

E6 和 E7 分子量相同,因此电泳分离中迁移率也相同;E8 和 E9 也属同样情况。它们在被 Bgl II 或 KpnI 酶切时,Bgl II 全没有切口,达不到交叉的目的;KpnI 切口太多,也无法分析。与此相反,E3 和 E4 虽然迁移距离相当,但在交叉酶切中,Bgl II 可切割 E4,KpnI 可切割 E3,因此,E3 和 E4 的位置可被确定。可见在利用此法作物理图谱时,最好选择那些彼此可以交叉酶切而切口又不太多的酶。

K11、K12、K13 的迁移率几乎相同,用 EcoRI 或 Bgl II 酶切之后谁被切割不能确定,而且也不好确定切口数。从已查明的情况来看,肯定切口不只一个,即被切割数次,片段越切越小,以至在凝胶上无法捕捉到。这就是造成 EcoRI 与 KpnI 交叉酶切后 EK 带数不够,总分子量偏小的主要原因。

NPV 基因组的物理图谱的建立,是在分子水平上研究该基因组结构与功能的重要的第一步。它将有助于该基因组的转录,翻译图谱的

建立,有助于控制位点,如它的复制起点和终点位置的确定,有助于突变和重组位点的确定,以及最终弄清在宿主环境中表现出的与各种生物功能有关的该基因组的结构次序。另外,还将为阐明整个基因组的核苷酸序列提供方便,为使 NPV-DNA 用于遗传工程技术中研究真核生物用的具有大容量的载体物质提供条件。

严家骥教授给予热情指导,余运萍同志提供蓖麻蚕核型多角体,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 严家骥等:《病毒学集刊》,第1期,p.153—161,1982.
- [2] Allington, W. B. et al.: *Anal. Biochem.*, **85**, 188—196, 1978.
- [3] Smith, G. E. et al.: *J. Virol.*, **45**, 215—225, 1983.
- [4] Schnabel, H. et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **188**, 370—377, 1982.
- [5] 马延高等:《病毒学集刊》,第3期,p.141—147, 1983.
- [6] 胡国律等:《病毒学研究集刊》,第1期,p.88—91, 1984.
- [7] Miller, L.K. et al.: *J. Virol.*, **29**, 1044—1054, 1979.

[本文于1983年12月28日收到]

甲酸棉酚对奶牛精子的泳动及活率的影响

沈子威 陆祖荫

(清华大学生物科学和技术学研究室)

宋传琳 孙厚钧 陶晓峰

(清华大学水利系激光小组)

近几年已广泛地应用准弹性光散射方法研究微生物的泳动,此法采用 He-Ne 激光器作为单色光源,当激光束被移动的微粒散射时产生多普勒频移,然后根据所得到的频率谱进行分析,可以得到有关微粒运动的信息,本工作即用此法研究甲酸棉酚对奶牛精子的泳动及其活率的影响,

甲酸棉酚是从棉子中提炼出来的一种口服避孕药。我们将甲酸棉酚直接与奶牛精子接触,再用准弹性光散射方法研究它对精子活力的影响,以便探讨甲酸棉酚作用于精子的机

理。

一、样品制备

甲酸棉酚粉加生理盐水,反复摇晃,形成悬浮液。本实验所用的悬浮液浓度为 2mg/ml。

冷冻精子(由北京奶牛研究所提供),呈颗粒状,存放在 -96℃ 的液氮罐中。取一粒黄豆大的冷冻精液颗粒,放入 2ml 2.9% 的柠檬酸钠溶液内融化,再加生理盐水 2ml 稀释。

取悬浮液和以上溶液各 0.6ml,均匀混合;混合后的甲酸棉酚浓度为 1mg/ml。

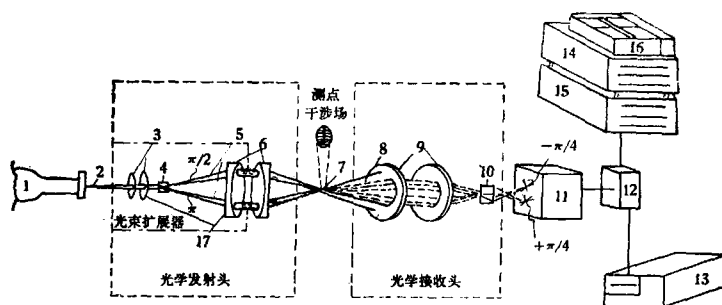


图 1 偏振激光干涉仪测速系统示意图

1. 激光器 (He-Ne). 2. 激光束. 3. 透镜 1. 4. Wollaston 分光棱镜. 5. 分离二光束. 6. 透镜 2. 7. 测点区. 8. 散射光. 9. 透镜 3. 10. Wollaston 棱镜. 11. 光电接收器. 12. 前置放大器. 13. 二踪示波器. 14. 频谱分析仪. 15. 相关仪. 16. x-y 读数仪. 17. 光束扩展器.

二、测量方法

采用激光偏振干涉仪并略加改装。激光偏振干涉仪具有不干扰流场，空间分辨力高以及量程广等优点，它可以量测时均值，也可以量测脉动速度的均方根值。其工作原理是根据多普勒效应，流体或微粒（如精子）在干涉场中运动引起的多普勒频移与其运动速度成线性关系。如果知道入射光束夹角 θ 及所使用的激光器的激光波长 λ_0 ，便可得到公式

$$\bar{v} = K_0 f_0 \quad (\text{微米/秒})$$

其中 $\bar{v}$ ——欲求的流体或微质点（如精子）的时均速度。

K_0 ——仪器常数 $= \frac{\lambda_0}{2 \sin \theta / 2}$ (λ_0 ——激光的波长, θ ——两入射光束夹角)

f_D ——流体及微质点运动引起的多普勒频移。

试验设备示意图见附图 1。

精子的活率根据功率谱的面积求得。

三、数据处理方法

根据记录下来的功率谱（它与速度谱有对应关系，而且功率谱的峰值与流场中单位体积中活动的精子数成正比关系）求出多普勒频率预期值 $\bar{f}_r$ ，然后再由 $\bar{f}_r$ 算出时均速度 (v):

$$v = K_D \cdot f_D = K_D \cdot \frac{1}{2\Delta\tau} \cdot \frac{1}{94} \cdot \bar{f}_r$$

$$= K_1 \cdot \frac{1}{\Delta\tau} \cdot \bar{f}_r$$

v : 精子的时均速度值(微米/秒)

K_D : 激光仪器常数 $= \frac{\lambda_0}{2 \sin \theta / 2}$ (微米/秒/赫芝)

K_1 : 时均速度计算常数 $= K_D \cdot \frac{1}{94}$ (微米/秒/赫芝)

$\bar{f}_r$: 多普勒频率预期值

$\Delta\tau$: 取样时间($n +$ 毫秒左右)

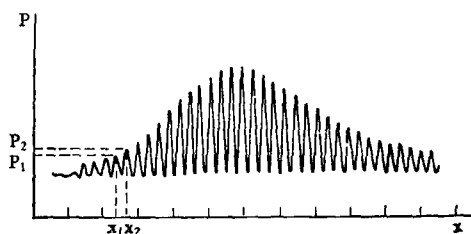


图 2 频谱分析仪测到的功率谱

$$\bar{x} = \frac{P_1 x_1 + P_2 x_2 + \dots + P_i x_i}{P_1 + P_2 + \dots + P_i} = \frac{\sum P_i x_i}{\sum P_i}$$

此处 $\bar{x}$ 即为所需求的 $\bar{f}_r$ 值。

功率谱的峰值 $P_{\max}$ 与精子活率成比例。

四、测量结果

把混合溶液放在干涉场中，等间隔测量功率谱，然后根据功率谱算出即时的相对活率及精子泳动速率，得到随时间变化曲线（图 3）。

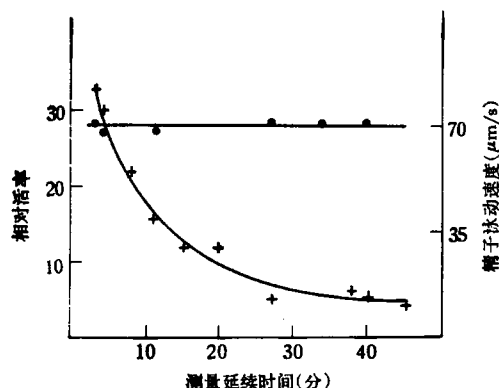


图3 精子的相对活率和泳动速率随时间变化
● 为未加甲酸棉酚 + 为加甲酸棉酚

五、结果分析

1. 未加甲酸棉酚时, 精子的泳动速率在 45 分钟内基本不改变, 说明生命力强的精子其泳动速率保持不变。

2. 在 45 分钟的实验时间内相对活率下降

约 90%, 如果不加甲酸棉酚, 精子在 45 分钟内相对活率下降小于 10%, 可见甲酸棉酚使精子致死能力极强。

3. 在实验过程中用显微镜观察到, 精子只要与甲酸棉酚颗粒接触, 即停止运动死亡。

以上实验初步可以认为甲酸棉酚能直接使精子致死, 且杀伤力极强。但它如何作用于精子, 其杀伤机理, 还需进一步探讨。

本工作是中国科学院生物物理所沈淑敏教授指导下进行的。特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Nossal, R.: *Opt. Commun.*, 4, 35, 1971.
- [2] Berne, B. J. et al.: *Biophys. J.*, 14, 865, 1974.
- [3] Shimizu, H. et al.: *Bio-med. Eng.*, 24, 153, 1977.
- [4] Jouannet, P. et al.: *Prog. reproduc. Biol.*, 1, 28—35, 1976.
- [5] Herpigny, B. et al.: *J. Phys.*, 40, 1085, 1979.
- [6] Hallett, F. R.: *Biophys. J.*, 21, 203, 1978.
- [7] Shimizu, H. et al.: *Biophys. J.*, 29, 167, 1980.

[本文于1984年12月5日收到]

正常细胞和肿瘤细胞纤维蛋白溶酶原 激活物活性的比较

刘朵花 张贺忠 何健 李崇熙 叶蕴华

(中国科学院生物物理研究所, 北京) (北京大学化学系)

PA 是一类蛋白水解酶, 它可以把血液中的纤维蛋白溶酶原 (PGN) 激活成纤维蛋白溶酶 (PN)。PN 也是一种蛋白水解酶, 它可以把纤维蛋白凝块水解成可溶性的产物, 它对由赖氨酸或精氨酸的羧基形成的肽键有专一性。

正常细胞用化学致癌物。肿瘤病毒等转化之后, 纤维蛋白溶酶原激活物 (PA) 的活性可以提高几十倍, 甚至上百倍^[1-4]。

Philip, L. Carl 等^[2]根据肿瘤细胞 PA 活性较高这一特点, 正在研制一种选择性杀伤肿瘤细胞的新型抗癌药。即把具有一般杀伤作用但

无选择性的且含有氨基的抗癌药, 接上一个含有赖氨酸或精氨酸的三肽, 成为对正常细胞和肿瘤细胞杀伤作用都很低的“抗癌药前体”。在体内, 当它运行到 PA 活性高的肿瘤组织时, 其三肽可被 PN 切下来, 使原来的抗癌药恢复强大的杀伤作用; 而在 PA 活性低的正常组织中, 抗癌药前体不变, 无毒性或毒性很低。

我们的实验是根据纤维蛋白原在凝血酶的作用下, 形成不透明的纤维蛋白凝块, 而在纤维蛋白原中杂有的 PGN 被 PA 激活成 PN。PN 可把纤维蛋白切成小肽, 使凝块溶解成透明状。我们用此法测定 PA 的活性, 并比较它们在正