



一种调节超薄切片机标本块与刀距的简易装置

赵京 张和民 肖荫厚

(中国科学院植物研究所电镜组)

在使用超薄切片机时，调节标本块与刀之间的距离时往往会遇到一些困难。开始切片时，如果两者之间距离过大，会造成切片机之标本臂往返运动而切不到切片；反之，如果把标本块的顶端调节到超过刀口的位置，则又会因一刀切得太厚而损坏了刀口和标本。为了解决这个问题，我们参考了LKB修块机等有关资料，制作了一个简易的照明装置(图1a)。该装置是在超薄切片机的刀架后面，安装一个自制的反光镜(图1c)。该镜以 5° 角安放在切片机刀架座上，使来自切片机荧光灯的反射光照亮刀口和标本块面。这样在刀口和标本块顶面均被照明的情况下，调节他们之间的距离就很容易了。下面介绍制作方法：

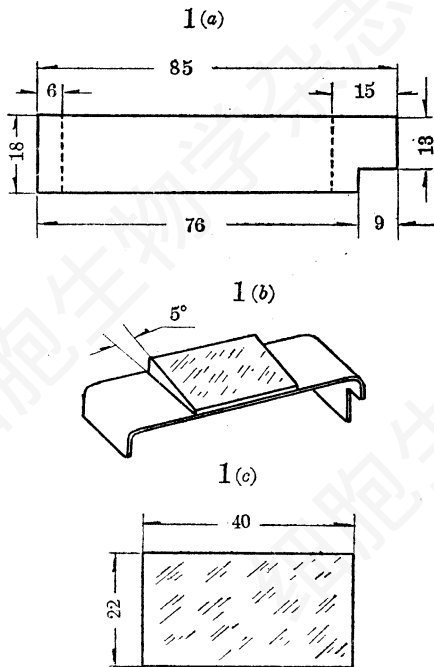


图 1

1. 反光镜

利用一般电镜室的现有设备或有条件可自行喷涂制作。我们采用的是自制铝膜反光镜。反光镜的片基为市售 40×22 毫米的盖玻片(图1c)。将新盖玻片浸泡在新配制的洗液中，取出后用水冲净，再用混合液(85%乙醚+15%乙醇)漂洗，然后烘干备用。

2. 加热器

可使用钨丝加热器。将直径1毫米和直径0.5毫米的钨丝放入10%NaOH溶液中煮沸1—2小时，以便把钨丝表面的污物煮掉，用水冲洗干净、擦干。用直径1毫米的钨丝做成“V”型加热器，然后在“V”型加热器上绕上直径0.5毫米的细钨丝(图2a)，以使高纯度铝熔化后容易在加热器上迅速扩散，从而达到均匀蒸发，同时也可防止铝与钨丝形成合金，致使钨丝熔断，造成断路而不能蒸发。

3. 铝的清洗

将高纯度铝丝(99.99%以上)，放入10%NaOH溶液中煮沸，去除铝丝表面的氧化物，

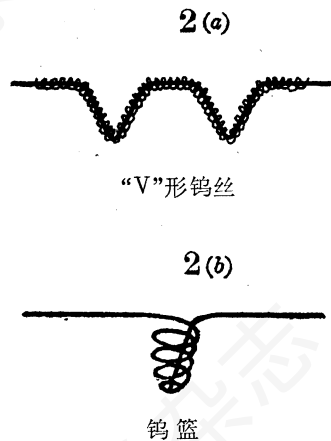


图 2

然后取出用水冲洗干净,再放入乙醇或四氯化碳中漂洗,吹干待用。把经清洗过的2厘米左右长的铝丝弯成“V”型,倒挂在钨丝加热器的弯曲处。

4. 蒸发

一切准备工作就绪后,将玻璃片基用夹具夹好,固定在蒸发源上方(蒸发源与被镀件间距不得少于15厘米)。当镀膜机真空度达到 5×10^{-5} 托以上时,便可进行蒸发。预熔铝时要特别注意观察其熔化过程。在被镀件前应加挡板。当加大电流后,会看到熔融状态的铝表面有一层污物在滚动蒸发,等到该污物层蒸发完以后,迅即移开挡板,再加大电流,十几秒时间即可蒸发完毕。特别应注意,蒸发速度要尽可能地快,最好在10秒钟内达到最大值。膜层厚度要适当。大约刚刚不透光的铝膜其厚度约为 $600-700 \text{ \AA}$,经验表明,当超过 3000 \AA 的厚度时,铝膜的反射率要显著下降,较适宜的厚度为 $1000-1500 \text{ \AA}$ 。一次可以镀制许多面小反光镜。

5. 加固膜的镀制

虽然新镀制的铝膜其反射率可达90%,但在空气中暴露一段时间后,其反射率会略有下降。铝膜的一个重要缺点是机械性能差,经

不起清洗和机械摩擦。为使铝膜不致受到机械损伤和出现擦痕,可在铝膜上再镀一层加固膜。这种加固膜一般采用二氧化硅,由于二氧化硅多呈颗粒状,因此蒸发时不能使用“V”型加热器,一般可用钨篮(图2b)或钨舟。为了制作钨篮,必须先制作一个金属模具。根据常用钨篮的大小来考虑模具的大小。用直径12毫米、长150毫米的铜棒,在其一端车制出圆锥状螺纹,用清洗过的直径0.5毫米的钨丝在模具的螺纹中顺序缠绕,“脱胎”后即成为钨篮(如果使用直径1毫米以上的钨丝绕制,还需用酒精灯在下方加热,否则钨丝会折断)。镀铝前,首先在高真空镀膜机中把钨篮表面的氧化层蒸发干净。这时钨丝表面变成近于银白色,很脆,注意不要碰断。把二氧化硅放在钨篮内,放下真空罩抽真空。蒸发二氧化硅时,它会从固相直接变为气相。蒸发速度要快,控制在10秒钟以内为宜。这样可以得到机械性能好的一氧化硅膜层,但光学性能要差些。如果蒸发速度过慢,虽然镜面光学性能好,但机械性能反而会差。

6. 反射镜支架的制作

把2—3毫米厚的铝片(或铜片)做成一定形状,并沿虚线处弯曲成型,也可使用3—4

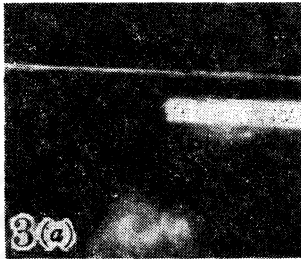


图 3a 样品块顶端与刀口尚有一段距离

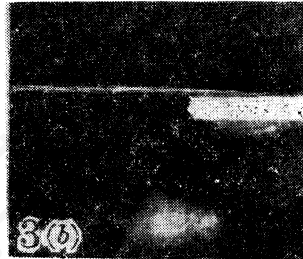


图 3b 样品块顶端底边与刀口已接近

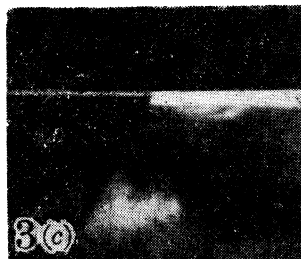


图 3c 样品块顶端中间部位接近刀口



图 3d 样品块顶端底边与刀口不平行

毫米厚的有机玻璃粘合成型(图 1b)。把已镀制好的镜片用环氧树脂牢固地粘接在已制好的支架上,然后整体安装在超薄切片机刀架后面。

7. 调试及使用

调试使用前必须首先用新的锋利刀片把标本块顶端修成一光滑平面(如果用切片机或 LKB 修块机修整块面会更好)。粗糙的样块顶面不会得到满意的反射面。

反光镜安装好了以后,将切片机上的显微镜朝向操作者倾斜约 25° ,同时调节好标本块的高度,用 $40-80\times$ 的显微镜聚焦在刀口上,并前后滑动显微镜底座,使刀口和标本块处于显微镜的视野之内。把荧光灯调节在与垂直面倾斜 5° 的位置上。通过显微镜观察时,可看到刀口上有一亮线,亮线以内是暗区。同时调

节标本臂的高度,当标本臂上的样块升高到刀口以上的位置时,标本块面在暗灰色背景下显得很亮(图 3a)。在以上各个步骤的调节中,不管玻璃刀是否已装上胶带(或蜡坝)、水槽内是否已注满槽液,对各步调节均不会产生影响。

用切片机上之手动控制旋钮将标本块调节到被照明的高度上,把切片刀推进至标本块的底边缘,使看不到亮线为止。随着标本块底边稍稍高出刀口,就很容易调节刀口与样块底边的平行线了(图 3b)。当样品块顶面未完全升高到刀口以上时,所看到的样块顶面之亮区较窄(图 3c)。当样块顶面与刀口不平行时,就会出现(图 3d)的情况。这样就要重新调节,使之相平行。一切工作就绪后,就可进行切片了。

(上接第 40 页)

色体上的 p^{36} 带有颗粒。以 1000 倍过量的总的 DNA 进行竞争,对标记没有影响。用含有人 α -珠蛋白顺序的质粒 DNA 与染色体进行原位杂交,在 16 号染色体上有标记,表明 α -珠蛋白基因位于这个部位。作者认为这个方法是可以用来在哺乳类染色体上对任何克隆的单拷贝基因进行定位。

Ashihara, T. [日] 发展了一种细胞荧光光度计,可同时测定一个肝细胞中两种不同荧光反应的细胞组分,如 DNA 和 RNA,或 DNA 和蛋白质等。Bottiroli, G. 等 [意大利] 利用脉冲激光显微荧光测定技

术研究染色质的功能状态。Collard, J.G. [荷兰] 等建立了一种染色体分检技术,可以分离大量染色体,用于基因定位等研究 (Exp. Cell Res. 126:191, 1980)。Meistrich, M.L. [美] 实验室从 1974 年起始至今,建立方法将正常细胞和肿瘤细胞分开,将 G_1 期细胞与 S 期和 G_2 期细胞分离开。Reuter, W.O. 等 [西德] 发展建立了一套新的定量显微镜系统,用于细胞生物学研究。此外,有有关细胞培养的方法和条件,细胞融合等技术,以及光学和电子显微镜等方面的技术发展和应用等。

学术活动

Clark 博士来沪讲学

美国耶鲁大学 T.G. Clark 博士应中国科学院上海细胞生物学研究所的邀请,于 1981 年 8 月 16 日到 30 日在上海讲学和进行实验示范。第一讲的题目是细胞骨架概论。着重介绍了细胞骨架结构成分的分子性质及形态变化。第二讲的题目是非肌肉细胞中肌动蛋白和肌球蛋白装配及其相互作用的生物化学。第三讲是以色素颗粒在细胞内的移动为例,对细胞内颗粒的运动与细胞骨架结构之间的关系进行了探讨。报告内容正在整理并将在《细胞生物学杂志》上发表。

Clark 博士在沪期间做的示范实验包括:用双标记免疫荧光法作鼠胚和鸡胚细胞里微丝和中等纤维的定位;用肌球蛋白 FITC-S1 片段作微丝定位;利用他带来的四种抗血清在鸡胚细胞、小鼠胚胎细胞及 HeLa 细胞上作不同细胞骨架结构蛋白—结蛋白、微管蛋白、波形纤维蛋白及角质蛋白的定位;在相差显微镜下观察分离的肌原纤维的结构,并用 FITC-S1 做肌原纤维中肌动蛋白的定位。

(卫林祥)