

- [7] Ganzler K, Salgo A. Microwave extraction— a new method superseding traditional Soxhlet extraction [J]. Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung, 1987, 184(4): 274-276.
- [8] 范志刚,张玉萍,孙 燕,等.微波技术对麻黄中麻黄碱浸出量影响[J].中成药,2000,22(7): 520-521.
- [9] 李学坚,黄海滨.微波浸提技术提取丁香油的研究[J].广西中医药,2000,23(3): 49-50.
- [10] 范志刚,李玉莲,杨莉斌,等.微波技术对槐花中芸香甙浸出量影响的研究[J].解放军药学报,2000,16(1): 36-38.
- [11] 范志刚,麦军利,杨莉斌,等.微波技术对雪莲中黄酮浸出量影响的研究[J].中国民族医药杂志,2000,6(1): 43-44.
- [12] 张永红.影响大黄提取液中蒽醌含量的条件探讨[J].兰州医学院学报,1996,22(2): 27-29.
- [13] 万 丽,刘友平,李明权.肾康注射液蒽醌类成分含量测定[J].时珍国医国药,1999,10(4): 244-245.
- [14] 魏风铃,刘敏超,钟加胜.大黄蒽醌类成分提取工艺优选[J].中国中药杂志,1998,23(10): 609-611.
- [15] 曾昭钧,李香文.微波有机化学进展[J].沈阳药科大学学报,1999,16(4): 304-309.

酸枣仁与缅枣仁的蛋白质分析

李续娥¹,李维凤²,裴渭静^{2*}

(1. 华南师范大学生物技术研究所,广东 广州 510631; 2. 西安交通大学,陕西 西安 710061)

摘要:目的 初步探讨酸枣仁与缅枣仁的蛋白质差异.方法 用凯氏定氮法测定蛋白质的含量;用酸水解法测定蛋白质的氨基酸组成;用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和毛细管区带电泳(CZE)分析蛋白质的组分.结果 酸枣仁与缅枣仁的蛋白质含量分别为36.13%和41.58%;除缅枣仁蛋白质的缬氨酸和蛋氨酸明显高于酸枣仁外,蛋白质的其他氨基酸的组成差别不明显;SDS-PAGE图谱明显不同的是,酸枣仁有相对分子质量为39 800的蛋白质,缅枣仁为50 100的蛋白质;CZE图谱的区别是,酸枣仁为3.1 min的峰,缅枣仁含有一个迁移时间为4.8 min的峰.结论 缅枣仁的蛋白质含量较酸枣仁略高,且缬氨酸和蛋氨酸的含量明显高于酸枣仁.两种枣仁的SDS-PAGE和CZE图谱均有明显的差异存在.

关键词:酸枣仁;缅枣仁;蛋白质;毛细管区带电泳

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)01-0026-03

Analysis of proteins in seed of spine date and seed of Indian jujube

LI Xu-e¹, LI Wei-feng², PEI Wei-jing²

(1. Institute of Biological Technology, South China Normal University, Guangzhou Guangdong 510631, China;

2. Xi'an Jiaotong University, Xi'an Shanxi 710061, China)

Abstract Object To preliminarily study the difference of proteins in the seed of spine date and the seed of Indian jujube. **Methods** Protein contents were measured with Kieldahl method. Amino acids constituting the protein were determined by means of acidolysis. The proteins were analyzed using sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and capillary zone electrophoresis (CZE). **Results** Contents of proteins in the seed of spine date and the seed of Indian jujube were 36.13% and 41.58%, respectively. The content of valine and methionine in the seed of Indian jujube were significantly more than that in the seed of spine date remarkably, and the contents of other amino acids from the seed of spine date and seed of Indian jujube were similar. Their SDS-PAGE spectra showed that the seed of spine date contained a protein with molecular weight 39 800 and the seed of Indian jujube contained a protein with molecular weight 50 100. In CZE spectra for the seed of spine date, there was a peak at the mobile time of 3.1 min and in CZE spectra from the seed of Indian jujube, there was a peak at the mobile time of 4.8 min. **Conclusion** Protein content in the seed of Indian jujube is more than that in the seed of spine date; The content of valine and methionine in the seed of Indian jujube is more than that in the seed of spine date remarkably. The spectra of SDS-PAGE and CZE for the seed of spine date are different from that for the seed of Indian jujube clearly.

Key words the seed of spine date; the seed of Indian jujube; protein; capillary zone electrophoresis (CZE)

收稿日期: 2001-01-02

作者简介:李续娥(1964-),女,陕西人,副教授,博士,先后就读于西安医科大学、西安交通大学,曾工作于天津药物研究院、陕西兴平药检所、西安交通大学化工学院,现在华南师范大学生物技术研究所做博士后研究,研究方向为中药有效成分的研究.
Tel 020-85126353

酸枣仁为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spiosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子。性平,味甘、酸 能补肝、宁心、敛汗、生津^[1]。药理实验表明有镇静、催眠、强心、抗心律失常、降血压、降血脂、改善心血管微循环及抗衰老等作用^[2]。缅枣仁主要为鼠李科植物滇刺枣 *Z. mauritiana* Lam. 作砧木与同属植物滇枣 *In curva* Roxb. 作接穗嫁接后之果实的种子^[3]。多年来,由于酸枣仁供应不足,有用缅枣仁代替酸枣仁使用^[2]。因为种子蛋白质是稳定的遗传表达产物^[4],故本文将分析比较两种枣仁蛋白质的含量、氨基酸组成、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 图谱和毛细管区带电泳 (CZE) 图谱,为考察缅枣仁的药用量、扩大药源提供参考。

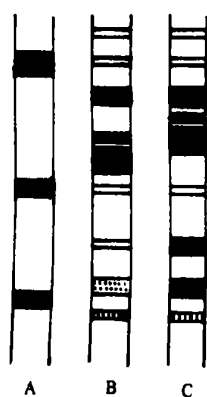
1 仪器和药材

日本 VS-KTP 自动定氮仪, 121MB 氨基酸自

表 1 酸枣仁与缅枣仁蛋白质的氨基酸组成

(g/100g)

氨基酸	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	脯氨酸	甘氨酸	丙氨酸	胱氨酸	缬氨酸
酸枣仁	3.843	1.065	1.395	9.071	3.145	1.769	1.366	0.870	1.814
缅枣仁	3.686	1.012	1.429	10.491	3.536	1.857	1.450	0.973	2.688
缅枣仁/酸枣仁	0.959	0.950	1.024	1.157	1.124	1.050	1.061	1.118	1.482
氨基酸	蛋氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	酪氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	组氨酸	精氨酸	
酸枣仁	0.149	1.072	2.298	0.772	1.127	1.121	0.765	3.336	
缅枣仁	0.217	1.137	2.598	0.780	1.137	1.013	0.870	3.844	
缅枣仁/酸枣仁	1.456	1.061	1.131	1.010	1.009	0.904	1.137	1.152	



2.3 SDS-PAGE 称量已脱脂的粉末状药材适量,按 50 mg 样品加 1 mL 缓冲溶液的比例,加样品缓冲液 (10% 甘油, 0.2% SDS, pH 6.8 0.1 mol/L 的 Tris-HCl) 搅动,水浴加热 5 min,离心,取上清液,进行 SDS-PAGE^[6]。其结果见图 1

2.4 CZE

2.4.1 蛋白质的提取: 取药材粉末,用正己烷脱脂 2 次,风干。按 1 g : 50 mL 的比例加入 50 mmol/L (pH 7.8) 的 KH_2PO_4 -NaOH 缓冲液,搅拌提取 10 h ($4^\circ\text{C} \sim 7^\circ\text{C}$),离心 20 min (7°C , 10 000 r/min),得上清液 (保留) 及残渣。残渣中再加入上述缓冲液适量,搅拌提取 3 h ($4^\circ\text{C} \sim 7^\circ\text{C}$),离心 (条件同前),得残渣 (弃去) 及上清液,合并上清液,在不断搅拌下缓慢加入粉末状硫

动分析仪 (Beckman), 1229 型高效毛细管电泳仪 (北京新技术应用研究所)。酸枣仁 (产地陕西) 为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spiosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子。缅枣仁 (产地缅甸) 为鼠李科植物滇刺枣 *Z. mauritiana* Lam. 作砧木与同属植物滇枣 *In curva* Roxb. 作接穗嫁接后之果实的种子。皆由陕西省药材公司提供,西安医科大学药学院李映莉教授鉴定

2 方法及结果

2.1 蛋白质含量: 采用凯氏定氮法测定两种药材的蛋白质含量^[5]。结果: 酸枣仁的蛋白质含量为 36.13%, 缅枣仁为 41.58%。缅枣仁的蛋白质含量是酸枣仁的 1.15 倍。

2.2 蛋白质的氨基酸组成: 用酸水解法 (6 mol/L 的 HCl, 110°C 水解 22 h) 分析两种枣仁的蛋白质氨基酸组成^[5]。结果见表 1

酸铵至 100% 饱和度,离心 (条件同前),得蛋白质沉淀。将蛋白质转移至透析袋中,用纯水透析 48 h (4°C),其中每隔 4~8 h 换水 1 次。最后进行真空冰冻干燥,即得。

2.4.2 CZE 条件: 毛细管: $50\ \mu\text{m} \times 60\ \text{cm}$ 熔融石英管;缓冲液: 50 mmol/L, pH 8.3 的 KH_2PO_4 -NaOH 溶液;进样: 采用重力法,高差 10 cm,时间 15 s;电压: 18 kV;温度: 19°C ;检测波长: 280 nm;灵敏度: 0.05 A。其结果如图 2

3 小结与讨论

缅枣仁的蛋白质含量比酸枣仁略高。除缅枣仁的缬氨酸和蛋氨酸含量明显高出酸枣仁外,其他氨基酸的含量相差不明显。由图 1 可知: 两种枣仁明显不同的是,酸枣仁有相对分子质量为 39 800 的蛋白质,缅枣仁为 50 100 的蛋白质。图 2 显示: 两种枣仁的 CZE 图谱均含有迁移时间为 2.8, 3.5, 6.1 和 9.1 min 的峰;不同的是缅枣仁的 CZE 图谱中含有一个迁移时间为 4.8 min 的峰,酸枣仁为 3.1 min 的峰。

方子年等^[3]曾对缅枣仁和酸枣仁的原植物组织、薄层层析及药理作用进行了比较研究。结果表明

A 标准蛋白 (从上到下): 牛血清白蛋白 (66.2 ku)、牛碳酸酐酶 (31.0 ku)、鸡蛋清溶菌酶 (14.4 ku)
B 酸枣仁 C 缅枣仁
图 1 两种枣仁的 SDS-PAGE 图谱

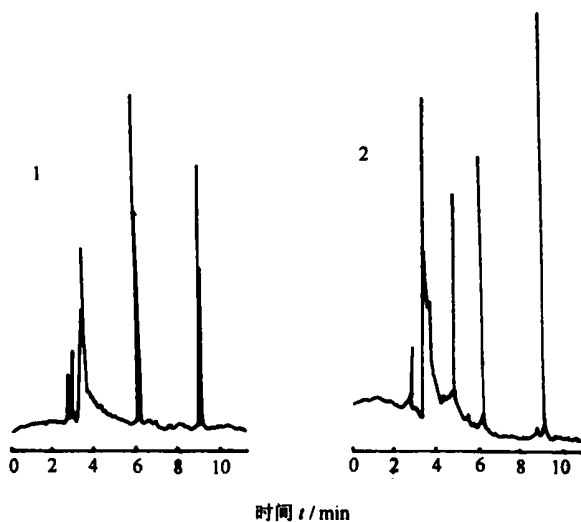


图 2 酸枣仁 (1)和缅枣仁 (2)的 CZE图谱

两者的显微特征基本相同,仅子叶表皮细胞中草酸钙晶体的含量及细胞的大小、多寡有别;薄层层析的斑点

基本一致,只是个别斑点的大小和荧光强度不同;在镇静、催眠方面也有相近的作用。因此,认为缅枣仁可以代替酸枣仁使用。本研究结果表明,缅枣仁与酸枣仁蛋白质的含量、氨基酸组成、SDS-PAGE及CZE图谱,在基本相似的基础上,尚有个别的差异存在。可以预见,两者在药理毒理作用方面,可能存在较多的相似之处和个别的差异,其具体的异同有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典 [S]. 1995年版,一部.
- [2] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用 (第七卷) [M]. 北京:学苑出版社,1997.
- [3] 方子年,郑玲. 缅枣仁与酸枣仁的比较 [J]. 中草药, 1987, 18(4): 29-30.
- [4] 赵文明. 种子蛋白质基因工程 [M]. 西安:陕西科技出版社, 1995.
- [5] 宋治军,纪重光. 现代分析仪器与测试方法 [M]. 西安:西北大学出版社,1994.
- [6] [美] J. 萨姆布鲁克, E. F. 弗里奇, T. 曼尼阿蒂斯. 金冬雁, 黎孟枫译. 分子克隆实验指南 (第二版) [M]. 北京:科学出版社, 1992.

悬浮培养过程中碳、氮、磷的补加对南方红豆杉细胞生长影响的研究

胡萍,元英进,苗志奇*

(天津大学化工学院 天然产物生化工程所,天津 300072)

摘要: 目的 解决南方红豆杉生长缓慢的问题。方法 考察红豆杉细胞悬浮培养过程中磷的消耗,并研究了碳、氮、磷对细胞生长及细胞活性的影响。结果 碳源在悬浮培养中期已经消耗殆尽,后期碳源的缺乏限制了细胞的生长。结论 补加碳源组与对照组相比,细胞生长率和细胞密度明显提高,其中细胞生长率约提高了 83%。

关键词: 南方红豆杉细胞;悬浮培养;生长;碳源

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)01-0028-04

Effects of fed-batch carbohydrate, nitrogen, phosphorus on growth of *Taxus chinensis* var. *mairei* cell during suspension culture

HU Ping, YUAN Ying-jin, MIAO Zhi-qi

(Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract **Object** To solve the problem that *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemee et Lévl.) Cheng et L. K. Fu grows slowly. **Methods** The consumption of phosphorus during the cell suspension culture and the effect of fed-batch carbohydrate, nitrogen and phosphorus on cell growth and living-cell activity were assayed. **Results** The carbohydrate was exhausted in the middle phase of suspension culture, deficiency of carbohydrate led to inhibition of cell growth in the late culture. **Conclusion** Compared with the control group, the cell growth rate and the cell density in the fed-batch carbohydrate group were increased significantly, and the cell growth rate was up to 83%.

Key words *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemee et Lévl.) Cheng et L. K. Fu; suspension culture; growth; carbohydrate