

三叶半夏凝集素 C 端结构域的可溶表达及其活性研究

许韶威^a, 刘冰颖^b, 周 炜^a, 高 永^a, 杨支力^a, 吕正兵^c, 徐 涛^b

(浙江理工大学 a. 生命科学学院生物工程研究所; b. 启新学院; c. 生命科学学院生物化学研究所, 杭州 310018)

摘 要: 利用 pET-32-SUMO 表达载体在大肠杆菌中可溶表达三叶半夏凝集素 C 端结构域(P-D2), 并研究其凝血活性、糖结合特异性以及肿瘤抑制活性。实验结果表明, P-D2 蛋白的产量为 5 mg/L。该蛋白具有凝集小鼠红细胞的活性, 可以被 D-甘露聚糖抑制, 但不能被 D-乳糖、D-葡萄糖、D-麦芽糖抑制。P-D2 蛋白的体外抗肿瘤活性实验表明其对肝癌细胞 Bel-7404 以及结肠癌细胞 SW-620 都有良好的抑制作用。凋亡现象观察实验发现 P-D2 蛋白可以诱导癌细胞 Bel-7404 的凋亡。这是首次在大肠杆菌表达系统中表达了可溶的半夏凝集素 C 端结构域, 为其他凝集素的可溶表达提供了新的选择。

关键词: P-D2; 凝血活性; SUMO; Hoechst 染色; 抗肿瘤活性

中图分类号: Q816 **文献标志码:** A

0 引 言

凝集素是一类广泛存在于动植物中, 可以特异性结合糖基的非免疫来源的糖蛋白或者蛋白^[1-3]。凝集素这种糖结合特异性的能力, 不仅赋予了凝集素凝血^[1]、抗肿瘤^[3]、杀虫等生理特性, 也使得其在现代生物研究中有很多的应用。如探索癌变过程中癌细胞表面的糖蛋白变化^[4], 或者与一些生物素、荧光素、纳米颗粒等结合, 可用于电镜或光镜水平的免疫细胞学研究^[5]等。半夏凝集素(PTA)是从中药半夏块茎中分离得到的一种活性蛋白^[6], 可以凝集兔血细胞、鼠血细胞, 但不能凝集人血细胞^[7], 对多种肿瘤细胞如卵巢癌、结肠癌、肝癌等都有比较好的抑制效果, 是一类发展前景比较好的潜在抗肿瘤药物。在以往的凝集素表达研究中, 研究者选用了原核表达系统以及家蚕杆状病毒表达系统成功地表达了半夏凝集素^[2,8], 但仍存在表达产物为包涵体、纯化不易、表达周期过长、不适宜工业化生产等问题。

SUMO (small ubiquitin related modifier, 小泛素相关修饰物) 是一类广泛的存在各种真核细胞中

的小分子泛素样修饰蛋白, 在调节如 RNA 转录、蛋白的核质运输等多种生理活动中起着重要作用^[9]。有报道指出, 一些难表达的蛋白可通过使用 SUMO 融合表达系统成功地表达^[10]。SUMO 能增加重组蛋白溶解性, 促进其正确折叠^[11], 且 SUMO 蛋白酶可以高效无损切开融合蛋白, 并不影响表达的蛋白的活性。这使得 SUMO 融合表达系统在蛋白表达领域应用越来越广泛。

半夏凝集素是由两个相同的 N 端结构域和两个相同的 C 端结构域组成的同源二聚体^[7]。本研究首次采用人源 SUMO 融合表达系统成功地表达了可溶的三叶半夏凝集素 C 端结构域(P-D2)。这是首次表达获得了可溶的三叶半夏凝集素 C 端结构域。

1 材料与方法

1.1 实验材料

PCR 所需的试剂 (Taq 聚合酶、MgCl₂、10 × buffer、dNTP)、SanPrep 柱式系列试剂盒 (PCR 产物纯化试剂盒、胶回收试剂盒、小量质粒提取试剂

收稿日期: 2013-12-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772712), 大学生创新项目(201310338122)

作者简介: 许韶威(1988-), 男, 浙江衢州人, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。

通信作者: 徐 涛, 电子邮箱: pkuxt@aliyun.com

盒)、限制性内切酶(*Bam*H I 和 *Not* I)、IPTG、酵母提取物、蛋白胨、SDS-PAGE 所需试剂、Ni-NTA Sefinose TM Resin 等均购自上海生工。pEasyT1-*pta* 质粒存储于浙江理工大学生物工程研究所。质粒 pET-32-SUMO 以及 SUMO 蛋白酶由浙江理工大学生物化学研究所王涛惠赠。其他所需未提及的试剂和耗材均购自杭州兰堡生物有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 融合蛋白表达载体 pET-32-SUMO-D2 的构建与鉴定

以质粒 pEasyT1-*pta*(由本实验室构建,半夏凝集素的序列保存于内)为模版,以 P1、P2(表 1)为引物,进行 PCR 扩增反应。扩增产物经凝胶电泳鉴定无误后,割胶回收。回收产物以及质粒 pET-32-SUMO 分别用 *Bam*H I 和 *Not* I 进行双酶切,同样经凝胶电泳鉴定无误后,割胶回收酶切片段,进行连接。将连接产物转化到 DH5 α 感受态细胞中,挑取阳性克隆进行测序。

表 1 三叶半夏凝集 C 端结构域基因
序列引物序列

引物名称	序列(加粗下划线的为酶切位点)
P1	5'-TATATAGGATCCAACATCCCTGTCAC CGACA-3' <i>Bam</i> H I
P2	5'-TATATATGCGCCGCTAGTTGGTCT CAAAGAT-3' <i>Not</i> I

1.2.2 SUMO-D2 融合蛋白的表达以及纯化

将测序正确的重组质粒 pET-32-SUMO-D2 转化至表达菌株 BL21(DE3),挑选阳性克隆进行诱导培养。以 1%(V/V)的接种量接种到含氨苄青霉素(100 μ g/mL) LB 培养基中,37℃ 培养 6 h 后,以 1:1 000(V/V)添加诱导剂 IPTG,继续诱导培养,诱导温度为 28℃,12 h 后分别取诱导以及未诱导菌体进行超声破碎,离心取上清过镍柱纯化。

1.2.3 SUMO-D2 融合蛋白的酶切以及纯化

利用 SUMO 蛋白上有 His 标签,而目标蛋白上没有标签,因此可以通过镍柱进行分离纯化。收集得到的融合蛋白经 BCA 测定浓度后,加入适量的 SUMO 蛋白酶(按 0.1%的 m/m 加入)。混匀后,加入到透析袋中,4℃ 过夜透析,透析缓冲液为 PBS。透析完毕后,取透析袋里的液体进行 Ni-NTA 柱亲和层析,直接收集上样后的流出液。流出液用超滤管进行浓缩,浓缩到目标浓度后,-80℃ 冻存直至使用。

1.2.4 P-D2 蛋白凝血活性实验以及糖结合特异性实验

凝血活性实验参照 Luo^[12] 所示的方法。终浓度为 2、4、6、8、10 μ g/mL P-D2 蛋白溶液分别与适量的准备好的小鼠红细胞混匀,静置 1 h 后,在倒置显微镜下观察实验结果。对照组则加入等量的 PBS。

糖结合特异性实验参照 Zhou^[7] 所示的方法。选用的糖类为 D-甘露聚糖、D-乳糖、D-葡萄糖、D-麦芽糖。

1.2.5 P-D2 蛋白的体外抗肿瘤活性

体外抗肿瘤活性实验参照黄越^[13] 所示的方法。采用 MTT 法,选用的肿瘤细胞系为 Bel-7404 和 SW-620。采用梯度稀释在超净台内获得一系列无菌梯度浓度的 P-D2 溶液,浓度分别为 800、400、200、100、50 μ g/mL,稀释的 Buffer(50 mM NaCl, 50 mM Tris)同样过滤除菌。收集对数期细胞,每孔加入 80 μ L 细胞。接着 5% CO₂, 37℃ 孵育。至细胞单层铺满孔底,每孔加 20 μ L 加入 P-D2 蛋白溶液,5 个梯度,5 个复孔。接着孵育 48 h,倒置显微镜下观察细胞状态。之后每孔加入 20 μ L MTT 溶液(5 mg/mL),继续培养 4 h。小心去掉培养液,小心吸去孔内培养液,倒扣晾干。每孔加入 150 μ L 二甲基亚砷,置摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪 495 nm 处测量各孔的吸光值(OD₄₉₅)。

细胞存活率 = (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) \times 100%

1.2.6 Hoechst 33342 染色观察肿瘤细胞凋亡现象

肿瘤细胞凋亡现象观察实验参照 Zhou^[7] 所示的方法。选用肝癌细胞为 Bel-7404,荧光染料为 Hoechst 33342。经 P-D2 蛋白处理过的细胞培养液,每孔加入 1 μ L Hoechst 33342 溶液(1 mg/mL),继续培养 1 h。去掉培养液后,在倒置荧光显微镜下,观察结果并拍照。

2 结果与讨论

2.1 SUMO-D2 融合蛋白表达以及分离纯化

融合蛋白 N 端带有 6 \times His 标签用于镍柱纯化。纯化图如图 1 所示。箭头所指的即为 SUMO-D2 融合蛋白。所有样品都是超声破碎后离心所得。图 1 中箭头所指的就是 SUMO-D2 蛋白,大小为 32 kD。从图中可得,该纯化步骤所得的 SUMO-D2 的纯度在 95%以上。

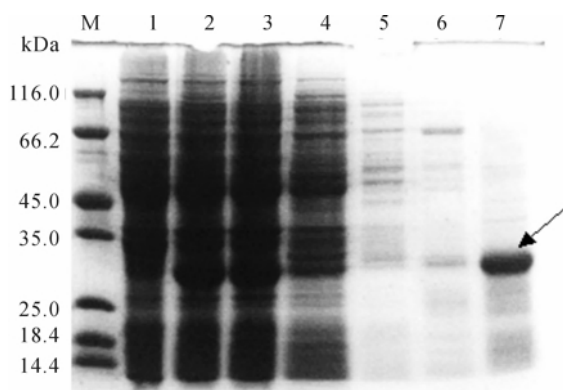


图1 SUMO-D2 融合蛋白镍柱纯化

M:蛋白 marker;1:对照组上清液;2以及3:诱导组上清液;4:最终过柱子流出液;5:结合缓冲液洗脱液;6:杂质洗脱缓冲液(100 mM imidazole, 500 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, pH=8.0)洗脱液;7:洗脱缓冲液(300 mM imidazole, 500 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, pH=8.0)洗脱液

2.2 SUMO-D2 融合蛋白酶切以及 P-D2 分离纯化

因为 SUMO 蛋白 N 端带有 His 标签,而 P-D2 没有带 His 标签,故上样过镍柱时, SUMO 蛋白以及未被切开的 SUMO-D2 融合蛋白都会结合在柱子上,而 P-D2 则可以顺利地流下来,收集上样流下液即可以获得 P-D2 蛋白,最后纯化得到的 P-D2 蛋白产量为 5 mg/L。尽管 SUMO 分子质量只有 10 kD,但在 SDS-PAGE 电泳时大小为 20 kD 左右^[14-15]。这与图 2 中孔道 2 箭头所示的相符。P-D2 蛋白大小为 12 kD 左右,也与图中箭头指出的相符。

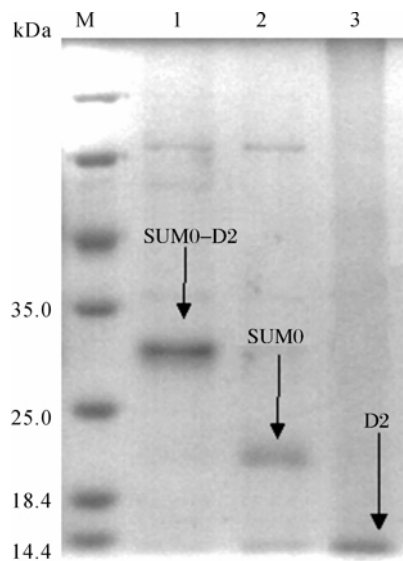


图2 P-D2 蛋白镍柱纯化

M:蛋白 marker;1:SUMO-D2 融合蛋白溶液;2:洗脱缓冲液(300 mM imidazole, 500 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, pH=8.0)洗脱液;3:上样过柱液

2.3 蛋白凝血活性实验以及糖结合特异性实验

过滤除菌的 P-D2 蛋白经梯度稀释法稀释出一系列浓度梯度,加样到预先准备在 96 孔板中的血细胞中,倒置显微镜下观察实验结果,从而获得最小凝集血细胞的浓度,如图 3 所示。图 3A 为对照组(PBS 处理),B 为实验组(6 $\mu\text{g/mL}$ P-D2 处理)。实验结果表明,当 P-D2 的浓度降到 6 $\mu\text{g/mL}$ 时,可以观察到一定的凝集效果。

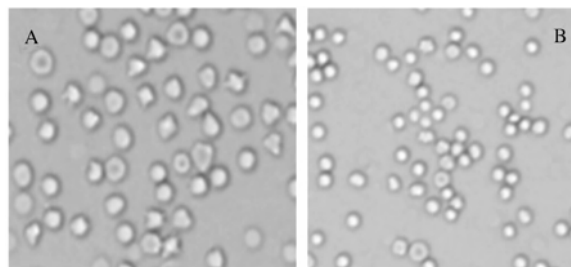


图3 P-D2 蛋白凝血活性实验

糖结合特异性实验是建立在凝血实验基础上的。当凝集素和特定的一些单糖或者多糖结合后,就观察不到凝血现象。实验结果表明,P-D2 蛋白可以和 D-甘露聚糖结合反应,观察到最低的结合浓度为(0.63 \pm 0.05) mM/L,而 D-乳糖、D-葡萄糖、D-麦芽糖浓度增加到 300 mM/L 也能观察到血凝现象,说明 D-乳糖、D-葡萄糖、D-麦芽糖不和 P-D2 反应。

2.4 P-D2 蛋白体外抗肿瘤活性实验

体外抗肿瘤活性实验中,P-D2 蛋白的终浓度呈递增梯度(10、20、40、80、160 $\mu\text{g/mL}$),处理时间为 48 h,未加样处理过的癌细胞被设置为对照,即为存活 100%的。结果显示(图 4),P-D2 对这两种细胞都表现出良好的抑制其增殖的效果,对两者的抑制趋势也是相同的。存活曲线同样也表明 P-D2 对这两种癌细胞的抑制效果具有浓度依赖性,即在一定浓度范围内,随着加样浓度的增加,抑制效果也同样增加。其中 P-D2 蛋白对肝癌 Bel-7404 的抑制效果明显优于对结肠癌 SW620($P<0.05$)。

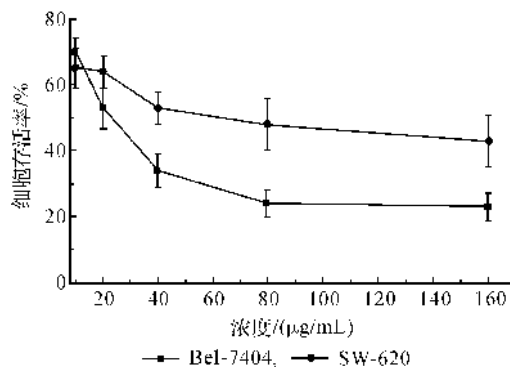


图4 P-D2 蛋白体外抗肿瘤活性实验

2.5 Hoechst 33342 染色观察肿瘤细胞凋亡现象

P-D2 蛋白的终浓度呈递增梯度(10、20、40、80、160 $\mu\text{g/mL}$),处理时间为 24 h 和 48 h,对照组 PBS 处理。加样处理 48 h 后,在加荧光染料观察前,倒

置显微镜观察细胞状态,结果(图 5)显示,P-D2 蛋白处理过的细胞,出现明显的变圆收缩,且随着蛋白浓度的增加,作用效果更明显。这表明了 P-D2 蛋白对肝癌细胞 Bel-7404 的抑制效果具有浓度依赖性。

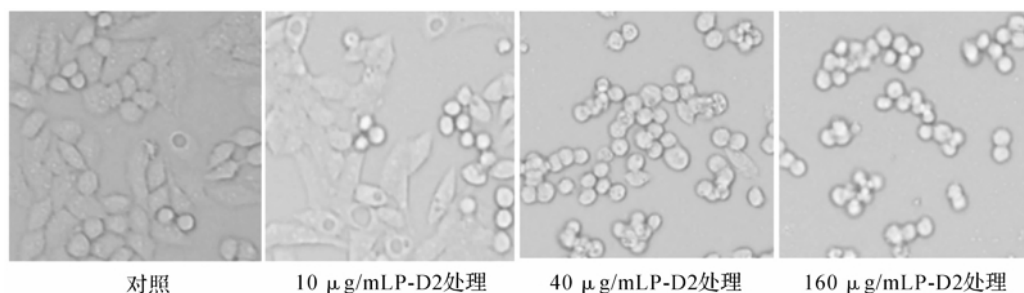


图 5 Bel-7404 细胞形态学的改变

典型的凋亡特征是形态学上出现染色质聚集,呈月牙状,细胞皱缩,胞浆致密,直至出现凋亡小体。从形态学上看,Hoechst 33342 染色下,正常的细胞淡蓝色呈圆形,内有较深的蓝色颗粒。而凋亡的细胞呈现亮蓝色,或者核呈分叶状、边集、碎片状。如图 6 所示,处理时间为 24 h 的细胞,大多数刚开始

出现凋亡,即处在凋亡早期。随浓度升高,部分细胞呈现凋亡中后期的特征。处理时间为 48 h 的细胞,在较低浓度下,部分细胞呈现凋亡中后期的特征,随浓度升高,处在凋亡晚期的细胞也越多,同时细胞密度也越低。而对照组正常,说明了 P-D2 诱导了 Bel-7404 细胞的凋亡。

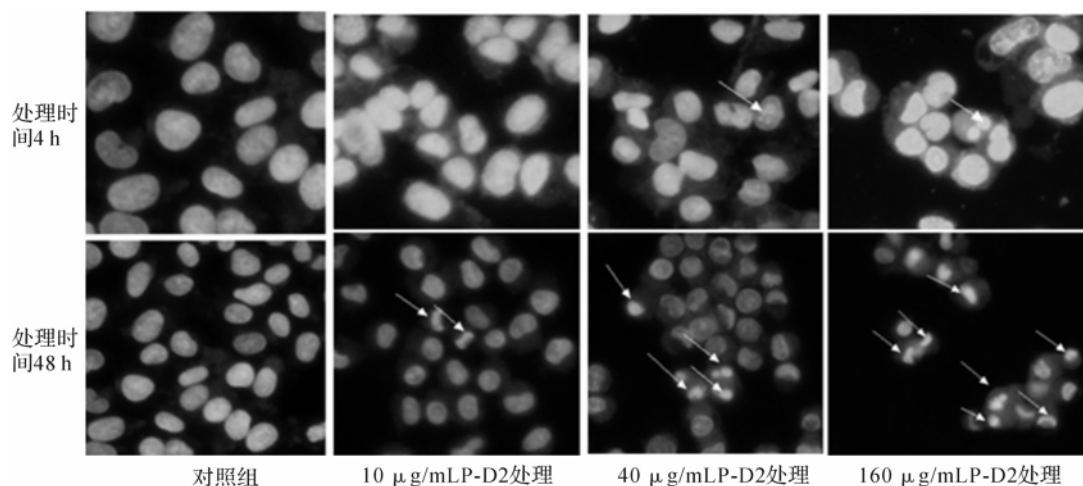


图 6 Bel-7404 细胞核染实验

2.6 讨论

尽管已经从植物、无脊椎动物中提取了成千上百种的凝集素,用于研究其生物学上的性状或者生物学上的应用^[3,16],但很少有研究凝集素的工程菌表达。潜在的原因是,凝集素的表达仍是一个难点或者天然的凝集素获取更加经济、简便。孙素荣等^[7]的研究就发现优化后的新疆黄精凝集素序列才能在酵母表达系统内表达。半夏凝集素作为甘露聚糖凝集素家族的一份子,对众多的肿瘤细胞有较好的抑制增殖的作用以及在研究甘露聚糖受体有一定贡献。迄今为止,半夏凝集素已经在原核表达系统以及家蚕杆状病毒表达系统里成功表达出来^[2,8],

但仍存在表达后是包涵体或者是表达周期过长、纯化不易等诸多难以解决的问题。本研究首次利用 SUMO 融合系统成功地表达了可溶的半夏凝集素 C 端结构域蛋白,即 P-D2 蛋白,解决了以往半夏凝集素表达不可溶的问题。

凝血特性是凝集素蛋白的本质特性。不同的凝集素所能凝结的红细胞类型也不一样。而能凝集人红细胞的凝集素相对更少,将近十分之一的豆科凝集素可以专一地凝集人的某一种红细胞。利马豆和野豌豆的簇绒的提取物,只能凝集人 A 型红细胞,而不能凝集 B 型或者 O 型的。豆科灌木植物加纳谷物的提取物,更专一的凝集 B 型。凝集素之所以

可以凝集红细胞,是因为凝集素可以和细胞表面的一些糖蛋白发生特异性的结合。这也使得凝集素不仅仅可以凝集红细胞,对淋巴细胞、某些细菌以及真菌同样有沉降效果^[1]。半夏凝集素对兔血,小鼠血都有比较好的凝集效果,但对人血没有凝集效果。在P-D2蛋白凝血活性研究中,P-D2蛋白在较低的浓度($6\text{ }\mu\text{g/mL}$)对小鼠红细胞表现出较强的凝集效果。凝集素这种糖结合特异性的特点,在P-D2蛋白糖结合特异性实验中也得到体现。P-D2蛋白可以和D-甘露聚糖发生结合反应,观察到最低的结合浓度为 $(0.63\pm 0.05)\text{ mM/L}$,而D-乳糖、D-葡萄糖、D-麦芽糖未能发生结合反应。

大量研究表明凝集素对各类肿瘤细胞都有较好的抗肿瘤活性^[18]。其原因在于凝集素可以特异性地结合某些癌症细胞表面的糖类,干扰其正常生长。这使得同种凝集对不同的肿瘤细胞作用效果也不同。P-D2蛋白抗肿瘤活性实验中表明,P-D2蛋白对着Bel-7404以及SW620这两种癌细胞都表现出良好的抑制其增殖的效果,其抑制效果具有浓度依赖性。但对Bel-7404癌细胞的作用效果优于SW620细胞。其原因是这两种癌细胞表面的糖蛋白种类不同,而P-D2蛋白抑制肿瘤细胞增殖的原因可能是其与癌细胞表面的糖蛋白发生反应,从而中断癌细胞增殖的某些信号通路。核染实验中发现,P-D2蛋白可以引起Bel-7404细胞的凋亡。凋亡程度呈现时间依赖和浓度依赖。目前的研究表明凝集素所引起的凋亡机制可分为两种,一种是当凝集素与细胞膜上的受体结合后,可激活caspase途径,如蒙大拿铁线莲凝集素可激活caspase途径,从而诱导HepG2和HeLa等肿瘤细胞发生凋亡^[19],另一种是通过内吞作用激活线粒体途径从而诱发凋亡^[5],如伴刀豆凝集素可促进小鼠巨噬细胞(PU5-1.8)中的线粒体的聚集和细胞色素C的释放从而诱导凋亡^[19]。但半夏凝集素引发凋亡的机制尚未得到研究,其引发凋亡的分子机制需要进一步的研究才能确定。

3 结 论

采用SUMO融合表达系统成功地表达了可溶并有活性的三叶半夏凝集素C端结构域,即P-D2蛋白。P-D2蛋白产量为 5 mg/L 。凝血活性实验表明P-D2的浓度降到 $6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时,可以观察到明显的凝集效果。糖结合特异性实验表明P-D2蛋白可以和D-甘露聚糖结合反应,观察到最低的结合浓度

为 $(0.63\pm 0.05)\text{ mM/L}$,而D-乳糖、D-葡萄糖、D-麦芽糖浓度增加到 300 mM/L 也不能发生结合反应。P-D2蛋白对Bel-7404以及SW620这两种癌细胞都表现出良好的抑制其增殖的效果,其抑制效果具有浓度依赖性。核染实验中发现,P-D2蛋白可以引起Bel-7404细胞的凋亡,凋亡程度随蛋白作用时间和浓度的增加而增加。

参考文献:

- [1] Rudiger H, Gabius H J. Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications [J]. Glycoconjugate Journal, 2001, 18(8): 589-613.
- [2] Xu T, Wang B, Wang L, et al. Pinellia ternata agglutinin produced in Bombyx mori cells exhibits bioactivity [J]. Acta Biochimica Polonica, 2012, 59(2): 231-236.
- [3] Liu B, Bian H J, Bao J K. Plant lectins: potential antineoplastic drugs from bench to clinic [J]. Cancer Letters, 2010, 287(1): 1-12.
- [4] Sharon N, Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules [J]. Glycobiology, 2004, 14(11): 53R-62R.
- [5] 鲍锦库. 植物凝集素的功能 [J]. 生命科学, 2011, 23(6): 533-340.
- [6] Liu X, Tian X, Liu T, et al. Disclosure of the tuberous lectin composed of homogeneous tetramers in pinellia pedatisceda schott [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010, 162(4): 1214-1223.
- [7] Zhou W, Huang Y, Xu S, et al. Prokaryotic expression and bioactivity analysis of N-terminus domain of Pinellia ternata agglutinin using alkaline phosphatase signal peptide [J]. Protein Expression and Purification, 2013, 89(1): 84-91.
- [8] Lin L, Lu J, Zeng H, et al. Molecular cloning and characterization of a mannose-binding lectin gene from Pinellia cordata [J]. Molecular Biology Reports, 2008, 35(4): 641-647.
- [9] 姜媛媛, 尹成凯, 李晋南, 等. 利用SUMO融合系统高效表达可溶性重组蛋白的研究 [J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(10): 57-62.
- [10] Kawabe Y-i, Seki M, Seki T, et al. Covalent modification of the Werner's syndrome gene product with the ubiquitin-related protein, SUMO-1 [J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(28): 20963-2096.
- [11] 侯玉婷, 李晋南, 任桂萍, 等. 人FGF-21基因的克隆表达及其调节脂肪细胞糖代谢的活性 [J]. 遗传, 2010, 32(6): 583-587.
- [12] Luo Y, Xu X, Liu J, et al. A novel mannose-binding

- tuber lectin from *Typhonium divaricatum* (L.) Decne (family Araceae) with antiviral activity against HSV-II and anti-proliferative effect on human cancer cell lines [J]. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, 40(3): 358-367.
- [13] 黄越, 陈文铎, 周炜, 等. 复制缺陷型腺病毒 PCA 的构建及其对结肠癌细胞生长的影响 [J]. *浙江理工大学学报*, 2013, 30(6): 901-905.
- [14] Zuo X, Li S, Hall J, et al. Enhanced expression and purification of membrane proteins by SUMO fusion in *Escherichia coli* [J]. *Journal of Structural and Functional Genomics*, 2005, 6(2-3): 103-111.
- [15] Butt T R, Edavettal S C, Hall J P, et al. SUMO fusion technology for difficult-to-express proteins [J]. *Protein Expression and Purification*, 2005, 43(1): 1-9.
- [16] 张利芬, 白素芬, 李欣. 烟夜蛾血淋巴凝集素活性的研究 [J]. *河南农业大学学报*, 2013, 47(3): 313-317.
- [17] 孙素荣, 张智, 李素丽, 等. 新疆黄精凝集素基因的克隆序列分析和表达 [J]. *生物工程学报*, 2008, 24(3): 387-394.
- [18] Valentiner U, Fabian S, Schumacher U, et al. The influence of dietary lectins on the cell proliferation of human breast cancer cell lines in vitro [J]. *Anticancer Research*, 2003, 23(2B): 1197-1206.
- [19] Peng H, Lv H, Wang Y, et al. *Clematis montana* lectin, a novel mannose-binding lectin from traditional Chinese medicine with antiviral and apoptosis-inducing activities [J]. *Peptides*, 2009, 30(10): 1805-1815.

Study on Soluble Expression and Bioactivity of C-Terminus Domain of *Pinellia Ternata* Agglutinin

XU Shao-wei^a, LIU Bing-ying^b, ZHOU Wei^a, GAO Yong^a, YANG Zhi-li^a, LÜ Zheng-bing^c, XU Tao^a

(a. Biological Engineering Research Institute, b. Qixin College, c. Biological Chemistry Research Institute, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: pET-32-SUMO expression vector was used for soluble expression of C-terminus domain of *pinellia ternata* agglutinin (P-D2) and study on hemagglutination activity, saccharides binding specificity and tumor-inhibition activity. The results show that, the output of P-D2 protein is 5 mg/L. This protein has the activity to agglutinate erythrocyte of the mice and can be inhibited by D-mannan but not by D-lactose, D-glucose and D-maltose. The experiment of antitumor activity in vitro of P-D2 protein indicates it has good inhibiting effect on hepatoma carcinoma cell Bel-7404 and colon cancer cell SW-620. It is found through observation of apoptosis phenomenon that P-D2 can induce apoptosis of Bel-7404. Soluble C-terminus domain of *pinellia ternata* agglutinin is expressed in *escherichia coli* expression system the first time. This provides new choice for soluble expression of other agglutinin.

Key words: P-D2; hemagglutination activity; SUMO; hochest dyeing; antitumor activity

(责任编辑: 许惠儿)