

# 几种重组别藻蓝蛋白的抗氧化活性

韩璐<sup>1,2</sup>, 葛保胜<sup>1,2</sup>, 林秀坤<sup>1</sup>, 秦松<sup>1</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所实验海洋生物学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:**藻胆蛋白是某些藻类特有的捕光色素蛋白, 其中天然别藻蓝蛋白、藻蓝蛋白的抗氧化活性已经被证明。实验以 2,2-盐酸脒基丙烷(AAPH)为自由基生成者, 应用藏红花素退色反应为检测清除氢过氧自由基的方法, 探讨了在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中表达并纯化的带有 6×His (6×组氨酸) 标签和带有麦芽糖结合蛋白(MBP) 标签的重组别藻蓝蛋白及其  $\alpha$ 、 $\beta$  亚基的抗氧化活性。结果表明, 带有 His 标签的 6×His- $\alpha$ APC、6×His- $\beta$ APC 和 6×His-APC 均显示出一定的清除氢过氧自由基的能力, 其中 6×His- $\beta$ APC 清除氢过氧自由基的  $IC_{50}$  值可达到 27.2 mg/L,  $K_a/K_c$  (氢过氧自由基与重组别藻蓝蛋白和藏红花素反应的速度常数比) 达到 1.24, 大于带有色素基团的天然 APC 清除氢过氧自由基能力 ( $IC_{50}$  57.5 mg/L); 而带有 MBP 标签的重组别藻蓝蛋白亚基 MBP- $\alpha$ APC 和 MBP- $\beta$ APC 和 MBP-APC(rAPC) 则无明显的清除能力。结果首次证实了脱辅基蛋白具有清除氢过氧自由基能力, 因而在天然藻胆蛋白中脱辅基蛋白是清除自由基的贡献者之一, 这为进一步研究重组别藻蓝蛋白的抗肿瘤机理提供了线索。

**关键词:**重组别藻蓝蛋白; 清除自由基; 2,2-盐酸脒基丙烷(AAPH); 藏红花素

**中图分类号:** Q51      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-3096(2007)08-0071-05

藻胆蛋白是某些藻类中特有的捕光色素蛋白, 由脱辅基蛋白和四吡咯结构的藻胆色素构成, 有很高的营养和医疗诊断价值<sup>[1,2]</sup>。国内外的文献表明, 天然的藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白均具有清除羟自由基和氢过氧自由基的抗氧化活性<sup>[3-5]</sup>。在体内, 藻胆蛋白还能抑制  $Fe^{+2}$ -Vc 或自由基生成者 2,2-盐酸脒基丙烷(AAPH) 引起的肝脏微粒脂过氧化物的生成<sup>[4,6]</sup>。同时, 这种抗氧化活性也是其具有抗炎、抗肿瘤作用的基础<sup>[7,8]</sup>。神经细胞保护作用机理研究表明, 藻胆蛋白有抗凋亡活性。它可清除细胞受破坏后产生的自由基, 避免自由基导致的氧化性 DNA 损伤, 而后者如不能及时修复, 积累到一定程度, 会启动凋亡程序, 引起细胞凋亡<sup>[9,10]</sup>。藻胆蛋白对细胞因子作用的研究则发现, 藻蓝蛋白能消除氧化胁迫导致的 TNF- $\alpha$  反应<sup>[11,12]</sup>。藻胆蛋白抗肿瘤活性确切的分子机制尚不清楚。从目前的一些研究结果来看, 藻胆蛋白的抗肿瘤活性的基础很可能是其抗氧化活性。

Bhat 等<sup>[13]</sup> 发现藻蓝素有清除活性氧的活性, 但是活性低于藻蓝蛋白。周站平等<sup>[5]</sup> 报道采用 SDS、脲及碱性条件对 G-PC 和 APC 进行变性, 蛋白质链解

构, 色基基团被暴露出来, 从而增强了 G-PC 和 APC 清除自由基的能力, 因此认为藻胆蛋白清除自由基主要是由藻胆色素完成的。但是, 还没有分离脱辅基蛋白并对其抗氧化作用作专门研究的报道, 因此, 不能完全排除脱辅基蛋白也具有抗氧化活性的可能性。

秦松等<sup>[14]</sup> 从蓝藻 *Anacystis nidulans* UT EX 625 中克隆了 APC 基因, 并在大肠杆菌(*Escherichia coli*) 表达了带有 MBP 标签的重组别藻蓝蛋白(rAPC)。研究表明, rAPC 对小鼠 S180 肉瘤具有显著的抑制效果。体内抗肿瘤试验中, 静脉注射 rAPC 对小鼠 H22 肝癌模型也有显著的抑瘤效应, 并呈显著的量效关系<sup>[15]</sup>, 但其抗肿瘤活性的机理仍未知。

本实验室在此基础上, 利用大肠杆菌表达带有

收稿日期: 2006-04-01; 修回日期: 2006-08-10

基金项目: 国家 863 计划资助项目(2006 A A090303); 中国科学院知识创新项目(KZCX2-YW-209)

作者简介: 韩璐(1980), 女, 河北石家庄人, 硕士, 研究方向: 海洋生物技术, E-mail: hanlu@ms.qdio.ac.cn; 秦松, 通讯作者, 电话: 0532-82898500, E-mail: sqn@ms.qdio.ac.cn

MBP 标签的重组别藻蓝蛋白亚基 MBP $\alpha^{APC}$  和 MBP $\beta^{APC}$  以及带有 His 标签的 His $\alpha^{APC}$ 、His $\beta^{APC}$  和 His-APC (HAPC) 来分别进一步研究重组别藻蓝蛋白 (rAPC) 的抗肿瘤机理。作者从体外清除氢过氧自由基体系入手, 探讨了别藻蓝蛋白中脱辅基蛋白和结合基团对其清除自由基作用的影响, 以试图找到重组别藻蓝蛋白抗肿瘤的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及试剂

基因重组别藻蓝蛋白组分: His $\alpha^{APC}$ 、His $\beta^{APC}$ 、His-APC 和 MBP $\alpha^{APC}$ 、MBP $\beta^{APC}$  和 rAPC 由本实验室表达并纯化; 螺旋藻 (*Spirulina platensis*) 粉购自中国科学院海洋研究所。

金属离子螯合层析柱填料 Chelating Sepharose Fast Flow 购自 Amersham Biotech 公司; Amylose 亲和层析柱填料购自 New England Biolabs, Inc, Beverly USA; AAPH (2, 2'-Azobis (2 amidinopropane) hydrochloride) 和藏红花素 (crocin) 购自 sigma 公司; 其他常用普通化学试剂均为国产分析纯。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 重组别藻蓝蛋白的分离与纯化

##### 1.2.1.1 重组别藻蓝蛋白的分离

发酵获得的菌液以 8 000 r/min 离心 30 min 收集菌体。菌体按 1: 50 比例重悬于缓冲液 [His $\alpha^{APC}$ 、His $\beta^{APC}$ 、His-APC 重悬于 Start Buffer (20 mmol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.4, 500 mmol/L NaCl); MBP $\alpha^{APC}$ 、MBP $\beta^{APC}$ 、rAPC 重悬于 Column Buffer (10 mmol/L Tris HCl, 200 mmol/L NaCl, 0.1 mmol/L EDTA, pH 7.4)] 中, 超声破碎细胞 (功率 40 W, 破碎 8 s, 间隔 2 s, 共 30 min, 冰浴)。完全破碎后, 12 000 r/min 离心 30 min, 上清液用 0.45  $\mu$ m 无菌硝酸纤维素膜过滤后用于上柱纯化。

##### 1.2.1.2 金属离子螯合层析

His $\alpha^{APC}$ 、His $\beta^{APC}$ 、His-APC 的纯化采用 Amersham Biotech 公司的 Chelating Sepharose Fast Flow 凝胶填料, 根据说明书 (7 F 500 F 87AC, 2003) 装填并预处理好柱料后, 以目的蛋白约 5 g/L 柱料的标准上样, 用含 50 mmol/L 咪唑的 Start buffer 洗杂, 用含 200 mmol/L 咪唑的 Start buffer 洗脱目的蛋白。

##### 1.2.1.3 Amylose 亲和层析

MBP $\alpha^{APC}$ 、MBP $\beta^{APC}$ 、rAPC 的纯化采用 Amylose Resin E8021 填料 (New England Biolabs, Inc, Beverly USA) 装填并预处理好柱料后, 以目的蛋白约 3 g/L 柱料的标准上样, Column Buffer 洗杂, 含麦芽糖的 Column Buffer 洗脱目的蛋白。

#### 1.2.2 天然别藻蓝蛋白的分离纯化

将螺旋藻粉溶于磷酸缓冲液中, 反复冻融破碎细胞后, 提取液经硫酸铵沉淀, 透析, 然后上羟基磷灰石柱纯化。

#### 1.2.3 藏红花素褪色反应清除氢过氧自由基能力的测定

参考 Bhat 方法建立实验模型<sup>[4, 16, 17]</sup>。反应体系包括: 10  $\mu$ mol/L 的藏红花素, 不同质量浓度的蛋白样品溶液 (10, 20, 30, 40, 50 mg/L) 及 10 mmol/L 的 pH 7.4 的 PBS 溶液。加入 10 mmol/L 的 AAPH 后, 氢过氧自由基开始生成, 记录 2~5 min 中在 440 nm 处的光吸收值, 褪色速率可用公式  $V_b/V_a = 1 + (K_a/K_c) \times C_A/C_C$  计算。其中,  $V_b$  是无蛋白样品时的藏红花素的褪色速率,  $V_a$  是加入蛋白样品时的藏红花素的褪色速率。 $C_A$  表示蛋白样品的浓度,  $C_C$  表示藏红花素的浓度。 $K_a$  和  $K_c$  表示氢过氧自由基分别与重组别藻蓝蛋白和藏红花素反应的速度常数。作图得一直线, 斜率即是  $K_a/K_c$ 。对照为尿酸。

## 2 结果与分析

### 2.1 重组别藻蓝蛋白的纯化

金属离子螯合层析纯化后的重组别藻蓝蛋白 His $\alpha^{APC}$ 、His $\beta^{APC}$ 、His-APC, Amylose 亲和层析纯化后的重组别藻蓝蛋白 MBP $\alpha^{APC}$ 、MBP $\beta^{APC}$ 、rAPC 经 SDS-PAGE 检测其纯度 (图 1), 经 VDS 型凝胶成像系统 (Pharmacia, USA) 对泳道进行扫描, 再用 Image Master 1D Eliter 软件 (Amersham Pharmacia Biotech) 分析, 目的蛋白纯度达到 95% 以上。

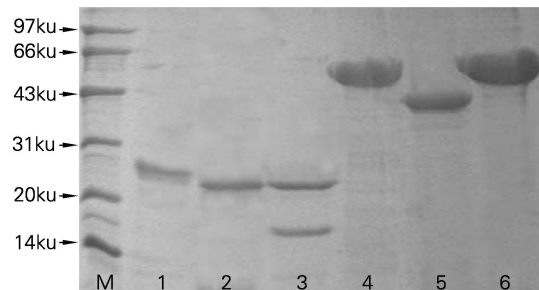


图 1 重组别藻蓝蛋白及其亚基 SDS-PAGE 电泳结果  
Fig. 1 SDS-PAGE analysis of recombinant allophycocyanin and its subunits

1. His $\alpha^{APC}$ ; 2. His $\beta^{APC}$ ; 3. His-APC; 4. MBP $\alpha^{APC}$ ;  
5. MBP $\beta^{APC}$ ; 6. rAPC

M. 标准蛋白质; M. standard protein markers

### 2.2 天然别藻蓝蛋白的纯化

天然别藻蓝蛋白经硫酸铵沉淀和两次羟基磷灰石柱层析后, 室温下 APC 的最大吸收峰为 650 nm,

荧光发射峰为 665 nm, 与文献报道吻合, APC 的  $A_{650}/A_{280} = 4.1$ , 大于 4.0, 可以用于抗氧化实验研究。

2.3 重组别藻蓝蛋白及天然别藻蓝蛋白抗氧化活性比较

2.3.1 带有 MBP 标签的重组别藻蓝蛋白及其亚基清除氢过氧自由基的能力

图 2 比较了蛋白样品质量浓度为 50 mg/L 时清除氢过氧自由基的能力, 结果显示除带有 MBP 标签的重组别藻蓝蛋白 MBP- $\beta^{APC}$  显示出很低的清除自由基的能力外, MBP- $\alpha^{APC}$  和 rAPC 均无明显的清除自由基的能力。与之相反, 天然别藻蓝蛋白和带有 His 标签的重组脱辅基别藻蓝蛋白及其亚基则不同程度上表现出了清除自由基的能力。这说明, MBP 基团在对重组别藻蓝蛋白清除自由基的能力上只起了反作用。这可能是由于其与脱辅基蛋白或亚基的结合改变了其空间结构, 也可能是由于其本身在一定浓度下就自身产生自由基。

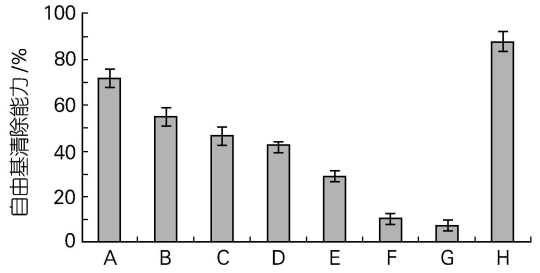


图 2 相同质量浓度下 (50 mg/L) 不同重组别藻蓝蛋白清除自由基能力

Fig. 2 The scavenging ability of different recombinant allophycocyanins at the same concentration (50 mg/L)  
A. His- $\beta^{APC}$ ; B. His- $\alpha^{APC}$ ; C. His-APC;  
D. 天然 APC; E. MBP- $\beta^{APC}$ ; F. rAPC;  
G. MBP- $\alpha^{APC}$ ; H. 尿酸

2.3.2 带有 His 标签的重组别藻蓝蛋白及其亚基清除氢过氧自由基的能力

图 3 显示了不同浓度下带有 His 标签的重组别藻蓝蛋白及其亚基与天然 APC 清除自由基的情况, His- $\alpha^{APC}$ 、His- $\beta^{APC}$  和 His-APC 均高于天然 APC, 且随着浓度的提高, 清除能力随之提高。其中, His- $\alpha^{APC}$ 、His- $\beta^{APC}$ 、His-APC、APC、尿酸的  $IC_{50}$  值分别是 45.9, 27.2, 54.8, 57.5, 7.8 mg/L;  $K_a/K_c$  值分别是 0.81, 1.24, 0.19, 3.27, 1.33 (表 1)。

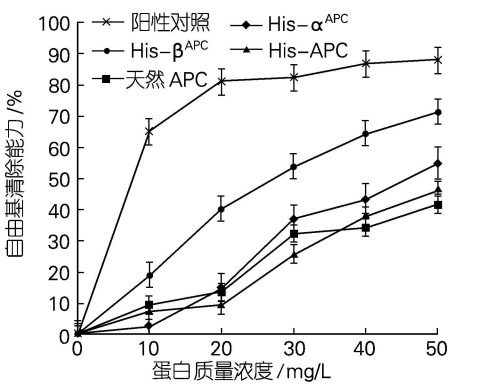


图 3 带有 His 标签的重组别藻蓝蛋白 His-APC 及其亚基 (His- $\alpha^{APC}$  和 His- $\beta^{APC}$ ) 与天然 APC 的抗氧化能力比较

Fig. 3 Antioxidant activity of His tagged APC and its subunits (His- $\alpha^{APC}$  and His- $\beta^{APC}$ ) with native allophycocyanin

表 1 His- $\alpha^{APC}$ 、His- $\beta^{APC}$ 、His-APC 和 APC 对 AAPH 产生的氢过氧自由基清除作用的比较

| Tab 1 Effect of His- $\alpha^{APC}$ , His- $\beta^{APC}$ , His-APC and native APC on scavenging peroxyl radical generated from AAPH |                  |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-----------|
| 样品                                                                                                                                  | $IC_{50}$ (mg/L) | $K_a/K_c$ |
| His- $\alpha^{APC}$                                                                                                                 | 45.9             | 0.81      |
| His- $\beta^{APC}$                                                                                                                  | 27.2             | 1.24      |
| His-APC                                                                                                                             | 54.8             | 0.19      |
| APC                                                                                                                                 | 57.5             | 1.33      |
| 尿酸                                                                                                                                  | 7.8              | 3.27      |

由于带有藻胆色素的天然别藻蓝蛋白在光照条件下可以生成自由基, 随着浓度提高, 不能饱和和吸收光能才表现出清除自由基的能力<sup>[5]</sup>, 天然藻胆蛋白中脱辅基蛋白的清除自由基能力被光合传递过程中其生成自由基的能力所抵消。故当把脱辅基蛋白及其亚基分别连接上一个分子的 His 标签重组表达后, 由于没有了藻胆色素, 生成自由基的能力大大减弱, 其较强的抗氧化能力才分别显现出来。另外, His- $\alpha^{APC}$  和 His- $\beta^{APC}$  清除自由基能力的不同, 显示出不同亚基对藻胆蛋白抗氧化能力的贡献也是不一样的。而且, His-APC 的抗氧化能力低于分别表达的 His- $\alpha^{APC}$  和 His- $\beta^{APC}$  的结果暗示  $\alpha$ 、 $\beta$  的空间结构对其抗氧化活性也有着一定的影响。

### 3 讨论

藻胆蛋白是由藻胆色素和脱辅基蛋白组成,是螺旋藻中重要的捕光色素蛋白,其光能传递效率可达90%以上。在天然状态下,藻胆蛋白在光照条件下,当存在合适电子供体或受体时,能够给出电子<sup>[18]</sup>,从而产生自由基。另外,藻胆蛋白的藻胆色素中的双键存在的异构体的可逆变化及其在光动力治疗中可产生单线态氧和其他氢过氧自由基说明藻胆蛋白还能够产生自由基。由于天然状态不是自由基清除的理想状态<sup>[5]</sup>,限制了其在抗氧化方面的运用。

本研究对应用基因工程技术获得的重组别藻蓝蛋白进行了对偶氮化合物 AAPH (2, 2'-Azobis (2-amidinopropane) hydrochloride) 产生的氢过氧自由基清除作用的测定。已有相关的文献报道,偶氮化合物 AAPH 生成的自由基使藏红花素(一种类胡萝卜素的衍生物)退色的反应是有效评价抗氧化能力的一种方法<sup>[19]</sup>。本实验运用此法对大肠杆菌中表达的几种重组别藻蓝蛋白及其  $\alpha$ 、 $\beta$  亚基 MBP $\alpha^{APC}$ , MBP $\beta^{APC}$ , rAPC 和 His $\alpha^{APC}$ , His $\beta^{APC}$ , His APC 以及天然 APC 清除氢过氧自由基的能力进行了测定。发现带有 His 标签的重组别藻蓝蛋白对氢过氧自由基均有一定的清除作用。其中, His $\beta^{APC}$  的 IC<sub>50</sub> 值为 27.2 mg/L, 高于天然 APC(IC<sub>50</sub> 值 57.5 mg/L)。带有 MBP 标签的重组别藻蓝蛋白则没有表现出明显的氢过氧自由基清除能力。

结果表明,带有 His 标签的重组脱辅基别藻蓝蛋白及其亚基没有结合藻胆色素,仍具有清除自由基的能力,且 His $\beta^{APC}$  > His $\alpha^{APC}$  > His APC。因此推测,在天然藻胆蛋白中,脱辅基蛋白也是清除自由基的贡献者之一,因而证实了关于藻胆蛋白是从脱辅基蛋白和藻胆色素两个水平上清除自由基的推论<sup>[3]</sup>。另外,本试验室早先对重组别藻蓝蛋白清除羟自由基的活性进行过比较研究,其中结合 MBP 标签的脱辅基蛋白 rAPC 的清除羟自由基的 IC<sub>50</sub> 值达到 488 mg/L<sup>[19]</sup>,而在本试验中基本没有清除氢过氧自由基的能力。这表明 rAPC 通过清除特定的自由基来达到抗氧化作用。在所有已知的活性氧种类中,羟自由基具有最广泛的靶标,它可以氧化和切割蛋白、羟基化蛋白质和 DNA 中的芳香环,致使 DNA 断裂<sup>[20]</sup>,这为进一步揭示 rAPC 的抗肿瘤机理提供了一条有益的思路。

参考文献:

[1] Kay R A. Microalgae as food and supplement

[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1991, 30: 555-573.

[2] Gonzalez de Rivera C, Miranda Zamora R, Diaz Zagoya J C, *et al.* Preventive effect of *Spirulina maxima* on the fatty liver induced by a fructose rich diet in the rat, a preliminary report [J]. *Life Sci*, 1993, 53: 57-61.

[3] Romay C, González R, Ledón N, *et al.* C-Phycocyanin: A biliprotein with Antioxidant, Anti Inflammatory and Neuroprotective effects [J]. *Current Protein Peptide Sci*, 2003, 4: 207-216.

[4] Bhat V B, Madyastha K M. G Phycocyanin: A potent Peroxyl Radical Scavenger in vivo and in vitro [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275: 20-25.

[5] 周站平,陈秀兰,陈超,等. 藻胆蛋白脱辅基蛋白对其抗氧化活性的影响 [J]. *海洋科学*, 2003, 27(5): 77-81.

[6] Romay C, Armesto J, Ramirez D, *et al.* Antioxidant and anti inflammatory properties of G phycocyanin from blue green algae [J]. *Inflamm Res*, 1998, 47: 36-41.

[7] Halliwell B. How to Characterise a biological antioxidant [J]. *Free Rad Res Commun*, 1990, 9: 1-32.

[8] Romay C, Ledón N, González R. Further studies on anti inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation [J]. *Inflamm Res*, 1998, 47: 334-338.

[9] Rimbau V, Camins A, Romay C, *et al.* Protective effects of G phycocyanin against kainic acid-induced neuronal damage in rat hippocampus [J]. *Neuro-Science Letters*, 1999, 276: 75-78.

[10] Rimbau V, Camins A, Pubill D, *et al.* G phycocyanin protects cerebellar granule cells from low potassium/serum deprivation induced apoptosis [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2001, 364(2): 96-104.

[11] Romay C, Delgado R, Ramirez D, *et al.* Effects of phycocyanin extract on tumor necrosis factor-alpha and nitrite levels in serum of mice treated with endotoxin [J]. *Rzneimittelforschung*, 2001, 51: 733-736.

[12] Reddy M C, Subhashini J, Mahipal S V, *et al.* C-phycocyanin, a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, induces apoptosis in lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 macrophages [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 304(2): 385-392.

[13] Bhat V B, Madyastha K M. Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: protection against oxidative damage to DNA [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 285(2): 262-266.

- [ 14] Qin S, Sung L A, Tseng C K. Genomic cloning, expression and recombinant protein purification of  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of the allophycocyanin (apc) gene from cyanobacterium *Anacystis nidulans* UT EX 625[ J]. **J Appl Phycol**, 16: 483-487.
- [ 15] 唐志红, 秦松, 吴少杰, 等. 镧普克的制备及对小鼠 H22 肝癌的抑制作用[ J]. 高技术通讯, 2004, **14**( 3): 83-86.
- [ 16] Bors W, Michel C, Saran M. Inhibition of bleaching of the carotenoid crocin, a rapid test for quantifying antioxidant activity[ J]. **Biochim Biophys Acta**, 1984, 796: 312-319.
- [ 17] Huang D, Ou B, Prior R L. The chemistry behind antioxidant capacity assays[ J]. **J Agric Food Chem**, 2005, 53: 1 841-1 856.
- [ 18] Evstigneev V B. The Origin of Life and Evolutionary of Biochemistry[ M]. London, New York : Plenum Press , 1974. 97.
- [ 19] Ge B, Qin S, Han L, *et al*. Antioxidant properties of recombinant allophycocyanin expressed in *Escherichia coli*[ J]. **Journal of Photochemistry and Photobiology, Biology**, 2006, **84**( 3): 175-180.
- [ 20] Winyard P G, Moody C J, Jacob C. Oxidative activation of antioxidant defence[ J]. **Trends in Biochem Sci**, 2005, **30**( 8): 453-461.

## Antioxidant activity comparison of different recombinant allophycocyanins

HAN Lu<sup>1,2</sup>, GE Bao-sheng<sup>1,2</sup>, LIN Xir-kun<sup>1</sup>, QIN Song<sup>1</sup>

( 1. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. The Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Received:** Apr. , 1, 2006

**Key words:** recombinant allophycocyanin; peroxyl radical scavenging; AAPH; crocin

**Abstract:** The apc allophycocyanin and its subunits expressed in *Escherichia coli* in our lab were purified with amylose affinity column or Ni<sup>2+</sup>-chelating affinity column. Their peroxyl radical ( generated by AAPH ) scavenging properties were evaluated by competition kinetics of crocin bleaching. The results showed that only recombinant allophycocyanin fused with 6 His tag and its  $\alpha$  or  $\beta$  subunit can scavenge peroxyl radical successfully, and the separated  $\beta$  subunit had a higher inhibition effect on peroxyl radical than others, with an IC<sub>50</sub> value of 27.2mg/L and the rate constant ratio of 1.24, higher than the native allophycocyanin with an IC<sub>50</sub> value of 57.5mg/L. We also observed that recombinant allophycocyanin fused with MBP- tag and its  $\alpha$  or  $\beta$  subunit had no remarkable scavenging ability on peroxyl radical. These results clearly suggested that apc allophycocyanin is involved in the antioxidant and radical scavenging activity of allophycocyanin. The antioxidant activity may be partially responsible for the anti tumor effect of the recombinant allophycocyanin.

( 本文编辑: 张培新 )