

膜,对 X 光胶片曝光 1—2 天。

二、结果与讨论

用化学法测定的芹菜叶 5S rRNA 的部分序列如图 1 (见封 3) 所示。从图上可看到 G、A、U 三种碱基反应的特异性较好。其中又以 G 的特异性最好。而 C 的特异性稍差。C 出现的区带实际上是 C+U。但是,在 G、A、U 三种碱基都能确定的情况下,C 也是不难读出的。C 的特异性不好,可能与胼的纯度有关。在整个反应过程中,严格控制反应时间和温度是实验的关键。反应时间过长,会使反应的特异性下降,副反应增加。时间太短,则大部分样品仍是完整分子。

我们通过比较 C 反应的不同反应温度和时间,发现在一定程度上降低反应温度 (—8——6℃),并缩短反应时间(15 分钟)可提高 C 反应的特异性。

因为化学法是由小分子试剂进行的有机反应,空间位阻较小,且反应是在高温或强碱性条件下进行,因此 RNA 二级结构对反应几乎没有干扰,这是化学法的一个显著优点。从图 1 看出,没有出现区带缺失或深度大的区带,这也说明二级结构对反应没有影响。在序列胶电泳时,我们采用 3000 伏高压,使凝胶发热,这样有利于 RNA 分子变性,能防止进行电泳时因二级结构而引起的区带压缩现象。

化学法的另一优点是不需特殊酶试剂。化学试剂比酶试剂更易得到和保存,用量少,价格又便宜,在目前国内的条件下,化学法似乎更可

取。化学法实验周期较短,在我们的实验室条件下,一个熟练工作人员在一天内就可以完成所有的化学反应和电泳。X 光胶片曝光过夜,次日便可得到放射自显影图谱。因此它无疑是一种快速的序列测定方法。

化学法的缺点是操作较繁杂。尤其是 G 反应,有十多个步骤,其中包括反复的乙醇沉淀、离心和洗涤。稍不留心就会使微量的放射性样品丢失。在反应完成后的反复乙醇沉淀和洗涤过程中,必须把每次的上清液除尽,否则会因残余的化学试剂而影响以后的反应。此法所用部分试剂有毒,必须在通风橱中操作,这也是它的不足之处。

此外,化学法对于 3' 末端标记的 RNA 分子测定效果较好,而对 5' 末端标记的 RNA 分子只能测定其 G 与 A 两种碱基, C 与 U 则效果很差,因而使该法的应用受到一定局限。化学法一般多用于较小的 RNA 分子,如 5.8S、5S、4.5S rRNA 等的序列分析,有时一块胶板便可读出除 5' 末端核苷酸以外的整个分子的序列。对于大分子 RNA 则需先切割成较小片段后再用此法测定。

总之,化学法测定 RNA 序列简单易行,且较准确,一般实验室均可采用。

参 考 文 献

- [1] Peattie, D. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 76, 1760, 1979.
- [2] Maxam, A. M. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 560, 1977.
- [3] 赵果等:《植物学报》, 24(1), 54, 1982 年。

[本文于 1984 年 8 月 18 日收到]

· 科技消息 ·

将外来基因转移到小鼠多功能造血干细胞

最近美国哈佛医学院和麻省理工学院的研究人员,以反向病毒 (retrovirus) 为载体,将外来基因成功地移入到小鼠的多功能造血干细胞。他们的实验步骤大致如下:(1) 将细菌新生霉素的抗性基因插入有传染性的反向病毒;(2) 再用上述病毒感染从小鼠身上抽取出来的骨髓细胞;(3) 采用 X 射线照射,破坏小鼠的骨髓细胞,然后再给这种致死性照射过的小鼠静

脉注射上述骨髓细胞。实验结果表明,移植细胞在存活下来的小鼠的骨髓和脾脏中进行了增殖,即造血细胞中已含有移入的细菌基因。

这一实验提供了一个高效、快速地将外来基因移入造血干细胞的方法。可以预期,这将会推动基因治

(下转第 62 页)

子,在极短的时间内完成分析。图3是用大豆胰蛋白酶抑制剂为配体分离胰蛋白酶的活性成份,分离时间为18秒钟^[9]。使用这种微型柱除了可提高分离速度外,还兼有便宜、非特异性吸附低、容易与其它色谱柱偶联、使稀溶液浓缩和操作压力低的特点。

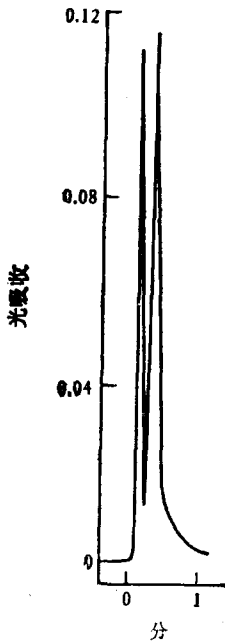


图3 微型柱分离胰蛋白酶

柱: 以大豆胰蛋白酶抑制剂为配体的亲和柱,
6.35mm×4.1mm
弱移动相: 0.1M 磷酸钾缓冲液, pH7.0;
强移动相: 0.1M 磷酸缓冲液, pH2.5。
样品: 7.5 μ g 胰蛋白酶粗制品
流速: 1ml/分

从 HPAC 问世到现在的五、六年里,对它的研究已逐步深入和趋于实用,但也存在着一些问题。问题之一就是层析过程中,溶质被吸附和解吸的过程缓慢。例如糖的衍生物在以 Con A 为配体的柱上,其速度常数比在溶液状态中低一个数量级^[14]。缓慢的平衡过程造成峰扩展增大,分离效率降低^[15]。问题之二在于当

HPAC 用于制备时,目前柱容量还不够高,这有可能是因为硅胶柱上的孔隙过小造成的^[14]。另外,由于配体与溶质分子之间存在多点的相互作用,这就有可能造成峰分裂 (split peaks) 和不可逆吸附现象^[8,10]。

由于高效亲和色谱具有高选择性和高速度的特点,目前已取得了不少成功的例子,从而吸引了更多的生物化学家和色谱学家对此进行更深入的研究。可以预期,这一新技术将在生化实验室中发挥更大的作用。

参 考 文 献

- [1] Ohlson, S. et al.: *FEBS Lett.*, **93**, 5, 1978.
- [2] Jurkova, J.: in *Affinity Chromatogr. and Related Tech.*, (eds. Chribnan J. C. J. et al.), p. 513—528, Elsevier, Scientific Publishing Co., Amsterdam, 1982.
- [3] Walter, R. R.: *J. Chromatogr.*, **249**, 19, 1982.
- [4] Small, D. A. P., et al.: *J. Chromatogr.*, **266**, 151, 1983.
- [5] Glad, O. M. and Ohlson, S.: *J. Chromatogr.*, **200**, 254, 1980.
- [6] Borchert, A. et al.: *J. Chromatogr.*, **244**, 49, 1982.
- [7] Borreback, C. A. K. et al.: *J. Chromatogr.*, **284**, 187, 1984.
- [8] Sportsman, J. R. et al.: *Anal. Chem.*, **55**, 771, 1983.
- [9] Walters, R. R., *Anal. Chem.*: **55**, 1395, 1983.
- [10] Walters, R. R.: *Trends in Anal. Chem.*, **2**, 282, 1983.
- [11] Nilsson, K. and Mosbach, K.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **102**, 449, 1981.
- [12] Bethell, G. S. et al.: *J. Chromatogr.*, **219**, 361, 1981.
- [13] Growley, S. C., and Walter, R. R.: *J. Chromatogr.*, **266**, 157, 1983.
- [14] Muller, A. J. and Carr P. W.: *J. Chromatogr.*, **284**, 33, 1984.
- [15] Kasche, V. et al.: *J. Chromatogr.*, **216**, 169, 1981.

[本文于 1984 年 8 月 25 日收到]

(上接第 59 页)

疗技术的发展,如镰状细胞性贫血及 β 地中海贫血病等遗传性贫血病的基因治疗方法,将会在已有方法的基础上,得到改善和发展。但目前还不清楚,移入的

基因功能是否健全,是否能接受正常的调节,是否能长期稳定地保留下去。基因疗法仍存在许多问题,但目前至少突破口已打开。

[*Nature*, Vol. **310**, No. 5977, 1984 李 晔编译]