

等优点,特别是避免了使用放射性同位素。它可用于细胞学、染色体及分子学标本,甚至石蜡切片。当然,此方法的灵敏度尚不及放射性探针,且常有本底过高。

参 考 文 献

- [1] Gall, J. G., et al., 1969, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 63: 378—383.
- [2] 《生物化学》, 1978, 全国高等医药院校试用教材, pp. 515.
- [3] 郑志明等, 1984, 《国外医学》分子生物学分册, 6, pp. 79—83.
- [4] Hoffman, K., et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77: 4666—4669.
- [5] Garson, J. A., et al., 1987, *Nucleic Acids Research.*, vol 15, No 12, pp. 4761—4770.
- [6] Guesdon, J. L., et al., 1979, *J. Histochem. Cytochem.*, 27: 1131—1139.
- [7] 石善溶等, 1986, 《免疫组织化学技术》, pp. 9.
- [8] 张昌硕等, 1982, 《生物化学》, 全国高等医药院校试用教材, pp. 64.
- [9] Langer, P. R., et al., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 78: 6623—6637.
- [10] Langer-Safer, P. R., et al., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 79: 4381—4385.
- [11] Rigby, P. W. J., et al., 1977, *J. Mol. Biol.*, 113: 237—251.
- [12] Manuelidis, L., et al., 1982, *The Journal of Cell Biology.*, vol 95, Nov, pp. 619—625.
- [13] Lau, Y. F., 1985, *Cytogenet. Cell Genet.*, 39: 184—187.
- [14] 王申五等, 1988, 中国医学科学院学报, 10, 229.
- [15] Hsu, S. M., et al., 1981, *J. Histochem. Cytochem.*, 29: 577—580.
- [16] 谷淑燕, 1984, 《癌症》, 3: 233—236.
- [17] Leary, J. J., et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80: 4045—4049.
- [18] Luehrsen, C. K., et al., 1987, *Biotechnology.*, 5(7): 660, 664, 667.
- [19] Hutchison, N. J., et al., 1982, *The Journal of Cell Biology.*, vol 95, No 2, pp. 609—618.
- [20] Brigati, D. J., et al., 1983, *Virology.*, 126: 32—50.
- [21] Schmidt, E. R., et al., 1988, *Chromosoma.*, 96: 353—359.
- [22] Hunting, D. J., et al., 1985, *Biochemistry.*, 24(21): 5729—5734.
- [23] Bullerdiek, J., et al., 1986, *Cytobios.*, 47(188): 33—44.
- [24] Brähic, M., et al., 1978, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 75: 6125—6129.
- [25] Reisfeld, A., et al., 1987, *Biochem Biophys Res Commun.*, Jan 30, 142(2): 519—526.
- [26] Pittman, D. L., 1985, *Am J Clin Pathol.*, 83(1): 134.
- [27] Al-Hakim, A. H., et al., 1986, *Nucleic Acids Res.*, Dec 22, 14(2): 9965—9976.
- [28] Childs, G. V., et al., 1986, *Am J Anat.*, Feb-Mar, 175(2—3): 307—355.

高鲜锐度显像在显微摄影中的应用

金 建 中

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

一般细胞或生物组织的显微摄影通常都使用 D-76 微粒显影液来显影加工。虽然这种显影液能获得较细的颗粒,但存在酸碱缓冲性小和对溴离子较敏感的缺点,因之往往新配药液在冲洗一、二卷后,就难再获得效果一致的底片。

常用的微粒显影液都是低活性显影液,显影速度慢,显影可以深入到乳剂层深处,从而使由光渗引起感光的卤化银也得到充分的显影。同时由于加有大量亚硫酸钠作保护剂与卤化银溶剂,使微粒显影的影像结构比较松软,因而细部反差降低,影像细部扩散,产生模糊

的边缘,使得整个照片的细部线条不够清晰锐利。

高鲜锐度显影液也称高清晰度显影液,它的特点是既压缩了整个画面的影像反差,又能保证影像细部有足够反差,如果在显影时再正确运用边缘争夺饥饿显影原理,更可使画面的清晰度较明显地提高,影像颗粒也相当细微。

一、显影液的配制

我们使用的是 Willi Beutler 推荐的配方^[1]:

- A 1. 温水 500 cc 2. 米吐尔 10 g
3. 无水亚硫酸钠 50 g 加水至 1000 cc
B 无水碳酸钠 50 g 加水至 1000 cc

使用时取 A 液 100 cc + B 液 100 cc 再加水 1000 cc 稀释(也可减半配置)。

溶液一定要分别配置,使用时再混合,不然会引起混浊。

在 20℃ 时显影 6—12 分钟,刚开始间隙搅动,中间静止让它产生饥饿争夺显影,最后一、二分钟再适当搅动一下,本显影液只能使用一次,用后即弃,定影可用 F—5 进行,一般为 10 分钟。

二、摄影要求和步骤

在显微摄影前首先要将显微镜光路调整好,达到柯勒(Köhler)照明要求,其步骤如下:

1. 放上标本,粗略调焦达到清晰。
2. 调节灯丝及灯前聚光镜的前、后、左、右位置,使灯丝成像在聚光器焦平面正中(即孔径光阑上)使光轴同轴。
3. 关小视场光阑,调节聚光器高低位置使视场光阑的边缘与标本同时清晰。
4. 如果视场光阑的像不在正中,则调节聚光器中钮,把它移到正中。
5. 再开大视场光阑,使略大于观察或拍照的区域。
6. 然后适当关小聚光器上孔径光阑,保留物镜数值孔径的 70% 左右。这可以通过拔去目镜,观察物镜后焦面来确定。

最后可选择适当的滤色片来增加反差或层

次。

讨 论

一般显微摄影,尤其是使用 135 小尺寸胶片时,希望底片上得到的影像既要有较细的颗粒,也要有较好的清晰度。后者不仅取决于颗粒的粗细,而更大程度上取决于影像细部的反差。当照片达到一定分辨率后,对照片的清晰度即锐度就特别敏感。



图 分辨力与清晰度示意图

A 的分辨力虽然比 B 高,在同样宽度内分辨的线条较多,但因为边缘呈圆角不及 B 鲜锐,所以照片的清晰度反而不及 B。

高鲜锐度显影液原理是:在显影过程中,感光胶片的强光部分首先很快地显影,并释放出较多的溴离子,因而抑制了这部分胶片继续显影,显影速度就明显变慢,而感光较少的部分,由于曝光少在显影中释放的溴离子很少,因此显影仍按正常速度进行。这样整个胶片的强光部分的密度增长受到抑制,弱光部分密度得到充分提高,从而画面整个反差受到压缩。另外,由于亚硫酸钠浓度较低,pH 值较高,使得显影只在胶片乳剂层的表面进行,得到的影像结构就比较紧密,减少了光渗,所以提高了影像细部反差,整个画面的清晰度得到改善。

利用所谓的饥饿争夺显影原理,即在显影过程中,因减少搅动,让曝光过的卤化银潜影在获得新鲜显影剂时呈现一种饥饿状态,这样在强光与弱光部分的边缘界线上,由于两部分消耗显影物质不一样,强光部分就会从相邻弱光部分争夺获取显影物质,使这部分比中间的密度更高,从而细部边缘界线就更为鲜明。

通过实际使用,我们感到应用 Willi Beutler 的高鲜锐度显影液,再在显影加工时充分利用饥饿显影原理,可得到比 D-76 更好的效

果。尤其是在使用薄层微粒胶片时,效果更为显著。该配方药品简单,配置冲洗也方便。在摄影有关资料上,虽有用加工普通照相的报道,也有与微粒显影及其他显影配方的性能比较^[1,2],但在显微摄影方面还很少应用。

参 考 文 献

- [1] 日本“写真工业”:特殊现象におはる粒状性,ユニトラスト, 鲜锐性, 1976年6月增刊 p 167。
[2] 日本“写真工业”黑白用现像液の種類と特征, 1978年5月 p 77。

一种快速简便的噬菌体DNA的抽提方法

聂慧玲 *王 斌 郭彦文 郭礼和

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

噬菌体DNA的制备和纯化是分子生物学研究中极为重要的一环,在基因库和cDNA库的建立,以及DNA克隆和筛选等方面都是不可缺少的。

噬菌体DNA的制备可以通过噬菌体感染细菌在琼脂板上繁殖(称为平板法),也可以在液体培养液中繁殖(称为液体法)。平板法多用于噬菌体的扩增,由于琼脂含有许多限制性内切酶的抑制因子(如磺胺根等),用这种方法制备到的噬菌体DNA一般需要先通过Sephrose-6B柱纯化噬菌体颗粒^[1],否则不能被酶水解,对后面工作有影响。大量噬菌体DNA的取得通常是用液体培养法并经过氯化铯或甘油梯度超离心取得颗粒,再进一步制得^[2]。这个方法的缺点在于需要长时间的超离心和透析。为了克服上述两种方法的缺点,我们参考了David C, Kaslow^[3]的工作,经过摸索和改进,用两次核酸酶消化及两次聚乙二醇沉淀可制备到很纯的噬菌体DNA,满足各种实验要求。此法简便和迅速,无特殊仪器要求。

材 料 与 方 法

主要培养剂和试剂

TB培养液 10克胰蛋白胨(美国Oxid产品), 5

克氯化钠,加水溶解至1升。125℃灭菌处理及冷却后,补加硫酸镁至10mmol/L,麦芽糖至0.2%(W/V)。

TE缓冲液 10mmol/L Tris-HCL (pH 8.0), 1mmol/L EDTA (pH 8.0)。

SM缓冲液 20mmol/L Tris-HCL (pH 7.5), 10mmol/L 硫酸镁, 100mmol/L 氯化钠, 0.02%明胶。

PEG(聚乙二醇)6000 日本进口分装。

脱氧核糖核酸酶(DNase I) Sigma产品。

核糖核酸酶(RNase A)及蛋白水解酶K(Proteinase K)Merck产品。

方 法

挑选宿主细胞的单菌落在10ml TB中于32℃培养过夜。测600mμ的光吸收。按1A₆₀₀为每毫升约8×10⁸个细胞来计算菌体的浓度。

按适当配比,在10¹⁰宿主菌中加入噬菌体,在37℃保温20分钟。菌体数与噬菌体数的配比因噬菌体而异⁽²⁾。对裂解型的噬菌体(如EMBL-3, charon 28等),将感染了噬菌体的菌体转入在37℃预热的含500毫升TB的2升三角烧瓶中,直接在37℃以每分钟约200转的速度摇动培养。培养液先从清到混,再从混变清,历时约4小时左右。对溶源型的噬菌体(如λgt 11),则需将感染了噬菌体的宿主菌先在32℃生长至O.D₆₀₀约为0.4左右,然后将温度迅速提高到42℃并在此温

* 上海肿瘤研究所进修生。