

# 大麻雄蕊特异蛋白质的初步研究

于静娟<sup>①</sup> 徐南方 孟繁静  
(生物学院)

## Study of Stamen Specific Protein of Hemp

Yu Jingjuan Xu Nanfang Meng Fanjing  
(College of Biological Sciences)

高等植物的有性生殖是近几年来植物发育生物学研究的焦点,已确认在花药、柱头、大孢子、胚囊、花粉及胚胎等的发生,分化和功能的表达过程中涉及了大量的基因及其产物,对这些生殖器官的可溶性蛋白进行比较分析可以为有性生殖的研究提供有用的资料。已报道在郁金香,日本牵牛,烟草,大麦,番茄,百合等植物中发现了各自的花器官特异的蛋白质。但尚未见到对大麻的研究。大麻作为一种重的要经济作物和研究植物性别分化的好材料。我们对其雌、雄花的可溶性蛋白进行了比较分析,旨在探索雄花、雌花特异蛋白质,从而得到雄蕊和雌蕊特异基因,以从分子水平研究大麻性别表达的调控。

栽培种大麻(*Cannabis sativa* L.),种植于温室花盆内,短日条件下(8h/d)5周后开始开花,采集即将开放的雄性和雌花,-20℃保存。

取1g植物材料(雄花,雌花),冰浴中加入2mL蛋白质提取液(25mmol·L<sup>-1</sup> Tris pH 7.5; 10mmol·L<sup>-1</sup> KCl; 20mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>; 1mmol·L<sup>-1</sup> DTT; 1mmol·L<sup>-1</sup> PMSF),研磨成匀浆,4℃,12 100×g离心30min后,取上清液(一部分用于测定可溶性蛋白的含量),加入5×体积的冷丙酮(内含0.01%β-巯基乙醇),-20℃冰箱中过夜,4℃1 000×g离心20min,冷丙酮洗涤沉淀三次,每次4℃,10 000×g离心20min,沉淀在4℃干燥。

在上述干燥沉淀中加入适量的样品缓冲液(0.0825mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl pH7.5; 2% SDS; 10%甘油; 5%β-巯基乙醇),室温下溶解4h。上样前,将样品煮沸3min,并10,000×g离心10min,上样量5~10μg。采用Laemmli不连续系统,胶板厚0.2cm,浓缩胶长1.5cm,分离胶长10cm电泳条件,开始为20mA,样品进入分离胶后改为30mA。

电泳完毕后,固定液中固定过夜,然后染色3~5h,脱色后照相。

大麻雌雄花的可溶性蛋白的SDS单向电泳结果表明,两个分子量分别约为30kd和94kd的蛋白质只存在于雄花中,其中30kd蛋白质量很大,非常明显,为雄蕊特异蛋白。

Bassett等和Gounarys等分别在番茄,日本牵牛和蒺藜草属的*Cnicus lucialis*中检测到了一些花器官特异的蛋白质,但大多数难以在SDS单向电泳上检测到。而我们的结果得到很明显的大麻雄蕊特异的蛋白质。

进一步将对这个蛋白进行IEF-SDS双性电泳,免疫学定位和表达的研究,以揭示其在雄蕊发育中的作用。进而分离,纯化这个蛋白质,对其编码基因进行研究。

收稿日期 1996-10-29

①于静娟,北京海淀区圆明园西路2号中国农业大学(西校区),北京,100094