

· 简报 ·

杜仲胶生物合成相关蛋白质的研究^①

赵德刚^② 韩玉珍 傅永福 国风利 王敏杰 孟繁静

(中国农业大学生物学院)

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)是我国特有的第三纪孑遗树种,不仅是一种名贵的药用植物,而且是温带最有开发前景的胶源植物。长期以来,杜仲胶仅作为生产硬橡胶的原料。近年的研究表明,杜仲胶能象三叶橡胶一样制成弹性橡胶,还能制成具有橡胶和塑料双重特性的高分子新材料,从而极大地提高了杜仲胶的开发价值。杜仲中橡胶颗粒积累在根、茎、叶和果实的韧皮部薄壁细胞中,与银胶菊(*Parthenium argentatum* Gray.)茎中橡胶颗粒的积累相似。国外通过对橡胶颗粒结合蛋白的分离鉴定,已证明与橡胶生物合成相关的一些蛋白存在于胶颗粒中。杜仲胶是反式异戊二烯多聚体,为三叶橡胶树和银胶菊等植物所含天然橡胶的同分异构体。到目前为止,有关杜仲橡胶颗粒形成的分子机理尚无报道。

作者从1997年以来首先对杜仲胶颗粒结合蛋白进行了分析研究。分别于4月和9月收集成年杜仲树上新鲜的叶片、树皮和果皮浸入1%的VC溶液中带回实验室,吸水纸吸去表面水分,加入PVP在液氮中研磨成粉末,用提取缓冲液(Tris-HCl[pH7.5] 100 mmol·L⁻¹; KF50 mmol·L⁻¹; MgSO₄ 5 mmol·L⁻¹; 2-巯基乙醇 5 mmol·L⁻¹; PMSF 0.1 mmol·L⁻¹)悬浮粉末并用高速匀浆机匀浆后过10层纱布,滤液在4℃、4 000 g离心8 min,刮出胶泥以洗涤缓冲液(Tris-HCl[pH7.5] 100 mmol·L⁻¹; MgSO₄ 5 mmol·L⁻¹; DTT 10 mmol·L⁻¹)悬浮,以100 g在4℃下离心1 min除去细胞碎片,上清在2 400 g重复离心2次,每次均刮出胶泥以洗涤缓冲液悬浮,获得经3次洗涤纯化的橡胶颗粒(Washed Rubber Particles, WRP)。利用橡胶变性染色液(碘和溴的醋酸溶液)处理后,在光镜下可观察到棕色的橡胶颗粒,并检查胶粒纯度。将WRP加SDS样品液(Tris-HCl[pH6.8] 62.5 mmol·L⁻¹; 2% SDS; 10%甘油; 5% 2-巯基乙醇; 0.002%溴酚蓝)于90℃加热15 min后作电泳分析。经多次SDS-PAGE分析表明,无论是从叶片、还是从含叶绿素较少的树皮和果皮中分离的杜仲胶颗粒,其含量最多的均是分子量为30 kD蛋白质。

已有研究表明,在银胶菊中催化异戊二烯单体聚合形成橡胶的橡胶转移酶(RuT)存在于橡胶颗粒中,银胶菊胶颗粒结合最大量的蛋白质分子量是54 kD。最近,Pan(1995)等人已克隆到该蛋白的编码基因。在三叶橡胶的胶颗粒中含量最多的蛋白则是分子量为14.6 kD的蛋白质分子,并已证明这一蛋白是橡胶延长因子。有关杜仲胶颗粒中含量最多的蛋白质分子的性质和功能正在研究中。

收稿日期: 1998-09-18

①中国博士后科学基金资助项目,国家自然科学基金资助项目 39870644

②赵德刚,现为北京林业大学博士后,北京,100083