

矮化枣树叶中小分子环状 RNA 的初步研究*

娄艳春 刘望夷

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

郭裕新

(山东省果树研究所, 泰安)

关键词 枣树矮化病, 环状小分子 RNA, 正反双向凝胶电泳, 垂直双向凝胶电泳, 核糖核酸 (RNA)

枣树矮化病是我国枣树苗繁育中新发现的重要病害, 其症状表现为节间短缩, 枝叶密挤, 呈丛状。病树比相同条件下的正常树约矮二分之一。其病因未见有研究报道。我们对病株叶组织抽提液, 用电子显微镜没有观察到病毒颗粒和类菌原体。从病树和正常枣树叶的细胞核抽提液中, 用正反和垂直双向凝胶电泳方法分析细胞核 RNA, 结果发现, 病株叶细胞核 RNA 中含有环状低分子量的 RNA。这是我国首次在矮化枣树叶细胞核中分离到的环状小分子 RNA。这一发现将对枣树矮化病的病因研究提供一个有用的线索。

枣树叶细胞核的分离制备参照 Schumacher 的方法^[1]。用酚抽提的方法得到细胞核 RNA。细胞核 RNA 的鉴定如下:

(1) 正反双向凝胶电泳: 取 $1.5 OD_{260nm}$ 粗 RNA 加入最终浓度为 20% 的甘油, 在 20℃ 保温 20min, 然后在第一向 10% 聚丙烯酰胺凝胶 (含 10% 甘油) 上进行电泳分析, 电泳缓冲液为: 89mmol/L Tris, 86mmol/L 硼酸, 3mmol/L EDTA, pH8.3, 10% 甘油, 300V, 电泳 4h。横向切下待鉴定的病叶及正常叶 RNA 带, 平放在玻璃板底部, 然后灌入第二向变性胶, 变性胶的浓度与第一向胶相同, 但凝胶中含 8.3mol/L 尿素, 电泳缓冲液中无 10% 甘油, 在 60℃ 电泳, 100V, 2h, 用硝酸银染色法显示凝

胶上的 RNA 带。

(2) 垂直双向凝胶电泳: 取 $2.5 OD_{260nm}$ 粗 RNA 样品, 第一向在 5% 聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 样品处理及电泳缓冲液同正反双向电泳的第一向, 待溴酚兰移至胶底停止电泳, 取出凝胶, 纵向切割出含有 RNA 的胶条, 按垂直方向将胶条平放在玻璃板底部 (病叶和正常叶的胶放在同一块胶板上), 然后灌入含 8.3mol/L 尿素的 5% 凝胶, 电泳条件同正反双向的第二向, 经银染色后, 观察环状 RNA 带。

正反及垂直双向凝胶电泳是检测环状 RNA, 特别是检测类病毒 RNA 的重要方法之一。相同分子量的环状 RNA 的电泳迁移率明显地慢于线性 RNA。正反双向凝胶电泳的结果表明, 病叶核酸中有一条泳动较慢的低分子量核酸带, 电泳迁移率比 7S RNA 稍快, 分子量小于 7S RNA, 而正常叶核酸中则无此带。垂直双向电泳的结果进一步表明, 病叶中的 RNA 在离开对角线处有一条电泳迁移率较慢的环状 RNA 带。

参 考 文 献

- 1 Schumacher J et al. *EMBO Journal*. 1983;2:1594

[本文于 1990 年 8 月 21 日收到]

* 国家自然科学基金资助项目。