植物学通报 2005, 22 (4): 456~462
Chinese Bulletin of Botany

专 题 介 绍

核糖体失活蛋白研究进展

[1]李洪艳① [1]王关林 [2]李建国 [1]李 红 [1]陈陆琴

[1](辽宁师范大学生命科学学院 大连 116029) [2](大连高新技术产业园区 大连 116021)

摘要 核糖体失活蛋白是一类毒蛋白, 主要存在于植物当中, 在真菌和细菌中也有发现。 其共同特点是具有N-糖苷酶活性, 能水解生物核糖体大亚基rRNA颈环结构上特定位点的腺嘌呤, 使核糖体失活, 从而抑制了蛋白质合成。本文对核糖体失活蛋白的主要性质、应用以及国内外有关这类蛋白的研究进展加以概述。

关键词 核糖体失活蛋白, N-糖苷酶, 蛋白合成

Advances in Studies of Ribosome-Inactivating Proteins

[1]LI Hong-Yan① [1]WANG Guan-Lin [2]LI Jian-Guo [1]LI Hong [1]CHEN Lu-Qin

[1](*College of Life Science, Liaoning Normal University*, Dalian 116029)
[2](*High-Tech Zone of Dalian*, Dalian 116021)

Abstract Ribosome-inactivating proteins (RIPs) are found in plants, certain fungi and bacteria. RIPs are toxic N-glycosidases that depurinate the universally conserved α-sarcin loop of large rRNA. This depurination inactivates the ribosome, thereby blocking its further participation in protein synthesis. The properties, application and advances in research into RIPs are summarized in this paper.

Key words Ribosome-inactivating-proteins, N-glycosidases, Protein synthesis

1 核糖体失活蛋白的物理性质及分类

核糖体失活蛋白(ribosome inactivating proteins, RIPs)首先是在蓖麻(*Ricinus communis*)中被发现的, 随后在其他植物及真菌和细菌中也发现它的存在。科学家们还从蘑菇(*Lyophyllum shimeji*)(Lam and Ng, 2001)和藻类(Liu *et al*., 2002)中分离出RIPs。到目前为止, 人们已在许多植物中发现并命名了近百种RIPs, 在植物不同组织、不同生理状态以及不同的外界环境下RIPs的含量和活性均有所不同。

根据RIPs的物理特性可将其分为3类(Nielsen and Boston, 2001): 1型、2型和3型(图1), 其中1型只有一条多肽链, 如商陆抗病毒蛋白(pokeweed activiral protein, PAP)。2型RIPs有A和B两条链, 相互间以二硫键相连, A链是催化活性链, B链具有糖结合活性, 相当于凝集素, 可识别细胞表面的糖肽或糖脂受体末端的D-半乳糖, 协同A链进入细胞, 如蓖麻毒蛋

①通讯作者。Author for correspondence. E-mail: 1-hongyan@163.com
收稿日期: 2004-03-24 接受日期: 2005-01-21 责任编辑: 崔郁英, 于昕

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-043

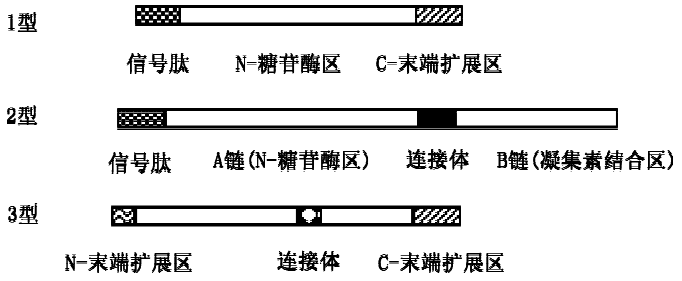


图1 3种类型的RIPs的基本结构
Fig.1 Alignment of RIPs showing a comparison of primary structures (Nielsen and Boston, 2001)

白(ricin)。3型RIPs也只有一条多肽链, 合成时以无活性的蛋白前体形式出现, 当活性位点氨基酸中间的二硫键以及C-末端和N-末端的扩展序列被水解掉以后, 3型RIPs才具有活性。

3型RIPs较少, 目前仅在玉米(*Zea mays*)和大麦(*Hordeum vulgare*)中发现它的存在, 而且它与1型RIPs有相似性, 因此也可以按有无B链将RIPs分为两类, 即1型和2型(Stirpe, 2004)。2型RIPs的A链和1型RIPs一般由210~270个氨基酸组成, 同源性为17%~75%。虽然RIPs的一级结构同源性不大, 但空间结构十分相似, RNA N-糖苷酶活性位点的位置也很相似(Monzigo and Collins, 1993)。

目前, 定点突变和系统缺失是研究氨基酸与蛋白质活性关系的有效手段。Xu等(1998)在*E.coli*中表达商陆抗病毒蛋白(pokeweed antiviral protein, PAP)的研究中发现, N端前7~107个氨基酸去除后, PAP被激活, 对*E.coli*有致死性, 但氨基酸缺失的个数超过123个后, PAP活性丧失, 因此PAP与靶嘌呤结合的活性位点可能不是原来所确定的Tyr94和Val95, 而是在123个氨基酸以后。Hudak等(2004)用同样的方法发现, PAP在系统缺失过程中, 当突变体对细胞的毒性已经消失的时候, 却仍然可以使核糖体脱嘌呤。在酵母体内, PAP的Tyr-123突变体使酵母核糖体脱嘌呤, 但所有的蛋白质均可以正常翻译, 说明PAP对细胞的毒性不单是核糖体被脱嘌呤的缘故, 还有其他方面因素的影响。He和Liu (2004)在辛纳毒蛋白(cinnamomin)的研究中发现, N端前52个和C端前51个氨基酸的去除使其丧失了从rRNA和超螺旋DNA上脱嘌呤的能力。Garci-Ortega等(2002)将帚曲霉毒(α-sarcin)的N端β发夹结构缺失后, 发现其只能对裸露的rRNA有RNase的活力, 却没有了从完整的核糖体上降解rRNA的能力, 说明β发夹结构是α-sarcin和核糖体作用所必需的。Garcia-Mayoral等(2004)用核磁共振的方法测定α-sarcin缺失突变体Delta(7-22)的立体结构, 验证蛋白质的外周环的天然构相对其活性的重要性。这些实验结果说明RIPs与核糖体的作用, 以及它对细胞的毒性机理都是非常复杂的。

2 RIPs的酶学特性

RIPs的主要酶学性质是具有RNA N-糖苷酶活力, 可特异地水解生物的核糖体大亚基rRNA 3′端颈环结构的腺嘌呤残基, 干扰核糖体与延伸因子的结合, 从而抑制靶细胞中蛋白质的合成(Barbieri *et al*., 1993)。

RIPs与底物相互作用的敏感性有差异, 蓖麻毒蛋白(ricin)与低聚寡核苷酸以及小麦核糖体作用时所需的蛋白量分别比杀死哺乳动物细胞所需的量高10^4和10^3倍; 从紫茉莉(*Mirabilis expansa*)根中分离出的RIP对畸雌腐霉(*Pythium irregulare*)敏感, 而对大豆腐霉

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-043

(*Pythium ultimum*)不敏感; 从小麦(*Triticum aestivum*)叶片和种子中分别分离出的RIPs, 它们对植物核糖体敏感性不同。核糖体对RIPs的敏感性是一个动态过程, 对核糖体进行不同的处理, 其对RIPs的敏感性也随着变化, 当叶片被脱水处理36小时或经茉莉酮酸甲酯诱导24小时后制备核糖体, 大麦中3型RIP可使其从多聚核糖体水解成单核糖体, 而对用水浸泡过的叶片组织所制备的核糖体无作用(Nielsen and Boston, 2001)。

分析敏感性差异的原因有两个: 1) RIPs起作用需要的辅助成分不同。天花粉蛋白(trichosanthin,TCS)需要Ca^{2+}(Li *et al*., 1991), 多花白树毒蛋白(gelonin)的作用受Mg^{2+}和ATP的影响; 另外tRNA对RIPs的活性也有调控作用, 不同的RIPs需要不同的tRNA来调控(Nielsen and Boston, 2001)。2) 核糖体蛋白以及它们所维持的核糖体的构象的差异。Hudak等(1999)发现酵母核糖体中大亚基的L3蛋白是PAP与酵母核糖体作用所必需的, L3蛋白基因的突变可使PAP对酵母的毒性消失。Rajamohan等(2001)发现PAP本身活性中心的裂口对其通过L3蛋白与核糖体结合是很重要的。

众多的实验表明, RIPs具有失活自身的核糖体及杀死自身细胞的可能性, 因此在正常情况下, 植物必然会采取措施防止这种自杀行为的发生(Barbieri L *et al*., 1993): 1)核糖体对自身的RIPs具有抗性。例如谷类的RIPs缺乏信号肽, 存在于胞质溶胶中, 但它对宿主的核糖体几乎不起作用。2)以不具活性的核糖体失活蛋白前体形式存在。如带有C末端扩展序列的TCS是无活性的, 只有信号肽及扩展序列被切除之后才有活性, 而在未到达相应的细胞储存器之前这种加工不会发生(Nielsen and Boston, 2001)。

RIPs除了能作用于核糖体大亚基rRNA外, 研究发现, 一些RIPs的作用底物还可以是DNA、Poly(A)和mRNA等(Hudak *et al*., 2000; Parikh *et al*., 2002)。一些RIPs还可以脱鸟嘌呤(Parikh *et al*., 2002)。目前对于RIPs N-糖苷酶以外的活性, 如几丁质酶活性、RNase活性及超氧化物歧化酶活性等还存在一些争论(Girbes *et al*., 2004)。

3 RIPs的毒性

RIPs的毒性是人们所熟知的, 一般来说, 2型RIPs比1型RIPs的毒性高。原因可能是1型RIPs缺少B链, 进入细胞很难, 而2型RIPs的B链可与细胞表面半乳糖残基结合, 便于A链进入细胞。2型RIPs之间毒性大小也存在差异, 这可能与RIPs在细胞表面的受体多少、RIPs与细胞表面的亲和力强弱及RIPs进入细胞到达的目的地有关(Stirpe, 2004)。

RIPs作用后的哺乳动物细胞均表现出细胞凋亡的特征。蓖麻毒蛋白(ricin)和相思子毒蛋白(abrin)可使兔子和荷兰猪的肝脏等实质性器官受到损伤。1型RIPs剂量较高时也可以造成肝脏坏死, 无毒的2型RIPs接骨木(*Sambucus nigra*)毒蛋白(nigrin b)高剂量使用可以使小鼠消化道紊乱。人服用ricin后也会导致脾脏及淋巴组织等的损伤和出血现象(Stirpe, 2004)。Ricin的毒性之大, 又容易大量获得, 因此成为一种很有潜力的生物武器, 与此同时ricin疫苗研究工作也蓬勃展开(Olson *et al*., 2004; Smith *et al*., 2004)。

过去, 人们认为RIPs引起的细胞凋亡是靶细胞核糖体受到损伤, 进而抑制了蛋白合成的缘故。Hu等(2001)发现细胞凋亡过程中有蛋白质的合成。蓖麻毒蛋白(ricin)造成的细胞凋亡与半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)、丝氨酸蛋白酶等的参与密切相关(Stirpe, 2004)。相思子毒蛋白(abrin)诱导的细胞凋亡, 必须有caspase 3的存在, 同时线粒体膜出现潜在的损伤, 并且产生活性氧。B细胞淋巴瘤-白血病基因2(Bcl- 2)的过量表达可以阻碍这一凋亡途径(Narayanan *et al*., 2004)。从众多的实验结果看, 蛋白合成的抑制可能不是造成细胞凋亡

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-043

的唯一原因, 只是细胞凋亡的一个触发物, 细胞凋亡是 RIPs 对细胞多方面影响的结果。

4 RIPs对病原体的抗性

RIPs 对病毒有抗性。人们猜测 RIPs 作用于被侵染的植物细胞的核糖体, 导致该细胞死亡, 从而阻止病毒扩散, 为植物体提供一种防御功能。也有实验证明 RIPs 的抗病毒活性与脱嘌呤作用是无关的, Tumer等(1997)将缺失突变的PAP的基因转入烟草, 尽管突变的PAP丧失了脱嘌呤的能力, 但转基因烟草仍然对马铃薯X病毒有抗性。Hudak 等(2000)发现 PAP 的一个新活性, 它会使5′端有帽子结构的mRNA脱嘌呤。用高浓度的 PAP 处理有帽子的 mRNA 时, 可以使其降解, 浓度较低时则可以使它多位点脱嘌呤。PAP 突变后, 丧失了脱嘌呤能力, 但仍然能有选择性的抑制有帽子结构的mRNA的翻译。这些发现让人们把 RIPs 的抗病毒和失活核糖体两个活性分开考虑, 并且形成了RIPs直接作用病毒的理论。

人们利用RIPs抗病毒的特性, 对其是否能成为人免疫缺陷病毒(HIV)的有效治剂作了大量的研究。感染 HIV 的雄兔精子用 PAP 预处理, 然后人工受精, 研究后代的HIV感染情况, 实验表明 PAP 是安全的、可以预防子代感染 HIV 的抗病毒剂(D'Cruz and Uckun, 2001)。感染了 HIV 的病人服用 TCS 可以改善身体状况(Stirpe, 2004)。可见 RIPs 有望在 HIV 的防治方面有所突破。

体外实验中, TCS及大麦和玉米的RIPs对多数真菌有抵抗作用。RIPs 对细菌有杀伤能力, 从紫茉莉根中提出的1型RIP, 其毫克量水平即能抑制几种土壤细菌的生长。RIPs 对昆虫的毒性也有差异, 这与昆虫的种类、昆虫的宿主以及昆虫肠道分泌液对RIPs的水解能力有关(Nielsen and Boston, 2001)。

5 RIPs在转基因植物中的研究

随着转基因技术的出现与发展, 基因的异位表达成为研究基因功能、提高植物体抗性的有效手段。

Logemann等(1992)将大麦RIP的cDNA导入烟草, 获得能抗立枯菌(*Rhizoctonia solani*)的重组植株。随后, 其他的RIPs也被相继的转入植物中。Chen 等(2002a)将接骨木中编码 2 型 RIP(SNA-I′)的cDNA转入烟草, 转基因烟草对病毒产生抗性, 并且SNA-I′的表达不影响植株的生长和育性, 表达没有使病程相关蛋白的表达增加, 其抗病机制与 PAP 是有差别的。Chen 等(2002b)从接骨木的果实中分离出果实特异性复合2型RIP(SNA-If)基因, 该基因在烟草中能够正确表达、加工和组装, 不改变烟草表型, 转基因烟草对病毒没有抗性, 说明该复合物在体内没有抗病毒的作用。Kim等(2003)将玉米的RIP与水稻的几丁质酶基因联合转入水稻中, 转基因水稻对立枯菌抗性增强。Dowd等(2003)将玉米的 RIP 转入烟草, 转基因烟草对玉米夜蛾(*Helicoverpa zea*)的抗性增强。Krishnan 等(2002)将TCS基因转入烟草, 获得抗黄瓜花叶病毒(cocumber mosaic virus, CMV)和烟草花叶病毒(tobauo mosaic virus, TMV)的植株。Cho 等(2001)从石竹(*Dianthus sinensis*)中分离出的RIP, 在烟草中表达可致雄性不育。Zoubenko 等(2000)将PAP的Gly-75突变, 由于突变体丧失了与核糖体结合的能力, 所以在烟草中能够表达且无毒性。转基因烟草对病毒和真菌有抗性, 表达过程中没有引起酸性病程相关蛋白表达的提高, 而伤诱导蛋白激酶、蛋白酶抑制因子 II 被诱导, 说明突变体激活了一个不依赖水杨酸的、与胁迫有关的信号转导途径, 从而使植物获得对病原体的抗性。Lodge 等(1993)发现, PAP 在烟草中适当的表达保护了其受病毒的侵害, 高水平表达对烟草本身有毒害, 这一现象在苇草植物中也有发现(Stirpe, 2004)。

6 RIPs在医学上的应用

RIPs所具有的翻译抑制活性对受体细胞是

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-043

有毒的,因此在医学领域它被看作是一个非常有潜力的具有选择性的细胞杀伤剂。科学家们用各种方法将RIPs与单克隆抗体、激素及细胞因子等连接起来构成免疫毒素达到选择性杀伤的目的。

免疫毒素在恶性肿瘤、病毒病等研究领域应用十分广泛。从南瓜(*Cucurbita moschata*)种子中分离出的单链RIP被成功的制备成免疫毒素,可以选择性杀伤人的黑素瘤细胞(Xia *et al*., 2004), saporin-S6、gelonin等制备成的免疫毒素也被用于何杰金氏病、淋巴瘤、横纹肌肉瘤、痉挛、疼痛、斜视、皮肤与滑液炎症的治疗研究(Bolognesi *et al*., 2000; Ricci *et al*., 2002; Polito *et al*., 2004; Stirpe, 2004)。

体外实验中免疫毒素效果较好,在合适的浓度下它可以清除掉靶细胞而对正常细胞无太多损伤。癌细胞团块越小作用效果越好,而且与固体瘤相比,它对血癌疗效更高(Pasqualucci *et al*., 1995),这说明免疫毒素与靶细胞相互接近的效率影响作用效果。

7 结语

人们对RIPs虽然进行了多年的研究探索,但仍然有很多问题没有确切的解释。例如,1型和3型RIPs缺乏B链,它们是如何与靶细胞膜结合从而进入靶细胞的呢?蓖麻毒蛋白(ricin)有A和B两条链,但有时进入靶细胞并不是通过B链完成的,而是A-链上的甘露糖寡糖与靶细胞膜上的甘露糖受体结合,从而进入细胞。虽然多花白树毒蛋白(gelonin)是糖基化的,肥皂草素(saporin)是非糖基化的,但在动物细胞的实验中两者并没有表现出毒性与糖的存在有明显相关性(Nielsen and Boston, 2001)。这些说明RIPs的作用或者说它的一个活性与N-糖基化可能是无关的。RIPs具有多种酶活性,以及它对生物和非生物信号所做出的动态反应,促使我们去探索RIPs在生物体内所扮演的角色。

如何提高RIPs在植物体中的表达活性,如何使转基因植物拥有产生RIPs的天然植物所具有的自身保护机制,如何克服RIPs作为免疫毒素所产生的血管渗漏综合征等副作用,这些是在应用中需要我们解决的问题。

随着新的科学方法的发明及应用,我们对RIPs会有更深的理解,RIPs在应用中存在的问题也将有相应的解决对策,RIPs的应用潜力将更大。

参 考 文 献

Barbieri L, Battelli MG, Stirpe F (1993) Ribosome-inactivating proteins from plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1154:** 237-282

Bolognesi A, Polito L, Tazzari PL, Lemoli RM, Lubelli C, Fogli M, Boon L, de Boer M, Stirpe F (2000) *In vitro* anti-tumour activity of anti-CD80 and anti-CD86 immunotoxins containing type 1 ribosome-inactivating protein. *British Journal of Haematology*, **110:** 351-361

Chen Y, Peumans WJ, van Damme EJ (2002a) The Sambucus nigra type-2 ribosome-inactivating protein SNA-I′exhibits in planta antiviral activity in transgenic tobacco. *FEBS Letters*, **516:** 27-30

Chen Y, Vandenbussche F, Rouge P, Proost P, Peumans WJ, van Damme EJ (2002b) A complex fruit-specific type-2 ribosome-inactivating protein from elderberry (*Sambucus nigra*) is correctly processed and assembled in transgenic tobacco plants. *European Journal of Biochemistry*, **269:** 2897-2906

Cho HJ, Kim S, Kim M, Kim BD (2001) Production of transgenic male sterile tobacco plants with the cDNA encoding a ribosome inactivating protein in *Dianthus sinensis* L. *Molecules and Cells*, **11:** 326-333

D′Cruz OJ, Uckun FM (2001) Effect of pretreatment of semen with pokeweed antiviral protein on pregnancy outcome in the rabbit model. *Fertility and Sterility*, **76:** 830-833

Dowd PF, Zuo WN, Gillikin JW, Johnson ET, Boston RS

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-043

(2003) Enhanced resistance to *Helicoverpa zea* in tobacco expressing an activated form of maize ribosome-inactivating protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51:** 3568-3574

Garcia-Mayoral MF, Garcia-Ortega L, Lillo MP, Santoro J, de Pozo AM, Gavilanes JG, Rico M, Bruix M (2004) NMR structure of the noncytotoxic alpha-sarcin mutant Delta(7-22): the importance of the native conformation of peripsheral loops for activity. *Protein Science*, **13:** 1000-1011

Garcia-Ortega L, Masip M, Mancheno JM, Onaderra M, Lizarbe MA, Garcia-Mayoral MF, Bruix M, de Pozo AM, Gavilanes JG (2002) Deletion of the NH_2-terminal beta-hairpin of the ribotoxin alpha-sarcin produces a nontoxic but active ribonuclease. *The Journal of Biological Chemistry*, **277:** 18632-18639

Girbes T, Ferreras JM, Arias FJ, Stirpe F (2004) Descripstion, distribution, activity and phylogenetic relationship of ribosome-inactivating proteins in plants, fungi and bacteria. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **4:** 461-476

He WJ, Liu WY (2004) Both N- and C-terminal regions are essential for cinnamomin A-chain to deadenylate ribosomal RNA and supercoiled double-stranded DNA. *Biochemistry Journal*, **377(P+1):** 17-23

Hudak KA, Dinman JD, Tumer NE (1999) Pokeweed antiviral protein accesses ribosomes by binding to L3. *Journal of Biological Chemistry*, **274:** 3859-3864

Hudak KA, Parikh BA, Di R, Baricevic M, Santana M, Seskar M, Tumer NE (2004) Generation of pokeweed antiviral protein mutations in *Saccharomyces cerevisiae*: evidence that ribosome depurination is not sufficient for cytotoxicity. *Nucleic Acids Research*, **32:** 4244-4256

Hudak KA, Wang P, Tumer NE (2000) A novel mechanism for inhibition of translation by pokeweed antiviral protein: depurination of the capped RNA template. *RNA*, **6:** 369-380

Hu R, Zhai Q, Liu W, Liu X (2001) An insight into the mechanism of cytotoxicity of ricin to hepatoma cell: roles of Bcl-2 family proteins, caspases, Ca(2+)-dependent proteases and proteins kinase. *Journal* of *Cellular Biochemistry*, **81:** 583-593

Kim JK, Jang IC, Wu R, Zuo WN, Boston RS, Lee YH, Ahn IP, Nahm BH (2003) Co-expression of a modified maize ribosome-inactivating protein and a rice basic chitinase gene in transgenic rice plants confers enhanced resistance to sheath blight. *Transgenic Research*, **12:** 475-484

Krishnan R, McDonald KA, Dandekar AM, Jackman AP, Falk B (2002) Expression of recombinant trichosanthin, a ribosome-inactivating protein, in transgenic tobacco. *Journal of Biotechnology*, **97:** 69-88

Lam SK, Ng TB (2001) First simultaneous isolation of a ribosome inactivating protein and an antifungal protein from a mushroom(*Lyophyllum shimeji*) together with evidence for synergism of their antifungal effects. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **393:** 271-280

Li M, Yeung HW, Pan LP (1991) Trichosanthin, a potent HIV-1 inhibitor, can cleave supercoiled DNA *in vitro*. *Nucleic Acids Research*, **19:** 6309-6312

Liu RS, Yang JH, Liu WY (2002) Isolation and enzymatic characterization of lamjapin, the first ribosome inactivating protein from cryptogamic algal plant. *European Journal of Biochemistry*, **269:** 4746-4752

Lodge JK, Kaniewski WK, Tumer NE (1993) Broad-spectrum virus resistance in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **90:** 7089-7093

Logemann J, Jach G, Tommerup H, Mundy J, Schell J (1992) Expression of a barley ribosome-inactiving protein leads to increased fungal protection in transgenic tobacco plants. *Journal of Biotechnology*, **10:** 305-308

Monzigo AF, Collins EJ (1993) The 2.5 A structure of pokeweed antiviral protein. *Journal of Molecular Biology*, **233:** 705-715

Narayanan S, Surolia A, Karande AA (2004) Ribosome-inactivating protein and apoptosis: abrin causes cell death via mitochondrial pathway in Jurkat cell. *Biochemistry*, **377:** 233-240

Nielsen K, Boston RS (2001) Ribosome-inactivating proteins: a plant perspective. *Annual Review of Plant Biology*, **52:** 785-816.

Olson MA, Carra JH, Roxas-Duncan V, Wannemacher

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-043

RW, Smith LA, Millard CB (2004) Finding a new vaccine in the ricin protein fold. *Protein Engineering Design & Selection*, **17:** 391-397

Parikh BA, Coetzer C, Tumer NE (2002) Pokeweed antiviral protein regulates the stability of its own mRNA by a mechanism that requires depurination but can be separated from depurination of the alpha-sarcin/ricin loop of rRNA. *Biological Chemistry*, **277:** 41428-41437

Pasqualucci L, Wasik M, Teicher BA, Flenghi L, Bolognesi A, Polito L, Stirpe F, Falini B, Kadin ME (1995) Antitumor activity of anti-CD30 immunotoxin(Ber-H2/saporin) *in vitro* and in SCID mice xenografted with human CD30+ anaplastic large cell lymphoma. *Blood*, **85:** 2139-2146

Polito L, Bolognesi A, Tazzari PL, Farini V, Lubelli C, Zinzani PL, Ricci F, Stirpe F (2004) The conjugate Rituximab/saporin-S6 completely inhibits clonogenic growth of CD20- expressing cells and produces a synergistic toxic effect with Fludarabine. *Leukemia*, **18:** 1215-1222

Rajamohan F, Ozer Z, Mao C, Uckun FM (2001) Active center cleft residues of pokeweed antiviral protein mediate its high-affinity binding to the ribosomal protein L3**.** *Biochemistry*, **40:** 9104-9114

Ricci C, Polito L, Nanni P, Landuzzi L, Astolfi A, Nicoletti G, Rossi I, de Giovanni C, Bolognesi A, Lollini PL (2002) HER/erbB receptors as therapeutic targets of immunotoxins in human rhabdomyosarcoma cells. *Journal Immunotherapy*, **25:** 314-323

Smith DC, Salio M, Lord JM, Roberts LM, Cerundolo V (2004) Lack of dendritic cell maturation by the plant toxin ricin. *European Journal of Immunology*, **34:** 2149-2157

Stirpe F (2004) Ribosome-inactivating proteins. *Toxicon*, **44:** 371-383

Tumer NE, Hwang DJ, Bonness M (1997) C-terminal delection mutant of pokeweed antivival protein inhabits viral infection but does not depurinate host ribosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **94:** 3866-3871

Xia HC, Hu WG, Yan XX, Li F, Zhang ZC (2004) Preparation and primary application of monoclonal antibodies against a novel ribosome-inactivating protein Moschatin from pumpkin seeds. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, **36:** 105-110

Xu J, Meng AX, Hefferon KL, Ivanov IG, Abouhaidar MG (1998) Effect of N-terminal deletions on the activity of pokeweed antiviral protein expressed in *E.coli*. *Biochimie*, **80:** 1069-1076

Zoubenko O, Hudak K, Tumer NE (2000) A non-toxic pokeweed antiviral protein mutant inhibits pathogen infection via a novel salicylic acid-independent pathway. *Plant Molecular Biology*, **44:** 219-229

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-043