

5'-和 3'-末端带双羟基的寡聚核糖核苷酸 具有不寻常的聚丙烯酰胺凝胶电泳行为*

曹功杰 冯晓黎 祁国荣

(中国科学院上海生物化学研究所)

为了制备核糖核酸酶 P 的底物——人工合成的 tRNA 前体,我们用五核苷四磷酸 ${}_{\text{HO}}\text{UpCpCpA}^*\text{pC}_{\text{OH}}$ (*p 代表 ${}^{32}\text{p}$) 与天然的酵母丙氨酸 tRNA 或其 5' 半分子在 T₄RNA 连接酶催化下反应,连接产率甚低。但观察到一个很奇特的现象: 不管何种反应条件,甚至不加 tRNA 和不加酶的对照实验中,经聚丙烯酰胺凝胶 (PAG) 电泳分析反应产物时发现,在约相当于 RNA 序列分析“梯子”18 核苷酸(nt)处总是出现专一的条带,其强度随保温时间延长而增加。鉴定结果为二核苷一磷酸 $\text{HOA}^*\text{pC}_{\text{OH}}$,推测是 ${}_{\text{HO}}\text{UpCpCpA}^*\text{pC}_{\text{OH}}$ 的非酶自我降解 (self-degradation) 产物。类此现象也在其他一些 5' 和 3' 末端均为羟基的寡聚核糖核苷酸在含 Mg^{2+} 条件下保温后出现。

HOApC_{OH} 在 PAG 电泳上的移动距离相当于 18 nt 的末端带磷酸基团的寡聚核糖核苷酸,这是未曾有报道的异常 PAG 电泳行为,于是我们制备了一系列非标记的和 ${}^{32}\text{p}$ (*p) 标记的末端双羟基寡聚核苷酸进行 PAG 电泳分析,它们是 $\text{N}_2(\text{HOCPA}_{\text{OH}})$, $\text{N}_3(\text{HOCPpA}_{\text{OH}})$, $\text{N}_4(\text{HOUpCpCpA}_{\text{OH}})$, $\text{N}_2^*(\text{HOCPA}^*\text{pC}_{\text{OH}})$, $\text{N}_4^*(\text{HOCPpA}^*\text{pC}_{\text{OH}})$, $\text{N}_6^*(\text{HOUpCpCpA}^*\text{pC}_{\text{OH}})$, $\text{N}_6^*(\text{HOCPA}^*\text{pUpCpCpA}_{\text{OH}})$, $\text{N}_7^*(\text{HOCPpA}^*\text{pUpCpCpA}_{\text{OH}})$ 和 $\text{N}_8^*(\text{HOUpCpCpA}^*\text{pUpCpCpA}_{\text{OH}})$ 。电泳条件是含 7M 尿素的 10% 聚丙烯酰胺凝胶, pH8.3, 0.089 mol/L, Tris-硼酸-EDTA 缓冲液。分析结果以快慢为序的泳动速度如下: 1. N_4 (快) > N_3 > N_2 (慢); 2. N_6^* (快) > N_7^* > N_4^* > N_2^* (慢); 3. N_8^* (快) > N_7^* > N_6^* (慢)。表明六核苷五磷酸 (N_8^*) 泳动速度最快,是个转折点。就是说,链长小于六聚体的末端双羟基寡

聚核糖核苷酸的泳动相对速度取决于电荷 (电荷数大则移动快),而大于六聚体的则与分子大小即质量有关 (分子大泳动慢)。前者是有别于末端带磷酸基团的寡聚体电泳行为,后者则相似。Zaug 和 Cech^[1] 曾提到 5', 3' 末端双羟基的寡聚胞苷酸的 PAG 电泳的压缩现象,即 $\text{C}_6(\text{HOCPpCpCpCpCpC}_{\text{OH}})$, $\text{C}_7(\text{HOCPpCpCpCpCpC}_{\text{OH}})$ 以及 $\text{C}_8(\text{HOCPpCpCpCpCpCpC}_{\text{OH}})$ 在 4% PAG 电泳时, C_6 条带与 C_7 条带之间的距离要小于 C_7 条带与 C_8 条带之间的距离。表明已经开始出现异常现象。我们的实验除了也观察到相同现象外,同时指出小于六聚体的电泳行为显示“反常”现象。进一步比较用磷酸单酯酶处理前后的 RNA 序列分析的“梯子”的电泳行为,处理前的梯子是 3' 末端带磷酸基团的系列寡聚核糖核苷酸,具有通常的 PAG 电泳图谱,而酶处理后得到的 3' 端无磷酸基团 (即为 5', 3' 末端双羟基) 的系列寡核核苷酸,电泳图谱中相当于梯子 10 nt 以下的条带不见了,进一步支持上述结果。

上述情况可供用 PAG 电泳分离分析寡聚核糖核苷酸时参考,以免误判;在进行 RNA 序列分析等工作时,要避免末端磷酸基团的丢失,否则出现图谱杂点,影响结果分析。

本文承袁慕绥同志大力帮助,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Zaug, A. J. and Cech, T. R.: *Science*, 1986, **231**, 470.

[本文于 1987 年 10 月 19 日收到]

* 国家自然科学基金资助的课题。