学术动态

人体抗血友病因子 IX 基因的分子克隆

1982 年 10 月中旬，英国牛津大学病理系教授 Brownlee 来中国科学院生物物理研究所作了一个学术报告，题目是“人体抗血友病因子 IX 基因的分子克隆”。因子 IX 是血液凝固中的凝血因子之一，如果人体内因子 IX 功能有缺陷，就会导致人流血失常，患一种叫血友病 B 的病症。为了了解血友病 B 的分子基础，Brownlee 等人对人体因子 IX 进行了克隆实验。

实验是从提取牛体因子 IX 开始，首先用盐酸胍(guanidine hydrochloride)方法从牛肝中提取总 mRNA，然后用寡聚 (dT)- 纤维素柱层析法从总 mRNA 中富集带有多聚 (A) 的 mRNA，从而使因子 IX 的 mRNA 也得到了富集。接着对含多聚 (A) 的 mRNA 进行二次连续蔗糖梯度离心，并用免疫沉淀法在兔网织红细胞体系中对牛因子 IX mRNA 进行检测，发现在沉降系数为 20—22S 处富含牛因子 IX mRNA（富集程度达 10 倍）。

Brownlee 等人将 20—22 S 的 mRNA 逆转录成 cDNA，所用“引物”是根据已知牛因子 IX 为 5 个氨基酸序列推出其可能的 DNA 序列，采用固相磷酸三酯法合成的。这样利用逆转录酶可以专一性地将牛因子 IX mRNA 逆转录成 cDNA，利用 DNA 重组技术将得到的双链 cDNA 连入 pBR322 质粒中进行克隆，得到 7,000 个克隆的菌落，再应用根据相应牛因子 IX 另外 6 个氨基酸序列而合成的 DNA 片段作为探针，从上述菌落中筛选出了一个带有正杂交信号的菌落，从而得到了牛因子 IX cDNA 克隆。Brownlee 等利用此克隆的 cDNA 作为探针从人基因库 [(Hae III/Alu Iλ (haron4a)]中找到了人体抗血友病因子 IX 的基因，并且测定了部分 DNA 序列，发现人与牛因子 IX 基因中的相应部分，96 个核苷酸中有 85% 的同源性。因此 Brownlee 认为利用牛因子 IX cDNA 序列对人体因子 IX 基因进行分子交叉杂交是可行的。令人特别感兴趣的是他们在做原位杂交筛选菌落时，采用 Whatman 541 普通滤纸，代替了价格昂贵的硝酸纤维素纸。

目前，Brownlee 等人不仅从人基因库中筛选出了人体因子 IX 的基因，而且还利用限制性内切酶获得了人体因子 IX 基因的部分片段（约 1000 个碱基对）。他们应用这个正常的人抗血友病因子 IX 的基因片段作为探针，对血友病 B 病人的总 DNA 进行了分子杂交检查，发现有如下三种情况：1）有的血友病 B 病人的 DNA 中根本就无因子 IX 基因存在。2）有的血友病 B 病人 DNA 与探针杂交给出异常图谱。3）有的给出与正常人完全一样的图谱。

Brownlee 最后讲，他希望他们能应用 DNA 重组技术将已筛选到的人体因子 IX 的基因转化到细菌中进行表达，发酵生产人体因子 IX，并用于临床病人，还希望能将人体因子 IX 基因片段作为探针用于胎儿早期诊断。

[中国科学院生物物理研究所　程振起]

科技消息

两种荧光定量检测 DNA 的方法

DNA 经葡聚糖凝胶电泳分离后，用两种荧光物质作定量分析：EB (啡啶溴红)和 DAPI(4.6 diamidinophenylindoles) 进行比较。实验结果说明 DAPI 比 EB 敏感好几倍。DAPI 的最适浓度为 0.05μg/mol。

[*J. Biochem. and Biophys. method*,, **6**(2), 95, 1982. 敏摘]

《肿 瘤 性 质》

这是一篇较好的综述，作者是 1975 年诺贝尔医学奖金获得者R. Dulbecco。

文章从简述正常细胞与肿瘤细胞的差异开始，叙述了启动子—控制基因活动，致癌基因病毒启动子的作用，原位致癌基因的激活作用，到化学致癌剂的作用，启动与促进，肿瘤发展。最后提出一个肿瘤的分子模型。

[*Eudeavour*, **6**(2), 59, 1982. 情摘]