

螺旋藻 POD、CAT 和 SOD 同工酶的研究*

栗淑媛¹ 乔辰² 扈瑞平¹ 高寒春¹ 刘燕¹

(内蒙古师范大学生物系 呼和浩特 010022)¹ (内蒙古农业大学农学院 呼和浩特 010019)²

摘要: 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法对毛乌素沙地碱湖的钝顶螺旋藻 *S₃* 和鄂尔多斯螺旋藻 *S₄* 与国外引进的钝顶螺旋藻 *S₁* 和极大螺旋藻 *S₂* 的 POD、CAT 和 SOD 同工酶进行了比较研究。结果表明: 4 个样品的 3 种酶同工酶带数目不同, 依次是 *S₄* > *S₃* > *S₁* > *S₂*; *S₃* 和 *S₄* 酶带数多, 对环境适应性强, 进化程度较高。螺旋藻不同种间的酶谱相似系数为 0.53 ~ 0.80, 有较近的亲缘关系; 原产地不同的钝顶螺旋藻 *S₁* 和 *S₃* 间酶谱相似系数最高为 0.86, 表明螺旋藻种内差异 < 种间差异。

关键词: 螺旋藻 (节螺旋藻), 同工酶, 相似系数

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2004) 01-0082-04

A STUDY ON ISOENZYME OF POD, CAT AND SOD FROM SPIRULINA (ARTHROSPIRA)

LI Shu-Yuan¹ QIAO Chen² HU Rui-Ping¹ GAO Han-chun¹ LIU Yan¹

(Department of Biology, Inner Mongolia Normal University, Huhhot 010022)¹

(Department of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019)²

Abstract: A comparative study on isoenzymes of peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in *Spirulina platensis* (*S₃*), *S. erdosensis* (*S₄*) from alkaline lake in Mo Us Sandy Land and the imported *S. platensis* (*S₁*) and *S. maxima* (*S₂*) as well were made by means of polyacrylamide gel electrophoresis. The results showed that number of the isoenzymes belts of this 3 enzymes of the 4 samples shows following tendency: *S₄* > *S₃* > *S₁* > *S₂*. Within the most enzyme belts, the *S₄* and *S₃* were the most adaptable and evolutionary; the similarity coefficient of zymogram between different species is 0.53 ~ 0.80 and shows close relationship among them; the similarity coefficient of zymogram between *Spirulina platensis* *S₁* and *S₃* from different original is 0.86. It means that difference within the species is smaller than that between species.

Key words: *Spirulina* (*Arthrospira*), Isoenzyme, Similarity Coefficient

螺旋藻是一类原核生物, 属蓝藻门 (Cyanophyta)、段殖藻目 (Hormogonales)、颤藻科 (Oscillatoriaceae)、螺旋藻属 (*Spirulina*)^[1]。螺旋藻具有极为丰富的营养成分和生理活性物质, 随着其开发利用的深入, 基础研究也不断地加强。但对同工酶的研究很少, 仅见个别报道^[2]。生物体中的保护酶类超氧化物歧化酶 (SOD, EC 1.15.1.1) 能有效清除超氧阴离子自由基、过氧化氢酶 (CAT, EC 1.11.1.6) 和过氧化物酶 (POD, EC 1.11.1.7) 能把细胞代谢产生的 H_2O_2 分解, 避免了 H_2O_2 在体内积累, 均具有解毒作用^[3]。我们以毛乌素沙地碱湖的和国外引进的螺旋藻为材料, 对这 3 种酶的同工酶进行

* 国家自然科学基金资助项目 (No.39960062)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No.39960062)

内蒙古自然科学基金资助项目 (No.990303-4)

收稿日期: 2003-02-05, 修回日期: 2003-03-20

了比较研究,试图通过同工酶分析来探讨不同物种和同一物种不同种群间的差异及亲缘关系,从而为其进化地位提供一些分子水平上的依据,同时丰富毛乌素沙地碱湖螺旋藻的基础研究资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料见表1。

表1 实验材料一览表

样品代号	物 种	原 产 地	来 源
S ₁	钝顶螺旋藻 <i>Spirulina (Arthrospira) platensis</i>	非洲 Chad 湖	南京大学生物科学与技术系
S ₂	极大螺旋藻 <i>S. (A.) maxima</i>	墨西哥 Sosa Texcoco 湖	中国农业科学院
S ₃	钝顶螺旋藻 <i>S. (A.) platensis</i>	毛乌素沙地巴彦淖尔碱湖	内蒙古农业大学
S ₄	鄂尔多斯螺旋藻 <i>S. (A.) endosensis</i>	毛乌素沙地巴彦淖尔碱湖	内蒙古农业大学

注:下文样品代号以此表为准

1.2 方法

1.2.1 藻的培养:采用 Zarrouk 培养液在室温自然光照下通气培养。

1.2.2 酶液制备:准确称取处于对数生长期新鲜的藻 0.5g,置于预冷的研钵中,加入少许 pH 8.3 的 Tris-甘氨酸电极缓冲液及石英砂,在冰浴中充分研磨。4℃下离心 10min (RCF=7000g),取上清液备用。

1.2.3 电泳:采用不连续、垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳法。分离胶浓度为 7%;进样量 30μL;初始电压 80 V,1 h 后加至 220 V,电泳 4~5 h,至少重复 3 次。

1.2.4 染色:POD 采用醋酸-联苯胺染色法^[4];CAT 采用铁染色法^[5];SOD 采用 NBT 光还原法^[6]。

1.2.5 酶谱相似系数的计算:按公式: $S = 2w / (a + b)$, 其中 a、b 和 w 分别代表 a 样品的酶带数、b 样品的酶带数和 a、b 两样品共同的酶带数^[7]。

2 结果与讨论

2.1 POD 同工酶

螺旋藻 POD 同工酶有 4 种图谱类型,共有 8 条酶带,其中 R_m 值为 0.97、0.89、0.35 和 0.28 为 4 个样品共有。此外, S₃ 和 S₄ 还共有 R_m 值为 0.82 和 0.66 的酶带; R_m 值为 0.32 的是 S₁ 和 S₃ 所共有; R_m 值为 0.50 的为 S₄ 特征酶带(图 1)。

2.2 CAT 同工酶

螺旋藻 CAT 同工酶图谱见图 2。其有 3 种图谱类型,其中钝顶螺旋藻 S₁ 和 S₃ 图谱类型相同,螺旋藻 CAT 同工酶图谱未见种内差异。螺旋藻共有 5 条酶带,钝顶螺旋藻 S₁ 和 S₃ 有 R_m 值分别为 0.83、0.75 和 0.66 的 3 条相同的同工酶带,除了 S₁ 的 0.83 和 0.75 的酶带为强带外,其余的均为弱带。S₂ 只有一条 R_m 值为 0.75 的强带。S₄ 有 3 条弱带,其 R_m 值分别为 0.66、0.61 和 0.56。

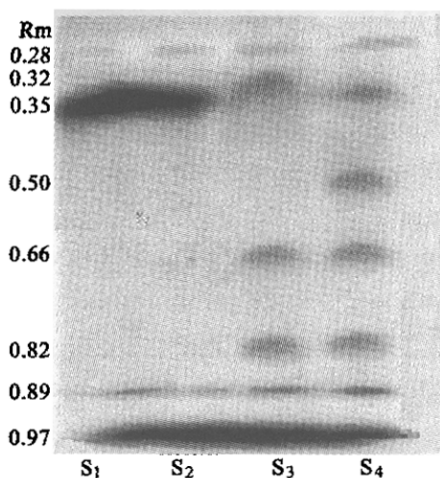


图1 螺旋藻 POD 同工酶图谱

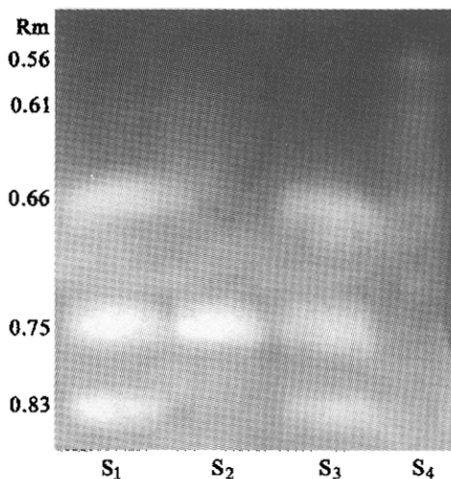


图2 螺旋藻 CAT 同工酶图谱

2.3 SOD 同工酶

螺旋藻 SOD 同工酶有 3 种图谱类型, 其中引进的钝顶螺旋藻 S_1 和极大螺旋藻 S_2 图谱类型相同。SOD 共有 4 条酶带, Rm 值为 0.85 的为 4 个样品共有, S_1 和 S_2 仅有此条酶带。此外 S_3 还有 Rm 值为 0.75 的一条酶带; S_4 有 2 条 Rm 值为 0.80 和 0.74 的酶带 (图 3)。

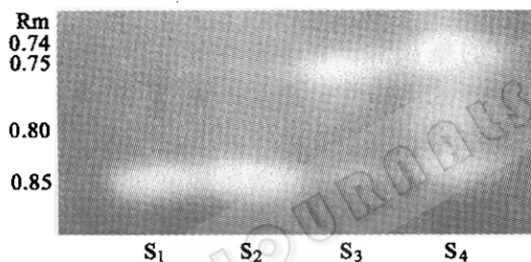


图3 螺旋藻 SOD 同工酶图谱

根据 Cu-Zn-SOD 对 KCN 敏感; Mn-SOD 和 Fe-SOD 对氯仿-乙醇敏感^[8]。用 KCN 处理的与未经任何处理的同工酶图谱完全相同, 说明螺旋藻 SOD 不是 Cu-Zn-SOD; 经氯仿-乙醇处理的无酶带, 至于是 Mn-SOD 还是 Fe-SOD 有待于进一步研究。

2.4 同工酶多态性

从表 2 看出, 螺旋藻 POD 为多态酶, CAT 和 SOD 既存在单态, 也存在多态。POD 酶带数目比 CAT 和 SOD 的多。毛乌素沙地碱湖的两种螺旋藻 S_3 和 S_4 的酶带数目均比引进种的多。按照酶带数越多, 进化程度越高^[8]的观点。推测极大螺旋藻较为原始, Chad 湖的钝顶螺旋藻居中, 内蒙古的两种螺旋藻均为较进化类型。

毛乌素沙地属于典型温带大陆性干旱、半干旱气候区。该地区气温季节、日变化大; 干旱少雨, 蒸发量是降水量的 7~11 倍; 光照充足, 风大沙多^[9]。其碱湖面积小, 受气候影响, 碱湖的水量、pH 值、温度和化学成分等变化都比较大, 螺旋藻生存环境极不稳定。根据 R. H. MacArthur 等的观点^[10], 在稳定环境中的物种称为 k-策略者, 在不稳定环境的物种称为 r-策略者。毛乌素沙地碱湖的螺旋藻应属于 r-策略者, 其保护酶同工酶带数量多且均为多态酶是对不良生存环境的一种适应。

2.5 相似系数与亲缘关系

从表 3 看出, 螺旋藻种间同工酶谱的相似系数为 0.53~0.80, 有较近的亲缘关系; 种内不同生态型间 (Chad 湖的钝顶螺旋藻 S_1 与毛乌素沙地碱湖的 S_3) 的相似系数最高为 0.86, 亲缘关系最近, 说明种内不同生态型间的相似性大于种间的。Chad 湖的钝顶螺旋藻 S_1 与 SosaTexcoco 湖的极大螺旋藻 S_2 的相似系数在种间为最高 (0.80), 二者既

表 2 螺旋藻同工酶酶带数目表

酶	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄
POD	5	4	7	7
CAT	3	1	3	3
SOD	1	1	2	3
Σ	9	6	12	13

表 3 螺旋藻同工酶谱相似系数矩阵表

R	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄
S ₁	1			
S ₂	0.80	1		
S ₃	0.86	0.67	1	
S ₄	0.55	0.53	0.64	1

不是同一物种，生境也不尽相同，原产地的地理位置又相距甚远，但酶谱相似系数较高，原因有待于进一步研究。

致谢 引进的钝顶螺旋藻和极大螺旋藻由曾昭琪教授和陈婉华研究员惠赠，特此致谢。

参考文献

[1] B. 福迪. 罗迪安译. 藻类学. 上海: 上海科学技术出版社, 1980. 24~34.
[2] 邱丽斌, 凌元洁, 谢树莲. 植物研究, 1998, 18 (3): 356~360.
[3] 王沙生, 高荣孚, 吴贯明. 植物生理学. 北京: 中国林业出版社, 1993. 89.
[4] 胡能书, 万贤国. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985. 74.
[5] 董四建. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23 (1): 86~88.
[6] 罗广华, 王爱国, 付爱根. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23 (4): 356~359.
[7] 苏冬梅, 陈书君, 毕方斌. 园艺学报, 2001, 28 (3): 265~267.
[8] Garua A, Tsuneuaki K. Japanese Journal of genetics, 1977, 52: 224~286.
[9] 《伊克昭盟农业区划》编辑委员会. 伊克昭盟农业区划. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1990. 9~105.
[10] 李 博, 杨 持, 林 鹏. 生态学. 北京: 高等教育出版社, 2001. 77~79.

· 科技信息 ·

中风与致病菌

中风 (apoplexy) 是我国常见病、多发病, 其发病率、病死率、致残率和复发率都很高, 这也是世界性三大致死疾病之一。确实, 它的发生与发展严重威胁人类生命安全, 特别是老年患者尤为引人关注, 这是目前人类面临的一个死亡率高的重要疾病, 也是医学上需要不断深入研究的重大课题。

为什么会发生中风病呢? 在重高血压中发生大量脑出血所引发的中风较为常见; 动脉粥样硬化是中风的一个关键诱因; 缺血性中风也是最常见的一种, 它在中风总发病比例中占到 80%~90%。冰岛研究者发现与中风相关的基因叫 PDE4D, 它的微小变化会影响到人患缺血性中风的危险, 该基因编码的磷酸二酯酶所起的作用, 即影响动脉粥样硬化而导致中风之后果。然而, 开发这种酶抑制药物或许有助于防治中风。这些说明中风与基因和酶密切相关的一个方面; 另一方面也发现中风与有害致病细菌有密切关系。在美国, 一家《循环》杂志曾报道, 某些类型的中风可能与导致溃疡病的幽门螺杆菌有关系, 认为它在中风中发挥关键性作用。在患动脉粥样硬化型中风的血液中某些种类的幽门螺杆菌很活跃。一些研究结果认为, 幽门螺杆菌与动脉管壁发炎和动脉损害, 其中包括由动脉粥样硬化引起动脉狭窄所导致的中风有密切关系。当幽门螺杆菌引发胃溃疡或胃癌时, 也不能“忘记”它产生或分泌的细胞毒素在通往脑部的大动脉中似乎危及周围环境更加险恶; 产细胞毒素有关基因 (caq A) 的活跃使幽门螺杆菌生成的毒素更有损于动脉, 它们通过攻击动脉管壁上脆弱的区域, 导致发炎和红肿, 从而进一步限制血流, 并增加中风的几率。因此, 可以说, 产毒素的幽门螺杆菌的活动可增加机体全系统的感染率, 不仅增加动脉粥样化, 而且高感染率会导致血斑块不牢固, 使其破裂, 使血块送入脑部导致局部缺血型中风。

总之, 中风这种脑血管病并非一般, 脑内受损伤、脑动脉栓塞或出血而造成脑内大量血液外渗必然造成中风的严重后果; 中风发生机制尽管也涉及相关基因, 但对致病细菌侵染可能导致中风的新发现, 致使人们更加提高警惕, 预防中风发生带来的悲痛。

(柯 为)