

植 物 毒 蛋 白

郑 硕

(防化研究院, 北京)

提 要

本文介绍了植物毒蛋白特别是像蓖麻毒素和相思子毒素等高毒性毒蛋白的研究情况,从植物学分布、分离纯化、分子结构、毒性、作用机制及其应用等方面做了扼要的叙述。

植物毒蛋白是从植物中分离出的对动物和完整细胞或细胞溶解物具有一定毒性或活性的一类有毒蛋白质,蓖麻毒素是其代表物。目前已知的几种毒蛋白具有一些共同的结构特点和作用机理,其中部分性质与酶相似。本文将重点介绍几种高毒性毒蛋白。

一、毒蛋白的植物学分布

我国有毒植物 900 多种,主要分布在毛

茛科、杜鹃花科、豆科、大戟科等。有毒成分多属于生物碱、强心甙、二萜、倍半萜和木脂体几类化合物,属于蛋白质的种类不多。

根据毒性和结构特点又可将毒蛋白分为两类,一类是高毒性毒蛋白,包括蓖麻毒素、相思子毒素等五种。另一类是低毒性毒蛋白,有巴豆毒素、麻疯树毒素、菜豆毒素、槲寄生毒素等。它们主要分布于豆科、大戟科、西番莲科和桑寄生科(见表 1)。此外,曾报道从天南星科的有

表 1 植物毒蛋白的分子量、毒性和分布

类 别	名 称	分 子 量		LD ₅₀ (小鼠 i. p.)	来 源		
		全链	A B		科	植 物 名	部 位
高 毒 性	相思子毒素 (abrin) ^[1]	65000	30000 35000	20μg/kg	豆科	相思子 (<i>Abrus precatorius</i>)	种子
	蓖麻毒素 (ricin) ^[1]	62000	30000 32000	7—10μg/kg	大戟科	蓖麻 (<i>Ricinus communis</i>)	种子
	蒴莲根毒素 (modeccin) ^[2]	63000	28000 38000	0.53μg/kg	西番莲科	<i>Adenia digitata</i>	根
	volkensin ^[3]	62000	29000 36000	1.38μg/kg		<i>A. volkensii</i>	根
	槲寄生素 (viscumin) ^[4]	60000	29000 34000	80μg/kg	桑寄生科	槲寄生 (<i>Viscum album</i>)	全株
低 毒 性	巴豆毒素 (croton) I ^[5] II ^[5]			1.33mg/只 4.38mg/只	大戟科	巴豆 (<i>Croton tiglium</i>)	种子
	麻疯树毒素 (curcin) ^[5]			6.48mg/只		麻疯树 (<i>Jatropha curcas</i>)	种子
	槲寄生毒素 (viscotoxin) ^[6]	5000		260μg/kg	桑寄生科	槲寄生	全株
	苦瓜凝集素 ^[7]	115000	4 条链	3.16mg/kg	葫芦科	苦瓜 (<i>Momordica charantian</i>)	种子
	刺槐毒素 (robin) ^[6]			1.5(马) mg/kg	豆科	刺槐 (<i>Robinia pseudoacacia</i>)	茶皮
	菜豆毒素 (phaseolotoxin) ^[6]	A 126000— B 130000 C E		350 mg/kg 250 mg/kg 150 mg/kg 200 mg/kg		菜豆 (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	种子

毒观赏植物彩叶万年青 (*Dieffenbachia sequine*) 分离出一种哑棒酶 (dumbcanin) 也是毒蛋白^[6], 但未见有关深入研究的报道。最近从豆科的有毒牧草小花棘豆 (*Oxytropis glabra*) 分离出一种具有溶血活性的毒素蛋白小花棘豆溶血毒素, 分子量是 27500^[8]。

二、毒蛋白的分离纯化

已知的几种高毒性毒蛋白均为糖蛋白, 属于凝集素, 对半乳糖有特殊的亲和力, 通常采用 Sepharose 4B 柱吸附, 用半乳糖或乳糖洗脱, 再用纤维素离子交换柱层析或 Sephadex 凝胶过滤进一步纯化^[2,9]。低毒性毒蛋白大多数也是凝集素, 纯化方法与前者基本相同。

不同产地或不同品种的同种植物所含毒素的结构和性质可能稍有不同, 如泰国产的大粒种蓖麻子含蓖麻毒素 D^[10], 日本产的小粒种含蓖麻毒素 D 和 E^[11]。Cawley 从桑给巴尔亚种蓖麻子同时分离出三种变异体, 蓖麻毒素 I、II、III, 并测定了等电点^[12]。台湾学者从当地产的相思豆同时分出四种变异体, 相思子毒素 a、b、c 及 d, 其性质见表 2^[13]。

表 2 四种相思子毒素变异体的分子量和毒性^[13]

毒素	全链	A	B	LD ₅₀ (小鼠 i.p. $\mu\text{g/kg}$)
a	63000	28000	35000	10
b	67000	32000	35000	25
c	63000	28000	35000	16
d	67000	32000	35000	31

三、结构和性质^[1]

1. 结构、免疫活性和物理性质

蓖麻毒素等五种高毒性毒蛋白的分子量都在 60000—65000 之间, 由 A、B 链组成, A 链比 B 链稍短, 两链之间有一个二硫键连接。其中研究最多的是蓖麻毒素, 它的一级结构已经清楚, A 链有 265 个氨基酸残基, B 链有 260 个氨基酸残基。A、B 链的螺旋含量分别为 0.3% 和 25%^[14]。它们都含有共价结合的糖分子, 糖的

组成主要是甘露糖、葡萄糖和半乳糖。这些糖主要结合在 B 链上, 如蓖麻毒素有三条寡糖链, 一条在 A 链, 两条在 B 链, 而相思子毒素的糖都在 B 链上。低毒性毒蛋白如巴豆毒素和麻疯树毒素等为单链, 苦瓜聚集素有四条链。

一些作者对毒蛋白的晶体进行了 X 衍射的研究, 发现相思子毒素的不对称单位中含两个分子, 空间群为 $P2_1$, $a=113\text{\AA}$, $b=72\text{\AA}$, $c=71\text{\AA}$, $\beta=103^\circ$, 含溶剂 45%。蓖麻毒素不对称单位含一个分子, 空间群为 $P2_12_12_1$, $a=73\text{\AA}$, $b=79\text{\AA}$, $c=114.7\text{\AA}$, 或空间群为 $C2$, $a=117\text{\AA}$, $b=57\text{\AA}$, $c=92\text{\AA}$, 含结晶水 68%^[11]。

最近报道用电子显微镜研究了槲寄生素分子的形状, 单分子为 $80 \times 90\text{\AA}$ 的近三角形或球形, 双分子 (即二聚体) 为棒状, $175 \times 80 \times 60\text{\AA}$ ^[15]。

蓖麻毒素、相思子毒素和蒴莲根毒素经甲醛化处理形成类毒素, 注射于动物可产生免疫。免疫血清能有效地保护动物和培养细胞而对抗相应毒素引起的中毒。这些毒素在免疫学上是不同的, 基本上没有交叉反应。抗 B 链的抗体能有效地抑制 B 链对细胞表面的结合, 抗 A 链的抗体能有效地保护细胞溶解物的蛋白质合成作用免受 A 链的抑制。

完整的毒素经反复冰冻和融化对其毒性影响很少。在 0.1M 半乳糖溶液中, 毒素可在冰箱中储存数月而不失活, 但煮沸即失活。分离的链比完整毒素更不稳定。

2. 毒性

由二条链组成的毒素通常具有很高的毒性 (见表 1、2), 但中毒作用缓慢, 给药几小时后才出现症状。相思子毒素和蓖麻毒素中毒主要症状是无力和厌食等, 没有特殊的临床表现。中毒后白血球数暂时增加, 主要损伤肝脏。槲寄生素中毒有腹水、肠充血和胰出血^[4]。蒴莲根毒素中毒主要损伤肝脏, 而其原植物中毒有呕吐, 血性腹泻后死亡, 尸检发现肠坏死、出血, 急性肾炎和肝出血^[2,16]。单链毒素如巴豆毒素和麻疯树毒素等毒性均不强, 中毒作用更缓慢。

瓣寄生毒素在肠道外给药时对实验动物心脏产生反射性心动徐缓, 负性肌收缩效应和低血糖^[6]。

高毒性毒蛋白对培养细胞也有很强的毒性, 相思子毒素和蓖麻毒素在 1ng/ml, 莨菪碱毒素甚至在 3pg/ml 就能杀死细胞。单链毒蛋白对培养细胞没有毒性或毒性很弱, 主要是由于它们不能进入细胞^[1]。增加毒素浓度和延长温育时间毒性可稍有提高

3. 作用机制

通过蓖麻毒素的研究证明, 毒蛋白是一种细胞毒。毒素进入机体后, B 链结合到细胞表面, 通过内吞作用转入细胞内, A、B 链分开, A 链渗透过质膜到细胞质中, 使核糖体失活, 从而抑制蛋白质合成。B 链能促进 A 链的进入。只有真核细胞的核糖体受抑制, 细菌的核糖体有抵抗作用。相思子毒素和蓖麻毒素的 A 链使核糖体失活的速率为 1500 个/分。它们主要抑制肽链的开始形成和增长, 肽键的形成似乎不被抑制。其作用位置与核糖体同延长因子结合的位置一致或很接近, 高浓度的延长因子可部分地阻止这种抑制作用。

具有两条链的完整毒素对细胞溶解物没有活性, 因为毒素的 A 链未游离出来, 而只有一条链的单链毒素有活性, 因它们本身就相当于一游离的 A 链, 其作用机制与 A 链相同^[5,17]。

四、应用

结晶相思子毒素和蓖麻毒素对小鼠艾氏腹水瘤细胞、L₁₂₁₀ 白血病、B₁₆ 黑痣瘤和 Lewis 肺癌均有明显作用, 它们通过抑制蛋白合成来杀死癌细胞。同时发现与某些药物有增效作用, 如蓖麻毒素与亚德里亚霉素 (adriamycin) 合并使用对白血病细胞有很明显的增效作用^[1]。

目前多用毒素 A 链与单克隆抗体结合做成免疫毒素来杀死癌细胞, 如用蓖麻毒素 A 链与由人的淋巴胚白血病细胞的抗原诱导产生的抗体结合生成的免疫毒素, 能有效地抑制对该抗原的阳性细胞的增殖^[18]。使用生理作用相当于 A 链的低毒性单链毒蛋白研制抗癌的免疫毒素更有价值, 因为这种蛋白分离制备简单, 进入机体后付作用小。

此外, 由于蓖麻毒素等能专一地与含有半乳糖末端残基的多糖或糖蛋白结合, 所以利用它们制成的亲和吸附剂能分离纯化含相应糖基的糖蛋白、糖脂和多糖。同时, 还可用来研究细胞表面糖的分布, 从而成为研究细胞膜结构的有力工具。

参考文献

- [1] Olsnes, S. et al.: in "Molecular Action of Toxins and viruses" (Cohen and Von Heyningon eds.) P. 52, Elsevier Biomedical Press, 1982.
- [2] Stirpe, F. et al.: *FEBS Lett.*, **85**(1), 65, 1978.
- [3] Barbieri, L. et al.: *FEBS Lett.*, **171**(2), 277, 1984.
- [4] Stirpe, F. et al.: *Biochem. J.*, **190**, 843, 1980.
- [5] Stirpe, F. et al.: *Biochem. J.*, **156**, 1, 1976.
- [6] 中国有毒植物, 正在印刷.
- [7] Barbieri, L. et al.: *Biochem. J.*, **186**, 443, 1980.
- [8] 喻梅辉等: 《生物化学与生物物理学报》, **17**(4), 495, 1985.
- [9] Olsnes, S. et al.: *J. Biol. Chem.*, **249**(3), 803, 1974.
- [10] Hara, K. et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **38**(1), 65, 1974.
- [11] Mise, T. et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**(10), 2041, 1977.
- [12] Cawley, D. B. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **190**(2), 744, 1978.
- [13] Jung-Yaw, Lin, et al.: *Toxicon*, **19**, 416, 1981.
- [14] 船津军喜: 《医学のめづみ》, **112**(13), 917, 1980.
- [15] Lutsch, L. et al.: *FEBS Lett.*, **170**(2), 325, 1984.
- [16] Olsnes, S. et al.: *J. Biol. Chem.*, **253**(14), 5069, 1978.
- [17] Sperti, S. et al.: *Biochem. J.*, **156**, 7, 1976.
- [18] Raso, V. et al.: *Cancer Res.*, **42**, 457, 1982.

【本文于 1986 年 11 月 10 日收到】