

河南西峡恐龙 18s rDNA 片段质疑*

屈良鹤 施苏华

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

周 慧

(华南理工大学食品工程系, 广州 510650)

摘 要 按照 rDNA 的结构特点, 将 DA18S1, 7 与其他 8 种生物的 rDNA 序列进行排列比较, 结果表明这 2 个序列不是恐龙 rDNA 片段, DA18S7 看来更接近一种植物 rDNA 片段(与金虎尾的同源性达 94% 以上), 而 DA18S1 与 2 种参与比较的真菌 rDNA 序列有很高的同源性(88.3% 和 89%), 它们与脊椎动物 rDNA 的同源性分别只在 67.8%~74.1% 之间.

关键词 恐龙蛋, 西峡, 18s rDNA, 序列分析

分类号 Q349.5

安成才等人(以下简称安文)从河南西峡一枚保存方式特殊的恐龙蛋化石中提取了遗传物质 DNA, 并获得了 DA18S1 等 6 个包含 18s rDNA 片段的克隆. 通过 DNA 测序及其分析, 他们发现这些序列与鸟类、两栖类、爬行类及人类等的 18s rDNA 具有很高的同源性, 但是与原核生物无显著同源性, 所以他们认为这些序列是恐龙 18s rDNA 片段(见安文表 1)^[1].

我们对安文发表的数据重新进行了分析, 并得出与他们不同的结论. 我们认为把 DA18S1 等序列作为恐龙 18s rDNA 序列的结论是错误的, 这是在对 DA18S1 等序列进行比较分析时的失误造成的.

1 材料与方 法

(1) 分析所用的核酸序列来源. DA18S1 和 DA18S7 序列取自于安成才等发表的数据^[1], 其它序列均从美国和欧洲分子生物学数据库 GenBank 和 EMBL 中获得, 其编号分别为:

人类 (Human) HS18S (*Homo sapiens*) emb/k03432, 鸟类 (Aves) AP18S (*Anas platyrhynchos*) emb/d38362, 爬行类 (Reptile) SU18S (*Sceloporus undulatus*) emb/m59400, 两栖类 (Amphibia) XL18S (*Xenopus laevis*) emb/x02995, 植物 (Plant) MA18S (*Malpighia coccigera*) gb/124046, 植物 (Plant) AR18S (*Arabidopsis thaliana*) emb/

收稿日期: 1995-05-03

* 国家自然科学基金、国家教委博士点基金和中山大学自然科学基金资助项目

x16077, 真菌 (Fungi) UM18S (*Ustilago maydis* gb/u09535, 真菌 (Fungi) BA18S (*Basidiomycete symbiont of Apterostigma collare*) emb/x62396.

(2) 核酸序列排列和同源性分析. 用 PC gene 6 和 Multalin 软件包, Kunc 值按 Kimura^[2]方法计算, 树图由 PHYLIP 软件包生成 (其中, DA18S1 和 DA18S7 的 PCR 引物序列^[1]均未参与序列排列和计算).

2 结果与讨论

我们将安文发表的 DA18S1, DA18S7 与美国和欧洲分子生物学数据库 (GenBank 和 EMBL) 中的核酸序列进行了比较, 这 2 种序列与许多生物的核糖体小亚基 RNA (SSU rRNA) 有很高的同源性, 它们是属于真核生物类 SSU rRNA 基因的片段, 该片段编码的 rRNA 位于 SSU rRNA 的 5' 端的第二高变区 (V2) 中^[3] (图 1).

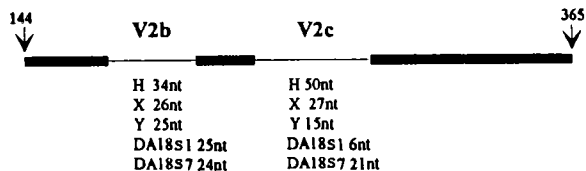


图 1 对应于 DA18S1, DA18S7 的 SSUrRNA 结构示意图

保守区和高变区分别用粗线和细线表示. 箭头上的数字指出该片段在人类 18s rRNA 中的位置. 来自不同生物的 SSU rRNA 在 V_{2b}, V_{2c} 区的核苷酸长度, 分别由该区下的数字和字母表示 (H: 人类; X: 爪蟾; Y: 酵母; nt: 核苷酸)

Fig.1 Schematic diagram of SSU rRNA mosaic structure which shows the evolutionary conserved (—) and divergent (——) areas corresponding to the fragments of DA18S1, 2, 4, 6, 7 and 9

根据该区的结构特点, 将 DA18S1, DA18S7 与 4 种脊椎动物、2 种植物和 2 种真菌的 rDNA 序列进行了正确的排列 (图 2) 和同源性比较 (表 1), 我们的结果表明, DA18S7 与高等植物金虎尾 (*Malpighia coccigera*) 的同源性高达 94% 以上, DA18S1 与 2 种真菌 rDNA 序列相比, 具有较高的同源性, 可达 88.3% 以上, DA18S1 和 DA18S7 与脊椎动物的序列同源性却分别只在 67.8%~74.1% 之间.

表 1 DA18S1 和 DA18S7 与其他生物 rDNA 之间的同源性

Tab. 1 Homologies between DA18S1, DA18S7 and the rDNA sequences of other species

	MA18S	AR18S	UM18S	BA18S	XL18S	SU18S	AP18S	HS18S
DA18S1	82.0	82.0	88.3	89.8	70.3	68.8	71.1	71.9
DA18S7	94.4	93.3	81.6	82.3	69.2	67.8	71.3	74.1

我们将序列比较的同源百分数按 Kimura 方法^[2]转化成 Kunc 值 (表 2), 并以 Kunc 值构建了一个树图 (图 3), 该树图更加清楚地表明, DA18S7 与两种植物构成紧密相关的一簇, 而 DA18S1 则与真菌十分接近, 相反, 它们与 4 种脊椎动物都有较远的距离.

```

DA18S1 CTAGAGCTAATACATGCAT-TCAAGCCCCGACTTCT-----GGAAGGGGTGATTTATTAGATTAA
BA18S1 .....A.....
UM18S .....G.AAA.....
DA18S7 .....G...A...A.....
MA18S .....G...C...A.....
AR18S .....G...A...A...A.....
XL18S .....CGACG.GCG.TGAC.CC.A-----G.T.C...C...C...C...
HS18S .....CGACGGGCG.TGAC.CC.TCGCGGGG.G.T.C...C...C...C...
AP18S .....CGACG.GCG.GAC.C-----G.G.C.C...C...C...C...
SU18S .....CAACG.GCG.TGAC.C-----G.G.T.C...C...C...C...

DA18S1 AA--TCAACTTTG-----TTGGTGAATCATAA
BA18S1 ...-A.C.ACGC.GCTCG-----CCGCTCTT...T...
UM18S ...-C...T.C.CCTCGGA-----G-----T...T...
DA18S7 .GGTCG...NGG.CCTGC-----CCGTTGCTC.A...T...G.
MA18S .GGTCG...AGGCTCTGC-----CCGTTGCTC.A...T...G.
AR18S .GGTCG.CGCGG.-CTCT-----GGCTTGCTC.A...T...G.
XL18S .CCAATC.GGG.CCCCC-----GCGCCCGGGCGCT...C.TAG.
HS18S .CCAACC.GG.CAGCCCCTCCGGCCCCGGGGGGGGGGCGCCGGCGGCT...C.TAG.
AP18S .CCAACC.GGGCTCGCC-----CGGGCGCT...C.TAG.
SU18S .CCAACGGGC.CGCCN-----NCCGCTN...N.C.TAG.

DA18S1 TAACTT--CTCGGACCGCATGGCCTC-GTGTGGCGGTGCTTCATT
BA18S1 .....G...A.T.....T...C...A...
UM18S .....A.T...C...T...A...
DA18S7 .....C--GA...T...TA...AC...A...
MA18S .....C--GA...T...TC...C...AC...A...
AR18S .....C--GA...T...T...AC...A...
XL18S .....C.CGGG.C.T...C.T.C...AC...AC.A.A...
HS18S .....C.CGGG.C.T...C.C.C...GC...AC.ACC...
AP18S .....C.CGAG.C.T...C.C.C...C.GC...AC.ACC...
SU18S .....C.CGGG.C.T...C.NCNC...GC...AC.ACG...
    
```

图 2 DA18S1, DA18S7 与其他生物 rDNA 的序列排列

仅标明与 DA18S1 不同的核苷酸，与 DA18S1 相同的核苷酸以圆点代表，缺失以短线代表

Fig. 2 Alignment of DA18S1 and DA18S7 with the partial 18s rRNA sequences from eight other different species

表 2 根据图 2 的序列排列，将 DA18S1 和 DA18S7 与其他生物进行比较所获得的 Kunc 值 (×1000)

Tab. 2 Pairwise comparison of the DA18S1 and DA18S7 with the partial 18s rRNA sequence from eight other species based on the sequence alignment in Fig. 2 Kunc values (×1000) were obtained according to Kimura s method (2)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
DA18S1									
BA18S	080								
UM18S	087	099							
DA18S7	132	164	164						
MA18S	165	171	151	039					
AR18S	164	192	178	068	086				
XL18S	305	331	347	351	342	377			
HS18S	306	340	347	386	341	405	086		
AP18S	305	330	313	360	316	376	081	063	
SU18S	297	290	313	349	314	349	074	062	074

综上所述，我们认为安文报道的 DA18S1 等序列并不是恐龙的 18s rDNA 片段，

DA18S7 是一种高等植物 18s rDNA 片段, DA18S1 是一种与真菌有较大同源性的 rDNA 片段.

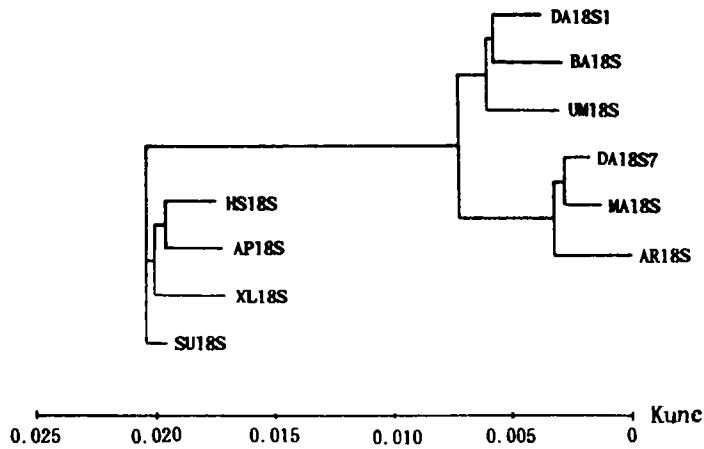


图 3 以表 2 的 Kunc 值建立的树图

Fig. 3 Simple depictions of the tree suggesting the phylogenetic relationship of DA18S1 and DA18S7 with other analysed species. The tree was constructed using Kunc values from Table 2

我们对 DA18S1 等序列的比较分析得出与安文不同的结论,这并不是我们采用了与他们不同的分析材料和方法所致.安文在分析时认为:DA18S1 等序列与鸟类有较高的同源性,又排除了细菌和人污染的可能性,这就可以推测 DA18S1 等为恐龙 18s rDNA 片段.这一推论的理由显然是不充分的,因为还有其它生物类群如植物、真菌和原生生物等没有加以比较和分析.由于这个原因,DA18S7 与植物金虎尾同源性高达 94% 以上未能及时发现.

另外,在序列比较分析时,根据 rRNA 高级结构和进化规律,正确进行序列排列是非常重要的^[3,4].在安文图 5 中,DA18S1 的 3' 末端的 20 个核苷酸是 PCR 引物序列(象鼻虫 rDNA),但是,在其它生物(除无脊椎动物 SPRRN 外)的 rDNA 序列中都没有将与该引物对应的序列列入,该图在 3' 末端的序列排列完全是任意的,尤其是人类 18s rRNA 序列比应有长度短了 44 个核苷酸.

最后,我们认为虽然 DA18S1 等并不是恐龙 rDNA 片段,但并不排除从河南西峡这枚恐龙蛋中可以提取真正的恐龙基因的可能性.

参 考 文 献

- 1 安成才,李毅,朱玉贤等.中国河南西峡恐龙蛋化石中 18s rDNA 部分片段的克隆及序列分析.北京大学学报(自然科学版),1995,31(2):140~147

- 2 Kimura. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol Evol*, 1980, 16: 111~120
- 3 Jean—Marc Neef, Yves Van De Peer, Peter De Rijk. Sabine Chapelle and Rupert De Wachter. Compilation of small ribosomal subunit RNA sequences. *Nucleic Acids Res*, 1993, 21, 3025~3049
- 4 屈良鹤. 微生物系统发育的分子遗传学研究概述. 自: 微生物遗传学研究综述集, 复旦大学主编. 上海: 复旦大学出版社, 1993

Question to the Validity of the Dinosaur 18s rDNA Fragment from Xixia, Henan

Qu Lianghu* Shi Suhua Zhou Hui

Abstract Based on their structural characteristic, the nucleotide sequences of DA18S1 and DA18S7 were aligned and compared with rDNA sequences from eight other species. The result of our analyses showed that neither of the two sequences was dinosaur rDNA fragment. DA18S7 turned out to be a plant rDNA frgment (more than 94% homology with *Malpighia coccigera*), however, DA18S1 had high homology (88.3% and 89%) with two compared Fungi rDNA other than vertebrate rDNA (67.8%~74.1% only)

Keywords dinosaur egg fossil, Xixia, 18s rDNA, sequence analysis

* School of Life Science, Zhongshan University, Guangzhou 510275