

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

1981

(第3年出版)

科学出版社

1982

中国科学院遗传研究所

研究工作年报

(1981)



《研究工作年报》编辑小组
科学出版社
1982

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）

中国科学院遗传研究所
《研究工作年报（1981）》
《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

*

1982年8月第一版 开本：787×1092 1/16

1982年8月第一次印刷 印张：14 1/2 插页：1

印数：0001—4,200 字数：329,000

统一书号：13031·1992

本社书号：2710·13—6

定价：1.95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

一九八一年是全所职工为发展我国遗传学而辛勤劳动的一年。我所科技人员在遗传学的基础研究、应用基础研究、应用研究、实验技术研究、仪器设备研制以及开发新的研究领域等方面都做出了成绩,取得了一批成果。写成研究论文摘要在本期年报上刊登的共 124 篇。

在基础研究方面,对基因表达、DNA 聚合酶、重组质粒、染色体组型分析、雄核发育、栽培植物的起源与进化、中国人和少数民族的群体遗传研究、叶绿体遗传等方面做了大量实验,取得了一批阶段性结果。

在应用基础研究方面,对突变体的筛选、原生质体种间和属间融合、花粉植株染色体数目的变异、小孢子形态发生、原生质体的分离和培养、雄性不育的机理、新化学诱变剂的探讨、种间杂交育种原理、孤雌生殖、子房培养、株型育种等方面都取得了一批成果。

在应用研究方面,蛋鸡产蛋数的早期估测、小麦不育系的选育、甘薯良种速繁技术、多穗玉米杂交种的选育以及小麦新品种的选育等方面也取得了成果。

在仪器设备的研制及实验技术方面,血清制备方法、原生质体培养基和脱分化培养基的改进、骨髓细胞染色方法的改良、电镜技术在遗传学研究中的应用以及染色体加倍技术等方面取得了新的进展,并与北京师范学院和北京工业学院协作建立了氩离子激光微束装置在细胞操作中的实验体系。

在开设新的研究领域和国内外学者互访研究方面,与日本学者小野文一郎博士在所内共同进行了酵母菌遗传方面的研究,为我所增添了酵母菌遗传的新内容。我所派出人员在国外的实验室也做了大量的研究工作,引进了新的技术,取得了成果。

一年来我所科研人员除积极参加国内外学术活动外,还筹办了一些国际性学术会议,计有:和菲律宾国际水稻研究所、联合国教科文国际细胞研究组织共同举办了《植物遗传与育种新技术国际训练班》和《植物体细胞遗传及其在禾谷类作物中的应用》国际学术讨论会;邀请日本学者井山审也博士在我所举办全国性的数量遗传训练班;还和西德汉堡大学人类遗传研究所哥德博士、

汉诺威医学院弗莱兹博士共同举办了《中国西德人类群体遗传学》双边学术讨论会，这对于发展我国遗传学研究以及国际间学术交流起到了良好作用。

今年是我所的前身“中国科学院遗传选种实验馆”成立三十周年。它建立于1951年7月1日，是建国后成立的第一个全国性的专门从事遗传和育种研究的科研机构。我所全体职工在欢庆这个日子的同时，正乘胜前进，加倍努力，为把我所建成一个遗传学研究、训练和学术交流的国际中心之一而奋斗！

胡 含 邵启全

1982年3月

目 录

第一研究室

- 白血病 615 小鼠和 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 免疫学特性的初步比较.....
.....王恢鹏、王 斌、刘连瑞、黄崇喜、王金霞 (1)
- 高等动物依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶 B 的抗血清制备方法研究.....
.....王 斌、王恢鹏、刘连瑞、张大达、王金霞、黄崇喜 (3)
- 分离抗鹅膏蕈碱的细胞突变体..... 莫鑫泉、宁益华、冯 尚 (5)
- 巨噬细胞中一种能识别蛋白质抗原的依赖 RNA 的 RNA 聚合酶.....
.....黄华樑、尚芙蓉、李 延 (7)
- 噬菌体基因组在枯草杆菌依赖链霉素突变体中的表达.....
.....童克忠、陈玲爱、张秀媛、丁家炳、王 玮 (9)
- 枯草杆菌染色体 *strA-spcA* 区的托普霉素抗性突变.....
.....白应林、王 玮、周 素 (11)
- 枯草杆菌抗利福霉素条件孢子形成突变体的大分子合成及其 RNA 聚合酶的离体
转录.....金振华、马志方、尧素芳、周 素 (13)
- 干扰素诱生抗病毒蛋白合成动力学的研究..... 费云标、梁志国 (15)
- 枯草杆菌和大肠杆菌通过原生质体融合转移质粒.....李明凤、柳君科、范树田、汤懋斌 (17)
- 双记号重组质粒的构建..... 汤懋斌、杨月琴、胡建祥 (19)
- 从 *Staphylococcus aureus* 307 株分离的三个质粒在 *Bacillus subtilis* 中的表达及其特
性.....孙永华、李新鸣、汤懋斌 (21)
- pKCl 克隆无选择标志的 DNA 片段..... 汤懋斌、齐绍春、杨月琴、孙永华 (23)
- 中国林蛙输卵管蛋白及其基因的研究 I. 中国林蛙输卵管蛋白质的分析.....
.....王苏生、褚 婕、林友刚、徐乃正 (25)

第二研究室

- 非洲爪蛙染色体组型的分析.....孙海源、朱苏玲、张乃昌、蒋耀青 (26)
- 白化型非洲爪蛙的培育(初报).....孙海源、林友刚、张乃昌、蒋耀青 (27)
- 雌性小鼠中的钝化 X 染色体.....蒋耀青、孙海源、朱苏玲、张乃昌 (28)
- 鸡的血型研究 I. 抗血清制备方法的探讨.....程光潮、吴丽城、张 婷、崔道枋 (29)
- 鸡的血型研究 II. 抗血清分型与确定单价血清.....
.....程光潮、吴丽城、徐克学、段章雄、张 婷、崔道枋 (31)
- 来航鸡京白 II 系近交试验(第二报).....崔道枋、段章雄、程光潮、董绍棠、李 东 (33)
- 蛋鸡产蛋数早期估测的研究.....段章雄、程光潮 (35)
- 小鼠卵巢中卵母细胞体外成熟和受精.....白琴华、陈秀兰 (37)
- 多囊卵巢、乳溢症、Turner 氏综合征病人和服口服避孕药妇女核仁形成区的银染
研究.....李心治、周宪庭 (39)

家族性额外小染色体的发现及初步研究·····	董兆文、汪安琦 (41)
中国人群 1、9、16 和 Y 染色体 C 带多态性的研究——汉族和黎族人群的比较·····	李立容、许碧珍、汤火顺、肖桂芳、汪安琦、傅维宁 (43)
微型核形成过程的细胞学观察·····	颜永杉、刁霞辉 (45)
绵羊血清胆碱酯酶的多态性·····	陈幼臣、周爱勤、崔予、羿翰卿 (47)
金鱼同工酶的发生遗传学研究 II. 金鱼各组织器官苹果酸脱氢酶和葡糖-6-磷酸 脱氢酶同工酶的比较·····	罗莉中 (49)
云南黑鹿和日本屋久鹿的染色体组型·····	王宗仁、杜若甫、许娟华、车启承 (51)
鹿科动物染色体组型及其进化·····	王宗仁、杜若甫 (53)
中国十三个民族的初潮年龄·····	崔梅影、徐玫瑰、陈良忠、王永发、毛钟荣、李绍武、段章雄、杜若甫 (55)
我国妇女初潮年龄的变化趋势·····	崔梅影、徐玫瑰、段章雄、杜若甫 (57)
中国人的红细胞血型分布 I. MN、Rh 和 P 血型系统·····	袁义达、徐玫瑰、张志、杜若甫 (59)
中国人的红细胞血型分布 II. Kell、Kidd、Diego、Duffy、Lutheran 和 Xg 血型系统 ·····	袁义达、徐玫瑰、张志、杜若甫 (61)
回、苗、黎族肤纹研究(初报)·····	李实苗、徐玫瑰、崔梅影、王永发、陈良忠、袁义达、杜若甫 (64)
第三研究室	
高温与供体植株的生理状况对小麦花粉植株诱导的影响·····	景健康、郝子英、胡含 (66)
非整倍体小麦花粉植株后代的鉴定——获得 6B 单体花粉植株·····	郝子英、景健康、胡含 (67)
(六倍体小黑麦 × 普通小麦) F ₁ 花粉植株染色体的初步观察·····	王兴智、胡含 (67)
小麦和小偃麦单倍体花粉植株染色体加倍的研究·····	贾旭、庄家骏 (68)
几种因素对诱导小麦 × 小偃麦中间型杂种花粉植株的影响·····	庄家骏、贾旭 (69)
从玉米胚性细胞团分离抗 S-2-氨基半胱氨酸突变体(初报)·····	陈少麟、张桂华、田文忠 (70)
水稻雄核发育早期的细胞学观察·····	渠荣达、陈英 (71)
在水稻花药培养中几种激素对小孢子形态发生的影响·····	陈英、李淑媛、左秋仙 (73)
从水稻花粉与花粉愈伤组织分离耐氯化钠的突变体(初报)·····	田文忠、陈少麟、张桂华 (75)
一种适用较广的原生质体培养基·····	李向辉、颜秋生、孙勇如、黄美娟、李文彬、魏荣瑾 (77)
甘蔗原生质体的分离和培养·····	颜秋生、李向辉 (79)
拟矮牵牛和烟草体细胞杂种植株的获得·····	黄美娟、李文彬、孙勇如、李向辉 (80)
粉兰烟草与矮牵牛的属间体细胞杂种植株的再生·····	孙勇如、黄美娟、李文彬、李向辉 (80)
利用化学药剂诱导玉米孤雌生殖·····	赵佐宇、谷明光 (81)
化学药剂诱导玉米孤雌生殖第一代植株染色体变异·····	赵佐宇、谷明光 (82)
二倍体多年生类玉米与普通玉米杂交 F ₁ 过氧化物酶同工酶分析·····	陶自荣、郭丽娟 (84)
三叶橡胶移栽成活花粉植株的细胞学研究·····	陈正华、许绪恩、张世杰、潘勉、柯碧琼、张丽华 (85)
三叶橡胶花药培养中脱分化培养基的改进·····	钱长发、陈正华、岑明、林明云、许绪恩 (87)
油菜花药液体漂浮分步培养和高频率诱导花粉胚状体·····	陈之征、陈正华 (89)

甘蔗花药培养中的雄核发育.....陈正华、邓重焘、黄南生、吴四黎、张丽华 (91)

第四研究室

玉米叶绿体突变系中叶绿素-蛋白质复合体的研究.....李玉湘、李继耕 (93)

高粱叶绿体基因组编码蛋白质的分析.....刘祚昌、罗会馨 (95)

玉米不同细胞质雄花不育类型的同工酶分析.....杨太兴、李继耕、曾孟潜 (96)

玉米、烟草离体叶绿体分裂的观察.....曾孟潜、赖世登 (98)

玉米亲本同工酶“酶谱纯度”与杂种产量优势的关系.....杨太兴、曾孟潜 (100)

葫芦草——玉米族东方属中的一个种.....李继耕、覃作干、耿玉轩 (102)

78032 高粱新杂交种的选育和试种.....任治安、张孔焜、刘根齐 (104)

不育系与保持系杂交受精过程中恢复系 DNA 的引入.....刘根齐、张孔焜、孔繁瑞 (105)

小鼠骨髓细胞染色方法的改良.....周祉祯、宋家林、沈光平、艾先元、王钦南 (107)

平阳霉素诱发中国仓鼠细胞株染色体畸变和姊妹染色单体交换.....
.....王钦南、费云标、梁志国、艾先元、宁益华、周祉祯 (108)

关于水稻雄性不育性的细胞质因子和基因的进化规律.....
.....王培田、陈家玉、许莉萍、王联清 (109)

普通烟草与黄花烟种间体细胞杂种第二代的研究.....
.....王培田、陈家玉、赵世民、徐金相、王联清 (111)

伊型协作 2 号小麦不育系的特点.....祝仲纯、吴海珊、安庆坤、刘振岳 (113)

从(洋姜 × 向日葵)F₁ 未传粉子房培养获得单倍体植株.....
.....祝仲纯、吴海珊、安庆坤、刘振岳 (114)

青藏高原大麦和小麦的形态特征及其生物学特性的研究 I. 野生小麦和野生大麦
新类型.....李 璠 (115)

青藏高原大麦和小麦的形态特征及其生物学特性的研究 II. 染色体数与染色体
异常.....李 璠、李敬仪 (117)

青藏高原大麦和小麦的形态特征及其生物学特性的研究 III. 酯酶同工酶与植物
亲缘关系.....李 璠、余光泽 (119)

中国小麦草的细胞学及同工酶的分析.....李 璠、李敬仪、余光泽 (121)

第五研究室

青藏高原栽培大麦和野生大麦的核型研究.....周泽其、邵启全、周之杭 (123)

青藏高原栽培大麦和野生大麦的染色体 N-带带型分析.....周泽其、邵启全、周之杭 (125)

青藏高原栽培大麦与野生大麦 F₁ 的细胞学观察.....周泽其、邵启全、周之杭 (127)

高产大豆理想型的设计和筛选.....林建兴、张性坦、赵 存、柏慧霞 (130)

摩擦禾遗传物质转入玉米的研究.....林建兴、柏慧霞 (132)

偏凸山羊草 × 小麦的杂种性状遗传分析.....
.....张 炎、张翠兰、张 帆、吴郁文、汪永祥、袁淑安、肖洪佑 (134)

山羊草-小麦-黑麦三属杂种的初步观察.....
.....张 炎、吴郁文、汪永祥、张翠兰、张 帆、袁淑安、肖洪佑 (136)

普通小麦胚乳 E₁ 区酯酶同工酶的遗传控制.....吴郁文、张翠兰、张 炎 (139)

普通小麦和小黑麦正反交杂种的比较研究 I. 杂交结实率、种子形态及其酯酶同

工酶特点	张翠兰、吴郁文、张炎	(140)
一种特殊小黑麦酯酶同工酶酶谱类型	吴郁文、张翠兰、张炎	(143)
黑麦幼叶愈伤组织的诱导和器官形成	张帆、张炎	(145)
异细胞质诱发小麦雄蕊心皮化的观察	袁淑安	(147)
黑麦和节节麦的染色体加倍	汪永祥	(149)
小麦及其亲缘属光合性状测定结果初报	肖洪佑	(150)
利用球茎大麦技术由小麦品种间杂种 F ₁ 获得纯合二倍体	何宗宇、李大玮、毛钟荣	(152)
普通小麦与球茎大麦杂交的受精及幼胚发育过程	魏秀玲、曹化林	(154)
普通小麦与四倍体球茎大麦的可交配性	李大玮、何宗宇、胡启德	(156)
棉花种间不育杂种的一个分枝自然恢复育性的报道	梁正兰、姜茹琴、刘棘良	(159)
陆地棉科遗 2 号与野生棉色伯氏棉杂交的研究	刘棘良	(161)
草棉 × 比克氏棉的杂种 F ₁ 植株性状观察	姜茹琴	(163)

第六研究室

防止甘薯品种病、杂、退化方法的研究		
.....以凡、杜述荣、林自安、王文质、苏广林、谢正涛、罗开素、孙文太、李开源、康守智、方福景		(165)
甘薯无性变异的研究	以凡、王文质、林自安、杜述荣	(167)
关于薯类作物缩短育种年限的研究初报	以凡、王文质、杜述荣、林自安	(169)
甘薯愈培号植株性状的观察	王文质、林自安、以凡、杜述荣	(171)
甘薯幼龄子房诱导成株的初报	杜述荣、王文质、林自安、以凡	(172)
多穗玉米多穗白 131 和穗穗红 220 的选育	周子恕、覃作干、于兰泉、裴三辰、周文娟	(173)
几个小麦雄性不育系花粉粒败育时期、败育形态和异常现象的细胞学观察		
.....潘湘民、杜允、张玉香		(175)

技术室

用细胞化学方法分析氩激光对核仁 DNA 和 RNA 的作用	胡应和、梁宏、蒋耀青	(177)
一种氩离子激光微束装置	梁宏、陆仲康、王兰岚、胡应和、宋桂英、邓燕华、孙宝霞	(179)
三磷酸腺苷酶 (ATPase) 活性在 615 小鼠内脏细胞中的超微结构定位及其在肿瘤细胞中的变化	贾敬鸾	(181)
雄鼠 (PTK ₂) 细胞有丝分裂过程的显微摄影观察		
.....刘敏领、欧笑兰、徐正平、胡应和、王兰岚、梁宏、杨玉凯		(183)
组蛋白与环化核苷酸相互作用的核磁共振研究	袁传照、张诚、吴军	(184)
真核生物 DNA 核磁共振研究方法的改进	袁传照	(185)
核酸及其与组蛋白相互作用的 ¹ H、 ¹³ C、 ³¹ P 核磁共振研究	袁传照、张诚、吴军	(187)
真核细胞常染色质和异染色质的制备	袁传照、费云标	(189)
植物细胞酶化学的电镜研究 I. 琥珀酸脱氢酶的活性和细胞的定位	高文琴	(191)

国际间学者互访研究简报

酵母菌的抗铬突变体	小野文一郎、翁曼丽	(192)
酵母菌的对铬敏感的突变体	小野文一郎、翁曼丽	(192)
枯草杆菌半胱氨酸缺陷与铬敏感性	陈玲爱、童克忠、于雷、小野文一郎	(193)
大肠杆菌阿拉伯糖操纵子调节基因突变体的克隆化及其 DNA 碱基顺序分析		

..... Ron G. Wallace、曾伟强、李岚茜	(195)
SV ₄₀ DNA 增殖性感染时未插入 CV ₁ 染色体的研究.....曾伟强、Charles E. Samuel	(197)
人干扰素抑制 SV ₄₀ 的 DNA 复制.....曾伟强、Charles E. Samuel	(199)
杂交体细胞的形成与溶液 pH 值的关系.....颜永杉	(200)
中国仓鼠小分离细胞与小鼠细胞融合得到的杂交细胞克隆.....颜永杉	(202)
<i>Dipodomys ordii</i> 的一个重复 DNA 序列的重组改变.....刘良式、Karl G. Lark	(204)
二倍体多年生类玉米及其与玉米的杂种的减数分裂研究.....	
.....丁玉澄、谷明光、张雪琴、黄大年	(205)
玉米花粉植株体细胞染色体变异.....谷明光、丁玉澄、张雪琴、黄大年	(207)
大豆与小麦的原生质体融合.....邵启全、Peter S. Carlson	(208)
野生大豆和栽培大豆细胞株系的建立.....邵启全、Peter S. Carlson	(209)
小麦、大麦叶栅栏细胞原生质体再生细胞及分裂.....邵启全、Peter S. Carlson	(210)
小麦、大麦、黑麦染色体分离技术.....邵启全、Peter S. Carlson	(211)
植物原生质体、游离细胞扫描电镜观察技术.....邵启全	(212)
已发表的论文及著述	(213)

国际国内学术交流

国内学术活动.....	(217)
国际性学术活动.....	(219)
外国专家来我所做的学术报告.....	(221)

白血病 615 小鼠和 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 免疫学特性的初步比较¹⁾

王恢鹏 王 斌 刘连瑞 黄崇喜 王金霞

为了探索肿瘤细胞的基因表达,了解肿瘤分子生物学发生机制,我们先前的工作曾比较了 615 小鼠与白血病 615 (L615) 小鼠的肝细胞 RNA 聚合酶 B。有资料报道,应用免疫学方法,用抗 Novikoff 肝癌的非组蛋白-DNA 的抗血清,能识别 Novikoff 肝癌的染色质与大鼠肝及小牛胸腺的染色质的差别;这种抗血清与快速生长低分化的 Morris 肝癌 7777、3924-A 的染色质的免疫反应明显高于与慢生长高分化的肝癌 7800、7787 的染色质免疫反应。为此,我们试从 615 小鼠与白血病 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 的免疫学特性方面作进一步的比较。

按我们实验室以前报道过的提取 RNA 聚合酶 B 的方法及 B 酶免疫的方法,我们获得了抗 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 的抗血清(简称抗 615 B 酶抗血清)和抗白血病 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B(简称抗 L615 B 酶抗血清),并比较了这两种抗血清对白血病 615 小鼠及 615 小鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 的免疫沉淀反应,以及比较了抗 615 小鼠 B 酶抗血清对 615 小鼠 B 酶和 L615 小鼠 B 酶的离体转录活性免疫抑制作用。

在免疫沉淀反应中,抗 L615 B 酶抗血清与 615 小鼠 B 酶及 L615 小鼠 B 酶之间能产生明显的沉淀线,且两条沉淀线前端连接呈弧形,这说明 L615 小鼠 B 酶与 615 小鼠 B 酶之间具有免疫学上的同源性。这两种抗血清也能与大鼠肝细胞 RNA 聚合酶 B 产生免疫沉淀线。这一结果表明,615 小鼠 B 酶、L615 小鼠 B 酶与大鼠 B 酶之间具有免疫学上的同源性。

按照 Ingles 等的方法,用抗 615 小鼠 B 酶抗血清对 615 小鼠 B 酶和 L615 小鼠 B 酶进行预处理,测定了抗 615 B 酶抗血清对这两种酶的体外转录活性的免疫抑制作用。从实验结果得知,抗血清对这两种 B 酶的离体转录活性有明显的抑制作用,但两者之间未见明显的差别。

在先前的工作中我们曾发现,在聚丙烯酰胺浓度梯度凝胶电泳中,L615 小鼠 B 酶比 615 小鼠 B 酶多两条明显不同的带,为何这两种来源的 B 酶在免疫沉淀反应和体外转录活性免疫抑制实验中未见到明显的差别,我们推测,如用 615 小鼠 B 酶对抗 L615 小鼠 B 酶抗血清进行充分吸附,除去免疫同源性部分,再进行免疫沉淀反应和体外转录活性免疫

1) 感谢 202 组提供免疫用的母鸡及技术上的帮助。张大达同志参加部分工作。

抑制实验,可能会显示 L615 小鼠 B 酶的免疫学特异性差别。

对这两种抗血清与 615 小鼠 B 酶及 L615 小鼠 B 酶的免疫沉淀物电泳分析,可能会有助于分析这两种酶的免疫学特性。有关这两种抗血清对 615 小鼠 B 酶及 L615 小鼠 B 酶免疫学特性的进一步比较工作尚在进行中。

高等动物依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶 B 的抗血清制备方法研究¹⁾

王 斌 王恢鹏 刘连瑞 张大达 王金霞 黄崇喜

在真核生物中,关于依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶(依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶 A、B、C,以下统称为 A 酶、B 酶、C 酶)免疫特性的研究,对于了解酶的结构、功能、在细胞中的分布以及在生物进化中的变化过程,都具有重要意义。在 A 酶、C 酶及低等真核生物的 B 酶免疫特性的研究中,都有不少成功的报道,然而,许多作者报道,以传统的方法,用高等真核生物的 B 酶免疫兔子、豚鼠,都未能获得抗血清。

为了获得高等动物 B 酶的抗血清,本实验室在 1979—1981 年初,就制备方法进行了摸索。到目前为止,我们用 615 小鼠肝 B 酶、大鼠肝 B 酶、L615 小鼠肝 B 酶免疫成年母鸡都成功地获得了抗血清。迄今,就我们所看到的资料,只有加拿大多伦多大学 Ingles 的实验室和本实验室共获得了 4 种高等真核生物 B 酶的抗血清(表 1)。本文将就免疫动物、酶的乳化方法、免疫剂量,以及酶的贮存时间对免疫反应的影响作一简单介绍。

表 1 已获得的高等真核生物 B 酶的抗血清

抗血清	免疫动物	每次免疫所用酶量 (mg)	免疫间隔天数	免疫次数	免疫途径	实验室
小牛胸腺 B 酶的抗血清	母鸡 (品种未报道)	0.5—0.8	8—10	4	皮下和肌肉	加拿大多伦多大学 Ingles 的实验室
615 小鼠肝 B 酶的抗血清	母鸡 (来航鸡)	0.5—0.7	7—8	5	皮下和肌肉	本实验室
L615 小鼠肝 B 酶的抗血清	同上	0.5—0.6	7—8	5—6	皮下和肌肉	本实验室
大鼠肝 B 酶的抗血清	同上	0.8	7—8	5—6	皮下和肌肉	本实验室

(一) 免疫动物 免疫动物的选用对于能否获得 B 酶的抗血清是非常重要的。通常是用抗原免疫兔子。我们用动物的 B 酶免疫兔子,多次实验都未能获得抗血清。后来又免疫公鸡,也失败了。国外许多作者也报道过类似的现象。Ingles 的实验室用小牛胸腺的 B 酶免疫母鸡,首次获得了高等真核生物 B 酶的抗血清。我们用先后提取的 6 批 615 小鼠肝 B 酶免疫母鸡(来航鸡),都成功地获得了抗血清。但用同一批酶免疫不同的鸡,所得到的抗血清效价不同;所用的酶量不同,抗血清效价高峰出现的时间也不相同。

1) 程光潮、吴丽城、段章雄为本实验提供动物并协助作了部分动物试验;王苏生、黄华樑、尚芙蓉曾给予免疫技术方面的帮助,特此致谢。

在用 615 小鼠肝 B 酶免疫成功的基础上, 我们又先后用大鼠肝 B 酶和 L615 小鼠肝 B 酶免疫母鸡, 也成功地获得了抗血清。我们认为, 过去不能获得抗血清的原因可能在于所用的免疫动物不合适。兔子、豚鼠和大鼠、小鼠同属哺乳动物, 亲缘关系太近, 不易产生抗体。鸡属鸟纲, 与大鼠、小鼠的亲缘关系较远, 所以易形成抗体。至于为什么用公鸡就不能获得抗血清, 尚不清楚。

(二) 乳化方法 由于 RNA 聚合酶是溶于高浓度的甘油溶液中, 所以酶液是亲水性的; 而佐剂是疏水性的。因此, 当酶液与佐剂混匀后, 很容易分相。酶只有与佐剂充分乳化, 注射到动物体内后才能缓慢地释放出来, 被动物充分吸收, 从而产生抗体。因此, 使酶液与佐剂充分乳化而又不改变酶的特性, 是成功地获得抗血清的一个重要因素。关于乳化方法, 我们先后采用过超声波处理、玻璃匀浆器匀浆及用玛瑙研钵研磨等方法。实验表明, 用超声波处理虽然乳化效果好, 但影响酶的特性, 因此影响免疫反应。有时虽然也能形成抗血清, 但效价不高, 在双向扩散实验中所形成的沉淀线不集中。用玻璃匀浆器乳化的效果较差, 影响抗血清的形成。用玛瑙研钵研磨的乳化效果好, 方法也简便易行, 不足之处是研磨时间较长。

(三) 免疫剂量 以 615 小鼠肝 B 酶为例, 我们所获得的抗血清中, 免疫所用的酶蛋白量在 2.84—3.60mg 的占 66.6%, 用量最多的为 6.56mg, 而最少的仅为 2.16mg。如果控制酶的浓度在 0.5—0.7mg/ml, 每次免疫用 1ml, 一般免疫 5 次, 即所用的酶蛋白总量为 3.0—3.5mg 时, 即可获得抗血清。

(四) 酶的保存时间 我们用在液氮中贮存 13—136 天的 6 批 615 小鼠肝 B 酶免疫母鸡, 都获得了抗血清。免疫所用的酶量与其在液氮中贮存时间的长短没有明显相关性, 鸡的个体差异对免疫所用的酶量影响颇大。

在用大鼠 B 酶所做的实验中, 酶在液氮中贮存达 438 天, 进行免疫仍获得了抗血清。

很明显, 如果用哺乳动物的 RNA 聚合酶 B 免疫母鸡, 采用玛瑙研钵研磨, 将酶与 Freund's 佐剂充分乳化, 从皮下和肌肉进行免疫, 每次免疫 0.5—0.7mg, 一般免疫 5 次, 即可获得抗血清。

分离抗鹅膏蕈碱的细胞突变体

莫鑫泉 宁益华 冯 尚

借微生物遗传学中的一些方法,进行哺乳动物细胞突变体的研究是目前真核生物分子遗传研究的一个重要组成部分。我们选用中国仓鼠卵巢细胞株 CHO_{k-1} 为材料,分离了抗鹅膏蕈碱(α -amanitin)的突变体。

CHO_{k-1} 细胞在补加 10% 小牛血清, 1—2% 青、链霉素的 Eagle's 培养液中生长, 培养 48 小时后, 细胞接近生长会合层时, 移除培养液, 加 0.25% 胰蛋白酶, 在 37°C 放置 1—2 分钟对细胞进行消化, 然后移除胰蛋白酶消化液, 加入新鲜 Eagle's 培养液 9ml, 用吸管吸打, 使细胞悬浮, 细胞悬液加入小方瓶内, 继续培养 5 小时, 之后加入甲基磺酸乙酯(EMS), 使其浓度为 400 μ g/ml, 再于 37°C 培养 16 小时, 倾去诱变液, 换上新鲜的培养液, 继续培养到细胞形成会合层。加入 α -鹅膏蕈碱, 使其浓度成为 0.3 μ g/ml, 培养 10 天之后, 在倒置显微镜下找出细胞克隆, 倾去培养液, 加胰蛋白酶消化后, 加新鲜培养液在原瓶中培养, 直到细胞形成会合层。

按上述方法选出生长旺盛的抗 α -鹅膏蕈碱的细胞进一步纯化。把细胞稀释成 10 个细胞/ml 的浓度, 在 7.5cm 玻璃平皿中加 5ml 细胞悬液培养, 共有 50 个细胞。在 5% CO₂ 培养箱内 37°C 培养 10 天, 在显微镜下寻找形成的单克隆, 将形态良好的细胞克隆消化下来, 进一步培养, 使之形成单细胞群落。将这种纯化了的单细胞群落定名为 4A。

选出的 4A 细胞按每 ml 400 个细胞制成悬液, 每个培养皿加 5ml 细胞悬液。依照同

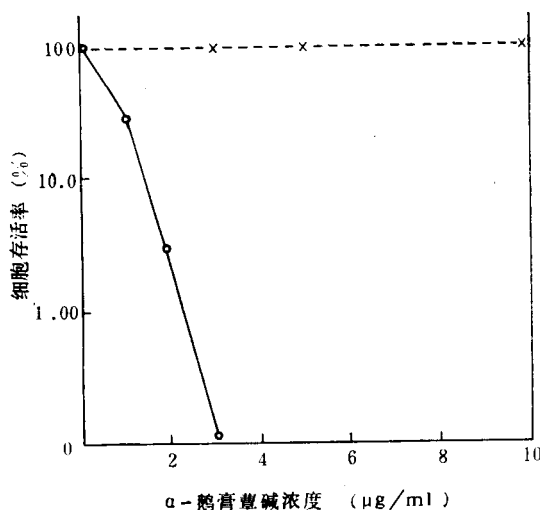


图1 4A 细胞对不同浓度的 α -鹅膏蕈碱抗性曲线

样细胞浓度制备 CHO_{K-1} 细胞培养皿作为对照。分别加入 1、2、3、5、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 α -鹅膏蕈碱，在 37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO₂ 培养箱内培养 10 天，再倾去培养液，用 95% 的乙醇固定，用 Giemsa 染色，在显微镜下计算每个平皿中的细胞克隆数。克隆数乘以稀释倍数为每 ml 细胞悬液中能形成克隆的活细胞数。结果如图 1 所示，在 CHO_{K-1} 对照培养中，鹅膏蕈碱浓度为 1、2、3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时，细胞存活率分别为 48.39%、5.02%、0.00%；突变体 4A 在鹅膏蕈碱上升到 3、5、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时，其存活率仍为 90%。在鹅膏蕈碱浓度提高到 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，4A 细胞形成的克隆很微小，只有在显微镜下方能检查出来。4A 细胞在液态氮中存放一年后，复苏，检查其抗鹅膏蕈碱能力仍旧保存。

由于 α -鹅膏蕈碱是抑制 RNA 聚合酶 B 合成 mRNA 的抑制物，所以我们诱变分离的 4A 细胞株可能是改变了 RNA 聚合酶结构的突变体。CHO_{K-1} 细胞是 pro⁻ (脯氨酸营养缺陷) 细胞。我们的 4A 细胞是抗鹅膏蕈碱的突变细胞，它是否是 pro⁻ 的突变细胞，还有待进一步证明。