

豌豆种子发育过程中 DNA 和 RNA 含量的动态变化*

朱新产 赵文明 付曾光

白文钊

(西北农业大学植物分子生物学研究室 陕西杨陵 712100) (汉中师范学院生物系 陕西汉中 723000)

摘要 对豌豆种子发育过程中核酸(DNA 和 RNA)含量的动态变化研究表明:豌豆开花后单粒 DNA、RNA 含量,单粒鲜重的变化均呈 S 型曲线。开花后第 21 天,RNA 含量达最高峰,拖尾现象消失而趋于单一带区;DNA 的迁移率也降到最低。从而确定,豌豆开花后第 21 天是基因转录活动降低的转折点。

关键词 豌豆; DNA; RNA; 种子发育

植物生长发育是基因表达在时间、空间上有序表现的结果,特定的发育阶段,有特异的基因表达^[1,2]。种子蛋白质基因具有高度调控的胚胎特异性,编码多种蛋白质。对于豌豆种子贮藏蛋白质及其基因结构的研究已有不少报道^[3~9]。但关于豌豆种子发育期核酸含量动态变化的报道甚少。本研究旨在探明种子贮藏蛋白质基因表达的时间顺序,为种子蛋白质基因工程研究提供参考。

1 材料与方法

选用陕西商县产白豌豆。白花,圆粒、色白,百粒重 28.7 g。

提取 DNA、RNA 的化学试剂和电泳试剂均为 Sigma(USA),MERCK(德国)或 Pharmacia(瑞典)公司进口分装试剂,其余为国产分析纯试剂。

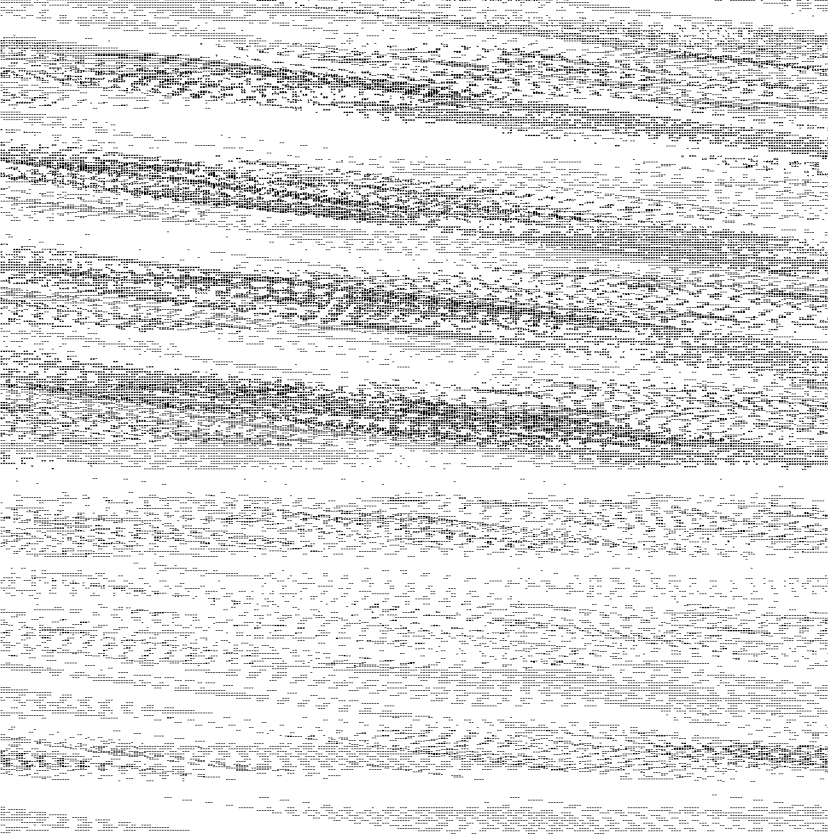
选择田间生长整齐一致的豌豆植株,从开花之日起统一用红色油漆标记。每隔 3 天采集 1 次豆荚,直至豌豆黄熟为止。每次采集的样品立即投入液氮中固定,保存于-80℃冰箱中,供提取分离 DNA 和 RNA 之用。

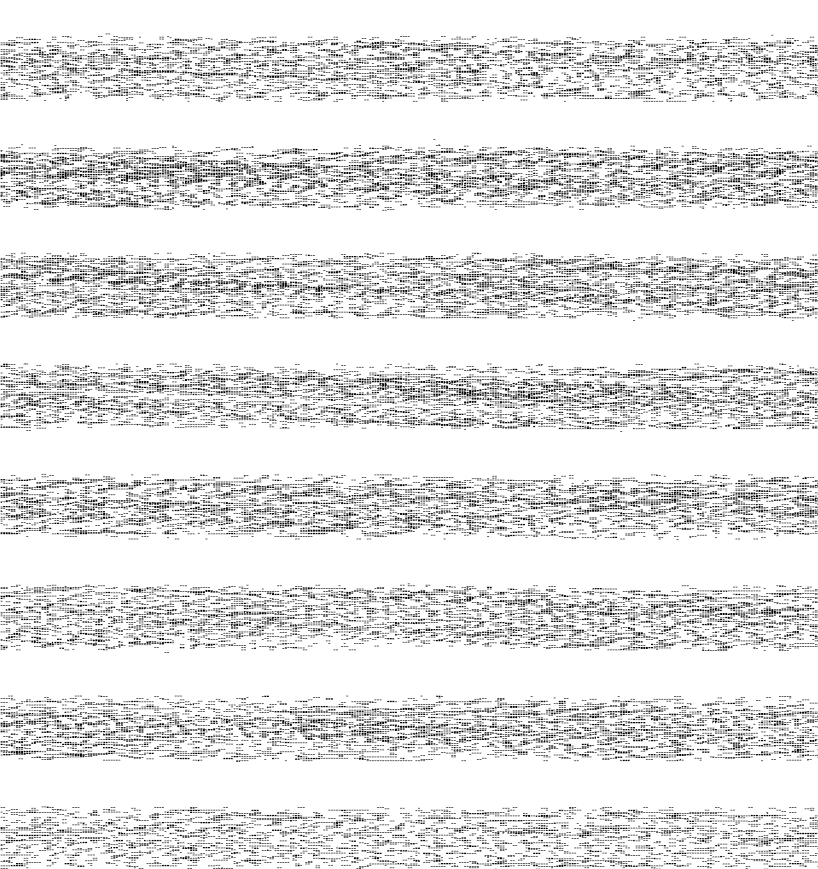
冷冻的豌豆籽粒加液氮研成细粉,分为 2 份,一份加 2.5 倍(W/W)DNA 提取液(pH 8.3、0.2 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液,内含 0.25 mol/L NaCl,0.025 mol/L EDTA 和 0.5% SDS),另一份加 3.5 倍(W/W)RNA 提取液[60℃热酚(内含 1 mol/L Tris),pH5.0,0.2 mol/L NaAc,10% SDS]分别提取 DNA 和 RNA,然后用热酚-氯仿-异戊醇等试剂分离提纯 DNA 和 RNA^[10,11]。

提取的 DNA 悬浮溶解于 TE 缓冲液中(pH8.0,10 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液,内含 1 mmol/L EDTA);RNA 悬浮溶解在灭菌水中,分别测定 260 nm 吸收值,按 1 OD=50 μg DNA/ml 和 1 OD=40 μg RNA/ml,分别计算 DNA 与 RNA 的含量^[10]。

收稿日期 1994-04-29 修回日期 1994-06-05

* 国家自然科学基金资助项目





参 考 文 献

- 1 陈章良, 翟礼嘉. 高等植物基因表达的调控. 植物学报, 1991, 33(5): 390~405
- 2 任东路, 吴乃虎. 高等植物发育过程中基因表达的调控. 生物工程进展, 1993, 14(3): 5~13
- 3 宋松泉, 傅家瑞. 贮藏蛋白的基因表达和调控. 生物化学与生物物理进展, 1991, 18(3): 177~181
- 4 林 鹿. 植物贮藏蛋白体的形成与发育及其调控. 生物化学杂志, 1993, (2): 1~3
- 5 赵文明, 博尔特 D. 豆球蛋白 B 亚基的分离提纯及完整一级结构. 实验生物学报, 1986, 19(1): 131~135
- 6 林标杨, 白永年. 豆类植物种子贮存蛋白质基因的结构. 遗传, 1989, 11(6): 34~37
- 7 Lycett G W, Croy R R D, *et al.* The complete nucleotide sequence of a Legumin gene from pea. Nucleic Acid Research, 1984, 12, 4493~4505
- 8 赵文明. 贮藏蛋白质基因的结构与表达. 生命的化学, 1986, 6(4): 32~33
- 9 Hirano H, Gatehouse J A, *et al.* The complete amino acid sequence of a subunit of the Vicilin seed storage protein of pea. Febs Lett, 1982, 145: 99~102
- 10 彭秀玲, 袁汉英编著. 基因工作实验技术. 长沙: 湖南科技出版社, 1987. 36~37
- 11 Sambrook J, *et al.* In Molecular Cloning, Cold Spring Harbor N. Y. 1989. 743~745, 603~619
- 12 赵文明, 朱新产. 小麦种子发育期麦谷蛋白的累积. 西北农业大学学报, 1991, 19(3): 8~12
- 13 Grierson D, *et al.* Plant Molecular Biology. Blackie U. S. A. Chapman & Hall N. Y. 1988. 102~105
- 14 李向辉编著. 植物遗传操作技术. 北京: 科技出版社, 1988. 107
- 15 Gold berg R B. The Molecular Basis of Plant Development Alan R Liss, Inc 1989, New York

DYNAMICS OF THE DNA/RNA DURING DEVELOPING OF PEA SEEDS

Zhu Xinchun, Zhao Wenming and Fu Zengguang

(Laboratory of Plant Molecular Biology, Northwestern Agricultural University, Yangling Shaanxi 712100)

Bai Wenzhao

(Department of Biology, Hanzhong Normal College, Hanzhong Shaanxi 723000)

ABSTRACT

Dynamics of the DNA/RNA were studied during developing of pea seeds. The results showed that changes of the fresh weight, RNA and DNA content per seed were S-type line during developing of pea seeds. The RNA content per seed reached the maximum at 21 days after flowering, and tailing phenomenon disappeared into single band, the mobility of DNA was also dropped into the lowest. It is therefore proposed that a turning point of gene transcribing activation lowered is at 21 days after flowering.

Key words Pea; DNA; RNA; Seed developing