

固定再使铍加入到铀-铅-铜复合物上,也进一步增强了电子染色作用。

摘 要

本文介绍了超微结构研究中的铀-铅-铜技术。铀-铅-铜方法能选择性地染色细胞内的线粒体、内质网和高尔基体,细胞的其他部分一般不染色,从而使这些细胞器在细胞内的分布非常突出。利用这一特点,可在透射电镜下观

察半薄切片,研究线粒体、内质网和高尔基体的三维结构以及细胞器之间的相互关系。

参 考 文 献

- [1] Rambourg, A. et al., 1974, *Am. J. Anat.*, 140: 27-46.
- [2] Thiery, G. et al., 1976, *J. Microscopie Biol. Cell* 26: 103-106.
- [3] 汤雪明等, 1984, 电子显微学报, 3 (3): 151 (摘要)。

植物材料光学和电镜蛋白 A-金胶体结合体标记技术

徐 是 雄

(香港大学植物系)

这里介绍一种可在光学显微镜薄切片和电子显微镜超薄切片上标记的技术^[1,2]。我们初步应用这一技术来做燕麦球蛋白的定位,结果是成功的(图版图1, 2)。现将操作方法简述如下:

一、样品制备

1. 把切成2—3微米³的新鲜材料,用磷酸缓冲液(pH 7.1)配制的3—4%甲醛(加2.5%蔗糖),在室温固定2小时;
2. 用磷酸缓冲液清洗两次,每次30分;
3. 用20%, 40%, 60%, 80%, 90%, 100%酒精脱水(每一步15分),在100%时多换一次;
4. 把材料直接放入C. R. White塑料包埋剂(由London Resin Co. Ltd. 供应)内,在室温渗透1小时后再换一次新鲜的塑料溶液,在4℃渗透2天(其间可再换一次)。
5. 包埋时把材料放在胶囊内,置60℃1天。包埋剂硬化后即可制作薄切片和超薄切片。

二、光学显微镜标记技术^[3]

(A) 显影液的配制

1. 保护胶液——把1千克阿拉伯胶溶在2升蒸馏水内,经常把溶液摇动。5天后,用纱布过滤,放4℃备用。
2. 柠檬酸缓冲液——柠檬酸25.5克,柠檬酸钠23.5克,蒸馏水100毫升。
3. 还原剂——氢醌0.55克,蒸馏水15毫升(用

前配制)。

4. 银溶液——醋酸银0.1克,蒸馏水15毫升(避尘,用前配制)。
5. 显影液——将配制好的上述溶液按60、10、15和15毫升的比例混合。

(B) 标记技术

1. 先将塑料薄切片(1—2 μm)沾在环片上;
2. 用卵清蛋白BSA溶液浸泡5分钟(卵清蛋白溶液的配制:用PBS缓冲液配制成0.5%卵清蛋白溶液。PBS缓冲液的配方:在1升水中加入氯化钠8克,氯化钾0.2克,磷酸二氢钾0.2克,磷酸氢二钠1.14克);
3. 倾去溶液(但不要用水清洗)滴上一大滴专一的抗体血清(上覆一盖片),浸泡30分钟(抗体的浓度要根据抗体的效价来决定。我们所用的燕麦球蛋白抗体血清,要稀释25倍);
4. 在PBS缓冲液中清洗2次,每次15分;
5. 放一大滴蛋白A-金胶体溶液在切片上,停留1小时(买来的蛋白A-金胶体溶液,需要用PBS缓冲液稀释25倍左右方可应用);
6. 在PBS缓冲液中清洗2次,每次15分;
7. 将玻片置放在0.5%明胶溶液内,使沾上一薄层,室温风干;
8. 第二天,将玻片放入显影液内(26℃)20—60分钟。这一步操作需把盛装显影液的玻璃器皿用黑色

不透明胶布密封;

9. 在40℃的热水中清洗40分钟, 再换一次清水, 洗1—2分钟, 洗净明胶保护液;

10. 在约40℃温箱内干片。

11. 用明胶-甘油混合液封片(混合液配方: 蒸馏水30毫升, 明胶5克, 甘油35毫升, 酚1—5克)。

电子显微镜标记技术

1. 将专一的抗体血清, 用加0.2%牛血清蛋白(BSA)和0.05%Tween 100的PBS缓冲液稀释4—8倍, 然后浸泡粘在铜网上的L. R. White超薄切片30—60分钟;

2. 用以上缓冲液清洗2次, 每次10分。清洗时最好将铜网放在一个玻璃培养皿内, 用磁搅拌器缓慢搅拌;

3. 将稀释10—20倍的蛋白A-金胶体溶液浸泡30—60分钟(用PBS+1%BSA+0.05%Tween 100溶液来稀释);

4. 用以上缓冲液清洗2次, 每次10分钟, 方法

和2相同;

5. 再用蒸馏水清洗5分钟, 换2次;

6. 用2%醋酸铀(溶在50%酒精内成饱和液)染5—7分钟;

7. 电镜观察。

这一技术有以下优点: 1. 能同时做光学显微镜薄切片和电子显微镜超薄切片; 2. 经L.R. White包埋的材料内的抗原活性基本不变; 3. 并不妨碍抗体渗透入塑料。加上这一技术操作方便、可靠, 易于重复, 故此值得大家试用。

参 考 文 献

- [1] Craig, S., and Goodchild, D. J. 1982, *Eur. J. Cell Biol.* 28: 251-256.
 [2] Craig, S. and Goodchild, D. J. 1984, *Protoplasma* 122: 35-44.
 [3] Danscher, G. and Rytter Norgaard, J. O. 1983, 31: 1394-1398.

核 膜*

陈 涛

(北京市海淀区教师进修学校)

核膜的超微结构

在电子显微镜下, 可见核膜是由内、外两层单位膜及其所夹的低电子密度透明腔隙所组成。这个腔隙称为核周腔, 其宽度随细胞的不同区域、类型和生理状况而异, 变化幅度为150—700Å。核周腔与细胞质中的粗面内质网囊腔相通连。

核膜的内膜和外膜的厚度均为75Å左右。但是, 内膜和外膜在功能上和生化成分上是有所不同的。外膜外表面经常附着核糖体, 有时与粗面内质网相连。内膜既无核糖体附着, 又不与内质网相接, 在它的内表面上, 常饰有由异染色质团块和蛋白质细丝共同组成的具有中等电子密度的纤维网状结构, 称为纤维层。在垂直横切面的电镜照片上, 纤维层呈蜂窝状。无脊椎和脊椎动物相比, 前者蛋白细丝较粗, 纤维层较厚。例如, 医蛭(*Hirudo medicinalis*)的蛋白细丝直径为30—50Å, 纤维层厚度为900—2000Å, 而哺乳类动物的纤维层平均厚度一般在300Å以下, 在脊椎动物中, 纤维层的蛋白质细丝主要是由一种结构蛋白质

单位所组成的。这种蛋白质单位是由三个分子量为60,000—70,000道尔顿的多肽分子装配在一起而形成的。这三个多肽分子一方面同核膜内膜内表面上嵌于磷脂分子层中的特异蛋白相结合, 另一方面又与染色质上的特异部位相结合, 从而使染色质同核膜连接在一起。

内、外两层核膜在一定间隔处, 彼此融合形成核孔。其大小、数目、密度和分布因细胞的种类、生理状态和外界温度的不同而异。孔径的变化范围是300—1000Å, 一般在600Å左右。代谢旺盛的细胞, 核孔数目多, 密度也大。例如, 20—25岁男性的睾丸间质细胞的核孔数目大大超过70岁以上的男性。未成熟的蛙卵母细胞较成熟的代谢活跃, 核孔密度也多40%。核孔的分布也不总是随机的。有时呈正方形和六角形排列, 有时大量密集在某一区域, 使得某些区

* 在完成本文的过程中得到了翟中和教授的指导, 在此致谢。