

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

1984

(第6年出版)

科学出版社

1985

9844

73323

中国科学院遗传研究所

研究工作年报

(1984)



《研究工作年报》编辑小组
科学出版社

1985

C0128341



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）

《研究工作年报（1983）》（1984 年第 5 年出版）

《研究工作年报（1984）》（1985 年第 6 年出版）

中国科学院遗传研究所
《研究工作年报（1984）》

《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

*

1985 年 7 月第 一 版 开本：787×1092 1/16

1985 年 7 月第一次印刷 印张：9 插页：1

印数：0001—3,100 字数：202,000

统一书号：13031·2970

本社书号：4873·13—6

定价：2.25 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	孙永华
孙怀祖	杜若甫
李显文	李继耕
陈 英	林章祺
周霞仙	梁 宏
梁正兰	童克忠
蒋耀青	

前 言

一九八四年,我所进行了初步的改革,进一步明确和调整了全所的科研方向。在这一年中,全所科研人员在分子遗传学、遗传工程、单倍体遗传学、体细胞遗传学、人类和医学遗传学、应用遗传学和动物遗传学等领域内开展研究,取得了一批成果和进展。在开发培训、科研成果应用于生产、发挥经济效益方面取得了较大的成绩。

在分子遗传学和生物工程研究领域,通过用双微体DNA转化中国仓鼠细胞株,使细胞呈现癌化现象,揭示二氢叶酸还原酶基因扩增可能与细胞癌化有关;证明了RNA聚合酶对不同来源和构型的模板的转录有所不同;获得了抗布氏杆菌可溶性糖蛋白的单克隆株;分离并研究了枯草杆菌复制起始区中的两个新的突变;通过80S核糖体蛋白的分析探讨了杂种优势的分子基础;探讨了高粱热激蛋白与育性的关系;建立了含T-DNA的稳定的大豆细胞系,进而可研究外源基因在植株水平上的表达。

在单倍体和体细胞遗传学研究方面,获得了一批非整倍体材料,并探讨了非整倍体产生的因素;由未传粉胚珠和子房组织分别培养出橡胶单倍体植株和枸杞四倍体;实验结果证明了花粉橡胶植株的丰产性;开展了品质和抗性育种研究,并初步建立了细胞水平上的筛选方法。

在人类和医学遗传领域,继续进行我国若干民族的多指标调查,开展了胆碱酯酶和血清淀粉酶等新指标的研究;建立了妊娠早期产前诊断的方法;继续深入研究热点3p14和脆性X染色体;用细胞学检测环境中的遗传毒理因子的影响,获得了初步结果;研究了不同波长的激光和激光加不同的血卟啉对细胞的杀伤结果。

此外,培育了甜玉米自交系和有推广价值的杂交种。在水稻和小麦的起源和进化研究中,除进行核型分析外,还进行了几种同工酶的研究。

一九八四年,我所科研人员在国内外近30种刊物上,共发表论文近80篇。参加国内外学术会议82人次,提供论文75篇。我所和中国科协等单位共同组织了“国际作物遗传操作学术讨论会”,参加会议的有30个国家的350名科学家。会议上宣读和用墙报展出的论文共272篇。接待了来访科学家116人。这些活动促进了我所与国内外的学术交流。

胡 含 邵启全

1985年2月

目 录

第一研究室

- L 615 细胞株细胞的基因扩增..... 刘连瑞、王恢鹏、冯 尚、杨涛兰 (1)
- L 615 细胞依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶 B 的两个特异性亚基 刘连瑞、黄崇喜、王 斌、王恢鹏 (2)
- 双微体 DNA 对 A9 细胞株的转化研究..... 刘连瑞、王恢鹏、冯 尚 (3)
- RNA 聚合酶的模板特异性..... 王 斌、刘连瑞 (4)
- 克隆化玉米线粒体 DNA 的构型与其模板转录活性的关系 王 斌、杨涛兰 (5)
- 抗布氏杆菌可溶性糖蛋白单克隆抗体的研究..... 尚芙蓉、宁益华、尧素芳、宋海燕、黄华樑 (6)
- 枯草杆菌核糖体蛋白质 L20 基因突变的遗传分析 白应林、胡康荃 (7)
- 枯草杆菌复制始区主要核糖体蛋白质基因群中两个新突变的遗传研究..... 张 巍、白应林、童克忠 (8)
- 人胚器官基因组中干扰素基因多态性的比较分析..... 曾伟强、李小兵 (9)

第二研究室

- 鸡的血型研究 V. 北京白鸡品系间遗传关系分析 程光潮、吴丽城、张 婷、段章雄、王 力、郭 强、官桂芬 (10)
- 蛋鸡数量性状主成份分析及其在亲本选配上的应用..... 段章雄、程光潮、郭 强、张海兰 (11)
- 三黄白耳鸡数量性状遗传参数的估测..... 段章雄、程光潮、周炳光、袁继成、张瑞耀 (12)
- 西吉彩鲫染色体组型的研究..... 王春元、李延龄 (13)
- 利用激光微束照射比较几种血卟啉衍生物光敏剂对体外培养细胞的杀伤效应的研究..... 梁 宏、王兰岚、欧笑兰、陆仲康、宋桂英、邓燕华 (14)
- 几种不同波长激光对细胞杀伤效应的比较研究..... 梁 宏、邓燕华、陆仲康、王兰岚、宋桂英、欧笑兰 (15)
- 激光微束照射金鱼受精卵对其胚胎发育的影响..... 陆仲康、王春元、梁 宏 (16)
- 雄性印度赤麂细胞株的核型..... 欧笑兰、邓燕华、王兰岚、宋桂英、徐正平、陆仲康、梁 宏 (17)

第三研究室

- 小麦欧柔 and 科冬 58 花粉非整倍体的鉴定..... 韩子英、景健康、胡 含 (18)
- 短期高温处理对小麦花药培养的影响 I. 短期高温处理对小麦花药愈伤组织诱导频率及绿苗分化率的影响..... 梁思信、胡 含 (19)
- 短期高温处理对小麦花药培养的影响 II. 高温对愈伤组织和花粉植株细胞染色体变异的影响..... 梁思信、胡 含 (20)
- 八倍体小偃麦和普通小麦杂种 F_1 花粉植株染色体变异的研究

.....	苗中和、庄家骏、胡 含 (21)
八倍体小麦与普通小麦杂种 F_1 花粉植株的减数分裂研究	苗中和、庄家骏、胡 含 (22)
.....	贾 旭、庄家骏、陈国庆 (23)
利用化学诱变和花药培养技术诱导小麦突变株	黄 斌 (24)
小麦花粉胚胎发生的亚显微结构特征 I. 活体植株上及低温预处理过程中小麦花粉 的发育	黄 斌 (25)
小麦花粉胚胎发生的亚显微结构特征 II. 花药培养中多细胞花粉的形成	黄 斌 (26)
小麦花粉胚胎发生的亚显微结构特征 III. 花粉愈伤组织及其分化	黄 斌 (27)
小麦花药培养早期温度处理对花粉愈伤组织形成及其分化能力的影响	冯国宏、欧阳俊闻 (28)
NO_3^- 水平在小麦花粉愈伤组织诱导和植株再生中的作用	曾君祉 (29)
籼稻花药培养中低温预处理对愈伤组织诱导频率的影响	曾君祉 (30)
2-脱氧葡萄糖对籼稻花药愈伤组织诱导频率的促进作用	周嘉平、欧阳俊闻 (31)
抗小麦赤霉病突变体的细胞选择	周嘉平、黄 河、庞 龙 (32)
用抗毒素选择体系选择抗烟草黑胥菌的株系	李良材、陈 英 (33)
进一步提高单倍体油菜叶肉原生质体胚胎发生频率及胚胎发生过程中的组织学及 细胞化学研究	孟 征、李良材、陈 英 (34)
从单倍体油菜叶肉原生质体分裂形成的小愈伤组织中选择抗 5-甲基色氨酸突 变体	郑世文、陈 英、李良材 (35)
.....	李海民、陈 英 (36)
水稻耐镉突变体的遗传及突变体耐镉机理的分析	张桂华、陈少麟、田文忠 (37)
从水稻花粉愈伤组织筛选抗氨乙基半胱氨酸 (AEC) 的愈伤组织及其再生小植株 (初报)	陈建南、刘纪华、李海民 (38)
中国半野生大豆 7S 贮藏蛋白及其 RNA 某些特性的研究	吕德扬、陈建南、李海民、陈 英 (39)
.....	吕德扬 (40)
紫苜蓿过氧化物酶同工酶的测定	陈正华、黄南生、邓重熹、李文彬、张丽华 (41)
紫苜蓿原生质体胚状体发育的观察和无性繁殖的研究	陈正华、许绪恩、廖小群、庞任声、李文彬、张铁汉 (42)
甘蔗花粉植株染色体的观察方法及染色体计数	陈正华、许绪恩、区晓慧、庞任声、李文彬 (43)
.....	张大卫、陈正华、李 骏、张铁汉 (44)
三叶橡胶未授粉胚株培养获得再生植株	张大卫、陈正华、张丽华、李文彬 (45)
.....	张大卫、胡耀星、陈正华、李文彬 (46)
三叶橡胶花药培养的新进展	陈正华、宋玉华、李文彬、韩碧文 (47)
油菜受精子房的离体培养	李文彬、丁大桥、李 骏、陈正华 (48)
芥菜型油菜花粉胚状体发育过程中芥酸的动态变化	
.....	
芥菜型油菜不同组织培养物中类脂组成的特点	
芸苔属不同密度细胞生长状况及分化的研究	
原生质体来源对再生细胞分裂速度及分裂频率的影响	

原生质体培养中再生细胞分裂的显微电影缩时观察···李文彬、丁大桥、张铁汉、陈正华	(49)
重瓣玉簪快速繁殖·····黄娇香、关月兰、郑万珍	(50)
从唐菖蒲花序培养中获得无毒苗·····郑万珍、何传启	(51)

第四研究室

大麦突变体类囊体膜蛋白质的双向电泳分析·····李继耕、李玉湘、耿玉轩、李家洋	(52)
80S核糖体蛋白质与作物杂种优势·····李继耕、李玉湘、李家洋、耿玉轩	(53)
叶绿体中低分子量核糖体RNA的制备·····舒群芳、李继耕	(54)
叶绿体DNA提取方法及酶切图式比较·····吕应堂、李继耕	(55)
水稻与高粱杂种叶绿体类囊体膜蛋白质的初步分析·····	
·····李继耕、段晓岚、李玉湘、耿玉轩	(56)
玉米叶片中过氧化物酶同工酶 <i>PX4</i> 和 <i>PX5</i> 基因位点的分析·····杨太兴、曾孟潜	(57)
甜玉米杂交种的选育研究·····曾孟潜、杨太兴	(58)
高粱雄性不育系热激蛋白的电泳分析·····张孔胤、黄菲、李京京	(59)
通过非配子融合转移基因的作物育种 I. 非配子融合转移可育基因培育小麦恢复系 及杂交种·····张孔胤、刘根齐、郭志远、弓陆身	(60)
通过非配子融合转移基因的作物育种 II. 小麦中几个性状的非配子融合转移试验 ·····刘根齐、张孔胤、双志福、王振富	(61)
小麦粘型雄性不育系选育研究·····王培田、许莉萍、张帆	(62)
烟草二磷酸核酮糖羧化酶的结晶纯化·····刘祚昌、赵世民	(63)
马铃薯未传粉子房培养·····陶自荣、刘敏頔、祝仲纯	(64)
云贵高原野生稻种和地方栽培稻种酯酶同工酶研究初报·····余光泽、李璠	(65)
西藏野小麦与我国栽培小麦的核型分析·····罗达、李璠	(66)
我国几种野生稻种与不同地方种染色体核型及变数观察·····李敬仪、李璠	(67)
广东野生稻种形态的观察·····李璠、杨天宝、姚树江	(69)
通过几种同工酶的分析探讨西藏野小麦与我国栽培小麦、中国小麦草之间的亲缘 关系·····杨勤、李璠	(70)
青藏高原野大麦和野小麦新类型及其亲缘关系的探讨·····李璠	(71)

第五研究室

含 T-DNA 的大豆细胞系的建立···邵启全、蒋兴邨、周泽其、陈永强、吴春法、傅志明	(72)
Ri 质粒对植物的感染和分化·····蒋兴邨、邵启全、吴春法、陈永强、傅志明	(73)
含 T-DNA 愈伤组织不定芽的分化·····蒋兴邨、邵启全、吴春法、陈永强、傅志明	(74)
水稻与芦苇杂交受精及胚胎发育过程观察·····牛德水、李金国、蒋兴邨、邵启全	(75)
人参花粉植株的诱导·····邵启全、李安生、杜令阁、侯艳华、陈泽光、杨振棠	(76)
平贝母花药离体培养及植株再生·····李安生、邵启全、杜令阁、侯艳华、杨振棠、陈泽光	(77)
由未传粉的子房组织培养得到四倍体枸杞·····	
·····牛德水、邵启全、秦金山、王莉、王大桢	(78)
从节节麦细胞质普通小麦获得雄性不育株·····	
·····张炎、吴郁文、张翠兰、汪永祥、肖洪佑	(79)
粘果山羊草细胞质小麦杂种的表现·····吴郁文、张炎、张翠兰、汪永祥	(80)

利用异细胞质效应提高小麦蛋白质含量·····	张翠兰、张 炎、吴郁文、汪永祥 (81)
小麦种间杂种的类型和蛋白图谱·····	张翠兰、吴郁文、张 炎 (82)
不同类型小麦种间杂种的酯酶同工酶酶谱·····	吴郁文、张翠兰、张 炎 (83)
利用化学药剂诱导小麦单性生殖·····	魏秀玲、江利群、胡启德 (84)
几种因素对提高普通小麦与球茎大麦杂交幼胚培养成苗的影响·····	郭丽娟、江利群、胡启德 (85)
平阳霉素三种成分诱发 CHO 细胞株染色体畸变和姊妹单体交换的研究·····	王钦南、沈光平、费云标、艾先元、宋海燕、周祉祯 (86)

第六研究室

甘薯产量、干率和肉色的遗传趋势·····	王文质、杜述荣、许丽萍、以 凡 (87)
甘薯淀粉特性遗传趋势的研究·····	杜述荣、王文质、许丽萍、以 凡 (88)
甘薯无性变异的利用及其选育方法的研究·····	以 凡、许丽萍、程 文、王文质、杜述荣、金德敏 (89)
甘薯干率、淀粉率简易测定方法的研究·····	以 凡、王文质、许丽萍、林自安、杜述荣 (90)
青饲多穗多分蘖玉米突变体筛选研究 I. 愈伤组织的诱导和植株的再生·····	施介邨 (91)

第七研究室

侗族、回族、白族红细胞酸性磷酸酯酶的遗传学调查·····	徐玖瑾、杜若甫 (92)
侗族、回族、白族谷丙转氨酶基因频率分布的研究·····	徐玖瑾、杜若甫 (93)
侗族、回族、白族红细胞酯酶 D 的遗传多态性·····	徐玖瑾、杜若甫 (94)
6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶在侗族、回族、白族中的表型分布及基因频率·····	徐玖瑾、杜若甫 (95)
我国人群中血浆拟胆碱酯酶类型的初步分析·····	陈良忠、杜若甫 (96)
乙醛脱氢酶同工酶缺陷型在我国不同民族中的分布·····	陈良忠、杜若甫 (97)
中国少数民族的乙二醛酶 I 多态性研究·····	李实喆、王力群、杜若甫 (98)
侗族、回族、白族的血清淀粉酶研究·····	李实喆、王力群、杜若甫 (99)
汉族不同人群中成人乳糖酶表型的分布·····	王永发、杜若甫、王力群、徐玖瑾 (100)
回族和白族中成人乳糖吸收不良的发生率·····	王永发、杜若甫 (101)
中国不同民族的红细胞抗原多态性及红细胞血型组合·····	袁义达、杜若甫 (102)
中国六个少数民族的血型调查·····	袁义达、金 锋、赵 红、龙邕泉、蔡瑞霖、李长潇、杜若甫 (103)
侗、回、白和土家族中运铁蛋白及补体第三成份的多态性·····	牛克毅、杜若甫 (104)
侗、回、白和土家族中 α_1 -抗胰蛋白酶的遗传多态性·····	牛克毅、杜若甫 (105)
结合珠蛋白在侗、回、白和土家族中的表型分布·····	牛克毅、杜若甫 (106)
侗、回和白族中葡萄糖磷酸变位酶的多态分布·····	赵 红、陈良忠、杜若甫 (107)
腺苷酸激酶在侗、回、白和土家族中的表型分布·····	赵 红、杜若甫 (108)
腺苷脱氨酶在侗、回、白和土家族中的多态性分布·····	赵 红、杜若甫 (109)
湘西土家族四种红细胞血型系统的表型分布·····	金 锋、赵 红、杜若甫 (110)
白族九种红细胞血型系统的表型分布·····	金 锋、郝露萍、杜若甫 (111)
独龙、怒、傈僳族 ABO、MN、P 血型分布·····	金 锋、牛克毅、杜若甫 (112)

人类染色体热点 II. 热点 3p14 的持久性及其与染色体畸变的关系	周宪庭、李 宁 (113)
人类染色体热点 III. 肝炎病人中的热点 3 p14	肖 白、周宪庭、汪安琦 (114)
脆性位点 X 染色体五个大家族的研究	周宪庭、许碧珍、肖桂芳、 王 会、徐佩君、王晓莉、高龙根、张文芹、赵淑春、王大勇、侯小丽、杜 晶、李秀玲、李 莉 (115)
接触遗传毒理因子的石油化学工人的细胞遗传学检测 I. 119 名石化和对照工人 分析结果	周宪庭、李立容、崔梅影、于瑞芳、李 琳、阎祖安 (117)
接触遗传毒理因子的石油化学工人的细胞遗传学检测 II. 石油化学工人的姐妹染 色单体交换 (SCE) 频率	崔梅影、于瑞芳、阎祖安、周宪庭 (118)
妊娠早期产前诊断的研究 I. 130 例绒毛细胞直接制备染色体	崔梅影、陈保江、周宪庭、韩路亚、赵慧珠、廖琼珍、高艳萍 (119)
妊娠早期产前诊断的研究 II. 绒毛六种酶的测定	吴 晔、周宪庭 (120)
妊娠早期产前诊断的研究 III. 在含 FUDR 培养基中生长的绒毛细胞	李立容、匡 冰、周宪庭 (121)
技术室	
5-核苷酸酶活性在几种植物根尖细胞中的定位比较	贾敬鸾 (122)
国际间学者协作研究简报	
大肠杆菌中起始一个降解通路的早期阶段——第一个切开位点的测定	王苏生、V. A. Fried (123)
大豆子叶原生质体游离和培养因子的研究	吕德扬、E. C. Cocking (124)
已发表的论文及著述	(125)

国际国内学术交流

国内学术活动	(130)
国际性学术活动	(134)
外国专家来我所做的学术报告	(136)

L615 细胞株细胞的基因扩增

刘连瑞 王恢鹏 冯 尚 杨涛兰

L615 细胞株是小鼠白血病细胞, 我们以前报道了这株细胞中存在着双微体 (DM), 因此, 它对氨甲喋呤是抗性的。现在我们进一步研究了抗氨甲喋呤 (MTX) 的二氢叶酸还原酶另一种存在形式。应用染色体 G 带分析方法发现第 18 条染色体上存在这一个均质染色质区 (HSR), 这一染色质区位于第 18 条染色体的中间偏顶端着丝点一侧。Hoechst 33258 荧光染色分带法分析, 与 G 带分析一致。Hoechst 33258 染料对 A-T 碱基对丰富的染色质区染色荧光强度最强, 所以我们推测 HSR 区域是 A-T 碱基对丰富的区域。

以前的研究证明, 双微体是由二氢叶酸还原酶基因扩增而成。我们把提纯的 DM-DNA 作缺口转移, 用 ^{32}P 标记的这种 DNA 作探针, 作原位分子杂交, 通过放射自显影证明, 银粒集中的染色体与 G 带分析结果一致, 进一步证明 HSR 区域位于第 18 条染色体上。

HSR 区域是二氢叶酸还原酶另一种扩增形式, 细胞的染色体上存在着 HSR, 这种细胞对 MTX 抗性是稳定的。HSR 的存在必然反映到二氢叶酸还原酶的超量产生上。我们提取了二氢叶酸还原酶的粗提物, 通过聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 结果表明 L615 细胞比正常 615 细胞这种酶的含量有明显的提高。

DM 和 HSR 是二氢叶酸还原酶基因的两种扩增形式。这种酶可以保持肿瘤和促使肿瘤生成, 二氢叶酸还原酶基因扩增带动了肿瘤基因的扩增。如果细胞的原癌基因变成癌基因是一级突变, 这种突变为生成肿瘤打下了基础, 那么, 基因的扩增则是细胞的二级突变, 这种突变才使得细胞进一步癌化, 最后形成肿瘤。

L615 细胞依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶 B 的两个特异性亚基

刘连瑞 黄崇喜 王 斌 王恢鹏

真核细胞有三种 RNA 聚合酶, 这些 RNA 聚合酶能够促进 RNA 的合成, 而且在基因转录的调节中也起重要作用。其中 RNA 聚合酶 B 是合成前体 mRNA 的酶, 所以这种酶在结构基因的表达和调节中特别重要。为了了解肿瘤细胞基因表达调节的机制, 我们分别从正常 615 和白血病 L615 小鼠中分离提纯了 RNA 聚合酶 B, 并且比较了这两种来源不同的酶的结构、功能和它们的免疫特性。

比较了 615 和 L615 小鼠 RNA 聚合酶的电泳性质。在不变性的聚丙烯酰胺凝胶电泳上, 纯化的 615 和 L 615 的酶只有 1 条电泳带, 但是, L 615 的 B 酶比 615 的 B 酶电泳稍慢一些, 反映了 L615 B 酶比 615 B 酶分子量大。在变性的聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳上分析, 发现 615 B 酶有 11 条电泳带, L 615 B 酶有 13 条电泳带。L 615 B 酶比 615 B 酶多的两条电泳带的分子量分别为 130,000 和 19,000 道尔顿。我们进一步分离了 L 615 B 酶这两条电泳带, 并对这两条带在体外转录中的作用进行了分析。用 19,000 带与 615 B 酶重组, 在 L615 细胞 DNA 上转录, 发现重组后的 615 B 酶转录活性明显增加。同样, 用 130,000 带与 615 B 酶重组, 重组后的 615 B 酶活性增加不明显。如果用两条带的蛋白质同时与 615 B 酶重组, 则 615 B 酶转录活性有大幅度增加。

我们把提纯的 615 和 L615 小鼠的 RNA 聚合酶 B 免疫成年母鸡, 从免疫过的鸡中分离抗血清。用免疫扩散反应测定两种抗血清与两种来源不同的 RNA 聚合酶 B, 发现抗 615 B 酶的抗血清与 615 B 酶形成很强的免疫沉淀线, 与 L615 B 酶的沉淀线则较弱。反之, 抗 L615 B 酶的抗血清与 L615 B 酶形成很强的免疫沉淀线, 而与 615 B 酶形成的沉淀线则较弱。我们对两种抗血清抑制 RNA 聚合酶转录活性的作用进行了分析, 结果表明, 抗 615 B 酶的抗血清对 615 B 酶活性的抑制作用高于对 L615 B 酶的抑制作用, 同样, 抗 L615 B 酶的抗血清对 L615 B 酶抑制作用高于对 615 B 酶的抑制作用。两种抗血清对 RNA 聚合酶 A 和 RNA 聚合酶 C 以及大肠杆菌的 RNA 聚合酶都没有抑制作用。

从上述结果分析, 我们认为, 615 小鼠 RNA 聚合酶 B 与 L615 小鼠 RNA 聚合酶 B 在结构上有同源性, 例如, 电泳分析所指出的两种不同来源的 RNA 聚合酶 B 多数电泳带是相同的。但是, 它们之间也存在着某些差异, L 615 B 酶含有 130,000 和 19,000 电泳带就是与白血病小鼠 B 酶紧密结合的两个蛋白质因子。这两个因子在白血细胞癌基因的表达调节中起了某些特异性作用。我们推断 19,000 道尔顿因子能帮助 L615 B 酶特异性识别癌基因, 并在基因转录启动时起作用。130,000 道尔顿因子可能在癌基因表达的调节环节上起某些作用。

双微体 DNA 对 A9 细胞株的转化研究

刘连瑞 王恢鹏 冯 尚

双微体 (DM) 是二氢叶酸还原酶 (DHFR) 基因扩增的产物。在细胞中, 随着 DM 的出现, 细胞癌化程度加剧, 细胞内的癌基因 (oncogene) 也随之扩增。因此, DM-DNA 除了含有二氢叶酸还原酶基因之外, 还存在着癌基因。如果细胞的原癌基因突变成癌基因是产生肿瘤的基础, 那么基因的扩增是癌化过程中不可缺少的步骤。DM-DNA 有自己的基因表达调节顺序, 因此, 双微体有可能成为哺乳动物细胞潜在性的质粒。

我们从 L615 细胞株细胞中提取分离了双微体, 并提纯了它的 DNA。用 L615 细胞双微体 DNA 去转化中国仓鼠细胞株 A9, 用钙盐沉淀方法转化。处理的 A9 细胞在直径 6cm 培养皿中放入 CO₂ 培养箱, 37℃ 培养。培养 10 天之后, 培养皿中形成细胞集落, 计算转化频率为 1.4×10^{-6} 。

我们观察了转化的 A9 细胞生长情况和细胞形态。没有转化的 A9 细胞呈单层生长, 转化后的细胞形成堆积的细胞集落, 集落明显地凸起, 这种现象与肿瘤细胞生长失去接触抑制现象是一致的。与正常 A9 细胞相比, 转化的 A9 细胞已经变成短而圆的形态, 与原来成纤维细胞的形态有明显的差异。

我们用滤纸复印方法将集落细胞进行了复印, 用复印的细胞集落做氨甲喋呤抗性实验。结果证明转化后的细胞抗氨甲喋呤的浓度为 $1 \times 10^{-6} M$, 而正常 A9 细胞在 $1 \times 10^{-8} M$ 的氨甲喋呤浓度下全部死亡。所以, 转化后的细胞对氨甲喋呤的抗性比正常 A9 细胞提高了 100 倍。我们对转化的细胞做了进一步抗性筛选, 选出 1 株细胞系, 可以抗氨甲喋呤浓度为 $1 \times 10^{-5} M$, 定名为 A9'3。

从 A9'3 细胞和 A9 细胞中分别提取了二氢叶酸还原酶的粗提物, 将这种粗提物在 12% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳上分析, 结果表明, A9'3 细胞的二氢叶酸还原酶含量比 A9 细胞有明显的增加。同时, 转化的细胞有 P21 蛋白质存在。

上述结果可以看出, 双微体 DNA 具有转化细胞的能力, 转化后的细胞对氨甲喋呤的抗性明显提高, 二氢叶酸还原酶含量也有明显增加。细胞形态向癌化方面变化, 同时出现了 P21 蛋白质电泳带。结果分析表明, 双微体 DNA 不但含有二氢叶酸还原酶基因, 而且还存在着癌基因, 因此我们认为, 肿瘤细胞存在着双微体, 不仅是为肿瘤细胞能够在二氢叶酸还原酶作用下从多途径取得合成核苷酸和氨基酸的底物, 从而保持肿瘤快速生长的特性, 而且双微体也携带了癌基因, 使得肿瘤细胞癌基因拷贝数目增加, 肿瘤向更恶性化程度发展。

RNA 聚合酶的模板特异性

王 斌 刘 连 瑞

近年来,在无细胞离体转录系统中研究基因转录的调控,在国际上很多实验室中被广泛采用。在离体转录系统中,RNA 聚合酶对同源或异源模板 DNA 的转录受到模板 DNA 及一些调节因子的调节。这些因子影响到动力学系统,影响到 RNA 聚合酶与模板的亲合性,也影响到模板 DNA 的结构及稳定性。

为了了解真核生物和原核生物 RNA 聚合酶对转录模板要求上的异同,我们测定了 615 小鼠 RNA 聚合酶 B 和 *E. coli* RNA 聚合酶对小鼠 DNA、CT (小牛胸腺) DNA 以及细菌 DNA (*Bacillus subtilis* 或 *E. coli*) 的转录活性。结果表明,615 小鼠 RNA 聚合酶 B 对小鼠 DNA 和 CT DNA 的转录能力相似,都高于对 *Bacillus subtilis* DNA 的转录效力,分别为后者的 2.05 倍和 1.9 倍。相反,*E. coli* RNA 聚合酶对 *Bacillus subtilis* 的转录效力高于对小鼠 DNA 和 CT DNA 的转录效力,分别为后两者的 2.44 倍和 2.06 倍。

用玉米 RNA 聚合酶 B 转录玉米 DNA 和 *E. coli* DNA,也得到了类似的结果。玉米 RNA 聚合酶 B 对玉米 DNA 的转录效力是对 *E. coli* DNA 转录效力的 2.48 倍。

为了弄清天然 DNA 和变性 DNA 模板转录活性上的差异,我们测定了玉米、615 小鼠、L615 小鼠、大鼠、酵母等各种 RNA 聚合酶 B 以及 *E. coli* RNA 聚合酶对天然和变性 CT DNA 的转录活性。结果表明,所有测定过的这些 RNA 聚合酶都表现出对变性 CT DNA 比对天然 CT DNA 有更高的转录活性。对变性和天然 CT DNA 转录活性的比值变化在 1.8—3.3 之间。对酵母 RNA 聚合酶 B 而言,这个比值高达 10.72。实验中各种模板 DNA 的用量是相同的。DNA 的用量不同,会影响这个比值的变化,一般而言,DNA 用量越高,这个比值就越大。

用玉米 DNA 和 CT DNA 的混合物作为玉米 RNA 聚合酶的转录模板,合成 RNA。然后,在吸附了模板 DNA 的硝酸纤维素滤膜上进行 DNA 和 RNA 产物的杂交实验,测定出各种模板转录产物的多少。结果表明,在混合模板中,玉米 RNA 聚合酶确实也能优先转录玉米 DNA。

上述结果表明,不管真核生物还是原核生物的 RNA 聚合酶,都表现出对同源模板 DNA 比对异源模板 DNA 有更强的转录能力。就所测定过的玉米 RNA 聚合酶 B 而言,即使在混合模板中也能优先转录同源模板。这种模板特异性在真核生物与原核生物之间表现得更加明显。这可能由于真核生物与原核生物的 DNA 在结构和碱基组成上差别更大的缘故。

关于在离体转录系统中模板 DNA 构型变化对基因转录的调控,将在另处详细报道。

克隆化玉米线粒体 DNA 的构型 与其模板转录活性的关系

王 斌 杨 涛 兰

前面我们已报道了在无细胞离体转录系统中研究由玉米线粒体 DNA (mtDNA) 控制的玉米雄性育性基因表达的工作。本文将报道克隆化玉米 mtDNA 构型的变化与其模板转录活性的关系。

我们知道,制备的克隆化 DNA 可能有三种存在形式,即 I、II、III 型,I 型为超螺旋结构,II 型为开环结构,III 型为线状结构。我们新制备的克隆化 DNA 制品中,I 型 DNA 占 95%。将这种 DNA 制品经过光照处理,产生 II 型 DNA。如果用对插入顺序没有切点,而对载体部分只有一个切点的限制性内切酶 *Sal* I 完全酶解,就可得到线状 DNA,即 III 型 DNA。对所制备的各型 DNA,经琼脂糖凝胶电泳、染色、扫描,然后根据峰区大小,计算出各型 DNA 的百分含量。对各种构型的 DNA 进行电镜形态观察,证实了上述结果。

在无细胞离体转录系统中,用玉米 RNA 聚合酶 B 为转录酶,测定各种构型的模板 DNA 的模板转录活性。实验结果表明,I 型 DNA 模板转录活性最高,III 型 DNA 模板转录活性最低。在这一实验结果的基础上,我们进一步测定了 DNA 制品中 I 型 DNA 的含量百分比与其模板转录活性之间的关系。结果表明,DNA 制品的模板转录活性与其 I 型 DNA 含量的百分比成正相关。但当 I 型 DNA 含量降到 50% 以下时,其模板转录活性明显下降。

本实验表明,超螺旋化对于克隆化玉米线粒体 DNA 在转录水平上的表达是必需的,这一点与 mtDNA 在体内的情况是相似的,因此有着重要的生物学意义。关于线粒体起源问题,很多人认为高等生物的线粒体可能来源于原核生物的细菌和病毒。因为线粒体有其独立的遗传体系,而且与细菌的遗传系统表现了许多相似之处。玉米线粒体 DNA 在转录时需要超螺旋化,这一点上又与细菌表现了共同之处。这一相似性似乎也是对上述关于线粒体起源假说的支持。

通过超螺旋化促进转录的原因,可能是由于超螺旋化引起待转录的模板 DNA 局部解旋,因而有利于 RNA 聚合酶识别启动区,并进而与模板 DNA 结合并启动转录。在生物体内,DNA 的超螺旋化是由功能相反的两种酶(即 DNA 旋转酶和 DNA 松弛酶)的动态平衡控制着的,从而对转录起着调控作用。在离体转录系统中,如何模仿体内发生的情况,通过一种动态平衡系统控制模板 DNA 的超螺旋化,从而控制基因在转录水平上的表达,乃是一个有待探索的有趣问题。

抗布氏杆菌可溶性糖蛋白单克隆抗体的研究

尚芙蓉 宁益华 尧素芳 宋海燕 黄华樑

布鲁氏菌病是人畜共患的传染病,在牧区流行严重,对羊、牛、猪、人等危害都很大,据统计,每年在牧区发病率为5%,造成牲畜死亡,劳动力丧失,给国民经济造成很大损失。目前虽有弱毒菌苗作为疫苗防护,但仍潜在有弱毒菌复变为强毒菌的危险性,并且注射弱毒菌苗与感染发病痊愈后难以区分,因此给海关检疫带来困难。为了准确检测和诊断,以及寻找保护性抗原的成分,进而制备化学疫苗及基因疫苗,1984年我们与哈尔滨兽医研究所协作,开展了抗布氏杆菌的单克隆抗体的研究工作。获得了12株单克隆杂交瘤细胞株,并对其中4株进行了生化免疫鉴定。

用布菌强毒株 M_{28} 灭活菌液经超声波破碎后的悬浮液,配弗氏完全佐剂,免疫 BALB/c 小鼠4次,在末次免疫3天后取其脾细胞与小鼠骨髓瘤 NS-I 细胞株,在 PEG(MW = 1,000) 作用下进行融合,融合率达80%,阳性率达50%,共作24孔板两块,除1孔污染外,47个孔全部成活,已冰冻保存。用酶连法即 ELISA 检测活性,用有限稀释及集落克隆法选择克隆与再克隆。选取了阳性较高的4株 C_1 、 C_5 、 C_7 、 C_9 ,进行了细胞学及生化免疫与鉴定,其染色体为100条左右,能在体外长期培养及分泌特异抗体,因此具有双亲的生物学特性。将上述单克隆细胞培养液与兔抗鼠 Ig 亚型的标准血清作琼脂双扩散,检测其亚型为 IgG₃。选克隆 C_1 细胞注射小鼠腹腔获得的腹水,经50%饱和硫酸铵沉淀后,上 DEAE-DE52 纤维素层析柱,收集洗脱液(用 0.01 MPBS pH 7.4 洗脱),浓缩后再上蛋白 A-Sepharose 4B 亲和层析柱分离,收集用 pH 8.0 的 PB 洗脱液,用 ELISA 方法测此洗脱液的活性为阳性。此洗脱液进行 SDS-聚丙烯酰胺电泳,重链带与标准蛋白(卵蛋白)带的位置相似,即分子量为 60,000,与文献 IgG₃ 的重链分子量相符。

用电转移方法,将布菌溶液进行 SDS-凝胶电泳后,电转移到硝酸纤维膜上,再与 C_1 单克隆抗体 (McAb) 温育,与辣根过氧化物酶标记的第二抗体温育,然后染色,发现此 C_1 细胞的 McAb 与布菌 M_{28} 株的分子量为 20,000 道尔顿的组份有特异性反应,与其他组份全无反应。而此组份经染糖蛋白的席夫氏试剂染色显示出红色带,证明此抗原组份是糖蛋白。因此我们得到的 C_1 杂交瘤 McAb 是抗布菌糖蛋白的单克隆抗体。这为进一步分析抗原的不同组份寻找保护性抗原奠定了基础。

枯草杆菌核糖体蛋白质 L20 基因 突变的遗传分析¹⁾

白应林 胡康荃

为进一步了解 *B. subtilis* 核糖体蛋白质基因的组织结构, 研究它们的基因定位及对表达的影响, 我们从 1 株依赖链霉素的菌株 SD 103 分离出 1 株不依赖链霉素的温度敏感突变体 SDN98。经双向凝胶电泳鉴定和对其性质分析, SDN98 是一株改变核糖体蛋白 L20 的突变体, 它含有的 L20 比正常的 L20 在电泳凝胶上显示更强的酸性。它能生长在 30℃ 或 37℃ 的肉汤平皿上, 不能生长在 42℃, 是一株寡孢子突变体, 其温度敏感表型和 L20 的改变是十分稳定的, 不容易产生回复突变。遗传分析表明, SDN98 表型是由 *rplT* 和 *ts* 两个基因突变决定的。转导结果证实, L20 基因位于 *leuA* 和 *pheA* 之间, 更加靠近 *leuA*, 而远离复制始区的主要核糖体蛋白质基因群。有趣的是所有改变 L20 蛋白的转导体, 都失去了温度敏感表型, 这就表明 L20 的改变不是由 *Ts* 突变引起的, 故 L20 突变不和 *Ts* 突变连锁, *ts* 突变位于 *ery* 和 *spcA* 之间, 即在复制始端的核糖体蛋白质基因群内。

对两株仅有 L20 改变的转导体 98T9 和 98T28 进行活体 RNA 和蛋白质合成的测定, 表明 L20 蛋白质的改变没有影响活体 ³H-尿嘧啶和 ¹⁴C-氨基酸的掺入活性。

1) 中国科学院科学基金资助的课题。苗毓华同志协助部分技术工作。