

螺旋藻及其多糖、多糖蛋白提取物对体外癌细胞的抑制作用

INHIBITORY ACTIVITY OF POLYSACCHARIDE AND POLYSACCHARIDE-PROTEIN EXTRACT FROM SPIRULINA PLATENSIS ON PROLIFERATION OF CANCER CELLS

张以芳 段刚 刘旭川

(云南农业大学动物科技学院微生物室 昆明 650201)

关键词 螺旋藻,多糖,多糖蛋白,癌细胞

螺旋藻多糖是螺旋藻的重要生物学活性成分,1991年刘力生等证明它对腹水型肝癌细胞及肉瘤180有杀伤抑制作用^[1];1996年日本科学家证明它有抗病毒及免疫力提高作用。本研究用热水浸提法提取螺旋藻多糖及多糖蛋白,并测定它对肺癌细胞,人白血淋淋巴细胞及胃癌细胞的杀伤抑制作用。

1 材料及方法

1.1 样品及试剂来源

钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)、极大螺旋藻(*S. maxima*)及螺旋藻干粉由云南程海宏源生物技术公司提供,部分藻粉由本实验室自制。昆明种小鼠,重30~40g,由昆明医学院提供。胃癌细胞、肺癌细胞及人白血淋淋巴细胞(HL-60)由中科院昆明动物所提供。RPM1 Medium 1640为GIBCOBRI公司产品。电泳纯牛血清白蛋白(Bovine serum albumin,BSA)购自北京红兴化学试剂分装厂。胰酶、胎牛血清(Fetal bovine serum,FBS)购自卫生部上海生物制品研究所。

1.2 螺旋藻培养

钝顶螺旋藻及极大螺旋藻接种到Zarrouk氏培养基内,5000lx光照强度条件下,25℃通气搅拌培养,至OD值达0.8~1.0h,用细纱网过滤收集得新鲜螺旋藻藻泥,干燥得螺旋藻粉。

1.3 螺旋藻多糖、多糖蛋白制备及分析

热水抽提法制备藻多糖:藻粉用80℃水抽提4h,真空浓缩,酒精沉淀,用Sevag法洗脱蛋白质,乙醇-丙酮法洗涤,冷冻干燥后得藻多糖粗品,过DEAE纤

维素柱和Sephedex G200,滤液透析浓缩,冷冻干燥得螺旋藻多糖精品。

盐析法制备藻多糖蛋白:去离子水洗涤藻粉,除去表面的无机盐及杂质,用甲醇和乙醇抽滤去脂肪及色素等,用0.2%NaCl-0.1%NaHCO₃液90℃抽提2h,抽提液用75%乙醇沉淀,过滤、洗涤沉淀,干燥后得藻多糖蛋白干粉。

Lowry法测定蛋白质含量,苯酚-硫酸显色反应测定糖含量^[2,3]。

1.4 螺旋藻及其多糖、多糖蛋白提取物对离体癌细胞的生长抑制试验

将螺旋藻多糖、多糖蛋白(含蛋白质17%)、新鲜藻泥(或干粉)冻融裂解物分别用pH7.2PBS液配制成1mg/ml溶液。再用含10%BSA的RPM1640培养液稀释成50,150,500μg/ml,经30W强度254nm紫外线20cm距离照射4h灭菌,4℃冰箱保存备用,将处于对数生长期的胃癌细胞、肺癌细胞、人白血淋淋巴细胞经胰酶消化制成细胞悬液,分装于24孔培养板中,使每孔细胞数为40000个左右,每孔加入上述含药培养液各2ml,同时设未加药的培养液作为对照,放入CO₂培养箱内,37℃培养观察。

2 结果

肺癌细胞、胃癌细胞在含有螺旋藻多糖、多糖蛋

收稿日期:1998-12-28;修回日期:1999-10-21

白或藻泥冻融裂解物的 RPM 1640 培养液中培养后,贴壁细胞减少,大部分细胞呈悬浮状态,随着培养时间延长,细胞内出现空泡,并渐解体。

白血病细胞 HL-60 由于不贴壁生长,在含有螺旋藻多糖、多糖蛋白或藻粉的培养液中培养后,开始并无明显变化,但随着培养时间延长,细胞形状很快变得不规则,集聚成团,并逐渐解体。

肺癌细胞、胃癌细胞及白血病细胞在未含药物的培养液中对照培养时,均生长良好,无明显变化。

螺旋藻多糖、多糖蛋白、藻粉(或藻泥)对癌细胞生长抑制效果比较,以多糖效果最好,多糖蛋白次之,藻粉或新鲜藻泥冻融裂解物效果较差。

每毫升培养液中含 50, 150 或 500 μg 药物量间比较,以 500 μg 大剂量组对 3 种离体癌细胞抑制效果出现早,作用最明显。👉

参考文献

- 1 杨志红主编。施普瑞医学论文汇编。北京:海洋出版社,1996。45~241
- 2 张龙翔、张庭芳、李令媛主编。生化试验方法和技术(第2版)。北京:高等教育出版社,1997。1~140
- 3 陈 荃主编。生物化学研究技术。北京:中国农业出版社,1995。1~198

(本文编辑:张培新)