

辽宁大学科研处 ● 1983年

1979—1982

辽宁大学
学术论文选编

前 言

自庆祝建国三十周年学术年会以来，我校广大教师在党的十一届三中全会的正确路线、方针、政策指引下，在完成教学任务的同时，进行了大量的科学研究工作，取得了可喜的成绩。为了进一步激励全校教师更加积极地进行科学研究、勇于著书立说，从而不断提高学术水平和教学质量，同时为了便于交流和逐步积累科研成果，现将1979—1982年间我校教师公开发表的学术论文，分系(室、所)加以选编编辑，定名《学术论文选编》。同时，对发表论文较多的教师分别编印专辑。这项工作今后将作为我校科学研究的一项基本建设长期继续下去。

由于我们水平有限，且时间仓促，特别是对编选工作缺乏经验，疏漏不当之处在所难免，欢迎批评指正。

辽宁大学科研处

1983年4月

目 录

遗传、生化部分

真核生物的间断基因……………涂长晟 (1)

黑十字貂的育种……………周 云 (15)

植物、植物生理及植物生态学部分

辽宁东部的主要植被类型及其分布……………董厚德 (24)

苜蓿花粉植株的诱导……………徐 速 (53)

赤霉素在促进禾谷类种子水解酶合成和分泌中
的作用机理……………何雪晖 (58)

生态平衡失调的基本标志和建立新的生态平衡
的探讨……………祝廷成 董厚德 (69)

动物、动物生理及动物生态学部分

东北的蛇类……………季达明 刘明玉
常万霞 秦耀庭 (78)

辽东地区小型啮齿类季节性数量变动的研究……
……………肖增祜 孙 铎 佟旭榕 迂广文 (87)

辽宁蚊类区系研究……………张正奎 陈继寅 (101)

旅顺老铁山地区鹰类迁徙的初步研究……………
……………姚丽文 张正奎 朱延义 全理华 (111)

灰链游蛇 *Natrix vibakari* (Boie) 的生态观察
……………季达明 常万霞 (123)

沈阳市蚊类调查及其越冬的观察……………张正奎 (136)

黑龙江草蜥*Takydromus amurensis*的生态观察
.....刘明玉(161)

长白山北坡森林生态系统土壤动物初步调查
.....张荣祖 杨明尧 陈 鹏 张庭伟(167)

辽宁清原黑线姬鼠种群年龄研究初报.....
.....肖增祜 姚丽文 吕永通(181)

脊椎动物的化学通讯与群体行为.....俎玉筠(188)

环境生物学部分

酚对离体鱼头呼吸中枢的影响.....王德庆
刘用惠 汤大同 孙 燕 王 玢(195)

从水生藻类的生态看沈阳市水体污染状况.....
.....林碧琴(212)

二氧化硫对蓖麻叶质膜透性、叶绿素含量和花
粉生长的影响.....刘荣坤 李世承(231)

沈阳市城郊农田土壤镉、铅污染评价及白菜作
物吸收量相关性的研究.....邢克孝
尚德龙 崔久满 王淑云(243)

以底栖动物监测浑河的污染.....杨明尧 张庭伟(263)

二氧化硫对植物伤害及其机理的探究.....刘荣坤(276)

土壤重金属污染与沈阳城郊蔬菜作物吸收量相
关性的研究.....邢克孝 胡建楠
尚德隆 崔久满(284)

真核生物的间断基因

涂 长 晟

(一) 间断基因

(二) 间断基因的剪接机制

(三) 间断基因的生物学意义

七十年代末期，分子生物学又有了新的突破，即在真核生物中发现了间断基因 (Split gene)。

在此以前，分子生物学界根据实验结果推定原核生物（如大肠杆菌）的基因结构与基因表达的模式如下：

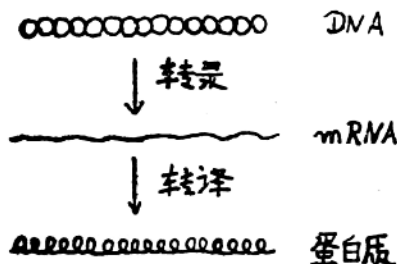


图 1

这一模式的要点是：

(1) 基因是由连续的DNA分子片断组成，遗传信息即贮存于这DNA分子的核苷酸序列中。例如指令合成一般蛋白质的结构基因约由特定序列的核苷酸组成，其长度大约为1000

个核苷酸对。

(2) 基因的核苷酸序列与由该基因指令(编码)蛋白质中的氨基酸序列一致,即呈共线性关系(Colinearity)。

(3) 基因表达(gene expression)在原核生物中就蛋白质合成而言,主要包括转录与转译两个阶段。这两个阶段主要又都受到结构基因邻近的核苷酸序列的调节与控制。例如大肠杆菌的操纵子(operon)及其表达可一般示意如下:

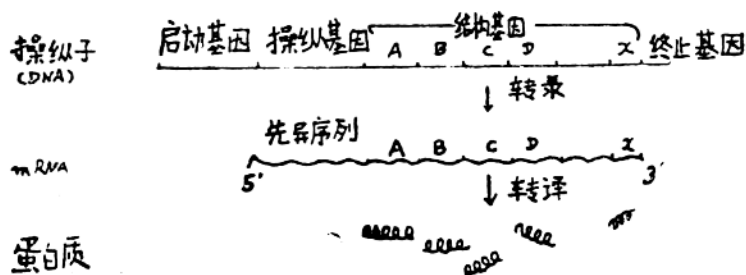


图 2

一、间断基因 (断裂基因, split gene)

七十年代由于分子生物学实验技术(如DNA重组, DNA核苷酸序列测定等)的长足进展和对原核生物基因结构与基因表达知识的积累,人们才有可能进一步对真核生物基因进行探索,并终于在1977年春的冷泉港学术讨论会(Annual Cold Spring Harbour Symposium)上宣布,在基因结构及其表达上,真核生物与原核生物有很多不同。这一发现被F.Crick称为生物科学的又一小型革命(mini-revolution)。

真核生物(高等动植物、酵母等)的基因结构可示意如下:

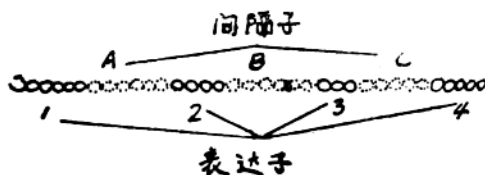
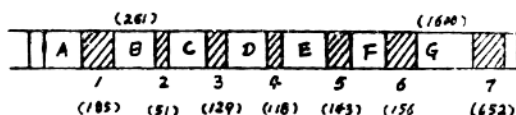


图 3

这也就是说，真核生物的基因是间断的，由编码的表达子（外显子，exon, coding, sequence, the expuressed coding sequence）与不编码的间隔子（内含子，In on, non-coding intervening sequence）共同组成。例如鸡的卵清蛋白基因的结构如下：



其电镜图如下：



图 4

真核生物细胞核内的各种间断基因所含的间隔子数目并不一致，长度也不一，例如：

卵清蛋白基因（鸡）

间隔子 7，总长度 5828bp；表达子 7，总长度 1872bp。

β-血红蛋白基因（鼠）

间隔子 2，总长度 762bp；表达子总长度 412bp。

二氢叶酸还原酶基因（鼠）

间隔子 5，总长度31432bp；表达子总长度568bp。

一般说来，间断基因中间隔子的总长度大于表达子的总长度，或不编码序列大于编码序列。这也正是真核生物基因中DNA含量多于原核生物基因的根本原因。

根据1981年的资料，间断基因迄今只发现存在于真核生物的细胞核中以及细胞核中的DNA病毒（如Adenovirus SV40）。原核生物中迄未发现（如果原核生物果真含有间断基因，则按现有的实验技术应早已发现）；而且原核生物没有核膜，所以有人认为间断基因只存在于核膜内。

另外，果蝇，酵母的rRNA和tRNA的基因也是间断基因。

二、间断基因的剪接机制（捻接 机制splicing, mechanism）

真核生物基因的表达包括下列四个方面：

1. 基因结构，即构成DNA的核苷酸序列及转录的启动序列。
2. DNA在染色体内部如何装配以及这装配对表达的影响。
3. DNA如何转录成mRNA以及mRNA如何进入细胞质。
4. mRNA如何转译。

其中的第三项就涉及到间断基因的剪接机制。

由间断基因的结构看来，其中含有间隔子（不编码序列）和表达子（编码序列）。它在转录成mRNA过程中必须将间隔子除去，然后才能将所含表达子连接成mRNA。

这有四种可能方式：

1. DNA重排 (rearrange) 除掉所不需要的间隔子 核苷酸序列。

2. 在转录时RNA聚合酶 (RNA polymerase) 滑过间隔子，只使表达子序列在转录本上出现。

3. 每一表达子分别被转录，然后按顺序连结起来。

4. RNA聚合酶忠实转录出转录原本 (primary transcript) 然后这转录原本被加工，除掉间隔子并将表达子按顺序连接成mRNA。

其中只有第四种方式已被大量实验证据证实，这种方式被称为间断基因的剪接机制。

仍以鸡卵清蛋白基因为例，实验证据表明：

1. 细胞核内含有7700bp的RNA转录原本（没有比之更长的转录本）。

2. 在转录过程中发现RNA(转录本)具有不同长度（长度在转录原本与最后形成的mRNA之间），这些不同长度的RNA（中间产物）表明剪接是逐步进行的。

3. 通过DNA重组技术及电镜图象可观察和确定这些剪接中间产物的组成。



图 5

根据迄今已发现的各种间断基因的剪接状况，人们提出了

剪接机制的一般模式如下：

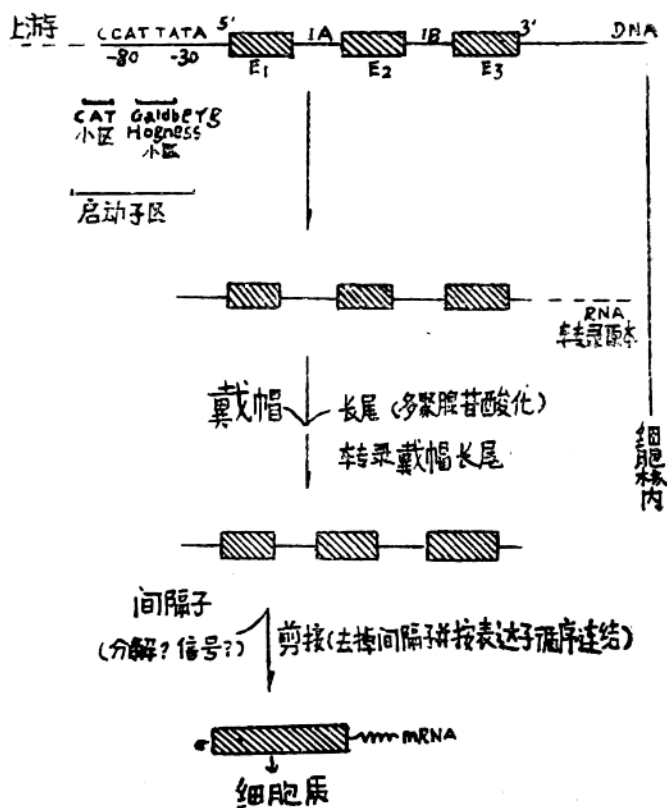


图 6

按这一模式鸡卵清蛋白基因的剪接机制可用下面的示意图表示：（见 8 页图 8）

间断基因的剪接机制与表达可简化归纳如下：

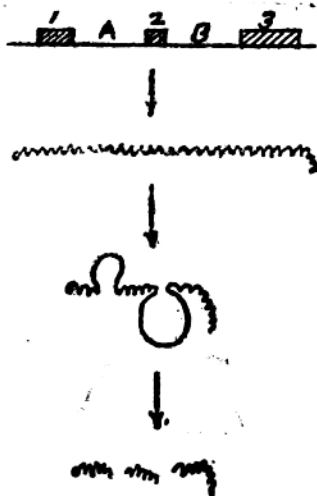


图 7

1. 关于转录启动的问题：

基因转录是RNA聚合酶沿DNA的特定碱基序列将其遗传信息转录成相应的RNA。转录的第一步是聚合酶在基因5'端特定的区段(启动子区)与之束合(binding)然后开始转录。这启动子区决定转录开始以及转录效率。原核生物基因转录的启动问题经过多年研究已有端倪可见,即发现在转录起点(start)之前(定为上游,一)即-14至-11个碱基处有一个5'TATAATG序列(称为Pribnow box),这就是与RNA聚合酶束合并使转录启动的启动子区(另一处在-35)。真核生物基因的启动问题由于DNA重组技术的进展近来也取得了一定成就,即发现在60种真核生物的基因上游-30(即-30左右(-34

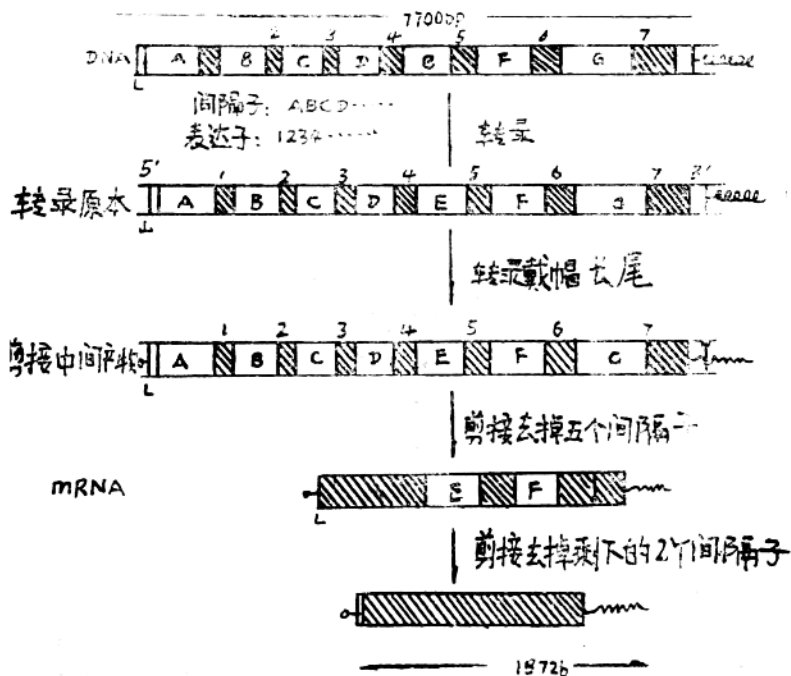


图 8

到-26)处的核苷酸碱基)有一个TATA区段(称为Goldberg-Hogness box)为启动子区。其后又发现这一区段并不孤立起作用,它尚需-80处的CCAT碱基序列(CAT box)协同才能显示其转录效率。甚至还有人认为-150处碱基也对之有影响。上述情况暗示无论原核、真核生物基因的表达皆和DNA分子的高级结构有关,从而强调了生物性高分子(如蛋白质,核酸、多糖等)的功能与其高级结构(而不是一级结构)密切有关的这一

基本论点。

2. 戴帽 (Capping) 与长尾 (tailing) 皆在核内进行。戴帽是指在转录原本的5'端参入甲基化鸟苷酸, 长尾则是在3'端参入多聚腺苷酸 (Poly A, 100~150个腺苷酸)。这两者的作用尚不清楚, 但有人认为戴帽有利于将来的mRNA中的先导 (leader) 约由100个左右的碱基序列构成) 与核蛋白体结合; 长尾有利于mRNA由胞核进入胞质。还有人认为戴帽与长尾能保护RNA不被核内的核酸外切酶分解而保持稳定。

3. 由上面的介绍可以看出, 剪接中的关键是精确无误地剪除间隔子并将表达子准确地连结成mRNA, 这也就是说剪接酶必须能识别间隔子与表达子交界处的碱基序列, 或者说在实验研究中首先必须弄清这交界处的碱基序列。

Chambon等首先发现在鸡卵清蛋白基因的剪接处碱基序列有下面的共同特点:

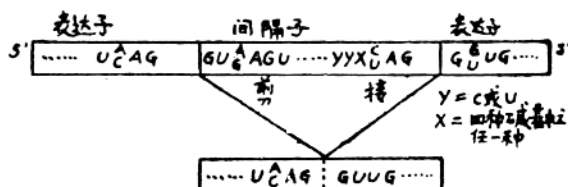


图 8-1

间隔子两端分别为GU、AG、这一特点其后还发现在不同真核生物基因中的90个剪接处皆如此, 因而将间隔子与邻近两端的表达子交界处这种5' GU—AG3' 特点称为 Chambon 法则 (Chambon rule)。(应指出的是, 这里只是为了便于说明, 如就DNA而言则为5' GT—AG3')。后来人们将鸡卵清蛋白

基因的转录原本引入大鼠细胞培养物中，或将大鼠基因的转录原本引入猴细胞培养物中都能实现正确的剪接。这些实验不仅表明Chambon法则适用于各种真核生物的RNA剪接机制，而且还表明剪接酶系统具有共性，都能识别剪接处。F.Crick 并从而认为剪接酶只有一种(GU—AG)，或两种(GU与AG)。

也还有人认为RNA剪接中尚需核内一小分子量的剪接RNA (splicer RNA) 参与，它在剪接处通过碱基互补在剪接处架桥相连而后剪接。

总之，关于真核生物基因的剪接机制这一分子生物学的重大论题目前还很不清楚。在1981年春举行的第一届DNA重组研究国际讨论会上人们还认为“它是一个真正的难解之谜”(“This is a real enigma”)，还有很多问题尚待研究。

三、间断基因的生物学意义

真核生物间断基因的发现虽已引起了分子生物界的普遍重视，但它毕竟发现较晚(1977年春始宣布)，许多问题尚待研究。关于其生物学意义人言各殊，只能就近一、二年的文献资料扼要介绍如下。

1. 间断基因的功能

据上述，间断基因 = 间隔子 + 表达子，而经过剪接机制处理将间隔子除去最后连接成mRNA而显示其功能。因此这个问题可归结为间隔子剪接机制在基因表达上究竟起什么作用。目前有下列的一些推测。

(1) 基因的作用并不是孤立的，它们彼此之间互相调掣(调节)，因为有人认为间隔子对某一基因或其它基因的表达起着信号作用。例如当它被切除的同时，就发出信号使同一基因或另一基因转录或转译。目前已发现酵母线粒体的细胞色素

b的基因的某一间隔子能为切除该间隔子的酶编码；这也就是说，间隔子为剪接机制的组成部分，对自我调节具有信号作用。

(2) 间断基因可通过某些具有细微差别的剪接机制产生略有差异mRNA，从而形成代谢功能略有不同的蛋白质。例如人的生长激素基因可按两种剪接机制进行加工，产生生长激素的两种变体：

人生长激素—1 分子量20,000 促进生长

人生长激素—2 分子量 $10 \times 20,000$ 促进生长并影响糖代谢

C. Weissmann根据Gilbert的设想（即DNA片段可以从某处切下然后插入另一处进行重排）采用DNA重组技术将不同的干扰素（人）基因——干扰素分子有很多种，每种干扰素各由略有差异的基因编码——的片段组成杂交干扰素基因，从而产生新的生物活性更强的干扰素。这一实验更表明了真核生物间断基因的复杂性。

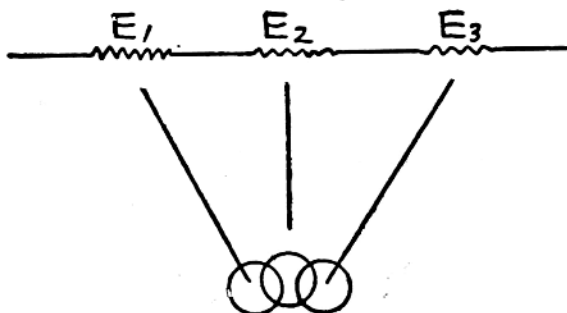


图 9

(3) 近年来有越来越多的证据表明很多蛋白质(尤其是抗体)是具有很多功能单位的实体。如果分别由不同的 mRNA 转译(包括随后蛋白质不同功能单位的聚合)将是极大的浪费,而这任务通过间断基因及 RNA 剪接完成则将是有益的。附图(图9)表示具有三个表达子(E_1 , E_2 , E_3)的间断基因。经剪接后这三个表达子如能分别为某一蛋白质的三个不同的功能单位编码,并最后聚合成多功能单位的蛋白质,其效率将远远高于由不同的 mRNA 转译。

(4) Gilbert 等认为虽则真核生物的基因绝大多数都是间断基因,但也有例外,如组蛋白基因等;因而间隔子的存在对基因表达似非必需。已发现鼠胰岛素的一对基因,其间隔子数目并不同,但都能表达;这也说明间隔子在该基因的表达上不起重要作用。

Gilbert 等还认为,间断基因中全部间隔子的总长度远远超出全部表达子的总长度,而间隔子的碱基序列又常因突变、缺失等而变化。因此重要的不是间隔子的碱基序列而是其长度。间隔子正是通过这长度将表达子分隔开以提高有益突变的频率,因为被间隔子分开的表达子之间的交换频率较高,这是符合分子遗传学基本规律的。

2. 间断基因与进化

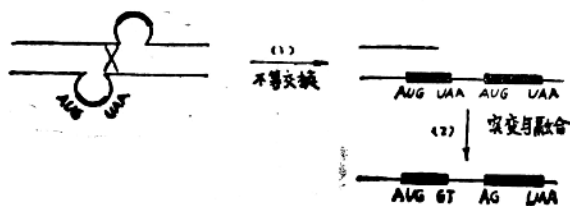


图 10

Tonegawa 等人认为间断基因是经由不等交换方式的基因重复 (gene duplication by unequal crossing-over) 产生的。不等交换与减数分裂中的对等交换 (equal crossing-over) 不同, 它并非同源片段交换, 从而可引起比较彻底的基因重组。

图10说明通过不等交换使基因重复 (1), 然后突变除掉一终止码 (UAA) 及一个起始码 (AUG), 并形成剪接信号 GT, AG, 最后产生具有两个表达子及一个间隔子的间断基因。

根据这一论点 (连续基因 → 间断基因) 可认为在进化过程中原核生物 (连续基因) 是真核生物 (绝大多数具有间断基因) 的祖先。

然而Chambon等认为原核生物 (及某些真核生物) 不含间断基因并不就能证明间隔子 (及间断基因) 是由连续基因经过长期进化形成的。目前原核生物的连续基因也可能是由原来生物的间断基因经过间隔子缺失 (虽然这种缺失机制尚不清楚) 而形成的。按照这种论点即原核生物不仅不是真核生物的祖先, 反而是其后裔; 它是在进化过程中逐渐除掉多余的、不编码的DNA, 从而减轻了合成这些DNA (即每一世代DNA的复制) 的负担和ATP消耗, 更有利于生存, 繁殖, 最后形成不具备间隔子的 (从而RNA剪接机制也属多余的) 连续基因。目前有人 (D.C.Reaney) 提出RNA可能是比DNA更古老的在不具细胞形态的复制体系 (precellular-replicating system) 中的原始遗传物质 (例如某些病毒)。在这种情况下, 就不会涉及DNA (即基因) 的结构, 即使不精确的DNA剪接机制也对不具细胞形态的复制体系是有利的, 因为通过对某一RNA进行不同的剪接就可以产生多种不同的mRNA及蛋白质, 以适应多种需要。