

藻类硒蛋白研究进展

莫莹^{1,2}, 李亚男³, 王建², 陈大清^{1*}

(1. 仲恺农业工程学院生命科学院, 广东广州 510225; 2. 广西中医药大学药学院, 广西南宁 530001; 3. 长江大学农学院, 湖北荆州 434023)

摘要 硒是人体生长必须的基本元素。硒蛋白是由硒代半胱氨酸插入特异结合的蛋白。它在动物中的重要作用具有广泛的研究, 而高等植物和酵母只有少量的相关研究。通过对藻类富硒机理、硒代谢途径、硒分布和形态、藻类硒蛋白等方面内容的总结、概括, 重点介绍了藻类几种重要的硒蛋白。

关键词 藻类; 硒; 硒蛋白; 谷胱甘肽过氧化物酶; 硫氧还蛋白(TR)

中图分类号 S946 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)17-07399-05

Research Advance of Selenoproteins Biosyntheses in Microalgae

MO Ying et al (College of Life Science, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225)

Abstract Selenium is an essential trace element in human body. Selenoproteins is the synthesis of selenocysteine (Sec)-containing designated proteins, the extensive study was conducted on its important function in mammalian. However, only a few studies were conducted on higher plant and yeast. The selenium-enriched mechanism of microalgae, the metabolic pathways of selenium, the distribution and morphology of selenium, selenoproteins of microalgae were summarized, several important selenoproteins of microalgae were introduced.

Key words Microalgae; Selenium; Selenoprotein; Glutathione peroxidase; Thioredoxin (TR)

硒作为人类和动物体内一种必要的微量元素, 与人体疾病预防和免疫系统伤害等方面相关联。适量的补充硒能预防多种疾病, 如癌症、克山病、大骨节病等^[1]。人类补硒主要通过无机硒和有机硒 2 种途径。相对无机硒杂质多、利用率低、长期服用安全性差等副作用, 有机硒具有吸收慢、毒性低、利用率高等优点。人体服用有机硒比服用无机硒安全、有效, 其中有机硒主要以动植物为载体转化, 具有更广泛的营养价值和保健作用。

藻类作为初级生产者, 通过光合作用和自身合成的有机物质为其他浮游植物提供氧气和食物, 对许多微量元素有较强的富集能力。近年来, 更因种类繁多、产量庞大, 藻类被人类广泛应用于营养食品、功能保健品和动物饲料添加剂等的生产中。对藻类而言, 硒是其生长必须的基本元素^[2]。硒对藻类具有双重作用, 在一定范围内促进藻类的生长, 但当硒含量超过藻类耐硒浓度范围时会对藻类产生硒毒性。藻类对硒具有较强的富集能力。作为硒有机化的良好生物载体, 藻类具有新型富硒产品的天然优势, 在开发含硒安全性食品方面有很大的应用潜力^[3]。因此, 该研究主要从硒蛋白的存在形式、代谢积累机制、途径及其生物作用等方面的研究对藻类进行综述展望, 进一步了解藻类硒、硒蛋白的重要意义。

1 硒的积累富集机制

藻类具有较强的富集能力。一般受各方面因素的影响, 富集能力也有所不同。成华等^[4]研究海水钝顶螺旋藻 (*Spirulina platensis*) C-藻蓝蛋白的富硒能力时发现, 当硒浓度为 40 mg/L 时 C-藻蓝蛋白对硒的利用率最高, 当硒浓度为 60 mg/L 时 C-藻蓝蛋白含硒量可达到 402 mg/kg, 其中海水钝

顶螺旋 C-藻蓝蛋白对藻硒的富集效果在 0.05 水平显著强于淡水螺旋藻。刘春颖等^[5]对小新月菱形藻和赤潮异弯藻进行研究, 发现硒在高浓度下这 2 种赤潮藻的生长均起抑制作用, 而在低浓度下均起促进作用, 但硒对 2 种藻类的抑制程度不同。不同的硒添加方式也对藻类硒含量有一定的影响。陈填烽等^[6]分次加硒可获得富硒量螺旋, 比对照组硒含量增加 150 倍, 生物量也明显提高。黄峙等^[7]同样采用不同的添加方式研究螺旋藻生长及富集转化硒的影响, 发现分量添加比一次添加硒的螺旋藻产率的影响小。藻硒含量一般超过 100 mg/L 时对藻类会有抑制作用。

藻类对硒的耐性机理决定藻类的富集能力。高浓度的硒对藻类的抑制和毒性作用导致活性氧 (ROS) 的产生, 造成 DNA 的氧化、双键断裂, 最后引起细胞死亡^[8], 使野生动植物先天性缺陷、不孕症, 同时人体会出现脱发、牙齿松动、指甲脱落、疲劳甚至死亡等症^[9]。硒的抑制、毒性作用与硒、硫存在一定的差异有关。硒在藻体内大量取代硫, 与半胱氨酸 (Cys) 和甲硫氨酸 (Met) 结合, 形成硒代半胱氨酸 (SeCys) 和硒代甲硫氨酸 (SeMet), 无序插入蛋白质序列中, 干扰硫的新陈代谢机制, 破坏空间构造, 进而造成生物体内硒的毒性。在藻类硒富集代谢过程中, 硒代半胱氨酸与硒代甲硫氨酸进一步转化成硒甲基甲硫氨酸和硒甲基硒代半胱氨酸, 形成非蛋白氨基酸的硒类似物, 避免硒代氨基酸无序进入蛋白质, 使藻体吸收的硒转变成大量对其本身无毒的硒化合物, 提高藻类对硒的耐性, 其中甲基硒代半胱氨酸 (MeSeCys) 被认为在植物中大量存在而避免硒毒害的一种主要形式^[10]。MeSeCys 的形成有赖于专一的硒代半胱氨酸甲基转移酶 (SMT)。SMT 催化 SeCys 进行甲基化反应形成 MeSeCys, 避免蛋白硒代氨基酸的产生, 减少硒渗入蛋白质, 显著提高硒耐受性^[11]。

2 藻类硒的吸收代谢

硒在藻类体内主要以主动运输和被动吸收 2 种方式参

基金项目 广东省教育厅人才引进专项 (粤财教 2010343)。

作者简介 莫莹 (1987 -), 女, 广西南宁人, 硕士研究生, 研究方向: 植物药用植物资源。* 通讯作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事植物分子生物学方面的研究, E-mail: daqingchen@vip.sina.com。

收稿日期 2013-05-16

与蛋白质的代谢,并且主要以硒酸盐和亚硒酸盐2种形式被吸收。由于硒和硫化学相似性,硒的运输、同化与硫共用同一通道^[12]。在藻类硒的代谢中,虽然硒酸盐和亚硒酸盐同样被藻类吸收,但它们的吸收机制并不相同,特别是在低浓度时亚硒酸盐比硒酸盐更易在藻类体内转运^[13],并且许多藻类主要吸收的是亚硒酸盐,而不是硒酸盐。相对硒酸盐,亚硒酸盐的还原性更强,高亲和性亚硒酸盐的吸收更易被硒缺乏细胞中新蛋白的合成所诱导,所以就算在亚硒酸盐浓度低于硒酸盐的海水中,藻类对亚硒酸盐的吸收也以亚硒酸盐作为硒的来源^[14]。

动力学分析结果表明,藻类体内亚硒酸盐的吸收是由主动运输和被动运输机制共同实现的,并且亚硒酸盐的吸收是高特异性的,它并不完全被像硫酸盐、亚硫酸盐和硒酸盐之类与其类似的阴离子抑制,但磷酸盐能抑制亚硒酸盐的吸收。这些表明亚硒酸盐并非只通过被动吸收来运输。Hiroya等^[15]运用⁷⁵Se示踪技术研究*E. huxleyi*时发现,亚硒酸盐通过ATP高亲和性的主动运输机制吸收,当它进入体内后立即代谢成小分子化合物,部分则转化成至少6种EhSEP1-6的硒蛋白,其中最丰富的EhSEP2和相对丰富的EhSEP1都是二硫化物异构酶PDI的同源基因。Dá ša Umysová等^[16]选择了绿藻耐硒藻株,分别加入亚硒酸盐、硒酸盐、亚硒酸盐加硒酸盐3种不同类型进行培养,其中添加亚硒酸盐和硒酸盐的藻株在所有藻类中的耐硒水平最低,添加亚硒酸盐的藻株中,经过亚硒酸盐处理后,总硒和硒代蛋氨酸的水平非常低,而经过硒酸盐处理硒代蛋氨酸的水平和野生型的水平相似。这些都说明亚硒酸盐和硒酸盐吸收机制不同。

3 硒的分布和存在状态

硒被藻类吸收后,其剂量和化学形式在藻类体内效应起决定性作用。硒以非常复杂的化学形态存在,主要分为无机硒和有机硒两大类。无机硒相对较少,包括Se(IV)、Se(VI)和其他一些无机形态,如 Se^{2-} 和 HSe^- ,且主要以Se(IV)形式存在; HSeO_3^- 是亚硒酸盐伴随 H^+ 转运到细胞中最常见的形式。有机硒占硒总量80%以上,有以硒代氨基酸及其衍生物形式存在的小分子硒化物和在大分子硒^[17]。小分子硒化物主要有硒代半胱氨酸、Se-甲基硒代半胱氨酸、硒代半胱氨酸亚硒酸、硒代甲硫氨酸、二甲基二硒醚、硒多肽、硒代高胱氨酸、Se-丙烯基硒代半胱氨酸氧化物等,如在绿藻小球藻中被证实一些硒产物(如dimethyl selenopropionate, Se-allylselenocysteine, selenomethionine)的存在^[18];大分子硒则主要是硒蛋白、硒多糖、硒核糖核酸等。

在藻类体内,藻类硒主要与脂质、多糖、蛋白质等大分子结合,特别是以与蛋白质结合为主。硒蛋白是其主要存在形式。白研等^[19]研究了各类海藻中硒的赋存形态分布,发现各海藻中碱溶态硒含量最高,说明硒在海藻中主要以碱溶性硒蛋白存在。Maher等^[20]研究表明,30种大型海藻中绿藻和红藻对硒的富集能力较褐藻大,主要是由褐藻中蛋白质含量较低造成的。所以,硒与藻类氨基酸、蛋白质有机结合形成硒蛋白为其主要作用机制。

4 藻类硒蛋白

硒蛋白是指硒以第21种氨基酸的半胱氨酸形式特异进入多肽链蛋白质的蛋白。现已证明硒蛋白有50多种。大部分硒蛋白属于动物硒蛋白,人体硒蛋白共25种。在一些鱼类和藻类中发现超过30种硒蛋白,如SELU蛋白存在于绿藻、硅藻体内^[21]。在衣藻中也发现了10个硒蛋白组包含的12种硒蛋白,其中2种被证实是谷胱甘肽过氧化物酶,另一个是硒蛋白w同源基因^[22]。Shigeru等^[23]研究表明,绿藻纲衣藻中的谷胱甘肽过氧化物酶与动物相似,都含有硒。

硒蛋白中硒代半胱氨酸插入序列(SECIS)元件,是在翻译中由能携带硒代半胱氨酸并以UGA作为编码的终止密码子的Sec,在3'-非翻译区(UTR)结合指导的特殊转运RNA结构,指导直接进入蛋白质,其反密码子为UCA^[24-25]。硒蛋白特性主要起氧化还原酶的作用,如甲酸脱氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还蛋白还原酶等都是以前取代半胱氨酸中的硫,构成硒蛋白的氧化还原活性中心^[26]。硒代半胱氨酸的插入之所以成为硒蛋白的活性中心是因为它强大的亲核性^[27]。

原核生物的硒代半胱氨酸掺入硒蛋白的机制已明确阐明,硒代半胱氨酸在SEL(A-D)家族、SECIS等的共同作用下掺入到蛋白质。硒蛋白在原核生物中通常参与降解过程。人们对真核生物中硒蛋白的掺入机制还不是十分清楚。硒蛋白在真核生物的生物合成和抗氧化的过程中起作用。

与硒蛋白在动物和细菌中必不可少的地位相比,植物中缺乏这种硒蛋白。硒蛋白一般指硒代半胱氨酸掺入蛋白质,以含甲硫氨酸的硒蛋白为主。这些结合硒的蛋白被称为含硒蛋白^[28]。高等植物中的硒蛋白无论是积聚硒植物如菊科、十字花科、藜科、玉蕊科、蝶形花科、茜草科、玄参科等^[29],还是非积聚硒植物,体内硒大多是含硒或包含硒代蛋氨酸的蛋白^[30],主要以低分子的有机硒形式(如硒代胱氨酸、硒代半胱氨酸、硒代蛋氨酸等)存在^[31]。目前,并未在植物中发现硒蛋白,有可能在生物进化中陆生植物缺失了硒蛋白,但有少量证据表明硒合成的硒蛋白可能存在于植物体内,如在甜菜中发现了反密码子为UGA的硒代半胱氨酸转运RNA^[32]。高等植物中对硒累积的差异很大,有些植物甚至可以累积到1000倍以上^[33]。藻类则同时存在硒蛋白和含硒蛋白2种氨基酸形式。Lobanov等在衣藻中证实了以UGA密码子编码的硒蛋白^[34]。对富集硒藻类而言,硒可能以含硫氨基酸代谢中间产物类似物存在,如硒代胱硫醚和甲基Sec,硒结合蛋白很少^[35],而相较于富集硒藻类,非富集藻类的硒主要以硒代氨基酸形式与蛋白质结合,且主要以sec-蛋氨酸存在^[36]。

5 藻类中比较重要的硒蛋白

5.1 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)

硒是谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)中的必需组分,直接参与GSH-Px的合成,催化GSH变为GSSG,有效清除活性氧自由基或其他过氧化物,从而保护细胞膜的结构、功能不受过氧化物的干扰、损害。另外,GPx可与 V_E 协同调节脂质过氧化反应,与谷胱甘肽还原酶和戊糖磷酸盐旁路中黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)

降解氢过氧化物成为水^[37]。硒在一定生理浓度范围内通过调节 GSH-Px 和 GSH 在植物体内发挥抑制抗氧化作用^[38]。藻类硒蛋白可以通过酶促机制影响 SOD、POD 的活性^[39]。SOD 和 POD 均是清除植物体内含氧自由基的主要保护酶系统。李亚男等^[40]研究了不同浓度硒盐处理对盐藻(*Dunaliella salina*)生长的影响。SOD 活性对低硒浓度没有响应,但当 Na₂SeO₃ 浓度超过 10.0 mg/L 时,其活性明显提高;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性在 Na₂SeO₃ 浓度 0.1 ~ 1.0 mg/L 的范围内随着硒浓度的增加而上升,当 Na₂SeO₃ 浓度超过 1.0 mg/L 时,酶活性随着硒浓度的增加而降低。硒以硒代半胱氨酸形式直接参与 GSH-Px 的组成,并通过 GSH-Px 催化 GSH,同时通过酶促机制提高 GSH-Px、SOD、POD 的活性,降低过氧化物酶 CAT 活性,调节藻类的抗氧化防御系统。硒蛋白在生物和非生物的胁迫下响应调节抗氧化保护基因,避免藻类机体的损害。

5.2 硫氧还蛋白(TR)家族 参与构成 TR 的活性中心。TR 是含硒的黄素酶,含有一个 SeCys^[41]。TR 可以催化 NADPH 将硫氧还蛋白(Trx)上的-S2 还原成-SH2,成为核糖核苷酸还原的电子供体,维持 Trx 的还原型。TR 与 Trx 具有很好的抗氧化作用。TR 与 Trx、TPX 构成抗有效的氧化防御系统。TrxR-Trx 系统主要参与调节细胞生长、分化、基因组完整性的氧化还原反应过程^[42-43]。在正常情况下,在 NADP 存在时,TR 还原氧化态的 Trx 作为硫氧还蛋白过氧化物酶(TPx)的电子供体,将 H₂O₂ 还原成 H₂O,降低活性氧的水平。有研究发现,衣藻类内同样含有 Trx 蛋白参与维持正常的氧化还原状态^[44]。Trx 系统是调节 ROS 水平的主要酶系统^[45]。同时,Trx 在植物体内参与在光合作用电子传递链和叶绿体中酶的激活。细胞质和线粒体中也存在硫氧还蛋白^[46]。硒参与构成 TR,并调控 Trx 的氧化还原功能。在植物体内,硒的适量添加增强了线粒体呼吸速率和叶绿体电子传递速率^[47]。硒蛋白也可能有类似 Trx 的功能,参与植物光合作用的能量代谢。目前,对植物和动物 TR 的功能研究比较多^[45,47]。动物体内的 TR 除具有抗氧化作用外,还与细胞信号传递途径有关^[48]。在硫氧还蛋白系统中,藻类 TR 包括硫氧还蛋白(TRX)、硫氧还蛋白还原酶 TR 和 NADPH。它们都是以蛋白还原酶形式发挥作用的。在细胞液和线粒体中,硫氧还蛋白与 NPPH 结合成 NADPH 硫氧还蛋白还原酶(NTR)。NTR 普遍存在于细菌和动物体中,但在两者体内演变成 2 种不同的结构,一种以小分子量存在于细菌、酵母和植物中,动物中的 NTR 则含有硒代半胱氨酸^[49]。在衣藻中,有 4 种 NADPH 硫氧还蛋白还原酶被发现与动物的 NTR 结构相似,都含有硒代半胱氨酸残基。这种 NTR 不存在于陆生植物中^[50-51]。有研究表明,硫氧还蛋白还原酶的活性随硒浓度毒性增加而增加。这说明硒调控 TR 的活性增强^[15]。

6 藻类硒蛋白的生物作用

硒在生物体中发挥生物作用是通过硒蛋白来协调。硒蛋白包括酶类,如谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还蛋白还原酶等、硒转运蛋白(硒蛋白 P)和一些功能未知的硒蛋白,共同保护

细胞的氧化还原功能。许多流行病学研究已证明充足的 Se 水平对人类健康包括免疫功能、病毒感染、生殖、甲状腺功能、心血管疾病、癌症预防等方面具有非常重要的作用。

6.1 抗氧化作用 ROS 会使蛋白质和其他生物分子氧化,造成细胞的损坏,进而导致产生多种疾病,加速衰老过程^[25]。硒蛋白所起的主要作用是具有强抗氧化性能力。在藻类应对各种生物和非生物胁迫所产生的强氧化作用下,它响应启动抗氧化防御机制,调控相关响应基因,提高 SOD、POD 的活性及光合色素的含量,降低 CAT 活性,进而降低 ROS 的活性,避免藻类机体受到损伤。如,在转基因果蝇中,超表达的蛋氨酸硫氧化物还原酶 A 可降低氧化损伤和延长寿命^[52],因其硒蛋白中的蛋氨酸硫氧化物还原酶 A、B 可以修复酶和减少蛋氨酸亚砷残基,达到保护蛋氨酸专一性的蛋白质被氧化损害^[25]。

硒蛋白之所以具有抗氧化作用,主要是因为生物体内一些重要的含硒酶(如 GSH-Px)的活性中心是硒代半胱氨酸。低浓度的硒可能增加了这些酶的活性以及硒的抗氧化性,能更有效地清除细胞内活性氧自由基或其他过氧化物,从而增加细胞活力,延缓衰老。从硒化螺旋藻中提取的有机硒大分子含硒藻蓝蛋白。它具有良好的体外抗氧化活性,有效清除多种自由基,实现硒的抗氧化作用。

6.2 拮抗重金属等有害元素的作用 重金属元素可与蛋白质结合,引起其活性丧失或结构破坏,取代某些必需微量元素,导致营养缺乏。重金属胁迫与其他形式的氧化胁迫相似,导致大量的活性氧自由基的产生,对藻类的抗氧化系统产生影响^[53],如重金属镉离子对藻类色素的影响刺激了藻类胡萝卜素的合成,而活性氧的减少导致细胞内积累较多的氧自由基,破坏叶绿体膜结构,加速叶绿素的分解^[54]。硒对重金属有拮抗作用,在一定的生理浓度范围内硒能降低藻类对 Hg、As、Cd、Pb、Ag 等重金属的吸收,产生拮抗作用。王强^[55]研究表明,重金属 Cd 可与蛋白质、酶的巯基(-SH)结合,改变蛋白质、酶的活性,而 Se 是比 S 更软的碱,Se 能优先于 S、软酸 Cd 结合成 Se-Cd 复合物,从而使 Cd 转变为稳定、无毒性 Se-Cd 大分子配合物。藻类可形成金属螯合物以响应重金属胁迫,其中包括半胱氨酸残基(-Cys)。由于它包含的巯基(-SH)是金属结合位点,Se 优于 S 的重金属结合能力,可能与重金属 Hg、Cd、As、Te、Pb 等形成金属硒蛋白复合物^[56],随藻类代谢排出体外有关,避免重金属对藻类的损害。李荫蓁^[57]对衣藻细胞的研究表明,5 mg/kg Se 对 1.5 mg/L HgCl 有显著的拮抗作用。其次,硒代半胱氨酸为活性中心的 GSH-Px 能提高 GSSE 的活性,清除重金属胁迫产生的大量活性氧自由基,增强藻类抗氧化性作用,保护藻类机体。

6.3 免疫调节作用 硒可以影响吞噬细胞的杀菌活性^[30]。部分硒蛋白对人体疾病有良好的预防疗效。如,硒蛋白质溶液制剂能显著提高大鼠血清 GSH2-Px 活性,在 0.05 水平显著降低大鼠血清中 MDA 含量^[58]。而对一些对人体营养调查发现,硒具有抗癌的功效^[59],满足人体的日常补硒

量,预防癌症^[1]。硒能选择性抑制和杀伤癌细胞,增强机体免疫力,并能减轻化疗引起的损伤,提高对化疗的耐受性。

Clark等^[60]对1312位美国老人进行了为期13年的每日补充200 μg富硒酵母组和空白对照组的双盲、随机试验,发现硒治疗组展现出非常低的癌症发生的死亡率和整体癌症率,尤其是在前列腺癌、肺癌和结肠癌、直肠癌等脏器的癌症和白血病等均有明显的预防作用和治疗作用。以硒代半胱氨酸为活性中心的硫氧还蛋白在多种癌症中表达,由肿瘤细胞分泌,并刺激肿瘤生长,同时阻止细胞凋亡^[61]。在过度表达的人类肿瘤组织中,TR通过还原硫氧还蛋白在调节正常细胞和肿瘤的生长中发挥作用^[62],如TRP-1是由前列腺E2诱导表达的硫氧还蛋白相关蛋白基因,具有硫氧还蛋白的活性。它通过直接绑定到诱导细胞周期G1/S期的转录因子来实现转录,抑制其活性^[63]。

7 结语

由于全球大部分地区处于缺硒或低硒地区,如何合理补硒是人类近年来研究的一个热点。藻类种类繁多,资源丰富,在营养保健、环境保护等方面都有广泛的运用,其中原核类蓝藻的螺旋藻与真核类绿藻的小球藻因其成分含有丰富的蛋白质、多糖、类胡萝卜素、叶绿素、维生素及不饱和脂肪酸等多种生物活性物质,更是成功开发可食用微藻中的佼佼者。利用藻类富集硒的能力达到安全有效的补硒手段,是非常值得深入探究的。

硒蛋白在藻体中占有主要成分。在藻类已知的20多种硒蛋白中,谷胱甘肽过氧化物酶在抗氧化作用方面占非常重要的地位。它是藻类抗氧化防御机制的关键酶。同样,TR也是抗氧化防御的主要组分,在许多细胞中发挥作用。其他硒蛋白的作用也有相关报道^[64-65]。硒蛋白作为一类特殊类型的蛋白,它的生物作用在人类的研究中有目共睹。虽然人类对硒蛋白有所研究,但对硒蛋白的富集、代谢、存在形态和分布状况等机制的研究尚不完全透彻,尤其藻类拥有良好的硒富集能力,一方面可对环境中重金属硒污染的状况有所改善,另一方面能给予人类补充基本营养元素。藻类富含的硒蛋白是值得人类研究的课题,可进一步揭示硒蛋白的作用机制和功能,同时充分发挥藻类硒蛋白的重要作用。

参考文献

- [1] FINLEY J W. Selenium accumulation in plant foods[J]. Nutr Rev, 2005, 63: 196-202.
- [2] HARRISON P J, YU P W, THOMPSON P A, et al. Survey of selenium requirements in marine phytoplankton[J]. Marine Ecol-Progr Ser, 1988, 47(1): 89-96.
- [3] 刘静雯, 张雅兰, 杜翠红, 等. 富硒海洋球石藻(*Emiliania huxleyi*)的培养及其硒蛋白的初步分离纯化[J]. 海洋与湖泊, 2010, 41(6): 879-884.
- [4] 成华, 向文, 吴华莲, 等. 海水螺旋藻C-藻蓝蛋白富硒及其抗氧化特性[J]. 热带海洋学报, 2008, 27(5): 60-65.
- [5] 刘春颖, 皇华伟, 杨桂朋, 等. 硒(IV)对微藻生长的影响及NO对硒胁迫调控作用的初步研究[J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(6): 980-984.
- [6] 陈填峰, 崔小峰, 杨芳, 等. 分次加硒法培养高富硒量螺旋藻及其对藻体光合色素和蛋白质含量影响的研究[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(8): 48-51.
- [7] 黄峙, 郑文杰, 杨芳, 等. 硒胁迫螺旋藻*Spirulina platensis*集落形成及富硒稳定性[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(5): 542-544.
- [8] LETAVAYOVA L, VLCKOVA V, BROZMANOVA J. Selenium: From cancer

- prevention to DNA damage[J]. Toxicology, 2006, 227(1/2): 1-14.
- [9] LEDUC D L, TARUN A S, MONTES-BAYON M, et al. Over expression of Sel-enocysteine methyltransferase in *Arabidopsis* and Indian mustard increases selenium tolerance and accumulation[J]. Plant Physiology, 2004, 135(1): 377-383.
- [10] WANG Y, BÖCK A, NEUHIERL B. Acquisition of selenium tolerance by a selenium non-accumulating *Astragalus* species via selection[J]. Biofactors, 1999(9): 3-10.
- [11] 姚新, 陈大清, 肖春, 等. 超表达硒代半胱氨酸甲基转移酶基因对烟草硒酸盐胁迫的生理效应[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(7): 1551-1557.
- [12] SORS T G, ELLIS D R, NA G N, et al. Analysis of sulfur and selenium assimilation in *Astragalus* plants with varying capacities to accumulate selenium[J]. Plant, 2005, 42: 785-797.
- [13] PRICE N M, THOMPSON R A, HARRISON P J. Selenium; an essential element for growth of the coastal marine diatom *Thalassiosira pseudonana* [J]. Phycol, 1987, 23: 1-9.
- [14] ARAIE H, SAKAMOTO K, SUZUKI I, et al. Characterization of the selenite uptake mechanism in the coccolithophore *Emiliania huxleyi* (Haptophyta) [J]. Plant Cell Physiol, 2011, 52(7): 1204-1210.
- [15] ARAIE H, SUZUKI I, SHIRAIWA Y. Identification and characterization of a selenoprotein, thioredoxin reductase, in a unicellular marine haptophyte alga, *Emiliania huxleyi* [J]. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(51): 35329-35336.
- [16] DÁ SA UMYSOVÁ, MILADA VÍTOVÁ, IRENA DOUŠKOVÁ, et al. Bioaccumulation and toxicity of selenium compounds in the green alga *Scenedesmus quadricauda* [J]. BMC Plant Biology, 2009, 9(58): 1-16.
- [17] 程建中, 杨萍, 桂仁意. 植物硒形态分析的研究综述[J]. 浙江农林大学学报, 2012, 29(2): 288-295.
- [18] WU L, HUANG Z Z, BURAU R G. Selenium accumulation and selenium-salt cotolerance in 5 grass species [J]. Crop Sci, 1988, 28(3): 517-522.
- [19] 白研, 朱杰科, 林泽庆, 等. 海藻中总硒含量及各硒的赋存形态的分布研究[J]. 食品工业科技, 2010(4): 352-354.
- [20] MAHER W A. Selenium in macroalgae [J]. Botanica Marina, 1985, 28(7): 269-273.
- [21] KIM K Y, LEE J W, PARK M S, et al. Expression of a thioredoxin-related protein-1 is induced by prostaglandin E(2) [J]. Int J Cancer, 2006, 118(7): 1670-1679.
- [22] NOVOSELOV S V, RAO M, ONOSHKO N V, et al. Selenoproteins and selenocysteine insertion system in the model plant cell system, *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. EMBO, 2002, 21(14): 36, 81-93.
- [23] SHIGEOKA S, TAKEDA T, HANAOKA T. Characterization and immunological properties of selenium-containing glutathione peroxidase induced by selenite in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Biochem, 1991, 275(3): 623-627.
- [24] CHEN T F, WONG Y S. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis* [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(12): 4352.
- [25] COPELAND P R. Regulation of gene expression by stop codon recoding: selenocysteine [J]. Gene, 2003, 312: 17-25.
- [26] KIM H Y, GLADYSHEV V N. Methionine sulfoxide reductases; seleno protein forms and roles in antioxidant protein repair in mammals [J]. Biochem, 2007, 407: 321-329.
- [27] STADTMAN T C. Selenocysteine [J]. Annu Rev Biochem, 1996, 65: 83-100.
- [28] 雷红灵. 植物硒及其含硒蛋白的研究[J]. 生命科学, 2012, 24(2): 123-129.
- [29] BEATH O A, DRAIZE J H, EPPSON H F, et al. Certain poisonous plants of Wyoming activated by selenium and their association with respect to soil types [J]. Journal of the American Pharmaceutical Society, 1934, 23: 94.
- [30] BEHNE D, KYRIAKOPOULOS A. Mammalian selenium-containing proteins [J]. Annu Rev Nutr, 2001, 21: 453-473.
- [31] 全宗喜, 康世良, 武瑞. 硒及硒蛋白生物学作用的研究进展 [J]. 动物医学进展, 2002, 23(6): 17-19.
- [32] GARIFULLINA G F, OWEN J D, LINDBLOM S D, et al. Pilon-Smits expression of a mouse selenocysteine lyase in *Brassica juncea* chloroplasts affects selenium tolerance and accumulation [J]. Physiologia Plantarum, 2003, 118: 538-544.
- [33] PICKERING I J, WRIGHT C, BUBNER B, et al. Chemical form and distribution of selenium and sulfur in the selenium hyperaccumulator *Astragalus bisulcatus* [J]. Plant Physiol, 2003, 131: 1460-1467.

- [34] LOBANOV A V, HATFIELD D L, GLADYSHEV V N. Eukaryotic selenoproteins and selenoproteomes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790(11): 1424 – 1428.
- [35] 王莉, 武芸, 尚红喜. 植物体内含硒生物大分子基础与应用研究进展 [J]. *湖北民族学院学报*, 2004, 22(2): 1 – 4.
- [36] JIANG Z H, MU Y. The progress in mechanism of selenoprotein biosynthesis [J]. *Biochem Biophys Sin*, 2002, 3: 395 – 399.
- [37] 王晓雅. 硒蛋白的抗氧化作用 [J]. *现代农业科技*, 2006(8): 183 – 184.
- [38] 刘元英, 罗盛国, 赵久明. 硒对大豆体内谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-px)活性的影响 [J]. *大豆科学*, 1998, 17(2): 157 – 160.
- [39] 侯少范, 薛泰麟, 谭见安. 高等植物中的谷胱甘肽过氧化物酶及其功能 [J]. *科学通报*, 1994, 39(6): 553 – 556.
- [40] 李亚男, 宋德宝, 陈大清. 硒对盐藻生长及抗氧化酶活性的影响 [J]. *长江大学学报*, 2006, 3(4): 198 – 210.
- [41] 郑文杰, 贺鸿志, 黄峙, 等. 硒胁迫对两种螺旋藻生长的影响 [J]. *海洋科学*, 2003, 27(10): 73 – 78.
- [42] ARN R E S, HOLMGREN A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase [J]. *Eur J Biochem*, 2000, 267(20): 6102 – 6109.
- [43] POWIS G, GASDASKA J R, GASDASKA P Y, et al. Se and the thioredoxin redox system: effects on cell growth and death [J]. *Oncol Res*, 1997, 9: 303 – 312.
- [44] LEMAIRE S D, MIGINIAC-MASLOW M. The thioredoxin superfamily in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Photosynth Res*, 2004, 82(3): 203 – 220.
- [45] 张笑天, 熊咏民. 硫氧还蛋白还原酶研究进展 [J]. *国外医学: 医学地理分册*, 2005, 26(4): 148 – 158.
- [46] 刘雷, 尹钧. 硫氧还蛋白的研究 [J]. *东北农业大学学报*, 2003, 34(2): 219 – 225.
- [47] 许莲蓉, 乔振华. 硫氧还蛋白还原酶生物学活性及其与人类疾病的关系 [J]. *国外医学: 生理、病理科学与临床分册*, 2004, 24(1): 18 – 21.
- [48] GANTHER H E. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention complexities with thioredoxin reductase [J]. *Carcinogenesis*, 1999, 20(9): 1657 – 1666.
- [49] HANIKENNE M, MERCHANT S S, HAMEL P. Transition metal nutrition: A balance between deficiency and toxicity [M]//STERN D. *The Chlamydomonas sourcebook, organellar and metabolic processes Volume 2*. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Sydney, Tokyo: Academic Press Elsevier, 2009: 333 – 379.
- [50] KRYUKOV G V, CASTELLANO S, NOVOSELOV S V, et al. Characterization of mammalian selenoproteomes [J]. *Science*, 2003, 300(5624): 1439 – 1443.
- [51] NOVOSELOV S V, RAO M, ONOSHO N V, et al. Selenoproteins and selenocysteine insertion system in the model plant cell system *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *EMBO*, 2002, 21: 3681 – 3693.
- [52] RUAN H, TANG X D, CHEN M L, et al. High-quality life extension by the enzyme peptide methionine sulfoxide reductase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 2748 – 2753.
- [53] PINTO E, SIGAUD-KUTNER T C S, LEITAO M A S, et al. Heavy metal-induced oxidative stress in algae [J]. *Journal of Phycology*, 2003, 39: 1008 – 1018.
- [54] 田程. 藻类荧光对重金属毒性响应规律的研究 [D]. 石家庄: 河北科技大学, 2010.
- [55] 王强. 微量元素硒对铜的拮抗作用的研究 [J]. *纺织高校基础科学学报*, 1998, 11(4): 325 – 328.
- [56] 明瑶. 微藻应对环境压力的生理与分子响应机制 [D]. 汕头: 汕头大学, 2010.
- [57] 李荫葵. 硒对衣藻细胞群体生长的促进作用及其对汞的拮抗 [J]. *北京大学学报*, 1986(4): 47 – 52.
- [58] 吴芳, 聂荣邦. 烟叶硒蛋白及富硒烟叶研究进展 [J]. *作物研究*, 2007, 21(5): 722 – 724.
- [59] FINLEY J W. Does selenium accumulation in meat confer a health benefit to the consumer? [J]. *Anim Sci*, 2000, 77: 1 – 10.
- [60] CLARK J, COMBS G, TURNBULL B, et al. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin: A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group [J]. *JAMA*, 1996, 276: 1957 – 1963.
- [61] 傅家富, 李少林. 硒蛋白和硒的抗癌机理 [J]. *微量元素与健康研究*, 2001, 18(1): 70 – 72.
- [62] 高建忠, 黄克和. 动物硒蛋白研究进展 [J]. *畜牧与兽医*, 2004, 36(7): 39 – 41.
- [63] KIM K Y, LEE J W, PARK M S, et al. Expression of a thioredoxin-related protein-1 is induced by prostaglandin E2 [J]. *Int J Cancer*, 2006, 118: 1670 – 1679.
- [64] 杨艳坤, 陈振宇, 付丽杰, 等. 几种硒蛋白简介 [J]. *现代化农业*, 2009(10): 35 – 36.
- [65] 侯勤堂, 刘琼. 藻类硒富集与硒蛋白研究进展 [J]. *微量元素与健康研究*, 2010, 27(2): 61 – 66.

(上接第 7398 页)

- [24] KLEIJN R, HUELE R, VOET ESTER VAN DER. Dynamic substance flow analysis: The delaying mechanism of stocks, with the case of PVC in Sweden [J]. *Ecological Economics*, 2000, 32: 241 – 254.
- [25] HEKKERT M P, JOOSTEN L A J, WORRELL E. Analysis of the paper and wood flow in the Netherlands [J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2000, 30(1): 29 – 48.
- [26] JOOSTEN L A J, HEKKERT M P, WORRELL E. Assessment of the plastic flows in The Netherlands using STREAMS [J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2000, 30(2): 135 – 161.
- [27] SPATARI S, BERTRAM M, FUSE K, et al. The contemporary European copper cycle: 1 year stocks and flows [J]. *Ecological Economics*, 2002, 42(2): 27 – 42.
- [28] KAPUR A, BERTRAM M, SPATARI S, et al. The contemporary copper cycle of Asia [J]. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 2003, 5: 143 – 156.
- [29] VEXLER D, BERTRAM M, KAPUR A, et al. The contemporary Latin American and Caribbean copper cycle: 1 year stocks and flows [J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2004, 41: 23 – 46.
- [30] JOHNSON J, SCHEWEL L, GRAEDEL T E. The contemporary anthropogenic chromium cycle [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(22): 7060 – 7069.
- [31] SPATARI S, BERTRAM M, ROBERT B, et al. Twentieth century copper stocks and flows in North America: A dynamic analysis [J]. *Ecological Economics*, 2005, 54: 37 – 51.
- [32] DRAKONAKIS K, ROSTKOWSKI K, RAUCH J, et al. Metal capital sustaining a North American city: Iron and copper in New Haven, CT [J]. *Resources Conservation and Recycling*, 2007, 49(4): 406 – 420.
- [33] PAPP J F. *Minerals Yearbook; Recycling-metals*. Geological Survey, U. S.: 2010 [EB/OL]. <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/recycle/mybl-2010-recyc.pdf>.
- [34] 左玉辉. 物质流数学模型研究 [J]. *重庆环境科学*, 1984(1): 29 – 33.
- [35] 陆钟武. 钢铁产品生命周期的铁流分析——关于铁排放量源头指标等问题的基础研究 [J]. *金属学报*, 2002, 38(1): 58 – 68.
- [36] 岳强, 陆钟武. 中国铜循环现状分析(2)——具有时间概念的产品生命周期物流分析方法 [J]. *中国资源综合利用*, 2005(5): 4 – 8.
- [37] 岳强, 陆钟武. 中国铜循环现状分析(1)——STAF 方法 [J]. *中国资源综合利用*, 2005(4): 6 – 11.
- [38] 郭学益, 钟菊芽, 宋瑜, 等. 我国铅物质流分析研究 [J]. *北京工业大学学报*, 2009, 35(11): 1554 – 1561.
- [39] 毛建素, 陆钟武, 杨志峰, 等. 铅酸电池系统的铅流分析 [J]. *环境科学*, 2006, 27(3): 442 – 447.
- [40] 刘毅, 陈吉宁. 中国磷循环系统的物质流分析 [J]. *中国环境科学*, 2006, 26(2): 238 – 242.
- [41] 刘毅, 陈吉宁. 滇池流域磷循环系统的物质流分析 [J]. *环境科学*, 2006, 27(8): 1449 – 1553.
- [42] 王晓燕, 阎恩松, 欧洋. 基于物质流分析的密云水库上游流域磷循环特征 [J]. *环境科学学报*, 2009, 29(7): 1549 – 1560.
- [43] 楼俞, 石磊. 城市尺度的金属存量分析——以邯郸市 2005 年钢铁和铝存量为例 [J]. *资源科学*, 2008, 30(1): 147 – 152.
- [44] 陆钟武, 蔡九菊, 于庆波. 钢铁生产流程的物流对能耗的影响 [J]. *金属学报*, 2000, 36(4): 370 – 378.
- [45] 杜涛, 蔡九菊, 陆钟武. 钢铁生产流程的物流对大气环境负荷的影响 [J]. *钢铁*, 2002, 37(6): 59 – 64.
- [46] KLEIJN R, VAN DER VOET E R. The relation between bulk-MFA and SFA. Workshop economic growth, material flows and environmental pressure, Folkets Hus, Stockholm, 2001 [EB/OL]. [Http://www.utexas.edu/research/ceer/greenmaterial/Additional/Kleijn_MFA_SFA.pdf](http://www.utexas.edu/research/ceer/greenmaterial/Additional/Kleijn_MFA_SFA.pdf).
- [47] REIJNDERS L. The Factor X Debate: Setting Targets for Eco-Efficiency [J]. *Journal of Industrial Ecology*, 1998, 2(1): 13 – 22.