

表7 模板与被连接的寡核苷酸片段结合不同与产率的关系

被连接的寡核苷酸片段	模板	产率(%)	参考资料
d-T	poly d-A	95	[10]
d-T	poly r-A	93	[10]
r-A	poly d-T	77	[10]
r-A	poly r-U	<1	[10]
r-C	poly r-G	0	
r-C	poly r-I	13	[9]
r-U	poly r-A	9	[9]
r-U	poly d-A	0	

(2) 被连接核苷酸片段的长短及其对末端碱基的影响 用 DNA 连接酶连接寡核苷酸片段, 一般说, 片段长一些配对氢键就多一些, 这样在模板上固定就好一些, 不易滑动, 因而连接效果就比较好。有人报道能被连接的核苷酸片段最短不能少于 5 核苷酸片段。至于片段末端的碱基, 似乎有这么一种趋势, 在相应的模板上, A 与 A 连接较好, 产率高; C、I 相互连接也还可以, U 与 A 连接比较差一些, G 与 G 相连则比较困难(见表 8)。

表8 T<sub>4</sub> DNA 连接酶连接不同核苷酸片段的活性<sup>[10]</sup>

被连接的寡核苷酸片段	模板多聚核苷酸	10 微升反应液中的 <sup>32</sup> P 的 cpm		10 微升反应液中 3' (2') 单核苷酸上 <sup>32</sup> Pcpm 的回收	抗磷酸单酯酶的 <sup>32</sup> P 与反应液中放入的 <sup>32</sup> P 之比(%)
		放入的	抗磷酸单酯酶		
(r-A) <sub>10</sub>	d-T	2.6 × 10 <sup>3</sup>	2.8 × 10 <sup>3</sup>	7.1 × 10 <sup>2</sup>	100
(d-T) <sub>12-18</sub>	r-A	2.5 × 10 <sup>3</sup>	1.4 × 10 <sup>3</sup>	—	60
(r-A) <sub>10</sub>	r-U	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.8 × 10 <sup>3</sup>	0	1.8
(r-U) <sub>12-18</sub>	r-A	6.6 × 10 <sup>4</sup>	5.8 × 10 <sup>3</sup>	5.3 × 10 <sup>3</sup>	9
(r-I) <sub>5</sub>	r-C	7.2 × 10 <sup>4</sup>	2.7 × 10 <sup>4</sup>	2.5 × 10 <sup>4</sup>	38
(r-C) <sub>15-20</sub>	r-I	6.0 × 10 <sup>2</sup>	5.4 × 10 <sup>2</sup>	5.4 × 10	13

综上所述, DNA 连接酶, 尤其是 T<sub>4</sub> DNA 连接酶, 不仅能连接 DNA 核酸链上的断口, 而且在有模板的条件下, 也能连接已知核苷酸序列的各种长度(不少于五个核苷酸)的 DNA 寡核苷酸片段; 这样就能把不同的 DNA 连接起来。因此它是核酸研究中, 尤其是在遗传工程研究中一个必不可少的重要工具酶。

应用 T<sub>4</sub> DNA 连接酶连接 RNA 寡核苷酸片段, 虽在酶类型、反应条件等方面进行了探索, 并取得了一些进展, 但离实际应用还有相当距离。特别是新近发现该酶有“打缺口”的活性, 则问题更多, 因此要用该酶连接 RNA 尚待今后进一步深入研究。

### 参 考 资 料

- [1] 穴井元昭: <蛋白質·核酸·酵素>, 13, 1104, 1968.
- [2] 安楽直代等: <蛋白質·核酸·酵素>, 14, 89, 1969.
- [3] Richardson C. C.: *Ann. Rev. Biochem.*, 38, 795, 1969.
- [4] Gellert M.: *Proceed. Nucleic Acid Res.* Edited by Cautoni Giulio L., Harper Row Published New York, 2, 875, 1971.
- [5] Lehman I. R.: *Science*, 186, 790, 1974.
- [6] Lehman I. R.: *The Enzyme*, 10, 237, 1974.
- [7] Gupta N. K. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, 60, 258, 1960.
- [8] Olivera B. M. et al.: *J. Mol. Biol.*, 36, 261, 1966.
- [9] Hiroshi Sand et al.: *Biochem.* 13, 5110, 1974.
- [10] Farced G. C. et al.: *Biol. Chem.*, 246, 925, 1971.

[本文于 1976 年 12 月收到]

### · 科技消息 ·

#### 钙在生物电中的作用

神经细胞通过释放乙酰胆碱对肌肉进行电刺激。在肌肉细胞膜内乙酰胆碱与乙酰胆碱受体结合而引起离子通透性的变化, 使离子得以流入肌肉细胞而引起电兴奋。这种现象与钙离子的参与

有关。乙酰胆碱受体的研究表明, 钙离子与乙酰胆碱受体的结合能力很强, 并且可以和乙酰胆碱竞争受体, 这种竞争有助于控制肌肉细胞膜上的离子通透作用, 从而调节肌肉的兴奋状态。