

## 植物4.5S rRNA的分离纯化和序列分析研究

程振起 谷丽雅\* 肖 啸\* 王鄂生\*

(中国科学院生物物理所, 北京)

植物4.5S rRNA是近年来发现的高等植物叶绿体核糖体上独立的小分子RNA成份, 大约由80—106个核苷酸组成, 不含稀有碱基。在蛋白质的生物合成中具有重要功能。

研究表明, 不同来源的4.5S rRNA序列有相当大的保守性, 而且保守性的大小与植物种类的亲缘远近有直接关系。因此研究不同植物4.5S rRNA序列, 对在分子水平上研究植物的演化与分类有指导意义。

我们以多种植物叶为材料, 对其4.5S rRNA进行了分离纯化和序列分析研究。

4.5S rRNA在植物细胞内含量低, 且较不稳定, 因此, 纯化有一定的困难。以前人们一般先提取叶绿体或叶绿体核糖体, 而后从中提取4.5S rRNA, 这不仅操作步骤繁杂, 而且所得4.5S rRNA产率(与湿叶重比)很低, 难于满足4.5S rRNA的性质研究和序列分析的要求。我们采用一步热酚法从全叶中直接提取4.5S rRNA, 不仅操作步骤简便, 而且产率也大大提高。由于植物细胞中不存在与4.5S rRNA类似的小分子RNA成份, 因此不存在其它RNA污染问题。

### 一、4.5S rRNA的纯化

我们采用一步热酚法从多种植物叶中, 如番茄, 芹菜、玉米、小麦、菠菜、韭菜等, 纯化了4.5SrRNA。电泳结果证明, 高等植物叶中均含有4S, 4.5S, 5S和5.8SRNA。而且一次实验可得到全部上述RNA, 若研究者感兴趣, 可从中提取任何一种RNA进行研究, 但应说明的是, 4SRNA和5SRNA为非单一成份, 是叶绿体和细胞质成份的混合物。

### 二、4.5SrRNA的序列分析

我们采用目前通用的快速RNA序列直读技术——酶法<sup>[1]</sup>和化学法<sup>[2]</sup>, 对末端<sup>32</sup>P标记<sup>[3,4]</sup>的番茄4.5S rRNA进行了序列测定。其全序列为103个核苷酸:

<sup>5'</sup><sub>H<sub>o</sub></sub> GAAGGUCACGCGAGACGAGCCGUUUAUCAUUACGAUAGGUGUCAAGUGGAAGUG  
CAGUGAUGUAUGCAGCUGAGGCAUCCUAACAGAUCGGUAGACUUGAAC<sub>O<sub>H</sub></sub><sup>3'</sup>

通过比较番茄叶绿体4.5S rRNA与目前已知的其它6种叶绿体4.5S rRNA的序列, 可知不同植物来源的4.5S rRNA之间在一级结构上具有很大的保守性。两种植物之间在进化上的

\* 武汉大学生物系

亲缘关系越近,其4.5S rRNA序列同源性就越大。番茄与烟草同属于茄科,其4.5S rRNA之间仅相差一个核苷酸,序列同源性达99%。但是,小麦(单子叶植物)与番茄(双子叶植物)同属于被子植物,可是它们之间的4.5S rRNA序列同源性仅有80%。

植物叶绿体4.5S rRNA序列不仅相互之间保守性很大,而且与原核生物大肠杆菌23SrRNA的3'末端区具有很大的同源性。我们通过比较番茄叶绿体4.5S rRNA与大肠杆菌23SrRNA以及斑点气单胞菌23SrRNA 3'末端区,发现番茄4.5S rRNA与二者的同源性分别为60%和62%。4.5S rRNA不仅在一级结构上与原核生物23SrRNA 3'末端区同源,而且有相似的具三个双螺旋区的二级结构。这说明叶绿体4.5S rRNA有可能来源于原核生物23SrRNA的3'末端区。这就支持了叶绿体起源的内共生学说观点。

番茄叶绿体4.5S rRNA第28—34位的7核苷酸片段UCAUUAC是一个令人感兴趣的序列。一般来说这一段序列仅存在于双子叶植物中,在单子叶植物中不存在。人们对这种现象推测是:上述7核苷酸片段可能是在植物进化过程中,插入到双子叶植物叶绿体4.5S rDNA序列中的,但也可能是在植物进化过程进入单子叶之后才缺失的。

本工作根据碱基配对原理,在前人工作基础上,对番茄4.5SrRNA提出了二级结构模型。它具有三个双螺旋区,二个发卡环和一个内突环。

目前,我们正在采用上述的4.5S rRNA的纯化方法和直读序列分析技术对不同的植物(如单子叶与双子叶植物)的4.5S rRNA进行序列分析的系统研究,关于番茄叶绿体4.5S rRNA的纯化与序列分析的详细内容将另文发表。

## **Purification and sequencing of 4.5S rRNA of chloroplasts from higher plants**

Cheng, ZhengQi Gu, LiYa Xiao, Xiao Wang, ESheng

(*Institute of Biophysics Academia Sinica, Beijing*)