

条斑紫菜藻红蛋白的制备*

路荣昭 王淑芝 杨万晶

(中国科学院植物研究所)

周 百 成

(中国科学院海洋研究所)



藻红蛋白存在于红藻、蓝藻与隐藻中。自 Kutzin (1843) 首先从红藻中提出藻红蛋白以来, 通过长期的研究, 对这类色蛋白的种类、分布、结构和功能都有了更深入的了解^[2,5]。

红藻和蓝藻的藻红蛋白有三种: C-藻红蛋白, B-藻红蛋白和 R-藻红蛋白。此外, 在隐藻中另有三种隐藻藻红蛋白。条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 的藻红蛋白属于 R-藻红蛋白。

藻红蛋白是光合作用的集光色素, 它能高效率地吸收光能并将激发能传递给叶绿素 a。这种传递能量的效率也很高。能量传递的顺序为藻红蛋白→藻蓝蛋白→别藻蓝蛋白→叶绿素 a。

鉴于这类色素在光合作用中起着重要的作用, 我国也已开始进行藻红蛋白的研究工作。

藻红蛋白的提取、分离和提纯的方法很多。但这些方法往往手续繁杂, 制备量较少。硫酸铵分级沉淀法的优点是简便易行, 并能获得大量的制品。本文报道用这种方法从条斑紫菜中制备 R-藻红蛋白的过程和结果。

一、制备方法

1. 材料 是人工栽培的、未经加工晾干的散菜。提取前切成小片或磨成粉末。

2. 提取 取10克条斑紫菜碎片或粉末, 溶于300毫升蒸馏水中, 在冰箱中放置2—4天后用医用脱脂棉过滤二次。

3. 硫酸铵沉淀 向滤液加硫酸铵至30%饱和度浓度, 在冰箱中放置2—3天后离心 $10,000 \times g$, 30分钟, 留上清液, 再加硫酸铵至总饱和度为60%, 在冰箱中放置2—3天后离心, $10,000 \times g$, 30分钟。留沉淀物。

4. 透析 将以上离心沉淀溶于无离子水中, 装入透析袋, 在无离子水中透析一天, 每隔2—3小时换一次无离子水。透析在冰箱中进行。透析后离心, $10,000 \times g$, 30分钟, 弃沉淀, 留上清液, 此液即是藻红蛋白溶液。

5. 冷冻干燥 得到有光泽的红色片状物。

二、吸收光谱测定

用日立 356 型双光束双波长分光光度计测定制备物水溶液的吸收光谱。

从图1可以看出条斑紫菜藻红蛋白的吸收峰位于560 nm和469 nm, 在540 nm处有一个肩峰。Haxo 等^[4]用磷酸三钙柱层析的方法从孔紫菜 (*Porphyra perforata*) 中分离提纯的藻红蛋白的吸收峰位于562 nm和497 nm, 在540 nm附近也有一个肩峰。Hattori 和 Fujita^[5]用硫酸铵分级沉淀和磷酸三钙柱层析相结合的方法, 获得了甘紫菜 (*Porphyra tenera*) 的藻红蛋白的结晶, 它的吸收峰位于565 nm和500 nm, 在545 nm有一个肩峰。我们所得的制品的吸收光谱同这两种紫菜的藻红蛋白的吸收光谱是很相似的。

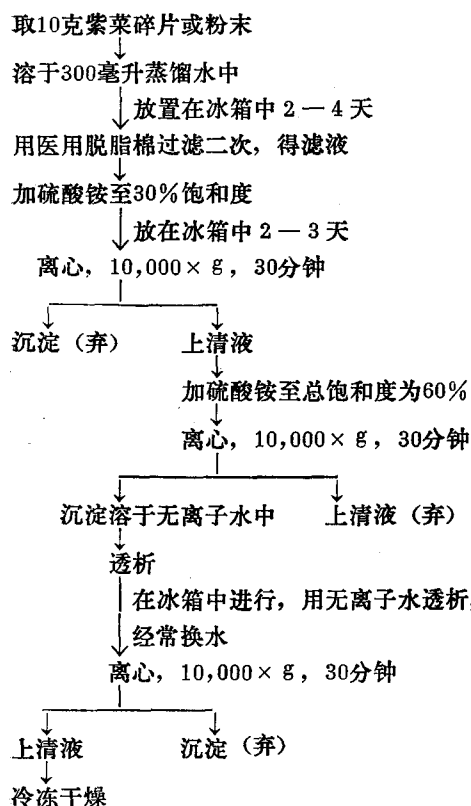
从图1的吸收光谱中也可以看到在620 nm和650 nm附近各有一个小的肩峰。这可能是由于制品中仍含有少量的藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白。

三、讨 论

高等红藻的 R-藻红蛋白的吸收光谱中有

* 本实验工作完成于1976年。条斑紫菜材料由海洋研究所藻类实验生态组提供; 本文承曾呈奎教授和吴超元副教授审阅, 特此致谢。

表 条斑紫菜藻红蛋白制备程序



三个吸收峰。例如仙菜 (*Ceramium rubrum*) 的 R-藻红蛋白的主峰在 568 nm, 其余的两个吸收峰在 498 nm 和 540 nm。条斑紫菜的 R-藻红蛋白同甘紫菜和孔紫菜的一样, 具有两个吸收峰和一个肩峰。它们的吸收光谱同高等红藻的 R-藻红蛋白的吸收光谱有明显的区别。这进一步证实了条斑紫菜活体吸收光谱的测定结果^[1]。具有两个吸收峰的 R-藻红蛋白是否是紫菜属的共同特征, 这是值得进一步研究的问题, 因为这对于研究藻红蛋白的进化过程是有意义的。

条斑紫菜是我国北方人工栽培的主要种类, 材料来源丰富, 是制备 R-藻红蛋白的好材料。用硫酸铵分级沉淀法从条斑紫菜制备 R-藻红蛋白不仅手续简便, 易于掌握, 能够进行大量制备, 而且能够达到一定的纯度。因此,

作为初步提纯的方法是可行的。制品中杂有的少量其它藻胆蛋白或其它无色蛋白质可以通过多次硫酸铵分级沉淀或柱层析等方法除去, 获得更纯的藻红蛋白制品。

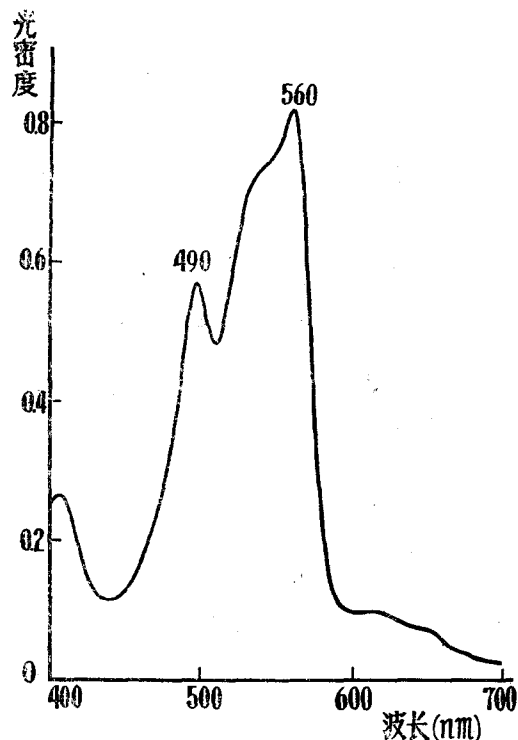


图1 条斑紫菜藻红蛋白制备物的吸收光谱 (溶于无离子水中)

参 考 文 献

- [1] 周百成, 郑舜琴, 曾呈奎, 1974. 植物学报 (16): 146—155.
- [2] Bogorad, L., 1975. Ann. Rev. Plant Physiol., (26): 269—401.
- [3] Hattori, A. and Y. Fujita, 1959. J. Biochem. (46): 903—909.
- [4] Haxo, F., O'., hEocha, C. and P. Norris, 1955. Arch. Biochem. Biophys. (54): 162—173.
- [5] O' Carra, P. and C. O' hEocha, 1976. Chemistry and biochemistry of plant pigments. Acad. Press, London, New York and San Francisco. p. 328—376.