

* * * * *
* 研究简报 *
* * * * *

微囊藻毒素对鱼蛋白磷酸酶抑制作用的研究*

徐立红 张甬元 陈国胜 徐 盈 原田健一¹⁾

(中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

1) (日本名城大学药学部)

STUDY OF INHIBITION OF MICROCYSTINS ON FISH PROTEIN PHOSPHATASE

Xu Lihong, Zhang Yongyuan, Chen Guosheng, Xu Ying and Ken-ichi Harada¹⁾

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences Wuhan 430072)

1) (Faculty of Pharmacy, Meijo University, Nagoya 468, Japan)

关键词 微囊藻毒素, 鱼蛋白磷酸酶, 抑制, 促肿瘤作用

Key words Microcystins, Fish protein phosphatase, Inhibition, Tumor acceleration

微囊藻毒素是蓝藻的微囊藻属及其它几个属中的某些种或品系产生的次生代谢产物, 由于这类蓝藻是产生淡水水华的主要生物, 因而使得大量水体中有微囊藻毒素存在。这类毒素的一般结构为环(D-丙氨酸-L-X-赤-β甲基-D-异天冬酸-L-Y-Adda-D-异谷氨酸-N-甲基脱氢丙氨酸), X、Y为两种可变氨基酸, 已发现五十多种异构体, 其中存在较多, 毒性较大的是LR, YR, RR, L, Y, R分别为亮氨酸, 酪氨酸, 精氨酸。MacKintosh等人首次发现微囊藻毒素对蛋白磷酸酶有极强的抑制作用, 随后两阶段致癌实验证明微囊藻毒素有极强的促肿瘤作用, 而且选择性地作用于肝细胞, 因此, 对它的研究引起了各领域的科学家的关注。已有证据表明, 肝癌发病率与饮用水有关, 人饮用正产生微囊藻水华的水体的水后有明显的肝损伤出现。因而, 对水中或水生生物中微囊藻毒素的检测及对潜在促肿瘤物质的筛选是保护人体健康免受损害的主要措施。本文报道了进行这类研究的最新结果。

1 材料与方法

微囊藻毒素样品, 在日本名城大学药学部仪器分析实验室, 由水华样品及实验室铜绿微囊藻纯培养样品中分离纯化, 经HPLC检测, 每一种毒素均为纯品。蛋白磷酸酶的分离纯化, 底物糖原磷酸化酶b的磷酸化, 实验中酶蛋白量的确定, 酶活性测定, 按曾报道的方法。

*国家自然科学基金资助, 编号39400024; 淡水生态与生物技术国家重点实验室资助。

1996年2月2日收到。

2 结果与讨论

实验中分别研究了三种最常见的毒素 LR、YR、RR 对鱼肝蛋白磷酸酶 I(PP1) 和 2A(PP2A) 的抑制作用, 用毒素浓度对数对酶的相对活力作图, 呈典型的 S 型曲线(图 1, 2)。由此计算三种毒素对两种酶的半抑制浓度见表 1。

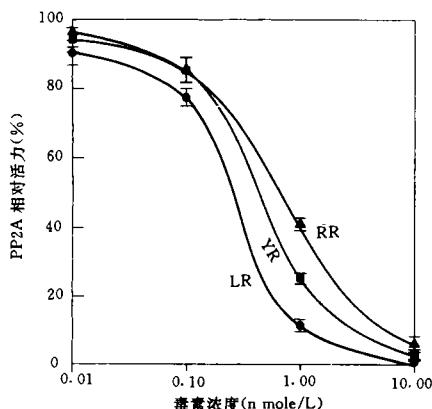


图 1 微囊藻毒素 LR、YR、RR 对鱼蛋白磷酸酶 PP2A 的抑制作用

Fig.1 Inhibition of microcystin LR, YR and RR on fish protein phosphatase

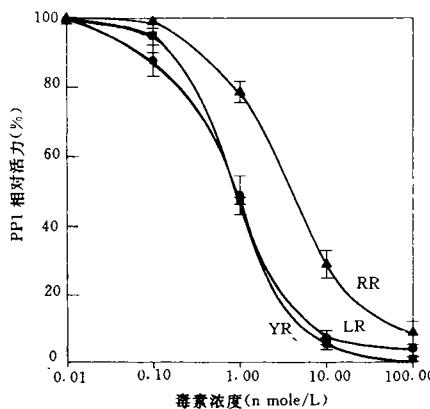


图 2 微囊藻毒素 LR、YR、RR 对鱼蛋白磷酸酶 PP1 的抑制作用

Fig.2 Inhibition of microcystin LR, YR and RR on fish protein phosphatase

表 1 微囊藻毒素对鱼蛋白磷酸酶的半抑制浓度

Tab.1 IC_{50} of micrcystins on fish protein phosphatase

毒 素	半抑制浓度 IC_{50}	
	PP2A	PP1
LR	0.28 nm	0.9 nm
YR	0.40 nm	0.9 nm
RR	0.64 nm	3.6 nm

鱼作为材料。结果表明, 微囊藻毒素对鱼蛋白磷酸酶的抑制作用模式及作用程度均与哺乳动物实验结果类似, 这个结果对于蛋白磷酸酶实验中实验材料的选择非常有价值。三种毒素对蛋白磷酸酶抑制作用的 IC_{50} , 与文献报道结果接近。

微囊藻毒素对多种生物的蛋白磷酸酶抑制作用相似, 这进一步证明了毒素的致毒机理; 这种作用极有规律而且低剂量毒素即可有明显的抑制作用, 提示可用这种抑制实验来定量测定水样中存在的极低剂量的微囊藻毒素, 检测限可达 $0.02 \mu\text{g}/\text{L}$ 。从环境毒理学考虑, 由于蛋白磷酸酶抑制可以反映一类具有相同作用机理的物质的量, 故可以用蛋白磷酸酶抑制实验定量测定具有与微囊藻毒素相同作用机制的一类促肿瘤物, 并且还可用于筛选具有潜在促肿瘤作用的化学品, 对于环境监测及化学品评价有重要意义。

由表 1 可看出, LR 与 YR 对 PP1 和 PP2A 的抑制强度类似, 相比之下, RR 对 PP1 和 PP2A 的抑制作用要弱一些, 这与毒性实验数据是一致的。

在进行微囊藻毒素抑制蛋白磷酸酶的研究中, 多是用哺乳动物作材料。由于鱼方便、易得, 而且在水生态毒理学研究中有重要意义, 因此, 本研究选用