

学校编码: 10384
学号: B200434006

密级_____

廈門大學

博士学位论文

两株有毒甲藻碱性磷酸酶编码基因序列的
鉴定和基因转录水平研究

Alkaline Phosphatase Gene Sequence and Transcriptional
Study of Two Toxic Dinoflagellates

林昕

指导教师姓名: 黄邦钦 教授
林森杰 教授
专业名称: 环境科学
论文提交日期: 2011年02月
论文答辩时间: 2011年03月

2011年02月

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

2011年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目 录

摘要	1
ABSTRACT	3
第 1 章 绪论	6
1.1 海洋环境中磷的利用及磷限制	6
1.1.1 海洋环境中磷的分布及利用	6
1.1.2 海洋环境中的磷限制	8
1.2 海洋浮游植物对无机磷限制的生理响应	10
1.2.1 浮游植物体内磷的储存和利用	11
1.2.2 浮游植物体内的高亲和磷转运系统	12
1.2.3 浮游植物对可溶性有机磷的利用	13
1.3 浮游生物生理状况的分子标记	15
1.3.1 利用基因组学研究浮游生物的生理状况	16
1.3.2 分子标记物指示浮游生物生理状态	17
1.3.3 浮游植物碱性磷酸酶的分子研究进展	19
1.4 本论文的研究目的和内容	20
第 1 章参考文献	20
第 2 章 材料与方法	30
2.1 材料	30
2.2 实验仪器	32
2.3 应用软件与生物信息学网站	33
2.4 实验方法	34
第 3 章 强壮前沟藻 (<i>Amphidnium carterae</i>) 碱性磷酸酶编码基因全长 cDNA 序列及其表达调控	43
3.1 摘要	43
3.2 引言	43

3.3 材料与方法	45
3.4 结果	50
3.4.1 强壮前沟藻中碱性磷酸酶编码基因 <i>acaap</i> 全长 cDNA 序列	50
3.4.2 无机磷限制培养下 <i>acaap</i> 的上调表达	54
3.4.3 无机磷补充添加后 <i>acaap</i> 的抑制表达	56
3.4.4 碱性磷酸酶活性与 <i>acaap</i> 基因拷贝数相关性分析	58
3.5 讨论	59
3.5.1 强壮前沟藻中 <i>acaap</i> 基因的特性	59
3.5.2 碱性磷酸酶活性和 <i>acaap</i> 基因拷贝数对磷的响应	60
3.6 小结	62
第 3 章参考文献	62
第 4 章 短凯伦藻 (<i>Karenia brevis</i>) 碱性磷酸酶编码基因 cDNA 全长序列及其表达调控	67
4.1 摘要	67
4.2 引言	68
4.3 材料与方法	69
4.4 结果	74
4.4.1 短凯伦藻中碱性磷酸酶编码基因 <i>kbrap</i> 全长 cDNA 序列	74
4.4.2 <i>Kbrap</i> 与不同生物来源碱性磷酸酶基因序列的比对分析	77
4.4.3 无机磷限制下 <i>kbrap</i> 的基因表达	79
4.4.4 无机磷补充添加后的 <i>kbrap</i> 基因表达	83
4.5 讨论	84
4.5.1 短凯伦藻中 <i>kbrap</i> 基因的特性	84
4.5.2 碱性磷酸酶活性和 <i>kbrap</i> 基因拷贝数对磷的响应	87
4.6 小结	88
第 4 章参考文献	88
第 5 章 小结	93
5.1 主要结果	93

5.2 特色与创新点	94
5.3 不足之处	94
5.4 展望	94
附录	96
致谢	108

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Table of Contents

Abstract in Chinese	1
Abstract in English	3
1 Introduction	6
1.1 Phosphorus bioavailability and phosphate limitation in seawater	6
1.1.1 Distribution of phosphorus and its bioavailability	6
1.1.2 Phosphate limitation in marine environment	8
1.2 Physiological response of marine phytoplankton to phosphorus limitation	10
1.2.1 Storage and usage of P in phytoplankton	11
1.2.2 High affinity phosphorus transport system	12
1.2.3 DOP usage by phytoplankton.	13
1.3 Development of biomarker to indicate physiological status of phytoplankton	15
1.3.1 Application of genomic approach	16
1.3.2 Biomarker	17
1.3.3 Molecular research of alkaline phosphatase	19
1.4 Objects and contents of the research	20
References	20
2 Materials and methods	30
2.1 Materials	30
2.2 Instruments	32
2.3 List of software and web site of bioinformatics	33
2.4 Methods	34
3 Alkaline phosphatase gene sequence and transcriptional regulation by phosphate limitation in <i>Amphidinium carterae</i>	43

3.1 Abstract	43
3.2 Introduction	43
3.3 Materials and methods	45
3.4 Results	50
3.4.1 Full-length cDNA sequence of <i>acaap</i>	50
3.4.2 Elevated <i>acaap</i> transcription by DIP limitation.	54
3.4.3 Repression of <i>acaap</i> transcription by DIP resupply	56
3.4.4 Correlation between <i>acaap</i> expression and APA	58
3.5 Discussion	59
3.5.1 Unique features of <i>acaap</i> in <i>A. carterae</i>	59
3.5.2 APA and <i>acaap</i> transcription were regulated by DIP availability	60
3.6 Conclusion	62
References	62
4 Isolation and expression characterization of alkaline phosphatase gene in toxic dinoflagellate <i>Karenia brevis</i>	67
4.1 Abstract	67
4.2 Introduction	68
4.3 Materials and methods	69
4.4 Results	74
4.4.1 Full-length cDNA sequence of <i>kbrap</i>	74
4.4.2 Alignment of <i>kbrap</i> with different APs	77
4.4.3 Induction of <i>kbrap</i> transcription by DIP resupply	79
4.4.4 Repression of <i>kbrap</i> transcription by DIP resupply	83
4.5 Discussion	84
4.5.1 Unique features of <i>kbrap</i> in <i>K. brevis</i>	84
4.5.2 APA and <i>kbrap</i> transcription were regulated by DIP availability	87
4.6 Conclusion	88
References	88
5 Summary	93

Appendix96

Acknowledgements108

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学博硕士学位论文摘要库

缩写语中英文对照表

- AP: Alkaline phosphatase, 碱性磷酸酶
- APA: Alkaline phosphatase activity, 碱性磷酸酶活性
- BLAST: Basic Local Alignment Search Tool
- DinoSL: Dinoflagellate Spliced Leader, 甲藻异位剪切前导序列
- DIP: Dissolved inorganic phosphorus, 溶解态无机磷
- DOC: Dissolved organic carbon, 溶解有机碳
- DON: Dissolved organic nitrogen, 溶解有机氮
- DOP: Dissolved organic phosphorus, 溶解有机磷
- ELF: Enzyme labeled fluorescence, 酶标记荧光
- GPI: Glycosylphosphatidylinositol, 糖基化磷脂酰肌醇
- HAB: Harmful Algal Bloom, 有害藻华
- HGT: Horizontal Gene Transfer, 水平基因转移
- ML: Maximum Likelihood, 最大似然法
- P: Phosphorus, 磷
- Pi: Orthophosphate, 正磷酸盐
- p*NPP: *p*-Nitrophenyl Phosphate, 对硝基苯磷酸盐
- p*NP: *p*-Nitrophenol, 对硝基苯酚
- PP: Particulate phosphorus, 颗粒磷
- RACE: Rapid Amplification cDNA Ends, cDNA末端快速扩增
- RT-PCR: Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, 逆转录PCR
- RT-qPCR: Real Time-quantitative PCR, 实时定量PCR
- SNP: Soluble nonreactive phosphorus, 溶解态非活性磷
- SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms, 单核苷酸多态性
- SRP: Soluble reactive phosphorus, 溶解态活性磷
- TDP: Total dissolved phosphorus, 总溶解态磷
- TN: Total nitrogen 总氮
- TP: Total phosphorus 总磷

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库