

爬行卫矛贮藏蛋白的初步研究

孟春晓, 高政权

(山东理工大学 生命科学院 山东 淄博 255049)

摘要:以不同季节的爬行卫矛枝条为研究对象,利用光学显微技术和 SDS-PAGE 技术来研究其休眠期和生长期枝条中贮藏蛋白的分布情况。经汞-溴酚蓝染色后的石蜡切片显微观察表明:休眠期枝条细胞的液泡中有大量蓝色小球状蛋白颗粒,有的甚至充满整个液泡,而在生长期枝条细胞中则未发现这种蛋白颗粒的存在。SDS-PAGE 结果表明:与生长期枝条样品相比,有一种分子量约为 45 kD 蛋白质在休眠期枝条大量特异表达,这可能就是贮藏蛋白。

关键词:爬行卫矛;贮藏蛋白;显微观察;SDS-PAGE

中图分类号: Q 945.13 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)05-0067-02

营养贮藏蛋白质(Vegetative storage proteins 简称 VSPs)是许多落叶树种越冬期间贮藏氮的主要形式。贮藏蛋白通常在夏末秋初开始积累,整个越冬期内含量较高,春季随着新梢的萌发,被降解成氨基酸以满足枝条生长的营养需求^[1-2]。贮藏蛋白是树木在新季节的生长发育的营养基础^[3]。在热带树木中,贮藏蛋白一般积累在中央大液泡里;而在温带树木中,则一般积累在类似种子贮藏组织的蛋白体结构中,称之为蛋白体或贮藏蛋白液泡。除杨柳科外,对贮藏蛋白在温带树木中的分布还未见系统的研究报道^[4]。爬行卫矛(*Euonymus fortunei* var. *Radicans*)属卫矛科卫矛属,是一种常绿藤本植物,别名扶芳藤。其叶色碧绿青翠,耐修剪,是一种优良的绿化观赏藤本灌木,它适应性强,枝叶繁茂,终年苍翠,常用于覆盖地面、攀附假山、岩石、老树,是高速公路护坡的上佳材料,已经广泛用于主干道的绿化。由于能净化空气,抗烟吸尘,成为污染区理想的绿化树种。该研究以休眠期和生长期的爬行卫矛枝条为材料,利用光学显微技术和 SDS-PAGE 技术初步研究了其中贮藏蛋白含量的动态变化。

1 材料与方法

爬行卫矛采集于山东理工大学校园,收集休眠期和生长期的树枝储存于-70℃冰箱中备用。石蜡切片的

制作方法主要参照文献[5],切片和汞溴酚蓝染色后进行显微观察。枝条中的总可溶性蛋白提取方法参照文献[5],采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳^[6],分离胶 T=12%,上样量为每个泳道 40 μL,120 V 恒压电泳约 8 h,考马斯亮蓝 R-250 染色,每个样品重复多次。

2 结果与分析

经汞-溴酚蓝染色后的石蜡切片显微观察表明,休眠期爬行卫矛枝条细胞的液泡中含有大量蓝色小球状蛋白颗粒,有的甚至充满整个液泡(如图 1,箭头所指即为贮藏蛋白颗粒);而在生长期爬行卫矛枝条细胞的液泡中鲜有此类蛋白颗粒的存在(如图 2)。结果表明,休眠期爬行卫矛枝条中存在大量营养贮藏蛋白,而生长期爬行卫矛枝条中基本没有营养贮藏蛋白或贮藏蛋白很少。

根据不同时期爬行卫矛枝条总可溶性蛋白的 SDS-PAGE 电泳图谱可以看出,休眠期爬行卫矛枝条中的高丰度蛋白条带比生长期爬行卫矛枝条蛋白条带的数目多且颜色深;且有一条分子量大约为 45 kD 的蛋白带大量特异表达,这可能就是贮藏蛋白。

3 讨论

近年来,对树木营养贮藏组织内各种贮藏化合物的季节性动态变化做了大量研究,尤其是温带落叶阔叶树^[2]。许多阔叶树的枝条韧皮薄壁细胞、木薄壁细胞,甚至形成层细胞在秋天以蛋白体或贮藏蛋白质液泡形式积累蛋白质,以满足第 2 年春季树木光合作用未恢复前的新梢生长的需要。虽然不同温带树种中蛋白质含量差异很大,但其周期性季节波动很明显。该研究通过光学显微和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术初步探讨了爬行卫矛休眠期和生长期枝条中贮藏蛋白的含量变化,发现休眠期枝条细胞的液泡中有大量蓝色小球状蛋白

第一作者简介:孟春晓(1977-),女,博士,副教授,现主要从事藻类生理与分子生物学研究工作。E-mail: mengchunxiao@126.com。
通讯作者:高政权(1972-),男,博士,副教授,现从事植物与藻类生理学研究。E-mail: zq7723@126.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(30671126);山东理工大学博士启动基金资助项目(4041-405017;4041-405016);山东理工大学自然科学基金资助项目(4040-306017)。
收稿日期:2008-12-17

颗粒, 有的甚至充满整个液泡, 而在生长期枝条细胞中则未发现这种蛋白颗粒的存在; 休眠期枝条细胞中的蛋白条带显著多于生长期枝条, 说明爬行卫矛枝条中的贮藏蛋白确实存在季节性的变化, 这与其它树种研究报道结果一致^[6-10]。这一结论为上面所述的树木在入冬后开始积累贮藏蛋白, 直到次年为新梢的生长和开花结果所消耗的观点提供了重要依据。由于时间的关系, 该试验

只比较研究了休眠期和生长期两个典型季节的枝条材料, 没有进行连续采样, 所以并不能确定何时才是爬行卫矛枝条中贮藏蛋白的最佳积累时期, 也不了解枝条中的贮藏蛋白是从何时开始积累的, 缺乏对这个树种枝条中贮藏蛋白动态变化的了解。该研究只是对现有温带树木贮藏蛋白研究的一个补充, 为下一步深入了解贮藏蛋白的研究提供了一定基础。

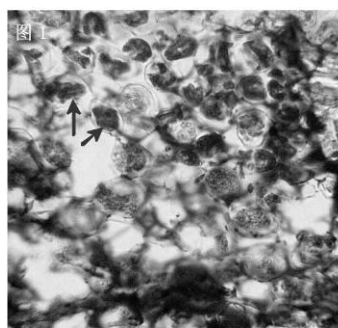


图1 休眠期的爬行卫矛枝条

注: 树皮经汞-溴酚蓝染色后的显微图谱, 箭头所指为贮藏蛋白颗粒。放大倍数400×。

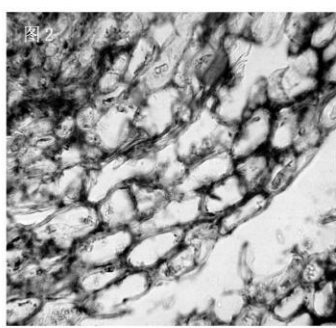


图2 生长期的爬行卫矛枝条

注: 树皮经汞-溴酚蓝染色后的显微图谱, 没有观察到贮藏蛋白颗粒。放大倍数400×。

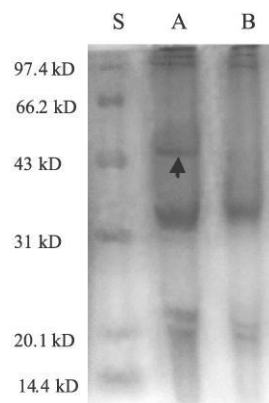


图3 休眠期和生长期爬行卫矛蛋白电泳图谱

注: S 为标准蛋白, A、B 分别为休眠期和生长期爬行卫矛蛋白电泳图谱。箭头所指为休眠期中特异表达的45 kD 蛋白。

参考文献

- [1] 彭方仁, 王改萍, 郭娟. 银杏营养贮藏蛋白质的细胞学及生物化学分析[J]. 南京林业大学学报, 2006, 30(4): 109-113.
- [2] 郭红彦, 郭彦青, 彭方仁. 木本植物营养贮藏蛋白质代谢机理的研究进展[J]. 南京林业大学学报, 2006, 30(4): 123-128.
- [3] 田维敏, 吴继林, 胡正海, 等. VSPs 在热带树木中分布的细胞学研究[J]. 热带作物学报, 2001, 22(4): 1-6.
- [4] 田维敏, 吴继林, 郝秉中, 等. 15 科温带树木营养贮藏蛋白质的细胞学研究[J]. 西北植物学报, 2000, 20(5): 835-841.
- [5] 田维敏. 树木营养贮藏蛋白质的细胞学、生物化学和生物学功能的研究[D]. 西安: 西北大学博士学位论文, 2002.

- [6] Tian W M, Wu J L, Hao B Z, et al. Vegetative Storage Proteins in Meliaceae[J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(2): 242-245.
- [7] Staswick P E. Storage proteins of vegetative plant tissues[J]. Annu Rev Plant Physiol Mol Biol, 1994, 45(3): 303-320.
- [8] 田维敏, 吴继林, 胡正海, 等. VSPs 在热带树木中分布的细胞学研究[J]. 热带作物学报, 2001, 22(4): 1-6.
- [9] 田维敏, 吴继林. 楝科树木营养贮藏蛋白质的研究[J]. 植物学报, 2002, 44(2): 242-245.
- [10] 田维敏, 闫兴富, 胡正海. 杨树新梢积累营养贮藏蛋白质的细胞学研究[J]. 西北植物学报, 2003, 23(7): 1143-1147.

Study of Vegetative Storage Protein in *Euonymus fortunei* var. *Radicans*

MENG Chun-xiao, GAO Zheng-quan

(School of Life Sciences, Shandong University of Technology, Zibo, Shandong 255049, China)

Abstract: Vegetative storage proteins (VSPs) in the *Euonymus fortunei* var. *Radicans* were identified by using optical microscopy and SDS-PAGE. Under optical microscope, deep blue masses in a granular appearance were observed in the secondary xylem parenchyma cells of the dormancy season barks after stained with mercury-bromophenol blue. However, there was no granular protein in the development season barks. Compared with SDS-PAGE results of the development season barks, there was a 45 kD major protein expressed in the dormancy season barks, which was probably the vegetative storage protein of *Euonymus fortunei* var. *Radicans*.

Key words: *Euonymus fortunei* var *Radicans*; Vegetative storage proteins; Microscopy; SDS-PAGE