

J.J. 尤尼斯 主编

人类染色体的 分子结构

科学出版社

内 容 简 介

本书是首次比较深入地论述人染色体分子结构的专著,内容包括:人染色体和染色质的微细结构、人基因组的分子组织 and 功能、人 DNA 特别是随体 DNA 的顺序及其意义、染色体带型、多态性及重复 DNA 与灵长类进化的关系以及各种有关的新技术、新方法,比较全面地介绍了有关人染色体分子结构的最新知识和进展,并附有大量的参考文献,可供生物学特别是分子生物学、遗传学特别是细胞遗传学工作者及有关科研、教学人员等参考。

Ed. by Jorge J. Yunis

Molecular Structure of Human Chromosomes

Academic Press, 1977

人类染色体的分子结构

J. J. 尤尼斯 主编

蔡良婉 王汝宽 等 译

责任编辑 刘 安

科学出版社 出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1983 年 8 月第 一 版 开本:787×1092 1/32

1983 年 8 月第一次印刷 印张:11 7/8

印数:0001—6,800 字数:272,000

统一书号:13031·2331

本社书号:3192·13—10

定价: 1.85 元

前 言

近年来,由于许多重大进展的取得使我们在生物学和医学方面对染色体的认识有了长足的进步。人们对重复和单一 DNA 顺序的顺序排列、转录能力和功能意义进行了广泛的研究。由于电子显微镜技术的改进、早熟染色体浓缩和原位杂交技术的应用,使人们得以对染色体和染色质的结构进行精细的研究。通过进行各种染色和处理,现在能够看到处于有丝分裂期的染色体具有特征性的显带模型,从而方便了对各个染色体的鉴定。另外,通过应用不同的染色技术以及对重复 DNA 顺序的比较分析,确定了人和其他灵长类动物染色体组型之间的关系。人-啮齿动物杂种体细胞的应用大大加速了基因的定位工作。

关于真核生物基因组组织研究进展的一些综述一度是有用的,但它们的重点都不在我们极为关注的基因组即人基因组上。本书的目的就是通过汇编一些权威性的论著来弥补这一缺陷。这些论著包含了大量关于人基因组微细结构和分子组织的有用知识。

遗传学家、分子生物学家和细胞遗传学家,特别是那些对人基因组感兴趣者,将会发现本书是一本非常宝贵的指南。

J. J. 尤尼斯

〔王汝宽 译〕

目 录

前言.....	(iii)
第一章 人基因组的分子组织和功能	Jorge J. Yunis、Michael Y. Tsai 和 Ann M. Willey (1)
第二章 人的 DNA 顺序.....	Gabriel Macaya、Jean-Paul Thiery 和 Giorgio Bernardi (40)
第三章 用 RNA-DNA 原位杂交进行人基因定位...	 Dale M. Steffensen (69)
第四章 体细胞遗传学作为对人类基因定位的新工 具...	Richard P. Creagan 和 Frank H. Ruddle (106)
第五章 染色体和染色质结构.....	G. F. Bahr (171)
第六章 早熟浓缩染色体和染色体的微细结构.....	Potu N. Rao (238)
第七章 新的染色体技术	Bernard Dutrillaux (267)
第八章 显带图型、染色体多型性及灵长类的进化	P. L. Pearson (303)
第九章 重复 DNA 与灵长类的进化 ...	K. W. Jones (334)
译后记.....	(374)

第一章 人基因组的分子组织和功能

Jorge J. Yunis、Michael Y. Tsai 和 Ann M. Willey

一 引 言

在研究包括人在内的高级真核生物的基因组时所遇到的一个主要障碍集中表现为这些细胞的细胞核含有巨大数量的DNA。与业已进行过广泛研究的大肠杆菌原核细胞基因组含有 3.2×10^6 核苷酸对 (Cairns, 1963) 相比,低级真核生物果蝇的基因组含有大约50倍于此量的 DNA (Laird, 1971), 而人的基因组所含有的 DNA 量则为大肠杆菌 DNA 量的 1,000 倍, 即含有 2.7×10^9 核苷酸对 (Sober, 1970; Rees 和 Jones, 1972)。原核细胞的大部分基因组都被转录 (McCarthy 和 Bolton, 1964; Kennell, 1968; Grouse 等, 1972), 并为大约 3,000 个信息基因进行编码, 而果蝇和人的基因组所含有的 DNA 则足以分别为 150,000 和 3,000,000 以上这样的基因进行编码。由于人和其他真核生物可能并不需要如此大量的基因, 因此, 人们为阐明真核生物中为何含有这样巨大数量的 DNA 进行了探讨。

二 真核细胞 DNA 的复性研究

解决这个显然是谜一般的问题所迈出的第一步, 是 Britten 及其共同工作者证明: 在真核生物的 DNA 中含有重

复的核苷酸顺序 (Bolton 等, 1966; Waring 和 Britten, 1966; Britten 和 Kohne, 1968)。用若干高度剪碎的动物 DNA 所进行的复性实验表明, 重复顺序 DNA 和单一顺序 DNA 有着相当稳定的比例关系 (Britten 和 Kohne, 1968; Davidson 等, 1974)。例如在哺乳动物中, 重复顺序通常占基因组的 30—40%, 而其余的 60—70% 则为单一顺序。根据原核细胞基因调节, 转录和翻译系统所做的模型, 人们设想, 单拷贝 DNA 可能代表结构基因顺序, 而重复顺序 DNA 则被认为具有调节功能 (Britten 和 Davidson, 1969; Georgiev, 1969)。然而即使在这种设想下, 关于在基因组中占 60—70% 的单拷贝 DNA 部分所含有的信息基因顺序的数量仍然是一个问题。

业已对海胆和爪蟾基因组中重复顺序和非重复顺序的排列进行了详细的鉴定 (Davidson 等, 1973; Graham 等, 1974)。所应用的技术包括: 在低 $Cot^{1)}$ 值下与载体 DNA 一起培养后, 进行羟基磷酸钙柱结合率分析, 以作为片段长度的一个函数; 通过在琼脂糖凝胶柱上分离出具有单链特异性的抗核酸酶双体, 来测定重复顺序的长度以及用电子显微镜进行直接测定。这些研究的结果表明, 平均含有 1,000 个核苷酸的单拷贝 DNA 与平均含有 200—400 个核苷酸的重复顺序交替排列, 约占基因组的 50%。还可以看到另外两种排列模型: 在几千个核苷酸长的单拷贝 DNA 中间隔很长地穿插着只占很小百分比的重复顺序, 这种排列约占基因组的 40%; 以及高度重复的顺序簇集在一起, 这种排列占总 DNA 的 5—10%。自此以后, 有关其他真核生物的研究也报告了相似的排列模型 (Firtel 和 Kindle, 1975; Angerer 等, 1975)。唯一

1) Cot 是变性 DNA 重结合动力学两分子反应中常用的符号。 Co 代表 DNA 的总浓度 (以每升中核苷酸的克分子数表示), t 代表反应的时间 (秒), Cot 即二者的乘积。——译者注

与上述排列模型表现出巨大差异的生物是果蝇 (Manning 等, 1975)。在这些动物中, 尽管高度重复的 DNA 顺序显示出一种类似的不间断的排列模型, 但基因组的其余部分则由范围广泛的单一顺序和重复顺序穿插排列组成, 其中重复性区域的范围从 500 至 13,000 个碱基对, 平均 5,600 个核苷酸, 单拷贝的绵延范围从 2,500 至 40,000 个碱基对, 平均 13,000 个核苷酸。

关于人, Schmid 和 Deininger (1975) 最近报告了一种重复顺序与单拷贝顺序穿插排列和反转重复的模型, 这种排列模型占基因组的 50%。虽然没有应用电子显微镜或通过分离具有单链特异性的抗核酸酶双体来进行测定, 但据推测, 重复片段和非重复片段平均分别含有 400 个和 2,000 个核苷酸。

Davidson 等人 (1975) 通过对海胆基因组的研究, 提出了支持“与重复 DNA 相邻的单拷贝顺序代表结构基因”这一想法的证据。这些作者证明, 海胆胚胎中含有的 mRNA 分子 80—100% 是从基因组中与插入的重复顺序相邻的单拷贝 DNA 顺序转录来的。但精巧地穿插着短的重复顺序的单拷贝 DNA 占总基因组的 40%。正如下面一节将要谈到的那样, 推断所有这些数量巨大的 DNA 都代表结构基因, 这与对基因数目的其他估计是相抵触的, 那种估计认为真核细胞基因组中, 代表信息基因的只占 1—6%。

三 基因数目和基因组转录

现已有一系列的证据支持这样一条原则, 即真核细胞基因组中, 只有占很小百分比的部分代表结构基因。Ohta 和 Kimura (1971) 根据突变率和有关的遗传负荷推测, 哺乳动物

细胞基因组中，代表结构基因的部分不到6%。Judd 及其共同工作者(Judd 等, 1972; Judd 和 Young, 1974)在果蝇巨大的唾液腺染色体中观察到，每个染色体代表一个功能遗传单位，估计这种动物的信息基因总数大约为 5,000 个。与这种看法相一致的是，发现包括果蝇和人在内的大量真核生物的胞浆多核糖体 RNA，从占基因组的大约 2% 的部分进行转录 (Greenberg 和 Perry, 1971; Galau 等, 1974; Lewin, 1975)。此外，Bishop 等 (1975) 证明，在果蝇生命周期的不同阶段所表现出来的 mRNA 序列的总数并不超过多线染色体中的 5,000 个染色粒。

与只有这样少量的 DNA 负责 mRNA 的转录相比，已知真核细胞基因组中却有大量的 DNA 被转录，但不被翻译。在进行不对称转录时，平均说来，整个细胞 RNA 是从整个基因组中至少 10—30% 的单拷贝 DNA 转录来的 (Davidson 和 Hough, 1971; Gelderman 等, 1971; Grouse 等, 1972、1973; Grady 和 Campbell, 1973; Turner 和 Laird, 1973)。用不同器官的 RNA 进行的补充实验表明，在不同组织的 RNA 之间有一种虽然不是完全的但很明显的重叠现象。就粘菌而言，已经证明，总的来说，基因组有 56% 是由变形虫期和中终结期之间的转录体来表现的 (Firtel, 1972)。

关于被转录的 DNA 数量很大和基因组中被认为表示信息的部分只占很小的百分比这二者之间的不一致，从最近关于核不均 RNA (HnRNA) 的研究中可以找到部分解释。业已发现，在哺乳动物细胞中，HnRNA 的复杂性为 mRNA 的 5 倍以上 (Getz 等, 1975)，在海胆胚胎中，mRNA 只代表基因组的 2.7%，而整个单拷贝 DNA 中却有 28.5% 可与 HnRNA 杂交 (Galau 等, 1974; Hough 等, 1975)。既然亦已有证据证明，海胆的大部分 HnRNA 是由间隔排列的非重复

性序列和重复性序列组成的 (Smith 等, 1974), 因此, 有可能, 由单拷贝 DNA 和重复 DNA 精巧地间隔排列构成的 50% 海胆基因组中大部分都与 HnRNA 转录有关。

HnRNA 的一般特性如下: 整个迅速地合成和降解、分子量大、DNA 样的碱基组成、在所有试验过的真核生物细胞中都存在、以及大量这种类型的分子从来不离开细胞核 (Sibatani 等, 1962; Georgiev 和 Mantieva, 1962; Scherrer 等, 1963; Georgiev 综述, 1974; Darnell, 1975)。在已知其复杂性为 mRNA 5—10 倍的 HnRNA 中, 除单拷贝序列之外, 还含有从具有不同程度的重复性的 DNA 转录来的序列。Holmes 和 Bonner (1974a) 提出, 在大鼠腹水细胞中, HnRNA 至少含有一个与一单拷贝序列以共价连接的中等重复序列。在这些细胞中, HnRNA 是从基因组的大约 12% 转录来的, 其中大约 25% 来自重复性 DNA, 75% 来自单拷贝 DNA (Holmes 和 Bonner, 1974a、b)。有一种类型的重复序列, 其特性为: 对胰腺核糖核酸酶具有抵抗性, 并被认为是由分子间的碱基配对所形成的一个双链区。在变性时, 来自双链区的 RNA 序列, 包括来自 HeLa 细胞的这种 RNA 序列, 与 DNA 发生杂交, $Cot_{1/2}$ 值大约为 10 (Jelinek 和 Darnell, 1972; Ryskov 等, 1973a)。第二种类型的重复序列见于 HeLa 细胞的 HnRNA, 大部分 (大约 80%) 是由尿苷酸组成的, 其长度大约为 30 个核苷酸, 也以大约为 10 的 $Cot_{1/2}$ 值进行杂交 (Molloy 等, 1972)。这种寡聚尿苷酸 (U) 片段“仅仅”位于大的 (70—90 S) HnRNA 分子中, 具有 T_1 核糖核酸酶抗性和胰腺核糖核酸酶敏感性。最近, Molloy 等 (1974) 在 HeLa 细胞中发现, 长度在 20,000 个核苷酸以上、以多聚腺苷酸 (A) 结尾的 HnRNA 分子, 含有 2—3 个单位的寡聚尿苷酸片段, 离 3' 多聚腺苷酸 (“信使”末端) 在 12,000 个核苷酸以上, 并

发现，在距这个末端 3,000 个和 8,000 个核苷酸之间为双链区。

在 HnRNA 被发现之后不久就有许多研究者指出，HnRNA 可能是 mRNA 的前体 (Scherrer 等, 1963; Penman 等, 1963)。以这一概念为基础，人们提出了几种遗传调节模型 (Scherrer 和 Marcaud, 1968; Georgiev, 1969, 1974; Darnell 等, 1973)。尽管在许多细节上看法有所不同，但这些作者都共同认为，HnRNA 是由一个可能具有某种调节功能的非信息区和一个代表 mRNA 的信息片段组成的。与信使 RNA 是由分子量较大的前体 RNA 经过转录后修饰而形成的这一观点相一致，业已发现核糖体 RNA (rRNA) 是由 45S RNA 经一种无保留方式加工后形成的，45S RNA 在形成 28S RNA 和 18S RNA 产物的过程中大约丧失分子的 50% (Maden, 1971; Choi 和 Saunders, 1974)。同样，tRNA 也是由一种分子量较大的前 tRNA 经过加工形成的 (Burdon 和 Clason, 1969)。

已有几类实验证据提示 HnRNA 是 mRNA 的前体 (参见 Darnell 综述, 1975)。例如，在 HnRNA 中发现了由肿瘤病毒整合 DNA 转录的序列和存在于血红蛋白和免疫球蛋白中的序列 (Lindberg 和 Darnell, 1970; Melli 和 Pemberton, 1972; Imaizumi 等, 1973; Williamson 等, 1973)。最近，Herman 等 (1976) 制备了与 HeLa 细胞 mRNA 互补的互补 DNA (cDNA)，并发现，大部分 cDNA 均能与从 HeLa 细胞分离出来的 HnRNA 进行杂交。如果 HnRNA 在作为其结构的一部分中确实含有 mRNA，那么就产生这样一个问题，即它究竟是如何参与 mRNA 形成的调节的。虽然尚无确切的知识可供利用，但可以设想，HnRNA 的非信息部分无论对于 mRNA 形成的转录控制还是转录后控制都是必需的。

在前一种情况下，非信息部分可能是从类似于在细菌中发现的识别部位转录来的。在几个解释高等真核生物基因调节的模型中均已提出，在真核细胞中存在着可能的识别部位 (Britten 和 Davidson, 1969; Georgiev, 1969、1974; Darnell 等, 1973)。但与细菌系统不同的是，大部分非信息顺序转录到 HnRNA 中就出现了除转录控制之外还有转录后调节或转录控制被转录后调节取代的可能性。业已提出有关这种类型调节的模型 (Scherrer 和 Marcaud, 1968; Darnell 等, 1973)。在这些模型中，调节蛋白将与 HnRNA 相互作用，或者激活或者抑制 HnRNA 被加工成 mRNA 的过程 (Darnell, 1975)。

四 转录与顺序排列模型的关系

在将近来有关真核细胞顺序排列和转录的研究资料联系起来分析时，产生了许多新的问题。例如，关于已知的信使 RNA (占基因组 1—2%) 数量很少，与推定的结构基因邻近重复序列的单拷贝 DNA (最高占基因组 40%) 的大量过剩这二者之间的不一致，迄今尚无令人满意的解释。长间隔插入的单拷贝 DNA 的功能甚至更加令人费解，这种 DNA 构成整个 DNA 的另外 40%，尚无人系统指出其具有何种特定功能。

这一问题之所以产生，部分是由于我们对在不同发育阶段和不同类型细胞中表现出来的 mRNA 和 HnRNA 的全部复杂性还缺乏了解的缘故。其他研究，例如在果蝇中进行的有关 mRNA 复杂性的那些研究 (Bishop 等, 1975)，也应扩及到哺乳动物细胞的 HnRNA 和 mRNA，以便能单独测得不同种属结构基因的大致数目。产生这一问题的另一方面的原因，是在解释顺序排列研究中所获得的结果时遇到的困难。

由于在这些研究中应用了 DNA 复性技术,其结果在很大程度上依赖于双链重结合的精确性。最好将这一过程描述为一种“结合”过程,因为,在处理重复顺序时,形成双体的两条链与原来配对的链可能并不是同一的,同时,由于碱基取代而造成的配对错误,也会大大影响所见到的结构。因此,很难确定所有与重复片段相邻的非结合顺序都代表单拷贝 DNA,而不代表碱基取代大量积聚的重复部分。可以设想,正如中等重复序列可能是由被配对错误所掩盖的单一序列演化而来的一样,进一步的碱基取代,可以使这种序列作为单拷贝 DNA 而发生重结合 (Walker, 1971)。

五 天然双链 DNA 的分级分离

研究真核细胞基因组的另一条途径是通过应用铯盐密度梯度分级分离法来对整个天然 DNA 进行分级分离。通过应用这一技术在 60 年代早期取得了最初的进展。那时通过中性氯化铯密度梯度离心,在小鼠、豚鼠、小牛和螃蟹中观察到浮力密度与大部分 DNA 不同的一些次要组分 (Kit, 1961, 1962; Szybalski, 1961; Walker 和 McClaren, 1965)。这些次要组分以后被称为随体 DNA¹⁾,经鉴定,其特点在于它是由 6—30 个核苷酸对的短序列组成的,这些短的序列在主要位于着丝点周围和核仁周围异染色质区的 DNA 不间断的长段上重复多达数百万次(在哺乳动物中, Cot 值低达 10^{-5} — 10^{-2}) (见 Yunis 和 Yasminch 综述, 1971)。在人,主要借助于金属铯硫酸盐密度梯度离心技术,已经分离出四种特点相当明确

1) 随体 DNA 系指基因中一般比较简单的片段或高重复性的 DNA。随体 DNA 由等密度 $CsCl$ 离心法分离得到,其表现是在主要 DNA 区带侧的小峰。又称卫星 DNA。——译者注

的随体 DNA (Corneo 等, 1967、1970、1971、1972; Corneo, 1968; 亦参见第 2 和第 3 章)。由于重复程度小、碱基顺序不同寻常、碱基取代堆积 (Southern, 1970、1972; Salser 等, 1976)、随体有种属差异 (Flamm 等, 1969; Walker 等, 1969; Hennig 和 Walker, 1970; Yunis 和 Yasmineh, 1971) 以及缺少与随体 DNA 杂交的细胞 RNA (Flamm 等, 1969; Melli 等, 1975), 所以, 看来这些序列不可能为蛋白质编码。由此提示, 这类 DNA 可能与维持着丝点的结构和功能、保护基因组中诸如 18S 和 28S 核糖体顺反子等极其重要的区域以及发挥防止有关种属间异种受精的有效屏障的作用有关 (Yunis 和 Yasmineh, 1971; Sutton, 1972)。

当 Filipski 等 (1973) 证明, 小牛 DNA 可以分成三种在氯化铯中不同密度 (分别为 1.697、1.704 和 1.709 克/厘米³) 处成带和分别代表 50%、25% 和 10% DNA 的组分时, 分级分离所得天然 DNA 的技术重新引起了人们的兴趣。在小牛 DNA 中所观察到的这三种主要组分, 应用同一方法也可以在其他三种哺乳动物 (人、豚鼠和小鼠) 高分子量的 DNA 中见到。浮力密度分别为 1.704 和 1.709 克/厘米³ 的两个组分 (分别相应代表 25% 和 10% 基因组) 在其他哺乳动物细胞的 DNA 中并没有显示出任何密度差异, 而只在相对含量方面有非常轻微的不同。相反, 密度为 1.697—1.699 克/厘米³ 的另一主要组分却被再分为两个亚组分, 并且表现出种属差异 (Thiery 等, 1976; 亦参见第二章)。

最近, Yunis 等报告了一种氯化铯密度梯度杂交技术, 可以用来鉴定含有重复顺序的偏向密度的天然 DNA 组分 (Yasmineh 和 Yunis, 1974、1975; Willey 和 Yunis, 1975, 1977a, b; Sanchez 和 Yunis, 1976; Tsai 和 Yunis, 1977)。这种方法通常包括从重复序列转录来的放射性标记 RNA 与天然核 DNA

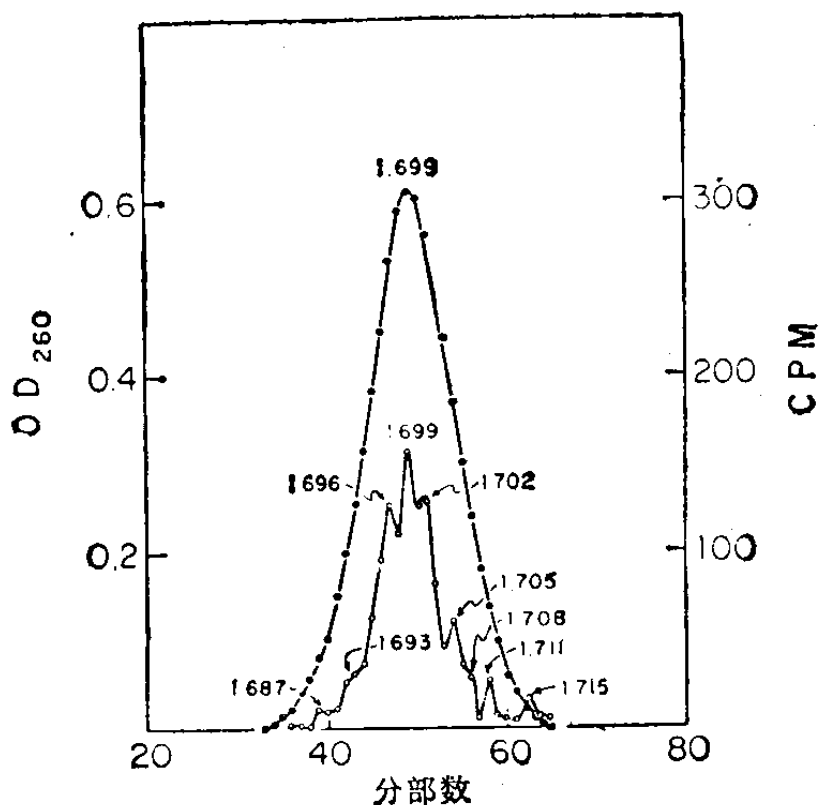


图1 人 RNA/DNA 杂交体的中性 CsCl 密度梯度离心。互补 RNA (cRNA) 由总重复 DNA 转录而来, 并与在室温下通过 25 号标准针适当剪碎十次而产生的 DNA 单链末端发生杂交。在 $2\times\text{SSC}$ 溶液中于 65°C 保温 16 小时。通过一琼脂糖柱(生物胶 A-5M) 从 DNA 中分离出不能杂交的 RNA。用 ISCO 密度梯度分级分离器将每 13 毫升梯度分为一个层级。在紫外监测仪于 260 毫微米处读出 DNA 量。在闪烁小瓶中收集 0.08 毫升层液。图中的数字(带箭头)表示各放射峰处 DNA 的浮力密度。横坐标表示分部数; 左边的纵坐标表示 260 毫微米光密度 (OD_{260}), 右边的纵坐标表示在 10 毫升水溶胶和 1 毫升水的混合液中每一部分的每分钟计数 (CPM)。●——● 表示 DNA, ○——○ 表示 cRNA。(根据 Tsai 和 Yunis, 1977)

单链末端的杂交, 以及确定杂交体在中性氯化铯梯度中的浮力密度(图 1)。利用杂交体峰作为标志, 可以将基因组从制备的铯盐梯度中分级分离成几个天然的组分。联合应用氯化铯密度梯度杂交技术和缓和的 $\text{Cs}_2\text{SO}_4/\text{Ag}^+$ 密度梯度离心技术, 使人们易于进行将人 DNA 分成七个主要组分的初步分级分离工作。这七个主要组分分别在中性氯化铯密度梯度中 1.698、1.700、1.702、1.705、1.708、1.711、1.715 克/厘米³ 密

OD 260

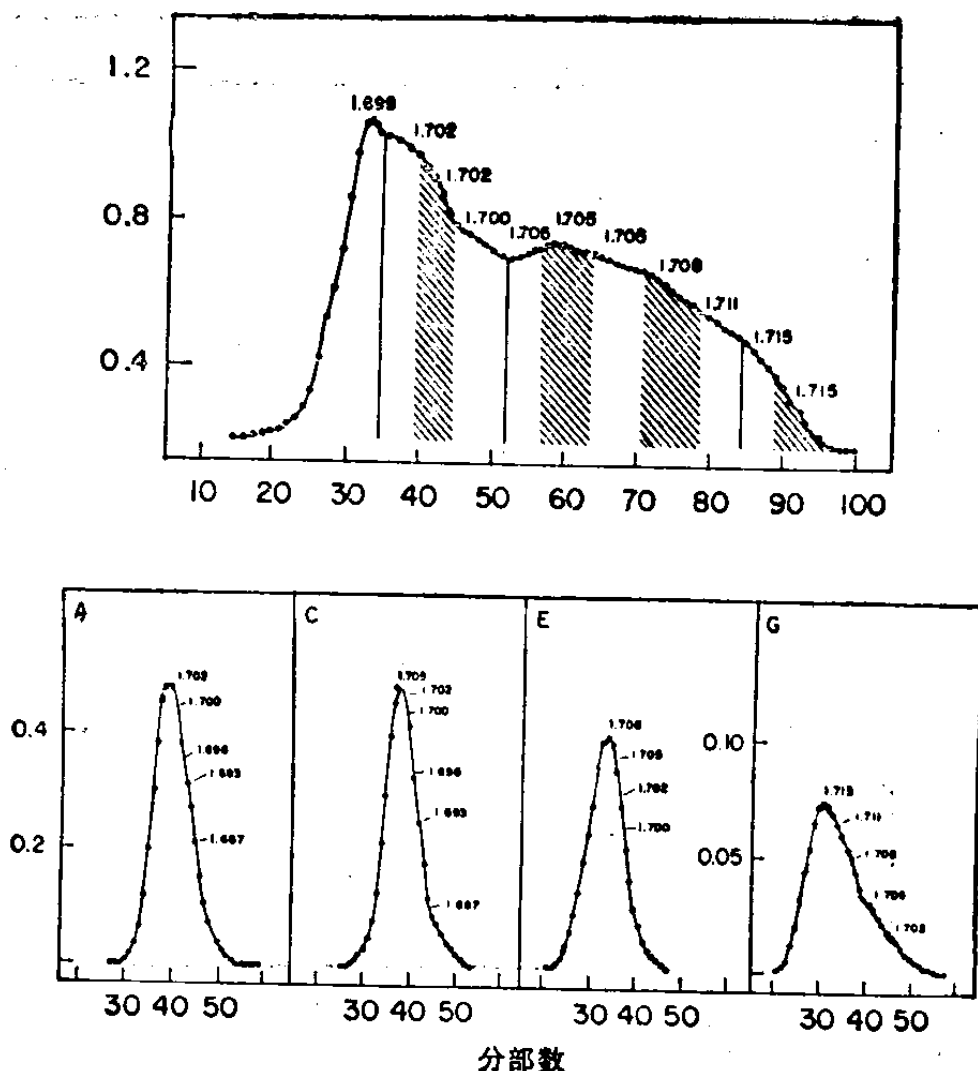


图2 上图: 分子量为 3.6×10^6 道尔顿的人总核 DNA 的缓和 $\text{Cs}_2\text{SO}_4\text{-Ag}^+$ 密度梯度离心。离心以 39,000 转/分钟转速进行 90 小时, 随后减速以 26,000 转/分钟再离心 20 小时。 $\text{Ag}^+/\text{DNA-P}$ 之比为 0.32。在离心中各部分共构成十一个组合, 这些组合的 DNA 在中性 CsCl 密度梯度离心中的浮力密度在这些组合部分的顶上标出。下图: 十一个组合部分中的四个 (上图中的阴影区) 在中性 CsCl 密度梯度中的图象说明。

度处成带 (Sanchez 和 Yunis, 1976)(图 2)。已知分别在 1.705 和 1.708 克/厘米³ 处成带的组分大约分别占总 DNA 的 25% 和 10%, 这与在其他动物中所观察到的结果一样(见第二章)。

在阿尔及利亚刺猬, 利用从总重复 DNA ($\text{Cot} < 100$) 为 CsCl 密度梯度杂交技术制备的 cRNA, 可以观察到三个分

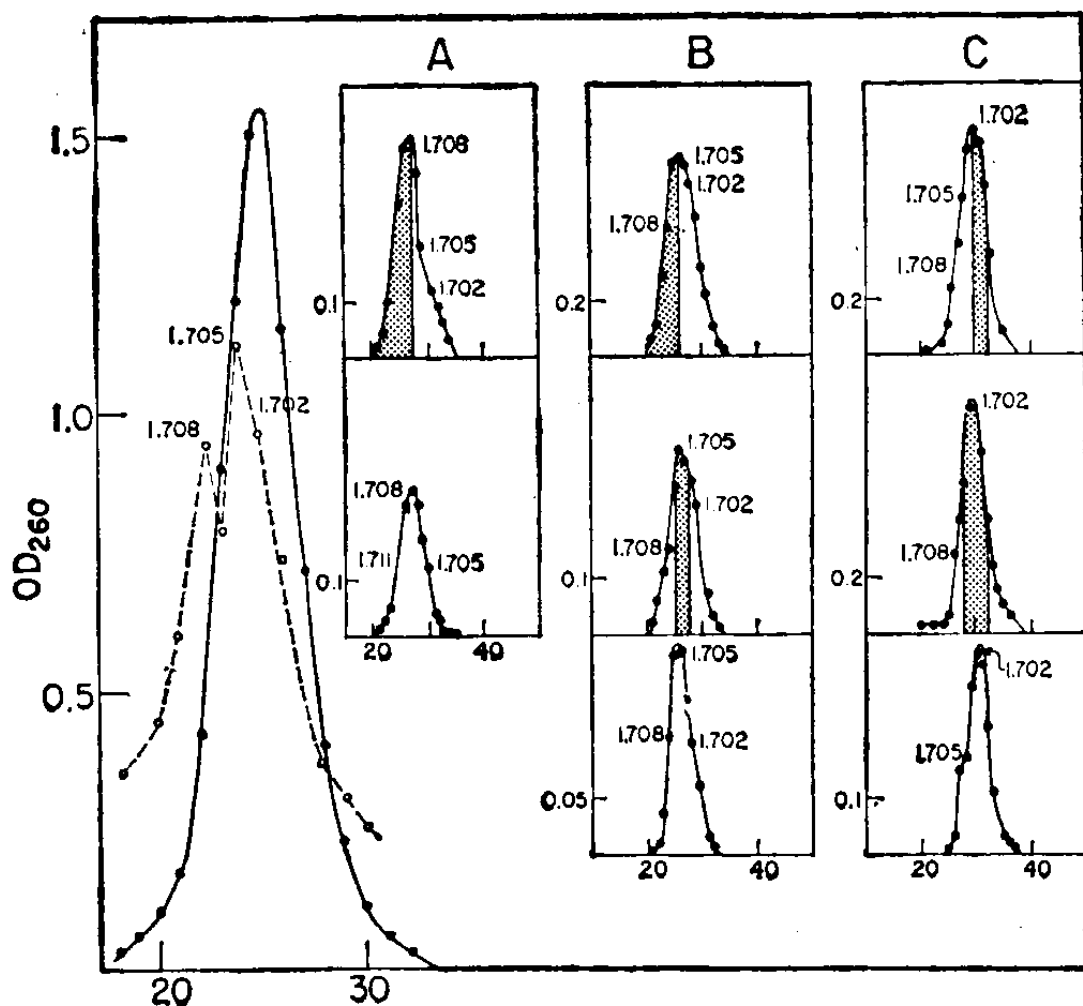


图3 阿尔及利亚刺猬 DNA 在30毫升制备中性 CsCl 密度梯度中的离心图象 (29,000 转/分钟离心 90 小时) 和三种主要组分在 6 毫升 CsCl 梯度中的再次离心 (33,000 转/分钟离心 60 小时)。左边的大梯度表示 DNA (●——●) 的离心梯度判面图和总重复 DNA 的互补 RNA (○——○) 的离心梯度图。这些互补 RNA 与核 DNA 的单链末端产生杂交, 从而为三个主要组分提供了标志。A. 1.708 克/厘米³ 密度组分的两次再离心图象。较高梯度中的阴影区在较低的梯度中再离心; B. 1.705 克/厘米³ 密度组分的三次再次离心图。阴影区表示再离心的那些部分; C. 1.702 克/厘米³ 密度组分的三次再离心图。

(根据 A. M. Willey 和 J. J. Yunis 未发表的资料)

别在 1.702、1.705 和 1.708 克/厘米³ 密度处沉降的主要杂交峰。在中性 CsCl 密度梯度中的再循环分离表明, 在这些密度处有可能分离出天然 DNA 组分, 这些组分总计可占基因组的大约一半 (Willey 和 Yunis, 1977b) (图 3)。为了了解存在于每一组分中的这种重复 DNA 的可能性质, 制备了各种 Cot 部分的 cRNA, 并与总核 DNA 杂交。高度重复的 DNA

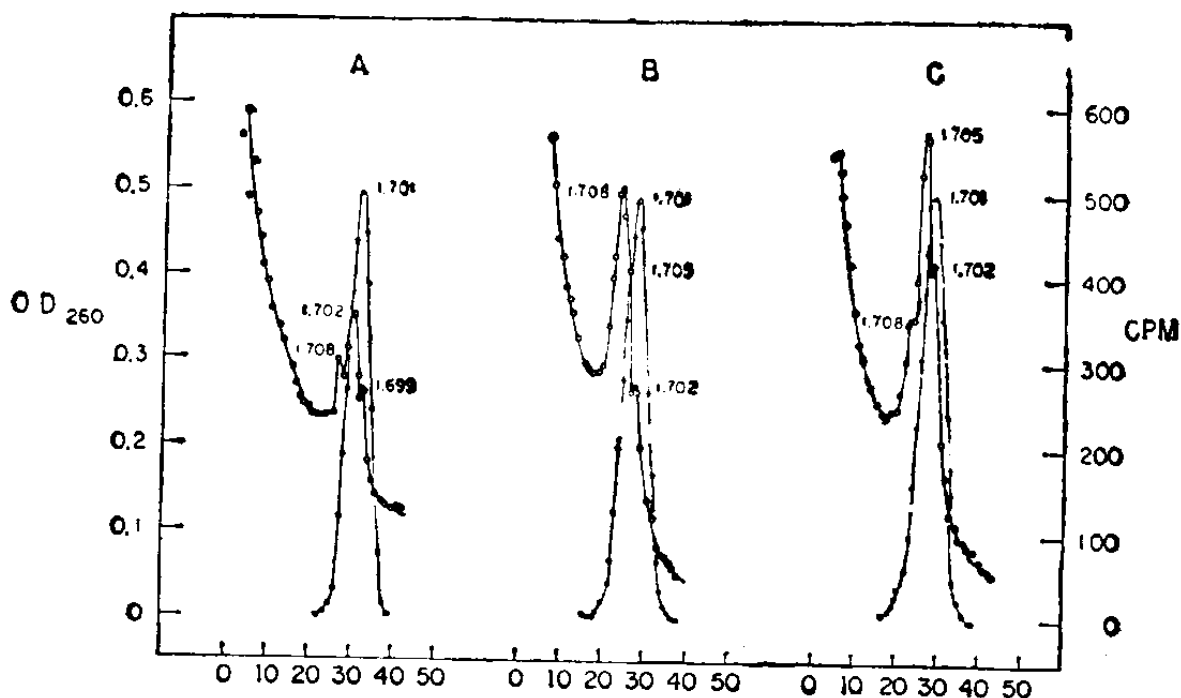


图4 由刺猬的 DNA 和从重结合 DNA 的各种 Cot 部分转录的 cRNA 杂交型的中性 CsCl 密度梯度离心。从左至右各图: cRNA 分别转录自不同 Cot 部分的 DNA, 其 Cot 值分别为: A. $Cot < 10^{-3}$; B. $Cot = 10^{-3} - 1$; C. $Cot = 1 - 100$ 。横坐标表示离心分部数; 左边的纵坐标表示 260 毫微米处的光密度 (OD_{260}), 右边的纵坐标表示 cRNA/DNA 杂交体的每分钟计数 (CPM)。(根据 Willey 和 Yunis, 1975)

($Cot < 10^{-3}$, 占基因组 14%) 显示出富集在 1.702 克/厘米³ 杂交峰中; 中等重复的 DNA ($Cot < 10^{-3} - 1$, 占基因组的 23%) 显示出富集在 1.708 克/厘米³ 杂交峰中; 低度重复的 DNA ($Cot 1 - 100$, 占基因组的 14%) 显示出富集在 1.705 克/厘米³ 杂交峰中 (Willey 和 Yunis, 1975) (图 4)。

利用相似的方法对野田鼠 (*Microtus agrestis*) 进行研究, 可以观察到一个在 1.703 克/厘米³ 密度处沉降的主要天然 DNA 组分。业已发现, 这一组分富集于中等重复的 DNA ($Cot 10^{-2} - 5$) 中, 总计约占基因组的 17%。其中相间插入了两种随体 DNA (占基因组的 8%)。它主要位于这一种属的巨大异染色质性染色体上, 而这一染色体所含有的 DNA 约占总 DNA 的 20% (Yasminch 和 Yunis, 1971、1973、1975) (表 1、图 5 和图 6)。野田鼠巨大性染色体的 DNA 主要是