

文章编号: 0529-6579 (1999) 01-0070-73

黄角苔叶绿体 *rbcL* 基因编码区的序列分析^{*}

王 艇, 苏应娟, 朱建明, 周 勤

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

摘 要: 测定了黄角苔 (*Phaeoceros laevis* (L.) Prosk) 叶绿体 *rbcL* 基因编码区的 1398 个核苷酸序列, 并且由此推导出对应的氨基酸序列. 此基因中密码子的第 2 和第 3 位上 A/T 所占的比例较高, 分别为 53.6% 和 77.5%. 黄角苔 *rbcL* 基因的编码区与花旗松、菠菜、玉米和雷氏衣藻间在核苷酸序列上的同源性分别为 84.0%, 81.5%, 79.3% 和 76.3%; 在氨基酸序列上的同源性分别为 91.0%, 89.9%, 88.5% 和 89.3%. 为研究角苔植物的系统发育提供了核苷酸序列方面的资料.

关键词: 黄角苔, *rbcL* 基因, 编码区, 序列分析

分类号: Q 949.351.4 Q 751 **文献标识码:** A

在研究陆生植物的起源和演化方面, 苔藓植物占有极其重要的地位. 然而有关苔藓植物系统发育的一些最基本问题仍有不少疑问, 其中角苔类的系统位置就颇有争议. 虽然越来越多的学者主张把角苔目独立为角苔纲, 和苔纲、藓纲并列, 但是有些学者仍认为角苔目以归入苔纲为宜; 还有少数研究认为角苔目和藓纲的关系更为接近, 它们是姐妹群^[1].

目前主要是根据比较形态学、解剖学及发育过程的细节等证据来探讨角苔类的分类地位; 超微结构的研究也提供了部分证据和资料^[2]. 然而, 有关角苔类的分子系统学研究则还未见报道.

RbcL 基因, 即核酮糖 1,5-双磷酸羧化酶/加氧酶或称 Rubisco 大亚基基因, 最应引起植物系统学研究上的注意. 此基因由叶绿体基因组编码, 所具有的一些性质特别适于研究植物的系统发育: ① 以单拷贝形式存在, 不发生基因转变; ② 长达 1400 碱基对, 能为分支分析提供充足的分子性状; ③ 进化速率适度, 尤其适于研究高等级分类单元间的系统关系; ④ 迄今已有 1500 余种植物的 *rbcL* 基因序列得以测定, 为在更加深入和广泛的范围内分析陆生植物的起源和演化提供了基础^[3,4].

为了开展角苔植物的分子系统学研究, 选择并测定了黄角苔 (*Phaeoceros laevis* (L.) Prosk) *rbcL* 基因的核苷酸序列.

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金 (39500013, 39700117); 广东省自然科学基金 (950099, 970176)

收稿日期: 1998-10-15 第一作者简介: 王艇, 男, 29 岁, 副教授

2.2 密码子使用

在黄角苔的 *rbcl* 基因中, 密码子的第 2 位和第 3 位倾向于使用 A 或 T, 其中在第 2 位上 A 和 T 所占比例为 53. 6%, 在第 3 位上 A 和 T 两者所占比例高达 77. 5%. 使用频率较高的密码子为 GCT, GGT, GAA 和 GAT, 它们的使用频率共计 19. 5%, 而编码 Ser 的 TCG、编码 Pro 的 CCG 和编码 Arg 的 CGG 在所测序列中未曾出现. 在由核苷酸序列推导出的氨基酸序列中, Gly, Ala 及 Leu 的所占比例较高, 分别为 10. 1%, 9. 7% 和 7. 5%; 酸性氨基酸和碱性氨基酸的比例分别为 12. 7% 和 14. 4%. 疏水氨基酸的比例为 40. 1% (表 1).

表 1 黄角苔 *rbcl* 基因的密码子使用表
Tab 1 Codon usage of the *Phaeoceros laevis* *rbcl* gene

TTT Phe 13	ICT Ser 8	TAT Tyr 14	TGT Cys 6	CTT Leu 6	CCT Pro 15	CAT His 13	CGT Arg 14
TTC Phe 4	TCC Ser 5	TAC Tyr 3	TGC Cys 3	CTC Leu 2	CCC Pro 0	CAC His 2	CGC Arg 1
TTA Leu 18	TCA Ser 6	TAA End 0	TGA End 0	CTA Leu 4	CCA Pro 7	CAA Gln 10	CGA Arg 6
TTG Leu 3	TCG Ser 0	TAG End 0	TGG Trp 9	CTG Leu 2	CCG Pro 0	CAG Gln 1	CGG Arg 0
ATT Ile 15	ACT Thr 13	AAT Asn 13	AGT Ser 3	GTT Val 13	GCT Ala 27	GAT Asp 20	GGT Gly 23
ATC Ile 3	ACC Thr 9	AAC Asn 2	AGC Ser 1	GTC Val 2	GCC Ala 3	GAC Asp 7	GGC Gly 2
ATA Ile 1	ACA Thr 6	AAA Lys 18	AGA Arg 8	GTA Val 10	GCA Ala 14	GAA Glu 21	GGA Gly 16
ATG Met 11	ACG Thr 3	AAG Lys 4	AGG Arg 1	GTG Val 4	GCG Ala 1	GAG Glu 11	GGG Gly 6

2.3 *rbcl* 基因编码区的同源性比较

黄角苔 *rbcl* 基因编码区的核苷酸序列和推导出的氨基酸序列与花旗松 (*Pseudotsuga merziesii*)^[7]、菠菜 (*Spinacia oleracea*)^[8]、玉米 (*Zea mays*)^[9] 和雷氏衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*)^[10] 对应序列的同源性比较结果见表 2. 结果显示, 氨基酸序列的同源性程度比核苷酸序列间的同源性程度更高, 说明 Rubisco 酶大亚基要实现其功能在氨基酸水平上必需具相当的保守性. 黄角苔和雷氏衣藻间的比较更能反映出这个特点, 它们核苷酸序列的同源性程度为 76. 3%, 但是氨基酸序列的同源性程度仍高达 89. 3%, 造成这种现象的原因是两者分别选择编码相同氨基酸的不同密码子.

目前正在进一步测定其它苔藓植物的 *rbcl* 基因序列, 试图为应用 *rbcl* 基因序列数据探讨角苔目的系统学问题积累更多资料.

表 2 黄角苔与其它植物 *rbcl* 基因编码区的同源性程度
Tab 2 Homologies of the *rbcl* gene coding region between *Phaeoceros laevis* and other plants

种 名	核苷酸差异(碱基)				同源性程度/ %	
	第 1 位	第 2 位	第 3 位	总计	核苷酸序列	氨基酸序列
花旗松 <i>P. merziesii</i>	39	20	164	223	84. 0	91. 0
菠菜 <i>S. oleracea</i>	39	30	189	258	81. 5	89. 9
玉米 <i>Z. mays</i>	43	35	202	280	79. 3	88. 5
雷氏衣藻 <i>C. reinhardtii</i>	57	34	240	331	76. 3	89. 3

参考文献:

- [1] MISHLER B D, CHURCHILL S P. A cladistic approach to the phylogeny of the “Bryophytes”. *Brittonia*, 1984, 36: 406 ~ 424
- [2] SCHUSTER R M. New manual of biology. *Nichinan*, 984. 760 ~ 1092
- [3] HASEBE M, ITO M, IWATSIKI K, et al. Phylogenetic relationships in Gnetophyta deduced from *rbcL* gene sequences. *Bot Mag(Tokyo)*, 1992, 385 ~ 391
- [4] 王艇, 苏应娟, PARKS C R. 木兰亚纲的分子系统学研究进展(一). *植物学通报*, 1994, 12(4): 1 ~ 7
- [5] DOYLE J J, DICKSON E E. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon*, 1987, 36: 715 ~ 722
- [6] LEWIS L A, MISHLER B D, VILGALYS R. Phylogenetic relationships of the liverworts (Hepaticae), a basal embryophyte lineage, inferred from nucleotide sequence data of the chloroplast gene *rbcL*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1997, 7(3): 377 ~ 393
- [7] HIPKIN V D, TSAI C H, STRAUSS S H. Sequence of the gene for the large subunit of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase from a gymnosperm, *Douglas fir*. *Plant Molecular Biology*, 1990, 15: 505 ~ 507
- [8] ZURAWSKI G, PERROT B, BOTTOMLEY W, et al. The structure of the gene for the subunit of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase from spinach chloroplast DNA. *Nucleic Acid Res* 1981(9): 3251 ~ 3270
- [9] McINTOSH L, POULSEN C, BOGORAD L. Chloroplast gene sequence for the large bisphosphate carboxylase of maize. *Nature*, 1980, 288: 556 ~ 560
- [10] DRON M, RAHIRE M, ROCHAIX J D. Sequence of the chloroplast DNA region of *Chlamydomonas reinhardtii* containing the gene of the large subunit of ribulose bisphosphate carboxylase and parts of its flanking genes. *J Mol Biol*, 1982, 162: 7775 ~ 7793

Sequence Analysis of the Coding Region in Chloroplast *rbcL* Gene from *Phaeoceros laevis*

*
WANG Ting^{*}, SU Yingjuan, ZHU Jianming, ZHOU Qin

Abstract: 1 398 nucleotides of the coding region have been sequenced in the chloroplast *rbcL* gene from *Phaeoceros laevis* (L.) Prosk, and the corresponding amino acid sequence has also been deduced. The second and the third positions of the codons in the gene have a bias towards using adenine and thymine bases, the proportions of A and T in the two positions are 53.6%, 77.5% respectively. The nucleotide sequence homologies of *P. laevis* *rbcL* gene coding region with *Pseudotsuga merziesii*, *Spinacia oleracea*, *Zea mays* and *Chlamydomonas reinhardtii* are 84.0%, 81.5%, 79.3% and 76.3%, respectively, while the deduced amino acid sequence homologies are 91.0%, 89.9%, 88.5% and 89.3%, respectively. This paper offers DNA sequence data for the study of hornwort phylogeny.

Keywords: *Phaeoceros laevis* (L.) Prosk, *rbcL* gene, the coding region, sequence analysis

* School of Life Sciences Zhongshan University, Guangzhou 510275, China