

A-S2-18

金乌贼墨多糖的制备及对多氯联苯引起的生殖细胞损伤的缓解作用

葛兴朝, 刘蕊; 指导教师: 武艳群

济宁医学院 2012 级生物技术

【目的】 多氯联苯(PCB)在工业上曾作为电介质、润滑剂、增塑剂被广泛应用,是种难分解的氯代芳烃族内分泌干扰物,由于过去大量使用且难分解并通过生物链累积,因此 PCB 在环境中仍然普遍存在,对动物和人体的生殖系统、免疫系统等造成巨大伤害。诱导氧化损伤是 PCB 生殖毒性机制中一个最重要的途径,那么具有抗氧化活性的物质就有可能预防 PCB 的毒性。乌贼墨是由软体动物乌贼墨囊中的分泌腺合成的,含有多种海洋活性物质。而乌贼墨多糖是从乌贼墨中分离提取得到的一种新型海洋活性物质,最近的研究结果表明,其具有较高的体外抗氧化活性。由于 PCB 能引起自由基的产生和氧化损伤,而乌贼墨多糖具有清除自由基的作用,加之目前关于乌贼墨多糖与 PCB 相互作用的机理还未有报道。为此,本研究以小鼠生殖细胞作为模型,探讨并阐明金乌贼墨多糖缓解 PCB 引起的生殖毒性作用,为动物食源性乌贼墨多糖用于防治氧化性 PCB 生殖毒性提供理论指导。

【方法】 采用木瓜蛋白酶水解和 Sevag 结合的方法提取和纯化金乌贼墨多糖,并采用高效液相色谱对其进行分析鉴定。建立小鼠生殖细胞-体细胞无血清共培养模型,确定 PCB 对生殖细胞的毒性作用依赖的剂量和作用时间。不同剂量水平的金乌贼墨多糖与 PCB 联合作用,分析金乌贼墨多糖对多氯联苯引起的生殖细胞损伤的缓解作用。

【结果】 高效液相色谱及光谱分析结果显示,经木瓜蛋白酶水解和 Sevag 结合的方法所制备的金乌贼墨多糖成分均一,分子量约为 37 ku。10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PCB 会导致小鼠生殖细胞核染色质固缩,细胞出现脱落和崩解,产生严重的细胞毒性。添加金乌贼墨多糖则可缓解 PCB 的细胞毒性,细胞活性得到恢复。

【结论】 实验表明,具有抗氧化活性的金乌贼墨多糖能够缓解 PCB 的氧化损伤,防止 PCB 的生殖毒性。

关键词: 金乌贼墨多糖;多氯联苯;生殖细胞;小鼠

A-S2-19

来源于一株嗜热菌的 L-阿拉伯糖异构酶的分离纯化及其蛋白质印迹分析

张冉,董超男;指导教师:常允康

济宁医学院 2012 级生物技术

【目的】 L-阿拉伯糖异构酶(L-AI)是生物转化生产功能性糖 L-阿拉伯糖的关键酶。尽管对 L-AI 的研究已达数十年,但直到 2006 年,首个来源于大肠杆菌(*E. coli*)的 L-AI(ECAI)的晶体结构才被解析出来,但其最高分辨率仅为 2.6,且只解析出了单酶的空间结构。到目前为止,虽然对 L-AI 的研究不断深入,但是未见有其晶体结构的相关报道。我们在研究过程中发现 L-AI 家族蛋白难以结晶,因此本文拟通过研究来源于一株嗜热菌的 L-AI,研究导致其不能结晶的可能原因。

【方法】 通过分子克隆手段,实现嗜热菌 L-AI 编码基因在 *E. coli* 中的异源表达;通过镍柱亲和层析纯化得到 L-AI 纯酶;通过 SDS-PAGE 及蛋白质印迹检测,分析 L-AI 在溶液中的状态。

【结果】 SDS-PAGE 结果显示,L-AI 经过镍柱纯化后基本可达到电泳纯,即只有一条蛋白条带;蛋白质印迹结果显示,在目的蛋白条带上下方存在多条蛋白条带,上方条带可能是 L-AI 发生聚集所致,下方条带可能是 L-AI