

# 植物单链核糖体失活蛋白的研究概况

郑 硕

(防化研究院,北京)

## 提 要

本文扼要地介绍了单链核糖体失活蛋白的植物学分布和一般性质,特别是对无细胞系核糖体蛋白合成的抑制作用,并对其应用和研究前景提出初步看法。

从植物中分出的对真核细胞核糖体的蛋白合成有强烈抑制作用的蛋白,按其结构和性质可分为两类,第一类包括相思子毒素、蓖麻毒素、蒺藜根毒素(modeccin)等由A、B链组成的高毒性毒蛋白,作者在《植物毒蛋白》一文<sup>[1]</sup>已做了介绍。第二类包括商陆抗病毒蛋白(pokeweed antiviral proteins, PAP)、麦芽凝集素(tritin)、苦瓜抑制剂(momordin)、gelonin、丝瓜素(luffin)等,均为一条链的蛋白,对无细胞系统的蛋白合成有强烈抑制作用,而对完整细胞和动物毒性很小或无毒,称为单链核糖体钝化或失活蛋白(ribosome-inactivating proteins, RIPS),简称单链蛋白或单链毒素、半毒素,本文将做重点介绍。

在单链蛋白中,研究最早的是PAP。1925年,Duggar和Armstrong报道了美洲商陆含有一种抗病毒的物质,能减轻烟草花叶病毒的感染。1975年Irvin从美洲商陆春天的叶中分得分子量为27000的蛋白,对真核细胞核糖体的蛋白合成有强烈抑制。现已从该植物的叶、果分得三种单链蛋白,并对它们的理化性质和生物学活性及其作用机理进行了研究<sup>[2]</sup>。以后从麦芽、*Gelonium multiflorum*、香石竹、肥皂草多种植物分出类似的蛋白。

竹科、葫芦科、大戟科、禾本科、商陆科等17种植物中分出(见表1),此外,在藜科的苋色藜(*Chenopodium amaranticolor*)、藜(*C. album*),苋科的老枪谷(*Ameranthus caudatus*)等植物中也有发现<sup>[2,4]</sup>。它们存在于植物体的种子、根、叶、乳汁等部位,通常以种子含量较高,叶含量较少。在种子中的含量也相差很大,100克种子少者不到1毫克,多者超过100毫克。分子量大多在30000道尔顿左右。为碱性蛋白,等电点在pH8以上。多数是糖蛋白,且糖含量相差甚大。有少数不含糖,如PAP,肥皂草素(saporin)。也许糖不是单链蛋白生物学活性所必需,但是,糖对于糖蛋白被细胞识别和摄取是重要的。这点可能与表中*H. crepitans*单链蛋白对细胞的高毒性有关<sup>[6]</sup>。在少数情况下,从一种植物同时分出一种以上单链蛋白,如商陆、麦仙翁和肥皂草等。它们之间有不同的专一性,但分子量、等电点和氨基酸组成都很接近,在免疫学上也表现交叉反应,可以认为是同一蛋白质的异型(isoform)或它们之间相互衍变。单链蛋白性质较稳定,如石竹素(dianthin)和gelonin经反复10次的冰冻和融化或冰冻干燥活性不变,gelonin与等量胰蛋白酶或胃蛋白酶等水解酶处理过夜,活性不变<sup>[7,8]</sup>。

## 一、单链蛋白的植物学分布和一般性质<sup>[3]</sup>

单链蛋白广泛分布于植物界,目前已从石

## 二、对蛋白合成的影响

### 1. 无细胞系统

单链蛋白能抑制真核细胞无细胞系统的蛋

表 1 单链蛋白的植物学分布和性质<sup>[3]</sup>

来源	名称	分子量	含糖量(%)	等电点	对蛋白合成的抑制 ( $1D_{50} \cdot n$ mol/L)		毒性(小鼠 $LD_{50}$ mg/kg)
					无细胞系统 <sup>a</sup>	细胞 <sup>b</sup>	
石竹科:							
麦仙翁(种子)	agrostin 5	29500	6.87	8.7	0.47	9200	1
	agrostin 6	29500	7.17	8.75	0.57	7800	1
香石竹(叶)	dianthin 30	29500	1.56		0.3	18000	1
	dianthin 32	31700	2.34		0.12	14000	30
肥皂草(种子)	saporin 6	29500		$\geq 9.5$	0.037	2300	4.0
	saporin 9	29500		$\geq 9.5$	0.037	5400	1.7
葫芦科:							
丝瓜(种仁)	luffin	26000			0.002		
苦瓜(种仁)	momordin	31000	1.74	8.6	0.06	32000	4.3
大戟科:							
<i>Gelonium</i> (种仁) <i>multiflorum</i>	gelonin	30000	2.34		0.4	34000	40
<i>Hara crepitans</i> (乳汁)		28000	40	$\geq 9.5$	0.17	140	
巴豆(种仁)	crotin I crotin II						1.33 <sup>d</sup> 4.38 <sup>d</sup>
麻疯树(种仁)	curcin						6.48 <sup>d</sup>
禾本科							
大麦(种子)		30000			2.13 <sup>c</sup>		
黑麦(种子)		30000			4.0 <sup>c</sup>		
小麦(种子)		30000			1.87 <sup>c</sup>		
(芽)	trititin	30000			2.3		
玉米(种子)		23000			2.13 <sup>c</sup>		
百合科:							
芦笋(种子)	峰 2	32500	1.42	$\geq 9.5$	0.43	31000	
	峰 5	32500	1.32	$\geq 9.5$	0.17	31000	
商陆科:							
美洲商陆(春叶)	PAP	29000		8.1	0.24		
(夏叶)	PAP-II	30000		8.3	0.25		
(种子)	PAP-S	31000		8.45	0.037	33000	2.6
<i>P. dodocandra</i> (叶)	dodecandrin	29000			0.043		

a. 用兔网状细胞溶解物测定。 b. 用 HeLa 细胞测定, 孵温 18 小时。

c. 用 Ehrlich ascites 细胞溶解物测定。 d. 毒性单位 mg/只小鼠。

麦仙翁 *Agrostemma githago*, 香石竹 *Dianthus caryophyllus*, 肥皂草 *Saponaria officinalis*, 丝瓜 *Luffa cylindrica*, 苦瓜 *Momordica charantia*, 巴豆 *Croton tiglium*, 麻疯树 *Jatropha curcas*, 大麦 *Hordeum vulgare*, 黑麦 *Secale cereale*, 小麦 *Triticum aestivum*, 玉米 *Zea mays*, 芦笋 *Asparagus officinalis*, 美洲商陆 *Phytolacca americana*

白合成, 对兔网状细胞溶解物的蛋白合成有强烈抑制, 其中丝瓜素的抑制活性比蓖麻毒素 A 链强 10 倍<sup>[9]</sup>。原核细胞如大肠杆菌核糖体的蛋白合成不被抑制。在敏感性上, 植物细胞

核糖体比动物细胞核糖体小,且差别很大。单链蛋白均有抗病毒活性,能抑制植物烟草病毒引起的损伤。这可能是通过同一机制起作用的,即进入病毒感染的细胞后便抑制病毒核糖体的蛋白合成从而杀死病毒。但对该植物本身的病毒没有作用,不是天然的抗病毒剂<sup>[3]</sup>。它们也能抑制动物病毒的繁殖。

单链蛋白的作用机制还不十分清楚,一般认为与蓖麻毒素A链相似,具有酶学活性,通过钝化60S核糖体亚基,抑制蛋白合成,从而杀死细胞。如PAP、巴豆毒素(crotonin)能降低延长因子(EF-2)与核糖体之间的亲和力,使(EF-2)-GDP-核糖体复合物的形成被抑制或变得不稳定,提高延长因子的浓度可部分地对抗PAP的作用。作用部位可能在60S核糖体与EF-2<sup>3</sup>结合部位附近<sup>[2,10]</sup>。gelonin钝化核糖体的速率是200个/分。

## 2. 完整细胞

由于单链蛋白分子中缺乏起结合作用的载体,难以进入细胞,所以对完整细胞的毒性很低(见表1)。一旦与伴刀豆蛋白(concanavalin A)、抗体或红细胞膜等蛋白分子载体结合,对细胞的毒性则明显增加。对植物培养细胞的效应不一致,如PAP能抑制胡萝卜细胞的生长,而蓖麻毒素则刺激其生长,gelonin、PAP-S和蓖麻毒素对水稻细胞的生长均有明显的刺激作用<sup>[3]</sup>。

与完整细胞毒性有着直接联系的是单链蛋白对动物的毒性也很小或无毒,中毒作用缓慢,如PAP-S对小鼠腹腔注射LD<sub>50</sub>2天是6.4毫克/公斤,4天是3.8毫克/公斤,10天是2.6毫

克/公斤<sup>[3]</sup>。巴豆毒素II中毒15天以后才出现死亡,主要损伤肝、肾、麻疯树毒素(curcin)中毒除损伤肝、肾外,还引起脾、胰的损伤和小肠充血等。这些情况与蓖麻毒素中毒作用相似<sup>[11]</sup>。

鉴于单链蛋白对无细胞系统的蛋白合成有强烈抑制,而对完整细胞和动物毒性很小,可代替蓖麻毒素等高毒性毒蛋白的A链研制免疫毒素,用于癌症、寄生虫病的化学治疗和除去骨髓移植的T淋巴细胞。故可以认为单链蛋白为筛选新的免疫毒素的毒素簇提供丰富来源。但是,巨噬细胞对这种蛋白比较敏感,是否会有其他副作用值得研究。由于单链蛋白通常不被水解蛋白酶破坏,故在生食的植物性食品中含的这类蛋白质在动物和人的肠道中有可能起到控制病毒感染的作用。在植物体内有阻止摄取异种移植体(heterografts)的保护作用<sup>[6]</sup>。单链蛋白在植物中有广泛的分布和丰富的含量,暗示它们可能有重要的生理功能,随着其活性机理的阐明,它们在自然界的作用将被揭晓。

## 参 考 文 献

- [1] 郑硕:《生物化学与生物物理进展》,1987,4,19.
- [2] Irvin, J. D.: *Pharmac. Ther.*, 1983, 21, 371.
- [3] Stirpe, F. et al.: *FEBS Lett.*, 1986, 195(1, 2), 1.
- [4] Gasperi-Campani, A. et al.: *Biochem. J.*, 1980, 186, 439.
- [5] Barbieri, L. et al.: *Biochem. J.*, 1982, 203, 55.
- [6] Stirpe, F. et al.: *Biochem. J.*, 1983, 216, 617.
- [7] Stirpe, F. et al.: *Biochem. J.*, 1981, 195, 399.
- [8] Stirpe, F. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1980, 255(14) 6947.
- [9] Kishida, K. et al.: *FEBS Lett.*, 1983, 153, 209.
- [10] Sperti, S. et al.: *Biochem. J.*, 1976, 156, 7.
- [11] Stirpe, F. et al.: *Biochem. J.*, 1976, 156, 1.

[本文于1987年10月9日收到]

(上接第15页)

- [18] Morgan, DHL: *Biochem. Soc. Trans.*, 1985, 13, 322.
- [19] Wallace, HM. et al.: *Biochem. Soc. Trans.*, 1985, 13, 329.
- [20] Pegg, AE: *Biochem. J.*, 1986, 234, 249.
- [21] Pezzali, DC. et al.: *IRCS. J. Med. Sci.*, 1984, 12, 750.
- [22] Matsui, I. et al.: *FEBS Lett.*, 1982, 139, 205.

- [23] Seiler, N. et al.: *Biochem. J.*, 1985, 225, 219.
- [24] Seiler, N. et al.: *Biochem. J.*, 1981, 200, 123.
- [25] Durie, BGM: *Tumor Progression*, 1980, 2, 113.
- [26] Porter, CW. et al.: *Anticancer Res.*, 1986, 6, 525.

[本文于1987年10月23日收到]