

这个事实与胰岛素 B 链 N 端经化学修饰后的结晶行为与三维结构的变化^[7]相一致。

上述结果显然是合理的。这有力的证实了本程序的核心部分——接触点的计算的正确性。

此项研究得到梁栋材同志的关心与支持,王大成,常文端和戴金璧同志提供了初步用差值傅立叶法修正得到的三方二锌猪胰岛素的原子坐标数据(中间结果),特此致谢。

参 考 文 献

[1] Rossmann, M. G.: *The Molecular Replacement*

Method, 1972, Gordon and Breach, New York.

[2] Crowther, R. A. & Blow, D. M.: *Acta Cryst.*, 23, 544, 1967.

[3] Vand, V. & Pepinsky, R.: *Z. Kristallogr*, 108, 1, 1956.

[4] Wayne, A. Hendrickson & Keith, B. Ward: *Acta Cryst.*, A32, 778, 1976.

[5] Bott, R. & Sarma, R.: *J. Mol. Biol.*, 106, 1037, 1976.

[6] 毕汝昌、林政炯、高义贵:《生物化学与生物物理学报》, 1980年, 12卷, 2期, 165页。

[7] 毕汝昌等 待发表。

[本文于1981年7月22日收到]

人类迟复制 X 染色体的识别与复制过程

陈采琴 樊 蓉

(中国科学院生物物理研究所)

1963年 Schmidt 用 ³H TdR 放射自显影的方法,观察中期染色体的 DNA 复制情况,发现在正常女性的两条 X 染色体中,一条有活性;另一条活性低。活性低的 X 染色体 DNA 复制较迟,而被大量标记,在间期核中呈异固缩状态形成 X 小体。正常男性细胞中仅有一条 X 染色体,它没有这种迟复制的现象。此后,医学遗传学中应用这一方法研究迟复制的中期 X 染色体,但由于放射自显影方法复杂,且需防护设备,不易推广应用。

近年来,由于人类染色体显带技术与姐妹染色单体分化染色技术的发展以及二者结合使用^[1,2],对 X 染色体的各种异常有了精确的鉴定方法,进一步加深了对 DNA 复制过程与带型之间相互关系的认识。我们参考 Kim 与 Goto 等人的方法^[3,4],采用 BUdR-Hoechst-Giemsa 技术对健康女性淋巴细胞中迟复制 X 染色体复制过程进行初步研究,为今后研究细胞周期中 DNA 复制过程奠定基础,此外还有助于临床确诊性染色体异常的疾病。

材 料 与 方 法

1. 细胞培养与制片

从健康成年女性静脉采血,肝素抗凝,每瓶培养基含有 4 毫升 Eagle 培养液,1 毫升小牛血清,0.2 毫升 PHA,接种全血 0.3 毫升,培养 62 小时后加入 BUdR,最终浓度为 15 μ g/ml,避光继续培养不同时间(4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 小时)。终止培养前 4 小时加入秋水仙素,最终浓度为 0.08 μ g/ml。按常规空气干燥法制片。

2. 迟复制 X 染色体的分色

标本在室温下存放 3—7 天后,依次浸入 0.14M 氯化钠,0.004M 氯化钾和 0.01M 磷酸盐缓冲液 (pH7.0) 中各 5 分钟,置 5 μ g/ml 的 33258-Hoechst 荧光染料中染 20 分钟,取出后用磷酸盐缓冲液冲洗,并用该缓冲液封片。在室温下将标本平放在纸板上,同时用 2 支并列的 15 瓦黑光灯(两灯相距 1 厘米,灯管离纸板约 5 厘米)照射 30 分钟,用蒸馏水冲洗标本,使盖玻片与玻片脱离,再用蒸馏水充分冲洗。然

后放入 $2\times\text{SSC}$ 溶液中, 60°C 处理 15 分钟, 蒸馏水冲洗, 8% Giemsa 染色, 冲洗待干, 透明、封固。

结果与讨论

1. 迟复制 X 染色体的识别

我们共观察了 2000 个细胞, 发现迟复制 X 染色体为一条大小相似 C 组的近中着丝点染色体。由于迟复制 X 染色体的 DNA 复制时间较其它染色体晚, 当 BUdR 掺入后, 仅此一条染色体呈浅着色, 据此色可与其它染色体区分 (见图 1)。

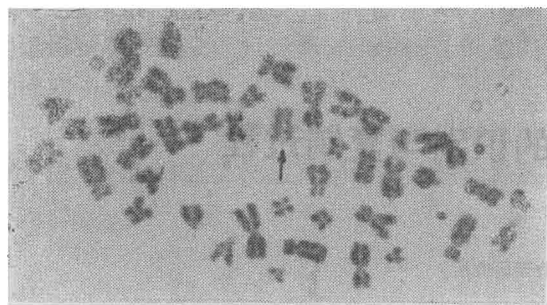


图 1 迟复制的 X 染色体(箭头所指)

2. 迟复制 X 染色体的复制过程

由于我们是用非同步淋巴细胞进行实验, 因此加入 BUdR 继续培养后, 在不同时间制片, 观察迟复制 X 染色体复制率, 从而确定 BUdR 掺入最适时间。

从图 2 可见, BUdR 掺入 4 小时, 分裂细胞中开始出现迟复制 X 染色体, 此后, 迟复制 X 染色体复制率随着 BUdR 掺入时间增加而提高, 6 小时达高峰, 然后逐渐下降, 10 小时已极为少见。

根据上述结果, 我们认为迟复制 X 染色体

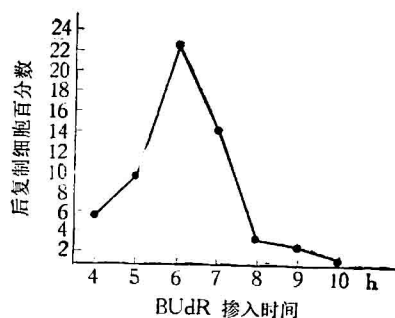


图 2 X 染色体后复制百分率与 BUdR 掺入时间的关系

的百分率与 BUdR 掺入的最适时间是由细胞 S 期长短决定的。从加入 BUdR 后 4 小时开始我们看到迟复制 X 染色体, 而到 10 小时时已很少见到, 这一结果与 Schmidt^[5] 所报道的人类淋巴细胞 S 期为 10—11 小时, S 期前 3 小时为早复制, S 期后 4—11 小时为迟复制的结果基本一致。因我们是用非同步淋巴细胞作实验, 故整个 S 期时间内均能见到迟复制 X 染色体, 其中以 BUdR 掺入 6—7 小时, 迟复制 X 染色体百分率最高, 这是观察迟复制 X 染色体异常的最适时间, 从而也为我们研究 DNA 早复制提供必要依据。

参考文献

- [1] Chapelle, A. D. et al.: *Cytogenet. Cell Genet.*, **20**, 204, 1978.
- [2] Latt, S. A. et al.: *Chromosoma (Berl.)*, **57**, 135, 1976.
- [3] Kim, M. A. et al.: *Cytogenet. Cell Genet.*, **15**, 363, 1975.
- [4] Goto, K. et al.: *Chromosoma (Berl.)*, **66**, 351, 1978.
- [5] Schmidt, M.: *Chromosoma (Berl.)*, **76**, 101, 1980.

[本文于 1981 年 7 月 8 日收到]

(上接第 43 页)

偶合机理 (transport coupling) 细胞间通讯; 信息大分子间的相互作用; 核酸结构; 基因表达的转录及转译; 寄生生物的分子生物学; 膜上离子定位; 神经递体与受体。

会议专题讨论的问题是: 生物系统中水作用的物理学研究; 生物系统中的自由基与激发态; 肌动蛋白微丝的生化与功能, 神经元与神经胶质相互作用的分子

与电基础; 生物大分子交联的结构基础与动力学; 二价阳离子易位的生物学规律; 细胞组织系统与分化过程中酶的控制信号; 脑电位有关事件; 细胞执行功能过程中氧离子电化学梯度的利用问题; 生物大分子的微量热; 非轴突材料中钳位电压技术; 研究分子结构与功能的能探针; 生物活性肽的结构与功能; 膜通道的分子结构与功能。