

藻类溶血素研究进展

Progress in researches on algal hemolysins

宋秀凯, 王 蔚, 汝少国

(中国海洋大学 海洋生物系, 山东 青岛 266003)

中图分类号: Q51

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2006)06-0082-05

近年来, 赤潮、水华频繁发生, 危害加剧^[1], 赤潮和水华藻类能分泌多种毒素, 造成水质恶化, 使大量鱼贝类死亡, 给水产养殖业带来了巨大经济损失, 也威胁着人类的健康^[2]。目前, 国内外已对多种藻类毒素, 如肝毒素 (hepatotoxins)、神经毒素 (neurotoxins)、脂多糖 (lipopolysaccharides) 内毒素等进行了较深入的研究。但对赤潮藻类溶血素的研究报道还处于起步阶段。作者综述了产生溶血素微藻的种类、溶血素的生理生化特性、作用机理及危害等方面的研究进展。

1 溶血素的定义及能产生溶血素的藻类

溶血素 (hemolysin) 是指在血清学和细菌学方面, 能引起动物红细胞膜破损, 释放出血红蛋白, 对生物体造成一定损伤的生物学因子。根据文献统计, 目前为止, 能产生溶血素的藻类约有 27 种以上, 主要隶属于甲藻、金藻、蓝藻、黄藻及硅藻 5 个门 (表 1)。其中甲藻 14 种, 金藻 4 种, 蓝藻 3 种, 黄藻 5 种, 硅藻 1 种。

2 环境因子对藻类溶血素产生及活性的影响

藻类生长阶段、盐度和营养条件不同直接决定着溶血素能否产生。Emura 等^[4]发现 *Alexandrium* 对数生长期时开始分泌溶血素, 随后分泌逐渐增加, 即使在衰退期仍能分泌溶血素。而聚球藻 *Synechococcus* sp. *Mirami* BGI 对数生长期时开始分泌溶血素, 稳定期分泌量最大^[17]。小定鞭藻 (*Prymnesium*) 在对数生长期没有溶血素产生, 但在对数生长期进入稳定期时, 突然开始分泌溶血素, 并迅速达到分泌量最高值^[5]。盐度和光照对藻类分泌溶血素也有影响, 如 *Synechococcus* sp. *Mirami* BGI^[17] 和 *P. parvum*^[15] 产生毒素的最适盐度为 12~16。Shilo 等^[20]发现随着光照增强, *P. parvum* 溶血素产量增大。Granéli 等^[22]研究发现在氮、磷缺乏条件下, *P. parvum* 毒素产量增加。

藻类生长温度、pH 值、光照对溶血素活性的影响较大。Emura 等^[4]研究表明 37℃ 时 *A. taylori* 产

生的溶血素活性最大, 随着温度降低, 活性也随着降低, 到 4℃ 则没活性。但是对于不同藻类, 温度的影响也不同, 如 Larsen 和 Bryant^[23]曾报道在 5~30℃ 之间, 温度对小定鞭藻毒素活性没有明显的影响。但是 Ulltzer 等^[24]却认为在 10~30℃ 之间, 小定鞭藻毒素随着温度增加活性增大。Shilo 等^[21]认为小定鞭藻毒素在 pH 值 7.5~9.0 条件下活性稳定, pH < 6.0 时没有活性, 6.0 < pH < 7.5 时活性较低, pH = 9.0 时活性最大。光照对溶血素活性的影响不大, 但也有报道 *Heterocapsa circularisquama* 在没有光照条件下产生的溶血素没有活性^[19]。

3 溶血素的结构及生化特性

从藻类溶血素化学组成及结构看, 大多数是糖脂类及不饱和的脂肪酸类化合物 (图 1)。齐雨藻等^[4]通过对球形棕囊藻溶血素组分分析, 推测该溶血素是一个以 1'-O-十七碳二烯酰基-3'-O-(6-O-α-D-吡喃半乳糖 β-D-吡喃半乳糖基)-甘油为主的糖脂混合物。*Amphidinium* 分泌的 5 种溶血素中含量较高的溶血素分别为: O-β-D-吡喃半乳糖 (1-1)-3-O-18 碳 4 烯酰-D-甘油; O-α-D-吡喃半乳糖 (1-6)-β-D-吡喃半乳糖 (1-1)-18 碳 4 烯酰-D-甘油^[3]。Mitsui 等^[17]通过核磁共振质谱分析发现聚球藻 *Synechococcus* sp. *Miami* BG II 6S 分泌的溶血素为糖脂类。1970 年 Padilla^[26]研究发现小定鞭藻毒素具有溶血活性, 添加甘油培养能促进小定鞭藻溶血毒素的产生, 表明溶血素的合成依赖于碳水化合物和脂类的新陈代谢。进一步的研究表明小定鞭藻毒素是小分子脂糖^[15, 24-26]。Gopal 等^[6]通过光谱分析测定出 *A. klebsii* 产生的溶血素为 amphidinol 2, 具有抗真菌性能。已知的溶血素中仅有 2 种为蛋白质类溶血素, 其结构尚不清楚。

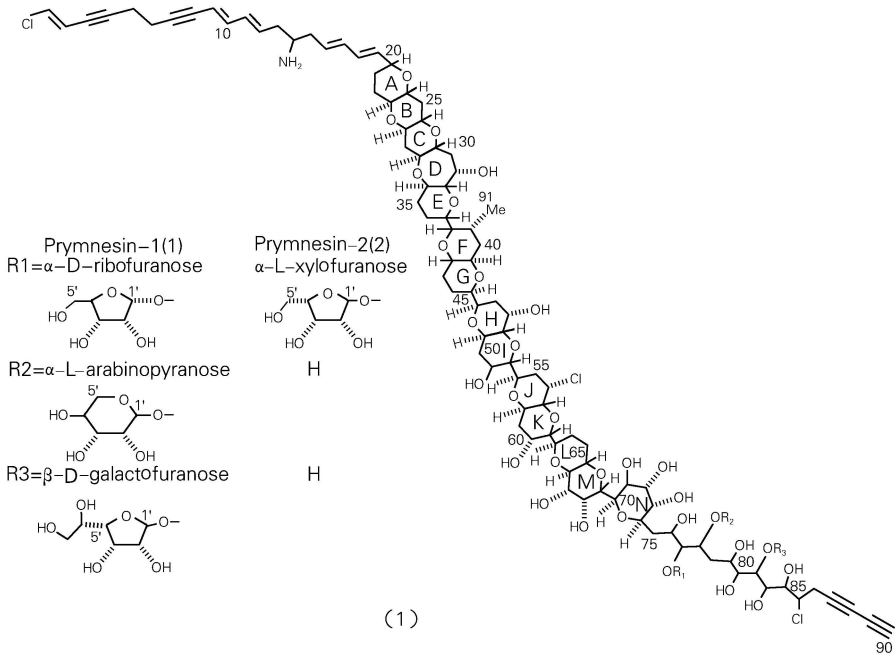
收稿日期: 2004-05-20; 修回日期: 2005-01-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30300034)

作者简介: 宋秀凯 (1979), 男, 硕士, 研究方向: 海洋生态学; 王 蔚, 通讯作者, E-mail: weiwang@ouc.edu.cn

表 1 能产生溶血素的藻类

所属门类	藻类名称	分泌的毒素类型	结构类型	资料来源
甲藻	<i>Alexandrium catenella</i>	溶血素和麻痹性贝毒	不详	尹伊伟等 ^[3]
	<i>A. taylori</i>	溶血素和细胞毒素	胞外蛋白	Emura 等 ^[4]
	<i>Amphidinium carterae</i>	溶血素	糖脂	Nayak 等 ^[5]
	<i>A. klebsii</i>	溶血素	Amphidinol 2	Gopal 等 ^[6]
	<i>Ceratium fusus</i>	溶血素	不详	尹伊伟等 ^[3]
	<i>Chrysochromulina polylepis</i>	溶血素	糖脂、不饱和脂肪酸	Yasumoto 等 ^[7]
	<i>Coolia monotis</i>	溶血素	不详	刘宁宁等 ^[8]
	<i>Gymnodinium mikimotoi</i>	溶血素和鱼毒素	不详	王朝晖等 ^[9]
	<i>Gyrodinium aureolum</i>	溶血素	不详	Yasumoto 等 ^[7]
	<i>Heterocapsa circularisquama</i>	溶血素和细胞毒素	不详	Sato 等 ^[10]
金藻	<i>Karlodinium micrum</i>	溶血素、鱼毒素和细胞毒素	不饱和脂肪酸	Jonathan 等 ^[11]
	<i>Ostreopsis ovata</i>	溶血素	不详	Yasumoto 等 ^[12]
	<i>O. siamensis</i>	溶血素	不详	Yasumoto 等 ^[12]
	<i>Prorocentrum concavum</i>	溶血素	不详	Yasumoto 等 ^[12]
	<i>Chrysochromulina</i> sp.	溶血素	不详	Stabell 等 ^[13]
	<i>Phaeocystis</i> cf. <i>globosa</i>	溶血素	糖脂	齐雨藻等 ^[14]
	<i>P. cf. pouchetii</i>	溶血素、鱼毒素和细胞毒素	不详	Stabell 等 ^[14]
	<i>Prymnesium parvum</i>	溶血素和鱼毒素	糖脂	何家苑等 ^[15]
	<i>Oscillatoriaceae</i>	溶血素	不详	Hashimoto 等 ^[16]
	<i>Synechococcus</i> sp. Miami BG II	溶血素	糖脂	Mitsui 等 ^[17]
蓝藻	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	溶血素	胞外蛋白	Nagai 等 ^[18]
	<i>Chattonella antiqua</i>	溶血素	不详	尹伊伟等 ^[3]
	<i>C. marina</i>	溶血素	不详	尹伊伟等 ^[3]
	<i>C. globosa</i>	溶血素	不详	尹伊伟等 ^[3]
	<i>Heterosigma akashiwo</i>	细胞毒素、溶血素和神经毒素	不详	Chang 等 ^[19]
	<i>H. carterae</i>	溶血素	不详	尹伊伟等 ^[3]
硅藻	<i>Nitzschia</i> sp.	溶血素	不详	Rangel 等 ^[20]



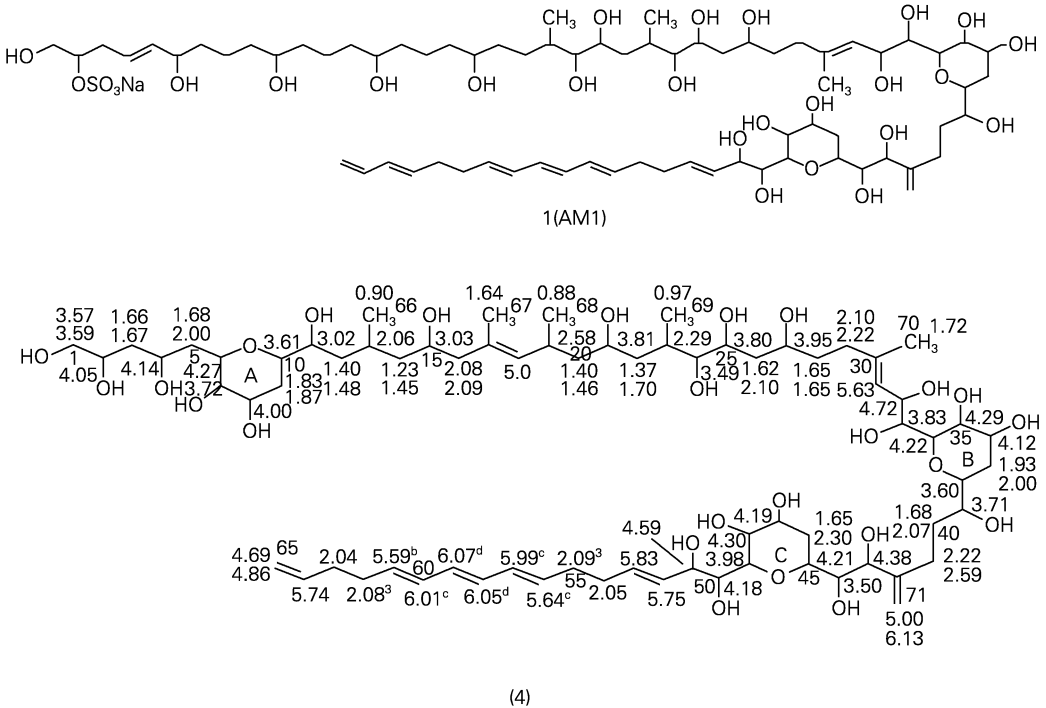
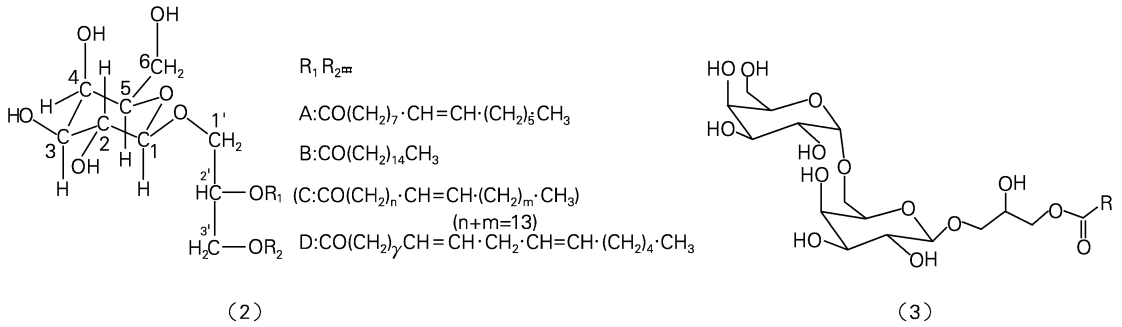


图1 藻类溶血素结构图

(1) 小定鞭藻毒素 *Pyrrnesin*^[13]; (2) 球形棕囊藻溶血素^[3];

(3) *Synechococcus* sp. Miami BG II 6S 溶血素^[19]; (4) *Amphidinium klebsii* 溶血素^[12]

4 溶血素危害及其溶血作用机理

藻类溶血素的危害是极大的。如球形棕囊藻 (*P. globosa*), 分解后产生泡沫, 泡沫可达几米厚, 妨碍渔业生产, 同时产生二甲基硫酸酯 (DMS), 挥发至空气中, 能形成酸雨。在新西兰和挪威等地发生的球形棕囊藻赤潮, 给渔业和旅游业带来巨大影响, 在挪威还引起鱼类中毒死亡。1997 年秋至 1998 年春我

国东海海域及南海海域发生大面积球形棕囊藻 (*P. globosa*) 引起的赤潮, 对水产养殖业造成极大危害, 仅广东省饶平县柘林湾养殖区的直接经济损失即超过 6500 万元, 受灾面积近 2000 hm²^[14]。王朝晖等^[9]研究发现米氏裸甲藻 (*G. mikimotoi*) 分泌的溶血素和鱼毒素, 损伤了鱼鳃组织, 其毒害主要表现为鱼鳃鳃小叶上皮细胞增生、邻近鳃小叶粘连、上皮细胞脱落、鳃血管破裂、血细胞渗出等组织病理, 鳃小叶间有

渗出的红细胞,也有一些蛋白质碎片、黏液,而且当米氏裸甲藻密度达到 10^4 个/L时,鱼类即发生大面积死亡。Chang等^[19]研究发现在新西兰发生的异湾藻(*H. akashiwo*)赤潮期间,鲑鱼大面积死亡,其鳃组织出现了鳃小叶上皮细胞增生、脱落、鳃血管破裂、血细胞渗出等现象;异湾藻所产生的毒素与米氏裸甲藻相似,为脂肪酸类物质或类脂化合物,含有细胞毒素、溶血素和神经毒素^[27]。

Ullitzer等^[24]研究发现*P. parvum*能产生可溶性的鱼毒素、溶血素和溶细胞毒素,这些毒素对鱼、软体动物、节肢动物及用鳃呼吸的两栖类等具有明显的毒害作用。溶血作用机理主要是毒素能改变膜的透性,在阳离子存在和适宜的pH条件下对鳃组织造成损伤,或者*P. parvum*毒素本身对水生生物产生的致死效应。有研究表明 K^+ 、 Ca^{2+} 是溶血素的形成重要因子之一; Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^+ 或链霉菌等辅助因子是鱼毒素活性的激活剂。Ullitzer等^[24]发现新霉素、精胺和其他多胺也可激活鱼毒素,其中精胺最有效。如果存在多个辅助因子,毒素作用效果并不是累加的,而是与各辅助因子的浓度有关, Ca^{2+} 能掩盖其他因子的作用。Paster^[28]发现小定鞭藻毒素作用的鳃细胞膜上存在大量的卵磷脂和胆固醇,在小定鞭藻、菱形藻等藻类分泌的毒素中加入毒素抑制剂,如卵磷脂、胆固醇及脑磷脂,溶血素活性会降低,这可能与溶血素和胆固醇竞争相同的靶部位有关。

5 藻类溶血素研究展望

藻类是生态系统的初级生产者,发挥着重要的生态功能。近年来,赤潮发生频繁,藻类疯长,分泌大量有害物质,给养殖业带来极大的损失,甚至导致水生生态系统的崩溃。因此,关于藻类毒素研究刻不容缓。目前世界上已经有8个国家先后建立了国家级计划,研究藻类和水质的关系^[2]。通过对有害藻类的分离,越来越多有害毒素被发现,溶血素作为藻类分泌的有害毒素的一种,其结构和作用机理目前还不清楚,仅有小定鞭藻毒素等少数溶血素研究较为透彻,其他溶血素有待进一步研究。作者认为藻类溶血素的研究,首先应该筛选能产生溶血素的藻类,测定该溶血素对动物的毒性及溶血活性,搞清其作用部位和作用机制,并在此基础上通过对不同动物红细胞的溶血试验,进一步探索藻类溶血素在红细胞膜上的作用受体和作用机制,进而提出一个藻类溶血素对动物的毒性的评估标准以及溶血素纯体的分离及其DNA序列分析,这些将是今后研究的热点。溶血性毒素除了具有科研价值外,还可以用于医学。如

*H. circularisquama*分泌的溶血素对光极为敏感,只有在光照条件下,才具有活性^[10],利用该藻类的这一特性,可以用来做光敏剂,治疗恶性肿瘤,因此,溶血素的研究具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 梁松, 钱宏林, 齐雨藻. 中国沿海的赤潮问题[J]. 生态科学, 2000, 19(4): 44-50.
- [2] 朱惠刚, 施玮, 吴静. 水体藻类污染与健康(一)[J]. 净水技术, 2000, 18(1): 13-16.
- [3] 尹伊伟, 王朝晖, 江天久, 等. 海洋赤潮毒素对鱼类的毒害[J]. 海洋环境科学, 2000, 19(4): 62-65.
- [4] Emura A, Matsuyama Y, Oda T. Evidence for the production of a novel proteinaceous hemolytic exotoxin by dinoflagellate *Alexandrium taylori* [J]. **Harmful Algae**, 2004, 3: 29-37.
- [5] Nayak B B, Karunasagar K I. Influence of bacteria on growth and hemolysis production by the marine dinoflagellate *Amphidinium carterae* [J]. **Marine Biology**, 1997, 130: 35-39.
- [6] Gopal K P, Nobuaki M, Michio M, et al. Isolation and chemical structure of amphidinol 2, a potent hemolytic compound from marine dinoflagellate *Amphidinium klebsii* [J]. **Tetrahedron Letters**, 1995, 36(35): 6279-6282.
- [7] Yasumoto T, Underdal B, Aune T, et al. Screening for hemolytic and ichthyotoxic components of *Chrysochromulina polylepis* and *Gyrodinium aureolum* from Norwegian coastal water [M]. New York: Elsevier Science Publications, 1990. 436-442.
- [8] 刘宁宁, 林永水. 有毒甲藻的研究[J]. 热带海洋, 1999, 18(2): 1-4.
- [9] 王朝晖, 尹伊伟, 齐雨藻, 等. 珠海桂山岛米氏裸甲藻赤潮对鱼鳃损伤的病理学组织观察[J]. 海洋学报, 2001, 23(1): 133-138.
- [10] Sato Y, Oda T, Muramatsu T, et al. Photosensitizing hemolytic toxin in *Heterocapsa circularisquama*, a newly identified harmful red tide dinoflagellate [J]. **Aquatic Toxicology**, 2002, 56: 191-196.
- [11] Jonathan R D, Daniel E T, Jason E A, et al. Toxic activity from cultures of *Karlodinium micrum* (*Gyrodinium galatheanum*) (Dinophyceae) — a dinoflagellate associated with fish mortalities in an estuarine aquaculture facility [J]. **Harmful Algae**, 2002, 1: 169-189.
- [12] Yasumoto T, Oshima Y, Murakami Y, et al. Toxicity of benthic dinoflagellates found in coral reef [J]. **Bull Jpn Soc Scient Fish**, 1980, 46: 327-331.
- [13] Stabell O B, Aanensen R T, Eilertsen H C. Toxic per-

- cularities of the marine alga *Phaeocystis pouchetii* detected by in vivo and in vitro bioassay methods[J]. **Aquatic Toxicology**, 1999, 44: 279-288.
- [14] 齐雨藻, 徐宁, 王艳, 等. 中国赤潮研究的新进展——球形棕囊藻赤潮及其产毒的研究[J]. 中国基础科学, 2002, 4: 23-28.
- [15] 何家苑, 陈明惠, 何振荣. 小定鞭藻毒素的分离与鉴定[J]. 水生生物学报, 1996, 20(1): 41-48.
- [16] Hashimoto Y, Kamiya H, Yamazato K, *et al.* Occurrence of a toxic blue green alga inducing skin dermatitis in Okinawa[A]. Ohsaka A, Hayashi K, Sawai Y. Animal, Plant and Microbial Toxins[C]. Vol I. New York: Plenum Press, 1976. 333-338
- [17] Mitsui A, Rosner D, Goodman A, *et al.* Hemolytic toxins in marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. [J]. **Biology Environmental Science and Toxicology**, 1988, 12: 367-370.
- [18] Nagai T, Ru S, Katoh A, *et al.* An extracellular hemolysin homolog from cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803[R]. Japan: Proceedings of the 12th International Congress on Photosynthesis, 2001.
- [19] Chang F G, Anderson C, Boustead N C. First record of a *Heterosigma* (Raphidophyceae) bloom with associated mortality of cage reared salmon in Big Glory Bay, New Zealand[J]. **New Zealand of Mar and Freshwater Res**, 1990, 24: 461-469.
- [20] Rangel M, Malpezzi E L A, Susini S M M, *et al.* Short communication hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*[J]. **Toxicon**, 1997, 35(2): 305-309.
- [21] Shilo M. The toxic principles of *Prymnesium parvum*. Algal Toxins and Health[M]. New York: Academic Press, 1981. 67-103.
- [22] Granéli E, Johansson N. Increase in the production of allelopathic substances by *Prymnesium parvum* cells grown under N or P deficient conditions[J]. **Harmful Algae**, 2003, 2: 135-145.
- [23] Larsen A, Bryant S. Growth rate and toxicity of *Prymnesium parvum* and *Prymnesium patelliferum* (Haptophyta) in response to changes in salinity, light and temperature[J]. **Sarsia**. 1998. 83(5): 409-418.
- [24] Ulitzer S, Shilo M. Mode of action of *Prymnesium parvum* ichthyotoxin[J]. **J Protozoology**, 1966, 13: 332-336.
- [25] Igarashi T, Satake M, Yasumoto T. Structures and partial stereochemical assignments for prymnesin 1 and prymnesin 2: potent hemolytic and ichthyotoxic glycosides isolated from the red tide alga *Prymnesium parvum*[J]. **J Amer Chem Soc**. 1999. 121(37): 8499-8511.
- [26] Padilla G M. Growth and toxigenesis of the chrysomonad *Prymnesium parvum* as a function of salinity[J]. **J Protozoology**, 1970, 17: 456-462.
- [27] Roberts R J, Bullock A M, Turner M. Mortalities of *Salmo gairdneri* exposed to cultures of *Gyrodinium aureolum*[J]. **J Mar Biol Assn, U K**, 1983, 63: 741-743.
- [28] Paster Z K. Pharmacology and mode of action of prymnesin[A]. Martin D F, Padilla G M. Cell biology: A Series of Monographs, Marine Pharmacognosy. Action of Marine Biotoxins at the Cellular Level[C]. New York: Academic Press, 1973. 241-263.

(本文编辑: 张培新)