

浓度高于  $3.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时, 由于其荧光碰撞猝灭作用增加, 所以  $P$  又略有增加。对含氰基拟菊酯来说, 当它们的浓度低于  $1.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时, 碰撞猝灭作用并不明显, 基于与低浓度时拟菊酯同样的原因,  $P$  变化不大, 但当它们浓度高于  $1.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时, 碰撞猝灭作用有所增加,  $P$  开始增大, 当它们的浓度达到  $3.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时,  $P$  则明显增大。比较图 2a 和图 2b, 可以看出各个浓度的拟菊酯在凝胶态增加  $P$  的能力不如在液晶态大。

比较拟菊酯对 DPPC<sup>[3]</sup> 和 DMPC 脂质体  $P$  的影响, 仅在 DMPC 脂质体中观察到了拟菊酯的荧光碰

撞猝灭作用。DPPC 疏水尾较 DMPC 疏水尾多 2 个碳原子, 因而 DPPC 脂质体膜的厚度较 DMPC 脂质体的大, 因此上述现象可能是由于膜中 DPH 和拟菊酯相对位置的改变而引起的。

### 参 考 文 献

- 1 Lawrence L J, Casida J E. *Science*, 1983; 221: 1399
- 2 Stelzer K J, Gordon M A. *J Immunopharmacol*, 1984; 6(4): 389
- 3 周哲, 丛蓉娟, 刘毓谷. 环境科学学报, 1991; 11(2): 199
- 4 Lakowicz J R, Hogen D. *Chem Phys Lipids*, 1980; 26: 1

## C<sub>4</sub>, C<sub>3</sub>, CAM 植物叶磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶分子聚体的比较

焦 德 茂

(江苏省农业科学院农业生物遗传生理所, 南京 210014)

**关键词** 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶, 分子聚体, C<sub>4</sub> 植物, C<sub>3</sub> 植物, CAM 植物

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 广泛存在于所有植物不同部位(或器官)中<sup>[1]</sup>, 在 C<sub>4</sub> 和 CAM 植物的 CO<sub>2</sub> 固定上起着重要作用。近几年来在 C<sub>3</sub> 植物中也加强了有关 PEPC 的研究<sup>[2, 3]</sup>。本文用 SDS 和原性凝胶电泳的方法, 比较不同光合型植物和不同环境条件下 PEPC 分子亚基和聚体的差异, 为进一步研究代谢功能的调节和分子聚体的关系提供依据。

### 1 材 料 与 方 法

**1.1 植物材料** C<sub>4</sub> 植物用玉米 (*Zea mays*), 品种为 Golden Cross Bantam。CAM 植物用 *Argentea*。在温室中进行盆栽, 在生长箱中进行光照及黑暗处理, 每天光照 12h, 光照强度 34000 勒克斯 (lx), 温度 30℃; 黑暗 12h, 温度 20℃。

**1.2 PEPC 提取** 玉米、*Argentea* PEPC 提取参照 Jiao 等<sup>[4]</sup> 和 Wu 等<sup>[5]</sup> 的方法, 小麦 PEPC 系 Sigma 产品。

**1.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE)** 测定 PEPC 亚基分子量用加 0.1% SDS 凝胶, 浓度为 7%; 测定 PEPC 聚体分子量用不加 SDS 的凝胶 (原性凝胶电泳), 浓度为 7.5%。凝胶大小为 7.3cm × 8.3cm。SDS-PAGE 电泳缓冲液 0.025mol/L Tris-HCl, 0.192

mol/L 甘氨酸, pH8.3。

PEPC 活性染色按 Karn<sup>[6]</sup> 的方法, PEPC 谱带

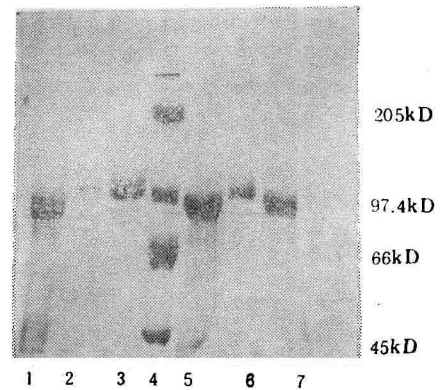


图 1 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

C<sub>4</sub>, 玉米, CAM *Argentea*, C<sub>3</sub> 小麦叶 PEPC 亚基分子量比较 1. C<sub>3</sub> 小麦 2. C<sub>4</sub> 玉米 3. CAM *Argentea* 4. 标准蛋白 5. C<sub>3</sub> + C<sub>4</sub> 6. CAM + C<sub>4</sub> 7. CAM + C<sub>3</sub>

与快紫 B 作用形成亮红色区带,以鉴定 PEPC 在凝胶上的分布位置。SDS 凝胶用考马斯亮蓝染色。

## 2 结果与讨论

**2.1 C<sub>4</sub>, C<sub>3</sub>, CAM 植物 PEPC 亚基分子量** 用 SDS-PAGE 方法测定显示 C<sub>4</sub> 玉米和 CAM *Argemone* 亚基分子量均为 100kD; C<sub>3</sub> 小麦 PEPC 亚基分子量为 90kD (图 1)。

**2.2 C<sub>4</sub>, C<sub>3</sub>, CAM 植物叶 PEPC 分子聚体** 用原性凝胶电泳结合快紫 B 活性染色测定,显示 C<sub>4</sub> 玉米叶 PEPC 聚体分子量为 400kD,由于亚基分子量为 100kD,为四聚体。CAM 植物 *Argemone* PEPC 分子量为 200kD,由于亚基分子量为 100kD,为二聚体。C<sub>3</sub> 小麦叶 PEPC 聚体分子量一为 180kD,一为 90kD,由于亚基分子量为 90kD,故为二聚体和单体两种形式。上述结果说明在光照条件下,叶 PEPC 分子具活性的聚体有单体、二聚体、四聚体多种形式,不同光合型植物具有不同形式。

**2.3 pH 对 C<sub>4</sub>, CAM 植物叶 PEPC 分子聚合状态的影响** 用原性凝胶电泳结合快紫 B 活性染色,比较 C<sub>4</sub> 玉米在不同 pH 时叶 PEPC 分子聚合状态。显示 pH 8.0 时分子聚体为 400kD,为四聚体,当 pH 为 7.0 或 8.9 时,活性染色大大减弱,说明 pH 不适,聚体介离大于聚合状态。用同样的方法研究 CAM 植物 *Argemone*,显示最适 pH 为 7.0,呈二聚体。pH 5.8 或 8.0 时活性染色能力减弱,pH 4.5 时活性染色消失。

**2.4 光/暗对 C<sub>4</sub>, CAM 植物叶 PEPC 分子聚体的影响** 用原性凝胶电泳结合快紫 B 染色,显示 C<sub>4</sub> 玉米在光照下 12h,叶 PEPC 具活性的聚体其分子量为 400kD,为四聚体;而在黑暗下 12h 活性染色消失,但

在分子量约 5kD 处有微弱的活性染色,这种现象尚难解释。用同样的方法显示 CAM *Argemone* 在光照下 12h,叶 PEPC 具活性的聚体其分子量为 200kD,为二聚体;而在黑暗下 12h,具活性的聚体其分子量也为 200kD 左右,亦为二聚体。但从多次实验看出 *Argemone* 在 400kD 位置上有微弱的染色。看来其四聚体可能是一种不稳定的状态,较易解离为二聚体。

Matsuoka 等<sup>[7]</sup>曾发现 C<sub>3</sub> 水稻 PEPC 在亚基上有光激活和暗激活两种类型,C<sub>4</sub> 玉米仅为一种受光激活的类型。结合我们的资料分析可以认为:C<sub>4</sub> 向 CAM 和 C<sub>3</sub> 进化的过程中,光激活亚基加强,暗激活亚基退化发展为 C<sub>4</sub> PEPC。而 CAM 植物 PEPC 则保留了 C<sub>3</sub> PEPC 的二种类型亚基,在白天由光激活亚基聚合成具活性的二聚体;在夜晚由暗激活的亚基聚合为另一种具活性的二聚体或四聚体<sup>[1]</sup>。

综上所述,由于植物光合型和环境条件的不同,PEPC 聚体形式呈多样性,这在代谢功能的调节上无疑地具有十分重要的作用,进一步研究 PEPC 分子聚体形成和调节机理是今后值得探讨的问题。

## 参 考 文 献

- 1 O'Leary M B. *Ann Rev Plant Physiol*. 1982; 33: 297
- 2 Aoyagi K, Bassham J A. *Plant Physiol*, 1985; 78: 807
- 3 Aoyagi K, Bassham J A. *Plant Physiol*, 1986; 80: 334
- 4 Jiao J A, Chollet R. *Arch Biochem Biophys*, 1988; 261(2): 409
- 5 Wu M X, Wedding R T. *Arch Biochem Biophys*, 1985; 240(2): 655
- 6 Karn R C. *Biochim Biophys Acta*, 1973; 293: 567
- 7 Matsuoka M, Yamamoto N. *Plant Cell Physiol*, 1989; 30(4): 479

# 商陆毒蛋白与蓖麻毒蛋白 A 链作为免疫毒素“弹头”的比较研究

褚嘉佑 朱晓梅\* 张和君 胡忠\* 杨爱德\*\* 王辨明\*\* 郭仁

(中国医学科学院医学生物学研究所,昆明 650107)

**关键词** 免疫毒素,商陆毒蛋白,蓖麻毒蛋白,单克隆抗体

免疫毒素系由具有导向能力的载体和具有杀伤能力的毒素或药物偶联形成的复合物。单克隆抗体的问世使载体的高度特异性得到解决,选择合适的“弹头”

\* 中国科学院昆明植物研究所

\*\* 同济医科大学血液病研究所

收稿日期: 1991-04-05

修回日期: 1991-09-10