

## 苯乙烯树脂割断法在生物样品制备中的应用

蔡 继 炯

(浙江省测试技术研究所, 杭州)

近年来样品割断法已成为扫描电镜样品制备的新技术之一。早在 1968 年 Kachler 已利用冰冻蚀刻复型技术, 在透射电镜下观察了细胞内部结构。1970 年 Arenberg 等对样品制备方法作了进一步改良, 使扫描电镜也能观察细胞内部结构。1972 年日本田中敬一设计了一种冷冻割断装置, 观察组织块割断面上暴露出的各种管腔内面, 以及割断面上细胞内的微细结构<sup>[1,2]</sup>。目前冷冻割断技术已发展成树脂割断法、有机溶剂割断法、水溶性包埋剂割断法等多

种, 各有特点的方法。

本文介绍应用苯乙烯树脂作为包埋剂, 进行生物样品包埋割断试验。该方法具有操作简便, 成功率高, 割断容易, 样品并能长期保存等特点, 是一种较理想的割断方法。现将实验方法和结果报道如下。

### 一、材料和方法

取人体大肠癌组织块、大白鼠肾上腺、月季花叶柄、水稻种子为试验材料。按图 1 所示顺

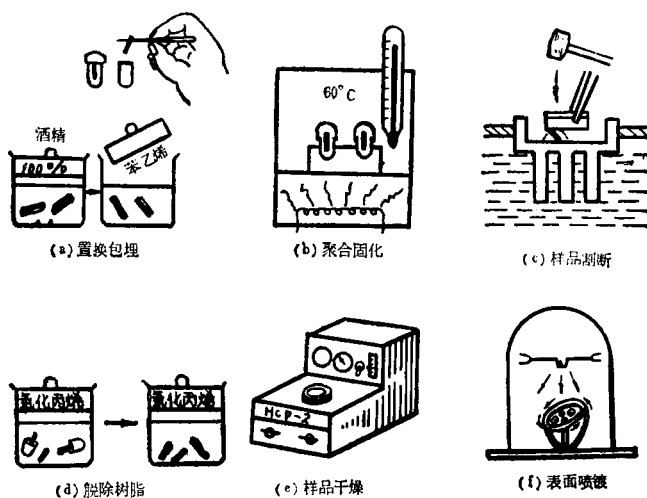


图 1 苯乙烯树脂割断法示意图

与荧光法相比, 测定所受的干扰因素较少。此法一般实验室均可使用, 所以有一定的实用价值。同时, 我们认为此法对其它一些 DNA 水解酶的定量测活也会是适用的。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Zimmerman, S. B. et al.: *J. Biol. Chem.*, **246**, 309, 1971.
- [ 2 ] Greth, M. L. et al.: *Biochem. Biophys. Acta.*, **390**, 168, 1975.
- [ 3 ] 邱长春等: 《生物化学与生物物理进展》, (3), 79, 1984.
- [ 4 ] Rule, G. S.: *Anal. Biochem.*, **138**, 99, 1984.
- [ 5 ] Litman, R. M.: *J. Biol. Chem.*, **243**, 6222, 1968.
- [ 6 ] 张龙翔等: 《生化实验方法和技术》, 人民教育出版社, p. 218, 1981.
- [ 7 ] Ashwell, G.: *Methods in Enzymol.*, **3**, 99, 1957.
- [ 8 ] Kunitz, M.: *J. Gen. Physiol.*, **33**, 349, 1950.

[ 本文于 1985 年 7 月 15 日收到 ]

序,将样品用 2.5% 戊二醛、1% 锇酸双固定,经充分漂洗后,将样品切成  $1 \times 1 \times 5$  毫米的小长条,在酒精中梯度脱水到 100%。然后将样品放入 1:1 的酒精和苯乙烯单体的混合液中浸泡 30—40 分钟,再在苯乙烯单体中放置一夜(置  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱中)。在苯乙烯单体中滴入几滴过氧化苯甲酰(约占苯乙烯体积的 3% 左右),用玻璃棒搅匀后,灌入 2 号明胶胶囊,使样品包埋在里面。放入  $60^{\circ}\text{C}$  的恒温箱中聚合 24 小时以上。聚合后的样品放在水中除去胶囊,然后放入 TF-1 型割断器的样品割断台上,用单面刀片对中样品中段,用专用小镟头轻轻敲击刀背,将样品割断。割断的样品放入氧化丙烯(或醋酸异戊酯)中去掉苯乙烯树脂(约 2 小时,期间换液 4 次。室温低于  $10^{\circ}\text{C}$  时最好稍微加温)。去掉树脂的样品用 50%、100% 醋酸异戊酯置换,  $\text{CO}_2$  临界点干燥。干燥后的样品用银胶粘于样品台上(割断面朝上),经表面喷镀金属膜后,用日立 S-450 型扫描电子显微镜观察。

## 二、结果和讨论

图 2 是大白鼠肾上腺组织及其上丰富的毛细血管。血管的外膜为含有弹性纤维的结缔组织逐渐与包裹在相邻器官外面的结缔组织相融合,未经树脂割断前,只能看到血管外壁的细微形貌。图 3 为树脂割断后血管腔内壁的细微结



图 2 大白鼠肾上腺组织表面上的毛细血管割断前的 SEM ( $5000\times$ )



图 3 大鼠肾上腺毛细血管树脂割断后显示出血管腔内壁形貌的 SEM ( $5000\times$ )

构形貌。图中清晰地显示出血管内膜结构,它是由弹性蛋白质构成的小管状有孔的膜;内弹性膜呈波纹状起伏排列,图象结构层次分明,立体感强。

苯乙烯树脂割断法与其他割断法相比具有很多特点:由于包埋树脂已经完全聚合,所以样品可以长期保存;割断时不用冷冻剂,在室温下也能割断;结缔组织、软骨等较硬样品,用其他方法很难割断者,用本法能获得较满意的结果。

## 参 考 文 献

- [1] Tanaka, K., Iino, A. and Naguro, T.: *J. Electron Microsc.*, 24, 313, 1974.
- [2] 田中敬一,永谷隆《图说走查电子显微镜—生物试料制作法》,朝仓书店,1980.
- [3] 钟慈声等:《电子显微镜生物学标本制备技术》,上海第一医学院印制厂,1983.

【本文于 1985 年 7 月 8 日收到】