菠菜叶片中胆碱加单氧酶的分离

刘家尧 骆爱玲 梁 峥
(中国科学院植物研究所, 北京 100093)

一些植物适应胁迫的重要特点之一是在细胞质中积累有机渗透调节剂相容溶质(compatible solute), 以维持细胞质与其内(液泡)外环境的渗透平衡. 甜菜碱是最重要的相容溶质. 植物中, 以胆碱为底物, 经两步酶促氧化生成甜菜碱, 中间产物为甜菜碱醛, 催化第一步的为胆碱加单氧酶(Choline monooxygenase, CMO). 此酶性质极不稳定, 活性测定也比较复杂困难, 因而很长时间未能分离纯化. 1995 年 Burnet 等人[1]纯化了菠菜 CMO, 它为一种均一的二聚体, 单体分子量为 45 ku, 带红黄色, 在 459 nm 有吸收峰. 该法是将菠菜叶片匀浆经 2 次沉淀分离和 6 次层析, 程序相当冗长, 条件要求较高. 我们选择纯化效果最好的 2 个步骤, 结合电泳和电洗脱方法, 从菠菜叶片中分离纯化了 CMO.

将菠菜叶片充分捣碎, 经尼龙布过滤, 取上清液, 经 PEG-8000 分级沉淀, 取 16%~ 24% 部分, 溶解后通过羟基磷灰石柱分离, 用 10, 30, 60, 90, 120, 150 mmol/ L 磷酸缓冲液进行阶梯洗脱(每阶梯 10 mL), 将各管样品进行分析 SDS-PAGE, 在 90~ 130 mmol/ L 部分存在明显的 45 ku 蛋白质带. 将柱层析分离得到的含 45 ku 蛋白组分经减压浓缩后, 用制备 SDS-PAGE 进行电泳分离, 切下 45 ku 蛋白带并用醋酸缓冲液进行电洗脱回收, 低温浓缩后为纯化的蛋白样品. 该样品用分析 SDS_PAGE 检查表明, 在 45 ku 处为 1 条蛋白带. 分离的蛋白显极浅的红黄色, 经分光光度计扫描在 455 mm 处存在吸收高峰. 根据这些特性, 判断分离的蛋白为 CMO. 从 100 g 菠菜叶片中得到约 1 mg 蛋白. 以蛋白量为基础, 提纯约 350 倍. 该蛋白能与细菌的胆碱氧化酶抗体发生交联反应, 但不能为高等植物的甜菜碱醛脱氢酶抗体识别.

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号: 39670075)和国家“攀登”计划资助项目.

参 考 文 献

1 Burnet M, Lafontaine P J, Hanson A D. Assay, purification, and partial characterization of choline monooxygenase from spinach. Plant Physiol, 1995, 108: 581~ 588

磁流体 Co_硅油的微观结构

沈 辉 张大同 吴霭云 陈永铿 邓再德 吴东晓 刘粤惠
(华南理工大学, 广州 510641)

为了揭示磁流体内部微观结构的变化, 特别是磁性纳米颗粒的链状排列的细节, 本文对一种组分为 Co_硅油的磁流体试样进行了光学和电子显微分析. 在外加磁场和表面张力作用下, 当磁流体的磁化强度达到或超过饱和状态时, 磁流体的自由表面呈现许多宏观分离的立体锥状液柱形貌, 这种现象与磁粉在磁铁作用下极为相似[1~ 4]. 在磁流体中, 磁性颗粒由于被稳定剂改性, 已与载液胶溶为一体. 因而磁性颗粒在磁场作用下使磁流体液柱升高. 此时磁流体的磁能降低, 而表面能增大[1, 4]. 将磁流体薄层放置在一磁场中, 通过光学显微镜观察还