

## 研究快报

# 樟树种子核糖体失活蛋白的初步研究

蒋荣庆 娄艳春 刘望夷

(中国科学院上海生物化学研究所)

**关键词** 核糖体失活蛋白,植物毒蛋白,蛋白质生物合成的抑制

植物毒蛋白对真核细胞蛋白质生物合成的抑制主要是使核糖体失活,所以这类毒蛋白又称核糖体失活蛋白<sup>[1]</sup>。其作用机制有两种类型:(1)核酸水解酶型(如 $\alpha$ -Sarcin);(2)RNA N-糖苷酶型。这种酶的作用机制是近两年来才搞清楚的。它专一水解真核细胞核糖体28S RNA的第4324位腺苷酸的糖苷键,释放一个腺嘌呤碱基<sup>[2,3]</sup>。被水解后的核糖体丧失活力。本文报告我们从樟树(*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm)种子核仁中分离出至少一种毒蛋白的初步结果。种子成熟以后从樟树上采集下来,洗净凉干,于-20℃保存。实验时,将果肉与果核分开,用5mmol/L NaCl将果核洗净后除去硬壳得核仁。204g核仁用1600ml磷酸缓冲液(5mmol/L, pH7.2,含0.14mol/L NaCl)匀浆,4℃搅拌过夜,四层纱布过滤得滤液,再经离心(3600g, 1h)后,于上清液中加硫酸铵至饱和,4℃放置过夜,次日用布氏漏斗过滤,收集沉淀。再将沉淀悬浮于水中于4℃对水透析。透析过程中出现的不溶物用布氏漏斗过滤去除之。滤液经冷冻干燥得核仁毒蛋白粗产物0.66g。所得粗产物经过Sephadex G-100纯化,得到四个在280nm的吸收峰。用4-20%梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳硝酸银显色法鉴定各个峰的结果说明,峰I中大多数蛋白质的分子量较大,在160000以上,仅有少量分子量在70000左右的蛋白质。峰II中的蛋白质,一部分的分子量在160000-240000之间,而分子量在70000左右的蛋白质含量较峰I多。另外,还有少量分子量在50000左右的蛋白质。峰III

中仅有少量分子量在50000左右的蛋白质。峰IV中检测不出蛋白质。小白鼠腹腔注射(每次五只小白鼠,注射量每只1mg)测定Sephadex G-100分得各个峰的毒性结果表明,峰I仅表现微弱的毒性,峰II的毒性最大,峰III和峰IV则完全没有毒性。用兔网织红细胞无细胞体系观察以上各峰对蛋白质合成的抑制作用。实验结果与小白鼠腹腔注射表现的毒性是一致的。峰I仅有微弱的抑制作用,峰II的抑制作用最强,峰III和峰IV几乎没有抑制作用。

根据以上小白鼠毒性实验和蛋白质合成抑制作用的结果,我们认为峰II中的蛋白质,其中至少有一种核糖体失活蛋白。这种毒蛋白有相当高的稳定性,在7mol/L尿素中室温放置过夜,经透析除去尿素以后仍能恢复活力。根据它的分子量大小及稳定性,我们估计这种核糖体失活蛋白可能是一种双链蛋白质。我们将进一步纯化这种蛋白质,并研究它的作用机制。

另外,我们用制备核仁蛋白质的方法还制备了樟树种子果肉粗蛋白质。从138g果肉中可以得到0.92g的粗蛋白质。小白鼠腹腔注射的结果说明,果肉蛋白质的毒性很微弱。

### 参 考 文 献

- [1] 董焄,刘望夷,细胞生物学杂志,1990; 12,印刷中
- [2] Endo Y et al. J Biol Chem, 1987; 262: 5908
- [3] Endo Y, Tsurugi K. J Biol Chem, 1987, 262: 8182

[本文于1989年12月25日收到]