

# 苦瓜籽蛋白的提取和分离

杨非徇

(四川得恩德药业有限公司 绵阳 621101)

摘要：用比较简便的方法提取苦瓜籽蛋白，并通过硫酸盐沉淀、透析、柱层析等步骤对蛋白进行纯化。

关键词：苦瓜籽 粉碎抽提 离心 盐析 透析

引言：

近年来国内外许多学者已经从苦瓜籽中提纯多种蛋白质，并对其生理活性进行研究，研究发现，主要有抑制真核细胞核糖体的蛋白质合成、抗艾滋病等活性，进一步研究表明，将苦瓜籽的核糖体失活蛋白与单克隆抗体偶联构成免疫毒素能特异性的杀伤靶细胞，因此，苦瓜籽核糖体失活蛋白在肿瘤、骨髓移植、自身免疫性疾病及艾滋病的治疗中有着潜在的广阔应用前景。

实验部分：

## 1. 材料与仪器

1.1 材料：苦瓜籽 250g，品种大白苦瓜籽，四川产，2003 年 8 月采集。

1.2 试剂：1mol/L Tris，50mmol/L 乙酸，CM23 5mmol/L PBS (PH7.0)，QAE-sephadex-25，含 250mmol/L NaCl 的 5mmol/L PBS， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

1.3 仪器：TU-1810 型紫外可见分光光度计（北京普析通用仪器有限责任公司），透析袋，层析柱，离心机（8000r/min），烘箱

## 2. 实验方法：

2.1 粗提液的制备：250g 苦瓜籽去壳，干燥后 146g，粉碎后加入 8 倍体积的 50mmol/L 乙酸，在 4℃ 下搅拌抽提 2h，离心 15min，用 1mol/L Tris 调节上清液 pH 至 7.6，缓慢搅动 24h，再离心 15min，向上清液中加固体硫酸氨至 90%饱和度，搅拌 1h，静置 2h，离心 15min，收集沉淀，溶于尽量少的 5mmol/L PBS(pH7.0)，透析后浓缩至适当体积。

## 2.2 柱层析：

将苦瓜籽粗蛋白粗提液上 CM23 柱层析完全后，用 50mmol/L NaCl 洗脱控制

流速为 1.5mL/min,洗脱至基线，每 5mL 测定一次 275nm 波长处的吸光度（见表 1）：

表 1

编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度
1	0.136	5	0.113	9	0.064	13	0.048	17	0.026	21	0.002	25	0.028
2	0.120	6	0.082	10	0.055	14	0.045	18	0.026	22	0.002	26	0.007
3	0.134	7	0.065	11	0.038	15	0.032	19	0.019	23	0.000	27	0.005
4	0.107	8	0.057	12	0.037	16	0.032	20	0.070	24	0.000	28	0.001

洗脱至基线后用 250mmol/L 的 NaCl 的 5mmol/L PBS 液洗脱，5mL 测定一次吸光度（见表 2）：

表 2

编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度
1	0.003	5	0.008	9	0.710	13	0.178	17	0.095	21	0.014
2	0.000	6	0.010	10	0.321	14	0.168	18	0.069	22	0.013
3	0.000	7	0.018	11	0.193	15	0.133	19	0.055	23	0.005
4	0.007	8	0.230	12	0.170	16	0.114	20	0.031	24	0.000

收集吸光度从 0.71 开始的液体，并再次用 250mmol/L 的 NaCl 的 5mmol/L PBS 液洗脱，并收集吸光度高的液体，合并两次收集的液体放入预先处理好的透析袋内透析 24 小时。

将透析后的液体上 QAE-sephadex-25 柱，每流出 10mL 测定一次 275nm 波长处的吸光度，见表 3（从 10 号管开始用 PBS 液洗脱）

表 3

编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度	编号	吸光度
1	1.072	6	2.948	11	2.906	16	0.122	21	0.084	26	0.049	31	0.028
2	2.829	7	2.922	12	2.958	17	0.105	22	0.075	27	0.036	32	0.031
3	2.930	8	2.922	13	2.276	18	0.125	23	0.057	28	0.040	33	0.044
4	2.922	9	2.906	14	0.177	19	0.095	24	0.050	29	0.034	34	0.030
5	2.948	10	2.900	15	0.137	20	0.084	25	0.040	30	0.048	35	0.041

收集 2—13 号管的液体，冷冻，干燥，称重。

结果：

本方法采用时间较短，季氨乙基葡聚糖凝胶 A—25 的季氨乙基(—CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>—(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)CH<sub>2</sub>CHOHCH<sub>3</sub>，QAE 型)使凝胶具有离子交换剂性质，有利于蛋白

质、多肽等的分离。提取出的蛋白含量较高。

参考文献：

- 1.叶国杰、钱瑞卿、卢保元等，苦瓜籽蛋白的分离纯化及其性质研究，化学报，1998，56：1135。
- 2.孟延发、杜毅峰、张雪梅等，苦瓜籽核糖体失活蛋白的理化性质及生物活性，中国生物化学和分子生物学报，1999，15（6）：920。
- 3.郑永康，抗人体艾滋病毒的核糖体失活蛋白，大自然探索，1997，16（60）：62。