

# 甘薯糖蛋白功能研究

## —体外抗肿瘤与 Ames 实验

钱建亚<sup>1</sup>, 刘 栋<sup>2</sup>, 孙怀昌<sup>3</sup>

(1.扬州大学食品科学与工程学院, 江苏 扬州 225001; 2.扬州大学生物科学与技术学院, 江苏 泰州 225009 3.扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

**摘 要:** 对两个品种的甘薯糖蛋白提取物的功能进行了研究, Ames 实验结果表明两个实验样品均具有显著的抗突变作用, 在实验剂量 0~5000  $\mu\text{g}/\text{皿}$  的范围内, 抑制强度与剂量呈相关趋势; 体外抗肿瘤实验揭示, 实验样品对 COS-1、SHG-44、SKOV<sub>3</sub> 细胞的抑制作用呈现剂量依赖性, 最小抑制量为 1.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

**关键词:** 甘薯; 糖蛋白; 体外抗肿瘤; Ames 实验

### Study on Functional Properties of Sweet Potato Glycoprotein

#### —An in vitro Antitumor and Ames Tests

QIAN Jian-ya<sup>1</sup>, LIU Dong<sup>2</sup>, SUN Huai-chang<sup>3</sup>

(1.College of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China  
2.College of Biology Science and Technology, Yangzhou University, Taizhou 225009, China  
3.College of Animal Science, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** Functional properties of glycoprotein extracts from two sweet potato (*Ipomoea batatas* LAM.) cultivars were conducted. The results showed that both subject samples were significantly antimutagenic and the antimutagenicity was correlated to the applied dosage (0~5 000  $\mu\text{g}/\text{dish}$ ) by Ames test, and the samples could inhibit the growth of COS-1, SHG-44, and SKOV<sub>3</sub> cells, the minimum dosage was 1.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , according to in vitro tumor cell cultivation.

**Key words:** sweet potato (*Ipomoea batatas* LAM.); glycoprotein; in vitro cell cultivation; Ames test

中图分类号: TS215

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0216-03

甘薯(*Ipomoea batatas* LAM.), 旋花科一年或多年生草本植物, 起源于美洲, 16 世纪后引入中国。据联合国粮农组织(FAO)统计, 世界上共有 111 个国家栽培甘薯, 栽培区域主要分布在亚洲、非洲的发展中国家, 其次为拉丁美洲, 欧洲极少。我国是世界上最大的甘薯生产国家, 产量占世界总产量的 50% 以上<sup>[1]</sup>。

《本草术源》记载: "甘薯凉血和血, 宽肠胃, 通便秘, 专宿淤脏毒, 舒筋络, 止血热渴, 润中补虚, 产妇最宜。" 《本草纲目》记载: "甘薯味甘性平, 无毒, 主治补虚乏, 益气力, 健脾胃, 强阴肾"。《金薯习录》记载: 甘薯有六种药用价值, 治痢疾和下血症, 治洒疾热泻, 治湿热和黄疸病, 治遗精和白浊淋病, 治血虚和月经失调, 治小儿疳结。可见

人们很早就对甘薯的功能有所认识。

甘薯含有丰富的粘蛋白, 这是一种多糖与蛋白质的混合物, 对人体有特殊的保护作用, 能保持消化道、呼吸道、关节腔、膜腔的润滑和血管的弹性, 由于这种物质可防止脂类物质在动脉管壁上沉积而引起的动脉硬化, 可以减缓人体器官的老化, 提高肌体免疫力<sup>[2,3]</sup>。本研究对两个甘薯品种的糖蛋白提取物进行了体外抗肿瘤实验和抗突变实验, 对其生物学功能进行了初步评价。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

甘薯 B 和甘薯 S 中国甘薯研究中心(徐州); 鼠伤寒沙门氏菌 TA100 江苏省疾病预防控制中心; Sephadex

收稿日期: 2005-01-10

作者简介: 钱建亚(1964-), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品生化、食品工程。

G-150 瑞典 Pharmacia 公司; D-生物素、L-组氨酸 Sigma 公司; COS-1 细胞 中国科学院上海细胞生物所; 人卵巢(SKOV<sub>3</sub>)瘤株 上海市肿瘤研究所; 人胶质瘤细胞SHG44 镇江医学院 鸡胚成纤维细胞 扬州大学兽医学院传染病学组; Hanks、MEM、DMEM 细胞培养基 GIBCO BRL公司 犊牛血清 杭州四季青生物工程材料有限公司; 牛肉膏、胰蛋白胨、NaCl、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O、琼脂粉、NaNH<sub>2</sub>HP<sub>2</sub>O<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O、C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、叠氮钠(NaN<sub>3</sub>)、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、葡萄糖及其它化学试剂均为国产分析纯试剂。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 甘薯糖蛋白提取

甘薯块根切成小丁后用组织捣碎机打成匀浆, 经100目筛网分离纤维残渣, 离心去除淀粉, 上清液中加入无水乙醇使浓度分别为25%、50%和70%, 离心后分出沉淀, 依次用乙醇、丙酮、洗涤去除脂溶性和部分水溶性色素, 再用氯仿:正丁醇=4:1(V/V)的Sevag试剂处理3次, 以充分去除脂质和游离蛋白, 然后在室温下用pH7.5的Tris-HCl缓冲液浸泡, 再对缓冲液充分透析, 透析后的溶液用5倍体积的乙醇沉淀, 离心, 得到蛋白质。将蛋白质样品用Sephadex G-150柱层析分级, 洗脱液为含0.1mol/L NaCl的pH7.5的Tris-HCl缓冲液, 逐管检测280nm和490nm(先经苯酚-硫酸显色)波长下的吸光度, 收集两个波长下都有吸收的组分, 冻干, 得糖蛋白, 备用。

### 1.2.2 Ames 实验

每个甘薯糖蛋白实验样品均设四个剂量组, 即40、200、1000和5000μg/皿, 致突变物为NaN<sub>3</sub> 1.5μg/皿, 每个剂量三个平板。实验时, 取营养肉汤培养基5ml, 加入无菌小试管中, 将主平板的菌株培养物接种于肉汤培养基内, 37℃振荡(100次/min)培养10h至对数增长期, 每毫升不少于1~2×10<sup>9</sup>个活菌数, 培养瓶用黑纸包裹, 取底层培养基平皿, 融化顶层培养基分装于无菌小试管, 每管2ml, 在45℃水浴中保温。

在保温的顶层培养基中依次加测试菌株新鲜增菌液0.1ml, 混匀, 加糖蛋白样液, 再混匀, 37℃培养48h观察结果。另做一阳性对照和空白对照, 观察结果, 计算各剂量组相对致突变活力(RMA)和突变抑制率(PI=1-RMA)<sup>[4,5]</sup>。

### 1.2.3 体外癌细胞培养实验

#### 1.2.3.1 人卵巢癌(SKOV<sub>3</sub>)细胞的制备

将荷瘤小鼠颈动脉处死, 在70%的酒精中浸泡1min, 取出, 用无菌手术剪切除供体肿瘤。将切下的供体肿瘤在超净工作台上细心除去坏死瘤组织。借助小尖镊, 用眼科剪将瘤组织剪成长约0.5cm的小块, 然后

用含青霉素500IU/ml和链霉素500μg/ml的Hanks液清洗三次, 去除组织中的血液。洗涤完毕后, 再将瘤组织小块剪成尽可能小的碎块, Hanks悬浮, 转移至10ml的离心管中。加入2~3ml含0.02%EDTA的0.25%胰蛋白酶溶液, 然后在37℃水浴中消化30min。4℃1000r/min离心5min, 轻轻倒去上清液。用10%犊牛血清的DEME重新悬浮细胞。将细胞悬浮液转移至细胞瓶中, 置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。将未消化完全的瘤组织块重新用上面的胰蛋白酶消化。

#### 1.2.3.2 甘薯糖蛋白的配制

称取粉末状甘薯糖蛋白提取物, 溶于DEME中, 终浓度为1mg/ml。使用孔径0.22μm的滤膜过滤除菌, 并作无菌检测。将经过无菌检测的甘薯糖蛋白保存于4℃, 备用。

#### 1.2.3.3 甘薯糖蛋白对不同细胞增殖抑制的作用

COS-1、SHG-44、SKOV<sub>3</sub>细胞培养, 经0.2%胰蛋白酶消化后, 用10%犊牛血清的DMEM完全培养基悬浮细胞, 制备成单细胞悬液。调整细胞浓度为1×10<sup>6</sup>/ml, 并接种于24孔培养皿中。加入甘薯糖蛋白溶液, 甘薯提取物溶液分别按100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.56、0.78、0.39及0.19μg/ml的浓度加到各个培养孔中, 同时每种细胞并设几孔作为空白对照。于37℃, 5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 每天观察。同步做鸡胚成纤维细胞(CEF)阴性对照。

## 2 结果与讨论

### 2.1 甘薯糖蛋白提取

从图1三种不同浓度沉淀的粗蛋白样品的Sephadex G-150洗脱曲线中可以看出, 50%的乙醇沉淀的级分中含有既具有蛋白质特征(280nm有吸收, 又具有糖性质(与苯酚-硫酸反应后在490nm有吸收)的组分——糖蛋白。

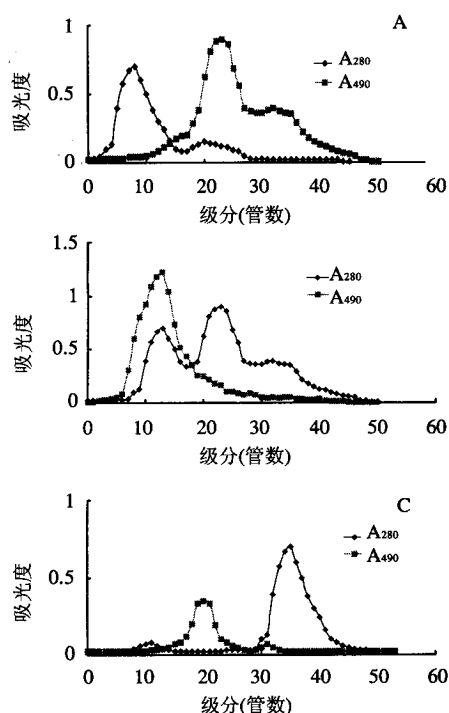
### 2.2 Ames 实验

表1 甘薯糖蛋白的Ames实验结果(TA100菌株)  
Table 1 Ames test of sweet potato glycoprotein (TA 100 strain)

样品	剂量(μg/皿)	活菌数(皿)	菌落数(皿)	RMA (%)	PI (%)
空白	0	126 ± 9	1371 ± 62	100	0
QL-1	40	123 ± 11	1207 ± 101	90.2	9.8
	200	120 ± 5	1041 ± 51	79.7	20.3
	1000	131 ± 8	790 ± 101	55.4	44.6*
	5000	123 ± 8	564 ± 85	42.1	57.9**
QL-2	40	130 ± 12	1320 ± 75	93.3	6.7
	200	125 ± 9	1193 ± 93	87.7	12.3
	1000	119 ± 11	962 ± 83	74.3	25.7*
	5000	121 ± 8	600 ± 90	45.6	54.4**

注 \* p<0.05 \*\* p<0.01 (Student's t-test)。

表1为甘薯糖蛋白的Ames实验结果, 可以看出, 分别来自甘薯B和甘薯S的糖蛋白GP-B和GP-S都具有



A--25%乙醇沉淀; B--50%乙醇沉淀; C--75%乙醇沉淀

图1 甘薯糖蛋白提取物Sephadex G-150柱层析图谱

Fig.1 Chromatogram of extracts of sweet potato glycoprotein on Sephadex G-150

明显的抑制叠氮钠致回复突变的能力,且抗突变作用随剂量的增大而加强。

### 2.3 甘薯糖蛋白对COS-1、SHG-44、SKOV<sub>3</sub>、CEF细胞增殖的影响

甘薯糖蛋白以不同浓度加到COS-1、SHG-44、SKOV<sub>3</sub>和CEF细胞培养基中,在体外可以明显地抑

制COS-1、SHG-44、SKOV<sub>3</sub>细胞增殖,而不抑制CEF细胞地增殖。甘薯糖蛋白对COS-1、SHG-44、SKOV<sub>3</sub>细胞的抑制作用呈现剂量依赖性,最小抑制量为1.5 μg/ml。COS-1、SHG-44、SKOV<sub>3</sub>细胞在甘薯糖蛋白的作用下,在第8天出现部分细胞死亡,第10d起最小抑制剂量以上剂量的孔中所有细胞死亡。而每种细胞的空白对照均没有出现细胞死亡。

### 3 结论

甘薯糖蛋白用于治疗肿瘤尚未见报道。本研究使用甘薯糖蛋白提取物对体外培养的SHG-44和SKOV<sub>3</sub>进行的抑制实验,发现甘薯糖蛋白可以杀死体外培养的SHG-44、SKOV<sub>3</sub>瘤细胞,并对体外培养的正常细胞(如CEF细胞)没有作用,说明甘薯糖蛋白杀死体外培养细胞有一定的特异性,进一步的工作将建立合适的动物模型,进行甘薯糖蛋白体内抗肿瘤作用的研究。

### 参考文献:

- [1] 马代夫. 世界甘薯生产的发展与预测[J]. 世界农业, 2001, (1): 17-19.
- [2] 杨立明, 陈赐民. 浅谈甘薯综合开发利用[J]. 国外农学-杂粮作物, 1995, (2): 44-45.
- [3] 周玲. 甘薯与保健[J]. 中国食物与营养, 1998, (6): 47-48.
- [4] Jain AK, Shimol K, Nakamura Y, et al. Crude tea extracts decreases the mutagenic activity of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine invitro and in intragastric tract of rats[J]. Mutation Research, 1989, 210: 1-8.
- [5] Huei Lee, Jung-Yaw Lin. Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine [J]. Mutation Research, 1988, 204: 229-234.



## 可以吃的快餐盒首现哈尔滨

用玉米、淀粉生产的淀粉基生物全降解餐盒在哈尔滨问世,由于其全降解和无毒、无害、甚至可以食用,不但可以远离“白色污染”,更可以使市民远离日益泛滥的“毒餐盒”。

据介绍,淀粉基生物全降解材料及制品,采用高分子淀粉及衍生物为基料,淀粉含量最高可达80%,并辅之以可完全降解的生物添加剂加工而成,这种材料无毒、无害、无异味、防火、防油、抗冷热(-20℃至150℃),已经成为国家发明专利产品。

据研发、生产这种新型环保材料的高科技公司相关负责人介绍,淀粉基生物全降解材料不仅可以应用于食品行业,同时在农林行业、汽车行业、医药行业也有广泛的应用,通过研发,今后还可应用到日用品、城市绿化、家用电器、IT等多种行业中。