



鞣酸处理大米草电镜样品的初步观察^{*}

蒋虎祥 黄金生

(南京大学生物系电镜组)

1971年, Mizuhira 和 Futaesaku^[1]在研究电镜放射自显影时, 发现鞣酸对微管的亚单位结构有良好的固定作用。此后, 一些作者在进行生物超微结构的电镜研究时, 都曾使用鞣酸处理样品, 并对其作用机制进行了探讨^[2,3,4]。作者们认为鞣酸具有固定、正染、负染和媒染的作用。目前在透射电镜术中制备动物样品时, 鞣酸已得到相当广泛的使用, 但关于处理植物样品的研究报道极少。植物样品的制备一般比动物样品困难, 其细微结构不易保存得很好。在植物样品制备程序中增加鞣酸处理步骤, 对结构的保存是否会有改善呢? 本文报道了利用鞣酸处理大米草电镜样品的一些初步观察结果。

材 料 和 方 法

为了具有代表性, 我们选用高等植物大米草 (*Spartina anglica* Hubbard) 的种胚、叶片、叶鞘、茎尖、根尖等作为实验材料。种子采自江苏省启东县兴垦农场, 其他样品采自本校植物园。我们使用容易渗入细胞的低分子量双没食子酸又名鞣酸 (digallic acid) 作为处理用的药品, 分子式为 $C_{14}H_{10}O_9$, 分子量 322.22, 美国 Baker 化学公司生产。

在鞣酸的几种处理方法中, 人们用得最多的是把它加入到醛固定剂中, 但这样做常常产生细胞内外的沉淀物, 或者使某些组织成分被抽提掉。因此, N. Simionescu 等^[3]在鞣酸固定后和脱水前进行鞣酸处理, 并使用容易渗入细胞的低分子量鞣酸, 从而得到较好的结果。我们的实验参考了他们处理动物材料所用的方法, 略有修改, 具体步骤如下:

1. 醛类室温 (14℃) 固定: 固定液用 0.1M、pH 7.2 二甲肼酸钠缓冲液配制, 其中含有 2.5% 戊二醛、2% 多聚甲醛和 0.25M 蔗糖;

2. 漂洗 (室温): 漂洗液是上述缓冲液, 其中含

有 0.25M 蔗糖;

3. 1% 鞣酸后固定 (室温);

4. 鞣酸处理: 鞣酸浓度 1%, 处理 1 小时, 对照组不处理;

5. 各级酒精脱水, 环氧丙烷过渡;

6. 环氧树脂⁶¹⁸包埋。

包埋块用 LKB-8800 型超薄切片机切片, 采用常规染色。Philips EM-400 型、国产 DXA3-8 型电镜观察和拍照。

结 果 和 讨 论

在我们所得到的数十张照片中, 观察到鞣酸处理能稳定细胞膜系统, 增强膜的反差, 使膜与其周围物质间的界限分明, 即增强了膜结构的清晰度。从图 2 和图 4 可见, 核膜、内质网膜、线粒体膜及质体外膜和内膜 (类囊体) 都比较清楚。特别是图 2 中的核膜, 完整而清晰, 核周隙也十分均匀。在对照组 (图版图 1、3), 这些膜结构都比较模糊或较不完整, 尤其是图 3 中的线粒体, 其嵴内隙似肿胀, 嵴膜的电子密度几乎与它的基质相似。我们还发现经过鞣酸处理能较好地保存脂类及核内物质。以图 2 为例, 核内物质细致而清楚, 特别是图右下方的一些脂滴, 它们与胞质的界限明显, 内部显得均质而和谐。而对照组的核内物质, 颗粒较粗, 显得凝聚而模糊 (图版图 1); 脂滴与胞质的界限也不甚分明 (图版图 1、3)。但是, 我们也发现这种处理还存在一定的缺点。例如对胞质内的、质体内的以及内质网膜上的核糖体有一定的减少或破坏作用。N. Simion-

* 电镜观察时, 得到南京医学院电镜室的帮助, 特此致谢。

escu 等^[3]曾指出, 使用鞣酸的浓度及处理时间应根据样品的特性和大小而决定, G. Takahashi^[5]报道, 延长处理时间会使组织受到损伤。因此我们设想, 本文所述的缺点在降低鞣酸浓度或缩短处理时间后有可能避免。

另外在现今的生物透射电镜术中, 有人在常规醛类和铯酸固定之后脱水之前, 再用醋酸铀固定和染色, 使细胞的细微结构保存得更好, 反差也有所增加。但醋酸铀具有放射性和化学毒性^[6], 操作时务必小心, 否则会有损工作人员的健康或污染环境。实验表明, 鞣酸处理不仅具有优于醋酸铀处理的效果, 而且对人体无害。因此我们认为, 在常规双固定之后脱水之前增加一道鞣酸处理, 对保存植物细胞膜系统是良好效果的。

参 考 文 献

[1] Mizuhira, V., and Y. Futaesaku. 1971.

Proc. 29th Ann. Meeting EMSA. 494.

[2] LaFountin, J. R. Jr. and H. R. Tomas. 1975. Proc. 33th Ann. Meeting EMSA. 628—629.

[3] Simionescu, N., and M. Simionescu. 1976. *J. Cell Biol.*, 70, 608—621.

[4] Simionescu, N., and M. Simionescu. 1976. *J. Cell Biol.*, 70, 622—633.

[5] Takahashi, G. 1978. *J. Electron Microsc.* 27, 1:66.

[6] Lewis, P. R. and D. P. Knight. 1977. in *Staining Methods for Sectioned Material* (Glauert, A. M., ed.) North-Holland, Amsterdam. p.45.

图 版 说 明

图 1,3 大米草种子胚细胞, 对照组。

图 2,4 大米草种子胚细胞, 处理组。

以上图 1—4 皆系荷兰 Philips EM-400 型电镜拍摄, 总放大 17,000×。

图注字说明: ER—粗面内质网; L—脂滴; M—线粒体; N—细胞核; P—质体; R—核糖体。

凝 集 素 与 细 胞 凝 集

II 细胞膜在凝集反应中的作用

朱正美 顾天爵

(上海第一医学院生物化学教研室)

凝集素对细胞的凝集作用可被秋水仙硷、长春新硷和松胞素 B 所抑制^[1,2]; 已知前两种药物能破坏微管, 而松胞素 B 可分解微丝。因此认为凝集作用是和微丝、微管相关。此外, 用荧光素、酶、铁蛋白或血蓝蛋白标记的凝集素与细胞作用, 发现凝集素在正常细胞表面是随机分布的; 在肿瘤细胞表面则是成簇分布的。许多实验证明细胞表面受体的成簇或成帽需要有完整的微丝及微管。这就是说凝集素在微丝和微管的作用下, 使表面受体成簇, 造成局部受体的浓聚, 终于发生细胞凝集。这些观察结

果, 支持微丝与微管在细胞凝集中起主导作用的观点。但是, 另有一些报道则认为: 细胞膜本身的组成或其理化性能是最关键的^[3-7]。

为了研究细胞凝集作用的机理, 我们通过实验对上述两类不同见解进行比较。

材 料 和 方 法

(一) 试剂 伴刀豆球蛋白 ConA (Pharmacia 产品), 植物血凝素 PHA (盐水提取粗制品), 秋水仙硷 (昆明制药厂产品), 松胞素 B (CalBiochem 产品)。

(二) 材料 细胞来源同前文^[8]。

细胞膜的制备——组织经灌洗去血, 剪碎, 每克组