



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)。

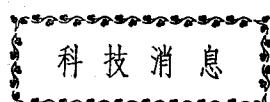
Brownlee等人将20—22S的mRNA逆转录成cDNA，所用“引物”是根据已知牛因子IX为5个氨基酸序列推出其可能的DNA序列，采用固相磷酸三酯法合成的。这样利用逆转录酶可以专一性地将牛因子IX mRNA逆转录成cDNA，利用DNA重组技术将得到的双链cDNA连入pBR322质粒中进行克隆，得到7,000个克隆的菌落，再应用根据相应牛因子IX另外6个氨基酸序列而合成的DNA片段作为探针，从上述菌落中筛选出了一个带有正杂交信号的菌落，

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 I λ (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]



两种荧光定量检测DNA的方法

DNA经葡萄糖凝胶电泳分离后，用两种荧光物质作定量分析：EB(吖啶溴红)和DAPI(4,6-diamidino-phenylindoles)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. 摘摘]

《肿瘤性》

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. 摘摘]