

研究快报

新诱变剂甲基丙烯酸环氧丙酯作用的酶谱分析*

高惠兰 谢大英 杨惠芳 李忠生

(中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所, 北京)

左 瑾 方福德

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京)

我们前已报告, 甲基丙烯酸环氧丙酯(Glycidyl Methacrylate, GMA) 系一强化学诱变剂, 能产生很强的遗传毒作用。为了研究其诱变机理, 我们在体外系统使 GMA 与质粒 PBR322 进行反应, 由吸收光谱移动法及其他方法证明了两者的发生了以共价键为主要键型的结合作用。在此基础上, 又将 GMA-PBR322 结合物转移到 *E. coli* HB101 中, 筛选不同表型的质粒突变型(体), 经多次重复筛选, 获得了两种具有遗传稳定性的突变型 $A^sT_c^s$ 和 $A^sT_c^R$, 和非突变型 $A^sT_c^R$ 以及计算得另一突变型 $A^sT_c^s$ 的百分率, 结果如表 1 所列。结果表明, GMA 可能通过改变质粒抗药性基因的结构而

谱分析和比较, 结果表明, 经单酶解与双酶解分析, 除 BamHI、SalI 和 AccI 的识别位点保持不变外, 其他四种限制酶位点在突变型 $A^sT_c^s$ 中均发生了不同形式的改变, 即: HindIII(29) 和 EcoRI(4360) 位点消失, 而分别在沿顺时针方向约 40bp 和 300bp 处出现新的位点; BglI(3487) 和 HincII(3908) 位点消失, 分别在沿逆时针方向约 100bp 处出现新的位点, 此外, 还在核苷酸序号约 252bp 处增加了一个新的 HincII 位点即 HincII(252)。由上可见, GMA 引起 DNA 变异的程度是很高的。我们还观察到, 突变型与非突变型质粒 DNA 的分子大小相同, 说明在突变型中没有发生大片段插入或缺失, 故可认为点突变是导致质粒表型改变的主要原因。有趣的是, GMA 所致 T_c^s 基因的突变的位点集中在 0—300 序列号区域, 因此, 该区域是否 GMA 作用的热点区, 值得深入研究。至于是否存在小片段 (<20bp) 插入或缺失以及点突变类型和序列专一性等有关工作正在进行中。此外, 在该突变型中, 其 A^s 基因中的某些位点也发生改变, 但并不引起表型的改变, 这提示, 在致突变及其生物学效应的研究中, 需要鉴别有效(或有害)的突变与无效(或无害)的突变。

表 1 GMA 诱导突变的 PBR322 突变型的分布

GMA 剂量 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	表型突变及非突变的百分率			
	$A^sT_c^s$	$A^sT_c^R$	$A^sT_c^R$	$A^sT_c^s$
200	55.6	23.7	5.3	15.4
400	32.2	27.1	8.5	32.2
500	13.2	11.2	12.5	63.1

注: T_c^s , 四环素敏感; A^s , 氨苄青霉素抗性, 余推。

引起表型的改变。为了证明这一点, 在平行实验中提取了 $A^sT_c^s$ 和 $A^sT_c^R$ 质粒 DNA, 选择具有单切点的酶 BamHI(375)、EcoRI(4360)、HindIII(29) 和 SalI(650); 双切点的酶 AccI(651、2246) 和 HincII(652、3908); 以及三切点的酶 BglI(934、1168、3487) 进行限制酶酶

[本文于 1989 年 4 月 14 日收到]

* 国家自然科学基金资助项目。