

半夏属植物凝集素的研究进展

赵欢, 彭正松*

西华师范大学生命科学院, 南充 637002

摘要:半夏属植物凝集素是一类能专一性结合甘露糖的糖蛋白, 均含 3 个甘露糖结合位点和 2 个保守的 B-lectin 结合域, 其氨基酸序列相似性较高, 且二级结合和三维结构极为相似, 具有抗虫、抗菌、抗肿瘤和凝血等生物学活性。本文从分离纯化、分子结构、系统进化、基因组织表达、生物学功能等方面对其进行了综述, 以期对半夏属植物凝集素的深入研究及开发利用提供参考依据。

关键词:半夏属植物凝集素; 分离纯化; 分子结构; 系统进化; 基因组织表达; 生物学功能

中图分类号: R931. 71

文献标识码: A

Review on Studies of Agglutinins in *Pinellia*

ZHAO Huan, PENG Zheng-song*

Life Science College of China West Normal University, Sichuan Nanchong, 637002, China

Abstract: *Pinellia* agglutinins are a group of glycoproteins that can specially bind to mannose. This gene family contained two conservative B-lectin domains and three mannose binding sites. The sequence comparison and three-dimensional structures showed *Pinellia* agglutinin genes had high similarity to each other. It has many important biological functions, such as anti-insect, anti-fungi, antineoplastic and haemagglutinins activities. In this paper, we provide an overview on *Pinellia* agglutinins with their purification, molecular structure, phylogenetic evolution, tissue expression and biological function. In addition, this review may ultimately help biologists to exploit *Pinellia* agglutinins in the future.

Key words: *Pinellia* Agglutinin; purification; molecular structure; phylogenetic evolution; tissue expression; biological function

半夏属植物为天南星科南星亚科多年生草本植物, 广泛分布于中国、日本和韩国^[1]。据中国植物志记载, 半夏属含 5 个种, 分别为半夏 (*Pinellia ternata*)、滴水珠 (*Pinellia cordata*)、石蜘蛛 (*Pinellia integrifolia*)、掌叶半夏 (*Pinellia pedatisecta*) 和盾叶半夏 (*Pinellia peltata*)。随着近年来研究的深入, 更多的新种相继被发现, 例如: 大半夏 (*Pinellia polyphylla*)、鹧落坪半夏 (*Pinellia yaoluopingensis*)、三裂叶半夏 (*Pinellia trpartita*)、闽半夏 (*Pinellia fujianensis*) 等^[1,2]。此外, Tae 等报道了韩国新种 *Pinellia koreana*^[3]。

目前, 我国约有 5 种半夏纳入药用范畴, 其中, 半夏是我国常用的大宗药材, 以块茎入药, 具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结等作用^[4]。半夏属植物的化学成分主要有半夏蛋白、生物碱、半夏淀粉、甾

醇类、氨基酸、挥发油、芳香族成分、有机酸类、黄酮类、鞣质以及多种微量元素等^[5], 而凝集素是半夏蛋白的重要组成部分之一。

自 Yao 等于 2003 年首次克隆了三叶半夏凝集素基因以来, 现已成功克隆了掌叶半夏凝集素、滴水珠凝集素等其它基因, 且对其功能进行了一定的研究^[6-9]。本文基于近五年来国内外报道的研究, 从分离纯化、蛋白质结构、系统进化、基因组织表达及生物学功能等方面对半夏属植物凝集素进行综述, 为半夏属植物凝集素在生产实践中应用提供参考依据。

1 半夏属植物凝集素的分离纯化

目前, 主要应用硫酸铵分级沉淀与温差结晶相结合、有机溶剂分离沉淀、琼脂糖分子筛层析、DEAE 离子交换层析、亲和层析、双向电泳等方法从半夏属植株块茎中分离纯化天然的凝集素蛋白。Wu 等分析了半夏块茎蛋白质组并优化其蛋白质提取方法, 实验采用 10% 乙酸初提, 再用 SDS 提取液制备半夏

收稿日期: 2014-01-23

接受日期: 2014-07-17

基金项目: 西南野生动植物资源保护省部共建教育部重点实验室开放基金项目 (XNYB01-4); 西华师范大学科研启动基金项目 (08B021)

* 通讯作者 Tel: 86-08172568353; E-mail: pzs8833@163.com

块茎蛋白粗提液。双向电泳图谱显示,此法可使半夏凝集素蛋白(特别是低丰度蛋白)更有效的分离,极大地提高了蛋白质斑点的丰度和图谱分辨率^[10]。Zhou 等应用甘露糖-琼脂糖 4B 亲和层析高通量纯化半夏块茎的凝集素蛋白,实验采用 PBS 提取液提取半夏块茎总蛋白,加入硫酸铵至饱和度 65%,完全沉淀半夏凝集素蛋白,再用不同浓度的 NaCl 溶液对其进行溶解,甘露糖琼脂糖凝胶 4B 亲和柱分离提纯,最后用 PBS 提取液洗脱。结果表明,用 25% NaCl 溶液进行溶解时,半夏凝集素蛋白的得率最高,约为 35.5 mg/g,且纯度约为 97%^[11]。

原核表达系统具有产量高、易操作、稳定性好、经济实惠等优点,为大量获得重组目的蛋白提供了一条有效的途径。Yao 等首次在获得半夏凝集素 PTA 基因全长 cDNA 的基础上将其克隆至原核表达载体 pET32a 中,构建了融合表达载体 pET32a-PTA,并成功地在大肠杆菌 BL21 中实现表达,获得的融合蛋白与理论值相符^[6]。Lin 等利用 RACE-PCR 技术扩增半夏凝集素基因的 cDNA 全长,将其与原核表达载体 pQE-30 构建了融合表达载体,并在大肠杆菌 M15 中进行原核表达,结果表明,重组的半夏凝集素蛋白与天然的血凝集素蛋白均能使兔红细胞凝集^[12]。此外,研究人员还优化了重组目的蛋白表达的诱导条件。在 37 °C 用终浓度为 0.8-1 mmol · L⁻¹ 的 IPTG 进行诱导 4 ~ 6 h,均可获得外源的表达蛋白,但该诱导条件下获得的融合蛋白均以包涵体形式表达。6 mol/L 盐酸胍和 8 mol/L 尿素均可使以包涵体形式存在的半夏属植物凝集素蛋白

解聚,再采用递减式分步透析法使其复性,且复性后的半夏属植物凝集素蛋白分子大小、亚基结构和生物活性也保持不变。

2 半夏属植物凝集素的结构

2.1 基因序列分析

本实验室的前期工作已克隆了半夏属五个种植物凝集素基因片段,序列分析发现,克隆出的滴水珠、石蜘蛛、盾叶半夏、掌叶半夏和三叶半夏凝集素基因片段的氨基酸序列的长度为 107 ~ 171aa,其编码的肽链均含有酪蛋白激酶 II、磷酸化位点蛋白激酶 C 磷酸化位点和 N-糖基化位点^[9]。笔者进一步对 Genbank 已报道的半夏属植物凝集素基因的序列全长比对发现,半夏属植物凝集素的种间序列相似性较高,但序列长度差异较大,其中三叶半夏凝集素的氨基酸序列长度为 268 ~ 269aa,而掌叶半夏凝集素和滴水珠凝集素的序列长度均为 256-258aa。应用 Compute pI/Mw 软件(http://web.expasy.org/compute_pi/)对半夏属植物凝集素成熟蛋白的分子量及等电点预测发现,成熟蛋白分子量均为 25-27 kDa 之间,且等电点为 6-7 之间。应用 SignalP 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)预测半夏属植物凝集素的信号肽,结果显示,其前体蛋白均含有 1 条长约 23 ~ 24aa 的信号肽序列,且切割位点均在丙氨酸 A 与和缬氨酸 V 之间。应用 WoLF PSORT 软件(<http://wolfsort.org/>)预测半夏属植物凝集素蛋白亚细胞定位,预测结果表明,其可定位于液泡、质膜或被分泌到胞外。(表 1)。

表 1 半夏属植物凝集素基因的氨基酸序列分析表

Table 1 Description of the amino acid residues encoding agglutinins in *Pinellia*

基因 Gene	氨基酸序列号 Amino acid accession number	长度 Length	成熟蛋白质分子量(kDa) Molecular weight of mature protein	等电点(预测) Isoelectric point (prediction)	亚细胞定位(预测) Subcellular location (prediction)
三叶半夏凝集素	AAP20876	269	26.8	6.08	Extracellular (Yao <i>et al.</i> , 2003)
三叶半夏凝集素	AAR27794	269	26.9	6.32	Extracellular (Lin <i>et al.</i> , 2012)
三叶半夏凝集素	AAU29612	268	26.7	6.32	Extracellular (Ling <i>et al.</i> , 2004)
三叶半夏凝集素	AAZ05446	269	26.9	6.07	Extracellular (Wu <i>et al.</i> , 2005)
三叶半夏凝集素	ABX47148	268	26.9	6.64	Extracellular (Ling <i>et al.</i> , 2007)
三叶半夏凝集素	ADD91328	269	26.8	6.64	Extracellular (Lan <i>et al.</i> , 2010)
三叶半夏凝集素	AFY06641	269	26.9	6.64	Extracellular (Lin <i>et al.</i> , 2003)
三叶半夏凝集素	KF154979	269	26.8	6.58	Extracellular (Zhao <i>et al.</i> , 2013)
掌叶半夏凝集素	AAR27793	256	25.4	6.64	Extracellular (Lin <i>et al.</i> , 2006)
掌叶半夏凝集素	ADK56179	258	26.0	7.18	Extracellular (Wu <i>et al.</i> , 2010)

掌叶半夏凝集素	KF154981	258	25.8	7.70	Extracellula (Zhao <i>et al.</i> ,2013)
滴水珠凝集素	ABK88277	256	25.5	6.21	Extracellula (Lin <i>et al.</i> ,2008)
滴水珠凝集素	KF154980	257	25.9	6.43	Extracellula (Zhao <i>et al.</i> ,2013)

半夏属植物凝集素均含 2 个保守的 B-lectin 结构域和 3 个甘露糖结合位点(其中心序列为 QD-NY),其中,靠 N 端的结合域含 1 个甘露糖结合位点,而靠近 C 端的结构域含 2 个甘露糖结合位点,且靠近 N 端结构域的保守性通常高于靠 C 端部分(图 1)。半夏属植物凝集素中第 1 个甘露糖结合位点的氨基酸序列较为保守,仅第二个氨基酸在天冬

酰胺(N)和谷氨酸(E)之间随机摆到,但其无种属间差异。第 2 个结合位点的氨基酸序列完全一致,而第 3 个结合位点保守性最低,不同种间的氨基酸序列具有差异。半夏属植物凝集素蛋白的糖基结合特异性位点主要由甘露糖结合位点提供,故甘露糖结合位点的数目不同,导致了糖基结合能力的差异。

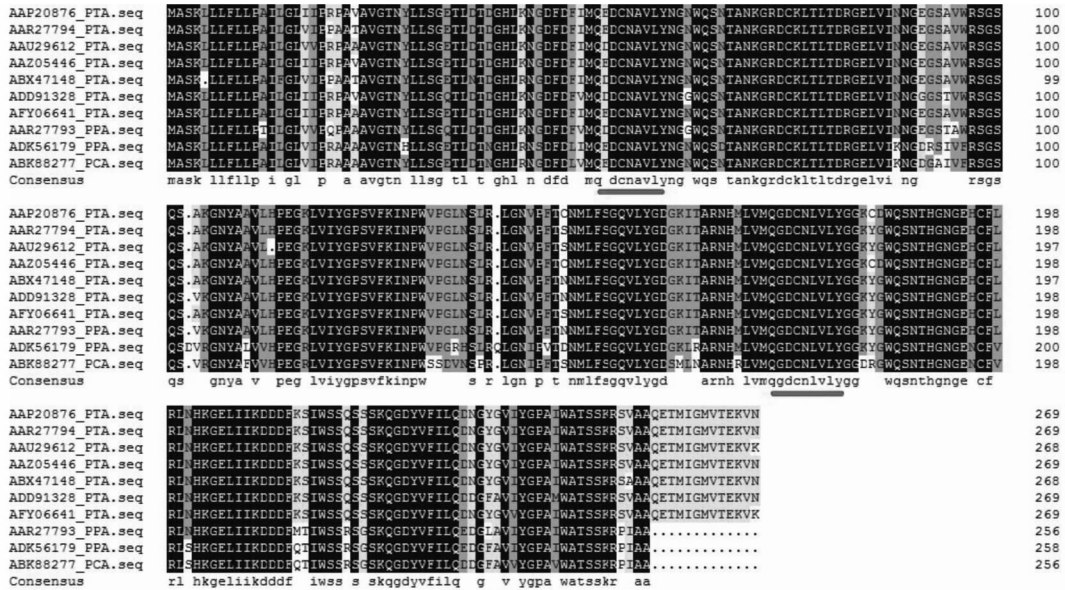


图 1 半夏属植物凝集素基因的序列比对

Fig. 1 Multiple alignments of the amino acid sequence of agglutinin genes from *Pinellia* genus

注:序列相同的氨基酸残基用黑色表示,不同氨基酸残基根据相似性的高低分别用绿色和红色表示;红色横线表示甘露糖结合位点

Note: The identical amino acids among all the aligned sequences are shown on a black background, and the differential amino acids along the aligned sequences are shown on a green and red background, respectively. The three mannose binding sites were underlined.

2.2 半夏属植物凝集素蛋白的二级结构及三维结构

笔者在实验室前期工作的基础上,克隆了半夏、掌叶半夏和滴水珠凝集素序列的全长, GeneBank 登录号为 KF154979-KF154981。应用 SOPMA 软件 (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 对其二级结构进行预测发现,半夏属植物凝集素二级结构的组成上较为相似,其以无规则卷曲为主,还含 β -折叠片层、转角和少量的 α -螺旋。此外,二级结构的分布也极为相似, α -螺旋的分布紧靠 N 端和 C 端, β -折叠片层、转角和无规则卷曲散布于整个蛋白质中,详见图 2。采用

SWISS-MODEL (<http://beta.swissmodel.expasy.org/workspace>) 对其三维结构进行预测发现,半夏属植物凝集素蛋白的三维结构较为相似,均含 21 个 β -折叠片层,且各 β -折叠间由转角和无规则卷曲连接,此结构可提高凝集素结合甘露糖的能力,详见图 3。

2.3 亚基结构

半夏属植物凝集素蛋白是由不同数目和类型的亚基组成的多聚体, Wu 等的研究发现表明,半夏凝集素由两个不同的亚基组成,其中,大亚基分子量为 25 kDa,小亚基为糖蛋白,分子量为 11 kDa。同时,其利用质谱法在半夏块茎中分离得到了九种同工凝集素^[10]。Liu 等的研究表明半夏块茎所含的凝集素

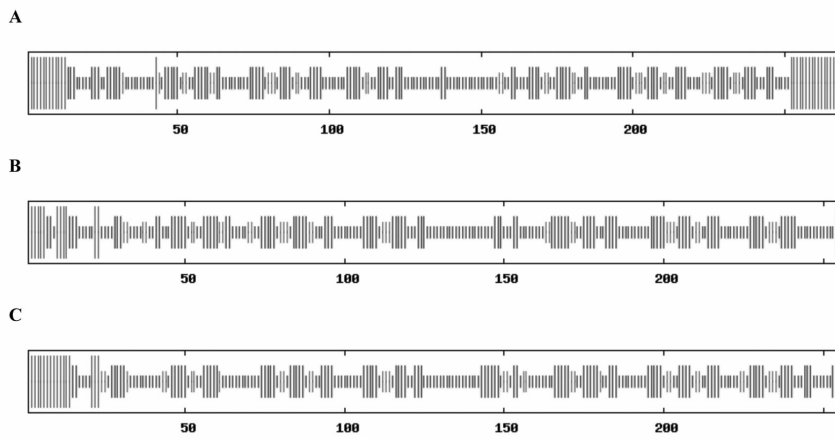


图2 半夏属植物凝集素蛋白二级结构预测,蓝、红、绿、紫色部分表示 α -螺旋、 β -折叠、转角、无规则卷曲。A图三叶半夏凝集素基因二级结构的预测(序列号KF154979,Zhao *et al.*,2013);B图掌叶半夏凝集素基因二级结构的预测(序列号KF154981,Zhao *et al.*,2013);C图滴水珠凝集素基因二级结构的预测(序列号KF154980,Zhao *et al.*,2013)

Fig.2 Predicted secondary structure of agglutinins in *Pinellia*. α -Helix, β -sheet, turn and coil were indicated with blue, red, green and purple vertical lines, respectively. A, B, C showed the Predicted secondary structures of *Pinellia ternate* agglutinin (No. KF154979, Zhao *et al.*, 2013), *Pinellia pedatisecta* agglutinin (No. KF154981, Zhao *et al.*, 2013) and *Pinellia cordata* agglutinin (No. KF154980, Zhao *et al.*, 2013), respectively.

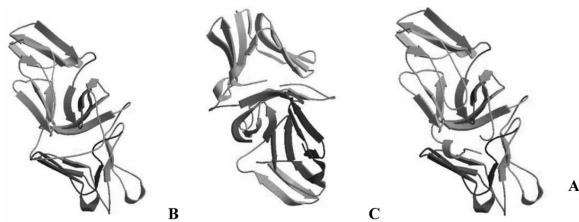


图3 半夏属植物凝集素的三级结构的预测

Fig.3 The 3D structures of *Pinellia* agglutinins

A图图为三叶半夏凝集素(序列号KF154979,Zhao *et al.*,2013)的三级结构预测,B图图为掌叶半夏凝集素(序列号KF154981,Zhao *et al.*,2013)三级结构的预测,C图图为滴水珠凝集素(序列号KF154980,Zhao *et al.*,2013)三级结构的预测。

A, B, C showed 3D structures of *Pinellia ternate* agglutinin (No. KF154979, Zhao *et al.*, 2013), *Pinellia pedatisecta* agglutinin (No. KF154981, Zhao *et al.*, 2013) and *Pinellia cordata* agglutinin (No. KF154980, Zhao *et al.*, 2013), respectively.

是由两两相同的四个亚基组成的异四聚体,不同亚基间的分子量相似但等电点差异较大,而掌叶半夏块茎凝集素则由四个相同的亚基组成的同源四聚体。故推测组成凝集素蛋白四级结构的亚基的不同,可导致两种半夏的药理作用强弱存在差异^[13]。

3 半夏属植物凝集素的系统进化

据进化及结构特点划分,半夏属植物凝集素属于雪花莲凝集素相关的凝集素家族(GNA-related

lectins family),与该组的GNA的分子结构及生物学功能极为相似。据植物凝集素对简单糖的结合特异性特点划分,半夏属植物凝集素基因隶属于单子叶甘露糖结合蛋白凝集素家族^[14-16]。采用MEGA软件对NCBI库中的单子叶甘露糖结合蛋白凝集素家族的氨基酸序列构建系统发育树,结果发现,半夏属内凝集素的氨基酸序列的同源性高于属间。半夏属植物凝集素与天南星科的其他属凝集素,如海芋属海芋凝集素(AMA, No. ABC69036)、魔芋属魔芋凝集素(AKA, No. AY265314)、芋属芋凝集素(CEA, No. CAA53717)、天南星属南星凝集素(AHA, No. AAP50524)、马蹄莲属马蹄莲凝集素(ZAA, No. AY594210)和犁头尖属犁头尖凝集素(TDA, No. ABM68041)的氨基酸序列有较高的同源性。此外,与单子叶家族的葱科的葱属大蒜(ASA, No. ABF70332)和熊葱属(AUA, No. AAC49858)、兰科的君子兰属君子兰凝集素(CMA, No. AAA19910)和火烧兰属火烧兰凝集素(EHA, No. AAA19577)、石蒜科的石蒜属雪花莲凝集素(GNA, No. AAL07478),葱莲属韭莲凝集素(ZCA, No. AAM94381),水仙属水仙凝集素(NTA, No. ACR15122)和孤挺花属朱顶红凝集素(HVA, No. AAP57409)、姜科的姜属姜凝集素(ZOA, No. ACJ66865)、薯蓣科薯蓣属薯蓣凝集素(DPA, No. BAD67184)的氨基酸序列有一定的同源性(图4)。

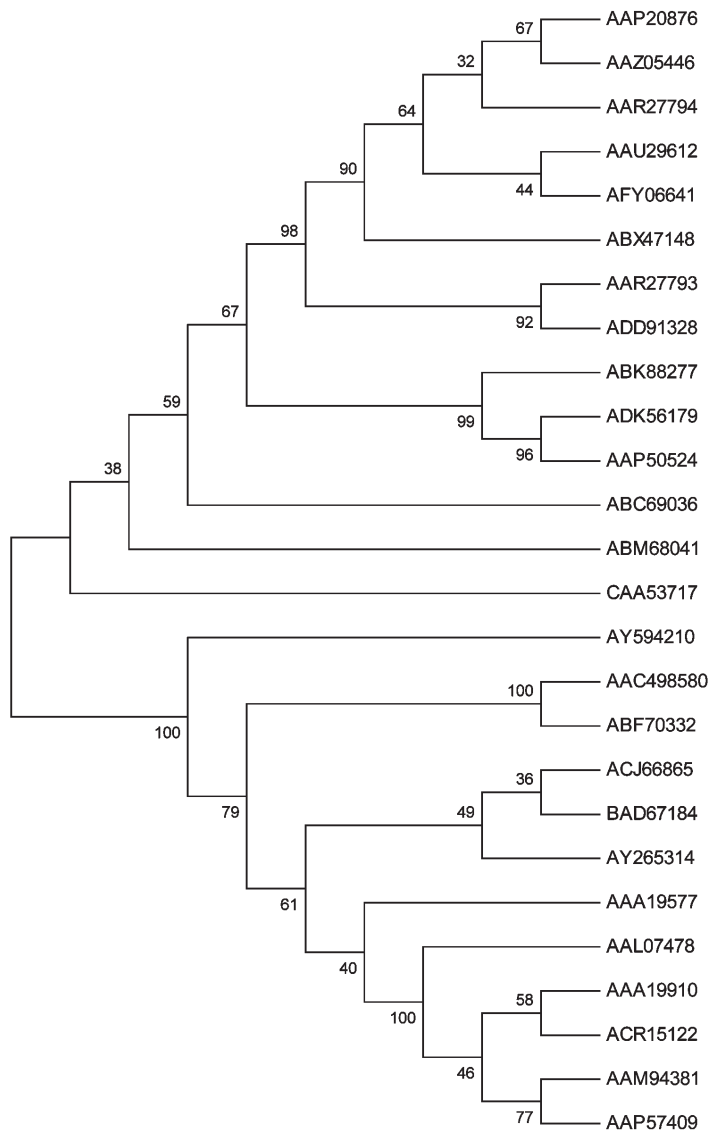


图4 单子叶甘露糖结合凝集素家族的系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of monocot mannose-binding lectins

4 半夏属植物凝集素的组织表达特性

早期的研究发现,植物凝集素为典型的种子蛋白,占种子总蛋白含量的0.1%~5%。随后, Van Damme 等的研究发现在大多数无种子的植物中,凝集素在各个组织器官中均有分布,主要分布于储藏器官中^[14]。Yao 等的研究发现半夏凝集素在块根、叶、茎和花序中均有分布^[6]。Jin 等的研究则进一步发现半夏凝集素在叶绿体中表达^[17]。林玲等采用半定量 PCR 分析了滴水珠凝集素 PCA 基因在各个组织表达量,研究结果表明,PCA 基因为组成性表达,在叶和珠芽组织中表达量最高,茎中表达量较低^[8]。Lin 等克隆了掌叶半夏凝集素的 cDNA 全长

并分析其在各个器官中的表达量,结果表明,掌叶半夏凝集素在各个器官的表达量存在差异,其中在肉穗花序、佛焰苞和块茎中表达量最高,在叶、叶柄和芽中表达量较低,而在根中无分布^[18]。Wu 等研究发现,掌叶半夏凝集素在块茎中含量最高,叶中次之,在茎和肉穗花序均无分布。通过比对两种掌叶半夏凝集素氨基酸序列发现,其氨基酸序列的相似性仅为 85%,原因可能是掌叶半夏凝集素在各组织中分布着不同的同工凝集素^[19]。

5 半夏属植物凝集素的生物学功能

5.1 抗虫作用

植物凝集素的抗病虫作用与糖结合专一性有

关,其抗虫机制主要有三方面:(1)通过结合靶标昆虫中肠上皮细胞表面的糖类化合物,干扰昆虫对营养的吸收;(2)通过结合靶标昆虫的消化酶或转运蛋白中的聚糖结构,影响昆虫对食物的消化功能;(3)通过改变一些与虫体的生理代谢相关基因的表达,从而达到抗虫目的^[20]。半夏属植物凝集素具有专一结合甘露糖的特性,且人类及其他哺乳类动物中甘露糖残基很少,故其很适合作为外源基因来应用于转基因抗虫作物的研究。Zhang 等利用同源重组技术将三叶半夏凝集素转入在水稻定植的内生细菌(*Enterobacter cloacae*),可以降低白背飞虱(*Sogatella furcifera*)的生存率和繁殖率^[21]。Xiao 等将三叶半夏凝集素和苏云金芽孢杆菌 *Cry1Ac* 基因同时导入大青,结果发现,其对飞蛾和蚜虫的抗性增强^[22]。Wu 等的研究发现转入掌叶半夏凝集素的烟草对 *Myzus nicotianae* 具有一定抗性^[19]。目前,半夏属植物凝集素基因已相继成功转化了水稻、玉米、小麦、烟草、百合、苜蓿等,抗虫鉴定表明,相应的转基因植株对刺吸式害虫如褐飞虱、二化螟、麦蚜、桃蚜等均表现出一定抗性。

5.2 抗真菌作用

植物凝集素对真菌的抗生效应可能与它特异结合暴露于真菌细胞壁表面的糖复合物,干扰真菌细胞壁的合成,影响其细胞的正常代谢,并导致真菌细胞壁及菌体结构形态改变有关^[23]。Ling 等分别克隆了 PTA 的两个结合区域并比较了其抗菌性,结果发现,近 C 端的结合域的抗菌性优于近 N 端的结合域,从而推测出甘露糖结合位点的数量的不同,可能导致 PTA 抗菌能力的差异^[24]。

5.3 抗细菌作用

植物凝集素是主要通过与细胞壁糖类或细胞外聚糖的相互作用,从而抑制细菌的生长。Jin 等应用欧文氏菌属软腐病菌 *Erwinia carotovora* 侵染了转三叶半夏凝集素基因的烟草,侵染三天后发现,转基因植株的叶片未出现坏死斑,且叶片中 *E. carotovora* 的生物量降低为野生型植株生物量的 1/10000,结果表明三叶半夏凝集素对 *E. carotovora* 具有一定的抗性^[17]。

5.4 凝血作用

半夏属植物凝集素能凝集兔、鼠、鸡、羊、狗、猫等红细胞,对人、猪、猴、龟、蟾蜍、鳝的红细胞不具凝集作用,且半夏属不同种植物凝集素对同种动物红细胞的凝集活性存在差异。Zuo 等的研究表明,三

叶半夏凝集素使鼠血红细胞的凝集的最小浓度是 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[25]。梁江丽等通过对三叶半夏和掌叶半夏凝集素原核表达及特性的研究发现,掌叶半夏凝集素对兔血红细胞的凝集活性为三叶半夏凝集素的 4 倍,推测可能是凝集素第三个活性位点的两个氨基酸存在差异^[26]。Liu 等分别用水和尿素为溶剂洗脱分离了三叶半夏凝集素和掌叶半夏凝集素,结果发现,水洗脱的所得的三叶半夏凝集素对兔血红细胞的凝血活性高于用尿素洗脱。掌叶半夏凝集素则反之,尿素洗脱所得的掌叶半夏凝集素的凝集活性均高于用水洗脱的凝集活性^[13]。林玲等的研究则发现原核表达滴水珠凝集素蛋白能使兔红细胞凝集的最小浓度是 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$,而天然滴水珠凝集素能使兔红细胞凝集的最小浓度是 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[8]。

5.5 抗肿瘤作用

目前,半夏属植物凝集素蛋白抗肿瘤的机制主要认为有三方面:(1)通过整合到生物膜内并呈现离子通道的活性,从而改变细胞膜的行为使细胞破裂死亡;(2)通过激活特定的信号传导通路,诱导细胞程序性死亡,进而抑制肿瘤细胞增殖和促使癌细胞凋亡;(3)通过募集巨噬细胞引发吞噬作用,从而引起癌细胞凋亡;(4)通过增强淋巴细胞有丝分裂活性和增强机体免疫能力等。Chen 等构建了腺病毒受体与掌叶半夏蛋白的亚基 b (PPAb) 的融合蛋白 sCAR-PPAb 并探讨了其对耐药白血病细胞株 K562/ADR 的作用机制,结果表明,sCAR-PPAb 可靶向并结合 K562/ADR 表面的细胞膜蛋白,通过募集巨噬细胞引发吞噬现象,从而使癌细胞死亡^[27]。Lu 等构建了腺病毒载体将掌叶半夏凝集素分别转染至人的正常细胞和癌细胞,结果表明,其氨基酸序列中的第 103 位的丙氨酸 (V_{103}) 至第 130 位的色氨酸 (W_{130}) 的区域可指导掌叶半夏凝集素转移至细胞核,其可与 MEP50/PRMT5 甲基转移酶复合体相互作用引起细胞毒性,从而诱发癌细胞的死亡^[28]。朱黎等优化了掌叶半夏凝集素的分离纯化方案,并研究了其在体内外对 S180 肿瘤细胞增殖的影响及细胞周期分布的特点,结果发现,在体外掌叶半夏凝集素能抑制 S180 细胞生长,而对 S180 荷瘤小鼠体内的肿瘤细胞杀伤作用弱且无明显的免疫激活作用^[29]。李新等应用融合蛋白技术(eGFP-掌叶半夏凝集素)研究了掌叶半夏凝集素对肿瘤细胞的识别作用,结果发现,融合蛋白可以特异性地识别实体肿瘤细胞表面的甘露糖残基从而结合肿瘤细胞,而不

能识别肝正常细胞 L02^[30]。Zuo 等利用流式细胞术检测了半夏凝集素在小鼠 S180、Hela 细胞和 K562 细胞的细胞周期分布,结果表明,半夏凝集素可抑制细胞周期 G1/S 的进程,使细胞周期停滞在 G0/G1 期,且呈剂量依赖关系,从而抑制小鼠肿瘤细胞的增殖^[25]。

6 展望

随着大量的半夏属植物凝集素基因被报道,其研究重点已由原来的分离纯化、理化性质测定转变到应用现代生命科学技术研究其结构功能上。应用基因工程方法来获取半夏属植物凝集素重组蛋白和构建转基因抗虫作物、通过定点突变技术提高其活性和稳定性、利用结构生物学方法研究其三维结构已成为该蛋白的研究热点。同时,半夏属植物凝集素作为植物源性的蛋白类物质,具有明显的抑制肿瘤细胞增殖和杀伤癌细胞的作用,其对正常细胞的毒害作用和副作用比化疗药物要小很多,故可对其进行合理有效的开发,设计合成抗肿瘤的药物。此外,半夏属植物凝集素蛋白可专一结合甘露糖,故可用荧光蛋白、生物素、酶和铁蛋白等示踪物标记,从显微水平上检测肿瘤细胞分化、增生和转化程度。尽管半夏凝集素基因的研究取得了一定的进展,但尚有问题亟待解决,主要表现在:甘露糖结合位点数目与抗病力之间的关系研究不够深入;对其抗肿瘤和抗病虫害的作用机制研究不够清楚;转基因作物的安全有待进一步证实;半夏属植物凝集素的毒性是否会对正常细胞有杀伤作用,其在杀伤癌细胞的同时是否会引起其它病变等。因此,应加大对半夏属植物凝集素蛋白在抗肿瘤和抗病虫害方面作用机制的研究,以期开发出新型的抗癌药物、植物源农药和选育转基因抗性品种。

参考文献

- 1 Yi TS, *et al.* Chromosome variation in the genus *Pinellia* (Araceae) in China and Japan. *Bot J Linn Soc*, 2005, 147: 449-455.
- 2 Zhu GH, *et al.* A synopsis and a new species of the E Asian genus *Pinellia* (Araceae). *Willdenowia*, 2007, 37.
- 3 Tae KH, Kim JH. *Pinellia koreana* (Araceae), a new species from Korea. *Biodiversity Heritage library*, 2005, 15: 484-486.
- 4 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2005. Vol I, 781.
- 5 Liu YH, *et al.* Use of protocorm-like bodies for studying alkaloid metabolism in *Pinellia ternate*. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2010, 100: 83-89.
- 6 Yao JH, *et al.* Cloning and molecular characterization of a novel lectin gene from *Pinellia ternate*. *Cell Res*, 2003, 13(4): 301-308.
- 7 Lin J, *et al.* Genomic cloning and characterization of a PPA gene encoding a mannose-binding lectin from *Pinellia pedatisecta*. *Biocell*, 2006, 30: 15-25.
- 8 Lin L, *et al.* Molecular cloning and characterization of a mannose-binding lectin gene from *Pinellia cordata*. *Mol Biol Rep*, 2008, 35: 641-647.
- 9 Zhao J (赵静), *et al.* Cloning and analysis of partial sequence of the lectin gene in *Pinellia*. *J China West Normal Univ* (西华师范大学学报, 自科版), 2011, 32: 7-11
- 10 Wu XL, *et al.* Sequential extraction results in improved proteome profiling of medicinal plant *Pinellia ternata* Tubers, which contain large amounts of high-abundance proteins. *Plos One*, 2012, 7: e50497
- 11 Zhou W, *et al.* Purification of a mannose-binding lectin *Pinellia ternate* agglutinin and its induction of apoptosis in Bel-7404 cells. *Protein Expres Purif*, 2014, 93: 11-17.
- 12 Lin J, *et al.* Expression and purification of a novel mannose-binding lectin from *Pinellia ternate*. *Mol Microbiol*, 2003, 25: 215-221.
- 13 Liu XC, *et al.* Disclosure of the tuberous lectin composed of homogeneous tetramers in *Pinellia pedatisecta* Schott. *Appl Biochem Biotechnol*, 2010, 162: 1214-1223.
- 14 Van Damme EJM. In: *Induced Plant Resistance to Herbivory*. Schaller A, editor. Netherlands: Springer, 2008. 285-307.
- 15 Van Damme EJM, *et al.* Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Crit Rev Plant Sci*, 1998, 17: 575-692.
- 16 Jiang SY, *et al.* Evolutionary history and stress regulation of the lectin superfamily in higher plants. *BMC Evol Biol*, 2010, 10: 79.
- 17 Jin SX, *et al.* H. *Pinellia ternata* agglutinin expression in chloroplasts confers broad spectrum resistance against aphid, whitefly, *Lepidopteran* insects, bacterial and viral pathogens. *Plant Biotechnol J*, 2012, 10: 313-327.
- 18 Lin J, *et al.* cDNA cloning and expression analysis of a mannose-binding lectin from *Pinellia pedatisecta*. *J Biosci*, 2007, 32: 241-249.