

5. 冷冻 TEM 与冷冻 SEM

这种方法是用冷冻样品台,将冷冻样品及冷冻切片置于冷冻状态下进行 TEM 及 SEM 观察分析。在此从略。

参 考 文 献

- [1] Sevéus, L.: 1977 *J. Microscopy*, 112:269.
 [2] Costello, M. J. and Corless, J. M.: 1978 *J. Microscopy*, 112: 17.
 [3] Somlyo, A. V., Shuman, H. and Somlyo, A. P.: 1977 *J. Cell Biol.*, 74: 828.
 [4] Van Harrevelde, A., Crowell, J. and Malhotra, S. K.: 1965 *J. Cell Biol.*, 25: 117.
 [5] Van Harrevelde, A., Trubatch, J. and Steiner, J.: 1974 *J. Microscopy*, 100: 189.
 [6] Seno, S. and Yoshizawa, K.: 1960 *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 8: 617.
 [7] Coulter, H. D. and Terracio, L.: 1977 *Anat. Rec.*, 187: 477.
 [8] Simpson, W. L.: 1941 *Anat. Rec.*, 80: 173.
 [9] Fernández-Morán, H.: 1960 *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 85: 689.
 [10] Yamada E. 1979 *J. Electron Microsc.* 28:

Suppl.

- [11] Heuser, J. E. and Reese, T. S.: 1976 *J. Cell Biol.*, 70: 357a.
 [12] Tokuyasu, K. T.: 1973 *J. Cell Biol.*, 57: 551.
 [13] Tokuyasu, K. T.: 1978 *J. Ultrastr. Res.*, 63: 287.
 [14] Tokuyasu, K. T. and Singer, S. J.: 1976 *J. Cell Biol.*, 71: 894.
 [15] Yamada E and Ishikawa H. 1977 *Acta Histochem. Cytochem.*, 10: 260.
 [16] Yamada E and Watanabe H. 1977 *Proc Fifth Int. Conf. on High Voltage Electron Microscopy*.
 [17] Severs, N. J. and Hicks, R. W.: 1977 *J. Microscopy*, 111: 125.
 [18] Usukura J and Yamada E. 1980 *J Electron Microsc.* 29: 376.
 [19] Usukura J and Yamada E. 1981 *Biomedical Research* 2: 177.
 [20] Heuser, J. E.: 1978 *J. Cell Biol.*, 79: 224a.

* 此文根据山田英智教授、白仓治郎博士在上海期间的讲学内容,以及山田教授的论文《生物样品制备的冷冻技术》(发表于《电子显微镜》(日)Vol. 14, No 21(1980))整理而成。

经验交流

将电子显微镜所拍摄的负片制成 24毫米×36毫米幻灯片的简易快速方法*

赵 京

(中国科学院植物研究所)

在做学术报告和技术交流时,大都将不同规格的电镜底片制作成24毫米×36毫米的幻灯片。通常把电镜所拍摄的负片制成幻灯片时,先要把负片印成相片,用相机把相片用色盲片翻拍下来,再用色盲片拷贝成幻灯片。这些过程不但时间长,手续繁杂,而且经常多次翻拍,每次很难保证不丢失细节,有的还要借助于体积较大,结构较为复杂的翻拍机进行。

为了达到上述目的并克服常规方法中的某些缺点,我们采用一种快速简便方法,即利用一般电镜室所具备的条件,只要经稍许加工,就可达到目的。

把一个35毫米照相机通过一个自制的金

属环,装到放大机的透镜台上,利用放大机做照明光源,用放大机上的粗调和细调聚焦旋钮聚焦,调节好光圈和快门速度。相机内装好底片,按动快门便可把电镜底片上的细微结构拍照下来,把负像变为正像。经冲洗、凉干、剪裁,装入幻灯片夹,便制成了幻灯片。

举一个具体的例子,以便举一反三。我们使用的是珠江牌69-1型放大机,182/180聚光镜,200瓦乳白灯泡做照明光源。为了便于观察和拍照,松开放大机体左侧的锁紧螺丝,将机体旋转成水平方向。用天津产金光牌镜头,其焦距为180毫米,相对孔径1:4.5。日

*本文曾在1982年全国电镜学会(广州)上报告过。

本产理光(Ricon)相机,其镜头焦距为50毫米,相对孔径1:2,在两个镜头之间用自制的金属环连接起来。自制的金属环(铝环)高9毫米、内径45毫米,外径一端为53毫米,另一端为52毫米。在铝环的外侧两端套好丝扣,便可将两个镜头连接在一起了。在许多可供选择的高反差胶片中,我们使用的是燃化部第一胶片厂生产的黑白电影正片。使用时于暗房内(远离红灯)剪下所需长度,装入暗盒。

拍照时把欲制成幻灯片的电镜底片放入放大机的底片夹中。底片夹上如有可供选择调节的活动挡片则更好,这样可适用于不同尺寸的底片,如没有这种活动挡片,可用黑纸挖成与电镜底片大小一致的孔洞,以使电镜底片上的全貌都能拍照下来,并挡住电镜底片周围未曝光的透明部位。按动快门前,通过相机上的取景器进行观察,调节放大机上右侧的细调旋钮,从而改变了镜头与电镜底片之间的距离,可以对视野的大小进行取舍和聚焦。如要剪切掉电镜底片上不需要的部位,可以移动片夹中的电镜底片。为了获得较为正确的曝光值,可以采用下述方法:通过相机上内装式曝光表测得光强度,进行正确曝光;也可以通过试验一个胶卷,用正负两档光圈和不同的快门速度拍照几张底片,经冲洗后检查那种光圈和速度最为合适。我们

使用的是5.6光圈,速度为1/30,对于灰度适中的电镜底片,都能得到较为满意的幻灯片。

在18—20℃温度下,用D-72显影液(稀释一倍)显影5分钟(在远离红灯下进行否则幻灯片发灰)。如用罐洗则不存在这个问题。显影后用水漂洗两遍,在F-5定影液中定影5分钟,然后放入流水中冲洗15分钟,最后把从流水中捞出的片子放入蒸馏水盘中漂洗一下,以防干燥后幻灯片上形成水痕而不易擦去。用细粒海绵吸去片子上的水滴,于空气中干燥。如要想使片子更快干燥,在水中冲洗完毕后,放入乙醇内漂洗一下,这样片子会干燥得更快些。

如有条件可在放大机和照相机之间加一个波纹箱,相机用变焦镜头(F70—150毫米),这样不但能拍照较大视野(80毫米×120毫米),也可用变焦镜头将视野中的某一局部视野拉近拍照。

总之,上述方法利用一般电镜室所具备的条件,按照放大机和照相机镜头螺口的尺寸,自制一个金属环,将两者连接起来,把各部分的位置调节好,进行拍照,就可将电镜负片制成幻灯正片。这种操作方法非但时间大大缩短,而且基本上不会丢失原底片上的细节而获得色调良好的幻灯片。该方法不仅限于制作电镜底片的幻灯片,也适用于其他底片制作幻灯片。

基础知识

染色体提前凝集技术及其应用

杨佩满

(大连医学院组胚教研室)

染色体提前凝集(Premature Chromosome Condensation),简称PCC,是近十几年来在细胞融合和染色体技术的基础上发展起来的一种新技术。PCC的概念是Johnson和Rao于1970年根据其实验结果提出来的^[1]。他们认为,PCC就是分裂期细胞与间期细胞融合后,使间期核染色质提前在间期内凝集成染色体的现象。这种提前凝集的染色体称为PC染色体

(Prematurely Condensed Chromosome)。1977年Lau^[2]用化学融合剂聚乙二醇(Polyethylene Glycol)代替仙台病毒,获得了大量的融合细胞,简化了操作,使这项技术逐渐得到广泛应用。

诱导PCC的过程和机理

诱导PCC,一般分两步进行。第一步是间期细胞和分裂细胞融合,形成有间期核、分裂