

- 属污染研究中的应用[J]. 科学通报, 1998, 43(19): 37- 43
- [33] Dekkers M. J. Environmental magnetism: an introduction[J]. Geologie en Mijnbouw, 1997, 76: 163- 182
- [34] Yu L. & Oldfield F. Quantitative sediment source ascription using magnetic measurements in a reservoir- catchments system near Nijjar, S. E [J]. Spain Earth surface processes & Landform, 1993, 18: 441- 454
- [35] Yu L. and Oldfield F. A multivariate mixing model for identifying sediment source from magnetic measurement [J]. Quaternary Research, 1989, 32: 168- 181
- [36] 俞立中. 环境磁学在城市污染研究中的应用[J]. 上海环境科学, 1999, 18(4): 175- 178
- [37] 俞立中, 张卫国. 利用磁信息研究潮滩重金属污染的探讨[J]. 环境科学进展, 1993, 5(3): 37- 43
- [38] 俞立中, 许羽, 许世远等. 太湖沉积物的磁性特征及其环境意义[J]. 湖泊科学, 1995, 7(2): 141- 150
- [39] 张卫国, 俞立中, S. M. Hutchinson. 长江口南岸边滩沉积物重金属污染记录的磁诊断方法[J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(6): 616- 623
- [40] 陈满荣. 潮滩重金属和有机化合物污染物的环境磁学诊断研究——以长江口潮滩沉积物为例[J]. 上海: 华东师范大学博士学位论文, 2001
- [41] Balanin V. F. The use of magnetic susceptibility measurements in identifying forms of iron in soils[J]. Soviet Soil Science, 1973, 6: 486- 493
- [42] Williams T. M., A sedimentary record of the deposition of heavy metals and magnetic oxides in the Loch Dee basin, Galloway [J]. Scotland, since c. AD 1500, The Holocene, 1991, 1: 142- 150. B
- [43] Beckwith P. R., Ellis J. B., and Revitt D. M. Heavy metal and magnetic relationships for urban source sediments, Physics Earth Planet [J]. Int, 1986, 42: 67- 75. B
- [44] 白增森, 吴家华. 山西汾河流域盆地土壤八种元素分布特征的研究[J]. 土壤肥料, 1999, (3): 15- 17
- [45] 张超. 地理信息系统实习教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000
- [46] 黄杏元, 马劲松, 汤勤. 地理信息系统概论(修订版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001
- [47] 王广德, 过常龄. “Kriging”空间内插技术在地理学中的应用[J]. 地理学报, 1987, 42(4): 366- 375

南极产低温脂肪酶菌株 *Psychrobacter* sp. 7195 的 选育、发酵条件及酶学性质研究^{*}

国家海洋局第三海洋研究所海洋生物遗传资源重点实验室 (福建 厦门 361005) 张金伟 曾润颖

摘要: 从南极普里兹湾深海沉积物中筛选到一株产低温脂肪酶的菌株 7195, 细菌学形态鉴定及 16S rDNA 序列分析表明该菌株属于嗜冷杆菌属 (*Psychrobacter*)。生长特性研究表明该菌株属于耐冷菌, 其最适生长温度范围为 5~ 15℃, 7195 菌株能利用多种碳、氮源产酶。粗酶液经硫酸铵盐析、DEAE cellulose- 52 柱层析进行初步分离纯化后进行酶学性质的研究。该菌株所分泌的脂肪酶最适作用温度为 30℃, 最适 pH 值为 9.0, 对热敏感, 60℃ 热处理 10min 剩余酶活为 30%, 是典型的低温酶。Ca²⁺、Mn²⁺、Cu²⁺ 对该酶有较为明显的激活作用, 而 Co²⁺、Zn²⁺、Hg²⁺、Rb²⁺、Cd²⁺、Fe³⁺、EDTA 则能抑制酶活, 此外该脂肪酶能在高浓度的 SDS、CHAPS、Triton X- 100、Tween 80、Tween20 等变性剂中表现出较好的稳定性。

关键词: 低温酶; 碱性脂肪酶; 耐冷菌; 南极

Multicomponent Enzymes produced by *Psychrobacter* sp. 7195: Screening, Fermentation Condition and Enzyme Characterization

ZHANG Jin-wei, ZENG Run-ying

Key Laboratory of Marine Biogenetic Resources, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China

ABSTRACT: A strain 7195, which produces cold- adapted lipase, was isolated from the deep sea sediment of Prydz Bay, Antarctic. The morphology identification and 16S rDNA sequence analysis showed that it belonged to genus *Psychrobacter*. The optimal growth temperature of the *Psychrobacter* sp. 7195 was 5~ 15℃, indicating it was a psychrophile bacterium. The strain could utilize various single carbonaceous and nitrogenous substances and produce lipase. The optimal and highest temperatures for enzyme producing were 20℃ and 30℃ respectively. The enzyme purification was performed by ammonium sulfate fractionation and anion exchange chromatography with DEAE cellulose- 52. It was sensitive to high temperature. The optimal temperature and pH value for the lipase activity were 30℃ and 9.0 respectively. These results indicated that they were typical alkaline cold- adapted enzymes. The activities of them were stimulated by Ca²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺ and were inhibited by Zn²⁺, Hg²⁺, Rb²⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Fe³⁺ and EDTA. The cold- adapted lipase showed better resistance to inactivation of 1% detergents such as SDS, CHAPS, etc.

Key words: Cold- adapted enzyme; Alkaline lipase; Psychrophile bacteria; Antarctic

* 国家自然科学基金(No. 40406029)

Supported by the National Natural Science Youth Foundation of China (No. 40406029)

作者简介: 张金伟, 在读硕士研究生, E- mail: jinweizhang@21cn.com

通讯作者: 曾润颖, E- mail: runyingzeng@yahoo.com.cn

收稿日期: 2006- 01- 18, 接受日期: 2006- 02- 13

极地低温环境中的微生物资源十分丰富,而且由于环境条件的特殊性,可以分离到能产生各种特殊活性物质的微生物。在这些特殊活性物质中,低温酶、冷适应酶由于在低温下具有较高的催化效率,在工业上具有重要的应用价值,因此受到广泛的关注^[1]。

脂肪酶(EC. 3. 1. 1. 3)是能够分解脂肪酸甘油酯的酶类。目前,已有大量的细菌脂肪酶的酶学特性和底物特异性广被研究而得到认识^[2-4]。而碱性脂肪酶,是在碱性条件下水解脂肪的酶,它可以水解天然油脂,产生脂肪酸及甘油,是一种专门在异相系统(油水)界面上水解特殊酯(脂肪酸甘油)类的酶,从而提高了对脂肪污垢的去除能力。

本文通过对南极海域沉积物样品进行微生物的分离筛选,得到一株耐冷菌株 7195,产低温碱性脂肪酶,是目前洗涤剂用酶中的主要酶种^[5,6]。菌株在低温下具有较高的活性,用 16S rDNA 作为进化指征对其进行分类学鉴定,并对其发酵条件及其酶学性质做了进一步的研究。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

菌株 7195 筛选自南极普利兹湾深海沉积物(74°25' E, 66°55' S, 水深 900 m),样品于 2001 年 11 月~2002 年 4 月中国第十八次南极考察航次期间采集,采用多管采样器采集,在超净台中去除表层后,将内层样品保存于-20℃条件下带回。

1.2 培养基

改良的 2216E 培养基 蛋白胨 1%,酵母膏 0.2%,用福建沿海处取的陈海水(放置一个星期以上的海水,用 0.22 μm 滤膜过滤后使用)配制, pH 7.0~8.0。固体培养基另加 1.5% 琼脂粉。

脂肪酶产生菌选择性培养基 葡萄糖 0.2%,可溶性淀粉 0.5%,蛋白胨 0.5%,酵母膏 0.5%,花生油 5%,维多利亚兰 0.04%,琼脂粉 1.5%,陈海水配制。

基础发酵培养基 蛋白胨 1%,葡萄糖 0.5%,陈海水配制, pH 8.5。

种子发酵培养基 蛋白胨 1%,酵母膏 0.2%,陈海水配制, pH 8.5。

产酶发酵培养基 可溶性淀粉 2.5%,橄榄油乳化液 0.25%,蛋白胨 1.5%,陈海水配制, pH 8.5。

1.3 菌种分离

将样品稀释^[7]后涂布于改良 2216E 培养基上,于 15℃ 培养 3~7 d,采用滤纸影印法将菌落转接于各种筛选培养基上,挑取有脂肪酶活性的单菌落再次划线培养,取单菌落镜检后接种于液体改良 2216E 培养基中,培养 3~7 d 后加入 15% (终浓度)甘油,于-80℃超低温冰箱中保存。

1.4 酶提取及纯化

将 7195 菌株接种于发酵培养基中,在 20℃, 200 r/min 下振荡培养 72 h 后离心后取上清,即得粗酶液。向粗酶液中加入硫酸铵至 10% 饱和度,4℃放置 1 h, 10000 r/min 离心 20 min 后,往上清液继续加入硫酸铵至 80% 饱和度,4℃放置 24 h,于 15000 r/min 离心 15 min,沉淀用 0.01 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 9.0)溶解,并在相同缓冲液中透析过夜。把透析后的酶液在 4℃下 10000 r/min 离心 30 min,上清液经冷冻干燥浓缩后上样于已用 Tris-HCl 缓冲液(0.01 mol/L, pH 9.0)平衡过的 DEAE cellulose-52 离子交换柱,并用含 0~0.5 mol/L NaCl 梯度的 Tris-HCl 缓冲液洗脱,收集具有酶活性的洗脱组分,冷冻干燥后保存。

脂肪酶酶活测定采用 p-NPP 法^[8]进行,以 30℃、pH 9.0 条件下作用 10 min,每分钟分解对硝基苯棕榈酸酯(p-Nitro-phenyl palmitate)释放出 1 μmol 对硝基酚(p-Nitrophenol)所需的酶量定义为 1 个酶活力单位,以 u 表示。

1.5 7195 菌株的分子鉴定

扩增分离得到 7195 菌株的 16S rDNA^[9],将序列提交 EMBL (European Molecular Laboratory) 数据库,与数据库中已有的细菌 16S rDNA 序列进行相似性比较分析。序列的比较及系统发育分析采用 DNAMAN 5.1 软件进行。

1.6 温度对 7195 菌株生长的影响

将 7195 菌株接入改良的 2216E 液体培养基,分别于不同温度下的摇床中 200 r/min 振荡培养,隔一定时间取样,测 600 nm 的光吸收值,绘制菌株在不同温度下的生长曲线^[7]。

1.7 发酵条件研究

1.7.1 产酶的周期:将基础发酵培养基 pH 值调节至 8.5,接入 10% 种子培养液,于 20℃, 200 r/min 振荡培养,测定不同时间发酵液中脂肪酶的活力,并绘制产酶曲线。

1.7.2 温度对产酶的影响:将基础发酵培养基 pH 值调节至 8.5,接入 10% 种子培养液, 200 r/min, 分别在 5、10、15、20、25、30、37℃下发酵 72h, 绘制产酶曲线。

1.7.3 碳源试验:在基础发酵培养基中以不同的碳源代替葡萄糖,其终浓度为 1%, pH 8.5, 20℃下 200 r/min 振荡培养 72 h, 取粗酶液测定酶活。所用碳源包括,葡萄糖、淀粉、糊精、蔗糖、乳糖、半乳糖、D-木糖、D-果糖、纤维二糖、甘露醇、阿拉伯糖、棉子糖、鼠李糖。

1.7.4 氮源试验:在基础发酵培养基中以不同的氮源代替蛋白胨,其终浓度为 0.5%, pH 9.0, 20℃下 200 r/min 振荡培养 72h, 取粗酶液测定酶活。所用的氮源包括,蛋白胨、(NH₄)H₂PO₄、NH₄Cl、NaNO₃、(NH₄)₂SO₄、尿素、豆饼粉、玉米粉。

1.8 酶学性质研究

1.8.1 温度对脂肪酶活性的影响:测定 7195 脂肪酶在不同温度下(10~50℃, 间隔 5℃)水解底物的活力,以研究其最适作用温度。

1.8.2 脂肪酶的热稳定性:将酶液于不同温度下保温一定时间,测定脂肪酶的活力,在最适反应温度下反应。

1.8.3 pH 对脂肪酶活性的影响:用 pH 4~12 的缓冲液配制底物溶液,测定在不同 pH 值下脂肪酶的酶活力。

1.8.4 表面活性剂对脂肪酶活力的影响:在酶活测定体系中加入一定浓度的各种表面活性剂,10℃混合均匀,放置 1h 后在最适条件下测定酶活,分别计算相对酶活和剩余酶活。

1.8.5 金属离子及螯合剂对脂肪酶活力的影响:向酶液中加入各种阳离子,以及螯合剂 EDTA,使其终浓度为 0.1 mmol/L,在 10℃水浴中保温 30min 后测定酶活,在最适酶活温度下反应。

2 结果

2.1 7195 菌株的分离与鉴定

2.1.1 7195 菌株的分离:通过碱性脂肪酶选择性培养基分离到的脂肪酶产生菌中,菌株 7195 具有较高的脂肪酶活力。

2.1.2 7195 菌株的细菌学鉴定:用电镜观察,7195 细胞呈短杆状(图 1),菌体大小为 0.5~1.0 μm × 1.0~2.0 μm,革兰氏染色阴性。15℃培养时在脂肪酶选择性培养基上能使菌落周围的染料呈蓝绿色,说明该菌同时具有脂肪酶活力。在改良的 2216E 板培养基上平划线,培养 3d 后菌落呈圆形,表面有光泽,边缘整齐,颜色为乳白色,不透明。

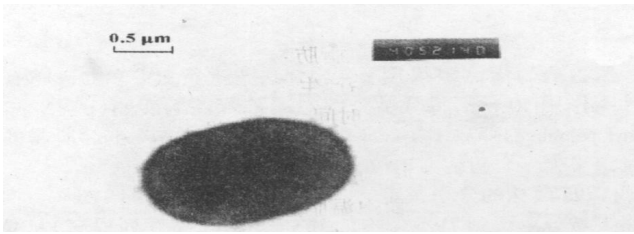


图 1 7195 在电子显微镜下的形态

Fig. 1 The conformation of 7195 in electron microscope (× 40, 000)

2.1.3 7195 菌株 16S: rDNA 序列分析 将 7195 菌株的 16S rDNA 序列与 EMBL 数据库中的序列进行同源性比较,发现与其同源性较高的菌株均为嗜冷杆菌属 (*Psychrobacter*)。一般认为,16S rDNA 序列同源性小于 98% 可以认为属于不同的种,同源性小于 95%,可以认为属于不同属^[10],因此 7195 菌株属于嗜冷杆菌属 (*Psychrobacter* genera),命名为 *Psychrobacter* sp. 7197,其 16S rDNA 的 EMBL 注册号为 AM11105。该菌株与一株嗜冷杆菌 (*Psychrobacter* sp. CK1) 的 16S rDNA 序列同源性最高,为 99.125%。

从 EMBL 数据库中选取与 7195 菌株 16S rDNA 序列同源性较高的 6 株嗜冷杆菌和其它 2 株指示细菌,分别来自假单胞菌属和大肠杆菌属。对这 8 株细菌的 16S rDNA 全序列进行遗传距离计算,并根据遗传距离计算结果绘制系统发育树(图 2)。

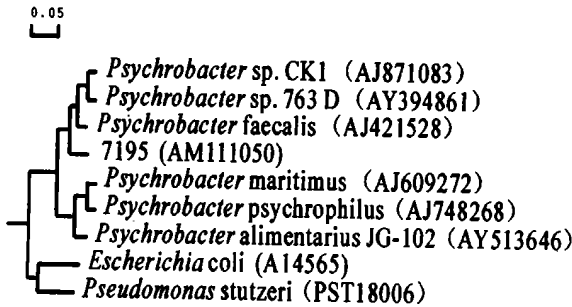


图 2 7195 菌株的系统发育树(括号内为各菌株 16S rRNA 序列在 EMBL 数据库中的注册号)

Fig. 2 Phylogenetic tree of strain 7195 (The numbers in the bracket was the accession number of each 16S rRNA sequence in EMBL database)

2.2 温度对 7195 生长的影响

由图 3 可以看出,7195 菌株在 30℃ 时其生长速度十分缓慢,20℃ 时其生长曲线的稳定期较短暂,而 5~15℃ 时的稳定期比较稳定。由图 3 可知,7195 菌株的最适生长温度为 5℃~15℃。

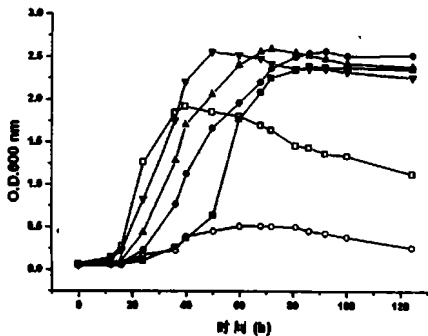


图 3 7195 的温度生长曲线

Fig. 3 Growth curve of strain NJ195 at different temperature

(4℃(■) 10℃(◆), 15℃(▲), 20℃(△), 25℃(□), 30℃(○))

2.3 7195 菌株发酵条件试验

2.3.1 温度及培养时间对产酶的影响:菌株在基础发酵培养基中发酵 65 h 后测定发酵液中脂肪酶的活力,结果表明 7195 菌株的产脂肪酶的最适温度均为 20℃,在 5℃ 下仍可检测到酶活,但在 30℃ 下基本没有酶活。

2.4 7195 菌株脂肪酶的性质

2.4.1 温度对脂肪酶活性的影响 该脂肪酶的最适反应温度为 30℃,在 15~40℃ 范围内酶活力较高,表现出明显的低温酶特性(图 4)。

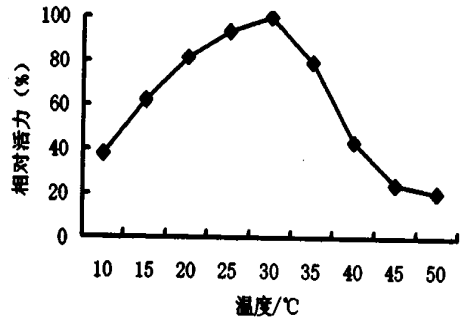


图 4 温度对酶活力的影响

Fig. 4 Effect of temperature on enzyme activity

2.4.2 脂肪酶的热稳定性:实验表明,该脂肪酶在 10℃ 下活力保持稳定,30℃ 下保温 10 h 后酶活降为 10%,60℃ 以上 10 min 基本丧失全部活力(图 5),表现出低温酶对热敏感的特性。

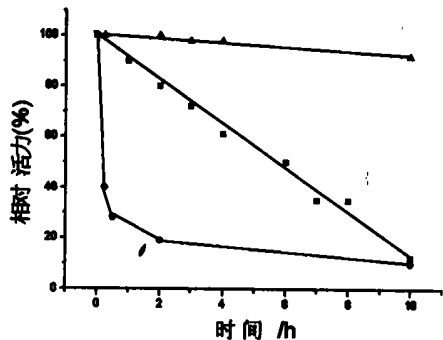


图 5 温度对脂肪酶稳定的影响

(—▲—10℃ —■—30℃ —●—60℃)

Fig. 5 Effect of temperature on the stability of lipase

2.4.3 pH 对脂肪酶活性的影响 实验结果表明该脂肪酶活力的最适 pH 为 8.5~9.0(图 6),属于碱性酶。

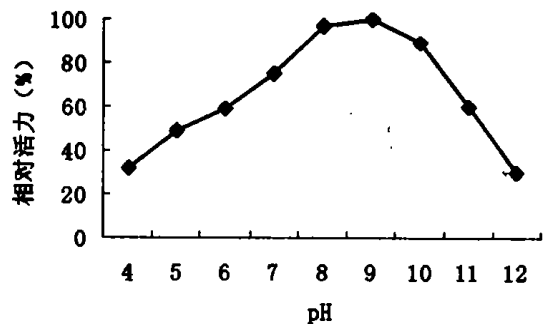


图 6 pH 对酶活力的影响

Fig. 6 Effect of pH on enzyme activity

2.4.4 表面活性剂对脂肪酶活力的影响: 在酶液中以 0.005% (m/v) 的量添加 CHAPS、SDS、Triton X-100、Span 40、Span 60、Tween 80、Tween 20 时能使脂肪酶活力提高 11%~33%。以 1% 的量添加时对酶活有不同程度的影响(表 1)。

表 1 表面活性剂对脂肪酶活力的影响

Tab. 1 Effects of detergents on lipase activity

表面活性剂	浓度 (%)	相对酶活 (%) a
—	—	100
CHAPS	0.005	127
	1	82
Triton X-100	0.005	157
	1	76
SDS	0.005	139
	1	85
Tween 80	0.005	118
	1	81
Tween 40	0.005	111
	1	75
Tween 20	0.005	120
	1	85
Span 40	0.005	116
	1	89
Span 60	0.005	118
	1	102

2.4.5 金属离子及螯合剂对脂肪酶活力的影响: Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 对 7195 脂肪酶有较为明显的激活作用; 而 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Rb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{3+} 、螯合剂 EDTA 则能抑制脂肪酶; 其他离子如 Li^{+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 等对酶活力都没有明显的影响(表 2)。

表 2 金属离子对酶活力的影响

Tab. 2 Effects of metal ions and chelator on enzyme activity

金属离子及螯合剂	脂肪酶相对酶活 (%)
—	100
Na+	106
K+	103
Li+	101
Ca^{2+}	127
Mg^{2+}	121
Mn^{2+}	105
Cd^{2+}	65
Zn^{2+}	61
Cu^{2+}	108
Co^{2+}	55
Fe^{3+}	48
Hg^{2+}	61
Rb^{2+}	66
EDTA	58

3 讨论

南极深海是筛选低温微生物和低温酶的良好环境。从南极环境中分离到的微生物大多属于嗜冷菌或者兼性嗜冷菌。根据 Morita^[11] 及 Bowman 等^[12] 的定义, 嗜冷菌 (psychrophiles) 生长温度上限为 20℃, 耐冷菌 (psychrotrophs) 的生长温度上限为 40℃, 而菌株 7195 最适生长温度为 5℃~15℃, 生长上限为 30℃, 因此该菌株属于兼性嗜冷菌。

碳、氮源利用实验表明, 菌株 7195 能利用多种碳源或者单一氮源生长并产酶, 其中以可溶性淀粉、糊精、蔗糖、果糖、

$(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ 、尿素最有利于产脂肪酶。产酶周期实验表明, 7195 在发酵的早期阶段就开始产生脂肪酶, 发酵 40~60h 是产脂肪酶的活跃时期, 延长发酵时间, 酶活即呈下降趋势。

经酶学性质试验分析, *Psychrobacter* sp. 7195 所产生的脂肪酶属于典型的碱性低温脂肪酶, 其最适反应温度为 30℃, 在 50℃ 仍可以检测到活性。而中温脂肪酶的最适作用温度一般为 45~60℃, 而低温的脂肪酶在 30~45℃ 活力最高^[5, 6, 13]。根据 Russell^[14] 的定义, 认为低温酶 (cold-active enzyme) 是在 0~30℃ 具有高的比活或生理效能, 而本脂肪酶最适作用温度在 30℃, 在低温条件下较为稳定, 因而可认为是低温脂肪酶, 具有较好的研究价值和应用前景。该脂肪酶最适 pH 值为 8.5~9.0, 属于碱性酶, 但对热都较为敏感, 在最适作用温度下保温 5h 后剩余 50%~60% 的酶活力, 而保温 10h 后仅剩余 10% 的酶活, 60℃ 热处理 10min 剩余酶活为 30%, 属于典型的低温碱性酶。

该脂肪酶对 EDTA 敏感, 可以推测该酶的活性中心构象的维持与金属离子有关; Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 等对脂肪酶有明显的激活作用, 而 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Rb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{3+} 则能不同程度地抑制酶活。在以往的研究中, Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 等金属离子对脂肪酶均有不同程度的抑制作用, 如 Cu^{2+} 几乎完全抑制了 *Pseudomonas* sp. B11-1 分泌的脂肪酶^[15]; Zn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 等金属离子也几乎完全抑制了 *Pseudomonas* sp. Strain KB700A 分泌的脂肪酶^[16]。但这些金属离子对 7195 菌株分泌的脂肪酶不但没有抑制反而有激活的作用, 这可能与该脂肪酶的特殊作用机制有关。

粗酶液经硫酸铵盐析、DEAE-cellulose-52 柱层析进行初步分离纯化后, 纯化倍数约为 25~30 倍, 以 p-Nitrophenyl palmitate 为底物, 可检测到脂肪酶比活力为 275 u/mg(发酵液平均比活力为 12.8 u/mg); 可见该脂肪酶具有比较高的比活力^[18] 和发酵效价^[18], 因此可直接用野生型菌株进行工业发酵产脂肪酶, 但发酵条件有必要进一步优化。

该脂肪酶分别与 1% 的 CHAPS、SDS、Tween 80、Tween 20、Span 40、Span 60 等非离子表面活性剂混合并于 100℃ 作用 1h 后仍表现出的相当稳定性, 说明该脂肪酶与这些非离子表面活性剂的相容性较好。在洗涤工业应用中, 对酶制剂的要求主要包括: 在碱性范围内有活性, 而且对表面活性剂的失活作用具有较好的抗性, 热稳定性好等^[17], 因此, 该脂肪酶在洗涤剂工业中将具有较好的应用前景。在洗涤剂中加入脂肪酶可以提高去污能力、降低表面活性剂和三聚磷酸钠的用量; 使洗涤剂朝低磷或无磷化的方向发展, 减少环境污染, 发挥洗涤的新功能; 酶作为一种生物制品, 无毒并能完全生物降解、对环境的生态平衡起良性的作用^[19]。

参考文献

[1] Feller G, Narinx E, Arpigny JL, et al. Enzymes from psychrophilic organisms[J]. FEMS Microbiol. Rev., 1996, 18: 189-202

[2] Jaeger KE, Ransac S, Dijkstra BW, et al. Bacterial lipases[J]. FEMS Microbiol. Rev., 1994, 15: 29-63

[3] Harwood, J. The versatility of lipases for industrial uses[J]. Trends Biochem. Sci., 1989, 14: 125-126

[4] Imagaki M, Hiratake J, Nishioka T, et al. Lipase-catalyzed stereoselective acylation of [1,1'-binaphthyl]-2,2'-diol and deacylation of its esters in an organic solvent[J]. Agric. Biol. Chem., 1989, 53: 1879-1884

[5] 徐亚林, 钱浩. 洗涤剂发展动态[J]. 日用化学品科学, 2001, 24(2): 34-35

[6] 郑毅, 吴松刚, 施巧琴. 洗涤剂用酶——碱性脂肪酶的研究概述

[J]. 日用化学工业, 2001, 1(2): 35- 38

[7] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1996: 69- 73

[8] Rashid N, Shimada Y, Ezaki S, et al. Low- temperature lipase from psychrotrophic *Pseudomonas* sp. strain KB700A[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 67(9): 4064- 4069

[9] 林念伟, 张锐, 赵晶, 等. 南极产低温蛋白酶菌株 *Marinobacter* sp. R2 的发酵条件及酶学性质研究[J]. 厦门大学学报, 2004, 43(6): 865- 869

[10] (英) W. 费迪南德. 酶分子[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 102- 127

[11] Morita R Y. Psychrophilic bacteria[J]. *Bacteriol Rev*, 1975; 39: 144- 167

[12] JP Bowman, SA Mcammon, MV Brown, et al. Diversity and association of psychrophilic bacteria in Antarctic sea ice[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63: 3068- 3078

[13] 张树政. 酶制剂工业[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 655- 669

[14] Russell N, Toward J. A molecular understanding of cold activity of enzymes from psychrophiles[J]. *Extremophiles*, 2000, 4: 83- 90

[15] Choo DW, Kurihara T, Suzuki T, et al. A Cold- adapted lipase of an Alaskan psychrotroph, *Pseudomonas* sp. strain B11- 1: gene cloning and enzyme purification and characterization[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64: 486- 491

[16] Fujita M, Torigoe K, Nakada T. Cloning and nucleotide sequence of the gene(amyP) for maltotetraose- forming amylase from *Pseudomonas stutzeri* MO- 19[J]. *J Bacterial*, 1989, 171: 1333- 1339

[17] 王淑云, 胡乐琴, 陈德龙, 等. 复合酶制剂的应用[J]. 江西畜牧兽医杂志, 1998, (3): 32

[18] 吴松刚. 吴松刚论文选集[M]. 北京: 中国文联出版社, 2002: 135- 142

[19] 郑毅, 施巧琴, 谢必峰, 等. 新型酶制剂- 碱性脂肪酶可实现国产化[J]. 微生物学通报, 2000, 27(3): 377- 379

稳恒磁场抑制肿瘤增殖的实验研究与理论探讨^{*}

西北农林科技大学生命科学院 (西安 712100) 朱杰西

摘要: 作为模型处理最简单的稳恒磁场, 其与肿瘤作用的研究是最具理论和实际意义的。分别介绍了稳恒磁场作用于微循环系统、免疫系统对肿瘤的间接抑制和杀伤作用, 磁场影响自由基代谢和细胞膜及细胞内结构对肿瘤的抑制作用; 回顾了磁场干扰细胞周期、诱导细胞凋亡对肿瘤的影响, 并介绍了稳恒磁场联合抗癌药物在治癌中的应用现状; 最后结合实验的进展情况, 分析探讨了稳恒磁场抑制肿瘤细胞增殖的物理机理, 对肿瘤磁疗的发展前景进行了展望。

关键词: 稳恒磁场; 肿瘤; 抑制作用; 增殖

Study on the Inhibiting Effects of Static Magnetic Field to the Tumor Growth in Experimentation and Theory

ZHU Jie- xi

College of Life Science, Northwest Sci&Tech University of Agriculture and Forestry, Shanxi Yangling 712100 China

ABSTRACT: Static magnetic field(SMF) is the important physical equipment when doing research on tumor- inhibiting as the simplest management model in magnetic field. the biological effects of static magnetic fields to micro- circulations system, immunity system was reviewed, which can affect (inhibit or kill) the tumor indirectly, and influence the metabolism of free radicals and the tumor inhibition of cell membrane and intracellular structure. SMF interrupting cell cycle and inducing apoptosis during tumor duplication were also retrospectively analysed. In this paper, the application of SMF combined with anticancer drugs in the treatment of cancer was introduced. Finally, according to the experimental progression status, the physical mechanism of SMF in the inhibiting tumor cell generation was investigated, and the developing perspective in tumor magnetic treatment in the future was looked ahead.

Key words: Static Magnetic Field(SMF); Tumor Cell; Inhibiting Effects; Generation

肿瘤是机体在各种致癌因素的作用下, 在基因水平上失去了对局部组织的细胞生长的正常调控, 导致异常增生而形成的细胞群。它是目前危害人类健康最严重的疾病之一。随着人们健康意识的提高, 肿瘤的诊断与治疗越来越为人们所重视。但是现有的肿瘤治疗方法(如药物治疗、温热疗法等)大多较复杂, 而且疗效也不够理想, 因而研究更为简单有效的

新疗法十分必要。长期以来, 磁场相关的研究进展缓慢; 近年来由于磁共振理论的发展和波谱技术的广泛应用, 生物磁学的研究又重新引起了人们的注意, 使磁学焕发出了新的活力, 特别是在肿瘤的诊断与治疗领域积累了大量有用的实验资料^[1]; 随着磁生物学效应研究的开展, 人们已经把目光投向了磁场对肿瘤的生物效应特别是对肿瘤的抑制效应。

^{*} 国家自然科学基金资助项目(No. 20572067); 教育部科学技术研究重点项目(No. 104167)
作者简介: 朱杰西(1980-)男, 土家族, 湖南张家界人, 硕士, 助教, 中国物理学会, 美国化学学会, 中国细胞生物学会会员。
主要从事辐射与环境生物物理、分子生物物理与理论生物物理的研究与应用工作。
作者通讯: e- mail: jiesy_zhu@126.com
收稿日期: 2006- 01- 05, 接受日期: 2006- 01- 26