

中国科学院遗传研究所

研究工作年報

《研究工作年報》編輯小組

1982

(第4年出版)

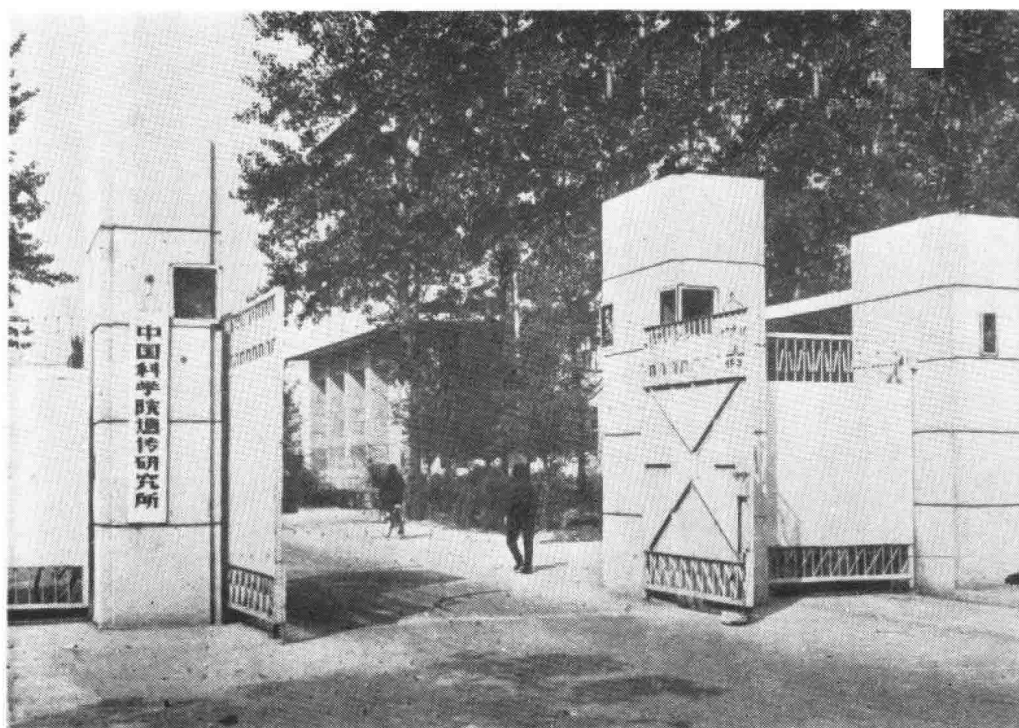
科学出版社

1983

中国科学院遗传研究所

研究工作年报

(1982)



《研究工作年报》编辑小组
科学出版社
1983

中国科学院遗传研究所

《研究工作年报 (1979)》 (1980 年第 1 年出版)

《研究工作年报 (1980)》 (1981 年第 2 年出版)

《研究工作年报 (1981)》 (1982 年第 3 年出版)

《研究工作年报 (1982)》 (1983 年第 4 年出版)

中国科学院遗传研究所

《研究工作年报 (1982)》

《研究工作年报》编辑小组

*

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 5 月第 一 版 开本：787×1092 1/16

1983 年 5 月第一次印刷 印张：7 1/4 插：1

印数：0001—3,750 字数：163,000

统一书号：13031·2300

本社书号：3146·13—6

定 价： 1.10 元

《研究工作年报》编辑小组

胡 含 邵启全

(以下按姓氏笔划)

叶 晓 孙怀祖

杜若甫 李显文

李继耕 陈 英

林章祺 周霞仙

赵宗良 梁正兰

梁 宏 童克忠

前 言

一九八二年是全所职工为发展我国遗传学,使遗传学研究面向国民经济而辛勤劳动的一年。我所科技人员在重点学科领域分子遗传学和植物体细胞遗传学的研究中取得了一批成果,在基础研究方面也取得了进展,尤其是在面向国民经济、把科研成果尽快应用于生产方面做出了成绩。

在分子遗传学方面,揭示了核非组蛋白对基因表达的调节作用;观察到肿瘤细胞染色体外的细胞核实体——“双微染色体”[double minutes chromosomes (DM)];实验证明了核糖体对于新翻译的 mRNA 并不是“一视同仁”的; pBR325/EcoRI 人的基因文库的建立;对从 *Straphylococcus aureus* 307 株分离出来的 pK307 和 pT307 质粒做出了物理图;证明了叶绿体 DNA 和细胞质雄性不育的关系密切;研究了叶绿体基因组的表达和雄性不育的分子机理;完善了纯化的大分子植物 DNA 的制备技术等等。

在植物体细胞遗传方面,研究了花粉植株染色体的变异规律;提取了大豆贮藏蛋白的 mRNA;从甘蔗和绿豆原生质体诱导出愈伤组织;获得了烟草-矮牵牛体细胞杂种植株;从未传粉子房诱导出单倍体植株;以及从野生大豆下胚轴及子叶诱导出植株等等。

在动物及人类群体遗传研究、动物发生遗传和栽培植物的起源与进化等方面也取得了研究成果。

在科研成果应用于生产方面,选育了丰产性很强的青饲多穗玉米穗穗红 32 单交种;选出了紫花苜蓿雄性不育株;完成了棉花抗性基因的种间转移;提出了甘薯“优、大、高、密”繁殖法等等。

国内外学术活动正在向纵深发展。一年来接待了来自 14 个国家的 77 位科学家。其中有些在我所做了短期协作研究,并取得了成果;有些办了讲座;另一些做了学术报告,进行学术讨论或一般性参观。我所科研人员应邀参加了三个国际性学术会议,提出了学术报告。一年来参加国内学术交流活动的科技人员达 64 人次,提供学术报告 57 篇。接待各兄弟单位来所参观进修人员 103 人。所有这些活动对于使科研成果转化为生产力起到了推动作用,为我所的科研面向国民经济建设打开了一个方面的渠道。

胡 含 邵启全

1982 年 12 月

目 录

第一研究室

- L615 细胞核非组蛋白的分离和它对基因表达的调节……刘连瑞、王金霞、王恢鹏、冯 尚 (1)
- 正常与肿瘤细胞 RNA 聚合酶 B 的免疫学特性研究……王恢鹏、刘连瑞、黄崇喜、王 斌 (2)
- 肿瘤细胞的双微染色体……刘连瑞、王恢鹏、冯 尚、黄崇喜 (3)
- 离子强度和 pH 对识别抗原的依赖 RNA 的 RNA 聚合酶活性的影响……
……黄华樑、李 延、尚芙蓉 (4)
- 噬菌体在核糖体蛋白质突变体中的增殖……童克忠、陈玲爱、张秀媛、王 玮、白应林 (5)
- 枯草杆菌几个核糖体蛋白质的遗传研究……白应林、丁家炳 (6)
- 人胚肝 DNA 克隆化实验……刘凤华、杨涛兰 (6)
- pBR325/EcoRI 人基因文库……曾伟强、李小兵、胡乃璧、费云标、朱立煌 (7)
- 在枯草杆菌 Ki-2-132-4 株中用 pKCl 质粒克隆人白细胞 DNA……
……汤懋斌、范树田、李明凤、孙永华、费云标、梁志国 (8)
- 从 *Staphylococcus aureus* 307 株分离的质粒 pK307 和 pT307 的物理图……孙永华、汤懋斌 (9)
- 在大肠杆菌和枯草杆菌间融合转移克隆外源 DNA 片段的穿梭质粒……
……李明凤、汤懋斌 (10)

第二研究室

- 半胱氨酸诱导小鼠抗铬……蒋耀青、张乃昌、童克忠 (11)
- 鸡的血型研究 III. 从血型因子分布频率分析群体的遗传差异……
……程光潮、吴丽城、王 力、段章雄 (12)
- 番鸭、连城鸭及其属间杂种血清蛋白质电泳比较……张 婷、程光潮 (13)
- 北京白鸡品系间杂交效果……段章雄、程光潮 (14)
- 一例带有大 Y 染色体的家族……董光文、肖桂芳、汪安琦 (15)
- 中国仓鼠核仁组织者区域银染的研究……颜永杉、钱 进、习霞辉、金 锋 (16)
- 中国仓鼠核仁组织者的活性在仓鼠-小鼠杂交细胞中受抑制……
……颜永杉、习霞辉、钱 进 (17)
- 哺乳动物苹果酸脱氢酶 (MDH) 的聚丙烯酰胺垂直电泳比较……
……陈幼臣、魏 钧、杨秀琴、蔡惠娣、荣瑞章、王培生 (18)
- 虎头金鱼增生组织发生的研究 I. 显微结构的观察……王春元、王玉元、李延龄 (19)
- 虎头金鱼增生组织发生的研究 II. 超微结构的研究……王玉元、王春元、李延龄 (20)
- 金鱼同工酶的发生遗传学研究 III. 金鱼胚胎发育不同时期乳酸脱氢酶的同工酶分
析……罗莉中、王春元 (21)
- 中国 17 个民族间的遗传距离的初步研究……袁义达、杜若甫 (22)
- 中国 8 个少数民族的皮纹研究(初报)……
……李实苗、毛钟荣、徐玖瑾、崔梅影、王永发、李绍武、陈良忠、袁义达、杜若甫 (23)

第三研究室

- 六倍体小黑麦与普通小麦杂种 F_1 花粉植株的细胞遗传学研究.....王兴智、胡 含 (24)
- 普通小麦花粉非整倍体的产生.....郝子英、景健康、胡 含 (25)
- 小麦-天蓝偃麦草-黑麦三属杂种花粉植株的诱导.....庄家骏、贾 旭、陈国庆 (26)
- 小麦花药离体培养时 DNA 合成的放射自显影研究.....曾君社 (27)
- 小麦不同发育时期的花药对离体培养的反应.....何定钢、欧阳俊闻 (28)
- 花粉白苗的研究 I. 从四倍体水稻培养的结果看白苗与核基因突变的关系
-何定钢、欧阳俊闻 (29)
- 高温处理对水稻花药培养的影响(初报).....梁荣达、陈 英 (30)
- 密度梯度离心法在水稻游离花粉培养中的应用.....左秋仙、陈 英、李淑媛、王明阁 (31)
- 大豆贮藏蛋白 mRNA 的提取.....陈建南、刘纪华 (32)
- 甘蔗原生质体的愈伤组织形成.....颜秋生、李向辉 (33)
- 绿豆叶肉原生质体形成绿色愈伤组织.....黄美娟、李向辉 (34)
- 对粉蓝烟草与矮牵牛体细胞杂种植株的进一步观察.....李文彬、孙勇如、黄美娟、李向辉 (34)
- 多年生大刍草 $\times$ 玉米 F_1 的生物学特性.....张雪琴、谷明光、黄大年、赵智法 (35)
- 玉米和二倍体多年生大刍草及其杂种 F_1 同工酶和蛋白质电泳分析
-黄大年、谷明光、张雪琴、赵智法、高玉军 (36)
- 不同分化能力的玉米花粉愈伤组织无性系在不同培养基上的 DNA、RNA 和蛋白质含量和合成速度.....黄大年、谷明光、张雪琴、郭彩月、曹致义 (37)
- 药物诱导玉米孤雌生殖产生二倍体纯系和非整倍体.....赵佐宇、谷明光 (38)
- 诱发玉米抗小斑病突变体的研究 I. 小斑病培养滤液对玉米愈伤组织无性系生长和分化的影响.....郭丽娟、陶自荣、黄梧芳、康绍兰、张 浩 (39)
- 玉米同工酶分析及其应用探讨
-陶自荣、郭丽娟 (40)
- 三叶橡胶花粉胚状体发育成苗的影响因子.....陈正华、许绪恩、林明云、潘 勉 (41)
- 芥菜花药培养研究初报.....陈之征、陈正华 (42)
- 纯化的大分子植物 DNA 的制备.....丁 勇、刘良式、李洪华、徐琼芳 (43)
- 野生大豆和栽培大豆种子蛋白质的比较研究.....徐琼芳、刘良式、王文质、丁 勇 (44)
- 几种花卉组织培养和百合远缘杂交幼胚离体培养成植株初报.....
-黄娇香、关月兰、郑万珍 (45)

第四研究室

- 小麦与油菜叶绿体 DNA 与细胞质雄性不育性.....李继耕、刘一农 (46)
- 大麦叶绿体突变体中叶绿素蛋白质复合体的研究.....李玉湘、耿玉轩、李继耕 (47)
- Tm-2nv 番茄的研究.....李玉湘、耿玉轩、高文琴、李继耕 (48)
- 油菜细胞质雄性不育系及其保持系叶肉细胞叶绿体超微结构的研究.....
-李继耕、高文琴 (49)
- 大麦黄绿突变体叶绿体超微结构的观察.....李继耕、高文琴、黄季芳 (50)
- 高粱叶绿体基因组表达与细胞质雄性不育性.....刘祚昌 (51)
- 玉米胚乳和胚发育过程中同工酶与蛋白质的变化.....杨大兴、曾孟潜 (52)
- 高粱恢复系外源 DNA 参与 3197A $\times$ 3197B 授粉的后代同工酶鉴定

.....刘根齐、张孔潘 (53)	
高温处理高粱雄性不育系花药蛋白质的等电聚焦电泳分析.....张孔潘、姚祥康、刘根齐 (54)	
高粱细胞质雄性不育在线粒体翻译产物上的变异.....傅鸿仪 (55)	
高粱类型间杂种后代育性观察(初报).....李光瑞、任治安、张孔潘 (56)	
平阳霉素三种不同成分诱发蚕豆染色体畸变的研究.....沈光平、王钦南、周祉祺 (57)	
几种水稻雄性不育系的研究.....王培田、许莉萍、王联清 (58)	
普通烟草原生质体摄取抗氯霉素酵母及其抗药性的表现.....	

.....陈家玉、徐金相、王培田、赵世民 (59)	
紫花苜蓿雄性不育株的选择.....王培田、许莉萍、王联清 (60)	
平阳霉素对于酵母菌细胞质呼吸缺陷型的诱变作用.....王培田、王为先、许莉萍 (61)	
酵母菌抗药性菌株筛选.....王为先、许莉萍、王培田 (62)	
离体培养大叶黄烟未传粉子房及其细胞学、胚胎学观察.....祝仲纯、吴海珊、安庆坤 (63)	
从烟草保持系及不育系未传粉子房诱导出单倍体植株.....祝仲纯、吴海珊、安庆坤 (64)	
离体培养未传粉子房当代及后代的胚胎学观察.....祝仲纯、吴海珊、安庆坤 (65)	
青藏高原野生小麦与一些小麦种同工酶的比较研究.....余光泽、姚树江、李 琦 (66)	

第五研究室

从野生大豆下胚轴和子叶诱导成植株.....蒋兴邨、牛德水、李安生、李金国、周泽其、邵启全 (67)	
野生大豆细胞系的建立.....李安生、蒋兴邨、牛德水、李金国、周泽其、邵启全 (68)	
枸杞下胚轴、茎端和幼嫩子房的愈伤组织诱导及其植株再生.....	
.....牛德水、蒋兴邨、李安生、李金国、周泽其、邵启全、王 莉、秦金山、陈素萍、王大桢 (69)	
枸杞黑果病原菌的分离、鉴定和悬浮培养.....	
.....牛德水、蒋兴邨、李安生、李金国、周泽其、邵启全、秦金山、王 湘、王大桢 (70)	
野生大麦花粉母细胞在整穗中发育规律的观察.....	
.....周泽其、刘宜宾、牛德水、李安生、李金国、蒋兴邨、邵启全 (71)	
栽培大麦和野生大麦杂种 F_1 的花粉母细胞染色体构型与结实率的关系.....	
.....周泽其、牛德水、李安生、李金国、蒋兴邨、邵启全 (72)	
栽培棉和比克氏棉杂交获得种间杂种.....梁正兰、姜茹琴、钟文南 (73)	
陆地棉和雷蒙地棉种间杂种的观察.....钟文南、姜茹琴、梁正兰 (74)	
紫绒草棉与澳洲野生棉杂种的观察.....姜茹琴、钟文南、梁正兰 (75)	
棉花种间杂交不亲和性的同工酶研究 I. 陆地棉 (AD_1) $\times$ 中棉 (A_2) 胚胎发育过	
程中过氧化物酶同工酶的特点.....孙传渭 (76)	
偏凸山羊草 $\times$ 小麦的多花多实杂种类型.....	
.....张 炎、吴郁文、张翠兰、汪永祥、张 帆、袁淑安、肖洪佑 (77)	
山羊草-小麦-黑麦三属杂种的幼穗培养.....	
.....张 炎、张 帆、吴郁文、张翠兰、汪永祥、肖洪佑 (78)	
节节麦细胞质对普通小麦几种性状的遗传效应.....	
.....吴郁文、张翠兰、汪永祥、张 帆、袁淑安、张 炎 (79)	
几个种的小麦、山羊草和属间杂种籽粒蛋白质含量.....	
.....汪永祥、张翠兰、张 帆、吴郁文、张 炎 (80)	

普通小麦和离果山羊草正反交杂种酯酶同工酶分析·····	张翠兰、吴郁文、张 炎 (81)
小麦和山羊草的可溶性蛋白 SDS 系统电泳图谱·····	张翠兰、吴郁文、张 炎 (82)
偏凸山羊草细胞质对普通小麦杂种后代的不育度和结实率的影响 ·····	张 帆 (83)
山羊草属与小麦属杂交 F_1 代的细胞学观察 III. (偏凸山羊草 $\times$ D213) F_1 、 F_4 花粉 母细胞减数分裂的比较 ·····	袁淑安 (84)
偏凸山羊草和节节麦与小麦的杂种染色体配对观察 ·····	袁淑安 (85)
小麦的幼胚培养 ·····	李大玮 (86)
克服普通小麦与四倍体球茎大麦杂交不亲和性的研究·····	李大玮、胡启德 (87)

第六研究室

关于甘薯“优、大、高、密”繁种法的研究·····	以 凡、杜述荣、林自安、王文质、苏广林、李开源、孙文太、谢正涛 (88)
青饲多穗玉米穗穗红 32 单交种的选育·····	叶 晓、覃作干、周文娟、王绪田 (89)

技术室

长鼻麒麟肾脏上皮细胞株 PTK ₁ 细胞有丝分裂过程及其染色体·····	邓燕华、王兰岚、宋桂英、孙宝霞、陆仲康、梁 宏 (90)
银染法确证雄麒麟细胞候补核仁组织区存在的研究·····	胡应和、梁 宏、蒋耀青 (91)
过氧化物酶在玉米根尖及叶片细胞中的定位·····	贾敬鸾、黄季芳 (92)
液体闪烁测量中 ^3H -微生物样品的制备技术·····	梁玉梅、郭朝忠、周 芬 (93)

国际间学者互访研究简报

半胱氨酸对啤酒酵母抗铬性的影响及抗铬位点的遗传学作图·····	翁曼丽、小野文一郎 (94)
我国汉族 α_1 抗胰蛋白酶、组特异成分、葡萄糖磷酸变位酶的多态性初步分析·····	陈良忠、崔梅影 (95)
中国蒙古族、朝鲜族和壮族 8 个红细胞血型 and ABH 分泌型系统的分布 ·····	袁义达、杜若甫、陈良忠、徐玖瑾、 崔梅影、王永发、李实苗、H.-G. Benkmann、P. Bogdanski、L. Kriese、H. W. Goedde (96)
二倍体多年生大刍草染色体 Giemsa 带型·····	谷明光、丁玉澄、张雪琴、黄大年 (97)
经紫外激光显微照射建立具核仁缺失的雄麒麟 PTK ₂ WA 亚系 ·····	梁 宏、Michael W. Berns (98)
紫外激光显微照射诱发雌麒麟细胞核仁组织者的遗传缺失·····	梁 宏、Michael W. Berns (99)

已发表的论文及著述·····	(100)
----------------	-------

国际国内学术交流

国内学术活动·····	(104)
国际性学术活动·····	(108)
外国专家来我所做的学术报告·····	(109)

L615 细胞核非组蛋白的分离和它对 基因表达的调节

刘连瑞 王金霞 王恢鹏 冯 尚

以 L615 细胞株为材料,对这种肿瘤细胞的核非组蛋白进行了分析,并研究了这些非组蛋白在转录时对基因表达的调节作用。在用羟基磷灰石柱层析分离细胞核非组蛋白时,根据磷酸盐-脲洗脱溶液浓度的变化,我们把洗脱下来的蛋白质分成五个组份。第一分段是以 0.001M 磷酸盐缓冲液洗脱下来的蛋白质。根据 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析,这一分段是由组蛋白组成的。第二分段是以 0.05M 磷酸盐溶液洗脱下来的蛋白质,它包含有组蛋白和高泳动性非组蛋白。第三、四分段是以 0.1 和 0.2M 磷酸盐溶液洗脱下来的蛋白质,它们主要是非组蛋白,第三分段以高泳动性组蛋白为主。以 0.5M 较高浓度的洗脱液洗脱的第五分段包含有分子量较大、电泳泳动率较慢的非组蛋白。

对各分段的蛋白质、DNA 和 RNA 的相对含量进行了分析,结果表明第一分段含有一定量的 RNA。第四和第五分段有 DNA 和 RNA 的沾染,第五分段含 DNA 和 RNA 的量较高。第二、三分段主要是蛋白质,核酸含量极微。分析结果表明,这种层析获得的蛋白质在二、三分段中纯度很高,第三分段含有较高纯度的高泳动性非组蛋白。

在真核基因的表达中非组蛋白起着重要的调节作用。为了研究各分段蛋白在转录中的调节作用,我们用同源的 L615 细胞 DNA 为模板,分别以同源的 L615 小鼠肝 RNA 聚合酶 B 和异源的大肠杆菌 RNA 聚合酶进行体外转录实验。结果表明第三和第五分段蛋白质不论在同源或异源酶的转录中都有明显的激活作用。

同样以 L615 小鼠肝 RNA 聚合酶 B 和不同性质的模板作体外转录实验,研究不同分段的蛋白质对不同性质的模板的转录调节作用。结果指出,第三分段对裸露 DNA、天然染色质、去组蛋白染色质和重组染色质都能使转录水平增加。第二分段蛋白质能使天然染色质、去组蛋白染色质和重组染色质的转录能力增加。第五分段蛋白质对 DNA 和去组蛋白的染色质有明显的激活作用。第一分段蛋白质对各种性质的模板都有显著的抑制作用。

从上述结果分析推测第三分段蛋白质是高泳动性蛋白质,根据已报道的资料表明,高泳动性蛋白 HMG₁₄ 和 HMG₁₇ 主要结合于转录活性基因区域,使这部分区域的 DNA 解旋,从而促进转录。这些高泳动性非组蛋白往往结合于 DNase I 敏感的核小体上,使结合部位的组蛋白乙酰化,因而这部分的核小体 DNA 与组蛋白结合变得松弛了,转录可以顺利地在这个区域进行。第五分段含有大分子量的非组蛋白,这组蛋白中可能存在着某些转录激活因子。但是目前对这类大分子非组蛋白还不十分了解。第一分段的组蛋白促进染色体形成紧实的螺旋,因而对转录有一定的阻遏作用。

正常与肿瘤细胞 RNA 聚合酶 B 的免疫学特性研究

王恢鹏 刘连瑞 黄崇喜 王 斌

在真核生物的基因表达中,依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶起着转录调节的重要作用。有作者报道正常大鼠与移植性大鼠肝癌 BERH-2 的细胞核 RNA 有差异,这种差异可能与转录有关。亦有作者用免疫学方法比较了不同物种的 RNA 聚合酶 B 的结构组成。但迄今为止,未见到有正常小鼠和肿瘤小鼠 RNA 聚合酶 B 的免疫学特性比较的报道。为了探索肿瘤细胞的基因表达和了解肿瘤的分子生物学发生机制,我们在以前工作的基础上进一步地比较了正常小鼠和白血病 615 (L615) 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 的免疫学特性。

按照 Greenlef 等和 Kramer 等的方法,我们将提取的抗 615 B 酶抗血清 IgG 分别与 615 B 酶和 L615 B 酶进行免疫沉淀反应,离心收集沉淀物,将沉淀物用 0.025M 磷酸盐缓冲液洗 3 次,除去未反应的 B 酶和 IgG。实验结果表明, IgG 能与 615 B 酶和 L615 B 酶发生特异性免疫反应。以纯的 IgG 以及 615 B 酶和 L615 B 酶为对照,对 IgG 和 615 B 酶反应沉淀物,以及 IgG 与 L615 B 酶反应沉淀物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分析,结果得知, 615 B 酶和 L615 B 酶以及 615 B 酶与 IgG 反应沉淀物在同一位置上有一条明显的条带,而这个条带在 L615 B 酶与 IgG 反应沉淀物中则消失了。说明 615 RNA 聚合酶 B 和 L615 RNA 聚合酶 B 在这个亚基上与 IgG 结合能力是不同的,虽然,这个亚基在电泳泳动率上相同,分子量相似,但可能在肽链组成和结构上存在着某些变化。

我们的实验结果还表明,抗 615 B 酶的抗血清与 615 B 酶和 L615 B 酶在免疫双向扩散反应上有差异。同时,抗 615 B 酶抗血清对 615 B 酶和 L615 B 酶,以及抗 L615 B 酶抗血清对 615 B 酶和 L615 B 酶的离体转录活性抑制作用也有所不同。这些结果证实正常 615 小鼠和 L615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 免疫学特性存在着一定差异。因而提示 L615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 的亚基在结构和组成上发生了某些改变。这种改变可能导致了 B 酶对肿瘤结构基因的识别能力上的不同。关于白血病 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 免疫学特性以及与肿瘤发生的关系有待深入研究。

肿瘤细胞的双微染色体

刘连瑞 王恢鹏 冯 尚 黄崇喜

在观察可移植性 615 小鼠白血病细胞株 L615 时, 我们发现这种肿瘤细胞存在一种染色体外细胞核实体, 称为“双微染色体”(double minutes chromosomes, 或简称 DM)。

这种双微染色体(DM)在 Giemsa 染色的细胞分裂中期相中呈现极微小的染色颗粒, 这种颗粒往往成双存在。染色深浅程度为中等。G 带分析, 它们不呈现分带。在 C 带分析时, 双微染色体没有着丝点, 所以它们与环状小染色体是有区别的。我们从染色体制备物中提纯了双微染色体, 电泳分析证明它们含有 DNA。电子显微镜观察, 双微染色体是一团染色质, 但现在还不能确证它们是否是一种环形结构。L615 细胞中双微染色体数目平均每个细胞为 1—5 个, 最多不超过 10 个。

我们对双微染色体的生物功能进行了测定, 发现包含 DM 的 L615 细胞对氨甲喋呤(MTX)具有较高的抗性。在氨甲喋呤浓度为 $100\mu\text{M}/\text{ml}$ 时, 细胞存活率仍为没有氨甲喋呤时的 61%, 而对照细胞 A9 (未发现有双微染色体) 在氨甲喋呤浓度为 $100\mu\text{M}/\text{ml}$ 时存活率为 9%。氨甲喋呤是细胞内叶酸代谢的抑制剂, 主要抑制二氢叶酸还原酶, 从而使细胞合成嘌呤核苷和嘧啶核苷受阻。L615 细胞对氨甲喋呤有较高的抗性说明 L615 细胞中二氢叶酸还原酶基因是相当活跃的。

为了测定 L615 细胞中二氢叶酸还原酶基因的活性和它与双微染色体的关系, 我们分别从 L615 细胞和 A9 细胞提取了二氢叶酸还原酶粗提物。实验结果表明, 有双微染色体的 L615 细胞二氢叶酸还原酶为每毫克蛋白有 320 个酶活性单位, A9 细胞每毫克蛋白只有 10 个酶活性单位。George 等人 (Cell, 1981, 24: 117—123) 证明, 双微染色体有丰富的二氢叶酸还原酶基因顺序, 实际上它是二氢叶酸还原酶基因的扩增。

虽然目前对双微染色体的起源还不清楚, 但已知它是肿瘤细胞特有的核实体。双微染色体以及其同源 DNA 顺序 HSR (homogeneously staining region) 在肿瘤发生及其治疗上的潜在意义已经引起了人们的注意。作为染色体外的一种细胞核实体以及它的抗氨甲喋呤的性质, 双微染色体已经开始应用于真核生物分子遗传和遗传工程。

离子强度和 pH 对识别抗原的依赖 RNA 的 RNA 聚合酶活性的影响¹⁾

黄华樑 李 延 尚芙蓉

巨噬细胞中存在一种能识别蛋白质抗原的依赖 RNA 的 RNA 聚合酶(黄华樑等: 1981. 遗传研究所《研究工作年报》, 7—8 页)。它在识别外来抗原、启动免疫反应中可能起着重要的作用。为了把它提纯, 研究了不同离子强度和 pH 对其活性和结构的影响, 结果表明:

1. 酶分子有缔合成大分子的倾向。在较高的 pH 或较低的离子强度下可以缔合成分子量大于 10^6 的大分子。

2. 在不同条件下可以呈现 3 种不同酶活性中的一种: 需要抗原存在的 RNA 聚合酶活性; 或不需要抗原存在的 RNA 聚合酶活性; 或 poly U 聚合酶活性。不适当的盐浓度、pH 或甘油浓度都可以使后两种活性大大增加。

3. 在不同条件下提纯的酶, 其活性对抗原浓度的要求是不一样的, 或者要求较高浓度, 或者需要较低浓度的抗原才呈现最大的活性。这可能与酶分子缔合程度有关。

4. 最适 pH 随盐浓度增加而下降。

5. 经提纯的酶很不稳定, 在 0°C 下 12 小时便完全失活, 在 -70°C 下 4 天丧失 90% 的活性。

6. 在适当的盐浓度和有较高浓度甘油存在的情况下, 加入适当的保护剂, 可以使酶活性保持一天以上。

7. 用 DEAE-Sephadex A50 离子交换层析提纯此酶时, 只有在非常严格的 pH 条件下用较高的盐浓度洗脱才可以获得一个较为稳定的含有酶活性的分部。在稍高 pH 下洗脱出来的分部很不稳定, 在收集当天显出活性, 而在第 2 天即完全失活。

8. 此酶在羟基磷灰石柱中的洗脱行为极其复杂, 无论如何变换条件都不能获得单一的活性峰, 而是分散在至少 3 个区域内。并且, 需要高浓度抗原的酶活性峰与需要低浓度抗原的酶活性峰往往不在同一个洗脱区域内。

由此可见, 巨噬细胞中这种识别抗原的依赖 RNA 的 RNA 聚合酶很可能是由多种亚基构成的复合体, 其结构和构象很容易受介质的离子强度和 pH 的影响, 极不稳定。这给提纯工作带来很大困难, 但同时也说明它不同于一般的(包括健康高等植物中的)依赖 RNA 的 RNA 聚合酶。

1) 宁益华、宋海燕同志负责巨噬细胞系的培养和繁殖。

噬菌体在核糖体蛋白质突变体中的增殖

童克忠 陈玲爱 张秀媛 王 玮 白应林

本实验室以往的实验证明，枯草杆菌依赖链霉素突变体(Str^d)的丝氨酸蛋白酶活性和抗金黄色葡萄球菌的抗菌素产量都大幅度降低；孢子形成缺陷。抗链霉素突变体(Str^r)则否。这表明核糖体蛋白质 S12 的细微变化会影响其他基因的表达。其后用噬菌体进行实验，证明在 Str^d 菌株中， $\phi 105$ 和 $\phi 11$ 噬菌体的蛋白质合成受到抑制，裂解度大大降低； $\phi 11$ 的 RNA 合成也下降。在 Str^r 菌株和不依赖于链霉素的回复突变体(Str^i)中，RNA 合成、蛋白质合成和裂解度都正常。为了解这种现象的普遍程度，用枯草杆菌 Ksg-24($rpsC$)、IA241($rpsE$)、IA219($rpsE$)、Ksg39($rpsG$)、Ksg-36($rpsI$)、IA191($rpsL$)、IA223($rpsL$)、IA247($rpsL$)、IA287($rpsL$)、Ki-2-9($rpsQ$)、IA220($rplC$)、IA475($rplK$)、Ksg-29($rplO$)、IA88($rplV$)、IA177($rplV$)、IA211($rplV$)、IA101($rplV$ $rplC$) 和 Gen-21(rp Extra) 作为宿主或指示菌，测定 $\phi 29$ 噬菌体的相对产率或平皿效能，结果在 Ksg-39、Ksg-36、IA223、IA191、Ksg-29、IA177、IA211 和 Gen-21 中，相对产率和平皿效能都降低，而在 Ki-2-9 中，两者都有所增加。在 *Escherichia coli* 1.1485(λ) Str^d 中， λ 颗粒的相对产率，只有野生型细菌中产率的 10^{-3} — 10^{-2} ，而 T4 噬菌体在 *E. coli* 1.1485(λ) Str^d 中，相对产率反较在 *E. coli* 1.1485(λ) 中高出 10 倍以上。以上实验结果说明核糖体对于所翻译的 mRNA，并不是一视同仁的。

枯草杆菌几个核糖体蛋白质的遗传研究

白应林 丁家炳

愈来愈多的研究强调了分离影响蛋白质合成的大分子突变体的重要性。这些菌株不仅对遗传分析是有用的,更重要的是用于研究蛋白质合成的机制。我们已经通过 EMS 诱变分离得到几株核糖体蛋白质突变体,但尚未确定这些基因的顺序(MGG, 1981. 183: 478—483)。因此我们试图通过转导、转化分析,利用核糖体蛋白质双向凝胶电泳技术,分析 5 个核糖体蛋白质 S3、S5、S7、S12 和 S17 基因的顺序,结果如下:

1. 通过 *B. subtilis* 168 和 *B. subtilis* BF-7658 的异源转化表明 *rpsQ* (S17 基因) 和 *strA* 紧密连锁,并将具有改变 S17 蛋白质的菌株称为 BG5。

2. 中介 PBSI 噬菌体进行 3 因子转导分析,以 KD19 (S7 蛋白质突变) 转导 *B. subtilis* QB944Sp, 结果指出 3 个基因的顺序是 *cysA*-*spcA*-*rpsG*。

3. 以 BG5 株为给体转导 QB944Sp, 指出 S17 蛋白质基因位于 *cysA* 和 *spcA* 之间,顺序是 *cysA*-*rpsQ*-*spcA*。

4. 为了确定核糖体蛋白质 S3 和 S17 基因与 *strA* 的位置关系,进行了 3 因子转化分析。以 BG5 为给体转化 KD4 株 (S3 蛋白质突变),表明这 3 个基因的顺序为 *strA*-*rpsC*-*rpsQ*。

综合上述结果,我们能够结论编码核糖体 30S 亚基蛋白质 S3、S7 和 S17 基因位于 *cysA*-*strA*-*spcA* 区中,基因顺序是 *rpsL*-*rpsC*-*rpsQ*-*rpsE*-*rpsG*。

人胚肝 DNA 克隆化实验

刘凤华 杨涛兰

将人胚 DNA 和 cosmid DNA 分别以 *Eco* RI 切割,用 T4 DNA 连接酶连接后转化 *E. coli* H101 菌株,在含有氨苄青霉素的 LB 培养基上选择抗性菌落。其中经过鉴定的 3 株所携带的质粒 DNA,在 0.8% 琼脂糖凝胶电泳上,其泳动较 cosmid DNA 为慢,可能是人胚肝 DNA 片段和 cosmid DNA 的杂合质粒。进一步实验在进行中。

pBR325/*EcoRI* 人基因文库¹⁾

曾伟强 李小兵 胡乃璧 费云标 朱立煌

人及高等生物所具有的基因数以万计, 染色质双链 DNA 分子量高达 1×10^8 以上。要想从这样多的基因组中直接分离某一基因, 似乎是不可能的, 然而利用现代基因重组技术和 DNA 原位分子杂交来分离单一基因已成为可能。我们把人基因组插到 pBR325 的 *EcoRI* 切点并进行克隆。这对某些基因的分离和表达可能有些好处。

取 25 微克/50 微升的高分子量人胚或肝 DNA 和 12.5 微克的 pBR325 DNA, 分别用 *EcoRI* 切割 (1 微克 DNA 用 1 单位酶), 37℃ 2 小时。67℃ 加热使 *EcoRI* 失活后, 加 3 倍体积 95% 乙醇沉淀 DNA。离心收集 DNA。重溶于 30 微升 T4 连接酶缓冲液 (66mM Tris-HCl pH7.5, 6.6mM MgCl₂)。按人 DNA:pBR325 DNA = 4:1 混合, 加 T4 连接酶 10 单位于 12℃ 连接 16 小时。用 0.8% Agarose 凝胶电泳检查, 可见连接后 DNA 分子量增大, 迁移率变小。

另取对数生长早期 (OD_{600} 约 0.6) *E. coli* HB101, 用 0.03M CaCl₂ 0℃ 处理半小时。再使重组的 DNA 与细胞混合, 于 0℃ 保温 30 分钟, 42℃ 2 分钟, 室温 10 分钟。然后加 LB 培养基 37℃ 摇动 1 小时。再铺于 LB 平板上 (含 20 微克/毫升的四环素, 30 微克/毫升的氨苄青霉素)。两天后用牙签挑出转化体, 并分别接种于含四环素、氨苄青霉素的 LB 平板及另一含氯霉素、四环素、氨苄青霉素的 LB 平板。第 3 天找出对氯霉素敏感但对氨苄青霉素及四环素抗性的转化体。pBR325 的 *EcoRI* 切点为插入外源 DNA 氯霉素抗性失活。经对若干转化体质粒进行微制备及限制酶图谱分析 (待发表), 证实各转化体均插入了大小不同的外源 DNA。分别接种各转化体于塑料微孔滴定板的孔中, 孔中含 0.2 毫升 LB 及 8—10% DMSO 和抗性标记抗生素——四环素、氨苄青霉素。—80℃ 保存, 此为各转化体彼此分开的基因文库。另把各转化体混合培养于 LB 培养基, 加 DMSO 及四环素、氨苄青霉素, 存 —80℃, 此为混合基因文库。

1) 朱荣煥参加部分工作。

在枯草杆菌 Ki-2-132-4 株中用 pKCl 质粒克隆人白细胞 DNA

汤懋竑 范树田 李明凤 孙永华 费云标 梁志国

虽然在大肠杆菌中能克隆人的 DNA,但在枯草杆菌中尚未见报道。研究枯草杆菌克隆人 DNA,对于发展枯草杆菌基因克隆系统是有意义的。枯草杆菌 Ki-2-132 株由于转化频率比较高(汤懋竑等:1981.遗传学报,8(1):8—13)、质粒 DNA 在其中较为稳定(孙永华等:1981.中国科学院遗传研究所《研究工作年报》,21—22 页)和产胞外蛋白(范树田:未发表资料)等特点,所以本文采用 Ki-2-132 以及从其中分出的一个菌株 Ki-2-132-4 为受体菌株。前已报道(汤懋竑等:1981.中国科学院遗传研究所《研究工作年报》,19—21,23—24 页) pKCl 质粒的 Km^r 基因中 *Bgl* II 单切点可以克隆无选择记号的枯草杆菌染色体 DNA,所以本文应用 pKCl 为载体。

按 Gross-Bellard 等的方法(Eur. J. Biochem., 1973. 36:32—38)分离人白细胞 DNA。将白细胞 DNA 用 *Bgl* II 酶消化后,进行琼脂糖凝胶电泳,按分子量大小切下不同的 DNA 带,回收 DNA 片段。将不同大小 DNA 片段溶液分别与 *Bgl* II 消化的 pKCl 质粒 DNA 混合,加 T4 DNA 连接酶连接,然后分别转化 Ki-2-132 和 Ki-2-132-4,用牙签复制测定 Cm^r 转化体对 Km 的抗性,计数并挑出插入失活的 Km^rCm^r 转化体。从 Ki-2-132 中获得 947 个 Cm^r 转化体,经测定,全部是 Km^rCm^r ,即没有插入失活的 Km^rCm^r 转化体。从 Ki-2-132-4 中获得 336 个 Cm^r 转化体,经测定,其中有 28 个是 Km^rCm^r ,即插入失活转化体,占转化体总数的 8%。

从上述结果看出,用 pKCl 可以克隆枯草杆菌染色体无选择记号 DNA 的 Ki-2-132 株,不能克隆人白细胞 DNA,而从其中分离的一个菌株 Ki-2-132-4 可以获得插入失活转化体。从这些插入失活的 Km^rCm^r 转化体提取质粒 DNA,经电泳发现其质粒 DNA 比 pKCl 大,但克隆的片段比重组时加入的 *Pst* I 片段小。有一个 Km^rCm^r 转化体(303 号)质粒 DNA,经 *Bgl* II 酶切后出现两条带,一为 pKCl 带,另一为克隆 DNA 带,克隆 DNA 片段的分子量约 1.2Md,而重组时加入的 *Pst* I 片段为 3.2Md。这一结果与 Ehrlich (私人通讯)的结果一致,他用 168 系统的枯草杆菌克隆 *B. amyloliquefaciens* DNA 的 3.0Md 片段,而克隆了的 DNA 片段平均分子量为 1Md。

上述结果说明,在 Ki-2-132 细胞中可能有两个以上的因素限制外源 DNA 的克隆。因为 Ki-2-132 可以克隆枯草杆菌染色体 DNA,而不能克隆人白细胞 DNA;从 Ki-2-132 中分离到的 Ki-2-132-4 可以用人白细胞 DNA 插入失活 pKCl,而克隆片段比重组时 *Pst* I 酶切片段小。进一步探讨这些因素及其克服办法具有重要意义。