

# 不同生长期坛紫菜中藻胆蛋白的含量变化\*

高洪峰

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

**提要** 于1990年9—12月在青岛海区人工养殖筏采集坛紫菜, 提取混合藻胆蛋白, 将其经羟基磷灰石柱层析, 分离出R-藻红蛋白(RPE)、R-藻蓝蛋白(RPC)和变藻蓝蛋白(APC)。测定了3个不同生长发育阶段的北移坛紫菜中各藻胆蛋白的含量, 并与南方坛紫菜做了比较研究。结果表明, 坛紫菜生长初期和盛期藻胆蛋白含量较高; 到末期大幅度降低, 降低的幅度为RPE>RPC>APC。各种藻胆蛋白的光谱特性不随藻体的生长发育而变化。另外, 北移坛紫菜中藻胆蛋白的含量高于南方坛紫菜。

**关键词** 坛紫菜 藻胆蛋白 含量

关于坛紫菜中藻胆蛋白的性质与化学组成, 我们已做过研究报道(高洪峰等, 1993)。坛紫菜由我国南方移植北方后, 其藻胆蛋白的结构与组成的差异, 以及不同生长发育阶段, 藻胆蛋白的组成与含量同环境因子的关系尚未见报道。本文对在北方养殖的3期坛紫菜(初期、盛期和末期)中藻胆蛋白的含量和组成进行了研究, 并比较了南北方坛紫菜的差异。

## 1 材料和方法

**1.1 海藻** 3期北移坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)采自青岛海区人工养殖筏。初期, 1990年9月29日采; 盛期, 1990年10月30日采; 末期, 1990年12月4日采。南方坛紫菜(盛期)于1990年11月20日采自浙江舟山海区人工养殖筏。

**1.2 藻胆蛋白的提取** 将新鲜的坛紫菜用蒸馏水浸泡, 放冰箱中(约4℃)自溶提取, 时而搅拌; 10天后用纱布过滤, 滤液离心(5000r/min, 4℃, 15min)除去碎屑, 上清液即为提取的混合藻胆蛋白溶液。

**1.3 藻胆蛋白的分离和纯化** 在提取的混合藻胆蛋白溶液中加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 至饱和度45%, 放置沉淀, 然后离心(5000r/min, 4℃, 20min)弃去溶液, 沉淀用蒸馏水透析至 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 除净, 离心除去藻胆蛋白变性物, 然后用羟基磷灰石进行柱层析(高洪峰等, 1993); 洗脱液为0.005—0.25mol/L的磷酸钾缓冲液(pH=6.7, 0.2mol/L NaCl)。R-藻蓝蛋白(RPC)、R-藻红蛋白(RPE)和变藻蓝蛋白(APC)在柱上分离依次被洗脱

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第2103号, 中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室研究报告第63号。

收稿日期: 1992年3月20日, 接受日期: 1992年7月3日。

下来,再在相同的条件下分别纯化。

纯化后的 3 种藻胆蛋白分别经 Sephadex G100 (1.2 × 100cm) 凝胶柱层析,洗脱液为 0.05mol/L 磷酸钾缓冲液 (pH = 7.0, 0.1mol/L NaCl), RPC 和 APC 仍为一个色带,但 RPE 得到分子量不同的两种聚集形式。

**1.4 藻胆蛋白浓度的测定** 用 Lowry 法测定(张龙翔等,1981)。牛血清蛋白作标准。

**1.5 各藻胆蛋白含量的测定** 测定混合藻胆蛋白提取液 565nm, 615nm 和 650nm (分别为 RPE, RPC 和 APC 在中性介质中的最大吸收波长)处的吸光度,由各藻胆蛋白的消光系数,根据 Lambert-Beer 定律计算混合藻胆蛋白溶液中各藻胆蛋白的含量。

## 2 结果与讨论

**2.1 各藻胆蛋白的光谱性质** RPE, RPC 和 APC 在中性介质中的吸收光谱见图 1,

最大吸收峰分别位于 565nm, 615 nm 和 650 nm。根据分离纯化后 3 种藻胆蛋白溶液的吸光度和蛋白质浓度,求出 3 种藻胆蛋白的消光系数,列于表 1。

在混合藻胆蛋白溶液中,如果 RPE, RPC 和 APC 的浓度分别用  $C_{RPE}$ ,  $C_{RPC}$  和  $C_{APC}$  (mg/ml) 表示,在  $\lambda$ (nm) 处吸收的消光系数分别用  $E_{RPE,\lambda}$ ,  $E_{RPC,\lambda}$  和  $E_{APC,\lambda}$  [ml/(mg·cm)] 表示,吸收池厚度为 1cm,根据 Lambert-Beer 定律,混合藻胆蛋白溶液在  $\lambda$ (nm) 处的吸光度  $A_\lambda$  可表示为:

$$A_\lambda = E_{RPE,\lambda} \cdot C_{RPE} + E_{RPC,\lambda} \cdot C_{RPC} + E_{APC,\lambda} \cdot C_{APC}$$

将表 1 中各消光系数代入上式,经数学处理,得下列等式:

$$C_{RPE} = 0.123A_{565} - 0.068A_{615} + 0.015A_{650}$$

$$C_{RPC} = 0.162A_{615} - 0.001A_{565} - 0.098A_{650}$$

$$C_{APC} = 0.171A_{650} - 0.0006A_{565} - 0.004A_{615}$$

对于一个从坛紫菜中提取的混合藻胆蛋白溶液,只要测定 565nm, 615nm 和 650nm

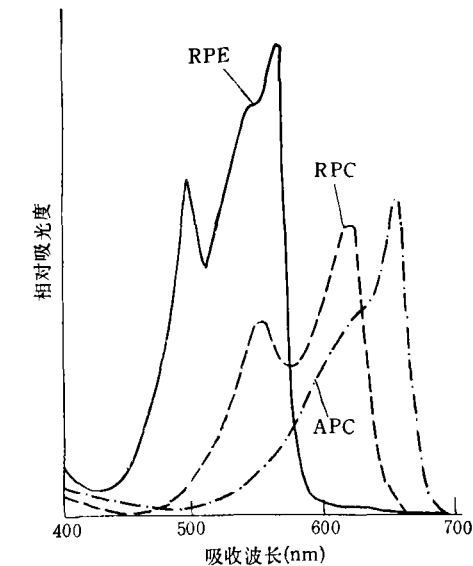


图 1 坛紫菜中 3 种藻胆蛋白在 0.05mol/L 磷酸钾缓冲液 (pH = 6.7, 0.2mol/L NaCl) 中的吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of RPE, RPC and APC from *Porphyra haitanensis* in 0.05 mol/L potassium phosphate buffer, pH=6.7, 0.2mol/L NaCl

处的吸光度,代入上式即可求得 RPE, RPC 和 APC 的浓度 (mg/ml),而不必分离后测定。由于藻胆蛋白的性质相似,用一般的柱层析方法分离很困难,分离时间长且数量少,较难测定混合藻胆蛋白溶液中各藻胆蛋白的浓度。因此,该方法对于估测各藻胆蛋白的含量具有简便快速的特点。

**2.2 各期坛紫菜中藻胆蛋白的含量** 对于 3 期北移坛紫菜(初期、盛期和末期)和南方坛紫菜(盛期)提取的混合藻胆蛋白溶液,分别测定 565nm, 615nm 和 650nm 处的吸光度,代入以上 3 式计算各藻胆蛋白的浓度,由各提取液的总体积和各期坛紫菜的重量计算藻胆蛋白在坛紫菜中的含量(%),列于表 2。

表 1 坛紫菜各藻胆蛋白在 0.05mol/L 磷酸钾缓冲液  
(pH = 6.7, 0.2mol/L NaCl) 中的消光系数

Tab. 1 Extinction coefficients [ml/(mg·cm)] of purified *P. haitanensis* phycobiliproteins  
in 0.05mol/L potassium phosphate, pH = 6.7, 0.2mol/L NaCl

藻胆蛋白	消光系数 $E_{\lambda}$ [ml/(mg·cm)]		
	$\lambda = 565\text{nm}$	$\lambda = 615\text{nm}$	$\lambda = 650\text{nm}$
RPE	8.15	0.08	0.03
RPC	3.46	6.32	0.17
APC	1.28	3.63	5.94

表 2 不同生长发育阶段坛紫菜中藻胆蛋白的含量

Tab. 2 The contents of phycobiliproteins in dry *P. haitanensis* of different growing stages

坛紫菜样品		藻胆蛋白/干坛紫菜(%)				各藻胆蛋白/总藻胆蛋白(%)		
		RPE	RPC	APC	总藻胆蛋白	RPE	RPC	APC
北移坛紫菜	初期	2.43	1.02	0.75	4.20	57.8	24.3	17.9
	盛期	2.20	1.01	0.94	4.15	53.0	24.3	22.7
	末期	0.58	0.20	0.19	0.97	59.8	20.6	19.6
南方坛紫菜盛期		2.31	0.80	0.73	3.84	60.2	20.8	19.0

从表 2 可以看出,北移坛紫菜随着生长发育,藻胆蛋白总量占干坛紫菜的百分含量由初期到盛期基本不变(初期为 4.20%,盛期为 4.15%),到末期大幅度减少(0.97%)。藻胆蛋白在藻体细胞中直接参与光合作用能量吸收和传递 (Glazer, 1984)。坛紫菜由初期至盛期其藻胆蛋白的含量较高,说明光合作用功能很强;但到了末期,由于藻体老化,氮的吸收受到限制 (O'Carra, 1976),藻胆蛋白在藻体内迅速被代谢分解,光合作用功能衰退,最后导致藻体不能吸收光能和营养物质而死亡。从 3 期北移坛紫菜的色泽上就可以看出,初期和盛期颜色紫黑,而末期颜色变绿。这是由于前两期藻胆蛋白含量较高,藻体呈现藻胆蛋白的颜色,而到了末期藻胆蛋白大量分解,叶绿素的含量相对占了主导地位,藻体呈现出叶绿素的颜色。另外,从表 2 还可以看出,北移坛紫菜(盛期)中藻胆蛋白的含量大于南方坛紫菜(盛期)。由于衡量紫菜营养价值的主要标准是蛋白质的含量,这可解释北移坛紫菜的质量较南方坛紫菜有明显优化的原因。

从表 2 中各藻胆蛋白的含量可以看出,随着坛紫菜生长期限的延长,RPE 和 RPC 的含量都有所下降,但 RPE 的含量下降迅速;APC 的含量由初期经盛期至末期,呈现先上升后下降的趋势。由 Gatt 等(1975, 1976, 1981)的模型推测,在坛紫菜藻胆体内,RPE 在最外围,估计可能是 RPE 受外界生态环境的影响最大,随着藻体的老化,其代谢分解的速度最快;RPC 在次外围,其代谢分解的速度略低于 RPE;APC 组成藻胆体的核,受外界生态环境的影响最小,由初期到盛期,随着藻体的生长发育,藻体合成 APC 的数量有所增加,只是到了末期,由于藻体老化,APC 才被逐步代谢分解。

经羟基磷灰石分离纯化后的 3 种藻胆蛋白再分别经 Sephadex G100 凝胶柱层析,RPC 和 APC 只存在一种聚集体形式,但 RPE 分离到分子量不同的两种聚集体形式。

用 Lowry 法测定大分子 RPE 和小分子 RPE 两个洗脱液的蛋白质浓度, 计算大分子 RPE 在总 RPE 中所占比例为, 北移坛紫菜: 初期, 82.6%; 盛期, 66.3%; 末期, 18.5%。南方坛紫菜(盛期): 67.8%。Van der Velde (1973) 认为小分子 RPE 是大分子 RPE 发生解聚的产物, 这种解聚是不可逆的。北移坛紫菜由初期经盛期至末期, 大分子 RPE 的含量依次减少, 小分子 RPE 的含量依次增加, 说明随着藻体的老化, 大分子 RPE 逐渐解聚, 最后大部分解聚变成小分子 RPE 形式。坛紫菜中各种藻胆蛋白的光谱性质不随藻体的生长发育而变化。RPE, RPC 和 APC 亚基的分离、性质和发色团含量的研究将另文报道。

### 参 考 文 献

- 高洪峰、曹文达、纪明侯, 1993, 坛紫菜中藻胆蛋白的性质和化学组成研究, 海洋与湖沼, 24(4): 350—355。  
 张龙翔、张应芳、李令媛, 1981, 生化实验方法和技术, 高等教育出版社(北京), 165—166。  
 Gatt, E., 1975, Phycobilisomes: Light-harvesting pigment complexes, *Bioscience*, 25:781—788。  
 Gatt, E., Lipschultz, C. A. and Zilinskas, B., 1976, Further evidence for a phycobilisome model from selective dissociation fluorescence emission, immunoprecipitation and electron microscopy, *Biochim. Biophys. Acta.*, 430:375—388。  
 Gatt, E., 1981, Phycobilisome, *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 32:327—347。  
 Glazer, A. N., 1984, Phycobilisome, a macromolecular complex optimized for light energy transfer, *Biochim. Biophys. Acta.*, 268:29。  
 O'Carra, P. and O'heocha, C., 1976, Algal bioproteins and pigments, *In Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, ed. by Goodwin, T. W., 2nd ed, Academic Press (New York), pp. 328—376。  
 Van der Velde, H. H., 1973, Natural occurrence in red algae of two phycoerythrins with different molecular weights and spectral properties, *Biochim. Biophys. Acta.*, 303(2):246—257。

## THE VARIATION IN THE CONTENTS OF PHYCOBILIPROTEINS FROM *PORPHYRA HAITANENSIS* COLLECTED IN DIFFERENT GROWING STAGES\*

Gao Hongfeng

(*Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao 266071*)

### ABSTRACT

An extract of mixed phycobiliproteins of *P. haitanensis* collected in Qingdao area in sep.—Dec., 1990 was isolated on a hydroxylapatite column into R-phycoerythrin, R-phycoerythrin and allo-phycoerythrin. The content of each phycobiliprotein from *P. haitanensis* transplanted from south China to the north collected in different growing stages were determined for comparison with those of *P. haitanensis* collected from south China. The contents of phycobiliproteins were higher at the initial and luxuriant growing stages of *P. haitanensis*, and lower in large scale at the last growing stages, their content order being: RPE > RPC > APC. The properties of phycobiliproteins did not change in different growing stages. Moreover, the contents of phycobiliproteins from the northern *P. haitanensis* were higher than those of the southern one.

**Key words** *Porphyra haitanensis* Phycobiliprotein Content

\* Contribution No. 2103 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica, and No. 63 from the Experimental Marine Biology Laboratory, Institute of Oceanology, Academia Sinica.