

計畫名稱：應用與保健食品之海洋藻類藻株的分離、培養與活性分析

計畫主持人：黃 穰 台灣大學海洋研究所

編號：91-2317-B-002-020

執行期限：91/08/01~92/07/31

研究計畫報告

今年度計畫為第二年計畫，延續前一年的研究內容及目標。除持續採集海藻並檢測及篩選其凝集活性外，主要重點放在更多種海藻的萃取及親醣蛋白的純化及生化特性，包括胺基酸組成及 N 端定序等。同時進行萃取物的免疫及預防腫瘤的細胞株試驗。茲分述如下：

1. 海藻凝集活性成分篩選

在今年，我們繼續採集海藻，並進行萃取及活性檢測以獲得更多有關海藻親醣蛋白生成的季節及其活性變化。目前已篩選的海藻樣品數超過 300 樣品數及 160 種海藻。根據我們今年檢測結果，有許多種類的活性有明顯降低情形，這是否和生長環境條件改變以及海藻本身活性成分穩定性與否有關，有待進一步瞭解。有關台灣沿岸藻類之親醣蛋白及活性分布資料持續整理及建檔。我們也特別針對幾種重要的食用海藻，包括紫菜、龍鬚菜、石花菜、翼枝菜、麒麟菜及沙菜等，加強季節性及區域性的活性成分監測。這些種類為台灣潮間帶常見的海藻，且產量較多，容易培養，且有些種類則有人工大量養殖。由於 4~6 月為台灣海藻產量及種類較多的季節，因此在這幾個月，我們採集有更多的海藻予以萃取、純化及分析其特性。檢測結果可提供未來這些海藻應用於保健食品上的重要參考資料。

2. 海藻親醣蛋白分離純化及電泳分析

今年我們根據上一年建立的純化及化學分析方法進一步對一些食用，且具活性的海藻，如麒麟菜、扁乳節藻、龍鬚菜及日本沙菜等，進行親醣蛋白的分離純化。依蛋白質特性，分別利用離子交換，膠體過濾及親合性等管柱予以層析分離。將純化出的親醣蛋白繼續做電泳及膠體過濾分析，包括蛋白質分子量，組成及其醣含量。此次純化的四種親醣蛋白其分子量為 23-61 kDa，介於過去國外數個已發表的海藻親醣蛋白分子量範圍。純化出的親醣蛋白多數為醣蛋白，含有少量的醣類，為屬於親醣蛋白類的凝集素。

3. 海藻親醣蛋白生化特性分析

將純化出的海藻親醣蛋白做醣類及醣蛋白親合性、二價金屬離子需求性對於酸鹼及溫度的耐受性等。分離出的親醣蛋白專一性相似於已知的海藻親醣蛋

白，對醣蛋白有較強的親合性，但對少部分的單醣也具親合性，如 fucose、glucose 及 mannose、GalNAc、GluNAc 等。純化出的親醣蛋白多為單聚體，呈現凝集活性不需要二價陽離子。在酸鹼值及耐熱性測試方面，顯示上述已分離出的親醣蛋白都具有大範圍的耐酸鹼性 (pH2.0~pH10.0)及耐熱性，親醣蛋白在加熱至 80~95℃時仍具凝集活性。有的海藻粗萃取液及其純化的親醣蛋白對海洋病原弧菌有抗菌活性。另外，我們也利用國科會貴重儀器中心的氨基酸分析儀器測定蛋白質的胺基酸組成。分析結果發現純化的親醣蛋白含有較高含量的酸性胺基酸 (glycine、aspartic acid、glutamic acid 及 serine) 及少量的鹼性胺基酸 (histidine、lysine 及 arginine)。除純化外，我們也將蛋白質進行胺基酸 N 端定序，以了解其連接構造特性。惟因親醣蛋白在海藻體內含量非常少，在定序上必有些困難。對已經分離純化出的親醣蛋白及各項分析結果已分別在整理及撰寫報告。

4. 海藻萃取物及親醣蛋白之免疫、防癌實驗檢測

我們已先後將海藻萃取液樣本進行多種癌細胞株及晶片分析的篩選工作。結果顯示部分海藻萃取液具有明顯抑制癌細胞生長活性。除此之外，我們也進行多種食用海藻萃取物對各種免疫細胞株包括巨噬細胞及 T 細胞的檢測試驗。部分檢測結果令人滿意。未來將在強化及調節免疫功能上較有顯著成分的食用海藻應用為保健海藻食品。

5. 參加學術會議及研究成果發表

在這一年裏我們參加 4 次國內的相關學術研討會，也發表部份成果內容。再者，有關前述海藻親醣蛋白的萃取、分離、純化的方法及各項分析結果已完成整理，部分已投稿於國外期刊。其海藻親醣蛋白的特殊純化方法也準備申請專利。