

376

## 紫球藻生物活性物质及其应用

顾宁琰, 刘宇峰

(南京大学 医学院, 江苏 南京 210093)

**摘要:**紫球藻(*Porphyridium*)是一种海水单细胞红藻,其在培养繁殖过程中,能够合成藻胆蛋白、高不饱和脂肪酸、硫酸酯多糖等生物活性物质,具有广阔的应用前景。本文综述了分类、形态、及其活性物质的生物应用研究。

**关键词:**紫球藻;藻胆蛋白;高不饱和脂肪酸;胞外多糖

中图分类号:R931.711 文献标识码:A 文章编号:1002-3461(2002)01-0043-06

Bioactive substances of *Porphyridium* and their applications

GU Ning-yan, LIU Yu-feng

(Medical college, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

**Abstract:** The unicellular red alga, *Porphyridium*, can be artificially cultivated. Some of very useful bioactive substances such as phycobiliproteins, polyunsaturated fatty acids (PUFA) and sulfated polysaccharides, which are synthesized by *Porphyridium*, have promising applications. This paper deals with the study of the character, production and application of *Porphyridium*.

**Key words:** *Porphyridium*; phycobiliprotein; polyunsaturated fatty acids (PUFA); sulfated polysaccharide

海洋藻类尤其是单细胞微藻富含蛋白质、脂肪、碳水化合物和人体所必需的不饱和脂肪酸等多种营养成分或多种生物活性物质。海洋微藻的研究与开发受到越来越多的关注。紫球藻属于红藻门(Rhodophyta),红毛菜纲(Bangiophyceae),紫球藻目(Porphridiales),紫球藻科(Porphyridiaceae),紫球藻属(*Porphyridium*, Naegeli, 1849),是一种比较原始的,红藻门中唯一的单细胞类群单细胞红藻,具有独特的物理特性。它分布于海水、淡水、咸水及潮湿的土壤中,有极强抗盐性,能在含盐量高达 3.5%~4.6%的环境下正常生长。其生长过程中合成藻红蛋白,高不饱和脂肪酸和紫球藻多糖等生物活性物质,有很高的经济价值。自 60 年代以来,国外许多学者围绕紫球藻的分类、生态、营养、培养及应用等方面进行了研究,取得了良好的进展。国内对紫球藻的相关报道极少。目前,文献报道的种类有 *Porphyridium aerug-*

*ineum*, *Porphyridium purpureum*, *Porphyridium cruentum*, *Porphyridium marinum*<sup>[1]</sup>, *Porphyridium* sp. 的报道相对略少。

紫球藻的形态结构已有相关报道<sup>[1,2]</sup>。紫球藻细胞呈球形,大小约 8~15 $\mu\text{m}$ 。细胞外包围着一层粘质鞘(Delatinous sheaths),粘质鞘是紫球藻细胞生长进入稳定期后大量产生的胞外水溶性粘多糖-紫球藻多糖形成的。因粘质鞘的相互粘连而使多个细胞不规则地聚成一团,固体培养时形成一个薄层,液体培养时则出现附壁或呈团块沉淀现象。细胞内有一个大而呈星状的载色体,中央部位有一中央粉红区(Pyrenoid region),其形状是该属的唯一特征。其中除含叶绿素、胡萝卜素和叶黄素外,还有大量藻红素、藻蓝素,其中以 B-藻红素(B-PE)含量最多,载色体因此而呈深红色。

紫球藻的繁殖方式是细胞二分或四分分裂繁殖,每个分裂周期约 15min<sup>[3]</sup>。其生长与一般微藻相似,受温度<sup>[4,5]</sup>、光照<sup>[5,6]</sup>、pH<sup>[3]</sup>及其它化学

因素,如盐度<sup>[7]</sup>、碳源<sup>[8]</sup>、三十烷醇的影响<sup>[9]</sup>。

在生长过程中,紫球藻能合成多种有价值的生物活性物质。Reholoso Fuentes 报道,*P. cruentum* 的营养成分包括有粗蛋白、碳水化合物、纤维、RNA、矿物元素(Na、K、Ca、Mg、Fe、Cu、Zn、Cr、Co、S、As、Pb、Cd)、脂肪酸和色素(胡萝卜素、藻胆色素蛋白、叶绿素和降解蛋白)<sup>[10]</sup>。

### 1 藻胆蛋白

藻胆蛋白(Phycobiliprotein)是一种水溶性色素蛋白,由脱辅基蛋白和开链吡咯结构的色基通过硫醚键共价交联而成。存在于红藻、蓝藻、隐藻和某些甲藻体内,是这些藻类所特有的光合系统捕光色素。根据结构和光谱特性,藻胆蛋白被分成 3 个主要大类:藻红蛋白(Phycoerythrin, PE),藻蓝蛋白(Phycocyanin, PC)和别藻蓝蛋白(Allophycocyanin, A-PC)<sup>[11]</sup>。

紫球藻细胞内有一个大而呈星状的色素体,内含丰富的藻红蛋白和藻蓝蛋白,其中以 B-PE 含量最多。藻胆蛋白含量可达到细胞总蛋白量的 50%,其中藻红蛋白占 84%,是 B-PE 的一个重要来源。

藻胆蛋白具有多方面的应用价值:(1)天然色素:紫球藻中含有丰富的藻红素,尤其是 B-PE,已成为具有较高商业价值的天然色素蛋白。它有很好的着色能力,无毒,可以在水产饲料、食品、软饮料和化妆品中广泛应用。(2)荧光探针:用为生物学相容的荧光蛋白探针,已经革命性的改变了细胞分子生物学的研究、发展,它们可以让研究者在活细胞中看到生化事件<sup>[12]</sup>。温少红等<sup>[13]</sup>研究了紫球藻的光谱特性,B-PE 量子产率高,Stokes 位移大(可达到 78nm 左右)且与生物大分子结合后不变性,而一般荧光剂的 Stokes 位移小于 30nm,且有毒,因此藻红蛋白可作为理想的荧光标记以代替放射性同位素标记应用于生物医学研究及临床诊断<sup>[14]</sup>。Bidan G 等利用

R-藻红蛋白抗生素的识别功效应用于血样中肝炎细胞病毒基因型的荧光检测<sup>[15]</sup>。Corver WE 等报道,用 PI 作为 DNA 印迹, FITC、RPE 和 APC(别藻蓝蛋白)作为标记分子,通过四色高分解多参照 DNA 流式细胞仪分离鉴别于宫颈癌内部异质性肿瘤的表现型<sup>[16]</sup>。Thammapalerd N, Supasiri T 等<sup>[16]</sup>将 R-藻红蛋白和单抗作为荧光抗体探针去检测内阿米巴滋养体。另有报道:藻红蛋白还可应用于药物学研究。B-PE 具灵敏的线性荧光饱和度, Kang MY 等在体外应用荧光藻红蛋白去评价在手术期间(麻醉中)主要药物的抗氧化活性。(3)被用为环境监测手段:藻体内 PE 及其它色素的不同种类及含量可通过其不同光学特征而得到区分。利用这一性质可在水体中直接检测水华、赤潮。(4)在肿瘤光动力治疗中的作用:光动力治疗肿瘤细胞是近年发展起来的一种新方法。其原理是利用一些荧光量子产额高的光敏剂注射体内,肿瘤细胞与其亲和性高于正常细胞,因而滞留在肿瘤细胞中。当用强光照射后,光敏剂吸收光子跃迁至激发态,处于激发态的光敏剂再将能量传至周围的氧分子产生单线态氧。单线态氧是细胞的强氧化剂,可杀伤肿瘤细胞,而对正常组织的损伤极小。用藻胆蛋白作为肿瘤光动力治疗的光敏剂,资源丰富,价格便宜,有重要经济价值。李冠武等<sup>[17]</sup>报道了多管藻 R-藻红蛋白的激光光敏作用对体外培养的肿瘤细胞生存的影响。先用藻红蛋白处理再经波长为 488nm、25.6J/cm<sup>2</sup> 氩离子激光辐射,细胞存活率为 25%;而单用藻红蛋白、单用激光组分别为 43%和 107%,表明藻红蛋白的光敏作用对体外培养的肿瘤细胞有较强的杀伤作用。何立明等<sup>[18]</sup>报道藻蓝蛋白-铜蒸气泵浦染料脉冲激光对大肠癌细胞株 HR8348 的杀伤作用显示出线性剂量效应。何立明等<sup>[19]</sup>还研究了藻蓝蛋白对大肠癌和小鼠移植瘤的光敏作用。(5)另外,1998 年唐改等<sup>[20]</sup>报道,藻蓝蛋白能促进 PHA 刺激

淋巴细胞转化的作用,具剂量依存关系,恢复 T 细胞受环磷酰胺损伤后 E 玫瑰花环形成能力。1999 年余丽君等报道,藻胆蛋白可清除氧自由基。

## 2 高不饱和脂肪酸

高度不饱和脂肪酸(Polyunsaturated fatty acids, PUFA)有好几种: $\omega$ -3 系列,主要有  $\alpha$ -亚麻酸(18:3n-3),硬脂酸(SA,18:4n-3),二十碳五烯酸(EPA,20:5n-3)和二十二碳六烯酸(DHA,22:6n-3); $\omega$ -6 系列,

主要有:亚油酸(18:2n-6), $\gamma$ -亚麻酸(LA,18:3n-3),双同型  $\gamma$ -亚麻酸(20:3n-6)和花生四烯酸(AA,20:4n-6)。

王长海等<sup>[21]</sup>用气相色谱分析仪分析浓缩的紫球藻脂肪酸样品中脂肪酸的组分及含量(结果见表 1),结果表明:紫球藻细胞体内的总脂肪酸含量占细胞生物量干重的 6%~8.5% 左右。不饱和脂肪酸占总脂肪酸的 64.21%,其中 AA、EPA 和  $\gamma$ -亚油酸的含量分别占总脂肪酸的 21.0%、26.7% 和 2.67%。

表 1 紫球藻脂肪酸的主要组分及含量

不饱和脂肪酸	组分	C16:1	C18:1	C18:2	C20:4	C20:5	C20:2
	含量(%)	2.30	1.42	5.62	21.6	26.1	2.67
饱和脂肪酸	组分	C8:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	
	含量(%)	1.22	0.22	0.25	30.84	0.42	

脂肪酸的不饱和程度和组成受多种因素影响。Klyachko-Gurvich Gedal 等报道,光密度<sup>[22]</sup>、盐度<sup>[23]</sup>、含氮培养基的日更新比例<sup>[24]</sup>与脂肪酸的不饱和程度有关。因此,人为地控制紫球藻的生长条件可以定向、高效地生产某一类 PUFA。

传统上鱼油是 EPA 和 DHA 的主要来源。通过传统生产来源获取 EPA 和 DHA 存在着不少缺点。与传统鱼油中提取 PUFA 法相比,利用紫球藻生产 PUFA 相对于传统生产来源获取 EPA 和 DHA 具有以下优点:提取物无腥味,可用于食品行业;脂肪酸的组成和含量可通过生长条件来确定,可以定向、高效地生产某一类 PUFA;而且紫球藻可以大规模室外培养,原料来源稳定、提取容易、工业成本较低,是一类极有潜力的 EPA、DHA 和 AA 的生产来源。

高不饱和脂肪酸在生物体内具有重要的生理功能:(1)PUFAs 是生物膜的重要组成部分,可调节细胞构型、动态平衡、相转变及细胞膜的渗透性,同时调节与膜有关的生理过程。(2)PUFAs 可以转化成调节人体某些生理功能的代谢产物,如 PUFA 类二十碳烯酸物质

(eicosanoid),前列腺素(prostaglandins),凝血黄素(thromboxanes),白三烯素等。(3)PUFAs 具有调节某些基因表达的作用,如调节编码脂肪酸合成酶、钠离子通道蛋白、氧化氮合成酶、7- $\alpha$ -胆固醇脱氢酶基因的表达,从而影响脂肪酸合成及有关的疾病的发生。

PUFA 在生物体内具有重要的生理功能,有很高的药用和保健价值。通过控制饮食中脂肪的摄入量,增加 PUFA 的比例,可以调节人体脂肪代谢,预防和治疗与此有关的疾病的发生,如胆囊炎、胰腺炎、病毒性肝炎与肝硬化、糖尿病等肝胆胰疾病、肥胖症。目前研究认为脂肪是所有膳食因素中,最直接明确与肿瘤相关的因素,主要与胃肠道肿瘤和内分泌器官肿瘤有关,特别是乳腺癌、前列腺癌和结肠癌。周少波等报道,结肠癌与膳食中摄入的动物脂肪量正相关,脂肪酸的种类和组成也影响癌变的危险性<sup>[25]</sup>。脂肪酸不饱和程度愈高,即含 n-6 脂肪酸较多的玉米油要比饱和的牛脂更多促进增生的细胞核抗原的表达,进而增加其结肠癌变的可能性。富含 n-3 系列脂肪酸,使大鼠结肠粘膜细胞 PCNA 表达的较少,可能导致 DNA 聚合酶辅助

蛋白下降,从而影响了该酶活性,减少了异常细胞的增殖,抑制 MNU 对肿瘤的启动过程。紫球藻中丰富的 PUFA 可以调节人体脂肪代谢,减小发病的风险。

DHA、EPA 经临床实验证明对心血管疾病有一定疗效,可以增加高密度脂蛋白胆固醇(HDL)的浓度,清除血管内的胆固醇,降低血脂,预防高脂血症。血脂降低,胆固醇不易在血管内堆积,减少了动脉粥样硬化的风险。PUFA 还有降血压的作用,对高血压有保健作用。李有柱等<sup>[26]</sup>研究用多不饱和脂肪酸预防人工血小板聚集。富含多不饱和脂肪酸(主要是 n-3 多不饱和脂肪酸,27.6%)可以引起实验动物非常明显的脂类代谢变化,即由此引起的血小板记数及功能的改变。Sckacky 将其归于 n-3 多不饱和脂肪酸及血小板膜脂蛋白的改变<sup>[27]</sup>。这一机制维持移植血管通畅,延长血小板凝集时间,抑制血栓形成,可预防脑卒中、心肌梗塞。

另外,DHA 是大脑营养必不可少的,可改善大脑机能,提高记忆力,促进胎儿大脑发育等。

### 3 紫球藻胞外多糖

紫球藻生长阶段进入稳定期后,细胞大量产生胞外多糖,并逐渐溶入培养基中,使其变得十分粘稠,在其细胞膜外层也分布并形成粘性鞘膜。这种多糖是一种硫酸酯多糖,主要由木糖、葡萄糖和半乳糖等单糖组成,易溶于水,其中硫酸酯是治疗抗病的活性基团。该多糖因有  $\text{SO}_4^-$  和  $\text{COO}^-$  的存在而呈电负性,具有独特的胶体性能。S. Geresh 等<sup>[28]</sup>研究了此多糖的流变学,其水溶液在广泛的 pH 和温度范围(pH 1~12, 20~90°C)下都很稳定,钠钙离子对其影响较小,可与单价阳离子共存。紫球藻培养液通过离心,上清液经过醇沉淀即得到所需的多糖粗品。J. Ramus<sup>[29]</sup>将溶解的多糖用十六烷基氧化吡啶沉淀,将多糖转化为钙盐,再用乙醇沉淀,生产出了光学纯产物,其中含 7.6%(质量)的硫酸盐组分。王长海等<sup>[13]</sup>研究了紫球藻合成的多糖分布及

含量(表 2);紫球藻合成的多糖在细胞内外均有分布,但主要分布在细胞外。

表 2 紫球藻多糖的分布及含量

项目	培养液	完整细胞	细胞碎片	细胞粗提液
总含量( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	3.50	2.15	2.74	2.22
占细胞干重(%)		7.66	5.57	3.27

多糖的产量与质量受很多因素的影响。硝酸盐(氮源)是主要影响因素,Shoshana (Malis) Arad 等和 Fabregas Jaime 等<sup>[24,29]</sup>研究发现:氮不仅影响多糖的产量,还影响多糖在可溶性分泌多糖与固定的细胞外层多糖之间的比例。培养基中的一些离子也有影响作用: $\text{SO}_4^-$  能促进多糖的合成,增加  $\text{Mg}^{2+}$  浓度,在提高多糖浓度的同时却降低了多糖产量; $\text{Mn}$  的加入不影响生长,但却明显地降低粘度<sup>[30]</sup>。在适宜的条件下,紫球藻多糖产量可达到生物量的 30% 左右。

紫球藻多糖具有多方面的应用价值:(1)胶体稳定剂:紫球藻多糖具有独特的胶体性能,被作为胶体稳定剂(粘和剂、乳化剂、增稠剂等)广泛应用与食品、医药、化妆、纺织、印染、冶金石油等行业<sup>[31]</sup>。在食品工业中可作为凝固剂和糖一起制成软糖,和淀粉一起制成包糖用的糯米纸。制面包时加入多糖琼脂可以使面包保持长期松软,也可用于挂面、冰糕、果汁、冰激淋中作为增稠剂。制鱼肉罐头时加入多糖琼脂,可以保持鱼肉的原形,不致在运输中散开。在国外,还用琼脂作为酿造酒、醋、酱油的澄清剂。在石油工业中,国外已成功地将其用作增稠剂,用于从地下沙质形成物中回收石油。在医药行业,可作为药膏的药基,包药粉的药衣和细菌培养基的凝固剂。其良好的乳化性能可做化妆品的保湿剂。(2)抗病毒:紫球藻胞外多糖中硫酸酯基团具有治病抗病的活性。Fabregas J 等<sup>[32]</sup>用败血症病毒(VHSV)、非洲猪瘟病毒(ASFV)这两种封闭病毒作为病毒模型进行研究,结果表明:从 *P. cruentum* 中提取的水溶物(主要有效成分为硫酸酯多糖)对两种病毒的体外复制有明显的剂量依赖性阻断作用。Garcia-

Villalon D 等<sup>[33]</sup>进一步研究了硫酸酯多糖抗 ASFV 的机理,对放射标记的 ASF 病毒体的研究表明,硫酸酯多糖阻止了病毒的吸附作用,但仅当多糖出现在病毒体的吸附过程中时,才对病毒复制有阻遏作用。另有报道,这种多糖对植物病毒、动物疱疹病毒有较强的抗性,可以预见,紫球藻多糖可预防鱼和哺乳动物病毒的致病作用。(3)降血脂、降胆固醇; Ariel Giuzberg 等<sup>[34]</sup>报道,用紫球藻粉喂养小鸡,结果其血中胆固醇水平降低,卵黄中脂肪酸的构成也发生了改变。Irit-Dvir 等研究了紫球藻多糖和藻粉对雄性 Sprager-Dawley 鼠脂代谢方面的影响;实验组血清胆固醇水平均显著低于对照组(22%~117%),多糖还降低了粘膜胆固醇浓度,胆酸排泄量也有显著提高。结果还显示,藻多糖和藻粉即使在较低的浓度水平下也有潜在的降低血胆固醇活性,说明该多糖能影响动物的脂类代谢<sup>[35]</sup>。其影响脂代谢的机理目前有几种学说,有待进一步的研究。但从目前研究的结果来看,紫球藻多糖可作为一种功能保健食品,降低血脂,预防和治疗心血管疾病及肝、胆、胰疾病。(4)减少癌症的发病风险的活性;许多调查说明,胃肠道肿瘤和内分泌器官肿瘤,特别是乳腺癌、前列腺癌和结肠癌的发病率和死亡率与脂肪有直接关系。Irit-Dvir 等<sup>[34]</sup>的研究显示, *P. sp.* 影响了雄性 Sprager-Dawley 鼠的胃肠生理;藻多糖显著增加了小肠和结肠的长度,增厚了空肠粘膜和肌层。紫球藻中的 PUFA 可以调节脂代谢,使鼠胆固

醇水平显著降低,胆酸排泄量增加。因此,紫球藻多糖可以有效的减少结肠癌等胃肠道肿瘤的发病风险。在医药和保健品领域具有潜在应用价值。(5)消除重金属对人体的危害; Palamaru llana 等<sup>[36]</sup>报道,微藻可以生物收集放射性离子  $Zn^{65+}$  实验中用 *P. cruentum* 等来净化含放射性离子  $Zn^{65+}$  的污染水体,在藻胶体与放射性悬液接触后 1~5 分钟内,  $Zn^{65+}$  就被完全化学吸附,滞留于藻胶中。Cecal A 等<sup>[37]</sup>报道,用微生物收集体回收释放的双氧轴离子  $UO^{2+}$ , *P. cruentum* 可收集 14.22%~91.99% 的  $UO^{2+}$ 。尽管这项技术目前多用于处理工业污水,但相信随着研究的深入,可以应用于清除人体内富积的重金属离子及机体产生的自由基,抗氧化抗衰老,保持人体健康。紫球藻作为一种绿色保健药物,前景诱人。(6)另外,紫球藻多糖与褐藻淀粉、褐藻胶、褐藻多糖酯(Fucoidan)具有类似的结构和相同的电荷性,但能否象后者一样具有抗凝血、抗肿瘤、抗 HIV 等的功能,或经过化学修饰改造后能获得更广泛的应用,有待进一步的研究。

#### 4 紫球藻矿物元素

紫球藻细胞还含有丰富的矿物元素。Reboloso Fuentes 等<sup>[11]</sup>报道了紫球藻矿物质的组成及含量(见表 3),其中包含许多人体所必需的微量元素,如 Zn、Mn、Fe、Mg、Cu、Ca 等。

表 3 *P. cruentum* 中矿物元素的含量

矿物元素	Na	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	Cr	S
平均(mg/100g)	1130	1190	1240	628	661	7.48	373	47.1	0.92	1410

这些微量元素大部分是具有重要生理功能的酶系统和蛋白质系统的关键成分,对核酸、激素、细胞膜等起着稳定和激活的作用,对人的生命活动有着极为重要的关系。随着人们年龄的增长和衰老的来临,微量元素在体内的含量逐渐减少,适当补充可以延缓衰老,作为一种绿色保健药物还可防治由于各种微量元素缺乏引起的症状。

总之,海洋微藻含有多种营养成分,是人类的一种重要的新资源。单细胞红藻紫球藻可以大规模室外培养,合成藻胆蛋白、萜烯和脂肪酸、硫酸酯多糖等多种生物活性物质,应用前景广阔,具有很高的经济价值。目前对其分类、结构、性质,培养繁殖的研究较多,对其生物学活性和应用方面的相关报道甚少,这是一个很有潜力,前途光明的新领域。

## 参考文献

- [1] Brody M, Vatter A. Observation on the cellular structures of *Porphyridium cruentum* [J]. *J Biophysic And Biochem Cytol*, 1959, 5(2): 289.
- [2] 王长海, 李叙凤. 紫球藻及其应用研究[J]. 海洋通报, 1998, 17(3): 79.
- [3] Schorstein K H, Scott J. Ultrastructure of cell division in the unicellular red alga *P. cruentum* [J]. *Can J of Bot*, 60: 85.
- [4] Colman B, Gehl KA. Physiological characteristics of photosynthesis in *cruentum*; evidence for bicarbonate transport in a unicellular red alga [J]. *J of Phycol*, 1983, 19: 216.
- [5] Vonshak A. The feasibility of mass cultivation of *Porphyridium* [J]. *Biomass*, 1985, 8: 13.
- [6] Merchuk JC, Ronen M, Giris S, Arad S. Light/dark cycles in the growth of the red microalga *Porphyridium* sp [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1998, 59(6): 705.
- [7] Jiang Y, chen F. Effects of salinity on cell growth and docosahexaenoic acid content of the heterotrophic marine microalga *Cryptocodinium cohnii* [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 1999, 23(6): 508.
- [8] I. Emma Huertas, Brian Colman, George S, Espie, et al. Active transport of CO<sub>2</sub> by three species of marine microalgae [J]. *Journal of Phycology*, 2000, 36(20): 314.
- [9] 肖华山, 范子南. 三十烷醇对紫球藻生长及生理活性的影响 [J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 1999, 4: 76.
- [10] Rebolloso Fuentes MM, Acien Fernández GG, et al. Biomass nutrient profiles of the microalga *P. cruentum* [J]. *Food Chemistry*, 2000, 70(3): 345.
- [11] 曹茂林. 藻胞蛋白 [J]. 植物生理学通讯, 1990, 5: 72.
- [12] Murphy John T, Lanagarias J clark [a]. The phytofluors; A new class of fluorescent protein probes [J]. *Current Biology*, 1997, 7(11): 870.
- [13] 温少红, 徐春野, 鞠宝, 等. 紫球藻藻红蛋白的分离纯化及光谱特性研究 [J]. 海洋通报, 2000, 19(3): 90.
- [14] Bidan G, Billon M, Galasso K, et al. Electropolymerization as a versatile route for immobilizing biological species onto surfaces. Application to Dna biochips [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2000, 89(2-3): 183, 93.
- [15] Cotter WE, Koopman LA, Vander AA J, et al. Four-color multiparameter DNA flow cytometric method to study phenotypic intratumor heterogeneity in cervical cancer [J]. *Cytometry*, 2000, 89(2): 95.
- [16] Kang MY, Tsuchiya M, Packer L, Manabe M. In vitro study on antioxidant potential of various drugs used in the perioperative period [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1998, 42(1): 4.
- [17] 李冠武, 王广策. 多管藻 R-藻红蛋白的激光光敏作用对体外培养的肿瘤细胞生存的影响 [J]. 激光生物学报, 1997, 6(3): 1119.
- [18] 何立明, 蔡心涵. 藻蓝蛋白-铜蒸气泵浦染料脉冲激光对大肠癌细胞株 HR8348 的杀伤作用 [J]. 中国激光医学杂志, 1996, 3(2): 90.
- [19] 何立明, 郑树. 藻蓝蛋白对大肠癌和 S180 小鼠肿瘤的光敏作用 [J]. 激光医学, 1996, 6(4): 156, 170.
- [20] 唐致, 金鹰. 螺旋藻藻蓝蛋白和藻多糖对人体外周血淋巴细胞功能的影响 [J]. 华南师范大学学报自然版, 98(4): 63.
- [21] 王长海, 温少红, 欧阳藩. 紫球藻的生物活性物质制剂 [J]. 海洋通报, 1999, 18(3): 25.
- [22] Klyachko-Gurvich Geda L [a], Tsoglin-Lev N, Doucha Jiri, et al. Desaturation of fatty acids as an adaptive response to shifts in light intensity [J]. *Physiologia Plantarum*, 1999, 107(2): 140.
- [23] Gantt E. Pigmentation and photoacclimation [M]. In Cole K M & Sheath R G. [ed] *Biology of the Red algae*, Cambridge [M]; Cambridge University Press, 1990, 203.
- [24] Fabregas Jaime [a], Garcia Digna, Morales Ever. et al. Renewal rate of semicontinuous cultures of the microalga *P. cruentum* modifies phycoerythrin, exopolysaccharide and fatty acid productivity [J]. *Journal of Fermentation & Bioengineering*, 1998, 86(5): 477.
- [25] 周少波, 陈炳卿, 王蓬勃, 等. 脂肪酸组成对化学物诱导的结肠癌变危险性机理的研究 [J]. 卫生研究, 1999, 28(2): 112.
- [26] 李有柱, 梁桂环. 多不饱和脂肪酸预防人工血小板聚集的研究 [J]. 吉林医学, 1994, 15(3): 141.
- [27] Schackl Von C. Long-term Effects of Dietary Marine n-3 Fatty Acids Upon Plasma and Cellular Lipid, Platelet Function and Eicosanoid in Humans [J]. *J Clin Invest*, 1985, 76: 1626.
- [28] Geresh S, Arad (Malis) S. The extracellular polysaccharide of the red microalgae: Chemistry and Rheology [J]. *Bioresource Technology*, 1991, 38: 195.
- [29] Shoshana (Malis) Arad, Orit (Dahan) Friedman, Avi Rotem. Effect of Nitrogen on polysaccharide production in a *Porphyridium* sp. [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 2411.
- [30] Arad (Malis) S. Production of sulfated polysaccharides from red unicellular algae [M], in: Sladler, T (del). *Algal biotechnology* [M], London and New York, Elsevier applied science, 1988, 65.
- [31] Geresh S, Dawadi RP, Arad S (M). Chemical modifications of biopolymers; quaternization of the extracellular polysaccharide of the red microalga *porphyridium* sp [J]. *Carbohydrate polymers*, 2000, 63: 75.
- [32] Fabregas J, Garcia D, Fernandez-Alonso M, et al. In vitro inhibition of the replication of haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) and African swine fever virus (ASFV) by extracts from marine microalgae [J]. *Antiviral Research*, 1999, 44(1): 67.
- [33] Garcia-Villalon D, Gil-Fernandez C. Antiviral activity of sulfated polysaccharides against African swine fever virus [J]. *Antiviral Res*, 1991, 15(2): 139.
- [34] Ariel Ginzberg, Merav Cohen, Uriel A. Sod-Moriah, et al. Chickens fed with biomass of the red microalga *P. sp* have reduced blood cholesterol level and modified fatty acid composition in egg yolk [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2000, 12(3/5): 325.
- [35] Irit Dvir, Renven Chayoth, Uriel Sod-Moriah, et al. Soluble polysaccharide and biomass of red microalga *P. sp* alter intestinal morphology and reduce serum cholesterol in rats [J]. *British Journal of Nutrition*, 2000, 184(4): 469.
- [36] Palamaru Ilana [a], Cecal A [a], Rudic V, et al. Bioaccumulation of radioactive zinc-65 ions [French] [J]. *Revue Roumaine de Biochimie*, 1996, 33(3-4): 215.
- [37] Cecal A [a], Rudic V, Gulea A, et al. Recuperation of uranyl ions from effluents by means of microbiological collectors [J]. *Waste Management*, 1997, 17(1): 97.

(收稿日期: 2001-06-17)