

用限制性内切酶 Hae III 进行绦虫染色体 G 分带的研究

刘国章 何 麟

(第一军医大学寄生虫学教研室, 广州)

限制性内切酶(简称限制酶)是一类能识别并切开特定 DNA 序列的核酸内切酶。近几年来,一些作者用限制酶处理人和小鼠的中期染色体,观察到特征性的带纹,并且认为限制酶的显带作用与染色体上 DNA 片段的选择性抽提有关。这一新技术的应用,不但意味着细胞遗传学和分子生物学广泛的相互渗透和结合,而且为进一步研究染色体结构和基因定位等提供了新的手段。

我们用限制性内切酶 HaeIII 对孟氏裂头绦虫染色体进行了 G 分带处理,结果获得了比较丰富的 G 带带纹。

方法 按空气干燥法制备孟氏裂头绦虫染色体玻片标本,将室温下约一周内片令的标本,每片滴加含 32u 的限制性内切酶(HaeIII)缓冲反应液 20 μ l;覆以盖片;在 37 $^{\circ}$ C 水浴中温育 8~10 小时,温水冲去盖片和反应液,用 5% Giemsa 液,扣染 10 分钟,镜检照相。

结果和讨论 用限制酶处理过的染色体标本,都出现了清晰的 G 带带纹。同源染色体配对, G 带带纹是相一致的。经用显微分光光度计作 G 带定量分析,计算出每条染色体长、短臂上的 G 带带纹。孟氏裂头绦虫染色体是三倍体型, $3n = 27$ 。染色体比较长,第一号染色体最长 21.25 μ , 显示带纹 22 条。第九号染色体最短, 2.95 μ , 显示 3 条 G 带纹。限制酶处理显示的 G 带纹,比较细小,而胰蛋白酶处理显示的 G 带纹,似乎要宽些。我们认为用限制酶分带,可以更精细地分析染色体的结构和化学本质。

对限制酶的显带机理,尚未定论。但较多的学者倾向于这一观点:即认为限制酶能选择性地识别其特异位点,并从染色体上剔除 DNA 片段。结果导致这些区段不能被 Giemsa 着色,故呈浅染,而其它的区段则呈深染,这样就产生了 G 带带型。

[本文于 1987 年 6 月 8 日收到]

它可由我们的预测 RNA 二级结构的程序^[1]产生,也可是化学实验或其它方法的结果。

我们把发夹环(hairpin loop)、内环(interior loop)和膨胀环(bulge)等封闭环型结构都以圆形来表示,环上的各个核苷酸都处于圆内接正多边形的顶角上,环上有几个核苷酸就是正几边形,连接在该环上的各个配对区沿着该圆的法线方向向外延伸。

我们把显示屏幕看作是一个直角坐标系,选定一个点 (x, y) 为第一个核苷酸的所在位置,并把第一个配对区及其以前的非配对链绘出,接着就是从配对区出发绘制一个环。设配对区最后一对碱基的所在位置分别是 (x_1, y_1) 和 (x_2, y_2) , 从数组 $B\%(n, 3)$ 中求出该环含有的碱基数。我们规定圆内接的不论是正几多边形,其边长都相等,即等于配对碱基间的距离 D ; 这个圆的半径为 $R = D/2/\sin(\alpha)$, 其中 $\alpha = \pi/m$, m 是环上所含的碱基数。半径确定后就定圆心 (x_0, y_0) , 由方程 $(x_0 - x_1)^2 + (y_0 - y_1)^2 = R^2$ 和 $(x_0 - x_2)^2 + (y_0 - y_2)^2 = R^2$ 联立得 (x_0, y_0) 的两个解,经判别去掉一个伪解,则得圆心,然而可很容易地确定圆内接多边形的各顶角的位置。

配对区的碱基位置的确定:已知一碱基对的位置 (x_1, y_1) 和 (x_2, y_2) , 设下一对碱基的位置为 $(x_3,$

$y_3)$ 和 (x_4, y_4) , 点 (x_3, y_3) 和 (x_4, y_4) 分别是 (x_1, y_1) 和 (x_2, y_2) 的相邻碱基位置。我们规定 (x_1, y_1) 与 (x_2, y_2) 间的距离是 10, (x_3, y_3) 与 (x_1, y_1) 间的距离也是 10, 且角 $\angle(x_3, y_3)(x_1, y_1)(x_2, y_2) = 90^{\circ}$, 所以 (x_3, y_3) 与 (x_2, y_2) 间的距离是 $10\sqrt{2}$, 这样 (x_3, y_3) 就确定了, (x_4, y_4) 也同样确定。在这里,距离的单位是 GRAFIX 中的显示分辨率的单位。

我们绘制 RNA 二级结构图的总的路径类似于数据结构方法中的先序遍历二叉树^[2], 从 5' 端出发,沿着核酸链,当遇到发夹环后就退回到上一个环。

图 2 是由 RNA-BAS 绘制的蓖麻蚕 5S rRNA 二级结构^[3]图。

参 考 文 献

- [1] 何东明,陈农安:《生物化学杂志》,1985,1(2),81.
- [2] Garrett, R. A. et al.: *Trends in Biochemical Sciences*, 1981, 6(5), 137.
- [3] Aho, A. V. et al.: *Data Structures and Algorithms*, Addison-Wesley Publishing Company, USA, 1983, 93-107.
- [4] Gu, X. R. et al: *Nucleic Acids Res.*, 1982, 10, 5711.

[本文于 1987 年 6 月 1 日收到]