

中国科学院遗传研究所《研究工作年报》(一九八六)

中国科学院遗传研究所

研究工作年报

《研究工作年报》编辑委员会

1986

(第8年出版)

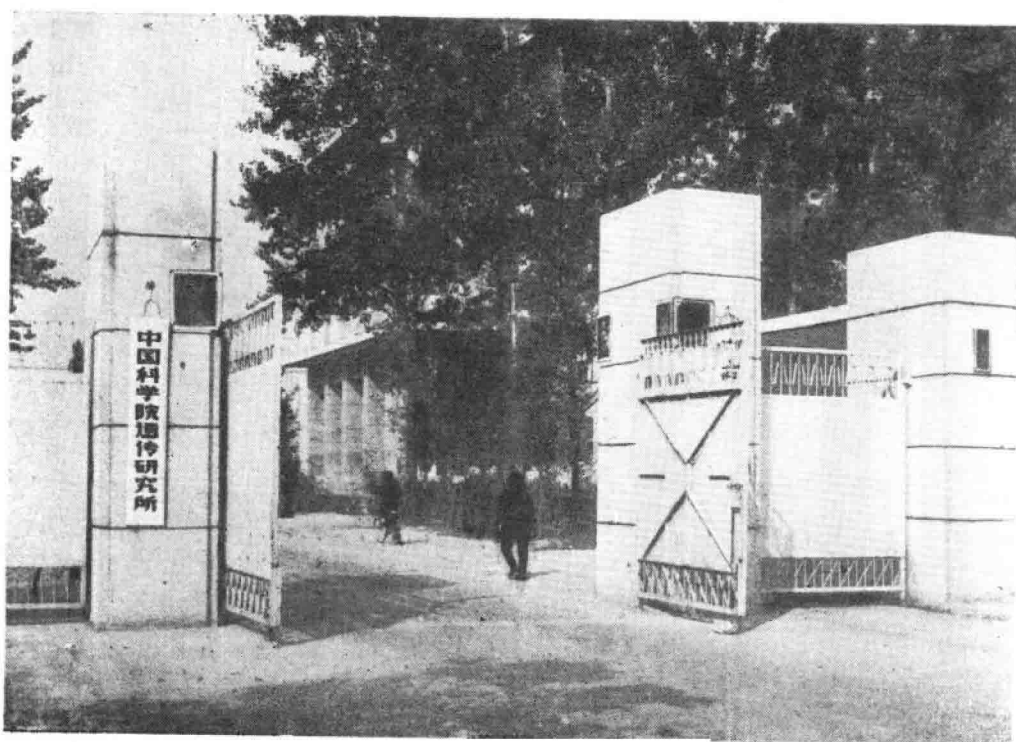
科学出版社

1988

中国科学院遗传研究所

研究工作年报

(1986)



《研究工作年报》编辑委员会
科学出版社
1988

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)
《研究工作年报 (1985)》 (1986 年第 7 年出版)
《研究工作年报 (1986)》 (1988 年第 8 年出版)

**中国科学院遗传研究所
《研究工作年报 (1986)》**

《研究工作年报》编辑委员会

*

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

*

1988 年 5 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

1988 年 5 月第一次印刷 印张: 6 3/4 插页: 1

印数: 0001—2,000 字数: 150,000

ISBN 7-03-000446-9/Q·80

定价: 2.60 元

《研究工作年报》编辑委员会

胡 含 邵启全

(以下按姓氏笔划)

王苏生 叶 晓

孙永华 朱立煌

杜若甫 李向辉

李继耕 陈 英

周宪庭 欧阳俊闻

梁正兰 梁 宏

童克忠 蒋耀青

前 言

一九八六年,我所科研人员在分子遗传和遗传工程、植物单倍体及其遗传变异、植物体细胞遗传学、植物细胞质遗传学、群体遗传学、医学遗传学和应用遗传学等领域内开展研究,完成了一批基金、合同和攻关课题。

在分子遗传和遗传工程领域,克隆和初步分析了阿特拉津抗性基因;研究了用 IgY 与蓖麻毒蛋白 A 构成的免疫毒能选择性地杀死瘤细胞,动物试验结果也显示了较好的疗效;分离了布氏杆菌弱毒株的特异成份,构建了杂交瘤基因文库,为它们的进一步研究打下了基础;通过大豆枝条上 Nopaline 基因产物的测定,证明了该基因在植株上的表达。

在单倍体及其遗传变异和植物体细胞遗传学研究,通过对远缘杂种花培植株的分析,证明了产生新类型的可能性;用幼穗培养法获得了小麦和玉米的无性系并获得分化的玉米植株;实验证明,采用两步法游离原生质体,得到了满意的结果。

在植物细胞质遗传学和雄性不育领域开展了多方面的研究,从线粒体、叶绿体DNA及其翻译产物以及热激蛋白等方面来探讨雄性不育。实验结果显示某些线粒体DNA片段可能与水稻雄性不育有关;线粒体基因组翻译产物的分析,不但说明了某些蛋白可能与雄性不育有关,而且表明了某些特异蛋白在表达上有时间的特异性;热激蛋白与升温关系的研究表明有三次协同调控的现象;核质相互作用研究表明,异细胞质可增加小麦氨基酸的含量,提高抗病能力;克隆了油菜雄性不育叶绿体DNA的三个特异片段,开拓了进一步深入研究的前景。

在人类群体遗传研究方面,根据 15 个少数民族 4 个红细胞酶的基因频率,得出了相互关系的系统树。在医学遗传学研究中,进一步研究脆点的诱导及其与某些病的联系。

此外,在应用研究中,培育出优良的青贮玉米新品种“科多 4 号”。

在一九八六年中,我所科研人员在国内外各种刊物上发表论文 54 篇。获奖的科研成果 11 项。

胡 含 邵启全

目 录

一、分子遗传学和遗传工程

水稻小分子量线粒体 DNA 的研究	王 斌、程 文、李渝南、杨孝育、张 宇、董延瑜 (1)
Nopaline 基因在大豆枝条上表达	蒋兴邨、邵启全、马广领、陈永强 (2)
带有阿特拉津抗性基因的重组质粒 pSB1350km 和 pSB1351km 的构建	朱立煌、朱荣焕、翟文学、邓万银、李 诺、李小兵、陈美玲、胡乃璧 (3)
尤葵阿特拉津抗性基因克隆 pSB1350 的初步分析	翟文学、胡乃璧、邓万银、朱立煌、李 诺、李小兵 (4)
籽粒苋 <i>Amaranthus cruentus</i> R104 叶绿体 <i>pSbA</i> 基因的定位	李小兵、甘 露、胡乃璧、李 诺、岳绍先、翟文学、邓万银、陈美玲 (5)
蚕豆 DNA 重复序列的研究: <i>Bam</i> HI 片段的克隆及限制性酶切图谱的绘制	徐琼芳、杜宝兴、刘良式、刘凤华 (6)
抗肿瘤免疫毒的研究	刘连瑞、杨涛兰、冯 尚、冯之凡、王恢鹏 (7)
L615 白血病细胞分泌的蛋白质因子	刘连瑞、冯 尚、杨涛兰、冯之凡、王恢鹏 (9)
杂交瘤基因文库的构建	黄华樑、尚芙蓉、宋海燕、王 沥 (10)
布鲁氏菌强、弱毒株抗原分析及差异成分的分离	黄华樑、魏 钧、宋海燕、李 延、陈 艾、卢景良、李节棠、王振生、石 舫 (11)
人 α D 型干扰素基因在枯草杆菌中的表达	章银梅、杨月琴、朱小荣、汤懋竑 (12)
高效表达载体 pPL 质粒与寄主	曾伟强、林友刚、杨秀琴、李春红、王东江 (13)
D-木糖操纵子限制酶图谱分析	曾伟强、杨秀琴、袁传照 (13)

二、单倍体及其遗传变异

通过花药培养进行配子分析与创造小麦新类型	胡 含、苗中和、陶跃之、郝子英、景健康 (14)
核不育小麦的花药培养	陶跃之、王亦兵、胡 含 (15)
大麦花药离体培养初报	景健康、胡 含 (16)
水稻花培白化苗质体亚显微结构的分析	陈湘宁、李玉湘、李继耕 (17)

三、植物体细胞遗传学

大麦的幼胚和幼穗离体培养	景健康、胡 含 (18)
小麦幼穗培养获得体细胞无性系	赵铁汉、胡 含 (19)
用两步法游离高质量的水稻原生质体	李良材、陈一明、陈 英 (20)
水稻高分化频率的长期组织培养物的筛选和保持	吴克强、陈 英 (21)
水稻细胞液体悬浮培养的研究	吴克强、陈 英 (23)

玉米幼穗组织培养及植株再生的研究	郑银洲、谷明光 (24)
青饲玉米体细胞无性系的建立和植株再生的研究	施介村、刘纪华、刘建军、王俊文 (25)
青饲多秆多穗玉米体细胞突变体筛选的研究 III. 从未成熟胚诱导愈伤组织的研	刘纪华、施介村、周文娟 (27)
究	
甜玉米、烟草幼穗和幼芽的组织培养研究	曾孟潜、王 杉、张玉香 (38)
君子兰快速繁殖的研究	刘纪华、施介村 (29)
体外培养的哈密瓜发育过程的超微结构研究	兰 玟、陈梅生 (31)
体外培养的哈密瓜发育过程的初步研究	兰 玟、陈梅生 (33)
NCS 和 PYM 诱发植物染色体畸变的比较研究	谷爱秋、耿玉轩、周祉祯 (34)
烟草抗黑胫病突变株系的细胞选择与遗传分析	周嘉平、周俭民、梁思信 (35)

四、植物细胞质遗传学

水稻线粒体基因组翻译产物与细胞质雄性不育性	刘祚昌、赵世民、詹庆才 (36)
小麦 T 型不育系、保持系、恢复系和 F_1 的线粒体蛋白合成分析	李 欣、刘祚昌、赵世民 (37)
高粱热激蛋白研究的新发现	张孔湑、李京京 (38)
小麦粒色的非配子融合转移试验	傅鸿仪、张孔湑 (39)
水稻岗型雄性不育类型线粒体 DNA 的电泳分析	程文、王斌、李大东、程万熙 (40)
萝卜、油菜雄性不育系及保持系叶绿体 DNA 片段的分子杂交	王 虹、孙 威、孔繁瑞、李玉湘、李继耕 (41)
油菜雄性不育系叶绿体 DNA 某些特异片段的分子克隆	高 洁、孔繁瑞、李继耕 (43)
小麦 K 型雄性不育系的育性转变	王培田、张韶辉、张 帆 (44)
玉米雄性不育花粉败育的细胞学观察	张玉香、曾孟潜 (45)
培育 (squarrosa)- 肯尼亚小麦雄性不育保持系的研究	张 炎、吴郁文、张翠兰 (46)
异细胞质增加小麦籽粒氨基酸含量	吴郁文、张翠兰、张 炎 (47)
抗病核质杂种小麦 VDKP ₂₂₈₂	吴郁文、张翠兰、张 炎 (48)
普通小麦×硬粒小麦杂种的籽粒蛋白质氨基酸组成	张翠兰、吴郁文、张 炎 (49)

五、群体遗传学与进化遗传学

彝族、藏族与哈尼族血清胆碱酯酶的遗传多态性	王力群、陈良忠、金 昊、杜若甫 (50)
哈尼族、布依族 AcP、EsD、6-PGD、GPT、Gc 的表型分布和基因频率	徐玫瑾、谭 茜、赵晓曦、杜若甫 (51)
鸡的血型研究 VIII. 滨白鸡品系间种群关系分析	程光潮、吴丽城、张婷、段章雄、刘坤凡、王 力、杨 山、刘文超、李齐华、朱大海、赵河山、王新城 (53)
鸡的血型研究 IX. 星杂 579 祖代鸡群血型测定	程光潮、吴丽城、段章雄、张 婷、郑小惠、郭伟干、王 力、刘坤凡 (55)

利用模糊数学方法分析家禽种群的遗传差异·····	段章雄、程光潮 (56)
蛋鸡配合力测定中的亲本选配方法·····	段章雄、程光潮 (57)
蛋鸡杂交试验初步结果·····	段章雄、程光潮、郭伟干、刘坤凡 (58)
番鸭×高邮鸭属间杂种 F ₃ 染色体初步观察·····	程光潮、王 力、丁余荣、苏东顿 (59)
⁶⁰ Co γ 射线和化学诱变剂复合处理水稻的生物学效应·····	吴家睿 (60)
东灰山新石器遗址的古农业遗存与中国农业的起源·····	李 璠、李敬仪 (61)

六、医学遗传学

araC 诱导的脆点与白血病染色体断点·····	李锦霞、李心治、蒋海燕、周宪庭 (63)
羟基脲、阿糖胞苷诱发脆点 3p14 的研究·····	李心治、阎祖安、周宪庭 (64)
氩离子激光微束照射诱导 PTK ₁ 细胞有丝分裂前期倒转·····	蒋如朗、梁 宏 (65)
激光微束照射 PTK ₁ 细胞染色体的研究·····	欧笑兰、邓燕华、陆仲康、梁 宏 (67)

七、动物发育遗传学

铜对小鼠生殖力和生精细胞的作用 ·····	·····蒋耀青、张乃昌、吴 鉴、顾苏滨、孙海源、朱苏玲、李芳媛 (68)
金鱼酯酶同工酶的研究 I. 鲫鱼和红虎头金鱼各组织器官酯酶同工酶的比较·····	·····王春元、王长城、金瑞蓁 (70)
金鱼酯酶同工酶的研究 II. 鲫鱼与金鱼各品种间血清酯酶同工酶的比较 ·····	·····王春元、王长城 (71)

八、应用遗传学

爆裂玉米杂种优势的利用研究 ·····	杨太兴 (72)
特用王米 O ₂ 基因的遗传特点·····	曾孟潜、王 杉 (73)
一个玉米新“白 MO17” 自交系的性状比较研究·····	杨太兴 (75)
甘薯胡萝卜素的遗传·····	王文质、魏秀玲、以 凡、杜述荣、许莉萍 (76)
甘薯淀粉产量性状的遗传·····	王文质、杜述荣、魏秀玲、许莉萍、以 凡 (77)
甘薯开花习性的遗传研究·····	王文质、以 凡、刘桐华、魏秀玲、杜述荣 (78)
均三氮苯类除草剂抗性基因在甘薯遗传中的应用 ·····	·····王文质、李 诺、以 凡、朱立煌 (79)
青贮玉米“科多 4 号”在生产上的应用·····	施介村、叶 晓、刘纪华、周文娟 (80)

九、技术与方法

培养细胞染色体的原位制片技术·····	王兰岚、蒋如朗、宋桂英、陆仲康、梁 宏 (81)
油菜、豌豆、高粱和小麦组织中碱性磷酸酶的定位·····	贾敬鸾、江利群、许莉萍 (82)
水稻单粒种子胚乳蛋白的电泳分析·····	舒群芳、王苏生 (83)
马铃薯块茎蛋白质的分析·····	舒群芳、苗毓华、以 凡 (84)
对 C ₅₇ BL/6 系小鼠污染情况的看法·····	王东江、谭 英 (85)
实验动物线粒体 DNA 提取的简易方法·····	王东江、曾伟强、杨秀琴 (86)
利用醇溶蛋白的电泳分析识别小麦种间杂种·····	张翠兰、吴郁文、张 炎 (87)
已发表的论文及著述 ·····	(88)

成果和奖励	(92)
-------------	--------

国际国内学术交流

国内学术活动	(94)
--------------	--------

国际性学术活动	(97)
---------------	--------

外国专家来我所作的学术报告	(100)
---------------------	---------

水稻小分子量线粒体DNA的研究

王 斌 程 文 李渝南 杨孝育¹⁾ 张 宇 董延瑜²⁾

细胞质雄性不育 (CMS) 已广泛应用于杂交育种。CMS 是一种母系遗传的性状, 它引起花粉败育, 因此不能授粉结实。它是由于细胞核和细胞质失调引起的。控制这种失调的因子或在细胞核上或在线粒体上。在细胞核上的称之为恢复基因的某些因子可以使育性恢复。线粒体 DNA 的改变(如突变、重排等)也可以导致育性恢复。

近年来, 越来越多的证据表明, 在玉米中, 控制 CMS 的因子位于一些小分子量的线粒体 DNA (mt DNA) 上, 这些 mtDNA 被特称为质粒状 mtDNA。和玉米 CMS 相关的质粒状 mtDNA 是 S-1 和 S-2。近来在很多高等植物中都发现了这类小分子量 mtDNA。在某些作物中(如高粱、甜菜、蚕豆、向日葵、水稻)这类小分子量 mtDNA 数量及大小的变化也是和 CMS 相关的。

中国在杂交水稻生产实践上在世界上处于领先地位, 但对水稻 CMS 分子机理的研究刚刚起步。我们对中国杂交水稻生产中应用最广泛的野败、苞苔、岗比亚、红莲四个不育类型的 9 个杂交组合的不育系、保持系、恢复系及杂种一代的 mtDNA 进行了比较, 发现在所检查过的 3 个苞苔型杂交组合中, 其不育系都含有一条分子量为 19kb 的 DNA 带, 我们称它为 M, 而在保持系和恢复系中都没有, 但在 F₁ 杂种中有 M 存在。这些结果表明, M 可能与苞苔型水稻 CMS 有关。在所检查过的所有野败、岗比亚、红莲型材料中都没有发现有 M。

此外, 在所检查过的所有材料中都含有一些分子量在 1.2—4.2kb 的小分子量 mtDNA。但只在一个苞苔型杂交组合中发现不育系与保持系之间存在差别, 即不育系比保持系多一条分子量为 1.6kb 的 DNA 带, 我们称它为 N₃。

对这些小分子量 mtDNA 进行鉴定的结果表明, 它们对核酸酶和 DNase 是敏感的, 对 RNase 不敏感。有关电镜检查的结果及 M 和 N₃ 限制性内切酶图谱和分子克隆的工作正在进行中, 结果将另作详细报导。

1) 植物所进修人员。

2) 湖南农学院。

Nopaline基因在大豆枝条上表达¹⁾

蒋兴邨 邵启全 马广领²⁾ 陈永强

1983年开始使用致瘤农杆菌在大豆属 (*Glycine max*) 植株上感染并致瘤,以后又完成了异源的 nopaline 基因在大豆的愈伤组织及其细胞系中整合和表达。但是这种瘤组织,瘤愈伤组织和含 T-DNA 的细胞系均未能分化出幼苗。因此异源基因不能在大豆的个体水平上表达。

本试验采用 12 个致瘤农杆菌的菌株,用显微注射的方法,处理了 2000 多株“小黑豆”品种幼苗子叶叶腋处休眠芽的分生细胞。其中有 3 个 nopaline 型的菌株,能促使分生细胞萌发并长成枝条,获得 40 多个休眠芽发育成的幼芽和枝条。其中有 45—50% 的休眠芽发育的枝条或幼芽含有 nopaline 合成酶基因,证明了 Ti 质粒上的 T-DNA 片段和休眠芽分生细胞的核基因组整合,并产生内源生长激素促使分生细胞分化而发育成枝条,从而 nopaline 基因已转化到这些大豆的枝条上,实现了异源基因在大豆个体水平上表达。

一些未测出 nopaline 的大豆休眠芽发育的枝条,可能是 T-DNA 片段没有与休眠芽的分生细胞的核基因组整合,而是与休眠芽分生细胞周围的细胞整合,再由这些细胞分泌出内源生长激素打破了休眠芽的分生细胞的休眠而发育成枝条。异源的 nopaline 基因没有转化到休眠芽中,因此不能表达。

1) 中国科学院科学基金资助课题。

2) 莱阳农学院农学系 86 届毕业生。

带有阿特拉津抗性基因的重组质粒 pSB1350km和pSB1351km的构建¹⁾

朱立煌 朱荣焕 翟文学 邓万银
李 诺 李小兵 陈美玲 胡乃璧

我们已筛选出的龙葵抗阿特拉津(除草剂)基因的克隆定为 pSB1350。其抗性基因位于龙葵叶绿体 DNA 的一个 5kb *Bam*HI 片段上,进而重组到 pBR322 的 *Bam*HI 位点上。为把阿特拉津抗性基因接合转移到 Ti 质粒上,首先应把该基因克隆到适合接合转移,而又便于筛选的重组质粒上。

为此,把 pSB1350 中的 5kb *Bam*HI 片段,再克隆到 pBR325 的 *Bam*HI 位点而重新构建了重组质粒 pSB1351。已知 pSB1350 含有一个 *Ap*^r (氨苄青霉素抗性)基因,而 pSB1351 除 *Ap*^r 外又增加了一个 *Cm*^r (氯霉素抗性)基因。然而,经初步试验证明,对于把抗阿特拉津基因引入 Ti 质粒,仍不适宜。

因此,我们又选定质粒 pKC7 作为载体,将 pSB1350 的 5kb *Bam*HI 片段再克隆到 pKC7 的 *Bam*HI 位点,构建了重组质粒 pSB1350km。pKC7 的选择标记是 *Ap*^r 和 *k^m*^r (卡那霉素抗性基因),又有一个 *Bam*HI 位点,插入后不引起失活。这样 pSB1350km 就带上了 *Ap*^r 和 *k^m*^r 二个选择标记。

另外,我们又将质粒 pLGV1103 的 *k^m*^r 基因(约 1.3kb *Sal*I 片段)插入到 pSB1351 的 *Sal*I 位点,构建了重组质粒 pSB1351km。这样 pSB1351km 除具有 *Ap*^r 和 *Cm*^r 两个选择标记外,又引入了一个 *k^m*^r 选择标记。

新构建的两个重组质粒 pSB1350km 和 pSB1351km 都含有卡那霉素抗性基因,这对于把阿特拉津抗性基因接合转移到土壤农杆菌 Ti 质粒上,进而引入植物是有重要意义的。

1) 中国科学院科学基金资助课题。

龙葵阿特拉津抗性基因克隆 pSB1350的初步分析¹⁾

翟文学 胡乃璧 邓万银 朱立煌 李 诺 李小兵

前文报道龙葵阿特拉津抗性基因位于 pSB1350 克隆的 5kb *Bam*HI 片段上。本文进一步对重组质粒 pSB1350DNA 进行限制性内切酶分析,得到 pSB1350 初步的物理图谱,进而把阿特拉津抗性基因更精确定位在 pSB1350 的插入片段上。

我们用限制性内切酶 *Bam*HI、*Pst*I、*Pvu*II 和 *Xba*I 单一酶解和混合酶解(双酶解和三酶解等) pSB1350DNA,然后在 0.7% 的琼脂糖凝胶上电泳得到相应的电泳图谱,进而由电泳图谱分析得出 pSB1350 初步的物理图谱。再用 ³²P 标记的抗阿特拉津基因探针,经 Southern 分子杂交方法测定,得出阿特拉津抗性基因内部包含一个 *Pst*I 位点,一个 *Pvu*II 位点和一个 *Xba*I 位点。我们还用 *Acc*I、*Sma*I、*Xho*II 和 *Sau*3A 等酶解 pSB1350 DNA,也得到初步结果,目前还在分析之中。我们的目的是根据物理图谱找出合适的基因片段,以便对基因进行序列分析。

上面提到阿特拉津抗性基因所在的插入片段为 5kb,它比已知的阿特拉津抗性基因大得多,因此我们要对阿特拉津抗性基因精确定位并再克隆。用限制性内切酶 *Xho*II 消化 pSB1350 DNA,在 1.4% 的琼脂糖凝胶上电泳,通过 Southern 吸印法转移到硝基纤维素滤膜上,然后与 ³²P 标记的阿特拉津抗性基因的探针杂交,结果只有 1.2kb 的条带为阳性。这样我们就把阿特拉津抗性基因精确定位在 pSB1350 的 1.2kb 的 *Xho*II 片段上。

1) 中国科学院科学基金资助课题。

籽粒苋 *Amaranthus cruentus* R104 叶绿体 *pSbA* 基因的定位¹⁾

李小兵 甘露²⁾ 胡乃璧 李 诺 岳绍先²⁾
翟文学 邓万银 陈美玲

在许多高等植物中,已经鉴定出一种分子量为 32000 道尔顿 (32kd) 的蛋白质。该蛋白质是叶绿体类囊体膜上光合系统 II 复合体的结构成分,其合成是光诱导的,其氨基酸顺序是由叶绿体基因组编码的,称为 *pSbA* 基因。K.E. Steinback 等人用玉米的 *pSbA* 基因(已克隆在重组质粒 pZmc427 上)作探针,经分子杂交验证,发现该基因在 *A. hybridus* (绿穗苋)叶绿体 DNA 的 *Bam* HI 片段 (6kb) 中,也在 3.86kb 的 *Eco* RI 片段中。

我们以具有营养价值高、抗旱性强、光合效率高、生长迅速的籽粒苋 *A. cruentus* R104 为材料,按照 Gressel 法提取其叶绿体 DNA,用 3 种限制性内切酶 *Bam* HI、*Bgl* II 以及 *Sal* I 分别酶解,在 0.7% 的琼脂糖凝胶上进行电泳,并通过 Southern 吸印法转移到硝基纤维素滤膜上,然后按标准的分子杂交方法,用 ³²p 标记的烟草 *pSbA* 基因 DNA 探针进行滤膜分子杂交,最后用放射自显影显示实验结果。实验表明,籽粒苋 *A. cruentus* R104 叶绿体 *pSbA* 基因分别定位于 *Bam* HI 的 5.9kb、*Bgl* II 的 7.2 kb、*Sal* I 的 10kb 片段上。这两结果对于我们今后建立 *A. cruentus* R104 叶绿体 DNA 的基因文库和筛选苋菜抗阿特拉津基因克隆是具有重要意义的。

1) 中国科学院科学基金资助课题。

2) 中国农业科学院作物育种栽培研究所。

蚕豆DNA重复序列的研究: *Bam*HI 片段的克隆及限制性 酶切图谱的绘制¹⁾

徐琼芳 杜宝兴 刘良式 刘凤华

取鲜嫩的蚕豆叶片10克,经液氮速冻后砸碎,立即在研钵中磨成粉末。此过程反复经液氮冻磨4—5次。加研磨液(0.3M 蔗糖,50 mM Tris-HCl pH8.0)1ml/g 叶子。充分研磨后,用4层纱布过滤2次。滤液在500g 离心5分钟,收集沉淀,用核裂解缓冲液悬浮沉淀(5ml/10g 材料)。把悬浮物放在50℃水浴中保温1小时。用重蒸饱和酚抽提一次,吸出的水相用氯仿/异戊醇抽提,水相加醋酸钠终浓度达0.3M,然后加2倍体积的无水乙醇,放-20℃沉淀DNA。

用限制性内切酶 *Bam* HI 消化蚕豆DNA重复序列,在0.8%低熔点琼脂糖胶电泳,EB染色,UV灯下观察切下 *Bam*HI 片段的胶,放在65℃水浴使琼脂糖熔化。用以上提DNA方法抽提 *Bam*HI DNA片段。将纯化好的蚕豆 *Bam*HI DNA重复序列片段与 *Bam*HI 消化过的pBR322片段连接,转化制备好的 *E.coli*HB 101 受体菌,在含25μg/ml 氨苄青霉素选择平皿上筛选抗性转化子,再将初筛得到的抗性转化子挑选到含有25μg/ml 四环素的选择平皿上,挑选 Tc^s 、 Ap^r 的重组转化子。将所得到的重组转化子进行生化分析,得到3株分子量大于载体菌 pBR322 质粒的重组体,命名为 pFR4、pFR7、pFR10,将其中一株 pFR4 与探针(蚕豆 *Bam*HI 片段用 ^{32}P 标记过)DNA进行DNA/DNA杂交。证明了此重组体确含蚕豆 *Bam*HI DNA 片段。绘制出了 pFR4 重组质粒的限制性酶切图谱,分析了5种不同的限制性内切酶在插入片段1.44kb中的分布情况。为了检查与其它种属间的同源性,并用重组体 pFR4 作探针,与其它种属的DNA进行DNA/DNA杂交。此工作正在进行中。

1) 本工作是国家基金资助课题。

抗肿瘤免疫毒的研究

刘连瑞 杨涛兰 冯 尚 冯之凡 王恢鹏

利用单克隆抗体诊断和治疗肿瘤的研究已经有大量报导,但是,由于得到单克隆抗体的条件要求高,产量有一定限制,用于治疗肿瘤还需要一段时间。我们从人胃癌细胞提取了癌蛋白,用这种蛋白质免疫母鸡,从鸡蛋的卵黄中分离得到肿瘤抗体 IgY。这种抗体含量高,一只鸡蛋的卵黄可提纯 15 毫克以上抗体。这种抗体不但能识别特异性天然蛋白,而且能识别它变性后的蛋白质亚基,比单克隆抗体有更广泛的应用范围。

通过荧光免疫测定抗人胃癌抗体 IgY 与体外培养的人胃癌 MGc-80-3 细胞有强烈的荧光反应,而与体外培养的人正常细胞没有免疫交叉反应,表明这种抗体具有特异性识别胃癌细胞的能力。

蓖麻毒蛋白能够杀死动物细胞,它由 A、B 两条肽链组成。A 链结合在细胞核糖体 60S 亚基上,阻止蛋白质合成。B 链结合在细胞膜上,促使 A 链向细胞内转移。我们以抗体 IgY 取代蓖麻毒蛋白 B 链,合成一种杂交蛋白质分子,从而增加毒蛋白的特异性识别能力,以 IgY 识别胃癌细胞,以蓖麻毒蛋白 A 链杀伤癌细胞,这种杂交蛋白分子就是免疫毒。

用这种免疫毒处理体外培养的细胞,结果表明抗胃癌细胞的免疫毒对人胃癌 MGc-0-3 细胞具有强烈的杀伤作用,而对其他种类的细胞反应较弱。结果列入表 1。

表 1 免疫毒对不同类型细胞的杀伤作用

细胞	不同剂量的免疫毒对细胞杀伤作用(存活率%)					
	0	0.1	1.0	5.0	10	20 μ g/ml
MGc	96.4	0.13	0.08	0.0	0.0	0.0
Hela	87.5	29.0	7.0	1.8	2.4	0.0
Nal	90.0	16.0	8.0	7.0	8.0	8.0
H.E.	67.4	74.2	47.0	23.4	36.4	—
RC	100	75.0	52.0	38.0	26.0	20.0

MGc: 人胃癌细胞; Nal: 人淋巴瘤细胞; H.E.: 人全胚细胞; RC: 大鼠肉瘤细胞。

我们用这种免疫毒去治疗带 S-78-4 胃癌的津白 TA2 系小鼠,治疗效果显著,结果对前胃癌治愈率在 80% 以上,瘤体部位用药比静脉注射用药效果好,雌性治疗效果更好,治愈率可达 91.5%。结果列入表 2。

表 2 免疫毒对小鼠 S-78-4 胃癌的疗效

治 疗 方 法	治疗小鼠(只)	治愈小鼠(只)	治愈率(%)
总 计	75	59	80
瘤体注射	56	47	84
静脉注射	19	12	63
瘤体注射(♀)	23	21	91.5
瘤体注射(♂)	20	16	80