

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

1980

北京大學出版社

中国科学院遗传研究所《研究工作年報》(一九八〇)

3
K

1981

反土

Q3
8ky

63701

中国科学院遗传研究所
研究工作年报

(1980)



《研究工作年报》编辑小组
北京大学出版社
1981

F546/1

内 容 简 介

本《年报》共收集了研究论文摘要 140 篇,反映了遗传研究所 1980 年所取得的主要成果。此外,还简要报道了一年来开展国内外协作和国际交流等方面的学术活动情况。可供从事遗传学、细胞学、分子生物学、生物化学、医学和农学工作者、大专院校生物系师生及中学生物教师参考。

中国科学院遗传研究所《研究工作年报》 (1980)

《研究工作年报》编辑小组

★

北京 大 学 出 版 社 出 版
中 国 科 学 院 印 刷 厂 印 刷
新 华 书 店 北 京 发 行 所 发 行

★

787×1092 16 开 13.75 印张

1981 年 7 月第一版

统一书号: 13209·22 定价: 1.80 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

本年度我所为进一步贯彻中国科学院提出的两侧重(侧重基础,侧重提高)、两服务(为国民经济建设服务,为国防服务)的方针和突出我所科学研究工作中的两个重点:基因的结构、表达与遗传工程以及植物体细胞遗传学与细胞工程,一年来有如下一些主要进展:

在分子遗传学方面,根据细胞的掺入实验,先前曾假设巨噬细胞质存在一种不依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶,这种酶具有识别蛋白质抗原的功能。为了验证这一假设,预先用羊红细胞膜刺激兔腹腔巨噬细胞,再把细胞匀浆,去掉核及碎片之后,从细胞质中提取出一种 RNA 聚合酶。用 RNA 合成的无细胞系统测定其活性。结果证明这种酶是不依赖于 DNA 的,而是依赖于 RNA,但其活性还需要有蛋白质抗原存在。初步证明它对蛋白质抗原有一定的识别能力。这些结果进一步证明了上述假设。在研究枯草杆菌核糖体蛋白质 S12 的过程中,曾观察到 S12 突变后影响到其它许多基因的表述,如丝氨酸蛋白酶活性降低,抗菌素产量降低,失去感受态,孢子形成缺陷等等。但是由于细胞基因组太大,研究这些基因表述的调节机理并非易事。1980 年发现 S12 蛋白质突变以后,还大大降低噬菌体和缺陷噬菌体的诱导。由于噬菌体基因组小,而且容易分离纯化,为研究核糖体和基因表述之间的关系提供了一个更为理想的体系。进一步工作正在进行。

在植物体细胞遗传学方面,肯定了小麦花粉植株的诱导频率是数量性状的推论;以普通小麦(6x)品种间杂种、品种以及六倍体小黑麦与小麦杂交的属间杂种为材料,通过花药培养获得缺体、单体、三体和四体等非整倍体植株,以及混倍体等植株,为染色体工程研究提供了有用材料。与甘肃农大协作,选育出具有再生植株能力、染色体单倍性稳定的玉米花粉愈伤组织无性系 No.1,为植物体细胞遗传学研究提供了有价值的试验材料。在细胞杂交方面,利用烟草 B6S3 瘤组织的生长激素自养、不能再生以及含章鱼碱等特性和与这些特性相反的茄科植物建立了杂种细胞植株选择体系,从而获得矮牵牛 W43 和烟草 B6S3 瘤细胞,以及 B6S3 瘤细胞和烟草 *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi 间的细胞杂种植株,并完成了 LpDH 的转化,开展了有意义的遗传操作研究。在植

物细胞诱变与饰变的研究上,进一步研究了影响水稻小孢子(花粉粒)发育的诸因素,改进了培养技术,提高了绿苗诱导率;初步建立了大豆细胞系 SB-1 与玉米、甘蔗胚性细胞团的繁殖体系,并进行了细胞诱变和饰变研究。此外,甘蔗花药培养,与轻工业部糖业科学研究所协作,获得了来源于五个品系的花粉植株,建立了获得大量小植株的培养程序,选出了含糖量高的新个体(锤度较供体提高 3%),繁殖了无性系;三叶橡胶的花药培养,与保亭热作所和海南橡胶所协作,改进了培养技术,显著地提高了花粉植株的诱导率,从过去的 0.05% 提高到 3%,移栽成活率达 50% 以上,并且繁殖了花粉植株无性系。

人类基因频率调查研究,今年先后对甘肃、青海、宁夏、内蒙、东北、四川、海南岛等十多个省、市、地区的东乡族、回族、保安族、羌族、彝族、朝鲜族等十几个少数民族的近亲结婚率、初潮年龄、血型等六个指标进行了调查,积累了资料,为进一步作人类遗传学分析打下了基础。

在细胞质遗传方面,进行了菠菜叶绿体 DNA 的分离,获得闭合环状叶绿体 DNA 分子,使研究叶绿体遗传有了良好的开端。

在植物远缘杂交方面,再次验证培养成活了一些栽培和野生种的棉花种间杂种,并获得一批具有丰产性好、绒长、弹力强度大、纤维质量好的株系,为创造新类型棉花提供原始材料。

此外,在应用研究方面,与有关单位协作,对培育的水稻花育一号新品种、甘薯 67-8 新品种等进一步扩大试种,并进行了现场鉴定;多穗玉米在通县试种 3 年表现良好,受到北京市科委和有关生产部门的重视。

一年来,我所 11 名研究生进行了论文工作,取得一批阶段性成果。有论文摘要 17 篇,一并汇编于本集中。

胡 含 邵 启 全

1981 年 2 月

目 录

第一研究室

- L615 细胞染色质的初步研究 刘连瑞、王金霞、宁益华、冯尚 (1)
- 真核生物 RNA 聚合酶 B 的抗原特性 王斌、王恢鹏、黄崇喜、张大达、王金霞、刘连瑞 (2)
- 巨噬细胞中与抗原识别有关的 RNA 的合成时相及非 tRNA 性质 李延、尚芙蓉、王壮、黄华樑 (3)
- 在抗原刺激下巨噬细胞 RNA 离体传递免疫活性的研究 尚芙蓉、李延、黄华樑 (5)
- 膜蛋白的溶解及其对兔脾细胞中 DNA 合成的促进 王苏生、陈艾、褚捷 (6)
- 平阳霉素的遗传学效应 陈玲爱、童克忠、王玮 (8)
- 枯草杆菌依赖链霉素寡孢子突变体的蛋白质合成 张秀媛、丁家炳、翁曼丽、童克忠 (9)
- 琼脂糖凝胶电泳制备细菌质粒 DNA 黄大年、杨涛兰 (10)
- 枯草杆菌抗利福霉素突变体的分离与鉴定 金振华、尧素芳、马志方、周素、王玮 (11)
- 构建克氏固氮基因重组质粒 黄大年、杨涛兰、刘风华、徐乃正 (12)
- 用于基因表达的大肠杆菌小细胞系统的研究 朱荣焕、徐乃正、张丽华 (13)
- 根瘤菌大质粒的筛选和鉴定 丁勇、徐琼芳、苗毓桦、杨涛兰 (14)
- 正常状态和抗病毒状态的 HeLa 细胞翻译小鼠干扰素 mRNA 能力的比较 朱立煌、胡乃璧、梁志国 (15)
- 固氮质粒 pRD1 接合转移到水稻根系菌的初步研究 王毓琦 (16)
- C₅₇ 小鼠干扰素的整体诱导及其 mRNA 在非洲爪蟾卵母细胞内的翻译 梁志国、费云标、郭玉凤、李小兵、朱立煌、胡乃璧、林友刚 (17)
- 干扰素抗病毒活性的微量检测 梁志国、朱立煌、胡乃璧 (18)
- 六种质粒对 *Bacillus subtilis* Ki-2-132 的转化及其在 Ki-2-132 中不稳定性的比较 魏荣瑄、孙永华、杨月琴、章银梅、汤懋斌 (20)
- 枯草杆菌原生质体融合转移 pUB110 质粒的研究 李明凤、范树田、汤懋斌、魏荣瑄 (21)
- 用溶菌酶溶菌提取金黄色葡萄球菌质粒 DNA 的方法 孙永华、汤懋斌 (22)
- pUB110 和 pBR322 质粒构建杂种质粒基因表型表达的研究 汤懋斌、杨月琴 (23)
- 小鼠乳腺癌细胞中 ATP 酶活性定位的电子组织化学研究 王玉元、高文琴 (25)

第二研究室

- 小鼠、家兔胚胎细胞核中的性染色体 蒋耀青、孙海源、张乃昌、李芳媛 (26)
- 番鸭、连城鸭及其属间杂种的体细胞染色体比较 程光潮、吴丽城 (27)
- 来航鸡京白 II 系近交试验初步效果 崔道枋、李东、段章雄、程光潮 (29)
- 来航鸡京白 I、II 系主要经济性状遗传参数的估测 崔道枋、段章雄、程光潮 (31)
- 小鼠胚胎快速冷冻和解冻后的活力 陈秀兰、白琴华、谭丽玲、李树英、袁义达 (33)
- 正常中国人染色体 Q 带带型 周宪庭、李锦霞、崔梅影、傅维宁 (35)
- 吸烟与姊妹染色单体交换 崔梅影、徐玖瑾、周宪庭 (36)

中国人群染色体Q带多态性——汉族和黎族人群的比较	周宪庭、汤火顺、许碧珍、傅维宁、肖桂芳 (37)
人的C带多态遗传的初步研究	董兆文、汪安琦 (39)
用银染技术观察多囊卵巢病人淋巴细胞的rRNA基因活性	李心治、周宪庭 (41)
人体染色体彩色RFA带	周宪庭、傅维宁、肖桂芳 (42)
L615小鼠中期染色体的银染研究	李实喆、李立容、王宗仁 (43)
羊水细胞原位培养法	李锦霞、汤火顺、汪安琦 (44)
家畜血清乳酸脱氢酶同工酶的分离和定性条件的研究	陈幼臣、杨秀琴、羿汉卿、周爱勤 (45)
小鼠早期胚胎乳酸脱氢酶同工酶毛细管电泳的研究	陈幼臣、杨秀琴 (46)
绵羊与小鼠胚胎培养条件的相似性	魏钧、王秀梅、孟祥君、王培生、孙孝仙、杭维才 (47)
小鼠胚泡注射TCM-199溶液后的发育	王培生、李树英、魏钧 (48)
金鱼(<i>Carassius auratus</i>)染色体组型的研究: I. 鲫鱼和红龙睛金鱼染色体组型的比较	王春元、李延龄 (49)
金鱼乳酸脱氢酶同工酶的发生遗传学研究: I. 鲫鱼和红龙睛金鱼各组织器官乳酸脱氢酶同工酶的比较	罗莉中、毕世华、王春元 (50)
北京动物园中亚马鹿的染色体组型多态现象	王宗仁、杜若甫 (52)
青鹿、爪哇鹿、东北马鹿和日本梅花鹿的染色体组型	王宗仁、杜若甫、许娟华、车启承 (53)
鹿属(<i>Cervus</i>)染色体组型的进化	王宗仁、杜若甫 (55)
白唇鹿(<i>Cervus albirostris</i>)的染色体组型、C带和G带带型	王宗仁、杜若甫、许娟华、车启承 (57)
中国不同民族色觉异常发生率的调查	王永发、毛钟荣、陈良忠、崔梅影、徐玖瑾、杜若甫 (59)
鄂温克族人类遗传学调查	陈良忠、杜若甫、彭明文、宝音图 (60)
鄂伦春族人类遗传学调查	陈良忠、杜若甫、毕平安、彭明文、宝音图、涂云亭 (62)
中国不同地区与民族的近亲结婚率	杜若甫、赵宗良、徐玖瑾、王永发、崔梅影、毛钟荣、李绍武、李实喆、陈良忠 (64)
中国不同民族中苯硫脲味盲基因频率的研究	徐玖瑾、毛钟荣、李绍武、崔梅影、王永发、陈良忠、杜若甫 (66)

第三研究室

花药培养产生小麦非整倍体植株: I. 来源于普通小麦品种间杂种的花粉非整倍体植株	郝子英、景健康、胡含、穆素梅、李振声 (68)
花药培养产生小麦非整倍体植株: II. 来源于普通小麦品种的花粉非整倍体植株	景健康、郝子英、胡含 (69)
小麦花药诱导单倍体植株的减数分裂分析	郝水、何孟元、徐宗尧、邹明谦、胡含、郝子英、欧阳俊闻 (70)
小麦花药培养对培养温度的反应(初报)	欧阳俊闻、周淑明、贾双娥 (71)
小麦花粉愈伤组织分化的研究	庄家骏、贾旭 (73)

普通小麦与小偃麦中间型杂种的花粉植株的诱导	庄家骏、贾旭 (75)
(小黑麦×小麦) F ₁ 花药培养获得花粉植株	王兴智、胡舍 (76)
单倍体小麦植株小孢子的 DNA 合成	曾君祉、胡舍、张汉、张传善、徐宗尧、郝水 (77)
小麦花粉发育时期对花药培养的影响	何定钢、欧阳俊闻 (78)
水稻花药低温预处理和预培养对游离花粉粒启动和发育的影响	陈英、左秋仙、李淑媛 (80)
从只经过低温预处理的水稻游离花粉培养诱导成绿色植株	左秋仙、陈英、李淑媛 (82)
水稻花药液体漂浮培养提高分化频率试验	田文忠、陈英 (84)
杂种 F ₁ 起源的花粉植株间的性状分离与重组	姜锡一、李良材 (86)
植物细胞诱变的研究: II. 不同诱变处理对水稻、甘蔗、玉米细胞培养物生长与分化的影响	陈少麟、田文忠、张桂华 (88)
水稻游离花粉培养的活体观察和缩时显微摄影(初报)	渠荣达、陈英 (90)
离体培养的烟草 B6S3 愈伤组织能利用 D-乳糖	李向辉、O·席德尔 (91)
大麦叶肉原生质体培养中核酸酶活性的研究	颜秋生、李向辉 (92)
LpDH 活性做为一个标记在烟草瘤和正常烟草间的体细胞杂种植株中的表达	李向辉、O·席德尔、黄美娟、李文彬 (93)
通过原生质体融合法使合成章鱼碱的能力在植物瘤和正常细胞间转移	李向辉、李文彬、黄美娟 (94)
<i>Nicotiana glauca</i> 原生质体再生植株	李向辉、黄美娟、李文彬、孙勇如 (95)
从单倍体烟草细胞筛选出抗 5MT 的无性系并再生植株	孙勇如、李文彬、黄美娟、李向辉 (96)
几种蔬菜作物原生质体培养的研究	李文彬、孙勇如、黄美娟、李向辉 (97)
草木樨叶肉原生质体再生愈伤组织	黄美娟、孙勇如、李文彬、李向辉 (98)
毛地黄叶肉原生质体再生小植株	李向辉 (98)
灰藜叶肉原生质体再生愈伤组织	黄美娟、李文彬、孙勇如、李向辉 (99)
在继代培养中玉米花粉愈伤组织的全能性及其遗传稳定性	谷明光、张雪琴、曹致义、郭彩月 (100)
经长期继代培养的玉米花粉愈伤组织无性系的染色体组型的研究	谷明光、张雪琴 (102)
用 Giemsa C-带技术研究玉米粗线期染色体	谷明光、丁玉澄、张雪琴 (103)
玉米花药培养过程中过氧化物酶同工酶的分析	郭丽娟、陶自荣 (104)
三叶橡胶及甘蔗花药培养的进展	陈正华、钱长发、岑明、许绪恩、肖育玲、林明云、邓重熹、吴四黎、黄南生 (105)
油菜花药培养及小孢子发育的研究	陈之征、陈正华 (106)
秋水仙碱对玉米花粉培养倍性水平的影响	黄娇香、关月兰、郑万珍 (107)

第四研究室

菠菜叶绿体 DNA 的分离	李继耕、舒群芳、耿玉轩 (109)
C 型玉米细胞质雄性不育系叶绿体超微结构的研究	刘一农、李继耕 (111)
玉米细胞质雄性不育叶绿体基因组的异质性	刘一农、李继耕 (112)

几种 C_3 和 C_4 作物的 RuBP 羧化酶和 PEP 羧化酶活性的比较研究	刘祚昌、罗会馨、陈福太、吴光耀、邓岳芬 (113)
二磷酸核酮糖羧化酶的分离提纯及其等电点聚焦电泳	刘祚昌、陈福太、罗会馨、李继耕 (114)
二磷酸核酮糖羧化酶活性与细胞质雄性不育的比较研究	刘祚昌、罗会馨、陈福太 (116)
两种融合剂对原生质体摄取叶绿体的效果比较	赖世登、曾孟潜 (117)
玉米授粉前后花粉和花丝中的同工酶研究	李继耕、杨太兴 (118)
玉米杂种优势的同工酶预测	曾孟潜、杨太兴 (120)
中国糯质玉米籽粒氨基酸成份的分析	曾孟潜、杨太兴、贺宝珍 (122)
玉米叶片中过氧化物酶、细胞色素氧化酶同工酶的细胞内定位	曾孟潜、杨太兴、赖世登、邵勤田 (123)
白菜不同杂交组合的过氧化物酶同工酶的等电聚焦研究	李玉湘 (124)
高温对高粱雄性不育系育性基因表达的影响	张孔滢、傅鸿仪 (126)
高粱恢复系可育基因的非配子融合转移及其后代表现	刘根齐、张孔滢、孔繁瑞 (127)
高粱类型及三系酯酶同工酶的初步研究	任治安、李兆瑞、张孔滢 (128)
一种强烈的环境诱变剂	王钦南、艾先元、周祉祯 (130)
平阳霉素的细胞遗传学效应	谷爱秋、耿玉轩、艾先元、周祉祯 (131)
普通烟草与黄花烟草原生质体融合产生的种间杂种植株	王培田、陈家玉、赵世民、徐金相、王联清 (133)
有关花粉育性的细胞质因子及核基因在水稻进化树上的分布规律	王培田、陈家玉、许莉萍、王联清 (135)
水稻品种紫色性状的分布与恢复基因分布之间的相关性	王培田、陈家玉、许莉萍、王联清 (137)
诱导具有细胞质呼吸缺陷的酵母突变体	徐志彦、王培田 (139)
从未传粉的小麦子房培养诱导出单倍体植株	祝仲纯、吴海珊、安庆坤、刘振岳 (141)
离体培养未传粉的烟草子房	祝仲纯、吴海珊 (142)
从萝卜的下胚轴诱导出植株	祝仲纯、吴海珊 (143)
普通小麦和密穗小麦杂交获得新的雄性不育类型	陈和荣、潘湘民、杜允、张玉香 (144)
雄性不育小麦花粉败育的细胞学观察	杜允、潘湘民、陈和荣 (145)
谷子光补偿点的初步研究	余彦波、刘桐华、江利群 (146)
青藏高原栽培作物及其近缘野生种在北京地区生育特性的表现	麦先齐、姚树江 (148)
中国地方小麦品种及其近缘野生植物同工酶的分析	余光泽 (150)
不同地区小麦和大麦品种及其近缘野生植物细胞学观察	李敬仪、周述明 (152)

第五研究室

西藏半野生小麦和普通小麦杂交一代的初步研究	邵启全、蒋兴邨、李安生 (154)
若羌古麦的初步研究	邵启全、蒋兴邨、李安生、陈永强 (155)
青藏高原野生大麦杂种 F_1 遗传学研究	周泽其、邵启全 (156)
青藏高原野生大麦的酯酶同工酶分析	周泽其、邵启全 (158)
在玉米和摩擦禾远缘杂交中的无融合生殖	林建兴、柏慧霞 (159)

筛选大豆高光效基因型的有效方法	林建兴、张性坦、赵存、柏慧霞、牛德水、丁家炳、张帆 (160)
小麦、黑麦和小黑麦酯酶同工酶的比较研究	吴郁文、张翠兰、张炎 (162)
小麦亚族 (<i>Triticinae</i>) D 染色体组酯酶同工酶的表现	张翠兰、吴郁文、张炎 (164)
从小麦及其杂种幼胚的愈伤组织诱导植株	张帆、张炎、汪永祥 (166)
节节麦与普通小麦远缘杂种的性状遗传初报	张炎、吴郁文、张翠兰、张帆、汪永祥、袁淑安 (168)
山羊草属与小麦属杂种 F_1 细胞学观察: II. (偏凸山羊草 $\times$ D213) F_1 花粉母细胞的 减数分裂	袁淑安 (170)
授以 γ -线照射过的花粉诱导普通小麦单性生殖	曹化林、宋海燕、魏秀玲、胡启德 (171)
普通小麦与球茎大麦杂交亲和性的测定	李大玮、何宗宇、胡启德 (172)
胚乳发育对种间杂种形成的重要作用	梁正兰、孙传渭 (174)
植物激素对促进棉花种间杂种胚胎发育的影响	孙传渭、邱仲锦 (176)
第六研究室	
高产新品种遗 67-8 的培育	以凡、杜述荣、林自安、魏秀玲、蒋兴邨、欧笑兰、苗毓桦 (178)
甘薯愈培号植株的产生与培育	以凡、王文质、杜述荣、林自安 (179)
对甘薯及其近缘植物的染色体观察	王文质、林自安、杜述荣、以凡 (181)
多穗玉米单交种的培育和试种	周子恕、覃作干、周文娟、谭萍萍 (181)
技术室	
红宝石激光显微照射对烟草叶肉原生质体再生细胞的选择性损伤	梁宏、王兰岚、孙勇如、孙宝霞、陆仲康、邓燕华 (182)
红宝石激光微束照射对小鼠和兔早期胚胎存活的影响	白琴华、陆仲康、谭丽玲、刘福全、梁宏、陈秀兰 (183)
中国仓鼠肺细胞 (CHL) 细胞行为变化的显微摄影观察	刘敏领、刘连瑞、徐正平、宁益华、欧笑兰、王恢鹏 (184)
秋水仙素对中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 细胞分裂影响的显微摄影观察	刘敏领、刘连瑞、欧笑兰、宁益华、徐正平 (186)
用于 ^3H -植物材料液体闪烁计数的样品消化研究	梁玉梅、郭朝忠、周芬 (188)
615 小鼠内脏细胞碱性磷酸酶的定位	贾敬鸾 (190)
利用 Giemsa N-带技术研究栽培大麦和野生大麦之间的亲缘关系	姚 珍 (191)
组蛋白和精蛋白的高分辨核磁共振研究	袁传照、张诚、吴军 (193)
组蛋白 F_{2a} 、 F_3 及其与 DNA 相互作用的核磁共振研究	袁传照、杜保兴、黄茂开 (194)
核酸、聚核苷酸的 ^1H 、 ^{13}C 、 ^{31}P 核磁共振研究	袁传照 (195)
已发表的论文	(197)

国际国内学术交流

国际性学术活动	(201)
外国专家来所做的学术报告	(202)
国内学术活动	(203)

L615 细胞染色质的初步研究

刘连瑞 王金霞 宁益华 冯 尚

染色质是核真生物基因表达的基本结构,探讨染色质的结构是为了了解真核生物的基因表达。核体是构成染色质的基本单位,它是由核心组蛋白和围绕组蛋白的 DNA 所组成。由对 DNA 链上的碱基排列的异质性,所以核体也有不同的性质,有些核体区域是合成 RNA 的活性区域,另一些区域则不合成 RNA。此外,与核体联系的一些非组蛋白也是调节基因表达的重要因子。为了研究转录的调节,我们对 L615 细胞株染色质的结构性质进行了初步研究。

L615 细胞染色质与其他高等生物一样,组成核体的 DNA 包含 200 个碱基对。用小球菌核酸酶降解染色质,反应 30 秒钟,聚丙烯酰胺凝胶电泳指出染色质被切割成单核体、二聚体、三聚体以及多聚核体等。随着反应时间的增加,染色质逐渐被降解成单核体,在 30 分钟后,电泳只有单核体一条 DNA 条带,其 DNA 片段仍然保持 200 个碱基对。

在我们的实验中,从 L615 细胞提取的染色质其核酸和蛋白质的比例是:DNA:组蛋白:RNA = 1:1:0.6—0.2。以 L615 小鼠 RNA 聚合酶 B 催化转录的实验中,对 L615 细胞核、染色质和 DNA 进行了转录活性的比较,结果表明,以裸露的 DNA 为模板转录活力最高 (2374 cpm),细胞核次之 (2162 cpm),染色质比前两种都低 (1945 cpm)。我们推测 RNA 聚合酶可能结合到 DNA 的任何部位,从而易于启动转录,而染色质由于存在着大量的蛋白质,更接近于天然状态,限制了 RNA 聚合酶的随机结合,也可能有一些转录调节因子在染色质纯化过程中丢失,所以它的转录活力较低。完整的细胞核本身的转录调节机制没有受到破坏,因此在含有合成 RNA 底物的条件下,能够特异性地启动基因大量地转录。

为了确定染色质转录异质性,我们将 L615 细胞染色质用小球菌核酸酶降解,通过离心和溶解,把它分成第一次上清 (1SF),第二次上清 (2SF) 和沉淀 (P) 三部分。通过凝胶电泳分析证明 1SF 是单核体部分,它占染色质总 DNA 量的 10%;2SF 主要是单核体,占染色质总 DNA 量的 3—5%;P 是多聚核体部分。

为了测定上述染色质三种分段的 DNA 转录活性,我们从 L615 细胞中提取了 ^3H 标记的含 poly(A) 的 RNA。将这种 RNA 放在麦胚翻译系统中(此系统是从科中 110 小麦品系中提取的)测定,结果证明这种 RNA 的翻译能力是对照的 8 倍。利用这种 poly(A)RNA 与 L615 上述不同染色质 DNA 的分段进行分子杂交,结果表明 1SF DNA 杂交频率是 2SF DNA 的 4 倍,是 P DNA 的 2 倍。因此,我们认为 1SF DNA 是 L615 细胞染色质富含结构基因的部分,这一部分在小球菌核酸酶降解时很快的被释放出来。2SF DNA 片段则是 L615 细胞基因活性弱的部分,或者是不含结构基因的 DNA 片段。P DNA 是被小球菌核酸酶降解后留下来的部分,它仍然保留了一部分基因活性区域,可能由于染色质结构的差异,这一部分结构基因不能被小球菌核酸酶很快的降解而释放出来。

真核生物 RNA 聚合酶 B 的抗原特性¹⁾

王 斌 王恢鹏 黄崇喜 张大达 王金霞 刘连瑞

用免疫学方法研究真核生物的 A、B、C 三种 RNA 聚合酶,近年来已有很多报道,但其中有关 B 酶免疫成功的报道甚少。迄今为止,用昆虫的 RNA 聚合酶 B 免疫兔子获得成功,Ingles 实验室用小牛胸腺 RNA 聚合酶 B 免疫母鸡也获得成功。我们用本实验室提取的 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 免疫母鸡,成功地获得了抗血清,并研究了这种抗血清对 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 的抑制作用,以及它和多种 RNA 聚合酶的交叉免疫反应。

用提纯的 B 酶免疫成年母鸡(来航鸡)。首次免疫时,以 1 毫升酶加 2 毫升 Freund's 完全佐剂,完全乳化后进行肌肉和皮下多点注射。第一次免疫后,每隔 8—10 天,以 1 毫升酶加 2 毫升不完全佐剂,完全乳化后同样进行肌肉和皮下多点注射。免疫 4—5 次即可获得抗血清。用这种方法进行免疫成功率很高,不同时间提取的四批酶进行免疫,都获得了成功,但所获得的抗血清效价随酶的批号和鸡的个体不同而不同。

在免疫沉淀反应中,小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 和这种抗血清之间产生清晰的沉淀线,而与对照血清之间不产生沉淀线;这种抗血清与小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 A 和 C 及大肠杆菌 RNA 聚合酶之间不产生沉淀线,与 L615 小鼠及大鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 之间产生弱的沉淀线。一个批号的 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 所产生的抗血清和不同批号的 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 之间都产生沉淀线。免疫沉淀的结果表明,615 小鼠肝细胞的 RNA 聚合酶 B 与 A 和 C 在免疫学上是不同源的,与大肠杆菌的 RNA 聚合酶也是不同源的,而与 L615 小鼠及大鼠肝细胞的 RNA 聚合酶 B 有同源性。虽然如此,但也存在着免疫学上的差异。我们认为免疫学上的这些同源性和非同源性可能与这些 RNA 聚合酶亚基结构上的异同有关。

为了证明这种抗血清和 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 的结合是特异的,将 615 小鼠肝细胞的 RNA 聚合酶 A、B,以及大肠杆菌的 RNA 聚合酶分别在不同的试管中加入抗血清,另取三支试管,一支中加入正常血清和 615 小鼠肝细胞的 RNA 聚合酶 B,另两支试管中分别只加入抗血清或正常血清。各试管都在 37℃ 保温 30 分钟,然后在 4℃ 冰箱中过夜,离心,将沉淀和上清液分别收集起来进行电泳分析。上清液电泳结果表明,只有抗血清和 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 那管的上清液电泳图中,免疫球蛋白的条带消失了(因为和抗原生成了免疫沉淀),其它各管中,免疫球蛋白的条带依然存在。关于免疫沉淀物的电泳分析正在进行中。

这种抗血清对 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 离体转录活性有明显的抑制作用。当酶的用量为 30 微升,抗血清用量在 10 微升以下时,抑制作用随抗血清浓度的增加而增强。这种抗血清对大肠杆菌 RNA 聚合酶的离体转录活性没有抑制作用。

1) 作者感谢李宏广和 202 组同志们对本工作的大力支持。

巨噬细胞中与抗原识别有关的 RNA 的合成时相及非 tRNA 性质

李 延 尚芙蓉 王 壮 黄华樑

我们曾发现在利福平完全抑制巨噬细胞正常转录之后, 外来抗原仍能促进细胞内的非正常转录的 RNA 合成。经聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 这是一种 4—5 S RNA。由于自体红细胞膜(抗原)并不能刺激这种 RNA 合成, 因此有理由认为这种 RNA 与抗原识别有关。

为了研究这种 RNA 在不同时间合成的动态过程, 采用先前报道的方法, 预先用高剂量利福平 (500—1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 完全抑制巨噬细胞的正常转录之后, 同时加入抗原 (羊红细胞膜 1.5mg/ml) 和 ^3H -尿苷 (4 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$), 保温 2、5、10、15、20 分钟之后分别从细胞提取 RNA, 电泳分析不同时间新合成的 RNA 谱。为防止 RNA 在提取过程中降解, 曾比较了几种提取方法, 最后采用氯仿-酚-SDS 法, 并加皂土作为 RNase 的抑制剂。

先前的实验证明, 这样高剂量的利福平足以完全抑制巨噬细胞的 RNA 合成 (黄华樑等: 1980. 遗传学报, 7(1))。就是在这样的条件下, 外来抗原在 2 分钟之内便能刺激细胞的部分 RNA 合成, 而且主要是 4—5 S RNA 的合成 (图 1a)。这说明利福平的抑制并未使巨噬细胞丧失对外来抗原作出迅速反应和识别的功能。从 5 分钟之后高分子量 RNA 才普遍合成 (图 1b) 来看, 有理由认为与抗原识别有关的 RNA 在合成时间上稍早于为吞噬过程所需的正常转录。细胞仍然保持着正常转录的调控能力, 只是随着时间的延长, 这种能力逐渐丧失 (图 1b—c), 到 30 分钟时只剩下不受利福平抑制的非正常转录的 RNA 合成 (4—5S) 【黄华樑等: 1981. 遗传学报, 8(1)】。从 4—5 S RNA 与高分子量 RNA 的数量同时下降的趋势看来, 30 分钟时出现单独的 4—5 S 峰显然不是由于高分子量 RNA 降解的结果。

由于与抗原识别有关的 RNA 分子大小与 tRNA 差不多, 因此有必要确定它是否具有 tRNA 受纳氨基酸的性质。根据先前报道, 与抗原识别有关的 RNA 能特异地结合在 poly (U)-Sephadex 柱上, 所以在按上述方法提取 RNA 之后, 经 poly (U)-Sephadex 亲和层析, 把

表 1 经 poly (U)-Sephadex 亲和层析后, RNA 受纳氨基酸的性质

组 别	RNA 类 型	cpm ¹⁾
对 照	非结合部分	1676
	结合部分	19
利福平+羊膜	非结合部分	168
	结合部分	0

1) cpm 均已减去空白对照的 cpm 值 (370)。

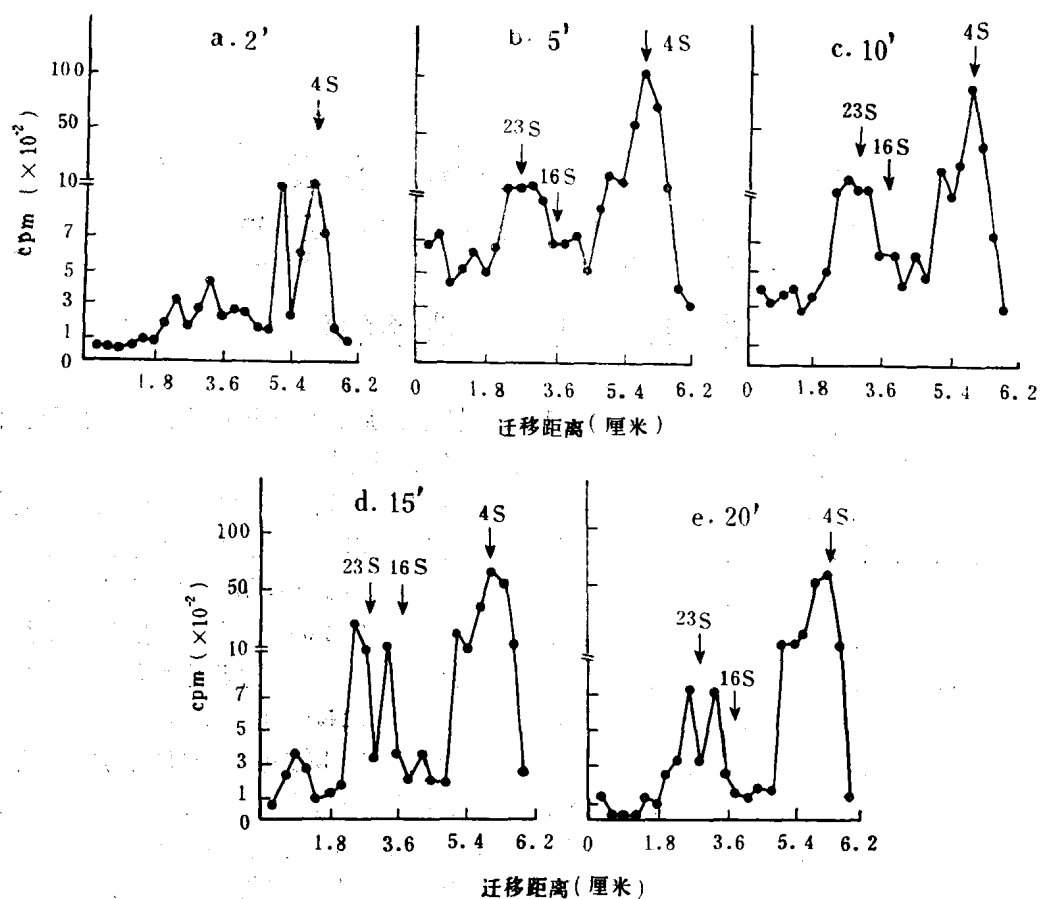


图1 经利福平抑制后,抗原刺激不同时间新合成的RNA电泳图

RNA 分成非结合部分和结合部分, 在无细胞系统中分别测定它们受纳氨基酸的能力。氨酰基-tRNA 合成酶的提取及测定方法均参照 Gadski 和 Kull (*Biochemistry*, 1973. 12 (10): 1908)。如表 1 所示, 经利福平抑制再加羊膜刺激合成的 RNA 的结合部分没有受纳氨基酸的性质, 从而进一步证明这种 RNA 不是通常的 tRNA。

在抗原刺激下巨噬细胞 RNA 离体传递免疫活性的研究

尚芙蓉 李 延 黄华樑

我们先前实验观察到用羊红细胞膜刺激的兔腹腔巨噬细胞,其 RNA 合成明显增加[黄华樑: 1981. 遗传学报, 8(1)]。为证明这种 RNA 是否能对异种动物的淋巴细胞传递免疫活性,进行了测定体外抗体形成的溶血空斑(PFC)试验。

RNA 的来源

RNA 均用氯仿-酚-SDS 法提取,并加有皂土作为 RNase 抑制剂。所测试的 RNA 来自(1)用羊红细胞免疫的兔脾,和(2)未经免疫的或用羊红细胞膜离体刺激的兔腹腔巨噬细胞。

溶血空斑单层法试验

在 42—45℃ 水浴内预热的试管中加入 1.8% 琼脂糖(用培养基 1640 配制) 0.25 ml, 50% 的羊红细胞 0.025ml, 未致敏的或用上述 RNA 致敏的小鼠脾淋巴细胞 0.25ml, 最后加入 0.2 ml 豚鼠血清(事先用羊红细胞吸附),混匀。用两条透明胶纸粘在载玻片上,覆盖一盖玻片,石蜡封边成小室。用温的滴管将上述混合液加入小室中,在 37℃ 5% CO₂ 培养箱中温育 1 小时,镜检空斑数目。

致敏小鼠脾淋巴细胞

将提取的 RNA (700—1000μg) 用 1ml Hanks' 液溶解后,加入 2×10^7 /ml 鼠的脾淋巴细胞,在 37℃ 温箱中 2—4 小时,离心,取出脾淋巴细胞。

实验结果(表 1)表明,不仅用羊红细胞免疫的兔脾 RNA,而且离体用羊红细胞膜刺激的兔巨噬细胞所产生的 RNA,都能诱导小鼠淋巴细胞产生特异的抗体。这说明 RNA 在传递免疫活性中可能起着某种重要作用,这种作用是没有物种特异性的。

表 1 RNA 离体传递免疫活性的 PFC 试验

组 别	空斑平均数(个/4 厘米 ²)
空白对照	5
未免疫的巨噬细胞 RNA	14
免疫的脾 RNA	41
免疫的巨噬细胞 RNA	36

膜蛋白的溶解及其对兔脾细胞中 DNA 合成的促进

王苏生 陈 艾 褚 婕¹⁾

现在已经知道,胸腺依赖性抗原所引起的特异免疫反应,受到免疫反应基因的控制。免疫反应基因(Ir 基因)的产物与抗原识别有密切关系。在先前的工作中,我们用绵羊红细胞膜作为抗原(胸腺依赖性抗原)研究巨噬细胞中的抗原识别作用。采用红细胞膜作抗原,有利于进行种族和个体间抗原识别的比较。但因细胞膜制剂是不溶性的悬液,不能在无细胞抗原识别系统中使用,也不能作为激活离体淋巴细胞的抗原。为了研究淋巴细胞的免疫反应基因和抗原识别过程,本文提出一种溶解膜蛋白的方法,对溶解的羊红细胞膜蛋白组分和抗原性作了初步分析,并用此溶解蛋白作抗原,刺激离体培养的兔脾淋巴细胞,观察其促进细胞中 DNA 合成的情况。

用生理盐水洗净绵羊红细胞,加入 40 倍体积的 10mM Tris-HCl, pH 7.2 的缓冲液使细胞低渗破碎,然后在 4℃ 以 25,000g 离心 30 分钟收集膜沉淀。再用上述缓冲液反复洗涤和离心至沉淀为纯白色。

为溶解细胞膜,将膜沉淀在缓冲液中匀浆悬浮,加入 15 倍体积的乙醇-乙醚(3:1)混合液摇匀,放置于 -15℃ 中 2 小时,然后在 13,000g 离心沉淀,重复操作 2—3 次,进而用盐酸胍溶解膜沉淀。为此将沉淀悬于 10mM Tris-HCl, pH8.3 的缓冲液中,加入盐酸胍至最终浓度为 6M,同时加入二硫苏糖醇(DTT),使其最终浓度为 40 mM 以还原二硫键。游离的巯基以少量的碘乙酸保护。混合液在 37℃ 保温 30 分钟后,经用 100,000g 离心 2 小时,上清液经葡聚糖凝胶 Sephadex G-25 柱过滤以除去盐酸胍,用生理盐水洗提,在柱外水体积部分可以获得明显的蛋白峰。收集后的蛋白部分洗提液是稍呈乳白色的悬液,可能是在除去盐酸胍以后膜蛋白有少量重聚所致。再经 100,000g 离心 30 分钟后能得到澄清的蛋白溶液。经用 Folin-酚法测定蛋白含量估计产率在 50% 以上。

为确定用上述方法溶解的膜蛋白的组分,进行了 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析。将用 SDS 解离的全膜蛋白与溶解的膜蛋白同时电泳比较,结果发现,解离的膜蛋白的电泳图谱中共含 14 到 16 种组分,而溶解的膜蛋白制剂中含 11 种以上的组分,基本上保留了大部分组分,唯组分 III 大为减少,且各组分的相对含量上也有较大变化(图 1)。这说明各组分与膜的磷脂成分结合的紧密程度和亲和性有一些差别,但由于溶解的膜蛋白中保留了膜蛋白的主要组分,说明上述方法是适用的。

为了测定溶解蛋白的抗原性,我们用羊红细胞直接免疫家兔获得抗血清,将此抗血清与溶解的膜蛋白作免疫扩散试验。结果发现在扩散的琼脂板上至少出现有二条以上的沉淀线。据此说明,羊红细胞膜成分中至少有二种以上蛋白质对兔的抗原性较强,而这两种蛋白已被本实验方法所溶解。

1) 天津市药物研究所进修人员。