的乳化作用。经试验证明,op-115 可以用于一般的液体闪烁测量,性能接近进口同类产品。现将主要结果报道如下。

材料、仪器和实验方法

一、试验材料:

* 本文曾于 1980 年 6 月 19 日在上海召开 op-115 鉴定会宣讨论。

1. 乳化剂: op-115; Triton X-100。

2. 闪烁剂: ppo; popop。

3. 溶剂: 二甲苯。

4. 放射源: 氚水, 强度为 6.09×10^4 dpm/50 微升, 由中国科学院生化所标定。

二、测量仪器:

1. FJ-353 双道液体闪烁计数器, 其光电倍增管改用 EMI9635QB, 仪器高压 1340V, ^3H 测量道为 0.5~5V, 放大器衰减选择 A: $1 \times 1/16$, B: $1 \times 1/16$ 。对 ^3H 标准源的效率为 49.8%, 本底 27cpm。

2. 紫外分光光度计, SPECORO UV VIS (西德产品)。

三、试验方法: 室温 8—10℃ 下进行。

1. 为了对 op-115 乳化系统作全面了解, 对三角形相图进行了研究, 其步骤如下:

(1) 用 36 只测量杯, 放置在等边三角形纸板上, 并作好标记 (图 1)

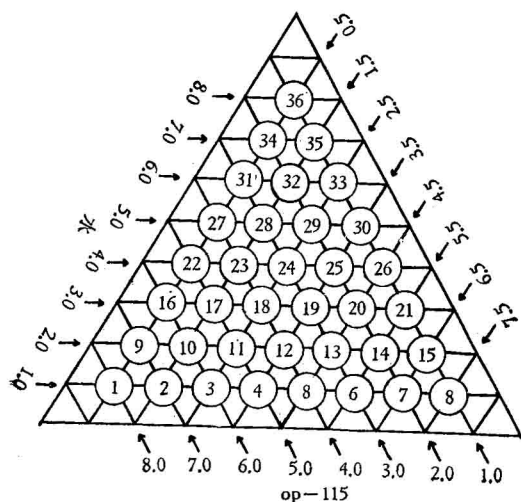


图 1 等边三角形相图

(2) 每只测量杯分别加入 0.5 毫升闪烁母液 (2.67 g ppo, 0.067 g popop 溶于 50 毫升二甲苯中)。

(3) 按图 1 所示体积, 加入相应的二甲苯、op-115 和水。

(4) 摇动各杯, 使充分混合, 测量本底和化学发光。

(5) 每杯加入 50 微升氚水 (6.09×10^4 dpm), 并充分摇动。

(6) 样品每 4 小时测量计数一次, 至 48 小时共重复 11 次。

2. 为力求准确, 减少误差, 根据以下标准观察等边三角形相图中每只测量杯外观:

透明度:

(0) 完全透明, 无乳化痕迹。

(1) 乳化透明。

(2) 乳化且不透明, 如雾状。

(3) 不透明, 类似稀牛奶。

(4) 不透明, 类似乳脂或白色油漆。

粘滞性:

(0) 如二甲苯, 无粘滞性。

(1) 介于二甲苯和 op-115 之间, 有些粘滞性。

(2) 类似于 op-115。

(3) 粘滞性变厚, 但似可流动的乳脂。

(4) 呈凝胶状, 将样品杯颠倒仍然能保持原来位置。

乳化稳定性:

(0) 在整个计数测量时间内, 混合液外观保持相似。

(1) 不是在 2—3 小时内, 而是在 24 小时内有部分的分相。

(2) 在 2—3 小时内缓慢地部分分相。

(3) 混合 2—3 小时内, 迅速地清楚地分为二相。

3. 优值与闪烁剂浓度关系的测定。

4. 乳化剂的吸收光谱测定。

试验结果

一、二甲苯, op-115 和水不同容积比的本底和化学发光 在三角形相图试验中, 首先对二甲苯: op-115: 水不同容积比的 36 只样品分别测定它们的本底, 其结果如表 1 所示。

从表中可以看出 36 只不同配比的测量杯所测量本底 cpm 数不同。op-115 含量多, 本底相应大些,

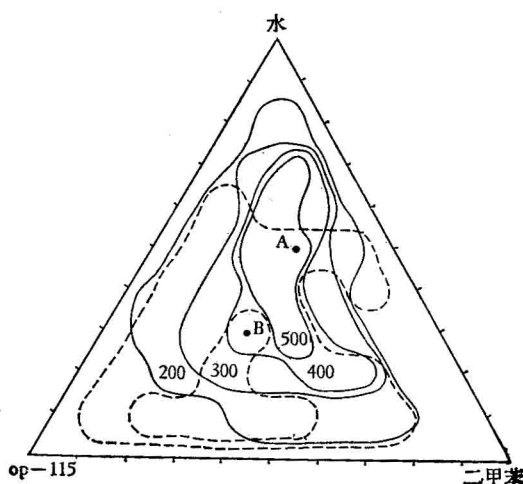


图 2

——二甲苯: op-115: 水的优值连线

——计数的稳定性 ($SE\% < 5\%$)

A. 计数稳定性 $SE\% < 5\%$ 的最高优值区域

B. 计数稳定性 $SE\% < 1.0\%$ 的最高优值区域

表 1 不同时间对本底的影响

杯 号	一小时后本底 (cpm±SE)	四小时后本底 (cpm±SE)	十二小时后本底 (cpm±SE)	杯 号	一小时后本底 (cpm±SE)	四小时后本底 (cpm±SE)	十二小时后本底 (cpm±SE)
1	259±9.0	148±2.6	96±2.6	19	74±3.1	62±2.6	58±2.1
2	321±10.1	166±5.3	99±2.6	20	47±1.7	55±1.5	37±1.2
3	249±2.6	144±3.1	89±2.0	21	52±2.1	47±2.1	43±2.0
4	187±6.2	112±3.2	71±2.6	22	73±2.0	61±3.0	66±2.1
5	128±4.6	77±1.0	77±2.0	23	78±2.0	69±3.2	58±3.0
6	91±3.6	70±2.6	64±2.6	24	72±2.5	55±2.6	72±2.6
7	85±3.6	57±2.0	52±2.6	25	57±2.3	49±2.6	45±2.1
8	57±1.0	56±2.6	44±1.7	26	39±2.1	33±1.5	33±1.5
9	152±2.6	103±2.1	96±2.6	27	50±2.1	69±2.1	69±1.5
10	126±2.0	87±1.7	76±2.0	28	48±0.6	57±2.1	59±2.1
11	96±2.6	74±2.6	85±2.6	29	52±2.1	50±1.5	51±2.3
12	96±2.0	82±2.6	67±2.6	30	36±1.5	29±1.0	26±0.6
13	84±2.6	67±1.7	53±2.0	31	49±1.0	64±1.5	59±1.0
14	48±1.1	48±1.0	31±1.7	32	52±1.5	47±2.1	36±1.2
15	48±1.7	43±1.0	44±2.6	33	41±2.3	39±2.1	42±1.7
16	116±5.3	83±2.6	80±4.6	34	43±1.0	49±2.0	55±1.5
17	86±1.0	68±1.5	73±2.0	35	34±1.0	41±1.5	33±2.0
18	88±1.7	66±1.7	62±2.6	36	32±1.2	44±1.5	44±2.6

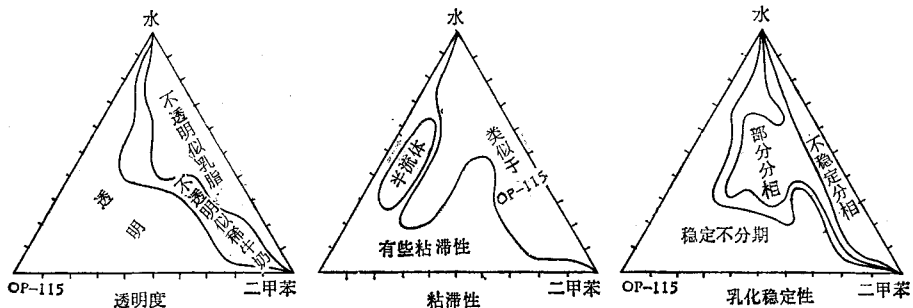


图 3 外观相图表现

op-115 含量少,本底也相应小些。同时随着测量时间延长,本底有逐渐降低的趋势。

二、op-115、二甲苯闪烁剂、水相样品不同组合的优值和计数稳定性的测定 在相应的三角形相图上,对每只样品进行计数效率测定,并计算各点的优值,标绘出它们的优值和计数的稳定性,画出等高线。优值是 12 小时后所测量计数效率与含水量的百分数的乘积。计数的稳定性是 48 小时内重复 11 次测量计数,计算其相对偏差 $0.5\% < SE\% \leq 1\%$, $1\% < SE\% < 5\%$ 或大于 5% 。并按照等高线找出最高稳定性 ($1\% < SE\%$) 相对应的最高优值的区域 B 点,如果计数稳定性 $SE\% < 5\%$ 被允许的话,可以得到更高的优值区域为 A 点(图 2)。

从图 2 看出,乳化剂 op-115 在计数稳定性 $SE\% < 5\%$ 的最高优值区 A 点,其闪烁混合液的配比为二甲苯: op-115:水 = 3:2:5,所获得的优值为 744。计数

稳定性为 $SE\% < 1.0\%$ 的最高优值区 B 点,其配比为二甲苯: op-115:水 = 3:4:3 时,相应优值为 428。这些优值均比文献列举的 Triton X-100 的试验区域高,其含水量要大于 Triton X-100。

三、等边三角形相图的外观表现 由不直接参与本实验的人员按照统一观察标准,描绘出每一只样品透明度、粘滞性和乳化稳定性(不是计数的稳定性)的相应相图(图 3)。

经反复观察和对照文献上相图,表明 op-115 的透明度、粘滞性都比 Triton X-100 好,清液范围较大,半流体区域比 Triton X-100 明显减少,一般不呈现凝胶区,易使样品摇动均匀。

四、最高优值点与 ppo 不同浓度的关系 从图 2 选出的最高优值区 A 点和 B 点,按其二甲苯:op-115:水的容积比,放射源氚水强度为 6.09×10^4 dpm,只改变 ppo 的浓度进行计数,可以看出 A 点和 B 点的

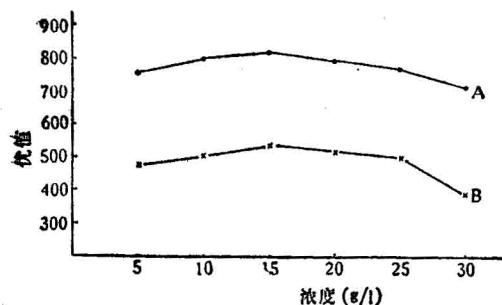


图4 最高优值点与 ppo 不同浓度的关系

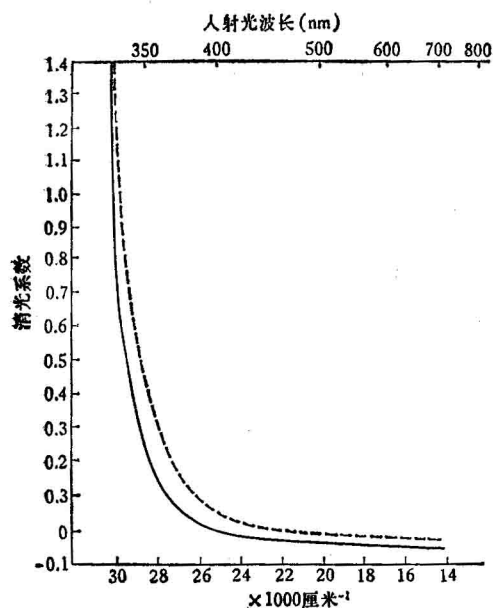


图5 op-115 和 Triton X-100 吸收光谱

---op-115 ———Triton X-100

优值与 ppo 浓度的关系(图4)。

从图4可以看出,改变闪烁液中 ppo 的含量,对计数效率略有提高,但不明显。从经济效果和实验要求综合考虑,闪烁液中的 ppo 浓度一般用5克/升即可。

五、op-115 吸收光谱特性 闪烁剂的基本作用是从溶剂中吸收能量,发射有特征光谱的光子。因此,有必要测定 op-115 吸收光谱,鉴定它对闪烁剂所发出的特征光谱的吸收程度。

我们用由西德进口的紫外分光光度计在相同条件下对 op-115 和 Triton X-100 进行谱形分析,如图5所示,二者在可见近紫外波段内吸收光谱很相似。

小 结

1. 非离子型表面活性剂 op-115 与 Triton X-100 的性能指标很相似,可以作为液体闪烁计数的乳化剂。

2. 经我们及有关单位的测定,op-115 闪烁液的本底比 Triton X-100 高,这是由于化学发光所致,但随着混合液配置的时间延长会逐渐下降,24 小时后趋于稳定。在配制 op-115 闪烁液和制样时,应尽量避免阳光直射或日光照射。配好后最好不要马上测量,经一段时间的暗适应后使用较好。

3. op-115 略带微黄色,这对提高计数效率和对低水平测量有一定影响。今后应进一步研究有效的脱色工艺。

参 考 文 献

- [1] 孙耀琛、吴金水、张明融、王遗宝:《上海农业科技》,1980年,第1期,24—26页。
- [2] Fox, B. W.: *Techniques of Sample Preparation for Liquid Scintillation Counting*, p. 64, 1976.
- [3] Crook, M. A., Johnson, P.: *Liquid Scintillation Counting*, p. 202, 1974.
- [4] P. 贝歇尔著:《乳状液理论与实践》,1978年,8月。
- [5] 王云骏、华世豪:《用于液体闪烁技术的 op-115 的合成研究》,上海市农药研究所,1980年,6月。
- [6] 孙耀琛、吴金水、王遗宝:《非离子型表面活性剂 op-115 性能和指标》,上海农科院作物所,1980年。
- [7] 上海市农科院作物所:《非离子型表面活性剂 op-115 性能鉴定会资料汇编》,1980年,6月。

[本文于1980年7月9日收到]

乳 过 氧 化 物 酶 纤 维 素

徐 愤 丁国英 胡艾芳

(南 京 医 学 院)

乳过氧化物酶是蛋白质碘化工作中比较理想的试剂。Morrison 和 Hultquist^[1] 用 CG50-2 型树脂 (Na 型) 从乳汁中吸附过氧化物酶,再

依次用硫酸铵沉淀,CM-纤维素层析, Sephadex G100 层析等步骤,获得 A_{412}/A_{280} 比值为 0.9 的乳过氧化物酶。以后, Thorell 和 Johansson^[2]