

中国近海典型赤潮生物细胞表面蛋白质组研究

学校编码: 10384
学 号: 200334014

分类号 _____ 密级 _____
UDC _____

厦 门 大 学
硕 士 学 位 论 文

中国近海典型赤潮生物细胞表面
蛋白质组研究

Studies on cell surface proteome of key harmful algal bloom
species isolated from the coast of China Sea

黄旭光

指导教师姓名: 王大志教授

专业名称: 环境科学

论文提交日期: 2006年8月

论文答辩时间: 2006年8月

学位授予日期: 2006年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2006年 8月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，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的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密（），在 2 年解密后适用本授权书。
- 2、不保密（）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名： 日期： 年 月 日

导师签名： 日期： 年 月 日

摘 要

东海原甲藻(*Procentrum donghaiense* Lu) 和链状亚历山大藻(*Alexandrium catenella*)是中国近海两种重要的有害赤潮生物,常形成大规模的赤潮,已对海洋生态系统、沿海养殖业和人民健康构成了严重威胁。本研究以这两种赤潮生物为模式种,运用免疫荧光标记技术、现代蛋白质组技术、免疫蛋白质组技术和生物质谱技术等研究了这两种赤潮生物细胞表面蛋白质组,制备了高特异性细胞表面抗体,分离、确认了细胞表面蛋白,并对细胞表面蛋白进行了鉴定,初步研究了赤潮生物细胞表面蛋白质组对环境氮营养变动的响应。取得了以下主要成果:

1. 制备了用于识别赤潮生物细胞表面蛋白的抗体血清:0.5%多聚甲醛(PFA)固定抗原制备的全细胞表面蛋白的抗体血清滴度分别为链状亚历山大藻(*A.catenella*) 1:2000,东海原甲藻(*P.donghaiense*) 1:5000;建立并优化了免疫荧光检测细胞表面蛋白的检测方法,表明东海原甲藻的抗体血清具有较强的种间特异性,不与同属其它藻株和其他浮游植物的细胞表面抗原发生交叉反应;亚历山大藻细胞表面抗体血清与其同属的藻细胞表面抗原发生交叉反应;
2. 结合细胞表面免疫标志荧光技术和免疫蛋白质组技术分离、确认了两种赤潮生物细胞表面蛋白,并运用生物质谱技术对细胞表面蛋白进行了鉴定。免疫荧光结果表明,制备的抗体具有高特异性,只识别相应藻的细胞表面蛋白而不与细胞膜上和细胞内蛋白发生交叉反应;通过蛋白质双向电泳技术和Western blot技术分离、确认东海原甲藻细胞表面蛋白58个,链状亚历山大藻细胞表面蛋白123个,分别占提取的细胞壁蛋白的19.1%和67.6%;运用MALDI-TOF-TOF MS技术对链状亚历山大藻45个细胞表面蛋白进行鉴定,其中12个蛋白是与营养吸收和转运相关蛋白,10个蛋白是与鞭毛相关的运动性蛋白,4个蛋白为细胞壁修饰酶;3个蛋白为信号传导蛋白;2个蛋白为抵御病害的抗压蛋白以及其它功能蛋白14个;
3. 应用蛋白质双向电泳技术比较研究了不同氮营养条件下链状亚历山大藻细胞壁蛋白质组的差异表达。结果表明,相比硝酸盐培养条件下的细胞表面蛋白质组,尿素培养条件下出现了两个明显的新蛋白质点(ACUR1和ACUR2),

铵盐条件下出现了一组新蛋白 ACNHg1 和一个新蛋白质点 ACNH1；氮限制条件下，虽然细胞表面蛋白的总量和蛋白点数明显减少，但也出现了一些新的蛋白质点（ACLN1、ACLN2、ACLN3、ACLN4、ACLN5 和 ACLN6）。这些新出现的蛋白质点反映了藻细胞表面对营养变动的一种响应，可将这些新出现的蛋白点作为细胞对环境营养物质变动的一种生物标志物—营养指示蛋白；

4. 应用已制备的铵载体抗体结合细胞表面免疫荧光标记技术，研究了链状亚历山大藻细胞中铵载体在不同氮培养条件下的表达。结果表明，在氮限制条件下，铵载体表达明显，而在其他氮营养条件下，铵载体表达不明显，因而铵载体可作为链状亚历山大藻细胞氮限制的一种指示。

关键词： 赤潮生物，细胞表面蛋白质组，蛋白质组技术，免疫荧光，生物质谱

Abstract

Prorocentrum donghaiense Lu and *Alexandrium catenella* are two key harmful algal bloom (HAB) species widely spread along the China Sea coastal waters. This two HAB species have formed extensive blomms in the coast of the China Sea in the past few years, and become of economic and public concern due to its impact on the marine ecosystem, aquaculture and public health. This study investigated the cell surface proteome of this two HAB species using immunofluorescence, morden proteomic, immunoproteomic approaches together with mass spectrometry, raised the high specific antisera to cell surface proteins, isolated and identified cell surface proteins, and characterized these proteins using MALDI-TOF-TOF mass spectrometry. This study also investigated the effects of nitrogen nutrient on cell surface proteome. The main results were as followings:

1. Raised the high specific anterisa against the cell surface proteins using 0.5% PFA fixed whole cell (WC) as an antigen, the titers of the antisera were 1:2000 for *A. catenella* and 1:5000 for *P. donghaiense* respectively; developed and optimized the detection method based on immunofluorscence, the results indicated that the antiserum against *P. donghaiense* exhibited high species specificity and did not reacted with species or strains within the same genus or other phytoplankton species, while the antiserum against *A. catenella* exhibited corss reactions with other *Alexandrium* species or strains;
2. Isolated and identified cell surface proteins of *P. donghaiense* and *A. catenella* using immunoflurescence and immunoproteomic approach, and characterized cell surface proteins of *A. catenella* using mass spectrometry. The results from immunofluorescence indicated that the anterisa raised against the whole cell exhibited high specificity which only reacted with cell surface proteins and did not reacted with cytoplasmic membrane proteins and cytosolic proteins; 58 and 123 cell surface proteins were identified in *P. donghaiense* and *A. catenella* respectively using 2-D and western-blot methods, which contributed 19.1% and 67.6% of total thecal proteins. Using peptide mass fingerprinting and

sequence-database analysis, totally, 45 proteins of *A. catenella* were characterized, among of them, 12 proteins were nutrient absorbing and transporting/binding proteins, 10 proteins were flagellar related proteins, 4 proteins were cell wall protecting proteins, 3 proteins were signaling proteins, 2 proteins were stress proteins and other 14 functional proteins; .

3. Comparative studied the differential expresstion of cell surface proteome of *A. catenella* grown in various nitrogen nutrient conditions using 2-D method. The results showed that two new proteins (ACUR1 and ACUR2) appeared in the protein profiles of *A. catenella* grown in urea as nitrogen source, and a group of proteins (ACNHg1) and one protein (ACNH1) appeared in the protein profiles of *A. catenella* grown in ammonium as nitrogen source compared to nitrate as nitrogen source. Under nitrogen limitation, the amount and protein spots decreased apparently but a few new proteins (ACLN1、ACLN2、ACLN3、ACLN4、ACLN5 and ACLN6) appeared. These proteins reflected the response of cell surface to nutrient variation and these new proteins might be used as indicatotr of cells to nutrient variation-nutient indicator proteins;
4. Investigated the expression of ammonium transportor of *A. catenella* grown in different nitrogen nutrients using ammonium transportor antibody and immunofluorescence. The results indicated that the expression of ammonium transportor were higher under nitrogen limitation while the expression of ammonium transportor was not apparent under other nitrogen nutrient conditions. Ammonium transportor could be used as nitrogen-limitation indicator of *A. catenella*.

Key words: Harmful algae, cell surface proteome, proteomic, immunofluorescence, mass spectrometry

缩略词表

APS	过硫酸铵
BSA	牛血清蛋白
CDTA	1,2 环己二胺四乙酸
EDTA	乙二胺四乙酸
DTT	二硫苏糖醇
HRP	辣根过氧化物酶
HAB	有害赤潮
MALDI TOF TOF	飞行质谱—质谱联用
PFA	多聚甲醛
PMF	肽指纹图谱
PBS	磷酸缓冲液
TFA	三氟乙酸
WC-CS	细胞（质）内蛋白
WCA	全细胞表面抗原
2-DE	双向电泳
SDS	十二烷基磺酸钠

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
缩略词表.....	V
目录.....	1
第一章 绪论.....	5
1.1 赤潮生物细胞表面蛋白研究进展.....	6
1.1.1 甲藻细胞壳（壁）结构.....	6
1.1.2 细胞表面蛋白研究方法.....	7
1.1.3 赤潮生物细胞表面蛋白研究进展.....	8
1.1.4 赤潮生物蛋白质组学研究进展.....	10
1.2 营养盐对赤潮生物细胞表面蛋白表达的影响研究概述.....	13
1.3 本研究的目的是和主要研究内容.....	15
1.3.1 研究的目的是和意义.....	15
1.3.2 研究的内容和技术路线.....	16
第二章 材料与方法.....	17
2.1 试剂和仪器.....	17
2.1.1 试剂及相关溶液配方.....	17
2.1.2 仪器.....	19
2.2 赤潮藻的培养.....	19
2.3 赤潮藻全细胞表面抗原、抗体的制备及抗体的检测.....	20
2.3.1 典型赤潮藻全细胞表面抗原的制备.....	20
2.3.2 典型赤潮藻全细胞表面抗体的制备.....	20
2.3.3 抗体的检测.....	21
2.4 细胞壁蛋白的提取及鉴定.....	22
2.4.1 蛋白的提取与定量.....	22
2.4.2 蛋白质双向电泳.....	23
2.4.3 免疫印迹杂交（Western blot）技术确定细胞表面蛋白.....	24
2.4.4 MALDI-TOF-TOF MS 技术分析蛋白.....	25
2.5 不同氮营养环境下细胞壳壁蛋白质组分析.....	26

第三章 有害赤潮藻全细胞表面抗体的制备.....	27
3.1 结果.....	27
3.1.1 典型赤潮藻全细胞表面抗原制备方法比较.....	27
3.1.2 藻细胞自发荧光的消除.....	28
3.1.3 赤潮藻抗体特异性检测.....	29
3.1.4 赤潮藻抗体稳定性检测.....	30
3.2 讨论:	31
3.2.1 典型赤潮藻全细胞表面抗原制备.....	31
3.2.2 抗体的滴度和特异性.....	33
第四章 有害赤潮藻细胞表面蛋白的分离、识别和鉴定.....	38
4.1 结果.....	38
4.1.1 细胞表面蛋白的提取.....	38
4.1.2 赤潮藻全细胞蛋白、细胞壁蛋白及细胞内蛋白双向电泳图.....	39
4.1.3 赤潮藻细胞表面蛋白的识别、确定.....	40
4.1.4 链状亚历山大藻 (<i>A.catenella</i>)细胞表面蛋白鉴定.....	41
4.2 讨论:	43
4.2.1 甲藻细胞壁蛋白的提取.....	43
4.2.2 赤潮藻全细胞、细胞内以及细胞壁蛋白的双向电泳分析.....	43
4.2.3 间接免疫荧光和免疫印迹杂交方法识别细胞表面蛋白.....	44
4.2.4 细胞表面蛋白的质谱分析.....	46
第五章 不同氮营养条件下链状亚历山大藻细胞壁蛋白组的差异表达.....	61
5.1 结果.....	61
5.1.1 不同营养条件下链状亚历山大藻相关参数.....	61
5.1.2 不同营养条件下链状亚历山大藻细胞壁蛋白质组的差异表达.....	61
5.1.3 不同氮营养条件下链状亚历山大藻细胞表面蛋白—铵载体的表达.....	62
5.2 讨论:	63
第六章 结论与展望.....	72
参考文献:	74

Content

Chapter 1	Introduction.....	5
1.1	Progress on cell surface protein of HAB species.....	6
1.1.1	The structure of cell wall of the dinoflagellate.....	6
1.1.2	Studying approaches on cell surface proteins of HAB Species	7
1.1.3	Ccell surface proteins of HAB species.....	8
1.1.4	Proteomics of HAB species.....	10
1.2	Nitrogen nutrients and cell surface proteins of HABs.....	12
1.3	Research objects and contents.....	15
Chapter 2	Materials and methods	15
2.1	Chemical reagents and and Instruments.....	16
2.1.1	Chemical reagents	17
2.1.2	Instruments	17
2.2	Algal species and culture conditions.....	19
2.3	Productin and detection of the antibody raised against the whole cell surface antigens.....	20
2.3.1	Preparation of antigens	20
2.3.2	Production of antibody.....	20
2.3.3	Detection method of antibody.....	21
2.4	Isolation and identification of cell surface proteins.....	22
2.4.1	Extraction of cell wall proteins.....	22
2.4.2	Analyse proteins by 2-DE.....	23
2.4.3	Recognized cell surface proteins by immunoibloting.....	34
2.4.4	Analyzed proteins of <i>A.catenella</i> by MALDI-TOF-TOF.....	25
2.5	Analyse the proteomics of cell wall proteins of <i>A.catenella</i> in various nitrogen culture conditions	25
Chapter 3	Productin and detection of the antibody raised against the whole cell surface antigens	27
3.1	Results	27

3.1.1 Preparation of antigens.....	27
3.1.2 Dilution detecting by immunofluorescence	28
3.1.3 Cross-reaction of the antiserum.....	30
3.2 Discussion.....	31
3.2.1 Preparation of antigens.....	31
3.2.2 Dilution detecting by immunofluorescence	33
Chapter 4. Isolation, identification and characterization of cell surface proteins	38
4.1 Results	38
4.1.1 Extraction of theca proteins	38
4.1.2 Proteins profiles by 2-DE.....	39
4.1.3 Recognition of cell surface proteins by immunoblotting.....	40
4.1.4 Characterization of cell surface proteins of <i>A.catenella</i> by MALDI-TOF-TOF.....	41
4.2 Discussion.....	41
4.2.1 Extraction of theca proteins.....	41
4.2.2 Protein profiles by 2-DE	43
4.2.3 Recognition of cell surface proteins by immunoblotting.....	44
4.2.4 Analyse of cell surface proteins of <i>A.catenella</i> by MALDI-TOF-TOF.....	46
Chapter 5 Comparative studies on proteomics of theca proteins of <i>A.catenella</i> in various nitrogen conditions.....	61
5.1 Results	61
5.1.1 Growth and nutrient parameters.....	61
5.1.2 Differential expression of theca proteins of <i>A.catenella</i> in various nitrogen conditions	61
5.1.3 Detection of ammonium transporter by immunofluorescence.....	62
5.2 Discussion.....	63
Chapter 6 Conclusions and perspectives	72
References.....	74
Attachment.....	75

第一章 绪 论

赤潮泛指由于海洋浮游生物（主要是甲藻类）的过度繁殖造成海水变色的现象（齐雨藻，2003）。它原本是一种正常的自然现象，但近半个世纪来，由于人类工业化进程的加快，沿海富营养化的加剧，赤潮的发生频率、强度、地理分布和有害（毒）赤潮藻种类等急剧增加，有害赤潮已成为一个全球性的环境和健康问题。赤潮不仅直接影响到海洋生态系统的稳定、海洋生物资源的可持续利用、水产养殖业和海洋产业等的健康发展，对人类健康甚至生命也构成了严重威胁（周名江等，2001；Landsberg et al, 2002）。

在引发赤潮的诸多种类中，甲藻是目前形成赤潮的最主要种。据报道，能形成赤潮的甲藻有 93-127 种，而且由于很多甲藻（45-57 种）能生产毒素，这些毒素对生物和人类具有致毒甚至致死作用，因而甲藻赤潮成为当前危害最大、研究最多的一类赤潮（齐雨藻，2003）。在过去的半个多世纪，围绕有害甲藻赤潮开展了大量的工作，对甲藻赤潮形成的生态学和海洋学机制都有了一定程度的认识，在有害赤潮生物的生物学、生理学和生态学等方面都取得了丰硕的成果。但由于甲藻特殊的进化地位（间核生物）、生活习性（运动性）、庞大的基因组（约为人类的 50 倍）和全球甲藻基因库的缺乏，以及研究方法和技术手段的限制，目前我们对甲藻的了解还非常有限，对甲藻的一些基本的生命活动规律还不是很清楚，这在一定程度上也阻碍了我们对甲藻赤潮发生机理的研究（梁松等，2000；周名江等，2001；俞志明等，2002）。

在过去的诸多研究中，人们更多地关注于赤潮生物与环境因子的相互作用，更多地是从种群和细胞的层面上去探讨赤潮形成的可能原因（邹景忠等，1983），很少从分子水平上去探讨赤潮发生的内部机制。甲藻细胞壁是将甲藻细胞与外界环境隔离的一道屏障，它不仅对细胞起到保护作用，也是甲藻细胞进行各种生命活动的重要界面，但目前我们对甲藻细胞壁的了解还非常有限。一些研究已显示，甲藻细胞表面存在一些具有重要生理功能的蛋白，如与营养盐吸收相关的酶和跨膜运输蛋白（转运蛋白）、信号传导蛋白等等（Kustu, 2006；Wilhelm, 2006），因而开展甲藻细胞表面蛋白质组研究非常必要，将有助于我们对赤潮的认识，可能对揭示赤潮生物重要生命活动和赤潮发生机理有重大的理论意义。

1.1 赤潮生物细胞表面蛋白研究进展

在过去的很长一段时间内，人们一直认为细胞壁是一个无生命的结构，对细胞主要起保护作用。但随着研究的不断深入和新的研究方法和技术的出现，一些具有重要生理功能的蛋白质和酶陆续在一些植物及藻类细胞壁中被发现，细胞壁结构和功能研究受到了人们的重视。

1.1.1 甲藻细胞壳（壁）结构

在海洋中，甲藻是一类特殊的生物，它介于原核和真核生物之间，也被称为间核生物，既保留了原核生物的一些特性，也具备真核生物的一些特性。研究表明，大多数甲藻细胞具有壳（壁），也有一些种类裸露，无壳。目前对甲藻细胞壁的细微结构已进行了较多的研究。甲藻细胞表面常有一层由原生质体分泌形成的相当坚实的表质膜，细胞壁有或无，壁薄或厚而硬（齐雨藻等，2003）。细胞壳、壁是甲藻细胞直接与外环境接触的结构，它在藻细胞生理上起着重要的作用（Morrill,1984）。甲藻细胞壳壁由外到内分别是外壁膜（outermost membrane）、外膜（outer plate membrane）、壳壁纤维（thecal vesicle）、壳壁（thecal plate）、周质空间（pellicular layer）和质膜（cytoplasmic membrane）（Morrill et al., 1984）。甲藻细胞壳壁中包含有初生纤维素、多糖和蛋白（齐雨藻等，2003）。细胞壳壁上的外壁膜上的蛋白即为甲藻的细胞表面蛋白。

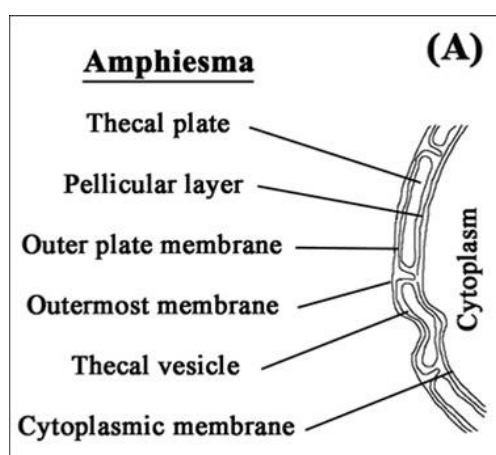


图 1.1 典型赤潮藻（甲藻）细胞壳壁结构示意图

Fig 1.1 Schematic diagram of the amphiesma of a typical thecate dinoflagellate based on Morrill and Loeblich

1.1.2 细胞表面蛋白研究方法

在过去的二十年，由于新技术和新方法的不断涌现，为生物细胞表面（细胞壁和细胞膜）蛋白研究提供了技术支持，一些研究细胞表面蛋白的方法也不断地被发展建立起来，并用于细胞表面蛋白研究。主要研究方法如下：

(1) 细胞表面蛋白顺序提取方法。该方法最早是由 Robertson 等人 (1997) 建立，主要用于植物细胞壁蛋白的提取。其原理是根据细胞表面蛋白溶解特性差异，采用四种化学试剂顺序提取：首先用氯化钙 (CaCl_2) 提取细胞表面弱结合蛋白，随后使用 1,2 环己二胺四乙酸 (CDTA) 来抽提细胞壁上与胶体结合的细胞表面蛋白，再通过二硫苏糖醇 (DTT) 调节蛋白间的二硫键以及用氯化钠 (NaCl) 来提取强离子结合的蛋白，最后通过硼酸盐破坏糖蛋白和其它糖类之间的结合键，以便于释放出细胞壁蛋白。通过这几种化学试剂顺序提取，可成功地从植物细胞壁中提取细胞壁蛋白而基本不破坏植物细胞结构 (Robertson, 1997)。这种方法已广泛用于高等植物及一些藻类细胞壁或细胞表面蛋白的研究，但也存在一些缺点，如提取过程比较烦琐、提取物中离子含量高以及细胞破碎引起的胞内蛋白污染等；

(2) 荧光标记技术。该技术主要利用荧光或化学发光物质，如 FITC 标记细胞表面蛋白，或利用酶与底物的相互作用，如 ELF 方法，在荧光显微镜下观察荧光强度或用 SDS-PAGE 的方法检测化学发光 (Huang et al, 2005)。目前这种方法已用于细胞表面蛋白的检测。该方法的缺点是只能提供细胞表面总荧光强度或某个蛋白质的检测，不能反映细胞表面蛋白真正组成或对其功能进行研究；

(3) 细胞表面免疫荧光技术。其原理是利用赤潮生物细胞表面存在的蛋白抗原，制备对应的抗体血清。利用抗体-抗原结合反应，在抗体上标记 FITC 等荧光物质从而使得能在荧光显微镜下观测到荧光。该技术已广泛应用于有害赤潮生物的检测 (Córdova et al, 2002; Lopez-Rodas, 1999; Anderson et al, 1990; Anderson et al, 1995; Mendoza et al, 1995)，但该技术也只能反映细胞表面蛋白的总荧光强度，不能对细胞表面蛋白进行深入细致的研究，需与其他方法，如 Western-blot 的方法结合才能用于细胞表面蛋白的研究；

(4) 放射性同位素示踪方法。这是 Bertomen 等 (2003) 报道的一种方法，他们应用放射性的 ^{125}I 标记细胞表面蛋白，证实了一种分子量大小为 43KDa, PI

值为 8.5 左右的细胞表面蛋白。因为 ^{125}I 不能穿过细胞质膜，所以它只能标记细胞质膜以外的蛋白。同时 Bertomen 等也论证了应用该技术发现的蛋白为细胞表面蛋白。该技术由于涉及到同位素的检测，因而在使用方面受到一定的限制，但它为我们研究并确认细胞表面蛋白提供了一个种方法手段；

(5) 蛋白质组技术。这是近年来发展起来的一门新技术。利用现代蛋白质组学研究方法和技术，采用机械或化学的方法分离细胞表面蛋白，通过双向电泳和质谱技术对表面蛋白进行分离鉴定。目前这种方法广泛用于细胞表面蛋白的研究 (Huang et al, 2002, 2004)，由于采用化学或机械的分离方法，因而在样品准备时常被一些非细胞表面蛋白所污染。目前一种结合荧光标志的新方法—荧光差异凝胶电泳法 (2-DE DIGE) 已用于细胞表面蛋白的研究。该原理是利用荧光标记的方法，对细胞表面蛋白先进行标记，后用另外一种荧光标记全细胞，比较其差异，确认细胞表面蛋白。该方法灵敏、可靠，可作为细胞表面蛋白研究的一个新方法；

(5) 免疫蛋白质组技术。该方法首先需制备细胞表面抗体，再结合蛋白双向电泳技术和 Western-blot 方法，对细胞表面蛋白进行鉴定。Kornilovs 等 (2002) 应用该技术研究了 *Helicobacter pullorum*、*Helicobacter bilis* 和 *Helicobacter hepaticus* 的细胞表面蛋白，并分析了该三种株间的细胞表面差异点。

尽管上述方法已用于细胞表面蛋白的研究，但这些方法或存在样品准备的局限性，或方法尚未成熟，需要进一步完善。

1.1.3 赤潮生物细胞表面蛋白研究进展

目前对赤潮生物细胞表面蛋白的研究相对较少，有限的研究主要集中在其他一些种类的浮游植物，包括以下几个方面：(1) 碱性磷酸酶为代表的胞外酶的研究；(2) 细胞表面与营养盐吸收相关的酶与转运蛋白；(3) 细胞表面一些其他重要生理功能蛋白，如信号传导蛋白。

相对而言，目前研究较多的是赤潮生物胞外酶。在赤潮生物细胞表面和水体中存在大量的胞外酶，这些酶分解水体中以高分子聚合物 (分子量 $>1500\text{Da}$) 形式存在的有机物，使得这些高分子聚合物分解成为穿过细胞质膜而被吸收利用的小分子物质 (大约为 600Da 或更小) (Arnosti et al, 2000; Konopka et al, 2002)。

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