

- [24] Thronton, S. C. et al., 1983, *Science*, 222: 623.
- [25] Rosenbaum, J. et al., 1986, *Cell Biol Int Rep.*, 10: 437.
- [26] Pauline, H. S. U. et al., 1993, *Am J Physiol.*, 264: 1485-1492.
- [27] Gerritsen, M. E. 1987, *Biochemical Pharmacology.*, 3(17): 2701.

核糖体失活蛋白的结构功能与分布

李向东 刘望夷

(中国科学院上海生物化学研究所 200031)

植物核糖体失活蛋白 (Ribosome-Inactivating Protein, RIP) 是一种 RNA N-糖苷酶, 可作用于核糖体大亚基上最大的 RNA, 在其特定位点脱去一个腺嘌呤碱基, 使核糖体丧失蛋白质合成的功能^[1]。

现在已经纯化的 RIP 按一级结构的不同可分为两种类型: 单链 RIP 和双链 RIP, 分别称为 I 型和 II 型。I 型 RIP 由一条肽链组成, 在植物界比较广泛的存在, 目前已从 30 多种植物中鉴定、纯化出 I 型 RIP, 如天花粉蛋白 (trichosanthin), 美洲商陆抗病毒蛋白 (poke-week antiviral protein) 等。II 型 RIP 由两条肽链组成, 分别称为 A 链和 B 链, 两条链通过一个二硫键相连接。蓖麻毒蛋白 (ricin) 和相思子毒蛋白 (abrin) 是最早发现的 II 型 RIP。

I 型 RIP 分子量在 30 kDa 左右一般为强碱性蛋白质, pI 在 8—10, 少数在 10 以上, 多数为糖蛋白。少数不含糖, 如天花粉蛋白。单链 RIP 对无细胞体系的蛋白质合成有强烈抑制作用, ID₅₀ 大都在 1 nM 以下, 对完整细胞的毒性却很低, 其 ID₅₀ 常高达数千 nM。II 型 RIP 分子量一般为 60—65 kDa, pI 在 6—8 之间。A、B 链拆开, A 链变得不稳定。较小的 A 链是催化活性链, 和 I 型 RIP 一样具有 RNA N-糖苷酶活性, 专一水解大鼠 28 S rRNA 的 A 4324 位的 N-C 糖苷键, 使核糖体丧失蛋白质合成功能。A 链含糖量较 B 链少, 有

的甚至不含糖。在大肠杆菌中表达的蓖麻毒蛋白 A 链没有糖基化仍具有催化活性, 说明糖基化对它的催化活性并非必需。B 链较大, 具有糖结合活性, 相当于凝集素, 可识别细胞表面糖肽或糖脂受体末端 D-半乳糖。完整双链 RIP 对无细胞体系蛋白质合成的抑制活性较低, ID₅₀ 大都为数 10 nmol/L, 但若将连接 A、B 链的二硫键还原打开后, 其活性会大大提高。双链 RIP 对完整细胞的毒性很高, ID₅₀ 大都低于 10⁻² nmol/L。II 型 RIP 对动物的毒性很大。B 链不仅具有细胞识别功能, 还能协同 A 链进入细胞, 定位于高尔基体。在无细胞体系中, 双链 RIP 的活性较低。B 链的存在妨碍了 A 链的活力发挥。研究结果表明链间二硫键的断裂是启动 A 链活性的关键。若将蓖麻毒蛋白的二硫桥以非还原性的 N-N' -o-邻苯二顺丁烯亚胺代替, 蓖麻毒蛋白虽可进入细胞但不能抑制蛋白质的合成。从结构和遗传上看, I 型和 II 型 RIP 有共同的祖先, II 型 RIP 可能是由 I 型 RIP 进化来的。

RIP 在植物体内的生理功能一直没有弄清楚。对 RIP 研究的主要兴趣是由于它们具有重要的理论和应用价值。理论方面, RIP 是研究核糖体结构与功能的重要工具。应用方面, RIP 可以作为免疫毒素 (immunotoxin) 的弹头部分, 治疗人类的顽症如肿瘤等。一些 RIP 具有抗植物病毒或动物病毒的活性, 天花粉蛋白用

于艾滋病的治疗,有些 RIP 基因被导入经济作物用以抗植物病毒感染。另外 RIP 还具有抗害虫作用。

一、RIP 的分布

RIP 在植物界比较广泛地存在,但规律性

表 1 植物核糖体失活蛋白的分布

科	种 名
I 型核糖体失活蛋白	
百合科	<i>Asparagus officinalis</i> (石刁柏)
石竹科	<i>Agrostemma githago</i> (麦仙翁)
	<i>Dianthus barbatus</i> (香石竹)
	<i>Dianthus caryophyllus</i> (麝香石竹)
	<i>Lychnis chalacedonica</i> (皱叶剪秋罗)
	<i>Petrocoptis glaucifolia</i>
	<i>Saponaria officinalis</i> (肥皂草)
葫芦科	<i>Bryonia dioica</i> (异株泄根)
	<i>Citrullus colocynthis</i> (药西瓜)
	<i>Cucumis melo</i> (甜瓜)
	<i>Luffa acutangola</i> (棱角丝瓜)
	<i>Luffa cylindrica</i> (丝瓜)
	<i>Momordica charantia</i> (苦瓜)
	<i>Momordica cochinchinensis</i> (木鳖)
	<i>Trichosanthes kirilowii</i> (栝楼)
大戟科	<i>Croton tiglium</i>
	<i>Gelonium multiflorum</i> (多花白树)
	<i>Hura crepitans</i>
	<i>Jatropha curcas</i> (麻疯树)
	<i>Manihot palmata</i> (巴西木薯)
	<i>Manihot ulilissima</i> (木薯)
樟科	<i>Cinnamomum camphora</i> (香樟)
紫茉莉科	<i>Mirabilis jalapa</i> (紫茉莉)
商陆科	<i>Phytolacca americana</i> (美洲商陆)
	<i>Phytolacca dioica</i>
	<i>Phytolacca dodecandra</i>
禾本科	<i>Hordeum vulgare</i> (大麦)
	<i>Secale cereale</i> (黑麦)
	<i>Triticum aestivum</i> (小麦)
	<i>Zea mays</i> (玉米)
忍冬科	<i>Sambucus ebulus</i> (矮接骨木)
II 型核糖体失活蛋白	
大戟科	<i>Ricinus communis</i> (蓖麻)
苏木科	<i>Abrus precatorius</i> (相思子)
樟科	<i>Cinnamomum camphora</i> (香樟)
西番莲科	<i>Adenia digitata</i> (塑莲)
	<i>Adenia volkensii</i>
忍冬科	<i>Sambucus ebulus</i> (矮接骨木)
桑寄生科	<i>Phoradendron californicum</i>
	<i>Viscum album</i> (欧洲槲寄生)

不强。除了在少数几种真菌和细菌中发现 RIP 外,几乎所有的 RIP 均来源于高等植物。人们已从被子植物纲的 18 种单子叶植物和 122 种双子叶植物中检测到 RIP 的存在^[1]。目前还没有从裸子植物中发现 RIP, 推测 RIP 可能广泛存在于植物界。

现在分离纯化的 RIP 大多是 I 型,目前至少已从 9 个科 31 种植物中分离纯化了 I 型 RIP。II 型 RIP 较少,仅在 6 科 8 种植物中发现(表 1)。两种植物的同一器官中同时存在两类 RIP。在 *Sambucus ebulus*(矮接骨木)的叶子中同时存在两种 I 型 RIP(*ebulitina*、 β 、 γ)^[2]和一种 II 型(*ebulin*)RIP^[3]。我们实验室从香樟(*Cinnamomum camphora*)种子中纯化到两种类型的 RIP: 辛纳毒蛋白(*cinnamomin*)和克木毒蛋白(*camphorin*)^[4]。

RIP 存在于植物的种子、根、茎、叶等器官中。在同一种植物中常存在不同的亚型,如在美洲商陆,大麦和肥皂草的叶子、根、种子中都存在 I 型 RIP。RIP 在植物的不同部位,不同时期也存在特异性分布。一般而言,成熟的种子中 RIP 活力较高。

二、RIP 的生物合成与加工

RIP 一般是由多基因家族编码的,例如蓖麻毒蛋白是由一个小的基因家族编码的。这个家族由八个基因组成,其中一些是没有功能的。蓖麻毒蛋白基因组的核苷酸序列显示基因中没有内含子。其 5' 侧翼有 TATA 和 CAAT/AGGA 序列,另外重复序列 CATGCATGRY 分别位于转录起始点 -113 和 -143 处。这个重复序列控制蓖麻毒蛋白在种子中特异性的表达^[5]。

RIP 使核糖体失活,翻译中断。RIP 也可能作用于植物自身的核糖体,植物是如何解决这个难题的呢?可能有三种机制保障蛋白质合成的正常进行。(1)相对而言 RIP 对自身核糖体的活性大多不高。(2)最初合成的是没有活性的 RIP 前体。(3)合成 N 端带有信号肽的

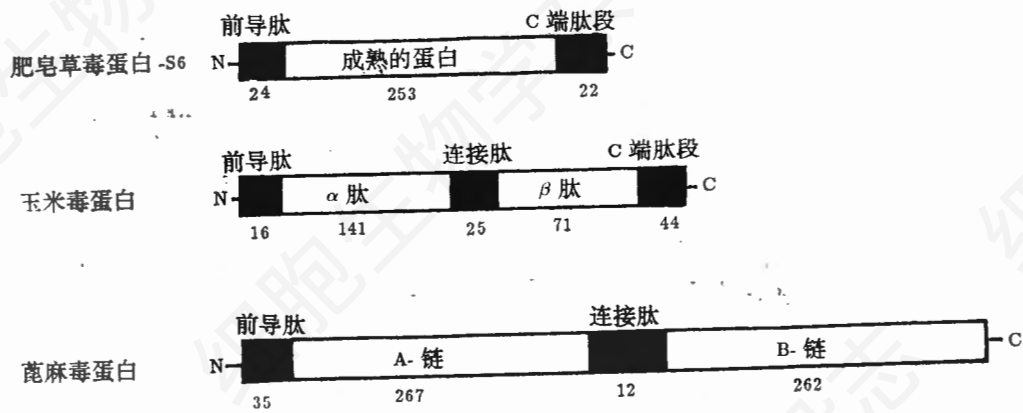


图1 一些核糖体失活蛋白前体的结构

□成熟的核糖体失活蛋白 ■成熟蛋白缺失的肽段

前 RIP 原 (prcproform RIP), 将新生肽导入内质网腔中, 造成空间阻隔使 RIP 不能作用于核糖体。

RIP 的合成一般都是先合成前体, 经后加工成为有活性的蛋白质 (图 1)。RIP 的 N 端之前的一段信号肽与前体的加工运输有关。前蓖麻毒蛋白原 (prcpro-ricin) 由 576 个氨基酸残基组成, 最前面是 35 个残基的前导肽, 然后是 A 链 (267), 中间有 12 个残基的连接肽, 接着是 B 链 (262)。蓖麻毒蛋白的成熟包括一系列的加工过程。

I 型 RIP 的生物合成与蓖麻毒蛋白一样也是先合成没有活性的前体, 然后转运并加工成为成熟的 RIP (图 1)。玉米 RIP 是一种比较特殊的 RIP, 它由两条链组成, 但属于 I 型 RIP, 在种子里以非活性的 RIP 原形式合成并储藏。玉米 RIP 原的分子量为 34 kDa, pI 6.5。种子萌发过程中, 被酶部分水解除去肽链中的 25 个残基以及 N 端和 C 端部分残基成为活性形式。它的两条链分别为 16.5 kDa (α 链) 和 8.5 kDa (β 链), pI 大于 9。两条链结合紧密, 但没有二硫键相连。玉米 RIP 前体的活性比成熟 RIP 低 10,000 倍^[9]。

三、RIP 的结构

植物 RIP 作用于核糖体的分子机制虽然

相同, 但对来源不同 (如动物、植物及原核生物) 的核糖体的敏感性却存在着差异。蓖麻毒蛋白 A 链对动物核糖体的活性比对植物核糖体的活性高出 4 个数量级, 对原核细胞核糖体几乎不作用。某些 I 型 RIP 对哺乳动物和原核细胞的核糖体都有活性。这种活性上的差异反映了 RIP 结构上的差异。研究 RIP 的结构可以阐明其功能, 并定向改造天然 RIP 为人类服务。

迄今为止, 已测定出 18 种 RIP 的氨基酸全序列, 进行 N 端分析的 RIP 更多^[1]。双链 RIP 的 A 链及单链 RIP 一般由 210—270 个氨基酸组成, 它们的同源性在 17%—75% 之间。定点突变和高级结构的研究发现有几个氨基酸残基对活性非常重要。对蓖麻毒蛋白 A 链而言这几个氨基酸是酪氨酸 80、酪氨酸 123、谷氨酸 177、精氨酸 180 和色氨酸 211。这几个氨基酸在几乎所有的 RIP 中都是保守的。

在同种植物中, RIP 经常以不同的亚型 (isoform) 存在。它们的氨基酸序列不同。这不是由于翻译后加工造成的, 而是由于它们的基因编码序列不同。它们是同一个基因家族的不同成员。另外糖基化不均一也是产生亚型的原因之一。

虽然 RIP 的一级结构同源性不大, 但它们的空间结构却十分相似。空间结构研究得最清

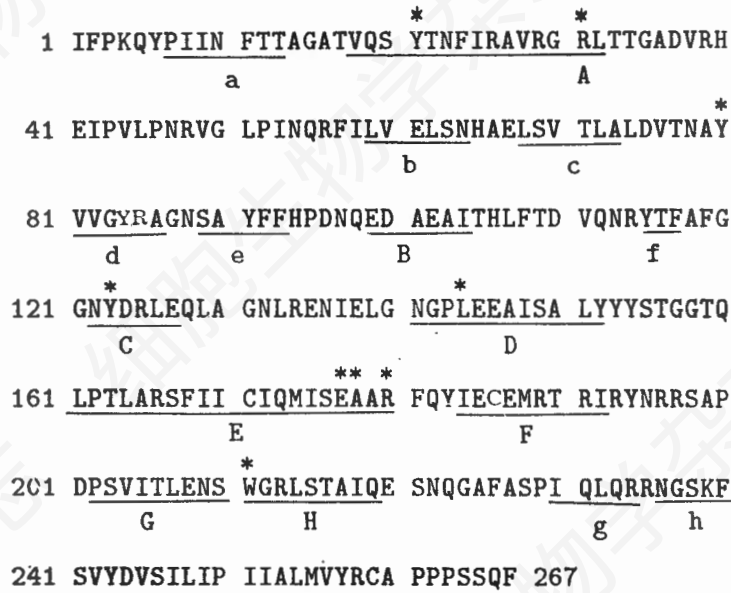


图 2 蓖麻毒蛋白 A 链的一级结构和二级结构
 α 螺旋(A—H), β 折叠(a—h), * 保守氨基酸

楚的是蓖麻毒蛋白。

蓖麻毒蛋白 A 链是一个由 267 个氨基酸组成的球状蛋白。其分子中一个较深的“凹陷”是 RNA N-糖苷酶的活性部位^[7]。蓖麻毒蛋白 A 链的空间结构呈“蘑菇云”状,由 8 个 α 螺旋(A—H), 8 个 β 折叠(a—h)和一些无规卷曲等构象单位组成,共分为两个结构域(图 2)。N 端 117 个氨基酸残基约占整个链长的 40%,组成一个比较紧密的结构域 1。结构域 1 的主要特征是 β 折叠多,有 6 个 β 折叠(a—f),只有 2 个 α 螺旋(A—B)。结构域 2 也由近 40%的氨基酸残基组成(118—210 位),主要由 5 个 α 螺旋(C—G)组成。其中 E 螺旋最长,由 20 个氨基酸残基组成(161—180 位),长度上超过 5 个螺旋,位于整个分子中心,并有一个偏向 C 端约 30 度的弯曲。这一弯曲使谷氨酸 177,精氨酸 180 伸向分子表面形成活性中心。剩下的 20% 残基(211—267 位)组成结构域 3,主要由无规卷曲组成,只有一个 α 螺旋和一对不规则的反平行折叠(g—h)。结构域 3 的另一个明显特征是靠近 C 端富含疏水氨基酸,247—257 位有一串疏水氨基酸。它可能对蓖麻毒蛋白 A 链

的跨膜运输起重要作用。结构域 3 一侧形成活性中心的一部分;另一侧通过疏水相互作用与 B 链结合。

对氨基酸序列同源性的比较,发现蓖麻毒蛋白 A 链与来自双子叶植物的一部分 RIP 的相同氨基酸残基有 9 个,其中 6 个在活性中心。蓖麻毒蛋白 A 链的活性中心位于空间结构的一个明显的裂隙中,由酪氨酸 80、酪氨酸 123、谷氨酸 177、精氨酸 180 及色氨酸 211 组成。活性中心序列附近存在着几个保守的非极性氨基酸,它们对稳定活性中心起了一定的作用。

蓖麻毒蛋白 A 链的空间结构对 RIP 具有广泛的适用性。现已建立的天花粉蛋白与相思子毒蛋白 A 链的空间结构与蓖麻毒蛋白 A 链的空间结构十分相似^[8]。

蓖麻毒蛋白 B 链由 262 个氨基酸残基组成,空间结构似一只哑铃,每一边有一个半乳糖结合位点。蓖麻毒蛋白 B 链由两个结构域组成,这两个结构域有很高的同源性^[9]。1—135 位氨基酸组成结构域 1,136—262 位氨基酸组成结构域 2。从一级结构上看,这两部分的氨基酸序列有 32% 相同。每一结构域又可分为

α , β , γ 亚结构域以及 λ 连接肽。两个结构域的 α , β , γ 亚结构域十分相似, 都由大约 40 个氨基酸组成。两个 λ 连接肽也彼此相似, 但与 α , β , γ 无关。各亚结构域通过各自较保守的酪氨酸、亮氨酸以及异亮氨酸等残基间的相互作用形成一个疏水核, 从而稳定了蓖麻毒蛋白 B 链的二维构象。每个亚结构域都包含一个潜在的糖结合位点, 但只有结构域 1 的 α 和结构域 2 的 γ 亚结构域真正具有糖结合活性。由此推测蓖麻毒蛋白 B 链起源于一个具有结合半乳糖性质的多肽, 通过基因重复与融合而形成, 然后与独立进化的蓖麻毒蛋白 A 链基因融合而形成蓖麻毒蛋白。

蓖麻毒蛋白 B 链可逆地与位于细胞表面以半乳糖为末端的糖蛋白或糖脂结合。这种作用有助于 A 链进入细胞^[10]。蓖麻毒蛋白 B 链的糖结合位点是一个很浅的口袋, 只和糖分子的一半相互作用。这个口袋的底部由三个氨基酸残基组成。蓖麻毒蛋白 B 链与糖的结合主要通过氢键, 这也决定了对糖构型的专一性。蓖麻毒蛋白 B 链与糖相互作用的基团比较少。这与蓖麻毒蛋白 B 链与半乳糖结合能力低是一致的。

四、RIP 的酶学性质

RIP 使核糖体失活的机理有两种类型:

(1) RNA 水解酶型, 如 α -帚曲霉素(α -sarcin), 属于这种作用机制的 RIP, 仅此一种, 高等植物中尚未发现有 RNase 型 RIP。 α -帚曲霉素的作用机理属于一种专一性 RNase。在 28S rRNA 4800 多个核苷酸中, α -帚曲霉素仅水解 G 4325 与 A 4326 之间的一个磷酸二酯键。(2) RNA N-糖苷酶型, 植物中已发现的 RIP 都具有这种活性。

1. RNA N-糖苷酶

目前从植物中已分离纯化的几十种 RIP 都与蓖麻毒蛋白 A 链一样具有 RNA N-糖苷酶活性, 这里以蓖麻毒蛋白 A 链为例介绍 RNA N-糖苷酶的一些特点。

蓖麻毒蛋白 A 链专一水解大鼠肝核糖体

28S rRNA 的 4324 位 N-C 糖苷键。当以完整的核糖体为底物时, 蓖麻毒蛋白 A 链具有很高的催化效率, $1 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ 浓度的蓖麻毒蛋白 A 链就可以观察到 RNA N-糖苷酶活力。这一活力又是很专一的, 即使浓度提高 3000 倍, 也只有 4324 位腺苷酸的 N-C 糖苷键被切断^[11]。

蓖麻毒蛋白 A 链也可以在同一位点水解自由的 28S rRNA 中 A 434 的 N-C 糖苷键, 但活性很低。与完整核糖体相比, 28S rRNA 为底物时米氏常数变化不大, 但转换数却降低了 10000 倍以上。这说明蓖麻毒蛋白 A 链可以识别 28S rRNA 上的特殊结构, 这一识别过程不需要核糖体蛋白的帮助, 但核糖体蛋白的存在有助于蓖麻毒蛋白 A 链表现酶活力。进一步的研究表明, 蓖麻毒蛋白 A 链的底物不需要完整的 28S rRNA。在核糖体制备过程中, 由于 RNase 的污染会从 28S rRNA 的 3' 端切下一个 553 核苷酸的片段, 它也可作为蓖麻毒蛋白 A 链的底物。大肠杆菌核糖体 23S 和 16S rRNA 中也包含着蓖麻毒蛋白 A 链作用的位点, 但当它们处于完整的核糖体中时, 蓖麻毒蛋白 A 链就不能作用了, 可能是大肠杆菌核糖体蛋白保护了这一位点。

其他来源的 rRNA 也可以被蓖麻毒蛋白 A 链作用。比较这些 rRNA 的序列, 发现在蓖麻毒蛋白 A 链作用位点周围的序列具有很高的同源性, 它们都包含以 GAGA 为中心由 14 个核苷酸组成的茎环结构, 这个结构在核糖体最大的 RNA 中是非常保守的, Endo 将其称为 R/S 结构域。Endo 等^[12]用与 R/S 结构域互补的 DNA 片段为模板, 经 T7 RNA 聚合酶转录出一个互补 RNA 片段, 发现这个片段也可以作为底物, 其中最小的仅由 10 个核苷酸组成。

X 射线衍射和突变实验确定了蓖麻毒蛋白的几个重要活性基团。当非常保守的精氨酸 180 突变为谷氨酰胺时, 活力降低约 2000 倍; 谷氨酸 177 突变为谷氨酰胺, 活力降低约 200 倍。动力学分析发现这些突变主要是影响了

Kcat, 对 Km 影响很小。精氨酸 180 和谷氨酸 177 主要是参与稳定了催化反应的中间态, 而不是参与同底物的结合。综合这些结果, Monzingo 和 Robertus 提出了蓖麻毒蛋白 A 链的作用机制^[13]。底物结合在蓖麻毒蛋白 A 链的凹隙中, 在碱基堆积力作用下腺嘌呤呈“三明治”状夹在酪氨酸 80 和 123 之间。精氨酸 180 使腺嘌呤质子化, 促进 C1'-N9 键断裂, 使核糖形成氧碳键。谷氨酸 177 的羧基可与之形成离子键, 稳定了这一中间态。精氨酸 180 使位于核糖另一侧的水分子极化, 进攻核糖氧碳键, 反应完成。

绝大多数植物 RIP 都具有 RNA N-糖苷酶活性, 即水解大鼠 28 S rRNA 4324 位的 N-C 糖苷键释放一个腺嘌呤。近来发现一些 RIP 在浓度较高时, 从核糖体上脱掉腺嘌呤的数目不止一个。但是这种现象并不普遍, 只有几种 RIP 如肥皂草毒蛋白(saporin)、栝楼种子毒蛋白(trichokirin)和商陆根毒蛋白(PAP-R)有这种活性。肥皂草毒蛋白的这种活性可能没有专一性, 至少可以从每个核糖体上脱去 30 个腺嘌呤碱基。而栝楼种子毒蛋白只可脱去 2 个, 商陆根毒蛋白可脱去 4 个腺嘌呤。

值得注意的是, 肥皂草毒蛋白的底物不只是核糖体 RNA, 其他的 RNA(mRNA、tRNA、病毒 RNA)甚至 DNA 都可作为底物, 而且脱去腺嘌呤的数目也远不止一个^[14]。显然肥皂草毒蛋白对底物序列专一性的要求不是 GAGA, 很可能没有序列专一性要求。这样肥皂草毒蛋白对蛋白质合成的抑制作用就不仅是由于对核糖体的修饰, 也包括对 mRNA 和 tRNA 的作用。它对植物病毒感染的抑制也可能是通过直接作用于病毒 RNA。

2. RIP 对超螺旋环状 DNA 的作用

天花粉蛋白能使超螺旋双链 DNA 解旋并断裂成缺口环状和线状 DNA。低浓度时仅产生缺口环状 DNA, 高浓度时可产生线状 DNA。天花粉蛋白不能作用于线状双链 DNA。在 ATP 存在时, 它不能使松弛的环状双链 DNA

转变为超螺旋型, 但它可使松弛的环状 DNA 断裂为线状 DNA, 这说明天花粉蛋白不是以 DNA 解旋酶的方式起作用的。天花粉蛋白作用于超螺旋 DNA 时不需要 Mg^{2+} , 并且不能作用于线状 DNA 都证明了天花粉蛋白与 DNA 限制性内切酶不同^[16]。

RIP 可能普遍具有这个性质。我们实验室发现蓖麻毒蛋白 A 链、丝瓜毒蛋白和樟树种子中的两种 RIP 以及 α -帚曲霉素也可作用于超螺旋 DNA^[16,17]。另外, Lcc-Huang 报道一种 I 型 RIP(GAP 31)也具有同样的活性^[18]。

RIP 可作用于超螺旋 DNA 可能与 RNA N-糖苷酶活力没有关系。例如蓖麻毒蛋白于 100℃处理 10 分钟后, 完全丧失 RNA N-糖苷酶活力, 但仍然可以作用于超螺旋 DNA。这说明这两个活性存在于 RIP 的不同部位^[16]。GAP 31 的 N 端 40 个氨基酸与果蝇拓扑异构酶 II 的 660—699 位有 48% 相似, 而这些氨基酸位于该酶的解链与重结合区域, 在拓扑异构酶中是很保守的^[18]。

3. 克木毒蛋白的超氧化物歧化酶活性

我们实验室从樟树种子中分离到两种 RIP, 其中一种 I 型 RIP 称为克木毒蛋白(Camphorin)。Ling 等工作已证实它具有 RNA N-糖苷酶活性, 同时可切割超螺旋 DNA^[4,16]。最近我们又发现克木毒蛋白还具有超氧化物歧化酶活性, 其 N 端 26 个氨基酸序列与烟草中的 Mn-SOD N 端有 23 个氨基酸相同^[19]。

克木毒蛋白的这三种酶活性, 其底物和化学反应都完全不同, 这在生物进化上具有重要意义, 为研究酶的结构与功能提供了新材料, 也为探讨 RIP 的生理功能提供了新思路。

五、RIP 研究的前景

近年来, 关于 RIP 的知识积累了很多, 但这是一个重要的问题始终没有满意的答案: RIP 的生理功能是什么? 1986 年 Stirpe 和 Barbieri^[20] 在一篇综述中对 RIP 研究前景进行了预测, 当时文章中提到两个问题有待解决: 一是

RIP作用(于核糖体)的机制,一是在植物体内的生理功能。他们认为这两个问题是密切相关的,一旦弄清了RIP的作用机制就可以揭示RIP的生理功能。实际上问题并不是那么简单,1987年日本学者Endo等^[1]经过细致的实验终于搞清了蓖麻毒蛋白A-链使核糖体失活的机制:RNA N-糖苷酶。以后的研究表明其它植物RIP也具有相同的作用机制,但是RNA N-糖苷酶在植物体内并没有显而易见的功能。尽管提出了一些假说,但是不能令人信服。在此后的近10年中,对RIP在植物体内生理功能的研究并没有大的进展。

摘 要

核糖体失活蛋白是一类在植物中较广泛存在的毒蛋白。植物核糖体失活蛋白具有RNA N-糖苷酶活力,可作用于核糖体RNA,使核糖体失去蛋白质合成的功能。根据一级结构,核糖体失活蛋白可分为两种类型。I型核糖体失活蛋白由一条链组成,分子量在25—30 kDa之间。II型核糖体失活蛋白由两条以二硫键相连的链(A、B链)组成,分子量在60 kDa左右。B链可以与细胞表面含半乳糖的受体结合,有助于A链进入细胞,作用于核糖体。目前至少已从9个科31种植物中分离纯化了I型RIP。II型RIP较少,仅在6科8种植物中发现。除了具有RNA N-糖苷酶活性,还发现一些核糖体失活蛋白可以切割超螺旋双链DNA,产生缺口环状和线状DNA。此外,一种I型RIP,克木毒蛋白还具有超氧化物歧化酶活性。

关键词: 核糖体失活蛋白 蓖麻毒蛋白
RNA N-糖苷酶

参 考 文 献

- [1] Barbieri L. et al., 1993., *Biochim. Biophys. Acta.*, 1154: 237—282.
- [2] de Benito FM. et al. 1995, *FEBS Lett.*, 360: 299—302.
- [3] Girbes T. et al., 1993, *J. Biol. Chem.*, 265: 18195—18199.
- [4] Ling J. et al., 1995, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1252: 15—22.
- [5] Lord JM. et al., 1994, *FASEB J.*, 8: 201—208.
- [6] Walsh TA. et al., 1991, *J. Biol. Chem.*, 266: 23422—23427.
- [7] Munishkin A. and Wool IG., 1995, *J. Biol. Chem.*, 270: 30581—7.
- [8] Zhou K. et al., 1994, *Proteins*, 19: 4—13.
- [9] Rutenber E. and Robertus JD., 1991, *Proteins*, 10: 260—269.
- [10] Olsnes S. and Pihl A., 1982, In: *The Molecular Action of Toxins and Viruses.* (Cohen P. and Van Heynigen S. eds.) New York: Elsevier, 52—105.
- [11] Endo Y. et al., 1987, *J. Biol. Chem.*, 262: 5908—5912.
- [12] Endo Y. et al. 1991, *J. Mol. Biol.*, 221: 193—207.
- [13] Monzingo AF. and Robertus JD., 1992, *J. Mol. Biol.*, 227: 1136—1145.
- [14] Barbieri L. et al. 1994, *Nature*, 372: 624.
- [15] Li MX. et al. 1991, *Nucleic Acids Res.*, 19: 6309—6312.
- [16] Ling J. et al., 1994, *FEBS Lett.*, 345: 143—146.
- [17] Ling J. et al. 1995, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 376: 637—641.
- [18] Lee-Huang S. et al., 1994, *J. Mol. Biol.*, 240: 92—4.
- [19] 刘望夷, 凌俊, 1994, *生命的化学*, 14: 1—2.
- [20] Stirpe F. and Barbieri L., 1986, *FEBS Lett.*, 195: 1—8.

欢迎订阅《实验生物学报》, 邮发代号4—156; 《细胞生物学杂志》邮发代号4—296;
《Cell Research》(详见本期79页)。