

桔梗开花盛期叶子的酯酶与蛋白质研究

中国医学科学院
药用植物研究所(北京 100094) 高文远* 李志亮 肖培根
中国协和医科大学

摘 要 用电泳和分光光度法对桔梗开花盛期不同部位叶子的酯酶与蛋白质进行了研究。结果表明,不同部位叶子的酯酶和蛋白质电泳图谱有所差异。从上部叶子到下部叶子蛋白质含量变化的总趋势是逐渐下降的,中部叶子的蛋白质含量最高。

关键词 桔梗 叶子 酯酶 蛋白质

桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) D C. 为桔梗科多年生草本植物,以根入药,性味苦、辛,微温,有宣肺祛痰,清咽排脓等功效^[1]。除药用外,其根质地鲜嫩,营养价值高,可做菜肴,还可以加工罐头,酿酒等。近来,还用桔梗为原料制成了高级系列化妆品^[2]。随着人民生活水平的提高,对桔梗的需求越来越多,桔梗的栽培生产变得越来越重要。对桔梗开花盛期叶子的酯酶和蛋白质进行研究,可以深入了解其生长发育规律,为生产栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料:实验材料取自本所实验地。桔梗为2年生。在开花盛期取其叶子进行研究,取样部位如图1所示各部位间隔约10cm。

1.2 酯酶的电泳:按文献^[3]的方法进行。

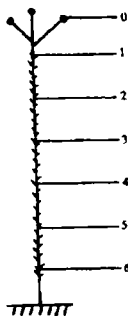


图1 桔梗叶子取样部位示意图
D-花序 1~6-从上至下各部位叶子

1.3 可溶性蛋白质含量的测定:采用考马斯亮蓝 G₂₅₀法。标准曲线采用 0~1000μg/ml 牛血清白蛋白溶液。测定时吸取提取液 0.1ml,放入具塞试管中,加入 5ml 考马斯亮蓝 G₂₅₀试剂,充分混合,2min 后于 751-GW 型分光光度计上 595nm 处比色。在标准曲线上查出并计算蛋白质含量。

蛋白质的提取:准确称取材料 1g,加入 5ml 蒸馏水和少量石英砂,充分研磨后在 0~4℃条件下 8,000r/min 离心 15min,取上清液待测。考马斯亮蓝 G₂₅₀试剂的配制:称取 100mg 考马斯亮蓝 G₂₅₀,溶于 50ml 95%乙醇中,加入 85%(W/V)的磷酸 100ml,最后用蒸馏水定容至 1000ml。

1.4 可溶性蛋白质的电泳:除染色外其它步骤与酯酶电泳相同。电泳结束后,凝胶先在蒸馏水中漂洗一下,然后放在染色液中 37℃条件下染色 3h。染色后放在脱色液中脱色。直到背景清晰时为止。最后用 7%的醋酸固定。脱色液为 20%甲醇和 7%醋酸的水溶液。染色液为脱色液配制的 0.1%考马斯亮蓝 R₂₅₀。

点样溶液的制备:取蛋白质含量测定时提取的部分上清液,按 1:1 加入 10%的甘油和少许溴酚蓝,充分混匀后点样。点样量为 50μl。

2 结果与分析

* Address: Gao Wenyuan, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing

2.1 酯酶同工酶电泳:实验结果如图 2 所示。可以看出,桔梗叶子的酯酶同工酶共由 9 条谱带组成,各谱带的迁移率见表 1。除最顶部的叶子(部位 1)外,其它各部位叶子的酯酶同工酶组成比较稳定,只是酶的活性有差异,表现为谱带颜色的变化。(1)和(9)号谱带只在最顶部叶子中出现,但颜色较浅,这可能与该处的叶子叶龄较小有关。(2)~(4)号谱带基本保持不变。(5)~(8)号谱带颜色有明显变化,在最顶部的叶子中颜色较深,部位 2 外的叶子中颜色浅,中下层的叶子中颜色逐渐加深,表明酶的活性增强。

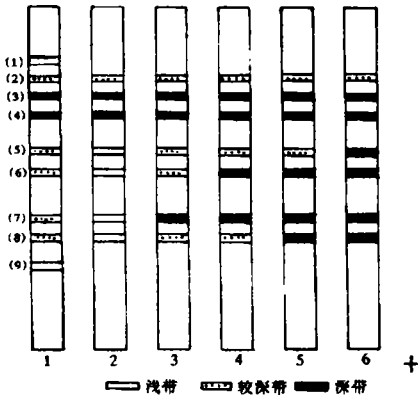


图 2 不同部位叶子酯酶同工酶电泳图谱
1~6-从上到下各部位的叶子
(1)~(9)-同工酶谱带号

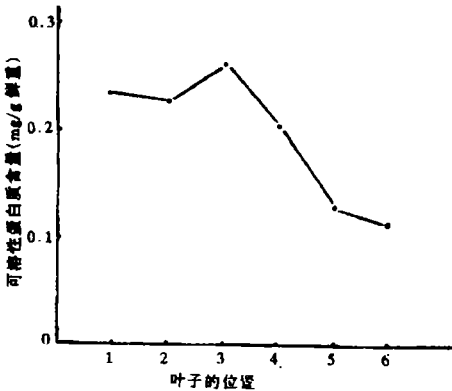


图 3 不同部位叶子中的可溶性蛋白质含量

2.2 可溶性蛋白质的含量:实验结果如图 3 所示。可以看出,中上部叶子的蛋白质含量较高,中部(部位 3)叶子的蛋白质含量最高。部

位 3 以下的叶子中蛋白质含量逐渐下降。蛋白质含量变化的总趋势是由上部叶子到下部叶子逐渐降低。

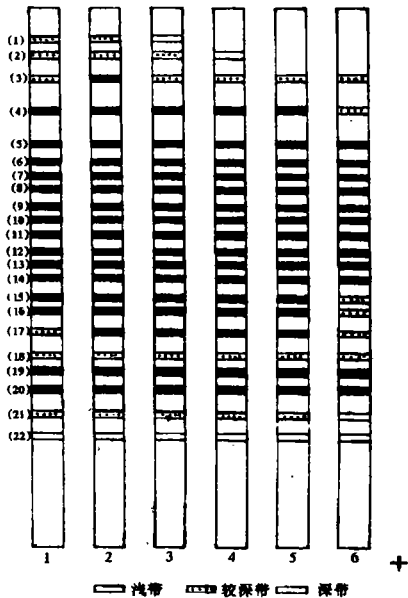


图 4 不同部位叶子中可溶性蛋白质电泳图谱
1~6-从上到下不同部位的叶子
(1)~(22)-可溶性蛋白质谱带号

2.3 可溶性蛋白质的电泳:图 4 显示了不同部位叶子的可溶性蛋白电泳图谱。可以看出,桔梗叶子的可溶性蛋白质共由 22 条谱带组成。各谱带的迁移率见表。迁移率越小,蛋白质分子泳动的距离越短,表明其分子量越大。在 22 条谱带中,分子量较大的(1)、(2)号谱带仅在中上层叶子中出现,在较下层的叶子中消失,说明它们可能贮藏蛋白质。其余的谱带较为稳定,只是个别谱带颜色有所变化。这些谱带可能是一些与光合和呼吸作用有关的功能蛋白,因为各部位的叶子都要进行光合与呼吸作用。最下层的叶子(部位 6)与其它部位的叶子相比,颜色较浅的谱带最多,其次为最上层(部位 1)的叶子,这与它们分别是叶龄最大和最小的叶子有关。谱带颜色较浅,意味着蛋白质含量较低。(3)号谱带在部位 2 的叶子中颜色最深,值得深入研究。

表 酯酶和蛋白质电泳谱带的迁移率

酯酶		可溶性蛋白质			
谱带号	迁移率	谱带号	迁移率	谱带号	迁移率
(1)	0.350	(1)	0.050	(2)	0.535
(2)	0.370	(2)	0.073	(13)	0.555
(3)	0.389	(3)	0.124	(14)	0.570
(4)	0.412	(4)	0.190	(15)	0.610
(5)	0.454	(5)	0.297	(16)	0.635
(6)	0.480	(6)	0.350	(17)	0.665
(7)	0.561	(7)	0.386	(18)	0.700
(8)	0.584	(8)	0.420	(19)	0.720
(9)	0.649	(9)	0.460	(20)	0.735
		(10)	0.472	(21)	0.780
		(11)	0.500	(22)	0.815

3 讨论

3.1 酯酶同工酶在植物体内广泛分布,可能参与若干酶类的修饰、激活或钝化^[4]。酯酶是一类水解酶,能催化分子中的酯键,叶子中的叶绿素酶属于酯酶^[5]。最顶部叶子的酯酶图谱较其它叶子多2系带,表明其中有其它部位的叶子中没有的酯代谢,这与其叶龄较小有关。较下层的叶子中,特别是最下层的叶子中一些酯酶同工酶的条带颜色较深,标志着酶活性的增强,说明酯键的水解增加。这是因为较下层的叶子,特别是最下层的叶子叶龄较长,趋于衰老,要降解其中的一些成分运往其他部位,这些降解活动中包含着酯键的水解,从叶子颜色来看,下层的叶子绿色较浅,表明叶绿素降解,从而需要较高的叶绿素酶活性。

3.2 蛋白质是基因表达的产物,其含量与组

成的变化反映了植物的内在代谢变化。植物体内的可溶性蛋白质大部分为功能蛋白质(酶等),还有一些为贮藏蛋白质^[6]。桔梗的叶子从上到下(1→6),叶龄逐渐增加,蛋白质含量变化的总趋势不断下降,说明贮藏蛋白质不断减少。已有证据表明,植物器官衰老时,要降解自身的物质运往新生部位^[7]。最下层的叶子已进入衰老状态,其蛋白质电泳图谱谱带较少,颜色较浅,表明许多蛋白质开始降解,部位3处的叶子蛋白质含量最高,电泳图谱谱带丰富,表明其功能蛋白和贮藏蛋白比较全面,是光合作用的重要部位。部位1,2处的叶子叶龄小,蛋白质含量高,电泳谱带多,正处于生长发育阶段。部位4,5处的叶子蛋白质含量渐下降,但电泳图谱上功能蛋白质的谱带数量和颜色不减,表明它们仍是光合作用的重要部位。在生产栽培上要注意不要过度密植,以保证中下层(3~5)叶子光合作用的顺利进行。

参考文献

- 1 中国医学科学院药用植物研究所. 中国药用植物栽培学. 北京: 农业出版社, 1980. 675
- 2 王岳峰, 等. 中国野生植物资源, 1995, (2): 61
- 3 高文远, 等. 植物学报, 1994, (增刊): 215
- 4 杨和平, 等. 武汉植物学研究, 1991, 9: 306
- 5 简辉民. 植物生理学. 北京: 北京农业大学出版社, 1994. 21
- 6 Lubert S. 生物化学. 北京: 北京大学出版社, 1990. 8
- 7 娄成后. 北京农业大学学报. 1981, 7(2): 1

(1995-09-27 收稿)

Study on the Esterase and Protein in Leaves of Balloonflower (*Platycodon grandiflorus*) During Blooming Season

Gao Wenyuan, Li Zhiliang and Xiao Peigen

By means of electrophoresis and spectrophotometry, the esterase and protein in different positions of the leaves of *Platycodon grandiflorus* during full blooming season were studied. Results showed that the electrophoresis graphs of esterase and protein in leaves at different positions were different. The general changing trend of the content of protein was decreasing gradually from the upper part of the leaf to its lower part, and the content of protein was highest in the middle part of the leaf.