

生物科学动态

国外遗传学研究
专集

1979

增刊(一)

科学技术文献出版社重庆分社



国外遗传学研究专集

(生物科学动态 1979 年增刊)

中国科学技术情报研究所重庆分所	编 辑
科学技术文献出版社重庆分社	出 版
重庆市市中区胜利路 91 号	
四川省新华书店重庆发行所	发 行
重 庆 印 制 第 一 厂	印 刷

开本: 787×1092 毫米 1/16	印张: 16 $\frac{1}{2}$ 字数: 420,000
1979 年 10 月第一版	1979 年 10 月第一次印刷
印数: 9000	

定价: 1.70 元

国外遗传学研究专集

1979年

(生物科学动态)

增刊

目 录

体细胞杂交与基因图.....	薛京伦 (1)
基因纯质增殖在真核生物遗传学基础研究中的应用.....	朱立煌 (13)
基因的分子无性繁殖研究进展.....	钱 标 (21)
RNA联接酶及其应用.....	刘新垣 湛章群 (32)
基因结构的新进展——间隔区核苷酸顺序.....	许宝孝 (42)
DNA肿瘤病毒T抗原与细胞转化.....	邓正文 (49)
固氮系统的遗传改造.....	D. MacNeil 等 (55)
开花的遗传学和环境因子的相互作用.....	I. C. Murfet (59)
植物细胞基因表达的调节.....	O. H. Кулаева (72)
家族内遗传.....	Alav E. H. Emery (84)
神经元的结构: 从基因调节到蛋白质终点.....	David L. Wilson (94)
微生物中翻译的遗传控制.....	Л. Н. Миронова (97)
酵母菌的线粒体遗传学.....	М. Г. Самсонова (107)
线粒体基因与细胞遗传.....	S. A. Neifakh (116)
抗体多样性基因嵌入理论的重新估价.....	Thomes J. Kindt 等 (119)
遗传工程: 挑战和责任.....	Paul Berg (126)
基因重组.....	Charles M. Radding (134)
真核细胞中基因表达的调节.....	B. W. O'Malley 等 (148)
RNA·RNA 的连接在真核细胞进化中的意义.....	James E. Darnell, Jr (165)
真核细胞mRNA的分离纯化.....	佐野 浩 (170)
细胞分化过程中基因变不变.....	本 庶 佑 (178)
密码子与反密码子的识别.....	S. K. Mitra (185)
SV40 DNA的全核苷酸顺序.....	W. Fiers等 (190)
原核生物的遗传转化.....	J. Spezizen (194)
枯草杆菌芽孢形成作为发育的一个模型.....	J. Spezizen (198)
芽孢杆菌的DNA无性繁殖.....	J. Spezizen (204)
重组体DNA和基因无性繁殖.....	J. Spezizen (209)

通过IS因子和易位子在体内形成重组DNA分子.....	P. Starlinger (216)
转移RNA的大规模生产.....	J. Darbyshire等 (224)
管制重组体DNA技术的危险.....	Waclaw Szybalski (230)
近来在DNA复制问题上引起的哄动.....	Bruce Albert 等 (234)
基因结构: 更加惊人的进展.....	Jean L. Marx (242)
DNA修复的诱导途径, 突变形成和致癌作用.....	M. Radman (245)
限制性内切酶: 遗传病的出生前诊断.....	Jean L. Marx (248)
抗体 (I): 关于基因结构的新信息.....	Jean L. Marx (251)
抗体 (I): 对多样性问题的另外考虑.....	Jean L. Marx (254)

简 讯

组蛋白基因的展现.....	(258)
DNA复制: 空前的复杂.....	(260)
细胞分化和基因调节的分子结构.....	(262)
限制性核酸内切酶在体内的新作用.....	(264)
基因在哺乳动物细胞中的转移.....	(233)
三年来对于重组体DNA的争论.....	(263)
不缠结的DNA的超卷曲.....	(83)
Src (肉瘤) 基因产物的功能.....	(31)
遗传密码能用二联体和四联体吗?	(208)
真核生物rRNA基因的多样性.....	(48)
人类遗传学研究的新进展.....	(106)

书 评

书评——“固氮遗传工程”	(54)
--------------------	------

名词解释

脱氧核糖核酸聚合酶 (20); 双螺旋 (41); 肌动蛋白 (58); 噬菌体 (71); 碱基 (184); ‘中心法则’ (189); 胶原 (203); 血红蛋白 (215); 转移RNA (tRNA) (253); 核蛋白体 (261)

体细胞杂交与基因图

薛 京 伦

(复旦大学遗传学研究所)

没有变异就没有遗传, 突变性状的出现能说明一个基因的存在。在人类中有 1,200 个基因是用家系分析法和体细胞杂交方法加以证明的, 其中包括生化方面和免疫学方面的各种标记性状; 人体遗传性疾病中有各种症状并已弄清遗传规律的有 900 个基因位点, 大多数的发病率是低的, 也都是由突变产生的。分子遗传学使我们有另一条途径来知道特殊基因的存在, 一个氨基酸的改变就可测出一个突变基因。体细胞杂交方法提供了在实验室条件下对人的基因进行定位的可能性。

人究竟有多少基因? 据估计在人类中决定蛋白质多肽链中氨基酸顺序, 并按孟德尔方式遗传的结构基因大约是 50,000 个。而在人类中 DNA 的量要比这些基因的平均长度多 50—100 倍, 因此大量 DNA 是以重复形式出现的。这些重复的 DNA 在染色体上起着各种调节上的、结构上的和功能上的作用。某些 DNA 是决定核糖体 RNA(rRNA) 和转运 RNA(tRNA) 的。

弄清楚成千上万个基因在染色体上的位置, 就象绘制一张海图一样, 把茫茫大海中的每一个暗礁和湍流都正确无误地标定在精确的位置上, 它的重要性当然是不言而喻的了。体细胞杂交法提供了在实验室中用组织培养方法对基因进行定位的手段, 使基因图的绘制在最近五年中取得了令人鼓舞的成绩; 结合使用其他各种方法, 如家系分析法和 DNA 原位杂交等新技术, 可望在未来的

十年中把定位在人类基因图上的基因数字增加到 1,000 个。这种基因图对于人类遗传性疾病和恶性肿瘤等的发病原因、预防和治疗都将起极为重要的积极作用。

另外, 体细胞杂交方法所提供的信息不仅仅是基因在染色体上的位置, 同样也告诉我们细胞中基因表达的调节控制。因此体细胞杂交方法除了对医学上的问题, 如遗传性疾病和肿瘤等的认识有帮助外, 同时对于一些基本的生物学问题如分化、发育和进化方面的研究也是得益非浅的。

本文将对体细胞杂交方法, 绘制人体基因图, 基因图的现状和应用等问题作一些简单的介绍。

体细胞杂交方法

脊椎动物的多核细胞是 Muller 于 1838 年首先在肿瘤细胞观察中发现的。Luginbühl 于 1873 年最早报导了由于损伤形成的多核细胞肯定是由病毒引起的, 他们描述了天花脓疱周围的这类细胞。自从 Harrison (1907) 介绍了组织培养方法以后, 在动物组织的培养中, 对细胞融合作了许多观察。1960 年 Barski 等指出, 当两个不同的小白鼠细胞株放在培养液中一起生长时, 最后会出现一种新的细胞类型, 它们的染色体具有两个原始亲本的性状, 并且这种细胞能在离体培养条件下繁殖。Barski 还证明, 杂种细胞的形态学与生物学性状介于两个亲本之间。

Ephrussi (1964) 及其同事们对这些小白鼠杂交细胞进行了大量细胞核的研究, 并指出它们有丢失染色体的倾向, 不过这种丢失进行得很慢而且无法预测。Littlefield (1964) 利用生化方面具有不同缺陷的双亲细胞, 设计出一种方法, 可用来选出这些双亲细胞在混合培养条件下自然地融合在一起所形成的杂交细胞, 但是在组织培养条件下, 细胞的自发融合是一种极为罕见的现象。Harris (1965) 等证明了灭活的病毒在控制的条件下可用一般的方法使动物细胞融合, 使细胞融合的频率大大提高, 这些多核的细胞, 即所谓异核体。一星期内大部分异核体死亡。但是一些小的异核体, 特别是只含有各一个亲本核的小异核体, 往往能够存活下来, 并通过分裂进行繁殖。

细胞分裂过程中, 在亲本两个核中形成正常有丝分裂的染色体 (每条染色体由相同的两半——染色单体组成)。有丝分裂时每条染色体的染色单体, 向方向相反的两极移动, 继而细胞分裂。细胞质分裂后, 双核的异核体变成一个结合核, 这就是单核的杂种细胞, 通常它们具有完整的两个亲本细胞的染色体组成。杂种细胞往往表现出非常强的生命力, 在组织培养条件下可以繁殖很多年。

利用灭活的病毒诱导细胞融合, 可使不同种的生物或组织的细胞很容易地结合在一起。曾用极不相同的动物、人, 甚至植物细胞作为融合的亲本, 得到不同种的动物细胞融合的种间杂种细胞, 例如鼠×人; 雏鸡×人; 鼠×猴; 骡×鼠等等。不同组织的细胞也可进行杂交, 如淋巴细胞×成纤维细胞; 正常细胞×癌细胞等。在这些杂交中, 有的基因型相同, 有的基因型不同, 但在形态、生化、免疫或机能等特征方面的表型差异极为显著, 利用这些差异就可以分析细胞的有丝分裂周期、基因活性的调节以及绘制人的基因图等。

用作细胞融合的病毒种类很多, 如麻疹

病毒, 婴儿哮喘病毒, 流行性腮腺病毒, 副流感病毒等。在多数实验室里, 都选用仙台病毒作为诱导细胞融合的标准试剂。仙台病毒是属于粘液病毒中副流感病毒族中的一种, 它的形状是多样的, 但一般都是圆形的颗粒, 中央是核酸 (RNA), 外面包着脂蛋白外壳。这种病毒诱导融合的能力是在它的外壳, 而不是其中的核酸。核酸可被大剂量的紫外线灭活, 也可与 β -丙炔内脂 (β -propiolactone) 作用而被破坏, 使核酸失效, 但并不损害它融合细胞的能力, 甚至用超声波破坏病毒后所得到的病毒外壳碎片, 也在一定程度上保留着诱导细胞融合的能力。但是, 如果用乙醚处理病毒的外壳, 以去掉上面的类脂, 可以完全破坏它的融合能力。

细胞种内杂种 (即杂种的两个亲本属于同一个动物种) 的特点一般是染色体稳定, 往往含有原来两个细胞株的染色体组。种间杂种 (亲本细胞属于不同种的生物, 如小白鼠细胞与人的细胞杂交) 长期离体培养时出现染色体丢失的明显趋势。一般只丢失一种亲本的染色体, 例如, 在小白鼠与人的细胞杂交后, 所得杂种细胞有选择地丢失人的染色体。随着时间的消逝可以得到一种杂种细胞, 它含有鼠的全套染色体, 同时只含有一条或两条人的染色体。如果在这杂种细胞中只剩下一条人的染色体, 而且这个细胞还能合成一定的人所特有的蛋白质, 那么就可以得出结论: 决定这个蛋白质的结构基因刚好就位于杂种中的这条唯一残存的人的染色体上。因此, 体细胞杂交方法为研究人的染色体结构基因定位开辟了巨大的可能性。通常将这一过程称作染色体“制图”。

大体上来说, 杂交的方法是简单的。哺乳动物细胞可以这样处理后使它在合成的培养基上生长和繁殖, 如人的成纤维细胞和小白鼠的成纤维细胞或肿瘤细胞放在一个培养皿中保持接触几个小时 (图 1)。这两个不同种的细胞之间自发融合的频率很低, 但是在

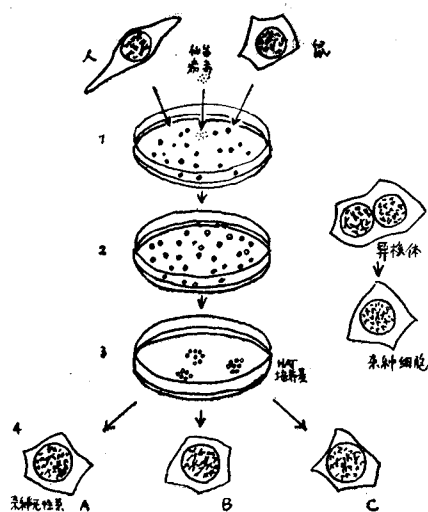


图1 体细胞杂交

加入灭活的仙台病毒后，融合频率大大提高。这时把培养皿中的细胞，包括亲本细胞和融合的细胞充分打散，做成悬浮液，倒在另一只培养皿上，可以长成很多细胞无性繁殖系，或简称无性系。每一个细胞无性系都是由一个亲本细胞或一个融合的杂种细胞长成的。借助于选择培养基就可以把杂种细胞群从亲本细胞中分离出来，在选择培养基上亲本细胞不能繁殖，而只有杂种细胞才能繁殖。常用的选择培养基是用氨基嘌呤来阻断叶酸的合成，这是核苷酸——构成DNA的基础——正常合成过程中所必需的。只要培养液中有次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷（thymidine）前体物存在，那么在有氨基嘌呤存在时，细胞又含有一种应急通路（salvage pathway）酶，叫做次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶（HGPRT）和胸腺嘧啶核苷激酶（TK）时，核苷酸就能合成。这种培养基称作HAT选择培养基。

图中人的成纤维细胞和小白鼠肿瘤细胞都各缺失一种酶，TK或HGPRT，在仙台病毒的诱导下（1）某些细胞融合了（2）首先形成异核体，具有两个亲本的核，然后形成杂种细胞（空心）。当细胞在HAT选择培养基上培养时，只有融合后的细胞才可以

增殖并形成群落（3）；小白鼠亲本细胞因为缺失一种酶，就不能增殖，而人的成纤维细胞也不能很快增殖。融合后的细胞保留所有小白鼠的染色体，但只留下少数几条人的染色体；丢失人的染色体是随机的，因此可以获得具有不同染色体组成的各种杂种细胞无性系（如A,B,C）⁽⁴⁾。

在实际应用时，常将能合成这二种酶的人体成纤维细胞和缺失其中一种酶的啮齿动物细胞进行杂交，在选择培养基上含有次黄嘌呤，氨基嘌呤和胸腺嘧啶核苷（HAT培养基）。缺失酶的啮齿动物细胞就死亡，人的亲本细胞和融合后的细胞就能生存下来。如果人的细胞是已在实验室中传代多次而生长较慢的成纤维细胞，或者是正常不能增殖的白血细胞，那么在培养基上人的亲本细胞株是不会很多的，就易于把纯的杂种细胞群分离出来，每一个这样的细胞群是由一次杂交而形成的杂种细胞繁殖后形成的。

对于这样的杂种，有两点是至关重要的。首先，小白鼠的基因组，或遗传物质，基本上完整地保留下来，而人的基因组却优先地、部分地、随机地丢失。正常人的体细胞具有46条染色体：一条X和一条Y染色体（雄性细胞中）或两条X染色体（雌性细胞中），以及22对常染色体。正常小白鼠细胞有40条染色体。杂种细胞的染色体数是41—55条，比预期的总数86要低。所有的小白鼠染色体都保留下来；而人的染色体在大部分细胞中都是丢失的，并且这种丢失是随机的（最近有一些报导认为这种丢失是非随机性的）；这样，在不同的无性系内就残存了人的各式各样的染色体。第二点重要的地方是鼠和人的基因组都是具有功能的：它们的基因能同时表达出来，各自合成自己相应的蛋白质。

两个种的染色体可根据它们的形状、大小和着丝点位置而加以识别。但人与小白鼠的细胞中有几条染色体不太容易区别；人的某些非常相似的染色体，特别是C组染色体

的识别也是相当困难,必须借助荧光分带染色法(Q-分带)或吉姆萨分带染色法(G-分带)。当染色体用荧光染料芥子嗪叮因染色后,不同的染色体呈现出不同的亮暗相间的分带。这些分带类型可用来鉴别人的每一条染色体,从而确定每个杂种细胞无性系中究竟残存了人的那几条染色体。因为Q-分带需要荧光染料和价格昂贵的荧光显微镜,因此在没有这些设备条件之前,G-分带更是方便而常用的方法;应用各种预处理方法如尿素、胰蛋白酶、 α -胰凝乳蛋白酶、氯化铯、5-溴去氧尿嘧啶以及热、碱等处理,然后用吉姆萨染色,均可获得良好的效果,而且所有这些方法产生的分带类型基本上是相同的,目前多数实验室都用胰酶方法来获得G-分带。在基因制图工作中,另一种常用的分带染色法是C-分带。C-分带方法可以很好地帮助我们吧小白鼠的染色体和人的染色体区别开来。

对于基因产物来讲,小白鼠和人的特有的酶或其蛋白质产物都可以一一加以测定,因为小白鼠和人之间的进化距离是足够远了,以致同源的蛋白质在它们的氨基酸组成上是有差别的,而这些差别用凝胶电泳法就可以鉴别出来(图2)。

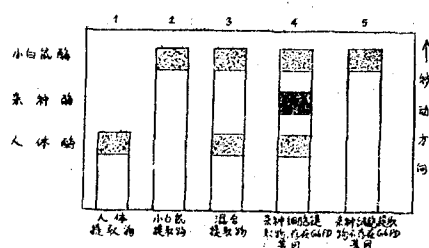


图2 用电泳方法区别同源酶

图中表示的是G6PD酶。把各种来源的细胞提取物放在淀粉胶电泳槽内。G6PD是一个二聚物:具有二个亚单位的多聚物。人的细胞形成人的同质多聚物,小白鼠细胞形成小白鼠的同质多聚物,在电场中各有各的迁移速度,人的酶(1)移动速度不及小白鼠(2)。提取物的混合液具有两种细胞的

成分(3)。在一个杂种细胞中产生二个同质多聚物和一个鼠-人异质多聚物,它的迁移速度介于二者之间。如果一个杂种细胞中存在有人的G6PD基因,则会产生三个区带(4)。杂种如果没有保留人的G6PD基因,只产生小白鼠的同质多聚物(5)。

绘制基因图

人体基因图的绘制方法有家系分析法,体细胞杂交法,RNA(或DNA)原位杂交法,血红蛋白Lepore法,基因剂量法以及其他方法等。

家系分析法是经典的连锁群分析法,制图首先是从X-染色体开始的,必须先要确定那些基因是在X-染色体上,那些基因是在Y染色体上,又有那些基因是在常染色体上。另外,在家系的各种遗传方式中,借助生物化学的分析方法和统计学的方法也能告诉我们由某一基因决定的一个性状位于某一条非特指的常染色体上。到目前为止,用家系分析方法和体细胞杂交方法,已有100个基因定位在X染色体上,有110个基因定位在常染色体上。很清楚,已经定位的基因数目只占很少一部分,大约只有基因总数的1/15。因为X染色体的长度只占全部单倍体常染色体长度的6%,而假定X染色体的密度又与常染色体相似,那么常染色体的基因数目可能超过1,600。

Y染色体是决定睾丸发育的,具有核型XY, XYY, XXY, XXYY, XXXY和XXXXY的个体都有睾丸;只有Y不存在时,睾丸也不存在,不管细胞内有多少个X染色体。

Y染色体上决定组织相容性抗原(Histocompatibility antigen, H-Y)的基因已在小白鼠、大白鼠、豚鼠和人中得到证明。对具有染色体畸变的Y染色体进行研究,证明决定睾丸的基因位点和H-Y抗原基因(两者可能是同一回事),可能位于Y

染色体短臂靠近着丝点的位置。Y染色体上存在其他基因的证据目前还没有；人的高度与Y染色体上的一个或几个基因可能有关，XO型的个体，身高比XY型的矮，XYY型个体比XY型的高；也有报导说，牙齿大小和Y染色体的存在有关，XYY个体的牙齿较XY型正常男人要大；毛耳性状，即在男性外耳壳上有一撮毛的性状，曾经认为是Y-连锁的，但更可能是从性的(sex-controlled)常染色体显性遗传。

家系分析法有它严重的局限性，因为家庭成员少，地理上又分布很散，要研究两代以上就感到困难，因为世代的时间太长，由于这些限制，因此自从1911年把色盲基因第一次定位在X染色体上以来，人体染色体制图工作一直进展不快。体细胞杂交法可以克服上述缺点，为染色体的制图工作带来了巨大的进展。下面介绍一下用体细胞杂交法绘制基因图的方法。

用体细胞杂交法进行基因定位的方法可以分为同线法(syntenic test)，定位法(assignment test)和划区法(regional mapping)。

制图的任务首先要知道是否二个或几个基因是在同一条染色体上，然后有可能就要知道它们在那一条染色体上，以及在染色体上的什么位置。通常在同一条染色体上的基因的表达与否是一致的，譬如在X染色体上的两个基因HGPRT和G6PD，它们要末同时具有活性，要末同时都没有活性，换句话说，两个基因同时出现或者同时消失就称为同线，或称在同一条染色体线上。所以一系列具有各种酶特征的无性系提供了很多同线基因的信息；只要比较一下人所特有的酶和染色体组成不同的无性系，就可以判断出合成这些蛋白质的基因和一些具体染色体之间的关系(图3)。

图中表示的是在杂种细胞中研究基因连锁与位置的方法，常看某一基因产物，通常是酶，在一个无性系中是否与某一条染色体

	A	B	C	D	E
I	+	+	+	+	+
II	+	+	+	+	+
III	+	+	+	+	+
IV	+	+	+	+	+
V	+	+	+	+	+
VI	+	+	+	+	+
VII	+	+	+	+	+
VIII	+	+	+	+	+
IX	+	+	+	+	+
X	+	+	+	+	+

图3 杂种无性系中基因的连锁和位置

的出现相平行；如酶I，在A、B、C、D、E五个无性系中出现的次序为+、-、-、+、-，而酶II在这五个无性系中出现的次序也是+、-、-、+、-，可以说酶I和酶II是连锁在同一条染色体上，因为只要有这一条染色体，它们就同时出现，即它们是同线的。另外，它们的位置又是定位在第2号染色体上，因为第2号染色体在五个杂种无性系中存在的情况正好也是+、-、-、+、-，有染色体存在就有酶的活性，没有染色体就没有酶的活性。同样，可以把酶III定位在第1号染色体上。

同线法中假阴性的来源是染色体断裂，或者是不能检出一种确实存在着的基因产物，假阳性也同样来自染色体的重新排列。用同线法进行基因定位的第一个成功的例子是在1969年证明HGPRT和G6PD是同线的。

这方法最多只能将两个或几个基因定在同一条染色体上，而不能再有所作为了；它们不能把一个基因确定在染色体上某一个精确的位置上，或者将一条染色体上几个基因作出次序上的排列。而后面两个任务必须借助于染色体畸变，如易位或缺失等，因为易位与缺失会破坏基因正常的同线关系。

定位法是指特定的染色体和表型之间分离的关系，此法能将单个基因和同线的几个基因定位在特定的染色体上。同时可用来肯定同线法所得的结果。定位法不能提供任何有关基因在染色体上的位置的信息。假阴性的出现是由于不能有效地识别表型或者该染色体在杂种无性系中出现的频率偏低，一般应达到5%。假阳性是由于单个染色体的识

别有困难，或者两条染色体由于偶然的机会有同时分离。用定位法成功的第一个例子是1972年把LDHA定位在11号染色体上。

虽然基本方法是合乎逻辑的和易行的，但也发展了一些可以更精确、更快速获得结果的方法。按理来说，如果我们有24个鼠-人杂种细胞无性系，每一个品系内只残留一条人的染色体，并且每一个杂种无性系留下的是不同的染色体，对于可测定的一个酶的基因就可以定位在这条特定的染色体上。实际上，要获得只有一条人的染色体的杂种品系是困难的，Creagan和Ruddle (1975) 设计了一个方法，叫做无性系分布板(clone panel)。这方法是杂种细胞法制图中的一个革命化和有效的进展。在此方法中，我们从大量随机获得的独立的无性系中选择少数几个合适的无性系。分布板的无性系是按这样的方法来选择的，它们保留或者丢失的每一条染色体都是特殊的，并且要求是互补的(图4)。每一个无性系都有自己特殊的一组染色体。例如，有三个不同的无性系，每一无性系有人的8条染色体中的几条。每一个无性系中对每一条染色体都有一个两进位的符号1或0(或+，-)，我们暂时把它称作双态型(bimodal signatures, bms)。换句话说，在每一个无性系内对每一条染色体的+或-都是特殊的：2号染色体在分布板三个无性系中出现与否的次序是+、+、-，第6号染色体是-、+、-。就象图中列出的三个杂种细胞无性系的分布板，每一个无性系含有人的8条染色体中的某几条，可用来测定任何基因产物的存在。根据某种酶的存在，就可以配到8条染色体中的某一条。例如，一种酶只有在C系内出现，它的基因必定在第7号染色体上。具有五个无性系的较大的分布板，每个无性系含有人的24条染色体中的某几条，提供了32种重组的可能性，足够包罗人的24条不同的染色体。

这种分布板可以测定人的任何表型(就是说，任何酶或其他基因产物)。如果我们

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	+	+	+	+	-	-	-	-
B	+	+	-	-	+	+	-	-
C	+	-	+	-	+	-	+	-

图4 三个杂种无性系的分布板

测定人的A酶的出现，得到-、-、+的结果，我们就可以说对应于A酶的基因是位于第7号染色体上。

用三个无性系就可满足8条染色体($bms=2^3=8$)，而五个无性系就可以产生比人的单倍体染色体数目要多的双态型($bms=2^5=32>24$)。在实际应用中，每一个分布板要用8个无性系，($bms=2^8=256$)，目的是为了减少由各种误差带来的假阳性和假阴性结果(表1)。

这种无性系分布板的方法非常实用，我们再举一个实际的例子(表2)，再稍为详细地说明一下：表2列出了8个杂种无性细胞系，在每一个独立的系中有人的22条常染色体，和一条X，一条Y染色体中的某几条；例如WA-1A品系内残存着人的2、3、4、11、12、14、16和X染色体；JFA-14b品系内残存人的染色体为1、2、5、8、13、16、17、18和X等等，这样8个无性系就可用来测定任何基因产物的存在。如果我们在WA-1A品系测定UMPCK酶，所得结果为阴性；在JFA-14b中为阳性；在WA-1a为阳性……一直进行到AIM-23a品系中得到的结果是阳性，在8个品系内所得结果为-、+、+、+、-、-、-、+，我们就可得出结论，对应于UMPCK酶的基因是位于第1号染色体上。如果测定其他任何一种酶，所得结果是+、-、-、+、+、+、-、-，那么这个基因一定位于第11号染色体上。一般只要随机选取杂种细胞无性系8—10个就可开展工作，并大大提高效率，是一种切实可行的方法。

分布板的优点在于可以在一次实验的结果中得出一个表型和一特定的染色体之间的

表 1 1, 2, 3, ..., n 杂交品系分布板的双态型 (Bimodal signatures)

	染 1	色 2	体 3	4	5	6	7	8
一个杂种品系: $2^1 = 2$ 双态型								
杂种品系 I	1	0						
二个杂种品系: $2^2 = 4$								
杂种品系 I	1	1	0	0				
杂种品系 II	1	0	1	0				
三个杂种品系 $2^3 = 8$ 双态型								
杂种品系 I	1	1	1	1	0	0	0	0
杂种品系 II	1	1	0	0	1	1	0	0
杂种品系 III	1	0	1	0	1	0	1	0
n 个杂种品系: 2^n 个双态型								

“1” 示存在; “0” 示不存在

表 2 八个细胞系中染色体出现的情况

杂种细胞系	染色体 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	×
WA-1a	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
JFA-14b	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
WA-1a	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
J-10-H-12	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
AIM-3a	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+
AIM-8a	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AIM-11a	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
AIM-23a	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+

关系。已用这一方法定位了几个基因,如半乳糖激酶和单磷酸尿核武激酶等。这方法的概念也可扩展到用染色体的一部分,而不是用整条染色体。在此情况下,染色体分布板所选用的无性系是含有一个特定染色体的不同的区段。这种染色体分布板可将基因定位在特定的部位,同时再用基因组的分布板来肯定这结果。用此法已将 Galk 基因定位在 17 号染色体的 17q 21—22 上。

把基因精确地标定在染色体上某一个区段,这就要用划区法。可以用几种方法来进行,一个方法是用易位的亲本细胞。这种染色体重组在群体中出现的频率相当高,并且

使染色体不平衡的子代产生异常的表型。一个易位能把连锁群分成两个部分,在杂种细胞中可以独立分离。易位也可以在人的染色体之间进行,或者在人与小白鼠的染色体间进行。这些染色体畸变同样可用化学和物理因素处理杂种细胞无性系而得到。染色体畸变的识别必须用分带染色法,特别是用 Q-分带和 G-分带,也可用核酸原位杂交法来识别。划区法第一个成功的例子是用 KOP 易位,于 1973 年将 G6PD, PGK 和 HGPRT 三个基因定位在 X 染色体的长臂上(图 5)。

图中所示是通过易位可以把一个基因定位在染色体的特定区域。例如,人的 X 染色

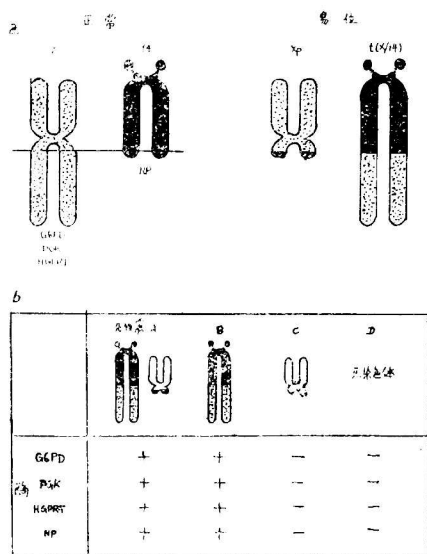


图5 易位可以把一个基因定位在染色体的特定区域

体上有三个基因，决定三种酶：HGPRT，PGK和G6PD；另外在第14号染色体上有一基因是决定NP酶的。今一个易位把X的长臂的大部分易位到14号染色体的长臂端部。带有易位的细胞与HGPRT缺失的小白鼠细胞融合，用HAT选择培养基选出杂种细胞。对各个杂种细胞无性系分析的结果指出，X染色体的三个基因都是位于易位的长臂上（NP基因必定是在14号染色体上）。

用各种方法诱发染色体断裂以及分带染色法可以帮助我们某一基因定位在某一染色体的某一特定区域。（图6）。

图示TK酶是定位在17号染色体上的，把缺失TK酶的小白鼠细胞与人的细胞杂交（1）得到一个人的17号染色体长臂易位到小白鼠染色体上的杂种细胞品系，仍具有TK酶的特征，证明TK基因是位于17号染色体的长臂上（2），加入腺病毒12，可使杂种细胞中的染色体在不同位置上诱发产生断裂，具有不同易位产物的细胞在非选择培养基上生长（3），再移到选择培养基上时（4），发现具有整个17号染色体长臂或者大部分长臂的细胞仍含有TK酶；再多丢失一

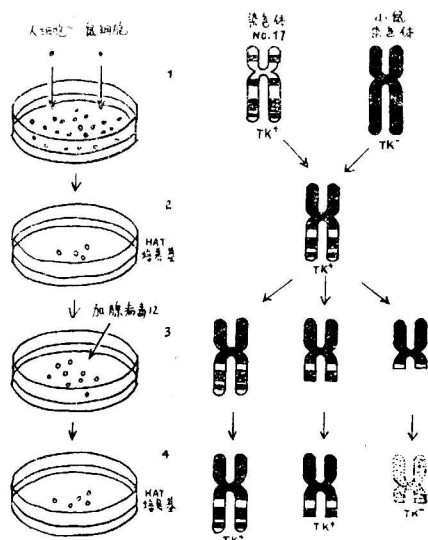


图6 通过染色体断裂把基因定位在染色体的特定区域

些长臂的细胞就缺失TK酶了，比较图上的三个断裂点，我们就可以把TK基因定位在染色体的适当位置。

也可用辐射诱变的方法，把杂种细胞用X或γ射线照射，产生各种各样染色体畸变类型的杂种细胞，对这些杂种细胞的无性系进行酶的生化分析或凝胶电泳分析，也可把基因定位在染色体上某一区域。

鼠×人染色体易位也可用位置效应把基因定位在染色体的某一区域。Idh-1定位在2号染色体的2q11区就是用这种方法。这是由于2号染色体和中国仓鼠染色体间产生了一个易位。在这个无性系内，Idh表型丧失，虽然它的确是定位在第2号染色体上。这可能因为决定Idh-1基因的位点正好位于或接近于易位的断裂点，使这个基因失去它的生理活性。在这个方法中，pH11的G-分带染色法起了很大作用，因为这种染色法可以很精确地识别人-鼠杂种染色体的易位断裂点。

过去几年来用上面这些方法已经把人的210个基因定位在24条染色体上，已经定位的基因，有些是与人类遗传性疾病有关的。例如，己糖胺酶A的缺失是同塔-萨克症

(Tay-Sachs) 有关; 半乳糖 - 1 - 磷酸尿苷转移酶的缺失是同半乳糖血症有关, 早就知道的 ABO 血型抗原和 Rh 血型也已分别定位在第 9 号和第 1 号染色体上。随着基因图上基因数目的增加, 以及基因间同线关系的确定, 提高了出生前诊断异常胎儿的能力。

基因图的现状

1909 年提出“基因”这一名词后, 1911 年把决定色盲的基因定位在 X 染色体上, 1956 年正式弄清人的染色体数目 $2n=46$, 1968 年用体细胞杂交法进行基因定位工作, 1970 年染色体分带染色方法的应用使我们有可能识别人和其他动物染色体组中的每一条染色体, 使基因定位工作的进度大大加快; 尤其是最近五年来在方法学上也取得了很大的突破, 我们现在已将人的 24 条染色体 (22 条常染色体和一条 X, 一条 Y 性染色体) 都分别定位了至少一个结构基因, 第 1 号染色体上已定位的基因数目已超过 20。X 染色体上已定位的基因数目已超过 100, 位置搞清楚的至少有 16 个, 也已经知道色盲基因和血友病 A 基因在 X 染色体上的精确位置。已定位的基因总数已超过 210 个 (参见本刊 1978, No 5 “人类染色体基因图情况”一文), 其范围扩及整个生物化学, 免疫学和医学等领域; 决定嘌呤酶的基因, 决定碳水化合物、氨基酸和脂肪代谢的基因, 一个氨基酸-tRNA 合成酶, 一些遗传性疾病: 例如遗传性白内障和指甲腭骨发育不全综合症, 体外培养细胞对毒素——如白喉, 脊髓灰质炎易感性的基因, 结构蛋白质例如决定胶原蛋白质的基因; 血液凝集因子, 对感染具有抗性的蛋白质; 细胞表面抗原; 调节基因; 多肽酶例如绒毛膜促性腺激素; 以及其他多种基因。

由于制图方法的改进和新技术的应用, 估计在今后十年内可以将 1000 个基因定位在人的染色体上; 有人估计用遗传工程方法治疗遗传性疾病将要进行 20—25 年的艰巨工

作, 基因图的成就增加了预防和治疗遗传性疾病的可能性。

基因图的应用

基因图知识的进展对于了解进化, 染色体组成和遗传控制机制的关系, 以及某些肿瘤和先天性疾病的发病机制有很大帮助。

分带染色方法可用来鉴定各种不同的或相似的核型, 比任何过去采用的方法要精密得多。例如, 已经证明人和猩猩的亲缘关系最近。猩猩有 23 对常染色体。人有 22 对常染色体, 可能是祖先的两条端点染色体通过着丝点融合而形成一条染色体, 即第 2 号染色体。人和猩猩的核型还可根据少数臂内逆位和臂间逆位的染色体加以区别。

随着染色体特殊遗传结构的更多了解, 由染色体畸变引起的表型变化的机制也会逐渐清楚起来, 包括由染色体变化引起肿瘤的机制, 例如, 慢性粒细胞白血病的 Ph^1 染色体, 是由于 22 号染色体长臂远端部分缺失, 易位到其他第 2、6、7、9、11、13、16、17、19、21、22 号常染色体上, 可以想象慢粒白血病是与 22 号染色体长臂缺失有关。对于先天愚型, 认为是 21 号染色体长臂远端部分三体的结果, 在这部分染色体上有一个基因决定的酶叫做可溶性过氧化物歧化酶, 也叫靛酚氧化酶或四唑氧化酶, 它破坏过氧化物的代谢, 可能是一个重要的致病因素。毛细管扩张运动失调和恶性网状淋巴结都可在显微镜下观察到 14 号染色体在 14q12 处有变化, 而基因图告诉我们这一位置上有一种酶叫核酸磷酸化酶 (NP), 这是核酸代谢中的一种酶。对遗传性疾病和恶性肿瘤的病因的了解就大大向前跨进了一步。

一张详细的基因图对于预防人类遗传性疾病的发生提供了新的机会。一个患病的家庭, 为了预防患病儿童的出生, 可以在母亲妊娠前期对羊水进行出生前诊断, 除了用染色体数目上和结构上的畸变作为指标外, 更

多的疾病是由基因突变而引起的,这样就可以直接测定羊水和羊水中胎儿脱落细胞中能够表现的各种性状,这就是用生化方法进行的直接测定;然而,间接测定也是可能的,有两种间接测定法:第一种我们称作连锁间接测定法(indirect detection by linkage IDL),这些表型在细胞水平上并不表现出来,或者还没有适当的生物化学方法加以鉴定。然而,我们假定这一位点已定位,与它紧密连锁的位点($<10\text{cM}$)*也已确定,并且后者的基因产物可以在羊水细胞中检出。我们把有缺陷的基因位点记作D(defective),另一个与它连锁的,可以在羊水中检出的记作I(indicator)。I位点是多态性的,在患者家庭中呈现各种不同形式的分离。同样,由家谱分析建立的分离方式也是需要的。获得这种证据并不太困难,因为在多数情况下I基因的表型是等显性的。D和I基因间连锁距离的正确信息对于估计D基因传递的危险性是重要的。已经知道了几个连锁群,提供了用连锁进行间接检测的机会。其中一个例子是强直性肌营养不良D位点和分泌因子(secretor)I位点两者是紧密连锁的,第二个例子是血友病A(D位点)和G6PD(I位点)两者也是紧密连锁的。因为强直性肌营养不良(D位点)没有可检出的任何生化指标,因此借助于其连锁基因分泌因子(I位点),可以在羊水中测定出来,用连锁群的资料间接对强直性肌营养不良进行出生前的诊断,这就有效地提高了出生前诊断的水平。血友病A和G6PD连锁群同样如此,因为G6PD和血友病A是连锁的,而G6PD在羊水中是容易测定的,也就提高了血友病A的检测效率。

简单的计算表明IDL方法需要一张密度相当高的基因图。我们假设总基因组的大小为 $3,000\text{cM}$,我们获得的D和I基因之间的距离不会超过 10cM ,其间就有300个间隔。如果我们要求95%的间隔含有至少一个I基因,根据泊桑分布,我们获得大约每个间隔三个

基因,或者总数是900个基因。我们可以估计,大约占总数 $1/3$ 的同功酶是多态性的。因此对整个基因组来说,大约有2,700个基因需要定位。这样工作量很大,进度很慢,因为只有一小部分家庭会在每一个多态性的位点上(等位基因上)发生突变。新的IDL测试方法的应用,对任何一个单独位点上等位基因变化的检出方法进展可能很快,因此可以认为,用IDL法进行出生前诊断需要知道基因组中定位的基因数目在1,000个以上,才能切合实用。看来这是一个很大的数字,但是新技术的应用,有些上面已作过一些介绍,在未来十年中把1,000个基因定位在人的基因图上将是非常可能的。当这种分辨率很高的基因图得到应用时,预报胎儿遗传组成的能力将会提高。

第二种出生前诊断的方法是属于那些在羊水细胞中不能正常表达的表型,但可以在细胞杂交的适当条件下激活。我们把这类方法称作激活直接测定法(direct detection by activation, DDA)。在最近的研究中,Darlington(1974)指出小白鼠肝细胞和人的淋巴细胞杂交形成的杂种表现出人和鼠的白蛋白表型(图7),实验有力地指出,人的淋巴细胞白蛋白基因一般是静止的,能在肝细胞的环境下被激活合成白蛋白。啮齿动物 $\times$ 啮齿动物的杂种中,也报导了白蛋白和黑色素沉着在杂交条件下被激活的例子。这样一个实验系统可用来决定胎儿的遗传组成。因为在正常情况下不能表达的基因,在杂种细胞中被激活而表达出来,这就能更精确地测知胎儿的遗传组成。图中所示是杂种细胞中决定白蛋白的基因怎样从抑制状态下活化。白蛋白基因通常是在小白鼠肝或肝癌细胞中表达,象在人的肝细胞中一样。白细胞并不制造白蛋白。把小白鼠肝癌细胞和人的白血细胞融合。形成的杂种细胞都产生小白鼠的白蛋白。其中有一些也产生

* 分摩 1cM 大约相当于1%的重组部分。当分摩很小时,遗传长度与重组部分的比大致是1:1。

人的白蛋白,用免疫化学的方法不能与小白鼠蛋白质区别。结果指出,决定人体白蛋白的基因在白血细胞中是存在的,但是不表达,可以在那些含有人的染色体的杂种细胞中激活,可能是由于小白鼠肝细胞提供了某些调节因子。同样的方法,对于研究肿瘤细胞中恶性表达的机制也是有所助益的。

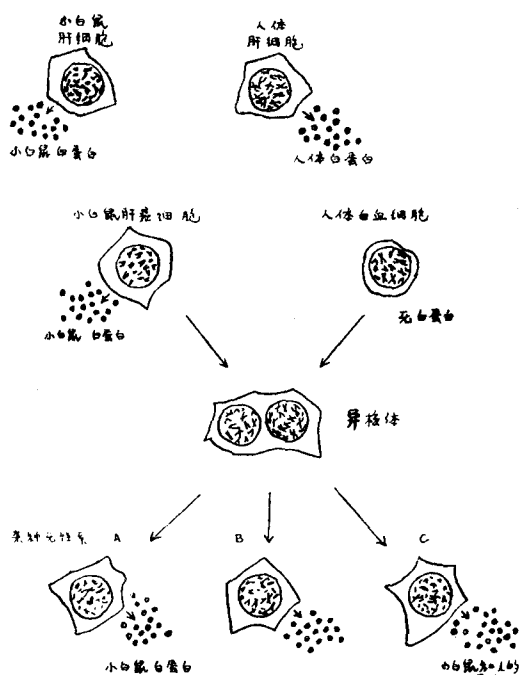


图7 杂种细胞中蛋白基因被激活

体细胞系统现在已用来分析控制恶性生长的遗传机制。这些实验的基本设计是简单的。把高度恶性的小白鼠肿瘤细胞群和恶性较低的小白鼠异倍体细胞杂交。恶性的定义是:较少量的细胞接种在新生的,照射过的,免疫抑制的动物身上,能形成肿瘤。用各种亲本的搭配,得到一系列不同的杂交组合,所得结果是相当一致的。资料表明在这些组合中非恶性的表型是“显性”的。在另一类实验中,Harris (1974) 将恶性程度不同的细胞融合在一起,结果也是很一致的。他们指出,由两个恶性亲本形成的杂种有它自己的恶性程度。此结果表明,存在一种简单的互补群,以及有一个单一的主要位

点控制着恶性的表达。但这只是许多可能的解释之一。非恶性的细胞抑制恶性细胞是由于一系列遗传功能以等显性的方式作用着,这也是一种可能的解释。因此,用恶性和非恶性细胞,它们的表型同时表达出来,可以使杂种基本上是非恶性的,也就是说,用少量的细胞接种在动物身上,不能很好地长成肿瘤。等显性的论证同样可以由两个恶性亲本融合形成的杂种的恶性性状来解释。

很明显,想要决定控制恶性表型的基因数目,最直接的方法是进行制图的研究。如果存在一个控制恶性生长的特殊的位点,那么一条特定的染色体的丢失同恶性的重新出现是有关的。实验证明,恶性受到抑制的杂种,重新出现恶性的细胞群体的确是与染色体的丢失有关。然而,有两个原因不能肯定丢失的是那一条染色体。第一,杂交是用小白鼠相同的自交系作为组合,影响了同功酶标记的使用。第二,染色体的组成是异倍体的。因此既使用最新的核型分析方法,也很难加以识别。最近,报导了Harris等(1973)的预备实验,他们把恶性细胞和小白鼠胎儿的非恶性二倍体成纤维细胞进行杂交,二倍体细胞同样能够抑制恶性,而恶性的重新表达与二倍体基因组中染色体的丢失有关。仔细分析染色体的成分,发现恶性杂种中某些染色体已经丢失,特别感兴趣的是第4号和第7号染色体包括在内。第4号染色体带有Fr-1位点,它是控制小白鼠Gross类型白血病毒复制的,第7号染色体具有AKv-1位点,可能是致癌病毒整合的位置。可能这些基因的剂量会影响被肿瘤病毒感染细胞中肿瘤特征的表达。对金黄色仓鼠肿瘤的研究也指出,特殊染色体的出现与肿瘤恶性性状是有关的。

其他体细胞系统现已用作研究宿主细胞和肿瘤病毒的相互作用。Croce (1973) 等认为人的第7号染色体是SV40整合的位置,他们证明,由SV40转化的人的二倍体细胞中第7号染色体同SV40T抗原具有显著的正

相关。他们也证明由 SV40 转化的亲本细胞所产生的杂种细胞中第 7 号染色体是优先保留的。最有说服力的例子是 SV40 转化的人体细胞和小白鼠腹膜巨噬细胞的杂种。这些杂种细胞都至少保留一条第 7 号染色体。杂种拥有一套小白鼠二倍体或接近四倍体的染色体组成, 另外再加上一条或几条第 7 号染色体。

对于核型的变化与恶性生长过程的关系作了很多研究。唯一清楚的例子是 Ph¹ 染色体, 90% 慢粒白血病人骨髓细胞中出现 Ph¹ 染色体, Ph¹ 染色体是 22 号染色体的变化, 缺失长臂端部的一半, 而且缺失部分都易位到其他常染色体上。Zankl (1972) 报导脑膜瘤和 22 号染色体部分缺失有关。最近, Rowley (1973, 1974) 报导非随机的染色体异常与人特殊的血液病有关。例如, 在急性 CML 和急性白血病中发现 8-三体比例很高, 同样也发现同第 7 号单体有一定的关系。在另外一系列淋巴细胞疾病的研究中, 例如多数骨髓瘤, Burkitt's 淋巴瘤和毛细管扩张运动失调, McCaw (1975) 等报导大多数这些病例都有 14 号染色体的异常。

因此, 有相当多的报导都认为特殊染色

体的不平衡和特殊的肿瘤形成之间是有关系的。这些报导同上面讨论的细胞杂交的实验结果是一致的, 认为特殊染色体的剂量状态和活体内恶性的抑制或对离体环境的适应性之间是有关联的。这些发现将导致对特殊的遗传因子进行细胞遗传学方法的系统的研究, 这些遗传因子在肿瘤的发生和发展过程中所起的作用是不容忽视的。在查明与恶变过程有关的缺损染色体后, 用遗传工程的方法, 可以探索用染色体补偿的办法达到治疗恶性肿瘤的可能性。目前已有 2、3 个实验室成功地把单条染色体引入细胞中, 并且表达出这条染色体自己的功能。

回顾过去几年来人体基因图所取得的成就, 我们相信在今后几年内, 在数量上和质量上将会取得更大的进展。在数量方面的进展将取决于新的表型检出的方法, 在这方面性细胞和体细胞的杂交将起积极的作用。在质量上, 在分辨力方面的进展将取决于大量应用带有染色体重组的杂种细胞, 也期望其他新方法的设计。

随着人体基因图的逐步完善, 人类最终治疗遗传性疾病和恶性肿瘤的日子也就屈指可数了。

参 考 文 献

- Creagan, R. P., et. al., *Cytogenet. Cell genet.*, 1975, 14, 112-116
- Croce, C. M. et. al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1973, 70, 3617-3620
- Darlington, G. J., et. al., *Science*, 1974, 185, 859-862
- Ephrussi, B. et. al., *Cytogenetics of Cells in Culture* Academic Press, New York and London (1964)
- Harris, H. et. al., *Nature*, 1965, 205, 640
- Littlefield, J. W., *Science*, 1964, 145, 709
- McCaw, B. K. et. al., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1975, 72, 2071-2075
- Mckusick V. A. et. al., *Science*, 1977, 196, 390-405
- Rowe, W. P. et. al., *Science*, 1973, 180, 640-641
- Rewley, J. D., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1975, 72, 52-56
- Ruddle, F. H., et. al., *Annu. Rev. Genetics*, 1975, 9, 407-486
- Ruddle, F. H. et. al., *Scientific American*, 1974, 231, 86-44
- Satlin, A. et. al., *Cytogenetics cell genet.*, 1975, 15, 146-152
- Wiener, F., et. al., *J. Cell Sci.*, 1974, 16, 189-198

基因纯质增殖*在真核生物遗传学 基础研究中的应用

朱 立 煌

(中国科学院遗传研究所一〇一组)

1953年Watson和Crick提出了DNA的双螺旋模型,从这个模型衍生出来的中心法则,即关于遗传信息复制、转录和转译的基本思想逐渐地渗透到生物学研究的各个领域,于是一个分子生物学的新时代开始了。在近二十年的时间里,遗传学和分子生物学大量的基础研究都是围绕着中心法则进行的。到了六十年代末,中心法则已经不是一个抽象的轮廓了,人们对它所涉及的许多方面有了实质性的了解。但是在回顾这段历史时,应该说绝大部分的实验资料和结论都来自于简单的原核生物,而真核生物的分子遗传学依然是一块急待开拓的处女地。显然,造成这种局面的原因正是真核生物本身的复杂性。

首先,真核细胞库存的遗传信息量太大,高等哺乳动物一个细胞的DNA分子量高达 10^{12} 道尔顿,比大肠杆菌要大三个数量级。而且真核细胞的DNA不是以游离状态存在于细胞质中的;它们为核膜所包围,并有大量的蛋白质(组蛋白与酸性蛋白)与其结合。其次,在个体水平上,多数真核生物都是多细胞,有着各种程度的细胞分化以及相互作用。从受精卵到成熟的个体必须经过漫长的胚胎发育和个体发育。随着进化,真核生物又产生了染色体行为相当复杂的减数分裂和受精过程。当然,与以上这些真核生物的特殊性有关的遗传学研究课题,在仅以原核生物为材料的分子遗传学研究中是解决不了的。面对着真核生物的复杂性,使用常规方法的分子生物学家感到束手无策。

七十年代初,长期的有关DNA性质和复制的基本研究终于结出了丰硕的成果。人们在了解涉及DNA的各种酶的种种特性的基础上,开始使用DNA外切酶、DNA内切酶、DNA聚合酶以及脱氧核苷酸末端转移酶,来处理和操作DNA大分子及其片段。其中,限制性内切酶识别DNA的特定序列,将其剪切后产生粘性末端**的能力,和脱氧核苷酸末端转移酶在DNA的3'单链末端添加寡聚dA或dT***的能力显得尤为重要。正是由于这两种酶的应用,在试管中将不同生物来源的DNA重建成一个新的组合分子的设想才成为现实。另一方面微生物遗传学关于细菌质粒和噬菌体的遗传性质也积累了大量的知识,如果重组后的DNA分子中的一段是质粒或噬菌体,那么根据质粒和噬菌体在大肠杆菌中自我复制的能力,就可以把它们当作运载体,在宿主细胞中大量增殖重组DNA中的另一段,这样在短短的二、三年时间里,基因的纯质增殖作为遗传学研究中一项崭新的技术诞生了⁽¹⁻⁵⁾。从此,人们可以在原核细胞中增殖真核基因****,这就为遗传学的基础研究开辟了一条新的道路。

最近,这项技术涉及到的每个方面都有

* 在本文中,基因纯质增殖是gene cloning的意译

** 指二个DNA分子或片段其末端带有一段单链的寡聚核苷酸序列,彼此互补,在适当的退火条件下,可以重聚。

*** dA是脱氧腺嘌呤核苷酸, dT是胸腺嘧啶核苷酸。

**** 真核生物的基因的简称。