

面包树果实凝集素的提取纯化及理化性质分析

张晓青^{1,2}, 施青^{1,2}, 杨愈丰^{1,2*}

¹遵义医科大学珠海校区; ²珠海市中药基础与应用研究重点实验室, 珠海 519040

摘要:建立面包树果实凝集素(frutalin, FTL)的提取纯化方案,并对FTL纯品进行部分理化性质分析。本试验以新鲜的面包树果实籽为材料,经Tris-HCl缓冲液浸提、过滤、硫酸铵沉淀和阳离子交换层析后超滤浓缩得FTL纯品,最后用纯品开展了糖抑制,热稳定性,pH稳定性和金属离子耐受性等试验。提取优化得到的最佳条件为:料液比1:2(g:mL),浸提时间2h,浸提温度50℃,硫酸铵饱和度70%,沉淀时间4h。经阳离子交换层析后FTL回收率为22%。研究表明,FTL是一种热稳定性凝集素,在温度不超过60℃时,其凝血活性不受影响,并且不依赖于金属离子来发挥其凝血活性。本研究建立了一个简单高效的FTL分离纯化方案,并对FTL纯品做了部分理化性质研究,为FTL可能的生物医学应用提供研究基础。

关键词:面包树果实;凝集素;分离纯化;凝血活性;理化性质

中图分类号:R284.2;R961

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)2-0332-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.2.024

Extraction, purification and physicochemical analysis of lectin from bread tree fruit

ZHANG Xiao-qing^{1,2}, SHI Qing^{1,2}, YANG Yu-feng^{1,2*}

¹Zhuhai campus of Zunyi Medical University;

²Zhuhai Key Laboratory of Fundamental and Applied Research, Guangdong, Zhuhai 519040, China

Abstract:To establish the extraction and purification process of frutalin from *Artocarpus incisa* (breadfruit) seeds, and then analyze the physicochemical properties of the purified frutalin. In this experiment, *Artocarpus incisa* (breadfruit) seeds were used as materials. The crude frutalin was extracted from fresh breadfruit seeds with Tris-HCl buffer and precipitated with ammonium sulfate, which was further purified with cation exchange chromatography and ultrafiltration. After purified frutalin obtained, several physicochemical properties, including sugar inhibition, thermostability, pH stability and metal ion tolerance, were tested. The optimal extraction condition of frutalin was obtained as follows: the ratio of material to liquid was 1:2 (g: mL), the extraction time was 2 h, the extraction temperature was 50 °C, the saturation of ammonium sulfate was 70% and the precipitation time is 4 h. The yield of purified frutalin was 22%. The results show that FTL is a kind of thermostable lectin, and its haemagglutinating activity will not damage when the temperature keep no high than 60 °C, and the haemagglutinating activity does not effected by common metal ions. In a word, a simple and effective separation and purification protocol of frutalin has been set up, followed with a series of physicochemical properties analysis with the purified frutalin. All mentioned above results may pave the way for the biomedical application of frutalin.

Key words: breadfruit; lectin; isolation and purification; haemagglutinating activity; physicochemical properties

凝集素是一类能通过特异地结合碳水化合物而可逆地识别或附着于细胞表面的非酶蛋白质^[1],广

泛存在于动物、植物和微生物等多个物种。植物凝集素主要分布在植物的储藏器官和繁殖器官^[2],可用于检测机体癌变过程中细胞表面糖基的变化^[3,4],从而协助肿瘤的诊断和治疗^[5]。另外,植物凝集素还可以用于阻碍病毒的再次感染^[6,7],或者作为抗生素的有效辅助剂^[8]。目前,凝集素已经是细胞生物学、免疫学乃至临床医学的重要检测或诊

收稿日期:2018-07-11 收稿日期:2018-12-18

基金项目:国家自然科学基金(31560244);贵州省科技合作计划(黔科合LH字[2015]7547);遵义市“15851人才精英工程”科研项目;珠海市重要基础与应用研究重点实验室开放课题(ZYKL-2016K2)

*通信作者 Tel:86-756-7637538;E-mail:yfyang@zmc.edu.cn

断工具。

FTL 是一种能够特异性结合 α -D-半乳糖的糖蛋白^[9],主要来源于面包树果实籽,可以通过分离纯化获得^[10]。FTL 是一个四聚体分子,每个单体包含一个 α 链和一个 β 链,主要由 β 折叠构成形成四个糖结合位点,属于 Jacalin 家族^[11,12],分子量大小为 17.1 KD。研究表明,FTL 可以用于肿瘤标志物的检测,如前列腺癌的诊断等^[11]。另外,FTL 还具有诱导宫颈癌细胞凋亡和抑制癌细胞增殖等作用^[13],提示其可能存在潜在的抗癌作用。

关于 FTL 的分离纯化,国外已有相关报道,主要通过浸提、沉淀和亲和层析得到纯品^[10]。但该方法并没有详细的优化,且生产周期较长,成本较高,并不是特别适合工业化生产。另一方面,学术界对包括 FTL 在内的多种凝集素均有重组表达的尝试,尽管已有多种优化方案,但产量均极低(约 20 mg/L),显然难以满足工业化的要求^[14]。在重组表达产量未有质的突破,而 FTL 应用前景又十分广阔的当下,重新优化提取纯化的方案仍然很有必要。因此,本论文根据 FTL 自身的特点,采用在较高温度条件下浸提和硫酸铵沉淀的方法快速得到 FTL 粗提物,并通过阳离子交换层析进一步纯化得到 FTL 纯品。本论文通过对各个提取条件的优化,建立了一个优化的 FTL 分离纯化方案。该方案能明显缩短 FTL 的提取时间,提高 FTL 分离纯化效率,总体上降低 FTL 的生产成本。最后本论文还对所提 FTL 的部分理化性质进行了研究,为后续对 FTL 的深入研究奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

面包树果实采摘自珠海市三灶镇金湾区安和生化科技有限公司珠海安和园;健康小鼠购自广东省医学实验动物中心;V 型 96 孔板购自广州市浩特伟生物制品有限公司;XK1620 层析柱和阳离子交换层析填料均为 GE 产品;BCA 蛋白定量试剂盒购自宝日医生物技术(北京)有限公司;其它试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

Multifuge XIR 型台式高速冷冻离心机:美国 Thermo Scientific 公司;匀浆机:广东小熊电器有限公司;恒温水浴锅:汕头市医用设备有限公司;pH 计:上海仪电科学仪器有限公司;AKTA 纯化仪:通用电气医疗;电泳仪:北京君意东方电泳设备有限公

司;Multiskon Go 酶标仪:美国 Thermo Scientific。

1.3 实验方法

1.3.1 FTL 粗品的制备

称取新鲜的面包树果实籽 50 g,加入 100 mL 的 Tris-HCl 缓冲液(含 0.02 mol/L Tris,0.2 mol/L NaCl,pH = 7.2),经匀浆机打匀成浆,于 50 °C 的条件下浸提 2 h,用 4 层纱布过滤。滤液于 4 °C、5 000 rpm 条件下离心 20 min,取上清液。在上清液中加入固体硫酸铵至饱和度为 20%,静置 2 h,4 °C、5 000 rpm 条件下离心 20 min,取上清液。上清液中继续加入固体硫酸铵至饱和度为 80%,静置 2 h,4 °C、5 000 rpm 条件下离心 20 min,弃上清液,沉淀用 4 mL Tris-HCl 缓冲液(0.02 mol/L Tris,0.2 mol/L NaCl,pH = 7.2)重悬,得 FTL 粗品。

1.3.2 凝血试验

1.3.2.1 2% 小鼠红细胞悬液的制备:参照文献^[15],用浓度为 5% 的水合氯醛对小鼠进行麻醉,眼眶采血约 2 mL,置于含有 50 μ L 肝素钠的 10 mL 离心管中,经 4 °C、2 000 rpm,离心 10 min,弃上清液,再加入 5 mL 左右的 TBS 缓冲液(含 0.02 mol/L Tris-HCl,0.15 mol/L NaCl,pH = 7.4),轻摇混匀,4 °C、1 500 rpm 离心 5 min,弃上清液,如此重复 3 ~ 4 次,直至上清液无色为止。最后按红细胞挤压体积加入相应量的 TBS-Ca²⁺ 溶液(含 0.02 mol/L Tris-HCl,0.15 mol/L NaCl,0.1 mol/L CaCl₂,pH = 7.4)配置成 2% 的红细胞悬液。

1.3.2.2 红细胞凝集试验:FTL 的红细胞凝集试验采用血凝法^[16],首先在 V 型 96 孔板的每一孔中加入 25 μ L 的 TBS-Ca²⁺ 溶液,然后在各行的首孔中加入 25 μ L 的 FTL,混匀后,从首孔中吸出 25 μ L 于第二孔中,再混匀后,吸出 25 μ L 于第三孔中,依此类推做倍比稀释,到最后一孔时,混匀后,吸去 25 μ L。最后,每孔加入 25 μ L 的 2% 小鼠红细胞悬液轻吹混匀。室温放置 60 min 后,观察凝集现象。无凝集反应时,红细胞在 V 型 96 孔板底部沉积为一光滑的小圆点;发生凝集反应时,红细胞聚集成絮状物。当出现凝集现象时的最大稀释倍数的倒数定义为一个活力单位^[10],用稀释倍数(2ⁿ)表示凝集效价^[17]。

1.3.3 FTL 粗品提取条件的优化

按照 1.3.1 中的步骤,对 FTL 粗品依次进行硫酸铵饱和度、浸提液体积、硫酸铵沉淀时间、浸提时间和浸提温度优化。以上每个优化试验均重复 4 次,取凝集效价值最小的试验结果作为最终结果。

1.3.4 FTL 粗品的纯化

取 30 mL 的 FTL 粗品于截留分子量为 7 KD 的透析袋中,4 °C 条件下透析 24 h。透析后的 FTL 样品用 20 倍体积的层析缓冲液 I (20 mmol/L NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 , pH6.5) 稀释,4 °C、13 000 rpm 离心 30 min,取上清液上平衡好的阳离子交换层析柱,流速为 5 mL/min,上样结束后用层析缓冲液 I 冲洗至基线平衡。最后使用层析缓冲液 II (20 mmol/L NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 , 500 mmol/L NaCl, pH6.5) 进行连续梯度洗脱,洗脱时间为 30 min,流速 10 mL/min,收集每个洗脱峰,并将收集的洗脱峰分别进行凝血试验。活性组分用截留分子量为 10 KD 的超滤浓缩管浓缩备用。

1.3.5 FTL 纯品的纯度检测

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法进行 FTL 的纯度检测^[18],分离胶浓度为 15%,浓缩胶浓度为 5%。

1.3.6 FTL 纯品的蛋白定量

蛋白质含量的测定采用 BCA 法^[19],以牛血清白蛋白浓度为标准,在 562 nm 波长处测定蛋白质含量。

1.3.7 FTL 纯品的理化性质研究

1.3.7.1 糖抑制试验:参照文献^[15],分别配制浓度为 0.2 mol/L 的 D-甘露糖、半乳糖、木糖、D-果糖、蔗糖、D-葡萄糖和麦芽糖溶液,然后将 FTL 纯品和各种糖溶液按照 1:1 的比例混合后,静置 1 h。首先在 V 型 96 孔板各孔中加入 25 μL 的 TBS- Ca^{2+} 溶液,然后在各行的首孔中分别加入用各种糖处理后的 FTL 纯品并做倍比稀释,最后一孔吸去 25 μL 。每孔加入 25 μL 2% 的小鼠红细胞悬液,轻吹混匀。以 TBS- Ca^{2+} 溶液作对照。室温静置 30 min 后观察并记录实验结果。

1.3.7.2 热稳定性试验:参照文献^[15],取 FTL 纯品于 5 个 EP 管中,每管 50 μL ,标记后分别置于 50-90 °C 条件下水浴 3 h。对不同温度处理的 FTL 纯品做凝血试验,观察并记录实验结果。

1.3.7.3 pH 稳定性试验:参照文献^[15],配制不同的缓冲体系:0.1 mol/L 的乙酸-乙酸钠缓冲液 (pH: 2.6 ~ 5.6); 0.1 mol/L 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 (pH6.6); 0.1 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液 (pH7.6); 0.1 mol/L 甘氨酸-氢氧化钠缓冲液 (pH: 8.6 ~ 10.6)。按照上述糖抑制试验方法,将不同的糖溶液换成不同的 pH 值缓冲液做凝血试验,观察并记录试验结果。

1.3.7.4 金属离子稳定性试验:参照文献^[15],分别

配制浓度为 0.2 mol/L 的 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Ni^+ 、 Mn^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 溶液。按照上述糖抑制试验方法,将不同的糖溶液换成不同的金属离子缓冲液做凝血试验,观察并记录试验结果。以上每个试验均重复 4 次,取凝集效价值最小的试验结果作为最终结果。

2 结果与分析

2.1 FTL 粗提条件的优化

当硫酸铵饱和度为 60% 时,第 6 孔底部开始产生沉淀(形成小圆点),当硫酸铵饱和度为 70% ~ 100% 时,都是第 7 孔底部开始产生沉淀,由此可见硫酸铵饱和度 70% 以后 FTL 沉淀已经充分,无法再通过提高硫酸铵饱和度来提高产率,确定第二次硫酸铵饱和度为 70% (图 1)。

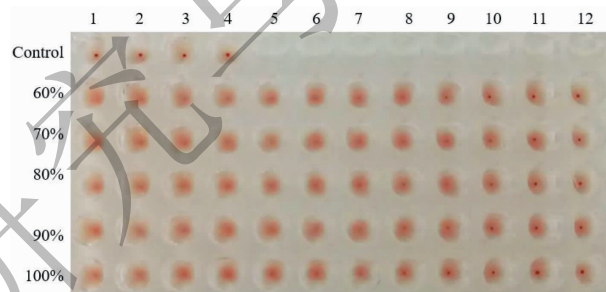


图 1 第二次硫酸铵沉淀

Fig. 1 The second ammonium Sulfate saturation

注:为简化描述,所有凝血试验结果经记录后整理成表 1。

Note:For describe the result tersely,all haemagglutinating activity result was counted and tabulated as table 1.

基于传统的沉淀模式,我们在确定第二次硫酸铵沉淀的饱和度后,希望通过确定第一次硫酸铵沉淀的饱和度去掉部分杂蛋白。结果显示当硫酸铵饱和度达到 10% 时,便有 FTL 沉淀出,沉淀物的 SDS-PAGE 电泳结果显示有明确的 FTL 条带,且杂蛋白量很少(数据没有提供),提示该步骤能去除的杂蛋白量并不多。因此,为了兼顾回收率和提取效率,最终确定不进行两步硫酸铵沉淀,而是直接用 70% 的硫酸铵一步沉淀得到 FTL 粗品。料液比试验结果显示比例为 1:2 时提取效率最佳。当硫酸铵沉淀时间达到 4 h 时,FTL 已沉淀充分。当浸提时间为 2 h 时,FTL 已得到充分浸提。随着浸提温度升高,所得 FTL 的凝集效价先高后低。当浸提温度为 50 ~ 60 °C 时,FTL 的凝集效价最大。因此,最终的浸提温度确定为 50 °C。浸提温度的升高在一定的范围内可以有效地缩短浸提时间,提高浸提效率。同时

还可能导致部分热稳定性差的杂蛋白变性析出,简化后续的分离纯化过程。

表 1 FTL 的提取优化

Table 1 Optimization of the extraction of FTL

因素 Factor	凝集效价 Agglutination titer (水平 Level)				
第二个硫酸铵饱和度 The second ammonium Sulfate saturation (%)	2 ⁶ (60)	2 ⁷ (70)	2 ⁷ (80)	2 ⁷ (90)	2 ⁷ (100)
第一个硫酸铵饱和度 The first ammonium Sulfate saturation (%)	2 ¹ (10)	2 ² (20)	2 ³ (30)	2 ⁴ (40)	2 ⁵ (50)
料液比 Ratio of material to liquid (W/V)	2 ⁵ (1:1)	2 ⁷ (1:2)	2 ⁶ (1:3)	2 ⁵ (1:4)	2 ⁵ (1:5)
硫酸铵沉淀时间 Precipitation time (h)	2 ⁶ (2)	2 ⁷ (4)	2 ⁷ (6)	2 ⁷ (8)	--
浸提时间 Extraction time (h)	2 ⁵ (1)	2 ⁶ (2)	2 ⁶ (3)	2 ⁵ (4)	--
浸提温度 Extraction temperature (°C)	2 ⁵ (40)	2 ⁷ (50)	2 ⁷ (60)	2 ⁵ (70)	2 ³ (80)

注:硫酸铵饱和度优化每间隔 10% 设置一个梯度,第二个硫酸铵饱和度优化范围为 60% ~ 100%,第一个硫酸铵饱和度优化范围为 10% ~ 50%;浸提液体积优化的料液比梯度范围是 1:1 ~ 1:5 (g/mL);硫酸铵沉淀时间优化的梯度范围是 2 ~ 8 h,每间隔 2 个小时设置一个梯度;浸提时间优化的梯度范围是 1 ~ 4 h,每间隔 1 个小时设置一个梯度;浸提温度优化的梯度范围是 40 ~ 80 °C,每间隔 10 °C 设置一个梯度。

Note: The second ammonium sulfate saturation ranges from 60% to 100%, while the first one ranges from 10% to 50%, of which the concentration gradient of 10% was set. The ratio of material to liquid ranges from 1:1 to 1:5 (g/mL). The precipitation time of ammonium sulfate ranges from 2 to 8 h with two hours of interval. The extraction time ranges from 1 to 4 h with one hour of interval. The extraction temperature ranges from 40 °C to 80 °C with 10 °C of interval.

2.2 FTL 的阳离子交换层析

度为 117.5 mg/mL。

FTL 在所设条件下与阳离子交换层析填料结合力不是很强,当 NaCl 浓度为 0.15 mol/L 时,有一个很明显的洗脱峰,洗脱峰组分经 SDS-PAGE 和凝血试验检测确定为目的蛋白,洗脱液做超滤浓缩得 FTL 纯品。

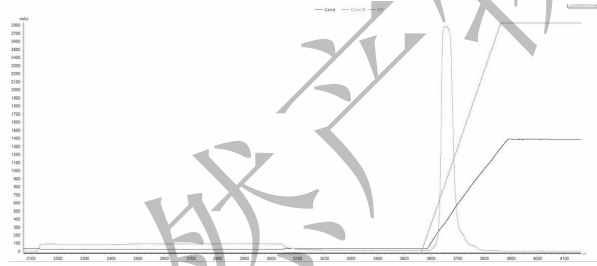


图 2 FTL 粗品的阳离子交换层析

Fig. 2 Cation exchange chromatography of crude FTL

2.3 FTL 纯品的 SDS-PAGE 电泳

FTL 有两个条带,分子量分别约为 15.5、12.0 kD(图 2),可能为糖基化程度不同的两条 α 链,大小与相关文献报道一致^[10,14]。另外在 27 KD 和 20 KD 附近有三微弱的条带,可能是样品浓度过高产生的二聚体,总体上看 FTL 的纯度比较高。

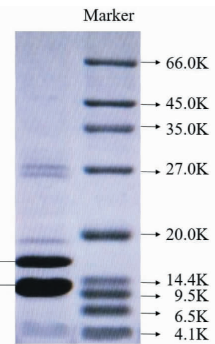


图 3 FTL 的 SDS-PAGE 电泳

Fig. 3 SDS-PAGE of FTL

注:泳道 1:FTL 纯品;泳道 2:蛋白 Marker。

Note: Lane 1, purified FTL; Lane 2, protein Marker.

2.4 FTL 纯品的蛋白定量

2.4.1 蛋白浓度标准曲线图

根据蛋白质含量标准曲线测得 FTL 纯品的浓

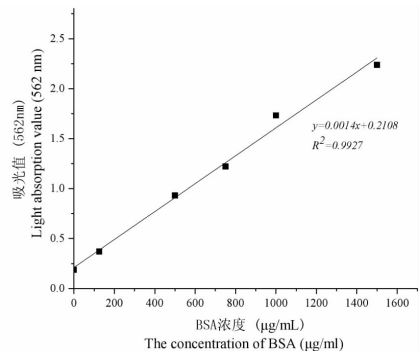


图 4 蛋白浓度标准曲线

Fig. 4 Standard curve of protein concentration

2.4.2 FTL 分离纯化过程分析

FTL 粗品的总蛋白量为 843.3 mg, 比活力为 4 128.5 U/mg, 是 Tris-HCl 浸提液的比活力的 1.5 倍,

蛋白回收率为 46%。经过阳离子交换层析后, FTL 纯品的比活力达到 6 201.3 U · mg⁻¹, 纯化倍数为 2.2, 蛋白回收率达到 22% (表 2)。

表 2 FTL 分离纯化过程

Table 2 Isolation and purification of FTL

步骤 Steps	总蛋白量 Total protein (mg)	总活力 Total activity (U)	比活力 Specific activity (U · mg ⁻¹)	纯化倍数 Purification fold	回收率 Recovery (%)
浸提 Extraction	2 697.4	7 424 000	2 752.2	1.0	100
粗提物 Crude FTL	843.3	3 481 600	4 128.5	1.5	46
离子交换层析 Cation exchange chromatography	264.2	1 638 400	6 201.3	2.2	22

2.5 FTL 纯品的理化性质研究

试验中所用的糖对 FTL 的凝血活性几乎无影响, 提示 FTL 不会被试验中所用的糖所抑制; 当温度为 50 °C 时, FTL 的凝集效价最大, 随着温度的升高, FTL 的凝集效价逐渐降低, 表明 FTL 是一种热稳定性较好的凝集素。60 °C 以下时, 其凝集效价保持

稳定。金属离子稳定性试验结果显示 FTL 对试验中所用的金属离子均不敏感, 说明 FTL 并不依赖于金属离子来发挥其凝血活性。FTL 在 pH 值为 2.6 到 10.6 的环境下处理 1 h, 其凝集效价依然与未处理时相同, 表明 FTL 对酸碱的耐受性较高, 对化学变性剂有较强的抵抗力 (表 3)。

表 3 FTL 纯品的理化性质研究

Table 3 Physical and chemical properties of purified FTL

试验 Test	凝集效价 Agglutination titer(条件 conditions)									
糖抑制 Sugar inhibition	2 ⁸ (CK)	2 ⁸ (D-mannose)	2 ⁸ (D-glucose)	2 ⁸ (Xylose)	2 ⁸ (D-fructose)	2 ⁸ (Sucrose)	2 ⁸ (Galactose)	2 ⁸ (Maltose)	--	--
热稳定性 Thermostability(°C)	2 ¹¹ (CK)	2 ¹¹ (50)	2 ⁹ (60)	2 ⁸ (70)	2 ³ (80)	2 ¹ (90)	--	--	--	--
金属离子耐受性 Metal ion tolerance	2 ⁶ (CK)	2 ⁷ (K ⁺)	2 ⁶ (Ca ²⁺)	2 ⁶ (Fe ³⁺)	2 ⁶ (Mg ²⁺)	2 ⁷ (Ni ⁺)	2 ⁶ (Mn ²⁺)	2 ⁶ (Ba ²⁺)	2 ⁷ (Zn ²⁺)	2 ⁷ (Al ³⁺)
pH 稳定性 pH stability	2 ¹⁰ (CK)	2 ¹⁰ (2.6)	2 ¹⁰ (3.6)	2 ¹⁰ (4.6)	2 ¹⁰ (5.6)	2 ¹⁰ (6.6)	2 ¹⁰ (7.6)	2 ¹⁰ (8.6)	2 ¹⁰ (9.6)	2 ¹⁰ (10.6)

注:CK 为空白对照。

Note:CK is short for blank control.

3 结论

本论文利用 FTL 的热稳定性等特点建立了一个较高温度条件下较短时间浸提的提取和纯化工工艺。总体而言, 所建立 FTL 分离纯化方案较为简单, 耗时短, 总体成本较低, 回收率较高, 有较好的应用价值。

参考文献

- 1 Tan HQ, Zhang CC, Qu X, et al. Application of plant agglutinin in biomedical field[J]. Chin Polym Bull(高分子通报), 2016, 9:91-102.
- 2 Bao JK. Plant lectins: multifunctions and applications[J]. Chin Bull of Life Sci(生命科学), 2011, 23:533-540.
- 3 Jiang K, Li W, Zhang Q, et al. GP73 N-glycosylation at

Asn144 reduces hepatocellular carcinoma cell motility and invasiveness[J]. Oncotarget, 2016, 7:23530-23541.

- 4 Norton P, Comunale MA, Herrera H, et al. Development and application of a novel recombinant *Aleuria aurantia* lectin with enhanced core fucose binding for identification of glycoprotein biomarkers of hepatocellular carcinoma [J]. Proteomics, 2016, 16:3126-3136.
- 5 Pei LL, Xiao CQ, He W. Application of lectin chip technology in diagnosis of common gynecological tumors[J]. Acta Univ Med Anhui(安徽医科大学学报), 2013, 48:1348-1351.
- 6 Akkouch O, Ng TB, Singh SS, et al. Lectins with anti-HIV activity: a review[J]. Molecules, 2015, 20:648-668.
- 7 Xu XC, Zhang ZW, Chen YE, et al. Antiviral and antitumor activities of the lectin extracted from *Aspidistra elatior*[J]. Z Naturforsch C, 2015, 70(1-2):7-13.

- 8 Muslim SN. Improving of antibacterial activity for antibiotics by purified and characterized lectin from acinetobacter baumannii[J]. Iraqi J Biotechnol,2015,14(1):9-22.
- 9 Oliveira C, Costa S, Teixeira JA, et al. cDNA cloning and functional expression of the alpha-D-galactose-binding lectin frutalin in Escherichia coli [J]. Mol Biotechnol, 2009, 43: 212-220.
- 10 Moreira RA, Castelo-Branco CC, Monteiro ACO, et al. Isolation and partial characterization of a lectin from *Artocarpus incisa* L. seeds[J]. Phytochemistry,1998,47:1183-1188.
- 11 Oliveira C, Teixeira JA, Schmitt F, et al. A comparative study of recombinant and native frutalin binding to human prostate tissues[J]. BMC Biotechnology,2009,9(1):1-7.
- 12 Ana COM, Humberto DMP, Antonio EVN, et al. Crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of frutalin, an α -D-galactose-specific lectin from *Artocarpus incisa* seeds [J]. Acta Crystallographica,2015,71:1282-1285.
- 13 Oliveira C, Nicolau A, Teixeira JA, et al. Cytotoxic effects of native and recombinant frutalin, a plant galactose-binding lectin, on HeLa cervical cancer cells[J]. J Biomed Biotechnol,2011,2011:568932-568940.
- 14 Oliveira C, Teixeira JA, Domingues L. Recombinant production of plant lectins in microbial systems for biomedical application-the frutalin case study[J]. Front Plant Sci,2014,5:390-395.
- 15 Tang HS, Ning XF, Cheng LL, et al. Preliminary study of the activity of the crude lectin from *Peganum harmala* seeds [J]. Acta Bot. Bor-Occid Sin(西北植物学报),2010,30: 813-820.
- 16 Chen G, Wang HB, Guo R, et al. Extraction, separation and purification of Phaseolus vulgaris agglutinin (PHA) from common bean fresh pods[J]. J Jiangnan Univ Sin(江汉大学学报),2016,44:496-503.
- 17 Deng ZD, Cheng AF, Li XL. Study on the extraction and agglutination of lectin from *Melastoma dodecandrum* Lour[J]. Heilongjiang Agric Sci(黑龙江农业科学),2015,2:56-58.
- 18 Liu PJ, Fu ZH, Sun D, et al. Separation and purification of lectin from *Morus alba* L. and its antimicrobial activity[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2015,27:475-479.
- 19 Chen XH, Ren JH, Wei YM, et al. Optimization of extraction technology of an immune active protein from astragali radix [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2016,5:13-17.

《天然产物研究与开发》青年编委会

青年编委(以姓氏笔划为序)

Members

王红兵	戈惠明	尹文兵	尹 胜	吕兆林	刘相国
WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin	LIU Xiangguo
孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱 莉	汪海波
SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo
沐万孟	张炳火	陈益华	林昌俊	欧阳杰	易华西
MU Wanmeng	ZHANG Binghuo	CHEN Yihua	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi
罗应刚	周 文	胡友财	袁 涛	夏永刚	高慧敏
LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin
唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕	曾克武	蓝蔚青
TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan	ZENG Kewu	LAN Weiqing
廖晨钟	薛永波				
LIAO Chenzhong	XUE Yongbo				