



真核细胞遗传学



上海翻译出版公司

真核细胞遗传学

J. 莫罗 著

邱信芳 许宝孝 译

薛京伦 校

上海翻译出版公司出版

(上海福州路 390 号)

新华书店上海发行所发行 上海新华印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 9 字数 202,200

1985 年 5 月第 1 版 1985 年 5 月第 1 次印刷

印数: 1—8,000

统一书号: 13311·9 定价: 2.05 元

译者的话

体细胞遗传学是以高等生物的体细胞为实验材料进行分析的遗传学,因此也称“真核细胞遗传学”。通过离体体细胞的遗传学分析,可以越过人类交配而进行试验,大大加速了试验速度。这是遗传学中的一个新分支,同时也向医学界介绍了重要的新方法。1955年,美国丹佛的一位物理化学家 T. T. Puck 博士用类似微生物学的方法,同时引入量的概念,成功地将哺乳动物体细胞在离体情况下培养成功,并形成克隆,开创了体细胞遗传学研究的新阶段。接着,体细胞杂交、选择培养基的应用、突变型的筛选以及种间杂种细胞丢失一个物种的染色体等方法 and 现象的发现,迅速地开展了人体基因定位工作、致癌性研究以及细胞核、细胞质和染色体之间关系的研究。1975年,又从杂种骨髓瘤细胞中得到了产生单克隆抗体的细胞株,大大地提高了抗体的纯度,对免疫学和医学的研究产生了重大影响。

除了通过细胞融合进行遗传学研究外,体细胞遗传学还采用各种方法在体细胞之间转移遗传物质,并观察这些外源遗传物质在宿主细胞中的表达,从而大大推进了有关真核生物的基因结构、功能以及基因调控方面的研究。离体细胞培养为遗传毒理学提供了快速、简单、灵敏的方法,可以对环境诱变剂和致癌剂进行短期、快速、有效的检测。体细胞遗传学与重组 DNA 技术相结合已经开辟出一个全新的领域,在产前诊断,致癌基因等的研究方面取得了非常重要的进展。

它已成为人类遗传学研究的主要手段，并且是人类遗传性疾病基因治疗的理论基础。

限于作者本人的工作性质，这本书的唯一缺点是植物体细胞遗传学的篇幅太少，只在最后一章中作了展望性的评述。植物体细胞遗传学的成就从目前来看虽还不及哺乳动物和人的，但是因为植物细胞具有全能性，能够由单细胞长成完整植株，所以植物体细胞遗传学研究除了在阐明植物的器官分化及形态建成等方面的价值外，也对育种工作具有重要意义。

我们三人都在进行遗传学的科研和教学工作，共同的奋斗目标促使我们决定利用工作之暇把这本书翻译出来。由于时间仓促，限于水平，肯定存在不少错误，祈望读者不咎指正。

薛京伦 邱信芳 许宝孝

1984.3.上海复旦大学

序 言

本书致力于完成几项任务。它的主要目的是要以提要和专题的方式介绍体细胞遗传学知识的现状。也就是说，以应用某些技术为主，主要是应用体外培养的正常和转化的哺乳动物细胞，通过分子生物学、生物化学、细胞遗传学以及细胞杂交的技术，对这些细胞进行遗传学分析。虽然本书讨论的大部分是属于这些内容，但是，不可避免地会超越这些范围，尤其是对这些观察结果作出广泛解释时更是如此。我们想要讨论的基本过程都是遗传结构通过有性周期传递后，在体细胞中以特殊方式表达的结果。因此，对细胞或者分子水平上特殊发现的描述常与医学遗传学、人类遗传学以及群体遗传学有关。

我不打算根据历史的先后把各方面的专题都包罗进去，也不准备对它们作全面的综述。有许多很好的书已经对细胞遗传和细胞培养方面较早的文献作了综述，读者可以全面地参阅那些文献以打下特殊领域的基础。同样，我还收集了许多尚未解决或者还有争论的问题，由于这一领域的发展是如此之快，以致到本书出版的时候，这些问题可能已获得了解决。

我是为这样一些读者而写这本书的，他们包括：遗传学和分子生物学领域中的研究工作者，对生物学的这一非常激动人心的领域中所发生的事感兴趣的非专业工作者以及细胞生物学中研究生水平的学生。我不得不兼顾到既要对特殊实

验作非常详细的解释，又要为综合某一领域而作比较概括的阐述。在许多情况下，并不是把某一现象的所有实例都列举出来，而是叙述一些有代表性的例子。

好多朋友、同事以及同学们都对我提出了有益的意见和批评。他们中间有 David Patterson, Abraham Hsie, Milton Taylor, Olga Zownir, Stanislaw Cebrat, Daniel Meier, David Hong, Phillip Keller, Susan Jones, Donald Clive, Court Saunders, 以及 Jean Orme。他们的建议对这本书的出版有极大的帮助。原图是由 Harvey Olney 花了很大的精力画出来的。最后，我还要感谢 Shirley Gaddis 在收集文献, 校对, 以及打印原稿时给予我非常宝贵的帮助。

John Morrow

目 录

译者的话 序言

第一章 体细胞遗传学与微生物系统的继承

1. 引言1
2. 细菌群体中的突变与适应2
3. 体细胞变异的基础7
4. 总结与结论14

第二章 抗药性及其遗传基础

1. 引言16
2. 嘌呤类似物16
3. 嘧啶类似物29
4. 除嘌呤和嘧啶类似物外的其它药物33
5. 结论45

第三章 培养细胞的营养缺陷变异型

1. 引言48
2. 分离技术49
3. 变异型的特征51
4. 结论65

第四章 培养细胞中遗传信息交换的机制

1. 引言	66
2. 细胞杂交	66
3. 应用细胞组分进行遗传交换	72
4. 用提纯的中期染色体进行遗传信息的转移	74
5. 用纯 DNA 制备物进行转化	76
6. 用 DNA 和 RNA 直接微量注射法进行信息转移	77
7. 结论	78

第五章 异核体中基因表达的调节

1. 引言	79
2. 异核体中核重新激活	80
3. 异核体中遗传信息的表达	84
4. 异核体中核激活的机制	88
5. 结论	90

第六章 染色体制图

1. 引言	92
2. 用家系分析法制图	93
3. 用体细胞杂交、染色体变异和核酸杂交进行连锁制图	94
4. 结论	104

第七章 培养细胞的分化：肝细胞

1. 引言	117
2. 分化研究中的肝细胞和肝细胞杂种	119
3. 肝细胞中克隆的变异性	128
4. 通过细胞质转移控制因子	129
5. 结论	130

第八章 培养细胞的分化,包括:肌细胞、黑素瘤细胞、

神经细胞以及产生血红蛋白的细胞

1. 引言	132
2. 肌肉	132
3. 细胞杂种中黑素的合成	138
4. 神经细胞	140
5. 细胞杂种中血红蛋白的合成	144
6. 结论和摘要	149

第九章 培养细胞的分化：免疫系统细胞

1. 引言	151
2. 抗体多样性的机制	151
3. 抗体分子的结构	153
4. 抗体基因的排列	155
5. 免疫球蛋白在细胞杂种中的表达	161
6. 细胞杂种产生的单克隆抗体	163
7. 结论	166

第十章 恶性假设和用体细胞杂种进行分析

1. 引言	168
2. 肿瘤模型	169
3. 种内体细胞杂种的恶性分析	175
4. 种间杂种中恶性的遗传控制	177
5. 染色体改变及恶性	180
6. 结论	181

第十一章 培养细胞中基因表达的调节

1. 引言	184
2. 真核细胞中甾类激素的应答	185
3. 溴脱氧尿苷对分化基因功能的效应	191

4. 环状 AMP 在培养细胞中的反应	199
5. 结论	203

第十二章 培养细胞中突变的诱发

1. 引言	205
2. 诱变作用研究中涉及的一些问题	207
3. X射线和非电离辐射诱发的突变	209
4. 化学诱变	213
5. 结论	219

第十三章 细胞培养在人类遗传学分析中的应用

1. 引言	221
2. 高胆固醇血症	222
3. X染色体失活	227
4. 着色性干皮病	233
5. 睾丸女性化	235
6. 结论	236

第十四章 衰老过程的细胞基础

1. 引言	238
2. 两倍体成纤维细胞在离体情况下的衰老	242
3. 两倍体成纤维细胞的繁殖能力和正常衰老过程	245
4. 灾难差错假说	248
5. 结论	251

第十五章 未来前景

1. 引言	254
2. 重组 DNA 技术	255
3. 免疫遗传学	259

4. 人类遗传学	260
5. 衰老	262
6. 恶性肿瘤	263
7. 分化	265
8. 结论	265
 英汉名词对照	 267

第一章 体细胞遗传学与微生物系统的继承

1. 引言

在过去 20 年中,我们对高等生物遗传学的理解经历了一个巨大的发展与变革过程。这并不奇怪,因为在这段时间内整个生物科学都有了巨大的进展,我们的理解水平当然也随之提高了。在这一方面,真核细胞遗传学尤其突出。这一进展是由于把在细菌遗传学与分子生物学中已经获得成功的技术应用到分化的多细胞生物中来的结果。由于这些发现对生物医学科学具有实践意义,因而,体细胞遗传学的研究结果博得了人们极大的兴趣与热情,有关高等生物细胞遗传学的研究不仅得到美国联邦政府而且也得到私人基金会的支持。

体细胞遗传学的发展在很大程度上是与两方面专门研究的需要有关:一方面是细胞群体中变异的研究,另一方面是细胞间交配或遗传信息互换机制的研究。当然,这两个方面是容易理解的,因为分离的体细胞从生物学意义上来说并不代表真正的生物体,仅是用人工方法从完整个体中象处理微生物群体那样取出一批离体的细胞群。现在对于遗传分析中满足这两个基本要求的问题大部分已解决,因而,体细胞遗传研究就牵涉到真核生物遗传成分的结构,包括通过调节功能发生的相互作用。我们在逐步深入理解这些问题的同时,对于衰老、免疫学、分化、以及恶性肿瘤等一些高等生物所

共有的过程也逐渐地弄清楚了。

因为细胞遗传学的技术方法与微生物遗传学的差不多(这些方法在微生物遗传学中应用得如此广泛),因此,一些基本原理和方法都取自同一来源是不足为奇的了。把研究细菌遗传学用的技术和实验方法应用于真核生物体细胞的这种想法,就下述这一点来说是极为宝贵的,那就是给作为以后彻底理解哺乳动物遗传学与分子生物学基础的定量研究以有力的支持。目前,可能没有必要对此作一详细的历史分析。但是,一种基本方法是值得重视的,因为它在细胞遗传学研究中用得很广泛,又是联系微生物遗传学与真核细胞遗传学的一个基本环节。

2. 细菌群体中的突变与适应

十九世纪以来人们就已经知道细菌群体并不完全是纯的。后来,从营养要求、对药物和病毒的抗性、细胞壁特性以及产生色素等方面证明了群体中的变异。虽然明明知道这种变异有遗传的基础,但并不充分了解,因为那时还没有一种方法能区别选择假说与适应假说。例如,将细菌群体接种在有细菌病毒的培养基上会出现少数抗性克隆,这些克隆是早先就存在于群体中的呢,还是由于病毒的存在而诱发的呢?这是一个在哲学和科学上都具有重要意义的问题。如果变异型是由于自发突变而不时出现,并通过加入选择因素而选择出来,那末,这就表明,细菌所具有的遗传系统与已知的高等生物的遗传系统是一样的,后者受经典达尔文式进化和自然选择规律的支配。另外,如果变异型是由于病毒的存在而诱发的,那就表明,这样的群体在遗传上与高等生物有很大的区别,因为这支持了有定向突变过程存在的论点。

要区别这两种可能性已被证明是极其困难的，因为不让变异型接触选择因素就能测出它们的存在恐怕是不可能的，但有人用一种间接的数学方法非常巧妙地解决了这个问题。Luria 和 Delbrück (1943) 的“彷徨变异试验”由两个部分组成：第一部分为一对照系列，在有选择因素存在的情况下，以同样的方式在许多平板上接种大量细胞并计算突变频率。培养物与培养物之间变异型数目的分布应是随机的，而且遵循泊松分布。第二部分是用来与第一部分作比较的实验系列，在这个系列中单独收集原先由小样本初级群体细胞生长出的次级培养物，然后再接种在有选择因素的平板上。在实验系列中，如果突变发生在加选择因素的那个时刻，那末，因为变异型数目差异的唯一来源是统计偏差，所以，也会观察到泊松分布。反之，要是变异型是早就存在于初级群体中，那末，每个单独的实验培养物会反映出有些不同：在有些实验培养物中突变型在生长早期就产生了，在有些实验培养物中突变型出现得晚些，如此等等。于是，次级培养物群体中突变型分布的方差要比对照的大得多，而且不遵循泊松公式（图 1.1）。由此可以推知，对照系列与实验系列之间的偏差（“彷徨变异”）之差表明，变异型早就存在于初级群体中，而毒性物质只不过是把培养物中的野生型成员淘汰掉而已。

彷徨变异试验已经广泛应用于许多系统，包括细菌，哺乳动物细胞，酵母以及其它微生物。几乎在各种系统中都证明了选择假说是正确的，而适应假说是不正确的。这一点非常肯定，因而认为选择是理所当然的，倘若不是利用彷徨变异试验来测定在选择条件下特定变异型的突变率的话，我们认为在本书中作这样详细的讨论是不值得的。

因为实验系列是从极少数细胞开始的，所以，通过稀释

铺满组织培养细胞的培养瓶

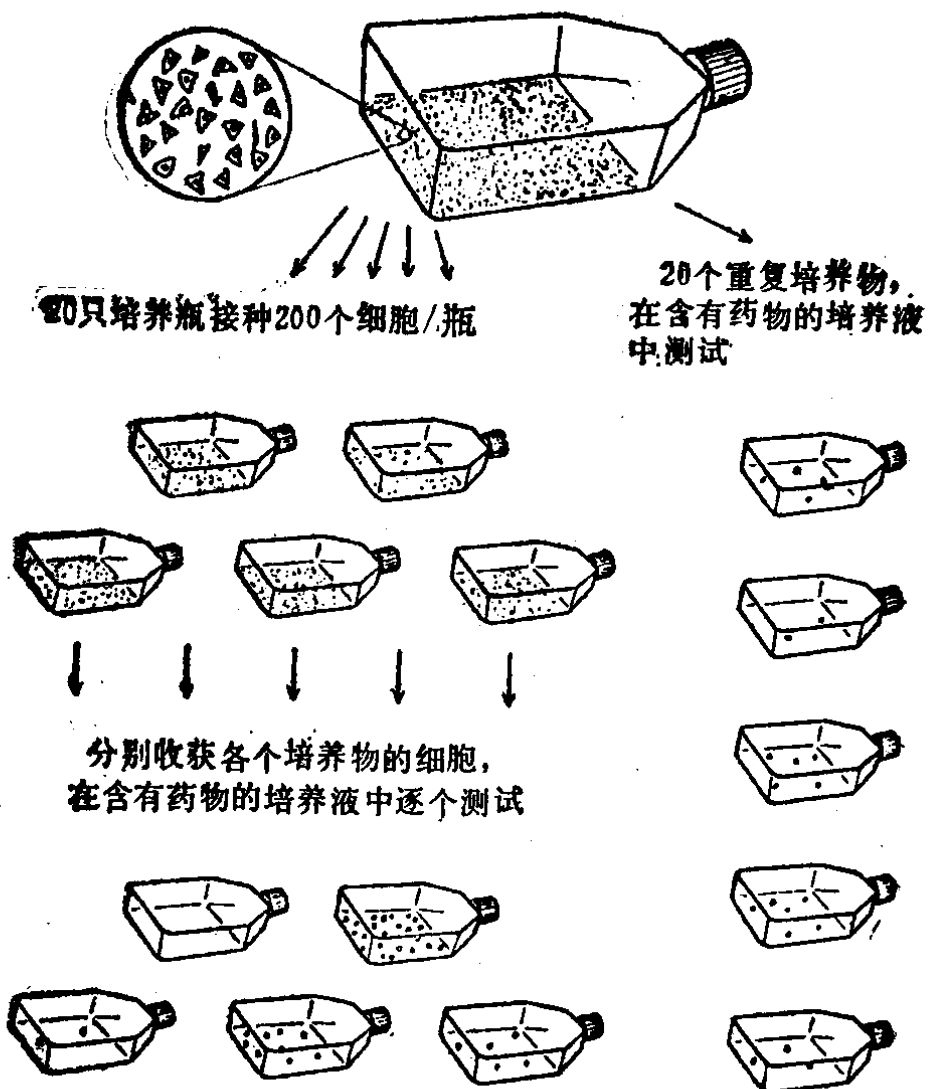


图1.1

适用于培养细胞的彷徨变异试验方案。收获一瓶铺满的细胞，如右边一列所示，在每个培养瓶中接种大量的(10^6)细胞，作为对照系列。同时，用初级培养瓶中少量细胞作为起始细胞接种一批培养瓶，使它在正常培养液中生长，这就是实验培养物。然后，收集细胞，并将它们接种在有选择因素的培养液中。因为每个实验培养物的情况略有不同，所以，实验系列中培养瓶与培养瓶之间在突变频率上的差异要比对照系列中的大得多

会把早就存在的突变型排除掉。由于接种的细胞数目与得到的突变型数目都是可以计数的，所以，运用合适的公式可以

求出突变率。用 Luria 和 Delbrück (1943) 的方法, 后来又由 Lea 和 Coulson (1949) 以及 Capizzi 和 Jameson (1973) 加以推导的公式算出每个培养物中产生突变型的平均数。在 Lea 和 Coulson (1949) 的文章中讨论了这些方法及其应用的一些实例。计算每个样品中突变型平均数以及突变率的方法有三种, 它们是: (1) P_0 , (2) 中值, (3) 最大似然。这些方法的应用取决于数量的分布和研究者所要求的精确程度。通常, 不同方法得出的结果极为一致(表 1.1)。

在任何一个微生物群体中, 突变一直在发生着, 可以预期突变最终会在整个群体中占优势。但事实并非如此(当然, 除非改变选择压力), 这表明, 新的突变型由于处于选择劣势而从样本中淘汰了。根据这一机制将建立起一种平衡, 即当达到平衡时, 新突变型通过突变而加到群体中去的速率正好与由于负选择作用而被淘汰的速率相抵消。这种选择劣势的原因目前虽然还不清楚, 但毫无疑问这是由于大多数突变在正常的微调系统中起着破坏作用, 因而无法与野生型进行有效的竞争。在这些条件下, 突变频率与突变率是不一样的。

已经求出突变频率与突变率之间相互关系的公式 (Morrow, 1964)。令 μ = 正向突变率, m = 突变型数目, n = 野生型细胞数目, s = 突变型世代时间/野生型世代时间, F_0 = 零代时突变型百分率, F_t = t 代时突变型百分率。在任何一个世代, F_t 是两个因素之和: 第一个是初频度 $F_0 \cdot s^t$, 第二个是 t 世代累计的突变之和, 这些突变是经过生长速率差异校正的。由于突变型的频率总是很低, 回复突变的效应可以忽略不计, 所以

$$F_t = \mu(1 + s + s^2 + s^3 + s^4 + \dots + s^{t-1}) + s^t F_0 \quad (1.1)$$

上式也可以表示为

表 1.1 利用彷徨变异试验^a 测得突变步骤中从需要天冬酰胺突变为不依赖天冬酰胺的突变率的例子^b

克 隆 数	培养物数目							
	多倍体实验				对照实验			
	1	2	合并资料		1	2	3	合并资料
0	11	11	22		4	3	0	7
1	7	4	11		2	3	4	9
2		2	2		2	0	3	5
3		1	1		2	2	1	5
4					1	0	1	2
5	1		1		0	0	2	2
6					2	1	0	3
7					1	0	1	2
8		1	1		0	3	1	4
10					2	1		3
11					1	1		2
13						1		1
16								
17	1		1		1		1	2
19						1		1
104							1	1
接种细胞数/培养物	10 ³	10 ³	10 ³		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
接种在天冬酰胺培养液中的细胞数×10 ⁶	0.96	1.2	1.08		1.7	1.5	2.0	1.7
回变克隆平均数/培养瓶	1.3	1.4	1.4		2.5	2.6	2.0	2.45
P ₀ ^c 突变率	0.550	0.579	0.564		0.222	0.188	0.000	0.143
方法2 ^d	1.4	1.2	1.3		1.5	1.7	1.0	1.4
方法1 ^e	0.6	0.47	0.53		0.90	1.1	—	1.1
合并资料的95%置信界限,方法 1			0.15—0.96					0.71—1.7

- a. 取自 Prickett 等(1975)。
- b. 细胞接种在无天冬酰胺培养液中得到的克隆数， 以及计数后两个星期肉眼可见的克隆数。
- c. P₀ = 克隆为零的培养瓶数/培养瓶总数。
- d. 中值法。
- e. P₀ 法。